

지구성 운동과 셀레늄 투여가 노화 GK 흰쥐의 미토콘드리아 전사인자 발현에 미치는 영향

김 범 수[†]

성신여자대학교 스포츠레저학과

The Effects of Endurance Exercise and Selenium Treatment on Mitochondrial Transcription Factors Expression in Old GK Rats

Bum-Soo Kim[†]

Dept. of Sports and Leisure, Sungshin Women's University, Seoul 136-742, Korea

ABSTRACT : The objective of this study is to identify the effects of endurance exercise and selenium on mitochondrial transcription factor in old Goto-Kakizaki (GK) rats. In this experiments, endurance exercise were treadmill-run at 24 m/min, 30 min/day, 5 days/week, 6 weeks and 5 umol/kg of sodium selenite was injected intraperitoneally. In exercise group, selenium group, and combination group, the mitochondrial biogenesis-related genes, including PGC-1 α , NRF-1, and Tfam expression level were significantly increased compared to control group. Consistent with the increased biogenesis-related genes, the cytochrome C in the treated groups, which was the indicator of mitochondrial content, was significantly increased compared to control group. Especially, combination of exercise and selenium may be effective in the increase of mitochondrial biogenesis, activity and insulin sensitivity. Therefore, exercise and selenium treatment is likely to promote diabetic-mitochondrial malfunction and then improve diabetes.

Key words : Mitochondria, GK, Diabetes, Exercise.

요 약 : 이 연구는 제2형 당뇨 모델 동물인 Goto-Kakizaki(GK) 흰쥐를 사용하여 운동과 셀레늄 투여가 미토콘드리아 생성과 기능 향상을 조절하는 전사 인자의 발현 변화와 현상학적으로 당뇨의 증상 개선을 유도할 수 있는지를 구명하기 위해 실시하였다. 실험동물은 52주령된 GK 수컷 흰쥐로 24 m/min, 30 min/day, 5 days/week, 총 6주간 트레드밀 러닝을 실시하였다. Sodium selenite(5 umol/kg)는 selenium 집단과 combination 집단에 1주일에 5일씩 6주간 복강에 주입하였다. 운동과 셀레늄 투여는 미토콘드리아의 생성에 관여하는 peroxisome proliferators-activated receptor gamma coactivator-1 alpha(PGC-1 α), nuclear respiratory factors(NRF-1), 그리고 mitochondrial transcription factor A(Tfam) 발현을 증가시켰으며, 그 결과로 미토콘드리아량의 지표 단백질인 cytochrome C도 증가를 보였다. 특히, 운동이나 셀레늄의 단독적인 처치 보다는 운동과 셀레늄 병행 처치가 미토콘드리아의 생성 및 활성 증가, 그리고 포도당 내성에 긍정적인 효과를 보였다. 따라서, 본 연구에서 수행된 운동과 셀레늄 투여 처치는 당뇨의 개선 효과 및 당뇨 질환과 관련된 미토콘드리아의 기능 향상에 긍정적인 효과를 보이는 것으로 나타났다.

서 론

현재 임상학적으로 당뇨병으로 고통 받고 있는 인구는 급격히 증가하고 있다. 이러한 당뇨병 환자의 증가 추세는 전

세계적으로 1995년 135만명에서 2025년도에는 300만명으로 늘어날 것으로 추산되고 있다(Anabela & Carlos, 2006). 전체 당뇨병의 90%를 차지하는 제2형 당뇨병은 퇴행성 질환으로 유전적, 환경적 요인 등의 복합적인 작용으로 인해 발병하게 된다. 이러한 당뇨병은 인슐린 분비의 결핍과 수용체의 민감도 저하, 그리고 고혈당의 특징을 보이는 대사성 질환이다.

[†] 교신저자: 서울시 성북구 동선동 3가 249-1 성신여자대학교 스포츠레저학과. (우) 136-742, (전) 02-920-7513, (팩) 02-920-2072, E-mail: kbs2000@sungshin.ac.kr

미토콘드리아는 대부분의 진핵세포에서 생물학적 산화를 통하여 ATP를 생성하는 기능을 담당하는 세포내 소기관으로, 일반적으로 산화적 박테리아와 해당적 진핵세포와의 공생관계에서 유래된 것으로 알려져 있다. 세포 소기관 중에서 유일하게 circular DNA를 가지고 있어서 자기 복제와 전사가 가능하다. 사람의 미토콘드리아 DNA의 크기는 16,569 bp이고, 37개의 유전자를 가지고 있다.

최근 노화와 관련된 퇴행성 질환 즉, 당뇨병, 심혈관계 질환, 파킨슨병 및 알츠하이머 치매 등의 발병기전에 미토콘드리아 기능 이상이 관여한다는 연구들이 보고되고 있다 (Bossy-Wetzel et al., 2003).

미토콘드리아와 당뇨병과의 관련성에서는 제1형과 2형 당뇨병자에서 골격근에서의 mtDNA 복제수가 약 50% 정도 감소한 것을 보였고(Antonetti et al., 1995), Goto-Kakizaki (GK) 흰쥐의 췌장세포의 미토콘드리아의 부피가 정상에 비해 작고, 복제수가 감소된 것으로 나타났다(Pierre & Claes, 2001). 또한, 당뇨병은 mtDNA의 점돌연변이, 염색체 소실과 밀접한 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있다(Pierre et al., 2001). 이와 같은 선행 연구들에서 미토콘드리아와 당뇨병과의 관련성이 매우 깊다는 것을 알 수 있으며, 미토콘드리아의 이상이 당뇨병 발병의 원인으로서는 가능성을 고려할 수 있다.

미토콘드리아의 수적 증가와 활성 조절은 핵에 의해 조절되게 된다. Tfam(mitochondrial transcription factor A), NRFs (nuclear respiratory factors)와 PGC-1 α (peroxisome proliferators-activated receptor gamma coactivator-1 alpha)는 핵 DNA에 의해 합성되어 미토콘드리아의 생성과 활성을 조절하는 중요한 역할을 담당한다(Daniel & Richard, 2004).

Tfam은 미토콘드리아의 복제와 전사에 있어서 중요한 역할을 담당하는 단백질이다. 이러한 Tfam과 관련된 연구들에서는 Tfam 적중 생쥐에서는 배아의 치사(embryonic lethality)와 미토콘드리아 DNA 소실을 보였으며(Larsson et al., 1998), mtDNA가 소실된 세포에서 Tfam 발현 유도는 증가된 미토콘드리아 DNA량과 밀접한 상관관계가 있는 것으로 보고되었다.

NRF는 NRF-1, -2가 있으며, 두 단백질이 모두 미토콘드리아 호흡에 필요한 핵 유래 유전자들의 전사를 활성화시키는 전사인자이다. 특히, NRF-1은 68 KDa 크기의 단백질로 C-말단 활성 영역(C-terminal activation domain)과 DNA 결

합 능력을 증가시켜주는 N-말단으로 구성되어 있다(Daniel & Richard, 2004). 특히, NRF-1의 표적 유전자는 cytochrome C, ubiquinone binding protein, cytochrome C oxidase IV, ATP synthase gamma subunit이며, Tfam의 전사를 조절한다(Lee & Wein, 2005).

PGC-1 α 는 다른 전사인자와 상호작용하여 유산소 대사와 관련된 유전자의 발현을 조절하며, 특히, mtDNA의 복제와 전사에 관련된 호흡사슬의 폴리펩티드와 미토콘드리아 단백질을 코딩하는 핵 유전자의 발현을 유도하는 것으로 알려져 있다(Puigserver & Spiegelman, 2003).

미토콘드리아는 근육의 유산소성 운동 수행에 있어서 중요한 역할을 한다. 운동 처방과 병리생리학적인 상태에서 인간과 동물의 미토콘드리아의 구조적·기능적 변화에 대해서는 잘 알려져 있다. 지구성 훈련은 산화적 대사에서 미토콘드리아의 크기와 효소 활성의 증가뿐만 아니라, 근육에서의 미토콘드리아의 짝지움(coupling)과 조절을 향상시킬 수 있다(Hoppeler et al., 2003). 최근 연구에서, 설치류의 근육에서 규칙적인 운동은 PGC-1 α , NRF, Tfam 수준의 증가를 보였다(Adhietty et al., 2003). 또한 운동과 관련하여 신호전달 물질인 AMPK의 활성화로 PGC-1 α 의 발현이 유도된다고 보고하고 있다(Clementi et al., 2005).

셀레늄(selenium)은 1817년 Berzelius에 의해 처음 발견된 미량으로 존재하는 원소 중 하나로서, 독성물질로 인식되어 왔다. 이러한 셀레늄은 자연상태에서 금속형, 무기형, 유기형 등의 형태로 존재하며, 생체 내에는 주로 유기형인 세레노메티오닌 또는 세레노시스테인의 아미노산 형태로 존재한다.

섭취된 셀레늄은 간, 근육, 신장, 위, 장관점막세포 및 췌장 등의 조직에 SEM-P로 저장되거나, 셀레노단백질의 합성 경로로 들어가거나 또는 분해되어 체외로 배설된다(Abdulh et al., 2005; Finley, 2005). 셀레늄이 적으면 심장 비대, 심근 괴사, 세포 미토콘드리아 파괴를 보이는 심근증과 신장기능 장애, 당뇨병 등의 질환들을 유발시키는 것으로 보고되고 있다(Comb, 2001). 그 외 셀레늄의 생리적인 역할은 항산화작용으로 비타민 E보다 1,970배의 효과가 있으며, GSH-Px (glutathion peroxidase enzyme)의 조효소로서 세포막의 과산화적 손상을 방지하는 역할을 한다.

이러한 셀레늄의 다양한 생리적 역할로 인해 질병과 관련하여 현재까지도 많은 연구들이 진행되고 있다. 그러나 아직

까지 운동과 셀레늄에 의한 미토콘드리아 전사인자의 유도에 대해서는 논쟁이 많으며, 특히, 당뇨와 같은 퇴행성 병리학적 상태에서의 미토콘드리아와의 관련성에 대한 관심은 증가하고 있다. 세포내 에너지 대사에서 핵심적인 역할을 담당하고 있는 것 외에도 세포사멸과 관계가 깊은 미토콘드리아의 생성과 기능 향상에 대한 연구는 극히 미흡한 실정이다.

따라서, 본 연구의 목적은 GK 흰쥐를 대상으로 운동과 셀레늄 투여가 미토콘드리아 생성과 기능 향상을 조절하는 전사인자들의 발현 변화와 현상학적으로 당뇨의 증상 개선을 유도할 수 있는 지를 구명하고자 하였다.

연구 방법

1. 실험동물

본 실험에서 사용된 실험동물은 제2형 당뇨의 특성을 잘 나타내는 52주령 GK 수컷 흰쥐 24마리를 사용하였다. 이 GK 흰쥐는 인슐린 분해 효소(IDE) 유전자의 일부가 결손되어 정상적인 insulin/glucose 대사가 일어나지 않고, 제2형 당뇨의 특징인 고혈당과 고인슐린증 증상을 나타낸다. 이 GK 흰쥐를 비교 집단(N=6), 운동 집단(N=6), 셀레늄 집단(N=6), 병행 집단(N=6)으로 구분하였다.

2. 훈련 방법

본 실험의 훈련방법은 52주령의 GK(Goto-Kakizaki) 수컷 흰쥐를 1주간 실험동물 사육실에서 적응시키면서 사전 훈련을 실시하였다. 사전 훈련은 rat용 트레드밀을 사용하여 15 m/min 속도로 10 m/day, 5일간 실시하였으며, 그 후에 본 훈련은 24 m/min 속도로 30 min/day, 5 days/week, 6주간 실시하였다. 동물사육실의 온도는 22±1℃, 습도는 55±5%로 항온항습이 유지되는 통제된 환경이며, 조명은 12시간 간격으로 명암이 자동으로 제어되었다. 흰쥐의 식이와 물은 정상적으로 제공되었다.

3. Selenium 투여

Sodium selenite는 Cao 등(2008)의 방법을 변용하여 5 μmole/kg의 농도로 sodium selenite(Sigma, USA)는 셀레늄 투여 집단에 1주일에 5일씩 6주간 복강에 주입하였다.

4. 분석 방법

1) IPGTT

GK 흰쥐의 내당 검사는 복강내 포도당 내성검사(intra-peritoneal glucose tolerance test: IPGTT)로 실시하였으며, 24시간 동안의 공복 상태를 유지시킨 후 30% 수준의 글루코스 용액을 1 ml/kg 농도로 복강내 주입한 후 흰쥐의 꼬리로부터 0, 30, 60, 90, 120분 각각 채혈하여 혈당측정기(Kagaku, Daichi, Japan)로 측정하였다.

2) 샘플 준비

본 실험의 샘플 준비는 6주간의 훈련이 끝난 후 모든 흰쥐들은 복강에 pentobarbital sodium(50 mg/kg)을 투여해 마취시킨 후 가자미근을 분리하여 샘플 중 세포구획 분리를 위해 Mitochondria Extraction Kit을 이용하여 cytosol 구획과 미토콘드리아 구획을 분리 추출하여 분석시까지 -70℃에 보관하였다.

3) 미토콘드리아 분리

골격근의 미토콘드리아 분리는 Mitochondria Extraction Kit(Imgenex Corporation, San Diego, CA)을 이용하여 분리하였다. 구체적인 방법은 다음과 같다. 먼저 조직을 Homogenizing buffer에 넣어 잘게 균질화 시켰다. 균질화된 샘플은 4℃에서 10분간 3,000 rpm으로 원심분리하였다. 분리된 상층액을 다시 4℃에서 30분간 12,000 rpm으로 원심분리하였다. 상층액은 제거하고 남은 pellet을 suspension buffer를 넣어 잘 섞어 준 후 다시 4℃에서 10분간 12,000 rpm으로 원심분리하였다. 획득한 pellet은 mitochondria lysis buffer로 4℃에서 30분간 완전히 녹였다. 그 후 4℃에서 12,000 rpm으로 원심분리하여 미토콘드리아 구획인 상층액을 얻었다.

4) Western Blot

총 100 μg의 단백질을 12% acrylamide gel에 80 volt에서 2시간 정도 샘플을 전기영동하였다. 전기영동 후 gel상에 분리된 단백질을 nitrocellulose membrane으로 45 volt로 2시간 동안 옮겼다. Membrane을 blocking 용액으로 1시간 동안 배양 후 Primary Antibody(anti-GLUT4, anti-Tfam, anti-PGC-1α, anti-cytochrome C, anti-COX, Santa Cruz)를 붙였다. Washing 후 Secondary Antibody(anti-goat-HRP, anti-rabbit-HRP, anti-mouse-HRP)를 붙였다. 다시 washing

후 ECL 용액으로 발색시켰다. 얻어진 band는 densitometer (Kemidak, Kodak)를 이용하여 분석을 하였다.

5) RNA 분리

총 RNA 분리는 TRIzol reagent(Invitrogen, USA)을 이용하여 분리하였다. 구체적인 방법은 다음과 같다. 조직을 TRIzol 용액에 넣어 균질화시키고, 균질화된 샘플을 실온에서 5분간 배양시켰다. 완전히 균질화된 샘플은 chloroform을 넣고 잘 섞어준 후 실온에서 3분간 배양시켰다. 그 후 샘플을 15,000 rpm으로 원심분리시켜 얻은 상층액에 isopropanol을 잘 섞어 준 후 실온에서 배양시켰다. 다시 원심 분리해서 획득한 pellet을 75% EtOH로 washing 후 DEPC-treated H₂O로 녹였다.

6) Real-Time PCR

총 RNA를 Random hexamer를 primer로 하여 Super-Scriptase II(Invitrogen, USA)으로 cDNA를 합성하였다. cDNA를 template로 하여 28s rRNA와 target 유전자 특이적 primer를 사용하여 ABI 790HT(ABI, USA)에서 95°C 10초, 60°C 30초를 40 cycle의 조건으로 증폭시켜 standard curve에 맞추어 상대적 mRNA량을 비교하였다. Primer sequence는 다음과 같다. 28s rRNA sense: ata tcc gca gca ggt ctc caa antisense: gag cca atc ctt atc cgg aag; Tfam sense: cac cca gat gca aaa gtt tca g antisense: gct tca tac acc ttt ttt tct gct t PGC-1 α sense: atg aat gca gcg gtc tta gca antisense: tgc tcc atg aat tct cgg tct t COX IV: gca ggg ata cct cgt cgt tac t antisense: ccg taa gtg aga tga atg acc cta t.

5. 자료처리방법

이 연구에서 얻어진 자료는 SPSS/PC 11.0 통계프로그램을 이용하여 기술통계치(평균, 표준오차)를 산출하였다. 집단간의 각 변인들의 차이를 알아보기 위해 One-Way ANOVA를 실시하였으며, 사후검증은 LSD를 사용하였다.

결 과

1. 포도당 내성 검사

집단간의 포도당 내성을 알아보기 위해 IPGTT(intraperitoneal glucose tolerance test)를 실시한 결과, 다음과 같은

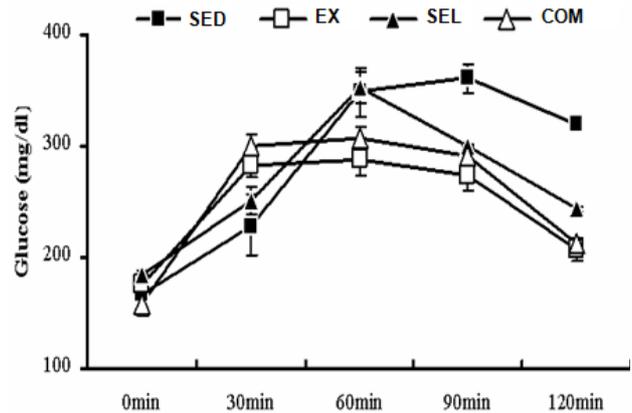


Fig. 1. The effects of exercise and selenium on intraperitoneal glucose tolerance in GK rat's tail. Results are presented as the mean \pm SEM. Sed: sedentary group, ex: exercise group, sel: selenium treatment group, combi: exercise + selenium treatment group. The *P* value for con vs exe and combi in 60 min are 0.05. The *P* value for con vs exe and combi in 90 min and 120 min are 0.01. These values were significantly difference.

결과를 얻었다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이, 비교 집단은 90 min까지 지속적으로 증가하는 반면, 나머지 집단은 60 min에서 글루코스 수준이 감소하는 경향을 보였다.

비교 집단에 비해 60 min($p < 0.05$)에서 운동 집단과 병행 집단이, 90 min($p < 0.01$)과 120 min($p < 0.01$)에서는 모든 집단이 통계적으로 유의하게 낮은 것으로 나타났다.

2. 집단간의 GLUT-4 발현의 차이

집단간 가자미근의 GLUT-4(glucose transporter 4) 단백질 발현의 차이를 알아보기 위해 Western blot을 실시하였다.

가자미근 GLUT-4 단백질 발현 수준은 집단간에 통계적으로 유의한 차이를 보였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 비교 집단에 비해 운동 집단과 셀레늄 집단에서 약 2배 정도 ($p < 0.01$), 병행 집단에서 약 3배 정도($p < 0.001$) 높은 수준을 보였다.

3. 집단간의 PGC-1 α 단백질 발현의 차이

Western blot 분석을 이용하여 집단간 가자미근의 PGC-1 α (peroxisome proliferators-activated receptor gamma caac-

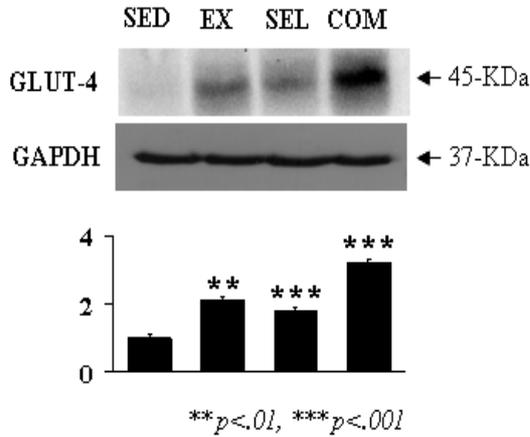


Fig. 2. The effects of exercise and selenium on GLUT4 expression during 6 wks in Soleus muscle. The effects of exercise and selenium on mitochondrial GLUT4 protein expression was measured by Western blot analysis. Results are presented as the mean±SEM. sed: sedentary group, ex : exercise group, sel: selenium treatment group, combi: exercise + selenium treatment group. The *P* value for sed vs exe and sel group are 0.01. The *P* value for sed vs combi are 0.001. These values were significantly difference.

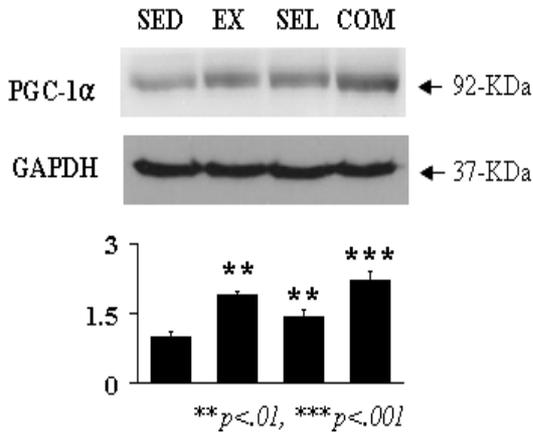


Fig. 3. The effects of exercise and selenium on PGC-1α expression during 6 wks in Soleus muscle. The effects of exercise and selenium on mitochondrial PGC-1 α protein expression was measured by Western blot analysis. Results are presented as the mean±SEM. sed: sedentary group, ex: exercise group, sel: selenium treatment group, combi: exercise + selenium treatment group. The *P* value for sed vs exe and sel group are 0.01. The *P* value for sed vs combi are 0.001. These values were significantly difference.

tivator-1 alpha) 단백질 발현의 차이를 알아보았다.

집단간의 가자미근 PGC-1 α 단백질 발현은 통계적으로 유

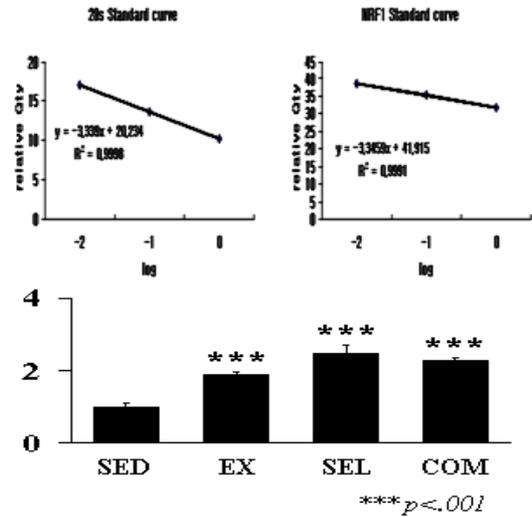


Fig. 4. The effects of exercise and selenium on NRF-1 mRNA expression during 6 wks in Soleus muscle. The effects of exercise and selenium on mitochondrial NRF-1 mRNA expression was measured by real time PCR analysis. Results are presented as the mean±SEM. sed: sedentary group, ex : exercise group, sel: selenium treatment group, combi: exercise + selenium treatment group. The *P* value for sed vs exe, sel and combi group are 0.001. These values were significantly difference.

의한 차이를 보였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 비교 집단에 비해 운동 집단은 약 2배 정도($p < 0.01$), 셀레늄 집단은 약 1.5 배 정도($p < 0.01$)로 높은 발현 수준을 보였다. 그리고 병행 집단은 비교 집단에 비해 2.5배 정도로 가장 높은 수준을 보였다($p < 0.001$).

4. 집단간의 NRF-1 mRNA 발현의 차이

Real-time PCR을 이용하여 집단간의 가자미근 NRF-1 (nuclear respiratory factors) mRNA 발현 수준을 알아보았다.

집단간의 가자미근 NRF-1 mRNA 발현 수준은 $p < 0.001$ 수준에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 비교 집단에 비해 운동 집단, 셀레늄 집단, 병행 집단 모두에서 높은 mRNA 발현 수준을 보였다. 특히, 셀레늄 집단에서 약 1.8배 가량의 가장 높은 발현 수준을 보였다.

5. 집단간의 mtTfam 단백질 발현의 차이

미토콘드리아내의 Tfam(mitochondrial transcriton factor

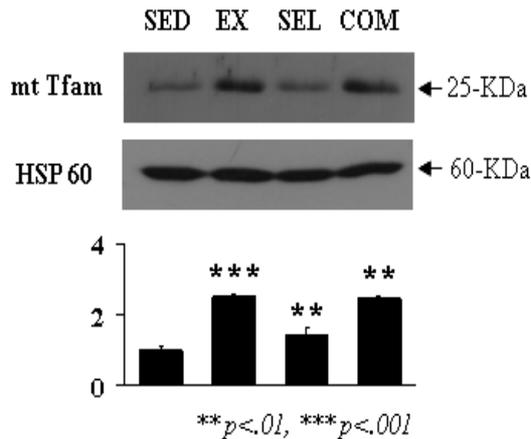


Fig. 5. The effects of exercise and selenium on mitochondrial Tfam protein expression during 6 wks in Soleus muscle. The effects of exercise and selenium on mitochondrial Tfam protein expression was measured by Western blot analysis. Results are presented as the mean±SEM. sed: sedentary group, ex : exercise group, sel: selenium treatment group, combi: exercise + selenium treatment group. The *P* value for sed vs exe group is 0.001. The *P* value for sed vs sed and combi group are 0.01. These values were significantly difference.

A) 단백질의 발현을 알아보기 위해 세포 구획 분리와 Western blot을 실시하였다.

집단간의 가자미근 미토콘드리아 Tfam 단백질 수준은 통계적으로 유의한 차이를 보였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 비교 집단에 비해 운동 집단(약 2.8배), 셀레늄 집단(약 1.6 배), 병행 집단(약 2.5배) 모두에서 높은 발현 수준을 보였다.

6. 집단간의 mtCOX IV 단백질 발현의 차이

세포 구획 분리와 Western blot을 이용하여 집단간의 미토콘드리아내의 COX IV(cyclooxygenase IV) 단백질의 발현을 알아보았다.

집단간의 가자미근 mtCOX IV 단백질 발현 수준은 통계적으로 유의한 차이를 보였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 비교 집단에 비해 운동 집단($p < 0.001$), 셀레늄 집단($p < 0.01$), 병행 집단($p < 0.01$)에서 약 1.5배 가량 증가한 결과를 보였다.

7. 집단간의 mtCytochrome C 단백질 발현의 차이

미토콘드리아내의 집단간 cytochrome C 단백질의 발현 차이를 알아보기 위해 Werstern blot을 실시하였다.

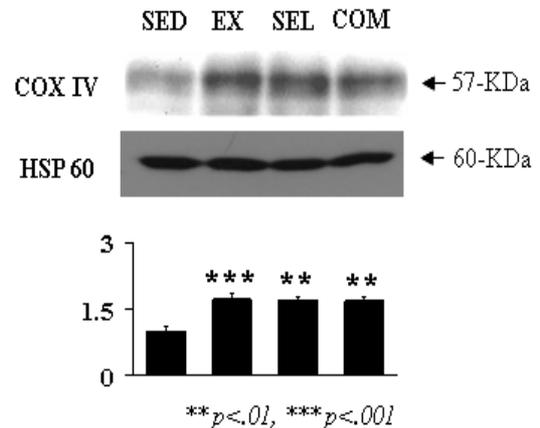


Fig. 6. The effects of exercise and selenium on mitochondrial COX IV protein expression during 6 wks in Soleus muscle. The effects of exercise and selenium on mitochondrial COX IV protein expression was measured by Western blot analysis. Results are presented as the mean±SEM. sed: sedentary group, ex : exercise group, sel: selenium treatment group, combi: exercise + selenium treatment group. The *P* value for sed vs exe group is 0.001. The *P* value for sed vs sed and combi group are 0.01. These values were significantly difference.

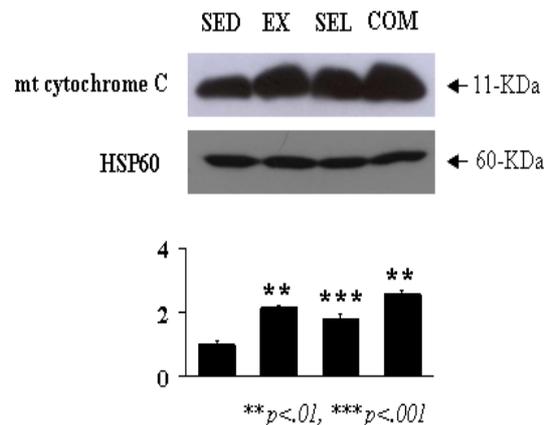


Fig. 7. The effects of exercise and selenium on mitochondrial cytochrome C protein expression during 6 wks in Soleus muscle. The effects of exercise and selenium on mitochondrial cytochrome C protein expression was measured by Western blot analysis. Results are presented as the mean±SEM. sed: sedentary group, ex : exercise group, sel: selenium treatment group, combi: exercise + selenium treatment group. The *P* value for sed vs exe and combi group are 0.01. The *P* value for sed vs sel group is 0.001. These values were significantly difference.

집단간의 미토콘드리아내의 cytochrome C 단백질의 발현 수준은 통계적으로 유의한 차이를 보였다(Fig. 7). 가자미근 mtCytochrome C 단백질 수준은 비교 집단에 비해 운동 집단(약 2배), 셀레늄 집단(약 1.6배), 병행 집단(약 2.3배)에서 높은 수준의 발현을 보였다.

고 찰

이 연구는 GK 흰쥐를 이용하여 6주간의 운동과 셀레늄 투여를 통해 당뇨병과 미토콘드리아의 관계 및 개선에 미치는 영향을 알아보는 데 있다. 최근 당뇨병과 미토콘드리아 기능 손상의 관련성에 관해 많은 연구들이 보고되고 있으며, 당뇨병의 원인 규명에 있어서 미토콘드리아의 중요성에 많은 관심을 보이고 있다.

이 연구에서 셀레늄과 운동의 처치 후 글루코스 내성 검사를 실시한 결과, 비교 집단에 비해 처치집단들에서 현저하게 글루코스 내성이 개선된 것을 보였다.

이러한 글루코스 내성의 개선과 상응해서 비교 집단에 비해 처치집단들의 가자미근 GLUT-4 단백질의 발현이 증가한 것을 보였다. 비교 집단에 비해 운동과 셀레늄 처치집단에서 GLUT-4 단백질 발현 수준이 증가하였다. 이러한 결과는 운동으로 인한 세포 내의 ATP 합성과 혈장 내 Ca^{2+} 농도의 증가로 인해 골격근 세포내 GLUT-4 단백질의 발현 유도 (Selak et al., 2003)와 산화적 스트레스에 쉽게 노출되어 있는 당뇨질환 미토콘드리아에서 셀레늄 투여로 인한 항산화 방어 기전의 개선에 인한 것으로 생각된다(Simmons, 2006).

여러 선행 연구들에서 나타난 당뇨병과 미토콘드리아의 관련성을 살펴보면, GK 흰쥐에서의 미토콘드리아 크기와 mtDNA량의 감소를 Pierre & Claes(2001)가 보고하고 있으며, 제2형 당뇨병 환자에서 미토콘드리아 생성의 감소(Anabela et al., 2006), 산화적 인산화에 관련된 유전자 발현 감소(Mootha et al., 2003) 등의 결과를 보고하였다.

PGC-1 α 은 기질 산화와 ATP 합성을 조절하는 미토콘드리아 단백질의 발현을 조절하는 전사 조절 공동 활성화 인자이다(Wright et al., 2007). 이 연구에서 당뇨질환 모델 동물에서의 운동과 셀레늄 처치가 미토콘드리아의 기능과 복제에 있어서 중요한 조절인자인 PGC-1 α 단백질 발현을 현저하게 증가시켰다. 이러한 결과는 Pilegaard et al.(2003)의 운동과 근육 수축에 의한 골격근에서의 PGC-1 α mRNA와

단백질 발현 증가와 일치한 결과를 보였으며, 이것은 운동에 적응된 골격근에서 AMP/ATP 비율의 증가로 AMPK의 활성화 유도(Bergeron et al., 2001)와 사이토졸 내 Ca^{2+} 수준의 증가로 PGC-1 α 의 프로모터 부분의 calcium-signaling 인자들의 조절에 의해 PGC-1 α 의 증가시킨 것으로 생각된다(Handschin et al., 2003). 특히, 흥미로운 것은 운동이나 셀레늄 단독 처치집단에 비해 운동과 셀레늄 병행 집단에서의 더 높은 PGC-1 α 단백질 발현의 수준을 보인 것이다.

NRFs는 미토콘드리아의 산화적 인산화 과정의 구성물질을 전사하는 전사조절인자이며, Tfam은 미토콘드리아의 복제와 전사를 조절하는 mtDNA의 프로모터에서 작용하는 전사 인자이다. 이 연구에서 운동과 셀레늄 투여집단에서의 PGC-1 α 의 발현 증가와 상응해서 NRF-1 mRNA와 Tfam 단백질 발현 수준이 비교 집단에 비해 증가하였다. NRF-1 mRNA 발현 증가는 골격근의 수축활동에 반응해서 NRF-1 발현 증가를 유도한 Adhichetty et al.(2003)의 결과와 유사하며, 이러한 결과는 PGC-1 α 의 표적 단백질인 NRF-1는 운동과 셀레늄에 의한 PGC-1 α 단백질의 발현 유도에 의해 증가한 것으로 사료된다(Nisoli et al., 2004). 또 하나의 가능성은 미토콘드리아 UCP 단백질의 발현 유도와 세포내 ATP와 phospho-creatine의 감소로 인해 NRF-1 발현이 유도된 것으로 생각된다(Li et al., 1999).

미토콘드리아 genome의 복제와 전사의 기능을 담당하고 있는 전사인자인 Tfam 역시 운동과 셀레늄 처치집단에서 현저하게 증가한 결과를 보였다. 이 결과는 Garnier et al.(2005)의 지구성 훈련에 의한 Tfam의 발현 증가와 유사한 결과를 보였다. 이러한 Tfam 발현 수준의 증가는 운동과 셀레늄 처치에 의한 PGC-1 α 와 NRF-1의 발현 유도에 의해 증가한 것으로 믿어진다.

이러한 미토콘드리아 생성에 관여하는 단백질인 PGC-1 α , NRF-1, 그리고 Tfam의 발현 유도에 의해 미토콘드리아량 및 활성의 표지 단백질인 미토콘드리아 cytochrome C와 COX IV 발현의 증가를 보였다. 즉, 지속적인 운동과 항산화물인 셀레늄 투여는 비정상적인 당뇨 관련 미토콘드리아 단백질의 발현에 직접적인 영향을 끼쳐 당뇨의 개선에 긍정적인 효과를 미치는 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2009년도 성신여자대학교 학술연구조성비 지원에 의하여 연구되었습니다.

인용문헌

- Abdulah R, Miyazaki K, Nakazawa M, Koyama H (2005) Chemical forms of selenium for cancer prevention. *J Trace Elem Med Biol* 19(2-3):141-150.
- Adhihetty PJ, Irrcher I, Joseph AM, Ljubicic V, Hood DA (2003) Plasticity of skeletal muscle mitochondria in response to contractile activity. *Exp Physiol* 88(1):99-107.
- Anabela PR, Carlos MP (2006) Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. *Toxicol Appl Pharmacol* 212(2):167-178.
- Antonetti DA, Reynet C, Kahn CR (1995) Increased expression of mitochondrial-enriched genes in skeletal muscle of human with diabetes mellitus. *J Clin Invest* 95:1383-1388.
- Bossy-Wetzel E, Barsoum MJ, Godzik A, Schwarzenbacher R, Lipton SA(2003) Mitochondrial fission in apoptosis, neurodegeneration and aging. *Curr Opin Cell Biol* 15:706-716.
- Bergeron R, Ren JM, Cadman KS, Moore IK, Perret P, Pypaert M, Young LH, Semenkovich CF, Shulman GI (2001) Chronic activation of AMP kinase results in NRF-1 activation and mitochondrial biogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E1340-1346.
- Clementi E, Nisoli E (2005) Nitric oxide and mitochondrial biogenesis: A key to long-term regulation of cellular metabolism. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 142(2):102-110.
- Combs GF Jr (2001) Selenium in global food systems. *Brit J Nutr* 85:517-547.
- Daniel PK, Richard CS (2004) Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes Dev* 18(4):357-368.
- Finley JW (2005) Selenium acculation in plant foods. *Nutr Rev* 63:196-202.
- Handschin C, Rhee J, Lin J, Tarr PT, Spiegelman BM (2003) An autoregulatory loop controls peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha expression in muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:7111-7116.
- Hoppeler H, Fluck M (2003) Plasticity of skeletal muscle mitochondria: structure and function. *Med Sci Sports Exerc* 35:95-104.
- Larsson NG, Wang JM, Wilhelmsson H, Olfors A, Rustin P, Lewandoski M, Barsh GS, Clayton DA (1998) Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice. *Nat Genet* 18:231-236.
- Lee H, Yan PH, Lin JC, Wu CC, Chen CY, Wu CW, Chi CW, Tam TN, Wei YH (2005) Mitochondrial genome instability and mtDNA depletion in human cancers. *Ann NY Acad Sci* 1042:109-122.
- Li B, Holloszy, JO, Semenkovich CF (1999) Respiratory uncoupling induces delta-aminolevulinate synthase expression through a nuclear respiratory factor-1-dependent mechanism in Hela cells. *J Biol Chem* 274: 17534-17540.
- Nisoli E, Clementi E, Moncada S, Carruba MO (2004) Mitochondrial biogenesis as a cellular signaling framework. *Biochemical Pharmacology* 67:1-15.
- Pierre M, Claes BW (2001) Mitochondrial function in normal and diabetic β cells. *Nature* 414:807-812.
- Pilegaard H, Saltin B, Neufer PD (2003) Exercise induces transient transcriptional activator of the PGC-1 α gene in human skeletal muscle. *J Physiol* 546:851-858.
- Selak MA, Storey BT, Peterside IE, Simmons RA (2003) Impaired oxidative phosphorylation in skeletal muscle contributes to insulin resistance and hyperglycemia. *Am J Physiol* 285:E130-137.
- Simmons RA (2006) Developmental origins of diabetes: The role of oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine* 40:917-922.
- Wright DC, Han DH, Garcia-Roves PM, Geiger PC, Jones TE, Holloszy JO (2007) Exercise-induced mitochondrial biogenesis begins before the increase in muscle PGC-1 α expression. *J Biol Chem* 282(1):194-199.

(received 7 March 2010, received in revised form 26 April 2010, accepted 27 April 2010)