

## Change of Mitochondrial Biogenesis Genes on Regular Exercise Training in Adipocytes of Ovariectomized Rats Fed on High Fat Diet

Jin Lee\*

Department of Anatomy and Cell Biology, Collage of Medicine, Han-Yang University, Seoul 133-791, Korea

Received April 6, 2011 / Revised May 17, 2011 / Accepted May 18, 2011

Menopause and obesity are associated with metabolism. The purpose of this study was to examine the changes of PPAR  $\gamma$ , PGC-1( $\alpha$ ,  $\beta$ ), NRF-1 and TFAM mRNA and mitochondria biogenesis in adipocytes and investigate the effect of swimming exercise for 6weeks on ovariectomized rats. Rats were randomly assigned to 3 groups: (1) ovariectomized rats fed with a control diet (C, n=4), (2) ovariectomized rats fed with high fat diet (H, n=4), and (3) ovariectomized rats trained to exercise and fed with high fat diet (H+EX, n=4). Exercise was performed by swimming for 5 days/wk, with a progressive increase in exercise over the course of 6 weeks. Results showed that the fat tissue weight in the H group was markedly increased ( $p<0.01$ ) compared to other groups, however, regular exercise significantly decreased fat weight. The PPAR- $\gamma$  ( $p<0.05$ ), PGC-1 $\alpha$  ( $p<0.01$ ), - $\beta$  ( $p<0.05$ ), NRF-1 ( $p<0.01$ ) and TFAM ( $p<0.05$ ) mRNA expression in the adipocytes of H+EX were higher than in the H group. These results suggest that regular exercise for 6 weeks might exert positive effects by increasing PPAR- $\gamma$ , PGC-1 ( $\alpha$ ,  $\beta$ ), NRF-1 and TFAM mRNA expression and mitochondria in adipocytes. Thus, regular exercise may be helpful in the improvement of mitochondria biogenesis function in obese, ovariectomized rats.

**Key words** : Ovariectomized rats, obesity, exercise, PPAR- $\gamma$ , PGC-1( $\alpha$ ,  $\beta$ ), mtTFA, NRF-1, mitochondria

## 서 론

비만은 지방세포의 수와 크기를 증가시키며[17], 환경적, 유전적, 정신적인 원인에 의해 발병된다. 특히 폐경기 여성들은 폐경전 보다 적은 신체활동[26]과 난소 기능결핍에 따른 에스트로겐 분비능력의 결핍 등으로 인해 인체의 생리적 변화로 쉽게 비만해진다[21]. 이들 비만은 단순히 외형적 모습만 변화하는 것이 아니라 여러 대사증후(고혈압, 인슐린 저항성, 제2형 당뇨병)의 발병과 함께 사망률을 높이는 원인이므로 그 심각성이 매우 크다[4,16,31]. 그러므로 폐경 후 체중조절은 비만을 개선하고 이에 따른 질병을 예방할 수 있기에 많은 여성들의 관심이 주목되고 있다.

일반적으로 지방조직은 잉여 칼로리(excess calories)의 저장고로서 중성지방의 형태로 에너지를 저장하고 있다가 영양이 부족할 때 유리지방산(free fatty acids, FFA)으로 분해되어 연료로 사용된다. 그러나 지방저장고의 에너지사용이 적어지면 체중이 늘어나 비만해 지고 지방 세포 내 미토콘드리아는 생합성 능력과 분해의 불균형으로 기능장애가 나타난다[12]. 즉 미토콘드리아의 생합성과 수 감소로 나타나는 기능장애는 에너지소비와 ATP합성을 떨어뜨리고, ROS의 활동을 증가시켜[5] 산화적 손상을 일으키는 원인이 된다. 뿐만 아니라 글루

코스과 유리지방산의 대사를 방해하여[12] 인슐린저항성과 같은 병적 상태를 유발하는 것으로 알려져 있다[14,24,30].

그러므로 비만에 있어서 미토콘드리아의 기능이 중요하며, 그 기능을 유지하기 위해서는 미토콘드리아의 생합성 및 수가 증가되어야 한다. 이러한 미토콘드리아의 생합성을 조절하는 몇몇 유전자들은 peroxisome proliferators-activated receptor (PPAR)- $\gamma$ , PPAR coactivator-1 (PGC-1), nuclear respiratory factor-1 (NRF-1), mitochondrial transcription factor A (TFAM) 등이 있다[2,10,20,22,29].

이중 PPAR- $\gamma$ 는 핵에 있는 수용체로서 지방산수송단백질과 long chain acyl-CoA synthase 발현을 유도하여 미토콘드리아 내 지방산 흡수를 높여주고 PGC-1과 함께 발현을 한다[10]. PGC-1은 미토콘드리아 DNA (mtDNA)에 의해 생합성과 호흡관련유전자(NRF-1, TFAM)들의 전사활동을 조절하여 지방산대사의 전사인자들을 조절한다[22,29].

NRF-1은 전자전달계, 글루코스 운반, 철 생합성 단백질 발현을 도와 mtDNA 전사와 복제를 담당하며[2], TFAM은 mtDNA를 유지하는 인자로서[20] 미토콘드리아의 복제를 활성 시킨다[8]. 따라서 이들 인자들의 발현증가를 위한 수단이 요구되며 그 중 운동과 같은 신체활동은 미토콘드리아 생합성에 크게 기인하는 것으로 보고되어 있다[2]. 운동은 체중과 체성분을 조절하고, 혈압조절과 더불어 콜레스테롤을 감소시킬 뿐만 아니라 제2형 당뇨병 과 심혈관질환을 개선시키고 비만을 예방하는 효과를 가지고 있다[16]. 또한 규칙적인 운동이

## \*Corresponding author

Tel : +82-2-2290-8198, Fax : +82-02-2281-7841  
E-mail : lj1129@hanyang.ac.kr

PGC-1, TFAM의 발현단계를 높여 미토콘드리아 생합성증가를 도와준다고 알려져 있다[18].

그러나 폐경기 비만에 따른 피하지방에서 미토콘드리아의 생합성 조절에 대한 연구는 아직까지 명확하게 규명되어 있지 않고 있다.

이에 본 연구는 폐경모델로 난소절제술과 고지방식으로 비만을 유도하였으며, 이들 피하지방에서 분리된 지방세포에서 발현되는 PPAR- $\gamma$ , PGC-1( $\alpha$ ,  $\beta$ ), TFAM, NRF-1의 유전자들이 어떻게 변화되는지 관찰하고자 하며, 규칙적으로 수행한 운동이 미토콘드리아 생합성 관련 유전자들에 어떠한 영향을 미치는지 규명하는데 그 목적을 두고 알아보하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 실험동물 및 식이 방법

실험동물은 8주령 Sprague-Dawley (SD)계 암컷 흰쥐(rat)를 사용하였다. 모든 실험동물은 H대학 동물실험윤리위원회로부터 승인(HY-IACUC -10-026)을 받은 후 SPF된 실험동물실에서 사육되었다. 1주간의 적응기를 거친 후 난소절제 수술을 하였고, 2주간의 회복기를 거친 후 본 실험을 시작하였다. 실험 집단은 총 3집단으로 나누어 분류하였으며, 한 집단에 4마리씩 각각 다음과 같이 group을 배정하였다. (1) General diet group (C group), (2) High fat diet (H group) (3) High fat diet + Exercise group (H+EX group)으로 7주 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취하였고, 고지방식이 아래 Table 1과 같다.

#### 운동방법

운동방법은 Melton 등[23]의 수영훈련방법을 인용하였으며, 운동군들은 수심 70 cm, 수온 31-33°C의 실험동물용 수조에서 첫 1주 동안 5-40분까지 시간을 점진적으로 증가시켜 수영훈련 적응기를 거쳤다. 본 운동은 동시간대(am 10:00) 규칙적으로 실시하였으며, 주당 5일 총 6주간 실시하였고, 4주까지는 60분씩, 5~6주는 유산소성 트레이닝 효과를 확실하게 수행하기 위하여 75분씩 실시하였다. 이러한 수영방법은 무부하상태에서 자유롭게 수영하도록 하였고, 이들 수영운동의 강도는

중등도(최대산소섭취량 60% 해당)에 해당되는 것으로 알려져 있으며[3], 운동직후 실험동물의 체온감소를 예방하기 위해 마른수건과 헤어드라이기를 즉시 이용하여 물기를 제거한 후 사육실로 옮겨졌다.

#### 조직채취

수영운동은 희생 24시간 전부터 중단하였고, 식이는 12시간 전부터 절식하였으며, 물만 공급하였다. 실험종료일에는 혼합마취액(Rumpun:Zoletil=1:1 비율로 혼합)으로 마취한 후 하복부의 피부를 박리한 후 서혜부(lingual region)에 있는 모든 지방을 적출하여 미세저울(microsclae: OHAUS Corp, AR2140, USA)로 무게를 측정된 후 염색용과 지방세포분리용으로 구분하여 나누었다.

#### 지방세포분리 방법

서혜부지방조직에서 지방세포를 분리하기 위해 Gómez-Ruiz 등[13]의 방법을 인용하였다. 채취한 지방조직은 2분간 가위로 잘게 자른 후 준비된 3% bovine serum albumin을 함유한 Krebs-Ringer bicarbonate (KRBA) buffer (Sigma-Aldrich, USA) 1 ml와 collagenase type II (1.25 g/ml, Sigma-Aldrich, USA)를 함께 혼합한 용액 속에 작게 분쇄된 조직을 넣고 37°C water bath에 넣고 60분간 수시로 흔들어 주면서 분해시켰다. 이후 100  $\mu$ m 나일론 여과지(mesh filter, BD bioscience, USA)를 이용하여 불순물들을 제거하였고, 200x g에서 1분간 원심분리하여 지방세포 등을 모은 후 KRBA buffer 15 ml 로 3회 세척한 후 다시 원심분리하여 상층액은 제거하였으며, 하부에 모아진 지방세포들은 -70°C 냉동고에서 사용할 때까지 보관하였다.

#### RT-PCR

분리된 지방세포에 TRIzol 시약(Invitrogen, Carlsbad, USA)을 넣고 균질화하였다. 튜브 1 ml 당 200  $\mu$ l의 chloroform을 첨가한 후 힘차게 흔들어 준 다음 실온에서 5분간 반응시킨 후 4°C 에서 10분간 원심분리(12500x g)하고, RNA를 분리하였다. 각 군별 total RNA를 정량하기 위해 Smartspec<sup>TM</sup> Plus spectrophotometer (Bio RAD, USA)를 이용하여 측정하였다. RNA 역전사(reverse transcription)를 반응시키기 위해 total RNA 5  $\mu$ g을 DEPC, 10mM dNTP, Oligo (dT)를 첨가하여 PCR 기계(T 3000 Thermocycler, Biometra; Germany)로 반응시켜 cDNA를 얻어내었다. 지방세포에서 발현되는 유전자들의 염기서열과 반응조건은 Table 2와 같이 수행하였고, PCR 반응산물은 2% agarose gel에서 100 V로 전기 영동하여 UV transilluminator로 사진을 찍은 후 mRNA의 발현 정도를 Gel doc 2000 (Bio red; ITALY)을 이용하여 농도를 측정하였다.

Table 1. The composition of experimental diets (g/kg)

Ingredient	General Diet	High fat diet (45% cal)
Casein	200	200
Corn starch	397	155
Lard	0	175
Fat (20%)	7	24
AIN-93 Mineral Mixture	35	35
AIN-93 Vitamin Mixture	10	10
Cellulose	50	50

Table 2. Sequences of primers used for RT-PCR

Gene	UP (u) and Down (d) primer sequences	Product size (bp)	Annealing (°C)/cycle
PPAR- $\gamma$	u5'-GGTGTGATCTTAACTGTCGG-3' u5'-TTCAGCTGGTTCGATATCACT-3'	177	54/32
PGC-1 $\alpha$	u5'-ACCCACAGGATCAGAACAAACC-3' d5'-GACAAATGCTCTTTGCTTTATTGC-3'	70	62/35
PGC-1 $\beta$	u5'-AACAGTTATGTGCTGACTTGCCAGA-3' d5'-CTTGGTAAGCGCAGCCAAGAG-3'	197	57/35
TFAM	u5'-AATTATCCAAAGAAACCTATGAGT-3' d5'-CAAAATTAATTCTCTCCTCTTGAT-3'	312	53/35
Nrf-1	u5'-AGGAGGTTAATTCAGAACTGC-3' d5'-AGGTCTGTACTACTGTCTGTGATG-3'	393	52/35
$\beta$ -actin	u5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3' d5'-TTTAATGTCACGCACGATTTTC-3'	150	52.5/35

## 면역조직화학염색

염색용 지방조직은 4% paraformaldehyde, 0.1% glutaraldehyde와 0.1M phosphate buffer saline (PBS) 으로 혼합된 고정액으로 실온에서 12시간 고정하였으며, 이후 30% sucrose에서 7일간 냉장 보관하였다. 냉동절편기(Leica, Germany)를 이용하여 -20°C에서 지방조직을 20  $\mu$ m 두께로 절편을 제작한 후 0.1M PBS로 세척하고 10% normal donkey serum (NDS)으로 40분간 실온에서 반응시켰다. 이후 1차 항체인 Mitochondria Marker (Abcam, CB, UK)를 1:300으로 희석하여 4°C에서 12시간 반응시켰다. 이어서 0.1M PBS로 3회 5분간 세척한 후 2% NDS로 15분간 실온에서 처리한 후 Cy3-conjugated affinipure donkey anti-IgG (1:200, Invitrogen, USA)를 사용하여 3시간 반응시킨 다음 0.1 M PBS로 3회 5분간 다시 세척한 후 microscope slides (Fisher Scientific)에 mounting medium (Vectashield, Vector Lab, USA)과 커버슬라이드로 봉입하고 형광현미경(Leica TCS, Wetzlaar, Germany)으로 관찰하였다.

## 자료처리방법

이 연구에서 얻어진 모든 결과는 SPSS/PC 11.0 통계 프로그램을 이용하여, 각 변인에 대한 기술통계치(mean $\pm$ SD)를 산출하고 집단 간 변인의 차이를 확인하기 위해 일원변량분석을 실시하였으며 집단 간 유의한 차이가 있을 경우 LSD (least significant difference)를 이용하여 사후검증을 실시하였다. 유의 기준은  $\alpha=0.05$  수준으로 설정하였다.

## 결 과

## 피하지방무게

피하지방의 무게는 C군(2.66 $\pm$ 0.5 g)과 비교하여 H군(6.45 $\pm$ 0.64 g)에서 지방무게가 증가하였으며, 유의한 차이( $p<0.01$ )가 있는 것으로 나타났다. 그러나 H+EX군(2.58 $\pm$ 0.85 g)에서는 H군(6.45 $\pm$ 0.64 g)에 비해 유의하게( $p<0.01$ ) 감소된 지방의 무게로 나타났다(Table 3).

PPAR- $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ , PGC-1 $\beta$  mRNA

PPAR- $\gamma$ , PGC-1( $\alpha$ ,  $\beta$ ) mRNA는 H군이 다른 군에 비해 거의 발현되지 않았으며, H+EX군에서는 H군과 C군에 비해 증가된 것으로 유의한 차이( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ )가 있는 것으로 나타났다(Fig. 1).

## Nrf-1, TFAM mRNA

NRF-1 mRNA는 H군이 다른 군에 비해 가장 낮게 발현되었으며 유의한 차이( $p<0.05$ )가 있는 것으로 나타났으며, H군의 TFAM mRNA 발현 역시 거의 나타나지 않았다. 반면 H+EX군에서의 NRF-1, TFAM mRNA는 H군과 C군에 비해 증가하였고 유의한 차이( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ )가 있는 것으로 나타났다(Fig. 2).

## 조직학적 소견

지방조직 내 산재하고 있는 미토콘드리아를 관찰한 결과,

Table 3. The weight of fat mass (g)

group	C	H	H+EX
Fat mass	2.66 $\pm$ 0.5	6.45 $\pm$ 0.64**	2.58 $\pm$ 0.85++

( $p<0.05$ ), \*\*( $p<0.01$ ): H group vs C group, ++( $p<0.01$ ): H vs H+EX.

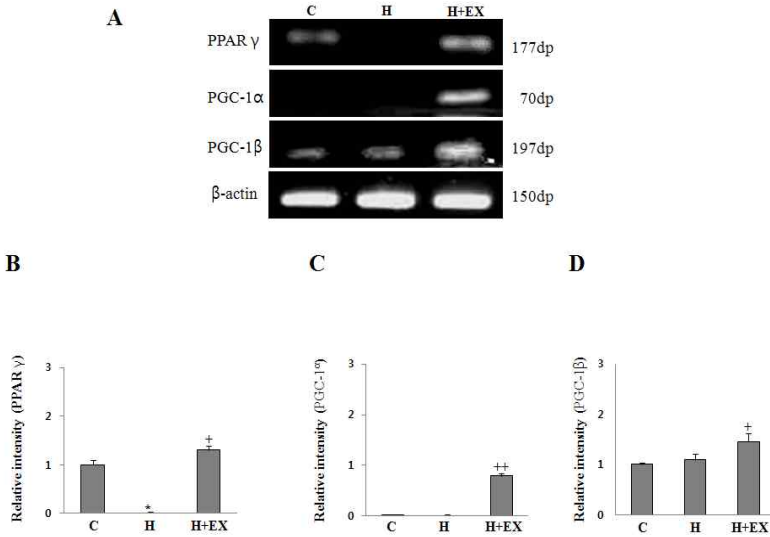


Fig. 1. The expression of PPAR- $\gamma$ , PGC- $\alpha$  and PGC- $\beta$  mRNA in adipocytes. PPAR- $\gamma$ , PGC- $\alpha$  and PGC- $\beta$  mRNA were significantly increased in H+EX group. \* ( $p < 0.05$ ): H group vs C group, + ( $p < 0.05$ ), ++ ( $p < 0.01$ ): H vs H+EX. C: ovariectomized rats fed with a control diet, H: ovariectomized rats fed with high fat diet, H+EX: ovariectomized rats trained to exercise and fed with high fat diet.

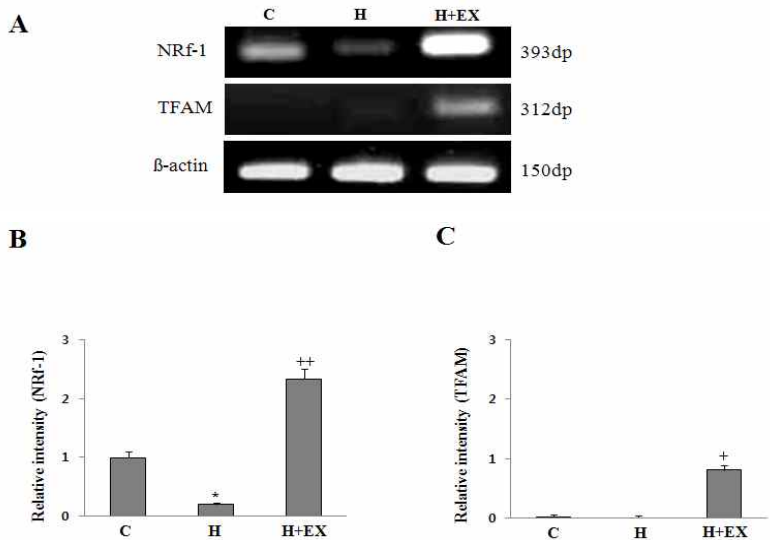


Fig 2. The expression of NRF-1 and TFAM mRNA in adipocytes. NRF-1 and TFAM mRNA were significantly increased in H+EX group. \* ( $p < 0.05$ ): H group vs C group, + ( $p < 0.05$ ), ++ ( $p < 0.01$ ): H vs H+EX. C: ovariectomized rats fed with a control diet, H: ovariectomized rats fed with high fat diet, H+EX: ovariectomized rats trained to exercise and fed with high fat diet.

H군에서는 다른 두 군에 비하여 음성반응이 나타났다. 그러나 H+EX군의 미토콘드리아는 다른 두 군보다도 유의하게 더 높은 양성반응으로 관찰되었다(Fig. 3).

### 고찰

폐경 후 나타나는 만성질환은 비만과 관련되어 있으며[16] 비만은 미토콘드리아 수를 감소시켜 인슐린저항성의 발병률을 높이는 것으로 보고되어 있다[5,12,24,30]. 그러나 운동이 비만치료에 있어서 그 효과가 있음에도 불구하고 폐경관련 비만에서 미토콘드리아 생합성에 관련된 인자들의 발현차이를 규명한 연구는 여전히 부족하다. 따라서 본 연구는 난소절제 폐경 모델흰쥐를 대상으로 고지방식으로 비만을 유도함

과 동시에 규칙적인 운동을 통해 미토콘드리아 생합성과 관련된 유전자 PPAR- $\gamma$ , PGC-1( $\alpha$ ,  $\beta$ ), TFAM, 그리고 NRF-1의 발현양상을 알아보고자 하였다. 본 연구에서는 난소절제 후 고지방식으로 증가된 체중과 피하 지방량을 알아보기 위해 무게를 측정하였고, 그 결과 H군이 다른 두 군에 비해 증가된 지방의 무게를 보여주었다. 이러한 결과는 고지방 식이로 지방의 증가로 체중이 늘어난 것으로 사료되며, 폐경에 따른 에스트로젠 호르몬 감소로 혈중 콜레스테롤의 수치를 높여 중성지방의 축적을 증가시킨 것으로 볼 수 있다[15]. 반면 운동은 폐경기 여성에게 체중 조절에 효과[19]가 있는 것처럼 본 연구에서도 고지방식이와 운동을 함께 수행한 H+EX군의 피하지방무게는 H군에 비하여 유의하게 감소하였다. 이는 지속적으로 고지방식이를 섭취하였음에도 불구하고 규칙적인 운동에

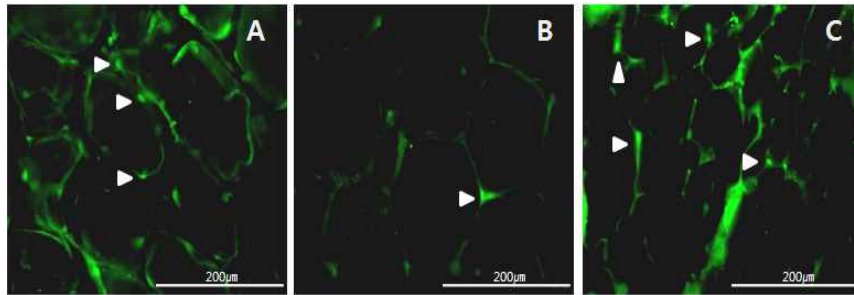


Fig. 3. Photomicrographs of mitochondria allocation in fat tissue. Mitochondria (see arrows) are observed in fat tissue and more increased in H+EX group (C) than H group (B). Magnification x200. Bar size: 200  $\mu$ m. A: C group (ovariectomized rats fed with a control diet), B: H group (ovariectomized rats fed with high fat diet), C: H+EX group (ovariectomized rats trained to exercise and fed with high fat diet).

따른 신체활동의 증가가 대사를 촉진시켜 지방산의 산화활동을 높였기 때문에 지방분해[25]를 가속화시켜 결국 지방덩어리가 줄어들어 체중이 감소된 것으로 판단된다.

최근 지방조직에서 미토콘드리아의 활성화는 지방분해(lipolysis)와 지질합성(lipogenesis)을 포함하여 지질대사에 도움을 준다고 알려지면서[6] 이들 활성화 이전에 관심이 모아지고 있다. 미토콘드리아는 성장과 증식을 하기 위해 자신의 DNA를 쪼개며 그 수를 증가시키기 위해 PPAR- $\gamma$ , PGC-1, NRF-1, TFAM의 유전자들을 활성화시킨다. 즉 지방조직에서 발현하는 PPAR- $\gamma$ 는 지질단백분해효소와 같은 adipocytic 유전자들의 발현을 상향조절하여 지방합성을 유도한다[2,20]. 또한 PPAR- $\gamma$ 의 발현이 증가하면 TNF 생성을 억제시켜 염증을 저하시키고, adiponectin의 생산 활동이 증가되어 인슐린민감성을 높여 지방세포속에 있는 미토콘드리아 수를 증가시킨다[9].

PGC-1은  $\alpha$ 와  $\beta$ 로 구분하며 지방산산화와 관련된 유전자들을 증가시킨다고 알려져 있다. 즉 estrogen receptor related receptor인 핵수용체와 결합하여 포도당산화를 막을 뿐만 아니라[11] 미토콘드리아생합성 관련 유전자들의 활동을 높여 지방의 이용률과 지방산화를 증가시킨다[28]. 게다가 PGC-1은 NRF-1과 TFAM의 upstream에 놓여 있기 때문에 미토콘드리아생합성인자들과 결합하여 산화인산화 관련유전자들의 전사활동을 도와 미토콘드리아를 증식, 호흡, 열조절(thermogenesis), 그리고 DNA의 전사를 활성화시켜 미토콘드리아의 수를 증가시킬 수 있으며[29] NRF-1의 활성을 유도한다. NRF-1은 TFAM의 합성을 자극하는 전사인자들을 중재하며, 최종적으로 TFAM을 합성시켜 mtDNA 분자들의 복제활동을 높여 그 수를 증가하도록 도와준다. 그러므로 이들 유전자들은 미토콘드리아를 복제하여 그 수를 증가시키는데 중요한 역할을 담당하는 인자들이기에[33] 이들 유전자들의 발현 증가가 비만개선에 필요하다고 본다. 그러므로 본 연구는 고지방식이로 유도된 비만집단인 H군에서 PPAR- $\gamma$ , PGC-1( $\alpha$ ,  $\beta$ ), TFAM, NRF-1 발현을 조사하였고, 그 결과 다른 두 군에

비해 모두 억제된 것으로 나타났다. 그러나 운동을 수행한 H+EX군의 PPAR- $\gamma$ , PGC-1( $\alpha$ ,  $\beta$ ), TFAM, 그리고 NRF-1의 발현은 H군 보다 더욱 증가된 것으로 나타났으며, 조직 내 산재하고 있는 미토콘드리아의 수 역시 유의하게 증가한 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 고지방식이에 따른 지방산의 증가로 미토콘드리아의 수와 산화인산화(oxidative phosphorylation)를 모두 감소[7]시켜 미토콘드리아의 생합성 관련 유전자들의 발현이 억제되어 그 수가 감소된다는 보고[33]와 함께 폐경비만의 지방세포에서도 일치된 결과라 사료된다.

Fasshauer와 Paschke [9]에 의하면 PPAR- $\gamma$ 의 결핍은 확실히 비만과 인슐린저항성이 나타난다고 하였으며, Civitarese 등[7]은 비만이 지질과 탄수화물대사를 결합시키고, 이어서 미토콘드리아의 생합성을 억제한다고 보고하였다. 그러므로 폐경기 비만에 따른 지방세포에서는 미토콘드리아 생합성 관련 유전자가 억제되는 것으로 판단된다.

반면 운동이 미토콘드리아의 생합성 관련 유전자들의 발현을 증가시킨 이유는 운동으로 근육 세포내  $Ca^{++}$  농도를 증가시키고 연속된 신호전달이 AMP kinase (AMPK)의 활성화로 이어져 PGC-1의 발현을 유도시킬 수 있다. 또한 규칙적인 운동은 지속적인  $Ca^{++}$  증가로 calmodulin dependent kinase (CaMK) 활동을 높여 순차적으로 PGC-1 $\alpha$ , 1 $\beta$ , TFAM, NRF-1의 발현을 유도하여 미토콘드리아의 생합성을 증가시킨다[18]. 뿐만 아니라 운동은 산소흡수량을 높여 산소이용률을 증가시키고 이어서 ROS생성을 높인다. 이때 ROS는  $H_2O_2$ 를 증가시키며, 증가된  $H_2O_2$ 는 PGC-1 $\alpha$ 를 상승시켜 미토콘드리아 생합성을 유도하는 것으로 알려져 있다[34].

Suarez 등[32]와 Vina 등[33]은 운동으로 생성된 ATP 증가가 산화인산화의 능력을 더욱 가속화시켰기 때문에 미토콘드리아의 기능과 복제 수를 증가시킨다고 보고하였다. 그러므로 본 연구는 운동을 통해 피하지방세포 내 미토콘드리아생합성 유전자들의 발현을 증가시켰고, 이들의 증가는 미토콘드리아 수 증가에도 영향을 미칠 것으로 사료된다. 따라서 규칙적인 운동은 폐경기 비만에 있어서 그 피하지방의 감소를 비롯하여

지방세포 내 미토콘드리아 생합성 유전자들의 활동에 긍정적으로 작용될 가능성이 높다고 판단된다.

## References

- Baar, K., A. R. Wendt, T. E. Jones, M. Marison, L. A. Nolte, M. Chen, D. P. Kelly, and J. O. Holloszy. 2002. Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *FASEB* **16**, 1879-1886.
- Baar, K. 2004. Involvement of PPAR $\gamma$  co-activator -1, nuclear respiratory factors 1 and 2, and PPAR $\alpha$  in the adaptive response to endurance exercise. *Proc. Nutr. Soc.* **63**, 269-273.
- Baker, M. A. and S. M. Horvath. 1946. Influence of water temperature on oxygen uptake by swimming rats. *J. Appl. Physiol.* **19**, 1215-1218.
- Bray, G. A. 2004. Medical consequences of obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 2583-2589.
- Bournat, J. C. and C. W. Brown. 2010. Mitochondrial dysfunction in obesity. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* **17**, 446-452.
- Choo, H. J., J. H. Kim, C. S. Kwon, J. Y. Lee, S. S. Han, G. Yoon, K. M. Choi, and Y. G. Ko. 2006. Mitochondria are impaired in the adipocytes of type 2 diabetic mice. *Diabetologia* **49**, 784-791.
- Civitarese, A. E., S. R. Smith, and E. Ravussin. 2007. Diet, energy metabolism and mitochondrial biogenesis. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **10**, 679-687.
- Endo, N., C. Emilio, M. Salvador, and O. C. Michele. 2004. Mitochondrial biogenesis as a cellular signaling framework. *Biochem. Pharmacol.* **67**, 1-15.
- Fasshauer, M. and R. Paschke. 2000. Regulation of adipocytokines and insulin resistance. *Diabetologia* **46**, 1594-1603.
- Ferre, P. 2004. The biology of peroxisome proliferator activated receptors: relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity. *Diabetes* **53**, S43-50.
- Finck, B. N. and D. P. Kelly. 2007. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1) regulatory cascade in cardiac physiology and disease. *Circulation* **115**, 2540-2548.
- Gao, C. L., C. Zhu, Y. P. Zhao, X. H. Chen, C. B. Ji, C. M. Zhang, J. G. Zhu, Z. K. Xia, M. L. Tong, and X. R. Guo. 2010. Mitochondria dysfunction is induced by high levels of glucose and free fatty acids in 3T3-L1 adipocytes. *Mol. Cell Endocrinol.* **320**, 25-33.
- Gómez-Ruiz, A., F. I. Milagro, J. Campión, J. A. Martínez, and C. de Miguel. 2010. Caveolin expression and activation in retroperitoneal and subcutaneous adipocytes: influence of a high-fat diet. *J. Cell Physiol.* **225**, 206-213.
- Guikherme, A., J. V. Virbasius, V. Puri, and M. P. Czech. 2008. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **9**, 367-377.
- Haddock, B. L., H. P. Hopp, J. J. Mason, and G. Blix. 2000. The effect of hormone replacement therapy and exercise on cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *Sports Medicine* **29**, 39-49.
- Hagey, A. R. and M. P. Warren. 2008. Role of exercise and nutrition in menopause. *Clin. Obstet. Gynecol.* **51**, 627-641.
- Hargrave, K. M., B. J. Meyer, C. Li, M. J. Azain, C. A. Baile, and J. L. Miner. 2004. Influence of dietary conjugated linoleic acid and fat source on body fat and apoptosis in mice. *Obes. Res.* **12**, 1435-1444.
- Irrcher, I., P. J. Adhietty, T. Sheehan, A. M. Joesph, and D. A. Hood. 2003. PPARgamma coactivator-1alpha expression during thyroid hormone and contractile activity-induced mitochondrial adaptations. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **284**, C1669-C1677.
- Johannsen, D. L., L. M. Redman, and E. Ravussin. 2007. The role of physical activity in maintaining a reduced weight. *Curr. Atheroscler. Rep.* **9**, 463-471.
- Kang, D., S. H. Kim, and N. Hamasaki. 2007. Mitochondrial transcription factor A (TFAM): role in maintenance of mtDNA and cellular functions. *Mitochondrion* **7**, 39-44.
- Kissebah, A. H. and G. R. Krakower. 1994. Regional adiposity and morbidity. *Physiol. Rev.* **74**, 761-811.
- Liu, C., S. Li, T. Liu, J. Borjigin, and J. D. Lin. 2007. Transcriptional coactivator PGC-1 $\alpha$  interates the mammalian clock and energy metabolism. *Nature* **447**, 477-481.
- Melton, S. A., M. Hegsted, M. J. Keenan, Y. Zhang, S. Morris, B. L. Potter, C. E. O'Neil, and G. S. Morris. 2000. Swimming eliminates the weight gain and abdominal fat associated with ovariectomy in the retired breeder rat despite high-fat diet selection. *Appetite* **35**, 1-7.
- Mogensen, M., K. Sahlin, M. Fernström, D. Glintborg, B. F. Vind, H. Beck-Nielsen, and K. Højlund. 2007. Mitochondrial respiration is decreased in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes. *Diabetes* **56**, 1592-1599.
- Park, H., V. K. Kaushik, S. Constant, M. Prentki, E. Przybytkowski, N. B. Ruderman, and A. K. Saha. 2002. Coordinate regulation of malonyl-CoA decarboxylase, sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase and acetyl-CoA carboxylase by AMP-activated protein kinase in rat tissues in response to exercise. *J. Biol. Chem.* **277**, 32571-32577.
- Pasquali, R., F. Casimirri, A. M. Labate, O. Tortelli, G. Pascal, B. Anconetani, M. R. Gatto, R. Flaminia, M. Capelli, and L. Barbara. 1994. Body weight, fat distribution and the menopausal status in women. The VMH Collaborative Group. *Int. Obes. Relat. Metab. Disord.* **18**, 614-621.
- Richard, D. 1986. Effects of ovarian hormones on energy balance and brown adipose tissue thermogenesis. *Am. J. Physiol. Regul. Integrative Comp. Physiol.* **250**, R245-249.
- Rodgers, J. T., C. Lerin, W. Haas, S. P. Gygi, B. M. Spiegelman, and P. Puigserver. 2005. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1. *Nature* **434**, 1123-118.
- Puigserver, P. and B. M. Spiegelman. 2003. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator and metabolic

- regulator. *Endocr. Rev.* **24**, 78-90.
30. Semple, R. K., V. C. Crowley, C. P. Sewter, M. Laudes, C. Christodoulides, R. V. Considine, A. Vidal-Puig, and S. O'Rahilly. 2004. Expression of the thermogenic nuclear hormone receptor coactivator PGC-1 $\alpha$  is reduced in the adipose tissue of morbidly obese subjects. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* **28**, 176-179.
31. Stemppeer, M. 2006. Supplements aren't the secret to health. *Newsweek* **147**, 87-88.
32. Suarez, J., Y. Hu, A. Makino, E. Fricovsky, H. Wang, and W. H. Dillmann. 2008. Alterations in mitochondrial function and cytosolic calcium induced by hyperglycemia are restored by mitochondrial transcription factor A in cardiomyocytes. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* **295**, C1561-1568.
33. Vina, J., M. C. Gomez-Cabrera, C. Borras, T. Froio, F. Sanchis-Gomar, V. E. Martinez-Bello, and F. V. Pallardo. 2009. Mitochondrial biogenesis in exercise and in ageing. *Adv. Drug. Delivery Rev.* **61**, 1369-1374.
34. Yan, Z., M. Okutsu., Y. N. Akhtar, and V. A. Lira. 2011. Regulation of exercise-induced fiber type transformation, mitochondrial biogenesis, and angiogenesis in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* **220**, 264-274.

---

초록 : 규칙적 운동이 고지방식이 난소절제흰쥐의 지방세포에서 미토콘드리아 생합성 유전자들의 변화

이진\*

(한양대학교 해부세포생물학교실)

폐경과 비만은 여러 대사증후군과 관련되어 있다. 이에 본 연구는 난소절제로 폐경을 유도한 흰쥐에게 고지방 식이로 비만을 유도하여 이들 지방세포에서 발견되는 PPAR $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ , -1 $\beta$ , NRF-1, TFAM 유전자들의 변화를 조사하고 6주간의 규칙적인 운동을 하여 그 차이에 따른 효과를 규명하는데 목적을 두고 조사하였다. 본 실험에서 사용한 암컷흰쥐는 3그룹으로 다음과 같이 구분하였다. (1) 일반식이군(C group, n=4), (2) 고지방식이 군(H group, n=4), (3) 고지방식사와 운동군(H+EX group, n=4)으로 나누었다. 규칙적인 운동은 수영운동을 하였으며, 방법은 주 5회, 총 6주간 점진적 시간증가로 수행하였다. 그 결과, 지방조직의 무게는 H 그룹에서 유의하게 높게 ( $p<0.01$ ) 나타났으나 규칙적인 운동그룹은 확실히 감소되었다. 또한 규칙적인 운동은 PPAR- $\gamma$  ( $p<0.05$ ), PGC-1 $\alpha$  ( $p<0.01$ ), -1 $\beta$  ( $p<0.05$ ), NRF-1 ( $p<0.01$ ), TFAM ( $p<0.05$ )의 유전자들은 모두 유의하게 증가시켰다. 이상의 결과를 종합하면 6주간의 규칙적인 수영운동은 지방세포 내 PPAR- $\gamma$ , PGC-1 $\alpha$ , -1 $\beta$ , NRF-1, TFAM의 mRNA 발현 증가와 미토콘드리아의 수 증가에 영향을 미친 것으로 추측된다. 따라서 규칙적인 운동은 폐경기 비만으로 비대해진 피하지방을 감소시키고 지방세포 내 미토콘드리아의 생합성기능을 개선시켜 미토콘드리아 수 감소를 개선할 수 있을 것으로 생각된다.