

Effects of Moderate Exercise Training on Splenocyte Inflammatory Cytokine Production in High Fat Diet Induced Obese Mice

Hyuk-ki Chang¹, Hee-geun Park², Jun-hyun Jeong² and Wang-lok Lee^{2*}

¹Department of Human Movement Science, Seoul Women's University, Seoul 139-240, Korea

²Department of Sports Science, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Received June 23, 2011 / Revised August 3, 2011 / Accepted August 4, 2011

The present research was conducted to investigate the effect of moderate exercise training on splenocyte inflammatory cytokines production in high fat diet-induced obese mice. To determine the effects of exercise training and low fat diet on splenocyte, C57BL/6 male mice (4 weeks aged, n=20) were fed a high fat diet (45% fat diet) for 5 weeks so that obesity was achieved intentionally. These obese mice were then divided into 2 groups; HLC (low fat diet and control n=10), and HLE (low fat diet and exercise n=10). HLE mice performed 8 weeks of exercise training on a motorized treadmill by running for 30-60 min/day at 10-22 m/min, 0% grade, five times per week. After exercise training, all the splenocyte was collected and Con A (concanavalin A, 10 μ g/ml) was used to stimulate the cells, after which IL-1 β , IL-6, TNF- α were measured by bio plex. Independent t-test was used and p value under 0.05 was considered a statistical significance. Splenocyte IL-1 β , IL-6, TNF- α production of HLE stimulated by Con A was significantly lower than that of HLC ($p < 0.01$). These findings suggest that moderate exercise has beneficial effects on splenocyte inflammatory cytokines in high fat diet induced obese mice.

Key words : Fat diet, obese, exercise training, splenocyte, inflammatory cytokines

서 론

비만은 운동부족이나 고지방식이 등의 이유로 에너지 불균형에 기인되어 발생되며[40], 만성적인 비만은 제2형당뇨, 심장질환, 지방간, 면역질환과 같은 유병률과 사망률을 증가시키며, 낮은 수준의 만성적 염증상태가 하나의 원인으로 보고되고 있다[14,32,42].

지방조직에서 발현되는 사이토카인(cytokine)은 영양상태와 T 세포의 기능에 영향을 미치는 것으로 여겨지고 있으며, 이러한 이유로 고지방식에 의한 지방축적은 대사과정과 내분비계의 직간접적으로 면역반응의 변화를 초래하며[35], Tanaka 등[38]은 비만성인에게서 정상집단보다 T 세포와 B 세포의 기능 손상을 보고하였다.

림프구(T 세포, B 세포), 대식세포, 수지상세포와 자연살해세포는 면역시스템에서 중요한 기능을 하는 면역세포이며, 여기에서 발현되는 사이토카인은 면역체계에서 면역기능 조절과 신호전달자로서의 역할을 하며[3,38], 비장은 혈액에서 유래되는 항원에 대한 주된 보호 면역 반응 부위로 T 림프구와 B 림프구의 성숙과 항원의 자극에 의한 림프구의 분화가 이루어지는 주요 림프기관으로 비장세포에서 발현되는 사이토카인 중 전염증성 사이토카인인 Interleukin-1 beta (IL-1 β), Interleukin-6

(IL-6), Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)가 과도하게 분비되면 항염증성 사이토카인들과의 불균형을 초래하여 숙주의 면역기능을 저하시키는 것으로 알려져 있다[4,36].

최근 중강도의 운동은 면역기능 향상에 도움이 되며[16], 마라톤과 같은 고강도의 운동은 혈장에서의 TNF- α , IL-1 β 발현을 증가시켜 면역기능을 저하시키는 것으로 보고된다[28,29].

Shinkai 등[34]은 장기간 중강도 운동 실시는 면역세포의 활동을 증가시키며, 마이토젠(mitogen) 자극 후 림프구의 증식과 비장세포수 증가, 사이토카인 발현 및 항원특이 면역반응에 유의한 향상을 보고한 반면, 고강도 일회성 운동이나 탈진운동 후 지질다당류로 자극 한 면역세포에서 IL-1, IL-6 발현 증가와 외부항원에 대한 감염성을 증가[27]시키며, 지구성 운동 후 혈장 IL-6나 IL-1ra 증가가 보고되었다. 이러한 상반된 결과는 서로 다른 운동강도와 운동기간 따른 결과로 설명되고 있으며[4], 운동과 면역체계에서도 중강도 운동 실시 후 마이토젠 자극으로 발현되는 염증성 사이토카인의 발현이 증가하는 것이 긍정적 반응인지 또는 감소하는 것이 면역기능에 도움이 되는지에 대한 일관된 결론을 보이지 못하고 있다. 특히, 고지방식으로 유도된 비만모델에서 중강도 운동이 체중 및 지방량 등 비만개선에 효과적인 것으로 알려져 있지만, 비장세포에서의 염증반응에 대한 연구는 미미한 실정이며, 고지방식이 비만 유도 후 저지방식과 함께 실시한 중강도 운동의 효과에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

*Corresponding author

Tel : +82-42-821-6458, Fax : +82-42-823-0387

E-mail : leewl@cnu.ac.kr

본 연구는 고지방식이로 유도된 비만쥐를 대상으로 저지방 식이와 중강도 운동이 체중과 비장세포의 염증성 사이토카인 발현에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

실험 동물

본 연구는 4 주령의 C57BL/6 종으로 수컷 쥐 총 20 마리를 (주)중앙실험동물에서 분양 받아 1 주간의 실험실 적응기를 거친 후, 비만을 유도하기 위해 5 주간 고지방식이를 자유 섭취토록 하였다. 비만 유도 후 통제군(HLC, High fat diet for 5 weeks and low fat diet 8 weeks as the control) 10 마리와 운동군(HLE, High fat diet for 5 weeks and low fat diet 8 weeks with exercise) 10 마리로 무작위 배치한 후 8 주간의 운동 처치를 실시하였다. 실험용 쥐의 사육실 평균온도는 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$, 습도는 $60\pm 5\%$ 를 유지하며 주/야 사이클은 12시간 주기가 자동으로 조절되는 실험동물센터에서 사육하였다. 사료와 물은 충분히 공급하고, 실험동물 취급법에 따라 실험하였으며, 충남대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 실시하였다(승인번호 2009-3-29).

비만유도 및 식이 처치

비만 유도는 선행연구[36]에 따라 고지방 식이 사료를 이용하여 하였다. 고지방식이사료(45% fat)는 (주)오리엔트바이오를 통하여 구입하였으며, 미세저울을 이용하여 각 그룹별로 정해진 사료량이 주어지도록 하였다. 섭취한 사료량은 매일 1회씩 같은 시간에 20 g을 주고 남은 사료의 무게를 달아 차감하는 방식으로 1일 섭취한 사료의 양을 기록하였으며, 체중은 매주 2 회씩 같은 운동시간 전에 측정하였다.

비만유도 후 8주간의 처치 기간 동안 저지방식이(10% fat)를 섭취하도록 하였다. 섭취한 사료의 양은 매일 기록하였다(Table 1).

운동방법

운동방법은 운동강도나 운동시간, 운동량의 조절이 용이한 트레드밀운동으로 선택하였다. 1 주간의 트레드밀 운동 적응기(8 m/min의 속도)를 가졌고, 모든 운동시 준비 운동은 8-10 m/min로 5~10 분간 실시하였고, 본 운동은 10-22 m/min 속도로, 운동시간은 30~60 분간으로 점증적 과부하의 원리를 적용하여 구성하였다. 이 속도는 본 실험동물 (C57BL/6)의 최대 산소섭취량 60-76% 정도로 중강도 운동에 해당한다[33]. 운동 빈도는 1 주일에 5 일간 연속적으로 수행하였다.

운동집단의 운동 실시 중 통제집단도 똑같은 환경적 스트레스와 트레드밀 소음 및 진동에 노출시키고, 사료와 물의 공급도 제한하였다. 본 실험은 운동시 스트레스를 최소화하기 위해 어떠한 외부적 자극이나 전기 충격을 주지 않고 진행 하였다. 운동은 동물 트레드밀 운동전 교육 및 연습

Table 1. Formulas of rodent feed

Product	High fat Diet		Low fat Diet	
	g%	kcal%	g%	kcal%
Protein	24	20	19.2	20
Carbohydrate	41	35	67.3	70
Fat	24	45	4.3	10
Total		100		100
kcal/gm	4.73		3.85	

을 통하여 충분한 능력을 갖춘자로, 매일 실험일지를 작성하고 실험동물의 상태를 점검하였다.

비장세포 분리 및 배양

실험동물을 희생시키고 비장을 무균적으로 적출하여 RPMI 1640 배양액으로 씻은 후 멸균 유리봉으로 가볍게 분쇄하여 세포를 유리시켰다. 분리된 세포 현탁액을 70 μm Nylon Cell Strainer (BD Falcon, USA)에 통과시킨 현탁액을 5분간 원심분리 (12,000 rpm)하여 상층액 제거 후, Red Blood Cell Lysing Buffer (Sigma, UK)를 이용하여 적혈구를 제거하고 적혈구가 제거된 세포는 3번의 세척 후 10%의 heat inactivated FBS (fetal bovine serum, GIBCO Laboratories Life Technologies, Inc., NY, USA)에 25 mM N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2 ethanesulphonic acid (HEPES) buffer를 포함하고, 항생제인 100 units ml⁻¹ penicillin, 0.1 mg/ml streptomycin, 1 mM L-glutamine and 0.1 M 2-mercaptoethanol (GIBCO Laboratories Life Technologies, Inc., NY, USA)을 함유한 RPMI 1640 배지를 사용하여 1×10^6 cells/ml 농도로 희석하였다.

세포액 1 ml을 24 well plate (NUNC, Denmark)에 분주하고 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO₂ 세포 배양기에서 2 시간 배양 후 항생제와 FBS가 함유된 배지를 교환하였다.

세포수의 확인은 Trypan blue dye를 이용하여 세포액 10 μl 에 세포 염색제인 Trypan blue 90 μl 를 혼합하여 10 배 희석하여 세포 수를 계산하였다.

사이토카인 측정

마이크로플레이트(Corning Laboratory Science Co., NY, USA)의 각 well에 1×10^6 의 세포가 들어가도록 분주한 후 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 Concanavalin A를 처치한 24시간 후 Bio Plex (Bio rad)를 이용하여 IL-1 β , IL-6, TNF- α 를 측정하였다. 측정 방법을 간략하게 소개하면, 1% BSA가 함유된 PBS 100 μl 로 각 well을 적신 후, standard, sample, reference와 blank 시약을 각 100 μl 씩 분주한 후 상온에서 30분간 shaking을 하며 배양하였다. 1% BSA와 0.05% Tween20이 함유된 PBS 150 μl 로 3번 세척한 후, 혼합된 Biotinylated Abs를 well당 50 μl 씩 분주하고, 30분간 shaking을 하며 상온에서 배양하였다. 3번 세척후 streptavidin-PE를 넣어준 후 10분간 배양하고, 3번 세

최후 1% BSA와 0.05% Tween 20이 함유된 PBS 120 μ l를 분주한 후 Bio-Plex array reader를 이용하여 측정하였다.

자료처리

모든 자료는 기술통계량을 산출하고, 평균과 표준편차로 제시하였으며, 결과자료의 통계처리는 SPSS 17.0을 이용하여 운동군과 통제군의 체중, 비장세포 사이토카인 생성량의 평균치 차이 유의성을 독립 t-검증법(independent t-test)로 검증하였으며, 유의수준은 $\alpha=0.05$ 로 설정하였다.

결과 및 고찰

최근 서구화된 식생활의 영향으로 고지방식이 섭취의 비율이 증가한 결과로 비만인구가 급증하고 있으며, 이러한 비만으로 인하여 고지혈증, 동맥경화, 제2형 당뇨 등이 급증하며, 세포면역기능 저하가 건강상의 문제로 야기되고 있는 실정이다. 본 연구에서는 고지방식으로 유도된 비만쥐를 대상으로 저지방식이와 함께 비만모델에서 면역기능을 증진시키는 가장 효과적인 방법으로 권장되는 중강도 운동[13]을 8주간 실시한 후 체중과 비장세포에서 면역기능에서 중요한 조절자 역할을 하며, 염증성 사이토카인으로 알려진 IL-1 β , IL-6, TNF- α 발현량을 Concanavalin (10 μ g/ml)로 24시간 자극한 후 분석하여 저지방 식이와 중강도 운동이 비만쥐의 비장세포에서 항염증효과를 살펴보고자 하였다.

체중

5주간의 고지방식으로 비만유도군과 대조군간 체중이 유의한 차이(>25%)를 나타냈으며, 8주간의 저지방식이와 함께 중강도운동을 실시한 HLE 그룹과 중강도 운동을 미실시한 HLC 그룹간 체중(Fig. 1 A)과 식이섭취량(Fig. 1 B)은 유의하게 나타나지 않았다. 비만쥐를 대상으로 중강도 운동은 체중감소에 효과적[6,25,44]인 것으로 보고되고 있으나, 본 연구의 실험설계에서는 저지방식이만을 처치한 그룹도 정상수준으로의 체중감소효과가 있어 중강도 운동을 병행한 그룹과의 차이가 나지 않는 것으로 사료된다.

IL-1 β 발현량

비만쥐를 대상으로 8주간의 중강도 운동 실시 후, 비장세포를 Concanavalin A (10 μ g/ml)로 24시간 자극한 후 IL-1 β 발현량을 분석한 결과 HLE 그룹이 HLC그룹보다 유의한 감소를 나타냈다($p=0.003$)(Table 2, Fig. 2).

IL-1 β 은 면역계에서 발현되는 대표적인 전염증성 사이토카인으로 T 세포와 NK세포의 활성화와 같이 사이토카인 네트워크에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고, 과다 분비시 면역체계에 부정적인 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다[5]. 고강도의 신체활동이나 탈진적 운동에서 증가하는 것으로 보

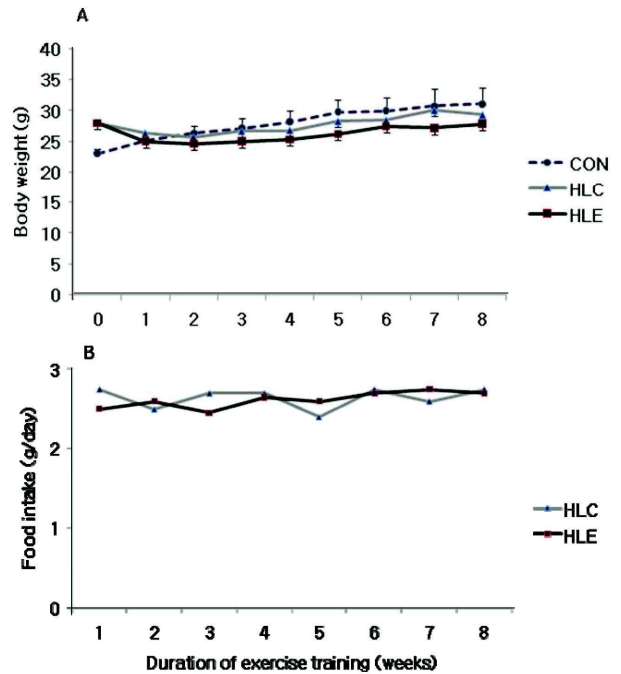


Fig. 1. Changes in body weight (A) and food intake (B) in chow diet (CON), low fat diet and control (HLC), low fat diet and exercise (HLE). *, $p<0.05$

Table 2. The results of independent t-test on IL-1 β production (pg/ml)

Groups	N	M \pm SD	t	p
HLC	10	7.80 \pm 2.81	4.38	0.003**
HLE	10	3.02 \pm 1.20		

** $p<0.01$

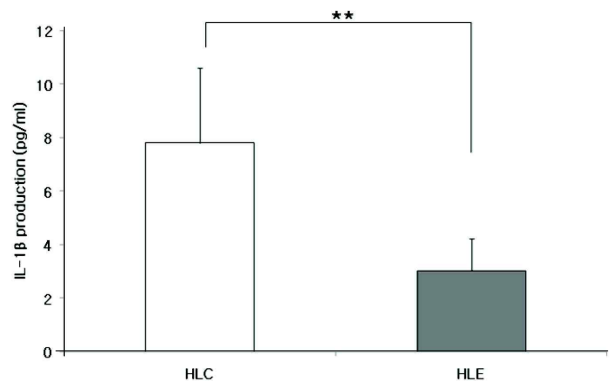


Fig. 2. Effects of 8 wk exercise on splenocyte IL-1 β production in obese mice. **, $p<0.01$

고되고 있는[26,31] 반면, Bury 등[7]과 Weinstock 등[40]의 연구에서는 격렬한 운동시 IL-1, IL-6와 같은 전염증성 사이토카인이 감소한다고 보고하고 있다. 또한 정상쥐를 대상으로 장기간 중강도 운동과 탈진 운동 후 비장세포의 전염증성 사이

토카인 발현량의 차이가 없음을 보고 되었다[21]. 선행연구의 결과에서 나타났듯이 IL-1 β 발현은 신체활동 강도나 비만여부에 따라 일관된 결과를 도출하지 못하는 실정으로 본 연구에서 실시한 고지방식이 유도 비만쥐의 비장세포에서 발현되는 IL-1 β 는 중강도 운동이 감소시키는 것으로 나타나 향후 비만여부와 다양한 운동강도에 따른 후속 연구가 필요하다고 사료된다.

IL-6 발현량

비만쥐를 대상으로 8 주간의 중강도 운동 실시 후, 비장세포를 Concanavalin A (10 ug/ml)로 24 시간 자극한 후 IL-6 발현량을 분석한 결과 HLE 그룹이 HLC 그룹보다 유의한 감소를 나타냈다($p=0.001$) (Table 3, Fig. 3).

IL-6는 일반적으로 전염증성 사이토카인으로 알려져 있으나 최근 발현되는 조직에 따라서 항염증성 사이토카인으로서의 역할이 보고되고 있고, 에너지대사를 촉진시켜 체지방의 감소에도 영향을 미치며[12], 간에서의 C반응성단백질(C-reactive protein)합성을 조절하는[43] 등 다양한 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 특히 비만인 사람의 피하지방조직에서 IL-6의 발현은 정상인에 비하여 3배 이상 발현이 되는 것으로 보고 된다[39]. 비만상태에서 염증유발 및 복부비만에서 고중성지방혈증을 일으키는 작용과 면역기능을 저하시키는 것으로 제시되면서 비만 발생 및 처치과정에서 IL-6의

Table 3. The results of independent t-test on IL-6 production (pg/ml)

Groups	N	M \pm SD	t	P
HLC	10	29.71 \pm 8.16	8.52	0.001**
HLE	10	5.20 \pm 0.38		

** $p<0.01$

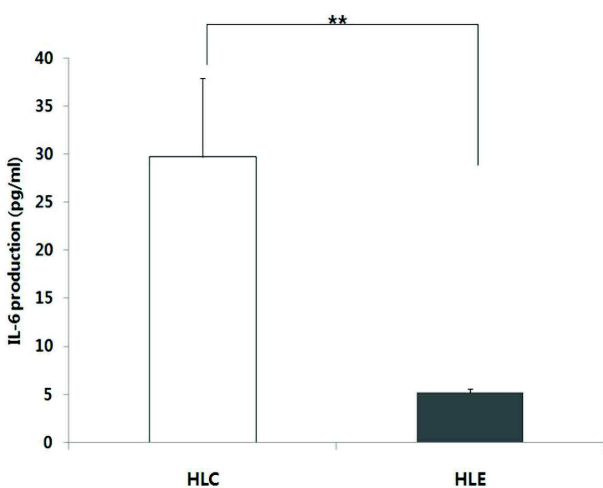


Fig. 3. Effects of 8 wk exercise on splenocyte IL-6 production in obese mice. **, $p<0.01$

분비양상에 대한 지속적인 연구가 제기되고 있는 실정이다. 본 연구에서는 고지방식으로 유도된 비만쥐를 대상으로 저지방식이 전환 후 중강도 운동이 비장세포에서 발현되는 IL-6를 살펴본 결과 중강도 운동군에서 유의하게 낮게 나타나 중강도 운동이 IL-6 발현을 낮추는데 긍정적으로 작용하는 것으로 보여져, 비만인을 대상으로 중강도의 유산소운동 실시가 혈장에서의 IL-6가 감소시킨다는 연구[8,18,20,45]와 일치한 결과를 보였고, 3시간 동안의 운동 후 혈장에서의 IL-6 발현이 20배가 증가하는 반면, 규칙적이고 장기간의 중강도 운동은 TNF- α 나 IL-6와 같은 전염증성 사이토카인을 감소시키는 것으로 보고 되고[27] 있어, 본 연구에서 실시한 8주간의 중강도 운동프로그램은 IL-6 발현 감소에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

TNF- α 발현량

비만쥐를 대상으로 8 주간의 중강도 운동 실시 후, 비장세포를 Concanavalin A (10 ug/ml)로 24시간 자극한 후 TNF- α 발현량을 분석한 결과 HLE 그룹이 HLC 그룹보다 유의한 감소를 나타냈다($p=0.003$) (Table 4, Fig. 4).

TNF- α 는 전염증성 사이토카인으로 IL-6를 포함한 케모카인(Chemokine) 발현조절에 중요한 조절자로 작용한다.

본 연구에서는 저지방식이와 함께 중강도 운동을 실시한 운동군에서 Concanavalin A로 자극한 비장세포의 TNF- α 발현이 통제군에 비하여 유의하게 낮게 나타나 외부항원의 자극에 대한 염증예방에 중강도 운동이 효과적이었음을 나타냈고, 선행연구에서 중강도 운동이 혈장수준의 전염증성 사이토카인 발현을 감소시키는데 효과가 있다고 보고되고 있음을 감안할 때 중강도 운동이 항염증작용을 하는데 긍정적인 역할을

Table 4. The results of independent t-test on TNF- α production (pg/ml)

Groups	N	M \pm SD	t	P
HLC	10	5.90 \pm 2.49	3.98	0.003**
HLE	10	1.38 \pm 0.30		

** $p<0.01$

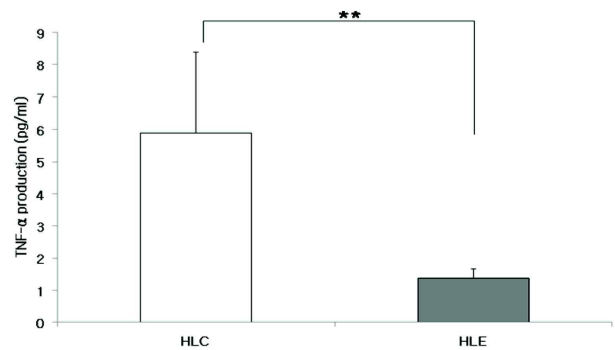


Fig. 4. Effects of 8 wk exercise on splenocyte TNF- α production in obese mice. **, $p<0.01$

하는 것으로 사료된다[1,2,23]. 하지만 Kim [19]과 Jeong [15]은 비만생쥐의 면역세포에서 외부항원으로 자극했을 때 전염증성 사이토카인 발현이 운동군에서 높게 나타나 운동을 실시한 그룹의 면역세포가 외부항원에 대한 활성화가 증가하였다고 보고하여 본 연구결과와 상반된 견해를 보였다. 또한 혈장수준의 높은 TNF- α 나 IL-6와 같은 전염증성 사이토카인 발현은 인슐린 저항성이나 대사증후군과 밀접한 상관을 보여 이에 대한 추후 연구와 지방조직에서의 전염증성 마커에 대한 연구도 필요하다고 사료된다[17,23,30].

비만은 낮은 단계의 만성염증상태로 이러한 염증상태가 다양한 질환의 원인이 될 수 있다. 특히 세포매개성 초기 면역시스템에서 외부항원에 대한 반응이나 정보전달 능력은 면역계에서 중요한 역할을 하며, 운동에 의해 아드레노글루코코르티코이드(Adrenogluco-corticoids), 글루코코르티코이드(Glucocorticoids), 오피오이드(Opioids) 등이 항원특이 반응을 증가시키는 것으로 보고된다[11,22]. Connie 등[9]은 중강도 운동이 T 세포의 증식능력이나 사이토카인 발현량을 향상시켰으며, 중강도 운동이 마이토젠(mitogen) 자극 후 T 세포의 반응과 대식세포의 탐식작용, 자연살해세포의 독성화 작용 향상 등이 보고되고 있어[21,44], 중강도 운동이 면역계에 긍정적인 영향을 미치고 있는 것으로 사료되어 향후 비만모델에서 염증반응과 세포매개성 면역계에 대한 다양한 연구는 의미가 있을 것으로 보여진다.

결론

본 연구에서는 고지방식이로 유도된 비만쥐를 대상으로 저지방식이와 함께 중강도 운동을 실시한 후 비장세포에서의 항원특이 염증반응을 관찰하였다. 본 연구에서 실시한 저지방식이와 함께 실시한 중강도 운동은 저지방식이만을 실시한 그룹보다 비장세포의 항원특이 전염증성 사이토카인 발현을 감소시켰다. 이러한 결과는 비만동물모델에서 저지방식이만을 처치하는 것보다 중강도 운동의 병행 처치가 비장세포의 항염증작용에 효과적인 것을 의미하며, 중강도 운동과 식이요법의 복합처치가 비만개선과 면역기능 향상을 가져올 수 있리라 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2007년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2007-G00101).

References

1. Adamopoulos, S., P. John, K. Dimitrios, K. Christos, G. Michae, K. George, P. John, K. Katerina, J. S. C. Andrew,

and T. K. Dimitrios. 2002. Physical training modulates proinflammatory cytokines and the soluble fas/soluble fas ligand system in patients with chronic heart failure. *J. Am Coll. Cardiol.* **39**, 653-663.

2. Alf, L., P. Aukrust, T. Aarland, and K. Dickstein. 2001. Effects of aerobic exercise training on plasma levels of tumor necrosis factor- α in patients with heart failure. *J. Am Coll. Cardiol.* **88**, 805-808.

3. Balkwill, F. 1993. Cytokines in health and disease. *Immunology Today.* **14**, 149-150.

4. Baum, M., M. Mu'ller-Steinhardt, H. Liesen, and H. Kirchner. 1997. Moderate and exhaustive endurance exercise influences the interferon- γ levels in whole-blood culture supernatants. *Eur. J. Appl. Physiol.* **76**, 165-169.

5. Belardelli, F. 1995. Role of interferon and other cytokines in the regulation of the immune response. *A.P.M.I.S.* **103**, 161-179.

6. Bradley, R. L., J. Y. Jeon, F. F. Liu, and E. Maratos-Flier. 2008. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. *Am J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **295**, 586-594.

7. Bury, T. B., R. Louis, N. F. Radermecker, and F. Pirnay. 1996. Blood mononuclear cells mobilization and cytokines secretion during prolonged exercise. *Int. J. Sports Med.* **17**, 156-160.

8. Cho, W. J., T. D. Won, and H. H. Moon. 2009. The effect of combined exercise program on inflammation markers. *J. Sport Leisure Studies* **37**, 1033-1044.

9. Connie, R., A. Z. David, W. H. Kenneth, N. P. Sisan, D. H. Stephen, S. Jeffery, and W. G. John. 2008. Exercise enhances vaccine-induced antigen-specific T cell responses. *Vaccine* **26**, 5407-5415.

10. Drenth, J. P., S. H. M. V. Uum, M. V. Deuren, G. J. Pesman, and J. V. D. Ven-Jongekrijg. 1995. Endurance run increases circulating IL-6 and IL-1ra but down regulates ex vivo TNF- α and IL-1 β production. *J. Appl. Physiol.* **79**, 1497-1503.

11. Eskandari, F. and E. M. Sternberg. 2002. Neural-immune interactions in health and disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **966**, 20-27.

12. Faldt, J., I. Wernstedt, M. F. Sharyn, W. Kristina, G. Bergstrom, and J. Jansson. 2004. Reduced exercise endurance in interleukin-6-deficient mice. *Endocrinology.* **145**, 2680-2686.

13. Gleeson, M. 2000. Overview: Exercise immunology. *Immuna Cell Biology* **78**, 483-484.

14. Invitti, C. 2002. Obesity and low-grade systemic inflammation. *Minerva. Endocrinol.* **27**, 209-214.

15. Jeong, J. H. 2009. Effect of moderate exercise training on peritoneal macrophage immunocompetence in high fat diet-induced obese mice. A doctoral dissertation, Chungnam National University.

16. Jonsdottir, I. H., C. Johansson, A. A. Johansson, K. Hellstrand, P. Thoren, and P. Hoffmann. 1997. Duration and mechanisms of the increased natural cytotoxicity seen after chronic voluntary exercise in rats. *Acta. Physiol. Scand* **160**, 333-339.

17. Katsuki, A., Y. Sumida, S. Murashima, K. Murata, Y. Takarada, K. Ito, M. Fujii, K. Tsuchihashi, H. Goto, K. Nakatani, and Y. Yano. 1998. Serum levels of tumor necrosis factor-alpha are increased in obese patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **83**, 859-862.
18. Kim, J. S., H. C. Cho, and H. S. Kang. 2009. Effects of a 12weeks walking exercise and nutrition education on adiponectin and inflammatory cytokine in obese juveniles. *Exer. Sci.* **18**, 381-390.
19. Kim, K. J. 2010. Changes of IL-6 and TNF- α production by macrophages and monocytes after restricted diet and exercise training intervention in diet-induced obese mice. *Exer. Sci.* **19**, 115-130.
20. Kwon, Y. C., M. S. Youn, and S. K. Park. 2003. The effect of combined training on lymphocyte and TNF- α concentration in obese adolescent. *J. Physical Edu.* **42**, 335-345.
21. Lee, W. L., H. G. Park, J. K. Jun, J. H. Jeong, A. R. Yun, S. M. Kwon, and M. H. Kim. 2009. Effect of acute exhaustive exercise and long-term moderate exercise training on splenocyte immunocompetence in mice. *Exer. Sci.* **18**, 467-474.
22. Madden, K. S. 2003. Catecholamines, sympathetic innervation, and immunity. *Brain. Behav. Immun.* **17**, 5-10.
23. Mishima, Y., A. Kuyama, A. Tada, K. Takahashi, T. Ishioka, and M. Kibata. 2001. Relationship between serum tumor necrosis factor-alpha and insulin resistance in obese men with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **52**, 119-123.
24. Nieman, D. C., D. A. Henson, S. L. Nehlsen Isen-Canarella, M. E. kens, A. C. Utter, D. E. Butterworth, and O. R. Fagoaga. 1999. Influence of obesity on immune function. *J. Am. Diet. Assoc.* **99**, 294-299.
25. Nishikawa, S., A. Yasoshima, K. Doi, H. Nakayama, and K. Uetsuka. 2007. Involvement of sex, strain and age factors in high fat diet-induced obesity in C57BL/6J and BALB/cA mice. *Exp. Anim.* **56**, 263-272.
26. Ostrowski, K., T. Rohde, S. Asp, P. Schjerling, and B. K. Pedersen. 1999. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J. Physiol.* **515**, 287-291.
27. Pedersen, B. K., J. W. Helge, E. A. Richter, R. Tvede, and B. Kiens. 2000. Training and natural immunity: effects of diets rich in fat or carbohydrate. *Eur. J. Appl. Physiol.* **82**, 98-102.
28. Pedersen, B. K. 2000. Exercise and Cytokines. *Immun. Cell Biol.* **78**, 532-535.
29. Pedersen, M., H. Bruunsgaard, N. Weis, H. W. Hendel, B. U. Andreassen, E. Eldrup, F. Deal, and B. K. Pedersen. 2003. Circulating levels of TNF-alpha and IL-6-relation to truncal fat mass and muscle mass in healthy elderly individuals and in patients with type-2 diabetes. *Mech. Ageing Dev.* **124**, 495-502.
30. Pickup, J. C., G. D. Chusney, S. M. Thomas, and D. Burt. 2000. Plasma interleukin-6, tumor necrosis factor alpha and blood cytokine production in type 2 diabetes. *Life Sci.* **67**, 291-300.
31. Rohde, T., D. A. MacLean, E. A. Richter, B. Kiens, and B. K. Pedersen. 1997. Prolonged submaximal eccentric exercise is associated with increased levels of plasma IL-6. *Am. J. Physiol.* **273**, 85-91.
32. Roth, J. 2004. Obesity research and treatment: where have we been and where are we going? *Obes. Res.* **12**, 88-101.
33. Schefer, V. and M. I. Talan. 1996. Oxygen consumption in adult and aged C57BL/6J mice during acute treadmill exercise of different intensity. *Exp. Gerontol.* **31**, 387-392.
34. Shinkai, S., H. Kohno, and K. Kimura. 1995. Physical activity and immune senescence in men. *Med. Sci. Sports Exerc.* **27**, 1516-1526.
35. Stallone, D. D. 1994. The influence of obesity and its treatment on the immune system. *Nutr. Rev.* **52**, 37-50.
36. Shapiro, M. E. 2001. Effects of treatment of C57BL/6j mice fed high vs. low fat diets with metformin or rosiglitazone on adiposity, food intake, hyperglycemia and insulin resistance. *Endocrine Society Annual Meeting*. Poster Session
37. Sugiura, H., H. Nishida, H. Sugiura, and S. M. Mirbod. 2002. Immunomodulatory action of chronic exercise on macrophage and lymphocyte cytokine production in mice. *Acta. Physiol. Scand.* **174**, 247-256.
38. Tanaka, S., S. Inoue, F. Isoda, M. Waseda, M. Ishihara, T. Yamakawa, A. Sugiyama, Y. Takamura, and K. Okuda. 1993. Impaired immunity in obesity: suppressed but reversible lymphocyte responsiveness. *Int. J. Obes.* **17**, 631-636.
39. Vgontzas, A. N., D. A. Papanicolaou, E. O. Bixler, A. Kales, K. Tyson, and G. P. Chrousos. 1997. Elevation of plasma cytokines in disorders of excessive daytime sleepiness: role of sleep disturbance and obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **82**, 1313-1316.
40. Victoria, J. V., J. V. Rudy, R. W. Kenneth, and A. W. Jeffrey. 2009. Effects of diet and exercise on metabolic disturbances in high-fat diet-fed mice. *Cytokine* **46**, 339-345.
41. Weinstock, C., D. Konig, R. Harnischmacher, J. B. Keul, and N. H. Aloys. 1997. Effect of exhaustive exercise stress on the cytokine response. *Med. Sci. Sports Exerc.* **29**, 345-354.
42. Wellen, K. E., and G. S. Hotamisligil. 2005. Inflammation, stress, and diabetes. *J. Clin. Invest.* **115**, 1111-1119.
43. Wilson, A. M., M. C. Ryan, and A. J. Boyle. 2006. The novel role of C-reactive protein in cardiovascular disease: Risk marker or pathogen. *Int. J. Cardiol.* **106**, 291-297.
44. Woods, J. A. 2005. Physical activity, exercise, and immune function. *Brain Behav. Immun.* **19**, 369-370.
45. Zaccardi, P., F. Nappo, G. Gugliano, K. Esposito, R. Marfella, M. Cioffi, F. D'Andrea, A. Molinari, and D. Giugliano. 2002. Reduction of inflammation cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation* **19**, 804-809.

초록 : 중강도 운동훈련이 고지방식이 유도 비만쥐의 비장세포 염증성 사이토카인 발현에 미치는 영향

장혁기¹ · 박희근² · 정준현² · 이왕록^{2*}

(¹서울여자대학교 체육학과, ²충남대학교 스포츠과학과)

본 연구는 고지방식으로 유도된 비만쥐를 대상으로 저지방식이와 중강도 운동이 비장세포의 전염증성 사이토카인 발현에 미치는 영향을 보고자 하였다. 4 주령의 C57BL/6 마우스를 대상으로 고지방식이(45% fat)를 5 주간 처치하여 비만을 유도한 후, 저지방식이(10% fat)로 전환한 후 통제군(운동미실시, n=10)과 운동군(중강도운동실시, n=10)으로 나누어 8 주간 트레드밀을 이용하여 중강도 운동을 주 5회, 1 일 30-60분 실시하였다. 운동종료 후 비장세포를 분리하여 Concanavalin A (10 ug/ml)로 24시간 자극 후 전염증성 사이토카인인 IL-1 β , IL-6, TNF- α 를 Bio-Plex를 활용하여 측정하였다. 자료분석은 독립 t 검증을 실시 하였으며, 유의수준은 $p < 0.05$ 수준으로 하였다.

비장세포에서 발현된 전염증성 사이토카인인 IL-1 β , IL-6, TNF- α 는 저지방식을 단독처치한 통제군에 비하여 중강도 운동을 병행 실시한 운동군에서 유의하게 감소한 결과($p < 0.01$)를 나타내어 고지방식으로 유도된 비만쥐에서 저지방식의 단독처치보다 중강도 운동의 병행 처치가 전염증 사이토카인 감소에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 사료된다.