

Effects of L-Arginine Supplementation and Regular Exercise in D-Galactose Induced Aging Rat Aorta: Study on Inflammatory Factors, Vasodilation Regulatory Factors

Jin Lee¹, Yi Sub Kwak², Young June Yoo³ and Sok Park^{4*}

¹Department of Anatomy and Cell Biology, Collage of Medicine, Han-Yang University, Seoul 133-070, Korea

²Department of Physical Education, Dong Eui University, Busan 614-714, Korea

³Department of Physical Education, Sejong University, Seoul 143-747, Korea

⁴Department of Physiology, Collage of Medicine, Aju University, Suwon 443-749, Korea

Received July 9, 2011 / Revised September 14, 2011 / Accepted September 23, 2011

The purpose of this study was to identify the effects of an L-arginine supplementation and regular exercise training on NF- κ B, TNF- α , iNOS, Cav-1, eNOS and Ang II in the aortas of D-galactose (D-gal) induced aging rats. The male Strague-Dawley rats were treated with a D-galactose aging inducing agent; the D-gal injection (50 mg/kg) was given intraperitoneally for 12 wk. Experimental groups were divided into five groups: (1) Young control group (Y-Con, n=8), (2) Aging control group (A-Con, n=8), (3) Aging exercise group (A-Ex, n=8), (4) Aging exercise group with L-arginine supplementation group (A-Ex+A, n=8), and (5) Aging with L-arginine supplementation group (A-A, n=8). The exercise consisted of running on a treadmill for 60 min/day at 20 m/min for 6 day/wk, at 0% gradient for 12 wk. The L-arginine supplementation was given orally at a dose of 150 mg/kg/day for 12 wk. The findings of this study were as follows: 1. NF- κ B, TNF- α , iNOS, Cav-1 and Ang II proteins in the aortas of D-gal induced rats were significantly increased, however, L-arginine supplementation and regular exercise resulted in a significant inhibition in the expression of NF- κ B, TNF- α , iNOS, Cav-1 and Ang II proteins. 2. eNOS protein in the aortas of D-gal induced rats was significantly decreased, however, L-arginine supplementation and regular exercise resulted in a significant increase in the expression of eNOS proteins. In conclusion, the findings of the present study reveal that L-arginine supplementation alone or regular exercise alone or in combination with L-arginine supplementation for 12 wk increases anti-inflammatory effects by decreasing NF- κ B, TNF- α , and iNOS protein expressions within the aortic tissue. In addition, L-arginine supplementation alone or regular exercise alone or in combination with L-arginine supplementation may prevent endothelial function by up-regulation of eNOS protein in the aortas of D-gal induced aging rats.

Key words : Aging rats, regular exercise, NF- κ B, TNF- α , iNOS, Ang II, Cav-1, eNOS, aorta

서론

혈관의 노화는 혈관 내 산화적 스트레스 증가로 인하여 내피세포들이 손상되거나 염증 등을 일으킨다. 노화로 염증성 세포들이 활성화되면 염증반응이 올라가[11,13] 혈관이 막히거나 좁아짐에 따라 고혈압, 뇌경색, 뇌출혈, 심근경색, 허혈성 심장질환, 그리고 동맥류 같은 노인성혈관질환의 유병률이 높아진다[2]. 노인성혈관질환은 급증하고 있는 노인들의 사망원인으로 많은 차지를 하고 있으며[3], 이에 따라 많은 연구들이 수행되고 있지만 그 방어기전에 대한 연구는 비교적 적다.

최근 노화된 혈관과 염증반응 간의 상관관계가 규명되면서 이들 기전에 대한 연구들이 활발하게 진행 중이며, 특히

Nuclear Factor kapa B (NF- κ B) 활성화증가에 주목하고 있다 [11]. NF- κ B는 염증과정의 조절인자이며, 연령증가와 함께 증가된 산화적 자극에 의해 더욱 활성화 된다[27]. 게다가 NF- κ B가 증가하면 interleukin (IL)-1 β , IL-6, IL-8, tumor necrosis factor (TNF)- α , cyclooxygenase (Cox)-2, inducible nitric oxide synthase (iNOS) 등의 활동을 조절하고, 산화환원(redox)의 불균형을 초래하여 만성염증을 일으켜 조직손상 및 병적상태를 발생[11]시키므로 노인성혈관질환의 표지자로 알려져 있다.

한편 Angiotensin (Ang II)는 혈관 수축과 염증성 단백질을 가중시키고, 이로 인해 심장근육의 섬유화, 동맥경화 등을 촉진[22]시켜 노화에 따른 병적상태를 더욱 촉진시킨다.

Caveolin (Cav-1)은 노화가 진행되면 뇌, 간, 허파, 신장 등에서 발현을 증가시키지만 혈관근육을 포함한 근육 및 지방에서는 오히려 감소된다[7]. 심혈관에서의 Cav-1은 endothelial NOS (eNOS)의 활동을 억제[15]시켜 혈관내피세포에서 nitric

*Corresponding author

Tel : +82-31-290-5040, Fax : +82-31-290-5049

E-mail : sok@ajou.ac.kr

oxide (NO)의 생성을 억제하여 혈관의 이완을 방해한다. 그러므로 노화된 혈관에서의 Ang II 와 Cav-1의 발현억제는 정상적인 혈관의 기능을 유지하는데 중요한 역할을 할 것이다 [16,22].

한편 L-arginine은 준필수아미노산으로서 모든 세포에서 이용되며, 기능은 혈관내피세포에서 만들어지는 강력한 혈관 반응성 조절물질인 NO를 생성한다. 또한 L-arginine은 NO의 전구체로서 eNOS (효소)에 의해서 NO 생성이 촉진되며, 증가된 NO는 혈소판과 혈관조직을 증식 한다[15,21]. 이러한 이유로 Böger & Bode-Böger 등은[2] 고혈압환자들에게 L-arginine를 섭취하도록 하였고, 그 결과 이들 혈관에서 혈관이 확장되었음을 보고하였으며, Orozco-Gutiérrez 등[28]도 8주 동안 L-arginine섭취가 폐동맥혈압강하와 우심실의 기능을 개선시켰다고 입증하였다. 이와 같이 L-arginine섭취는 혈관확장효과로 심혈관질환을 개선시킬 수 있다는 보고와 함께 새로운 치료식품으로 기대하고 있다.

그 밖에 심혈관질환에 긍정적인 효과를 가지고 있는 방법 중 하나가 운동이며, 운동은 약물이나 식품에 의존하지 않고 운동트레이닝만으로 활성화된 염증인자들을 감소시킬 수 있다[12]. 또한 규칙적인 운동은 혈관수축물질과 이완물질을 변화시켜 혈압증가를 예방하거나 치료를 하는 것[19,24]으로 알려져 있다. Jankord & Jemiolo [23]에 의하면, 유산소운동은 노인들에게 항염증효과를 제공해 준다고 하였으며, 이러한 결과는 혈장 내 IL-6의 발현감소와 IL-10의 발현을 증가시켰기 때문이라고 보고하였다. Colbert 등[12]도 건강한 노인들을 대상으로 운동을 적용시킨 후 이들의 혈장에서 TNF- α , IL-6, CRP가 모두 감소되었다고 증명하였다.

이와 같이 L-arginine 섭취와 규칙적인 운동은 혈관조직손상에 유익한 효과를 줄 수 있을 것이며, 이들의 복합처치는 노인성혈관질환예방에 더 크게 기여할 수 있을 것으로 생각된다. 다만 노화에 따른 대동맥조직에서 L-arginine 섭취와 규칙적인 운동의 병행효과를 규명하고자 하는 연구는 매우 미흡한 실정이다.

따라서 이 연구는 Sprague-Dawley (SD)계 흰쥐 숫컷을 이용하여 D-galactose (D-gal) 투여로 노화를 유도하였고, L-arginine 섭취와 규칙적인 운동의 복합처치를 통해 NF- κ B, TNF- α , iNOS, Cav-1, eNOS, 그리고 Ang-II 등의 발현에 차이가 있는지를 규명하는데 그 목적을 두고 알아보하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 4주령 SD계 숫컷 흰쥐(rat)를 사용하였다. 모든 실험동물은 S대학 실험동물실에서 사육되었으며, 2주간의 적응기를 거친 후 본 실험을 시작하였다. 실험 집단은 총 5집단으로 나누어 분류하였으며, 한 집단에 8마리씩 각각

다음과 같이 group을 배정하였다. (1) Young control (Y-con), (2) aging control (A-con) (3) aging exercise group (A-Ex) (4) aging exercise group + L-arginine (A-Ex+A) (5) aging L-arginine group (A-A) 으로 실험기간 동안 식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 사육실의 온도($22\pm 1^\circ\text{C}$), 습도($60\pm 3\%$) 그리고 조명(12시간 light/dark cycle)은 자동 조절에 의해 운영되었다.

노화유도

노화유도는 Lei 등[25]의 방법을 인용하였으며, 산화적 스트레스생성증가로 노화를 유발하기 위해 D-galactose (Sigma, USA)를 생리식염수에 녹여 50 mg/kg의 용량을 복강 내 투여하였다. Con그룹은 동일한 량의 생리식염수를 투여하였으며, 1일 1회, 총 12주간 투여하였다.

L-arginine 투여방법과 운동방법

이 실험에서 사용한 L-arginine (No. W381918; Sigma, USA)의 투여방법은 Adrião 등의[1] 방법을 이용하였으며, 투여방법은 생리식염수에 150 mg/kg의 용량을 녹여 1일 1회로 12주간 경구투여 하였고, 실험대조군에는 동일한 량의 생리식염수를 경구 투여하였다.

운동방법은 Chang 등[9]의 중등도 트레이드밀 운동방법을 인용하였으며, 설치류 전용 트레이드밀에서 경사도 0%에서 운동속도 1주를 거친 후 주 6회 20 m/min속도에서 60분간 총 12주간 실시하였다.

조직처리

L-arginine섭취와 운동은 희생 24시간 전부터 중단하였고, 식이는 12시간 전부터 절식하였으며, 물만 공급하였다. 실험 종료일에는 혼합마취액(Rumpun:Zoletil-1:1 비율로 혼합)으로 마취한 후 개흉하여 대동맥을 적출한 후 차가운 PBS에서 세척하여 혈액을 제거한 후 -70°C 초저온 냉동고에서 분석할 때 까지 보관하였다.

Western Blot

대동맥조직은 액화질소와 함께 분쇄한 후 lysis 완충액과 함께 균질화 하였다. 균질액은 4°C 에서 $13,000\times g$ 으로 15분간 원심분리한 후 상층액을 Bradford [5]법에 따라 총 단백질량을 정량하였다. 단백질은 $35\ \mu\text{g}$ 으로 10% SDS-polyacrylamide gel 에서 전기영동 후 membrane으로 전이시켰다. 4% BSA가 첨가된 TBST용액으로 1시간 실온에서 blocking 시켰다. NF- κ B, TNF- α (1:300, Santacruz, USA), iNOS, eNOS (1:2500, BD, USA), Cav-1 (1:1,000, Cell Signaling, USA)의 1차 항체를 4% BSA에 희석하여 4°C 냉장고에서 over night시켰다. 다음날 TBST 완충액으로 10분간 3회 세척한 후 2차 항체(Santacruz, USA)를 1:5,000으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰

다. 다시 TBST 완충액으로 10분간 3회 세척한 후, ECL Plus (Amersham, USA)로 1분간 반응시킨 뒤 X-ray film (Kodak, Japan)을 이용하여 확인하였다. 단백질 농도측정은 Gel doc 2000 (Bio red, ITALY)을 이용하여 농도를 정량화하여 통계처리 하였다.

통계방법

이 연구에서 얻어진 모든 실험결과는 SPSS/PC 18.0 통계 프로그램을 이용하여, 각 변인에 대한 기술 통계치(mean±SD)를 산출하고, 집단 간 변인의 차이를 확인하기 위해 일원변량 분석을 실시하였으며, 사후검증은 Tukey를 사용하였다. 통계적 유의 수준은 $p < 0.05$ 수준으로 설정하였다.

결 과

NF- κ B, TNF- α , iNOS의 단백질 발현

이 연구에서 노화유도에 따른 NF- κ B, TNF- α , iNOS의 발현양상을 관찰한 결과, A-Con군이 다른 군들에 비해 가장 높은 NF- κ B ($p < 0.05$), TNF- α ($p < 0.01$), iNOS ($p < 0.01$)를 보여 주었고, Y-Con간의 유의한 차이가 나타났다. A-Ex군, A-A군 그리고 A-Ex+A군의 NF- κ B는 Y-Con군에 비해 유의하게 낮게 ($p < 0.01$) 발현하였다(Fig. 1). A-Ex군 A-A군 그리고 A-Ex+A군의 TNF- α 는 Y-Con군과 비슷하게 발현하였으며, iNOS는 A-Ex군과 A-A군에서 유의하게 높은($p < 0.01$) 발현을 하였다.

그러나 A-Ex군, A-A군 그리고 A-Ex+A군들은 A-Con군에 비해 유의하게 감소된 NF- κ B ($p < 0.05$), TNF- α ($p < 0.05$), iNOS ($p < 0.05$)를 보여주었으며, 특히 A-Ex+A군은 A-A군 그리고 A-Ex+A군에 비해 가장 낮은 iNOS ($p < 0.05$)를 보여주었다(Fig. 1).

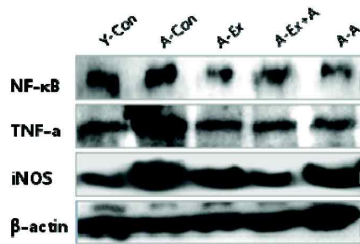
Cav-1, eNOS, Ang II의 단백질 발현

이 연구에서 노화유도에 따른 Cav-1의 발현양상을 관찰한 결과, A-Con군이 다른 군들에 비해 가장 높게 발현하였으며, Y-Con 간의 유의한 차이($p < 0.05$)가 나타났다. 그러나 A-Ex군, A-A군 그리고 A-Ex+A군은 A-Con군에 비해 감소하였으며 유의한 차이($p < 0.05$)가 있는 것으로 관찰되었다(Fig. 2).

eNOS의 발현변화는 A-Con군이 다른 군들에 비해 가장 낮은 발현을 하였으며, Y-Con군 간의 비교에서 A-Con군과 A-Ex군이 유의한 차이($p < 0.05$, $p < 0.01$)를 보여주었다. 하지만 A-Ex군, A-A군 그리고 A-Ex+A군은 A-Con군에 비해 증가하였으며, 유의한 차이($p < 0.05$)가 있는 것으로 나타났다(Fig. 2).

Ang II의 발현변화는 A-Con군이 다른 군들에 비해 가장 높은 발현을 하였으며, Y-Con군 간의 유의한 차이가 A-Con군 ($p < 0.01$), A-Ex 군($p < 0.05$), A-A군($p < 0.05$)에서 나타났다. 하지만 A-Ex군, A-A군 그리고 A-Ex+A군은 A-Con군에 비해 유의하게 억제($p < 0.05$, $p < 0.01$)된 것으로 나타났으며, 특히 A-Ex+A군은 A-Ex군과 A-A군에 비해 더 낮게 발현되어 유의한 차이 ($p < 0.05$)가 있는 것으로 관찰되었다(Fig. 2).

A



B

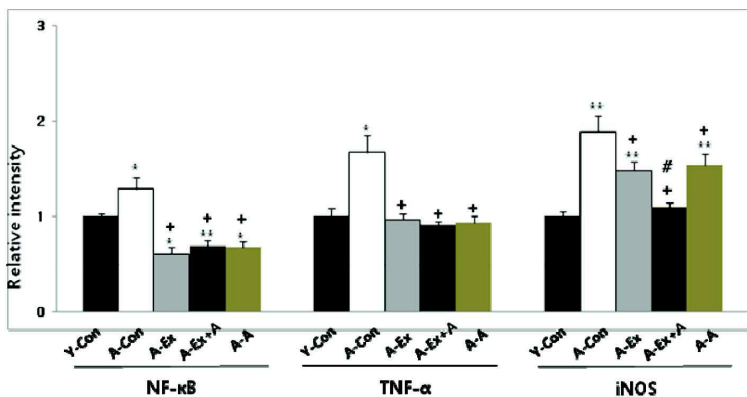
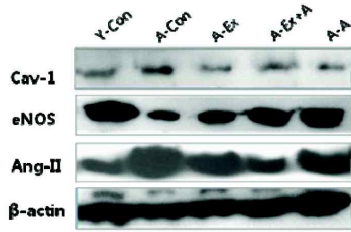


Fig. 1. Expression of NF- κ B, TNF- α and iNOS proteins (A) and graph (B) in aorta statistics. NF- κ B, TNF- α and iNOS proteins were determined by western blot. Values are means±SD. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) vs Y-Con. + ($p < 0.05$), ++ ($p < 0.01$) vs A-Con. # ($p < 0.05$) vs A-Ex and A-A, respectively.

A



B

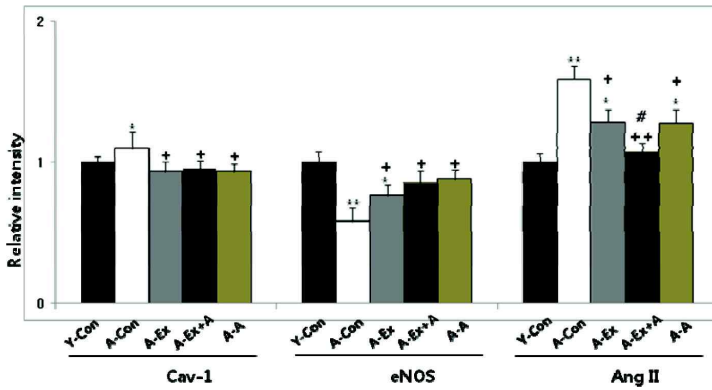


Fig. 2. Expression of Cav-1, eNOS and Ang-II proteins (A) and graph (B) in aorta statistics. Cav-1, eNOS and Ang-II proteins were determined by western blot. Values are means±SD. *($p < 0.05$), **($p < 0.01$) vs Y-Con. +($p < 0.05$), ++($p < 0.01$) vs A-Con. #($p < 0.05$) vs A-Ex and A-A, respectively.

고찰

노화는 호흡과정에서 지속적으로 생성되는 산화적스트레스 증가가 원인이며, 산화적 스트레스는 단백질, DNA, 지질과 같은 고분자(macromolecules)와 세포들의 기능을 변화시켜서서히 세포들을 죽게 만들어 노화가 나타난다[10]. 이러한 노화이론을 토대로 많은 연구자들은 노화에 대한 기전을 입증시키기 위해 장기간 D-gal을 투여하였고, 그 결과 조직 내 산화적 스트레스 유도, Ca⁺⁺ 항상성 손상, 미토콘드리아 기능이상 등을 입증하여 노화현상과 유사한 결과들을 보고하였다[25,26]. 또한 조직 내 D-gal의 축적은 최종당화 종산물(advanced glycation end products, AGE)을 만들기 위해 단백질과 펩티드의 아미노그룹들과 반응을 한다. 이때 생성된 AGE는 노화를 더욱 가속화시키고, 노화와 관련된 당뇨, 동맥경화, 신부전증, 감염 그리고 알츠하이머 같은 질환을 일으킨다[32].

본 연구에서도 혈관노화를 유도하기 위해 12주간 D-gal을 투여하였고, 노인성혈관질환의 대표 염증인자[11]들을 대동맥에서 분석하였다. 그 결과 노화유도군인 A-Con군에서 NF-κB, TNF-α, iNOS의 발현양상이 Y-Con 군에 비해 유의하게 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 장기간 D-gal투여가 노화진행의 증폭된 염증반응을 보여준 것으로 사료된다. 노화된 혈관은 세포 내 항산화방어체계를 무너뜨리고 산화환원의 균형을 깨트려 O₂⁻, OH, H₂O₂, ONOO⁻ 등의 RS (reactive species) 생성을 지속적으로 증가시킨다. 증가된 RS는 염증과정에서 대식세포(macrophage)의 과잉 활동을 유도하여 면역계 활동들을 일으키며[4], 이때 활성화된 염증인자들은 만성염증을 유도

하고, 정상적인 기능들을 변화시켜 노화와 관련된 질병을 유발하는 것이다[8]. Chung 등[10]은 인체 내에서 지속적으로 생성되는 산화적 스트레스가 DNA, RNA, 효소, 세포막 등을 산화시키고, 더 높은 염증반응을 만든다고 하였으며, 이는 세포들의 기능 저하 및 손상 때문에 항상성을 붕괴시켜 노화나 노인성질환을 일으킨다고 주장하였다. 따라서 본 연구는 12주간 D-gal투여로 노화관련 염증인자들이 대동맥에서 증가된 발현을 입증시켰다.

Cav-1, Ang II를 분석한 결과, A-Con군이 Y-Con군에 비해 유의하게 높게 발현된 것을 관찰 하였다. 이러한 결과는 노화혈관에서 Cav-1의 발현증가가 eNOS를 억제하였기 때문에 혈관확장이 억제된 것이며[16], 혈관 수축 물질인 Ang II의 발현이 증가한 것[22]으로 사료된다. Cav-1은 세포막에 작은 플라스크모양(flask-shaped)으로 함몰된 기관이며[34], 세포막을 통해 신호전달관련 단백질들과 특이적으로 결합하여 그 활성을 조절한다. 그 중 NO를 생성하는 eNOS와 결합하여 다중복합체(heterometric complex)를 만들기 때문에 eNOS의 활동을 억제시킨 것[6, 17]이라 할 수 있다.

뿐만 아니라 Ang II가 증가한 이유는 혈관의 수축이 가속되었음을 의미하며 이들 수축은 조직 내 산소공급의 부족으로 ROS (reactive oxygen species)의 생성을 더욱 자극시켜 [33] 세포들이 손상[14,22]되었을 것으로 판단된다. 따라서 D-gal투여로 유도시킨 노화대동맥에서는 Cav-1과 Ang II의 발현을 증가시켰으며, eNOS의 발현은 더욱 감소된 것으로 관찰되었다.

노화혈관에서의 염증인자들의 활동억제와 eNOS의 활성증

가가 요구되는 시점에서 본 연구는 L-arginine과 규칙적 운동으로 염증인자와 혈관이완 인자에 대해 명확하게 규명하고자 하였다. 그 결과 A-A, A-Ex 그리고 A-Ex+A군들은 A-Con군에 비해 유의하게 낮은 NF- κ B, TNF- α , iNOS 그리고 Ang II를 보여주었고, eNOS는 증가된 것으로 나타났다. 이는 노화로 혈관내피의 기능 손상으로 NO의 활동이 억제되어 혈관의 기능장애를 초래했음에도 불구하고, L-arginine투여에 따른 NO의 생성이 혈관 평활근에서 cyclic guanosine mono-phosphate (cGMP)를 유도 및 증가시켜 혈관의 확장과 콜레스테롤을 감소[20,28]시킨 것으로 사료된다. 일반적으로 NO는 아세틸콜린에 의해 유도되어 eNOS의 발현을 증가시켜 혈관을 이완시키는 것처럼 규칙적인 운동 또한 조직 내 혈류를 증가시키고, 면상마찰력(shear stress)을 높여 아세틸콜린을 활성화시키기 때문에 혈관내피세포 내에서 Ca⁺⁺활동들을 높여 eNOS의 발현을 증가[20,28]시킨 것으로 볼 수 있다. 뿐만 아니라 운동은 혈소판의 활동을 감소시키고, 혈소판의 응고 및 유착을 막을 수 있으며, 혈관 주변에 있는 염증반응과 혈전 생성을 막아 혈관의 기능을 더욱 활성화시키기 때문[30]에 염증관련 인자인 NF- κ B, TNF- α , iNOS, Cav-1, 그리고 Ang II의 활동을 억제시킨 것으로 사료된다.

Seo 등은[31] 노화된 쥐에게 운동을 적용시킨 결과 간에서의 NF- κ B의 발현이 감소되었음을 보고하였으며, 이는 pro-inflammatory인자인 TNF- α 와 iNOS의 발현을 억제시켜, 항염증효과와 수명연장의 효과를 보여주었다. 그러므로 L-arginine과 운동 그리고 복합처치는 A-Con군에 비해 유의하게 낮은 NF- κ B, TNF- α , iNOS, Ang II를 보여주었고, 그 중 복합처치군에서 가장 낮은 iNOS와 Ang II를 보여 줌으로서 혈관의 염증과 수축에 대한 개선효과를 가중시키는 효과를 보여준 결과로 사료된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 노화혈관에 있어 L-arginine과 규칙적인 운동은 노인성혈관질환의 위험인자로 알려진 NF- κ B, TNF- α , iNOS, Cav-1, Ang II 발현억제와 eNOS의 발현증가로 노화된 혈관으로부터 건강한 혈관을 유지하는데 긍정적인 효과가 있을 것으로 사료된다. 더욱이 노인성혈관질환에 있어서 치료물질로 대체할 L-arginine의 역할과 운동의 병행은 노인성혈관질환의 표지자인 염증인자에 대해 항염증효과와 혈관이완의 유익한 효과를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

References

- Adrião, M., C. J. Chrisman, M. Bielavsky, S. C. Olinto, E. M. Shiraiishi, and M. T. Nunes. 2004. Arginine increases growth hormone gene expression in rat pituitary and GH3 cells. *Neuroendocrinology* **79**, 26-33.
- Böger, R. H. and S. M. Bode-Böger. 2001. The clinical pharmacology of L-arginine. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **41**, 79-99.
- Braunwald, E. 1997. Shattuck lecture-Cardiovascular medicine at the turn of the millenium: triumphs, concerns, and opportunities. *N. Engl. J. Med.* **337**, 1360-1369.
- Brod, S. A. 2000. Unreulated inflammation shortens human functional longevity. *Inflamm Res.* **49**, 561-570.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Carman, C. V., M. P. Lisanti, and J. L. Benovic. 1999. Regulation of G protein-coupled receptor kinases by caveolin. *J. Biol. Chem.* **274**, 8858-8864.
- Cho, K. A., S. J. Ryu, J. S. Park, I. S., Jang, J. S. Ahn, K. T. Kim, and S. C. Park. 2003. Senescent phenotype can be reversed by reduction of caveolin status. *J. Biol. Chem.* **278**, 27789-27795.
- Chung, H. Y., H. J. Kim, K. W. Kim, J. S. Choi, and B. P. Yu. 2002. Molecular inflammation hypothesis of aging based on the anti-aging mechanism of calorie restriction. *Microsc. Res. Tech.* **59**, 264-272.
- Chang, S. P., Y. H. Chen, W. C. Chang, I. M. Liu, and J. T. Cheng. 2004. Increase of anti-oxidation by exercise in the liver of obese Zucker rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **31**, 506-511.
- Chung, H. Y., B. Sung, K. J. Jung, Y. Zou, and B. P. Yu. 2006. The molecular inflammatory process in aging. *Antioxid. Redox. Signal.* **8**, 572-581.
- Chung, H. Y., M. Cesari, S. Anton, E. Maezetti, S. Giovannini, A. Y. Seo, C. Carter, B. P. Tu, and C. Leeuwenburgh. 2009. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Aging. Res. Rev.* **8**, 18-30.
- Colbert, L. H., M. Visser, E. M. Simonsick, R. P. Tracy, A. B. Newman, S. B. Kritchevsky, M. Pahor, D. R. Taaffe, J. Brach, S. Rubin, and T. B. Harris. 2004. Physical activity, exercise, and inflammatory markers in older adults: findings from the health, aging and body composition study. *J. Am Geriatr. Soc.* **52**, 1098-1104.
- de Somomayor, M. A., C. Pérez-Guerrero, M. D. Herrera, L. Jimenez, R. Marin, E. Marhuenda, and R. Andriantsitohaina. 2005. Improvement of age-related endothelial dysfunction by simvastatin: effect on NO and COX pathways. *Br. J. Pharmacol.* **146**, 1130-1138.
- Ding, G., K. Reddy, A. A. Kapasi, N. Franki, N. Gibbons, B. S. Kasinath, and P. C. Singhal. 2002. Angiotensin II induces apoptosis in rat glomerular epithelial cells. *Am J. Physiol. Renal. Physiol.* **283**, 173-180.
- Dohi, Y., M. Kojima, K. Sato, and T. F. Luscher. 1995. Age-related changes in vascular smooth muscle and endothelium. *Drugs Aging* **7**, 278-291.
- Feron, O., L. Belhassen, L. Kobzik, T. W. Smith, R. A. Kelly, and T. Michel. 1996. Endothelial nitric oxide synthase targeting to caveolae. Specific interactions with caveolin isoforms in cardiac myocytes and endothelial cells. *J. Biol. Chem.* **271**,

- 22810-22814.
17. Garcia-Cardena, G., P. Martasek, B. S. Siler-Masters, P. M. Skidd, J. C. Couet, S. Li, M. P. Lisanti, and W. C. Sessa. 1998. Dissecting the interaction between nitric oxide synthase (NOS) and caveolin: Functional significance of the NOS caveolin binding domain *in vivo*. *J. Biol. Chem.* **272**, 25437-25440.
 18. Gerhard, M., M. A. Roddy, S. J. Creager, and M. A. Creager. 1996. Aging progressively impairs endothelium dependent vasorelaxation in forearm resistance vessels of humans. *Hypertension* **27**, 849-853.
 19. Graham, D. A. and J. W. Rush. 2004. Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric oxide bioavailability in spontaneously hypertensive rats. *J. Appl. Physiol.* **96**, 2088-2096.
 20. Green, D. J., G. O'Driscoll, B. A. Blanksby, and R. R. Taylor. 1996. Control skeletal muscle blood during dynamic exercise. *Sports Med.* **21**, 119-146.
 21. Hambrecht, R., L. Hilbrich, S. Erbs, S. Gielen, E. Fiehn, N. Schuler, and G. Schuler. 2000. Correction of endothelial dysfunction in chronic heart failure: additional effects of exercise training and oral L-arginine supplementation. *J. Am. Coll. Cardiol.* **35**, 706-713.
 22. Ishihata, A. and Y. Katano. 2006. Role of angiotensin II and endothelin-1 receptors in aging-related functional changes in rat cardiovascular system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1067**, 173-181.
 23. Jankord, R. and B. Jemiolo. 2004. Influence of physical activity on serum IL-6 and IL-10 levels in healthy older men. *Med. Sci. Sports Exerc.* **36**, 960-964.
 24. Linda, S. P., A. F. Barry, F. Robert, B. F. William, A. K. George, and A. R. Chester. 2004. Exercise and hypertension. *Med. Sci. Sports Exercise* **36**(3), 533-553.
 25. Lei, M., X. Hua, M. Xiao, J. Ding, Q. Han, and G. Hu. 2008. Impairments of astrocytes are involved in the D-galactose-induced brain aging. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **369**, 1082-1087.
 26. Long, J., X. Wang, H. Gao, Z. Liu, C. Liu, M. Miao, X. Cui, L. Packer, and J. Liu. 2007. D-Galactose toxicity in mice is associated with mitochondrial dysfunction: protection effects of mitochondrial nutrient R-alpha-lipoic acid. *Biogerontology* **8**, 373-381.
 27. Makarov, S. 2000. NF-kappa B as a therapeutic target in chronic inflammation: recent advances. *Mol. Med. Today* **6**, 441-448.
 28. Moncada, S., R. M. Palmer, and E. A. Higgs. 1991. Nitric oxide: physiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* **43**, 109-142.
 29. Orozco-Gutiérrez, J. J., L. Castillo-Martinez, A. Orea-Tejeda, O. Vázquez-Díaz, A. Valdespino-Trejo, R. Narváez-David, C. Keirns-Davis, O. Carrasco-Ortiz, A. Navarro-Navarro, and R. Sánchez-Santillán. 2010. Effect of L-arginine or L-citrulline oral supplementation on blood pressure and right ventricular function in heart failure patients with preserved ejection fraction. *Cardiol. J.* **17**, 612-618.
 30. Sessa, W. C., K. Pritchard, and N. I. Seyei. 1994. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ. Res.* **74**, 349-353.
 31. Seo, A. Y., T. Hofer, B. Sung, S. Judge, H. Y. Chung, and C. Leeuwenburgh. 2006. Hepatic oxidative stress during aging: effects of 8% long-term calorie restriction and lifelong exercise. *Antioxid. Redox. Signal.* **8**, 529-538.
 32. Song, X., M. Bao, D. Li, and Y. M. Li. 1999. Advanced glycation in D-galactose induced mouse aging model. *Mech. Aging. Dev.* **108**, 239-251.
 33. Wolf, G. 2002. Free radical production and angiotensin. *Curr. Hypertens. Rep.* **2**, 167-173.
 34. Yamada, E. 1955. The fine structure of gall bladder epithelium of the mouse. *J. Bio-phys. Biochem. Cytol.* **1**, 445-458.

초록 : 노화유도 쥐의 대동맥에서 L-arginine 투여와 규칙적인 운동의 효과: 염증인자와 혈관이완조절 인자의 변화

이진¹ · 곽이섭² · 유영준³ · 박석^{4,*}

(¹한양대학교 의과대학 해부세포생물학교실, ²동의대학교 체육학과, ³세종대학교 체육학과, ⁴아주대학교 의과대학 생리학교실)

이 연구는 L-arginine과 규칙적인 운동이 D-galctose (D-all)투여로 유발된 노화흰쥐의 대동맥에서 발현되는 NF- κ B, TNF- α , iNOS, Cav-1, eNOS, Ang II의 변화양상을 관찰하는데 그 목적을 두고 있다. 노화유도 모델 쥐는 D-gal (50 mg/kg)를 스틱 Strague-Dawley (SD)계 흰쥐의 복강에 1일 1회 총 12주간 투여하여 생산하였으며, 이 실험의 집단은 젊은 대조군(Y-con, n=8), 노화 대조군(A-con, n=8), 노화 운동군(A-Ex, n=8), 노화운동+아르기닌군(A-Ex+A, n=8), 노화 아르기닌군(A-A, n=8)의 5군으로 분류하여 실시하였다. L-arginine은 1일 150 mg/kg씩 총 12주간 경구투여 하였다. 운동방법은 트레이드운동으로 1일 60분씩 20 m/min 속도에서 훈련하였다. 분석결과 1) 유도된 노화군에서 NF- κ B, TNF- α , iNOS, Cav-1, 그리고 Ang II 단백질의 발현은 젊은 대조군에 비해 유의하게 증가하였다. 그러나 규칙적인 운동과 L-아르기닌군에서 NF- κ B, TNF- α , iNOS, Cav-1, 그리고 Ang II 단백질의 발현은 노화 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 2) 유도된 노화군에서의 eNOS 단백질 발현은 젊은 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 그러나 규칙적인 운동과 L-아르기닌군은 eNOS 단백질의 발현을 더욱 증가시킨 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합하면 12주간 L-아르기닌 투여와 규칙적인 운동 그리고 복합처치는 염증인자와 관련된 단백질인 NF- κ B, TNF- α , iNOS 단백질들의 발현을 억제시켜 항염증효과를 보여주었으며, 혈관내피의 기능향상과 관련된 eNOS의 발현을 증가시키는데 긍정적인 역할을 수행할 것으로 기대된다.