

고지방 식이 섭취로 유발된 비만 쥐의 시상하부 BDNF발현과 렙틴 mRNA 발현, 혈청 렙틴과 항비만과의 관계에 대한 운동트레이닝의 효과

우상헌 · 강성훈 · 우진희 · 신기옥[†]

동아대학교 체육학과

Effects of Exercise Training on the Relationship with Brain-derived Neurotrophic Factor Expression and Leptin mRNA Expression in Hypothalamus, Serum Leptin, and Anti-obesity in High-fat Diet-induced Obese Rats

Sang Heon Woo, Sunghwun Kang, Jinhee Woo, and Ki Ok Shin[†]

Laboratory of Exercise Biochemistry and Physiology, Dept. of Physical Education,
Dong-A University, Busan 604-714, Korea

ABSTRACT The purpose of this study is to examine how to relate with hypothalamus protein BDNF and mRNA leptin expression, and test the effect of exercise training upon anti-obesity in high-fat induced obese rats. Weight and plasma TC of the high-fat diet group (HF) significantly reduced in comparison to those in the high-fat diet and training group (HF-T), high-fat diet and normal diet group (HF-ND), and high-fat diet, training, and normal diet group (HF-ND+T) ($P < 0.05$). Plasma TG of the HF group significantly decreased in comparison to the HF-ND+T group ($P < 0.05$). The plasma leptin level significantly reduced in the HF-T group in comparison to the HF group, in the HF-ND group compared to the HF-T group, and the HF-ND+T group in comparison to the HF-ND group ($P < 0.05$, respectively). All groups were significantly increased in hypothalamus BDNF protein expression in comparison to the HF group. In hypothalamus leptin mRNA expression, the HF-T and HF-ND groups reduced, but the HF-ND+T group increased in comparison to the HF group. This result suggests that it shows the effect of exercise training upon anti-obesity in high-fat diet induced obese rats and the combined exercise and/or normal diet may affect the optimal obesity improvement and prevention in appetite and weight control.

Key words: exercise, high-fat diet, BDNF, leptin, obesity

서 론

비만은 저밀도 지단백 콜레스테롤(LDL-C), 총콜레스테롤(TC), 중성지방(triglyceride; TG)의 증가와 고밀도 지단백 콜레스테롤(HDL-C)의 저하를 가져와 lipid profile 불균형을 초래하고, 면역체계의 이상을 가져와 염증반응이 발생하며(1), 이러한 염증은 세포의 손상과 신경변성(neurodegenerative)을 유발하여 세포사를 유발한다(2). 또한 비만은 대사증후군(metabolic syndrome), 고혈압(hypertension), 동맥경화(atherosclerosis)와 관련된 심혈관질환(cardiovascular disease, CVD), 당뇨병(diabetes mellitus), 그리고 다른 만성적인 질병들을 일으키는 주요한 위험요소로 인식되고 있으며, 심혈관 합병증으로 인한 높은 사망률로부터 위협받고 있다(3-7).

비만을 유발하는 식이섭취와 관련된 인자들은 일반적으

로 건강의 중요한 예측인자이다(5-8). 그러나 뇌구조와 기능에 대한 식이의 실질적인 영향은 명확하게 설명이 되지 않고 있다. 현재의 서구화된 습관성 고지방식이 학습을 위한 설치류의 뇌기능 능력을 감소시키고, 신경유연성을 위협하고 있다.

고지방 식이는 신경영양인자의 하나인 시상하부의 brain-derived neurotrophic factor(BDNF)를 감소시키며, 이는 감소된 학습 수행과 관련이 있다고 하였다(8). BDNF는 뇌뿐만 아니라 말초에서도 발견되는 단백질로서 중추신경계와 말초신경계의 특정 뉴런에서 활성화되어 뉴런이 생존하는데 지원해 주는 역할을 한다. 또한, 신생 뉴런과 시냅스의 성장과 분화를 도와주어 학습, 기억, 그리고 사고력 활성을 위한 역할을 수행한다. 최근에 BDNF는 뇌에서 생성되는 물질로서 장기기억에 관여하는 것으로 알려져 있지만, 동물 실험에서는 다른 요인과 함께 식욕과 체중을 조절하는 역할을 한다는 연구결과가 발표되었다(9,10). 그러나 비만상태에서 운동트레이닝이나 식이제한으로 체중이 감소한 이후 시상하부의 BDNF에 어떠한 변화가 일어나는 지는 아직 보

Received 21 May 2013; Accepted 23 September 2013

[†]Corresponding author.

E-mail: kshin21@dau.ac.kr, Phone: 82-51-200-7808

고된 바가 없다.

운동과 관련된 BDNF의 연구는 Neepor 등(11)은 쥐를 대상으로 3일 동안의 달리기 운동 후 시상하부의 BDNF mRNA 발현이 증가하였다고 보고하였으며, 최근 Levinger 등(12)은 중년 남녀를 대상으로 10주간 웨이트 훈련을 실시한 결과, 근력과 제지방(LBM) 체중은 증가하였으나 BDNF와의 상관성은 없었다고 하였고, 추가적으로 유산소훈련이나 식이요법과의 관계를 규명하는 연구가 필요하다고 제안하였다. 국내에서 Lee(13)는 흰쥐를 대상으로 규칙적인 운동은 NGF(nerve growth factor), BDNF와 같은 neurotrophic factor의 발현을 증가시켜 뇌 기능을 향상시킨다고 하였으며, Lee와 An (14)은 seizure 유발 쥐를 대상으로 8주간 수영운동을 시킨 결과 NGF와 BDNF의 발현을 증가시켰다고 하여 규칙적인 운동이 NGF나 BDNF와 같은 neurotrophic factor 증가에 긍정적인 영향을 준다는 것을 알 수 있다. 이와 같이 운동은 neurogenesis를 자극하고, 뇌손상의 예방과 학습 및 정신적 기능을 강화하며(15), 동시에 세포 성장의 핵심조절자로서 긍정적인 역할을 수행한다(16). 선행연구와 같이 운동트레이닝이 BDNF에 미치는 영향은 뇌기능과 관련된 연구가 대부분이며, 비만을 유발하는 식욕과 체중조절 간의 관련성을 규명하고자 한 연구는 본 연구가 처음이라 할 수 있다.

선행연구(17)에서 BDNF는 섭식조절 중추의 일부인 시상하부에서 분비되는데, 에너지 항상성에 중요한 역할을 담당할 때 렙틴이 이 과정에서 간접적으로 영향을 미칠 수 있다고 보고하였다. 비만유전자의 산물인 렙틴은 음식 섭취, 에너지 소비, 탄수화물 및 지방대사, 그리고 대사적 유전자 발현에 뛰어난 효과를 가지고 있다(18-22). 이는 렙틴이 음식섭취와 체중을 감소시키기 때문에 비만은 렙틴과 부적 관련성이 있다고 할 수 있다. 그러나 대다수의 비만인이나 비만동물에서 높은 렙틴 농도를 보이고 있는데(20,23,24) 이는 렙틴 저항성 또는 렙틴의 이상 기능으로 제안되고 있다. 그러므로 시상하부는 에너지 항상성 조절에 대한 렙틴 활성화의 주요한 장소이기 때문에 비만상태일 때와 체중감소 후 시상하부에서의 렙틴활성 변화를 이해하는 것은 매우 의미가 크다고 할 수 있다. 이러한 가설을 바탕으로 본 연구는 고지방 식이로 유도된 비만이 운동트레이닝을 통해 체중이 감소한 후 BDNF의 변화가 시상하부의 렙틴 mRNA 발현에 어떻게 영향을 미치는지를 조사하고자 한다. 그러므로 규칙적인 운동처치로 비만을 개선시킴으로써 neurogenesis 과정에 긍정적인 영향을 줄 수 있다고 가정해 볼 수 있을 것이다. 그러나 이와 연관된 연구는 국내외적으로 거의 찾아볼 수 없으며, 특히 high-fat 식이섭취로 유발된 비만으로 인한 에너지 항상성과 밀접하게 관련되어 있는 신경영양인자인 시상하부의 BDNF와 렙틴 mRNA 발현에 어떠한 연관성이 있는지, 그리고 항비만효과로서 운동트레이닝이 얼마나 영향을 미치는지에 대한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구는 고지방식으로 유도된 비만이 에너지 항

상성 조절인자인 신경영양인자와 섭식조절 호르몬인 렙틴 mRNA 발현에 어떠한 관련성이 있는지를 규명하는 것이 첫째 목적이 있고, 규칙적인 운동트레이닝으로 나타나는 체중 감소와 관련하여 분자생화학적인 측면에서 어떠한 개선 효과가 있는지를 규명하는데 두 번째 목적이 있다.

재료 및 방법

실험동물

본 연구의 실험대상은 Daehan Biolink(Eumseong, Korea)로부터 분양받은 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐(4주령) 60마리를 8주간의 고지방 식이(지방 40%, 단백질 20%, 탄수화물 35%)를 통해 비만을 유도하였다(Table 1). 비만 유도 이후 지속적으로 8주간 고지방 식이 지속군(HF; high fat diet) 15마리, 고지방 식이 운동군(HFT: high fat diet + training) 15마리, 일반식이 전환군(HFND: high fat diet + normal diet) 15마리, 일반식이 전환 운동군(HFNDDT: high fat diet + normal diet + training) 15마리로 구분하였으며, D대학 의과대학 동물실험실에서 한 cage에 4마리씩 넣어 사육하였다(Table 2).

동물 사육실은 HEPA(high efficiency particulate arrestant) 무균청정공기를 공급시키는 필터와 외부의 오염공기가 차단되는 양압 설비를 갖추고 있으며, 사육실 내의 온도, 습도, 조명 등이 자동 제어되어 일정한 조건의 사육환경을 제공하도록 되어 있는 시설을 갖추어 동물실험에 영향을 미치는 환경적 요인을 제어할 수 있는 곳에서 사육하였다. 모든 실험은 의학연구소의 동물실험위원회 지침에 따라 시

Table 1. An ingredient of experimental diet (%)

Components	Normal diet ¹⁾	High fat diet ²⁾
Carbohydrate	91.0	35.0
Protein	3.4	20.0
Fat	-	40.0
Vitamin mix	0.1	1.0
Mineral mix	0.1	3.5
Other	5.4	0.5

¹⁾Purchased from Samtako bio Korea (Gyeonggi, Korea) feed.

²⁾High fat diet: 40% beef tallow Modified AIN-76A Purified Rodent Diet (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA).

Table 2. Classified table of experimental animal

Group	(n=60)	Group description
HF	15	8-week non-exercise and high fat diet after 8-week induced obese
HFT	15	8-week exercise and high fat diet after 8-week induced obese
HFND	15	8-week non-exercise and normal diet after 8-week induced obese
HFNDDT	15	8-week exercise and normal diet after 8-week induced obese

행하였다.

식이 섭취량 및 체중 변화

실험 기간 동안 식이 섭취량은 매일 같은 시각(10시)에 측정하였으며, 체중은 매주 1회 일정한 시간에 computing-scale 체중계(CAS, Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였다. 식이 섭취에 의한 일시적인 체중 변화를 막기 위해 측정 2시간 전에 식이 그릇을 제거한 후 실시하였다.

운동 트레이닝

운동 트레이닝은 Mazzeo 등(25)이 사용한 방법을 변형한 주 5일, 1일 30분씩 8주간 동물용 트레드밀을 이용하여 운동을 실시하였다. 트레드밀 운동은 1주에서 4주까지는 VO₂ max 50%에 해당하는 강도로 경사도 0%에서 고정된 조건에서, 처음 5분간은 2 m/min의 속도로, 다음 5분간은 5 m/min의 속도로, 그리고 남은 시간은 10 m/min의 속도로 운동을 실시하였다. 5주에서 8주까지는 VO₂ max 60%에 해당하는 강도로 경사도 0%에서 고정된 조건에서 실시하였으며, 처음 5분간은 5 m/min의 속도로, 다음 5분간은 10 m/min의 속도로, 그리고 남은 시간은 14 m/min의 속도로 트레이닝을 실시하였다(Table 3).

채혈 및 조직 샘플링

본 실험의 채혈 및 조직 샘플링은 D 대학교 의과대학 의과학 실험지원 센터에서 실시하였다. 운동트레이닝 후 마지막 트레이닝의 운동 효과를 최대한 배제시키기 위해 적어도 훈련 종료 48시간 경과 후에 실시하였으며, 사료는 채혈 및 조직 샘플링 12시간 전에 공급을 중단하였다. 그러나 음수는 계속 제공하였다. 대조군으로 분류된 실험동물들은 실험실에 도착한 후, 충분히 안정을 취한 뒤 마취제 에틸 에테르(ethyl ether)를 이용하여 마취를 시켰다. 마취된 실험동물은 해부판 위에 사지를 고정시키고 70% 알콜 분무기로 분무한 후, 복부를 절개하여 복부 대동맥에서 10 mL의 동맥혈을 채혈하였다. 채취된 혈액은 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 분석에 사용될 때까지 -20°C에 보관하였다. 채혈 후 2 g의 시상하부를 샘플링하였다. 시상하부 조직은 deep freezer(Nihon Freezer, Tokyo, Japan)에 넣어 차후 조직 분석에 사용될 때까지 -70°C 상태로 보

관하였다.

생화학적 · 분자생물학적 분석

혈중 지질 및 렘틴: 총콜레스테롤(total cholesterol, TC)과 중성지방(triglyceride, TG) 함량은 효소법에 의한 정량용 kit(TC, AM201-K; TG, AM202-K; Asan Co., Seoul, Korea)로 측정하였다. 혈청 2 µL에 효소용액 300 µL를 첨가하여 교반하고, 37°C에서 5분간 반응시켜 발색한 후 blank를 대조로 하여 분광광도계(TECAN AUSTRIA GMBH Sunrise, Grödig, Austria)로 흡광도 500 nm와 550 nm에서 측정하였다. 그리고 렘틴은 동물용 렘틴 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) kit(R&D systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 흡광도 450 nm에서 측정하여 분석하였다.

BDNF western blot: 시상하부에서 protein을 추출하기 위하여 조직에 150 mM NaCl, 5 mM EDTA, 50 mM Tri-HCl(pH8.0), 1%-NP 40, 1 mM aprotinin, 0.1 mM leupeptin, 1 mM pepstatin이 함유된 용액을 첨가하여 분쇄한 다음 14,000 rpm에서 30분 동안 원심분리 하였다. Protein(20 µL)은 10% SDS-polyacrylamide difluoride membrane에 전이되며, membrane은 phosphate-buffered saline(PBS)(NaCl 8 g, KCl 0.2 g, Na₂HPO₄ 1.44 g, KH₂PO₄ 0.24 g, pH 7.4)에 5% skim milk가 첨가된 용액에서 blocking 하였다. 그 다음 BDNF antibody(1:1,000, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)가 첨가된 용액에서 1시간 동안 반응시킨 후 PBS에 0.1% tween-20이 함유된 용액에서 1×15 min과 2×5 min 동안 세척하였다. Membrane은 각각 anti-rabbit IgG conjugated secondary antibody가 첨가된 용액에서 1시간 동안 반응시킨 후 kodak 필름을 통해 immunoreactive bands를 측정하였다. Bands의 상대적 강도는 densitometer(Sci-Scan 5000 USB, Cleveland, OH, USA)를 통해 정량화 하였다.

렘틴 리셉터 RT-PCR: Total RNA를 분리하기 위해 TRIzol을 사용하였다. TRIzol 1 mL를 용해시킨 후, 500 µL의 chloroform을 첨가하여 4°C에서 5분간 반응하였다. 이후 4°C, 13,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 상층액을 새로운 튜브에 옮겼다. 동량의 isopropanol을 첨가하여 실온에서 10분간 반응하였다. RNA는 건조 후 DEPC를 함유

Table 3. Exercise training protocol

Variable	Exercise intensity		Exercise time (min)	Exercise frequency (time/week)	Exercise duration (week)
	Velocity (m/min)	Slope (°)			
VO ₂ max 50%	2	0	5	5	1~4
	5	0	5	5	
	10	0	20	5	
VO ₂ max 60%	5	0	5	5	5~8
	10	0	5	5	
	14	0	20	5	

This exercise training protocol was used by modified Mazzeo et al. (25).

한 증류수 50°C로 용해하여 spectrophotometer로 흡광도를 측정하여 정량한 후 역전사(reverse transcriptase, RT)를 수행하였다. 이후 아래의 primer를 사용하여 증합효소반응(polymerase chain reaction, PCR)을 수행하였다.

Forward primer (5' to 3'): TGAAACATTTGAGCAT-CTTT

Reverse primer (5' to 3'): CGATGCACTGGCTGAC-AGAA

PCR 증합반응은 94°C에서 1분, 60°C에서 1분, 72°C에서 1분의 조건으로 36 cycle을 수행하였으며, 이후에 72°C에서 10분간 더 수행하였다. PCR의 반응산물은 1% agarose gel 전기영동법으로 확인하였다.

자료 처리

본 연구에서 얻어진 자료는 SPSS Windows Ver 18.0 통계 package(SPSS, Chicago, IL, USA)를 이용하여 모든 측정 항목에 대해 평균과 표준오차를 산출하였으며, 집단간 체중 차이검증을 위해 이원분산분석(two-way ANOVA)을 이용하였고, 트레이닝에 따른 혈액성분 및 조직 분석은 집단간 일원분산분석(one-way ANOVA)를 실시하였다. 통계적 유의 수준이 있을 시 Duncan의 사후분석을 실시하였으며, 모든 통계적 유의 수준은 $P < 0.05$ 로 설정하였다.

결과 및 고찰

체중 및 혈중 지질

8주간 운동트레이닝 또는 정상식이 전환에 대한 각 그룹간의 체중 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 8주후 HF 그룹(581.29 ± 19.09 g)에 비해 HFT(536.71 ± 17.63 g), HFND(483.29 ± 11.76 g), 그리고 HFNDT(471.14 ± 8.43 g) 그룹에서 유의하게 감소하였다($P < 0.05$).

8주간 운동트레이닝 또는 정상식이 전환에 대한 각 그룹간의 total cholesterol(TC) 변화는 Fig. 2에 나타내었다.

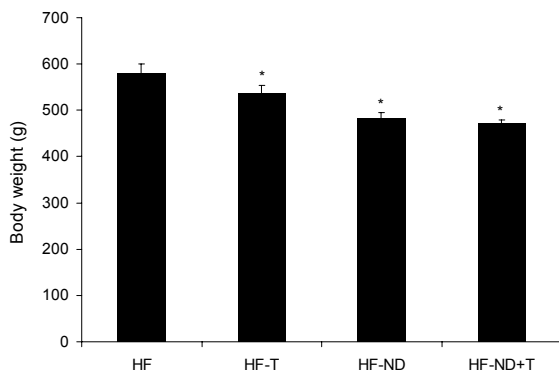


Fig. 1. Changes of body weight after 8 weeks exercise training and/or restricted diet in the groups. HF: high-fat diet, HFT: high-fat diet training, HFND: high-fat diet and normal diet, HFNDT: high-fat diet and normal diet training. Values represent means ± standard error. * $P < 0.05$ vs. HF.

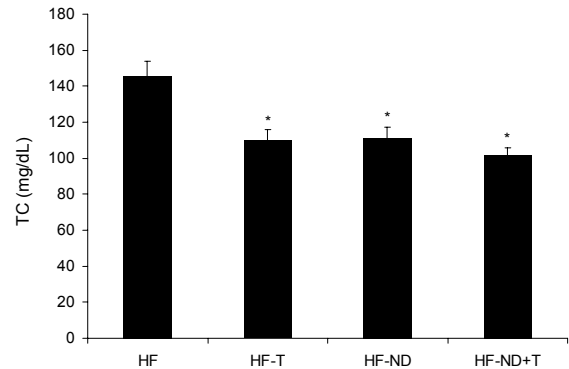


Fig. 2. Changes of plasma TC levels after 8 weeks exercise training and/or restricted diet in the groups. HF: high-fat diet, HFT: high-fat diet training, HFND: high-fat diet and normal diet, HFNDT: high-fat diet and normal diet training. Values represent means ± standard error. * $P < 0.05$ vs. HF.

8주후 혈중 TC는 HF 그룹(145.68 ± 8.24 mg/dL)에 비해 HFT(109.95 ± 5.73 mg/dL), HFND(114.48 ± 5.70 mg/dL), 그리고 HFNDT(101.48 ± 4.40 mg/dL) 그룹에서 유의하게 감소하였다($P < 0.05$).

8주간 운동트레이닝 또는 정상식이 전환에 대한 각 그룹간의 중성지방(TG) 변화는 Fig. 3에 나타내었다. 8주후 혈중 TG는 HF 그룹(188.46 ± 17.59 mg/dL)에 비해 HFNDT 그룹(151.95 ± 15.97 mg/dL)에서 유의하게 감소하였다($P < 0.05$).

혈중 렙틴의 변화는 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 4에서와 같이 HF 그룹(1.04 ± 0.04 ng/mL)에 비해 HFT(0.83 ± 0.03 ng/mL), HFND(0.55 ± 0.04 ng/mL), 그리고 HFNDT(0.33 ± 0.01 ng/mL) 그룹에서 유의하게 감소하였으며($P < 0.05$), HFT 그룹에 비해 HFND 그룹과 HFNDT 그룹에서 유의하게 감소된 혈중 렙틴 수준을 보여주었다($P < 0.05$). 또한 HFND 그룹에 비해 HFNDT 그룹에서 유의한 감소를 나타내었다($P < 0.05$).

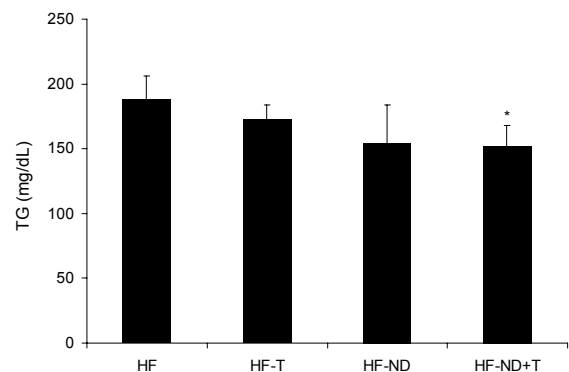


Fig. 3. Changes of plasma TG levels after 8 weeks exercise training and/or restricted diet in the groups. HF: high-fat diet, HFT: high-fat diet training, HFND: high-fat diet and normal diet, HFNDT: high-fat diet and normal diet training. Values represent means ± standard error. * $P < 0.05$ vs. HF.

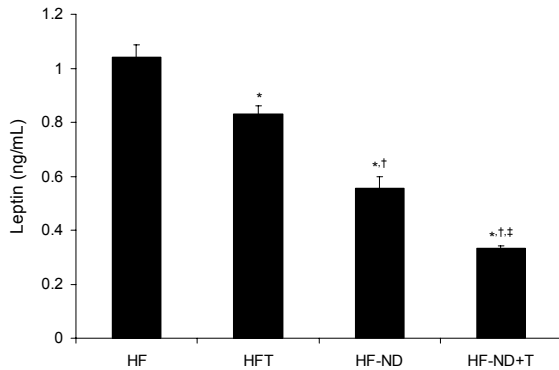


Fig. 4. Change of plasma leptin levels after 8 weeks exercise training and/or restricted diet in the groups. HF: high-fat diet, HFT: high-fat diet training, HFND: high-fat diet and normal diet, HFNDT: high-fat diet and normal diet training. Values represent means±standard error. * $P < 0.05$ vs. HF, † $P < 0.05$ vs. HFT, ‡ $P < 0.05$ vs. HFND.

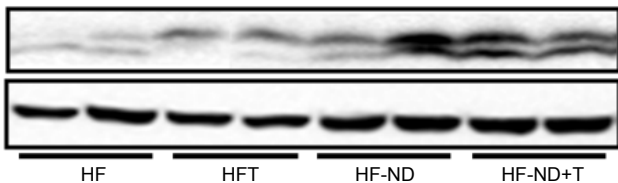
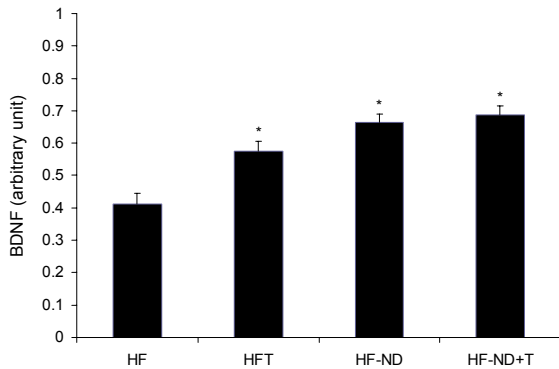


Fig. 5. Changes of hypothalamus BDNF protein expression after 8 weeks exercise training and/or restricted diet in the groups. HF: high-fat diet, HFT: high-fat diet training, HFND: high-fat diet and normal diet, HFNDT: high-fat diet and normal diet training. Values represent means±standard error. * $P < 0.05$ vs. HF.

시상하부 BDNF protein 수준과 렙틴 리셉터 mRNA 발현

시상하부에서의 BDNF protein 발현 변화는 Fig. 5에 나타내었다. HF 그룹의 시상하부 BDNF 발현에 비해 HFT, HFND, 그리고 HFNDT 그룹에서 모두 유의하게 증가되었음을 보여주고 있다($P < 0.05$). 이러한 실험 결과는 시상하부의 BDNF 발현이 고지방식으로 유도된 비만쥐에서 규칙적인 운동트레이닝 또는 식이제한으로 뇌기능과 관련된 정신적 건강에 유의한 효과를 가져다준다고 할 수 있다.

또한 이러한 증가는 Fig. 6에서 보는 바와 같이 섭식 및 체중을 조절하는 시상하부 렙틴 리셉터 mRNA 발현에도 영향을 미친다고 할 수 있다. Fig. 6에서와 같이 시상하부 렙틴 mRNA 발현은 HF 그룹에 비해 HFT와 HFND 그룹에서 약

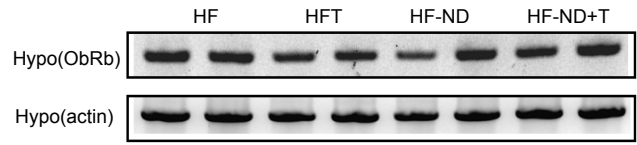


Fig. 6. Changes of hypothalamus leptin receptor mRNA expression after 8 weeks exercise training and/or restricted diet in the groups. HF: high-fat diet, HFT: high-fat diet training, HFND: high-fat diet and normal diet, HFNDT: high-fat diet and normal diet training.

간의 감소를 보였으나, HFNDT 그룹에서는 증가하는 것으로 나타났다.

규칙적인 운동이 비만인들의 건강을 유지하고 삶의 질을 개선시키며, 일상생활에서 발생하는 질병들을 감소시키는 것은 명백하다. 반면 비만은 식욕 및 체중조절과 관련된 에너지 항상성의 불균형을 유발하고, 신경영양인자의 생성기전과 렙틴 저항성에 직·간접적으로 영향을 미친다. 운동트레이닝을 통한 BDNF에 대한 기존의 연구들은 운동이 BDNF를 증가시켜 정신적 기능과 우울증, 그리고 뇌 및 학습기능을 향상시키고 세포 생존과 분화에 영향을 미치며, 시냅스(synaptic)의 변형과 기억을 증가시키는 것으로만 연구되었다. 최근 신경영양성인자인 BDNF를 유전적으로 결핍시킨 마우스와 사람에서 과식과 비만이 나타난다는 것을 보고하고 있으나, 구체적인 기전은 명확하지 않다. 이러한 기전을 밝히기 위해 에너지 항상성을 조절하는 시상하부에서 BDNF의 변화, 섭식, 에너지 소비, 탄수화물 및 지방 대사에 크게 작용하는 렙틴 mRNA 발현과의 관련성을 통해 비만에 기여하는 식욕 및 체중 조절에 대한 새로운 생화학적 경로를 제시하고자 하였다.

혈중 지질에 대한 본 연구결과에서 HF 그룹에 비해 모든 그룹에서 TC 농도가 감소한 것으로 나타났다. 이는 운동 및 정상식으로의 전환이 혈중 지질에 유익한 효과를 가져왔으며, TG 농도는 운동과 정상식의 복합처치가 효과적인 것으로 나타나, 혈중 지질 농도에 대한 긍정적인 효과는 식이와 운동의 병행이 바람직한 것으로 사료된다. 혈중 렙틴 농도에 있어서도 HF 그룹에 비해 모든 그룹에서 유의하게 감소한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 운동과/ 또는 정상식이 변화가 순환혈액 수준에서 렙틴 민감성을 증가시킨 것으로 사료된다. 선행연구에서 고지방식으로 유도된 쥐에는 렙틴의 농도가 높았으며, 렙틴 저항성이 증가한 것으로 보고하였다(24,26,27).

BDNF에 대한 선행연구들이 뇌의 가소성을 연구하였다면, 본 연구에서는 새롭게 대두된 에너지 대사 측면에서 관찰하고자 하였다.

Fig. 5와 같이 HF 그룹에 비해 다른 그룹들에서 모두 유의하게 증가한 결과를 보였다. 이는 Unger 등(9), Wang 등(10), Levin(28)이 제시한 시상하부 BDNF가 식욕과 체중을 조절하는 역할을 보고한 것과 관련하여, 고지방식으로 유도된 비만쥐에서 운동 또는 정상식으로의 전환은 비만을

야기하는 식욕과 체중 조절에 있어 BDNF가 biomarker로서 작용할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 Molteni 등(29)은 고지방식으로 유도된 쥐에서 운동을 한 그룹이 통제그룹에 비해 BDNF protein 농도가 증가한 것을 보고하여 본 연구의 결과를 뒷받침한다고 할 수 있다. 이에 비만 지표로 알려져 있는 시상하부 렙틴 리셉터 mRNA를 분석할 결과, Fig. 6과 같이 HF 그룹에 비해 HFT와 HFND 그룹에서는 감소하는 경향을, HFNDT 그룹에서는 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 운동과 정상식이로의 전환을 통해 시상하부 렙틴 민감성이 증가한 결과로 보이며, 운동과 정상식이로의 복합처치는 렙틴 저항성이 감소한 결과로 사료된다.

선행연구에서 Sahu 등(30)은 고지방식으로 유도된 비만 쥐가 정상식이 비만쥐에 비해 시상하부 렙틴 리셉터 mRNA가 감소되어 있는 것을 확인하여 비만쥐에서 렙틴 저항성이 높은 것으로 보고하였다. Patterson 등(27)은 고지방식으로 유도된 비만쥐에서 운동그룹이 통제그룹에 비해 렙틴 저항성이 유의하게 감소하였음을 보고하였다. 이러한 결과들은 본 연구결과를 뒷받침해주고 있다. 하지만 운동과 정상식이로의 복합처치에 대한 고지방식으로 유도된 쥐에서 BDNF 발현 및 렙틴 리셉터 mRNA를 연구한 결과는 본 연구자가 조사한 바에 의하면 처음인 것으로 생각되어 독창적인 연구 결과라 사료된다.

이상의 결과에서 시상하부의 BDNF 발현이 HF 그룹에 비해 나머지 모든 그룹에서 유의하게 증가한 것으로 볼 때, 운동 및 식이제한이 뇌기능을 향상시켰다는 선행연구와 동일한 결과를 보였으며, 혈중 지질 및 혈중 렙틴의 유의한 감소는 운동 또는 정상식이 전환이 항비만 효과를 나타내다고 할 수 있다.

또한, 시상하부 렙틴 리셉터 mRNA 발현은 HF 그룹에 비해 HFT와 HFND 그룹에서 약간의 감소를 보였으나, HFNDT 그룹에서는 증가하는 결과를 나타내었다. 이러한 현상은 운동 또는 식이변환만 한 각각의 그룹에서 시상하부 렙틴 리셉터의 발현이 감소하였을 지라도 혈중 렙틴의 감소와 시상하부 BDNF 발현의 증가로 볼 때, 렙틴 저항성 감소 즉 렙틴 민감성이 증가한 것으로 판단된다. 뿐만 아니라 HFNDT 그룹의 시상하부 BDNF 발현은 HF 그룹에 비해 증가한 것으로 볼 때, 운동트레이닝과 정상식이 전환을 같이 병행한다면 시상하부 BDNF의 에너지 항상성 조절에 관여하는 렙틴 리셉터의 민감성도 증가할 뿐만 아니라 혈중 렙틴 저항성이 감소하여 섭식과 체중 조절에 유의한 결과를 가져다 주어 비만 예방에 큰 역할을 할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구의 목적은 고지방식으로 유도된 비만이 에너지 항상성 조절인자인 신경영양인자와 섭식조절 호르몬인 렙틴 mRNA 발현에 어떠한 관련성이 있는지를 규명하는 것과 비만 쥐의 시상하부 BDNF 발현과 렙틴 리셉터 mRNA 발현,

혈청 렙틴과 항비만과의 관계에 대한 운동트레이닝과 정상식이로의 전환에 대한 효과를 확인하고자 하였다. 그 결과 8주 후 비만 대조군(HF)에 비해 운동군(HFT), 정상식이군(HFND), 운동 및 정상식이 트레이닝군(HFNDT)에서 각각 유의한 체중 및 혈중 TC 감소를 보였다($P < 0.05$). 혈중 TG에서는 HF군에 비해 HFNDT군에서 유의한 감소를 보였다($P < 0.05$). 혈중 렙틴은 HF군에 비해 HFT군에서 유의한 감소를($P < 0.05$), HFT군에 비해 HFND군에서 유의한 감소를 보였으며($P < 0.05$), HFND군에 비해 HFNDT군에서 유의한 감소를 나타냈다($P < 0.05$). 시상하부 BDNF 단백질 발현은 HF군에 비해 모든 군에서 유의한 증가를 보였다($P < 0.05$). 시상하부 렙틴 리셉터 mRNA는 HF군에 비해 HFT와 HFND군에서 약간의 감소를, HFNDT군에서는 증가를 나타내었다. 이상의 결과는 고지방식으로 유도된 비만쥐에 대한 운동트레이닝은 항비만 효과가 있는 것으로 나타났으며, 운동 또는 정상식이의 병행은 식욕과 체중조절에 최적의 비만 예방 및 개선효과가 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2009년도 정부재원(교육과학기술부 인문사회연구역량강화사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2009-332-G00099).

REFERENCES

1. Rajala MW, Scherer PE. 2003. Minireview: The adipocyte-at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 144: 3765-3773.
2. Chen L, Liu L, Luo Y, Huang S. 2008. MAPK and mTOR pathways are involved in cadmium-induced neuronal apoptosis. *J Neurochem* 105: 251-261.
3. Drenick EJ, Bale GS, Seltzer F, Johnson DG. 1980. Excessive mortality and causes of death in morbidly obese men. *JAMA* 243: 443-445.
4. Garrison R, Feinleib M, Castelli WP, McNamara PM. 1983. Cigarette smoking as a confounder of the relationship between relative weight and long-term mortality. The Framingham Heart Study. *JAMA* 249: 2199-2203.
5. Kannel WB, McGee DL, Schatzkin A. 1984. An epidemiological perspective of sudden death. 26-year follow-up in the Framingham Study. *Drugs* 28: 1-16.
6. Gordon T, Kannel WB. 1982. Multiple risk functions for predicting coronary heart disease: the concept, accuracy, and application. *Am Heart J* 103: 1031-1039.
7. Hubert IF, Lunel F, Cadranet JF, Oberti F, Cales P. 1993. Treatment of chronic hepatitis C with amantadine. *Am J Gastroenterol* 94: 2316-2317.
8. Molteni R, Barnard RJ, Ying Z, Roberts CK, Gomez-Pinilla F. 2002. A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience* 112: 803-814.
9. Unger TJ, Calderon GA, Bradley LC, Sena-Esteves M, Rios M. 2007. Selective deletion of *Bdnf* in the ventromedial and dorsomedial hypothalamus of adult mice results in hyperphagic behavior and obesity. *J Neurosci* 27: 14265-14274.

10. Wang C, Bomberg E, Levine A, Billington C, Kotz CM. 2007. Brain-derived neurotrophic factor in the ventromedial nucleus of the hypothalamus reduces energy intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R1037-R1045.
11. Neeper SA, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman CW. 1996. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res* 726: 49-56.
12. Levinger I, Goodman C, Matthews V, Hare DL, Jerums G, Garnham A, Selig S. 2008. BDNF, metabolic risk factors, and resistance training in middle-aged individuals. *Med Sci Sports Exerc* 40: 535-541.
13. Lee SH. 2002. Effect of long-term swimming exercise of proteins for BDNF and immediate-early gene in rat brain. *The Korean Journal of Physical Education* 42: 799-807.
14. Lee JK, An EN. 2008. The effect of regular exercise and taurine supplementation on nNOS, NGF and BDNF of hippocampus in seizure induced mice model. *The Korean Journal of Physical Education* 47: 471-480.
15. Cotman CW, Engesser-Cesar C. 2002. Exercise enhances and protects brain function. *Exerc Sport Sci Rev* 30: 75-79.
16. Wirth MJ, Brun A, Grabert J, Patz S, Wahle P. 2003. Accelerated dendritic development of rat cortical pyramidal cells and interneurons after biolistic transfection with BDNF and NT4/5. *Development* 130: 5827-5838.
17. Han JC, Liu QR, Jones M, Levinn RL, Menzie CM, Jefferson-George KS, Adler-Wailes DC, Sanford EL, Lacbawan FL, Uhl GR, Rennert OM, Yanovski JA. 2008. Brain-derived neurotrophic factor and obesity in the WAGR syndrome. *N Engl J Med* 359: 918-927.
18. Barzilai N, Wang J, Massilon D, Vuguin P, Hawkins M, Rossetti L. 1997. Leptin selectively decreases visceral adiposity and enhances insulin action. *J Clin Invest* 100: 3105-3110.
19. Buettner R, Newgard CB, Rhodes CJ, O'Doherty RM. 2000. Correction of diet-induced hyperglycemia, hyperinsulinemia, and skeletal muscle insulin resistance by moderate hyperleptinemia. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278: E563-E569.
20. Friedman JM, Halaas JL. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 395: 763-770.
21. O'Doherty RM, Anderson PR, Zhao AZ, Bornfeldt KE, Newgard CB. 1999. Sparing effect of leptin on liver glycogen stores in rats during the fed-to-fasted transition. *Am J Physiol* 277: E544-E550.
22. Zhou YT, Shimabukuro M, Koyama K, Lee Y, Wang MY, Trieu F, Newgard CB, Unger RH. 1997. Induction by leptin of uncoupling protein-2 and enzymes of fatty acid oxidation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 6386-6390.
23. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannessian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. 1996. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 334: 292-295.
24. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S, Kern PA, Friedman JM. 1995. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and *ob* RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Med* 1: 1155-1161.
25. Mazzeo RS, Brooks GA, Horvath SM. 1984. Effects of age on metabolic responses to endurance training in rats. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 57: 1369-1374.
26. Scarpace PJ, Zhang Y. 2009. Leptin resistance: a predisposing factor for diet-induced obesity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 296: R493-R500.
27. Patterson CM, Dunn-Meynell AA, Levin BF. 2008. Three weeks of early-onset exercise prolongs obesity resistance in DIO rats after exercise cessation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294: R290-R301.
28. Levin BE. 2007. Neurotrophism and energy homeostasis: perfect together. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R988-R991.
29. Molteni R, Wu A, Vaynman S, Ying Z, Barnard RJ, Gomez-Pinilla F. 2004. Exercise reverses the harmful effects of consumption of a high-fat diet on synaptic and behavioral plasticity associated to the action of brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience* 123: 429-440.
30. Sahu A, Nguyen L, O'Doherty RM. 2002. Nutritional regulation of hypothalamic leptin receptor gene expression is defective in diet-induced obesity. *J Neuroendocrinol* 14: 887-893.