

Insulin-like Growth Factor-I Induces FATP1 Expression in C2C12 Myotubes

Hye Jin Kim and Won Jun Lee*

Department of Exercise Science, College of Health Sciences, Ewha Womans University, Seoul 120-808, Korea

Received October 3, 2014 / Revised October 13, 2014 / Accepted October 15, 2014

Fatty acid transporter protein 1 (FATP1) is highly expressed in skeletal muscle and modulates fatty acid uptake and metabolism. However, the influence of insulin-like growth factor-I (IGF-I), a master regulator of skeletal muscle cells, on FATP1 in skeletal muscle cells has not been demonstrated. To investigate the effect of IGF-I on FATP1 and the expression of the IGFBP5 protein, differentiated C2C12 murine skeletal muscle cells were treated with 20 ng/ml of IGF-I at different time points. The results showed that IGF-I increased FATP1 and IGFBP5 protein expression in a time-dependent manner. To determine whether this induction of FATP1 by the IGF-I treatment was regulated pretranslationally, the mRNA level of FATP1 was measured by real-time quantitative PCR. The IGF-I treatment resulted in very rapid induction of the FATP1 mRNA transcript in C2C12 myotubes. FATP1 mRNA increased 169% and 132% after 24 and 48 h of the IGF-I treatment, respectively, and it returned to control levels after 72 h of the treatment, suggesting that the *FATP1* gene is regulated pretranslationally by IGF-I in skeletal muscle cells. This is the first evidence that IGF-I can regulate the expression of FATP1. In conclusion, IGF-I induced rapid transcriptional modification of the *FATP1* gene in C2C12 skeletal muscle cells and had modulating effects on fatty acid uptake proteins and oxidative proteins.

Key words : C2C12 myotube, FATP1 (Fatty acid transporter protein 1), fatty acids, IGF-I lipid metabolism

서 론

비만과, 제 2형 당뇨병으로 대표되는 대사증후군(metabolic syndrome)은 고인슐린혈증(hyperinsulinemia), 고지혈증(hyperglycemia), 이상지혈증(dyslipidemia), 고혈압(hypertension) 등을 함께 포괄하는 개념으로, 위와 같은 질병들이 있어 공통적으로 나타나는 전형적 특징이 인슐린 저항성(insulin resistance)이다[23]. 인슐린 저항성을 유도하는 원인에는 여러 기전이 존재하는 것으로 알려져 있으며, 그 중 혈장 내 긴사슬지방산(long-chain fatty acid, LCFA) 농도의 증가와 저장(uptake)의 과도한 증가, 근육세포 내 중성지방(intramyocellular triacylglycerol, IMTG)의 축적이 주요 원인 중 하나로 밝혀져 있다[2, 17, 19].

골격근에서 LCFA의 저장량이 증가하고, 이를 에너지원으로 소비하는 정도가 손상되는 불균형한 대사 시스템이 지속될 경우 세포 내에서는 지방산 대사산물들(i.e., fatty acyl-CoA, diacylglycerol)의 축적이 일어나고[14, 22], 그 결과 인슐린 신호체계가 손상되어 인슐린 저항성이 야기된다[26, 27].

따라서 골격근 세포가 LCFA 수준의 균형을 적정 수준으로 유지하는 것은 매우 중요한 능력이며, 이러한 LCFA의 저장과 사용 정도의 균형을 조절하는데 중심적인 역할을 하는 것이 지방산 수송체(fatty acid transporter proteins, FATPs)이다[2, 25].

FATPs는 사람의 경우 FATP 1-6까지 6개, 쥐의 경우 1-5까지 5개의 유사한 형태가 발견되어 있으며[9, 24], 과발현 되었을 때 지방산의 저장을 증가시킨다고 보고되어 있다[9, 14]. 최초로 FATPs의 역할이 밝혀진 것은 쥐의 지방세포의 cDNA library로부터 발현 클로닝(expression cloning)을 통해 지방세포에서 FATPs를 과발현 시켰을 때 지방산의 흡수가 촉진되었음이 관찰되면서 시작되었다[24]. 이후 뇌, 골격근, 심장, 신장 등에서도 동일한 현상이 관찰되었고[11], 나아가 지방산에 에너지원으로 사용하는 관련된 모든 조직에서 발현되는 것으로 밝혀졌다[15]. 이들은 insulin 등과 같은 호르몬뿐만 아니라 내독소(endotoxin), TNF- α , IL-1, PPAR (activators of peroxisome proliferator activatedreceptor) α , γ 등과 같은 염증관련 인자들에 의해서도 조절되는 것으로 알려져 있다[9, 18].

FATPs의 하위 형태들은 각기 다른 조직들에서 필요로 하는 대사 활동을 특이적으로 수행한다[9]. 이 중 FATP1은 지방 조직과 골격근에서 특이적으로 높게 발현되는 것으로 보고 되어 있다[9, 12]. 골격근은 글루코스를 비롯한 지방산의 저장 및 산화가 유기적으로 일어남으로써 에너지 항상성을 유지하는 대표적인 조직이다. 그러나 골격근에서 지방산 저장 및 사용에 중요한 역할을 하는 FATP1의 발현을 조절하는 인자들에

*Corresponding author

Tel : +82-2-3277-2563, Fax : +82-2-3277-2846

E-mail : jun@ewha.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

대한 이해는 매우 부족한 실정이다. 비록 최근 들어 운동이 FATP1의 발현을 어떻게 조절하는지에 관한 연구 결과들이 보고되고 있고, 트레이닝의 상태에 따라 골격근에서 LCFA 수송체의 mRNA 또는 단백질 발현이 변화하고, 운동 강도에 따라 조절된다는 보고들도 이루어지고 있지만[16, 26], 상반된 실험 결과들을 종합하여 결론을 내리기 위한 후속 연구가 필요한 실정이다.

IGF-I (insulin-like growth factor-I)은 인슐린과의 구조적 유사성 때문에 인슐린 유사 성장인자로도 불리며, 특히 골격근 세포의 성장 및 분화(differentiation)에 매우 중요한 매개체로 알려져 있다[1, 6]. 골격근에서 IGF-I의 역할에 관한 연구들은 주로 근육 관련 전사 인자(transcription factor)들의 발현을 증가시키고, 근단백질 합성을 증가시켜 골격근의 발달, 성장, 회복, 그리고 근 부피 유지 및 증대에 필수적인 요소임을 밝혀내는데 집중되어왔다. 그러나 인슐린 결핍에 의한 당뇨, 또는 고인슐린혈증에 있어 IGF-I은 심혈관계에 중요한 매개체로 작용하며, 고혈당상태의 조직에서도 IGF-I의 발현이 민감하게 조절되는 등[4, 5], 대사 관련 인자들에 미치는 다양한 생리적 효과에 대한 연구들이 꾸준히 이루어지고 있다.

이와 같이 근육조직 및 세포에서 IGF-I에 의한 근육관련 유전자 발현뿐만 아니라 근육 대사 체계에 미치는 영향에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으나, 골격근 에너지 대사에 필수적인 역할을 하는 지방 대사에 있어 IGF-I이 어떠한 영향을 미치는가에 관한 이해는 매우 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 골격근 세포에서 지방산의 저장과 산화를 통한 에너지 대사의 균형을 유지하는데 있어 중심적인 역할을 하는 FATP1의 발현 조절에 IGF-I이 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

세포 배양 및 시약 처리

본 연구에서 사용한 C2C12 골격근 세포는 American Type of Culture Collection (ATCC, USA)으로부터 구입하였으며, 10% fetal bovine serum (FBS) (Hyclone, Logan, UT), 100 U/ml의 penicillin G, 100 µg/ml의 streptomycin sulfate (Welgene, KOREA)를 함유하고 있는 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Welgene, KOREA)으로 37°C, 5% CO₂의 환경에서 배양하였다. 세포는 35 mm plate에 2.5×10⁵ 개씩 분주하고 90% 이상 자라면, 배지를 제거하고 2% horse serum (HS) (Hyclone, Logan, UT)이 함유된 분화 배지, IGF-I

을 함유한 분화배지로 각각 교체하여 배양하였다. FATP1의 mRNA와 단백질 발현 및 IGFBP 단백질 발현의 변화를 알아보기 위하여 20 ng/ml의 IGF-I (Sigma Aldrich, St. Louis, MO)을 시간별로 처리하였다.

RNA 추출 및 cDNA 합성

RNA 추출은 TRIzol 용액(Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA)을 이용한 phenol-chloroform 기법을 사용하였다. TRIzol 용액을 well 당 각 600 µl 씩 넣고, 150 µl의 chloroform을 처리하여 섞어준 뒤 4°C, 13,000 rpm에서 15 분간 원심분리를 하였다. 상층액을 분리하여 isopropanol과 1:1 비율로 섞어준 뒤, 4°C, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리를 하였다. 생성된 pellet을 DEPC 용액으로 희석한 75% ETOH을 첨가하여 씻어내고, 4°C, 12,000 rpm에서 5분간 원심분리를 하였다. 최종 추출된 pellet을 상온에서 10분간 완전히 말린 뒤 ultra pure water 30 µl에 녹인 후, UV 흡광도 260 nm에서 농도를 측정하였다. 1 µg/µl의 RNA를 cDNA master mix (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA)와 혼합하여 25°C에서 10 분, 42°C에서 60분, 그리고 95°C에서 5분간 PCR을 이용해 cDNA를 합성하였다.

Real-time RT-PCR

FATP1의 mRNA 발현을 측정하기 위하여 double-stranded DNA dye인 SYBR Green PCR master mix (Finnzyme, Espoo, Finland)를 이용하여 real-time RT-PCR (ABI PRISM 7700 system) (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA)을 실시하였다. 사용한 primer sequence는 Table 1에 제시하였으며, 모든 Primer는 코스모사(Cosmo Genetech, KOREA)에서 제작 및 구입하여 사용하였다. 모든 샘플은 3회 반복 실험하여 합성시킨 cDNA를 2회 이상 반복 측정하였다. 95°C 15초, 60°C 30초간 40 cycle 을 측정하여 CT 값을 얻어내고, 용해 곡선 확인을 위해 40 cycle 이후 dissociation stage를 2회 반복하였다. 반응이 완료된 후 증폭곡선과 CT 값의 추출 지점을 확인하고, 단일 증폭 곡선을 확인한 뒤 최종적으로 CT 값을 데이터 처리하였다. 결과는 단순 CT 값 비교 분석 방법을 사용하였으며, mRNA 발현량은 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)의 CT 값으로 상대 정량 하여 보정하였다.

면역 형광 염색

분화배지 또는 IGF-I을 처리한 C2C12 세포를 PBS로 한번 씻어낸 뒤, plate에 고정시키기 위하여 1 ml의 4% form-

Table 1. Primer sequences for real-time RT-PCR

Gene	Forward primer	Reverse primer
FATP1	5'-AGGTGAAATCTGCCGCTACC-3'	5'-GAACTCCTCCCAGATGGCTG-3'
GAPDH	5'-ATGACAATGAATACGGCTACAGCAA-3'	5'-GCAGCGAACTTTATTGAT GGTATT-3'

aldehyde를 상온에서 20분간 처리한 뒤 TBS로 2회 씻어내고, 0.2% triton X-100을 함유한 TBS (0.2% TBST)로 5분간 상온에서 permeabilizing 하였다. 그 다음 0.1% TBST로 5분간 3번 씻어낸 후 5% BSA 를 함유한 0.1% TBST로 상온에서 1시간 동안 blocking 하였다. 이후 TBS로 1회 씻어낸 뒤 3% BSA를 함유한 TBS에 FATP1 polyclonal rabbit antibody, IGFBP5 polyclonal rabbit antibody (Abcam, Cambridge, UK)를 각 1:500으로 희석하여 4°C에서 12시간 동안 반응시켰다. 그 후, 0.1% TBST로 5분간 3회 세척한 뒤 alexa 568-conjugated goat anti-rabbit IgG secondary antibody (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA)를 3% BSA에 1:250으로 희석하여 상온에서 20분간 반응시킨 후 0.1% TBST로 5분간 3번 씻어 내었다. 세포 사진은 digital imaging system이 갖춰진 Axiovert 200 fluorescence microscope (Carl Zeiss, Germany)로 촬영하였다.

자료처리

IGF-I 처리에 따른 C2C12 세포에서의 FATP1 유전자 mRNA 발현의 유의성 검증을 위하여 SPSS 18.0 for window를 이용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였다($p < 0.05$).

결 과

mRNA 발현

C2C12 골격근 세포가 myotube로 분화하는 과정에 있어 FATP1 유전자의 mRNA 발현에 어떠한 변화가 나타나는지 측정해 본 결과 Fig. 1A에 제시된 바와 같이 FATP1의 mRNA 발현이 시간 의존적으로 증가하였음을 알 수 있었다. myotube로의 분화를 유도한지 24시간이 지난 상태를 기준으로 48시간 동안 분화를 유도하였을 때 FATP1의 mRNA 발현이 약 5% 가량 증가하였으나 통계적으로 유의하지 않았으며, 72시간이 지나자 약 63%($p < 0.05$), 그리고 96시간이 경과하였을 때는 약 114% 유의하게 증가하였다($p < 0.05$). 이후 시간 별(24, 48, 72, 96 시간)로 분화배지와, IGF-I 20 ng/ml를 함유한 분화배지를 각각 처리하여 IGF-I이 FATP1의 mRNA 발현에 미치는 영향을 알아보았다. 그 결과 Fig. 1B에 제시된 바와 같이 24시간 동안 IGF-I을 처리하자 약 169%($p < 0.05$), 48시간에서는 약 132%($p < 0.05$) (Fig. 1C)로 유의하게 증가하였으며, 72시간에서는 약 13%(Fig. 1D) 가량 발현이 증가하였으나 통계적으로 유의하지 않았다. 한편, 96시간에서는 발현이 감소하는 상반되는 경향을 나타내었다(Fig. 1E).

단백질 발현

나아가 근원세포가 다핵의 myotube를 형성하며 골격근 세포로 분화하는 과정에서 IGF-I이 FATP1과 IGFBP 단백질 발현

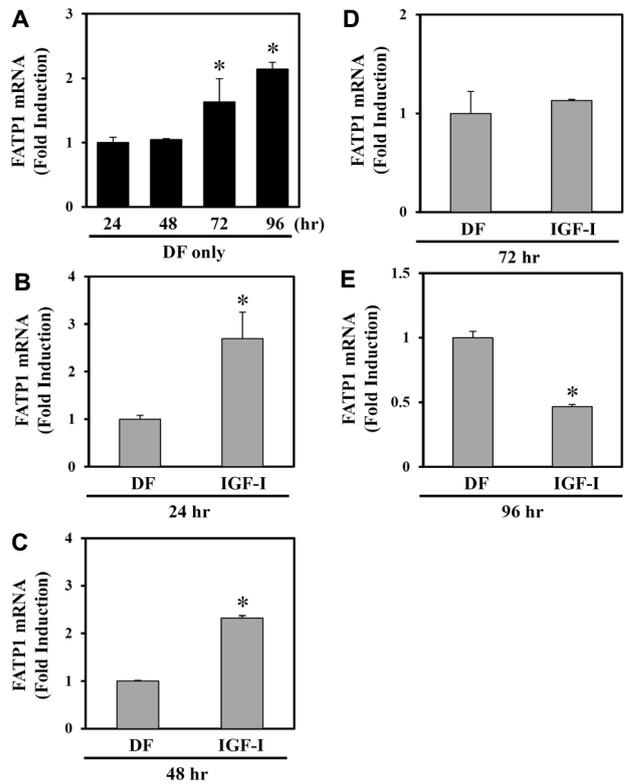


Fig. 1. FATP1 mRNA levels determined by real-time RT-PCR in C2C12 myotubes. FATP1 mRNA were time dependently expressed on differentiation medium (A). Regulation of FATP1 by IGF-I in C2C12 myotubes for 24 hr (B), 48 hr (C), 72 hr (D), or 96 hr (E) in the absence (DF) or presence of IGF-I (20 ng/ml). Target mRNA values are shown normalized to the GAPDH mRNA level for each sample. Samples were analyzed in duplicate in parallel with GAPDH. Values are means \pm SE from three independent experiments. * $p < 0.05$ vs. control.

에 어떠한 영향을 미치는지 관찰하기 위해 24, 48, 72, 그리고 96시간 동안 분화배지로 분화를 유도하고, 분화를 유도하는 과정에서 20 ng/ml의 IGF-I을 처리하여 면역 형광 염색 (immunocytochemistry)을 실시 하였다. Fig. 2에 제시된 바와 같이 24시간 동안 분화배지와 IGF-I을 각각 처리한 두 조건 모두에서 myotube의 형태가 아닌 근원세포에 가까운 형태가 관찰 되었으나, IGF-I을 처리하였을 때는 보다 많은 숫자의 세포가 관찰 되었으며, 더욱 두드러진 FATP1의 발현을 관찰 할 수 있었다. 이후, 동일한 조건으로 24시간을 더 관찰하여 본 결과 48시간 동안 IGF-I을 처리하였을 때에는 myotube의 형태가 조금 더 굵어진 형태를 볼 수 있었으며, FATP1의 단백질이 보다 증가되었음이 관찰 되었다. 계속해서 72시간, 96시간 동안 장시간 IGF-I을 처리하였을 때에는 앞서 24-48시간 동안의 변화와 매우 다른 변화를 관찰 할 수 있었는데, 72시간 동안 IGF-I을 처리하자 더 굵은 myotube의 형태뿐만 아니라 FATP1이 myotube 전반에 걸쳐 더욱 뚜렷하게 나타났음을

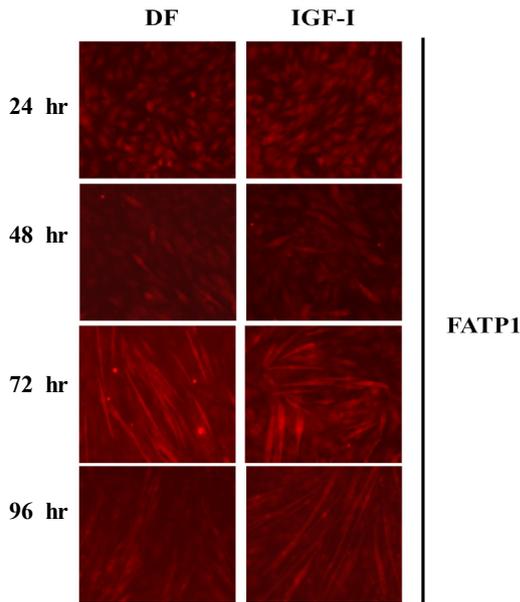


Fig. 2. Immunocytochemistry image showing the effect of IGF-I-induced FATP1 expression in C2C12 myotubes. C2C12 cells were treated with 2% horse serum media (differentiation media, DM) containing 20 ng/ml of IGF-I for various periods of time (24-96 hr). FATP1 is stained fluorescent red (alexa 568).

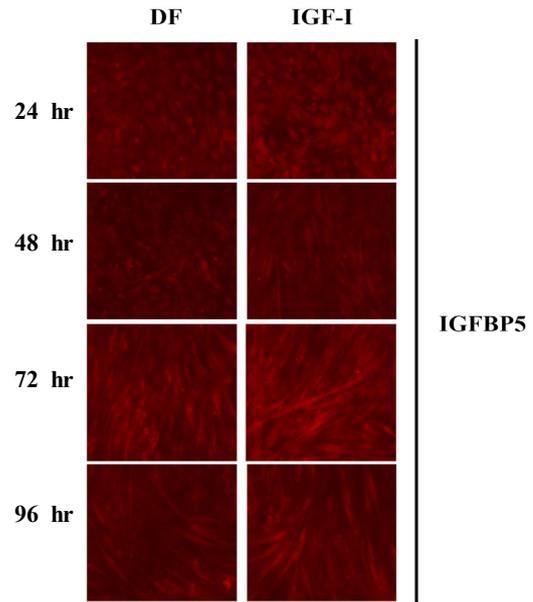


Fig. 3. Immunocytochemistry image showing the effect of IGF-I-induced IGFBP5 expression in C2C12 myotubes. C2C12 cells were treated with 2% horse serum media (differentiation media, DM) containing 20 ng/ml of IGF-I for various periods of time (24-96 hr). IGFBP5 is stained fluorescent red (alexa 568).

관찰할 수 있었다. 세포에 가혹 조건이라 할 수 있는 96 시간 동안의 분화 조건은 그림에 나타난 대로 myotube의 형태를 다소 선명하지 못하게 하였지만, 동시간 분화배지와 IGF-I를 함께 처리하였을 때는 tube가 길쭉하고 FATP1 단백질이 선명하게 나타나고 있음을 관찰 할 수 있었다. 동일한 조건으로 IGFBP5 단백질의 발현을 관찰한 결과 Fig. 3에 제시된 바와 같이 모든 시간대에 걸쳐 IGF-I를 처리한 세포가 분화배지만으로 분화를 유도한 세포에 비해 IGFBP5 단백질이 보다 뚜렷하게 관찰되었음을 확인할 수 있었다.

이와 같이 C2C12 골격근 세포의 분화 과정에 있어 IGF-I은 IGFBP5 단백질의 발현을 증가시키고 동시에 FATP1 단백질의 발현을 증가시켰음을 알 수 있었다.

고 찰

생명체가 정상적으로 살아가기 위한 에너지 항상성을 유지하기 위해서는 신체 각 조직에서 글루코스와 지방산등의 에너지원을 저장하고, 필요한 조직으로 이동 및 분배 하는 역할을 수행해야 한다. 대표적인 예로, 정상적인 탄수화물 대사 시스템에 있어 글루코스가 필요한 각 조직으로 적절히 분배되는 현상에는 여러 기전이 복합적으로 작용하지만, 특히 글루코스 운반 수송체(glucose transporters, GLUTs)가 간, 뇌, 근육 등 기타 여러 조직에서 각기 다른 형태로 특이적이게 발현되면서, 인슐린의 활동에 의해 조절 받는 특성을 가지기 때문임은

많은 연구들을 통해 밝혀져 왔다. 이와 마찬가지로 지방대사에 있어서도 조직 특이적으로 LCFA의 저장 및 수송, 사용 조절에 영향을 미치는 단백질이 존재한다.

현재 골격근 세포에서 LCFA 저장 및 사용을 매개하는 단백질로 FAT/CD36 (fatty acid translocase), FABPpm (plasma membrane-bound fatty acid binding protein), 그리고 FATP1이라는 3 가지 단백질들이 밝혀져 있다. 이들은 골격근에서 LCFA의 저장 및 사용을 매개하는 공통점을 가지며, 인슐린 등과 같은 호르몬의 자극뿐 만 아니라 운동에 의해서도 발현이 변화하는 것으로 보고되고 있다[2, 7, 16]. 관련 연구에 따르면 단발성 고강도 운동은 근막(sarcolemma)에서의 FAT/CD36 함량을 증가시키고, 장시간 지구성 트레이닝은 근막의 FABPpm의 함량을 증가시켰다고 보고하고 있다[10, 12, 14, 20, 28]. 이러한 결과들을 바탕으로 본 연구에서는 골격근의 성장 및 분화, 그리고 인슐린 신호 체계와 유사하게 조절되며 대사에 있어 중요한 역할을 하는 IGF-I이 지방산 수송 및 산화에 영향을 미치는 수송체 단백질 중 골격근에서 높은 발현을 나타내는 FATP1 유전자 및 단백질 발현에 어떠한 영향을 미치는지 알아보하고자 하였다.

첫 번째로 본 연구에서는 C2C12 골격근 세포의 분화과정에서 FATP1 유전자의 mRNA 발현이 보다 성숙한 myotube를 형성함에 따라 더욱 증가하였음을 확인하였다. 지금까지 C2C12 골격근 세포의 myotube 형성과 관련된 선행 연구들은 대부분 세포주기의 변화, 근육 관련 전사 인자들의 발현 변화,

이로 인한 근비대와 근위축 기전을 규명하는데 집중되어 왔다. 근육 조직에서 지방산을 에너지원으로 저장하고 산화시키는 메커니즘에 대한 연구가 활발했던 반면 근육 세포가 분화하는 과정에 있어 대사적 측면에 대한 이해, 더욱이 지방산 수송에 관여하는 수송체에 관한 연구는 전무하였던 것이 사실이다. 따라서 본 연구에서 C2C12 세포의 myotube로의 분화가 FATP1의 발현을 촉진시켰다는 것을 처음으로 관찰 한 점에 의의가 있겠다.

두 번째로, 본 연구에서는 IGF-I이 C2C12 골격근 세포의 분화를 촉진하는 과정에서 FATP1 유전자의 mRNA 발현과 단백질 발현을 조절하는 것으로 확인되었다. FATP1이 인슐린의 자극에 의해 발현이 조절된다는 선행 연구 결과들에 미루어 볼 때, 본 연구에서 IGF-I에 의한 FATP1 발현의 변화는 IGF-I이 인슐린의 작용과 깊은 상관관계 및 유사한 신호전달 체계를 가지기 때문일 것이라고 설명할 수 있을 것이다. 실제로 심근세포, 골격근 세포에서 인슐린의 결핍에 의해 IGF-I의 mRNA가 현저히 감소되었음이 보고된바 있다[5]. 또한, IGF-I이 골격근에 중요한 영향을 미치는 인자임이 잘 밝혀져 있다는 점에서 IGF-I이 FATP1의 발현을 조절하여 지방 대사를 촉진하고, 이러한 과정을 통해 근육 세포의 성장 및 발달에 역할을 할 수 있을 것이라는 추측도 가능 할 것이다. 비슷한 예로, IGF-I이 혈관의 형성과 혈압 조절 능력 등을 가지는데 있어, 다양한 대사 관련 인자들이 영향을 미친다는 연구들도 이루어진 바 있다[3, 5, 21].

본 연구에서는 IGF-I이 C2C12 myotube에서 FATP1 단백질의 발현을 증가시켰음을 관찰 할 수 있었으나, 기존에 알려진 대로 FATP1의 활성화 기전인 세포막으로의 이동을 확인하지는 못하였다. 본래 FATP1 단백질은 세포 내에 위치하다가 활성화되면 세포막으로 이동하며[9, 29], 이러한 단백질의 이동은 지방산의 저장을 증가 시킨다고 알려져 있다. 그러나 Garcia-Martinez 등[8]에 따르면, FATP1 단백질이 세포막으로 이동하지 않았음에도 불구하고, 지방산 흡수를 저장 시켰다고 보고하였다. 또한 본 연구에서는 IGF-I이 IGFBP5의 단백질 발현을 증가시켰음을 함께 확인해보았다. IGFBP5는 IGF-I이 IGF-IR와 결합 한 이후의 과정에서 생리적 역할을 다양하게 조절하는 역할을 한다[3, 4]. 이 중 IGFBP5는 골격근의 성장 및 발달에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있음과 동시에 IGF-I 독립적으로도 작용하는 것으로 보고된바 있다[13]. 비록 IGF-I에 의한 IGFBP5 단백질의 조절은 매우 잘 알려져 있는 기전이기에 때문에 이에 관한 논의는 큰 의미가 없겠지만, IGF-I이 IGFBP5를 통해 FATP1의 발현을 촉진했을 것으로 생각된다.

위와 같은 결과로 미루어 종합적으로 논의되어야 할 부분은, 과연 IGF-I이 근육세포에서 FATP1의 발현을 증가시킴으로써 지방산의 저장과 동시에 산화 능력을 증가시켰는지를 확인해 볼 필요가 있다는 것이다. 최근 연구에서 FATP1의 발

현 패턴은 골격근에서의 산화 능력을 결정한다고 보고하였는데, FATP1의 발현이 증가하자 지방산의 저장과 산화 능력이 평행하게 증가하였다고 보고하였다[12, 20]. 나아가 지구성 종목의 운동 선수들은 인슐린 민감성이 매우 높음에도 불구하고 IMTG 수준이 높은 상태를 보고하고 있는데, 이는 지구성 운동선수들이 가지고 있는 높은 산화능력 때문에 지구성 운동에 사용할 수 있는 LCFA를 높은 수준으로 저장하고 있기 때문이라고 설명하였다[27, 28]. 심지어 과체중의 비만인 일반인들에게 16주간의 유산소 운동을 처치하였을 때 인슐린 민감성과 산화능력의 증가와 더불어 IMCL의 증가도 함께 관찰 되었음이 보고된 바 있다[7, 14]. 이러한 결과는 운동에 의한 유산소 능력, 즉 산화 능력이 증가하면서 지방산 저장 능력이 함께 증가한다는 것을 의미하는 것으로 사료된다.

이러한 선행 연구들은 비록 FATP1의 발현 증가가 지방산 흡수 및 저장을 촉진시킨다 할지라도, 이러한 현상이 *in vivo*에서는 다양한 다른 단백질들과의 상호 작용을 통해 대사산물을 더욱 축적하거나, 오히려 산화를 증가시킬 수도 있을 것이라는 추측을 가능하게 한다. 따라서 이러한 맥락에서 IGF-I에 의한 FATP1의 발현 증가가 지방산의 저장을 증가시키는데 있어, 그리고 산화시키는데 있어 조력자의 역할을 하는 기타 매개체들과 어떠한 상호작용을 하는가에 대한 연구가 함께 진행되어야 할 것이다.

References

1. Baker, J., Liu, J. P., Robertson, E. J. and Efstratiadis, A. 1993. Role of insulin-like growth-factors in embryonic and post-natal-growth. *Cell* **75**, 73-82.
2. Bodin, G., Lebed, B., Schatz, M., Homko, C. and Lemieux, S. 2001. Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects. *Diabetes* **50**, 1612-1617.
3. Carroll, P. V., Christ, E. R., Umpleby, A. M., Gowrie, I., Jackson, N., Bowes, S. B., Hovorka, R., Croos, P., Sonksen, P. H. and Russell-Jones, D. L. 2000. IGF-I treatment in adults with type 1 diabetes-Effects on glucose and protein metabolism in the fasting state and during a hyperinsulinemic - euglycemic amino acid clamp. *Diabetes* **49**, 789-796.
4. D'Ercole, A. J., Ye, P. and O'Kusky, J. R. 2002. Mutant mouse models of insulin-like growth factor actions in the central nervous system. *Neuropeptides* **36**, 209-220.
5. Delafontaine, P., Song, Y. H. and Li, Y. 2004. Expression, regulation, and function of IGF-1, IGF-1R, and IGF-1 binding proteins in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **24**, 435-444.
6. Duan, C., Ren, H. and Gao, S. 2010. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins: roles in skeletal muscle growth and differentiation. *Gen Comp Endocrinol* **167**, 344-351.
7. Dube, J. J., Amati, F., Stefanovic-racic, M., Toledo, F. G., Sauer, S. E. and Goodpaster, B. H. 2008. Exercise-induced

- alterations in intramyocellular lipids and insulin resistance: the athlete's paradox revisited. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **294**, E882-888.
8. García-Martínez, C., Marotta, M., Moore-Carrasco, R., Guitart, M., Camps, M., Busquets, S., Montell, E. and Gómez-Foix, A. M. 2005. Impact on fatty acid metabolism and differential localization of FATP1 and FAT/CD36 proteins delivered in cultured human muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* **288**, C1264-1272.
 9. Gimeno, R. E. 2007. Fatty acid transport proteins. *Curr Opin Lipidol* **18**, 271-276.
 10. Hajri, T., Han, X. X., Bonen, A. and Abumrad, N. A. 2002. Defective fatty acid uptake modulates insulin responsiveness and metabolic responses to diet in CD36-null mice. *J Clin Invest* **109**, 1381-1389.
 11. Hirsch, D., Stahl, A. and Lodish, H. F. 1998. A family of fatty acid transporters conserved from mycobacterium to man. *Proc Natl Acad Sci USA* **95**, 8625-8629.
 12. Holloway, G. P., Chou, C. J., Lally, J., Stellingwerff, T., Maher, A. C., Gavrilova, O., Haluzik, M., Alkhateeb, H., Reitman, M. L. and Bonen, A. 2011. Increasing skeletal muscle fatty acid transport protein 1 (FATP1) targets fatty acids to oxidation and does not predispose mice to diet-induced insulin resistance. *Diabetologia* **54**, 1457-1467.
 13. Jones, J. I. and Clemmons, D. R. 1995. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev* **16**, 3-34.
 14. Kawaguchi, M., Tamura, Y., Kakehi, S., Takeno, K., Sakurai, Y., Watanabe, T., Funayama, T., Sato, F., Ikeda, S., Ogura, Y., Saga, N., Naito, H., Fujitani, Y., Kanazawa, A., Kawamori, R. and Watada, H. 2014. Association between expression of FABPpm in skeletal muscle and insulin sensitivity in intramyocellular lipid-accumulated non-obese men. *J Clin Endocrinol Metab* **99**, 3343-3352.
 15. Kazantzis, M. and Stahl, A. 2012. Fatty acid transport proteins, implications in physiology and disease. *Biochim Biophys Acta* **1821**, 852-857.
 16. Kiens, B., Roepstorff, C., Glatz, J. F., Bonen, A., Schjerling, P., Knudsen, J. and Nielsen, J. N. 2004. Lipid-binding proteins and lipoprotein lipase activity in human skeletal muscle: influence of physical activity and gender. *J Appl Physiol* **97**, 1209-1218.
 17. Kim, J. K., Fillmore, J. J., Chen, Y., Yu, C., Moore, I. K., Pypaert, M., Peer Lutz, E., Kako, Y., Velez-Carrasco, W., Goldberg, I. J., Breslow, J. L. and Shulman, G. I. 2001. Tissue-specific overexpression of lipoprotein lipase causes tissue-specific insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 7522-7527.
 18. Kim, J. K., Gimeno, R. E., Higashimori, T., Kim, H. J., Choi, H., Punreddy, S., Mozell, R. L., Tan, G., Stricker-Krongrad, A., Hirsch, D. J., Fillmore, J. J., Liu, Z. X., Dong, J., Cline, G., Stahl, A., Lodish, H. F. and Shulman, G. I. 2004. Inactivation of fatty acid transport protein 1 prevents fat-induced insulin resistance in skeletal muscle. *J Clin Invest* **113**, 756-763.
 19. Krssak, M., Falk Petersen, K., Dresner, A., DiPietro, L., Vogel, S. M., Rothman, D. L., Shulman, G. I. and Roden, M. 1999. Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* **42**, 113-116.
 20. Nickerson, J. G., Alkhateeb, H., Benton, C. R., Lally, J., Nickerson, J., Han, X. X., Wilson, M. H., Jain, S. S., Snook, L. A., Glatz, J. F., Chabowski, A., Luiken, J. J. and Bonen, A. 2009. Greater transport efficiencies of the membrane fatty acid transporters FAT/CD36 and FATP4 compared with FABPpm and FATP1 and differential effects on fatty acid esterification and oxidation in rat skeletal muscle. *J Biol Chem* **284**, 16522-16530.
 21. Norby, F. L., Wold, L. E., Duan, J. H., Hintz, K. K. and Ren, J. 2002. IGF-I attenuates diabetes-induced cardiac contractile dysfunction in ventricular myocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **283**, E658-666.
 22. Palanivel, R. and Sweeney, G. 2005. Regulation of fatty acid uptake and metabolism in L6 skeletal muscle cells by resistin. *FEBS Lett* **579**, 5049-5054.
 23. Schmitz-Peiffer, C. 2000. Signalling aspects of insulin resistance in skeletal muscle: mechanisms induced by lipid oversupply. *Cell Signal* **12**, 583-594.
 24. Schroeder, F., Jolly, C. A., Cho, T. H. and Frolov, A. 1998. Fatty acid binding protein isoforms: structure and function. *Chem Phys Lipids* **92**, 1-25.
 25. Simoneau, J., Veerkamp, J., Turcotte, L. and Kelly, D. 1999. Markers of capacity to utilize fatty acids in human skeletal muscle; relation to insulin resistance and obesity and effects of weight loss. *FASEB J* **13**, 2051-2060.
 26. Tunstall, R. J., Mehan, K. A., Wadley, G. D., Collier, G. R., Bonen, A., Hargreaves, M. and Cameron-Smith, D. 2002. Exercise training increases lipid metabolism gene expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **283**, E66-72.
 27. Van Loon, L. and Goodpaster, B. 2006. Increased intramuscular lipid storage in the insulin-resistant and endurance-trained state. *Pflugers Arch* **451**, 606-616.
 28. Van Loon, L., Koopman, R., Manders, R., Van Der Weegen, W., Van Kranenburg, G. and Keizer, H. 2004. Intramyocellular lipid content in type 2 diabetes patients compared to overweight sedentary men and highly trained endurance athletes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **287**, E558-565.
 29. Wu, Q., Ortegon, A. M., Tsang, B., Doege, H., Feingold, K. R. and Stahl, A. 2006. FATP1 is an insulin-sensitive fatty acid transporter involved in diet-induced obesity. *Mol Cell Biol* **26**, 3455-3467.

초록 : C2C12 myotube에서 Insulin-like growth factor-I 이 FATP1 발현에 미치는 영향

김혜진 · 이원준*

(이화여자대학교 건강과학대학 체육과학과)

본 연구에서는 C2C12 근육 세포에서 IGF-I이 지방산 저장과 사용에 영향을 미치는 FATP1의 mRNA 및 단백질 발현에 미치는 영향에 대해 알아보았다. 그 결과 IGF-I이 FATP1의 단백질과 mRNA 발현을 유의성 있게 조절하였음을 알 수 있었다. 이는 골격근에서 IGF-I이 근육 관련 유전자들의 발현을 조절하여 근부피 유지 및 증대에 중심적인 역할을 한다는 기존의 연구 패턴들에서 벗어나, IGF-I이 골격근 세포의 분화에 있어 지방산의 수송을 담당하는 FATP1의 발현에도 영향을 미친다는 사실을 증명하였다는데 의의가 있다고 사료된다. 향후 IGF-I에 의한 FATP1의 지방산 저장의 수준과 산화 과정에 있어 상호작용하는 기타 매개체들과의 관계에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.