

Insulin-like Growth Factor-I Regulates the FAT/CD36 Expression in C2C12 Skeletal Muscle Cells

Hye Jin Kim, Hae Min Yoon, Tae Young Kim and Won Jun Lee*

Department of Kinesiology and Sports Studies, College of Science and Industry Convergence, Ewha Womans University, Seoul 03760, Korea

Received March 31, 2016 / Revised April 19, 2016 / Accepted April 19, 2016

Fatty acid transporters are key mediators of skeletal muscle lipid metabolism. Several protein groups have been implicated in cellular long-chain fatty acid uptake or oxidation, including fatty acid transporter proteins (FATPs), the plasma membrane fatty acid-binding protein (FABPpm), and the fatty acid translocase (FAT/CD36). FAT/CD36 is highly expressed in skeletal muscle and known to be regulated by various factors such as exercise and hormones. Insulin-like growth factor-I (IGF-I) is a well-known regulator of skeletal muscle cells. However, it has not been studied whether there is any interaction between IGF-I and FAT/CD36 in skeletal muscle cells. In this study, the effects of IGF-I treatment on FAT/CD36 induction were examined. Differentiated C2C12 cells were treated with 20 ng/ml of IGF-I at different time points. Treatment of C2C12 cells with IGF-I resulted in increased FAT/CD36 mRNA and protein expression. After 24 and 48 hr of IGF-I treatment, FAT/CD36 mRNA increased 89% and 24% respectively. The increase of both proteins returned to the control level after 72 hr of IGF-I treatment, suggesting that the *FAT/CD36* gene is regulated pretranslationally by IGF-I in skeletal muscle cells. These results suggest that IGF-I can regulate the expression of FAT/CD36 in skeletal muscle cells. In conclusion, IGF-I induces a rapid transcriptional modification of the *FAT/CD36* gene in C2C12 skeletal muscle cells and has modulating effects on fatty acid uptake proteins as well as oxidative proteins.

Key words : C2C12 myotube, FAT/CD36, fatty acids, fatty acid transporters, IGF-I

서 론

골격근 대사에 있어 지방은 많은 저장량을 바탕으로 신체활동에 중요한 에너지원으로 사용되며, 골격근에서 지방산의 세포막 이동을 매개하는 단백질(fatty acid transporter)과 지질 결합 단백질(lipid binding proteins)에 대한 다양한 연구들이 진행되어왔다[16, 17]. 지방산의 이동 및 흡수에 관여하는 단백질로 FABPpm (plasma membrane-bound fatty acid binding protein), FAT/CD36 (fatty acid translocase), FATP (fatty acid transporter protein)의 3가지 수송 단백질이 밝혀져 있으며 이들은 세포막에서 지방산을 받아들이는 역할을 한다[22].

FAT/CD36은 심장과 지방세포, 골격근 조직에서 지방산 수송의 역할을 한다[1, 7, 8]. FAT/CD36은 FABPpm과 FATP와 달리, 대부분의 종(species)의 간과 뇌에서는 낮게 발현되는 반면[15], 골격근에서 높게 발현되고 해당섬유(glycolytic fiber)에 비해 산화섬유(oxidative fiber)에서의 발현이 더 풍부

한 것으로 밝혀져 있다[5, 18, 27]. 뿐만 아니라, FAT/CD36은 class B scavenger receptor 단백질로써 혈관형성(angiogenesis), 죽상동맥경화증(atherosclerosis), 염증(inflammation)과 지질대사에도 관여하는 것으로 보고 되어있다[9, 13].

FAT/CD36은 근 수축 또는 인슐린 작용에 의해 세포 내부에서 세포막(plasma membrane)으로 이동하며, 이동이 증가한 FAT/CD36은 근 조직으로의 지방산 흡수를 증가시킨다[3, 6]. 반면, 인슐린 자극에 의한 FAT/CD36의 이동 기전은 인슐린 자극에 의한 GLUT4 이동 기전과 유사한 것으로 보이나, FAT/CD36의 이동을 촉진하는 신호전달 경로에 관해서는 정확히 알려져 있지 않으며[9, 20], 운동에 의한 FAT/CD36의 이동 기전에 관한 이해 또한, 아직까지 충분히 밝혀지지 못하고 있다[17].

골격근에 반복적인 부하를 가하며 수축과 이완을 반복하는 저항성 운동은 다양한 신호전달 경로를 활성화시켜 근비대(muscle hypertrophy)를 유도할 수 있다. 한편 물리적 화학적인 다양한 원인에 의해 근위축(muscle atrophy) 및 근육 손상이 발생할 수 있으며, 이후 재생될 수 있다[17, 23]. 이러한 근비대 및 재생 과정은 근육 위성 세포(muscle satellite cells)의 증식 및 분화에 의해 기존의 근섬유와 융합하는 방법으로 이루어진다[17, 21, 25]. 위성세포의 증식과 분화를 유도하는 요인들 중 대표적인 요소로 근수축에 의해 증가되는 인슐린 유사성장인자(insulin-like growth factor-I, IGF-I)가 있다.

*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.

IGF-I은 대부분의 모든 조직에서 합성되며, 골격근 세포의 증식과 성장, 분화에 특히 중요한 역할을 한다[12, 19]. 최근에는 위와 같은 근비대 기전뿐만 아니라, 당뇨, 고인슐린혈증, 고혈압 등 여러 대사적 질환들과 IGF-I이 잠재적으로 연관성이 있음이 보고되고 있다[12, 14, 24]. Berryman 등[2]에 따르면 IGF-I은 GH (growth hormone)과 함께 대사 및 체성분을 조절하는 역할을 하며, 복부비만이 있는 폐경기 여성에 있어 낮은 혈장 IGF-I 농도가 나타났음을 보고하였다.

위와 같이 IGF-I은 골격근 부피뿐만 아니라 대사 항상성과도 깊은 관련이 있으며, 이에 관한 연구의 필요성이 요구되고 있다. 그러나 에너지 대사의 주요 소비원으로 많은 비중을 차지하는 골격근 지방 대사의 중요 기전인 지방산 수송체와 관련하여 IGF-I이 어떠한 역할을 하는지에 대한 연구는 많이 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 IGF-I이 골격근 세포에서 지방산의 이동 및 저장, 산화에 있어 중요한 역할을 하는 FAT/CD36의 발현에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

세포 배양 및 시약 처리

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 2.5×10⁵개씩 분주하여 90% 이상 자라도록 배양한 뒤, 배지를 제거하고 2% horse serum (HS) (Hyclone, Logan, UT)이 함유된 분화 배지, IGF-I을 함유한 분화배지로 각각 교체하여 배양하였다. 또한 20 ng/ml의 IGF-I (Sigma Aldrich, St. Louis, MO)을 시간 별로 처리하여 FAT/CD36 mRNA와 단백질 발현 변화를 알아보았다.

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 15분간 원심분리를 하였다. 상층액을 분리한 뒤, isopropanol과 1:1 비율로 섞어 4°C, 12,000 rpm에서 10분간 원심분리를 하였다. 이때 생성된 pellet을 DEPC 용액으로 희석한 75% ETOH을 이용

하여 씻은 다음 4°C, 12,000 rpm에서 5분간 원심분리를 하였다. 최종적으로 추출된 pellet은 상온에서 10분간 완전히 건조시킨 뒤 ultra pure water 30 µl에 녹여 UV 흡광도 260 nm에서 농도를 측정하였다. 1 µg/µl의 RNA를 cDNA master mix (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA)와 혼합하여 25°C에서 10분, 42°C에서 60분, 그리고 95°C에서 5분간 PCR을 이용해 cDNA를 합성하였다.

Quantitative RT-PCR

FAT/CD36의 mRNA 발현을 측정하기 위하여 double-stranded DNA dye인 SYBR Green PCR master mix (Kappa, USA)를 사용하여 quantitative RT-PCR (ABI PRISM 7700 system) (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA)을 실시하였다. 사용된 Primer는 마크로젠(Macrogen, Korea)에서 제작 및 구입하여 사용하였으며, primer sequence는 Table 1에 제시되었다. 모든 샘플은 3회 반복 실험하여 합성시킨 cDNA를 2회 이상 반복 측정하였다. 95°C 15초, 60°C 30초간 40 cycle을 측정하여 CT 값을 얻어내고, 융해 곡선 확인을 위해 40 cycle 이후 dissociation stage를 2회 반복하였다. 결과는 단순 CT 값 비교 분석 방법을 사용하였으며, mRNA 발현량은 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)의 CT 값으로 상대 정량하여 보정하였다.

면역 형광 염색

분화배지 또는 IGF-I을 처리한 C2C12 세포를 PBS로 세척한 후, 1 ml의 4% formaldehyde를 이용해 상온에서 20분간 처리하여 plate에 세포를 고정시켰다. 이후 TBS로 2회 씻어내고, 0.2% triton X-100을 함유한 TBS (0.2% TBST)로 5분간 상온에서 permeabilizing하였다. 그 다음 0.1% TBST로 5분간 3회 씻어낸 후, blocking을 위해 5% BSA를 함유한 0.1% TBST로 상온에서 1시간 동안 처리하였다. 이후 TBS로 1회 씻어낸 뒤, 3% BSA를 함유한 TBS에 FAT/CD36 polyclonal rabbit antibody (Abcam, Cambridge, UK)를 1:500으로 희석하여 4°C에서 12시간 동안 반응시켰다. 그 후, 0.1% TBST로 5분간 3회 세척한 뒤 alexa 488-conjugated goat anti-rabbit IgG secondary antibody (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA)를 이용하여 3% BSA에 1:250으로 희석하여 상온에서 20분간 반응시킨 다음 0.1% TBST로 5분간 3회 씻어내었다. 세포 사진은 digital imaging system이 갖춰진 Axiovert 200 fluorescence microscope (Carl Zeiss, Germany)로 촬영하였다.

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

Gene	Forward primer	Reverse primer
FAT/CD36	5'-TGGCCTTACTTGGGATTGG-3'	5'-CCAGTGTATATGTAGGCTCATCCA-3'
GAPDH	5'-ATGACAATGAATACGGCTACAGCAA-3'	5'-GCAGCGAACTTTATTGATGGTATT-3'

자료처리

IGF-I 처리에 따른 C2C12 세포에서의 *FAT/CD36* mRNA 발현의 유의성 검증을 위하여 SPSS 18.0 for window를 이용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였다($p < 0.05$).

결 과

***FAT/CD36*의 mRNA 발현**

C2C12 골격근 세포가 myotube로 분화하는 과정에 있어 *FAT/CD36*의 mRNA 발현에 어떠한 변화가 나타나는지 관찰한 결과, Fig. 1A에서 제시된 바와 같이 시간 의존적으로 *FAT/CD36*의 mRNA 발현이 증가됨을 볼 수 있었다. 24시간 동안 분화를 유도한 것을 기준으로, 48시간 동안 분화시킨 경우 약

515%, 72시간에서는 약 721%, 96시간에서 약 1,078% 유의하게 증가하였음을 알 수 있었다. 또한 C2C12 골격근 세포가 myotube로 분화하는 과정에 있어 IGF-I이 *FAT/CD36* mRNA 발현에 미치는 영향을 분석한 결과, Fig. 1B와 같이 IGF-I 처리 24시간을 기준으로 48시간에서 300% 가량 발현이 증가하였으며, 이러한 발현 증가 현상은 72시간에서 96시간까지 지속되는 경향을 보였다. 이후 각 시간별로 분화배지와 IGF-I을 동일 시간 처리한 후 *FAT/CD36* mRNA 발현량을 비교한 결과, 24시간 동안 IGF-I과 함께 분화를 유도하자 약 89% 유의하게 증가하였고(Fig. 1C), 48시간 후 약 24% 증가하였으나 유의하지 않았다(Fig. 1D). 72시간이 지나자 분화배지만을 처리한 그룹과 IGF-I을 처리한 그룹의 발현양이 비슷한 수준으로 되돌아 왔으며(Fig. 1E), 96시간이 경과한 후에는 30% 가량 유의하게 감소하는 결과를 얻을 수 있었다(Fig. 1F).

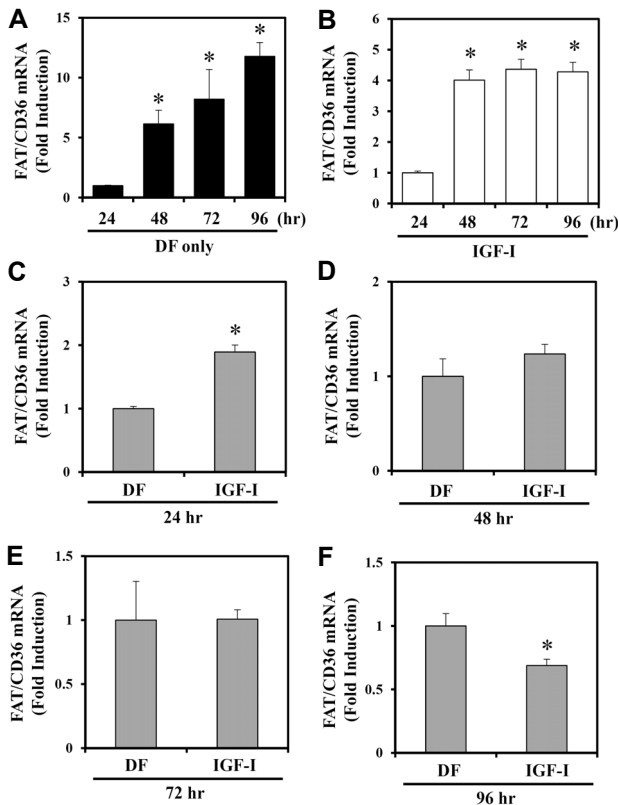


Fig. 1. *FAT/CD36* mRNA levels determined by real-time RT-PCR in C2C12 skeletal muscle cells. *FAT/CD36* mRNA were time dependently expressed on differentiation medium (A). Expression of *FAT/CD36* mRNA on differentiation medium treated with 20 ng/ml of IGF-I (B). Regulation of *FAT/CD36* by IGF-I in C2C12 myotubes for 24 hr (C), 48 hr (D), 72 hr (E), or 96 hr (F) 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.

***FAT/CD36*의 단백질 발현**

동일한 조건으로 C2C12 골격근 세포의 분화과정에서 IGF-I이 *FAT/CD36* 단백질 발현에 미치는 영향을 관찰하였다. Fig. 2에서 제시된 바와 같이 24시간 동안 분화를 유도한 두 조건에서 모두 myotube의 형태가 아닌 근원세포에 가까운 형태가 관찰되었으나, IGF-I을 처리한 조건에서는 *FAT/CD36*의 발현이 광범위하게 나타났음을 관찰할 수 있었다. 24시간 동안 분화를 더 유도하여 48시간이 경과하자, IGF-I을 처리한

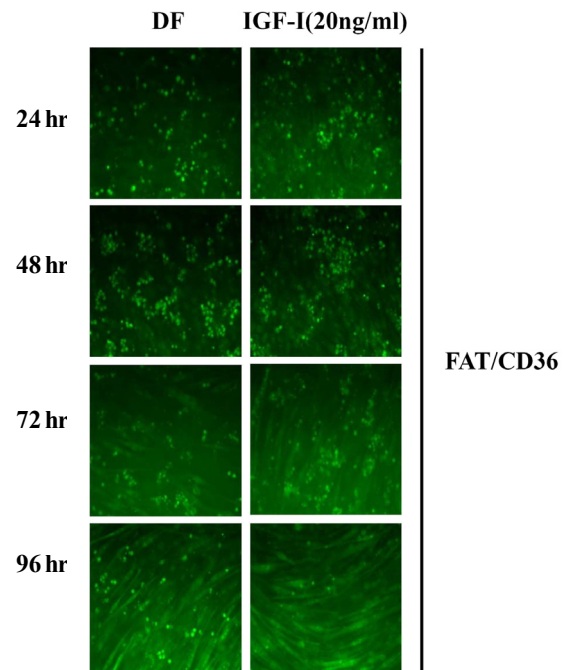


Fig. 2. Immunocytochemistry image showing the effect of IGF-I-induced *FAT/CD36* expression in C2C12 myotubes. C2C12 cells were treated with differentiation media (DF) containing 20 ng/ml of IGF-I for various periods of time (24-96 hr). *FAT/CD36* is stained fluorescent green.

조건에서 더욱 선명하고 많은 수의 FAT/CD36 단백질을 관찰할 수 있었다. 또한 72시간이 지난 후에는 myotube의 숫자가 증가하였으며, IGF-I을 처리한 조건에서 증가된 myotube 전반에 걸쳐 FAT/CD36 단백질이 발현된 것을 확인할 수 있었다. 반면, 96시간이 지나자 분화배지만을 처리한 myotube와 IGF-I을 처리한 myotube 모두 증가한 myotube의 개수만큼 전반적인 FAT/CD36 단백질의 발현이 높게 관찰되었다. 이와 같이 IGF-I은 C2C12 골격근 세포의 분화 과정에 있어 FAT/CD36 단백질 발현을 증가시키는 것으로 나타났으며, 특히 myotube가 형성된 이후에 FAT/CD36의 발현이 보다 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

고 찰

골격근에서 유산소적 대사과정을 통한 ATP 합성 연료로 사용되는 물질은 크게 탄수화물과 지방으로 나뉜다. 탄수화물은 총 에너지 저장량의 5% 미만인 반면, 지방은 저장량의 대부분을 차지하며 근육세포 내에는 중성지방의 형태(intramyocellular triacylglycerol, IMTG)로 저장되어있다[1, 26]. IMTG는 운동 중 중요한 대사적 연료로 사용되지만[11], 산화율이 저장량에 미치지 못할 경우 중성지방과 지방산 대사 물질 축적을 야기하여 비만이나 인슐린 저항성 증가의 원인이 된다[26]. 예를 들어 지구성 종목의 선수들은 트레이닝에 의한 적응현상으로 매우 높은 수준의 IMTG 저장력을 가지지만, 동시에 매우 높은 인슐린 민감성을 보인다. 이러한 현상은 골격근에서 나타나는 인슐린 저항성의 원인이 IMTG 저장량의 절대적 증가가 아닌 저장량과 산화율의 불균형으로 인한 현상일 가능성이 높다는 점을 시사한다. 따라서 골격근으로의 지방산 이동 및 저장, 그리고 미토콘드리아로의 지방산 이동에 영향을 미치는 다양한 기전에 관한 연구가 이루어지고 있다.

FAT/CD36은 골격근의 세포막과 미토콘드리아 막에 위치하여 지방산의 흡수를 매개하고 산화를 조절하는 등 골격근의 지방대사에 있어 중요한 역할을 한다[13]. 실제로 FAT/CD36을 제거한 쥐의 골격근과 심장근에서 지방산의 흡수가 정상 쥐에 비해 감소하였으며[4, 10, 17], 반대로 과발현 시킨 경우, 골격근의 지방산화가 높아지고, 혈중 중성지방과 지방산의 농도가 낮아지며, 지방세포의 크기가 현저히 감소되는 것으로 보고되어 있다[1, 7]. 이와 같이 골격근에의 정상적인 지방산 저장 능력과 산화 능력의 조절은 대사적 균형은 물론 에너지 활용 능력 향상에 필수 조건이지만, 이를 담당하는 지방산 수송체들의 발현을 조절하는 인자들에 관한 연구가 미흡한 실정이다. 최근 근세포의 증식 및 분화, 그리고 대사에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 IGF-I이 GH 의존적으로 에너지 대사를 조절하는데 중요한 역할을 한다는 연구들이 이루어지고 있다. GH은 지방 분해(lipolysis)를 촉진하고, 지방 생성(lipogenesis)을 억제하고, 간에서의 LDL 콜레스테롤 분해를 촉진하며,

나아가 골격근에서의 지방 산화와 단백질 합성, 근질량의 증가에 기여하는 것으로 보고되고 있다[2].

따라서 본 연구에서는 뇌하수체 전엽에서 분비되는 GH의 자극에 의해 생성되는 것으로 알려진 IGF-I이 C2C12 골격근 세포의 분화 시간에 따라 FAT/CD36의 mRNA 발현 및 단백질 발현에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 그 결과 골격근 세포의 분화 유도 시간이 증가함에 따라 FAT/CD36의 발현이 유의하게 증가하였으며, 골격근 세포의 분화과정에서 IGF-I을 함께 처리한 경우, 시간에 따른 발현량의 차이를 볼 수는 없었지만 FAT/CD36의 mRNA 발현이 유의하게 증가하였음을 알 수 있었다.

본 연구 결과를 바탕으로 IGF-I이 어떠한 신호전달 경로를 통해 골격근에서 지방산 수송체 발현을 조절하는지에 관한 연구와, 다른 지방산 수송체와의 협력 관계 및 기타 조절인자에 관한 연구가 필요할 것이라 생각된다. Bonen [6] 등에 따르면, FABPpm이 운동에 의해 근초에서의 발현이 크게 증가되었으나 미토콘드리아에서는 변화가 없었던 것과는 대조적으로 FAT/CD36의 경우 미토콘드리아에서의 발현이 증가되었으나 상대적으로 근초에서의 변화는 적었다고 보고하였다. 이러한 지방산 수송체들의 주 발현 위치의 차이는 FABPpm과 FAT/CD36이 세포내의 각각 다른 위치에서 상호작용을 통해 지방산의 이동을 조절할 가능성이 있다고 추측해 볼 수 있을 것이다. 실제로 한 연구에 따르면, 두 유전자를 함께 발현시킨 결과, 각각의 유전자를 따로 발현시킨 것에 비해 지방산의 흡수와 수송이 더욱 증가되었다고 보고된 바 있다[8]. 이러한 결과들은 FABPpm은 세포막에서의 지방산 흡수를, FAT/CD36은 미토콘드리아에서 지방산 산화에 크게 기여하며, 이들은 골격근의 지방대사에 있어 중요한 협력관계에 있음을 알 수 있다. 따라서 IGF-I이 골격근의 미토콘드리아에서 FAT/CD36의 발현을 조절하는지에 관한 연구도 차후 필요할 것으로 사료된다.

근비대 기전과 근부피 유지 및 항상 기전에 있어 주요 역할을 하는 것으로 알려진 IGF-I이 골격근의 지방산 수송체 발현을 조절하는데 있어서도 중요한 역할을 할 수 있다는 가능성을 제시하였다는 측면에서 본 연구의 의의가 있다고 생각된다. 본 연구 결과는 비정상적인 지방대사 및 운동 부족으로 야기되는 근위축성 비만에 관한 기전과 치료법을 연구하는데 있어 중요한 정보가 될 수 있을 것이다.

References

1. Abumrad, N., Coburn, C. and Ibrahimi, A. 1999. Membrane proteins implicated in long-chain fatty acid uptake by mammalian cells: CD36, FATP and FABPpm. *Biochem. Biophys. Acta.* **1441**, 4-13.
2. Berryman, D. E., Glad, C. A., List, E. O. and Johannsson, G. 2013. The GH/IGF-1 axis in obesity: *pathophysiology* and

- therapeutic considerations. *Nat. Rev. Endocrinol.* **9**, 346-356.
3. Bonen, A., Campbell, S. E., Benton, C. R., Chabowski, A., Coort, S. L. M., Han, X., Koonen, D. P. Y., Glatz, J. F. C. and Luiken, J. J. F. P. 2004. Regulation of fatty acid transport by fatty acid translocase/CD36. *Proc. Nutr. Soc.* **63**, 245-249.
 4. Bonen, A., Han, X. X., Habets, D. D., Febbraio, M., Galtz, J. J. and Luiken, J. J. 2007. A null mutation in skeletal muscle FAT/CD36 reveals its essential role in insulin- and AICAR-stimulated fatty acid metabolism. *Am. J. Physiol.* **292**, E1740-E1749.
 5. Bonen, A., Luiken, J. J., Liu, S., Dyck, D. J., Kiens, B., Kristiansen, S. and Turcotte, L. P. 1998. Palmitate transport and fatty acid transporters in red and white muscles. *Am. J. Physiol.* **275**, E471-E478.
 6. Bonen, A., Parolin, M. L., Steingerg, G. R., Calles-Escandon, J., Tandon, N. N., Glatz, J. F. C., Luiken, J. J. F. P., Heigenhauser, G. J. F. and Dyck, D. J. 2004. Triacylglycerol accumulation in human obesity and type 2 diabetes is associated with increased rates of skeletal muscle fatty acid transport and increased sarcolemmal FAT/CD36. *FASEB J.* **18**, 1144-1146.
 7. Brinkmann, J. F. F., Abumrad, N. A., Ibrahimi, A., Van Der Vusse, G. J. and Glatz, J. F. C. 2002. New insights into long-chain fatty acid uptake by heart muscle: a crucial role for fatty acid translocase/CD36. *Biochem. J.* **367**, 561-570.
 8. Clarke, D. C., Miskovic, D., Han, X., Calles-Escandon, J., Glatz, J. F. C., Luiken, J. J. F. P., Heikkila, J. J. and Bonen, A. 2004. Overexpression of membrane-associated fatty acid binding protein (FABPpm) *in vivo* increases fatty acid sarcolemmal transport and metabolism. *Physiol. Genomics* **17**, 31-37.
 9. Clemmons, D. R. 2004. The relative roles of growth hormone and IGF-1 in controlling insulin sensitivity. *J. Clin. Invest.* **113**, 25-27.
 10. Coburn, C. T., Knapp, F. F., Febbraio, M., Beets, A. L., Silverstein, R. L. and Abumrad, N. A. 2000. Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of CD36 knockout mice. *J. Biol. Chem.* **275**, 32523-32529.
 11. Coen, P. M. and Goodpaster, B. H. 2012. Role of intramyocellular lipids in human health. *Trends. Endocrinol. Metab.* **23**, 391-398.
 12. Falholt, K., Jensen, I., Lindkaer Jensen, S., Mortensen, H., Volund, A., Hedning, L. G., Noerskov Petersen, P. and Falholt, W. 1998. Carbohydrate and lipid metabolism of skeletal muscle in type 2 diabetic patients. *Diabet. Med.* **5**, 27-31.
 13. Febbraio, M., Hajjar, D. P. and Silverstein, R. L. 2001. CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *J. Clin. Invest.* **108**, 785-791.
 14. Frystyk, J., Ledet, T., Moller, N., Flyvbjerg, A. and Orskov, H. 2002. Cardiovascular disease and insulin-like factor- I . *Circulation* **106**, 893-895.
 15. Glatz, J. F. C., Luiken, J. J. F. P. and Bonen, A. 2001. Involvement of membrane-associated proteins in the acute regulation of cellular fatty acid uptake. *J. Mol. Neurosci.* **16**, 123-132.
 16. Glatz, J. F. C., Luiken, J. J. F. P. and Bonen, A. 2010. Membrane fatty acid transporters as regulators of lipid metabolism: implications for metabolic, disease. *Physiol. Rev.* **90**, 367-417.
 17. Jordy, A. B. and Kiens, B. 2014. Regulation of exercise-induced lipid metabolism in skeletal muscle. *Exp. Physiol.* **99**, 1586-1592.
 18. Keizer, H. A., Schaart, G., Tandon, N. N., Glatz, J. F. C. and Luiken, J. J. F. P. 2004. Subcellular immunolocalisation of fatty acid translocase (FAT)/CD36 in human type-1 and type-2 skeletal muscle fibres. *Histochem. Cell. Biol.* **121**, 101-107.
 19. Le Roith, D. 1997. Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center. Insulin-like growth factors. *N. Engl. J. Med.* **336**, 633-640.
 20. Luiken, J. J., Coort, S. L., Koonen, D. P., van der Horst, D. J., Bonen, A., Zorzano, A. and Glatz, J. F. C. 2004. Regulation of cardiac long-chain fatty acid and glucose uptake by translocation of substrate transporters. *Pflugers. Arch.* **448**, 1-15.
 21. Machida, S. and Booth, F. W. 2004. Insulin-like growth factor 1 and muscle growth: implication for satellite cell proliferation. *Proc. Nutr. Soc.* **63**, 337-340.
 22. Moses, A. C., Young, S. C., Morrow, S. A., O'Brien, M. and Clemmons, D. R. 1996. Recombinant human insulin-like growth factor-I increases insulin sensitivity and improves glycemic control in type II diabetes. *Diabetes* **45**, 91-100.
 23. Phillips, S. M. 2007. Resistance exercise: good for more than just grandma and grandpa's muscles. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **32**, 1198-1205.
 24. Schneider, D. J. and Sobel, B. E. 1991. Augmentation of synthesis of plasminogen activator inhibitor type 1 by insulin and insulin-like growth factor type I: implications for vascular disease in hyperinsulinemic states. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 9959-9963.
 25. Schultz, E. and McCormick, K. M. 1994. Skeletal muscle satellite cells. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **123**, 213-257.
 26. van Loon, L. J., Koopman, R., Stegen, J. H. C. H., Wagenmakers, A. J. M., Keizer, H. A. and Saris, W. H. M. 2003. Intramyocellular lipids form an important substrate source during moderate intensity exercise in endurance-trained males in a fated state. *J. Physiol.* **553**, 611-625.
 27. Van Nieuwenhoven, F. A., Verstijnen, C. P., Abumrad, N. A., Willemsen, P. H., Van Eys, G. J., Van der Vusse, G. J. and Glatz, J. F. C. 1995. Putative membrane fatty acid translocase and cytoplasmic fatty acid binding protein are co-expressed in rat heart and skeletal muscles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **207**, 747-752.

초록 : C2C12 골격근 세포에서 FAT/CD36 발현 조절에 있어 Insulin-like growth factor-I이 미치는 영향

김혜진 · 윤혜민 · 김태영 · 이원준*

(이화여자대학교 신산업융합대학 체육과학부)

본 연구에서는 C2C12 근육 세포의 분화 과정에 있어 IGF-I이 지방산의 수송을 담당하는 지방산 수송체인 FAT/CD36의 mRNA 및 단백질 발현에 미치는 영향에 대해 알아보았다. 그 결과 근육세포의 분화 과정에 있어 FAT/CD36의 단백질과 mRNA 발현이 분화 시간 의존적으로 유의하게 증가하였으며, IGF-I의 처리에 의해서도 유의하게 조절되었음을 알 수 있었다. 이는 IGF-I이 골격근 세포의 성장 및 분화를 촉진하여 근육 관련 유전자들의 발현을 조절하는 기능뿐만 아니라, 골격근의 주요 에너지원으로 사용되는 지방산의 수송을 담당하는 FAT/CD36의 발현에도 영향을 미친다는 것으로 해석할 수 있겠다. 향후 IGF-I이 골격근 세포에서 FAT/CD36의 발현에 영향을 미침으로써 골격근의 지방산 흡수와 산화율을 조절하는지, 그에 따라 지방대사에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 연구가 필요할 것이며, 이와 관련된 신호전달 체계 및 기전에 대한 연구도 진행 되어야 할 것이다.