

비알코올성 지방간을 가진 난소절제 쥐에서 염증에 대한 수영운동의 영향

정선효[†]

목원대학교 테크노과학대학 의생명·보건학부, 교수
(2021년 3월 11일 접수: 2021년 4월 23일 수정: 2021년 4월 26일 채택)

The effect of swimming exercise on inflammation in ovariectomized mice with non-alcoholic fatty liver

Sun-Hyo Jeong[†]

[†]*Division of Biomedical Engineering & Health, Science Management, Mokwon University,
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729, Korea*

(Received March 11, 2021; Revised April 23, 2021; Accepted April 26, 2021)

요약 : 본 연구는 폐경 후 비만 여성의 동물모델을 이용하여 수영운동이 비알코올성 지방간에서 염증에 미치는 영향을 조사하였다. 실험동물은 수영운동을 하지 않은 모의수술군(S/N), 수영운동을 하지 않은 난소절제 수술군(O/N) 및 수영운동을 실시한 난소절제 수술군(O/S)으로 구분되어 8주 동안 고지방식이 사료를 섭취하면서 사육되었다. 간 조직의 지방축적, 간 무게 및 혈청 속 AST와 ALT는 S/N에 비해 O/N에서 증가하였으나, O/N에 비해 O/S에서는 감소하였다. S/N에 비해 O/N는 간 조직에서의 $I\kappa B\alpha$ 의 유전자 발현이 감소하였고 MCP-1, IL-6 및 TNF- α 의 유전자 발현은 증가하였다. 그러나 O/N에 비해 O/S는 간 조직에서의 $I\kappa B\alpha$ 이 증가하였고 MCP-1, IL-6 및 TNF- α 의 유전자 발현은 감소하였다. 결론적으로 본 연구는 난소절제 후 고지방식이의 섭취로 비만이 유도된 비만 쥐에서 수영운동이 비만으로 유도된 비알코올성 지방간에서 염증을 개선함으로써 건강증진에 효과적임을 제시하였다.

주제어 : 비알코올성 지방간, 염증, 수영운동, 고지방식이, 비만

Abstract : This study investigated the effect of swimming exercise on inflammation in non-alcoholic fatty liver using animal models of postmenopausal obese women. Experimental animals were divided into a sham-operate + non-swimming trained group (S/N), an ovariectomize + non-swimming trained group (O/N) and an ovariectomize + swimming trained group (O/S), and were bred while eating a high fat diet for 8 weeks. Fat accumulation in liver tissue, liver weight, and serum AST and ALT increased in O/N compared to S/N, but decreased in O/S compared to O/N. Compared to S/N, O/N decreased the gene expression of $I\kappa B\alpha$ in liver tissue and increased gene expression of MCP-1, IL-6, and

[†]Corresponding author
(E-mail: jsh0227@mokwon.ac.kr)

TNF- α . But compared to O/N, O/S increased the gene expression of I κ B α in liver tissue and decreased gene expression of MCP-1, IL-6, and TNF- α . In conclusion, this study suggested that swimming exercise was effective in improving physical health by improving inflammation in non-alcoholic fatty liver in obese mice induced obesity by high fat diet after ovariectomy.

Keywords : Non-alcoholic fatty liver, Inflammation, Swimming exercise, High fat diet, Obesity

1. 서론

최근 현대의 생활환경과 사회구조의 변화는 신체의 에너지 불균형을 유발하여 비만 현상을 증가시키고 있다. 특히 50대 이후 중년여성들은 폐경이라는 생리적 특성에 의해 폐경 전 여성에 비해 폐경 후 여성의 비만이 증가하고 있고, 폐경 후 복부비만 여성들은 심혈관계질환, 고혈압 등 만성질환이 발생하는 경향이 있다[1]. 섭취하는 에너지와 소비되는 에너지 간의 불균형으로 발생하는 잉여 에너지는 중성지방(triglyceride, TG)의 형태로 지방조직, 간, 근육 등에 저장되며, 지나친 지방의 축적은 비만의 발생뿐만 아니라 제2형 당뇨병, 심혈관계질환, 비알코올성 지방간질환 등 만성질환을 유발한다[2].

비알코올성 지방간질환(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)은 알코올 섭취 없이 발생하는 대사성 질환으로, 영상의학적 검사나 조직검사에 의해 보여주는 간세포 내 지방축적 소견이 나타난다. 그리고 비알코올성 지방간질환은 비알코올성 지방간(non-alcoholic fatty liver), 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 및 간섬유화(liver fibrosis)를 동반하는 간경화(cirrhosis) 모두 포함하는 광범위한 간 질환을 의미한다[3]. 비알코올성 지방간은 간세포에 중성지방, 콜레스테롤 등 지질성분이 비정상적으로 축적되어 일어나며 이것을 방지하면 염증성 간 질환인 비알코올성 지방간염으로 이어지고 이것이 더욱 진행되면 간경변증, 간암 및 사망으로 이르게 하는 위험한 현상이다[4,5].

비만, 제2형 당뇨병, 고지혈증, 대사증후군 등은 비알코올성 지방간질환의 위험인자로 널리 알려져 있다[6]. 이 밖에 비알코올성 지방간질환은 나이가 들수록, 낮은 근육량을 가질수록 유병률이 높다고 보고되었다[7,8]. 폐경기 여성은 에스트로겐 여성 호르몬의 감소와 노화 현상으로 체지방량이 증가하고 근육량이 감소하여 비만 발생률이

증가한다[9,10]. 이와 같이 비알코올성 지방간질환의 위험인자로 인식되는 비만, 노화, 낮은 근육량은 폐경 후 여성에서 나타나는 주된 현상이므로, 폐경기 비만 여성에서 비알코올성 지방간질환의 발생은 증가할 것으로 예측된다. 따라서 폐경기 비만 여성의 건강한 삶을 위해 비만 조절을 통한 간 기능의 개선이 절실히 필요하다.

비만의 예방과 치료를 목적으로 한 운동요법으로는 유산소 운동이 권장된다[11]. 규칙적인 유산소 운동이 대사증후군 위험인자를 낮출 수 있다고 보고되었다[12]. 유산소 운동은 혈중 총 콜레스테롤과 중성지방 수치를 감소시키고 고밀도 지단백질 콜레스테롤 수치를 증가시킴으로써 심혈관계질환을 개선하였다[13]. 또한 규칙적인 유산소 운동은 골격근의 미토콘드리아 기능을 향상시키고 지질대사를 개선하였다[14]. 자발적 러닝 휠(voluntary running wheels) 운동은 비만동물모델인 Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats의 몸무게 증가도(body weight gain)를 완화시켰고, 혈청 속의 포도당, 중성지방, 자유 지방산(free fatty acid, FFA)을 감소시켰으며, 또한 간에서 지방산 산화효소의 발현을 증가시키고 지방산 합성효소의 발현을 감소시킴으로써 간의 지방축적을 감소시켰다[15].

전신 유산소 형태의 운동인 수영운동은 골격근에서 미토콘드리아 내의 지방산 산화를 촉진시키는 peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) 표적 유전자의 발현을 증가시킴으로써 혈중 지질대사를 개선하고 몸무게와 지방무게를 감소시켰다[16]. 또한 수영운동은 골격근에서 미토콘드리아 생합성을 조절하는 유전자와 지방분해를 촉진하는 유전자의 발현을 증가시켜 비만을 개선하였다[17]. 최근 연구에 의하면 폐경기 비만 여성의 동물모델에서 하루 1시간씩 8주 동안의 수영운동이 백색지방조직의 항혈관신생작용을 통해 몸무게와 백색내장지방을 감소시킴으로써 수영운동이 폐경기 비만여성의 비만조절에 효

과적임을 제시하였다[18]. 또한 수영운동은 수중에서 물의 저항과 부력을 이용하므로 무릎관절과 근육에 큰 충격을 주지 않는 운동으로써 노약자, 관절이 약한 사람, 비만인에게 도움이 된다[19]. 따라서 수영운동은 폐경기 비만여성의 비만 조절에 적합한 운동으로 인식되고 있다.

신체의 각 조직에서 에너지 생산에 사용되고 남은 과도한 지방산은 염증을 유발하는데 중요한 역할을 한다[20]. 따라서 비만으로 유도된 염증은 신체의 주요 신진대사 기관인 지방조직, 간, 근육 등에서 자주 관찰되며 염증성 사이토카인의 분비를 증가시킨다 [21]. 운동에 의해 염증이 조절된다는 연구들이 보고되고 있다. 하루 1시간씩 트레드밀 운동(treadmill running, 18m/min)을 실시한 고지방식이를 섭취한 수컷 쥐는 골격근에서 염증반응의 핵전사인자인 nuclear factor- κ B (NF- κ B)를 활성화시키는 세포막 수용체 toll like receptor (TLR)인 TLR2와 TLR4이 감소되었고[22], 고지방식이를 섭취한 쥐가 트레드밀 운동(12-20m/min)을 하루 1시간씩 실시한 결과 지방조직에서 TLR4와 염증성 사이토카인 (inflammatory cytokine)인 tumor necrosis factor- α (TNF α)이 감소되었다[23].

그러나 수영운동이 비만 조절과 지질대사 개선에 도움이 있다는 연구는 보고되고 있으나, 비만으로 유도된 비알코올성 지방간이 있는 폐경기 비만여성의 동물모델에서 수영운동이 간 염증에 미치는 영향에 관한 연구는 미비한 상태이다. 따라서 본 연구는 비만 조절에 효과적인 하루 1시간씩 8주 동안의 수영운동이 폐경기 비만여성의 동물모델인 고지방식이를 섭취한 난소절제 암컷 쥐에서 비알코올성 지방간과 간 염증의 개선에 효과가 있는지를 조사하였다.

2. 실험

2.1. 실험재료

2.1.1. 실험대상

실험에 사용된 57BL/6J종 암컷 쥐(7주령)는 (주) 대한바이오텍(Chungbuk, Korea)로부터 구입하였다. 본 연구는 동물실험윤리위원회의 규정에 따라 실행하였다(No. NVRQS AEC-16). 실험동물은 수영운동을 하지 않은 모의수술군(S/N: sham-operate + non-swimming trained group),

수영운동을 하지 않은 난소절제 수술군(O/N: ovariectomize + non-swimming trained group) 및 수영운동을 실시한 난소절제 수술군(O/S: ovariectomize + swimming trained group)으로 구분하였고, 각 그룹당 8마리씩의 쥐를 사용하였다 (n=8/group). 모든 실험동물은 고지방식이 사료 (High fat diet: 45% kcal fat, Research Diets, New Brunswick, NJ)를 실험 기간 8주 동안 섭취하였고, 평균 상태, 명암주기 12시간, 온도 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 가 유지되는 M대학교 동물사육실에서 사료와 물을 충분히 공급받으면서 사육되었다. 난소절제 수술군의 암컷 쥐는 난소절제 수술 후 1주 동안의 회복기를 가진 후 실험에 사용하였다. 모든 실험동물은 죽이기 12시간 전에 사료공급이 중단되었다. 혈액은 실험 8주 후 채취하여 4°C 에서 1시간 반응시킨 후 20분간 원심분리(4,200rpm, 4°C)하여 혈청을 얻었으며, 채취한 각 조직은 무게를 측정 후 사용할 때까지 -80°C 에 보관하였다.

2.1.2. 수영운동 프로그램

수영운동을 실시하는 그룹인 O/S는 $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 수온이 유지되는 실험동물용 pool (1m \times 1m, Jeitech, Seoul, Korea)을 사용하여 운동을 하였다. 실험시작 1주 동안은 1회 수영운동 시간을 1회 10분씩 점차 증가시키면서 사전 적응훈련을 하였다. 본 수영운동은 8주 동안 1회 60분, 1일 1회, 주당 5일, 동일시간대에 실시하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 조직학적 분석

간 조직은 하루 동안 10% phosphate-buffered formalin에서 고정하였다. 파라핀 절편(paraffin section, 5 μm)은 탈수과정과 세척과정을 거친 후, hematoxylin과 eosin으로 염색하여 현미경 하에서 관찰하였다. 조직형태학적 변화는 Image Analysis System (Image pro-plus, MD, USA)을 이용하여 분석하였다.

2.2.2. 혈청 속 성분 분석

간 기능의 생화학적 평가지표로 사용되는 혈청 속의 AST (Aspartate transaminase)와 ALT (Alamine transaminase) 농도는 녹십자 의료재단 (Green Cross Laboratories, Gyeonggi-do, Korea)에 의뢰하여 분석하였다.

2.2.3. Total RNA 추출

TRIzol™ Regent (Invitrogen, Avenue Carlsbad, U.S.A.) 1ml를 간 조직 100mg에 첨가하여 호모게나이저(homogenizer)로 조직을 균질화한 후 5분간 실온에 두었다. Chloroform (Sigma, U.S.A.) 200 μ l를 첨가하여 가볍게 흔들어 혼합하고 실온에 3분간 반응시켰다. 원심분리(12,000 rpm, 4°C, 15분)하여 새로운 튜브에 RNA가 포함된 맑은 상층액을 분리하고 isopropanol (Sigma, U.S.A.) 600 μ l를 첨가하여 혼합시킨 후 10분간 실온에서 반응시켰다. 원심분리(12,000 rpm, 4°C, 10분)한 후 상층액은 제거하고 튜브 바닥에 형성된 RNA pellet은 70% ethanol 1ml를 첨가하여 2회 세척 하였다. 원심분리(12,000 rpm, 4°C, 5분)하여 용액을 완전히 제거하고 RNA pellet은 공기 중에 완전히 건조시킨 후 0.01% diethyl pyrocarbonate (Sigma, U.S.A.)가 처리된 증류수(0.01% DEPC water)를 30 μ l 첨가하여 RNA pellet을 용해하였다.

2.2.4. 역전사 중합효소 연쇄반응(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)

Total RNA로부터 complementary DNA (cDNA)를 합성하기 위해 moloney murin leukemia virus reverse transcriptase (MMLV RT; Doctor Protein, Seoul, Korea)를 사용하였다. 즉 total RNA(2 μ g)에 MMLV RT, MMLV RT buffer, dNTP mixture, oligo-dT primer (GenDEPOT, Barker, USA) 및 0.01% DEPC water를 첨가하여 42°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 합성된 cDNA (5 μ l)에 Forward primer,

Reverse primer 및 HelixAmp™ Ready-2X-Go (Nanohelix, Daejeon, Korea)를 혼합하여 MJ Mini Gradient Thermal Cycler (Bio-rad, CA, USA) 기기를 이용하여 증폭시켰다. 표적 유전자의 mRNA 발현을 분석하기 위해 사용된 primer sequences와 PCR 조건은 Table 1에 제시하였다.

2.3. 분석방법

본 연구의 자료분석은 SigmaPlot 2001 (SPSS Inc.)을 이용하였다. 기술 통계치는 평균(mean)과 표준편차(standard deviation; SD)로 산출하였고, unpaired, student's t-test를 사용하여 항목별 집단 간의 유의한 차이를 분석하였다. 유의수준은 p 값이 0.05 이하인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 설정하였다.

3. 연구 결과

3.1. 간 무게와 간 조직의 지질축적에 대한 운동의 효과

고지방식을 섭취한 난소절제 된 비만 암컷 쥐에서 수영운동이 간 조직에 미치는 영향을 조사하기 위해 간 무게를 측정하였다(Fig. 1). S/N에 비해 O/N의 간 무게는 23.61% 통계적으로 유의하게 증가하였고($p < 0.05$), O/S의 간 무게는 O/N에 비해 21.36% 통계적으로 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 간 조직의 지질축적에 대한 수영운동의 영향을 조사한 결과, O/N은 S/N에 비해 간 조직의 지질축적이 현저히 증가되었고 O/N에서의 증가된 간 조직의 지질축적은 수영운동에 의해 현저히 감소되었다(Fig. 2).

Table 1. Sequences of oligonucleotide primers and PCR conditions

Gene	Primer sequences	Size (bp)	Annealing (°C)	Cycle
MCP-1	F: 5' -tgatcccaatgagtaggctggag-3' R: 5' -atgtctggaccattcctcttg-3'	132	58	30
IL-6	F: 5' -tggagtcacagaaggagtggaag-3' R: 5' -tctgaccacgtgaggaatgtccac-3'	155	58	30
TNF- α	F: 5' -ggcaggtctactttggagtcattgc-3' R: 5' -acattcaggctccagtggaattcgg-3'	300	58	34
I κ B α	F: 5' -tggaagtcattgtcaggtgaa-3' R: 5' -cagaagtgctcagcaattcct-3'	123	54	30
β -actin	F: 5' -tggaatcctgtggcatccatgaaac-3' R: 5' -taaaacgcagctcagtaacagtcgg-3'	348	58	28

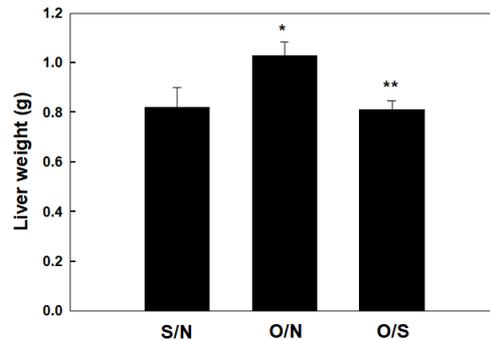


Fig. 1. Effects of exercise on liver weight.

All values are expressed as mean \pm SD. *Significantly different *versus* S/N, $p < 0.05$. **Significantly different *versus* O/N, $p < 0.05$. S/N; sham-operate + non-swimming trained group, O/N; ovariectomize + non-swimming trained group, O/S; ovariectomize + swimming trained group.

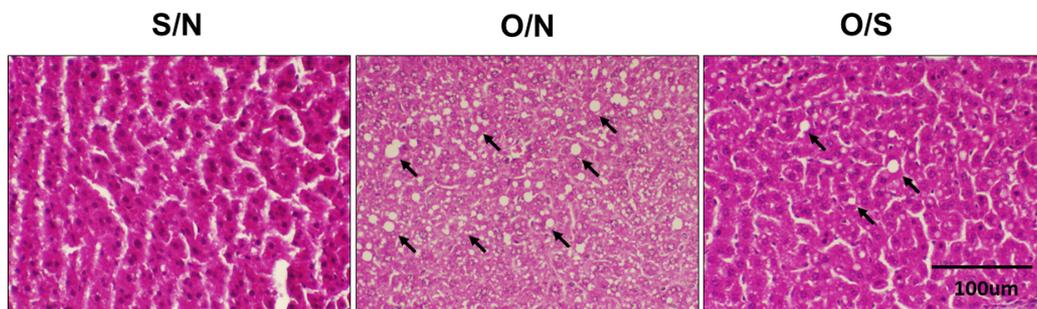


Fig. 2. Effects of exercise on hepatic lipid accumulation.

Arrows indicate the lipid droplets in hepatocytes. S/N; sham-operate + non-swimming trained group, O/N; ovariectomize + non-swimming trained group, O/S; ovariectomize + swimming trained group.

3.2. 혈청 속 AST와 ALT에 대한 운동의 효과

고지방식을 섭취한 난소절제 된 비만 암컷 쥐에서 수영운동이 혈청 속 AST와 ALT 성분에 영향을 미치는지를 조사하였다(Fig. 3). S/N에 비해 O/N의 혈청 속 AST와 ALT 수치는 각각 38.65%와 64.86% 증가하였으나($p < 0.05$), O/N에 비해 O/S의 혈청 속 AST와 ALT 수치는 각각 30.09%와 43.72%씩 감소하였다($p < 0.05$).

3.3. 염증성 사이토카인의 유전자 발현에 대한 운동의 효과

고지방식을 섭취한 난소절제 된 비만 암컷 쥐에서 수영운동에 의한 간 조직에서의 염증성 사이토카인의 유전자 발현을 조사하였다. S/N에 비해 O/N은 monocyte chemotactic protein-1

(MCP-1), interleukin-6 (IL-6) 및 TNF- α 유전자의 mRNA 발현이 각각 80.16%, 61.72% 및 41.26%씩 증가하였다($p < 0.05$) (Fig. 4). 그러나 O/N에 비해 O/S의 MCP-1, IL-6 및 TNF- α 유전자의 mRNA 발현은 각각 21.22%, 41.90% 및 22.50%씩 감소되었다($p < 0.05$). 그리고 간 조직에서 NF- κ B 신호경로를 방해하는 inhibitor of nuclear factor- κ B α ($I\kappa B\alpha$)의 mRNA 발현에 대한 수영운동의 영향을 조사한 결과, O/N의 $I\kappa B\alpha$ 유전자의 mRNA 발현은 S/N에 비해 28.12% 감소하였으나($p < 0.05$), O/N에 비해 O/S의 $I\kappa B\alpha$ 유전자의 mRNA 발현은 34.66% 증가하였다($p < 0.05$) (Fig. 5).

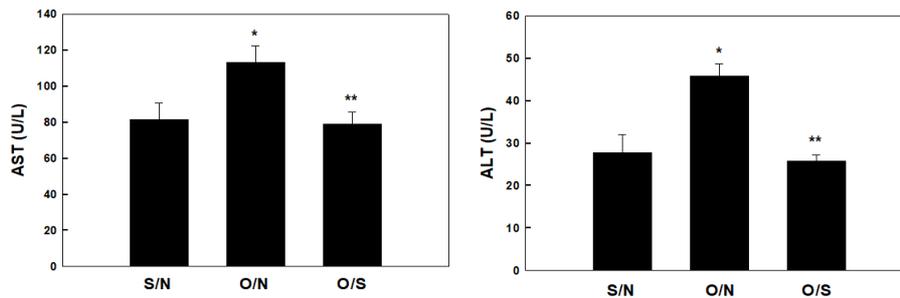


Fig. 3. Effects of exercise on serum AST and ALT.

All values are expressed as mean \pm SD. *Significantly different *versus* S/N, $p < 0.05$. **Significantly different *versus* O/N, $p < 0.05$. S/N; sham-operate + non-swimming trained group, O/N; ovariectomize + non-swimming trained group, O/S; ovariectomize + swimming trained group.

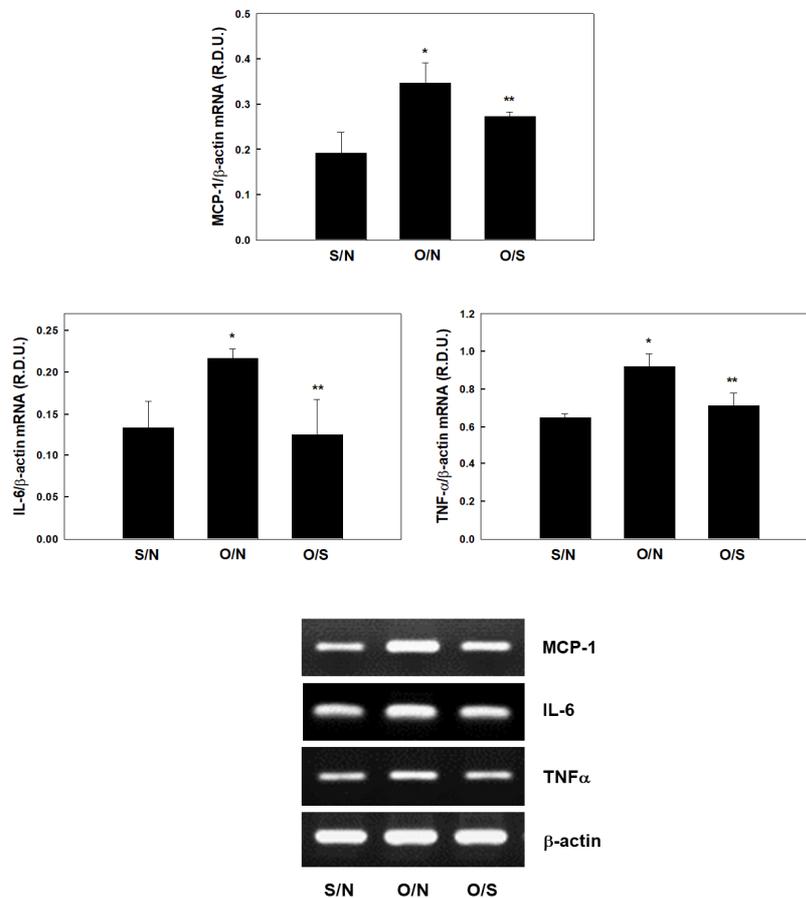


Fig. 4. Effects of exercise on MCP-1, IL-6, TNF α in liver.

All values are expressed as mean \pm SD. *Significantly different *versus* S/N, $p < 0.05$. **Significantly different *versus* O/N, $p < 0.05$. S/N; sham-operate + non-swimming trained group, O/N; ovariectomize + non-swimming trained group, O/S; ovariectomize + swimming trained group.

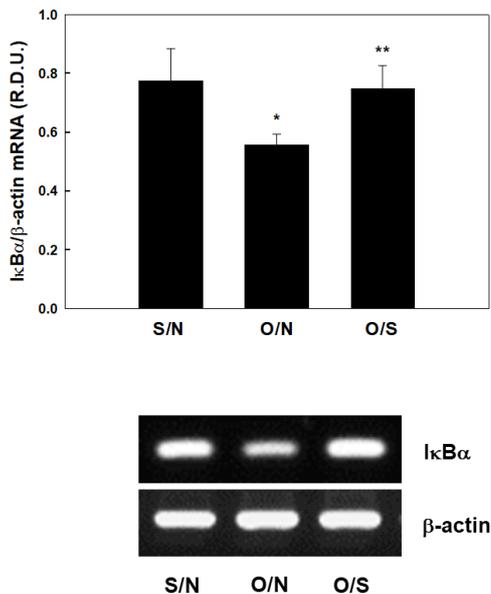


Fig. 5. Effects of exercise on IκBα in liver. All values are expressed as mean ± SD. *Significantly different versus S/N, $p < 0.05$. **Significantly different versus O/N, $p < 0.05$. S/N; sham-operate + non-swimming trained group, O/N; ovariectomize + non-swimming trained group, O/S; ovariectomize + swimming trained group.

4. 논 의

현대인들의 잘못된 생활 습관은 만성질환의 유발과 관련된 비만의 발생율을 증가시킨다[24]. 고지방식이 섭취로 비만이 유도되면 지방세포에 지방축적이 이루어진 후 남은 과잉의 지방은 다른 조직에 저장된다. 그 결과 지방조직 이외의 조직에 과잉축적된 지방은 지방독성(lipotoxicity)과 관련된 질환을 유발하게 된다. 간에서의 과도한 지방축적은 지방독성을 일으켜 지방간염을 유발하고 제2형 당뇨병, 비알코올성 지방간질환의 발생에 중요한 역할을 한다[25,26]. 따라서 다양한 대사성 만성질환의 예방과 치료를 위해 비만은 개선되어야 한다.

8주 동안의 수영운동(1일 1회, 하루 1시간)이 비만 개선에 효과적인 운동임을 보여준 선행연구[18]를 바탕으로, 본 연구에서는 8주 동안 1일 1

회, 하루 1시간씩의 수영운동이 간 기능 개선에 효과가 있을 것이라는 가설(hypothesis)하에 폐경기 비만여성의 동물모델인 고지방식이로 섭취한 난소절제 암컷 쥐를 이용하여 비알코올성 지방간의 억제와 간 염증의 개선에 대한 수영운동의 효과를 조사하였다. 본 연구 결과는 고지방식이로 비만이 유도된 난소절제 암컷 쥐가 8주 동안의 수영운동을 통해, 간에서의 지방축적 및 혈청 속 AST와 ALT 수치가 감소하였으며 간에서의 염증성 사이토카인인 MCP-1, IL-6 및 TNFα 유전자의 발현이 감소하였고 IκBα 유전자의 발현이 증가하였음을 보여주었다.

간 기능의 생화학적 평가지표로 혈청 속 AST와 ALT가 사용된다. ALT는 간세포에 주로 존재하고 AST는 골격근, 심장, 간, 신장, 적혈구에 존재하며, AST와 ALT는 간 손상 시 혈청 내로 흘러나오므로 간 질환 시 수치가 증가한다[27]. 45% 지방이 함유된 고지방식이를 섭취한 C57BL/6 수컷 쥐는 몸무게, 지방 무게 및 간 무게의 증가와 함께 혈청 속 중성지방, AST 및 ALT 수치가 증가하였고 간 조직에 지방축적이 증가하는 비알코올성 지방간 현상이 나타났다[28,29]. 이것은 고지방식이 섭취로 비만 발생과 함께 비알코올성 지방간 형성이 유도된다는 것을 의미하며, 고지방식이 섭취로 비만이 유도된 난소절제 암컷 쥐에서 비알코올성 지방간 현상을 보여준 본 연구 결과와 일치된다.

최근 규칙적인 운동에 의해 지방간이 개선된다는 연구 결과가 보고되고 있다. 심폐지구력 향상에 도움이 된다고 보고된 TABATA 운동[30]을 8주 동안 실시한 경계성 비만 중년여성들은 운동 실시 전에 비해 체지방율이 감소하였고 혈중 AST와 ALT 수치가 감소하였으며 대사증후군 위험인자들이 개선되었다[31]. 규칙적인 유산소 운동을 실시한 비만동물모델 쥐(OLETF rats)는 운동을 실시하지 않은 쥐에 비해 몸무게와 지방무게가 감소되었을 뿐만 아니라 혈청 속 ALT와 간에서의 지방축적이 감소되었다[32]. 이러한 선행 연구 결과들은 고지방식이로 유도된 비만은 비알코올성 지방간의 발생과 밀접한 관련이 있으므로 간 기능 개선을 위해서 유산소 운동을 통한 비만 관리가 무엇보다 필요하다는 것을 시사하고 있고, 폐경기 비만동물모델에서 규칙적인 수영운동이 간 기능 개선에 효과를 보여준 본 연구 결과를 뒷받침해 준다.

운동은 비알코올성 지방간에 대한 유익한 분자

생물학적 조절기전을 통해 간 기능을 개선한다. 제2형 당뇨병 비만동물모델인 OLETF rats이 12주 동안 유산소성 운동인 트레드밀 운동(20 m/min, 60 min/day, 5 days/wk treadmill running)을 실시한 결과, 운동을 실시하지 않은 쥐에 비해 혈청 속 중성지방, 자유 지방산 및 ALT가 감소되었고 간 속의 중성지방이 감소되었을 뿐만 아니라, 간에서 미토콘드리아의 수와 미토콘드리아 기능 표지인자들의 발현이 증가되었고, 세포 속으로의 지방산 유입에 관여하는 CD36 단백질과 지방산 합성의 표지인자인 acetyl-CoA carboxylase (ACC)와 fatty acid synthase (FAS) 단백질 발현이 감소되었다[32]. 이러한 선행연구를 통해 유산소 운동이 간세포의 미토콘드리아 기능을 향상시키고 간으로의 지방산 유입과 지질합성을 억제시켜 간의 지방산 합성을 감소시킴으로써 지방간 손상을 완화시킨 것으로 여겨진다.

그리고 고지방식이(60% fat 함유)의 섭취로 비만이 유도된 수컷 비만 쥐에서 10주 동안의 수영 운동은 간에서 지방대사를 조절하고 지방산 합성 효소의 발현을 감소시켰다[33]. 또한 수영운동은 골격근에서의 지방산 산화 작용을 촉진하는 핵전사인자인 PPAR α 의 유전자 발현을 증가시켰고 PPAR α 표적 유전자인 carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT1), medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) 및 thiolase 유전자 발현을 증가시킴으로써 혈액 속의 중성지방 수치를 개선하였다[16]. 이러한 선행연구 결과들은 수영운동이 간에서의 지방대사를 조절하였을 뿐만 아니라 골격근에서의 지방산 산화작용을 촉진시킴으로써, 혈액을 통해 간 조직에 유입되는 지방산을 감소시켰고 간의 지방축적을 감소시킨 결과를 초래한다는 것을 시사하고 있다. 그리고 이러한 선행연구들을 바탕으로, 고지방식이 섭취로 비알코올성 지방간이 유도된 난소절제 암컷 비만 쥐가 수영운동에 의해 비알코올성 지방간이 개선된 것을 보여준 본 연구 결과는 간뿐만 아니라 근육조직에서의 지질대사 조절을 통해 이루어진 것으로 사료된다. 따라서 운동은 간내지방함량 (intrahepatic fat content)의 감소, 지방산 산화의 증가, 지방산 생성의 억제 등 지방대사 조절을 통해 비알코올성 지방간질환을 치료하는 효과적 전략으로 고려된다[15].

운동은 조직손상을 유발하는 염증을 개선한다. 비알코올성 지방간에서 과도한 자유 지방산은 활

성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 유도하는 산화 스트레스(oxidative stress, OS)를 유발하고 지방간염을 진행시켜 간 손상을 유발한다[34]. 간세포의 염증(hepatic inflammation)은 비알코올성 지방간질환에서 활성산소종의 과생산을 일으켜 다른 항산화 방어 시스템(antioxidant defence systems)의 능력을 차단시킨다[35]. 그러나 규칙적인 운동은 비알코올성 지방간질환에서 항산화 효소(antioxidant enzymes)와 항염증 조절인자(anti-inflammatory mediators)의 증가를 통해 활성산소종의 과생산과 산화 스트레스를 억제함으로써 간 손상을 막는다고 보고되었다[35].

고지방식이 섭취로 비만이 유도된 쥐가 중강도(moderate-intensity)의 트레드밀 운동을 8주 동안 실시한 결과, 혈액 속의 TNF α 수치를 감소시키고 간에서의 adiponectin receptor 2 신호경로를 촉진시키고 NF- κ B 신호경로를 억제하였다고 보고되었다[36]. 6주 동안 경사도 0에서 30m/min 속도로 하루 30분씩의 규칙적인 트레드밀 운동을 실시한 수컷 쥐(Wistar rats)는 운동을 하지 않은 쥐에 비해 몸무게, 혈중 포도당, 중성지방 및 총 콜레스테롤이 감소하였고, 혈중 고밀도 지단백질 콜레스테롤은 증가하였으며, 간에서의 NF- κ B 단백질 발현은 감소함으로써, 규칙적인 유산소 운동은 비만 조절과 함께 간 염증을 개선한다는 것을 시사하고 있다[37]. NF- κ B는 IL-6, TNF α 등 다양한 염증성 사이토카인 유전자를 자극하여 염증, 면역반응, 세포생존에 관여한다[38]. 규칙적인 수영운동은 고지방식이를 섭취한 수컷 쥐의 백색지방세포에서 TNF α , IL-6 및 MCP-1 유전자 발현을 감소시켰다[39]. 또한 수영운동을 실시한 제2형 당뇨병 수컷 쥐는 수영운동을 하지 않은 쥐에 비해 이자에서 NF- κ B와 염증성 사이토카인인 TNF α , IL-6 및 IL-1 β 의 발현이 감소되었다[40]. 이러한 선행연구들은 규칙적인 유산소 운동이 NF- κ B 신호경로를 차단함으로써 조직의 염증을 개선한다는 것을 시사하고 있다.

NF- κ B는 I κ B α 와의 결합에 의해 불활성된다[38]. 고지방식이를 섭취한 비만 암컷 쥐가 유산소 운동인 로타로드(rotarod) 운동을 규칙적으로 실시한 결과, 골격근과 간에서의 지방축적이 감소하였고 골격근에서 I κ B α 단백질 발현의 증가로 인해 NF- κ B와 IL-6 단백질 발현이 감소함으로써 염증이 개선되었다[41]. 이러한 선행연구는 규칙적인 유산소 운동은 I κ B α 의 작용을 자극하여

염증에 대한 NF- κ B 신호경로를 억제시킨다는 것을 시사한다. 그리고 Yu 등(2019)의 연구[41]는 규칙적인 수영운동이 비알코올성 지방간을 가진 난소절제 암컷 비만 쥐의 간에서 I κ B α 의 작용을 자극하여 염증성 사이토카인 유전자인 MCP-1, IL-6 및 TNF α 의 발현을 억제함으로써 간 염증을 개선시킨 것을 보여준 본 연구 결과를 뒷받침해 준다.

따라서 규칙적인 유산소 운동은 비알코올성 지방간의 염증을 완화시킴으로써 비알코올성 지방간질환의 발생을 억제시키는 효과가 있음을 시사하고 있다. 본 연구는 규칙적인 수영운동이 고지방식으로 비만이 유도된 폐경기 비만여성의 동물 모델에서 간의 지질축적을 감소시키고 간 염증을 개선한다는 것을 밝힘으로써, 폐경기 비만여성의 간 건강을 지키는데 유익한 분자생물학적 정보를 제공할 것이다.

5. 결론

비알코올성 지방간에 따른 지방간염이 만성 대사성질환의 발생에 중요한 역할을 하므로, 본 연구는 폐경기 비만 여성의 동물모델인 고지방식을 섭취한 난소절제 암컷 비만 쥐에서 수영운동이 간의 지방축적을 감소시키고 간의 염증을 억제하는지를 연구하였다.

본 연구 결과를 종합해보면 다음과 같다.

첫째, 수영운동을 하지 않은 난소절제 수술군은 수영운동을 하지 않은 모의수술군에 비해 간 무게, 간의 지방축적 및 혈청 속 AST와 ALT 수치가 증가되었다. 그러나 난소절제 수술군이 1일 1회, 1일 1시간씩 8주 동안의 수영운동을 실시한 결과 간 무게, 간의 지방축적 및 혈청 속 AST와 ALT 수치가 감소되었다.

둘째, 수영운동을 하지 않은 난소절제 수술군은 수영운동을 하지 않은 모의수술군에 비해 간에서 MCP-1, IL-6 및 TNF α 의 유전자 발현이 증가되었다. 그러나 난소절제 수술군에서 증가된 염증성 사이토카인의 유전자 발현은 8주 동안의 수영운동에 의해 감소되었다.

셋째, 수영운동을 하지 않은 난소절제 수술군의 간에서 I κ B α 유전자 발현은 수영운동을 하지 않은 모의수술군에 비해 감소되었으나, 수영운동에 의해 증가되었다.

결론적으로 고지방식을 섭취한 난소절제 암

컷 비만 쥐에서 규칙적인 수영운동이 비알코올성 지방간에서 간의 염증을 조절함으로써 간 기능을 개선하였다는 것을 보여준 본 연구결과는 폐경기 여성의 잘못된 생활습관으로 유도된 비알코올성 지방간의 예방과 치료를 위한 신체활동 전략으로 규칙적인 수영운동이 효과적임을 제시하고 있다.

References

1. S. Mumusoglu, B. O. Yildiz, "Metabolic Syndrome During Menopause", *Current Vascular Pharmacology*, Vol.17, No.6 pp. 595-603, (2019).
2. A. R. Saltiel, J. M. Olefsky, "Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease", *The Journal of Clinical Investigation*, Vol.127, No.1 pp. 1-4, (2017).
3. M. E. Rinella, "Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review", *Journal of the American Medical Association*, Vol.313, No.22 pp. 2263-2273, (2015).
4. S. Singh, A. M. Allen, Z. Wang, L. J. Prokop, M. H. Murad, R. Loomba, "Fibrosis progression in nonalcoholic fatty liver vs nonalcoholic steatohepatitis: a systematic review and meta-analysis of paired-biopsy studies", *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, Vol.13, No.4 pp. 643-654, (2015).
5. Z. M. Younossi, A. B. Koenig, D. Abdelatif, Y. Fazel, L. Henry, M. Wymer, "Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes", *Hepatology*, Vol.64, No.1 pp. 73-84, (2016).
6. N. Chalasani, Z. Younossi, J. E. Lavine, M. Charlton, K. Cusi, M. Rinella, S. A. Harrison, E. M. Brunt, A. J. Sanyal, "The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases", *Hepatology*, Vol.67, No.1 pp. 328-357, (2018).

7. E. M. Koehler, J. N. Schouten, B. E. Hansen, F. J. van Rooij, A. Hofman, B. H. Stricker, H. L. Janssen, "Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in the elderly: results from the Rotterdam study", *Journal of Hepatology*, Vol.57, No.6 pp. 1305-1311, (2012).
8. G. Kim, S. E. Lee, Y. B. Lee, J. E. Jun, J. Ahn, J. C. Bae, S. M. Jin, K. Y. Hur, J. H. Jee, M. K. Lee, J. H. Kim, "Relationship Between Relative Skeletal Muscle Mass and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A 7-Year Longitudinal Study", *Hepatology*, Vol.68, No.5 pp. 1755-1768, (2018).
9. A. M. Setroame, P. Kormla Affrim, A. Abaka-Yawson, P. K. Kwadzokpui, F. Eyram Adrah, H. Bless, L. Mohammed, A. T. Bawah, H. W. Alidu, "Prevalence of Metabolic Syndrome and Nonalcoholic Fatty Liver Disease among Premenopausal and Postmenopausal Women in Ho Municipality: A Cross-Sectional Study", *BioMed Research International*, Vol.2020, pp. 2168381, (2020)
10. R. Maréchal, A. Ghachem, D. Prud'homme, R. Rabasa-Lhoret, I. J. Dionne, M. Brochu, "Physical activity energy expenditure and fat-free mass: relationship with metabolic syndrome in overweight or obese postmenopausal women", *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, Vol.46, No.4 pp. 389-396, (2021).
11. D. T. Villareal, L. Aguirre, A. B. Gurney, D. L. Waters, D. R. Sinacore, E. Colombo, R. Armamento-Villareal, C. Qualls, "Aerobic or Resistance Exercise, or Both, in Dieting Obese Older Adults", *The New England Journal of Medicine*, Vol.376, No.20 pp. 1943-1955, (2017).
12. C. M. Dieli-Conwright, K. S. Courneya, W. Demark-Wahnefried, N. Sami, K. Lee, T. A. Buchanan, D. V. Spicer, D. Tripathy, L. Bernstein, J. E. Mortimer, "Effects of Aerobic and Resistance Exercise on Metabolic Syndrome, Sarcopenic Obesity, and Circulating Biomarkers in Overweight or Obese Survivors of Breast Cancer: A Randomized Controlled Trial", *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, Vol.36, No.9 pp. 875-883, (2018).
13. M. A. Wewege, J. M. Thom, K. A. Rye, B. J. Parmenter, "Aerobic, resistance or combined training: A systematic review and meta-analysis of exercise to reduce cardiovascular risk in adults with metabolic syndrome", *Atherosclerosis*, Vol.274, pp. 162-171, (2018).
14. A. R. Konopka, M. P. Harber, "Skeletal muscle hypertrophy after aerobic exercise training", *Exercise and Sport Sciences Reviews*, Vol.42, No.2 pp. 53-61, (2014).
15. R. S. Rector, J. P. Thyfault, R. T. Morris, M. J. Laye, S. J. Borengasser, F. W. Booth, J. A. Ibdah, "Daily exercise increases hepatic fatty acid oxidation and prevents steatosis in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats", *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, Vol.294, No.3 pp. G619-G626, (2008).
16. S. Jeong, M. Yoon, "Swimming's Prevention of Ovariectomy-induced Obesity through Activation of Skeletal-muscle PPAR α ", *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, Vol.22, No.1 pp. 1-10, (2012).
17. Y. S. Kang, J. C. Kim, "The Effect of Temperature of Swimming Exercise on Mitochondria Biogenesis and Fusion in the Skeletal Muscle of Obese-induced Rats", *The Korea Journal of Sports Science*, Vol.24, No.4 pp. 1291-1302, (2015).
18. S. Jeong, "Effect of swimming exercise on anti-angiogenesis of white adipose tissue in high-fat diet-fed female ovariectomized mice", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.37, No.3 pp. 385-397, (2020).
19. G. Tuuri, M. Loftin, J. Oescher,

- “Association of Swim Distance and Age with Body Composition in Adult Female Swimmers”, *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Vol.34, No.12 pp. 2110-2114, (2002).
20. S. Schenk, M. Saberi, J. M. Olefsky, “Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation”, *The Journal of Clinical Investigation*, Vo.118, No.9 pp. 2992-3002, (2008).
 21. C. N. Lumeng, A. R. Saltiel, “Inflammatory links between obesity and metabolic disease,” *Journal of Clinical Investigation*, Vol.121, No.6 pp. 2111-2117, (2011).
 22. G. Li, J. Y. Liu, H. X. Zhang, Q. Li, S. W. Zhang, “Exercise training attenuates sympathetic activation and oxidative stress in diet-induced obesity”, *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, Vol.64, No.3 pp. 355-367, (2015).
 23. N. Kawanishi, H. Yano, Y. Yokogawa, K. Suzuki, “Exercise training inhibits inflammation in adipose tissue via both suppression of macrophage infiltration and acceleration of phenotypic switching from M1 to M2 macrophages in high-fat-diet-induced obese mice”, *Exercise Immunology Review*, Vol.16, pp. 105-118, (2010).
 24. K. E. Bornfeldt, I. Tabas, “Insulin resistance, hyperglycemia, and atherosclerosis”, *Cell Metabolism*, Vol.14, No.5, pp. 575-585, (2011).
 25. C. Peng, A. G. Stewart, O. L. Woodman, R. H. Ritchie, C. X. Qin, “Non-Alcoholic Steatohepatitis: A Review of Its Mechanism, Models and Medical Treatments”, *Frontiers in Pharmacology*, Vol.11, pp. 603926, (2020).
 26. V. T. Samuel, G. I. Shulman, “Nonalcoholic Fatty Liver Disease as a Nexus of Metabolic and Hepatic Diseases”, *Cell Metabolism*, Vol.27, No.1 pp. 22-41, (2018).
 27. K. A. Kim, “Understanding and application of liver function tests”, *The Korean Journal of Medicine*. Vol.76, No.2 pp. 163-168, (2009).
 28. D. Fu, H. Cui, Y. Zhang, “Lack of CIC-2 Alleviates High Fat Diet-Induced Insulin Resistance and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease”, *Cellular Physiology and Biochemistry*, Vol.45, No.6 pp. 2187-2198, (2018).
 29. J. Yuan, Q. Shi, J. Chen, J. Lu, L. Wang, M. Qiu, J. Liu, “Effects of 23-epi-26-deoxyactein on adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes and diet-induced obesity in C57BL/6 mice”, *Phytomedicine*. Vol.76, pp. 153264, (2020).
 30. T. Emberts, J. Porcari, S. Dobers-Tein, J. Steffen, C. Foster, “Exercise intensity and energy expenditure of a tabata workout”, *Journal of Sports Science and Medicine*, Vol.12, No.3 pp. 612-613, (2013).
 31. S. M. Yoon, Y. H. Seo, “Effect of TABATA Exercise on Improvement of Liver Function and Metabolic Syndrome Risk Factors in Middle-Aged Women With Borderline Obesity”, *The Korean Journal of Growth and Development*, Vol.27, No.2 pp. 115-119, (2019).
 32. M. A. Linden, J. A. Fletcher, E. M. Morris, G. M. Meers, M. L. Kearney, J. M. Crissey, M. H. Laughlin, F. W. Booth, J. R. Sowers, J. A. Ibdah, J. P. Thyfault, R. S. Rector, “Combining metformin and aerobic exercise training in the treatment of type 2 diabetes and NAFLD in OLETF rats”, *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, Vol.306, No.3 pp. E300-E310, (2014).
 33. A. Schultz, L. S. Mendonca, M. B. Aguila, C. A. Mandarim-de-Lacerda, “Swimming training beneficial effects in a mice model of nonalcoholic fatty liver disease”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, Vol.64, No.4 pp. 273-282, (2012).
 34. S. Petta, C. Muratore, A. Craxi, “Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: the present and the future”, *Digestive and liver disease*, Vol.41, No.9 pp. 615-625,

- (2009).
35. P. Farzanegi, A. Dana, Z. Ebrahimpoor, M. Asadi, M. A. Azarbayjani, "Mechanisms of beneficial effects of exercise training on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Roles of oxidative stress and inflammation", *European journal of sport science*, Vol.19, Np.7 pp. 994-1003, (2019).
 36. J. Cho, S. Kim, S. Lee, H. Kang, "Effect of Training Intensity on Nonalcoholic Fatty Liver Disease", *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Vol.47, No.8 pp. 1624-1634, (2015).
 37. M. Turgut, V. Cinar, R. Pala, M. Tuzcu, C. Orhan, H. Telceken, N. Sahin, P. B. D. Deeh, J. R. Komorowski, K. Sahin, "Biotin and chromium histidinate improve glucose metabolism and proteins expression levels of IRS-1, PPAR- γ , and NF- κ B in exercise-trained rats", *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, Vol.15, No.1 pp. 45, (2018).
 38. R. H. Shih, C. Y. Wang, C. M. Yang, "NF-kappaB Signaling Pathways in Neurological Inflammation: A Mini Review", *Frontiers in molecular neuroscience*, Vol.8, pp.77, (2015).
 39. G. Zhang, P. Yu, X. Liu, "Swim Training Attenuates Inflammation and Improves Insulin Sensitivity in Mice Fed with a High-Fat Diet", *International Journal of Endocrinology*, Vol.2017, pp. 5940732, (2017).
 40. M. R. Alipour, N. Yousefzade, F. M. Babil, R. Naderi, R. Ghiasi, "Swimming Impacts on Pancreatic Inflammatory Cytokines, miR-146a and NF- κ B Expression Levels in Type-2 Diabetic Rats", *Current Diabetes Reviews*, Vol.16, No.8 pp. 889-894, (2020).
 41. Q. Yu, Z. Xia, E. C. Liong, G. L. Tipoe, "Chronic aerobic exercise improves insulin sensitivity and modulates Nrf2 and NF-kappaB/IkappaBalpha pathways in the skeletal muscle of rats fed with a high fat diet", *Molecular medicine reports*, Vol.20, No.6 pp. 4963-4972, (2019).