creative commons

COMMONS DEED

저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000236688

*2008*학년 *8*월

박사학위논문

트레드밀 강도별 운동이 흰쥐 가자미근의 *GLUT-4 mRNA*와 갈색지방조직의 *GLUT-2 mRNA* 발현에 미치는 영향

조선대학교 대학원

체 육 학 과

강 석 훈

트레드밀 강도별 운동이 흰쥐 가자미근의 *GLUT-4 mRNA*와 갈색지방조직의 *GLUT-2 mRNA* 발현에 미치는 영향

Effects of Intensities Treadmill Exercise on GLUT-4 mRNA of Soleus Muscle and GLUT-2 mRNA Expression of Brown Adipose Tissue in Rats

*2008*년 *8*월 *25*일

조선대학교 대학원

체 육 학 과

강 석 훈

트레드밀 강도별 운동이 흰쥐 가자미근의 *GLUT-4 mRNA*와 갈색지방조직의 *GLUT-2 mRNA* 발현에 미치는 영향

지도교수 위 승 두

이 논문을 이학박사학위신청 논문으로 제출함

*2008*년 *4*월

조선대학교 대학원

체 육 학 과

강 석 훈

강석훈의 박사학위논문을 인준함

위원장 군산대학교 교수 채 정 룡 (인)

위 원 한남대학교 교수 윤 진 환 (인)

위 원 조선대학교 교수 조 동 진 (인)

위 원 조선대학교 교수 서 영 환 (인)

위 원 조선대학교 교수 위 승 두 (인)

*2008*년 *6*월

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT

Ⅰ. 서 론 ····· *1*

1. 연구의 목적 및 필요성 ····· 1
2. 연구가설 ····· 3
3. 연구의 제한점 ····· 3

Ⅱ. 이론적 배경 ····· *4*

1. 운동이 GLUT-4 발현에 미치는 영향 ····· 4
2. 운동이 GLUT-2 발현에 미치는 영향 ····· 11
3. 운동이 당내성 능력에 미치는 영향 ····· 15

Ⅲ. 연구방법 ····· *16*

1. 실험 대상 ····· 16
2. 실험 절차 ····· 17
3. 훈련 방법 ····· 18
4. 실험 방법 ····· 19
   1) 가자미근과 갈색지방 조직의 적출 ····· 19
   2) 체중 및 당내성 검사(OGTT) ····· 19
   3) 역전사중합효소연쇄반응(RT-PCR) ····· 19

(1) mRNA 분리 ····· 19
(2) 역전사효소반응 ····· 20
5. 자료처리 방법 ····· 21

Ⅳ. 연구결과 ····· *22*
1. 운동에 의한 가자미근 GLUT-4 mRNA 발현 ····· 22
2. 운동에 의한 갈색지방 GLUT-2 mRNA 발현 ····· 24
3. 당내성 검사 ····· 27

Ⅴ. 논 의 ····· *29*

Ⅵ. 결 론 ····· *36*
참고문헌 ····· *37*

List of Table

Table 1. Experimental process ····· 17
Table 2. Endurance training program ····· 18
Table 3. GLUT-4 mRNA expression in soleus muscle of rats ····· 23
Table 4. The results of one-way ANOVA and Duncan's post-hoc test on the GLUT-4 mRNA expression in soleus muscle of rats ····· 24
Table 5. GLUT-2 mRNA expression in brown adipose tissue muscle of rats ····· 25
Table 6. The results of one-way ANOVA and Duncan's post-hoc test on the GLUT-2 mRNA expression in brown adipose tissue of rats ····· 26
Table 7. Glucose tolerance test ····· 27
Table 8. The results of RM-ANOVA on glucose tolerance test in rats ····· 28

List of Figure

Fig. 1. RT-PCR on GLUT-4 mRNA expression in skeletal muscle of rats ····· 22

Fig. 2. Quantitative analysis on GLUT-4 mRNA expression in skeletal muscle of rats ····· 23

Fig. 3. RT-PCR on GLUT-2 mRNA expression in brown adipose tissue of rats ····· 25

Fig. 4. Quantitative analysis on GLUT-2 mRNA expression in brown adipose tissue of rats ····· 26

Fig. 5. Glucose tolerance test ····· 28

ABSTRACT

Effects of Intensities Treadmill Exercise on GLUT-4 mRNA of Soleus Muscle and GLUT-2 mRNA Expression of Brown Adipose Tissue in Rats

Kang, Suk-Hun
Advisor : Prof. Wee, Seung-Doo, Ph. D.
Department of Physical Education,
Graduate School of Chosun University

In the present study, the effect of different exercise intensities training on the blood glucose tolerance, GLUT-4 mRNA of soleus muscle and GLUT-2 mRNA expression of brown adipose tissue in rats was investigated. The F344 rats were classified into four groups, 10 rats each: the control group(Con), the low intensity exercise group(low), the moderate intensity exercise group(moderate) and the high intensity exercise group(high). Rats of the exercise groups were made to run on a motorized treadmill by different intensity to each group for 30minutes once a day during 12 weeks. Blood glucose in rat's tail was measured by Super Glucocard II. GLUT-4 mRNA of soleus muscle and GLUT-2 mRNA expression of brown adipose tissue in rats were also measured by RT-PCR and western blotting. It was shown that glucose tolerance was significantly increased following the low and moderate exercise group after 12 weeks. Also, GLUT-4 mRNA of soleus muscle was significantly increased following the low and the moderate exercise training compared to the high exercise group after 12 weeks.

Furthermore, GLUT-2 mRNA of brown adipose tissue was significantly increased following the moderate exercise training compared to the low and the high exercise group after 12 weeks. It is concluded that low and moderate intensity exercise induces translocation of GLUT-4 mRNA and GLUT-2 mRNA which result in increased blood inflow thus glucose tolerance is increased.

Increased GLUT-4 mRNA expression may be mediated by the enzyme AMP-activated kinase, which is activated during exercise and has been demonstrated to increase GLUT-4 transcription. Further research needs to be done to investigate whether AMP-activated kinase activates myocyte enhancer factor-2 and GLUT-4 enhancer factor to increase transcription of the GLUT-4 gene.

Ⅰ. 서 론

1. 연구의 목적 및 필요성

운동은 근 수축 유발성 당수송체(contraction-stimulated glucose transport)와 인슐린 유발성 당수송체(insulin-stimulated glucose transport)의 발현을 모두 증가시킴으로써 당내성과 인슐린 작용을 향상시킬 수 있다(Kuo et al., 1999).

윤진환 등(2007)의 연구에 의하면 운동이 골격근 GLUT-4 증가와 함께 인슐린 증가를 보고하고 있어 운동으로 인한 당수송체의 적응성 증가가 인슐린 저항성의 개선으로 당내성을 증가시킬 수 있음을 시사하였고, Host 등(1998)의 연구에서도 운동으로 인하여 GLUT-4 mRNA 및 단백질의 발현증가와 함께 당의 세포막 투과성이 증가됨을 보고하여 운동이 당내성 능력 증가에 효과가 있음을 제시하고 있다.

당수송체(glucose transporter)는 글루코스의 세포내 유입시 운송을 담당하는 단백질로서 지방조직, 신장조직, 골격근, 심장근 등과 같은 인슐린 자극을 받는 표적조직에서 특이적으로 발현되는 특징이 있다(Rea & James, 1997). 특히, GLUT-4 단백질은 골격근과 같은 인슐린 자극을 받는 표적 조직에서 특이적으로 발현되며 안정시 세포내에 소포(vesicle)의 형태로 존재하다가 운동과 같은 근 수축이나 인슐린에 반응하여 세포막 표면으로 이동, 즉 전위(translocation) 과정을 통해 당을 세포내로 유입시키게 된다(윤진환 등, 2007; Rea et al., 1997). 즉, 일회적인 운동으로 인한 근 수축 작용은 GLUT-4를 세포내 장소에서 원형질막(Klip et al., 1992) 및 T-tubule (Dombrowski et al., 1996; Roy et al., 1997)으로 위치 이동시킴으로써 골격근내 글루코스 흡수를 촉진시키며 장기간의 근 수축작용 즉, 장기간의 운동으로 근육내 GLUT-4 량은 증가와 인슐린 감수성의 향상을 초래(Rodnick et al., 1992, 1990)하는 효과가 있음을 밝히고 있어 근육활동 패턴이 골격근내 GLUT-4 수치를 유지하는 열쇠임을 시사하고 있다. 이 같은 사실은 트레이닝에 따른 골격근 세포의 글루코스 흡수

및 글리코겐의 합성 기능이 향상되며 이러한 대사적 적응 반응은 골격근의 GLUT-4 발현과 밀접한 관련이 있음을 알 수 있다.

GLUT-2에 의해 촉진되는 글루코스 수송체 동위효소는 글루코스의 항상성 조절이라는 특유한 자기 역할을 해내는데 있어 필수적인 독특한 성질을 가지고 있는데, 주로 간세포내에서 GLUT-2는 유동막안에 존재하며 여기에서는 그 역학적 특성으로 인하여 막사이의 빠른 글루코스 흐름이 가능하다. 이 흐름의 방향은 글루코스의 분해대사 및 저장, 혹은 글리코겐의 분해 및 당신생의 호르몬 조절에 의해 좌우되는데 간세포에는 GLUT-5가 존재하지 않으므로 fructose의 흡수는 역시 GLUT-2에 의존하게 된다. GLUT-2는 원형질막에서도 고도로 발현되고 원형질막에서는 세포내 글루코스의 균형이 빠르게 이루어진다.

지구력 훈련은 운동 중 기질(substrate) 이용에 현저한 변화를 일으키는 것으로 보여져왔다. 일반적으로 같은 최대하 절대 강도의 운동 중에 지구력 훈련은 탄수화물 소모 대신 지방질을 더 많이 이용하도록 유도한다(Coggan et al., 1990; Henriksson, 1977; Kiens et al., 1993; Klein et al., 1994; Phillips et al., 1996). 이러한 탄수화물 이용의 감소는 근육 글리코겐 분해(Green et al., 1995; Kiens et al., 1993)의 감소 및 근육 글루코스 이용(Coggan et al., 1990; Mendenhall et al., 1994; Phillips et al., 1996))에 그 원인이 있다.

글루코스는 지방세포내로 들어간 후, 신진대사가 되고 지방전구세포는 지방세포 분화에 관여하는 여러 유전자들의 발현에 의해서 지방세포로 전환된다. 이러한 형태학적 변화가 일어나기 위해서는 여러 가지 유전자나 단백질이 관여하고 에너지 대사경로의 조절에 따른 생체내의 적응기전이 중요하다고 보고하고 있는데, Nagaya 등(1995)은 일회성 운동이나 장기간 운동에 의해 갈색지방조직에서 GLUTs가 발현되었다고 보고하고 있으며, Shimizu 등(1993)은 추운 환경하의 갈색지방조직의 GLUTs 발현은 중추신경계의 활성에 의해 이루어진다고 보고하였다. 이와 같이 운동이 지방세포내의 글루코스 수송체의 수와 GLUT-4 mRNA를 증가시키지만, GLUT-1 mRNA는 증가시키지 않는다는 다양한 연구가 진행되고 있으나 운동 강도에 따른 골격근과 갈색지방 세포조직에서의 GLUTs mRNA 발현에 관한 연구는 미진한 상태이다.

따라서 본 연구자는 유전적으로 균일한 F344 흰쥐를 대상으로 운동 강도에 따른 당내성 능력 검사와 RT-PCR 측정 방법을 통한 가자미근 및 갈색지방조직에 특이성을 가진 당수송체 단백질의 유전자인 GLUT-4 mRNA 및 GLUT-2 mRNA의 발현 정도를 분석하여 당내성 변화 기전에 대한 기초자료를 제공하고자 하였다.

2. 연구가설

운동강도에 따른 가자미근과 갈색지방조직의 GLUT-4 mRNA와 GLUT-2 mRNA 발현의 효과를 검증을 위해 다음과 같은 연구가설을 설정하였다.

가설 Ⅰ. 가자미근의 GLUT-4 mRNA 발현은 운동 강도에 따라 차이가 있을 것이다.

가설 Ⅱ. 갈색지방조직의 GLUT-2 mRNA 발현은 운동 강도에 따라 차이가 있을 것이다.

가설 Ⅲ. 당내성은 운동 강도에 따라 차이가 있을 것이다.

3. 연구의 제한점

본 연구의 연구대상, 실험처치, 측정도구, 표본 등에서 나타나는 문제로 다음과 같은 제한점을 지닌다.

1) 실험대상은 F344계 흰쥐로서 수컷만을 사용하였다.
2) 12주간의 훈련프로그램은 Bedford 등(1979)의 방법을 사용하였다.

Ⅱ. 이론적 배경

1. 운동이 *GLUT-4* 발현에 미치는 영향

운동은 근육으로의 혈당 이동을 증가시키고 증가된 혈당의 세포내 유입을 위해 GLUT 패밀리의 발현량을 증가시키게 된다. 이들 발현되는 GLUT 패밀리 중 가장 많은 양을 차지하는 단백질은 GLUT-4 단백질이고 세포내에서의 위치 이동은 근수축에 의해 이동하게 된다고 한다(Trembly et al., 2003). 골격근에서의 글루코스 이동시스템은 주로 촉진된 확산에 의해서 나타나고, 이는 운반 단백질인 당 운반체를 이용한다. 포유류의 조직에서 당 운반체는 특정 조직에서 발현되는 구조적으로 관련된 단백질 패밀리이고 많은 연구들에서의 운동이 골격근내 당 유입을 증가시키는 주요 기전이 세포내 부분에서부터 세포표면으로의 당 운반체 단백질의 전위를 통해서 나타난다고 할 수 있다.

근 수축과 인슐린은 골격근내 글루코스 수송의 중요한 생리적 촉진제이다(Rea & James, 1997). GLUT-4의 근초 및 t관 시스템(t-tubular system)으로의 위치 이동이 근육 글루코스 수송을 증가시키는 주요 메커니즘이라는 것에는 의심의 여지가 없지만 이것이 글루코스 수송을 증가시키는 유일한 메커니즘인지, 혹은 GLUT-4의 고유 활동의 증가 또한 여기에 관련되어 있는 것인지에 대해서 논쟁이 있어왔다. 글루코스 수송체의 위치 이동에 관한 초기 연구에는 세포내 분류 기술이 사용되었으며 이 연구들에 의하면 비록 인슐린 및 근수축이 손대지 않은 근육(intact muscle)의 글루코스 수송을 수배씩 증가시켰으나 원형질막 GLUT-4는 단지 1.5-3배 정도만 증가하였다. 이는 관련 글루코스 수송체의 고유 작용이 증가하는 사실에 대한 간접적 증거가 된다. 그러나 세포내 분류는 정확한 상황을 표현하지 못할 수도 있는데 그 이유는 서로 다른 막 부분 사이의 교차오염의 가능성이 있기 때문이다. 그러나 배양된 근육 내 GLUT-4에 표면 labeling을 사용한 최근 연구에 의하면 인슐린 및 수축을

동반한 표면 labeling된 GLUT-4는 글루코스 수송의 측정치가 증가한 것과 훨씬 더 관계가 있는 것으로 나타났다(Lund et al., 1995). 이는 적어도 시험관내 환경에서는 위치 이동이 근육 글루코스 수송의 증가에 중대한 메커니즘이라는 것을 시사한다. 이러한 결과들은 운동 중에 일어나는 것으로 알려진 호르몬 분비의 커다란 변화가 글루코스 수송체의 고유 활동을 조절할 수도 있음을 배제하지 않고 있다.

인간의 글루코스 위치 이동 연구는 그다지 많이 이루어지지 않았다. 그 이유는 대부분의 기술들이 세포내 분류 표본을 위해 몇 그램의 근육에 의존하게 되는데 이것을 건강한 인체에서 채취하는 것은 불가능하기 때문이다. 그러나 최근에는 open-muscle 생체검사법이 외측광근으로 부터 약 1그램의 근육 획득을 가능케 하였는데 이것은 원형질막 및 내부막 부분의 표본을 만들기에 충분하다. 이 기술을 사용하여 인슐린이 GLUT-4가 마이크로솜 부분으로부터 원형질막 부분으로 위치 이동하는 것이 증명 되었다. 최근에 인간 근육에 적용된 또 다른 기술은 근초 거대 소포(sarcolemmal giant vesicle)의 표본이다. 이 기술의 강점은 글루코스 수송 및 GLUT-4 수송체 숫자의 측정에 충분한 양의 근초 소포가 약 300mg의 근육(wet muscle)에서 채취될 수 있으며 이것은 인간 근육의 생체 검사에 쓰이는 보통 주사바늘로 비교적 쉽게 채취할 수 있는 양이라는 것이다. 이 기술을 이용하여 최근 최대하 운동이 근초 GLUT-4 및 글루코스 수송 능력의 점진적 증가를 일으키며 이는 최대하 운동 중의 글루코스 흡수의 점진적 증가와 평행을 이룬다는 것을 밝혀냈다. 뿐만 아니라 운동은 인간 골격근내의 근초 VAMP-2 단백질을 증가시키고 VAMP-2는 소위 v-SNARE 단백질로 많은 조직내에서 소포성(vesicular) trafficking에 관여하는 것으로 여겨지고 있다. 또한 최근에 t-SNARE 단백질 Syntaxin4가 인간 근초내에 존재함을 알아냈고 이러한 결과들은 GLUT-4의 표면막(surface membrane)으로의 위치 이동이 SNARE 단백질과 연관되어 있을 것이라는 가설을 뒷받침한다(Cheatham et al., 1996; Foster & Klip, 2000; Martin et al., 1998; Randhawa et al., 2000).

운동 중 GLUT-4의 세포 표면으로의 위치 이동을 시작하게 하는 신호 과정에 대해서는 아직 이해가 부족하다. 양서류 근육에 관한 초기 연구들에 의하면 원형질막이 스스로 탈분극(depolarization)하는 것은 근육의 글루코스 수송 촉진의 원인이 되

지 않는다. 뿐만 아니라 이들 연구는 등장성 수축(isotonic contraction)중의 단위시간 당 실행된 운동량은 글루코스 수송 증가에 영향을 주지 않음을 입증하였다. 그러나 마취시킨 쥐 및 뒷다리를 관류시킨(perfused) 쥐의 실험에서는 서로 다른 촉진 패턴이 서로 다른 등척성 힘 생성(isometric force procudtion) 및 글루코스 수송의 증대를 일으킨다는 것이 나타났다. 그러나 힘의 발달 혹은 촉진 패턴과 글루코스 수송 사이에는 어떠한 상호관계도 발견되지 않았다.

수축에 의해 촉진되는 글루코스 수송에 관한 연구의 명백한 관심의 초점은 세포내 칼슘의 역할인데 칼슘이 골격근의 수축 과정에서 중요하기 때문이다. 실제로 양서류 근육에 관한 연구들은 포타슘 유도 근육 수축이나 NO3 유도 근소포체 칼슘흡수의 억제의 결과로 초래된 세포내 칼슘의 증가가 크면 클수록 글루코스 수송 속도도 컸음을 보여준다.

Youn 등(1991)은 근 수축을 유도하지 않을 정도의 적은 양의 cytosolic Ca^{2+} 증가가 글루코스 수송을 활성화 시킨다는 사실을 증명하였으며 또한 AMPK 활성이 수축에 의한 글루코스 수송을 자극하는데 관여하는 것으로 보고하였다(MU et al., 2001).

근소포체의 칼슘 방출을 야기시키는 W-7이나 카페인과 같은 약물을 사용한 것보다 최근의 연구에 의하면 세포질 칼슘 농도의 증가는 그 수치가 너무 낮아서 근육 수축을 유도할 수 없을 때조차 근육의 글루코스 수송을 촉진시키는 것으로 나타났다. 그러므로 근육 수축 중의 세포내 칼슘 상승은 수축에 의해 유도되는 글루코스 수송 증가의 중요한 발단인자(initiator)일 수 있다. 세포 활동을 보다 더 해명하려는 시도의 일환으로 칼슘 의존성 단백질 키나아제(PKC)가 더 나아간 연구의 초점이 되어 왔는데, PKC는 수축에 의해 유도된 세포질 칼슘 농도의 증가들의 조합, 원형질막으로의 위치 이동과 디아실글리세롤 생성의 증가에 의해 활성화되는데, 장기 배양 혹은 polymyxin B 억제제 사용으로 유도되는 골격근 PKC 작용의 감소는 수축에 의해 유도되는 글루코스 수송 증가에 손상을 주는 것으로 보고되었다(Cleland et al., 1989). 그러므로 근육 수축 중의 PKC 활성화는 골격근내 글루코스 수송 촉진과 관련된 주요 사건을 대표할 수 있다. 또한 최근 실험에 따르면 근육 수축은 쥐와 사람 모두의 골격근에서 일련반응에 신호를 주는 p38 MAP 키나아제의 작용을 증가시켰

으며(Thong et al., 2003), 더욱이 운동에 의한 골격근에서의 p38 인산화 증가는 운동 후 생체내에서 3시간 동안 지속되었는데 이것은 p38이 운동 후 근육 인슐린 민감도 증가를 매개하는데 관여하는 것으로 평가된다.

근육의 글루코스 수송을 증가시키는 또 다른 생리학적 촉진원은 인슐린이다. 인슐린과 수축은 둘 다 GLUT-4의 근초로의 위치 이동을 유도함으로써 글루코스 수송을 촉진하는데 이 위치 이동을 설명하는 세포 및 분자 활동은 두 촉진원들에 있어서로 다르다. 그러나 관류된 쥐(perfused rat) 근육에서 수축 후 골격근내 인슐린에 대한 감수성 증가와 관찰되는 수축의 상승효과와 최대하 인슐린의 글루코스 수송에 대한 농도는 이 두 촉진원들이 수렴적인 과정을 가지고 있을 수 있음을 암시한다.

Christ 등(2002)은 비만 Zurker 쥐를 대상으로 트레이닝을 실시한 결과 골격근에서 PI3-kinase 및 Akt의 활성도는 변화하지 않는 반면에 AMPK의 활성도는 높게 나타났다고 보고하였다. 포스파티딜이노시톨-3-키나아제(PI3K)의 활성화는 인슐린에 의해 촉진되는 글루코스 수송에 필수적이기 때문에 몇몇 학자들은 PI3K가 수축에 의한 글루코스 수송 증가에서 비슷한 역할을 한다고 제안하였다. 그러나 마취된 쥐나 관류된 쥐(perfused rat)의 근육에서 전기 자극의 결과로 유도된 근육 수축은 인슐린 수용체 기질-1(substrate-1)과 관련된 총 PI3K의 작용이나 PI3K 작용의 하위부분(subfraction)을 증가시키지 않았다. 배양된 쥐 근육에서 인슐린에 의해 유도되는 글루코스 수송을 완전히 억제하는 농도의 PI3K 억제제 wortmannin은 수축에 의해 유도되는 글루코스 수송에 아무런 영향을 주지 않았다. 반대로 최근 관류된 쥐 근육에서 배양 근육 표본에 사용된 것과 비슷한 농도(1나노M)의 wortmannin이 전기 자극 중에 뒷다리(hindlimb)에 의해 흡수된 글루코스의 양을 감소시키는 것을 관찰하였는데 이때 수축성이나 산소 흡수, 일반적인 관류(perfusion) 조건에 혼란스러운 다른 영향은 주지 않았다. 또한 wortmannin 농도를 1에서 10나노M로 증가시킴에 따라 수축에 의한 글루코스 흡수를 거의 완벽히 억제할 수 있다. 그러나 이렇게 wortmannin 농도가 높아지면 힘 생성이 다소 손상된다. PI3K가 전기 자극에 의해 활성화되지 않으며 수축에 의해 촉진되는 글루코스 수송에 대한 wortmannin의 억제 효과가 PI3K를 완전히 억제하는 농도에서 관찰되기 때문에 우리의 자료는

wortmannin이 PI3K에서 독립된 메커니즘을 통하여 작용한다는 것을 시사한다. 그렇지 않으면 wortmannin에 보다 덜 민감한 또 다른 PI3K 동위효소가 수축에 의해 촉진되는 글루코스 수송에 관계하고 있을 수도 있다(Lee et al., 1995).

잘 알려진 혈관 모듈레이터인 아데노신은 관류된 쥐의 수축 근육에서 최대하 인슐린의 글루코스 흡수 촉진을 가능하게 하는 것으로 제안되어 왔다. 이 작용은 A1 아데노신 수용체를 통하여 조정되는 것으로 보이는데 근본적인 세포 상호작용은 아직 밝혀지지 않았다. 테오필린의 투약이 휴식 시가 아닌 운동 중에만 몸 전체의 글루코스 처리 속도를 낮춘 최근의 인체 연구와 몇개의 체내 심근(myocardium) 연구는 아데노신의 이러한 역할을 뒷받침한다. 산화질소 또한 근육의 글루코스 흡수를 조정하는 것으로 보이는 활동 중인 근육에서 생성되는 수명이 짧은 또 하나의 요인이다. 배양 근육으로부터 얻은 자료에 의하면 산화질소 공여체인 니트로프루시드나트륨이 투여량 종속 방식(dose-dependent manner)으로 근육의 글루코스 흡수를 증가시키는 것으로 보이는데 이것은 최대하 인슐린 촉진에 부가적인 것이다. 뿐만 아니라 산화질소 신타아제의 억제는 배양 근육에서의 근육 수축이 글루코스 흡수에 미치는 촉진 효과에 손상을 주는 것으로 보인다.

지난 수년간 근육활동의 감소뿐만 아니라 정상 및 증가가 어떻게 GLUT-1과 GLUT-4 그리고 기본적인 글루코스 수송 및 인슐린에 의해 촉진되는 글루코스 수송에 영향을 미치는지에 관한 연구가 진행되고 있으며 근육활동이 GLUT-4 및 GLUT-1의 조절에 중요한 요인인 한편, GLUT-4 발현에 영향을 끼치는 신경 유도 요인에 기여 하고 근 수축이 GLUT-4 신호(signaling)전달에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다. Lund 등(1995)은 인슐린과 마찬가지로 근수축이 GLUT-4를 세포막으로 이동시킨다는 사실과 글루코스 수송의 증가는 세포막에서의 활성화된 GLUT-4의 수의 증가에 비례한다는 사실을 보고하였다. 쥐의 골격근에서 GLUT-4 발현과 당 수송은 백근 섬유보다 적근 섬유에서 높게 발현된다고 보고(Megeney et al., 1993)하였지만 인간의 골격근에서는 근섬유 형태에 따라 적은 차이가 있다고 보고하였다(Daugaard et al., 2000). Holten 등(2004)은 단기간 또는 장기간 지구력 트레이닝은 글루코스 투과율과 글리코겐 합성과 더불어 GLUT-4 발현이 증가한다고 보고

하였고, Alessi 등(1997)은 인슐린이 세포막에서 인슐린 수용체와 결합한 후 세포내에서 PI3 kinase (phosphatidylinositiol 3-kinase)를 활성화시킨 다음 PKB/Akt를 인산화시켜 GLUT-4의 발현을 유도한다고 하였다.

근육 글루코스 수송의 조절에 관한 기전은 두가지 측면에서 주로 고려되는데, 첫째는 운동신경의 자극빈도와 관련된 근 세포내 Ca^{2+}의 평균농도로 이 신호의 경로는 Ca^{2+}/calmodulin-dependant protein kinase(CaMK)와 몇몇 protein kinase C(PKC)가 관여하며 둘째는 근 수축 중에 일어나는 근육의 실제 대사적 상태와 관련되는데, 이것에는 이온 균형, pH, 기질수준 등이 포함되며, 5'AMP-activated protein kinase (AMPK)가 주 조절자로서 역할을 한다(Ihlemann et al., 1999a).

근 수축과 인슐린은 골격근내 글루코스 수송의 주요한 생리적 촉진제이다. GLUT-4의 근초 및 t관 시스템(t-tubular system)으로의 위치 이동이 근육 글루코스 수송을 증가시키는 주요 메커니즘이라는 것에는 의심의 여지가 없지만(Richter, 1996), 이것이 글루코스 수송을 증가시키는 유일한 메커니즘인지, 혹은 GLUT-4의 고유의 활동의 증가 또한 여기에 관련되어 있는 것인지에 대해서 논쟁이 있어 왔다.

선행연구를 살펴보면, 박성태 등(2005)이 6주간의 달리기 운동이 streptozotocin으로 유도된 당뇨쥐의 가자미근 GLUT4와 VAMP2 단백질 발현에 어떠한 영향을 미치는 지를 알아본 결과, 지구성 운동 트레이닝은 당뇨 쥐의 GLUT4와 VAMP2 단백질 발현을 증가시켰다고 보고하고 있고, 이규성 등(2003)의 연구에서도 지구성 운동이 골격근GLUT-4 발현에 증가됨을 골격근 형태별로 구분하여 확인된 바 있다. 또한 김철현 등(2003)의 연구에 의하면 족저근 GLUT-4 발현량의 경우 비교집단(100%)에 비해 운동집단은 125%로 약 25% 증가한 것으로 타나났고, Goodyear 등(1998)은 운동이 골격근내 GLUT-4 단백질 발현량을 증가시켜 당 수송능력을 개선했다고 보고되었다. 그 외 김영표 등(2004), 김종오 등(2006)의 연구에서도 실험 조건과 분석이 좀 다르긴 하지만 운동이 골격근의 GLUT-4 발현이 증가됨을 밝히고 있다. 이와 같이 여러 선행논문에서 운동이 GLUT-4 단백질 농도에 긍정적인 변화를 가져온다고 보고하고 있다. 하지만 운동 강도별에 따른 변화, 갈색지방조직의 GLUT 패밀리의 변화 등을 운동과 관련하여 본 연구는 희소하다. 위승두 등(2004)은 운동강도에

따라 에너지 대사 관련 물질들의 변화가 다름을 보고하고 있는데 이러한 사실은 결국 운동 강도에 따라 각 조직의 GLUT 패밀리의 변화 양상도 다를 수 있음을 나타내는 결과라 하겠다.

최근 골격근 글루코스 수송에서 수축과 인슐린 자극에 p38 MAPK의 잠재적 역할이 보고되었는데(Furtado et al., 2002), 비록 p38 MAPK가 세포 표면으로 GLUT-4의 전위를 유도하는지는 결정되지 않았지만 p38 MAPK가 근 수축에 의해 활성화됨으로써 운동 중 글루코스 수송을 활성화 시킨다고 보고하였다(Widegren et al., 2001).

이와 같이 운동시에 일어나는 골격근의 GLUT-4발현은 인슐린과 관계없이 다양한 요인에 의해 유도될 수 있는데, 특히 근 수축 활동시 근형질세망으로부터 근형질내로 Ca^{2+} 농도의 증가는 PKC의 활성도를 증가시키는데, PKC의 활성도 증가는 세포내로 글루코스의 이동을 촉진시키며 근 수축이 이루어지는 동안 MAPK활성을 유도하는데, MAPK 역시 글루코스 이동을 촉진시킨다.

인슐린뿐만 아니라 갑상선 호르몬 또한 GLUT-4 발현을 증가시키며(Torrance et al., 1997), 상승된 cAMP에 의해서는 GLUT-4발현을 감소시킨다(Vinals et al., 1997).

이처럼 운동 중 GLUT-4발현에는 인슐린과는 독립적으로 갑상선 호르몬, Ca^{2+}, adenosine, nitric oxide, 및 AMPK와 같은 다양한 인자들이 관여하는 것으로 설명되고 있다.

2. 운동이 *GLUT-2* 발현에 미치는 영향

GLUT-2에 의해 촉진되는 글루코스 수송체 동위효소는 글루코스의 항상성 조절이라는 특유한 자기 역할을 해내는데 있어 필수적인 독특한 성질을 가지고 있다(Brant et al., 2005). 첫째로 이 수송체는 다른 GLUT isoform들이 1~5 mM의 Km을 가진 것에 비하여 17~20mM의 비교적 높은 글루코스 Km을 가지고 있다. 이는 높은 수송 능력과 수송 속도를 보증하는데 수송 속도는 정상 혈당치인 5mM에서 20mM를 훨씬 넘기까지의 세포밖 글루코스 농도에 대한 직접 작용으로써 증가하게 된다. 이것은 GLUT-2가 정상적인 생리학적 조건하에서는 그리고 당뇨성 고혈당 상태일지라도 결코 포화되지 않음을 의미한다. 둘째로 GLUT-2는 글루코스 뿐만 아니라 중요 단당류인 fructose 및 갈락토오스도 수송할 수 있다는 점이다. 마지막으로 글루코스의 유입과 유출시의 수송 역할이 같은데 이는 GLUT-1에 의한 글루코스 수송과 대조적이다. GLUT-1에 의한 글루코스 수송시 글루코스 유출을 위해서는 Km이 유출시보다 최소한 10배 이상 커야한다.

GLUT-2는 장 및 신장의 흡수상피세포의 측저막에 존재하는데 이 세포들내에서 GLUT-2는 글루코스를 상피세포로 수송하는 제 2단계를 촉진시킨다. 즉 상피세포의 가장 외측에 위치한 sodium-dependent 글루코스 수송체인 장내의 SGLUT-1이나 신장내의 SGLUT-2에 의하여 세포에 밀집된 글루코스를 모세혈관 근처에 방출시키는 것이다. 장내에서 GLUT-2는 brush border에 존재하는 GLUT-5에 의한 확산을 통하여 세포로 진입하는 fructose의 측저막을 통한 확산을 위해서도 필요하다. 간세포내에서 GLUT-2는 유동막안에 존재하는데 여기에서는 그 역학적 특성으로 인하여 막사이의 빠른 글루코스 흐름이 가능하다. 이 흐름의 방향은 글루코스의 분해 대사 및 저장, 혹은 글리코겐의 분해 및 당신생의 호르몬 조절에 의해 좌우된다. 간세포에는 GLUT-5가 존재하지 않으므로 fructose의 흡수는 역시 GLUT-2에 의존하게 된다. GLUT-2는 원형질막에서도 고도로 발현되는데 원형질막에서는 세포내 글루코스의 균형이 빠르게 이루어진다. 이러한 GLUT-2의 특징은 글루코스의 항상성 조절

에 있어서의 특유한 자기 기능을 하기 위한 바탕을 이룬다(Burcelin et al., 2001; Rencurel et al., 1996). GLUT-2의 간장 내에서의 국지화에 관해서는 면역조직화학법(immunohistochemistry)에서 이 수송체의 CARBOXYL-TERMINAL TAIL에 반응하는 특정 항체를 사용하여 연구되었다. 이 수송체는 간세포의 유동막에 국지화되어 있으며 정맥 간세포 주변에 비하여 간맥 간세포 주변에서 더 높게 발현되는 경사진 발현이 관찰되었다.

쥐의 간에는 GLUT-1 역시 존재하나 면역조직화학법에 의하면 이들은 간정맥 부근의 간세포 일부에만 국지화되어 있다. 이것은 GLUT-2가 간에서의 주요 수송체이나, 간세포 대사의 국부적 차이는 수송체 동위효소의 서로 다른 발현과 관계가 있음을 의미한다. 즉, 간문 triad 부근의 당 신생에 관여하는 간세포들은 GLUT-2만을 발현하는 반면 정맥 부근의 당 분해에 관여하는 간세포는 GLUT-1 역시 발현한다.

간세포안으로의 혹은 밖으로의 글루코스의 흐름은 수송체 활동의 급작스런 변경에 의해 조절되는 것이 아니고 이 흐름의 방향은 호르몬에 의해 조절되는 글루코스 대사의 변화에 의해 좌우된다. 식후 상태에서 높은 인슐린 수치는 주요 당 신생 효소의 글루카곤 활동을 억제시키고 그로 인하여 글루코스의 유입을 용이하게 하며 당분해와 글리코겐 합성을 촉진시킨다. 장기적인 단식으로 인하여 활성화되는 반조정(counterregulatory) 호르몬 및 혈당과 글루카곤이 감소할 경우 글리코겐의 감소, 글루코스의 새로운 합성 및 글루코스의 혈액내로의 방출이 촉진된다. GLUT-2의 높은 수용력 및 균형적이라는 수송 특성은 간세포안으로의, 혹은 바깥으로의 빠른 양방향 흐름을 가능케 하는 열쇠로 여겨진다.

쥐의 간장의 발달에서 GLUT-2는 태아기 말기에 처음으로 인지되는데 15일차에 매우 낮은 수치로 존재하며 이후부터 증가한다. 생후 GLUT-2의 수치는 점점 상승하여 성인 최고치에 도달하고 성인의 간장에서 글루코스를 인산화하는 주효소인 글루코키나아제는 생후 2주부터 관찰되기 시작하여 생후 60일까지 수치가 상승한다. 이에 반해 GLUT-1은 태아 및 신생아때 높은 수치를 보이다가 생후 2주에 감소하기 시작하여 성인이 되면 매우 낮아진다. 헥소키나아제는 GLUT-1이 태아기 간장에서는 높았다가 생후에 감소하여 성인이 되면 낮은 수치에 도달하는 것에 발맞추어

수치가 달라진다.

어릴 때의 수송체 발현의 전환은 새끼를 서로 다른 식단으로 이유(weaning)시킴에 따라 변화시킬 수 있다. 예를 들어 고탄수화물 식단으로 이유를 시키면 GLUT-2 발현을 촉진하는 효과가 있으며 고지방 식단으로 이유를 시키면 GLUT-2의 발현에는 단지 아주 작은 증가만 있게 된다. 그러므로 수송체 발현에 변화를 야기하는 발달 프로그램은 영양 구성에 따라 상당히 조정이 가능하다.

GLUT-2 발현은 굶긴 쥐의 간장에서 감소하고 탄수화물과 함께 다시 먹이를 먹게 하면 증가한다. streptozotocin 당뇨 쥐에서 GLUT-2의 수치는 변화가 없거나 상승하는 것으로 보고되고 있다. 보다 최근의 연구에서 쥐에게 streptozotocin을 주사한 후 GLUT-2의 역학은 다음과 같았다. 조치 후 얼마 되지 않아(6시간) GLUT-2의 mRNA가 90% 감소하였는데 이는 췌장 베타 세포의 파괴 및 그에 따른 인슐린 방출로 인한 고인슐린혈증 및 저혈당증과 관련이 있다. 그러나 48시간이 지나자 GLUT-2 mRNA 수치는 비교군 쥐에 비해 2배 높아졌고 48~72시간 후 비슷한 증가가 단백질 수치에서도 관찰되었다. 예상대로 PEPCK mRNA는 GLUT-2의 mRNA에 따라서 정확히 변하였으며 글루코키나아제의 mRNA는 6시간 후에는 약간 더 높은 수치를 보이다가 48시간에는 발현이 감소되는 등, 반대로 조절되었다. 정상혈당 고인슐린 클램프 검사를 이용하자 글루코스가 부분적으로 GLUT-2의 감소된 발현에 끼치는 높은 인슐린의 영향을 억제하는 것으로 보여 졌고, 분리된 간세포내에서 인슐린이 GLUT-2 발현에 끼치는 억제 효과는 글루코스에 의해 역전될 수 있다. 나아가 글루코스는 스스로 GLUT-2 mRNA 축적에 촉진 활동을 하는 것으로 밝혀졌는데 이는 인슐린의 억제 활동 중 지배적이었다. 분리된 간세포내에서의 글루코스의 GLUT-2에 대한 작용은 mannose나 fructose를 가지고도 관찰될 수 있으나 비대사(non-metabolized) 기질인 3O-methyl-D-glucose와 2-deoxy-D-glucose 혹은 비수송 이당자당으로는 불가능하다. streptozotocin 당뇨 쥐에서 관찰되는 GLUT-2 발현의 증가는 인슐린 치료가 없는 상태에서 플로진(phlorizin)을 사용하여 혈중 글루코스 농도를 떨어뜨리거나 insulinomimetic 물질인 바나듐산염(vanadate)으로 처리함으로써 역전될 수 있다.

Zucker나 Wistar 비만 쥐, 혹은 viable yellow mouse와 같은 비만 동물에서도 적절하게 통제한 비교군에 비하여 GLUT-2 발현의 증가가 나타난다.

분리된 간세포내의 GLUT-2 발현의 조절은 유전 정보의 안정화라기보다는 유전자 전사에 끼치는 직접적 영향에서 기인한다. 유전자 전사의 조절은 글루코키나아제 및 헥소키나아제 활동의 억제제인 N-acetylglycosamine가 글루코스에 의해 촉진되는 GLUT-2 발현을 파괴하기 때문에 글루코스의 인산화를 요한다. 글루코스의 비슷한 효과가 보고 유전자와 연계된 뮤린 쥐의 GLUT-2 조촉매의 중앙에 가까운 부분의 파편과 트랜스펙션한 간세포에서도 감지된다. 이 실험에서 글루코스는 내생적인(endogenous) GLUT-2 mRNA 발현과 비슷한 방법으로 보고 유전자의 발현을 증가시킬 수 있었다. 이 글루코스의 전사 조절을 위하여 요구되는 GLUT-2 유전자 cis-regulatory 요소들은 전사 개시 장소의 바로 상류에 있는 338번 뉴클레오티드 내에 위치한다. 인슐린이나 L-type pyruvate 키나아제 유전자와 같은 글루코스 조절 요소와의 sequence 상동은 이 뉴클레오티드 단위에서는 감지되지 않았는데 이는 아직 알려지지 않은 조절 sequence가 존재함을 시사한다. 정맥 주변 간세포에 의한 GLUT-1 발현 또한 당뇨 및 단식 상태에서 증가하였는데 주로 간장 세정맥 말단(terminal hepatic venule) 주변의 간세포의 부가열(additional rows of hepatocytes)에서의 발현의 결과로 혈당증의 변화보다는 낮은 인슐린 순환 수치를 원인으로 하는 영향이다(Brant et al., 2005).

3. 운동이 당내성 능력에 미치는 영향

최근 운동과 관련하여 당내성 능력의 증가기전에 대한 연구들이 활발히 이루어지고 있다. 박민희(2008)의 연구에 의하면 흰쥐를 대상으로 8주간의 트레드밀 운동 후 당내성 능력을 증가시킬 수 있음을 제시하였으며, 특히 박성태 등(2005)의 연구에 의하면, 6주간의 달리기 운동이 streptozotocin으로 유도된 당뇨 쥐의 가자미근 GLUT4와 VAMP2 단백질 발현에 어떠한 영향을 미치는지를 알아본 결과, 지구성 운동 트레이닝은 당뇨 쥐의 혈당의 감소와 더불어 GLUT4와 VAMP2 단백질 발현을 증가시켰다고 보고하고 있어 혈당의 감소 기전에 가자미근의 당 수송체가 관련하고 있음을 제시하였다.

선행연구에 따르면 당내성 저하 유발의 주요 원인인 인슐린 감수성 저하는 규칙적인 신체활동을 통해 예방 혹은 개선할 수 있으며(Laaksonen et al., 2002; Duncan et al., 2003), 이러한 대사 개선현상은 내당장애(impaired glucose tolerance)를 나타내는 당뇨 고위험군에게서도 밝혀진 바 있다(김영표 등, 2004; 김효정, 2005).

최근 연구들에서 경구 당부하 후 2시간 동안 insulin이 분비되는 양상과 혈당을 측정함으로써 췌장 β-세포의 insulin 분비 기능을 검사하는 방법이 당 대사 이상을 측정할 수 있는 방법인 것으로 밝혀졌으며, 특히 insulin 분비 및 혈당 변화 양상은 당뇨병의 발병 위험성이나 진행정도를 측정하는 효과적인 지표임을 밝히고 있다(Mari et al., 2002) 특히 임신으로 인한 당 대사의 생리학적 변화에 의해 생기는 대표적인 질환은 임신성 당뇨병이다. 임신성 당뇨병은 임신 중 처음 진단되거나 또는 임신 중에 시작된 당의 불내성(glucose intolerance)이 나타나는 질환을 의미하는 것으로 산모가 임신성 당뇨에 이환된 경우 합병증으로 과체중아, 거대아 등으로 인한 제왕절개술 빈도의 증가, 신생아의 저혈당, 고빌리루빈혈증 및 적혈구 증가 등의 발생이 증가(Olarinoye et al., 2004)한다고 알려져 있어 이를 예방하기 위한 연구가 많이 진행되고 있는 현실이다.

Ⅲ. 연구방법

본 연구는 운동 강도 차이에 따른 F344 흰쥐의 가자미근과 갈색지방조직의 GLUT-4 mRNA와 GLUT-2 mRNA 동위효소의 변화와 생화학적 특성을 규명하기 위하여 운동 강도별 12주간 지구성 운동을 실시하였다.

1. 실험 대상

본 실험에 사용된 동물은 국가공인 동물취급업체로부터 공급받은 생후 7주령 된 체중이 250-300g되는 F344 흰쥐 수컷을 사용하였다.

운동집단은 지구성 저강도(5-8m/min, 50-60%VO_2max) 운동집단(n=10), 지구성 중강도(14-16m/min, 65-70%VO_2max) 운동집단(n=10), 지구성 고강도(22-25m/min, 80%VO_2max) 운동집단(n=10)으로 분류하였으며, 비교군으로 운동을 하지 않은 정상 흰쥐인 통제집단(n=10)을 두어 비교하였다. 선정된 실험동물은 전 실험기간을 통하여 코리아 퓨리나(korea purina)에서 시판되는 고형사료[Crude protein(15%), Crude fats(2.0%), Crude fiber(15%), Crude ash(10%), Calcium(0.8%), Phosphorus(0.4%)]와 충분한 물을 자유스럽게 섭취하도록 하였으며, 온도는 22-24℃, 습도는 60%의 사육실에서 사육케이스(30cm×20cm)를 이용하여 동일한 환경에서 사육하였다.

2. 실험 절차

본 연구의 전반적인 실험 절차를 요약하면 <Table 1>에 제시한 바와 같다.

실험 동물
1. F-344 males, 7주령(40마리) : 무작위 방법으로 집단 분류 1) 저강도 운동집단(n=10) 2) 중강도 운동집단(n=10) 3) 고강도 운동집단(n=10) 4) 통제집단(n=10)
↓
트레드밀 운동 프로토콜
1. 저강도 : speed 5-8m/min, grade 0. 30min/day, 4days/week, 12weeks 2. 중강도 : speed 14-16m/min, grade 0. 30min/day, 4days/week, 12weeks 3. 고강도 : speed 22-25m/min, grade 0. 30min/day, 4days/week, 12weeks
↓
분석방법 및 측정항목
1. 경구 당부하 검사 : 당내성 능력 검사 2. RT-PCR : GLUT-4 mRNA(soleus muscle) & GLUT-2 mRNA(brown adipose tissue)
↓
자료 처리
1 각 항목별 평균과 표준편차를 제시 2. one-way ANOVA와 Duncan's post-hoc test : mRNA 항목별 집단간 유의성 검증과 사후 검증 3. RM-ANOVA : 경구 당부하 검사 결과 4. 통계적 유의 수준은 $p < .05$ 로 설정

Table 1. Experimental process

3. 훈련 방법

실험용 흰쥐 집단은 7일간의 환경적응 및 트레드밀 적응 기간을 거쳐 Bedford 등(1979)의 방법에 따라 지구성 저강도(5-8m/min, 50-60%VO_2max) 훈련집단(n=10), 지구성 중강도(14-16m/min, 65-70%VO_2max) 훈련집단(n=10), 지구성 고강도(22-25m/min, 80%VO_2max) 훈련집단(n=10), 통제집단(n=10)으로 분류하였으며, 훈련시간은 1주일에 4일, 1회 30분간 12주로 구성하였다(Table 2). 흰쥐의 활동이 왕성한 야간 상황에서 부여하기 위하여 사육장의 조명을 매일 저녁 8시에 켜주고 아침 8시(12hr:12hr)에 꺼주어 사육장의 밤낮 상황을 조절하여 생체리듬을 유지하게 함으로써 훈련을 효과적으로 할 수 있도록 유도하였다. 그리고 운동 중 흰쥐가 임의로 운동을 중단할 때에는 트레드밀의 벨트 하단에 장치된 10volts의 전기 자극을 줌으로써 계속하여 운동할 수 있도록 유도하였다. 그러나 전기 자극에 의한 영향을 배제하기 위하여 가능한 전기 자극 없이 종이 막대를 이용하여 자극을 줌으로써 계속 운동할 수 있게 하였다. 실험기간 동안 운동을 하지 않는 대조군은 사육실에서 자연스럽게 방치하여 운동집단이 운동을 수행하는 시간만큼 소형동물용 트레드밀 위에 방치해 두었다.

Table 2. Endurance training program

Group	N	Duration	Frequency	Intensity		Exercise time
				speed	grade	
		(weeks)	(days/week)	(m/min)	(%)	(min)
Con	10	12	*	*	*	*
Low	10	12	4	5-8	0	30
Moderate	10	12	4	14-16	0	30
High	10	12	4	22-25	0	30

Con: control group, Low: low-intensity exercise group, Moderate: moderate-intensity exercise group, High: high-intensity exercise group

4. 실험 방법

1) 가자미근과 갈색지방 조직의 적출

가자미근과 갈색지방조직의 적출은 경구 당부하 검사 후 이루어졌다. 먼저 앙와위 자세에서 혈액 채취가 끝난 뒤, 실험쥐는 복와위 자세로 해부학적 자세를 바꾼 뒤, 왼쪽 가자미근의 일정량을 적출하였다. 갈색지방조직은 주로 겨드랑이, 어깨뼈, 뒷목 주변부 등에 분포되어 견갑골과 견갑골 사이의 갈색지방조직을 적출하였다. 적출부위에 따른 오차를 줄이기 위해 실험 내내 한명의 검사자가 동일한 부위를 설정하여 일정량을 적출하였고 적출된 각각의 조직은 즉시 -70℃의 냉동고에 넣어 분석전까지 보관하였다.

2) 체중 및 당내성 검사*(OGTT)*

당내성 검사는 경구당 부하검사로 이용하여 12주간의 운동이 종료된 후 다음날 실시되었다. 체중은 체중계(TANITA co., Japan)를 이용하여 측정하고, OGTT는 정량의 포도당을 체내에 투여한 후 신체의 적응능력을 측정하는 검사로 식이 후 12시간이 지난 다음, 공복 상태에서 혈당을 측정한 뒤, 3차 증류수 1ml glucose 0.2mg을 혼합하여 20% 수준의 glucose 농도로 만든 후, 20% 수준의 glucose를 kg당 2ml 섭취시킨 후 꼬리 정맥으로부터 30분, 60분, 90분, 120분에 각각 채혈하여 혈당 측정기를 이용하여 혈당을 측정하였다.

3) 역전사중합효소연쇄반응*(RT-PCR)*

(1) mRNA 분리

가자미근과 갈색지방으로부터 RNA를 분리하기 위하여 조직을 떼어 100mg으로

무게를 측정한 후 분쇄하였다. 이 후 Easy-BLUE(Intron, Sungnam, Korea)을 넣고 조직을 마쇄한 후, 1.5ml 튜브에 1ml씩 분주하였다. 각 튜브에 100ul의 chloroform을 넣고 잘 흔들어 주어 5분 동안 얼음에 정치시켜 단백질을 제거하였다. samples을 15,000rpm에서 15분 동안 원심분리하여 RNA를 분리한 후 RNA가 포함된 상층을 새 튜브에 옮겨, isopropanol를 첨가한 후 얼음에서 15분 동안 정치시켰다. 4도씨, 15,000rpm에서 15분 동안 원심분리한 후 상층을 제거하고 75% 에탄올로 RNA를 세척하여 4도씨 8,500rpm에서 8분 동안 원심분리하였다. 이후 에탄올을 제거한 후 후드에서 10분 동안 건조시키고 건조된 RNA를 DEPC water에 녹여 270nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

(2) 역전사효소반응

조직으로부터 mRNA 2ug을 MMLV reverse transcriptase(Promega, Madison, WI)와 random primer (Bioneer, Daejeon, Korea)을 혼합하여 37도씨에서 1시간 동안 반응시켰다. GLUT-4 및 GLUT-2와 actin을 알아보기 위해 486bp와 811bp의 primer를 합성하였다. GLUT-4의 forward primer는 (5'ACA GAA GGT GAT TGA ACA GAC3′)와 GLUT-2는 (5'TTA GCA ACT GGG TCT GCA AT3')이고 reverse primer는 (5'AAC CGT CCA AGA ATG AGT ATC3′)와 (5'GGT GTA GTC CTA CAC TCA TG3')이다. 또한 동일한 양의 전체 RNA를 확인하기 위한 actin의 forward primer는 (5'CAC ACT GTG CCC ATC TAT GA3′)이고, reverse primer는 (5'TAC GGA TGT CAA CGT CAC AC3′)이다. PCR은 94℃에서 5분간 pre-incubation, 95℃에서 60초간 denaturation, 56℃에서 60초간 annealing, 72℃에서 60초간 extension을 25회 반복하고 72℃에서 5분간 post-incubation하여 수행하였으며 1.5% agarose gel에 전개하여 확인 후 I-Solution software(Image & Microscope Technology)를 이용하여 수치화하였다.

5. 자료처리 방법

본 실험에서 얻은 자료는 SPSS package(version 14. 0)를 이용하여 평균 및 표준편차를 산출하였다. 운동 강도에 따른 가자미근의 GLUT-4 mRNA와 갈색지방조직의 GLUT-2 mRNA 발현의 집단간 평균치 차이를 비교하기 위하여 one way-ANOVA를, 당내성 검사는 repeated ANOVA(반복측정 분산분석)를 실시하였다. 유의한 차이에 대해서는 사후비교 방법으로 Duncan의 다중비교법과 pairwise comparison을 사용하였으며 검사의 유의 수준은 $p < .05$수준으로 설정하였다.

Ⅳ. 연구결과

1. 운동에 의한 가자미근 *GLUT-4 mRNA* 발현

가자미근내에서 발현되는 GLUT-4 mRNA 발현량에 대한 정성적 자료는 <Fig. 1>에서 보는 바와 같이 시각적으로 그룹간에 뚜렷한 차이를 보였다. 이에 대한 정량적 분석 자료는 <Table 3>, <Fig. 2>와 같이 통제군은 18149.10 ± 956.86 (volume), 저강도 운동군은 23136.00 ± 809.56 (volume), 중강도 운동군은 42319.40 ± 1194.75 (volume), 고강도 운동군은 6446.70 ± 469.15 (volume)로 나타났다. 집단간 가자미근내 GLUT-4 mRNA 발현량의 차이를 알아보기 위해 one-way ANOVA를 실시한 결과 <Table 4>와 같이 집단간 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다[$F_{(3,39)}$ = 2774.974, p = .000]. 이러한 유의차에 대한 사후검증으로서 Duncan's post hoc test를 실시한 결과 가자미근에서의 GLUT-4 mRNA 발현량은 통제군에 비해 저강도 운동군과 중강도 운동군에서 높은 발현량을 보였으나, 고강도 운동군에서는 통제군보다 GLUT-4 mRNA 발현량이 통계적으로 유의하게 감소하는 것으로 나타났다.

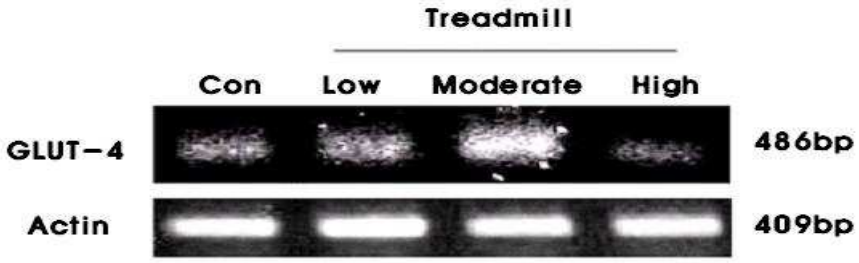

Fig. 1. RT-PCR on GLUT-4 mRNA expression in skeletal muscle of rats

Table 3. GLUT-4 mRNA expression in soleus muscle of rats

(unit : optical density)

Groups	N	GLUT-4 mRNA	Relatived density(%)
Con	10	18149.10±956.86[c]	100±0.00
Low	10	23136.00±809.56[b]	127.82±8.63
Moderate	10	42319.40±1194.75[a]	233.79±14.54
High	10	6446.70±469.15[d]	35.61±3.21

All values are mean±standard deviations(S.D).[a,b,c,d]: Different superscripts in the same column indicate significant difference by the Duncan's post hoc($p < .05$), Con: control group, Low: low-intensity exercise, Moderate: moderate-intensity exercise, High: high-intensity exercise

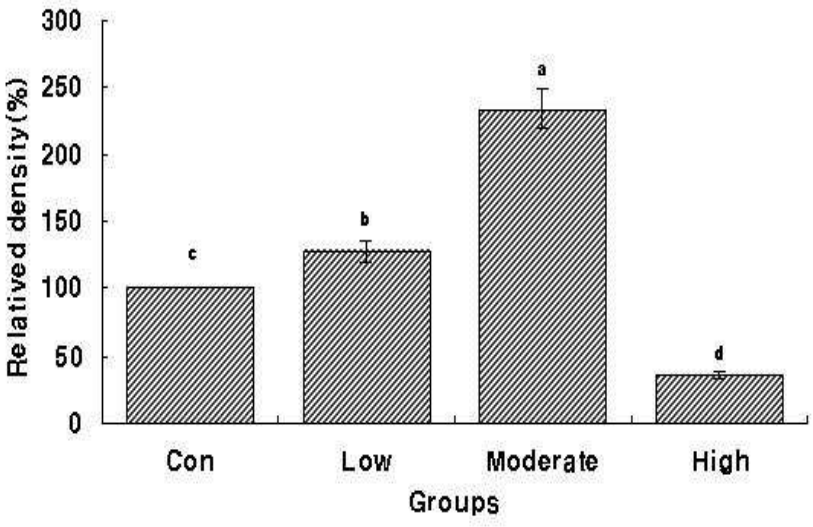

Fig. 2. Quantitative analysis on GLUT-4 mRNA expression in skeletal muscle of rats

Table 4. The results of one-way ANOVA and Duncan's post-hoc test on the GLUT-4 mRNA expression in soleus muscle of rats

	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p
Between Groups	6.7E+009	3	2.2E+009	2774.974	.000
Within Groups	28966811	36	804633.7		
Total	6.7E+009	39			

2. 운동에 의한 갈색지방 GLUT-2 mRNA 발현

갈색지방내에서 발현되는 GLUT-2 mRNA 발현량에 대한 정성적 자료는 <Fig. 3>에서 보는 바와 같이 시각적으로 그룹간에 뚜렷한 차이를 보였다. 이에 대한 정량적 분석 자료는 <Table 5>, <Fig. 4>와 같이 통제군은 16438.70 ± 1086.975 (volume), 저강도 운동군은 15648.90 ± 768.54 (volume), 중강도 운동군은 43566.10 ± 1322.196 (volume), 고강도 운동군은 27461.10 ± 808.02 (volume)로 나타났다. 집단간 갈색지방내 GLUT-2 mRNA 발현량의 차이를 알아보기 위해 one-way ANOVA를 실시한 결과 <Table 6>과 같이 집단간 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다[$F_{(3.39)}$ = 1626.448, p = .000]. 이러한 유의차에 대한 사후검증으로서 Duncan's post hoc test를 실시한 결과 갈색지방내에서의 GLUT-2 mRNA 발현량은 통제군에 비해 중강도 운동군과 고강도 운동군에서 통계적으로 유의하게 높은 발현량을 보였으나, 저강도 운동군에서는 통제군과 비교하여 GLUT-2 mRNA 발현량이 통계적으로 유의하지 않은 것으로 나타났다.

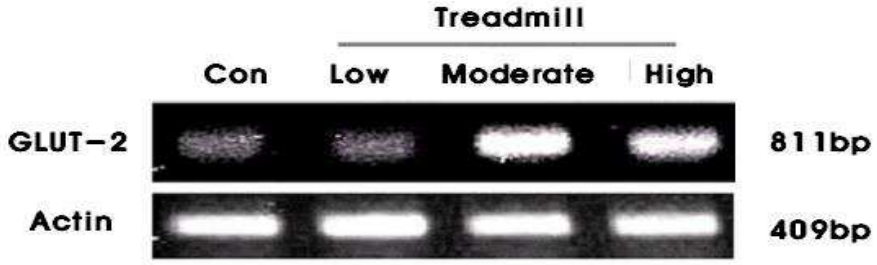

Fig. 3. RT-PCR on GLUT-2 mRNA expression in brown adipose tissue of rats

Table 5. GLUT-2 mRNA expression in brown adipose tissue muscle of rats
(unit : optical density)

Groups	N	GLUT-2 mRNA	Relatived density(%)
Con	10	16438.70±1086.975^{c}	100±0.00
Low	10	15648.90±768.54^{c}	95.51±7.06
Moderate	10	43566.10±1322.196^{a}	265.98±17.74
High	10	27461.10±808.02^{b}	167.79±13.54

All values are mean±standard deviations(S.D).^{a,b,c,d}:Different superscripts in the same column indicate significant difference by the Duncan's post hoc($p < .05$), Con: control group, Low: low-intensity exercise, Moderate: moderate-intensity exercise, High: high-intensity exercise

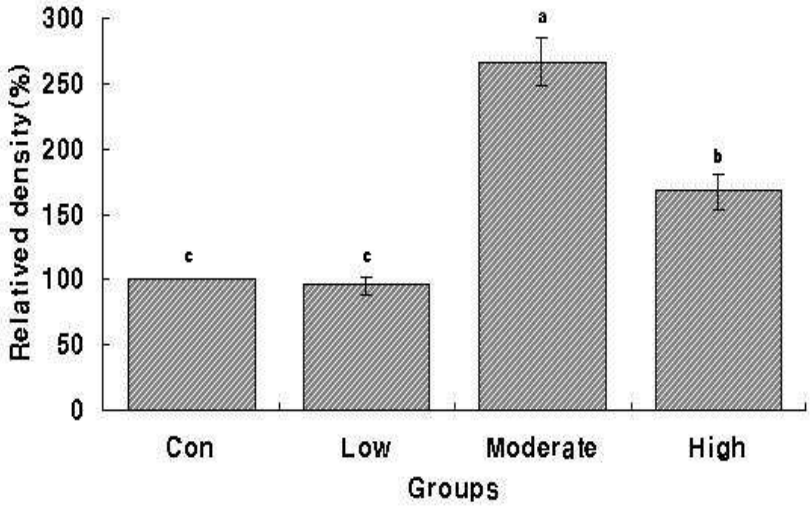

Fig. 4. Quantitative analysis on GLUT-2 mRNA expression in brown adipose tissue of rats

Table 6. The results of one-way ANOVA and Duncan's post-hoc test on the GLUT-2 mRNA expression in brown adipose tissue of rats

	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p
Between Groups	5.1E+009	3	1.7E+009	1626.448	.000
Within Groups	37559534	36	1043320		
Total	5.1E+009	39			

3. 당내성 검사

강도별 12주간의 운동이 당내성의 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위해 경구 당부하 검사를 실시한 결과 <Table 7>, <Fig. 5>에서 보는 바와 같다. 그룹간 경과시간에 대한 유의차를 알아보기 위해 반복측정 분산분석을 실시한 결과 <Table 8>과 같이 그룹과 섭취 경과시간에 대해 상호작용이 있는 것으로 나타났다[$F_{(12,\ 144)}$ = 9.936, p = .000]. 이에 대한 사후검증 결과 <Table 7>에 나타낸 바와 같이 안정시와 글루코스 섭취 30분 후에서는 그룹간에 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. 60분 이후부터 120분까지에서는 전 그룹 모두 정상적인 당내성 변화 범위내에서 운동군이 통제군에 비해 유의하게 낮은 경향을 보였으며, 운동군내에서는 60분까지 운동강도별 차이가 없는 것으로 나타났으나 섭취 90분, 120분에서는 저, 중강도 운동군이 고강도 운동군에 비해 유의하게 감소하는 것으로 나타났다.

*T*able 7. Glucose tolerance test (unit : mg/dl)

Groups	N	start	30(min)	60(min)	90(min)	120(min)
Con	10	81.20± 2.04^{a}	150.30±1.70^{a}	171.40±4.74^{c}	141.30±2.75^{c}	121.60±3.74^{c}
Low	10	81.90± 2.28^{a}	150.90±1.44^{a}	162.40±2.79^{a}	135.80±3.58^{a}	107.70±4.21^{a}
Moderate	10	82.10± 2.80^{a}	151.10±3.31^{a}	162.30±3.56^{a}	134.10±3.84^{a}	108.90±3.54^{a}
High	10	83.40± .69^{a}	151.20±2.48^{a}	167.60±4.03^{b}	139.90±3.14^{b}	117.60±3.68^{b}

All values are mean±standard deviations(S.D). ^{a,b,c,d}: Different superscripts in the same column indicate significant difference by the Fisher's pairwise comparisons($p< .05$), Con: control group, Low: low-intensity exercise, Moderate: moderate-intensity exercise, High: high-intensity exercise

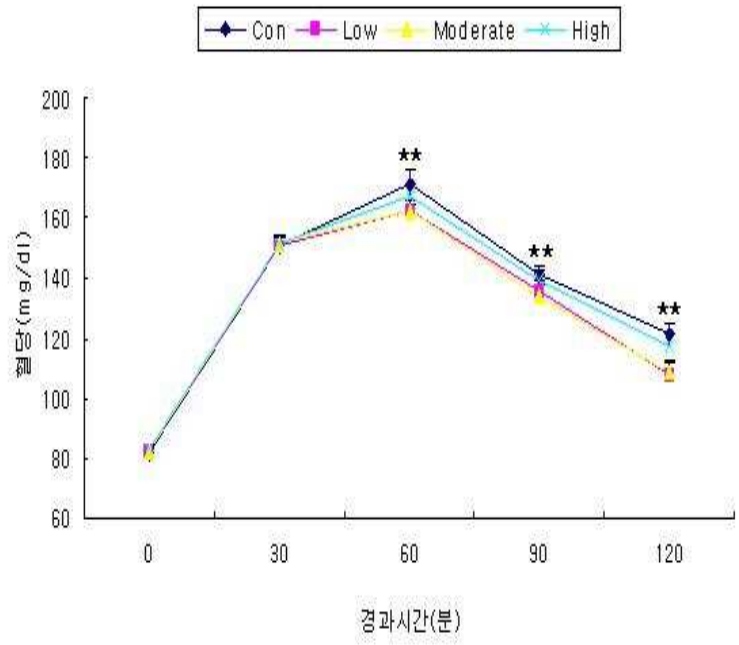

Fig. 5. Glucose tolerance test

Table 8. The results of RM-ANOVA on glucose tolerance test in rats

	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p
group	934.095	3	311.365	23.725	.000
error	472.460	36	13.124		
time	164562.1	4	41140.533	4396.661	.000
group*time	1115.630	12	92.969	9.936	.000
error	1347.440	144	9.357		

V. 논 의

본 연구는 F344 흰쥐를 대상으로 12주 동안 트레드밀 운동을 강도별로 수행하여 골격근의 가자미근과 갈색지방조직에서 GLUT-4 mRNA와 GLUT-2 mRNA의 발현 정도를 유전자 발현 수준에서 생화학적, 정량적으로 분석하여 결과를 도출하였으며 당부하 검사는 조직 분석전에 수행되었다. 본 연구에서 분석한 결과를 토대로 하여 트레드밀 운동의 강도차이에 따른 당내성 능력과 GLUT-4 mRNA 및 GLUT-2 mRNA 발현 수준과의 관련성을 중심으로 논의하고자 한다.

본 연구에서는 가자미근의 당 수송 관련 단백질인 GLUT-4 mRNA 발현이 운동 강도에 따라 유전자 발현 수준에서 어떠한 변화가 있는지 분석하기 위해 RT-PCR을 실시하였다. 그 결과 저, 중강도 운동군에서 GLUT-4 mRNA가 통제군과 비교하여 유의한 증가를 보였으나 고강도 운동군에서는 통제군보다 감소된 발현을 보였다.

앞서 제시한 바와 같이 GLUT-4는 가자미근에서 가장 많이 발현되고 당 수송(glucose transport)과 밀접한 관련이 있는 단백질이며 운동에 의한 근 수축과 인슐린에 의해 자극을 받으면 세포내 GLUT-4 저장 소포체에서 근형질막(sarcolemma)으로 이동(translocation)하여 자신의 역할을 수행한다(Douen et al., 1990; Marette et al., 1992)라는 기전적인 사실로 미루어 볼 때 운동 강도에 따른 당내성 능력에도 영향을 미쳤을 것으로 생각된다.

근 수축과 인슐린은 골격근에서 당 수송의 생리적 기전을 촉진시키는 대표적인 자극제이며 근형질막과 t-세관으로 GLUT-4의 이동은 근육내 당 수송을 증가시키는 중요한 기전이라는 것은 의심할 여지가 없지만 당 수송을 증가시키는 기전이 운동과 인슐린에 의해서만 발생되는 것인지 또는 GLUT-4가 본질적으로 가지고 있는 활동성이 촉진되어 당 수송이 증가하는 것인지에 대한 논쟁이 여전히 남아있다.

20여년 전의 선행연구들은 세포하 분획기술(subcellular fractionation techniques)을 이용하여 당 수송 단백질의 세포막 이동을 확인하였고 운동에 의한 근 수축과 인슐린으로 인해 골격근에서 당 수송 단백질의 발현이 향상되며(Ploug et al., 1984,

1987; Richter et al., 1987), 세포막에서의 GLUT-4 함량이 1.5-3배까지 증가한다는 것을 확인하였다(Douen et al., 1990; Goodyear et al., 1998; Marette et al., 1992).

최근의 선행연구에 따르면 생체외(in vitro)에서 배양된 근육 세포에서 GLUT-4 단백질이 세포막에 존재하고 운동에 의한 근 수축과 인슐린에 의해 세포막쪽으로 이동이 증가한다고 보고하고 있다(Lund et al., 1995; Wilson et al., 1994). 이러한 실험 결과들은 운동과 인슐린이 당 수송 단백질의 활동성을 증가시키는 직접적인 인자라는 것을 다시 한번 입증해 주는 것이다. 따라서 본 연구에서 언급하는 운동에 의한 GLUT-4 mRNA의 증가는 운동 신호의 전달에 의해 증가된 것이라 생각한다.

본 연구결과 가자미근에서 GLUT-4 mRNA의 발현이 운동 강도의 차이에 따라 변화한다는 것을 확인하였다. 고강도 운동에서는 GLUT-4 mRNA의 유도가 가자미근에서 감소하는 반면 저, 중강도 운동에서는 통제군에 비해 통계적으로 유의한 증가를 보였다. 이러한 적정 강도 운동에 의한 가자미근의 반복적인 수축은 당 운송을 담당하는 단백질의 발현을 유도할 뿐만 아니라 여러 신호전달경로(signalling pathway)를 활성화시키기 때문이다.

골격근에서 운동에 의한 글루코스 유입(glucose uptake)은 안정시에 비해 다양한 분자생물학적 기전이 가속화되어 조직과 조직내 세포에서의 글루코스 공급이 활발해진다. 이러한 현상은 형질막(plasma membrane)과 t-세관(transverse tubule)의 저장공간에 모여 있는 GLUT-4가 모세혈관 관류의 증가와 세포막 이동 능력(membrane transport capacity)이 증가함으로 발생된다(Ploug et al., 1998). 그러므로 가자미근에서 운동과 근 수축에 의한 당 수송 단백질의 발현의 변화는 밀접한 관련이 있다.

운동 수행시 당 수송에 관한 조절 기전은 크게 두 가지 경로로 설명된다(Ihlemann et al., 1999b). 첫번째 기전은 운동 신경의 지속적인 자극에 의한 근 세포내 Ca^{2+} 농도의 변화이다. 이러한 경로는 Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase(CaMK)와 protein kinase C(PKC)의 활성화를 통해 이루어진다. 두번째 기전은 근 수축이 일어나는 동안 근세포의 실질적인 대사상태의 변화이다. 근 수축에 의한 대사과정은 이온균형(ion balance), pH 그리고 기질의 양에 따라 변화하고, 5' AMP-activated protein kinase (AMPK)의 활성화에 영향을 받는다.

당 수송의 증가시 세포내 Ca^{2+}의 역할을 보고한 선행연구를 보면 약리학적으로 유도된 근 세포내 Ca^{2+}의 농도를 증가시킬 경우 당 수송이 촉진되고 개구리의 뒷다리에 전기 자극을 가하여 근 수축을 유도할 경우에도 당 수송이 증가된다고 보고하고 있다 (Holloszy & Narahara, 1967; Youn et al., 1991). Ihlemann 등 (2000)은 전기 자극에 의한 근 수축 증가시 당 수송에 촉진은 근 수축이 발생되는 빈도가 증가할수록 더욱 높은 글루코스 유입이 발생한다고 보고하였다.

운동에 의한 당 수송 증가와 관련된 Ca^{2+}의 하위분자 전달 경로는 현재까지 정확하게 보고되지는 않았지만, CaMKⅡ(Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase 2)의 관련성을 제시하고 있다. 세포내 Ca^{2+}의 증가는 다양한 세포 단백질과 함께 calmodulin의 상호작용을 촉진시킨다(Yokokura et al., 1997). 근육에서 calmodulin의 활동성을 차단하는 억제제를 처리하면 근육내 당 수송 비율과 GLUT 단백질 발현이 감소한다 (Youn et al., 1991). Ihlemann 등(1999a)은 calmodulin 억제제의 당 수송 차단정도를 확인하기 위해 다양한 실험을 수행하는데 실험 결과, calmodulin의 비활성은 운동에 의한 근 수축시 글루코스 유입뿐만 아니라 인슐린에 의해 유도되는 당 수송에도 악영향을 미친다는 것을 증명하였다.

최근 연구에서는 CaMKⅡ 억제제인 KN62를 처리할 경우 골격근에서 근 수축에 의해 유도되는 당 수송이 약 50%이상 감소하고(Wright et al., 2004), CaMKⅡ 활동성은 운동을 수행한 동안 사람의 골격근에서 증가한다고 보고하고 있다(Rose & Hargreaves, 2003). 그래서 운동시 골격근에서 calmodulin이나 calmodulin-dependent kinase의 증가는 당 수송과 GLUT-4 단백질의 발현을 촉진시킨다.

Ca^{2+}의 또 다른 하위분자로 알려진 단백질은 PKC이다. 수십년전 PKC 단백질은 운동에 의한 근 수축시 세포질로부터 입자분획(particulate fraction)쪽으로의 이동을 활성화시킨다고 알려졌다(Richter et al, 1987). 또한 근 수축은 PKC 활성화를 통해 디아실글리세롤(diacylglycerol)의 농도를 증가시키고(Cleland et al., 1989), PKC 차단제인 calphostin C를 운동 수행한 근육에 주입하여 PKC 활동성을 억제할 경우 근육내 글루코스 유입과 GLUT 단백질의 발현을 감소시킨다.(Wojtaszewski et al., 1998; Ihlemann et al., 1999a).

최근 연구에서는 트레드밀 달리기를 수행한 쥐(Chen et al., 2002)와 자전거를 탄 사람(Beeson et al., 2003; Nielsen et al., 2003)의 골격근에서 PKC의 발현이 증가하고, 활동성이 촉진되어 당 수송을 유도한다는 것을 증명하였다(Perrini et al., 2004). PKC 활성화는 phosphatidic acid가 운동으로 인해 유도된 근 수축을 증가시키기 때문이다(Cleland et al., 1989). 그러므로 PKC는 운동에 의한 당 수송과 GLUT-4 단백질 발현에 중요한 역할을 한다.

AMPK는 골격근에서 5-aminoimidazole-4-carboxamide-riboside(AICAR)에 의해 활성화되고, AICAR은 인슐린과는 독립적으로 당 수송을 촉진시킨다(Merrill et al., 1997; Hayashi et al., 1998). AMPK는 운동을 하는 동안 쥐와 사람 모두의 골격근에서 활성화되기 때문에 GLUT-4 단백질 발현과 관련이 있고 근육내 글루코스 유입을 증가시킨다(Wojtaszewski et al., 2003). 운동에 의해 유도된 글루코스 유입과 AMPK 활동성과의 상관성은 McArdle's 질환(글리코겐 근육인산분해효소 결핍)을 가진 환자에서 찾아 볼 수 있다. 이러한 환자들에게서 운동에 의해 유도된 글루코스 유입은 운동을 수행하는 일반사람에 비해 악화된다. AMPK가 골격근 글루코스 유입을 조절하는 역할을 한다면, McArdle's 환자들이 운동을 하는 동안 증가할 것이다.

글루코스 이용, AMPK 활동성 및 β acetyl-CoA carboxylase-Ser221 phosphorylation은 McArdle's 환자들이 운동을 수행하는 20분 동안 증가한다(Nielsen et al., 2002). 이러한 결과는 운동에 의해 유도되는 글루코스 유입과 GLUT-4 발현이 AMPK와 밀접한 관련이 있다는 것을 의미한다. 그러나 몇몇 선행연구에서는 운동에 의해 유도된 당 수송 증가와 AMPK가 상관성이 부족하다는 보고들도 있다(Derave et al., 2000; Fujii et al., 2008).

Derave 등(2000)은 전기적으로 근 수축 유도시 AMPK와 당 수송과의 관련성이 부족하고, McArdle's 환자들에서는 AMPK 활동성 증가와 글루코스 이용률의 상관성이 없다고 언급하고 있다(Nielsen et al., 2002). 이처럼 골격근에서 운동에 의한 당 수송과 AMPK와의 관계는 현재까지 약간의 논쟁의 여지가 존재하지만 많은 선행연구들은 높은 상관성을 보고하고 있다. 특히 유전적으로 조작된 쥐나 cell line을 이용하는 실험은 논쟁이 되고 있는 쟁점들을 사라지게 할 수 있는 실험 결과들을

도출해 낼 수 있다. Mu 등(2001)은 쥐의 골격근에 AMPK의 dominant negative form을 과발현 시킬 경우 AICAR에 의한 글로코스 운송이 차단된다고 하였다. 이러한 결과는 AICAR에 의해 활성화되는 AMPK가 골격근내 당 수송을 촉진시키기 위해 반드시 필요하고 최종적으로 GLUT-4 단백질의 발현과 이동에 중요한 역할을 한다는 것을 보여주고 있다.

결론적으로 본 연구에서 나타난 운동에 의한 GLUT-4 mRNA의 증가는 저강도와 중강도 운동 수행시 활동성을 갖는 칼슘 관련 기전뿐만 아니라 근 대사상태 관련 기전에 의해서도 조절된다. 적정 강도의 운동을 하는 동안 세포내 칼슘 농도의 증가는 CaMKⅡ와 PKC 신호전달 경로를 활성화하는 반면, AMPK는 근육의 대사상태가 절충될 때 활성화되어 당 수송 촉진과 GLUT-4 발현을 증가시킴으로 골격근에서 당 대사에 운동이 중요하다는 것은 의심할 여지가 없다.

음식물 섭취와 소화 후 탄수화물은 두 가지의 당 운송시스템에 의해 소장에서 흡수된다. 첫번째 당 운송시스템에서는 당이 나트륨 의존 당 운송체(sodium-dependent glucose transporter, SGLT-1)에 의해 촉진된 기전을 통해 세포내에 농축된다. 이러한 동반 수송체는 하나의 당을 운송하기 위해 2개의 나트륨 이온을 사용한다(Hediger & Rhoads, 1994). 두번째 당 운송시스템은 GLUT-2 단백질에 의해 농축된 당이 간질 공간으로 방출되는 것이다(Goodyear & Kahn, 1998). SGLT-1은 조직으로의 당 흡수를 돕기 위해 세포막으로 이동한다. SGLT-1이 당 운송에 직접적으로 관여하는지를 확인하기 위해 glucose/galatose 흡수장애로 고생하는 환자들을 대상으로 연구한 실험 결과를 보면, SGLT-1이 활동성을 잃고 변형된 형태로 발현되었고(Martin et al., 1996), 정상인의 경우에는 SGLT-1의 활동성에 의해 GLUT-2의 발현이 증가하고 세포막으로의 이동이 촉진된다(Thorens et al., 1990; Cheeseman, 1993). 하지만 당 수송에 밀접한 관련이 있는 것으로 알려진 GLUT-2에 관련된 보고들은 GLUT-4 연구만큼 활발히 이루어지지는 못하였고 또한 유전자 발현수준(gene expression level)에서 운동에 의한 GLUT-2 mRNA가 갈색지방에서 어떠한 변화가 있는지는 거의 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 운동이 갈색지방에서 GLUT-2 mRNA의 발현을 증가시키는데 특히

중강도 운동에서 통계적으로 가장 큰 유의수준을 보였다. 저강도 운동에서 GLUT-2 mRNA의 변화가 없는 것은 운동신호의 세포내 전달이 이루어지지 않아 하위분자들의 활동성을 촉진시키지 못한 것으로 생각되며 중강도 강도에서는 칼슘의 농도 증가로 세포내 운동신호 전달이 가능해지고 결국 SGLT-1을 활성화로 인한 GLUT-2의 세포막 이동이 증가하였다고 생각된다.

운동은 인슐린에 대한 수용체의 민감도 증가와 근육내 당원 보충의 증가가 혈당 조절에 기여한다. 당내성 능력을 알아보기 위한 경구 당부하 검사를 실시한 결과는 안정시와 글루코스 섭취 30분 후에서는 그룹간에 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으나, 60분 이후부터 120분까지 에서는 전 그룹 모두 정상적인 당내성 변화 범위내에서 운동군이 통제군에 비해 유의하게 낮은 경향을 보였다. 운동군 내에서는 60분까지 운동 강도별 차이가 없는 것으로 나타났고, 섭취 90분, 120분에서는 저, 중강도 운동군이 고강도 운동군에 비해 유의하게 감소하는 것으로 나타났다. 이와 같이 운동 강도에 관계없이 정상 당내성 범위로 나타났는데, 이는 운동시 말초조직에서의 당 이용률이 증가하였고 장기간 운동으로 인한 인슐린 민감도가 증가되어 적은 양의 인슐린으로 많은 혈중 글루코스를 근 조직으로 이동하는 능력이 증가된 것으로 생각된다. 다만 고강도 운동군에서도 정상범위를 나타냈지만, 저강도 및 중강도 운동과는 유의한 차이를 보였다. 이러한 결과는 김영표 등(2004)의 연구결과와 유사한 결과로서 고강도 운동에 비해 저강도 및 중강도 운동이 인슐린 민감도를 좀 더 증가시킴과 동시에 인슐린 신호에 의해 가로세관과 세포막을 투과하여 혈당을 유입시키는 작용을 하는 촉진적 운반체인 GLUT-4 발현량의 증가가 복합적으로 일어나 혈당 대사에 긍정적으로 작용했기 때문으로 생각된다.

결론적으로 당내성 능력에 긍정적 역할을 하는 운동 강도는 저, 중강도의 운동이며 그 기전적 요인은 가자미근과 갈색지방조직의 당수송체 모두 긍정적으로 관여하는 것으로 나타났다. 하지만 가자미근 조직의 당수송체인 GLUT-4 mRNA의 영향이 더 큰 것으로 생각된다.

추후 좀 더 조직학적, 생화학적 그리고 세포생물학적 방법의 테크닉이 필요한 단백질 분석방법과 당내성 능력을 증진시키는 pathway 기전을 밝히고자 하는 연구 설

계를 통해 다양한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각되고 이처럼 실험동물을 이용하여 가자미근의 당 수송 기전을 밝혀냄으로써 적정한 운동에 의한 다양한 대사적 기전을 분석을 수행하여 당뇨병 및 대사 관련 질환 환자들에게 근본적인 치료 방법을 모색할 수 있으며 적합한 운동처방 프로그램을 개발하는 바탕을 제공할 수 있을 것이라 생각된다.

Ⅵ. 결 론

본 연구는 7주령 된 F344계열 흰쥐를 대상으로 12주 동안 강도별 트레드밀 운동을 수행하여 가자미근과 갈색지방조직에서 발현되는 GLUT-4 mRNA 및 GLUT-2 mRNA를 유전자 발현 수준에서 확인하였다. 각 조직의 세포내에 운동신호가 전달되어 하위분자들을 활성화시켜 당 수송을 촉진시키는 운동 강도는 중강도 운동이었고, mRNA 발현량 측정은 RT-PCR 분석기법을 이용하여 확인하였으며 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 가자미근에서 GLUT-4 mRNA의 발현은 저강도, 중강도 운동에서 증가하였고 고강도 운동에서는 감소하였다.
3. 갈색지방조직에서 GLUT-2 mRNA의 발현은 저강도 운동에서는 변화가 없었고 중강도, 고강도 운동에서 증가하였다.
3. 당내성 변화는 글루코스 섭취 60분, 90분, 120분 후 통제군에 비해 운동집단이 유의하게 감소하는 경향을 보였고, 특히 90분, 120분 후 저, 중강도 운동군에서 유의하게 감소하는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합해 보면, 중강도 트레드밀 운동은 가자미근과 갈색지방에서 GLUT-4 mRNA 및 GLUT-2 mRNA의 발현과 각 조직으로의 당 수송을 증가시키고 세포 내로의 당 유입을 촉진시켜 최적의 근 대사기능을 발휘할 수 있게 해주는 운동 강도라 생각된다.

참 고 문 헌

김영표, 윤진환, 정일규, 김종오, 서태범, 김홍, 김창주, 채정룡(2004). 지구성 운동강도 차이가 streptozotocin 유발 당뇨쥐의 인슐린 및 골격근 제4형 당수송체(GLUT-4) 발현에 미치는 영향. 운동과학, 13(2), 211-222.

김종오, 서태범, 윤진환(2006). 트레드밀 운동이 스트렙토조토신으로 당뇨 유발 후 좌골신경 손상 쥐의 신경재생, 척수운동신경세포, GAP-43와 GLUT-4 단백질 발현에 미치는 영향. 체육과학연구, 17(3), 1-12.

김철현, 임예현, 김문희, 조준용, 이규성, 방상식, 장암석(2003). 지구성 운동 수행에 따른 Obese Zucker Rat 골격근의 GLUT-4, v-와 t-SNARE 발현의 변화. 체육과학연구, 14(4), 44-53.

김효정(2005). 장기간의 운동 트레이닝이 제2형 당뇨병 직계자녀의 경구 당부하에 의한 insulin 분비 반응과 혈액 변인에 미치는 영향. 운동영양학회지, 9(2), 123-128.

박민희(2008). 수영훈련이 노화된 흰쥐 당내성과 갈색지방조직의 UCP2 단백질과 UCP2 mRNA 발현에 미치는 영향. 한남대학교 교육대학원 석사학위논문.

박성태, 서태범, 백성수, 정영수, 오명진, 김종오, 이희혁, 정일규, 윤진환(2005). 달리기 운동이 streptozotocin-유도 당뇨쥐의 가자미근 당수송체(GLUT-4)와 소포관련 막단백질(VAMP2) 발현에 미치는 효과. 운동과학, 14(4), 545-554.

위승두, 서영환(2004). 운동 강도별 대사성 호르몬 특성 연구. 한국스포츠리서치, 15(1), 985-996.

윤진환, 이희혁, 김종오, 오명진, 박성태, 지용석, 서태범, 남궁욱(2007). 운동이 F344계 임신쥐에서 골격근의 VAMP-2 및 GLUT-4 단백질 발현과 혈중 인슐린, 렙틴 농도에 미치는 영향. 생명과학, 17(6), 859-866.

이규성, 김문희, 홍순모, 허성민, 원상호, 김윤만, 윤지성, 조준용(2003). 카테킨 섭취와 지구성 운동이 Obese Zucker Rat의 골격근 형태별 GLUT-4 단백질과 혈청 지질 성분에 미치는 영향. 한국사회체육학회지, 20, 1263-1276.

Alessi, D. R., Deak, M., & Casamayor, A. (1997). 3 - Phosphatidylinositol - dependent protein kinase-1(PKD-1): structural and functional homology with the Drosophila DSTI PK61 kinase. *Curr: Biol, 7*, 776-789.

Bedford, T. G., Tipton, C. M., Wilson, N. C., Oppliger, R. A., & Gisolfi, C. V. (1979). Maximum oxygen consumption of rats and its changes with various experimental procedures. *Journal of Applied Physiology, 47*(6), 1278-1283.

Beeson, M., Sajan, M. P., Dizon, M., Grebenev, D., Gomez-Daspet, J., Miura, A., Kanoh, Y., Powe, J., Bandyopadhyay, G., Standaert, M. L., & Farese, R. V. (2003). Activation of protein kinase C-zeta by insulin and phosphatidylinositol-3,4,5-(PO4)3 is defective in muscle in type 2 diabetes and impaired glucose tolerance: Amelioration by rosiglitazone and exercise. *Diabetes 52,* 1926-1934.

Brant, R. B., Mathew, J. P., Y, C. Z., Sihong, S., Clive, H. W., & Mark, A. A. (2005). Glucose transporter-2 (GLUT2) promoter mediated transgenic insulin production reduces hyperglycemia in diabetic mice. *Federation of European Biochemical Societies, 579*(25), 5759-5764.

Burcelin, R. D., Costa, A., Drucker, D., & Thorens, B. (2001). Glucose competence of the hepatoportal vein sensor requires the presence of an activated glucagon-like peptide-1 receptor, *Diabetes, 50,* 1720-1728. Abstract - MEDLINE.

Cheatham, B., Volchuk, A., Kahn, C. R., Wang, L., Rhodes, C. J., & Klip, A. (1996). Insulin-stimulated translocation of GLUT4 glucose transporters requires SNARE-complex proteins. *Proc: Natl. Acad. Sci. USA., 93*, 15169-15173.

Cheeseman, C. I. (1993). GLUT2 is the transporter for fructose across the rat intestinal basolateral membrane. *Gastroenterology. 105*, 1050-1056.

Chen, H. C., Bandyopadhyay, G., Sajan, M. P., Kanoh, Y., Standaert, M., Farese, R. V. Jr., & Farese, R. V. (2002). Activation of the ERK pathway and atypical protein kinase C isoforms in exercise and aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-D-riboside (AICAR)- stimulated glucose transport. *Journal of Biological Chemistry 277*, 23554-23562.

Christ, C. Y., Hunt, D., Hancock, J., Mesedo, R., Mandarino, L. J., & Ivy, J. L. (2002). Exercise training improves muscle insulin resistance but not insulin recepter signaling i obese Zurker rats. *J. Appl. Physiol, 92.* 736-744.

Cleland, P. J., Appleby, G., Rattigan, S., & Clark, M. (1989). Exercise induced translocation of protein kinase C and production of diacylglycerol and phosphatidic acid in rat skeletal muscle in vivo. *Journal of Biological Chemistry, 264*, 17704-17711.

Coggan, A., Kohart, W., Spina, R., Bier, D., & Holloszy, J. (1990). Endurance training decrease plasma glucose turnover and oxidationduring moderate -intensity exercise in man. *J. Appl. Physiol. 68,* 990-996.

Daugaard, J. R., Nielsen, J. N., Kristiansen, S., Anderson, J. L., Hargreaves, M., & Richter, E. A. (2000). Fiver type-specific expression of GLUT4 in human skeletal muscle: influence of exercise training. *Diabetes, 49,* 1092-1095.

Derave, W., Ai, H., Ihlemann, J., Witters, L. A., Kristiansen, S., Richter, E. A., & Ploug, T. (2000). Dissociation of AMP-activated protein kinase activation and glucose transport in contracting slowtwitch muscle. *Diabetes 49,* 1281-1287.

Dombrowski, L., Roy, D., Marcotte, B., & Marette, A. (1996). A new procedure for the isolation of plasma membranes, T tubules and internal membranes from skeletal muscle. *Am. J. Physiol. (Endocrinol. Metab.)*

270, 667-676.

Douen, A., Ramlal, T., Rastogi, S., Bilan, P., Cartee, G., Vranic, M., Holloszy, J., & Klip, A. (1990). Exercise induces recruitment of the insulin-responsive glucose transporter. *Journal of Biology and Chemistry, 265,* 427-430.

Duncan, G. E., Perri, M. G., Theriaque, D. W., Hutson, A. D., Eckel, R. H., & Stacpoole, P. W. (2003). Exercise training, without weight loss, increases insulin sensitivity and postheparin plasma lipase activity in previously sedentary adults. *Diabetes Care, 26*(3), 557-562.

Foster, L. J., & Klip, A. (2000). Mechanism and regulation of GLUT-4 vesicle fusion in muscle and fat cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol. 279*, 877-890.

Fujii, N., Boppart, M. D., Dufresne, S. D., Crowley, P. F., Jozsi, A. C., Sakamoto, K., Yu, H., Aschenbach, W. G., Kim, S. K., Miyazaki, H., Rui, L., White, M. F., Hirshman, M. F., & Goodyear, L. J (2008). Overexpression of ablation of JNK in skeletal muscle has no effect on glycogen synthase activity. *America Journal of Physical Cell Physiology 287,* C200-C208.

Furtado, L. M., Somwar, R., Sweeney, G., Niu, W., & Klip. A. (2002). Activation of the glucose transporter GLUT4 by insulin. *Biochem. Cell Biol., 80*(5), 569-578.

Goodyear, L. J., & Kahn, B. B. (1998). Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. *Annu. Rev. Med., 49*, 238-261.

Green, H. J., Jonse, S., Ball-Burnett, M., Frrance, B., & Ranney, D. (1995). Addaptions in muscle metabolism to prolonged voluntary exercise and training. *J. Appl. Physiol., 78*, 138-145.

Hayashi, T., Hirshman, M. F., Kurth, E. J., Winder, W. W., & Goodyear, L. J. (1998). Evidence for 5kAMP-activated protein kinase mediation of the effect of muscle contraction on glucose transport. *Diabetes 47*, 1369-1373.

Hediger, M. A., & Rhoads, D. B. (1994). Molecular physiology of sodium-glucose

cotransporters. *Physiol Rev., 74*, 993-1026.

Henriksson, J. (1977). training induced adaptions of skeletal muscle and metabolism during submaximal exercise. *J. Physiol.(London), 270,* 661-675.

Holloszy, J., & Narahara, H. (1967). Enhanced permeability to sugar associated with muscle contraction. *Journal of General Physiology, 50*, 551-562.

Holten, M. K., Zacho, M., Gaster, M., Juei, C, Wojtaszewski, J. F., & Dela, F. (2004). Strength training increase insulin-medated glucose uptake, GLUT4 content,and insulin signaling in skeletal muscle in patients with type2 diabetes. *Diabetes. 53*(2), 294-305.

Host, H. H., P. A. Hansen, L. A. Nolte, M. M. Chen and J. O. Holloszy. (1998). Glycogen supercompensation masks the effect of a traininginduced increase in GLUT-4 on muscle glucose transport. *J. Appl. Physiol., 85*, 133-138.

Ihlemann J, Ploug T, Hellsten Y & Galbo H. (2000) Effect of stimulation frequency on contraction-induced glucose transport in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology, 279*, E862-E867.

Ihlemann, J., Galbo, H., & Ploug, T. (1999a). Calphostin C is an inhibitor of contraction, but not insulin-stimulated glucose transport, in skeletal muscle. *Acta Physiologica Scandinavica., 167,* 69-75.

Ihlemann, J., Ploug, T., Hellsten, Y., & Galbo, H. (1999b). Effect of tension on contraction-induced glucose transport in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology, 277*, E208-E214.

Kiens, B., Essen-Gustavsson, B., Christensen, N.J., & Saltin, B. (1993). skeletal muscle substrate utilization during submaximal exercise in man. *J. Appl. Physiol., 82*, 99-105.

Klein, S., Coyle, E. F., & Wolf, R. R. (1994). Fat metabolism during low-intensity exercise in endurance-trained and untrained man. *Am. J.*

Physiol., 267, E934-E940.

Klip, A., & Marette, A. (1992). Acute and chronic signals controlling glucose transport in muscle. *J. Cell. Biochem., 48*, 51-60.

Kuo, C. H., D. G. Hunt, Z. Ding and J. L. Ivy. (1999). Effect of carbohydrate supplementation on postexercise GLUT-4 protein expression in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol., 87*, 2290-2295.

Laaksonen, D. E., Lakka, H. M., Salonen, J. T., Niskanen, L. K., Rauramaa, R., & Lakka, T. A. (2002). Low levels of leisure-time physical activity and cardiorespiratory fitness predict development of the metabolic syndrome. *Diabetes Care, 25*(9), 1612-1618.

Lee, A. D., Hansen, P. A., & Holloszy, J. O. (1995). Wortmannin inhibits insulin-stimulated but not contraction-stimulated glucose transport activity in skeletal muscle. *FEBS Letts., 361*, 51-54.

Lund, S., Holman, G. D., Schmitz, O., & Prder-sen, O. (1995). Contraction stimulates trans-location of glucose transporter GLUT4 inskeletal muscle through a mechanism distinct from that of insulin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 92*, 5817-5821.

Marette, A., Richardson, J. M., Ramlal, T., Balon, T. W., Vranic, M., Pessin, J. E., & Klip, A. (1992). Abundance, localization, and insulin-induced translocation of glucose transporters in red and white muscle. *Am. J. Physiol., 263,* 443-452.

Mari, A. M., Pacini, G., Murphy, E., Ludvik, B., & Nolan, J. J. (2002). A model - based method for assesing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Endocr Regul, 36*(2), 73-77.

Martin, L. B., Shewan, A., Millar, C. A., Gould, G. W., & James, D. E. (1998). Vesicle-associated membrane protein 2 plays a specific role in the insulin-dependent trafficking of the facilitative glucose transporter GLUT4

in 3T3-L1 adipocytes. *J. Biol. Chem., 273,* 1444-1452.

Martin, M. G., Turk, E., Lostao, M. P., Kerner, C., Wright, E. M. (1996). Defects in Na+/glucose cotransporter (SGLT1) trafficking and function cause glucose-galactose malabsorption. *Nat. Genet., 12,* 216-220.

Megeney, L. A., Neufer, P. D., Dohm, G. L., Tan, M. H., Blewett, C. A., Elder, G. C., & Bonen, A. (1993). .Effects of muscle activity and fiber composition on glucose transport and GLUT-4. *Am. J. Physiol., 264*(1), 583-593.

Mendenhall, L. A., Swanson, S. C., Habash, D. L., & Coggan, A. R. (1994). Ten days of exercise training reduces glucose production and utilization during moderate-intensity exercise. *Am. J. Physiol., 266,* E136-E143.

Merrill, G. F., Kurth, E. J., Hardie, D. G., & Winder, W. W. (1997). AICA riboside increases AMP-activated protein kinase, fatty acid oxidation, and glucose uptake in rat muscle. *American Journal of Physiology, 273,* E1107-E1112.

Mu, J., Brozinick, J. T. Jr., Valladares, O., Bucan, M., & Birnbaum, M. J. (2001). A role for AMP-activated protein kinase in contractionand hypoxia - regulated glucose transport in skeletal muscle. *Molecular Cell, 7,* 1085-1094.

Nagaya, K., F. Wada, S. Nakamitsu, S. Sagawa, & K. Shiraki. (1995). Response of the circulator system and muscle sympathetic nerve activity to head-down tilt in humans. *Am. J. Physiol, 268*. R1289-1294.

Nielsen, J. N., Frsig, C., Sajan, M., Miura, A., Standaert, M. L., Graham, D. A., Wojtaszewski, J. F. P., Farese, R. V., & Richter, E. A. (2003). Increased atypical protein kinase C activity in endurance trained human skeletal muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications 312,* 1147-1153.

Nielsen, J. N., Wojtaszewski, J. F., Haller, R. G., Hardie, D. G., Kemp, B. E., Richter, E. A., & Vissing, J. (2002). Role of 5kAMP-activated protein kinase in glycogen synthase activity and glucose utilization: insights from patients with McArdle's disease. *Journal of Physiology(London), 541*, 979-989.

Olarinoye, J. K., Ohwovoriole, A. E., Ajayi, G. O. (2004). Diagnosis of gestational diabetes mellitus in Nigerian pregnant women-comparison between 75G and 100G oral glucose tolerance tests. *West. Afr. J. Med., 23*(3), 198-201.

Perrini, S., Henriksson, J., Zierath, J. R., & Widegren, U. (2004). Exercise-induced protein kinase C isoform-specific activation in human skeletal muscle. *Diabetes, 53*, 21-24.

Phillips, S. M., Green, H. J., Tarnopolsky, M. A., Heigenhauser, G. J. F., Hill, R. E., & Grant, S. M. (1996). Effects of training duration on substrate turnover and oxidation during exercise. *J. Appl. Physiol., 81*, 2182-2191.

Ploug, T., Galbo, H., & Richter, E. A. (1984). Increased muscle glucose uptake during contractions: no need for insulin. *American Journal of Physiology. 247*, E726-E731.

Ploug, T., Galbo, H., Vinten, J., Jørgensen, M., & Richter, E. A. (1987). Kinetics of glucose transport in rat muscle: effects of insulin and contractions. *Am. J. Physiol., 253,* E12-20.

Ploug, T., van, Deurs, B., Ai, H., Cushman, S. W., & Ralston, E. (1998). Analysis of GLUT4 distribution in whole skeletal muscle fibers: identification of distinct storage compartments that are recruited by insulin and muscle contractions. *Journal of Cell Biology, 142*, 1429-1446.

Randhawa, V., Daneman, N., Regazzi, R., Bilan, P., & Klip, A. (2000). VAMP-2, but not cellubrevin, plays a critical role in insulin-stimulated GLUT4 translocation in L6 myoblasts. *Mol. Biol. Cell, 11*, 2403-2417.

Rea, S., & James, D. E. (1997). Moving GLUT4:the biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles. *Diabetes, 46*(11), 1667-1677.

Rencurel, F., Waeber, G., Antoine, B., Rocchiccioli, F., Maulard, P., Girard, J., & Leturque, A. (1996). Requirement of glucose metabolism for regulation of glucose transporter type 2 (GLUT2) gene expression in liver. *Biochem. J., 314*(3), 903-909. Abstract.

Richter, E. A. (1996). *Glucose utilization. In handbook of Physiology. Section 12: Exercise: Regulation and integration of multiful systems*. Ed> L. B. Rowell and J. T. Shepherd, 912-951. New York: Oxford University Press.

Richter, E. A., Cleland, P. J., Rattigan, S., & Clark, M. G. (1987). Contraction -associated translocation of protein kinase C in rat skeletal muscle. *FEBS Letters 217*, 232-236.

Rodnick, K. J., Henrikson, E. J., James, D. E., & Holloszy, J. O. (1992). Exercise training, glucose transporters and glucose transport in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol., (Cell Physiol.) 262,* C9-C14.

Rodnick, K. J., Holloszy, J. O., Mondon, C. E., & James, D. E. (1990). Effects of exercise training on insulin regulatable glucose transporter protein levels in rat skeletal muscle. *Diabetes, 39,* 1425-1429.

Rose, A. J., & Hargreaves, M. (2003). Exercise increases Ca++-calmodulin -dependent protein kinase II activity in human skeletal muscle. *Journal of Physiology(London), 553*, 303-309.

Roy, D., Johannsson, E., Bonen, A., & Marette, A. (1997). Electrical stimulation induce fiber types specific translocation of GLUT4 to traverse tubules in rat skeletal muscle. *Am. J. Physiol., 273*(1), 688-694.

Shimizu, Y., H. Nikami, K. Tsukazaki, U. F. Machado, H. Yano, Y. Seino, & M. Saito. (1993). Increased expression of glucose transporter GLUT-4 in brown adipose tissue of fasted rats after cold exposure. *Am. J. Physiol,*

264, E890-E895.

Thong, F. S., Derave, W., Urso, B., Kiens, B., & Richter, E. A. (2003). Prior exercise increases basal and insulin-induced p38 mitogen-activated protein kinase phosphorylation in human skeletal muscle. *J. Appl. Physiol, 94*, 2337-2341.

Thorens, B., Cheng, Z. Q., Brown, D., & Lodish, H. F. (1990). Liver glucose transporter: a basolateral protein in hepatocytes and intestine and kidney cells. *Am. J. Physiol., 259,* C279-285.

Torrance, C. J., deVente, J. E., Jones, J. P., & Dohm, G. L. (1997). Effects of tyroid hormone on GLUT4 glucose transporter gene expression and NIDDM in rats. *Endocrinology., 138,* 1204-1214.

Trembly, F., Dubois, M. J., & Marette, A. (2003). Regulation of GLUT4 traffic and function by insulin and contraction in skeletal muscle. *Front. Biosci., 1*(8), 1072-1084.

Vinals, F., Ferre, J., Fandos, C., Santalucia, T., Testar, X., Palacin, M., & Zorzano, A. (1997). Cyclic adenosine3′,5′-monophosphate regulates GLUT4 and GLUT1 glucose transporter expression and stimulates transcriptional activity of the GLUT1 promotor in muscle cells. *Endocrinology., 138*, 2521-2529.

Widegren, U., Ryder, J. W., & Zierath, J. R. (2001). Mitogen-activated protein kinase signal transduction in skeletal muscle: effect of exercise and muscle contraction. *Acta Physiologica Scandinavica., 172*, 227-238.

Wilson, C. M., & Cushman, S. W. (1994). Insulin stimulation of glucose transport activity in rat skeletal muscle: increase in cell surface GLUT4 as assessed by photolabelling. *Biochem. J., 299*, 755-759.

Wojtaszewski, J. F. P., Laustsen, J. L., & Richter, E. A. (1998). Contraction-and hypoxia-stimulated glucose transport in skeletal muscle is affected

differently by wortmannin. Evidence for different signalling mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta, 1340*, 396-404.

Wojtaszewski, J. F., MacDonald, C., Nielsen, J. N., Hellsten, Y., Hardie, D. G., Kemp, B. E., Kiens, B., & Richter, E. A. (2003). Regulation of 5 kAMP-activated protein kinase activity and substrate utilizationin exercising human skeletal muscle. *American Journal of Physiology, 284*, E813-E822.

Wright, C. D., Hucker, K. A., Holloszy, J. O., & Han, D. O. (2004). Ca^{++} and AMPK both mediate stimulation of glucose transport by muscle contractions. *Diabetes, 53*, 330-335.

Yokokura, H., Terada, O., Naito, Y., Sugita, R., & Hidaka, H. (1997). Cascade activation of the calmodulin kinase family. *Advances in Second Messenger and Phosphoprotein Research, 31,* 151-157.

Youn, J. H., Gulve, E. A., & Holloszy, J. O. (1991). Calcium stimulates glucose transport in skeletal muscle by a pathway independent of contraction. *American Journal of Physiology, 260,* C555-C561.

저작물 이용 허락서

학 과	체 육	학 번	20057428	과 정	박 사
성 명	한 글: 강 석 훈	한 문: 姜 錫 勳		영 문: KANG, SUK-HUN	
주 소	대전광역시 동구 홍도동 1001 신동아 파밀리에 아파트 113-1303				
연락처	E-mail : ksh@hannam.ac.kr				
논문제목	한글: 트레드밀 강도별 운동이 흰쥐 가자미근의 GLUT-4 mRNA와 갈색지방조직의 GLUT-2 mRNA 발현에 미치는 영향				
	영문: Effects of Intensities Treadmill Exercise on GLUT-4 mRNA of Soleus Muscle and GLUT-2 mRNA Expression of Brown Adipos Tissue in Rats				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(○) 반대( )

2008년 8월 일

저작자: 강 석 훈 (인)

조선대학교 총장 귀하