

운동부하가 고지방식이 유도 비만흰쥐의 골격근 및 지방조직의 ER (Endoplasmic Reticulum)스트레스에 미치는 영향

김기출¹ · 박경실¹ · 김현국² · 김기훈^{3*}

경기도대학교 레저스포츠건강학과,¹ 대구대학교 체육학과,² 경북대학교 레저스포츠학과³

Effect of exercise and diet intervention on endoplasmic reticulum (ER) stress in rat skeletal muscle and adipose tissue

Kim, Gi Chool¹ · Park, Kyung Sil¹ · Kim, Hyun Kook² · Kim, Ki Hoon^{3*}

¹Department of Leisure & Sport Studies, College of Physical Education, Kyounggi University, Suwon 443-760, Korea

²Department of Physical Education, College of Humanities, Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea

³Department of Leisure Sports, College of Ecology & Environmental Science, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study is to investigate the effects of eight weeks high fat intake and regular exercise in skeletal muscle and adipose tissue for Endoplasmic Reticulum (ER) stress in rats. This experiment involved 32 subjects (sprague-dawley rats) divided into four groups as follows: chow group (Chow, n = 8), chow and exercise group (Chow + EX, n = 8), high fat diet-induced hyperlipidemia group (HF, n = 8), and HF and exercise group (HF + EX, n = 8). As a result, there were significant decrease in body weight and abdominal fat, and blood lipid level was significantly improved by exercise for eight weeks ($p < .05$). There were variables changed about the skeletal muscle and ER stress in GRP78, XBP-1, ATF4, CHOP and JNK mRNA. There increased in mRNA factor by exercise, especially GRP78, and ATF4 mRNA were significantly increased in exercise ($p < .05$). However, there were increased in adipose tissue by exercise and there were significantly decreased in mRNA factor by high fat diet ($p < .05$). Consequently, this study suggests that the consistent exercise was more improved of obesity factor, such as dyslipidemia, hyperlipidemia, hyperglycemia, as well as body weight or abdominal fat. The response of ER stress in adipose tissue and skeletal muscle were more sensitive in exercise than high fat diet feed. (*Korean J Nutr* 2012; 45(5): 420 ~ 428)

KEY WORDS: exercise, endoplasmic reticulum stress, high fat diet, skeletal muscle.

서 론

체장세포에서의 인슐린작용과 같이 세포로부터 생성·분비되어 생리작용에 관여하는 활성 단백질들은 세포내에서 복잡한 번역 후 수정 (posttranslational modification) 과정을 통해 활성형 단백질 구조가 되어야 비로소 생리적 작용에 관여하게 되는데,^{1,2} 비만이나 당뇨병과 같은 병리적 상황에서는 전구인슐린 유도체의 분비 이상으로 인해 활성단백질의 양을 과도하게 증가시켜 결과적으로 세포체의 기능적 결손을 초래하게 된다. 이처럼 생리적 혹은 병리적 환경에 의해 세포체가 처리할 수 있는 이상의 미성숙 단백질들이 세포체내로 유입되게 되면 소

포체 기능에 장애가 발생하게 되는데 이를 소포체스트레스 (ER stress)라 하며, 세포는 이러한 반응에 방어하는 기전 즉, 소포체스트레스 반응 (ER stress response)을 갖게 된다. 소포체스트레스반응은 소포체 막에 존재하는 세가지의 신호전달체계인 pancreatic ER kinase (PERK), inositol-requiring 1 α (IRE-1 α)/X-box binding protein 1 (XBP-1) 및 activating transcription factor (ATF6)에 의해 매개되는데,^{3,4} 최근 이러한 소포체스트레스에 대한 신호전달 반응들이 비만 및 당뇨병과 관련된 대사성 질환의 병인을 밝혀는 주요 매개 인자로 밝혀지면서 주목받고 있다.⁵⁻⁷⁾

한편, 규칙적인 운동은 비만과 관련된 각종 질환의 치료 및 예방에 효과적으로 작용하는 가장 보편적 수단으로 여겨지고

접수일: 2012년 6월 30일 / 수정일: 2012년 8월 10일 / 채택일: 2012년 8월 22일

*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: b612kihoon@hanmail.net

© 2012 The Korean Nutrition Society

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.

있다. 이는 운동을 통한 에너지 대사 조절능력 개선효과⁸⁾와 체중 및 체지방의 감소효과,⁹⁾ 항산화 시스템의 동원능력 증가 및 인슐린저항성 개선효과¹⁰⁾ 그리고 미토콘드리아의 활성증가¹¹⁾ 등 다양하고 복합적인 요소가 해당 질환에 긍정적으로 작용하는 것으로 생각된다. 특히, 앞서 설명한 바와 같이 비만 및 고혈당 등 대사관련 질환이 유발될 경우 고지혈증 및 전구인슐린 유도체의 분비이상 및 glucosetoxicity의 매개체 이상발현으로 인한 산화적 스트레스 반응을 보여준다는 점은 소포체 스트레스 반응경로에서 보여주는 대사적 및 화학적 스트레스 유도에 의한 GRP (glucose-regulated proteins) 및 ATF mRNA 발현과 무관하지 않을 것으로 생각되어지며,^{6,7)} 더욱이 비만 및 당뇨병과 같은 대사관련 질환이 활성단백질의 이상발현 혹은 pro-apoptotic pathway를 유발할 수 있다는 점¹²⁾에서 미성숙 단백질 발현에 의한 세포자연사 (apoptosis) 경로에 XBP 및 CHOP (C/EBP homologous protein) 등의 소포체 스트레스 반응이 관여하고 있음을 추론할 수 있다. 그러나 현재까지 운동과 관련한 소포체스트레스 반응을 직접적으로 규명한 연구는 국내에서는 찾아보기 어려운 실정이며, 국외의 연구에서도 최근 일회성의 운동에 대한 심근 소포체 단백질 발현에 관한 연구¹²⁾나 일정한 운동훈련을 통한 뇌조직내 소포체 스트레스 반응,¹³⁾ 그리고 운동 훈련에 따른 간조직내 소포체 단백질 발현¹⁴⁾ 등에 관한 연구로 국한되어 있어 실제 운동시 대사기전에 직접적으로 작용하는 골격근 및 지방조직내 소포체 스트레스에 대한 기전을 이해하는데 어려움이 있다. 더욱이 비만이 대사성증후군을 유발하는 주요한 요인으로 작용한다는 점에서 볼 때 운동과 비만에 관련된 소포체 스트레스 연구는 의미 있는 연구라 사료된다. 따라서 본 연구에서는 실험동물을 이용하여 고지방식이 장기간 섭취하여 비만을 유도한 후 규칙적이고 지속적인 운동훈련에 따른 골격근내 및 지방조직에서의 소포체스트레스 반응을 살펴보고자 한다.

연구방법

실험동물 및 사육조건

본 실험에 사용된 실험동물은 8주령 된 체중 250 g 내외의 Sprague-Dawley 종 흰쥐 수컷 32마리로 일반 고형사료를 섭취한 대조군 (Chow, n = 8)과 일반고형사료 섭취와 운동훈련을 병행한 대조운동군 (Chow + exercise; Chow + EX, n = 8), 그리고 지방이 전체 칼로리의 50%를 차지하는 고지방식이군 (high fat diet; HF, n = 8)과 고지방식이섭취 및 운동훈련을 병행한 고지방식이-운동군 (high fat diet + exercise; HF + EX, n = 8)으로 각각 구분하였다. 각 실험군은 실험식으로 사육하기 전 1주일간 고형배합사료로 환경에 적응시킨 후 실험군에 대해서는 실험

용 식이사료 (high fat diet)로 8주간 사육하였으며, 해당 운동부하에 적용 하였다. 실험동물에게 제공된 실험용식이 사료의 칼로리 비율은 Table 1과 같다.

실험동물에 적용된 운동강도는 자체 제작한 소동물용 treadmill을 이용하여 주 5회, 매일 오전 10시를 기점으로 실험동물의 최대운동강도의 70%에 해당하는 운동강도가 적용되도록 하였다.¹⁵⁾ 즉, 첫 번째 주는 경사도 0°에서 20 m/min의 속도로 30분간, 2~4주째는 경사도 0°에서 22 m/min의 속도로 40분간 그리고 5~8주에는 경사도 5°에서 22 m/min의 속도로 60분씩 운동에 적용하였다. 한편, 실험기간동안 매일 충분한 양의 물과 식이를 제공하는 자유식이법을 취하며, 식이섭취량 및 체중측정은 주 2회, 동일시간에 실시하였다.

시료의 채취 및 분석

일시적인 운동의 효과가 나타나는 것을 방지하기 위해 실험동물을 마지막 운동 40시간 후에 하룻밤 절식 시킨 다음 당일 오전에 tiletamin/zolazepam (Zolet[®], Virbac Laboratories, Carros, France)을 복강내에 0.3~0.4 mg 주입하여 마취한 다음 복 대동맥을 통하여 채혈하고 희생하였다. 채취된 혈액은 4°C에서 즉시 원심분리하여 혈장을 분리한 후 분석전까지 -75°C에 냉동보관 하였다. 시료의 분석을 위해 혈당은 YSI제품 1500 Sideskick 혈당분석기를 이용하였고, 중성지방 및 콜레스테롤은 효소법을 이용한 kit (Sigma Chemical Co)를 사용하였다. 혈장 인슐린은 방사능면역측정법을 이용하여 측정하였다. 실험동물의 부위별 복부지방량 측정은 후복막강 (retroperitoneal) 지방 및 부고환 (epididymal) 주위 지방으로 나누어 측정하였으며, 그 중 후복막강 주위지방을 유전자 발현 실험에 사용하였다. 또한 골격근내 유전자 발현을 위해 실험동물의 오른쪽 다리에서 비복근 (gastrocnemius)을 적출하여 무게를 측정한 후

Table 1. The composition of high fat diet

Ingredient	High-fat diet (g/kg)
Rat chow	591
Butter	180
Corn oil	100
Sucrose	50
Casein	50
Mineral Mixture	19
Vitamin Mixture	8
Methionine	1.5
High-fat diet (% calories)	
Carbohydrates	34%
Fat	51%
Protein	15%

Chow: rat chow from Superfeed Co., Korea

분석에 임하였으며 나머지 시료는 액체질소에 넣어 활성을 정지시킨 후 분석시까지 -70°C 의 극저온 냉동고에 보관하였다.

Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

조직으로부터의 총 RNA 함량은 Fast RNS Kit-Green (Integrated Sciences, NSW, Australia)를 사용해 추출했으며 실험농도는 spectrophotometer를 이용하여 흡광도 260 nm에 측정해 계산하였다. 첫 번째 strand cDNA는 AMV RT (Promega, Madison, WI, U.S.A)를 이용하여 $1\ \mu\text{g}$ RNA를 취했으며, 이로써 생성된 cDNA는 최종 분석이 될 때까지 -20°C 에서 보관하였으며 측정항목은 GRP78, ATF4, XBP1, CHOP 그리고 JNK1이다. 이 연구에서 사용된 primer와 probes는 GenBank의 유전자 배열로부터, primer Express software package version 1.0 (Applied Biosystems, CA, U.S.A.)을 이용하여 제작하였다. Forward 및 reverse primer의 배열은 Table 1에 나타난 바와 같다.

RT-PCR은 ABI PRISM 5700 sequence detection system (Applied Biosystems, CA, U.S.A.)을 이용하여 수행하였으며, PCR반응은 SYBR[®] Green I dye가 들어있는 Brilliant[™] QPCR kit (Stratagene, La Jolla, CA, U.S.A.)를 이용하여 실시하였다. Forward와 reverse primer ($3\ \mu\text{M}$) 그리고 cDNA ($12\ \mu\text{g}$)는 $20\ \mu\text{L}$ 의 전체 양으로 40사이클의 PCR을 수행하였다. 이때 발생할 수 있는 변산을 최소화하기 위하여 cyclophilin (GeneBank-

Cyclophilin-M19533) mRNA를 정량화하여 모든 결과의 값들에 적용하였다. Critical threshold (CT) 값을 이용하여 fluorescent emission data 얻어 mRNA 수준을 분석하였다.

ΔC_T 는 구하고자하는 유전자의 CT 값으로부터 cyclophilin의 C_T 값을 뺀으로써 계산하였으며 그 후 각 플레이트 (plate)에서의 변수를 조절하기 위해 각 플레이트의 비교 샘플 값을 CT로 나누었다. 구하고자 하는 유전자의 발현률은 $2^{-\Delta C_T}$ 를 이용하여 계산하였으며 임의의 단위 (arbitrary unit)로 보고하였다. Cyclophilin의 CT값은 운동에 의해서 변하지 않았음을 확인하였다 (Table 2).

자료분석

자료처리 실험 결과에 대한 통계처리는 SPSS/PC+를 이용하여 각 변인별 평균과 표준편차를 산출하였다. 각 군간의 유의성 검증을 위하여 일원변량분석 (one-way ANOVA)을 실시하였으며, 유의차에 대한 사후검정은 Duncan의 방법을 이용하였다. 이때 모든 결과는 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결 과

체중 및 체지방의 변화

8주간의 고지방식이 및 운동부하에 따른 실험동물의 체중변화 (g)는 Fig. 1과 Table 3에서와 같이 8주 후 HF군에서 다른 세군에 비해 유의하게 증가하여 가장 많은 체중증가를 보여주었으며 ($p < .05$), HF + EX군에서는 Chow + EX군에 비해 유

Table 2. ER stress genotype of primer set lists

Target gene		Primer sequence (5' to 3')	Length
GRP78	F	CGG CGC GCT CGA TAC T	16
	R	TCT GAT CTC TCA AAC CCG CAA	21
ATF4	F	GTG GCC AAG CAC TTC AAA CC	20
	R	TCC ATA GCC AGC CAT TCT GAG	21
XBP1	F	GGA TTC TGA CGC TGT TGC CT	20
	R	GGT CCA ACT TGT CCA GAA TGC	21
CHOP	F	TTG GAC CGG TTT CTG CTT TC	23
	R	TCT GAT CTC TCA AAC CCG CAA	20
JNK1	F	AGG AAC GAG TTT TAT GAT GAC GC	23
	R	TGC CGA GAA TGA CCT CTG GT	20

GRP78: glucose-regulated proteins 78, ATF4: activating transcription factor 4, XBP1: X-box binding protein-1, CHOP: C/EBP homologous protein, JNK1: cJNN NH-terminal kinase

Table 3. The change of body weight and fat (%)

	Chow	Chow + EX	HF	HF + EX
Initial body weight (g)	260.19 ± 10.94	257.75 ± 8.25	262.88 ± 9.09	260.19 ± 11.35
Final body weight (g)	407.88 ± 25.71	387.31 ± 15.48 ^a	451.06 ± 31.40 ^{ab}	423.19 ± 17.71 ^{bc}
Body weight gain (g)	147.69 ± 14.78	129.56 ± 7.22 ^a	188.19 ± 22.32 ^{ab}	163.00 ± 6.36 ^{bc}
Epididymal fat (g)	2.09 ± 0.16	1.64 ± 0.33 ^a	3.90 ± 0.22 ^{ab}	2.73 ± 0.30 ^{abc}
Retroperitoneal fat (g)	1.28 ± 0.14	1.11 ± 0.15 ^a	3.22 ± 0.26 ^{ab}	1.71 ± 0.43 ^{abc}

Values are Mean ± SD. a: $p < 0.5$, significantly different from CON, b: $p < 0.5$, significantly different from CON + EX, c: $p < 0.5$, significantly different from HF

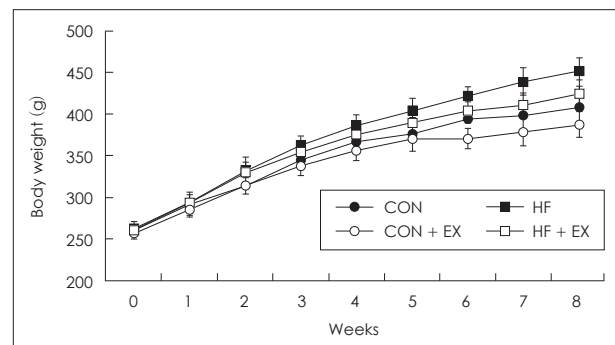


Fig. 1. The change of body weight during 8 weeks. Chow + EX, CON + exercise; HF, high fat diet; HF + EX, HF + exercise.

의하게 증가한 반면, HF군에 비해서는 감소하였다 ($p < .05$). 또한 Chow + EX군에서는 Chow군에 대해서만 유의하게 감소하여 가장 낮은 체중 증가를 보였다 ($p < .05$). 후복막장 지방과 부고환 주위지방을 적출하여 측정한 복부에서의 체지방 증가양상은 체중의 증가 양상과 유사하게 나타났는데, 역시 HF군에서 가장 많은 체지방량의 증가를 보여주었으며, Chow + EX군에서 가장 낮은 체지방량을 보여주어 고지방식이 및 운동에 따른 체지방량의 증감양상을 보여주었다.

혈액성분의 변화

혈액성분의 변화는 Table 3에서와 같이 혈중 글루코스와 총 콜레스테롤의 경우 HF군과 HF + EX군에서 Chow군과 Chow + EX군에 비해 유의하게 증가하였으며 ($p < .05$), 유리지방산의 경우 Chow + EX이 Chow군에 비해 유의하게 감소 ($p < .05$) 한 반면 HF군에서는 다시 증가하여 가장 높게 증가한 것으로 나타났다. 또한 HF + EX군에서는 Chow군에 비해 다소 증가하였으나 통계적 차이는 없었으며 Chow + EX군에 비해 유의하게 증가하였으나 HF군에 비해서는 유의하게 감소한 것으로 나타났다 ($p < .05$). 혈중 중성지방에서는 HF군이 나머지 군에 비해 가장 높게 나타나 통계적 차이를 보여주었으며 ($p < .05$), HF + EX군에서 다시 감소하여 HF군에 대해서만 유의한 감소를 보여주었다. 그리고 혈중 인슐린의 경우에는 HF군에서 Chow과 Chow + EX군에 비해 유의한 증가를 보여주어 통계적 차이를 보여주었다 ($p < .05$)(Table 4).

골격근에서의 소포체스트레스 관련 유전자

본 연구에서는 골격근에서의 소포체스트레스 관련 유전자 발현을 살펴보았다. 그 결과 Fig. 1에서와 같이 GRP78 mRNA의 발현은 Chow + EX군이 Chow군에 비해 약 25%의 높은 발현을 보여주었으나 통계적 유의차는 없었으며, HF + EX군의 경우는 Chow군과 HF군에 비해 각각 32%와 36%의 높은 발현을 보여주어 HF군에 대해서만 통계적 유의차를 보여주었다 ($p < .05$). 또한, ATF4 mRNA의 발현은 Chow군과 Chow + EX군 그리고 HF군간의 차이는 없었으나 HF + EX군의 경우는 Chow에 대해서만 약 23% 더 발현되어 통계적 유의차를 보여주었다 ($p < .05$). 이외 XBP-1 그리고 JNK mRNA의 발

현은 식이 및 운동군에 의해 다소 차이는 보였으나 각 군간 유의한 차이는 없었다 (Fig. 2).

지방조직에서의 소포체 스트레스 관련 유전자 발현

지방조직에서의 소포체스트레스 관련 유전자 발현의 결과는 Fig. 3에 제시한 바와 같이 GRP78 mRNA 발현의 경우 정상식이군에서는 운동병행에 따른 유의차가 없었으며, 고지방식이군인 HF의 경우는 Chow군과 Chow + EX군에 비해 약 33%의 낮은 발현을 보여주어 두 군에 대해 통계적 유의차를 보여

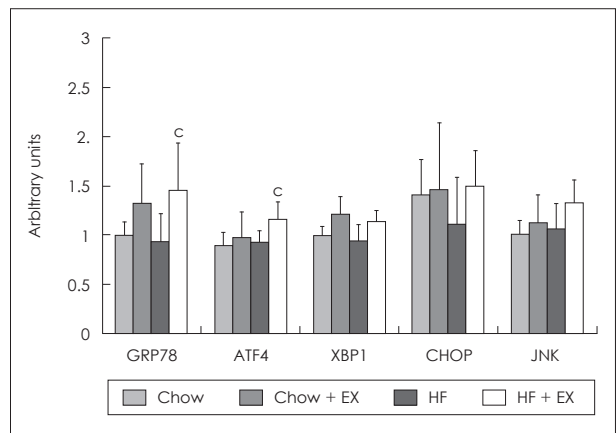


Fig. 2. ER stress gene expression in skeletal muscle. c: $p < 0.5$, significantly different from HF.

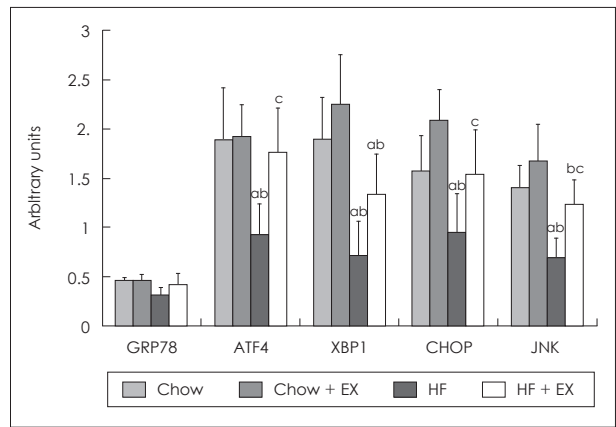


Fig. 3. ER stress gene expression in adipose tissue. a: $p < 0.5$, significantly different from CON, b: $p < 0.5$, significantly different from CON + EX, c: $p < 0.5$, significantly different from HF.

Table 4. The change of blood component

	Chow	Chow + EX	HF	HF + EX
Glucose (mg/dL)	109.06 ± 7.80	98.52 ± 13.09	144.38 ± 29.71 ^{ab}	126.15 ± 1934 ^{ab}
Total Cholesterol (mg/dL)	88.82 ± 10.69	84.79 ± 10.09	119.65 ± 10.62 ^{ab}	106.33 ± 10.96 ^{ab}
Free fatty acid (μEq/L)	338.09 ± 41.75	245.87 ± 78.23 ^a	538.05 ± 87.67 ^{ab}	398.36 ± 92.27 ^{bc}
Triglyceride (mg/dL)	43.00 ± 11.79	35.97 ± 9.87	59.07 ± 7.94 ^{ab}	39.49 ± 11.82 ^c
Insulin (ng/mL)	26.66 ± 6.20	23.23 ± 6.82	37.60 ± 6.48 ^{ab}	30.18 ± 8.73

Values are Mean ± SD. a: $p < 0.5$, significantly different from CON, b: $p < 0.5$, significantly different from CON + EX, c: $p < 0.5$, significantly different from HF

주었다 ($p < .05$). 한편, 고지방식이와 운동을 병행한 HF + EX군에서는 다시 증가하여 정상식이군의 발현율을 보여주었다. 또한, ATF4 mRNA의 발현에서도 정상식이군에서는 운동병행에 따른 차이가 없었으나 HF의 경우는 Chow군에 비해 약 51% 가량 현저히 낮은 발현을 보여주어 통계적 유의차를 보여주었다 ($p < .01$). 또한 HF + EX군에서는 다시 증가하여 HF에 비해 유의하게 증가하는 것으로 나타났다 ($p < .05$). XBP-1 mRNA의 발현에서는 Chow군에 비해 Chow + EX군에서 다소 높은 발현율을 보여주었으나 통계적 유의차는 없었지만 HF의 경우는 Chow군과 Chow + EX군에 비해 각각 63%와 69% 가량 낮은 발현을 보여 통계적 유의차를 보여주었다 ($p < .01$). 한편, HF + EX군에서는 통계적 유의수준 없이 다시 증가하여 HF군에 비해서는 다소 높은 발현율을 보여주었으며, 정상식이군들에 비해서는 유의하게 낮은 발현을 보여주었다 ($p < .05$). CHOP mRNA의 발현은 Chow + EX군이 Chow군에 비해 다소 높게 발현되었으나 통계적 유의차는 없었다. 그러나 고지방식이군인 HF의 경우는 Chow군과 Chow + EX군에 비해 각각 40%와 55% 가량의 낮게 발현되어 유의차를 보여주었으며 ($p < .01$), HF + EX군에서는 다시 증가하여 HF군에 대해서만 통계적으로 높은 발현율을 보여주었다 ($p < .05$). JNK mRNA의 발현은 Chow + EX군이 Chow군에 비해 다소 높은 발현율을 보여주었으나 통계적 유의차는 없었으며 HF의 경우는 Chow군과 Chow + EX군에 비해 각각 51%와 59% 가량 낮게 발현되어 두 군에 대해 통계적 유의차를 보여주었다 ($p < .01$). 또한, HF + EX군에서는 다시 증가하여 HF군에 대해서는 높게, Chow + EX군에 비해서는 낮게 발현되었다 ($p < .05$).

고 찰

본 연구에서는 흰쥐를 대상으로 8주간 고지방식을 섭취하게 한 후 고지혈증을 유발하는 과정에서 지속적이고 규칙적인 운동부하 프로그램이 골격근 및 지방조직에서의 소포체스트레스에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보려고 하였다. 먼저 체중의 변화에서는 대조운동군 (Chow + EX)이 대조군(Chow)에 비해 실험시작 6주 이후부터 점차적으로 유의한 체중 감소현상을 보여주었으며 ($p < .05$), 고지방섭취군 (HF)의 경우에는 대조군들에 비해 초기 일주일을 제외한 모든 기간에서 점차적으로 유의한 체중의 증가현상이 나타났다 ($p < .05$). 한편, 고지방식이-운동군 (HF + EX)의 경우는 모든 실험기간에 대조군과 유의한 차이 없는 체중증가를 보였으며, 대조운동군에 대해서는 실험시작 약 3주 (21일 이후) 이후부터 점차적인 체중 증가현상이 나타났다 ($p < .05$). 또한 고지방섭취군에 비해서는 실험후반에만 유의한 체중감소를 보여주었다($p < .05$). 이러한

현상은 지방이 50% 이상을 차지하는 고지방식이섭취에 따른 체내 지방의 증가현상으로 생각되어지며, 이는 복강내지방에서 고지방섭취군이 다른 군들에 비해 유의하게 높게 나타난 것으로 뒷받침 되어질 수 있다. 또한 고지방식이 및 운동부하군의 경우에는 실험 후반기부터 종료일까지 점차적으로 고지방식이군에 비해 낮은 수준을 유지해줌으로써 운동부하를 통한 체지방의 감소현상을 보여주었다.

본 연구에서는 고지방식이 섭취 및 운동부하에 따른 혈액성분의 변화를 살펴보았다. 그 결과 혈중 글루코스와 혈중지질에 해당하는 총콜레스테롤, 유리지방산, 중성지방 및 인슐린에서 모두 고지방식이 섭취군이 정상식이 대조군에 비해 유의하게 증가하여 ($p < .05$) 고지방섭취에 따른 혈중지질의 현저한 증가양상을 보여준 반면, 운동병행군들의 경우 혈중 유리지방산이 정상식이군과 고지방식이군에서 모두 유의하게 감소하였고, 혈중 중성지방에서는 고지방식이군에서만 유의하게 감소하는 것으로 나타났다 ($p < .05$). 그 외 혈액성분 분석에서 정상식이 및 고지방식이군에서 모두 운동병행에 따른 감소양상을 확인 할 수 있었다. 이러한 결과는 장기간의 고혈당 및 고지혈증 유발로 말미암아 말초조직의 인슐린 수용체 결합능력이 감소되고 당수송체의 활동저하로 당유입을 감소시키며, 여러 가지 세포내 대사변화가 초래된다고 보고한⁶⁾ 연구내용과 일치한다. 또한 저하된 인슐린의 당합성 기능을 규칙적인 운동적용을 통해 인슐린에 의한 당원합성 효소의 기능향진을 유도할 수 있다는 연구내용^{17,18)}을 뒷받침 해준다.

한편, 본 연구에서는 비만 및 고혈당 등 대사관련 질환이 유발될 경우 고지혈증 및 전구인슐린 유도체의 분비이상 및 glucosetoxicity의 매개체 이상발현 등으로 인해 소포체스트레스가 유발될 수 있으며, 이러한 소포체스트레스반응이 식이 및 운동효과에 의해 개선될 수 있다는 가설을 규명하기 위해 운동시 에너지동원에 필요한 대사활성이 가장 왕성한 골격근 및 지방조직에서의 소포체스트레스 관련 단백질들의 발현 정도를 살펴보았다. 먼저 글루코스 조절 단백질 (glucose-regulated proteins)로 알려진 GRPs와 Bip 단백질의 발현은 미토콘드리아 (GRP75)와 소포체 (GRP94, GRP170)에 존재하면서 대사적 스트레스 인자와 화학적 스트레스 인자에 유발되는 샤페론의 일종으로 막 결합 단백질이나 세포의 분비 단백질의 당질화 (glycosylation) 및 단백질을 폴딩하는 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다.²⁾ 이는 글루코스 고갈, 저산소증, 소포체의 Ca^{2+} 감소 및 pH 저하 그리고 2-디옥시글루코스 (2-deoxyglucose)와 글루코사민 (glucosamin)에 의해 발현량이 증가하는 것으로 보고되고 있다.³⁾ 운동훈련과 관련된 선행연구를 살펴보면 실험동물을 대상으로 5일간 70% O_2max 의 강도로 트레드밀 운동을 시행한 결과 심장근에서 GRPs의 변화가 없거나 오히려 감소하는

등의 변화양상을 보여주었으며,¹²⁾ 5일간의 운동적용 후 1회성의 운동이 간조직에서 운동 후 회복시간 별로 유의성 있는 증감을 보였다고 보고¹⁹⁾된 바 있다. 그러나 장기간의 운동훈련이 가자미근 및 장족지신전근 등의 골격근에서는 훈련기간에 따라 대체로 점증인 증가를 보여주었다고 보고²⁰⁾된 바 있어 실험 모델, 운동적용기간, 발현조직 등의 차이에 따라 각기 상반된 결과를 제시하고 있다. 본 연구에서도 GRP78 mRNA의 발현이 골격근에서는 정상식이군(Chow)에서 8주간의 규칙적인 운동을 수행한 군(Chow + EX)에 비해 다소 증가하는 경향을 보여주었으나 통계적 유의성은 없었으며, 고지방식이 단독섭취군(HF)에서도 Chow군 수준과 유의한 차이는 나타나지 않다. 그러나 고지방식이와 운동을 병행한 HF + EX군에서는 HF군에 비해서 유의하게 증가한 것으로 나타났다 ($p < .05$). 또한 지방조직에서의 발현율은 운동적용에 따른 차이 없이 HF군에서만 유의하게 낮은 수치를 보여주었다 ($p < .05$). 이러한 결과는 식이 처치의 조건이나 조직에 따른 발현율의 변화에서 선행연구^{20,21)}와 다소 상반된 결과이긴 하나 본 연구에서 고지방식이 및 운동병행을 통해 지방조직에서 발현이 다소 증가하였고, 골격근에서는 유의하게 증가하였다는 점은 고지방식이 섭취를 통한 혈장 유리 지방산의 증가가 운동 중 근세포로의 글루코스 운반능력을 다소 감소시킨 반면 조직내 유리지방산의 에너지 동원율을 상대적으로 증가시킴으로써 당대사에 민감하게 반응하는 GRPs 단백질 증가시켰을 가능성을 시사하고 있다. 이는 본 연구에서 제시하고 있는 혈액성분 변화에서 혈중 유리지방산의 농도가 고지방식이군에서 유의하게 증가한 반면 고지방식이 및 운동군에서 다시 유의하게 감소한 것에서도 뒷받침 될 수 있을 것이다.

Activating transcription factor 4 (ATF4)는 cyclic-AMP response element-binding (CREB) transcription factor family 중의 하나로서 외부로부터의 스트레스에 반응하여 세포를 보호하는 기작에 관여하는 주요인자이다.^{22,23)} 주로 세포내 산화적 스트레스에 관여하지만 종양진행 (tumor progression)이나 활성산소종 (reactive oxygen species: ROS)에 의한 산소 내성,²⁴⁾ 혹은 골형성부전 (osteogenesis)에 의한 대사성골질환²²⁾과 영양소결핍²⁵⁾이나 자외선노출²⁶⁾ 등과 같이 주변 환경 조건에서 오는 스트레스를 줄여주기 위한 전사인자로도 알려져 있다. 운동과 관련하여 직접적인 연관성을 규명한 연구는 국내외에서 찾아보기 힘들지만 실험동물 (C57/BI6 wild-type male mice)을 대상으로 일회성의 탈진적 운동 수행 후 대퇴사두근에서 ATF3 mRNA의 발현은 매우 유의하게 증가하였으며, ATF4 mRNA의 발현도 상대적으로 다소 적지만 역시 증가하였다고 보고하였다. 그러나 이 역시 XBP-1과 같이 4일 혹은 4주간의 운동훈련에 적용된 후 다시 정상수준으로 감소하였다고 보고하고 있다.²⁷⁾ 식이섭취와 관련한 연구로는 70%와 45% 이상의 지방식

이를 섭취한 마우스의 골격근에서 ATF4 mRNA의 유의한 발현증가를 보였으나,²⁸⁾ 이와는 다소 다른 결과로 다른 종의 실험동물 (SD rats) 실험에서는 6주간의 정상식이 및 고지방식이 섭취 후 운동 훈련과 상관없이 ATF6 mRNA의 발현이 간조직에서 나타나지 않았으며,¹⁴⁾ 사람을 대상으로 한 연구에서도 6주간 50% 이상의 고지방식이를 적용한 후 골격근에서의 다소 증가하였지만 유의한 차이가 없었다고 보고²⁹⁾되고 있다. 결론적으로 선행연구의 결과에 대한 경향성을 정리하자면 ATF4의 발현은 매우 강한 운동이나 초고농도의 지방식이 섭취 등 매우 극한 외부조건이 형성되었을 때 그 발현이 증가할 가능성을 시사하고 있다. 본 연구에서도 골격근의 경우 ATF4 mRNA가 정상식이섭취군의 경우에는 운동과 무관하게 발현의 변화가 나타나지 않은 반면, 고지방식이섭취 및 운동군에서만 고지방섭취군에 대해 유의하게 증가한 것을 확인하였다 ($p < .05$). 그러나 특이적으로 지방조직에서는 고지방식이 섭취군이 정상식이 섭취군에 비해 오히려 유의하게 낮은 발현율을 보여주었고($p < .05$), 고지방식이섭취와 운동훈련을 병행한 군에서 다시 발현이 증가 ($p < .05$)되어 정상군의 수준으로 나타났다. 이러한 결과는 앞서 언급하였듯이 본 연구에서 적용되었던 50% 이상의 지방식이 섭취와 지속적인 운동자극을 통해 골격근의 ATF4 발현을 증가시켰을 것이라 사료되나 지방조직에서의 고지방식이 섭취에 따른 발현을 감소에 대해서는 제론의 여지가 남아있겠다. 다만 운동이 고지방식이 섭취로 인해 감소된 ATF4 발현을 유의적으로 증가시켰다는 것에 대해서는 운동에 대한 지속적인 외부자극이 소포체스트레스의 방어기작에 작용하였을 가능성을 시사한다.

포유동물의 소포체 생합성과 phospholipid 생합성에 주요한 작용을 하는 것으로 알려진 X-box binding protein-1 (XBP-1)은 소포체 스트레스 반응에 의해 활성화된 inositol-requiring 1 (IRE1)의 mRNA 분할 (splicing)에 의해 활성 XBP-1 mRNA로의 발현이 유도되어 진다.^{4,5)} 특히 IRE1/XBP-1의 신호전달체계는 형질세포와 간세포, 외분비 췌장세포 등과 같이 단백질 분비를 활발하게 하는 세포에서 주로 UPR (unfolded protein response) 유전자들의 발현을 조절하는 것으로 알려져 있다.^{1,30)} 운동과 관련된 선행연구를 살펴보면 실험동물 (C57/BI6 wild-type male mice)을 대상으로 1회성의 탈진적 운동 수행 후 대퇴사두근에서 XBP-1s 즉, spliced mRNA의 발현은 증가하였으나 XBP-1t의 발현에서의 차이는 없었으며, 4주간 하루 1시간의 달리기 훈련에 적용된 후 다시 감소하였다고 보고²⁷⁾된 반면, 식이섭취에 따른 mRNA 발현차이를 규명한 선행연구에서는 8주령의 C57BL/6J 마우스를 이용하여 70% 이상의 초고농도 지방식이를 6주간 섭취 한 결과 전경골근과 가자미근에서 유의한 발현차이는 없었지만, 18주령의 동종 실험동물에게 45% 이상

의 고지방식이 20주간 섭취 한 후에는 그 발현율이 현저히 증가하였다고 보고되고 있다.²⁸⁾ 그러나 이와는 다소 다른 결과로 다른 종의 실험동물 (SD rats) 실험에서는 6주간의 정상식이 및 고지방식이 섭취 후 운동 훈련과 상관없이 간조직에서 발현의 차이가 없었고,¹⁴⁾ 사람을 대상으로 한 연구에서도 6주간 50% 이상의 고지방식을 적용한 후 골격근에서의 유의한 차이가 없었다고 보고²⁹⁾ 된 바 있다. 이처럼 소포체에서의 XBP-1 발현은 그 발현조직이나 운동형태 및 기간 혹은 식이상태나 실험대상이 되는 실험동물들의 종의 차이나 인체적용 등에 있어 다소 다른 결과가 제시되거나 심지어 다소 상반된 결과를 제시하고 있어 소포체 스트레스 기전에 있어 XBP-1의 발현 경로를 명확히 설명하기에는 아직까지 어려움이 있다. 본 연구에서는 실험동물의 골격근에서 식이정도에 따른 발현차이는 확인 할 수 없었으며, 정상식이 및 고지방식이 군에서 모두 운동훈련을 통해 통계적 유의차 없이 다소 증가하는 경향만을 확인 할 수 있었다. 또한 지방조직에서의 mRNA 발현의 변화 역시 정상군과 고지방식이군에서 모두 운동훈련을 통한 다소간의 발현증가 현상은 확인 하였으나 통계적 수준은 아니었으며, 특이적으로 고지방식이군들이 정상식이군들에 비해 현저히 낮은 발현율을 보여주어 선행연구에서 고지방식이로 인해 변화없거나,^{14,12)} 증가하였다는 보고²⁸⁾들과는 다소 상반된 결과를 보이고 있다. 이러한 결과는 언급한 바와 같이 발현조직의 차이나 고지방식이 정도의 차이 및 적용시기나 실험대상의 차이 등을 원인으로 들 수 있겠으나 이에 대한 선행연구들이나 이론적 배경이 아직까지 미흡한 상태이므로 단정지을 수는 없는 실정이다.

소포체 스트레스반응으로 세포가 소포체 스트레스를 지속적으로 받게 되면 세포는 자연사 과정 (apoptosis)에 이르게 되는데, 이 과정에서 여러 가지 세포자연사 경로가 활성화되어 C/EBP family에 속하는 C/EBP homologous protein (CHOP) 유전자 발현에 의한 소포체자연사가 대표적인 예이다.³⁰⁾ 즉 CHOP은 pro-apoptotic pathway에 작용하는 전사인자로서 ATF4와 IRE1에 의해 조절되며, ATF6에 의해서도 발현된다고 알려져 있다.^{1,32)} 세포수준과 동물실험에서 CHOP 유전자가 발현되지 못하도록 돌연변이를 일으켰을 때 소포체스트레스에 유도된 세포사멸로부터 세포와 실험동물을 보호한다는 연구결과로 인해 CHOP 유전자가 비만 및 당뇨병 치료의 방안으로 주목받게 되었다.⁴⁾ 또한 아직까지는 주로 베타세포와 정상적인 생리적 상태에서의 기전연구에 그치고 있지만 추후 대사질환과 관련된 병리상태의 다각적 연구가 기대되는 유전 분야라 할 수 있겠다. 현재까지 진행된 운동과 관련된 단편적 선행연구를 살펴보면 실험동물을 대상으로 걷기와 달리기 정도의 운동부하로 운동에 적응한 후 5일간 VO_{2max} 70%의 운동강도로 달리기 훈련한 후 심장근에서 단백질 수준을 평가한 결과 운동군에서 다

소 감소하였으나 통계적 차이가 없었다고 보고된 바 있다.¹²⁾ 또한 Deldicque 등²⁸⁾의 보고에서는 6주간 70% 이상의 초고농도의 지방식 섭취 후 마우스의 골격근에서 다소 증가하였으며, 20주간 45%의 고농도 지방식 섭취 후에는 현저히 그 발현이 증가되었다고 보도되고 있다. 본 연구에서는 골격근의 경우 CHOP mRNA가 정상식이섭취군의 경우에는 ATF4와 같은 양상으로 운동과 무관하게 발현의 변화가 나타나지 않은 반면, 고지방식이 섭취 및 운동병행군에서만 고지방섭취군에 대해 유의하게 증가한 것을 확인하였고 ($p < .05$). 지방조직에서도 ATF4와 같은 양상으로 고지방식이 섭취군이 정상식이 섭취군에 비해 오히려 유의하게 낮은 ($p < .05$) 발현율을 나타냈지만 고지방식이섭취와 운동훈련을 병행한 군에서 다시 발현이 증가 ($p < .05$)하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 본 연구 결과 ATF4 발현에 의해 CHOP 발현기전이 영향을 받은 것으로 사료된다.

마지막으로 JNK (Jun N-terminal kinase)의 활성은 소포체 스트레스의 결과로 ATF4에 의해 증가된 CHOP의 발현증가와 함께 IRE1로부터 JIK (Jun inhibitory kinase)와 TRAF2의 결합을 통해 ASK1 (apoptosis stimulation kinase 1)가 활성화되면서 일어나게 된다.³²⁾ 고지방식이와 STZ (streptozotocin) 투여를 통해 당뇨쥐를 유발 한 후 NPH insulin 처치하였을 때 당뇨쥐의 간조직에서 JNK 발현은 증가하지만 insulin 처치군에 대해서는 JNK 발현이 현저히 감소하였다고 보고되어³³⁾ 당뇨병 등과 같은 스트레스 환경에서 간의 소포체스트레스 반응이 증가되는 것으로 알려져 있다. 또한 매우 드물긴 하지만 운동과 관련된 선행 연구를 살펴보면 제2형 당뇨모델 실험동물 (otsuka long-evans tokushima fatty rat: OLETF)을 이용하여 12주간 트레드밀 훈련 후 비복근에서의 발현차이가 없었다고 보고³⁴⁾ 된 반면, 마우스 (C57BL/10 mice)를 이용하여 달리기 훈련 후 비복근에서 JNK1에서의 발현차이는 없었으나 JNK2에서 운동훈련에 의해 유의하게 증가하였다고 보고된 바 있다.³⁵⁾ 본 연구에서는 골격근에서의 JNK mRNA 발현의 차이는 집단간 유의한 차이 없이 운동훈련에 의해 다소 증가하는 경향만을 확인하였으며, 지방조직의 경우 ATF4와 CHOP의 발현과 유사하게 고지방식이 섭취군에서 정상식이군에 비해 현저히 감소한 반면 운동훈련을 통해 다시 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 이 역시 앞서 제시한 ATF4와 CHOP의 발현에 의해 매개된 것으로 생각될 수 있으며, 고지방식이 지방조직에서의 감소현상에 대한 추후 관련연구의 필요성을 시사하는 결과이다.

요약 및 결론

본 연구는 비만 및 고혈당 등 대사관련 질환이 유발될 경우 고지혈증 및 전구인슐린 유도체의 분비이상 및 glucosetoxic-

ity의 매개체 이상발현 등으로 인해 소포체 스트레스가 유발될 수 있으며, 이러한 소포체 스트레스 반응이 운동효과에 의해 개선될 수 있다는 가설을 규명하기 위해 시행하였다. 이를 위해 8주령 된 체중 200 g 내외의 Sprague-Dawley 중 흰쥐 수컷 32마리를 대조군 (Chow, n = 8)과 대조운동군 (Chow + EX, n = 8), 50%의 지방을 함유한 고지방식이섭취군 (HF, n = 8)과 고지방식이 및 운동훈련을 병행한 고지방식이-운동군(HF + EX, n = 8)으로 각각 구분하여 8주간 고지방식이섭취와 규칙적인 운동부하를 적용한 후 운동시 에너지동원에 필요한 대사활성이 가장 왕성한 골격근 및 지방조직에서의 소포체스트레스 관련 단백질들의 발현 정도를 살펴보고자 하였다. 그 결과 실험동물의 체중변화 및 혈액성분 분석을 통해 고지방식이 섭취에 의한 체중 및 복부지방량의 증가현상과 그로 인한 혈중 지질 및 혈당의 현저한 증가양상과 8주간의 지속적인 운동적용을 통해 체중 및 복부지방량의 유의한 감소와 함께 혈중 지질성분이 개선되는 것을 확인하였다. 또한 골격근 및 지방조직에서의 소포체스트레스 단백질 발현 분석결과 골격근에서는 8주간의 고지방식이섭취로 인해 유의성이 없는 수준에서 GRP78, XBP-1 ATF4, CHOP 및 JNK mRNA가 상호 연관성 없이 증감하는 것으로 확인되었고 운동훈련을 통해 대체로 증가하는 양상은 확인 할 수 있었다. 특히 GRP78과 ATF4 mRNA의 경우에는 운동훈련을 통해 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 지방조직에서는 대체로 운동부하를 통한 증가양상은 확인 할 수 있었으나 골격근의 발현과는 반대로 고지방식이로 인해 분석된 모든 단백질의 mRNA가 현저히 감소하는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 결론적으로 말하자면, 지속적이고 규칙적인 운동훈련은 고지방식이섭취에 의해 유도된 흰쥐의 체중 및 복부지방량의 증가와 그에 따른 고지혈증 및 고혈당 등의 이상지질 현상을 효과적으로 개선하였으며, 골격근의 경우 대부분의 소포체스트레스 반응에서 정상식이군과 고지방식이군의 발현 차이보다는 고지방식이군 보여준 운동적용에 따른 발현량의 차이가 더욱 민감하게 작용했을 것으로 생각할 수 있다. 다만 본 연구의 결과에서 고지방식이 유도에 의한 골격근과 지방조직에서의 상반된 소포체스트레스 발현량 차이는 선행연구와는 다소 다른 결과일 수 있겠으나 관련 선행연구들에서는 골격근과 지방조직간의 비교 연구가 수행된 바 없었다는 점과 식이 및 운동훈련에 의한 조직내 동일 단위면적에서의 단백질 발현율의 차이 있을 수 있다는 점 등으로 미루어 볼 때 추후 이와 관련된 다양한 연구가 필요하다고 생각되어진다.

Literature cited

1) Calfon M, Zeng H, Urano F, Till JH, Hubbard SR, Harding HP,

Clark SG, Ron D. IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA. *Nature* 2002; 415(6867): 92-96

2) Hendershot L, Wei J, Gaut J, Melnick J, Aviel S, Argon Y. Inhibition of immunoglobulin folding and secretion by dominant negative BiP ATPase mutants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(11): 5269-5274

3) Verkhratsky A, Toescu EC. Endoplasmic reticulum Ca (2+) homeostasis and neuronal death. *J Cell Mol Med* 2003; 7(4): 351-361

4) Oyadomari S, Koizumi A, Takeda K, Gotoh T, Akira S, Araki E, Mori M. Targeted disruption of the Chop gene delays endoplasmic reticulum stress-mediated diabetes. *J Clin Invest* 2002; 109(4): 525-532

5) Mori K. Tripartite management of unfolded proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell* 2000; 101(5): 451-454

6) Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell* 2010; 140(6): 900-917

7) Gregor MF, Yang L, Fabbrini E, Mohammed BS, Eagon JC, Hotamisligil GS, Klein S. Endoplasmic reticulum stress is reduced in tissues of obese subjects after weight loss. *Diabetes* 2009; 58(3): 693-700

8) Hardie DG. The AMP-activated protein kinase pathway--new players upstream and downstream. *J Cell Sci* 2004; 117(Pt 23): 5479-5487

9) Irving BA, Davis CK, Brock DW, Weltman JY, Swift D, Barrett EJ, Gaesser GA, Weltman A. Effect of exercise training intensity on abdominal visceral fat and body composition. *Med Sci Sports Exerc* 2008; 40(11): 1863-1872

10) Michishita R, Shono N, Kasahara T, Tsuruta T. Effects of low intensity exercise therapy on early phase insulin secretion in overweight subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 82(3): 291-297

11) Holloway GP. Mitochondrial function and dysfunction in exercise and insulin resistance. *Appl Physiol Nutr Metab* 2009; 34(3): 440-446

12) Murlasits Z, Lee Y, Powers SK. Short-term exercise does not increase ER stress protein expression in cardiac muscle. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39(9): 1522-1528

13) Kim Y, Park M, Boghossian S, York DA. Three weeks voluntary running wheel exercise increases endoplasmic reticulum stress in the brain of mice. *Brain Res* 2010; 1317: 13-23

14) Chapados NA, Lavoie JM. Exercise training increases hepatic endoplasmic reticulum (er) stress protein expression in MTP-inhibited high-fat fed rats. *Cell Biochem Funct* 2010; 28(3): 202-210

15) Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lieu FK, Ji LL, Herb RA. Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol* 1993; 265(6 Pt 2): H2094-H2098

16) Jackuliaková D, Vaverková H, Karásek D. Relationship between familial combined hyperlipidemia and insulin resistance. *Vnitr Lek* 2008; 54(11): 1045-1053

17) Zanuso S, Jimenez A, Pugliese G, Corigliano G, Balducci S. Exercise for the management of type 2 diabetes: a review of the evidence. *Acta Diabetol* 2010; 47(1): 15-22

18) Kirwan JP, Solomon TP, Wojta DM, Staten MA, Holloszy JO. Effects of 7 days of exercise training on insulin sensitivity and responsiveness in type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297(1): E151-E156

19) González B, Manso R. Induction, modification and accumulation of HSP70s in the rat liver after acute exercise: early and late responses. *J Physiol* 2004; 556(Pt 2): 369-385

20) González B, Hernando R, Manso R. Stress proteins of 70 kDa in chronically exercised skeletal muscle. *Pflugers Arch* 2000; 440(1): 42-49

- 21) Um HS, Kang EB, Leem YH, Cho IH, Yang CH, Chae KR, Hwang DY, Cho JY. Exercise training acts as a therapeutic strategy for reduction of the pathogenic phenotypes for Alzheimer's disease in an NSE/APPsw-transgenic model. *Int J Mol Med* 2008; 22(4): 529-539
- 22) Saito A, Ochiai K, Kondo S, Tsumagari K, Murakami T, Cavener DR, Imaizumi K. Endoplasmic reticulum stress response mediated by the PERK-eIF2 (alpha)-ATF4 pathway is involved in osteoblast differentiation induced by BMP2. *J Biol Chem* 2011; 286 (6): 4809-4818
- 23) Rzymiski T, Milani M, Singleton DC, Harris AL. Role of ATF4 in regulation of autophagy and resistance to drugs and hypoxia. *Cell Cycle* 2009; 8(23): 3838-3847
- 24) Ye J, Koumenis C. ATF4, an ER stress and hypoxia-inducible transcription factor and its potential role in hypoxia tolerance and tumorigenesis. *Curr Mol Med* 2009; 9(4): 411-416
- 25) Siu F, Bain PJ, LeBlanc-Chaffin R, Chen H, Kilberg MS. ATF4 is a mediator of the nutrient-sensing response pathway that activates the human asparagine synthetase gene. *J Biol Chem* 2002; 277(27): 24120-24127
- 26) Jiang HY, Wek RC. Phosphorylation of the alpha-subunit of the eukaryotic initiation factor-2 (eIF2alpha) reduces protein synthesis and enhances apoptosis in response to proteasome inhibition. *J Biol Chem* 2005; 280(14): 14189-14202
- 27) Wu J, Ruas JL, Estall JL, Rasbach KA, Choi JH, Ye L, Boström P, Tyra HM, Crawford RW, Campbell KP, Rutkowski DT, Kaufman RJ, Spiegelman BM. The unfolded protein response mediates adaptation to exercise in skeletal muscle through a PGC-1 α /ATF6 α complex. *Cell Metab* 2011; 13(2): 160-169
- 28) Deldicque L, Cani PD, Philp A, Raymackers JM, Meakin PJ, Ashford ML, Delzenne NM, Francaux M, Baar K. The unfolded protein response is activated in skeletal muscle by high-fat feeding: potential role in the downregulation of protein synthesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299(5): E695-E705
- 29) Deldicque L, Van Proeyen K, Francaux M, Hespel P. The unfolded protein response in human skeletal muscle is not involved in the onset of glucose tolerance impairment induced by a fat-rich diet. *Eur J Appl Physiol* 2011; 111(7): 1553-1558
- 30) Yoshida H, Oku M, Suzuki M, Mori K. pXBP1 (U) encoded in XBP1 pre-mRNA negatively regulates unfolded protein response activator pXBP1 (S) in mammalian ER stress response. *J Cell Biol* 2006; 172(4): 565-575
- 31) Wang H, Kouri G, Wollheim CB. ER stress and SREBP-1 activation are implicated in beta-cell glucolipototoxicity. *J Cell Sci* 2005; 118(Pt 17): 3905-3915
- 32) Urano F, Wang X, Bertolotti A, Zhang Y, Chung P, Harding HP, Ron D. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science* 2000; 287(5453): 664-666
- 33) Sun W, Bi Y, Liang H, Cai M, Chen X, Zhu Y, Li M, Xu F, Yu Q, He X, Ye J, Weng J. Inhibition of obesity-induced hepatic ER stress by early insulin therapy in obese diabetic rats. *Endocrine* 2011; 39(3): 235-241
- 34) Lee H, Chang H, Park JY, Kim SY, Choi KM, Song W. Exercise training improves basal blood glucose metabolism with no changes of cytosolic inhibitor B kinase or c-Jun N-terminal kinase activation in skeletal muscle of Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Exp Physiol* 2011; 96(7): 689-698
- 35) Nakamura A, Yoshida K, Ueda H, Takeda S, Ikeda S. Up-regulation of mitogen activated protein kinases in mdx skeletal muscle following chronic treadmill exercise. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1740(3): 326-331