

4주간 알코올 섭취가 성장기 흰쥐의 근육 위축에 미치는 영향

배상훈 · 노성환 · 박재용¹ · 송영주^{1*}

선문대학교 체육학과 대학원, ¹선문대학교 스포츠건강과학연구소

The Effect of 4-weeks' Alcohol Supplementation on the Muscle Atrophy in Rat

Sanghoon Bae, Sunghwan No, Jaeyong Park, and Youngju Song^{1*}

Department of Physical Education, Graduate School of Sunmoon University

¹Institute of Sports Health Science, Sunmoon University

Abstract

This study was conducted to investigate the effect of chronic alcohol supplementation on muscle atrophy in growing rats. Eighteen male Sprague Dawley rats were randomly divided into two groups: CG group (control group, n=9) and AG group (alcohol supplemented group, n=9). Alcohol group (3 g/kg BW) was orally supplemented every day. After the experimental period, serum components and muscle Akt, p-Akt, FoxO, p-FoxO, MuRF1, and P38 protein expressions were analyzed. In the results, the values of EDL and soleus muscle weights of AG group did not have significant differences compared to the value of the CG group. In the serum components, the value of the serum TG concentration of AG group was significantly increased compared to the value of the CG group. The value of the p-Akt/Akt and p-FoxO/FoxO of the AG group was significantly decreased compared to the value of the CG group ($p < 0.01$). The MuRF1 protein expression of AG group was significantly increased compared to the value of the CG group ($p < 0.01$). However, the values of p-P38/P38 between two groups did not have any significant difference. From these results, it was suggested that 4 weeks of chronic alcohol supplementation induced muscle atrophy via activated protein degradation pathway involving the inhibition of Akt phosphorylation and increased FoxO and MuRF1 protein expression of muscle in growing rats.

Key words: alcohol supplementation, growing rat, muscle atrophy

서 론

2015년 청소년 건강행태 온라인 조사에서 청소년의 음주율은 16.7%로서 증가하는 현상이 나타나지 않았지만 현재 음주자의 위험음주율은 50.2%로서 증가하였다고 발표하여 음주로 인한 사회적 문제점이 증가할 수 있음을 시사하였다. 청소년의 만성 알코올 섭취의 문제는 뇌 발달, 뇌 기능 그리고 신경, 정신적 건강에 해로우며, 심각한 인지기능 손실, 주의력, 집중력 그리고 시각장애 등과 관련이 있다 (McQueeney et al., 2009). 알코올중독 청소년 12명을 대상으로 한 연구 결과에서 해마 부피가 약 16% 감소하였으며 (De Bellis et al., 2000), 알코올 중독 청소년 33명을 대상으로 한 neuropsychological (NP)검사와 심리검사 결과 만

성 알코올 섭취는 학습능력 및 언어 구술 능력을 떨어뜨린다고 보고되었다(Brown et al., 2000).

한편, 알코올섭취와 관련한 병태생리학적 연구들도 다수 보고되고 있다. 6 g/kg BW의 농도로 급성 알코올을 섭취한 6주령 마우스에서 간장의 triglyceride (TG) 농도가 섭취 8시간 동안 급격히 증가하는 것으로 보고되었고(Kaiser et al., 2009), 3-9개월령 마우스에서 알코올 섭취 농도가 증가할수록 간장의 TG 농도가 더 높게 증가한 것으로 보고되었다(Donohue et al., 2012). 또한 6-8주령을 대상으로 한 마우스 실험에서 20% 농도의 알코올 섭취는 폐포의 미토콘드리아에 Reactive oxygen species (ROS)를 생성을 촉진하여 미토콘드리아의 장애를 촉진시키며 alveolar macrophage를 악화시킨다고 보고하였다(Liang et al., 2014).

또한 8-9주령 흰쥐에서 3.5 g/kg BW 농도의 알코올 섭취는 뇌 조직의 p-Akt 발현을 감소시키는 것으로 나타났으며(Laguesse et al., 2017) 4.5 g/kg BW의 농도로 급성 알코올 중독을 유발한 마우스의 간에서 Forkhead box protein O (FoxO) 발현의 증가로 인한 autophagy가 유발되었다고

*Corresponding author: Youngju Song, Institute of Sports Health Science, Sunmoon University, Asan-si, Chungnam, 31460, S. Korea
Tel: +82-41-530-2239; Fax: +82-41-530-2810

E-mail: song6711@sunmoon.ac.kr

Received June 14, 2018; revised July 15, 2018; accepted July 28, 2018

보고되었다(Ni et al., 2013). 그리고 흰쥐의 골격근에 알코올 투여 농도가 증가할수록 muscle RING-finger protein-1 (MuRF1), MAFbx와 같은 atrogene들의 발현이 증가하는 것으로 보고되고 있다(Vary et al., 2008). 한편, 알코올 섭취와 관련된 인체실험에서, 성인 20대에서 70대까지의 알코올 섭취로 인해 외측광근의 type II 근섬유만 위축된 그룹에서는 근 횡단 면적의 감소가 나타났고, MuRF1과 MAFbx mRNA 발현이 증가하였으나, type I과 type II 모두 위축된 군에서는 MuRF1과 MAFbx mRNA 발현이 감소되었다고 보고되었다(Shenkman et al., 2013).

12주간 총 열량의 36%를 알코올로 섭취한 체중 400 g 전후의 성인 흰쥐 골격근의 P38의 인산화가 증가하며, 족저근의 근횡단면적과 근육 중량이 감소하였다고 보고되고 있다(Clary et al., 2011). 알코올 섭취에 따른 골격근의 형태적 생화학적 변화에 대한 연구는 많이 보고되고 있으나 알코올 섭취에 따른 성장기 골격근의 변화에 대한 생화학적 분자생물학적 연구는 거의 보고되고 있지 않은 실정이다. 이에 본 연구에서는 4주간의 만성 알코올 섭취가 6주령의 성장기 흰쥐의 골격근 위축 관련 신호전달 단백질 발현에 미치는 영향에 대해 연구하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 알코올 섭취

본 연구에서는 6주령 수컷 SD계 흰쥐(Samtaco Bio Korea, Hwaseong, Korea) 18마리를 1주간 환경 적응 후에 CG군(Control group, n=9), AG군(Alcohol supplemented group, n=9)으로 분류하여 4주간 사육하였다. 사육 환경은 실내 온도 23±1°C, 습도 50±5%로 유지하였으며 12시간의 명암 주기를 설정하였다. 또한 사육 기간 동안 물과 AIN-76 표준식은 자유로운 섭취가 가능하도록 하였다. 사육기간중의 식이효율은 (실험기간중의 체중 증가분/실험기간중의 식이 섭취량)으로 계산하여 나타내었다. AG군은 매일 일정한 시간대에 존대를 이용하여 3 g/kg BW의 99% 에탄올(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 경구 투여하였으며, CG군은 동일한 방법으로 수돗물을 경구 투여하였다. 4주간의 사육 종료 후, 12시간의 공복 상태에서 에테르 마취 상태에서 좌심실에서 1회용 주사기를 이용하여 8 mL씩 채혈한 후에 700 × g로 15분 간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청 및 골격근 등 조직들은 분석 시까지 -80°C에 보관하였다. 본 연구는 선문대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 득한 후에 수행하였다(SM-2016-01-01).

혈청 성분 분석

혈청 내 glucose 농도는 glucose oxidase 및 peroxidase의 작용에 의해 phenol과 4-aminoantipyrine을 산화적으로 축합시켜 키논형 적색 색소를 생성할 때 이 적색 색소를

500 nm에서 비색 측정하였다(Morin & Prox, 1973). 혈청 내 TG 농도는 lipoprotein lipase의 작용에 의해 가수분해되어 글리세롤이 형성된 후 glycerol kinase와 ATP의 작용에 의해 과산화수소가 생성되면 peroxidase의 존재 하에 N-ethyl-N-sulfopropyl-m-toluisine과 4-aminoantipyrine을 산화 축합하여 적색 색소를 생성할 때 이 적색 색소를 550 nm에서 비색 측정하였다(Ekindjian & Duchassaing, 1979). 혈청 내 Total cholesterol (TC)농도는 혈청 중의 에스테르형 콜레스테롤이 cholesterol esterase 및 cholesterol oxidase 의해 생성된 과산화수소가 peroxidase의 존재 하에 4-aminoantipyrine과 phenol을 산화 축합시켜 키논형 적색 색소를 생성할 때 이 적색 색소를 500 nm에서 비색 측정하였다(Steele et al., 1980). 혈청 내 High density lipoprotein cholesterol (HDLC) 농도는 Phosphotungstic acid와 Mg²⁺의 작용으로 low density blipoprotein을 침전 시킨 후에 상층액(supernatant)을 TC와 동일한 원리를 이용하여 500 nm에서 비색 측정하였다(Steele et al., 1980). 모든 혈중 성분은 상업용 kit (Asan pharm, Seoul, Korea)을 이용하여 분광광도계(Biochrom WPA, Holliston, MA, USA)를 이용하여 분석하였다.

근육조직 전처리

Soleus 근육의 전 처리는 건 조직을 모두 제거한 후, 근육 샘플에 cytoplasmic extract buffer (10 mM HEPES, pH 7.9, 10 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 0.3% NP-40, 1% protease inhibitor cocktail, 1% phosphatase inhibitor cocktail (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA))를 첨가한 후 polytron homogenizer (Biospec Products, Bartlesville, OK, USA)를 이용하여 조직을 균질화 한 후에 10,000 × g에서 5분간 원심 분리하여 상층액을 추출하였다. 또한 pellet에 nuclear extract buffer (20 mM HEPES, pH 7.9, 0.4 M NaCl, 1 mM EDTA, 25% glycerol, 1% protease inhibitor cocktail, 1% phosphatase inhibitor cocktail (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA))를 첨가한 후 10,000 × g에서 5분간 원심 분리하여 상층액을 추출하였다. 단백질 농도는 Bio-rad Bradford Protein Assay kit (Bio-rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 정량하였다.

Western Blotting

단백질은 전기 영동 후에 polyvinylidenedifluoride membranes (PVDF, Millipore, Bedford, MA, USA)에 트랜스퍼하였으며, 상온에서 Tris-buffered saline in Tween-20 (TBST)로 희석한 5% BSA로 1시간 블로킹 하였다. 1차 항체는 Akt, phospho-Akt^{S473}, FoxO1, phospho-FoxO1^{Thr24/3a^{Thr32}} (Cell Signaling, Beverly, MA, USA), MuRF1, P38 그리고 phospho-P38^{T180+Y182} (Abcam, Cambridge, MA, USA)를 사용하여 상온에서 TBST로 희석한 5% BSA에

희석하여 각각 2시간동안 반응시켰으며, 2차 항체는 HRP-conjugated anti-goat IgG (Santa Cruz, CA, USA) 또는 anti-rabbit IgG (Santa Cruz, CA, USA)을 사용하여 각각 1시간동안 반응시켰다. 그 후 ECL kit (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK)을 사용하여 각 단백질의 밴드를 동정하였으며 현상 필름은 ImageJ program (ImageJ, NIH, Bethesda, MD, USA)을 통해 각각의 단백질 발현 농도를 분석하였다.

자료처리 방법

본 연구의 자료 처리는 통계프로그램 SPSS 16.0 (SPSS inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였으며 모든 데이터는 mean±SE로 나타내었으며, 집단간 차이를 검증하기 위하여 독립표본 t-검정을 실시하였다. 통계학적 유의수준은 $p < 0.05$ 수준으로 설정하였다.

결과 및 고찰

체중, 식이섭취량, 식이효율 및 조직 중량

4주간 알코올 섭취에 따른 체중, 식이섭취량, 식이 효율 및 조직 중량 변화는 Table 1에 나타내었다.

CG군의 초기 체중은 241.9±4.79 g으로 나타났으며, 최종 체중은 360.4±3.14 g이었으며 AG군의 체중은 242.2±5.71 g으로 나타났고, 최종 체중은 362.2±5.08 g으로 CG군과 AG군 간에 체중에서 유의한 차이가 없었다. 임상실험에서 만성 알코올 환자인 성인 남성을 대상으로 한 연구에서 알코올 섭취에 의한 BMI변화는 적었으며, 만성적인 알코올 섭취가 체중 변화의 주된 원인이 아니라고 한 선행연구 (French et al., 2010)와 유사한 결과를 나타내었다. 또한, 신장 주위부 지방과 고환 부 지방 중량도 알코올섭취에 의한 차이는 없는 것으로 나타났다. 선행 연구에서 8주령 흰쥐를 이용하여 22주간 2.5 g/kg BW로 알코올을 섭취한 결과에서 신장 주위부 지방과 고환 부 지방 중량이 차이가

Table 1. Characteristic of body weight, food intake, feed efficiency ratio and tissue weight

	CG	AG
Initial weight (g)	241.9±4.79 ¹⁾	242.2±5.71
Final weight (g)	360.4±3.14	362.2±5.08
Food intake (g/day)	19.9±0.8	18.7±0.47
Feed efficiency ratio (%)	24.1±0.91	23.5±0.67
EDL ²⁾ (mg)	165.0±3.80	159.3±3.50
Soleus (mg)	168.3±2.44	158.8±2.12
PFT ³⁾ (g)	4.8±0.81	4.9±0.35
EFT ⁴⁾ (g)	5.1±0.33	4.8±0.14 ^{*5)}

¹⁾Values are mean ± SE in each group (n=9).

²⁾EDL: extensor digitorum longus muscle

³⁾PFT: perirenal fat tissue

⁴⁾EFT: epididymal fat tissue

⁵⁾significant level, * $p < 0.01$ vs CG group

없는 것으로 보고(Ren et al., 2012) 하여 본 연구결과와 유사한 결과를 나타냈다. 또한 식이섭취량에서 CG군은 19.9±0.8 g/day, AG군은 18.7±0.47 g/day 로 유의한 차이가 나타나지 않았으며, 식이효율에서도 CG군은 24.1±0.91%, AG군은 23.5±0.67%로 두 군 간에 유의한 차이가 나타나지 않았다. 따라서 만성 알코올 섭취는 체중 변화에 영향을 미치지 않은 것으로 추측된다. 그러나, 주로 속근으로 구성된 extensor digitorum longus (EDL) 근육중량에서 CG군 165.0±3.80 mg, AG군 159.3±3.50 mg으로 유의하지 않았으며, 주로 지근으로 구성된 soleus 근육중량에서도 CG군 168.3±2.44 mg, AG군 158.8±2.12 mg으로 나타나 알코올 섭취에 의해 감소하였으나 유의한 차이는 나타나지 않았다. 선행연구에서 하루 최소 80 g 수준으로 1년 이상 만성 알코올을 섭취한 성인에게서 Type II 근섬유의 횡단 면적이 약 10-20% 감소하였다고 보고되고 있으며(Preedy et al., 2003), 3년간 매일 100% 알코올을 100 mL 섭취한 성인에서도 근섬유의 횡단면적이 10-40% 수준으로 감소 (Shenkman et al., 2013)됨을 보고하였다. 따라서, 본 연구에서 4주간의 알코올섭취가 근육의 횡단면적 및 골격근의 중량을 유의하게 감소시킬 정도의 충분한 알코올 농도 및 섭취 기간이 부족했던 것으로 판단된다.

혈액 성분 변화

4주간 알코올 섭취에 따른 혈액 성분 변화는 Table 2에 나타내었다

혈중 glucose농도는 CG군에서 148.3±3.47 mg/dl, AG군은 155.6±2.87 mg/dl로 AG군의 혈당이 증가하였으나, 유의한 차이는 없었다. 성인을 대상으로 한 선행 연구에 따르면 100 g/wk 이하의 알코올 섭취 집단에서 인슐린 저항성 감소를 통해 혈중 glucose농도가 감소했으며, 130 g/wk 이상의 알코올 섭취 집단에서는 인슐린 저항성이 증가하여 혈중 glucose 농도가 증가했다고 보고되고 있다(Dixon et al., 2002). 본 연구에서 혈중 glucose농도가 유의하게 증가하지 않은 것은 성장기 흰쥐에게서 4주간 3 g/day의 알코올 섭취가 인슐린 저항성을 초래할 정도의 충분한 알코올 농도 및 섭취기간에는 부족한 것으로 판단된다. 한편, 혈청 TG농도는 CG군이 58.7±6.29 mg/dl, AG군이 71.3±13.45

Table 2. Serum components levels

	CG	AG
Glucose (mg/dl)	148.3±3.47 ¹⁾	155.6±2.87
TG ²⁾ (mg/dl)	58.7±6.29	71.3±13.45 ^{*5)}
TC ³⁾ (mg/dl)	43.1±1.09	44.5±1.40
HDLC (mg/dl)	29.9±1.13	33.5±0.80

¹⁾Values are mean ± SE in each group (n=9).

²⁾TG: triglyceride

³⁾TC: total cholesterol

⁴⁾HDLC: high density lipoprotein cholesterol

⁵⁾significant level, * $p < 0.01$ vs CG group

mg/dl로 AG군의 TG농도가 유의하게 증가($p<0.01$) 한 것으로 나타났다. 이는 36% 농도로 4개월간 만성적으로 알코올을 섭취한 흰쥐는 간장의 지방산 대사 기능 악화로 인해 혈청 TG농도가 유의하게 증가한 선행연구와 일치하며 (Romero et al., 2014), 성인을 대상으로 한 선행 연구에서 혈중 TG 농도가 16% 이상일 때 관상동맥질환 발병 위험이 증가하는 것으로 나타났다(Consortium & Collaboration, 2010). 이러한 결과는 만성 알코올 섭취로 인한 혈청 TG 농도의 증가가 심혈관 질환 발병 확률을 증가시키는 것을 의미한다. 한편 본 연구의 TC농도에서 CG군은 43.1±1.09 mg/dl, AG군은 44.5±1.40 mg/dl로 나타나 양군 사이에 유의차가 없었다. 또한 HDLC 농도에서 CG군은 29.9±1.13 mg/dl, AG군은 33.5±0.80 mg/dl로 양군 간에 유의한 차이가 나타나지 않았다. 이러한 결과는 10-12주령의 마우스에 10일간 31.5%의 알코올 섭취 그룹에서 혈청 TC 및 HDLC 농도가 유의하게 증가하지 않은 결과(Gu et al., 2015)와 4개월간 36%의 농도로 만성 알코올 섭취 그룹에서 혈청 TC농도에는 차이가 없었다(Romero et al., 2014)는 선행연구와 일치하는 결과로서, 흰쥐에서 만성적인 알코올 섭취가 혈청의 TC 및 HDLC와 같은 지단백질농도 변화에는 크게 영향을 미치지 않았음을 시사하였다. 본 연구의 혈액 성분 결과를 종합하여 볼 때, 성장기 흰쥐에서 3g/day의 농도로 4주간 섭취한 알코올은 혈청 TG 농도를 증가시켜

간장의 기능 이상 및 심혈관 질환의 위험에 노출될 가능성이 있을 것으로 판단된다.

Akt 및 p-Akt 단백질 발현

본 연구 결과 Akt (Fig. 1A)는 AG군에서 CG군에 비해 90.5±3.72% 수준으로 유의하게 감소($p<0.01$)하였으며, p-Akt 단백질(Fig. 1B)은 AG군에서 72.3±4.32% 수준으로 유의하게 감소($p<0.01$)하였다. 그리고 p-Akt/Akt (Fig. 1C)은 AG군에서 73.0±3.00% 수준으로 유의하게 감소($p<0.01$)하였다. 조직 성장 관련 신호 인자로 알려진 Akt는 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)의 downstream이며, Akt의 인산화를 통해 조직 성장이 이루어 진다. Akt는 마우스의 배아를 이용한 연구에서 골격근, 뼈 등 조직 성장에 중요한 역할을 하며(Peng et al., 2003), Akt유전자변형마우스를 이용한 골격근 비대 유도 연구에서 Akt의 인산화는 골격근 비대에 중요한 인자로 밝혀졌다(Blaauw et al., 2010). 또한 Myocyte와 8-10주령 마우스 비복근에 IGF-1을 투여한 연구에서 p-IGFR와 p-Akt 발현을 통해 근섬유 비대가 일어나는 것으로 보고되어(Stitt et al., 2004) Akt가 골격근 성장에 직접적인 연관성이 있음을 뒷받침하고 있다. 성체 흰쥐를 대상으로 8주간 35.5%의 만성 알코올 섭취한 연구에서 IGF-1과 IGF-1 receptor (IGF-1R)의 감소에 의해 Akt 및 p-Akt 발현이 억제되어 골격근 위축을 유발한다고 알려

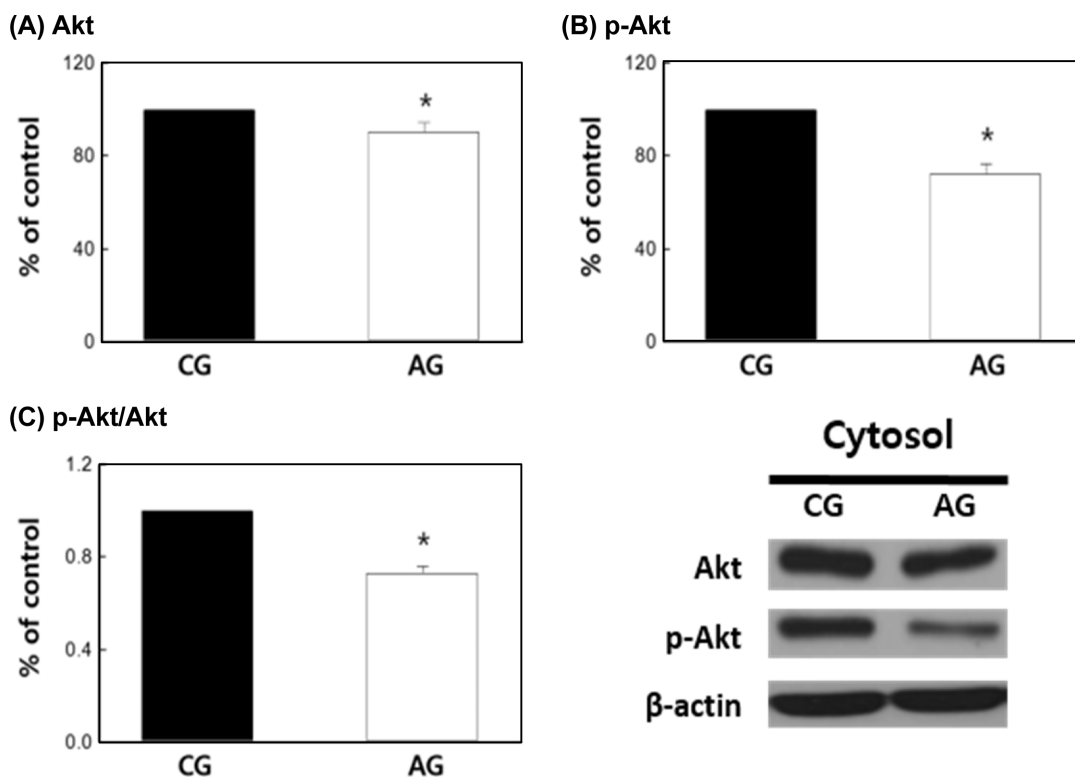


Fig. 1 Akt, p-Akt and p-Akt/Akt protein expression in Soleus muscle. * $p<0.01$, significant difference between CG and AG groups. Data are mean±SE. CG: control group, AG: Alcohol supplement group.

진 선행연구(Nguyen et al., 2012)와 본 연구가 일치하는 결과를 나타냈다. 따라서, 본 연구의 성장기 흰쥐의 만성 알코올 섭취가 골격근의 Akt와 p-Akt 발현 감소를 통해 골격근 성장 억제와 골격근 위축을 촉진한 것으로 판단된다.

FoxO, p-FoxO, MuRF1, p-P38 및 P38 단백질 발현

본 연구 결과, FoxO 발현(Fig. 2A)은 AG군에서 CG군에 비해 $126.4 \pm 9.75\%$ 수준으로 유의하게 증가($p < 0.01$)하였으며, p-FoxO 발현(Fig. 2B)은 AG군에서 $73.3 \pm 3.89\%$ 수준으로 유의하게 감소($p < 0.01$)하였다. 그리고 AG군의 p-FoxO/FoxO (Fig. 2C)가 $51.0 \pm 4.00\%$ 수준으로 유의하게 감소($p < 0.01$)하였다.

선행연구에서 myocyte인 C2C21 세포에 dexamethasone으로 근육 위축을 유도하였을 때 FoxO와 atrogen-1 발현이 증가하며 myotube의 횡단면적이 감소된 결과를 나타내었다(Sandri et al., 2004). 또한 myocyte와 8-10주령 마우스 비복근에 IGF-1을 투여한 연구에서 FoxO는 p-Akt 발현을 통해 억제되어 골격근 분해가 억제되는 것으로 보고(Stitt et al., 2004)되어 p-Akt와 FoxO의 연관성을 입증하였다. 따라서, 본 연구에서도 AG군에서 근육위축경향이 나타난 것은 AG군의 FoxO 발현 증가(Fig. 2A)와 p-FoxO 발현의

감소(Fig. 2B)에 의해 골격근 위축 현상이 나타났다고 판단되었다.

한편, 본 연구 결과 MuRF1 (Fig. 2D)은 AG군에서 $132.39 \pm 6.02\%$ 수준으로 유의하게 증가($p < 0.01$)하였다. 선행연구에서 C2C21 myotube와 마우스 골격근에 immobilization, denervation, hindlimb suspension 그리고 dexamethasone 처리로 골격근 위축을 유발하였을 때, MuRF1과 MAFbx 발현이 증가하여 골격근 분해를 유도한다고 알려졌으며(Bodine et al., 2001), 흰쥐의 골격근에 75 mmol/kg의 알코올을 24시간 투여하여 골격근 위축을 유도한 선행연구에서 MuRF1 발현이 증가(Vary et al., 2008)하여 본 연구와 일치하는 결과를 나타내었다.

C2C21 myocyte와 8-10주령 마우스 골격근에 dexamethasone을 처리하여 골격근 위축을 유도한 연구에서 FoxO와 MuRF1 발현이 증가하여 유비퀴틴화를 통해 골격근 위축이 유발된다고 알려졌다(Stitt et al., 2004). 따라서 본 연구의 FoxO 발현 증가(Fig. 2A)는 MuRF1 발현 증가(Fig. 2D)를 뒷받침하며, 성장기 흰쥐의 만성 알코올 섭취는 골격근의 FoxO와 MuRF1 발현이 증가되어 골격근 위축을 유발할 수 있음을 의미한다.

그리고 본 연구 결과 P38 발현(Fig. 2E)은 CG군에 비해

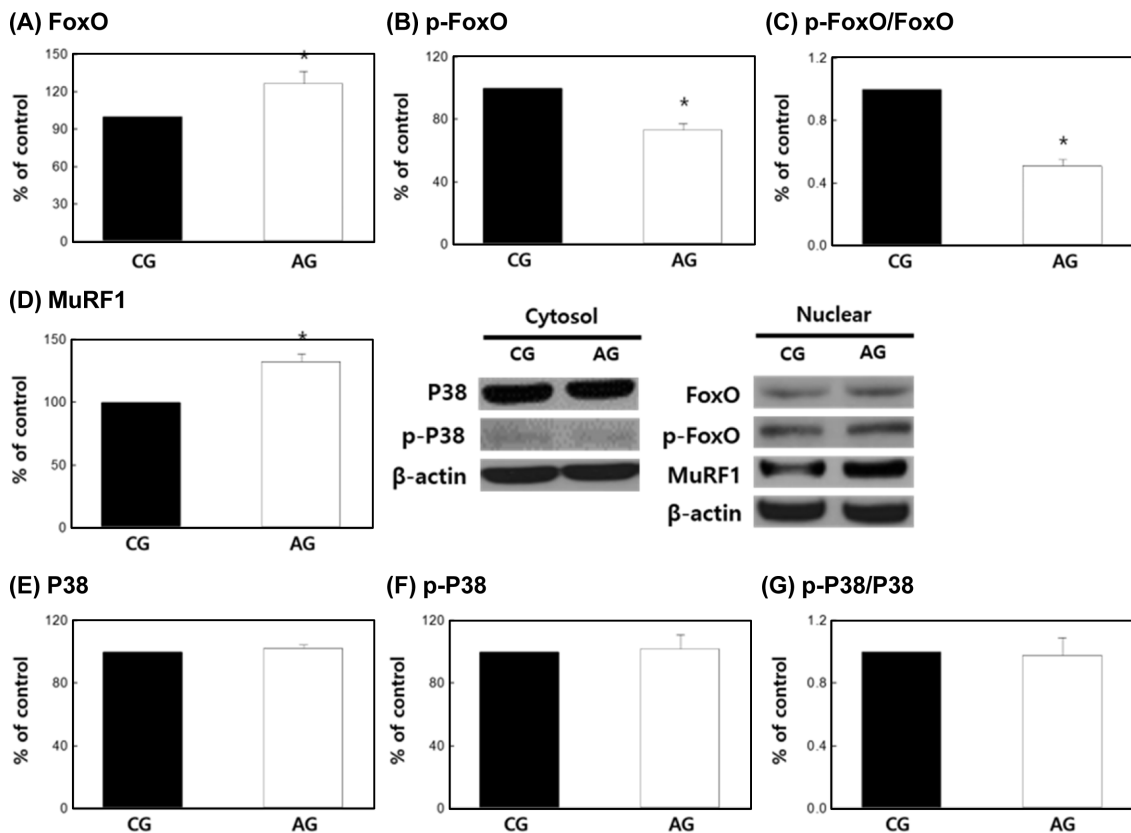


Fig. 2 FoxO, p-FoxO, p-FoxO/FoxO, MuRF1, P38, p-P38 and p-P38/P38 protein expression in Soleus muscle. * $p < 0.01$, significant difference between CG and AG groups. Data are mean \pm SE. CG: control group, AG: Alcohol supplement group. FoxO: Forkhead box protein O, MuRF1: muscle RING-finger protein-1.

AG에서 $102.4 \pm 1.80\%$, p-P38 발현(Fig. 2F)은 AG군에서 $102.0 \pm 8.98\%$ 그리고 p-P38/P38 (Fig. 2G)은 양 군 간에 유의한 차이가 없었다. 선행연구에 의하면 P38 인산화는 B세포에서 ROS의 스트레스 상황에서 발생하고, 세포사멸을 유도한다고 보고되고 있다(Park et al., 2014). 이러한 이화작용은 8주령 마우스를 이용한 H_2O_2 투여로 ROS를 유발한 연구에서 P38의 인산화의 증가와 P38의 downstream인 atrogin-1 발현에 의해 단백질 분해 신호전달 기전이 촉진되는 것으로 알려졌다(Li et al., 2005). 그러나 본 연구 결과, 알코올 섭취에 의한 P38의 활성화는 영향이 없는 것으로 나타났다. 따라서 성장기 흰쥐의 만성 알코올 섭취에 의해 나타나는 골격근 위축 현상은 P38의 활성화보다는 p-Akt와 p-FoxO의 발현을 감소에 의한 골격근 성장이 억제되고, FoxO 및 MuRF1 발현을 통해 근단백질 분해가 촉진되어 골격근 위축이 유도되었음을 시사하였다.

감사의 글

이 논문은 2017년 대한민국 교육부와 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-7S1A5A2A01023758).

References

- Ministry of education, Ministry of health and welfare, Korea centers for disease control & prevention. 2015. Online survey of youth health behavior. No. 117058.
- Blaauw B, Marta C, Agatea L, Toniolo L, Mammucari C, Masiero E, Abraham R, Sandri M, Schiaffino S, Reggiani C. 2010. Inducible activation of Akt increases skeletal muscle mass and force without satellite cell activation. *Biophysical J.* 98: 153a.
- Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK, Nunez L, Clarke BA, Poueymirou WT, Panaro FJ, Na E, Dharmarajan K, Pan ZQ, Valenzuela DM, DeChiara TM, Stitt TN, Yancopoulos GD, Glass DJ. 2001. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 294: 1704-1708.
- Brown SA, Tapert SF, Granholm E, Delis DC. 2000. Neurocognitive functioning of adolescents: effects of protracted alcohol use. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 24: 164-171.
- Clary CR, Guidot DM, Bratina MA, Otis JS. 2011. Chronic alcohol ingestion exacerbates skeletal muscle myopathy in HIV-1 transgenic rats. *AIDS Res. Ther.* 8: 30.
- Morin LG, Prox J. 1973. Single glucose oxidase-peroxidase reagent for two-minute determination of serum glucose. *Clin. Chem.* 19: 959-962.
- Ekinjian O, Duchassaing D. 1979. Critical study of methods of estimation by an enzymatic method of serum triglycerides. *Ann. Biol. Clin.* 37: 175-180.
- Steele BW, Koehler DF, Kuba K, Azar MM. 1980. An enzymatic approach to lipoprotein quantification. *Am. J. Clin. Pathol.* 73: 75-78.
- Consortium TCDG, Collaboration ERF. 2010. Triglyceride-mediated pathways and coronary disease: collaborative analysis of 101 studies. *Lancet* 375: 1634-1639.
- De Bellis MD, Clark DB, Beers SR, Soloff PH, Boring AM, Hall J, Kersh A, Keshavan MS. 2000. Hippocampal volume in adolescent-onset alcohol use disorders. *Am. J. Psychiatry.* 157: 737-744.
- Dixon JB, Dixon ME, O'Brien PE. 2002. Alcohol consumption in the severely obese: relationship with the metabolic syndrome. *Obes. Res.* 10: 245-252.
- Donohue TM, Jr, Osna NA, Trambly CS, Whitaker NP, Thomes PG, Toderio SL, Davis JS. 2012. Early growth response-1 contributes to steatosis development after acute ethanol administration. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 36: 759-767.
- French MT, Norton EC, Fang H, Maclean JC. 2010. Alcohol consumption and body weight. *Health Econ.* 19: 814-832.
- Gu J, Zhang Y, Xu D, Zhao Z, Zhang Y, Pan Y, Cao P, Wang Z, Chen Y. 2015. Ethanol-induced hepatic steatosis is modulated by glycogen level in the liver. *J. Lipid Res.* 56: 1329-1339.
- Kaiser JP, Beier JI, Zhang J, David Hoetker J, von Montfort C, Guo L, Zheng Y, Monia BP, Bhatnagar A, Arteel GE. 2009. PKCepsilon plays a causal role in acute ethanol-induced steatosis. *Arch. Biochem. Biophys.* 482: 104-111.
- Laguisse S, Morisot N, Phamluong K, Ron D. 2017. Region specific activation of the AKT and mTORC1 pathway in response to excessive alcohol intake in rodents. *Addict. Biol.* 22: 1856-1869.
- Li YP, Chen Y, John J, Moylan J, Jin B, Mann DL, Reid MB. 2005. TNF-alpha acts via p38 MAPK to stimulate expression of the ubiquitin ligase atrogin1/MAFbx in skeletal muscle. *FASEB J.* 19: 362-370.
- Liang Y, Harris FL, Brown LA. 2014. Alcohol induced mitochondrial oxidative stress and alveolar macrophage dysfunction. *Biomed. Res. Int.* 2014: 371593.
- McQueeny T, Schweinsburg BC, Schweinsburg AD, Jacobus J, Bava S, Frank LR, Tapert SF. 2009. Altered white matter integrity in adolescent binge drinkers. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 33: 1278-1285.
- Nguyen VA, Le T, Tong M, Silbermann E, Gundogan F, de la Monte SM. 2012. Impaired insulin/IGF signaling in experimental alcohol-related myopathy. *Nutrients* 4: 1058-1075.
- Ni HM, Du K, You M, Ding WX. 2013. Critical role of FoxO3a in alcohol-induced autophagy and hepatotoxicity. *Am. J. Pathol.* 183: 1815-1825.
- Park GB, Choi Y, Kim YS, Lee HK, Kim D, Hur DY. 2014. ROS-mediated JNK/p38-MAPK activation regulates Bax translocation in Sorafenib-induced apoptosis of EBV-transformed B cells. *Int. J. Oncol.* 44: 977-985.
- Peng XD, Xu PZ, Chen ML, Hahn-Windgassen A, Skeen J, Jacobs J, Sundararajan D, Chen WS, Crawford SE, Coleman KG, Hay N. 2003. Dwarfism, impaired skin development, skeletal muscle atrophy, delayed bone development, and impeded adipogenesis in mice lacking Akt1 and Akt2. *Genes Dev.* 17: 1352-1365.
- Preedy VR, Ohlendieck K, Adachi J, Koll M, Sneddon A, Hunter R, Rajendram R, Mantle D, Peters TJ. 2003. The importance of alcohol-induced muscle disease. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 24: 55-63.
- Ren RZ, Zhang X, Xu J, Zhang HQ, Yu CX, Cao M.F, Gao L, Guan QB, Zhao JJ. 2012. Chronic ethanol consumption increases the levels of chemerin in the serum and adipose tissue

- of humans and rats. *Acta Pharmacol. Sin.* 33: 652-659.
- Romero F, Shah D, Duong M, Stafstrom W, Hoek JB, Kallen CB, Lang CH, Summer R. 2014. Chronic alcohol ingestion in rats alters lung metabolism, promotes lipid accumulation, and impairs alveolar macrophage functions. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 51: 840-849.
- Sandri M, Sandri C, Gilbert A, Skurk C, Calabria E, Picard A, Walsh K, Schiaffino S, Lecker SH, Goldberg AL. 2004. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 117: 399-412.
- Shenkman BS, Lomonosova Iu N, Lysenko EA, Kazantseva Iu V, Zinov'eva OE, Iakhno NN. 2013. Proteolytic signaling mechanisms in skeletal muscles in patients with alcohol-induced muscle disease. *Fiziol. Cheloveka.* 39: 112-118.
- Stitt TN, Drujan D, Clarke BA, Panaro F, Timofeyva Y, Kline WO, Gonzalez M, Yancopoulos GD, Glass DJ. 2004. The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors. *Mol. Cell.* 14: 395-403.
- Vary TC, Frost RA, Lang CH. 2008. Acute alcohol intoxication increases atrogin-1 and MuRF1 mRNA without increasing proteolysis in skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 294: R1777-R1789.