

고지방 사료를 섭취한 쥐에서 백색지방조직의 혈관신생에 대한 PPAR α activator와 운동의 영향

정선효[†]

목원대학교 생명과학부, 교수
(2023년 9월 18일 접수: 2023년 10월 19일 채택)

Effect of PPAR α activator and exercise on angiogenesis of white adipose tissue in high fat diet fed mice

Sun-Hyo Jeong[†]

*Division of Biological Sciences, Mokwon University, Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 35349, Korea
(Received September 18, 2023; Accepted October 19, 2023)*

요약 : PPAR α activator가 고지방 사료를 섭취한 운동하지 않은 쥐에 비해 고지방 사료를 섭취한 운동 쥐에서 백색지방조직의 혈관신생을 보다 효과적으로 억제하는지를 조사하였다. 수컷 쥐는 무작위로 PPAR α activator인 fenofibrate와 운동을 모두 처리하지 않은 대조군(Con), fenofibrate 단독처리군(FF), 운동 단독처리군(Ex) 및 fenofibrate와 운동의 조합처리군(Ex+FF)으로 나누어 8주간 고지방 사료를 섭취시켰다. 백색지방조직의 무게와 백색지방세포의 크기는 Con에 비해 FF, Ex 및 Ex+FF 모두 감소하였으며, Ex+FF는 FF에 비해 더욱 감소하였다. 백색지방조직에서 MMPs와 혈관신생 인자의 유전자 발현은 Con에 비해 FF, Ex 및 Ex+FF 모두 감소하였으며, Ex+FF는 FF에 비해 더욱 감소하였다. 그러나 혈관신생 억제인자의 유전자 발현은 Con에 비해 FF, Ex 및 Ex+FF 모두 증가하였고, Ex+FF는 FF에 비해 더욱 증가하였다. 따라서 본 연구는 fenofibrate 단독처리보다는 fenofibrate와 운동의 조합처리가 효과적으로 백색지방조직의 혈관신생을 억제함으로써 백색지방조직의 증가를 감소시키고 복부비만을 억제한다는 것을 밝혔다.

주제어 : 혈관신생, PPAR α , 운동, 백색지방조직, 비만

Abstract : It was investigated whether PPAR α activator more effectively inhibits angiogenesis of white adipose tissue in exercise mice that ate high fat diet compared to non-exercise mice that ate high fat diet. Male mice were randomly divided into a control group not treated with a PPAR α activator fenofibrate and exercise (Con), a group treated with fenofibrate alone (FF), a group treated with exercise alone (Ex), and a group treated with a combination of fenofibrate and exercise (Ex+FF). All mice was fed high-fat diet for 8 weeks. The weight of white adipose tissue and the size of white adipocytes decreased in FF, Ex, and Ex+FF compared to Con, and decreased more in Ex+FF

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

compared to FF. In white adipose tissue, the gene expression of MMPs and angiogenic factors decreased in FF, Ex, and Ex+FF compared to Con, and more decreased in Ex+FF compared to FF. On the other hand, gene expression of angiogenic inhibitors increased in FF, Ex and Ex+FF compared to Con, and increased more in Ex+FF compared to FF. Therefore, this study revealed that the combined treatment of fenofibrate and exercise effectively inhibits the angiogenesis of white adipose tissue, reducing the increase in white adipose tissue and suppressing abdominal obesity, rather than the single treatment of fenofibrate.

Keywords : Angiogenesis, PPAR α , Exercise, White adipose tissue, Obesity

1. 서론

우리 몸은 혈액순환을 통해 모든 세포에 산소와 영양분을 공급하고 세포로부터 노폐물을 제거하기 때문에 미세혈관이 그물망처럼 퍼져있다. 혈관신생(angiogenesis)은 이미 존재하는 혈관에서 새로운 혈관이 생성되는 것이며 신체 항상성의 유지, 상처치유 및 성장 과정에 필수적인 작용이다. 그러나 성인의 경우 체내에서 혈관신생의 부조화는 많은 질환에서 병의 진행에 중요한 역할을 한다. 예를 들면 암이나 당뇨병 망막질환의 경우 질병의 진행에 과도한 혈관신생이 중요한 역할을 하고, 반대로 심근경색이나 뇌경색의 경우에는 혈관신생의 부족이 중요한 원인이 된다[1].

고지혈증, 제2형 당뇨병, 심혈관계질환, 암 등 만성 대사성질환이 비만과 결합하여 발생하므로, 전문가들은 비만을 심각한 건강문제로 규정하고 반드시 개선해야만 한다고 강조하고 있다. 비만은 지방세포생성(adipogenesis), 혈관신생(angiogenesis) 및 세포외기질 리모델링(extracellular matrix remodeling, ECM remodeling)을 포함한 지방조직의 성장 및 확장과 관련이 있다[2].

혈관신생은 성인의 성장하는 지방조직에서 발생한다. 지방조직은 혈관이 많고 각 지방세포는 광범위한 모세혈관 네트워크에 의해 영양을 공급받는다[3]. 지방조직이 성장하는 동안 광범위한 ECM 리모델링의 변화가 관찰되고 지방세포에서 분비되는 matrix metalloproteinase (MMP)는 ECM 조절을 통해 지방조직의 발달과 미세혈관 성숙에 중요한 역할을 한다[4,5]. 그리고 성장하는 지방세포는 vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor (FGF), VEGF receptor-2 등 혈관 성장인자들을 분비한다[6]. 비만 쥐에 혈관신생 억제제의 투여는 몸무게와

지방조직무게 및 지방세포 크기를 감소시켰으며, 지방조직에서 혈관내피세포 증식을 감소시키고 혈관 리모델링(vascular remodeling)을 일으켜 비만을 조절하였다[7,8]. 따라서 지방조직의 성장은 혈관신생에 의존하고 혈관신생 억제제에 의해 억제될 수 있음이 시사되었다.

에너지 대사의 불균형으로 세포 내 지방성분이 지나치게 축적되어 비만이 발생한다. 백색지방조직은 여분의 지방을 저장하는 기능뿐만 아니라 면역 및 염증과 관련된 여러 물질을 생성하고 분비하는 내분비기관이다[9]. 특히 내장 백색지방조직의 지방세포의 크기가 증가하면 염증성 아디포카인(inflammation adipokine)의 분비를 증가시킨다[10,11]. 따라서 내장 백색지방세포의 지방축적으로 발생하는 복부비만은 여러 만성 대사성질환의 발병 위험요소가 되므로 건강한 삶을 위해 반드시 개선되어야 한다.

Peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α)는 지방산 산화, 지질대사 및 염증을 조절하여 비만 및 제2형 당뇨병, 심혈관질환 등 만성 대사성질환의 개선에 중요한 인자로 알려져 있다[12]. PPAR α activator인 fenofibrate는 고지혈증 치료제로써 지방산 산화를 촉진하고 에너지 대사를 조절하여 내장 백색지방조직무게, 혈중 지질 성분 및 간세포의 지방축적을 개선하였고 패혈증(sepsis)으로부터 심장 손상을 회복시켰다[13,14,15].

비만을 조절하고 건강한 삶을 유지하기 위해 규칙적이고 지속적인 운동은 필수적임이 잘 알려져 있다. 운동은 지질대사와 에너지 대사를 조절하여 몸무게와 지방조직 무게를 감소시키고 고지방 섭취로 유도된 인슐린 저항성과 비알코올성 지방간 질환 등 비만 관련 만성 대사성질환을 개선하였다[16,17,18].

Fenofibrate와 운동은 지질대사를 조절하여 이상 지질혈증, 제2형 당뇨병 등 대부분의 비만 관련 만성 대사성질환과 비만의 치료에 효과적인 것으로 알려져 왔다. 그러나 fenofibrate와 운동의 비만 조절 효과가 백색지방조직의 혈관신생 조절 기전과 관련이 있는지, 그리고 백색지방조직의 혈관신생에 대한 fenofibrate의 작용이 운동을 하는 것과 운동을 하지 않는 것에 따라 차이가 있는지에 관한 연구는 미비하다. 따라서 본 연구는 고지방 사료를 섭취한 쥐에서 fenofibrate와 운동의 각각 단독처리 및 조합처리가 백색지방조직의 혈관신생에 미치는 효과를 조사하였다.

2. 실험

2.1. 실험동물과 실험설계

7주령 나이의 수컷 쥐(C57BL/6J mice)는 (주)대한바이오텍(Chungbuk, Korea)에서 구매하여 12/12h day/night cycle 조명, 20 \pm 1 $^{\circ}$ C 온도, 평균 상태가 유지되는 방에서 사육되었다. 쥐는 무작위로 4그룹, 즉 fenofibrate와 운동을 모두 처리하지 않은 대조군(Con), fenofibrate 단독처리군(FF), 운동 단독처리군(Ex) 및 fenofibrate와 운동의 조합처리군(Ex+FF)으로 나누었다(n=8/group). 모든 쥐는 8주간 고지방 사료를 섭취하였다. 고지방 사료(High fat diet: 45% kcal fat)는 Research Diets 사(Research Diet, New Brunswick, NJ)의 것이며, PPAR α activator인 fenofibrate(Sigma, St. Louis, MO)의 처리는 고지방 사료에 섞어서 이용하였다(500mg/kg, 0.05% wt/wt).

운동은 35 \pm 1 $^{\circ}$ C 온도가 유지되고 파도가 생기지 않는 동물용 수조(1m \times 1m, Jeitech, Seoul, Korea)에서 수영운동을 실시하였다. 수영운동은 8주 동안 5day/week, 60min/day로 설계하였고 실험 시작 1주 동안 매일 10분씩 운동시간을 증가시키는 운동적응 기간이 포함되었다. 동물실험은 M 대학교 동물실험윤리위원회 승인을 받아 실시하였다(No. NVRQS AEC-13).

2.2. 지방세포의 크기 분석

생식선주위 백색지방조직은 10% phosphate-buffered formalin에 하루 동안 고정하고 탈수와

투명화 과정 후 조직을 파라핀에 포매(embedding) 하였다. 파라핀 조직은 5 μ m로 절단하여 절편을 만들고 Hematoxylin-Eosin으로 염색하였다. 염색한 조직표본은 Image Analysis System (Image Pro-Plus, Silver Spring, MD, USA)을 이용하여 지방세포 크기를 정량화하였다.

2.3. 유전자 발현 분석

mRNA 발현은 RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction)에 의해 분석하였다. Total RNA는 trizol (Invitrogen, Karlsruhe, Germany)을 이용하여 내장 백색지방조직에서 추출하였다. Trizol 1ml를 지방조직 200mg에 넣고 homogenizer로 분쇄한 후 상온에서 5분간 반응시켰다. 여기에 chloroform (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, U.S.A.) 200 μ l를 넣고 가볍게 혼합하고 상온에서 3분간 반응시킨 후 원심분리하였다(13,000rpm, 4 $^{\circ}$ C, 15분). 상등액을 새로운 튜브에 넣고 isopropanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, U.S.A.)을 같은 양 첨가하여 상온에서 10분간 반응시키고 원심분리하였다(13,000rpm, 4 $^{\circ}$ C, 15분). RNA pellet만 남기고 액체는 제거한 다음 공기 중에 완전히 건조시켰다. 0.01% diethyl pyrocarbonate (DEPC) H₂O 30 μ l를 넣고 RNA pellet을 용해시켰다.

Complementary DNA (cDNA) Synthesis Kit (MMLV-RT, Doctor Protein, Seoul, Korea)와 Oligo-dT primers (Qiagen, Venlo, Netherlands)를 사용하여 total RNA 2 μ g을 역전사시켰다. cDNA를 증폭시키기 위해 denaturation(95 $^{\circ}$ C, 30초), annealing(57~58 $^{\circ}$ C, 30초) 그리고 elongation(72 $^{\circ}$ C, 30초) 과정으로 구성된 중합효소연쇄반응을 28-38회 반복하였다. Table 1은 실험에 사용된 PCR primers와 PCR 조건이다. PCR 산물의 분석은 1% agarose gel에서 전기영동하여 GeneGenius (Syngene, Cambridge, UK)로 시행하였다.

2.4. 통계분석

SigmaPlot 2001 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.)의 unpaired, student's *t*-test를 사용하여 그룹 간 통계적 유의성을 검증하였고 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였다. 모든 값은 mean \pm standard deviation (Mean \pm SD)으로 표시하였다.

Table 1. Sequence of oligonucleotide primers and PCR conditions

Gene	Size (bp)	Primer sequence	Annealing (°C)	Cycle
FGF-2	293	F: 5' -aactacaactcaagcagaagagaga-3' R: 5' -ttaagatcagctcttagcagacat-3'	58	34
MMP2	224	F: 5' -agatcttcttctcaaggaccgggtt-3' R: 5' -ggctggtcagtggtgggta-3'	58	34
MMP9	683	F: 5' -tgcgaccacatgaacttcg-3' R: 5' -gagaagaagaaaacctcttgg-3'	58	37
TIMP-1	170	F: 5' -ggcatcctctgttgctactcg-3' R: 5' -gtcatcttgatctcataacgctgg-3'	58	34
TIMP-2	320	F: 5' -gagatcaagcagataaagatg-3' R: 5' -gaccagtcctccagaggc-3'	58	34
VEGF-A	561	F: 5' -gctcttgggtgctactgga-3' R: 5' -caccgccttgctgtcaca-3'	58	38
β -actin	348	F: 5' -tggaatcctgtggcatccatgaaac-3' R: 5' -taaaacgcagctcagtaacagtcc-3'	58	28

FGF: fibroblast growth factor, *MMP*: matrix metalloproteinase, *TIMP*: tissue inhibitor of metalloprotease, *VEGF-A*: vascular endothelial growth factor-A

3. 결과 및 고찰

3.1. 백색지방조직무게의 변화

고지방 사료를 섭취한 수컷 쥐에서 fenofibrate와 운동이 몸무게 대비 백색지방조직무게의 변화에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 1). FF, Ex 및 Ex+FF의 몸무게 대비 총 백색지방조직(white adipose tissue, WAT)의 무게는 Con에 비해 각각 44.78%, 38.33% 및 75.72%씩 감소하였으며, Ex+FF는 FF에 비해 56.09% 감소하였다. 피하 백색지방조직(subcutaneous white adipose tissue, SWAT)의 무게와 내장 백색지방조직(visceral white adipose tissue, VWAT)의 무게도 유사한 결과가 나타났다. 몸무게 대비 피하 백색지방조직의 무게는 Con에 비해 FF, Ex 및 Ex+FF는 각각 49.11%, 45.64% 및 75.57%씩 감소하였으며, FF에 비해 Ex+FF는 52.0% 감소하였다. 몸무게 대비 내장 백색지방조직의 무게는 Con에 비해 FF, Ex 및 Ex+FF는 각각 42.44%, 34.08% 및 73.32%씩 감소하였으며, FF에 비해 Ex+FF는 53.81% 감소하였다.

3.2. 백색지방세포 크기의 변화

백색지방세포 크기의 변화에 대한 fenofibrate와 운동의 영향을 조사하였다(Fig. 2). FF, Ex 및 Ex+FF의 백색지방세포의 크기는 Con에 비해 각각 34.33%, 42.88% 및 52.71%씩 감소하였으며, Ex+FF는 FF에 비해 27.99% 감소하였다.

3.3. 혈관신생에 관한 유전자 발현의 변화

혈관신생과 관련된 유전자의 발현은 고지방 사료를 섭취한 수컷 쥐의 내장 백색지방에서 조사하였다. FGF 혈관신생 인자의 mRNA 발현은 Con에 비해 FF, Ex 및 Ex+FF는 각각 22.03%, 19.91% 및 36.54%씩 감소하였으며, FF에 비해 Ex+FF는 18.61% 감소하였다. 그리고 FF, Ex 및 Ex+FF는 Con에 비해 VEGF-A 혈관신생 인자의 mRNA 발현이 각각 20.22%, 19.62% 및 32.69%씩 감소하였으며, Ex+FF는 FF에 비해 15.63% 감소하였다(Fig. 3).

MMP mRNA 발현은 fenofibrate와 운동에 의해 억제되었다(Fig. 4). FF, Ex 및 Ex+FF의 MMP2 mRNA 수준은 Con에 비해 각각 27.55%, 25.46%

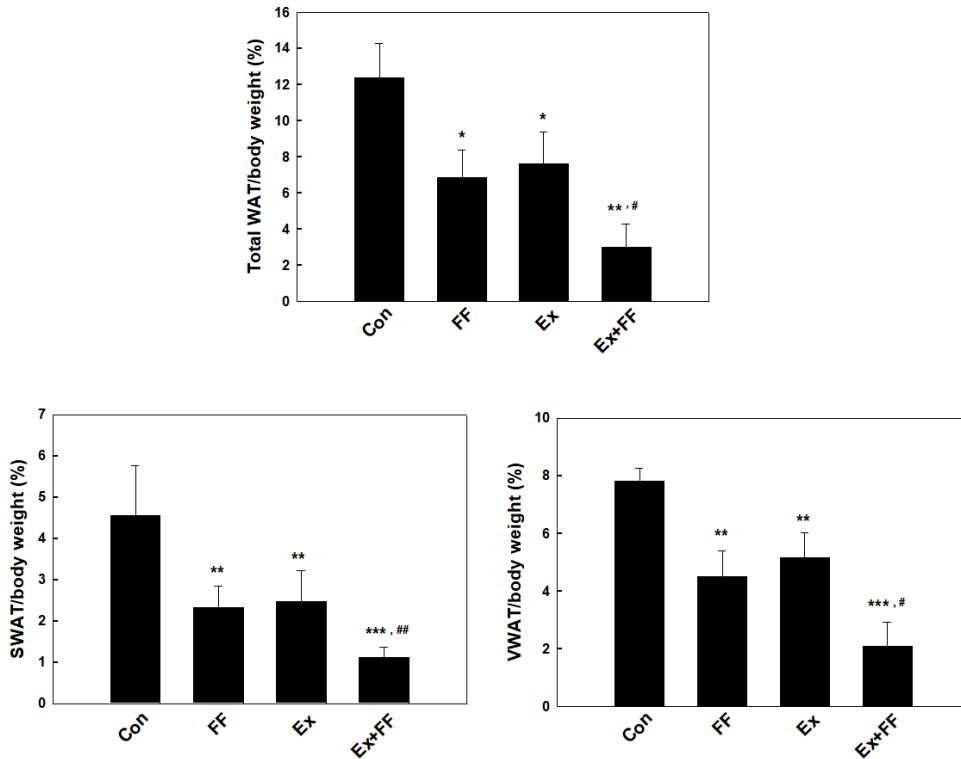


Fig. 1. Analysis of the white adipose tissue weight.

Male mice (n=8/group) received high-fat diet for 8 weeks. Values are reported as Mean \pm SD. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 vs. Con, # p <0.05, ## p <0.01 vs. FF. Con: control, FF: fenofibrate, Ex: swimming exercise, Ex+FF: swimming exercise plus fenofibrate.

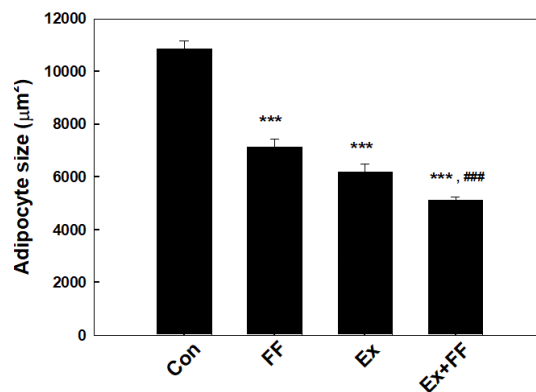


Fig. 2. Analysis of adipocyte size in epididymal white adipose tissue.

Male mice (n=8/group) received high-fat diet for 8 weeks. Values are reported as Mean \pm SD. *** p <0.001 vs. Con, ### p <0.001 vs. FF. Con: control, FF: fenofibrate, Ex: swimming exercise, Ex+FF: swimming exercise plus fenofibrate.

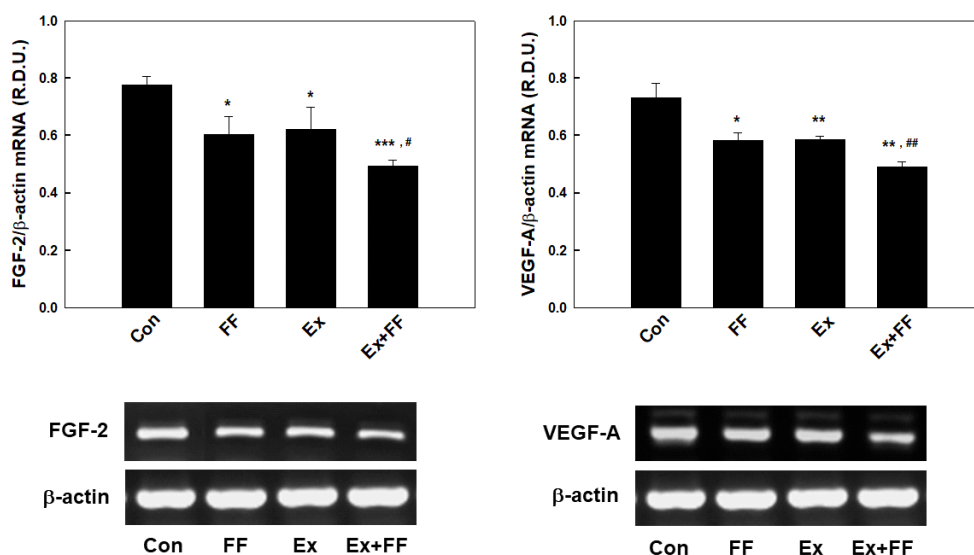


Fig. 3. Analysis for gene expression of angiogenic factors in white adipose tissue. Male mice (n=8/group) received high-fat diet for 8 weeks. Values are reported as Mean \pm SD of relative density units (R.D.U.) of three independent experiments using β -actin. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 vs. Con, # p <0.05, ## p <0.01 vs. FF. Con: control, FF: fenofibrate, Ex: swimming exercise, Ex+FF: swimming exercise plus fenofibrate.

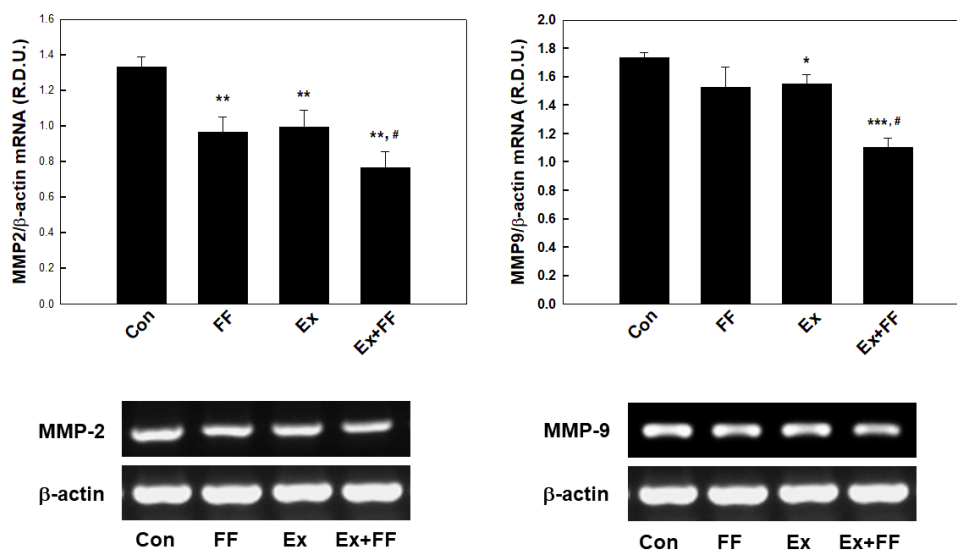


Fig. 4. Analysis for gene expression of MMPs in white adipose tissue. Male mice (n=8/group) received high-fat diet for 8 weeks. Values are reported as Mean \pm SD of relative density units (R.D.U.) of three independent experiments using β -actin. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 vs. Con, # p <0.05 vs. FF. Con: control, FF: fenofibrate, Ex: swimming exercise, Ex+FF: swimming exercise plus fenofibrate.

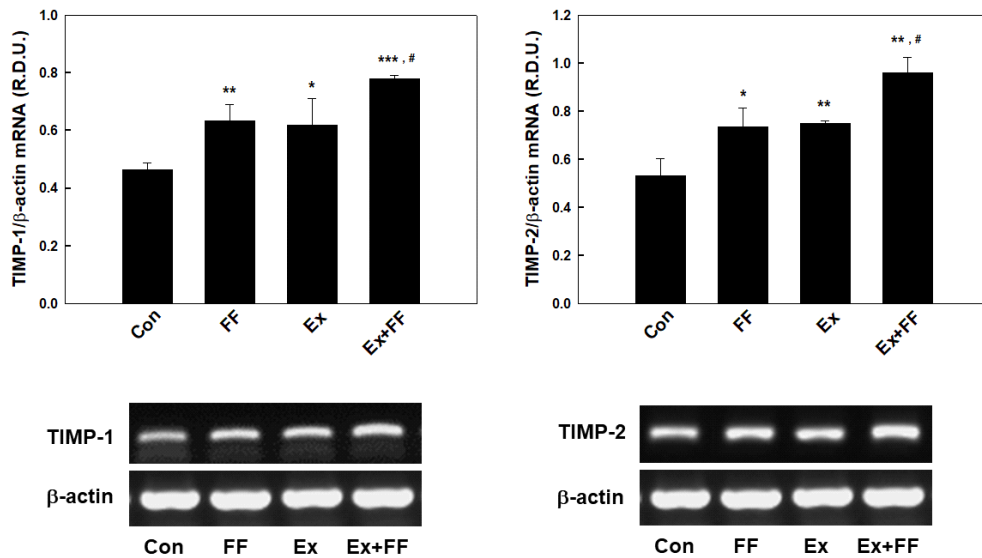


Fig. 5. Analysis for gene expression of angiogenic inhibitors in white adipose tissue. Male mice (n=8/group) received high-fat diet for 8 weeks. Values are reported as Mean \pm SD of relative density units (R.D.U.) of three independent experiments using β -actin. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 vs. Con, # p <0.05 vs. FF. Con: control, FF: fenofibrate, Ex: swimming exercise, Ex+FF: swimming exercise plus fenofibrate.

및 42.45%씩 감소하였고, MMP9 mRNA 수준은 Con에 비해 각각 12.03%, 10.69% 및 36.2%씩 감소하였다. 그리고 Ex+FF의 MMP2와 MMP9 mRNA 수준은 각각의 FF에 비해 20.57% 및 27.47%씩 감소하였다.

대조적으로 tissue inhibitor of metalloprotease (TIMP)-1과 TIMP-2 mRNA 발현은 fenofibrate와 운동에 의해 증가하였다(Fig. 5). TIMP-1 mRNA 발현은 Con에 비해 FF, Ex 및 Ex+FF는 각각 36.83%, 33.15% 및 67.95%씩 증가하였으며, FF에 비해 Ex+FF는 22.74% 증가하였다. 그리고 FF, Ex 및 Ex+FF는 Con에 비해 TIMP-2 mRNA 발현이 각각 38.64%, 40.98% 및 81.09%씩 증가하였으며, Ex+FF는 FF에 비해 30.62% 증가하였다.

3.5. 고찰

본 연구는 고지방 사료를 섭취한 수컷 쥐에게 fenofibrate와 운동 모두 혈관신생 인자와 MMPs를 억제하였고 혈관 억제인자를 촉진하여 내장 백색지방조직 무게와 지방세포 크기를 감소시켰으며, 더욱이 fenofibrate는 운동하지 않은 쥐에

비해 운동하는 쥐에서 백색지방조직의 혈관신생을 보다 더 효과적으로 억제하여 백색지방조직의 무게를 감소시키고 복부비만을 개선한다는 것을 밝혔다. 따라서 본 연구결과는 PPAR α activator를 운동과 조합처리하면 백색지방조직의 항혈관신생을 통해 식이섭취로 비만이 유도된 만성 대사성질환을 매우 효과적으로 치료하고 예방할 수 있다는 것을 시사한다.

지방조직은 고도로 발달된 미세혈관을 통해 각 지방세포로 영양분과 산소를 공급하므로 지방조직의 혈관신생은 지방세포의 증식(hyperplasia) 및 비대(hypertrophy)와 함께 지방조직의 성장과 확장에 기여하여 지방조직무게를 증가시킨다. 고지방 사료를 섭취한 비만 쥐는 지방세포에서 혈관신생 인자인 VEGF, FGF-2 및 VEGF receptor-2 분비가 증가하여 지방조직무게와 지방세포 크기가 증가하였다[6]. 이는 지방조직의 확장은 혈관신생과 관련 있음을 의미한다. 따라서 지방조직의 혈관신생 억제는 비만 치료의 중요한 표적이 될 수 있다.

성장하는 지방조직은 여러 혈관신생 인자를 분비하는 지방세포 집단을 포함한다. VEGF 및

FGF-2와 같은 혈관신생 인자는 지방조직 내 내피세포의 증식, 분화 및 이동을 촉진한다[19,20]. VEGF-A는 혈관신생의 필수적인 인자이며 VEGF-A와 FGF-2는 상승적으로 혈관 신생을 유도한다[21]. 본 연구는 fenofibrate와 운동 모두 고지방 사료를 섭취한 수컷 쥐의 내장 백색지방 조직에서 VEGF-A와 FGF-2 mRNA 발현을 감소시켰으며, 백색지방조직의 무게와 지방세포 크기 모두 감소시켰다. 그리고 본 연구결과의 중요한 점은 fenofibrate는 운동하지 않은 쥐에 비해 운동하는 쥐에서 매우 효과적으로 혈관신생 인자의 발현, 지방조직 무게 및 지방세포 크기를 감소시켰다는 것을 밝혔다. 이러한 본 연구결과는 fenofibrate와 운동은 혈관신생 억제에 대한 시너지 효과를 가짐으로써 백색지방조직의 성장과 확장을 효과적으로 억제하였다는 것을 의미한다.

지방세포는 세포외기질을 조절하여 혈관신생을 유도하는 MMPs를 분비한다[22]. MMP-2 발현은 유전적으로 비만 쥐뿐만 아니라 영양적으로 비만이 유도된 쥐의 지방조직에서 높게 관찰되었다[23]. MMP-2^{-/-} 쥐는 MMP-2^{+/+} 쥐에 비해 내장 지방조직무게 및 피하 지방조직무게 모두 감소하였고 지방세포 크기도 감소하였는데, 이것은 지방조직 성장에 대한 MMP-2의 역할을 시사한다[24]. MMP 억제제의 처리는 고지방 사료를 먹인 쥐에서 피하 지방조직과 내장 지방조직의 무게 및 지방세포 크기를 억제하였다[25]. 본 연구결과는 fenofibrate와 운동 모두 MMP-2와 MMP-9 유전자의 발현을 감소시켰고 더욱이 fenofibrate와 운동의 조합처리는 각각의 단독처리에 비해 MMP-2와 MMP-9 유전자의 발현을 매우 효과적으로 감소시켰다. 따라서 본 연구는 fenofibrate와 운동 모두 MMPs (MMP-2 및 MMP-9)의 억제제로 작용하며, fenofibrate와 운동의 조합처리는 매우 효과적인 MMPs 억제제로 작용한다는 것을 제안한다.

본 연구에서 MMP-2와 MMP-9 mRNA 발현에 대한 fenofibrate와 운동의 억제적 영향은 VEGF-A와 FGF-2 mRNA 발현 결과와 유사하게 나타났다. 반면 fenofibrate와 운동은 혈관신생 억제인자인 TIMP-1과 TIMP-2 mRNA 발현을 증가시켰으며 fenofibrate와 운동의 조합처리는 fenofibrate 단독처리에 비해 더 증가시켰다는 것을 밝혔다. 따라서 본 연구결과는 고지방 사료를 섭취한 수컷 쥐의 내장 백색지방조직에서 fenofibrate와 운동 모두 항혈관신생과 MMPs 억

제를 통해 백색지방조직의 성장과 확장을 억제하며, 이러한 결과는 fenofibrate와 운동의 조합처리에 의해 더욱 효과적이라는 것을 시사한다.

비만 시에 MMP 발현은 지방조직에서 조절되며 MMPs (MMP-2 및 MMP-9)는 지방세포 분화에 영향을 미친다. MMP-2와 MMP-9의 생성과 분비는 인간 지방세포에서 증가하였으며 human preadipocyte 및 3T3F442A preadipocytes 모두에서 지방세포로의 분화 동안 증가하였다[26]. 이는 MMP-2 및 MMP-9가 지방세포 발달에 중요하다는 것을 시사한다. MMP는 혈관신생과 독립적으로 지방세포 분화를 조절하는 기능이 있어 MMP 억제제는 지방세포 분화과정을 차단할 수 있다[26,27,28]. MMP는 혈관신생 억제인자인 TIMP에 의해 억제된다. TIMP는 MMP를 억제하여 세포외기질의 붕괴를 제한함으로써 혈관신생을 차단한다[29]. 또한 TIMP-1은 basic FGF (bFGF)에 대한 세포 반응을 억제시켰을 뿐만 아니라 F442A 지방전구세포(preadipocytes)에 비해 지방세포로 분화된 세포에서 발현이 증가됨을 발견함으로써, TIMP는 혈관신생 및 지방세포 분화를 억제한다는 것을 알 수 있다[30]. 이러한 선행 연구들은 MMP와 그 억제제는 지방세포생성과 지방조직 성장을 조절하는 중추적인 역할을 하는 것을 의미한다. 그리고 VEGF receptor-2 신호 시스템의 차단은 혈관신생과 지방전구세포 분화를 모두 억제하며, 이는 VEGF가 내피세포에 작용하여 지방전구세포 분화를 조절한다는 것을 의미한다[31]. MMP는 세포외기질에 결합된 VEGF와 bFGF를 방출함으로써 혈관신생 인자의 이용률을 증가시킬 수 있으므로[32,33], MMP 활성의 억제는 강력한 혈관신생 인자를 감소시켜 혈관신생뿐만 아니라 지방세포 분화과정을 차단할 수 있다. 따라서 혈관신생 인자와 MMP의 억제 및 혈관신생 억제인자의 증가는 비만 시 혈관신생과 지방세포생성을 억제하여 지방조직무게를 감소하고 비만을 개선한다는 것을 시사한다. 이러한 선행연구들을 바탕으로, 본 연구에서 혈관신생 인자와 MMP를 억제시키고 혈관신생 억제인자를 증가시킨 fenofibrate와 운동은 혈관신생뿐만 아니라 지방세포생성도 억제하여 백색지방조직의 성장과 확장을 차단하였을 것으로 사료된다.

결론적으로 본 연구결과는 고지방 사료를 섭취한 비만 쥐에서 fenofibrate와 운동은 내장 백색지방조직의 혈관신생과 MMPs 관련 세포외기질 리모델링을 차단함으로써 백색지방조직의 성장과

확장을 억제하여 복부비만을 개선하였으며, 이러한 현상은 fenofibrate 단독처리보다 fenofibrate와 운동을 조합처리 하였을 경우 매우 효과적임을 입증하였다. 따라서 백색지방조직의 혈관신생에 대한 fenofibrate와 운동의 영향을 밝힌 본 연구결과는 비만 및 비만과 관련된 만성 대사성질환을 예방하고 치료하는데 필요한 정보를 제공할 것이다.

4. 결론

지방조직의 성장과 확장은 지방세포에게 산소와 영양분을 공급하기 위해 새로운 혈관생성을 요구하므로 혈관신생은 비만 치료의 표적이 될 수 있다. 따라서 본 연구는 고지방 사료를 섭취하는 쥐에서 혈관신생과 세포외기질의 리모델링에 대한 fenofibrate와 운동의 영향을 조사하였다. Fenofibrate와 운동의 각각 단독처리 모두 백색지방조직무게와 백색지방세포 크기를 감소시켰으며 fenofibrate와 운동의 조합처리는 더 효과적으로 감소시켰다. 그리고 fenofibrate와 운동의 각각 단독처리 모두 혈관신생 인자(FGF와 VEGF-A)와 MMPs (MMP-2와 MMP-9) 유전자 발현을 감소시킨 반면 혈관신생 억제인자(TIMP-1과 TIMP-2)는 증가시켰다. 특히 fenofibrate와 운동의 조합처리 시에 이러한 결과는 더 효과적으로 나타났다. 따라서 본 연구결과는 고지방 사료 섭취로 비만이 유도되는 쥐에서 fenofibrate와 운동의 조합처리는 효과적인 항혈관신생 작용과 MMP 억제작용으로 백색지방조직 무게를 감소시켰다는 것을 제시하였고, 백색지방조직의 확장과 복부비만은 백색지방조직의 혈관신생 억제를 통해 조절될 수 있다는 것을 보여 주었다. 차후 비만으로 유도된 만성 대사성질환의 관리를 위해 비만 쥐에서 fenofibrate와 운동이 MMP 신호전달의 차단을 통해 지방세포생성을 억제하여 백색지방조직의 성장을 억제할 수 있는지에 대한 연구가 이루어질 필요가 있다.

References

1. P. Carmeliet, R. K. Jain, "Angiogenesis in Cancer and other Diseases", *Nature*, Vol.407, No.6801 pp. 249-257, (2000).
2. S. L. Faria, O. P. Faria, C. S. Menezes, H. R. de Gouvêa, M. de Almeida Cardeal, "Metabolic Profile of Clinically Severe Obese Patients", *Obesity Surgery*, Vol.22, No.8 pp. 1257-1262, (2012).
3. A. Bouloumié, K. Lohme, C. Sengenès, J. Galitzky, M. Lafontan, "Angiogenesis in Adipose Tissue", *Annales d'endocrinologie*, Vol.63, No.2 Pt 1 pp. 91-95, (2002).
4. H. R. Lijnen, E. Maquoi, L. B. Hansen, B. Van Hoef, L. Frederix, D. Collen, "Matrix Metalloproteinase Inhibition Impairs Adipose Tissue Development in Mice", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* Vol.22, No.3 pp. 374-379, (2002).
5. A. Bouloumié, C. Sengenès, G. Portolan, J. Galitzky, M. Lafontan, "Adipocyte Produces Matrix Metalloproteinases 2 and 9: Involvement in Adipose Differentiation", *Diabetes* Vol.50 No.9 pp. 2080-2086, (2001).
6. J. Li, X. Yu, W. Pan, R. H. Unger, "Gene Expression Profile of Rat Adipose Tissue at the Onset of High-fat-diet Obesity", *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, Vol.282, No.6 pp. E1334-E1341, (2002).
7. E. Bråkenhielm, R. Cao, B. Gao, B. Angelin, B. Cannon, P. Parini, Y. Cao, "Angiogenesis Inhibitor, TNP-470, Prevents Diet-induced and Genetic Obesity in Mice", *Circulation Research*, Vol.94, No.12 pp. 1579-1588, (2004).
8. M. A. Rupnick, D. Panigrahy, C. Y. Zhang, S. M. Dallabrida, B. B. Lowell, R. Langer, M. J. Folkman, "Adipose Tissue Mass can be Regulated through the Vasculature", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol.99, No.16 pp. 10730-10735, (2002).
9. V. Mohamed-Ali, J. H. Pinkney, S. W. Coppack, "Adipose Tissue as an Endocrine and Paracrine Organ", *International Journal*

- of Obesity and Related Metabolic Disorders*, Vol.22, No.12 pp. 1145–1158, (1998).
10. M. Koenen, M. A. Hill, P. Cohen, J. R. Sowers, " Obesity, Adipose Tissue and Vascular Dysfunction" , *Circulation Research*, Vol.128, No.7 951–968. (2021).
 11. R. Zheng, H. Shen, J. Li, J. Zhao, L. Lu, M. Hu, Z. Lin, H. Ma, H. Tan, M. Hu, J. Li, " Qi Gong Wan ameliorates adipocyte hypertrophy and inflammation in adipose tissue in a PCOS mouse model through the Nrf2/HO-1/Cyp1b1 pathway: Integrating network pharmacology and experimental validation in vivo" , *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.301 pp. 115824, (2023).
 12. J. C. Fruchart, " Peroxisome Proliferator-activated Receptor-alpha (PPARalpha): at the Crossroads of Obesity, Diabetes and Cardiovascular Disease" , *Atherosclerosis*, Vol.205, No.1 pp. 1–8, (2009).
 13. Y. Shin, M. Lee, D. Lee, J. Jang, S. S. Shin, M. Yoon, " Fenofibrate Regulates Visceral Obesity and Nonalcoholic Steatohepatitis in Obese Female Ovariectomized C57BL/6J Mice" , *International Journal of Molecular Sciences*, Vol.22, No.7 pp. 3675, (2021).
 14. J. Yoo, I. K. Jeong, K. J. Ahn, H. Y. Chung, Y. C. Hwang, " Fenofibrate, a PPAR α Agonist, Reduces Hepatic Fat Accumulation through the Upregulation of TFEB-mediated Lipophagy" , *Metabolism*, Vol.120 pp. 154798, (2021).
 15. M. Lv, D. Xie, X. Long, " The Effect of Fenofibrate, a Peroxisome Proliferator-activated Receptor α Agonist, on Cardiac Damage from Sepsis in BALB/c Mice" , *Cellular and Molecular Biology*, Vol.67, No.6 pp. 260–266, (2022).
 16. Y. Lu, H. Li, S. W. Shen, Z. H. Shen, M. Xu, C. J. Yang, F. Li, Y. B. Feng, J. T. Yun, L. Wang, H. J. Qi, " Swimming Exercise Increases Serum Irisin Level and Reduces Body Fat Mass in High-fat-diet Fed Wistar Rats." , *Lipids in Health and Disease*, Vol.15 pp. 93, (2016).
 17. A. Song, C. Wang, L. Ren, J. Zhao, " Swimming Improves High-fat Induced Insulin Resistance by Regulating Lipid and Energy Metabolism and the Insulin Pathway in Rats" , *International Journal of Molecular Medicine*, Vol.33, No.6 pp. 1671–1679, (2014).
 18. F. Zheng, Y. Cai, " Concurrent Exercise Improves Insulin Resistance and Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Upregulating PPAR- γ and Genes Involved in the Beta-oxidation of Fatty Acids in ApoE-KO Mice Fed a High-fat Diet" , *Lipids in Health and Disease*, Vol.18, No.1 pp. 6, (2019).
 19. P. Carmeliet, V. Ferreira, G. Breier, S. Pollefeyt, L. Kieckens, M. Gertsenstein, M. Fahrig, A. Vandenhoeck, K. Harpal, C. Eberhardt, C. Declercq, J. Pawling, L. Moons, D. Collen, W. Risau, A. Nagy, " Abnormal Blood Vessel Development and Lethality in Embryos Lacking a Single VEGF Allele" , *Nature*, Vol.380, No.6573 pp. 435–439, (1996).
 20. A. Bikfalvi, S. Klein, G. Pintucci, D. B. Rifkin, " Biological Roles of Fibroblast Growth Factor-2" , *Endocrine Reviews*, Vol.18 pp. 26–45, (1997).
 21. R. Cao, E. Brakenhielm, C. Wahlestedt, J. Thyberg, Y. Cao, " Leptin Induces Vascular Permeability and Synergistically Stimulates Angiogenesis with FGF-2 and VEGF" , *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol.98, No.11 pp. 6390–6395, (2001).
 22. M. A. Valentino, J. E. Lin, S. A. Waldman, " Central and Peripheral Molecular Targets for Antiobesity Pharmacotherapy" , *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, Vol.87, No.6 pp. 652–662, (2010).
 23. H. R. Lijnen, E. Maquoi, P. Holvoet, A. Mertens, F. Lupu, P. Morange, M. C.

- Alessi, I. Juhan-Vague, " Adipose Tissue Expression of Gelatinases in Mouse Models of Obesity" , *Thrombosis and Haemostasis*, Vol.85 No.6 pp. 1111–1116, (2001).
24. M. Van Hul, H. R. Lijnen, " A Functional Role of Gelatinase A in the Development of Nutritionally Induced Obesity in Mice" , *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, Vol.6, No.7 pp. 1198–1206, (2008).
25. H. R. Lijnen, E. Maquoi, L. B. Hansen, B. Van Hoef, L. Frederix, D. Collen, " Matrix Metalloproteinase Inhibition Impairs Adipose Tissue Development in Mice" , *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* Vol.22, No.3 pp. 374–379, (2002).
26. A. Bouloumié, C. Sengenès, G. Portolan, J. Galitzky, M. Lafontan, " Adipocyte Produces Matrix Metalloproteinases 2 and 9: Involvement in Adipose Differentiation" , *Diabetes*, Vol.50, No.9 pp. 2080–2086, (2001).
27. C. Chavey, B. Mari, M. N. Monthouel, S. Bonnafous, P. Anglard, E. Van Obberghen, S. Tartare-Deckert, " Matrix Metalloproteinases are Differentially Expressed in Adipose Tissue during Obesity and Modulate Adipocyte Differentiation" , *The Journal of Biological Chemistry*, Vol.278, No.14 pp. 11888–11896, (2003).
28. G. Croissandeau, M. Chrétien, M. Mbikay, " Involvement of Matrix Metalloproteinases in the Adipose Conversion of 3T3-L1 Preadipocytes" , *The Biochemical Journal*, Vol.364, No.Pt 3 pp. 739–746, (2002).
29. H. S. Alameddine, " Matrix Metalloproteinases in Skeletal Muscles: Friends or Foes?" , *Neurobiology of Disease*, Vol.48, No.3 pp. 508–518, (2012).
30. M. D. Johnson, H. R. Kim, L. Chesler, G. Tsao-Wu, N. Bouck, P. J. Polverini, " Inhibition of Angiogenesis by Tissue Inhibitor of Metalloproteinase" , *Journal of Cellular Physiology*, Vol.160, No.1 pp. 194–202, (1994).
31. D. Fukumura, A. Ushiyama, D. G. Duda, L. Xu, J. Tam, V. Krishna, K. Chatterjee, I. Garkavtsev, R. K. Jain, " Paracrine Regulation of Angiogenesis and Adipocyte Differentiation during in vivo Adipogenesis" , *Circulation Research*, Vol.93 No.9 pp. e88–e97, (2003).
32. J. E. Rundhaug, " Matrix Metalloproteinases, Angiogenesis, and Cancer: Commentary re: A. C. Lockhart et al., Reduction of Wound Angiogenesis in Patients Treated with BMS-275291, A Broad Spectrum Matrix Metalloproteinase Inhibitor" , *Clinical Cancer Research*, Vol.9, No.2 pp. 551–554, (2003).
33. L. J. Hawinkels, K. Zuidwijk, H. W. Verspaget, E. S. de Jonge-Muller, W. van Duijn, V. Ferreira, R. D. Fontijn, G. David, D. W. Hommes, C. B. Lamers, C. F. Sier, " VEGF release by MMP-9 mediated heparan sulphate cleavage induces colorectal cancer angiogenesis" , *European Journal of Cancer*, Vol.44, No.13 pp. 1904–1913, (2008).