저항성 운동이 OLETF 쥐의 혈청 염증반응지표 및 고환조직의 CatSper 1-4 단백질 발현에 미치는 영향

이민기¹, 박세환², 윤진환³

¹공주대학교 체육교육과, ²한국교원대학교 체육교육과, ³한남대학교 생활체육학과

Effects of Resistance Training on Serum Inflammatory Markers and CatSper 1-4 Protein Expression in Testis of OLETF Rats

Min-Ki Lee¹, Se-Hwan Park², Jin-Hwan Yoon³

¹Department of Physical Education, Kongju National University, Gongju; ²Department of Physical Education, Korea National University of Education, Cheongju;

³Department of Sports Science, Hannam University, Daejeon, Korea

PURPOSE: This study was to investigate the effects of resistance exercise on serum inflammatory markers and CatSper 1-4 expression in testis of OLETF rats.

METHODS: Male OLETF rats were divided into two groups; control group (n=12), resistance exercise group (n=12). The exercise group performed a total of 8 weeks of moderate intensity resistance exercise on a 1.35 m vertical ladder with weights secured to their tails.

RESULTS: The results of this study was following; The exercise group showed a significant decreased in the inflammatory (IL-1 β , IL-6, TNF- α) levels as compared to the control group. But CRP was no significant difference between control and exercise groups. Also, CatSper 1 and 2 were significantly increased in the exercise group compared to the control group, whereas CatSper 3, 4 were no significant difference between both groups.

CONCLUSIONS: This study suggests that resistance exercise training can contribute to reduce pro-inflammatory responses in whole body and it affects male reproductive function by improve sperm quality and CatSper protein expression.

Key words: Resistance training, Inflammatory markers, CatSper protein, Diabetes mellitus

서론

당뇨병은 전 세계적 공중보건의 주요 문제로 인식되고 있으며, 당뇨병의 예방과 관리에 대한 많은 의학자 및 스포츠 과학자들의 노력에도 불구하고 아직까지 당뇨병은 완전한 치료가 가능하지 않은 질병으로 여겨지고 있다. 또한 당뇨병에 동반되는 다양한 합병증에 대해서도 활발한 연구가 진행되고 있으나 이들의 기전 또한 명확히 밝혀지지 않고 있다.

만성적 염증은 당뇨병 상태에서 일반적으로 나타나는 생리적 반응으로써 체내 각종 장기 손상을 야기시키고, 각 조직에 부정적 영향을 미친다. 선행연구에 따르면 제2형 당뇨병 환자는 낮은 수준의 조직 염증 및 지방조직의 염증 대식세포가 종종 검출되며 이러한 만성적 염증은 당뇨와 관련된 다양한 합병증을 유발할 수 있음이 보고되고 있다 [1,2]. 특히, 제2형 당뇨병에 대한 다인성 병리생리학 중 전 염증성 사이토카인 IL-1 β , IL-6, CRP 및 TNF- α 의 높은 수준은 당뇨병 진행의 주요

Corresponding author: Jin Hwan Yoon Tel +82-42-629-7990 Fax +82-42-629-7973 E-mail yoonjh@hnu.ac.kr

*이 논문은 2015년 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2015S1A5A2A01014920).

Keywords 저항성 운동, 염증반응지표, CatSper 단백질, 당뇨병

Received 18 Jul 2017 Revised 9 Aug 2017 Accepted 17 Aug 2017

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

예측지표[3,4]가 될 수 있으며, 지방조직으로부터 방출된 이들 사이토카인은 다양한 조직뿐만 아니라 췌장 β 세포의 염증을 유도하여 궁극적으로 인슐린 저항성을 유도하는 것으로 알려져 있다[5,6]. 이처럼 당뇨병에 동반된 만성적 염증은 췌장, 뇌, 간, 심혈관계 및 고환 등과 같은 다양한 기관의 기능 저하에 관여함과 동시에 당뇨 합병증 발생 위험을 증가시키는 요인으로 간주할 수 있다.

당뇨병은 오랫동안 남성 및 여성의 생기능 장애의 주요 요인으로 간주되어 왔다. 특히, 당뇨병은 남성의 생기능 장애에 대한 확립된 위험인자로 여겨지고 있을 뿐만 아니라, 당뇨병을 앓고 있는 남성의 약 50-60%는 당뇨 유형에 관계없이 발기부전을 호소하는 것으로 알려져 있다[7-9]. 또한, 생리학적 측면에서 고환은 산화스트레스에 매우 취약함을 감안할 때, 당뇨병은 정자 운동성 및 농도 감소와 비정상적 형태 등을 포함한 정액의 질적 요인을 악화시킬 수 있다[10]. Ricci et al. [11]은 당뇨병이 정액량과 정자의 활력 및 운동성을 감소시키지만, 정액의 점도에는 영향을 미치지 못하는 것으로 보고하였고, Guneli et al. [12]는 당뇨병은 정자 수, 정자 운동성 및 테스토스테론 수준을 감소시킨다고 하였다. 이처럼 남성의 고환조직에서 당뇨로 인한 정자의 기능 장애는 불임으로 인한 삶의 질을 저하시키고 정서관련 질병을 유발할 수 있다.

남성 생식과 관련하여 고환조직에서 정상적인 정자 형성, 사정 후 정자의 운동성과 수정능획득은 불임 및 난임을 극복하기 위한 가장 핵심적 요인이라 할 수 있다. CatSper (Cation Channel of Sperm) family transcripts는 Ca^{2+} 채널 단백질로서 정상적인 정자 운동성과 함께 정자가 zona pellucida를 통과하기 위해 반드시 필요한 요소이다[13]. CatSper mRNAs는 고환에서 국한적으로 발현되는 반면, CatSper 단백질은 고환과 정자 모두에서 발현되는데, CatSper 단백질에 결함이 있으면 정자 운동성이 없는 것으로 간주하고 이는 곧 남성의 불임으로 판명된다[14,15]. 정자 특이적 양이온 채널 CatSper 1, 2는 정자 세포 내 pH와 cAMP 농도조절에 관여하고, CatSper 3, 4는 정자세포 형성 후기단계에 발생된다. 특히, CatSper 3, 4 유전자를 제거한 동물모델은 정상 모델과 비교하여 정자의 운동성이 급격하게 감소되는 것으로 나타나 수정능획득에서 필수적인 정자의 과활성(hyperactivation)과 CatSper 3, 4의 정상적 발현은 깊은 관련이 있는 것으로 보고되고 있다[15].

운동은 정자의 운동성에 긍정적 효과를 가져올 수 있는데, Rosety-Rodriguez et al. [16]은 제2형 당뇨병을 지닌 성인 남성을 대상으로 14주간의 홈-기반 트레드밀 운동이 정자의 농도와 정자의 운동성 및 정상 정자의 비율 증가에 긍정적 영향을 미칠 수 있음을 보고하였고, Palmer et al. [17]은 고지방식이로 유도된 비만 쥐를 대상으로 식이요법과 18주간의 수영운동을 실시한 결과 정자 운동성, 형태를 향상시키고 정자 DNA 손상과 ROS를 감소시켜 정자의 결함을 증가시킨다고 보고하였다. 또한 이와 관련한 우리의 이전 연구[18]에서 규칙적인 유산소 운동이 CatSper 1, 2 단백질을 유의하게 증가시켜 정자 운동성 및 정자

의 전반적 질 개선에 이바지할 수 있음을 확인하였다.

한편, CatSper의 생리적 기능과 역할에 대한 연구는 진행되고 있으나, CatSper 1-4 단백질의 정상적 발현이 남성의 불임과 관련된 기저로서 매우 중요한 요소임에도 불구하고, 이에 대한 연구는 미비한 상태이다. 불임의 발생과 관련된 다양한 요인에 대한 예방 및 개선 효과로서 운동의 역할은 몇몇 연구를 통해 소개되고 있으나 대부분 유산소 운동에 초점을 두고 있다. 또한 당뇨병 상태에서 CatSper 인자의 발현과 정자의 운동성 개선에 대한 운동의 효과를 연구한 선행연구는 제한적이다. 특히, 수정능획득 동안 과활성된 정자의 운동성에 필수적 요소인 CatSper 3, 4에 대한 연구는 희소한 실정이다. 따라서 본 연구는 제2형 당뇨쥐를 대상으로 장기간의 저항성 운동이 혈청 염증 반응지표와 고환조직의 CatSper 1-4 단백질 발현 및 정자의 운동성에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

연구 방법

1. 실험동물 및 식이방법

실험동물은 4주령의 Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rat (Body Weight: 100-150 g)을 일본 오츠카 제약회사로부터 구입하였다. OLETF rat은 시상하부의 CCK 수용체 결함으로 인하여 16-24주령 사이에 식욕이 증가하고 과도한 지방 축적을 나타내는 유전적 비만 및 제2형 당뇨모델로 사용되고 있다. 그룹 선정은 총 24마리를 무작위 표본법을 이용하여 저항성 운동그룹(RE: n=12), 통제그룹(CON: n=12)으로 구분하였다. 식이는 전 실험기간 동안 고형사료(단백질 22.5%, 지방 3.5%, 저섬유 7.5%, 회분 9.0%, 칼슘 0.7%, 인 0.5%)와 물을 충분히 섭취하도록 하였으며, 실험기간에 동물실험윤리규정에 따라 동물의 고통과 불편을 최소화 하도록 노력하였다.

2. 연구절차

1) Ladder climbing 처치

운동방법은 30주령을 기점으로 1주간의 적응기를 거친 후 ladder climbing 실시하였다. 본 연구에서 실시한 저항성 운동은 Lee et al. [19]

Table 1. Exercise protocol

Steps	Loading weight (% 1RM)
1	50% 1RM
2	75% 1RM
3	90% 1RM
4	100% 1RM
5	100% 1RM+30 g
6	100% 1RM+60 g
7	100% 1RM+90 g
8	100% 1RM+120 g

의 경사면 사다리 오르기 운동을 실험실 환경에 맞게 수정하여 실시하였다. 길이 약 135 cm, 간격 2.5 cm의 철제 사다리를 80° 경사로 설치하고 각 동물의 꼬리에 무게부하를 주어 경사도를 반복적으로 오르는 운동을 8주간 실시하였다(주 5회, 1일 반복횟수 8회). 동일한 운동량 설정을 위해 각 개체별 최대부하강도(IRM: repetition maximum)를 측정하여 부하에 반영하였다.

본 연구에서 운동강도에 따른 운동방법은 Table 1과 같다.

2) 조직시료의 준비

실험 종료 후 24시간 이상 공복상태에서 Zoletil 50® (10 mg/kg, i.p.; Vibac Laboratories, Carros, France)을 이용하여 마취한 후 고환조직을 추출하였다. 조직을 추출한 후 종류수로 혈액을 완전히 제거하고 4°C, 0.25 M sucrose를 포함하는 5 mM potassium phosphate buffer (pH 6.5) 용액을 각 시료조직의 3배(w/v) 가한 후 Autohomogenizer (RikakMikai GTR-1000)로 파쇄한 후 25,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 상등액을 취하여 시료로 사용하였다.

3) 혈청 염증반응지표 분석 및 HOMA-IR

실험 종료 후 24시간 이상 공복상태에서 복부대동맥으로부터 혈액을 채취하여, 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 분석시까지 -70°C에 보관하였다. 혈청 염증반응 지표인 IL-1β, IL-6 및 TNF-α는 효소면역분석법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)을 이용하여 측정하였다. 미리 희석한 혈청을 항체가 코팅된 96 well plate에 넣어주고 상온에서 2시간 동안 방치하였다. 이후 시료를 넣었던 well을 washing buffer를 이용하여 5번 세척하고 물기를 제거하였다. 물기가 완전히 제거된 well에 conjugate 용액을 넣고 2시간 동안 상온에서 반응시킨 후 5회 세척을 반복하였다. 기질 용액을 넣고 빛을 피해 다시 30분간 반응시킨 후 반응을 멈추기 위해서 stop solution을 첨가하였다. 흡광도를 측정하기 위하여 분광광도계(iMark™ Microplate reader, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.

인슐린 저항성은 HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance) = [fasting insulin (μIU/mL) × fasting glucose (mg/dL)]/405의 공식을 이용하여 분석하였다[20].

4) 정자 수와 운동성 측정

흰쥐의 부고환에서 cauda 부분을 적출하여 sperm washing medium 내에서 충분히 자른 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 90분간 배양한 후 10 μL를 취하여 CASA (Hamilton Thorne, USA)장치를 이용하여 측정하였다. 채취된 정액은 water bath (36°C)에서 1시간 동안 용해시킨 후 BX40 (Olympus, Japan) 광학현미경이 장착된 정자분석 프로그램

(CASA)을 이용하여 정자수(million, number/mL), 총운동성(total motility, %), 직선운동성(VCL, μm/sec) 등을 200배율로 관찰하였다.

5) Western blotting을 이용한 Catsper protein 분석

고환 조직 내 CatSper 1-4 발현을 분석하기 위하여 Gel상의 단백질을 15 mM Tris-glycine buffer (190 mM glycine, 50 mM Tris-base, 0.05% SDS, 20% methanol)를 사용하여 100 V에서 1시간 동안 PVDF membrane (Pall Corporation, U.S.A)에 transfer 하였다. 그 후 membrane을 TBS 시약으로 10분씩 3차례 washing 하고, blocking buffer (TBS 34 mL, BSA 1.05 g)에서 1시간 동안 shaking 시킨 후, primary antibody (CatSper 1, 2, 3, 4: santacruz)를 blocking buffer에 1:1,000의 비율로 희석하여 cold room에서 overnight 하였다. Membrane을 씻어내고 secondary antibody (anti-rabbit IgG)를 1:3,000의 비율로 희석하여 상온에서 1시간 동안 처리 하고 washing 후, 마지막으로 membrane에 부착된 단백질을 western blotting detection system을 이용하여 측정하였으며, density meter (Sharp jx-330)를 이용하여 스캔한 후, 단백질의 정량분석은 이미지 분석 프로그램(Image Master ver. 3.0, Pharmacia Biotechnology, Piscataway, NJ, USA)을 이용하여 산출하였다.

3. 자료처리방법

통계적 자료 분석을 위해서 SPSS version 21.0을 이용하여 각 집단의 평균 및 표준편차(Mean ± SD)를 산출하였다. 혈청 염증반응지표는 그룹과 시기 간 차이를 알아보기 위해 이원반복측정변량분석(two-way repeated measures ANOVA)을 실시하였고, 검사 후 유의한 차이가 있을 경우, 집단별 Paired *t*-test를 실시하였다. HOMA-IR 지수와 CatSper 단백질 발현의 집단 간 차이 분석은 Student's *t*-test로 검정하였다. 이때 모든 통계적 유의수준은(α)은 .05로 설정하였다.

연구결과

1. 8주간 저항성 운동 후 혈청 염증반응지표 변화

8주간의 저항성 운동 후 혈청 염증반응지표 변화는 다음과 같다 (Table 2). 염증지표의 집단과 시기 간의 반복이원변량 분석 결과 IL-1β 농도는 상호작용 효과가 나타났다($F=4.43, p<.01$).

이에 각 집단 내 시기 간 차이 검증을 실시한 결과 통제집단에서는 차이가 나타나지 않았지만 운동 집단은 유의한 차이가 나타났다($p<.05$). IL-6 ($F=2.86, p<.05$), TNF-α ($F=1.68, p<.05$) 농도는 두 요인 모두 상호작용효과가 나타났으며, 각 집단 내 시기 간 차이 검증을 실시한 결과 통제집단은 차이가 나타나지 않았지만, 운동집단은 유의한 차이가 나타났다($p<.05$). 한편, CRP 농도는 상호작용 효과 및 집단, 시기에 따른 주효과 모두 유의한 차이가 나타나지 않았다.

Table 2. The changes of serum inflammatory markers

Variation	Group	pre	post	t (p)	Source	F (p)
IL-1 β (pg/mL)	CON	1,230.5 $\pm$ 7.51	1,235.7 $\pm$ 7.63	-0.259 (.379)	G	5.12 (.01)
					T	3.98 (.02)
	RE	1,260.7 $\pm$ 6.43	930.7 $\pm$ 9.87	2.507 (.021)	G $\times$ T	4.43 (.01)
IL-6 (pg/mL)	CON	285.4 $\pm$ 9.76	297.8 $\pm$ 8.55	-0.394 (.269)	G	2.78 (.03)
					T	3.69 (.03)
	RE	286.8 $\pm$ 10.23	205.9 $\pm$ 11.23	3.244 (.016)	G $\times$ T	2.86 (.02)
TNF- α (pg/mL)	CON	245.9 $\pm$ 11.34	265.7 $\pm$ 11.23	-6.556 (.562)	G	3.17 (.02)
					T	1.91 (.02)
	RE	244.86 $\pm$ 9.98	196.5 $\pm$ 11.27	5.651 (.007)	G $\times$ T	1.68 (.03)
CRP (μ g/mL)	CON	8.98 $\pm$ 6.76	9.95 $\pm$ 9.77	.	G	1.76 (.16)
					T	1.48 (.11)
	RE	8.95 $\pm$ 7.88	8.54 $\pm$ 9.21	.	G $\times$ T	1.52 (.13)

G: group, T: time, G $\times$ T: group $\times$ time

* p <.05, ** p <.01

Fig. 1. Comparison of HOMA-IR index.

CON, diabetes control group; RE, resistance exercise training group.

** p <.01.

2. 8주간 저항성 운동 후 HOMA-IR 변화

8주간의 저항성 운동 후 두 집단 간 HOMA-IR 지수는 다음과 같다 (Fig. 1). 운동집단의 HOMA-IR 수치는 11.3 ± 3.21 로 통제집단의 16.4 ± 2.45 와 비교하여 통계적 유의한 차이를 보이며 낮게 나타났다(p <.01).

3. 8주간 저항성 운동 후 정자 수와 운동성의 변화

8주간 저항성 운동에 따른 정자 수와 총 운동성 및 직진성에 대한 두 집단 간 차이는 다음과 같다 (Fig. 2). 운동집단은 통제집단과 비교하여 정자수(p <.05), 총 운동성(p <.05) 및 직진성(p <.001)에서 통계적 유의한 차이가 나타났다.

4. 8주간 저항성 운동 후 고환조직 내 CatSper 단백질 발현의 변화

8주간 저항성 운동 후 고환 조직 내 CatSper 단백질 발현의 변화는 다음과 같다 (Fig. 3). CatSper 1, 2 발현은 운동집단이 통제집단에 비하여 통계적 유의한 차이를 보이며 증가되는 것으로 나타났다(p <.05). 이에 반해 CatSper 3, 4는 통제집단과 비교하여 증가되는 경향을 나타내

Fig. 2. Comparison of sperm count and motility.

CON, diabetes control group; RE, resistance exercise training group.

* p <.05, *** p <.001.

었으나 유의한 차이는 나타나지 않았다.

Fig. 3. Comparison of CatSper protein expression in testis.
CON, diabetes control group; RE, resistance exercise training group.
* $p < .05$.

논 의

본 연구는 장기간의 저항성 운동이 제2형 당뇨병모델의 혈청 염증지표 변화와 고환조직에서의 CatSper 단백질 발현 및 정자 운동성에 미치는 영향을 규명하고자 하였다.

만성적 염증은 최종적으로 장기손상을 포함한 질병의 진행을 악화시킬 수 있으므로 운동을 통한 염증의 완화는 당뇨병의 진행상태를 지연시키고 합병증을 예방할 수 있다. 특히 지방조직에서 생성된 전염증성 분자는 제2형 당뇨병의 특징인 인슐린 감수성 및 포도당 항상성의 혼란을 초래할 수 있다[21]. 당뇨병과 관련된 비정상적 염증반응에 대한 운동의 효과는 골격근, 내피세포 및 면역계로부터 adipocytokine 생성 및 cytokine 방출을 감소시키고 항산화 시스템의 개선을 통해 염증 마커를 감소시킬 수 있다. 또한 규칙적인 운동은 IL-4, IL-10, adiponectin과 같은 항-염증성 인자를 증가시킨다[22,23]. 이러한 선행연구는 대부분 유산소성 운동의 중재를 통해 이루어져 왔다. 최근 저항성 운동은 유산소 운동과 유사한 효과를 보이며 당뇨병 및 비만과 같은 대사증후군 개선을 위한 운동요법으로 주목받고 있다[24]. 혈청 염증지표에 대한 본 연구 결과, 8주간의 규칙적인 저항성 운동은 CRP를 제외한 염증지표 개선에 긍정적인 효과를 나타냈다. 이러한 결과는 Miller et al. [25]이 당뇨병 환자를 대상으로 6주간 실시한 저항성 운동과 Molanouri

Shamsi et al. [26]이 STZ로 유도된 당뇨병모델을 대상으로 5주간 실시한 저항성 운동 후 염증반응 수준이 감소함을 보고한 연구와 일치되는 경향을 나타낸다. 이를 미루어 볼 때, 운동은 유형에 관계없이 당뇨병의 이차적 합병증을 야기시키는 주요 염증인자 감소에 효과적인 전략이라 생각되며, 이는 규칙적인 운동으로 유도된 지방산화 촉진 및 근육량 증가[26]에 따른 결과라 판단된다. 반면, 본 연구에서 혈청 CRP 수치는 두 집단 간 유의한 차이가 나타나지 않았다. 일반적으로 CRP는 당뇨병과 관련된 심혈관계 질환을 예측하는 인자로 보고되어 왔다. 이는 저항성 운동이 심혈관계 보다 근골격계에 더 효과적인 운동방법임을 감안할 때, 운동 유형의 차이에서 비롯된 결과라 생각된다. 또한, 8주간 저항성 운동 후 HOMA-IR 수준은 운동군이 통제군에 비하여 통계적 유의차를 보이며 낮은 결과를 나타냈다. 당뇨병과 함께 동반되는 다양한 합병증의 발생은 인슐린 저항성과 정적 상관관계를 지닌다. 인슐린 저항성을 감소시키고 인슐린 감수성 개선에 효과적인 전략으로써 다양한 유형의 규칙적인 운동 효과는 많은 선행연구를 통해 입증되고 있다. Russell et al. [27]은 저항성 운동이 당뇨병의 관리와 개선을 위해 중요한 혈당 및 인슐린 감수성에 긍정적 영향을 가져올 수 있음을 보고하였고, AminiLari et al. [28]은 12주간의 유산소 운동 및 복합운동은 당뇨병 환자의 HOMA-IR 수치를 유의하게 개선시키는 것으로 보고하였다. 또한, 근육량 감소는 인슐린 저항성 악화와 연관됨으로 저항성 운동을 통한

근육량 증가는 혈당 조절에 효과적이며[29], Horii et al. [30]은 제2형 당뇨병 모델을 대상으로 실시한 8주간 저항성 운동이 근비대, 공복혈당 및 인슐린 감수성 개선에 긍정적 결과를 가져올 수 있음을 보고하여 본 연구의 결과와 일치되는 경향을 보였다.

만성적 염증의 지속상태는 인슐린 저항성 증가와 만성적 고혈당 상태의 악화로 이어진다. 이러한 연결고리는 활성산소 및 산화스트레스 증가로 인해 각 조직의 손상과 기능적 저하를 일으킬 수 있다. 특히, 남성의 고환조직 손상, 성기능 장애 및 발기부전과 같은 생식능력의 저하를 야기할 수 있다[31-33]. 또한 임상 및 동물모델에서 당뇨의 유형에 관계없이 당뇨병은 남성 생식 능력 중 정자 운동성, 정자 DNA 무결성 및 정장(seminal plasma)의 성분과 같은 정자 질에 부정적 영향을 미칠 수 있다고 보고되었다[34]. 이에 고환 조직 내 정자의 운동성 및 CatSper 단백질에 발현에 대한 본 연구결과, 8주간의 저항성 운동을 실시한 집단은 통제집단에 비하여 정자 수, 정자 총 운동성 및 직선 운동성에서 통계적 유의한 차이를 보이며 높은 경향을 나타냈다. 이러한 결과는, 운동을 통한 체내 염증인자 감소와 동시에 조직의 항산화 능력의 증가는 남성의 생식기능에 긍정적 영향을 미칠 수 있음을 보고한 연구[35]와 활발한 신체활동과 낮은 수준의 좌업 생활은 정자 수와 정자 농도 등과 같은 정자 질 개선에 긍정적 영향[36]을 미친다는 선행 연구결과를 뒷받침 할 수 있다. 또한 과체중[37] 및 제2형 당뇨병[16]을 지닌 환자를 대상으로 실시한 14-16주간의 운동프로그램 중재는 정액량, 정자 농도, 정자 수, 정자 운동성 및 형태에 효과적인 것으로 보고되었다. 이는 남성의 생식능력에서 정자의 정상적 기능 유지를 위해서는 고환조직의 ROS 활성 억제를 위한 대책이 중요함[38]을 감안할 때 규칙적인 운동은 고환 조직의 산화스트레스를 감소시켜 정자의 전반적 질 향상에 기여할 수 있으리라 생각된다.

최근 동물 모델을 대상으로 한 연구에서 정자의 정상적 기능에 대한 CatSper의 생리적 기능 및 역할에 대한 이해는 상당히 진전되어 왔다. 정자 과활성(hyperactivation)과 남성의 fertility에 필수적인 CatSper는 최근 남성 불임 치료를 위한 새로운 target으로 그 가능성이 제시되고 있다[39].

본 연구의 결과, 8주간의 저항성 운동은 CatSper 1, 2 발현을 유의하게 증가시킨 반면, CatSper 3, 4 발현은 높은 수준을 나타내었으나 유의한 차이는 나타나지 않았다. CatSper의 네 가지 단백질 중 어느 하나라도 부족하면 과활성화된 운동성이 결핍되고 capacitating 조건에서 초기 운동성이 빠르게 상실될 수 있으며[15] 특히, 정자의 생리학적 역할에서 운동성의 부족은 난관에서 고점도의 액체 cumulus oophorus와 zona pellucida를 통과하지 못하는 것으로 보고되고 있다[40,41]. 이러한 선행연구에 비추어 볼 때, 8주간 저항성 운동은 CatSper 1, 2의 발현을 통해 정자의 과활성화된 운동성에 긍정적 영향을 미칠 수 있으나, 사정 후 정자 운동성 유지와 생존을 위해 필요한 CatSper 3, 4에 영향

을 주지 않는 것으로 생각된다. 하지만, CatSper 발현에 대한 운동 효과 연구는 전무한 실정임으로 이에 대한 다각적인 논의를 할 수 없음은 본 연구가 지니는 제한점이라 할 수 있다. 한편, Park et al. [42]은 수컷 C57BL/6를 대상으로 5주간 인삼을 경구투여 한 결과, 고환 조직 내에서 CatSper 3, 4 단백질의 발현이 유의하게 증가되었으며, 이는 정자의 과활성(hyperactivation) 운동성을 증가시켜 난자와의 결합을 가능하게 유도함으로써 남성 불임에 응용될 수 있음을 제안하였다. 향후 남성의 불임과 연관된 정자 운동성에 관여하는 CatSper 발현에 대한 연구는 운동과 함께 다양한 영양학적 요인이 동반되어 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결론

이상의 결과를 종합해 볼 때, 규칙적인 저항성 운동은 당뇨병과 관련된 전염증 반응 인자의 순환 수준을 감소시킬 수 있으며 이러한 염증반응의 완화는 남성의 생식능력과 관련된 정자의 전반적 질 향상과 함께 제한적이지만 고환 조직 CatSper 단백질 발현에 긍정적 영향을 미치는 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Fink LN, Oberbach A, Costford SR, Chan KL, Sams A, et al. Expression of anti-inflammatory macrophage genes within skeletal muscle correlates with insulin sensitivity in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia* 2013;56(7):1623-1628.
2. Laake JP, Stahl D, Amiel SA, Petrak F, Sherwood RA, et al. The association between depressive symptoms and systemic inflammation in people with type 2 diabetes: findings from the south london diabetes study. *Diabetes Care* 2014;37(8):2186-2192.
3. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001;286(3):327-334.
4. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, et al. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes* 2003; 52(3):812-817.
5. Tilg H, Moschen AR. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Molecular Medicine* 2008;14(3-4):222-231.
6. Ehse JA, Ellingsgaard H, Böni-Schnetzler M, Donath MY. Pancreatic islet inflammation in type 2 diabetes: from alpha and beta cell com-

- pensation to dysfunction. *Archives of Physiology and Biochemistry* 2009;115(4):240-247.
7. Enzlin PJ, Rosen R, Wiegel M, Brown J, Wessells H, et al. Sexual dysfunction in women with type 1 diabetes: long-term findings from the DCCT/EDIC study cohort. *Diabetes Care* 2009;32(5):780-785.
 8. Kiskac M, Zorlu M, Cakirca M, Büyükkaydin B, Karatoprak C, et al. Frequency and determinants of erectile dysfunction in Turkish diabetic men. *Nigerian Journal of Clinical Practice* 2015;18(2):209-212.
 9. Giugliano F, Maiorino M, Bellastella G, Gicchino M, Giugliano D, et al. Determinants of erectile dysfunction in type 2 diabetes. *International Journal of Impotence Research* 2010;22(3):204-209.
 10. Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Current Diabetes Reviews* 2008;4(1):46-54.
 11. Ricci G, Catizone A, Esposito R, Pisanti FA, Vietri MT, et al. Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. *Andrologia* 2009;41(6):361-368.
 12. Guneli E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, et al. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *European Surgical Research* 2008;40(4):354-360.
 13. Ren D, Navarro B, Perez G, Jackson AC, Hsu S, et al. A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. *Nature* 2001;413(6856):603-609.
 14. Jin JL, O'Doherty AM, Wang S, Zheng H, Sanders KM, et al. Catsper3 and catsper4 encode two cation channel-like proteins exclusively expressed in the testis. *Biology of Reproduction* 2005;73(6):1235-1242.
 15. Jin J, Jin N, Zheng H, Ro S, Tafolla D, et al. Catsper3 and Catsper4 are essential for sperm hyperactivated motility and male fertility in the mouse. *Biology of Reproduction* 2007;77(1):37-44.
 16. Rosety-Rodriguez M, Rosety JM, Fornieles G, Rosety MA, Diaz AJ, et al. Home-based treadmill training improved seminal quality in adults with type 2 diabetes. *Actas Urologicas Espanolas* 2014;38(9):589-593.
 17. Palmer NO, Bakos HW, Owens JA, Setchell BP, Lane M. Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse perturbed sperm function. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 2012;302(7):E768-780.
 18. Yoon JH, Park SH, Hyun KS. Effects of treadmill exercise on blood testosterone, sperm motility and catsper 1, 2 expression of testis in male rats. *Korean Journal of Physical Education* 2017;56(2):527-539.
 19. Lee SH, Barton ER, Sweeney HL, Farrar RP. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *Journal of Applied Physiology* 2004;96(3):1097-1104.
 20. Kamezaki F, Sonoda S, Nakata S, Kashiwayama K, Muraoka Y, et al. Proposed cutoff level of waist circumference in Japanese men: evaluation by homeostasis model assessment of insulin resistance levels. *Internal Medicine* 2012;51(16):2119-2124.
 21. Keane KN, Cruzat VF, Carlessi R, de Bittencourt PI Jr, Newsholme P. Molecular events linking oxidative stress and inflammation to insulin resistance and β -cell dysfunction. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2015;2015:181643. doi: 10.1155/2015/181643.
 22. Hopps E, Canino B, Caimi G. Effects of exercise on inflammation markers in type 2 diabetic subjects. *Acta Diabetologica* 2011;48(3):183-189.
 23. Hayashino Y, Jackson JL, Hirata T, Fukumori N, Nakamura F, et al. Effects of exercise on C-reactive protein, inflammatory cytokine and adipokine in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Metabolism* 2014;63(3):431-440.
 24. Francesconi C, Lackinger C, Weitgasser R, Haber P, Niebauer J. Physical activity and exercise training in the prevention and therapy of type 2 diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschrift* 2016;128(2):S141-145.
 25. Miller EG, Sethi P, Nowson CA, Dunstan DW, Daly RM. Effects of progressive resistance training and weight loss versus weight loss alone on inflammatory and endothelial biomarkers in older adults with type 2 diabetes. *European Journal of Applied Physiology* 2017;117(8):1669-1678.
 26. Molanouri Shamsi M, Mahdavi M, Quinn LS, Gharakhanlou R, Isanegad A. Effect of resistance exercise training on expression of Hsp70 and inflammatory cytokines in skeletal muscle and adipose tissue of STZ-induced diabetic rats. *Cell Stress Chaperones* 2016;21(5):783-791.
 27. Russell RD, Hu D, Greenaway T, Blackwood SJ, Dwyer RM, et al. Skeletal Muscle Microvascular-Linked Improvements in Glycemic Control From Resistance Training in Individuals With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2017. pii: dc162750. doi: 10.2337/dc16-2750.
 28. AminiLari Z, Fararouei M, Amanat S, Sinaei E, Dianatinasab S, et al. The effect of 12 weeks aerobic, resistance, and combined exercises on Omentin-1 levels and insulin resistance among type 2 diabetic middle-aged women. *Diabetes Metabolism Journal* 2017;41(3):205-212.
 29. Srikanthan P, Karlamangla AS. Relative muscle mass is inversely associated with insulin resistance and prediabetes. Findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *The Journal of Clinical Endocrinology Metabolism* 2011;96(9):2898-2903.

30. Horii N, Sato K, Mesaki N, Iemitsu M. Increased muscular 5 α -dihydrotestosterone in response to resistance training relates to skeletal muscle mass and glucose metabolism in type 2 diabetic rats. *PLoS One* 2016; 11(11):e0165689.
31. Fatani AJ, Al-Rejaie SS, Abuohashish HM, Al-Assaf A, Parmar MY, et al. Lutein dietary supplementation attenuates streptozotocin-induced testicular damage and oxidative stress in diabetic rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2015;15(1):204.
32. Karimi J, Goodarzi MT, Tavilani H, Khodadadi I, Amiri I. Increased receptor for advanced glycation end products in spermatozoa of diabetic men and its association with sperm nuclear DNA fragmentation. *Andrologia* 2012;44(1):280-286.
33. Mazzilli R, Elia J, Delfino M, Benedetti F, Scordovillo G, et al. Prevalence of Diabetes Mellitus (DM) in a population of men affected by Erectile Dysfunction (ED). *Clinica Terapeutica* 2015;166(5):e317-e320.
34. Ding GL, Liu Y, Liu ME, Pan JX, Guo MX, et al. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian Journal of Andrology* 2015;17(6):948-953.
35. Hajizadeh Maleki B, Tartibian B, Chehrizi M. The effects of three different exercise modalities on markers of male reproduction in healthy subjects: a randomized controlled trial. *Reproduction* 2017;153(2): 157-174.
36. Gaskins AJ, Mendiola J, Afeiche M, Jørgensen N, Swan SH, et al. Physical activity and television watching in relation to semen quality in young men. *British Journal of Sports Medicine* 2015;49(4):265-270.
37. Rosety MÁ, Díaz AJ, Rosety JM, Pery MT, Brenes-Martín E, et al. Exercise improved semen quality and reproductive hormone levels in sedentary obese adults. *Nutricion Hospitalaria* 2017;34(3):603-607.
38. Zhou S, Wen Z, Liang A, Zhang S. Experimental Research on Therapeutic Efficacy of Traditional Chinese Medicine Shengjing Capsule Extracts in Treating Spermatogenesis Impairment Induced by Oxidative Stress. *Medical Science Monitor* 2016;22:50-56.
39. Shukla KK, Mahdi AA, Rajender S. Ion channels in sperm physiology and male fertility and infertility. *Journal of Andrology* 2012;33(5):777-788.
40. Ren D, Xia J. Calcium signaling through CatSper channels in mammalian fertilization. *Physiology (Bethesda)*. 2010;25(3):165-175.
41. Suarez SS, Pacey AA. Sperm transport in the female reproductive tract. *Human Reproduction Update* 2006;12(1):23-37.
42. Park EH, Kim DR, Park SK, Chang MS. Effects of ginseng radix on sperm count and CatSper 3, 4 protein expression in male mice. *The Korea Journal of Herbology* 2012;27(2):47-51.