

스테로이드치료 전 운동이 스테로이드치료에 의해 유발된 쥐의 위축 Type I, II 뒷다리근육에 미치는 효과*

최 명 애¹⁾ · 안 경 주²⁾

서 론

연구의 필요성

스테로이드(steroid)는 알레르기, 염증성 질환, 자가 면역질환의 치료와 장기이식 후 면역억제요법에 이용되어 왔으나 장기간 투여하면 스테로이드의 이화작용에 의해 체중저하와 근질량이 감소되는 근위축을 유발한다(Touno, Senda, Nakago, Yokoyama, & Inoue, 1996). 스테로이드 투여로 유발되는 근위축은 스테로이드 치료를 받고 있는 환자 중 50%에서 발생할 정도로 흔한 합병증이며(Lee, Wee, & Kim, 2005), 특히 중환자실에서 고용량의 스테로이드를 투여한 경우에 용량 의존성(dose-dependent) 근육 소모가 일어나는 것으로 보고된 바 있다(Hanson et al., 1997).

스테로이드 투여 후 4일째부터 체중저하와 근질량 감소 등의 부작용이 유발되며(Falduto, Young, & Hickson, 1992), 따라서 스테로이드를 장기간 투여하는 경우뿐만 아니라 단기간에 고용량의 스테로이드를 투여하는 경우에도 근위축이 발생할 수 있다. 그 중에서도 지근섬유(slow-twitch muscle fiber)로 이루어진 Type I 근육은 거의 영향을 받지 않으나 속근섬유(fast-twitch muscle fiber)로 이루어진 Type II 근육은 선택적으로 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Decramer, Laquet, Fafud, & Rogiers, 1994). 그러므로 스테로이드 치료를 받는 환자들은 근지구력의 변화보다는 최대 근력 발생 능력을 소실하는 것으로 볼 수 있으며(Decramer et al., 1994), 이는 환

자의 일상생활활동에 영향을 주게 된다.

스테로이드 유발성 근위축을 해결하기 위한 방안으로 주로 적용되어온 것이 운동 중재이다. 이미 선행연구에서 스테로이드를 투여하는 기간 중에 지구력 훈련을 실시하여 근위축 경감 효과가 있음을 입증하였고(Choe, Choi, & Shin, 1997; Choe, 1998; Choe & Hong, 2001), 스테로이드 치료가 끝난 후 회복기에 운동을 부하시켜 근위축의 회복을 촉진시킨다는 연구결과가 보고되었다(Choe, Shin, An, Choi, & Lee, 2002a, Choe et al., 2002b). 이러한 선행 연구들은 스테로이드 치료 기간 중 근위축이 진행되고 있는 동안 운동을 부하시키거나, 스테로이드 치료 후 근위축이 유발된 상황에서 운동을 부하시켜 근위축을 회복하려는 시도에 국한되어 있다. 그러나 이미 진행된 근위축을 회복하는 것보다 근위축을 예방하는 것이 대상자의 신체활동 증진에 도움이 되리라고 생각한다. 따라서 스테로이드 유발성 근위축의 위험이 예견되는 상황에서 미리 운동을 부하시켜 근위축을 예방할 수 있는지에 관해 규명할 필요가 있으나 현재까지 이러한 스테로이드 유발성 근위축의 예방에는 거의 관심이 없었으며 예방방안에 대한 연구보고도 거의 없는 실정이다.

이에 본 연구에서는 스테로이드치료 전 운동이 스테로이드 투여에 의해 유발된 위축 Type I, II 뒷다리근육에 미치는 영향을 규명하고자한다.

연구목적

주요어 : 스테로이드, 운동, 근위축, Type I, II 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 함량

* 본 연구는 2005년도 한국학술진흥재단 우수여성과학자 도약연구지원에 의해 수행됨(E00096)

1) 서울대학교 간호대학 교수, 2) 대구가톨릭대학교 간호학과 조교수

투고일: 2006년 12월 12일 심사완료일: 2007년 1월 15일

본 연구의 목적은 스테로이드 유발성 근위축 발생 전에 운동을 부하시켜 쥐의 Type I 근육인 가자미근, Type II 근육인 족척근과 비복근에 미치는 영향을 규명하여 스테로이드 유발성 근위축의 위험이 예견되는 상황에서 근위축을 예방하는 방안을 개발하기 위한 것으로 구체적인 연구목적은 다음과 같다.

- 7일간의 스테로이드 치료로 가자미근, 족척근 및 비복근에 위축이 유발되는가를 규명한다.
- 7일간의 스테로이드 치료로 근육 무게가 감소되는가를 규명한다.
- 7일간의 스테로이드 치료로 근원섬유 단백질 함량이 감소되는가를 규명한다.
- 7일간의 스테로이드 치료로 Type I, II 근섬유 횡단면적이 감소되는가를 규명한다.
- 스테로이드 치료 전에 운동을 부하시킨 운동스테로이드군의 가자미근, 족척근 및 비복근의 위축이 경감되는가를 규명한다.
- 스테로이드 치료 전에 운동을 부하시킨 운동스테로이드군의 근육 무게가 스테로이드군에 비해 큰가를 규명한다.
- 스테로이드 치료 전에 운동을 부하시킨 운동스테로이드군의 근원섬유 단백질 함량이 스테로이드군에 비해 큰가를 규명한다.
- 스테로이드 치료 전에 운동을 부하시킨 운동스테로이드군의 Type I, II 근섬유 횡단면적이 스테로이드군에 비해 큰가를 규명한다.

용어 정의

● 스테로이드 치료

임상에서 치료적 목적으로 스테로이드를 투여하는 것을 말하며, 본 연구에서는 선행연구(Choe et al., 1997; Choe, 1998; Choe & Hong, 2001)의 실험방법을 토대로 dexamethasone을 체중 kg당 5mg의 용량으로 1일 1회 7일간 피하 주사하였다.

● Type I, II 근육

Type I 근육은 주로 저근섬유(slow-twitch fiber)를 많이 포함하고 있는 근육이다. 수축 속도가 느리며 세포내 호기성 호흡과정을 통해 에너지를 생산하며 모세혈관 밀도가 높고 마이오글로빈(myoglobin) 함량도 높아 근육 색깔이 붉은 빛을 띠게 된다. 주로 서있는 자세를 유지하기 위해 수축하는 근육들에 분포하고 있으며(Martini, Ober, Garrison, Welch, & Hutchings, 2001), 본 연구에서는 가자미근(soleus)을 말한다. Type II 근육이란 주로 속근섬유(fast-twitch fiber)를 많이 포함하고 있는 근육이다. 수축 속도가 빨라 신속하고 강력한 동작을 가능하게 하나 혐기성 해당과정으로 젖산이 생산되어 축

적되므로 빨리 피로해진다(Martini et al., 2001). 본 연구에서는 Type II 근섬유 분포가 많은 족척근(plantaris)과 비복근(gastrocnemius)을 말한다.

● 근위축

근원섬유 단백질 함량이 감소되며 근섬유 횡단면적이 줄어 들고 근육질량이 감소하는 상태를 말한다(Choe et al., 2004). 본 연구에서는 근육 무게, 근섬유 횡단면적 및 근원섬유 단백질 함량이 감소되는 상태를 근위축이라 한다.

연구 방법

연구 설계

순수실험연구로 수행되었으며 실험동물은 무작위로 세 군에 배정하였다. 연구 설계는 <Figure 1>에 제시되어있다. 대조군(Control: C)은 7일간의 정상 활동 후 7일간 생리식염수를 투여한 군이며, 스테로이드군(Steroid: S)은 7일간의 정상 활동 후 7일간 dexamethasone을 투여한 군이고, 운동스테로이드군(Exercise-Steroid: ES)은 7일간의 dexamethasone 투여 전에 7일간 운동을 한 군이다. 세 군 모두 실험시작 일로부터 15일 째에 가자미근, 족척근 및 비복근을 절제하였다.

연구 대상

200-220g의 male Sprague-Dawley rat(Daehan Experimental Animal Co., Korea)을 C군, S군, ES군으로 나누어 각 군당 10마리를 실험대상으로 하여 총 30마리가 연구대상이 되었다.

세 군을 동일한 환경에 수용하였고(온도: 22±2℃, 습도: 45-55%) 12시간은 밝고 12시간은 어둡게 하였다. 동물의 고행사료(Samyang Co. Korea)와 물은 마음대로 먹을 수 있게 하였다.

실험 방법

● 스테로이드 치료

선행연구(Choe et al., 1997; Choe, 1998; Choe & Hong, 2001)의 실험방법을 토대로 dexamethasone을 체중 kg당 5mg의 용량으로 1일 1회 7일간 피하 주사하였다.

● 운동부하

운동 속도와 경사가 조절될 수 있는 rodent animal treadmill에서 지구력 운동을 부하하였다. 10° 경사의 treadmill에서 10m/분 속도로 달리게 하면서 1일 오전 30분, 오후 30분, 2회

/일, 1일 60분간 운동을 7일간 부하하였다. 이러한 운동부하 방법은 선행연구(Choe et al., 1997; Choe, 1998; Choe & Hong, 2001)와 pilot 연구를 통해 근위축 경감 효과가 입증된 방법이다.

● 생리식염수 투여(sham injection)

주사로 인한 스트레스를 동일하게 하기 위하여 생리식염수를 dexamethasone과 동일한 용량, 즉 체중 kg 당 5mg의 용량으로 1일 1회 7일간 대조군에 피하 주사하였다.

측정 방법

● 체중 및 사료섭취량 측정

쥐의 체중 및 사료 섭취량은 매일 동일한 시간인 오전 10시에 rat용 digital balance(Mettler PE 160, USA)를 이용하여 측정하였다.

● 근육 절제 및 무게측정

실험 마지막 날에 pentobarbital sodium을 50-70mg/kg의 용량으로 복강내 주사로 투여하여 마취시킨 후, 양쪽 뒷다리에서 가자미근, 족척근 및 비복근을 절제하여 microbalance (Mettler PE160, USA)에서 근육무게를 측정하였다.

● 근원섬유의 단백질 함량 측정

Choe 등(2004)의 연구에서 제시된 방법에 따라 단백질 정량은 분광광도계(spectrophotometer, UV1601, SHIMADZU, Japan)를 이용하여 Serva Blue G dye가 함유된 Bio-Rad(Bio-Rad Laboratories, USA) 1ml를 Bradford assay 방법으로 분석하였다. 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)을 표준용액으로 이용하여 분광광도계에서 나타난 흡광도(absorbance, A595) 수치($\mu\text{g/ml}$)를 읽어 해당 근육의 단백질 함량(mg/g)을 산출하였다.

● Type I, II 근섬유의 횡단면적 측정

Choe 등(2004)의 연구에서 제시된 방법에 따라 근섬유 형태를 Type I과 Type II로 구분하기 위해 myosin-ATPase (adenosinotriphosphatase) 조직화학을 실시하였다. 이 근육 표본을 광학현미경(BH-2, Olympus, Japan)으로 보아 어둡게 보이는 근섬유는 Type I, 밝게 보이는 근섬유는 Type II로 분류하였다. 근섬유의 단면적은 microscopic image analyzer(LECO 2001 Image Analysis System)를 이용하여 100배의 배율하에 최소한 50개의 근섬유를 측정하여 Type I, II 근섬유의 유형별 횡단면적을 산출하였다.

자료수집절차

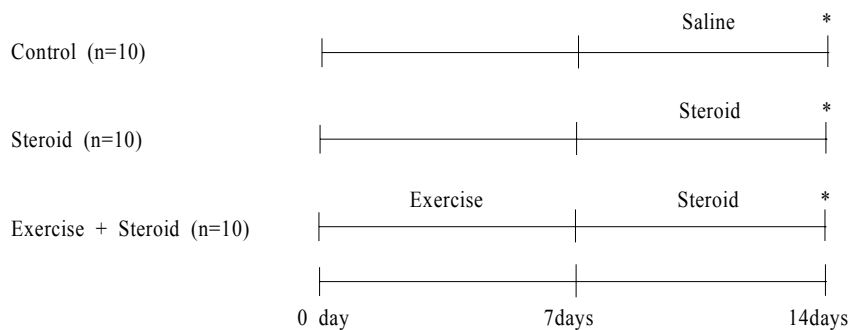
연구기간은 2005년 9월 ~ 2006년 8월까지였으며, 실험에 이용된 쥐들은 동물실에 반입된 후 7일간 실험실 환경에 적응하는 기간을 두었다. 실험기간 중 매일 체중과 사료섭취량을 측정하였고, 실험 마지막 날에 체중을 측정한 후 근육을 절제하였다(Figure 1>).

자료분석

SPSS 11.0 프로그램을 이용하여 분석하였다. 각 군의 실험 시작 시와 근육절제 직전의 체중, 사료섭취량, 근육무게, 근원섬유 단백질 함량, 근섬유 횡단면적은 평균과 표준편차로 나타내었고, 세 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며 사후검정은 Scheffe test를 이용하였다. 실험 시작시와 근육 절제시의 체중 비교는 paired t-test로 검증하였다. 모든 통계적 유의 수준은 $p<.05$ 에서 채택하였다.

연구 결과

체중



* muscle dissection

<Figure 1> Research design

<Table 1> Body weight and total diet intake of control (C), steroid (S), and exercise-steroid (ES) rats

Group	Prewrite (g)	Postweight (g)	t (p)	Total diet intake (g)
C (n=10)	212.74± 4.56	305.29± 7.50	46.218 (.000)*	290.83± 10.47
S (n=10)	214.61± 5.71	180.60± 9.07 [@]	11.917 (.000)*	195.84± 22.17 [@]
ES (n=10)	211.10± 3.73	192.52± 7.33 [#]	11.749 (.000)*	174.11± 12.37 [#]
F (p)	1.369 (.271)	737.786 (.000) [^]		153.247 (.000) [^]

n= number of animals.

* Significantly different between preweight and postweight (p<.05)

[^] Significantly different among 3 groups (p<.05)

[@] Significantly different between C and S group (p<.05)

[#] Significantly different between S and ES group (p<.05)

대조군(C), 스테로이드군(S), 운동스테로이드군(ES)의 실험 시작시 체중(prewrite)과 근육절제 직전의 체중(postweight)은 <Table 1>에서 보는 바와 같다.

실험 시작시의 체중은 세 군간에 유의한 차이가 없었다(F=1.369, df=2, p=.271). C군의 근육절제 직전 체중은 305.29±7.50g으로 실험시작시 체중 212.74±4.56g에 비해 43.5% 증가하였고(t=14.286, p=.000), S군은 근육절제 직전의 체중 180.60±9.07g이 실험시작시 체중 214.61±5.71에 비해 15.9% 유의하게 감소하였다(t=11.917, p=.000). ES군의 실험시작시 체중은 211.10±3.73g이었고 근육절제 직전 체중은 192.52±7.33g으로 나타나 유의한 감소를 나타내었다(t=11.749, p=.000). 근육절제 직전의 체중은 세 군간에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났으며(F=737.786, df=2, p=.000) 사후 분석 결과, S군의 체중이 C군에 비해 유의하게 작았고(p=.000), ES군의 체중이 S군에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났(p=.010).

총 사료섭취량

각 군의 총 사료섭취량은 <Table 1>에 제시된 바와 같다. 대조군(C), 스테로이드군(S), 운동스테로이드군(ES)의 총 사료섭취량은 각각 290.83±10.47g, 195.84±22.17g, 174.11±12.37g으로 세 군간의 차이가 유의한 것으로 나타났다(F=153.247, df=2, p=.000). C군과 S군의 총사료섭취량을 비교한 결과, S군의 총사료섭취량이 C군에 비해 유의하게 작았으며(p=.000) S군과 ES군의 총사료섭취량을 비교한 결과, ES군이 S군의 총사료섭취량에 비해 유의하게 작은 것으로 나타났(p=.018).

Type I, II 근육무게

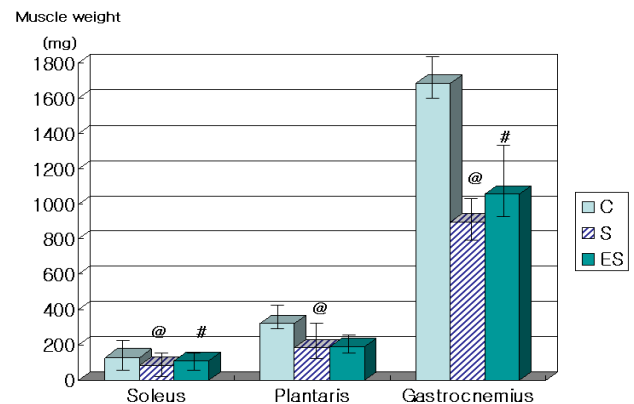
세 군의 근육 무게를 비교한 결과가 <Figure 2>에 제시되어 있다.

가자미근 무게가 세 군간에 유의한 차이가 있었으며(F=27.728, df=2, p=.000), 족척근 무게(F=61.820, df=2, p=.000)와 비복근 무게(F=220.603, df=2, p=.000)도 세 군간에 유의한 차

이가 있는 것으로 나타났다.

사후분석 결과, S군의 가자미근 무게 86.30±14.06mg은 C군의 가자미근 무게 129.70±15.92mg에 비해 유의하게 작았으며(p=.008), S군의 족척근 무게 183.80±37.68mg은 C군의 족척근 무게 324.50±34.70mg에 비해 유의하게 작았고(p=.000), S군의 비복근 무게 898.50±77.68mg은 C군의 비복근 무게 1683.90±70.63mg에 비해 유의하게 작은 것으로 나타났(p=.000).

S군과 ES군의 근육 무게를 비교한 결과, ES군의 가자미근 무게 109.80±7.69mg은 S군의 가자미근 무게 86.30±14.06mg에 비해 유의하게 컸으며(p=.002), ES군의 족척근 무게 191.10±20.48mg은 S군의 족척근 무게 183.80±37.68mg에 비해 큰 경향을 보였으나 통계적으로는 유의하지 않았고(p=.878), ES군의 비복근 무게 1055.40±136.13mg은 S군의 비복근 무게 898.50±77.68mg에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났(p=.043).



[@] Significantly different between C and S group (p<.05)

[#] Significantly different between S and ES group (p<.05)

<Figure 2> Muscle weight of the hindlimb muscles in control(C), steroid(S), and exercise-steroid (ES) rats

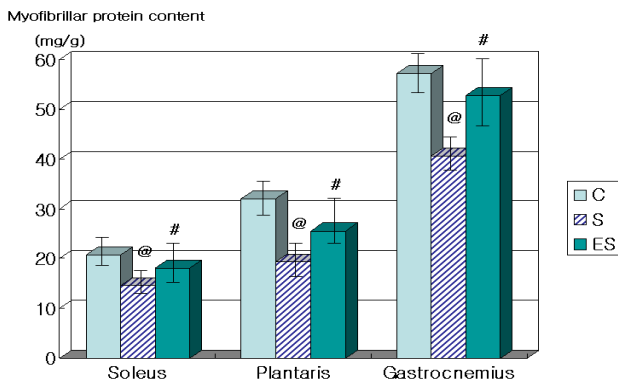
Type I, II 근육의 근원섬유 단백질 함량

세 군의 가자미근, 족척근 및 비복근의 근원섬유 단백질 함

량을 비교한 결과가 <Figure 3>에 요약되어 있다.

가자미근의 근원섬유 단백질 함량은 세 군간에 유의한 차이가 있었으며($F=13.354$, $df=2$, $p=.000$), 족척근 근원섬유 단백질 함량($F=32.802$, $df=2$, $p=.000$)과 비복근 근원섬유 단백질 함량($F=20.469$, $df=2$, $p=.000$)도 세 군간에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

C군과 S군의 근원섬유 단백질 함량을 비교한 결과, S군의 가자미근 근원섬유 단백질 함량 $14.64 \pm 2.04\text{mg}$ 은 C군의 가자미근 근원섬유 단백질 함량 $20.72 \pm 2.75\text{mg}$ 에 비해 유의하게 작았으며($p=.000$), S군의 족척근 근원섬유 단백질 함량 $19.38 \pm 3.49\text{mg}$ 은 C군의 족척근 근원섬유 단백질 함량 $32.05 \pm 3.28\text{mg}$ 에 비해 유의하게 작았고($p=.000$), S군의 비복근 근원섬유 단백질 함량 $40.58 \pm 5.22\text{mg}$ 은 C군의 비복근 근원섬유 단백질 함량 $57.19 \pm 4.40\text{mg}$ 에 비해 유의하게 작은 것으로 나타났다($p=.000$).



@ Significantly different between C and S group ($p<.05$)

Significantly different between S and ES group ($p<.05$)

<Figure 3> Myofibrillar protein content of the hindlimb muscles in control(C), steroid(S), and exercise-steroid (ES) rats

S군과 ES군의 근원섬유 단백질 함량을 비교한 결과, ES군의 가자미근 근원섬유 단백질 함량 $18.17 \pm 4.48\text{mg}$ 은 S군의 가자미근 근원섬유 단백질 함량 $14.64 \pm 2.04\text{mg}$ 에 비해 유의하게 컸으며($p=.015$), ES군의 족척근 근원섬유 단백질 함량 $25.58 \pm 3.69\text{mg}$ 은 S군의 족척근 근원섬유 단백질 함량 $19.38 \pm 3.49\text{mg}$ 에 비해 유의하게 컸고($p=.002$), ES군의 비복근 근원섬유 단백질 함량 $52.82 \pm 7.80\text{mg}$ 은 S군의 비복근 근원섬유 단백질 함량 $40.58 \pm 5.22\text{mg}$ 에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났다($p=.001$).

Type I, II 근섬유 횡단면적

세 군의 가자미근, 족척근 및 비복근의 Type I, II 근섬유 횡단면적을 비교한 결과가 <Table 2>에 제시되어 있다.

● 가자미근

가자미근의 Type I 근섬유 횡단면적은 세 군간에 유의한 차이가 없었으며($F=.614$, $df=2$, $p=.549$), Type II 근섬유 횡단면적은 세 군간에 유의한 차이가 있었다($F=3.534$, $df=2$, $p=.043$). C군과 S군의 가자미근 Type I 근섬유 횡단면적을 비교한 결과, S군의 $4306.0 \pm 901.1 \mu\text{m}^2$ 은 C군의 $4719.6 \pm 861.3 \mu\text{m}^2$ 에 비해 작은 경향을 나타냈으며($p=.587$), 가자미근 Type II 근섬유 횡단면적에서 S군의 $3202.7 \pm 239.3 \mu\text{m}^2$ 은 C군의 $4468.9 \pm 880.4 \mu\text{m}^2$ 에 비해 유의하게 작은 것으로 나타났다($p=.048$). S군과 ES군의 가자미근 Type I 근섬유 횡단면적을 비교한 결과, ES군의 $4641.4 \pm 898.1 \mu\text{m}^2$ 은 S군의 $4306.0 \pm 901.1 \mu\text{m}^2$ 에 비해 큰 경향을 나타냈고($p=.703$), 가자미근 Type II 근섬유 횡단면적에서 ES군의 $4134.1 \pm 875.6 \mu\text{m}^2$ 은 S군의 $3202.7 \pm 239.3 \mu\text{m}^2$ 에 비해 큰 경향을 나타냈다($p=.237$). C군, S군 및 ES군의 가자미근 근섬유 분포가 <Figure 4>에 제시되어 있다.

<Table 2> Cross-sectional area and fiber distribution(%) of the hindlimb muscles in control(C), steroid(S), and exercise-steroid(ES) rats

Group	Soleus(μm^2)		Plantaris(μm^2)		Gastrocnemius(μm^2)	
	Type I	Type II	Type I	Type II	Type I	Type II
C (n=10)	4719.6 ± 861.3 (91.1%)	4468.9 ± 880.4 (8.9%)	2442.1 ± 894.7 (18.5%)	3810.9 ± 705.1 (81.5%)	6302.1 ± 1277.6 (37.0%)	7700.8 ± 1286.6 (63.0%)
S (n=10)	4306.0 ± 901.1 (88.9%)	3202.7 ± 239.3@	1880.1 ± 270.0 (21.2%)	2650.8 ± 637.9@	5738.2 ± 1067.7 (32.5%)	6017.5 ± 703.2@
ES (n=10)	4641.4 ± 898.1 (81.5%)	4134.1 ± 875.6	2197.3 ± 257.4 (14.9%)	3536.5 ± 502.3#	5521.6 ± 947.7 (29.4%)	7069.0 ± 1161.3 (70.6%)
F (p)	.614(.549)	3.534(.043)*	2.534(.098)	3.665(.039)*	1.267(.298)	6.229(.006)*

n= number of animals.

* Significantly different among 3 groups ($p<.05$)

@ Significantly different between C and S group ($p<.05$)

Significantly different between S and ES group ($p<.05$)

● 족척근

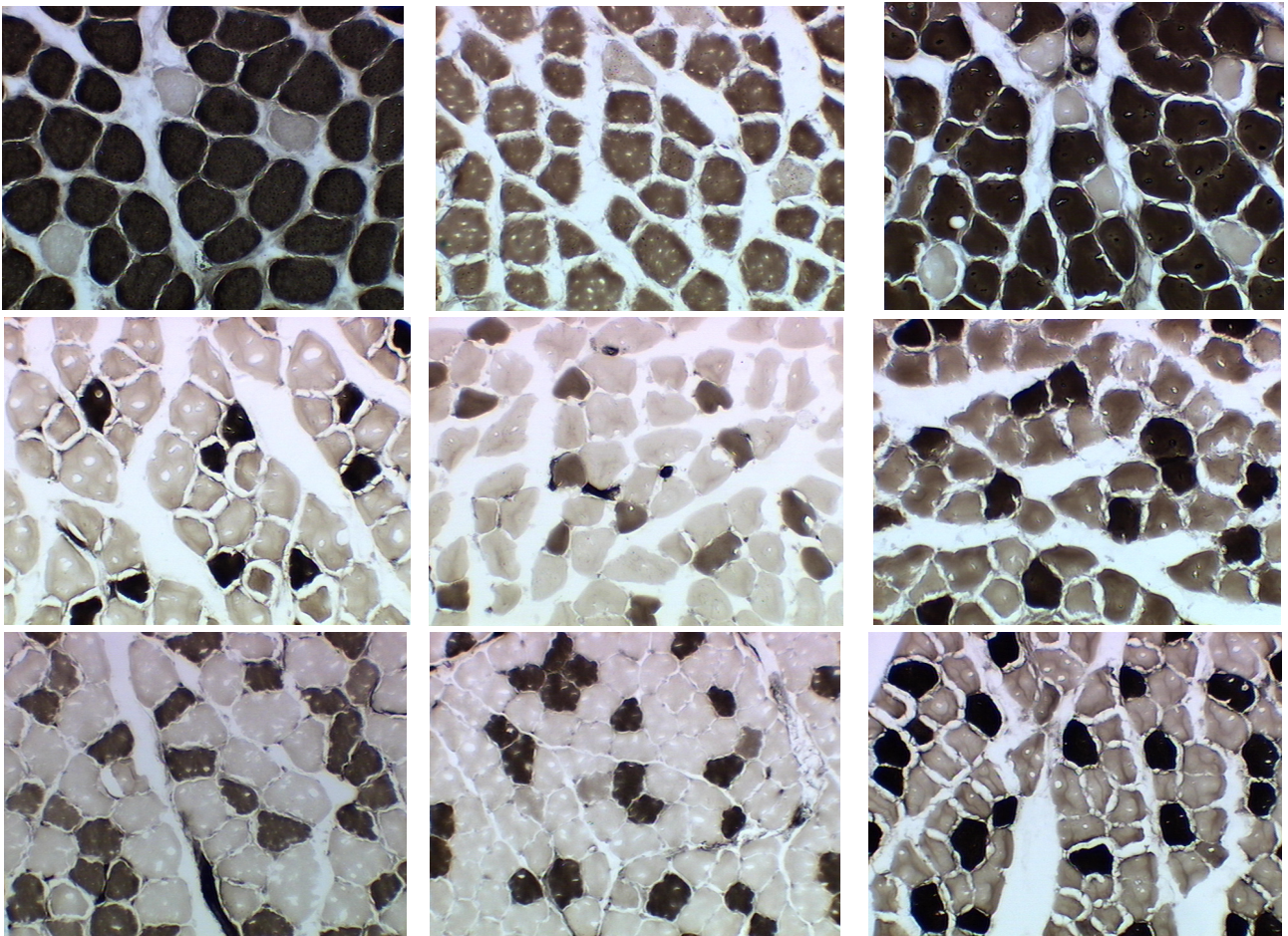
족척근의 Type I 근섬유 횡단면적은 세 군간에 유의한 차이가 없었으나($F=2.534$, $df=2$, $p=.098$) Type II 근섬유 횡단면적은 세 군간에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다($F=3.665$, $df=2$, $p=.039$).

C군과 S군의 족척근 Type I 근섬유 횡단면적을 비교한 결과, S군의 $1880.1 \pm 270.0 \mu m^2$ 은 C군의 $2442.1 \pm 894.7 \mu m^2$ 에 비해 작은 경향을 나타냈으며($p=.099$), 족척근 Type II 근섬유 횡단면적에서 S군의 $2650.8 \pm 637.9 \mu m^2$ 은 C군의 $3810.9 \pm 705.1 \mu m^2$ 에 비해 유의하게 작았다($p=.041$). S군과 ES군의 족척근 Type I 근섬유 횡단면적을 비교한 결과, ES군의 $2197.3 \pm 257.4 \mu m^2$ 은 S군의 $1880.1 \pm 270.0 \mu m^2$ 에 비해 큰 경향을 나타냈으며($p=.458$), 족척근 Type II 근섬유 횡단면적에서 ES군의 $3536.5 \pm 502.3 \mu m^2$ 은 S군의 $2650.8 \pm 637.9 \mu m^2$ 에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났

다($p=.020$). C군, S군 및 ES군의 족척근 근섬유 분포가 <Figure 4>에 제시되어있다.

● 비복근

비복근 Type I 근섬유 횡단면적은 세 군간에 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으며($F=1.267$, $df=2$, $p=.298$), Type II 근섬유 횡단면적은 세 군간에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다($F=6.229$, $df=2$, $p=.006$). C군과 S군의 비복근 Type I 근섬유 횡단면적을 비교한 결과, S군의 $5738.2 \pm 1067.7 \mu m^2$ 은 C군의 $6302.1 \pm 1277.6 \mu m^2$ 에 비해 작은 경향을 나타냈으며($p=.534$), 비복근 Type II 근섬유 횡단면적에서 S군의 $6017.5 \pm 703.2 \mu m^2$ 은 C군의 $7700.8 \pm 1286.6 \mu m^2$ 에 비해 유의하게 작았다($p=.007$). S군과 ES군의 비복근 Type I 근섬유 횡단면적을 비교한 결과, ES군의 $5521.6 \pm 947.8 \mu m^2$ 은 S군의 $5738.2 \pm 1067.7 \mu m^2$



<Figure 4> Cross-section of the soleus, the plantaris and the gastrocnemius muscle in control(left), steroid(middle) and exercise-steroid(right) rats. The first line is soleus muscles in control(left), steroid(middle) and exercise-steroid(right) rats. The second line is plantaris muscles in control(left), steroid(middle) and exercise-steroid(right) rats. The third line is gastrocnemius muscle in control(left), steroid(middle) and exercise-steroid(right) rats. dark=Type I muscle fiber, light=Type II muscle fiber(myosin ATPase staining, 100X)

에 비해 유의한 차이가 없었으며($p=.914$), 비복근 Type II 근 섬유 횡단면적에서 ES군의 $7069.0 \pm 1161.3 \mu m^2$ 는 S군의 $6017.5 \pm 703.2 \mu m^2$ 에 비해 큰 경향을 나타냈다($p=.125$). C군, S군 및 ES군의 비복근 근섬유 분포가 <Figure 4>에 제시되어있다.

논 의

스테로이드 치료가 Type I, II 근육에 미치는 영향

본 연구결과 S군의 가자미근, 족척근 및 비복근의 근육무게와 근원섬유 단백질 함량, Type II 근섬유 횡단면적이 C군에 비해 유의하게 감소한 것으로 나타났다. 이는 7일간의 스테로이드 투여로 근위축이 유발되었음을 제시한다. 이러한 결과는 dexamethasone을 체중kg당 4mg의 용량으로 7일간 투여하여 쥐의 족척근 및 비복근의 무게와 근원섬유 단백질함량이 유의하게 감소하였다는 본 연구자의 선행연구 결과(Choe, 1998)와 일치한다.

Dexamethasone 투여에 의한 glucocorticoid 농도 증가는 단백질 합성 저하와 단백질 분해를 일으켜 골격근이 상실되며 이러한 골격근 상실은 아미노산 유출 증가와 단백질 합성 속도 저하에 의한(Park, Lee, & Kim, 1999)것으로 이해될 수 있다. Glucocorticoid 투여가 골격근에서 포도당 흡수를 억제하여 간접적으로 근육 단백질 분해를 야기시키며, 직접적으로 근육의 리보솜(ribosome) 작용을 저하시켜 단백질 합성을 억제하기 때문(Hickson, Wegrzyn, Osborne, & Karl, 1996)에 근원섬유 단백질 함량이 저하되어 근섬유횡단면적과 근육무게가 감소되는 것으로 설명할 수 있다.

본 연구결과 세근육의 Type II 근섬유 횡단면적이 유의하게 감소한 것으로 나타난 것은 스테로이드 유발성 근위축이 Type II 근섬유인 속근에 주로 발생한다는 선행연구 결과(Lee et al., 2005; Savary et al., 1998; Lapier, 1997; Decramer, Laquret, Fafud, & Rogiers, 1994; Faulduto, Young, & Hickson, 1992)와 부합한다. 이러한 결과는 glucocorticoid 투여 동물의 족척근에서 근육 단백질 중 가장 많은 부분을 차지하는 마이오신(myosin)의 중쇄(heavy chain) 합성속도가 감소된다(Seene & Alev, 1985)는 연구보고를 토대로 스테로이드로 유발되는 근위축은 Type II 근섬유에 영향을 많이 준다는 사실을 확인시켜주고 있다.

본 연구결과 세 근육에서 Type I 근섬유 횡단면적은 감소하는 경향을 나타낸 반면 Type II 근섬유 횡단면적은 유의하게 감소한 것으로 나타나 glucocorticoid가 해당작용(glycolysis)을 이용하는 근육에서 뚜렷한 단백질 합성 감소를 보여 선택적인 영향을 준다는 선행 연구들(Ma et al., 2003; Savary et al., 1998)의 보고와도 일치하고 있다. 또한 glucocorticoid로 유

발되는 근위축이 주로 속근 섬유에서 뚜렷하게 나타나는 원 인증의 하나가 속근으로 이루어진 근육에 골격근에서 근육세포의 증식과 단백질 합성을 방해하는 조절자(regulator)의 역할을 하는 것으로 알려져 있는 myostatin이 많기 때문이다(Ma et al., 2003)라는 연구보고를 토대로 본 연구 결과에서도 속근 섬유인 Type II 근섬유 횡단면적의 현저한 감소를 볼 수 있었다고 생각한다.

본 연구에서 S군의 사료섭취량이 C군에 비해 유의하게 작은 결과를 토대로 S군의 사료섭취량이 매우 감소된 상태에서 신체의 열량요구량을 충족시키기 위해 단백질 저장고인 골격근에서 단백질 이화작용이 나타난 것(Kasper, McNulty, Otto, & Thomas, 1993)도 골격근 상실에 기여했을 것으로 가정할 수 있다. 이러한 가정을 뒷받침하는 것은 스테로이드 투여로 Type II 근육이 선택적으로 영향을 받는다고 알려진 것과는 다르게 본 연구결과 Type I 근육인 가자미근에도 근위축이 유의하게 초래된 것이라고 할 수 있다. 본 연구에서 사료섭취량 변화를 관찰한 결과, S군은 실험 11일째(스테로이드 투여 4일째)에 유의하게 사료섭취량이 감소되었으며 ES군은 실험 9일째(스테로이드 투여 2일째)부터 사료섭취량이 7.65g/day로 감소되어 10일째에는 4.17g/day으로 감소되었다. 이러한 결과가 나타난 원인은 Caldefie-Chezet 등(2001)의 연구에서 보고된 바와 같이 dexamethasone 투여로 렙틴이 증가되고 렙틴 증가로 인해 식욕저하가 유발되므로 S군의 사료섭취량이 저하된 것으로 설명할 수 있다.

본 연구결과와 논의를 토대로 7일간의 스테로이드 치료로 쥐의 Type I, II 뒷다리근에 위축이 초래되었음을 제시한다.

스테로이드 치료 전 운동이 Type I, II 근육에 미치는 영향

본 연구 결과 스테로이드 치료 전 7일간의 운동이 스테로이드 치료에 의한 가자미근과 비복근의 근육무게와 근원섬유 단백질 함량의 감소를 경감시켰고 족척근의 Type II 근섬유의 횡단면적 감소를 경감시킨 것으로 나타났다. 이러한 결과는 운동에 의해 근육이 비후(hypertrophy)된 상태에서 스테로이드를 투여하였으므로 스테로이드 치료에 의해 유발되는 근위축이 경감된 것으로 설명된다.

스테로이드 유발성 근위축을 경감시키기 위한 선행 연구에서는 스테로이드 투여기간 중에 1일 3회 10m/분 속도로 10° 경사의 treadmill에서 20분/회, 10일에 걸쳐 운동을 부하시킨 결과 dexamethasone 투여에 의해 유발된 쥐의 가자미근, 족척근 및 비복근의 근육무게 감소를 경감시킬 수 있다고 보고한 바 있다(Choe & Hong, 2001; Choe, 1998, Choe et al., 1997). Ahtikoski 등(2004)은 dexamethasone 치료기간 중 20m/min 속

도로 treadmill에서 운동시간을 15분에서 최대 45분까지 증가시키면서 10일간 운동시킨 결과 근위축을 막았다고 보고하였다. 또한 스테로이드 치료가 끝난 회복기에 운동을 부하시킨 결과 근위축의 회복이 촉진되었다고 보고하였다(Choe et al., 2002 a, b). 이와 같은 본 연구결과와 선행연구 결과는 운동을 부하시킴으로써 체중부하와 근수축이 일어나며 이러한 기계적 활동이 골격근 수축성 단백질의 유지 및 재생을 증진시킴으로써(Horber, Hoppeler, Scheidegger, Grunig, & Frey, 1987) 스테로이드 투여에 의한 근위축을 경감시킬 수 있음을 제시하고 있다. 수의적으로 wheel-running activity를 수행한 쥐의 가자미근 단백질 함량과 단백질합성이 운동하지 않은 쥐에 비해 증가되었다는 연구결과(Munoz, Aannestad, Tischler, & Henriksen, 1994)도 근육활동 증가가 근위축을 경감시킬 수 있다는 근거를 제시한다.

Czerwinski 등(1989)은 glucocorticoid를 투여하는 쥐에서 29m/min 속도의 트레드밀에서 90분/일, 11일간 운동을 부하시켜 족척근에서 근 소실이 30% 감소되었다고 하였으며 Falduto 등(1992)은 이러한 결과를 운동 부하가 스테로이드 투여 기간 중에 유발되는 마이오신 중쇄 분해를 감소시키는 것으로 설명하였다.

그러나 본 연구에서는 스테로이드를 투여하기 전에 트레드밀 운동을 부하시켜 스테로이드에 의한 영향을 받지 않는 상태에서 운동을 실시하였기 때문에 선행연구에서 나타난 바와 같이 스테로이드로 인한 마이오신 중쇄 분해 감소와는 관련이 적을 것으로 생각된다.

운동을 부하시켰을 때 androgen 수용체가 40~80% 증가하여 근육비대가 나타나며 증가된 androgen은 glucocorticoid가 근육의 수용체와 결합하는 것을 방해하고 직접적으로 생리적인 항이화작용을 나타냄으로써 glucocorticoid가 근육 이화작용을 하지 못하도록 한다는 Kurowski 등(1984)의 연구결과를 토대로 본 연구에서 스테로이드 치료 전 미리 운동을 했을 때 하지 Type I, II 근위축이 경감된 결과는 androgen 수용체가 증가하여 근육에서 glucocorticoid가 수용체에 결합하지 못하도록 방지하였기 때문이라고 해석할 수 있다. 즉, 본 연구에서 실시한 운동이 androgen 수용체 수가 증가하여 골격근의 동화작용이 증가되고 이화작용이 억제되는 효과를 가져 온 것으로 생각할 수 있다.

본 연구결과 ES군의 사료섭취량이 S군보다 11.1% 적었음에도 불구하고 ES군에서 스테로이드 투여에 의한 근위축 경감이 나타난 것은 식이섭취량에 의한 영향보다는 운동에 의한 영향임을 나타낸다. 이는 스테로이드 치료에 의해 유발되는 근위축 예방에 운동이 중요하다는 근거를 제시하고 있다.

본 연구결과 족척근의 Type II 근섬유의 횡단면적 감소가 경감된 것은 본 연구자의 선행 연구결과(Choe et al., 1994,

1995, 2004)와 Graham, Roy, Hauschka와 Edgerton(1989)의 연구결과에 부합되며 이와 같은 연구결과는 저장도의 운동이 크고 흥분성이 낮은 운동뉴런에 의해 지배되는 근섬유에 영향을 미친다는 것을 제시한다.

본 연구결과와 논의를 토대로 스테로이드 치료 전 운동이 스테로이드 투여에 의해 유발된 Type I, II 근위축을 경감시킬 수 있음을 제시한다.

결론

본 연구는 스테로이드 치료 전에 규칙적인 트레드밀 운동을 7일간 부하시킨 후 스테로이드 치료에 의해 유발된 쥐의 위축 Type I, II 뒷다리근육에 미치는 영향을 규명하기 위하여 2005년 9월 ~ 2006년 8월까지 시행되었다. 200-220g의 Sprague-Dawley rat 30마리를 세 군으로 무작위 할당하여 C군, S군, ES군으로 나누고 C군은 7일간의 정상활동 후 7일간 생리식염수를 주사하였으며 S군은 7일간의 정상활동 후 7일간 dexamethasone을 5mg/kg/day 용량으로 투여하였다. ES군은 7일간 운동을 시킨 후 7일간 dexamethasone을 투여하였다. 운동은 10° 경사로 놓여진 treadmill에서 10m/분 속도로 1일 오전 30분, 오후 30분, 2회/일 매일 시행되었으며 실험기간 중 체중과 사료섭취량을 매일 측정하였다. 실험 마지막 날에 가자미근, 족척근 및 비복근을 절제하여 근육무게를 측정하였고 절제된 세 근육의 근원섬유단백질함량과 Type I, II 횡단면적을 측정하였다.

각 군의 체중 및 사료섭취량, 근육무게, Type I, Type II 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 함량의 자료분석은 SPSS 11.0 프로그램을 이용하여 세 군의 차이는 ANOVA test로 검정하였으며 Scheffe 사후분석을 이용하였고, 실험시작시와 근육절제 직전의 체중을 비교하기 위해 paired t-test를 이용하였다. 통계적 유의수준은 $p < 0.05$ 로 채택하였다.

본 연구의 결과는 다음과 같다.

- 실험시작시와 근육절제 직전의 체중은 C군은 유의하게 증가하였으나 S군과 ES군은 유의하게 감소하였다. S군은 C군에 비해 근육절제 직전의 체중이 유의하게 작았으며, ES군의 근육절제 직전체중은 S군에 비해 유의하게 큰 것으로 나타났다. 총 사료섭취량은 C군에 비해 S군과 ES군이 유의하게 작았으며, ES군은 S군에 비해 유의하게 작은 것으로 나타났다.
- S군은 C군에 비해 가자미근, 족척근 및 비복근의 근육무게, 근원섬유 단백질 함량, Type II 근섬유 횡단면적이 유의하게 작았다.
- ES군은 S군에 비해 가자미근, 비복근의 근육무게, 가자미근, 족척근 및 비복근의 근원섬유 단백질 함량, 족척근의 Type

II 근섬유 횡단면적이 유의하게 큰 것으로 나타났다.

이와 같은 연구결과는 7일간의 dexamethasone 투여로 TypeI, II 근육에 위축이 유발될 수 있으며, 스테로이드 치료 전에 7일간 운동을 실시하여 스테로이드 치료로 유발된 Type I, II 근위축을 경감시킬수 있음을 제시하였다.

이상의 연구결과를 토대로 다음과 같이 제언하고자 한다.

첫째, 본 연구에서는 고용량의 스테로이드를 단기간 투여하여 근위축이 유발됨을 규명하였으나 추후 연구에서는 적은 용량의 스테로이드를 4주 이상 적용하여 스테로이드의 장기적인 투여로 인한 근위축 발생과 중재방법의 효과에 대해 연구를 시도할 필요가 있다.

둘째, 스테로이드 유발성 근위축이 예상되는 상황에서 운동 중재 외에 DHEA, 성장 호르몬 등의 다른 중재를 스테로이드 치료 전에 적용하여 근위축이 예방되는지를 확인하는 연구가 필요하다.

간호학적 적용

본 연구결과는 스테로이드 치료를 받는 환자들에게 스테로이드 치료를 받기 전에 미리 운동을 해야 하는 과학적인 근거를 제시하고 있으므로 임상실무에서 스테로이드를 치료적으로 투여해야 할 환자들의 간호중재에 적용할 수 있을 것으로 본다.

References

- Ahtikoski, A. M., Riso, E. M., Koskinen, S. O., Risteli, J., & Takala, T. E. (2004). Regulation of type IV collagen gene expression and degradation in fast and slow muscles during dexamethasone treatment and exercise. *Pflugers Arch*, 448(1), 123-130.
- Caldefie-Chezet, F., Moinard, C., Minet-Quinard, R., Gachon, F., Cynober, L., & Vasson, M. (2001). Dexamethasone treatment induces long-lasting hyperleptinemia and anorexia in old rats. *Metab*, 50(9), 1054-1058.
- Choe, M. A., Choi, J. A., & Shin, G. S. (1997). Effect of regular exercise during dexamethasone injection on the body weight, weight of hindlimb muscle and adrenal gland in young rats. *J Korean Acad Nurs*, 27(3), 510-519.
- Choe, M. A. (1998). Effect of endurance exercise during dexamethasone treatment on the attenuation of atrophied hindlimb muscle induced by dexamethasone in rats. *J Korean Acad Nurs*, 28(4), 893-907.
- Choe, M. A., & Hong, H. S. (2001). Effect of a regular exercise during steroid treatment on the type II muscles of rats. *Korean J Sports Med*, 19(1), 138-147.
- Choe, M. A., Shin, G. S., An, G. J., Choi, J. A., & Lee, Y. K. (2002 a). Effect of regular exercise during recovery period following steroid treatment on the atrophied type II muscles induced by steroid in young rats. *J Korean Acad Nurs*, 32(4), 550-559.
- Choe, M. A., Byun, Y. S., Hwang, A. R., Kim, H. S., Hong, H. S., Choi, S. M., Seo, W. S., Lee, K. S., Park, M. J., Shin, G. S., An, G. J., Lee, Y. K., & Im, J. H. (2002 b). Effect of regular exercise during recovery period following steroid treatment on the atrophied hindlimb muscles induced by steroid in rats. *J Korean Biol Nurs Sci*, 4(1), 85-99.
- Choe, M. A., An, G. J., Lee, Y. K., Im, J. H., S. Choi-Kwon, & Heitkemper, M. (2004). Effect of inactivity and undernutrition after acute ischemic stroke in a rat hindlimb muscle model. *Nurs Res*, 53(5), 283-292.
- Czerwinski, S. M., Zak, R., Kurowski, T. T., Falduto, M. T., & Hickson, R. C. (1989). Myosin heavy chain turnover and glucocorticoid deterrence by exercise in muscle. *J Appl Physiol*, 67(6), 2311-2315.
- Decramer, M., Laquret, L. M., Fafud, R., & Rogiers, R. (1994). Corticosteroid contribute to muscle weakness in chronic airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med*, 150(1), 11-16.
- Falduto, M. T., Young, A. P., & Hickson, R. C. (1992). Exercise inhibits glucocorticoid-induced glutamine synthetase expression in red skeletal muscles. *Am J Physiol*, 262(1 pt 1), C214-220.
- Graham, S. C., Roy, R. R., Hauschka, E. O., & Edgerton, V. R. (1989). Effect of periodic weight support on medial gastrocnemius fibers of suspended rats. *J Appl Physiol*, 67(3), 945-953.
- Hanson, P., Dive, A., Brucher, J. M., Bisteau, M., Dangoisse, M., & Deltombe, T. (1997). Acute corticosteroid myopathy in intensive care patients. *Muscle Nerve*, 20, 1271-1280.
- Hickson, R. C., Wegrzyn, L. E., Osborne, D. F., & Karl, I. E. (1996). Glutamine interferes with glucocorticoid-induced expression of glutamine synthetase in skeletal muscle. *Am J Physiol*, 270(5 Pt 1), E912-917.
- Horber, F. F., Hoppeler, H., Scheidegger, J. R., Grunig, B. E., & Frey, F. J. (1987). Impact of physical-training on the ultrastructure of midthigh muscle in normal subjects and in patients treated with glucocorticoids. *J Clin Invest*, 79, 1181-1190.
- Kasper, C. E., McNulty, A. L., Otto, A. J., & Thomas, D. P. (1993). Alterations in skeletal muscle related to impaired physical mobility: an empirical model. *Res Nurs Health*, 16(4), 265-273.
- Kurowski, T. T., Chatterton, R. T. Jr, & Hickson, R. C. (1984). Countereffects of compensatory overload and glucocorticoids in skeletal muscle: androgen and glucocorticoid cytosol receptor binding. *J Steroid Biochem*, 21(2), 137-145.
- Lapier, T. K. (1997). Glucocorticoid-induced muscle atrophy:

- The role of exercise in treatment and prevention. *J Cardiopulm Rehab*, 17(2), 76-84.
- Lee, M. C., Wee, G. R., & Kim, J. H. (2005). Apoptosis of skeletal muscle on steroid-induced myopathy in rats. *J Nutr*, 135, 1806S-1808S.
- Ma, K., Mallidis, C., Bhasin, S., Mahabadi, V., Artaza, J., Gonzalez-Cadavid, N., Arias, J., & Salehian, B. (2003). Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with upregulation of myostatin gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 285, E363-E371.
- Martini, F. H., Ober, W. C., Garrison, C. W., Welch, K., & Hutchings, R. T. (2001). *Fundamentals of anatomy & physiology*, New Jersey; Prentice Hall.
- Munoz, K. A., Aannestad, A., Tischler, M. E., & Henriksen, E. J. (1994). Skeletal muscle protein content and synthesis after voluntary running and subsequent unweighting. *Metabolism*, 43(8), 994-999.
- Park, S. J., Lee, M. C., & Kim, S. J. (1999). Effect of physical exercise on experimental steroid-induced myopathy. *J Kor Neural Ass*, 17, 694-701.
- Savary, I., Debras, E., Dardevet, D., Sornet, C., Capitan, P., Prugnaud, J., Mirand, P. P., & Grizard, J. (1998). Effect of glucocorticoid excess on skeletal muscle and heart protein synthesis in adult and old rats. *Br J Nutr*, 79, 297-304.
- Seene, T., & Alev, K. (1985). Effect of glucocorticoids on the turnover rate of actin and myosin heavy and light chains on different types of skeletal muscle fibers. *J Steroid Biochem*, 22, 767-771.
- Touno, M., Senda, M., Nakago, K., Yokoyama, Y., & Inoue, H. (1996). Muscle fiber changes of the vastus medialis in rheumatoid patients. *Acta Med Okayama*, 50(3), 157-164.

Effects of Exercise before Steroid Treatment on Type I and Type II Hindlimb Muscles in a Rat Model*

Choe, Myoung-Ae¹⁾ · An, Gyeong Ju²⁾

1) Professor, College of Nursing, Seoul National University

2) Assistant Professor, Department of Nursing, Catholic University of Daegu

Purpose: The purpose of this study was to examine the effects of daily exercise before steroid treatment on mass, the type I and II fiber cross-sectional area, and myofibrillar protein content of hindlimb muscles in a rat model. **Method:** Adult male Sprague-Dawley rats were randomly assigned to one of three groups: a control group(n=10) that had a normal saline injection for 7days, a steroid group(n=10) that had a steroid injection for 7days, and an exercise-steroid group(n=10) that ran on the treadmill for 7days before a steroid treatment. Body weight and food intake were measured every day. At 15 days all rats were anesthetized and the soleus, plantaris and gastrocnemius muscles were dissected. **Result:** The exercise-steroid group showed significant increases as compared with the steroid group in body weight, muscle weight of the soleus and gastrocnemius, type II muscle fiber cross-sectional area of plantaris, and myofibrillar protein content of the soleus, plantaris, and gastrocnemius. As compared with the control group, the steroid group showed significant decreases in body weight and diet intake, muscle weight, the type II fiber cross-sectional area and myofibrillar protein content of the soleus, plantaris, and gastrocnemius muscles. **Conclusion:** Daily exercise before steroid treatment attenuates hindlimb muscle atrophy, with type II muscle changes more apparent than type I muscle changes.

Key words : Steroid, Exercise, Muscular atrophy, Type I and II fiber cross-sectional area, Myofibrillar protein content

* This research was supported by the Korean Research Foundation Grant

• Address reprint requests to : Choe, Myoung-Ae

College of Nursing, Seoul National University

28, Yeongon-dong, Jongro-Gu, Seoul 110-744, Korea

Tel: 82-2-740-8824 Fax: 82-2-766-1852 E-mail: machoe@snu.ac.kr