



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이학석사 학위논문

골격근 재생에서  
세포소기관 기능변화 연구

Study on cellular organelle functional  
changes in skeletal muscle regeneration

울 산 대 학 교 대 학 원

생 명 과 학 과

현 승 화

골격근 재생에서  
세포소기관 기능변화 연구

指導教授 백승훈

이 論文을 理學碩士學位 論文으로 제출함

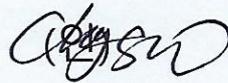
2024年 2月

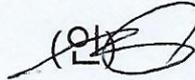
蔚山大學校 大學院

生命科學科

玄承和

玄承和의 理學碩士學位論文을 認准함

審査委員 長 정수월 

審査委員 권혁남 

審査委員 백승훈 

蔚山大學校 大學院

2024年 2月

## 국 문 요 약

신체에서 가장 풍부한 조직인 골격근은 노화, 암 cachexia, 신체 활동 부족 등으로 인해 근감소가 발생할 수 있다. 현재로서 근감소를 치료하기 위한 방법으로는 단백질 섭취와 운동이 유일한데, 신체 거동이 불편한 경우 이러한 치료방법은 현실적으로 어려움이 있다. 이렇게 근감소가 발생하게 되면 사망률, 골절 등의 위험을 증가시키기 때문에 치료법 개발이 필요하다. 근육 세포에 존재하는 미토콘드리아, 근소포체, 오토파지는 골격근 항상성과 관여되어 있다는 연구 결과들이 존재한다. 본 연구에서는 skin stapler 를 사용하여 마우스의 다리 한쪽을 고정시킨 후 근감소를 유도하고 stapler 를 제거함에 따라 골격근 회복을 유도하는 마우스 모델을 확립하였다. 그 결과 골격근 감소와 분화 마커가 고정 7 일째에 증가하였다가 제거 후 감소되는 것을 관찰하였으며, myosin heavy chain (MyHC) isoform 의 발현은 고정 7 일째에 감소하였다가 제거 후 다시 증가하는 것을 관찰하였다. 이것을 통해 skin stapler 의 고정으로 근감소가 발생하고 다시 회복되는 것을 확인하였다. 소포체 스트레스 (ER stress), 오토파지와 관련된 유전자들은 고정 7 일째에 증가하였다가 skin stapler 를 제거함에 따라 다시 감소하는 것을 확인하였다. 또한 미토콘드리아 전자전달계 관련된 유전자들은 근감소가 발생함에 따라 감소하였다가 회복시 다시 증가되는 것을 보였으며 반면, 미토콘드리아 biogenesis 관련 유전자들은 그와 반대되는 결과를 확인하였다. 이러한 결과로부터 소포체, 오토파지, 그리고 미토콘드리아와 같은 세포소기관 기능이 골격근 감소와 회복에 중요한 역할을 할 것으로 추정한다. 따라서 이러한 세포소기관들이 어떤 메커니즘으로 골격근 degeneration 과 regeneration 에 관여하는지에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

# 목 차

국문요약

목차

I. 서론 .....	4
II. 실험재료 및 방법 .....	6
1. 시약 .....	6
2. Mouse experiment .....	6
3. 조직에서 RNA 추출 및 qRT-PCR (quantitative real-time PCR) .....	6
4. 조직에서 단백질 정량 및 Western blot .....	7
5. Immunofluorescence 및 Cross section area 분석 .....	7
6. Hematoxylin and Eosin (H&E) staining .....	8
7. 통계처리 .....	8
Table 1 .....	9
Table 2 .....	10

<b>Ⅲ. 결과</b> .....	12
1. An immobilization procedure to induce skeletal muscle atrophy .....	12
2. Stapled immobilization induces muscle atrophy and activation of satellite cell .....	14
3. Muscle regeneration of immobilized muscles following staple removal .....	16
4. mRNA levels of genes related to cellular organelles upon remobilization .....	19
5. Expression changes of proteins related to cellular organelles upon remobilization .....	21
<b>Ⅳ. 고찰</b> .....	24
<b>Ⅴ. 참고문헌</b> .....	27
<b>영문요약</b> .....	30

## I. 서론

골격근은 인체에서 가장 풍부한 조직으로 대사 항상성, 에너지 소비 및 신체 활동에 필요하다. 골격근은 노화, 암, 만성 질환, 신체 활동 부족 등에 의해 골격근 감소가 발생할 수 있다 [11, 15, 16]. 근감소증은 근육량과 섬유 단면적의 약화, 수축, 감소를 특징으로 한다. 이것은 힘 생산의 감소됨에 따라 운동 능력이 감소하여 삶의 질이 저하될 뿐만 아니라 사망률 및 골절, 당뇨병, 고혈압 등의 각종 질환의 위험을 증가시킨다 [1, 20]. 이러한 근감소를 완화시키기 위해서 가장 흔한 치료 방법은 고단백 식이나 운동이지만 노화나 거동이 불편한 경우 비실현적이다. 현재까지 근감소의 분자 메커니즘에 대한 불완전한 이해로 인해 효과적인 치료법이 개발되지 않았으므로 근감소에 대한 새로운 치료법을 개발하는 것이 중요하다 [2].

골격근 세포는 세포질이 미토콘드리아와 소포체로 둘러싸인 수축성 단백질로 구성되어 있다. 다른 세포 유형과는 달리 수축성 단백질과 세포소기관이 빈 공간 없이 붙어있기 때문에 이러한 구조는 소기관이 근섬유 크기와 기능에 큰 영향을 미친다는 것을 의미한다 [3]. 미토콘드리아는 세포에서 ATP 를 생산하는 세포소기관으로 에너지를 생산하는 것 외에도 근육 수축에 사용되는 칼슘 항상성 유지에도 역할을 하는데 미토콘드리아 칼슘 유니포터의 과발현은 Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1a4 (PGC1a4) 발현 증가를 통해 골격근의 증가를 유도한다 [4]. 또한 장기간의 근육 미사용, 노화, 약물 치료 등으로 인해 발생하는 미토콘드리아 dysfunction 은 근감소를 일으키기도 한다 [12, 19]. 그 예로 호흡 능력의 감소로 ATP 생산이 감소되면 AMP-activated protein kinase (AMPK)가 활성화되어 세포 성장에 관여하는 mTOR 를 억제 시키거나 ROS 증가로 인한 주요 단백질 분해 경로의 활성화와 미토콘드리아 proapoptotic cytochrome C 의 방출을 통한 caspase-3 를 활성화시켜 근육 세포 사멸을 매개하게 한다 [5].

골격근에는 근소포체 (Sarcoplasmic Reticulum) 이라고 하는 골격근 특이적인 소포체가 존재하며 이것은 단백질, 칼슘 항상성에 중요한 역할을 한다 [13, 17]. 소포체 내강에 잘못 접히고 펼쳐진 단백질이 축적되면 소포체 스트레스(ER stress)가 유도된다. 이러한 소포체 스트레스에 의해 활성화된 protein kinase R (PKR)-like ER kinase (PERK), inositol-requiring enzyme (IRE1), activating transcription factor 6 (ATF6)는 소포체 단백질의 항상성을 유지시키는 전사 인자 로서의 역할을 한다 [6]. 최근 연구에 따르면 PERK-eukaryotic translation initiation factor 2 $\alpha$  (eIF2 $\alpha$ ) 인산화가

노화에 의해 활성화되어 근육 항상성에 영향을 미친다는 결과가 존재하며 ATF6  $\alpha$  제거 마우스에서 운동기능이 감소한다는 연구결과가 존재한다 [7,8].

오토파지 (autophagy)는 세포질 성분, 단백질, 손상된 세포소기관등을 분해하는 분해 및 세포 구조의조절자로서 기능한다. 오토파지 생성 과정에 관여하는 autophagy related 5 (Atg5), autophagy related 7 (Atg7), beclin1 의 결핍은 근육 손상 후 오토파지의 약화를 유도하여 근육 재생을 손상시킨다는 연구 결과가 존재한다 [9, 18]. 그러나 근감소증 모델에서 과활성화된 오토파지는 오히려 골격근 유지에 필요한 단백질의 과도한 분해를 초래하여 근감소증을 유발한다 [10, 14].

따라서 본 연구에서는 근소포체, 미토콘드리아, 오토파지와 같은 세포소기관의 기능이 골격근 항상성 유지에 중요한 역할을 한다는 연구 결과들을 바탕으로 근감소 모델을 이용하여 세포소기관 기능변화를 탐구하고 골격근 항상성 유지 방법을 제시하고자 한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 시약

본 실험에서 Western Blot 및 Immunofluorescence 에 사용된 1<sup>st</sup> antibody 는 Table 1 에 표시하였다. Western Blot 에 사용한 2<sup>nd</sup> antibody 는 HRP-conjugated anti-mouse (Jackson ImmunoResearch, 115-036-146) 또는 anti-rabbit antibody (Jackson ImmunoResearch, 111-035-003)를 사용하였고, Immunofluorescence 에 사용한 2<sup>nd</sup> antibody 는 Alexa Flour 594-conjugated anti-rabbit antibody (Jackson ImmunoReserch, 711-586-152)를 사용하였다.

### 2. Mouse experiment

모든 동물의 관리 및 절차는 University of Ulsan Animal Care and Use Committee (UOUACUC)의 승인(SHB-22-010)을 받은 대로 이루어졌다. C57BL/6 마우스는 하나상사로부터 공급받았으며 12 시간 주기의 빛 및 어두운 환경에서 길렀다. 근감소증을 유도하기 위해 12 주령 수컷 마우스 5 마리의 한쪽다리를 APPOSE ULC 35 WIDE SKIN STAPLER (Covidien)를 이용하여 7 일동안 고정하였다. 7 일 후 고정한 stapler 를 제거하고 14 일과 28 일 후에 근육을 분리하여 액체질소에서 급속 냉동 시킨 후 -80°C에 보관하였다. 그 후 근조직, 단백질, 또는 RNA 변화를 관찰하기 위하여 사용하였다.

### 3. 조직에서 RNA 추출 및 qRT-PCR (quantitative real-time PCR)

마우스 Gastrocnemius 를 QIAzol Lysis reagent (QIAZEN ,79306)를 사용하여 RNA 를 분리하였다. 분리한 RNA 는 High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (ABS , 4368814)를 사용하여 cDNA 를 합성하고, TOPreal qPCR 2X PreMIX (Enzynomics ,RT501M)를 사용하여 qRT-PCR 을 StepOnePlus Real Time system (Applied Biosystems, 4376592)으로 진행하였다. 대조군으로 사용한 housekeeping gene 은  $\beta$ -actin 이고, 사용한 primer 서열은 Table 2 에 작성하였다

#### 4. 조직에서 단백질 정량 및 Western blot

각 조건 별 마우스의 Gastrocnemius 를 RIPA lysis buffer 에 넣고 homogenizer 를 사용하여 완전히 분해시킨다. 이후, 12,000rpm 으로 15 분 동안 4°C에서 원심분리 하여 상층액을 BCA assay 에 사용하였다. BCA protein assay reagent (Thermo, 23228/23224)를 이용하여 단백질을 정량 한 후, 동량의 단백질 (45 µg)을 6~12% SDS-PAGE 로 90V 에서 2 시간동안 전기영동 하였고, Nitrocellulose membrane (Amersham, 10600001) 과 PVDF membrane (Amersham, 10600023 )에 50V 에서 2 시간동안 Transfer 하였다. 항체의 비특이적 결합을 막기 위해서 blocking buffer 를 1~5% Skim milk TBS-T 와 1~5% BSA TBS-T 를 사용하였고, 상온에서 1 시간 동안 교반 하였다. 1<sup>st</sup> antibody 를 1~5% Skim milk TBS-T 혹은 1~5% BSA TBS-T solution 에 희석시켜 4°C에서 하룻밤 동안 둔 뒤 15 분씩 3 회 TBS-T 로 세척하였다. 2<sup>nd</sup> antibody 는 1~5% Skim milk TBS-T 혹은 1~5% BSA TBS-T solution 에 희석시켜 상온에서 2시간 반응시켰다. 반응 후 15분씩 3회 TBS-T로 세척한 후 membrane 을 SuperSignal West Pico Chemiluminescent (Thermo, 34580)을 사용하여 Chemidoc 으로 단백질 신호를 확인했다.

#### 5. Immunofluorescence 및 Cross section area 분석

마우스 TA 조직을 13µm 의 두께로 Frozen section 후 -20°C에 보관하였다. 조직 슬라이드를 상온에서 5 분동안 건조시킨 후, -20°C에서 acetone 으로 10 분동안 fixation 하였다. 상온에서 10 분동안 acetone 을 모두 날린 후, PBS 에서 5 분씩 3 회, TDW 에서 5 분씩 3 회 세척하였다. 10mM Na citrate + 0.05% TW20 용액에서 antigen retrieval 시킨 후 TDW 로 3 번 세척하였다. 비특이적 결합을 막기 위한 blocking 으로 M.O.M (Mouse on Mouse) Blocking Reagent (Vector, MKB-2213-1)를 사용하여 1 시간동안 상온에서 반응시켰다. 그 후 1 차 항체를 2% BSA-PBS-T 에 희석시킨 후 4°C에서 하루밤동안 반응 시킨 후 2% BSA-PBS-T 로 5 분씩 3 회 세척하였다. 2 차 항체를 2% BSA-PBS-T 에 희석시켜 상온에서 1 시간 동안 반응시킨다. 2% BSA-PBS-T 로 5 분씩 2 번 세척 후 ProLong Gold antifade reagent (Invitrogen, P36930)을 이용하여 고정시킨다. Confocal laser microscopy (FV1200-OSR microscope)을 사용하여 관찰하였다. 근섬유의 단면적 크기 측정은 Myovision 소프트웨어 (University of Kentucky)를 사용하여 측정하였다.

## 6. Hematoxylin and Eosin (H&E) staining

-20°C의 optimal cutting temperature compound (OCT)에 담겨 보관중이던 마우스 tibialis anterior (TA) 조직 슬라이드를 10% Formalin 으로 상온에서 20 분동안 고정시켰다. TDW 로 2 번 washing 후, Mayer's Hematoxylin (Wako, 131-09665)으로 상온에서 8 분동안 염색하였다. DW 로 3 번, PBS 로 2 번 세척 후, Eosin (Wako, 051-06515)으로 1 초동안 염색하였다. 수돗물로 2 번 세척 후, 90% ethanol 에서 2 분, 100% ethanol 에서 2 분동안 둔 후 Xylene 에 2 분간 2 번 반복하였다. Xylene 을 모두 날린 후에 VectaMount (Vector, H-5000)로 고정하였다.

## 7. 통계처리

표시된 결과는 3 번 이상의 독립적인 실험결과이며, 이들의 평균과 표준오차를 계산하여 결과를 표시하였다. 실험결과의 통계처리는 Student's t-test 에 준하여 처리하였으며, *p-value* 가 0.05 ( $p < 0.05$ ) 미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

**Table 1. 1<sup>st</sup> antibody**

<b>Items</b>	<b>Company</b>	<b>Catalog number</b>	<b>Usage</b>
anti-GAPDH	Abcam	AB9484	WB
anti-PERK	Cell signaling	3192S	WB
anti-XBP1	Abcam	AB220783	WB
anti-Total-eIF2 $\alpha$	Santa cruz biotechnology	SC-133132	WB
anti-phospho-eIF2 $\alpha$	Abcam	AB32157	WB
anti-CHOP	Santa cruz biotechnology	SC-7351	WB
anti-GADD34	Santa cruz biotechnology	SC-825	WB
anti-KDEL	Assay designs	SPA-827	WB
anti-LC3B	Sigma	L7543	WB
anti-P62	Abnova	H00008878-M01	WB
anti-Lamp1	DSHB	1D4B-C	WB
anti-Cathepsin B	R&D systems	AF965	WB
anti-Cathepsin L	R&D systems	AF1515	WB
anti-MTCO1	Abcam	AB14705	WB
anti-NDUFV2	Proteintech	15301-1-AP	WB
anti-SDHA	Abcam	Ab14715	WB
anti-ATP5A	Santa cruz biotechnology	SC-136178	WB
anti-Nrf2	Santa cruz biotechnology	SC-722	WB
anti-PGC1 $\alpha$	Novus biologi	NBP1-04676	WB
anti-ATF4	Biologend	693902	WB
anti-TFAM	Cell signaling technology	8076S	WB
anti-Myod	Novus biological	NB100-56511	WB
anti-MyoG	BD bioscience	556358	WB
anti-MYHC type I	Sigma	M8421	WB
anti-MYHC type IIa	DSHB	SC-71	WB
anti-MYHC type IIb	DSHB	BF-F3	WB
anti-Laminin	Sigma	L9393	IF

**Table 2. qPCR primers**

<b>Gene name</b>	<b>5' oligonucleotide</b>	<b>3' oligonucleotide</b>	<b>species</b>
IL-1b	TCGCTCAGGGTCACAAGAAA	ATCAGAGGCAAGGAGGAAACA C	Mouse
IL-6	TAGTCCTTCCTACCCCAATTTCC	TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC	Mouse
TNF $\alpha$	CATCTTCTCAAATTCGAGTGAC AA	TGGGAGTAGACAAGGTACAAC CC	Mouse
Atrogin	AAGGCTGTTGGAGCTGATAGCA	CACCCACATGTTAATGTTGCC	Mouse
Murf	CCTACTTGCTCCTTGTGC	TCCTGCTCCTGCGTGAT	Mouse
PAX7	TCTCCAAGATTCTGTGCCGAT	CGGGGTTCTCTCTTATACTC C	Mouse
Myf5	AAGGCTCCTGTATCCCCTCAC	TGACCTTCTTCAGGCGTCTAC	Mouse
Myod	CCACTCCGGGACATAGACTTG	AAAAGCGCAGGTCTGGTGAG	Mouse
MRF4	CTACATTGAGCGTCTACAGGAC C	CTGAAGACTGCTGGAGGCTG	Mouse
MyoG	GAGACATCCCCCTATTTCTACCA	GCTCAGTCCGCTCATAGCC	Mouse
Bip	TCATCGGACGCACTTGGA	CAACCACCTTGAATGGCAAGA	Mouse
ATF3	GAGATGTCAGTCACCAAGTC	CAGTTTCTCTGACTCTTTCTGC	Mouse
ATF4	ATGGCCGGCTATGGATGAT	CGAAGTCAAACCTTTTCAGATC CATT	Mouse
CHOP	CTGCCTTTCACCTTGGAGA	CGTTTCCTGGGGATGAGATA	Mouse
GADD3 4	CCCGAGATTCTCTAAAAGC	CCAGACAGCAAGGAAATGG	Mouse
Asns	TACAACCACAAGGCGCTACA	AAGGGCCTGACTCCATAGGT	Mouse
Cth1	TCTTGCTGCCACCATTACGA	GCCTCCATACACTTCATCCAT	Mouse
XBP1t	CCTGAGCCCGGAGGAGAA	CTGCACCTGCTGCGGAC	Mouse
XBP1s	GAGTCCGCAGCAGGTG	AGGCTTGGTGTATACATGG	Mouse
PERK	TGGAGTCCCTGCTCGAATCTT	ACTGTAAGCACTGAGTCCGTA	
Total- elf2 $\alpha$	CCTGGATACGGTGCCTACG	TGTGGGGTCAAACGCCTATT	Mouse
LC3b	CGTCCTGGACAAGACCAAGT	ACCATGTACAGGAAGCCGTC	Mouse
P62	GCTGCCCTATACCCACATCT	CGCCTTCATCCGAGAAAC	Mouse
Uvrag	CAAGCTGACAGAAAAGGAGCGA G	GGAAGAGTTTGCCTCAAGTCT GG	Mouse
Lamp1	ACCTGTGCGAGTGGCAACTTCA	GGGCACAAGTGGTGGTGAG	Mouse
Catheps in B	TCCTTGATCCTTCTTTCTTGCC	ACAGTGCCACACAGCTTCTTC	Mouse
Catheps in D	CTGAGTGGCTTCATGGGAAT	CCTGACAGTGGAGAAGGAGC	Mouse
PGC1a	CTTGCTAACATCACAGAGGATAT CTTG	GGCAGGTTCAACCCCGA	Mouse
Nrf1	CGGAAACGGCCTCATGTGT	CGCGTCGTGTACTIONCATCAA	Mouse
Nrf2	ACATCCTTTGGAGGCAAGAC	GCCTTCTCCTGTTCTTCTG	Mouse
TFAM	GCAGCAGGTTGTCTTGATGT	AAAGCCTGGCAGCTTCTTTG	Mouse
MTCO1	TGCTAGCCGCAGGCATTACT	CGGGATCAAAGAAAGTTGTGTT T	
SDHA	GCTCCTGCCTCTGTGGTTGA	AGCAACACCGATGAGCCTG	Mouse
MyHC type I	CCAAGGGCCTGAATGAGGAG	GCAAAGGCTCCAGGTCTGAG	Mouse
MyHC type IIa	GGCTTCAGGATTTGGTGGATAAA C	GATCTTGCGGAACCTTGATAGA TT	Mouse

MyHC type IIb	ACGCTTGCACACAGAGTCAG	CTTGGACTCTTCCTCTAGCTGC C	Mouse
MyHC type IIx	CCAAGTGCAGGAAAGTGACC	AGGAAGAGACTGACGAGCTC	Mouse
$\beta$ -actin	GATCTGGCACCACACCTTCT	GGGTGTTGAAGGTCTCAA	Mouse

### Ⅲ. 결과

#### 1. An immobilization procedure to induce skeletal muscle atrophy

근 감소를 유도하기 위해서 12 주령의 마우스다리를 skin stapler 를 사용하여 7 일동안 고정하였다. 그 후 skin stapler 제거 5 일, 14 일, 28 일 후에 gastrocnemius (GAS), tibialis anterior (TA), Quadriceps 골격근을 분리하였다 (Fig. 1A). 고정을 7 일동안 진행하였을 때 몸무게가 감소하였다가 skin stapler 를 제거 후 5 일, 14 일, 28 일이 지남에 따라 몸무게가 점차 증가하는 것을 알 수 있었다 (Fig. 1B). TA 무게의 경우 제거 5 일 후의 경우 골격근 무게가 완전히 회복되지 않았지만 제거 14, 28 일 후에는 무게가 완전히 회복된 것을 통해 7 일동안 고정 후 skin stapler 를 제거함에 따라 골격근이 회복되는 것을 알 수 있었다 (Fig. 1C).

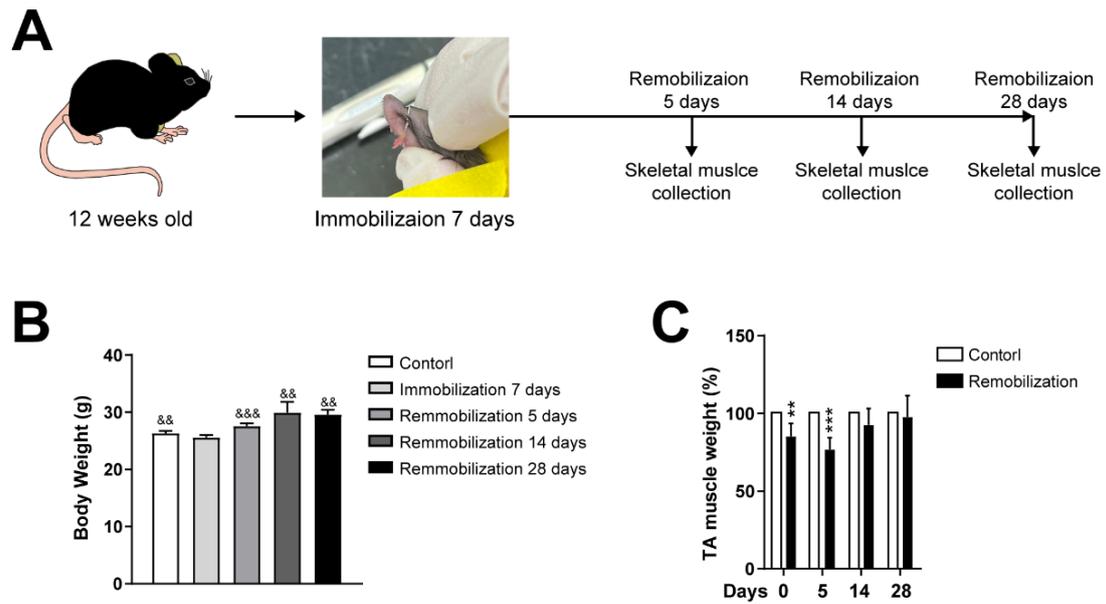


Fig. 1. Induction of Muscle Regeneration Following Remobilization

(a) Scheme of the experimental procedures. skin stapler was used for immobilization (n=5), and muscle regeneration (=remobilization) was induced for 5, 14 and 28 days. (b, c) Body weight and TA muscle weight were measured after 7 days of immobilization, 5, 14 and 28 days of remobilization. Data are Mean  $\pm$  SD; (n=5 mice per group). (b) &  $p < 0.05$ , &&  $p < 0.01$ , and &&&  $p < 0.001$  vs. immobilization 7 days. (c) \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , and \*\*\*  $p < 0.001$  vs. control.

## 2. Stapled immobilization induces muscle atrophy and activation of satellite cell

골격근 회복과정 중 염증 관련 RNA 수준을 확인해 본 결과 immobilization 7 일 쯤에 크게 증가하였다가 회복 과정 중 다시 감소하는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 2A).

다리를 고정함에 따라 골격근의 무게가 감소하고 제거 후 골격근이 회복되는 것을 확인하였는데 (Fig. 1) 이때, 근감소가 일어난 것을 확인하기 위해 골격근 감소 마커인 Atrogin-1 과 MuRF-1 의 RNA 수준을 확인해본 결과 Immobilization 7 일째에 가장 크게 증가하였고 제거 5, 14, 28 일에 따라 다시 감소하는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 2B). 또한 골격근 분화 마커들의 RNA 수준을 확인해본 결과 Immobilization 7 일째에 가장 크게 증가하고 제거 5 일, 14 일, 28 일에 다시 감소하는 것을 볼 수 있었다. Myod 와 MyoG 의 단백질 수준을 확인하였을 때 Myod 의 경우 Immobilization 7 일째에 가장 증가하였다가 제거 5 일, 14 일에 따라 점차 감소하였고 MyoG 의 경우 Immobilization 7 일 쯤에 가장 증가하였다가 Myod 와는 달리 제거 5 일, 14 일 후에도 계속 증가하는 것을 알 수 있었다 (Fig. 2C, D).

이것을 통해 skin Stapler 로 7 일동안 고정하면 골격근 감소 유전자의 발현이 유도되어 골격근 감소가 유도되고, 그에 따른 근회복을 위해 골격근 분화관련 유전자의 발현이 유도된다고 생각할 수 있다.

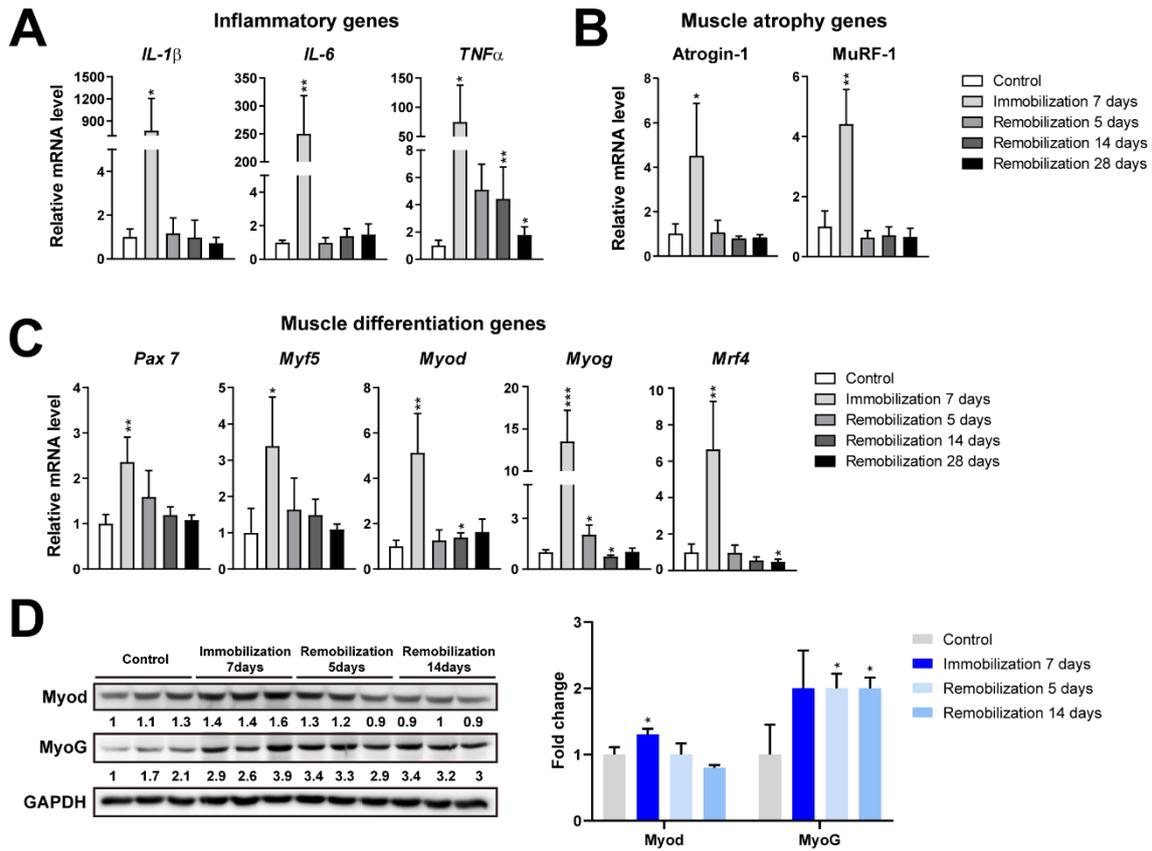


Fig. 2. Staped immobilization induces muscle atrophy and activation of satellite cells

mRNA level of (a) inflammation related genes (b) muscle atrophy genes (c) muscle differentiation genes at immobilization 7 days and remobilization 5, 14, and 28 days. (d) protein level of muscle differentiation genes at immobilization 7 days and remobilization 5, 14 and 28 days. Data are Mean  $\pm$  SD; (n=5 mice per group). \* $p$ <0.05, \*\*  $p$  <0.01, and \*\*\*  $p$  <0.001 vs. control.

### 3. Muscle regeneration of immobilized muscles following staple removal

근섬유의 경우 myosin heavy chain (MyHC) type I, IIa, IIb, IIx 로 나눌 수 있는데 이들의 변화를 확인해본 결과 Immobilization 7 일째에 단백질 수준이 감소하였으며, 특히 type I의 단백질 수준이 매우 크게 감소하였다. 그리고 제거 5 일, 14 일에서 단백질 수준이 회복되거나 대조군 보다 더 증가하는 것을 볼 수 있었으며 RNA 수준 역시 W.B 결과와 일관되게 Immobilization 7 일째에 감소하였다가 제거 5 일, 14 일, 28 일 후에 회복되는 모습을 볼 수 있었다 (Fig. 3A, B). 이러한 변화를 조직학적 수준에서 확인하기 위해 H&E staining 과 골격근 기저막에 위치한 Laminin Immunofluorescence 를 통해 확인하였다 (Fig. 3C, D). 각각의 근섬유 크기의 면적을 나타내는 Cross section area (CSA)의 크기 분포를 확인하였을 때, 대조군에 비해 Immobilization 7 일째에 더 작은 면적을 가진 근섬유의 분포가 더 증가하고 더 큰 면적을 가진 근섬유의 분포는 감소하였으며 제거 14 일, 28 일째에는 반대되는 결과를 얻을 수 있었다 (Fig. 3E). 또한 CSA 의 평균 역시 대조군에 비해 Immobilization 7 일째에는 감소하였다가 제거 14 일, 28 일에 따라 점차 증가하는 것을 통해 skin stapler 로 인한 고정으로 골격근 근섬유들이 감소하였다가 다시 회복되는 것을 알 수 있었다 (Fig. 3F).

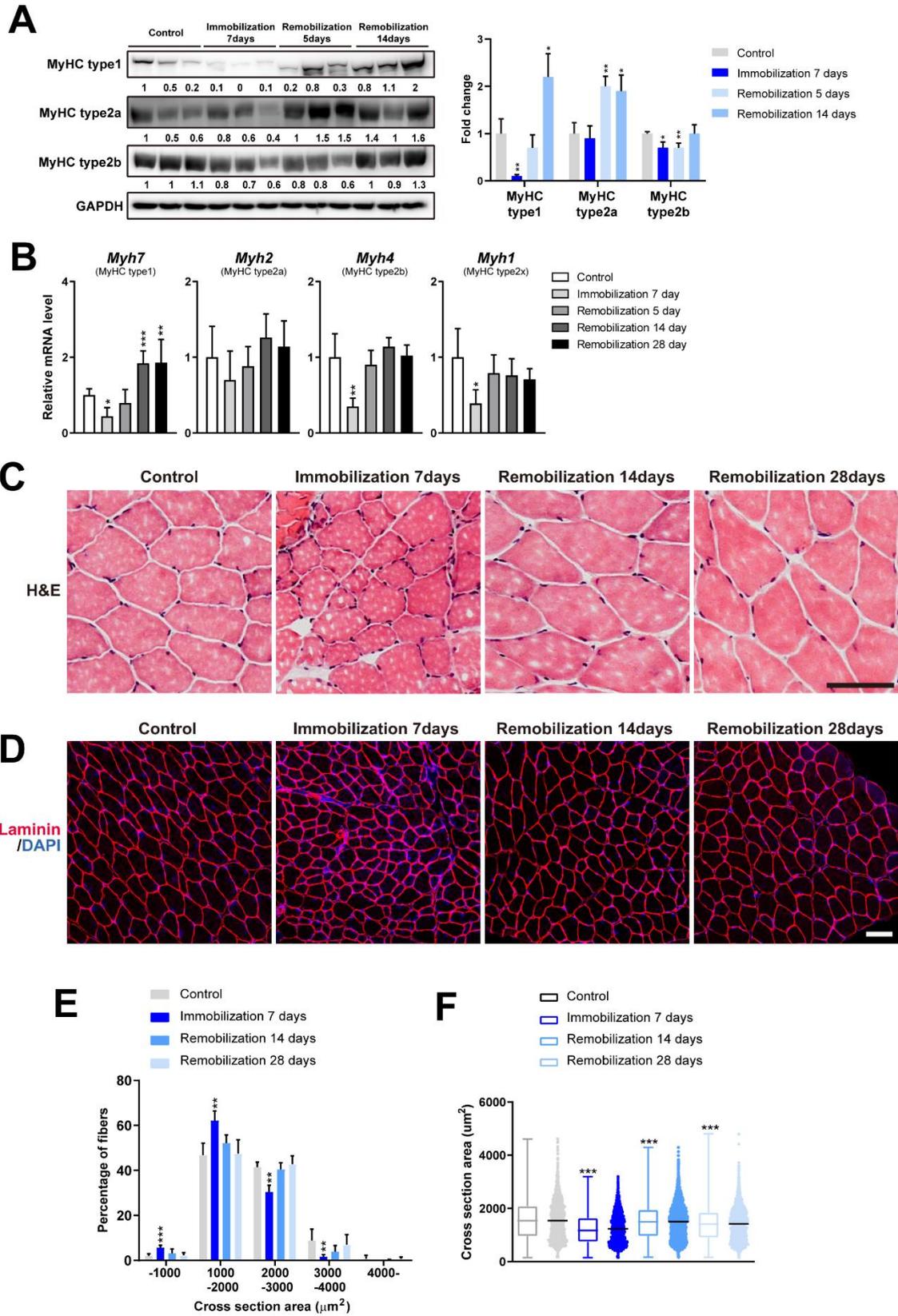


Fig. 3. Change of MyHC types and muscle in immobilized muscles following staple removal

(a) Protein levels and (b) mRNA levels of four isoforms of Myosin heavy chain (MyHC) genes, (MyHC-I, MyHC-IIa, MyHC-IIb, and MyHC-IIx). (c) H&E staining in tibialis anterior (TA) fibers. Scale bar = 20 $\mu$ M (d) immunofluorescence staining for laminin in TA fibers. Scale bar = 80 $\mu$ M (e) laminin immunofluorescence quantitative analyses of cross section area (CSA) distribution and (f) mean cross section area (CSA). Data are Mean  $\pm$  SD; (n=5 mice per group). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , and \*\*\*  $p < 0.001$  vs. control.

#### 4. mRNA levels of genes related to cellular organelles upon remobilization

skin stapler 로 고정함에 따라 골격근이 감소하고 제거함에 따라 회복하는 것을 확인하였으므로 (Fig. 1, 2, 3) 회복과정 중 소포체 스트레스, 오토파지, 미토콘드리아 관련 유전자들의 RNA 수준을 확인하였다.

소포체 스트레스 관련 유전자의 경우 immobilization 7 일째에 크게 증가하였다가 제거 5 일, 14 일, 28 일 후 다시 감소하는 것을 볼 수 있었고, 오토파지 관련 유전자 역시 immobilization 7 일째에 크게 증가하였다가 제거 후 다시 감소하는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 4A).

미토콘드리아 관련 유전자의 경우 *nuclear respiratory factor1 (Nrf1)*, *nuclear respiratory factor2 (Nrf2)*, *mitochondrial transcription factor A (Tfam)* 과 같은 미토콘드리아 biogenesis 과 관련된 유전자들의 발현은 immobilization 7 일째에 증가하지만 *Mitochondrially encoded cytochrome C oxidase I (Mtco1)*, *succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A (Sdha)* 와 같은 전자전달계 관련 유전자들의 발현은 immobilization 7 일 때에 감소하는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 4A).

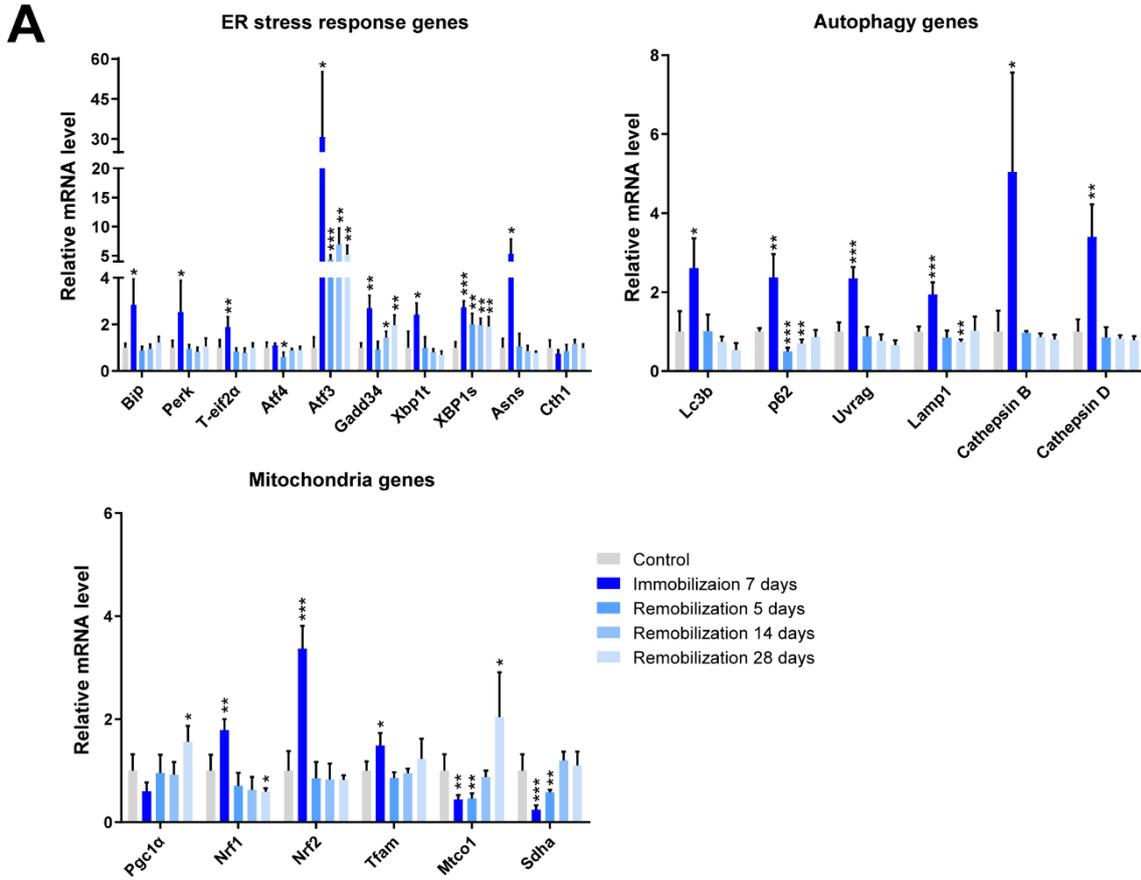


Fig. 4. mRNA level of genes related to cellular organelles upon remobilization

(a) mRNA level of ER stress response genes, autophagy genes and mitochondria genes in immobilization 7 days and remobilization 5, 14, and 28 days. Data are Mean  $\pm$  SD; (n=5 mice per group). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , and \*\*\*  $p < 0.001$  vs. control.

## 5. Expression changes of proteins related to cellular organelles upon remobilization

근감소 유도 후 회복 과정에 따른 소포체 스트레스, 오토파지, 미토콘드리아 관련 유전자들의 RNA 수준을 확인하였는데 (Fig. 4) 이러한 변화를 관련 단백질 수준에서 보고자 하였다.

소포체 스트레스, 오토파지 관련 유전자들의 단백질 수준은 RNA 수준 변화와 동일하게 immobilization 7 일째에 증가하였다가 제거 5 일, 14 일 후 감소하였다 (Fig 5A, B).

미토콘드리아 관련 유전자들의 단백질 수준 역시 NADH:ubiquinone oxidoreductase core subunit V2 (NDUFV2), SDHA, MTCO1, ATP synthase lipid-binding protein (ATP5A)와 같은 전자전달계 관련 단백질 수준은 immobilization 7 일 후에 감소하였지만 Nrf2, PGC1a, TFAM 과 같은 미토콘드리아 biogenesis 관련 단백질 수준은 immobilization 7 일 째에 증가하였다 (Fig 5C).

Fig. 4, Fig. 5 의 결과를 통해 소포체 스트레스, 오토파지 관련 유전자들은 골격근 degeneration 에 관여한다는 것과 골격근 감소에 따라 미토콘드리아 전자전달계의 기능장애가 유도되고 이것에 따른 반응으로 미토콘드리아 biogenesis 관련 유전자의 발현이 유도된다는 것을 알 수 있었다.

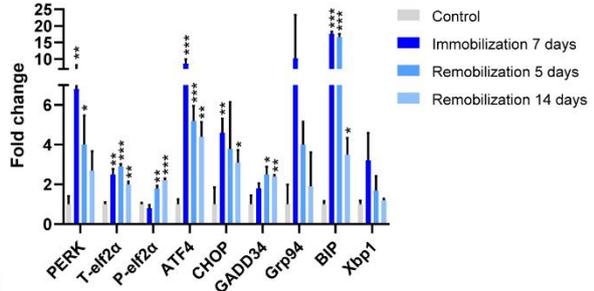
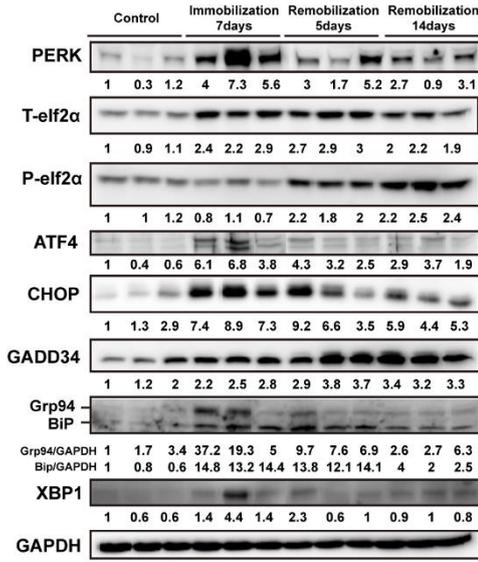
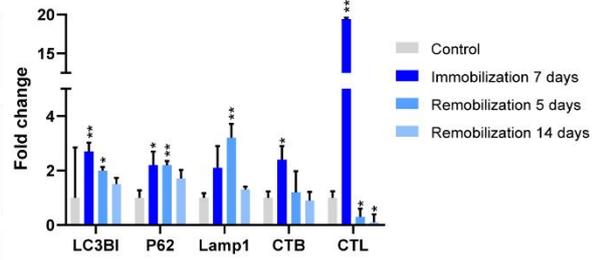
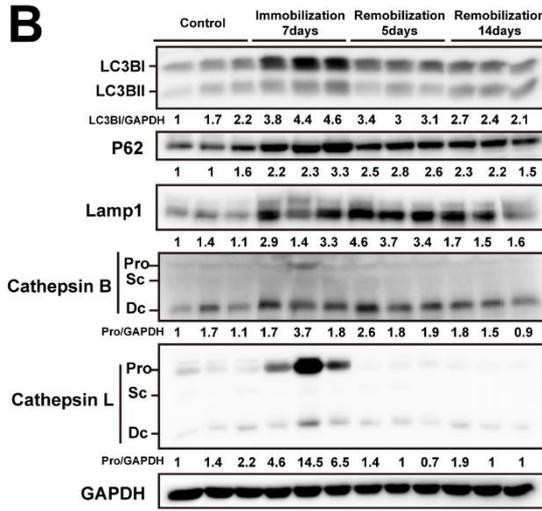
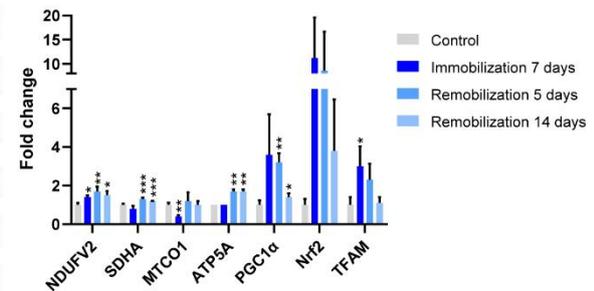
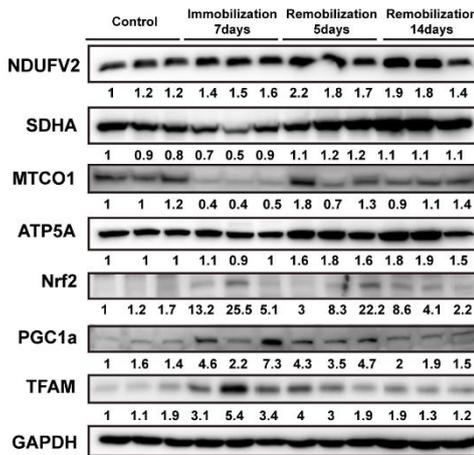
**A****B****C**

Fig. 5. Level changes of proteins related to cellular organelles upon remobilization

Protein expression levels of (a) ER stress response genes, (b) autophagy genes and (c) mitochondria genes in immobilization 7 days and remobilization 5, 14 and 28 days. Data are Mean  $\pm$  SD; (n=5 mice per group). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , and \*\*\*  $p < 0.001$  vs. control.

## IV. 고찰

인체에서 가장 풍부한 조직인 골격근은 대사 항상성, 에너지 소비 및 신체 활동에 필요하다. [21] 골격근은 노화, 암, 만성 질환, 신체 활동 부족 등에 의해 감소가 발생할 수 있는데 이러한 근감소가 발생하게 되면 운동 능력이 감소되어 삶의 질이 저하될 뿐만 아니라 사망률 및 골절 등의 질환의 발생 위험을 증가시킨다 [1]. 근감소증을 완치하는 치료약은 아직 존재하지 않으며 치료 방법으로는 고단백 식이 및 운동 뿐이지만 노화 및 거동이 불편한 사람의 경우 이러한 치료 방법은 비현실적이다. [2]

골격근 세포에 존재하는 미토콘드리아는 근육 수축에 사용되는 칼슘 항상성 유지에 중요한 역할을 하며 미토콘드리아 칼슘 유니포터의 과발현은 PGC1a4 발현 증가를 통해 골격근의 증가를 유도하며 미토콘드리아 dysfunction 은 근감소를 일으키기도 한다 [5]. 또한 골격근 특이적인 소포체인 근소포체는 단백질, 칼슘 항상성에 중요한 역할을 하는데 소포체 내강에 잘못 접히고 펼쳐진 단백질이 축적되면 소포체 스트레스가 유도된다. [6] 이러한 소포체 스트레스 pathway 중 PERK-eIf2a 인산화가 노화에 의해 활성화되어 근육 항상성에 영향을 미친다는 결과가 존재한다 [7]. 세포질 성분, 단백질, 손상된 세포소기관 등을 분해하는 오토파지의 생성 과정에 관여하는 Atg5, Atg7, Becn1 의 결핍은 근육 재생을 손상시킨다는 연구 결과와 오히려 과활성화된 오토파지는 골격근 유지에 필요한 단백질의 과도한 분해를 발생시켜 근감소증을 유발한다는 연구 결과가 존재한다 [9, 10]. 이를 토대로 본 실험에서는 skin stapler 를 사용하여 근감소를 유도한 뒤 제거 후 회복하는 과정에서 세포소기관 기능 변화를 탐구하고 골격근 항상성 유지 방법을 연구하였다.

먼저 골격근에서 근감소를 유도하기 위해서 skin stapler 를 이용하여 골격근 감소와 회복을 유도하였다. 7 일동안의 다리 고정을 통해 근감소를 유도하였고 stapler 를 제거하여 골격근을 회복하고자 하였다. 그 결과 7 일동안 고정하였을 경우 몸무게와 TA 의 무게가 감소하였고 제거 5 일, 14 일, 28 일 후에는 점차 회복되는 것을 확인하였다 (Fig. 1). 이를 통해 skin stapler 로 고정 및 제거하였을 경우 골격근이 감소되었다가 회복되었다는 것을 알 수 있다.

골격근의 감소와 회복을 TA 무게 변화를 통해 확인했기 때문에, 이러한 변화를 mRNA 및 단백질 수준 변화를 통해서도 확인하고자 하였다. 염증 관련 RNA 수준은 7 일동안 근육고정에 의해서 증가되었으며 skin stapler 를 제거함에 따라 다시 감소되는 것을 볼 수 있었다. 이러한 변화는 골격근 감소 마커인 Atrogin-1 와 MuRF-1 및 근육 분화 마커들의 RNA 수준이 고정 7 일 후 증가되는 것과 일치함을 확인하였다. 근육 분화 마커 중 Myod 와 MyoG 전사인자의 단백질 수준 역시 고정 7 일 후 증가하는 것을 확인하였다.

이것을 통해 skin stapler 의 고정으로 근감소가 유도되었다가 제거함에 따라 다시 회복되는 것을 확인하였다 (Fig. 2).

그 다음으로 근섬유 종류별 변화와 조직학적 변화를 관찰하고자 하였다. 근섬유는 Myosin heavy chain type (MyHC) I, IIa, IIb, IIx 로 나눌 수 있다. MyHC type I 의 경우 걷기, 오래 달리기를 할 때 나타나는 근섬유형으로 미토콘드리아 밀도가 높기 때문에 지속적인 에너지 생산이 가능하며 느린 수축을 특징으로 한다. MyHC type IIb 는 달리기나 역도와 같은 순간적으로 강한 힘을 필요로 할 때 나타나는 근섬유형으로 미토콘드리아의 밀도가 낮고 빠른 에너지 생산을 필요로 하고 빠른 수축을 특징으로 한다. MyHC type IIa, IIx 는 type I 과 IIb 사이에 위치한다. [22, 23] 이러한 MyHC type 의 단백질과 RNA 수준은 모두 7 일동안의 고정 후에 대조군과 비교하여 감소하였다가 skin stapler 를 제거함에 따라 다시 증가하는 것을 확인할 수 있었는데 특히 MyHC type I 은 다른 type 보다 고정 7 일째에 큰 감소를 보이는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3 A, B). 그리고 H&E staining 과 근섬유 기저막에 위치한 Laminin 염색을 통해서 근섬유의 조직학적 변화를 관찰하고자 하였다. 각각의 근섬유 크기들이 고정 7 일째에 감소하였다가 skin stapler 를 제거함에 따라 다시 커지는 것을 관찰할 수 있었고 근섬유 면적을 나타내는 Cross section area (CSA) 측정 결과 고정 7 일째에는 더 작은 면적을 가진 근섬유의 분포가 더 증가하고 더 큰 면적을 가진 근섬유의 분포는 감소하였지만 제거 14 일, 28 일 후에는 반대되는 결과를 확인하였다. 또한 평균 CSA 역시 고정 7 일째에는 감소하였다가 제거 14 일, 28 일이 지남이 따라 다시 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이것을 통해 skin stapler 로 고정함에 따라 골격근이 감소하고 제거 후 다시 회복하는 모습을 근섬유 type 과 근단면의 조직학적 분석을 통해 확인할 수 있었다. (Fig. 3)

Fig. 1, 2, 3 을 통해 skin stapler 로 인한 근감소와 회복하는 과정 중 나타나는 여러 변화는 이전의 보고들과 일치하는 것을 알 수 있다 [10]. 이러한 변화 과정 중 소포체 스트레스, 미토콘드리아, 오토파지와 관련된 변화를 관찰하기 위해 RNA 수준을 확인하고자 하였다. 소포체 스트레스, 오토파지 관련 유전자의 경우 고정 7 일째에 크게 증가하였다가 제거 5 일, 14 일, 28 일 후 다시 감소하는 것을 볼 수 있었으며 미토콘드리아 관련 유전자의 경우 *nrf1*, *nrf2*, *tfam* 과 같은 미토콘드리아 biogenesis 와 관련된 유전자들의 발현은 고정 7 일째에 증가하지만 *mtco1*, *sdha*와 같은 전자전달계 관련 유전자들의 발현은 고정 7 일째에 감소하는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 4).

앞선 결과 (Fig. 4)와 일관되게 소포체 스트레스, 오토파지 관련 유전자들의 단백질 수준은 고정 7 일째에 증가하였다가 제거 5 일, 14 일 후에는 다시 감소하는 것을 보였으며 *Nrf2*, *PGC1a*, *TFAM* 과 같은 미토콘드리아 biogenesis 관련 단백질 수준은 고정 7 일후에

증가하였지만 NDUFV2, SDHA, MTCO1, ATP5A 와 같은 전자전달계 관련 단백질 수준은 고정 7 일 후에 감소하였다.

Fig. 4,5 를 통해 소포체 스트레스, 오토파지 관련 유전자들은 골격근 degeneration 에 관여한다는 것과 근감소가 발생함에 따라 미토콘드리아 전자전달계의 기능장애가 유도되고 이것에 대한 반응으로 미토콘드리아 biogenesis 관련 유전자의 발현이 유도된다고 생각할 수 있다.

본 연구를 통해서 skin stapler 를 통한 7 일 동안의 고정은 근감소를 유도하고 stapler 를 제거함에 따라 골격근의 회복을 발생시킬 수 있다는 것을 알 수 있었다. 또한, 소포체 스트레스, 오토파지의 경우 고정 7 일째에 RNA 와 단백질 수준이 증가하였는데 관련 유전자들은 골격근 degeneration 에 관여한다는 것을 알 수 있으며 특히 오토파지의 경우 손상된 세포소기관, 단백질 등을 제거하는 역할을 가지고 있기 때문에 degeneration 에 관여되어진다고 생각할 수 있다. 미토콘드리아 관련 유전자들의 경우 고정 7 일째에 전자전달계 관련 유전자들의 단백질 및 RNA 수준은 감소하지만 biogenesis 관련 유전자들의 경우 증가하는 것을 볼 수 있는데 이것은 근감소에 따라 전자전달계의 기능장애가 유도되고 이것을 완화시키기 위한 목적으로 biogenesis 관련 유전자들의 발현이 유도되어진다고 생각할 수 있다. 이러한 결과를 통해 수술적인 방법으로 유도된 근감소와 회복과정 중에서 여러 세포소기관이 관여되어 있다는 것을 알 수 있다.

하지만 이러한 세포소기관들이 근감소 및 회복하는 과정 중에 어떻게 관여하는지에 대한 메커니즘은 규명되지 않았기 때문에, 향후 연구에서는 골격근 특이적으로 발현되는 소포체 스트레스, 미토콘드리아, 오토파지 기능 및 형성과 관련된 유전자를 한 동물모델을 활용하여 근감소의 유도 및 회복하는 과정에서의 유전자들의 역할을 연구할 필요가 있다.

## V. 참고문헌

1. Yin L, Li N, Jia W, Wang N, Liang M, Yang X, Du G. Skeletal muscle atrophy: From mechanisms to treatments. *Pharmacol Res.* 2021 Oct;172:105807. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105807.
2. Huang L, Li M, Deng C, Qiu J, Wang K, Chang M, Zhou S, Gu Y, Shen Y, Wang W, Huang Z, Sun H. Potential Therapeutic Strategies for Skeletal Muscle Atrophy. *Antioxidants (Basel).* 2022 Dec 26;12(1):44. doi: 10.3390/antiox12010044.
3. Sartori R, Romanello V, Sandri M. Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy: implications in health and disease. *Nat Commun.* 2021 Jan 12;12(1):330. doi: 10.1038/s41467-020-20123-1.
4. Mammucari C, Gherardi G, Zamparo I, Raffaello A, Boncompagni S, Chemello F, Cagnin S, Braga A, Zanin S, Pallafacchina G, Zentilin L, Sandri M, De Stefani D, Protasi F, Lanfranchi G, Rizzuto R. The mitochondrial calcium uniporter controls skeletal muscle trophism in vivo. *Cell Rep.* 2015 Mar 3;10(8):1269-79. doi: 10.1016/j.celrep.2015.01.056. Epub 2015 Feb 26.
5. Hyatt HW, Powers SK. Mitochondrial Dysfunction Is a Common Denominator Linking Skeletal Muscle Wasting Due to Disease, Aging, and Prolonged Inactivity. *Antioxidants (Basel).* 2021 Apr 11;10(4):588. doi: 10.3390/antiox10040588.
6. Pakos-Zebrucka K, Koryga I, Mnich K, Ljujic M, Samali A, Gorman AM. The integrated stress response. *EMBO Rep.* 2016 Oct;17(10):1374-1395. doi: 10.15252/embr.201642195. Epub 2016 Sep 14.
7. Lee SM, Lee SH, Jung Y, Lee Y, Yoon JH, Choi JY, Hwang CY, Son YH, Park SS, Hwang GS, Lee KP, Kwon KS. FABP3-mediated membrane lipid saturation alters fluidity and induces ER stress in skeletal muscle with aging. *Nat Commun.* 2020 Nov 9;11(1):5661. doi: 10.1038/s41467-020-19501-6.

8. Wu J, Ruas JL, Estall JL, Rasbach KA, Choi JH, Ye L, Boström P, Tyra HM, Crawford RW, Campbell KP, Rutkowski DT, Kaufman RJ, Spiegelman BM. The unfolded protein response mediates adaptation to exercise in skeletal muscle through a PGC-1 $\alpha$ /ATF6 $\alpha$  complex. *Cell Metab.* 2011 Feb 2;13(2):160-9. doi: 10.1016/j.cmet.2011.01.003.
9. Chen W, Chen Y, Liu Y, Wang X. Autophagy in muscle regeneration: potential therapies for myopathies. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2022 Jun;13(3):1673-1685. doi: 10.1002/jcsm.13000.
10. Caron AZ, Drouin G, Desrosiers J, Trenz F, Grenier G. A novel hindlimb immobilization procedure for studying skeletal muscle atrophy and recovery in mouse. *J Appl Physiol* (1985). 2009 Jun;106(6):2049-59. doi: 10.1152/jappphysiol.91505.2008.
11. Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Dis Model Mech.* 2013 Jan;6(1):25-39. doi: 10.1242/dmm.010389.
12. Hyatt H, Deminice R, Yoshihara T, Powers SK. Mitochondrial dysfunction induces muscle atrophy during prolonged inactivity: A review of the causes and effects. *Arch Biochem Biophys.* 2019 Feb 15;662:49-60. doi: 10.1016/j.abb.2018.11.005.
13. Rossi D, Pierantozzi E, Amadsun DO, Buonocore S, Rubino EM, Sorrentino V. The Sarcoplasmic Reticulum of Skeletal Muscle Cells: A Labyrinth of Membrane Contact Sites. *Biomolecules.* 2022 Mar 23;12(4):488. doi: 10.3390/biom12040488.
14. Sandri M. Protein breakdown in muscle wasting: role of autophagy-lysosome and ubiquitin-proteasome. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013 Oct;45(10):2121-9. doi: 10.1016/j.biocel.2013.04.023.
15. Powers SK, Lynch GS, Murphy KT, Reid MB, Zijdewind I. Disease-Induced Skeletal Muscle Atrophy and Fatigue. *Med Sci Sports Exerc.* 2016 Nov;48(11):2307-2319. doi: 10.1249/MSS.0000000000000975.

16. Shen Y, Li M, Wang K, Qi G, Liu H, Wang W, Ji Y, Chang M, Deng C, Xu F, Shen M, Sun H. Diabetic Muscular Atrophy: Molecular Mechanisms and Promising Therapies. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Jun 30;13:917113. doi: 10.3389/fendo.2022.917113.
17. Treves S, Vukcevic M, Maj M, Thurnheer R, Mosca B, Zorzato F. Minor sarcoplasmic reticulum membrane components that modulate excitation-contraction coupling in striated muscles. *J Physiol*. 2009 Jul 1;587(Pt 13):3071-9. doi: 10.1113/jphysiol.2009.171876.
18. Grumati P, Bonaldo P. Autophagy in skeletal muscle homeostasis and in muscular dystrophies. *Cells*. 2012 Jul 26;1(3):325-45. doi: 10.3390/cells1030325.
19. Chen X, Ji Y, Liu R, Zhu X, Wang K, Yang X, Liu B, Gao Z, Huang Y, Shen Y, Liu H, Sun H. Mitochondrial dysfunction: roles in skeletal muscle atrophy. *J Transl Med*. 2023 Jul 26;21(1):503. doi: 10.1186/s12967-023-04369-z.
20. Rahmati M, Haffner M, Lee MA, Leach JK, Saiz AM. The critical impact of traumatic muscle loss on fracture healing: Basic science and clinical aspects. *J Orthop Res*. 2023 Nov 22. doi: 10.1002/jor.25746.
21. Baskin KK, Winders BR, Olson EN. Muscle as a "mediator" of systemic metabolism. *Cell Metab*. 2015 Feb 3;21(2):237-248. doi: 10.1016/j.cmet.2014.12.021.
22. Talbot J, Maves L. Skeletal muscle fiber type: using insights from muscle developmental biology to dissect targets for susceptibility and resistance to muscle disease. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2016 Jul;5(4):518-34. doi: 10.1002/wdev.230.
23. Dong H, Tsai SY. Mitochondrial Properties in Skeletal Muscle Fiber. *Cells*. 2023 Aug 30;12(17):2183. doi: 10.3390/cells12172183.

## 영 문 요약

Skeletal muscle is the most abundant tissue in the body. However, muscle atrophy can occur by aging, cancer cachexia, and disuse. Currently, protein intake and exercise are the only treatment of muscle atrophy. However, these approaches may have difficulties when physical mobility is compromised. The occurrence of muscle atrophy leads to an increased risk of mortality, fractures, and other complications. Therefore, the development of treatments to slow down or to prevent the loss of skeletal muscle is essential to counteract numerous medical conditions. Research indicates that mitochondria, sarcoplasmic reticulum, and autophagy in muscle cells are involved in skeletal muscle homeostasis. In this study, a mouse model was established by inducing muscle atrophy through immobilization of one leg using a skin stapler and subsequently promoting muscle recovery by removing the stapler. Observations revealed an increase in skeletal muscle atrophy and muscle differentiation markers during immobilization for 7 days, followed by recovery of muscle mass and decrease of markers upon removal of the stapler. All fiber types of skeletal muscle were decreased by immobilization for 7 days and then increased after its removal, confirming that skin stapler fixation led to muscle atrophy and subsequent recovery. Expression of genes associated with ER stress and autophagy was induced by immobilization and returned to the normal level by remobilization. Expression of genes related to the mitochondrial electron transport chain was decreased by muscle immobilization but increased upon its remobilization, whereas biogenesis-related genes were increased initially and then decreased. These results indicate that functions of multiple cellular organelles including the ER, autophagy, and mitochondria may related with skeletal muscle degeneration and regeneration. Therefore, future investigations are needed to explore the mechanisms by which these cellular organelles are involved in skeletal muscle degeneration and regeneration.