

OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) 쥐의 췌장 베타세포에서 Taurine에 의한 포도당 감수성의 개선

계명대학교 의과대학 생리학교실¹, 내과학교실², 이비인후과학교실³

김소연¹ · 박근규² · 남성일³ · 이인규² · 송대규¹

Taurine-Mediated Restoration of Glucose Sensitivity of Pancreatic Beta Cells in OLETF Rats

So-Yeon Kim¹, Keun-Gyu Park², In-Kyu Lee², Seong-II Nam³, Dae-Kyu Song¹

Department of Physiology¹, Department of Internal Medicine²,
Department of Otolaryngology³, Keimyung University School of Medicine

- Abstract -

Background: An OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) rat is a model of type 2 diabetes that is characterized by obesity-induced insulin resistance. Taurine has been known to be beneficial for type 2 diabetes. This study evaluated the potential taurine effect on the insulin response to high glucose in the islets of OLETF rats.

Methods: One percent of taurine was put in the drinking water for the taurine group of OLETF rats at the time of their being 20 to 39 weeks of age. At 40 weeks, the pancreatic islets and beta cells were obtained to measure the glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) and the ATP-sensitive K⁺ (K_{ATP}) channel current.

Results: Taurine supplementation had no effect on the weight change of the rats when this was measured weekly from 20 to 39 weeks (mean ± SE: 702 ± 19 g in the control group vs. 688 ± 18 g in the taurine group at the 39th week). However, the GSIS was significantly potentiated in the taurine-treated rats (8.9 ± 1.3% vs. 13.2 ± 3.2% of the total secreted at 15 mM glucose for 1 h). The glucose-induced K_{ATP} channel inhibition in the beta cells was also greater in the taurine group.

Conclusion: Taurine supplementation is a beneficial tool for the restoration of GSIS in the pancreatic islet of the OLETF rats. Maintenance of blood taurine level may be important in treating type 2 diabetic patients, who are subject to a low blood level of taurine (*J Kor Diabetes Assoc* 29:198~205, 2005).

Key Words: OLETF rat, Taurine, K_{ATP} channel, Glucose sensitivity, Pancreatic beta cell, Insulin

서 론

포도당 대사의 항상성(homeostasis)은 인체의 건강을 유지하는 근본이며, 증가한 혈중 포도당의 농도에 따라 인슐린을 분비하는 췌장 베타세포와, 인슐린에 의한 말초 조직으로의 포도당 흡수에 의해 주로 유지된다¹⁾.

혈중 포도당 농도의 작은 변동에 반응해 인슐린을 분비하는 것은 포도당 대사와 연관된 베타세포내의 복합적인 신호전달 경로에 의존한다²⁾. 다른 세포와 마찬가지로 췌장 베타세포도 주로 포도당 대사를 통해 ATP를 생성한다. 포도당의 산화는 NADH와 FADH₂를 생성하고, 이들은 미토콘드리아 내막(inner membrane)의 전자전달계로 전자(elect-

ron)들을 주며, 이들이 전자전달계를 거치면서 proton (H^+)들이 complex I, III, IV 등에 의해 미토콘드리아 기질을 빠져나온다. 이렇게 생긴 전기 화학적 경사는 proton들이 ATP synthase를 통해 기질 내로 다시 들어오면서 ADP와 인산기 (Pi)로 부터 ATP가 만들어진다. 생산된 ATP는 세포질에서 ATP/ADP 비를 증가시켜 ATP-민감성 칼륨통로 (ATP-sensitive potassium channel, K_{ATP} channel)를 닫는다. 이는 세포막을 탈분극시키고, 전압의존성 칼슘통로 (voltage-dependent Ca^{2+} channel)를 통해 Ca^{2+} 의 세포내 유입을 일으켜 인슐린 분비를 유발한다²⁾.

결국 인슐린의 분비는 대부분 산화적 인산화 (oxidative phosphorylation)를 통한 포도당의 대사에 따라 결정되며, 산화적 인산화 과정에서의 장애는 인슐린 분비의 이상을 초래한다. 그러므로, 미토콘드리아 대사에 관여하는 유전자의 변이는 결국 유전질환인 제2형 당뇨병으로 발전할 수 있다는 사실과 일치한다³⁾.

위와 같이 베타세포의 인슐린 분비에 장애가 있거나, 또는 혈중 인슐린은 정상보다 낮지 않으나 고혈당이 개선되지 않는 인슐린저항성 (insulin resistance)이 제2형 당뇨병의 원인들이라 하겠으며, 당뇨 유발기전의 차이에 따라 두 가지 장애 중 상대적인 중요성이 결정된다 하겠다.

Taurine은 설펜계 아미노산으로서 세포내에 고농도로 존재하며 그 첫 번째 중요한 기능은 세포의 삼투질 농도 조절⁴⁾에 있다. 그 외에도 항산화효과⁵⁾, 항허혈효과⁶⁾, 이온수송^{7,8)}, reactive carbonyl 화합물의 제거⁹⁾ 등 무수한 기능이 있는 것으로 알려져 있다. 당뇨병과 관련하여 산모의 taurine 섭취가 부족하면, 그 태아는 자라서 제2형 당뇨병으로의 이환율이 증가한다고 한다¹⁰⁾. 또한 taurine은 당뇨병환자에서 그 혈중 농도가 낮으며^{9,11)}, 그것이 또한 당뇨 환자 태아의 후천적 당뇨병에 원인이 될 수도 있으나 그 기전은 정확히 알려져 있지 않다. 최근에 taurine이 UCP2 (uncoupling protein-2)가 과발현된 세포의 인슐린 분비를 개선한다는 보고가 있었으나¹²⁾, 당뇨 유발기전이 다른 OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) 쥐의 췌장 베타세포의 인슐린 분비에 미치는 영향에 대해서는 조사가 된 적이 없다. OLETF 쥐에서 taurine의 혈중 농도를 직접 관찰한 보고는 없으나, taurine이 당뇨병환자 또는 동물에서 증가한 세포 삼투압 농도를 조절하기 위해 세포외부로 유출되고, 소변으로 배설되는 점⁹⁾을 생각하면, OLETF 쥐에서도 taurine 부족이 나타날 수 있다고 추측되며, OLETF 쥐에서 taurine의 추가적 공급이 인슐린 분비에 도움이 된다면, 당뇨병의 발병 원인에 관계없이 또한 부작용의 우려없이 taurine을 당뇨병 환자의 보조 치료제로서 널리 사용할 수 있는 기반을 더욱 다질 수 있다고 생각된다.

OLETF 쥐는 생후 20주 이후에 제2형 당뇨병 소견을 보이며, 비만, 고혈당, 고지방혈증 및 인슐린저항성을 특징으

로 한다^{13,14)}. 조직학적 측면에서 OLETF 쥐의 췌장 소도는 주령별로 3단계로 나뉘어 지는데 1) 생후 6~20주까지의 초기에는 면역 세포들의 침윤 및 소도 세포들의 변성 시작¹⁵⁾, 2) 20주에서 40주까지는 인슐린저항성의 보상으로 보이는 소도세포들의 과증식 및 점진적 소도의 섬유화 소견¹⁶⁾, 3) 40주 이상에서는 말기 단계로 거의 모든 췌장 소도 세포들의 소멸과 소도의 섬유화 완성¹⁷⁾이 그것이다. 즉 20주에서 40주 사이는 계속적 체중 증가로 인한 인슐린저항성이 특징적 소견인 제2형 당뇨병의 소견을 보이고^{18,19)}, 40주 이후에는 췌장 소도세포의 수적 감소에 따른 제1형 당뇨병의 소견을 나타내며, 심한 다식증, 다뇨증 및 각종 당뇨병 부작용들이 나타나기 시작한다.

이제까지 OLETF 쥐와 관련된 연구는 비만, 고지방혈증을 원인으로 한 인슐린저항성에 대해서 주로 연구되어 왔다²⁰⁾. 췌장 소도에서도 축적된 지방적 (lipid droplet)들에 의해 소도세포의 세포자연사 (apoptosis)가 증가하고, 세포사멸이 촉진된다는 보고²¹⁾는 있으나, 인슐린저항성에 대항하기 위해 과증식 상태로 된 베타세포를 대상으로 직접 고농도의 포도당에 의한 인슐린 분비능과 그에 미치는 taurine의 효과를 관찰한 보고는 없다.

그러므로 저자들은 OLETF 쥐의 췌장 베타세포를 대상으로, 고농도 포도당에 의한 인슐린 분비능에 미치는 taurine의 영향을 조사해 보고자 하였으며, 그 taurine의 기전이 베타세포내 포도당 대사와 연관이 있는지를 K_{ATP} channel 활성도를 측정하여 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험 동물 및 재료

생후 29주 된 수컷 OLETF 쥐 (Otsuka Pharmaceutical Co. Tokushima, Japan)를 평균 체중이 유의한 차이가 나지 않도록 대조군 (n=10)과 taurine 투여군 (n=10)으로 나누었다. Taurine군은 음용수에 taurine을 1% 혼합 (평균 약 0.8 g/kg/day)하여 공급하였으며, 그 외의 조건은 두 군의 쥐에서 40주까지 동일하였다. 매일 물 소비량과 체중을 측정하였고, 40주 쯤 sodium pentobarbital 마취하에서 IPGTT (복강내 당내성 검사; intraperitoneal glucose tolerance test)를 시행한 후, 췌장 소도 및 췌장 베타세포를 분리하였다. 이후 taurine 투여군에서는 0.3 mM의 taurine이 전 실험과정을 통하여 항상 배양액 및 실험 용액에 공급되었다. Taurine은 Tocris사 (Ellisville, USA)의 제품을 사용하였다.

2. 췌장 소도 및 베타세포 분리

쥐를 sodium pentobarbital로 마취시킨 후 복부를 절개하고, 복부 대동맥을 통한 혈액 채취에 의해 심장의 박동이 정

지함을 확인하였다. 총담관을 노출시키고, 십이지장과의 연결부위를 절찰하고, 간측 담관을 통해 삽침 (26 G)하여 미리 냉각된 collagenase (1 mg/mL HBSS; Hank's Balanced Salt Solution, Sigma, St. Louis, MO)를 약 10~12 mL 주입하여 췌장 전체를 부풀린 다음 췌장을 가위로 절개하였다. 절개된 췌장을 37°C 수조에서 15분간 소화시킨 후, 서너개의 100 mm 배양접시로 옮겨 15배율 현미경하에서 췌장 소도를 10 μ L 피펫으로 수거하였다. 수거된 췌장 소도는 10% BSA (bovine serum albumin, Gibco, Carlsbad, CA)가 포함된 KRBB (Kreb's Ringer Bicarbonate Buffer, Sigma) 용액에 먼저 보관하였다. 베타세포를 얻기 위해서는 췌장소도를 20 G, 22 G, 24 G, 26 G 주사기의 침을 통해 순차적으로 통과시켜, 소도로부터 단일 췌장 베타세포들이 분리되게 하였다. 분리된 췌장 소도 및 베타세포는 5 mM 포도당이 포함된 RPMI 1640 배양액 (Sigma)에 10% FBS (fetal bovine serum, Hyclone, Logan, UT), penicillin (100 U/mL)과 streptomycin (0.1 mg/mL)을 첨가하여, 37°C, 5% CO₂, 95% 공기배합 배양기에서 배양하였다. 전기생리학적 실험을 위해 베타세포는 3 mm × 8 mm의 커버글라스 위에서 배양되었다.

3. 췌장 소도 인슐린 분비능의 측정

췌장 소도의 기저 (basal) 및 포도당 자극에 의한 인슐린 분비능 (glucose-stimulated insulin secretion; GSIS)은 방사면역법을 이용한 polyethylene glycol 법 (Linco Research Inc., St. Charles, MO)으로 측정하였다. 먼저 췌장 소도를 분리한 후, 5 mM 포도당이 든 RPMI 배양액에서 12시간 이상 배양한 후, 포도당이 없는 전해질 용액으로 채워진 48 well-plate의 각 well당 10개씩의 소도를 넣고, 1시간, 37°C에서 전배양 (preincubation)하였다. 전해질 용액의 조성 (mM)은 0.1%의 BSA가 첨가된 135 NaCl, 5 KCl, 5 CaCl₂, 2 MgSO₄, 10 HEPES (pH 7.4)이었다. 이후 췌장 소도들은 5 mM 또는 15 mM 포도당에서 각각 1시간씩 배양되었다. 배양 후 소도까지 포함된 용액을 원심 시킨 후 (700 g, 5분), 각각 200 μ L씩의 상층액을 주의 깊게 채취하여, 추후 인슐린 측정을 위해 -70°C에서 보관하였다. 인슐린 함량을 측정하기 위해 남은 소도 침전물을 각 well당 400 μ L RPMI로 씻고, 150 μ L의 냉각된 완충액 (lysis buffer; 50 mM HEPES, 0.1% Triton X-100, 1 μ M PMSF, 10 μ M E-64, 10 μ M pepstatin A, 10 μ M TLCK, 100 μ M leupeptin; pH 8.0)에서 용해시켰다. 고주파 분쇄와 원심 (10,000 g, 2분) 후, 상층액을 수거하여 잔여 인슐린 함량 (remaining insulin content)을 구하였다. 각 well의 총 인슐린 함량 (total insulin content)은 잔여 인슐린 함량에 인슐린 분비량을 더하여 구하였으며, 인슐린 분비량은 소도간 크기와 인슐린 함량의 편차를 줄이기 위해, 각 well 별로 총 인슐린 함량의 백분율로

구하였다.

4. 전기생리학적 측정

K_{ATP} 통로 활성도를 측정하기 위해 막전압 고정 기법 (voltage-clamp technique)을 사용하였으며, 그 중 세포내 대사에 영향이 없는 가운데 전류를 측정할 수 있는 cell-attached mode를 적용하였다.

사용한 유리전극은 박막의 borosilicate glass (World Precision Instruments Inc, Sarasota)를 사용하였으며, 수직인장기 (PP-83, Narishige Scientific Instrument Lab, Tokyo, Japan)를 이용, 제작하였다. 제작된 유리전극은 열가공과 silyard 피막공정으로, 전기잡음을 최대한 감소시켰다. 실험에 사용한 유리전극의 저항은 약 5 M Ω 이었다.

막전압 증폭기는 Axopatch 200B amplifier (Axon Instrument Inc, Union city, CA)를 사용하였으며, 기록된 전류는 아날로그-디지털 상호 변환기 (Digidata 1322, Axon)를 거쳐 컴퓨터에 저장하였으며, pClamp 8.2 소프트웨어 (Axon)를 사용하여 분석하였다. 샘플추출은 5 KHz로, 여과는 1 KHz로 하였다. Axiovert 135 (Carl Zeiss, Jena, Germany) 독립 현미경에 장치된 수조에 세포를 위치시키고, 세포외액을 관류시키며 실험을 실시하였다. 관류액은 20초 이내에 전 세포외액이 교환될 수 있는 속도를 유지하였다. 고농도의 포도당 (10 mM)을 관류시키기 전 베타세포들은 적어도 20분 이상 0 mM 포도당 관류액에 노출되어, 가능한 세포내 ATP 농도를 낮게 유지하도록 하였다. 세포외 용액의 조성 (mM)은 137 NaCl, 5.6 KCl, 1.2 MgCl₂, 2.6 CaCl₂, 10 HEPES (pH 7.4)이었으며, 유리전극 용액의 조성 (mM)은 140 KCl, 1.2 MgCl₂, 2.6 CaCl₂, 10 HEPES (pH 7.2)를 사용하였다. 유리전극내 전압을 0 mV로 고정하여 전류를 측정하였다.

5. 혈당 측정

IPGTT 때 꼬리정맥 (tail vein)에서 채취한 혈액으로부터 혈당을 측정하였으며, glucose oxidase법을 이용하였다 (Glucocard test strip II, Arkcray Inc, Kyoto, Japan).

6. 통계적 분석

결과는 평균과 표준오차 (Mean \pm SE)로 표시하였으며, 통계적 유의성은 Student t-test로 $P < 0.05$ 수준에서 검증하였다. 인슐린 측정에 있어서는 한번 실험에서 동일 조건을 3 well씩 분배하였으며, 이들에게 각각 측정된 값들의 평균값을 그 조건의 인슐린 분비량으로 취하였고, 이를 관찰수 (n)=1로 표시하였다.

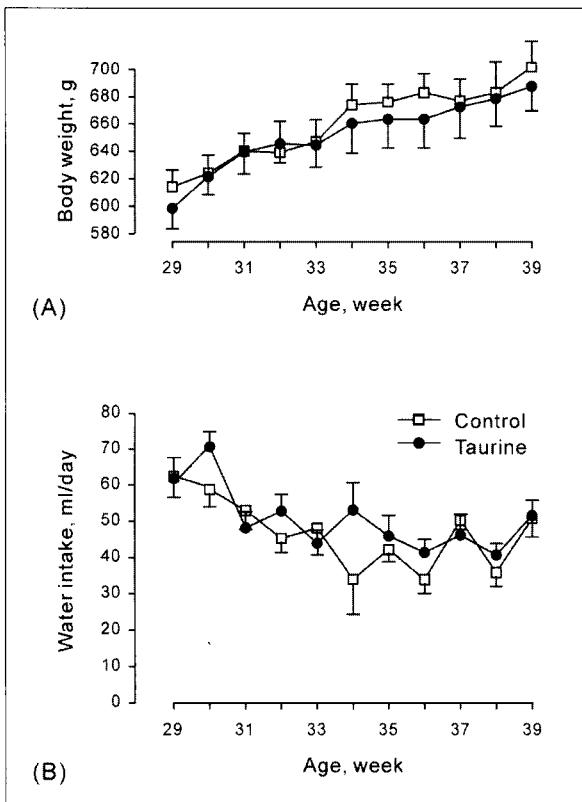


Fig. 1. Changes in body weight (A) and daily water intake (B) in control (n=10) and taurine-treated (n=10) groups in OLETF rats. The symbols represent mean \pm SE.

결 과

1. 체중 및 물 섭취량의 나이별 변화

생후 29주에 측정된 OLETF 쥐 체중의 평균값은 두 군 사이에서 유의한 차이가 없었다 (Fig. 1A). 이후 39주까지 점진적인 체중의 증가가 관찰되었으며, 체중 증가 정도는 두 군이 유사하였다. 일일 물 섭취량의 변화도 대조군과 taurine 투여군 사이에 10주간 큰 차이가 관찰되지 않았다 (Fig. 1B).

2. 생후 40주에 시행된 IPGTT (intraperitoneal glucose tolerance test)

생후 40주에 두 군의 쥐들을 12시간이상 금식시킨 후 복강내에 체중 kg당 2g의 포도당을 주입하여 당내성검사를 실시하였다 (Fig. 2). 포도당 주입후 30분 간격으로 2시간 동안 관찰된 혈당치는 taurine 투여군에서 대조군에 비해 현저히 낮았으며, 회복도 빠른 양상을 보였다.

3. 생후 40주 OLETF 쥐의 췌장 소도에서 측정된 인슐린 분비량

Taurine이 혈중 포도당 제거를 촉진시키는 기전에 있어,

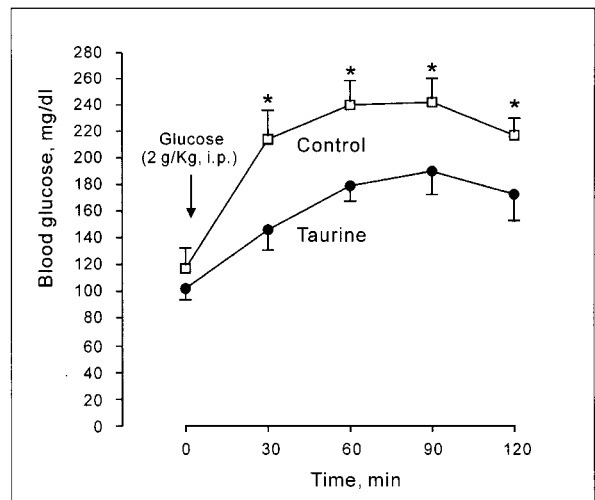


Fig. 2. Changes in blood glucose level during intraperitoneal glucose tolerance test performed in control (n=9) and taurine-treated (n=9) groups in OLETF rats. The rats were injected with 2 g glucose/kg body weight. The symbols represent mean \pm SE. * P < 0.05 compared to values from taurine-treated group of the same time period.

taurine이 고농도의 포도당에 의한 인슐린 분비에 어떤 영향을 미치는지를 관찰하고자, 40주 짜의 대조군 및 taurine 투여군의 췌장 소도에서 인슐린 분비량을 측정하였다 (Fig. 3). 먼저 각 실험군의 소도에서 측정된 총 인슐린 함량에는 유의한 차이가 없었다 (Fig. 3A). 그리고, 5 mM 포도당에서 측정된 기저 인슐린 분비량²²⁾도 대조군 및 taurine 투여군 사이에서 유의한 차이가 없었지만, 15 mM 포도당으로 췌장 소도를 한 시간 동안 자극 시, 두 군의 인슐린 분비량을 비교해 보면, taurine 투여군에서 대조군에 비해 현저히 인슐린 분비가 증가하였음을 알 수 있었다 (Fig. 3B).

4. 생후 40주 OLETF 쥐의 췌장 베타세포에서 측정된 K_{ATP} 통로 활성도의 변화

췌장 소도에서 고농도의 포도당 자극에 의한 인슐린 분비가 taurine에 의해 개선되었다면, taurine 투여군의 췌장 베타세포에서 실질적으로 ATP의 합성이 증가하였다는 것을 암시한다. 이를 규명하기 위해 투여된 포도당에 의해 세포내 ATP/ADP ratio의 증가를 감지하여 그 활성도가 감소하는 K_{ATP} 통로 전류를 측정하였다 (Fig. 4). 대조군에서 추출된 췌장 베타세포를 대상으로 10 mM 포도당이 함유된 세포외 용액을 공급하였을 때, K_{ATP} 통로 활성도의 감소는 5분에 걸쳐 서서히 진행되었으며 (Fig. 4A), 이러한 결과는 일반 정상쥐에서 포도당 자극에 의한 통로 활성도 감소율보다 현저히 낮은 것이었다¹²⁾. 그러나 taurine 투여군의 베타세포에서는 동량의 포도당으로 자극시 통로 활성 감소 속도가 대조군에 비해 현저히 빨랐다 (Fig. 4B).

고찰

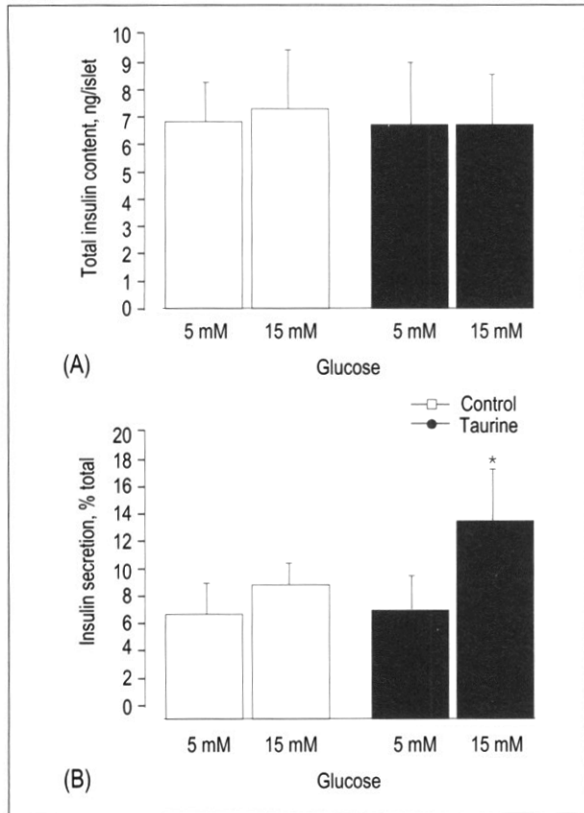


Fig. 3. Fractional insulin secretion expressed as a percentage of total insulin content secreted. Total insulin content is the sum of final insulin content and corresponding secreted insulin. The symbols represent mean \pm SE. * $P < 0.05$ compared to values measured at 3 mM glucose of the same group.

당뇨병의 원인인 베타세포 기능장애에서 가장 중요한 첫 번째는 포도당 대사 과정 자체의 장애이다. MODY-2형 당뇨병에서 glucokinase의 기능이 억제된다는 보고²³⁾가 있고, 당뇨병모델의 하나인 Goto-Gakizaki 쥐에서는 glycerol-phosphate shuttle에 장애가 있다고 보고되었으며²⁴⁾, 출생 24시간내 streptozotocin을 주사함으로써 유도된 제2형 당뇨쥐에서는 동일 부위의 장애와 malate-aspartate shuttle에서의 보상적 항진현상이 관찰된 바 있다²⁵⁾. OLETF 쥐에서는 인슐린 저항성 증가에 대한 보상기전으로 생각되는 소도 세포의 과증식이 생후 20주에서 40주 사이에 관찰된다¹³⁾.

췌장 베타세포에서 포도당 자극에 의한 인슐린 분비는 전술한 바와 같이 포도당 대사를 통해 ATP가 생산되고, K_{ATP} 통로의 활성이 억제되어 세포막 탈분극에 의한 Ca^{2+} 의 세포내 유입으로 일어나게 된다. 또 다른 기전으로는 포도당 대사는 일어나지만, 세포 막전압의 변화는 없이 단지 Ca^{2+} 의 증가만을 요구하는 인슐린 분비기전이 있다²⁶⁾. 이 경로의 존재는 K_{ATP} 통로 활성촉진제인 diazoxide를 투여한 상태에서 고농도의 세포의 K^+ 농도를 유지하여, 세포내 Ca^{2+} 양을 증가시킨 상태에서 관찰할 수 있다.

본 실험에서 OLETF 쥐의 췌장 소도에서 포도당 자극에 의한 인슐린 분비가 taurine에 의해 개선될 수 있었다. Taurine은 또한 포도당에 의한 췌장 베타세포의 인슐린 분비기전 중 K_{ATP} 통로에 의존적인 기전에 주로 작용함을 관찰하

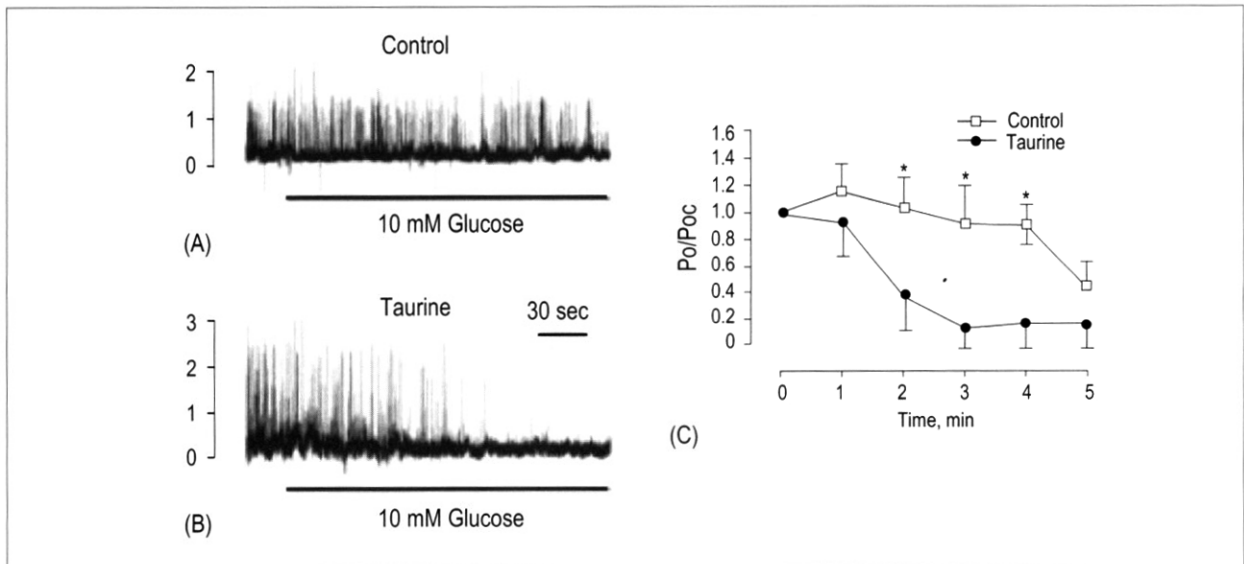


Fig. 4. Effect of 10 mM glucose on K_{ATP} channel activity in control (A) and taurine-treated groups (B) in OLETF rats. Cell-attached mode at a holding potential of 0 mV. The vertical scales indicate the number of channels (C). Mean conductance of K_{ATP} channel activity during 10 mM glucose loading for 5 min. The symbols represent mean \pm SE. * $P < 0.05$ compared to values from taurine-treated group of the same time period. Po: open probability in the presence of glucose, Poc: open probability in control before glucose application.

었다. Taurine은 K_{ATP} 통로 자체의 ATP 감수성은 변화시키지 않는다고 알려져 있기 때문에⁸⁾, 세포내 ATP 농도에는 차이가 없이 단지 K_{ATP} 통로의 ATP에 대한 감수성이 taurine에 의해 증가되었다고 볼 수는 없다. 그러므로, 주어진 포도당에 대해 taurine군의 베타세포에서 더 많은 ATP가 생성되었고, 그로 인해 인슐린 분비가 증가되었을 것으로 생각된다.

Taurine이 세포내에서 생리학적 작용을 할 때 하나의 기전으로서, taurine 분자 내에 공존하는 양전하와 음전하를 이용한다고 한다. 즉 taurine은 지질막에 존재하며 역시 양전하, 음전하를 모두 가지는 중성 인지질 (neutral phospholipid)과 쉽게 결합할 수 있으며, 그 결과로 막의 유동성을 변화시키고, 지질막을 기반으로 함께 존재하는 각종 인접 단백질들, 즉 이온 통로^{27,28)}나, 수송체 (transporter) 및 수용체 (receptor)의 기능^{29,30)}에도 영향을 미칠 수 있다. 세포막 뿐 아니라 각종 세포내 소기관의 지질막에도 동일한 기전으로 작용함이 알려져 있다³¹⁾.

본 실험의 결과는 taurine이 포도당에 의한 ATP의 합성을 증가시킨 결과로 생각된다. 포도당이 미토콘드리아에서 산화적 인산화 (oxidative phosphorylation)과정 중 citric acid cycle을 거칠 때, 미토콘드리아 내 Ca^{2+} 의 농도가 높게 유지되어야 한다는 사실은 잘 알려져 있다. 이는 citric acid cycle의 탈수소효소 (dehydrogenase)들이 활성화되기 위해서 Ca^{2+} 이 필요하기 때문이다³²⁾. Ca^{2+} 이 미토콘드리아 기질 (matrix)내로 들어가는 통로는 미토콘드리아 내막에 존재하는 일종의 수송체인 Ca^{2+} uniporter 단백질이다. 즉 Ca^{2+} uniporter의 활성도가 미토콘드리아 막전압과 함께 Ca^{2+} 의 미토콘드리아내로의 이동에 중요하다고 알려져 있다³³⁾. 간 실질 세포에서 taurine은 생리학적 세포내 taurine 농도 (10 mM)에서 Ca^{2+} uniporter의 활성도를 약 2배 증가시키는 것으로 알려져 있다^{34,35)}. 그리고 최근에는 UCP2가 과발현된 흰쥐 췌장 베타세포에서 taurine이 Ca^{2+} uniporter 활성도를 증가시킬 수 있다는 것이 보고되었다¹²⁾. 본 실험에서도 taurine은 OLETF 쥐의 췌장 베타세포의 포도당에 대한 감수성을 Ca^{2+} uniporter의 활성 증가를 통해 회복시켰다고 추측되나, 추후 미토콘드리아 칼슘의 직접 측정으로 증명되어야 할 과제이다. 또한 본 실험의 대조군과 taurine 투여군 사이에서 체중변화에 있어 차이는 없고, taurine 투여가 베타세포의 총 인슐린 함량을 크게 변화시키지 않음으로 보아, OLETF 쥐의 특징인 비만에 의한 인슐린저항성의 증가와 그에 따른 베타세포내의 보상성 인슐린 함량 증가는 효과적으로 억제 하진 못한 것으로 생각된다.

Taurine은 실제 사람에게 있어서도 혈중 지질농도의 현저한 개선을 보인다고 알려져 있다³⁶⁾. OLETF 쥐에서도 췌장 소도세포들에 지방의 축적이 야기된다고 하며, 이것이 인슐린 분비에 장애를 준다는 보고가 있다¹¹⁾. 이와 같이 taurine

이 OLETF 쥐의 혈중 지질 농도를 감소시키고, 췌장 소도세포의 지방 축적을 억제하여 포도당에 의한 인슐린 분비를 개선하였다고 볼 수도 있겠다. 그러나 실질적으로 혈중 지질 농도를 현저히 감소시키는 bezafibrate (PPAR α 수용체 차단제)를 투여하였을 때 OLETF 쥐의 인슐린 분비개선이 약물 투여 초기에만 나타나고 그 후 효과가 지속되지 않는 점으로 미루어¹⁶⁾, taurine이 혈중 지질 농도를 개선하였다 하더라도, taurine의 다른 효과, 즉 베타세포내의 포도당 대사개선 효과를 배제할 수는 없다고 생각된다.

많은 당뇨병환자에서 taurine의 혈중 농도가 감소함이 관찰되는 바¹¹⁾, 이는 고농도의 포도당이 세포 삼투압을 변화시키고, 세포내 polyol pathway에 기인하여, 낮은 세포막 투과성을 가지는 sorbitol이 세포내에 축적되고, 대신 세포 삼투질 농도 유지를 위해 taurine 또는 myo-inositol이 세포외로 빠져나오기 때문이다⁹⁾.

결론적으로 비만성 당뇨병 동물 모델인 OLETF 쥐와 같이 심각한 인슐린저항성을 가지는 당뇨병에서 taurine의 추가적 공급은 췌장 베타세포에서 포도당 대사를 증가시키고, 따라서 인슐린 분비능도 개선한다고 생각된다. 당뇨병환자에서 taurine의 혈중 농도의 유지는 그 치료 및 합병증 예방에 매우 중요하게 고려되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경: OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) 쥐는 비만에 의한 체중 증가, 그로 인한 인슐린저항성을 특징으로 하는 제2형 당뇨병 모델이다. 비만성 당뇨병에서 인슐린저항성을 보정하는 것과 마찬가지로, 췌장 소도세포에서의 포도당에 의한 인슐린 분비를 개선하는 것도 중요하다고 생각된다. Taurine은 설과계 아미노산으로서 당뇨병에 효과가 있다고 보고된 바, 저자들은 생후 40주에 OLETF 쥐의 췌장 소도를 채취하여 taurine이 포도당에 의한 인슐린 분비에 미치는 영향을 보고자 하였다.

방법: 생후 20주부터 OLETF 쥐의 음용수에 1% taurine을 공급하여 taurine 투여군으로 하였다. 생후 40주에 췌장 소도 및 베타세포를 채취하여 인슐린 분비능을 관찰하였다. 또한 포도당 노출에 의한 베타세포 K_{ATP} 통로 활성도 변화를 대조군 및 taurine 투여군에서 비교하였다.

결과: Taurine의 투여는 OLETF 쥐의 체중 증가에는 효과가 없었다. OLETF 쥐의 췌장 소도의 포도당 자극에 의한 인슐린 분비능과 K_{ATP} 통로 활성도 억제가 taurine의 공급으로 인해 증가하였다.

결론: 비만성 당뇨병의 동물 모델인 OLETF 쥐의 췌장 베타세포의 포도당에 대한 감수성은 taurine에 의해 유의하게 증가하였다. 제2형 당뇨병환자에서 taurine의 적정 혈중 농도의 유지는 당뇨병의 치료에 중요한 부분이라고 사료된다.

참 고 문 헌

1. Matschinsky FM, Glaser B, Mangnuson MA: *Pancreatic beta-cell glucokinase: closing the gap between theoretical concepts and experimental realities. Diabetes* 47:307-15, 1998
2. Ashcroft FM, Gribble FM: *ATP-sensitive K⁺ channels and insulin secretion: their role in health and disease. Diabetologia* 42:903-19, 1999
3. Velho G, Vaxillaire M, Boccio V, Charpentier G, Froguel P: *Diabetes complications in NIDDM kindred linked to the MODY3 locus on chromosome 12q. Diabetes Care* 19:915-9, 1996
4. Morales-Mulia M, Pasantes-Morales H, Moran J: *Volume sensitive efflux of taurine in HEK293 cells over-expressing phospholemman. Biochim Biophys Acta* 1496:252-60, 2000
5. McBroom MJ, Elkhawad AO, Dlouha H: *Taurine and ethanol-induced sleeping time in mice: route and time course effects. Gen Pharmacol* 17:97-100, 1986
6. Sawamura A, Sperelakis N, Azuma J: *Protective effect of taurine against decline of cardiac slow action potentials during hypoxia. Eur J Pharmacol* 120:235-9, 1986
7. Han J, Kim E, Ho WK, Earm YE: *Blockade of the ATP-sensitive potassium channel by taurine in rabbit ventricular myocytes. J Mol Cell Cardiol* 28:2043-50, 1996
8. Tricarico D, Barbieri M, Camerino DC: *Taurine blocks ATP-sensitive potassium channels of rat skeletal muscle fibres interfering with the sulphonylurea receptor. Br J Pharmacol* 130:827-83, 2000
9. Hansen SH: *The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. Diabetes Metab Res Rev* 17:330-46, 2001
10. Cherif H, Reusens B, Ahn MT, Hoet JJ, Remaclé C: *Effects of taurine on the insulin secretion of rat fetal islets from dams fed a low-protein diet. J Endocrinol* 159:341-8, 1998
11. Tasaka Y, Iwatani M, Inoue S, Marumo K, Hirata Y: *Plasma amino acid levels in hyperosmolar nonketotic diabetic coma. Horm Metab Res* 15:59-61, 1983.
12. Han J, Bae JH, Kim SY, Lee HY, Jang BC, Lee IK, Cho CH, Lim JG, Suh SI, Kwon TK, Park JW, Ryu SY, Ho WK, Earm YE, Song DK: *Taurine increases glucose sensitivity of UCP2-overexpressing beta-cells by ameliorating mitochondrial metabolism. Am J Physiol Endocrinol Metab* 287:E1008-18, 2004
13. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saitoh Y, Kurosumi M, Natori T: *Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain. Diabetes* 41:1422-8, 1992
14. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Natori T: *OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) rat: a new NIDDM rat strain. Diabetes Res Clin Pract* 24(Suppl): S317-20, 1994
15. Mori Y, Komiya H, Kurokawa N, Tajima N: *Comparison of the effects of glimepiride and glibenclamide on adipose tissue tumour necrosis factor-alpha mRNA expression and cellularity. Diabetes Obes Metab* 6:28-34, 2004
16. Jia D, Yamamoto M, Otani M, Otsuki M: *Bezafibrate on lipids and glucose metabolism in obese diabetic Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. Metabolism* 53:405-13, 2004
17. Kawano K, Mori S, Hirashima T, Man ZW, Natori T: *Examination of the pathogenesis of diabetic nephropathy in OLETF rats. J Vet Med Sci* 61:1219-28, 1999
18. Ishizawa K, Yoshizumi M, Tsuchiya K, Takishita E, Nakaya Y, Kishi K, Ebina Y, Houchi H, Minakuchi K, Tamaki T: *Effects of losartan in combination with or without exercise on insulin resistance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. Eur J Pharmacol* 430:359-67, 2001
19. Iwai H, Ohno Y, Aoki N: *The effect of leptin, tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha), and nitric oxide (NO) production on insulin resistance in Otsuka Long-Evans fatty rats. Endocr J* 50:673-80, 2003
20. Luan Y, Hirashima T, Man ZW, Wang MW, Kawano K, Sumida T: *Pathogenesis of obesity by food restriction in OLETF rats-increased intestinal monoacylglycerol acyltransferase activities may be a crucial factor. Diabetes Res Clin Pract* 57:75-82, 2002
21. Man ZW, Zhu M, Noma Y, Toide K, Sato T, Asahi Y, Hirashima T, Mori S, Kawano K, Mizuno A, Sano T, Shima K: *Impaired beta-cell function and deposition of fat droplets in the pancreas as a consequence of hypertriglyceridemia in OLETF rat, a model of spontaneous NIDDM. Diabetes* 46:1718-24, 1997
22. Man ZW, Hirashima T, Mori S, Kawano K: *Decrease in triglyceride accumulation in tissues by restricted*

- diet and improvement of diabetes in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats, a non-insulin-dependent diabetes model. *Metabolism* 49:108-14, 2000
23. Burke CV, Buettger CW, Davis EA, McClane SJ, Matschinsky FM, Raper SE: *Cell-biological assessment of human glucokinase mutants causing maturity-onset diabetes of the young type 2 (MODY-2) or glucokinase-linked hyperinsulinaemia (GK-HI)*. *Biochem J* 342: 345-52, 1999
24. Tsuura Y, Ishida H, Okamoto Y, Kato S, Horie M, Ikeda H, Seino Y: *Reduced sensitivity of dihydroxyacetone on ATP-sensitive K^+ channels of pancreatic beta cells in GK rats*. *Diabetologia* 37:1082-7, 1994
25. Song DK, Ahn YH, Bae JH, Park WK, Hong YS, Ho WK, Earm YE: *Evidence of enhancement of malate-aspartate shuttle activity in beta cells of streptozotocin-induced non-insulin-dependent diabetic rats*. *Metabolism* 49:92-6, 2000
26. Gembal M, Detimary P, Gilon P, Gao ZY, Henquin JC: *Mechanisms by which glucose can control insulin release independently from its action on adenosine triphosphate-sensitive K^+ channels in mouse B cells*. *J Clin Invest* 91:871-80, 1993
27. Steele DS, Smith GL, Miller DJ: *The effects of taurine on Ca^{2+} uptake by the sarcoplasmic reticulum and Ca^{2+} sensitivity of chemically skinned rat heart*. *J Physiol* 422:499-511, 1990
28. De Luca A, Pierno S, Camerino DC: *Effect of taurine depletion on excitation-contraction coupling and Cl-conductance of rat skeletal muscle*. *Eur J Pharmacol* 296:215-22, 1996
29. Igisu H, Izumi K, Goto I, Kina K: *Effects of taurine on the ATPase activity in the human erythrocyte membrane*. *Pharmacology* 14:362-6, 1976
30. Sebring LA, Huxtable RJ: *Taurine modulation of calcium binding to cardiac sarcolemma*. *J Pharmacol Exp Ther* 232:445-51, 1985
31. Lombardini JB: *Effects of taurine and mitochondrial metabolic inhibitors on ATP-dependent Ca^{2+} uptake in synaptosomal and mitochondrial subcellular fractions of rat retina*. *J Neurochem* 51:200-5, 1988
32. McCormack JG, Halestrap AP, Denton RM: *Role of calcium ions in regulation of mammalian intramitochondrial metabolism*. *Physiol Rev* 70:391-425, 1990
33. Kuriyama K, Muratmatsu M, Nakagawa K, Kakita K: *Modulating role of taurine on release of neurotransmitters and calcium transport in excitable tissues*. In Barbeau A, Huxtable RJ, editors. *Taurine and Neurological Disorders*. p. 201-216, New York, Raven Press, 1978
34. Palmi M, Fusi F, Youmbi G, Frosini M, Bianchi L, Della Corte L, Sgaragli GP, Tipton KF: *Effects of taurine and structurally related analogues on Ca^{2+} uptake and respiration rate in rat liver mitochondria*. *Adv Exp Med Biol* 403:117-24, 1996
35. Palmi M, Youmbi GT, Fusi F, Sgaragli GP, Dixon HB, Frosini M, Tipton KF: *Potentiation of mitochondrial Ca^{2+} sequestration by taurine*. *Biochem Pharmacol* 58: 1123-31, 1999
36. Mizushima S, Nara Y, Sawamura M, Yamori Y: *Effects of oral taurine supplementation on lipids and sympathetic nerve tone*. *Adv Exp Med Biol* 43:615-22, 1996