

Nicotinamide가 Streptozotocin 당뇨성 쥐의 혈중 지질 성분에 미치는 영향

최종원[†] · 손기호 · 김석환 *

경성대학교 약학대학
* 동아대학교 식품영양학과

The Effects of Nicotinamide on the Serum Lipid Composition in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Jong-Won Choi[†], Kie-Ho Sohn and Seok-Hwan Kim *

College of Pharmacy, Kyung-sung University, Pusan 608-736, Korea

* Dept. of Food Science and Nutrition, Dong-A University, Pusan 604-714, Korea

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of pretreatment with nicotinamide on the serum lipid composition and atherosclerotic index in streptozotocin(STZ)-induced diabetic rats. Nicotinamide pretreatment in STZ-induced diabetic rats inhibited the rise of serum glucose concentration. Serum total lipids and triglyceride levels in the STZ-induced diabetic rats were significantly higher than those in the control group. But in the group pretreated with nicotinamide, triglyceride and lipid levels were significantly lower compared with those of STZ-induced diabetic rat group without nicotinamide. However, the serum phospholipid levels were not statistically different among treatment groups. In the STZ-induced diabetic group, the serum total cholesterol, VLDL, LDL-cholesterol levels and atherosclerotic index were higher and HDL-cholesterol level was lower compared to the control group. However, these changes were prevented by nicotinamide pretreatment. Pretreatment with nicotinamide significantly increased the activities of serum lipase compared to the STZ-treated group. Aminotransferase (ALT, AST) activities were not significantly different in any of the groups.

Key words : nicotinamide, streptozotocin-diabetic rats, lipase, atherosclerotic index

서 론

Nicotinamide는 niacin이라는 수용성 비타민의 활성형으로서 niacin의 결핍상태를 예방 및 치료하는 목적으로 사용되며 또한 대사성 질환의 보조 요법으로도

임상적인 측면에서 널리 응용되고 있다. 체내에서는 NAD, NADP의 구성 성분으로서 존재하는데 이 보호소들은 세포내 산화환원 반응에서 hydrocarbon carrier로 작용^{1,2)}하는 물질로서 최근에는 nicotinamide가 실험실적으로 당뇨병 유발용으로 사용되는 streptozotocin(이하 STZ로 약함)의 diabetogenic effect를 나타내는 기전을 억제한다고 보고^{3~5)}된 후 여러 학자들에

* To whom all correspondence should be addressed

의해 효소학적인 측면에서도 많이 연구^{6~8)}되고 있으나 당과 지질 성분의 변동에 관한 상관관계에 대한 보문은 거의 찾아볼 수가 없다.

따라서 저자들은 당뇨병 유발시 체내 지질 성분의 변동을 검토할 목적으로 nicotinamide로 전 처리하고 STZ를 투여한 쥐에서 nicotinamide의 또 다른 diabetic 저지 효과를 추구하고자 본 실험을 시도하였다.

재료 및 방법

실험동물은 Sprague-Dawley계 숫쥐(200~250g)를 사용한 무작위로 4군으로 나누어 nicotinamide(200mg/kg)를 7일간 하루 2번씩 경구 투여하였고, STZ(50mg/kg)은 0.01M citrate buffer(pH 4.5)에 용해하여 꼬리 정맥에 주사하고 7일 후 혈청 중 당의 농도가 200mg/dl 이상인 것을 당뇨병 유발로 간주하였다.

실험전 24시간 동안 물만 주고 절식시킨 흰쥐를 CO₂ gas로 마취시키고 심장으로부터 혈액을 채취한 후 혈청을 분리하여 아래 실험에 사용하였다. 혈청 중 glucose의 정량은 glucose oxidase법에 따른 Exa-xtech^R(Medisense, Inc.) blood glucose test strip을 사용하였고, 총지질 함량은 Folch의 방법⁹⁾, triglyceride 함량은 Muller¹⁰⁾방법에 의한 kit(Einken Co.)를 사용하여 측정하였고 phospholipid의 함량은 Chen 등의 방법¹⁰⁾, 총 cholesterol, VLDL, LDL-cholesterol 정량은 효소 방법 및 phosphotungstic acid-Mg 침전법에 의한 kit(Einken Co.)를 사용하였으며, 혈청 중 lipase의 측정은 Tietz¹¹⁾법에 준하여 조제된 kit(Nephelopack-Lipase)를 사용하여 Nephelotek DN-2110(경도 세밀과학, 일본)로 측정하였다.

혈청 aminotransferase (AST, ALT)의 활성도는 Reitman과 Frankel의 방법¹²⁾에 준하여 조제된 kit(Einken Co.)를 사용하여 측정하였으며 본 실험에서 얻어진 결과는 평균 ± 표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성은 Duncan's new multiple range test를 이용하였다.

결과 및 고찰

혈청 중 당의 함량 및 지질 함량의 변화

Nicotinamide로 전처리하고 STZ를 투여(이하 nico-

Table 1. Effect of nicotinamide pretreatment on the blood glucose levels in STZ-induced diabetic rats

Treatment	N	Blood glucose (mg/ml)	Increment
Control	5	121.0±6.0	—
STZ	6	365.4±14.4*	200
NICO	5	147.7±12.6	20
NICO+STZ	6	178.0±11.4	47

Rats were orally administered nicotinamide (200mg/kg)-in 0.1ml sterile saline-twice daily for seven days, then STZ (50mg/kg)-in 0.2ml 0.01M citrate buffer (pH 4.5)-via tail vein was injected. The rats were sacrificed 7 days later for blood testing. Values are mean±S. D.

* : Significantly different from control (p<0.05)

Table 2. Effect of nicotinamide pretreatment on serum total lipid, triglyceride and phospholipid levels in STZ-induced diabetic rats

Treatment	mg/ml		
	Total lipid	Triglyceride	Phospholipid
Control	264.5±46.1 ^{a, b}	60.5±4.0 ^a	123.4±14.0 ^{NS^c}
STZ	358.0±43.7 ^b	94.0±7.3 ^b	140.6±18.7
NICO	289.3±41.9 ^a	79.3±13.4 ^a	120.0±13.7
NICO+STZ	316.4±36.4 ^{ab}	80.1±15.4 ^a	132.2±20.3

^a Mean± S. D. (n=6)

^b Values followed by the same letter are not significantly different (p<0.05)

^c NS : not significant

tinamide 전 처리군) 하였을 때 혈청 중 당의 농도 변화를 관찰한 성적과 혈청 중 총지질, triglyceride, 인지질에 미치는 영향을 관찰한 성적을 각각 Table 1과 Table 2에 나타내었다.

Streptozotocin(STZ)에 의해 유발된 당뇨성 쥐를 model 동물로 하여 nicotinamide를 전처리하고 STZ를 투여하였을 때 혈액 중의 당의 농도와 지질 함량과의 상관관계를 비교 검토한 결과, STZ를 투여함으로서 혈액 중 당의 함량이 대조군보다 약 200%정도 현저히 증가되었던 것이 nicotinamide의 전처리로서 대조군 수준으로 억제되었다. 한편, 혈청 중 total lipid은 대조군에 비하여 STZ 투여로서 약 45% 증가되었던 것이 nicotinamide로 전처리하면 대조군 수준으로 감소되었고 triglyceride의 혈중 함량에 있어서도 total lipid와 유사한 결과를 나타내었다. 그러나 phospholipid의 혈중 함량에서는 대조군과 비교하여 STZ 투여군이

나 nicotinamide 전처리 군에서도 유의한 차이가 나타나지 않았다.

Nicotinamide가 STZ에 의한 당뇨병 유발을 저지하는 기전은 STZ에 의한 DNA strand 손상시 repair system에 관여하는 효소인 poly(ADP-ribose) synthetase의 over activation에 의하여 세포내 NAD가 과잉 소모됨과 아울러 NAD의 전구체인 nicotinamide의 beta cell 내로의 up-take가 감소되고 세포내 NAD 합성이 억제되어 Langerhan's pancreatic island의 beta cell의 괴사가 나타나고 그후 insulin의 생합성이 저하되어 당뇨상태^[13~16]가 되는데 이때 nicotinamide가 NAD농도를 유지함과 동시에 poly(ADP-ribose) synthetase를 억제한다는 보고^[3~5]와 연관시켜 볼 때에 nicotinamide가 STZ에 의한 당뇨병 유발을 예방할 것이라는 결과를 뒤받침하고 있다.

이러한 혈당의 변동 상황이 본 실험에서 지질 함량의 변동과 특히 지질로 인하여 야기되는 고지혈증 유발시 나타나는 동맥경화 지표에 어떠한 영향을 주는가를 비교할 때 total lipid과 triglyceride 함량은 STZ에 의한 당뇨 유발시 현저히 증가되던 것이 nicotinamide 전처리로 정상상태로 억제되었으며 phospholipid 함량에는 별다른 영향이 없었다. 이것은 STZ에 의한 체내 insulin의 저하로 정상적인 당의 대사가 원활하게 일어나지 않아 acetyl Co-A에서의 lipid metabolism system의 대사계가 형성되어 간장내에서 지질성분이 축적되어 심한 지방변성^[17, 18]이 일어나 혈중에 총지질과 triglyceride의 유출이 증가되어 나타나는 결과로 생각되며 nicotinamide의 전처리가 STZ에 의해 야기되는 당과 지질대사의 불균형을 조절하여 주는 것으로 사료된다.

혈청중 총 cholesterol 함량과 동맥경화 지표

혈청중 총 cholesterol, VLDL, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol 및 동맥경화 지표에 미치는 nicotinamide의 영향에 관한 성적을 Table 3에 표시하였다.

STZ 투여시 total cholesterol, VLDL, LDL-cholesterol 함량은 각각 대조군에 비해 39%, 80% 증가되던 것이 nicotinamide 전처리로 대조군 수준으로 감소되었다. 혈청 HDL-cholesterol 함량에서는 STZ 투여로 대조군보다 약 16% 감소되던 것이 nicotinamide로 전처리하면 $39.1 \pm 5.2 \text{ mg/dl}$ 로 대조군 수준으로 증가되었으며 atherosclerotic index에서는 STZ 투여로 대조군에 비해 약 2배 정도 현저히 증가되던 것이 nicotinamide 전처리로 저하되었다.

혈청중 lipase 활성을 미치는 영향

혈청중 lipase 활성을 관찰한 성적이 Fig. 1이다.

혈청중 lipase 활성을 STZ에 의해 유도된 당뇨성 쥐에서는 $0.30 \pm 0.08 \text{ units}$ 로 대조군에서의 $0.87 \pm 0.11 \text{ units}$ 보다 약 65% 저하되었다.

그러나 nicotinamide로 전처리하면 혈청중 lipase 활성은 $0.75 \pm 0.10 \text{ units}$ 로 대조군 수준으로 회복되었다. 고지혈증은 동맥경화의 지표로서 소장에서의 중성지방의 합성과 chylomicron의 분비 증가, 간장에서의 triglyceride의 합성증가 및 VLDL, LDL 합성 및 분비증가, HDL의 합성감소 및 lipase의 활성감소로 인한 말초조직에서의 triglyceride의 제거 감소에 기인^[19~21]하는 것으로 본 실험에서는 STZ 투여로서 total cholesterol과 VLDL, LDL-cholesterol의 혈중 함량이 현저히 증가되던 것이 nicotinamide의 전처리로 감소되었으며 HDL-cholesterol 함량과 lipase 활성은 STZ 투여로 억제되던 것이 nicotinamide 전처리로 대조군

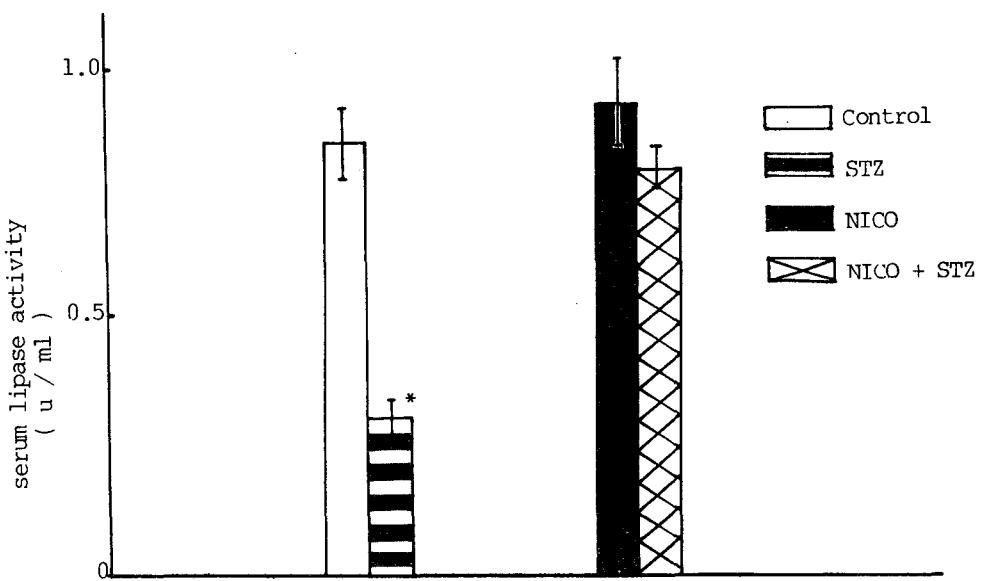
Table 3. Effect of nicotinamide on serum total cholesterol, VLDL, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and atherosclerotic index in STZ-induced diabetic rats

Treatment	mg/dl			
	Total cholesterol	VLDL, LDL-cholesterol	HDL-cholesterol	Atherosclerotic index ¹⁾
Control	$90.3 \pm 6.3^{a2,3)}$	53.8 ± 5.0^a	38.9 ± 6.5^a	1.47 ± 0.5^a
STZ	126.3 ± 22.4^b	97.2 ± 10.1^b	29.7 ± 3.3^b	3.02 ± 0.7^b
NICO	87.7 ± 5.7^a	50.7 ± 7.7^a	42.4 ± 4.9^a	1.18 ± 0.6^a
NICO+STZ	103.4 ± 13.2^a	60.4 ± 12.3^a	$37.5 \pm 9.1^{a,b}$	1.64 ± 0.2^a

¹⁾ (total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol

²⁾ Mean \pm S.D. (n=6)

³⁾ Values followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

**Fig. 1. Effect of nicotinamide on the serum lipase activity in STZ-induced diabetic rats.**

Rats were orally administered nicotinamide (200mg/kg) daily for seven days, and sacrificed seven days after STZ (50mg/kg, tail vein). The assay procedure was described in the Material and Methods. Values are mean \pm S.D. for six animals. * : Significantly different from control ($p < 0.05$).

수준으로 증가되었다.

이러한 결과는 체내 insulin의 부족으로 지방조직에서의 유리 지방산의 과다방출과 간장에서 중성지방의 합성증가 및 lipase의 활성저하로 혈중으로부터 지방조직으로의 지방이동이 일어나지 않아 고지혈증을 초래한다는 보고^{22~24}와 연관시켜 볼때 nicotinamide의 전처리로 STZ에 의해 유도되는 동맥경화지표가 감소되는 것은 HDL-cholesterol 및 lipase의 활성증가에 의하여 체내에서 생성된 지방성분의 말초조직으로의 이동촉진과 지질성분의 분해촉진에 의하여 나타나는 결과로 사료된다.

혈청 aminotransferase의 활성

혈청 AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanin aminotransferase)에 미치는 영향은 Table 4와 같다. STZ 투여군이나 nicotinamide 전처리군에서의 s-ALT, s-AST의 활성은 대조군과 비교할 때 별다른 차이가 없었다.

s-ALT, s-AST는 간세포에 다량으로 존재하는 효소로서 간 손상시 세포외로 유출되어 혈중에 증가되므로 간 손상의 지표로 이용되는 marker²⁵인데 STZ에 의해서 유도된 당뇨군에서나 nicotinamide 전처리군에

Table 4. Effect of nicotinamide on serum aminotransferase activity in STZ-induced diabetic rats

Treatment	Karmann unit/ml of serum	
	AST	ALT
Control	82.3 \pm 9.3 ^{NS 1, 2)}	23.7 \pm 2.4 ^{NS}
STZ	99.3 \pm 10.3	29.1 \pm 7.2
NICO	84.7 \pm 10.7	24.4 \pm 3.7
NICO+STZ	85.7 \pm 15.4	27.3 \pm 2.3

¹⁾ Mean \pm S.D. (n=6)

²⁾ NS : not significant

서도 별다른 영향이 없었다. 이는 항암제로 사용되는 alkylating agent인 STZ의 투여로 일시적인 s-AST, s-ALT의 증가는 볼 수 있으나 간장 손상의 중요한 지표로는 간주할 수 없다는 보고²⁶와 연관시켜 볼 때 본 실험에서의 STZ 투여는 간 손상과는 무관한 것으로 생각된다.

요약

Streptozotocin (STZ)에 의해서 유도된 당뇨성 쥐에서 nicotinamide의 영향을 알아보기 위하여 혈중 당의

농도, 지질 함량 변동과 동맥경화 지표와의 상관관계를 관찰하였다. STZ 투여로서 혈중당의 농도가 증가되던 것이 nicotinamide의 전처리로 정상상태로 억제되었고 total lipid 및 triglyceride 함량에서도 STZ 투여로 증가되던 것이 nicotinamide 전처리로 억제되었으나 phospholipid 함량에는 별다른 영향이 없었다. 혈중 total cholesterol, VLDL, LDL-cholesterol 함량 및 동맥경화 지표는 STZ에 의해 증가되었으나 nicotinamide 전처리로 저지되었으며 HDL-cholesterol 함량에서는 STZ 투여에 의해 감소되던 것이 nicotinamide의 전처리로 회복되었다. 혈중 lipase의 활성은 STZ 투여로서 억제되던 것이 nicotinamide의 전처리로 회복되었다. s-ALT 및 s-AST의 활성은 STZ 투여 군이나 nicotinamide 전처리 군에서나 별다른 영향이 없었다.

이상의 실험 결과에서 nicotinamide의 전처리는 STZ에 의하여 유도되는 당뇨병을 예방할 것이라는 사실은 다른 측면에서 뒷받침하는 것으로 본 연구에서는 당뇨성 고지혈증의 예방에 nicotinamide가 유용하게 응용될 수 있는 가능성을 제시하고 있다.

문 헌

1. Goldsmith, G. A. : Niacin-tryptophan relationship in man and niacin requirement. *Am. J. Clin. Nutr.*, **6**, 479(1985)
2. Nishizuka, Y. and Hayashi, O. : Studies on the biosynthesis of nicotinamide adenine dinucleotide. *J. Biol. Chem.*, **238**, 3369(1963)
3. Charles, A. and Anthony, S. G. : Effect of streptozotocin on the glutathione S-transferase of mouse liver cytosol. *Biochem. Pharmacol.*, **34**(6), 811(1985)
4. Wright, J. R., Mendola, J. and Lacy, P. E. : Effect of niacin/nicotinamide deficiency on the diabetogenic effect of streptozotocin. *Experientia*, **44**, 38(1988)
5. Susan, P. L., Carolyn, R. H., Pam, M. F., Nancy, J. P. and Glenn, L. W. : Mechanism of nicotinamide and thymidine protection from alloxan and streptozotocin toxicity. *Diabetes*, **37**, 1015(1988)
6. Masiello, P., Cubeddu, T. L., Frosina, G. and Bergamin, E. : Protective effect of 3-amino-benzamide and inhibitor of poly(ADP-ribose) synthetase, against streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, **28**, 683(1985)
7. Ledoux, S. P., Woodley, S. E., Patton, N. J. and Wilson, G. L. : Mechanism of nitrosourea-induced beta-cell damage. *Diabetes*, **35**, 866(1986)
8. Glenn, L. W., Phillip, G. H., Nancy, J. P. and Susan, P. L. : Mechanism of nitrosourea-induced beta-cell damage. *Diabetes*, **37**, 213(1988)
9. Folch, J., Lee, M. and Stanley, S. G. : A simple method for the isolation and purification of total lipid from animal tissue. *J. Biol. Chem.*, **206**, 497(1957)
10. Chen, P. S., Toribara, T. Y. and Warner, H. : Microdetermination of phosphorus. *Anal. Chem.*, **28**, 1756(1956)
11. Teitz, N. W. and Fioreck, E. A. : Measurement of lipase activity in serum. *Standard methods of clinical chemistry*, **7**, 19(1972)
12. Reitman, S., Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transminases. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 56(1957)
13. Bennett, R. A. and Pegg, A. E. : Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin. *Cancer Res.*, **41**, 2786(1981)
14. Junod, A., Lambert, A. E., Orci, L., Pictet, R., Gonet, A. E. and Renold, A. E. : Studies on the diabetogenic action of streptozotocin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **126**, 201(1967)
15. Yamamoto, H., Uchigata, Y. and Okamoto, H. : DNA strand breaks in pancreatic islets by in vivo administration of alloxan or streptozotocin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **103**, 1014(1981)
16. Wilson, G. L., Pathon, N. J., McCord, J. M., Mullons, D. W. and Mossman, B. T. : Mechanisms of streptozotocin and alloxan-induced damage in rat beta cells. *Diabetologia*, **27**, 587(1984)
17. Grey, N. J., Karls, I. and Kipnis, D. M. : Physiologic mechanisms in the development of starvation ketosis in man. *Diabetes*, **24**, 10(1975)
18. Foster, D. W. and McGarry, J. D. : The metabolic derangements and treatment of diabetic ketoacidosis. *New Engl. J. Med.*, **309**, 159(1983)
19. Goldstein, J. L. and Brown, M. S. : Familial hypercholesterolemia. A genetic regulatory defect in cholesterol metabolism. *Am. J. Med.*, **58**, 147(1975)
20. Miller, N. E. : The evidence for the antiatherogenicity of high density lipoprotein in man. *Lipids*, **13**, 914(1978)
21. Ross, R. : The pathogenesis of atherosclerosis, An update. *New Engl. J. Med.*, **314**, 488(1986)
22. Havel, R. J., Goldstein, J. L. and Brown, M. S. : Lipoproteins and Lipid transport, Metabolic control and disease. *8th ed.*, *Saunders*, p. 393

- (1980)
- 23. McGarry, J. D. and Foster, D. W. : Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Ann. Rev. Biochem.*, **49**, 395(1980)
 - 24. Pirttiaho, H. I., Salmela, P. I., Sotaniemi, E. A., Pelkonen, R. O., Pitkanen, U. and Luoma, P. V. : Drug metabolism in diabetic subjects with fatty livers. *Br. J. Clin. Pharmac.*, **18**, 895(1984)
 - 25. Bursch, W., Schulte, H. R. : cytoprotective effect of the prostacyclin derivative Hoprost against liver cell death induced by the hepatotoxins CCl₄ and bromobenzene. *Klin. Wochenschr.*, p. 47 (1986)
 - 26. Jacob, J. L., David, E. D. and Williann, K. : Hepatic toxicity of nitrosourea analogues. *Clin. Pharmacol. Therapeu.*, **16** (2), 363(1947)

(1991년 2월 25일 접수)