

포도당운반체의 분자생물학

안 용 호

연세의대 생화학교실 및 유전과학연구소

Molecular Biology of Glucose Transporter Families

Young-ho Ahn

Dept. Biochemistry and the Institute of Genetic Science,
Younsei Univ. College of Medicine, Seoul, Korea

The glucose transport across the mammalian plasma membranes is carried out by members of two distinct gene families, Na⁺/glucose cotransporter (SGLT) and glucose transporters (GLUTs). The energy requiring SGLT utilizes the sodium gradient to transport glucose and galactose against the concentration gradient. The energy independent transport (Facilitative transport) of glucose down the concentration gradient is mediated by the members of GLUTs. The facilitated transport of glucose is saturable, stereospecific and bidirectional across the membrane. To date, 6 kinds of isoforms of facilitative glucose transporters are found. These proteins are expressed in a tissue and cell specific manner, and shows distinct properties that reflect their specific functional roles.

I. 서론

포도당은 동물세포에서 가장 기본적이고 중요한 에너지원(energy source)으로서 세포내에 필요한 energy를 공급한다. 이러한 포도당이 세포막을 통과하는 포도당 운반체(glucose transporters, GLUTs)라는 세포막 단백질에 의하여 운반된다.

현재 포도당 운반체는 포도당을 운반할 때 ATP 상태의 energy를 필요로 하는 Na⁺/glucose cotransporter (SGLT, active carriers라고도 함)와 energy를 필요로 하지 않는 facilitative 포도당 운반체(passive carriers

라고도 함) 두 종류로 크게 대별할 수 있다. Facilitative type의 포도당 운반체는 포도당의 농도가 높은 곳에서 낮은 곳으로 포도당을 운반하며 세포막을 중심으로 양 방향으로 포도당을 운반할 수 있다. 이 facilitative glucose transporter에는 7종류의 isoform(GLUT1~GLUT7)에 대한 cDNA가 발견되어 보고되어 있으며 GLUT6는 pseudogene이므로 단백질 수준에서는 6종류가 발견되어 있는 셈이다. 이들 포도당 운반체는 분포하는 조직이나 세포가 특징적이고 세포내에서 표현 조절이나 활성의 조절이 다르고 인체에서 발견되는 여러가지 포도당 대사 과정에 이상이 있는 질환과의 연

관성에 있어서 차이가 있다. 따라서 본 종설에서는 현재까지 발견되어 보고된 *facilitative* 포도당 운반체에 대한 분류와 특징적인 성질 및 당뇨병과의 연관성에 대하여 설명하고자 한다.

1. 포도당 운반체의 일반적인 특징

포유동물에서 발견되는 GLUT 유전자는 여러가지 육탄당이나 탄소화합물을 운반하는 운반체 유전자를 포함하는 *superfamily*에 속한다. 여기에는 박테리아에 존재하는 *sugar-proton symporter*라던지 효모에서 발견되는 여러 종류의 당 운반체, 고등식물에 존재하는 *energy-dependent sugar transporter* 등이 있고 현재에도 여러 종류의 당 운반체가 계속 발견되어 보고 되고 있다.

포도당 운반체는 7종류의 cDNA가 발견되어 있으나 GLUT6가 *pseudogene*이므로 6종류의 isoform이 존재한다. 포도당 운반체 cDNA로부터 만들어지는 단백질은

GLUT1, GLUT2~GLUT7 등으로 정의한다. 이 단백질의 간단한 특성은 표 1에 나타내었다. 포도당 운반체 isoform은 세포막을 12회 가로질러 존재하는 특성을 공통적으로 가지고 있지만(그림 1) 포도당을 세포막을 가로질러 운반하는 효소화학적 특성이나 *kinetics*가 각각 다르다. 이들 isoform들은 한 가지 세포에 두 종류 또는 그 이상이 존재하기도 한다. 사람에게 존재하는 포도당 운반체 isoform은 DNA 서열상에 40~65% 정도의 유사성을 가진다(그림 2). 종(species) 간에 유사성을 비교해보면 GLUT1은 사람과 쥐, mouse의 아미노산 배열순서가 97~98% 정도 동일하다. GLUT2는 쥐, mouse가 사람과 비교했을 때 82% 동일하다. GLUT1이 종 간에 유사성이 높은 것으로 미루어 보아 이 단백질은 진화과정에서 잘 보존된 단백질 중에 하나이고 세포내에서 기본적인 역할을 수행하는 단백질 일 것으로 추측된다. 포도당 운반체를 *Xenopus oocyte*에서 표현시

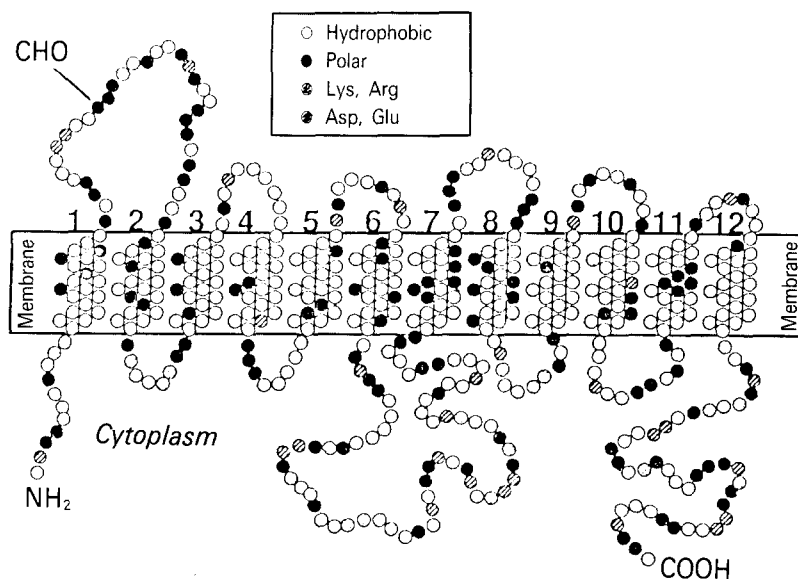


Fig. 1 Predicted topology of GLUT1, The 12 predicted transmembrane helices are numbered 1-12. The single N-linked oligosaccharide is designated by CHO.

GLUTs (Glucose transporters, 포도당 운반체), Type I diabetes mellitus (Insulin dependent diabetes, IDDM), Type II diabetes mellitus (Insulin independent diabetes mellitus, NIDDM)

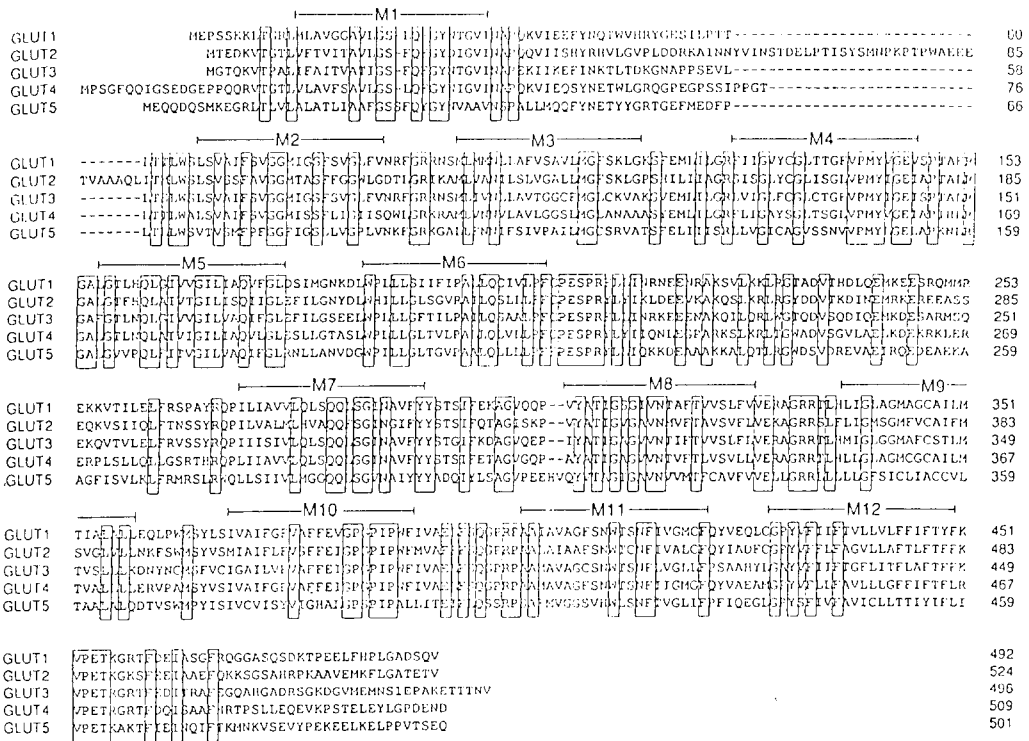


Fig. 2 Alignment of human GLUT1-5 deduced protein sequences. Residues that are identical among all five isoforms are boxed. The 12 predicted transmembrane segments are designated M1-M12. Gaps have been introduced to optimize the alignment. Adapted from Kayano et al. (1990).

Table 1. Mammalian facilitative sugar transporters

Designation	Function and major sites of expression
GLUT1/erythrocyte	Primary glucose transporter of fetal tissues and tissue culture cells; in adult tissues, expressed at highest levels in cells of blood tissue barriers including blood/brain barrier, and in kidney and colon
GLUT2/liver	High capacity, low affinity glucose transporter that is present on basolateral membrane surface of liver, pancreatic β cells, small intestine, and kidney
GLUT3/brain	Primary glucose transporter of neurons; also expressed at high levels in placenta and testes
GLUT4/muscle	Mediates insulin-stimulated glucose uptake by skeletal muscle, heart and white and brown adipose tissue
GLUT5/small intestine	Fructose transporter; expressed at highest levels in small intestine and at lower levels in kidney, skeletal muscle, adipose tissue, and brain; in human, also expressed at high levels in testes and sperm
GLUT6	Non-functional pseudogene whose sequence is most closely related to that of GLUT3; identified only in humans
GLUT7/microsomal	Microsomal glucose transporter of liver; comprises part of the glucose-6-phosphatase complex and mediates glucose release from the endoplasmic reticulum

키면 monomer상태로도 기능을 하지만¹⁾ 세포내에서 oligomer 상태에서 기능을 하는 것으로 생각된다²⁾. 이 단백질은 oligomerization을 통하여 활성이 조절될 가능성이 많다.

2. GLUT1(적혈구/뇌세포형 포도당 운반체, RBC/HepG2 Type)

GLUT1은 적혈구, 뇌세포 및 HepG2(간암 세포주의 일종)에서 발견되었기 때문에 적혈구형, 뇌세포형, HepG2 포도당 운반체라고도 한다. Kasahara와 Hinkle³⁾은 사람의 적혈구 막에서 GLUT1을 처음으로 분리하였으며 현재까지도 자연상태에서 분리된 유일한 포도당 운반체이다. GLUT1은 적혈구 막 단백질의 5%를 차지하는 단백질이다. 이 단백질은 소수성이 매우 강하고 glycosylation이 다양하게 되어있다. 이 단백질에 대한 polyclonal 항체를 이용하여 HepG2 세포와 백서의 뇌세포에서 GLUT1 cDNA를 cloning하였다^{4,5)}. GLUT1은 blood brain barrier를 형성하고 있는 뇌 조직내 모세 혈관에서 많이 표현된다⁶⁾. 뇌 실질세포는 정상상태에서 포도당 만을 energy원으로 사용하기 때문에 이 부위에서 포도당의 운반을 담당하는 GLUT1은 매우 중요한 의미를 지닌다. 반면 지방이나 근육조직과 같이 insulin에 반응하는(insulin sensitive) 조직에 소량 존재하면서 이 조직이 필요로하는 기본적인 최소량의 포도당을 운반하는 기능을 담당하는 것으로 생각된다.

이 포도당 운반체는 여러종류의 세포에 광범위하게 분포하며 특히 fetal tissue에서 표현이 증가된다고 알려져 있다. 대부분의 배양상태에 있는 세포들에서 표현되며 세포배양기 상에서 insulin이나 thyroid hormone 등을 투여하면 표현이 증가되고 포도당을 가해주면 농도에 비례하여 표현이 감소된다. 또한 GLUT1은 동물이나 사람에 있어서 금식을 하거나 암세포⁷⁾에서 표현이 증가되는 것으로 알려져 있다.

3. GLUT2(간장형 포도당 운반체, Liver/Pancreatic β -cell type)

GLUT2는 간장세포, 췌장의 β -세포에 주로 존재하고

장 점막과 콩팥의 상피세포에도 존재한다. 특히 콩팥의 상피세포에서는 basolateral side에 존재한다. 이 단백질은 다른 포도당 운반체에 비해 포도당에 대한 Km치가 높기 때문에 식후에 증가된 포도당을 운반하는데 중요한 기능을 한다(Km=40 mM). 즉 혈액내 포도당 농도에 비례하여 세포내로 들어 보내는 역할을 하고 세포내에 존재하는 포도당 인산화 효소(glucose phosphorylation enzyme)인 glucokinase(hexokinase IV)와 쌍을 이루어 포도당 감지 기구(glucose sensing apparatus)를 이룬다고 알려져있다⁸⁾.

GLUT2는 최근에 IDDM의 병인과 연관하여 많은 관심을 끌고있다. Autoimmune diabetic BB rat⁹⁾과 Zucker diabetic fatty rat¹⁰⁾에서 GLUT2 mRNA가 감소된다는 사실이 보고되었다. 이러한 GLUT2의 표현 감소와 포도당에 의한 insulin의 분비 능력의 감소가 밀접한 관계가 있는 것으로 생각된다. 사람에서는 IDDM 환자에서 혈청내에 GLUT2에 대한 autoantibody가 발견되어 있다.

당뇨병이 유발된 쥐의 β -세포에서 GLUT2의 표현이 감소된다고 알려져 있고 glucose나 insulin을 세포 배양기 상에 있는 β -세포에 첨가해 주면 GLUT2 mRNA가 증가된다고 알려져 있다.

4. GLUT3(뇌세포형 포도당 운반체, Brain Type)

GLUT3는 뇌 실질세포에 주로 존재한다. 포도당에 대한 Km치가 낮아서 저농도의 포도당을 효과적으로 뇌 실질세포 내로 운반해 주는 기능이 있는 것으로 생각된다. 현재까지 GLUT3에 대해서는 별로 알려진 바가 없지만 GLUT1과 유사하게 여러 종류의 정립된 세포에서 소량 표현된다.

5. GLUT4(지방/근육세포형)

GLUT4는 지방세포와 근육세포에만 존재한다. 이들 세포는 소위 "insulin-sensitive" 세포라고 불리우는데 그 이유는 insulin에 의해 포도당의 운반이 증가되기 때문이다. 이 조직에는 GLUT1이 소량 존재하기도 하지만 GLUT4가 insulin에 의한 포도당 운반에 중요한

역할을 한다. 이 두 조직에서 일어나는 포도당 운반은 전체 체내의 포도당 대사 조절에 중요하다. 정상 상태에서 포도당은 골격근에서 20% 정도 처리되고 고 insulin중에서는 75-95%까지 처리된다¹¹⁾

지방세포를 생체에서 분리한 후 배양기에서 배양하면서 insulin을 투여하면 GLUT4는 세포내 저장장소인 low density microsomal fraction에서 세포막으로 이동(translocation)이 증가된다는 사실이 밝혀졌다¹²⁾. 이러한 이동을 증가시키는 물질들로 cAMP, phorbol ester, 근육의 수축등이 있다. GLUT4를 이 두 세포가 아닌 다른 세포에 transfection하여 표현시키고 insulin을 투여하면 지방이나 근육세포에서 볼 수 있는 translocation 현상이 일어나지 않는다. 이러한 결과로 미루어보아 이 두 세포에는 insulin과 반응하여 translocation을 도와주는 다른 물질이 존재할 것으로 생각된다¹³⁾. Streptozotocin에 의하여 당뇨병이 유발된 쥐에서는 지방세포내 GLUT4 유전자의 전사가 감소되어 mRNA와 단백질의 양이 감소된다¹⁴⁾. 이러한 현상은 NIDDM 환자에서 분리한 지방세포에서도 관찰되었다¹⁵⁾. 그러나 근육세포에서는 GLUT4가 감소되지 않으므로 사람의 NIDDM에서는 GLUT4의 감소와 insulin 내성과는 큰 상관관계가 없는 것으로 생각된다¹⁶⁾. 쥐를 굶겼을 때 GLUT4 mRNA와 단백질이 지방세포에서는 감소하고 근육에서는 증가한다.

6. GLUT5

포도당 운반체 가운데 GLUT5는 다른 isoform과 homology가 가장 낮다¹⁷⁾. 이 단백질은 fructose를 운반하는 단백질이고 장 상피세포의 apex 위치에 존재한다¹⁾. 포도당 운반체의 억제자로 잘 알려진 cytochalasin B에 의해 억제되지 않는 특성이 있다. 지방과 근육세포에서도 소량 발견되며 이들 세포에서도 insulin에 의해 활성이 조절되지 않는다.

7. GLUT7

GLUT7은 가장 최근에 발견되었으며 그 기능은 아직 잘 알려져 있지 않다. GLUT2와 68%의 homology를

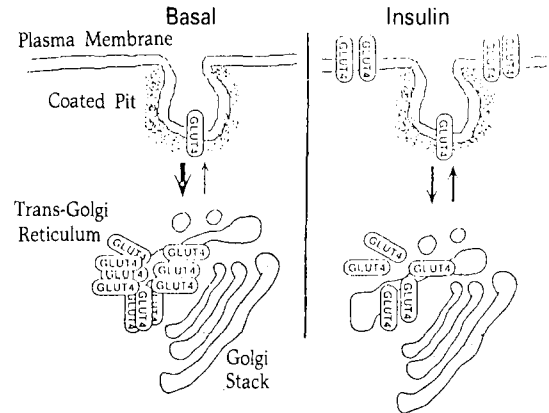


Fig. 3 Insulin-stimulated translocation of Glut4 to the plasma membrane in adipocytes. Glut4 is targeted to a subcompartment of the *trans*-Golgi reticulum in the absence of insulin. It may recycle through the plasma membrane via coated pits in this state, but the rate of endocytosis is much greater than the rate of exocytosis, so that very few transporters are present at the cell surface. Insulin increases the rate of entry of intracellular Glut4 into the exocytic route and/ or decreases the rate of entry of cell-surface Glut 4 into the endocytic route, bringing about a steady-state increase in the level of plasma membrane Glut4. The thickness of each arrow represents the relative magnitude of the endocytic of exocytic step.

지고 있으며 간장내 microsomal glucose-6-phosphatase complex의 구성성분으로 알려져 있다.

II. 결론

지난 10년간 포도당 운반체에 대한 연구가 급속히 진전되어 이 단백질을 coding하는 유전자의 구조와 단백질의 작용기전에 관해 많은 지식을 얻게되었다. 이러한 발전은 peptide specific antibody, cDNA screening 기술, affinity labeling 기법등의 발전으로 가능하게

되었다. 포도당 운반체는 생체내에서 이루어지는 포도당의 대사에 중요할 뿐만 아니라 일반적인 세포막 단백질의 구조와 기능 및 세포내 단백질의 행로(Trafficking)를 이해하는데 중요하다. 이러한 최근의 발전에도 불구하고 아직도 이 단백질의 3차원적인 구조나 작용기전을 완전히 알지 못하고 있다.

세포 내에서 GLUT1이 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase와 가역적으로 결합된다는 사실이 알려져 있고¹⁸⁾ 특정한 type의 포도당 운반체가 특정한 type의 hexokinase와 공존(colocalize)하는, 즉 GLUT1과 hexokinase I, GLUT2와 hexokinase IV(glucokinase), GLUT4와 hexokinase II가 같은 세포에 존재하는 의미에 대해서 연구가 이루어져야 할 것이다.

아직까지 GLUT4가 insulin에 의하여 이동이 일어나는 기전을 완전히 알지 못하고 NIDDM에서 GLUT4가 어떤 역할을 하는지 알지 못한다. GLUT2 연구를 통하여 당뇨병을 치료하기 위한 인공 β -세포를 개발하고자하는 노력이 진행되고 있으며 GLUT1과 GLUT3에 대한 연구를 통하여 신경조직내에 포도당 운반기전과 신경계통의 질환에 이들이 어떤 역할을 하는지에 대한 연구가 필요하다.

참 고 문 헌

- Burant CF, Bell GI(1992) *Biochemistry* 31, 10414-10420.
- Nebert DN, Carruthers A(1992) *J Biol Chem* 267, 23929-23838.
- Kasahara M, Hinkle PC (1977) *J Biol Chem* 252, 7384-7390.
- Mueckler M, Caruso C, Baldwin SA, Panico M, Blench I, Morris HR, Allard WJ, Lienhard GE, Lodish HF(1985) *Science* 229, 941-945.
- Birnbaum MJ, Haspel HC, Rose OM (1986) *Proc Natl Acad Sci USA* 83, 5784-5788.
- Pardrige WM, Boado RJ, Farrel CR(1990) *J Biol Chem* 265, 18035-18040.
- Yamamoto T, Seino Y, Fukumoto H, Kono G, Yano H, Inagaki N, Yamada Y, Inoue K, Manabe T, Imura H(1990) *Biochem Biophys Res Commun* 170, 223-230.
- Unger RH(1991) *Science* 251, 1200-1205.
- Orci L, Ravazzola M, Baetens D, Imnan L, AMherdt M, Peterson RG, Newgard CB, Johnson JH, Unger RH(1990a) *Proc Natl Acad Sci USA* 87, 9953-9957.
- Orci L, Unger RH, Ravazzola M, Ogawa A, Komiyama I, Baetens D, Lodish HF, Thorens B(1990b) *J Clin Invest* 86, 1615-1662.
- Baron AD, Brechtel G, Wallace P, Edelman SV (1988) *Am J Physiol* 255, E765-E774.
- Cushman SW, Wardzala LJ(1980) *J Biol Chem* 255, 4758-4762.
- James DE, Piper RC, Slot JW(1993) *J Cell Sci* 104, 607-612.
- Berger J, Biswas C, Vicario PP, Strout HV, Saperster R, Pilch PF(1989) *Nature* 340, 70-72.
- Garvey WJ, Maianu L, Huecksteadt TP, Birnbaum MJ, Molina JM, Molina JM, Ciaraldi TP(1991) *J Clin Invest* 87, 1072-1081.
- Eriksson J, Koranyi L, Bourey R, Schali JC, Widen E, Mueckler M, Permutt AM, Groop LC(1992) *Diabetologia* 35, 143-147.
- Kayano T, Burant CF, Fukumoto H, Gould GW, Fai YS, Eddy RL, Byere MG, Shpws TB, Seino S, Bell GI(1990) *J Biol Chem* 265, 13276-13282.
- Lachaal M, Berenski CJ, Kim J, Jung CY(1990) *J Biol Chem* 264, 15449-15454.