

임신 후반기 흰쥐의 인슐린 저항성과 그 기전

영남대학교 의과대학 생리학교실

전명흡 · 김용운 · 박소영 · 김종연 · 이석강

서 론

임신한 모체는 자신의 에너지 요구 뿐 아니라 태아의 생존과 성장에 필요한 영양소를 지속적으로 공급해야 하므로 이에 따른 대사의 변화와 적응이 필연적이다. 식사 직후에는 모체에 지방 등으로 영양소의 축적을 증가시키지만 말초조직의 영양소 이용은 억제하여 태아로의 영양소 공급이 많아지게 하며 금식시에는 모체에 저장된 에너지원의 분해를 촉진시켜 태아로의 영양소 공급이 계속되게 한다.¹⁾ 이러한 변화에 적응한 결과 임신한 모체는 임신 중기가 지나면서 인슐린 저항성이 발생하는 것으로 알려져 있으며^{2,6)} 이때 발생한 인슐린 저항성은 분만 후 정상으로 회복된다.^{5,7)}

정상임신에서 발생하는 인슐린 저항성은 인슐린 분비의 증가로 어느 정도 극복이 가능한 것으로 보고^{8,9)}되고 있으나 2-3%에서는 인슐린 저항성을 극복할 만큼의 인슐린이 분비되지 못하여 임신성 당뇨병이 초래되며⁹⁾ 이러한 경우에 분만후 당뇨병으로 이행될 가능성이 50% 이상인 것으로 알려져 있다.¹⁰⁾ 또한 당뇨병 산모에서 태어난 태아는 단기적으로 거대아 등의 문제가 초래될 수 있지만 장기적으로는 비만과 당뇨병에 이환될 가능성이 높은 것으로 보고¹¹⁻¹⁴⁾되고

있다.

인슐린 저항성의 발생 및 인슐린 분비 증가의 원인이나 기전에 관해서는 많은 연구가 있어 왔으나 아직 논란이 있는 실정이다. 즉 Beck-Nielsen 등¹⁵⁾은 단핵구에서, 이 등¹⁶⁾은 적혈구에서 각각 인슐린 수용체 결합능이 감소하는 것으로 보고하여 수용체 결합이 인슐린 저항성의 원인일 것으로 주장하고 있으나 Moore 등⁷⁾은 적혈구에서, Flint 등¹⁷⁾은 지방세포에서, 인슐린 수용체 결합능은 임신시에 오히려 증가함을 보고하였으며 Camps 등¹⁸⁾은 흰쥐의 골격근에서, Baumann 등¹⁹⁾은 간장조직 형질막에서, Puavilai 등⁵⁾은 단핵구에서, 각각 인슐린 결합능이 임신시에 변화하지 않았음을 보고하여 수용체 결합보다는 수용체 후과정의 결합일 가능성을 제시하고 있다. 또한 Leturque 등²⁰⁾은 가자미근을 이용한 시험관 실험에서 당섭취의 결합은 없다고 보고하였으며, 지방세포에서도 시험관에서의 당대사 장애가 없음을 보고²¹⁾하여 말초조직 자체의 결합보다는 인슐린 저항성을 유발시키는 대사산물 혹은 호르몬의 존재를 시사하였다.

이에 저자들은 흰쥐의 정상 임신 말기 인슐린 저항성을 당부하검사를 통하여 확인하고 그 기전을 규명하기 위하여 말기 임신쥐의 당부하시 인슐린 분비반응을 측정하였으며 골격근과

간장조직에서 당부하후의 당원질 농도와 당원질로 합성된 당의 양 및 당원질 합성효소의 활동도를 측정하고 인슐린-인슐린 수용체의 결합능을 분석하였다.

재료 및 방법

실험동물: 실험동물로 Sprague-Dawley 종 암컷 흰쥐를 사용하였으며 정상대조군과 임신군으로 나누어 실험하였다. 임신은 체중 230 g 전후의 암컷 흰쥐 3 마리를 수컷쥐 1 마리와 3일간 합방시켜 유도하였으며 임신 여부는 합방후의 체중변화로 판단하였다. 임신 성공율은 50%였다. 임신군에서 당부하검사 및 조직의 채취는 합방 첫날부터 계산하여 20일째에 실시하였다.

당부하검사: 당부하검사는 오전 9시부터 오후 5시까지 8시간 동안 물이외에는 금식시킨 후 pentothal sodium(40mg/kg BW)의 복강내 주사로 마취시킨 상태에서 체중 kg당 0.5 g 포도당(20% 용액)에 표지자로 ^{14}C -glucose(0.6 $\mu\text{Ci}/100\text{g BW}$)를 섞어 대퇴정맥에 주사하여 혈당 및 인슐린 농도를 측정하고 조직에서 당원으로 합성된 포도당량을 분석하였다.

채혈을 위하여 대퇴동맥에 외경 1mm의 Tygon 관을 삽관하고 20분 후에 채혈하여 안정상태의 인슐린과 혈당 및 유리지방산의 농도를 측정하였으며 당부하 5분, 10분, 30분 및 60분에 채혈하여 인슐린과 혈당을 측정하였다. 당부하 60분후에는 복대동맥으로 채혈하여 실험치사시켰으며 이때의 혈액으로 중성지방, 콜레스테롤, progesterone, cortisol 및 glucagon을 측정하였다. 혈청은 냉동원심분리기(VS-15000CF, 비전과학)를 이용하여 4°C에서 분리하였으며 분리 즉시 -196°C의 액화질소탱크에 보관한 후 실험에 사용

하였다. 당부하검사 직후 soleus근과 간 조직을 채취하여 당원 농도를 정량하고 당원으로 합성된 ^{14}C -glucose의 활동도를 액체섬광계수기(Wallac 1410, Sweden)를 이용하여 측정하였으며 당원 합성효소의 활동도와 인슐린 수용체 결합능을 분석하였다.

Crude membrane의 분리: 액화질소탱크에 보관된 간장조직을 4°C에서 Polytron 분쇄기(Kinematica GmbH, Switzerland)를 이용하여 균질화 시켰다. 균질액은 고속냉장원심분리기(J2-MC centrifuge, Beckman)의 내부온도를 4°C로 한 다음 JA-20.1 rotor를 이용하여 1,200 $\times\text{g}$ 에서 10분간 원심분리한 후 상청액을 다시 9,000 $\times\text{g}$ 로 10분간 원심분리하였다. 침전물은 버리고 상청액을 초고속원심분리기(Sorvall ultracentrifuge OTD-75B, Dupont)의 T-865 rotor를 사용하여 4°C에서 190,000 $\times\text{g}$ 로 60분간 원심분리한 후 상청액을 버리고 침전된 crude membrane을 분리하였다. 분리된 crude membrane은 4°C의 완충액(50 mM Tris(hydroxymethyl) aminomethane (Tris) · HCl, 1mM MgCl₂, pH 7.6)에 녹여 보관하였다.

인슐린-인슐린 수용체 결합 반응: 보관된 crude membrane을 완충액(50 mM Tris(hydroxymethyl) aminomethane (Tris)·HCL, 1 mM MgCl₂, pH 7.6) 1 ml에 1-2 mg의 단백질이 함유되도록 녹여 균질화시킨다.

이때 단백질량은 kit(Sigma)를 이용한 micro-determination 법(Breford 법)으로 정량하였다.

인슐린-인슐린 수용체 결합반응을 보기 위하여 한 시료당 6개의 12 mm \times 75 mm polyethylene 시험관을 준비하였다. 준비된 시험관에 시료를 50 μl 씩 넣고 2% bovine serum albumin(BSA, Sigma)이 함유된 완충액에 녹은 unlabeled porcine insulin(Velosulin, Nordisk)을 농도가 0, 1, 10, 100, 1,000, 100,000(nonspecific binding),

NSB) ng/ml 되도록 넣는다. 그리고 ^{125}I -insulin (NEN)을 40 nCi 넣고 총부피가 400 μl 가 되게 완충액을 첨가하고 4°C에서 18시간 반응시켰다. 반응 종료시 0.3% bovine γ -globulin을 넣고 25% polyethylene glycol을 400 μl 첨가하여 침전시킨 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상층액은 버린다. 침전물은 12.5% polyethylene glycol로 다시 세척한 후 γ 선 측정기(ANSR gamma counter, Abbott)로 ^{125}I 에 대한 방사성 활동도를 측정하였다. 인슐린 수용체에 결합한 ^{125}I -insulin은 측정치에서 NSB를 뺀 값을 사용하여 ^{125}I 의 전체 계수에 대한 백분율로 나타내었다.

당원질 합성효소: 당원질 합성효소의 활동도는 Thomas 등²³⁾의 방법을 이용하였는데 요약하면 다음과 같다. 50 mg정도의 골격근 및 간장을 1ml의 완충액(50 mM Tris · HCl, 20 mM EDTA, 25 mM sodium fluoride, pH 7.8)과 함께 4°C에서 Polytron 분쇄기로 5의 강도에서 10초간 균질화시켰다. 균질액을 20,000×g에서 10분간 원심분리한 후 그 상층액을 분리하여 완충액으로 5배 희석하였다. 이 중 30 μl 를 취하여 0.25 mM의 uridine diphosphate glucose(UDPG, Sigma), 1% glycogen(Sigma), 0.7 μCi ^{14}C -UDPG(NEN)가 혼합된 60 μl 의 기질혼합액과 함께 시험관에서 섭씨 30°C로 25분간 배양하였다. 이 중 75 μl 를 취하여 여과지에 점적하고, 이를 66% 에탄올을 사용하여 여과지에 당원질을 침전시키고 같은 농도의 에탄올로 30분간 두번에 걸쳐 세척한 다음 여과지의 당원질에 전입한 ^{14}C 방사능을 액체섬광계수기로 측정하였다. 이때 liquid scintillation cocktail로 Optiphase/Hisafe II(LKB) 10 ml를 사용하였다.

시료의 정량: 혈당은 strip을 이용한 혈당측정기(Glucoscot, DIC)로 측정하였다. 인슐린과 progesterone, cortisol은 ^{125}I 을 이용한 방사면역측

정법인 Coat-A-Count(DPC)를 사용하여 정량하였으며 glucagon은 double antibody method를 이용하여 분석하였다.

유리지방산과 콜레스테롤 및 중성지방은 효소를 이용한 kit로 정량하였다.

골격근 및 간장의 당원질은 Lo 등²³⁾의 방법으로 측정하였으며 당원질로 합성된 ^{14}C -glucose의 활동도는 정 등²⁴⁾의 방법으로 분석하였다.

자료의 분석: 자료는 SPSS-PC+를 이용하여 t-검정 및 상관계수를 구하여 분석하였으며 유의수준은 95%로 하였다.

성 적

임신으로 인한 신체적인 특성과 호르몬의 변화와 대사산물들의 변화는 표1과 같다. 임신군의 체중(gm)변화는 합방시 228±4에서 서서히 증가하여 12일째부터 대조군과 유의한 차이가 나기 시작하여 합방 후 20일에는 308±7로서 대조군의 259±6에 비하여 약 50 gm의 체중 증가가 있었다. 3일간의 합방으로 임신 성공율은

Table 1. Characteristics of the experimental groups

	Control (n=10)	Pregnancy (n=9)
Body weight(gm)	259 ± 6	308 ± 7*
Fasting glucose(mg/dl)	106 ± 2	70 ± 2*
Fasting insulin($\mu\text{U}/\text{ml}$)	27.6 ± 3.2	24.7 ± 2.9
Fasting glucagon(pg/ml)	17.1 ± 0.8	19.6 ± 1.2
Hematocrit(%)	42 ± 1	34 ± 1*
Triglyceride(mg/dl)	52 ± 8	133 ± 15*
Free fatty acid($\mu\text{Eq}/\text{L}$)	626 ± 31	970 ± 131*
Cholesterol(mg/dl)	50 ± 6	46 ± 4
Progesterone(ng/ml)	23.0 ± 3.7	65.3 ± 6.9*
Cortisol($\mu\text{g}/\text{dl}$)	0.6 ± 0.07	0.6 ± 0.09

Values are mean ± S.E.

* p < 0.05 vs control

50%였으며 태아수는 1마리에서 14마리까지의 분포(평균 9.5)를 나타내었다. 임신군에서 8시간의 금식시 혈당(mg/dl)은 70 ± 2 로 대조군의 106 ± 2 에 비하여 유의하게 낮았다. 반면 인슐린 농도($\mu\text{U/ml}$)는 24.7 ± 2.9 로 대조군의 27.6 ± 3.2 에 비하여 유의한 차이가 없었다. 혈중 glucagon 농도(pg/ml)는 임신군에서 19.6 ± 1.2 으로 대조군의 17.1 ± 0.8 에 비하여 유의한 차이는 없었다. 임신으로 인한 혈장의 증가로 적혈구 용적(hematocrit, %)은 임신군에서 34 ± 1 로 대조군의 42 ± 1 에 비하여 유의하게 낮았다. 중성지방(mg/dl)은 임신군에서 133 ± 15 로 대조군의 52 ± 8 에 비하여 유의하게 증가하였으며 유리지방산($\mu\text{Eq/L}$)도 마찬가지로 임신군에서 970 ± 131 로 대조군의 626 ± 31 에 비하여 유의하게 증가하였다. 혈중 cholesterol 농도(mg/dl)는 두 군간에 유의한 차이가 없었다. 임신말기에 증가하는 대표적인 태반 호르몬인 progesterone (ng/ml)은 임신군에서 65.3 ± 6.9 로 대조군의 23.0 ± 3.7 에 비하여 유의하게 높았으나 cortisol은 양 군간의 변화가 없었다.

정맥당부하검사 결과는 그림 1과 같이 혈당은 임신군에서 전체적으로 대조군에 비하여 유의하게 낮았으나 인슐린 농도($\mu\text{U/ml}$)는 당부하 5분 및 10분에 각각 114.3 ± 12.1 과 101.3 ± 11.4 로 대조군의 62.4 ± 4.2 과 59.9 ± 4.2 에 비하여 유의하게 높았다. 인슐린과 혈당의 비($\mu\text{U/mg}$)는 임신군에서 당부하 5분 및 10분후에 각각 47.3 ± 5.7 와 55.7 ± 7.1 로 대조군의 19.6 ± 1.2 및 21.5 ± 1.3 에 비하여 유의하게 높아서 인슐린의 효과가 감소된 것으로 평가되었다.

인슐린의 분비 반응은 당부하시 안정상태에 비하여 증가하는 인슐린과 혈당량 및 인슐린/혈당으로 평가하였다. 당부하시 췌장 β 세포의 초기 반응은 첫 5분간의 혈당증가에 대한 인슐린 농도의 증가(Δ insulin/glucose - 5 min, insulinogenic index)로 평가하였는데 초기 인슐린 분비반응($\mu\text{U/mg}$)은 임신군에서 52.5 ± 7.51 로 대조군의 16.6 ± 1.3 에 비하여 유의하게 높았다. 당부하 60분간의 인슐린 분비반응은 당부하 후 60분동안 안정상태 수치보다 증가한 인슐린 및 혈당

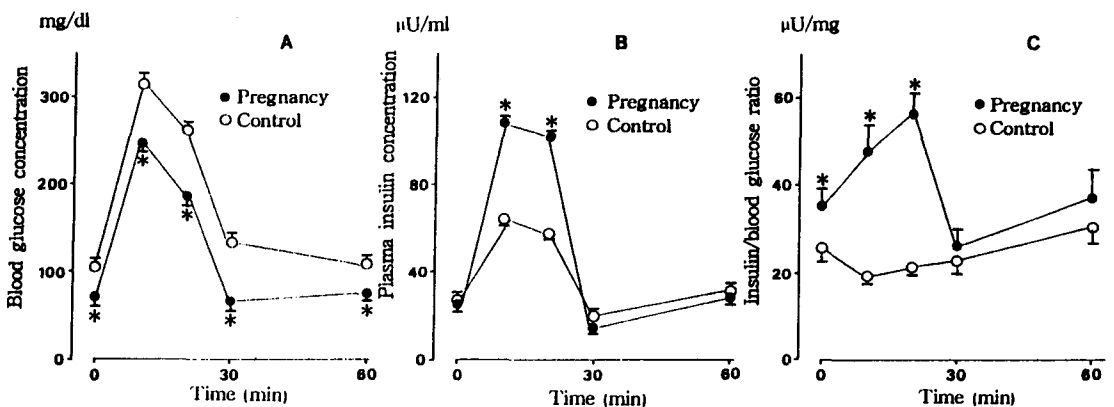


Fig. 1. Intravenous glucose tolerance curves of 19-20th day pregnant rats. A: Glucose values for control and pregnant rats. B: Insulin values. C: Insulin/glucose ratio. Although absolute glucose values are lower in pregnant rats, the incremental insulin/incremental glucose area (insulin/glucose) is markedly increased, indicating relative insulin resistance. Bars denote S.E. * $p < 0.05$, vs control.

Table 2. Effect of pregnancy on basal plasma insulin and response to intravenous glucose load

	Control (n=10)	Pregnancy
Basal		
insulin(μ U/ml)	27.6 \pm 3.2	24.7 \pm 2.9
Glucose(mg/dl)	106 \pm 2	70 \pm 2*
Acute response		
Δ Insulin-5 min	34.9 \pm 2.7	89.7 \pm 1.1*
Δ Glucose-5 min	212 \pm 7	175 \pm 7*
Δ Ins/Gluc-5 min	16.6 \pm 1.3	52.5 \pm 7.5*
Chronic response		
Δ Insulin-60 min	8.0 \pm 0.5	12.8 \pm 2.0*
Δ Glucose-60 min	37.6 \pm 4.1	23.5 \pm 1.7*
Δ Ins/Gluc-60 min	23.6 \pm 2.8	56.9 \pm 8.9*

Values are mean \pm S.E. Basal values denote plasma insulin and glucose levels after 8 hours fasting; acute response refers to the increment above basal during the first 5 min after intravenous glucose load; chronic response refers to net incremental areas above basal ($\times 10^3$) during the entire 60 min IVGTT.

* $p < 0.05$ vs control.

총량의 비(μ U/mg)로서 평가하였는데 임신군에서 56.9 ± 8.9 으로 대조군의 23.6 ± 2.8 보다 2배 이상 높았다(표 2).

인슐린 분비의 증가는 임신시의 호르몬 변화와 관계가 있을 것으로 생각되어 당부하 5분간의 인슐린 증가 및 혈당 증가의 비(Δ Insulin/glucose-5 min, insulinogenic index)와 progesterone과의 관계를 분석한 결과 강한 상관관계가($r=0.62$, $p < 0.01$) 있었다(그림 2).

당부하 검사직후 당원질의 농도(mg/100mg wet tissue)는 가자미군에서 임신군이 2.7 ± 0.3 로 대조군의 3.6 ± 0.5 에 비하여 낮은 경향이었으나 유의한 차이는 없었다. 그러나 간장의 당원질은 임신군에서 4.7 ± 0.9 으로 대조군의 9.9 ± 1.3 에 비하여 유의하게 낮았다. 또한 주입한 14 C-glucose의 당원질로 합성된 양(DPM/100mg wet tissue)도 임신군에서 $3,947 \pm 1,164$ 로 대조군의 $11,057 \pm 2,$

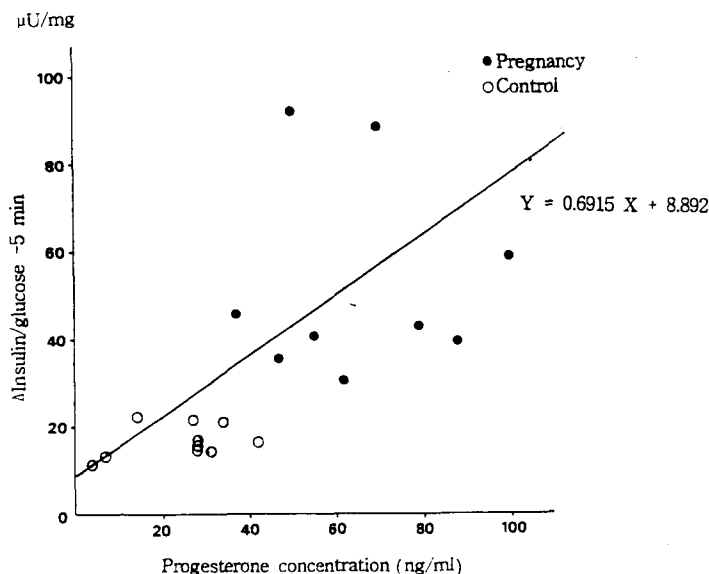


Fig. 2. Relationship between insulinogenic index(Δ Insulin/glucose-5min) and progesterone concentration for 19 control and pregnant rats. $r=0.62$, $p < 0.01$.

Table 3. The levels of glycogen and ¹⁴C-glucose that incorporated into glycogen molecules and glycogen synthase activity after intravenous glucose tolerance test in soleus and liver of pregnant rats

	Control (n=10)	Pregnancy (n=9)
Soleus		
Glycogen(mg/100mg tissue)	3.6 ± 0.5	2.7 ± 0.3
¹⁴ C-glucose(DPM/100mg tissue)	269 ± 27	847 ± 305
Glycogen synthase(DPM/mg protein)	238 ± 44	179 ± 35
Liver		
Glycogen(mg/100mg tissue)	9.9 ± 1.3	4.7 ± 0.9*
¹⁴ C-glucose(DPM/100mg tissue)	11057 ± 2271	3947 ± 1164*
Glycogen synthase(DPM/mg protein)	49 ± 9	59 ± 6

Values are mean ± S.E. * <0.05 vs control.

271에 비하여 유의하게 감소하여 간장이 임신으로 인한 인슐린 저항성의 주된 장기인 것으로 생각되었다(표 3). 그러나 당원질 합성효소의 활동도는 가자미근과 간 조직에서 양 군간에 유의한 차이가 없었다.

인슐린과 인슐린 수용체와의 결합능을 검사한 결과 ¹²⁵I-insulin의 비특이성 결합(NSB)은 2%

였으며 분리한 crude membrane의 단백질 100 µg 당 ¹²⁵I-insulin 결합비(%)는 unlabeled 인슐린이 첨가되지 않은 경우에 임신군이 7.28±0.49로 대조군의 6.97±0.71에 비하여 다소 높았으나 유의한 차이가 없었다. 첨가된 인슐린의 농도가 증가할수록 ¹²⁵I-insulin의 결합비는 감소하였으나 두 군간의 유의한 차이는 없었다(그림 3).

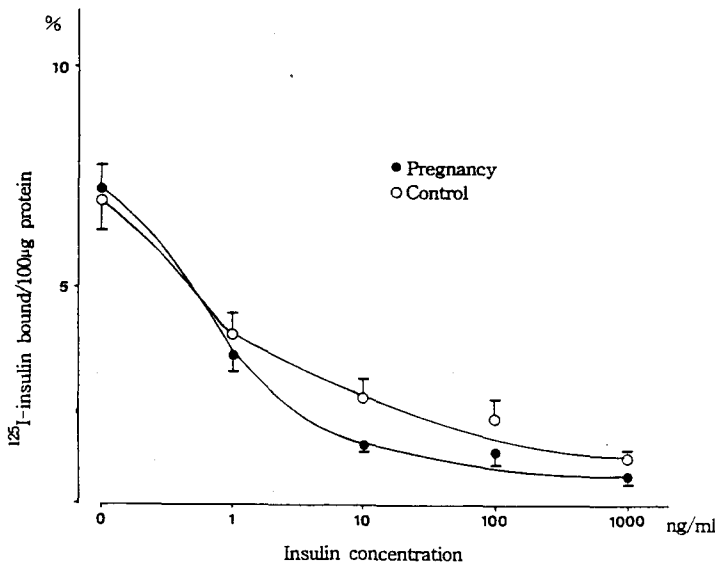


Fig. 3. Insulin binding at varying concentrations of insulin to crude plasma membrane from liver in pregnant rats.

고 찰

임신 말기 흰쥐에서 인슐린 저항성을 확인하고 인슐린 분비 반응을 측정하기 위하여 실시한 당부하검사의 결과 당부하검사 곡선은 임신군에서 대조군에 비하여 전체적으로 낮은 값을 나타내었다. 이는 Puavilai 등,⁹⁾ Freinkel 등²⁵⁾ 및 Ryan 등²⁶⁾의 정상 임신 말기에 당부하검사시 혈당이 증가한다는 보고와는 차이가 있으나 혈당의 변화가 정상 비임신군과 비슷하다는 Buchanan 등⁹⁾과 Costrini 등²⁷⁾의 보고와는 유사한 결과였다.

외부에서 주입한 당은 간장조직의 인슐린 저항성에도 불구하고 골격근에서의 당이용과 산모의 당소모 총량의 23%에 달하는 태아와 태반에서의 당소모²⁸⁾로 인해 내당능의 감소가 나타나지 않은 것으로 사료된다. Leturque 등²⁹⁾의 보고에 따르면 태아의 당사용율은 19일째 임신쥐에 비하여 2배 이상이라고 한다. 이러한 임신한 자궁의 당사용율은 다른 종에서도 유사하여 양,²⁹⁾ 토끼,³⁰⁾ 돼지³¹⁾등에서 대개 30-36%에 달한다고 보고되었다.

임신시 총혈량의 증가로 인해 적혈구 용적이 대조군에 비하여 약 20% 감소했으나 체중에 비례한 당을 부하함으로 인해 임신군에서 혈당의 증가가 낮았으며 이는 혈장량에 따라 당부하량을 결정함으로써 극복할 수 있을 것이다.

또한 임신 말기에 금식시 혈당이 감소하고 유리 지방산이 증가하는 것은 Metzger 등³²⁾이 주장한 바와 같이 "accelerated starvation"의 결과인 것으로 보인다.

임신군에서 당부하시 인슐린 분비의 절대적인 증가를 관찰하여 다른 보고들^{8,9,33)}과 일치하였으며 이러한 분비의 증가는 말초조직의 인슐린 저항성을 극복할 수 있는 모성적응장치로 생각되며 Ryan 등²⁶⁾과 Freinkel³⁴⁾의 보고와 같이 이러

한 분비증가가 뒤따르지 못한 결과 임신성 당뇨병이 발병한다고 볼 수 있겠다.

인슐린 분비 증가의 기전은 아직 확실히 규명되지 않았으나 본 연구의 결과인 progesterone의 증가와 관계가 있을 것으로 사료되며 그의 인슐린 분비에 영향을 미치는 태반 호르몬,³⁴⁾ 태반의 인슐린 분해효소 증가 등이 관여할 것"으로 생각된다.

임신 말기에 인슐린 분비반응의 증가에도 불구하고 내당능의 개선이 현저하지 못함은 인슐린 저항성의 결과로 사료되며 인슐린 저항성의 기전은 다음과 같이 단계적으로 정리할 수 있다. 즉 인슐린 분비 과정의 결함, 분비된 인슐린의 구조적인 결함(proinsulin의 증가⁸⁾ 등), 혈액내의 인슐린 항체의 증가,³⁵⁾ 말초조직으로의 순환장애,³⁶⁾ 인슐린의 말초조직 모세혈관 통과장애,³⁷⁾ 인슐린 수용체의 결함,^{15,16)} 및 인슐린 수용체 결합후 정보전달 과정의 결함³⁸⁾이 있는 경우에 인슐린 저항성이 발생할 수 있다.

본 연구에서는 임신 말기의 인슐린 저항성의 기전을 규명하고자 인슐린 작용에 영향을 미치는 각 단계 중 인슐린 분비반응과 인슐린 수용체의 결합능 및 말초조직의 당원질 농도와 당원질 합성효소의 활동도를 측정하는 방법으로 접근하였으며 실험 결과 인슐린 분비반응의 증가로 보아 인슐린 분비과정의 결함은 배제할 수 있었다.

인슐린 수용체의 결합능은 대조군에 비하여 유의한 차이가 없어 인슐린 저항성의 원인으로 볼 수 없으나 여러 연구자의 상반된 보고들은 사용한 조직이나 대상의 차이에 기인할 것으로 생각된다.

일반적으로 고인슐린혈증에서 나타나는 인슐린 수용체의 down regulation이 나타나지 않은 것은 비만 등에서 볼 수 있는 인슐린 저항성의 형

태³⁹⁾와 차이가 있음을 의미하며 progesterone의 증가, 인슐린의 증가, 유리지방산의 증가, 및 임신시의 식욕증가와 활동의 감소 등 인슐린 수용체의 결합능을 감소시킬 요인들이 있음에도 불구하고 결합능의 감소가 없는 점은 흥미있는 부분으로 앞으로 그 기전에 관한 연구가 더 진행되어야 할 것이다. 그리고 인슐린 농도의 증가했음에도 수용체 결합능의 유지는 실제적인 인슐린 결합의 증가를 의미하며, 인슐린 결합의 증가에도 불구하고 당이동이 증가하지 않은 것은 인슐린 저항성의 기전이 수용체 후 과정에 있음을 시사하는 것으로 생각된다.

정맥당부하검사후 간장조직의 당원질 농도 및 당원질로 합성된 ¹⁴C-glucose 활동도의 결과로 볼때 간에는 인슐린 저항성이 발생한 것으로 보이나 수용체 후 과정의 효과를 평가하는 하나의 지표인 당원질 합성효소의 활동도는 유의한 차이가 없는 것으로 보아 당원질 합성효소 이외 경로의 수용체 후 과정에 결합이 있을 것으로 생각된다.

결국 임신에서의 인슐린 저항성은 여러가지 태반 호르몬의 증가의 직접적인 효과와 이들의 영향으로 인한 당과 지방대사의 변화에 근본적인 원인이 있는 것으로 추정할 수 있다. Progesterone은 말초조직에 작용하여 인슐린의 작용을 억제시키는 효과가 있으나 인슐린의 분비를 증가시켜서 이를 보상할 수 있으며^{6,27)} cortisol은 흰쥐 골격근에서 인슐린 저항성을 야기시키는 것으로 보고되고 있다.⁴⁰⁾ 그리고 인슐린 작용에 영향을 미치는 대사산물로는 혈당외에 지방을 들 수 있는데, 여러가지 항인슐린 호르몬의 영향으로 증가한 지질, 특히 유리지방산의 증가가 인슐린 저항성을 초래할 수 있을 것으로 짐작된다.^{41,42)}

결론적으로 정상임신흰쥐에서 인슐린 저항성

이 발생하나 인슐린 분비의 증가로 내당능은 유지되는 결과로 나타났으며 인슐린 저항성의 기전은 수용체 자체의 결합보다는 수용체 전과정이나 수용체 후과정의 결합으로 추측되어지나 향후 이에 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

임신시 발생하는 인슐린 저항성과 인슐린 분비 증가의 기전을 규명하기 위하여 Sprague-Dawley 종 암컷 흰쥐를 이용하여 정맥당부하 검사와 호르몬 및 지방 대사물질과 조직에서의 인슐린 수용체 결합, 당원질 합성효소를 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

정맥당부하검사에서 임신군에서 전체적인 곡선이 대조군에 비하여 아래에 위치하였다. 그러나 당부하시 인슐린 분비는 현저히 증가하였으며 혈당에 대한 비($\mu\text{U}/\text{mg}$)로 비교하여 임신군에서 56.9 ± 8.9 였고 대조군에서 23.6 ± 2.8 로서 인슐린 저항성을 확인할 수 있었다.

인슐린 분비반응의 증가는 태반 호르몬인 progesterone의 증가와 강한 상관관계를 나타내었다.

당부하검사후 당원질($\text{mg}/100\text{mg tissue}$)은 골격근(soleus)에서는 임신군과 대조군간에 유의한 차이가 없었으나 간조직에서는 임신군에서 4.7 ± 0.9 으로 대조군의 9.9 ± 1.3 에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였다. 당원질로 합성된 ¹⁴C-glucose의 활동도도 마찬가지로 골격근에서는 임신군과 대조군간에 유의한 차이가 없었으나 간조직에서는 현저한 감소를 보였다. 당원질 합성효소(glycogen synthase)는 골격근에서는 대조군이 높았고 간장조직에서는 임신군이 높았으나 유의한 차이는 없었다.

당부하검사후 간장조직의 crude membrane에
서의 인슐린-인슐린 수용체 결합반응에서는 두
군 사이에 유의한 차이가 없었다.

이상의 결과로 보아 정상임신히쥐에서 인슐
린 저항성이 발생하였으나 인슐린 분비의 현저
한 증가로 내당능의 감소는 나타나지 않았으며
인슐린의 분비증가는 progesterone의 증가와 상
관관계가 있었다. 인슐린 저항성은 간에서 가장
현저하게 나타났으며 그 원인은 인슐린 수용체
의 결합과정보다는 수용체 전 과정이거나 수용
체 후 과정일 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

1. Buchanan TA: Glucose metabolism during pregnancy: Normal physiology and implications for diabetes mellitus. *Israel J Med Sci* 27: 432-441, 1991.
2. Hauguel S, Leturque A, Gilbert M, Girard J: Effects of pregnancy and fasting on muscle glucose utilization in the rabbit. *Am J Obstet Gynecol* 158: 1215-1218, 1988.
3. Leturque A, Ferre P, Burnol AF, Kande J, Maulard P, Girard J: Glucose utilization rates and insulin sensitivity in vivo in tissues of virgin and pregnant rats. *Diabetes* 35: 172-177, 1986.
4. Cowett RM: Hepatic and peripheral responsiveness to a glucose infusion in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 153: 272-279, 1985.
5. Puavilai G, Drobny EC, Domont LA, Baumann G: Insulin receptors and insulin resistance in human pregnancy: evidence for a postreceptor defect in insulin action. *J Clin Endocrinol Metab* 54: 247-253, 1982.
6. Rushakoff RJ, Kalkhoff RK : Effects of pregnancy and sex steroid administration on skeletal muscle metabolism in the rat. *Diabetes* 30: 545-550, 1981.
7. Moore P, Koltman O, Weyant J, Olefsky JM: Insulin binding in human pregnancy: comparisons to the postpartum, luteal, and follicular states. *J Clin Endocrinol Metab* 52: 937-941, 1981.
8. Kuhl C: Insulin secretion and insulin resistance in pregnancy and GDM. Implications for diagnosis and management. *Diabetes* 40(Suppl. 2): 18-24, 1991.
9. Buchanan TA, Metzger BE, Freinkel N, Bergman RN: Insulin sensitivity and B-cell responsiveness to glucose during late pregnancy in lean and moderate obese women with normal glucose tolerance or mild gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 162: 1008-1014, 1990.
10. Kjos SL, Buchanan TA, Greenspoon JS, Montoro M, Bernstein GS, Mestman JH: Gestational diabetes mellitus: the prevalence of glucose intolerance and diabetes mellitus in the first two months postpartum. *Am J Obstet Gynecol* 163: 93-98, 1990.
11. Gelardi NL, Cha CJ, Oh W: Evaluation of insulin sensitivity in obese offspring of diabetic rats by hyperinsulinemic euglycemic clamp technique. *Pediatr Res* 30: 40-44, 1991.
12. Grill V, Johansson B, Jalkanen P, Eriksson UJ: Influence of severe diabetes mellitus early in pregnancy in the rat: effects on insulin sensitivity and insulin secretion in the

- offspring. *Diabetologia* 34: 373-378, 1991.
13. Holemans K, Aerts L, Assche FAV: Evidence for an insulin resistance in the adult offspring of pregnant streptozotocin-diabetic rats. *Diabetologia* 34: 81-85, 1991.
 14. Gelardi NL, Cha CJ, Oh W: Glucose metabolism in adipocytes of obese offspring of mild hyperglycemic rats. *Pediatr Res.* 28: 641-645, 1990.
 15. Beck-Nielsen H, Kuhl C, Pedersen O, Bjerre-Christensen C, Nielsen TT, Klebe JG: Decreased insulin binding to monocytes from normal pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab* 49: 810-814, 1979.
 16. 이현수, 고완, 박원근, 한인권, 김선우: 정상 임신후반기의 당불내인성의 기전에 관한 연구. *당뇨병* 11: 49-55, 1987.
 17. Flint DJ, Clegg RA, Vernon RG: Regulation of adipocyte insulin receptor number and metabolism during late pregnancy. *Mol Cell Endocrinol* 20: 101-111, 1980.
 18. Camps M, Guma A, Testar X, Palacin M, Zorzano A: Insulin resistance of skeletal muscle during pregnancy is not a consequence of intrinsic modifications of insulin receptor binding or kinase activities. *Endocrinology* 127: 2561-2570, 1990.
 19. Baumann G, Puavilai G, Freinkel N, Domont LA, Metzger BE, Levene HB: Hepatic insulin and glucagon receptors in pregnancy: their role in the enhanced catabolism during fasting. *Endocrinology* 108: 1979-1986, 1981.
 20. Leturque A, Satabin P, Perre P, Girard JR: Evidence that stimulation of glucose metabolism by insulin is not altered in isolated soleus muscle of pregnant rats. *Biochem J* 200: 181-184, 1981.
 21. Leturque A, Guerre-Millo M, Lavau M, Girard J: Effect of insulin on glucose metabolism in adipocytes from virgin and late pregnant rats. *Biochem J* 224: 685-688, 1984.
 22. Thomas JA, Schlender KK, Lerner J: A rapid filter paper assay for UDP glucose-glycogen glycosyltransferase, including an improved biosynthesis of UDP-¹⁴C-glucose. *Annal Biochem* 25: 486-499, 1968.
 23. Lo S, Russel JC, Taylor AW: Determination of glycogen in small tissue sample. *J Appl Physiol* 28(2): 234-236, 1970.
 24. 정경화, 김종연, 김용운, 이석강: 흰쥐에서 운동부하후 경구투여한 glucose가 특성이 다른 골격근에서 glycogen으로 합성되는 속도. *영남의대학술지* 5(2): 79-86, 1988.
 25. Freinkel N, Metzger BE, Phelps RL, Dooley SL, Ogata ES, Radvany RM, Belton A: Gestational diabetes mellitus. Heterogeneity of maternal age, weight, insulin secretion, HLA antigens, and islet cell antibodies and the impact of maternal metabolism on pancreatic B-cell and somatic development in the offspring. *Diabetes* 24(Suppl. 2): 1-7, 1985.
 26. Ryan EA, O'Sullivan MJ, Skyler JS: Insulin action during pregnancy. Studies with the euglycemic clamp technique. *Diabetes* 34: 380-389, 1985.
 27. Costrini NV, Kalkhoff RK: Relative effects of pregnancy, estradiol, and progesterone on plasma insulin and pancreatic islet insulin secretion. *J Clin Invest* 50: 992-999, 1971.
 28. Leturque A, Gilbert M, Girard J: Glucose

- turnover during pregnancy in anaesthetized post-absorptive rats. *Biochem J* 196: 633-636, 1981.
29. Hay WW, Spark JW, Wilkening RB, Battaglia FC, Meschia G: Partition of maternal glucose production between conceptus and maternal tissues in sheep. *Am J Physiol* 245: E347-350, 1983.
30. Gilbert M, Hauguel S, Bouisset M: Uterine blood flow and substrate uptake in conscious rabbit during late gestation. *Am J Physiol* 247: E574-580, 1984.
31. Ford SP, Reynolds LP, Ferrell LL: Blood flow, steroid secretion and nutrient uptake of the gravid uterus during the periparturient period in sows. *J Anim Sci* 59: 1085-1091, 1984.
32. Metzger BE, Ravnkar V, Vileisis RA, Freinkel N: "Accelerated starvation" and the skipped breakfast in late normal pregnancy. *Lancet* 1: 588-592, 1982.
33. Phelps RL, Metzger BE, Freinkel N: Carbohydrate metabolism in pregnancy. XVII. Diurnal profiles of plasma glucose, insulin, free fatty acids, triglycerides, cholesterol, and individual amino acids in late normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 140: 730-736, 1981.
34. Freinkel N: Banting lecture 1980 of pregnancy and progeny. *Diabetes* 29: 1023-1035, 1980.
35. Haefliger TWV: Clinical significance of insulin antibodies in insulin-treated diabetic patients. *Diabetes Care* 12: 641-648, 1989.
36. Baron AD, Laakso M, Brechtel G, Hoit B, Watt C, Edelman SV: Reduced postprandial skeletal muscle blood flow contributes to glucose intolerance in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 1525-1533, 1990.
37. 장연진: Dynamic state에서 살펴본 인슐린 작용에 있어서 모세혈관벽을 통한 인슐린 운반의 중요성. *당뇨병* 15(1): 41-51, 1991.
38. Kolterman OG, Gray RS, Griffin J, Burstein P, Insel J, Scarlett JA, Olefsky JM: Receptor and postreceptor defects contribute to the insulin resistance in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 68: 957-969, 1981.
39. Olefsky JM: Decreased insulin binding to adipocytes and circulating monocytes from obese subjects. *J Clin Invest* 57: 1165-1172, 1976.
40. Rushakoff RJ, Kalkhoff RK: Relative effects of pregnancy and corticosterone administration on skeletal muscle metabolism in the rat. *Endocrinology* 113: 43-47, 1983.
41. Lee KU, Lee HK, Koh CS, Min HK: Artificial induction of intravascular lipolysis by lipid-heparin infusion leads to insulin resistance in man. *Diabetologia* 31: 285-290, 1988.
42. Gilbert M, Pere MC, Baudelin A, Battaglia FC: Role of free fatty acids in hepatic insulin resistance during late pregnancy in conscious rabbits. *Am J Physiol* 260(Endocrinol Metab 23): E938-945, 1991.

-Abstract-

Insulin Resistance in Late Pregnant Rats

Myung Heup Chun, Yong Woon Kim, So Young Park
Jong Yeon Kim, Suck Kang Lee

Department of Physiology
College of Medicine, Yeungnam University
Taegu, Korea

The influence of normal late pregnancy on insulin action and insulin secretion was studied in the Sprague-Dawley female rats.

On 20th day after mating, intravenous glucose tolerance test(IVGTT) was performed in non pregnant control and pregnant rats.

As results of IVGTT, glucose disappearance rate was not significantly different in both groups, but secretory response of insulin was significantly($p<0.05$) increased in pregnant rat. And the ratio of insulin/glucose was significantly higher in pregnant rats, which means existence of insulin resistance. These insulin resistance was overcome by increased secretory response of pancreatic insulin.

Insulinogenic index(Δ insulin/glucose - 5 min) was highly significantly ($r=0.62$, $p<0.01$) correlated with progesterone concentration.

Glycogen level and amounts of ^{14}C -glucose incorporated into glycogen after IVGTT were significantly($p<0.05$) decreased in the liver, but were not changed significantly in soleus. Glycogen synthase activity of soleus and liver was not differ significantly in the both groups.

Insulin binding at varying concentrations of insulin to crude membrane of pregnant liver was not significantly different from control.

In conclusions, although these pregnant rats were normal glucose tolerance due to increased secretory response of insulin, that was correlated with progesterone concentration, pregnant rat had insulin resistance. The mechanisms of insulin resistance were not related to defect of insulin binding phase and glycogen synthase, but suggest pre-receptor and/or postreceptor phase.

Key Words: Pregnancy, Insulin resistance, Insulin receptor, Glycogen synthase, Progesterone