

백서에서 식이내 열량 영양소의 배분이 인슐린 분비능과 인슐린 저항성에 미치는 영향*

박선민[§] · 최미경 · 안승희 · 김영희 · 박춘희 · 최수봉**

호서대학교 자연과학대학 식품영양학과, 건국대학교 의과대학 내과학교실**

The Effects of Dietary Caloric Distribution on Insulin Secretion and Insulin Resistance in Sprague Dawley Rats*

Park, Sunmin[§] · Ahn, Seung Hee · Choi, Mi Kyung
Kim, Young Hee · Park, Chun Hee · Choi, Soo Bong**

Department of Food & Nutrition, College of Natural Science, Hoseo University, Chungnam 336-795, Korea
Department of Internal Medicine, College of Medicine,** Konkuk University, Chung Ju, Chungbuk 380-062, Korea

ABSTRACT

The prevalence of type 2 diabetes mellitus has been rapidly increased in parallel with the westernization of eating behavior in Korea. Increased consumption of animal fat and simple sugar can be potential contributors for insulin resistance. The purpose of the study was to determine whether Western-(WD) and Korean-style(KD) diets altered insulin secretion and insulin resistance in male Sprague Dawley rats. Rats weighing 98 ± 5 g were provided by KD(77 En% of starch, 5 En% of corn oil and 13 En% of gluten plus 5 En% of casein), WD(42 En% of starch, 40 En% of butter and 18% of casein) or control diet(62 En% of starch, 20 En% of corn oil and 18% of casein) for 12 weeks. Body weights were lower in KD compared to WD. Fasting blood glucose levels were not different among diets. Insulin secretion from the beta cells was higher by 2.2 ± 0.4 folds in WD than KD at baseline. In hyperglycemic clamp insulin secretion was higher in WD than KD and CD. Whole body glucose disposal rates referred to the state of insulin sensitivity were lowest in WD among groups. Glycogen deposits in soleus and quadriceps muscles were lowest in WD among all groups, but their triglyceride contents were highest. GLUT4 contents and glycogen synthase were lowest in WD in both muscles. In conclusions, westernization of diets needed more insulin to normalization of blood glucose levels due to increased insulin resistance. Thus, WD would lead to increased prevalence of diabetes mellitus when increased insulin resistance could not be compensated by insulin secretion in the case of elevated blood glucose levels. (*Korean J Nutrition* 34(5) : 485~492, 2001)

KEY WORDS: insulin resistance, insulin secretion, GLUT4, glycogen synthase.

서론

우리나라에서 최근 10년 동안 제2형 당뇨병 환자의 수가 5배 이상 증가하여 전체 인구의 약 10%가 제2형 당뇨병 환자이고, 특별히 40대와 50대에서 그 유병률이 급격히 상승하고 있다.¹⁾ 우리나라의 제2형 당뇨병 환자의 임상적인 특징은 서구와는 현저히 다른 소견을 보이고 있다.^{2,3)} 첫째는 인슐린 분비능의 차이로 서구에 비해 우리나라 사람의 제2형 당뇨병은 인슐린 분비능이 현저하게 저하되어 있음이 알려져 있다. 건강한 정상인에서도 모든 연령층에서 이

러한 인슐린 분비능의 차이가 발견된다.²⁾ 혈청 인슐린 농도가 낮은 것은 인슐린 작용력이 그만큼 좋다는 것을 의미하는 것이기도 하지만, 인슐린 저항성이 유발되는 상황에 처했을 때 혈당을 정상화하기 위하여 인슐린의 분비가 증가하여야만 하는데 인슐린 분비가 이것을 극복할 수 있을 정도로 충분하게 분비되지 않아 혈당이 상승할 수 있다. 고혈당은 포도당 독성(glucotoxicity)을 일으켜 인슐린 분비능과 인슐린 저항성을 더욱 악화시켜 결국 당뇨병으로 발전될 가능성이 높다.³⁾ 둘째로는 비만한 서구의 제2형 당뇨병과는 다르게 한국의 제2형 당뇨병은 비만하지 않으며 오히려 체중감소가 오는 점이 특징이라고 할 수 있다. 우리나라에서 비만이 제2형 당뇨병의 병인과 직접적인 관련이 있다는 구체적인 어떤 증거도 발표된 적이 없다.

우리나라의 제2형 당뇨병이 서구의 제2형 당뇨병과는 다른 양상인 것과 최근에 제2형 당뇨병의 발생이 급격히

접수일 : 2001년 3월 16일

채택일 : 2001년 7월 5일

*This research was supported by the grant from Korean Research Foundation.

[§]To whom correspondence should be addressed.

증가하는 것은 우리나라의 전통적인 식사 형태가 곡류 위주라는 점과 최근 수십년 동안의 비약적인 경제의 성장과 모든 생활 형태가 서구화됨에 따라서 진행된 식품 및 영양소 섭취 형태의 변천과 관련이 있을 것으로 여겨진다. 우리나라의 식사 형태의 변화를 살펴보면 1971년에는 탄수화물, 단백질, 지방의 열량비가 각각 80.7, 13.0 그리고 6.3%이었고, 총 단백질 섭취량 중 동물성 단백질이 차지하는 비율은 11.6%이었다.⁴⁵⁾ 이러한 식품 섭취의 형태는 점차 바뀌어 1993년에는 탄수화물, 단백질, 지방의 열량비가 각각 65.9, 15.9 그리고 18.2%로 지방 섭취가 크게 증가하였고, 탄수화물의 섭취는 감소하였으며, 총 단백질 섭취량 중 동물성 단백질이 차지하는 비율이 46.4%로 크게 증가하였다.⁴⁶⁾ 즉, 우리나라 사람의 종래의 식사는 고탄수화물, 저지방식이었고 식물성 단백질을 주요성분으로 하는 식이었다. 반대로 서구인의 식사는 저탄수화물, 고지방식이었고 단백질은 주로 동물성 단백질이었다. 이렇게 전통적인 고탄수화물, 저지방, 식물성 단백질 식사와 서구식이인 저탄수화물, 고지방, 동물성 단백질 식사가 각각 인슐린 분비능과 인슐린 저항성에 영향을 주어 서구와는 다른 양상의 당뇨병이 발생할 수 있으리라 생각된다.⁶⁷⁾ 또한 한국적인 저지방 식물성 단백질 식사를 장기간 하다가 서구의 고지방 동물성 단백질 식사로 바꾸었을 때 또는 서구 식사를 장기간 하다가 한국적인 식사로 바꾸었을 때 인슐린 저항성과 인슐린 분비능에 미치는 영향에 대한 연구를 앞으로 진행해야 할 것이다. 우선 본 연구에서는 백서의 이유기부터 성장기까지 섭취한 식이의 탄수화물과 지방의 배분비와 단백질 급원이 인슐린 분비능과 인슐린 저항성에 어떠한 영향을 주는 가를 조사하는 것이 목적이었다.

연구방법

1. 실험동물의 사육

생후 5주된 Sprague Dawley 수컷 백서를 구입하여 3~4일간 적응시킨 후 체중에 따라 난괴법(Randomized complete block design)으로 한 군에 13마리씩 3군으로 나누었다. 무작위로 3군에 각각 고탄수화물-저지방-식물성 단백질 식이인 한국식 식이(KD)를 공급하고 다른 한군에는 저탄수화물-고지방-동물성 단백질 식이인 서구식 식이(WD)를 공급하며 나머지 한군은 정상대조군으로(CD) 고형사료를 공급하였다. 실험식을 12주 동안 자유 급식하고, 사육기간 동안 1주일에 한번씩 오전 11시에 꼬리 끝으로부터 혈액을 채취하여 혈당을 측정하고 또한 체중을 측정하였다. 사육실 온도는 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도는 $65 \pm 5\%$ 를

유지하고 광주기와 암주기를 12시간이 되도록 빛을 조절하였다.

2. 실험식이

WD군의 탄수화물, 단백질과 지방의 구성비는 각각 열량비로 40%, 18% 그리고 40%를 기준으로 하였고 단백질 급원은 동물성 단백질인 casein으로 지방급원은 동물성 지방인 버터를 사용하였다. KD군의 탄수화물, 단백질과 지방의 구성비는 각각 열량비로 77%, 18% 그리고 5%를 기준으로 하였고 단백질 급원은 식물성 단백질인 gluten으로 13%를 그리고 동물성 단백질인 casein으로 5%를 사용하여 성장에 필요한 최소한의 필수 아미노산을 공급하도록 하였고, 지방의 급원은 식용유를 사용하였다. 무기질은 American Institute of Nutrition(AIN) mineral mixture의 구성비를 그리고 비타민은 AIN, vitamin mixture 구성비를 이용하였다.⁸⁾

3. Hyperglycemic clamp와 Euglycemic hyperinsulinemic clamp study

실험동물을 희생시키는 전에 체내 인슐린 분비능과 인슐린 저항성을 측정하기 위하여 hyperglycemic clamp와 euglycemic hyperinsulinemic(EH) clamp 방법을 실행하였다. 이 실험들을 하기 위해서 실험식을 공급한지 11주째 되었을 때 phentobarbital(10mg/kg 체중)을 근육 주사하여 마취시킨 후 catheter를 왼쪽 carotid artery(외경 0.36mm)와 오른쪽 jugular vein(외경 0.58mm)에 삽입하였다.⁹⁾ 수술 후 백서에게 식이와 물을 정상적으로 공급하였고, 1주일 후에는 체중이 수술 전과 같은 수준의 체중을 유지하기 시작하며 수술로부터 완전히 회복하였다. 수술 7일째 되는 날에 약 15~18시간 금식시킨 후 hyperglycemic clamp를 실행하고 사료를 3시간 동안(PM 1:00~4:00) 준 후 다시 금식 시키고 다음날 EH clamp를 하였다.

Hyperglycemic clamp는 25% 포도당 용액을 jugular vein으로 20uL/kg 체중/분의 속도로 주입하면서 carotid artery로 혈액을 채취하여 혈당을 5분 간격으로 측정하여 약 90분이 지나 혈당이 11.1mmol/L로 유지하도록 하였다. 혈당이 5분 정도 11.1mmol/L를 유지할 때 혈액을 채취하여 혈청을 분리하여 -70°C 에서 보관하였다가 혈청 인슐린 농도를 측정하여 혈장에서 인슐린 분비능을 측정하였다.¹⁰⁾

체내의 인슐린 저항성 정도를 결정하는 방법인 EH clamp는 왼쪽의 Jugular vein에 삽입한 catheter로 주입하고, 오른쪽의 carotid artery에서는 혈액을 채취하였다. 인슐린 저항성의 정도를 나타내는 체내의 포도당 제거 속도(glucose disposal rate)는 주입한 인슐린 농도에서 몸

서 처리 또는 제거할 수 있는 포도당의 양으로 결정하였다. 이 방법을 자세히 서술하면 실험동물의 한배에서 나온 백서에게서 heart puncture로 얻은 혈액을 헤파린 처리한 생리 식염수로 1 : 1(v : v)로 희석한 용액에 인슐린을 섞어 12mU/kg 체중/분 속도로 인슐린을 지속적으로 주입하였다. 이와 동시에 25% 포도당 용액을 정맥으로 주입한 지 90분 이상 지나 혈당이 5.0~5.6mmol/L인 euglycemia로 steady-state를 유지할 때의 포도당 주입속도로부터 포도당 처리 속도를 결정하였다. 즉, 포도당 처리 속도는 혈당을 5.0~5.6mmol/L로 유지하는 포도당 주입속도에 주입하는 용액의 포도당 농도를 곱하고 백서의 체중으로 나누어서 분당 단위 체중 당 처리되는 포도당 양으로 계산하였고 단위는 mg/kg 체중/분이다.^{11,12)}

채취한 혈액은 원심분리로 혈청을 분리한 후 혈당 분석기 (Glucose Analyzer, Beckman Instruments, Fullerton, CA)로 혈당을 측정하였다. 혈청 인슐린 농도는 EH clamp 중 시작전, 90분과 120분에 측정하였다. Steady-state에서 인슐린 농도는 90분과 120분의 평균으로 결정하였다. 혈청내 인슐린 농도는 Rat Insulin Specific RIA kit(Linco Research Inc., St. Charles, USA)을 이용하여 radioimmunoassay 측정하였다.¹³⁾

EH clamp가 끝나자마자 바로 pentobarbital(20mg/kg)을 정맥으로 주입하고, 간, soleus와 quadriceps 근육과 지방 조직을 분리하여 액체 질소에 넣어 즉각 동결시켜 생화학적 실험을 할 때까지 -70°C에 보관하였다가 분석에 이용하였다.

4. 생화학적 분석

간과 근육의 glycogen 함량은 일정량의 간과 근육을 균질화시킨 직후에 포도당 농도를 측정하고, 거기에 glucoamylase를 첨가하여 배양시킨 후 포도당 농도를 측정하여, 간과 근육에 glycogen으로 저장된 포도당의 함량을 결정하였다.¹⁴⁾ 근육에 함유된 중성지방의 함량은 일정량의 근육에 chloroform : methanol(2 : 1, v : v)을 넣어 homogenizer로 균질화시킨 후 vortex를 하여 근육으로부터 지방을 추출하였다. 여기에 NaCl 용액을 넣어 중성지방이 함유되어 있는 chloroform 층을 분리하였다. 이층에 함유되어 있는 중성지방 함량은 영동제약 kits를 이용하여 500nm에서 비색정량하였다.¹⁵⁾ Soleus와 quadriceps 근육을 10 mmol/L HEPES, 1mmol/L EDTA, 250mmol/L sucrose, pH7.4를 함유하고 있는 차가운 HEPES buffer로 sonication에 의해 균질화한 후 원심분리하여 근육의 총 세포막을 Walker et al¹⁶⁾의 방법으로 분리하여 GLUT4 함량을

측정하였다. 상등액을 Laemmli sample buffer로 희석하여 SDS-PAGE로 전기영동 후 nitrocellulose로 이동하여 rabbit GLUT4 antibody(Chemicon, Temecula, CA)로 Western blot한 후 그 함량을 laser densitometer로 결정하였다.¹⁷⁾ Glycogen synthase 활성은 Thomas et al^{14,19)}의 방법을 변형하여 측정하였다. Glycogen synthase 활성은 10.0mM glucose 6-phosphate(G-6-P)을 첨가하였을 때와 첨가하지 않고 0.3 mM UDPG-(³H) glucose를 근육 세포와 배양하였을 때 근육의 glycogen에 존재하는 (³H)-glucose의 양을 측정하여 결정하여 Glycogen synthase 활성을 nanomoles/mg 단백질/분으로 계산하였다. 10mM G-6-P 농도에서의 glycogen synthase 활성은 maximal glycogen synthase의 활성을 나타내고 G-6-P 없이 측정된 glycogen synthase 활성은 G-6-P independent 형태의 활성이다. 또한 glycogen synthase의 fractional velocity(FV)는 10mM G-6-P가 존재할 때와 존재하지 않을 때의 glycogen synthase의 활성의 비로 계산하였다. FV는 glycogen synthase가 비활성화 된 상태에서 활성화되는 정도를 나타내는 것으로 이 값이 높을수록 효과적으로 glycogen synthase 활성화되는 것을 의미한다.

5. 통계적 처리

이유기 백서에게 한국식 식이와 서구식 식이를 12주를 공급한 후 다양한 변수의 값을 각 군별로 평균과 표준 편차를 계산하였다. 식이에 의한 각 변수의 차이는 one way analysis of variance에 의해서 통계적으로 검증하였다. 각 변수의 군의 평균값 사이의 차이에 대한 유의성은 Tukey's multiple comparison 방법으로 검증하였다. 모든 통계 처리의 유의성 검증은 $\alpha = 0.05$ 로 정하였다.

결 과

1. 체중과 혈당

체중이 98 ± 5g인 이유직 후의 백서에게 WD, KD, CD를 12주 동안 공급하였을 때 체중 변화를 Fig. 1에 나타내었다. WD, KD, 그리고 CD군의 백서에서 모두 체중이 증가하였고 식이를 공급한 지 5주까지는 세군 사이에 차이가 없었다. 6주 후부터 KD군의 체중이 WD군과 CD군에 비해 낮았고 8주 후부터는 WD군의 체중이 가장 높고 그 다음이 CD군이었으며 KD군이 가장 낮았다. 식이를 공급한 12주 동안의 공복 혈당 변화를 Fig. 2에 나타내었고, 공복 혈당은 WD, KD, 그리고 CD 식이 사이에 차이를 나타내지 않았다.

2. 인슐린 분비능

Table 1에 hyperglycemic clamp를 하였을 때 혈청 포도당 농도와 혈청 인슐린 농도를 나타내었다. 기초 혈청 포도당은 세 군 사이에 차이가 없었으나 기초 인슐린 농도는 WD군, CD군 그리고 KD군의 순서로 낮았고 WD군의 값이 다른 두 군에 비해 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.01$).

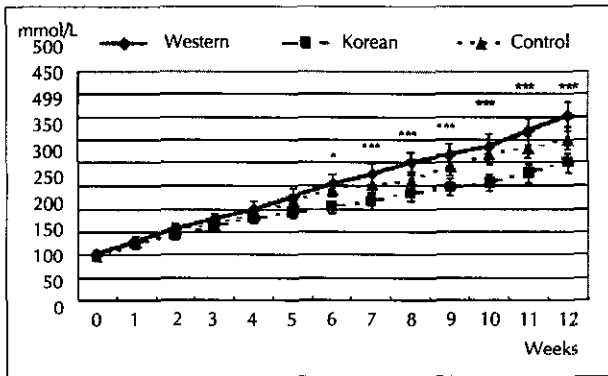


Fig. 1. Weekly changes of body weight. *The values are significantly different among different groups at $\alpha = 0.05$. *** $\alpha = 0.001$.

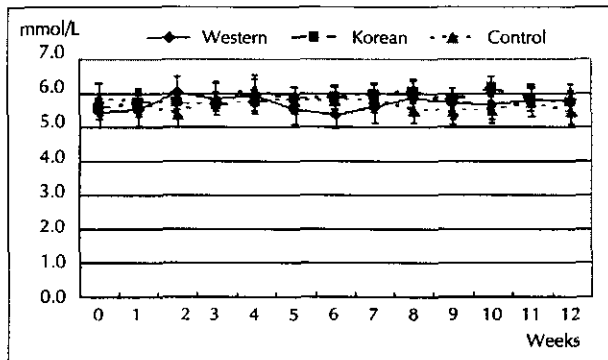


Fig. 2. Weekly changes of blood glucose.

Table 1. Serum glucose and insulin levels at hyperglycemic clamp(Mean \pm SD)

	Western style diet(n = 11)	Korean style diet(n = 11)	Control diet(n = 12)
Basal glucose(mmol/L)	7.5 \pm 0.6	7.2 \pm 1.3	7.3 \pm 1.1
Steady state glucose(mmol/L)	10.6 \pm 1.6	10.8 \pm 1.4	11.0 \pm 1.1
Basal insulin(pmol/L)	416 \pm 107 ^a	198 \pm 71 ^b	245 \pm 98 ^b
Steady-state insulin at 11.1 mmol/L of serum glucose levels(pmol/L)	574 \pm 118 ^a	323 \pm 121 ^b	368 \pm 109 ^b

a, b: Values on the same row with different superscripts were significantly different at $\alpha = 0.05$.

Table 2. Glucose disposal rate, plasma glucose and insulin levels at euglycemic hyperinsulinemic clamp(Mean \pm SD)

	Western style diet(n = 11)	Korean style diet(n = 11)	Control diet(n = 12)
Glucose disposal rate(mg/kg/min)	33.5 \pm 6.8 ^b	45.4 \pm 8.5 ^a	40.9 \pm 7.9 ^a
Basal glucose(mmol/L)	7.2 \pm 1.2	7.1 \pm 1.1	7.2 \pm 1.1
Steady-state glucose(mmol/L)	5.5 \pm 0.3	5.5 \pm 0.4	5.4 \pm 0.3
Basal insulin(pmol/L)	409 \pm 103 ^a	205 \pm 88 ^b	264 \pm 109 ^b
Steady-state insulin(pmol/L)	3430 \pm 654	3228 \pm 703	3242 \pm 647

a, b: Values on the same row with different superscripts were significantly different at $\alpha = 0.05$.

외부에서 25% 포도당 용액을 주입하여 혈당을 11.1mmol/L로 유지하였을 때 혈청 인슐린 농도는 식이에 따라 차이가 있었지만, 기초 인슐린 농도에서 27~38.7% 증가하였다. 11.1mmol/L로 혈당을 유지하였을 때 혈청 인슐린 농도는 다른 두 군에 비해 WD에서 가장 높았다($p < 0.05$).

3. 인슐린 저항성

Table 2에 EH clamp를 하였을 때 혈청 포도당 농도, 혈청 인슐린 농도와 포도당 제거 속도를 나타내었다. 각각의 식이를 12주 동안 공급한 후 EH clamp를 하기 전의 기초 혈청 포도당 농도는 세 군 사이에 차이가 없었다. 그러나 기초 인슐린 농도는 hyperglycemic clamp하기 전과 마찬가지로 WD군에서 가장 높았고 KD군에서 가장 낮았다($p < 0.01$). 외부에서 인슐린과 포도당을 계속적으로 주입하면서 혈당을 100mg/dL로 유지하였을 때 혈청 포도당과 혈청 인슐린 농도는 세 군 사이에 차이가 없었다. 체내 포도당 제거 속도는 WD군에서 KD군과 CD군에 비해 낮았다($p < 0.05$).

각군에서 체내 포도당 제거 속도에 영향을 미치는 요인인 근육 조직의 glycogen 양(Table 3), 중성지방 양(Table 3), GLUT4 양(Table 4) 그리고 glycogen synthase 활성(Table 4)을 조사하였다. 간 조직의 glycogen의 양은 WD군에 비해 KD군에서 높았고, 근육의 glycogen 양도 간과 유사한 경향을 나타내었다. 특히 soleus 근육의 glycogen 양은 WD군과 CD군에 비해 KD군에서 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.05$). Quadriceps 근육의 glycogen 양은 WD군이 다른 군에 비해 낮은 경향을 보였으나 세군 사이에 통계적인 차이는 없었다. 중성 지방 양은 soleus 근육에서는 세군 사이에 차이가 없었고, quadriceps 근육에서는 WD군이 KD군에 비해 높았다($p < 0.05$).

Table 3. Liver glycogen and glycogen and triglyceride in soleus and quadriceps muscles(Mean ± SD)

	Western style diet(n = 11)	Korean style diet(n = 11)	Control diet(n = 12)
Liver glycogen(mg/g tissue)	44.3 ± 19.0 ^b	69.7 ± 20.8 ^a	53.3 ± 9.9 ^{ab}
Soleus muscle glycogen(mg/g tissue)	3.3 ± 0.6 ^b	4.1 ± 0.8 ^a	3.3 ± 0.7 ^b
Quadriceps muscle glycogen(mg/g tissue)	4.3 ± 1.0	4.8 ± 1.2	4.8 ± 0.9
Soleus muscle triglyceride(mg/g tissue)	159.4 ± 41.3	155.6 ± 30.6	158.6 ± 42.9
Quadriceps muscle triglyceride(mg/g tissue)	221.4 ± 40.8 ^a	172.7 ± 45.6 ^b	207.0 ± 43.8 ^{ab}

a, b: Values on the same row with different superscripts were significantly different at $\alpha = 0.05$.

Table 4. Glycogen synthase and GLUT4 in soleus and quadriceps muscles(Mean ± SD)

	Western style diet(n = 11)	Korean style diet(n = 11)	Control diet(n = 12)
Soleus muscle GLUT4(%)	64.6 ± 28.6 ^b	117.5 ± 36.5 ^a	68.0 ± 13.0 ^b
Quadriceps muscle GLUT4(%)	60.2 ± 23.4 ^b	104.5 ± 28.1 ^a	71.5 ± 33.8 ^b
Total glycogen synthase activity in soleus muscle(nmol/mg protein/minute)	31.9 ± 4.4	35.5 ± 4.9	32.9 ± 4.8
Total glycogen synthase activity in quadriceps muscle(nmol/mg protein/minute)	29.6 ± 5.0	33.3 ± 5.8	30.3 ± 5.7
Fraction velocity in soleus muscle glycogen (% of the ratio of independent form and total activities)	9.1 ± 1.4 ^b	10.4 ± 1.2 ^a	9.8 ± 0.8 ^{ab}
Fraction velocity in quadriceps muscle glycogen(%of the ratio of independent form and total activities)	5.9 ± 1.6	6.7 ± 1.1	5.8 ± 1.9

a, b: Values on the same row with different superscripts were significantly different at $\alpha = 0.05$.

GLUT4 양은 soleus($p < 0.01$)와 quadriceps($p < 0.05$) 근육에서 모두 WD군과 CD군에 비해 KD군에서 통계적으로 유의하게 높았다. Soleus와 quadriceps 근육에서 total glycogen synthase 활성은 KD군이 WD 군에 비해 높은 경향은 있었으나 통계적인 차이는 없었다. soleus 근육에서 glycogen synthase의 G-6-P를 첨가하지 않았을 때와 10.0mM G-6-P 농도에서의 FV는 WD군이 KD와 CD군에 비해 낮았다($p < 0.05$). Quadriceps 근육에서 total glycogen synthase 활성은 soleus 근육과 같은 경향을 보였으나 세군 사이의 통계적으로 유의적인 차이는 없었다. 또한 quadriceps 근육에서 FV도 soleus muscle과 유사한 경향을 나타내어 KD군의 값이 CD군과 WD군에 비해 높았지만 세군 사이에 차이가 없었다.

고 찰

서구 사람들에 비해 우리나라의 사람들이 인슐린 저항성이 낮고 더불어 인슐린 분비농도 낮은 것은 식이의 차이일 가능성이 높다. 20년 전에는 우리나라의 식이 섭취량을 살펴보면 전체 열량의 80% 이상을 탄수화물로 섭취하였고, 단백질과 지방 섭취량은 전체 열량의 15%와 5% 정도이었으며, 단백질의 공급원은 주로 식물성 단백질이었다.^{4,5} 반면에 서구에서는 탄수화물, 단백질과 지방의 섭취량이 전체

열량의 약 42%, 18% 그리고 40%이었고, 단백질의 주요 공급원은 동물성 단백질이었다.¹⁰ 이러한 열량 영양소의 섭취 배분의 차이가 인슐린 분비능에 영향을 미쳐 제2형 당뇨병의 발생에 영향을 미칠 수 있다. 즉, 우리나라의 건강한 사람의 혈청 인슐린 농도가 낮은 것은² 탄수화물을 주식으로 섭취하고 동물성 지방의 섭취가 적어 말초 조직에서의 인슐린 저항성이 거의 없는 상태로 인슐린 민감성이 높은 상태를 유지하면서 양질의 단백질인 동물성 단백질의 섭취 부족은 절대적인 인슐린 분비능을 감소시켰을 것으로 여겨진다. 이러한 상태에서 과도한 스트레스, 고지방 식이 섭취와 복부 비만과 같은 인슐린 저항성을 증가시키는 상황에 처할 때 이에 대처하여 인슐린 분비가 증가해야 하는데 어려서부터 인슐린 분비가 적었기 때문에 췌장에서 갑자기 인슐린 분비를 충분히 증가시키지 못해서 당뇨병을 유발시킬 수 있을 것으로 여겨진다. 이러한 관점에 착안하여 본 연구에서는 이유기 직후의 백서에게 저지방-식물성 단백질로 구성된 한국식 식이와 고지방-동물성 단백질로 구성된 서구식 식이를 12주 동안 공급하였을 때 인슐린 저항성과 인슐린 분비능에 미치는 영향을 조사하였다. 본 연구에서는 식물성 단백질만을 공급하였을 때 영양결핍으로 오는 문제를 보완하기 위해서 최소한의 동물성 단백질인 식이의 5 energy%의 카제인 공급하고 자유롭게 식사하도록 하여 영양 결핍으로 인한 인슐린 저항성의 발생은 배제하였다.

본 연구에서도 고지방-고동물성 단백질 식이인 서구 식이를 공급하였을 때 인슐린 저항성도 높고 11.1mmol/L로 혈당을 유지하였을 때의 인슐린 분비능도 높은 상태를 나타내었는데 이것은 인슐린 저항성이 높아져 인슐린의 분비가 증가한 것으로 여겨진다. 이것을 뒷받침하는 연구들에서 인슐린 저항성은 체지방 특히 복부에 지방이 축적되면서 혈액 내의 포도당의 농도가 높아졌을 때 근육 세포 또는 지방 조직 세포의 세포막에 존재하는 인슐린 receptors의 기능 및 receptor와 인슐린이 결합한 후에 인슐린 signal transduction이 비정상적으로 일어나서 나타나며 이것은 포도당의 이용을 감소시켜 고혈당을 나타내고 당뇨병으로 진전된다고 보고 하였다.²⁰⁾ 이런 상태에서는 췌장에서 분비되는 인슐린의 농도가 정상적일지라도 혈당은 감소하지 않고 이것을 극복하기 위해서 췌장의 베타 세포는 최대한 인슐린의 분비를 증가시켜 혈당을 낮추려고 노력하므로 혈액내의 인슐린 농도가 정상인의 경우보다 높은 고인슐린혈증(hyperinsulinemia)을 보이게 된다.²⁰⁾ 그러므로 서구의 인슐린 저항성은 고인슐린혈증을 동반하며 이것은 체중 감소나 식이 조절 등으로 인슐린 작용력을 증가시키면 없어질 수 있다. 반면에 우리나라의 인슐린 저항성은 서구와는 많은 차이를 나타내 비비만인에게서 나타나고 인슐린 저항성이 증가하더라도 그 만큼 인슐린 분비가 증가하지 못해 고인슐린혈증은 나타나지 않고 오히려 인슐린이 부족한 형태를 나타낸다. 그래서 대부분 식사 조절이나 운동만으로 혈당 조절이 가능하지 않은 경우가 많다.^{3,21)}

본 연구의 결과와 같이 고지방 식이, 특히 고평화지방 식이가 인슐린 저항성을 증가시킨다는 것은 여러 연구에서 발표되었다.^{6,22)} 그 기전에 대해서 여러가지 연구가 있지만 아직까지 확실한 기전이 밝혀지지는 않았다. 고지방 식이를 공급하였을 때 인슐린 저항성을 유발시키는 가능한 기전은 고지방 식이로 인한 혈중 유리지방산의 농도가 증가하거나 간에서 포도당의 합성을 증가하거나, 또는 조직내 중성지방이 축적되어 세포내로 열량의 공급이 줄어들면 지방산의 산화가 증가하면서 포도당의 산화는 줄어들고 결국 세포내의 포도당 이용이 감소하는 것이다. 실험적으로 혈청 유리지방산의 농도를 증가시키면 지질의 산화가 촉진되는 것으로 알려져 있고, 지질의 산화가 촉진되면 포도당의 산화에 장애를 일으킨다. 그 기전은 세포내에 유리지방산의 산화가 증가하면 세포내의 acetyl CoA의 농도가 축적되고, NADH/NAD의 비율이 증가하여 TCA cycle의 citric acid도 증가하게 된다. 세포내에 이러한 물질들의 증가는 세포내에서 포도당이 이용되는데 필요한 첫 반응인 hexokinase의 활성을 억제하여 포도당의 산화와 저장을 비롯한 포도당의 이

용에 장애를 일으키는 것으로 설명되고 있다.^{23,24)} 또한 더 나아가 본 연구 결과에서 처럼 고지방 식이를 공급하였을 때 근육세포에서 GLUT4의 양이 감소하여 포도당의 세포내로의 이동이 감소하고 glycogen synthase의 활성이 감소하여 glycogen의 저장량도 감소시켜 포도당의 이용을 감소시킨다는 연구 보고도 있었다.²⁵⁾

열량 영양소 중에 혈당이나 인슐린 저항성의 상승에 가장 적은 영향을 미치는 것이 단백질로 알려져 있어,²⁶⁾ 식이 단백질과 인슐린 저항성이나 인슐린 분비능에 관한 연구는 많지 않다. 최근의 연구에서 어렸을 때 식이 단백질을 총열량의 8%로 제한하였을 때 인슐린 분비능이 감소하여 성장한 후에 고지방식이로 전환하였을 때 당불내성증을 나타내었고, 포도당 제거속도를 감소시켰다고 보고하였다.²⁷⁾ 본 연구에서는 단백질의 주요 급원으로 식물성 단백질을 공급하였지만 영양결핍을 방지하기 위해서 5%의 카제인을 공급하여 영양실조에 의한 영향은 배제하였을 때 동물성 단백질-고지방 식이를 하였을 때보다 인슐린 분비능이 낮았다. Piatti 등²⁸⁾은 비만인 여성에게 일일에 800kcal의 저열량 식이를 고단백식이(45%) 또는 정상적인 단백질 식이(20%)를 시켰을 때 고단백식은 인슐린 민감성을 호전시키고, 고탄수화물 식이는 인슐린 민감성을 감소시키고 근육 양도 감소하였다고 보고하였다.

인슐린 분비능과 인슐린 저항성의 상관관계에 대해서는 아직까지 논란이 많다. Kahn 등²⁹⁾은 정상 성인에서 인슐린 분비능은 인슐린 저항성에 비례하여 증가함을 보고하였다. 즉, 인슐린 분비능과 근육과 같은 말초조직의 인슐린 민감성(sensitivity)을 곱한 값은 항상 일정한데 인슐린 민감성이 증가하면 적은 양의 인슐린으로도 당대사가 효율적으로 일어나므로 인슐린 분비능이 상대적으로 낮고, 반대로 인슐린 민감성이 감소하면 많은 양의 인슐린이 존재해야 당대사가 정상화되므로 상대적인 인슐린 분비능이 증가하는 것이라고 하였다. Martin 등³⁰⁾의 보고에 따르면 당뇨병 환자에서 인슐린 저항성을 극복하기 위해 인슐린 분비의 절대값은 증가되어 있었다고 하였다. 채봉남 등²⁾은 정상 대조군에서는 인슐린 저항성이 증가할수록 인슐린 분비가 상대적으로 증가하는 양상을 보이고 당뇨병의 가족력이 있는 군에서는 절대적인 인슐린 분비는 증가되어 있으나 인슐린 저항성이 증가할 때 인슐린 분비의 상대적인 증가가 둔화되었다고 하여 당뇨병 직계 가족은 인슐린 저항성보다 포도당 자극에 의한 인슐린 분비능의 장애가 당뇨병 발생에 관여함을 알 수 있다고 하였다. Vaag 등³¹⁾에 보고에서는 인슐린 저항성의 존재와 더불어 인슐린 분비의 절대값도 감소해 있었다고 하여 인슐린의 분비가 인슐린 저항성을 극복하기 위해 보상

적으로 증가하는 지에 대해서는 서로 다른 견해를 보였다.

요약 및 결론

본 연구에서는 백서가 이유기부터 성장기까지 섭취한 식이내 탄수화물과 지방의 배분비와 단백질 급원이 인슐린 분비능과 인슐린 저항성에 어떠한 영향을 주는가를 조사하였다. 98 ± 5g의 Sprague Dawley 수컷 백서를 세군으로 나누어 고탄수화물(77 En%) - 저지방(5 En%, 옥수수기름) - 식물성 단백질(13 En% gluten + 5 En% casein) 식이인 한국식 식이(KD)와 저탄수화물(40 En%) - 고지방(40 En%, butter) - 동물성 단백질(18 En%, casein) 식이인 서구식 식이(WD) 그리고 정상식이(CD)를 각각 12주 동안 공급한 후 hyperglycemic clamp로 인슐린 분비능을 그리고 euglycemic hyperinsulinemic(EH) clamp로 인슐린 저항성을 측정하였다. 실험식이를 공급하는 동안 매주 측정된 체중은 6주 이후 KD군이 WD군에 비해 현저히 낮았다. 매주 측정된 공복 혈당은 세군 사이에 차이가 없었다. Hyperglycemic clamp로 측정된 인슐린 분비능은 WD군이 KD군에 비해 높았다. EH clamp로 측정된 포도당 제거 속도는 WD군이 다른 군에 비해 낮았다. Soleus와 quadriceps 근육의 glycogen 함량은 KD군에서 다른 군에 비해 높았다. Soleus 근육에서 GLUT4 함량은 KD군이 WD군과 CD군에 비해 높았다. 두 종류의 근육에서 모두 total glycogen synthase activity는 세 식이간에 차이가 없었지만 fraction velocity는 WD군이 KD군에 비해 낮았다. 결론적으로 고동물성 단백질과 고지방 식이인 서구식 식이의 섭취는 인슐린 저항성을 증가시켜 혈당을 정상화하는데 인슐린을 더 많이 필요하였고, 반면에 고식물성 단백질과 저지방 식이인 한국식 식이섭취는 인슐린 저항성이 낮아 인슐린 분비능이 낮았다. 그러므로 서구식 식이는 인슐린 저항성을 증가시켜 어떠한 이유에서든지 혈당이 증가하면 이것을 정상화하기 위해서 인슐린 분비가 증가하고 이것을 극복하지 못할 때 당뇨병에 걸릴 위험이 높아지는 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) Korean Medical Insurance Association: 1992 Annuals for Medical Insurance Statistics. Ministry of Health and Welfare, Seoul, 1993
- 2) Chae BN, Lee SK, Hong EK, Kim YJ, No HR, Jung YS, Lee KW, Kim HM. Role of insulin secretion and insulin resistance in the etiology of Korean type 2. *Kr Diabetes* 22(4): 491-503, 1998
- 3) Min HK. Clinical characteristics of Korean Diabetic patients. *Kr Diabetes* 16(2): 163-170, 1992
- 4) 1992 National Nutrition Survey Report in Korea. Ministry of Health and Welfare, Seoul, 1994
- 5) 1993 National Nutrition Survey Report in Korea. Ministry of Health and Welfare, Seoul, 1995
- 6) Ahern BO, Sauerberg P, Thomsen C. Increased insulin secretion and normalization of glucose tolerance by cholinergic agonism in high fat-fed mice. *Am J Phys* 276(1 Pt 1): E93-E101, 1999
- 7) Wilkes JJ, Bonen A, Bell RC. A modified high-fat diet induces insulin resistance in rat skeletal muscle but not adipocytes. *Am J Physiol* 275(4 Pt 1): E679-E686, 1998
- 8) Report of the American Institute of Nutrition. Ad Hoc committee on standard for nutritional studies. *J Nutr* 107(7): 1340-1348, 1977
- 9) Waynforth HB, Flecknell PA. Experimental and surgical technique in the rat. 2nd ed. pp.212, New York, Academic press, 1994
- 10) Mason TM, Goh T, Tchipashvili V, Sandhu H, Gupta N, Lewis GF, Giacca A. Prolonged elevation of plasma free fatty acids desensitizes the insulin secretory response to glucose in vivo in rats. *Diabetes* 48(3): 524-530, 1999
- 11) Rossetti L, Farrace S, Choi SB, Giacconi A, Sloan L, Frontoni S, Katz MS. Multiple metabolic effects of CGRP in conscious rats: role of glycogen synthase and phosphorylase. *Am J Physiol* 264(1 Pt 1): E1-E10, 1993
- 12) Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm DJ, Pascoe WS, Khouri S, Kraegen EW. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and w-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes* 40(2): 280-289, 1991
- 13) Morgan CR, Lazarow A. Immunoassay of insulin: Two antibody system. Plasma insulin levels in normal, sub-diabetic and diabetic rats. *Diabetes* 12(1): 115, 1963
- 14) Frontoni S, Choi SB, Banduch D, Rossetti L. In vivo insulin resistance induced by amylin primarily through inhibition of insulin-stimulated glycogen synthesis in skeletal muscle. *Diabetes* 40(5): 568-73, 1991
- 15) Hopp JF, Palmer WK. Effect of glucose and insulin on triacylglycerol metabolism in isolated normal and diabetic skeletal muscle. *Metabolism* 40(3): 223-232, 1991
- 16) Walker T, Tsakiridis T, McDowell HE, Downes CP, Hundal HS, Vranic M, Klip A. Multiple roles of phosphatidylinositol 3-kinase in regulation of glucose transport, amino acid transport, and glucose transporters in L6 skeletal muscle cells. *Endocrinology* 136(10): 4315-4322, 1995
- 17) Sebkova E, Klimes I, Moss R, Stofba P, Wiersma MM, Mitkova A. Muscle GLUT 4 protein levels and impaired triglyceride metabolism in streptozotocin diabetic rats. *Ann N Y Acad Sci* 683: 218-227, 1993
- 18) Thomas AP, Martin-Requero A, Williamson JR. Interactions between insulin and alpha 1-adrenergic agents in the regulation of glycogen metabolism in isolated hepatocytes. *J Biol Chem* 260(10): 5963-5973, 1985
- 19) Kennedy ET, Bowman SA, Powell. Dietary-fat intake in the US population. *J Am Coll Nutr* 18(3): 207-212, 1999
- 20) DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM: A balanced overview. *Diabetes Care* 15(4): 318-353, 1992
- 21) Fujimoto WY. The growing prevalence of non-insulin-dependent diabetes in migrant Asian populations and its implications for Asia. *Diabetes Res Clin Pract* 15(2): 167-83, 1992
- 22) Kraegen EW, Clark PW, Jenkins AB, Daley EA, Chisholm DJ, Storlien LH. Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats. *Diabetes* 40(11): 1397-1403, 1991
- 23) Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1(7): 785-789, 1963
- 24) Taylor SI, Mukherjee C, Jungas RL. Studies on the mechanism of ac-

- tivation of adipose tissue pyruvate dehydrogenase by insulin. *J Biol Chem* 248(1): 73-81, 1973
- 25) Hansen PA, Han DH, Marshall BA, Nolte LA, Chen MM, Mueckler M, Holloszy JO. A high fat diet impairs stimulation of glucose transport in muscle. Functional evaluation of potential mechanisms. *J Biol Chem* 273(40): 26157-26163, 1998
- 26) Franz MJ. Protein: metabolism and effect on blood glucose levels. *Diabetes Educ* 23(6): 643-646, 1997
- 27) Holness MJ, Sugden MC. Antecedent protein restriction exacerbates development of impaired insulin action after high-fat feeding. *Am J Physiol* 276(1 Pt 1): E85-93, 1999
- 28) Piatti PM, Monti F, Fermo I, Baruffaldi L, Nasser R, Santambrogio G, Librenti MC, Galli-Kienle M, Pontiroli AE, Pozza G. Hypocaloric high-protein diet improves glucose oxidation and spares lean body mass: comparison to hypocaloric high-carbohydrate diet. *Metabolism* 43(12): 1481-1487, 1994
- 29) Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergman RN, Schwartz MW, Neifing JL, Ward WK, Beard JC, Palmer JP. Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function. *Diabetes* 42(11): 1663-1672, 1993
- 30) Martin BC, Warram JH, Krolewski AS, Bergman RN, Soeldner JS, Kahn CR. Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: Results of a 25-year follow-up study. *Lancet* 340(8825): 925-929, 1992
- 31) Vaag A, Henriksen JE, Madsbad S, Holm N, Beck-Nielsen H. Insulin secretion, insulin action, and hepatic glucose production in identical twins discordant for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 95(2): 690-698, 1995