

흰쥐에서 연령이 골격근의 당 대사에 미치는 영향

영남대학교 의과대학 생리학교실
장응찬 · 윤운기 · 이석강

Effect of Age on Glucose Metabolism of Skeletal Muscle in Rats

Eung Chan Jang, Woon Ki Youn, Suck Kang Lee

*Department of Physiology
College of Medicine, Yeungnam University, Daegu, Korea*

- Abstract -

Background: It is doubtful that aging causes deteriorated glucose metabolism and insulin resistance of skeletal muscle. Some researchers had different results about it. So we have studied the mechanism responsible for the abnormal glucose tolerance associated with aging in rapidly growing and matured rats.

Materials and Methods: Animals were used S.D. rats. Growing rats were 7 weeks old (BW: 160-190 gm) and matured rats were 28 weeks old (BW: 420-525 gm).

Results: Fasting blood glucose and plasma insulin levels were significantly elevated in matured rat compared with growing rats. And during oral glucose tolerance test the glucose level was also significantly elevated in matured rats. These results confirmed an insulin resistant state of aging. Insulin levels at 30 minutes of oral glucose tolerance test was significantly elevated in growing rat. But at 120 minutes it was maintained at higher level in matured rats than in growing rats. It suggested the possibility of increased insulin secretion by initial stimulation of beta-cells in growing rats, and increased secretion and decreased catabolic rate of insulin in matured rats.

Glucose uptake rate of soleus muscle in matured rats was lower than that of growing rats, but the difference was not statistically significant. The dose(insulin)-

responsive(glucose uptake) curve of soleus muscle was only slightly deviated to the right side.

Conclusion: Glucose metabolism of rat skeletal muscle was worsened by aging. The data of glucose uptake experiments suggested the possibility of insulin resistance of skeletal muscle in matured rats, but the mechanism of insulin resistance of skeletal muscle need further studies.

Key Words: Glucose uptake, OGTT, Skeletal muscle

서 론

연령증가에 따른 내당능(glucose tolerance)의 점진적인 감소(intolerance)는 잘 알려진 사실(Davidson, 1979; DeFronzo, 1981)이며 사람에서 인슐린 비의존형 당뇨병(non-insulin-dependent diabetes mellitus, NIDDM)의 발생 역시 중년기 이후 고연령층에서 호발하는 것을 볼 때 연령이 NIDDM의 발생과 깊은 관계가 있는 것으로 사료된다(Nishimura 등, 1988). 일반적으로 내당능의 감소는 주로 골격근, 지방 조직 등 말초조직의 인슐린저항성(peripheral insulin resistance) 증가(DeFronzo, 1979; Fink 등, 1982; Rowe 등, 1982; Goodman 등, 1983)와 인슐린 분비의 감소 등에 의한다고 할 수 있다.

연령의 증가에 따른 내당능의 감소는 운동부족, 지방질의 과다축적을 수반한 체중증가, 인슐린 분비이상 등, 일반적인 원인을 추정할 수 있으나 그 정확한 기전에 관해서는 아직도 연구자마다 상이한 보고를 하고 있는 실정이다. Fink 등(1983)은 지방세포와 단핵구를 이용한 실험에서 연령증가에 따른 말초조직의 인슐린저항성의 발생기전은 수용체-후 과정의 결함(post-receptor defect)이 주 원인이라 하였으며 말초

조직의 인슐린 저항성이 하나의 aging process라고 주장한 바 있다. 그러나 Lonroth와 Smith(1986)는 수용체 및 수용체-후과정에서 다같이 결함이 있다고 보고한 바 있으며, 또 Rowe 등(1983)은 수용체-후과정에는 결함이 없으나 수용체과정만의 결함이 있다고 보고한 바 있다.

한편, Reaven 등(1983)은 1, 5개월과 20개월 연령의 흰쥐 2군에서 인슐린 분비양상을 조사한 바 20개월군에서 단위용적의 란겔한스섬당 분비량은 감소하였으나 총 분비량은 오히려 증가한다고 하였으며 이것은 연령증가에 따라 β -세포의 양적 증식에 의한 결과이며 이것 또한 고연령군의 인슐린 저항성을 나타내는 하나의 근거라고 하였다. 또 Reaven 등(1982)은 생체 내에서 인슐린 분해정도가 고연령대상에서 느리다고 한 바 있다.

본 연구는 성장이 가장 왕성한 흰쥐와 성숙한 쥐를 대상으로 하여 기초상태에서 혈당과 인슐린 농도를 측정하고 또 당부하검사를 통하여 연령에 따른 내당능의 변화를 관찰하였으며 아울러 인슐린 분비양상과 최대의 인슐린반응 조직인 골격근(James 등, 1985)의 당섭취에 대한 인슐린의 영향을 시험관 실험법(박진현 등, 1990)을 통해서 측정하여 연령에 따른 인슐린 저항성의 기전을 연구하였다.

재료 및 방법

본 연구에서는 Sprague-Dawley종 흰쥐 수컷을 사용하였으며 먼저 영남대학교 의과대학 동물사에서 사육중인 흰쥐의 성장양상을 체중측정을 통해서 평가하였다. 출생 후 정확하게 1개월된 같은 배에서 난 5마리의 새끼 쥐를 동일한 cage에서 사육하면서 첫 3개월간은 2-3일 간격으로 그 후는 20일 -1개월 간격으로 체중을 측정하여 성장양상을 분석하였으며 그 결과에 따라서 실험대상을 성장기군(growing group)과 성숙기군(matured group)으로 구분하여 연령에 따른 내당능의 변화를 관찰하였다. 이때 성장기군의 평균연령은 7주(체중 160-190 gm)였으며 성숙기군은 28주(체중 410-525 gm)였다.

각 연령군의 흰쥐를 실험 전일 오후 5시부터 당일 오전 10시 전후의 희생직전까지 물을 제외한 먹이의 섭취를 금지하여 약 15-16시간 절식시켰다. 절식흰쥐를 thiopental sodium(40 mg/100 gmBW)을 복강내로 주사하여 마취시킨 후 하지의 후방 정중선을 따라서 피부를 절개하여 soleus근을 적출하였다. 근 적출 즉시 골격근의 당섭취에 대한 인슐린의 영향을 시험관 실험으로 관찰하였다.

골격근의 당 섭취 실험은 흰쥐의 뒷다리 근육중 soleus근을 사용하였으며 tracer로는 근세포내에 섭취된 후 더 이상 대사가 되지 않아 당섭취 연구에 많이 이용되고 있는 ^3H -3-O-methylglucose를 사용하였다. 먼저 soleus근을 노출한 후 생체내의 긴장상태하에서 본 교실에서 고안한 two leg pin으로 근육을 고정하고 상하단을 가위로 잘라서 적출하였다. 적출근을 세로로 잘라서 무게가 20 mg내외가 되게 근 표본을 만들었다. 근 표본은 먼저 포도당이 포함되지 않은 Krebs-

Henseleit완충용액에 20분간 preincubation한 다음 3-O-methylglucose mMol/L와 ^3H -3-O-methylglucose 및 ^{14}C -mannitol이 포함된 Krebs-Henseleit완충용액(pH 7.4, 300 mOsm)에 넣고 20분간 37°C항온 수조에서 incubation하였다. 이때 media는 95% O_2 -5% CO_2 혼합가스로 계속 통기하였다. Incubation이 끝난 후 근 표본을 10 ml의 차가운 생리식염수로 깨끗이 씻어낸 후 여과지로 수분을 제거하고 무게를 정확히 평량한 후 counting vial에 넣는다. 근육을 녹이기 위하여 강 알칼리성의 Protosol (NEN)을 1 ml 넣고 실온에서 가끔 흔들어 주면서 24시간 방치하였다. 골격근에 섭취된 glucose의 방사능은 균질화된 용액에 10 ml의 liquid scintillation용 cocktail(Liquifluo, NEN)을 넣고 beta counter(Rackbeta, LKB)로 측정하였다. 근세포내에 섭취된 glucose농도는 Okita 등(1957)의 double isotope method로 계산하였으며 이를 media내의 3-O-methylglucose 농도와 방사능의 비를 환산계수로 하여 당농도로 계산하였다.

당내성검사는 하지로부터 soleus근을 적출한 마취 흰쥐를 이용하여 실시하였다. 먼저 24 G의 angiocatheter를 우측 경동맥에 설치하여 약 60 μl 의 혈액을 채취하고 이중 20 μl 는 glucoscot (Japan, DIC)를 이용한 혈당검사에 사용하고 나머지는 원심분리기에서 혈장을 분리하여 인슐린 정량을 하기전까지 액체질소통에 보관하였다.

당부하를 위하여 채혈 직후 체중 100 mg당 180 mg의 glucose를 25%용액으로 만들어서 경구투여하였으며 glucose투여 30분 및 120분에 상기와 같이 채혈하여 혈당을 정량하였으며 인슐린은 ^{125}I -insulin을 이용한 방사면역법으로 정량하였다.

Table 1. General characteristics of the study groups

	N	Age, wk (BW, gm)	Fasting blood glucose(mg/dl)	Fasting plasma insulin(uU/ml)
Growing rat	6	7 ± 0.5 (160 - 190)	92 ± 8.9	25.8 ± 4.02
Matured rat	6	28 ± 3.1 (410 - 525)	106 ± 13.6*	31.7 ± 4.76*

Values are mean ± SD; N indicates number of cases; *p<0.05, vs growing rat group.

성 적

영남대학교 의과대학 동물사에서 사육중인 Sprague-Dawley종 흰쥐의 성장양상을 관찰한 결과는 그림 1에서 보는 바와 같이 출생 후 첫 2개월간은 체중이 급격하게 증가하였다. 2개월 후에서 4개월까지는 그 증가의 정도가 현저히 둔화됨을 볼수 있었으며 4개월 후 8개월까지는 극히 미미한 정도의 체중증가만을 관찰할 수 있었다. 위의 결과를 참고로 하여 본 연구에서는 평균 연령 7주군을 성장기군으로 하였으며 28주군을 성숙기군으로 하였다(그림 1).

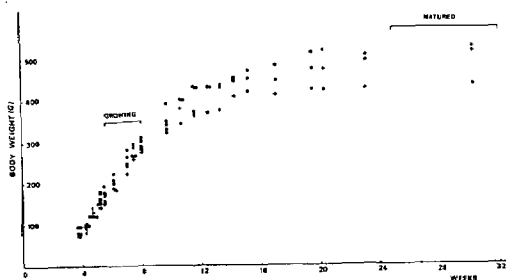


Fig. 1. Body weight change by age in normal Sprague-Dawley rats.

성장기군의 혈당량(mg/dl)은 92±8.9였으며

성숙기군은 106±13.6으로 성숙기군이 통계적으로 유의하게 높았다. 이때 혈장 인슐린 농도(μU/ml)도 성숙기군에서 31.7±4.76으로 성장기군의 25.8±4.02보다 유의하게 높았다(표 1, p(0.05).

당내성 검사결과는 성장기군에서 혈당농도(mg/dl)가 당부하 30분에 229±21.6이었으며 120분에는 121±10.4였다. 성숙기군에서는 30분에 213±25.3으로 성장기군과 비교하여 차이가 없었으나 120분에는 139±7.9로 성숙기군보다 유의하게 높았다(p<0.05). 각 시간에 채취한 혈액에서 측정된 혈장 인슐린농도(μU/ml)는 첫 30분에는 성장기군에서 높았으며 120분에는 성장기군이 26.3±4.72인데 비해서 성숙기군에서는 32.7±4.54로서 성숙기군에서 유의하게 높았다(그림 2).

인슐린에 대한 말초조직의 저항기전을 추구하기 위한 당섭취능을 조사한 결과는 다음과 같다. 기초상태에서는 성장기군에서 soleus근의 당섭취량(μMol/g wet tissue/20min)은 10.4±1.89였으며 성숙기군에서는 9.1±2.24로 양군사이에 통계적인 유의한 차이는 없었으나 성숙기군에서 낮은 경향을 보였다. 인슐린을 100, 500, 20,000 μU/ml 첨가한 모든 실험군에서도 통계적인 차이성을 나타내지 않았으나 낮은 경향을 보였다(그림 3).

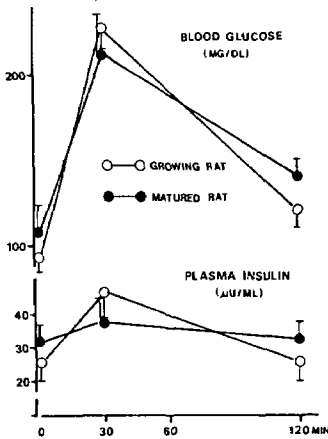


Fig. 2. Blood glucose and plasma insulin levels after glucose ingestion(180 mg/100 gm BW) in growing and matured rats.

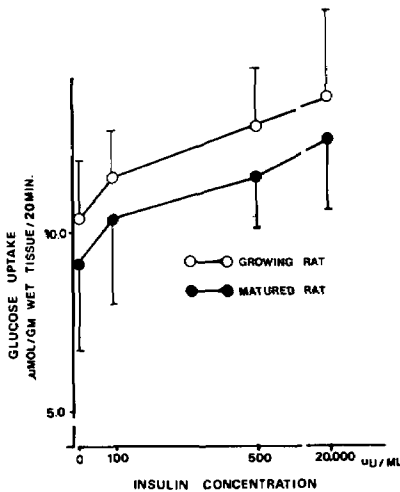


Fig. 3. Glucose uptake of skeletal muscle *in vitro* in growing and matured rats.

고 찰

인슐린의 작용에 대한 말초조직의 저항과 연령의 상호관계를 규명하고 말초저항기전의 일단을 추기한 본 실험결과에서 28주전후의 성숙기

군에서 혈당량은 성장기군에 비해서 유의하게 높았으며 혈장 인슐린 농도도 유의하게 높았다. 이 결과는 높은 혈장 인슐린 농도에도 불구하고 인슐린 반응 말초조직의 당 이용이 억제된 결과 혈당농도가 높아진 것으로 사료되어 연령이 증가됨에 따라 인슐린 작용에 대한 저항성이 발생됨이 간접적으로 증명된 것이라 하겠다. 본 연구에서 시행한 내당능검사에서도 성숙기군에서 내당능의 감소를 보였으며 이것 또한 연령과 인슐린 저항과의 상호관계를 증명한 것이라 할 수 있다.

같은 양의 당을 부하한 후 혈장 인슐린 농도 변화를 관찰한 결과 당부하 첫 30분에는 성장기군에서 성숙기군에 비해 현저히 높았으며 120분에는 성숙기군에서 높은 값을 유지하고 있었다. 이 결과는 췌장세포의 분비측면과 분비된 인슐린의 분해(degradation)등 2가지 관점에서 고찰 할 수 있을 것으로 사료된다. 성장기군에서 췌장의 인슐린 분비기능은 성숙기군 보다 왕성한 것으로 사료되며 또 당부하 120분에 성숙기군에서는 계속 높은 값을 유지하는 반면 성장기군에서는 거의 기초수준에 이른 것은 분비된 인슐린의 분해(소모)가 성숙기군에서 느리다는 것으로 해석할 수 있을 것이다. 이것은 Reaven 등(1982)의 주장과 거의 일치하는 것으로 사료되나 생체내에서 인슐린 분해 속도가 연령과는 무관하다는 McGuire 등(1979)의 주장과는 상이하다고 할 수 있다.

내당능의 감소기전을 추구하고 생체내 최대 인슐린 반응조직으로 알려진 골격근을 사용한 당섭취능 연구결과는 기초상태와 생리적 및 최대농도의 인슐린 첨가에 의해서 감소하는 경향만을 나타냄으로써 확실한 기전을 추구하지는 못하였다.

이상의 실험결과로서 흰쥐에서 7-8개월의 연

령에서 내당능의 감소를 관찰할 수 있었으며 인슐린 분비 및 체내에서의 분해양상도 연령에 따라서 차이가 있음을 알수 있었다.

요 약

연령에 따른 내당능의 감소 발생여부를 Sprague-Dawley종 흰쥐 수컷을 실험동물로 하여 연구한 결과는 다음과 같다.

연령에 따른 몸무게 변화는 1개월에서 2개월 사이에는 급격한 증가를 보였으며 2개월에서 4개월까지는 완만한 증가를 그 후 8개월까지는 미미하였다.

절식상태에서 혈당량(mg/dl)은 성장기군에서 92 ± 8.9 였으며 성숙기군에서는 106 ± 13.6 으로 성장기군에 비해 높았으며 인슐린 농도 또한 성숙기군에서 높았다.

체중 100 gm당 180 mg의 당을 부하한 내당능 검사에서도 성숙기군에서는 성장기군에 비해 당내성의 감소현상을 나타내었다. 당부하 검사시 동시에 측정된 혈장 인슐린 농도는 첫 30분에는 성장기군에서 높았으나, 120분에는 성숙기군에서 높은 값을 나타내었다.

Soleus근의 당 섭취능은 성숙기군에서 성장기군보다 낮았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 인슐린 첨가에 의한 당 섭취능의 변화양상은 성숙기군과 성장기군 사이에 특별한 차이를 발견할 수 없었다.

참 고 문 헌

박진현, 김종운, 김종연, 이석강: 당뇨병 흰쥐에서 운동부하가 시험관 실험에서 골격근의 당섭취에 미치는 영향. 영남대학교학술지 7: 29, 1990.

Davidson MB: The effect of aging of carbohydrate metabolism: a review of the English literature and a practical approach to the diagnosis of diabetes mellitus in elderly. *Metab Clin Exp* 8: 688, 1979.

DeFronzo RA: Glucose intolerance and aging. evidence for tissue insensitivity to insulin. *Diabetes* 28: 1095, 1979.

DeFronzo RA: Glucose intolerance and aging. *Diabetes Care* 4: 493, 1981.

Fink RI, Girffin J, Olefsky JM: Effect of age on carbohydrate metabolism in man(abstract). *Diabetes* 31: 64A, 1982.

Fink RI, Kotterman OG, Griffin J, Olefsky JM: Mechanism of insulin resistance in aging. *J Clin Invest* 71: 1523, 1983.

Goodman MN, Dluz SM, McElaney MA, Belur E, Ruderman NB: Glucose uptake and insulin sensitivity in rat muscle: change during 3-96 weeks of age. *Am J Physiol* 244(Endocrinol Metab. 7) E93, 1983.

James DE, Jenkins AB, Kraegen EW: Heterogeneity of insulin action in individual muscle in vivo euglycemic clamp studies in rats. *Am J Physiol* 248(Endocrinol. Metab. 11): E567, 1985.

McGuier EA, Tobin JD, BerMan M, Andres R: Kinetics of native insulin in diabetic obese, and aged man. *Diabetes* 28: 110, 1979.

Nishimura H, Kuzuya H, Okamoto M,

- Yoshimasa Y, Yamada K, Ida T, Kakehi T, et al.: Change of insulin action with aging in conscious rats determined by euglycemic clamp. *Am J Physiol* 254(Endocrinol Metab. 17) E92, 1988.
- Lonnroth P, Smith U: Aging enhances the insulin resistance in obesity through both receptor and postreceptor alterations. *J Clin Endocrinol Metab* 62: 433, 1986.
- Okita GT, Kabara JJ, Richardson F, LeRoy GV: Assaying compounds counting H and C. *Nucleonics* 15: 111, 1957.
- Reaven EP, Wright D, Mondon CE, Solomon R, HO H, Reaven GM: Effect of age and diet on insulin secretion and insulin action in the rat, *Diabetes* 32: 175, 1983.
- Reaven GM, Greenfield MS, Mondon CE, Rosenthal M, Wright D, Reaven EP: Does insulin removal rate from plasma decline with age? *Diabetes* 31: 670, 1982.
- Rowe JW, Minaker KL, Fliter JS: Aging and insulin action in man(abstract). *Diabetes* 31: 21A, 1982.
- Rowe JW, Minaker KL, Pallotta JA, Flier JS: Characterization of the insulin resistance of aging. *J Clin Invest* 71: 1581, 1983.
-