

Altered Gene Expression of Inflammatory Cytokines in Adipose Tissue of Streptozotocin-induced Diabetic C57BL/6 Mice

Yong-Ho Lee* and Jong Bong Kim

Department of Biomedical Science, Catholic University of Daegu, Gyeongsan 712-702, Korea

Received April 12, 2013 / Revised May 27, 2013 / Accepted June 20, 2013

The aim of this study was to investigate the effects of induced diabetes by streptozotocin (STZ) administration on gene expression of proinflammatory cytokines in adipose tissue of C57/BL6 mice fed either a normal diet (ND) or a high-fat diet (HFD). Four diabetic mice groups (16- or 26-week-old mice fed either ND or HFD) and four control groups of age and diet matched non-diabetic mice were used. By real-time PCR, gene expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) were examined in adipose tissue. The results demonstrated that gene expression of TNF- α was significantly or marginally increased in STZ induced diabetic mice groups compared with non-diabetic groups. On the other hand, MCP-1 gene expression tended to be decreased in diabetic mice compared with non-diabetic controls. Especially, MCP-1 expression level in 16w diabetic mice on HFD was about 26% of that in age and diet matched non-diabetic controls ($p < 0.001$). In addition, MCP-1 gene expression in adipose tissue was correlated with plasma insulin levels ($p = 0.0002$). These results suggest that gene expression of proinflammatory cytokines in adipose tissue is differentially regulated in mouse models of diabetes. The basic data in this study will be useful for elucidating basic mechanisms of inflammatory state and increased expression of proinflammatory cytokines in adipose tissue in obesity, insulin resistance, and diabetes.

Key words : Adipose tissue, diabetes mellitus, insulin resistance, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), tumor necrosis factor- α (TNF- α)

서 론

당뇨병(diabetes mellitus)은 세계적으로 약 5%의 인구가 앓고 있는 대사질환이며, 그 중 5-10%는 췌장 베타세포의 자가면역에 의한 파괴로 발병되는 제1형당뇨(type 1 diabetes mellitus) 환자이다[1]. 당뇨병자의 90-95%는 인슐린저항성(insulin resistance)과 인슐린 분비 부족의 특성을 가지는 제2형당뇨(type 2 diabetes mellitus) 환자이며 과체중 또는 비만을 동반하는 경향이 있다[1]. 성인당뇨라고 알려진 제2형당뇨는 인슐린저항성과 impaired glucose tolerance가 생기고 결국 이들의 이상증상을 보상할 만큼의 췌장 베타세포에서의 인슐린 분비가 되지 않을 때 제2형당뇨로 발전하게 된다[8, 20]. 인슐린저항성과 제2형당뇨 환자에서 높은 농도의 염증성 사이토카인(inflammatory cytokines)이 확인되고 있으며 이들이 합병증 발병률 증가에 기여하며, 인슐린 분비의 량도 감소시키는 악순환의 고리에 기여하는 것으로 확인되고 있다[5, 6, 9].

또한 비만은 인슐린저항, 고혈압, 지질대사 이상 등을 포함하는 대사증후군을 나타내며 제2형당뇨, 심혈관질환, 암 및 호흡기계 질환 등의 합병증 유발의 위험성을 높이는 것으로 알려져 왔으며, 인슐린저항성, 및 당뇨와 전신의 저준위 만성적 염증상태와의 연관성을 보여주고 있으며[21], 혈액에서 염증마커들의 농도 증가와 관련이 있는 것으로 알려져 있다[10, 23]. 그 예들로, 비만도와 공복기 혈장의 interleukin-6 (IL-6) 농도의 직접적인 연관성이 밝혀 졌으며[31] 또 다른 연구들에서도 IL-6 [10, 23]와 tumor necrosis factor (TNF)- α [4]가 비만과 연관되어 있음을 보여주었다. 같은 경향으로, 제2형당뇨, 고혈압, 동맥경화증 등의 비만 합병증들도 혈액의 염증성 사이토카인농도의 증가와 관련이 있음이 알려졌다[4].

한편, 지방조직은 단순한 에너지 저장고로서의 역할 뿐만 아니라 체중조절과 대사작용에 중요한 역할을 하는 많은 신호물질 분비하는 조직으로 알려져 왔다[25]. 기존의 지방조직에 대한 많은 연구들은 지방에 대한 인식을 변화시켰는데, 대사작용이 왕성한 조직으로써 일종의 내분비기관으로 작용하여 음식섭취, 에너지소모와 대사작용 및 면역기능을 조절하는 분자 등 다양한 신호분자를 합성, 분비하는 기관으로 확인 되었다[10, 13-15, 18, 23].

지방조직에서의 TNF- α , IL-6, IL-1, macrophage migration inhibitory factor (MIF), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)과 macrophage inflammatory protein (MIP)-1 등 여

*Corresponding author

Tel : +82-53-850-3773, Fax : +82-53-850-3727

E-mail : ylee325@cu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

러 염증성 사이토카인의 분비 증가는 인슐린 민감성을 감소시키고 당뇨를 유발하는 것으로 알려져 있고[10, 23], 이들 사이토카인은 adipokine으로도 불리며, 이들의 이상발현이 전신의 저준위 염증상태를 동반하며 결국 합병증 발병의 주요 요인으로 작용한다[4, 28].

Streptozotocin (STZ)는 glucose transporter 2 (GLUT2)를 통해 인슐린 분비세포인 췌장 베타세포 안으로 유입되어 DNA손상과 세포독성을 나타내며[27, 34] 쥐 또는 생쥐의 복강에 주사하여 제1형당뇨 동물모델 유도에 사용되어왔다[19, 30]. 또한 STZ를 고지방식이로 키운 쥐나 생쥐에 주사하여 제2형당뇨 동물모델 개발에도 사용되어왔다[11, 16, 22, 24, 29]. 고지방식이로 키운 동물은 인슐린저항성을 나타내며 이런 동물에 STZ를 주사하면 췌장 베타세포의 파괴로 인슐린 분비의 결핍이 생기므로 이 두 가지 증상의 조합이 결국 제2형당뇨의 특성을 나타낸다고 알려졌다[11].

식이 또는 유전자 결손을 통한 비만 또는 당뇨의 모델동물에서 지방조직의 염증성 사이토카인에 대한 연구들은 많이 진행되어 왔으나, STZ주입에 의한 제1형당뇨 또는 제2형당뇨 동물모델에서의 지방조직 염증성 사이토카인 발현의 특성에 대해서는 미진한 상태이다.

따라서 본 연구에서는 일반식이로 키운 생쥐그룹과 고지방식이로 키운 비만과 인슐린과다증 또는 인슐린저항성을 가진 고지방식이 생쥐그룹에 STZ를 주사하여 제1형당뇨와 제2형당뇨의 생쥐 모델을 유도하였으며, 당뇨 생쥐의 지방조직에서의 염증성 사이토카인 발현의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험용 생쥐(C57BL/6, 4주령)를 구입하여(Hyochang Science, Daegu, Korea) 일반식이(normal diet, ND; fat 4 kcal%, Rodent NIH-31 Open Formula Auto, Zeigler Bros, inc, Gardners, PA, USA)를 먹이며 2주 동안 적응기간으로 사육하였다. 6주령 때부터 일반식이그룹(ND)과 고지방식이(high-fat diet, HFD; fat 45 kcal%, Feedlab Korea Co, Ltd, Korea)로 비만화를 유도하는 고지방식이그룹으로 나누어 사육하였다. 물과 식이를 자유로이 먹이면서 온도는 23±3°C, 습도는 55~65%이며 12 시간 light-dark cycle로 조정된 동물실험실에서 사육하였다.

Streptozotocin 주사에 의한 당뇨 유발

당뇨 유발을 위해 11주령과 21주령의 일반식이그룹 생쥐와 고지방식이그룹 생쥐를 5~6 시간 동안 금식시킨 후 STZ를 복강에 주입하였다. Low-dose STZ protocol에 따라서 0.1 M sodium citrate buffer (pH 4.5)에 0.75%의 농도로 녹인 STZ를 50 mg/kg mouse body weight의 용량으로 연속 5일간 생쥐의

복강에 주사하였다[7]. STZ 주사 후에도 주사 전과 같은 식이를 자유급식하였다. STZ 주사 4주 후에 혈당량을 조사하여 과혈당증 유도를 확인한 후, STZ주사 5주 후에 생쥐의 주령이 각각 16주령과 26주령이 되었을 때 안락사 시키고 혈액과 실험 조직을 적출하였다.

혈장 포도당 농도와 인슐린 농도

희생시킨 실험 생쥐로부터 추출한 혈액을 2,400×g에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 다시 12,500×g에서 15분간 2차 원심분리하여 상층액을 혈장시료로 사용하였다. 분리한 혈장에서의 포도당 농도는 glucometer를 사용하여 측정하였으며, 인슐린 농도는 ELISA kit (ALPCO Diagnostics, Salem, NH, USA)를 사용하여 측정하였다.

cDNA 합성

STZ를 주사하여 당뇨를 유발시킨 ND와 HFD의 16주령과 26주령의 네 종류 생쥐의 실험군(16w-ND, 16w-HFD, 26w-ND, 26w-HFD)과 당뇨를 유발하지 않은 네 종류의 대조군 생쥐들을 sodium pentobarbital로 마취시키고 심장채혈 후 희생시키고 복부피하지방조직(subcutaneous abdominal adipose tissue)등 실험 조직을 적출하였다. 적출한 각 생쥐의 지방조직 약 300 mg을 RNeasy Lipid Tissue Mini kit (Qiagen, Valencia, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 추출하였다. RNA추출 과정 중에 DNase I (RNase-free DNase set, Qiagen)를 처리하여 genomic DNA의 오염이 없는 순수 RNA만을 추출하였다. 각 total RNA시료 500 ng을 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit와 96-well GeneAmp[®] PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)을 사용하여 cDNA를 합성하였다.

Real-time PCR

TNF- α , MCP-1과 normalizing gene의 RNA transcript 발현량을 측정하기 위해 quantitative real-time PCR을 기존의 표준곡선 방식대로 수행하였다[12]. 이를 위해 Mouse TaqMan Gene Expression Assays (assay ID: TNF- α Mm00443258_m1, MCP-1 Mm00441242_m1, Applied Biosystems)와 Real-Time PCR System 7500 (Applied Biosystems)을 사용하여 real-time PCR을 수행하였다. Normalizing gene으로 Mouse GAPDH Endogenous Control (Applied Biosystems, part # 4352932E)을 구입하여 사용하였다. 각각의 well에 10 ng의 total RNA에 해당하는 cDNA를 포함하는 반응용액 20 μ l에서 측정하였다. Real-time PCR 조건으로 50°C에서 2분, 95°C에서 10분 반응 후 95°C에서 15초와 60°C에서 1분을 40회 반복하는 cycle로 수행하였다. 각각의 사이토카인 mRNA 발현량은 GAPDH mRNA 발현량으로 나눈 값을 임의적인 상대값(arbitrary values)으로 표현하였다.

통계 분석

실험생쥐의 몸무게와 혈장 포도당 및 인슐린 농도와 사이토카인 유전자 발현량에 대한 실험 데이터는 평균과 표준편차 (standard deviation, SD) 또는 평균과 표준오차 (standard error of means, SEM)로 결과를 나타내었고, student t-test로 유의성을 검정하였으며, 선형회귀분석 (linear regression analysis)을 통해 사이토카인 유전자 발현량과 혈장 인슐린량의 상관관계를 평가하였다. $p < 0.05$ 인 것을 유의한 결과라 판단하였다.

결과 및 고찰

최근 서구화된 고지방 식사에 따른 영향으로 비만인구의 급증과, 비만화에 따른 제2형 당뇨병의 발병빈도가 함께 증가하고 있다. 비만과 함께 당뇨병 환자의 특성으로 전신의 저준위 염증상태가 특성으로 알려져 왔으며 [10, 23], 지방조직에서의 염증성 사이토카인 (inflammatory cytokines)의 이상발현이 주요 연구대상이 되어왔다 [4, 13, 15, 28]. 이에 따라, 본 연구에서는 일반식이로 키운 생쥐와 고지방식이로 비만화를 유도한 비만생쥐로부터 당뇨 모델생쥐를 유도하여 주요 염증성 사이토카인으로 알려진 TNF- α 와 MCP-1의 유전자 발현량을 지방조직에서 조사 비교하였다.

당뇨 유발

실험 생쥐 (C57BL/6) 6주령부터 모두 8그룹 (일반식이 4 그룹과 고지방식이 4 그룹)으로 나누어 사육하였고, 일반식이고 지방식이 그룹의 생쥐 11주령과 21주령부터 streptozotocin (STZ)으로 당뇨를 유발 시키면서 각각 16주령 (16w-ND-STZ (+), 16w-HFD-STZ (+))과 26주령 (26w-ND-STZ (+), 26w-HFD-STZ (+))까지 5주간 더 사육하였다. 각각의 식이와 주령 조건에 대한 대조군 생쥐 그룹에는 STZ에 의한 당뇨 유발을 하지 않고 실험군과 같은 식이로 같은 기간만큼 사육하였다 (Table 1).

일반식이 16주령 생쥐 그룹 (16w-ND)을 제외한 16주령 고지방식이 (16w-HFD), 26주령 일반식이고 고지방식이 (26w-ND, 26w-HFD) 생쥐 그룹에서는 당뇨 유발에 따른 유의한 체중 감소 ($p < 0.001$)가 관찰되었고 그 결과는 Table 1과 같다.

당뇨 유발에 따른 혈장 포도당 농도와 인슐린 농도를 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다. 모든 조건에서 대조군에 비해 당뇨 유발 실험군의 인슐린 농도는 큰 감소 ($p < 0.05$)를 보였다 (Fig. 1A). 16주령과 26주령의 일반식이 대조군 (16w-ND-STZ (-), 26w-ND-STZ (-))보다 고지방식이 대조군 (16w-HFD-STZ (-), 16w-HFD-STZ (-))이 높은 인슐린 농도 ($p < 0.05$)를 나타낸 것은 각각 10주와 20주간에 걸친 장기간의 고지방식이 섭취에 따른 비만화와 인슐린 저항성의 결과로써 혈당 유지를 위한 보상 증가이며 증가된 인슐린에 의해 혈장의 포도당 농도는 일반식 이의 대조군과 유사한 수준으로 유지된 것으로 사료된다 (Fig. 1B). 포도당의 경우 26주령 고지방식이군을 제외하고 16주령 일반식이 및 고지방식이군과 26주령 일반식이군에서 STZ처리 실험군에서 유의하게 높은 혈장 농도를 나타내었다 ($p < 0.05$, Fig. 1B). 그러나 26주령 고지방식이 당뇨유발군과 대조군에서의 혈장 포도당 농도 비교에서, 통계적 유의성은 나타나지 않았지만 당뇨유발군에서 약 48% 높은 혈장포도당 농도를 나타내었고 혈액포도당의 경우 유의한 증가 (181.2 ± 19.6 vs 300.6 ± 55.1 , $p < 0.0001$)가 확인되었다. 따라서 이차 베타세포를 파괴하는 STZ의 처리로 모든 실험군 그룹에서 당뇨가 유발되었음을 확인하였다.

또한, Fig. 1B와 같이 16주령과 26주령의 고지방식이 대조군 (16w-HFD-STZ (-), 26w-HFD-STZ (-))에서의 증가된 인슐린 량을 감안하면 장기간의 고지방식이 섭취에 의해 인슐린 저항성이 발생되었으며, STZ처리에 의한 당뇨유발은 제2형당뇨 모델이 되고 있음을 알 수 있다 [11, 16, 22, 29]. 이들과는 달리, 일반식이를 섭취한 생쥐들 (16w-ND, 26w-ND)은 인슐린 저항성이 나타나지 않았고 STZ의 처리에 의해 제1형당뇨 모델이 된다 [19, 27, 30, 34].

Table 1. Age, diet type, and body weight at the time of sacrifice of streptozotocin (STZ) induced diabetic mice and non-diabetic control mice fed on either a normal diet (ND) or high-fat diet (HFD)

| Age (weeks) - diet type | n | Body weight at sacrifice (g) | Streptozotocin administration | Group ID |
|-------------------------|----|------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| 16w-ND | 9 | 29.4 \pm 2.1 | - | 16w-ND-STZ (-) |
| | 9 | 27.2 \pm 1.5 | + | 16w-ND-STZ (+) |
| 16w-HFD | 8 | 42.9 \pm 2.9 | - | 16w-HFD-STZ (-) |
| | 13 | 29.9 \pm 2.0* | + | 16w-HFD-STZ (+) |
| 26w-ND | 5 | 32.9 \pm 2.1 | - | 26w-ND-STZ (-) |
| | 10 | 26.6 \pm 1.4* | + | 26w-ND-STZ (+) |
| 26w-HFD | 6 | 47.5 \pm 1.9 | - | 26w-HFD-STZ (-) |
| | 13 | 34.5 \pm 3.8* | + | 26w-HFD-STZ (+) |

Data are means \pm SD.

* $p < 0.001$

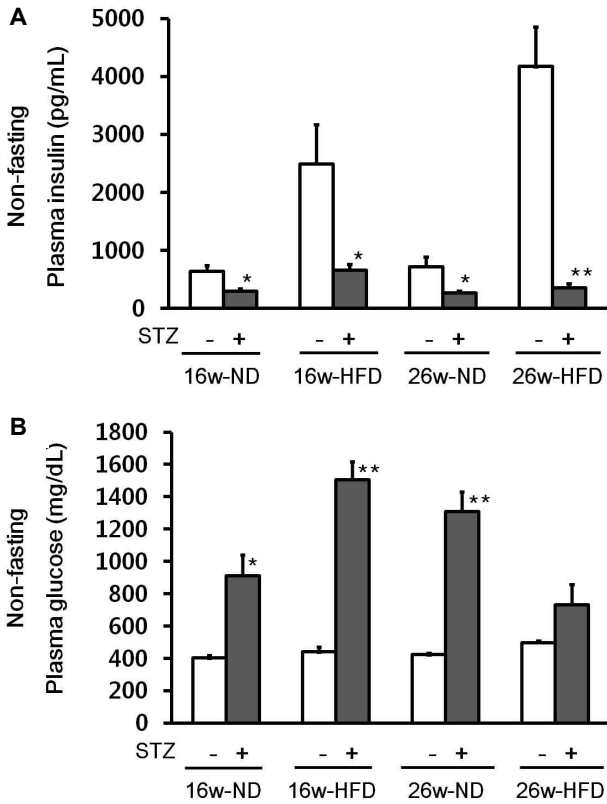


Fig. 1. Plasma levels of insulin and glucose. Non-fasting plasma concentrations of insulin (A) and glucose (B) were measured in plasma samples obtained from sacrificed streptozotocin (STZ) induced diabetic C57BL/6 male mice fed on either a normal diet (ND) or high-fat diet (HFD), and age and diet matched non-diabetic control mice. Diabetic and non-diabetic control mice were sacrificed at 16 or 26 weeks of age to collect samples. Data are means \pm SEM. Asterisks indicate the probability level of difference between diabetic and non-diabetic control mice groups (* p <0.05, ** p <0.001).

당뇨 유발에 따른 지방조직 TNF- α 의 발현 변화

Real-time PCR을 이용하여 각 당뇨유발 실험군과 대조군 생쥐의 복부피하 지방조직에서의 염증성 사이토카인의 mRNA 발현량을 조사한 결과, TNF- α mRNA의 발현량은 당뇨 유발에 의해 증가하는 양상을 보였다(Fig. 2A). 특히, 16주령의 일반식이 생쥐의 경우 STZ를 주사하지 않은 대조군 (54.0 \pm 7.1; mean \pm SEM, arbitrary number)에 비해 당뇨가 유발된 실험군(85.0 \pm 11.0)에서 유의한 증가가 관찰되었다(p <0.05). 이들 결과에서 STZ 처리에 의한 당뇨유발 생쥐들이 대조군보다 전반적으로 높은 TNF- α 유전자 발현의 경향을 보였으나, 비교 개체수의 부족으로 인해 통계적으로 유의한 변화는 16주령 일반식이의 대조군과 실험군 사이에서만 관찰되었다. 추가 실험에서 개체 수를 늘린다면 다른 비교군 사이에서도 STZ처리에 의한 당뇨유발에 따라 TNF- α 유전자 발현이 통계적으로

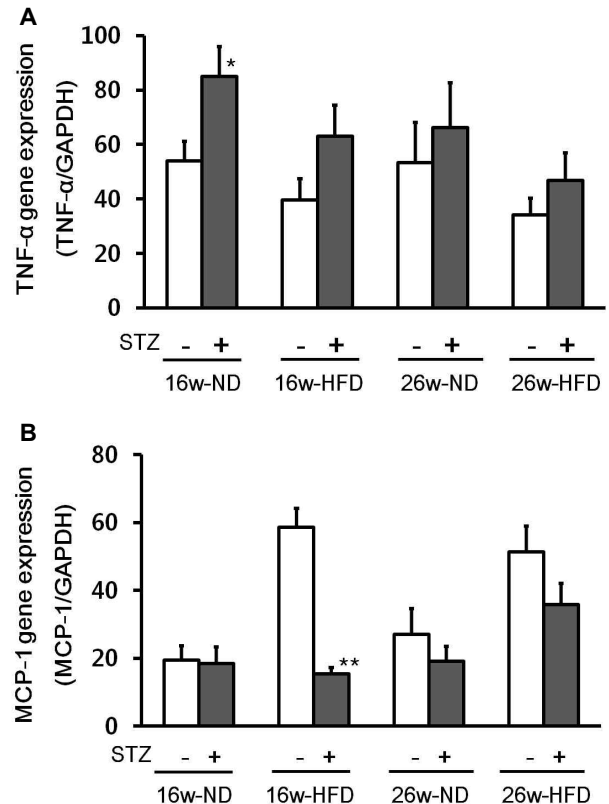


Fig. 2. Gene expression levels of TNF- α (A) and MCP-1 (B). Gene expression levels were measured in subcutaneous adipose tissue of streptozotocin (STZ) induced diabetic C57BL/6 male mice fed on either a normal diet (ND) or high-fat diet (HFD), and age and diet matched non-diabetic control mice. Data are means \pm SEM. Asterisks indicate the probability level of difference between diabetic and control mice groups (* p <0.05, ** p <0.001).

유의하게 증가할 것이라 예상된다.

당뇨환자의 혈액에서 TNF- α 등의 염증성 사이토카인의 농도가 증가되는 결과[5, 9]가 보고되었으며, 인슐린저항성과 제2형당뇨에 의한 지방조직에서의 염증성 사이토카인 발현 증가의 결과[3, 4]와 일치하고 있다. 본 실험을 통해 TNF- α 는 STZ처리에 의한 제1형당뇨와 제2형당뇨의 생쥐모델 모두에서 증가되는 경향이 관찰되었다.

당뇨 유발에 따른 지방조직 MCP-1의 발현 변화

각 생쥐 그룹에서의 MCP-1 mRNA 발현량 조사 결과는 Fig. 2B와 같다. MCP-1 mRNA 발현량 조사에서 당뇨유발에 따른 변화 양상뿐 만 아니라 식이에 따른 발현량 변화도 관찰되었다. 특히, 16주령 비당뇨 대조군에서의 비교 결과 일반식이 대조군보다 고지방식이 대조군에서의 MCP-1 mRNA 발현이 유의하게 증가하였으며(19.4 \pm 4.3 vs. 58.7 \pm 5.5, p <0.001), 26

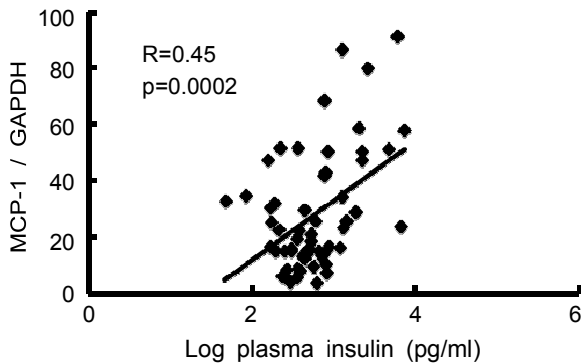


Fig. 3. Relative MCP-1 gene expression normalized to GAPDH expression was correlated to fasting plasma insulin levels ($r=0.45$).

주령 당뇨유발 실험군에서의 비교 결과는 일반식이 당뇨 실험군보다 고지방식이 당뇨 실험군에서 통계적으로 유의한 mRNA 발현 증가를 보여준다(19.2 ± 4.4 vs. 35.8 ± 6.3 , $p < 0.05$, Fig. 2B). 이 결과는 고지방식이 섭취에 의해 지방조직에서 MCP-1 유전자 발현이 증가한다는 기존의 연구결과들과 일치한다[17].

또한 STZ처리에 따른 당뇨유발에 의해 지방조직의 MCP-1 mRNA 발현이 변하는 경향을 나타내었다. 특히, 16주령 고지방식이의 당뇨 실험군과 비당뇨 대조군 사이에서의 발현량 비교 결과는 당뇨 실험군에서의 발현이 비당뇨 대조군에서의 발현량의 26%에 해당할 정도로 크게 감소된 발현을 나타내었다(15.4 ± 1.8 vs. 58.7 ± 5.5 , $p < 0.001$, Fig. 2B). 본 연구에서 사용된 당뇨생쥐는 인슐린 분비의 절대량 감소에 따라 혈당이 증가하는 경우이다. 따라서, 본 연구에서 관찰된 당뇨생쥐의 지방조직 MCP-1 mRNA 감소의 경향은 낮아진 혈중 인슐린 농도에 따라 발현이 감소된 것일 수 있다는 가능성을 제시한다. 즉, 인슐린 농도에 의해 지방조직에서의 염증성 사이토카인의 유전자 발현이 영향을 받을 수 있다는 것이다. 이를 확인하기 위하여 혈장인슐린과 MCP-1 유전자 발현의 상관관계분석을 수행하였으며(Fig. 3), 그 결과 지방조직에서의 MCP-1의 발현은 인슐린 농도와 유의한 상관관계($p=0.0002$)가 있음을 확인하였다. 즉, 지방조직에서의 MCP-1 유전자 발현은 인슐린 의존적임을 암시한다. MCP-1은 인슐린 반응성 유전자이며, 인슐린에 의해 3T3-L1 adipocyte와 인슐린저항성 비만 생쥐의 지방조직에서 MCP-1이 증가하는 것으로 보고된 결과[26]와 일치하며, 이 결과를 본 연구에서 STZ에 의해 유도된 당뇨생쥐모델에서 재확인하였다. 따라서, 비만과 인슐린저항성에 의해 증가된 지방조직 MCP-1 발현의 관찰 결과들[2, 32, 33]은 비만이나 인슐린저항성에 따른 인슐린분비의 보상적 증가가 일정부분 원인으로 작용한 것으로 사료된다.

최근에 비만, 인슐린저항성, 대사이상증후군, 및 당뇨에서의 염증성 사이토카인 발현과 그의 합병증 유발에 대한 복잡한 관계를 밝히는 연구들이 진행되어 왔다. 현재까지의 연구

결과들은 비만, 인슐린저항성 및 제2당뇨는 비정상적인 염증성 사이토카인들의 발현에 의해 저준위의 만성적인 염증상태를 유발하며, 이들 염증성 사이토카인이 고혈압과 동맥경화증 등의 많은 합병증 유발과 깊이 연관되어 있음을 보여주고 있다. 그러나 이런 염증상태의 유발의 원인으로 많은 원인들이 제시되어 왔으며, 지방세포의 사이토카인 뿐만 아니라 지방조직에 침투한 대식세포도 크게 기여하는 것으로 보이나 근본적인 정확한 원인을 이해하기에는 많은 추가 연구가 필요하다. 이런 원인의 분석이 비만, 당뇨에 의한 합병증 발병의 예방법 개발에 필수적이라 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2011년도 대구가톨릭대학교 교내연구비 지원에 의한 것임.

References

1. American Diabetes Association. 2007. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **30**, S42-S47.
2. Bruun, J. M., Lihn, A. S., Pedersen, S. B. and Richelsen, B. 2005. Monocyte chemoattractant protein-1 release is higher in visceral than subcutaneous human adipose tissue (AT): implication of macrophages resident in the AT. *J Clin Endocrinol Metab* **90**, 2282-2289.
3. Hotamisligil, G. S., Shargill, N. S. and Spiegelman, B. M. 1993. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* **259**, 87-91.
4. Hotamisligil, G. S. and Spiegelman, B. M. 1994. Tumor necrosis factor α : a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* **43**, 1271-1278.
5. Jain, S. K., Kannan, K., Lim, G., Matthews-Greer, J., McVie, R. and Bocchini, J. A., Jr. 2003. Elevated blood interleukin-6 levels in hyperketonemic type 1 diabetic patients and secretion by acetoacetate-treated cultured U937 monocytes. *Diabetes Care* **26**, 2139-2143.
6. Jain, S. K., Kannan, K., Lim, G., McVie, R. and Bocchini, J. A., Jr. 2002. Hyperketonemia increases tumor necrosis factor- α secretion in cultured U937 monocytes and Type 1 diabetic patients and is apparently mediated by oxidative stress and cAMP deficiency. *Diabetes* **51**, 2287-2293.
7. Jiang, H., Zhu, H., Chen, X., Peng, Y., Wang, J., Liu, F., Shi, S., Fu, B., Lu, Y., Hong, Q., Feng, Z., Hou, K., Sun, X., Cai, G., Zhang, X. and Xie, Y. 2007. TIMP-1 transgenic mice recover from diabetes induced by multiple low-dose streptozotocin. *Diabetes* **56**, 49-56.
8. Kahn, S. E., Hull, R. L. and Utzschneider, K. M. 2006. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* **444**, 840-846.
9. Kern, P. A., Ranganathan, S., Li, C., Wood, L. and Ranganathan, G. 2001. Adipose tissue tumor necrosis factor

- and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **280**, E745-751.
10. Kershaw, E. E. and Flier, J. S. 2004. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* **89**, 2548-2556.
 11. Kusakabe, T., Tanioka, H., Ebihara, K., Hirata, M., Miyamoto, L., Miyanaga, F., Hige, H., Aotani, D., Fujisawa, T., Masuzaki, H., Hosoda, K. and Nakao, K. 2009. Beneficial effects of leptin on glycaemic and lipid control in a mouse model of type 2 diabetes with increased adiposity induced by streptozotocin and a high-fat diet. *Diabetologia* **52**, 675-683.
 12. Lee, Y. H., Martin, J. M., Maple, R. L., Tharp, W. G. and Pratley, R. E. 2009. Plasma amyloid-beta peptide levels correlate with adipocyte amyloid precursor protein gene expression in obese individuals. *Neuroendocrinology* **90**, 383-390.
 13. Lee, Y. H., Nair, S., Rousseau, E., Allison, D. B., Page, G. P., Tataranni, P. A., Bogardus, C. and Permana, P. A. 2005. Microarray profiling of isolated abdominal subcutaneous adipocytes from obese vs non-obese Pima Indians: increased expression of inflammation-related genes. *Diabetologia* **48**, 1776-1783.
 14. Lee, Y. H. and Pratley, R. E. 2007. Abdominal obesity and cardiovascular disease risk: the emerging role of the adipocyte. *J Cardiopulm Rehabil* **27**, 2-10.
 15. Lee, Y. H. and Pratley, R. E. 2005. The evolving role of inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *Curr Diab Rep* **5**, 70-75.
 16. Li, W., Zhang, M., Gu, J., Meng, Z. J., Zhao, L. C., Zheng, Y. N., Chen, L. and Yang, G. L. 2012. Hypoglycemic effect of protopanaxadiol-type ginsenosides and compound K on Type 2 diabetes mice induced by high-fat diet combining with streptozotocin via suppression of hepatic gluconeogenesis. *Fitoterapia* **83**, 192-198.
 17. Lumeng, C. N., Deyoung, S. M., Bodzin, J. L. and Saltiel, A. R. 2007. Increased inflammatory properties of adipose tissue macrophages recruited during diet-induced obesity. *Diabetes* **56**, 16-23.
 18. Lyon, C. J., Law, R. E. and Hsueh, W. A. 2003. Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis. *Endocrinology* **144**, 2195-2200.
 19. Palanivel, R., Vu, V., Park, M., Fang, X. and Sweeney, G. 2008. Differential impact of adipokines derived from primary adipocytes of wild-type versus streptozotocin-induced diabetic rats on glucose and fatty acid metabolism in cardiomyocytes. *J Endocrinol* **199**, 389-397.
 20. Parikh, H., Carlsson, E., Chutkow, W. A., Johansson, L. E., Storgaard, H., Poulsen, P., Saxena, R., Ladd, C., Schulze, P. C., Mazzini, M. J., Jensen, C. B., Krook, A., Bjornholm, M., Tornqvist, H., Zierath, J. R., Ridderstrale, M., Altshuler, D., Lee, R. T., Vaag, A., Groop, L. C. and Mootha, V. K. 2007. TXNIP regulates peripheral glucose metabolism in humans. *PLoS Med* **4**, e158.
 21. Pi-Sunyer, F. X. 2002. The obesity epidemic: pathophysiology and consequences of obesity. *Obes Res* **10**, 97S-104S.
 22. Poucher, S. M., Cheetham, S., Francis, J., Zinker, B., Kirby, M. and Vickers, S. P. 2012. Effects of saxagliptin and sitagliptin on glycaemic control and pancreatic beta-cell mass in a streptozotocin-induced mouse model of type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* **14**, 918-926.
 23. Rajala, M. W. and Scherer, P. E. 2003. Minireview: The adipocyte--at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* **144**, 3765-3773.
 24. Reed, M. J., Meszaros, K., Entes, L. J., Claypool, M. D., Pinkett, J. G., Gadbois, T. M. and Reaven, G. M. 2000. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism* **49**, 1390-1394.
 25. Ronti, T., Lupattelli, G. and Mannarino, E. 2006. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol (Oxf)* **64**, 355-365.
 26. Sartipy, P. and Loskutoff, D. J. 2003. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 7265-7270.
 27. Schnedl, W. J., Ferber, S., Johnson, J. H. and Newgard, C. B. 1994. STZ transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes* **43**, 1326-1333.
 28. Shoelson, S. E., Lee, J. and Goldfine, A. B. 2006. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* **116**, 1793-1801.
 29. Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C. L. and Ramarao, P. 2005. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res* **52**, 313-320.
 30. Tozzo, E., Gnudi, L. and Kahn, B. B. 1997. Amelioration of insulin resistance in streptozotocin diabetic mice by transgenic overexpression of GLUT4 driven by an adipose-specific promoter. *Endocrinology* **138**, 1604-1611.
 31. Vozarova, B., Weyer, C., Hanson, K., Tataranni, P. A., Bogardus, C. and Pratley, R. E. 2001. Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion. *Obes Res* **9**, 414-417.
 32. Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L. and Ferrante, A. W., Jr. 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* **112**, 1796-1808.
 33. Xu, H., Barnes, G. T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C. J., Sole, J., Nichols, A., Ross, J. S., Tartaglia, L. A. and Chen, H. 2003. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest* **112**, 1821-1830.
 34. Yamamoto, H., Uchigata, Y. and Okamoto, H. 1981. Streptozotocin and alloxan induce DNA strand breaks and poly (ADP-ribose) synthetase in pancreatic islets. *Nature* **294**, 284-286.

초록 : Streptozotocin으로 당뇨가 유도된 C57BL/6 생쥐 지방조직에서의 염증성 사이토카인 유전자의 이상발현

이용호* · 김종봉

(대구가톨릭대학교 자연과학대학 의생명과학과)

본 연구를 통하여 streptozotocin 주사에 의한 당뇨 유발이 일반식이와 고지방식이로 키운 C57BL/6 수컷생쥐의 지방조직에서의 염증성 사이토카인 유전자 발현에 미치는 영향을 조사하였다. 네 그룹의 당뇨생쥐(일반식이 또는 고지방식이로 키운 16주령 또는 26주령 생쥐)와 네 그룹의 비당뇨 대조군을 포함한 모두 73마리의 생쥐가 이 실험에 사용되었다. Real-time PCR을 이용하여 지방조직에서의 tumor necrosis factor- α (TNF- α)와 monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)의 유전자 발현량을 측정된 결과, TNF- α mRNA는 당뇨 유발에 의해 증가하는 양상을 보였다. 특히, 16주령의 일반식이 생쥐의 경우 비당뇨 대조군에 비해 당뇨가 유발된 실험군에서 유의한 증가가 관찰되었다. MCP-1 mRNA 발현은 STZ처리에 따른 당뇨유발에 의해 감소하는 경향을 나타내었다. 특히, 16주령 고지방식이의 당뇨 실험군에서의 발현이 비당뇨 대조군에서의 발현량의 26%에 해당할 정도로 큰 감소를 나타내었다. 또한, MCP-1의 발현은 인슐린 농도와 유의한 상관관계가 있음이 확인되었다. 이들 실험결과는 당뇨 모델 생쥐에서 지방조직의 염증성 사이토카인이 이상발현되고 있음을 나타내며, 비만, 인슐린저항성, 및 당뇨에서의 저준위 염증상태와 지방조직에서의 염증성 사이토카인 발현 조절의 기작을 밝히는데 유용한 정보를 제공할 것으로 기대된다.