

비만 및 제2형 당뇨병 쥐 모델에서 과당과 포도당의 섭취가 지방간과 NLRP3 염증조절결합체에 미치는 영향

이희재 · 양수진[†]

전남대학교 식품영양학과/생활과학연구소

Effects of Dietary Fructose and Glucose on Hepatic Steatosis and NLRP3 Inflammasome in a Rodent Model of Obesity and Type 2 Diabetes

Hee Jae Lee and Soo Jin Yang[†]

Dept. of Food and Nutrition and Human Ecology Research Institute,
Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

ABSTRACT This study is carried out to assess the relative effects of different doses of dietary glucose or fructose on non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and hepatic metaflammation in a rodent model of type 2 diabetes. KK/HIJ male mice were fed experimental diets as follows: 1) control (CON), 2) moderate glucose (MG, 30% of total calories as glucose), 3) high glucose (HG, 60% of total calories as glucose), 4) moderate fructose (MF, 30% of total calories as fructose), and 5) high fructose (HF, 60% of total calories as fructose) for three weeks. Food intake was not affected by treatments. Compared with HF, HG not only increased serum fasting glucose and area under the curve during oral glucose tolerance test, but also decreased the levels of serum insulin and adiponectin. It indicated that glucose control was complicated via high glucose intake. High fructose treatment led to increased triglyceride in the serum and liver. In comparison to HG, high fructose diet activated NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome consisting of apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC), NLRP3 and caspase 1, which increases interleukin (IL)-1 β maturation and secretion. The activation of NLRP3 inflammasome was accompanied by increased levels of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and IL-6. However, the expression of NLRP3 inflammasome components and pro-inflammatory cytokines did not differ between CON and HG. These data suggested that dietary fructose triggers hepatic metaflammation accompanied by NLRP3 inflammasome activation and has deleterious effects on NAFLD.

Key words: dietary sugar, fructose, hepatic metaflammation, NLRP3 inflammasome, non-alcoholic fatty liver disease

서 론

전 세계적으로 당 섭취량은 지난 40년간 급격히 증가하였는데(1), 미국의 경우 1750년대 1인당 섭취량이 1.81 kg/year에서 2000년대 초반에는 72.6 kg/year로 40배 이상 증가하였다(2). 미국 국민건강영양조사에 따르면 주요 당 공급원으로 과일음료, 탄산음료와 같은 당 첨가 음료가 전체 당 공급원의 40% 이상을 차지하는 것으로 분석되었고, 당 첨가 음료의 섭취 증가가 총 당 섭취량의 급격한 증가의 원인이 되는 것으로 추정된다(3). 한국인의 경우 2007년 기준 하루 평균 총 당류 섭취량은 54.9 g으로 2005년 45.4 g에 비해 20% 증가하였다(4). 이처럼 당 섭취량이 크게 증가됨에 따라 세계보건기구(World Health Organization)에서는 첨가당(added sugar)의 섭취를 전체 에너지 섭취의 10%가

넘지 않도록 권고하고 있다(5).

첨가당 음료의 섭취는 2형 당뇨병, 지방간, 심혈관계 질환의 발병과 인슐린 저항성 증가와 밀접한 관련이 있으며(6-9), 많은 역학 연구들에서 포화지방, 콜레스테롤과 함께 비만의 주요한 원인으로 과다한 당 섭취를 제한하고 있다(10,11). 첨가당은 설탕, 고과당 옥수수 시럽(high-fructose corn syrup)의 형태로 식품산업에서 많이 이용되어진다. 설탕과 고과당 옥수수 시럽의 50% 이상을 차지하고 있는 과당은 비알코올성 지방간 질환(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)과 같은 다양한 대사 이상 질환의 주요한 위험인자로 인식되고 있다(12). NAFLD와 당 첨가 음료 섭취와의 관계를 살펴본 환자-대조군 연구에서 NAFLD군은 첨가당 음료의 소비가 대조군에 비해 5배 이상인 것으로 보고되었다(13). 또 다른 연구에서는 NAFLD군이 대조군과 비교하여 2~3배 이상의 당첨가 음료를 섭취하고 있었으며, 과당의 대사에 중요한 효소인 간의 과당인산화효소(fructokinase)와 지방질 생합성에 주요한 효소인 지방산 생성효소

Received 2 July 2013; Accepted 5 September 2013

[†]Corresponding author.

E-mail: sjyang89@chonnam.ac.kr, Phone: 82-62-530-1331

(fatty acid synthase)가 NAFLD군에서 증가되었음을 보였다(14). NAFLD 환자를 대상으로 과당의 섭취와 NAFLD 발병빈도 간의 상관성을 연구한 논문에서는 과당을 섭취하지 않은 군에 비해 매일 과당을 섭취한 군에서 간 섬유화 진행률이 높았으며, 염증반응과 간세포 팽창도가 증가하였다고 보고하였다(15).

포도당과 달리 90% 이상이 간에서 대사되는 과당은 해당과정의 속도조절 단계인 6-phosphofructokinase 단계를 거치지 않고 바로 glyceraldehyde와 dihydroxyacetone phosphate로 분해된다. 즉 포도당보다 즉각적으로 대사되고 중성지방 합성을 촉진하여 간의 지방축적을 유도한다. 이같은 고과당 섭취에 의한 간에서의 지방축적 증가는 인슐린 저항성을 일으키고, 아디포카인의 생성 및 분비양상을 변화시켜 과도한 염증반응을 일으킨다(16-18). 이러한 변화들은 NAFLD의 발병과 진행에 직·간접적으로 영향을 미친다고 알려져 있다(19). 그러나 단순당과 NAFLD에 대한 연구는 주로 고과당 위주로 진행되어 왔으며 중등 수준의 과당 섭취 효과나 포도당과의 섭취 비교 연구는 제한적이거나 세부 기전에 대한 연구가 제대로 이루어져 있지 않다.

따라서 본 연구는 비만 및 제2형 당뇨병 실험동물인 수컷 KK/HIJ 쥐를 대상으로 다른 수준의 포도당과 과당을 섭취하게 한 후, 간과 혈청에서 대사 및 염증 관련 지표들을 분석하여 과당과 포도당의 섭취가 NAFLD에 미치는 영향을 비교해 보고자 한다. 또한 NAFLD에 종종 수반되는 hepatic metaflammation의 조절 인자로서 NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3(NLRP3) 염증조절결합체에 미치는 영향을 분석하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 사육

8주령의 KK/HIJ 수컷 쥐를 Jackson Laboratory(Bar

Harbor, ME, USA)에서 공급받아 처음 1주일간 분말 형태의 표준식이(D12450K, Research Diets, New Brunswick, NJ, USA)로 예비 사육하였다. 적응기간 후 1) 대조군(control: CON), 2) 중등 포도당 식이군(총 열량 대비 30% 포도당, moderate glucose: MG), 3) 고포도당 식이군(총 열량 대비 60% 포도당, high glucose: HG), 4) 중등 과당 식이군(총 열량 대비 30% 과당, moderate fructose: MF), 5) 고과당 식이군(총 열량 대비 60% 과당, high fructose: HF)과 같이 총 5군으로 나누었다. 분말 형태의 실험 식이를 3주간 공급하였고, 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 각 실험식이의 조성은 Table 1과 같다. 동물사육실의 조건은 온도 20±5°C, 상대습도 65±5%를 유지하였으며 12시간 dark-light cycle로 조명을 조절하였다. 본 논문에서의 동물실험은 전남대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받고 그 규정에 따라 실행하였다.

시료수집

3주간 실험식이 급여 후 12시간 절식시키고, Zoletil(10 mg/kg)과 Rompun(5 mg/kg)을 2:1 비율로 혼합하여 복강내 주사로 마취하였다. 마취 후 흉곽 절개하여 심장에서 혈액을 채취하고, 2시간 후 2,500×g에서 20분간 원심분리시킨 후 혈청을 -80°C에 다음 분석 시까지 보관하였다. 간 조직을 채취 및 정량 후 급속냉동 시켜 -80°C에 보관하고, 간 조직의 일부는 10% neutral buffered formalin(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 용액에 고정시킨 후 histology 분석에 사용하였다.

경구 당부하 검사(oral glucose tolerance test, OGTT)

실험식이 급여 시작 전후에 경구 당부하 검사를 실시하였다. 실험동물을 12시간 절식시켜 꼬리 정맥에서 채혈하여 공복 혈당을 측정된 후, 포도당 용액(2 g/kg)을 경구투여 하고 15분, 30분, 60분, 120분 후 혈당계(Glucocard X-Meter,

Table 1. Composition of experimental diets

	CON	MG	HG	MF	HF
Casein	189.57	189.57	189.57	189.57	189.57
L-cystine	2.84	2.84	2.84	2.84	2.84
Corn starch	568.72	284.36	0	284.36	0
Maltodextrin	94.79	94.79	94.79	94.79	94.79
Glucose	0	284.36	568.72	0	0
Fructose	0	0	0	284.36	568.72
Cellulose	47.39	47.39	47.39	47.39	47.39
Soybean oil	23.70	23.70	23.70	23.70	23.70
Lard	18.96	18.96	18.96	18.96	18.96
Mineral mix	9.48	9.48	9.48	9.48	9.48
Dicalcium phosphate	12.32	12.32	12.32	12.32	12.32
Calcium carbonate	5.21	5.21	5.21	5.21	5.21
Potassium citrate	15.64	15.64	15.64	15.64	15.64
Vitamin mix	9.48	9.48	9.48	9.48	9.48
Choline bitartrate	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90
Total	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

CON, control; MG, moderate glucose; HG, high glucose; MF, moderate fructose; HF, high fructose.

Arkray, Kyoto, Japan)를 이용하여 혈당을 측정하였다.

생화학적 분석

혈당, 중성지방은 Sigma-Aldrich사에서 공급한 분석 kit로 측정하였고, 인슐린(Crystal Chem, Downers Grove, IL, USA)과 아디포넥틴(AdipoGen, Incheon, Korea)은 ELISA kit로 측정하였다.

Hematoxylin & eosin(H&E) 염색

10% neutral buffered formalin 용액에 고정시킨 간 조직을 증류수로 수세하였다. 에탄올로 단계적으로 탈수시킨 다음 파라핀을 포매하였다. 조직은 박편제작기를 이용하여 5 µm의 절편으로 만든 후 슬라이드를 제작하였다. H&E으로 염색하고, 광학현미경으로 관찰하였다.

Real-time PCR

간 조직의 총 RNA는 PureLink RNA Mini kit(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 사용해 추출하였다. 역전사는 SuperScript III First-Strand Synthesis System(Invitrogen)을 이용하여 진행하였다. mRNA 발현은 합성된 cDNA에 Power SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)와 primer를 합성하여 Real-Time PCR system(StepOnePlus, Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)을 이용해 측정하였다. 실험에 사용된 primer의 배열은 Table 2와 같다.

통계처리

본 실험에서 얻은 모든 결과는 SPSS Statistics 20(In-

ternational Business Machines, Armonk, NY, USA)을 이용하여 분석하였으며, 모든 실험 결과는 평균±표준오차(mean±SEM)로 나타내었다. One-way ANOVA 분석 후 $P<0.05$ 수준에서 각 실험군 간의 유의차를 표시하였다.

결 과

체중변화량, 식이섭취량, 간 조직중량

3주간 사육한 쥐의 체중변화량, 식이섭취량, 간 조직 중량은 Table 3과 같다. 체중변화량은 CON군과 비교하여 모든 처리군에서 유의적인 감소를 보였고, HF군에서 가장 큰 감소를 보였다. CON군을 제외한 모든 처리군에서의 체중변화량은 군간 유의적인 차이를 보이지 않았다. 식이섭취량은 MG군과 MF군간의 차이를 제외하고는 그룹 간 유의적인 차이가 없었다. 체중에 대한 간 조직 무게의 비율을 살펴본 것을 CON군과 비교하여 MG군과 MF군에서는 유의적으로 감소되었고, 다른 그룹 간의 유의적인 차이는 없었다.

혈당조절

실험식이 공급 전 실시한 경구 당부하 검사 결과는 모든 군에서 유의적인 차이가 없었다. 실험식이 공급 3주 후, 경구 당부하 검사 혈당반응 곡선면적(area under the curves, AUC) 결과는 대조군과 비교하여 HG군의 AUC가 높았고, HG군과 비교하여 HF군의 AUC는 유의적으로 낮았다(Fig. 1). HG군의 공복혈당은 모든 군에 비해 유의적으로 높았으며, MF군은 HF군에 비해 유의적으로 공복혈당이 낮았다(Table 4). 인슐린은 대조군과 비교하여 HG군이 유의적으로 낮았고, 두 과당 처리군인 MF군과 HF군과 비교해서도

Table 2. Primers sequences

Target	Forward	Reverse
ASC	gagcagctgcaaacgactaa	gtccacaaagtgtcctgttctg
Caspase1	cccactgctgtaggggtgac	gcataggtacataagaatgaactgga
IL-1	ttggttaaatgacctgcaaca	gagcgctcacgaacagttg
IL-6	gctaccaaaactggatataatcagga	ccaggtagctatggtactccagaa
NLRP3	cccttgagacacaggactc	gaggctgcagttgtctaatcc
Sirt1	cagtgagaaaatgctggccta	ttggtgtgacaacaggtattga
Sirt6	gacctgatgctgctgatg	ggtaccagggtgacagaca
TNF- α	tgctgggagcctaaaagg	cgaattttgagaagatgatcctg
18S	gcaattatcccctgaacg	gggacttaatacaacgcaagc

ASC, apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD; IL-1, interleukin 1; IL-6, interleukin 6; NLRP3, NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3; TNF- α , tumor necrosis factor- α .

Table 3. Body weight gain (BWG), food intake (FI) and liver tissue weight of mice

	CON	MG	HG	MF	HF
BWG (g/day)	-0.08±0.03 ^a	-0.20±0.04 ^b	-0.25±0.01 ^b	-0.27±0.01 ^b	-0.28±0.02 ^b
FI (g/day)	3.14±0.25 ^{ab}	3.50±0.12 ^a	3.16±0.14 ^{ab}	2.97±0.11 ^b	3.19±0.05 ^{ab}
Liver (% BW)	4.63±0.17 ^a	4.03±0.05 ^b	4.27±0.35 ^{ab}	4.05±0.10 ^b	4.24±0.19 ^{ab}

Tissue weight is expressed as percentage of body weight (BW). Data are expressed as mean±SEM (n=6~7 per group). Different letters within a variable are significantly different at $P<0.05$.

CON, control; MG, moderate glucose; HG, high glucose; MF, moderate fructose; HF, high fructose.

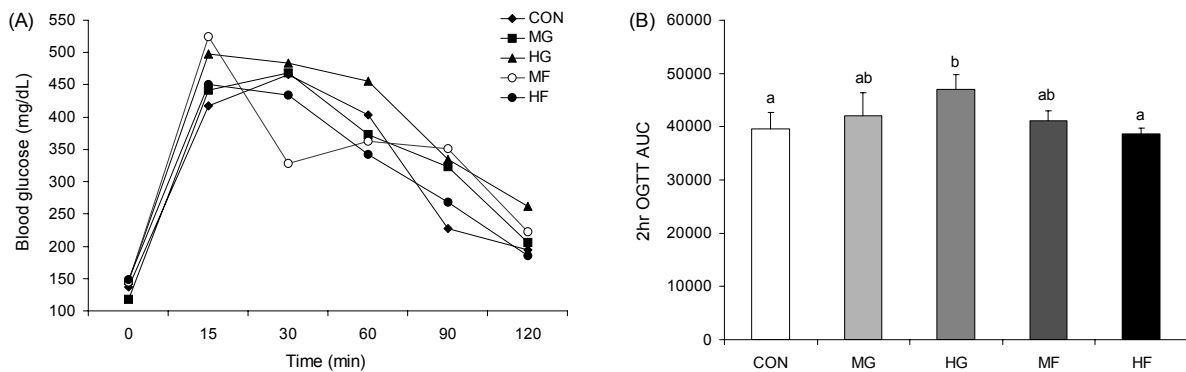


Fig. 1. The effect of glucose or fructose diet on (A) blood glucose concentrations and (B) area under the curve (AUC) during oral glucose tolerance test (OGTT). Data are mean±SEM. Different letters on the bars are significantly different at $P < 0.05$. CON, control; MG, moderate glucose; HG, high glucose; MF, moderate fructose; HF, high fructose.

Table 4. The effect of glucose or fructose diets on glucose control

	CON	MG	HG	MF	HF
Serum glucose (mg/dL)	221±19 ^{ab}	224±23 ^{ab}	345±41 ^c	186±8 ^a	259±10 ^b
Serum insulin (pmol/L)	116±18 ^a	84±7 ^{ab}	48±4 ^b	93±10 ^a	90±3 ^a
Adiponectin (ng/mL)	7,754±647 ^{ab}	6,179±480 ^{ac}	5,380±810 ^c	7,183±405 ^{ab}	8,007±480 ^b

Data are expressed as mean±SEM (n=6~7 per group). Different letters within a variable are significantly different at $P < 0.05$. CON, control; MG, moderate glucose; HG, high glucose; MF, moderate fructose; HF, high fructose.

Table 5. The effect of glucose or fructose diets on serum and liver triglyceride (TG) concentrations

	CON	MG	HG	MF	HF
Serum TG (mg/dL)	116±5 ^a	112±18 ^a	126±12 ^{ab}	129±14 ^{ab}	149±6 ^b
Liver TG (μg TG/mg protein)	36±3 ^a	42±4 ^{ab}	53±2 ^{bc}	52±3 ^{bc}	55±6 ^c

Data are expressed as mean±SEM (n=6~7 per group). Different letters within a variable are significantly different at $P < 0.05$. CON, control; MG, moderate glucose; HG, high glucose; MF, moderate fructose; HF, high fructose.

유의적으로 낮은 수준을 보였다. 혈청 아디포넥틴 역시 대조군과 비교하여 HG군에서 유의적으로 낮았고, 포도당 식이를 공급한 MG군과 HG군은 고과당 식이를 섭취한 HF군에 비해 유의적으로 낮은 수준을 보였다.

혈청과 간 조직의 중성지방

혈청과 간 조직의 중성지방 농도는 Table 5와 같다. 혈청 중성지방 농도는 HF군이 가장 높았으며, 이것은 CON군과 비교하였을 때 유의적인 차이를 보였다. 또한 간 조직에서의 중성지방 함량은 HF군>HG군>MF군>MG군>CON군 순으로 나타났다. 대조군과 비교하여 HG군, MF군, HF군의 간 조직 중성지방 함량이 유의적으로 높았고, MG군과 HF군간의 간 조직 중성지방 역시 유의적인 차이를 보였다.

H&E 염색에 의한 형태학적 분석

간 조직의 H&E 염색 결과는 Fig. 2와 같다. HG군, MF군, HF군의 간 조직에서 지방 축적이 관찰되었다. 특히 CON과 포도당 섭취군과 비교하여 과당 섭취군인 MF군과 HF군에서 보다 분명한 지방 축적을 보였고, HF군의 간 조직이 가장 높은 수준의 지방 축적을 보였다.

NLRP3 염증조절 결합체와 염증인자 분석

간에서의 염증조절 결합체 구성 단백질과 염증인자의 mRNA 분석 결과, 염증조절 복합체 중 하나인 apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC)는 HF군이 CON과 HG군에 비해 높은 발현을 보였다 (Fig. 3). 또한 caspase 1은 HF군에서 HG군과 비교하여 유의적으로 높은 발현을 나타냈다. NLRP3는 HG군과 비교 시 HF군에서 높은 경향을 보여주었다($P=0.07$). Interleukin 1(IL-1)은 CON군, HG군, MF군에 비해 HF군에서 유의적으로 높은 발현을 보였다. Tumor necrosis factor alpha(TNF-α)는 HF군에서 CON군과 HG군과 비교하여 유의적으로 높은 발현을 보여주었으며, IL-6은 HG군과 비교하여 HF군에서 유의적으로 높은 발현을 보여주었다(Fig. 4). Hepatic metaflammation 조절 인자 중 하나인 sirtuin 1(Sirt1)과 Sirt6 분석 결과 CON군과 비교하여 HF군에서 Sirt1과 Sirt6가 감소하는 경향을 보였으나, 군간 유의적인 차이는 없었다(Fig. 4).

고찰

본 연구는 다른 수준의 포도당과 과당의 섭취가 NAFLD

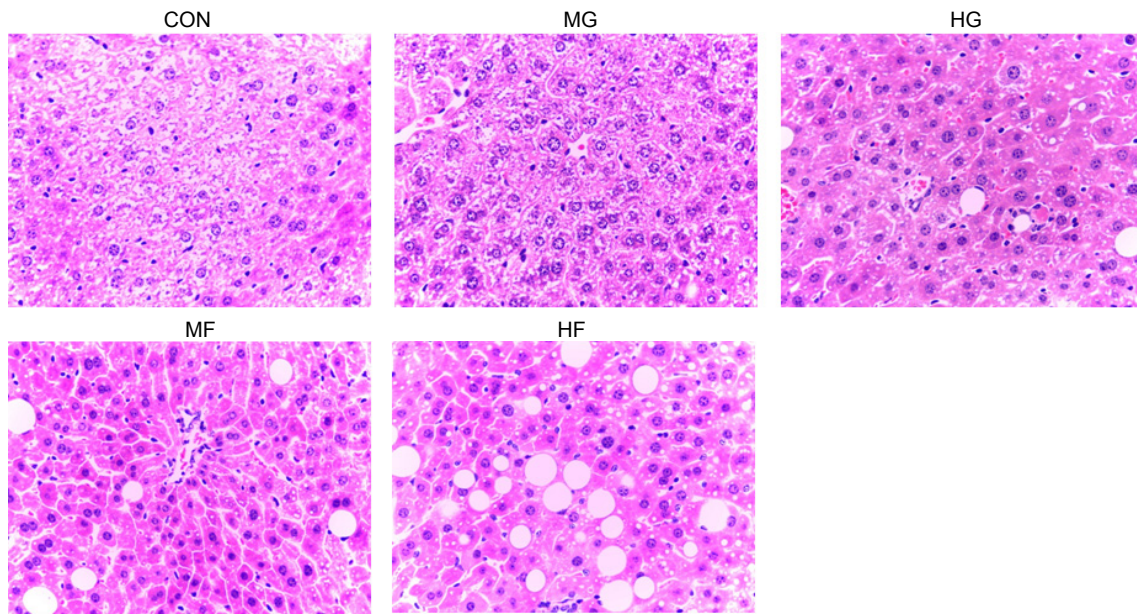


Fig. 2. The effect of glucose or fructose diets on the lipid accumulation in the liver. Representative photographs of hematoxylin and eosin staining ($\times 400$) of liver sections. CON, control; MG, moderate glucose; HG, high glucose; MF, moderate fructose; HF, high fructose.

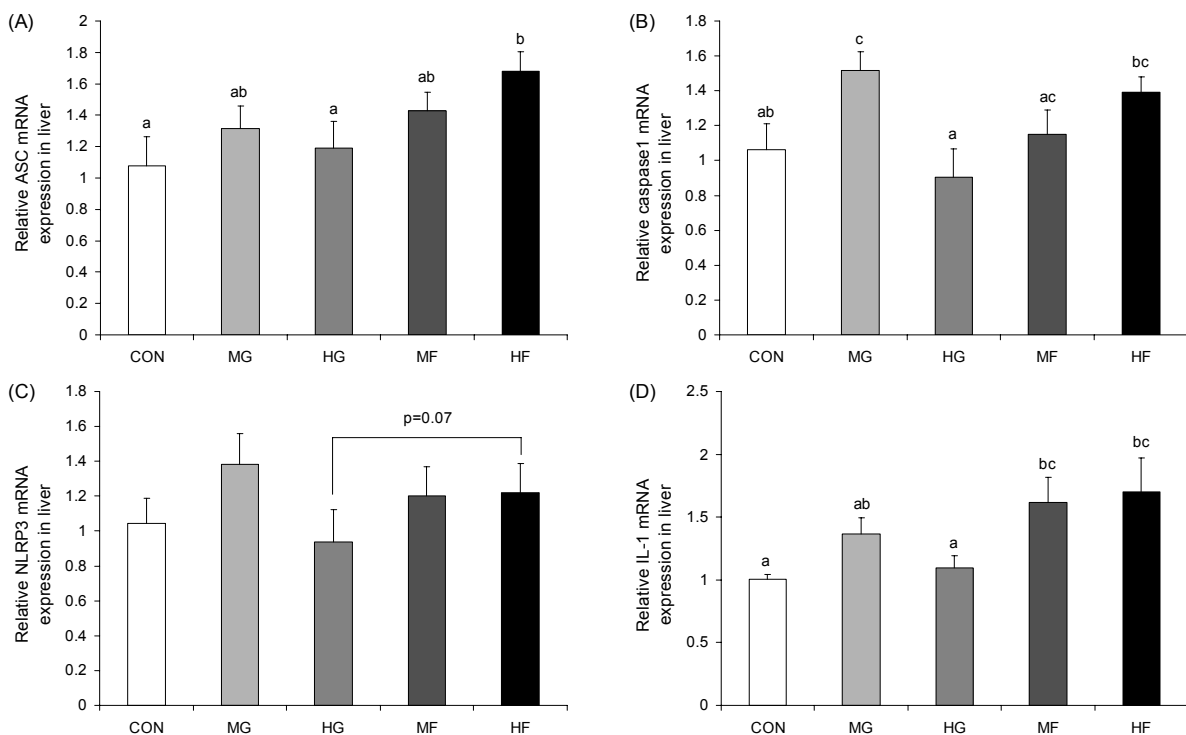


Fig. 3. The effect of glucose or fructose diets on NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3 (NLRP3) inflammasome in the liver. Liver mRNA expression levels of (A) apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC), (B) caspase-1, (C) NLRP3, and (D) interleukin 1 (IL-1) were measured using real-time RT-PCR and were normalized with 18S gene. Data are mean \pm SEM. Different letters on the bars are significantly different at $P < 0.05$. CON, control; MG, moderate glucose; HG, high glucose; MF, moderate fructose; HF, high fructose.

에 미치는 영향을 비만 및 제2형 당뇨병 쥐 모델을 대상으로 실험하였다. 또한 NAFLD 조절의 세부 기전으로서 NLRP3 염증조절결합체에 미치는 영향을 분석하였다. 3주간의 실험

결과 포도당과 과당의 섭취는 혈당조절, 간과 혈청의 중성지방 농도, 염증조절결합체 구성 단백질과 염증인자들의 발현에 있어 다른 양상의 조절작용을 가짐을 보여주었다.

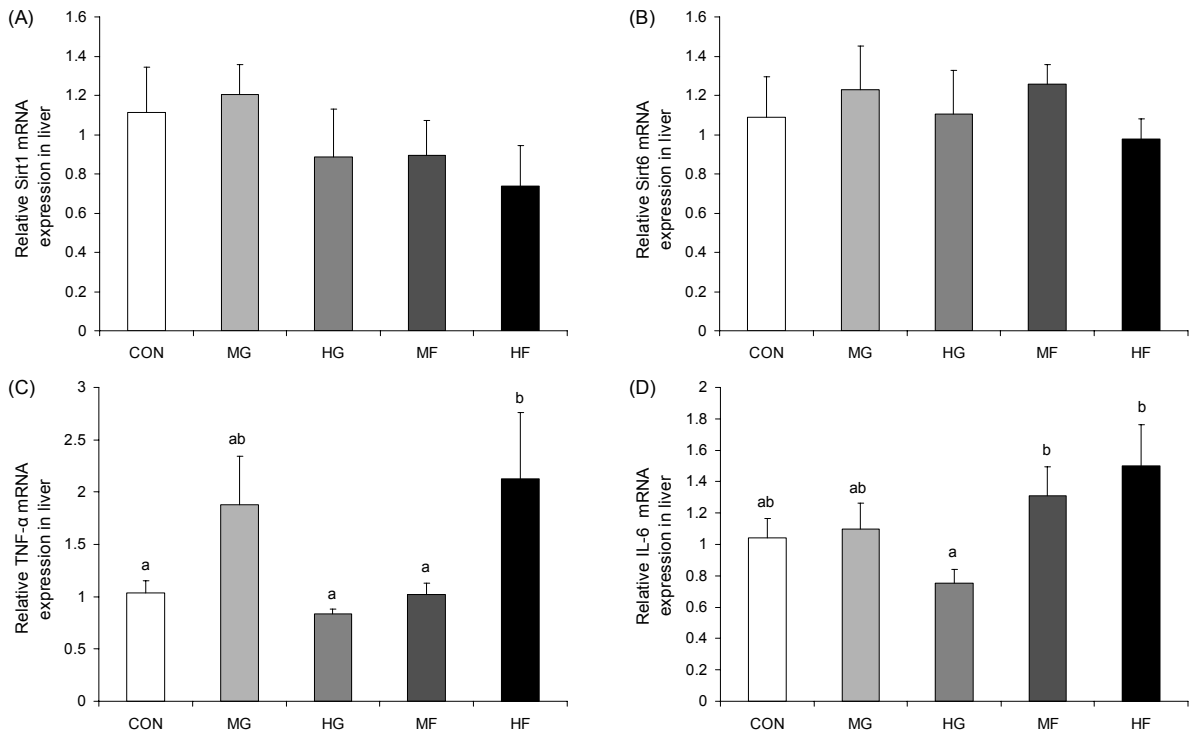


Fig. 4. The effect of glucose or fructose diets on sirtuins (Sirt) and inflammation in the liver. Liver mRNA expression levels of (A) Sirt1, (B) Sirt6, (C) tumor necrosis factor- α (TNF- α), and (D) interleukin 6 (IL-6) were measured using real-time RT-PCR and were normalized with 18S gene. Data are mean \pm SEM. Different letters are significantly different at $P < 0.05$. CON, control; MG, moderate glucose; HG, high glucose; MF, moderate fructose; HF, high fructose.

대조군과 비교하여 다른 수준의 포도당과 과당 식이를 3주간 섭취하게 한 결과 유의적인 체중 감소를 보였는데, 이는 12주간 고과당 식이를 섭취한 군과 일반 식이를 섭취한 군을 비교한 동물실험에서 고과당 식이 섭취 후 일반 식이 섭취군 대비 유의적인 체중 감소를 보였던 결과와 일치하였다(20,21). 그러나 과체중 또는 비만인 대상자들에게 총 에너지의 25%를 포도당 또는 과당의 음료로 제공한 인체실험에서 과당 섭취군이 포도당 섭취군과 비교하여 체중이 증가했던 연구결과와는 다른 양상을 보였다(16). 과당이 체중변화에 미치는 영향에 대한 최근의 논문은 다른 탄수화물 급원과 과당을 비교한 결과, 동일 열량이 제공된다면 과당이 다른 탄수화물 급원 섭취 시와 비교하여 더 체중을 증가시키지는 않는다고 제안하였다(22). 대부분 높은 수준의 과당을 자유롭게 섭취하였을 때 과다한 열량 섭취로 인해 체중의 증가가 일어날 수 있지만, 과당 자체가 몸무게 증가의 원인이 되는 것은 아닌 것이라고 여러 연구들에서 보고되어 있다(22,23).

식이섭취량은 MG군과 MF군 간의 차이를 제외하고는 중간 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 중등수준의 포도당과 과당 섭취에 대한 식이섭취량의 차이는 건강한 성인에게 있어 포도당의 섭취가 식욕조절, 보상작용기전과 관련이 있는 시상하부, 시상, 선조체의 활성을 낮추고 포만감을 증가시켜 식사섭취를 억제시켰다는 인체연구결과와는 상반되나(24), 동물모델을 이용하여 당류에 대한 선호도를 연구한 논문에서

과당이나 유당과 비교하여 포도당 선호도가 높았던 선행 연구결과와는 일관성을 보인다(25).

고포도당 식이는 혈당반응 곡선면적과 공복혈당을 상승시키고, 인슐린과 아디포넥틴의 수준을 감소시켰다. 즉 높은 수준의 포도당 섭취가 혈당조절기능과 인슐린 분비 및 작용을 악화시킨 것이다. 반면 과당이 포함된 식이는 전체적인 혈당조절과 관련 인자들을 개선시키는 효과를 보여주었다. 이 결과는 과당의 섭취가 총 열량 섭취와 BMI를 증가시켰음에도 불구하고, NAFLD 환자들의 전반적인 인슐린 민감성을 개선시킨 연구결과와 일치한다(15). 이와 같은 결과는 포도당과 비교했을 때, 낮은 당지수(glycemic index)를 가지는 과당이 당뇨병 대상자들에게 당조절에 있어 긍정적인 단순당으로 고려되는 근거를 제공한다(26). 과당은 간세포로 이동할 때나 간 대사의 초반에서 인슐린을 요구하지 않고 단기간의 과당 섭취는 당대사에 부정적인 영향을 주지 않는 것으로 간주된다(27). 1형 및 2형 당뇨병 환자들을 대상으로 서당이나 전분을 과당으로 대체 공급한 단기간의 연구결과 환자들의 혈당조절 능력이 향상되었음을 보였다(28). 그러나 장기간 과당을 섭취한 연구에서는 단기간의 연구와는 다른 양상을 보여주었는데 중등 수준의 과당을 장기간 섭취시킨 동물실험에서는 오히려 내당능이 악화되었고, 높은 수준의 과당 섭취를 중제한 연구에서는 당뇨병과 사구체경화증이 나타나기도 하였다(29).

고과당의 섭취는 혈중 및 간의 중성지방 농도를 증가시켰

는데, 이는 rat에게 장기간 과당을 섭취시켰을 때 간의 중성지방과 콜레스테롤이 증가했던 결과와 건강한 남성이 6주간 과당을 섭취한 뒤, 식후 중성지방의 농도가 증가된 결과와 일치한다(30,31). 과체중 또는 비만인을 대상으로 수행했던 Stanhope의 연구와 과체중 또는 비만이지만 당뇨병이 발병되지 않은 대상자들에게 6개월간 당 첨가 음료를 섭취시켰을 때 혈중 중성지방과 콜레스테롤이 증가된 연구 결과와도 일치한다(16,32). 이같은 결과는 과당이 포도당에 비해 중성지방을 합성시키는 대사경로를 선호하는 단순당이라는 것을 확인한 것이고, 과당 섭취와 NAFLD의 초기 단계인 지방간과의 강력한 연관성을 시사한다. 과당의 주요 대사기관은 간으로서 과당의 섭취는 빠른 속도로 간의 지방생합성(lipogenesis)을 촉진시킨다. 또한 과당이 해당과정으로 진입하는 과정에서 해당과정의 속도를 조절하는 단계를 우회하여 acetyl CoA와 glycerol-3-phosphate를 상호 조절시켜 지방의 합성에 기여한다(33). 과당은 지방생합성과 연관된 유전자를 활성화시키는 sterol receptor element binding protein-1c를 활성화시킬 수 있다(34).

염증조절결합체 구성단백질인 ASC, caspase1, NLRP3 모두 고포도당을 섭취한 군과 비교했을 때 고과당을 섭취한 군에서 높은 발현을 보였다. 또한 염증조절 사이토카인 중 하나인 IL-1은 염증조절결합체의 조절을 받는데, 이 IL-1의 발현 역시 고과당을 섭취한 군이 CON군과 고포도당군과 비교하여 유의적으로 높았다. 또한 대표적인 전염증인자인 TNF- α 와 IL-6도 고포도당군과 비교하여 고과당군에서 유의적으로 높은 발현을 보여주었다. 이와 같은 결과는 고과당 섭취로 유도된 과도한 염증인자 생성이 염증조절결합체에 의해 조절됨을 알 수 있다. 또한 고과당 섭취군에서 TNF- α 발현 수준이 높은 결과는 과당으로 지방간이 유도되는 과정에 toll-like receptor 4가 관여함을 밝힌 연구와 과당과 지방간에서 serotonin reuptake transporter의 역할에 대한 연구에서 보여준 간조직의 TNF- α 수준 증가와 유사하다(35,36). TNF- α 와 IL-1, IL-6와 같은 전염증 사이토카인은 염증매개체로서 NAFLD의 발병과 진행에 있어 중요한 역할을 한다(37). NAFLD와 높은 상관성을 가지는 사이토카인 중 하나인 TNF- α 는 간의 섬유화와 인슐린 저항성에 영향을 준다(38). 이는 TNF- α 부족 쥐에게 식이로 인한 비만에서 인슐린 민감성이 향상된 결과에서 확인할 수 있다(39). IL-6는 인슐린 저항성과 심혈관계 질환의 발병을 예측할 수 있는 사이토카인 중 하나로 suppressor of cytokine signaling 3의 상호조절로 간의 인슐린 저항성을 조절한다(40). 고과당 섭취군에서 TNF- α 와 IL-6의 높은 발현은 NAFLD의 진행과 과당과의 상관성을 보여주며 과당의 장기간 섭취시 혈당조절과 인슐린 저항성에도 문제가 나타날 수 있음을 제안한다.

시르투인은 최근 들어 당뇨병, 대사 증후군, 지방간의 증상을 개선시킨다고 알려진 인자로서, 시르투인에 의한 염증 반응 조절 효과가 세부 작용기전으로 제안되고 있다(41-

43). 다른 수준의 포도당과 과당의 섭취가 hepatic metaflammation을 조절하는 데 있어 시르투인 경로가 관여하는지 알아보기 위해 Sirt1과 Sirt6를 분석한 결과 고과당 섭취시 대조군에 비해 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 따라서 고과당 섭취에 의한 hepatic inflammation 조절에 있어 시르투인 경로는 관여하지 않는 것으로 보인다.

요 약

이상의 결과를 종합해 볼 때, 높은 수준의 포도당 섭취는 공복혈당과 공복혈당면적을 높이고 혈중 인슐린 농도와 아티포네티닌의 수준을 낮추어 혈당조절 능력을 억제시켰다. 반면, 높은 수준의 과당 섭취는 인슐린을 요구하지 않는 과당 대사의 특이성으로 인해 혈당조절에는 효과적으로 보인다. 그러나 고과당 섭취는 간 조직 및 혈중 중성지방의 농도를 높이고 염증조절복합체 구성단백질의 발현을 조절하여 전염증인자의 발현을 증가시켰다. 이는 간조직에 있어 과당이 포도당보다 높은 수준의 염증반응을 유도하여 NAFLD의 발병과 진행에 보다 유의적인 영향을 준다는 것을 보여준다. 본 연구의 제한점은 일상에서 과당이나 포도당을 단독으로 섭취하는 경우가 드물다는 점과 3주라는 짧은 중재기간에 의한 실험 결과라는 것이다. 앞으로의 연구는 단순당을 장기간 섭취했을 때 혈청과 간 조직을 포함한 다른 대사 관련 조직에서 나타나는 변화에 초점을 맞출 필요가 있으며, 염증조절복합체가 염증인자의 발현을 증가시키는 기전을 구체화하는 것이 요구된다.

감사의 글

본 연구는 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것임 (NRF-2012R1A1A1004861).

REFERENCES

1. Duffey KJ, Popkin BM. 2007. Shifts in patterns and consumption of beverages between 1965 and 2002. *Obesity (Silver Spring)* 15: 2739-2747.
2. Bray GA. 2013. Energy and fructose from beverages sweetened with sugar or high-fructose corn syrup pose a health risk for some people. *Adv Nutr* 4: 220-225.
3. Marriott BP, Olsho L, Hadden L, Connor P. 2010. Intake of added sugars and selected nutrients in the United States, National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2006. *Crit Rev Food Sci Nutr* 50: 228-258.
4. KNS. 2010. *Dietary reference intakes for Koreans*. The Korean Nutrition Society, Korea. p 65.
5. Aller EEJG, Abete I, Astrup A, Martinez JA, van Baak MA. 2011. Starches, sugars and obesity. *Nutrients* 3: 341-369.
6. Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Despres JP, Willett WC, Hu FB. 2010. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabe-*

- tes care* 33: 2477-2483.
7. Basaranoglu M, Basaranoglu G, Sabuncu T, Sentürk H. 2013. Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 19: 1166-1172.
 8. Dhingra R, Sullivan L, Jacques PF, Wang TJ, Fox CS, Meigs JB, D'Agostino RB, Gaziano JM, Vasan RS. 2007. Soft drink consumption and risk of developing cardiometabolic risk factors and the metabolic syndrome in middle-aged adults in the community. *Circulation* 116: 480-488.
 9. Yoshida M, McKeown NM, Rogers G, Meigs JB, Saltzman E, D'Agostino R, Jacques PF. 2007. Surrogate markers of insulin resistance are associated with consumption of sugar-sweetened drinks and fruit juice in middle and older-aged adults. *J Nutr* 137: 2121-2127.
 10. Ludwig DS, Peterson KE, Gortmaker SL. 2001. Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. *Lancet* 357: 505-508.
 11. Bray GA. 2010. Soft drink consumption and obesity: it is all about fructose. *Curr Opin Lipidol* 21: 51-57.
 12. Nseir W, Nassar F, Assy N. 2010. Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 16: 2579-2588.
 13. Abid A, Taha O, Nseir W, Farah R, Grosovski M, Assy N. 2009. Soft drink consumption is associated with fatty liver disease independent of metabolic syndrome. *J Hepatol* 51: 918-924.
 14. Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, McCall S, Bruchette JL, Diehl AM, Johnson RJ, Abdelmalek MF. 2008. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 48: 993-999.
 15. Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, Unalp-Arida A, Colvin R, Johnson RJ, Diehl AM. 2010. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 51: 1961-1971.
 16. Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, Hatcher B, Cox CL, Dyachenko A, Zhang W, McGahan JP, Seibert A, Krauss RM, Chiu S, Schaefer EJ, Ai M, Otokozawa S, Nakajima K, Nakano T, Beysen C, Hellerstein MK, Berglund L, Havel PJ. 2009. Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest* 119: 1322-1334.
 17. Vos MB, Lavine JE. 2013. Dietary fructose in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 57: 2525-2531.
 18. Almeda-Valdés P, Cuevas-Ramos D, Aguilar-Salinas CA. 2009. Metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 8: S18-S24.
 19. Day CP, James OF. 1998. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 114: 842-845.
 20. Mellor KM, Bell JR, Young MJ, Ritchie RH, Delbridge LM. 2011. Myocardial autophagy activation and suppressed survival signaling is associated with insulin resistance in fructose-fed mice. *J Mol Cell Cardiol* 50: 1035-1043.
 21. Browning JD, Baker JA, Rogers T, Davis J, Satapati S, Burgess SC. 2011. Short-term weight loss and hepatic triglyceride reduction: evidence of a metabolic advantage with dietary carbohydrate restriction. *Am J Clin Nutr* 93: 1048-1052.
 22. Sievenpiper JL, de Souza RJ, Mirrahimi A, Yu ME, Carleton AJ, Beyene J, Chiavaroli L, Di Buono M, Jenkins AL, Leiter LA, Wolever TM, Kendall CW, Jenkins DJ. 2012. Effect of fructose on body weight in controlled feeding trials: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 156: 291-304.
 23. Rippe JM, Angelopoulos TJ. 2013. Sucrose, high-fructose corn syrup, and fructose, their metabolism and potential health effects: what do we really know? *Adv Nutr* 4: 236-245.
 24. Page KA, Chan O, Arora J, Belfort-Deaguiar R, Dzuira J, Roehmholdt B, Cline GW, Naik S, Sinha R, Constable RT, Sherwin RS. 2013. Effects of fructose vs glucose on regional cerebral blood flow in brain regions involved with appetite and reward pathways. *JAMA* 309: 63-70.
 25. Sclafani A, Ackroff K. 2012. Flavor preferences conditioned by intragastric glucose but not fructose or galactose in C57BL/6J mice. *Physiol Behav* 106: 457-461.
 26. Foster-Powell K, Miller JB. 1995. International tables of glycemic index. *Am J Clin Nutr* 62: 871S-890S.
 27. Tappy L, Le KA. 2010. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev* 90: 23-46.
 28. Cusi K. 2009. Nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes mellitus. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 16: 141-149.
 29. Thorburn AW, Crapo PA, Griver K, Wallace P, Henry RR. 1990. Long-term effects of dietary fructose on carbohydrate metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 39: 58-63.
 30. Ackerman Z, Oron-Herman M, Grozovski M, Rosenthal T, Pappo O, Link G, Sela BA. 2005. Fructose-induced fatty liver disease: hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction. *Hypertension* 45: 1012-1018.
 31. Bantle JP, Raatz SK, Thomas W, Georgopoulos A. 2000. Effects of dietary fructose on plasma lipids in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 72: 1128-1134.
 32. Maersk M, Belza A, Stodkilde-Jorgensen H, Ringgaard S, Chabanova E, Thomsen H, Pedersen SB, Astrup A, Richelsen B. 2012. Sucrose-sweetened beverages increase fat storage in the liver, muscle, and visceral fat depot: a 6-mo randomized intervention study. *Am J Clin Nutr* 95: 283-289.
 33. Teff KL, Grudziak J, Townsend RR, Dunn TN, Grant RW, Adams SH, Keim NL, Cummings BP, Stanhope KL, Havel PJ. 2009. Endocrine and metabolic effects of consuming fructose- and glucose-sweetened beverages with meals in obese men and women: influence of insulin resistance on plasma triglyceride responses. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 1562-1569.
 34. Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, Amemiya-Kudo M, Okazaki H, Tamura Y, Iizuka Y, Ohashi K, Tomita S, Sekiya M, Hasty A, Nakagawa Y, Sone H, Toyoshima H, Ishibashi S, Osuga J, Yamada N. 2004. Insulin-independent induction of sterol regulatory element-binding protein-1c expression in the livers of streptozotocin-treated mice. *Diabetes* 53: 560-569.
 35. Spruss A, Kanuri G, Wagnerberger S, Haub S, Bischoff SC, Berghheim I. 2009. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Hepatology* 50: 1094-1104.
 36. Haub S, Kanuri G, Volynets V, Brune T, Bischoff SC, Berghheim I. 2010. Serotonin reuptake transporter (SERT) plays a critical role in the onset of fructose-induced hepatic steatosis in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 298: G335-344.
 37. Tilg H. 2010. The role of cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 28: 179-185.
 38. Crespo J, Cayón A, Fernández-Gil P, Hernández-Guerra M,

- Mayorga M, Domínguez-Díez A, Fernández-Escalante JC, Pons-Romero F. 2001. Gene expression of tumor necrosis factor alpha and TNF-receptors, p55 and p75, in non-alcoholic steatohepatitis patients. *Hepatology* 34: 1158-1163.
39. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. 1997. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature* 389: 610-614.
40. Tilg H, Moschen AR. 2008. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Mol Med* 14: 222-231.
41. Purushotham A, Schug TT, Xu Q, Surapureddi S, Guo X, Li X. 2009. Hepatocyte-specific deletion of SIRT1 alters fatty acid metabolism and results in hepatic steatosis and inflammation. *Cell Metab* 9: 327-338.
42. Banks AS, Kon N, Knight C, Matsumoto M, Gutiérrez-Juárez R, Rossetti L, Gu W, Accili D. 2008. SirT1 gain of function increases energy efficiency and prevents diabetes in mice. *Cell Metab* 8: 333-341.
43. Pfluger PT, Herranz D, Velasco-Miguel S, Serrano M, Tschöp MH. 2008. Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 9793-9798.