

http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2018.4.1.315

JCCT 2018-2-39

고지방식이 급여 마우스에서 curcumin의 인슐린 저항성 개선 효능

Improvement of Insulin Resistance by Curcumin in High Fat Diet Fed Mice

김단비, 안은영, 김은정*

Dan Bi Kim, Eunyeong Ahn, Eunjung Kim*

요약 당뇨 환자의 급격한 증가는 한국의 주요 건강문제중 하나이다. 당뇨 예방 또는 치료용 식품개발에 대한 노력의 일환으로 본 연구에서는 고지방식이급여로 유도한 제2형 당뇨동물모델에서 커큐민의 항당뇨효능을 연구하였다. C57BL/6 마우스를 정상식이, 고지방식이, 그리고 고지방식이에 0.02% 커큐민을 급여한 군으로 나누고 각 식이를 총 16주간 급여하였다. 그 결과, 커큐민 급여군이 고지방식이급여군에 비해 체중 증가량, 혈당, 혈중 인슐린, 총콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 농도가 유의적으로 감소하였고 반면에 HDL-콜레스테롤 수준은 증가하였다. 또한 커큐민의 급여는 인슐린 신호전달체계를 활성화시켰다. 이러한 결과는 커큐민이 인슐린 저항성을 일부 극복시킴으로써 비만과 연관된 제2형 당뇨병을 개선시킬 수 있음을 제시한다.

주요어 : 2형 당뇨, 커큐민, 고지방식, 마우스, 인슐린 저항성

Abstract Rapid increase of diabetic population is a major health concern in Korea. In a trial to develop food components which can prevent and/or cure diabetes, we investigated the anti-diabetic activity of curcumin in high fat diet (HFD)-induced type 2 diabetes mellitus (T2DM) animal model. C57BL/6 mice were divided into three groups: normal diet (ND), high fat diet (HFD), and curcumin (CUR, HFD+0.02% curcumin). Mice were fed each diet for 16 weeks. CUR significantly reduced body weight gain, the levels of plasma glucose, insulin, total-cholesterol (T-C), and LDL-C, whereas increased HDL-C compared to those of HFD group. Notably, insulin signaling pathway was activated by CUR. This suggests that CUR improves obesity-associated T2DM by overcoming insulin resistance in part.

Key words : type 2 diabetes, curcumin, high fat diet, mouse, insulin resistance

1. 서론

당뇨병은 만성, 다빈도 질환의 하나로 전 세계적으로 빠르게 그 발병율이 증가하고 있다. 우리나라의 경우

대한당뇨병학회에서 발간한 diabetes fact sheet in Korea 2016에 따르면 30세 이상 성인 당뇨병 환자는 13.7%(480만 명)로 거의 성인 7명중 1명은 당뇨병을 가지고 있는 것으로 나타났으며 65세 이상 인구에서는

*정회원, 대구가톨릭대학교 식품영양학과
접수일: 2017년 12월 25일, 수정완료일: 2018년 1월 26일
게재확정일: 2018년 2월 6일

Received: December 25, 2017 / Revised: January 26, 2018

Accepted: February 6, 2018

*Corresponding Author: kimeunj@cu.ac.kr

Dept. of Food Science and Nutrition, Daegu Catholic University

30%이상이 당뇨병 환자인 것으로 나타났다[1].

당뇨병 환자의 90% 정도는 제2형 당뇨병으로 주요 발병요인은 비만이다. 지방세포로부터 분해되어 나오는 유리지방산은 인슐린 신호전달경로를 손상시켜 인슐린이 췌장에서 분비되어도 인슐린이 결합하는 인슐린 수용체의 반응 민감성을 떨어뜨리는 것으로 알려져 있다 [2]. 이러한 인슐린 저항성은 제2형 당뇨병만 아니라 고혈압, 동맥경화, 고지혈증과 같은 대사증후군을 유발하게 된다[3,4]. 현재 제2형 당뇨병의 치료방법으로는 식이요법을 포함한 생활습관변화가 주가 되고 있으며 약물요법으로 경구혈당강하제를 복용할 수 있으나 약물의 복용은 저혈당증, 인슐린 분비능 상실, 위장장애, 신장, 심장, 그리고 간 독성 등 여러 가지 부작용을 유발할 수 있다[5]. 따라서 부작용이 없고 안전한 인슐린 저항성 개선용 기능성 식품성분의 탐색에 대한 연구가 아직까지 절실히 필요한 실정이다.

Curcumin은 강황에 존재하는 노란색 색소성분으로 항비만, 항당뇨, 항암, 항산화, 항염증 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 잘 알려져 있다[6]. 염증성 cytokine인 tumor necrosis factor- α , interleukin(IL)-1 β , IL-6의 분비를 억제하여 항염증효과를 나타내고 Wnt signaling을 조절하여 지방전구세포의 분화 억제 및 지방세포의 성장을 감소시킬 뿐만 아니라 지방산 β -oxidation을 촉진시킬 수 있다[7,8]는 점에서 비만으로 인한 대사성질환 예방 및 치료제로서의 가능성에 대해서도 많은 연구가 진행되어왔다. 세포실험뿐만 아니라 동물과 사람을 대상으로 한 다수의 연구결과에서도 curcumin이 체중감소 뿐만 아니라 비만으로 인한 혈당 상승과 인슐린 저항성을 개선시키는 효과가 있음이 보고되고 있고 그 효과에 대한 분자생물학적 기전에 대해서 다양한 각도에서 활발히 연구되고 있다[9,10].

인슐린이 혈당을 저하시키는 기전으로는 췌장에서 분비된 인슐린이 세포막에 존재하는 인슐린 수용체에 결합을 하게 되면 insulin-receptor substrate 1(IRS-1)의 티로신 잔기 인산화(활성화)를 통해 Akt의 인산화를 유도하게 되고 이는 포도당의 세포내 수송 및 이용, 글리코겐합성, 지방합성, 단백질 합성 등을 촉진하게 된다 [11]. 한편, 활성화된 Akt 단백질은 하위 경로에 있는 mammalian target of rapamycin complex 1(mTORC1)

의 인산화를 유도하게 되고 이는 ribosomal S6 kinase 1(S6K1)과 4E-binding protein 1 (4E-BP1)의 인산화로 단백질 합성과 세포성장을 촉진하게 된다[12]. 한편, S6K1의 활성화는 negative feedback 기전에 의해 IRS-1의 인산화(S636/639)로 인한 분해를 촉진하게 되는데 이는 인슐린 저항성 발생의 한 기전으로 알려져 있다[13,14].

본 연구에서는 curcumin의 인슐린 저항성 개선 가능성을 확인하고자 고지방식이 급여로 유도한 비만 마우스에서 curcumin의 혈당 조절 기능 및 간 조직의 인슐린 신호전달체계에 미치는 영향을 분석함으로써 향후 제 2형 당뇨 개선용 기능성 식품 개발에 대한 실험적 근거를 마련하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험식이

실험동물은 4주령의 수컷 C57BL/6 마우스를 (주)코아텍(Busan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 마우스는 1주일 간 고형사료를 공급하여 실험환경에 적응시킨 후, 난괴법(randomized complete block design)에 따라 총 3군으로 정상식이군(Normal diet, ND), 고지방식이군(High fat diet, HFD), curcumin급여군(HFD+0.02% curcumin, CUR)으로 분류하였다. 식이 성분 조성은 AIN-76A purified diet조성을 바탕으로 Table 1과 같이 제조하였고 총 16주 동안 급여하였다. 실험기간 중 식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 모든 실험 식이는 신선하게 공급하기 위해 1 kg씩 조제하여 냉동보관 하였다가 1일 1회로 일정 시간에 공급하였다. 식이 섭취량은 실험기간 동안 매일 산정하였으며 체중은 1주일에 한 번씩 일정시간에 측정하였다. 식이섭취량은 식이 공급량에서 잔량을 감하여 계산하였고, 식이효율(food efficiency ratio, FER)은 체중 증가량(g/day)/식이섭취량(g/day)으로 계산하였다. 동물 사육실의 온도는 25 \pm 2 $^{\circ}$ C, 습도는 50 \pm 5%를 유지하였고 매일 광주기, 암주기를 12시간이 되도록 자동 조절한 환경에서 사육하였다.

표 1. 실험식이조성표

Table 1. Diet composition of experimental groups

Ingredients (g)	Groups ¹⁾		
	ND	HFD	CUR
Casein	200	200	200
D,L-methionine	3	3	3
Corn starch	150	111	111
Sucrose	500	370	370
Lard	0	170	170
Cellulose powder	50	50	50
Corn oil	50	30	30
Mineral mix(AIN-76) ²⁾	35	42	42
Vitamin mix(AIN-76) ³⁾	10	12	12
Choline bitartrate	2	2	2
Cholesterol	0	10	10
tert-Butylhydroquinone	0.01	0.04	0.04
curcumin	0	0	0.2
total(g)	1000.1	1000.04	1000.24
% Nutrients of calculated as calories			
Carbohydrate, kcal/kg (%energy)	2600(67.5)	1924(42.5)	1924(42.5)
Protein, kcal/kg (%energy)	800(20.8)	800(17.7)	800(17.7)
Fat, kcal/kg (%energy)	450(11.7)	1800(39.8)	1800(39.8)
Total energy, kcal/kg	3850	4524	4524

¹⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; CUR, HFD+0.02% curcumin.

²⁾Composition of AIN-76 mineral Mix (g/kg): calcium phosphate, dibasic 500.00; sodium chloride 74.00; potassium citrate, monohydrate 220.00; potassium sulfate 52.00; magnesium oxide 24.00; manganous carbonate (43-48% Mn) 3.50; ferric citrate (16-17% Fe) 6.00; zinc carbonate (70% ZnO) 1.60; cupric carbonate (53-55% Cu) 0.30; potassium iodate 0.01; sodium selenite 0.01; chromium potassium sulfate 0.55; sucrose, finely powdered 118.03.

³⁾Composition of AIN-76 vitamin mix (g/kg): thiamin hydrochloride 0.60; riboflavin 0.60; pyridoxine hydrochloride 0.70; nicotinic acid 3.00; D-calcium pantothenate 1.60; folic acid 0.20; D-biotin 0.02; cyanocobalamine 0.001; cholecalciferol (400,000IU/g) 0.25; manaquinone 0.005; ascorbic acid 0.20; sucrose, finely powdered 992.824.

2. 혈액 및 장기 채취

실험종료 전 12시간 절식 후, 실험동물은 CO₂로 마취를 하고 개복하여 복부 대정맥으로부터 헤파린(1000 IU/mL) 처리된 주사기를 사용하여 채혈하였다. 혈액은 13,200 rpm, 4°C에서 10분간 원심 분리하여 혈장을 분리한 후 -80°C 급속 냉동고에서 분석 전까지 보관하였다. 채혈 후 간과 췌장, 골격근, 부고환지방, 내장지방,

피하지방을 각각 적출하여 생리식염수에 세척 후 표면의 수분을 제거하여 무게를 측정하였다. 액체질소에 급속 동결 한 다음 즉시 -80°C 급속 냉동고에 보관하였다.

3. 혈액분석

혈장 포도당 농도와 인슐린 농도는 각각 글루코즈 측정용 시액(Asan kit, Seoul, Korea)과 mouse insulin ELISA KIT(U-type)(Shibayagi Co., Ltd. Gunma, Japan)를 사용하여 ELISA reader로 측정하였다. 혈장 triglyceride(TG), total-cholesterol(T-C) 및 high density lipoprotein-cholesterol(HDL-C) 농도 측정은 각각 TG, T-C 및 HDL-C 측정용 시액(Asan)을 사용하였다.

4. Western blot analysis

분석에 사용한 간 조직은 mild lysis buffer(10 mM Tris-HCl[pH 7.5], 100 mM NaCl, 1% NP-40, 50 mM NaF, 2 mM EDTA[pH 8.0], 1 mM DTT, 1 mM PMSF, 10 ug/ml leupeptin, 10 ug/ml aprotinin)를 사용하여 총 단백질을 용리시켜 균질화하였고 13,500 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리를 하여 상층액을 취하였다. BCA protein assay kit(Thermo, Rockford, IL, USA)를 이용하여 단백질 정량을 하였다. 정량한 단백질은 10% SDS-PAGE에서 분리하였고 gel을 poly-vinylidene difluoride membrane(PVDF, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)으로 트랜스퍼하였다. 5% skim milk 로 상온에서 1시간 blocking을 하고 1:1000 비율로 희석한 1차 항체 IgF-1R, p-Akt(Ser473), Akt, p-S6K1(Thr389), S6K1, Actin (Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA) 으로 4°C에서 O/N 반응시켰다. 0.1% Tris-buffered saline tween-20(TBST)로 10분씩 3번 세척하고 1:1000 비율로 희석한 2차 항체 (horseradish peroxidase - conjugated goat anti-rabbit, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)를 상온에서 1시간 반응시켰다. 0.1% TBST로 3번 세척한 후 enhanced luminol-based chemiluminescent kit(Bio Science technology, Pohang, Korea)를 이용하여 암실에서 medical X-ray film(CP-BU new; AGFA)에 노출시켜 현상하였다. Launch Vision Works LS 프로그램 (Gel Doc 2000, Bio-Rad Laboratories, Hercules, Italy)

을 이용하여 band를 정량하였다.

5. Glucose transporter 2 (GLUT2) mRNA 발현측정
간 조직의 total RNA는 RNAiso Plus (TaKaRa, Otsu, Japan)을 이용하여 제조사의 설명에 따라 분리하였다. First-strand complementary DNA (cDNA)는 PrimeScript 1st strand cDNA Synthesis Kit (TaKaRa, Otsu, Japan)를 사용하여 합성하였다. Template cDNA는 SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa, Otsu, Japan)을 사용하여 유전자 발현 분석을 하였다. 각 유전자의 발현을 분석할 수 있는 primer는 Macrogen (Seoul, Korea)에서 합성하였다. 95°C에서 30초 동안 초기 denaturation 한 후에 95°C에서 5초, 60°C에서 30초를 1 cycle로 하여 40회 반복시켰다. 각 cycle 마다의 형광신호를 감지하여 나타내는 threshold cycle, C(t) 값을 분석하여 CFX96 real time system (Bio-rad, Hercules, CA, USA)으로 각 실험 군 간의 mRNA 발현을 정량분석 하였다. Internal transcription marker로는 GAPDH를 사용하였으며 증폭 시 사용한 gene primer 염기서열은 다음과 같다. GLUT2: forward primer GCT GTC TCT GTG CTG CTT GT reverse primer CGT AAC TCA TCC AGG CGA AT; GAPDH forward primer GAG GGG CCA TCC ACA GTC TTC reverse primer CAT CAC CAT CTT CCA GGA GCG

6. 통계처리

실험의 모든 측정값은 SPSS(ver. 19, IBM, Armonk, NY, USA) 통계 처리 프로그램을 사용하였고, 각 항목에 따라 평균값±표준오차(Standard error, S.E.)를 구하였다. 각 군 간의 비교를 위해 ONE-Way ANOVA test를 하였고, 여러 군 간의 차이는 Duncan's multiple range test를 하여 유의 수준 P값이 0.05 이하일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. 체중 및 식이섭취량

16주 동안 식이를 공급한 결과 실험동물들의 체중증가량은 HFD군이 ND군에 비하여 유의적으로 높았으며 CUR군의 체중증가량은 ND군 수준으로 감소하였다 (Table 2). 식이 섭취량은 세 군 모두 비교하였을 때 유

의적으로 차이가 나지 않았다. 한편, FER은 HFD군이 가장 높았으며 CUR군의 FER은 ND군 수준으로 감소하였다.

표 2. 체중 증가량, 식이섭취량 및 식이효율

Table 2. Body weight gain, daily food intake and food efficiency ratio

	Groups ¹⁾		
	ND	HFD	CUR
BWG (g/day) ²⁾	0.16±0.03 ^b	0.30±0.03 ^a	0.19±0.05 ^b
DFI (g/day) ³⁾	3.86±0.17 ^{NS}	3.27±0.16	3.32±0.12
FER ⁴⁾	0.04±0.01 ^b	0.10±0.01 ^a	0.06±0.02 ^b

¹⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; CUR, HFD+0.02% curcumin.

²⁾BWG: body weight gain.

³⁾DFI: daily food intake.

⁴⁾FER: food efficiency ratio.

Food intake was recorded daily throughout the experiment and body weight was measure once a week. Body weight gain was calculated by (final body weight-initial body weight)/experimental period (days) of each mouse. Means with different letters within a row are significantly different from each other at $p<0.05$ as determined by Duncan's multiple range test. The alphabet a in the table was given to the largest number. NS: not significant

2. 혈장 지질 농도

식이급여실험 종료 후 혈장 지질 농도를 분석한 결과, 혈장 T-C 농도는 HFD군이 가장 높았고 CUR군은 ND군 수준으로 감소하였다(Table 3). HDL-C 농도는 CUR군이 다른 두 군과 비교하였을 때 유의적으로 높았으며, LDL-C 농도는 HFD군에서 가장 높았고 CUR군과 ND군이 같은 수준으로 나타났다. 혈장 TG 농도는 ND군과 HFD군의 유의적인 차이는 없었으며 CUR군(54.50±4.87 mg/dL)은 HFD군(70.18±4.53 mg/dL)에 비해 다소 감소하였으나 유의적인 차이는 없었다.

표 3. 혈장 지질 농도

Table 3. The levels of plasma lipids

	Groups ¹⁾		
	ND	HFD	CUR
T-C ²⁾ (mg/dl)	134.73±8.84 ^b	239.42±27.51 ^a	164.27±13.53 ^b
HDL-C (mg/dl)	52.29±5.47 ^b	57.08±0.30 ^{ab}	68.70±2.46 ^a
LDL-C (mg/dl) ³⁾	84.43±6.96 ^b	183.89±53.16 ^a	89.54±17.00 ^b
TG (mg/dl) ⁴⁾	85.44±7.93 ^a	70.18±4.53 ^{ab}	54.50±4.87 ^b

¹⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; CUR, HFD+0.02%curcumin

²⁾T-C, total cholesterol

³⁾LDL-C=Total cholesterol-HDL-C-(0.2*Triglyceride)

⁴⁾TG, triglyceride.

Means with different letters within a row are significantly different from each other at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test. The alphabet a in the table was given to the largest number.

3. 혈당 및 인슐린 저항성

혈장 포도당 및 인슐린 농도를 분석한 결과, 포도당 농도는 HFD군이 ND군에 비하여 유의적으로 증가하였으며 CUR군은 245.58±58.1 mg/dL로 HFD군(295.26±21.4 mg/dL)에 비해 16.8% 감소하였다(Table 4). 혈장 인슐린 농도는 HFD군이 1486.14±146.9 mg/dL로 ND군(522.17±43.5 mg/dL)에 비하여 유의적으로 증가하였으며, CUR군은 666.33±16.2 mg/dL로 HFD군의 인슐린 농도에 비해 55.2% 감소하였다.

표 4. 혈장 포도당 및 인슐린 농도

Table 4. Plasma glucose and insulin of mice

Plasma	Groups ¹⁾		
	ND	HFD	CUR
Glucose(mg/dl)	155.32±18.7 ^b	295.26± 21.4 ^a	245.58±58.1 ^{ab}
Insulin(pg/mL)	522.17±43.5 ^b	1486.14±146.9 ^a	666.33±16.2 ^b

¹⁾ND, normal diet; HFD, high fat diet; CUR, HFD+0.02%curcumin
 Means with different letters within a row are significantly different from each other at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test. The alphabet a in the table was given to the largest number.

4. 간 조직 GLUT2 발현

본 연구결과에서 CUR군의 혈당농도가 HFD군에 비해 유의적으로 감소하였으므로 curcumin이 간조직으로의 포도당 유입을 촉진하는 역할을 했는지를 알아보기

위하여 간조직 포도당 수송체인 GLUT2 mRNA 수준을 측정하였다. Fig. 1에서 보이는 바와 같이 HFD군의 GLUT2 mRNA 발현수준이 ND군에 비해 낮은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 그러나 CUR군의 간조직 GLUT2 mRNA 발현은 HFD군에 비해 현저하게 증가함을 보였다.

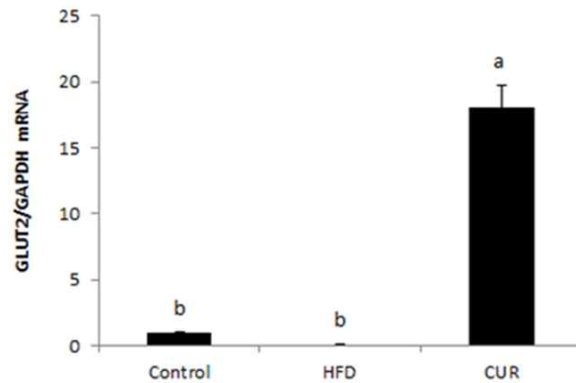


그림 1. 간조직 GLUT2 mRNA 발현

Figure 1. Liver mRNA expression of GLUT2.

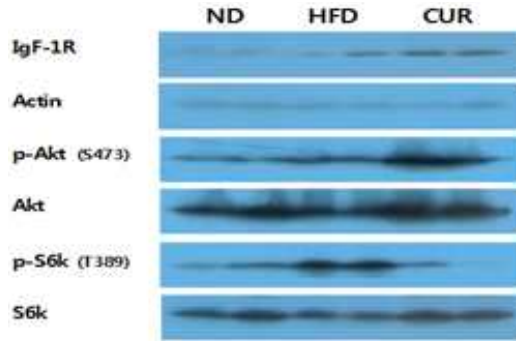
GLUT2 mRNA expression in liver was measured by qRT-PCR. Values are Mean ± S.E. Means with different letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test. The alphabet a in the figure was given to the largest number.

5. 인슐린 저항성 관련 신호전달체계

Table 4의 결과에서 나타난 바와 같이 고지방식이의 급여는 혈장 인슐린 농도를 상승시킨 반면 혈당은 오히려 ND군에 비해 증가하였다. 고지방식이의 급여가 인슐린 저항성을 유발하였는지, 그리고 curcumin 급여가 인슐린 저항성을 개선시켰는지를 확인하기 위하여 인슐린 신호전달체계에 관여하는 인슐린 유사 성장인자1 수용체 (insulin like growth factor-1 receptor, IGF-1), p-Akt, p-S6K1의 단백질 발현 수준을 간 조직에서 분석하였다. IGF-1R와 p-Akt의 발현은 ND군보다 HFD군에서 증가하였으며, CUR군에서 가장 많이 발현되었다(Fig. 2). 반면, p-S6K1의 발현량은 ND군보다 HFD군에서 높았으며 CUR군에서 가장 낮았다.

IV. 논 의

(A)



(B)

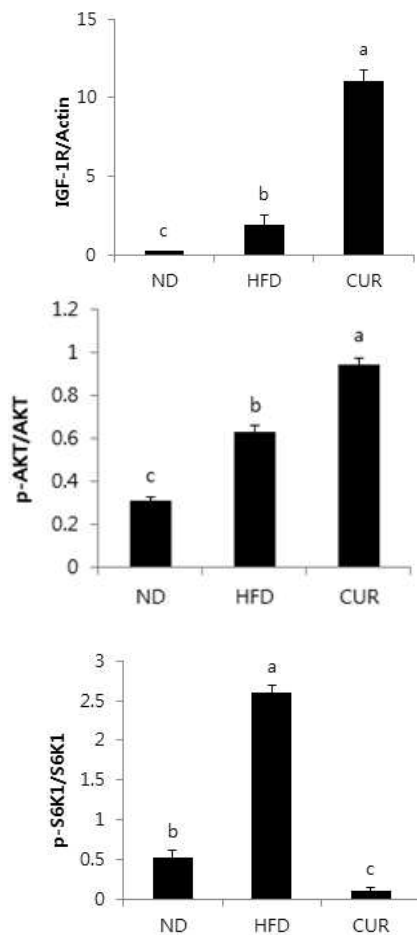


그림 2. 간조직 IGF-1R, p-Akt 및 p-S6K 단백질 발현
Figure 2. Protein expression of IGF-1R, p-Akt and p-S6K in liver.

(A) Representative western blot of the liver tissue. The protein levels were determined by immunoblotting with the appropriate antibodies, as indicated. (B) Quantification of IGF-1R, p-Akt and p-S6K protein in the liver tissue determined by densitometric analyses. Values are Mean \pm S.E. Means with different letters are significantly different from each other at $p < 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test. The alphabet a in the figure was given to the largest number.

수명연장과 생활방식의 서구화 등으로 인해 전 세계적으로 당뇨병 환자는 가파르게 증가하고 있다. 당뇨병은 한번 발병하면 치료가 어려우며 합병증을 동반하는 만성질환이라는 특징 때문에 국가적으로 그리고 환자 개인에 있어서도 의료비 부담과 삶의 질 저하 측면에서 조기진단과 예방을 위한 관리가 무엇보다도 중요하다 [15]. 당뇨병은 췌장 손상으로 인한 인슐린 분비 부족 때문에 발생하는 제1형과 인슐린은 분비되나 인슐린 수용체의 민감도 저하로 인해 인슐린이 작용을 하지 못하는 제2형으로 분류할 수 있다. 성인 당뇨병 환자의 약 90%는 제2형으로 비만으로 인한 인슐린 저항성 발생이 주요 원인이다. 본 연구에서는 제2형 당뇨 예방 및 관리를 위한 천연물 식품성분개발연구의 일환으로 식이성 비만 마우스에서 curcumin의 인슐린 저항성 개선을 통한 항비만, 항당뇨 효능을 확인하였다.

고지방식이급여로 비만을 유도하는 마우스 혹은 랫트 모델은 지방함량이 높은 서구식 식사와 비만, 그리고 제2형 당뇨를 포함한 비만합병증과의 상관관계를 이해하는데 중요한 실험모델중의 하나이다. 정상식이를 먹인 쥐들에 비해 고지방식이를 급여한 비만 쥐의 간과 근육에서 S6K1은 활성화되는 반면 IRS-1의 억제성 인산화(S636/639)는 증가하고 Akt의 활성화는 감소되는, 인슐린 저항성 관련 지표의 변화가 보고되었다[16]. S6K1 결핍 마우스에서는 S6K1으로부터 IRS-1으로의 음성피드백기전(negative feedback loop)의 부재로 인해 고지방식이의 급여에도 인슐린 민감성이 유지되는 것으로 보아[17] 영양적으로 풍부한 상태에서 S6K1이 인슐린 신호전달체계를 저해하는 역할을 하는 것으로 보인다. 그러나 이러한 현상은 마우스의 종, 성별, 그리고 조직별로 차이를 보이는데 Tsai SY 등(2016)의 연구에서는 고지방식이를 급여한 수컷 마우스의 근육과 지방 조직에서는 4E-BP1의 발현이 현저히 감소하였고 4E-BP1의 발현을 증가시켰을때는 고지방식이 유도 비만과 인슐린 저항성이 개선되었으나 암컷에서는 이러한 현상이 나타나지 않았다[18]. 총 16주 동안 정상식이 또는 고지방식이를 급여한 마우스의 골격근에서는 두 식이군 간에 S6K1(T389)과 IRS-1(S636)의 인산화에 차이가 없었고 mTORC1 억제제인 rapamycin을 처리했을 때에도 인슐린 저항성이 개선되지 않았다는 보고도 있

다[19]. 한편, 본 연구에서는 ND군에 비해 HFD군의 간 조직에서 Akt의 인산화가 증가하는 것으로 나타났는데 이는 아마도 HFD군에서 증가한 혈장 인슐린농도와 IGF-1R 발현에 의한 인슐린신호전달체계의 반응일 것으로 사료된다.

Curcumin의 항비만, 항당뇨 및 인슐린 민감도 개선 효능은 다양한 동물모델에서 보고되었는데 뇌조직의 포도당 이용과 인슐린 신호체계의 손상을 나타내는 알츠하이머질환 마우스모델에서 curcumin은 IGF-1R, IRS-2, p-Akt 등의 단백질 발현량을 증가시킴으로써 손상된 인슐린 신호체계를 개선시킴을 보였다[20]. 고지방식이(지방함량: 총 칼로리의 60%)를 급여한 C57BL/6 마우스에서 curcumin(80 mg/kg/day)을 12주동안 매일 경구투여 하였을 때에는 체중, 혈액과 간 및 지방조직의 지방함량, 혈당, 그리고 인슐린 저항성 등이 고지방식이군에 비해 유의적으로 감소하였다[21]. 또한 근육조직에서 인슐린 자극에 대한 IRS-1과 Akt 단백질의 활성화가 증가되는 인슐린 신호체계의 개선도 보였다. C2C12 근육세포에서 curcumin의 처리는 세포막 GLUT4의 발현과 포도당 수송을 증가시켰고[22] streptozotocin으로 유도한 당뇨쥐에서는 췌장의 GLUT2 발현과 포도당 수송을 유지시킴으로써 혈당상승을 예방하였다[23]. 본 연구모델에서는 고지방식이급여에 의해 증가된 체중, 혈당, 혈장 지질함량, 인슐린 저항성이 0.02% curcumin 첨가에 의해 감소함을 보인 반면 혈당조절에 가장 중요한 역할을 하는 장기중의 하나인 간조직에서 인슐린 민감도와 GLUT2 발현이 증가함을 보임으로써 curcumin이 간조직 포도당 수송과 이용에도 좋은 효과를 나타냄을 보였다는데 의의가 있다.

V. 결론

본 연구에서는 고지방식이로 유도된 제2형 당뇨모델에서 curcumin의 항당뇨효과를 규명하기 위하여 C57BL/6 마우스에 16주 동안 0.02%의 curcumin을 급여한 후 체중, 혈당 및 지질의 변화를 확인하고 IGF-1 receptor를 통한 mTORC1 신호전달체계에 미치는 영향을 분석하였다. 체중증가량은 정상군과 curcumin섭취군이 고지방식이군에 비하여 유의적으로 감소하였으며 혈장 포도당 및 인슐린 농도는 curcumin을 급여한 군이 고지방식이군에 비하여 유의적으로 감소하였다. 혈장

T-C 농도는 고지방식이군에 비하여 curcumin 급여군에서 유의적인 감소가 나타났다. HDL-C 농도는 curcumin섭취군이 고지방식이군과 비교하였을 때 유의적으로 높았으며 그와 반면에 LDL-C 농도는 고지방식이군에 비해 curcumin 섭취군이 유의적으로 낮았다. 또한 간 조직에서 IGF-1R와 Akt의 활성을 증가시킨 반면 S6K1 활성은 감소시킨 것으로 보아 insulin signaling을 증가시킴으로써 인슐린 저항성 및 지질대사를 개선시킨 것으로 사료된다. 여러 임상시험결과, curcumin 중재는 건강한 정상인의 혈당에는 영향을 미치지 않는 반면 내당능장애와 같은 당뇨 전 단계나 제2형 당뇨환자의 혈당은 유의적으로 감소시키는 것으로 나타나[24-26] 앞으로 지속적으로 curcumin의 세포내 작용기전을 연구하여 당뇨 예방 및 치료를 위한 다양한 건강기능성 식의약품으로 개발할 가치가 있을 것으로 사료된다.

References

- [1] Korean Diabetes Association, "Diabetes Fact Sheet in Korea" 2016.
- [2] J. A. Martyn, M. Kaneki and S. Yasuhara, "Obesity-induced insulin resistance and hyperglycemia: etiologic factors and molecular mechanisms," *Anesthesiology*, Vol. 109, No. 1, pp. 137-148, Jul 2008.
- [3] O. Osborn and J. M. Olefsky, "The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease," *Nature medicine*, Vol. 18, No. 3, pp. 363 - 374, March 2012.
- [4] S. Tateya, F. Kim and Y. Tamori, "Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance," *Frontiers in endocrinology*, Vol. 4, No. 93, pp. 1-14, Aug 2013.
- [5] L. Van Gaal and A. Scheen, "Weight management in type 2 diabetes: current and emerging approaches to treatment," *Diabetes Care*, Vol. 38, No. 6, pp. 1161-1172, Jun 2015.
- [6] S. Prasad, S. C. Gupta, A. K. Tyagi and B. B. Aggarwal, "Curcumin, a component of golden spice: from bedside to bench and back," *Biotechnology advances*, Vol. 32, No. 6, pp. 1053-1064, Nov 2014.
- [7] P. G. Bradford, "Curcumin and Obesity," *Biofactors*, Vol. 39, No. 1, pp. 78 - 87, Jan 2013.
- [8] B. B. Aggarwal, "Targeting Inflammation-Induced Obesity and Metabolic Diseases by Curcumin and Other

- Nutraceuticals,” Annual review of nutrition, Vol. 30, pp. 173 - 199, Aug 2010.
- [9] A. S. Jiménez-Osorio, A. Monroy and S. Alavez, “Curcumin and insulin resistance—Molecular targets and clinical evidences,” *Biofactors*, Vol. 42, No. 6, pp. 561–580, Nov 2016.
- [10] Z. Ghorbani, A. Hekmatdoost and P. Mirmiran, “Anti-hyperglycemic and insulin sensitizer effects of turmeric and its principle constituent curcumin,” *International journal of endocrinology and metabolism*, Vol. 12, No. 4, pp. e18081, Oct 2014.
- [11] A. Takaguri, K. Satoh, M. Itagaki, Y. Tokumitsu and K. Ichihara, “Effects of Atorvastatin and Pravastatin on Signal Transduction Related to Glucose Uptake in 3T3L1 Adipocytes,” *Journal of pharmacological sciences*, Vol. 107, No. 1, pp. 80 - 89, May 2008.
- [12] R. C. Russell, C. Fang and K. L. Guan, “An emerging role for TOR signaling in mammalian tissue and stem cell physiology,” *Development*, Vol. 138, No. 16, pp. 3343–3356, Aug 2011.
- [13] M. Laplante and D. M. Sabatini, “mTOR signaling in growth control and disease,” *Cell*, Vol. 149, No. 2, pp. 274 - 293, Apr 2012.
- [14] L. Khamzina, A. Veilleux, S. Bergeron and A. Marette, “Increased Activation of the Mammalian Target of Rapamycin Pathway in Liver and Skeletal Muscle of Obese Rats: Possible Involvement in Obesity-Linked Insulin Resistance,” *Endocrinology*, Vol. 146, No. 3, pp. 1473 - 1481, Dec 2005.
- [15] I. S. Yoo, “The study of health care utilization and direct medical cost in the diabetes mellitus client,” *The journal of the convergence on culture technology*, Vol. 1, No. 4, pp. 87–91, Nov 2015.
- [16] L. Khamzina, A. Veilleux, S. Bergeron and A. Marette, “Increased activation of the mammalian target of rapamycin pathway in liver and skeletal muscle of obese rats: possible involvement in obesity-linked insulin resistance,” *Endocrinology*, Vol. 146, No. 3, pp. 1473–1481, Mar 2005.
- [17] S. H. Um, F. Frigerio, M. Watanabe, F. Picard, M. Joaquin, M. Sticker, S. Fumagalli, P. R. Allegrini, S. C. Kozma, J. Auwerx and G. Thomas, “Absence of S6K1 protects against age- and diet-induced obesity while enhancing insulin sensitivity,” *Nature*, Vol. 431, No. 7005, pp. 200–205, Sep 2004.
- [18] S. Y. Tsai, A. A. Rodriguez, S. G. Dastidar, E. Del Greco, K. L. Carr, J. M. Sitzmann, E. C. Academia, C. M. Viray, L. L. Martinez, B. S. Kaplowitz, T. D. Ashe, A. R. La Spada and B. K. Kennedy, “Increased 4E-BP1 Expression Protects against Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance in Male Mice,” *Cell reports*, Vol. 16, No. 7, pp. 1903–1914, Aug 2016.
- [19] T. H. Reynolds 4th, N. Cinquino, M. Anthony, C. B. Phelps and E. Zachary Berk, “Insulin resistance without elevated mammalian target of rapamycin complex 1 activity in muscles of mice fed a high-fat diet,” *Journal of applied physiology*, Vol. 107, No. 5, pp. 1479–1485, Nov 2009.
- [20] P. Wang, C. Su, H. Feng, X. Chen, Y. Dong, Y. Rao, Y. Ren, J. Yang, J. Shi, J. Tian and S. Jiang, “Curcumin regulates insulin pathways and glucose metabolism in the brains of APPswe/PS1dE9 mice,” *International journal of immunopathology and pharmacology*, Vol. 30, No. 1, pp. 25–43, Mar 2017.
- [21] L. Ding, J. Li, B. Song, X. Xiao, B. Zhang, M. Qi, W. Huang, L. Yang and Z. Wang, “Curcumin rescues high fat diet-induced obesity and insulin sensitivity in mice through regulating SREBP pathway,” *Toxicology and applied pharmacology*, Vol. 304, pp. 99–109, Aug 2016.
- [22] T. C. Cheng, C. S. Lin, C. C. Hsu, L. J. Chen, K. C. Cheng and J. T. Cheng, “Activation of muscarinic M-1 cholinergic receptors by curcumin to increase glucose uptake into skeletal muscle isolated from Wistar rats,” *Neuroscience letters*, Vol. 465, No. 3, pp. 238–241, Nov 2009.
- [23] M. Kanitkar, K. Gokhale, S. Galande and R. R. Bhonde, “Novel role of curcumin in the prevention of cytokine-induced islet death in vitro and diabetogenesis in vivo,” *British journal of pharmacology*, Vol. 155, No. 5, pp. 702–713, Nov 2008.
- [24] L. X. Na, Y. Li, H. Z. Pan, X. L. Zhou, D. J. Sun, M. Meng, X. X. Li and C. H. Sun, “Curcuminoids exert glucose-lowering effect in type 2 diabetes by decreasing serum free fatty acids: a double-blind, placebo-controlled trial,” *Molecular nutrition and food research*, Vol. 57, No. 9, pp. 1569–1577, Sep 2013.
- [25] S. Chuengsamarn, S. Rattanamongkolgul, R. Luechapudiporn, C. Phisalaphong and S.

Jirawatnotai, "Curcumin extract for prevention of type 2 diabetes," *Diabetes Care*. Vol. 35, No. 11, pp. 2121-2127, Nov 2012.

- [26] M. Tang, D. E. Larson-Meyer and M. Liebman, "Effect of cinnamon and turmeric on urinary oxalate excretion, plasma lipids, and plasma glucose in healthy subjects," *The American journal of clinical nutrition*, Vol. 87, No. 5, pp. 1262-2167, May 2008.

※ 이 결과는 2014년도 대구가톨릭대학교 교내 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.