

## Zinc와 Arachidonic Acid가 고 Fructose 식이로 유도된 인슐린 저항성에 미치는 영향

최철수<sup>1</sup> · 김영욱<sup>2</sup> · 이효선<sup>3</sup> · 윤태호<sup>3</sup> · 조병만<sup>3</sup> · 이수일<sup>3</sup> · 김성수<sup>3</sup> · 황인경<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>가천의과학대학교

<sup>2</sup>마산 삼성병원

<sup>3</sup>부산대학교 의학전문대학원

### Effects of Zinc Plus Arachidonic Acid on Insulin Resistance in High Fructose-Fed Rats

Chul-Soo Choi<sup>1</sup>, Young-Wook Kim<sup>2</sup>, Hyo-Sun Lee<sup>3</sup>, Tae-Ho Yoon<sup>3</sup>, Byung-Mann Cho<sup>3</sup>,  
Soo-Il Lee<sup>3</sup>, Sung-Soo Kim<sup>3</sup>, and In-Kyung Hwang<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Gachon University of Medicine and Science, Incheon 406-799, Korea

<sup>2</sup>Masan Samsung Hospital, Gyeongnam 630-522, Korea

<sup>3</sup>College of Medicine, Pusan National University, Gyeongnam 626-813, Korea

#### Abstract

We previously demonstrated that zinc plus arachidonic acid (ZA) treatment lowered blood glucose levels in streptozotocin-induced diabetic rats, genetically diabetic obese (ob/ob) mice, and genetically diabetic, non-obese Goto-Kakizaki rats. However, plasma insulin levels did not increase with ZA treatment, suggesting that ZA lowers blood glucose levels not by stimulating pancreatic insulin secretion. However, it is unclear whether these agents lower blood glucose levels by decreasing hepatic glucose output (HGO) or by increasing glucose utilization in peripheral tissues, or both. In order to determine ZA target organ of insulin action, we divided 18 Sprague-Dawley rats weighing ~130 g into 3 groups (6 rats per group) and treated them for four weeks with: (1) Control diet (regular rat chow), (2) High fructose (60.0%) diet only, and (3) the same fructose diet plus zinc (10 mg/L) and arachidonic acid (50 mg/L) containing drinking water. After 4 weeks, insulin action was assessed using the hyperinsulinemic euglycemic clamp technique. Food intake and body weights were comparable in all three groups of rats throughout the study period. Plasma glucose and insulin concentrations, glucose uptake, and HGO in the basal state were all the same in these three rat groups. During the clamp study, fructose-treated and fructose+ZA treated rat groups did not exhibit any detectable change on insulin-mediated glucose uptake compared to controls. High fructose feeding impaired insulin mediated suppression of HGO, compared to controls during clamp (4.39 vs. 2.35 mg/kg/min;  $p < 0.05$ ). However, ZA treatment in high fructose-fed rats showed a remarkable increase in hepatic insulin sensitivity compared to high fructose-fed rats, reflected by a complete recovery in suppression of HGO during the clamp (4.39 vs. 2.18 mg/kg/min;  $p < 0.05$ ). This data suggests that ZA increases insulin sensitivity in liver but not glucose utilization of peripheral tissues in high fructose-fed rats.

**Key words:** zinc, arachidonic acid, fructose, hepatic glucose output

#### 서 론

국내 인구의 급속한 노령화 및 비만인구의 증가로 우리나라에서도 최근 당뇨병 인구가 폭발적으로 증가하고 있다. 연천 및 정읍지역 30세 이상 인구에서 약 7~8%의 유병률을 보이고 있어(1), 우리나라 당뇨병 유병률이 1990년대 말 구미선진국의 유병률을 초과하였으며 2005년에는 8.3%에 달하는 것으로 보고되었다(2). 당뇨병의 대부분을 차지하는 제 2형 당뇨병은 인슐린 저항성과 상대적인 인슐린 분비능의

저하로 발생하며 인슐린저항성이 당뇨병 발생의 선행하는 원인인자로 인지되고 있다(3,4). 현재 당뇨병의 혈당조절에 이용되고 있는 약제는 인슐린과 경구용인 sulfonylurea, metformin, troglitazone 등이 있다. 인슐린이나 sulfonylurea는 단순히 혈중 인슐린의 농도만을 증가시키는 것으로 혈중 포도당 농도의 항상성을 유지하지 못하므로 혈당 등으로 인한 심각한 합병증이 발생되며 특히 sulfonylurea의 경우는 체중을 증가시키는 문제점이 있다. Metformin과 troglitazone은 인슐린의 저항성을 감소시키는 약제이나 met-

\*Corresponding author. E-mail: ikhwang@pusan.ac.kr  
Phone: 82-51-510-8030, Fax: 82-51-510-8038

formin은 lactic acidosis 등의 부작용이 있으며(5,6), troglitazone은 치명적인 간장 장애로 인해 미국 FDA에 의해 판매 중지된 상태이다(7,8). 그러므로 혈중 포도당 농도를 거의 정상 수준으로 유지하면서도 부작용이 없는 새로운 혈당강하제의 개발이 필요하다.

Zinc(Zn)는 체내 필수적인 미량금속이며 인슐린분자와 함께 결정체로  $\beta$ -cell 내에 존재하여 인슐린의 합성과 분비에 직접 관여할 뿐만 아니라, Zn는 인슐린 저항성의 주요 병리기전 중 하나인 insulin receptor substrate-1의 auto-phosphorylation을 활성화시킴으로써 당 흡수(glucose uptake)를 증가시키며, 인슐린의 분해를 저하시켜서 인슐린의 활성을 증가시키는 것으로 추정된다(9-14). 그러나 제2형 당뇨병에서 혈중과 조직에서의 zinc 농도와 그 흡수 능력은 저하되어 있으며(15,16), zinc 결핍 상태에서는 인슐린의 합성, 분비와 당 이용(glucose utilization) 능력이 저하되어 있다(17,18). 그러므로 정상적인 zinc 농도의 유지는 제2형 당뇨병의 병리작용 완화에 도움을 줄 것으로 유추되어지나 zinc대사 이상을 이미 가지고 있는 당뇨병환자의 치료에 zinc를 단독으로 사용하는 것으로는 그 효과가 뚜렷하지 않은 것으로 보고되어 있다(19,20).

Prostaglandin(PG)과 그 전구체인 arachidonic acid(AA)는 세포막의 구성 성분으로서 호르몬 및 신경 전달 물질의 분비와 효소 작용, 이온 수송 등 세포의 여러 가지 생물학적 작용에 관여하며(21-26), 인슐린 분비와 감수성 증가를 비롯하여 여러 가지 포도당 대사에 영향을 미친다(27-31). 그러나 당뇨병에서 고농도의 포도당은 이들의 합성을 방해하여 여러 가지 세포 기능의 저하를 초래한다(32-35). 또한 AA 및 PG는 zinc-chelating agent로 작용하여 소장에서의 zinc 흡수를 증가시키고, 근육 조직에서의 zinc의 운반 및 당 흡수를 증가시키는 것으로 나타났다(36-38). 이전의 동물 실험에서 Zinc plus AA(ZA)는 Streptozotocin-induced diabetic Sprague-Dawley rat(type 1 diabetes model), Goto-Kakizaki Wistar rat(type 2 diabetes without obesity), ob/ob mouse(type 2 diabetes with obesity)에서 혈당 강하 효과를 나타내었고(27,38,39), high fat fed rat(diet-induced insulin resistance)에서 인슐린 감수성을 증가시켰다(unpublished data). 그러므로 당뇨병에서 ZA는 zinc의 이용도(bioavailability)와 생화학적 기능을 향상시킴으로써 이들 실험동물에서 당 이용도 증가시키는 것으로 유추되어진다.

High-fructose fed rat는 normal rat에 고 fructose 식이를 제공하여 만들어진 당뇨 모델로서 당 내성(glucose intolerance)을 가진 환자에서 나타나는 syndrome X와 유사하게 인슐린 저항성(insulin-resistance), 고혈압, 고트리글리세라이드혈중(hypertriglyceridemia) 등의 대사 이상이 함께 나타나는 특징을 나타낸다(40-43). 그리하여 탄수화물 섭취와 인슐린 감수성에 대한 연구와 새로 개발되는 혈당 조절 약제의 효과를 검증하는 연구에도 많이 활용되고 있는, 식이로 유발

된 당뇨병 실험동물이다.

따라서 본 연구에서는 고 fructose 식이를 섭취한 Sprague-Dawley rat에 AA와 zinc를 섭취시켰을 때 첫째, 고 fructose 식이가 Sprague-Dawley rat에서 인슐린 저항성에 미치는 영향을 알아보았으며, 둘째, AA 및 Zn의 섭취가 고 fructose 식이로 유도된 인슐린 저항성을 예방할 수 있는가를 알아보았으며, 마지막으로 AA 및 Zn이 인슐린 저항성을 호전시키는 작용에 있어서 간의 포도당 생성률(hepatic glucose output, HGO)과 말초조직의 포도당 흡수(glucose uptake)에 미치는 영향을 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

약 130 g의 male Sprague-Dawley rats(Samtaco, Korea)을 구입하여 Control(normal chow diet), Fructose군(high-fructose diet), Fructose+ZA군(high-fructose diet+ZA in drinking water)의 3군으로 각각 6마리씩 나눈 뒤 항온( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) 사육실(12 hr of light, 06:00~18:00 hr; 12 hr of dark, 18:00~06:00 hr)에서 사육하였다. Table 1과 같이 먹이와 물을 4주간 공급하면서 3일 간격으로 체중, 먹이 및 물 섭취량을 측정하였다. Zn, L-histidine(zinc-chelating agent), AA의 농도는 선행 연구들에서 Zn 10 mg/L, L-histidine(zinc-chelating agent) 0.5 mg/L, AA 0, 10, 20, 50 및 100 mg/L의 다양한 농도에 대한 연구가 이루어졌으며, 이 중 AA 50 mg/L에서 가장 효과적인 것으로 나타난 결과에 근거하여 선택되었다(27,38,39).

Normal chow diet는 0.025 g zinc와 634.24 g dextrose/kg diet, high-fructose diet는 dextrose를 대신하여 634.24 g fructose/kg diet를 포함하는 synthetic diet를 공급하였다. 그 구성 성분(g/kg diet)은 Table 2와 같다.

### Hyperinsulinemic euglycemic clamp: whole body study

**준비:** 실험 조건에 백서를 적응시키기 위해 최소 실험 4일 전 실험 cage에 백서를 한 마리씩 옮겨 백서의 꼬리를 실험 cage의 벽에 난 구멍을 통해 밖으로 노출시킨 뒤 고정하였다. 이 과정은 실험동안 백서의 꼬리에 설치된 catheter를 보호하기 위함이며 꼬리의 일부를 고정하여도 백서는 물과 음식을 먹는 데는 전혀 장애가 없도록 하였다. 실험 전날

Table 1. Diet and treatments of rats

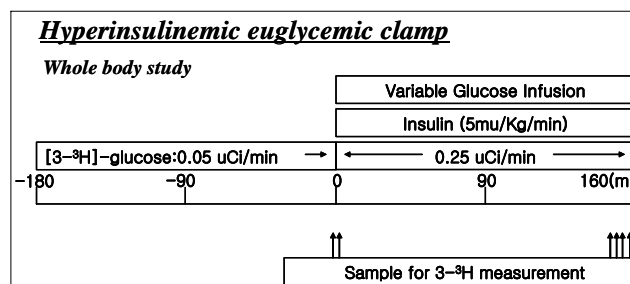
Group	Diet	Treatment (/L drinking water)
Control	Normal chow diet	Distilled water
Fructose	High-fructose diet	Distilled water
Fructose+ZA	High-fructose diet	10 mg zinc, 0.5 mg L-histidine, 50 mg AA

Table 2. Diet composition (g)

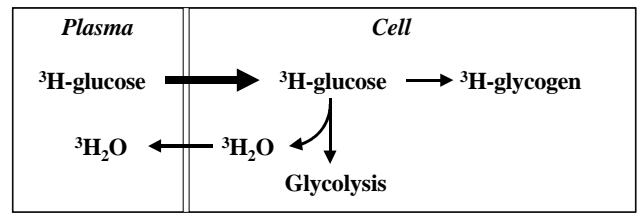
	Control	Fructose
Casein	200	200
Dextrose, monohydrate	634.24	—
Fructose	—	634.24
Corn oil	100	100
Cellulose	30	30
Vitamin mix	10	10
Biotin	0.004	0.004
Ethoxyquin	0.02	0.02
Zinc chloride	0.025	0.025
Calcium phosphate	19.767	19.767
Magnesium sulfate	2.4752	2.4752
Potassium chloride	2.2882	2.2882
Sodium chloride	0.7781	0.7781
Ferrous chloriden	0.2	0.2
Manganese sulfate	0.1662	0.1662
Cupric sulfate	0.0151	0.0151
Potassium iodate	0.0004	0.0004
Chromium potassium sulfate	0.02	0.02

백서의 꼬리 정맥에 2개의 catheter를 설치하고, 실험 당일 아침 꼬리 동맥에 1개의 catheter를 설치한다. Catheter 설치 후에 다시 백서의 꼬리를 이전과 같이 cage의 벽을 통해 고정시키고 3시간 뒤부터 clamp를 시행하였다. 동맥 catheter의 혈액응고를 예방하기 위해 heparinized saline(10 U/mL)을 0.016 mL/min 속도로 주입하였다(44).

**Hyperinsulinemic euglycemic clamp:** 공복 상태에서 간의 기저 포도당 생성률(basal hepatic glucose output)을 측정하기 위해 [3-<sup>3</sup>H]glucose(HPLC purified; NEN, Boston, MA)를 0.05 μCi/min의 속도로 3시간 동안 주입하면서 마지막 15분 및 5분전에 채혈하여 혈중 [<sup>3</sup>H]glucose를 측정하였다. 이후 160분간 hyperinsulinemic euglycemic clamp를 시행하였다. Regular insulin(Lilly, USA)을 5 mU/kg/min 속도로 주입하면서 10분 간격으로 채혈하여 plasma glucose를 측정하여 20% dextrose의 주입속도(glucose infusion rate)를 조절하면서 plasma glucose를 기저상태인 100 mg/dL에 clamp하였다. Hyperinsulinemic euglycemic clamp 중 insulin stimulated whole body glucose fluxes를 측정하기 위해 [3-<sup>3</sup>H]glucose를 0.25 μCi/min의 속도로 주입하였다. 포도당 흡수의 변화를 측정하기 위해 120분 이후 10분마다 채혈하여 [<sup>3</sup>H]glucose와 <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O 농도를 측정하였다. 또 -15, -5, 60, 150분 채혈하여 혈액 내 인슐린 농도를 측정하였다(44).



**분석 및 측정:** whole body glucose flux 측정: Plasma glucose는 Beckman glucose analyzer II(Beckman, CA, USA)로, 기저상태의 인슐린은 rat insulin kit(RI-13K, Linco Research, USA), clamp 중 인슐린은 human insulin kit(HI-14HK, Linco Research, USA)를 이용하여 RIA방법으로 측정하였으며, 혈장은 ZnSO<sub>4</sub>와 Ba(OH)<sub>2</sub>로 protein을 제거한 후 [<sup>3</sup>H]glucose와 <sup>3</sup>H<sub>2</sub>O 농도를 측정하였다. Whole body glucose uptake, hepatic glucose output(HGO)는 아래의 원리로 계산하였다(44,45).



$$\text{Glucose uptake} = \frac{[3\text{-}^3\text{H}]\text{glucose infusion rate}}{[3\text{-}^3\text{H}]\text{glucose SA (specific activity)}}$$

$$\text{HGO} = \text{glucose uptake} - \text{glucose infusion rate}$$

통계분석

실험결과는 실험군당 mean ± SEM으로 표시하였으며, 통계처리는 SPSS version 11.0(SPSS Inc., Chicago, USA)을 이용하였다. 각 군 간의 평균치에 대한 유의성 검정은 one-way ANOVA를 실시하였고, 다군 간의 통계적 유의성은 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple test에 의해 검정하였다.

결 과

실험대상 동물의 체중, 먹이, 물의 섭취량 변화

4주 동안의 실험기간 중 Control군(normal chow diet), Fructose군(high-fructose diet) 및 Fructose+ZA군(high-fructose diet+ZA treatment) 간의 체중변화, 먹이 및 물의 섭취량에는 유의한 차이를 나타내지 않았다(Fig. 1, 2).

공복 시(basal state) 혈장 포도당, 인슐린 농도 및 간의 포도당 생성률(basal hepatic output)

Clamp study를 위하여 12시간 공복 후 기저 상태(basal state)에서 측정된 혈장 포도당, 인슐린 농도 및 간의 포도당 생성률은 Control군과 Fructose군 간의 차이가 없었다(Table 3).

Hyperinsulinemic euglycemic clamp: whole body study

160분간의 hyperinsulinemic euglycemic clamp 실험 중 인슐린을 5 mU/kg/min의 속도로 점적 주사하여 혈중 인슐린 농도를 생리적 인슐린 농도에서 일정하게 유지하였을 때, 세 군에서 인슐린 농도의 유의한 차이는 보이지 않았다. 혈중 포도

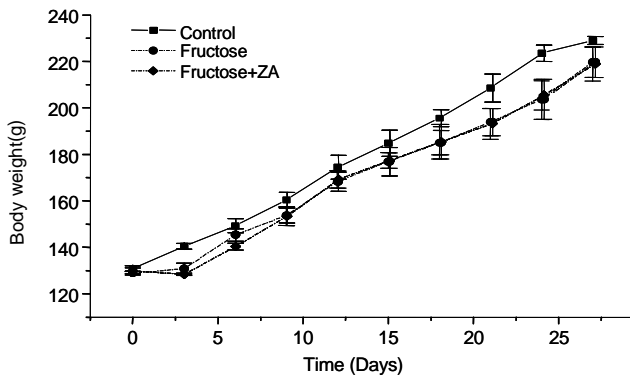


Fig 1. Effects of zinc plus arachidonic acid (ZA) treatments on body weights in the Control, fructose-fed (Fructose) and fructose-fed+ZA (Fructose+ZA) treated Sprague-Dawley rats.

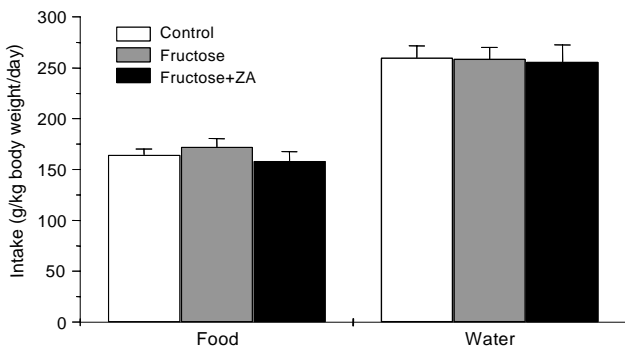


Fig. 2. Effects of zinc plus arachidonic acid (ZA) treatments on food and water intakes in the Control, fructose-fed (Fructose) and fructose-fed+ZA (Fructose+ZA) treated Sprague-Dawley rats.

Table 3. Metabolic characteristics of the rats during the basal state

	Control (n=6)	Fructose (n=6)	Fructose+ZA <sup>1)</sup> (n=6)
Plasma glucose (mg/dL)	89.7±3.11 <sup>2)</sup>	85.5±2.66	85.3±2.67
Plasma insulin (μIU/mL)	9.12±0.48	7.43±2.88	6.24±2.64
HGO (mg/kg/min)	5.51±0.22	5.42±0.18	5.38±0.30

<sup>1)</sup>ZA: Zinc plus arachidonic acid.

<sup>2)</sup>Data are means±SEM.

당 농도는 공복 시에 비해 약 100 mg/dL로 clamp 되었으나 군 간의 유의적 차이는 나타내지 않았다. Hyperinsulinemic

euglycemic clamp 실험 중 측정된 전신 인슐린감수성 지표인 glucose uptake는 Control군과 Fructose군 사이에 유의한 차이를 발견하지 못하였다. 그러나 간의 인슐린 감수성 지표인 HGO에 대해서는 Fructose군에서 Control군에 비하여 유의적으로 증가되었고( $p<0.05$ ), Fructose+ZA군에서 대조군의 수준으로 감소되는 경향을 보였다(Table 4, Fig. 3, 4).

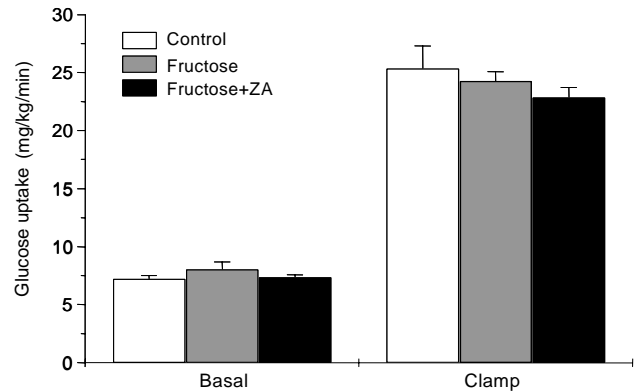


Fig. 3. Effects of zinc plus arachidonic acid (ZA) treatments on glucose uptakes during the basal and hyperinsulinemic euglycemic clamp periods in the Control, fructose-fed (Fructose) and fructose-fed+ZA (Fructose+ZA) treated Sprague-Dawley rats.

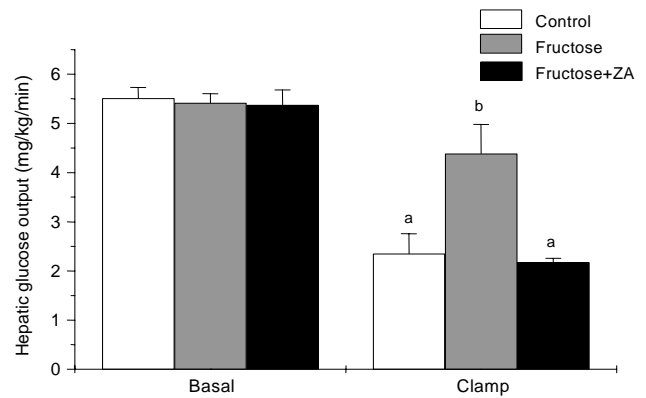


Fig. 4. Effects of zinc plus arachidonic acid (ZA) treatments on hepatic glucose output (HGO) during the basal and hyperinsulinemic euglycemic clamp periods in the Control, fructose-fed (Fructose) and fructose-fed+ZA (Fructose+ZA) treated Sprague-Dawley rats. Different letters on the bar indicate a significant difference at  $p<0.05$ .

Table 4. Metabolic characteristics of the rats during the hyperinsulinemic euglycemic clamp period

	Control (n=6)	Fructose (n=6)	Fructose+ZA <sup>1)</sup> (n=6)
Plasma glucose (mg/dL)	100.1±2.92 <sup>2)</sup>	101.2±2.75	100.6±2.3
Plasma insulin (μIU/mL)	102.4±1.82	100.9±5.86	97.2±4.58
Glucose uptake (mg/kg/min)	25.41±1.90	24.31±0.79	22.87±0.83
HGO <sup>3)</sup> (mg/kg/min)	2.35±0.41 <sup>4)</sup>	4.39±0.59 <sup>b</sup>	2.18±0.58 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>ZA: Zinc plus arachidonic acid.

<sup>2)</sup>Data are means±SEM.

<sup>3)</sup>HGO: Hepatic glucose output.

<sup>4)</sup>Means with the different letters in HGO are significantly different by Duncan's multiple range test ( $p<0.05$ ).

## 고 찰

인슐린은 간에서 포도당 신생과 당원 분해를 억제하여 포도당 생성을 억제하며, 말초조직에서 포도당 이용을 증가시키는데 인슐린 저항성 상태에서는 간에서의 포도당 생성억제 장애와 말초조직의 포도당 이용이 감소된다. 이런 인슐린의 작용 및 기전에 대한 수많은 연구와 정보에도 불구하고 당뇨병의 병리기전은 아직 완전히 파악되지 않고 있다. 제2형 당뇨병 발병의 선행 원인으로 알려진 인슐린저항성은 주로 비만 및 고지방식이에 의해 유발되며 인슐린저항성은 전신비만보다는 간, 근육 등 인슐린에 의한 당질 대사에 중요한 조직에서 지방의 축적과 밀접한 관계가 있으며, 축적된 지방 중 특이한 지질대사체가 인슐린 신호전달의 억제를 통하여 인슐린저항성의 발생에 직접 관여하는 것으로 알려지고 있다(46-50). 이중 glucose fatty acid cycle(Randle's cycle)(27,51-53), hexosamine pathway(54,55), diacylglycerol-PKC  $\theta$ (46,47,56,57), ceramide(58) 등의 기전이 활발히 연구되어지고 있다.

Dai와 McNeill(59)에 의하면 streptozotocin-diabetic rat과 nondiabetic rat에 fructose를 섭취시켰을 때 nondiabetic rat에서 혈중 인슐린이 상승하였다고 보고하였으며, Hwang 등(60)도 fructose를 섭취시킨 정상 쥐에서 인슐린 저항성과 고인슐린 혈증(hyperinsulinemia)을 관찰하였다고 보고하였다.

이전의 연구에서 ZA는 streptozotocine으로 당뇨를 유발한 rat, 선천적으로 당뇨와 비만을 가진 mice, 비만 없이 당뇨만 가진 Goto-Kakizaki rat에서 zinc와 arachidonic acid는 혈당 수준을 감소시켰으나, 혈장 인슐린 수준은 감소시키지 못하였다고 하였으며, 이것은 ZA가 췌장의 인슐린 분비를 자극하지 않고 혈당 수준을 감소시키는 것이라 보고하였다(27,38,39). 그러나 ZA가 혈당을 감소시키는 것에 있어서 HGO의 감소나 말초조직에서 포도당 흡수 증가로 혈당 수준을 감소시키는가에 관해 명확하게 밝혀지지 않았다. 따라서 본 연구에서는 고 fructose 식이를 섭취시켜 인슐린 저항성을 유발한 쥐에서 ZA의 섭취가 인슐린작용에 미치는 기전을 밝히고자 하였다.

4주 동안의 실험기간 중 Control군(normal chow diet), Fructose군(high-fructose diet)과 Fructose+ZA군(high-fructose diet+ZA treatment) 간의 체중, 먹이 및 물의 섭취량에는 유의한 차이를 나타내지 않았는데(Fig. 1, 2), 이는 고 fructose 식이 유발 인슐린 저항성을 가진 rats에서 troglitazone의 효과를 관찰한 Lee 등의 연구(61)와도 일치하는 결과였다. 따라서 ZA의 섭취는 식욕의 감퇴나 체중의 저하를 유발하지 않는 것으로 사료된다.

공복 시(basal state) 혈장 포도당, 인슐린 농도 및 간의 포도당 생성률(basal hepatic output)을 알아보기 위해 clamp study 실험 전 12시간 공복 후 기저 상태(basal state)

에서 혈장 포도당, 인슐린 농도 및 간의 포도당 생성률을 측정하였다. Control군과 Fructose군 간의 차이가 없었다(Table 3). Stark 등(62)에 의하면 fructose를 3개월간 섭취시킨 Sprague-Dawley rat에서 혈장 포도당과 인슐린의 상승이 나타나지 않았다고 보고하였으며, Hwang 등(60)도 2주간 고 fructose 식이를 섭취시킨 정상 쥐에서 혈장 인슐린 농도에는 변화가 없다고 보고하였다. 이것으로 볼 때 본 연구에서 fructose 섭취는 이전의 여러 연구들과 일치되는 결과를 나타내었으며 공복 시 혈당이나 혈중 인슐린 농도에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 또한 Fructose+ZA군에서도 Control군과 차이를 나타내지 않았는데 이것은 이전의 연구들(27,38,39)에서 보고된 것처럼 ZA의 섭취가 정상적인 rats에서는 과도한 혈당 저하 등과 같은 부작용을 유발하지 않는 것으로 사료된다. 그러나 Song 등(27)은 Streptozotocin으로 당뇨를 유발한 쥐에서 ZA의 섭취는 혈장의 인슐린 농도에는 영향을 미치지 않았으나 혈장 포도당의 수준은 낮았다고 보고하였다. 이것은 streptozotocin으로 췌장을 손상시켜 당뇨를 유발시킨 후 ZA의 혈당 저하 효과를 관찰한 것으로 제1형 당뇨에 해당되며, fructose를 이용한 본 실험과는 차이가 있다고 사료된다.

기저상태에서 간의 포도당 생성률 역시 모든 군에서 차이를 나타내지 않았다. 간은 혈당 조절에 있어서 중요한 역할을 하는데, postabsorptive state에서 plasma glucose는 간의 포도당 생성률과 말초 조직에서의 포도당 이용에 의해 조절되며 이것은 인슐린과 글루카곤에 의해 영향을 받는다(63). 기저상태에서 혈장의 인슐린 농도가 모든 군에서 일정하게 나타난 것을 볼 때 인슐린의 변화가 없는 기저상태에서는 간의 포도당 생성률에 영향을 미치지 않은 것으로 생각된다.

인슐린 감수성을 알아보기 위해 hyperinsulinemic euglycemic clamp 실험에서 인슐린 농도와 포도당 농도는 군 간의 차이를 나타내지 않게 일정하게 유지되었다. 말초조직의 인슐린감수성 지표인 포도당 흡수에서 세군간의 차이를 발견하지 못하였다. 그러나 간의 인슐린 감수성 지표인 간의 포도당 생성률에서는 Fructose군이 Control군에 비하여 유의적으로 증가되었고( $p < 0.05$ ), Fructose+ZA군이 대조군의 수준으로 감소되었다(Table 4, Fig. 3, 4). 이전의 연구들은 fructose 식이가 glucose clamp study에서 인슐린의 작용을 방해하여 간의 포도당 생성률을 증가시키고 포도당 흡수를 감소시킨다고 보고한 반면(13,15), Koivisto와 Yki-Jarvinen(64)과 Thorburn 등(65)은 fructose 식이가 인슐린 저항성을 유발하지 않는다고 보고하였다. 또한 Tobey 등(66)은 fructose 식이 rats에서 인슐린 저항성을 유발하였을 때 근육에서 포도당 흡수는 감소되지 않았으나, 간의 포도당 생성률을 억제하는 인슐린의 활성은 감소되었다고 보고하였다. 이것으로 볼 때 본 실험에서 fructose와 ZA의 섭취는 인슐린 저항성과 관련된 말초조직의 포도당 흡수에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 그러나 간의 포도당 생성률에 대해서는

fructose 식이 유도 인슐린 저항성 rats에서 troglitazone의 효과를 관찰한 Lee 등(61)의 연구와 pioglitazone이 고 fructose 식이 rats에서 간의 포도당 생성률을 개선시키는 것을 보고한 Ikeda와 Fujiyama(67)와 유사하게 fructose군에서 증가된 간의 포도당 생성률이 ZA treatment에 의해 감소되는 양상을 나타내었다. 따라서 ZA는 간의 포도당 생성률을 억제하여 인슐린 저항성을 조절하는 것으로 확인하였다. 그러나 혈장 포도당과 인슐린, 포도당 흡수 등에 미치는 fructose 식이의 영향에 대해서는 논란이 있는 만큼 인슐린 저항성 유발과 관련된 다양한 연구를 수행하고, 이에 대한 ZA의 섭취 효과 연구도 함께 이루어져야 할 것이다.

이상의 연구 결과에서 fructose 식이는 간에서 인슐린 감수성을 감소시켜 인슐린 저항성을 유발하였으나, ZA 섭취가 간의 포도당 생성률을 억제하는 것으로 보아 간에서의 인슐린 감수성을 호전시키는 것으로 사료되어진다. ZA는 말초조직의 포도당 이용에는 영향을 미치지 않았으며 정상적인 인슐린 감수성을 가진 rats에 대해서는 혈당저하와 같은 부적절한 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 이전의 여러 연구에서 fructose가 인슐린 저항성을 유발한다고 보고하였지만 한편으로는 차이가 없다는 보고도 있는 것으로 미루어 볼 때 향후 인슐린 저항성 유발을 위한 좀 더 효과적인 방법을 개발하고, 실험 대상 동물 수를 증가시키는 등의 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. Zn와 AA는 여러 당뇨 동물 모델들을 대상으로 한 이전의 많은 연구와 본 연구를 통하여 그 효과가 인정되므로 향후 당뇨 질환에 대한 예방 및 치료를 위한 신약 개발에 기여를 할 것으로 기대되어진다.

## 요 약

고 fructose 식이를 섭취시켜 제 2형 당뇨를 유발한 쥐에서 ZA의 섭취가 혈당 조절에 미치는 기전을 밝히고자 하였다. 4주 동안의 실험기간 중 Control군(normal chow diet), Fructose군(high-fructose diet)과 Fructose+ZA군(high-fructose diet+ZA treatment) 간의 체중, 먹이 및 물의 섭취량에는 유의한 차이를 나타내지 않았다( $p < 0.05$ ). 기저상태(basal state)에서 혈장 포도당, 인슐린 농도 및 간의 포도당 생성률을 측정된 결과 Control군과 Fructose군 및 Fructose+ZA군 간의 차이를 나타내지 않았다. 인슐린 감수성을 알아보기 위한 hyperinsulinemic euglycemic clamp 실험에서 인슐린 농도와 포도당 농도는 군 간의 차이를 나타내지 않았다. 또한 인슐린 감수성 지표인 포도당 흡수(glucose uptake)에서도 역시 군 간의 차이를 발견하지 못하였다. 그러나 간의 인슐린 감수성 지표인 간의 포도당 생성률(HGO)에서는 Fructose군이 Control군에 비하여 유의적으로 증가되었고( $p < 0.05$ ), Fructose+ZA군이 대조군의 수준으로 감소되었다. 이것으로 미루어 볼 때 fructose 식이는 간에서 인슐린 감수성을 감소시켰으나 당뇨는 유발되지 않았으며, ZA 섭취

가 간의 포도당 생성률을 억제하는 것으로 보아 인슐린 감수성을 증가시키지만, 말초조직의 포도당 이용에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유 과제 학술 연구비(2년) 지원에 의하여 연구되었음.

## 문 헌

1. Kim YI, Choi CS, Kim SW, Kim HK, Kim CH, Park JY, Hong SK, Lee KU. 1998. Prevalence of Diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in Korean adults living in Jungup district, South Korea. *Diabetes. J Korean Diabetes Assoc* 22: 363-371.
2. Ministry of Health & Welfare. 2006. (*Illness of adults*), *The Third Korea National Health and Nutrition examination survey (KNHANESIII)*, 2005.
3. Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR. 1990. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med* 113: 909-915.
4. Lillioja S, Mott DM, Howard BV, Bennett PH, Yki-Jarvinen H, Freymond D, Nyomba BL, Zurlo F, Swinburn B, Bogardus C. 1988. Impaired glucose tolerance as a disorder of insulin action: longitudinal and cross-sectional studies in Pima Indians. *N Engl J Med* 318: 1217-1225.
5. Bailey CJ. 1999. Insulin resistance and antidiabetic drugs. *Biochem Pharmacol* 55: 1511-1520.
6. Nazawa S, Cleveland T, Gaines PA, Chan P. 1998. Clinical risk associated with contrast angiography in metformin treated patients: a clinical review. *Clin Radiol* 53: 342-344.
7. Neuschwander-Tetri BA, Isley WL, Oki JC, Ramrakhiani S, Quiason SG, Phillips NJ, Brunt EM. 1998. Troglitazone-induced hepatic failure leading to liver transplantation. A case report. *Ann Intern Med* 129: 38-41.
8. Gitlin N, Julie NL, Spurr CL, Lim KN, Juarbe HM. 1998. Two cases of severe clinical and histological hepatotoxicity associated with troglitazone. *Ann Intern Med* 129: 36-38.
9. Song MK, Adham NF, Heng MC, Costea NV, Heng MK, Ament ME. 1995. Metabolic alterations of zinc and prostaglandins in both human and animal colonic tumor cells. *J Am Coll Nutr* 14: 473-479.
10. Chausmer AB. 1998. Zinc, Insulin and diabetes. *J Am Coll Nutr* 17: 109-115.
11. Tuvemo T, Ewald U, Kobbah M, Proos L. 1997. Serum magnesium and protein concentrations during the first five year of insulin-depednet diabetes in children. *Acta Pediatr Suppl* 418: 7-10.
12. Sleder J, Chen YD, Cully MD, Reaven GM. 1980. Hyperinsulinemia in fructose-induced hypertriglyceridemia in the rat. *Metabolism* 29: 303-305.
13. Thorburn AW, Storlien LH, Jenkins AB, Khouri S, Kraegen EW. 1989. Fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. *Am J Clin Nutr* 49: 1155-1163.
14. Pamies-Andreu E, Fiksen-Olsen M, Rizza RA, Romero JC. 1995. High-fructose feeding elicits insulin resistance without hypertension in normal mongrel dogs. *Am J Hypertens* 8: 732-738.

15. Zavoroni I, Sander S, Scott S, Reaven GM. 1980. Effect of fructose feeding on insulin secretion and insulin action in the rat. *Metabolism* 29: 970-973.
16. Storlien LH, Oakes ND, Pan DA, Kusunoki M, Jenkins AB. 1993. Syndromes of insulin resistance in the rat: inducement by diet and amelioration with benfluorex. *Diabetes* 42: 457-462.
17. Kinlaw WB, Levine AS, Moreley JE, Silvis SE, McClain CJ. 1983. Abnormal zinc metabolism in type II diabetes mellitus. *Am J Med* 75: 273-277.
18. Chooi MK, Todd JK, Boyd ND. 1976. Influence of age and sex on plasma zinc levels in normal and diabetic individuals. *Nutr Metab* 20: 135-142.
19. Halstead JA, Smith JC Jr, Irwin MI. 1974. A conspectus of research of zinc requirements of man. *J Nutr* 104: 345-349.
20. Arver S. 1982. Zinc and zinc ligands in human seminal plasma. III. the principal low molecular weight zinc ligand in prostatic secretion and seminal plasma. *Acta Physiol Scand* 116: 67-73.
21. Borkman M, Storlien LH, Pan DA, Jenkins AB, Chisholm DJ, Campbell LV. 1993. The relationship between insulin resistance and the fatty acid composition of phospholipids of skeletal muscle. *N Engl J Med* 328: 238-244.
22. Glasgow WC, Afshari CA, Barrett JC, Eling TE. 1992. Modulation of the epidermal growth factor mitogenic response by metabolites of linoleic and arachidonic acid in Syrian hamster embryo fibroblasts. Differential effects in tumor suppressor gene (+) and (-) phospholipid fatty acid composition in genetically lean (Fa/Fa) or obese (fa/fa) Zucker female phenotypes. *J Biol Chem* 267: 10771-10779.
23. Handler JA, Danilowicz RM, Eling TE. 1990. Mitogenic signaling by epidermal growth factor (EGF), but not platelet-derived growth factor, requires arachidonic acid metabolism in BALB/c 3T3 cells. Modulation of EGF-dependent c-myc expression by prostaglandins. *J Biol Chem* 265: 3669-3673.
24. Izawa T, Mochizuki T, Komabayashi Y, Suda K, Tsuboi M. 1994. Increase in cytosolic free Ca<sup>2+</sup> in corticotropin-stimulated white adipocytes. *Am J Physiol* 266: E418-426.
25. Landt M, Easom RA, Colca JR, Wolf BA, Turk J, Mills LA, McDaniel ML. 1992. Parallel effects of arachidonic acid on insulin secretion, calmodulin-dependent protein kinase activity and protein kinase C activity in pancreatic islets. *Cell Calcium* 13: 163-172.
26. Satoh T, Cohen HT, Katz AI. 1992. Intracellular signaling in the regulation of renal Na-K-ATPase. I. Role of cyclic AMP and phospholipase A2. *J Clin Invest* 89: 1496-1500.
27. Song MK, Rosenthal MJ, Hong SJ, Harris DM, Hwang IK, Yip I, Golub MS, Ament ME, Go VL. 2001. Synergistic anti-diabetic activities of zinc, cyclo (his-pro) and arachidonic acid. *Metabolism* 50: 53-59.
28. Miller GD, Keen CL, Stem JS, Uriu-Hare JY. 1998. Copper deficiency and arachidonic acid enhance insulin secretion in isolated pancreatic islets from lean (Fa/Fa) Zucker rats. *Pancreas* 17: 390-396.
29. Aalusha PV, Caldwell A. 1983. Prostaglandins and diabetes mellitus. In *Diabetes mellitus, theory and practice*. 3rd ed. Ellenberg M, Rifkin H, eds. Medical Examination Publishing Co., New York, p 295-308.
30. Robertson RP. 1984. Prostaglandins, glucose homeostasis and diabetes mellitus. *Med Clin North Am* 65: 759-771.
31. Robertson RP, Chen M. 1977. A role for prostaglandin E in defective insulin secretion and carbohydrate intolerance in diabetes mellitus. *J Clin Invest* 60: 747-753.
32. Harrison HE, Reece AH, Johnson M. 1978. Decreased vascular prostacyclin in experimental diabetes. *Life Sci* 23: 351-356.
33. Subbiah MTR, Deitemeyer D. 1980. Altered synthesis of prostaglandins in platelet and aorta from spontaneously diabetic Wistar rats. *Biochem Med* 23: 231-235.
34. Johnson M, Harrison HE, Raftery AT, Elder HB. 1979. Vascular prostacyclin may be reduced in diabetes in man. *Lancet* I: 325-326.
35. Karageuzyan KG, Vartanyan GS, Agadjanov MI, Panossian AG, Hault JR. 1998. Restoration of the disordered glucose-fatty acid cycle in alloxan-diabetic rats by trihydroxyoctadecadienoic acids from *Bryonia alba*, a native Armenian medicinal plant. *Planta Med* 64: 417-422.
36. Song MK, Mooradian AD. 1988. Intestinal zinc transport: Influence of streptozotocin-induced diabetes, insulin and arachidonic acid. *Life Sci* 42: 687-694.
37. Rosenthal MJ, Hwang IK, Song MK. 2001. Effects of arachidonic acid and cyclo (his-pro) on zinc transport across small intestine and muscle tissues. *Life Sci* 70: 337-348.
38. Hwang IK, Go VL, Harris DM, Yip I, Song MK. 2002. Effects of arachidonic acid plus zinc on glucose disposal in genetically diabetic (ob/ob) mice. *Diabetes Obes Metab* 4: 124-131.
39. Song MK, Hwang IK, Rosenthal MJ, Harris DM, Yamaguchi DT, Yip I, Go VL. 2003. Antidiabetic actions of arachidonic acid and zinc in genetically diabetic Goto-Kakizaki rats. *Metabolism* 52: 7-12.
40. Sharabi Y, Oron-Herman M, Kamari Y, Avni I, Peleg E, Shabtay Z, Grossman E, Shamiss A. 2007. Effect of PPAR-gamma agonist on adiponectin levels in the metabolic syndrome: lessons from the high fructose fed rat model. *Am J Hypertens* 20: 206-210.
41. Bi XP, Tan HW, Xing SS, Wang ZH, Tang MX, Zhang Y, Zhang W. 2008. Overexpression of TRB3 gene in adipose tissue of rats with high fructose-induced metabolic syndrome. *Endocr J* 55: 747-752.
42. Stanhope KL, Havel PJ. 2008. Endocrine and metabolic effects of consuming beverages sweetened with fructose, glucose, sucrose, or high-fructose corn syrup. *Am J Clin Nutr* 88: 1733S-1737S.
43. Bray GA, Nielson SJ, Popkin BM. 2004. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr* 79: 537-543.
44. Choi CS, Lee FN, Youn JH. 2001. Free fatty acids induce peripheral insulin resistance without increasing muscle hexosamine pathway product levels in rats. *Diabetes* 50: 418-424.
45. Choi CS, Kim YB, Lee FN, Zabolotny JM, Kahn BB, Youn JH. 2002. Lactate induces insulin resistance in skeletal muscle by suppressing glycolysis and impairing insulin signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283: E233-240.
46. Shulman GI. 2000. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 106: 171-176.
47. Shulman GI. 2004. Unraveling the cellular mechanism of insulin resistance in humans: new insights from magnetic resonance spectroscopy. *Physiology (Bethesda)* 19: 183-190.
48. Petersen KF, Shulman GI. 2006. New insights into the pathogenesis of insulin resistance in humans using magnetic resonance spectroscopy. *Obesity (SilverSpring)* 14: 34S-40S.
49. Summers SA, Nelson DH. 2005. A role for sphingolipids in producing the common features of type 2 diabetes, metabolic syndrome X, and Cushing's syndrome. *Diabetes* 54:

- 591-602.
50. Lowell BB, Shulman GI. 2005. Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science* 307: 384-387.
  51. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. 1963. The glucose fatty-acid cycle its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1(7285): 785-789.
  52. Randle PJ, Kerbey AL, Espinal J. 1988. Mechanisms decreasing glucose oxidation in diabetes and starvation: role of lipid fuels and hormones. *Diabetes Metab Rev* 4: 623-638.
  53. Randle PJ, Priestman DA, Mistry S, Halsall A. 1994. Mechanisms modifying glucose in diabetes mellitus. *Diabetologia* 37(suppl 2): s155-s161.
  54. Marshall S, Bacote V, Traxinger RR. 1991. Discovery of a metabolic pathway mediating glucose-induced desensitization of the glucose transport system: role of hexosamine biosynthesis in the induction of insulin resistance. *J Biol Chem* 266: 4706-4712.
  55. Rossetti L, Hawkins M, Chen W, Gindi J, Barzilai N. 1995. In vivo glucosamine infusion induces insulin resistance in normoglycemic but not in hyperglycemic conscious rats. *J Clin Invest* 96: 132-140.
  56. Choi CS, Fillmore JJ, Kim JK, Liu ZX, Kim S, Collier EF, Kulkarni A, Distefano A, Hwang YJ, Kahn M, Chen Y, Yu C, Moore IK, Reznick RM, Higashimori T, Shulman GI. 2007. Overexpression of uncoupling protein 3 in skeletal muscle protects against fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 117: 1995-2003.
  57. Choi CS, Savage DB, Abu-Elheiga L, Liu ZX, Kim S, Kulkarni A, Distefano A, Hwang YJ, Reznick RM, Codella R, Zhang D, Cline GW, Wakil SJ, Shulman GI. 2007. Continuous fat oxidation in acetyl-CoA carboxylase 2 mutant mice increases total energy expenditure, reduces fat mass, and improves insulin sensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 16480-16485.
  58. Hajduch E, Balendran A, Batty IH, Litherland GJ, Blair AS, Downes CP, Hundal HS. 2001. Ceramide impairs the insulin-dependent membrane recruitment of protein kinase B leading to a loss in downstream signaling in L6 skeletal muscle cells. *Diabetologia* 44: 173-183.
  59. Dai S, McNeill JH. 1992. Effects of fructose loading in streptozotocin-diabetic and nondiabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol* 70: 1583-1589.
  60. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. 1987. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 10: 512-516.
  61. Lee MK, Miles PDG, Khoursheed M, Gao KM, Moossa AR, Olefsky JM. 1994. Metabolic effects of troglitazone on fructose-induced insulin resistance in the rat. *Diabetes* 43: 1435-1439.
  62. Stark AH, Timar B, Madar Z. 2000. Adaptation of Sprague Dawley rats to long-term feeding of high fat or high fructose diets. *Eur J Nutr* 39: 229-234.
  63. Ishida T. 2000. Insulin resistance and liver. *Nippon Rinsho* 58: 348-356.
  64. Koivisto VA, Yki-Jarvinen H. 1993. Fructose and insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes. *J Intern Med* 233: 145-153.
  65. Thorburn AW, Crapo PA, Griver K, Wallace P, Henry RR. 1990. Long-term effects of dietary fructose on carbohydrate metabolism in NIDDM. *Metabolism* 39: 58-63.
  66. Tobey TA, Mondon CE, Zavaroni I, Reaven GM. 1982. Mechanism of insulin resistance in fructose-fed rats. *Metabolism* 31: 608-612.
  67. Ikeda T, Fujiyama K. 1998. The effect of pioglitazone on glucose metabolism and insulin uptake in the perfused liver and hindquarter of high-fructose-fed rats. *Metabolism* 47: 1152-1155.

(2009년 2월 4일 접수; 2009년 3월 24일 채택)