

# Glucagon과 insulin이 glutathione 항상성에 미치는 영향 : 세포신호전달체계 및 glutathione transport system의 역할

김봉희, 오정민, 윤강욱, 김충현, 김상겸\*

충남대학교 약학대학, 충남대학교 형질전환 복제돼지 센터

## Effects of Glucagon and Insulin on Glutathione Homeostasis : Role of Cellular Signaling Pathways and Glutathione Transport System

Bong-Hee Kim, Jung Min Oh, Kang Uk Yun,  
Chung Hyeon Kim and Sang Kyum Kim\*

College of Pharmacy and Research Center for Transgenic Cloned Pigs,  
Chungnam National University, Daejeon 305-763, Korea

### ABSTRACT

It has been reported that hepatic glutathione (GSH) levels are decreased in diabetic patients, and glucagon increases hepatic efflux of GSH into blood. The signaling pathways responsible for mediating the glucagon effects on GSH efflux, however, are unknown. The signaling pathways involved in the regulation of GSH efflux in response to glucagon and insulin were examined in primary cultured rat hepatocytes. The GSH concentrations in the culture medium were markedly increased by the addition of glucagon, although cellular GSH levels are significantly decreased by glucagon. Insulin was also increased the GSH concentrations in the culture medium, but which is reflected in elevations of both cellular GSH and protein. Treatment of cells with 8-bromo-cAMP or dibutyryl-cAMP also resulted in elevation of the GSH concentrations in the culture medium. Pre-treatment with H89, a selective inhibitor of protein kinase A, before glucagon addition markedly attenuated the glucagon effect. These results suggest that glucagon changes GSH homeostasis via elevation of GSH efflux, which may be responsible for decrease in hepatic GSH levels observed in diabetic condition. Furthermore, the present study implicates cAMP and protein kinase A in mediating the effect of glucagon on GSH efflux in primary cultured rat hepatocytes.

**Key words :** glutathione, glucagon, insulin, hepatic efflux, cellular signaling

### 서 론

Glutathione (GSH)은 glutamate, cysteine 그리고

glycine으로 구성된 tripeptide로 세포에서 millimolar 농도로 가장 풍부하게 존재하는 thiol이다(Meister and Anderson, 1983). GSH는 환원력을 가지는 sulfhydryl 관능기를 이용하여 산화성 물질의 무독화에 기여한다. 특히 GSH S-transferase와 GSH peroxidase/GSH reductase는 GSH를 이용하여 친전자

\* To whom correspondence should be addressed.  
Tel: +82-42-821-5930, E-mail: sangkim@cnu.ac.kr

성 대사체와 활성산소종을 제거한다(Sies, 1999). 또한 GSH는 반응성이 강한 아미노산인 cysteine의 수송체 및 저장체로 기능한다(Stipanuk, 2004). 결과적으로 GSH는 세포 사멸, 세포 신호전달, 세포 분열, 세포소기관의 기능 조절 등의 역할을 수행한다(Sies, 1999).

대표적인 대사질환인 당뇨병(diabetes mellitus) 합병증의 주요한 원인으로 보고되고 있는 산화적 손상은 인슐린 저항성(insulin resistance)과 비알코올성 지방간염(non-alcoholic steatohepatitis)과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다(Baynes and Thorpe, 1999; West, 2000; Neuschwander-Tetri and Caldwell, 2003). 당뇨병에서 산화적 손상의 기전으로는 염증반응에 의한 활성산소종의 증가, 포도당의 자발적인 산화, 지방산과 케톤체 증가에 의한 독성, 미토콘드리아에서 활성산소종의 생성 증가 등이 제안되고 있다(Abdelmegeed *et al.*, 2004). 또한 산화적 손상을 억제하는 항산화 효소의 발현 역시 인슐린과 글루카곤에 의해 변동되는 것으로 보고되었다(Kim *et al.*, 2003a, b; Kim *et al.*, 2004; Kim *et al.*, 2006a, b; Kim and Novak, 2007).

당뇨병 환자의 적혈구에서 GSH 농도는 감소하며 이러한 감소는 산화적 손상에 세포를 민감하게 한다(Yoshida *et al.*, 1995; Jain *et al.*, 2000). 간세포에 인슐린의 처리는 GSH의 합성을 매개하는 효소의 발현을 증가시키는 것으로 보고되었으며(Lu *et al.*, 1992) 반면 글루카곤은 간에서 혈액으로 GSH의 유리를 증가시키는 것으로 보고되었다(Lu *et al.*, 1990). 그러나 글루카곤의 영향을 매개하는 세포신호전달체계는 현재까지 연구되지 않았다. 본 연구의 목표는 일차 배양 랫트 간세포 실험계에서 글루카곤과 인슐린이 GSH의 efflux에 미치는 영향과 이를 매개하는 세포신호전달체계를 규명하는 것이다.

## 재료 및 방법

### 1. 시 약

Modified Chee's medium과 L-glutamine은 Invitrogen (Carlsbad, CA)에서 인슐린은 Novo Nordisk Pharmaceuticals Inc. (Princeton, NJ)에서 구입하였다. Collagenase (type I)은 Worthington Biochemicals (Freehold, NJ)에서, vitrogen (95~98% type I

collagen, 2~5% type III collagen)은 Cohesion Technologies Inc. (Palo Alto, CA)에서 구입하였다. H89와 KT5720은 Calbiochem (La Jolla, CA)에서 Glucagon, 8-bromo-cAMP (Br-cAMP), dibutyryl-cAMP (DB-cAMP)과 기타 시약은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)에서 구입하였다.

### 2. 랫트 간세포의 분리 및 배양

간세포(hepatocytes)는 웅성 Sprague-Dawley 랫트(200~300 g)에서 collagenase를 관류하여 분리하였다(Kim *et al.*, 2005). 간세포를 60 mm 배양접시에  $3 \times 10^6$  cells로 가하고  $1 \mu\text{M}$ 의 인슐린이 첨가된 배지에서 4시간 동안 배양하여 간세포를 배양접시에 부착시켰다. 인슐린이 없는 배지로 2회 세척하여 미부착된 세포와 인슐린을 제거하고 2시간 동안 안정시킨 후 인슐린, 글루카곤, Br-cAMP 또는 DB-cAMP를 처리하였다. Protein kinase A (PKA)의 억제제인 KT5720과 H89는 DMSO에 녹여  $-20^\circ\text{C}$ 에서 보관하였다. PKA 억제제는 글루카곤을 처리하기 1.5시간 전에 전처리하였다. 세포의 생존을 확인하기 위해 MTT assay와 LDH (lactate dehydrogenase) assay를 수행하였다.

### 3. GSH 정량

세포의 GSH 함량은 전에 보고된 방법을 사용하였다(Kim *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2006b). 세포를 6% perchloric acid에서 끊어 1.5 mL tube에 모으고 원심분리하여 상등액을 시료로 사용하였다. 세포배양 배지에서 GSH 농도는 배지에 부피비 10%로 6% perchloric acid를 가하고 원심분리한 후 상등액을 시료로 사용하였다. GSH는 O-phthalaldehyde로 유도체화하고 형광검출기와 C18 컬럼을 장착한 HPLC를 사용하여 분리 및 정량하였다. 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 BCA (bicinchoninic acid) 방법으로 정량하였다.

### 4. 통계 분석

실험군 사이의 통계적 차이는 analysis of variance 후 Newman-Keuls multiple comparison test ( $P < 0.05$ )로 검사하였다. 실험결과와 재현성은 2~4 회의 간세포 분리를 통하여 확인하였다. 모든 실험

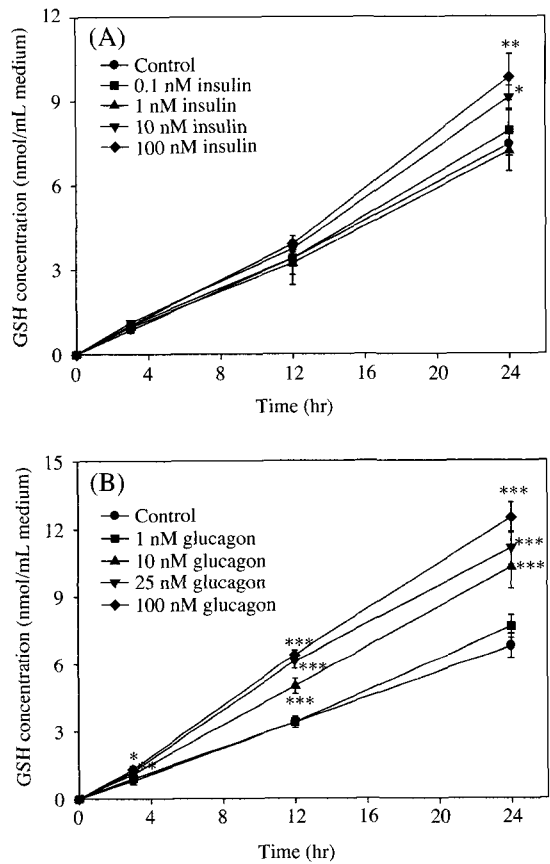
결과는 평균±표준편차로 표시하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 글루카곤과 인슐린이 간세포에서 GSH의 efflux에 미치는 영향

일차 배양 랫트 간세포 실험계에서 글루카곤과 인슐린이 GSH의 efflux에 미치는 영향을 세포배양 배지에서 GSH의 농도를 시간별로 측정하여 평가하였다(Fig. 1). 배양에 사용하지 않은 세포배양 배지인 Chee's medium에서는 GSH가 검출되지 않았다(data not shown). 인슐린의 처리는 24시간 동안 세포를 배양한 배지에서 10 nM부터 GSH의 농도를 증가시켰다. 그러나 GSH의 배출속도를 세포의 단백질 함량으로 환산하였을 대조군의 값은  $0.50 \pm 0.04$  nmol/hr/mg protein이었으며 이 값은 인슐린을 0.1, 1, 10, 그리고 100 nM로 처리하였을 경우 각각  $0.52 \pm 0.06$ ,  $0.44 \pm 0.05$ ,  $0.48 \pm 0.04$  그리고  $0.55 \pm 0.04$  nmol/hr/mg protein로 유의적인 차이가 없었다. 간세포에서 측정된 GSH의 농도는 대조군에서  $30.7 \pm 1.9$  nmol/mg protein이었으며 이 값은 인슐린의 농도가 0.1, 1, 10 그리고 100 nM로 증가함에 따라 각각  $30.4 \pm 2.2$ ,  $33.4 \pm 0.3$ ,  $38.9 \pm 0.6$  그리고  $38.3 \pm 2.8$  nmol/mg protein으로 인슐린의 농도에 의존적인 증가가 관찰되었다. 따라서 인슐린에 의한 세포배양배지에서 GSH의 증가는 단백질 함량의 증가와 세포에서 GSH 합성 증가의 반영으로 보인다.

글루카곤의 처리는 3시간부터 세포배양 배지에서 GSH의 농도를 증가시켰으며 이 현상은 글루카곤의 농도에 의존적이었다(Fig. 1B). GSH의 배출속도를 계산하면 대조군의 값은  $0.51 \pm 0.03$  nmol/hr/mg protein이었으며 이 값은 글루카곤을 1, 10, 25 그리고 100 nM로 증가시켰을 경우 각각  $0.58 \pm 0.04$ ,  $0.74 \pm 0.07$ ,  $0.79 \pm 0.05$  그리고  $0.94 \pm 0.05$  nmol/hr/mg protein로 증가하였다. 반면 세포에서 GSH의 농도는 대조군에서  $31.7 \pm 0.6$  nmol/mg protein이었으며 글루카곤의 농도가 1, 10, 25 그리고 100 nM로 증가함에 따라  $31.0 \pm 2.3$ ,  $27.7 \pm 1.2$ ,  $27.6 \pm 1.6$  그리고  $26.5 \pm 1.0$  nmol/mg protein으로 감소하였다. 이 결과는 글루카곤이 세포배양 배지에서 GSH의 농도를 증가시키며 반면 세포에서는 감

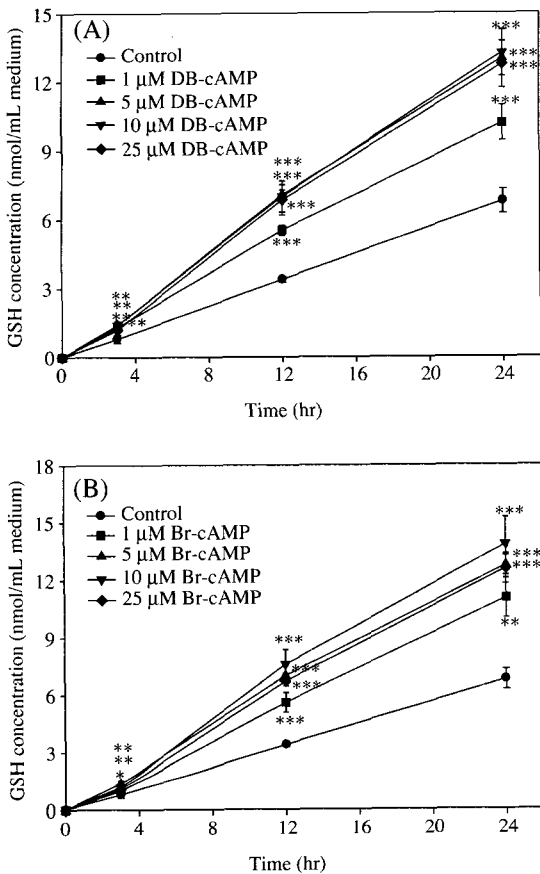


**Fig. 1.** Effect of insulin (A) or glucagon (B) on GSH efflux. After 4 hr plating period in the presence of  $1 \mu\text{M}$  insulin, hepatocytes were maintained in the absence of hormone (control) or in the presence of various concentrations of insulin or glucagon for 1 day. Data are means  $\pm$  S.D. of four preparations of cell lysates. \*, \*\*, \*\*\*significantly different than levels monitored in hepatocytes cultured in the absence of hormone,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ , respectively.

소시킴을 보인다. 종합적으로 인슐린과 글루카곤은 세포에서 상반된 방향으로 GSH의 농도를 변동시키며 글루카곤은 간세포에서 세포배양액으로 GSH의 배출을 증가시켰다.

#### 2. DB-cAMP와 Br-cAMP가 간세포에서 GSH의 efflux에 미치는 영향

글루카곤에 의한 GSH 배출의 증가가 cAMP에 의해 매개되는 것을 확인하기 위해 세포 투과성



**Fig. 2.** Effect of DB-cAMP (A) or Br-cAMP (B) on GSH efflux. After 4 hr plating period in the presence of 1  $\mu$ M insulin, hepatocytes were maintained in the absence of hormone (control) or in the presence of various concentrations of DB-cAMP or Br-cAMP for 1 day. Data are means  $\pm$  S.D. of four preparations of cell lysates. \*, \*\*, \*\*\*significantly different than levels monitored in hepatocytes cultured in the absence of hormone,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  or  $P < 0.001$ , respectively

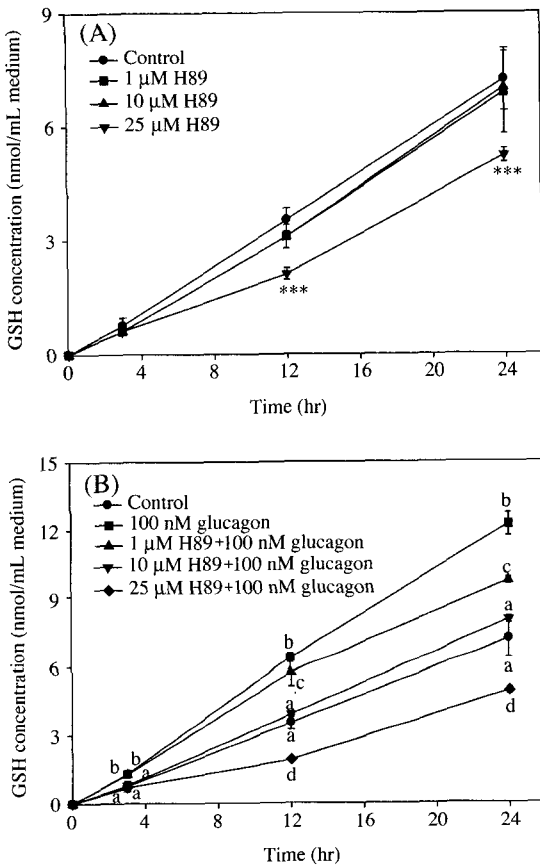
cAMP 유도체인 DB-cAMP와 Br-cAMP를 1, 5, 10 및 25  $\mu$ M로 세포배양액에 처리하였다(Fig. 2). DB-cAMP와 Br-cAMP는 100  $\mu$ M까지 MTT 및 LDH로 평가된 세포독성에 유의적인 변화를 유발하지 않았다(data not shown). DB-cAMP는 처리후 3시간부터 세포배양 배지에서 GSH의 농도를 유의적으로 증가시켰으며 이 현상은 24시간까지 유지되었다(Fig. 2B). GSH의 배출속도는 대조군에서  $0.50 \pm$

$0.04$  nmol/hr/mg protein이었으며 이 값은 DB-cAMP의 농도를 1, 5, 10 및 25  $\mu$ M로 증가시킴에 따라  $0.73 \pm 0.05$ ,  $0.90 \pm 0.02$ ,  $1.00 \pm 0.08$  그리고  $0.94 \pm 0.08$  nmol/hr/mg protein로 증가하였다. 반면 간세포에서 GSH의 함량은 대조군에서  $31.7 \pm 0.6$  nmol/mg protein이었으며 이 값은 DB-cAMP의 농도가 1, 5, 10 그리고 25  $\mu$ M로 증가함에 따라  $26.2 \pm 2.0$ ,  $24.2 \pm 1.1$ ,  $25.1 \pm 2.5$  그리고  $24.2 \pm 2.4$  nmol/mg protein으로 감소하였다.

Br-cAMP 역시 3시간부터 세포배양배지에서 GSH의 농도를 증가시켰다(Fig. 2B). GSH의 배출속도는 대조군에서  $0.50 \pm 0.04$  nmol/hr/mg protein이었으며 이 값은 Br-cAMP의 농도를 1, 5, 10 및 25  $\mu$ M로 증가시킴에 따라  $0.84 \pm 0.08$ ,  $0.92 \pm 0.04$ ,  $0.94 \pm 0.10$  그리고  $0.93 \pm 0.06$  nmol/hr/mg protein로 증가하였다. 반면 간세포에서 GSH의 함량은 대조군에서  $31.7 \pm 0.6$  nmol/mg protein이었으며 이 값은 Br-cAMP의 농도가 1, 5, 10 그리고 25  $\mu$ M로 증가함에 따라  $31.7 \pm 1.6$ ,  $30.2 \pm 0.7$ ,  $26.1 \pm 1.2$  그리고  $26.0 \pm 0.7$  nmol/mg protein으로 감소하였다. 이 결과는 글루카곤에 의한 GSH의 배출 증가 및 세포에서 GSH의 감소가 cAMP에 의해 매개됨을 시사한다.

### 3. 간세포에서 PKA 억제제인 H89와 KT5720이 글루카곤에 의한 GSH efflux의 증가에 미치는 영향

글루카곤에 의한 GSH 배출의 증가가 PKA에 의해 매개되는 것을 확인하기 위해 PKA의 선택적인 억제제인 H89와 KT5720을 전처리하였다. H89는 25  $\mu$ M까지 MTT나 LDH의 활성에 변화를 유발하지 못하였으나 KT5720의 전처리는 1  $\mu$ M에서 14 시간부터 유의적인 MTT의 감소와 LDH의 증가를 유발하였다(data not shown). KT5720에 의한 세포독성은 이전의 보고와 일치하는 결과이며 세포독성으로 인해 KT5720은 0.1  $\mu$ M과 0.5  $\mu$ M 농도를 사용하였다. H89의 단독처리는 25  $\mu$ M에서 유의적인 GSH 배출의 감소가 관찰되었으며(Fig. 3A) KT5720은 0.5  $\mu$ M까지 유의적인 변화가 없었다(data not shown). 글루카곤에 의한 GSH의 배출 증가는 H89 전처리에 의해 농도의존적으로 감소하였다(Fig. 3B). H89를 10  $\mu$ M 농도로 전처리하였을 경우 완벽하게 글루카곤에 의한 GSH의 배출증가를



**Fig. 3.** Effect of the protein kinase (A) inhibitor, H89, on the glucagon-mediated increase in GSH efflux. (A) hepatocytes were treated with H89 for 1 day. Control hepatocytes were cultured in the absence of glucagon and inhibitor. Data are means  $\pm$  S.D. of four preparations of cell lysates. \*\*\*significantly different than levels monitored in control hepatocytes,  $P < 0.001$ . (B) hepatocytes were treated with H89 for 1.5 h prior to addition of 100 nM glucagon for 1 day. Data are means  $\pm$  S.D. of four preparations of cell lysates. Values with different letters are significantly different from each other,  $P < 0.05$ .

억제하였다. GSH의 배출속도는 대조군과 100 nM 글루카곤 처리군에서 각각  $0.51 \pm 0.05$ 과  $0.92 \pm 0.04$  nmol/hr/mg protein이었으며 H89를 1, 10 또는 25  $\mu$ M로 전처리하고 100 nM의 글루카곤을 처리하였을 때  $0.69 \pm 0.01$ ,  $0.54 \pm 0.01$ 과  $0.32 \pm 0.01$  nmol/hr/mg protein로 감소하였다. 간세포에서 GSH의 합량은 대조군과 100 nM 글루카곤 처리군에서 각각

$32.1 \pm 0.6$ 과  $26.7 \pm 0.5$  nmol/mg protein이었으며 H89를 1, 10 또는 25  $\mu$ M로 전처리하고 100 nM의 글루카곤을 처리하였을 때  $28.2 \pm 1.8$ ,  $30.8 \pm 0.7$ 과  $32.1 \pm 0.9$  nmol/mg protein로 증가하였다. KT5720은 0.5  $\mu$ M에서 100 nM 글루카곤에 의한 GSH 배출 증가 및 세포의 GSH 감소를 부분적으로 억제하였다 (data now shown). 이 결과는 글루카곤에 의한 GSH의 배출 증가가 PKA에 의해 매개됨을 보인다.

간에서 합성된 GSH의 대부분은 혈액 또는 담즙으로 배출되며, 특히 혈액으로 배출된 GSH는 간에서 GSH turnover의 대부분을 담당한다(Kaplowitz, 1985). 배출된 GSH는 신장을 비롯한 다른 장기에서 수송체에 의해 직접 흡수되거나 gamma-glutamylpeptidase에 의해 cystine 등과 결합하여 흡수된다. 결과적으로 GSH는 반응성이 강한 cysteine의 수송체 또는 저장체로 기능하게 된다. 일차 배양 랫트 간세포를 이용한 본 연구에서 글루카곤과 인슐린은 모두 세포 배양 배지에서 GSH의 농도를 증가시켰다. 그러나 글루카곤은 초기 시간인 3시간 이내에 배지에서 GSH의 농도를 증가시켰으나 인슐린은 24시간에 증가시켰다. 선행연구에서 인슐린은 간세포에서 GSH 합성의 속도결정단계를 조절하는 gamma-glutamylcysteine ligase의 발현을 증가시켜 GSH의 합성을 증가시키는 것으로 보고하였다(Kim *et al.*, 2004a). Lu 등은(1990) 수송체에 의해 매개되는 간세포의 GSH 배출에서 GSH에 대한 Km 값이  $124 \pm 7.6$  nmol/ $10^6$  cells이며 Vmax가  $0.125 \pm 0.0065$  nmol/min/ $10^6$  cells로 보고하였다. 이 실험에서 정상적인 세포의 GSH 값은  $100 \sim 150$  nmol/ $10^6$  cells로 GSH efflux에서 GSH의 Km 값과 유사하였다. 이 결과는 세포에서 GSH의 배출이 세포의 GSH 양에 의존적임을 시사한다. 이 결과는 본 연구에서 관찰된 인슐린 처리 후 24시간에 세포 배양배지에서 증가한 GSH는 세포에서 GSH 농도증가와 단백질의 증가를 반영한 것으로 보인다. 반면 글루카곤은 배지에서와는 달리 세포에서 GSH 농도를 감소시켰다. 이 결과는 세포에서 수송체를 통한 GSH의 배출이 증가함을 시사한다.

글루카곤의 세포내 영향은 대부분 글루카곤 수용체를 경유하여 cAMP의 증가와 PKA에 의해 매개된다(Kim and Novak, 2007). 선행 연구에서 글루카곤에 의한 microsomal epoxide hydrolase 및 GSH S-transferase의 발현 감소가 일차 배양 랫트 간세

포 모델에서 관찰되며 이 현상은 cAMP와 PKA를 경유하는 것으로 보고하였다 (Kim *et al.*, 2003b, 2006a). PKA의 선택적인 억제제인 H89와 cAMP의 세포 투과성 유사체인 DB-cAMP와 Br-cAMP를 이용한 본 연구에서 글루카곤에 의한 GSH의 배출 증가 역시 cAMP와 PKA에 의해 매개되는 것으로 관찰되었다. GSH의 배출증가는 세포에서 GSH의 함량을 감소시키며 결과적으로 산화적 손상에 세포가 민감하게 반응하게 한다. 선행 연구결과와 함께 본 연구결과는 글루카곤의 신호를 매개하는 PKA의 활성화가 항산화 효소의 발현을 감소시키고 GSH의 배출을 증가시킴으로써 산화적 손상에 대한 세포의 감수성을 증가시키는 스트레스성 신호임을 시사한다.

GSH의 배출에 관여하는 수송체는 담즙과 혈관, 즉 canalicular 세포막과 sinusoidal 세포막에서 다른 것으로 보고되고 있다. Canalicular 세포막에서 GSH의 배출은 ATP-binding cassette 수송체인 MRP2에 의해 매개되며 (Lu *et al.*, 1996) sinusoidal 세포막에서의 수송체는 현재까지 불분명하나 MRP4가 중요한 역할을 수행하는 것으로 제안되고 있다 (Rius *et al.*, 2006). 본 연구에서 글루카곤에 의한 GSH의 배출 증가를 매개하는 수송체는 규명되지 못 하였다. 그러나 최근 MRP의 발현이나 세포내 분포가 글루카곤에 의해 변화되는 것으로 보고되었다 (Chandra *et al.*, 2005). 또한 본 연구실의 예비실험결과 MRP의 억제제인 MK-571의 전처리에는 글루카곤에 의한 GSH의 배출을 유의적으로 억제하였다 (data not shown). 이 결과는 글루카곤에 의한 GSH 배출의 증가가 MRP의 발현 또는 세포내 분포의 변화와 관련이 있을 가능성을 시사하며 이를 입증하기 위한 연구가 본 연구실에서 진행 중이다.

### 감사의 글

이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단 (KRF-2004-041-E00393)의 지원을 받았다.

### 참고 문헌

Abdelmegeed MA, Kim SK, Woodcroft KJ and Novak RF. Acetoacetate activation of extracellular signal-regulated

- kinase 1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase in primary cultured rat hepatocytes: role of oxidative stress, *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 310(2): 728-736.
- Baynes JW and Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm, *Diabetes* 1999; 48: 1-9.
- Chandra P, Zhang P and Brouwer KL. Short-term regulation of multidrug resistance-associated protein 3 in rat and human hepatocytes, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 288(6): G1252-G1258.
- Jain SK, McVie R and Smith T. Vitamin E supplementation restores glutathione and malondialdehyde to normal concentrations in erythrocytes of type 1 diabetic children, *Diabetes Care* 2000; 23(9): 1389-1394.
- Kaplowitz N, Aw TY and Ookhtens M. The regulation of hepatic glutathione, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1985; 25: 715-744.
- Kim SK, Abdelmegeed MA and Novak RF. Identification of the insulin signaling cascade in the regulation of alpha-class glutathione S-transferase expression in primary cultured rat hepatocytes, *J Pharmacol Exp Ther* 2006a; 316(3): 1255-1261.
- Kim SK, Abdelmegeed MA and Novak RF. The mitogen-activated protein kinase kinase (mek) inhibitor PD98059 elevates primary cultured rat hepatocyte glutathione levels independent of inhibiting mek, *Drug Metab Dispos* 2006b; 34(4): 683-689.
- Kim SK and Novak RF. The role of intracellular signaling in insulin-mediated regulation of drug metabolizing enzyme gene and protein expression, *Pharmacol Ther* 2007; 113(1): 88-120.
- Kim SK, Woodcroft KJ and Novak RF. Insulin and glucagon regulation of glutathione S-transferase expression in primary cultured rat hepatocytes, *J Pharmacol Exp Ther* 2003a; 305(1): 353-361.
- Kim SK, Woodcroft KJ, Khodadadeh SS and Novak RF. Insulin signaling regulates gamma-glutamylcysteine ligase catalytic subunit expression in primary cultured rat hepatocytes, *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311(1): 99-108.
- Kim SK, Woodcroft KJ, Kim SG and Novak RF. Insulin and glucagon signaling in regulation of microsomal epoxide hydrolase expression in primary cultured rat hepatocytes, *Drug Metab Dispos* 2003b; 31(10): 1260-1268.
- Kim SK, Woodcroft KJ, Oh SJ, Abdelmegeed MA and Novak RF. Role of mechanical and redox stress in activation of mitogen-activated protein kinases in primary cultured rat hepatocytes, *Biochem Pharmacol* 2005; 70(12): 1785-1795.

- Lu SC, Cai J, Kuhlenkamp J, Sun WM, Takikawa H, Takenaka O, Horie T, Yi J and Kaplowitz N. Alterations in glutathione homeostasis in mutant Eisai hyperbilirubinemic rats, *Hepatology* 1996; 24(1): 253-258.
- Lu SC, Garcia-Ruiz C, Kuhlenkamp J, Ookhtens M, Salas-Prato M and Kaplowitz N. Hormonal regulation of glutathione efflux, *J Biol Chem* 1990; 265(27): 16088-16095.
- Lu SC, Ge JL, Kuhlenkamp J and Kaplowitz N. Insulin and glucocorticoid dependence of hepatic gamma-glutamyl-cysteine synthetase and glutathione synthesis in the rat. Studies in cultured hepatocytes and in vivo, *J Clin Invest* 1992; 90(2): 524-532.
- Meister A and Anderson ME. Glutathione, *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 711-760.
- Neuschwander-Tetri BA and Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference, *Hepatology* 2003; 37: 1202-1219.
- Rius M, Hummel-Eisenbeiss J, Hofmann AF and Keppler D. Substrate specificity of human ABCC4 (MRP4)-mediated cotransport of bile acids and reduced glutathione, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290(4): G640-G649.
- Sies H. Glutathione and its role in cellular functions, *Free Radic Biol Med* 1999; 27(9-10): 916-921.
- Stipanuk MH. Sulfur amino acid metabolism: pathways for production and removal of homocysteine and cysteine, *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 539-577.
- West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes, *Diabet Med* 2000; 17: 171-180.
- Yoshida K, Hirokawa J, Tagami S, Kawakami Y, Urata Y and Kondo T. Weakened cellular scavenging activity against oxidative stress in diabetes mellitus: regulation of glutathione synthesis and efflux, *Diabetologia* 1995; 38(2): 201-10.