

장내분비세포에서 글루카곤양 펩티드-1의 분비자극

건양대학교 의과대학 내분비내과

김병준

Stimulation of Glucagon Like Peptide-1 Secretion in Enteroendocrine L cells

Byung Joon Kim

Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Internal Medicine, Konyang University School of Medicine, Daejeon, Korea

Abstract

GLP-1 (glucagon like peptide-1) is new anti-diabetic drug with a number of beneficial effects. It stimulates glucose dependant insulin secretion and restoration of beta cell mass through enhancement of islet mass. However, it is easily inactivated after being secreted from enteroendocrine L cells. Recent trial to increased GLP-1 is to directly stimulate L cells through its receptor located in the surface of L cell. Taste receptor in the apical surface of L cell is activated by various tastants contained in the food. Tongue perceives taste sense through the heterotrimeric G-protein (α -gustducin) and its downstream signaling cascades. Same taste receptors are also expressed in enteroendocrine cells. In duodenal L cell, α -gustducin was detected by immunofluorescence staining at the luminal projections of enteroendocrine cells. And several other taste signaling elements were also found in L cells. Ingestion of sweet or bitter compounds revealed stimulation of GLP-1 secretion and the regulation of plasma insulin and glucose. In this review, I will briefly introduce the possibilities to stimulate GLP-1 secretion through the membrane receptor in enteroendocrine cell. And it will be the good candidate to develop the treatment modality for obesity, diabetes and abnormal gut motility. (Korean Diabetes J 33:458-463, 2009)

Key words: Enteroendocrine cells, Glucagon like peptide-1, Taste receptor

서 론

글루카곤양 펩티드-1 (glucagon like peptide-1, GLP-1)은 제2형 당뇨병의 치료에 있어서 지금까지 처방하여 오던 숄폰요소제, 비구아나이드, 알파 글루코시다아제 억제제, 인슐린 감작제 등과는 다른 다양한 효과로 관심의 대상이 되고 있다. GLP-1의 기능은 혈당의존적인 인슐린 분비자극 외에도 글루카곤 분비억제, 소마토스타틴 분비자극, 베타세포의 보호와 유지, 식욕의 억제, 체중 감소, 장운동의 억제 등이 있다고 보고되어 있다¹⁾. 제2형 당뇨병의 환자에서 혈중 활성 GLP-1 (active GLP-1)의 농도가 감소되어 있고, 베타세포에서 GLP-1 저항성이 보이지 않아 치료제로서 이용되고 있다²⁾. 그러나 분비된 GLP-1이 dipeptidyl peptidase

IV (DPP IV) 효소에 의해 혈중에서 쉽게 분해되어 반감기가 1~2분 정도이기에 치료제로 사용하기에 제한점을 가진다. 이를 극복하기 위하여 DPP IV 효소에 분해되지 않는 아날로그를 찾아내거나 GLP-1의 아미노산의 순서를 변경하여 DPP IV 효소의 작용에서 벗어나는 방법을 찾거나 DPP IV 효소의 활성을 억제할 수 있는 물질을 개발하기 위한 연구를 통하여 현재 우리가 사용할 수 있는 GLP-1 아날로그와 DPP IV 억제제가 개발되었다³⁾. GLP-1 아날로그로 찾아낸 Exenatide (Byetta[®]; Amylin Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA, USA)는 독 도마뱀의 침샘에서 분리된 이종생물의 단백질로 비록 53%의 염기서열이 같아 GLP-1과 같이 GLP-1 수용체에 결합하여 GLP-1과 유사한 효과를 나타내지만 이종 단백질에 대한 항체의 생성이 문제가 될 가

능성을 가지고 있으며, DPP IV 억제제의 경우에는 다른 DPP IV 효소에 의한 백혈구나 호르몬의 활성화 혹은 비활성화에 영향을 줄 수 있는 문제가 있을 가능성이 제기되고 있다.

이러한 문제점을 피해갈 수 있는 다른 방법은 GLP-1을 생산하고 분비하는 장내분비세포(enteroendocrine cell)를 직접 자극하여 GLP-1의 분비를 증가시키는 것일 것이다. 장 내용물에 존재하는 화학물질에 의해 GLP-1의 분비를 자극할 수 있는 방법으로는 1) GLP-1을 분비하는 세포 표면에 장 내용물을 특징을 인지하고 이에 따라 호르몬을 분비시킬 수 있는 수용체나 이송체(transporter)가 있어 GLP-1의 분비를 직접적으로 자극하는 것, 2) GLP-1을 분비하는 세포에 분포하는 신경섬유 말단을 통하여 호르몬의 분비를 자극하는 것, 3) 장내에 산재하는 다른 세포의 수용체를 자극하여 이에 의해 분비된 호르몬의 주변분비(paracrine) 효과를 이용하여 GLP-1의 분비를 자극하는 것 등이 있을 것이다(Fig. 1)⁴⁾. 저자는 이러한 방법 중 장내분비세포인 L 세포의 수용체를 통하여 직접적으로 GLP-1의 분비를 증가시킬 수 있는 가능성에 대해 고찰해 보고자 한다.

당분이나 혼합식이에 의한 GLP-1의 분비 양상

현재 가장 쉽게 GLP-1의 분비를 자극하는 방법은 경구로 당분을 음용하거나 지방이 들어간 혼합식이를 이용하는 것이다. 이 두 가지 방법 모두 혈중 GLP-1의 분비가 자극되

는 것을 관찰할 수 있다. 정상인에서 당분이나 혼합식이에 의한 GLP-1의 분비자극은 섭취 후 약 20분에서 40분 가량에 분비가 최고조로 나타나며 이후 감소 추이를 보이다가 100분 정도에서 다시 자극되어 증가하는 양상을 보인다. 후기 증가는 초기 증가에 비하여 분비의 양이나 정도가 적어 GLP-1의 분비는 주로 초기 증가가 주가 될 것으로 생각된다. 이러한 분비의 자극은 혈중 포도당의 증가 양상이나 인슐린의 분비 양상보다 일찍 일어나는 현상으로 혈중 포도당에 의하기 보다는 장 내용물에 존재하는 포도당에 의해 자극될 가능성을 보여준다. 이러한 분비 패턴과 GLP-1의 분비 세포가 주로 회장과 대장에 분포하는 것을 고려할 때 직접적인 자극보다는 시각이나 후각, 혹은 구강 내의 미각에 의해서 자극되어 신경섬유를 통해 GLP-1의 분비가 일어날 수 있다는 가설과 GLP-1과는 다르게 상부위장관에 존재하는 glucose dependent insulinotropic polypeptide (GIP)를 분비하는 K 세포에 의해 간접적으로 일어난다는 가설 또는 상부위장관에도 GLP-1의 분비를 일으키는 L 세포가 존재하거나 기존의 K 세포 GLP-1/GIP를 같이 분비할 수 있다는 가설 등으로 많은 논란이 있으나 아직 정립되거나 확립된 것은 없는 상태이다. 그러나 장 내용물에 존재하는 여러 가지의 화학물질에 의해 직접적으로 K 세포 혹은 L 세포에서 GIP, GLP-1, PYY 등이 분비될 가능성에 관하여도 많은 연구들이 있어 이들의 직접적인 분비에 관여하는 수용체를 알아보고자 한다.

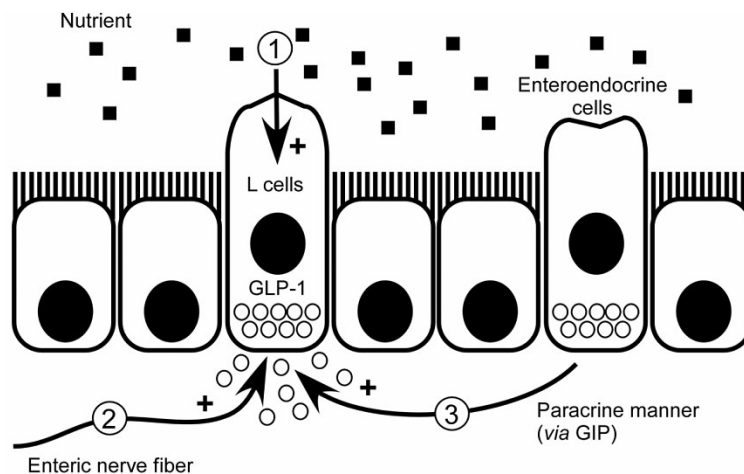


Fig. 1. Nutrient sensing by enteroendocrine cells. Luminal nutrients can act by 1 of 3 pathways. Nutrients can stimulate directly with receptors/transport proteins present in surface of endocrine cells (1). Nutrients can stimulate through intrinsic or extrinsic innervation after transported into adjacent epithelial cells (2) Nutrients can interact with sensing cells and then stimulate secretion with paracrine manner (3)⁴⁾.

장내분비세포에서 발견된 수용체들

많은 연구자들이 장내분비세포 중의 한 가지인 GLP-1을 분비하는 L 세포에서 GLP-1의 분비를 자극하기 위한 방법에 관하여 연구를 진행하고 있으며, 이 중 장 내용물에 의해 자극을 받을 수 있는 L 세포의 수용체인 담즙산 수용체 (TGR5)와 지방산 수용체(GPR120)에 대하여 간략히 살펴본 후 새로운 미각수용체와 GLP-1의 분비에 관하여 알아보 고자 한다.

담즙산 수용체 TGR5

지방의 소화에서 담즙산이 필요하며, 간담도에서 장 내로 분비된 담즙산은 지방의 소화에 도움을 주고는 다시 체 내로 흡수되어 재사용된다. 장 내에 존재하는 담즙산에 의 해 자극되는 지단백결합수용체인 TGR5가 있음이 Kawamata 등⁵⁾과 Maruyama 등⁶⁾에 의해 밝혀졌다. 이들은 TGR5 수용 체를 Chinese hamster ovary (CHO) 세포주에 발현시켜 담 즙산이 이 수용체를 세포 내로 이동시키거나, 담즙산의 자 극에 의해 2차 전령 물질인 고리에이앰피(cyclic AMP)가 증가되는 것을 확인하였다. 또한 TGR5가 단핵구나 대식세 포에서 발현되는 외에 장내분비 세포주인 STC-1과 NCI-H716 세포주에서도 전령RNA가 발현되는 것을 보고하였다. 2005 년 Katsuma 등은 STC-1 세포주에 담즙산인 lithocholic acid (LCA)와 deoxycholic acid (DCA)를 처리하였을 때 처리 전에 비하여 처리 후에 2.5배에서 4배 정도의 GLP-1 의 분비가 자극됨을 보고하였다⁷⁾. 이러한 GLP-1의 분비 자

극은 TGR5에 대한 siRNA를 처리한 경우에 GLP-1의 분비 자극이 소멸되며, TGR5를 과발현 시킨 경우에 GLP-1의 분 비가 자극이 된다. DCA와 LCA의 처리 후 TGR5이 자극되 면 고리에이앰피의 증가를 통하여 GLP-1의 분비증가가 일 어남을 보고하였다. 담즙산은 아니지만 Sato 등은 올리브 잎에서 추출된 물질(oleuropein and oleanolic acid)을 소동 물 모델에서 치료하였을 때 TGR5를 자극하여 혈당의 조절 과 인슐린 분비를 자극할 수 있다고 보고하였다⁸⁾. 이 논문 에서 혈중의 GLP-1을 측정하지 않았지만 혈당의 조절과 인 슐린의 분비에 GLP-1의 역할도 생각해야 한다고 언급하였 다. 최근에는 체내세포에서는 TGR5 자극물질을 통하여 갑 상선 호르몬처럼 세포 내의 에너지 소모를 증가시키는 등 장내분비세포와 간 및 면역계에 다양한 효과를 가지고 있어 이를 이용한 당뇨병 및 비만 등 여러 질환의 치료에 대한 연구가 진행 중이다(Fig. 2)⁹⁻¹¹⁾.

지방산 수용체 GPR120

GPR120은 특별한 리간드를 알지 못했던 고아 수용체 (orphan receptor)로 지단백결합수용체이다. 2005년 Hirasawa 등은 역전사 중합효소연쇄반응을 통하여 GPR120이 장상피 세포 특히 장내분비세포주에 존재함을 보고하였으며¹²⁾, 녹색 형광물질을 붙인 GPR120 (GPR120-EGFP)을 발현시킨 세 포주를 이용하여 많은 물질 중에서 장쇄지방산(long chain free fatty acid)이 수용체와 결합하는 리간드라고 보고하였 다. 지방산에 의하여 자극되는 수용체인 GPR40, GPR41, GPR43과 GPR120 모두 고아수용체로 보고¹³⁾되어 있지만,

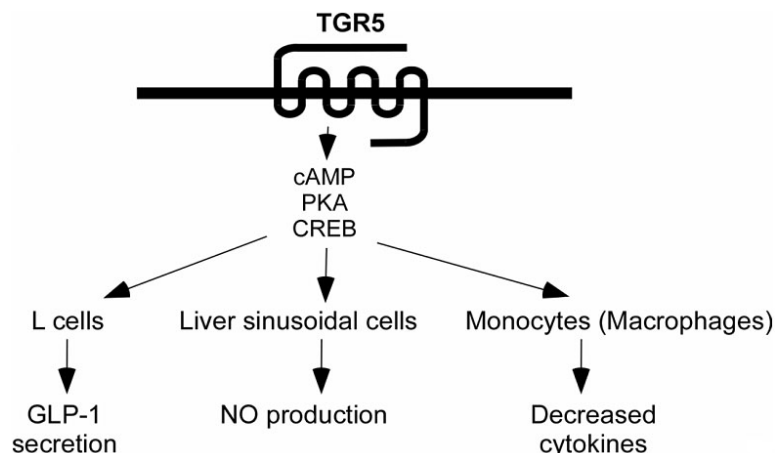


Fig. 2. Variable effects of TGR5 in intestinal L cells, hepatic sinusoidal endothelial cells and immune cells (monocyte, macrophage and hepatic kupffer cells) and metabolically relevant tissues⁹⁻¹¹⁾.

장내분비세포에 존재하며 장쇄지방산에 반응하는 수용체는 주로 GPR120이기에 GPR120과 인크레틴 호르몬인 GLP-1과의 연관성이 연구되었다. GPR120이 자극되면 extracellular signal-regulated kinase (ERK)과 PI3K-Akt 경로를 통하여 기능을 수행하게 된다¹⁴⁾. 장내에서 장쇄지방산인 알파 리놀렌산(α -linolenic acid)이나 팔미트산(palmitic acid)으로 장내 분세포인 L 세포를 자극한 경우 혈중 GLP-1의 증가와 이에 따른 인슐린의 증가, 혈당의 감소 등이 일어나 당뇨병의 치료에 도움을 준다고 보고하였다¹²⁾. GPR120과 같이 존재하며 장쇄지방산에 반응하는 GPR40의 경우 GLP-1의 분비에 대한 효과는 GPR120에 비하여 상대적으로 미미하기에 GLP-1의 분비에 관여하는 GPR120이 우세하여 보인다. 또한 GPR120의 경우에는 인크레틴 호르몬의 분비 효과 외에도 지방세포의 분화와 증식을 촉진하는 역할을 가지고 있어 아직은 많은 연구가 필요할 것이다¹³⁾.

미각 수용체

혀는 많은 화학적인 물질에 대하여 맛을 느낄 수 있는 구조물이다. 과거 혀의 부분에 따라 맛을 느끼는 분포가 달라 혀의 끝에는 단맛을, 혀의 옆 부분에서는 신맛과 짭맛을, 혀의 안쪽에서는 쓴맛을 느낀다는 맛지도(taste map)를 통한 미각의 인지에 대한 설명은 현재 미각수용체가 발견된 후¹⁵⁾ 혀의 맛봉우리(taste bud)에 존재하는 미각수용체에 의해 특정한 맛을 느끼는 것으로 바뀌었다^{16,17)}. 혀에서 미각은 미각

수용체를 자극할 수 있는 화학물질이 각각 지단백결합수용체인 단맛(sweet), 쓴맛(bitter), 맛있는 맛(umami) 수용체에 결합하여 특별한 $G\alpha$ -gustducin, $G\beta$, $G\gamma$ 13으로 이루어진 지단백질을 활성화시키고, 이에 따라 PLC β 2와 TRMP5 칼슘통로를 통하여 세포 내 칼슘이 유입되며 이에 따라 미각수용체를 가진 세포에서 신경전달물질이 분비되어 맛에 관여하는 신경을 자극하고, 뇌에서 맛을 느끼게 된다는 보고되었다¹⁸⁾. 이 후 GLP-1과 같은 인크레틴 호르몬이 장에서 분비된다는 사실과 미각수용체의 주요 구성물질인 $G\alpha$ -gustducin이 장에 존재한다는 사실이 발표되면서¹⁹⁻²¹⁾ 장내에 존재하는 미각수용체와 GLP-1의 분비에 대한 연구가 시작되었다(Fig. 3)²²⁾. Jang 등은 쥐의 장내분비 세포에서 GLP-1과 단맛을 느끼는 미각수용체의 주요 구성단백질인 T1R2 및 T1R3 단맛수용체, $G\alpha$ -gustducin, $G\beta$, $G\gamma$ 13, PLC β 2와 TRMP5가 같은 세포에서 존재한다고 보고하였다²³⁾. 또한 지단백질인 $G\alpha$ -gustducin KO 쥐에서는 야생형의 쥐와는 달리 포도당의 경구로 투여한 경우 GLP-1의 분비가 감소되고, 초기 인슐린 분비가 줄어든다고 보고하면서 GLP-1의 분비에 있어 단맛을 느끼는 미각 수용체가 직접적인 화학수용체로서 역할을 한다고 보고하였다^{23,24)}. 쓴맛을 느끼는 미각수용체인 T2R도 장내분비세포주인 STC-1에 존재하며 쓴맛을 느끼게 하는 denatonium benzoate, quinine, PTU 등이 이러한 수용체를 통하여 GLP-1의 분비를 증가시킨다고 이에 인슐린의 분비에도 관여한다고 보고하였다²⁵⁾. 최근에는 단맛수용체인 T1R3를 통하여 장상피세포에 존재하는

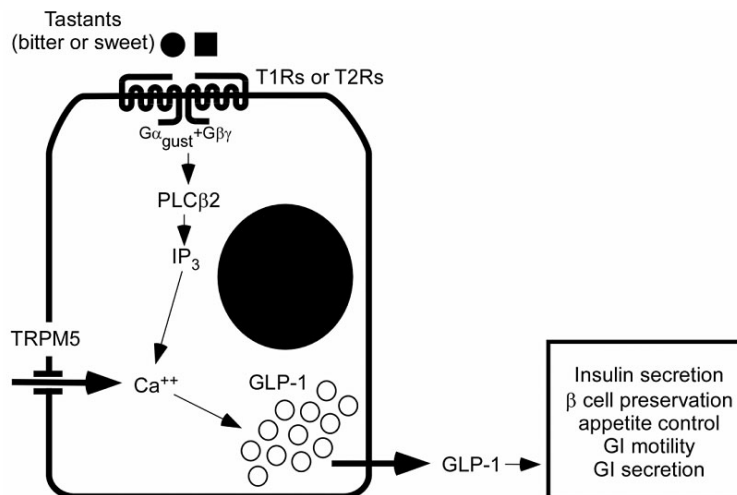


Fig. 3. A schematic figure of tastant-induced signaling via T2Rs and T1Rs in enteroendocrine cell engages α -gustducin, PLC β 2, TRPM5, and L-type VSCCs. Bitter and sweet receptor triggers the release of GI peptides into the basolateral portion of the cell²²⁾.

Na-Glucose cotransporter의 발현을 증가시켜 장내의 포도당의 흡수와 GLP-1의 분비를 조절한다고 보고하였다²⁶⁾. 앞으로 많은 연구가 필요하겠지만 단맛이나 쓴맛을 느끼는 미각수용체를 통하여 GLP-1의 분비를 조절하고, 당분의 흡수나 식욕을 조절할 수 있다면 이를 자극하거나 억제하는 물질을 통하여 당뇨병이나 비만 등의 치료에 사용될 수 있을 것이다.

결 론

GLP-1은 인슐린의 분비를 조절하고 나아가서 인슐린을 분비하는 췌도의 베타세포를 보호하는 효과로 최근 많은 관심을 받고 있다. 현재 GLP-1 유사체와 DPP IV 억제제가 혈중의 활성 GLP-1을 증가시키는 약제로 사용되고 있지만, 앞으로는 장내분비세포에 존재하는 수용체를 통하여 직접적으로 GLP-1의 분비를 조절하는 기전을 통하여 혈중의 GLP-1을 증가시키는 연구도 가능할 것으로 사료된다. 이러한 가설은 향후 많은 연구가 뒷받침이 되어야겠지만, 당뇨병이나 비만의 치료에 도움이 될 수 있는 연구분야가 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Doyle ME, Egan JM: *Glucagon-like peptide-1. Recent Prog Horm Res* 56:377-99, 2001
2. Nauck MA, Holst JJ, Willms B, Schmiegel W: *Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) as a new therapeutic approach for type 2-diabetes. Exp Clin Endocrinol Diabetes* 105:187-95, 1997
3. Knop FK, Vilsboll T: *Glp-1-based treatment of type 2 diabetes mellitus. Ugeskr Laeger* 169:2095-9, 2007
4. Buchan AM: *Nutrient tasting and signaling mechanisms in the gut III. Endocrine cell recognition of luminal nutrients. Am J Physiol* 277:G1103-7, 1999
5. Kawamata Y, Fujii R, Hosoya M, Harada M, Yoshida H, Miwa M, Fukusumi S, Habata Y, Itoh T, Shintani Y, Hinuma S, Fujisawa Y, Fujino M: *A G protein-coupled receptor responsive to bile acids. J Biol Chem* 278:9435-40, 2003
6. Maruyama T, Miyamoto Y, Nakamura T, Tamai Y, Okada H, Sugiyama E, Itadani H, Tanaka K: *Identification of membrane-type receptor for bile acids (M-BAR). Biochem Biophys Res Commun* 298:714-9, 2002
7. Katsuma S, Hirasawa A, Tsujimoto G: *Bile acids promote glucagon-like peptide-1 secretion through TGR5 in a murine enteroendocrine cell line STC-1. Biochem Biophys Res Commun* 329:386-90, 2005
8. Sato H, Genet C, Strehle A, Thomas C, Lobstein A, Wagner A, Mioskowski C, Auwerx J, Saladin R: *Anti-hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from olea europaea. Biochem Biophys Res Commun* 362:793-8, 2007
9. Fiorucci S, Mencarelli A, Palladino G, Cipriani S: *Bile-acid-activated receptors: targeting TGR5 and farnesoid-x-receptor in lipid and glucose disorders. Trends Pharmacol Sci* 30:570-80, 2009
10. Thomas C, Gioiello A, Noriega L, Strehle A, Oury J, Rizzo G, Macchiarulo A, Yamamoto H, Matak C, Pruzanski M, Pellicciari R, Auwerx J, Schoonjans K: *Tgr5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis. Cell Metab* 10:167-77, 2009
11. Tiwari A, Maiti P: *Tgr5: an emerging bile acid G-protein-coupled receptor target for the potential treatment of metabolic disorders. Drug Discov Today* 14:523-30, 2009
12. Hirasawa A, Tsumaya K, Awaji T, Katsuma S, Adachi T, Yamada M, Sugimoto Y, Miyazaki S, Tsujimoto G: *Free fatty acids regulate gut incretin glucagon-like peptide-1 secretion through GPR120. Nat Med* 11:90-4, 2005
13. Gotoh C, Hong YH, Iga T, Hishikawa D, Suzuki Y, Song SH, Choi KC, Adachi T, Hirasawa A, Tsujimoto G, Sasaki S, Roh SG: *The regulation of adipogenesis through GPR120. Biochem Biophys Res Commun* 354:591-7, 2007
14. Katsuma S, Hatae N, Yano T, Ruike Y, Kimura M, Hirasawa A, Tsujimoto G: *Free fatty acids inhibit serum deprivation-induced apoptosis through GPR120 in a murine enteroendocrine cell line STC-1. J Biol Chem* 280:19507-15, 2005
15. Ruiz-Avila L, McLaughlin SK, Wildman D, McKinnon PJ, Robichon A, Spickofsky N, Margolskee RF: *Coupling of bitter receptor to phosphodiesterase*

- through transducin in taste receptor cells. Nature* 376:80-5, 1995
16. Adler E, Hoon MA, Mueller KL, Chandrashekar J, Ryba NJ, Zuker CS: *A novel family of mammalian taste receptors. Cell* 100:693-702, 2000
17. Matsunami H, Montmayeur JP, Buck LB: *A family of candidate taste receptors in human and mouse. Nature* 404:601-4, 2000
18. Margolskee RF: *Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction. J Biol Chem* 277:1-4, 2002
19. Raybould HE: *Does your gut taste? Sensory transduction in the gastrointestinal tract. News Physiol Sci* 13:275-80, 1998
20. Furness JB, Kunze WA, Clerc N: *Nutrient tasting and signaling mechanisms in the gut. II. The intestine as a sensory organ: neural, endocrine, and immune responses. Am J Physiol* 277:G922-8, 1999
21. Rozengurt N, Wu SV, Chen MC, Huang C, Sternini C, Rozengurt E: *Colocalization of the alpha-subunit of gustducin with PYY and GLP-1 in I cells of human colon. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291:G792-802, 2006
22. Rozengurt E, Sternini C: *Taste receptor signaling in the mammalian gut. Curr Opin Pharmacol* 7:557-62, 2007
23. Jang HJ, Kokrashvili Z, Theodorakis MJ, Carlson OD, Kim BJ, Zhou J, Kim HH, Xu X, Chan SL, Juhaszova M, Bernier M, Mosinger B, Margolskee RF, Egan JM: *Gut-expressed gustducin and taste receptors regulate secretion of glucagon-like peptide-1. Proc Natl Acad Sci U S A* 104:15069-74, 2007
24. Egan JM, Margolskee RF: *Taste cells of the gut and gastrointestinal chemosensation. Mol Interv* 8:78-81, 2008
25. Wu SV, Rozengurt N, Yang M, Young SH, Sinnott-Smith J, Rozengurt E: *Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells. Proc Natl Acad Sci U S A* 99:2392-7, 2002
26. Margolskee RF, Dyer J, Kokrashvili Z, Salmon KS, Ilegems E, Daly K, Maillet EL, Ninomiya Y, Mosinger B, Shirazi-Beechey SP: *T1r3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of na⁺-glucose cotransporter 1. Proc Natl Acad Sci U S A* 104:15075-80, 2007