

당질코르티코이드 수용체를 통한 INS-1 세포의 인슐린 분비와 합성

단국대학교 의과대학 내과학교실

양주연 · 강명수 · 송탁호 · 정인국 · 서평주 · 김희진

Role of Glucocorticoid Receptor on Insulin Secretion and Synthesis in INS-1 Cells

Ju Yeon Yang, Myong Su Kang, Tak Ho Song, In Kook Jeong, Pyong Ju Seo, Hee Jin Kim

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Dankook University

- Abstract -

Background: Glucocorticoids play important roles in the regulation of glucose homeostasis. It is well known that glucocorticoids reduce hepatic and peripheral tissue sensitivity to insulin, but the roles of glucocorticoids on insulin secretion and synthesis in pancreatic beta cells are still unclear. We have investigated the direct effects of glucocorticoids on insulin secretion and synthesis in rat insulinoma (INS-1) cells.

Methods: Insulin content and 11.2 mM glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) were measured in INS-1 cells after culture with or without 1 μ M dexamethasone (DEX). Preproinsulin mRNA levels were analyzed by real-time RT-PCR and normalized to the internal control. Effect of RU486 on DEX-induced inhibition of GSIS and preproinsulin mRNA synthesis was evaluated.

Results: Insulin content of INS-1 cells cultured in RPMI containing 11.2 mM glucose in the presence of DEX was not different from that of control cells. After 1-h preincubation in 2.8 mM glucose, basal insulin secretion from cells treated with DEX did not differ from that of controls, but GSIS was significantly reduced in the cells treated with DEX in comparison to control cells. The expression of preproinsulin mRNA relative to beta-actin mRNA was also lower in the cells treated with DEX. Glucocorticoid receptor antagonist improved DEX-induced inhibition of GSIS and preproinsulin mRNA synthesis.

Conclusion: DEX inhibited GSIS and preproinsulin mRNA synthesis in INS-1 cells. Glucocorticoid receptor antagonist ameliorated the reduced GSIS and preproinsulin mRNA synthesis induced by DEX. (*J Kor Diabetes Assoc* 30:428-434, 2006)

Key words: Beta cell, Dexamethasone, Glucocorticoids, Glucocorticoid receptor antagonists, Insulin Secretion, Insulin Synthesis, RU486

서 론

당질코르티코이드는 포도당항상성에 중요한 역할을 하며 코르티솔의 과잉분비나 장기간의 당질코르티코이드 투여는 내당능 장애와 현성 당뇨병을 유발한다¹⁻³⁾. 당질코르티코이드는 간의 포도당신합성을 증가시키며 근육과 지방조직에서 포도당 흡수를 억제하고 글리코겐 합성을 저해하여 인슐린

저항성을 유발한다^{1,4,5)}. 생체 내에서 이러한 인슐린저항성은 췌장 베타세포의 인슐린 분비 증가에 의해 보상되는데 고혈당의 발생을 피하기 위하여 고인슐린혈증이 유발된다^{6,7)}. 그러므로 당질코르티코이드의 투여 또는 과다분비가 인슐린 분비능이 떨어져 있는 사람에서 인슐린 민감성을 감소시키므로 당뇨병을 유발시킨다고 생각된다^{8,9)}. 그러나 당질코르티코이드 유발 당뇨병의 발병기전에 췌장 베타세포의 기능

부전과 인슐린저항성의 상대적인 중요성에 대해서는 논란이 있다. 또한 당질코르티코이드에 의해 유발된 인슐린저항성이 어떠한 기전으로 베타세포의 인슐린분비를 증가시키지는 확실하지 않는데, 당질코르티코이드가 직접적으로는 베타세포의 인슐린 분비를 억제시킨다는 보고들이 있기 때문이다¹⁰⁻¹²⁾. 그러므로 본 연구는 텍사메타손에 노출된 INS-1 세포에서 세포 내 인슐린 함량과 포도당 자극에 의한 인슐린의 분비와 합성의 변화를 알아보고 당질코르티코이드 수용체 억제제가 텍사메타손에 의한 인슐린 분비와 합성 장애에 미치는 효과를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. INS-1 세포의 배양

쥐 인슐린종 세포주인 INS-1 세포는 10% FBS (Gibco-BRL, Grand Island, NY), 10 mM HEPES, 2 mM L-glutamine, 1 mM sodium pyruvate, 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin과 50 µM 2-mercaptoethanol을 혼합한 RPMI1640 (Gibco-BRL, Grand Island, NY) 배지 (완전배지)에서 5% CO₂-95% air, 37℃에서 배양하였다¹³⁾. 배양액은 3~4일 간격으로 교대하였고 세포들은 trypsin-EDTA로 계대배양하였다.

2. 텍사메타손이 INS-1 세포의 세포 내 인슐린 함량에 미치는 영향 관찰

INS-1 세포를 well 당 3.0×10^5 개로 12-well plate에 분주하여 완전배지에서 3일간 배양한 후 1 µM 텍사메타손 (Sigma, St.Louis, MO)과 동일 vol%의 vehicle을 함유한 배양액으로 교환하여 1~2일간 배양하였다. 텍사메타손은 에탄올에 용해시켜 무균 여과 후 배지에 첨가하였고 에탄올을 vehicle로 첨가하였다. 배양된 세포들을 PBS로 각각 2회 세척한 후 찬 1 mL의 세포분해 완충액 (50 mM Tris-HCl, pH 7.2, 250 mM NaCl, 0.1% NP-40, 10% glycerol, 1 mM sodium vanadate, protease inhibitor cocktail)을 첨가하여 세포를 긁어낸 후 4℃에서 분쇄하였다. 12,000 × g로 4℃에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 새 튜브에 옮긴 후 분비된 인슐린의 양을 rat insulin radioimmunoassay (RIA) kit (Linco Research, Inc., St. Charles, MO)로 측정하였다. 각 튜브의 세포 단백질의 농도를 BSA를 기준으로 Bradford assay reagent로 측정하여 각 단위 그램 단백질 당 인슐린 함량을 계산하였다.

3. INS-1 세포에서 인슐린 분비 측정

INS-1 세포를 12-well plate에 분주하여 텍사메타손과 동

일 vol%의 vehicle을 함유한 배지에서 배양한 후 modified Krebs's ringer bicarbonate 완충액 (KRBB-HEPES, 134 mmol/L NaCl, 4.8 mmol/L KCl, 1 mmol/L CaCl₂, 1.2 mmol/L MgSO₄, 1.2 mmol/L KH₂PO₄, 5 mmol/L NaHCO₃, 2.8 mmol/L Glucose, 10 mmol/L HEPES, 1 mg/mL BSA, pH 7.4)로 2회 세척하고 1시간 동안 배양한 후 2.8 mM과 11.2 mM 포도당을 함유한 KRBB-HEPES로 1시간 배양한 후, 상층액을 취하여 4℃에서 10분간 원심분리하여 상층액을 모아 -20℃에 보관하였다. 분비된 인슐린의 양을 rat insulin RIA kit로 측정하였다. 각 well의 세포 단백질의 농도를 측정하여 각 단위 그램 단백질 당 인슐린 분비량을 계산하였다.

4. RU486에 의한 당질코르티코이드 수용체 억제제가 텍사메타손에 의한 인슐린 분비에 미치는 영향 관찰

INS-1 세포를 12-well plate에 분주하여 텍사메타손, RU486, 또는 텍사메타손과 RU486이 동시에 함유된 배지와 vehicle을 함유한 배지에서 각각 2일간 배양하였다. 2.8 mM 포도당을 함유한 KRBB-HEPES 완충액으로 2회 세척하고 1시간 동안 배양한 후 각각 2.8 mM 또는 11.2 mM의 포도당을 함유한 KRBB-HEPES 완충액으로 바꾸어 1시간 배양한 후, 상층액을 취하여 4℃에서 10분간 원심분리하여 상층액을 모아 -20℃에 보관하였다. 분비된 인슐린의 양을 rat insulin RIA kit로 측정하였다. 각 well의 세포 단백질의 농도를 측정하여 각 단위 그램 단백질 당 인슐린 분비량을 계산하였다.

5. 역전사 중합효소 연쇄반응을 이용한 인슐린 합성 측정

INS-1 세포를 6-well plate에 분주하여 텍사메타손, RU486, 또는 텍사메타손과 RU486이 동시에 함유된 배지와 vehicle을 함유한 배지에서 각각 2일간 배양하였다. 2.8 mM 포도당을 함유한 KRBB-HEPES 완충액으로 2회 세척하고 2시간 동안 배양한 후 각각 2.8 mM 또는 11.2 mM의 포도당을 함유한 KRBB-HEPES 완충액으로 바꾸어 3시간 동안 배양한 후 Trizol (Life Technologies, Gaithersburg, MD)로 총 RNA를 추출하였다. Superscript II reverse transcriptase (Life Technologies, Gaithersburg, MD)를 이용하여 2 µg의 RNA를 역전사하여 cDNA를 얻은 후 iQ SYBR green supermix (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA)를 이용하여 preproinsulin 시발체와 beta-actin시발체에 대한 중합효소 연쇄반응을 시행하였다. Beta-actin mRNA를 internal control로 이용하여 $\Delta\Delta CT$ 방법으로 preproinsulin mRNA를 정량하여 유전자 발현을 비교하였으며, 결과는 vehicle을 함유한 기저농도 포도당의 preproinsulin mRNA를 기준으로 환산하여 표시하였다.

7. 통계처리

실험결과를 평균 \pm 표준오차로 표시하였다. 통계적 처리는 Student t-test 또는 one-way ANOVA를 사용하였으며 P 값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 의미있는 것으로 하였다.

결 과

1. 덱사메타손이 세포 내 인슐린 함량에 미치는 영향

INS-1 세포를 덱사메타손을 함유한 배지에서 배양한 후 측정된 단위세포 단백질량으로 환산한 세포 내 인슐린 함유량은 1일 후 대조군에서 $2.8 \pm 0.3 \mu\text{g}/\text{mg protein}$, 덱사메타

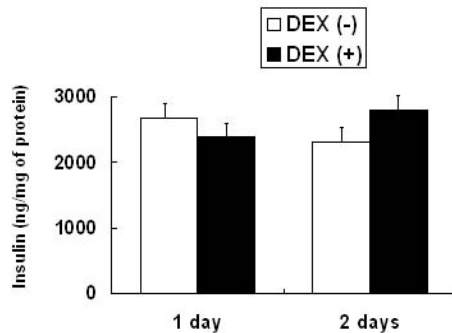


Fig. 1. Effect of dexamethasone (DEX) on intracellular insulin content in INS-1 cells. Insulin content was measured from the lysates of INS-1 cells cultured in RPMI containing 11.1 mM glucose in the absence (white bar) or presence (black bar) of DEX for 1 day and 2 days. Insulin amount was normalized by total protein amount in the cell lysates. Values are means \pm SEM.

손 처치군에서 $2.3 \pm 0.3 \mu\text{g}/\text{mg protein}$ 으로 차이가 없었으며 ($P > 0.05$), 2일 후에도 각각 $2.3 \pm 0.3 \mu\text{g}/\text{mg protein}$ 과 $2.8 \pm 0.3 \mu\text{g}/\text{mg protein}$ ($P > 0.05$)으로 인슐린 함량에 차이가 없었다 (Fig. 1).

2. 포도당 자극에 의한 인슐린 분비

INS-1 세포를 덱사메타손과 vehicle을 함유한 배지에서 1일과 2일 동안 배양한 후 기저상태 (2.8 mM)의 인슐린 분비를 측정하고 포도당 자극 (11.2 mM)에 의한 인슐린 분비를 각각 측정하였다. 1일 배양의 경우 3개의 다른 검체를 각각 측정된 독립적인 7회 실험의 평균이고 2일 배양의 경우는 3개의 다른 검체를 측정된 독립적인 6회의 실험의 평균값이다. 덱사메타손에서 배양한 세포의 기저 인슐린 분비는 대조군과 차이가 없었으나 (1일 배양, 10.8 ± 1.1 vs. $7.4 \pm 0.9 \text{ ng}/\text{mg protein}/1\text{h}$, $P > 0.05$; 2일 배양, 16.0 ± 2.0 vs. $14.1 \pm 2.5 \text{ ng}/\text{mg protein}/1\text{h}$, $P > 0.05$), 포도당 자극에 의한 인슐린 분비는 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소되어 있었다 (1일 배양, 68.5 ± 12.2 vs. $28.9 \pm 4.4 \text{ ng}/\text{mg protein}/1\text{h}$, $P < 0.05$; 2일 배양, 73.2 ± 8.0 vs. $26.1 \pm 3.9 \text{ ng}/\text{mg protein}/1\text{h}$, $P < 0.05$) (Fig. 2).

3. RU486에 의한 당질코르티코이드 수용체 억제제가 덱사메타손에 의한 인슐린 분비에 미치는 영향

RU486에 의한 당질코르티코이드 수용체 억제제가 덱사메타손에 의한 인슐린 분비에 미치는 영향을 알아보기 위하여 덱사메타손, RU-486 또는 덱사메타손과 RU-486을 같이 함유한 배지에서 2일간 배양한 후 인슐린 분비를 측정하였다. 2.8 mM 포도당에서의 기저 인슐린 분비능은 각 군 간에 차

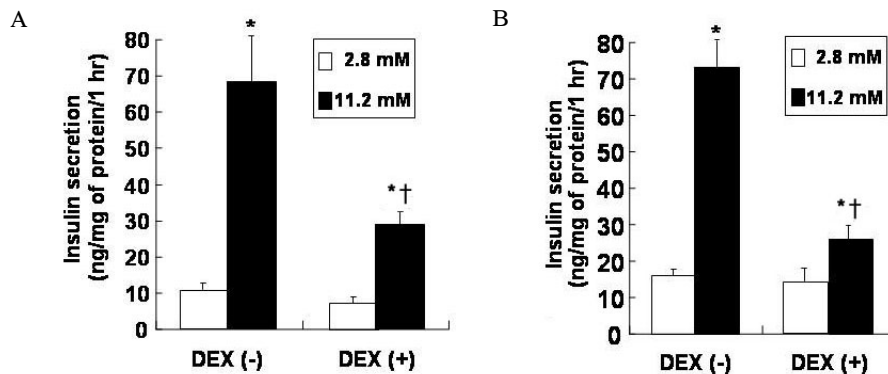


Fig. 2. Effect of DEX on glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) in INS-1 cells. GSIS was evaluated from INS-1 cells in the absence (white bar) or presence (black bar) of DEX for 1 day (A) and 2 days (B). The amount of secreted insulin was normalized by total protein amount in the cell lysates. In the cells cultured with DEX, basal insulin secretion (2.8 mM) did not differ from that of controls, but GSIS (11.2 mM) was significantly decreased in comparison to control cells.

* $P < 0.05$ versus cells in 2.8 mM glucose.

† $P < 0.05$ versus cells with vehicle in 11.2 mM glucose.

이가 없었다. 11.2 mM 포도당으로 자극한 후의 인슐린 분비는 텍사메타손을 처리한 군에서 대조군에 비하여 유의하게 낮았으나 INS-1 세포를 텍사메타손으로 배양할 때 당질코르티코이드 수용체 억제제인 RU486을 같이 첨가하여 배양한 경우에는 포도당 자극에 의한 텍사메타손의 인슐린 분비의 감소가 억제되었다 (Fig. 3).

4. 텍사메타손과 RU486이 preproinsulin mRNA 발현에 미치는 영향

RU486에 의한 당질코르티코이드 수용체 억제제가 텍사메타손에 의한 인슐린 mRNA 발현에 미치는 영향을 알아보기 위하여 텍사메타손, RU-486 또는 텍사메타손과 RU-486을 같이 함유한 배지에서 2일간 배양한 후 preproinsulin mRNA를 측정하였다. 텍사메타손을 함유한 배지에서 배양한 INS-1 세포에서 preproinsulin mRNA 발현이 감소되었다 (2.8 mM 포도당, 1.0 ± 0 vs. 0.63 ± 0.16 , $P < 0.05$; 11.2 mM 포도당, 1.45 ± 0.17 vs. 0.88 ± 0.28 , $P = 0.06$). 그러나 RU486로 당질코르티코이드 수용체를 억제했을 때는 텍사메타손에 의한 preproinsulin mRNA 발현의 억제가 감소하였다 (2.8 mM 포도당, 0.71 ± 0.06 vs. 0.52 ± 0.01 , $P > 0.05$; 11.2 mM 포도당, 0.88 ± 0.06 vs. 0.69 ± 0.06 , $P > 0.05$) (Fig. 4).

고 찰

본 연구에서 텍사메타손은 INS-1세포의 세포 내 인슐린 함량을 감소시키지는 않았으나 포도당 자극에 의한 인슐린 분비를 억제하였고 RU486에 의한 당질코르티코이드 수용체 억제제가 텍사메타손에 의한 인슐린 분비와 합성의 억제를

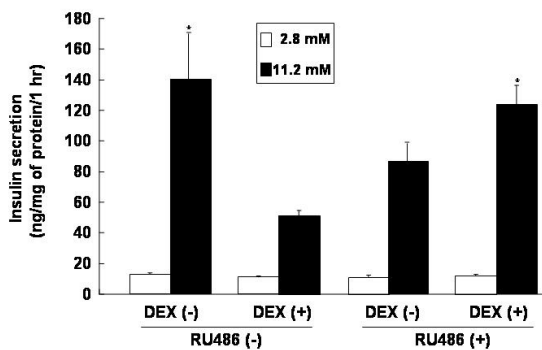


Fig. 3. Effect of RU486 on DEX-induced inhibition of insulin secretion in INS-1 cells. The cells were cultured with or without RU486 in the presence or absence of DEX for 2 days and glucose-stimulated insulin secretion was measured by rat insulin radioimmunoassay. The amount of secreted insulin was normalized by total protein amount in the cell lysates. Values are means \pm SEM.
* $P < 0.05$ versus cells with DEX in 11.2 mM glucose.

감소시키는 것을 관찰하였다.

당질코르티코이드가 과잉 분비되는 쿠싱증후군 환자의 60~80%가 당뇨병이나 내당능장애를 동반하며^{14,15)} 당질코르티코이드의 투여는 인슐린저항성을 증가시켜 당뇨병이 없는 환자에서 고혈당 발생의 위험을 증가시키고 당뇨병환자에서는 혈당조절을 악화시킨다. 당질코르티코이드가 인슐린 저항성을 증가시키는 기전으로는 간에서의 포도당신합성 증가, 근육과 지방조직에서 포도당 흡수 억제와 지방분해 증가로 인한 혈중 유리지방산의 증가 등이 있다. 그러므로 생체에서는 이러한 인슐린저항성을 극복하고 고혈당의 발생을 피하기 위하여 고인슐린혈증이 유발되는 것으로 생각된다. 당질코르티코이드 투여는 당뇨병환자의 직계가족과⁹⁾ 건강한 성인에서 모두 고인슐린혈증을 일으켰으며^{4,6,7,16)} 쥐나 생쥐를 이용한 생체 내 연구에서도 당질코르티코이드를 투여했을 때 혈당 증가여부에 관계없이 고인슐린혈증을 일으켰다¹⁷⁻¹⁹⁾. 그러나 당질코르티코이드의 췌장베타세포에 대한 직접적인 영향과 기전에 대해서는 아직 많이 알려져 있지 않다. 시험관 내 연구에서는 당질코르티코이드가 인슐린 분비를 증가^{18,20)} 또는 변화시키지 않았다는 결과와²¹⁾ 당질코르티코이드가 인슐린 분비를 억제했다는 결과들이 있다^{10,12)}. Brunstedt 등의 보고에 의하면, 생쥐에서 분리하여 배양한 췌도세포에서 하이드로코르티손을 처리했을 때 초기의 포도당 자극에 의한 인슐린 분비는 대조군과 차이가 없었으나 2주간 하이드로코르티손에 배양된 췌도세포의 인슐린 분비는 증가하는 것으로 나타났다²⁰⁾. 인슐린을 분비하는 세포주인 RIN-5mF를 이용한 실험에서는 텍사메타손에 의해 인슐린

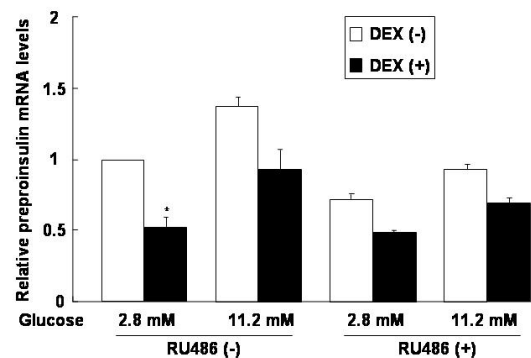


Fig. 4. Effect of DEX and RU486 on preproinsulin mRNA in INS-1 cells. After the cells were cultured with or without RU486 in the absence (white bar) or presence (black bar) of DEX for 2 days, preincubated in 2.8 mM KRBB-HEPES for 2 hours, and then cultured in KRBB-HEPES containing 2.8 mM and 11.2 mM glucose for 3 hours. The expression levels of preproinsulin mRNA and beta-actin were analyzed by real-time RT-PCR. The preproinsulin mRNA expression was normalized to beta-actin mRNA expression in the corresponding sample. Values are means \pm SEM.
* $P < 0.05$ versus cells with vehicle in 2.8 mM glucose.

합성은 증가한 반면, 인슐린 분비에는 차이가 없는 것으로 나타나기도 했다²¹⁾. 그러나 Lambillotte 등과 Jeong 등의 보고에서 텍사메타손은 농도가 증가하는 것에 비례하여 포도당 자극에 의한 인슐린 분비를 억제하였으며^{10,12)} 당질코르티코이드를 과발현 시킨 생쥐에서는 정맥 내 포도당 자극 5 분 후의 인슐린 분비가 감소되어 있었다¹¹⁾. Karlsson 등은 텍사메타손을 12일간 투여한 쥐에서 고혈당과 고인슐린혈증이 나타나고 분리한 췌도세포의 포도당에 대한 인슐린 분비가 증가하였는데 이는 텍사메타손에 의해 유발된 인슐린 저항성이 보상적으로 췌도세포의 포도당에 반응성을 증가시켰을 것이라고 보고하기도 했다⁸⁾. 본 연구에서는 1일과 2 일 동안 텍사메타손에 노출된 INS-1 세포에서 포도당 자극에 의한 인슐린 분비를 각각 측정했는데 저농도의 포도당에서는 인슐린 분비능에 유의한 차이가 없었으나 포도당 자극에 의한 인슐린 분비는 텍사메타손에 노출된 INS-1 세포에서 현저히 감소하는 것을 관찰하였다. 그러므로 당질코르티코이드가 직접적으로는 베타세포의 인슐린 분비를 억제하는 효과가 있음을 확인하였다.

당질코르티코이드의 신호전달은 리간드에 의해 활성화되는 핵수용체인 당질코르티코이드 수용체를 통하여 일어나는데 당질코르티코이드가 없는 상태에서는 당질코르티코이드 수용체가 세포질에서 heat shock protein 70 (HSP70)와 HSP90 등의 단백질과 복합체를 형성하여 불활성 상태로 있다가 당질코르티코이드가 존재하여 이들과 결합하면 HSP 단백질들과 분리되어 핵 내로 이동하게 된다. 핵 내에서 리간드-당질코르티코이드 수용체 복합체는 다양한 유전자의 DNA에 결합하여 일련의 유전자들의 발현을 증가 또는 감소시키거나 mRNA의 안정성을 조절하거나 단백질의 생합성의 효율을 변화시킨다^{22,23)}. RU486은 당질코르티코이드 수용체와 강력하게 결합하여 당질코르티코이드의 작용을 억제하는 길항호르몬으로 텍사메타손에 비하여 당질코르티코이드 수용체와 3배 더 강하게 결합하여 텍사메타손과 당질코르티코이드 수용체의 결합에 의해 나타나는 유전자 발현의 변화를 억제한다^{24,25)}. 본 연구에서는 RU486에 의한 당질코르티코이드 수용체의 활성화 억제가 텍사메타손에 의한 인슐린 분비와 preproinsulin mRNA 합성의 감소를 억제시킬 수 있는지 알아보았다. 2.8 mM 포도당 농도에서는 대조군, 텍사메타손 처치군, RU486 처치군과 텍사메타손과 RU486을 동시에 처치한 군의 인슐린 분비능에 차이가 없었다. 그러나 11.2 mM 포도당 자극에 의해서는 텍사메타손 단독 처치군의 인슐린 분비능이 대조군과 텍사메타손과 RU486을 동시에 처치한 군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소되어 있었다. 그러므로 RU486은 텍사메타손에 의한 인슐린 분비 감소를 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다. Real-time RT-PCR로 측정된 preproinsulin mRNA의 발현은 저농도의 포도당에서 텍사메타손 처치군에서 유의하게

감소되어 있었으나 RU486의 동시 처치에서는 preproinsulin mRNA 발현의 억제가 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

본 연구에서 텍사메타손은 INS-1 세포의 단위세포당 인슐린 함량을 변화시키지 않았다. 당질코르티코이드가 췌장 베타세포의 인슐린 함량에 미치는 영향에 대해서는 이견이 있다. 각각의 연구에서 사용된 당질코르티코이드의 종류와 용량이 다르기는 했으나 당질코르티코이드 처치 후 췌도세포나 베타세포의 인슐린 함량은 증가²⁶⁾, 감소^{12,27)} 또는 변화가 없었던 경우^{10,11,18)}로 다양하게 보고되고 있다. 본 연구에서는 텍사메타손 처치 1일째와 2일째의 단위세포 당 인슐린 함량을 측정했으며 1일째와 2일째에 모두 대조군과 유의한 차이가 없었다. 텍사메타손의 처치에 의해 preproinsulin mRNA의 합성이 감소함에도 불구하고 인슐린 함량에 변화가 없었던 것은 텍사메타손 투여에 의해 인슐린 분비가 상대적으로 감소되기 때문인 것으로 추정되나 이에 대하여는 좀더 연구가 필요하리라고 생각한다.

이상의 결과를 요약하면, 텍사메타손은 INS-1 세포의 세포내 인슐린 함량을 감소시키지 않았으며 INS-1 세포의 기저 인슐린 분비 (2.8 mM 포도당) 에는 변화를 가져오지 않았으나 11.2 mM 포도당 자극에 의한 인슐린 분비는 유의하게 감소시켰고 preproinsulin mRNA의 합성을 억제하였다. RU486에 의한 당질코르티코이드 수용체 억제는 텍사메타손에 의한 포도당 자극 인슐린 분비와 preproinsulin mRNA 합성 저하를 감소시켰다. 결론적으로 당질코르티코이드는 췌장 베타세포의 인슐린합성을 직접적으로 억제할 뿐만 아니라 인슐린 과립의 분비과정에서도 중요한 역할을 하며 이는 당질코르티코이드 수용체의 비활성화를 통하여 억제되었다.

요 약

연구배경: 당질코르티코이드가 간의 포도당신합성을 증가시키며 근육과 지방조직에서 포도당 흡수를 억제하고 지방분해를 증가시키는 인슐린저항성에 대한 연구는 잘 알려져 있다. 그러나 당질코르티코이드가 췌장베타세포의 인슐린 분비와 합성에 미치는 영향에 대해서는 아직 명백히 밝혀져 있지 않다. 본 연구는 텍사메타손에 노출된 INS-1 세포에서 인슐린 함량과 포도당 자극 대한 인슐린 분비와 preproinsulin mRNA 합성을 알아보고 RU486에 의한 당질코르티코이드 수용체 억제가 텍사메타손에 의한 인슐린 분비와 합성 장애에 미치는 효과를 관찰하였다.

방법: INS-1 세포를 배양한 후 텍사메타손과 vehicle을 함유한 배지에서 각각 배양한 후 세포 내 인슐린 함량과 포도당 자극에 의한 인슐린 분비를 측정하였으며 real-time 역전사 중합효소 연쇄반응을 이용하여 preproinsulin mRNA 발현을 조사하였다. RU486을 이용하여 당질코르티코이드

수용체 억제제가 텍사메타손의 작용에 미치는 영향을 관찰하였다.

결과: 텍사메타손에 노출된 INS-1 세포와 대조군에서 단위세포 단백질량으로 환산한 세포 내 인슐린 함유량은 차이가 없었다. 텍사메타손에서 배양한 INS-1 세포의 2.8 mM 포도당 농도에서의 기저 인슐린 분비는 대조군과 차이가 없었으나 11.2 mM 포도당 자극에 의한 인슐린 분비는 대조군에 비하여 유의하게 감소되어 있었으며 텍사메타손에 배양한 INS-1 세포의 preproinsulin mRNA 합성이 감소되어 있었다. RU486에 의한 당질코르티코이드 수용체 억제제는 텍사메타손의 포도당 자극에 의한 인슐린 분비능 저하와 preproinsulin mRNA의 합성 저하를 감소시켰다.

결론: 당질코르티코이드는 췌장 베타세포의 인슐린 합성을 직접적으로 억제할 뿐만 아니라 인슐린 과립의 분비과정에서도 중요한 역할을 하며 이는 당질코르티코이드 수용체의 비활성화를 통하여 억제되었다.

감사의 글

본 연구는 정부 (교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원 (R04-2003-000-10136-0) 및 2003년도 단국대학교의료원 생명과학연구소 연구비 지원으로 수행되었음.

참 고 문 헌

- McMahon M, Gerich J, Rizza R: *Effects of glucocorticoids on carbohydrate metabolism. Diabetes Metab Rev* 4:17-30, 1988
- Hirsch IB, Paauw DS: *Diabetes management in special situations. Endocrinol Metab Clin North Am* 26:631-45, 1997
- Andrews RC, Walker BR: *Glucocorticoids and insulin resistance: old hormones, new targets. Clin Sci* 96:513-23, 1999
- Tappy L, Randin D, Vollenweider P, Vollenweider L, Paquot N, Scherrer U, Schneiter P, Nicod P, Jequier E: *Mechanisms of dexamethasone-induced insulin resistance in healthy humans. J Clin Endocrinol Metab* 79:1063-9, 1994
- Coderre L, Srivastava AK, Chiasson JL: *Effect of hypercorticism on regulation of skeletal muscle glycogen metabolism by insulin. Am J Physiol* 262:E427-33, 1992
- Owen OE, Cahill GF Jr.: *Metabolic effects of exogenous glucocorticoids in fasted man. J Clin Invest* 52:2596-605, 1973
- Hollingsdal M, Juhl CB, Dall R, Sturis J, Veldhuis JD, Schmitz O, Porksen N: *Glucocorticoid induced insulin resistance impairs basal but not glucose entrained high-frequency insulin pulsatility in humans. Diabetologia* 45:49-55, 2002
- Wajngot A, Giacca A, Grill V, Vranic M, Efendic S: *The diabetogenic effects of glucocorticoids are more pronounced in low- than in high-insulin responders. Proc Natl Acad Sci USA* 89:6035-9, 1992
- Henriksen JE, Alford F, Ward GM, Beck-Nielsen H: *Risk and mechanism of dexamethasone-induced deterioration of glucose tolerance in non-diabetic first-degree relatives of NIDDM patients. Diabetologia* 40:1439-48, 1997
- Lambillotte C, Gilon P, Henquin JC: *Direct Glucocorticoid Inhibition of Insulin Secretion-An In Vitro Study of Dexamethasone Effects in Mouse Islets. J Clin Invest* 99:414-23, 1997
- Delaunay F, Khan A, Cintra A, Davani B, Ling ZC, Andersson A, Ostenson CG, Gustafsson J, Efendic S, Okret S: *Pancreatic beta cells are important targets for the diabetogenic effects of glucocorticoids. J Clin Invest* 100:2094-8, 1997
- Jeong IK, Oh SH, Kim BJ, Chung JH, Min YK, Lee MS, Lee MK, Kim KW: *The effects of dexamethasone on insulin release and biosynthesis are dependent on the dose and duration of treatment. Diabetes Res Clin Pract* 51:163-71, 2001
- Asfari M, Janjic D, Meda P, Li G, Halban PA, Wollheim CB: *Establishment of 2-mercaptoethanol-dependent differentiated insulin-secreting cell lines. Endocrinology* 130:167-78, 1992
- Biering H, Knappe G, Gerl H, Lochs H: *Prevalence of diabetes in acromegaly and Cushing syndrome. Acta Med Austriaca* 27:27-31, 2000
- Boscaro M, Barzon L, Fallo F, Sonino N: *Cushing's syndrome. Lancet* 357:783-91, 2001
- Pagano G, Cavallo-Perin P, Cassader M, Bruno A, Ozzello A, Masciola P, Dall'omo AM, Imbimbo B: *An in vivo and in vitro study of the mechanism of prednisone-induced insulin resistance in healthy subjects. J Clin Invest* 72:1814-20, 1983
- Stojanovska L, Rosella G, Proietto J: *Dexamethasone-induced increase in the rate of appearance in plasma of gut-derived glucose following an oral glucose load in rats. Metabolism* 40:297-301, 1991

18. Karlsson S, Ostlund B, Myrsen-Axcrona U, Sundler F, Ahren B: *Beta cell adaptation to dexamethasone-induced insulin resistance in rats involves increased glucose responsiveness but not glucose effectiveness. Pancreas* 22:148-56, 2001
19. Chuthaputti A, Fletcher HP: *Effect of hydrocortisone on terbutaline stimulated insulin release from isolated pancreatic islets. Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 57:329-41, 1987
20. Brunstedt J, Nielsen JH: *Direct long-term effect of hydrocortisone on insulin and glucagon release from mouse pancreatic islets in tissue culture. Acta Endocrinol* 96:498-504, 1981
21. Fernandez-Mejia C, Davidson MB: *Regulation of glucokinase and proinsulin gene expression and insulin secretion in RIN-m5F cells by dexamethasone, retinoic acid, and thyroid hormone. Endocrinology* 130:1660-8, 1992
22. Schoneveld OJ, Gaemers IC, Lamers WH: *Mechanisms of glucocorticoid signalling. Biochim Biophys Acta* 1680:114-28, 2004
23. Zhou J, Cidlowski JA: *The human glucocorticoid receptor: one gene, multiple proteins and diverse responses. Steroids* 70:407-17, 2005
24. Buttgerit F, Brand MD, Burmester GR: *Equivalent doses and relative drug potencies for non-genomic glucocorticoid effects: a novel glucocorticoid hierarchy. Biochem Pharmacol* 58:363-8, 1999
25. Sitruk-Ware R, Spitz IM: *Pharmacological properties of mifepristone: toxicology and safety in animal and human studies. Contraception* 68:409-20, 2003
26. Gremlich S, Roduit R, Thorens B: *Dexamethasone induces posttranslational degradation of GLUT2 and inhibition of insulin secretion in isolated pancreatic beta cells. Comparison with the effects of fatty acids. J Biol Chem* 272:3216-22, 1997
27. Shinozuka Y, Okada M, Oki T, Sagane K, Mizui Y, Tanaka I, Katayama K, Murakami-Murofushi K: *Altered Expression of HES-1, BETA2/NeuroD, and PDX-1 Is Involved in Impaired Insulin Synthesis Induced by Glucocorticoids in HIT-T15 Cells. Biochem Biophys Res Commun* 287:229-35, 2001