

# 인체 호흡기 상피세포에서 고농도 인슐린에 의한 MUC4, MUC5AC, MUC5B 점액 유전자의 발현

영남대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실,<sup>1</sup> 내과학교실,<sup>2</sup> 영남대학교병원 권역 호흡기 전문질환센터<sup>3</sup>

나형균<sup>1</sup> · 배창훈<sup>1</sup> · 최윤석<sup>1</sup> · 송시연<sup>1</sup> · 진현정<sup>2,3</sup> · 김용대<sup>1,3</sup>

## Effect of High-Insulin on MUC4, MUC5AC, and MUC5B Expression in Airway Epithelial Cells

Hyung Gyun Na, MD<sup>1</sup>, Chang Hoon Bae, MD, PhD<sup>1</sup>, Yoon Seok Choi, MD, PhD<sup>1</sup>,  
Si-Youn Song, MD, PhD<sup>1</sup>, Hyun Jung Jin, MD, PhD<sup>2,3</sup> and Yong-Dae Kim, MD, PhD<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, <sup>2</sup>Internal Medicine, College of Medicine, Yeungnam University, Daegu; and <sup>3</sup>Regional Center for Respiratory Diseases, Yeungnam University Medical Center, Daegu, Korea

**Background and Objectives:** Insulin is a peptide hormone that regulates the metabolism of carbohydrates and fats by promoting the absorption of glucose from the blood to skeletal muscles. Insulin has been reported to be closely related to cardiovascular, respiratory, and endocrine disease. However, the effect of insulin on production of major mucins in human airway epithelial cells has not been reported. Therefore, this study investigated the relationship between high levels of insulin and mucin in human airway epithelial cells.

**Materials and Methods:** This study analyzed the effect of high level of insulin on MUC4, MUC5AC, and MUC5B expression using reverse transcription-polymerase chain reaction and enzyme-linked immunosorbent assay in human airway epithelial cells.

**Results:** In human NCI-H292 airway epithelial cells, high level of insulin significant increased MUC4, MUC5AC, and MUC5B mRNA expression and glycoprotein production. In the primary cultures of normal nasal epithelial cells, high level of insulin also increased MUC4, MUC5AC, and MUC5B expression.

**Conclusion:** These results suggest that insulin plays a role in control of mucus hypersecretion in human airway epithelial cells.

**KEY WORDS:** Insulin · MUC4 · MUC5AC · MUC5B · Human airway epithelial cell.

## 서 론

정상 기도 점액(mucus)은 97%의 물과 3%의 점소(mucin), 비점소성 단백질, 지질, 그리고 여러 세포의 조직파편(debris) 등을 포함하는 고형물로 구성되어 있다.<sup>1)</sup> 이러한 기도 점액은 기도 점막에서 생산되어 인체 호흡기 기도 상피를 덮고 있

는 물질로 호흡으로 유입되는 이물질을 물리적 또는 화학적으로 제거하고, 기도와 폐의 습도를 적절하게 유지시키는 보호막 역할을 한다. 하지만 기도의 염증반응이나, 알레르기 비염, 천식, 만성 폐쇄성 폐질환과 같은 호흡기 질환이 생기게 되면 점액의 분비를 조절하는 점액유전자(mucin gene)를 자극하게 되어, 점액이 과다 분비되고 점액의 점성이 높

논문접수일: 2015년 9월 3일 / 수정완료일: 2015년 11월 5일 / 심사완료일: 2015년 12월 18일

교신저자: 김용대, 42415 대구광역시 남구 대명동 현충로 170 영남대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실

Tel: +82-53-620-3781, Fax: +82-53-628-7884, E-mail: ydkim@med.yu.ac.kr

아저 분비물의 자연 배출이 어려워지게 된다.<sup>2)</sup> 인체 호흡기 상피세포에서 점액을 분비하는 점액 유전자는 약 20여 가지 종류가 존재하며, 이러한 유전자에 의해 발현되는 점액의 단백질 구조는 분비형 점소(secreted mucin)인 MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC8과 세포의 수용체 역할을 하는 막성 점소(transmembrane mucin)인 MUC1, MUC4, MUC11, MUC13, MUC15, MUC20로 크게 2가지 형태로 나눈다.<sup>3)</sup>

인슐린은 이자의 랑게르한스섬 베타세포에서 분비되어 혈관을 거쳐 신체의 여러 기관으로 운반되고 세포의 성장, 물질대사, 생식, 수면 등의 체내 주요 기능을 조절하며 특히, 혈액 속의 포도당 수치인 혈당량을 일정하게 유지시키는데 중요한 역할을 한다.<sup>4)</sup> 하지만 인슐린의 불균형은 여러 대사 질환 및 장애를 초래하게 되고, 특히 당뇨와 갑상선 질환 등의 내분비 질환의 발병 원인이 된다. 뿐만 아니라 비만, 치매, 알츠하이머 등 다양한 질환의 유발 요인이 된다.<sup>5)</sup>

하지만 인슐린이 호흡기 기도 상피 세포의 점액유전자 발현과 단백질 분비에 어떠한 영향을 미치는 지에 대해서는 아직까지 보고된 바가 없다. 이에 본 연구에서는 호흡기 상피세포에서 고농도 인슐린에 의한 점액유전자 발현과 단백질 생성에 대해 알아봄으로써 인슐린과 점액 분비와의 관계에 대해 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

인슐린은 Sigma(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, RPMI 1640 medium은 Invitrogen(Carlsbad, CA, USA), fetal bovine serum(FBS)은 Hyclone Laboratories(Logan, UT, USA)에서 구입하였다. MUC4(35-4900) 일차항체는 Invitrogen(Carlsbad, CA, USA)에서 구입하였으며, MUC4 anti-rabbit horseradish peroxidase(HRP)-conjugated 이차항체, MUC5AC(SC-20118) 일차항체와 MUC5AC HRP-conjugated 이차항체, MUC5B(SC-23024) 일차항체와 MUC5B HRP-conjugated 이차항체는 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하였다.

### 세포 배양 및 처리

사람 폐의 점액상피양 암 세포주(human pulmonary mucocoeptidermoid carcinoma cell line)인 NCI-H292 세포(American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)를 6-well plate에  $1 \times 10^6$  cells/well의 농도로 접종한 후 2 mM L-glutamine, 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin

과 10% FBS가 포함된 RPMI 1640 배지를 이용하여 95%의 산소와 5%의 이산화탄소가 혼합된 배양기에서 37℃의 온도로 배양하였다. 수일 후 70~80% 정도의 융합기가 되면 세포를 0.5% fetal calf serum이 포함된 RPMI 1640 배지로 교체한 후 24시간 동안 배양하고, 다시 FBS가 포함되지 않은 RPMI 1640 배지로 세척한 후 실험에 사용하였다.

사람 코점막 상피세포를 얻기 위해서 알레르기에 대한 기저질환과 가족력이 없고, 피부단자시험과 multiple simultaneous allergen test(MAST)에서 음성반응이 나온 10명을 대상으로 하여 하비갑개 절제술을 시행 받는 중에 발생하는 비강 내 적출물인 정상 하비갑개 조직을 얻었다. 일차배양을 하기 위해 하비갑개 점막조직을 phosphate-buffered saline(PBS)로 세척한 후, 90분 동안 dispase(Boehringer Mannheim Biochemica, Mannheim, Germany)에 침전시키고 외과용 수술칼을 사용하여 하비갑개 점막의 표면을 벗겨내어, 1% PBS를 추가한 후 mesh를 통해 여과하였다. 이런 과정을 통해 얻은 하비갑개 점막의 상피세포들을 24-well( $2.5 \times 10^5$  cells/well) plate에 접종한 후, EpiLife 배지와 keratinocyte growth supplement(5 mL/500 mL of medium)에서 배양하였다.

고농도 인슐린이 기도 점액에 미치는 영향을 알아보기 위해서 NCI-H292 세포와 일차 배양한 코점막 상피세포에 0.01 µg/mL와, 0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL 농도의 인슐린을 전처리 하여 MUC4, MUC5AC, MUC5B 점액 유전자 발현과 단백질 생성을 유도시켰다.<sup>6)</sup> 대조군은 동일한 시간 동안 배지에서 NCI-H292 세포와 일차 배양한 코점막 상피세포를 각각 단독으로 배양하였다.

실험에서 사용한 NCI-H292 세포와 일차 배양한 코점막 상피세포에 대한 인슐린의 세포독성 유무는 MTT 분석(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 현미경을 이용한 세포 형태 변화 유무를 확인하여 검증하였다.

### Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 분석

Gene Amp RNA PCR core kit와 PTC-200(MJ Research Inc. Watertown, MA, USA) PCR machine을 사용하여 제조사의 방법대로 시행하였다. PCR에 사용된 oligonucleotide primer는 밝혀진 염기서열에 의해 제작하였으며, 각 반응의 내부 양성 대조군(internal positive control)은 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH)를 사용하였다.

실험에 사용된 primer의 염기배열은 MUC4의 경우 sense는 5'-TTC TAA GAA CCA CCA GAC TCA GAG C-3',

antisense는 5'-GAG ACA CAC CTG GAG AGA ATG AGC-3' 이고 MUC5AC의 경우 sense는 5'-TCA ACG GAG ACT GCG AGT ACA C-3', antisense는 5'-CTT GAT GGC CTT GGA GCA-3'이며, MUC5B의 경우 sense는 5'-CAC ATC CAC CCT TCC AAC-3', antisense는 5'-GGC TCA TTG TCG TCT CTG-3' 이고, GAPDH의 경우 sense는 5'-CCT CCA AGG AGT AAG ACC CC-3', antisense는 5'-AGG GGT CTA CAT GGC AAC TG-3'을 사용하였다.

이 과정을 간략히 설명하면, 배양된 세포를 2% bovine serum albumin을 함유한 PBS로 3회 세척한 후 Trizol® (Molecular Research Center, Cincinnati, OH, USA)을 이용하여 총 mRNA를 추출하였다. MUC4 mRNA에 대한 PCR은 95℃에서 60초간 변성과 61℃에서 30초간 결합반응 및 72℃에서 60초간 연장반응을 30회 반복한 후 72℃에서 20분간 최종 연장반응을 시행하였고, MUC5AC mRNA에 대한 PCR은 95℃에서 60초간 변성과 60℃에서 60초간 결합반응, 72℃에서 60초간 연장반응을 33회 반복한 후 72℃에서 20분간 최종 연장반응을 시행하였다 또한, MUC5B mRNA에 대한 PCR은 95℃에서 60초 간 변성과 72℃에서 60초간 결합반응, 72℃에서 60초간 연장반응을 33회 반복한 후 72℃에서 20분간 최종 연장반응을 시행하였다. 이 실험에 사용되어 증폭된 mRNA 산물의 크기는 MUC4는 467 bp, MUC5AC 130 bp, MUC5B는 245 bp, GAPDH는 145 bp였다. 증폭된 중합효소연쇄반응의 산물은 SYBR green이 함유된 1% agarose gel을 통한 전기영동을 이용하여 분리 관찰하였다. 확인된 띠(band)의 세기는 Scion Image software(Scion Corporation, Frederick, MD, USA)를 이용하여 반정량적으로 분석하였고, 대조군의 density를 100으로 하였을 때 실험군의 density값을 비율로 나타내어 relative density로 나타내었다.

### Real-time PCR 분석

Real-time PCR을 이용한 점액 유전자 발현 반응을 알아보기 위해 합성된 cDNA 1 µL를 대상으로 LC Fast Start DNA Master SYBR Green kit(Roche Applied Science, Mannheim, Germany)를 사용하였다. Real-time PCR은 최종량이 10 µL가 되게 하기 위하여 2.5 mM의 MgCl<sub>2</sub>와 최종 농도가 0.5 µM이 되게 primer를 투여하였으며, 25 ng의 RNA 1 µL를 이용하여 실험을 진행하였다. 정량적인 PCR은 Light-Cycler(Roche Applied Science, Mannheim, Germany)를 사용하여 95℃에서 10초간 변성과정을 거치고 60℃에서 5초간 결합반응을 시킨 후, 72℃에서 10초간 연장반응하였고, 이러

한 과정을 45회 반복하였다. 증폭의 정확도는 변성곡성(melting curve, Roche Applied Science, Mannheim, Germany)을 사용하여 평가하였다.

### 면역분석법(Immunoassay)

MUC4, MUC5AC, MUC5B의 점액 단백질의 함량을 측정하기 위해서 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA)법을 이용하였다. 시료를 처리한 배양된 세포에서 lysis buffer[50 mM Tris · Cl(pH 7.5), 1 mM ethylene glycol tetraacetic acid, 1% Triton X-100, and 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride]로 단백질을 추출하여 정량화하였다. 추출한 단백질 100 µg을 96-well plate에 담고 40℃에서 건조될 때까지 방치한 후 plate를 PBS로 3회 세척하였다. 비특이적 결합을 방지하기 위해 2% bovine serum albumin으로 실온에서 1시간 동안 차단한 후 PBS로 3회 세척한 다음 0.05% Tween 20을 함유한 PBS에 1:200으로 희석된 MUC4, MUC5AC, MUC5B 일차항체로 반응시켰다. 다시 PBS로 3회 세척한 후 HRP-conjugated 이차항체를 0.05% Tween 20을 함유한 PBS에 1:5000으로 희석하여 각 well에 첨가하였고, 1시간 후에 각 well을 PBS로 3회 세척하였다. 3,3', 5,5'-tetramethyl benzidine 용액으로 발색한 후, 2N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 이용하여 중단시켰다. ELISA reader(EL800R, BIO-TEK Instruments, Winooski, VT, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정 한 후 표준곡선을 이용하여 단백질의 양을 정량화하였다.

### 통계적 분석

통계 처리는 Windows용 SPSS version 10.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다. 모든 실험은 3회 이상 시행하였으며, 결과에 대한 차이는 일원배치 분산분석(one way ANOVA)을 이용하였고, 사후분석방법은 Bonferroni's 방법을 이용하여 p값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 정의하였다.

## 결 과

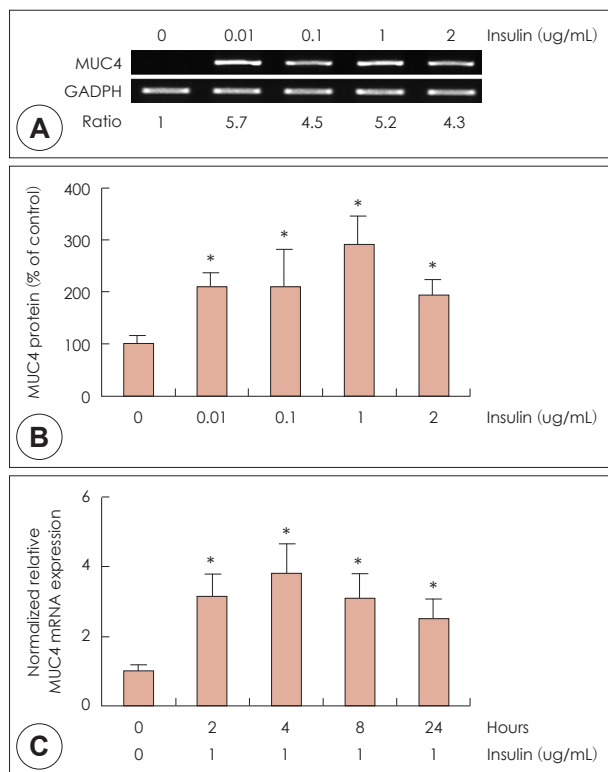
### NCI-H292 세포에서 고농도의 인슐린이 MUC4 mRNA와 단백질 생성에 미치는 영향

NCI-H292 세포에 인슐린을 각각 0.01 µg/mL와 0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 2 µg/mL 범위에서 4시간동안 배양 후 RT-PCR 및 ELISA를 시행한 결과, 인슐린에 의한 점액 유전자 MUC4의 mRNA 발현이 의미 있게 증가하였다(Fig. 1A). 인슐린에 의한 MUC4 점액단백의 생성은 통계학적으로 유

의하게 증가하였다( $p < 0.05$ )(Fig. 1B). 하지만 농도에 따른 유의한 차이는 보이지 않았다. 시간에 따른 고농도 인슐린에 대한 MUC4의 mRNA 발현 정도를 알아보기 위해 인슐린을 1  $\mu\text{g/mL}$  농도로 투여하여 2, 4, 8, 24시간 동안 배양 후 real-time PCR을 시행한 결과 고농도 인슐린에 의한 MUC4 mRNA의 발현이 통계학적으로 의미 있게 증가하였고( $p < 0.05$ ), 인슐린 투여 4시간 후에 최고치에 도달하였다(Fig. 1C).

### NCI-H292 세포에서 고농도의 인슐린이 MUC5AC mRNA와 단백질 생성에 미치는 영향

NCI-H292 세포에서 MUC5AC의 mRNA 발현과 점액단백의 생성은 인슐린 농도 0.01  $\mu\text{g/mL}$ 와 0.1  $\mu\text{g/mL}$ , 1  $\mu\text{g/mL}$ , 2  $\mu\text{g/mL}$  범위에서 8시간 동안 배양 후 RT-PCR 및 ELISA를 시행한 결과 인슐린에 의한 점액 유전자 MUC5AC의 mRNA 발현이 의미 있게 증가하였다(Fig. 2A). 인슐린에

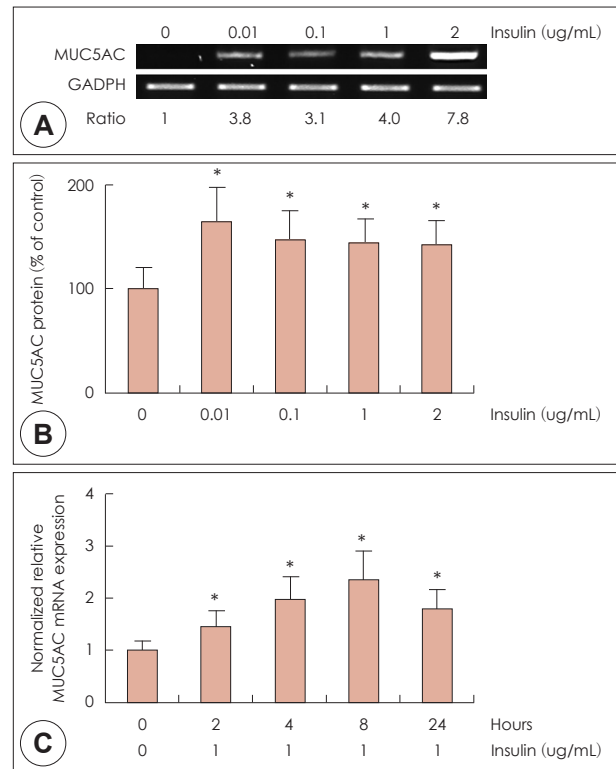


**Fig. 1.** Effects of high level of insulin on MUC4 expression in NCI-H292 cells. NCI-H292 cells were pretreated with various concentration of insulin for 4hrs. RT-PCR showed that insulin significantly induced MUC4 mRNA expression in human NCI-H292 cells (A). ELISA showed that insulin significantly increased MUC4 protein production in NCI-H292 cells (B). Real-time PCR showed that the insulin-induced MUC4 mRNA expression was increased at all times and peaked at 4 h after treatment with insulin (C). The images are representative of three separate experiments performed in triplicate. Bars indicate the mean  $\pm$  S.D. of three independent experiments performed in triplicate. \*:  $p < 0.05$  compared with zero value. RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction, ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay.

의한 MUC5AC 점액단백의 생성은 통계학적으로 유의하게 증가하였으며, 농도에 따른 유의한 차이를 보였다( $p < 0.05$ )(Fig. 2B). 시간에 따른 고농도 인슐린에 대한 MUC5AC의 mRNA 발현 정도를 알아보기 위해 인슐린을 1  $\mu\text{g/mL}$  농도로 투여하여 2, 4, 8, 24시간 동안 배양 후 real-time PCR을 시행한 결과 고농도 인슐린에 의한 MUC5AC mRNA의 발현이 통계학적으로 의미 있게 증가하였고( $p < 0.05$ ), 인슐린 투여 8시간 후에 최고치에 도달하였다(Fig. 2C).

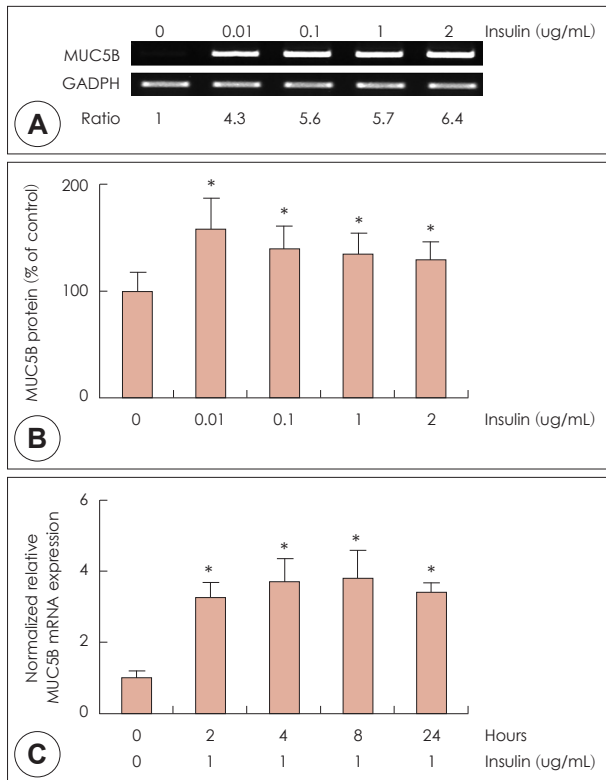
### NCI-H292 세포에서 고농도의 인슐린이 MUC5B mRNA와 단백질 생성에 미치는 영향

NCI-H292 세포에서 MUC5B의 mRNA 발현과 점액단백의 생성은 인슐린 농도 0.01  $\mu\text{g/mL}$ 와 0.1  $\mu\text{g/mL}$ , 1  $\mu\text{g/mL}$ , 2  $\mu\text{g/mL}$  범위에서 8시간 동안 배양 후 RT-PCR 및 ELISA



**Fig. 2.** Effects of high level of insulin on MUC5AC expression in NCI-H292 cells. NCI-H292 cells were pretreated with various concentration of insulin for 8hrs. RT-PCR showed that insulin significantly induced MUC5AC mRNA expression in human NCI-H292 cells (A). ELISA showed that insulin significantly increased MUC5AC protein production in NCI-H292 cells (B). Real-time PCR showed that the insulin-induced MUC5AC mRNA expression was increased at all times and peaked at 8 h after treatment with insulin (C). The images are representative of three separate experiments performed in triplicate. Bars indicate the mean  $\pm$  S.D. of three independent experiments performed in triplicate. \*:  $p < 0.05$  compared with zero value. RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction, ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay.



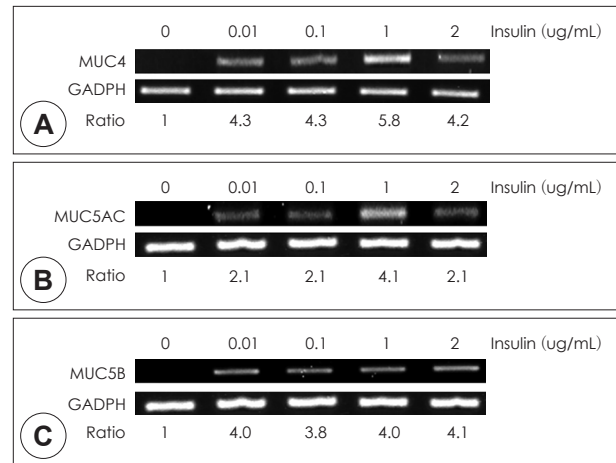


**Fig. 3.** Effects of high level of insulin on MUC5B expression in NCI-H292 cells. NCI-H292 cells were pretreated with various concentration of insulin for 8hrs. RT-PCR showed that insulin significantly induced MUC5B mRNA expression in human NCI-H292 cells (A). ELISA showed that insulin significantly increased MUC5B protein production in NCI-H292 cells (B). Real-time PCR showed that the insulin-induced MUC5B mRNA expression was increased at all times and peaked at 8 h after treatment with insulin (C). The images are representative of three separate experiments performed in triplicate. Bars indicate the mean  $\pm$  S.D. of three independent experiments performed in triplicate. \*:  $p < 0.05$  compared with zero value. RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction, ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay.

를 시행한 결과 인슐린에 의한 점액 유전자 MUC5B의 mRNA 발현이 의미 있게 증가하였다(Fig. 3A). 인슐린에 의한 점액단백의 생성은 통계학적으로 유의하게 증가하였으며, 농도에 따른 유의한 차이를 보였다( $p < 0.05$ )(Fig. 3B). 시간에 따른 고농도 인슐린에 대한 MUC5B의 mRNA 발현 정도를 알아보기 위해 인슐린을 1  $\mu$ g/mL 농도로 투여하여 2, 4, 8, 24시간 동안 배양 후 real-time PCR을 시행한 결과 고농도 인슐린에 의한 MUC5B mRNA의 발현이 통계학적으로 의미 있게 증가하였고( $p < 0.05$ ), 인슐린 투여 8시간 후에 최고치에 도달하였다(Fig. 3C).

#### 인체 코점막 상피세포에서 고농도의 인슐린이 MUC4, MUC5AC, MUC5B mRNA 발현에 미치는 영향

인체 코점막 상피세포에서 인슐린이 MUC4, MUC5AC,



**Fig. 4.** Effects of high level of insulin on MUC4, MUC5AC, MUC5B mRNA expression in human nasal epithelial cells. In human nasal epithelial cells, RT-PCR showed that insulin significantly induced MUC4, MUC5AC, and MUC5B mRNA expression (A, B, and C). The images are representative of three separate experiments performed in triplicate.

MUC5B mRNA 발현에 미치는 영향을 알아보기 위해 인체 코점막 상피세포를 일차 배양 후 각각 0.01  $\mu$ g/mL과 0.1  $\mu$ g/mL, 1  $\mu$ g/mL, 2  $\mu$ g/mL의 농도를 투여하고 MUC4의 경우 4시간, MUC5AC와 MUC5B의 경우 8시간 배양한 후 RT-PCR을 시행하였다. 실험 결과 인체 코점막 상피세포에서 고농도의 인슐린에 의한 MUC4, MUC5AC, MUC5B mRNA 발현이 의미 있게 증가하였다(Fig. 4).

## 고찰

최근 기도 염증질환에서 중요한 점액 유전자로 막성 점소인 MUC4와 분비형 점소인 MUC5AC와 MUC5B가 주목받고 있다.<sup>7)</sup> MUC4는 기도에서 생성되는 막성 점소로 약 550~930 kDa에 이르는 여러 가지 단백질크기를 가진 단일 폴리펩타이드로 합성되고,<sup>8)</sup> 주로 기도 점막에 섬모 세포(ciliated cell)의 첨부 표면(apical surface)에 나타나며, 기도 상피 세포 뿐만 아니라 눈물샘의 결막 중층 상피 세포(conjunctival stratified epithelial cell), 이하선과 악하선의 줄무늬 샘 상피 세포(striated ductal epithelial cell) 등에서도 분비된다.<sup>9)</sup> MUC5AC와 MUC5B는 기도에서 생성되는 주요 분비형 점소로 단일 사슬(chain) 구조를 가진 동형 중합체(homotypic polymers)를 만들어 점액을 형성한다.<sup>10)11)</sup> MUC5AC의 경우 폐, 눈, 위장관의 술잔세포(goblet cell)에서 주로 생성되며 MUC5B는 점막밑 샘(submucosal gland)의 점액 세포(mucous cell)에서 주로 생성된다.<sup>10)</sup>

인체 정상 인슐린의 혈중 농도는 공복시 8~11 mIU/L이 유

지되고 식후에는 60 mIU/L 이상이 유지된다.<sup>12)</sup> 하지만 고 탄수화물, 고지방 식이 섭취와 운동 부족 혹은 크롬, 마그네슘, 아연, 비타민D 등 특정 영양소가 부족하게 되면 인슐린 혈중농도가 유지되더라도 인슐린 작용이 감소하게 되는 인슐린 저항성이 생기게 된다.<sup>13)</sup> 이는 췌장 베타 세포에서 인슐린의 분비를 더욱 조장하고 인슐린 분비능이 보상적으로 증가되어 있는 고인슐린혈증을 유발시키며, 결국 췌장 베타 세포를 파괴시키고 제 2형 당뇨병의 원인 인자가 된다. 또한 고인슐린혈증은 비만, 고중성지방혈증, 저HDL콜레스테롤 혈증 등 여러 내분비질환들의 주요 발병 요인이 된다.<sup>14)</sup> 이는 고혈압, 관상 동맥 질환, 심근 경색 등의 순환기 질환과도 밀접한 연관이 있으며, 천식과 같은 호흡기 질환의 병의 경과에도 많은 영향을 미친다.<sup>14)15)</sup>

하지만 고인슐린혈증 그 자체가 어떤 질병을 뜻하는 것은 아니며 앞서 살펴본 바와 같이 실제로 인슐린 저항성과 고인슐린혈증은 다양한 질병을 유발 하거나 여러 병적 상태에 수반되어 나타나고, 비만과 특히 최근에 들어 유행하기 시작한 대사증후군의 핵심적인 요소로 부각되고 있다.<sup>16)</sup>

고인슐린혈증 및 당뇨 환자에서 섬유소원, C-reactive protein과 interleukin 6와 같은 사이토카인의 혈중 농도가 비교적 높은 것으로 알려져 있다.<sup>17)18)</sup> 최근 여러 연구에 따르면 고인슐린혈증은 체내 여러 세포에서 다양한 호르몬과 각종 사이토카인을 분비하여 염증 반응을 일으킨다는 보고가 지속되고 있다.<sup>19-21)</sup> 예를 들면, 고인슐린혈증은 microvesicle의 증가를 유발시키고 이로 인해 활성화 산소의 반응과 혈관세포유착분자(vascular cell adhesion molecule)-1의 증가로 인해 혈관내피세포의 감염을 유발시킨다는 보고가 있다.<sup>22)</sup> 또한 스트레스 반응과 염증을 조절하는 macrophage inhibitory cytokine-1의 경우 고인슐린 혈증의 serum level에서 의미 있게 증가하고 신경성 식욕 부진증에서 체중 감소에 반응한다는 보고도 있다.<sup>19)</sup>

특히 호흡기 상피세포에서 인슐린의 작용을 살펴보면, 주요 폐의 표면활성물질과 관련된 단백질인 surfactant protein A 유전자를 억제하며,<sup>6)</sup> 고인슐린혈증이 천식과 같은 만성 호흡기 질환에서 폐의 재형성 및 기도 과민성에 밀접한 관련이 있다는 연구가 보고되고 있다.<sup>15)</sup> 그 뿐만 아니라 insulin-like growth factor 1에 extracellular signal-regulated kinase 1과 p38 mitogen-activated protein kinases 신호전달체계에 관여하여 MUC8과 MUC5B 점액유전자 발현을 유도한다고 보고가 최근 발표되었고,<sup>23)</sup> 호흡기 상피세포에서 고혈당증이 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate/reactive oxygen species신호전달체계를 통해 matrix metallo-

proteinases-9을 자극하고 MUC5AC를 증가시킨다는 보고가 있다.<sup>24)</sup> 이에 본 연구에서는 호흡기 상피세포에서 고농도의 인슐린과 점액 유전자 상관관계를 살펴보고, 그 결과 고농도 인슐린이 MUC4, MUC5AC, MUC5B 유전자 발현과 점액 분비를 유도한다는 것을 알 수 있었다.

결론적으로 본 실험은 고농도 인슐린은 호흡기 상피세포의 분비형 점소 뿐만 아니라 막성 점소의 과분비에도 영향을 미치며, 이는 당뇨나 대사증후군과 같은 고인슐린혈증을 동반할 수 있는 질환에서 적정 혈당 유지가 호흡기 질환의 기도 점액 과분비 조절에 밀접한 연관성이 있음을 유추해 볼 수 있다. 하지만 인슐린에 의한 호흡기 상피세포 점액 발현에 영향에 관한 정확한 기전을 밝히기 위해서는 호흡기 상피세포에서 인슐린의 신호전달체계 및 작용기전 등에 관한 더 자세한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

중심 단어 : 인슐린 · 점소 · 인체 호흡기 상피세포.

## REFERENCES

- 1) Fahy JV, Dickey BF. Airway mucus function and dysfunction. *N Engl J Med* 2010;363:2233-47.
- 2) Rose MC, Nickola TJ, Voynow JA. Airway mucus obstruction: Mucin glycoproteins, MUC gene regulation and goblet cell hyperplasia. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;25:533-7.
- 3) Rose MC, Voynow JA. Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol Rev* 2006;86:245-78.
- 4) Sonksen P, Sonksen J. Insulin: Understanding its action in health and disease. *Br J Anaesth* 2000;85:69-79.
- 5) Zlokovic BV. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci* 2011;12:723-38.
- 6) Miakotina OL, Goss KL, Snyder JM. Insulin utilizes the PI3-kinase pathway to inhibit SP-A gene expression in lung epithelial cells. *Respir Res* 2002;3:27.
- 7) Chang JH, Kim JH, Lee KW, Cho CI, Chun JH, Kim KS. Suppression of IL-1beta-induced MUC5AC gene expression by ginkgo biloba extract (EGb 761) in human airway epithelial cells. *J Rhinol* 2007;14:49-55.
- 8) Singh AP, Moniaux N, Chauhan SC, Meza JL, Batra SK. Inhibition of MUC4 expression suppresses pancreatic tumor cell growth and metastasis. *Cancer Res* 2004;64:622-30.
- 9) Chaturvedi P, Singh AP, Batra SK. Structure, evolution, and biology of the MUC4 mucin. *FASEB J* 2008;22:966-81.
- 10) Thornton DJ, Rousseau K, McGuckin MA. Structure and function of the polymeric mucins in airways mucus. *Annu Rev Physiol* 2008;70:459-86.
- 11) Kim KR, Kim NH, Park Y, Kim JH, Lee EJ, Kim KS. Berberine suppresses interleukin-1beta-induced MUC5AC gene expression in human airway epithelial cells. *J Rhinol* 2011;18:116-21.
- 12) Iwase H, Kobayashi M, Nakajima M, Takatori T. The ratio of insulin to C-peptide can be used to make a forensic diagnosis of exogenous insulin overdose. *Forensic Sci Int* 2001;115:123-7.
- 13) Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-607.

- 14) Modan M, Halkin H, Almog S, Lusky A, Eshkol A, Shefi M, et al. Hyperinsulinemia. A link between hypertension obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest* 1985;75:809-17.
- 15) Singh S, Prakash Y, Linneberg A, Agrawal A. Insulin and the lung: Connecting asthma and metabolic syndrome. *J Allergy* 2013;2013: 627384.
- 16) Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome-a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006;23:469-80.
- 17) Edalat B, Sharifi F, Badamchizadeh Z, Hossein-Nezhad A, Larijani B, Mirarefin M, et al. Association of metabolic syndrome with inflammatory mediators in women with previous gestational diabetes mellitus. *J Diabetes Metab Disord* 2013;12:8.
- 18) Ford ES. The metabolic syndrome and C-reactive protein, fibrinogen, and leukocyte count: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Atherosclerosis* 2003;168:351-8.
- 19) Karczewska-Kupczewska M, Kowalska I, Nikolajuk A, Adamska A, Otziomek E, Gorska M, et al. Hyperinsulinemia acutely increases serum macrophage inhibitory cytokine-1 concentration in anorexia nervosa and obesity. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;76:46-50.
- 20) Ruotsalainen E, Stancakova A, Vauhkonen I, Salmenniemi U, Pihlajamaki J, Punnonen K, et al. Changes in cytokine levels during acute hyperinsulinemia in offspring of type 2 diabetic subjects. *Atherosclerosis* 2010;210:536-41.
- 21) Brestoff JR, Artis D. Immune regulation of metabolic homeostasis in health and disease. *Cell* 2015;161:146-60.
- 22) Heinrich LF, Andersen DK, Cleasby ME, Lawson C. Long-term high fat feeding of rats results in increased numbers of circulating microvesicles with pro-inflammatory effects on endothelial cells. *Br J Nutr* 2015;113:1704-11.
- 23) Bae CH, Kim JS, Song SY, Kim YW, Park SY, Kim YD. Insulin-like growth factor-1 induces MUC8 and MUC5B expression via ERK1 and p38 MAPK in human airway epithelial cells. *Biochem Bioph Res Commu* 2013;430:683-8.
- 24) Yu H, Yang J, Xiao Q, Lu Y, Zhou X, Xia L, et al. Regulation of high glucose-mediated mucin expression by matrix metalloproteinase-9 in human airway epithelial cells. *Exp Cell Res* 2015;333:127-35.