

자가포식과 당뇨병

서울대학교 의과대학 내과학교실¹, 성균관대학교 의과대학 내과학교실²

정혜승¹ · 이명식²

Autophagy in Diabetes

Hye Seung Jung¹, Myung-Shik Lee²

¹Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine,

²Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Medicine, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Abstract

Diabetes mellitus is characterized by decreased insulin secretion and action. Decreased insulin secretion results from a reduction in mass and/or function of pancreatic β -cells. Apoptosis, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and endoplasmic reticulum (ER) stress responses have been suggested as mechanisms for the changes in β -cells in type 2 diabetes; however, the underlying causes have not been clearly elucidated. Autophagy is an intracellular process that maintains cellular homeostasis through degradation and recycling of organelles. Recently, we reported reduction of β -cell mass in autophagy-deficient mice. Pancreatic insulin content was also decreased due to the decreased β -cell mass and the reduced number of insulin granules. Morphological analysis of these β -cells revealed an accumulation of ubiquitinated proteins, swollen mitochondria, and distended ER. Insulin secretory function ex vivo was also impaired. As a result, autophagy-deficient mice showed hypoinsulinemia and hyperglycemia. These results suggested that autophagy is necessary to maintain the structure, mass and function of β -cells. In addition, as autophagy may play a protective role against ER stress and rejuvenate organelle function, impaired autophagy may lead to mitochondrial dysfunction and ER stress, which have been implicated as causes of insulin resistance. Therefore, in addition to β -cell homeostasis, dysregulated autophagy may possibly be involved in insulin resistance. (Korean Diabetes J 33:453-457, 2009)

Key words: Autophagy, Diabetes mellitus, Endoplasmic reticulum, Insulin-secreting cells, Mitochondria

서 론

세포 사멸(cell death)은 크게 자멸사(apoptosis)와 괴사(necrosis)로 분류되어 왔으나 최근 또 하나의 새로운 세포 사멸의 한 종류로서 자가포식(autophagy)이라는 형태가 보고되고 학계에서 널리 인정되고 있다. 이 자가포식은 제2형 세포계획사(programmed cell death)로도 불리고 있으며 이에 반하여 세포자멸사는 제1형 세포계획사로 간주되고 있다¹⁾. 그러나, 자가포식은 세포 사멸의 기전일 수도 있지만, 세포 자신에게 에너지와 대사물질을 제공해 줄 수 있는 작용이라는 점에서 반대로 세포의 생존에 기여하는 것이 더욱

중요한 역할일 가능성이 크다²⁾. 자가포식의 형태학적 기술은 수십 년 전부터 되어 왔지만 생리적 의미는 잘 알려져 있지 않고 있다³⁾, 최근 퇴행성 신경질환과 종양, 그리고 일부 대사질환에서 중요한 역할을 하고 있다는 사실이 알려짐에 따라⁴⁾, 새로운 병인으로서 학계의 관심을 받고 있다.

자가포식이란?

그리스어로 자가포식(autophagy)은 스스로(auto) 먹는다(phagy)는 뜻의 단어로, 세포 내부의 물질이 세포 스스로에 의해 제거되기 때문에 붙여진 이름이다. 세포질의 노폐물,

퇴행성 단백질이나 수명이 다하거나 변성되어 기능이 저하된 세포소기관(organelle)들이 세포 안에서 이중막으로 된 자가포식체(autophagosome)라고 불리는 소포(vesicle) 내에 격리되고, 이 소포는 다시 리소좀(lysosome)과 결합하여 리소좀 안에 있는 소화 효소에 의하여 분해된다. 이렇게 분해된 물질들은 세포의 생존에 필요한 에너지를 만들거나 새로운 세포소기관을 생성하는 데에 이용된다(Fig. 1). 즉, 자가포식이란 세포 안에서 이루어지는 재활용 시스템이라고 할 수 있다⁵⁾. 재활용을 위한 지나친 세포물질 제거는 결국 세포의 사멸을 초래할 수 있기 때문에 자가포식이 제3의 세포 사멸기전이라고 일컬어지지만, 죽어가는 세포의 방어기전으로 자가포식이 심하게 나타나는 것뿐이라는 의견도 있다⁵⁾. 자가포식은 세포에게 가해지는 스트레스 상황에서 대사물질

을 제공하는 적응 반응인 동시에, 종양의 성장억제, 세포 유해 물질의 제거, 세포에 침범한 미생물의 제거, 대식세포 또는 수지상 세포에서 입파구로의 항원의 제시(antigen presentation) 등에도 관여하고 있다⁴⁾. 당뇨병에서 자가포식의 역할은 최근에 밝혀지기 시작하여 아직은 확립되지 않았지만, 최근의 몇몇 보고들은 자가포식이 당뇨병의 발병 및 예방에서 중요한 역할을 하는 기전임을 시사한다. 본 고에서는 이에 대한 간단한 리뷰와 함께, 저자들이 관찰한 바를 소개하고자 한다.

자가포식과 인슐린 분비

2007년 Kaniuk 등은 자가포식이 고혈당이나 산화스트레스에서 췌장 베타세포 내의 유비퀴틴(ubiquitin) 축적을 조

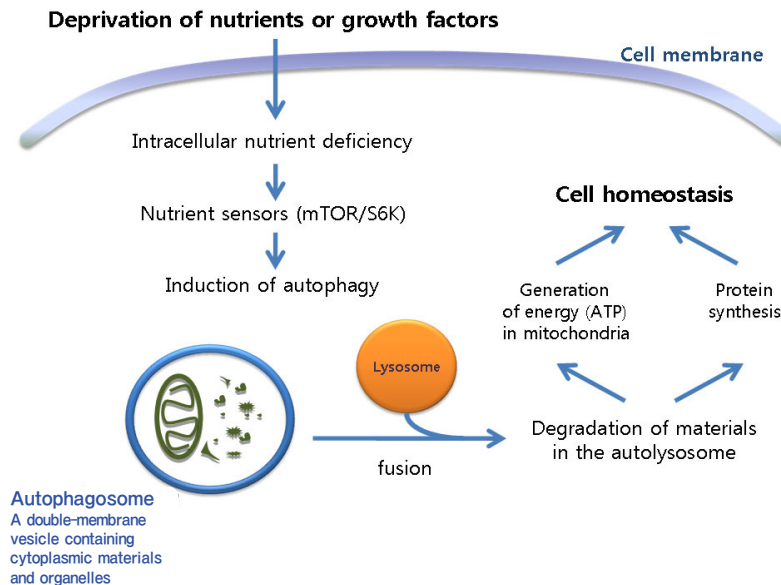


Fig. 1. Adaptive autophagy induced by nutrient deprivation.

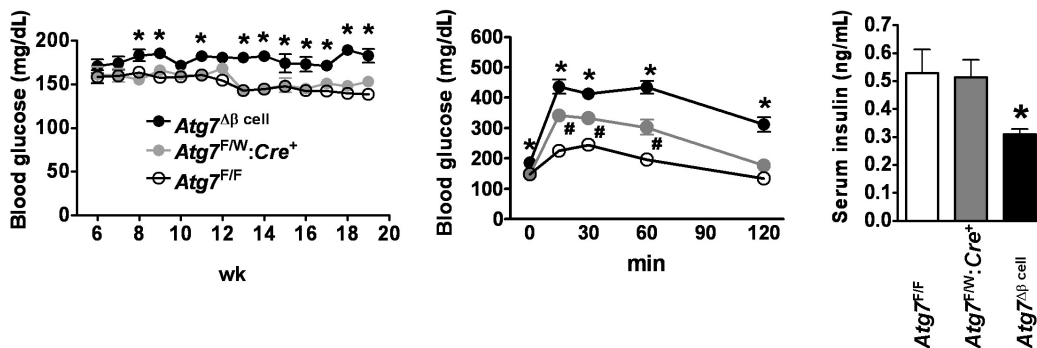


Fig. 2. Blood glucose and serum insulin levels of β -cell-specific autophagy-deficient mice⁷⁾.

절함을 발표하였다⁶⁾. 유비퀴틴 축적은 세포의 사멸을 유도하는 기전 중 하나로, 이는 자가포식이 베타세포의 생존 및 사멸에 기여함을 시사하는 연구였으나, 자가포식과 베타세포 사멸 간의 직접적인 상관관계를 증명하는 것은 아니었다. 저자들은 베타세포 특이 자가포식 적중 생쥐 모델에서, 이들 간의 직접적인 관계를 관찰하였다. 즉, 자가포식의 발생에 필수적인 유전자인 *Atg7*을 *Cre* 유전자 재조합기술을 이용하여 베타세포에서의 발현을 억제하였는데(*Atg7^{Δβ-cell}*), 이 생쥐는 혈당의 상승과 혈중 인슐린 농도의 감소를 보였다(Fig. 2)⁷⁾. 이 생쥐의 복강에 포도당을 투여하여 내당능을 조사한 결과 당뇨병에는 이르지 않았지만 통계적으로 유의한 내당능 장애를 보였으며 이는 혈중 인슐린의 분비 감소로 인한 것으로 생각되었다⁷⁾. 한편 췌장의 형태학적 분석에서는 베타세포 양의 감소와 함께 베타세포의 사멸 증가와 증식 억제가 함께 관찰되어, 양자 모두가 베타세포 양의 감소에 기여한 것으로 생각되었다(Fig. 3)⁷⁾. 이러한 베타세포 양의 감소로 인하여 췌장 내 인슐린 함량 역시 감소되어 있었다. 같은 시기에 Ebato 등은 동일 생쥐 모델에서 고지방식이에 의한 베타세포 양의 보상성 증가 역시 억제되어 있음을 발표하였다⁸⁾.

자가포식 결핍이 베타세포 기능에 미치는 영향을 조사하기 위하여 베타세포 특이 자가포식 적중 생쥐로부터 췌장 소도를 분리하여 생체 밖(ex vivo)에서 포도당을 가한 결과 기저 및 포도당 투여 후 양자 모두에서 정상 췌장소도에 비교하여 인슐린 분비가 저하되어 있었다. 한편 포도당 투여

후 세포 내에서 관찰되는 칼슘 이온 농도의 상승 또한 정상 세포에 비하여 크게 감소되어 있었다. 이러한 결과는 자가포식이 베타세포의 기능 유지에도 중요한 역할을 하고 있음을 보여준다.

한편 비수용성의 거대 유비퀴틴화 단백질은, 수용성의 짧은 수명을 갖는 유비퀴틴화 단백질이 프로테아좀 경로(proteasomal pathway)를 통하여 제거되는 것과는 달리, 자가포식 경로를 통하여 제거된다고 보고되어 있으므로 본 연구자들은 자가포식 결핍 베타세포에서 유비퀴틴이 축적되어 있는지를 면역조직염색법을 이용하여 조사하였다. 그 결과 자가포식 결핍 베타세포에서 큰 유비퀴틴을 포함하는 봉입체(inclusion body)가 관찰되었다. 한편 자가포식 특이성 기질(substrate) 중 하나인 동시에, 다유비퀴틴화 단백질에 결합하여 이를 자가포식체로 유도하는 기능을 하는 p62의 동향을 조사한 결과, 이 또한 자가포식 결핍 베타세포에 다량 축적되어 있었다. 공초점 형광현미경을 이용하여 이들의 세포 내 위치를 조사한 결과 유비퀴틴과 p62는 같은 봉입체 내에 존재하는 것으로 나타났다. 즉 자가포식 결핍 베타세포 내에 유비퀴틴, p62, 퇴행성의 단백질들이 커다란 봉입체를 형성하는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 봉입체의 형성이 베타세포의 기능 및 생존에 어떠한 역할을 하는지는 추후 연구의 대상이 될 수 있다.

한편 전자현미경으로 분석한 결과, 자가포식 결핍 베타세포에서 인슐린 과립의 저하 및 유비퀴틴 축적과 함께, 미토콘드리아, 소포체, 그리고 골지체의 형태적 변화가 관찰되었는데⁷⁾, 유비퀴틴 축적, 미토콘드리아 이상, 소포체 스트레스의 증가는 베타세포의 사멸 및 기능 저하를 유발하는 것으로 알려져 있으므로, 자가포식이 결손된 베타세포의 기능과 형태의 변화는 이들이 매개하였을 가능성이 있다. 유비퀴틴은 다른 질환모델에서도 자가포식의 억제로 인해 증가되는 것이 관찰된 바 있고^{9,10)}, 미토콘드리아와 소포체는 자가포식에 의해 제거되는 주요 세포소기관들이므로^{11,12)}, 이들의 변화는 자가포식의 억제에 기인하였을 가능성이 높다. 실험적 생쥐모델뿐 아니라, 제2형 당뇨병환자의 베타세포에서 역시 자가포식의 증가가 관찰되어¹³⁾, 사람의 당뇨병 병인에서 자가포식이 기여할 가능성이 높다. 이후 베타세포에서 고혈당과 팔미트산이 자가포식을 유도하여 세포 사멸을 억제한다는 사실이 체외(in vitro)로 관찰되어 자가포식이 당뇨병 악화에 대한 적응 기전일 가능성을 시사하기도 했지만^{14,15)}, 베타세포의 발생과 기능에서 중요한 전사인자인 Pdx1 결핍 생쥐 모델에서는 자가포식이 오히려 세포의 사멸을 촉진하며 자가포식이 억제되면 세포의 생존이 증가함이 관찰되어¹⁶⁾,

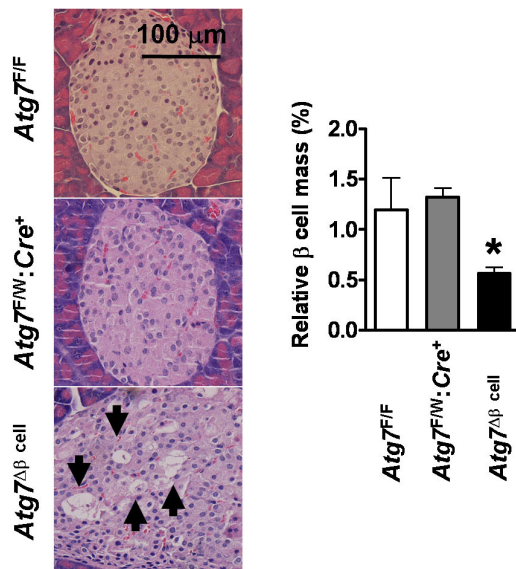


Fig. 3. β -cell mass of β -cell-specific autophagy-deficient mice⁷⁾.

베타세포에서의 자가포식의 역할은 아직 결론짓기 이른 상태라고 할 수 있다.

자가포식과 인슐린저항성

당뇨병 발생의 또 다른 기전인 인슐린저항성 역시 자가포식과 연관되어 있을 수 있다. 인슐린저항성을 증가시키는 대표적인 생리적 변화인 노화 과정에서 자가포식이 저하된다는 보고가 있기 때문이다. 노화에서 자가포식의 역할에 대한 연구는 주로 효모(yeast) 세포와 초파리(*C. elegans*)에서 이루어졌으며, 자가포식이 억제되면 노화가 촉진되는 것이 관찰되었다. 설치류 모델에서도 노화가 진행할수록 자가포식의 효율이 떨어진다는 보고가 증가하고 있다^{17,18)}. 한편, 자가포식의 기능과 밀접하게 연관되어 있는 미토콘드리아와 소포체^{11,12)}가 인슐린저항성을 유발하는 데에 기여한다는 가설이 지속적으로 거론되고 있는 가운데, 최근 소포체 스트레스가 인슐린 작용조직에서 인슐린 수용체를 감소시키며 이에 대한 적응반응으로 자가포식이 증가한다는 세포실험이 발표되었다¹⁹⁾. 인슐린저항성에서의 자가포식의 역할에 대해서는 아직 규명해야 할 분야가 많은 상태이다.

결 론

전 세계적으로 당뇨병의 치료를 위한 연구가 활발하게 진행되는 가운데, 새로운 당뇨병 발생기전으로서의 자가포식의 재조명은 다른 관점에서의 치료적 접근을 가능하게 하는 희망을 주고 있다. 특히 제1형 당뇨병뿐만 아니라 제2형 당뇨병에서도 베타세포의 생존과 사멸이 점점 더 중요한 기전으로 간주되고 있는 최근의 추세에서, 점차 뚜렷해지고 있는 자가포식과 베타세포 간의 연관성은 여러 연구자들에게 매우 흥미로운 주제가 되었다. 현재까지는 자가포식이 베타세포의 기능 및 구조, 양의 유지에 중요하다는 것은 인정되고 있지만 당뇨병의 발생에서 어떠한 역할을 하는지는 분명하지 않으며 향후 많은 연구의 대상이 될 것으로 생각된다. 한 가지 고려할 점은 사람의 제2형 당뇨병에서는 제2형 당뇨병의 설치류 모델과는 달리 아밀로이드(amyloid) 축적이 있다는 점에서 큰 차이가 있다는 것이다. 아밀로이드를 형성하는(amyloidogenic) 단백질 또는 응집(aggregation)이 잘 되는 단백질은 그렇지 않은 단백질과 달리 자가포식 경로에 의해 제거될 가능성이 크다는 점을 고려할 때, 자가포식은 설치류보다 사람의 제2형 당뇨병의 발생에 더욱 중요한 역할을 할 가능성이 있다. 또한 본 고에서는 다루지 않

았지만, 자가포식이 세포의 항상성과 사멸에 관여하는 기전이라는 점에서, 당뇨병의 합병증 발생과의 관계 역시 연구해볼 만한 가치가 있는 부분이다.

참 고 문 헌

1. Boya P, Gonzalez-Polo RA, Casares N, Perfettini JL, Dessen P, Larochette N, Metivier D, Meley D, Souquere S, Yoshimori T, Pierron G, Codogno P, Kroemer G: *Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. Mol Cell Biol* 25:1025-40, 2005
2. Lum JJ, Bauer DE, Kong M, Harris MH, Li C, Lindsten T, Thompson CB: *Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis. Cell* 120:237-48, 2005
3. Ashford TP, Porter KR: *Cytoplasmic components in hepatic cell lysosomes. J Cell Biol* 12:198-202, 1962
4. Levine B, Kroemer G: *Autophagy in the pathogenesis of disease. Cell* 132:27-42, 2008
5. Levine B, Yuan J: *Autophagy in cell death: an innocent convict? J Clin Invest* 115:2679-88, 2005
6. Kaniuk NA, Kiraly M, Bates H, Vranic M, Volchuk A, Brumell JH: *Ubiquitinated-protein aggregates form in pancreatic beta-cells during diabetes-induced oxidative stress and are regulated by autophagy. Diabetes* 56:930-9, 2007
7. Jung HS, Chung KW, Kim JW, Kim J, Komatsu M, Tanaka K, Nguyen YH, Kang TM, Yoon KH, Kim JW, Jeong YT, Han MS, Lee MK, Kim KW, Shin J, Lee MS: *Loss of autophagy diminishes pancreatic beta cell mass and function with resultant hyperglycemia. Cell Metab* 8:318-24, 2008
8. Ebato C, Uchida T, Arakawa M, Komatsu M, Ueno T, Komiya K, Azuma K, Hirose T, Tanaka K, Kominami E, Kawamori R, Fujitani Y, Watada H: *Autophagy is important in islet homeostasis and compensatory increase of beta cell mass in response to high-fat diet. Cell Metab* 8:325-32, 2008
9. Hara T, Nakamura K, Matsui M, Yamamoto A, Nakahara Y, Suzuki-Migishima R, Yokoyama M, Mishima K, Saito I, Okano H, Mizushima N: *Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative*

- disease in mice. Nature* 441:885-9, 2006
10. Komatsu M, Waguri S, Koike M, Sou YS, Ueno T, Hara T, Mizushima N, Iwata J, Ezaki J, Murata S, Hamazaki J, Nishito Y, Iemura S, Natsume T, Yanagawa T, Uwayama J, Warabi E, Yoshida H, Ishii T, Kobayashi A, Yamamoto M, Yue Z, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K: *Homeostatic levels of p62 control cytoplasmic inclusion body formation in autophagy-deficient mice. Cell* 131:1149-63, 2007
11. Bernales S, Schuck S, Walter P: *ER-phagy: selective autophagy of the endoplasmic reticulum. Autophagy* 3:285-7, 2007
12. Rodriguez-Enriquez S, Kim I, Currin RT, Lemasters J: *Tracker dyes to probe mitochondrial autophagy (mitophagy) in rat hepatocytes. Autophagy* 2:39-46, 2006
13. Masini M, Bugliani M, Lupi R, del Guerra S, Boggi U, Filippini F, Marselli L, Masiello P, Marchetti P: *Autophagy in human type 2 diabetes pancreatic beta cells. Diabetologia* 52:1083-6, 2009
14. Han D, Yang B, Olson LK, Greenstein A, Baek SH, Claycombe KJ, Goudreau JL, Yu SW, Kim EK: *Activation of autophagy through modulation of AMP-activated protein kinase protects pancreatic beta-cells from hyperglycemia. Biochem J.* 2009 Nov 11. [Epub ahead of print]
15. Choi SE, Lee S.M, Lee YJ, Li LJ, Lee SJ, Lee JH, Kim Y, Jun HS, Lee KW, Kang Y: *Protective role of autophagy in palmitate-induced INS-1 beta-cell death. Endocrinology* 150:126-34, 2009
16. Fujimoto K, Hanson PT, Tran H, Ford EL, Han Z, Johnson JD, Schmidt RE, Green KG, Wice BM, Polonsky KS: *Autophagy regulates pancreatic beta cell death in response to Pdx1 deficiency and nutrient deprivation. J Biol Chem* 284:27664-73, 2009
17. Salminen A, Kaarniranta K: *Regulation of the aging process by autophagy. Trends Mol Med* 15:217-24, 2009
18. Rajawat YS, Hilioti Z, Bossis I: *Aging: central role for autophagy and the lysosomal degradative system. Ageing Res Rev* 8:199-213, 2009
19. Zhou L, Zhang J, Fang Q, Liu M, Liu X, Jia W, Dong LQ, Liu F: *Autophagy-mediated insulin receptor down-regulation contributes to endoplasmic reticulum stress-induced insulin resistance. Mol Pharmacol* 76:596-603, 2009