

인체의 복강 내 지방조직 배양을 통한 OB 유전자 발현과 Leptin 분비에 미치는 인슐린, Dexamethasone과 성장호르몬의 단독 또는 복합적 영향에 관한 연구

한림대학교 의과대학 소아과학교실, 이화여자대학교 의과대학 소아과학교실*,
아주대학교 의과대학 소아과학교실†, 서울대학교 의과대학 소아과학교실‡

황일태 · 김경희* · 황진순† · 신충호‡ · 양세원‡

The Separate and Combined Effects of Insulin, Dexamethasone and Growth Hormone on the OB Gene Expression and Leptin Secretion from Cultured Human Visceral Adipose Tissue

Il Tae Hwang, M.D., Kyung Hee Kim, M.D.*, Jin Soon Hwang, M.D.†
Choong Ho Shin, M.D.‡ and Sei Won Yang, M.D.‡

Department of Pediatrics, College of Medicine, Hallym University, Ewha Womans University*,
Ajou University†, Seoul National University‡, Seoul, Korea

Purpose : We investigated the hormonal control of OB gene expression and leptin secretion in cultured human visceral adipose tissue.

Methods : Visceral adipose tissues were cultured for up to 48 hrs in modified Eagle's medium with varying concentration of hormones : Control(no hormone), bovine insulin(100 nM), Dexamethasone(DEX, 100 nM), growth hormone(GH, 40 ng/mL), insulin+DEX(100 nM each), insulin+DEX+GH(100 nM insulin and DEX, 40 ng/mL GH). Quantitative analysis of leptin mRNA was performed by competitive reverse transcription polymerase chain reaction, and leptin secretion in culture medium was measured by IRMA using a commercial kit.

Results : The addition of dexamethasone to the medium significantly increased OB gene expression and leptin secretion($P<0.05$). Unlike dexamethasone, insulin did not affect OB gene expression and leptin secretion. Both insulin and dexamethasone, at high concentration, significantly stimulated leptin secretion compared with basal values($P<0.05$). Leptin gene expression was not significantly increased by GH treatment alone, however GH, in combination with high concentrations of insulin and dexamethasone, attenuated the stimulatory effects of high concentrations of insulin and dexamethasone.

Conclusion : Insulin cannot increase leptin secretion without the presence of dexamethasone. The mechanism suggested is that insulin may increase leptin secretion in cytoplasm only after dexamethasone increases the expression of OB gene. Further studies are necessary to elucidate the mechanism of the action of insulin on leptin secretion after increasing OB gene expression by dexamethasone. (J Korean Pediatr Soc 2003;46:795-802)

Key Words : OB gene, Leptin secretion, Fat tissue culture

Leptin은 지방조직에 존재하는 OB 유전자에서 전사되는 호르몬으로 지방조직에서 합성된 후 혈중으로 분비되므로 혈중 leptin 농도는 체질량 지수, 비만도와 연관성이 있으며 특히 지방량과 밀접하게 연관되어 있어^{1,2)}, 비만한 사람에서는 혈중 leptin 농도가 증가하고 마른 사람에서는 감소하게 된다. 저장된 지방상태에 따라 중추성 신경내분비계에 신호로 작용하여 음식섭취나 에너지 항상성 조절에 기여하는 것으로 알려져 있으며^{3,4)}, leptin의 발현은 여러 가지 생리적 요인이나, 호르몬에 의해서 영향을 받는다.

글루코코르티코이드는 *in vivo* 상태에서 사람에게 약리적인 용량으로 투여했을 때^{5,6)}와 *in vitro* 상태에서 피하지방에서 OB mRNA와 leptin 생성을 증가시킨다고^{7,8)} 하였고, 인슐린은 3시간 이하로 인슐린을 투여하는 자극 효과가 없더라도⁹⁾, 오랫동안 고인슐린혈증을 유지시키는 clamps(hyperinsulinemic clamps)를 사용하는 경우에는 leptin 농도가 증가한다는 보고가 있고¹⁰⁾, 이와 상반되는 보고도 있다^{11,12)}. Leptin 합성에 대한 인슐린의 효과도 증가된다는 보고⁷⁾와, 혹은 변화가 없다는 보고가 있다⁸⁾. 성장호르몬은 인슐린양 성장인자-I을 매개로 하여 성장을 촉진하는 효과 이외에도 말초조직에 여러 가지 대사작용을 나타내는 것으로 알려져 있으며 지방조직에서 성장호르몬은 지방분해를 촉진하고 지방 침착을 감소시킨다^{13,14)}. 성장호르몬은 지방조직의 대사에 직접적으로 작용하는 것 이외에 leptin 유전자의 발현에도 영향을 미치는데 그 효과에 대해서는 아직 확실히 정립된 바는 없다.

Leptin의 발현에 영향을 주는 호르몬에 대한 연구가 많은 동물을 대상으로 실험, 연구되고 있으나, 사람에서 OB 유전자와 leptin 분비를 조절하는 호르몬의 영향 및 상호작용에 대해서는 아직 명확히 밝혀져 있지 않다.

본 연구는 복강 내 지방조직을 절제하여 배양액에 호르몬을 첨가하지 않은 상태와 배양액에 인슐린, dexamethasone과 성장호르몬을 단독으로 첨가하거나, 인슐린과 dexamethasone을 동시에 첨가하거나, 인슐린과 dexamethasone과 성장호르몬을 같이 첨가한 상태에서 48시간 배양한 후 RNA를 추출하여 경쟁적 역전사 증합반응(competitive RT-PCR)을 시행하여 OB 유전자의 발현을 측정하고, human leptin IRMA kit를 사용하여 지방조직에서 분비되는 배양액 내 leptin 양을 측정하여 사람에서

화가 있거나, 스테로이드나 지방세포의 양과 대사에 영향을 주는 약물을 투여한 경우는 본 연구에서 제외시켰다.

2. 지방 조직 배양

지방조직의 생검 전 환자에게는 생리식염수만 정맥내 주입하고 복벽절개 후 30분이내에 복강 내 지방을 절제하여 2% bovine serum albumin이 함유된 Krebs buffer에 저장하여 바로 실험실로 옮겼다. 관찰된 모든 혈관과 응고된 덩어리는 제거하고, 지방조직을 3-4 mm³의 크기로 절편을 만들고 1% bovine serum albumin과 Eagle's salts를 함유한 minimal essential medium에서 30분 동안 섞어주었다. 인산완충식염수로 지방조직을 씻어준 후 100 mm-petri dish에 9 mL minimal essential medium, 1 mL fetal calf serum, 100 IU/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin, 0.25 µg/mL amphotericin B를 넣고 지방조직을 배양하는데 이때 1개의 dish 당 1,000 mg의 지방조직이 배양되었다.

이때 정상 대조군(no hormone), bovine insulin(100 nM; Sigma, St. Louis, MO), dexamethasone(100 nM; Sigma, St. Louis, MO), 성장호르몬(40 ng/mL; Eutropin, LG corporation, Korea), 인슐린+dexamethasone(각각 100 nM), 인슐린+dexamethasone+성장호르몬(100 nM insulin, dexamethasone, 40 ng/mL growth hormone)로 다양한 농도의 호르몬을 첨가하였다.

각 dish들은 5% CO₂ 보육기에서 37°C에서 48시간이상 배양시키며, 24시간마다 배양액을 갈아주는데 배양액의 기저 혈당 농도는 5 mmol/L, cortisol(0.5 nmol/L), insulin(3 pmol/L)를 유지하였다. 배양 후 지방조직을 인산완충식염수로 다시 세척하고, 지방조직만 수집하여 액화질소로 얼리고 RNA추출을 위해 -70°C에서 저장하였다. 또한 1.5 mL 배양액을 모아 -20°C에 저장한 후 leptin 분비를 측정하였다.

3. Primers and leptin competitor 제작

Human leptin에 대한 sense primer는 5'-GAC TTC ATT CCT GGG CTC CAC C-3'(nucleotide 237-258), antisense primer는 5'-CCT GAA GCT TCC AGG ACA CC-3'(nucleotide 453-472)⁷⁾이고 합성된 human leptin competitor에 대

ATC TTC TCG CGG TTA GAG TTT CTG CGG CAG TTA A-3'이다(Table 1).

DNA competitor의 제작은 2X Premix solution 25 μ L, 10 pmol DNA competitor 제작용 sense primer, 10 pmol DNA competitor 제작용 antisense primer, dH₂O 24 μ L를 넣어 총 50 μ L를 준비하여, 반응액을 94°C에서 30초, 60°C에서 30초, 72°C에서 45초로 총 30 cycle의 조건으로 PCR 반응을 실시한 후 SUPRECTM-02(Takara Shuzo, Japan)를 이용하여 primer 및 dNTPs를 제거하고 DNA competitor를 정제하였다.

Copy수의 계산은 정제된 DNA competitor의 흡광도(OD₂₆₀)를 측정하여 다음과 같은 공식을 사용하였다.

$$\text{copies}/\mu\text{L} = \text{OD}_{260} \times 50(\text{ng}/\mu\text{L}) \times 10^{-9} \times 6 \times 10^{23} / (\text{bp} \times 660)$$

4. RNA 추출과 competitive reverse transcriptase (RT)-polymerase chain reaction(PCR)을 이용한 OB 유전자 발현의 측정

배양된 지방조직으로부터 RNA는 Trizol(GibcoBRL, Rockville, MD)을 사용하여 분리하였으며 RNA 농도는 spectrophotometer를 사용하여 측정하였다.

RT 반응은 1 μ g total RNA를 70°C에서 10분간 가열한 후 얼음에 담가 급히 식힌 후 반응액에 넣었다. 반응액은 10X RT reaction buffer 2 μ L, 1 mM deoxynucleotide triphosphate (dNTP) mix, 5 mM MgCl₂, RNase inhibitor 0.5 μ L, AMV reverse transcriptase(Promega, Madison, WI) 15 unit, oligo(dT)₁₅ 0.5 μ g을 넣어 총 20 μ L를 준비한 후, 반응액은 25°C에서 10분, 42°C에서 1시간, 95°C에서 10분간 반응시켜서 최종 산물은 -20°C에 보관하였다.

Competitive PCR 반응은 template cDNA 2 μ L, leptin competitor 2 μ L, 1X PCR buffer, 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 10 pmol leptin sense primer, antisense primer, Taq polymerase 2.5 U(Promega, Madison, WI)를 넣어 총 50 μ L의 반응액을 만든 후 thermal cycler(PTC-100TM MJ Research, Massachusetts, USA)를 사용하여 94°C에서 30초, 63°C에서 1분, 72°C에서 1분간 총 33 cycle를 시행하여 72°C에서 10분간 반응시켰다. PCR

반응액 5 μ L를 2% agarose gel에서 확인하였다(Fig. 1, 2).

RT-PCR 산물은 leptin target은 236 bp(GenBank accession number NM000230), competitor은 342 bp이고, β -actin target은 368 bp(GenBank accession number X00351), competitor는 290 bp이다(Table 1).

5. Leptin 분비측정

Leptin 분비측정은 배양액에서 human leptin IRMA kit (active human leptin IRMA DSL-23100, Texas, USA)를 사용하여 측정하였다. 실험내 변이계수(intraassay coefficient) 및 실험간 변이계수(interassay coefficient)는 각각 3.7%, 5.3%였고, 배양액은 매 24시간마다 새롭게 갈아주었으며 분비측정은 24시간과 48시간동안 지방조직에서 분비된 leptin의 양을 ng으로 나타내었다.

6. 통계분석

모든 결과는 평균±표준편차로 나타내었고, 호르몬에 따른 OB 유전자의 발현과 leptin 분비량의 변화는 two-tailed paired *t* test로 하였으며 *P*-value가 0.05 미만인 경우에만 통계적 유의성이 있다고 판정하였다.

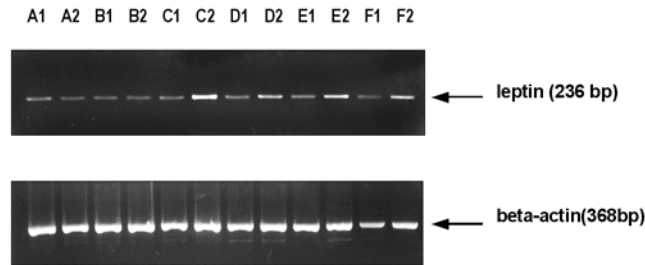


Fig. 1. PCR products of leptin and β -actin. A1: Control 24 hours, A2: Control 48 hours, B1: IN 24 hours, B2: IN 48 hours, C1: DEX 24 hours, C2: DEX 48 hours, D1: GH 24 hours, D2: GH 48 hours, E1: IN+DEX 24 hours, E2: IN+DEX 48 hours, F1: IN+DEX+GH 24 hours, F2: IN+DEX+GH 48 hours. IN: insulin, DEX: dexamethasone, GH: growth hormone.

황일태 외 4인 : 호르몬이 OB 유전자 발현과 Leptin 분비에 미치는 영향에 관한 연구

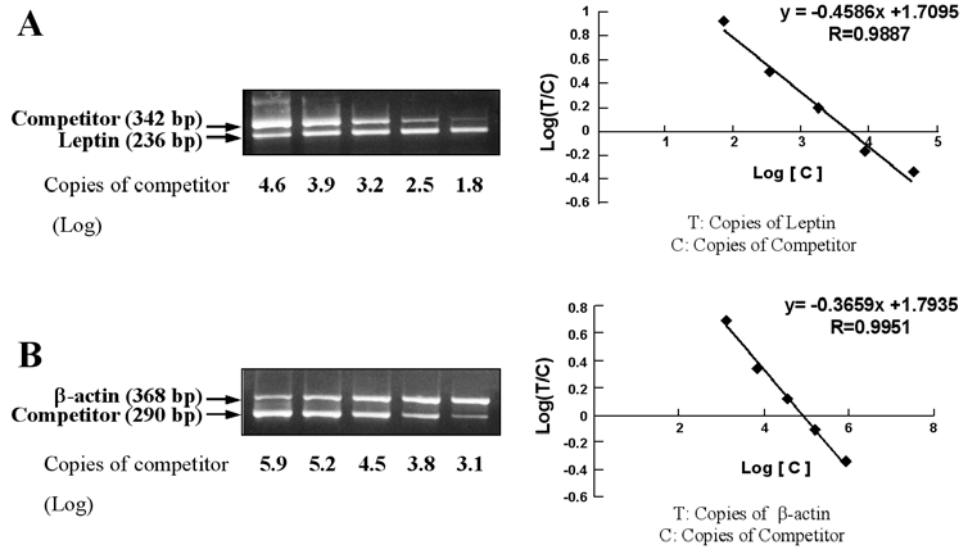


Fig. 2. Competitive PCR analysis of leptin(A) and β -actin(B).

결 과

1. 호르몬에 따른 OB 유전자의 발현 변화

인슐린은 24시간에는 107.5 ± 66.8 copies, 48시간에는 265.8 ± 191.3 copies로 OB 유전자 발현이 증가하였으나 대조군에 비해서는 의미있게 증가하지 않아서 인슐린이 OB 유전자 발현에는 영향을 미치지 못하였고, dexamethasone은 24시간에는 293.8 ± 140.5 copies, 48시간 배양 후에는 805.1 ± 284.7 copies로 48시간에 24시간에 비해 OB 유전자의 발현이 의미있게 증가되었으며, 48시간 배양 후에는 대조군의 238.8 ± 72.7 copies에 비해 의미있게 증가하였다($P < 0.05$). 인슐린과 dexamethasone을 같이 배양시에는 48시간에 대조군의 238.8 ± 72.7 copies에 비해 399.4 ± 193.2 copies로 증가하였으나, 의미있는 차이는 없었다.

성장호르몬은 24시간 배양후에는 138.1 ± 71.5 copies, 48시간에는 271.5 ± 191.0 copies로 성장호르몬 단독으로는 OB 유전자의 발현에 영향을 미치지 못하는 못하였으며, 인슐린, dexametha-

Table 2. The Effects of Hormones on OB Gene Expression in Cultured Human Visceral Adipose Tissue for 48 Hours

Groups	Leptin copies per beta-actin 10,000 copies	
	Incubation time	
	24 hour	48 hour
Control	177.4 ± 114.3	238.8 ± 72.7
IN	107.5 ± 66.8	265.8 ± 191.3
DEX	293.8 ± 140.5	$805.1 \pm 284.7^{*,\dagger}$
GH	138.1 ± 71.5	271.5 ± 191.0
IN+DEX	142.5 ± 103.3	$399.4 \pm 193.2^\dagger$
IN+DEX+GH	177.1 ± 51.6	367.9 ± 219.5

* $P < 0.05$ compared with control in same period

† $P < 0.05$ compared with 24 hour

Data represents mean \pm SD of the two separate experiments

IN: insulin, DEX: dexamethasone, GH: growth hormone

beta
copies

500
400

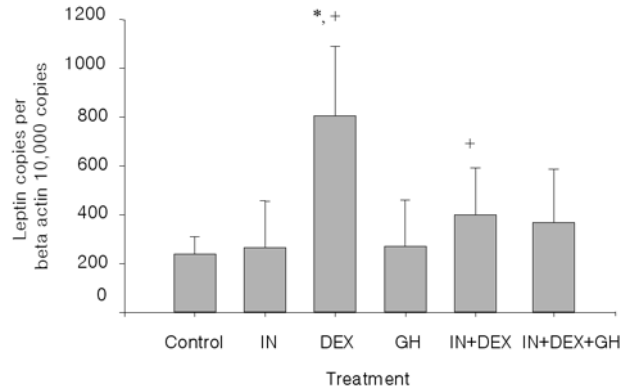


Fig. 4. The effects of hormones on OB gene expression in cultured human visceral adipose tissue for 48 hrs.
 IN: insulin, DEX: dexamethasone, GH: growth hormone.
^{*}*P*<0.05 compared with control in same period.
[†]*P*<0.05 compared with 24 hour.

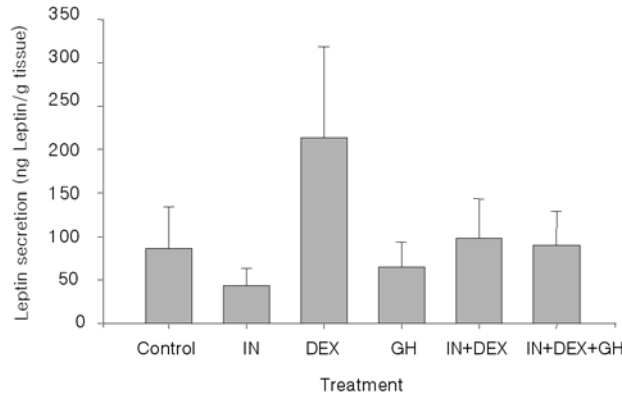


Fig. 5. The effects of hormones on leptin secretion in cultured human visceral adipose tissue for 24 hrs.
 IN: insulin, DEX: dexamethasone, GH: growth hormone.

Table 3. The Effects of Hormones on Leptin Secretion in Cultured Human Visceral Adipose Tissue for 48 Hours

Groups	Leptin secretion(ng leptin/g tissue)	
	Incubation time	
	24 hour	48 hour
Control	86.9±48.8	91.8±11.3
IN	44.5±20.1	123.4±98.1
DEX	214.8±104.5	675.7±204.7 ^{*,†}
GH	65.8±29.1	170.0±108.2
IN+DEX	99.3±45.4	557.8±225.7 ^{*,†}
IN+DEX+GH	90.9±39.3	455.7±280.4

^{*}*P*<0.05 compared with control in same period
[†]*P*<0.05 compared with 24 hour
 Data represents mean±SD of the two separate experiments
 IN: insulin, DEX: dexamethasone, GH: growth hormone

양 후에는 675.7±204.7 ng/g로 leptin 분비가 의미있게 증가되었으며(*P*<0.05), 48시간 배양 후에 대조군의 91.8±11.3 ng/g에 비해 의미있게 증가하였다(*P*<0.05).

인슐린과 dexamethasone을 같이 배양시에는 24시간에는 99.3±45.4 ng/g, 48시간 배양 후에는 557.8±225.7 ng/g로

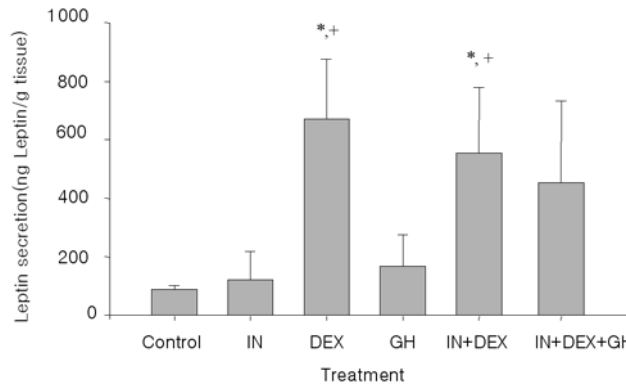


Fig. 6. The effects of hormones on leptin secretion in cultured human visceral adipose tissue for 48 hrs.
 IN: insulin, DEX: dexamethasone, GH: growth hormone.
^{*}*P*<0.05 compared with control in same period.
[†]*P*<0.05 compared with 24 hour.

고 찰

Leptin은 OB 유전자에서 전사된 167개의 아미노산으로 구성된 단백질로 *ob/ob* mouse에서 obesity-prone strain의 분자

고 열량의 소모를 증가시켜 체내 지방량을 조절하여 체중을 조절하는데 주된 역할을 하며 그 외에도 생식, 조혈기능, 대사, 호르몬으로서의 기능도 가진다. 주로 백색 지방조직에서 만들어지지만, 갈색 지방조직, 태반과 태아조직(심장, 뼈, 모낭)에서도 합성되며¹⁷⁾, leptin 수용체는 시상하부 외에도 뇌하수체와 생식기관, 간, 폐, 신장, 조혈성 간세포, 난황낭, 췌장 β 세포 등 다양한 말초조직에서 발견되고 있다^{18, 19)}.

Leptin의 발현은 여러 가지 생리적 요인이나, 호르몬에 의해서 영향을 받는데, leptin 분비에 영향을 미치는 생리적 요인으로는 체지방, 성별²⁰⁾, 사춘기²¹⁾, 기아²²⁾, 연령을 들 수 있다.

Leptin 유전자의 발현과 분비에 대한 호르몬의 영향에 대해서는 아직 확실치 밝혀져 있지 않다. Dexamethasone은 시간과 양에 의존해서 OB 유전자의 발현과 leptin의 분비를 증가시키며 leptin 분비의 증가는 세포내의 OB 유전자 mRNA 양의 증가에 의해서 일어나고⁸⁾, OB mRNA의 축적은 BMI, 지방세포의 지방의 함량과 연관이 있다. Glucocorticoid는 pretranslational level에서 작용하고 OB 유전자 발현에 대한 자극은 actinomycin D, cycloheximid에 의해서 억제되고 사람의 OB 유전자에 촉진자 부위(promoter region)에 있는 glucocorticoid response element²³⁾에 steroid-receptor complex가 결합함으로써 발생한다.

Dexamethasone은 1 nmol/L의 적은 농도에서도 OB 유전자 발현과 leptin 분비를 조절하며 이러한 효과의 50%는 10 nmol/L에서 관찰되며 최고의 효과는 50-100 nmol/L에서 나타난다²⁴⁾. 본 연구에서는 최고의 효과를 나타내는 100 nmol/L의 dexamethasone을 사용했으며 24시간 배양시에는 대조군과 의미있는 차이가 없었으나 48시간 배양후에 대조군에 비해 의미있게 OB 유전자의 발현과 leptin 분비가 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

굶은 상태에서 다시 음식물을 섭취하는 경우에 혈중 leptin 농도가 증가한다는 사실은 이러한 효과가 어느 정도는 지방조직에서 leptin의 분비를 자극하는 인슐린의 효과에 의해서 이루어진다고 가정할 수 있다. 또한 *in vivo* rat과 배양된 지방세포군주에서 인슐린이 leptin mRNA 양을 증가시키며²⁵⁾, 쥐와 사람에서 분리된 지방세포에서 인슐린이 leptin 분비를 증가시킨다는 보고가 있는데²⁶⁾ 이러한 결과들은 일치된 보고들이 아니며 상반되는 결과들도 있다²⁷⁾. Barr 등²⁸⁾은 인슐린 처치 10분 후에 조

OB 유전자 발현과 분비에 영향을 미치지 못하였는데 이것은 Halleux 등²⁴⁾, Considine 등⁸⁾의 보고와 일치하며 사람의 지방세포를 인슐린으로 배양시 배양 72시간 후에 OB mRNA가 증가하고 배양 96시간 후에 leptin 분비가 증가한다는 보고¹²⁾가 있어서 앞으로 인슐린 배양시 배양농도와 시간에 대한 연구가 더 필요하리라 사료된다.

인슐린을 dexamethasone과 같이 배양시 Considine 등⁸⁾, Halleux 등²⁴⁾은 인슐린이 dexamethasone의 OB 유전자 발현과 leptin 분비 능력을 억제시킨다고 하였다.

Considine 등⁸⁾은 10^{-7} M의 dexamethasone과 10^{-7} M의 인슐린을 같이 배양시 36시간과 48시간에서 인슐린의 억제 능력이 나타났으며, 인슐린의 농도가 10^{-7} 과 10^{-9} M에서 억제 능력이 나타났으며 10^{-11} M에서는 인슐린의 억제 능력이 나타나지 않았다고 보고 하였다. 반면에 Wabitsch 등⁷⁾은 인슐린과 dexamethasone을 같이 배양시 OB mRNA 발현과 leptin 분비가 증가된다고 하였다. 본 연구에서는 인슐린과 dexamethasone을 같이 배양시 OB 유전자의 발현에는 영향이 없었으나 leptin 분비가 증가하였는데 인슐린이 단독으로는 leptin 분비를 증가시키지 못하나, dexamethasone이 있어야만 상승작용이 나타났으며, 그 기전은 dexamethasone이 OB 유전자 발현을 증가시킨 후에 인슐린이 세포질 내에서 leptin 분비를 증가시키리라고 생각되며 앞으로 인슐린이 세포질 내에서 leptin 분비를 증가시키는 기전에 대한 연구가 더 필요하리라 생각된다.

Leptin 유전자 발현 조절에 대한 성장호르몬의 효과에 대해서는 여러 보고가 있는데 성장호르몬은 *in vitro* 상태에서 leptin mRNA 발현과 지방세포 분화를 조절한다고 알려져 있으며 insulin과 같이 첨가한 경우 지방세포 분화 6일 이후에는 leptin mRNA 발현을 감소시키나, 분화 첫 3일 이내에는 leptin mRNA 발현과 분화에 영향을 끼치지 않는다고 하여서 지방세포에 대한 성장호르몬의 작용은 insulin과 지방세포의 분화 단계에 따라 다르다고 하였다. Isozaki 등²⁹⁾은 obese, hyperleptinemic fatty Zucker rat에 성장호르몬을 7일간 투여한 경우 복강내 지방에서는 leptin mRNA 발현이 감소되나 피하지방에서는 감소되지 않으며 인슐린 성장인자-I을 투여한 경우에 체지방률이나 leptin mRNA 발현에는 변화가 없다고 하여 성장호르몬이 지방조직에 직접적으로 작용하여 복강내 지방에서 leptin

유전자의 발현과 leptin 분비에는 영향을 미치지 못하는 못하나, 고농도(각각 100 nM)의 인슐린과 dexamethasone을 같이 사용시에는 유전자의 발현이나 분비에 억제 효과를 나타내었다.

본 연구는 사람의 복강내 지방에서 인슐린, dexamethasone, 성장호르몬과 이들의 상호작용이 OB 유전자의 발현과 leptin 분비에 미치는 영향에 대해서 연구하였는데, 대상 수가 적어서 발생하는 오류를 배제할 수 없다는 단점을 가지고 있다. 따라서 앞으로 더 많은 sample을 대상으로 dexamethasone이 OB 유전자 발현을 증가시킨 후에 인슐린이 세포질 내에서 leptin 분비를 증가시키는 기전에 대한 연구가 더 필요하리라 사료되며, OB 유전자와 leptin 분비를 조절하는 여러 호르몬들의 상호작용을 이해하는 것이 비만의 발생기전과 에너지 조절에 대한 역할 규명에 도움을 주고, 나아가 비만의 치료에 대한 기초적 자료를 제시할 것으로 사료된다.

결론적으로 인슐린 단독으로는 leptin 분비를 증가시키지 못하나, dexamethasone에 의해 상승작용이 나타나고, 이는 dexamethasone이 OB 유전자 발현을 증가시킨 후에 인슐린이 세포질 내에서의 leptin 분비를 증가시킨다고 추정할 수 있다. 성장호르몬의 억제효과는 성장호르몬이 인슐린이나 dexamethasone에 대한 지방조직의 반응성을 변화시킴으로써 간접적으로 leptin의 발현을 조절할 것으로 추정되며, dexamethasone이 OB 유전자 발현을 증가시킨 후에 인슐린이 세포질 내에서의 leptin 분비를 증가시킨다는 것에 대한 연구가 더 필요하리라 사료된다.

요 약

목 적 : 지방조직에 존재하는 OB 유전자에서 전사된 호르몬인 leptin은 여러 가지 생리적 요인이나, 호르몬에 의해서 영향을 받는다. Leptin의 발현에 대한 호르몬에 대한 연구가 많은 동물 실험들을 상대로 시도되고 있으나 사람에서 OB 유전자와 leptin 분비를 조절하는 호르몬의 영향 및 상호작용에 대해서는 아직 명확히 밝혀져 있지 않다. 본 연구는 사람의 복강에서 추출한 조직배양에서 OB 유전자와 leptin 분비를 조절하는 호르몬의 영향 및 상호작용에 대해서 알아보고자 하였다.

방 법 : 복부수술을 위하여 입원한 환자 7명을 대상으로 복강내 지방조직을 절제하여 배양액에 호르몬을 첨가하지 않은 상태

비해 의미있게 증가하였다. 인슐린과 dexamethasone을 같이 배양시에는 OB 유전자 발현에 있어서는 의미있는 차이는 없었으나, leptin 분비는 48시간 배양 후 대조군에 비해 의미있게 증가하였다. 또한 성장호르몬 단독으로는 OB 유전자의 발현에 영향을 미치지 못하는 못하나, 인슐린, dexamethasone, 성장호르몬을 같이 배양시에 인슐린과 dexamethasone의 OB 유전자 발현과 leptin 분비증가 능력을 억제시켰다.

결 론 : 인슐린 단독으로는 leptin 분비를 증가시키지 못하나, dexamethasone에 의해 상승작용이 나타나고, 이는 dexamethasone이 OB 유전자 발현을 증가시킨 후에 인슐린이 세포질 내에서의 leptin 분비를 증가시킨다고 추정할 수 있다. 성장호르몬의 억제효과는 성장호르몬이 인슐린이나 dexamethasone에 대한 지방조직의 반응성을 변화시킴으로써 간접적으로 leptin의 발현을 조절할 것으로 추정되며, dexamethasone이 OB 유전자 발현을 증가시킨 후에 인슐린이 세포질 내에서의 leptin 분비를 증가시킨다는 것에 대한 연구가 더 필요하리라 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone N, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-32.
- 2) Pellemounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995;269:540-3.
- 3) Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996;382:250-2.
- 4) Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: The tale of an obesity gene. *Diabetes* 1996;45:1455-62.
- 5) Larsson H, Ahren B. Short-term dexamethasone treatment in increases plasma leptin independently of changes in insulin sensitivity in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:4428-32.
- 6) Papayrou-Rao S, Schneider SH, Petersen RN, Fried SK. Dexamethasone increases leptin expression in human in vivo. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1635-7.
- 7) Wabitsch M, Jensen PB, Blum WF, Christoffersen CT,

- 993-6.
- 11) Dagogo-Jack S, Fanelli C, Paramore D, Brothers J, Landt M. Plasma leptin and insulin relationships in obese and nonobese humans. *Diabetes* 1996;45:695-8.
 - 12) Kolaczynski JW, Nyce MR, Considine RV, Boden G, Nolan JJ, Henry R, et al. Acute and chronic effect of insulin on leptin production in humans. *Studies in vivo and in vitro. Diabetes* 1996b;45:699-701.
 - 13) Fain JN, Kovacev VP, Scow RO. Effect of growth hormone and dexamethasone on lipolysis and metabolism in isolated fat cells of the rat. *J Biol Chem* 1965;240:3522-9.
 - 14) Goodman HM. Multiple effects of growth hormone on lipolysis. *Endocrinology* 1968;83:300-8.
 - 15) Weigle DS, Bukowski TR, Foster DC, Holderman S, Kramer JM, Lasser G, et al. Recombinant ob protein reduces feeding and body weight in the ob/ob mouse. *J Clin Invest* 1995;96:2065-70.
 - 16) Chehab FF, Lim ME, Lu R. Correction of sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat Genet* 1996;12:318-20.
 - 17) Ingrid B, Janne E, Ola D, Christian A. Leptin levels in pregnant women and newborn infants; Gender differences and reduction during the neonatal period. *Pediatrics* 1998; 101:465-6.
 - 18) Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in *db/db* mice. *Cell* 1996;84:491-5.
 - 19) Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, et al. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetes mice. *Nature* 1996;379:632-5.
 - 20) Ostlund RE Jr, Yang JW, Klein S, Gingerich R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age, and metabolic covariates. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3909-13.
 - 21) Mantzoros CS, Flier JS, Rogol AD. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1066-70.
 - 22) Boden G, Chen X, Mozzoli M, Ryan I. Effect of fasting on serum leptin in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3419-23.
 - 23) Gong DW, Bi S, Pratley RE, Weintraub BD. Genomic structure and promoter analysis of the human obese gene. *J Biol Chem* 1996;271:3971-4.
 - 24) Halleux CM, Servais I, Reul BA, Detry R, Brichard SM. Multihormonal control of ob gene expression and leptin secretion from cultured human visceral adipose tissue: increased responsiveness to glucocorticoids in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:902-10.
 - 25) Saladin R, De Vos P, Guerre-Millo M, Leturque A, Girard J, Staels B. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 1995; 377:527-9.
 - 26) Gettys TW, Harkness PJ, Watson PM. The beta 3-adrenergic receptor inhibits insulin-stimulated leptin secretion from isolated rat adipocytes. *Endocrinology* 1996;137:4054-7.
 - 27) Murakami T, Iida M, Shima K. Dexamethasone regulates obese expression in isolated rat adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;214:1260-7.
 - 28) Barr VA, Malide D, Zarnowski MJ, Taylor SI, Cushman SW. Insulin stimulates both leptin secretion and production by rat white adipose tissue. *Endocrinology* 1997;138:4463-72.
 - 29) Isozaki O, Tsushima T, Miyakawa M, Nozoe Y, Demura H, Seki, H. Growth hormone directly inhibits leptin gene expression in visceral fat tissue in fatty Zucker rats. *J Endocrinol* 1999;161:511-6.
 - 30) Hardie LJ, Guilhot N, Trayhurn P. Regulation of leptin production in cultured mature white adipocytes. *Horm Metab Res* 1996;28:685-9.
 - 31) Houseknecht KL, Portocarrero CP, Ji S, Lemenager R, Spurlock ME. Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue: correlation with adipose IGF-1 expression. *J Endocrinol* 2000;164:51-7.