

암컷 생쥐의 췌장 부분절제가 배아와 신생자에 미치는 영향

조영재 · 이정선 · 구선경 · 박문녀 · 이하규 · 조병남[†]

가톨릭대학교 생명과학과

Effect of Subtotal Pancreatectomy of Female Mice on the Embryo and Offspring

Young-Jae Cho, Jung-Sun Lee, Sun-Kyung Gu, Moon Nyeo Park, Ha Kye Lee and Byung-Nam Cho[†]

Department of Life Science, The Catholic University of Korea, Bucheon 421-743, The Republic of Korea

ABSTRACT : It is known that maternal diabetes induces a premature delivery and a congenital malformation. Although it was suggested that hyperglycemia is a main cause, little has been known. The effects of subtotal pancreatectomized animal as a diabetic model on the embryo and the offspring were investigated. 1) Although survival rate of offsprings from the 90% pancreatectomized female was lower than that of control, body weight of the survived offsprings was similar to that of control until 6 weeks after birth. When the liver was investigated, abnormal tissue was observed in both female and male offsprings from the pancreatectomized mother. The level of major urinary protein(MUP) that is synthesized in the liver and secretes into urine was decreased in both female and male, supporting the liver abnormality. 2) In the pancreatectomized female, size of the Langan's island was increased and the liver also was observed abnormal. However, blood glucose level of the pancreatectomized mother was not different from that of control. The low body weight and survival rate of offsprings from the inhibin- α overexpressed mice was very similar to those of the offsprings from diabetic mother. Thus when the mother itself was investigated after DNA injection, blood glucose level in the inhibin- α overexpressed mice was not different from that of control although size of the Langan's island was decreased. Taken together, subtotal pancreatectomy affected the offspring and embryo and influenced deeply the mother itself. However glucose level of the mother was not changed during investigation. It suggested that the relationship between the diabetic mother and embryo through offspring is very complex.

Key words : Pancreatectomy, Maternal diabete model, Embryo, Offspring, Malformation.

요약 : 산모의 당뇨병은 조산과 함께 광범한 선천성 기형을 야기한다고 알려져 있다. 고혈당이 원인으로 제시되었지만 알려진 것은 별로 없다. 당뇨병의 모델로서 췌장을 부분절제한 동물의 배아와 신생자를 조사하였다. 1) 췌장을 90% 절제한 어미로부터 태어난 신생자는 정상 신생자보다 생존률이 낮았지만, 살아남은 신생자의 경우에 생후 6주까지 체중을 조사하였을 때 암수 모두 정상적인 신생자와 비슷하였다. 간 조직을 조사하였을 때, 췌장을 절제한 어미로부터 태어난 신생자는 암수 모두에서 간의 이상이 발견되었다. 간에서 합성되고 소변으로 분비되는 major urinary protein(MUP)도 암컷 수컷 모두에서 그 양이 감소하였는데, 간조직의 이상을 뒷받침하고 있다. 2) 췌장을 부분절제한 어미에서 남아있는 췌장내의 랑게르한스 섬이 커져 있었으며, 간조직도 이상이 생긴 것으로 나타났다. 그러나 췌장을 부분절제한 어미의 경우에 혈당 수준은 대조군과 차이를 보이지 않았다. Inhibin- α 가 과발현된 생쥐에서 태어난 신생자의 경우에 저체중과 생존률 저하가 나타나고 있는데, 당뇨병 신생자와 유사한 점이 매우 많다. 이에 DNA 주사법으로 inhibin- α 의 과발현을 유도한 후에 어미 자신의 변화를 조사하였는데, inhibin- α 를 과발현시킨 생쥐에서 랑게르한스 섬이 작아졌지만, 혈당 수준은 대조군과 차이를 보이지 않았다. 종합하면, 췌장의 부분절제는 신생자와 배아 모두에게 영향을 미치고 있었고, 어미 자체에도 심각한 영향을 주고 있었다. 그렇지만 조사한 기간 내에서 산모의 혈당 수준은 변하지 않은 것으로 나타났다. 당뇨병 산모와 배아 및 신생자와의 관계는 매우 복잡한 것으로 추정된다.

서론

산모가 당뇨병인 경우에 조산의 가능성이 높으며, 출산 시에 태아가 거대증(macrosomia)인 경우와 선천성 기형(congenital malformation)이 많이 나타나고 있다. 이로 인한 영아의 사망률도 높다. 선천성 기형에는 간과 지방조직의 비대, 근육조직의 비대, 신경조직 이상, 심장질환 등이 포함되어 있다 (Unger & Foster, 1992). 태아의 거대증은 산모의 비만도 관

* This work was supported by the Catholic University of Korea, Research Fund, 2005.

[†] 교신저자: 경기도 부천시 원미구 역곡2동 산43-1, 가톨릭대학교 생명과학과 (우) 421-743, (전) 02-2164-4358, (팩) 02-2164-4765, E-mail: ocean@catholic.ac.kr

계가 있으며(Yamashita *et al.*, 2003), Grb10 유전자가 관련되어 있다고 보고되었다(Charalambous *et al.*, 2003). 태아의 조산, 선천성 기형 및 거대증은 당뇨병 산모의 고혈당(hyperglycemia)에 의한 것으로 추정되는데, 고혈당은 배아에서 arachidonic acid 감소(Goldman *et al.*, 1985), 포도당 수송이상(Heilig *et al.*, 2003; Moley *et al.*, 1998), diacylglycerol 증가 및 protein kinase C(PKC) 활성화 증가(Hirama-tsu *et al.*, 2002), GAPDH 감소(Wentzel *et al.*, 2003), 생후 성장 감소와 출생 후 사망(Joshi *et al.*, 1996), 배아 계놈에서 DNA mutation 유발(Lee *et al.*, 1999) 등을 야기하는 것으로 알려졌다. 그러나, 산모의 당뇨병이 태아에 영향을 미치는 과정과 원인이 아직 정확하게 밝혀지지 않고 있다.

췌장은 외분비선과 내분비선으로 구성되어 있는데, 외분비선에서는 트립신, 키모트립신, 아밀라아제, 리파아제 등 소화에 관여하는 여러 효소들을 생산하고, 내분비선에서는 인슐린, 글루카곤을 합성 분비한다. 췌장의 생성, 기능 유지, 질병에 TGF- β superfamily에 속하는 분자들이 영향을 주고 있다. Activin receptor 돌연변이는 췌장내의 랑게르한스 섬의 축소를 유도하고(Shiozaki *et al.*, 1999; Yamaoka *et al.*, 1998), 췌장의 carcinoma에서는 activin receptor의 돌연변이가 발견되었다(Su *et al.*, 2000). 또한 췌장에서 inhibin/activin α , β_A , β_B 가 발현하며(Ogawa *et al.*, 1993; La Rosa *et al.*, 1999), inhibin- α 는 췌장의 종양 marker로서 제시되었을 정도이다(Ji *et al.*, 2006).

췌장의 이상은 당뇨병과 관련이 깊는데, 당뇨병 모델로서 췌장을 부분절제한 동물이 제시되어 왔다. 췌장의 부분절제는 주로 streptozotocin 같은 약물(Diamond *et al.*, 1989; Hardikar *et al.*, 1999)에 의하거나 물리적 수술(Allen-Jennings *et al.*, 2001; Bonner-Weir *et al.*, 1983; Martin *et al.*, 1999)에 의한다. 본 연구에서는 당뇨병 모델로서 제시된 췌장의 부분절제가 신생자 및 배아 그리고 산모 자신에 미치는 영향에 대해 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

본 실험에서는 바이오링크 사육장에서 공급받은 10주령 이상의 ICR strain 생쥐를 사용하였다. 실험에서 사용된 생쥐들은 공급 후에 14시간/10시간(light/dark) 조명조건에서 사육하였으며, 먹이와 물을 충분히 공급한 후에 실험에 이용하였다.

2. 췌장 부분절제(Subtotal Pancreatectomy; Px) 및 합사

10주령 이상의 ICR strain 생쥐에서 췌장의 부분절제는 다음과 같은 방법으로 시행하였다. 우선 생쥐를 에테르로 마취시켰다. 마취된 생쥐의 복부에서 겨드랑이 부분을 기준으로 꼬리 쪽을 향하고 간의 뒤쪽에 위치하고 있는 위와 비장을 밖으로 끌어냈다. 췌장은 위와 비장을 감싸고 있는 노란색의 포도송이처럼 생긴 기관이다. 췌장에서 췌장섬이 많이 분포되어 있는 췌장 꼬리 부분 즉, 비장과 가까이 있는 부분을 중심으로 하여 약 90%를 절제하였다. 췌장 부분절제가 끝난 후에 위, 비장과 간을 복부의 원래 자리로 넣고 절개한 피부를 봉합하였다. 봉합이 끝난 후에 봉합 부위에 소독약을 바르고 빨리 회복될 수 있도록 따뜻한 곳에 두었다.

췌장을 부분절제한 암컷 생쥐의 경우, 수술 후 약 14일 뒤에 합사시켰다. 8주 이상의 정상 ICR strain 수컷 생쥐를 췌장을 부분절제한 암컷 생쥐와 합사한 후 충분한 수분과 먹이를 주었다. 그리고 하루 동안 합사시킨 후 수컷을 분리하였다. 오전 09:00시에 질전을 확인하여 교배 여부를 판단하였다.

3. pCMV-rRNA 투여 및 혈당량 측정

pCMA-rRNA는 이미 제작된 것을 사용하였다(Ahn *et al.*, 2004). 간단히 설명하면 흰쥐의 inhibin- α cDNA를 pcDNA3 vector(Invitrogen, USA)의 EcoR I 제한효소 자리에 삽입하였다. 이런 pCMV-rRNA 300 μ g을 10% sucrose가 함유된 200 μ L의 식염수에 녹여서 1차 주입은 췌장을 부분절제한 다음 날 아침 10:00에 어미생쥐의 대퇴부에 직접 주사하였다. 그리고 inhibin- α 의 발현을 높이기 위한 2차 주입은 4일 뒤에 시행하였다.

혈당량의 측정은 pCMV-rRNA 1차 주입 후 2주와 3주 지나서 시행하였다. 혈당량은 13:00시에서 15:00시 사이에 생쥐의 꼬리 정맥 혈관으로부터 혈액 5 μ L를 채취하여 SureStep plus(Lifescan, USA)를 사용하여 측정하였다.

4. 신생자의 체중측정 및 소변 분석

췌장을 부분절제한 생쥐와 정상 생쥐의 분만을 확인한 후, 생사 여부를 관찰하여 기록하였으며 이를 바탕으로 생존율을 계산하였고, 지속적인 관찰을 통하여 태어난 신생자들의 이상 유무를 조사하였다. 또한 출생 3주부터 3일 간격으로 체중을 측정하였다.

신생자의 소변 채취와 분석은 다음과 같다. 췌장을 부분절제한 생쥐와 정상 생쥐의 분만을 확인한 후 정상 신생자와 췌장 부분절제한 생쥐의 신생자에서 태어난 지 6주 후부터 소변을 받았다. 오전 10:00에 소변을 수집하고 수집된 소변

은 불순물을 없애기 위해 원심분리(12,000 rpm, 3분, 4°C)한 후 상층액 10 μL를 추출하여 단백질 전기영동을 하기 전까지 -20°C 냉동고에서 보관하였다. 수집된 소변에서 3 μL를 추출하여 3×sodium dodecyl sulfate(SDS) buffer(20% SDS, 2 M Tris-HCl, 100% 2-β-mercaptoetanol, 100% glycerol, 1 M DTT, BpB, XyC) 2.5 μL를 넣은 후, 100°C에서 90초간 중탕한 뒤 20~25초 동안 원심분리하였다. 준비된 소변은 Laemmli(1970)의 방법에 의해 12% polyacrylamide gel(30% acrylamide, 2M Tris-HCl, 10% SDS, 10% TEMED)을 만들어 기포가 생기지 않도록 굳혔다. 1×running buffer를 충분히 붓고 100 V를 유지하면서 30분간 pre-running을 시킨 후 준비된 시료를 loading하였다. 60 V를 유지하면서 약 4시간 동안 전기영동을 수행하였다. 전기영동 후 고정용액 (glacial acetic acid 10 mL, methanol 20 mL, D.W. 70 mL)에 30분간 반응시켰고, 염색용액(Brilliant blue R-250)으로 염색하였다.

5. 조직학적 관찰

배아와 간 그리고 췌장은 췌장 부분절제한 것과 정상 생쥐

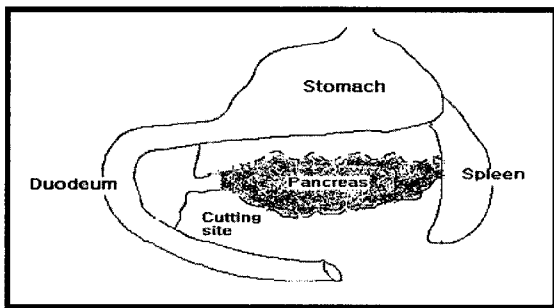
의 질전이 형성되지 15일째 경추 도살하여 적출하였다. 적출 후 배아 및 조직을 4% paraformaldehyde에 3일 동안 고정시켰다. 에탄올을 통해 탈수시킨 후 paraffin을 침투시켰다. 배아는 9 μm, 간과 췌장은 7 μm로 자른 후 hematoxylin과 eosin으로 세포질을 염색하여 입체현미경(Leica ME Apo, Switzerland)과 광학현미경(Olympux IX 70, Japan)에서 관찰하고 사진 촬영하였다.

결 과

1. 췌장의 부분절제가 신생자와 배아에 미치는 영향

정상 생쥐와 췌장을 부분절제한 생쥐를 임신시켜 출산을 유도한 결과, 췌장이 부분절제한 생쥐의 신생자들은 태어나서 바로 사망하거나 발육이 부진하여 정상 신생자에 비해 그 생존률이 낮게 나타났다(Fig. 1). 췌장을 부분절제한 생쥐에서 태어난 생쥐 중에서 살아난 신생자들은 체중을 조사하였을 때 암수 모두 정상 신생자에 비해 약간 왜소한 듯 하였지만 6주 후에는 별다른 차이를 보이지 않았다(Fig. 2). 그러나

A



B

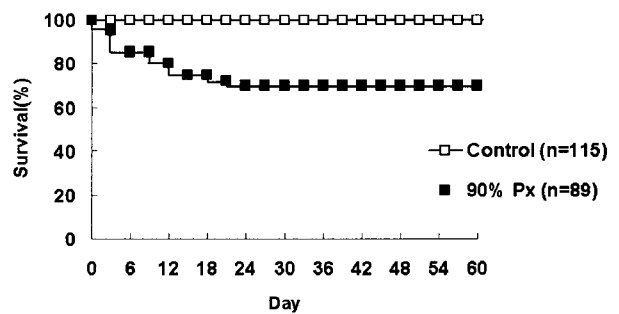


Fig. 1. 췌장 부분절제 모식도(A)와 생쥐 신생자의 생존곡선(B). Cutting site: 부분절제한 위치, Control: 정상 어미에서 태어난 신생자, 90% Px: 90% 췌장 절제된 어미에서 태어난 신생자.

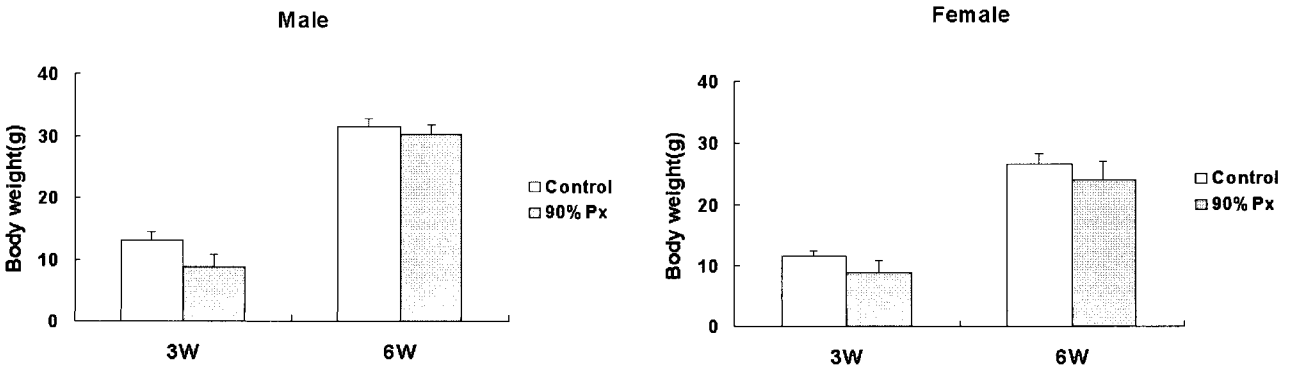


Fig. 2. 생쥐 신생자의 체중. Control: 정상 어미에서 태어난 신생자, 90% Px: 90% 췌장 절제된 어미에서 태어난 신생자, 3W: 생후 3주, 6W: 생후 6주.

태어난 신생자들의 기관을 조사하였을 때, 정상 생쥐 신생자의 간 조직에서는 핵과 세포질이 모두 뚜렷하게 나타났지만 췌장이 부분절제된 생쥐의 신생자들은 핵이 부풀어 있거나 부서져 나타나고 있었다. 이같은 현상은 암컷에서 심하게 나타났다(Fig. 3). 이런 조직변화를 통해 간 상태가 이상인 것으로 판단되어 소변분석을 통하여 생리적인 변화를 조사하였다. Major urine protein(MUP)은 간에서 합성되고 분비되어 소변으로 배출되는데, MUP의 양적 변화를 조사하였다. 일반적으로 MUP는 수컷에서 암컷보다 높게 나타난다. 정상 암컷으로부터 태어난 신생자보다 췌장을 부분절제한 암컷 생쥐로부터 태어난 신생자의 MUP의 양은 암·수에 관계없이 모두 크게 감소한 것이 관찰되었다(Fig. 4).

한편, 신생자의 생존률이 저하되고 있는 것과 관련하여 배아의 상태를 조사하였다. 임신 15일째에 배아를 분리하여 외형검사와 조직검사를 시행하였다. 췌장을 부분절제한 암컷 생쥐로부터 얻은 배아의 크기는 정상의 배아와 다르지 않았지만 조직을 검사하였을 때에 복강에 다량의 혈액이 관찰되었다(Fig. 5).

2. 췌장의 부분절제가 어미에 미치는 영향

암컷 생쥐의 췌장 부분절제는 랑게르한스 섬이 많이 분포되어 있는 비장쪽의 췌장을 절제함으로써 시행하였다(Fig. 1A). 췌장이 부분절제된 생쥐의 남아있는 췌장 조직에서 랑

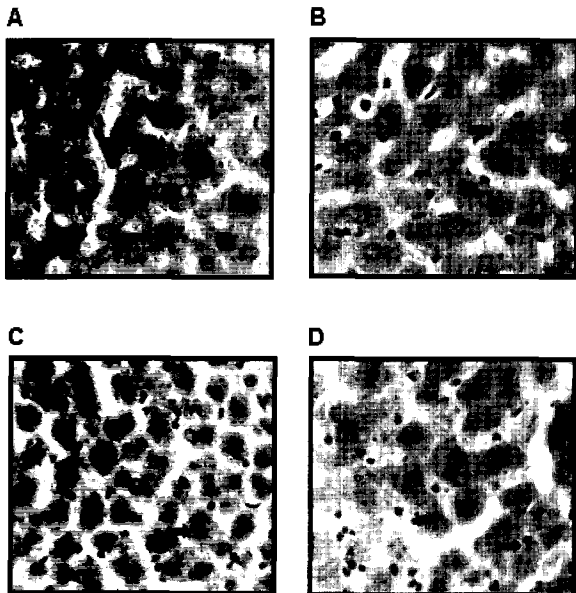


Fig. 3. 생쥐 신생자의 간 조직. A: 정상 어미에서 태어난 수컷 신생자, B: 90% 췌장 절제된 어미에서 태어난 수컷 신생자, C: 정상 어미에서 태어난 암컷 신생자, D: 90% 췌장 절제된 어미에서 태어난 암컷 신생자(×400) ➡: 핵.

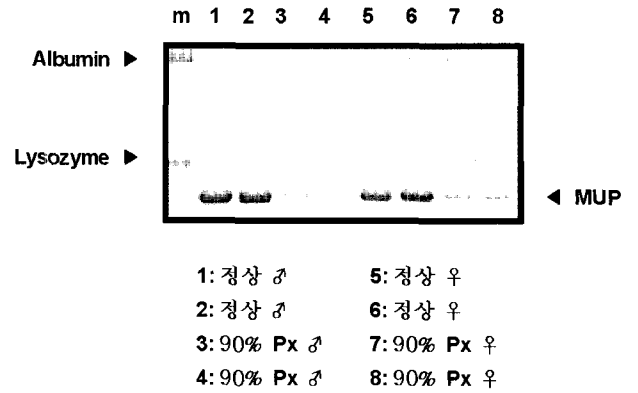


Fig. 4. 생쥐 신생자의 MUP. 정상 ♂ (1, 2): 정상 어미에서 태어난 수컷 신생자, 90% Px ♂ (3, 4): 90% 췌장 절제된 어미에서 태어난 수컷 신생자, 정상 ♀ (5, 6): 정상 어미에서 태어난 암컷 신생자, 90% Px ♀ (7, 8): 90% 췌장 절제된 어미에서 태어난 암컷 신생자, m: marker.

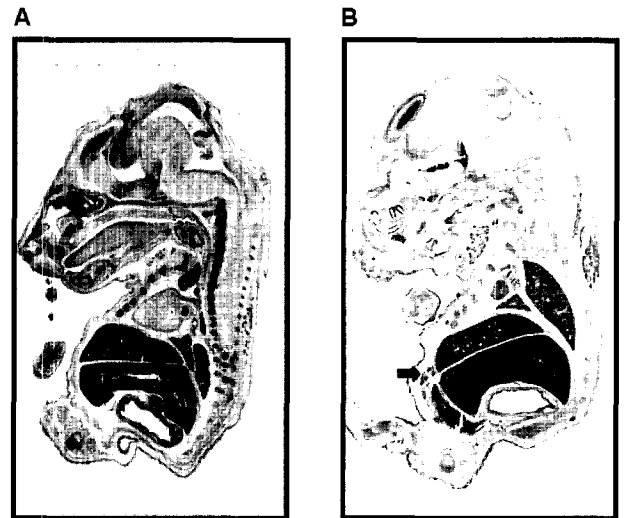


Fig. 5. 생쥐의 배아. A: 정상 어미 생쥐가 잉태한 배아, B: 90% 췌장 절제된 어미 생쥐가 잉태한 배아(×60) ➡: 혈액.

게르한스 섬은 정상 생쥐의 것에 비해 절단면을 비교하면 약 4배 정도 커져 있는 것이 관찰되었지만, 정상 생쥐의 췌장에 비해 조직이 약해서 조직 손실이 발생하였다(Fig. 6). 그리고 췌장이 부분절제된 생쥐의 간 조직도 훼손되어 나타났는데, 핵은 크기가 작아졌고 소실된 것처럼 보이는 경우도 나타났으며 세포질은 부풀어 있는 것이 관찰되었다(Fig. 7). 한편, 본 연구실에서 *inhibin-α*를 산모 생쥐에 과발현시킨 결과 왜소한 배아가 관찰되었는데(Ahn et al., 2004), *inhibin-α* 유전자와 췌장과의 관련성이 예상되어 이를 조사하였다. 이를 위해 *inhibin-α* 발현 벡터를 사용하여(Fig. 8A) 유전자 치료 방법으로 생쥐에 투여하였다. 그 결과 췌장의 랑게르한스 섬

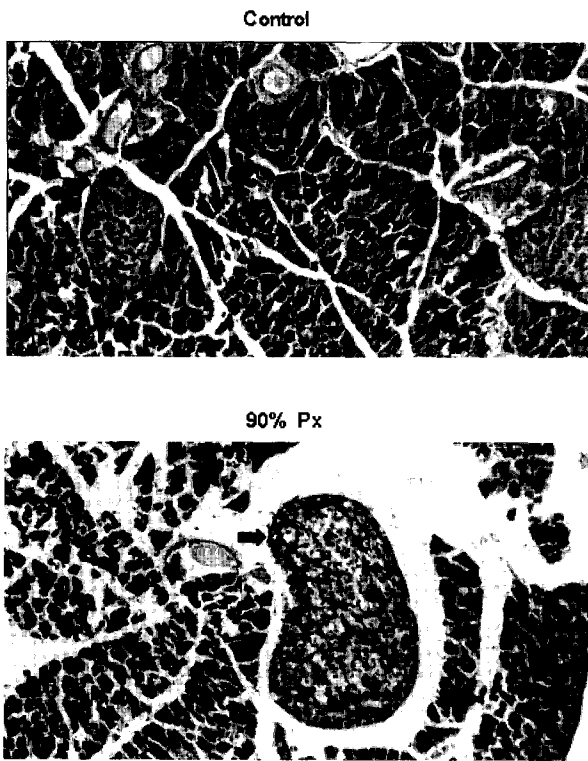


Fig. 6. 췌장조직. Control: 정상 어미의 췌장, 90% Px: 90% 췌장 절제된 어미의 췌장 →: 랑게르한스 섬.

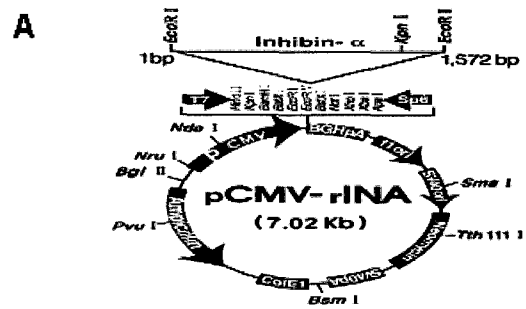


Fig. 8. pCMV-rINA 구조와 췌장의 조직. A: pCMV-rINA 구조, B: vehicle를 주사한 생쥐의 췌장(Control)과 pCMV-rINA를 주사한 생쥐의 췌장(pCMV-rINA) →: 랑게르한스 섬.

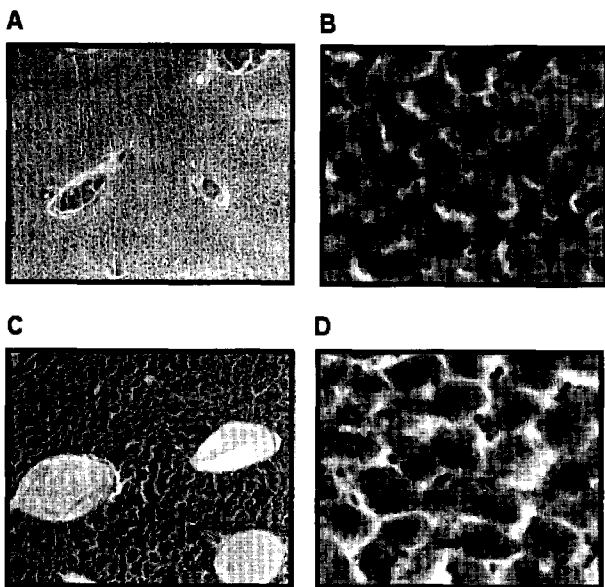


Fig. 7. 어미 생쥐의 간 조직. A, B: Control 어미 생쥐의 간. C, D: 90% 췌장 절제된 어미 생쥐의 간. A, C: (×40), B, D: (×400) →: 핵.

이 절단면을 비교하면 약 1/4배 정도 축소되어 나타났다(Fig. 8B). 랑게르한스 섬의 크기 변화가 췌장이 부분절제된 생쥐와 *inhibin-α* 발현 벡터가 투여된 생쥐에서 모두 일어났다.

따라서 혈액내의 포도당 수준 변화가 예상되어 이를 조사하였다. 그 결과 췌장의 부분절제 또는 췌장의 부분절제 후 pCMV-rINA를 투여한 생쥐에서 2주와 3주 후에 측정된 결과 혈당의 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 9).

고 찰

당뇨병 산모는 조산의 위험이 높고(Mills *et al.*, 1988; Sutherland & Pritchard, 1987), 출산 시에도 거대증 배아와 선천성 기형 등을 포함하여 태아의 사망률이 높은 것으로 알려졌다(Unger & Foster, 1992). 이에 당뇨병 모델로서 제시

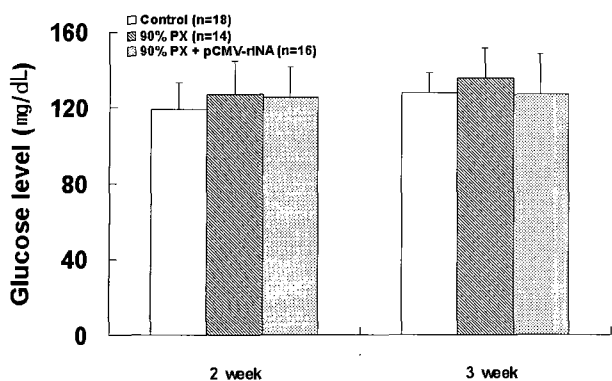


Fig. 9. 혈당 농도. Control: 정상 생쥐, 90% Px: 90% 췌장 절제 한 생쥐, 90% Px+pCMV-rINA: 90% 췌장 절제 한 생쥐에 pCMV-rINA를 주사.

된 췌장이 부분절제된 동물을 사용하여 신생자 및 배아, 그리고 산모 자신에 나타나는 변화를 조사하였다.

췌장을 부분절제한 생쥐 산모에서 태어난 신생자는 생존률이 대조군에 비해 약 70% 수준으로 나타나고 있다(Fig. 1B). 당뇨병 산모에서 태어난 태아의 경우에는 출생 후 성장 속도가 저조하다가 1주일 이내에 모두 사망하는 것으로 보고되었다(Joshi *et al.*, 1996). 그리고 출생한 후 살아남은 신생자의 몸무게는 암컷과 수컷 모두에서 대조군보다 약간 왜소하나 통계적으로는 유의하지 않았다(Fig. 2). 이 같은 결과는 당뇨병 환자가 거대증 태아를 낳는다는 결과(Stevenson *et al.*, 1982)와는 차이를 나타내고 있다.

당뇨병 산모의 태아는 간과 지방의 이상, 폐의 발달 지연, 선천성 심장 질환, 신경조직 이상 발달 등이 보고되었다(Joshi *et al.*, 1996; Pani *et al.*, 2002). 췌장의 부분절제에서 태어난 신생자의 간 조직을 조사하였을 때에 암컷 수컷 모두의 간세포에서 핵의 이상이 발견되었다(Fig. 3). MUP는 간에서 생성되고 소변으로 배출되며(Finlayson *et al.*, 1965), pheromone과 결합하는 lipocalin superfamily에 속한다(Bacchini *et al.*, 1992; Robertson *et al.*, 1996). MUP의 조절에는 Growth Hormone(Norstedt & Palmiter, 1984)과 Growth Hormone Releasing Hormone(Cho *et al.*, 2002)이 관여하고 있으며, 영역 표시, 친족 인식 등에 관여하는 것으로 알려졌다(Finlayson *et al.*, 1965). 따라서 간 조직에 이상이 발견되어 소변에서 MUP의 변화가 예상되었다. 췌장의 부분절제에서 태어난 신생자의 소변을 채취하여 분석한 결과로 암컷 수컷 모두에서 MUP의 양이 감소되어 나타났는데(Fig. 4), 간 조직의 이상이 생리적인 변화도 수반하고 있는 것으로 보인다. 부가하여, 췌장의 부분절제된 산모 생쥐의 배아의 복강에서 다량의 혈액이 관찰되었는데(Fig. 5), 배아의 적출과정에서 복강으로

혈액이 이동한 것으로 추정된다. 배아의 조직이 비교적 약한 것으로 추정되고 조산과도 관련이 있을 것으로 여겨진다.

췌장을 부분절제한 산모의 신생자와 배아에서 이상이 발견되었다. 따라서 논리적 접근의 하나는 산모 자체의 변화를 조사하는 것이다. 췌장을 부분절제한 후에 산모에 남아 있는 췌장을 적출하여 조직검사를 한 결과는 남아 있는 조직에서 랑게르한스 섬의 크기가 증가된 것이 관찰되었다(Fig. 6). 췌장을 90% 절제한 후에 시간이 지나면 췌장이 회복되는데(Bonner-Weir *et al.*, 1983), 랑게르한스 섬의 크기가 커진 것으로 보아 정도의 차이는 있지만 췌장세포의 증가와 일치하는 결과이다. 현재 췌장의 회복에는 glucagon-like peptide-1 (GLP-1)이 관여하고 있고(De Leon *et al.*, 2003), 배아의 췌장 형성에 필요한 neurogenin-3는 관여하지 않는 것으로 보고되었다(Lee *et al.*, 2006). 그리고 췌장의 부분절제는 스트레스 유발 유전자인 activating transcription factor 3(ATF3)를 발현시키는 것으로 보고되었는데 그 생리적인 의미는 파악되지 않고 있다(Allen-Jennings *et al.*, 2001). 그리고 산모의 간 조직을 조사하였을 때에 어미의 세포에서 핵의 이상이 관찰되고 있다(Fig. 7). 췌장에서 합성 분비되는 insulin이나 glucagon 등의 변화로 인하여 야기되는 것으로 추정되지만 추가적인 연구가 필요하다. 앞서의 본 연구실 결과에 의하면(Ahn *et al.*, 2004) inhibin- α 를 근육 주사한 생쥐에서 왜소한 배아가 관찰되었는데 당뇨병 산모의 거대증 배아와는 대조적인 사실이었다. 만일 당뇨병 산모의 췌장이상이 거대증 배아의 직접적인 원인이었다면 inhibin- α 에 의한 왜소한 배아의 경우에도 췌장의 변화가 예상되었다. 따라서 inhibin- α 를 근육에 주사한 후에 생쥐에서 췌장을 적출하여 조직을 조사하였는데, 크기가 축소된 랑게르한스 섬이 관찰되었다(Fig. 8). 췌장의 랑게르한스 섬이 축소되었고 이것이 췌장의 기능 저하로 나타난다면, 인슐린 분비의 축소가 예상되고 그 결과 고혈당이 예상되어 오히려 거대증 태아가 태어나야 한다. 따라서 산모의 당뇨병에 의한 고혈당과 배아와의 관계가 복잡할 것이라는 추정을 가능하게 한다.

한편, 췌장의 부분절제 후 산모의 혈당 변화가 예상되어 췌장의 부분절제 2주와 3주 후에 혈당을 조사하였다. 대조군과 비교하여 췌장을 부분절제한 산모에서 혈당의 차이가 나타나지 않았다(Fig. 9). 즉 췌장 전체에서 90%를 절제하였고 남아있는 부분에서 랑게르한스 섬의 크기가 증가하였는데 혈당의 차이가 나타나지 않은 것이다. 이 같은 결과는 일반적인 당뇨병에 의한 고혈당과는 다른 결과이지만(Joshi *et al.*, 1996; Heilig *et al.*, 2003), 췌장 부분절제 후에 혈당이 약간 증가한다는 경우(Bonner-Weir *et al.*, 1983)와 거의 변화가

없는 경우(Martin *et al.*, 1999)와는 부분적으로 일치하고 있다. 따라서 췌장의 10%만으로도 혈당 조절에 충분하거나 아니면 췌장 부분절제로 인한 부분을 랭게르한스 섬의 증가가 보충하였을 것으로 추정되었다. 후자를 검증하기 위하여 *inhibin- α* 를 근육 주사하였다. *Inhibin- α* 가 과발현된 생쥐에서 췌장의 랭게르한스 섬의 크기 축소가 관찰되었고 *inhibin- α* 가 세포의 분열을 억제하거나 세포의 사멸을 유도할 것으로 추정되었기 때문이었다. 그러나 췌장의 부분절제와 *inhibin- α* 를 동시에 처리하여 혈당을 조사한 결과도 역시 혈당의 변화를 보이지 않았다(Fig. 9). 따라서 췌장의 부분절제 후에 나타날 것으로 예상되었던 혈당의 변화는 미약하거나 거의 없는 것으로 나타났다. 이는 혈당의 조절이 개체에게는 매우 중요한 것이어서 간과 유사하게 췌장이 10%만 남아 있어도 그 기능을 유지하는데 충분하다는 것을 시사하고 있다.

배아는 산모에서 유래한 혈당, 혈당이외의 요소와 배아 자체의 조절을 받는 것으로 추정된다. 산모의 고혈당이 거대증의 유일한 원인이 아니라는 보고는 이를 뒷받침하고 있다(Ishizuka *et al.*, 1999). 최근 *c-myc* 유전자가 생쥐의 크기를 결정하는 요소의 하나로서 보고되었는데(Trumpp *et al.*, 2001), 산모와 배아와의 관계는 매우 복잡한 것으로 추정된다.

인용문헌

- Ahn JM, Jung HK, Cho C, Choi DC, Mayo KE, Cho BN (2004) Changes in the reproductive functions of mice due to injection of a plasmid expressing an *inhibin α* -subunit into muscle: a transient transgenic model. *Mol Cells* 18:79-86.
- Allen-Jennings AE, Hartman MG, Kociba GJ, Hai T (2001) The roles of *atf3* in glucose homeostasis: A transgenic mouse model with liver dysfunction and defects in endocrine pancreas. *JBC* 276:29507-29514.
- Bacchini A, Gaetani E, Cavaggoni A (1992) Phermone binding proteins of the mouse, *Mus musculus*. *Experientia* 48: 419-421.
- Bonner-Weir S, Trent DF, Weir GC (1983) Partial pancreatectomy in the rat and subsequent defect in glucose-induced insulin release. *J Clin Invest* 71:1544-1553.
- Charalambous M, Smith FM, Bennett WR, Crew TE, Mackenzie F, Ward A (2003) Disruption of the imprinted *Grb10* gene leads to disproportionate overgrowth by an *Igf2*-independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:8292-8297.
- Cho BN, Jung HK, Yoon YD, Mayo KE (2002) Urine analysis in transgenic mice expressing the growth hormone-releasing factor. *Dev Reprod* 6:31-35.
- De Leon DD, Deng S, Madani R, Ahima RS, Drucker DJ, Stoffers DA (2003) Role of endogenous glucagon-like peptide-1 in islet regeneration after partial pancreatectomy. *Diabetes* 52(2):365-371.
- Diamond MP, Moley KH, Pellicer A, Vaughn WK, DeCherney AH (1989) Effect of streptozotocin- and alloxan-induced diabetes mellitus on mouse follicular and early embryo development. *J Reprod Fertil* 86:1-10.
- Finlayson JS, Asofsky R, Potter M, Runner CC (1965) Major urinary protein complex of normal mice: origin. *Science* 149:981-982.
- Goldman AS, Baker L, Piddington R, Marx B, Herold R, Egler J (1985) Hyperglycemia-induced teratogenesis is mediated by a functional deficiency of arachidonic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:8227-8231.
- Hardikar AA, Karandikar MS, Bhonde RR (1999) Effect of partial pancreatectomy on diabetic status in BALB/c mice. *J Endocrinol* 162:189-195.
- Heilig CW, Saunders T, Brosius FC 3rd, Moley K, Heilig K, Baggs R, Guo L, Conner D (2003) Glucose transporter-1-deficient mice exhibit impaired development and deformities that are similar to diabetic embryopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:15613-15618.
- Hiramatsu Y, Sekiguchi N, Hayashi M, Isshiki K, Yokota T, King GL, Loeken MR (2002) Diacylglycerol production and protein kinase C activity are increased in a mouse model of diabetic embryopathy. *Diabetes* 51: 2804-2810.
- Ishizuka T, Klepcyk P, Liu S, Panko L, Liu S, Gibbs EM, Friedman JE (1999) Effects of overexpression of human GLUT4 gene on maternal diabetes and fetal growth in spontaneous gestational diabetic C57BLKS/J *Lepr*(db/+) mice. *Diabetes* 48:1061-1069.
- Ji Y, Wang XN, Lou WH, Sujie A, Tan YS, Jin da Y (2006) Serous cystic neoplasms of the pancreas: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis. *Chin J Dig Dis* 7:39-44.
- Joshi RL, Lamothe B, Cordonnier N, Mesbah K, Mon-

- thioux E, Jami J, Bucchini D (1996) Targeted disruption of the insulin receptor gene in the mouse results in neonatal lethality. *EMBO J* 15:1542-1547.
- La Rosa S, Uccella S, Billo P, Facco C, Sessa F, Capella C (1999) Immunohistochemical localization of α - and β A-subunits of inhibin/activin in human normal endocrine cells and related tumors of the digestive system. *Virchows Arch* 434:29-36.
- Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the heads of bacteriophage T4. *Nature* 227:680-685.
- Lee AT, Reis D, Eriksson UJ (1999) Hyperglycemia-induced embryonic dysmorphogenesis correlates with genomic DNA mutation frequency *in vitro* and *in vivo*. *Diabetes* 48:371-376.
- Lee CS, De Leon DD, Kaestner KH, Stoffers DA (2006) Regeneration of pancreatic islets after partial pancreatectomy in mice does not involve the reactivation of neurogenin-3. *Diabetes* 55:269-272.
- Martin F, Andreu E, Rovira JM, Pertusa JA, Raurell M, Ripoll C, Sanchez-Andres JV, Montanya E, Soria B (1999) Mechanisms of glucose hypersensitivity in beta-cells from normoglycemic, partially pancreatectomized mice. *Diabetes* 48:1954-1961.
- Mills JL, Simpson IA, Driscoll DG, Jovanovic-Peterson L (1988) Incidence of spontaneous abortion among normal women and insulin-dependent diabetic women whose pregnancies were identified within 21 days of conception. *N Engl J Med* 319:1617-1623.
- Moley KH, Chi MM, Mueckler MM (1998) Maternal hyperglycemia alters glucose transport and utilization in mouse preimplantation embryos. *Am J Physiol* 275: E38-E47.
- Norstedt G, Palmiter R (1984) Secretory rhythm of growth hormone regulates sexual differentiation of mouse liver. *Cell* 36:805-812.
- Ogawa K, Abe K, Kurosawa N, Kurohmaru M, Sugino H, Takahashi M, Hayashi Y (1993) Expression of α , β A and β B subunits of inhibin or activin and follistatin in rat pancreatic islets. *FEBS Lett* 319:217-220.
- Pani L, Horal M, Loeken MR (2002) Polymorphic susceptibility to the molecular causes of neural tube defects during diabetic embryopathy. *Diabetes* 51:2871-2874.
- Robertson DHL, Cox KA, Gaskell SJ, Evershed RP, Beynon RJ (1996) Molecular heterogeneity in the major urinary proteins of the house mouse, *Mus musculus*. *Biochemical J* 316:265-272.
- Shiozaki S, Tajima T, Zhang YQ, Furukawa M, Nakazato Y, Kojima I (1999) Impaired differentiation of endocrine and exocrine cells of the pancreas in transgenic mouse expressing the truncated type II activin receptor. *Biochem Biophys Acta* 1450:1-11.
- Stevenson DK, Hopper AO, Cohen RS, Bucalo LR, Kerner JA, Sunshine P (1982) Macrosomia: causes and consequences. *J Pediatr* 100:515-520.
- Su GH, Bansal R, Murphy KM, Montgomery E, Yeo CJ, Hruban RH, Kern SE (2000) ACVR1B(ALK4, activin receptor type 1B) gene mutations in pancreatic carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:3254-3257.
- Sutherland HW, Pritchard CW (1987) Increased incidence of spontaneous abortion in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 156: 135-138.
- Trumpp A, Refaeli Y, Oskarsson T, Gasser S, Murphy M, Martin GR, Bishop JM (2001) c-Myc regulates mammalian body size by controlling cell number but not cell size. *Nature* 414:768-773.
- Unger RH, Foster DW (1992) Diabetes mellitus in "Williams textbook of endocrinology". Wilson JD and Foster DW (eds) Saunders Company, Pennsylvania, pp 1255-1333.
- Wentzel P, Ejdesjo A, Eriksson UJ (2003) Maternal diabetes *in vivo* and high glucose *in vitro* diminish GAPDH activity in rat embryos. *Diabetes* 52:1222-1228.
- Yamaoka T, Idehara C, Yano M, Matsushita T, Yamada T, Ii S, Moritani M, Hata J, Sugino H, Noji S, Itakura M (1998) Hypoplasia of pancreatic islets in transgenic mice expressing activin receptor mutants. *J Clin Invest* 102: 294-301.
- Yamashita H, Shao J, Qiao L, Pagliassotti M, Friedman JE (2003) Effect of spontaneous gestational diabetes on fetal and postnatal hepatic insulin resistance in *Lepr^{db/+}* mice. *Pediatr Res* 53:411-418.