

임신 중 대사기능이상에 미치는 원인 인자 발굴연구

Identification study of causing factors associated with the metabolic dysfunction during pregnancy

질병관리본부 국립보건연구원 생명의과학센터 대사영양질환과
김지연, 이대연, 김원호

I. 들어가는 말

우리나라의 경우 최근 들어 가임기 여성들의 불임 또는 난임률이 급격히 증가하는 추세에 있다. 2011년 건강보험심사평가원 자료에 따르면 불임의 증가율이 2006년에 비해 2010년에 24.45%가 증가하였으며, 불임치료에 드는 의료비용도 42.2%가 증가했다(Figure 1). 불임의 원인으로서는 여성의 불임원인이 남성에 비해 4.3배 증가된 것으로 나타났고 이러한 여성 불임의 주요 원인은 정확하지는 않으나 최근 여성들의 사회진출이 많아지면서 고령임신이 증가하고 직장생활에서의 스트레스, 미적 관심증가로 인한 과도한 체중조절, 비만, 음주, 흡연 등이 원인으로 추정되고 있다[1]. 그 중 고령임신을 가장 주요한 원인 중 하나로 꼽을 수 있는데 2010년 통계청 자료에 따르면, 우리나라 불임여성의 평균연령이 2007년 35.2세에서 2010년에는 36.2세로 증가하였다. 나이별 임신율도 20-24세 산모의 경우 86%, 25-29세 78%, 30-34세 63%이르고 35-39세 사이에는 52%로 산모의 연령이 증가하면 임신율도 급격히 감소함을 보였다. 즉, 35세 이상의 경우 두 명 중 한 명은 불임시술이나 진단검사 등 의료비 부담증대를 가져올 수 있다.

한편, 35세 이상의 고령산모일수록 임신기간 동안 대사기능이상으로 인한 임신성 당뇨병에 노출될 위험성이 약 2배 이상 증가한다고 알려져 있다(Figure 2). 임신기간 동안 임신성 당뇨병을 가진 산모의 경우 출산 후 임신성 당뇨병이 없어지긴 하지만 폐경기 이후 제2형 당뇨병 또는 여러 만성질환에 노출될 위험률이 크게 증가한다는 사실은 이미 잘 알려져 있다.

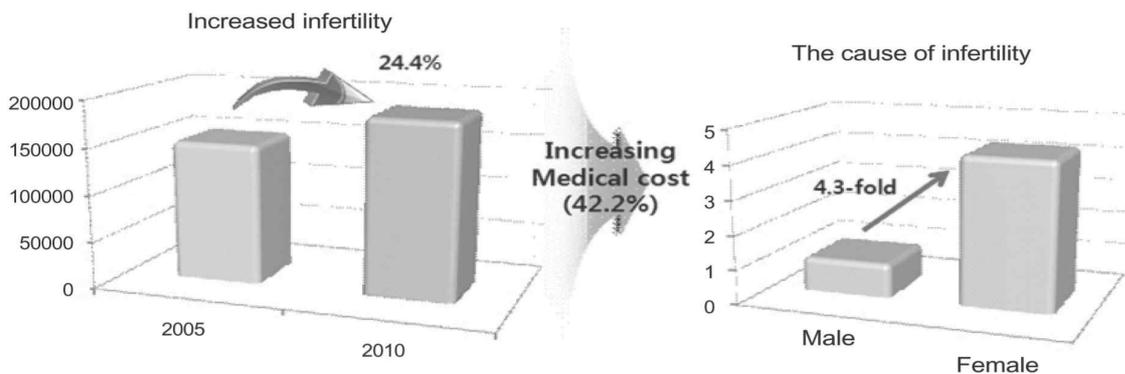


Figure 1. The change (left) and causing factors (right) of infertility ratio in Korea(Health Insurance Review & Assessment Service, 2010)

또한 임신성 당뇨병을 가진 산모에게서 태어난 아이의 경우 체질량지수(BMI, Body Mass Index)가 정상 엄마에게서 태어난 아이보다 훨씬 높은 것으로 조사 보고 된 바 있다(Figure 3). 여성의 경우 남성과는 달리 여성 몸의 특수성과 관련된 호르몬 변화 등과 함께 특별히 여성에게서 호발하는 자궁난소질환, 여성호르몬 이상, 내분비질환, 갱년기 장애 등과 같은 질병이나 건강문제 등도 여성건강을 해치는 가장 주요한 요인이다. 뿐만 아니라 중년 이후 여성에게서 주로 발생하는 당뇨병, 골다공증, 심혈관질환 등 만성질환 양상에 있어서도 남성과는 매우 다른 양상을 보이는 것으로 알려져 있다[2]. 2010년 국민건강영양조사 결과 실제 우리나라 만 30세 이상 당뇨병 유병률은 2009년 기준 10.1%에 이르고 이 중 남

성이 10.9 %, 여성이 9.2 %에 해당하여 유병률에 있어서는 비슷한 수준이었으나 남성과 여성에 있어서 당뇨병 발생률이 연령에 따라 큰 차이를 보였다. 남성의 경우 당뇨병 발생이 50대에서 급격히 증가해서 60대에 최고치를 보이는 반면, 여성의 경우 60대에 급격히 증가를 해서 70대에 최고치를 보이는 양상을 보였다. 이는 우리나라 여성들의 기대수명이 남자 75.14세보다 6.75세가 높은 81.89세임을 감안하게 되면 노인 여성들의 삶의 질이 급격히 떨어지는 원인이 될 수 있음을 보여주는 것이라 하겠다.

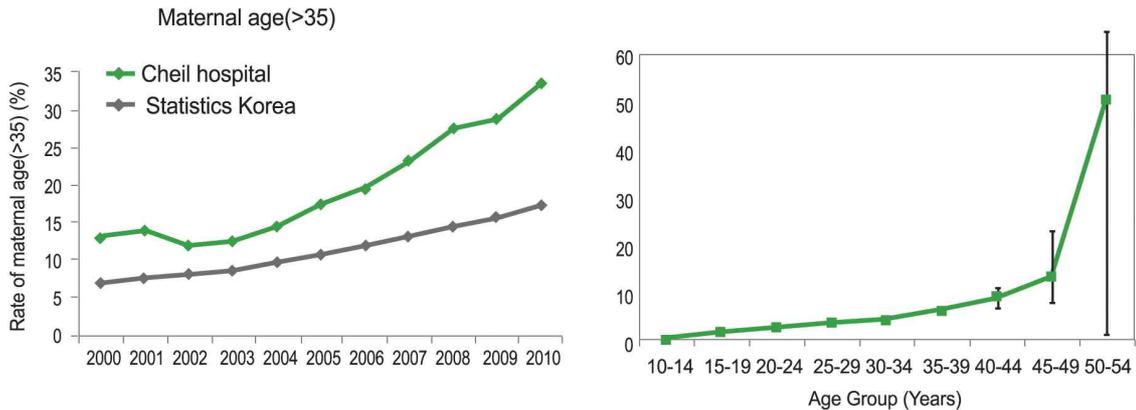


Figure 2. The proportion of elderly gravida (2010, Korea) and the changes of maternal diabetes according to the age (Statistics Korea, 2010).

그럼에도 불구하고 대부분의 만성질환 발생예방 및 치료기술개발 연구가 남성 질환 중심 연구여서 여성에 있어서의 만성질환 발생원인 및 예방 치료조절을 위한 과학적인 근거가 매우 부족한 실정이다. 미국의 경우 20년 전부터 이미 국립보건원 내에 여성건강연구 촉진을 위한 연구소를 설치 운영함으로써 여성 특이 질병 연구 및 임상시험, 여성 대사질환 연구 등을 반드시 포함하여 연구가 수행될 수 있도록 정책적 지원을 하고 있다. 우리나라도 최근 들어 여성에서의 연구결과를 토대로 한 질병 예방 및 관리지침 수립을 위한 많은 노력을 하고 있지만 국가적인 지원이나 주도기관이 없는 실정이라 여성특이질환 및 건강행태에 대한 연구 등을 통한 예방 관리를 위한 과학적 근거생산이 매우 부족한 실정이라 하겠다.

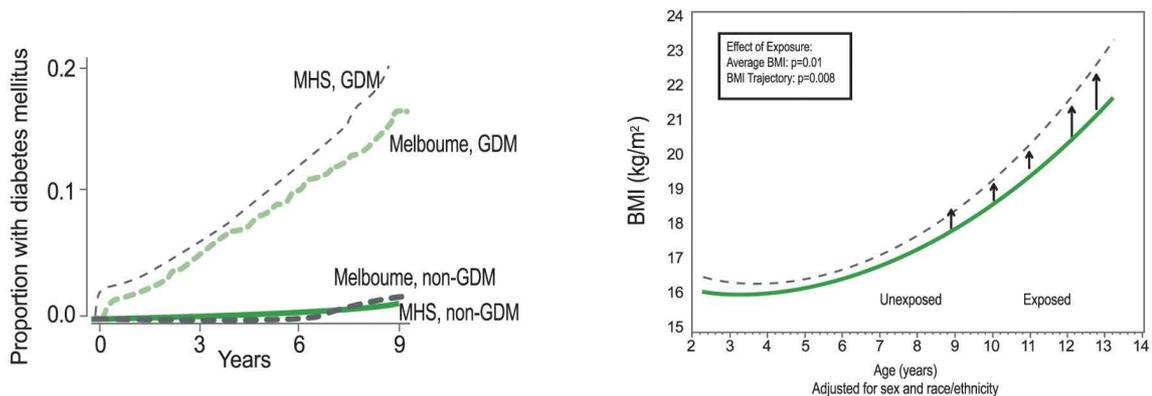


Figure 3. The proportion of diabetes mellitus (left, Australia) and mean BMI curves (right, J Pediatrics, 2011) in both exposed and unexposed to maternal diabetes.

특히 여성 임신 능력 및 임신동안 산모 또는 태아의 건강에 영향을 미치는 여러 주요 위험인자들의 조절로 인해 발생하는 대사기능저하의 주요 조절기전 및 조절인자를 발굴하고자 하였다. 이에 본 연구에서는 고령임신 모델 및 임신 전 알코올 섭취 모델을 구축한 후 임신능력 및 태아발달에 미치는 주요 유전적 조절인자를 찾고, 산모에게서 나타날 수 있는 대사기능이상 발생의 원인 및 조절, 예방, 치료 기술 개발에 필요한 기초자료를 생산하고자 본 연구를 수행하였다.

II. 몸 말

우리나라의 경우 1980년대부터 출산율은 급격히 감소를 하였고 현재 2009년 기준 1.15명, 최근 발표된 자료에 따르면 1.13명으로 OECD 국가들 중 최저 수준의 출산율을 보이고 있다. 이에 반해 노인인구의 수는 급격히 증가추세에 있고 2020년이 되면 전체인구의 약 17-18%, 2050년에는 약 37.8%까지 이르게 될 것이라는 전망이 나온바 있다. 이러한 현상은 단순히 노인인구 증가뿐 아니라 노령화에 따른 만성질환 발생률 증가 및 질병 부담 의료비용이 급격히 증가할 수 있음을 의미한다. 뿐만 아니라 출산율 감소에 따른 생산가능 인구 감소는 잠재 성장률 하락 및 노인인구 부양부담 증가 등을 초래함으로써 국가적인 출산대책 마련이 시급한 실정이라 하겠다.

따라서, 본 연구에서는 이러한 문제점들 중 저출산의 주요원인인 불임 및 난임의 발생 원인을 밝혀, 여성의 임신기간 동안 산모 및 태아의 건강에 영향을 미칠 수 있는 주요 위험인자들 중 고령산모와 임신 전 알코올 섭취가 임신 기간 중 산모 건강 및 태아 발달 과정에 있어서 미치는 효과 및 특히 대사기능저하에 관련된 주요 조절메커니즘 및 조절인자를 발굴하여 향후 예방 치료기술개발연구에 활용하고자 한다.

본 연구에서는 위험인자로서 산모의 나이 및 알코올 섭취 여부에 따른 임신모체 및 태아 발달이상 발생모델을 다음과 같이 구축하였다(Figure 4).

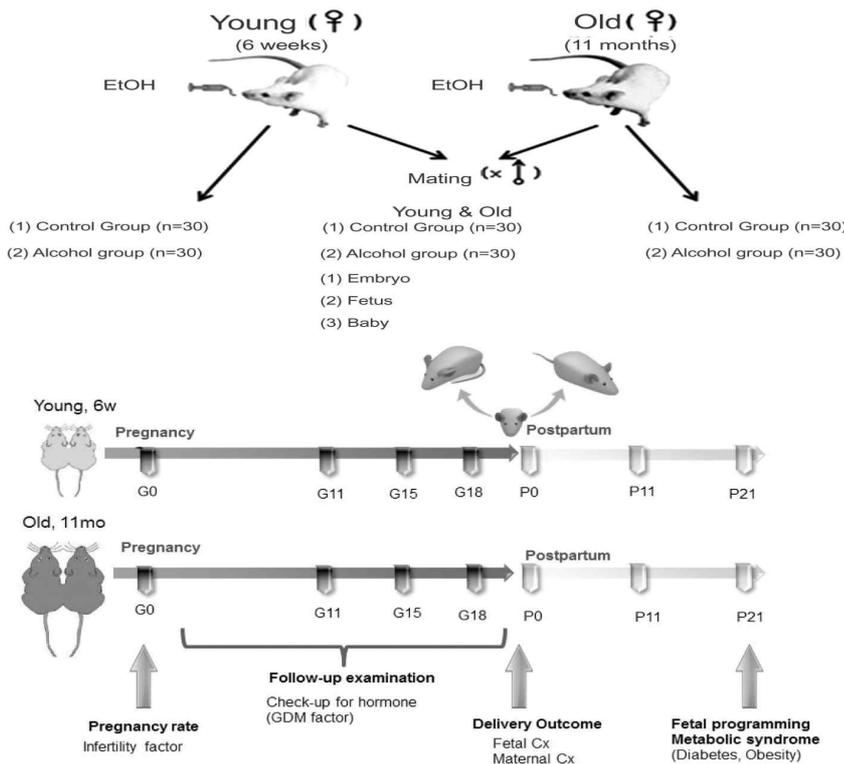


Figure 4. Pregnancy animal models : Different age and alcohol drinking

그림 4에서 보는 바와 같이 C57BL/6J 6주령의 어린 마우스(10대 후반- 20대 초반 해당)와 11개월령의 나이든 마우스(30대 후반- 40대 초반 해당)를 1주 동안 실험 조건에서 적응을 시킨 후 단백질 18%, 지방 35%와 함께 탄수화물이 47%가 포함된 대조군 액상식이(Lieber-Decarli regular liquid diet: Dyets)와 47% 탄수화물 대신에 11% 탄수화물 및 36% 에탄올이 포함된 에탄올 식이를 마우스에 2주 동안 섭취하게 하였다. 이때 매일 식이 섭취량을 측정하여 대조군과 동일한 양의 식이를 섭취하게 하였고 젊은 수컷 쥐를 이용하여 임신을 1주 동안 유도하였다. 임신 기간 동안 각 단계별로 모체의 각 장기조직, 혈액 및 태아의 조직을 확보하여 연구에 사용하였다.

1) 나이차 및 알코올 섭취 여부에 따른 임신율, 출산율, 사망률 변화

먼저 나이 차이에 따른 임신율 및 출산율을 비교한 결과, 그림 5에서 보는 바와 같이 6주령 쥐의 경우 임신율이 58.6 % 인데 반해 11개월령의 쥐인 경우 임신율이 20 %에 불과한 것으로 나타났다. 이는 젊은 쥐에 비해 나이 든 쥐의 임신율이 65.9 %가 감소된 것을 보여주는 결과였다. 또한 이들 쥐에 알코올을 섭취하게 한 후 임신율 시킨 경우 젊은 쥐의 경우 임신율이 약 22.4 %가 감소한 45.5 %로 까지 떨어진 반면 나이 든 쥐의 경우에는 임신율이 약 85 %가 감소한 단 3 %에 불과하였다.

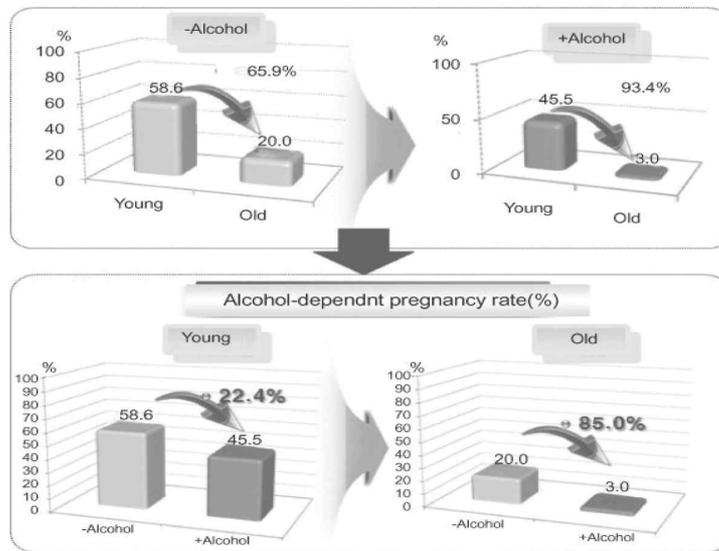


Figure 5. The pregnancy rate (%) in both young (6 weeks) and old (11 months) mice with or without alcohol consumption.

한편, 젊은 쥐의 경우 알코올 섭취가 생존율에 큰 영향을 미치지 않은 반면 나이 든 쥐의 경우 알코올 섭취에 따른 사망률이 급격히 증가하여 알코올 섭취 후 생존율이 30.3 %에 불과하였다(Figure 6). 이와 함께 출산율이 젊은 쥐의 경우 알코올 섭취에 따라 약 10% 정도 감소함을 보인 반면 나이든 쥐의 경우 출산율이 젊은 쥐에 비해 크게 감소를 하여 54.6 %로 크게 감소를 하였다. 뿐만 아니라 알코올섭취를 한 나이든 쥐의 경우 출산율이 24.3 %에 불과하였고 출산 되는 개체 수에 있어서도 나이든 쥐의 경우 젊은 쥐에 비해 절반으로 줄어들었고 알코올 섭취한 나이든 쥐의 경우 출산하는 개체수 감소가 더욱 커짐을 보였다. 한편 알코올을 섭취한 젊은 쥐의 경우 출산되는 새끼들의 수가 8.2 마리에서 7.3 마리로 감소함을 보였지만 나이 든 쥐의 경우에는 태어난 세대개체에서 기형아 검출이 크게 증가되어 있었고 알코올을 섭취한 쥐의 경우 대부분의 새끼들이 사산 또는 기형아로 출산되었다.

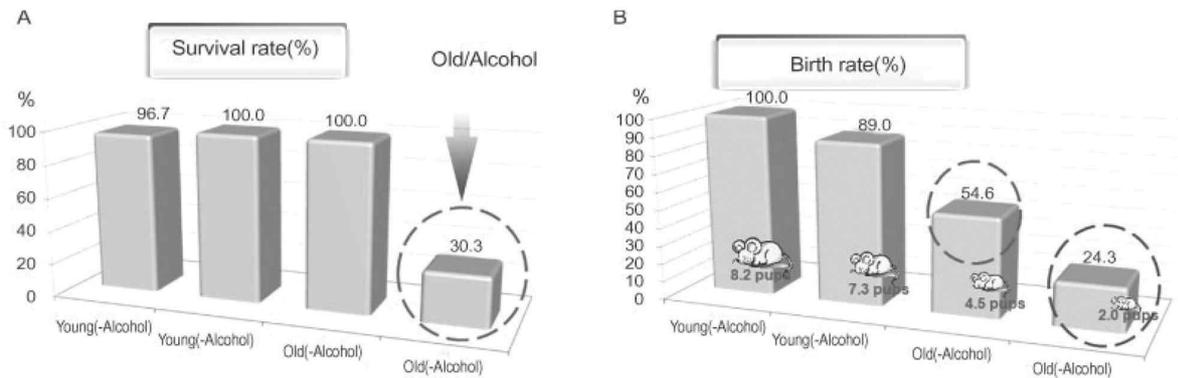


Figure 6. The survival rate (A) and birth rate (B) in both young (6 weeks) and old (11 months) mice with or without alcohol consumption.

2) 임신 과정 중 배아(embryo) 및 출산 후 태아(fetus) 발달이상 확인

임신과정 중 배아 및 출산 후 태아의 크기 및 무게를 통하여 발달정도를 조사한 결과 젊은 쥐 정상 어미의 임신 중 태낭(embryonic sac)형성 11일(E11)에 해당하는 배아의 경우 눈 발달이 뚜렷하게 나타난 반면, 알코올을 섭취한 젊은 쥐 어미와 알코올 섭취를 하지 않은 나이든 어미 쥐에서의 배아는 외형상 눈의 형성이 거의 나타나지 않았다. 이와 함께 태낭(embryonic sac) 형성 정도를 비교한 결과에서도 이들 간에는 큰 차이를 보였다. 그림 7에서 보는 바와 같이 알코올을 섭취하지 않은 젊은 어미 쥐의 태낭 형성은 매우 양호하게 형성이 된 반면 알코올 섭취를 한 쥐의 태낭은 정상 쥐에 비해 태낭 형성에 이상을 보였다. 한편 나이든 쥐의 경우에는 알코올 섭취를 하지 않았음에도 불구하고 태낭 형성이 거의 안 되어 있었고 사산한 태낭도 함께 발견되었다(Figure 7).

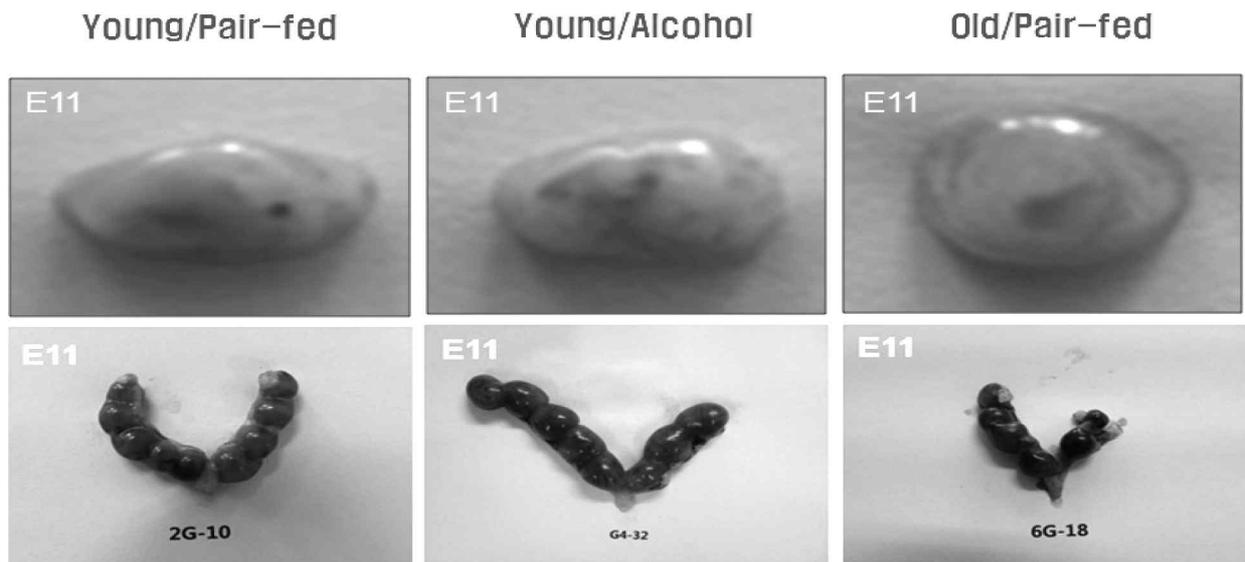


Figure 7. The development of embryo in both young (6 weeks) and old (11 months) mice with or without alcohol consumption.
* Abbreviation: E=embryonic sac

또한 젊은 쥐 모체의 임신 15일인 E15에서 태아 모양과 알코올 섭취한 젊은 쥐에서의 E18일 태아를 비교한 결과 알코올을 섭취를 하지 않은 젊은 쥐의 경우에는 E15일에서도 정상적인 성장을 한 반면 알코올을 섭취를 한 젊은 쥐의 E18일에서의 태아는 피부가 거칠고 검은 색을 띠고 있었다. 그리고 꼬리와 다

리와 발가락들의 발달이 정상적이지 않았고 기형이 많았다. 이는 E11 배아에서는 눈의 발달이 안보였던 것에 비해 E18에서는 눈 형성은 되었지만 전체적인 성장과 발달에는 문제가 있음을 보이는 결과라 할 수 있다. 한편 나이든 쥐의 대조군 식이를 먹인 쥐의 E15일에서 태아의 발달이 젊은 어미에서의 태아보다 적었고 색깔도 붉은 빛을 띄었다. 그리고 꼬리와 다리, 발가락 등의 발달이 제대로 이루어져 있지 않았다. 이는 같은 주기의 젊은 쥐 모체의 태아보다 발달이 늦은 것으로 여겨지고 알코올을 마신 모체에서 임신된 태아의 경우 성장과 각 기관들의 발달에 이상이 생기고 있음을 보여주는 결과이다(Figure 8).

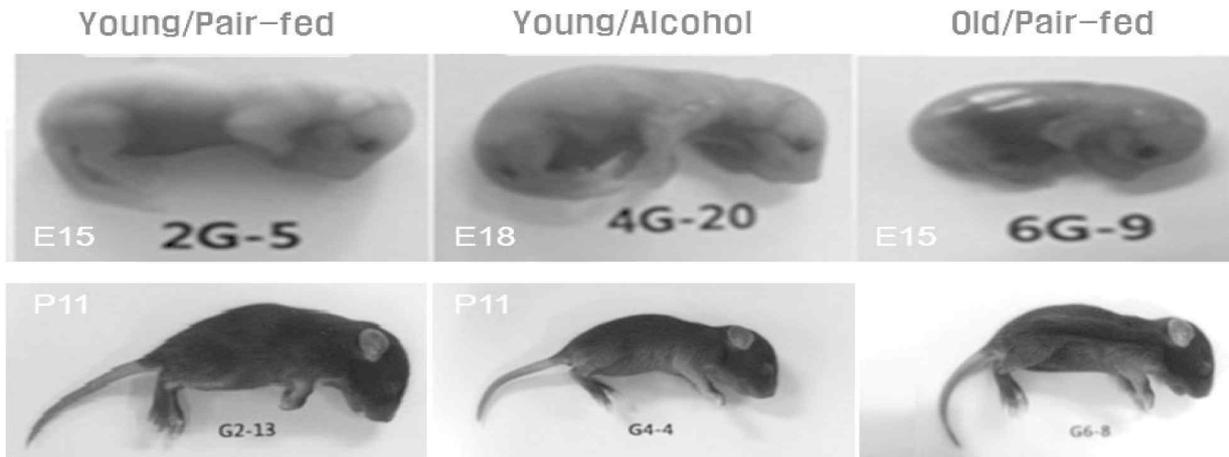
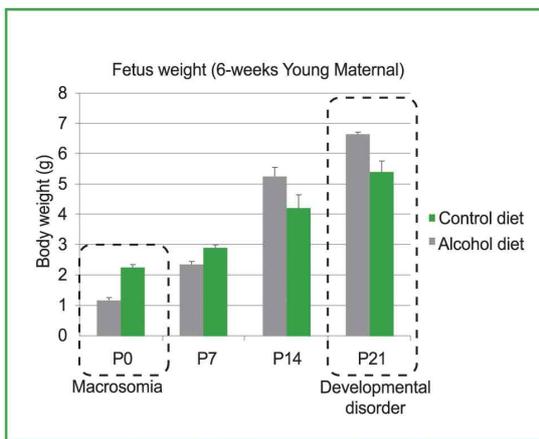


Figure 8. The development of fetus in both young (6 weeks) and old (11 months) mice with or without alcohol consumption.
* Abbreviation: E=embryo, P=postpartum

또한, 출산 11일 후 새끼들의 발달 정도를 살펴본 결과 알코올 섭취를 한 젊은 쥐 모체에서 태어난 개체는 술을 마시지 않은 젊은 모체에서 태어난 새끼보다 크기와 무게가 크게 감소하였다. 그림 9에서 보는 바와 같이 젊은 쥐에서 알코올에 노출된 쥐와 노출되지 않은 쥐의 경우 출산 직후(postpartum, P0)의 태아의 무게에 큰 차이를 보였다. 알코올을 섭취하지 않은 그룹보다 섭취한 그룹에서 2배 이상 몸무게가 증가함을 보였다. 그러나 P7 이유기를 지나면서 태아는 정상적인 성장을 하지 못하고, 알코올 섭취를 하지 않은 정상모체에서 태어난 쥐보다 발달 속도가 늦어 졌고 몸무게도 적게 나가는 것을 볼 수 있었다(Figure 9).

더욱이 배아 11일에 해당하는 E11에서의 무게가 알코올을 섭취하지 않은 젊은 쥐 그룹이 평균



0.1629±0.036 g이었던 데 반해 알코올을 섭취한 그룹에서는 0.3997±0.030 g으로 알코올을 섭취한 모체의 배아 무게가 더 높게 나타났다. 이는 알코올을 섭취한 쥐의 경우 배아 발달이 비정상적으로 발생되는 것으로 여겨지며 이는 알코올 섭취 산모 모체에서 대사 이상 및 여러 합병증이 나타남으로 정상적인 영양공급이나 대사기능이 작동하지 않으면서 태아로 하여금 비정상적인 영양분 축적을 위한 메커니즘이 작동했을 가능성이 높은 것으로 생각된다. 이러한 경우 마치 이상합병증을 가진 모체에서 태어나는 아이들이 거대아로 출산되는 경우와 유사하게 알코올 섭취 군에서도 정상산모에게서 태어난 쥐보다 2배정도의 몸무게가 많이 나가는 거대아를 출산할 가능성이 높음을 보여주는 결과라 하겠다. 이들 결과로써 알코올 섭취군에서 태아발달 프로그래밍(fetal programming)이 정상적으로 이루어지지 않을 가능성이 높음을 알 수 있고 이를 추가적으

Figure 9. The changes of body weight of offspring in both young (6 weeks) and old (11 months) mice with or without alcohol consumption.

그래밍(fetal programming)이 정상적으로 이루어지지 않을 가능성이 높음을 알 수 있고 이를 추가적으

로 확인하는 연구가 수행되어야 할 것으로 보인다. 2008년 보고된 연구에 따르면 혈중의 중성지방이 뇌의 식욕유발 펩타이드(orexigenic peptides) 분비를 자극함으로써 과식을 유발한다는 사실을 밝힌 바 있다[3]. 또한 비만 또는 당뇨병을 보유한 임산부가 과체중 아기를 낳는 경향이 있으며, 어린 시절에 고지방식을 먹으면 성인기에 비만으로 이어질 수 있다는 것도 이미 잘 알려진 사실이다. 이러한 선행연구 결과들을 종합하면, 음식섭취와 체중에 대한 정보가 태아의 발생기에 이미 프로그램화되어지고, 임신부의 식생활이 이러한 발달 과정에 중요하게 작용할 가능성이 높다고 여겨지고 있다. 그러나 이러한 태아 발달 프로그래밍이 입력되는 과정을 구체적으로 설명하는 메커니즘은 아직 제시되어 있지 않은 실정이다. 한편, 알코올을 섭취하게 되면 렙틴 호르몬이 크게 증가하여 식욕을 크게 저하시키게 되고 알코올은 특히 1 g당 7kcal의 고칼로리의 열량을 가지고 있지만 제대로 된 에너지 생산을 할 수 없는 것으로 알려져 있어 알코올을 많이 마시는 경우 심각한 대사 불균형에 쉽게 빠지게 되는 것이다. 따라서 알코올을 2 주 동안 섭취한 쥐의 경우 몸 속 혈당이 매우 낮아져 있는 상태로 태아임상에서는 자신의 성장에 필요한 영양분을 과잉으로 저장하고 흡수하고자 하는 메커니즘이 작동할 가능성이 높은 것으로 보여진다. 이는 모체에 심각한 당대사이상을 야기 할 수 있으며 이로 인하여 모체의 췌장에서 인슐린 생성 능력도 크게 억제되어 있을 가능성이 높은 것으로 보여진다.

위에서 본 바와 같이 임신 전 알코올을 섭취가 연령에 따른 임신율과 출산을 변화뿐만 아니라 태아발달 과정에 미치는 영향이 크다는 것을 알 수 있었다. 따라서 나이차 및 알코올 섭취여부에 따라 변화하는 임신율 및 태아 발달 이상 등에 미치는 원인을 찾고자 먼저 혈액내의 임신 관련 호르몬 변화를 조사하였다.

임신 중 분비되는 유즙생성호르몬인 프로락틴(prolactin)과 프로락틴 반응에 의해 췌장세포 내에서 생성되어 췌장세포의 성장과 인슐린 생성을 증가시키는 것으로 최근에 알려진 세로토닌 즉 5-HT (5-hydroxytryptamine) 호르몬의 분비변화를 조사하여 보았다[4]. 임신 시 분비되는 프로락틴 호르몬이 알코올 섭취를 한 젊은 쥐에서 유의적으로 증가됨을 보인 반면 나이든 쥐의 경우 젊은 쥐에 비해 프로락틴 분비량이 크게 감소함을 보였다. 그러나 나이든 쥐에서 알코올 섭취에 의한 변화는 관찰되지 않았다. 일반적으로 알코올을 많이 섭취하는 여성의 경우 호르몬의 분비기능에 혼란이 생겨 불임이 되기 쉬운 것으로 여겨지고 있고 주 2회 이상의 알코올을 섭취하는 여성의 몸에는 유즙을 생성하는데 관여하는 프로락틴 호르몬의 분비가 증가되어 과다한 프로락틴 분비를 통해 생리주기를 무너뜨리고 심할 경우 월경을 멈추게 하거나 배란불순을 유도함으로써 불임을 가져오는 것으로 여겨지고 있다. 결과에서 보는 바와 같이 젊은 쥐의 경우 알코올 섭취에 의해 프로락틴 호르몬이 높게 분비되어 임신에 영향을 미치는 것으로 여겨진다. 반면 나이든 쥐의 경우 프로락틴의 기본분비량이 매우 낮게 유지가 되어 호르몬 조절에 이상이 야기됨으로 오히려 임신이상을 가져 올 가능성이 높은 것으로 판단되어진다. 그러나 아직까지 그 정확한 조절 메커니즘은 알려져 있지 않고 본 연구를 통하여 추가적인 연구를 수행함으로 밝히고자 한다.

한편 세로토닌인 5-HT 분비량을 조사한 결과 나이든 쥐의 경우 젊은 쥐에 비해 그 분비량이 크게 증가되어 있었다. 그러나 나이든 쥐 혈청에서의 5-HT 호르몬 분비량 증가가 어떠한 작용을 하는지에 대해서는 거의 알려져 있지 않다. 한편, 나이든 쥐에서 높게 분비된 5-HT는 알코올 섭취에 의해 거의 변화를 유도하지 않는 반면 젊은 쥐의 경우 나이 든 쥐에 비해 정상수준에서의 분비량은 낮게 나타났지만 알코올 섭취한 군에서의 5-HT 분비량은 크게 증가하였다. 나이차 및 알코올 섭취에 따른 이들 호르몬 분비량의 변화가 임신 중 모체의 췌장베타세포에서의 당대사기능 조절을 통한 인슐린 합성 및 분비능력에 미치는 효과에 대하여는 거의 알려져 있지 않다. 다만 최근 Nature Medicine에 발표된 결과에 따르면[5], 임신 중 췌장베타세포에서 증가하는 5-HT가 당대사 및 인슐린 생성 분비조절에 매우 중요함을 보고하고 있다. 그러나 아직까지 젊거나 나이든 산모에서 특히 알코올 섭취 여부에 따른 호르몬들의 변화가 췌장베타세포의 기능이상 및 조절에 미치는 효과 및 조절메커니즘에 대한 보고는 아직까지 된바가 없다.

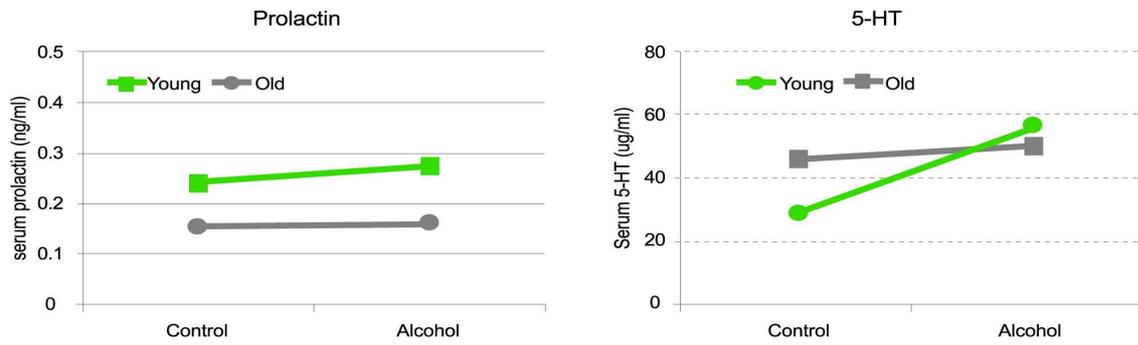


Figure 10. The measurement of prolactin and 5-hydroxytryptamine levels in the serum of both young (6 weeks) and old (11 months) mice with or without alcohol consumption.

흔히 적당량의 알코올을 섭취하는 경우 뇌에서 5-HT의 분비를 통해 기분을 좋게 하고 심신의 안정화를 유도하지만 과량의 알코올섭취는 오히려 5-HT의 분비를 감소시켜 뇌의 기능 이상을 가져온다고 보고된 바 있다. 그러나 알코올 섭취를 한 쥐에서 체장에서의 5-HT 분비 또는 합성뿐만 아니라 그 역할 또한 정확히 알려진 바가 없다.

그림 11에서 보는 바와 같이 임신 단계별 5-HT 호르몬 변화추이를 확인해 본 결과 알코올을 섭취하지 않은 젊은 정상 쥐의 경우 E0에서 E11까지는 낮은 수준의 5-HT 양이 확인되었고 임신 중 후반기인 E15를 지나면서 증가하기 시작하여 E18에서 P0시기까지 크게 증가하는 경향을 보였다. 이는 다시 출산과 함께 급격히 감소하는 경향을 보이는 반면, 알코올을 섭취한 젊은 쥐 군에서는 이와는 완전히 다른 변화 양상을 보였다. 특이하게도 알코올을 섭취한 쥐의 경우 임신 전부터 5-HT 분비량이 크게 증가를 하였지만 임신이후 급격히 감소를 하여 출산이후 까지 계속해서 낮은 수준으로 유지됨을 보였다. 이 감소는 E15일까지 지속적으로 나타났고 E18 이후부터 다시 증가하기 시작해서 출산을 하고 난 이후 급격히 증가하는 패턴을 보였다. 이는 정상적인 임신 쥐에서의 호르몬의 변화와는 완전히 다른 패턴으로 알코올 섭취에 의해 임신 중 5-HT 생성 및 분비 조절에 이상이 발생한 것으로 여겨진다. 한편, 나이든 쥐의 경우 임신 전 높게 분비되던 5-HT의 양이 임신과 함께 지속적으로 감소를 하였고 출산한 이후까지 지속적으로 감소패턴이 유지되다 출산 후 11일 이후에 서서히 증가하는 패턴을 보였다. 이 또한 젊은 쥐에서와는 완전히 다른 양상을 보이는 것으로 5-HT 분비 변화 차이가 이들 두 그룹에서의 임신과 태아 발육정도 차이에 미치는 주요한 원인 중 하나일 수 있을 것이라 여겨진다.

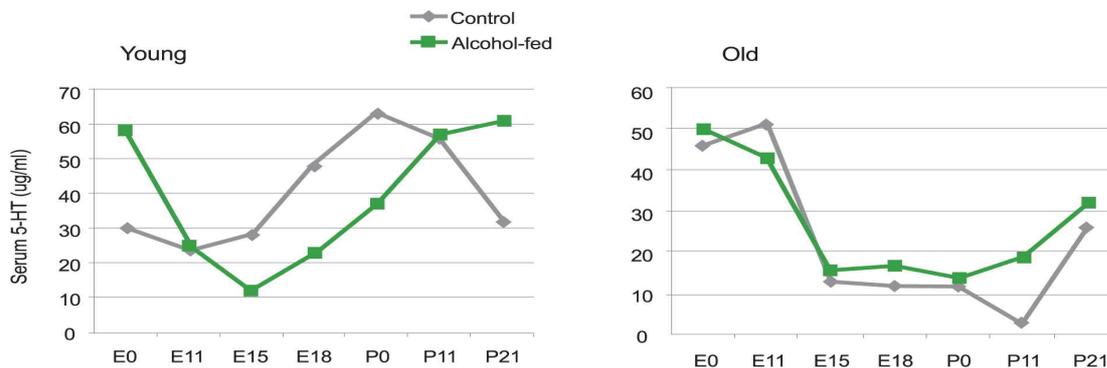


Figure 11. The changes of 5-hydroxytryptamine levels in the serum during the pregnancy of both young (6 weeks) and old (11 months) mice with or without alcohol consumption.

한편 임신 단계별 나이차 및 알코올 섭취에 따른 임신기간 중 췌장베타세포에서의 5-HT의 발현정도를 확인한 결과 그림 12에서 보는 바와 같이 알코올 섭취를 하지 않은 젊은 쥐의 경우 E0, E11까지는 낮은 수준으로 발현을 하고 있었고 출산 시기인 E18에서는 그 발현 정도가 증가하여 함을 보였고 이는 P11일까지 증가하고 있었다. 반면 알코올 섭취한 젊은 쥐의 경우 임신 전 단계부터 매우 높은 5-HT 발현을 보였고 이는 E11, E18까지 급격히 감소하다 P11에서 강하게 증가하는 것으로 나타났다. 이는 알코올 섭취를 하지 않은 쥐와는 아주 상이한 패턴을 보여주는 결과였다.

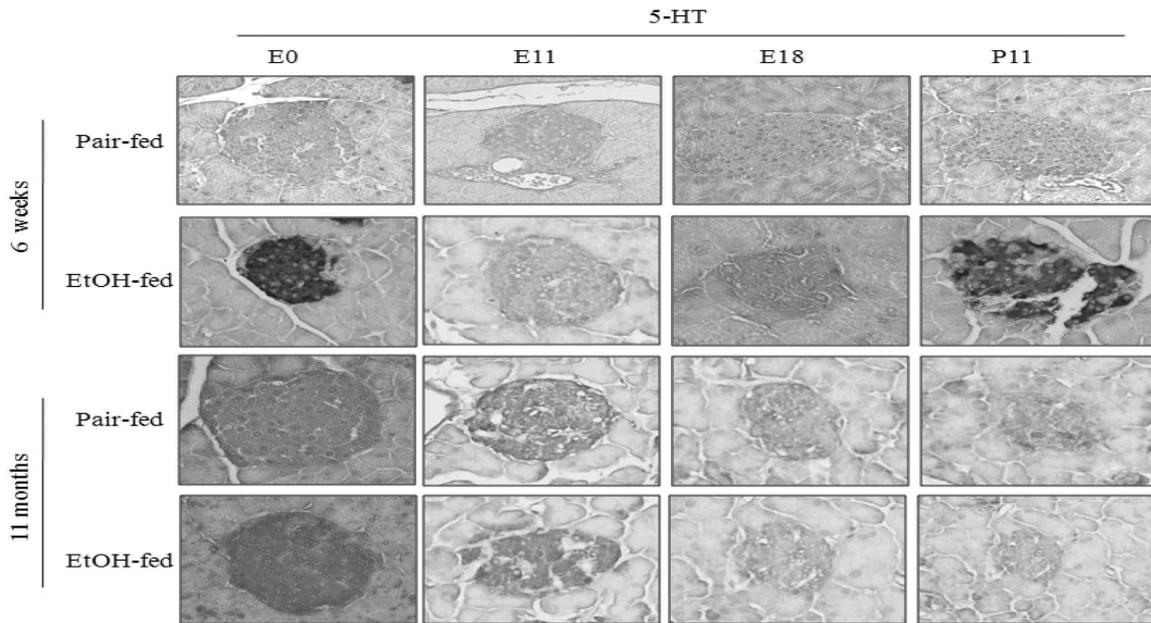


Figure 12. Expression of 5-HT in the pancreas tissues during the pregnancy of both young (6 weeks) and old (11 months) mice with or without alcohol consumption.

* Abbreviation: 5-HT=5-hydroxytryptamine, E=embryo, P=postpartum

반면, 젊은 쥐와는 달리 나이든 쥐의 경우에는 E0에서부터 알코올 섭취여부에 상관없이 매우 높은 수준에서 5-HT가 발현되어 있었지만 E11, E18, P11까지 지속적으로 5-HT 발현이 감소되어 있었다. 나이든 쥐의 임신 기간 중 5-HT 발현 감소가 모체의 췌장베타세포에서의 인슐린 생성능력이나 세포성장 조절능력이 떨어지는 주요한 원인으로 모체에서의 당대사 및 인슐린 민감성조절에 심각한 문제를 야기 할 것으로 여겨진다. 한편 나이가 든 쥐의 경우 젊은 쥐에 비해 알코올 섭취를 하지 않아도 5-HT의 발현이 크게 증가되어 있는 이유에 대하여서는 추가적인 연구를 통해 그 원인을 밝힐 필요가 있다고 본다.

따라서 이들 모델에서의 주요 조절인자를 찾기 위해 먼저 임신 전 단계의 췌장 조직에서 유전자들의 변화를 조사하고자 RT²-PCR array를 수행하여 유전자변이 양상을 확인하였다. 그림 13에서 보는 바와 같이 젊은 쥐에서 알코올 섭취를 한 경우 유즙생성 호르몬인 프로락틴의 양이 2배가 증가를 하였다. 반면 나이든 쥐의 경우 알코올을 섭취하지 않은 경우에도 프로락틴의 발현이 17배가 증가함을 확인하였다. 이는 앞에서 나타낸 혈청에서의 프로락틴의 양 변화와는 차이를 보이는 것으로 췌장에서의 프로락틴의 양 증가에 따라 5-HT의 생성이 증가를 하는 것으로 보여진다. 그러나 임신 전에 이미 프로락틴과 5-HT의 양이 증가함으로 임신시작과 과정 중에 이상조절현상이 나타날 가능성은 높다고 할 수가 있을 것이다. 한편 췌장베타세포에서의 프로락틴의 발현과 함께 프로락틴 수용체의 발현에 있어서는 젊은 쥐의 경우 알코올 섭취 후에 수용체의 발현이 증가를 하였고 이는 프로락틴의 발현증가와 일치하였다. 그러나 나이든 쥐의 경우 수용체의 발현은 프로락틴의 발현과는 달리 발현 증가가 크지 않았다. 그러나 젊은 쥐에 비해 증가하는 양상을 보였다. 특이하게도 알코올 섭취를 한 나이든 쥐의 경우에는 수용체의

발현이 급격히 증가함을 보였다. 뿐만 아니라 알코올 섭취에 따라 에스트로젠 수용체 1의 발현도 증가를 하였고 나이든 쥐에서는 그 증가 폭이 더 크게 나타났고 이는 알코올 섭취에 의해 급격히 증가함을 보였다. 이로써 임신 전 프로락틴과 에스트로젠의 발현 양에서의 차이가 췌장베타세포의 성장 및 인슐린 합성 및 분비 기능저하를 유도하는 주요 원인일 수가 있고 이를 통해 임신을 할 수 있는 조건 형성이 안됨으로 젊은 쥐에 비해 나이든 쥐와 알코올 섭취 군에서의 임신율이 감소하는 원인이 될 것으로 보여지고 나이든 쥐가 알코올 섭취를 하게 되면 이들 호르몬 발현 이상 조절에 따라 임신의 가능성은 훨씬 더 감소 할 것으로 보여진다.

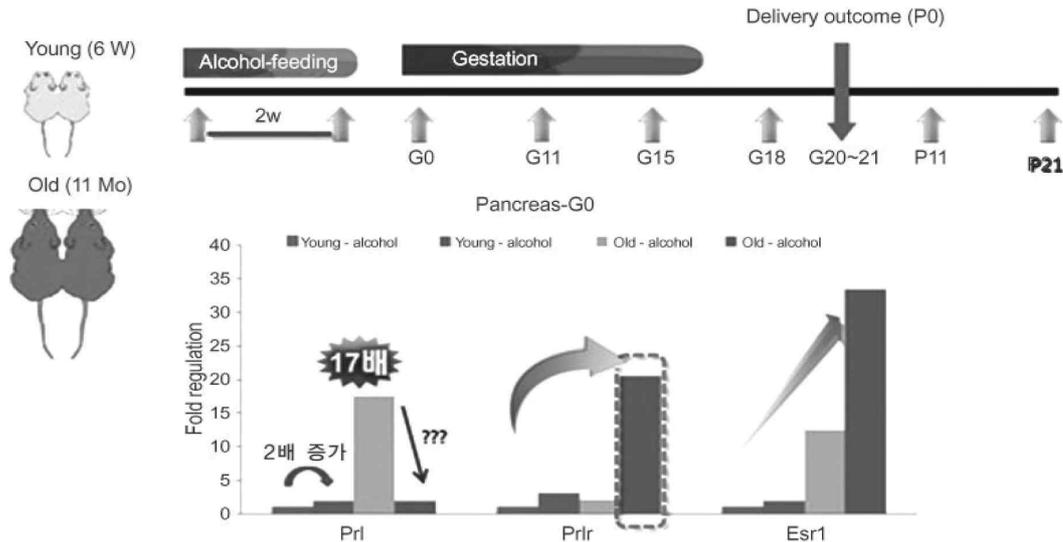


Figure 13. Expression of prolactin, prolactin receptor, and estrogen receptor 1 mRNAs in the pancreas tissues before pregnancy of both young (6 weeks) and old (11 months) mice with or without alcohol consumption (RT2-PCR array)
 * Abbreviation: Prl=prolactin, Prlr=prolactin receptor, Esr1=estrogen receptor

한편 우리는 췌장에서 5-HT를 합성하는 트립토판 가수분해효소 (Tryptophan hydroxylase, TPH)의 발현 양을 측정된 결과, 알코올 섭취를 한 젊은 쥐의 경우 5-HT의 양 증가와 유사하게 증가하는 것으로 나타났다. 반면 나이든 쥐(11개월령)의 경우에는 대조군 식이 섭취 군에서 이미 젊은 쥐보다 약 2배 정도의 증가를 보였다. 그러나 알코올 섭취에 의해서는 약하게 감소하는 경향을 보였으며, Tph2의 경우 젊은 쥐에서보다 나이든 쥐에서 2배 이상 증가하였으며, 알코올에 의해서는 1.98배, 알코올 섭취한 나이든 쥐는 1.9배 증가한 양상을 보였다. 또한 임신하기 전 췌장베타 세포막에서 5-HT 수용체인 HTR1d, 2a, 2b, 3a와 5-HT의 재흡수 수용체 (reuptake receptor)인 SERT, 그리고 세포내 과립 (vesicle)에 있는 재흡수 수용체인 VMAT2의 발현을 확인한 결과에서도 젊은 쥐에 알코올 섭취를 한 경우 5-HT 수용체들의 발현이 모두 증가하는 경향을 보인 반면, 나이 든 쥐의 경우 알코올 섭취와는 상관없이 대조군에서부터 이들의 발현이 크게 증가되어 있었다. 이들에서 췌장베타세포의 기능저하 원인 인자 확인을 위해 추가적인 여러 유전자들의 발현을 조사한 결과 우리는 췌장베타세포에서의 성장 및 전체 크기(mass), 인슐린 생성 기능 조절 등에 관여하는 것으로 보여지는 세포사멸(apoptosis), 자가식균 작용(Autophagy) 관련 유전자들의 변화가 함께 나타남을 확인할 수가 있었다. 특히 알코올 섭취에 의해 Atg7은 감소를 한 반면 Beclin1의 발현은 나이 증가와 알코올 섭취에 의해 크게 증가하는 것으로 나타났다. 이와 함께 세포사멸에 관여하는 Bax와 caspase-3 등의 발현은 크게 증가하였다. 이는 세포에서 세포사멸과 자가식균작용에 관여하는 조절 메커니즘이 동시에 작동하는 것으로 여겨지며 이들의 균

형조절여부에 따라 췌장베타세포의 성장과 죽음이 결정되고 또한 인슐린 생성기능도 조절되는 것으로 보여진다. 그러나 우리 모델에서 얻은 결과에 따르면 알코올 섭취 및 나이 증가에 따라 산화적 스트레스 (Oxidative stress) 마커로 사용되고 있는 활성화전사인자 3(Activating Transcription factor 3, ATF3)의 발현이 크게 증가되는 것으로 보아 세포사멸의 신호전달경로가 강화됨으로 췌장베타세포의 기능 저하 및 죽음을 야기하게 됨으로 전체적인 임신능력 저하, 배아 및 태아의 발달 이상, 그리고 기형아 출산 등의 발생률을 증가시키는 것으로 여겨진다.

III. 맺음말

최근 들어 우리나라에서 저출산 문제는 심각한 사회적 문제로 대두되고 있고 여성들의 사회생활 증가 및 결혼 연령이 증가함에 따라 35세 이상의 고령산모 및 직장생활에서의 음주량의 증가 등이 가임기 여성들에 있어서 불임 및 난임의 주요 위험인자로 작용을 하고 있다. 그러나 아직까지 이러한 모델 구축을 통한 원인 규명 및 조절인자들에 대한 발굴 및 정확한 조절기능연구에 대한 보고가 거의 된바가 없다. 이에 우리는 20대 초반과 30대 후반에서 40대 초반에 해당하는 마우스를 이용하여 임신 바로 2주 전 알코올 섭취를 하게 한 후 임신을 유도한 후 각 단계별 샘플을 취하여 분석을 하여 다음과 같은 결과를 얻었다 이들 결과를 종합하면 다음과 같다.

1. 나이든 쥐의 경우 젊은 쥐에 비해 임신율 및 출산율에서 감소를 보였고, 특히 알코올에 노출된 경우에는 임신율과 출산율 감소가 더욱 더 강화됨을 보였다. 또한 나이든 쥐의 경우 태아의 사산율 및 기형 발생률이 현격히 증가하였다.
2. 알코올 섭취한 젊은 쥐와 나이든 쥐의 경우 세로토닌 호르몬과 유즙생성 호르몬인 프로락틴의 생성 및 분비의 불균형조절로 인해 정상적인 임신 및 태아 발달이 이루어지지 않았다.
3. 특히, 췌장에서 5-HT와 관련 수용체들의 유전자 발현에 있어서 산모의 나이 증가 및 알코올 섭취가 미치는 효과는 뚜렷하였고 췌장베타세포의 인슐린 분비 및 대사기능 저하와 함께 산화적 스트레스 및 세포사멸 조절인자들의 증가가 함께 나타남을 확인하였다.
4. 알코올 섭취한 쥐에서 태어난 자손의 경우 몸무게가 정상 어미에게서 태어난 쥐보다 2배 이상이었다. 그러나 태어난 지 14일 이후부터는 몸무게 및 성장발달이 제대로 이루어지지 않음을 관찰하였다.

이 연구 결과는 산모의 나이 증가와 임신 전 가임기여성에서의 알코올 섭취가 임신율 및 출산율 감소의 주요 원인이 되고 심지어 나이든 쥐의 경우 임신 중 산모 사망 증가와 함께 태아의 사망, 사산율 및 기형아 출산율 증가의 주요 원인이 됨을 보여주고 있다. 또한 췌장베타세포에서 분비되는 호르몬인 5-HT 및 프로락틴 호르몬분비 이상조절로 인해 인슐린 생성 및 당대사기능이상을 야기함으로써 모체의 임신성 당뇨병 발생 및 태아의 발육부진 및 대사기능이상을 통한 질병 발생의 주요 원인으로 작용할 가능성이 매우 높다고 할 수 있다. 특히 췌장베타세포에서 나이든 쥐와 알코올 섭취한 각 실험 군에서 산화적 스트레스 마커인 ATF3의 증가와 세포 사멸에 관련된 여러 유전자들의 변화가 나타나는 것으로 확인되었다.

이들 결과를 바탕으로 각 임신 단계별 여러 유전자들의 발현변이와 함께 주요 조절인자들의 발현 및 기능변화에 대한 추가적인 연구를 통하여 이들 위험인자들에 의해 초래되는 임신동안의 모체와 태아의 대사기능이상조절에 대한 정확한 조절 메커니즘을 밝힐 수 있을 것이다. 또한 향후 연구결과를 바탕으로 주요하게 변화하는 인자들에 대한 타겟 분자들을 찾아 임신 중 모체의 건강과 태아의 발달 과정에서의 이상조절을 제어 할 수 있는 과학적 기초근거들을 생산함으로 치료 제어 중재연구에 활용하고자 한다.

IV. 참고문헌

1. Infertility in women : Risk Factors-Infertility in women Health information. (2007) Overview In-Depth Report (<http://health.nytimes.com/health/guides/disease/infertility-in-women/risk-factors.html>)
2. 한국 여성의 만성질환 현황과 정책과제(2004) 보건복지 포럼
3. Chang GQ, Gaysinskaya V, Karatayev O, Leibowitz SF. (2008) Maternal high-fat diet and fetal programming: increased proliferation of hypothalamic peptide-producing neurons that increase risk for overeating and obesity. *J Neurosci.* 28(46):12107-12119.
4. Sebastian Rieck, Klaus H. Kaestne (2010) Expansion of β -cell mass in response to pregnancy *Trends Endocrinol Metab.* 21(3):151 - 158.
5. Kim H, Toyofuku Y, Lynn FC, Chak E, Uchida T, et al. (2010) Serotonin regulates pancreatic beta cell mass during pregnancy. *Nat Med.* 16(7):804-808.