

경구 당섭취후 혈장 아밀린농도의 변화에 관한 연구*

계명대학교 의과대학 내과학교실

이 인 규 · 박 근 용

영남대학교 의과대학 내과학교실

이 형 우

서 론

인슐린 비의존형 당뇨병은 조직에서의 저항성, 그리고 간에서의 당생성 증가 및 췌장 베타 세포의 인슐린 분비장애 등이 원인이 되어 고혈당을 포함한 여러가지 대사장애를 유발하는 질환이라는 것이 알려져 있으나^{1,2}, 그 정확한 병인은 아직 규명하지 못하고 있다.

1990년경 Opie 등³이 췌도에 유리질증(hyalinosis)이 있음을 처음 보고하였고, 1961년에는 Ehrlich 등⁴이 콩고레드(Congo red) 염색법을 이용해, 이것이 전신의 아밀로이드증을 유발하는 아밀로이드와 유사한 물질이라는 것을 밝혔으며, 1970년대 들어 병리, 조직학적 방법이 발달함에 따라 췌도의 아밀로이드는 전신 아밀로이드 즉 신경, 간, 비장 등에 침착하는 아밀로이드와는 그 성분이 다르다는 것이 알려졌다^{5~7}. 그 뒤 1987년경 Westermarck 등⁸은 인슐린종 환자의 중앙조직, 사람 및 고양이의 췌장조직에서 37개의 아미노산으로 구성된 물질을 분리하여 이것을 소도아밀로이드 폴리펩티드(IAPP, amylin)라고 명명하였다.

이 아밀로이드는 신경조직에 주로 분포한다고 알려진 human-calcitonin gene-related peptide(CGRP)⁹와 아미노산 배열의 46%가 동일하며, 베타세포 분비 과립 속에 인슐린과 함께 존재한다는 것이 알려져 있다. 아직까지 베타세포내의 아밀린의 작용이 무엇인지는 상세히 밝혀지지 않았으나, 인슐린의 posttranslational processing에 작용하는 것으로 생각되며, 이 과정에 문제가 유발되어 인슐린 비의존형 당뇨병환자에서 아밀로이

드 축적이 생길 것이라는 주장¹⁰도 있다.

저자들은 인슐린 의존형 당뇨병과 인슐린 비의존형 당뇨병군 및 정상군에서 혈장내 아밀린(amylin) 농도의 차이가 있는지를 알아보고, 경구당 섭취전후에 아밀린과 시펩티드(C-peptide) 분비 사이에 어떠한 연관이 있는지를 알아보고자 이 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

인슐린 의존형 당뇨병 환자 5명을 제 1군, 인슐린 비의존형 당뇨병 환자 8명을 제 2군, 그리고 정상 대조군 9명을 제 3군으로 하여, 검사전날 밤 10시부터 금식 시킨후 검사일 오전 8시부터 채혈하였다. 제 1군, 제 2군 및 제 3군의 평균 연령은 각각 제 1군(18±6세)이, 제 2군(43±14세) 및 제 3군(39±15세)에 비해 유의하게($p < 0.01$) 낮았으나, 제 2군과 제 3군 사이에는 유의한 차이가 없었다. 그리고 BMI(kg/m²)는 각각 16.8±2.1, 21.5±2.3, 21.2±3.8이었다(Table 1).

75g의 포도당 용액 200 cc를 경구 섭취시키고, 매 1시간 간격으로 3회, 10 ml씩 채혈하여 얼음을 넣어 차게 식힌 EDTA와 trasylol이 담긴 유리관에 넣은 후, 혈장을 즉시 분리하여 -70℃에서 검사 전까지 보관하였다. 혈장 포도당은 포도당산화효소(glucose oxidase) 방법

Table 1. Clinical Characteristics in Three Groups

	Number	Age (yr)	BMI (kg/m ²)
Group 1	5	18±6	16.8±2.1
Group 2	8	43±14	21.5±2.3
Group 3	9	39±15	21.2±3.8

*본 논문은 1991년도 계명대학교 동산의료원 특수과제연구비로 이루어 졌음.

으로, 인슐린은 Cambridge사, 시펩티드는 Incstar사의 방사면역측정 Kit를 사용하여 측정하였다. 혈장이밀린은 전처치로서 먼저 0.1% trifluoroacetic acid(TFA) 2ml로 혈장을 산성화 시킨후, 4℃에서 15분간 3000g로 원심분리하였다. Sep-pak® colum(Waters사)을 0.1% TFA에 녹인 60% acetonitril 4ml로 씻고, 다시 0.1% TFA 5ml로 4회 세척하여 활성화 시킨 다음, 이 Sep-pak® colum에 4ml의 혈장을 넣고, 0.1% TFA 5ml로 4번 세척한 후, 0.1% TFA에 녹인 60% acetonitril 4ml로 용출(elution)하였다. Speedvac centrifugal evaporator(Savant사)로 증발시킨 후 방

사면역측정 완충용액(buffer solution)으로 재용해하였고, Peninsula Laboratories사의 human amylin assay kit를 이용해 방사면역측정법으로 측정하였다.

결 과

75g의 경구 당부하검사시 혈당은 정상대조군인 제3군에 비해 당뇨병환자군인 제1군 및 제2군이 현저하게 높았다(Fig. 1). 동시에 측정된 당부하 검사시의 혈장내 시펩티드 농도는 정상대조군인 제3군과 성인형 당뇨병군인 제2군이 약년형 당뇨병인 제1군에 비해 현저히

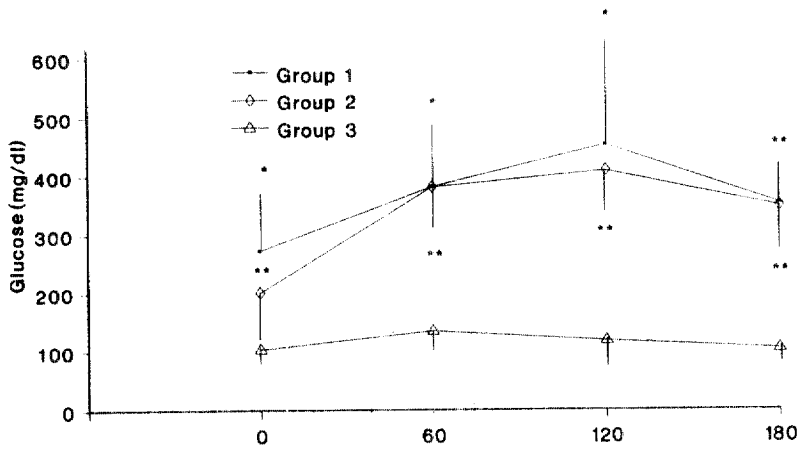


Fig. 1. Glucose concentrations after 75g glucose ingestion. (*p<0.05 **p<0.001 v.s Group 1.)

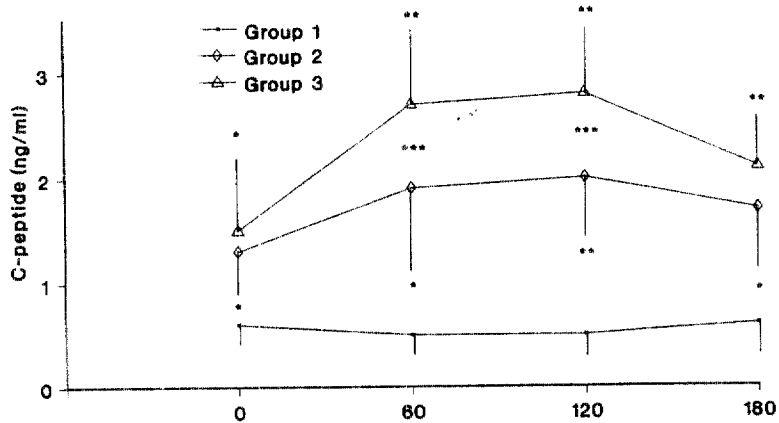


Fig. 2. C-peptide concentrations after 75g glucose. (*p<0.05, **p<0.001 Group 2, 3 v.s Group 1) (***)p<0.05, Group 2 v.s Group 3)

높았다. 또 60분, 120분에서는 정상대조군인 제 3군의 시펩티드치가 성인형 당뇨병군인 제 2군의 시펩티드치보다 유의하게 ($p < 0.05$) 높았다 (Fig. 2). 같은 시간에 채혈한 성인형 당뇨병군인 제 2군과 정상대조군인 제 3군의 혈장내 아밀린 농도는 두 군사이에는 차이가 없었으나 ($p < 0.05$), 약년형 당뇨병 환자군인 제 1군에 비해서는 의미있게 높았다 ($p < 0.05$) (Fig. 3). 기저상태 및 경구 당섭취후 시펩티드 농도와 혈장 아밀린치는 $r^2 = 0.47$ 로 유의한 ($p < 0.005$) 상관관계가 있었다 (Fig. 4).

고 찰

과거의 연구보고들에 의하면 체도의 아밀로이드는 성

인형 당뇨병환자의 대다수에서 발견되며¹¹⁾, 나이가 많은 정상 성인의 14~18%에서 발견되므로^{12,13)}, 노화와 정중에 나타나는 비특이적인 현상으로 간주되었다. 그러나 최근의 연구에 의하면 정상대조군에 비해 성인형 당뇨병 환자에서 그 발견빈도가 높으므로 당뇨병에 특이적인 현상으로 보는 보고가 많다^{13,14)}. 그리고 당뇨병 환자 중에서는 나이가 많은 사람에서¹³⁾, 또 인슐린 치료를 필요로 하는 심한 형태의 성인형 당뇨병에서 더 흔하다고 한다¹⁴⁾.

이러한 아밀린은 1987년 Cooper 등에 의해서 순수하게 분리되고 아미노산 서열이 완전히 규명되었다¹⁵⁾. 이 아밀린은 37개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 그 유전자는 염색체 12번에 위치하고 있으며^{16,17)}, 사람의

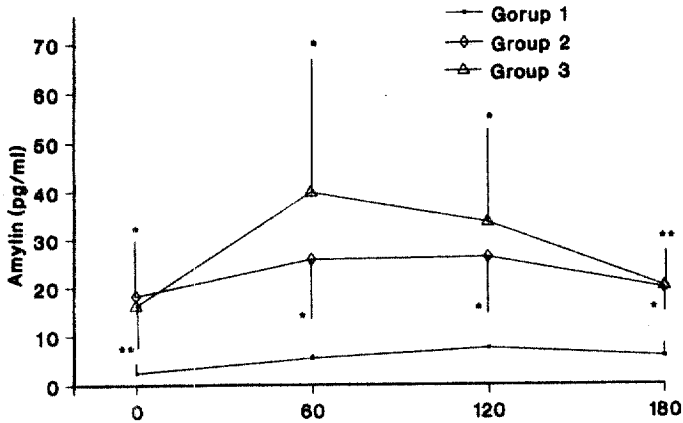


Fig. 3. Amylin concentrations after 75g glucose ingestion. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ v.s Group 1)

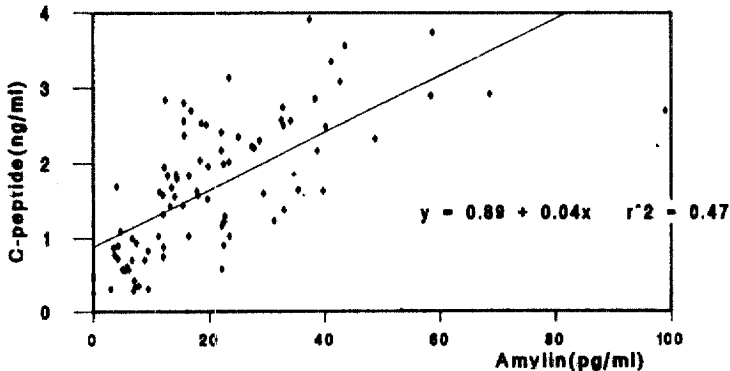


Fig. 4. Correlations between plasma amylin and C-peptide concentration. ($p < 0.001$)

CGRP-2(calcitonin gene-related peptide-2) rat CGRP-beta와 46%의 아미노산 서열이 동일하며 사람의 CGRP-1과는 43%가 동일하다^{17,18)}.

1989년에 Matsuno 등이 알려진 사람의 아밀린의 C-말단부(24~27번) 일부에 대한 항체를 만들고, 이 항체를 이용하여 민감하고 특이성이 높은 방사면역측정법을 개발하였다. 이 때 사용한 사람 아밀린 C 말단부에 대한 항체는 쥐의 아밀린이나 사람의 CGRP와는 동일한 부위가 포함되어 있지 않아서 이들과는 매우 낮은 교차 반응을 나타낸다¹⁹⁾. 이 방법을 이용하면 전체 아밀린 부위를 동일한 양으로 측정할 수 있고, HPLC 방법으로 반복 측정한 결과 단일 편역반응 분획(peak)이 나타나므로 자신들이 개발한 방사면역측정법이 정확성(precision)과 그 특이성(specificity)이 높다고 주장하였다¹⁹⁾.

Westermarck 등^{20,21)}은 아밀린에 대한 특이 항체를 이용하여 편역조직화적인 연구를 시행하였고, 췌도 베타 세포에 아밀린이 존재한다는 것을 발표하였다. 그 뒤 Johnson 등은 더 나아가서 쥐의 베타세포내의 분비과립(secretory granule)에 아밀린이 존재한다²²⁾는 것을 규명하였고, Leffert 등도 쥐의 췌도 베타세포에서 다량의 아밀린 특이 전령리보핵산(mRNA)를 분리할 수 있었다²³⁾. 이상의 연구결과들은 종합적으로 아밀린은 인슐린과 같이 췌도의 베타세포에서 생성된다는 것을 시사한다.

음식을 섭취후 대사에 사용되고 남은 부분의 탄수화물은 글리코겐으로 일시적으로 저장되거나 유리지방산으로 바뀌어 체 지방세포에 트리아실 글리세롤 형태로 저장된다. 이 때 체내에 주된 글리코겐 저장장소는 간과 근육조직이다. 근육에서 일어나는 포도당에서 글리코겐으로의 전환은 포도당의 양보다는 이때 관여하는 인슐린의 역할이 매우 중요하다. 그러므로 인슐린 저항성이 주된 원인인 성인형 당뇨병은 근육에서 여분의 포도당으로부터 글리코겐 생성이 저하되어 있으며, 이로 인해 고혈당이 나타난다^{1,2)}. 이러한 현상을 유발하는 물질로 현재까지 알려진 것으로는 아드레날린이 있으며, 아드레날린이 당뇨병의 병인에 중요한 것으로 간주되어 왔다²⁵⁾. 그러나 최근 합성 아밀린, 췌도로부터 분리한 아밀린, CGRP-1 등을 투여한 연구에서 이들 또한 글리코겐 합성을 저하시키는 것이 관찰되었다. 즉 쥐의 근육조직에 아밀린(10^{-9} M)과 CGRP-1(10^{-9} M)을 투여한 결과 글

리코겐 합성에 관여하는 인슐린 효과가 50%까지 감소되었다²⁴⁾. 그리고 CGRP-1을 투여하면 말초의 포도당 대사에 관여하는 인슐린 작용을 억제하며 간에서 포도당 신생을 억제시켰다²⁶⁾. 그러나 이러한 사실들은 앞서 개발된 방사면역측정법으로 측정된 체내의 아밀린 혹은 CGRP-1의 생리적인 농도보다 훨씬 높은, 즉 생리적 농도의 약 100~1000배에 해당하는 농도이므로 실제로 생체내에서 이 물질들이 당뇨병 유발에 미치는 영향에 대해서는 아직 회의적이다^{25,27)}. Nazakato 등¹⁹⁾과 Butler 등²⁸⁾의 연구에서나 저자들의 연구에서도 정상인의 혈장 아밀린 농도는 근육에서 글리코겐 합성을 저하시키는데 필요한 아밀린 농도의 1/1000에 불과하였다.

Lukinius 등²⁹⁾은 혈장 인슐린치와 아밀린치의 변화가 일치할 것으로 예측하였는데, 그 뒤 Butler 등²⁸⁾은 성인형 당뇨병 환자와 포도당이나 음식을 섭취후 혈장 아밀린치의 변화가 혈장 인슐린치의 변화와 밀접한 관련이 있는 것을 관찰하였다. 저자들도 제 2형 당뇨병환자, 제 1형 당뇨병환자 및 대조군에서 민감한 방사면역측정법¹⁹⁾을 이용하여서 포도당 섭취후 혈장에서 추출한 아밀린 농도를 측정하였다. 저자들의 연구에서는 제 1형 당뇨병환자에서 대조군 및 제 2형 당뇨병환자군에 비해 혈장 아밀린치가 매우 낮았으며, 대조군과 제 2형 당뇨병환자군 사이에서는 기저치 및 60분, 120분, 180분의 혈장 아밀린 농도에는 그 차이를 볼 수 없어 Butler 등²⁸⁾의 연구결과와 일치되는 소견을 보였다. 그러나 앞서한 연구와는 달리 저자들은 인슐린 농도와는 비교하지 않았는데, 그 이유는 환자군중 일부는 인슐린 주사를 맞고 있었으며, 측정시 이의 영향이 있을 것으로 생각되었기 때문이다.

이상의 결과, 즉 아밀린의 생리적 농도는 in vitro 실험에서 근육에서 글리코겐 합성을 저하시키는데 필요한 아밀린의 농도의 1/1000에 불과하며, 제 2형 당뇨병환자군과 대조군 사이에 혈장 아밀린치의 차이가 나지 않는다는 두 가지 결과에서 볼 때 혈장 아밀린은 제 2형 당뇨병 환자의 인슐린 저항성을 유발하는 직접적인 인자로 보기는 힘들다고 생각된다. 그러나 최근 Koopmans 등은 동일한 양(125 pmol/min)의 아밀린을 주입할 때 간에서는 포도당 배출을 250% 증가시켰고, 말초에서는 포도당 이용을 30% 감소시킨 결과를 보고하면서 생체내에서 아밀린은 말초조직에서 보다 간에서 더 민감한 작용을 보인다²⁹⁾고 하였고, 쥐의 간과 간세포로 이용한 in

vitro 실험에서 Theodore 등은 생리적 농도의 아밀린이 간에서 글리코겐 분해 (glycogenolysis)와 포도당신생 (gluconeogenesis)를 촉진시킨다는 결과를 발표하면서 아밀린은 생리적 농도에서도 간세포의 포도당 이용을 억제시킨다는 것을 주장하였다³⁰⁾. 그러므로 향후 아밀린과 당뇨병을 유발하는 인슐린 저항성과의 관계를 규명하기 위해서는 아밀린이 간에서 초래하는 포도당 대사의 이상에 관한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 : 인슐린 비의존형 당뇨병은 조직에서의 인슐린 저항성, 간에서의 당생성 증가 및 췌장 베타세포의 인슐린 분비장애가 원인이 되어 생기는 대사장애로 알려져 있으나 정확한 병인은 밝혀져 있지 않다. 최근의 연구에 의하면 성인형 당뇨병환자의 췌장조직에서 아밀린 침착을 더 흔히 볼 수 있으며, 인슐린 치료를 필요로 하는 심한 형태의 당뇨병에서 더 흔하다고 한다.

방법 : 인슐린 의존형 당뇨병환자 5명 (제 1 군), 인슐린 비의존형 당뇨병환자 8명 (제 2 군), 정상대조군 9명 (제 3 군)을 연구대상으로 하여 혈장내 아밀린의 농도차이와 경구당 섭취전후에 아밀린과 시펩티드 분비 사이에 어떠한 연관이 있는지를 분석하였다. 성인형 당뇨병환자군, 약년형 당뇨병환자군, 정상대조군의 평균연령은 각각 18 ± 6 세, 43 ± 14 세, 39 ± 15 세이었으며 ($p < 0.05$), BMI는 각각 16.8 ± 2.1 , 21.5 ± 2.3 , 21.2 ± 3.8 이었다.

결과 :

1) 75 g의 경구당부하검사시 혈장시펩티드 농도, 혈장 아밀린농도의 비교 : 혈장내 시펩티드 농도는 정상대조군과 성인형 당뇨병군에서 약년형 당뇨병군에서 보다 현저히 높았고 60분, 120분차에서는 정상대조군이 성인형 당뇨병군에서 보다 유의하게 높았다. 그리고 혈장내 아밀린 농도는 정상대조군과 성인형 당뇨병군 사이에서는 차이가 없었으나 ($p > 0.05$), 약년형 당뇨병 환자군에 비해서는 의미있게 높았다 ($p < 0.05$).

2) 기저상태 및 경구 당섭취후 시펩티드 농도와 혈장 아밀린치는 $r^2 = 0.47$ 로 유의한 ($p < 0.05$) 상관관계가 있었다.

결론 : 경구 당부하검사시 혈장 아밀린의 농도 변화는 시펩티드 농도의 변화와 밀접한 관계가 있으며, 이는 췌장 베타세포내에서 아밀린의 분비가 인슐린 시펩티드의

분비와 동시에 일어난다는 것을 시사해 준다. 그러나 인체내의 혈장 아밀린의 농도는 실험적으로 인슐린 저항성을 유발할 수 있는 아밀린 농도와 비교해서는 훨씬 낮으므로, 이것이 성인형 당뇨병 환자의 인슐린 저항성을 유발하는 직접적인 인자로 생각하기에는 어려운 점이 많다고 생각된다.

= Abstract =

Effects of oral Glucose Ingestion on Plasma Amylin Concentration in Diabetic and Nondiabetic Humans

In Kyu Lee, M.D. and Keun Yong Park, M.D.

Department of Internal Medicine, Keimyung University, College of Medicine, Taegu, Korea

Hyung Woo Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, Yeungnam University College of Medicine, Taegu, Korea

Background : Peripheral insulin resistance, increased hepatic glucose production, and impaired insulin secretion are the three characteristic features that underlying the deranged carbohydrate metabolism in type II diabetes. Islet amyloid polypeptide (IAPP, amylin) is a 37-aminoacid peptide that was isolated from pancreatic islet amyloid of type II diabetic and insulinoma patients. Recent interest has focused on the potential role of amylin in the pathogenesis of type II diabetes.

Method : We determined amylin and C-peptide response in plasma to oral glucose administration in 5 patients with type I diabetes (Group 1), 8 patients with type II diabetes (Group 2), and 9 normal controls (Group 3), by specific amylin radioimmunoassay methods. In group I, II, III, ages (mean \pm SD) were 18 ± 6 years, 43 ± 14 years, 39 ± 15 years respectively. BMI (mean \pm SD) were 16.8 ± 2.1 , 21.5 ± 2.3 , 21.2 ± 3.8 respectively.

Result :

1) Plasma C-peptide levels after oral administration of 75 g glucose were significantly ($p < 0.05$) higher in patients with type II diabetes and normal control groups than in patients with type I diabetes.

2) Plasma amylin concentrations after oral administration of 75 g glucose showed no significant difference between in patients with type II diabetes and in normal control groups. But plasma amylin concentrations in

patients with type II diabetes and in normal control groups were significantly ($p < 0.05$) higher than in patients with type I diabetes.

3) There were significant ($p < 0.01$) correlations ($r^2 = 0.47$) between plasma amylin and C-peptide concentration.

Conclusion : These results suggest that amylin is cosecreted with insulin and C-peptide in response to a glucose load. But there are no differences in plasma amylin concentrations between type II diabetic and normal control subjects. Therefore, further studies will be required to determine whether amylin is a physiological regulator of carbohydrate metabolism in human.

Key Words: Insulin resistance, Type II diabetes, Amylin

REFERENCES

- 1) Oefsky JM: *Pathogenesis of non-insulin dependent (type II) diabetes*. In *Endocrinology*, 2nd ed. DeGroot LJ, Besser GM, Cahill GF, Marshall JC, Nelson DH, Odell WD, Pitts JT, Rubenstein AH, Steinberger E, Eds. Philadelphia, PA, Saunders, 1989, p 1369-88
- 2) DeFronzo RA: *Lilly Lecture 1987: The triumverate: β -cell, muscle, liver: A collusion responsible for NIDDM*. *Diabetes* 37:667-687, 1988
- 3) Opie EL: *On the relation of chronic interstitial pancreatitis to the islands of Langerhans and to diabetes mellitus*. *J Exp Med* 5:397-428, 1900
- 4) Ehrlich JC, Ratner JM: *Amyloidosis of the islets of Langerhans: A restudy of islet hyalin in diabetic and nondiabetic individuals*. *Am J Pathol* 38:49-59, 1961
- 5) Westermark P: *On the nature of the amyloid in human islets of Langerhans*. *Histochemistry* 38:27-33, 1974
- 6) Westermark P: *Amyloid of human islets of Langerhans. I. Isolation and some characteristics*. *Acta pathol Microbiol Scan Sect C Immunol* 83:439-446, 1975
- 7) Yano BL, Hayden DW, Johnson KH: *Feline isular amyloid: Ultrastructural evidence for intracellular formation by nonendocrine cells*. *Lab Invest* 45:149-156, 1981
- 8) Westermark P, Wernstedt C, O'Brien TD, Hayden DW, Johnson KH: *Islet amyloid in type 2 human diabetes mellitus and adult diabetic cats contains a novel putative polypeptide hormone*. *Am J Pathol* 127:414-417, 1987
- 9) Stumpo DJ, Stewart TN, Gilman MZ, Blackshear PJ: *Identification of c-fos sequences involved in induction by insulin and phorbol esters*. *J Biol Chem* 263:1611-1614, 1988
- 10) Dranginis A, Morley M, Nesbitt M, Rosenblum BB, Meisler MH: *Independent regulation of nonallelic pancreatic amylase genes in diabetic mice*. *J Biol Chem* 259:12216-12219, 1984
- 11) Clark A, Wells CA, Buley ID, Cruickshank JK, Vanhegan RI, Hockaday TDR, Turner RC: *Abnormal proportions of three pancreatic endocrine cell types and islet amyloid deposition in Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes*. *Diabetologia* 29:528A (abstr), 1986
- 12) Bell ET: *Hyalinization of the islets of langerhans in nondiabetic individuals*. *Am J Pathol* 35:801-805, 1959
- 13) Bell ET: *Hyalinization of the Islets of Langerhans in Diabetes Mellitus*. *Diabetes* 1:341-344, 1952
- 14) Maloy AL, Longnecker DS, Greenberg ER: *The relation of islet amyloid to the clinical type of diabetes*. *Hum Pathol* 12:917-922, 1981
- 15) Cooper GJS, Leighton B, Willis AC, Day AJ: *Amylin superfamily, a novel grouping of biologically active polypeptides related to the insulin A chain*. *Progr Growth Factor Res* 1:99-105, 1989
- 16) Roberts AN, Leighton B, Todd JA, Cockburn D, Sutton R, Boyd Y, Holt S, Day AJ, Foot EA, Willis AC, Reid KBM, Cooper GJS: *Molecular and functional characterization of amylin, a peptide associated with type 2 diabetes mellitus*. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:9662-9666, 1989
- 17) Mosselman S, Hoppener JMW, Zandberg J, Van Mansfield ADM, Geurts van Kessel AHM, Lips CJM, Jansz HS: *Islet amyloid polypeptide; identification and chromosomal localization of the human gene*. *FEBS Lett* 239:227-232, 1988
- 18) Cooper GJS, Willis AC, Clark A, Turner RC, Sim RB, Reid KBM: *Purification and characterization of a peptide from amyloid-rich pancreases of type 2 diabetic patients*. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:8628-8632, 1987
- 19) Nakazato M, Asai J, Kangawa K, Matsukura S, Matsuo H: *Establishment of radioimmunoassay for human islet amyloid polypeptide and its tissue content and plasma concentration*. *Biochem Biophys Res*

- Commun* 164:394-399, 1989
- 20) Westermark P, Wernstedt C, Wilander E, Hayden DW, O'Brien TD, Johnson KH: *Amyloid fibrils in human insulinoma and islets of langerhans of the diabetic cat are derived from a neuropeptide-like protein also present in normal islet cells. Proc Natl Acad Sci USA* 84:3881-3885, 1987
 - 21) Cooper GJS, Willis AC, Reid KBM, Clark A, Baker CA, Turner RC, Lewis CE, Morris JF, Howland K, Rothbard JB: *Diabetes-Associated peptide Lancet ii*, 966, 1987
 - 22) Johnson KH, O'Brien Td, Hayden DW, Jordan K, Ghobrial HKG, Mahoney WC, Westermark P: *Immunolocalization of islet amyloid polypeptide (IAPP) in pancreatic beta cells by means of peroxidase-Antiperoxidase and protein A-Gold techniques. Am J Pathol* 130:1-8, 1988
 - 23) Leffert JD, Newgard CB, Okamoto H, Miburn JL, Luskey KL: *Rate amylin: cloning and tissue-specific expression in pancreatic islets. Proc Natl Acad Sci USA* 86:3127-3130, 1989
 - 24) Cooper GJS, Day AJ, Willis AC, Roberts AN, Reid KBM, Leighton B: *Amylin and the amylin gene: structure function and relationship to islet amyloid and to diabetes mellitus. Biochimica et Biophysica Acta* 1014:247-258, 1989
 - 25) Leighton B, Cooper GJS: *Pancreatic amylin and calcitonin generelated peptide cause resistance to insulin in skeletal muscle in vitro. Nature* 335:632-635, 1989
 - 26) Molina M, Cooper GJS, Leighton B, Olefsky JM: *Induction of insulin resistance in vivo by amylin & calcitonin. Diabetes* 39:260-265, 1990
 - 27) Cooper GJS, leighton B, Dimitriadis GD, Parry-Billings M, Kowalchuk JM, Howland K, Rothbard JB, Willis AC, Reid KBM: *Amylin found in amyloid deposite in human type 2 diabetes mellitus may be a hormone that regulates glycogen metabolism in skeletal muscle. Proc Natl Acad Sci USA* 85:7763-7766, 1988
 - 28) Lukinius A, Wilander E, Westermark GT, Engstrom U, Westermark P: *Colocalization of islet amyloid polypeptide and insulin in the B cell secretory granules of the human pancreatic islets. Diabetologia* 32: 240-244, 1989
 - 29) Butler PC, Chou J, Carter WB, Wang YN, Bu BH, Chang D, Chang JK, Rizza RA: *Effects of meal ingestion on plasma amylin concentration in NIDDM and nondiabetic humans. Diabetes* 39:752-759, 1990
 - 30) Koopmans SJ, Mansfeld ADM, Jansa HS, Krans HMJ, Radder JK, Frolich M, Boer SF, Kreutter DK, Andrews GC, Maassen JA: *Amylin-induced in vivo insulin resistance in conscious rates: the liver is more sensitive to amylin than peripheral tissues. Diabetologia* 34:218-224, 1991
 - 31) Ciaraldi TP, Goldberg M, Odom R, Stolpe M: *In vitro effects of amylin on carbohydrate metabolism in liver cells. Diabetes* 41:975-981, 1992