

titative RT-PCR법과 real time PCR법을 비교할 때 주령별 발현 양상은 유사하였으나 4주령과 성체에서는 두 시험법 사이에 양적인 차이가 있었다. 정소 내 AQP9의 발현은 adult type Leydig cell의 기능적 marker인 17beta HSD의 발현 양상과 같게 나타났다. 면역조직화학염색 결과 주로 Leydig cell에서 AQP9의 발현이 확인되었으며 미성숙 개체에서 발현보다 강한 신호가 성체의 Leydig cell에서 검출되었다. 성체의 정소 균질액의 Western blot 상에서 분자량 80, 55, 35 및 23 kDa의 항원이 검출되어 dimer, trimer 형태로 존재할 가능성과 번역 후 변형이 있는 것으로 추정된다. 미성숙 개체의 정소에서는 23 kDa form이 확인되는 반면 성체에서는 35 kDa form이 주로 발현되었다. 성체의 정소로부터 분리한 Leydig cell-enriched culture에 hCG를 처리한 결과 배양체의 AQP9의 발현이 소폭 증가 증가하였으며, 3주령 미성숙 개체에 hCG를 주사한 후 3일 경과 시 AQP9 mRNA의 발현이 증가하였다. 이들 정소 조직 절편 상에서 Leydig cell에서 AQP9 신호가 증가하였다.

Conclusions: 출생 후 정소의 발달 과정에서 AQP9의 발현이 증가할 뿐 아니라 AQP9 항원이 Leydig cell에서 주로 확인되므로 정소 내 Leydig cell의 분화와 밀접한 상관성이 있는 것으로 추측된다. 또한 정소에서 발현되는 AQP9의 경우 post-translation 수준에서 변형이 수반되는 것으로 사료되며 AQP9의 기능과의 연관성은 추후 연구되어야 할 것이다. 출생 후 정소 조직의 AQP9 발현 양상의 분석 결과 AQP9은 Leydig cell의 기능적 분화와 밀접히 관련된 것으로 사료되며 LH 수용체 하위 신호전달과정을 통해 Leydig cell의 steroidogenesis 또는 생성된 steroids의 분비에 요구되는 수분 및 중성용질의 이동에 관여하는 것으로 사료된다.

P-31 생쥐 정소에서 Cannabinoid 수용체의 발현 및 조절

한양대학교 생명과학과

강희정 · 강현희 · 계명찬

Background & Objectives: 현대사회에서 다양한 마약의 사용이 팽창하고 있으며 다양한 신체적, 정신적 부작용을 양산하고 있다. 따라서 대마초 등의 마약사용에 따른 생식능력의 변화는 주요한 연구 대상이다. 최근 Cannabinoid 수용체 유전자의 구조 및 신호전달에 대한 이해가 확장되면서 다양한 기관 및 조직에서 천연 및 합성 cannabinoid 및 생체내 cannabinoid인 anandamide에 의한 생식능력의 변화에 대한 분자수준의 연구가 활발하였다. 본 연구는 cannabinoid가 남성생식능력의 변화에 미치는 영향을 분자수준에서 규명하기 위한 연구의 일환으로 정소발달에 따른 수용체 (CB1)의 발현을 조사하였다.

Method: 본 연구에서는 생쥐에서 출생 후 성체에 이르는 동안 정소 내 CB1 발현의 변동을 조사하였다. 1, 2, 4, 8주령의 정소로부터 optimized semiquantitative RT-PCR법 및 real time PCR법으로 CB1 mRNA의 발현을 분석하였고 Western blot을 통해 단백질 수준에서 확인하였다. 면역조직화학염색을 통해 정소조직 내 CB1의 발현부위를 조사하였다. 한편 미성숙 생쥐에 hCG 0.374 iU를 주사하고 3일 경과 후 앞서와 동일한 방법으로 분석하였다. 한편 Leydig cell-enriched culture를 준비하여 RT-PCR법으로 CB1 mRNA의 발현을 분석하였다.

Results: 1, 2, 4, 8주령의 정소로부터 RT-PCR 및 real time PCR법으로 CB1 mRNA의 발현을 분석한

결과 1, 2주령에서는 미약하게 발현되었고 4주령부터 발현량이 급격히 증가하여 성체와 큰 차이가 없었다. Semiquantitative RT-PCR법과 real time PCR법을 비교할 때 주령별 발현 양상은 유사하였으나 4주령과 성체에서는 두 시험법 사이에 양적 차이가 있었다. 면역조직화학염색 결과 Leydig cell에서 강한 발현이 확인되었다. Western blot 상에서 분자량 60 및 53 kDa의 항원이 검출되었으며 발현 양상은 mRNA와 유사하였다. 3주령 미성숙 개체에 hCG를 주사하였을 때 CB1의 발현이 대폭 감소한 반면 성체의 정소로부터 분리한 Leydig cell-enriched culture에 hCG를 처리한 결과 배양체의 CB1의 발현이 소폭 증가 증가하였다.

Conclusions: 정소에서 발현되는 CB1 mRNA 및 단백질은 출생 후 성적 성숙에 따라 증가하며 단백질 항원은 여러 분자량 형태가 확인되므로 post-translation 수준의 변형이 수반되는 것으로 사료되며 이러한 생화학적 변화와 CB1의 기능과의 연관성은 추후 연구되어야 할 것이다. 정소의 발달 과정에서 출현하는 Leydig cell은 스테로이드 생성 활성의 차이가 존재한다. 본 연구결과 사춘기 이후 정소 내 CB1은 주로 Leydig cell에서 발현되므로 adult type Leydig cell에서 LH 수용체 신호전달을 통한 Leydig cell steroidogenesis 또는 생성된 steroids의 분비 활성 등에 CB1을 통한 조절 가능성이 있는 것으로 추측된다. LH는 Leydig cell에서 CB1의 발현을 증가시키는 것으로 사료된다. 따라서 CB1은 LH에 의한 Leydig cell 기능의 강화에 대한 억제신호전달 기구로 작용하는 것으로 사료된다. 향후 Leydig cell에서 일어나는 LH 수용체 하위 신호전달 체계에서 CB1 신호전달과의 cross talk 수준에서 마리아나 흡연에 의한 정소의 내분비학적 기능의 변동을 설명할 수 있을 것이다.

P-32 Effects of 3,3',4,4',5-pentachloro Biphenyl (PCB126) on the Expression of the Tight Junction Genes in Cultured Mouse Neonatal Testis

MC Gye

Department of Life Science, Hanyang University, Korea

Background & Objectives: In an effort to uncover the spermatogenic impairment by the polychlorinated biphenyls (PCBs), the expression of tight junctions (TJs) genes important for the formation of the blood testis barrier (BTB) were examined following the 3,3',4,4',5-pentachloro biphenyl (PCB126) treatment in cultured neonatal testis in mice.

Method: Mouse neonatal testes (PND1) were subjected to organ culture. 3,3',4,4',5-pentachloro biphenyl (PCB126) was treated at 1, 10, 100, and 1000 nM. The expression of tight junctions (TJs) genes including occludin, claudin-1, and claudin-11 was analyzed at the end of culture by semiquantitative RT-PCR following the optimization of the procedure.

Results: At 4 days (D4) after 10 and 100 nM PCB126 treatment the expression of claudin-11 was significantly increased when compared with vehicle control. In contrast no difference in occludin and claudin-1 expression was found among the experimental group. On D8, 100 nM PCB126 significantly increased the expression of claudin-11 but not occludin and claudin-1. 1 μ M PCB126 treatment significantly decreased expressions of occludin and claudin-1, suggesting the general toxic effect on the Sertoli cell.