

생쥐의 자궁에서 밀착결합 유전자의 발현

김다혜 · 강현희 · 계명찬

한양대학교 생명과학과

상피조직의 apical side에 형성되는 밀착결합 (Tight Junction, TJ)은 혈액-조직 사이의 확산장벽을 형성하여 조직 특이적 특수 환경 조성에 중요한 역할을 한다. 밀착결합은 occludin, claudins 등 integral membrane protein과 ZO-1, JAM 등의 plaque protein으로 구성되며 세포질골격 및 다양한 신호전달 분자와 복합체를 형성한다. 따라서 다양한 조직에서 세포 내외부의 신호에 반응하여 그 구조와 기능이 역동적으로 조절된다. 자궁내막은 생식주기와 착상을 위한 준비과정 동안 주로 난소 스테로이드의 영향 하에 구조 및 기능적 분화를 진행한다. 자궁내막에 존재하는 상피와 혈관내피세포에서 발현되는 밀착유전자들은 특히 착상의 준비와 진행에 필요한 환경 조성에 중요한 역할이 있을 것으로 추측되고 있으나 현재까지 이 시기 동안 자궁내막의 밀착결합의 분자적 구조 및 난소스테로이드에 의한 밀착결합 발현의 조절기작은 규명되지 않고 있다. 본 연구에서는 생쥐 자궁에서 생식주기, 착상 전 후 기간 동안의 밀착결합 유전자인 claudin 계열의 유전자 3종의 발현양상을 조사하였고 난소절제 모델을 이용하여 난소 스테로이드에 의한 이들 유전자의 발현조절을 조사하였다.

생후 8주령의 성숙한 암컷 생쥐의 발정 주기를 질상피도말법으로 검색하여 주기별로 자궁조직을 획득하였다. 또한 수컷과 교미 후 질전 형성일을 기준으로 임신(GD) 6일의 자궁을 획득하였다. 특히 임신 6일에 Chicago Blue를 정맥주사 후 자궁을 착상부위와 비착상부위로 구분하여 절취하였다. 한편 암컷 생쥐에서 난소를 절제한 후 estrogen (E2) 또는 progesterone (P4)을 투여한 후 6, 12, 24 시간 및 E2 주사 24시간에 P4를 주사하고 12시간 후에 자궁조직을 획득하였다 (E2+P4). 조사대상 밀착결합 유전자로는 상피에서 주로 발현되는 claudin-1 및 -11, 혈관내피세포에서 발현되는 claudin-5를 확인하였다. 자궁조직에서 에스트로젠의 영향을 확인하기 위해 lactoferrin의 발현을 확인하였다. TJ mRNA의 발현정도는 최적화된 semiquantitative RT-PCR법으로 분석하였다.

Claudin-1 mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 높았고 이후 점진적으로 감소하여 estrous stage에 가장 낮았고 다시 metestrous stage에는 약간 증가하였다. Claudin-11 mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 높았고 proestrous stage에 급격히 감소하여 estrous stage에 가장 낮았고 다시 metestrous stage에 증가하였다. Claudin-5 mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 높았으며 이후부터 약간 감소한 상태를 유지하였다. E2 또는 P4 투여한 난소절제 생쥐의 자궁에서 claudin-1, 5, 11의 mRNA 발현이 비투여 대조군보다 감소하였으며 E2+P4군은 E2 단독 처리군보다 증가하였다. Claudin-5는 특히 GD6의 착상부위에서 비착상 부위보다 많이 발현되었다. 또한 LCM (Laser Captured Microdissection) system을 이용하여 luminal epithelium과 stromal cell, muscle cell을 분리하여 RT-PCR을 수행한 결과 claudin-1 mRNA는 stromal cell과 luminal epithelium, muscle cell에 모두 발현하였고, claudin-11은 특히 muscle cell에 발현함을 확인하며, claudin-5는 luminal epithelium보다 stromal cell에서 더 많이 발현하였다.

생쥐의 자궁에서 claudin-1, -5, -11 발현은 자궁 내막상피와 혈관내피 세포 사이의 밀착결합에 의한 세포 간 확산장벽 형성과 기능에 중요한 요인으로 사료된다. 난포기 (증식기) 및 난소절제 E2 처리군에서는 claudins 발현이 감소하며 황체기(분비기) 및 난소절제 E2+P4 처리군에서 claudins 발현이 증가하므로 progesterone에 의한 자궁내막의 분화에 따라 상피조직 및 혈관내피 세포 간 확산장벽이 증가하는 것으로 사료된다.

Key words: 밀착결합, 발정주기, 난소스테로이드, 착상, 자궁, 생쥐, LCM