

생쥐의 자궁에서 밀착결합 유전자 Occludin의 발현

김다혜, 계명찬

한양대학교 생명과학과

서론: 상피조직의 apical side에 형성되는 밀착결합(tight junction, TJ)은 혈액-조직 사이의 확산장벽을 형성하여 조직특이적 특수 환경 조성에 중요한 역할을 한다. 발생중인 초기배아의 착상환경을 제공하는 자궁내막은 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 자궁내막의 밀착결합의 분자적 구조 및 난소스테로이드에 의한 밀착 결합 발현의 조절기작은 규명되지 않고 있다. 본 연구에서는 생쥐 자궁에서 생식주기, 착상 전 후 기간 동안의 밀착 결합 유전자인 occludin의 발현 양상을 조사하였고 난소 절제 모델을 이용하여 난소 스테로이드에 의한 이들 유전자의 발현조절을 조사하였다.

재료 및 방법: 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 시간에 자궁조직을 획득하였다. E2+P4 복합처리군의 경우 E2 주사 후 24시간에 P4를 주사하고 6, 12, 24시간 후 자궁조직을 획득하였다. 자궁조직에서 에스트로겐의 영향을 확인하기 위해 lactoferrin mRNA의 발현을 확인하였고, occludin mRNA의 발현정도는 내부대조군 유전자로 rpl7을 이용하여 최적화된 semiquantitative RT-PCR법으로 분석하였다.

결과: Occludin mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 낮았고 이후 점진적으로 증가하여 estrous stage에 가장 높았고 다시 metestrous stage에는 약간 감소하였다. 난소절제 생쥐의 자궁에서 occludin mRNA 발현은 E2 투여 후 12시간에 비투여 대조군보다 증가하였으며 24시간 후에는 다시 감소하였다. P4 투여시 점진적으로 증가하였다. E2+P4 투여한 경우 P4 처리시간에 따라 발현이 감소하였다. 임신 1, 3일에 높은 발현이 유지되다가 4.5일과 6일에는 급격히 감소하였다. 임신 6일 자궁조직의 착상부위에서 occludin mRNA 발현은 비착상 부위보다 낮았

다. Laser captured microdissection을 이용하여 분리한 luminal epithelium과 stromal cell, muscle cell에서 occludin mRNA는 luminal epithelia, muscle cell에 모두 발현하였다. Estrous stage의 자궁에서 면역조직화학 염색결과 luminal epithelia, glandular epithelia, 근육층에서 다량으로 발현됨을 확인하였다. 특히 내막상피 상부층에 강한 신호가 검출되었다.

결론: 생쥐 자궁에서 occludin은 자궁 내막상피세포 사이의 밀착결합에 의한 세포 간 확산장벽 형성에 관여하며 estrogen 및 progesterone에 의한 조절을 받는다. 착상기 자궁조직의 분화에 따라 occludin 발현이 감소하므로 상피세포 간 paracellular route를 통한 물질 확산이 증가하는 것으로 사료된다.

Key words) **밀착결합, occludin, 발정주기, 난소스테로이드, 착상, 자궁, 생쥐, LCM**