

P-37 생쥐 정자에서 Type 1 Cannabinoid Receptor (CB1)의 발현 및 Receptor Agonist에 의한 침체반응의 조절

강 현 희 · 계 명 찬

한양대학교 생명과학과

Background & Objectives: 현대사회에서 다양한 마약의 사용이 팽창하고 있으며 다양한 신체적, 정신적 부작용을 양산하고 있다. 대마초는 대표적인 마약류로 cannabinoid 수용체를 통해 항진신성 효과를 발휘한다. Cannabinoid 수용체는 뇌에서 주로 발현되는 CB1 receptor와 면역계에서 주로 발현되는 CB2 receptor 2가지가 있으며 7개의 막관통부위를 갖는 전형적인 GPCR이다. CB1 receptor는 G(i/o)-proteins과 결합하여 G(i/o)-coupled receptor를 통한 신호전달을 억제할 뿐만 아니라 Na^+/H^+ exchanger를 활성화시키며, N-type Ca^{2+} channel을 조절한다. CB1을 경유한 만성적인 agonist 처리 시 adenylate cyclase (AC)활성이 증가하는 AC superactivation이 관찰되며 마약중독에 관련된다. 한편 생체 내에 존재하는 cannabinoid의 일종인 anandamide는 CB1과 결합하여 생식기능에 조절 작용을 한다. 본 연구는 cannabinoid가 남성생식능력의 변화에 미치는 영향을 분자수준에서 규명하기 위한 연구의 일환으로 생쥐의 정자에서 CB1 발현과 CB1 receptor agonist에 의한 침체반응의 조절효과를 조사하였다.

Method: 8주령의 생쥐 미부 부정소에서 채취한 정자에서 면역조직화학법 및 Western blot방법으로 CB1 단백질의 발현을 조사하였다. 체외배양한 부정소 정자에 CB1 receptor agonist인 R-(+)-Methanandamide를 처리한 후 calcium ionophore인 A23187을 처리하여 침체반응을 유도하고, CBB 염색을 통해 침체반응의 변화를 조사하였다. 침체반응 전후 정자 내 CB1의 분포의 변화를 조사하기 위해 ConA 및 CB1 항체 이중형광염색과 confocal microscopy - merge를 시행을 통해 분석하였다.

Results: Western blot 결과 침체반응 전의 정자에서 분자량 75, 42 kDa의 항원이 검출되었고 침체반응 후의 정자에서 이들 항원이 대폭 감소하였다. 정자 두부의 침체부위에서 강한 CB1 immunoreactivity가 확인되었고 미부에서도 미약한 신호가 검출되었다. A23187에 의해 침체반응을 유도한 이후 정자 두부 침체를 둘러싼 원형질막의 CB1 항원 발현이 감소하였다. CB1 agonist인 R-(+)-methanandamide 처리 시 침체반응이 소폭 증가하였다.

Conclusions: 정자에서 기능적 CB1 수용체의 발현이 확인되고 agonist에 의해 자발적 침체반응이 증가하므로 CB1을 경유한 AC superactivation 현상이 작동함을 알 수 있다. Cannabinoid는 정자에 존재하는 CB1 수용체를 통해 정자의 생리를 조절에 관여하는 것으로 사료된다.

P-38 생쥐 정소 내 Junctional Adhesion Molecule-1 (JAM-1) 발현

김 현 주 · 계 명 찬

한양대학교 생명과학과

Background & Objectives: 정소의 세정관 외곽에 존재하는 Sertoli cell 사이에 형성되는 밀착결합은 혈액정소 장벽을 형성하여 정자형성 과정에 요구되는 세정관 내부의 독특한 환경을 조성한다. 밀착결

합은 occludin, claudin 등의 integral membrane protein과 ZO-1 등의 plaque protein으로 구성되며 세포질 내부로 세포질골격 및 다양한 신호전달 분자와 복합체를 형성하고 있으므로 다양한 세포 내외부의 신호에 반응하여 그 구조와 기능이 역동적으로 조절된다. 본 연구에서는 생쥐 정소의 발달과정 동안 밀착결합 유전자의 일종인 junctional adhesion molecule-1 (JAM-1)의 발현을 분석하였다.

Method: 생후 1, 2, 4, 8주령의 수컷 생쥐의 고환조직에서 최적화된 RT-PCR 법으로 JAM-1 mRNA의 발현량을 정량분석하였다. Western blot과 면역조직화학법으로 JAM-1 항원의 발현을 분석하였다.

Results: JAM-1은 생 후 1주령 정소에서 다량 발현되었으며 생후 2주령까지 발현이 증가하였다. 생 후 4주령에서 발현이 감소하였다가 다시 사춘기 직전인 생 후 4주령에 발현이 급격히 감소하였다. 생 후 8주령의 성체에서는 발현이 증가하였다. Western blot 결과도 이와 유사한 양상으로 나타났으며 36 및 20 kDa의 2가지 항원이 확인되었고, 성체에서 24 kDa 항원의 발현이 증가하였다. 면역조직화학 염색결과 JAM-1은 성체의 정소의 세정관 및 간층조직에서 모두 발현되었다. 세정관상피의 기저막, Sertoli cell의 세포질 및 원형질막, 초기 정모세포의 세포막 및 일부 정모세포의 핵과 완성된 정자의 미부에서 강한 신호가 관찰되었다. 2주령 정소의 세정관에서는 Sertoli cell과 정원세포, 초기 정모세포사이의 세포 간 결합 부위에서 발현이 확인되었다.

Conclusions: 정소 내 JAM-1의 전체적인 발현정도는 Sertoli cell의 증식에 비례함을 알 수 있다. JAM-1은 호중구의 조직침투과정에서 원형질막 표면에 발현되며, 세포외기질의 integrin과도 상호작용 하며 이들 세포의 조직 이동에 관여한다. 1, 2주령의 정소조직에서 발현이 매우 높을 뿐 아니라 사춘기 (4주령)에 급격히 감소하므로 출생 후 2주까지의 정소 분화 과정에서 gonocyte의 세정관 외곽부위로 이동과 초기정모세포의 혈액-정소장벽 내부로의 이동 조절에 관여할 가능성이 있으며 사춘기 직전 JAM-1의 감소는 이 시기에 세정관 내에서 팽창하는 postmeiotic germ cells의 증가에 따른 상대적 Sertoli 항원의 감소에 기인한 것으로 사료된다. 성체 정소에서 JAM-1의 증가는 세정관상피의 terminal differentiation marker로서의 가능성을 제시하며 복잡한 조직재구성에 밀접히 관여하고 있음을 시사한다. 한편 초기정모세포의 핵 내에서 강한 신호가 관찰되므로 JAM-1은 밀착결합 단백질로서의 역할 뿐 아니라 초기정모세포의 감수분열 세포주기 및 전사조절 기능의 가능성이 있으나 규명이 필요한 부분이다. 정자의 미부에서 다량으로 발현되므로 수정과정에서 정자의 운동성 조절에 관여할 가능성 또한 제시된다.