involved in cellular growth, differentiation, and function. They are co-expressed in many different tissues, suggesting that they may have some redundant functions. Egr1 regulates transcription of luteinizing hormone β subunit (LHβ) in the pituitary gland and Egr1(-/-) female mice showed infertility due to anovulation resulting from LHβ deficiency. While Egr1(-/-) male mice seem to have adequate levels of LHβ to maintain Leydig cell steroidogenesis and fertility, the roles of Egr family and their cofactors (Nab1 and Nab2) in the testis have not been well-characterized. Thus, we have examined temporal expression profiles of Egr family, their cofactors (Nab1 and Nab2), and Leydig cell markers associated with steroidogenesis in immature and adult testes of Egr1(+/-) and Egr1(-/-) mice.

Methods: Immature (1, 2, and 4 week old) and adult (8 week old) testes were collected from Egr1(+/-) and Egr1(-/-) mice and prepared for histological analysis and RNA extraction. Gross morphology of Egr1(+/-) and Egr1(-/-) testes was evaluated. Semi-quantitative RT-PCR with appropriate primers was performed to determine whether expression of Egr family, their cofactors, and Leydig cell markers is dysregulated in Egr1(-/-) testis. Pregnancy rates of Egr1(+/-) female breeders housed with Egr1(+/-) or Egr1(-/-) male mice were compared to evaluate whether Egr1(-/-) male mice have normal testis function.

Results: Low levels of mRNA for Egr1, 2, and 3 were detected in immature and adult mouse testes, while Egr4 was predominantly expressed compared to other members. Both Nab1 and Nab2 are also expressed throughout testis development and Nab2 was the predominant cofactor for Egr family members in the testis. mRNA expression levels of Egr2, 3 and 4 and Nabs were not significantly different between Egr1(+/-) and Egr1(-/-) testes. However, expression of Leydig cell markers associated with steroidogenesis, such as 3β-hydroxysteroid dehydrogenase (3β-HSD) and 17β-hydroxysteroid dehydrogenase (17β-HSD) are significantly reduced in adult Egr1(-/-) testes. In addition, all female breeders (18/18) housed with Egr1(+/-) male mice were able to become pregnant whereas some females (12/63, 19%) with Egr1(-/-) male mice failed to become pregnant.

Conclusion: All 4 members of Egr transcription factor family and their cofactors are expressed in immature and adult mouse testes. Reduced levels of LHβ may cause defective steroidogenesis in Leydig cells, possibly leading to reduced sexual activity in Egr1(-/-) male mice.

P-29 Anti-androgen에 의한 혈액-정소 장벽 밀착결합 유전자 발현 조절

이재은 · 오영석 · 계명찬

한양대학교 생명과학과

Objectives: 정소의 세정관에 존재하는 Sertoli cell 사이에 형성되는 밀착결합은 혈액 정소 장벽 (blood testis barrier, BBB)을 형성하여 세정관 내부의 독특한 환경을 조성하여 정자형성을 보장하게 된다. 밀착결합은 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 claudins, occludin, JAMs의 발현 양상을 확인하고, anti-androgen으로 작용하는 flutamide (FM)를 이용하여 androgen이 혈액-정소 장벽 밀착결합 유전자의 발현에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다.

Methods: 신생기, 사춘기, 성체기 생쥐 정소에서 분리한 total RNA를 이용하여 최적화된 RT-PCR로 TJ 유전

자의 발현량을 분석하였다. 8주령 생쥐에 flutamide를 0.1, 1, 10, 100 mg/kg 농도로 경구투여한 후 12시간 뒤 도살하여 정소를 획득하였다. 정소조직으로부터 total RNA를 추출한 후 TJ 유전자 발현을 정량적 RT-PCR법을 이용하여 분석하였다. 정소의 냉동절편을 획득하여 immunohistochemistry를 수행한 후 confocal microscopy를 이용하여 TJ 유전자 발현 양상의 차이를 확인하였다.

Results: Cla-1, occludin mRNA는 신생기 생쥐 정소에서 가장 많이 발현된 반면, cla-11 mRNA는 사춘기 생쥐 정소에서 가장 많이 발현된다. anti-androgen의 투여 농도에 따라 Cla-1, -11 mRNA는 0.1, 1, 10 mg/kg 처리군에서 발현이 유의적으로 감소하였고, Cla-2 mRNA는 10 mg/kg군에서 유의적인 감소를 보였다. Claudin-3과 -5 mRNA의 발현에는 변화가 없었다. JAM-1, -2, -3 mRNA는 모든 실험군에서 발현이 증가하였다. Occludin mRNA는 고농도 처리군에서 유의적인 감소를 보였다.

Conclusion: 수컷 생쥐에서 FM의 농도별 투여에 따라 혈액-정소 장벽의 형성에 관여하는 유전자인 claudin-1, -2, -11, occludin, JAMs 발현은 감소하였다. 밀착결합 유전자 발현의 변화는 혈액-정소 장벽 구조에 영향을 미치고, 이는 germ cell과 Sertoli cell 사이의 정상적인 cellular interactions를 방해하여 정자형성에 영향을 미칠 것으로 사료된다.

P-30 남성불임유전자인 DAZ 및 유사 유전자인 DAZL과 BOULE의 기능적 연관성 분석

김병혁[1] · 이건수[1] · 김수웅[2] · 백재승[2]

[1]서울대학교 생명과학부, [2]의과대학 비뇨기과

Objectives: 원인불명의 고환성 남성불임의 상당 부분은 유전적 요인에 기인하며, 특히 Y 염색체의 미세결실과 밀접한 연관성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 불임 남성의 말초혈액 DNA에서 Y 염색체 미세결실을 조사하고, 가장 빈번하게 결실되는 유전자인 DAZ와 그 관련 유전자들의 발현 및 기능을 알아보고자 하였다.

Methods: 총 150명의 원인불명의 비폐쇄성, 고환성 남성불임 환자들로부터 채취한 말초혈액으로부터 DNA를 분리하고 Y 염색체 미세결실 여부를 이미 알려진 STS (sequence tagged site) map을 이용한 PCR (polymerase chain reaction)로 조사하였다. DAZ 및 이와 구조적으로 유사한 DAZL, BOULE의 항체를 자체 제작하였고, 이를 이용하여 immunoblot 및 immunostaining 등을 수행하였다. 정상 가임 남성으로부터 얻은 고환조직에서 DAZ family 단백질들의 발현을 조사하였고, 이후 DAZ family 유전자들을 배양세포에 발현시킴으로서 이들의 기능을 연구하였다.

Results: 확보된 총 150개의 시료 중 43개 (29%)의 시료에서 Y 염색체 AZF (azoospermia factor) 좌위의 결실이 발견되었다. 특히 34개 (23%)의 시료에서 AZFc 위치의 대표 유전자인 DAZ의 결실이 확인되어 DAZ 결실이 남성불임과 밀접한 관련성을 가지고 있음을 알 수 있었다. 추가적으로 시행한 단백연구에서 DAZ 및 DAZL은 정모세포에서 주로 발현되며, 특히 DAZ의 경우에는 한 유전자로부터 다양한 종류의 단백질이 만들어진다는 사실을 알 수 있었다. 또한 DAZL은 dynein motor complex와 특이적으로 결합하지만 DAZ 및 BOULE은 그렇지 않았다.

Conclusion: DAZ 및 이의 유사단백질인 DAZL과 BOULE의 발현 및 유전자적 특성 등을 감안할 때 이들 유전자가 모두 남성생식세포 발생에 중요한 역할을 담당한다고 여겨진다. 현재까지의 제한된 연구결과를 고려할 때 이들 유전자들 간에 남성생식세포에서의 기능적 역할 분담을 추정할 수 있다. 향후 DAZ 유전자의 발현과