

원반전기영동법을 이용한 전립선액의 단백질분리에 관한 연구

연세대학교 의과대학 약리학교실** 및 비뇨기과학교실*

이진무* · 김경환** · 김원준**

=Abstract=

Analysis of the Proteins in Human Prostatic Juice by Disc Electrophoresis

J.M. Lee,* M.D., K.H. Kim,** M.D. and W.J. Kim,** M.D.

Department of Urology and Pharmacology***

Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Despite a considerable amount of investigation there continues to be disagreement concerning the proteins present in human seminal plasma. Recently their identification has assumed a greater importance following evidence that infertility in men and women may have an immunological cause (Katsh, 1959; Quinlivan, 1969). Seminal plasma is composed of fluids secreted by the prostate, seminal vesicles, ampullae, ducti deferentes, bulbourethral (Cowper's) glands, urethral (Littre's) glands and the epididymes. Prostatic juice, one of the major components of seminal plasma, has an important role in secretion of acid phosphatase and prostaglandin.

A few studies have been reported of human prostatic juice, since, in human subjects, there were some problems in studying prostatic juice due to quite small amount of secretion and possibility of contamination with fluids from the seminal vesicles and ejaculatory ducts.

The purpose of the present study was to determine the basic components of proteins in human prostatic juice. Prostatic juice was obtained from normal healthy man of 20~30 year-old by massage of the prostate, and protein components were separated by means of disc electrophoresis.

The results are summarized as follows;

1) Total numbers of protein fractions of normal human serum and prostatic juice are 14~18 bands and 9~12 bands, respectively. Prostatic juice produces two deeply staining bands which appear similar to those formed by beta-₁ globulin and albumin.

2) Alpha-₁ globulin area in the fractions of prostatic juice shows 4 bands and one more band is found than that of serum. On the other hand, the fractions of immunoglobulin and alpha-₂ globulin areas are eight in serum and it has three bands more than that of prostatic juice.

3) Alpha-₁ globulin area in the prostatic juice is more deeply stained than that of serum. In contrast with alpha-₁ globulin area, immunoglobulin and alpha-₂ globulin areas in the prostatic juice show weaker staining than serum.

서론

사람의 사정액중에 전립선액이 차지하는 양은 전체

이 논문은 1973년도 연세대학교 의과대학 교수연구비의 보조로 완성되었음.

사정액의 13~33%가 되며 (Brendler, 1970) 안정상태에서 하루동안 분비되는 전립선액은 0.5~2.0ml이다.

전립선은 여러가지 성분으로 구성되어 있으며 그중에도 acid phosphatase 나 prostaglandin 같은 효소는 임상적으로 중요하다. 그러나 사람의 전립선액은 맛사지

에 의하여 채취할 수 밖에 없고 따라서 맛사지할때 정액과 혼합될 가능성이 있으며 또한 양이 적어(1ml 미만) 이에 대한 연구가 곤란하다.

Seminal plasma 내에는 대개 3.5~5.5 gm%의 단백질이 함유되어 있으며 (Brendler, 1970) 그 성분은 주로 albumin, globulin 및 유도단백(derived protein), 즉 protease가 대부분을 차지하고 그의 지단백(lipoprotein), flavoprotein, 당단백(mucoprotein) 및 metalloprotein도 포함되어 있는 것으로 알려지고 있다. 그러나 아직도 정확한 단백질의 종류나 함량은 규명되어 있지 못하고 있는 실정이다. 또한 불임증에 있어서 정액(semen) 중에 항원작용을 하는 어떤 물질이 존재하여 이것이 면역반응을 일으키는 것으로 알려져 있다 (Katsh, 1959; Quinlivan 1968). 이러한 면역학적 반응에 의한 불임증에 있어서 남성불임증을 조래하는 기전은 정충의 자궁경관점액침투력 감소, 정충의 운동성 감소 및 정충의 자연응집으로 설명하고 있다. 반면에 여성에 있어서는 정액이 항원작용을 하여 여성체내에서 항원항체반응을 일으켜 불임증을 유발하는 것으로 생각하고 있으며, 이와같은 항원은 아직 확실하게 규명치 못하고 있으나 대개는 정충표면에 있는 solid particle 이나 정액(seminal plasma)내에 있는 용해성물

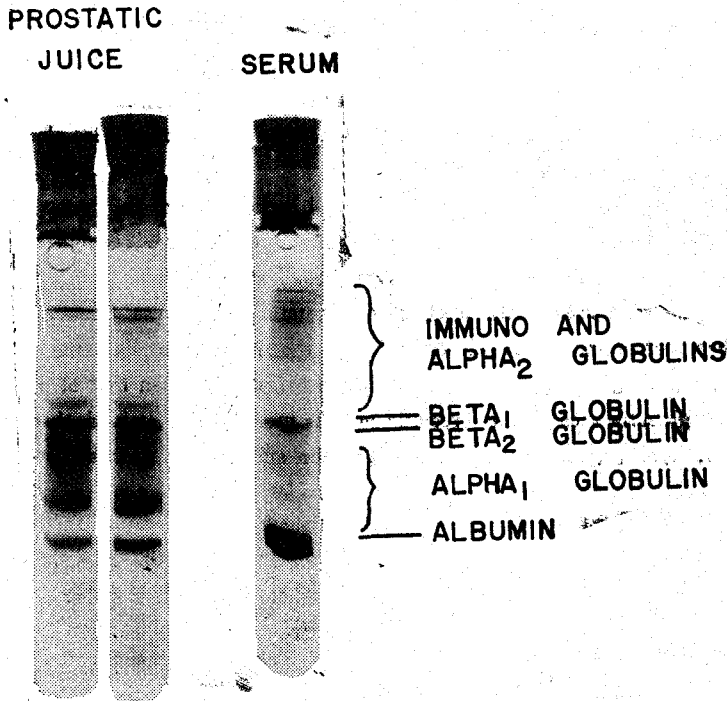
질(soluble material)이 항원으로 작용하지 않나 추측하고 있다.

저자는 정액중에 포함되어 있는 단백질을 더욱 규명하여 앞에 말한 임상적인 문제점들을 해결함에 있어 기초적인 자료를 얻고자 단백분리에 예민한 원반전기영동법(disc electrophoresis)을 이용하여 우선 건강한 성인의 전립선액을 채취, 단백분리를 하고 혈청의 그것과 비교관찰하였다.

실험재료 및 방법

1972년 5월~1974년 7월까지 연세의료원 세브란스병원 비뇨기과에 내원하였던 환자중 비뇨생식기 질환을 발견할 수 없었던 20~30세의 남자 10명을 대상으로 하여 혈액 5ml를 채취하고 원심분리하여 혈청을 얻고 동시에 의노도주주위를 깨끗이 씻은 다음 전립선을 맛사지하여 그 액을 채취하였다. 이들 혈청과 전립선액은 실험시까지 영하 20°C에 보존하였다.

냉동보존되었던 혈청과 전립선액을 실온에서 용해시킨다음 혈청은 0.01 ml, 전립선액은 0.02 ml를 Ornstein (1964)의 방법에 의하여 Canalco model 6 apparatus를 이용하여 원반전기영동을 시행하였다(김동, 1972).



제 1 도. Disc electrophoresis of human prostatic juice

실험 성적

단백분획대의 총수는 혈청이 14~18개, 전립선액은 9~12개로서 혈청의 것이 5~6개 더 많았다(제 1 도). 이를 단백질종류에 따라 분류하여 보면 제 1 표와 같다. 즉 albumin, beta-1 및 beta-2 globulin은 혈청과 전립선액에서 다같이 한개인데 반하여 alpha-1 globulin 분획대(alpha-1 globulin area) 및 alpha-2 globulin 분획대(alpha-2 globulin area)는 서로 다른 분획대의 수를 보여 주었다. alpha-1 globulin 분획대는 혈청에

제 1 표. Protein fractions of human prostatic juice by disc electrophoresis (10 samples)

Protein	Number of fraction	
	prostatic juice	serum
Alpha-1 globulin	1	1
Albumin	4	3
Beta-2 globulin	1	1
Beta-1 globulin	1	1
Immuno & alpha-2 globulin	5	8

서 3개, 전립선액에서 4개의 분획대가 나타났으며 alpha-2 globulin 분획대에서는 혈청이 8개, 전립선액이 5개의 분획대가 있음이 증명되었다. 즉 alpha-1 globulin 분획대는 혈청보다 전립선액에서 더 많았으며 그 염색도 더 진한 반면, immuno 및 alpha-2 globulin 분획대는 전립선액에서 훨씬 적고 또한 염색도도 희미하였다. 그리고 특이한 것은 혈청에서는 albumin이 가장 양이 많은데 비하여 전립선액에서는 beta-1 globulin이 비교적 많이 존재함을 알 수 있다.

고 활

Prostaglandin의 출현과 불임증에 있어서 정액내에

제 2 표. Number of protein bands shown by disc electrophoresis of fifty samples of human seminal plasma (Quinlivan, 1968)

	Total number	Globulins			Albumin	Prealbumin
		Alpha-2 and Immuno	Beta-1	Alpha-1		
Range	10~18	4~8	1	2~6	1	0~5
Average number	15	6	1	4	1	3

항원(抗原)이 존재한다는 사실(Quinlivan, 1968 & 1969)이 증명된 이후 정액의 성분, 특히 단백질구성에 대하여 많은 연구업적이 보고되어 있다. 그러나 이들 보고자에 따라 단백질구성 성분에 대하여 그 결과가 구구하게 달라 어떠한 일치점을 찾기 힘든 형편이다. 정액은 정낭액, 전립선액, 정중 및 요도점액 등으로 구성되어 있으며 그중에서도 정낭액이 가장 많은 양을 차지하고 있다. 임상적으로나 실험적으로 이들 각각의 정액성분을 구별하여 채취하기는 극히 곤란한 일이며 정액의 각 구성성분에 대한 연구보고는 희귀한 편이다. 그러나 전립선액에 대하여는 그래도 문헌을 찾아볼 수 있는데 이는 개(犬)의 전립선이 사람의 것과 해부학적으로나 기능적으로 유사한 동시에 실험적으로 전립선액만을 채취할 수 있기 때문이다(Huggins & Sommer, 1953).

사람에서도 직장(直腸)을 통한 전립선 맛사지로 전립선액을 채취할 수 있으나 맛사지하는 동안 정낭도 어느정도 압박되어 정낭액도 일부나마 배설될 수 있으며 또한 요도점액도 혼합될 수 있을 것으로 생각된다. 저자는 이러한 정낭액 또는 요도점액의 혼합가능성을 염두에 두고 일단 전립선액의 단백질구성 성분에 대한 기초적인 자료를 얻고자 건강한 성인 남자에서 전립선 맛사지에 의하여 전립선액을 채취하고 이를 단백질 분리에 비교적 예민한 원반전기영동법에 의하여 단백질 분획을 얻고 이를 정상 혈청의 그것과 비교 관찰하였다.

전립선액의 단백질분획수는 모두 9~12개이었고 혈청의 것은 14~18개이었다. Quinlivan(1968)은 정액을 원반전기영동하여 10~18개의 단백질분획대를 검출하였는데 저자의 전립선액의 것과 비교하여 1~6개가 더 많았다. 이와같은 분획대수의 차이는 전술한 것과 같이 정낭액이라든지, 정중이 전립선액내에 존재하더라도 양이 미량으로 존재하기 때문인 것으로 생각된다.

전립선액과 혈청의 단백질분획대를 서로 비교하여 보면 전립선액에서는 beta-1 globulin과 alpha-1 globulin 분획대(alpha-1 globulin area)가 더 진하게 염색됨을 볼 수 있으며 이러한 사실은 이들 단백질의 양이 혈청

의 것보다 더 많음을 말해 주는 것이다. 정액의 경우에는 β_1 globulin 과 albumin 이 혈청에 비하여 현저히 진한 염색상을 보인다고 하였으며 (Quinlivan, 1968) 이는 저자의 전립선액의 양상과 큰 차이가 없고 따라서 β_1 globulin 은 정낭액이나 정종의 함량에 큰 영향을 받지 않으나 albumin 은 어느정도 양적인 변화를 받을 것으로 추측된다. Quinlivan 은 정액의 원반 전기영동상을 다음과 같이 분류하였는데 (제 2 표), 그 양상은 저자의 전립선액의 것과 비슷하나 (제 1 표 및 제 2 표 참조) pre-albumin 분획대(pre-albumin area)가 정액에서 더 많은 분획대를 보여 주는 것이 현저히 다른 점이고 α_2 globulin 분획대가 전립선액보다 1개 정도 더 많은 것이 약간 차이가 나는 점이다. Immuno 및 α_2 globulin 분획대를 보면, 정액이나 전립선액에서 다같이 혈청의 것보다 적으며 또한 전립선액과 정액을 비교하여 보아도 전립선액에서 1개 정도가 적은데, 이와같은 소견은 임상적으로 불임증에 있어서 정액중에 항원이 존재한다는 설을 뒷받침하여 주는 것이며, 정낭액이나 정종에 의하여 면역단백이 더 관여함을 추측할 수 있다.

일반적으로 이와같은 차이는 단백질의 양적인 차이에서 기인하는 것으로 생각할 수 있다.

결 론

한국인 정상성인의 전립선액을 채취하여 단백분리에 비교적 예민한 원반전기영동법을 사용하여 단백질을 분리하고 혈청의 것과 비교관찰한 결과,

① 혈청단백은 14~18개의 분획대가 나타났으며, 전립선액은 9~12개이었다.

② α_1 globulin 분획대는 전립선액에서 1개가 더 많았고 α_2 globulin 은 혈청에서 3개가 더 많았다.

③ 혈청에서는 albumin 의 양이 가장 많은 반면에 전립선액에서는 β_1 globulin 이 비교적 많았다.

REFERENCES

- Brendler, H.: *Urology, Campbell & Harrison, 3rd Ed., 1970, p145, W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pa., U.S.A.*
- Huggins, C. and Sommer, J.H.: *Quantitative studies of prostatic secretion. III. Simultaneous measurement of size and secretion of the canine prostate and the interaction of androgenic and estrogenic substances thereon, J. Exper. Med., 97:663, 1953.*
- Katsh. S.: *Immunology, fertility and infertility: A historical survey, Am J. Obst. Gynec., 77: 946, 1959.*
- 金源准, 金景煥, 洪思爽: 電氣泳動法 및 等電集焦法 (Isoelectric focusing)을 이용한 腺蛋白 分離實驗, 대한의학협회지, 15:787, 1972.
- Ornstein, L.: *Disc electrophoresis: Background and Theory, Ann. N.Y. Acad.Sci., 12:321, 1964.*
- Quinlivan, W.L.G.: *Analysis of the proteins in human seminal plasma, Arch. Biochem. Biophys., 127:680, 1968.*
- _____ : *The specific antigens of human seminal plasma, Fertil. Steril., 20:58, 1969.*