

생쥐 부정소 부위별 당쇄 분포의 차이

계 명 찬

경기대학교 자연과학부 생물학과

Regional Difference in Distribution of Glycoconjugates in Mouse Epididymis

Myung Chan Gye

Department of Biology, College of Natural Sciences, Kyonggi University, Suwon, Gyeonggi-do 442-760, Korea

요 약 : *Ulex europaeus* agglutinin I(UEA I), succinylated wheat germ agglutinin(sWGA), *Griffonia simplicifolia* lectin-I(GSL-I)을 이용하여 생쥐 부정소 조직내 당쇄의 분포를 조사하였다. 당쇄의 측쇄 말단의 α -L-fucose 잔기에 특이적으로 결합하는 UEA I은 체부 및 미부 부정소를 제외한 두부 부정소 선단의 세정관 상피를 강하게 표지하였으나 관강은 중간 정도의 강도로 모두 표지되어 α -L-fucose 잔기를 갖는 부정소 항원들은 부정소 선단부에서 주로 합성된 후 분비되는 것으로 추정된다. 이와 반대로 당쇄 말단의 α -D-galactose 잔기에 특이적으로 결합하는 GSL-I은 두부 부정소를 제외한 체부와 미부 부정소 상피의 투명세포의 세포질과 섬모 및 기저세포를 표지하였다. 다당 사슬 및 복잡한 구조를 갖는 glycan의 당쇄의 N-acetyl-glucosamine 잔기에 특이적으로 결합하는 sWGA는 부정소 부위별로 커다란 차이를 보이지 않았으나, 체부와 미부 부정소의 투명세포는 주세포에 비해 더 강하게 표지되어 sWGA 표지는 투명세포 기능분화의 표식자로 추측된다. UEA I 및 sWGA에 의한 관강의 표지 강도는 체부보다는 미부에서 약하게 관찰되어 미부 부정소 관강내에 α -L-fucose 및 N-acetyl-glucosamine 잔기의 절단과 관련된 효소활성이 존재하는 것으로 추정된다. 요약하면 α -L-fucose, α -D-galactose, N-acetyl-glucosamine 잔기를 갖는 당쇄의 분포가 상피세포의 종류 및 부정소의 길이를 따라 차이를 보임을 확인하였다. 이는 정자의 성숙을 조절하는 부정소 각 절편 및 특정 절편 내 소관상피 세포의 기능적 분화를 대변하는 것으로 사료된다.

ABSTRACT : To characterize the difference in glycoconjugates of mouse epididymis, lectin labeling of the tissue section was conducted using *Ulex europaeus* agglutinin I(UEA I), succinylated wheat germ agglutinin(sWGA), and *Griffonia simplicifolia* lectin-I(GSL-I). UEA I which binds to outer α -L-fucose residue that is a terminal sugar of the side chain branched from oligosaccharide chain gave the labeling in the proximal caput epithelia exclusively. Lumen was commonly labeled in all of the organ. It suggested that the glycoconjugates bearing outer α -L-fucose residue were largely expressed in the initial segments of epididymis and subjected to secretion. GSL-I which binds to terminal α -D-galactosyl residue of glycoconjugates gave the labeling in the cytoplasm of clear cells and basal cells, and cilia in corpus and cauda regions but not in the caput region. There was no vast difference in labeling pattern by sWGA which binds to N-acetyl-glucosamine residue among the epididymal regions. Clear cells in corpus and cauda epithelia showed more intense labeling by sWGA compared to principal cells, suggesting the functional specialization of this type of cells. The labeling intensities of luminal content by UEA I and sWGA decreased in cauda region compared to corpus region, suggesting the presence of enzymatic activities responsible for processing the α -L-fucose and N-acetyl-glucosamine residues from secreted glycoconjugates. In summary, the difference in glycoconjugates bearing the α -L-fucose, α -D-galactose, and N-acetyl-glucosamine residues according to the type of epithelial cells and epididymal segments suggests functional specialization and different roles of each segment in the processing of sperm surface antigens during the epididymal transit.

Key words : Glycoconjugates, UEA-I, sWGA, GSL-I, Epididymis, Mouse.

서 론

본 연구는 경기대학교 교내 연구비 지원(2001)에 의한 것임.

†교신저자: 경기도 수원시 팔달구 의의동, 경기대학교 자연과학부 생물학과. (우) 442-760, (전) 031-249-9646, (팩) 031-254-9646, E-mail: mcgye@kuic.kyonggi.ac.kr

포유동물의 정자는 부정소를 통과하는 과정에서 다양한 형태적, 생화학적 변화를 거치며 난자를 수정하는 데 필요한 기능을 획득하게 된다(Bedford, 1975). 부정소는 연속적인 몇 개의 절편으로 구성되며, 각 절편을 구성하는 부정소관의 해부학적, 생화학적 특징은 동물 종에 따라 차이를 갖는다(Bedford, 1975). 종에 따라 정자의 수정능력이 완성되는 부정소 부위가 차이가 있지만 일반적으로는 체부 부정소 또는 미

부 부정소 선단 부위에 도달한 정자는 체외에서 난자를 수정할 수 있는 능력을 갖는다(Bedford, 1975). 부정소관은 원주상 위중층 상피로 구성되며 주로 주세포(principal cells) 및 기저 세포(basal cells)로 구성된다. 이와는 별개로 마이토콘드리아가 풍부한 선단세포(apical cells)가 수출관 및 두부 부정소 상피에서 주로 관찰되며 체부 상피에서도 간혹 관찰된다(Palacios et al., 1991). 설치류에서는 투명세포(clear cell)가 관찰된다(Toshimori et al., 1988). 부정소관 상피는 단백질성 항원을 활발히 합성하며 일부는 관강으로 분비되어 정자로 흡수된다(Suzuki & Yanagimachi, 1986). 정자와 난자 표면 항원의 당쇄구조 사이의 인식은 수정과정에서 종특이성을 결정하는 매우 중요한 요인으로 알려져 있는데(Macek & Shur, 1988; O'Rand, 1988; Boldt et al., 1989; Benoff et al., 1993) 부정소관을 통과하는 동안 정자의 원형질막 당단백질의 당쇄구조에 변화가 일어나며 이는 정자의 수정능력의 변화와 관련된다(Tulsiani et al., 1998; Mburu, 1999). 다양한 종에서 부정소에서 기원한 당쇄의 분포에 관한 연구가 수행되어 왔으나(Arenas et al., 1996) 생쥐에서 이들 부정소 조직 내 당쇄의 분포 및 이들 당쇄를 갖는 항원과 정자와의 상호작용에 관한 연구는 미진하였다. 특이적인 당쇄를 인식하는 animal lectin 들은 세포간 인식에 중요한 역할을 하며 특히 수정과정에서

배우자간 상호작용에 관여한다. 또한 식물성 lectin을 탐침으로 이용하여 조직 내 특정 당쇄의 분포에 대한 추적이 가능하다(Lis & Sharon, 1986). 본 연구는 생쥐의 부정소 부위별로 당쇄의 조직학적 분포를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 조직절편제작

생 후 3개월 된 ICR 계의 생쥐 수컷으로부터 부정소를 적출하였다. 10% 중성포르말린 용액에서 24시간 동안 고정한 후 해부현미경하에서 두부, 체부, 미부 부정소로 분리하였다(Bedford, 1975). 분리된 조직은 탈수와 파라핀 포매 과정을 거쳐 박편으로 제작하였다.

2. 렉틴 조직화학

조직절편으로부터 파라핀을 제거한 후 수화과정을 거쳐 phosphate buffered saline(PBS)에 1시간 동안 정치하였다. TRITC가 결합된 *Ulex europaeus* agglutinin I(UEA I), succinylated wheat germ agglutinin(sWGA), 및 *Griffonia simplicifolia* lectin-I (GSL-I)(Vector Lab, Table 1)을 10~20 $\mu\text{g/ml}$ 농도로 0.1% BSA를 함유한 PBS에 희석하였다. 희석된 렉틴용액을 슬라

Table 1. Sugar specificity and binding characteristics of lectins in epididymis

Lectins	Major sugar specification	Hapten sugars for inhibition of binding	Locality	Binding to epididymis			
				Proximal caput	Distal caput	Corpus	Cauda
<i>Ulex europaeus</i> agglutinin I (UEA I)	Outer α -L-fucose residue	α -L-fucose	Lumen	++	+/-	+++	++
			Cilia	++	+/-	++	++
			Principal cells	++	+/-	-	-
			Clear cells	ND	ND	-	-
			Basal cells	-	-	-	-
			Apical cells	++	-	ND	ND
Succinylated wheat germ agglutinin (sWGA)	N-acetyl-glucosamine	N-acetyl-glucosamine	Lumen	+	+	++++	+++
			Cilia	+	++	+++	+++
			Principal cells	+	++	+	+
			Clear cells	ND	ND	+	++
			Basal cell	-	-	+	++
			Apical cells	-	-	ND	ND
<i>Griffonia simplicifolia</i> lectin-I (GSL-I)	Terminal α -D-galactosyl residue	β -lactose	Lumen	+/-	-	-	-
			Cilia	+/-	-	+	+
			Principal cells	-	-	+	+
			Clear cells	ND	ND	++	+
			Basal cells	-	+	+	+
			Apical cells	-	-	ND	ND

Intensity of fluorescence signal was given as -, absent; +/-, faint; +, weak; ++, moderate; +++, strong; +++++, very strong; ND, not detected.

이드 위에 도포한 후 상온의 습윤 조건에서 20분간 정치하였다. 렉틴 결합의 특이성을 확인하기 위해 0.2 M hapten sugars(Table 1)를 첨가한 렉틴 용액에서 동일한 방법으로 표지를 시행하였다(Cummings, 1994). 표지가 끝난 후 PBS로 2회 세척한 후 PBS : glycerol 혼합액으로 도포하여 습식표본을 제작하였다. Epifluorescence microscope(BX50 Olympus, Japan)하에서 관찰하고 TMAX 400 film에 사진 기록하였다.

결 과

1. UEA I

두부 부정소 선단의 주세포의 세포질(arrows in Fig. 1A) 및 섬모(arrowheads in Fig. 1A) 및 관강 내용물(asterisks in Fig. 1A)이 정도의 강도로 표지되었다. 두부 부정소 하부 세정관 상피세포의 세포질(arrow)은 표지되지 않았으나 섬모(arrowheads in Fig. 1B) 및 관강(asterisk in Fig. 1B)에서는 미약한 신호가 검출되었다. 체부 부정소 상피세포에서는 세포질(arrow in Fig. 1C)은 거의 염색되지 않았고 섬모(arrowheads in Fig. 1C)와 관강 내용물(asterisk in Fig. 1C)에서 중간 강도의 신호가 검출되었다. 미부 부정소의 경우 체부 부정소와 별다른 차이가 없었으나 관강의 표지 강도는 체부보다 감소하였

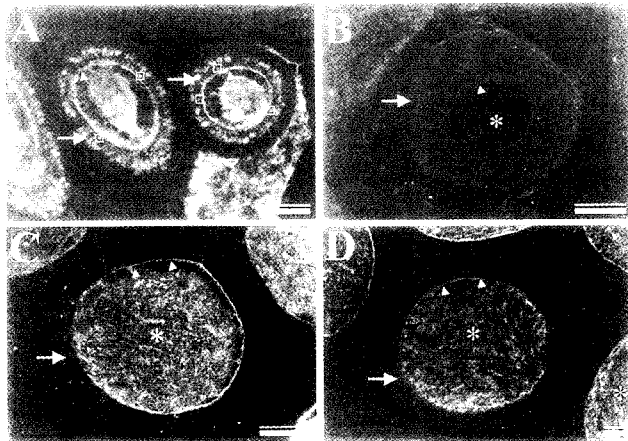


Fig. 1. UEA-I stain of mouse epididymis. (A) Proximal caput epididymis. Moderate labeling in the cytoplasm of principal cells (arrows), cilia(arrowheads), and lumen(asterisk) are seen. The cytoplasm of more apically located cells are labeled(boxes). (B) Distal caput epididymis. Faint signal was observed in the cytoplasm of principal cells(arrows), cilia(arrowhead), and lumen(asterisk). (C) Corpus epididymis. Faint signal was found in the cytoplasm of principal cells(arrow), cilia (arrowheads) and luminal content(asterisk) showed moderate signal. (D) Cauda epididymis. cilia(arrowheads) and lumen(asterisks) were moderately labeled but the cytoplasm of epithelial cell(arrow) was not. Bar = 10 μ m.

다(Fig. 1D).

2. GSL-I

두부 부정소 선단의 상피(solid arrow in Fig. 2A), 섬모(arrowheads in Fig. 2A), 관강(asterisk in Fig. 2A) 모두 표지되지 않았고, 두부 부정소 하단에서는 기저세포(open arrows in Fig. 2B)와 선단세포(open arrowheads in Fig. 2B) 만이 중간 강도로 표지되었다. 주세포(solid arrow in Fig. 2B)와 관강(asterisk in Fig. 2B)은 표지되지 않았다. 체부 부정소 상피의 투명세포의 세포질(box in Fig. 2C)과 섬모(arrowheads in Fig. 2C) 및 기저세포(open arrows in Fig. 2C)를 중간 강도로 표지되었고, 주세포는 미약하게 표지되었다(solid arrow in Fig. 2C). 관강(asterisk in Fig. 2C)은 매우 미약하게 표지되었다. 미부 부정소 상피의 투명세포의 세포질(boxes in Fig. 2D)과 섬모(arrowheads in Fig. 2D)는 중간정도의 강도로 표지되었고, 주세포는 약하게 표지되었다(solid arrow in Fig. 2D). 관강은 미약하게 표지되었다(asterisks in Fig. 2D).

3. sWGA

부정소 부위별로 커다란 차이는 보이지 않았다. 두부 부정

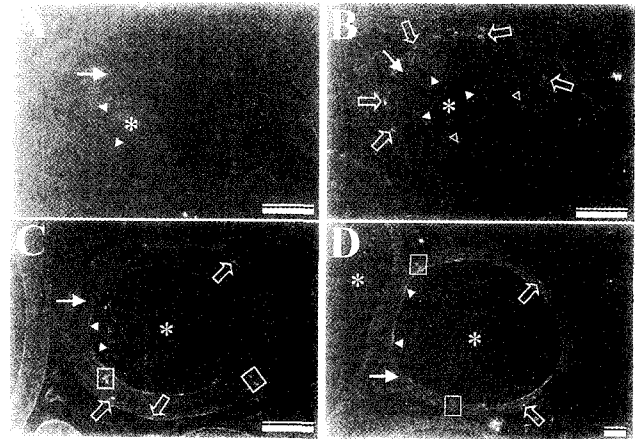


Fig. 2. GSL-I stain of mouse epididymis. (A) Proximal caput epididymis. Faint signal was observed in the lumen(asterisk) but not in the cytoplasm of principal cells(arrow) and cilia(arrowheads). (B) Distal caput epididymis. Only the basal cells were weakly labeled(open arrows). Lumen(asterisk), cytoplasm of principal cells(solid arrow), and cilia(arrowheads) were free from labeling. (C) Corpus epididymis. Basal cells(open arrows) and cilia(arrowheads) were weakly labeled. Cytoplasm of principal cells(arrow) and luminal content(asterisk) were faintly labeled. Clear cell(box) showed moderate labeling. (D) Cauda epididymis. Cytoplasm of principal cells(arrow), cilia(arrowheads), and luminal content(asterisks) were faintly labeled. Basal cells(open arrows) were weakly labeled. Clear cells(boxes) showed weak signal. Bar = 10 μ m.

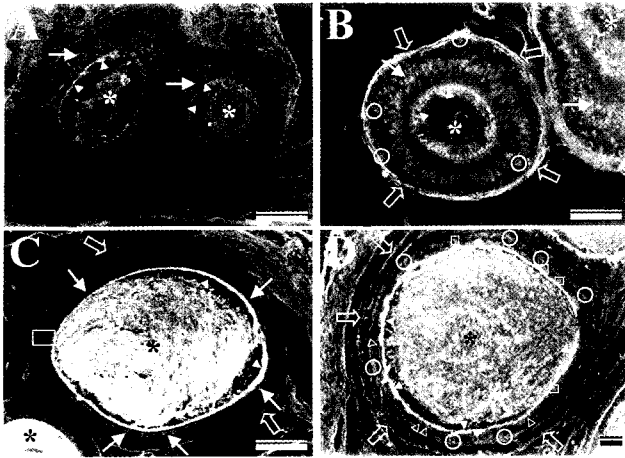


Fig. 3. sWGA stain of mouse epididymis. (A) Proximal caput epididymis. Cytoplasm of principal cells(arrows), cilia(arrowheads), and lumen(asterisks) were weakly labeled. (B) Distal caput epididymis. Cytoplasm of principal cells(arrows) and cilia(solid arrowheads) were moderately labeled. Lumen(asterisks) was weakly labeled. Peritubular cells(open arrows) showed intense labeling. Basal cells(open circles) were weakly labeled. (C) Corpus epididymis. Strong signals were found in the cilia(arrowheads) and luminal content(asterisks). Apical cytoplasm of principal cells(arrows) was weakly labeled. Peritubular cells(open arrows) and clear cell(box) showed weak signals. (D) Cauda epididymis. cilia(solid arrowheads) and luminal content(asterisk) were strongly labeled. Cytoplasm of principal cells(open arrowheads) was weakly labeled. Basal cells(open circles), peritubular cells(open arrows), and clear cells(boxes) showed moderate labeling. Bar = 10 μ m.

소 선단의 상피세포의 세포질(solid arrows in Fig. 3A)과 섬모(arrowheads in Fig. 3A)가 중간 정도의 강도로 표지되었다. 관강(asterisks in Fig. 3A)은 중간 강도로 표지되었다. 두부 부정소 하단에서는 근세포(open arrows in Fig. 3B) 및 기저세포(open circles in Fig. 3B)의 세포질과 세포간극, 그리고 주세포의 섬모(arrowheads in Fig. 3B)가 중간 정도의 강도로 표지되었다. 관강(asterisk in Fig. 3B)은 중간 강도로 표지되었다. 체부 부정소의 주세포의 세포질은 골지체 부분에서 두부보다 미약한 강도로 되었으며(solid arrows in Fig. 3C) 투명세포의 경우 세포질 전체에 폭 넓게 표지되었다(box in Fig. 3C). 관강(asterisk in Fig. 3C)은 중간 강도로 표지되었다. 미부 부정소의 표지 양상은 체부와 유사하였으나 관강의 표지 강도는 체부보다 감소하였다(asterisk in Fig. 3D).

고 찰

UEA-I lectin은 올리고당쇄의 외부 말단에 위치한 α -L-fucose 잔기에 주로 결합하는데(Sugii & Kabat, 1982), 생쥐 부

정소의 두부에 존재하는 주세포를 주로 염색하는 것으로 보고된 바 있다(Arya & Vanha-Perttula, 1986). 본 실험 결과 두부 부정소 선단의 상피세포 세포질에서 신호가 확인되어 일치하는 결과를 보인다. 특히 이 부위 상피에서 세포질 내 골지체 및 섬모 및 정자를 포함한 관강 내용물이 공통적으로 표지되는 특징을 보인다. 이는 말단에 α -L-fucose 잔기를 함유하는 항원이 두부 부정소 상피에서 생성되어 관강으로 분비되어 정자로 흡수될 가능성을 암시한다. UEA I에 의한 표지 결과 두부 부정소 말단부, 체부 및 미부 부정소 상피의 세포질에서는 신호가 관찰되지 않았고, 관강 내용물에서 일어난 표지의 강도는 두부보다는 체부에서 강화된다. 생쥐에서 음성 생식세포의 lactosaminoglycans에 fucose 잔기를 전달할 수 있는 수용성의 fucosyltransferase가 부정소에서 발현되지만 정소에서는 발현되지 않으며 발생중인 음성 생식세포는 nonfucosylated lactosaminoglycans을 갖지만 부정소 상피에서 분비된 fucosyltransferase에 의해 fucose 잔기가 첨가된다(Cossu & Boitani, 1984). 따라서 부정소 두부에서 생성 분비된 항원 뿐 아니라 관강내에서 추가적인 fucose 잔기의 첨가로 인해 관강 내용물의 표지가 강화된 것으로 사료된다. 그러나 체부와 비교한 미부 관강의 표지 강도가 감소하므로 fucose 잔기를 갖는 항원의 생성 및 분비가 두부 부정소 선단에 국한되고 체부와 미부 부정소의 관강내에서 glycosidase 등에 의해 fucose 말단이 제거되는 것으로 추측된다. 그러나 당쇄 말단의 fucose 잔기와 UEA I의 결합을 방해하는 다른 당쇄의 구조에 변화가 초래되었을 가능성 또한 배제할 수는 없을 것이다.

당쇄의 α -D-galactose 잔기에 결합하는 GSL-I은 UEA I의 결합 양상과는 반대의 결과를 보여 두부를 제외한 체부와 미부 부정소 상피의 세포질에서 미약하게 표지되었다(Fig. 2 B, C, and D). 이는 소량의 말단 α -D-galactosyl 잔기가 부정소에 존재하거나 인접한 복잡한 올리고 당쇄에 의한 GSL-I 렉틴 결합의 hinderic inhibition에 의한 결과로 사료된다. 두부 부정소 선단의 상피(solid arrow in Fig. 2A), 섬모(arrowheads in Fig. 2A), 관강(asterisk in Fig. 2A) 모두 표지되지 않았고, 두부 부정소 하단에서는 기저세포(open arrows in Fig. 2B)와 선단세포(open arrowheads in Fig. 2B)만이 중간 강도로 표지되었고 주세포(solid arrow in Fig. 2B)와 관강(asterisk in Fig. 2B)은 표지되지 않았다. 체부 부정소 상피의 투명세포의 세포질(box in Fig. 2C)과 섬모(arrowheads in Fig. 2C) 및 기저세포(open arrows in Fig. 2C)를 중간 강도로 표지되었고, 주세포는 미약하게 표지되었다(solid arrow in Fig. 2C). 관강(asterisk in Fig. 2C)은 매우 미약하게 표지되었다. 미부 부정소 상피의

투명세포의 세포질(boxes in Fig. 2D)과 섬모(arrowheads in Fig. 2D)를 중간 강도로 표지되었고, 주세포는 미약하게 표지되었다(solid arrow in Fig. 2D). 관강은 매우 미약하게 표지되었다(asterisks in Fig. 2D).

당쇄의 *N*-acetyl-glucosamine 잔기에 결합하는 sWGA는 부정소 부위별로 커다란 차이를 보이지 않았다. 두부 상피세포의 골지체와 섬모가 중간 정도의 강도로 표지되었고(Fig. 3A and B), 체부 상피 세포는 미약하게 표지되었으나 섬모, 관강 내용물 및 정자는 강하게 표지되었다(Fig. 3C). 특징적으로 체부 부정소 상피의 투명세포가 주세포들에 비해 더 강하게 표지되었다(Fig. 3C, arrow). 투명세포는 *N*-glycan의 가공에 관여하는 골지체 기원의 중요한 효소인 α -mannosidase를 다량으로 발현한다(Igdoura et al., 1999). α -mannosidases IA와 IB는 Man9GlcNAc2로부터 mannose 잔기를 제거하여 Man5GlcNAc2로 전환하며 α -mannosidase II는 GlcNAc-Man5GlcNAc2가 골지체 기원의 glycosyltransferase에 의해 복잡한 구조의 *N*-glycans으로 변화하기 전 2개의 mannose 잔기를 제거하여 GlcNAcMan3GlcNAc2를 형성하도록 한다. 따라서 투명세포의 골지체에서 형성되는 복잡한 구조의 *N*-glycans 형성과정에서 당쇄 내에 *N*-acetyl-glucosamine을 다량으로 노출하고 있음을 짐작할 수 있다. sWGA에 의해 표지되는 항원이 투명세포의 기능적 분화를 나타내는 표식자로 체부 부정소에서 투명세포를 확인할 수 있는 수단으로 이용이 가능할 것이다. 미부 부정소의 표지 양상은 체부와 유사하지만 세포질과 관강의 전반적인 결합 강도가 감소하는 것으로 미루어 이 항원(들)의 주요 생성부위는 체부 부정소 투명세포로 추측된다(Fig. 3D). 또한 관강 내용물의 표지 강도가 미부 부정소에서 격감하므로 미부 부정소에서 당쇄의 *N*-acetyl-glucosamine 잔기를 갖는 항원의 가공이 진행되는 것으로 사료된다. 사람과 쥐의 부정소 상피 및 관강에 *N*-acetyl-glucosaminidase의 활성이 존재하며 그 활성은 androgen에 의존적이다(Kapur & Gupta, 1988; Adachi et al., 1989; Fornes et al., 1995; Castellon & Balbontin, 2000). 또한 사람의 정자는 원형 질막 결합 형태의 미부 부정소 관강에서 발견되는 isoform과 같은 효소 활성을 가질 뿐 아니라 쥐의 정자는 *N*-acetyl-beta-D-glucosaminidase에 대한 친화력을 갖는 부위가 존재한다(Barbieri et al., 1994; Castellon & Huidobro, 1999). 따라서 생쥐 부정소에서도 이와 유사하게 미부 부정소 관강내에 존재하는 *N*-acetyl-glucosaminidase 등에 의한 당쇄 잔기의 분해로 인해 관강내 sWGA 표지가 감소하는 것으로 사료된다. 이와 동일한 양상이 UEA I 표지 결과에서도 확인된다. 정자표면의 glycosidase 활성과 정자 내 탄수화물 잔기 총량 사이에는

음성적 상관성이 존재한다(Hall & Killian, 1987). 따라서 미부 부정소 관강내 lectin 표지 강도의 감소는 관강내 fucosidase, *N*-acetyl-glucosaminidase 등과 같은 glycosidase에 의한 활성의 증가와 관련된 것임을 추측할 수 있다. 그러나 당쇄의 *N*-acetyl-glucosamine 잔기 주변에 새로운 잔기가 추가되어 sWGA와 당쇄말단의 당쇄의 *N*-acetyl-glucosamine 잔기 사이에 hinderic inhibition이 생성되었을 가능성을 배제할 수 없을 것이다.

UEA-I 및 sWGA 표지 결과에서 두부와 체부, 두부와 미부 부정소 간에는 현격한 차이를 보였지만 체부 부정소와 미부 부정소 사이에는 확연한 차이가 없었다. 부정소 부위별 정자의 성숙도를 조명해 볼 때 미부 부정소에 도달한 정자는 수정에 요구되는 잠재능력을 이미 갖추고 있으며 미부 부정소는 정자를 저장하는 기능을 수행한다(Waites et al., 1980). 또한 체부 부정소와 미부 부정소 정자 침체반응 능력 등에서 커다란 차이가 없다(Gye et al., 1997). 이를 종합하면 부정소 길이를 따라 부정소관 조직 내 당쇄의 분포의 변화 정도와 정자의 성숙의 단계가 상관성을 발견할 수 있다. 따라서 생쥐의 경우 부정소관 내 당쇄의 분포에 기초하여 부정소를 두부와 체부 및 미부 부정소 2구간으로 구분할 수 있을 것이다. Mannosidase, galactosidase 등 다양한 exoglycosidase와 endoglycosidase 등이 부정소관 강소 내에 존재하여 관강내 항원 말단의 단일 당 및 일단의 당쇄들을 제거하여 항원의 당쇄구조를 변화시킨다(Hall & Killian, 1987; Skudlarek et al., 1991, Skudlarek et al., 1992). 한편 부정소 상피 표면과 관강내에 존재하는 당잔기 전달효소(glycosyltransferase)들 중 galactosyltransferase, fucosyltransferase 등이 부정소 관강에서 발견되었다(Cossu & Boitani, 1984; Lopez et al., 1985; Apter et al., 1988; Macek & Shur, 1988; Ram et al., 1989; Miller et al., 1992). 이들은 UDP-galactose 등과 같은 핵산당(nucleotide sugars)을 기질로 이용하여 당쇄 말단에 *N*-glycosylation을 수행한다. 따라서 당쇄의 제거 뿐 아니라 특정 당잔기의 전이가 가능한 부정소 관강내의 환경은 상피와 관강 내에서 나타나는 렉틴에 의한 표지 양상의 차이를 설명할 수 있다. 신장 곡세뇨관의 상피에서도 부정소와 유사하게 관의 길이를 따라 렉틴 표지 양상, 즉 당쇄의 분포가 다르게 나타난다(Roth & Taatjes, 1985). 이렇게 성체의 부정소에서 관찰되는 부정소관 상피의 구조와 기능적 분화는 부정소의 기관발생 과정에서 이미 결정되어지는 것으로 사료된다. Bone morphogenetic protein(BMP)은 신장의 곡세뇨관 발생 및 분화에 관여하는데 부정소 기관형성 과정에서 Wolffian duct의 분화 및 출생 후 성체에 이르는 동안 부정소관의 구조적 기능적 분화를 조절

하는 인자로 작용한다. BMP의 발현은 부정소 각 부위 별로 달리 나타나며 이들의 발현 장애는 정자형성 장애와 함께 부정소관 상피의 퇴화를 유발한다(Zhao et al., 1998; Chen et al., 1999). 이는 부정소관의 길이를 따라 상피의 구조적 차이가 발생과정 동안에 확립될 뿐 아니라 성체에 이르러 소관 상피의 기능적인 분화 상태의 조절 기작이 중배엽성 기원의 관강 구조 발생과정에서 매우 보존되어 있음을 의미한다.

결론적으로 생쥐 부정소에서 부정소관의 길이를 따라 소관 상피 및 관강 내 당잔기의 분포에 부위별 차이가 있음을 확인하였고 이는 정자의 성숙과 관련된 부정소관 상피의 분비 및 흡수 기능의 분화를 대변하는 것으로 사료된다.

인용문헌

- Adachi T, Kawashima H, Tanaka S, Mori K, Asakawa M, Yasumoto R, Maekawa M (1989) *N*-acetyl-beta-glucosaminidase in tissues of various human urogenital organs. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 80:245-248.
- Apter FM, Baltzand JM, Millette CF (1988) A possible role for cell surface fucosyltransferase (FT) activity during sperm-zona pellucida binding in the mouse. *J Cell Biol* 107:175a.
- Arenas MI, de Miguel MP, Bethencourt FR, Fraile B, Royuela M, Paniagua R (1996) Lectin histochemistry in the human epididymis. *J Reprod Fertil* 106:313-320.
- Arya M, Vanha-Perttula T (1986) Comparison of lectin-staining pattern in testis and epididymis of gebril, guinea pig, mouse, and nutria. *Am J Anat* 175:449-469.
- Barbieri MA, Sosa MA, Couso R, Ielpi L, Merello S, Tonn CE, Bertini F (1994) Affinity sites for *N*-acetyl-beta-*D*-glucosaminidase on the surface of rat epididymal spermatozoa. *Int J Androl* 17:43-49.
- Bedford JM (1975) Maturation, transport, and fate of spermatozoa in the epididymis. In: Hamilton DW, Astwood EB (eds.), *Handbook of Physiology. Section 7 Endocrinology Vol. V Male Reproductive System*. American Physiological Society, Washington. pp 303-317.
- Benoff S, Cooper GW, Hurley I, Napolitano B, Rosenfeld DL, Scholl GM, Hershlag A (1993) Human sperm fertilizing potential in vitro is correlated with differential expression of a head-specific mannose-ligand receptor. *Fertil Steril* 59:854-862.
- Boldt J, Howe AM, Parkerson JB, Gunter LE, Kuehn E (1989) Carbohydrate involvement in sperm-egg fusion in mice. *Biol Reprod* 40:887-896.
- Castellon EA, Balbontin JB (2000) Secretion of glycosidases in human epididymal cell cultures. *Arch Androl* 45:35-42.
- Castellon EA, Huidobro CC (1999) Androgen regulation of glycosidase secretion in epithelial cell cultures from human epididymis. *Hum Reprod* 14:1522-1527.
- Chen MY, Carpenter D, Zhao GQ (1999) Expression of bone morphogenetic protein 7 in murine epididymis is developmentally regulated. *Biol Reprod* 60:1503-1508.
- Cossu G, Boitani C (1984) Lactosaminoglycans synthesized by mouse male germ cells are fucosylated by an epididymal fucosyltransferase. *Dev Biol* 102:402-408.
- Cummings RD (1994) Use of lectins in analysis of glycoconjugates. In: Lennarz WJ (eds.), *Guide to Glycobiology. Methods in Enzymology. Vol. 230*. Academic Press, New York, pp 66-86.
- Fornes MW, Barbieri A, Cavicchia JC (1995) Morphological and enzymatic study of membrane-bound vesicles from the lumen of the rat epididymis. *Andrologia* 27:1-5.
- Gye MC, Kim SR, Kim MK (1997) Alteration of acrosome reacting ability of mouse spermatozoa during epididymal transit. *Dev Reprod* 1:57-65.
- Hall JC, Killian GJ (1987) Changes in rat membrane glycosidase activities, carbohydrate and protein contents associated with epididymal transit. *Biol Reprod* 36:709-718.
- Igdoura SA, Herscovics A, Lal A, Moremen KW, Morales CR, Hermo L (1999) Alpha-mannosidases involved in *N*-glycan processing show cell specificity and distinct subcompartmentalization within the Golgi apparatus of cells in the testis and epididymis. *Eur J Cell Biol* 78:441-452.
- Kapur DK, Gupta GS (1988) Immunocytochemical localization of beta-*N*-acetyl glucosaminidase in human reproductive organs. *Biol Reprod* 38:373-376.
- Lis H, Sharon N (1986) Lectins as molecules and as tools. *Ann Rev Biochemistry* 55:35-67.
- Lopez LC, Bayna EM, Litoff D, Shaper NL, Shur BD (1985) Receptor function of mouse sperm surface galactosyltransferase during fertilization. *J Cell Biol* 101:1501-1510.
- Macek MB, Shur BD (1988) Protein-carbohydrate complementarity in mammalian gamete recognition. *Gamete Res* 20:93-109.

- Mburu DN (1999) Maturation-related changes in distribution of lectin receptors in baboon (*Papio anubis*) spermatozoa during epididymal maturation. *Arch Androl* 42:199-203.
- Miller DJ, Macek MB, Shur BD (1992) Complementarity between sperm surface B 1,4-galactosyltransferase and egg coat ZP3 mediates sperm-egg binding. *Nature* 357:589-593.
- O'Rand KG (1988) Sperm egg recognition and barriers to interspecies fertilization. *Gamete Res* 19:315-328.
- Palacios J, Regadera J, Nistal M, Paniagua R (1991) Apical mitochondria-rich cells in the human epididymis: an ultrastructural, enzymohistochemical, and immunohistochemical study. *Anat Rec* 231:82-88.
- Ram PA, Cardullo RA, Millette CF (1989) Expression and topographical localization of cell surface fucosyltransferase activity during epididymal sperm maturation in the mouse. *Gamete Res* 22:321-332.
- Roth J, Taatjes DJ (1985). Glycocalyx heterogeneity of rat kidney urinarytubule: demonstration with a lectin-gold technique specific for sialic acid. *Eur J Cell Biol* 39:449-457.
- Skudlarek MD, Orgebin-Crist M-C, Tulsiani DRP (1991) Asparagine-linked glycoprotein biosynthesis in rat epididymis: presence of a mannosidase II-like enzyme. *Biochem J* 277:213-221.
- Skudlarek MD, Tulsiani DRP, Orgebin-Crist M-C (1992) Rat epididymal luminal fluid acid β -D-galactosidase optimally hydrolyses glycoprotein substrate at neutral pH. *Biochem J* 286:907-914.
- Sugii S, Kabat EA (1982) Further immunochemical studies of the combining sites of *Lotus tetragonolobus* and *Ulex europaeus* I and II lectins. *Carbohydrate Res* 99:99-101.
- Suzuki F, Yanagimachi R (1986) Membrane changes in Chinese hamster spermatozoa during epididymal maturation. *J Ultrastruct Mol Struct Res* 96:91-104.
- Toshimori K, Araki S, Öura C (1988) Masking of sperm maturation antigen by sialic acid in the epididymis of mouse. An immunohistochemical study. *Histochemistry* 90:195-200.
- Tulsiani DR, Orgebin-Crist MC, Skudlarek MD (1998) Role of luminal fluid glycosyltransferases and glycosidases in the modification of rat sperm plasma membrane glycoproteins during epididymal maturation. *J Reprod Fertil Suppl* 53:85-97.
- Waites GMH (1980) Functional relationships of the mammalian testes and epididymis. *Aust J Biol Sci* 33:355-370.
- Zhao GQ, Liaw L, Hogan BL (1998) Bone morphogenetic protein 8A plays a role in the maintenance of spermatogenesis and the integrity of the epididymis. *Development* 125:1103-1112.