

어류의 난모세포 성숙유도 스테로이드 호르몬의 합성 및 조절 (Biosynthesis and Regulation of the Oocyte Maturation Inducing Steroid In Teleost Fish)

백 해 자

국립수산진흥원 양식개발과

서 론

경골어류의 난소는 난원세포의 유사분열증식기, 성장기를 거쳐 제1차 난모세포로 발달되는데 이 과정에서 난모세포는 제1차 감수분열 전기상태로 머물면서 세포질내 난황축적이 완료될때까지 계속 성장한다. 뒤이어 난모세포의 성숙(oocyte maturation 또는 meiotic maturation)이라고 부르는 제1차 감수분열이 재개된다. 이 과정은 조직형태학적으로 핵(germinal vesicle, GV)이 동물극 쪽으로 이동한 후 핵붕괴(GVBD = germinal vesicle break down)을 일으키면서 제1극체를 방출하고 곧이어 제2 감수분열을 이행하면서 난모세포는 수정능력을 갖추게된다. 난황형성 완료직후부터 GVBD까지의 일련의 성숙과정은 난포층에서 생성·분비되는 성 스테로이드 호르몬의 직접적인 영향하에 있으며, 이들 호르몬의 생성·분비는 뇌하수체 호르몬 특히, 생식선자극호르몬(GtH = gonadotrophic hormone)에 의해 조절되고 있다.

일반적으로 척추동물의 난성숙과 배란과정 동안에 progesterone의 역할은 잘 알려져 있지만 어류에서는 progesterone보다도 이의 유도체인 20α 또는 20β -hydroxy group을 가지고 있는 C_{21} -steroids의 역할이 더 중요시되고 있다. 특히, 17α -hydroxy, 20β -dihydroprogesterone(17α 20β OHP)은 연어류, 메기류와 잉어류 등에서 성숙유도 스테로이드 호르몬(maturation inducing-steroid= MIS 또는 maturation inducing-hormone = MIH)으로 불리어지고 있다. 최근 유럽산 가자미류에서도 이 호르몬의 생식생리적 활성도 조사와 또다른 progesterone의 유도체(ex. 17α , 20β , 21 -trihydroxy-4-pregnen-3-one)을 난소의 호르몬 대사물질 생성과정에서 밝히고 있다.

경골어류 난소내 주요 스테로이드 호르몬들의 합성장소는 여포세포층으로 알려져 있으며(interstitial, thecal and granulosa cells), 특히 연어과를 대상으로 보고된 자료를 보면 MIS의 전구물질인 17α -hydroxyprogesterone(17α OHP) 합성은 theca에서 행해지며, 뒤 이어 20β -hydroxysteroid dehydrogenase(20β HSD) 활성만을 가지고 있는 granulosa에서 17α OHP가 17α 20β OHP로 전환된다고 하였다(Nagahama and Yamashita, 1989). 이것은 MIS의 생합성 경로 중 $\Delta 4$ -steroids 경로를 근거로 설명되고 있다.

본 연구는 무지개송어를 대상으로 난소여포의 granulosa 세포층을 분리, 초기배양하여 MIS(17α 20β OHP)의 합성경로를 밝히는 동시에 이의 합성조절에 뇌하수체 호르몬이나 다른 스테로이드 호르몬의 역할도 조사하였다. 아울러 현재 양식현장에서 고급어종으로 각광받고 있는 농어나 범가자미의 성숙 또는 배란유도에 대한 MIS의 효능 테스트 결과도 보고하는 바이다.

재료 및 방법

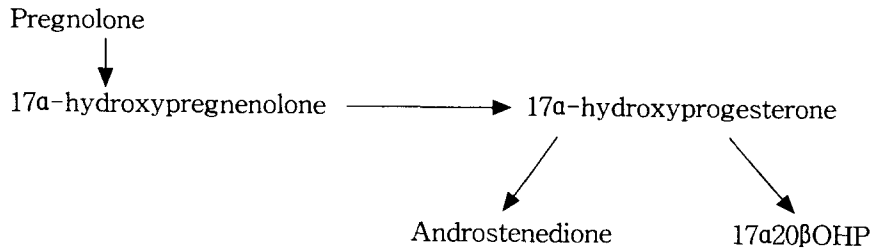
Granulosa 세포 분리 및 배양: 난모세포 성숙기의 무지개송어 난소를 채취하여 가는 편셋으로 결합조직과 혈관 등을 제거시키면서 각각의 여포로 분리시킨 뒤, collagenase 를 이용하여 granulosa 세포를 분리한 후 18~24시간 배양하여 원심분리시킨 뒤 필요한 세포수를 계산하였다.

Granulosa 세포의 MIS 합성경로 분석: 본 연구에 2가지 방법들이 사용되었다.

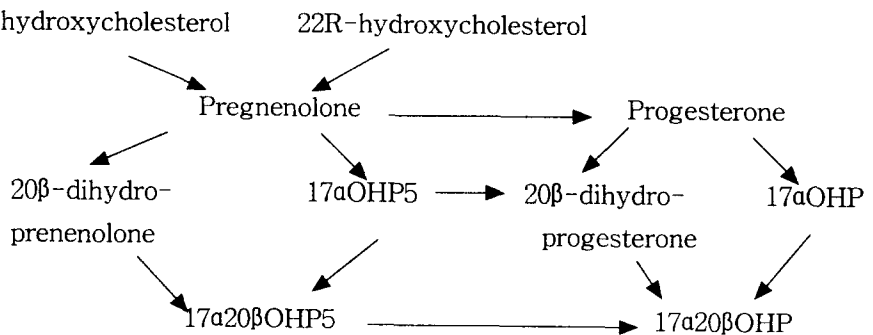
- ① 방사선 동위원소로 표지된(^3H) 전구체들(pregnenolone 또는 $17\alpha\text{OHP}$)로부터의 대사물 추적 ; TLC, HPLC 등으로 확인
- ② 비표지 전구체들로부터의 스테로이드 생성을 방사면역분석법(RIA)으로 측정

결 과

- ① 난모세포성숙기에 방사성 표지 전구체(^3H -pregnenolone, ^3H - 17α -hydroxyprogesterone)를 이용하여 관찰한 granulosa 세포의 스테로이드 주 대사경로는 다음과 같다.



- ② 난모세포성숙기에 비표지 전구체들(Cholesterol, 20α -hydroxycholesterol, 22R -hydroxycholesterol, pregnenolone, 17α -hydroxypregnenolone($17\alpha\text{OHP5}$), 20β -dihydropregnenolone, 17α -hydroxy, 20β -dihydropregnenolone($17\alpha\ 20\beta\text{OHP5}$), 20β -dihydroprogesterone, 17α -hydroxyprogesterone)을 이용하여 관찰한 granulosa 세포의 스테로이드 대사경로 가능성은 다음과 같다.



위의 스테로이드 대사 실험결과, MIS생성을 위한 granulosa 세포의 steroidogenic capacity를 관찰할 수 있었다. 즉, theca에서 뿐만아니라 granulosa에서도 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase(3 β HSD) 효소 활성이 존재함을 알 수 있었으며, Δ 5-steroids 경로에 의한 MIS 합성의 중요성도 제시되었다.

③ MIS(17 α 20 β OHP) 합성조절

- 성숙된 연어의 GtH는 17 α 20 β OHP 합성에 주 효소인 20 β -hydroxysteroid dehydrogenase(20 β HSD)의 활성도를 증가시켰다. 한편 연어의 prolactine은 아무런 반응도 보이지 않았으며, 연어의 growth hormone은 GtH와 상호보완적 반응을 보였다.
- Estradiol-17 β 은 20 β HSD 활성을 저지시켰다.

참고문헌

- Canario AVM, Scott AP (1990): Effects of steroids and human chorionic gonadotrophin on *in vitro* oocyte final maturation in two marine flatfish: the dab, *Limanda limanda*, and the plaice, *Pleuronectes platessa*. Gen Comp Endocrinol 77:161-179.
- Fostier A, Baek HJ (1994): Induction of maturation inducing steroid production in rainbow trout granulosa cells: effect of estradiol on gonadotropin stimulated 20 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity. Reprod Nutr Develop 33:81-82.
- Nagahama Y, Yamashita M (1989): Mechanism of synthesis and action of 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one, a teleost maturation-inducing substance. Fish Physiol Biochem 7:193-200.
- Scott AP, Canario AVM (1987) Status of oocyte maturation-inducing steroids in teleosts. In "Proceedings of the IV, International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, St. John's, Newfoundland, Canada, August 1987"(D. R. Idler, L. W. Crim, and J. M. Walsh, eds.), pp 224-234. Marine Sciences Research Laboratory, St. John's, Newfoundland, Canada.
- 백혜자, 김윤 (1996): 범가자미, *Verasper variegatus*의 난모세포성숙(GVBD) 유도를 위한 HCG와 스테로이드 호르몬의 *in vitro* 효과. 한국양식학회지, 9(1):57-63.
- 임상구, 백혜자, 한창희 (1997): 동자개(*Pseudobagrus fulvidraco*)의 난모세포성숙과 배란에 대한 스테로이드와 HCG의 *in vitro* 효과. 한국수산학회지, 30(2):203-210.