

P-1 흰쥐 태자에서 Leptin 및 Leptin수용체의 발현

양현원¹, 김명신^{1,4}, 박철홍^{2,4}, 박금자², 권혁찬¹, 김세광³, 윤용달⁴

아주대학교 산부인과¹, 박금자 산부인과², 연세대학교 산부인과³, 한양대학교 생물학과⁴

서 론

비만 유전자(Obese gene)의 산물인 leptin은 대부분이 지방 조직에서 분비되는 167개의 아미노산으로 구성된 단백질 호르몬이다. 이러한 leptin은 체중 및 지방 축적 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있으나(Campfield et al., 1996), 그 외에도 혈액 생성, 생식 기능 조절, 사춘기 개시 등 여러 가지 생리 기능에 관여하는 것으로 보고되고 있다(Bennett et al., 1996). Leptin이 기능을 나타내기 위해서는 leptin 수용체와 결합하여야 하며, 이러한 leptin 수용체의 발현은 뇌, 지방 조직, 생식소 등 생체내 다양한 조직에서 발현되는 것으로 보고되고 있다(Schwartz et al., 1996). 특히 Hoggard 등은 RT-PCR과 in situ hybridization 방법으로 성숙된 흰쥐에서 leptin 수용체가 뇌와 지방 조직외에 비장, 정소, 신장, 간, 폐, 부신에서 발현되는 것을 확인하였으며, 또한 태자와 태반에서 leptin과 leptin 수용체의 발현을 확인하였다(Hoggard et al., 1997). 그러나 태자에서 leptin과 leptin 수용체의 발현 양상은 성체와 다르게 갈비뼈와 척추 중심으로 mRNA가 발현하는 것으로 보고하고 있으나, 단백질 수준에서 발현 양상은 정확히 확인되지 않았다. 따라서 본 연구의 목적은 흰쥐 태자를 대상으로 leptin과 leptin 수용체의 발현 양상을 면역조직화학방법으로 확인하고자 시행하였다.

재료 및 방법

임신된 Sprague-Dawley계통의 흰쥐에서 교미 후 13.5일, 15.5일 및 17.5일에 각각 태자를 적출하여 면역조직화학방법으로 leptin 및 leptin 수용체의 발현을 조사하였다. 면역조직화학방법을 위해 태자를 4.5% paraformaldehyde에 고정하여 paraffin으로 포매한 후 5µm 두께의 절편을 만들어 통상의 탈파라핀 과정과 탈수 과정을 수행하였다. Leptin에 대한 1차항체는 goat anti-mouse leptin polyclonal antibody (Y-20, Santa Cruz Biotechnology)를 사용하였으며, leptin 수용체에 대한 1차항체로는 goat anti-mouse leptin receptor polyclonal antibody (K-20, Santa Cruz Biotechnology)를 사용하였다. 각 조직에 1차항체를 1시간 동안 반응시킨 후 2차항체 (biotinylated mouse anti-goat Ig polyclonal

antibody, DAKO)와 streptavidin-peroxidase로 각각 30분 씩 반응시킨 다음 DAB (DAKO)로 발색시켜 관찰하였다. Negative control로는 1차항체와의 반응만을 제외시키고 나머지 과정은 동일한 조건으로 시행한 후 관찰하였다.

결과 및 논의

면역조직화학방법으로 leptin 및 leptin 수용체의 발현을 13.5일, 15.5일, 17.5일된 흰쥐 태자에서 확인한 결과, 먼저 13.5일된 태자에서는 leptin 및 leptin 수용체 모두 거의 발현이 안되는 것을 확인할 수 있었다.

반면 15.5일과 17.5일된 태자에서는 다양한 조직에서 leptin 및 leptin 수용체가 발현되는 것을 확인할 수 있었으며, leptin 및 leptin 수용체의 발현 양상을 비교해 보면 거의 같은 위치에서 함께 발현되는 것을 알 수 있었다. Leptin 및 leptin 수용체가 염색된 부위는 뇌하수체를 중심으로 뇌 중심부에서 염색된 것을 확인할 수 있었으며, 또한 척수와 갈비뼈 주위조직 그리고 심장과 갑상

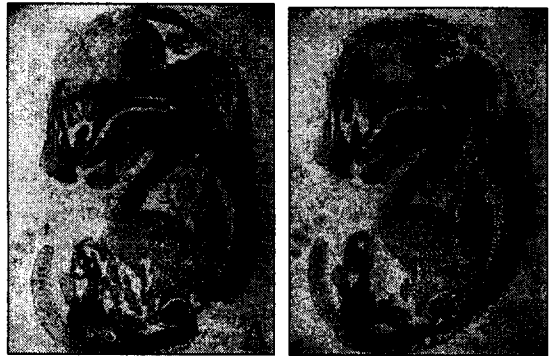


Fig. 1. Leptin (A) and leptin receptor (B) localization in the 17.5 day rat fetus by immunohistochemistry.

선에서 염색된 것을 알 수 있었다. 15.5일과 17.5일된 태자의 발현 양상을 비교해 보면, 15.5일에 뇌 중심부에 넓은 부위에서 진하게 염색되었던 것이 17.5일이 되면서 대뇌각 주위로 축소되는 것을 확인할 수 있었고, 반면 17.5일된 태자에서는 입천장 부위와 외부 생식기 부위가 새롭게 분화되면서 진하게 염색되는 것을 관찰할 수 있었다.

이러한 결과는 전반적으로 Hoggard 등(1997년)이 발표한 결과들과 일치하고 있으나, 발가락과 폐에서의 발현은 본 실험 결과 확인할 수 없었다 (Fig. 1).

이상의 결과에서 leptin 및 leptin 수용체 단백질의 발현을 흰쥐 태자에서 확인할 수 있었으며, 성숙된 흰쥐에서 leptin의 대부분이 지방 조직에서 합성되어 분비되는 발현 양상과 비교해 볼 때 태자에서는 뼈를 중심으로한 다양한 조직에서 발현되고 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과로 보아 leptin은 태자가 성장하고 분화해 나가는데 중요한 요소로 작용하는 것으로 사료되며, leptin 과 leptin 수용체가 같은 위치에서 발현되는 것으로 보아 그 작용 기작은 autocrine 또는 paracrine 방법으로 이루어지는 것으로 판단된다. 아직까지 태자에서 발현되는 leptin의 역할에 대해서는 밝혀진 것이 없으며, 단지 태자의 성장 인자로서 또는 모체의 에너지 상태를 태자에 전달해 주는 동시에 또는 반대로 태자의 에너지 상태를 모체에 전달해 주는 전달자로서의 가능성을 추측하고 있어 앞으로 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

참고문헌

- Campfield LA, Smith FJ, and Burn P (1996) The OB protein (leptin) pathway : a link between adipose tissue mass and central neural networks. *Horm Metab Res* 28: 619-632
- Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P, and Mercer JG (1997) Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 11073-11078
- Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV, Moar K, Trayhurn P, and Williams LM (1997) Localization of leptin Receptor mRNA splice variants in murine peripheral tissues by RT-PCR and in situ Hybridization. *Biochem Biophys Res Commun* 232: 383-387
- Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, and Baskin DG (1996) Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest* 98: 1101-1106
- Bennett BD, Solar GP, Yuan JQ, Mathias J, Thomas GR, and Matthews W (1996) A role for leptin and its cognate receptor in hematopoiesis. *Curr Biol* 6: 1170-1180