

0-3 포유류 열 충격 단백질60에 대한 단일클론 항체를 이용한 시험관내 생쥐 배아발생에 관한 연구

인제대학교 의과대학 산부인과 서울백병원

이 일 한 · 김 용 봉

목 적: 생리적 조건하에서 모든 생명체는 스트레스에 반응하여 그들의 항상성을 유지하기 위한 다양한 방어기전을 나타낸다. 가장 대표적인 것이 자극 신호에 노출시에 일어나는 열 충격 반응이다. 수정 과정의 완성 이후에 급속한 세포 성장과 분화상태인 배아발생의 시기에도 여러 종류의 HSPs의 발현이 증가되어 유해한 환경으로부터의 세포 보호의 역할을 수행한다. 본 연구는 생쥐 초기 배아발생 시 열 충격 단백질 항체 (이하 anti-HSP60으로 약함)를 투여함으로써 anti-HSP60이 생쥐 초기 배아의 발생에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

대상 및 방법: 6~8주령의 암컷생쥐를 임의 추출하여 임마 혈청 성선자극호르몬 (PMSG)와 임부 용 모성 성선자극호르몬 (hCG)을 이용, 과배란 유도 후 수컷과 합사하여 175개의 2세포기 배아를 얻었다. 이를 Ham's F-10을 기본 배양액으로 하여 배양을 시작하였고 anti-HSP60 첨가군 (66), IgG₁ 첨가군 (55), 배양액단독군 (54)으로 나누어 매일 배아의 발생을 비교, 관찰하였다.

결 과: anti-HSP60 투여군에서 비교군에 비해 실험 종결시 발생률이 0% vs 16%, 14% ($p=0.0032$)로 유의한 배아발생 정지 및 퇴화가 관찰되었고, 특히 배아발생 1일째 발생률이 31% vs 83%, 77% ($p<0.0001$)로 이때부터 발생정지가 관찰되었다. anti-HSP60 투여군에서는 세포발생에 있어 퇴화 현상이 발생 2일째부터 뚜렷히 증가하여 특히 실험 3일째 더욱 현저하였다.

결 론: anti-HSP60 첨가군이 IgG₁ 및 배양액단독군에 비해서 유의하게 높은 배아의 발생정지와 퇴화의 소견이 관찰되었다. 이로 미루어 보아 생쥐 초기 배아발생시 분비되는 HSP60에 대한 면역반응이 불임을 유발하는데 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

0-4 흰쥐 고환에서 온도변화가 정자생성능력과 Heat Shock Protein 70 단백질 발현에 미치는 영향

전남대학교 의과대학 비뇨기과

박성훈 · 박광성 · 류수방 · 박양일

목 적: 고온에 노출된 고환은 정자생성능력에 현저한 저하를 보여 남성불임의 원인이 된다. 한편 고온에 노출된 고환은 방어기전의 일환으로 HSP 70 단백질 과발현되어 불가역적인 손상을 막아 주는 역할을 한다. 본 연구에서는 고온직 후 저온에 노출된 고환에서 정자생성기능이 보존되는지 여부와 HSP 70 단백질 발현의 변화에 대해 알아보하고자 하였다.

대상 및 방법: Sprague-Dawley 수컷 흰쥐 (200~230 g)를 3군으로 나누어 I군은 정상 대조군으로 목욕을 시키지 않았고, II군은 고온욕군으로 10분간 고온욕조 (41~43°C)에 하반신을 담그고 3분간 건조 시킴을 2번 반복하였고, III군은 고온욕 후 저온욕 (18~20°C) 군으로 10분간 고온욕 후 3분간 저온욕

을 2번 반복하였다. 이런 과정을 일주일에 3회씩 4주간 시행하고 고환을 적출하였다. 적출된 고환은 hematoxylin-eosin으로 염색하였고, 고환으로부터 추출한 단백질은 Western 분석을 시행하였으며 HSP 70 단백질 발현을 보기 위해 면역조직화학 염색을 시행하였다.

결 과: 조직학적 소견상 II군에서 정자세포와 정모세포의 수가 감소하고, 성숙한 정자세포는 관찰되지 않았다. III군에서는 I군과 비슷한 정자생성이 관찰되었다. Western 분석 소견에서 HSP 70 단백질은 3군 모두에서 상당량 발현되었다. 특히 II군에서 I군에 비해 HSP 70 단백질은 약 1.5배 정도 증가되어 발현되었으나 ($p=0.075$), III군에서는 I군과 비교해 HSP 70 단백질 발현은 비슷하였다 ($p=0.934$). 면역조직화학적 소견에서 HSP 70 단백질에 대한 면역반응성은 Leydig 세포와 섬유모세포에서 관찰되었고, 3군 모두에서 발현부위는 유사하였다. Western 분석 소견과 동일하게 고온욕군에서 면역반응성이 증가하였으나 고온욕 후 저온욕을 시행한 군에서는 대조군과 유사하였다.

결 론: 고온에 노출된 고환은 정자생성능력이 감소될 뿐만 아니라 HSP 70 단백질이 현저히 증가하여 고온에 대한 방어기전으로 HSP 70 단백질이 과발현되었다. 그러나 고온직 후 저온에 노출했을 때 정자생성능력이 보존되었고 HSP 70 단백질의 발현이 대조군과 유사한 소견을 보였는데, 이러한 결과는 온도의 변화가 고환에서 HSP 70 단백질 발현에 영향을 미친다는 것을 시사한다. 향후 고환이 고온에 노출시 HSP 70 단백질이 증가하였다가 저온시 감소하였는지 혹은 고온직 후 저온에서는 고온에 대한 HSP 70 단백질 발현이 영향을 받지 않았는지에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

O-5 Expression of Fra1 and Fra2 mRNA Regulated by 17 β -estradiol in the Ovariectomized Mouse Uterus

Lee JY(이지윤)^{1,2}, Hong SH^{1,2}, Nah HY², Kim JH², Kim SH², Chae HD²,
Kim CH², Kang BM², Kim MK¹

¹Department of Life Science, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

²Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, University of Ulsan,
Asan Medical Center, Seoul 138-736, Korea

Objectives: The early response genes induced by steroid hormones include important regulatory genes, such as transcriptional regulatory factors. The aim of this study was to determine the expression of Fos-related antigen (Fra-1, Fra-2) mRNA gene and the localization of protein regulated by 17 β -estradiol in ovariectomized mouse uterus.

Materials and Methods: Ovariectomized (Ovx) ICR mice were treated with injection of 17 β -estradiol (300 ng/mouse) that was dissolved in sesame oil vehicle, and they received a single S.C (0.1 ml/mouse) injection. A pure estrogen receptor (ERs) antagonist, ICI 182780 (500 μ g/mouse) was injected 30 min before steroid treatment. Mice were killed 0, 2, 4, 6, and 12 hr after estrogen injection by cervical dislocation. The levels of transcription factors were examined by reverse transcription - polymerase chain reaction (RT-PCR). To determine whether these mRNAs were translated, cellular distribution of these protein was investigated by immunohistochemistry.

Results: The levels of Fra1 and Fra2 were peaked at the time of 4 and 2 hr in the uterus of Ovx mouse