

결과 1, 2주령에서는 미약하게 발현되었고 4주령부터 발현량이 급격히 증가하여 성체와 큰 차이가 없었다. Semiquantitative RT-PCR법과 real time PCR법을 비교할 때 주령별 발현 양상은 유사하였으나 4주령과 성체에서는 두 시험법 사이에 양적 차이가 있었다. 면역조직화학염색 결과 Leydig cell에서 강한 발현이 확인되었다. Western blot 상에서 분자량 60 및 53 kDa의 항원이 검출되었으며 발현 양상은 mRNA와 유사하였다. 3주령 미성숙 개체에 hCG를 주사하였을 때 CB1의 발현이 대폭 감소한 반면 성체의 정소로부터 분리한 Leydig cell-enriched culture에 hCG를 처리한 결과 배양체의 CB1의 발현이 소폭 증가 증가하였다.

Conclusions: 정소에서 발현되는 CB1 mRNA 및 단백질은 출생 후 성적 성숙에 따라 증가하며 단백질 항원은 여러 분자량 형태가 확인되므로 post-translation 수준의 변형이 수반되는 것으로 사료되며 이러한 생화학적 변화와 CB1의 기능과의 연관성은 추후 연구되어야 할 것이다. 정소의 발달 과정에서 출현하는 Leydig cell은 스테로이드 생성 활성의 차이가 존재한다. 본 연구결과 사춘기 이후 정소 내 CB1은 주로 Leydig cell에서 발현되므로 adult type Leydig cell에서 LH 수용체 신호전달을 통한 Leydig cell steroidogenesis 또는 생성된 steroids의 분비 활성 등에 CB1을 통한 조절 가능성이 있는 것으로 추측된다. LH는 Leydig cell에서 CB1의 발현을 증가시키는 것으로 사료된다. 따라서 CB1은 LH에 의한 Leydig cell 기능의 강화에 대한 억제신호전달 기구로 작용하는 것으로 사료된다. 향후 Leydig cell에서 일어나는 LH 수용체 하위 신호전달 체계에서 CB1 신호전달과의 cross talk 수준에서 마리아나 흡연에 의한 정소의 내분비학적 기능의 변동을 설명할 수 있을 것이다.

P-32 Effects of 3,3',4,4',5-pentachloro Biphenyl (PCB126) on the Expression of the Tight Junction Genes in Cultured Mouse Neonatal Testis

MC Gye

Department of Life Science, Hanyang University, Korea

Background & Objectives: In an effort to uncover the spermatogenic impairment by the polychlorinated biphenyls (PCBs), the expression of tight junctions (TJs) genes important for the formation of the blood testis barrier (BTB) were examined following the 3,3',4,4',5-pentachloro biphenyl (PCB126) treatment in cultured neonatal testis in mice.

Method: Mouse neonatal testes (PND1) were subjected to organ culture. 3,3',4,4',5-pentachloro biphenyl (PCB126) was treated at 1, 10, 100, and 1000 nM. The expression of tight junctions (TJs) genes including occludin, claudin-1, and claudin-11 was analyzed at the end of culture by semiquantitative RT-PCR following the optimization of the procedure.

Results: At 4 days (D4) after 10 and 100 nM PCB126 treatment the expression of claudin-11 was significantly increased when compared with vehicle control. In contrast no difference in occludin and claudin-1 expression was found among the experimental group. On D8, 100 nM PCB126 significantly increased the expression of claudin-11 but not occludin and claudin-1. 1 μ M PCB126 treatment significantly decreased expressions of occludin and claudin-1, suggesting the general toxic effect on the Sertoli cell.

Conclusions: Because PCB126 does not alter the proliferative activity of spermatogenic cells and Sertoli cells in neonatal testis, it is likely that increase in the expression of claudin-11 by low dose of PCB126 may attribute to the alteration of the Sertoli cells differentiation in testis. It also emphasized that PCB126 might have differentially affected the transcription of TJ genes in Sertoli cells. In conclusion, this result suggests that the structure of TJ may be targeted by PCB126 in neonatal testis in mice and that co-PCB is potentially harmful to spermatogenesis by alteration of the development of BTB.

P-33 수컷 흰쥐의 성적 성숙과정 중 정소에서의 Steroidogenic Acute Regulatory Protein 발현에 대한 연구

MDplus 불임유전학연구소¹, 미래와희망산부인과², 삼육대학교 동물자원학과³, 서울여자대학교 생명공학과⁴

이재호^{1,4} · 정윤진¹ · 이주희¹ · 최규원¹ · 이상진³ · 김해권⁴ · 이승재^{1,2}

Background & Objectives: 성스테로이드호르몬은 사춘기 시기에 생식기관의 성적 성숙과 생식소내의 생식세포의 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 사춘기의 성 호르몬 합성의 조절이 잘 알려져 있지 않지만, 최근 steroidogenic acute regulatory protein (StAR)이라는 단백질이 steroid 합성 초기단계에 관여하는 것으로 보고되고 있다. 한편, 남성호르몬의 합성장소인 Leydig cell에서도 StAR의 발현이 보고된 바 있다. 이에 본 저자들은 흰쥐 정소의 성 성숙과정 중 조직학적 변화와 정소조직과 혈중 남성호르몬의 합성분비 및 StAR의 발현과의 상관관계를 알아보고자 행하였다.

Method: 본 연구는 생후 8일부터 52일까지 4일 간격으로 성적 성숙 중인 수컷 흰쥐를 사용하였다. 호르몬 측정을 위하여 이들 흰쥐의 혈액과 정소조직을 채취하였고, 분리된 혈청으로부터 난포자극호르몬 (FSH)과 황체형성호르몬 (LH), 남성호르몬 (Testosterone)을 측정하였고, 정소조직내의 남성호르몬의 양 측정을 위해서는 정소조직을 완충용액 내에서 마쇄 원침 후 상등액을 취하여 호르몬 양을 측정하였다. 조직 분화를 관찰하기 위한 정소는 크기, 무게를 측정하고, 조직절편을 H/E 염색법으로 염색 후 정소조직내의 세포분화과정을 관찰하였다. 한편 정소조직내의 StAR의 발현 부위와 양태를 알아보기 위하여 정소 조직절편에 StAR 항체를 이용하여 조직면역염색과 western blotting을 시행하였다.

Results: 정소의 발달은 성숙주기에 따라 일정하게 증가하였다. 정소 내의 남성호르몬은 초기단계에선 35~85 ng/ml 정도가 분비되었고, 감수분열 단계에선 12~22 ng/ml로 분비가 감소되었고, 정자형성이 이루어지는 시기에는 31~120 ng/ml의 농도로 분비되는 것을 확인하였다. 또한 StAR에 대한 항체가 정소내 Leydig cell에 존재하는 것을 확인하였으며, 정소내 StAR 발현양태가 남성호르몬의 분비양태의 증감과 유사하게 나타났다.

Conclusions: 정소내의 남성호르몬의 분비는 성 성숙 시기에 따라 변화하고, 남성호르몬의 분비양태는 StAR발현과 연관되어 있었다. 따라서 정소내 남성호르몬의 합성에 StAR가 관련이 있을 것으로 사료된다. 이런 정소 내에 남성호르몬 분비에 연관된 StAR 단백질의 조절기작에 대한 연구가 진행되어야 할 것이다.