

생쥐 정소에서 Bisphenol A 투여에 따른 ATF4 전사조절인자 발현의 유도

김다혜, 계명찬
(한양대학교 생명과학과)

에스트로젠성 내분비계장애물질인 Bisphenol A (BPA)는 정자형성 장애를 유발하며 환경 내 BPA 노출은 다양한 동물에서 남성생식기능의 장애를 유발한다. 정소 조직에서 Leydig cell과 Germ cell은 estrogen 생성에 관여하는 aromatase와 estrogen receptor를 발현한다. Activating transcription factor 4 (ATF4)는 basic leucine zipper transcription factor로 ATF/cAMP responsive element-binding (CREB) protein family의 일종이다. ATF4는 뇌, 심장, 간, 비장, 신장, 폐, 흉선, 정소 등 다양한 조직에서 발현되며 세포의 증식과 분화 유도에 관여한다. 스테로이드 호르몬 처리 시 다양한 heat shock genes들이 활성화 되어 세포에 스트레스 반응을 유발한다. Heat shock protein (HSP)들은 스테로이드 수용체와 heteromeric complexes를 형성하여 스테로이드의 생체 반응 조절에도 관여하는 것으로 알려져 있다. 정소 조직에서 생체 estrogen 및 estrogen성 내분비계장애물질에 의한 남성생식기능의 변화가 발생하는 분자적 기작은 잘 알려져 있지 않았다. 본 연구는 이들 인자에 의한 정자형성 장애 기작의 연구의 일환으로 estrogen 또는 BPA를 투여한 생쥐 정소 조직에서 ATF4, HSP70.1, HSP70.3 mRNA의 발현을 분석하였다.

생 후 5 개월 령의 수컷 생쥐에 BPA (20, 200, 1000 mg/kg B.W./day for 4 weeks)를 경구투여하거나 BPA (1 mg/kg B.W.) 또는 17beta estradiol (300, 1000 ng/head)을 1회 복강 주사하였다. 마지막 투여 후 24시간에 정소를 획득하여 total RNA를 분리하고 semiquantitative RT-PCR법으로 상기 유전자의 발현을 분석하였다. 이 때 각각의 유전자에 대한 primer의 증폭반응을 최적화 분석하였고, 내부 대조 유전자로 rpl7 mRNA의 발현을 분석하였다. 한편 면역조직화학 염색법을 이용하여 정소조직 내에 ATF4 단백질의 발현을 확인하였다.

결과: Estrogen 또는 BPA를 처리한 생쥐 정소에서 ATF4 및 HSP70.1 mRNA 발현이 유의하게 증가되었다. 면역조직화학 염색결과 ATF4는 주로 세정관 내 pachytene spermatocytes에서 다량 발현되었고 spermatogonia 및 Sertoli cell 및 간충조직의 Leydig cell에서도 발현되었고 세포 내 발현 부위는 주로 핵에서 관찰되었다. E2 또는 BPA 투여 정소 조직 내 ATF4의 면역활성의 증가를 확인하였다.

결론: 정소 조직 내 체세포인 Leydig cell 및 Sertoli cell과 세정관 내 초기 정모세포에서 ATF4가 다량 발현 될 뿐 아니라 estrogen과 BPA에 의해 ATF4의 발현이 증가되므로 ATF4는 이들 세포에서 estrogen 및 xenoestrogen에 의한 전사적 활성화

조절에 관여하는 것을 알 수 있다. HSP70.1 또한 유사한 발현 양상을 보이므로 ATF4-HSP70.1-estrogen receptor 사이의 단백질 간 상호작용은 BPA와 같은 에스트로젠성 내분분비계 장애물질에 의한 정자형성 장애에 관여하는 유전자의 전사활성 조절에 관여하는 것으로 사료된다.

Key words) ATF4, heat shock protein70, estrogen, bisphenol A, testis, mouse