

백서에서 배란 조절 유전자에 관한 연구 Genes Controlling Ovulatory Process in the Rat

전남대학교 생명과학기술학부 & 호르몬연구센터 생식생물학 연구실

전 상 영

I. 서론

포유류 난소의 난포 (follicle)는 생식세포인 난자 (oocyte)를 둘러싸고 있는 체세포, 즉 과립막세포 (granulosa cells)와 난포막세포 (theca cells)로 구성된 조직 단위를 지칭한다. 난포의 성장은 난자와 체세포의 긴밀한 상호작용 하에 조절되며 둘 중 하나라도 이상이 생기면 그 난포는 퇴화되어 죽는다. 난포는 성장 단계에 따라 원시난포 (primordial follicle), 미성숙난포 (immature follicle) 및 배란전난포 (preovulatory follicle)로 구분할 수 있으며, 성장 단계 중 일어나는 중요한 현상에는 난포성장 개시 (initiation), 모집 (recruitment), 선발 (selection) 및 배란 (ovulation) 등이 포함된다.¹ 난포 성장은 뇌하수체에서 분비되는 생식소자극호르몬인 follicle stimulating hormone (FSH)와 luteinizing hormone (LH) 뿐만 아니라 난포에서 분비되는 각종 난소국부호르몬들에 의해 통합적으로 정교하게 조절된다. 난소국부호르몬들은 일반적으로 난포성장 과정에서 특이한 시기에만 발현되어 특정한 기능을 수행함으로써 난포가 배란을 성공적으로 이룰 수 있도록 도와준다.

배란전난포는 LH surge를 받으면 난포의 세포층이 분해, 파열되어 난자가 나팔관으로 들어가 수정을 위한 준비를 하는 배란 (ovulation)이 일어난다.² 배란은 생체 내에서 생리적으로 조직이 생식주기에 따라 파열되었다가 재 조합하는 유일무이한 현상이며, 단태성 동물에서는 수십만 개의 난포 중 하나만이 선발되어 배란에 사용된다. LH surge에 의해 유도되는 배란에는 4가지 독립적 현상, 즉, 난자성숙 (oocyte maturation), 난포파열 (follicle rupture), 난자주위세포 확장 (cumulus expansion) 및 황체형성 (corpus luteum formation)이 포함된다 (그림 1 참조). 배란의 특성은 여러 인자가 연속적 활성화를 이루며, 이러한 연속적 활성화 경로가 여러 개 합쳐져야 비로소 성공적인 배란이 완성된다는 점이다. 80년 중반부터 배란 기전에 관한 연구가 활발히 진행되었으며, 90년 초반까지는 주로 난포벽을 형성하고 있는 구조 연구 및 분해 되는 과정을 규명하는데 초점을 맞추었다. 90년대 초반부터는 배란을 조절하는 유전자 클로닝 및 그 작용 기전을 분석하는 연구가 주를 이루었으며, 최근에는 특히 전사조절인자의 역할 규명에 관한 연구가 활발히 수행되고 있다.

II. 난포파열 기전

배란전난포는 난소의 extracellular matrix (ECM)에 덮혀져 있으며, 일부분만이 난소 표면을 향해 돌출해 있다. 난소 세포는 난소 표면으로부터 몇 겹의 세포층으로 나눌 수 있다: (가) collagen IV로 구성

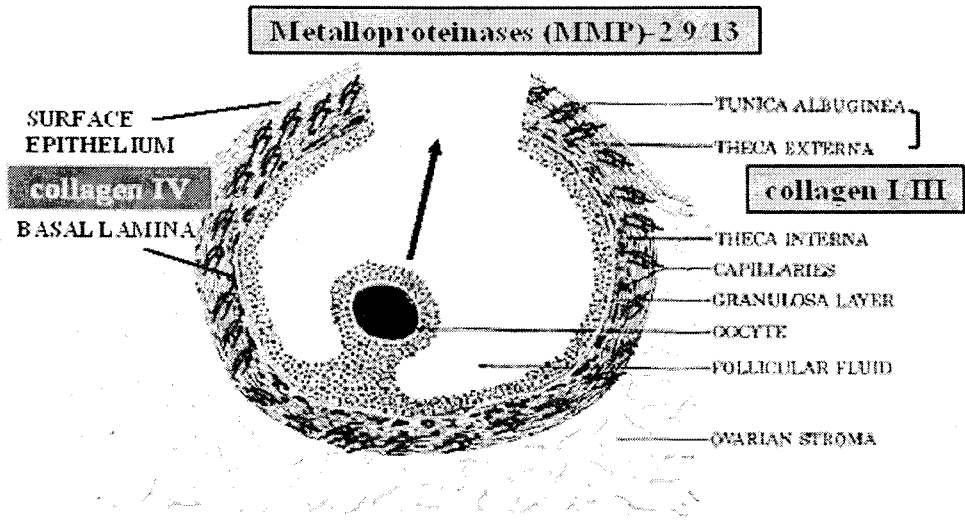
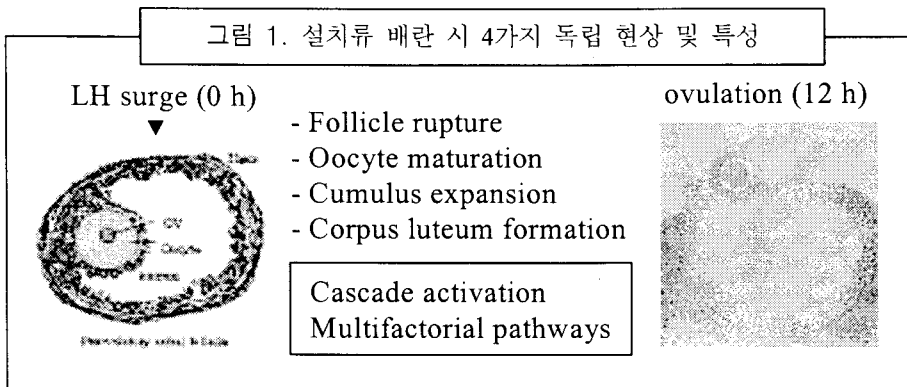


그림 2. 포유류 난소에서의 배란 장면

된 단층의 surface epithelium; (나) collagen I/III로 구성되어 ECM의 주를 이루는 tunica albuginea와 theca externa (외난포막세포) (난포벽에서 가장 단단한 부위); (다) 분화된 fibrocytes와 혈관으로 형성되어 스테로이드 합성이 활발한 theca interna (내난포막세포); (라) collagen IV로 난포막세포와 구분되어 있으며 난포액 및 난자를 둘러싸고 있는 granulosa cells (과립막세포). 배란 과정 동안 가장 현저한 변화는 ECM의 주를 이루는 tunica albuginea와 외난포막세포에서 일어난다. 배란이 진행됨에 따라 ECM의 collagen이 분해되기 시작하며, 혈관이 침투하면서 적혈구 및 백혈구 등의 혈액세포가 난포벽 내로 침투하여 난포의 수종을 유발한다 (그림 2).

난포벽과열에 대한 기전은 헤파세포에 존재하는 collagen 분해에 초점을 두고 연구되고 있다.³ 특히 collagen 분해에 관여하는 단백질분해효소인 tPA와 collagenase는 배란 과정 중 필요한 시기에만 국한되어 활성화되는 것으로 알려져 있다. 또한 이들의 억제물질인 PAI나 TIPM의 활성화도 tPA와 collagenase의 농도에 비례하여 섬세하고 세포특이적인 유형으로 이루어짐으로써 난포벽과열에 필요한 난

포만 선택적으로 골라 그 벽을 분해 시킨다.

III. 배란 조절인자

배란은 오케스트라 연주단처럼 각종 인자들의 상호작용 하에 이루어지는 복잡한 현상이다. 이러한 복잡한 현상에서 도출할 수 있는 사실은 각 인자가 특정한 시기에만 발현되어 하나의 cascade를 이루며, 여러 cascade가 복합적으로 배란을 조절한다는 점이다. 궁극적으로는 타 부위의 조직에는 영향을 미치지 않고 단지 난포파열만, 마치 오케스트라 연주단의 지휘자처럼, 모든 인자들의 상위에서 통합적으로 조절하는 인자를 발굴하는 작업이 목표일 것이다.

1. Progesterone receptor (PR)

전사인자인 PR의 발현이 LH/hCG에 의해 배란전난포의 과립막세포에 일시적으로 유도되며, 최근 들어 PR knock-out mice가 제조되었으며, 배란이 전혀 일어나지 않는 이유로 생식 능력이 결여된 현상을 확인하면서 PR의 작용 및 표적유전자 탐색에 연구의 초점을 두고 있다.⁴

2. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)

PACAP은 신경펩타이드호르몬이며, 난소에서는 hCG에 의해 PACAP 유전자 및 단백질이 배란전난포의 과립막세포에서 일시적으로 (6시간에 최고치) 발현되었다.⁵ 또한, PACAP 수용체도 PACAP과 동일한 발현 양상을 보여 PACAP이 autocrine 작용으로 배란을 조절하리라는 가설을 얻을 수 있었다.

3. Prostaglandin endoperoxide synthase-2 (PGS-2)

PGS-2 knock-out mice는 난포성장은 정상인 반면 배란이 일어나지 않아 생식 능력이 없음이 확인되었다.⁶ 흥미로운 점은 난자를 감싸고 있는 cumulus 세포의 expansion에 이상에 생겨 배란이 일어나지 않는다는 사실이다.

4. CCAAT/enhancer-binding protein β (C/EBP β)

C/EBP β 는 basic leucine zipper를 지닌 전사조절인자로서, C/EBP β knock-out mice는 배란에 이상이 생겨 황체가 형성되지 않아 sterile이며, PGS-2 및 P450 aromatase 유전자 발현이 wild type mice에 비해 배란 과정 동안 높은 수준으로 장시간 동안 유지되는 현상을 보였다.⁷

5. Cyclin D₂

Cyclin D₂ knock-out mice는 황체는 형성되지만 난포벽의 파열이 일어나지 않아 luteinized unruptured follicle syndrome과 유사한 난소 이상 현상을 보였다.⁸ 또한, 성선자극호르몬에 의해 난포가 정상적으로 분화되지만 과립막세포의 수가 현저히 감소되었으며, 이러한 사실은 성장 중인 난포의 과립막세포 수가 배란에도 영향을 미칠 수 있다는 가능성을 시사하고 있다.

6. Receptor interacting protein 140 (RIP140)

RIP140는 호르몬의존 cofactor로 알려졌으며, RIP140 knock-out mice는 난자성숙이나 황체형성은 정

상이며 단지 난포파열만 일어나지 않아 luteinized unruptured follicle syndrome과 유사한 phenotype을 보이고 있다.⁹

7. Proprotein convertase 5 (PC5)

Subtilisin/kexin-like serine proteases 계열에 속하는 PC는 PC1-7 까지 클로닝 되었다. 난소에서는 PC5만이 LH/hCG에 의해 배란전난포의 과립막세포에 일시적으로 발현됨이 확인되었다. tPA/uPA가 결핍된 형질전환생쥐에서도 배란이 정상적으로 이루어지는 것으로 미루어 PC5가 MMP 등을 활성화시키는 주요 protease일 가능성도 존재한다.

8. Nerve growth factor inducible-B (NGFI-B)

Mouse에서는 Nur77이라 지칭되는 NGFI-B는 고아핵수용체로써 초기발현 전사인자로 알려져 있다. 난소에서는 NGFI-B가 난포막세포에 발현되다가 LH surge의 자극을 받으면 1시간 내로 급격히 배란전 난포의 과립막세포에 그 발현이 유도되어 6시간 후 사라진다.¹⁰ 흥미로운 사실은 LH 수용체의 신호전달경로 중 atypical PKC에 속하는 PKC ζ 활성화가 NGFI-B 발현에 필요하다는 사실이다. 배란 과정에서 새로운 신호전달경로인 PKC ζ 에 의한 cascade가 어떠한 생리적 기능과 연관되어 있는지를 규명하는 연구가 남아있다. 또한 LH에 의한 PKC ζ 의 활성화 경로는 지금까지 전혀 알려지지 않았기 때문에 이에 대한 연구는 배란 조절 기전을 밝히는데 새로운 지표를 부여할 것이다.

IV. 임상적 응용성

생식생물학 연구분야는 기초와 임상연구 사이에 밀접한 연관성을 지닌 채 발전되어 왔으며, 배란 기전을 이용한 기술이 기반을 이루고 있다. 대표적인 예로, 현대 의학의 쾌거 중의 하나로 불임 환자의 불행을 해결해 주고 있는 체외수정기술의 개발을 들 수 있다. 그러나 체외수정기술은 성선자극호르몬 투여로 과배란을 유도할 때 파생하는 ovarian hyperstimulation syndrome으로 인한 환자의 고통 수반 및 고비용 등의 문제점을 여전히 지니고 있다. 배란 조절 기전을 규명하여 배란에 특이한 인자를 발굴하는 작업은 이러한 체외수정기술의 문제점을 해결할 수 있는 열쇠가 될 것이며, 또한 배란에 이상이 생겨 발생하는 anovulation, polycystic ovary syndrome, luteinized unruptured follicle syndrome 등 여성불임을 치료하는 제품 개발을 위해 중요한 단서를 제공할 것이다.

현재 세계적으로 널리 시판되고 있는 경구피임약은 스테로이드호르몬 복합체로써 배란 시기를 인위적으로 조절하는 작용에 그 기반을 두고 있지만, 조직특이성의 결여 때문에 혈액응고, 빈혈증세 등 여러 가지 부작용을 수반하는 문제점을 지니고 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 배란될 난자만 선택적으로 골라 성숙을 억제하거나, 난포파열만 특이적으로 억제함으로써 피임을 유도할 수 있는 방안이 강구되고 있다. 좋은 예로, phosphodiesterase 3에 특이한 inhibitor의 주사가 실험동물의 난자성숙 및 배아 형성을 방지하는 결과를 얻었으며, 이를 토대로 새로운 피임약 개발의 가능성을 제시한 최근 연구보고를 들 수 있다.¹¹ 마찬가지로, 배란될 난포에만 선택적으로 작용하여 난포파열을 방지하는 인자를 발굴하면 부작용을 수반하지 않는 새로운 경구피임약의 후보물질이 될 것이다.

참고문헌

1. Richards JS. Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endoc Rev* 1994; 15: 725-51.
2. Robker RL, Russell DL, Yoshioka S, Sharma SC, Lydon JP, D'Malley BW, Espey LL, Richards JS. Ovulation: a multi-gene, multi-step process. *Steroids* 2000; 65: 559-70.
3. LeMaire WJ. Mechanism of mammalian ovulation. *Steroids* 1989; 54: 455-69.
4. Lydon JP, De Mayo F, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA, Shyamala G, Conneely OM, O'Malley BW. Mice lacking progesterone receptor exhibit reproductive abnormalities. *Genes Dev* 1995; 9: 2266-78.
5. Lee J, Park HJ, Choi HS, Kwon HB, Lee BJ, Choi WS, Arimura A, Chun S-Y. gonadotropin stimulation of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) messenger ribonucleic acid in the rat ovary and the role of PACAP as a follicle survival factor. *Endocrinology* 1999; 140: 818-26.
6. Lim H, Paria BC, Das SK, Dinchuk JE, Langenbach R, Trzakos JM, Dey SK. Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice. *Cell* 1997; 91: 197-208.
7. Sterneck E, Tessarollo L, Johnson PF. An essential role for C/EBP β in female reproduction. *Genes Dev* 1997; 11: 2153-62.
8. Sicinski P, Donaher P, Parker S, et al. Cyclin D₂ is an FSH-responsive gene involved in gonadal cell proliferation and oncogenesis. *Nature* 1996; 384: 470-4.
9. White R, Leonardsson G, Rosewell I, Jacobs MA, Milligan S, Parker M. The nuclear receptor co-repressor Nrip1 (RIP140) is essential for female fertility. *Nature Med* 2000; 6: 1368-74.
10. Park JI, Park HJ, Choi HS, Lee K, Lee WK, Chun S-Y. Gonadotropin regulation of NGFI-B messenger ribonucleic acid expression during ovarian follicle development in the rat. *Endocrinology* 2001; 142: 3051-9.
11. Wlrsma A, Hirsch B, Tsafirri A, Hanssen RGJM, Van de Kant M, Kloosterboer HJ, Conti M, Hsueh AJW. Phosphodiesterase 3 inhibitors suppress oocyte maturation and consequent pregnancy without affecting ovulation and cyclicity in rodents. *J Clin Invest* 1998; 102: 532-7.