

생쥐 정소조직 내 Aquaporin9의 발현: Laser Captured Microdissection Study

강희정 · 강현희 · 계명찬

한양대학교 생명과학과

Background & Objectives: Aquaporin (AQP) family protein은 일종의 수분 전달 통로 역할을 하는 단백질로 AQP를 통한 수분의 조절은 삼투압을 통한 물의 이동과 함께 조직 내 정상적인 수분의 항상성 유지에 필수적이다. 11종의 AQPs 가운데 AQP9은 물 뿐 아니라 carbamide, polyol, purine, pyrimidine, urea, glycerol 등의 이동에 관여하며 정소 등 남성생식수관에서 발현된다. 본 연구는 정자형성 및 steroid 생성 등 정소의 주요 기능에 AQP9의 역할을 규명을 위한 목적으로 생쥐에서 출생 후 성체에 이르는 동안 AQP9의 발현, Leydig cell의 분화에 따른 AQP9의 발현 및 그 조절을 조사하였다.

Method: 1, 2, 4, 8주령의 생쥐 정소로부터 RT-PCR 및 real time PCR 법으로 AQP9 mRNA의 발현을 분석하였다. 동일한 조직으로부터 단백질을 추출하여 Western blot 및 IHC로 AQP9 단백질의 발현을 조사하였다. Laser Captured Microdissection을 이용하여 간충조직과 세정관 상피를 구분하여 절개하여 RT-PCR법으로 AQP9 mRNA 발현을 조사하였다.

Results: 1, 2, 4, 8주령의 정소로부터 semiquantitative RT-PCR 및 real time PCR 법으로 AQP9의 발현을 분석한 결과 1주령에서는 발현되지 않았고 2주령에서는 미량이 발현되기 시작하였고, 4주령에서는 성체의 1/2수준으로 발현량이 급격히 증가하였고 성체에서는 다량으로 발현됨이 확인되었다. 면역조직화학염색 결과 주로 Leydig cell에서 AQP9의 발현이 확인되었으며 미성숙 개체에서 발현보다 강한 신호가 성체의 Leydig cell에서 검출되었다. Laser Captured Microdissection (LCM)을 이용하여 간충조직과 세정관을 구분하여 AQP9의 발현을 조사한 결과 주로 간충지에서 발현이 확인되었으며 세정관내에서도 발현이 검출되었다.

Conclusions: Leydig cell은 fetal 및 adult type 2종의 세포가 정소발달 과정에 출현, 사멸, 분화하며 이들은 각기 정소발달, 성숙과 정자형성에 필요한 steroidogenesis에 관여한다. 특히 정소 조직 전체 뿐 아니라 간충지 조직 내 AQP9의 발현은 adult type Leydig cell의 기능적 marker인 17beta HSD의 발현 양상과 같게 나타나므로 성적 성숙에 따른 정소 내 AQP9의 발현의 증가는 adult type Leydig cell의 분화와 관련된 것으로 추측된다. 결론적으로 출생 후 정소조직의 AQP9 발현양상의 분석 결과 AQP9은 Leydig cell의 기능적 분화와 밀접히 관련된 것으로 사료되며 LH 수용체 하위 신호전달과정을 통해 Leydig cell의 steroidogenesis 또는 생성된 steroids의 분비에 요구되는 수분 및 중성용질의 이동에 관여하는 것으로 사료된다.