

P-16

생쥐 정소에서 Cannabinoid 수용체의 발현: Laser Captured Microdissection Study

강현희 · 강희정 · 계명찬

한양대학교 생명과학과

Background & Objectives: 현대사회에서 다양한 마약의 사용이 팽창하고 있으며 다양한 신체적, 정신적 부작용을 양산하고 있다. 대마초는 대표적인 마약류로 cannabinoid 수용체를 통해 항전신성 효과를 발휘한다. Cannabinoid 수용체는 뇌에서 주로 발현되는 CB1 receptor와 면역계에서 주로 발현되는 CB2 receptor 2가지가 있으며 7개의 막관통부위를 갖는 전형적인 GPCR이다. CB1 receptor는 G(i/o)-proteins과 결합하여 G(i/o)-coupled receptor를 통한 신호전달을 억제할 뿐만 아니라 Na⁺/H⁺ exchanger를 활성화시키며, N-type Ca²⁺ channel을 조절한다. CB1을 경유한 만성적인 agonist 처리 시 adenylylase cyclase (AC)활성이 증가하는 AC superactivation이 관찰되며 마약중독에 관련된다. 한편 생체 내에 존재하는 cannabinoid의 일종인 anandamide는 CB1과 결합하여 생식기능에 조절 작용을 한다. 본 연구는 cannabinoid가 남성생식능력의 변화에 미치는 영향을 분자수준에서 규명하기 위한 연구의 일환으로 정소에서 CB1 발현을 조사하였다.

Method: 1, 2, 4, 8주령의 생쥐 정소로부터 RT-PCR 및 real time PCR 법으로 CB1 mRNA의 발현을 분석하였다. 동일한 조직으로부터 단백질을 추출하여 Western blot 및 IHC로 CB1 단백질의 발현을 조사하였다. Laser Captured Microdissection을 이용하여 간충조직과 세정관 상피를 구분하여 절개하여 RT-PCR 법으로 CB1 mRNA 발현을 조사하였다.

Results: 1, 2, 4, 8주령의 정소로부터 RT-PCR 및 real time PCR 법으로 CB1 mRNA의 발현을 분석한 결과 1, 2주령에서는 미약하게 발현되었고 4주령부터 발현량이 급격히 증가하여 성체와 큰 차이가 없었다. Western blot 상에서 분자량 60 및 53 kDa의 항원이 검출되었으며 발현 양상은 mRNA와 유사하였다. 면역조직화학염색 결과 Leydig cell에서 강한 발현이 확인되었고 Sertoli cell 및 germ cell에서도 미약한 신호를 검출하였다. 성체의 정소 조직 절편을 LCM을 이용하여 interstitium과 세정관으로 절취한 후 realtime PCR 법으로 분석한 결과 주로 interstitium에서 다량의 mRNA가 검출되었고 세정관에서도 소량 검출되었다.

Conclusions: 정소의 발달 과정에서 fetal 및 adult type Leydig cell이 순차적으로 출현하며 이들 사이에는 LH 수용체 등을 포함한 다양한 기능적 유전자 발현 및 스테로이드 생성 활성의 차이가 존재한다. 따라서 adult type Leydig cell에서 LH 수용체 신호전달을 통한 Leydig cell의 steroidogenesis 또는 생성된 steroids의 분비 활성 등에 CB1을 통한 조절 가능성이 있는 것으로 추측된다.