

P-43 Effect of Xenoestrogens on Cell Cycle Regulator and Apoptosis in Testicular Cells

김슬기¹ · 안수연² · 박용석³ · 서주태³ · 강희규⁴ · 계명찬¹ · 윤용달¹ · 이호준²

한양대학교 생명과학과¹, 을지의대 생리학교실², 성균관대의대 삼성제일병원³,
서울보건대학교 임상병리과⁴

Background & Objectives: 대부분 알려진 내분비계 장애물질들은 여성호르몬 또는 반여성호르몬적 작용능력을 가지며, 세포의 증식에 독성적인 작용을 유발하여 세포대사에 영향을 미치거나 직접적으로 작용하여 세포의 자연사를 유발하는 것으로 알려져 있다. 이러한 현상은 생식호르몬의 표적기관이나 이들 세포에 직간접적으로 작용하여 단계별로 작용하는 유전자들의 발현을 조절함으로써 야기하며 호르몬과 마찬가지로 소량으로도 생체 내 생식기관의 기능을 교란시키는 것으로 알려지고 있다. 본 연구는 세포주기와 분화 조절인자인 cyclin D와 E, Cdk 2와 4, 그리고 p21와 p27 (CKI)의 발현양상을 조사함으로써, 내분비계 장애물질이 인간의 정소세포의 세포주기와 분화에 미치는 영향을 확인하고, 그 작용기전을 규명하고자 하였다.

Method: 인간의 정소세포의 체외배양법을 이용하여 polychlorinated biphenyls (PCBs)를 처리하여 생존률과 증식률을 조사하고, 세포주기와 분화 조절인자인 cyclin D와 E, Cdk 2와 4, 그리고 p21와 p27 (CKI)의 유전자 발현양상을 RT-PCR 방법을 통하여 확인하였다. 또한, OP을 처리한 쥐의 정소에서 발현되는 세포조절인자를 확인하고 세포사멸 간의 관계를 규명하기 위해서 TUNEL을 이용하여 정소세포의 세포사멸을 확인하였다.

Results: 인간의 정소세포에 내분비계 장애물질을 처리시, 세포주기조절인자 중 p27의 발현의 증가와, 정소세포의 농도 의존적인 세포사멸의 증가를 확인할 수 있었다. 세포사멸은 세포조절인자와 밀접한 관계를 가지거나 혹은 이와 상관없이 세포사멸이 독립적으로 유발되기도 하는데, 본 연구결과와 세포사멸의 증가는 또한 세포사멸 유도인자들과 관련이 있을 것으로 사료된다.

Conclusions: 결론적으로 내분비계 장애물질은 Sertoli 세포에 작용하여 세포주기를 억제하고 농도 의존적으로 세포사멸을 증가시켜 정소의 발생과 분화에 직접적인 영향을 미치게 되며 결과적으로 정소의 가장 중요한 기능인 정자형성과정에 영향을 줄 것으로 사료된다.

본 과제는 보건의료기술개발사업 02-PJI-PG10-20707-0001의 연구비 지원에 의해 이루어졌음.

P-44 생쥐의 자궁에서 생식주기에 따른 Claudins 발현과 난소호르몬에 의한 발현 조절

김 다 혜 · 계 명 찬

한양대학교 생명과학과

Background & Objectives: 상피조직의 apical side에 형성되는 밀착결합 (Tight Junction, TJ)은 혈액-조직 사이의 확산장벽을 형성하여 조직 특이적 특수 환경 조성에 중요한 역할을 한다. 밀착결합은

occludin, claudin 등의 integral membrane protein과 ZO-1, JAM 등의 plaque protein으로 구성되며 세포질 골격 및 다양한 신호전달 분자와 복합체를 형성하므로 다양한 조직에서 세포 내외부의 신호에 반응하여 그 구조와 기능이 역동적으로 조절된다. 자궁내막은 생식주기와 착상을 위한 준비과정에서 주로 난소 스테로이드의 영향 하에 구조 및 기능적 분화를 진행한다. 자궁내막에 존재하는 상피와 혈관내피세포에서 발현되는 밀착결합은 특히 착상의 준비와 진행에 필요한 환경 조성에 중요한 역할이 있을 것으로 추측되고 있으나 현재까지 이 시기 동안 자궁내막의 밀착결합의 분자적 구조 및 난소스테로이드에 의한 조절은 잘 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 생쥐 자궁내막의 분화과정에서 밀착결합 유전자인 claudin 계열의 유전자 3종의 발현과 난소 스테로이드에 의한 유전자의 발현조절을 조사하였다.

Method: 생후 8주령의 성숙한 암컷 생쥐의 발정 주기를 질상피도말법으로 검색하여 주기별로 자궁 조직을 획득하였다. 한편 암컷 생쥐에서 난소를 절제한 후 estrogen과 progesterone을 투여한 후 자궁 조직을 획득하였다. 조사대상 밀착결합 유전자로는 상피에서 주로 발현되는 claudin-1 및 -11, 혈관내피세포에서 발현되는 claudin-5을 확인하였다. 자궁조직에서 에스트로젠에 의한 영향의 확인을 위해 lactoferrin의 발현을 확인하였다. 유전자발현은 최적화된 semiquantitative RT-PCR법으로 분석하였다.

Results: Claudin-1 mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 높았으며 이후 점진적으로 감소하여 estrous stage에 가장 낮았고 metestrous stage에는 약간 증가 하였다. Claudin-11 mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 높았으며 proestrous stage에 급격히 감소하여 estrous stage에 가장 낮았고 metestrous stage에는 다시 증가 하였다. Claudin-5 mRNA 발현은 diestrous stage에 가장 높았으며 이후부터 약간 감소한 상태를 유지하였다. 17 beta estradiol (E2) 또는 progesterone (P4)의 투여한 난소절제 생쥐의 자궁에서 claudin-1, 5, 11의 mRNA 발현이 비투여 대조군보다 감소하였으며 E2 투여 후 P4를 투여한 경우 (E2+P4) E2 단독 처리군보다 발현이 증가하였다.

Conclusions: 생쥐의 자궁에서 claudin-1, -5, -11 발현은 자궁 내막상피와 혈관내피 세포 사이의 밀착결합에 의한 세포 간 확산장벽의 형성과 기능발휘에 중요한 요인으로 사료된다. 황체기 (분비기) 및 난소절제 E2+P4 처리군에서 claudins 발현이 증가하며, 난포기 (증식기) 및 난소절제 E2 처리군에서는 claudins 발현이 감소하므로 progesterone에 의한 자궁내막의 분화에 따라 상피조직 및 혈관내피 세포 간 확산장벽이 증가하는 것으로 사료된다.

P-45 Altered Expression of Beta-catenin in Testes of Male Infertile Patients

이재호¹ · 이성은¹ · 이주희¹ · 정운진¹ · 이용복² · 이승재²

MDplus 생명과학연구소¹, 미래와희망산부인과²

Background & Objectives: 정자생성은 정모세포와 주변세포간의 상호작용 의해 이루어지고 이를 위해 정모세포와 주변세포들은 세포간 물질에 의해 결합되어 있는 것으로 알려져 있다. 이런 세포간 결합물질로서 정소의 sertoli cell간에 혹은 Sertoli cell과 germ cell간의 adherens junction (AJs)에는 cadherin/catenin complex가 존재한다. beta-catenin은 intercellular adhesion과 signal transduction에 관여하며 sertoli cell 혹은 sertoli cell과 germ cell 간에 나타나는 AJs 부분에서 발현한다. 하지만 현재까지 인간 정소내 beta-catenin 발현에 관하여 아직 알려진 바가 없다. 이에 본 저자들은 인간의 정자생성과정에 문제가