

including the brain, heart, liver, spleen, kidney, lung, thymus, testis and regulates cell proliferation and differentiation of in a broad number of tissues. Basically, steroid hormones may have a direct effect on cellular stress because heat shock genes is activated by a number of steroids. The heat shock protein forms heteromeric complexes together with steroid-receptor. Moreover, ATF4 and molecular chaperones are candidate genes for upstream and down stream genes in the steroid response. To date however, gene battery mediating the physiological effect of estrogen has been uncovered in testis. Recently, estrogen mimicking chemicals have been reported to affect various aspects of male reproduction in animals including human. In an effort to elucidate molecular mechanism of regulation of spermatogenesis by estrogen mimics as well as natural estrogen, we examined the expression of ATF4, HSP70.1 and HSP70.3 mRNA in adult mouse testes following bisphenolA and/or 17 beta estradiol treatment.

Method: Adult male mice was treated with bisphenolA (oral administration of 20, 200, 1000 mg/kg B.W./day for 4 weeks) and/or 17beta estradiol (single i.p. injection of 300 ng/head). Testes were sampled 24h after the last dosage. Semiquantitative RT-PCR was optimized for each gene primers. Mean while immunohistochemical localization of ATF4 in testis was analyzed in control and drug treated mice.

Results: Result showed significant induction of ATF4 mRNA in estrogen or BPA-treated mouse testis. Parallel analysis of HSP70.1 and 70.3 mRNA revealed similar pattern of expression. In immunohistochemical analysis, ATF4 was found seminiferous tubule as well as interstitium of normal adult testis. Interestingly, ATF4 immunoreactivity among seminiferous tubule was heterogenous accoring to spermatogenic cycle. Among the germ cells, immunoreactivity of ATF4 was largely found in pachytene spermatocytes. Sertoli cell showed strong immunoreactivity of ATF4.

Conclusions: These results suggest that ATF4 is a transcription factor possibly mediates the response to steroid in germ cells as well as somatic cells in testis. Similar induction of ATF4 and HSP70 by natural estrogen and BPA suggests that they may be involved in endocrine disruption by estrogen mimicking chemical such as BPA in testis.

P-4

생쥐의 자궁에서 밀착결합 유전자 Junctional Adhesion Molecule-1 (JAM-1)의 발현

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, claudins 등 integral membrane protein과 ZO-1, JAM 등의 plaque protein으로 구성되며 세포질 골격 및 다양한 신호전달 분자와 복합체를 형성한다. 따라서 다양한 조직에서 세포 내외부의 신호에 반응하여 그 구조와 기능이 역동적으로 조절된다. 자궁내막은 생식주기와 착상을 위한 준비과정 동안 주로 난소 스테로이드의 영향 하에 구조 및 기능적 분화를 진행한다. 자궁내막에 존재하는 상피와 혈관내피세포에서 발현되는 밀착유전자들은 특히 착상의 준비와 진행에 필요한 환경 조성에 중요한 역할

이 있을 것으로 추측되고 있으나 현재까지 이 시기 동안 자궁내막의 밀착결합의 분자적 구조 및 난소스테로이드에 의한 밀착결합 발현의 조절기작은 규명되지 않고 있다. 특히 여러 밀착결합 유전자들 가운데 JAM-1은 혈관 내피세포를 통한 neutrophil의 이동에 관여하므로 세포 간 확산장벽 뿐 아니라 세포 이동의 중요한 조절요인으로 알려져 있다. 본 연구에서는 생쥐 자궁에서 생식주기, 착상 전 후 기간 동안의 밀착결합 유전자인 JAM-1 유전자의 발현양상을 조사하였고 난소절제 생쥐모델을 이용하여 난소 스테로이드에 의한 JAM-1 유전자의 발현조절을 연구하였다.

Method: 생후 8주령의 성숙한 암컷 생쥐의 발정 주기를 질상피도말법으로 검색하여 주기별로 자궁조직을 획득하였다. 또한 수컷과 교미 후 질전 형성일을 기준으로 임신 (GD) 6일의 자궁을 획득하였다. 특히 임신 6일에 Chicago Blue를 정맥주사 후 자궁을 착상부위와 비착상부위로 구분하여 절취하였다. 한편 암컷 생쥐에서 난소를 절제한 후 estrogen (E2) 또는 progesterone (P4)을 투여한 후 6, 12, 24시간 및 E2 주사 24시간에 P4를 주사하고 12시간 후에 자궁조직을 획득하였다 (E2+P4). 조사대상 밀착결합 유전자로는 상피에서 주로 발현되는 JAM-1을 확인하였다. 자궁조직에서 에스트로겐의 영향을 확인하기 위해 lactoferrin의 발현을 확인하였다. TJ mRNA의 발현정도는 최적화된 semiquantitative RT-PCR법으로 분석하였다.

Results: JAM-1 mRNA 발현은 proestrous stage에 가장 높았으며 estrous stage까지 높게 유지되었다. metestrous 시기에 급격히 감소하였다가 diestrous 시기에는 다시 증가하였다. E2 또는 P4를 투여한 난소절제 생쥐의 자궁 (OVX)에서는 적은 양의 JAM-1이 발현되었으며, E2 투여 후 12시간에 높은 발현이 유도되었다가 이후 감소하였다. P4 단독 처리 후 6시간에 JAM-1의 발현은 대조군 보다 감소하였고 12시간 후에는 다시 증가하여 대조군 수준으로 회복되었다. E2+P4 처리군에서는 P4 처리 후 시간에 따라 JAM-1의 발현이 감소되어 대조군 이하로 감소하였다. 착상 전후 임신 일자별로는 임신 3일에 가장 높은 발현을 보였으며 착상기인 임신 4.5일 이후에는 낮은 발현을 보였다. JAM-1은 특히 GD6의 비착상부위에서 착상부위보다 많이 발현되었다.

Conclusions: 생쥐의 자궁에서 JAM-1 발현은 자궁내막 상피세포 사이의 밀착결합에 의한 세포 간 확산장벽 형성과 기능에 중요한 요인으로 사료된다. 난포기 (증식기) 및 난소절제 E2 처리군에서 JAM-1 발현이 높으며 황체기 (분비기) 및 난소절제 E2+P4 처리군에서 JAM-1 발현이 감소하므로 자궁내막의 분화에 따라 자궁내막 조직의 확산장벽이 감소하는 것으로 사료된다.

P-5 Primordial-Primary Follicle Transition에 관여하는 유전자의 기능 연구를 위한 난소재조합 (Ovarian Reconstruction) 및 배양 기술 확립에 관한 연구

박창은^{1,2} · 이동률^{1,2} · 정형민^{1,2} · 조정현¹ · 차광렬^{1,2} · 이경아^{1,2}

¹차병원 여성의학연구소, ²포천중문의대 생명과학전문대학원

Background & Objectives: 본 연구진은 이전의 연구에서, 원시 난포 (Primordial follicle)와 1차 난포 (primary follicle)에서 차이 나게 발현하는 유전자 목록을 subtractive hybridization 방법을 이용하여 밝힌 바 있다 (박 등, 2004). 본 연구는 primordial-primary follicle transition에 관여하는 특정 유전자의 기능을 알아보기 위하여 ovarian cell (난자 또는 체세포)의 유전자 발현을 RNAi를 통해 변화시킨 후, 그