

## P-04

## 생쥐 정소 및 정자에서 type 1 cannabinoid receptor (CB1)의 발현 및 receptor agonist에 의한 정자의 침체반응 조절

강현희, 계명찬\*

한양대학교 자연과학대학 생명과학과

대마초는 대표적인 마약류로 cannabinoid 수용체를 통해 항전신성 효과를 발휘한다. Cannabinoid 수용체는 뇌에서 주로 발견되는 CB1 receptor와 면역계에서 주로 발견되는 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  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger를 활성화시키며, N-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel을 조절한다. CB1을 경유한 만성적인 agonist 처리시 adenylate cyclase (AC)활성이 증가하는 AC superactivation이 관찰된다. 한편 생체 내에 존재하는 endocannabinoid인 anandamide는 CB1과 결합하여 생식 기능에 조절 작용을 한다. 본 연구는 cannabinoid가 정자형성과 Leydig cell의 기능, 정자의 침체반응에 변화에 미치는 영향을 규명하기 위한 연구의 일환으로 생쥐의 정소조직, Leydig cell 배양체 및 정자에서 CB1 발현과 gonadotropin, CB1 receptor agonist에 의한 CB1 발현 및 침체반응 조절효과를 조사하였다.

1, 2, 4, 8주령 생쥐 정소에서 분리한 total RNA를 이용하여 최적화된 RT-PCR로 CB1 mRNA 발현량을 분석하였다. LCM으로 분리한 간충조직에서 CB1 mRNA 발현량을 realtime PCR로 분석하였다. 2주령의 정소에서 분리한 Leydig cell에 hCG를 처리한 후 CB1 발현을 분석하였다. 한편 8주령 생쥐 미부 부정소에서 채취한 정자에서 Western blot으로 CB1 단백질의 발현을 조사하였고, calcium ionophore인 A23187을 처리하여 침체반응을 유도하고 침체반응 전후 정자 내 CB1의 분포를 ConA 및 CB1항체 이중염색 후 confocal microscopy를 통해 분석하였다. 한편 체외배양한 부정소 정자에 CB1 receptor agonist인 R-(+)-methanandamide를 처리한 후 CBB 염색을 통해 침체반응의 변화를 조사하였다.

CB1는 전 연령의 생쥐 정소에서 발현되며, 성숙에 따라 발현이 증가하였다. Leydig cell, germ cell, Sertoli cell 모두에서 발현이 확인되며, Leydig cell에서의 발현은 성숙 정소에서 가장 높았다. hCG는 Leydig cell의 CB1 발현을 증가시

켰다. Western blot 결과 침체반응 전의 정자에서 분자량 복수의 CB1 항원이 검출되었고 침체반응 후 대폭 감소하였다. 정자 두부의 침체부위에서 강한 CB1 immunoreactivity가 확인되었고 미부에서도 미약한 신호가 검출되었다. A23197에 의한 침체반응 유도 후 침체부위의 CB1이 감소하였다. CB1 agonist 인 R-(+)-methanandamide 처리 시 자발적 침체반응이 증가하였다.

CB1 수용체는 endocannabinoid에 의한 Leydig cell의 스테로이드형성, Sertoli cell의 분화, 정자의 침체반응의 생리적 조절 및 마리화나중독에 따른 남성 생식기능의 변형에 관여할 것으로 사료된다.

Keywords: *cannabinoid receptor 1, Leydig cell, germ cell, hCG, methanandamide, acrosome reaction, spermatozoa, testis, mouse*