

발정 및 착상 주기 생쥐 자궁에서 Junctional Adhesion Molecule-1 (JAM-1)의 발현 및 Steroid에 의한 발현의 조절

김다혜, 계명찬
한양대학교 생명과학과

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 세포질골격 및 다양한 신호전달 분자와 복합체를 형성한다. 자궁내막은 생식주기와 착상을 위한 준비과정 동안 주로 난소 스테로이드의 영향 하에 구조 및 기능적 분화를 진행한다. 자궁내막에 존재하는 상피와 혈관 내피세포에서 발현되는 밀착 유전자들은 착상의 준비와 진행에 필요한 환경 조성에 중요한 역할이 있을 것으로 추측되고 있으나 현재까지 이 시기 동안 자궁내막의 밀착 결합의 분자적 구조 및 난소 스테로이드에 의한 밀착 결합 발현의 조절기작은 규명되지 않고 있다. 여러 밀착 결합 유전자들 가운데 JAM-1은 세포간 확산장벽뿐 아니라 세포 이동의 중요한 조절요인으로 알려져 있다. 본 연구에서는 생쥐 자궁에서 발정 주기, 착상 전 후 기간 동안의 밀착 결합 유전자인 JAM-1 유전자의 발현양상을 조사하였고 난소 절제 생쥐모델을 이용하여 난소 스테로이드에 의한 JAM-1 유전자의 발현조절을 연구하였다.

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, 24 시간 및 E2 주사 24시간에 P4를 주사하고 12시간 후에 자궁조직을 획득하였다 (E2+P4). 조사대상 밀착결합 유전 자료는 상피에서 주로 발현되는 JAM-1을 확인하였다. 자궁조직에서 에스트로젠의 영향을 확인하기 위한 마커로 lactoferrin의 발현을 확인하였다. 자궁조직 전체에서 JAM-1 mRNA의 발현정도는 최적화된 semiquantitative RT-PCR, Western blot으로 분석하였고, 부위특이적 발현은 laser captured microdissection (LCM) 및 면역조직화학법으로 분석하였다.

JAM-1 mRNA 발현은 proestrous stage에 가장 높았으며 estrous stage까지 높게 유지되었고, metestrous 시기에 급격히 감소하였다가 diestrous 시기에 다시 증가하였다. LCM으로 획득한 내막 관강상피에서 다량의 JAM-1 mRNA가 확인되었다. Western blot 결과에서도 유사한 단백질 발현 패턴이 확인되었다. 자궁에서 JAM-1 단백질 발현 부위는 내막 관강상피 및 분비선상피에서 확인되었다. E2 또는 P4를 투여한 난소절제 생쥐의 자궁(OVX)에서는 소량의 JAM-1이 발현되었으며, E2 투여 후 12시간에 높은 발현이 유도되었다가 이후 감소하였다. P4 단독 처리 후 6시간에 JAM-1의 발현은 대조군보다 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.

JAM-1은 자궁내막 상피세포 사이의 확산장벽 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 착상기 자궁내막 조직의 확산장벽이 감소에 관여할 것으로 사료된다.

Key words: JAM-1, 발정주기, 착상주기, 스테로이드, 자궁, 생쥐