agonist users: 23.7%; non-users: 17.1%, p=0.490). The cumulative probability of the recurrence at 12 months and 24 months after surgery in GnRH agonist users were 5.3% and 34.5%; in non-users were 9.0% and 13.1%, respectively.

Conclusion: GnRH agonist treatment after conservative laparoscopic surgery for ovarian endometriomas may not decrease the recurrence rate during 2 years follow-up. Further studies with long-term follow-up will be warranted.

Key Words: Ovarian endometrioma, Recurrence, Laparoscopic surgery, GnRH agonist

P-15 사람과 생쥐의 정소 및 정자에서 Type 1 Cannabinoid Receptor (CB1)의 발현 및 기능

김현주 · 한신영 · 계명찬

한양대학교 생명과학과

Background & Objectives: 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. Anandamide 계열의 endocannabinoid 및 marijuana 성분인 THC는 CB receptor와 결합하여 다양한 생리적 조절효과를 발휘한다. 특히 CB1을 경유한 만성적인 agonist 처리 시 adenylate cyclase (AC) 활성이 증가하는 AC superactivation이 관찰된다. 한편 생체 내에 존재하는 endocannabinoid인 anandamide는 CB1과 결합하여 생식기능에 조절 작용을 한다. 본 연구는 cannabinoid가 정자형성과 Leydig cell의 기능, 정자의 첨체반응에 변화에 미치는 영향을 규명하기 위해 사람과 생쥐의 정소조직, Leydig cell 배양체 및 정자에서 CB1 발현과 gonadotropin에 의한 Leydig cell CB1 발현 조절효과 및 anadamide에 의한 정자의 첨체반응 조절효과를 조사하였다.

Method: 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 첨체반응을 유도하고 첨체반응 전후 정자 내 CB1의 분포를 면역염색 후 confocal microscopy를 통해 분석하였다. 한편 생쥐 부정소 정자에 CB1 receptor agonist인 R-(+)-methanandamide를 농도별 (1, 10, 100, 1,000 nM) 처리한 후 rhodamine conjugated sWGA 표지를 통해 수정능력획득 및 첨체반응의 변화, phosphoryrosine western blot를 시행하였다.

Results: CB1는 사람과 생쥐의 정소조직에서 발현되며, 생쥐의 경우 성숙에 따라 발현이 증가하였다. Leydig cell, germ cell, Sertoli cell 모두에서 발현되며, Leydig cell의 발현은 성숙 정소에서 가장 높았고 hCG처리 시 증가하였다. Western blot과 결과 생쥐 정자에서 CB1 항원이 검출되었고 두부의 첨체부위에서 강한 CB1 immunoreactivity가 확인되었고 미부에서도 미약한 신호가 검출되었다. A23197에 의한 첨체반응 유도 후 첨체부위의 CB1이 감소하였다. Methanandamide는 저농도 처리 시 정자의 수

정능력획득과 tyrosine protein의 phosphorylation을 촉진한 반면, 고농도에서는 첨체반응을 억제하는 biphasic effect를 보였다.

Conclusions: CB1 수용체는 endocannabinoid에 의한 Leydig cell의 스테로이드형성, Sertoli cell의 분화, 정자의 수정능력획득과 첨체반응의 생리적 조절 및 마리화나중독에 따른 남성생식기능의 변형에 관여하는 것으로 사료된다.

P-16 Androgen에 의한 혈액-정소 장벽 밀착결합 유전자 발현 조절

이 재 은 · 계 명 찬

한양대학교 생명과학과

Background & Objectives: 정소의 세정관에 존재하는 Sertoli cell 사이에 형성되는 밀착결합은 혈액정소 장벽 (blood testis barrier, BBB)을 형성하여 세정관 내부의 독특한 환경을 조성하여 정자형성을 보장하게 된다. 밀착결합은 occludin, claudin 등의 integral membrane protein과 ZO-1 등의 plaque protein으로 구성되며 세포질 내부로 세포질골격 및 다양한 신호전달 분자와 복합체를 형성하고 있으므로 다양한 세포 내외부의 신호에 반응하여 그 구조와 기능이 역동적으로 조절된다. 본 연구에서는 생쥐 정소의 발달과정 동안 밀착결합 유전자의 일종인 claudin-1, -11, occludin의 발현 변동 및 신생기 정소의 기관배양체 및 Sertoli cell 배양체를 모델로 이들 유전자 발현에 미치는 androgen의 조절효과를 규명하고자 하였다.

Method: 태아기, 신생기, 사춘기, 성체기 생쥐정소에서 분리한 total RNA를 이용하여 최적화된 RT-PCR로 TJ 유전자의 발현량을 분석하였다. 신생기 생쥐로부터 분리한 정소의 기관배양체 및 2주령 생쥐에서 분리한 Sertoli cell 1차배양체에 androgen 처리한 후 TJ 유전자 발현을 quantitative RT-PCR, Western blot, immunohistochemistry 방법으로 분석하였다.

Results: Ocl mRNA은 Sertoli 수에 비례하여 증가하며 사춘기 이후 다시 증가하였다. Cla-1은 Sertoli 수에 비례하여 증가하며, Cla-11은 Sertoli cell의 분화에 따라 사춘기 이후 계속 증가하였다. 단백질 항원의 양적 변화도 이와 같은 양상을 보였다. Ocl, Cla-1, Cla-11 항원은 Sertoli cell 세포질과 세포막의 BTB 부분에서 확인되었다. Cla-1은 Sertoli cell과 germ cell의 접합부위 모두에서 확인되었다. Sertoli cell의 1차배양체에서 testosterone (1~1,000 nM)은 cla-1, 11의 발현을 농도의존적으로 증가시켰다. Neonatal testis 기관배양 과정에서 in vivo 상황과 유사한 TJ 유전자 발현이 진행됨을 확인하였고, testosterone을 1~1000 μM 농도로 처리한 결과 cla-11의 발현이 유의적으로 증가하였고, ocl의 경우 소량 증가하였다.

Conclusions: 혈액정소 장벽의 형성에 관여하는 3종의 유전자 claudin-1, -11, occludin 발현은 성적성숙에 밀접히 변동되며 특히 claudin-11은 성숙정소에서 증가하므로 핵심적 TJ 유전자로 사료된다. In vitro model을 이용한 실험 결과 Sertoli cell specific TJ 유전자인 claudin-11이 androgen에 의존적임을 확인하였다. 신생정소 기관배양체 및 미성숙 Sertoli cell 1차배양체는 혈액정소 장벽의 구조와 기능에 관한 내분비학적 조절 연구의 실험모델로 이용 가능한 것으로 사료된다.