Dev. Reprod. Vol 5, No 2, 2002(Suppl). pp 35

5-azacytidine에 의한 흰쥐 골수기질 간세포 분화 유도

이경희, 양현원, 권혁문, 유경종, 장양수, 윤용달*
연세대학교 의과대학 심혈관 연구소, *한양대학교 자연과학대학 생명과학과

골수기질 간세포는 조혈세포의 분화뿐만 아니라 골, 연골, 지방, 근세포 등 다양한 세포로 분화될 수 있음이 보고되고 있다. 최근 5-azacytidine (5-aza)에 의해 골수기질 간세포가 심근세포로 분화될 수 있다는 사실이 알려지면서 5-aza대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 따라서 본 연구는 5-aza가 골수기질 간세포 분화에 미치는 영향을 알아보고자, 흰쥐에서 획득된 골수세포를 배양한 후 5-aza를 처리하고 세포의 형태학적인 변화와 혈관 근세포와 내피세포에 발현되는 특정 단백질을 조사하였다. 15일과 30일된 흰쥐의 경골에서 획득된 골수를 Ficoll 밀도구배 원심분리하여 골수기질 간세포를 분리한 후 30일간 배양하였다. 배양 후 4일에 세포들이 일렬 또는 구형으로 일정한 형태를 형성하며 성장하는 것을 관찰할 수 있었다. 배양 10일부터 세포들이 분화를 시작하면서 형태학적으로 다른 여러 종류의 세포들을 관찰할 수 있었다. 배양 20일부터 특정 세포들이 colony를 형성하면서 계속적으로 성장하는 것을 관찰할 수 있었으며, 일부 세포에서 형태학적으로 신경세포나 지방세포의 특징을 관찰할 수 있었다. 30일간 배양한 후에 5-aza을 1, 10, 50, 100 uM로 처리하여 골수기질 간세포의 분화를 유도한 결과, 10 uM의 5-aza를 처리한 실험군에서 분화가 가장 많이 일어나는 것을 알 수 있었고, 50 uM 이상을 처리하면 세포의 분화와 성장이 억제되면서 사멸하는 것이 관찰되었다. 또한 5-aza 처리 전에도 관찰되었던 지방세포 특징을 보이는 세포들이 처리 후에 더 많이 분화된 것을 알 수 있었고, 이러한 세포가 지방세포인지 확인하기 위해 Oil-Red O 염색을 시행하였다. 지방세포 특징인 세포질 안에 존재하던 과립들이 Oil-Red O에 의해 염색된 것으로 보아, 염색된 과립들이 지방세포가 가지고 있는 lipid-droplets인 것을 확인하였다. 특이하게 10 uM의 5-aza를 처리한 실험군에서만 단일층을 형성하면서 expanding 되어있던 세포들이 cord-like structure를 형성하는 것을 관찰 할 수 있었다. 이러한 세포들이 혈관 형성과 관련 있는지를 조사하기 위하여 혈관내피세포에 특이적으로 발현되는 Flk-1와 근세포에 특이적으로 발현되는 Troponin-I 염색을 시행하였다. Flk-1을 염색이 되지 않은 반면, Troponin-I는 형성된 cord를 따라 염색되는 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 5-aza에 의해 형성된 cord-like structure가 혈관을 만드는 초기 단계 과정으로 먼저 혈관을 둘러싸고 있는 근세포로 분화한 것이 아닌가 생각되며, 이 실험 결과는 앞으로 골수기질 간세포를 이용한 혈관형성과정과 심근세포 분화 연구에 기초 자료가 될 수 있을 것으로 사료된다. (Supported by Brain Korea 21 Project for Medical Science Yonsei University, KRF-2000-015-DP-0371)