

소 비장유래 Macrophage의 체외배양시 배양액 중 호르몬적 변화

최선호, 류일선, 박성재, 연성흠, 이장희, 우제석, 백광수,
손동수, 박춘근¹, 정영호²
농촌진흥청 축산기술연구소, 강원대학교¹, 중부대학교²

소에 있어서 수정란이식이 활성화되고, 수정란이식 기술이 첨단기술 도입의 근간이 되면서, 수태율의 향상은 첨단기술의 활성화에 필수적인 요소가 되었다. 또한 수태율 향상을 위해 임신유지를 도와주는 progesterone의 정기적인 투여나 수정란이식 시기에 hCG 등을 투여하여 수태율을 향상시키고자 여러 가지 방법이 시도되고 있으나, 수태율 향상에 대한 명확한 기술이 정립되지 않은 상태이다. 따라서 본 연구는 착상시 황체의 progesterone의 분비를 촉진시키는 것으로 보고되고 있는 비장유래의 macrophage의 체외배양을 통하여 배양액 중 호르몬적 변화를 관찰하고 착상을 유도하는 기전을 밝히고자 시도하였다. 임신 및 비임신 도축암소의 비장을 채취하여 알루미늄박으로 포장하여 얼음에 채운 뒤 실험실로 운반하였고, 비장을 70% alcohol로 외부를 잘 세척한 후 표피를 제거하였다. 표피를 제거한 비장조직을 가위로 잘게 세절하고 buffer A 용액으로 조직속의 세포를 분리하였다. 분리된 세포는 1,700 rpm으로 5분간 3회 세정하였으며, 세정된 세포는 유리 petri dish에 넣어 39°C, 5% CO₂, 95% air인 배양기에서 2시간 동안 배양을 실시하였다. 배양한 dish는 4°C의 buffer A 용액으로 dish 표면에 부착된 세포를 제거하고, dish 바닥에 붙은 세포를 macrophage로 간주하여 cell scraper로 바닥을 긁어 macrophage를 분리 채취하였다. 채취된 세포는 10% FBS-DMEM배양액으로 3회 세정한 후 1×10^6 cell/ml로 조정후 39°C, 5% CO₂, 95% 공기인 배양기에서 24, 48, 72, 96 혹은 120시간 동안 배양을 실시하였다. 배양이 완료된 배양액은 호르몬 분석하기 전까지 -20°C 냉동고에 보관하였다. 배양액을 호르몬 분석한 결과 progesterone(P4)은 임신우 비장이 120시간 배양에서 약 2배이상 생산되었고, estradiol은 배양시간에 따른 효과가 임신 및 비임신에 관계없이 나타나지 않았으며, IGF-1은 임신우의 비장에서 배양시간에 따라 2배이상 생산되었다. 또한 TGF- β 는 배양시간에 따라 약간 상승하는 경향을 나타내었다. 이상의 결과로 비장유래 macrophage는 단독으로 배양시 임신우의 것이 P4 및 IGF-1 등을 생산하므로 macrophage는 임신에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되며, 특히 TGF- β 는 황체로부터 자궁의 P4분비를 촉진하는 것으로 알려져 있어 본 실험의 결과는 임신과 관련한 macrophage의 역할을 입증한다고 하겠다.

Key word) 비장, macrophage, P4, TGF- β