

## B-3 난자와 난구세포간 Cell-to-cell Communication의 역할

포천중문 의과대학교 차병원 여성의학연구소

신창숙 · 윤세진 · 박창은 · 엄기봉 · 윤태기 · 이경아

**목 적:** 난자와 cumulus cells (난구세포)간의 communication은 gap junction channel을 통해 이루어져 난포의 성장이나 난자의 발달에 영향을 미친다. 본 연구팀은 같은 크기의 난포에서 나온 난자라고 하여도 난구세포가 붙어있는 상태가 다르다는 것을 관찰, 이렇게 난구세포와의 서로 다른 연결상태가 난자의 competence에 차이를 가져오는 것으로 가정하고, 난자의 competence와 이때 난자와 난구세포간의 cell-to-cell communication에 관여하는 gap junction protein인 connexin 32, 37, 43의 발현정도가 어떤 상관관계가 있는지를 알아보려고 수행하였다.

**재료 및 방법:** 생후 3주일 된 생쥐에 PMSG를 주입하고 48시간 후에 난소를 적출하여 FBS와 dbc AMP가 들어있는 TCM에서 난포를 터뜨려 난자를 얻었다. 난자에 cumulus가 compact 하게 붙어있는 것은 intact (IO)로, cumulus가 어느 정도 붙어 있거나, 하나도 붙어있지 않은 것은 partial/denuded (DO)로 그룹을 나누었다. 난포의 크기가 400  $\mu\text{m}$  이상의 난포는 large로, 200~400  $\mu\text{m}$  되는 난포는 small로 구분하였다. 각 그룹의 난자를 (LIO, LDO, SIO, SDO) 채외에서 성숙시키고, 수정시켜서 수정과 발달을 비교하였다. 일단의 난자는 hyaluronidase를 처리하여 난구세포와 완전히 분리한 후 GITC 방법으로 total RNA를 얻은 후, 각각의 connexin 발현을 보기 위해 RT-PCR을 수행하였다.

**결 과:** 같은 크기의 난포라고 하여도 intact와 denude 상태의 난자가 섞여서 나오는데, large의 경우는 55%와 45%의 비율로, small의 경우는 30%와 70%의 비율로 작은 난포일수록 denude 상태의 난자가 많이 나왔다. 어떤 경우의 난자든 체외 성숙율은 차이가 없이 모두 97% 이상 성숙하였다. 그러나, 수정률에서는 차이를 보여서 intact한 난자에서 높은 수정율을 보였고, SIO의 경우 LDO의 난자보다 더 좋은 수정·발달율을 보였다. SDO의 경우, 난구세포와의 결합을 통해 발달에 영향을 미치는 여러 가지 요인 및 영양소의 공급을 충분히 못 받았기 때문에 가장 낮은 수정율을 보였을 것으로 가정하고, connexin의 mRNA 발현정도를 비교하였다. 난자의 경우, IO 난자에서는 37이 가장 높게, 43는 매우 낮게 발현하였으며, 그리고 32는 관찰할 수 없었다. 반면, DO 난자에서는 37과 43이 함께 높은 농도로 발현하였으며, 32는 역시 관찰되지 않았다. 난구세포의 경우, IO에서는 37, 43, 32의 차례로 모두 높은 농도로 발현되었으나, DO에서는 37이 높은 반면, 43와 32는 아주 낮게 발현되었다.

**결 론:** 본 실험 결과, 같은 발달 크기의 난포라고 하더라도 그 안에 존재하는 난자의 상태는 난구세포와 얼마나 밀접한 cell-to-cell communication을 이루고 있는가에 따라 영향을 받으며, gap junction을 이루는 connexin의 종류에 따라 junctional communication의 밀접성이 결정되는 것으로 추측된다. 본 실험의 결과는 mRNA 발현을 본 것으로서 각 connexin 단백질의 발현을 확인하는 실험이 진행중이다.

**지 원:** 본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (2000-2-20500-001-2) 지원으로 수행되었음.