

## 소 비장유래 macrophage의 체외배양시 IL-I $\alpha$ 가 TGF- $\beta$ 의 생산에 미치는 영향

최선호, 성환후, 장유민, 이장희, 연성흠, 류일선, 손동수, 유충현  
농촌진흥청 축산기술연구소

인공수정 및 수정란기술의 활성화에 따라 소에 있어서 인공수정은 90% 이상 실시되고 있으나, 수정란이식은 수정란의 생산이 안정적이지 않아 활성화에 많은 지장을 초래하고 있다. 이의 원인은 수정란이식에 의한 수태율의 저하가 가장 크며, 수태율 향상을 위하여 수란우에 progesterone, hCG 등의 주사가 실시되고 있다. 그러나 이는 수정란의 착상에 있어서 자궁의 환경을 개선한다고 하나, 착상의 정확한 기전의 구명은 미미한 상태이다. 한편 비장유래 macrophage가 황체를 자극하고 TGF- $\beta$ 의 생산을 유도하는 것으로 보고되고 있으며, IL-I  $\alpha$ 와  $\beta$ 에 따라 TGF- $\beta$  생산에 있어서 약간의 차이를 보이는 것으로 보고되고 있다. 따라서 본 연구는 비장유래 macrophage가 TGF- $\beta$ 의 생산시 임신관련 cytokine인 IL-I  $\alpha$ 와의 관계를 조사하기 위하여 실시하였다. 임신 및 비임신 도축 암소의 비장을 채취하여 얼음에 채워 실험실로 운반한 후 비장의 표면을 70%의 알콜로 세척하고, 표피를 벗겨 비장조직을 세절하여 10% FBS+DMEM에 넣어 조직을 눌러 짜면서 조직속의 세포를 분리하였다. 세척한 배양액은 4-5ml를 100mm 유리 petri dish에 넣고 39°C, 5% CO<sub>2</sub>, 95% 공기인 배양기에서 2시간이상 배양하였으며, 배양 후 냉장된 buffer A 용액으로 세척하여 유리 petri dish의 바닥에 부착된 macrophage만을 cell scraper로 분리하였다. 분리한 macrophage는 0.5-1 × 10<sup>6</sup> cells/ml가 되게 조정하여, IL-I을 0.001, 0.01, 0.1 또한 1 ng/ml를 첨가하여 농도에 따른 효과를 조사하였고, 각각 24, 48, 72, 96 또한 120시간을 배양하여 시간에 의한 효과도 실시하였다. 각 배치구에서 얻어진 배양액은 TGF- $\beta$ 를 조사하기 전까지 -20°C에 동결보존하였다. TGF- $\beta$ 의 측정은 TGF- $\beta$  kit(Promega, USA)를 이용하여 실시하였으며, 통계학적 분석은 Anova test를 Statview program을 이용하여 분석하였다. 시험의 결과 대조구에 비해 IL-I 첨가구는 2-3배의 TGF- $\beta$  생산을 보였으며, 배양시간에 따른 생산은 시간이 지남에 따라 약간 상승하는 경향을 보였으나, 유의적인 차이를 보이지는 않았다. 또한 IL-I의 농도에 따른 생산의 변화는 IL-I의 농도에 따라 약간의 차이를 보였고 유의적인 차이는 인정되지 않았다. 임신 및 비임신의 경우 임신우의 비장 macrophage가 비임신보다는 약간 상승하는 거스로 나타났다. 이상의 결과로 볼 때 IL-I  $\alpha$ 는  $\beta$  subunit 보다 TGF- $\beta$  생산에 있어서 서로 다른 양상을 보일 것으로 추정되며, IL-I은 macrophage의 직접적인 영향을 주기 보다는 황체세포를 매개로 한 자궁에 TGF- $\beta$ 의 생산을 유도하는 것으로 사료되며, 임신관련 cytokine에 대한 다양한 연구가 요구되고 있다.

Keyword) 비장, macrophage, 임신, IL-I