

소 비장유래 Macrophage와 황체세포(LC)의 체외배양에 있어서 Interleukin-(IL- I)이 IGF- I 생산에 미치는 영향

최선호, 성환후, 장유민, 최재혁, 홍승표, 연성흠, 류일선, 유충현, 손동수

농촌진흥청 축산기술연구소

가축의 개량에 있어서 수정란이식은 인공수정보다 획기적으로 향상시킬 수 있었으며, 첨단기술 이용 가축 생산에 필수도구이다. 그러나 수정란의 상태에 따른 수태율에서 큰 차이를 보이고 있어, 수태율 향상 개발이 시급한 실정이다. 임신중기의 IGF- I의 농도는 비임신기보다 증가하고, 산육기에 급격히 감소하여 비임신기의 농도이하로 떨어지는 특징이 있어 임신관련 기전을 이해하는데 도움이 될 수 있다. 따라서 본 연구는 수정란의 착상시 자궁의 환경을 제어하는 것으로 알려진 비장유래 macrophage와 임신관련 cytokine 인 IL- I의 첨가에 따른 변화를 통해서 착상유도 물질들의 생산을 조사함으로써 임신 관련 기전을 규명하고자 실시하였다. 도축암소의 비장을 채취하여 잘게 자른 후 생리식염수로 세정한 액을 40mesh의 망으로 여과시켰다. 여과액은 유리 petri dish에 3~5 ml씩 분주하여 5% CO₂, 95% 공기, 39℃의 배양기에서 2시간이상 배양을 실시하였다. 그 후 petri dish의 상층액을 버리고, buffer A용액으로 적혈구가 제거될 때까지 세척한 후, macrophage를 확인하여 cell scraper로 세포를 회수하였다. 10% FBS+DMEM배양액을 기본배양액으로 2회 세척 후 황체세포 단독 혹은 10% macrophage와의 공배양, 황체세포+ IL- I 5 μ g 혹은 10 μ g, 황체세포+10% macrophage+IL- I 5 μ g 혹은 10 μ g 등을 첨가하여 3반복으로 0, 24, 48, 63시간을 체외배양하였다. 각 배양시간대의 배양액은 회수하여 IGF- I을 측정시 까지 냉동보존하였다. IGF- I의 측정은 분석 kit(DSL, USA)를 이용하였으며, 측정결과의 판독은 네오딘(주)에서 실시하였다. 측정결과 LC의 단독배양시 시간이 경과함에 따라 증가하는 경향이였으며, 63시간이후에는 48시간때의 약 2배까지 증가하였다. LC+macrophage는 LC 단독과 같이 증가하였으며, 48시간에 3배이상 증가하고 그 이후에는 약간의 증가를 보였다. LC+IL- I 5 μ g 혹은 10 μ g 첨가시에도 시간이 경과함에 따라 약간의 증가를 보였고, 48시간이후에 IL- I 5 μ g 1.5배, 10 μ g에서는 3.5배가 증가하여 IL- I이 황체세포가 IGF- I의 생산을 촉진하는 것으로 나타났다. LC+macrophage+IL- I 5 μ g 첨가시 시간이 경과함에 따라 증가하다 48시간이후에 급격히 증가하였으며, 10 μ g 첨가시에는 IGF- I이 시간이 경과함에 따라 변화를 보이지 않아 macrophage는 황체세포의 IGF- I의 생산에 영향을 미치지 않는 것으로 나타나, macrophage는 황체세포와는 직접적으로 임신관련 물질의 생산을 유도하지 않는 것으로 사료된다. 생쥐에 있어서는 자궁이나 태반에 IGF- I이 IGF- I binding protein(BP)과 관련하여 임신관련세포와 태반의 성장을 촉진하는 것으로 보고되고 있어, 소의 착상에 있어서 더 많은 연구가 요구된다.

Key words) *macrophage, 황체세포, Interleukin-I, IGF-I*