

## 한우 난관상피세포의 체외배양시 IL-6의 첨가에 의한 TGF- $\beta$ 의 변화

최선호, 조상래, 한만희, 김현종, 연성흠, 손동수, 김영근, 정영호<sup>1</sup>, 박춘근<sup>2</sup>  
농촌진흥청 축산연구소, <sup>1</sup>중부대학교, <sup>2</sup>강원대학교

인공수정과 수정란이식이 활성화되면서, 임신이 여러 요인들에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있으며, 그에 대한 연구가 절실히 필요함에도 많은 연구가 이루어지지 않고 있는 실정이다. 소에 대한 임신 유도 물질에 대한 것은 INF- $\tau$ 가 분비된다고 알려져 있으며, 사람과 쥐에서는 IL-1과 LIF가 주요한 물질로 보고되었다. 따라서 본 실험은 임신관련 기관인 난관의 상피세포의 체외배양시 cytokine인 IL-6, IL-10의 첨가에 의한 호르몬적 변화를 조사하여 일부나마 임신관련 기전을 조사하고자 실시하였다.

도축된 한우의 난관을 채취하여 얼음에 채워 실험실로 운반하고, 채취된 난관은 70% 알코올로 세정한 후 난관주변의 부착물을 잘라내었다. 직경 30cm의 여지에 부착하여 3회 이상 알코올로 세정하여 관류를 준비하였다. 관류액은 DMEM에 0.5% Antibiotic-antimycotic을 첨가하였으며, 10ml 주사기로 4ml/난관으로 관류를 실시하였다. 관류된 난관상피세포는 동일한 DMEM으로 2회 세정하였고, 최종농도를  $1 \times 10^6$  cells/ml로 조정하여 24 well dish에 500  $\mu$ l씩 분주하였으며, IL-6는 0, 0.1, 0.01, 0.001 ng/ml를 첨가하였고, 24, 48, 72, 96, 120시간을 39°C 5% CO<sub>2</sub>, 95% 공기인 배양기에서 배양을 하였다. 배양이 완료된 배양액은 호르몬분석 전까지 -20°C 냉동고에 보존하였다. 호르몬분석은 P<sub>4</sub>, E<sub>2</sub> (Wallac, USA) 및 TGF- $\beta$  (Promega, USA)를 이용하여 측정하였다. 측정된 결과 P<sub>4</sub>는 배양시간이 경과함에 따라 약간 증가하는 경향을 나타내었으나, 첨가농도에 따른 변화는 나타나지 않았다. E<sub>2</sub>의 경우에도 P<sub>4</sub>와 같이 배양시간에 따라 약간 증가하는 경향을 보였다. P<sub>4</sub>와 E<sub>2</sub>의 경우는 배양시간과 첨가농도에 따라 유의적인 차이를 보이지는 않았다. TGF- $\beta$ 는 배양시간이 경과함에 따라 증가하였으며, 첨가농도에 따라 약간 증가하는 경향을 보였다.

이상의 결과로 cytokine의 일종인 IL-6도 임신에 관련된 인자임을 확인할 수 있었으며, 추후 임신과 직접 관련하고 있는 자궁상피세포 등도 연구해야할 필요성이 있다.

Key words) 난관상피세포, cytokine, IL-6, TGF- $\beta$