

이 있을 것으로 추측되고 있으나 현재까지 이 시기 동안 자궁내막의 밀착결합의 분자적 구조 및 난소스테로이드에 의한 밀착결합 발현의 조절기작은 규명되지 않고 있다. 특히 여러 밀착결합 유전자들 가운데 JAM-1은 혈관 내피세포를 통한 neutrophil의 이동에 관여하므로 세포 간 확산장벽 뿐 아니라 세포 이동의 중요한 조절요인으로 알려져 있다. 본 연구에서는 생쥐 자궁에서 생식주기, 착상 전 후 기간 동안의 밀착결합 유전자인 JAM-1 유전자의 발현양상을 조사하였고 난소절제 생쥐모델을 이용하여 난소 스테로이드에 의한 JAM-1 유전자의 발현조절을 연구하였다.

Method: 생후 8주령의 성숙한 암컷 생쥐의 발정 주기를 질상피도말법으로 검색하여 주기별로 자궁조직을 획득하였다. 또한 수컷과 교미 후 질진 형성일을 기준으로 임신 (GD) 6일의 자궁을 획득하였다. 특히 임신 6일에 Chicago Blue를 정맥주사 후 자궁을 착상부위와 비착상부위로 구분하여 절취하였다. 한편 암컷 생쥐에서 난소를 절제한 후 estrogen (E2) 또는 progesterone (P4)을 투여한 후 6, 12, 24시간 및 E2 주사 24시간에 P4를 주사하고 12시간 후에 자궁조직을 획득하였다 (E2+P4). 조사대상 밀착결합 유전자로는 상피에서 주로 발현되는 JAM-1을 확인하였다. 자궁조직에서 에스트로겐의 영향을 확인하기 위해 lactoferrin의 발현을 확인하였다. TJ mRNA의 발현정도는 최적화된 semiquantitative RT-PCR법으로 분석하였다.

Results: JAM-1 mRNA 발현은 proestrous stage에 가장 높았으며 estrous stage까지 높게 유지되었다. metestrous 시기에 급격히 감소하였다가 diestrous 시기에는 다시 증가하였다. E2 또는 P4를 투여한 난소절제 생쥐의 자궁 (OVX)에서는 적은 양의 JAM-1이 발현되었으며, E2 투여 후 12시간에 높은 발현이 유도되었다가 이후 감소하였다. P4 단독 처리 후 6시간에 JAM-1의 발현은 대조군 보다 감소하였고 12시간 후에는 다시 증가하여 대조군 수준으로 회복되었다. E2+P4 처리군에서는 P4 처리 후 시간에 따라 JAM-1의 발현이 감소되어 대조군 이하로 감소하였다. 착상 전후 임신 일자별로는 임신 3일에 가장 높은 발현을 보였으며 착상기인 임신 4.5일 이후에는 낮은 발현을 보였다. JAM-1은 특히 GD6의 비착상부위에서 착상부위보다 많이 발현되었다.

Conclusions: 생쥐의 자궁에서 JAM-1 발현은 자궁내막 상피세포 사이의 밀착결합에 의한 세포 간 확산장벽 형성과 기능에 중요한 요인으로 사료된다. 난포기 (증식기) 및 난소절제 E2 처리군에서 JAM-1 발현이 높으며 황체기 (분비기) 및 난소절제 E2+P4 처리군에서 JAM-1 발현이 감소하므로 자궁내막의 분화에 따라 자궁내막 조직의 확산장벽이 감소하는 것으로 사료된다.

P-5 Primordial-Primary Follicle Transition에 관여하는 유전자의 기능 연구를 위한 난소재조합 (Ovarian Reconstruction) 및 배양 기술 확립에 관한 연구

박창은^{1,2} · 이동률^{1,2} · 정형민^{1,2} · 조정현¹ · 차광렬^{1,2} · 이경아^{1,2}

¹차병원 여성의학연구소, ²포천중문의대 생명과학전문대학원

Background & Objectives: 본 연구진은 이전의 연구에서, 원시 난포 (Primordial follicle)와 1차 난포 (primary follicle)에서 차이 나게 발현하는 유전자 목록을 subtractive hybridization 방법을 이용하여 밝힌 바 있다 (박 등, 2004). 본 연구는 primordial-primary follicle transition에 관여하는 특정 유전자의 기능을 알아보기 위하여 ovarian cell (난자 또는 체세포)의 유전자 발현을 RNAi를 통해 변화시킨 후, 그

세포를 이용한 난소재조합 기술을 확립하고자 수행하였다.

Method: 생후 1일자 생쥐의 난소 조직을 효소 처리하여 난자와 체세포로 분리하고, 분리된 각각의 세포에 FAM labeled siRNA를 transfection하였다. 그 후 transfected ovarian cell은 calcium alginate를 이용해 encapsulation켜서 난소 조직을 다시 형성하도록 한 후 4일 동안 배양하여 조직학적 관찰을 하였다. 특정유전자에 대한 siRNA는 long dsRNA에 RNase III를 처리하여 제작하였고, 유전자의 knock down은 real-time PCR로 확인하였다. 난소는 in vivo control, sham control, TFO (transfected oocyte - somatic cell), TFS (oocyte - transfected somatic cell)로 나누어 비교 분석하였다.

Results: Sham 그룹에서 원시 난포의 형성을 관찰할 수 있었으나 난포의 발달속도가 in vivo control에 비해 다소 지연되는 것을 관찰할 수 있었다. 체세포만을 transfection한 TFS 그룹은 난자들이 sham 그룹보다 커져 있었고, 1차 난포와 흡사한 난포도 관찰할 수 있었으며, 입방형 과립세포도 관찰할 수 있었다. 반면에 난자만을 transfection한 TFO 그룹은 난포의 형성이 현저히 적었고, 형성된 난포의 상태도 매우 불규칙하였다.

Conclusions: 난포발달과정에 관여하는 특정 유전자의 시간적-공간적으로 특이한 기능을 연구하기 위해서 사용할 수 있는 기법으로 ovarian cell에서 RNAi를 통해 목적하는 유전자의 발현을 변화시킨 후, 난소를 재건할 수 있는 기반이 마련되었다는 것에 큰 의미가 있다고 사료된다. 앞으로 이러한 난소재조합 기술이 확립되면 primordial-primary follicle transition의 기작을 연구하는데 유용하게 사용될 것으로 기대한다.

Acknowledgement: 이 논문은 2003년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음 (KRF-2003-041-E00350).

P-6 Follicular Development of Transplanted Ovarian Tissues in the Mouse Model

Kim SK¹, Hong JY¹, Kim JS¹, Jun JH¹, Koong MK², Byun HK¹

¹Laboratory of Reproductive Biology and Infertility, Korea, ²Division of Reproductive Endocrinology and Infertility, Department of Obstetrics and Gynecology, Samsung Cheil Hospital and Women's Healthcare Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Background & Objectives: The objective of this study was to determine whether ovarian function would be restored following subcutaneous autologous ovarian transplantation in the mouse model.

Method: Four-week old ICR mice (n=7) were ovariectomized at right ovary. These ovarian tissues were autologously transplanted at dorsal subcutaneous site as left ovary was intact. Four mice were stimulated with PMSG and 3 mice were non-stimulated as a control. The ovarian grafts were collected for histological examination around 8 weeks after transplantation. The number of follicles in intact ovary and the transplanted ovarian tissue was counted and examined for morphological appearance in paraffin embedded sections. The PMSG and PMSG-hCG primed oocytes were recovered from the transplanted mice. The