

SELDI-TOF Mass Spectroscopy를 이용한 동일 환자 내 자궁 내막과 자궁 내막증 조직의 단백질 비교 분석에 관한 연구

정미경 · 권 황 · 이동률 · 이우식 · 최원윤 · 이숙환 · 윤태기

포천 중문의대, 차병원 여성의학 연구소

Background & Objectives: 자궁 내막증은 생식연령기 환자의 불임의 원인 중 가장 대표적인 질환 중의 하나로 알려져 있다. 그럼에도 불구하고 진단 및 치료를 위한 발병 기전에 관해서는 아직까지 정확히 알려져 있지 않다. 본 연구는 자궁 내막증의 증상과 발병 기전의 분자 수준의 좀 더 명확한 이해를 구하고자 SELDI-TOF mass spectroscopy 방법을 사용하여 같은 환자 내에서 자궁 내막과 자궁 내막증 조직의 단백질 발현 양상을 비교 분석하고자 본 연구를 실시하였다.

Method: 본 연구는 비교 분석 연구로서, 같은 환자 (n=7, Mean Age; 31.4±1.4)의 eutopic endometrium, noncystic ovarian lesion과 ovarian endometriotic cyst 조직을 회수하여 사용하였다. 회수된 조직의 일부는 H & E 염색으로 조직의 상태를 확인하였고, 나머지 조직은 단백질 칩을 이용한 방법으로 분석하였다. 단백질 칩은 Ciphergen Biosystems (CA)의 Q10 (strong anion exchange array)을 사용하였다. 단백질 칩의 각 스팟에 결합 완충액 (50 mM Tris-HCl, pH 9.0, 0.1% Triton X-100)으로 5분간 각 웰을 전 처리한 후 스팟 당 샘플을 50 µl (10 ng/µl) 올려놓고, humidity 챔버에서 40분간 반응시켰다. 반응한 후 단백질 칩을 10 µl 결합 완충액을 이용하여 5회 세척하고 증류수로 2회 세척하고 건조시켰다. 건조된 칩의 각 웰에 energy absorbing molecule (EAM)로 sinapinic acid (SPA)를 1 µl 씩 올려놓고 건조시켰다. 건조된 칩을 PBS-II mass spectrometer에 넣고 레이저 강도를 150~250, 검출감도를 7로 설정하고 각 스팟 표면의 다양한 지역에 55회의 레이저를 주사하여 분석하였다. 각 단백질 peak는 ProteinChip 3.0 버전을 사용하여 분석하였다.

Results: 본 연구에서 각 조직은 다양한 서로 다른 단백질 발현 양상을 보여 주었다. 특히 우리는 noncystic ovarian lesion과 ovarian endometriotic cyst 조직 분석시 5,948과 12,196 Da에서 서로 다른 단백질 발현 양상을 볼 수 있었다. 또한 ovarian endometriotic cyst 조직의 5,948, 12,196과 19,878 Da에서 높은 단백질 발현을 볼 수 있었고, 6,282, 10,245, 12,197, 30,302, 31,804와 32,014 Da의 경우 eutopic endometrium에서 높은 발현 양상을 보였다. 또한 본 연구에서 월경 주기의 변화에 따라 서로 다른 단백질 발현 양상을 보이는 것 또한 확인할 수 있었다.

Conclusions: 본 실험에서 우리는 자궁 내막과 자궁 내막증 조직 사이에서 다른 발현을 보이는 단백질들을 확인할 수 있었다. 또한 우리는 noncystic ovarian lesion과 cystic ovarian lesion들 사이에서 서로 다른 발현 양상을 얻을 수 있었다. 이러한 단백질 비교 분석 결과는 자궁 내막증의 발병 기전과 진단 및 치료를 위한 좋은 기초 자료로 제공될 수 있으리라 사료되며, 앞으로 각각의 단백질에 대한 좀더 심도 있는 연구의 진행이 필요하다고 생각된다.