

의 분화를 증진 시키며, 수정된 배아의 성장 및 발달에 있어서 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. Ghrelin은 위에서 분비되어 시상하부의 GH-secretagogue receptor (GHS-R)와 결합하여 뇌하수체 전엽의 somatotroph로부터 GH의 분비를 자극하는 것으로 알려져 있다. 또한 ghrelin은 인슐린분비자극, 식욕촉진, 사춘기 개시 등 많은 생리학적 기작에 관여하며, 최근의 연구에 의하면 사람의 자궁에 있어 자궁내막기질세포를 탈락막세포로 분화하는데 있어 ghrelin이 중요한 역할을 한다고 보고 되었다. BMP2는 TGF- β 의 super family로서 배아의 착상시기에 자궁내막기질세포에서 발현이 되며, Wnt4도 자궁에서 발현이 되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 생쥐 자궁 및 자궁내막기질세포에서 스테로이드호르몬과 ghrelin 펩타이드가 BMP2 유전자와 Wnt4 유전자의 발현에 있어 어떠한 영향을 미치는지에 대하여 알아보려고 하였다.

Methods: BMP2와 Wnt4 유전자의 발현은 발정주기별과 OVX 생쥐에 에스트로젠 (300 ng/mouse, 1 μ g/mouse)과 프로제스테론 (1 mg/mouse), 그리고 에스트로젠 (300 ng/mouse)과 프로제스테론 (1 mg/mouse)을 함께 24시간 처리한 자궁에서 total RNA를 추출하고 cDNA를 합성한 후, 유전자의 발현변화를 RT-PCR 방법을 통하여 분석하였다. 또한 생쥐 자궁에서 자궁내막기질세포를 분리한 후, ghrelin 펩타이드 (10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M)와 프로제스테론 (10^{-7} M)을 처리하여 10일간 세포배양을 하였다. 배양한 세포에서 total RNA를 추출하고 cDNA를 합성한 후, RT-PCR 방법을 통하여 BMP2와 Wnt4 유전자의 발현을 분석하였다.

Results: 발정주기에 따른 BMP2, Wnt4 유전자의 발현은 발정후기 (metestrus)에 발현이 높게 나타났으며, OVX 생쥐에 스테로이드 호르몬을 처리한 자궁에서의 BMP2, Wnt4 유전자의 발현은 에스트로젠 (300 ng/mouse)과 프로제스테론 (1 mg/mouse)을 함께 처리한 자궁에서 발현이 높게 나타났다. Ghrelin 펩타이드와 프로제스테론을 처리하여 배양한 자궁내막기질세포에서는 프로제스테론을 처리한 실험군보다 ghrelin 펩타이드를 처리한 실험군에서 BMP2와 Wnt4 유전자의 발현이 높게 나타났다.

Conclusion: BMP2, Wnt4 유전자의 발현은 발정후기 (metestrus) 및 에스트로젠 (300 ng/mouse)과 프로제스테론 (1 mg/mouse)을 함께 처리한 자궁에서 발현이 높게 나타났다. 프로제스테론과 ghrelin 펩타이드를 처리하여 배양한 자궁내막기질세포에서는 프로제스테론을 처리한 자궁내막기질세포보다 ghrelin 펩타이드를 처리한 자궁내막기질세포에서 발현이 높게 나타났다. 본 연구결과 스테로이드호르몬과 ghrelin 펩타이드는 BMP2 및 Wnt4 유전자의 발현에 영향을 미치며, 이들 유전자는 자궁내막기질세포의 탈락막세포로의 분화에 관여하는 것으로 사료된다.

P-20 Estrogen Differentially Regulates the Expression of Small Proline-rich Protein 2 (Sprr2) Family in Estrogen Receptor (ER)-dependent and -independent Pathways in the Mouse Uterus

Hyunjoo Kim¹, Seok-Ho Hong^{2,3}, Ji Won Lee³, Hee Young Nah³,
Moon Kyoo Kim², Haengseok Song¹

¹Laboratory of Reproductive Biology & Infertility, Cheil General Hospital & Women's Healthcare Center, Kwandong University College of Medicine, ²Department of Life Science, College of Natural Sciences, Hanyang University, ³Department of Obstetrics & Gynecology, College of Medicine, Ulsan University, Asan Medical Center

Objectives: The Sprr2 family consisting of 11 members (Sprr2a-2k) encode for a series of highly homologous proteins that are critical components of the cornified cell envelope, an effective barrier against environmental and extracellular factors

such as wounding and skin disease. Estrogen plays critical roles in regulating various physiological events via its nuclear estrogen receptors (ER). Interestingly, it was shown that Sprr2a was significantly up-regulated in uteri of ovariectomized (OVX) mice exposed to 17 β -estradiol (E₂). Following investigation has shown that E₂ induces expression of other members of Sprr2 family as well as Sprr2a in the mouse uterus. Thus, we further characterized the potential actions of estrogen on the regulation of Sprr2a family in uterus and other reproductive organs in mice.

Methods: OVX mice (6~8 week old) were given a single injection of E₂ and/or progesterone (P₄) at various concentrations to examine the regulation of Sprr2 family in the mouse uterus by steroid hormones. To examine whether E₂-induced expression of Sprr2 family is ER-dependent, ICI 182,780 (an ER antagonist) was pretreated to OVX mice 30 min before E₂ injection. To investigate whether endocrine disruptors with estrogenic effects can also induce expression of Sprr2 family in the mouse uterus, 4-tert-octylphenol (OP) or bisphenol A (BPA) was given to immature mice. Mice were sacrificed and uterine horns were collected for RNA extraction and immunohistochemistry at 6 and/or 12 h after injection. RT-PCR with appropriate primers for all members of Sprr2 family was performed.

Results: Expression of Sprr2a, 2b, and 2e, which showed E₂ dose-dependent regulation, was significantly reduced by pretreatment with ICI 182,780, an ER antagonist, suggesting the ER-dependent regulation of estrogen on their expression. In contrast, ICI 182,780 pretreatment was not able to efficiently inhibit estrogen-induced expression of Sprr2c, 2d, 2f and 2g in the mouse uterus. Immunohistochemistry showed that expression of Sprr2a protein, which is mainly localized in the epithelial cell compartments, is also effectively inhibited by ICI 182,780 pretreatment in the mouse uterus. A single injection of P₄ as well as E₂ rapidly up-regulated the expression levels of Sprr2c, 2f and 2g mRNAs while P₄ did not significantly enhance or antagonize the action of E₂ on the expression of Sprr2 family. OP and BPA were able to induce mRNA expression of Sprr2 family, suggesting that Sprr2 family members are truly regulated by estrogen. In addition, RT-PCR for Sprr2 family in reproductive organs of immature and adult mice showed that they are mainly expressed in adult uterus but not in others in our analysis.

Conclusion: E₂ dose-dependent regulation of Sprr2 family is mediated via genomic and/or non-genomic actions of estrogen signaling pathways mainly in the mouse uterus.

P-21 Progesterone과 TGF- β 1에 의해 탈락막화가 유도된 자궁내막세포의 3차원 배양이 생쥐 2-Cell의 발달에 미치는 영향

김휘곤¹ · 권옥현² · 고경래³ · 김미경³ · 이규섭¹

¹부산대학교 의학전문대학원 산부인과학교실, ²창원 한마음병원 산부인과,

³부산대학교병원 불임클리닉

Objectives: 분리한 상피세포와 기질세포의 3차원 공배양을 통한 탈락막화 유도에서 두 세포간의 상호작용, 성호르몬과 TGF- β 1의 역할을 알아보고 생쥐 2-cell과 탈락막화가 유도된 자궁내막세포와의 공배양을 통하여 배 발달을, 부화율, 부착율을 알아보기 위해 수행 되었다.

Methods: 상피세포와 기질세포를 분리하여 상피세포 표식인자인 cytokeratin과 기질세포 표식인자인 vimentin을 이용하여 면역조직화학염색으로 분리를 확인하고 공배양과 단일배양에 성호르몬과 TGF- β 1을 첨가하여 탈락막화 표식인자의 발현을 조사하고 발현 유무에 따라 생쥐 2-cell과 공배양을 하였다.