

체세포 복제란 이식우의 분만 전·후 TGF- β_1 단백질 농도

황성수¹ · 장유민² · 고응규¹ · 양병철¹ · 임기순¹ · 김명직¹ · 민관식³ · 윤종택³ · 김창근² · 성환후^{1,†}

¹농촌진흥청 축산과학원 응용생명공학과

²중앙대학교 동물생명공학과

³한경대학교 생물환경정보통신전문대학원

The Expression of TGF- β_1 Protein Level during Periparturient Periods in the Recipients Pregnant by SCNT Embryos

Seongsoo Hwang¹, Yoo-Min Chang², Yeoung-Gyu Ko¹, Byong-Chul Yang¹, Gi-Sun Im¹, Myoung-Jik Kim¹, Kwan-Sik Min³, Jong-Taek Yoon³, Chang-Keun Kim² and Hwan-Hoo Seong^{1,†}

¹National Institute of Animal Science, RDA, Suwon 441-706, Korea

²Chung-Ang University, Anseong 456-756, Korea

³Hankyong University, Anseong 456-749, Korea

ABSTRACT

This study was performed to investigate the correlations between steroids and TGF- β_1 levels and delayed parturition in SCNT clone calving. The recipients pregnant by AI were used as control (AI-R). All AI-R were labored by natural delivery (n=5, day 284±0.71 of pregnancy). The recipients pregnant by SCNT embryo (SCNT-R) showing no signs of delivery about 10 days after expected date were operated by Caesarean section (n=5, day 292). The blood and placental samples were obtained and weighed at parturition. The concentrations of plasma progesterone (P4) and Estradiol-17 β (E2) were measured by radioimmunoassay (RIA). The levels of plasma and placental TGF- β_1 levels were examined by ELISA. The placentomes from SCNT-R were overweight ($p<0.05$) compared to those of AI-R. The plasma P4 ($p<0.01$) level in SCNT-R at parturition was significantly higher compared to that of AI-R. In contrast, the plasma E2 level in the SCNT-R was significantly lower compared to that of AI-R ($p<0.05$). The plasma and placental TGF- β_1 protein levels in the SCNT-R were significantly higher than those of AI-R at parturition, respectively ($p<0.01$). Based on these results, aberrant expressions of steroid hormones and high levels of plasma and placental TGF- β_1 protein at parturition may be one of the key indicators on delayed parturition of SCNT clone calving.

(Key words : SCNT, Progesterone, Estrogen, TGF- β_1 , Delayed parturition)

요 약

본 연구는 체세포 복제란 이식우의 분만에 있어서 혈중 스테로이드호르몬, TGF- β_1 농도와 분만지연의 상관 관계를 살펴보고자 실시하였다. 대조군으로는 인공수정(AI)을 통하여 임신한 암소(cow)들을 사용하였다(AI-R). 모든 AI-R들은 자연 분만(n=5, 임신 284±0.71일)을 하였다. 분만징후를 보이지 않는 체세포 복제란 이식우(n=5, SCNT-R)들은 분만 예정일보다 10일 정도 지난 임신 292일째에 제왕절개(Caesarean section, C-sec)를 실시하여 분만하였다. 혈액 및 태반 샘플을 분만 전·후에 채취하여 형태 및 중량 등을 측정하였다. 혈장호르몬인 Progesterone(P4)와 Estradiol-17 β (E2) 농도는 방사선동위원소 면역 분석 시험(RIA) 방법을 이용하여 측정하였다. 혈장 및 태반분엽의 TGF- β_1 농도는 ELISA 방법으로 측정하였다. SCNT-R에서 회수한 태반의 무게는 AI-R의 것과 비교하여 유의적으로 무거웠다($p<0.05$). 분만 직전 SCNT-R들의 혈장 내 P4 농도는 AI-R들의 그것과 비교하여 유의하게 높았다($p<0.01$). 하지만 SCNT-R들의 혈장 내 E2 농도는 AI-R과 비교하여 상대적으로 낮게 나타났다($p<0.01$). 한편, 분만 전·후 SCNT-R들에서 혈장 또는 태반분엽의 TGF- β_1 단백질 발현 수준은 AI-R들과 비교하여 각각 유의적으로 높은 수준을 유지하였다($p<0.01$). 이상의 결과를 종합하여 보면, 분만 시 P4 및 E2의 이상 발현과 높은 수준의 혈장 및 태반 내 TGF- β_1 단백질은 체세포 복제태아의 분만지연을 야기하는 중요한 요인들 중의 하나일 것이라 사료된다.

* 농촌진흥청 축산과학원 경상과제 연구 결과임.

† Corresponding author : Phone: +82-31-290-1621, E-mail: seonghh@rda.go.kr

서 론

많은 연구보고들에서 체세포 복제란의 경우, 이식 후 태아 사망이 증가되어 극히 일부분만이 태어난다고 보고되고 있으며, 특히 소의 경우, 적은 수의 태반분엽과 혈관 형성 부족에 따른 태반의 부적절한 발달이 임신 초기에 자주 나타난다고 보고되었다(Stice 등, 1996; Hill 등, 2000). 체세포 복제소의 경우, 임신 후반기에는 임신 말기 태아 사망의 가장 커다란 요인인 요막수종(hydroallantois) (Wells 등, 1999, 2003; Pace 등, 2002); 태반분엽의 수가 적은 placentomegaly(Hill 등, 1999; Hashizume 등, 2002); 거대산 자중후군으로 알려져 있는 생시 체중 증가(Wilson 등, 1995; Kato 등, 2000; Heyman 등, 2004) 등이 나타난다. 이러한 요인들이 복제동물 분만에서 난산 또는 분만 지연 등의 주요한 원인이 되고 있다.

분만이 시작되려면 progesterone(P4) 또는 estradiol-17 β (E2) 호르몬의 합성 변화가 우선적으로 일어난다고 사람(Romero 등, 1988), 양(Challis와 Patric, 1981; Power 등, 1982), 소(Grunert 등, 1989) 및 돼지(King과 Wathes, 1989) 등에서 보고되었다. 포유동물에서 분만 때에 P4 농도는 급격하게 감소되고 E2 농도는 증가한다고 보고되고 있다. 하지만 대부분의 종에서 분만이 시작되기 위한 국부적 조절 기전에 대해서는 거의 알려진 것이 없는 것이 사실이다(Schuler 등, 2006).

TGF- β_1 은 소 또는 인간의 신장, 태반 및 혈소판에서 분비되는 25kDa 정도의 폴리펩타이드로 알려져 있고(Roberts 등, 1985), 소 태반분엽의 태아-모체 연결부분에서 발현하며(Munson 등, 1996), 또한 임신의 유지에 필수적이라고 보고되고 있다(Cronier 등, 1997; Ogasawara 등, 2000).

하지만 체세포 복제태아의 분만 지연에 TGF- β_1 이 미치는 영향 등에 대해서는 보고된 것이 거의 없다고 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 분만 지연 증상을 보이는 체세포 복제란 이식우를 대상으로 분만 전·후에서 P4, E2 및 TGF- β_1 의 발현 특성을 대조군과 비교·검토하고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시동물

농촌진흥청 축산과학원에서 보유하고 있는 한우 암소를 대리모로 사용하였다. 귀 섬유아세포(ear fibroblast cell)를 사용하여 체세포 복제란을 생산하였으며, 이들을 대리모에 이식하였다(SCNT-R). 인공수정을 실시한 대리모는 대조군으로 사용하였다(AI-R). 분만징후를 보이지 않는 체세포 복제란 이식우(n=5, SCNT-R)들은 분만 예정일보다 약 10일 정도 지난 임신 292일째에 제왕절개를 실시하여 분만하였다. AI-R(n=5)의 경우 모두가 자연분만으로 송아지를 생산하였다(임신 284 \pm 0.71일).

혈액 및 조직 채취

혈액은 자연분만 또는 제왕절개가 진행되기 직전에 헤파린 처리된 튜브(BD Vacutainer® and CPT™, NJ, USA)

를 이용하여 채혈하였다. 혈장은 2,000 \times g로 4°C에서 15분간 원심분리한 후 -80°C에 보관하였다. 태반조직은 자연분만(n=10) 또는 제왕절개(n=11) 직후에 채집하였으며, 채집 후 즉시 크기 및 무게를 측정된 다음 액체질소(-196°C)에 침지 후 -80°C에 보관하였다.

호르몬 및 TGF- β_1 단백질 분석

P4와 E2(Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) 농도 분석은 방사선동위원소면역 분석 시험(radioimmunoassay)으로 반복하여 측정하였다. 동위원소(125 I) 측정은 γ -counter(Titertek, Gamma 4, USA)를 이용하였다. 혈장 또는 태반분엽 내 TGF- β_1 수준은 ELISA 키트(G7591, Promega, Madison, WI, USA)를 이용하여 450nm 파장의 ELISA reader(Microplate Autoreader, Bio-Rad, USA)로 측정하였다. 본 분석에 사용한 TGF- β_1 은 상호반응(cross-reactivity)이나 방해(interference) 작용이 크지 않은 것으로 나타났다.

통계적 유의성 검정

AI-R과 SCNT-R 간의 호르몬 또는 단백질 농도 차이는 Starview 4.0 프로그램을 이용하여 Welch's *t*-test로 분석하였다. 통계적 유의차는 $p < 0.05$ 를 기준으로 하였다. 데이터는 mean \pm standard deviation(SD)으로 나타내었다.

결 과

체세포 복제 송아지들의 생시 체중은 일반 송아지에 비하여 높게 나타났으나, 개체간의 체중 차이가 다양하게 나타나(18~50 kg) 통계적 유의차는 인정되지 않았다(Fig. 1).

AI-R과 SCNT-R로부터 회수한 직후 태반분엽의 형태적 차이는 Fig. 2와 같다. SCNT-R에서 회수한 태반분엽의 크기가 AI-R에서 회수한 것에 비하여 큰 것으로 나타났다.

또한, 각 개체에서 회수한 태반분엽의 무게는 Fig. 3과 같다. SCNT-R에서 회수한 태반분엽의 평균 무게(301.5 \pm 41.2

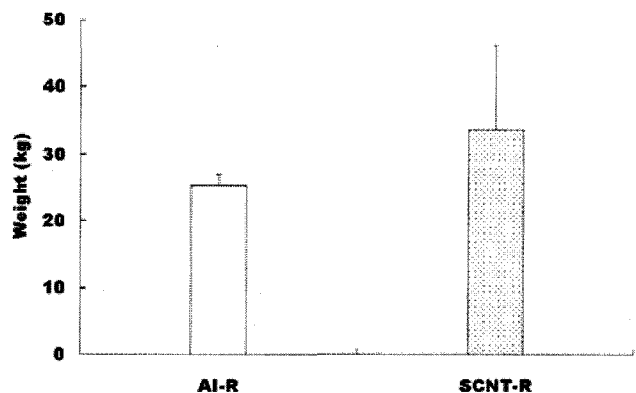


Fig. 1. Birth weight of calves from the recipients pregnant by artificial insemination or SCNT-ET. All AI-R were labored by natural delivery, however, SCNT-R showing no signs of delivery about 10 days after expected date were operated by Caesarean section.

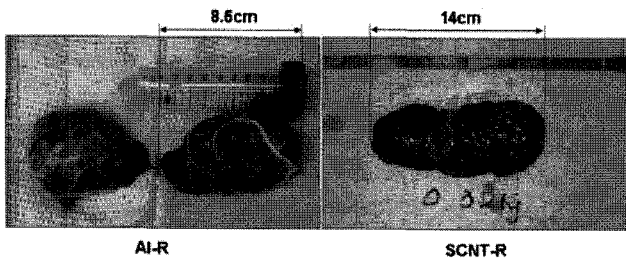


Fig. 2. The morphology of the placentomes collected from the recipients pregnant by artificial insemination(AI-R) and SCNT embryo(SCNT-R) immediately after normal delivery or C-sec, respectively. From each of these animals 2~3 placentomes were removed from the uterine horn that had contained the fetus.

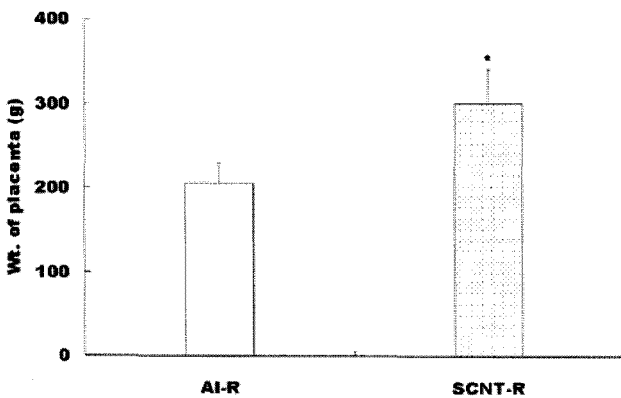


Fig. 3. Comparison of the weight of the placentomes collected from the recipients pregnant by AI-R and SCNT-R immediately after normal delivery or C-sec, respectively. Data was expressed as mean \pm standard deviation(S.D.). The mean weight of placentomes in SCNT-R was significantly higher than that of AI-R($p < 0.05$).

g)는 AI-R(204.8 \pm 24.9 g)의 중량에 비하여 유의적으로 무거운 것으로 나타났다($p < 0.05$).

분만 시 AI-R과 SCNT-R 그룹의 혈액 내 혈장 P4와 E2 호르몬 수준은 Fig. 4와 같다. AI-R 그룹의 P4 농도는 급격히 감소하였으나(0.07 \pm 1.17 ng/ml), SCNT-R 그룹은 여전히 높은 수준의 P4 농도를 나타내었다(5.62 \pm 2.67 ng/ml) ($p < 0.01$). 반면에 E2 농도는 AI-R 그룹에서 237.1 \pm 48 pg/ml로 SCNT-R 그룹(140.3 \pm 50 pg/ml)과 비교하여 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.01$).

AI-R과 SCNT-R 그룹간의 혈장 또는 태반분엽 내 TGF-β₁ 단백질 수준은 Table 1에서 나타낸 바와 같다. 혈액 내 TGF-β₁ 수준은 AI-R 그룹에서 SCNT-R 그룹에 비하여 유의적으로 낮게 나타났다($p < 0.01$). 태반분엽 내 TGF-β₁ 단백질 수준 또한 혈장에서와 마찬가지로 AI-R 그룹에서 통계적으로 유의하게 낮게 나타났다($p < 0.01$).

고찰

Constant 등(2006)은 태반 비대(overgrowth)와 태아와 태반분엽 무게간의 비율이 체세포 복제 대리모에서 매우

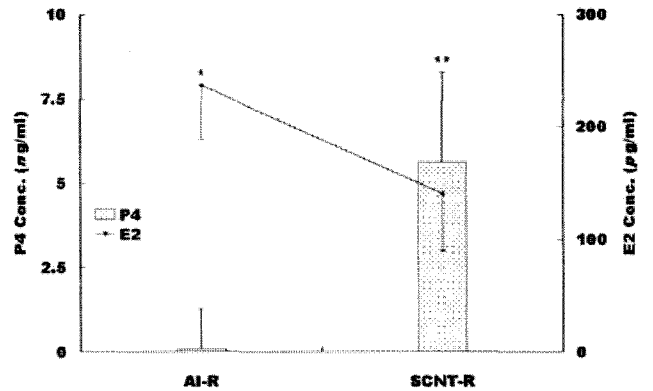


Fig. 4. The plasma progesterone and estrogen level at parturition. The blood was collected from the AI and SCNT recipients immediately before normal delivery or C-sec, respectively. The concentration of plasma P4 and E2 level were measured by RIA(¹²⁵I). Data was expressed as mean \pm standard deviation(S.D.).

* $p < 0.01$; ** $p < 0.01$.

Table 1. The plasma or placental TGF-β₁ protein concentration in the recipients pregnant by AI or SCNT embryo

	Plasma (ng/ml)	Placentome (ng/g)
AI-R	72.3 \pm 10.7 ^a	15.8 \pm 10.1 ^a
SCNT-R	107.5 \pm 1.2 ^b	21.7 \pm 1.06 ^b

The blood and tissue samples were collected from the recipients immediately before and after normal delivery or C-sec, respectively. The TGF-β₁ concentration was measured by ELISA(G7591, Promega, Madison, WI, USA). Different superscripts indicate significant difference(a vs. b, $p < 0.01$) within same column, respectively.

낮게 나타난다고 보고하였다. 즉, 태반 비대는 태아의 과성장 때문이라기보다는 태반의 기능 이상 때문이라는 것을 추측할 수 있다. 본 연구에서도 SCNT-R 그룹에서 태반분엽의 비대와 과체중을 확인할 수 있었다.

태반 발달과 그 기능이 비정상적일 경우, 착상시기에 유산 가능성이 높고, 대리모에서 부적절한 유산 발달과 분만 징후 미약 또는 실패 등의 원인이 된다고 보고하였다(Kato 등, 1998; Wells 등, 1999; Boquest 등, 2002). 최근 Challis 등(2000)의 보고에 의하면, 분만징후는 태반 내 태아 영양막에서부터 모체의 자궁 쪽으로 진행된다고 하였다. 이러한 보고는 비정상적 태반분엽 발달로 인하여 체세포 복제 송아지가 분만 예정 시기에 분만 신호를 보내지 못하거나 약하게 보내기 때문에 분만이 지연될 수 있다는 것을 추론할 수 있다. 본 연구에서도, 태반분엽의 형태적 또는 기능적 비정상이 분만징후의 발현 미약 또는 실패뿐만 아니라, 출생 후 1개월 이내에 폐확장부전 또는 급사 등으로 폐사(80%, 4/5) 하게 된 직접적인 원인이 되었을 것이라 사료된다.

스테로이드호르몬의 내분비적 기전은 포유동물에서 임신의 유지(Hoffmann과 Schuler 등, 2002)와 분만을 조절하는 가장 중요한 요인들 중의 하나이다. 면양의 경우, 태아 부신에서 분비되는 cortisol은 태반에 작용하여 스테로이드

합성 양상을 변화시키고, 그 결과 모체의 P4 생산은 떨어뜨리고 E2 농도는 높아지게 된다고 보고하였다(Challis, 1971; Power 등, 1982; Jenkin과 Thorburn, 1985). 또한, 자궁 내 prostaglandin 생산 증가에 의해 P4의 감소와 임신 후반기 모체와 태아 E2 농도의 증가를 유발하고 궁극적으로는 자궁근 수축(myometrial contractility)을 일으킨다고 보고되었다(Evans 등, 1982; Wu 등, 1997, 1998, 1999). 본 연구에서는 SCNT-R 그룹에서 제왕절개 직전에 혈장 호르몬 수치를 측정된 결과, 정상분만과 비교하여 정반대의 결과가 나타났다. 즉, 분만예정 시기보다 약 10일이 경과한 시점임에도 불구하고 높은 P4 농도와 낮은 E2 농도가 나타남을 확인하였다. 이러한 결과는 SCNT-R 그룹에서 스테로이드 호르몬에 의한 분만과 관련된 내분비적 기전이 원활하지 않으며, 이러한 자궁 내 환경이 체세포 복제 태아로부터의 분만징후를 유발하기에 부적절하다는 것을 추측할 수 있다.

TGF- β_1 은 임신 기간 동안 cytokine의 조절과 건강한 태아를 유지하는데 중요한 역할을 한다고 하였으며(McLennan과 Koishi, 2004), 증가된 혈장 TGF- β_1 수준은 유산을 유발할 수도 있다고 하였다(Ogasawara 등, 2000). 분만 시기 P4의 기능성 퇴행은 TGF- β_1 의 감소를 유발하고, 이로 인해 자궁근 수축과 태반 분리가 일어난다고 보고되었다(Hatthachote와 Gillespie, 1999; Thomson 등, 1999; Power 등, 2002). 하지만 임신과 관련하여 TGF- β_1 의 발현이나 기능에 대해서는 상반된 의견들이 있는 것이 사실이다(Simpson 등, 2002; Ball 등, 2007). 본 연구에서는 SCNT-R 그룹의 혈장 또는 태반분엽 내 TGF- β_1 농도는 예정보다 일주일 이상 지나 제왕절개를 하는 시점에서도 유의적으로 높게 나타났다. 따라서, 본 실험에서 나타난 결과는 SCNT-R 그룹에서 P4의 농도가 여전히 기능성 퇴행을 하지 않은 것과도 밀접한 연관이 있을 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합하여 보면 분만 시 P4와 E2 등 스테로이드호르몬의 이상 발현과 높은 수준의 혈장 및 태반 내 TGF- β_1 단백질은 체세포 복제태아의 분만지연을 야기하는 중요한 요인들 중의 하나일 것이라 사료된다. 이러한 연구 결과를 바탕으로 향후 태반분엽에서 TGF- β_1 단백질의 기능과 조직학적 발현 양상 등을 지속적으로 이해하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

인용문헌

- Ball E, Robson SC, Ayis S, Lyall F, Bulmer JN (2007): Expression of TGF beta in the placental bed is not altered in sporadic miscarriage. *Placenta* 28:965-971.
- Boquest IA, Grupen CG, Harrison SJ, McIlfatrick SM, Ashman RJ, d'Aplice AJ, Nottle MB (2002): Production of cloned pigs from cultured fetal fibroblast cells. *Biol Reprod* 66:1283-1287.
- Challis JRG, Patrick JE (1981): Fetal and maternal estrogen concentrations throughout pregnancy in the sheep. *Can J Physiol Pharmacol* 59:970-978.
- Challis JRG, Matthews SG, Gibb W, Lye SJ (2000): Endocrine and paracrine regulation of birth at term and preterm. *Endocr Rev* 21:514-550.
- Challis JRG (1971): Sharp increase in free circulating oestrogen immediately before parturition in sheep. *Nature* 229:208.
- Constant F, Guillomot M, Heyman Y, Vignon X, Laigre P, Servely L, Renard JP, Chavatte-Palmer P (2006): Large offspring or large placenta syndrome? Morphometric analysis of late gestation bovine placentomes from somatic nuclear transfer pregnancies. *Biol Reprod* 75:122-130.
- Cronier L, Alsat E, Hervé JC, Délèze J, Malassiné A (1997): Transforming growth factor β_1 (TGF β_1) inhibits gap junctional communication during human trophoblast differentiation. *Placenta* 18:377-391.
- Evans CA, Kennedy TG, Patrick JE, Challis JRG (1982): The effects of indomethacin on uterine activity and prostaglandin (PG) concentrations during labor induced by administering ACTH to fetal sheep. *Can J Physiol Pharmacol* 60:1200-1209.
- Grunert E, Ahlers D, Heuwieser W (1989): The role of endogenous estrogens in the maturation process of the bovine placenta. *Theriogenology* 31:1081-1091.
- Hashizume K, Ishiwata H, Kizaki K, Yamada O, Takahashi T, Imai K, Patel OV, Akagi S, Shimuzu M, Takahashi S, Katsuma S, Shiojima S, Hirasawa A, Tsujimoto G, Todoroki J, Izaikae Y (2002): Implantation and placental development in somatic cell clone recipient cows. *Cloning Stem Cells* 4:197-209.
- Hatthachote P, Gillespie JI (1999): Complex interactions between sex steroids and cytokines in the human pregnant myometrium: evidence for an autocrine signaling system at term. *Endocrinology* 140:2533-2540.
- Heyman Y, Richard C, Rodriguez-Martinez H, Lazzari G, Chavatte-Palmer P, Vignon X, Galli C (2004): Zootechnical performance of cloned cattle and offspring: preliminary results. *Cloning Stem Cells* 6: 111-120.
- Hill JR, Burghardt RC, Jones K, Long CR, Looney CR, Shin T, Spencer TE, Thompson JA, Winger QA, Westhusin ME (2000): Evidence for placental abnormality as the major cause of mortality in first-trimester somatic cell cloned bovine fetuses. *Biol Reprod* 63: 1787-1794.
- Hill JR, Roussel AJ, Cibelli JB, Edwards JF, Hooper NL, Miller MW, Thompson JA, Looney CR, Westhusin ME, Robl JM, Stice SL (1999): Clinical and pathologic features of cloned transgenic calves and fetuses (13 case studies). *Theriogenology* 51:1451-1465.
- Hoffmann B, Schuler G (2002): The bovine placenta; a source and target of steroid hormones: observations during the second half of gestation. *Domestic Animal Endocrinology* 23:309-320.
- Jenkin G, Thorburn GD (1985): Inhibition of progesterone secretion by a 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor in late pregnant sheep. *Can J Physiol Pharmacol* 63:136-142.

17. Kato Y, Tani T, Tsunoda Y (2000): Cloning of calves from various somatic cell types of male and female adult, newborn and fetal cows. *J Reprod Fertil* 120: 231-237.
18. Kato Y, Tani T, Sotomaru Y, Kurokawa K, Kato J, Doguchi H, Yasue H, Tsunoda Y (1998): Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science* 282:2095-2098.
19. King GJ, Wathes DC (1989): Relaxin, progesterone and estrogen profiles in sow plasma during natural and induced parturitions. *Anim Reprod Sci* 20:213-220.
20. McLennan IS, Koishi K (2004): Fetal and maternal transforming growth factor- β_1 may combine to main pregnancy in mice. *Biol Reprod* 70:1614-1618.
21. Munson L, Wilhite A, Boltz VF, Wilkinson JE (1996): Transforming growth factor beta in bovine placentas. *Biol Reprod* 55:748-755.
22. Ogasawara MS, Aoki K, Aoyama T (2000): Elevation of *Transforming growth factor-1* is associated with recurrent miscarriage. *J Clin Immunol* 20:453-457.
23. Pace MM, Augenstein ML, Bethhauser JM, Childs LA, Eilertsen KJ, Enos JM, Forsberg EJ, Golueke PJ, Graber DF, Kemper JC, Koppang RW, Lange G, Lesmeister TL, Mallon KS, Mell GD, Misica PM, Pfister-Genskow M, Strelchenko NS, Voelker GR, Watt SR, Bishop MD (2002): Ontogeny of cloned cattle to lactation. *Biol Reprod* 67:334-339.
24. Power LL, Popplecules EJ, Holloway JA, Diaper ND, Warner JO, Jones CA (2002): Immunoregulatory molecules during pregnancy and at birth. *J Reprod Immunol* 56:19-28.
25. Power SGA, Patrick JE, Carson GD, Challis JRG (1982): The fetal membranes as a possible source of progesterone in the amniotic and allantoic fluids of pregnant sheep. *Endocrinology* 110:481-486.
26. Roberts AB, Anzano MA, Wakefield LM, Roche NS, Stern DF, Sporn MB (1985): Type beta transforming growth factor: a bifunctional regulator of cellular growth. *Proc Natl Acad Sci USA*. 82:119-123.
27. Romero R, Scoccia B, Mazor M, Wu YK, Benveniste R (1988): Evidence for a local change in the progesterone/estrogen ratio in human parturition. *Am J Obstet Gynecol* 159:657-660.
28. Schuler G, Teichmann U, Kowalewski MP, Hoffmann B, Madore E, Fortier MA, Klisch K (2006): Expression of cyclooxygenase-II (Cox-II) and 20 β hydroxysteroid dehydrogenase (20 β HSD)/prostaglandin F-synthase (PGFS) in bovine placentomes: implications for the initiation of parturition in cattle. *Placenta* 27:1022-1029.
29. Simpson H, Robson SC, Bulmer JN, Barber A, Lyall F (2002): Transforming growth factor beta expression in human placenta and placental bed during early pregnancy. *Placenta* 23:44-58.
30. Stice SL, Strelchenko NS, Keefer CL, Matthews L (1996): Pluripotent bovine embryonic cell lines direct embryonic development following nuclear transfer. *Biol Reprod* 54:100-110.
31. Thomson TJ, Telfer JF, Young A, Campbell S, Stewart CJR, Cameron IT, Greer IA, Norman JE (1999): Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. *Hum Reprod* 14:229-236.
32. Wells DN, Laible G, Tucker FC, Miller AL, Oliver JE, Xiang T, Forsyth JT, Berg MC, Cockrem K, L'Huillier PJ, Tervit HR, Oback B (2003): Coordination between donor cell type and cell cycle stage improves nuclear cloning efficiency in cattle. *Theriogenology* 59:45-59.
33. Wells DN, Misica PM, Tervit HR (1999): Production of cloned calves following nuclear transfer with cultured adult mural granulosa cells. *Biol Reprod* 60:996-1005.
34. Wilson JM, Williams JD, Bondioli KR, Looney CR, Westhusin ME, McCalla DF (1995): Comparison of birth weight and growth characteristics of bovine calves produced by nuclear transfer (cloning), embryo transfer and natural mating. *Anim Reprod Sci* 38: 73-83.
35. Wu WX, Ma XH, Nathanielsz PW (1999): Changes in prostacyclin synthase in pregnant sheep myometrium, endometrium, and placenta at spontaneous term labor and regulation by estradiol and progesterone. *Am J Obstet Gynecol* 180:744-749.
36. Wu WX, Ma XH, Zhang Q, Buchwalder L, Nathanielsz PW (1997): Regulation of prostaglandin endoperoxide H synthase 1 and 2 by estradiol and progesterone in nonpregnant ovine myometrium and endometrium *in vivo*. *Endocrinology* 138:4005-4012.
37. Wu WX, Unno N, Ma XH, Nathanielsz PW (1998): Inhibition of prostaglandin production by nimesulide accompanied by changes in expression of the cassette of uterine labor-related genes in pregnant sheep. *Endocrinology* 139:3096-3103.

(접수일자: 2008. 2. 13 / 채택일자: 2008. 3. 5)