

발정주기에 따른 생쥐 자궁조직 내 비만세포의 분포

최영자¹ · 이철상² · 김재만^{3,*}

¹원광보건대학교 방사선과, ²군산대학교 생물학과, ³목포대학교 생물학과

Distribution of Mouse Uterine Mast Cells during Estrous Cycles

Young-Ja Choi¹, Chul-Sang Lee² and Jaeman Kim^{3,*}

¹Dept. of Radiotechnology, Wonkwang Health Science University, Iksan 570-750, Korea

²Dept. of Biology, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

³Dept. of Biology, Mokpo National University, Muan 534-729, Korea

ABSTRACT : We examined the distribution of uterine mast cells in cycling mice of different ages between 7 weeks and 38 weeks by toluidine blue staining. Mast cell density increased gradually depending on the age and culminated at 30 weeks after birth. Of the estrous stages, uteruses at metestrus showed markedly higher density of mast cells than those at the other stages in cycling mice of all ages analysed in this study and the majority of the mast cells were found in myometrium. We also discriminated types of the uterine mast cells in cycling mice at 10 weeks old by Alcian blue-safranin double staining. Mucosal type was most abundant among three types, including connective-tissue types and mixed types, through the entire estrous cycles. The portion of mixed types increased slightly after estrous. The abundance of uterine collagen protein determined by Masson trichrome staining was exactly consistent with the density distribution of the uterine mast cells during estrous cycles. Taken together, these results may imply that uterine mucosal mast cells, together with collagen proteins, are heavily involved in tissue remodeling of cycling mouse uterus.

Key words : Mast cells, Uterus, Myometrium, Collagen, Estrous cycles

요 약 : 정상 발정주기를 보이는 7주령부터 38주령의 생쥐를 대상으로 발정주기에 따른 자궁조직내 비만세포의 분포를 toluidine blue 염색법으로 조사하였다. 비만세포의 밀도는 생쥐의 연령 증가와 더불어 지속적으로 증가하다가, 30주령 이후 감소하는 경향을 보였다. 발정주기별 분포에서는 조사한 모든 연령의 생쥐에서 발정후기에 가장 높은 밀도를 나타내었고, 그 대부분은 자궁근층에서 발견되었다. 10주령의 생쥐를 대상으로 Alcian blue-safranin 이중염색법에 따라 비만세포의 유형별 상대분포를 조사한 실험에서는 발정주기의 전 시기에 걸쳐 점막형 비만세포의 비율이 결합조직형 및 혼합형 비만세포의 비율에 비해 상대적으로 현저히 높게 나타났으나, 발정기 이후 발정간기까지는 점막형비만세포의 상대 비율은 다소 감소하고, 다른 유형의 비만세포, 특히 혼합형 비만세포의 비율이 상대적으로 증가하는 경향을 보였다. Masson trichrome 염색법으로 조사한 교원섬유의 분포 양상은 비만세포의 분포 양상과 정확히 일치하게 발정후기에서 가장 높은 밀도를 나타내었다. 이상의 결과는 비만세포, 특히 점막형 비만세포가 교원섬유와 함께 발정주기에 따른 자궁의 점막 및 근육조직의 재구성에 중요한 역할을 하고 있음을 시사한다.

서 론

알레르기성 항원, superoxides, 보체단백질, 신경펩타이드, 지질단백질 등 다양한 자극에 의해 활성화된 비만세포는 분

비과립으로부터 히스타민, proteoglycans, serotonin, 여러 종류의 단백질 분해효소, 지질성 신호물질(prostaglandin-D₂, leucotrienes), thromboxanes, nitrogen/oxygen radicals 및 중의 cytokines 및 chemokines을 합성, 분비한다. 이를 통해 비만세포는 여러 조직에서 염증반응을 포함하는 자기방어적 내재면역 (Krishnaswamy et al., 2006; Mekori & Metcalfe, 2000)과 적응면역의 여러 과정에 관여하고 있을 뿐만 아니

* 교신저자: 김재만, 전남 무안군 청계면 영산로 1666(도림리 61) 목포대학교 자연과학대학 생명과학과. (우) 534-729, (전) 061-450-2348, (팩) 061-454-0267, E-mail: jkim@mokpo.ac.kr

라(Metz & Maurer, 2007), 상처 회복, fibrosis, 암, 그리고 자가면역질환에도 관여하는 것으로 알려져 있다(Benoist & Mathis, 2002; Galli & Tsai, 2008).

비만세포의 전구세포는 골수의 조혈모세포로부터 발생하며, 혈류를 통해 조직으로 이동한 후, 각 조직에서 cytokine의 종류와 농도에 따라 증식 및 분화 양상이 달라진다. 따라서 비만세포의 표현형과 분포 양상은 조직에 따라 서로 다른 heterogeneity를 보이게 된다. 비만세포의 발생과 생존에는 stem cell factor(SCF)와 그 수용체인 비만세포막의 c-kit 간의 상호작용이 중요하며(Vliagoftis & Metcalfe, 1997), interleukin(IL)-2, IL-3, IL-4, IL-9, IL-18, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1, RANTES, nerve growth factor(NGF) 등도 관여하고 있다. 뿐만 아니라, 섬유아세포와 같은 조직세포도 비만세포의 분화와 성숙에 관여함으로써 비만세포의 heterogeneity에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 (Marone et al., 2005; Metcalfe et al., 1997; Sasaki et al., 2005).

조직에 존재하는 비만세포는 세포 형태적, 생화학적, 기능적 차이를 기초로 세 가지 유형, 즉 점막형(MCT), 결합조직형(MCTC), 그리고 두 유형의 특징을 함께 갖고 있는 혼합형으로 구분할 수 있다(Church & Levi-Schaffer, 1997; Schwartz, 1998). 단백질 분해효소인 tryptase를 주로 발현하는 MCT 비만세포는 조직의 점막층에서 주로 관찰되고, 알레르기성 및 기생체 감염성 환자의 점막에서 그 수가 증가하는 것이 관찰된다. 이에 반해 MCTC 비만세포는 tryptase, chymase, carboxypeptidase, cathepsin G를 발현하고 있으며, 피부, synovium, 피하조직, 그리고 특히 위장관에서 주로 발견되고, 섬유질성 질환(fibrotic diseases)에서 그 수가 증가하는 것이 관찰된다(Menzies et al., 2011; Rudolph et al., 2004). 비만세포의 유형은 과립에 포함된 성분을 확인함으로써 구분할 수 있는데, 주로 많이 활용되는 간단한 방법은 Alcian blue-safranin O 이중염색법이다. 결합조직형 비만세포는 과립에 중성 단백질 분해효소인 tryptase와 chymase를 함유하고 있으며, safranin O에 양성이므로 적색으로 나타난다(Chen et al., 1993; Nawa et al., 1994; Noviana et al., 2004; Tainsh & Pearce, 1992). 이에 반해 점막형 비만세포는 결합조직형 비만세포에 비하여 작고 수명이 짧으며, 세포내 과립에는 황산콘드로이틴이 포함되어 있어서 Alcian blue에 의해 청색으로 염색된다. 이 황산콘드로이틴은 교원섬유와 함께 결합조직의 탄력 및 항장력의 원인 물질로 알려져 있다

(김형민, 1998; Monika, 1997; Noviana et al., 2001). 혼합형 비만세포는 Alcian blue와 safranin O에 모두 친화력을 갖는 세포로 청색과 적색이 혼재된 색으로 나타난다(Bachelet et al., 1988; Sayed & Dyson, 1993).

비만세포가 자궁에 존재한다는 사실은 오래전 사람을 대상으로 한 연구에서 확인되었으나(Rumbolz & Greene, 1957), 자궁 조직에서 생식주기에 따른 비만세포의 유형별 분포에 관한 정보는 많지 않으며, 그 역할도 최근에 와서야 착상, 임신 및 분만에서 부분적으로 밝혀지고 있는 상황이다(Bytautiene et al., 2008; Garfield et al., 2006; Karaca et al., 2008; Krishnaswamy et al., 2006; Menzies et al., 2011; Mori et al., 1997; Sivridis et al., 2001). 본 연구자들은 먼저 비임신 생쥐에서 자궁조직내 비만세포의 분포와 역할을 규명함으로써, 장차 임신과 분만에서의 역할과 그 중요성을 이해할 수 있는 토대를 마련하고자 생쥐의 자궁조직에서 발정주기에 따른 비만세포의 밀도 및 유형별 분포를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 생후 7주 이상된 생쥐 암컷으로(다물사이언스), 매일 아침 질 도말법(Waynforth, 1980; Caligioni, 2009)을 실시하여 연속 2회 이상 규칙적인 발정주기를 보이는 개체만을 선별하여 실험에 공시하였다. 연령 및 발정주기별로 5마리를 한 실험군으로 설정하여 조직표본을 제작하였다.

2. 조직표본 제작 및 염색

조직표본은 파라핀 침윤법으로 제작하였다. 생쥐의 자궁을 절취하여 중성포르말린(pH 7.4)에서 24~48시간 고정한다음, 자동침투기를 이용하여 에탄올 70%부터 100%까지 단계별로 탈수시킨 다음 xylene 3단계의 투명과정을 거쳐, 유동파라핀(60°C)에서 침투 및 포매과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하였다. 회전형 박절기(Shandon, England)를 이용하여 조직블록을 4 µm 두께의 절편으로 만들어 60°C의 슬라이드 건조기에서 1시간 건조시킨 다음 xylene으로 파라핀을 제거하고, 알콜 단계를 거쳐 흡수시켰다. 조직의 전체적인 형태를 관찰하기 위하여 H&E(Hematoxylin & Eosin) 염색을 실시하였는데, Harris hematoxylin 염색용액으로 5분간 핵을 먼저 염색한 후 Eosin 용액으로 대조염색을 실시하였

다. 전체 비만세포의 분포는 0.1% toluidine blue 용액(pH 0.5)으로 30분간 염색한 후 0.1% Nuclear fast red 용액으로 5분간 대조염색을 하였다. 비만세포의 유형별 분포는 점막형 비만세포가 염색되는 1% alcian blue(pH 0.3)와 결합형 비만세포를 염색하는 0.5 % safranin O(pH 0.3)를 함께 사용하여 염색하였다. 교원섬유의 분포는 Masson trichrome 염색법을 이용하여 Weigert iron hematoxylin 용액에 10분간 핵을 염색시킨 후 Biebrich scarlet-acid fuchsin 용액에 15 분간 세포질 및 근육을 염색시킨 다음, 2% Aniline blue 용액에 3분간 교원섬유를 염색시켜 현미경을 통해 관찰하였다. 자궁의 단면 구조 및 비만세포의 관찰은 광학현미경(Olympus BX 50, Olympus Optical Co., Ltd., Japan)을 이용하였다. 비만세포의 밀도와 분포를 조사하기 위해 현미경 상(×200)에서 화상분석 프로그램인 Image-Pro Plus ver 3.01(Media Cyberbetis Inc. USA)을 활용하여 1 mm² 당 비만세포의 수를 측정하였다.

3. 통계분석

연령별, 발정주기별 자궁조직 내 비만세포의 밀도 변화와 유형별 분포는 SPSS Win(Ver 10.0) 통계분석 프로그램을 활용하여, 일원분산분석법(one-way analysis of variance)으로 동일성을 판단한 후, Turkey 다중비교법으로 사후 검정을 실시하였으며, $p < 0.05$ 에서 유의성을 판단하였다.

결 과

1. 발정주기별 자궁조직 내 비만세포의 분포

조직표본을 toluidine blue로 염색하여 연령별, 발정주기별 전체 비만세포의 밀도와 분포를 광학현미경하에서 화상 분석하였다(Table 1, Fig. 2). 비만세포의 밀도는 면적 1 mm²

당 비만세포의 개수로 표시하였으며, 평균 밀도는 5개체의 표본에서 얻은 밀도를 평균과 표준편차로 나타내었다. 비만세포는 대부분 자궁근층에 분포하고 있었으며, 세포의 크기는 6~12 μm, 모양은 타원형, 원형, 방추형, 부정형 등으로, 세포의 크기와 모양이 매우 다양하였다(Fig. 3). 발정주기별 자궁조직 내 비만세포의 밀도 변화를 생후 7주부터 38주에 걸쳐 조사하였다(Table 1, Fig. 2). 생후 7주된 생쥐 자궁조직 내 비만세포의 평균 밀도(세포수/mm²)는 발정후기가 96.4±4.8로 가장 높았으며, 발정기(72.7±17.5)와는 유의한 차이가 없었으나, 발정전기(39.4±9.5)와 발정간기(63.2±7.8)와는 유의한 차이가 있었다. 생후 10주에서도 발정후기는 366.8±33.7로서, 다른 시기들 즉, 발정전기(157.8±28.0), 발정기(183.7±37.0), 발정간기(151.9±65.9) 모두에 대해 유의하게 높았다. 생

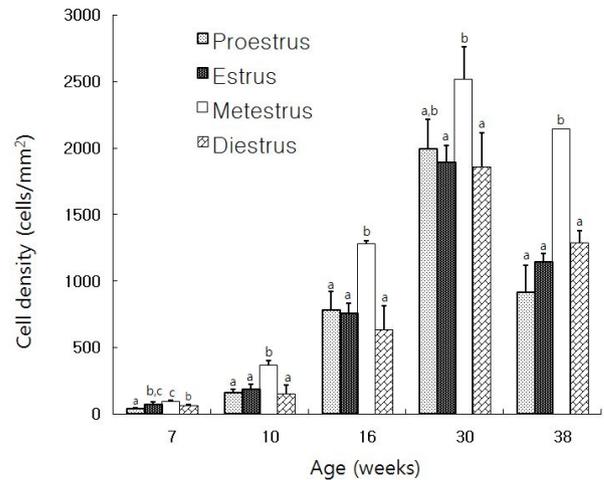


Fig. 1. Comparison of mast cell density in mouse uterus at different ages and estrous stages. The cells were stained with toluidine blue. Values with different superscripts (a, b, c) in the same age significantly differ ($p < 0.05$).

Table 1. Comparison of mast cell density in mouse uterine at different ages and estrous cycles

Estus cycle	Age (weeks)				
	7	10	16	30	38
Proestrus	39.4± 9.5 ^a	155.8±28.0 ^a	782.2±137.2 ^a	1,993.1±220.4 ^{a,b}	914.5±204.0 ^a
Estrus	72.7±17.5 ^{b,c}	183.7±37.0 ^a	751.7± 82.5 ^a	1,889.2±132.5 ^a	1,141.3± 63.3 ^a
Metestrus	96.4± 4.8 ^c	366.8±33.7 ^b	1,279.8± 21.6 ^b	2,519.4±241.8 ^b	2,144.8± 2.4 ^b
Diestrus	63.2± 7.8 ^b	151.9±65.9 ^a	634.0±177.3 ^a	1,854.6±261.1 ^a	1,281.7± 94.3 ^a

Values with different superscripts in the same column significantly differ ($p < 0.05$).

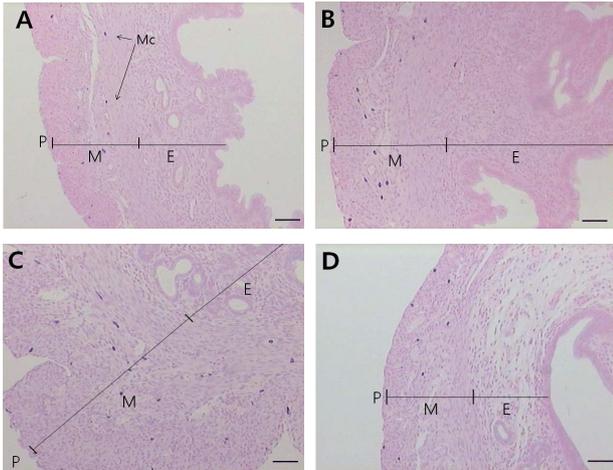


Fig. 2. Distribution of mast cells in mouse uterus during estrus cycle. Tissue sections were prepared from 10 weeks-old mice according to the paraffin-embedding protocols described briefly in Materials and Methods. Staining was performed with toluidine blue ($\times 100$). A; proestrus B; estrus C; metestrus D; diestrus E; endometrium M; myometrium P; perimetrium Mc; mast cells. Bar = 100 μ m.

후 16주에서도 10주령에서의 마찬가지로 발정후기는 $1,279.8 \pm 21.6$ 으로서, 발정전기(782.2 ± 37.2), 발정기(751.7 ± 32.5), 발정간기(634.0 ± 177.3)에 대해 각각 유의하게 높았다. 생후 30주의 발정후기에서는 $2,519.4 \pm 241.8$ 로서, 발정기($1,889.2 \pm 132.5$), 발정간기($1,854.6 \pm 261.1$) 각각에 대해서는 유의하게 높았으나, 발정전기($1,993.1 \pm 220.4$)와는 유의한 차이가 없었다. 38주령의 생쥐에서도 발정후기는 $2,114.8 \pm 2.4$ 로서, 발정전기(914.5 ± 204.0), 발정기($1,141.3 \pm 63.3$), 발정간기($1,281.7 \pm 94.3$), 각각에 대하여 유의하게 높은 밀도를 나타내었다(Table 1, Fig. 2).

2. 발정주기별 비만세포의 유형별 분포

규칙적인 발정주기를 보이는 생후 10주된 생쥐 자궁조직에서 비만세포의 유형별 분포를 조사하였다. Fig. 4에서와 같이 Alcian blue로 염색되는 점막형 비만세포와 safranin O에 염색되는 결합조직형 비만세포, 그리고 두 염색염색에 동시에 염색되는 혼합형 비만세포는 현미경하에서 명확히 구분할 수 있었다. 각 유형의 비만세포 밀도(세포수/ mm^2)를 화상분석을 통해 구하고, 전체 비만세포의 수에 대한 유형별 비만세포의 상대적 비율(%)로 나타내었다(Table 2, Fig. 4).

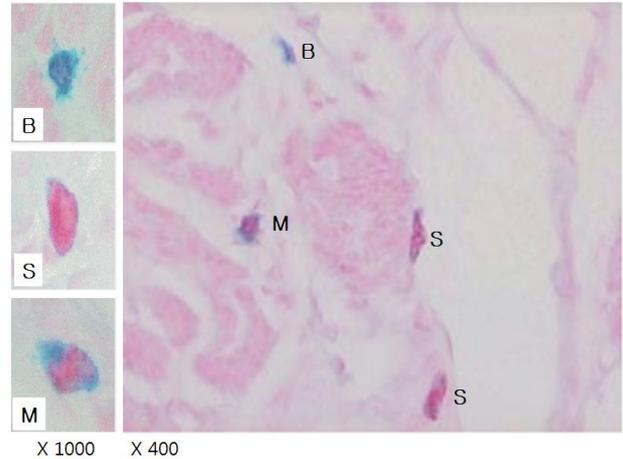


Fig. 3. Identification of mast cell types in the mouse uterus by Alcian blue-safranin O staining. Two different magnifications, $\times 1,000$ and $\times 400$, were used to classify the cell types. B; mucosal type, S; connective tissue type, M; mixed type.

발정주기 전 시기에 걸쳐 점막형 세포는 결합조직형, 혼합형 비만세포에 비해 상대적 구성 비율이 현저히 높았으며, 특히 발정기에서는 점막형 비만세포가 전체 비만세포의 대부분(98.9%)을 차지하였고, 이후 발정후기에 94.4%, 발정간기에 69.5%로 상대적 비율이 감소하였다가 발정전기에 다시 88.0%로 증가하는 경향을 보였다. 이에 반하여 결합조직형과 혼합형 비만세포는 발정기에서는 상대적 비율이 매우 낮았으나 (1% 미만), 발정후기, 발정간기로 진행하면서 상대적 비율이 증가하는데, 특히 발정간기에서 혼합형 비만세포는 22.6%로서, 결합조직형의 8.0%에 비해 증가 폭이 두드러졌다.

Table 2. Composition of different uterine mast cell types in 10 weeks-old mouse during estrus cycles

Estrous cycle	Mast cell types*		
	Connective tissue	Mixed	Mucosal
Proestrus	3.9 \pm 0.8	8.2 \pm 1.0	88.0 \pm 1.4
Estrus	0.5 \pm 0.4	0.6 \pm 0.6	98.9 \pm 0.8
Metestrus	2.7 \pm 1.2	3.2 \pm 2.8	94.1 \pm 3.2
Diestrus	7.8 \pm 6.2	20.9 \pm 11.8	71.3 \pm 12.2

*The numbers represent percentages of mast cells in each stage of estrus cycle.

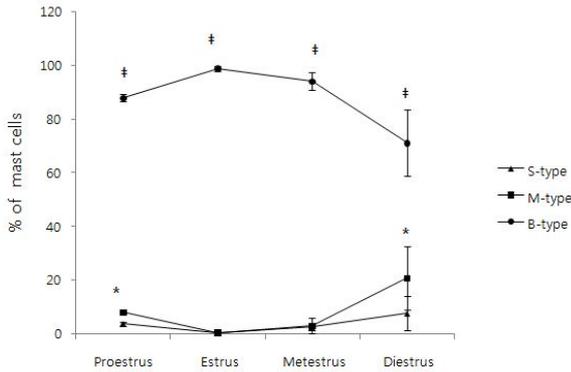


Fig. 4. Composition of different mast cell types during estrous cycle in 10 weeks-old mice. Types of the mast cells were classified by Alcian blue-safranin O staining. S, connective tissue type; M, mixed type; B, mucosal type. † and * significantly differ from M-type and B-type, respectively.

3. 자궁조직 내 교원섬유 관찰

생후 10주된 생쥐 자궁조직 내 교원세포의 분포를 Masson trichrome 염색법에 따라 발정주기별로 조사하였다. Masson trichrome에 의해 청색으로 염색되는 교원섬유는 발정전기, 발정기를 거치면서 자궁근층을 중심으로 점차 진하게 염색되다가 발정후기에 이르러 조직 전반에 걸쳐 강하게 염색되

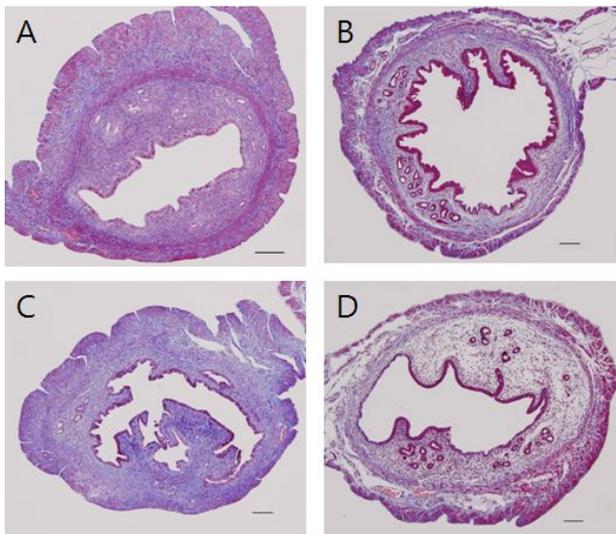


Fig. 5. 10 weeks-old mouse uterine tissues at different estrus stages (×40). Collagen was stained as blue color by Masson trichrome. A; proestrus, B; estrus, C; metestrus, D; diestrus. Bar=500 μm.

었다. 염색 정도는 이후 급격히 감소하여 발정간기에는 매우 약하게 염색된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 5).

고 찰

본 저자들이 이전에 발표한 논문(최 등, 2008)에서 자궁조직 내 생쥐 비만세포는 발정주기가 시작된 생후 7주부터 급격히 증가하여 32주에 이르기까지 지속적으로 증가하다가 이후 점차 감소하는 경향을 보인다고 보고한 바 있다. 본 실험에서는 연령 증가에 따른 비만세포의 밀도와 분포 변화를 발정주기별로, 또 비만세포의 유형별로 분석하였다. 본 실험에서도 전체 비만세포의 수는 생후 30주까지 증가한 이후 38주에서는 감소하는 경향을 보였고(Table 1, Fig. 2), 이러한 경향은 발정주기에 관계없이 비슷하였다. 하지만 발정주기별로 비만세포의 밀도를 비교하였을 때는 흥미롭게도 모든 주령에서 발정후기가 발정주기의 다른 시기에 비해 유의하게 높은 비만세포 밀도를 나타내었으며, 발정후기 이외의 다른 시기들 사이에서는 서로 비슷한 수준의 밀도를 보였다.

자궁조직 내 비만세포 밀도가 조사한 전체 연령대에 걸쳐 발정후기 때 가장 높게 나타나는 것은 발정주기에 따른 성호르몬의 분비변화와 관련이 있으리라 여겨진다. 쥐의 난소에서 비만세포의 밀도를 조사한 자료에 의하면, 임신과 수유기보다도 발정주기의 발정기와 발정후기에서 비만세포의 밀도가 높다고 하였으며(Parshad & Kathpalia, 1990), 비만세포가 분비하는 히스타민 수준도 발정전기와 발정후기에서 가장 높게 나타난다고 하였다(Gaytan et al., 1991). 본 실험대상과 같은 설치류인 쥐의 자궁조직 내 비만세포는 발정후기와 더불어 발정기에서도 높은 밀도로 관찰된다고 하였다(Aydin et al., 1998). 특히 최근의 연구에서 난소절제한 생쥐에 에스트로겐 또는 프로게스테론을 주입하면 비만세포의 성숙 및 자궁으로의 이동이 유도됨이 명백히 확인되었으며(Jensen et al., 2010), 비임신 암말의 생식관 내 비만세포의 밀도도 혈중 에스트로겐의 농도 증가와 더불어 증가하는 것으로 보아(Walter et al., 2011) 착상에 대비한 생식관의 구조적 변화에 생식소 성스테로이드 호르몬, 특히 에스트로겐의 영향은 중요하리라 생각된다. 하지만 사람의 자궁에서는 월경주기 동안 비만세포의 수적 변화가 없다는 보고(Mori et al., 1997)도 있으며, 산양의 자궁에서는 발정후기보다 오히려 발정간기와 발정전기에 비만세포가 더 많이 관찰된다는

보고(Karaca et al., 2008)도 있음을 고려할 때 성호르몬이 비만세포의 증식에 미치는 영향은 성스테로이드 호르몬의 종류와 농도, 그리고 동물 종에 따라서 다를 것으로 판단된다.

10주령의 생쥐 자궁에서 발정주기 동안 비만세포의 유형별 상대 분포 비율을 조사한 실험에서는(Table 2, Fig. 4) 전 시기에 걸쳐 점막형 비만세포의 비율이 결합조직형 및 혼합형의 비율에 비해 상대적으로 현저히 높게 나타났다. 발정전기에서 발정기로 진행하면서 점막형 비만세포의 상대적 비율은 증가하여 전체 비만세포의 대부분(98.9%)을 차지하였으며, 이후 발정후기로 진행하면서 약간 감소하다가 발정간기에서는 비율이 69.5%로 뚜렷한 감소를 보였다. 이에 따라 결합조직형 및 혼합형 비만세포의 비율은 상대적으로 증가하는데, 이런 증가는 결합조직형보다 혼합형 비만세포에서 더욱 뚜렷하였다. 결국, 발정주기별 비만세포의 유형별 상대 비율은 자궁내막이 발달한 발정기, 발정후기에는 비만세포의 밀도가 높을 뿐만 아니라, 점막형 비만세포의 상대적 비율이 증가하다가 자궁 내막의 퇴행이 시작되면서 결합형 및 혼합형 비만세포의 상대적 비율이 증가하는 것으로 나타나고 있다. 이는 비만세포가 자궁의 근육층을 증가시키고(Mori et al., 1997), 혈관신생에 기여한다는 보고(Varayoud et al., 2004)를 뒷받침하는 결과로써, 결국 성스테로이드 호르몬에 의한 자궁내막의 발달 상태와 점막형 비만세포의 자궁으로의 이동 및 성숙이 서로 밀접한 상관관계가 있음을 시사하고 있는 것이다(Jensen et al., 2010).

비만세포의 유형별 염색 특성은 헤파린과 같은 황산화 류코다당질의 함량에 좌우되는데, 비만세포의 헤파린 함량이 증가하면 safranin O에 의해 염색된다. 점막형 비만세포는 황산콘드로이틴을 함유하고 있어 toluidine blue에 대한 이염색성(metachromasy)을 나타낼 뿐만 아니라, Alcian blue에 강한 친화력을 보여 청색으로 염색되고, 히스타민 함량도 높게 나타난다(Aydin et al., 1998). 결합조직형 비만세포와 점막형 비만세포는 같은 전구세포에서 유래하며, 환경에 따라 유형이 결정될 뿐만 아니라, 유형의 변환도 일어날 수 있는데, 결합조직형 비만세포를 점막조직 내에 이식하면 점막형 비만세포로 형질 전환된다는 보고도 있다(김형민, 1998). 그리고 점막형 비만세포가 많이 함유하고 있는 황산콘드로이틴은 교원섬유와 함께 결합조직의 탄력 및 항장력을 결정하는 데 관련한다고 알려져 있다(김형민, 1998; Monika, 1997;

Noviana et al., 2001).

발정주기 동안 교원섬유의 분포를 살펴보면(Fig. 5), 교원섬유는 발정기에서 발정후기에 걸쳐 급격히 증가하다가 이후 발정간기로 진행하면서 급격히 사라지는 것을 관찰할 수 있다. 또한 교원섬유는 비만세포가 주로 관찰되는 자궁근층 주변에서 높은 농도로 존재하는 것으로 관찰된다. 자궁근층에 집중적으로 분포하는 비만세포, 평활근세포, 교원섬유를 분비하는 결합조직의 섬유아세포들이 조직형태학적으로 매우 긴밀한 관계에 있음은 본 저자들의 이전 논문(최 등, 2008)에서도 확인되었으며, 사람의 자궁조직을 대상으로 한 연구에서도 확인되었다(Mori et al., 1997). 비만세포가 분비하는 tryptase, TNF α , 히스타민은 섬유아세포에 대한 성장인자로 작용할 뿐만 아니라, 그 중 tryptase, TNF α 는 세포외기질 성분을 분해하는데 관여하며, 히스타민은 섬유아세포로부터 교원섬유의 생산을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Hatamochi et al., 1985). 본 연구의 결과에서 교원섬유는 발정주기에 따라 그 분포와 농도가 뚜렷이 변하고 있으며, 이런 변화는 비만세포의 밀도 변화와 거의 일치하고 있다. 이는 비만세포가 발정주기에 따른 자궁조직의 재구성에 깊이 관여하고 있음을 시사하는 것이다.

비만세포의 대부분은 자궁근층에서 발견되고 있다. 생쥐와 사람을 대상으로 연구한 다른 보고에서도 같은 결과를 보인다(Padilla et al., 1990; Rudolph et al., 1993). 또한 최근 연구들에서 자궁조직내 비만세포들이 임신기간 동안, 특히 임신 후반기에 많이 증가하며, 이들이 활성화되면 분만과 관련된 자궁 평활근의 수축이 유도된다는 증거들이 많아지고 있다(Rudolph et al., 2004). 이는 결국 자궁근층 비만세포의 부적절한 활성화는 평활근의 비정상적 수축을 통한 조산 등의 문제를 야기할 수 있는 가능성이 있음을 시사하는 것이다. 따라서 자궁근층 비만세포의 분포 및 활성화 기작에 대한 지속적인 연구는 이를 해결하는 중요한 기회를 제공할 것이다.

감사의 글

이 실험은 실험윤리위원회의 실험윤리규정을 준수하여 실시하였습니다.

이 논문은 2009년도 원광보건대학교 연구비 지원에 의해 수행되었음을 밝힙니다.

인용문헌

- Aydin Yasemin, Nese Tuncel, Firdevs Gurer, Muzaffer Tuncel, MuberraKosar, Gul Oflaz (1998) Ovarian, uterine and brain mast cells in female rats: Cyclic changes and contribution to tissue histamine. *Comparative Biochemi and Physiol Part A* 120. 255-262.
- Bachelet CM, Bernaudin JF, Fleury-Feith J (1988) Distribution and histochemical characterization of pulmonary mast cells in the rat and guinea pig. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 87(3):225-229.
- Benoist C, Mathis D (2002) Mast cells in autoimmune disease. *Nature* 19-26;420(6917):875-878.
- Bytautiene E, Vedernikov YP, Saada GR, Romero R, Garfield R (2008) IgE-independent mast cell activation augments contractility of nonpregnant and pregnant guinea pig myometrium. *Int Arch Allergy Immunol* 147(2):140-146.
- Caligioni CS (2009) Assessing reproductive status/stages in mice. *Curr Protoc Neurosci Appendix 4:Appendix 4I*.
- Chen Z, Irani AA, Bradford TR, Craig SS, Newlands G, Miller H, Huff T, Simmons WH, Schwartz LB (1993) Localization of rat tryptase to a subset of the connective tissue type of mast cell. *J Histochem Cytochem* 41(7):961-969.
- Church MK, Levi-Schaffer F (1997) The human mast cell. *J Allergy Clin Immunol* 99:155-160.
- el Sayed So, Dyson M(1993) Histochemical heterogeneity of mast cells in rat dermis. *Biotech Histochem* 68(6): 326-332.
- Galli SI, Tsai M (2008) Mast cells: versatile regulators of inflammation, tissue remodeling, host defense and homeostasis. *J Dermatol Sci* 49(1):7-19.
- Garfield RE, Irani AM, Schwartz LB, Bytautiene E and Romero R (2006) Structural and functional comparison of mast cells in the pregnant versus nonpregnant human uterus. *Am J Obstet Gynecol* 194(1):261-267.
- Gaytan F, Aceitero J, Bellido C, Sanchez-Criado JE, Aguilar E (1991) Estrous cycle-related changes in mast cell numbers in several ovarian compartments in the rat. *Biology of Reprod* 45:27-33.
- Hatamochi A, Fujiwara K, Ueki H(1985) Effects of histamine on collagen synthesis by cultured fibroblasts derived from guinea pig skin. *Arch Dermatol Res* 277(1):60-64.
- Jensen F, Woudwyk M, Teles A, Woidacki K, Taran F, Costa S, Malfertheiner SF, Zenclussen AC (2010) Estradiol and progesterone regulate the migration of mast cells from the periphery to the uterus and induce their maturation and degranulation. *PLOS One* 22;5(12): e14409.
- Karaca T, Arikan S, Kalender H, Yoruk M (2008) Distribution and heterogeneity of mast cells in female reproductive tract and ovary on different days of the oestrus cycle in Angora goats. *Reprod Domest Anim* 43(4):451-456.
- Krishnaswamy G, Ajitawi O, and Chi DS (2006) The human mast cell-an overview in *Mast Cells: Methods and Protocols* Edited by: G. Krishnaswamy and D. S. Chi *Methods in Molecular Biology*, vol. 315.
- Marone G, Triggiani M, Genovese A, De Paulis A (2005) Role of human mast cells and basophils in bronchial asthma. *Adv Immunol* 88:97-160.
- Mekori YA, Metcalfe DD (2000) Mast cells in innate immunity. *Immunol Rev* 173:131-140.
- Menzies FM, Shepherd MC, Nibbs RJ, Nelson SM (2011) The role of mast cells and their mediators in reproduction, pregnancy and labour. *Hum Reprod Update* 17(3):383-396.
- Metcalfe DD, Baram D, Mekori YA (1997) Mast cells. *Physiol Rev* 77(4):1033-1079.
- Metz M, Maurer M (2007) Mast cells--key effector cells in immune responses. *Trends Immunol* 28(5):234-241.
- Monika Welle (1997) Development, significance, and heterogeneity of mast cells with particular regard to the mast cell-specific proteases chymase and tryptase. *Journal of Leuko Biol* 61:233.

- Mori A, Zhai YL, Toki T, Nikaido T, Fujii S (1997) Distribution and heterogeneity of mast cells in the human uterus. *Hum Reprod* 12(2):368-372.
- Nawa Y, Horii Y, Okada M, Arizono N(1994) Histochemical and cytological characterizations of mucosal and connective tissue mast cells of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Int Arch Allergy Immunol* 104(3):249-254.
- Noviana D, Kono F, Nagakui Y, Shimizu H, Mamba K, Makimura S, Horii Y (2001) Distribution and enzyme histochemical characterisation of mast cells in cats. *Histochem J* 33(11-12):597-603.
- Noviana D, Mamba K, Makimura S, Horii Y (2004) Distribution, histochemical and enzyme histochemical characterization of mast cells in dogs. *J Mol Histol* 35(2):123-132.
- Padilla L, Reinicke K, Montesino H, Villena F, Asencio H, Cruz M, Rudolph Mi (1990) Histamine content and mast cells distribution in mouse uterus: The effect of sexual hormones, gestation and labor. *Cellular and Molecular Biol* 36(1):93-100.
- Parshad RK, Kathpalia K (1990) Distribution and characteristics of mast cells in the rat ovary during the oestrous cycle, lactation and pregnancy. *Folia Morphol (Praha)* 38(4):327-330.
- Rudolph MI, Reinicke K, Cruz MA, Gonzalez C, Bardisa L (1993) Distribution of mast cells and the effect of their mediators on contractility in human myometrium. *Br J Obstet Gynecol* 100:1125-1130.
- Rudolph MI, Rojas IG, Penissi AB(2004) Uterine mast cells: A new hypothesis to understand how we are born. *Biocell* 28(1):1-11.
- Rumbolz WL, Greene EG(1957) Observations on metachromatic granules in human endometrium. *Am J Obstet Gynecol.* 73(5):992-997; discussion, 998-999.
- Sasaki Y, Yoshimoto T, Maruyama H, Tegoshi T, Ohta N, Arizono N, Nakanishi K (2005) IL-18 with IL-2 protects against *Strongyloides venezuelensis* infection by activating mucosal mast cell-dependent type 2 innate immunity. *J Exp Med* 5;202(5):607-616.
- Schwartz LB (1998) The mast cell, in *Textbook of Rheumatology* (Kelley WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB, eds.), W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 161-175.
- Sivridis E, Giatromanolaki A, Agnantis N, Anastasiadis P (2001) Mast cell distribution and density in the normal uterus-metachromatic staining using lectins. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 98(1):109-113.
- Tainsh KR, Pearce FL (1992) Mast cell heterogeneity: evidence that mast cells isolated from various connective tissue locations in the rat display markedly graded phenotypes. *Int Arch Allergy Immunol* 98(1): 26-34.
- Varayoud J, Ramos JG, Bosquiazzo VL, Muñoz-de-Toro M, Luque EH (2004) Mast cells degranulation affects angiogenesis in the rat uterine cervix during pregnancy. *Reproduction* 127(3):379-387.
- Vliagoftis H, Metcalfe DD (1997) Characterization of adhesive interactions between mast cells and laminin isoforms: Evidence of a principal role for alpha 6 integrin. *Immunology* 92(4):553-560.
- Walter J, Klein C, Wehrend A (2011) Distribution of mast cells in vaginal cervical and uterine tissue of non-pregnant mares: Investigations on correlations with ovarian steroids. *Reprod Domest Anim.* doi: 10.1111/j.1439-0531.2011.01897.x. [Epub ahead of print].
- Waynforth HB (1980) *Experimental and Surgical Technique in the Rat.* Published A subsidiary of Harcourt Brace Fovanovich, London.
- 김형민 (1998) 면역과 알레르기. 신일상사.
- 최영자, 제갈승주, 이철상, 김재만 (2008) 생쥐 자궁조직 내 비만세포의 연령별 밀도 및 분포 변화. *Dev Reprod* 12(3):243-250.

(Received 13 April 2012, Received in revised form 30 April 2012, Accepted 24 May 2012)