

돼지의 발정주기에 따른 난관 상피세포내 Plasminogen Activators 활성의 변화

신미영, 권은혜, 정희태, 양부근, 박춘근

강원대학교 동물생명과학대학

쥐, 돼지 그리고 소의 수정란과 난자에서 plasminogen activator (PA) 활성은 많은 연구에서 증명된 바 있지만 자궁과 난관에 대해서는 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구는 돼지 난관 상피세포에서 발정주기에 따른 PAs 활성이 어떻게 변화하는지 확인하기 위해 실행되었다. 배란후기, 초기~중기 황체기 및 배란전기에 돼지 난관을 Hank's balanced salt solution (HBSS)에서 2회 세척한 후 난관 내를 10 mL HBSS로 관류시켜 난관상피세포를 채취하였다. 채취된 난관 상피세포는 Tris-NH₄ buffer로 1회, 0.1% BSA가 포함된 DMEM으로 2회 4°C에 300 ×g로 10분 동안 원심 분리하여 세척하였다. 난관 상피세포는 10% 비동화 시킨 FBS와 amphotericin B가 포함된 DMEM/HAM F-12에서 2.0×10⁵cell/mL로 조정된 후 4-well dish에 분주하여 38°C, 5% CO₂ 및 95% Air 조건하에서 7일 동안 배양되었다. 배양액은 48시간 마다 새로운 배양액으로 교환하였으며 배양 1, 3, 5 및 7일째에 세포와 conditioned medium은 zymographic analysis에 이용될 때까지 -20°C에 분리하여 보관하였다. 난관 상피세포의 PAs 활성은 SDS-PAGE, casein-agar zymography와 densitometry를 사용하여 측정하였다. 그 결과, Urokinase-type PA (uPA)는 난관 상피세포에서 발정주기의 각 단계에서 배양 5~7일째에 관찰되었다. 반면, 발정 주기의 각 단계에서 난관 상피세포를 가지고 배양한 conditioned medium으로부터 uPA, tissue-type (tPA)와 tPA-PA inhibitor (tPA-PAI)의 활성은 배양 1, 3, 5 및 7일째에서 모두 관찰되었다. 이 때 배란후기의 세포를 가지고 배양된 conditioned medium에서 uPA 활성은 배양 3~7일째보다 1일째에 유의적으로 높았으며 ($p < 0.05$), 배란후기에 tPA 활성은 배양 1~3 및 7일째보다 5일째에 유의적으로 높았고 ($p < 0.05$), 배란전기에 tPA-PAI 활성은 배양 5일째보다 7일째에 유의적으로 높았다 ($p < 0.05$). 또한, conditioned medium에서 발정주기의 각 단계 중 tPA-PAI 활성은 배란전기, 초기~중기 황체기보다 배란후기에 유의적으로 높게 관찰되었다 ($p < 0.05$). 그러나 tPA 활성은 발정주기의 모든 단계의 conditioned medium에서 배양 5일째까지 증가하다가 배양 7일째에 감소하였으며, uPA 활성은 발정주기의 모든 단계의 conditioned me-

dium에서 관찰되었다. uPA 활성은 배란후기 세포를 가지고 배양된 conditioned medium에서 배양기간에 따라 유의적인 차이를 보였으며($p < 0.05$), tPA-PAI 활성은 모든 단계에서 관찰되었고 발정주기의 각 단계 사이에 유의적인 차이를 보였다($p < 0.05$). 이와 같은 결과는 난관 상피세포에 의해 uPA, tPA, tPA-PAI가 생산되고 난관 상피세포에서 PA 활성은 발정주기에 따라 다양하게 변화한다는 것을 시사한다.

Key words) 돼지, 난관상피세포, 발정주기, Plasminogen activators

본 연구는 한국과학재단 특정기초 연구비(R01-2003-000-10500-0)의 지원에 의하여 수행되었음.