

난소낭종 및 자궁내막염 한우에서 염증유래 유전자 발굴

최창용¹, 박선영, 김은숙, 문윤자, 박혜진, 손동수¹, 조상래¹, 김현중¹, 김재범¹, 박재용, 홍성근, 한재희, 강다원^{*}
경상대학교 의과대학 생리학교실, ¹농촌진흥청 축산과학원 가축유전자원시험장

Identification of Inflammation-related Genes Altered in the Cystic Ovary and Endometritis of Korean Cattle

Changyong Choe¹, Sun-Young Park, Eun-Sook Kim, Yoon-Ja Moon, Hye-Jin Park, Dong-Soo Son¹, Sang-Rae Cho¹, Hyun-Jong Kim¹, Jae-Bum Kim¹, Jae-Yong Park, Seong-Geun Hong, Jaehee Han and Dawon Kang^{*}

Department of Physiology, College of Medicine and Institute of Health Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 660-751, Korea

¹Animal Genetic Resources Station, National Institute of Animal Science, RDA, Namwon 590-832, Korea

ABSTRACT

This study was carried out to investigate inflammation-related gene expression altered in ovary and endometrium of Korean cattle with reproductive disorders using microarray. In the present study, nine inflammation-related differentially expressed genes (DEGs) were identified in the cystic ovary and endometrium with endometritis. In the follicular cyst, eotaxin and alpha-2-HS-glycoprotein (AHSG) were up-regulated, whereas complement component 3 (C3) and oxidised low density lipoprotein (lectin-like) receptor 1 (OLR1) were down-regulated. Complement component 4A (C4A) was up-regulated in luteal cyst. In the endometritis, chemokine ligand 1 and 2 (CXCL1 and CXCL2), protein C (inactivator of coagulation factors Va and VIIIa), and complement component C5 were up-regulated, whereas kininogen was down-regulated. Of these genes, we focused on eotaxin and kininogen, which were highly regulated in the follicular cyst and endometritis, respectively and on C3 commonly regulated in both reproductive disorders. The microarray data of eotaxin, kininogen, and C3 were validated by semi-quantitative PCR. Consistent with microarray data, eotaxin was up-regulated by 4-fold in the follicular cyst, while kininogen was down-regulated by 5-fold in the endometritis. C3 was down-regulated in the both follicular cyst and endometritis. Our results suggest that these inflammation-related genes could be useful markers for diagnosis of cystic ovary and endometritis of Korean cattle.

(Key words : Korean cattle, microarray, follicular cyst, endometritis)

서 론

한우의 번식장애 질환은 농가에 경제적 손실을 입히는 주요 인자 중 하나이다. 본 연구진의 선행 연구에서, 경상남도 거창군과 고성군의 한우 사육 농가에서 사육하고 있는 한우와 전북 남원시 소재 축산과학원 가축유전자원시험장에서 사육하고 있는 한우 834두를 대상으로 번식장애 발생 유형을 조사한 결과 101두(12.0%)에서 번식장애 질환이 발생하였다. 번식장애 질환 중 난포낭종과 황체낭종을 포함한 난소낭종이 가장 높은 비율(31.7%)을 보였고, 자궁내막염은 낮은 비율(1%)로 조사되었다(최 등, 2006).

난소낭종은 난소의 점막에 부종과 염증을 일으켜 난포를 형성하게 되는 것을 말한다. 난소낭종 중 난포낭종은 성숙난

포가 배란되지 못할 때 생기며, 난포벽이 황체화되지 않는 것이 특징이다. 황체낭종은 배란되지 않은 난포벽에 황체조직이 형성되어 장기간 존재하여 무발정을 일으킨다. 자궁내막염(endometritis)은 자궁내막에 염증이 발생한 것으로 만성적으로 진행되면 자궁축농증이 될 수 있다. 자궁내막염은 인공수정, 자궁 세척, 조산, 후산정체의 제거 시에 세균이 자궁 내에 침입하여 발생하거나 세포 찢겨기 및 혈액이 착상장소에 축적되어 염증을 유도하는 것으로 알려져 있다. 자궁내막의 세균 감염 방어 능력은 호르몬 환경에 영향을 받는다. 이들 번식장애 질환을 가진 소는 임신하기가 어려운 뿐만 아니라 임신 유지도 어렵다. 따라서 번식장애 질환을 관리할 수 있는 최고의 방법은 조기 발견을 통한 치료로, 분자적 수준에서 생물학적 지표의 발견은 매우 중요하고도 시급한 연구 과제라

[†] 본 연구는 한국농촌진흥청 현장협력기술개발사업(과제번호: 20080101-080-057-001-01-00호)의 지원에 의해 이루어진 것임.

^{*} Correspondence : E-mail : dawon@gnu.ac.kr

할 수 있다.

사이클로옥시게나아제(Cyclooxygenase 1/2: COX-1/COX-2), 종양괴사인자 알파(tumor necrosis factor alpha, TNF- α), 유도적 산화질소 합성 효소(inducible nitric oxide synthase, iNOS), 헵토글로빈(haptoglobin), 인터루킨 1과 6(interukin 1/6: IL-1/IL-6)는 소의 생식기에서 생리학적인 중요한 역할을 할 뿐만 아니라, 감염 질환에서 염증의 매개체로서 역할을 한다. 자궁 감염 시 IL-1, IL-2, 지질다당류(lipopolysaccharide, LPS)는 프로스타글라딘(prostaglandin F_{2a}, PGF_{2a})의 생산을 증가시키는 것으로 알려져 있다(Leung 등, 2001; Fischer 등, 2006). 이러한 유전자들은 다양한 질환의 생물학적 지표 및 치료제 연구에 중요한 정보를 제공하고 있다.

본 연구에서는 도축장에서 채취가 가능한 난포낭종, 황체낭종 및 자궁내막염 시료에서 염증 유래 유전자를 정상 조직과 비교·조사하였다. 특히, 현재까지 보고된 난소낭종에서의 염증 유전자 발현 변화 연구는 전무한 실정이다. 본 연구에서 조사된 결과들은 난소낭종 및 자궁내막염의 발생 기전 및 치료에 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 배양액

본 연구에 이용된 한우의 난소와 자궁은 도축장으로부터 회수되어 저온상태에서(4°C) 실험실로 운반되었다. 난소는 세절없이, 자궁내막 조직은 phosphate buffered saline (PBS)로 세척한 후 0.5 cm보다 얇게 썰어 신속하게 10배 이상 부피의 *RNAlater*(Qiagen GmbH, Hilden, Germany)에 담구어 4°C에서 12시간 이상 보관하였다. 준비된 시료에서 *RNAlater*를 제거한 후 -80°C로 옮겨 실험 시까지 보관하였다. 번식장애의 유형은 도축장에서 회수된 난소 및 자궁의 형태학적 병리학적 소견을 근거하여 구분하였다.

2. 마이크로어레이 분석

난소와 자궁으로부터 RNA를 추출하여 정제한 후 cRNA 합

성 및 정제 후, 표지된 cRNA 10~15 μ g을 Fragmentation buffer(Affymetrix Inc, CA, USA)를 이용하여 35에서 200 bp까지 분절시켰다. 만들어진 cRNA, Fragmentation buffer, RNase-free water를 0.2 ml PCR tube에 넣은 후 94°C에서 35분간 반응을 유도하였다. 분절된 cRNA는 GeneChip[®] Bovine Genome Array Chips (Affymetrix)을 이용하여 제조사의 실험 과정에 따라 진행하였다. 어레이(array)들은 streptavidin-phycoerythrin complex를 가지고 염색한 후 GeneChip Operating Software(Affymetrix, CA, USA)로 강도를 조정하여 GeneChip scanner 3000 (Affymetrix)을 이용하여 스캔하고 발현 패턴을 분석하였다. 마이크로어레이 분석의 전 과정은 서린 바이오에 의뢰하였다 (agency of Affymetrix Gene Chip, Seoul, South Korea).

3. 역전사 중합효소 중합반응(RT-PCR)

Total RNA는 TRIzol(invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 사용하여 정상 및 난소낭종을 보이는 난소, 자궁내막염을 가진 자궁내막으로부터 추출되었다. 추출된 total RNA는 Superscript preamplification system(Invitrogen, USA)과 oligo(dT)를 이용하여 cDNA로 합성되었다. 합성된 cDNA는 소(bovine)에 특징적으로 작용하는 primer를 이용하여 증폭하였다(Table 1). 증폭산물은 염기서열 분석을 통하여 확인하였다. 각 유전자의 mRNA 발현량은 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)의 발현량으로 정량·비교하였다.

4. 통계학적 분석 및 실험 성적의 처리

실험 결과의 통계학적 분석은 Student's *t*-test를 이용하여 처리구간의 유의성을 검정하였고($p < 0.05$), 결과들은 평균 \pm 표준편차로 표시하였다.

결 과

1. 난포낭종, 황체낭종 및 자궁내막염에서 변화되는 염증 관련 유전자

Table 2와 3은 난포낭종, 황체낭종 및 자궁내막염이 있는

Table 1. Primer sequences used for RT-PCR

Gene title	GenBank Accession Nos.	Primer sequences(5'-3')	Expected size (bp)
Complement component 3	NM_001040469	Sense: ACGGAATGCTGAGCAAACCTCT Antisense: CCCTCCTTCAGTTTAAGGGCT	301
Eotaxin	NM_205773	Sense: CCAATTTAATCCCCTGCAAAG Antisense: ATTGGCCTCTGTCACACATCA	354
Kininigen 1	NM_175774	Sense: AGCAAGGGAAACCACATGTTC Antisense: TGATCGGAAAGGTGAAAAACC	206

한우의 난소와 자궁 조직(Fig. 1)에서 변화되는 염증 관련 유전자를 정상 조직과 비교한 마이크로어레이 분석 결과이다. 대조군에 비해 질병군(난포낭종, 황체낭종 및 자궁내막염) 어레이에서 증가(up)/감소(down)하는 염증 관련 유전자를 유전자 존 재론(Gene ontology) 정보 분석을 통하여 정리하였다(www.godatabase.org). Table 2와 3은 염증 관련 유전자 중 2배 이상 변화되는 유전자(differentially expressed genes; DEG)를 의미 있는 유전자로 간주하여(log 2²=1) 보여주고 있다. 질병군에서 9개의 DEG가 확인되었으며, chemokine ligand 1과 2(CXCL1/CXCL2), protein C(inactivator of coagulation factors Va and VIIIa, PROC), similar to complement component C5, complement component 4A(C4A), eotaxin(에오탁신) 및 alpha-2-HS-glycoprotein(AHSG)가 증가하였다(Table 2). Complement component 3(보체 제 3 성분, C3), oxidised low density lipoprotein(lectin-like) receptor 1(OLR1) 및 kininogen 1(키니노젠, KNG1)은 감소하였다(Table 3). 난포낭종에서는 에오탁신과 AHSG가 증가하였고, C3와 OLR1이 감소하였다. 황체낭종에서는 C4A가 증가하였다. 자궁내막염에서는 CXCL1/CXCL2, PROC 및 C5가 증가하고 키니노젠이 감소하였다. C3는 난포낭종과 자궁내막염에서 공통적으로 감소하였다. 특히 난포낭종에서 에오탁신은 4배 이상의 증가를 보였고, 키니노젠은 자궁내막염에서 5배 이상의 감소를 보였다.

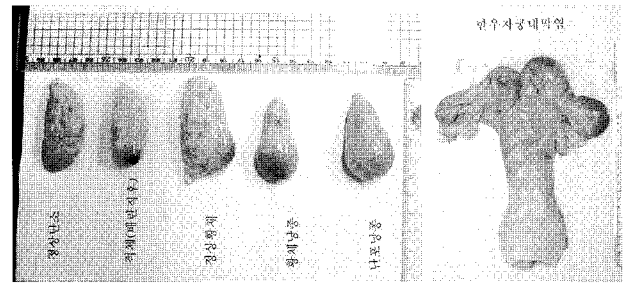


Fig. 1. Photographs of cystic ovary and uterus with endometritis of Korean cattle used in the present study.

2. 정량적 역전사중합효소 반응을 이용한 에오탁신, C3 및 키니노젠의 mRNA 및 단백질 발현 확인

마이크로어레이 분석 결과 중 큰 변화를 보였던 에오탁신과 키니노젠 그리고 난포낭종과 자궁내막염에서 공통적으로 변화를 보인 C3를 역전사 중합효소 반응을 실시하여 마이크로어레이 결과를 검증하였다. 정량적 역전사 중합효소 반응 결과는 마이크로어레이 분석 결과와 유사한 변화 양상을 보였다. Fig. 2에서 보여주는 바와 같이 에오탁신은 난포낭종에서 4배 이상 증가하였고, 키니노젠은 자궁내막염에서 2배 이상 감소하였다. C3는 자궁내막염에서 유의하게 감소하였다($p < 0.05$).

Table 2. Inflammation-related genes up-regulated in bovine reproductive disorders

Gene title (Gene symbol)	GenBank accession number	Fold change	Reproductive disorders
Chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (CXCL1)	NM_175700	1.7	Endometritis
Chemokine (C-X-C motif) ligand 2 (CXCL2)	NM_001048165		
Protein C (inactivator of coagulation factors Va and VIIIa) (PROC)	XM_585990	1.7	Endometritis
Similar to complement component C5 (LOC512045)	XM_589483	1.6	Endometritis
Complement component 4A (C4A)	XM_584742	1.3	Luteal cyst
Eotaxin (LOC404072) chemokine (C-C motif) ligand 11 (CCL11)	NM_205773	4.3	Follicular cyst
Alpha-2-HS-glycoprotein (AHSG)	NM_173984	1.8	Follicular cyst

Table 3. Inflammation-related genes down-regulated in bovine reproductive disorders

Gene title (Gene symbol)	GenBank accession number	Fold change	Reproductive disorders
Complement component 3 (C3)	NM_001040469	-3.2	Follicular cyst
		-1.2	Endometritis
Oxidised low density lipoprotein (lectin-like) receptor 1 (OLR1)	NM_174132	-1.5	Follicular cyst
Kininogen 1(KNG1)	NM_175774	-5.0	Endometritis

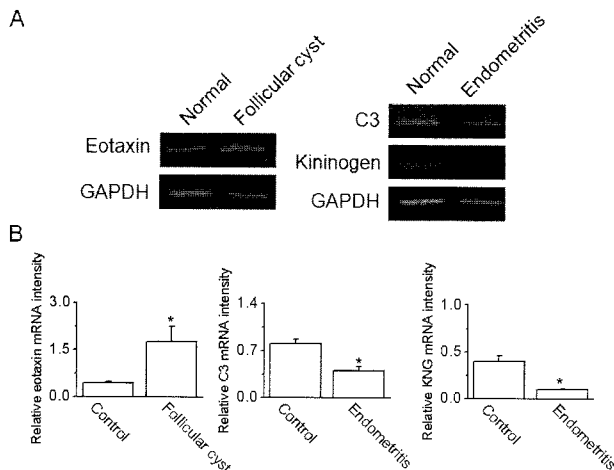


Fig. 2. The relative mRNA expression of inflammatory-related genes altered in the bovine cystic ovary and endometriosis. (A) RT-PCR products for eotaxin derived from ovary and for C3 and kininogen derived from endometrium. (B) Bar graphs showed the relative mRNA expression of eotaxin, C3, and kininogen (KNG). The expression levels were normalized to GAPDH. Each bar is the mean \pm SD of three determinations. Asterisks indicate a significant difference from the each control value ($p < 0.05$).

고찰

본 연구에서는 에오타신, 키니노젠 및 C3와 같은 염증 관련 유전자가 한우의 난포낭종과 자궁내막염에서 변화·조절된다는 사실을 처음으로 보고한다.

염증 반응에는 각종 화학 매개 물질에 의한 염증 세포의 동원과 세포 상호간의 작용이 중요한 역할을 담당한다. 급성·만성 염증 반응에서 말초혈관 내 호산구는 에오타신을 분비하여 섬유화에 관련된 각종 다양한 사이토카인(IL-3, IL-4, IL-5, INF 및 TNF)을 분비한다. 에오타신은 호산구에 특이적으로 작용하는 CC 케모카인으로 염증세포를 표적 부위로 이동시키는 강력한 화학주성물질이다(Jose 등, 1994; Bartel 등, 1996; Garcia-Zepeda 등, 1996). 에오타신은 비알레르기 및 알레르기 반응 시 증가하는 것으로 알려져 있으며, 비알레르기성 면역반응 시에는 type 1 helper T cells(TH1) 형의 반응이 유발되어 GM-CSF, IL-3, INF 및 TNF 등이 관여하고 알레르기성 면역반응 시에는 TH2 형의 면역반응이 일어나 GM-CSF, IL-3, IL-4 및 IL-5가 관여함으로써 서로 다른 경로를 통해 에오타신의 발현을 증가시킬 것으로 생각하여왔다(Hamilos 등, 1995). 특히, 기관지 천식의 급성 악화 시 에오타신의 증가는 잘 알려져 있다(Gordon 등, 2004). 본 연구에서 조사된 난포성 낭종에서 염증 관련 유전자인 CC 케모카인 에오타신의 발현 증가는 주로 상피세포에서 나타날 것으로 생각되며, 림프구, 단핵구, 호염

구, 호산구에 주화작용을 나타낼 것으로 생각된다. 케모카인은 특정세포에 대하여 화학주성을 가지는 사이토카인으로 정의되며, 분자의 아미노산 구조에 따라 CXC, CC, C 케모카인으로 분류된다. CXC 케모카인은 두 개의 cystein기 사이에 다른 아미노산 구조를 포함한 것으로 주로 다형핵 백혈구의 화학주성에 관여하고, CC 케모카인은 두 개의 cystein기를 가진 것으로 림프구, 단핵구, 호산구 및 호염기구에 화학주성을 가지고 있으며, C 케모카인의 기능은 아직까지 잘 알려져 있지 않다. 본 연구에서 자궁내막염 마이크로어레이 결과에서는 CXC 케모카인의 발현이 증가하였다(Table 2). 자궁내막염에서는 호중구의 작용이, 난포낭종에서는 림프구, 단핵구, 호산구, 호염기구의 작용이 강하게 나타날 것으로 추정된다.

보체는 혈액 내에 존재하는 당단백질(glycoprotein)의 하나로 외상 면역 반응, 이물질 등의 손상에 의한 신체 반응 기전의 하나로 작용하는 일련의 물질들이다. 보체계 성분이 결핍된 사람은 자가 면역 질환을 일으킬 위험이 높으며, 재발성 미생물 감염으로 고생하게 된다. 보체가 활성화되는 과정에서 C3, C4 및 C5의 절편인 C3a, C4a 및 C5a가 생겨나는데, 이들은 비만세포와 반응하여 아나필락시스의 특징을 유발하기 때문에 아나필라톡신이라 한다. 비만세포에서 히스타민 등의 물질을 유도하여 혈관의 투과성을 증가시키고 평활근의 수축을 자극하게 된다. 그 결과, 많은 단백질과 세포가 염증 부위로 모여들게 된다(Fukuoka 등, 2008). 본 연구에서는 C5가 자궁내막염에서 증가하고, C4는 황체낭종에서 증가하였으며, C3는 자궁내막염과 난포낭종에서 감소를 보였다. 난소낭종 및 자궁내막염 시 보체 성분의 발현은 이들이 체액성 및 세포성 면역 반응에 중요한 역할을 할 것으로 생각되어진다. C3는 사람의 자궁내막의 증식기에 최소한으로 발현되고 분비기에 우세하게 발현되는데(Sayegh 등, 1996), 이러한 변화는 C3의 발현 역시 호르몬의 변화에 영향을 받는 것을 암시한다. 대식세포와 간에서 주로 합성되는 C3는 선천 면역과 적응 면역을 연결하는 중요한 다리 역할을 하며(Yu와 Chen, 2004; Fredslund 등, 2006), 급성 염증에서는 감소 현상을 보이기도 한다(Kerr 등, 2005). 본 연구에서 조사된 C3의 발현 정도는 사용되어진 시료의 염증 정도에 따른 변화로 볼 수 있다.

키니노젠은 키닌(kinin)의 전구 물질로 저분자량(L)-키니노젠(66 kDa 베타글로불린)과 고분자량(H)-키니노젠(120 kDa 알파글로불린)으로 분류할 수 있다. 키닌은 혈관 확장, 평활근 수축 또는 저혈압을 일으키는 염증 매개물로서 혈관의 투과성을 증가시킨다(Fabre 등, 1999). 칼리크레인은 혈액 내에서 전구 물질인 프리칼리크레인(prekallikrein)으로 존재하고 그 중 75%가 혈장 내에서 고분자량을 가진 키니노젠에 결합한다. 브라디키닌은 주로 이 고분자량 키니노젠으로부터 만들어져 강력한 혈관 확장제로 사용되고 있다. 브라디키닌은 혈관 투과성을 증가시키고 소동맥 확장, 평활근 수축, 그리고 동통을 일

크린다. 키닌은 칼리크레인(kallikrein)에 의해 키니노젠으로부터 합성되는 작은 펩타이드로서 키니나제(kininase)에 의해 분해된다. 그리고 인지질 분해 효소에 작용하여 아라키도닉 산(arachidonic acid)의 분비를 증가시키며, 이에 의해 프로스타글란딘(prostaglandin)을 생성시켜 염증에 반응한다. 따라서 칼리크레인-키니노젠-키닌 시스템은 신체의 각 조직에서 나타나는 염증 반응에 관여한다(Bhoola 등, 1992; Clement, 1997). 특히, 급성 염증 반응에서 칼리크레인-키니노젠-키닌 시스템의 작용을 잘 볼 수 있다(Clement, 1997). 배란, 자궁내막 증식, 자궁내막 기질세포의 탈락막화 및 착상 시 혈관침투성 증가 및 부종과 같은 칼리크레인-키니노젠-키닌 시스템의 작용을 관찰할 수 있다(Gao 등, 1992; Valdes 등, 1996; Murone 등, 1999; Kihara 등, 2000; Figueroa 등, 2001). 칼리크레인과 브라디키닌이 초기 임신 기간의 돼지 자궁에서 발현하였고(Vonnahme 등, 1999; Allen 등, 2002), 키니노젠이 돼지의 자궁내막에서 발현하였다(Vonnahme 등, 2004). 최근, 에스트로겐의 존재하에 있는 생쥐 자궁의 내막상피세포와 기질막세포에서 칼리크레인(mK1)의 발현이 관찰되었다(Rajakakse 등, 2007). 이상의 결과로 본 연구에 사용되어진 자궁내막염 조직은 급성 염증 반응을 경험한 것으로 생각된다(키니노젠과 C3의 감소). 키니노젠은 자궁내막염에서 혈장세포(plasma cell)의 표지자로 제안되어온 Syndecan-1(Bayer-Garner과 Korourian, 2001)과 결합함이 알려졌다(Renne 등, 2000). 임신 기간의 중간기에 키니노젠은 일시적으로 증가하였다(Cairolì 등, 2006). 호르몬의 영향을 받는 칼리크레인-키니노젠-키닌 시스템은 수정란, 난소 및 태아의 생존에 중요한 자궁, 태반 혈관 생성에 중요한 역할을 할 것으로 생각되며, 에오탁신, C3, 키니노젠의 번식장애 질환에서의 변화는 중요한 생물학적 지표로서의 가능성을 시사한다.

결 론

본 연구는 한우의 번식장애 질환에서 발현 변화를 보이는 염증 유래 유전자를 마이크로어레이 방법을 이용하여 분석하였다. 정상 한우의 난소와 자궁내막을 난포낭종, 황체낭종 및 자궁내막염을 가진 한우의 난소와 자궁내막 조직과 비교하였다. 본 연구에서 2배 이상 변화되는 9개의 염증관련 유전자를 난포낭종과 자궁내막염이 있는 자궁내막에서 확인하였다. 난포낭종에서 에오탁신과 alpha-2-HS-glycoprotein가 증가되는 반면 complement component 3(C3)와 oxidised low density lipoprotein(lectin-like) receptor 1이 감소하였다. 황체낭종에서는 complement component 4A가 증가하였다. 자궁내막염에서는 chemokine ligand 1과 2, protein C(inactivator of coagulation factors Va and VIIIa) 그리고 complement component C5가 증가하였고 키니노젠은 감소하였다. 낭종 및 자궁내막염에서 변

화 조절되는 유전자 중 본 연구에서는 난포낭종에서 유의하게 증가되는 에오탁신과 자궁내막염에서 유의하게 감소하는 키니노젠 및 난포낭종과 자궁내막염에서 공통적으로 변화되는 C3를 정량적 PCR을 이용하여 재확인하였다. 마이크로어레이 결과와 동일한 변화를 보였다. 에오탁신은 난포낭종에서 4배 증가하고, 키니노젠은 자궁내막염에서 5배 감소하였다. C3는 난포성낭종과 자궁내막염에서 감소하였다. 본 연구에서 얻어진 염증관련 유전 정보는 한우의 난소낭종 및 자궁내막염 진단 및 연구에 유용한 지표로 제시될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- Allen MR, Zhang BR, Hettinger AM, Goad DW, Malayer JR and Geisert RD. 2002. Detection of bradykinin and bradykinin- β 2 receptors in the porcine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.* 66:574-579.
- Bayer-Garner IB and Korourian S. 2001. Plasma cells in chronic endometritis are easily identified when stained with syndecan-1. *Mod. Pathol.* 14:877-879.
- Bhoola KD, Figueroa CD and Worthy K. 1992. Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. *Pharmacol. Rev.* 44:1-80.
- Bartel J, Schluter C, Richter E, Noso N, Kulke R and Christophers E. 1996. Human dermal fibroblasts express eotaxin: molecular cloning, mRNA expression, and identification of eotaxin sequence variants. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 225: 1045-1051.
- Cairolì F, Battocchio M, Veronesi MC, Brambilla D, Conserva F, Eberini I, Wait R and Cianazza E. 2006. Serum protein during cow pregnancy: Acute-phase proteins increase in the peripartum period. *Electrophoresis* 27:1617-1625.
- Clements J. 1997. The molecular biology of the kallikreins and their roles in inflammation. In: Farmer G (ed), *The Kinin System*. London: Academic Press. 71-97.
- Fabre J, Rivard A, Magne M, Silver M and Isner JM. 1999. Tissue inhibitions of angiotension-converting enzyme stimulates angiogenesis *in vivo*. *Circulation* 23:3043-3049.
- Fischer C, Drillich M, Gabler C, Heuwieser W and Einspanier R. 2006. Postpartum reproductive failure in cattle: is the examination of gene expression in the endometrium a key to success? *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 119:197-202.
- Figueroa CD, Chacon C, Corthorn J, Ehrenfeld P, Muller-Esterl W and Valdes G. 2001. Temporospacial changes of kinin

- B2 receptors during the estrous cycle and pregnancy in the rat uterus. *Biol. Reprod.* 62:1590-1599.
- Fredslund F, Jenner L, Husted LB, Nyborg J, Andersen GR and Sottrup LJ. 2006. The structure of bovine complement component 3 reveals the basis for thioester function. *J. Mol. Biol.* 361:115-127.
- Fukuoka Y, Xia HZ, Sanchez-Muñoz LB, Dellinger AL, Escribano L and Schwartz LB. 2008. Generation of anaphylatoxins by human beta-tryptase from C3, C4, and C5. *J. Immunol.* 180:6307-6316.
- Gao X, Greenbaum LM, Mahesh VB and Brann DW. 1992. Characterization of the kinin system in the ovary during ovulation in the rat. *Biol. Reprod.* 47:945-951.
- Garcia-Zepeda EA, Rothenberg ME, Ownbey RT, Celestin J, Leder P and Luster AD. 1996. Human eotaxin is a specific chemoattractant for eosinophil cells and provides a new mechanism to explain tissue eosinophilia. *Nature Med.* 2: 449-456.
- Dent G, Hadjicharalambous C, Yoshikawa T, Handy RLC, Powell J, Anderson JK, Louis R, Davies DE and Djukanovic R. 2004. Contribution of eotaxin-1 to eosinophil chemotactic activity of moderate and severe asthmatic sputum. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 169:1110-1117.
- Hamilos DL, Leung DY, Wood R, Cunningham L, Bean DK, Yasruel Z, Schotman E and Hamid Q. 1995. Evidence for distinct cytokine expression in allergic versus nonallergic chronic sinusitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 96:537-544.
- Jose PJ, Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Walsh DT, Moqbel R, Totty NF, Truong O, Hsuan JJ and Williams TJ. 1994. Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea-pig model of allergic airways inflammation. *J. Exp. Med.* 179:881-887.
- Kerr AR, Paterson GK, Riboldi AT and Mitchell TJ. 2005. Innate immune defense against pneumococcal pneumonia requires pulmonary complement component C3. *Infection Immun.* 73:4245-4252.
- Kihara T, Kimura A, Moriyama A, Ohkubo I and Takahashi T. 2000. Identification of components of the intrafollicular bradykinin-producing system in the porcine ovary. *Biol. Reprod.* 62:1160-1167.
- Leung ST, Cheng Z, Sheldrick EL, Derecka K, Derecka K, Flint AP and Wathes DC. 2001. The effects of lipopolysaccharide and interleukins-1alpha, -2 and -6 on oxytocin receptor expression and prostaglandin production in bovine endometrium. *J. Endocrinol.* 168:497-508.
- Murone C, Chai SY, Muller-Estrel W, Mendelsohn FAO and Clements J. 1999. Localization of bradykinin β 2 receptors in the endometrium and myometrium of rat uterus and effects of estrogen and progesterone. *Endocrinology* 140: 3372-3382.
- Rajapakse S, Yamano R, Ogiwara K, Hirata K, Takahashi S and Takahashi T. 2007. Estrogen-dependent expression of the tissue kallikrein Gene (Klk1) in the mouse uterus and its implications for endometrial tissue growth. *Mol. Reprod. Dev.* 74:1053-1063.
- Renne T, Dedio J, David G, and Müller-Esterl W. 2000. High molecular weight kininogen utilizes heparan sulfate proteoglycans for accumulation on endothelial cells. *J. Biol. Chem.* 275:33688-33696.
- Sayegh RA, Tao XJ, Awwad JT and Isaacson KB. 1996. Localization of the expression of complement component 3 in the human endometrium by *in situ* hybridization. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81:1641-1649.
- Valdes G, Figueroa CD and Corthorn J. 1996. Temporospatial changes of kallikrein-like enzymes during the estrous cycle and pregnancy in the rat uterus. *Biol. Reprod.* 55:236-245.
- Vonnahme KA, Fernando SC, Ross JW, Ashworth MD, DeSilva U, Malayer JR and Geisert RD. 2004. Porcine endometrial expression of kininogen, factor XII, and plasma kallikrein in cyclic and pregnant gilts. *Biol. Reprod.* 70:132-138.
- Vonnahme KA, Malayer JR, Spivey HO, Ford SP, Clutter AC and Geisert RD. 1999. Detection of kallikrein gene expression and enzymatic activity in porcine endometrium during the estrous cycle and early pregnancy. *Biol. Reprod.* 61:1235-1241.
- Yu XP and Chen ZL. 2004. Advances in research of complement component 3. *Immunol. J.* 20:483-486.
- 최창용, 손동수, 최규찬, 최창열, 최선호, 김현종, 조상래, 허창기, 강다원. 2006. 한우 번식우 사육 농가의 번식장에 실태 조사. *한국수정란이식학회지* 21:331-338.