

제4강 마우스

제4장 번식, 행동, 면역

박재학

번식

- 소음이나 식이, 조명, 집단밀도 같은 외부적인 영향은 번식에 중요한 역할
 - 난소와 고환기능을 호르몬으로 조절하는 뇌하수체와 시상하부 축에 직, 간접적으로 영향을 준다.
- 유전형 역시 마우스의 번식에 큰 영향을 미친다.

성성숙

- 성선 호르몬은 번식계의 적당한 유지를 시켜주며, 성공적인 짝짓기를 촉진하는 행동을 조절한다.
- 난포 자극호르몬 FSH
 - 양성에서 배우자 형성을 촉진
- 황체호르몬
 - 암컷: estrogen과 progesterone을 에서 분비하게 한다
 - 수컷: androgen을 분비하게 한다.
- Prolactin
 - 임신 중에 난소의 발달과 유즙의 분비를 촉진한다.
- 뇌하수체
 - 암컷에서는 생후 12일에, 수컷은 생후 6일쯤 되면 호르몬 영향에 반응을 한다.

- 난소의 난포 발달
 - 생후 3주 후에 시작을 하고, 30일쯤 이면 성숙을 한다.
- Gnadotropin치의 증가
 - 양성에서 같은 나이에 성성숙의 성장을 불러일으킨다.
 - 암컷에서는 질 개구시의 질 상피의 각화와 같은 estrogen 의존성 변화가 24~28일쯤 일어난다.
 - 성성숙은 수컷에서는 그보다 조금 더 늦게 일어난다 (2주까지).
- 성성숙은 각 계통에 따라서 또 마우스의 계통에 따라서 틀리며 계절적인, 환경적인 요인에도 의존적이다.
- 교미행동과 수태 그리고 분만까지 태자를 유지하는 능력은, 뇌하수체 전엽에 의해서 조절되는 복잡한 호르몬 조절하에 있다.

발정 주기

- 다발정
- 주기는 4~5일 정도
- 상피증식
 - 전발정과 발정기에서 활발함
 - 배란기에서 최고점에 다다른다.
- 변성상피 변화는 세 번째 단계에서 일어나는데, 바로 휴지기가 뒤따르게 되며 세포 증식이 늦거나 중지하는 시기이다.
- 주기는 교미와 수정에 대한 암컷의 적절한 수용능력을 결정하는데 종종 척도가 되고 있는 질 상피의 변화가 뒤따르게 된다
- 질구의 개방과 음순의 부종은 전 발정기와 발정기의 유용한 특징이다.
- 연령이 높아감에 따라 발정기가 불규칙하게 된다.
- 계절적 요소, 다양한 사료에서 확인되는 에스트로겐물질과 같은 식이요소 그리고 유전적 배경이 발정주기에 영향을 준다.

표 3. 발정 주기에 따른 마우스 생식기의 변화^a

Stage	Smear ^b	Uterus	Ovary and oviduct
Proestrus	Epithelial cells to epithelial-cornified cells or epithelial-cornified cells; leukocytes to epithelial cells	Hyperemia and distension increases. Active mitoses in epithelium, few leukocytes	Follicles enlarged and distended with considerable liquor folliculi. Few mitoses in germinal epithelium and in follicular cells
Estrus	Epithelial-cornified cells to cornified+cells	Distension and activity are maximal during estrus and then decrease. No leukocytes	Ovulation occurs, followed by distension of upper end of oviduct. Active mitoses in germinal epithelium and in follicular cells
Metestrus	Cornified++cells, epithelial cells, leukocytes++	Distension decreased. Leukocytes in epithelium. Walls collapsed. Epithelium degenerates. Mitoses rare	Follicles undergoing atresia. Growing corpora lutea. Eggs in oviduct. Few mitoses in germinal epithelium and in follicular cells
Diestrus	Epithelial cells, leukocytes, more or less mucus	Pale in appearance, walls collapsed. Epithelium healthy but contains many leukocytes. Some secretion by uterine glands	Follicles begin rapid growth toward end of period

^aAdapted from Bronson et al. (1996).

^b+indicates many cells; ++indicates very many cells; -indicates transition from epithelial to cornified. The descriptions for smears are typical; there is considerable variation.

후 분만 발정

- 분만 14~24시간 정도 후에 관찰된다.
- 질의 각화는 완전하지 않다.
- 수정 가능한 교미는 종종 정상발정기와 비교해서 드물다.

배란

- 마우스는 자연 배란을 한다.
- 배란은 매 번의 번식주기와 항상 일치 하지는 않으며, 발정은 각 배란과 일치하지 하지 않을 수 있다.
 - 그 이유는 발정은 성선 호르몬에 의존적이지만, 배란은 성선자극호르몬에 반응을 하기 때문이다.
- 발정과 배란의 주기성은 매일의 광주기 리듬에 의해서 조절된다.
- 교미와 발정, 배란은 광주기 중 어두울 때 일어난다.
- 조명 주기를 거꾸로 할 때 발정 주기도 역으로 된다.

Pheromone

- Pheromone 사회적인 환경 또한 발정주기에 영향을 준다.
- Whitten 효과
 - 발정은 대규모로 사육되는 마우스에서 억압되는데, 그 이유는 휴지기 또는 위임신기 때문이다
 - 이러한 영향은 수컷 유래인 화학적인 자극 (Pheromone)에 의하여 유발되는 취각의 자극에 의해서 중화될 수 있다.
- Bruce effect
 - 다른 계통의 낯선 수컷 마우스로부터의 Pheromone 는 최근에 번식한 암컷 마우스에서 위임신이나 착상을 방해할 수 있다

동기화

- 발정은 수컷과 쌍을 이루기 전에 암컷을 집단 사육함으로써 동기화 시킬 수 있다.
- 집단 사육은 발정을 억압하지만 수컷 Pheromone에 노출시키면 발정주기가 다시 시작하고, 대부분 쌍으로 이룬 후에 3일 정도면 암컷에서 발정이 시작된다.
- 다음 발정은 약10일 후 정도에 일어난다.

교미

- 질전(정낭선과 응고선의 혼합물)의 형성에 의해서 파악
- 질전의 형성은 계통에 매우 의존적이다.
- 질전은 자궁 경부로부터 음순까지 채워진다
- 질전의 검출은 질의 세포진단과 함께 수정과 수태를 평가하는데 이용된다.



그림 5. 교미 후 암컷마우스의 질에서 관찰되는 플러그

SNU LAM

수정

- Progesterone
 - 자궁경과 음순이 발정기 때 물리적으로 자극을 받으면 Prolactin이 뇌하수체 전엽으로부터 분비되어 황체로 하여금 progesterone를 분비하게 한다.
 - 분비는 13일 동안 계속된다.
 - 수정이 되면 태반은 progesterone 생산을 떠맡게 된다.
 - 수정이 일어나지 않으면 위임신이 일어나는데, 그 기간에 발정과 배란은 일어나지 않는다.
- 수정은 난관의 상부와 팽대부에서 일어난다.
- 정상 태자를 생산하기 위해서 난자는 배란 후 10~12시간 정도 동안 수정될 수 있다.

임신

- 임신기간은 보통 19~21일 이다.
- 후 분만발정 때문에 비유와 임신이 동시에 일어날 수 있다.
- 비유는 임신을 지연시킬 수 있는데, 그 이유는 착상이 지연되기 때문이다.
 - 어떤 계통의 근교계에서는 12~13일까지 임신지연을 시킬 수 있다.
- 근교계의 번식 수명
 - 적당한 환경 조건이 유지 될 때 2년
 - 암컷의 연령에 따라서 태자 수는 감소
 - 암컷은 보통 1년 정도면 번식을 중지
 - 산자 수는 계통에 의존적이지만 1~12마리이다.

출산 후 발달과 이유

- 어머니가 돌보아 주는 것이 신생자 체중 변화의 70%까지 관여를 하고 있다.
- 신생자를 돌보는 어머니는 보통 3주간 비유를 한다.
- 젖의 생산은 분만 후 12일까지 최고로 달하고, 그 이후 21일 이유할 때까지 감소한다.
- Oxytocin이 신생자를 돌보는 데에는 필요하지만 분만이라든지 번식행동에는 필수적이지 않다.

신생자의 면역

- 어미로부터 일부의 체액성 면역이 자궁을 통해 신생자로 전달되지만 대부분은 초유를 통하여 전달된다.
- 초유를 통한 수동면역의 전달은 바이러스, 세균, 기생충 등 많은 항원에 노출시켜 방어하는것이 확인되었다.
- 항체는 비유기 동안 젖을 통해 계속 분비된다.
- 이유 후 수 개월 이내에 어미로부터 획득한 면역이 소실된다.
- 모유로부터 받은 면역을 소실하면 감염에 감수성이 높게 되기 때문에, 이유 마우스를 격리시설에서 사육하도록 해야 한다.

행동

- 마우스는 사회적인 포유 동물로서 pheromone이 사회에서 중요한 역할을 한다
- 일차적인 pheromone
 - 후각기관에서 인지
 - 메시지를 중추 신경계에 전달하고, 그 결과 행동을 조절한다.
- 분비성 pheromone
 - CNS와 관련된 행동 반응을 일으킨다.

표 4. 성숙마우스에서 페로몬 분비를 유도하는 인자들^a

요인	효과
스트레스를 받은 마우스	다른 마우스를 흠어지게 한다
암컷	수컷의 공격적이고 성적인 행동, 유인성을 유발
외부로부터의 암컷	다른 암컷의 공격성 유발
비유기 암컷	수유기 마우스 유인
수컷	암컷을 유인
외부로부터의 수컷	다른 수컷의 공격성 유발
같은 영역의 수컷	같은 그룹의 수컷의 공격성 억제

^aModified from Shorey(1976).

- 마우스에서의 행동은 또한 유전자형과 환경에 의해서 결정되기도 한다.
- 수컷 BALB/c 마우스는 싸우기 좋아하여 물린 상처가 머리, 어깨, 등, 회음부, 꼬리에 자주 나타난다.
- 공격 성향은 한배로부터 유래한 신생자 중 수컷만 한 케이지에 함께 사육하거나, 이 유전에 쌍을 이루었던 수컷만 한 케이지에 사육함으로써 감소되기도 한다.

Barbering

- 털을 씹거나 수염을 씹는 행위는 사회적인 우위성의 예 중 하나이다
- 털을 씹음으로 해서 탈모가 일어나는 것은 외부기생충이나 미생물 감염 또는 부적절하게 만들어진 케이지 뚜껑에 의한 상처들과 구별되어야 한다.



그림 6. 같은 케이지에서 사육한 C57BL/6 마우스로 왼쪽 마우스는 수염이 있지만 오른쪽은 수염이 없다.

- 사료를 먹고 물을 마시는 유지 행동은 주기적이며 주로 밤이나 저녁에 일어난다.
- 동우리를 만드는 것은 또 하나의 중요한 사회적 행동으로서 마우스 케이지내에 동우리를 짓는 물질이나 또는 솜 같은 것을 넣으면 관찰 할 수 있다.

행동학적 연구에서 유전자 조작 마우스

- 약 100여 개의 다른 유전자가 마우스 중추신경계에서 연구에 이용
- 유전자들도 transgenic 마우스와 knockout 마우스에서 확인되고 있으며 표현형 또한 검증되고 있다.
- 최초의 행동학적인 평가는 일반적인 건강상태와 신경학적 반응을 평가하는 것이었다. 그 후 지각신경과 운동신경기능은 정량적으로 평가되어왔다.
- 특별검사 방법에는 케이지내 행동, 체중, 체온, 털과 수염의 형태, 청각시험, 눈 깜박임, 동공축소, 콧수염 반사, 귀반사, 회전막대에서의 운동능력, 턱걸이 등이 있다.
- 또 최근에는 학습과 기억, 사료에 대한 반응성 그리고 인간의 고뇌에 대한 분리성의 증후군, 억압, 마약중독에 관련된 행동 등에 초점이 맞추어 연구가 진행되고 있다.
- 마우스에서 행동학적인 표현형을 표준화시키기 위한 실질적인 노력이 계속되고 있다.

면역학

- 마우스는 면역학 연구의 포유동물 모델로서 매우 중요
 - 광범위한 문헌을 마우스로부터 얻을 수 있다
 - 면역학적인 시료의 이용 가능성
 - 마우스 게놈 프로젝트의 완료
 - 수많은 유전적으로 확인된 마우스 계통들
 - 유전적인 조작을 통한 마우스

면역글로브린

- 마우스는 다섯 종류의 면역글로브린을 가지고 있다.
- 중쇄에 의해 결정
- isotype에 의해서 분류
- IgM, IgD, IgG 그리고 IgA가 있다.
- IgG class는 IgG1, IgG2A, IgG2B, IgG3로 나뉜다.
- 체액성면역 반응은 반응을 유발시키는데 사용된 면역원의 형태나 효과나 기능을 나타내는 면역글로브린 isotype에 따라서 다양하다.
 - IgM은 항원에 처음 노출된 후에 분비
 - 그 다음에 혈중에 가장 많은 항체인 IgG가 뒤따른다.
 - 바이러스 감염이나 세포질 내 세균감염에서는 IgG2A가 우세
 - 기생충 감염에서는 IgG1이 우세
 - IgG2B와 IgG3는 탄수화물과 같은 T-Cell 비 의존 항원에 의해서 유도된다.
 - IgG3는 탐식에 중요한 역할을 함으로써 세균 항원 반응에서 중요하다.
 - IgE는 알러지와 관련되어 있다
 - IgA는 점막 면역에 중요한 역할을 한다.
 - IgD 형질 세포는 드물게 발견되며 정확한 기능은 확실하지 않다.

세포면역

- CD antigens(cluster of differentiation)
- 설치류의 림프구는 표면 마커에 대한 단 클론 항체에 의해서 분류
- 이러한 지표들은 마우스 모델에서 병리학적 과정을 밝히는데 이용되고 있다.
- 마우스 T-lymphocyte
 - CD 4 T-Cell(Helper T cell)는 MHC Class2에 제한적이며, 체액성면역에 필수적인 B-lymphocyte의 반응을 촉진하는데 중요하다.
 - CD8+ T-Cell은 MHC ClassI에 제한적이며, 세포매개성 면역에 (예를 들면, 감염인자를 포함하는 세포) 대해서 세포 독성 세포로서 작용을 하거나 또는 면역 반응을 억압하는 작용을 한다.

Cytokines

- 복잡한 생물학적 체계에 있어서 세포간 신호 전달에 관여하는 신호물질이다.
- Cytokines와 관련된 신호전달은 조혈세포의 발달 과정 중에 그리고 숙주 면역 반응이 일어나기 시작한 후에 주로 일어난다.
- 항원 자극에 대한 조직 반응을 조절하는데 있어서 그들의 중요성 때문에 다수의 마우스 Cytokines이 연구에 많이 사용되고 있다

표 5. 마우스 사이토카인의 분비세포, 표적세포 및 생체에서의 효력*

Cytokine	Cell source	Cell targets	Function
IFN- α , IFN- β	Macrophages, B and T cells, fibroblasts, epithelial cells	Many cell types	Antiviral, antiproliferative, stimulate NK activity and macrophage functions
IFN- γ	T cells, NK cells	Macrophages, lymphocytes, NK cells	Proinflammatory, promotes Th1 immune responses/secretion of Th1-associated cytokines
IL-1 α , IL-1 β	Macrophages, endothelial cells, keratinocytes, lymphocytes, fibroblasts, osteoblasts	Many cell types	Proinflammatory, stimulates fibroblasts and bone catabolism, neuroendocrine effects (fever, sleep, anorexia, corticotropin release)
IL-2	Activated T cells	Macrophages, T and B cells, NK cells	T cell growth factor, stimulates NK activity
IL-3	T cells, mast cells	Mast cells, hematopoietic progenitors	Promotes proliferation and differentiation of mast cell and hematopoietic cell lineages (granulocytic monocytic, megakaryocytic)
IL-4	T cells, basophils, mast cells, bone marrow stromal cells	B and T cells, mast cells, macrophages, hematopoietic progenitors	Proliferation and differentiation of B cells (Ig switching to IgG ₁ and IgE) and Th2 cells (anti-inflammatory by inhibiting Th1 immune responses)
IL-5	T cells, mast cells	Eosinophils, B cells	Stimulates eosinophilia, growth and differentiation of B cells, Ig switching
IL-6	Fibroblasts, macrophages, endothelial cells, T cells	B and T cells, thymocytes, hepatocytes, neurons	Differentiation of myeloid cells, induction of acute phase proteins, tropic for neurons
IL-7	Thymic and bone marrow stromal cells	B and T cells	Growth factor for B and T cells
IL-8	Monocytes, neutrophils, fibroblasts, endothelial cells, keratinocytes, T cells	Neutrophils, basophils, T cells	Proinflammatory, activates neutrophils, enhances keratinocyte growth
IL-9	T cells	CD4 ⁺ T cells, mast cells	Enhances hematopoiesis
IL-10	Macrophages, T and B cells, mast cells, keratinocytes	Macrophages, T and B cells	Anti-inflammatory Th2 immune responses, inhibits Th1 responses
IL-11	Stromal cells	Hematopoietic progenitor cells	Hematopoiesis
IL-12	T cells	T cells, macrophages	Proinflammatory; promotes NK and cytotoxic lymphocyte activity; induces IFN- γ , which in turn promotes Th1 immune responses
IL-13	T cells	B cells	Activation of Ig transcription, key mediator in asthma
IL-14	Endothelial cells, lymphocytes	B cells	B cell growth factor
IL-15	Fibroblasts, keratinocytes, endothelial cells, and macrophages	T and B cells, NK cells, monocytes, eosinophils, neutrophils	Enhances neutrophil chemokine production, cytoskeletal rearrangements, phagocytosis; delays apoptosis
IL-16	Epithelial cells, mast cells, CD4 ⁺ and CD8 ⁺ cells, eosinophils	CD4 ⁺	CD4 ⁺ T cell growth factor; proinflammatory; enhances lymphocyte chemotaxis, adhesion molecule and IL-2 receptor and <i>HLA-DR</i> expression
IL-17	Human memory T cells, mouse $\alpha\beta$ TCR ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻ thymocytes	Fibroblasts, keratinocytes, epithelial and endothelial cells	Secretion of IL-6, IL-8, PGE2, MCP-1 and G-CSF, induces ICAM-1 expression, T cell proliferation
IL-18	Macrophages, keratinocytes, microglial cells	T cells; NK cells; myeloid, monocytic, erythroid, and megakaryocytic cell lineages	Proinflammatory, induces IFN- γ and other Th1 cytokines, promotes Th1 development and NK activity
GM-CSF	Macrophages, stromal cells, fibroblasts, endothelial cells, lymphocytes	Hematopoietic stem cells, neutrophils, macrophages	Growth and differentiation of granulocytes, macrophages
TNF	Macrophages, T and B cells, NK cells	Many cell types	Proinflammatory, fever, neutrophil activation, bone resorption, anticoagulant, tumor necrosis
TGF- β	Platelets, macrophages, T and B cells, placenta, hepatocytes, thymocytes	Many cell types	Anti-inflammatory; promotes wound healing, angiogenesis; suppresses hematopoiesis, lymphopoiesis, Ig production, NK activity; promotes Ig switching to IgA

*IFN, interferon; IL, interleukin; GM-CSF granulocyte-macrophage colony stimulating factors; NK, natural killer; TNF, tumor necrosis factor; TGF, tumor growth factor.

면역억제 모델

- 많은 자연 발생 면역억제 모델이 연구에 사용 되고 있다
- 유전자 조작 마우스를 사용하는 연구자들은 이러한 동물의 형질분석이 주의 깊게 수행되어야 한다
 - 면역 체계가 아주 심하게 손상을 받을 수도 있으나, 면역 체계가 손상을 받기 전에도 그러한 형질이 보일 수 있기 때문이다.
 - 이것은 주어진 유전자 산물이 직접적으로 관여가 되는지 또는 면역체계가 심하게 억제됨에 따른 2차적인 반응인지를 결정하는데 어려움을 준다.
- 다른 생물학적 체계와 마찬가지로 보상성 기전이 그 형질의 발현을 막을 수가 있을 것이다.

표 6. 면역억제 마우스모델

Model	Immunodeficiency	Phenotype	Major uses
Nude mouse	Defective transcription factor gene controlling thymic epithelial cell differentiation	Athymic and hairless (unrelated but linked gene defect)	Tumor and xenograft studies
SCID mouse	Defective DNA-dependent kinase that recombines gene segments coding for T(TcR) and B(Ig) cell receptors	No T cell functions Hypoplastic lymphoid tissues No Ig or T cell responses Sensitive to ionizing radiation because of defective DNA break repair	V(D)J recombination studies Tumor and xenograft transplantation Lymphocyte subset transfer studies Reconstitution of human hematopoietic system(Hu-PBL-SCID)
Rag-1 and Rag-2 mice	Defective recombinase enzymes (Rag-1 and/or Rag-2), preventing formation of functional B α (Ig) and T(TcR) cell receptors	Hypoplastic lymphoid tissues No Ig or T cell responses	V(D)J recombination studies Tumor and xenograft transplantation Lymphocyte subset transfer studies
XID mouse	Defect in Bruton's tyrosine kinase gene affecting signal transduction in B cells	Decreased B cell numbers, low IgM Impaired response to polysaccharide antigens	Model for human X-lined agammaglobulinemia
Moth-eaten mouse	Defective phosphatase, impairing signal transduction from cell receptors	Deficient humoral and cellular immunity Lack cytotoxic T and NK cells Moth-eaten pelage secondary to folliculitis Autoimmune syndromes Hypergammaglobulinemia	Apoptosis studies Autoimmune syndromes
Beige mouse	Mutation on chromosome 13 affects pigment granules (coat, retina) and lysosomal granules of type II pneumocytes, mast cells, and NK cells	Diluted coat color Lysosomal storage disease Impaired chemotaxis, bactericidal activity of neutrophils, decreased NK activity	Model for Chediak-Higashi syndrome Crossed onto nude or SCID backgrounds for multiple immune deficiencies
lpr and gld mice	Impaired apoptosis from Fas(lpr) or Fas ligand(gld) defect	Generalized lymphoproliferative disease(gld), autoimmunity, immunodeficiency	Apoptosis studies Autoimmune syndromes
Cytokine KO mice (IL-2, IL-10, IFN- γ , TNF- β , others)	Genetically engineered disruption(knockout) of cytokine gene	Anemia(IL-2), wasting(IL-2, IL-10), and inflammatory bowel disease(IL-2, IL-10) when housed conventionally	Physiological role of cytokines in immune response and inflammation
Receptor KO mice (TcR, Ig, cytokine, MHC, adhesion molecules, integrins)	Genetically engineered disruption(knockout) of receptor gene	Lack functional response to signal of interest, variable immune compromise Inflammatory bowel disease common in TcR KO	Physiological role of receptors in immune response and inflammation