

흰쥐 자궁내막조직세포의 분화와 대사에 미치는 난소 스테로이드 호르몬의 영향에 관한 연구

이화여자대학교 의과대학

김 성 례

=Abstract=

Studies on the Effect of Ovarian Steroid Hormones on the Differentiation and Metabolism in the Rat Uterine Endometrium

Sung Rye Kim

College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea

The present investigation has been undertaken to understand the mechanism of implantation process, by demonstrating the role of ovarian steroids in the differentiation of uterine endometrium for implantation.

In particular, an attempt was made to examine the activity of alkaline phosphatase (ALP) in the either luminal, stroma or endometrium tissue sites under the pseudopregnant state induced by ovarian steroid hormones. Attempt was also made to demonstrate the correlate function of ovarian steroids with the cAMP concentration and prolactin level.

The higher activity of ALP in the uterine endometrium was observed on day 3. However, the higher activity of ALP in the stroma and epithelium was observed on Day 6. This study, therefore, clearly demonstrates that progesterone is consecutive effect in stroma differentiation.

The cAMP concentrations on Day 3 treated with E or P was lower than those of control. On the other hand concentration on Day 6 treated with hormones was increased than those of control. It is, therefore, concluded that the concentration of cAMP in the uterine tissue undergoing differentiation is decreased.

The prolactin level of the treated groups was the lower levels than those of the control groups. It is indicated that there is no effect of ovarian steroid hormone on the prolactin synthesis in this pseudopregnant state.

서 론

포유류의 자궁은 성주기를 통하여 형태적, 기능적으로 변화하고 있으며, 또한 수정된 배낭을 착상시켜서 이것이 새로운 생명체로 분화해 갈 수 있도록 자궁조직세포의 분화가 활발하게 일어나고 있다. 이와같은 자궁내 조직의 분화는

* 본 연구는 1986년도 한국 학술기능재단 첨단과학 연구비 지원에 의하여 이루어졌음.

estrogen과 progesterone의 작용에 의해서 유도되고 있음이 알려지고 있다(Finn and Martin, 1972 ; Cook and Hunter, 1978 ; Kim and Cho, 1982).

그러나 자궁내막조직(endometrium)은 자궁내강상피세포(luminal epithelial cell), 자궁선상피세포(glandular epithelial cell), 그리고 기질세포(stroma cell)등 여러형태의 세포로 구성되어 있는 복잡한 구조이며, estrogen과 progesterone의 두 호르몬도 성주기를 통하여 뇌하수체

에서 분비되는 생식선 자극 호르몬(gonadotrophin)에 의해 주기적으로 조화를 이루며 분비되고 있으므로 이들 호르몬에 의한 자궁내막조직 분화의 유도 기작을 규명하는 일은 어려운 과제이며 아직 명확히 밝혀지지 않고 있어 이를 밝히려는 연구가 활발하게 진행되고 있다.

발정주기와 초기 임신 기간에 따른 자궁조직의 형태적, 생리학적 변화에 관한 연구가 진행되고 있다. 즉 luminal epithelium과 glandular epithelium, 그리고 stroma의 유사분열에 관한 연구(Krueger et al., 1978; Kirkland et al., 1979), 자궁내 미세구조에 관한 연구(Lawn, 1973; Kim, 1983), 자궁내 분비액의 생화학적 분석에 관한 연구(Fishel, 1979)등을 들 수 있다. 본인등(Kim et al., 1980; Kim, 1980; Kim et al., 1981; Kim, 1983; Kim, 1986)도 쥐의 성주기 초기 임신기간중, 난소 제거후 난소 호르몬 처리에 따른 자궁내막조직의 phosphatase활성을 연구 발표한 바 있다.

발정주기에 따라 alkaline phosphatase(ALP)의 활성도는 현저한 변화를 나타내는데 특히 발정 전기와 발정기에는 luminal epithelium과 glandular epithelium에서 그 활성도가 크다.

한편, 초기 임신기간에는 착상을 위한 분화작용이 활발하게 일어나고 있는 자궁내막조직에서 활성이 증가하며 동시에 단백질 합성도 증가하므로 ALP는 자궁내막조직 분화의 index(Finn and McLaren, 1967), 혹은 marker enzyme(Manning et al., 1969; Aitken, 1977)이라고 하였다.

한편, 세포대사작용에 second messenger로 알려진 adenosine-3', 5'-cyclic monophosphate(cAMP)에 관한 많은 연구가 진행되고 있다. Fisher와 Gunaga(1975)는 착상된 배아의 발생이 진행되는 동안 배아세포내의 cAMP농도가 감소된다고 하였으며 Thomas(1973)는 세포내 cAMP농도가 증가하면 replication rate가 억제 혹은 늦어진다고 보고 하는등 세포분화에 미치는 cAMP영향을 발표한 바 있다.

Cho등(1975)도 cAMP농도를 증가시키는 theophylline을 배양중인 oocyte에 처리하면 핵성숙이 억제되면서 세포질내 glycogen함량이 감소되는 것을 관찰하였으며, theophylline을 제거하면 성숙분열이 회복한다고 보고 하였다.

이처럼 세포내 cAMP의 함량이 배아를 성장 분화시키는데 중요한 역할을 하는 것으로 보아

스테로이드 호르몬에 민감하게 반응을 나타내는 자궁조직세포의 분열과 분화에도 cAMP는 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 그러므로 1984년 본인등의 연구에서 초기 임신기간중 자궁내막조직에서 estradiol의 영향아래 세포분열등 분화가 왕성한 자궁조직에서는 cAMP농도가 낮아지고, 자궁조직의 분화가 억제된 상태에서는 cAMP농도가 반대로 높아지는 결과를 관찰하였다.

반면에 1983년 Kennedy는 착상 부위에서 cAMP농도가 증가된다고 하였으며, induced decidual stimulation 5~15분 사이에 cAMP가 증가한다고 상반된 결과를 보고하고 있으나 어쨌든 위의 사실들로 미루어보아 cAMP는 흰쥐, 생쥐의 착상과 decidualization을 유도하는 중요 요소라는 것을 알 수 있다.

Daniel(1980; '84; '87)은 난소 제거후 progesterone 처리후 단백질 합성에 관한 연구에서 난소 제거후 12주에 progesterone만 처리하였을 때는 단백질 합성에 관한 반응이 관찰되지 않으나 prolactin과 progesterone을 함께 처리하면 uteroglobin 분비가 관찰된다고 하였으며 prolactin 증가가 progesterone과 estrogen receptor의 농도를 증가시키며, progesterone에 대한 자궁의 반응을 촉진시킬 것이라고 보고하고 있다.

그러므로 본 연구에서는 자궁조직 분화에 미치는 난소 스테로이드 호르몬의 작용기전을 규명할 연구의 일환으로 난소 절제후 estrogen과 progesterone을 처리한 자궁조직에서 이들 호르몬의 receptor의 농도를 증가시키는 PRL과 second messenger인 cAMP와 marker enzyme인 ALP의 활성을 측정 비교 관찰하고자 한다.

실험 재료 및 방법

1) 실험 동물

본 실험에 사용된 흰쥐는 일정한 조건하에서 사육된 생후 2개월(200±20g)된 성숙한 Sprague-Dawley의 암컷으로 ethyl ether 마취하에서 배복측 부분 절개 수술로 양쪽 난소를 제거한 후 격리 치유시킨 후(2주간) 건강한 것만을 골라 한 실험군당 5마리씩 사용하였다(Fig. 1).

그림 1에 표시된대로 호르몬을 처리 하였다. 17β estradiol(5μg/day)로 3일간 전처리(prime)시킨 다음 대조군에는 용매인 oil만을 처리하였

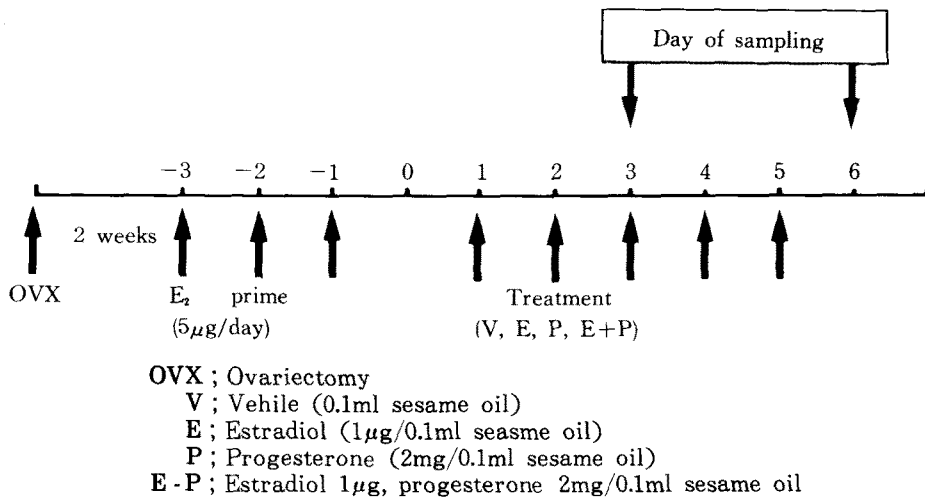


Fig. 1. Experimental scheme.

고 17 β -estradiol (1 μ g/개체)과 progesterone (2mg/개체)을 각각 단독 혹은 혼합하여 처리하였다. estradiol과 progesterone은 ethylalcohol로 용해 시킨후 sesame oil에 녹였다. 각 실험군을 2일 처리 혹은 5일처리후 24시간후에(Day 3, Day 6) 각 목적에 따른 시료를 채취 하였다.

2) 시료 채취

양쪽 자궁을 적출하여 ice-cold phosphate buffered saline(PBS pH 7.4)으로 적셔진 흡착지 위에서 여분의 지방, 혈액을 깨끗이 제거한 후 목적에 따라 자궁내막조직을 분리하였다. 시료 채취의 전과정은 4 $^{\circ}$ C에서 행해졌다. 전자궁내막조직(endometrium)과 자궁내강상피세포층(epithelium)과 기질층(stroma) 분리방법은 Barbara(1979)의 방법을 변형시킨 앞서 발표된 Kim(1986)의 방법에 준하여 행하여 졌다.

3) ALP 활성 측정

분리해낸 각 자궁조직층의 ALP활성은 Bowers and McComb(1975)의 방법을 변형해서 측정하였고, 단백질 정량은 Bradford(1976)의 방법에 의해 bovine serum albumin(BSA)를 standard로 써서 정량하였다(Kim, 1986).

4) cAMP 방사 면역 측정법(Radioimmuno assay)

시료를 ether extract한 후 100 λ 씩을 취하여

assay tube에 넣고 진공상태(50~70 $^{\circ}$ C)에서 extract를 건조하였다. 건조된 sample에 50mM의 sodium acetate buffer CPH 6.20) 100 λ 를 가하여 cAMP 방사 면역측정을 하였다. ¹²⁵I (NEN)으로 표지된 cAMP와 anti-cAMP(Kew scientific Inc.)를 각각 50 λ 씩 standard cAMP(0.10~50p mol)와 sample에 가한뒤 4 $^{\circ}$ C에서 18시간을 incubation하였다. ¹²⁵I는 cAMP-TME(Tyrosine Methyl Ester)에 표지시켰으며, anti-cAMP는 1 : 2000으로 희석시킨뒤 사용하였다.

Incubation이 끝난 후 100 λ 의 γ -globulin(4mg/ml)과 95% cold ethanol을 가한다음 4 $^{\circ}$ C에서 20분간 2000 \times g로 원심분리하여 상층액을 제거하였다.

이렇게 준비된 standard와 sample은 gamma counter로 cpm값을 측정하였으며 cAMP값(p mole)은 logit-log regression program에 의해서 계산하였다.

5) Prolactin(PRL) 방사면역 측정법

PRL의 양은 NIH(National Health Institute)에서 공급해준 Kit를 사용하여 방사면역 측정법으로 측정하였으며, 표준시료로는 NIADDK- γ PRL-RP-3을 사용하였다.

PRL항체(최종적으로 1 : 125000으로 희석)와 ¹²⁵I 이 표지된 PRL(약 7,000cpm)이 들어 있는 시험관에 넣고 2일이 지난 후 200 μ l-2차 항체(g ARGG ; goat Anti-Rabbit Gamma Globulin)

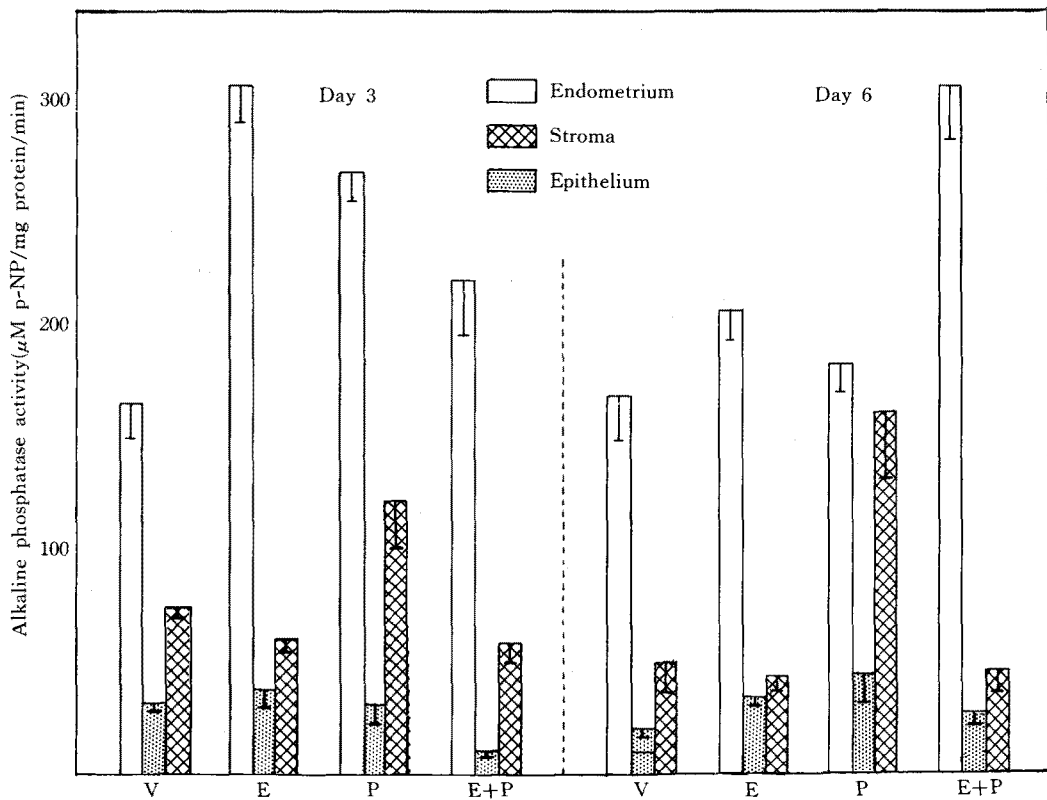


Fig. 2. The effect of ovarian steroid hormone on the alkaline phosphatase activity in the uterine luminal endometrium, epithelium, stroma.

을 넣고 다음날 PBS로써 침전시켰다. 침전물의 방사능은 r -counter로 측정하였으며, PRL(ng/mg protein)의 양은 logit-log regression program)으로 계산하였다.

결 과

1) ALP의 활성

난소 절제후 2주간 치유시킨 다음 estradiol로 전처리(prime)한 후 각 호르몬을 2일간 처리한 후 24시간 후(Day 3)에, 5일간 처리한 후 24시간 후(Day 6)에 endometrium, stroma, 그리고 epithelium층에서 나타난 ALP활성을 그림 2에 나타내었고 각 조직층의 처리군에서 나타난 활성을 대조군과 비교차를 그림 3에 표시하였다.

1) 용매를 처리한 대조군(V)에서 ALP활성을 보면, endometrium의 Day 3군에서는 166.17μ mole을, Day 6군에서는 170.07μ mole을 나타내

나 유의한 차이는 아니다.

Stroma에서도 Day 3군에서 33.46μ 의 활성에서 Day 6군에서는 21.61μ mole로, epithelium에서도 Day 3군에는 75.68μ mole에서 Day 6군에는 51.61μ mole로 각각 Day 6군에서 활성이 유의한 차이($P < 0.05$)로 낮아지고 있다.

2) estradiol처리군(E)에서 활성을 보면 endometrium Day 3군에서 308.58μ mole을 나타내어 비교치는 180이 되며 Day 6군에서는 206.55μ mole을 나타내어 그 비교치는 122가되어 대조군보다 다 유의한 차이($P < 0.05$)로 증가하고 있으나, Day 6군이 Day 3군보다 낮은 활성을 나타내고 있다.

Stroma층에서 ALP활성이 Day 3군에서는 39.34μ mole로 증가하고 있어 비교치 119가 되며 Day 6군에서는 37.17μ mole이어서 비교치는 177로 대조군보다 유의한 차이($P < 0.05$)로 활성이 높아지고 있다. epithelium에서 Day 3군에서의 활성은 61.37μ mole, Day 6군에서는 44.12μ mole

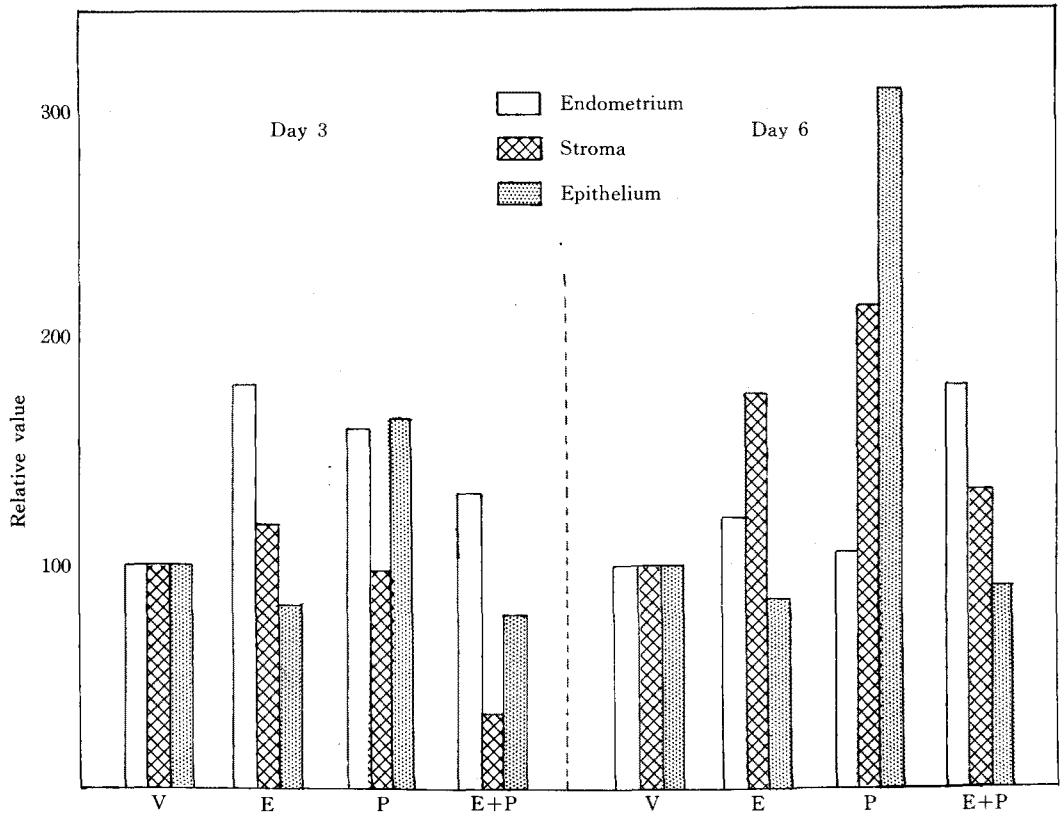


Fig. 3. Relative value of alkaline phosphatase activities to the value of ovariectomized, vehicle treated rats.

로 비교치가 86이 되어 다른 조직층과는 달리 각각 대조군보다 활성이 낮아지고 있으며 다른 조직층에서와 마찬가지로 Day 6군에서 활성이 낮아지고 있다.

3) progesterone처리군(P)에서 endometrium층에서 ALP활성을 보면 Day 3군에서 268.46μ mole로 비교치는 161로 대조군보다 유의한 차이로 증가하고 있으며, Day 6군에서 182.57μ mole로 비교치는 107이 되어 대조군보다 활성이 높아지고 있으나 역시 Day 6군에서 활성이 낮아지고 있다.

Stroma층에서는 Day 3군에서는 32.55μ mole을 나타내나 Day 6군에서는 45.16μ mole을 나타내어 비교치가 215가 되며 대조군보다 유의한 차이($P < 0.05$)로 증가하고 있다.

Epithelium층에서는 Day 3군에서 123.96μ mole로 비교치가 165로 되며, Day 6군에서 161.53μ mole로 비교치가 312가 되어 대조군보다 유의한 차이($P < 0.05$)로 각각 높은 활성을 나타내며,

Day 6군에서 Day 3군보다 유의하게 높은 활성을 나타낸다.

4) estradiol과 progesterone처리군(E+P)에서 ALP활성은 endometrium의 Day 3군에서는 220.46μ mole로 비교치가 132가 되며, Day 6군에서는 308.92μ mole로 비교치가 181로 대조군보다 유의하게 높은 활성을 나타내며 Day 6군이 Day 3군보다 유의하게($P < 0.05$) 높은 활성을 나타낸다.

특히 다른 처리군(V.E.P)의 endometrium보다 이 E+P처리군의 Day 6군에서 활성이 유의하게 높아지고 있다.

Stroma층의 Day 3군에서는 11.20μ mole로 비교치가 34로 대조군보다 낮아지고 있는 반면 Day 6군에서는 28.43μ mole로 비교치가 135로 대조군보다 유의하게($P < 0.05$), Day 3군보다도 유의하게($P < 0.05$) 높은 활성을 나타낸다. Epithelium층에서는 Day 3군에서 59.11μ mole로 비교치가 78로, Day 6군에서는 47.04μ mole로

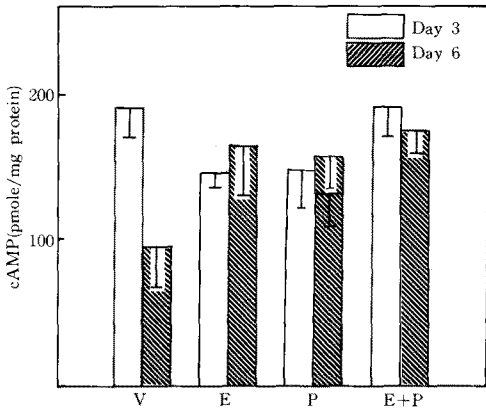


Fig. 4. The effect of ovarian steroid hormone on the cAMP level in the uterine endometrium.

비교치가 92로 각각 대조군보다는 활성이 낮아지고 있다.

2) cAMP 농도

각 처리군의 endometrium에서 측정된 cAMP 농도를 그림 4에 표시하였다. 용매를 처리한 대조군(V)의 Day 3군에서는 189.69p mole인데 Day 6군에서는 95.91p mole로 유의한 차이($P < 0.01$)로 감소하고 있다. E처리군의 Day 3군에서는 146.18p mole로 대조군보다 유의한 차이($P < 0.05$)로 낮아지고 있으며, Day 6군에서는 163.73p mole로 대조군보다 유의한 차이($P < 0.05$)로 증가하고 있다. P처리군의 Day 3군에서는 148.35p mole로 E처리군과 유사치를 나타내며, Day 6군에서는 154.73p mole로 대조군보다는 유의한 차이로($P < 0.01$) 증가하고 있으나 Day 3군과는 유의한 차이가 아니다.

E+P처리군의 Day 3군에서는 191.45p mole로 대조군과 유사한 값을 나타내며 Day 6군에서는 174.00p mole로 감소하고 있으나 대조군보다는 유의한 차이($P < 0.05$)로 증가하고 있다.

3) PRL양

각 처리군의 endometrium에서 측정된 PRL 양을 그림 5에 나타내었다. 용매 처리한 대조군(V)에서 Day 3군의 PRL농도는 12.08ng인데, Day 6군에서는 7.75ng이어서 유의한 차이($P < 0.05$)로 감소하고 있다.

E처리군에서도 Day 3군에서는 9.086ng인데 Day 6군에서는 6.00ng으로 유의하게($P < 0.05$)

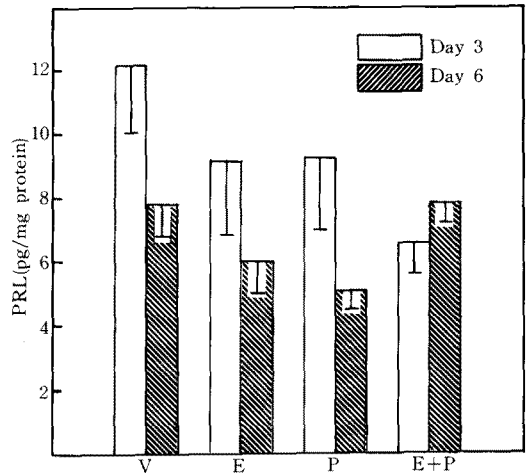


Fig. 5. The effect of ovarian steroid hormones on the level of PRL in the uterine endometrium.

감소하고 있다. 각각 대조군보다도 감소하고 있으며 호르몬 처리의 지속적인 영향도 나타나지 않는다.

P처리군에서도 Day 3군에서 9.18ng인데 Day 6군에서 5.04ng을 나타내고 있어 E처리군과 같은 결과를 나타낸다. 특히 P처리군 Day 6군은 다른 모든 실험군보다 유의한 차이($P < 0.05$)로 PRL level이 낮아지고 있다.

두 호르몬 동시 처리한 E+P실험군에서는 Day 3군에서 6.50ng인데 Day 6군에서는 7.75ng으로 다소 증가하여 대조군과 같은 level을 나타낸다. 즉 이 Day 6군은 E,P처리군 Day 6군보다 PRL level이 유의하게($P < 0.05$) 높아져서 대조군과 같은 level이 되고 있다.

고 찰

본인등(1980)은 자궁조직의 phosphatase활성도가 발정전기와 발정기 즉 E의 분비가 peak일 때 높아지고, 발정후기에는 감소되다가 P의 분비가 높아지고, E의 second peak가 나타나는 발정간기에는 다시 증가하기 시작되는 것을 관찰하였다. 이 결과는 E의 분비가 peak일 때 산성·알칼리성 phosphatase가 합성된다고 한 Henzl 등(1972)의 보고와 일치되는 결과였다. 본인등(1983. a, b)의 임신초기의 흰쥐 혈장내 P와 E의 농도측정과 phosphatase 활성 측정에서도 같은 결과를 관찰 할 수 있었다.

그러나 endometrium은 luminal epithelium과 stroma로 되었으며 난소 스테로이드 호르몬도 E·P 두 호르몬이 조화있게 분비되고 있으므로 어느 호르몬이 어떤 조직층 분화에 관여하고 있는지는 밝혀지지 않고 있다. 그러므로 1986년 본인은 이를 규명하고자 자궁내막조직을 luminal epithelium과 stroma로 분리한 후 각층에서 ALP의 활성을 측정하였다. 전자궁내막조직인 endometrium에서는 Day 3와 Day 6간에 별차이 없이 지속적인 활성을 나타내나 이를 분리하면 자궁내강상피세포인 epithelium에서는 Day 3에, 기질층인 stroma에서는 Day 6에 각각 활성이 높아지고 있었다. Day 3는 혈중 E농도가 second peak를 나타내는 시기이며, Day 6는 P가 임신후 차츰 증가하기 시작하여 현저하게 높아지는 시기임(Kim, 1983)으로 E농도가 높을때는 epithelium에서, P농도가 높을때는 stroma에서 ALP활성도가 높아지는 결과로서 각 호르몬의 target tissue를 관찰할 수 있었다.

본 실험에서는 이상의 결과를 확인하고 난소 스테로이드 호르몬이 대사작용에 미치는 영향을 고찰하고자 난소를 절제하고 치유시킨 후 호르몬 처리로 야기되는 가임신(pseudopregnancy) 상태의 자궁조직에서 각 호르몬의 target tissue와 대사작용의 second messenger인 cAMP농도와 자궁내막 조직의 prolactin level등을 관찰 비교 하였다.

ALP활성은 endometrium에서는 각 호르몬 처리에 의해 Day 3에는 비교치가 130~180으로 증가되나 Day 6에는 E+P처리군에서만 180이 된다. 그러나 stroma 층에서 ALP 활성을 보면 Day 3군에서 비교치가 119이 되는것을 제외하고는 대조군보다도 낮은 활성을 나타내어 호르몬의 영향을 관찰할 수 없었다.

그러나 Day 6군에서는 처리군에서 비교치가 135~215로 활성이 증가되고 있어 호르몬 처리를 지속적으로 했을때 자궁기질층의 분화가 유도되는 것을 시사하고 있다.

Epithelium층에 미치는 영향은 P처리군에서만 관찰할수 있어 Day 3군에서는 비교치가 165로 증가되며 Day 6군에서는 비교치가 312로 3배가 넘게 높은 활성을 나타내고 있다.

이와같이 전자궁내막조직에 미치는 영향을 볼때는 Day 3군에서 더 큰 영향이 관찰되나 기질층과 자궁내강상피세포층으로 분리해서 관찰했을때는 Day 3군보다 Day 6군에서 더 큰 영향

을 나타내고 있으며 특히 기질층 분화에는 Day 6군에서만 현저하며 P호르몬을 지속적으로 요하는 것을 관찰할 수 있다. 이상의 결과는 본인등(1986)이 자궁내막조직을 분리해서 관찰했을때와 일치되는 결과로서 기질층 분화에는 P호르몬이 필요하다는 것을 다시 확인할 수 있는 결과이다. 이러한 결과는 본인(1983 a)이 progesterone 처리군에서는 estrogen처리군보다 모든 효소 활성이 높아지고 있고 형태적 관찰에서도 기질세포층에서 DCR의 특징인 혈관의 permeability와 blister가 커진 edema현상등을 관찰할 수 있었던 결과와도 일치된다.

한편 자궁내막조직 대사작용에 미치는 난소 스테로이드 호르몬의 영향을 관찰하고자 세포내 대사작용의 second messenger인 cAMP농도를 전자궁내막조직에서 측정 비교 관찰하였다. Day 3군에서 E·P처리군에서는 유사한 농도를 나타내면서 대조군보다 cAMP농도가 감소하고 있는 반면 Day 6군에서는 대조군보다 유의하게 증가하고 있다. 이와같이 ALP활성과 cAMP농도가 상반되는 결과는 본인등(1984)의 연구결과에서 자궁조직이 분화해갈수록 자궁조직내 cAMP농도가 낮아지며 난소제거군에서는 난소제거 후 기간이 길어질수록 cAMP농도가 높아지는 것을 관찰한 결과와 일치되는 현상이다.

Fisher와 Gunaga(1975)가 착상된 배아의 발생이 진행되는 동안 배아세포내의 cAMP농도가 감소된다고 한 결과와 Thomas(1973)는 세포내 cAMP농도가 증가하면 replication rate가 억제 혹은 늦어진다고 보고한 결과와 Schultz(1983)는 난자내의 cAMP농도 증가가 감수분열재개 방해 요인이라고 보고한 결과등과 일치되는 현상이다.

한편 Daniel(1980)은 난소 절제 후 치유기간이 길어질수록 progesterone 처리에 관한 반응이 거의 없어지는데 prolactin과 progesterone을 동시에 처리하면 uteroglobin이 다시 분비되며 더우기 prolactin은 cytosolic E와 P receptors의 농도를 증가시키는데 이것은 prolactin이 progesterone receptor activity를 modulating시키는 작용을 한다는 것을 시사한다고 하였다. Prolactin receptor에 관한 연구는 자궁조직세포막(토끼)에서 Ohno(1982)등에 의해서도 행해지고 있으며 Andsley등(1985)에 의하면 가임시킨 흰쥐가 매일 두번 PRL분비를 하는 것으로 특징지워진다고 하였으며 이러한 PRL분비는 황

체의 progesterone 분비를 활성화 내지 유지시킨다고 하였다.

이와같이 progesterone의 sensitive marker이며 태아막과 탈락막에서 생성되는 것으로 알려진 PRL을 본 실험 각 실험군 자궁내막조직에서 측정 비교 관찰하였다. 본 실험의 각 처리군의 자궁내막 조직에서 PRL level을 보면 모든 실험군에서 Day 6군이 Day 3군보다 prolactin level이 감소(E+P 제외)하고 있으며 대조군보다 처리군에서 prolactin level이 감소하고 있어 자궁내막조직의 PRL생성에는 영향을 미치지 못한 것으로 생각된다.

본 실험은 난소 제거후 오랜 치유기간을 거친 후 호르몬만으로 가임신을 유도하였으므로 자궁내막조직에서 단백질을 합성할 수 있을 정도로 분화가 유도되지 못한것으로 사려된다. 그러므로 본인등은 호르몬으로 가임신을 유도함과 동시에 자궁내막조직에 자극(traumatization)을 준 처리군에서 본 실험과 같은 측정을 하여 비교 관찰을 시행중에 있다.

결 론

본 연구는 수정란이 자궁내막조직에 착상시 자궁내막조직의 분화 및 대사에 미치는 난소 스테로이드 호르몬의 영향을 규명하기 위한 연구의 일환으로 난소 절제 후 호르몬 치료로 유도되는 가임신 상태의 실험군에서 관찰하였다.

자궁내막조직의 분화에 marker enzyme으로 알려진 알칼리성 phosphatase의 활성을 자궁내막조직을 자궁내강상피세포층과 기질층으로 분리해서 각층의 ALP의 활성을 측정함으로써 스테로이드 호르몬의 표적조직에 있어서의 특이성을 조사하였으며 한편 자궁내막조직 대사작용에 미치는 난소 스테로이드 호르몬의 기전을 관찰하고자 cAMP농도와 prolactin level을 자궁내막조직층에서 비교 관찰하였다.

ALP활성은 전자궁내막조직층에서는 Day 6보다 Day3에서 더 큰 영향을 나타낸다. 그러나 기질층과 자궁내강상피층으로 분리하면 Day 6군에서 더 큰 영향을 나타낸다. 특히 기질층 분화에는 Day 6군에서만 현저하게 P호르몬을 지속적으로 요하는 것을 관찰할 수 있었다. 전자궁내막조직에서 cAMP농도는 Day 3군의 E 혹은 P처리군에서는 다같이 대조군보다 감소하고 있으며 Day 6군에서는 대조군보다 증가하였다.

ALP활성과는 상반되는 결과를 나타내고 있어 분화가 왕성한 조직에서는 cAMP농도가 감소하고 있는 결과를 관찰할 수 있었다.

Prolactin level은 대조군보다 처리군에서 감소하고 있어 본 실험에서 유도된 가임신 상태에서는 prolactin 생성에까지 영향을 미치지 못한 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Aitken, R.J. : *Changes in the protein content of mouse uterine flushings during normal pregnancy and delayed implantation, and after ovariectomy and oestradiol administration. J. Reprod. Fert.* 50 : 29-36. 1977.
- Bowers, George, N., Jr. and Robert, McComb, B. : *Measurement of Total Alkaline Phosphatase activity in Human Serum. Clinical Chemistry, Vol. 21. No. 13* : 1988-1995. 1975
- Bradford, M.M. : *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein. Anal. Biochem.* 72 : 248-254. 1976.
- Barbara, Fagg, Martin, L., Rogers, L., Clack B. and Valerie, Ouarmby, E. : *A simple method for removing the luminal epithelium of the mouse uterus for biochemical studies. J. Reprod. Fert.* 57 : 355-339. 1979.
- Cho, W.K. and Yoon, Y.D. : *Studies on the effects of dibutyryl cyclic AMP and theophylline on intracellular contents of glycogen of mouse follicular oocytes in vitro. Korean J. Zool.* 18 : 27-40, 1975.
- Cook B. and Hunter R.H.F. : *Systemic and local hormonal requirements for implantation in domestic animals. J. Reprod. Fert.* 54 : 471-482. 1978.
- Crosby, I.M.N., Moor, R.M., Heslop, J.P. and Osborn, J.C. : *cAMP in ovine oocytes ; Localization of synthesis and its action on protein synthesis, phosphorylation and meiosis. J. Exp. Zool.* 234 : 307-318. 1986.
- Dekel, N. and Beers, W.H. : *Rat oocyte matu-*

- ration *in vitro* : Relief of cAMP inhibition by gonadotropins. *Pro. Natl. Acad. Sci., U.S.A.* 75 : 4369-4373. 1978.
- Daniel, J.C., Jr. : Factors influencing uteroglobin synthesis. In *steroid induced uterine proteins*, pp. 87-103. Ed. M. Beato. Elsevier/North Holland Biomedical Press. 1980, 1984, 1987.
- Dalip, J.S. Sirinathsinghji and Antony R. Audsley, : Endogenous opioid peptides participate in the modulation of prolactin release in response to cervicovaginal stimulation in the female rat. *Endocrinology* 117 : 549-556. 1985.
- Finn, C.A. and McLaren, A. : A study of the early stages of implantation in mice. *J. Reprod. Fert.* 13 : 259-267. 1967.
- Finn, C.A. and Martin, L. : Endocrine control of the timing of endometrial sensitivity to a decidual stimulus. *Biology of Reproduction.* 7 : 82-86, 1972.
- Fisher, D.L. and Gunaga, K.P. : Theophylline induced variations in cyclic AMP content of the superovulated preimplantation mouse embryo. *Biology of Reproduction.* 12 : 471-476. 1975.
- Fisher, S.B. : Analysis of mouse uterine proteins at proestrus during early pregnancy and after administration of exogenous steroids. *J. Reprod. Fert.* 55 : 91-100. 1979.
- Kruegeret, W.A., Walter, J.B. and Chung, M. R. : The effects of repeated estrogen administration on cell division in the uterine luminal epithelium of the immature rat. *Biology of Reproduction*, 19 : 385-388. 1978.
- Kirkland, Ericjustin, J.L. and Stancel, G.M. : Effects of estrogen on mitosis in individual cell types of the immature rat uterus. *Biology of Reproduction.* 21 : 269-272. 1979.
- Kim, S.R., Kim, M.K. and Cho, W.K. : Changes in phosphatase activity of the mouse uterus during the estrous cycle. *Kor. Jour. of Zoology*, Vol. 23, No. 2 : 61-68 1980.
- Kim, S.R., Kim, M.K. and Cho, W.K. : The effects of ovarian steroid hormones on the phosphatase activity on the rat uterine endometrium at the early pregnancy. *Korean J. Fertil. Steril.*, 9 : 55-68. 1982.
- Kim, S.R. and Cho, W.K. : On the activity of phosphatase in the endometrium of the rat uterus during early pregnancy. *Korean J. Fertil. Steril.*, 8 : 1-11. 1981.
- Kennedy, T.G. : Prostaglandin E₂, Adenosine 3' : 5'-Cyclic monophosphate and changes in endometrial vascular permeability in rat uteri sensitized for the decidual cell reaction. *Biology of reproduction.* 29 : 1069-1076.
- Kim, S.R. : Ultrastructural and cytochemical studies on the uterine endometrial cells of rat at preimplantation stage. *The Ewha Medical Journal*, 6 : 115-138. 1983 a.
- Kim, S.R., Kang, S.G., Ryu, K.Z. and Cho, W. K. : Estrogen and progesterone levels in peripheral plasma and the concentration of nuclear estradiol receptor in uterine endometrium at the early pregnant rats. *The Ewha Medical Journal*, 6 : 261-268. 1983 b.
- Kim, S.R., Ryu, K.Z. and Cho, W.K. : Studies on the cyclic AMP concentration and uterine tissue differentiation during the early pregnancy of rats. *Kor. J. Fertil. Steril.*, 11-2 : 41-49. 1984.
- Kim, S.R. : The effects of ovarian steroid hormones on the alkaline phosphatase activity in the luminal epithelial and stromal cells of early pregnancy rat uterus. *Kor. Jour. Research Institute for Better Living.* Vol. 37. 1986.
- Lawn, A.M. : The ultrastructure of the endometrium during the sexual cycle, In *Adv. Reprod. Physiol.*, 6 Ed., M.W.H. Bishop. Elek, London, pp. 61-97.
- Manning, J.P., Steinetz, B.G. and Glannina, T. : Decidual alkaline phosphatase activity in the pregnant and pseudopregnant rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 166 : 482-509. 1969.

- Morr, R.M. and Heslop, J.P. : *Cyclic AMP in mammalian follicle and oocytes during maturation. J. Exp. Zool.* 216 : 205-209. 1969.
- Ohno, Y. : *Studies on the interaction of prolactin and estrogen in rabbit ovary and uterus. Acta obstet. Gynaec. Jap.* 34 : 252-260. 1982.
- Racowsky, C. : *Effect of forskolin on the spontaneous maturation and cAMP content of hamster oocyte-cumulus complexes. J. Exp. Zool.*, 234 : 87-96. 1985.
- Schultz, R.M., Montgomery, R.P. and Belanoff, J.R. : *Regulation of mouse oocyte meiotic maturation ; Implication of a decrease in oocyte cAMP and protein dephosphorylation in commitment to resume meiosis. Dev. Biol.*, 97 : 264-273. 1983.
- Thomas, D.B., Medley, G. and Lingwood, C. A. : *Growth inhibition of murine tumor cells, in vitro, by puromycin, (⁶N) O²-di-butylryl3', 5'-adenosine monophosphate, or adenosine. J. Cell Biol.*, 57 : 397. 1973.
-