

## 흰쥐 초기배아 발생과정 중 착상부위 분화에 미치는 Progesterone의 영향

김성례 · \*윤용달 · \*김문규

이화여자대학교 의과대학 의학과; \*한양대학교 자연과학대학 생물학과

포유류 배아의 착상기작을 규명하고자 본 연구에서는 착상시기에 수정된 배아가 착상부위를 어떻게 인식하는 지 그리고 착상부위의 분화유발요인이 무엇인지를 조사하였다. 착상시기(임신 제6일)와 착상후 초기배아 발생기간(임신 제9일)중 혈청내 estradiol( $E_2$ )과 progesterone( $P_4$ )의 농도를 측정하였으며, 자궁내막 조직을 착상부위(antimesometrium)와 비착상부위(mesometrium)로 분리하여  $P_4$ 의 수용체 농도를 측정하였다. 혈청내  $E_2$ 의 농도는 임신 제6일군에서  $E_2$ 처리군에서 가장 높았으며, 임신 제9일에서는 intact 대조군에서 가장 높고 제9일의 모든 실험군의 농도는 임신 제6일군보다 높았다. 혈청내  $P_4$  농도는 임신 제6일과 9일에서 다같이 대조군에서 가장 높으며 처리군 중에서는  $P_4$ 처리군에서 높아지고 있다.  $P_4$  농도 역시 임신 제9일의 모든 실험군에서 제6일의 실험군보다 높았다.  $P_4$ 수용체 농도는 착상부위가 비착상부위보다 높으며, 대조군( $P < 0.01$ )과  $P$ 처리군( $P < 0.05$ )에서는 유의한 차이로 비착상부위보다 높았다. 자궁내막조직 착상을 위한 분화에는  $P_4$ 의 영향이 크며  $P_4$ 의 혈청내 농도와 핵의 수용체 농도는 모든 실험군에서 상응하는 관계를 나타내었다. 이 결과는 앞서 일차적으로 발표한 알카리성 phosphatase(ALPase) 활성과도 상응하는 것이다.

**KEY WORDS:** Implantation site, Antimesometrium, Mesometrium, Progesterone, Alkaline phosphatase, Decidualization

포유류의 배발생은 그 모체의 환경변화와 상호 긴밀한 관련하에 정교하게 조절되며 진척된다. 배아발생의 생체환경인 포유류의 자궁은 수정이 이루어지면 수정란이 착상을 하고 임신이 지속될 수 있는 환경여건을 갖추기 위하여 분화가 활발하게 일어난다. 착상을 위한 분화작용이 활발한 탈락막에서 알카리성 phosphatase(alkaline phosphatase; ALPase)의 활성이 증가되며 동시에 단백질합성도 증가되므로 ALPase는 탈락막형성(decidualization)의 표지효소로 알려져 있다(Aitken, 1977). 이와같이 배아의 착상, 임신유지 그리고 분만을 위한 환경여건을 갖추어야 하는 중

요한 시기의 자궁은 여러 요인의 영향을 받고 있으나 그중 난소호르몬에 의한 영향이 큰 것으로 생각된다. 난소호르몬은 발정주기에 따라 또는 착상전 임신기간 중에 분비가 다양하며 이들의 세포내 생리적 작용은 inducer 혹은 repressor로 작용하고 있다는 것이 밝혀지고 있다(Aldeen, 1970).

본인등은 포유류의 초기임신기간중 탈락막형성에 미치는 난소호르몬의 작용기작을 규명하기 위한 앞서의 연구에서, 착상전 자궁조직분화의 준비단계에서 ALPase 활성이 estrogen( $E_2$ )의 분비양상과 자궁조직의 nuclear estradiol receptor 양이 서로 상응하는 관계가 있음을 보고한 바 있으며(Kim *et al.*, 1983), 자궁내막조직의  $E_2$ 와 progesterone( $P_4$ )의 표적세포가 각기 다르며 이들 호르몬이

본 연구는 1991년 문교부 기초과학 육성 연구비와 한국과학재단 연구비 지원에 의해 수행되었음.

ALPase 활성에 미치는 시기가 다르다는 것과 E<sub>2</sub>는 착상을 유도하는데, P<sub>4</sub>는 자궁이 착상을 준비하는데 결정적 역할을 하는 것을 관찰하였다(Kim, 1986).

한편, 생쥐와 흰쥐에서 포배기배아가 자궁내막조직에 착상할 때 antimesometrium에 착상하는데 어떤 기작으로 배아가 같은 자궁에서 antimesometrium을 인식하고 착상하게 되는지는 알려져 있지 않으며 그에 관한 연구는 거의 전무한 상태이다. 그러므로 같은 영향하에 있는 자궁조직에서 어떻게 착상부위를 인식하고 착상하게 되는지를 규명하는 일은 본인 등의 착상조절기작을 규명하려는 연구에 박차를 가하게 되리라 생각된다. 본인 등은(1990, 1991) 포유류 배아의 자궁벽 착상부위 인식 및 착상기작을 규명할 기초자료를 얻기 위한 연구의 일환으로 착상시기에 자궁내막조직의 착상부위와 비착상부위에서 ALPase의 활성을 관찰한 바 착상시기에 착상부위에서 더욱 더 높게, 특히 P<sub>4</sub>의 영향이 큰 것을 알 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 착상시기에 착상부위의 ALPase 활성과 P<sub>4</sub>와의 상관관계를 규명하고자 자궁내막조직을 착상부위 (antimesometrium)와 비착상부위 (mesometrium)로 분리하여 P<sub>4</sub>의 수용체 농도와 혈청내 E<sub>2</sub>와 P<sub>4</sub>의 농도를 관찰하여 ALPase의 활성과 비교관찰하였다.

### 재료 및 방법

#### 실험동물

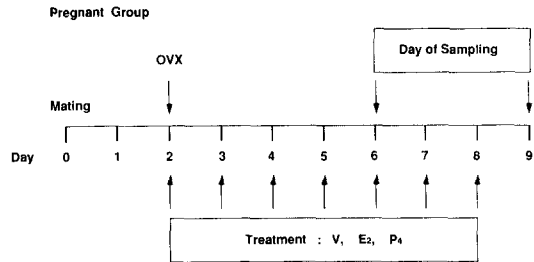
본 실험에서는 생후 3-4개월 (250 ± 20 g) 된 성숙한 Sprague-Dawley계의 흰쥐 암컷을 실험진행 전에 조명장치(14시간 조명, 10시간 소등)가 되어 있는 곳에서 일정기간 적응시킨 후 정상발정주기를 나타내는 것을 사용하였다.

#### 실험군

1. 대조군(intact): 발정전기에 생식능력이 있는 수컷과 동서시킨 다음날 아침, 질부에서

정자가 관찰되면 이를 임신 제1일(Day 1)로 하였으며, 이후 임신 제6일군(Day 6), 임신 제9일군(Day 9)으로 구분하여 그림 1에서와 같이 수행하였다.

2. 처리군: 임신된 흰쥐에서 임신 제2일에 난소를 제거하였으며 호르몬처리는 다음과 같이 표시되었다. (1) 용매(vehicle) 처리군(V), (2) Estradiol 처리군(E<sub>2</sub>), (3) Progesterone 처리군(P<sub>4</sub>)



**Fig. 1.** Experimental scheme. OVX: ovariectomy V: vehicle (0.1 ml sesame oil) E<sub>2</sub>: 17β-estradiol (1 mg/0.1 ml sesame oil) P<sub>4</sub>: progesterone (2 mg/0.1 ml sesame oil).

#### 실험방법

1. 난소제거: 임신 제2일에 Nembutal sodium solution(0.1 ml/100 g)을 복강주사하여 마취시킨 후 배복측 부분 절개수술로 양쪽 난소를 제거하였다.

2. 난소호르몬처리: 임신 제2일에 난소제거후 17β-estradiol(1 μg/개체)과 progesterone (2 mg/개체)을 각각, 혹은 동시에 24시간 간격으로 피하주사하였다. E<sub>2</sub>과 P<sub>4</sub>은 ethyl alcohol로 용해시킨 후 sesame oil에 녹였다.

3. 시료채취: 각 실험군에 5마리의 동물을 이용하였고 동일한 실험을 3회 반복하였다. 실험에 쓰일 재료는 다음과 같이 모았다. 각 실험군의 흰쥐는 ether로 마취하고,

1) 채혈: 난소호르몬의 혈청농도를 측정하기 위하여 복부중양선을 따라 절개하여 심장을 노출시킨후 heparin으로 처리된 병에 개체별로 모은 다음 500 × g에서 20분(4°C)간 원심분리시킨 후, 상등액의 혈청을 측정할 때까지 -70°

C에 보관하였다.

2) 자궁적출: 자궁내막조직의 P<sub>4</sub> 수용체와 ALPase 활성을 측정하기 위하여 자궁을 적출하여 ice-cold saline으로 적신 흡착지 위에서 여분의 지방, 혈청을 깨끗이 제거한 후 자궁내막을 flushing out 시키고 자궁내막 조직만 모아 -70°C에 보관하였다.

4. 혈청내 스테로이드 호르몬의 정량: 혈청내 스테로이드의 정량은 방사면역측정법(Yoon, 1981)을 이용하였다. 즉 저온냉동기에 저장하였던 시료들을 4°C에서 녹인 후 각각 50 µl씩을 취하여 10 ml의 diethyl ether로 스테로이드를 추출한 후에 GPBS에 녹여 적절한 배율로 희석하여 정량하였다.

5. Progesterone 수용체의 측정: 자궁내막을 homogenizer로 30초의 간격을 두고 5초씩 4회 균질화하여 분쇄한 시료를 4°C, 1000 × g에서 10분간 원심분리하였다. 침전물을 다시 2회 분쇄하고, Nitex Nylon mesh 100으로 여과하여 원심분리한 후 nuclear suspension (0.15-0.3 mg DNA/ml)을 만들었다. DNA 정량은 Hoechst 33258을 이용하여 Labarca와 Paigen(1980)의 방법으로 정량하였다. Nuclear suspension 100 µl에 50 µl의 <sup>3</sup>H-R5020(1-20 nM)을 넣고 4°C에서 2시간 동안 반응시켰으며 비특이성 결합을 측정하기 위해 200배의 progesterone과 반응시켰다. 결합형을 분리하기 위하여 buffer로 세척하고 1 ml의 ethanol을 넣고 12시간 동안 반응시킨 후 4°C, 1500 × g로 5분간 원심분리하여 0.5 ml의 상등액을 취하여 scintillation fluid(Toluene 500 ml, Triton X-100 250 ml, PPO 3.75 g, POPOP 0.047 g) 10 ml을 넣고 방사능을 측정하였다.

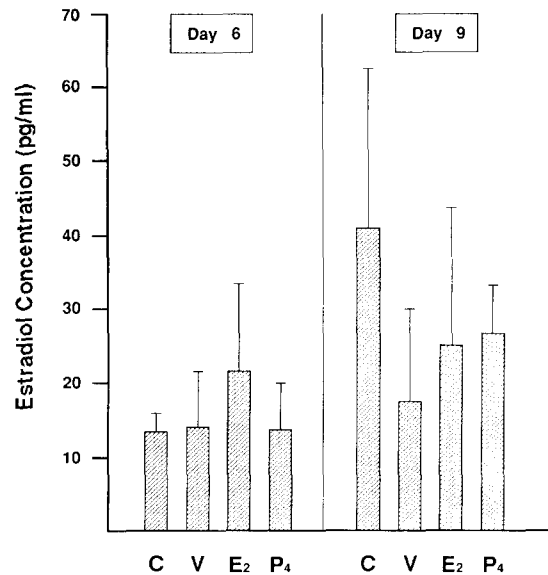
6. 알카리성 phosphatase의 활성측정: 각 실험군에서 적출한 자궁을 착상부위인 anti-mesometrium과 비착상부위인 mesometrium을 분리하여 ALPase 활성은 Bowers와 McComb(1975)의 방법을 변형하여 사용하였다(Kim *et al.*, 1991).

각 실험에서 측정된 실험치의 통계적 유의성 검정은 student's t-test로 하였다.

## 결과

### 혈중 estradiol의 농도(그림 2)

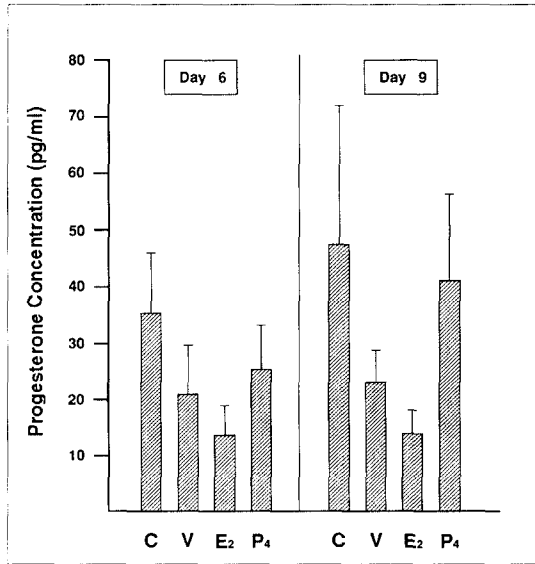
착상시기 혈청의 E<sub>2</sub> 농도를 그림 2에 표시하였다. 임신 제6일의 E<sub>2</sub>농도는 정상임신 대조군에서 13.63 pg/ml을 나타내는데 E<sub>2</sub>처리군에서는 21.30 pg/ml로 가장 높았으며 다른 실험군에서는 E<sub>2</sub>농도에 변화가 없었다. 임신 제9일의 E<sub>2</sub>농도는 제6일의 실험군의 농도보다 높아 특히 대조군에서 40.71 pg/ml로 가장 높고 P<sub>4</sub> 처리군에서도 26.91 pg/ml로 6일군(13.91 pg/ml)보다 현저하게 높은 농도를 나타냈다.



**Fig. 2.** Concentration of estradiol in serum in the normal pregnant rats. C: control, V: vehicle, E<sub>2</sub>: 17β-estradiol (1 µg/0.1 ml sesame oil) P<sub>4</sub>: progesterone (2 mg/0.1 ml sesame oil) Bar indicates the mean value ± standard error.

### 혈중 progesterone의 농도(그림 3)

임신 제6, 9일의 혈청내 P<sub>4</sub>의 농도를 그림



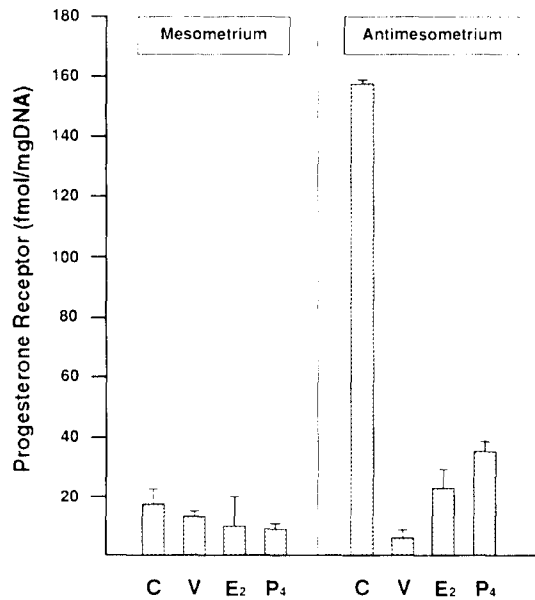
**Fig. 3.** Concentration of progesterone in serum in the normal pregnant rats. The abbreviations are the same as in Fig. 2.

3에 표시하였다. 임신 제6일에서 P<sub>4</sub>농도는 정상임신 대조군에서 36.94 pg/ml로 가장 높았으며 V와 E<sub>2</sub>처리군에 비해 유의하게 높았다(P < 0.05). P<sub>4</sub>처리군에서 26.79 pg/ml를 나타내어 E<sub>2</sub>처리군보다 높아지기는 하였으나 대조군에는 미치지 못하고 있다. 임신 제9일의 대조군 P<sub>4</sub> 농도는 47.91 pg/ml로 임신 제6일 대조군보다 높은 농도를 나타내며, P<sub>4</sub>처리군에서는 40.95 pg/ml로 다른 어떤 실험군보다 높은 농도로 정상임신군의 농도에 가까웠다.

이상과 같이 P<sub>4</sub>농도는 대조군에서 가장 높았으며, 처리군 중 P<sub>4</sub> 농도는 P<sub>4</sub> 처리군에서, E<sub>2</sub>농도는 E<sub>2</sub>처리군에서 가장 높은 경향을 나타내었다.

**자궁조직 세포핵의 Progesterone수용체 농도 (그림 4)**

앞서 ALPase 활성 관찰에서 착상부위 분화는 착상시기부터 현저해지며 특히 P<sub>4</sub>의 영향이 크다는 것을 관찰하였으므로 P<sub>4</sub>의 작용기작을 조사하고자, P<sub>4</sub>의 수용체 농도를 착상, 비착상부위에서 측정하였다. 또한 ALPase 활성은



**Fig. 4.** Concentration of progesterone receptor in the pregnant rat uterus on Day 9. The abbreviations are the same as in Fig. 2.

임신 제6일보다 임신 제9일에서 현저하게 높은 활성을 나타내고 있으므로 P<sub>4</sub> 수용체농도는 임신 제9일에서만 관찰하여 그림 4에 나타내었다. P<sub>4</sub>의 자궁조직 세포핵의 수용체 농도는 착상부위 (158.0 fmol/mg DNA)가 비착상부위 (17.0 fmol/mg DNA)보다 높는데 특히 대조군(P < 0.01)과 P<sub>4</sub>처리군(P < 0.05)에서는 유의한 차이를 보였다. 또한 대조군의 P<sub>4</sub>수용체는 착상, 비착상부위에서 다같이 다른 실험군보다 높은 농도를 나타내며 특히 착상부위농도(158.0 fmol/mg DNA)는 다른 어떤 실험군보다 유의하게 높은 농도를 나타내었다(P < 0.01).

**고찰**

포유동물의 생식과 발생의 조절은 시상하부-뇌하수체-생식수관을 주축으로 하여 복잡하나 정교하게 조절된 호르몬의 되먹임 작용 (Feedback regulation)에 의한 배아의 외적

인 조절과 배아자체에 의해서 이루어진다. 이와같이 복합적인 조절작용의 영향하에서 초기 배아 발생과정이 진행되므로 포유류의 생식과 발생현상은 종합적이고도 광범위한 기초자료가 없이는 그 조절기작을 규명하기 어려운 과제이다. 생쥐와 흰쥐의 수정난은 수란관에서 4-5일 동안 발생하여 포배가 된 후 자궁에 도달하게 되는데 이 기간동안 자궁은 배아를 착상시킬 탈락막(decidua)을 형성하며 특히 배아가 자궁 내막층에 착상을 하기 위해서는 배아와 내막층간에 인식이 필수적이며(Finn and Martin, 1969) 이런 인식의 매개는 자궁내 특수 단백질에 의한 것으로 추정된다(Kao and Bullock, 1981; Surani, 1975, 1977a, b). 또한 초기배아 발생에 필요한 특수 성분들은 자궁 상피세포로부터 내강으로 분비된다고 생각된다. 이러한 분비흡수, 영양물질의 수송과 관련있는 조직에서 LAPase의 활성은 탈락막 형성의 표지효소인 것이다(Aitken, 1977).

그러므로 본인등은 앞서의 연구에서 착상준비가 활발한 조직에서 ALPase활성이 높게 나타나며 E<sub>2</sub>와 그 수용체 농도와 ALPase 활성

간에 서로 상호관계가 있는 것을 관찰하였다(Kim *et al.*, 1983). 또한 E<sub>2</sub>와 P<sub>4</sub>는 자궁 내막조직의 표적세포가 다르고 이들 호르몬이 ALPase활성에 미치는 시기가 다르며 E<sub>2</sub>는 착상을 유도하는데, P<sub>4</sub>는 착상을 준비하는데 결정적 역할을 하는 것을 본인은 관찰하였다(Kim, 1986). 따라서 착상시기에 수정된 배아가 착상부위를 어떻게 인식하게 되는지, 그리고 착상부위 분화유발 원인이 무엇인지 관찰하는 일은 착상조절기작을 규명하는데 중요한 연구과제로 생각된다. 본 연구에서 흰쥐의 포배기 배아가 같은 자궁안에서도 antimesometrium쪽에 착상하게 될 때, 착상시기인 임신 제6일군의 착상부위에서 E<sub>2</sub>처리군과 P<sub>4</sub>처리군의 ALPase활성이 비착상부위보다 유의한 차이로 크게 나타나며, 임신 제9일의 대조군의 ALPase활성은 제6일의 대조군보다 유의한 차이로 높아짐을 관찰하였다. 이와같이 배아가 분화, 발생해감에 따라 자궁 내막조직의 분화도 활발해지고, 착상부위분화는 착상시기부터 현저해지며 특히 P<sub>4</sub>의 영향이 크다고 사료된다(표 1). 따라서 착상부위 분화에 큰 영향을 미치는 P<sub>4</sub>의 작용기작을 관찰하고자 착상시기에

**Table 1.** Alkaline phosphatase activity of the pregnant rat uterus on Day 6 and 9.

Day of pregnancy	uterus horn	Treatment			
		CONT	T	E <sub>2</sub>	P <sub>4</sub>
6	Antimesometrium	155.1 ± 15.0a (100)	++210.4 ± 15.8 (136)	+239.2 ± 21.8* (154)	+278.5 ± 56.1* (180)
	Mesometrium	133.8 ± 12.5 (100)	134.3 ± 11.5 (100)	159.4 ± 20.3 (119)	212.3 ± 44.7* (159)
9	Antimesometrium	343.2 ± 42.5 (100)	269.8 ± 62.0 (79)	++277.3 ± 29.7 (81)	206.4 ± 27.3 (60)
	Mesometrium	426.1 ± 72.7 (100)	263.0 ± 38.9** (62)	161.6 ± 11.0** (38)	152.4 ± 13.0** (36)

a: Mean ± SE ( $\mu$ mole P-NP/mg protein/min), n: 5. Numerical numbers in parenthesis indicate percent (%) relative to the control values.

\*: significant vs control

+: p < 0.05

\*\* : p < 0.01 or 0.02

+: significant vs mesometrium

++: p < 0.05

++: p < 0.01

$P_4$ 의 혈청농도와 자궁조직의 착상부위의 수용체농도를 조사하여 ALPase 활성과의 관계를 비교 검토하였다.

임신 제6일의 혈청내  $E_2$ 농도는  $E_2$ 처리군(21.30 pg/ml)에서 가장 높아 대조군(13.68 pg/ml) 보다도 높아지고 있으며 다른 처리군에서는 대조군과 같은 농도를 나타낸다. 또한 착상 후 배아 분화시기인 임신 제9일 대조군에서는 가장 높은 농도를 나타낸다.  $E_2$ 와  $P_4$ 처리군에서는 같은 농도를 나타내며  $P_4$ 처리군의 경우는 임신 제6일군보다 100% 증가를 나타내어 배아가 착상하여 초기발생이 활발한 시기에  $E_2$ 농도가 더 높아지고 있는 것을 볼 수 있었다.  $P_4$ 의 혈청농도는 착상시기인 임신 제6일군의 정상임신 대조군(36.94 pg/ml)에서 가장 높으나  $P_4$ 처리군(26.79 pg/ml)에서 높기는 하나 대조군에는 미치지 못하고 있다. 배아가 착상후 분화시기인 임신 제9일에서는  $E_2$ 농도와 같이 대조군(47.91 pg/ml)에서 가장 높은 농도를 나타내며 다음은  $P_4$ 처리군(40.95 pg/ml)에서 높아져서 정상대조군과 거의 같아지고 있다. 이처럼  $E_2$ 와  $P_4$ 농도는 대조군에서 가장 높았으며 난소제거호르몬 처리군에서  $P_4$ 농도는  $P_4$ 처리군에서,  $E_2$ 농도는  $E_2$ 처리군에서 가장 높은 경향을 나타내나 대조군 수준에는 미치지 못하였다.

한편  $E_2$ ,  $P_4$  혈중농도는 임신 제6일보다 제9일에 훨씬 높아지고 있는데 이는 ALPase 활성을 측정했을 때, 임신 제6일에 비해 임신 제9일에서 유의하게 높게 나타난 결과와 일치되는 결과이다. 이러한 현상은 배아가 착상하며 분화, 발생할 때 필요한 영양분을 생성, 분비해야 할 때이므로 대사작용이 가장 활발해진 것으로 사료된다. 이러한 결과는 배아와 자궁 내막조직간의 상호인식의 매개역할을 하는 특수단백질 성분(Kao and Bullock, 1981)이 능동수송에 의해 자궁세포로부터 내강으로 분비된다는 결과와 ALPase 활성이 영양물질의 수송과 관련 있는 조직, 그리고 분열중에 있는 조직에서 증가되며 동시에 단백질합성도 증가되므로 ALPase는 탈락막형성의 표지효소라고 한 결과

(Airken, 1977)와도 일치되는 결과이다.

이상과 같이  $E_2$ ,  $P_4$  혈중농도가 가장 높을 때 자궁내막조직에서 ALPase 활성도 가장 높은 상응하는 관계를 나타낸다. 특히 착상부위의 분화는 착상시기부터 현저해지며 착상후 분화, 발생이 활발한 임신 제9일의 착상조직에서 더욱 더 현저해지며  $P_4$ 혈중농도도 급격히 증가하는 것을 관찰하였으므로 착상부위의 분화에 미치는  $P_4$ 의 작용기작을 고찰하고자 임신 제9일의 자궁조직을 착상부위와 비착상부위로 구분하여 조직세포핵의 수용체농도를 관찰하였다. 착상부위  $P_4$  수용체 농도가 비착상부위보다 높아 대조군과  $P_4$ 처리군보다도 유의한 차이를 나타낸다. 또한 착상부위 대조군의  $P_4$ 수용체 농도(158.0 fmol/mg DNA)는 다른 어떤 실험군보다도 유의하게 높은 농도를 나타낸다.

이처럼 임신 제9일 착상부위 대조군에서도  $P_4$ 수용체가 최고치를 나타내는 것은 착상부위의 분화에  $P_4$ 가 지대한 영향을 미치는 것을 강력히 시사하는 결과이다. 이 결과는 혈중 호르몬양도 임신 제9일 대조군에서 제일 높게 나타난 결과(그림 3)와 일치하는 것으로  $P_4$ 가 자궁내막조직 착상부위 분화를 유발할 때 착상부위의 자궁내막조직 세포핵의 수용체에 결부된 후 대사작용과 관련된 단백질 등을 합성할 것으로 생각된다. 앞서 행한 실험에서 임신 제9일 대조군 착상부위에서 ALPase 활성이 최고치에 달하는 것(표 1)은 이를 잘 입증해 주는 결과이다.

본 연구를 통하여 자궁내막조직의 착상을 위한 분화에  $P_4$ 의 영향이 크며 혈청내  $P_4$ 농도와  $P_4$ 수용체 농도는 모든 실험군에서 상응하는 관계를 나타내는 결과를 관찰하였다. 이 결과는 앞서 일차적으로 발표한 ALPase 활성과도 상응하는 결과이므로 자궁 내막조직 탈락막 형성 유도에 관한  $P_4$ 의 작용기작은 표적세포핵 수용체에 결부된 후 유전인자를 활성화하여 필요한 단백질을 합성, 대사작용을 활발하게 유도하리라 생각된다.

## 인용문헌

- Aitken R.J., 1977. 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.
- Aldeen, K.A.M., 1970. The influence of oestrogen and progesterone on the distribution of alkaline phosphatase in the mouse uterine endometrium. *J. Endocrinol.* **46**: 405-406.
- Bowers, G.N. and R.B. McComb, 1975. Measurement of total alkaline phosphatase activity in human serum. *Clin. Chem.* **21**: 1988-1994.
- Finn, C.A. and L. Martin, 1969. Hormone secretion during early pregnancy in the mouse. *J. Endocrinol.* **45**: 57-65.
- Kao, L.E.L. and D.W. Bullock, 1981. Rates of uteroglobin synthesis by endometrial explants from different days of early pregnancy in the rabbit. *Biol. Reprod.* **25**: 820-824.
- Kim, S.R., S.G. Kang, K.J. Ryu, and W.K. Cho, 1983. Estrogen and progesterone levels in peripheral plasma and the concentration of nuclear estradiol receptor in uterine endometrium at the early pregnant rats. *Ewha Med. J.* **6**: 261-268.
- Kim, S.R., 1986. The effects of ovarian steroid hormones on the alkaline phosphatase activity in the luminal epithelial and stromal cells of early pregnancy rat uterus. *Kor. Res. Inst. Better Living* **37**: 183-193.
- Kim, S.R. and G.J. Choi, 1990. A study on the differentiation of the reproductive organs at early pregnant rats. *Ewha Med. J.* **13**: 127-138.
- Kim, S.R., 1991. A study on the differentiation of the implantation sites in the pseudopregnant rat uterus. *Kor. J. Zool.* **32**: 479-490.
- Kim, S.R. and M.K. Kim, 1991. A study on the activity of alkaline phosphatase of rat oviduct during early embryonic development. *Korean J. Fertil. Ster.* **18**: 41-48.
- Labarca, C. and K. Paigen, 1980. A simple, rapid, and sensitive DNA assay procedure. *Anal. Biochem.* **102**: 344-352.
- Lawn, A.M., 1973. The ultrastructure of the endometrium during the sexual cycle. *In: Adv. Reprod. Physiol* (6th ed.), London, pp.67-97.
- Surani, M.A.H., 1975. Hormonal regulation of proteins in the uterine secretion of ovariectomized rats and the implications for implantation and embryonic diapause. *J. Reprod. Fert.* **43**: 411-417.
- Surani, M.A.H., 1977a. Qualitative and quantitative examination of the proteins of rat uterine luminal fluid during pro-oestrus and pregnancy and comparison with those of serum. *J. Reprod. Fert.* **50**: 281-287.
- Surani, M.A.H., 1977b. Radiolabeled rat uterine luminal proteins and their regulation by oestradiol and progesterone. *J. Reprod. Fert.* **50**: 289-296.
- Yoon, Y.D., 1981. The hormonal levels of the short luteal phase in Korean women (I). LH, FSH, estradiol and progesterone. *J. Basic Sci.* **1**: 154-166.

(Accepted August 31, 1992)

---

**The Effect of Progesterone on Differentiation of Implantation Sites during Early Embryonic Development of the Rat**

Sung Rye Kim, \*Yong-Dal Yoon, and \*Moon Kyoo Kim (College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea; \*Department of Biology, College of Natural Science, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea)

The present investigation has been undertaken to elucidate the mechanism of implantation process, by demonstrating the role of ovarian steroids hormone in the differentiation of implantation sites. To determine the recognizing factor for antimesometrium and inducing factor for the differentiation of implantation sites, attempt was made to measure concentrations of serum estradiol ( $E_2$ ) and progesterone ( $P_4$ ), and  $P_4$  receptor in the antimesometrium and mesometrium during the early embryonic development of the rat. In addition, it has been examined, if  $P_4$  plays a role in the alkaline phosphatase synthesis of uterine endometrium. The results obtained are as followings: The concentration of serum  $E_2$  on day 6 was the highest in the  $E_2$ -treated group. On day 9, serum  $E_2$  concentration was the highest in the intact control group. The concentrations of serum  $E_2$  were higher on day 9 in comparison with those of day 6. The concentrations of serum  $P_4$  on day 6, 9 were highest in the intact control group. Among the treated groups, the  $P_4$ -treated group showed the highest serum  $P_4$  level. The concentration of serum  $P_4$  in each group on day 9 was higher than that of day 6. The concentration of nuclear  $P_4$  receptor in the antimesometrium was higher than that in mesometrium. the nuclear  $P_4$  receptor levels of the control ( $P < 0.01$ ), and  $P_4$  treated group ( $P < 0.05$ ) in the antimesometrium were significantly higher than those in mesometrium.

This study, therefore, clearly demonstrates that the differentiation of the uterine endometrial tissue for the implantation process seemed to be closely related to the changes in ovarian steroid hormones:  $P_4$  appears to be effective in inducing decidualization. Concentration of serum  $P_4$  seems to be well correlated with the level of the nuclear  $P_4$  receptor during the early embryo development. These results seem to be well correlated with ALPase activities shown in the previous study.