

흰쥐 자궁 및 착상에 있어서 Tamoxifen과 성스테로이드 호르몬의 상호관계

서울대학교 수의과대학 생리학교실

한호재 · 유규연 · 권종국 · 양일석

=Abstract=

Relationship between Tamoxifen and Sex Steroid Hormones on Uterus and Implantation in Rat

H.J. Han, K.Y. Yoo, J.K. Kwun and I.S. Yang

*Department of Veterinary Physiology, College of Veterinary Medicine
Seoul National University, Seoul, Korea*

These studies were undertaken to examine the relationship between tamoxifen and sex steroid hormones in rat uterine morphology and the effect of tamoxifen on sex steroid hormone levels, implantation and myometrial contraction. The results obtained were as follows :

- 1) The increase in height of the luminal epithelium caused by tamoxifen treatment was blocked by progesterone. The increase in height of luminal epithelium caused by estradiol-17 β treatment was blocked by tamoxifen.
- 2) When a single dose of tamoxifen(10, 20, 40 μ g) was given on Day 2 of pregnancy, implantation was prevented. Plasma estradiol-17 β level fell in a dose-dependent manner but plasma progesterone level was constant.
- 3) In vitro, tamoxifen decreased rat uterine contractility in a dose-dependent manner.

서 론

Tamoxifen(trans-1-(P- β -dimethylaminoethoxyphenyl)-1,2-diphenylbut-1-ene)은 triphenylethylene계의 비스테로이드성 물질(Bedford and Richardson, 1966)로서 흰쥐에 투여했을 때 수정란 착상 억제, estradiol에 의한 질 상피세포의 각질화 방지, estradiol에 의한 자궁무게 증가의 억제 등과 같은 antiestrogen 작용이 있다는 보고(Harper and Walpole, 1967)가 있는 이래 유방암 치료제로 널리 사용되고 있다. 한편 tamoxifen은 생쥐에서 estrogen과 유사한 성질이 있고(Korach et al., 1979) 흰쥐에서 부분적으로 estrogen과 유사한 성질이 있으며(Borgna and Rochefort, 1981; Waters and Knowler, 1981), 병아리 난관에서 순수한 anti-

estrogen 효과(Sutherland et al., 1977)를 나타낸다고 하였다. 또한 tamoxifen은 미성숙 흰쥐 자궁 상피세포에서 분비되는 estrogen 유도성 당단백질 합성 분비에 있어서 agonist/ant-agonist 효과(Takeda and Shimizu, 1988)를 나타내며 난소절제 흰쥐의 주골에서 estrogen과 유사한 작용(Turner et al., 1988)을 하고 햄스터에서 estrogen 유도성 간 장해를 억제(Coe and Ross, 1988)한다고 하였다.

이와같이 tamoxifen의 작용기전 및 효과에 대한 통일적인 설명이 어려웠던 까닭에 tamoxifen에 관한 연구가 활발히 진행되는 계기가 되었다. 또한 유방암, 자궁암 등에서도 estrogen 수용체의 존재가 밝혀졌으며 국내에서도 그 발병율이 증가하고 있는 추세에 있으므로 호르몬요법으로 이를 치료하고자 할때 tamoxifen과 성스테로이드 호르몬과의 관계 및 각각의 수용

체와의 상호관계에 대한 연구는 수행되어져야 할 처지다.

최근에 [^3H] tamoxifen을 이용한 연구는 estrogen 수용체와는 구별되는 antiestrogen 결합 부위의 존재를 알아내어 이것과 antiestrogen의 상호작용을 관련시켜서 설명하려는 보고 (Sutherland and Foo, 1979; Richard et al., 1983)가 대두되고 있다.

신생 흰쥐에 estradiol-17 β 를 투여하면 성숙 후 자궁선 수의 감소나 estradiol-17 β 에 대한 반응성 장애를 가진 위축성 자궁을 초래한다 (Branham et al., 1985). 한편 미성숙 또는 난소 절제한 성숙 흰쥐에서 antiestrogen 들은 자궁내막 상피, 자궁선 상피 및 기질의 비대를 일으키고 (Dix and Jordan, 1980; Holinka et al., 1980), 난소 절제한 성숙 흰쥐에서 tamoxifen은 estradiol-17 β 유도성 자궁증식을 억제하며 오랜기간 노출시에는 subepithelial stromal atrophy가 일어난다. Subcellular level에서 estradiol-17 β 와 tamoxifen은 미성숙 흰쥐에서 자궁내막 및 자궁선 상피에 있어서 합성과 분비기능을 유도한다 (Holinka et al., 1980). Estradiol-17 β 와 tamoxifen 처치는 골지체와 내형질 세망의 성장을 일으키고 분비과립의 형성을 촉진한다. 또한 tamoxifen은 자궁내막 상피 및 자궁선 상피에 있어서 약간의 세포변성을 일으킨다 (Holinka et al., 1980).

Estradiol-17 β 는 자궁근의 대사항진 및 단백질 합성을 증가시켜 자궁을 성장시킬 뿐만 아니라 (Katzenellenbogen et al., 1979) 자궁근의 actomyosin 함량을 증가시킴으로써 (Csapo, 1950) oxytocin에 대한 감수성을 증가시키는데 (Windmollar et al., 1983; Fuchs et al., 1983) 이는 estradiol-17 β 가 자궁근 세포막의 oxytocin 수용체를 증가시킨다는 사실과도 잘 부합된다 (Fuchs et al., 1983; Nissenon et al., 1978; Soloff, 1975). 또 estradiol-17 β 는 자궁근막의 흥분성을 높여 자궁근 수축을 증가시킨다 (Kuriyama et al., 1976a; Fuchs et al., 1983). 그러나 estradiol-17 β 를 in vitro로 투여시 모두 자궁근 수축을 억제한다고 하는데 (Osa and Ogasawara, 1984) 이는 이들 호르몬의 투여로 인해 생체막을 통한 Ca^{++} 이동이 억제되어 나타나는 것으로 설명하고 있다 (하, 1976; Casteel et al., 1985). 이와같이 tamoxifen은 동물의 중 및 표적기관에 따라 그 기능이 다르며 성스테로이드 호르몬과 상호관계

를 갖고 있음에도 이에 대한 연구는 미진하다.

따라서 본 실험에서는 미성숙 흰쥐에 estradiol-17 β , progesterone, tamoxifen을 각각 혹은 동시에 주사하여 자궁조직의 변화를 조사함으로써 tamoxifen과 estradiol-17 β 및 progesterone의 상호관계를 규명해 보고자 실시하였다. 또한 tamoxifen이 임신한 흰쥐의 estradiol-17 β , progesterone 농도와 착상 및 난소 절제한 성숙 흰쥐의 자궁근 운동에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

실험 1. 자궁조직에 대한 tamoxifen과 성스테로이드 호르몬의 상호관계

1. 실험동물

서울대학교 부속 실험동물 사육센터와 주식회사 유한양행 부설 중앙 연구소 실험동물 사육장에서 분양받은 21-25일령(45~55g)의 Sprague-Dawley계 암쥐를 사용하였다. 실험동물은 20-25°C의 실온에서 1일 14시간씩 (0700-2100)광선을 허용하였으며 물(수도물)과 사료(삼양사 펠렉사료)는 자유로이 급식시키면서 사육하였다.

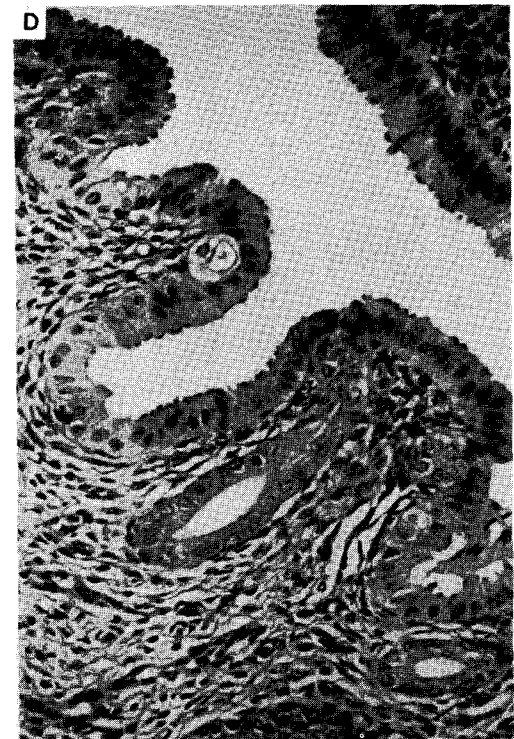
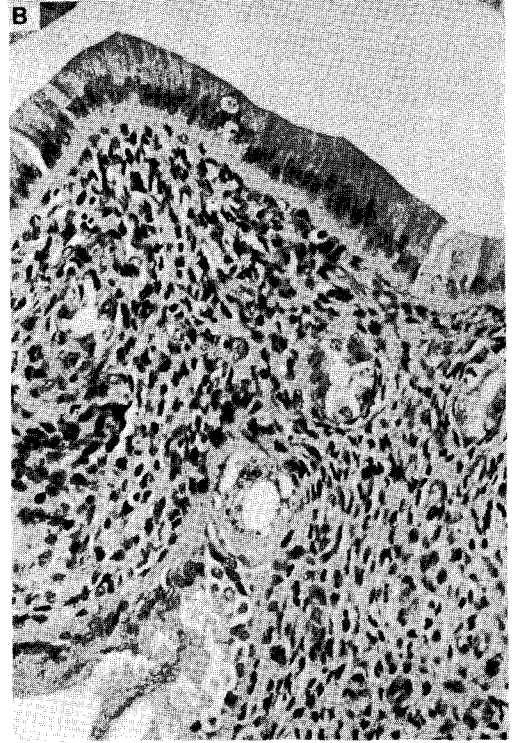
2. 실험군 배치 및 약물투여

140마리의 미성숙 암쥐를 7군으로 나누어 각 군에 20마리씩을 임의 배치하였다. 실험군은 estradiol-17 β (E $_2$) 1 μg 처치군, progesterone(P $_4$) 1mg 처치군, tamoxifen(TAM) 50 μg 처치군, tamoxifen 50 μg 과 estradiol-17 β 1 μg 동시처치군, tamoxifen 50 μg 과 progesterone 1mg 동시처치군, estradiol-17 β 1 μg 과 progesterone 1mg 동시처치군으로 나누었으며, 투여약물은 polyethylene glycol, 증류수 및 에탄올이 4:5, 4:5:1의 비율(v/v)로 혼합된 부형제에 녹여 암쥐의 경부피하에 24시간 간격으로 3일간 주사하였다.

3. 자궁무게 측정 및 자궁조직 제작

최종 약물 처치 후 24시간이 경과했을 때, 처치군과 대조군을 경추 탈골법으로 희생시켜 복강을 절개하고 자궁을 적출하였다. 적출한 자궁 주위의 지방조직과 인대를 깨끗히 제거하고서 자궁각의 중간부위로부터 자궁절편(0.5cm)을 만들어 10% 중성 포르말린에 고정시켰다. 고정 24시간 후 파라핀 절편을 만들어 hematoxylin과

《논문사진부도》



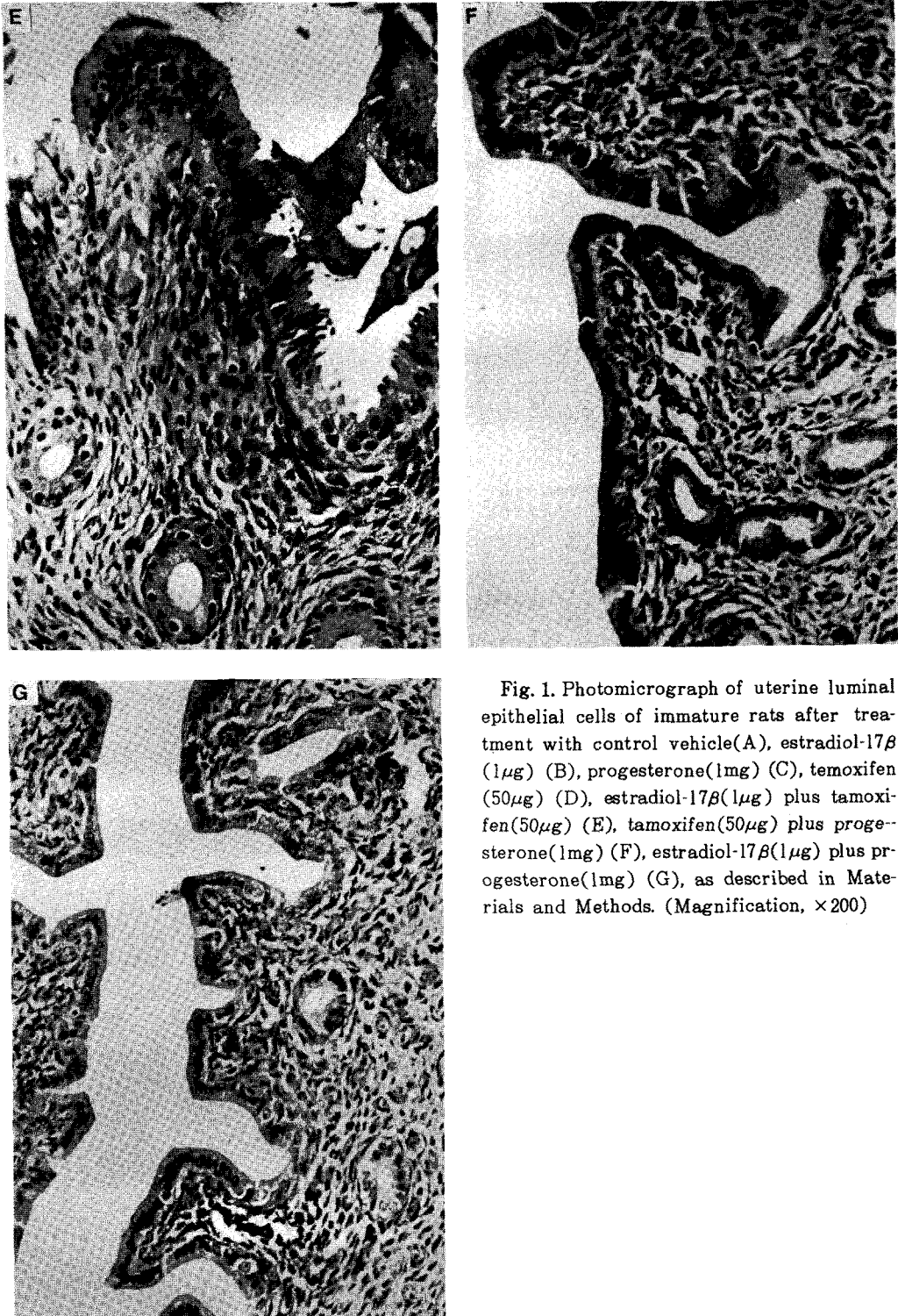


Fig. 1. Photomicrograph of uterine luminal epithelial cells of immature rats after treatment with control vehicle(A), estradiol-17 β (1 μ g) (B), progesterone(1mg) (C), tamoxifen (50 μ g) (D), estradiol-17 β (1 μ g) plus tamoxifen(50 μ g) (E), tamoxifen(50 μ g) plus progesterone(1mg) (F), estradiol-17 β (1 μ g) plus progesterone(1mg) (G), as described in Materials and Methods. (Magnification, $\times 200$)

eosin(H&E) 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다. Eosinophil 숫자는 채취한 자궁절편으로부터 각각 2부분을 잘라 조사하였다.

실험 2. Tamoxifen이 성스테로이드 호르몬 수준과 착상에 미치는 영향

번식능력이 왕성한 생후 120일령 Sprague-Dawley계 수쥐 1마리당 미경산 성숙 암쥐(80일령) 3마리를 합사시켜 교미시켰다. 교미 다음날 0900h-1100h에 copulatory plug를 확인할 수 있거나 질도말법으로 정자를 확인할 수 있는 암컷만을 분리하여 실험에 사용하였다. 임신을 확인한 날을 임신 1일(Day 1)로 정하였다. 임신 2일째(Day 2) 1000h-1100h에 tamoxifen 10 μ g/kg. rat, 20 μ g/kg.rat, 40 μ g/kg.rat, 80 μ g/kg.rat 처치군으로 나누어 각각 처치하고 대조군에는 용매만을 처치하였다. 임신 4일째(Day 4) 0500h-0700h에 처치군과 대조군을 ether로 가볍게 마취시킨 후 좌측경정맥을 통해 혈액 3ml를 서서히 채취하였다. 채취한 혈액을 1200g에서 30분간 원심분리하여 혈장만을 분리회수 하였다. 이 혈장은 radioimmunoassay(RIA)를 실시할 때까지 -70°C에서 냉동보관하였다. 임신 8일째(Day 8) 1400h-1600h에 각 처치군과 대조군을 ether로 가볍게 마취시킨 후 생리식염수로 희석한 0.1% Evans blue(Sigma Co.) 1ml를 좌측 경정맥을 통해 주입하고 10분이 경과한 후 경추 탈골법으로 희생시켜 난소와 자궁을 적출하였다. 착상수는 육안으로 측정하였으며 난소는 1ml의 생리식염수가 담긴 petridish에 옮기고 쌍안입체현미경(AO Co. 40x)으로 황체수를 세어 착상율을 계산하였다. 혈장내 estradiol-17 β 와 progesterone의 수준측정에는 스테로이드 호르몬 측정용 Estradiol ¹²⁵I ter kit(code 11264)와 Progesterone Maia kit(code 12274)를 사용하여 r-counter(Packard co.)로서 측정하였다.

실험 3. Tamoxifen이 자궁근 운동에 미치는 영향

1. 실험동물

성숙된 Sprague-Dawley계 흰쥐(210-220g)를 가벼운 ether 마취하에서 양쪽 난소 절제 1주일 후에 사용하였다.

2. 자궁절편의 자발적인 등척성 수축력의 측정

취를 도살한 직후 자궁을 적출하여 공기로 평

형시킨 영양액(NaCl ; 9, KCl ; 0.42, CaCl₂ ; 0.24, MgCl₂ ; 0.2, NaHCO₃ ; 0.5, dextrose ; 0.5, g/l)에 넣고 주위의 지방 및 결체조직을 제거하였다. 길이 약 1cm, 너비 약 0.3cm 정도의 자궁절편을 만든 후 organ bath내 근육절편 고정기에 고정된 다음 Force transducer(Narco F-60)에 연결하여 physiograph(Narco.)로 자궁의 자발적인 등척성 수축을 기록하였다. 우선 자궁의 자발적인 수축력을 비교하기 위해 근육고정기에 고정시킨 후 일률적으로 0.5g의 resting tension을 주고 30분동안 평형시킨 다음에 일정한 장력을 가하여 자궁운동이 잘되는 지점에서 10분간 정상적인 자궁 운동을 기록하였다. 그 후 in vitro tamoxifen이 에서 자궁근 운동에 미치는 영향을 관찰하기 위해 영양액 ml당 1 μ g, 5 μ g, 10 μ g, 25 μ g, 50 μ g되게 tamoxifen을 첨가하여 각기 수축력의 변화 및 수축빈도를 측정 비교하였다. 대조군은 용매 0.2ml만을 첨가 하였다.

결 과

1. 자궁조직에 대한 estradiol-17 β , progesterone, tamoxifen의 효과

대조군의 자궁내막 상피는 입방상피인 반면에 estradiol-17 β 처치군에서는 원주상피로 변했으며, 호산구가 침윤되었다. Progesterone 처치군에서 자궁내막 상피는 비교적 입방상피를 보여 주었다. Tamoxifen 처치군에서는 호산구 침윤은 없었지만 자궁내막 상피는 원주상피로 변했으며, estradiol-17 β 처치군에 의한 변화보다 크지 않았다. Estradiol-17 β tamoxifen 처치군에서는 tamoxifen이 estradiol-17 β 에 의한 자궁내막상피 증식을 억제하였으며, progesterone tamoxifen 처치군에서는 progesterone이 tamoxifen에 의한 자궁내막 상피 증식을 억제하였다. Estradiol-17 β +progesterone 처치군에서는 progesterone이, estradiol-17 β 에 의한 자궁내막상피 증식을 억제하였다.

2. Tamoxifen이 성스테로이드 호르몬 농도 및 착상에 미치는 영향

임신 8일(Day 8)에 각 tamoxifen 처치군과 대조군에서 자궁무게와 난소무게를 측정된 결과, 자궁무게는 착상수가 증가됨에 따라 증가되는 경향을 보였지만 난소무게는 대조군과 각 tamoxifen 처치군 사이에 유의한 차가 없었다. 임신 8

Table 1. Effect of tamoxifen given on Day 2 of pregnancy on implantation rates measured on Day 8(mean \pm SD, n=10)

Treatment	No. of CL*	No. of IM Sites	IM rates (%)
Control	13.2 \pm 1.0	11.2 \pm 1.0 ^b	84.8 \pm 3.4
10 μ g TAM	12.8 \pm 1.0	6.3 \pm 0.9 ^c	49.2 \pm 2.8
20 μ g TAM	12.6 \pm 1.1	4.3 \pm 0.9 ^d	34.1 \pm 2.1
40 μ g TAM	13.1 \pm 1.2	0.7 \pm 1.1 ^e	0.0 \pm 2.4
80 μ g TAM	12.9 \pm 1.2	0.3 \pm 0.5 ^e	0.0 \pm 1.2

TAM : tamoxifen, IM : implantation, CL : corpus luteum, IM rates=No. of IM sites / No. of CL, a : No significant, b, c, d, e : The difference subscripts mean significant difference ($p < 0.01$) from each other, n : no. of animals

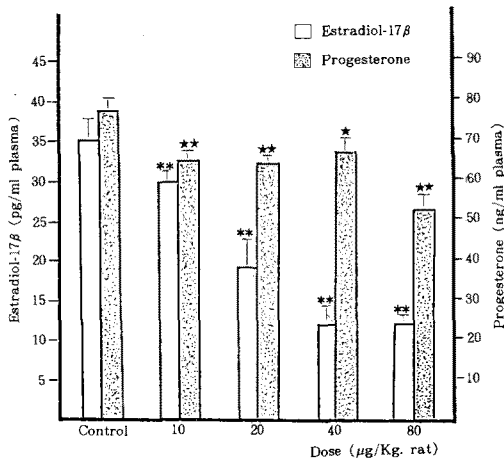


Fig. 2. Plasma levels of estradiol-17 β and progesterone on Day 4 in rats treated subcutaneously with tamoxifen on Day 2 of pregnancy. (**,☆☆, $p < 0.01$).

일 (Day 8)에 각 처치군과 대조군에서 황체수와 착상수를 측정 한 결과, 황체수는 모든 처치군과 대조군에서 일정한 반면, 착상수는 40 μ g, 80 μ g 처치군에서 1-2개의 착상부위를 관찰할 수 있어 대조군에 비해 유의성 ($p < 0.01$) 있게 억제된 효과를 나타내었으며 10 μ g과 20 μ g 처치군도 대조군에 비해 억제되었다(Table 1). 착상율은 대조군에 비해 tamoxifen 투여용량에 비례하여 감소하였다. Fig.2는 임신 2일째 tamoxifen으로 처치한 흰쥐에서 임신 4일째 혈장내 estradiol-17 β , progesterone 수준을 나타낸 것이다. Estradiol-17 β 농도는 tamoxifen 투여용량에 비례하여 감소되는 반면, progesterone 농도는 10 μ g, 20 μ g, 40 μ g 처치군에서는 대조군에 비해 감소($p < 0.01$) 했으나 이들간에 유의한 차는 없었다. 80 μ g 처치군에서는 대조군 및 10 μ g,

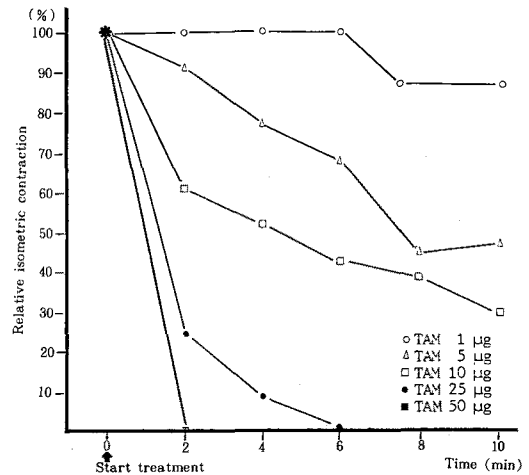


Fig. 3. Effect of tamoxifen on terine contractility.

20 μ g, 40 μ g 처치군에 비해 유의성 ($p < 0.01$) 있게 감소 되었다.

3. Tamoxifen이 자궁의 자발적인 수축에 미치는 영향

Fig. 3은 자궁근육의 자발적인 수축에 미치는 tamoxifen의 효과를 나타낸 것으로서 각 실험군에서 수축력은 tamoxifen을 가하지 않은 대조군의 수축력에 대한 백분율로 표시하였다. Tamoxifen 첨가시 장력이 감소함을 볼 수 있고 그 정도는 첨가한 tamoxifen의 농도에 비례하였으며 이 효과는 시간이 경과할수록 더욱 뚜렷히 나타났다. 대조군에서 수축빈도는 10분에 7-9회였으나, tamoxifen을 영양액 ml당 1 μ g, 5 μ g, 10 μ g 첨가시 5-6회, 25 μ g 첨가시 약 4회로 감소하였으며 50 μ g 첨가시 자궁의 자발적인 수축력이 완전히 억제되었다.

고 찰

성숙 동물에서 나타나는 혈중내 성스테로이드 호르몬 문제를 해결하기 위하여 미성숙 흰쥐를 사용하였으며 성숙흰쥐 사용시는 쥐의 양쪽 난소 절제 2-4일 후 성스테로이드 호르몬이 혈중에서 거의 제거되므로(Blake, 1977) 난소를 절제한 후 1주일이 경과한 후에 실험에 사용하였다. 본 실험에서 estradiol-17 β 투여용량은 흰쥐 1마리당 하루 1 μ g 이었는데, 이는 약리학적 투여량보다 적은 것으로 흰쥐의 경우 생리학적인 투여량에 일치한다고 본다(Toney and Katzenellenbogen, 1986). 자궁조직의 변화를 관찰하기 위해 estradiol-17 β 를 3일간 처치했는데 이는 estradiol-17 β 가 자궁비대 효과 또는 자궁에서 단백질 합성 유도를 개시하기 위해 필요한 시간과 일치한다(Katzenellenbogen et al., 1979). Tamoxifen을 미성숙 흰쥐에 10⁻³-10⁰ μ g을 5일간 투여했을 때 자궁무게에는 변화가 없었고 10⁻¹-10² μ g을 5일간 투여하면 자궁무게가 증가하였다는 보고(Branham et al., 1985)와 50 μ g tamoxifen/day. rat의 투여시 antiestrogen 효과를 보였다는 보고(Koseki, 1977)가 있었던 바 본 실험에서는 50 μ g tamoxifen/day.rat을 사용하였다.

본 연구에서 미성숙 흰쥐에 estradiol-17 β 를 3일간 투여했을 때 자궁내막 상피 증식 및 자궁내호산구 증가를 보였으나 tamoxifen 투여시는 호산구의 증가는 관찰할 수 없었다. Antiestrogen은 estradiol-17 β 자극시와 구별할 수 없을 정도로 자궁내막 상피를 증가시킨다(Clark et al., 1981)고 하였으며 tamoxifen의 처치 결과로 일어나는 자궁의 비대는 estrogen 처치시 볼 수 있는 [³H]thymidine incorporation 또는 세포분열과는 관계가 없다고 하였다(Dix and Jordan, 1980). 본 실험에서는 estradiol-17 β 처치시 자궁내막 상피의 크기는 tamoxifen 처치시 보다 비교적 높았으며 tamoxifen 처치시 간질세포와 자궁근층세포는 거의 변화가 없었으나 estradiol-17 β 처치시 두 층이 모두 증식되어졌다. Tamoxifen과 progesterone을 동시에 투여했을 때 tamoxifen에 의한 자궁내막 상피의 비대는 progesterone에 의해서 완전히 차단되었으며 tamoxifen은 자궁선 상피보다 자궁내막 상피를 더욱 비대시켰다. Estradiol-17 β 와 tamoxifen 처치시 자궁강내와 자궁선 강내에서 분비파

를 볼 수 있었고 자궁내막 및 자궁선 상피에 약간의 세포변성이 야기되는 것을 관찰할 수 있었다. 이와같이 자궁선 및 자궁내막 상피에서 tamoxifen, estradiol-17 β , progesterone의 상호관계는 자궁무게에서 나타난 결과(한 등, 1988)와 유사했다.

정상 임신 흰쥐의 자궁에서 blastocyst의 착상은 임신 5일째 2200h에 시작되어 2400h까지 완결되어진 반면에 임신 2일째 tamoxifen의 일정용량을 투여했을 때 20시간 정도 착상이 지연됨을 보고하였다(Major and Heald, 1974). Estrogen이 흰쥐 착상 개시에 필수적으로 요구된다는 보고(Psychoyos, 1967)가 있었음에도 불구하고, 아직까지 estrogen의 정확한 분비시기나 분비양상—surge 또는 지속적 분비—에 대해선 논란이 많다. Watson 등(1975)은 정상 임신 흰쥐에서 estradiol은 임신 3일째 초기부터 증가하기 시작하여 임신 3일째 2200h에서 4일째 08000h 사이에 최고 농도에 달하며 한편 progesterone 농도는 임신 2일째 부터 증가하기 시작하여 임신 3~4일째 최고치에 달한다고 하였다. 이에 본 실험에서는 tamoxifen의 estradiol-17 β , progesterone surge 차단효과 및 착상에 미치는 효과를 보기 위해 임신 2일째 tamoxifen을 용량별로 투여한 후 임신 4일째 0600h에 채혈하여 성스테로이드 호르몬 농도를 측정해 보았고 임신 8일째 착상율을 조사해 보았다.

Table 1. 에서와 같이 tamoxifen을 10 μ g, 20 μ g, 40 μ g 투여시 혈장내 estradiol-17 β 수준이 점차 감소했으며 이에 따라 착상율도 저하되었다. Estradiol-17 β 의 분비 감소는 tamoxifen에 의한 estradiol-17 β 난소내 합성 감소, FSH 방출 억제등과 관련됨을 시사했다(Watson et al., 1975). Tamoxifen의 40 μ g, 80 μ g 투여시는 착상이 거의 억제되었다. 이는 tamoxifen의 antiestrogen 효과 및 estradiol-17 β 의 투여에 의해서 부분적으로 극복될 수 있는 post-coital antifertility agent로서의 효과(Harper and Walpole 1967)를 보여준 것이다. 한편 혈장내 progesterone 농도는 tamoxifen의 10 μ g, 20 μ g, 40 μ g 처치군에서 서로간의 유의한 차를 나타내지 않아 착상 개시에 있어서 estrogen이 필수적이라는 것을 간접적으로 입증해 주었다. Major 등(1974)은 임신 2일째 ICI 46, 474를 투여했을 때의 불임 효과는 난관운동 증가에 의한 자궁으로의 미성숙란의 조기배출에 기인한 것이 아니라

estrogen과 progesterone balance를 변화시킴으로써 난관운동과는 무관한 자궁운동변화에 의한 난의 질 배출에 기인한 것이라고 보고했다. Tamoxifen이 estradiol-17 β 에 대한 자궁의 발육을 억제하는 본 실험 결과를 고려하면 본 연구에서 나타난 tamoxifen 용량에 따른 착상물저하 또는 착상억제는 투여된 tamoxifen이 자궁으로부터 사라지는 시기가 그 투여용량에 비례한다는 것을 시사해준다. 즉 많은 용량의 tamoxifen 투여는 estradiol-17 β surge에 의한 자궁 반응을 방지할 수 있는 충분한 기간동안 자궁내에 머무르게 되는 것이다. 이와같은 결과로 보아 tamoxifen은 성스테로이드 호르몬 분비저하 또는 estradiol-17 β 에 대한 자궁반응 억제 등을 통해 착상을 방해하는 것으로 생각된다. 한편 흰쥐 과립막세포 배양에서 tamoxifen은 FSH-stimulated aromatase activity를 증가시켜서 estradiol-17 β 생산을 자극하는 반면에 FSH-stimulated progesterone 생산성 감소 또는 난소내 estrogen 수용체의 [³H]estrogen 결합 억제 등과 관련하여 progesterone의 생산을 억제한다고 하였다(Thomas, 1984). 그러므로 in vitro에서 tamoxifen은 과립막세포의 estradiol-17 β 와 progesterone 생합성에 있어서 각각 다른 작용을 나타냄을 시사해 준다. 본 실험 결과와 이 보고가 일치하지 않는 것으로 보아 tamoxifen은 in vivo와 in vitro에서 그 효과가 각각 다른 것으로 생각된다.

난소 호르몬인 estrogen과 progesterone은 자궁벽 및 자궁조직의 조직학적 변화뿐만 아니라 자궁운동에도 관여한다는 사실이 밝혀졌다. In vitro에서 estradiol-17 β 나 progesterone 모두 자궁근 수축을 억제하는데, 이는 이들 성스테로이드 호르몬이 자궁근의 근장그물, 미토콘드리아 및 세포막의 Ca²⁺-activated ATPase를 억제시키고 또한 자궁근 세포내로의 Ca²⁺유입을 억제시키기 때문이라 했다(하, 1976). 성스테로이드 호르몬을 in vivo로 투여한 경우에 oxytocin 수용체 수의 변화에 따른 oxytocin에 대한 감수성의 변화와 자궁근 세포막의 흥분성 변화 등으로 estradiol-17 β 는 자궁근 수축을 촉진하고 progesterone은 자궁근 수축을 억제한다(Fuchs et al., 1983). Estradiol-17 β 나 progesterone의 단독투여는 생체내 성스테로이드 호르몬이 존재하는 경우 자궁근의 수축력에 영향을 주지 못하였으나 난소적출로 성스테로이드 호

르몬이 고갈된 상태에서는 수축력을 증가시켰다고 하였다(김 등, 1987). 본 실험에서는 난소적출 1주일 후의 자궁절편을 사용하였는데, tamoxifen의 농도에 비례하여 장력이 감소함을 볼 수 있었다. 이결과를 1987)이 고한 결과와 비교해 볼 때 자궁근 운동에 있어서 tamoxifen은 estrogen과 반대되는 작용을 함을 알 수 있다. 이의 정확한 기전은 밝혀져 있지 않으나 tamoxifen이 Ca²⁺의 수용체 단백질인 calmodulin에 길항적으로 작용하거나 protein kinase-dependent process를 차단함에 의해서 자궁근육의 수축운동에 (Horgan et al., 1986) 농도에 변화를 일으켰을 것으로 추정된다. Lipton과 Morris(1986)는 흰쥐 평활근에서 Ca²⁺에 대한 tamoxifen의 길항작용을 보고 했는데 그 효과는 calmodulin과의 결합같은 세포내 과정에 기인할 것이라 하였다. 또한 Sartor 등(1988)은 tamoxifen이 GH₃/B₆ 세포들에서 활동전압 억제와 Ca²⁺ 전류에 대한 억제효과를 발휘했다고 보고했다. 이와같은 사실로 미루어 보아 자궁근 운동과 tamoxifen은 밀접한 관련이 있는 것으로 생각되며, 이에 대한 자세한 연구가 수행되어야 하겠다.

결 론

본 실험에서는 미성숙 흰쥐에 estradiol-17 β , progesterone, tamoxifen을 각각 혹은 동시에 주사하여 자궁조직 변화를 조사함으로써 tamoxifen과 estradiol-17 β 및 progesterone의 상호관계를 규명해 보고자 실시하였다. 또한 tamoxifen이 임신한 흰쥐의 estradiol-17 β , progesterone 농도와 착상 및 난소절제 성숙 흰쥐의 자궁근 운동에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과는 다음과 같다.

1) 자궁조직에 있어서 tamoxifen은 estrogenic/antiestrogenic effect를 보였으며, progesterone은 tamoxifen의 자궁증식 효과를 부분적으로 억제하였다.

2) 임신 2일째 tamoxifen을 투여할 때 임신 8일(Day 8)에 각 처치군의 착상율은 대조군에 비해 투여용량에 비례하여 감소하였다. 임신 2일째 tamoxifen 10 μ g, 20 μ g, 40 μ g/kg. rat으로 처치한 흰쥐에서 임신 4일째 혈장내 estradiol-17 β 농도는 tamoxifen 투여용량에 비례하여 감소되는 반면, progesterone 농도는 대조군에 비해 감소(p<0.01)했으나 이들 처치군간에 유의한

차는 없었다.

3) Tamoxifen은 투여용량에 비례하여 자궁근 운동을 억제시켰다. 대조군에서 수축빈도는 10분에 7-9회 였으나, 1 μ g, 5 μ g, 10 μ g/ml 투여군에서는 5-6회, 25 μ g/ml 투여군에서는 약 4회로 감소하였으며, 50 μ g/ml 투여군에서는 자궁의 자발적인 수축력이 완전히 억제되었다.

REFERENCES

- Bedford, G. R. and Richardson. : *Preparation and identification of cis and trans isomers of a substituted triarylethylene. Nature. Lond.*, 212 : 733-734, 1966.
- Blake, C. A. : *Effects of estrogen and progesterone on luteinizing hormone release in ovariectomized rats. Endocrinology.* 101 : 112-1129, 1977.
- Borgna, J., and Rochefort, H. : *Hydroxylated metabolites of tamoxifen are formed in vivo and bound to estrogen receptor in target tissues. The Journal of Biological Chemistry.* 2-56 : 859-868, 1981.
- Branham, W. S., Sheehan, D. M., Zehr, D. R., Evan Ridon, and Nelson, D. R. : *The postnatal ontogeny of rat uterine and age-related effects of 17 β -estradiol. Endocrinology.* 117 : 2229-2237, 1985.
- Branham, W. S. Sheehan, D. M., Zehr, D. R., Nelson, C. J., and Evan Ridion : *Inhibition of rat uterine gland genesis by tamoxifen, Endocrinology.* 177 : 2238-2248, 1985.
- Casteels, R., Droogmans, G., and Missiaen, L. : *Modification by hormonal treatment of the agonist-induced Ca⁺⁺ release from the rat myometrium. J. Physiol. (London)*, 369 : 96(Abst.) 1985.
- Clark, J. H., and Guthrie, S. C : *Agonistic and antagonistic effects of clomifen citrats and its isomers. Bio. Reproduction*, 25 : 667, 1981.
- Coe, J. E., and Ross, M. J. : *Tamoxifen inhibits estrogen-induced hepatic injury inhamsters. Endocrinology*, 122 : 137-144, 1988.
- Capo, A. I. : *Actomyosin formation by estrogen action. Am. J. Physiol.*, 162 : 406-410, 1950.
- Dix, C. J., and Jordan, V. C. : *Subcellular effects of monohydroxytamoxifen in the rat uterus. : Steroid receptors and mitosis. J. Endocrinol.*, 85 : 393-404, 1980.
- Fuchs, A. R., Periyasamy, S., Alexandrova, M., and Soloff, M. S. : *Correlation between oxytocin receptor concentration and responsiveness to oxytocin in pregnant rat myometrium : Effects of ovarian steroids. Endocrinology*, 113 : 742-749, 1983.
- Harper, M. J. K., and Walpole, A. L. : *A new derivative of triphenylene : Effects on implantation and mode of action in rats. J. Repro. Fert.*, 13 : 101-119, 1967.
- Holinka, O. F., Bressier, R. S., Zehr, D. R., and Gurspide, E. : *Comparison of effects of estetrol and tamoxifen with dose of estriol and estradiol on the immature rat uterus. Biol. Reprod.*, 22 : 913, 1980.
- Horgan, K., Cooke, E., Hallett, M. Band Mansee, R. E. : *inhibition of proteinkinase C mediated signal transduction by tamoxifer. Biochemical pharmacology*, 305 : 4463-4465, 1986.
- Katzenellenbogen, B. S., Bhakoo, H. S., Fer-ouson, E. R., Lan, N. C., Tatee, T., Tsai, T. S., and Katzenellenbogen, J. A. : *Estragen and antiestrogen action in reproductive tissues and tumors. Recent Prog. in Horm. Res.*, 35 : 259-300, 1979.
- Korach, K. S. : *Estrogen action in the mouse uterus : Characterization of the cytosol and nuclear receptor systems. Endocrinology*, 104 : 1324-1332, 1979.
- Koseki, Y., Zava, D. T., Chamness, G. C., and McQuire, W. L. : *Progesterone interaction with estrogen and antiestrogen in the rat uterus : Receptor effects. Steroid*, 30 : 169, 1977.
- Kuriyama, H., and Suzuki, H. : *Changes in electrical properties of rat myometrium during gestation and following hormone treatment. J. Physiol(London)*, 260 : 315, 1976a.

- Lam, H. Y. P. : *Tamoxifen is a calmodulin antagonist in the activation of cAMP phosphodiesterase. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 118 : 27-32, 1984.
- Lipton, A., and Morris, I. D : *Calcium antagonism by the antiestrogen tamoxifen. Cancer Chemother. Pharmacol.*, 18 : 17, 1986.
- Major, J. S., and Heald, P. J. : *The effects of ICI 46,474 on ovum transport and implantation in the rat. J. Reprod. Fert.*, 36 : 117-124, 1974.
- Nissenson, R., Folouvet, G., and Hechter, O. : *Opposing effects of estradiol and progesterone on oxytocin receptors in rabbit uterus. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 74 : 2044-2048, 1978.
- Osa, T., and Ogasawara, T. : *Effects in vitro of progesterone and estradiol-17 β on the contractile and electrical responses in rat myometrium. Jap. J. Physiol.*, 34 : 427-441, 1984.
- Psychoyos, A. : *The hormonal interplay controlling egg implantation in the rat. In advances in reproductive physiology. Vol. 2, p.257, London, Locos Press, 1967.*
- Richard, C., Winneker and James H. Clark. : *Estrogenic stimulation antiestrogen specific binding site in rat uterus and liver. Endocrinology*, 112 : 1910-1915, 1983.
- Sartor, P., Vacher, P., Mollard, P., and Dufy, B. : *Tamoxifen reduces calcium currents in a clonal pituitary cell line. Endocrinology*, 123 : 534-540, 1988.
- Soloff, M. S. : *Uterine receptor for oxytocin : Effects of estrogen. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 65 : 205-212, 1975.
- Sutherland, R. L., and Foo, M. S. : *Differential binding of antiestrogens by rat uterine and chick oviduct cytosol. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 91 : 183, 1979.
- Sutherland, R. L., Mester, J., and Baulieu, E. E. : *Tamoxifen is as potent "pure" antiestrogen in chick oviduct. Nature*, 267 : 434-435, 1977.
- Takeda, A. and Shimizu, S. : *Molecular effects of antiestrogen (Tamoxifen and LY117018) Thomas, H., Welsh, J. R., Xiao-Chi JIA, Phillip, S. C. J., Linzhi Zhuang, and Aaron, J. W. Hsuen. : Disperate effects of triphenylethylene antiestrogens on estrogen and progesterin biosynthesis by cultured rat granulosa cells. Endocrinology*, 115 : 1275-1282, 1984.
- Toney, T. W., and Katzenellenbogen, B. S. : *Antiestrogen action in the medial basal hypothalamus and pituitary of immature female rats : Insights concerning relationships among estrogen, dopamine, prolactin. Endocrinology*, 119 : 2661-2669, 1986.
- Turner, R. T., Warkley, G. K., Hammon, K. S. and Bell, N.H. : *Tamoxifen inhibits osteoclast-mediated resorption of trabecular bone in ovarian hormone-deficient rats. Endocrinology*, 122 : 1146-1150, 1988.
- Waters, A. P., and Knowler, J. T. : *A comparison of the effects of estrogen and tamoxifen on the synthesis of uterine RNA in immature rats. J. Steroid Biochem.*, 14 : 625-630, 1981.
- Watson, J., Anderson, F. B., Alam, M., O'Grady, J. E., and Heald, P. J. : *Plasma hormone and pituitary Luteinizing Hormone in the rat during the early stages of pregnancy and after post-coital treatment with tamoxifen(ICI 46,474). J. Endocrinol.*, 65 : 7-17, 1975.
- Windmoller, R., Lye, S. T., and Challis, J. R. G. : *Estradiol modulation of ovine uterine activity. Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 621 : 722-728, 1983.
- 김인교, 박혜수, 구본숙, 이익호 : 성주기에 따른 자궁근 수축력의 변화에 관한 연구 : 성호르몬 및 약물들의 영향, 대한 생리학회지, 21 : 35~46, 1987.
- 하중식 : Estradiol(-17 β)과 Progesterone이 생체막에서의 Ca⁺⁺ 이동에 미치는 영향. 서울대 수의대 논문집, 1 : 42~51, 1976.
- 한호재, 양일석, 권중국 : 흰쥐의 자궁에 대한 tamoxifen과 성스테로이드 호르몬 상호작용에 관한 연구. 한국수정란이식연구회지, 3 : 13~23, 1988.