

## 초기 임신 기간중 환취 자궁 내막조직의 Phosphatase 활성에 관하여

이화여대 의과대학  
\*서울대 자연대 동물학과

金星禮·趙完圭\*

-Abstract-

### On the Activity of Phosphatase in the Endometrium of the Rat Uterus During Early Pregnancy

Sung Rye Kim and Wan Kyoo Cho\*

*Dept. of Medicine, Ewha Women's University*

*\*Dept. of Zoology, College of Natural Sciences*

*Seoul National University*

The quantitative analyses of the phosphatase activity in the endometrium of the rat ovariectomized on Day 2 of pregnancy was carried out in comparison with the intact one, in order to investigate the hormonal dependency of the uterus prior to the implantation, and to study the phosphatase activity in the endometrial tissues *in vitro* incubated in different acidity of the medium.

The results obtained were as follows:

1. The activity of the total phosphatases was the highest at Day 3 of pregnancy of the intact animals irrespective of acidity of the medium. However, the ovariectomized rat showed its peak somewhat delayed. The time of the highest activity of the enzymes was matched with the time of high secretion of the ovarian hormones.
2. The activity of acid phosphatase in the endometrium was twice or four times as much high as that of neutral or alkaline phosphatase, respectively.
3. The activity of alkaline phosphatase was rather steady in Day 3 through Day 5 of the pregnancy of the rat intact or ovariectomized but with low level compared to those of other phosphatases.
4. The present result indicated more important role by  $Mg^{2+}$ -dependent phosphatase than by  $K^{+}$ -dependent one for the preparation for decidualization.

## 서 론

포유류 자궁의 조직은 성주기 동안 형태적, 기능적으로 변화를 하고 있다는 것은 잘 알려진 사실이다(Nillson, 1959; Aldeen, 1970; Finn and Martin, 1973; Kim et al, 1980).

Aleen(1922)과 Bronson(1966) 등은 조직학적 연구를 통해서 성주기 동안 생쥐 자궁은 주기적으로 동화 및 이화작용을 반복하고 있다고 하였으며, Smith(1970)에 의하면 acid phosphatase는 proestrus인 anabolic stage에 합성되고 Metestrus인 catabolic stage에 세포내 Lysosome내에 축적된다고 하였다. 그러나 이 효소의 생리적 역할에 관해서는 명확하게 규명된 것은 없으나, Manning(1969)과 Hall(1969) 등은 자궁내막조직의 착상을 위한 준비(decidua cell reaction)에 관여할 것이라고 발표한바 있다.

한편 Yochim(1963)을 비롯해서 Cook와 Hunter(1978) 등 많은 연구자들은 사람을 포함한 포유류에서 성주기, 배아 발생, 그리고 배아를 착상시키고 임신을 유지시킬 수 있는 자궁 내막조직의 준비 등은 뇌하수체에서 생성되는 생식선자극호르몬과 난소에서 생성되는 스테로이드 호르몬의 조화있는 분비와 작용에 의하여 조절된다고 보고하고 있다.

Conti(1981) 등은 estrogen과 progesterone이 자궁의 luminal cell과 glandular cell에 각각 달리 영향을 미치며 이 두 호르몬을 동시에 처리했을 때 길항적인 영향이 나타나는 것을 관찰한 후, 자궁 표피세포의 조절 기작은 매우 복잡하다고 시사 하였다.

이러한 시점에서 어떤 특성들이 호르몬과 관련되어 자궁으로 하여금 착상준비를 하게 하며, 또 이러한 과정중에 어떤 현상들이 일어나는가 하는 의문이 생기게 됨으로 이를 밝히려고 조직학적, 생리학적 측면에서 많은 연구가 이루어지고 있다. 즉 자궁내벽의 표피세포와 기질세포의 유사분열에 관한 연구(Hall, 1969; Krueger, et al, 1978; Kirkland et al, 1979)와 세포내 미세구조의 변

화에 관한 연구(Nillson, 1959;Lawn, 1973)와 자궁내 분비액의 생화학적 분석에 관한 연구(Ringer, 1961;Guth et al, 1974;Fishel, 1979) 등을 들수 있다. 본인(Kim, 1980; Kim et al,1980) 등도 이미 쥐의 성주기에 따른 자궁내벽의 분비 및 흡수와 자궁 내막조직의 phosphatase 활성과의 관계, 그리고 난소 제거후 난소 호르몬 처리에 따른 자궁 내막조직의 phosphatase활성을 조사한 바가 있다.

한편 Aitken(1977)은 생쥐 자궁의 decidual tissue에서 alkaline phosphatase의 활성이 증가하며, 그와 동시에 단백질 합성이 현저히 증가하는 것을 관찰하고, alkaline phosphatase는 자궁 내막조직의 착상준비와 밀접한 관련이 있는 marker enzyme이라고 보고하고 있다.

이러한 사실은 임신을 유지 시키는데 필요한 단백질 합성과 alkaline phosphatase활성의 증가와는 깊은 관련이 있다는 것을 암시한다.

이상의 결과들을 바탕으로 하여 자궁 내막조직의 분화가 왕성하게 일어나는 초기 임신 기간동안 phosphatase활성에 주는 난소 호르몬의 영향을 관찰함으로써 배아 착상과 난소 호르몬과의 관계를 밝힐 수 있을 것으로 생각되어 초기 임신 기간 동안의 자궁 내막조직의 활성도를 측정해보았다.

## 실험재료 및 방법

### 1) 실험동물

본 실험에는 서울대학교 동물사육실에서 일정한 조건하에 사육된 생후 2개월(체중 $200 \pm 20g$ )된 성숙한 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 사용하였다.

### 2) 실험군

① 정상임신군 : 성숙한 암컷을 수정능력이 있는 수컷과 동서 시킨 다음날 아침 질부에서 정자가 관찰되는 것을 임신제1일(Day 1)로 하였다.

② 난소제거군 : 임신제2일(Day 2)에 Sodium thiopental(Abott)을 복강 주사(10mg/0.4ml) 하여 마취시킨후 배복측 부분절개 수술로 양쪽 난

소를 제거하였다.

### 3) 실험방법

① 조직현탁액 : 본 실험은 각 실험군을 임신제 1일군 부터 제6일군으로 나누고 각 군마다 5마리의 동물을 3회 반복하여 행하였다. 조직현탁액의 제작은 다음과 같은 방법에 의하였다. 같은 실험군의 5마리의 쥐를 경추 파열로 도살한 후 양쪽 자궁을 적출하여 iccold saline으로 씻고 자궁을 절개한뒤 한 개체당 2ml의 0.01M Tris-Maleate buffer(containing 0.02M MgCl<sub>2</sub>, pH 7)내에서 자궁내막조직(endometrium)만을 훑어 모은후 glass blender(Pyrex)로 homogenate 를 만들고 이를 600×g에서 10분간(4°C) 원심분리시킨뒤 상등액만을 반응시킬 Tris-Maleate buffer와 1 : 5로 희석 시켰다.

② phosphatase의 활성 : phosphatase의 활성 측정은 Ernst(1972 a, b)의 방법을 따랐다. 즉 substrate p-nitrophenyl phosphate(P-NPP)에서 유리되는 p-nitrophenol(P-NP)을 측정하였다. 자궁 조직의 효소들은 다음과 같은(Table 1) pH가 5, 7, 9인 각종 반응액 1ml에 조직현탁액 1ml 씩 넣고 37°C에서 20분간 반응시켰다. 반응정지는 0.5ml의 TCA(37.5%) 용액으로 시키고, 2.5ml의 Tris(1M)용액으로 재 발색시킨 다음Spectrophotometer(Baush and Lomb Co, Model No. 20)로 파장 405nm에서 측정하였으며 이때stand-

ard로는 p-nitrophenol(Sigma)을 사용하였다. 한편 단백질 정량은 Lowry(1951) 방법을 택하였으며 이때 standard로는 bovine serum albumin (BSA, Sigma)을 사용하였다.

Table 1의 basic reaction medium에서 측정된 P-NP는 자궁 내막조직의 전 효소(total phosphatase)를 나타내며, K<sup>+</sup>-free medium에서 측정된 활성은 basic medium에서 측정된 전 효소와의 차로써 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase의 활성을 나타내도록 고안 했으며, Mg<sup>2+</sup>-free medium에서 측정된 것은 마찬가지로 전 효소와의 차로써 Mg<sup>2+</sup>-dependent phosphatase의 활성도를 나타내었다. 각 phosphatase의 활성도는 μM (P-NP/μg protein of uterine tissue/min) 으로 나타내었다.

## 결과와 논의

### 1. Total phosphatase의 활성

1) pH 5인 반응액에서의 활성(Table 2, Fig. 1, 4) 산성인 반응액에서 Total phosphatase의 활성도는 정상 임신군에서는 임신 제3일에 최고치 7.23 μM을 나타내다가 차츰 감소하여 임신제 6일에는 4.89 μM로 최저치를 나타내고 있으며, 난소 제거군에서는 임신제 4일(난소 제거후 2일)에 6.38 μM로 최고치를, 임신제 6일(난소 제거후 4일)에는 3.69 μM로 최저치를 나타내고 있다. 이로 보아

Table 1. The component and composition of the reaction for the tissue enzymes.

Component	Conc.(mM)	Reaction media		
		Basic	K <sup>+</sup> -free	Mg <sup>++</sup> -free
Tris-Maleate	100	+	+	+
P-NPP	5.0	+	+	+
MgCl <sub>2</sub>	10	+	+	-
KCl	10	+	-	+

“+” and “-” mean inclusion in and exclusion for the components of the reaction medium, respectively. The reaction media were buffered at 5.0, 7.0, 9.0 of pH.

**Table 2.** The activity of total phosphatase in the endometrium of the rat uterus during early pregnancy

Day of pregnancy	pH of reaction media		
	pH 5	pH 7	pH 9
Day 1	5.16 ± 0.91	3.08 ± 0.83	***1.37 ± 0.22
Day 2	3.79 ± 0.02	1.99 ± 0.30	***0.71 ± 0.18
Day 3	7.23 ± 1.24	3.18 ± 0.68**	1.48 ± 0.33
OVX 3	4.71 ± 0.61	1.55 ± 0.23**	1.29 ± 0.21
Day 4	6.32 ± 0.52	1.93 ± 0.25	1.58 ± 0.17
OVX 4	6.38 ± 0.67	1.75 ± 0.06	1.69 ± 0.31
Day 5	5.95 ± 0.39	1.61 ± 0.22	1.54 ± 0.24
OVX 5	6.17 ± 0.85*	2.92 ± 0.62	1.92 ± 0.62
Day 6	4.89 ± 0.96	2.19 ± 0.27	1.30 ± 0.44
OVX 6	3.69 ± 0.11*	1.93 ± 0.30	0.67 ± 0.30

(a) Mean ± SE ( $\mu\text{M}$  P-nitrophenol/ $\mu\text{g}$  protein of uterine tissue/min)

OVX: ovariectomized group

Significance test: \* OVX 5 VS OVX 6: P < 0.05

\*\* Day 3 VS OVX 3: P < 0.025

\*\*\* Day 1 VS Day 2: P < 0.025

난소 제거군은 정상 임신군에 비해 그 활성도가 저하되면서 지연되는 현상을 볼 수 있다.

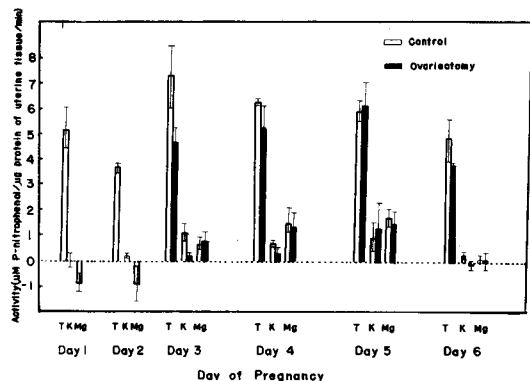
2) pH7인 반응액에서의 활성(Table2, Fig. 2, 4)

중성 반응액에서 total phosphatase의 활성도는 정상 임신군에서는 역시 임신제3일에 최고치(3.18 $\mu\text{M}$ )를 나타내나 난소 제거군에서는 임신제5일(난소 제거후 3일)에 최고치(2.92 $\mu\text{M}$ )를 나타내며 지연된다. 이는 전체적으로 보아 pH5에 비하면 반감되지만 활성도의 지연하는 경향은 동일하다.

3) pH9인 반응액에서의 활성(Table2, Fig. 3, 4)

알칼리 반응액에서 total phosphatase활성은 정상 임신군에서는 임신제4일에 최고치(1.58 $\mu\text{M}$ )를, 임신제6일에는 최저치(1.30 $\mu\text{M}$ )를 보여주듯이 임신기간에 따라 낮은 활성도가 거의 균일하였다. 난소 제거군에서도 역시 제5일에 최고치

(1.92 $\mu\text{M}$ )를 나타내는 지연 현상을 보여 주기는 하나 다른 산도군에서 나타난 결과와는 달리 정상 실험군과 거의 동일한 활성도를 유지하였다.



**Fig. 1.** The histogram of phosphatase activity in the endometrium of the rat uterus during early pregnancy in acid medium

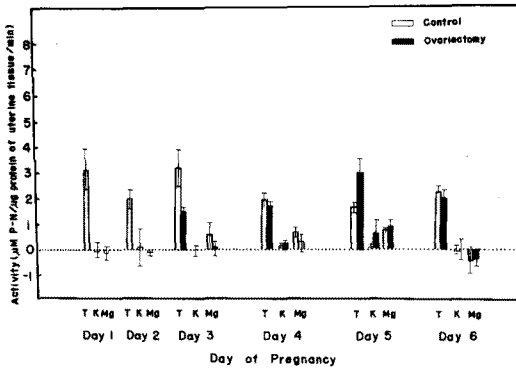


Fig. 2. The activity of phosphatase in the endometrium of the rat uterus during early pregnancy in neutral medium

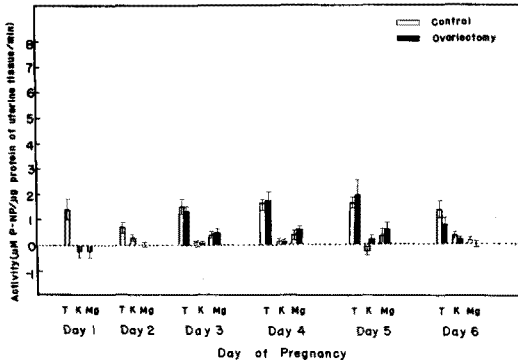


Fig. 3. The activity of phosphatase in the endometrium in the rat uterus during early pregnancy in alkaline medium

이상과 같이 전 효소의 활성이 난소 제거군에서 저하되면서 지연 현상을 나타내는 것은 난소 호르몬 분비의 부족때문이지만 그의 현저한 저하나 지연 현상이 일어나지 않는 것은 배아가 수란관에 남아 있고 점차 자궁으로 하강 하면서 자궁의 decidualization을 자극하거나 체내 잔여 호르몬의 작용이 잔존하기 때문이라고 보아진다. 그러나 난소 제거군의 임신제6일에서는 난소 호르몬의 절대적인 부족으로 말미암아 활성이 현저하게 저하하며 이 때문에 배아도 퇴화되고 자궁 내막조직도 퇴화된다. 이러한 현상은 Murdoch

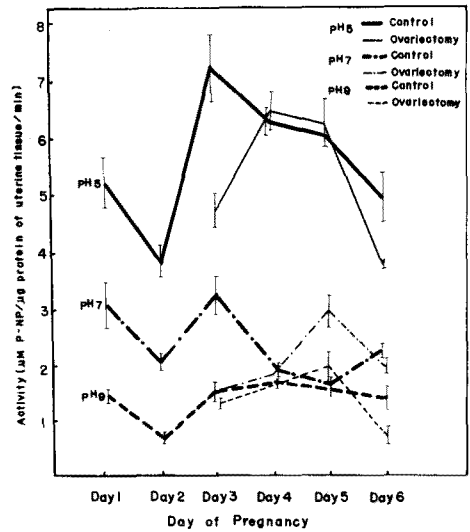


Fig. 4. Changes of total phosphatase activity in the endometrium of the rat uterus during early pregnancy

(1978)가 한편 자궁만을 인위적으로 decidua 를 유도시켰을때, 유도되지 않은 다른 한편 자궁에서는 alkaline phosphatase의 활성이 낮은 것을 관찰하고 alkaline phosphatase의 활성은 모체 내에 흐르는 호르몬에만 의존하는 것이 아니라고 발표한 결과와 일치한다. 또한 Smith(1973)는 순환하고 있는 호르몬의 양이 적을때 자궁내 alkaline phosphatase의 활성과 자궁의 무게가 증가되지 않는다고 보고한 결과와도 일치한다.

또 한편 산도가 다른 각 pH 반응액에 나타난 전 효소의 활성도를 비교 관찰해 보았다(Fig. 4). Figure에 표시된 바와 같이 초기 임신 기간 동안 (제1일~6일) 산성phosphatase가 가장 높은 활성을 보였고 그 다음은 중성 phosphatase의 활성도가, 그리고 알카리 phosphatase의 활성도는 가장 낮았다. 각 효소의 활성도의 비율, 즉 산성 phosphatase, 중성 phosphatase, 그리고 알카리 phosphatase의 비는 4 : 2 : 1이 되었다. 이처럼 자궁 내막조직에는 항시 산성, 중성, 알카리 phosphatase가 동시에 존재하지만 산성 phosphatase가 가장 높은 비율을 차지하고 있고 또한 알카리 phosphatase의 활성이 다른 phosphatase와는 달

리 착상 전단계에서도 저하되지 않는 것은 자궁 내막조직의 분화에 이 phosphatase의 역할이 크다는 것을 시사 한다고 볼 수 있다. 이 현상은 생쥐 자궁의 decidua 유도에 알카리phosphatase가 주 역할을 차지한다고 보고한 Finn(1967) 등의 결과와 일치한다.

또한 임신제3일에 phosphatase의 활성도가 높은 것은 이 시기가 마치 proestrus(Short, 1972) 때 처럼 난소 호르몬(progesterone, estrogen)의 분비(Ninrod et al, 1972;McCormack et al, 19

74)가 높기 때문이라고 생각된다. Tachi(1976) 등이 보고한 바와 같이 난소가 제거된 실험군에, progesterone과 estradiol을 처리하면 자궁 내막 상피세포에서 DNA 합성이 증가하고 세포분열이 활발해지며, 크고 뚜렷한 인이 형성되고 H<sup>3</sup>-uridine incorporation이 증가 하는데 이러한 현상은 임신제3일에도 나타남으로 이는proestrus의 특성과 일치한다. proestrus때 acid phosphatase의 활성도가 커지는데 이는 cellular metabolism이 증가하기 때문이라는 Lobel(1965)의

**Table 3.** The activity of K<sup>+</sup>-dependent phosphatase in the endometrium of the rat uterus during early pregnancy

Day of pregnancy	pH of reaction media		
	pH 5	pH 7	pH 9
Day 1	-0.10 ± 0.40 (0.02)	-0.01 ± 0.29 (0.16)	-0.28 ± 0.21 (20.15)
Day 2	0.20 ± 0.12 (5.23)	0.06 ± 0.89 (3.12)	0.26 ± 0.14 (35.85)
Day 3	1.05 ± 0.43* (14.53)	-0.11 ± 0.19 (3.36)	0.07 ± 0.06 (4.98)
OVX 3	0.20 ± 0.13 (4.27)	0.03 ± 0.06 (1.74)	0.02 ± 0.07 (1.24)
Day 4	0.68 ± 0.17 (10.75)	0.16 ± 0.10 (8.28)	0.10 ± 0.08 (5.44)
OVX 4	0.30 ± 0.19 (4.74)	0.26 ± 0.11 (14.55)	0.07 ± 0.03 (4.38)
Day 5	0.91 ± 0.57 (15.23)	0.04 ± 0.03 (1.48)	0.26 ± 0.16 (16.51)
OVX 5	1.27 ± 1.02 (20.55)	0.56 ± 0.48 (19.27)	0.22 ± 0.15 (12.68)
Day 6	0.28 ± 0.09* (5.79)	-0.05 ± 0.11 (2.30)	0.36 ± 0.05 (27.22)
OVX 6	-0.04 ± 0.07 (1.08)	-0.01 ± 0.40 (0.67)	0.12 ± 0.03 (18.28)

(a) Mean ± SE (μM P-nitrophenol/μg protein of uterine tissue/min)

(b) The percentage (%) against the total phosphatase significance test: \*Day 3 VS Day 6

결과와, Pepe와 Yochim(1971)이 밝힌바와 같이 이 두 proestrus와 임신제3일의 상황은 모두 RNA 합성이 증가하고, energy metabolism이 왕성하며, glycolysis가 활발해 진다는 보고와 일치한다. 저자(미발표)도 흰쥐의 proestrus때와 임신제3일째의 자궁내 상피조직의 phosphatase의 활성도를 비교 관찰한바 서로 일치하여 높게 나타나는 것을 보았다.

## 2. K<sup>+</sup>-dependent phosphatase의 활성

### 1) pH5인 반응액에서의 활성(Table 3, Fig. 1, 5)

정상 임신제1일에는 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase의 활성이 independent이며, 그 활성도가 극히 낮아서 전 효소(total phosphatase)활성에 비해 0.02%가 되므로 이는 무시해도 좋을 정도이다. 그리고 임신제2일에서 6일까지는 0.20 $\mu$ M(5.23%)에서 0.9 $\mu$ M(15.23%)을 나타내고 있으며 전 효소 활성도가 높을때 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase활성도 다소 높게 나타난다. 난소 제거군에서는 임신제3일에 0.20 $\mu$ M(4.27%)의 활성도를 보이다가 임신제5일에 1.27 $\mu$ M(20%)을 나타내며 제6일에는 independent를 나타내나 그 활성도도 무시할만큼 극히 낮다(1.0%). 이와 같이 pH5인 산성 반응액에서 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase의 활성도는 전 효소 활성의 5~20%를 나타내고 있으며, 배아가 자궁내로 진입하려는 임신제5일에 다소 높아지고 있다.

### 2) pH7인 반응액에서의 활성(Table 3, Fig. 2, 5)

중성인 반응액에서 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase는 정상 임신군에서 임신제4일에 0.16 $\mu$ M(8.28%)의 활성을 보여 주었고 나머지 임신군에서는 그 시기에 관계없이 무시할 정도로 극히 낮은 활성도를 보였다. 난소 제거군에서 임신제4일(난소 제거 후 2일)에 0.26 $\mu$ M(14.55%), 임신제5일(난소 제거 후 3일)에 0.56 $\mu$ M(19.27%)의 활성도를 보여주고 있어서 산성 반응액에서 처럼 임신제 4, 5일에 역시 낮은 그 활성도를 표시하고 있다.

### 3) pH9인 반응액에서의 활성(Table 3, Fig. 3, 5)

alkaline 반응액에서의 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase의 활성은 정상 임신군이나 난소 제거군에서 pH5와 pH7의 반응액에서의 활성도와 같은 현상이었으나 단지 정상 임신군에서 임신제2일에 0.26 $\mu$ M(35.85%), 임신제6일에 0.36 $\mu$ M(27.22%)로 전효소 활성에 비해 높은 율을 보여주고 있는데 이는 이 시기의 전 효소 활성이 다른 시기에 비해 현저하게 낮기 때문에 상대적으로 높게 나타나는 것이라고 보여진다.

Saldarini(1967)는 임신제4, 5일은 착상전 시기로 자궁 내막조직에 permeability가 높아지고, 따라서 자궁 내강에 수분함량이 커지는 때라고 보고 하였다. 그의 결과와 관련하여 본 실험에서 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase의 활성도가 다소 높게 나타나는데 그 시기에 permeability가 높아지는 것과 관련이 있음을 암시한다. 또한 alkaline 반응액에서는 임신제2일과 6일에 전 효소의 활성도에 비하여 K<sup>+</sup>-dependent phosphatase의 활성도가 높는데 이는 Yochim(1975)이 밝힌바와 같이 glucose사용량이 높은 시기임으로 K<sup>+</sup>-dependent alkaline phosphatase는 energy metabolism과 관련이 있는 것으로 간주된다.

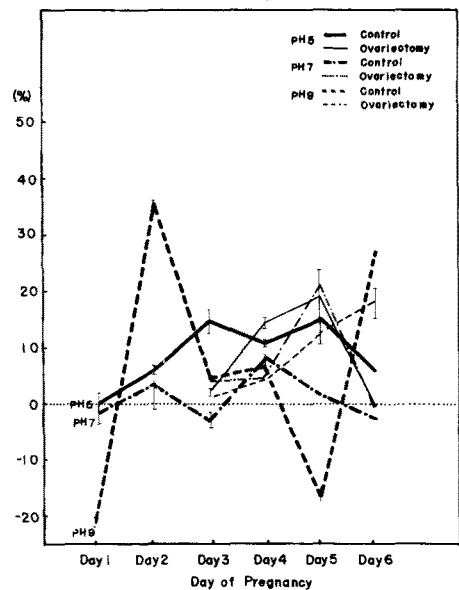


Fig. 5. The proportion of K<sup>+</sup>-dependent phosphatase activity against total enzyme activity

### 3. Mg<sup>2+</sup>-dependent phosphatase의 활성

1) pH5인 반응액에서의 활성(Table 4, Fig. 1, 6)

정상 임신군에서는 임신제1, 2일에 independent(16~25%)를 나타내다가 임신제3일에 0.67 μM(9.22%)에서 차츰 증가하여 임신제 5 일에는 1.75μM(33.13%)로 증가하고 난소 제거군에서

는 임신제3일(난소 제거후 1일)에 0.82μM(17.39%)를 나타내고 역시 차츰 증가하여 제 5 일에는 1.46μM(23.73%)를 보여주고 있다.

2) pH7인 반응액에서의 활성(Table 4, Fig. 2, 6)

중성 반응액에서 Mg<sup>2+</sup>-dependent phosphatase의 활성도는 산성 반응액에서와 마찬가지로

**Table 4.** The activity of Mg<sup>2+</sup>-dependent phosphatase in the endometrium of the rat uterus during early pregnancy

Day of pregnancy	pH of reaction media		
	pH 5	pH 7	pH 9
Day 1 (a)	-0.87 ± 0.32	-0.07 ± 0.33	-0.26 ± 0.23
(b)	(16.77)	(2.40)	(18.83)
Day 2	-0.98 ± 0.79	0.14 ± 0.08	0.02 ± 0.03
	(25.77)	(6.84)	(2.24)
Day 3	0.67 ± 0.99	0.48 ± 0.46	0.40 ± 0.16
	(9.22)	(15.15)	(26.73)
OVX 3	0.82 ± 0.44	0.13 ± 0.26	0.22 ± 0.11***
	(17.39)	(8.70)	(17.20)
Day 4	1.54 ± 0.59	0.60 ± 0.17	0.26 ± 0.24
	(24.33)	(30.34)	(16.24)
OVX 4	1.35 ± 0.62	0.31 ± 0.26	0.48 ± 0.19
	(21.10)	(17.75)	(28.35)
Day 5	1.75 ± 0.34*	0.75 ± 0.04**	0.30 ± 0.34
	(33.13)	(46.74)	(19.68)
OVX 5	1.46 ± 0.52	0.82 ± 0.33	0.66 ± 0.27
	(23.73)	(28.19)	(34.58)
Day 6	0.11 ± 0.13*	-0.59 ± 0.66**	0.09 ± 0.10
	(2.29)	(26.67)	(6.75)
OVX 6	0.02 ± 0.35	-0.43 ± 0.10	-0.03 ± 0.05**
	(0.27)	(22.38)	(3.71)

(a) Mean ± SE (μM P-nitrophenol/μg protein of uterine tissue/min)

(b) The percentage (%) against the total phosphatase significance

test: \* Day 5 VS Day 6 : P < 0.01

\*\* Day 5 VS Day 6 : P < 0.05

\*\*\* Day 3 VS Day 6 : P < 0.05



임신제1, 2일에 independent을 나타내나 임신제 3일에는  $0.48\mu\text{M}$ (15, 15%)를, 임신제 4 일에는  $0.60\mu\text{M}$ (30, 34%)를, 임신제5일에는  $0.75\mu\text{M}$ (46, 74%)를 보여주고 있다. 한편 난소 제거군에서는 다소 그 활성이 저하되기는 하나 제 4 일(난소 제거후 2일)에는  $0.31\mu\text{M}$ (17.75%)를, 제 5일에는  $0.82\mu\text{M}$ (28, 19%)를 나타낸다.

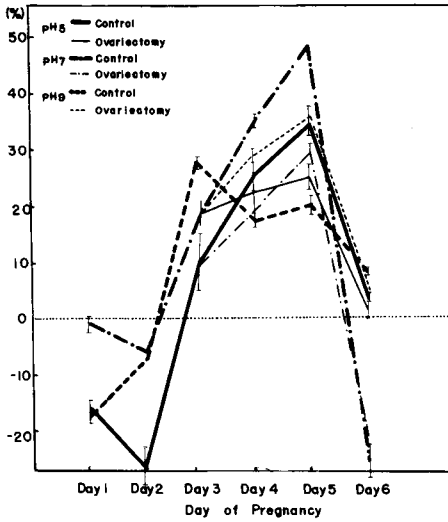


Fig. 6. The proportion of Mg-dependent phosphatase activity against total enzyme activity

3) pH9인 반응액에서의 활성(Table 4, Fig. 3, 6)

정상 임신군에서 alkaline phosphatase는  $\text{Mg}^{2+}$  independent을 나타내며 제2일에는  $0.02\mu\text{M}$ (2.24%)를, 제3일에는  $0.40\mu\text{M}$ (26.73%)로 가장 높은 활성도를, 제4일, 5일에는  $0.26\mu\text{M}$ (16.24%),  $0.30\mu\text{M}$ (19.68%)를 나타내고 있다. 난소 제거군에서는 임신 제3일에서 5일에 이르기 까지 차츰 증가 현상(17.20%~34.58%)을 보이고 있다. pH 5, 7, 9의 각 산도의 모든 실험군에서 임신제 6일에는 independent이거나 아니면 무시해도 좋을 수치이었다.

이상과 같이 pH 5, 7에서의  $\text{Mg}^{2+}$ -dependent

phosphatase의 활성도는 배아가 자궁으로 진입 하려는 임신 제4, 5일에 그 활성도가 높은 것은 앞에서 설명했듯이 이 효소들도 permeability와 밀접한 관련이 있는 것으로 판단된다. 그리고 특히  $\text{K}^+$ -dependent보다  $\text{Mg}^{2+}$ -dependent phosphatase의 활성이 높은 것은 자궁 내막조직의 permeability를 촉진시켜서 임신을 유지하는데 필요한 영양분을 분비하는데는 이 효소의 역할이 큰 것이기 때문이라고 간주된다. 그리고 alkaline 반응액에서  $\text{Mg}^{2+}$ -dependent phosphatase가 임신제3일 부터 현저하게 높아지는 것을 볼 수 있는데 이 시기는 anabolic rate가 크고 decidualization이 활발하게 일어나는 시기(Yochim, 1975)인 것으로 미루어 보아 자궁 내막조직의 decidualization에는  $\text{K}^+$ -dependent alkaline phosphatase보다  $\text{Mg}^{2+}$ -dependent alkaline phosphatase가 주 역할을 차지한다고 볼 수 있다. 이러한 현상은 oocyte나 embryo development에서 관찰한바 대로  $\text{Mg}^{2+}$ -dependent membrane-bound enzyme이  $\text{K}^+$ - $\text{Na}^+$ -dependent enzyme보다 더 높은 활성을 나타낸다는 보고와, plasma membrane의 marker enzyme이  $\text{Mg}^{2+}$ -dependent ATPase라고 하는 보고(Blerkom, 1973)등과 일치된다.

## 결 론

본 실험 결과에서 다음과 같은 사실들을 알 수 있었다.

1. 전 효소(Total phosphatase)의 활성은 난소 호르몬 분비율이 높은 anabolic stage때 높게 나타나고 있었다.
2. 임신제3일의 phosphatase의 활성도는 성주기중 발정전기와 같은 양상이었다.
3. 초기 임신기간중 자궁 내막조직의 acid phosphatase의 활성도는 neutral, alkaline phosphatase의 2, 4배정도 높게 나타나고 있었다.
4. alkaline phosphatase의 활성도는 임신제3일에서 5일까지 낮기는 하나 큰 변동 없이 지속되고 있었다( $1.5\sim 1.9\mu\text{M}/\mu\text{g protein/min}$ .)

5. 자궁 내막조직의 decidualization에는  $K^{+}$ -dependent보다는  $Mg^{2+}$ -dependent phosphatase가 주 역할을 차지하고 있는 것을 알았다.

6. 자궁조직의 착상 준비는 난소 호르몬은 물론 배아에 의해서 진행된다는 것을 재 확인 할수 있었다.

## REFERENCES

- Aitken, R.J., 1977. *Changes in protein content of mouse uterine flushings 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.
- Allen, E. 1922. *The oestrous cycle in the mouse.* *Am. J. Anat.* 30, 297.
- Blerkom, J.V., 1973. *Molecular approaches to the study of oocyte maturation and embryonic development.* In: *Molecular Techniques and Approaches in Developmental Biology.* Edited by Maarten J. Chrispeels. A Wiley-Interscience.
- Bronson, F.H., Dagg, C.P. & Snell, G.D., 1966. *Reproduction.* In: *Biology of the laboratory mouse, chap. II.* Ed. E. L. Green. McGraw-Hill, New York.
- Conti, C.J., I.B. Gimenez-conti, G.O. Zerbe and L.E. Gerschenson, 1981. *Differential effects of estradiol-17 and progesterone on the proliferation of glandular and luminal cells of rabbit uterine epithelium.* *Biology of Reproduction* 24, 643-648.
- Cook, B. and Hunter, R.H.F., 1978. *Systemic and local hormonal requirements for implantation in domestic animols.* *J. Reprod. Fert.*, 54:471-482.
- Ernst, S.A., 1972 a. *Transport adenosine triphosphatase cytochemistry. I. Biochemical characterization of a cytochemical medium for ultrastructural localization of ouabain-sensitive, potassium phosphatase activity in avian salt gland.* *J. Histochem. Cytochem.*, 20:13-22.
- Ernst, S.A., 1972 b. *Transport adenosine triphosphatase cytochemistry. II. cytochemical localization of ouabain-sensitive, potassium-dependent phosphatase activity of the avian salt gland.* *J. Histochem. cytochem.*, 20: 23-38.
- Finn, C.A. and A. McLartin, 1967. *A study of the early stages of implantation in mice.* *J. Reprod. Fert.*, 13:259-267.
- Finn, C.A. and L. Martin, 1973. *Endocrine control of gland proliferation in the mouse uterus.* *Biology Reprod.*, 8:585-588.
- Fishel, S.B., 1979. *Analysis of mouse uterine proteins at proestrus, during early pregnancy and after administration of exogenous steroids.* *J. Reprod. Fert.*, 55:91-100.
- Guth, L. and R.W. Albers, 1974. *Histochemical demonstration of (Na-K)-activated adenosine triphosphatase.* *J. Histochem. cytochem.*, 22: 320-326.
- Hall, K., 1969. *Uterine mitosis, alkaline phosphatase and adenosine triphosphatase during development and regression of deciduomata in pseudopregnant mice.* *J. Endocrinol.*, 44:91-100.
- Kirkland, J.L., Laurie LaPointe, Ericjustin and George M. Stancel, 1979. *Effects of estrogen on mitosis in individual cell types of the immature rat uterus.* *Biology of Reproduction* 21, 269-271.
- Kim, M.K., Kim, S.R. and Cho, W.K., 1980. *Changes in phosphatase activity of the mouse uterus during the estrous cycle.* *Korean J. Zool.*, Vol. 23, No. 2:61-68.
- Kim, S. R., 1980. *The effect of ovarian hormone on the phosphatase activity in the ovariectomized rat uterus.* *The Ewha Medical Journal* Vol. 3, No. 3:119-125.
- Krueger, W.A., Walter J. Bo and Marion R.

- Chung., 1978. *The effects of repeated estrogen administration on cell division in the uterine luminal epithelium of the Immature rat. Biology of reproduction* 9, 385-388.
- Lawn, A.M., 1973. *The ultrastructure of the endometrium during the sexual cycle. In Adv. Reprod. Physiol.*, 6. Ed., M.W.H. Bishop. Elek, London. pp. 61-97.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrouch, L.A. Farr and R.J. Randall, 1951. *Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biology Chem.*, 193:265-275.
- Manning, J.P., Steinetz, B.G. and Giannina, T., 1969. *Decidual alkaline phosphatase activity in the pregnant and pseudopregnant rat Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 166:482-509.
- Murdoch, R.N., 1970. *Uterine endometrial phosphomonestrases in relation to implantation in the ewe and rabbit doe. Aust. J. Biol. Sci.*, 23:1089-97.
- Murdoch, R.N., 1978. *Activity and subcellular distribution of mouse uterine alkaline phosphatase during pregnancy and pseudopregnancy. J. Reprod. Fert* 54:293-300.
- Nilsson, O., 1959. *Ultrastructure of mouse uterine surface epithelium under different estrogenic influences. 4. Uterine secretion. J. Ultrastr. Res.*, 2:331-341.
- Nimrod, A., Ladany, S. and Lindner, H.R., 1972. *Perimulatory ovarian oestrogen secretion in the pregnant rat. J. End.* 53:249-260.
- Saldarini, R.J. and Yochim, J.M. 1968. *Glucose utilization by endometrium of the uterus of the rat during early pseudopregnancy and its regulation by estrogen and progestogen. Endocrinology* 82, 511-526.
- Short, R.V., 1972. *Role of hormones in sex cycles In: Hormones in Reproduction pp42-72. Cambridge Univ. press.*
- Smith, M.S.R., 1970. *Histochemical observations on the mouse uterus during the oestrous cycle. J. Reprod. Fert.*, 22:461-467.
- Smith, M.S.R., 1973. *Changes in distribution of alkaline phosphatase during early implantation and development of the mouse. Aust. J. Biol. Sci.*, 26:209-217.
- Tachi, C. and S. Tachi, and H.R. Londner 1976. *A morphological approach to the study of ovum implantation in the rat. In: Implantation of the ovum Edited by Yoshinaga, K., R.K. Meyer, R.O. Greep. Harvard Univ. Press.*
- Yochim, J.M. and De Feo V.J., 1963. *Hormonal control of the onset, magnitude and duration of uterine sensitivity in the rat by steroid hormones of the ovary. Endocrinology*, 72: 317-326.
- Yochim, J.M. and Pepe, G.J. 1971. *Effect of ovarian steroids on nucleic acids, protein, and glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in endometrium of the rat; a metabolic role for progesterone in "progestational differentiation."* *Biology of Reproduction* 5, 172-182.
- Yochim, J.M., 1975. *Development of the progestational uterus: Metabolic aspects. Biology of Reproduction* 21:106-133.