

혈소판 활성화인자가 백서의 Progesterone 생성에 미치는 영향

한양대학교 의과대학 산부인과학교실

조수현 · 정성로 · 황윤영 · 문 형

Effect of Platelet Activating Factor on the Secretion of Progesterone in the Rabbit

Soo Hyun Cho, M.D., Sung Ro Chung, M.D.,
Yeoun Young Hwang, M.D. and Hyung Moon, M.D.

Department of Obstetric and Gynecology, School of Medicine, Hanyang University

= Abstract =

Platelet activating factor (PAF) has been reported to play a significant role in ovulation, establishment and maintenance of early pregnancy. The object of this study was to investigate the influence of PAF on progesterone secretion in rabbit by measurement of peripheral blood concentration of progesterone. PAF had no effect on progesterone secretion and did not induce decidual reaction in nonovulatory rabbit. But 8th day of hCG induced pseudopregnant rabbit, PAF significantly increase progesterone secretion. Progesterone level was significantly increased at 0.5 and 4 hours after treatment with 10^{-8} M PAF on days 2, 4, 6, 8 of gestation as compared than those treated with normal saline. When PAF was injected 2 days after coitus, progesterone levels on days 4, 6, 10, 14 of gestation was significantly increased than those with saline injected group. These results suggest that PAF increase progesterone secretion from the hCG-primed ovary and during pregnancy in rabbit.

서 론

혈소판 활성화인자(1-0-acetyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine : PAF)는 여러가지 자극에 의하여 호중구, 호염기구, 단핵세포, 비만세포 등에서 생산되며 (Clark et al., 1980; Lotner et al., 1980) 염증을 조절하는 가장 강력한 물질중의 하나이다. PAF는 생물학적 반응을 유발하여 평활근수축 (Tokumura et al., 1984), 혈관수축 (Buxton et al., 1986), 외분비선 자극 (Soling et al., 1984) 등의 기능이 있는 것으로 알려져 있다. 최근 PAF가 여성 생식기에도 작용하여 배란과 수정에 관여함이 보고 되었다 (Harper, 1989). 즉, 배란시 난포의 파열에 관여하고 (Abisogun et al., 1989) 난자의 수정을 촉진 (Rou-

debush et al., 1990), 정자의 운동성 증가 (Ricker et al., 1989) 프로락틴분비를 증가 (Camoratto et al., 1989) 시킨다고 하였다. 또한 초기 임신의 성립과 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 백서에 PAF를 투여하면 자궁내막의 탈락현상을 유발하고 (Acker et al., 1988) 배아의 착상에 PAF가 중요한 역할을 한다고 하였다 (Spinks & O'Neil, 1987; Angle, et al., 1988).

포유동물에서 초기 임신의 성립과 유지에는 프로게스테론이 가장 중요한 요소이다. 그러나 PAF와 프로게스테론과의 상관관계는 아직 확실하지 않다. 황체화된 과립막세포에 PAF를 투여하면 hCG를 투여하였을 때와 유사한 형태적 변화가 초래되고 프로게스테론의 분비가 증가되며 (Rabinovici & Angle, 1991) 대난포의 과립막세포에 작용하여 프로게스테론의 합성을 증가시킨다고 하였다 (이 & 강, 1989). 그러나

*본 논문은 1991년도 한양의대 산부인과학교실의 국동문 장학회의 연구비에 의하여 연구되었음.

상기 실험은 황체화된 과립막세포를 이용한 실험이었다. 이에 본 연구는 배란되기전과 임신 중에 PAF가 프로게스테론 합성에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

체중 2.5-3kg인 New Zealand White 자성 가토를 이용하였다. PAF는 L- α -Phosphatidylcholine, β -Acetyl- γ -O-Alkyl(Sigma, St. Louis, MO)를 이용하였으며 예비 실험으로 10^{-6} M 이상의 농도를 정맥내 투여하면 곧바로 가토가 사망하고 10^{-7} M 이하일 때 생존하여 모든 실험에서 10^{-8} M을 귀정맥을 통하여 투여하였다. 귀정맥에서 채취된 혈액은 곧바로 혈장만 원심분리하여 프로게스테론을 측정할 때까지 영하 20°C로 보관하였다. 프로게스테론은 ICN(orange county, CA)의 RIA kit를 이용하여 측정하였다.

1. 실험 I : 배란전에 투여된 PAF가 프로게스테론 생성 및 자궁내막에 미치는 영향

실험군(n=4)은 임신되지 않은 가토에 오전 10시 PAF를 그리고 대조군(n=3)은 생리식염수 20 μ L를 귀정맥을 통하여 투여하였다. 양군에서 투여전 (시간 0)과 투여 0.5, 2, 4, 8시간 후에 각각 귀정맥에서 혈액을 채취하였다. 8시간 후 귀정맥에서 혈액을 채취한 후 바로 카토를 희생시켜 자궁을 채취하여 homatoxylin-eosin 염색표본을 제작하였다.

2. 실험 II ; 가성 임신된 가토에 투여된 PAF가 프로게스테론 생성에 미치는 영향

실험군(n=3)은 임신되지 않은 가토에 오전 10시 PAF와 융모성 성선자극호르몬(hCG)100IU를 그리고 대조군(n=3)은 hCG 100IU를 각각 귀정맥을 통하여 투여하였다. 양군에서 투여전 (시간 0)과 투여 0.5, 2, 4, 8시간 후에 각각 귀정맥에서 혈액을 채취하였다. hCG투여 8일 후 실험군과 대조군에서 오전 10시 각각 귀정맥에서 혈액을 채취하였다.

3. 실험 III ; 임신중 PAF가 프로게스테론 생성에 미치는 영향

교미시킨 24시간 후 육안적 관찰상 외음부가 적색으로 변한 가토만 선택하였다. 실험군(n=4)은 교미 2, 3, 4, 6일에 PAF를 그리고

대조군은(n=3) 생리 식염수를 투여한 후 0, 0.5, 4시간 후에 각각 혈청을 채취하였다. 또다른 실험으로 실험군(n=4)은 교미 2일째 PAF를 1회만 투여하고 교미 4, 6, 10, 14일째 혈청을 채취하였고 대조군은 PAF대신 생리식염수를 투여한 후 PAF투여군과 동일하게 혈청을 채취하였다. 실험군 및 대조군은 모두 30-33일째에 2마리 이상을 분만함이 확인되었다. 본 연구에서의 통계처리는 Student t-검정으로 하였으며 유의수준은 0.05미만으로 하였다.

결 과

1. 실험 I ; 배란전에 투여된 PAF가 프로게스테론 생성 및 자궁내막에 미치는 영향

PAF와 생리식염수 투여한 결과 투여전과 투여 0.5, 2, 4, 8시간 후 혈청 프로게스테론치는 양군에서 서로 차이가 없었다(제 1표). 양군에서 자궁내막의 조직검사상 탈락막은 전혀 형성되지 않았다.

2. 실험 II ; 가성 임신된 가토에 투여된 PAF가 프로게스테론 생성에 미치는 영향

hCG만 투여한 군과 PAF를 투여한 군에서 투여전과 투여 8시간까지의 혈청 프로게스테론치는 서로 차이가 없었다. 그러나 hCG를 투여한 8일째는 PAF투여군에서 유의하게(p=0.01)

Table 1. Blood progesterone levels (ng/ml) in nonpregnant rabbits

Time after injection(hour)	Saline treated	PAF treated	P
0	0.38 \pm 0.12	0.43 \pm 0.07	NS
0.5	0.66 \pm 0.40	0.54 \pm 0.18	NS
2	0.67 \pm 0.07	0.51 \pm 0.24	NS
4	0.42 \pm 0.03	0.37 \pm 0.64	NS
8	0.45 \pm 0.12	0.64 \pm 0.05	NS

NS : Nonsignificant

Table 2. Blood progesterone levels (ng/ml) in pseudo-pregnant rabbits

Time after injection(hour)	hCG treated	hCG+PAF treated	P
0	0.65 \pm 0.40	0.44 \pm 0.10	NS
0.5	0.62 \pm 0.30	0.95 \pm 0.20	NS
2	1.48 \pm 0.26	1.18 \pm 0.20	NS
4	1.40 \pm 0.20	1.20 \pm 0.20	NS
8	1.40 \pm 0.24	0.88 \pm 0.20	NS
8 day	7.32 \pm 0.80	9.8 \pm 0.09	0.01

NS : Nonesignificant

Table 3. Blood progesterone levels (ng/ml) in pregnant rabbits

Day after coitus	Time after injection	Saline treated	PAF treated
2	0	1.93±0.35	3.9±0.38*
	0.5	2.40±0.30	6.4±1.80*
	4	2.60±0.50	6.4±1.80*
4	0	2.90±0.70	4.6±0.60**
	0.5	3.00±0.70	6.0±0.30*
	4	3.0±0.40	6.6±1.20*
6	0	3.3±0.70	5.8±0.60*
	0.5	3.1±0.25	8.1±0.60*
	4	3.1±0.60	6.8±1.40*
8	0	3.8±0.30	8.6±0.50*
	0.5	3.6±0.70	10.8±0.80*
	4	4.0±0.40	13.1±1.50*

* : P<0.01, ** : P<0.005

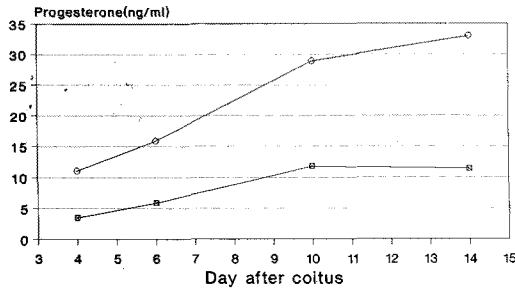


Fig. 1. Progesterone level in blood.

높았다(제 2표).

3. 실험 III ; 임신중 PAF가 프로게스테론 생성에 미치는 영향

임신 2, 4, 6, 8일째에 각각 PAF를 투여한 군에서는 생리식염수를 투여한 군에 비하여 투여 전과 투여 0.5, 4시간후의 프로게스테론치가 유의하게 높았다(제 3표). 또한 임신 2일에 PAF를 1회 투여하면 임신 4, 6, 10, 14일째의 혈청 프로게스테론치가 생리식염수를 투여한 군에 비하여 유의하게 높았다(그림 1).

고 찰

PAF가 생식 생리에 관여한다는 사실이 최근 많이 규명되고 있다. 백서에 PAF를 투여하면 자궁내막의 탈락막현상을 유발하고(Acker et al., 1989) 성선자극호르몬을 투여받은 미성숙 백서에서 배란기에 난소조직내의 PAF 농도가 감소됨이 보고(Espey et al., 1989)되었으

며 인간의 난포액내에 존재하여 난자의 배출에 관여할 것으로 사료되고 있다(Amiel et al., 1990). 또한 생체내(Sueoka et al., 199) 생체외(Sueoka et al., 1989) 실험에서 early pregnancy factor를 증가시키미 보고되어 혈소판 활성화 인자는 난소의 내분기 기능을 조절하고 배란전, 후의 과정에 관여하는 paracrine factor라고 추정되고 있다.

인간의 황체화된 과립막세포(Rabinovici & Angle, 1991)를 이용한 생체외 실험에서 PAF는 프로게스테론의 분비를 유발한다고 하였으나 본 연구의 결과 PAF는 배란전 비임신 가토의 프로게스테론 생산에 영향이 없었으며 이등(1989)도 중 또는 대난포와 달리 소난포에서 채취된 돼지 과립막세포는 PAF를 투여하여도 프로게스테론 생산에 영향이 없다고 하였다. 가토의 황체를 이용한 실험에서 배양액에 첨가된 bovine serum albumin이 프로게스테론의 생산을 촉진시키고(Dharmarajan et al., 1988), 돼지난포를 이용한 실험에서 bovine serum albumine은 프로게스테론의 생산을 증가시키고 fetal bovine serum은 감소시킨다는 보고(이 & 강, 1989)가 있기 때문에 생체외 실험의 경우 배양액에 포함된 여러가지 물질에 의한 영향도 배제할 수 없다. 본 연구의 결과 황체화 호르몬에 노출되지 않은 난소에 PAF를 투여하여도 프로게스테론의 생산에는 영향이 없다는 사실을 알았다. 따라서 hCG을 투여한 결과 투여 8시간이내에는 PAF가 영향을 미치지 못하였으나 8일째에는 프로게스테론의 생성을 증가시켰다. 가토에 hCG를 투여한 12시간후부터 말초혈액내 프로게스테론 농도가 증가하기 시작하나 30시간까지는 낮은 상태로 유지되고 8-11일 사이에 가장 높다고 하였다(Harrington and Rothermel, 1977). 본 연구에서도 대조군에서 hCG 투여후 8시간까지의 프로게스테론 농도는 1.4ng/ml 이하로 낮았으며 8일째에는 7.3ng/ml로 증가하였다. 따라서 임신 초기에 아직 프로게스테론의 생성이 많지 않을 때에는 PAF가 영향을 미치지 못하는 것으로 사료되며 가성 임신 8일째 PAF가 프로게스테론의 생성을 유의하게 증가시켰기 때문에 PAF가 난소에 작용하여 프로게스테론의 분비를 촉진시키기 위하여는 황체형성 호르몬에 노출되어야 한다고 사료된다.

배아가 자궁에 착상하기 위해서는 여러가지 화학물질이 관여하며 PAF도 이들중 하나로

간주되고 있다. O'Neil(1985)은 임신 제 1일에서 6일까지의 초기배에서 유리된 PAF가 생쥐의 혈소판을 감소시킨다고 보고하였고 토기에서 임신 5일째 자궁내의 PAF농도가 가장 증가하고 임신 7일째에 비임신태의 농도로 감소하여 배아의 착상에 자궁에서 생산된 PAF가 중요한 역할을 한다고 하였으며(Angle et al., 1988) 생쥐실험에서 배아에서 생성된 PAF가 착상에 중요한 역할을 한다고 하였다(Spinks & O'Neil, 1987). 착상에 필요한 조건은 탈락막 형성으로 백서에 PAF를 투여하면 탈락막현상이 유발된다고 하였다(Acker et al., 1988). 그러나 본 연구에서는 탈락막 현상을 관찰할 수 없었으며 이는 Milligan등(1990)의 보고와 일치하였으며 Spinks등(1990)도 PAF길항제를 투여하여도 탈락막 현상을 억제할 수 없기 때문에 PAF가 탈락막 현상의 초기 단계에 관여하지 않는 것으로 추정하였다. 이와같이 탈락막 현상의 유발여부가 보고자에 따라 다른 이유는 아직 확실하지 않다. 본 연구에서는 배란되지 않은 가토를 이용하였다는 차이점이 있으며 그외에도 동물에 따라 반응이 다르고 PAF의 투여 경로가 다르기 때문으로 사료된다. 즉, Acker등의 실험에 사용된 백서는 생리식염수와 같은 비특이성 자극에도 예민하게 반응하여 탈락막을 형성하는 반면 생쥐는 잘 반응하지 않는다고 하였다(Finn, 1965). 또한 본 연구에서는 PAF를 정맥으로 투여한 반면 타보고자들은 자궁에 직접 투여하여 투여경로에 따라 반응이 다를 것으로 예상된다.

PAF는 early pregnancy factor의 생산을 자극하여 면역억제제 역할을 하므로서 면역학적으로 매우 다른 태아가 성장할 수 있게 하며(Sueoka et al., 1988) 태아의 생존율을 증가시킨다고 하여(강등, 1991) 초기 임신의 유지에 관여할 것으로 사료된다. 초기임신의 유지에는 프로게스테론이 중요한 역할을 담당하고 있으나 PAF와 상관관계에 대한 보고는 아직 없다. 임신중 가토의 말초혈액내 프로게스테론농도는 교미 12시간후 급작스런 증가가 있다가 30시간 까지는 낮은 상태로 유지된후 임신 11일까지 증가하며(Harrington & Rothermel, 1977) 임신가토의 자궁내 PAF의 농도(Angle et al., 1988)도 이와 동일한 양상으로 변한다고 하였다. 또한 자궁내막에서 PAF의 합성이 프로게스테론에 의하여 증가된다고 보고(Alecozay et al., 1989)되었다. 본 연구의 결과 임신 전반기

에 투여된 PAF는 프로게스테론의 농도를 증가시켰으며 이는 투여한 수시간내 뿐만아니라 임신 초기에 한번만 투여하여도 임신 중반기의 프로게스테론을 증가시켰다. 임신 가토에서 프로게스테론은 태반에서 전혀 생산되지 않고 오직 난소에서만 생산되고 외부에서 투여된 프로게스테론에 영향을 받지 않으며(Thau & Lanman, 1974) 증가된 프로게스테론은 대사와의 변화에 기인된 것이고 아니고 생산이 증가되기 때문이라고 하였다(Thau & Lanman, 1975). 또한 증가된 프로게스테론은 임신황체에 존재하고있던 프로게스테론이 분비된 것이 아니고 생산이 증가된 때문이라고 하였다(Dharmarajan et al., 1988). 이로 미루어 볼때 PAF는 난소에 직접 작용하여 프로게스테론의 생산을 증가시킨다고 사료된다. 가토의 말초 혈액내 프로게스테론치는 임신 14일까지는 증가하나 이후부터 감소한다. 과연 PAF와 프로게스테론사이 에 되먹임 관계가 성립되는지 여부는 확실하지 않으나 본 연구에서 임신 전반기에 정상적으로 프로게스테론의 생산이 증가하는 시기에 PAF를 투여하였으며 프로게스테론이 감소하는 임신 후반기에도 PAF가 프로게스테론을 증가시키는지 앞으로 더 연구되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

PAF투여가 가토의 말초 혈액 프로게스테론 농도에 미치는 영향을 알아본 결과는 다음과 같다.

1. 배란전 가토에 투여된 PAF는 프로게스테론 생산에 영향을 미치지 못하였으며 자궁내막의 탈락막 현상을 유발하지 않았다.
2. 용모성 성선자극호르몬 투여로 가성 임신된 가토에서 PAF는 프로게스테론의 생산을 유의하게 증가시켰다.
3. 임신 2일째 PAF를 1회 투여하면 임신 4, 6, 10, 14일의 프로게스테론 농도를 유의하게 증가 시켰으며 임신 2, 4, 6, 8일에 각각 PAF를 투여하면 투여 4시간후 프로게스테론 농도를 유의하게 증가 시켰다.

이상의 결과로 PAF는 용모성 성선자극호르몬에 노출된 난소에 직접 작용하여 프로게스테론의 생산을 증가시킨다고 사료된다.

인 용 문 헌

- Abisogun AO, Braquet T, Tsafiriri A : involvement of platelet activation factor in ovulation. *Science* 1989, 243, 381-383.
- Acker G, Braquet P, Mencia-Huerta JM : Role of platelet-activation factor(PAF) in the initiation of dicidual reaction in the rat. *J Reprod fert* 1989, 85, 623-629.
- Alecozay AA, Casslen BG, Rieh1 RM, Deleon FD, Happer MJK, Silva M, Nouchi TA, Hanahan DJ : Platelet-Activating factor in human luteal phase endometrium. *Biol Reprod* 1989, 41, 578-586.
- Amiel ML, Tesrart J, Benveniste J : Platelet-activating factor-acether is a component of human follicular fluid, *Fertil Steril* 1991, 56, 62-65.
- Angle MJ, Jones MA, Pinckard RN, McManus LM, Harper MJK : Platelet-activating factor in the rabbit uterus during early pregnancy. *J Reprod Fert* 1988, 83, 711-722.
- Buxton DB, Fisher RA, Hanahan DJ, Olson MS : Platelet-activating factor-mediated vasoconstriction and glycogenolysis in the perfused rat liver. *J Biol Chem* 1986, 261, 644-649.
- Camoratto AM, Grandison L : Platelet-activating factor stimulates prolactin release from dispersed rat anterior pituitary cells in vitro. *Endocrinology* 1989, 124, 1502-1506.
- Clark PO, Hanahan DJ, Pinckard RN : Physical and chemical properties of platelet-activating factor obtained from human neutrophils and monocytes and rabbit neutrophils and basophils. *Biochim Biophys Acta* 1980, 628, 69-75.
- Dharmarajan AM, Yoshimura Y, Sueoka K, Atlas SJ, Dubin NH, Ewing LL, Zirkin BR, Wallach EE : Progesterone secretion by copera lutea of the isolated perfused rabbit ovary during pseudopregnancy. *Biol Reprod* 1988, 38, 1137-1143.
- Espey LL, Tanaka N, Woodard DS, Harper MJK, Okamura H : Decrease in ovarian platelet-activation factor during ovulation on the gonadotropin-primed immature rat. *Biol Reprod* 1989, 41, 104.
- Finn CA, Keen PM : The induction of deciduomata in the rat. *J Embryol Exp Morph* 1963, 111, 673-682.
- Finn CA : Oestrogen and the decidual cell reaction of implantation in mice. *J Endocrinol* 1965, 32, 223-229.
- Harper MJK : Platelet-actiating factor : A paracrine factor in preimplantation stages of reproduction. *Biol Reprod* 1989, 40, 907-913.
- Harrington FE, Rothermel JD : Daily changes in peripheral plasma progesterone concentrations in pregnant and pseudopregnant rabbits. *Life Sci* 1977, 20, 1333-1340.
- Lotner GZ, Lynch JM, Betz SJ, Henson PM : Human neutrophil-derived platelet-activating factor. *J Immunol* 1980, 124, 676-684.
- Milligan SR, Finn CA : Failure of platelet-activating factor(PAF-acether) to induce decidualization in mice and failure of antagonists of PAF to inhibit implantation. *J Reprod Fertil*. 1990, 88, 105-112.
- O'Neil C : Thrombocytopenia in an initial maternal response to fertilization in mice *J Reprod Fertil* 1985, 73, 559.
- Rabinovici J, Angle MJ : Platelet-activating factor induces progesterone secretion and changes in morphological appearance in luteinizing granulosa cells in vitro. *Fertil Steril* 1991, 55, 1106-1111.
- Ricker DD, Robertson JL, Minhas BS, Dodson MG, Kumar RK : The effects of platelet-activating factor on the motility of human spermatozoa. *Fertil Steril* 1989, 52, 655-658.
- Roudebush WE, Minhas BS, Ricker DD, Palmer TV, Dodson MG : Platelet activating factor enhances in vitro fertilization of rabbit oocytes. *Am J Obstet Gynecol* 1990, 163, 1670-1673.
- Soling HD, Eibl H, Fest W : Acetylcholine-like effects of 1-0-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine("platelet activating factor") and its analogues in exocrine secretory glands. *Eur J Biochem* 1984, 144, 65-72.
- Spinks NR, O'Neil C : Embryo-driven platelet-activating factor is essential for establish-

- ment of pregnancy in mouse. *Lancet* 1987, i, 106-107.
- Spinks NR, Ryan JP, O'Neil C : Antagonists of embryo-driven platelet-activating factor act by inhibiting the ability of the mouse embryo to implant. *J Repord Fertil* 1990, 88, 241-148.
- Sueoka K, Dharmarajan AM, Miyazaki T, Atlas SJ, Wallach EE : Platelet activating factor-induced early pregnancy factor activity from the perfused rabbit ovary and oviduct. *Am J Obstet Gynecol* 1988, 159, 1580-1584.
- Sueoka K, Dharmarajan AM, Miyazaki T, Atlas SJ, Wallach EE : In vivo and in-vitro determination of rabbit early pregnancy factors. *J reprod Fertil* 1989, 87, 47-54.
- Thau R, Lanman JT : Evaluation of progesterone synthesis in rabbit placenta. *Endocrinology* 1974, 94, 925-926.
- Thau R, Lanman JT : Metabolic clearance rates (MCR) and production rates (PR) of plasma progesterone in pregnant and pseudopregnant rabbits. *Endocrinology* 1975, 97, 454-458.
- Tokumura A, Fukuzawa K, Tsukatani H : Contractile effect of 1-0-hexadecyl-2-0-acetyl-sn-phosphocholine on strips of isolated rat intestine. *J Pharmacol* 1984, 36, 210-212.
- 이윤이, 강길전 : Platelet-Activating Factor (PAF)가 과립막세포의 Progesterone 생성에 미치는 영향. *충남의대잡지* 1989, 16, 78-91.
- 강길전, 이영일 : Platelet-activating factor (PAF)가 생쥐의 배란, 초기배아의 발달 및 착상에 미치는 영향. *대한불임학회잡지* 1991, 18, 143-151.