

Prostaglandin $F_2\alpha$ 의 投與가 韓牛黃體의 組織像에 미치는 影響

崔炳相 · 朴民根 · 鄭吉生
蓮岩畜產專門大學 · 建國大學校 畜產大學

Effect of Prostaglandin $F_2\alpha$ Administration on the Luteal Cell of Korean Native Cattle

Byoung S. Choi · Min K. Park* · Kil S. Chung*

College of Animal Husbandry, Kon-Kuk University Yeon-Am Junnior College of Animal Science.

Summary

This experiment was carried out to observe early morphological changes of luteal cells in Korean native cattle treated with prostaglandin $F_2\alpha$. Twenty five gram of prostaglandin $F_2\alpha$ was administrated per cow at 10 days after ovulation and luteal cells were removed 30, 60, 120 and 180 minites after administration. Morphological changes of each luteal cell was observed by electron microscope. The results obtained were summarized as followings:

1. Many electron-dense granules were observed in luteal cells obtained from control cow but those granules were decreased rapidly after 30 minutes of administration and no granules were obresved after 180 minutes of administration.
2. In control, the shape of mitochondria were begining to collapse from the time of 60 minutes after administration. After 180 minutes of administration, mitochondria were swelled extreamly.
3. Lipid droplets in luteal cell were increased in its size and number with the duration of time after administration.
4. Shape of smooth endoplasmic recticulum was vesicular and its dimension and number were increased according to time course after administration.

I. 緒 論

1930年代에 Gold blatt 와 Von Euler 에 의하여 prostaglandin(以下 PG 로 略함)이 發見되었으며. 이 PG 가 動物의 黃體退行을 促進하는 作用을 갖고 있다는 사실도 Pharris & Wyngarden(1969)에 의하여 確認되었다. 이들은 偽妊娠 rat 의 7일과 8일째에 $PGF_2\alpha$ 를 體重 1kg 당 1mg 씩 子宮內에 注入한 結果 2日後에 摘出한 卵巢中에 progesterone 의 含量이 對照區에

비해 현저히 減少하는 것을 確認하였으며 家畜에서도 이러한 實驗이 活發하게 行하여졌다. 즉 Cracken et al.(1970)은 緬羊의 頸部에 自家移植한 卵巢에 $PGF_2\alpha$ 를 直接 注入한 結果, 즉시 progesterone 分泌가 減少하고 48~60時間 以內에 發情徵候가 나타났다고 報告하였다. 또한 Thorburn & Nicol(1971)도 緬羊에게 卵巢動脈과 卵巢靜脈에 $PGF_2\alpha$ 를 注射하여 같은 結果를 얻었다. 한편 Rowson et al.(1972)은 소의 發情을 調整할 目的으로 黃體가 存在하는 쪽의 子宮角에 0.5 mg의 $PGF_2\alpha$ 를 연속 3회 注入하였던 바, 黃體退行이

일어남과 동시에 投與後 通常 3日째에 發情이 出現하였다고 報告하였다. 또 PGF_{2α}는 性週期の 1日째부터 4日째 사이에는 같은 處理를 하여도 效果가 없었다고 하였다. 이 報告는 PGF_{2α}의 子宮內 注入에 의한 發情週期 調整技術의 發端이 되었고, 大家畜의 發情을 同期化시키려는 技術開發에 貢獻하였다.

그후 Louis et al.(1964)은 5mg의 PGF_{2α}를 소의 黃體가 存在하는 쪽의 子宮角과 그 반대쪽의 子宮角에 注入하여 發情調整效果를 檢討한 結果, 어느쪽의 子宮角에 注入해도 結果는 마찬가지로 報告하였다.

以上과 같이 PGF_{2α}가 黃體를 退行시킴으로써 새로운 發情을 誘起시킨다는 事實은 이미 確認되어 있으나 黃體退行의 具體的 機構는 아직 명확히 밝혀져 있지 않다. 이러한 黃體細胞의 progesterone 分泌機能低下는 黃體細胞가 PGF_{2α} 投與로 서서히 退行함과 並行하여 일어나서 그 結果 卵胞가 發育하여 發情이 온다는 것이 一般的인 認識이다(Rajamahendran et al., 1976; Rowson et al., 1972; 杉江, 1972, 1974, 1978; Nelson et al., 1977). 그러나 이러한 問題는 PGF_{2α}의 投與에 隨伴되는 血中호르몬 특히 progesterone 이나 estrogen 과 같이 發情에 직접 關與하는 호르몬의 量的 變化와 腦下垂體로부터 分泌되는 FSH 나 LH의 量的 變化와의 相關關係 및 그 變動의 時差의 關聯性 등이 究明되지 않는 한 쉽게 解決될 수 없을 것이다.

發情週期の 各段階에 隨伴되는 progesterone 이나 estrogen 의 含量變化는 生殖器系의 段階的 變化와 호르몬과의 相互關係를 理解하는데에 必要한 資料를 提供한다(Christensen et al., 1974; Hixon et al., 1973; Dobson et al., 1975). 發情前後에 있어서 各種호르몬의 血中含量의 變化는 多數의 研究者들에 의하여 檢討되어 왔다. 즉 Stabenfelt et al. (1969)은 發情週期中의 progesterone 의 含量變化를, Henricks et al. (1971, 1974)과 Wettmann et al. (1972)은 progesterone 과 estrogen 의 含量變化를 調査하였다. 또 金川 (1976)는 PGF_{2α} 投與後의 血中 progesterone 含量의 變化를, Nelson et al. (1977)과 Henricks et al. (1977)은 progesterone 과 estrogen 의 含量變化를 測定하였으며 Rajamahendran et al. (1976)은 PGF_{2α}의 投與部位에 따른 血中 progesterone 含量의 差異를 報告하였다. 이들 중 특히 Henricks et al. (1977)은 PGF_{2α} 投與後 불과 2時間後에 有意한 progesterone 의 減少가 認定되었다고 報告하였다.

黃體組織에 關한 研究는 羊에서 Deane et al.(1966)이 發情週期동안의 黃體組織의 機能과 形態學的인 關係를 報告하였고, 같은 動物에서 Umo(1975)는 PGF_{2α}

가 黃體의 微細構造가 機能에 미치는 影響을 報告하였다. 소에서는 Bjersing et al. (1970)이 組織化學의 으로 黃體의 微細構造에 대하여 研究報告한 바 있다.

이러한 事實을 勘案하여 本 研究에서는 PGF_{2α}가 黃體를 退行시키는 具體的인 機構를 解明하기 위하여 PGF_{2α}를 投與한 成牝韓牛의 黃體組織의 變化를 電子顯微鏡的으로 檢討하여 약간의 成績을 얻었으므로 그 結果를 報告한다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗期間 및 場所

本 實驗은 1979年 1月부터 11月 사이에 建國大學校 畜產大學에서 實施하였다.

2. 材 料

1) 供試動物

對照區 1頭, PGF_{2α} 投與區 4頭 計 5頭의 韓牛成牝牛을 供試하였다.

2) PGF_{2α}의 投與

排卵後 10日째의 成牝韓牛에 25mg의 PGF_{2α}를 筋肉에 注射한 다음 投與後 0分, 30分, 60分, 120分 및 180分에 屠殺, 黃體를 摘出하여 組織檢査用으로 供試하였다.

3) 黃體組織의 鏡檢

(1) 鏡檢用 試料

成牝韓牛를 使用 排卵後 10日째에 頭當 25mg의 PGF_{2α}를 筋肉에 投與한 후 각각 30分, 60分, 120分 및 180分만에 屠殺하여 즉시 摘出해 낸 卵巢에서 黃體를 分離하여 細切한 다음 0.2M의 phosphate buffer로 緩衝된 3% glutaraldehyde에 沈漬시켜 前固定을 實施하였다.

(2) 試藥 및 器機

① Phosphate buffer (pH: 7.2)

② Glutaraldehyde

③ OsO₄

④ Ethylalcohol

⑤ Propylene

⑥ Epoxy resin

⑦ Ultramicrotom; Sorvall MT-2B

⑧ Uranyl acetate

⑨ Lead citrate

⑩ Electron microscope; Hitachi HU-11E

3. 實驗方法

電子顯微鏡 觀察用 標本을 製造하기 위하여 3%의

glutaraldehyde 에 前固定시킨 黃體組織을 0.2M 의 phosphate buffer 로 20分間씩 3回 옮겨가면서 洗滌을 시킨 後 0.2M 의 phosphate buffer 로 緩衝된 1%의 OsO₄ 溶液 속에 2時間동안 再固定하였다.

脫水는 濃度上昇順에 의하여 60, 70, 80, 90, 100 및 100%의 ethylalcohol 과 prophyline 의 順으로 각각 20分間씩 實施하고 epoxy resin 으로 包埋한 後 유리 칼을 使用하여 超薄切片機로 500~600Å 의 두께로 잘랐다.

染色은 飽和 uranyl acetate에서 30分間, lead citrate 에서 20分間 實施하여 二重染色을 하였으며, Hitachi HU-11E 型 電子顯微鏡으로 倍率을 調整하며 觀察하였다.

Ⅲ. 結果 및 考察

本 實驗에 의하여 얻어진 結果를 要約하여 考察하면 다음과 같다.

1. Dense granule 의 含量變化

PGF₂α 를 投與하면 黃體細胞가 서서히 退行하고 이와 並行하여 黃體細胞의 progesterone 分泌機能도 低下함으로써 그 結果 卵胞가 發育하게 되어 發情이 온다는 것은 一般的으로 通用되고 있는 見解이다(Rajamahendran et al., 1976; Rowson et al., 1972; 杉江, 1972, 1974, 1978; Nelson et al., 1977). 그러나 鄭

(1979)에 의하면 PGF₂α 投與後 불과 6時間後에 血漿 1ml 中の progesterone 含量이 7.615±0.815ng 에서 2.839±0.341ng 으로 低下하였으며, Henricks et al. (1977)은 PGF₂α 投與後, 불과 2時間後에 有意한 progesterone 의 減少變化가 認定되었다고 報告하였는데 이러한 報告를 綜合하여 考察할 때 PGF₂α 가 黃體細胞를 退化시키는 機構는 再次 檢討하여 불 必要가 있다고 생각된다. 이러한 必要性에 따라 PGF₂α 를 筋肉에 注射한 다음 30分, 60分, 120分 및 180分에 黃體를 摘出하여 電子顯微鏡으로 組織像의 變化를 觀察하였던 바, 그 結果는 Fig. 1~5와 같았다.

Umo(1975)는 PGF₂α 를 處理한 羊의 黃體에서 electron-dense granule 의 減少를 認定하고 이것이 progesterone 의 分泌와 관련이 있으며 progesterone 水準이 높을 때 摘出해 낸 黃體細胞內에는 이것의 數가 훨씬 많았다고 報告하여 이것이 progesterone 의 前驅物質임을 示唆하고 있다. 本 實驗의 對照區 즉 PGF₂α 를 投與하지 않은 個體의 경우 排卵後 10日째의 黃體細胞에서는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 dense granule 이 많이 나타났으나 投與 30分後에는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 현저하게 減少하며 그 量이 매우 적었다. 그러나 몇개의 細胞에서는 顆粒이 觀察되어 완전히 消失되지는 않았다. 60分後의 細胞(Fig. 3)에서는 dense granule 은 더욱 減少하였으며 이러한 傾向은 PGF₂α 投與後 時間의 經過와 더불어 더욱 현저해져 180分後에서는 거의 찾아볼 수 없었다(Fig. 3, 4, 5). Umo(19

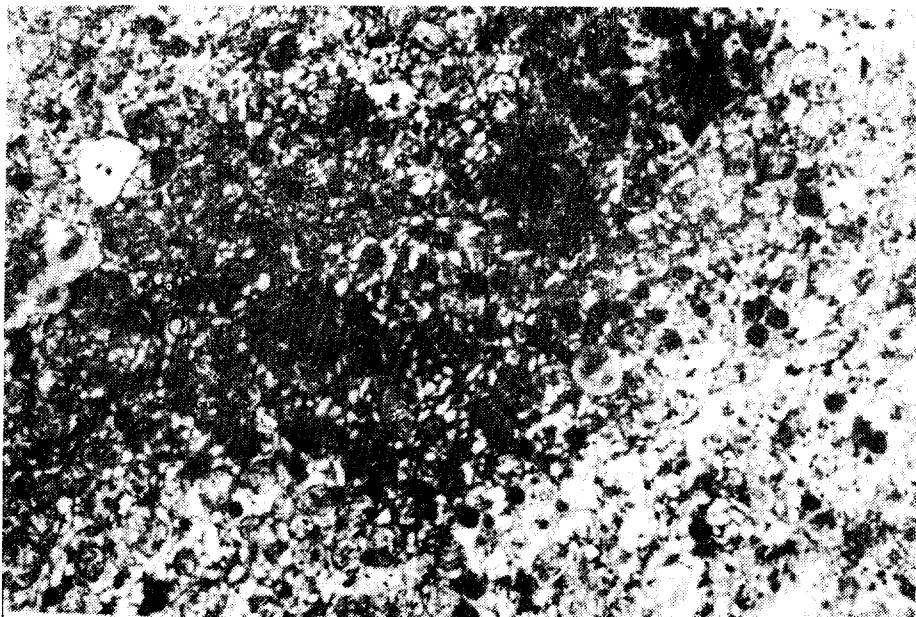


Fig. 1. Luteal cell obtained from untreated Korean native cattle (×9,000)

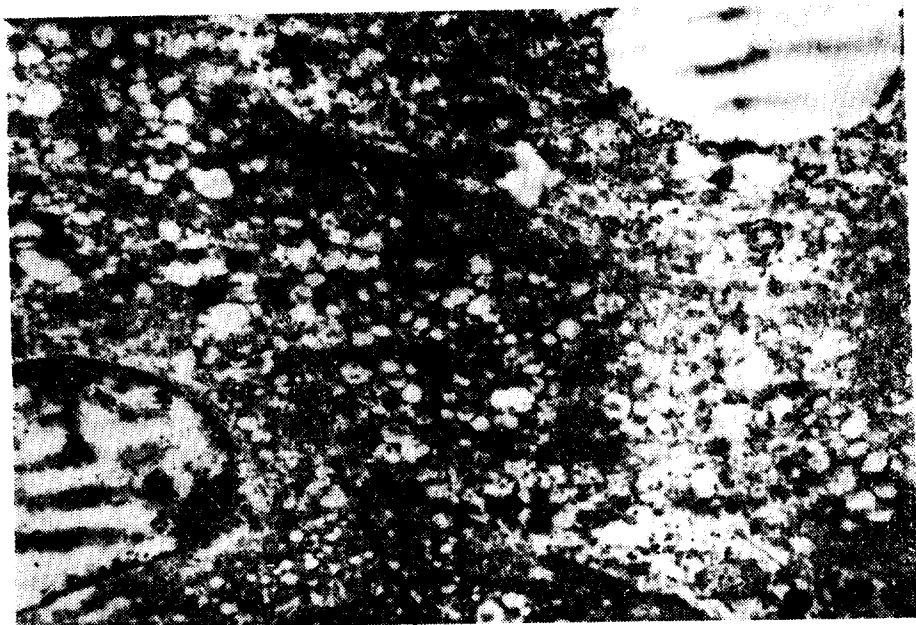


Fig. 2. Luteal cell obtained from Korean native cattle slaughtered after 30 min. of PGF₂α administration (×9,000)

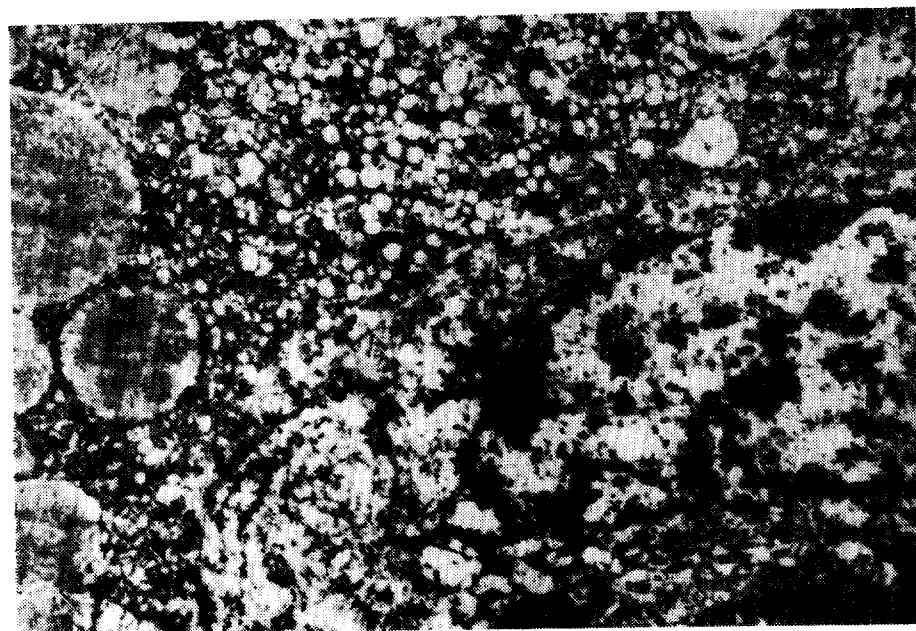


Fig. 3. Luteal cell obtained from a Korean native cattle slaughtered after 60 min. of PGF₂α administration (×9,000)

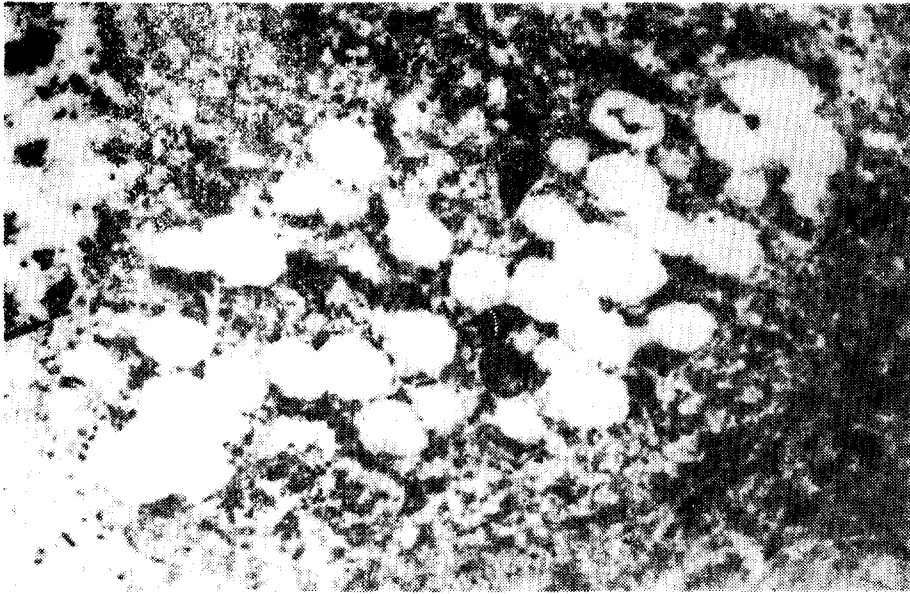


Fig. 4. Luteal cell obtained from a Korean native cattle slaughtered after 120 min of $\text{PGF}_2\alpha$ administration ($\times 9,000$)

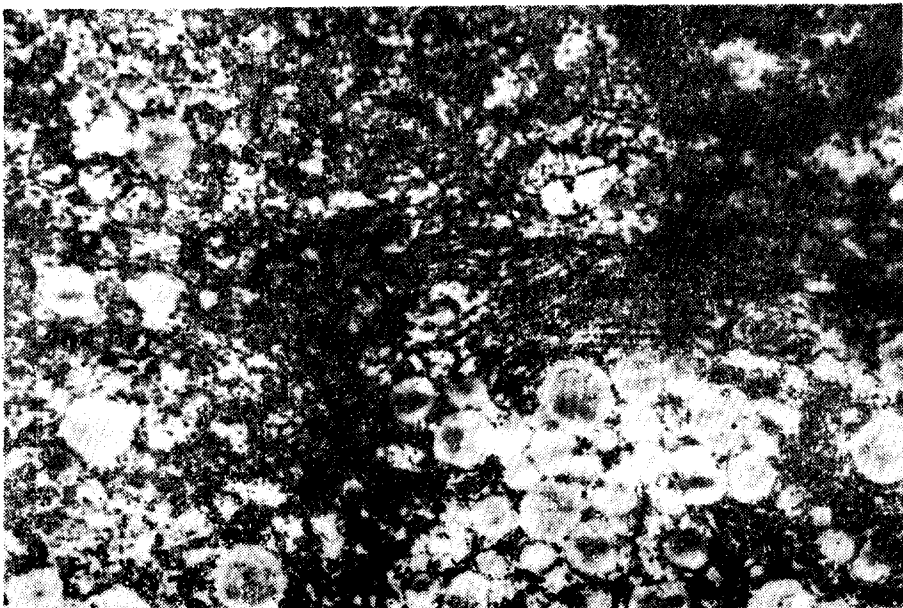


Fig. 5. Luteal cell obtained from a Korean native cattle slaughtered after 180 min. of $\text{PGF}_2\alpha$ administration ($\times 9,000$)

75)는 PGF_{2α} 投與後 12時間째에 이르러 granule 의 存在가 認定되지 않았다고 報告하였으나, 本 研究에서는 이보다 빠른 時期인 投與後 2時間 以內에 벌써 dense granule 이 消失되어 Henricks et al. (1977)의 報告를 충분히 뒷받침하고 있다.

2. Mitochondria 의 變化

Mitochondria 는 對照區의 경우 둥근 球形의 形態로서 羊의 黃體에서 觀察하였던 Umo (1975)의 多角形과는 相異하였으나 이러한 差異는 動物種의 差異에 基因되었다고 思慮된다. Dense granule 뿐 아니라 mitochondria 의 組織像의 變化도 PGF_{2α} 投與後 30分 頃부터 나타나기 시작하여 (Fig. 2), 60分後에는 내부의 cristae 가 崩壞하기 시작하였고 (Fig. 3), 180分後에는 심한 膨潤狀態를 나타내었다 (Fig. 5). 이러한 mitochondria 의 變化는 mitochondria 가 細胞의 技能維持에 必要한 에너지의 供給處라는 事實을 勘案할 때, 細胞의 活性을 減少시켜 黃體細胞의 progesterone 生合成能力을 阻害하는 것으로 思慮된다.

3. 脂肪球의 變化

特記할 事項은 組織中 脂肪球의 變化인데 對照區에서는 작은 脂肪球가 小數밖에 出現하지 않았음에 비하여 PGF_{2α} 投與區는 投與後 30分만에 그 크기와 量이 急増한다는 사실이다 (Fig. 6 및 7 참조). 또 이와 아울러 空胞모양을 한 smooth endoplasmic reticulum 도 그 크기와 量이 急増하여 脂肪球蓄積의 理由를 뒷받침한다고 思慮된다. 그러나 30分 以後부터는 時間이 經過해도 脂肪球의 크기나 量은 그다지 변하지 않았다. 脂肪球의 이러한 變化는 Umo(1975)도 報告하였으나 蓄積된 脂肪球의 크기는 本 研究의 경우가 훨씬 더 컸었다. 기타 Deane et al. (1966)과 Bjersing et al. (1970)은 각각 羊과 소에서 正常的인 黃體細胞를 관찰한 바 있으나 PGF_{2α} 處理後의 黃體組織像의 變化를 觀察한 報告는 거의 없어 本 研究와의 比較考察은 不可能하였다. 그러나 本 研究의 黃體組織像의 變化와 이 問題에 관한 이제까지의 報告들을 綜合하여 考察할 때 韓牛에게 PGF_{2α} 를 投與하면 投與直後에 黃體細胞의 分泌機能은 즉시 中斷되고 따라서 血液中の progesterone 濃度も 신속하게 低下되며, 黃體의 組織自體의 退行은 分泌機能의 退行보다 훨씬 뒤에 일어난다고 判斷된다. 아울러 progesterone 分泌機能의 中斷과 때를 같이 하여 FSH 의 分泌를 誘起하는 Gn-RH 의 分泌가 시작되어 새로운 發情期로 移行된다고 생각된다.

이러한 論理는 PGF_{2α} 投與後 신속하게 發情이 再斷되는 事實을 충분히 說明할 수 있을 것으로 본다.

V. 摘 要

PGF_{2α} 의 投與에 隨伴되는 韓牛黃體細胞의 微細構造의 變化를 觀察하기 위하여 排卵後 10日째의 韓牛에게 25mg의 PGF_{2α}를 筋肉에 投與한 後, 30分, 60分, 120分, 180分만에 黃體를 摘出하여 黃體細胞의 微細構造를 電子顯微鏡으로 觀察하였다. 本 研究에 의하여 얻어진 結果는 다음과 같이 要約된다.

1. PGF_{2α} 를 投與하지 않은 對照區의 黃體細胞에서는 electron dense granule 이 多數觀察되었으나 이들 顆粒은 PGF_{2α} 投與後 30分만에 급속히 減少하였으며, 投與後 180分에서는 거의 완전히 消失되었다.

2. 對照區에서의 mitochondria 形態는 球形이었으며 PGF_{2α} 投與後 60分째에는 內부의 cristae 가 崩壞되기 시작하여 180分째에 가서는 심한 膨潤을 나타내었다.

3. PGF_{2α} 投與 30分만에 黃體組織中에는 脂肪球의 巨大화와 量의 急増이 認定되었다.

4. Smooth endoplasmic reticulum 은 空胞 모양을 하고 있었으며 PGF_{2α} 投與後 30分부터 時間의 經過와 더불어 그 크기와 수가 增加하였다.

References

1. Bjersing, L., Hay, M.M., Moor, R.W., Short, R.V. Deane, H.W. 1970. Endocrine activity, histochemistry and ultrastructure of ovine corpora lutea. 1. Further observations on regression at the end of the oestrus cycle. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat., 11 : 437~457.
2. Christen, D.S., M.L. Hopwood and J.N. Wiltbank. 1974. Levels of hormones in the serum of cycling beef cows. J. Anim. Sci., 38(3) : 557~583.
3. Deane, H.W., Hay, M.F., Moor, R.M., Rowson, L.E., Short, R.V. 1966. The corpus luteum of the sheep; relationship between morphology and function during the oestrous cycle. Acta endocr., Copenh. 51 : 245~263.
4. Dobson, H., M.J. Cooper and B.J.A. Furr. 1975. Synchronization of estrus with I.C.I. 79939. an analogue of PGF_{2α} and associated changes in plasma progesterone, oestradiol-17β and LH in heifers. J. Reprod. Fert., 42 : 141~144.
5. Henricks, D.M., J.F. Dickey, J.R. Hill and W.E.

- Johnston. 1972. Plasma estrogen and progesterone levels after mating and during late pregnancy and postpartum in cow. *Endocrinology*, 90 : 1336~1342.
6. Henricks. D.M., J.T. Long., J.R. Hill and J.F. Dickey. 1974. The effect of PGF_{2α} during various stages of estrus cycle of beef heifer. *J. Reprod. Fert.*, 41 : 113~120.
 7. Henricks. D.M., N.C. Rawlings and A.R. Elliott. 1977. Plasma hormone levels in beef heifers during prostaglandin induced parturition. *Theriogenology*, 7(1) : 17~27.
 8. Hixon, J.F., R. Nadaraja, R.J. Schechter and W. Hansel. 1973. PGF_{2α} induced stimulation of estrone and estradiol-17β secretion in cattle. *Prostaglandins*, (4) : 679~687.
 9. Louis, T.M., H.D. Hafs and D.A. Morrow. 1964. Intrauterine administration of prostaglandin F_{2α} in cows. *J. Anim. Sci.*, 38 : 347~353.
 10. McCracken, J.A., M.E. Glew and R.J. Scaramuiai. 1970. Corpus luteum regression induced by prostaglandin F_{2α}.
 11. Nelson, G.N., Y. Samamukai, K. Sato, H. Ono and M. Miyake. 1977. Induction of estrus with PGF_{2α} and associated changes in peripheral blood serum progesterone and estrogen concentrations in dairy cattle. *Res. Bull. Obihiro Univ.*, 10 : 643~653.
 12. Pharris, B.B. and L.J. Wyngarden, 1969. The effect of PGF_{2α} on the progesterone content of ovaries from pseudopregnant rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 130 : 92~94.
 13. Rajamahendran, R., K.N. Bodirian, P.G. Lague and R.D. Baker. 1976. Luteolytic activity of a synthetic prostaglandin and PGF_{2α} in heifers. *prostaglandins*, 2(1) : 143~153.
 14. Rowson, L.E.A., R. Tervit and A. Brand. 1972. The use of prostaglandins for synchronization of estrus in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 29 : 145~145. (Abst)
 15. Shemesl, M. and W. Hansel. 1974. Measurement of bovine plasma testosterone by radioimmunoassay (RIA) and by a rapid competitive protein binding (CPB) assay. *J. Anim. Sci.*, 39(4) : 720~724.
 16. Stabenfelt, G.H., L.L. Ewing and L.E. McDonald. 1969. Peripheral plasma progesterone levels during the bovine estrus cycle. *J. Reprod. Fert.*, 19 : 433~442.
 17. Thorburn and Nicol. 1971. *J. Endocr.* 51 : 765~766.
 18. Umo, I. 1975. Effect of PGF_{2-α} on the ultrastructure and function of the sheep corpora lutea. *J. Reprod. Fert.*, 43 : 287~292.
 19. Wettmann, R.P., H.D. Hafs, L.A. Edgerton and L.V. Swanson. 1972. Estradiol and progesterone in blood serum during the bovine estrus cycle. *J. Anim. Sci.*, 34(6) : 1020.
 20. 鄭吉生. 1979. Prostaglandin F_{2-α} 및 noradrenalin 投與가 乳牛의 發情週期와 血中 Steroid hormone 含量에 미치는 影響. *韓國畜産學會誌*. 21 (5) : 415~433.
 21. 金川(弘). 1976. カナタ, アメリカにおける牛の受精卵移植實用化の實際. *日本ホルスタイン協會創立 50周年特別講演會資料集*.
 22. 杉江(信). 1972. 受精卵移植技術における性周期同期化の意義. *日本家畜繁殖研究會誌*. 18(15) : 37~47.
 23. 杉江(信). 1974. フロスタグランدين F_{2α} 利用による家畜の發情同期化について. *日本畜試年報*. 14 : 87~104.
 24. 杉江(信), 相馬(正), 水落(一). 1978. Prostaglandin F_{2α} 筋肉内注射による牛の發情期調整. *日本畜試年報*. 33 : 7~13.