

난포기 및 황체기에 있어서 돼지 난관협부 평활근의 자율적 운동성에 대한 Estradiol-17 β 및 Progesterone의 영향

이민기·손동수·이영락·남정우·김주현·최상용

경상대학교 수의과대학·뽕뽕동물병원·국립종축원·부산동물병원

서 론

난관은 내측으로 부터 점막, 근층, 장막으로 구성 되어 있으며 점막과 근층은 난관의 부위에 따라서 점막과 난관 주름벽이 잘 발달되어 있으며 난관 팽 대부의 주름은 옆으로 되어 있고 난관 협부에는 거의 주름이 형성되지 않는다.

점막상피는 단층원상상피이며 부분적으로는 다열 상피도 배열되어 있고, 원주상피는 섬모세포로서 난 자를 자궁으로 수송하는 기능을 갖고 있다. 근층은 잘 발달된 평활근으로 내측 윤주근과 외측 종주근으로 구성되어 있다. 난관의 수축은 국소적인 분절운동과 수축운동을 하며 종주근은 난관을 단축시키는 수축을 하고 윤상근은 윤상수축을 유지하는 기능을 하며 평활근 운동의 빈도와 진폭은 돼지의 발정주기에 따라서 다르게 나타난다. 배란전의 난관수축운동은 개체에 따라 차이가 있으나 대체로 완전한 수축을 하지만 배란시에는 매우 활발한 수축운동이 일어나며 수축의 양상은 난관협부의 수축운동과 역연동수축은 분절형으로서 지속적으로 강하게 일어나며 난관팽대부에서는 강한 연동파가 분절형태로 난관의 중간부분을 향하여 수축운동이 일어난다. 이러한 난관의 수축과 흥분성은 steroid 호르몬^{8,11)}과 신경계통¹³⁾에 의해서 조절된다고 하였다.

Blandau²⁾는 돼지의 난관평활근 수축성이 수정란 및 정자의 이동에 중요한 역할을 하며 난관의 연동적수축과 역연동수축의 복합된 작용에 따라서 난자의 수송율이 차이가 있다고 하였다. 돼지^{7,8)}, 소¹⁾ 및 토끼¹¹⁾에서 난관수축운동의 변화는 혈중 estrogen과

progesterone 농도에 따라서 일어난다고 하였으며, Moawad 등⁶⁾은 estrogen이 사람의 난관에서 협부의 수축운동을 증가시키는 반면 progesterone은 수축운동을 저해한다고 보고하였다.

이와같이 가축 난관의 수축운동에 관한 많은 연구 보고가 있으나 돼지에서는 연구보고가 많지 않으며 특히 황체기와 난포기에 있어서 난관의 수축운동을 비교 실험한 것을 찾아 볼수가 없어 본 연구에서는 돼지의 난관운동이 황체기와 난포기에서 어떠한 차이가 있는지를 규명하여 돼지 번식생리에 기초자료를 제공코자 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 임상적으로 건강하다고 인정되는 암돼지(체중 90kg 전후) 68마리를 선정하여 이들로부터 난소와 난관을 적출하여 난소의 상태를 보고 난포기와 황체기로 구분하여 본 실험에 사용하였다. 난포기는 난포의 크기가 직경 0.7mm 이상 인 것이 5개 이상 존재하는 것을 난포기로 인정하였고, 황체기는 황체의 크기가 직경 0.9cm 이상 인 것이 5개 이상 존재하는 것을 황체기로 인정하였다.

영양액 조성 : 본 실험에 사용된 정상 생리적 영양액은 NaCl, 120; KCl, 4.75; CaCl₂, 1.7; MgSO₄, 1.2; NaHCO₃, 25; KH₂PO₄, 1.2; Glucose, 64mM로 조성된 Krebs's 용액을 사용하였다.

평활근 절편의 제작 : 공시동물을 도살한후 즉시 양측 난관을 적출하여 100% O₂로 포화시킨 4°C의 냉한 Krebs's 용액에 담아 실험실로 운반하였다. 난관주

위의 지방 및 결합조직을 제거한 다음 난관협부만을 분리한후 협부의 정중선을 절개하여 폭이 0.3cm, 길이 1.0cm크기의 평활근 절편을 제작하였다.

수축력의 측정: 제작한 절편을 $37\pm 1^\circ\text{C}$ 로 유지된 영양액이 담긴 20ml organ bath에 옮겨서 평활근 절편의 한쪽 끝은 organ bath 저부에 고정시키고 다른 한쪽 끝은 상하 높이를 조절할 수 있도록 된 근수축 변환기(Force transducer, D-1, Bioscience)에 연결하여 1.0g의 최초 장력을 부하시켜 1시간동안 평형시킨 후 실험을 실시하였다. 운동성의 기록은 Recorder(Potentiometric recorder, PR200, Bioscience)로 등척성 수축(isometric contraction)을 기록하였다.

약물의 처리방법: 본 실험에 사용된 약물중 estradiol-17 β 와 progesterone을 각각 증류수: ethanol: polyethylen glycol을 5:4:1의 비율로 만든 용액에 녹였으며 10^{-1} M stock용액으로 만들어서 냉동실에 보관하면서 사용할 때마다 증류수로 희석하여 필요한 농도를 만들어 사용하였다. 약물처리는 1시간동안 평형시킨후 자발적 운동성을 관찰한 다음, 20ml organ bath에 $200\mu\text{l}$ 의 약물을 가하여 100배 희석되게 하였으며 약물처리후 정상생리적영양액으로 3번 이상 세척하여 1시간 평형시킨후 다음실험을 실시하였다.

사용약품: 본 실험에 사용한 estradiol-17 β (E_2), progesterone(P_4)은 미국 Sigma사제품, 그외는 모두 특급시약을 사용하였다.

결과 및 고찰

난포기와 황체기에 있어서 돼지 난관협부 평활근의 자발적 운동성: 돼지 난관협부 평활근의 자발적 운동성을 관찰하였다. Table 1에서 보는 바와같이 난포기는 0.251 ± 0.023 g, 황체기는 0.201 ± 0.027 g으로 난포기의 자발적 운동의 진폭이 황체기보다 약간 강하게 나타났으며(Fig. 1.), 빈도도 난포기가 15.380 ± 0.935 회/분, 황체기가 14.520 ± 1.382 회/분으로 난포기가 황체기보다 약간 빈번하게 나타났다. 이러한 결과는 돼지 난관협부 평활근의 자발적 운동성이 *in vivo*와 *in vitro*에서 발정기동안의 자발적 운동력의 초기황체기보다 약간 강하게 나타난다는 보고^{7,8)}와 비슷한 경향을 나타내었다. Saksena와 Herper¹⁰⁾는 estradiol처리후에 생긴 운동성의 증가현상은 토끼 난관조직에 PGF의 증가로서 생긴것으로 보고한 바

있다.

Estradiol-17 β 가 돼지 난관협부 평활근의 자발적 운동성에 미치는 영향: Estradiol-17 β 를 10^{-7} M에서 10^{-5} M까지의 농도로 처리하여 돼지 난관협부 평활근의 자발적 운동성이 어떤 영향을 받는지를 관찰하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 난포기의 진폭은 Estradiol-17 β 를 10^{-7} M처리에 의해 0.488 ± 0.035 g, 10^{-6} M처리에 의해 0.514 ± 0.036 g, 10^{-5} M처리에 의해 0.405 ± 0.026 g으로써 대조치 0.251 ± 0.023 g에 비해 estradiol-17 β 처리에 의해 자발적 운동의 진폭이 증가되었고, 황체기에서도 estradiol-17 β 10^{-7} M처리에 의해 0.318 ± 0.041 g, 10^{-6} M처리에 의해 0.479 ± 0.111 g, 10^{-5} M처리에 의해 0.334 ± 0.045 g으로써 대조치 0.201 ± 0.027 g에 비해 estradiol-17 β 처리에 의해 자발적 운동의 진폭이 증가되었다($p<0.01$).

Estradiol-17 β 처리에 의해 난포기의 자발적 운동성이 황체기의 자발적 운동성보다 다소 강한 증가현상을 보였다. ($p<0.01$)

자발적 운동의 빈도는 estradiol-17 β 농도에 관계없이 난포기는 14.673 ± 0.567 회/분에서 15.850 ± 0.651 회/분, 황체기는 15.269 ± 0.906 회/분에서 16.012 ± 0.784 회/분으로 난포기와 황체기 사이의 자발적 운동빈도는 별다른 차이가 없었으며, estradiol-17 β 농도에 따른 차이도 발견할 수가 없었다. 이러한 결과는 Fuchs 등³⁾이 쥐에서 estradiol투여가 자궁근층의 세포질과 핵분절에 있는 estradiol수용체의 농도를 증가시킨다는 보고와 Spilman¹²⁾이 난소적출 토끼에서 estradiol투여가 난관의 자발적 운동의 빈도와 진폭을 증가시켰다는 보고 그리고 Moawad 등⁶⁾의 estrogen이 사람 난관의 윤주근의 자발적 운동을 증가시켰다는 결과와 비슷한 경향을 나타내었다.

Progesterone이 돼지 난관협부 평활근의 자발적 운동성에 미치는 영향: Progesterone을 10^{-7} M에서 10^{-5} M까지의 농도로 처리하여 돼지 난관협부 평활근의 자발적 운동성이 어떤 영향을 받는지를 관찰하였다. Fig. 3에서 보는 바와같이 난포기의 진폭은 progesterone 10^{-7} M로 처리했을 때 0.278 ± 0.025 g, 10^{-6} M로 처리했을 때 0.306 ± 0.028 g, 10^{-5} M로 처리했을 때 0.336 ± 0.027 g이었으며, 황체기의 진폭은 progesterone 10^{-7} M로 처리했을 때 0.241 ± 0.026 g, 10^{-6} M로 처리했을 때 0.245 ± 0.021 g, 10^{-5} M로 처리했을 때 0.223 ± 0.018 g이었다. 난포기와 황체기 사이의 자발적 운동의 진폭에 별다른 차이가 없었

Table 1. Spontaneous Motility of the Pig Oviductal Isthmic Smooth Muscle in Follicular Stage and Luteal Stage (Mean \pm S. E)

Stage	No. of replication	Amplitude(g)	Frequency(/min)
Follicular	53	0.251 \pm 0.023	15.380 \pm 0.935
Luteal	50	0.201 \pm 0.027	14.520 \pm 1.382

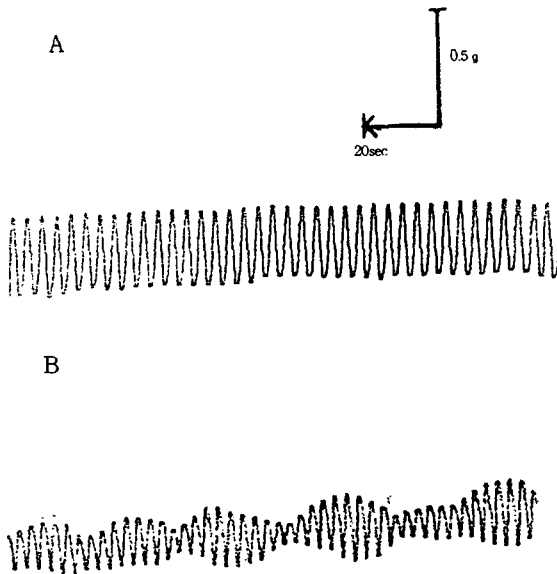


Fig. 1. Spontaneous motility of the pig oviductal isthmic smooth muscle in follicular stage(a) and luteal stage(b).

며 progesterone 농도에 따른 차이도 발견할 수가 없었다.

자발적 운동의 빈도는 progesterone 농도에 관계없이 난포기는 14.856 \pm 0.508 회/분에서 15.160 \pm 0.481 회/분, 황체기는 14.969 \pm 0.836 회/분에서 15.590 \pm 1.098 회/분으로써 난포기와 황체기 사이의 자발적 운동의 빈도에 별다른 차이가 없었으며 progesterone 농도에 따른 차이는 발견할 수가 없었다. 이러한 결과는 사람에서 혈중 progesterone 농도 및 자궁내 progesterone 투여가 자궁의 운동성을 변화시키지 못했다고 하는 Gibor 등⁴⁾의 보고와 비슷한 경향을 나타내었다. 그러나 생쥐에서 progesterone이 태아난관의 자발적 운동을 감소시킨다고 하는 Rumery⁹⁾의 보고와, 토끼에서 배란후 progesterone의 변화가 난관의 진폭을 감소시킨다고 하는 Spilman 등¹²⁾의 보고 그리고 사람에서 progesterone은 난관협부 운주상 평활근의 수축력을 저해한다는 Moawad 등⁶⁾의 보고와는 차이가 있

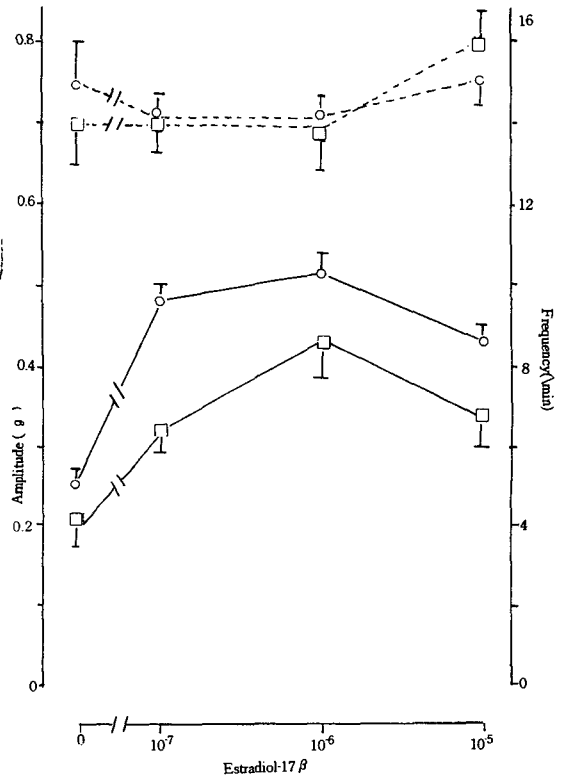


Fig. 2. Dose-responses of estradiol-17 β on the amplitude(-) and the frequency(-) of the spontaneous motility on the pig oviductal isthmic smooth muscle in follicular stage(○) and luteal stage(□).

었다. 한편 쥐에서 자궁근육의 수축성이 progesterone 처리에 의해 -52mV에서 -56mV으로 막전위가 과분극화 되었다는 Kuriyama와 Suzuki⁵⁾의 보고와도 차이가 나타났다. 이와같은 차이는 생체내에서 steroid호르몬이 존재하고 있는 상태에서는 progesterone이 평활근의 운동성에 변화를 야기시키지 못한다는 것⁴⁾에 기인된 것으로 추측되어진다.

결론

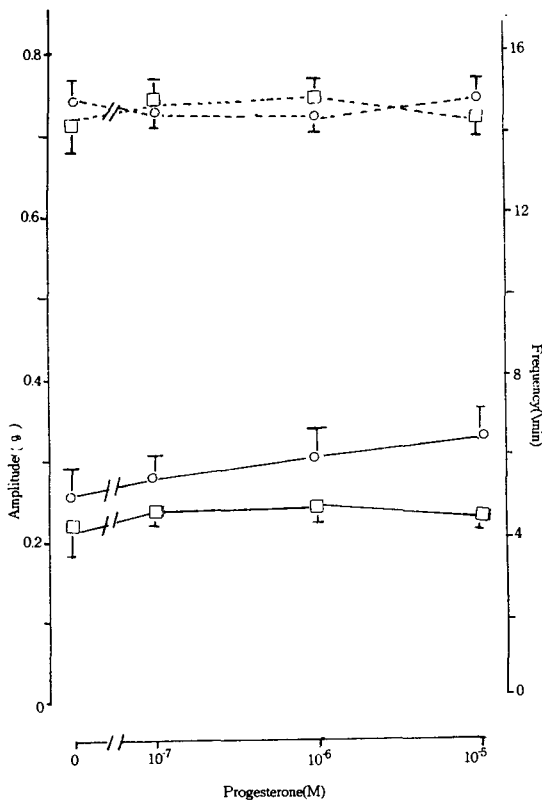


Fig. 3. Dose-responses of progesterone on the amplitude(-) and the frequency(-) of the spontaneous motility on the pig oviductal isthmus smooth muscle in follicular stage(○) and luteal stage(□).

돼지의 난포기 및 황체기에 있어서 난관협부 평활근의 운동성에 대하여 organ bath를 이용한 physiograph에 수축력의 기록을 통하여 estradiol-17 β 및 progesterone이 자율적 운동성이 미치는 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 돼지 난관협부 평활근의 자발적 운동성은 난포기에는 진폭이 0.251 ± 0.023 g, 빈도는 15.380 ± 0.935 회/분, 황체기에는 진폭이 0.201 ± 0.027 g, 빈도가 14.520 ± 1.382 회/분이었다.

2. 돼지 난관협부 평활근의 자발적 운동성이 난포기와 황체기에서 estradiol-17 β 에 의하여 촉진적인 경향을 보였으나 progesterone에 의해서는 별다른 영향

이 없었다.

참고 문헌

- Bennet, W. A., Watts, T. L., Blair, W. D., Waldhalm, S. J. and Fuquay, J. W. : Cyclic changes in oviduct motility in dairy cows. J. Dairy Sci., (1980) 63(Suppl) : 180.
- Blandau, R. : Gamete transport in the female mammal. In : Handbook of Physiology. Sect. 7, Part. 2. (1973) pp. 153~163.
- Fushs, 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 steroid. Endocrinology, (1983) 113 : 742~749.
- Gibor, Y. M. D., Pandya, G., Bieniarz, J. and Scommegna, A. : Uterine contractility and plasma progesterone levels in the nonpregnant woman. Amer. J. Obstet. Gynec., (1971) 15 : 542~547.
- Kuriyama, H. and Suzuki, H. : Changes in electrical properties of rat myometrium during gestation and following hormonal treatments. J. Physiol., (1976) 260 : 315~333.
- Moawad, A. H., Hedqvist, P. and Kim, M. H. : Correlation of plasma estrogen and progesterone levels with the *in vitro* adrenergic responses in the isthmus of the human oviduct. In : Ovum Transport and Fertility Regulation. (M.J.K. Harper, et al. ed.). Scriptor, Copenhagen, (1976) pp. 276~292.
- Rodriguez-Martinez, H., Einarsson, S., Larsson, B., Akusu, M. and Settergren, I. : Spontaneous motility of the pig oviduct *in vitro*. Biol. Reprod., (1982) 26 : 98~104.
- Rodriguez-Martinez, H., Einarsson, S. and Larsson, B. : Spontaneous motility of the oviduct in the anaesthetized pig. J. Reprod. Fert., (1982) 66 : 615~642.
- Rumery, R. E. : Fetal mouse oviducts in tissue and organ cultures. Fertil. Steril., (1969) 20 : 1949.
- Saksena, S. and Harper, M. : Relationship between concentration of prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) in the oviduct and egg transport of rabbits. Biol. Reprod., (1975) 13 : 68~76.
- Salomy, M. and Harper, M. J. K. : Cyclical changes of oviductal motility in rabbits. Biol. Reprod., (1971) 4 : 185~194.
- Spilman, C. H. : Oviduct response to prostaglandins : influence of estradiol and progesterone. Prostaglandins, (1974) 7 : 465~472.
- Ueda, M., Mattos, C. E. R. and Coutinho, E. M. : The influence of adrenergic activation and blockade on the motility of the circular and longitudinal muscle layers of the rabbit oviduct *in vitro*. Fertil. Steril., (1973) 24 : 440~447.

Effects of Estradiol-17 β and Progesterone on the Spontaneous Motility of Pig Oviductal Isthmic Smooth Muscle in Follicular and Luteal Stages

Min-Gi Lee, D.V.M., M.S.¹, **Dong-Soo Son**, D.V.M., M.S.², **Yeong-Lak Lee**, D.V.M., ³
Jeong-Woo Nam, D.V.M., **Joo-Heon Kim**, D.V.M., M.S., Ph.D.
and **Sang-Yong Choe**, D.V.M., M.S., Ph.D.

College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University
Ppoppy Animal Hospital¹
National Animal Breeding Institute²
Busan Aniaml Hospital³

Abstract

The effects of estradiol-17 β and progesterone on the spontaneous motility of pig oviductal isthmic smooth muscle were investigated. The motility of the isolated smooth muscle was recorded by using physiological recording system.

The results were summarized as follows;

1. The amplitude and frequency of spontaneous motility in pig isthmic smooth muscle were 0.251 ± 0.023 g and 15.380 ± 0.935 /min in follicular stage, and 0.201 ± 0.027 g and 14.520 ± 1.382 /min in luteal stage.
 2. The spontaneous motility of pig isthmic smooth muscle was excited by estradiol-17 β but was not by progesterone in follicular and luteal stage.
-