

在來山羊의 繁殖期에 있어서 血中 Steroid Hormone 水準 變化에 관한 研究

III. 分娩前後의 血中 Progesterone 및 20α -Dihydroprogesterone 水準 變化

閔觀植·張奎泰·吳錫斗*·成煥厚·李炳五·尹昌鉉

慶尙大學校 農科大學

Studies on the Changes of Steroid Hormone Levels during the Reproductive Stage in Korean Native Goats

III. Serum Levels of Progesterone and 20α -Dihydroprogesterone before and after Parturition

Min, K.S., K.T. Chang, S.D. Oh*, H.H. Seong, B.O. Lee and C.H. Yun

College of Agriculture, Gyeongsang National University

SUMMARY

The present study was conducted to find out the changes of progesterone and 20α -dihydroprogesterone (20α -OHP) levels before and after parturition. 4 pluriparous goats were offered for this experiment. Blood samples were taken from jugular vein on Days 5, 3, 2 and 1 before parturition, the day of parturition, 1, 3, 5, 7 and 9 after parturition. The blood samples were centrifuged and stored at -20°C until hormone assay. The serum levels of progesterone and 20α -OHP were measured by radioimmunoassay.

The changes of serum progesterone level during peripartum period were characterized as a remarkable decrease. The progesterone level was 4.05 ± 0.52 ng/ml on 56 days before parturition and decreased to 2.24 ± 0.38 ng/ml on 1 day before parturition and 0.79 ± 0.09 ng/ml on the day of parturition and the basal level was maintained through 9 days of postpartum period. The serum level of 20α -OHP during the peripartum period was 1.25 ± 0.21 ng/ml on 5 days before parturition and increased to 1.32 ± 0.25 on 3 days and 1.59 ± 0.24 ng/ml on 1 day before parturition, and reached a peak level of 1.78 ± 0.25 ng/ml just prior to parturition and then decreased greatly to 0.31 ± 0.03 ng/ml on 1 day postpartum and the basal level was remained until 9 days postpartum. The high serum level of 20α -OHP, which was peak just prior to parturition, was maintained for 2 days following the onset of remarkable decrease in the serum level of progesterone.

From the above results, it was concluded that the enzyme 20α -hydroxysteroid dehydrogenase (20α -HSD) catalyzing the conversion of progesterone to a biologically inactive steroid, 20α -OHP was active properly in the luteal cells in Korean native goats.

(Key words : progesterone, 20α -dihydroprogesterone, before and after parturition)

* 晉州農林專門大學 (Chinju National Agricultural and Forestry Junior College)

I. 緒論

家畜의 繁殖生理 현상을 究明코자 血中 性 hormone 의 水準과 性 hormone 의 支配機轉의 解明은 繁殖效率의 改善을 위한 研究의 基礎資料로서 매우 중요하다. 특히, 分娩前後의 內分泌學的 變化는 腦下垂體와 視床下部 및 多數의 복잡한 機轉에 의해서 이루어진다.

分娩前後의 progesterone 水準 變化에 대하여 Thorburn 과 Schneider(1972)는 分娩前 1~2일에 현저하게 減少하고, 分娩日에는 평균 1.25 ng/ml 이었으며, 대부분 山羊에서 分娩後 2일에는 無發情期 水準으로 減少한다고 하였으며, Irving 등(1972)은 分娩前 7일에 7.0 ng/ml, 5일에 5.55 ng/ml, 3일에 4.9 ng/ml, 2 및 1일에는 각각 3.4 ng/ml 및 3.0 ng/ml 으로 分娩時까지 계속 減少하고, 分娩直後の progesterone 水準은 雙胎分娩後는 2.2 ng/ml, 單胎分娩時는 1.5 ng/ml 이라고 하였고, 山羊의 分娩前 progesterone 水準이 急減되는 時期는 胎兒分娩 20~30시간 前(Currie, 1974), 胎兒分娩 20~26시간 前(Currie 와 Thorburn, 1977)에 일어난다고 보고하였으며, 특히 Currie 와 Thorburn(1977)은 分娩前 5일, 2일 및 26시간에 각각 5.2 ng/ml, 4.9 ng/ml 및 5.0 ng/ml 이었으나, 分娩 30분 이내에 0.6 ng/ml 으로 急減하고 分娩後 24~48시간에는 0.3 ng/ml 으로 낮은 水準이었다고 하였다. 또한, 丁 등(1984)은 在來山羊에서 分娩前 1일에는 1.89 ng/ml 수준이었으나 分娩日에는 0.86 ng/ml 으로 減少되었으며, 分娩後 2일과 5일에는 각각 0.45 ng/ml 및 0.40 ng/ml 의 낮은 水準이었다고 하였다.

한편, 分娩前後의 20 α -OHP 水準 變化에 대하여 Bedford 등(1972)은 緬羊의 黃體期에 progesterone 이 20 α -OHP 로의 전환율은 51.2%였으나, 分娩後 1일에 46.9%, 15일에 56.2%, 分娩後 26일에는 72.7%로 分娩 直前に 낮았으나 分娩 26일 이후에는 높았다고 하였고, 非泌乳期인 離乳後 13일에는 112.7%였다고 하였다. 또한 緬羊에서 分娩 直前に progesterone 水準이 낮아지는 것은 progesterone 의 前驅物質인 pregnenolone 이 20 α -OHP 로 代謝되기 때문이라고 하였다(Henrick 와 Mayer, 1977).

흰쥐에 있어서는 分娩前에 20 α -Oh-SDH(20 α -HSD)의 活性增加로 인하여 progesterone 이 20 α -OHP 로 代謝되는데 이러한 원인은 腦下垂體의 LH 放出刺戟에 관련이 있다고 하였다(Wiest 와 Kidwell, 1969).

또한 哺乳動物에서는 卵巢, 精巢(Sato 등, 1972), 副腎(Matthijssen 등, 1964), 胎盤(Armstrong 과 King, 1971)등과 같은 氣管에서 넓게 分布되어 있는 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase(20 α -HSD)에 의해서 progesterone 이 生物學的으로 不活性인 20 α -OHP 로 代謝되어 妊娠末期 20 α -OHP 水準이 현저히 增加한다고 하였다(Wiest 와 Forbes, 1964; Takahashi 등, 1978; Shiota 와 Wiest, 1979; Saito 등, 1988; Matsuda 등, 1990). 그러나, 在來山羊에 있어서는 20 α -OHP 水準 變化에 관한 研究報告는 거의 없는 실정이다.

따라서, 本 研究은 在來山羊의 分娩前後에 있어서 progesterone 과 20 α -OHP 水準 變化를 測定함으로써 卵巢內의 黃體細胞에서 progesterone 을 生物學的으로 不活性인 20 α -OHP 로 代謝시키는 20 α -HSD의 活性 與否를 檢討하기 위하여 本 試驗을 수행하였다.

II. 材料 및 方法

1. 供試動物 및 飼養管理

本 實驗에 사용된 供試動物은 韓國在來 山羊으로 正常的으로 發情週期를 나타낸 4頭를 供試하였으며, 飼養管理는 一般 慣行法에 따라 飼育하고 食鹽 및 물은 自由攝取토록 하였다.

2. 試驗期間 및 場所

試驗期間은 1991.7.1~1991.10.30일까지 慶尙大學校 農科大學 附屬 動物飼育場과 酪農學科 家畜繁殖學教室에서 실시하였다.

3. 試驗方法

1) 交尾

正常的으로 發情週期를 나타내는 山羊 1頭當 PGF₂ α (Lutalyse, Upjone, Co, USA) 3mg 을 筋肉注射하여 發情을 誘起시켰으며, 1次에서 發情이 發現되지 않은 個體는 1次 投與後 11일에 同量의 PGF₂ α 를 2次

投與하여 發情을 誘起시켰으며, 交尾日을 妊娠 제1일로 定하였다.

2) 血液採取 및 血清分離

分娩前後의 steroid hormone 水準 變化를 測定하기 위한 血液은 分娩前 5, 3, 2 및 1일과 分娩當日, 分娩後 1, 3, 5, 7 및 9日 12:00時에 頸靜脈으로부터 각각 10ml씩 採取하였다. 採取한 血液은 4°C에서 12時間 保存한 다음 1,000×g로 15分間 遠心分離하여 얻은 血液은 分析時까지 -20°C에서 冷凍保存하였다.

3) Hormone의 分析方法

血清內 hormone의 radioimmunoassay는 Taka hashi 등(1980)과 Matsuyama 등(1987)의 方法에 準하여 Fig. 1의 flow sheet와 같은 과정에 따라 실시하였다.

- 1) Sample extract with diethylether at least 2 times.
- 2) Dilution of samples with acetone at 4°C.
- 3) Add assay buffer 0.5ml, hot solution 0.1ml. antibody solution 0.1ml to each tube(except "total" & "blank")
 - * for "total" add assay buffer 0.8ml, hot solution 0.1ml.
 - * for "blank" and assay buffer 0.6ml, hot solution 0.1ml.
- 4) Incubate for 12h at 4°C.
- 5) Add charcoal solution 0.2ml to each tube except "total" and incubate for 10min at 4°C.
- 6) Centrifuge at 4°C, 3,000rpm and for 15min.
- 7) Collect supernatant.
- 8) Add scintillator cocktail 3ml to each vial.
- 9) Count and calculate.

Fig. 1. Flow sheet of progesterone and 20α -OHP radioimmunoassay.

III. 結果 및 考察

1. 分娩前後의 progesterone 水準 變化

分娩 前後의 血清內 progesterone 水準 變化는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 分娩前 5일에 4.05 ± 0.52 ng/ml의 水準이었으나, 分娩前 3일과 2일에는 3.02 ± 0.34 ng/ml 및 2.76 ± 0.29 ng/ml으로 감소하여 分娩前 1일에는 2.24 ± 0.38 ng/ml 水準이었으며, 分娩當日에는 0.75 ± 0.09 ng/ml으로 낮은 水準이었다. 分娩後 1일 및 3일에는 각각 0.49 ± 0.05 ng/ml 및 0.68 ± 0.04 ng/ml으로 가장 낮은 水準을 유지하였으며, 分娩後 5, 7 및 9일에는 대체적으로 0.5~0.6 ng/ml 정도로 낮은 水準을 보여 큰 變化는 없었다.

이와 같이 分娩 直前に progesterone 水準이 減少하는데 山羊에서 Thorburn과 Schneider(1972)는 分娩 1~2日前에 현저하게 減少하여 分娩日에 1.25 ng/ml으로, 分娩後 2일에는 無發情水準인 0.1 ng/ml이었다고 하여 本 試驗의 결과와 거의 一致하는 傾向이었으며, 山羊에서 妊娠末期에 血中 progesterone 수준이 減少하여 分娩日에는 낮은 水準을 나타내었고, 分娩後 2일에도 거의 分娩日과 비슷한 水準이라고 한 보고와도 같은 傾向이었다(Irving, 1972). 또한 在來山羊에서 丁 등(1984)도 分娩 前後의 progesterone 수준은 分娩前 5일부터 계속 減少하여 分娩日에는 0.86 ng/ml이었고, 分娩後 1일에는 0.24 ng/ml으로 最低水準을 보였으며, 그 後는 큰 變化가 없다고 하였고, 崔 등(1986)도 分娩前 24시간에 4.60 ng/ml이었으나 分娩前 5~8시간에는 0.96 ng/ml으로 急減하였고, 分娩時에는 0.30 ng/ml으로 減少한다고 한 보고와도 一致하는 傾向이었다.

즉, 分娩 前後의 血中 progesterone 水準은 分娩前 5일부터 계속 減少하여 分娩前 1일부터 分娩 直前까지 큰 幅으로 減少하는데 分娩後 1일에 最低水準을 나타냈으며, 그 後에도 계속 낮은 水準으로 維持되는데, 이와 같이 progesterone 水準이 減少하는 原因으로 Thorburn 등(1972)은 山羊에서 合成 ACTH를 10 μ g/hr을 注入하면 母體의 progesterone은 현저히 減少하나 胎兒의 cortisol수준은 急增하고 母體의 prostaglandin F 水準은 急增加하여 黃體를 退行시킨다고 하였고, Currie 등(1973)도 分娩前 24時間에 prostaglandin F가 增加하기 시작하여 分娩 直前까지 높은 水準이라고 보고하였고, 妊娠 末期의 山羊에 $PGF_2\alpha$ 投與는 progesterone 水準을 낮아지게 하여

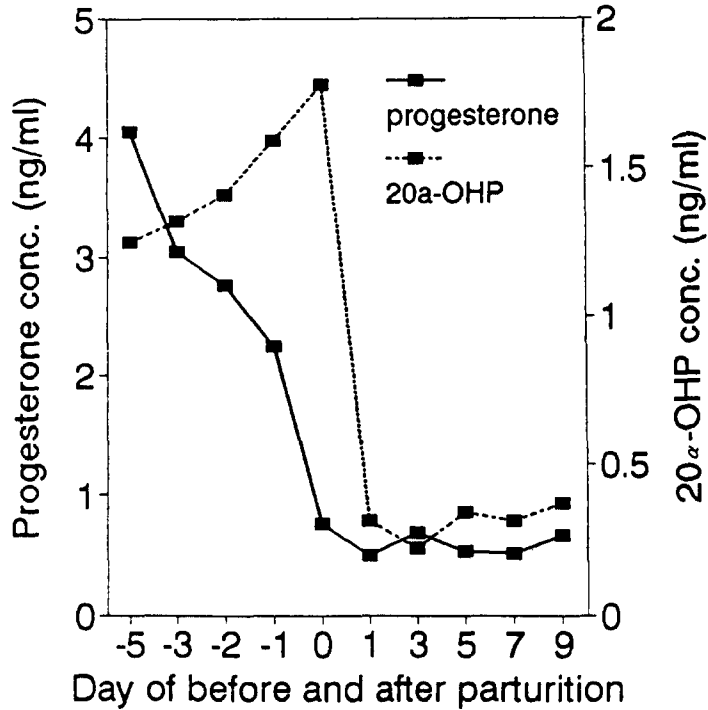


Fig. 2. Serum concentrations of progesterone and 20 α -dihydroprogesterone in Korean native pre-post partum.

早期分娩을 일으킨다고 보고하였다(Currie와 Thorburn, 1973).

한편 Umo 등(1976)도 山羊에서 分娩前에 progesterone 水準이 減少하고 分娩前 18~22時間에 prostaglandin F가 急增하여 分娩 수 시간 전에 prostaglandin F의 마지막 surge가 일어나, 分娩時에 子宮靜脈에서 60 ng/ml으로 最大水準에 도달한다고 보고 하였으며, 또한 緬羊에서도 分娩 直前에 progesterone 수준이 낮아진다고 보고하였다(Thorburn 등, 1972; Currie 등, 1973; Liggins 등, 1973). 以上の 結果로써 在來山羊은 分娩前에 子宮에서 prostaglandin F의 surge로 인하여 PGF₂ α 의 分泌가 增加되어 黃體를 退行시킴으로서 progesterone 水準이 낮아진다고 사료 된다.

2. 分娩 前後의 血中 20 α -OHP 水準 變化

分娩 前後의 血清內 20 α -OHP 水準 變化는 Fig. 2

에서 보는 바와 같이 妊娠 5일에는 1.25 \pm 0.21 ng/ml 水準이었으며, 分娩前 3일, 2일 및 1일에는 각각 1.32 \pm 0.23 ng/ml, 1.41 \pm 0.21 ng/ml 및 1.59 \pm 0.24 ng/ml으로 增加하였고, 分娩 直前에는 1.78 \pm 0.25 ng/ml으로 上昇하여 最高水準을 나타냈다.

分娩後 1일과 3일에는 0.31 \pm 0.03 ng/ml, 0.22 \pm 0.02 ng/ml으로 매우 낮은 水準이었으며, 分娩後 5일, 7일 및 9일에도 0.34 \pm 0.03 ng/ml, 0.31 \pm 0.03 ng/ml 및 0.37 \pm 0.04 ng/ml 水準으로 分娩後에는 대체적으로 낮은 水準이었다.

이와 같은 結果는 Bedford 등(1972)이 緬羊의 黃體期에 progesterone이 20 α -OHP로 變換율이 낮고 分娩 直前에는 上昇하여 最高値를 나타냈으며 分娩 15일까지는 낮다고 한 보고와, 友金 등(1976)은 흰쥐의 卵巢靜脈에 있어서 20 α -OHP 水準은 分娩時에 200 μ g/100ml이었으나 分娩後 5일까지 急減하여 15일까지는

50-100 μ g/100ml의 낮은水準이라고 한 보고와 대체로一致하는 경향이였다.

즉,分娩直後の血中 20 α -OHP水準은分娩前 5일부터 계속增加하여分娩直前に最高水準을 나타냈으며,分娩後는急減하여 매우 낮은水準이었는데, 이러한 원인은緬羊에서分娩直前に progesterone의前驅物質인 pregnenolone이 20 α -OHP로代謝되고(Henricks와 Mayer, 1977), 靑睪의機能黃體에 있어서는卵巢에存在하는 20 α -HSD의活性에 의해서黃體退行으로 20 α -OHP水準이增加하기 때문이라고하였다(Takahashi 등, 1978; Matsuda 등, 1990).

哺乳動物에서는卵巢, 精巢(Sato 등, 1972), 副腎(Matthijssen 등, 1964), 胎盤(Armstrong과 King, 1971) 등과 같은氣管에서 넓게分布되어 있는 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase(20 α -HSD)에 의해서 progesterone이生物學的으로不活性인 20 α -OHP로代謝되어妊娠末期에 20 α -OHP水準이 현저히增加한다고하였다(Wiest와 Forbes, 1964; Takahashi 등, 1978; Shiota와 Wiest, 1979; Saito 등, 1988; Matsuda 등, 1990).

또한 Matsuda 등(1990)은靑睪에서 20 α -OHP의分泌는 20 α -HSD에 의해서調節되는데 偽妊娠中期에 20 α -OHP의分泌는 prolactin의調節에 의하여抑制되지만 偽妊娠末期에는 prolactin의抑制作用을 받지 않으므로 20 α -HSD의活性增加로 20 α -OHP水準이增加된다고하였다.

이러한 결과를 종합하여 보면,本試驗의在來山羊에서도分娩直前に 20 α -OHP水準이最高가 되는 것은妊娠末期에卵巢에存在하는 20 α -HSD의活性增加로 인하여 progesterone이 20 α -OHP로代謝된結果로 思料된다.

IV. 摘要

本試驗은在來山羊에 있어서分娩前後의血中 progesterone과 20 α -OHP水準變化를測定하고자 經産의在來山羊 4頭를供試하였다.血液은分娩前 5, 3, 2, 1 및分娩當日과分娩後 1, 2, 3, 5, 7 및 9日 12:00에頸靜脈으로부터採取하였으며,血清內 progesterone과 20 α -OHP水準變化를RIA法으로

分析한結果는 다음과 같다.

分娩前後의 progesterone水準變化는急激한減少를하였는데分娩前 5일에 4.05 \pm 0.52 ng/ml水準이었으나,分娩前 1일에는 2.24 \pm 0.38 ng/ml으로減少하였고,分娩日에는 0.75 \pm 0.09 ng/ml으로急減少하였으며,分娩後 1일에는 0.49 \pm 0.05 ng/ml으로最低水準이었고分娩後 9일까지는 낮은水準으로維持하였다.

分娩前後의 20 α -OHP水準變化는分娩前 5일에는 1.25 \pm 0.21 ng/ml水準이었으나,分娩前 3 및 1일에는 각각 1.32 \pm 0.23 ng/ml 및 1.59 \pm 0.24 ng/ml으로增加하였고,分娩直前에는 1.78 \pm 0.25 ng/ml으로最高水準이었다.分娩後 1일에는 0.31 \pm 0.03 ng/ml으로 현저히減少하여分娩後 9일까지 낮은水準이었다.分娩前に progesterone 수준이 현저히減少하는時期에도 20 α -OHP는減少하지 않고分娩直前に最高水準이었다.

以上の結果로 보아,在來山羊에 있어서도 progesterone을生物學的으로不活性인 20 α -OHP로代謝시키는 20 α -HSD가卵巢의黃體細胞에서活性이 있는 것으로 思料된다.

V. 引用文獻

1. Armstrong, D.T. and E.R. King. 1971. Uterine progesterone metabolism and progesterone response: Effects of estrogens and prolactin. *Endocrinology*, 89: 191-197.
2. Bedford, C.A., F.A. Harrison and R.B. Heap. 1972. The metabolic clearance rate and production rate of progesterone and the conversion of progesterone to 20 α -hydroxy-pregn-4-en-3-one in the sheep. *J. Endocr.* 55: 105-118.
3. Currie, W.B. 1974. Regression of the corpus luteum of pregnancy and initiation of labour in goats. *J. Reprod. Fert.* 36: 481-482.
4. Currie, W.B. and G.D. Thorburn. 1973. Induction of premature parturition in goats by prostaglandin F₂ α administration into the

- uterine vein. Prostaglandins. 4 : 201-204.
5. Currie, W.B. and G.D. Thorburn. 1977. Parturition in goats: studies on the interactions between the foetus, placenta, prostaglandin F and progesterone before parturition, at term or at parturition induced prematurely by corticotrophin infusion of the foetus. *J. Endocr.*, 73 : 263-278.
 6. Currie, W.B., M.S.F. Wong, R.I. Cox and G.D. Thorburn. 1973. Spontaneous and dexamethasone-induced parturition in the sheep and goat: changes in the concentration of maternal prostaglandin F and foetal oestrogen sulphate. *Memories of the Society of Endocrinology*. 20 : 95-118.
 7. Henricks, D.M. and D.T. Mayer. 1977. In reproduction in domestic animals(H.H. Cole and P.T. Cupps. eds.) 3rd ed. Academic Press, pp.79-117.
 8. Irving, G., D.E. Jones and A. Knifton. 1972. Progesterone concentration in the peripheral plasma of pregnant goats. *J. Endocr.* 53 : 447-452.
 9. Liggins, G.C., R.J. Fairclough, S.A. Grieves. J.Z. Kendall and B.S. Konx. 1973. The mechanisms of initiation of parturition in the ewe. *Recent Progress in Hormone Research*. 29 : 111-159.
 10. Matsuda, J., K. Noda, K. Shiota and M. Takahashi. 1990. Participation of ovarian 20α -hydroxysteroid dehydrogenase in luteotrophic and luteolytic processes during rat pseudopregnancy. *J. Reprod. Fert.*, 88 : 467-474.
 - 11 Matsuyama, S., M. Ohta and M. Takahashi. 1987. The critical period in which splenectomy causes functional disorder of the ovary in adult rats. *Endocr. Japan*. 34 : 849-855.
 12. Matthijssen, C., J.E. Mandel and P.T. Seiden. 1964. Separation of purified adrenal 20α -hydroxysteroid dehydrogenase. *Biochim. Biophys. Acta*. 89 : 363-364.
 13. Saito, S., S. Matuyama, K. Shito and M. Takahashi. 1988. Involvement of splenocytes in the control of corpus luteum function in the rat. *Endocrinol. Japan*. 35 : 891-898.
 14. Sato, F., Y. Takagi and M. Shikita. 1972. 20α -hydroxysteroid dehydrogenase of porcine testes. *J. Biol. Chem.*, 247 : 815-823.
 15. Shiota, K. and W.G. Wiest. 1979. On the mechanism of prolactin stimulation of steroidogenesis: In Chaning. C.P., J. Marsh and M.A. Sadler(eds) : "Ovarian follicular and corpus luteum function": Advance in experimental medicine and biology. Plenum Publishing Corp., 112 : 169-178.
 16. Takahashi, M., N. Murakami, H. Naito and Y. Suzuki. 1980. Blockade of pseudo-pregnancy in the rat by treatment with antiprogestosterone serum. *Biol. Reprod.*, 22 : 423-429.
 17. Takahashi, M., K. Shiota and Y. Suzuki. 1978. Preprogramming mechanism of luteinizing hormone in the determination of the lifespan of the rat corpus luteum. *Endocrinology*, 102 : 494-498.
 18. Thorburn, G.D. and W. Schneider. 1972. The progesterone concentration in the plasma of the goat during the oestrus cycle and pregnancy. *J. Endocr.*, 52 : 23-36.
 19. Thorburn, G.D., H.N. Dianne, J.M. Bassett, D.A. Shutt and R.I. Cox. 1972. Parturition in the goat and sheep: changes in corticosteroids, progesterone, oestrogens and prostaglandin F. *J. Reprod. Fert. (Suppl.)*, 16 : 61-84.
 20. Umo, I., R.J. Fitzpattick and W.R.

- Ward. 1976. Parturition in goat: plasma concentrations of prostaglandin F and steroid hormones and uterine activity during late pregnancy and parturition. *J. Endocr.*, 68: 383-389.
21. Wiest, W.G. and W.R. Kidwell. 1969. The regulation of progesterone secretion by ovarian dehydrogenases. In: *The Gonads*, edited by K.W. McKerns. Amsterdam: North-Holland. pp.295-325.
22. Wiest, W.G. and T.R. Forbes. 1964. Failure of 20α -hydroxy- Δ^4 -pregen-3-one and 20β -hydroxy- Δ^4 -pregene-3-one to maintain pregnancy in ovariectomized mice. *Endocrinology*. 74: 149-152.
23. 友金 弘, 太田克明, 構山 昭. 1976. ラットの gestagen 分泌. III. 泌乳期の gestagen 分泌. *家畜繁殖誌*. 21(別輯 14號): xxxii-xxxix.
24. 丁永浩, 鄭英彩, 金昌根, 李根常. 1984. 韓國在來 牝山羊의 繁殖過程에 따른 血清內 progesterone 과 estradiol- 17β 水準 變化에 關한 研究. *韓國家畜繁殖研究會誌*. 8(2): 100-109.
25. 崔尙龍, 朴忠生, 宋又準, 金周憲. 1986. 韓國在來 山羊의 分娩 및 分娩前後의 血中 steroid hormone 濃度에 關한 研究. *韓畜誌*. 28: 400-406.