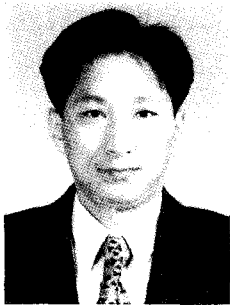


동물학논단

호르몬에 의한 난소여포의 성장 조절



전 상 영

1975~1982 건국대학교 축산대학
 1984~1986 이스라엘 히브루대학교 (농학석사, 생리학)
 1989~1993 이스라엘 와이즈만연구소 (의학박사, 생식학)
 1993~1996 Stanford Medical School 박사후연구원
 1996~현재 전남대학교 호르몬연구센터 연구전임교수

1. 서 론

포유류 난자는 수컷의 체세포에 둘러싸인 체 성장과 성숙을 이루게 된다. 즉 협막세포(theca)와 과립막세포(granulosa)가 공모양으로 중앙의 난자를 둘러싸고 있으며, 이 조직단위를 여포(follicle)라 부른다. 여포의 성장은 난자와 체세포 사이의 긴밀한 상호작용 하에 이루어지며, 난자와 체세포 중 하나에 이상이 생기면 그 여포는 더이상 성장하지 못하고 퇴화하게 된다. 난소여포는 그 성장 단계에 따라 *primordial*, *preantral*, *early antral* 및 *preovulatory* 여포로 구분되며, 이에 따른 주요 현상에는 여포성장 개시 (*initiation*), 성장 (*growth*), 선발(*selection*), 배란 (*ovulation*) 및 황체형성 (*luteinization*)의 과정이 포함된다(그림 1). 이러한 여포 성장은 생식소자극호르몬인 LH와 FSH 뿐만 아니라 각종 난소국부호르몬에 의해 통합적으로 정교하게 조절된다(1). 일반적으로 난소국부호르몬들은 여포성장 과정에서 특이한 시점에 발현되어 특수한 기능을 수행함으로써 수정 능력을 지닌 난자를 생산하기 위한 필수적인 역할들을 수행하는 것으로 알려져 있다(도표 1). 본 논문에서는

여포성장 단계에 따라 필수적인 호르몬들의 작용과 기능 및 그 특성을 소개하고 임상적 측면에서의 중요성을 논의하는 것으로 결말을 맺고자 한다.

2. 여포성장 개시(*initiation*)

포유류의 난소는 태어날 때 수십 만개의 원시여포(*primordial follicle*)를 비축하고 있다. 난자의 핵성숙이 제 1 감수분열 전기에 머물러 있으며 한 겹의 과립막세포로 둘러싸인 여포를 원시여포라 부른다. 이 여포는 성장을 멈춘 상태(*non-growing pool*)이며, 생식기간 동안에 서서히 극히 일부분이 활성화되어 성장단계(*growing pool*)로 넘어가며, 이러한 현상을 여포성장 개시(*initiation*)라 한다. 일단 성장단계로 진입한 여포는 자발적으로 성장을 멈추지 못하고 발달하다가 *apoptosis*에 의해 퇴화되거나 혹은 선발되어 배란이 된다. 성장을 개시하는 신호나 인자가 무엇인지, 왜 일부의 원시여포만이 선택되어 성장의 개시단계에 들어가는지 등의 의문은 여포성장 과정에서 가장 풀지 못할 미궁의 숙제로 남아 있다.

개시 신호를 유발하는 가능성을 지닌 인자로 *c-kit*를 들 수 있다. Tyrosine kinase 수용체인 *c-kit*는 원시여포의 난자 세포막에서 발현되며 이의 ligand인 stem cell factor(SCF)는 난자를 둘러싼 과립막세포에 존재한다. 흥미로운 사실은 생쥐에서 *c-kit*나 SCF가 돌연변이를 일으키면 이들은 생식 능력을 잃을 뿐 아니라 단지 원시여포들만이 존재하는 난소를 갖는다는 점이다(2). 또한, 난자 체외배양 실험에서 *c-kit*가 난자성장을 촉진시킨다는 사실이 밝혀졌다(3). 이러한 보고들을 종합해 보면, 난자와 과립막세포의 상호작용이 여포의 성장개시에 중요하며, *c-kit*/SCF가 그 신호인자일 것으로 추정된다. 아울러 최근에는 Wilms' tumor protein(WT1)이라는 전사인자가 미성숙여포에만 강하게 발현되며, 여포성장에 필수적인 FSH 수용

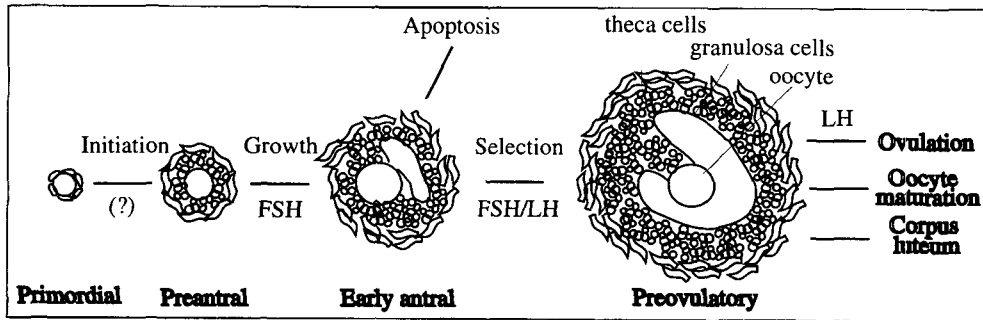


Fig. 1. Schematic of follicular development, depicting the stage-dependent events of initiation, growth, selection, and ovulation.

Table 1. Developmentally-regulated expression of ovarian follicular factors.

Initiation	Growth	Selection	Follicle Rupture	Oocyte Maturation	Luteinization
c-kit/SCF WT1	IGF-I TGF-β activin MIS NGF	SF-1 IGF-I EGF bFGF PACAP (?) AgII	PGS-2 II-1 NGF tPA collagenase PAF	hypoxanthine PDE3B MIS EGF GnRH bFGF	PACAP (?) prolactin R progesterone R α ₂ M P450 _{scc} P450 _{arom}

체와 inhibin-α의 전사를 억제함이 보고된(4) 점으로 미루어 c-kit와 함께 WT1이 여포의 성장개시에 관여할 것으로 보여진다.

여포성장 개시의 작용기작을 밝히는 연구는 실험방법상 여러 어려운 점을 안고있다. 그중 하나가 원시여포는 직경이 10 μm에 불과하며 생후 일일체의 원시여포만을 지닌 난소는 그 크기가 800~1000 μm에 불과하다는 점이다. 원시여포를 체외 배양하여 인위적으로 여포성장개시를 조절할 수 있는 실험모델의 고안 및 개시의 여부를 손쉽게 관측할 수 있는 실험방법을 찾아내는 것은 그 작용기작을 규명하는데 큰 공헌을 할 것으로 사료된다.

3. 여포성장(growth or recruitment)

성장단계로 넘어간 원시여포는 난자의 성장 및 체세포의 증식, 분화를 계속하다가 난자와 과립막세포 사이에 액체가 채워지게 되는(여포액 - antrum) early antral 여포로 자라게 된다. 여포액을 형성하는 단계는 생리적으로 중요한 의미를 지닌

다. 즉, 세포의 대사가 활발해지고 생화학적 변화가 급격히 일어나며 각종 호르몬 수용체의 발현이 촉진되어 호르몬에 대한 민감도가 높아지며, 그 결과 새로운 난소국부호르몬들이 생성된다. 특히 과립막세포에 FSH 수용체의 수가 급증하여 뇌하수체전엽에서 분비되는 FSH에 대한 민감도가 증가하면서 puberty에 접어들게 된다.

여포액 형성에 대한 작용기작은 아직 정확히 밝혀지지 않았지만, 과립막세포를 체외배양하면서 TGFβ family의 성장인자인 activin을 처리하면 과립막세포가 재배열되면서 여포액과 유사한 공간을 형성하는 것으로 미루어 activin이 여포액 형성에 중요한 인자일 것으로 추정된다(5). IGF-I knockout mice에서는 여포액의 형성이 일어나지 못함에 따라 early antral 여포가 생기지 못하고 또한 FSH 수용체 발현도 억제되는 것으로 미루어 IGF-I도 여포액 형성에 참여할 것으로 추정된다(6). 이러한 사실로 미루어 볼 때, 원시여포는 c-kit/SCF의 신호로 성장이 개시되면서 동시에 난자에서 미지의 촉진인자를 분비하여 과립막세포에 작용하게 된다. 과립막세포는 난자의 신호에

Table 2. Follicle survival and death factors.

Survival factors	Death factors
LH/FSH	TNF- α
IGF-I	androgen
GH	GnRH
EGF	Il-6
bFGF	IGFBP
activin	AgII
II-1/NO/cGMP	folliclestatin
PACAP	

의해 IGF-I이나 activin 혹은 다른 미지 인자의 생성을 낳아 여포가 early antral 단계로 성장하게 된다는 가정을 세울 수 있을 것이다. 미지 인자의 동정 및 IGF-I과 activin의 작용기작은 앞으로 규명해야 할 중요한 과제이다.

4. 여포선발(selection)

여포액을 형성하기 시작한 early antral 여포는 과립막세포의 FSH 수용체 신호전달이 촉진되면서 PKA가 활성화되어 일련의 유전자(CRE-regulated)발현이 유도된다. 그 결과 각종 성장인자와 펩타이드 호르몬에 대한 민감도가 높아지면서 협막세포와 과립막세포의 증식과 스테로이드 호르몬 합성이 활발해져서 배란에 적합한 여포로 자라게 된다. 더 나아가, 과립막세포에도 LH 수용체가 생성되면서 여포가 LH와 FSH의 조절을 받게 되는 것이 여포선발 과정의 특징 중 하나이다. 특기할 만한 사실은 early antral 여포가 배란여포로 선발되는 과정에서 대부분의 여포는 apoptosis에 의해 소멸되고 단지 극소수만이 배란에 이르게 된다는 점이다.

여포사망(follicle apoptosis)에 대한 조절기작은 최근 들어 활발해진 연구분야의 하나이다. 여포는 성장을 위해서 LH/FSH 뿐만 아니라 각종 난소국부호르몬을 필요로 한다(도표 2). 여포는 성장하면서 특이한 시점에 특이한 호르몬들의 상호작용을 필요로 하는데, 이러한 조건을 갖추지 못한 여포는 사망인자가 발현되어 제거되는 것으로 알려져 있다(7). 예를 들면, early antral 여포가 배

란여포로 선발되는 초기과정에는 IGF-I의 신호를 필요로 하는데, IGF-I생성이나 IGF-I수용체의 발현에 이상이 생겨 IGF-I에 대한 민감도가 정상인 여포는 TNF- α 등 사망인자가 즉시 활성화되어 선발이 되지 않는 것이다. 호르몬에 의한 여포사망 조절연구는 상당한 진척을 이룬 반면, 세포내 작용기작에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 최근에 스탠포드 의대 Dr. Hsueh 실험실에서 여포 사망시 bcl-2나 ICE와 상호작용하는 난소여포사망에 특이한 유전자들을 클로닝하여 그 작용기작을 분석 중에 있다(personal communication).

5. 배란(ovulation)

배란여포는 매우 분화된 세포로 이루어져 있어 호르몬 자극에 대해 극히 민감하며 스테로이드 호르몬의 생성도 가장 활발한 시기의 여포이다. 선발된 배란여포가 LH surge의 자극을 받으면 배란이 유도되는데, 배란과정에서는 여포벽파열(follicle rupture), 난자성숙(oocyte maturation), 및 황체형성(luteinization) 등 3가지의 독립된 현상이 일어나며, 각 현상에는 특이한 난소국부호르몬들이 관여한다. 예를 들면, 프로스타그란딘 E₂/F₂는 난포벽파열에만 중요한 인자이며 난자성숙이나 황체형성에는 영향을 미치지 않는 난소국부호르몬으로 알려져 있다.

여포벽파열에 대한 기작은 협막세포에 존재하는 extracellular matrix(ECM) 분해에 초점을 두고 연구되어져 왔다(8). 특히 ECM의 분해에 관여하는 tPA와 collagenase는 LH에 의해 여포벽파열에 필요한 적절한 시기에만 국한하여 활성화되는 것으로 알려져 있다. 또한 이들의 억제물질인 PAI나 TIMP의 활성화도 tPA와 collagenase의 농도에 비례하여 섬세하고 세포특이적인 유형으로 이루어짐으로써 배란에 필요한 여포만을 선택적으로 골라 그 벽을 파열시키는 것으로 보인다. 성장중에 있는 미성숙여포에는 PAI와 TIMP가 tPA와 collagenase보다 많이 생성됨으로써 파열에서 벗어나 다음 성주기에 필요한 배란여포로 남게 된다.

난자성숙에 대한 조절기작은 비교적 잘 밝혀져 있다. 난자를 둘러싼 과립막세포인 cumulus의 gap junction이 끊어지면서 과립막세포가 cAMP를 난

자로 공급하지 못하고 또한 난자 자체에서 cAMP 형성이 억제되면 난자가 성숙하게 된다. 1970년대에 과립막세포에서 분비되는 OMI (oocyte maturation inhibitor)의 존재를 발표한 이래 여러 실험실에서 OMI의 정제와 그 유전자의 클로닝에 연구 노력을 기울여왔으나 뚜렷한 단서를 찾지 못하고 있다. 현재에는 OMI의 존재에 대한 부정적 시각이 대세를 이루면서, 과립막세포에서 분비되는 purine계 hypoxanthine이 난자성숙을 조절하는 핵심물질이라는 주장이 더 많은 지지를 받고 있다. Phosphodiesterase (PDE) 억제물질인 hypoxanthine의 존재와 함께 최근에는 PDE3B가 난자에 특이적으로 발현되며 직접적으로 난자성숙을 조절한다는 보고가 주목을 받고 있다(9). 포유류에서 스테로이드 호르몬은 난자성숙과 무관하다는 것이 정설이었지만, 1995년도 Nature지(10)에 MAS (meiosis activating substance)라 명명된 스테로이드계 호르몬이 포유류의 난자성숙을 촉진하며 그 수용체가 난자세포막에 존재함이 보고되면서 MAS 수용체의 특성 및 클로닝에 연구가 집중되어 있다.

여포벽이 파열되어 성숙된 난자가 나팔관으로 방출되면 남아있는 과립막세포와 협막세포는 기존의 여포세포와는 성격이 전혀 다른 황체세포로 변형된다. 프로게스테론 및 프로락틴 수용체 발현의 촉진이 황체형성에 필요한 요인이 보고되었지만, 황체형성 개시의 신호를 주는 물질이 무엇인지는 앞으로 밝혀야 할 과제로 남아있다. FSH에 의해 증식이 계속되던 과립막세포는 LH 자극을 받으면 증식이 중단되고 분화를 시작하게 되는데 이 시기가 황체형성의 개시를 알리는 시기로 추정된다. 따라서, LH에 의해 유도되는 여러 물질들 중 세포를 증식에서 분화로 촉진시키는 물질이 황체형성 개시의 신호물질일 것이다. 그 후보자 중의 하나로 PACAP (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide)을 들 수 있다. PACAP은 태아신경세포의 세포주기를 중단시켜 다른 유형의 세포로 분화시키는 능력이 있음이 보고되었다(11). 난소에서는 PACAP이 LH에 의해 과립막세포에 그 발현이 일시적으로 유도되었다가 사라짐이 확인되었다(unpublished results). 황체형성 개시의 요인 규명과 함께, 과립막세포가 황

체화되는 과정 동안에 유도되는 특이한 세포막 antigen들의 규명에 관한 연구도 가치 있고 흥미로운 과제가 될 것이다.

6. 임상적 고찰

여포성장의 작용기작에 대한 기초연구는 여성 생식계통 질병의 임상진단 및 치료 방법을 모색하는 열쇠가 된다. 과학의 비약적인 발전에도 불구하고 많은 여성들이 polycystic ovarian syndrome, premature ovarian failure 등 생식기 질병에 시달리고 있으며, 폐경기에 이른 여성의 내분비적 부작용도 심각한 문제로 남아있다. 생식질환으로 인한 불임환자나 혹은 암치료를 위해 chemotherapy를 받을 환자의 난소에서 미성숙여포를 미리 채취하여 냉동보관하는 “난자은행”의 탄생도 위의 문제점을 극복해 보려는 시도 중의 하나이다. 그러나, 냉동보관했던 난자를 환자가 필요로 할 때 체외배양을 통하여 수정능력을 지닌 난자로까지 성장시키는 작업은 그다지 성공을 거두지 못하고 있는 실정이다. 임상실험의 문제점을 들며 해결 방법을 문의해오는 경우가 있는데 대답은 솔직히 “모르겠습니다”라고 밖에 할 수 없다. 기초 작용기작이 규명되지 않았는데 어떻게 해결 방법을 찾아낼 수 있을까?

현재 시판되고 있는 대부분의 복용피임약은 스테로이드 복합체로 부작용을 동반하고 있다. 혈액응고 등 면역계통의 부작용과 함께 전체 생리주기(멘스) 영향을 미치는 것도 하나의 단점이다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 남성피임약 개발이 시도되어 왔으며, 또한 난자성숙의 기작을 토대로 배란될 여포의 난자만 선택적으로 골라 그 성숙을 억제함으로써 피임을 유도하는 방법이 강구되고 있다. 한 예로, 본문에서 언급한 MAS 수용체를 클로닝한 후 이에 대한 antagonist 합성과 PDE3B의 기작연구를 들 수 있다. 이와 같은 신약품 개발에 대한 응용성과 함께 여포성장의 작용기작 연구는 가축의 생산성 증진에도 긴요하게 활용될 수 있다. 일례로, 아란성 쌍생아를 유전적으로 물려받는 가계가 있다. 이 가계 여성들의 내분비학적 공통점은 FSH와 에스트로젠이 일반 여성보다 이른 시기에 많은 양이 분비되어, 그

결과 성장하는 여포의 수가 많다는 것이다. FSH, FSH 수용체, inhibin- α 등의 유전자 돌연변이를 검색해 보았으나 이상이 없었으며 현재까지 그 원인을 규명하지 못하고 있다. 이에 대한 작용기작을 규명하면, 인위적으로 단태성 가축의 다태아 분만을 유도하여 생산성 증진에 보탬이 되리라 생각한다. 현재 생식학 분야의 연구는 타 분야에 비해 그다지 활발한 편이 아니다. 1970년대 록펠러 재단에서 큰 규모의 연구비를 생식학 분야에 투자하여 많은 사실들이 발견되었으며, 그 결과 새로운 복용피임약 개발의 쾌거를 이루게 되었다. 그 후 생식학 분야에 대한 관심이 멀어지면서 연구비 규모와 함께 이 분야 연구자들의 수도 급격히 감소하여왔다. 그러나, 한가지 자명한 사실은 인류가 생존하는 한 생식은 끊임없이 이루어지게 마련이고 따라서 생식학 분야의 지속적인 연구가 필수 불가결하다는 것이다.

참 고 문 헌

1. Richards JS 1994 Hormonal control of gene expression in the ovary. *Ender Rev* 15:725.
2. Bedell MA, Brannan CI, Evans EP, Copeland N G, Jenkins NA, Donovan PJ 1995 DNA rearrangements located over 100 kb 5' of the Steel (sl)-coding region in Steel-panda and Steel-contrasted mice deregulate Sl expression and cause female sterility by disrupting ovarian follicle development. *Genes Dev* 9:455.
3. Packer AI, Hsu YC, Besmer P, Bachvarova RF 1994 The ligand of the c-kit receptor promotes oocyte growth. *Dev Biol* 161:194.
4. usman DE, Hsueh AJW 1995 Wilms' tumor protein WT1 as an ovarian transcription factor: decreases in expression during follicle development and repression of inhibin- α gene promoter. *Mol Endocrinol* 9:1356.
5. Li R, Phillips DM, Mather JP 1995 Activin promotes ovarian follicle development in vitro. *Endocrinology* 136:849.
6. Zhou J, Kumar TR, Matzuk MM, Bondy C 1997 Insulin-like growth factor I regulates gonadotropin responsiveness in the murine ovary. *Mol Endocrinol* 11:1924.
7. Chun S-Y, Eisenhauer KM, Minami S, Hsueh AJW 1996 Growth factors in ovarian follicle atresia. *Sem Reprod Endocrinol* 14:197.
8. Tsafri A, Chun S-Y 1996 Ovulation. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z (eds). *Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology*. Lippincott-Raven Press, Philadelphia, Vol 1:pp235-249.
9. Tsafri A, Chun S-Y, Zhang R, Hsueh AJW, Conti M 1996 Oocyte maturation involves compartmentalization and opposing changes of cAMP levels in follicular somatic and germ cells: studies using selective phosphodiesterase inhibitors. *Dev Biol* 178:393.
10. Byskov AG, Andersen CY, Nordholm L, Thogersen H, Guoliang X, Wassmann O, Andersen JV, Guddal E, Roed T 1995 Chemical structure of sterols that activate oocyte meiosis. *Nature* 374:559.
11. Lu N, DiCicco-Bloom E 1997 Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide is an autocrine inhibitor of mitosis in cultured cortical precursor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:3357.