

난포 성장 및 배란 Follicular Maturation and Ovulation

전남대 호르몬연구센터

전 상 영

I. 서 론

포유류 난소의 난포 (follicle)는 생식세포인 난자 (oocyte)를 둘러싸고 있는 체세포, 즉 과립막세포 (granulosa cells)와 험막세포 (theca cells)로 구성된 조직 단위를 지칭한다. 난포의 성장은 난자와 체세포의 긴밀한 상호작용 하에 조절되며 둘 중 하나라도 이상이 생기면 그 난포는 퇴화되어 죽게 된다. 난포는 성장 단계에 따라 원시난포 (primordial follicle), 미성숙난포 (immature follicle) 및 배란전난포 (preovulatory follicle)로 구분할 수 있으며, 성장 단계 중 일어나는 중요한 현상에는 난포 성장 개시 (initiation), 모집 (recruitment), 선발 (selection) 및 배란 (ovulation) 등이 포함된다 (Figure 1). 난포 성장은 뇌하수체에서 분비되는 LH와 FSH 뿐만 아니라 난포에서 분비되는 각종 난소국부호르몬들에 의해 통합적으로 정교하게 조절된다 (Richards, 1994). 난소국부호르몬들은 일반적으로 난포 성장 과정에서 특이한 시기에만 발현되어 특정한 기능을 수행함으로써 난포가 배란을 성공적으로 이룰 수 있도록 도와준다 (Table 1).

II. 미성숙난포 성장

1. 개시 (initiation)

포유류 난소는 수십 혹은 수백 만개의 원시난포를 태어날 때 지니고 있다. 원시난포는 성장을 멈춘 상태의 난포이며, 생식 기간 동안 지속적으로 일부분의 원시난포가 활성화되어 성장 단계의 난포인 미성숙난포로 발달하며, 이를 난포 성장 개시라 부른다. 원시난포의 성장을 개시하는 인자와 작용 기전은 알려져 있지 않다.

Table 1. Developmentally-regulated expression of ovarian follicular factors

Initiation	Recruitment	Selection	Follicle Rupture	Oocyte Maturation	Luteinization
c-kit/SCF	GDF-9	SF-1	PACAP	hypoxanthine	PACAP (?)
WT1 (?)	IGF-I	IGF-I	NGFI-B	PDE3B	prolactin R
	TGF-β	EGF	P11	MIS	progesterone R
	activin	bFGF	PGS-2	EGF	α ₂ M
	MIS	PACAP (?)	tPA	GnRH	P450scc
	NGF	AgII	collagenase	bFGF	P450arom

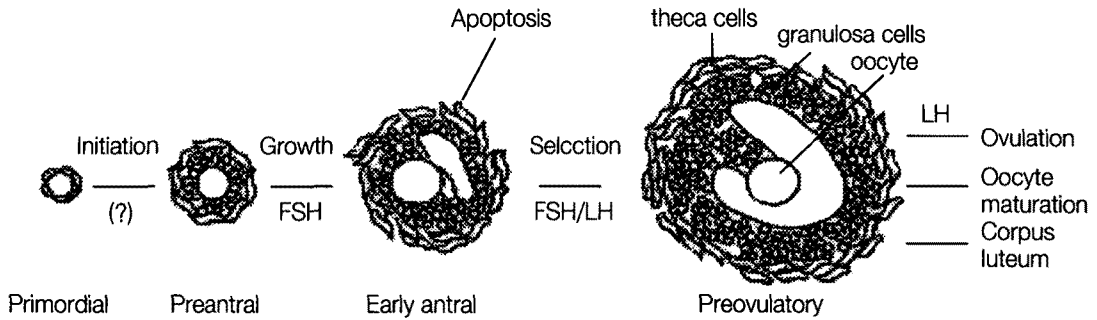


Figure 1. Schematic of follicular development, depicting the stage-dependent events of initiation, growth, selection and ovulation.

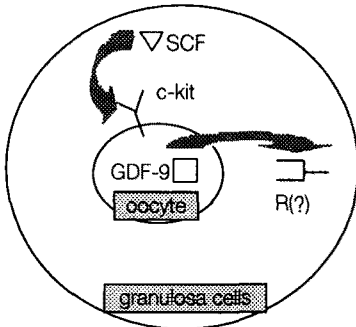


Figure 2. Schematic diagram showing the communication between oocyte and granulosa cells. SCF in granulosa cells binds its receptor c-kit present in oocyte surface. On the other hand, GDF-9 secreted from oocyte may interact with its unknown receptor found in granulosa cells.

개시 신호를 알리는 가능성을 지닌 인자로 SCF (stem cell factor)/c-kit가 알려져 있다. Tyrosine kinase 수용체인 c-kit는 난자 세포막에 존재하며 이의 ligand인 SCF는 과립막세포에 존재한다. c-kit나 SCF가 자연돌연변이가 일어난 생쥐는 생식 능력이 없으며, 원시난포만이 난소에 존재함이 보고되었다 (Bedell et al., 1995). 이 사실은 난자와 과립막세포의 상호작용이 난포 성장 개시에 중요하며, SCF/c-kit가 그 신호 인자일 것이라는 추정을 뒷받침해 준다.

2. 난포액 형성 (follicular antrum formation)

원시난포에서 성장 단계로 넘어간 미성숙난포는 과립막세포가 8~10겹으로 증식할 때쯤 난자와 과립막세포 사이에 액체가 형성된다. 난포액을 형성하는 단계는 생리적으로 중요한 의미를 지닌다. 즉, 세포 대사와 증식이 활발해지고 생화학적 변화가 급격히 일어나며 각종 난소국부호르몬과 수용체의 발현이 촉진되어 그 민감도가 고조되어 사춘기에 접어들 준비를 하게 된다.

난포액 형성에 관한 작용 기전은 정확히 밝혀지지 않았지만, 최근 GDF-9 (growth differentiation factor-9)에 대한 연구 결과가 주목을 받고 있다. GDF-9은 TGF-beta 계열의 성장인자로서 난자에서 분비되는 최초의 성장인자이며, 원시난포의 성장 및 난포액 형성에 중요한 기능을 수행할 것이라는 여러 연구가 보고되었다 (McGrath et al., 1995). GDF-9이 결핍된 형질전환생쥐에서 난포는 한 겹의 과립막세포로 둘러싸인 초기 미성숙난포에서 성장을 멈춘 사실이 보고되었다 (Dong et al., 1996). 이러한 사실은 Figure 2에서 볼 수 있듯이 난자와 체세포, 특히 과립막세포와 끊임없는 신호 교환이 정상적인 난포 성장에 필수적이라는 가설을 뒷받침해 주고 있다. Figure 2의 예를 보면, 과립막세포에서는 SCF를 난자에게 주고 난자는 GDF-9을 과립막세포에게 공급함으로써 상호보완적인 성장을 지속할 수 있다는 가설이다. 과립막세포에 존재할 것이라는 GDF-9 수용체의 탐

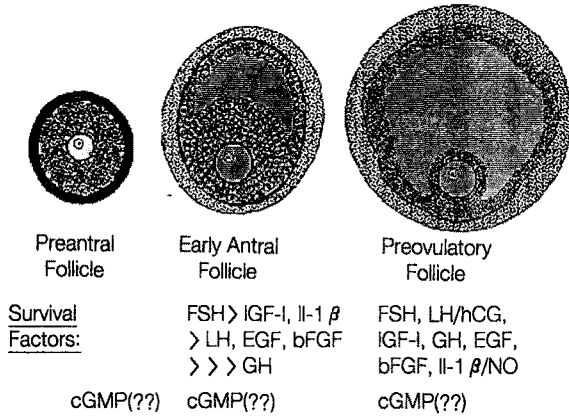


Figure 3. Stage-dependent hormonal regulation of apoptosis during follicular development. The redundant pathways regulate the survival of preantral, early antral and preovulatory follicles. The numbers of factors required for the follicle survival increase with maturation of follicles.

색에 현재 연구의 초점을 두고 있다.

3. 난포 선발과 고사 (selection vs. apoptosis)

난포액을 형성하기 시작한 난포는 과립막세포에 FSH 수용체 발현이 급증하면서 일련의 유전자들이 유도된다. 그 결과 각종 성장인자와 펩타이드 호르몬에 대한 민감도가 높아지면서 배란에 적합한 난포로 성장하게 된다. 또한, 과립막세포에도 LH 수용체가 생성되면서 난포가 동시에 LH와 FSH의 조절을 받게 되는 것이 난포 선발 과정의 특징 중 하나이다. 특기할만한 사실은 배란전난포로 선발되는 과정에서 대부분의 난포는 고사 (apoptosis)되고 극소수만이 선발되어 배란난포에 이르게 된다는 점이다. 난포 선발 기전은 전혀 규명되어

있지 않은 연구 분야 중의 하나이다.

난포고사에 대한 연구는 최근 들어 활발히 진행 중이다. 난포는 성장하면서 특이한 시점에 특정한 호르몬들의 상호작용을 필요로 하는데, 이러한 조건을 갖추지 못한 난포는 사망인자가 발생되어 제거되는 것으로 알려져 있다 (Chun et al., 1996). 예를 들면 배란난포로 선발되는 초기 과정에는 IGF-I을 필요로 하는데, 이상이 생겨 IGF-I에 대한 민감도가 정상 이하인 난포는 TNF-alpha 등 사망인자가 활성화되어 그 난포는 선발되지 않고 죽게 된다 (Figure 3). Bcl-2나 caspases 등 세포 내 작용 기전에 대한 연구는 미흡한 실정이며 현재 여러 실험실에서 작용 기전 분석에 노력을 경주하고 있다.

III. 배란 (ovulation)

1. 난포벽파열 기전

배란이라 함은 난자를 둘러싸고 있는 난포의 세포층이 분해, 파열되어 난자가 나팔관으로 들어감으로써 수정을 위해 준비하는 과정이다. 배란은 생체 내에서 생리적으로 조직이 성주기에 따라 파열되었다가 재조합하는 유일무이한 현상이다. 선발된 배란전난포가 LH surge의 자극을 받으면 배란이 유도되는데, 배란 과정에는 난포벽파열 (follicle rupture), 난자 성숙 및 황체 형성 등 3가지의 독립된 현상이 일어나며, 각 현상에는 특이한 호르몬이 관여한다. 일반적으로 배란이라 함은 난포벽파열을 지칭한다. 난포벽파열은 각종 난소국부호르몬들이 마치 오케스트라 연주단처럼 매우 조화된 상호작용 하에 이루어지며, 타 조직에는 영향을 미치지 않고 배란을 통합적으로 상위에서 조절하는 인자를 발굴하려는 연구가 진행 중이다.

난포벽파열에 대한 기전은 협막세포에 존재하는 collagen 분해에 초점을 두고 연구되고 있다 (Tsafirri and Chun, 1996). 특히 collagen 분해에 관여하는 단백질분해효소인 tPA와 collagenase는 배

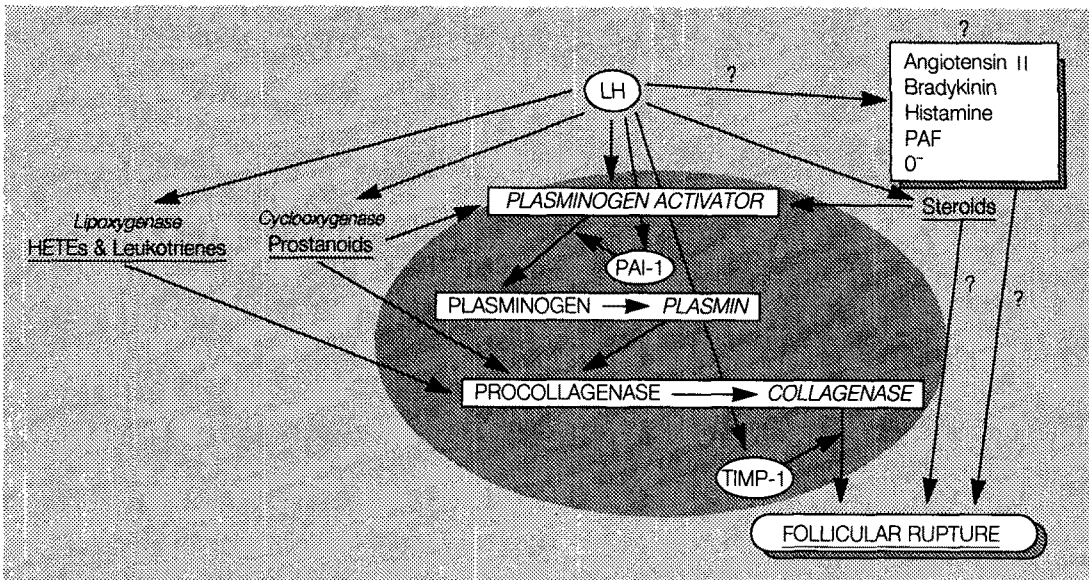


Figure 4. A simplified scheme of some of factors involved in follicle rupture during ovulation. The role of a proteolytic cascade, including local regulators of proteinases, as well as eicosanoids is emphasized. Active enzymes are shown in italics.

란 과정 중 필요한 시기에만 국한되어 활성화되는 것으로 알려져 있다 (Figure 4). 또한 이들의 억제물질인 PAI나 TIMP의 활성화도 tPA와 collagenase의 농도에 비례하여 섬세하고 세포특이적인 유형으로 이루어짐으로써 난포벽파열에 필요한 난포만 선택적으로 골라 그 벽을 분해시키는 것으로 보인다.

2. 새로운 난포벽파열 조절인자

난포벽파열을 조절하는 대표적 인자로 프로세스테론 수용체와 프로스테그란딘 합성효소를 들 수 있다. 프로세스테론 수용체가 결핍된 형질전환생쥐는 LH surge에 의한 난포벽파열이 일어나지 않아 불임임이 확인되었다 (Lydon et al., 1995). 난포벽파열 과정 중 특이한 시기에 일시적으로 발현되는 프로스테그란딘 합성효소도 LH에 의한 배란 조절에 중요한 인자임이 보고되었다 (Wong et al., 1989). 최근 연구 동향 추세는 오케스트라 연주단의 지휘자처럼 난포벽파열을 상위에서 통합적으로 조절하는 새로운 인자를 규명하는 작업에 연구의 초점이 맞추어져 있으며, 본 실험실에서 최근 발견한 난포벽파열을 조절할 가능성을 지닌 인자를 소개하면 다음과 같다.

1) PACAP (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide)

PACAP은 1992년 양의 시상하부에서 최초로 정제하여 클로닝한 신경호르몬이다. 본 실험실에서는 난소에서 PACAP 유전자 발현 및 호르몬에 의한 조절을 검색해 본 결과 PACAP은 LH에 의해 배란전난포의 과립막세포에만 세포특이적이며 시기특이적으로 발현됨을 규명했다 (Figure 5; Lee et al., 1999). 더 나아가, PACAP 수용체 발현도 난포발달 특이적으로 발현되어 배란전난포의 과립막세포에 유도되었다 (Park et al., 2000a). 이러한 사실은 PACAP이 난소국부호르몬으로써 배란을 조절하는 생리적 기능을 지녔음을 시사한다. 본 가설 하에 프로세스테론 수용체에 의한

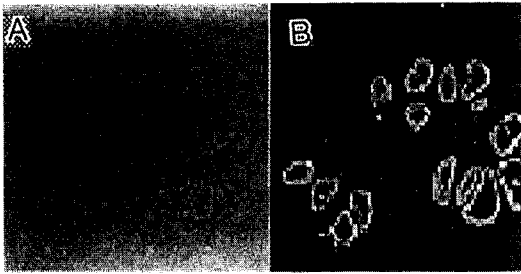


Figure 5. *In situ* localization of PACAP mRNA in hCG-stimulated rat ovary. Note the presence of signals in granulosa cells of preovulatory follicles.

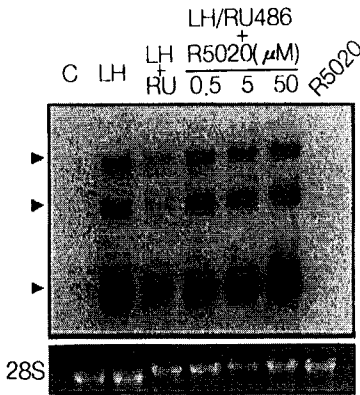


Figure 6. Northern blot analysis showing the reversal of the inhibitory effect of RU486 on the LH-induced PACAP gene expression by exogenous progestin R5020 in cultured preovulatory follicles.

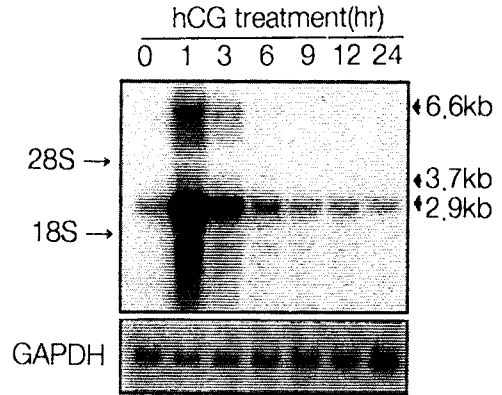


Figure 7. Rapid induction of NGFI-B mRNA by hCG in the rat ovary.

PACAP 유전자 발현 및 전사조절을 검색해 본 결과, 프로세스테론 수용체 억제물질인 RU486 처리는 LH에 의해 유도된 PACAP 유전자 발현을 거의 완전히 억제함을 확인했다 (Figure 6; Park et al., 2000b). 더 나아가, PACAP 전사 조절 부위를 클로닝해 본 결과 프로세스테론 수용체 결합 부위가 존재하며, 과립막세포에서 transfection study는 프로세스테론 수용체가 PACAP 전사를 조절함을 암시했다. 본 결과는 프로세스테론 수용체의 통제를 통해 PACAP이 난포벽과열에 중요한 기능을 수행하는 인자임을 시사한다.

2) NGFI-B (nerve growth factor inducible-B)

NGFI-B는 고아핵수용체 전사조절인자로 초기 발현 유전자에 속한다. 난소에서 NGFI-B 유전자의 발현 양상을 조사해 보니 LH/hCG에 의해 1시간 이내로 배란전난포의 과립막세포에 그 발현이 유도됨을 확인했다 (Figure 7; Park et al., 2001). 배란전난포 체외배양 모델을 이용하여 NGFI-B 발현의 조절을 조사해 보니 전사 수준에서 그 발현이 조절되며 단백질합성 억제물질은 오히려 NGFI-B의 발현을 증가시켰다. 더 나아가, 성숙 흰쥐 난소에서 NGFI-B 유전자가 발현되는 특정 세포를 조사해 본 결과 LH surge에 의해 배란전난포의 과립막세포에 그 발현이 유도됨을 확인했다 (Figure 8). 흥미로운 사실은 LH에 의한 NGFI-B 유전자 발현 유도 시 atypical PKC에 속하는 PKC zeta 활성화가 필수적임을 밝혔고 이에 대한 연구를 현재 진행 중에 있다. 본 결과를 종합하면, NGFI-B가 난포벽과열 과정 동안 가장 먼저 활성화되어 다음 단계에 필요한 인자를 활성화시키는 기능을 하리라 추정된다.

3) p11

P11은 S100 계열의 Ca-결합단백질로 알려져 있다. 최근 p11이 세포죽음 조절인자 중의 하나인

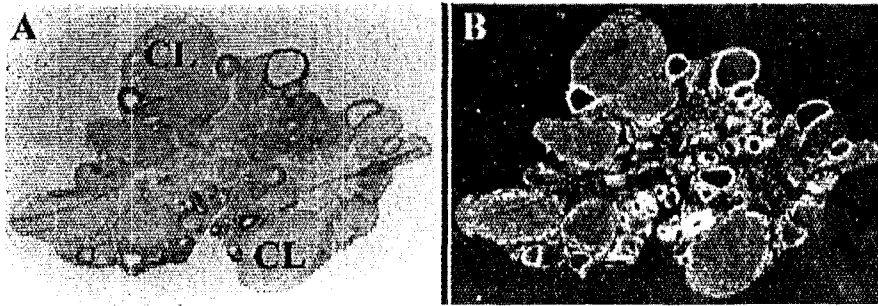


Figure 8. *In situ* localization of NGFI-B mRNA in the ovaries of adult rats on proestrus. CL, Corpus luteum.

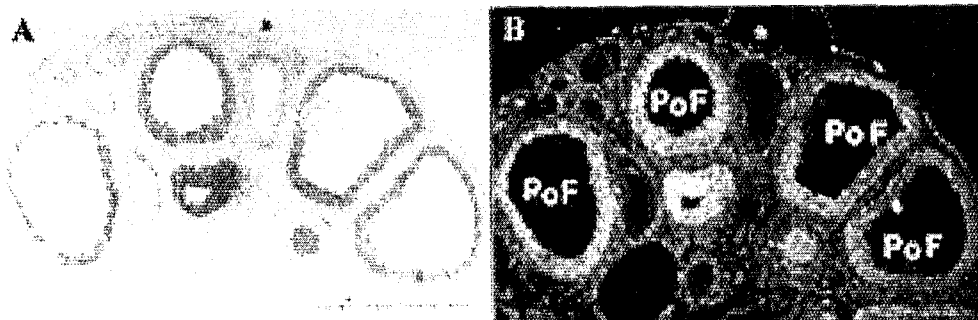


Figure 9. Localization of p11 mRNA in PMSG/hCG-treated rat ovary. Note the presence of p11 signals in granulosa cells of preovulatory follicles. PoF, Preovulatory follicles.

BAD와 결합하여 세포의 생존에 필요한 단백질로 알려지면서 주목을 받기 시작했다 (Hsu et al., 1997). 본 실험실에서는 p11의 유전자 발현을 난소에서 조사해 본 결과 LH 처리 후 약 6시간쯤 p11 유전자가 현저히 촉진되며 이는 배란전난포의 과립막세포에 유전자가 유도되기 때문임을 확인했다 (Figure 9; Chun et al., 2001). 또한 cAMP 활성화가 LH에 의해 유도되는 p11 유전자 발현에 중요하며, 난포 생존인자로 알려진 EGF, bFGF 등도 p11의 유전자 발현을 촉진했다. 이러한 사실은 p11이 배란 과정 중 난포를 건강하게 유지하게끔 하여 성공적인 난포벽과열을 위한 생리적 기능을 수행할 가능성을 시사한다.

3. 임상적 고찰

생식생물학 연구 분야는 기초 연구와 임상 사이에 밀접한 연관성을 지닌 채 발전되어 왔으며, 배란 기전을 이용한 기술이 기반을 이루고 있다. 대표적인 예로 체외수정시술을 들 수 있으며, 호르몬 투여로 과배란 유도 시 과생하는 난소과잉촉진신드롬 (ovarian hyperstimulation syndrome)으로 인한 환자의 고통 및 고비용의 문제점을 안고 있다. 배란 기전을 이해하고 이에 특이한 인자를 발굴하는 연구는 이러한 문제점을 해결할 수 있는 단서를 제공할 것이다. 현재 시판되고 있는 대부분의 내복피임약은 스테로이드호르몬 복합체로 부작용을 동반하는 문제점을 안고 있다. 혈액응고 등 면역계통의 부작용과 함께 전체 멘스주기에 영향을 미치는 것도 하나의 단점이다.

이러한 문제점을 극복하기 위해 배란 기전을 토대로 배란될 난포만 선택적으로 골라 난포벽파열을 방지함으로써 피임을 유도하는 방법이 강구되고 있다. 또한 배란 조절 기전 규명은 배란 과정에 이상이 생겨 발생하는 무배란증 (anovulation), 난소낭종증후군 (polycystic ovarian syndrome), 무파열황체증후군 (unruptured luteinized syndrome) 등 여성 불임을 치료하는 제품 개발을 위해 중요한 역할을 할 것이다.

참 고 문 헌

- Bedell MA, Brannam CI, Evans EP, Copeland NG, Jenkins NA, Donovan PJ. 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* 1995; 161: 194-8.
- Chun S-Y, Eisenhauer KM, Minami S, Hsueh AJW. Growth factors in ovarian follicle atresia. *Sem Reprod Endocrinol* 1996; 14: 197-205.
- Chun S-Y, Bae HW, Kim WJ, Park JH, Hsu SY, Hsueh AJW. Expression of messenger RNA for the antiapoptosis gene p11 in the rat ovary: gonadotropin stimulation in granulosa cells of preovulatory follicles. *Endocrinology* 2001 (June), in press.
- Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Rajendra Kumar T, Lu N, Matzuk MM. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* 1996; 383: 531-5.
- Hsu SY, Kaipia A, Zhu L, Hsueh AJW. Interference of BAD (Bcl-XL/Bcl-2-associated death promoter)-induced apoptosis in mammalian cells by 14-3-3 isoforms and p11. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 1858-67.
- Lee J, Park HJ, Choi HS, Kwon HB, Arimura A, Lee BJ, Choi WS, Chun S-Y. Gonadotropin stimulation of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) messenger ribonucleic acid in the rat ovary and the role of PACAP as a follicle survival factor. *Endocrinology* 1999; 140: 818-26.
- Lydon JP, De Mayo F, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery Jr CA, Shyamala G, Conneely OM, O'Malley BW. Mice lacking progesterone receptor exhibit reproductive abnormalities. *Genes Dev* 1995; 9: 2266-78.
- McGrath SA, Esquele AF, Lee S-J. Oocyte-specific expression of growth/differentiation factor-9. *Mol Endocrinol* 1995; 9: 131-6.
- Park HJ, Lee J, Wang L, Park JH, Kwon HB, Arimura A, Chun S-Y. Stage-specific expression of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide type I receptor messenger ribonucleic acid during ovarian follicle development in the rat. *2000a*; 141: 702-9.
- Park JI, Kim WJ, Wang L, Park HJ, Lee J, Park JH, Kwon HB, Tsafiriri A, Chun S-Y. Involvement of progesterone in gonadotrophin-induced pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide gene expression in preovulatory follicles of rat ovary. *Mol Human Reprod* 2000b; 6: 238-45.
- Park JI, Park HJ, Choi HS, Lee K, Lee WK, Chun S-Y. Gonadotropin regulation of NGFI-B messenger ribonucleic acid expression during ovarian follicle development in the rat. *Endocrinology* 2001, (in press).

Richards JS. Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endoc Rev* 1994; 15: 725-51.

Tsafiri A, Chun S-Y. Ovulation. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z (eds.). *Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology*. Lippincott-Raven Press, Philadelphia, Vol 1: pp 235-249, 1996.

Wong WYL, DeWitt DL, Smith WL, Richards JS. Rapid induction of prostaglandin endoperoxide synthase in rat preovulatory follicles by luteinizing hormone and cAMP is blocked by inhibitors of transcription and translation. *Mol Endocrinol* 1989; 3: 1714-23.