

## 난소 스테로이드 호르몬이 임신초기의 흰쥐 자궁 내막조직의 Phosphatase 활성화에 미치는 영향<sup>\*</sup>

이화여대 의과대학, \*한양대 생물학과  
\*\*서울대 자연대 동물학과

金星禮 · \*金文奎 · \*\*趙完圭

— Abstract —

### The Effects of Ovarian Steroid Hormones on the Phosphatase Activity on the Rat Uterine Endometrium at the Early Pregnancy

Sung Rye Kim, \* Moon Kyoo Kim, \*\* Wan Kyoo Cho

*Dept. of Medicine, Ewha Woman's University*

*\* Dept. of Biology, Hanyang University*

*\*\* Dept. of Zoology, College of Natural Sciences  
Seoul National University*

The present investigation has been undertaken to understand the mechanism of implantation process, by demonstrating the role of ovarian steroids in connection with phosphatase activity in the differentiation of uterine endometrium for implantation.

The results obtained are as followings:

The differentiation of the uterine endometrial tissue was closely influenced by the ovarian steroid hormones; at first,  $17\beta$ -estradiol initiated the differentiation of the uterine luminal and glandular epithelial cells, and then progesterone induced differentiation of stromal cells, and thereby two steroids maintain decidualization of the uterine tissues.

We observed that the phosphatase activities seem to be dependent upon the ovarian steroids; that is the activity showed higher level in progesterone treated group than in estradiol treated one, and the highest activity was found in the group treated with both estradiol and progesterone.

Acid phosphatase showed the highest activity whereas alkaline phosphatase showed the lowest in the rat uterine endometrium during early pregnancy.

서 론

<sup>\*</sup>) 본 연구는 1981년 문교부 기초과학연구소  
성비에 의해서 행하여 졌다.

포유류 난자는 수란관 상부에서 수정을 하여

자궁으로 하강하기까지 대략 5~6일이 걸린다. 이 기간동안 자궁은 배아를 착상시킬 호르몬의 환경을 갖추기 위해 대사 활동과 분화작용이 활발하게 일어나고 있다. 배아의 착상, 임신유지, 그리고 분만을 위한 환경 여건을 갖추게 하는 가장 중요한 이 시기의 자궁의 생리 현상은 여러 요인에 영향을 받고 있으나 특히 **estrogen** 과 **progesterone** 과 같은 난소 호르몬에 의한 영향이 큰것 (Yochim and De Feo, 1963; Cook and Hunter, 1978)으로 생각 되어 오고 있다. 난소 호르몬은 발정주기에 따라, 또는 착상전 임신기간중 종류와 분비량이 다양해 지며 이들의 세포내 생리적 작용은 **inducer** 혹은 **repressor** 로 작용하고 있다는 것 (Jacob and Monod; 1961)이 밝혀지고 있다. 그러므로 이 호르몬의 작용기작에 관한 것을 밝히려는 많은 연구가 진행되고 있다.

발정주기에 따른 난소 호르몬의 분비 양상은 발정전기에 **estrogen**의 분비가 최고치에 이르고 난뒤 이어서 **progesterone** 분비의 최고치가 나타나면서 발정기에 이르게 되는데 이때 배란이 일어나며, 그후 발정후기, 발정간기에 이르면 **estrogen** 분비는 최저가 되고 **progesterone** 은 **socond peak** 를 보여준다. 이러한 호르몬 분비의 주기적 변화는 자궁에 형태적(Long and Evans, 1922), 기능적(Lobel, et al., 1965) 변화를 수반하게 된다.

즉 발정전기, 발정기인 **proliferative phase** 에는 동화작용이 활발해지고, 세포내 핵과 미세구조가 뚜렷해지고 커지며, 발정후기, 발정간기인 **luteal phase** 에는 **Golgi complex**, **secretory vesicle** 등이 커지며 분비기능이 왕성해 진다. 또한 난소의 주기적 활성변화와 함께 자궁에서는 **phosphatase** 의 활성에도 주기적 변화가 수반되며, 이런 효소의 변화로 말미암아 그 세포의 대사작용에 변화가 일어난다는 것이 보고(Bronson, et al., 1966)되었다.

발정주기에 따라 **alkaline phosphatase** 의 활성도는 현저히 변화를 나타내는데 특히 발정

전기와 발정기에는 자궁내강 상피세포와 선상피 세포에서 그 활성도가 크다. 한편 초기 임신기간에는 착상을 위한 분화작용이 활발하게 일어나고 있는 자궁내막조직(**decidual tissue**)에서 활성이 증가하며 동시에 단백질 합성도 증가하므로 **alkaline phosphatase** 는 **decidualization** 의 **index** (Finn and Mactaren, 1967), 혹은 착상진행 과정에 뚜렷한 관련이 있으므로 이를 **marker enzyme** (Manning, et al., 1969; Aitken, 1977)이라고 하였다. 그러나 아직까지도 자궁내의 **alkaline phosphatase** 의 기능을 조절하는 기작과 그의 특성에 관한 것은 거의 알려져 있지 않다. 이러한 작용기작을 밝힘으로써 초기배 발생에 영향을 주는 자궁요소와 착상에 관한 중요한 정보를 얻게될 것으로 생각된다.

또한 착상전 배낭은 **zona pellucida** 가 용해되어야만 자궁내막조직에 침투해 들어갈 수 있으며 자궁내액에는 이것을 용해하는 요소(**zona-lytic factor**)가 존재할 것이라는 실험보고(Orsini and McLaren, 1967; McLaren, 1970; Mintz, 1971)와 흰쥐의 자궁내막상피조직에 **acid hydrolase** 가 존재한다는 보고(Christie, 1967; Denker, 1972; Kirchner, 1972) 등이 있다.

Mintz(1970)는 **zona pellucida** 를 용해하는 요소가 **proteolytic enzyme** 일 것이라고 하였으며 이것은 **implantation initiating factor** 가 될 것이라고 하였다. Surani(1975)를 위시해서 여러 학자들은 이 **lysis factor** 가 **estrogen dependent** 라고 밝히고 있다.(Joshi, Yaron and Lindner, 1970; Joshi and Murray, 1974; Joshi and Rosenfeld, 1976). 또한 Smith와 Wilson(1971)은 이것들이 **lysosomal enzyme** 이라고 보고 하였으며, Si-oane(1980)은 난소가 제거된 흰쥐의 자궁조직 세포의 **lysosomal apparatus** 의 변화가 **lysosomal acid hydrolase(acid phosphatase)** 의 활성변화와 밀접한 관계가 있다고 발표하였

다.

본 연구는 포유류의 착상기작을 규명할 것을 목적으로 하여 decidualization의 marker enzyme인 alkaline phosphatase와, 착상의 initiating factor로 알려진 acid phosphatase의 활성이 난소적출 호르몬 처리등에 의해 초기 임신기간동안 흰쥐의 자궁조직내에서 어떻게 변하는가를 관찰하였다.

### 실험재료 및 방법

#### 1. 실험동물

본 실험에는 서울대학교 동물사육실에서 일정한 조건하에 사육된 생후 2개월 (체중 200 ± 20 g)된 성숙한 암컷 흰쥐 (Sprague-Dawley)를 사용하였다.

#### 2. 실험군

1) 정상임신군 : 성숙한 암컷흰쥐를 생식능력이 있는 수컷과 동서시킨 다음날 아침, 질부에서 정자가 관찰되면 이를 임신제 1일 (Day 1)로 하였다.

2) 난소제거 임신군 : 임신한 흰쥐에서 임신제 2일에 난소를 제거하였다.

3) 난소제거 흰쥐의 호르몬 처리군

① estrogen 처리군 (E)

② progesterone 처리군 (P)

③ 호르몬의 혼합처리군 (E+P)

④ estrogen을 먼저 progesterone을 뒤에 처리한 실험군 (E-P).

⑤ progesterone을 먼저, estrogen을 뒤에 처리한 실험군 (P-E).

⑥ 용매 (vehicle)를 처리한 실험군 (V)

Table 1. Design of experimental groups

Experimental group	Treatment and sacrifice (S)					
	Proestrus		Estrus	Metestrus		Diestrus
1. Non pregnant	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)
2. Pregnant	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6
1) Control : Intact	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)
Ovariectomy (OVX)	OVX.		(S)	(S)	(S)	(S)
2) Treated : OVX. + Extradial (E)	OVX. + E		(S)			
	OVX. + E		E	E	-	(S)
OVX. + Progesterone (P)	OVX. + P		(S)			
	OVX. + P		P	P	-	(S)
OVX. + Estradiol and progesterone (E + P)	OVX. + E & P		(S)			
	OVX. + E & P		E & P	E & P	-	(S)
OVX. + Estradiol priming and progesterone (E - P)	OVX. + E		E	P	(S)	
	OVX. + E		E	P	-	(S)
OVX. + Progesterone priming and estradiol (P - E)	OVX. + P		P	E	(S)	
	OVX. + P		P	E		(S)
OVX. + Vehicle (V)	OVX. + V		(S)			
	OVX. + V		V	V	(S)	
	OVX. + V		V	V	-	(S)

### 3. 실험 방법

1) 난소제거 : 임신제 2일에 Sodium thiopental(Abott)을 복강주사(10mg)하여 마취시킨후, 배복측 부분 절개수술로 양쪽난소를 제거하였다.

2) 난소호르몬 처리 : 임신제 2일에 난소제거후 표 1에 표시된 대로 처리군에  $17\beta$ -estradiol( $1\mu\text{g}/\text{개체}$ )과 progesterone( $2\text{mg}/\text{개체}$ )을 각각 단독 혹은 혼합하여 단일 혹은 배 24시간 간격으로 3회 피하주사 하였다.  $17\beta$ -estradiol과 progesterone은 ethylalcohol로 용해시킨후 Sesame oil에 녹였다. 대조군에는 용매인 oil만을 처리하였다.

3) 시료채취 : 양쪽자궁을 적출하여 icecold saline으로 적셔진 흡착지 위에서 여분의 지방, 혈액을 깨끗이 제거한후, 자궁의 무게를 달고, 자궁내액을 flushing out시킨다음 자궁을 절개하고 개체당 2ml의 0.01 M Tris-Maleate buffer(containing 0.02MgCl<sub>2</sub>, pH 7)내에서 자궁내막조직(endometrium)만을 훑어 모은후 glass blender(pyrex)로 homogenate를 만들고 이를 600g에서 10분간(4°C)원심분리시킨 후 상등액을 0.1M Tris-Maleate buffer로 희석(1:5)하여 이를 측정에 사용하였다.

4) Phosphatase의 활성 측정 : Davies(1934) 이래 phosphoric acid esters를 효과적으로 가수분해시키는 phosphatase를 최적 산도에 따라 산성 혹은 알칼리성 phosphatase로 구분하였다. 그러므로 본 실험에서는 효소들을 각각 pH가 다른 반응액(pH 5, 7, 9)에서 반응하도록 하여 산성, 중성, 알칼리성 반응액에서 측정되는 활성도를 각각 산성, 중성, 알칼리성 phosphatase의 활성도로 삼았다. 본 실험에 있어서 반응액의 최적 pH는 Fernley(1971)와 Hollander(1971)의 방법을 따랐다. Phosphatase의 활성은 Ernst(1972 a, b)의 방법에 의하여 측정하였다. 즉 조직내의 효소를 p-nitrophenol phosphate(P-NPP)가 함

유된 반응액과 작용시켜서 유지되는 p-nitrophenol(P-NP)의 흡광도를 측정하여 이를 효소의 활성도로 삼았다.

자궁조직의 현탁액 1ml을 각각 pH가 5, 7, 9인 반응액 [Tris-Maleate(100mM), P-NP P(50mM), Mg Cl<sub>2</sub>(10mM), KCl(10 mM)] 1ml에 가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 반응은 최종농도 7.5%가 되는 TCA용액을 섞음으로서 정지시켰고 2.5ml의 Tris(IM)용액으로 재 발색시킨 다음 spectrophotometer(Bausch and Lomb Co, Model No 20)로 파장 405nm에서 측정하였으며 이때 standard로는 P-nitrophenol(Sigma)을 사용하였다. 한편 단백질 정량은 Lowry(1951)의 방법을 택하였으며 이때 standard로는 bovine serum albumin(BSA, Sigma)을 사용하였다. 각 phosphatase의 활성도는  $\mu\text{mole}/\mu\text{g protein}/\text{min}$ 으로 나타내었다.

## 결 과

### 난소제거 호르몬 처리군 :

#### (1) $17\beta$ -estradiol과 progesterone을 각각 혹은 동시에 처리한 실험군

임신제 2일에 난소를 제거하고 두 호르몬을 각각 혹은 동시에 처리한 실험군의 phosphatase의 활성도를 정상임신군, 난소제거 임신군, 용매 처리군의 활성도와 비교하기 위하여 결과를 표 2와 그림 1에 실었다. 또한 각 호르몬의 처리군을 용매 처리군과 비교하기 위하여 용매처리군의 활성도를 기준치 100으로 하고, 호르몬 처리군의 활성도의 비교치를 그림 2에 표시하였다.

#### 1) 정상임신군과 비교

난소제거후 즉시 호르몬을 단일 주사하고 24시간후 관찰한 실험군에서는 임신제 3일(Day 3)의 것을, 그리고 3일간 주사하고 48시간후 관찰한 실험군에서는 임신제 6일(Day 6)의 것과 비교하였다.

#### ① 임신제 3일(Day 3): 산성 반응액에서 정

**Table 2.** The effect of ovarian hormones on the phosphatase activity (Mean  $\mu\text{mole}/\mu\text{g}$  protein/min  $\pm$  S.E.) in the uterine endometrium of pregnant rats

Group	Day 3			Day 6		
	pH 5	pH 7	pH 9	pH 5	pH 7	pH 9
Intact	7.23 $\pm$ 1.24	3.18 $\pm$ 0.68	1.48 $\pm$ 0.33	4.89 $\pm$ 0.76	2.19 $\pm$ 0.27	1.31 $\pm$ 0.44
Ovariectomized :						
None	4.71 $\pm$ 0.61	1.55 $\pm$ 0.23	1.29 $\pm$ 0.21	3.69 $\pm$ 0.11	1.93 $\pm$ 0.30	0.67 $\pm$ 0.30
Vehicle	4.88 $\pm$ 0.98	1.77 $\pm$ 0.29	0.59 $\pm$ 0.13	3.58 $\pm$ 0.52	1.16 $\pm$ 0.24	0.84 $\pm$ 0.18
17 $\beta$ -estradiol	4.79 $\pm$ 0.68	1.90 $\pm$ 0.08	1.98 $\pm$ 0.69	5.06 $\pm$ 0.12	1.80 $\pm$ 0.27	1.29 $\pm$ 0.23
Progesterone	6.07 $\pm$ 0.45	2.93 $\pm$ 0.59	2.08 $\pm$ 0.68	6.35 $\pm$ 0.52	2.76 $\pm$ 0.16	1.75 $\pm$ 0.21
17 $\beta$ -estradiol and progesterone	6.42 $\pm$ 0.61	2.97 $\pm$ 0.53	0.90 $\pm$ 0.11	8.98 $\pm$ 0.53	4.00 $\pm$ 0.54	1.02 $\pm$ 0.31

상임신군의 활성도가 7.23  $\mu\text{mole}$  인데 반해 난소제거군에서는 4.71  $\mu\text{mole}$  이고 용매처리군에서는 4.88  $\mu\text{mole}$  이어서, 이 두 실험군은 정상임신군의 활성도를 100으로 보았을 때 비교치는 65 정도 밖에 되지 않는다. Estradiol 처리군에서도 활성도가 4.79  $\mu\text{mole}$  로 비교치가 66 정도가 되나 progesterone 처리군에서는 활성도가 6.07  $\mu\text{mole}$  로 되어서 그 비교치는 84가 되었고, 이 두 호르몬의 동시처리군에서는 활성도가 6.42  $\mu\text{mole}$  로 그 비교치가 89에 이르고 있다. 이처럼 난소제거후 호르몬을 처리하지 않은 실험군 보다는 처리군에서 progesterone 만을, 혹은 두 호르몬을 동시에 처리한 실험군에서 효소의 활성도가 증가하기는 했으나 정상임신군 제 3일의 것 보다는 낮은 활성도를 나타내고 있다.

중성반응액에서 효소의 활성도는 정상임신군의 활성도가 3.18  $\mu\text{mole}$  이고 난소제거군에서는 1.55  $\mu\text{mole}$  이어서 그 비교치는 반감되고 있다. Estradiol 처리군에서는 활성도가 1.90  $\mu\text{mole}$  로 되어 비교치는 60이 된다. Progesterone 처리군에서는 활성도가 2.93  $\mu\text{mole}$  로 비교치는 92가 되며, 두 호르몬의 동시처리군에서는 비교치가 93이 되어서 정상임신군의 활성도와 거의 같아지는 것을 알 수 있어서 난소제거군이나 estradiol 처리군 보다는 활성

도가 증가하고 있다.

알칼리성 반응액에서의 효소 활성도는 정상임신군에서 1.48  $\mu\text{mole}$  인데, 난소제거군에서는 1.29  $\mu\text{mole}$  가 되어서 그 비교치는 87로 떨어져 있고 있으나, 난소를 제거한 흰쥐에 estradiol 을 처리한 실험군에서는 효소의 활성도가 1.98  $\mu\text{mole}$  로 그 비교치는 134가 되고 progesterone 처리군에서는 2.08  $\mu\text{mole}$  인 141로 뛰어 오르고 있다. 그러나 pH가 다른 반응액과는 달리 이 두 가지 호르몬을 동시에 처리하면 활성도가 0.90  $\mu\text{mole}$  로 낮아지고 따라서 그 비교치도 61에 지나지 않는다.

② 임신제 6일 (Day 6) : 산성반응액에서 효소의 활성도를 보면 정상임신군에서는 4.89  $\mu\text{mole}$  인데 난소제거군에서는 3.69  $\mu\text{mole}$  로 감소하고 있으나 estradiol 처리군에서는 5.06  $\mu\text{mole}$  로 정상임신군과 같은 정도로 높아지고 있고, progesterone 만을 처리한 실험군에서는 활성도의 값이 6.35  $\mu\text{mole}$  로 되어 그 비교치는 130으로 높아지고 있다. 한편 두 호르몬을 동시에 처리한 실험군의 활성도는 8.98  $\mu\text{mole}$  로 그 비교치는 184가 되는데 이 활성도는 같은 반응액의 다른 모든 실험군보다 유의한 차이 ( $P < 0.05$ )로 높으며, 이로 보아 두 호르몬을 동시에 처리한 경우 그 영향이 가장 크다는 것을 알 수 있다.

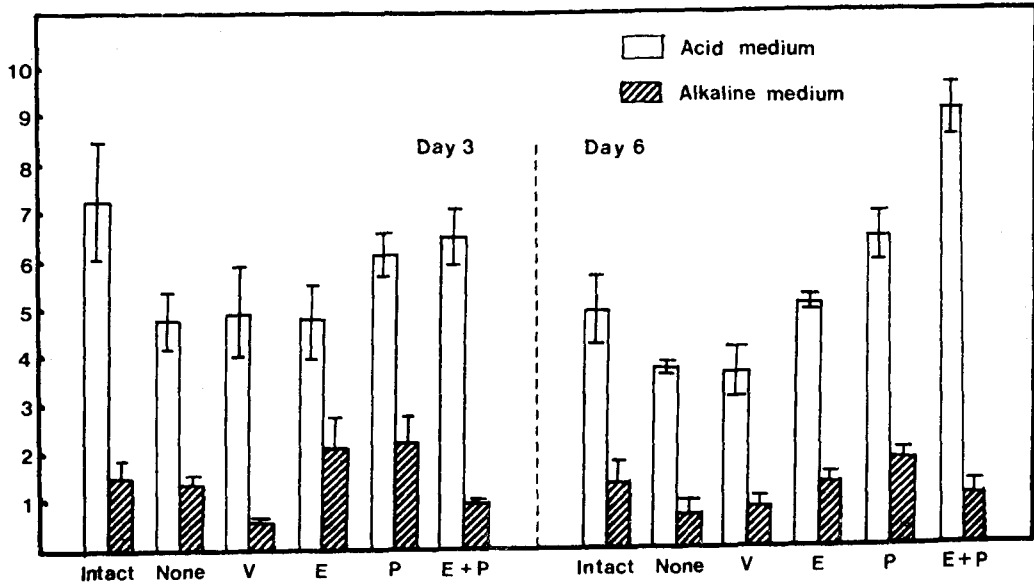


Fig. 1. Histogram showing the effects of ovarian steroids on the phosphatase activity.  
V : vehicle, E : estradiol, P : progesterone, E + P : estradiol and progesterone

중성 반응액에서 전 효소의 활성도는 정상임신군에서  $2.19 \mu\text{mole}$  을 나타내는데 난소제거군에서는  $1.93 \mu\text{mole}$  이어서 정상임신군의 활성치와의 비교치가 88이 된다. Estradiol 처리군에서는 활성도가  $1.80 \mu\text{mole}$  이어서 비교치가 82가 된다. 그러나 progesterone 처리군에서는 활성도가  $2.76 \mu\text{mole}$  로 비교치가 126으로 증가하고 있으며, 두 호르몬의 동시 처리군에서는 활성도가  $4.00$  로 비교치가 183이 되어 다른 처리군의 활성도에 비해 유의한 차이 ( $P < 0.05$ )로 높다.

알칼리성 반응액에서의 활성도를 보면 정상임신군에서는  $1.31 \mu\text{mole}$  인데 난소제거군에서는  $0.67 \mu\text{mole}$  이어서 비교치는 51 정도로 반감되고 있다. 그러나 estradiol 처리군에서는  $1.29 \mu\text{mole}$  로 정상임신군의 활성도와 거의 같아지고 있으며, progesterone 처리군에서는 활성도가  $1.75 \mu\text{mole}$  이 되어 비교치는 134로 높아지고 있다. 두 호르몬 동시 처리군에서는 이 반응액에서만 활성도 ( $1.02 \mu\text{mole}$ ) 가 가장 낮아 정상임신군의 활성도에 미치지 못하나 (비교치

78), 난소제거군 (비교치 51) 보다는 높은 활성을 나타낸다.

## 2) 용매처리군과 비교

① 임신제 3일 : 산성 반응액에서 용매처리 대조군의 phosphatase의 활성도 ( $4.88 \mu\text{mole}$ ) 를 기준치 100으로 했을 때 estradiol 처리군 ( $4.79 \mu\text{mole}$ ) 에서는 비교치가 98이 되어 호르몬의 영향을 볼 수 없었다. Progesterone 처리군 ( $6.07 \mu\text{mole}$ ) 에서는 비교치가 124로, 두 호르몬 동시 처리군 ( $6.42 \mu\text{mole}$ ) 에서는 비교치가 132로 되어 용매처리 대조군보다는 활성도가 증가된 것을 관찰할 수 있었다.

중성 반응액에서 용매처리 대조군 ( $1.77 \mu\text{mole}$ ) 의 활성도와 비교해 보면 estradiol 처리군 ( $1.90 \mu\text{mole}$ ) 과 큰 차이가 없으나, progesterone 처리군 ( $2.93 \mu\text{mole}$ ) 에서는 비교치가 166 정도로, 두 호르몬 동시 처리군 ( $2.97 \mu\text{mole}$ ) 에서는 168 정도로 비교치가 높아지고 있다.

알칼리성 반응액에서는 대조군의 활성도는

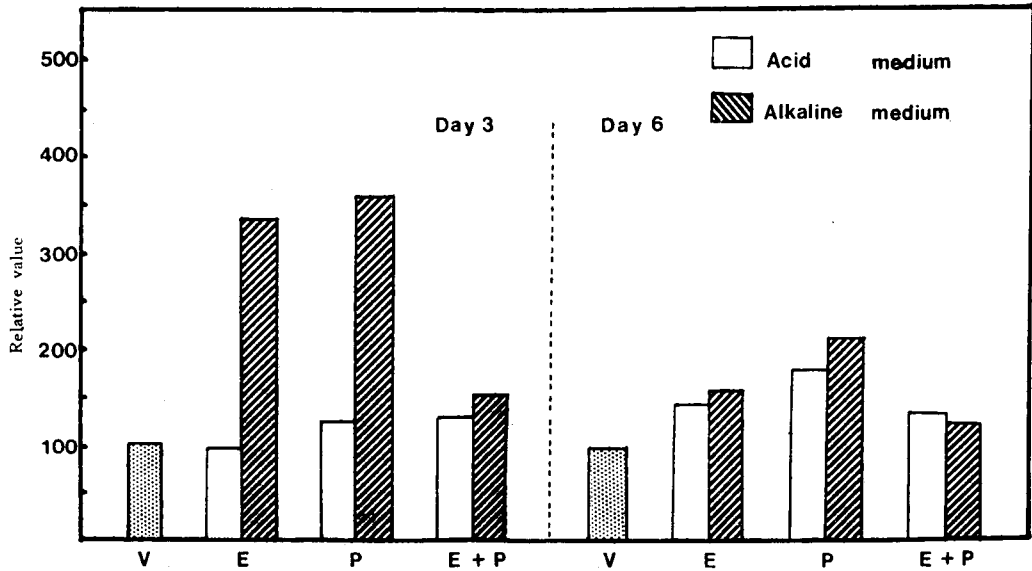


Fig. 2. Relative value of phosphatase activity to the value of ovariectomized, vehicle-treated rats.

0.59  $\mu\text{mole}$ 을 나타내나 estradiol 처리군 (1.98  $\mu\text{mole}$ )에서는 대조군의 3배를 증가하는 활성을 보이고 있으며 progesteron 처리군 (2.08  $\mu\text{mole}$ )에서는 3.5배가 넘는 활성을 보여주고 있다. 두 호르몬 동시 처리군 (0.90  $\mu\text{mole}$ )에서는 비교치가 153으로 증가하고 있다. 이 처리군을 앞에서 정상임신군과 비교했을 때는 대조군보다 감소하고 있었으나 이처럼 용매 처리군과 비교했을 때는 1.5배로 증가하고

있어 이 두 호르몬의 영향을 볼 수 있다.

② 임신제 6일 : 산성 반응액에서 용매처리 대조군의 활성도 (3.58  $\mu\text{mole}$ )와 비교해보면 estradiol 처리군 (5.06  $\mu\text{mole}$ )에서는 비교치가 141이 되며, progesterone 처리군 (6.35  $\mu\text{mole}$ )에서는 비교치가 177로 대조군과 유의한 차이 ( $P < 0.05$ )로 증가하고 있다. 두 호르몬 동시 처리군 (8.98  $\mu\text{mole}$ )에서는 비교치가 251로 가장 높으며, 다른 모든 처리군의 활성도 보

Table 3. The priming effect of  $17\beta$ -estradiol or progesterone on the phosphatase activity (Mean  $\mu\text{mole}/\mu\text{g protein}/\text{min} \pm \text{S.E.}$ ) in the uterine endometrium of pregnant rats

Group	Day 5			Day 6		
	pH 5	pH 7	pH 9	pH 5	pH 7	pH 9
Ovariectomized :						
Vehicle	3.10 $\pm$ 0.13	1.28 $\pm$ 0.24	0.65 $\pm$ 0.08	3.58 $\pm$ 0.52	1.16 $\pm$ 0.24	0.84 $\pm$ 0.18
Estradiol priming and progesterone	3.01 $\pm$ 0.60	1.64 $\pm$ 0.23	0.79 $\pm$ 0.25	3.85 $\pm$ 0.22	1.41 $\pm$ 0.15	1.26 $\pm$ 0.08
Progesterone priming and estradiol	4.69 $\pm$ 0.64	2.14 $\pm$ 0.13	0.98 $\pm$ 0.06	5.00 $\pm$ 0.51	2.36 $\pm$ 0.21	0.88 $\pm$ 0.06

다 유의한 차이 ( $P < 0.05$ ) 를 나타내고 있다.

중성 반응액에서 나타난 활성도를 용매처리 대조군 ( $1.16 \mu\text{mole}$ ) 과 비교해 보면, estradiol 처리군 ( $1.80 \mu\text{mole}$ ) 에서는 그 비교치가 155, progesterone 처리군에서는 비교치가 238, 그리고 두 호르몬 처리군에서는 그 값이 345 가 되고 있다. Progesterone 처리군의 활성도는 용매처리 대조군보다 유의한 차이 ( $P < 0.05$ ) 로 증가하고 있으며, 두 호르몬 처리군의 활성도는 모든 다른 실험군에 비해 유의한 차이 ( $P < 0.05$ ) 로 높아지고 있어 산성 반응액에서의 결과와 유사한 경향성을 나타내고 있다.

알칼리성 반응액에서는 용매처리 대조군 ( $0.84 \mu\text{mole}$ ) 의 비교치가 154 가 된다. Progesterone 처리군에서는 비교치가 208 로 높아지며, 두 호르몬 처리군에서는 121 을 나타낸다. 이 반응액에서는 progesterone 처리군만이 대조군보다 유의한 차이 ( $P < 0.05$ ) 로 활성도가 증가하고 있다.

(2)  $17\beta$ -estradiol, 혹은 progesterone 을 먼저 처리한 실험군

임신제 2일에 난소를 제거하고 먼저 2일간 estradiol 을 주사한 다음 progesterone 을 주사한 실험군과, progesterone 을 먼저 주사하고 난 다음 estradiol 을 주사하고 2시간이 지난 뒤 (Day 5), 48 시간이 지난 뒤 (Day 6) 에 자궁조직의 효소 활성도를 용매만 주사한 대조군의 것과 비교한 것을 표 3 과 그림 3에 실었다.

① 임신제 5일 (Day 5) : 산성 반응액에서의 효소의 활성도를 비교해 본 결과, 용매처리 대조군인 경우  $3.10 \mu\text{mole}$  이지만 estradiol 을 먼저 처리한 실험군에서는 그 활성도가  $3.01 \mu\text{mole}$ , progesterone 을 먼저 주사한 실험군에서는 그 활성도가  $4.06 \mu\text{mole}$  이어서 비교치는 각각 97 과 140 이 된다.

중성 반응액의 경우 용매처리 대조군에서의 활성도는  $1.28 \mu\text{mole}$  이고 estradiol 을 먼저 처리한 실험군에서는 활성도가  $1.64 \mu\text{mole}$ ,

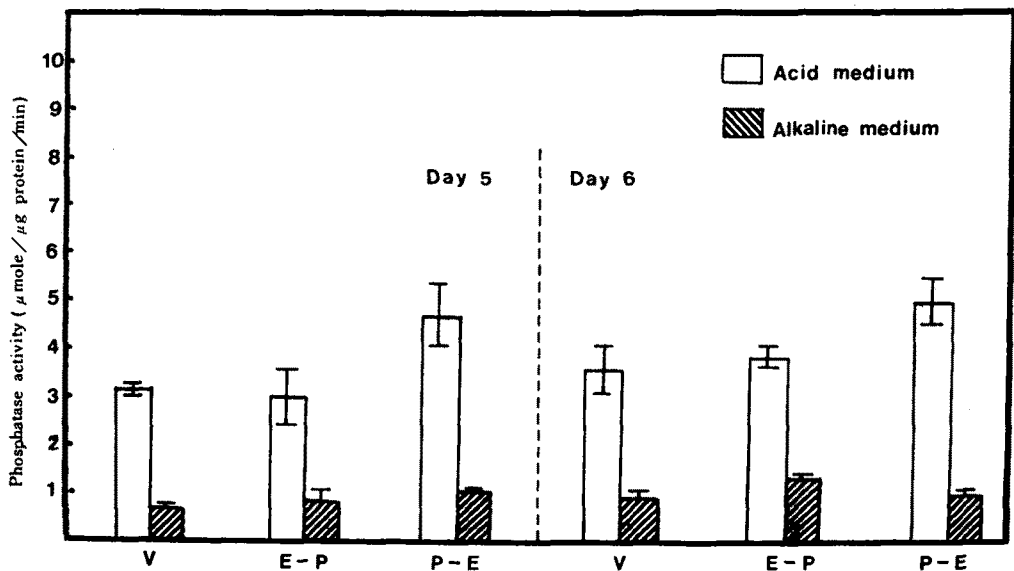


Fig. 3. Histogram showing the priming effects of ovarian steroids on the phosphatase activity. V : vehicle, E - P : estradiol priming and progesterone, P - E : progesterone priming and estradiol



progesterone 을 먼저 처리한 실험군에서는 2.14  $\mu\text{mole}$  이어서 비교치는 각각 108과 167 을 보여주고 있다.

알칼리성 반응액이 되면 용매처리 대조군에서는 활성도가 0.65  $\mu\text{mole}$  이지만, estradiol 을 먼저 처리한 실험군에서는 0.79  $\mu\text{mole}$ , progesterone 을 먼저 처리한 실험군에서는 활성도가 0.98  $\mu\text{mole}$  이 되어서 비교치는 각각 122 와 151로 높게 나타나고 있다.

② 임신제 6일 (Day 6) : 산성 반응액인 경우 용매처리 대조군에서의 효소의 활성도는 3.58  $\mu\text{mole}$  이고, estradiol 을 먼저 처리한 실험군에서는 3.85  $\mu\text{mole}$ , progesterone 을 먼저 처리한 실험군에서는 5.00  $\mu\text{mole}$  이어서 비교치는 각각 108과 140 이 된다.

중성 반응액이 되면 용매처리 대조군에서의 활성도는 1.16  $\mu\text{mole}$  인데 estradiol 을 먼저 처리한 실험군에서는 1.41  $\mu\text{mole}$ , progesterone 을 먼저 처리한 실험군에서는 2.36  $\mu\text{mole}$  이어서 비교치는 각각 122와 203으로 크게 증가하고 있다.

알칼리성의 반응액이 되면 용매처리 대조군의

활성도는 0.84  $\mu\text{mole}$  을 기준치 (100) 로 하였을 때 estradiol 을 먼저 처리한 실험군에서는 효소의 활성도가 1.26  $\mu\text{mole}$  이어서 비교치가 150이 되며, progesterone 을 먼저 처리한 실험군에서는 활성도가 0.88  $\mu\text{mole}$  이 되어 비교치는 105가 되고 있다.

위에서 보는바와 같이 특히 산성, 중성 반응액일 경우에 한해서 효소의 활성도는 progesterone 을 먼저 처리한 실험군에서 더 높아지고 있다.

### (3) 임신제 6일에 관찰한 실험군의 종합

이상의 처리군중 임신제 6일에 관찰된 모든 처리군의 활성도를 비교하기 위하여 용매처리군의 활성도의 값을 기준치로 하고 각 처리군의 비교치를 그림 4에 실었다.

산성 반응액에서 나타난 비교치를 그림 4에서 보면 estradiol 과 progesterone 을 동시에 주사한 실험군 (251)에서 가장 높고, 다음이 progesterone 처리군 (177)이며, estradiol 처리군 (141)과 progesterone 먼저 처리군 (140)은 유사한 비교치를 나타내며, estradiol 먼저

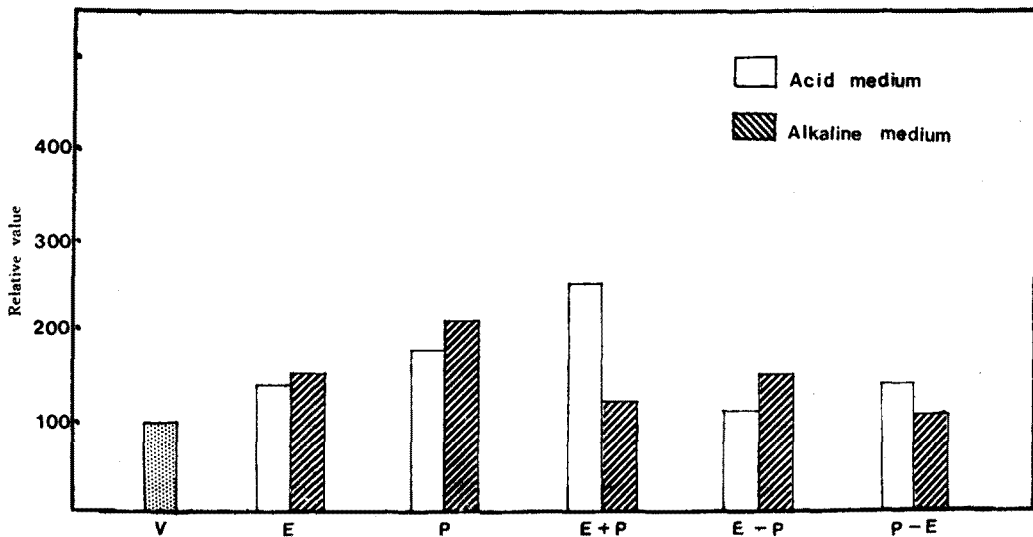


Fig. 4. Relative value of phosphatase activity on day 6 to the value of ovariectomized, vehicle-treated rats.

처리군(108)에서는 대조군(100)과 거의 같은 가장 낮은 비교치를 나타내고 있다.

알칼리성 반응액에서 나타난 비교치는 progesterone 처리군(208)이 가장 높으며, 다음이 estradiol 처리군(154)과 estradiol 먼저 처리군(150)이 되며, 그 다음이 두 호르몬 동시 처리군(121)이 되며, progesterone 먼저 처리군(105)에서는 대조군과 거의 같은 가장 낮은 비교치를 나타내고 있다.

이와같이 임신초기에 phosphatase 활성도에 미치는 난소 스테로이드 호르몬 중에는 progesterone이 estrogen보다 더 효과적이며, 그리고 두 호르몬을 계속 같이 처리하였을때 더 효과적인 것을 볼 수 있다.

## 고 찰

대부분의 포유류의 자궁조직은 발정주기와 임신기간 동안 주기적으로 형태적 및 생리적 변화를 한다. 이 변화는 난소호르몬 즉 estrogen과 progesterone의 조화있는 분비에 의한 것(Yochim and De Feo; Cook and Hunter, 1978)으로 알려지고 있다. 그러나 이들 호르몬이 어떻게 자궁의 기능을 조절하는지 그 작용기작은 아직 확실히 알려지지 않아서 이를 밝히려는 연구가 여러모로 추진되고 있다.

Nelson 등(1930)은 estrogen이 follicular phase에서 다량 분비되며 자궁조직을 분화시키는데 이는 progesterone보다 앞서 작용한다고 하였고 Marcus 등(1967)과 Finn 등(1969)은 이 estrogen을 착상유도 요소라고 하였다. Luteal phase에는 progesterone이 자궁으로 하여금 착상을 위한 준비를 하도록 자극을 주며, 임신을 유지하도록 한다. 또한 이 시기에는 미량으로 분비되는 estrogen도 착상을 유도하는 역할을 한다는 것이 밝혀졌다(Krehbiel, 1941; Weichert, 1942; Bolch, 1943; Whitten, 1958; Mayer, 1963; Smith and Biggers, 1968).

이상의 보고들로 미루어 볼때 자궁조직은 fo-

llicular phase에 estrogen의 작용이 먼저 있은후, luteal phase에 progesterone과 estrogen에 의하여 stromal cell의 성장과 분화가 일어난다고 생각된다. 그러므로 이러한 호르몬의 주기적 분비와 그 양적균형이 성주기와 착상, 그리고 임신을 조절할 것이라는 추측을 하게 된다. 이와같이 자궁내막조직의 분화가 난소호르몬의 분비 조절작용에 의하여 진행될때, 조직내 alkaline phosphatase(Finn and Hinchliff, 1964; Lobel et al., 1965), carbohydrate 대사와 관련된 효소들(Christie, 1966), 그리고 핵산대사와 관련된 효소들(Hill, 1969, 1971)의 활성과 신진대사의 변화가 일어난다는 것이 알려지고 있다(Bronson, et al., 1966; Smith, 1970; Yochim, 1975).

본 연구에서는 난소호르몬중 어떤 호르몬이 어떤시기의, 어떤 자궁조직의 대사작용과 분화에 관련이 있는지를 규명하기 위하여 자궁조직내의 효소활성을 추구 하였다.

산성 phosphatase는 탈락막 조직을 탈락시키는 데 참여한다고 하였으며(Smith, 1970), Mintz(1970)는 이 효소가 배낭의 zona pellucida를 용해하고, 착상의 initiating factor라고 하였다. 한편 알칼리성 phosphatase는 일반적으로 영양물질의 수송과 관련된 조직, 분비작용을 하는 기관, 그리고 분열중에 있는 조직에서 그 활성이 높게 나타난다고 하였다.(Fernley, 1971).

본인등(1981)이 앞서 발표한 바와 같이 임신초기중 임신제3일에 phosphatase 활성도가 최고치를 나타내며, 이 시기에 혈중 estrogen 농도역시 최고치를 나타내는 것을 관찰(미발표)하였다. 이러한 결과는 효소의 활성도는 estrogen의 영향을 받는다는 것을 의미한다. 또한 발정주기의 phosphatase 활성도 역시 발정전기와 발정기에 높은 것을 관찰(미발표)하였는데 이는 estrogen 분비가 peak일때 산성, 알칼리성 phosphatase가 합성된다고 한 Henzl(1972)의 보고와 일치하는 결과이다. 임신제3일은 마치 발정전기와 같이 DNA, RNA 및 단백질합성등 대사

작용이 활발하며(Yochim, 1975), 기질세포에서도 유사분열이 왕성해 진다는 것(Tachi, et al., 1976)으로 보아 호르몬의 영향을 받아서 효소들의 활성도가 커지고 대사작용이 활발한 것으로 생각된다.

본 실험에서 산성 phosphatase의 활성도가 큰 비율을 차지하고 있다. 자궁조직은 수정란의 착상을 준비하기 위하여 호르몬들의 자극을 받아서 대사작용이 활발하게 되어, DNA, RNA, 그리고 단백질합성이 일어나고 또한 세포분열이 왕성해져서 탈락막을 형성한다(O'Malley, 1971). 그러나 수정이 되지 않았을 때는 이와같이 착상준비를 위하여 형성되었던 탈락막이 무너져 내리는데 이 세포들을 탈락시키는 작용을 하는 것이 바로 이 시기에 합성되었던 산성 phosphatase 인 것으로 생각된다. 또한 Henzl 등(1972)과 Sloane 등(1980)이 산성 phosphatase의 존재부위를 전자현미경으로 관찰한 바에 의하면 이 효소가 증식기에 decidua 세포의 lysosome 속에 존재하다가 세포가 탈락될 단계에는 세포와 세포의 연결부에 존재한다고 하였다.

Aitken(1977)과 Pratt(1977)는 알칼리성 phosphatase는 생쥐의 임신제 4일이 된 자궁에서 단백질 합성과 밀접한 관계를 보이며, 활성도는 착상부위에서 증가하고 대사산물의 세포막 통과에 중요한 역할을 한다고 보고 하였으므로 이 효소는 포배의 발생과 임신의 유지에 필요한 영양소를 자궁내강으로 분비하는 작용과 밀접한 관계가 있는 것으로 사려된다. yochim(1975)은 임신제 2일 부터 제 5일까지 자궁에서는 soluble protein 합성이 계속 지속된다고 하였고 Tachi 등(1976)은 이 시기에는 유사분열이 증가되며 알칼리성 phosphatase의 활성이 증가된다고 하였다. 이러한 결과 등은 초기 임신전기간에 이 효소의 지속적인 작용이 필요하다는 것을 의미하며, 본 실험에서도 초기임신 전 기간을 통하여 이 알칼리성 phosphatase가 지속적인 활성도를 나타낸 것은 위의 보고들과 일치한다.

본 실험에서 난소제거 임신군에서 임신제 6일에 모든 효소의 활성이 현저하게 저하하는 것은 임신제 2일에 난소를 제거하였으므로 난소호르몬의 절대적인 부족 때문에 효소의 활성이 감소된 것으로 추측된다.

17 $\beta$ -estradiol 처리 제 3일군에서 산성, 중성 phosphatase의 활성도는 정상임신제 3일군 보다 낮으나, 알칼리성 phosphatase의 경우는 이 시기의 정상임신군 보다 높다. 이처럼 제 2일에 난소제거하고 17 $\beta$ -estradiol을 24시간 처리하였을 때는 분비성 효소만이 영향을 받는 것을 관찰할 수 있었다. 미세구조도 자궁내강 상피세포에는 fuzzy coat로 둘러싸인 용모돌기가 다수 관찰되며, 분비과립도 보이고 있는 것을 관찰하였다(미 발표). 한편 계속 3일간 처리받은 실험군(Day 6)에서는 모든 phosphatase의 활성도가 정상임신제 6일군과 거의 같아졌다. 그러나 형태적 관찰에서 기질층의 분화현상은 볼 수 없었다(미 발표). 이 17 $\beta$ -estradiol 처리군은 임신제 2일에 난소를 제거하고 17 $\beta$ -estradiol만 주사하였으므로 progesterone의 영향은 받지 못한 상태이다. 그러므로 17 $\beta$ -estradiol은 자궁내강 상피세포만을 자극하여 상피세포에서 분비작용은 일어나고 있으나 기질층 세포분화는 일어나지 못한 것으로 생각된다.

Progesterone 처리군에서는 17 $\beta$ -estradiol 처리군 보다 모든 효소의 활성이 더 높아지고 있고 형태적 관찰에서도 기질층에서 decidualization의 특징인 edema 현상등을 관찰할 수 있었다(미 발표). 이 처리군은 혈중 estradiol 양이 임신제 1일에 높아진후(미 발표)에 난소를 제거하고 progesterone을 처리하였으므로 자궁내막 기질층에서 decidualization 현상을 관찰할 수 있었다고 생각된다. 이러한 결과는, Tachi 등(1970)이 estrogen을 처리했을 때는 자궁 상피세포에서, progesterone과 estrogen을 처리했을 때는 기질층에서 핵이 뚜렷해지고  $^3\text{H}$ -uridine uptake가 일어난다고 한 결과와 일치된다. 그러므로 17 $\beta$ -

estradiol 과 progesterone 을 함께 3일간 계속 주사한 경우에는 산성, 중성 phosphatase 의 활성이 모든 실험군에 비해 크게 커지고 있으며, 알칼리성 phosphatase 의 활성이 낮은 것은 산성, 중성 phosphatase 의 과대증가에 따른 상대적 감소 현상이라고 생각된다.

이상의 실험결과를 볼때, 자궁내막조직을 구성하는 각기 다른 세포에 다른 난소 호르몬이 작용하며, 영향을 미치는 시기도 다르다고 생각됨으로 이 호르몬의 작용기작을 좀더 명확히 규명하고자 17 $\beta$ -estradiol 을 먼저, 또는 progesterone 을 먼저 2일간 주사하고 다음날 다른 호르몬을 주사하고 관찰하였을때 progesterone 을 먼저 주사한 실험군에서 모든 효소의 활성도가 높으며, 주사후 24 시간 보다는 48 시간이 더 큰 효소의 활성을 나타내고 있었다. 이러한 결과는 앞에서 progesterone 처리군이 더 큰 활성을 나타낸 결과와 같은 이유라고 생각된다. 이 결과는 Tachi 등 (1976) 이 progesterone 을 먼저 처리하고 estradiol 을 처리한 후 24 시간 후에 자궁기질세포에서 유사분열이 일어난다고 한 결과와, Squire 등 (1972) 과 Surani (1977) 가 초기임신기간에는 배란후 progesterone 이 48시간 작용하고 그후 24시간동안의 estrogen 의 영향이 미쳐야만 효과적 착상을 할 수 있다고 발표한 보고와 일치하는 현상이다.

또한 본 연구에서 두 호르몬을 동시처리 하면 효소 활성도가 더 높아지는데 이것은 Stone 등 (1978, 1979) 이 progesterone 은 estrogen 에 대한 자궁의 여러 반응을 간섭하지 않으며 오히려 estrogen 만을 주사 받았을 때 보다 더 효과적이 된다고 발표한 결과와 일치한다. 그러나 Clark 등 (1978) 이 progesterone 은 estrogen 과 길항적 작용을 한다고 한 결과와는 상반적인 결과이다.

## 결 론

본 연구는 포유류의 착상기작을 규명할 목적

으로 난소제거한 초기 임신중인 흰쥐에게 난소 호르몬을 주사하여 자궁내막조직의 phosphatase 의 활성도를 비교 관찰하였다.

본 연구결과는 다음과 같았다.

자궁내막조직의 분화는 phosphatase 의 활성도와 관련되어 난소 스테로이드 호르몬과 밀접한 관계를 갖고 있는 것을 관찰하였다. 즉 먼저 17 $\beta$ -estradiol 은 자궁내강, 선강세포층을 발달시켰고, 다음 progesterone 은 자궁내막 기질층 분화를 유도시킴으로서 decidualization 이 일어나고 계속 유지되는 것을 확인하였다.

난소를 제거하고 난소 스테로이드 호르몬을 처리하였을 때 phosphatase 활성은 난소 스테로이드 호르몬에 영향을 받고 있었다. 즉 phosphatase 활성은 17 $\beta$ -estradiol 처리군 보다 progesterone 처리군에서 더 높았으며, 두 호르몬의 동시 처리군에서 가장 높았다.

Phosphatase 의 총활성도는 산성 반응액에 작용시켰을 때 가장 높았으며, 반면 알칼리 반응액에 작용시켰을 때는 가장 낮았다.

본 연구를 통해 볼때 자궁조직을 구성하고 있는 각 조직층에 17 $\beta$ -estradiol 과 progesterone 의 표적세포가 다르며, 영향을 미치는 시기도 각기 다르므로 이들 호르몬의 작용기작을 좀더 명확히 규명하기 위해서 앞으로 자궁 조직 내강상피세포와 기질세포를 분리하여 효소의 활성을 측정해 보고, 또한 조직화학적 관찰을 통해 각 효소의 존재 부위를 명확히 밝혀 보아야 될 것으로 사려된다.

## REFERENCES

- Aitken, R.J., 1977. *Changes in the protein content of mouse uterine flushings during normal pregnancy and delayed implantation, and after ovariectomy and oestradiol administration. J. Reprod. Fert.*, 50:29-36.
- Bronson, F.M., C.P. Dagg and G.D. Snell, 1966. *Reproduction. In: "Biology of the Laboratory Mouse" Ed. E.L. Green, 11, pp. 187.*

- McGraw Hill Book Company : New York.
- Christie, G.A., 1967. *Histochemistry of implantation in the rabbit. Histochemie* 9:13-29.
- Clark, J.H., Peck, Jr. E.J., J.W., Hardin and H Eriksson, 1978. *The biology and pharmacology of estrogen receptor binding : relationship to uterine growth, Receptors and Hormone Action, Vol. II, Academic Press, New York, pp. 1-32.*
- Cook, B. and R.H.F. Hunter, 1978. *Systemic and local hormonal requirements for implantation in domestic animals. J. Reprod. Fert., 54:471-482.*
- Davies, D.R., 1934. *The phosphatase activity of spleen extract. Biochem. J., 28:529.*
- Denker, H.W., 1972. *Blastocyst protease and implantation, effect of ovariectomy and progesterone substitution in the rabbit, Acta Endocrinol., 70:591-602.*
- Ernst, S.A., 1972a. *Transport adenosine triphosphatase cytochemistry. I. Biochemical characterization of a cytochemical medium for ultrastructural localization of ouabain sensitive, potassium phosphatase activity in avian salt gland. J. Histochem. Cytochem., 20:13-22.*
- Ernst, S.A., 1972b. *Transport adenosine triphosphatase cytochemistry. II. Cytochemical localization of ouabain sensitive, potassium-dependent phosphatase activity of the avian salt gland. J. Histochem. Cytochem., 20:23-38.*
- Fernely, H.N., 1971. *Mammalian alkaline phosphatases. In : The Enzymes, Vol. IV, pp. 417-449. Ed. P.D. Boyer. Academic press, New York.*
- Finn, C.A. and A. McLaren, 1967. *A study of the early stages of implantation in mice. J. Reprod. Fert., 13:259-267.*
- Henzl, M.R., R.E. Smith, G. Boost, E.T. Tyler, 1972. *Lysosomal Concept of Menstrual Bleeding in Humans. J. Clin. Endocrinol. Metab., 34:860-875.*
- Hollander, V.P., 1971. *Acid phosphatases. In : The Enzymes, 3rd edn., Vol. IV. pp. 449-498. Ed. P.D. Boyer Academic Press, New York.*
- Jacob, F. and J. Monod, 1961. *On the regulation of gene activity. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 26:193-209.*
- Joshi, M.S. and I.M. Murray, 1974. *Immunological studies of the rat uterine fluid peptidase. J. Reprod. Fert., 37:361-365.*
- Joshi, M.S. and M.G. Rosenfeld, 1976. *Hormonal influence on the appearance of uterine specific peptidase in the rat and mouse. In : Protides of the Biological Fluids. Vol. 24. Pergamon. Oxford. pp. 109-112.*
- Joshi, M.S., A. Yaron and H.R. Linder, 1970. *An endopeptidase in the uterine secretion of the proestrous rat and its relation to sperm decapitating factor. Biochem. Biophys. Res. Commun., 38:52-56.*
- Kim, S.R. and W.K. Cho, 1981. *On the activity of phosphatase in the endometrium of the rat uterus during early pregnancy. Kor. J. Fertil. Steril., 8:1-11.*
- Kirchner, C., 1972. *Uterine protease activity and lysis of the blastocyst covering in the rabbit. J. Embryol. Exp. Morph., 28:177-183.*
- Lobel, B.L., Tic, L. and M.C. Sheleshyak, 1965. *Studies on the Mechanism of nidation. Histochemical analysis of decidualization in the rat. Acta. endocrinol. 50:517-559.*
- Long, J.A. and H.M. Evans, 1922. *The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. Mem. Univ. Calif., 6:1-148.*
- Manning, T.P., B.G. Steinetz, and T. Giannina, 1969. *Decidual alkaline phosphatase activity in the pregnant and pseudopregnant rat. Ann. N.Y. Acad. Sci., 166:482-509.*
- McLaren, A., 1970. *Early embryo-endometrial relationships. In : Ovoimplantation, Human Gonadotrophins and Prolactin, Eds. J.E. Hublnot, F. Leroy, C. Robyn and P. Leleux, Karger, Basel. Munchen and New York, pp. 18-37.*
- Mintz, B., 1970. *Control of embryo implantation*

- and survival. *Schering Symp. Intrinsic and Extrinsic Factors in Early Mammalian Development. Adv. Biosci.*, 6:317-342.
- Mintz, B., 1971. *Control of embryo implantation and survival. Adv. Biosci.*, 6:317-340.
- O'Malley, B.W., M.D., 1971. *Mechanisms of action of steroid hormones. The New Engl. J. Med.*, 284:370-377.
- Orsini, M.W. and A. McLaren, 1967. *Loss of the zona pellucida in mice, and the effect of tubal ligation and ovariectomy. J. Reprod. Fert.*, 13:485-499.
- Pratt, H.P.M. 1977. *Uterine proteins and the activation of embryos from mice during delayed implantation. J. Reprod. Fert.*, 50:1-8.
- Sloane, B.F., 1980. *Lysosomal Apparatus in Uterine Muscle : Effects of estrogen and of ovariectomy. Biol. Reprod.*, 23:867-876.
- Smith, A.F. I.B. Wilson, 1971. *Histochemical observations on early implantation in the mouse. J. Embryol. Exp. Morph.*, 25:165-174.
- Squire, G.D., F.W. Bazer and F.A. Murray, 1972. *Electrophoretic patterns of porcine uterine secretions during the oestrous cycle. Biol. Reprod.*, 7:321-325.
- Stone, G.M., Leight Murphy and B.G. Miller, 1978. *Hormone receptor levels and metabolic activity in the uterus of the Ewe Regulation by oestradiol and progesterone. Aust. J. Biol. Sci.* 31:395-403.
- Stone, G.M. Jennifer Wild and B.G. Miller. 1979. *The uterine endometrium and Isthmic oviduct of the Ewe : Does progesterone act as an antiestrogen? Biol. Reprod.*, 21:273-280.
- Surani, M.A.H., 1975. *Hormonal regulation of proteins in the uterine secretion of ovariectomized rats and the implications for implantation and embryonic diapause. J. Reprod. Fert.*, 43:411-417.
- Surani, M.A.H., 1977. *Qualitative and quantitative examination of the proteins of rat uterine luminal fluid during pro-oestrus and pregnancy and comparison with those of serum. J. Reprod. Fert.*, 50:281-287.
- Tachi, S., C. Tachi and H.R. Lindner. 1970. *Ultrastructural features of blastocyst attachment and trophoblastic invasion in the rat. J. Reprod. Fert.* 21:37-56.
- Tachi, C. and S. Tachi, and H.R. Lindner, 1976. *A morphological approach to the study of ovum implantation in the rat. In : Implantation of the ovum. Edited by Yoshinaga, K., R.K. Meyer, R.O. Greep. Harvard Univ. Press.*
- Yochim, J.M., 1975. *Development of the pre-gestational uterus : metabolic aspects. Biol. Reprod.*, 12:106-133.
- Yochim, J.M. and V.J. DeFeo, 1963. *Hormonal control of the onset magnitude and duration of uterine sensitivity in the rat by steroid hormones of the ovary. Endocrinology*, 72: 317-326.