

## Prostaglandin $F_2\alpha$ 處理에 따른 過排卵 家兔의 卵管内 卵子運搬 및 分布에 關한 研究

卞泰鎬 · 沈金鑾 · 李在根

高麗大學校 畜產學科

## The Study of Egg Transports and Distribution Patterns in the Oviducts of Superovulated Rabbits by Administrations of $PGF_2\alpha$

T. H. Byun, K. S. Shim and J. K. Lee

College of Agriculture, Korea University

### Summary

This experiment was carried out to study the egg transports and distribution patterns in the oviducts of superovulated rabbits by administrations of  $PGF_2\alpha$ . Group I (3 does) and Group II (3 does) were killed at 24 hours, 48 hours after mating, respectively. Group III (6 does) received a single injection of 5 mg/Kg of body weight of  $PGF_2\alpha$  at 24 hours after mating and killed at 4 hours after  $PGF_2\alpha$  administration. The oviducts were frozen in LN-gas, thawed using Howe's method, and cleared in Benzyl-Benzoate sol. using Orsini's technique. The location of the eggs and the AIJ. were identified using transmitted light from a dissecting microscope.

The results obtained were as follows:

1. The average numbers of detected eggs from the oviduct were 28.6 (26-32), 26.0 (24-29), and 27.1 (22-34) in Group I, II, and III, respectively.
2. Detection rate was 88.7%, 76.4%, and 84.9% in Group I, II, and III, respectively.
3. The position of all AIJ. was 44.2% to 55.0% (av. 49.5%) of the distance from the fimbriae to the UTJ. (Utero-Tubal Junction).
4. The changes of egg distribution patterns were as follows:

	Ampulla	Isthmus
Group I	52.3%	47.7%
Group II	8.9%	91.1%
Group III	8.0%	92.0%

### I. 緒論

雌性生殖器 導管内 卵子的 運搬이나 分布에 영향을 미치는 生理的 機作을 糾明하기 爲하여 지금까지 많은 研究가 進行되어 왔음에도 불구하고 아직까지도 그 精密한 기작은 밝혀져 있지 못한 實情이다. 卵管 및 子宮內 卵자의 운반이나 분포에 관

한 초기 연구 과정에서는 주로 卵管的 運動性에 대한 연구가 主流를 이루었다. 즉, Black & Asdell (1958)은 卵자가 卵管的 狹部를 통과하기 前에 膨大部에서 長時間 滯留한다고 했으며, Green wald (1961)는 排卵後 2 時間內에 卵자는 膨大部를 통과하여, 交尾後 12時間에 大部分의 卵자는 卵管길이 의 半정도를 지나서 위치한다고 했다. 近來에는 난

자 운반에 미치는 各種 Hormone劑의 효과에 대해서 많은 연구가 이루어 졌으며(Chang & Harper, 1966; Harper, 1966; Boling & Blandau, 1971), 그 결과 過排卵 處理時 난자의 운반은 약 18시간 정도 빨라진다는 사실도 보고된 바 있다(Tsutsumi 등, 1980).

한편 筋收縮을 促進하는 것으로 알려져 있는 PGF<sub>2</sub>α가 卵管 運動이나 난자 운반에 미치는 영향에 대해서도 多樣的 연구가 進行되었다(Chang & Hunt, 1972, 1973; Aref & Hafez, 1976; Ellinger & Kirton, 1974). 특히 Aref 등(1973)은 PGF<sub>2</sub>α 투여 시간은 交尾後 12시간 보다 24시간이 그 효과가 크다고 했으며, Takeda 등(1978)은 교미후 24시간에 PGF<sub>2</sub>α를 투여한 경우, 대부분의 卵자는 12시간 이내 모두 子宮으로 방출된다고 보고했다.

本 實驗은 過排卵 家兔에 대하여, Howe(1970)의 方法에 따라 卵管을 열리고, Orsini(1962)의 方法

에 의해 卵管을 투명하게 만들어, PGF<sub>2</sub>α 處理에 따른 過排卵 卵자의 난관내 分布를 관찰하며, 또한 PGF<sub>2</sub>α가 卵자의 운반 생리 및 난관의 운동 생리에 미치는 효과를 살펴보기 위하여 실시하였다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 供試兔

雌兔는 體重 2.4~3.8kg의 Japanese white種 12首, 雄兔는 體重 4.0~4.2kg의 同種 4首를 韓國 養兔 協同組合으로부터 購入하여 假妊娠을 防止하기 위하여 30日間 單飼로 예비 사육시켰다.

### 2. 實驗方法

#### 가) 處理區의 配置

3個 實驗區의 處理別 配置 狀況은 Table 1과 같다.

Table 1. Experimental design

Group	Treatments	Time of sacrifice	No. of does
I	superovulation	at 24 hours p. c. *	3
II	superovulation	at 48 hours p. c.	3
III	superovulation, administration of PGF <sub>2</sub> α at 24 hr. p. c.	at 4 hours after PGF <sub>2</sub> α administration	6

\* p. c. : post coitum

#### 나) 過排卵 處理

交尾前 80時間에 200I.U.의 PMSG(Intervet社, Folligen)를 1回 筋肉 注射하고, 두 차례에 걸쳐 雌兔와 交尾시키는 동시에 100 I.U.의 HCG(Intervet社, Chorulon)를 1回 靜脈注射하여 과배란을 誘起하였다.

#### 다) PGF<sub>2</sub>α의 處理

卵管의 筋肉 運動을 促進시켜 過排卵 卵자의 卵管内 운반을 加速시키기 위하여 Group III의 6首를 交尾後 24時間에 PGF<sub>2</sub>α(Upjohn社, Lutalyse) 5 mg/kg을 1回 皮下 注射했다.

#### 라) 卵管의 透明化

Howe(1970)의 方法에 따라 액체 질소 가스를 腹腔內에 부어 卵管을 열림으로서 卵자의 流動을 막은 後, Orsini(1962)의 方法에 따라 卵管을 透明하

게 한 다음 해부 현미경으로 관찰하였는 바 그 과정은 다음과 같다.

1) 토끼를 뒤로 눕힌 자세로 수술대에 고정시킨 다음, 過量的 Ethyl-Ether를 이용하여 屠殺하였다.

2) 屠殺 즉시 腹壁를 열고 消化腸器를 제거한 다음, 신속하게 腹腔內에 액체 질소 가스를 부어 生殖導管을 그대로 둔 채 열렸다.

3) 室溫에서 서서히 녹인 다음 全 卵巢와 全 卵管 및 子宮頸의 1/4 정도를 연결된 상태로 摘出했다.

4) 摘出된 卵管 및 子宮頸으로부터 脂肪體와 血液를 제거하였고, 卵巢는 미리 준비한 10% Formalin 용액에 넣어 24시간 동안 固定시킨 후, 먹물을 묻힌 주사침으로 黃體數를 세었다.

5) 卵管 및 子宮를 알루미늄 Foil로 싸여진 支持

板위에 놓고, 韌帶에 pin을 꽂아 끈게 펼친 다음, 卵管의 길이를 測定하였다.

6) 卵管 및 子宮을 固定溶液인 A. F. A. 용액 (95% ethanol 30cc + glacial acetic acid 10cc + formalin 10cc + 증류수 50cc)에 넣고 약 48시간 동안 固定시켰다.

7) 고정된 試料로부터 pin을 제거한 다음, 50% ethanol에서 100% ethanol의 순서로 점차 농도를 높여 주면서 서서히 탈수시켰다. 이때 ethanol에는 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액 7~8 방울을 섞어서 탈수와 동시에 試料를 漂白했다.

8) 충분히 脱水된 試料는 100% ethanol + benzene (1:1) 혼합 용액을 거친 다음 benzene으로 처리했다.

9) 시료를 benzyl-benzoate 용액에 넣고 2시간마다 용액을 바꿔 주면서 시료가 완전히 투명하도록 처리했다.

10) 완전히 투명해진 試料를 benzyl-benzoate 용액에 담겨진 채로 stereo-microscope 下에서 AIJ를 찾아 그 위치를 測定한 다음, 卵管의 膨大部와 狹部를 各各 10개의 分割으로 나누어 各 分割에 위치한 卵子數를 세었다.

### III. 結果 및 考察

#### 1. Group別 發見卵子數

Group別로 發見된 卵管内 卵子數를 Table 2에서 살펴보면 Group I, II, III의 平均 卵子數는 各各 28.6개, 26.0개, 그리고 27.1개로서 各 Group들 間에 큰 差異가 없음을 알 수 있다. Tsutsumi & Hafez (1974)는 自然排卵시킨 경우에 平均 9.52 (8~11) 개를 發見하였으나, 過排卵 處理 家兔의 卵管内 卵子의 分布를 관찰한 Tsutsumi 등 (1980)의 보고에 의하면 平均 卵子數가 36.2~42.2개로 本 實驗의

성적에 비해 좋은 결과를 나타냈다. 이는 과배란 처리시 투여한 PMSG와 HCG의 投與量이 供試兔의 體重이나 性成熟 정도에 비해 너무 많은 관계로 과배란 처리 家兔의 난소로부터 분비된 estrogen과 gestagen의 非正常的인 分비량으로 인해 많은 數의 黃體나 未破裂 卵胞가 난소 표면에 生成된 결과라고 생각하며, 실제로 본 실험의 경우 도살 직후에 난소 표면을 검사한 결과 상당수의 發育 卵胞와 血胞를 발견하였다.

#### 2. 卵管 部位別 卵子數와 發見率

Table 3에서 살펴보면 交尾後 24時間에 屠殺한 Group I의 경우 膨大部에 45개 (52.3%), 狹部에 41개 (47.7%)가 위치했으며, Group II의 경우 7개 (8.9%), 71개 (91.1%)가 各各 위치하였고, PGF<sub>2</sub>α를 처리한 Group III의 경우 13개 (8.0%), 150개 (92.0%)가 各各 위치했다. 이는 교미후 24시간에 도살한 過排卵 處理 家兔의 경우 膨大部에 49.7%, 狹部에 50.3%가 위치하며, 교미후 48시간에는 0.6%, 99.4%가 各各 위치한다고 한 Tsutsumi 등 (1980)의 보고와 비슷한 分布를 나타내고 있으며, 또한 本 實驗의 結果를 자연배란의 경우 (Tsutsumi & Hafez, 1974)와 비교해 보면, 교미후 24시간에 卵子의 分布는 팽대부에 65%, 협부에 35%이고, 교미후 48시간에는 각각 11%, 89%로서 과배란 처리한 本 實驗의 경우 卵管内 卵子의 운반은 매우 촉진되었음을 알 수 있다. 이와 같은 사실은 과배란 처리토의 경우 자연배란 처리토에 비해 협부 통과 시간이 약 18시간 정도 촉진된다고 한 Tsutsumi 등 (1980)의 보고와도 비슷한 결과이다. 일반적으로 과배란 처리에 따른 난자 운반의 加速은 PMSG와 HCG의 투여로 인하여 內性 estrogen과 gestagen사이의 균형이 깨어짐으로서 일어난다고 보고된 바 있다 (Tsutsumi 등, 1980).

Table 2. Number of detected eggs from the oviduct.

	Group I			Group II			Group III			Total	Av.	
	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
Individual												
No. of detected eggs	28	32	26	24	25	29	22	29	25	34	30	23
Total	86			78			163			327	27.2	
Average	28.6			26.0			27.1					

Table 3. D.R and numbers of eggs detected in the oviducts.

Group	No. of does	No. of corpora lutea	No. of eggs detected in			Detection rate (%)
			Ampulla	Isthmus	Total	
I	3	97	45 (52.3)	41 (47.7)	86 (100)	88.7
II	3	102	7 (8.9)	71 (91.1)	78 (100)	76.4
III	6	192	13 (8.0)	150 (92.0)	163 (100)	84.9
Total	12	391	65	262	326	83.4

또한 Maia 등(1977)의 보고에 의하면 난관에 대한 PGF<sub>2</sub>α의 효과는 狹部 보다 膨大部나 AIJ. 가 훨씬 더 크다고 한다. 따라서 본 실험의 Group III의 경우 난자 운반에 미치는 PGF<sub>2</sub>α의 효과가 가장 커서, 약 20시간 정도의 난자 운반 가속을 나타냈다.

한편 Group I, II, III의 卵管内 卵子の 發見率 (Detection rate)은 각각 88.7%, 76.4%, 84.9%로서 평균 83.4%였다. 자연배란 가토의 난자 분포에 대한 Tsutsumi & Hafez (1974)의 보고에 따르면 난관 및 자궁내 난자의 발견율은 100%였으며, 이는 현미경 관찰시 透過光을 사용했기 때문이며 만약 반사광을 사용할 경우 발견율이 떨어진다고 했다. 그러나 Tsutsumi 등(1980)은 과배란 처리시 生殖導管内의 卵子 發見率은 교미후 24시간에 도달한 경우 84.6%, 교미후 48시간에 도달한 경우 82.1%라고 보고했다. 본 실험의 발견율이 비교적 낮은 것은 과배란 처리에 따른 많은 수의 난자가 長時間에 걸쳐 排卵되었기 때문이라고 생각된다. 또한 本 實驗의 경우 Group II의 발견율이 낮은 것은 도살 시간 전에 다수의 난자가 난관을 벗어나 자궁이나 膣까지 방출되었기 때문이다. Tsutsumi 등(1980)은 과배란 처리시 교미후 48시간에는 15.6%의 난자가 난관을 지나 子宮角이나 膣에서 발견된다고 보고했다.

### 3. 난관내 난자의 분포 변화

透明해진 卵管을 AIJ. 를 기준으로 膨大部와 狹部로 나눈 다음 各 部分을 10개의 分割으로 나누어 屠殺 時間에 따른 各 Group別 卵管内 卵子の 分布를 나타낸 것이 Fig. 1과 Fig. 2이다. Fig. 1에서

보듯이 Group I의 경우 팽대부에 위치하는 난자들 중 가장 많은 수(15.1%)의 난자가 분획 10에 集積되어 있다.

이러한 결과는 AIJ. 가 난자 운반의 첫번째 방해

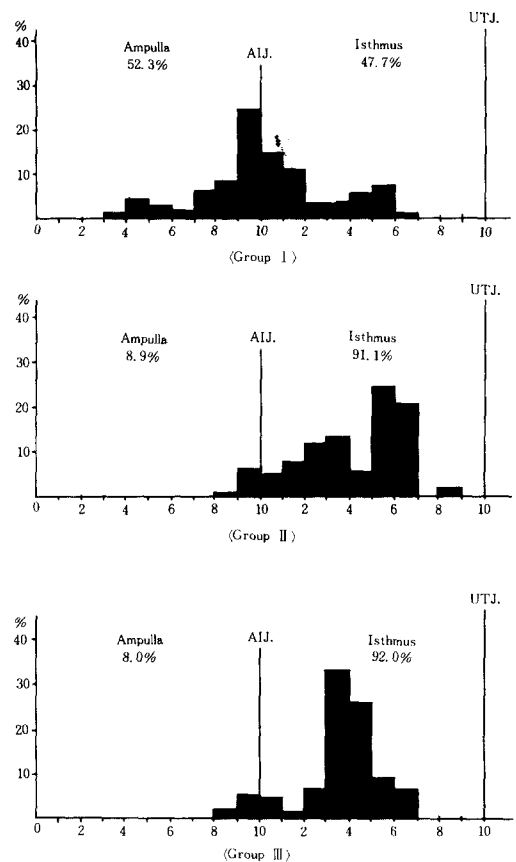


Fig. 1. Changes of distribution of eggs in the ampulla and isthmus.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10										1 2 3 4 5 6 7 8 9 10												
Group	Ampulla										A.I.J.	Isthmus										Total
I				1	4	3	2	6	8	13	14	6	9	3	3	5	8	1				86
				(1.2)	(4.6)	(3.5)	(2.3)	(7.0)	(9.3)	(15.1)	(16.3)	(7.0)	(10.4)	(3.5)	(3.5)	(5.8)	(9.3)	(1.2)				(100)
II									1	5	3	3	7	10	12	5	21	16	0	2		78
									(1.2)	(6.4)	(3.8)	(3.8)	(8.9)	(12.8)	(15.3)	(6.4)	(26.9)	(20.5)	(0.0)	(2.5)		(100)
III									4	7	6	4	3	12	53	45	17	12				163
									(2.5)	(4.3)	(3.7)	(2.5)	(1.8)	(7.4)	(32.4)	(27.6)	(10.4)	(7.4)				(100)

Fig. 2. Diagram of the pattern of segmentation of the cleared oviducts, and numbers of eggs located in each segment of the cleared oviducts in rabbits.

요인이라는 사실(Greenwald, 1961; Harper 등, 1960; Longley & Black, 1968)을 입증하는 것이다.

한편 Group II의 경우 가장 많은 수의 난자(47.7%)가 분획 6과 분획 7에 위치하며, 이는 Tsutsumi & Hafez (1974)의 연구결과와 비교해 볼 때 교미후 66시간의 분포와 비슷하므로 과배란 처리시 난자의 운반은 자연배란의 경우에 비해 매우 촉진되었음을 알 수 있다.

또한 Fig. 1과 Fig. 2에서 나타난 Group III의 난자 분포 형태는 Group I과 Group II의 분포와 비교해 볼 때 매우 注目할 만하다. Ellinger & Kirton (1974)은 교미후 24시간에 5 mg/kg의 PGF<sub>2</sub>α를 피하 주사할 경우 난자 운반을 약 40시간 가량 촉진시켰다고 보고했다. 본 실험의 Group III에서는 난자의 A.I.J. 통과 시간이 정상보다 단축되었음을 보여 주고 있는 바, 이는 교미후 24시간에 주로 A.I.J. 부

근에 모여 있던 난자들이 외부에서 투여된 PGF<sub>2</sub>α의 영향을 받아 불과 4시간 동안에 膨大部와 A.I.J.에 存在하던 약 50% 가량의 난자들이 분획 4와 5까지 이동한 것이라고 생각된다.

이상의 실험 결과를 종합적으로 고찰해 보면, 과배란 처리의 결과 난관내 운반이 매우 촉진되었으며, PGF<sub>2</sub>α 투여에 따라 교미후 약 28시간 정도에 미처리 家兔의 교미후 48시간의 난자 분포와 비슷한 정도로 난자 운반이 촉진되었음을 알 수 있다.

#### IV. 摘要

本 실험은 PGF<sub>2</sub>α 處理에 따른 過排卵 家兔의 卵管内 난자의 운반 및 분포를 알아 보기 위하여 실시했다. 供試兔로는 Japanese White 種 12首를 使用했으며, 각 Group 共히 過排卵을 誘起시켰다. Group I과 Group II는 과배란 처리와 함께 交尾後 24時間, 48時間에 各各 屠殺했으며, Group III는 과배란 처리와 함께 교미후 24時間에 5 mg/kg의 PGF<sub>2</sub>α를 1回 皮下 注射하고, PGF<sub>2</sub>α 처리후 4時間에 도살했다. 各 Group 모두는 도살 직후 복강내에 액체 질소 가스를 투여하여 난관을 얼림으로서 卵子の 流動을 막고 (Howe's method), 室温에서 서서히 녹인 다음 Orsini의 方法을 이용하여 benzylbenzoate 용액으로 난관을 透明하게 만든 後, 海부 현미경 下에서 卵子の 卵管内 分布를 조사한 바, 本 실험의 결과는 다음과 같다.

1) 卵管으로부터 발견된 平均 卵子數는 Group I, II, III에서 各各 28.6 (26~32)개, 26.0 (24~29)개,



Plate 1. Eggs located in the lower part of isthmus as viewed by the transmitted light (X25).

27. 1 (22~34) 개이었다.

2) 卵子 發見率(Detection rate)은 Group I, II, III에서 각각 88.7%, 76.4%, 84.9%이었다.

3) 卵자의 卵管 膨大部 및 狹部에서의 分布比는 Group I, II, III가 각각 52.3%와 47.7%, 8.9%와 91.1%, 그리고 8.0%와 92.0%이었다.

4. Group I의 경우 운반중인 난자의 난관 팽대부의 分割10에 모여 있는 것으로 보아, 난관내 난자의 운반에는 AIJ가 barrier로 作用하고 있음을 확인할 수 있었다.

5) PGF<sub>2</sub>α를 처리한 Group III의 경우 처리하지 않은 Group I, II에 비하여 약 20시간 정도의 卵子 運搬 加速을 나타냈다.

## REFERENCES

1. Aref, I., E.S.E. Hafez and G.A.R. Kamar. 1973. Postcoital Prostaglandins, in vivo oviductal motility, and egg transport in rabbits. *Fertil. Steril.*, 24: 671.
2. Black, D.L. and S.A. Asdell. 1958. Transport through the rabbit oviduct. *Am. J. Physiol.*, 192: 63.
3. Boling, J.L. and R.J. Blandau. 1971. Egg transport through the ampulla of the oviducts of rabbits under various experimental conditions. *Biol. Reprod.*, 4: 174.
4. Chang, M.C. and M.J.K. Harper. 1966. Effects of ethyl estradiol on egg transport and development in the rabbit. *Endocrinology*, 78: 860.
5. Ellinger, J.V. and K.T. Kirton. 1974. Ovum transport in rabbits injected with PGE<sub>1</sub> and PGF<sub>2</sub>α. *Biol. Reprod.*, 11: 93.
6. Greenwald, G.S. 1961. A study of the transport of ova through the rabbit oviduct. *Fertil. Steril.*, 12: 80.
7. Harper, M.J.K., J.P. Bennett, J.C. Bournsnel and L.E.A. Rowson. 1960. An autoradiographic method for the study of egg transport in the Fallopian tube. *J. Reprod. Fertil.*, 1: 249.
8. Harper, M.J.K. 1966. Hormonal control of transport of eggs in cumulus through the ampulla of the rabbit oviduct. *Endocrinology*, 78: 568.
9. Howe, G.R. 1970. A study of egg transport in the rabbit using a freezing technique. *J. Reprod. Fertil.*, 21: 339.
10. Longley, W.J. and D.L. Black. 1968. Comparisons of methods for locating ova in the oviduct of the rabbit. *J. Reprod. Fertil.*, 16: 69.
11. Maia, H. Jr., I. Barbosa, M.J.K. Harper, B.J. Hodgson and C.J. Pauernstein. 1977. Effect of ovulation and hormonal treatment on the in vivo response of rabbit oviducts to Prostaglandins E<sub>1</sub> and F<sub>2</sub>α. *Fertil. Steril.*, 28: 91.
12. Orsini, M.W. 1962. Technique of preparation, study and photography of benzyl-benzoate cleared material for embryological studies. *J. Reprod. Fertil.*, 3: 283.
13. Takeda, T., Y. Tsutsumi, S. Hara and M. Ida. 1978. Effects of PGF<sub>2</sub>α on egg transport and in vivo egg recovery from the vaginas of rabbits. *Fertil. Steril.*, 30: 79.
14. Tsutsumi, Y. and E.S.E. Hafez. 1974. Distribution patterns of rabbit embryos during preimplantation stage. *J. Morph.*, 144: 323.
15. Tsutsumi, Y., Y. Terami, T. Takeda, H. Suzuki and S. Matsui. 1980. In vivo egg recovery from the vaginae and the pattern of egg distribution in superovulated rabbits. *Jap. J. Anim. Reprod.*, 26: 6.