

흰쥐에 있어서 LY-117018 및 tamoxifen이 이 착상에 미치는 영향

서울대학교 수의과대학 생리학교실

박 경 식 · 권 종 국

Abstract =

Effects of LY-117018 and Tamoxifen on Implantation in Rats

Kyoung-Sik Park and Jong-Kuk Kwun

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

These studies were carried out to investigate the effects of the antiestrogens, LY-117018 and tamoxifen, on implantation in ovariectomized or intact adult rats.

A quantity of 80 μg of LY-117018 or tamoxifen was given to adult female rats on Day 1, 2, 3 and 4 of pregnancy and investigated the implantation sites on Day 8 of pregnancy.

The rats were ovariectomized at the first day of pregnancy and treated with various doses of LY-117018 or tamoxifen together with progesterone daily from Day 2 to 8 of pregnancy and then investigated the implantation sites on Day 8 of pregnancy.

The results were summarized as follows:

When a single dose of 80 μg LY-117018 and tamoxifen was given during the first 4 days of pregnancy, the implantation was intensively inhibited in the pregnant rat treated with LY-117018 on Day 2 ($14.4 \pm 3.5\%$), 3 ($16.3 \pm 5.3\%$) and tamoxifen on Days 2 ($17.4 \pm 4.6\%$), 3 ($16.3 \pm 2.8\%$) and 4 ($13.9 \pm 3.5\%$).

LY-117018 was apt to inhibit more potently the implantation than tamoxifen except on Day 4 of pregnancy.

In rats ovariectomized on Day 1 of pregnancy and treated continuously with 125 μg of LY-117018 and tamoxifen together with progesterone showed the highest implantation rate, compared with the rats treated continuously with different doses of the two drugs. The correlation coefficients between the dosage of drugs and implantation rate were $r=0.91$ (LY-117018), 0.51 (tamoxifen), respectively, except treatment with 625 μg of the drugs.

Tamoxifen was apt to stimulate the implantation more potently than LY-117018 except groups treated with 625 μg of the two drugs.

서 론

Harper와 Walpole(1967)은 임신한 흰쥐와 생쥐에 tamoxifen을 투여한 결과 수정란 착상의 실패, 질 상피 세포의 각질화 방지, 자궁 무게의 증가 억제등과 같은 강한 antiestrogen 작용이 있음을 보고 하였다. 또한

tamoxifen은 동물에 따라서 효과가 상이하여 생쥐에서는 estrogen과 유사한 성질이 있고(Martin과 Finn, 1968; Terenius, 1971; Jordan, 1975; Martin과 Middleton, 1978; Korach와 Ford, 1978; Korach, 1979) 흰쥐에서는 부분적으로 estrogen과 유사한 성질이 있으며(Harper 와 Walpole, 1966, 1967; Jordan et al., 1977B; Waters와 Knowler, 1981) 병아리의 난관에서는

estrogen 길항제로 작용하기 때문에 (Sutherland et al., 1977) tamoxifen 작용에 대한 일관성 있는 설명은 어려웠던 까닭에 antiestrogen의 작용기전에 관한 연구가 활발히 진행되는 계기가 되었다.

한편 antiestrogen은 일반적으로 estrogen과 estrogen 수용체에 대하여 경쟁적으로 결합함으로써 antiestrogen 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다 (Terenius, 1971; Rochefort et al., 1972; Jordan et al., 1977A, 1977B; Katzenellenbogen et al., 1978; Kur! 과 Morris, 1978). 근래에는 estrogen 수용체 불활성화에 의한 estrogen의 가역반응 방해 이론 (Robertson et al., 1981), antiestrogen의 세포별 반응차이론 (Mc Cormack 과 Glasser, 1980; Markaverich et al., 1981; Korach와 Lamb, 1981) 등의 연구도 있다. 그러나 최근에 estrogen 수용체와는 다른 antiestrogen 결합부위의 존재를 주장하여 이것과 antiestrogen의 작용을 관련시켜서 설명하려는 보고가 대두되었다 (Sutherland과 Foo, 1979; Sutherland et al., 1980; Faye et al., 1980).

한편 호르몬과 착상과의 관계에 관한 연구에서 Bloch (1958)와 Psychoyos (1963, 1964)는 progesterone과 estrogen의 투여로 착상 지연을 막을 수 있었다. 동시에 그는 임신 4일 저녁에 난소를 제거한 경우에도 착상이 이루어지는 것으로 보아 임신 4일 오후에 estrogen의 급증 가능성을 시사하였다. 그리고 Shelesnyak 등 (1963), Shelesnyak과 Tic (1963)은 가임신 후 4일 아침 또는 오후 늦게 난소를 제거하여 본 결과 탈락막 유발물질에 대한 감수성을 나타내지 않고 가임신 4일 오후에 estrogen 투여시에는 감수성을 나타낼 수 있었다.

Estrogen이 생체내 histamine 및 prostaglandin 생성을 촉진하여 자궁의 배포에 대한 감응도를 높이고 자궁내막 기질세포를 탈락막 세포로 변화시키며 자궁의 혈관 투과성을 증가시킨다는 보고가 있다 (Shelesnyak과 Tic, 1963; Callantine et al., 1966; O'Grady et al., 1972; Saksena와 Harper, 1974; Saksena et al., 1976).

Pfleiderer (1965), Dickmann 등 (1975)은 토끼배 착상에 있어서도 배포에 의하여 제공되는 estrogen은 역시 필요하다고 보고하였다.

Vokaer 와 Leroy (1962)는 progesterone 이 histamine의 분비를 촉진한다고 보고하였다. 이밖에 Psychoyos (1973A, 1973B)는 난소를 절제한 동물에 있어서 estrogen의 착상에 있어서의 필수적 역할에 관하여

관찰 보고하였다.

Duncan 등 (1963)은 U-11100A (Nafoxidine hydroxide)가 흰쥐, 토끼, 햄스터, 기니피크에서 착상을 억제한다고 보고하였다. Staples (1966), Roy 등 (1964)은 임신한 흰쥐와 가임신한 흰쥐에 대한 배포이식 실험에서 clomiphene이 모체에 작용하여 착상을 방해함을 보고하였으며 Holtkamp 등 (1960)도 chloramiphen을 가지고 실험하여 유사한 결과를 보고하였다. Callantine (1966)은 CN-55945-27(1-(2-(P-(α -(P-methoxyphenyl)- β -nitrostyryl)phenoxy)ethyl)pyrrolidine, monocitrate)을 가지고 임신에 미치는 영향, antiestrogen 작용, 그리고 뇌하수체의 FSH 함량증가와 혈장의 FSH 농도감소를 관찰 보고하였다.

이상과 같이 antiestrogen은 동물에 따라서 나타나는 효과가 다르며 이에 관한 여러 가지 연구 보고가 있다. 또한 흰쥐의 착상에는 estrogen이 필수적으로 요구된다는 것이 일반적이다.

따라서 본 실험은 임신 흰쥐에 있어서 LY-117018 및 tamoxifen의 항 estrogen 효과 및 estrgen과 흡사한 효과를 관찰하고 이러한 효과들이 착상에 어떻게 영향을 미치는지를 관찰하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 체중 180~185 g의 10주령 성숙 Sprague-Dawley 흰쥐 암컷 210마리를 실험에 사용하였다. 이들은 본 대학 실험실 환경에 적응시켰으며 실험 개시 7일 전부터 각 군당 10마리씩 대조군과 처리군으로 구분하여 1개의 사육장에 10마리씩 배치하였고 실험동물용 표준 펠렐사료 (삼양사)와 물을 자유급식시켰다. 실험실 온도는 $23 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 로 유지시켰고 매일 14시간씩 조명시켰다.

난소 절제 수술 : Ketamine(유한양행)을 마리당 0.1~0.15 ml (5~7.5 mg)씩 복강내에 주사하여 전마취시킨 후 ethyl ether로 추가 흡입마취시킨 다음 난소 절제 수술에 임하도록 하였다. 적출 부위는 요추 부위를 1 cm 절개하여 피부와 근육을 분리하고 최후 늑골 뒤에서 양측을 절개하여 난소와 난관을 결찰한 후 난소를 절제하였다 (Waynfirth, 1980). 수술 후 봉합부위를 요오드로 소독하고 항생제 도포를 하였다.

시약 : Progesterone (Sigma 사), tamoxifen (1-(4- β -dimethylamino-ethoxyphenyl)-1, 2-dip-

—박경식 외 1인 : 흰쥐에 있어서 LY-117018 및 tamoxifen이 이 착상에 미치는 영향—

henylbut-ene) (I.C.I.사), LY-117018(6-hydroxy-2-(p-hydroxyphenyl)-benzo-thien-3-yl-p-(2-(1-pyrrolidinyl)ethoxyphenyl ketone)) (Eli Lilly Research Laboratory), Evans blue (Sigma사).

약물 투여 : 마리당 투여는 0.1 ml가 되도록 투여하였고, 착상 억제 실험에는 낙화생 기름 0.1 ml 중에 각 약제 농도가 80 μg 이 되도록 그리고 착상유발 시험에는 낙화생 기름 0.1 ml 중에 각 약제 농도가 1, 5, 25, 125, 그리고 625 μg 이 되게 용해하여 피하주사하였다. 대조군은 낙화생 기름만 마리당 0.1 ml 피하주사하였다.

LY-117018 및 tamoxifen의 착상 억제 실험 : 10마리씩 수용된 케이지마다 번식 능력이 있는 숫컷을 2~3마리 넣고 다음날 아침에 질도말법에 의하여 sperm 또는 copulatory plug를 확인하여 당일을 임신 1일로 정하였다.

각 약제는 임신 1일(D1), 임신 2일(D2), 임신 3일(D3) 그리고 임신 4일(D4)에 투여하고 8일에 ether마취시킨 다음 자궁염색을 위하여 0.9% NaCl에 Evans blue를 5%되게 용해시킨 것을 경정액을 통하여 0.1 ml씩 주입하고 20분후 회생시켜 태아의 착상 여부를 조사하고 난소의 황체수를 조사하였다.

LY-117018 및 tamoxifen의 착상 촉진 실험 : 임신 1일(D1)에 난소를 제거하였으며, 제거된 난소증의 황체수를 현미경하에서 계산하였다. 그리고 D1부터

progesterone 2 mg/rat(Yochim과 DeFeo, 1962)를 최종 회생일(D8)까지 투여하면서 D2부터 각 처리 약제를 연속 투여하되 D3, D4, D5에는 각 처리 약제 농도의 2배를 투여하여 D8에 앞서 착상 억제 효과에 관한 실험에서 수행된 실험 방법을 반복 수행하였다.

통계 처리 : 본 실험에서 얻은 성적은 f-검정과 t-검정으로 처리하였으며 약제 투여량과 착상율과의 관계에 대하여는 상관분석을 실시하였다.

결 과

LY-117018 및 tamoxifen의 착상 억제 효과 : 흰쥐의 임신 후 1, 2, 3 그리고 4일에 80 μg 의 LY-117018 또는 tamoxifen을 투여한 후 임신 8일에 회생시켜 착상 상태를 관찰한 결과는 Table 1과 같았다.

LY-117018을 투여한 경우 정상 대조군은 95.8 ± 4.5 %의 착상율을 보여주었다. 한편, 임신 2일 또는 3일에 LY-117018 80 μg 투여군은 14.4 ± 3.5 % 또는 16.3 ± 5.3 %로 임신 1일 또는 4일에 투여군의 27.9 ± 11.4 % 또는 35.6 ± 13.9 %에 비하여 유의한 감소를 보였고 ($p < 0.01$), 2일과 3일의 투여군간에는 착상율에 있어서 유의한 차이가 없었다.

임신 후 첫날 tamoxifen 80 μg 농도 투여 경우 32.8 ± 7.6 %의 착상율을 보여주었고, 임신 후 2, 3 그리고 4일에 투여 경우에는 각각 17.4 ± 4.6 %, 16.3 ± 2.8 %, 그리고 13.9 ± 3.5 %로서 투여군간에 유의한 차이는 인정

Table 1. Effects of LY-117018 and Tamoxifen on Implantation in Rats During the First 4 Days of Pregnancy (Mean \pm S.D., n=10)

Treatment (80 $\mu\text{g}/\text{rat}$)	Days after pregnancy	No. of Implantation sites	No. of Corpora lutea	Implantation rate (%)
Intact control	—	11.1 ± 1.6	11.6 ± 1.7	95.8 ± 4.5
LY-117018	1	3.4 ± 1.6	12.0 ± 2.4	$27.9 \pm 11.4^{\text{a)}$
Tamoxifen	1	4.0 ± 1.0	12.3 ± 1.2	$32.8 \pm 7.6^{\text{d)}}$
LY-117018	2	1.8 ± 0.4	12.6 ± 1.3	$14.4 \pm 3.5^{\text{a),b)}$
Tamoxifen	2	2.2 ± 0.8	12.5 ± 2.9	$17.4 \pm 4.6^{\text{d),e)}$
LY-117018	3	2.2 ± 0.9	11.7 ± 4.1	$16.3 \pm 5.3^{\text{b),c)}$
Tamoxifen	3	2.0 ± 0.8	13.7 ± 3.6	$16.3 \pm 2.8^{\text{e),f)}$
LY-117018	4	3.7 ± 1.3	10.8 ± 2.1	$35.6 \pm 13.9^{\text{c)}}$
Tamoxifen	4	1.4 ± 0.5	10.0 ± 2.1	$13.9 \pm 3.5^{\text{f)}}$

a), c) $p < 0.01$

b), e), f) No significant difference from each other.

d) $p < 0.001$

Table 2. Effects of LY-117018 and Tamoxifen on Implantation Rate of the Rats Ovariectomized on Day 1 of Pregnancy (Mean \pm S.D, n=10)

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{rat}$)	No. of Implantation sites	No. of Corpora lutea	Implantation rate (%)
Intact control	—	11.1 \pm 1.6	11.6 \pm 1.7	95.8 \pm 4.5
Ovariectomized control	—	0.2 \pm 0.4	12.9 \pm 1.5	1.4 \pm 2.9 ^{a)(b)(c)}
Progesterone (alone)	2 mg	0.3 \pm 0.5	12.8 \pm 2.1	2.1 \pm 3.3 ^{a)}
LY-117018	1	0.9 \pm 0.3	9.9 \pm 1.6	9.2 \pm 3.7 ^{b)}
Tamoxifen	1	1.7 \pm 0.8	11.9 \pm 2.2	13.7 \pm 5.7
LY-117018	5	2.9 \pm 0.6	14.1 \pm 2.0	20.6 \pm 2.9
Tamoxifen	5	4.9 \pm 1.6	15.1 \pm 3.7	31.9 \pm 5.8
LY-117018	25	3.4 \pm 0.8	14.7 \pm 2.1	23.1 \pm 4.8
Tamoxifen	25	2.9 \pm 1.0	13.0 \pm 2.9	27.6 \pm 7.2
LY-117018	125	4.1 \pm 2.4	11.6 \pm 2.0	37.2 \pm 23.0
Tamoxifen	125	5.4 \pm 2.2	15.9 \pm 2.8	32.1 \pm 6.0
LY-117018	625	2.4 \pm 1.1	11.2 \pm 2.4	21.3 \pm 7.9
Tamoxifen	625	1.5 \pm 1.0	13.3 \pm 1.6	11.4 \pm 7.3 ^{c)}

The rats were treated with progesterone (2 mg/rat) for 8 days and sacrificed on 8th day of pregnancy.

a) No significant difference from each other.

d) c) $p < 0.001$

되지 않았다. 그리고 4일에 tamoxifen이 LY-117018보다 더 강한 착상 억제 효과를 보인 것 ($p < 0.001$)을 제외하고 LY-117018이 평균적으로 약간 더 착상을 억제하는 경향이었다.

LY-117018 및 tamoxifen의 착상 촉진 효과 : 난소 절제된 흰쥐에 progesterone과 동시에 LY-117018 또는 tamoxifen을 투여하여 착상율을 관찰하였던바 progesterone 단독 투여 경우에는 착상율이 $2.1 \pm 3.3\%$ 로서 난소 절제 대조군 $1.4 \pm 2.9\%$ 에 비하여 유의한 차이가 없었다. LY-117018은 $1 \mu\text{g}$ 투여 경우 착상율이 $9.2 \pm 3.7\%$ 로서 난소 절제 대조군이나 progesterone만 투여한 경우보다 유의성 있는 착상율 증가를 보였고 ($p < 0.001$), $625 \mu\text{g}$ 을 투여한 경우를 제외하고는 전반적으로 투여 농도 증가에 따라 착상율의 증가를 보였으나 ($r = 0.91$), $5 \mu\text{g}$ 농도 이상 투여 경우 각 투여군간에 큰 유의성은 인정되지 않았다.

Tamoxifen은 $1 \mu\text{g}$ 투여 경우에는 착상율이 $13.7 \pm 5.7\%$ 로서 난소 절제 대조군이나 progesterone만 투여한 경우보다 유의성 있는 착상을 증가를 보여주었고 tamoxifen $5 \mu\text{g}$ 또는 $125 \mu\text{g}$ 투여 경우 각각 $31.9 \pm 5.8\%$ 또는 $32.1 \pm 6.0\%$ 로서 최대의 착상율을 나타내었다. 이 경우 투여군간에 유의성은 인정되지 않았으

며 tamoxifen $25 \mu\text{g}$ 투여군에 있어서는 $27.6 \pm 7.2\%$ 로서 $5 \mu\text{g}$ 경우와 비교해 볼 때 유의성 있는 차이가 없었으나 $625 \mu\text{g}$ 투여를 제외하고 평균적으로는 투여 농도 증가에 따라서 착상율이 증가하는 경향을 볼 수가 있었다 ($r = 0.51$). 그리고 각 투여 농도에 있어서 tamoxifen이 LY-117018보다 평균적으로 약간 높은 착상율을 보여주었다.

고 칠

흰쥐의 착상에 있어서 progesterone과 estrogen은 필수적으로 요구되며 임신 4일째 estrogen surge의 존재 및 착상에 있어서의 중요성이 인정되고 있다 (Psychoyos, 1963, 1964; Shelesnyak et al., 1963; Shelesnyak과 Tic, 1963; Zeilmaker, 1963; Yochim과 DeFeo, 1963; Callantine et al., 1966).

본 실험에 의하면 Table 1에서 보는 바와 같이 임신 한 정상 흰쥐에 임신 1, 2, 3 또는 4일에 LY-117018 또는 tamoxifen을 투여한 결과 LY-117018은 임신 2일 또는 3일에 투여한 경우, 그리고 tamoxifen은 임신 2일, 3일 또는 4일에 투여한 경우에 강하게 착상을 억제하였다. 그리고 4일째의 estrogen surge를 감안하면 두 약제는 강한 estrogen 길항작용과 아울러 estrogen 길항제로

—박경식 외 1인 : 흰쥐에 있어서 LY-117018 및 tamoxifen이 이 촉상에 미치는 영향—

서 작용 지속 시간이 서로 비슷함을 보여준다.

Tamoxifen의 촉상억제에 관하여 Harper와 Walpole(1967)도 같은 실험 결과를 보고한 바가 있고 Callantine 등(1966)은 antiestrogen인 CN-55 945-27을 사용하여 임신 1일째와 3일째 최대의 촉상 억제를 관찰 보고하였다.

LY-117018의 작용 지속시간에 관하여 Black과 Goode(1981)은 LY-117018도 지속성 estrogen의 작용을 억제 가능한 것으로 보아 어느정도 지속적 억제라고 보고한데 반하여 Jordan과 Gosden(1983)은 LY-117018은 단기성 억제임을 주장하였다.

동시에 임신 4일에 LY-117018 투여 경우에는 의외로 임신 억제 효과가 약화되었는데 tamoxifen은 속효성인데 반해 LY-117018은 작용 발현 시간이 tamoxifen에 비해 다소 지연되어 나타나는 것으로 생각된다. 또한 임신 4일에 투여한 경우를 제외하고 LY-117018 투여가 tamoxifen 투여보다 평균적으로 촉상 억제 효과를 약간 증가시키는 경향이었는데 이는 estrogen 수용체에 대한 LY-117018의 약간 더 강한 친화성을 반영하는 것으로 보인다(Sutherland, 1981; Sudo et al., 1983; Murphy et al., 1984). Black과 Goode(1980)은 항 estrogen 효과의 정도는 antiestrogen 자체의 estrogen과 유사한 작용의 정도에 반비례한다고 하였다.

Binart 등(1982)은 tamoxifen은 progesterone 존재 하에서 estrogen과 유사한 효과를 나타낸다고 보고하였다.

Table 2에서 보는 바와같이 임신 첫날 난소 절제된 흰쥐에 progesterone과 아울러 LY-117018 또는 tamoxifen의 투여 농도를 증가하여 매일 연속적으로 투여시킴에 따라서 투여군간에 촉상률의 증가 경향이 관찰되었는데 두 억제의 투여량과 촉상률간에 상관분석 결과가 각각 $r=0.91$ (LY-117018)과 $r=0.51$ (tamoxifen)로서 두 억제의 estrogen과 유사한 효과가 촉상 유발에 관련되었음을 보여준다. 그리고 촉상 유발에 있어서 $625\mu g$ 을 투여한 경우를 제외하고는 tamoxifen이 LY-117018 보다도 약간 높은 촉상률을 보이는 경향이었는데 이는 tamoxifen이 LY-117018보다 약간 더 estrogen과 유사한 사실을 반영한다.

여기서 estrogen 수용체에 대한 친화성 강도와 antiestrogen 고유의 estrogen과 유사한 효과의 강도는 무관한 점으로 보아 antiestrogen 결합부위의 존재가 추정되며 촉상 촉진 효과는 바로 이 antiestrogen 결합부위의 작용에 의한 것으로 보여진다. Winneker와

Clark(1983)도 다른 실험에서 유사 견해를 밝힌 바가 있으나 Welsh등(1984)은 반대 견해를 보이고 있다.

동시에 antiestrogen 결합부위에 대하여 LY-117018 보다 tamoxifen이 약간 더 친화성을 갖는 것으로 사료된다. 한편, LY-117018 또는 tamoxifen의 투여 농도를 점증시킴에 따라서 평균적으로는 촉상을 증가의 경향을 보이되 실제로는 어느 정도 이상의 촉상을 증가를 보이지는 아니하였는데 이는 자궁 조직내에 존재하는 antiestrogen 결합부위의 양적으로 한정된 분포에 관련되는 것으로 판단된다. 이는 Sudo등(1983)의 견해와도 일치하며 Hung과 Barker(1979)도 estradiol에 관하여 유사한 주장을 하고 있다.

이상의 결과를 종합하여 보면 antiestrogen이 촉상에 영향을 미치는 기전에 관하여는 계속적인 연구가 필요할 것으로 생각되나 촉상 억제는 estrogen과의 estrogen 수용체에 대한 경쟁적 작용에 의한 estrogen 작용 억제에 기인하는 것으로 사료되며 본 실험의 경우 억제 투여시 자궁의 혈관 분포의 분량 및 탈락막 반응의 심한 억제 등을 볼 수 있었다. 촉상 촉진 작용에 관하여는 LY-117018 또는 tamoxifen의 antiestrogen 결합부위와의 결합에 의한 estrogen과 유사한 효과의 결과로 생각된다.

Antiestrogen 결합부위의 본체에 대하여는 β -adrenergic receptor라는 주장(Sudo et al., 1983), muscarinic receptor라는 주장(Ben-Brauch et al., 1982) 등이 보고되어 있으며 이들에 대한 endogenous ligand에 관한 연구도 이루어진 바 있다(Clark et al., 1983; Winneker et al., 1983; Murphy et al., 1984)

한편 chloramiphene과 gonadotropin 억제에 관한 연구(Holtkamp et al., 1960), MCF-7cell에 있어서 tamoxifen의 progesterone 수용체 형성 촉진에 관한 연구(Horwitz et al., 1978; Keeping과 Lyttle, 1982; Scholl et al., 1983) 및 병아리 난관에 있어서 progesterone 존재 하에서의 tamoxifen의 estrogen과 유사한 효과에 관한 보고등이 있는 바 (Catelli et al.; 1980; Binart et al., 1982) 앞으로 antiestrogen 결합부위의 본체, estrogen 수용체와의 차이점. 그리고 흰쥐와 생쥐에 있어서 각기 다른 효과 발현등이 더 구체적으로 구명되어져야 하리라고 보며 antiestrogen과 FSH, LH, progesterone, 그리고 PGF₂ α 등 상호간의 관계와 본 억제가 난자운반 속도나 태아 자체의 발육에 미치는 영향 등도 촉상에 미치는 영향과 관련하여 연구되어져야 할 과제라고 생각되어진다.

결 론

본 실험은 정상 또는 난소 절제된 흰쥐에서 antiestrogen인 LY-117018과 tamoxifen의 항 estrogen 효과 및 estrogen과 유사한 효과가 착상에 어떻게 영향을 미치는가를 규명하기 위하여 수행하였다.

성숙 흰쥐의 임신 1, 2, 3 또는 4일에 LY-117018 또는 tamoxifen을 $80\text{ }\mu\text{g}$ 단독투여하고 임신 8일에 착상 억제 상태를 관찰하였으며, 임신 첫날 난소 절제된 흰쥐에 progesterone과 더불어 각 약제를 1, 5, 25, 125 또는 $625\text{ }\mu\text{g}$ 농도로 임신 2일부터 8일까지 각각 연속 투여한 후 임신 8일에 착상 촉진 상태를 관찰하여 다음의 결과를 얻었다.

1) 정상 임신쥐의 착상율은 $95.8 \pm 4.5\%$ 임에 반하여 LY-117018 투여 경우에는 임신 2일과 3일에 투여시 착상율이 각각 $14.4 \pm 3.5\%$ 및 $16.3 \pm 5.3\%$ 로서 낮은 착상율을 보여 주었다.

2) Tamoxifen은 임신 2일, 3일, 그리고 4일에 투여시 착상율이 각각 $17.4 \pm 4.6\%$, $16.3 \pm 2.8\%$ 및 $13.9 \pm 3.5\%$ 로서 낮은 착상율을 보였다.

3) 임신 4일에 LY-117018 투여시 2일과 3일에 비하여 오히려 임신 억제 효과가 약화되었다.

4) 정상 임신 쥐에서 LY-117018이 tamoxifen보다 평균적으로 약간 더 착상을 억제하는 경향이었다.

5) 임신 첫날 난소 절제된 흰쥐의 착상율은 $1.4 \pm 2.9\%$ 이었으며 progesterone만 연속적으로 투여시 착상율은 $2.1 \pm 3.3\%$ 이었다.

6) 임신 첫날 난소 절제된 흰쥐에 progesterone과 아울러 $125\text{ }\mu\text{g}$ 의 LY-117018 또는 tamoxifen을 연속적으로 투여시 가장 큰 착상율($37.2 \pm 23.0\%$, $32.1 \pm 6.0\%$)을 보였으며 $625\text{ }\mu\text{g}$ 투여 경우를 제외한 투여량과 착상율간의 상관계수는 각각 $r=0.91$ (LY-117018), $r=0.51$ (tamoxifen)이었다.

7) 임신 첫날 난소 절제된 흰쥐에서 평균적으로 tamoxifen이 LY-117018보다 큰 착상율을 보여주었다.

8) LY-117018 또는 tamoxifen 투여시 임신 자궁의 혈관 발육이 매우 불량하였다.

REFERENCES

Ben-Brauch, G., Schreiber, G. and Socolovsky, M.: *Cooperativity pattern in the interaction of the anties-*

trogen drug clomiphene with the muscarinic receptors. *Mol. Pharmacol.*, 21:287-297, 1982.

Binart, N., Catelli, M.G., Geynet, C., Puri, V., Hähnel, R., Mester, J. and Baulieu, E.E.: *Monohydroxy-tamoxifen: An anti-estrogen with high affinity for the chick oviduct oestrogen receptor.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 91:812-818, 1979.

Black, L.J. and Goode, R.L.: *Uterine bioassay of tamoxifen, trioxifene and a new estrogen antagonist (LY-117018) in rats and mice.* *Life Sciences*, 26:1453-1458, 1980.

Black, L.J. and Goode, R.L.: *Evidence for biological action of the antiestrogens, LY-117018 and tamoxifen by different mechanisms.* *Endocrinology*, 109: 987-989, 1981.

Bloch, S.: *Experimental research on the hormonal basis of implantation in mammals.* *Experientia*, 14:447-455, 1958.

Callantine, M.R., Humphrey, R.R., Lee, S.L., Windsor, B. L., Schottin, N.H. and O'Brien, O.P.: *Action of an estrogen antagonist on reproductive mechanism in the rat.* *Endocrinology*, 79:153-167, 1966.

Catelli, M.G., Binart, N., Elkik, F. and Baulieu, E.E.: *Effect of tamoxifen on oestradiol and progesterone-induced synthesis of ovalbumin and conalbumin in chick oviduct.* *Eur. J. Biochem.*, 107:165-172, 1980.

Clark, J.H., Winneker, R.C., Guthrie, S.C. and Marakovitch, B.M.: *An endogenous ligand for the triphenylethylene antiestrogen binding site.* *Endocrinology*, 113:1167-1169, 1983.

Dickmann, Z., Dey, S.K. and Gupta, J.S.: *Hormonal control of early pregnancy.* *Proc. Nat. Acad. Sci., U. S.A.* 72:298-300, 1975.

Duncan, G.W., Lyster, S.C., Clark, J.J. and Lednicer, D.: *Antifertility activities of two diphenyl-dihydronaphthalene derivatives.* *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 112: 439-442, 1963.

Faye, J.C., Lasserre, B. and Bayard, F.: *Antiestrogen specific, high affinity saturable binding sites in rat uterine cytosol.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 93:1225-1231, 1980.

Harper, M.J.K. and Walpole, A.L.: *Contrasting endocrine activities of cis-and trans-isomers in a series of substituted triphenylethylenes.* *Nature*, 212:87, 1966.

Harper, M.J.K. and Walpole, A.L.: *A new derivative of triphenylethylene: Effect on implantation and mode of action in rats.* *J. Reprod. Fertil.*, 13:101-119,

—박경식 외 1인 : 흰쥐에 있어서 LY-117018 및 tamoxifen이 이 착상에 미치는 영향—

- 1967.
- Holtkamp, D.E., Greslin, J.G., Root, C.A. and Lerner, L.: Gonadotrophin inhibiting and anti-fecundity effects of chloramiphene. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 105:197-201, 1960.
- Horwitz, K.B., Koseki, Y. and McGuire, W.L.: Estrogen control of progesterone receptor in human breast cancer: Role of estradiol and antiestrogen. *Endocrinology*, 103:1742-1751, 1978.
- Hung, T.T., Barker, K.L.: Regulation of uterine responsiveness to injected estradiol in nutritonally stressed ovariectomized rats by adrenal-derived estradiol. *Endocrinology*, 104:1608-1616, 1979.
- Jordan, V.C.: Prolonged anti-oestrogenic activity of ICI 46, 474 in the ovariectomized mouse. *J. Reprod. Fertil.*, 42:251-258, 1975.
- Jordan, V.C., Collins, M.M., Rowsby, L. and Prestwich, G.: A monohydroxylated metabolite of tamoxifen with potent antiestrogenic activity. *J. Endocrinol.*, 75:305-316, 1977A.
- Jordan, V.C., Dix, C.J., Rowsby, L. and Prestwich, G.: Studies on the mechanism of action of the non-steroidal antiestrogen tamoxifen (I.C.I.46.474) in the rat. *Mol. cell. Endocrinol.*, 7:177-192, 1977B.
- Jordan, V.C., and Gosden, B.: Inhibition of the uterotrophic activity of estrogens and antiestrogens by the short acting antiestrogen LY-117018. *Endocrinology*, 113:463-468, 1983.
- Katzenellenbogen, B.S., Katzenellenbogen, J.A., Ferguson E.R. and Krauthammer, N.: Antiestrogen interaction with uterine estrogen receptors. *J. Biol. Chem.*, 253:697-707, 1978.
- Keeping, H.S. and Lyttle, C.R.: Modulation of rat uterine progesterone receptor levels and peroxidase activity by tamoxifen citrate, LY-117018 and estradiol. *Endocrinology*, 111:2046-2054, 1982.
- Korach, K.S. and Ford, E.B.: Estrogen action in the mouse uterus: An additional nuclear event. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 83:827-838, 1978.
- Korach, K.S.: Estrogen action in the mouse uterus: Characterization of the cytosol and nuclear receptor systems. *Endocrinology*, 104:1324-1332, 1979.
- Korach, K.S. and Lamb, J.C.: Estrogen action in the mouse uterus: Differential nuclear localization of oestradiol in uterine cell types. *Endocrinology*, 108:1989-1991, 1981.
- Kurl, R.N. and Morris, I.D.: Differential depletion of cytoplasmic high affinity oestrogen receptors after the *in vivo administration of the antiestrogens, clomiphene, MER-25, and tamoxifen. Br. J. Pharmcol.*, 62:487-493, 1978.
- Markaverich, B.M., Upchurch, S., McCormack, S.A., Glasser, S.R. and Clark J.H.: Differential stimulation of uterine cells by nafoxidine and clomiphene: Relationship between nuclear estrogen receptors and type II estrogen binding sites and cellular growth. *Biol. Reprod.*, 24:171-181, 1981.
- Martin, L. and Finn, C.A.: Hormonal regulation of cell devision in epithelial and connective tissues of the mouse uterus. *J. Endocrinol.*, 41:363-373, 1968.
- Martin, L. and Middleton, E.: Prolonged estrogenic and mitogenic activity of tamoxifen in the ovariectomized mouse. *J. Endocrinol.*, 78:125-129, 1978.
- McCormack, S.A. and Glasser, S.R.: Differential response of individual uterine cell types from immature rats treated with estradiol. *Endocrinology*, 106:1634-1649, 1980.
- Murphy, P.R., Butts, C. and Lazier, C.B.: Triphenylethyrene antiestrogen-binding sites in cockerel liver nuclei: Evidence for an endogenous ligand. *Endocrinology*, 115:420-426, 1984.
- O'Grady, J.P., Caldwell, B.V., Auletta, F.J. and Speroff, L.: The effects of an inhibitor of prostaglandin synthesis (indomethacin) on ovulation, pregnancy and pseudopregnancy in the rabbit. *Prostaglandins*, 1:97-115, 1972.
- Pfleiderer, A. Jr.: The action of oestradiol and histamine on the sites of nidation in the rabbit. *Acta Endocrinol.*, 50:497-551, 1965.
- Psychoyos, A.: A study of the hormonal requirement for ovumimplantation in the rat by means of delayed nidation-inducing substances. *J. Endocrinol.*, 27:337-343, 1963.
- Psychoyos, A.: Neurohormonal aspects of implantation: Reprinted from *Excerpta Medica International Congress Series*, No. 83:508-512, 1964.
- Psychoyos, A.: Endocrine control of egg implantation. In: "Handbook of physiology" Section 7, Vol. II Part 2. P. 187, 1973A.
- Psychoyos, A.: Hormonal control of ovoimplantaion. *Vitam. and Horm.*, 31:201-256, 1973B.
- Robertson, D.W., Wei L.L., Hayes, J.R., Carlson, K.E., Katzenellenbogen, J.A. and Katzenellenbogen, B.S.: Tamoxifen aziridines: Effective inactivators of the estrogen receptor. *Endocrinology*, 109:1298-1300, 1981.

- Rochefort, H., Lignon, F. and Capony, F.: *Effect of antiestrogens on uterine estradiol receptors.* *Gynecol. Invest.*, 3:43-55, 1972.
- Roy, S., Mahesh, V.B. and Greenblatt, R.B.: *Effect of clomiphene on the physiology of reproduction in the rat: III. Inhibition of uptake of radioactive oestradiol by the uterus and the pituitary gland of immature rat.* *Acta Endocrinol.*, 47:669-675, 1964.
- Saksena, S.K. and Harper, M.J.K.: *Prostaglandin mediated action of intrauterine devices: F-Prostaglandins in the uterine horns of pregnant rabbits with unilateral intrauterine devices.* *Fertil. and Steril.*, 25:121-126, 1974.
- Saksena, S.K., Lau, I.F. and Chang, M.C.: *Relationship between oestrogen, prostaglandin F₂α, and histamine in delayed implantation in the mouse.* *Acta Endocrinol.*, 81:801-807, 1976.
- Scholl, S.M., Huff, K.K. and Lippman, M.E.: *Antiestrogenic effects of LY-117018 in MCF-7cells.* *Endocrinology*, 113:611-617, 1983.
- Shelesnyak, M.C., Kraicer, P.F. and Zeilmaker, G.H.: *Studies of the mechanism of decidualization: I. The oestrogen surge of pseudopregnancy and progravidity and its role in the process of decidualization.* *Acta Endocrinol.*, 42:225-236, 1963.
- Shelesnyak, M.C. and Tic, L.: *Studies on the mechanism of decidualization (IV).* *Acta Endocrinol.*, 42:465-472, 1963.
- Staples, R.E.: *Effect of clomiphene on blastocyst nidation in the rat.* *Endocrinology*, 78:82-86, 1966.
- Sudo, K., Monsma, F.J. Jr. and Katzenellenbogen, B.S.: *Antiestrogen-binding sites distinct from the estrogen receptor: Subcellular localization, ligand specificity, and distribution in tissues of the rat.* *Endocrinology*, 112:425-434, 1983.
- Sutherland, R., Mester, J. and Baulieu, E.E.: *Tamoxifen is a potent "pure" antiestrogen in chick oviduct.* *Nature*, 267:434-435, 1977.
- Sutherland, R.L. and Foo, M.S.: *Differential binding of antiestrogens by rat uterine and chick oviduct cytosol.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 91:183-191, 1979.
- Sutherland, R.L., Murphy, L.C., Foo, M.S. Green, M.D., Whybourne, A.M. and Krozowski, Z.S.: *High affinity antiestrogen binding site distinct from the oestrogen receptor.* *Nature*, 288:273-275, 1980.
- Sutherland, R.L.: *Estrogen antagonists in chick oviduct.* *Endocrinology*, 109:2061-2068, 1981.
- Terenius, L.: *Structure-activity relationships of antiestrogens with regard to interaction with 17β-oestradiol in the mouse uterus and vagina.* *Acta Endocrinol.*, 66:431-447, 1971.
- Vokaer, R. and Leroy, F.: *Experimenal study on local factors in the process of ova implantation in the rat.* *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 83:141-148, 1962.
- Waters, A.P. and Knowler, J.T.: *A comparison of the effects of oestrogen and tamoxifen on the synthesis of uterine RNA in immature rats.* *J. Steroid Biochem.*, 14:625-630, 1981.
- Waynfirth, H.B.: *Special surgical operations.* In: *Experimental and surgical technique in the rat.* (Ed.) H.B. Waynfirth, Academic Press, N.Y., 1980.
- Welsh, T.H. Jr., Jia, X.C., Jones, P.B.C., Zhuang, L. and Hsueh, A.J.W.: *Disparate effects of triphenylethylene antiestrogens on estrogen and progestin biosyntheses by cultured rat granulosa cells.* *Endocrinology*, 115: 1275-1282, 1984.
- Winneker, R.C. and Clark, J.H.: *Estrogenic stimulation of the antiestrogen specific binding site in rat uterus and liver.* *Endocrinology*, 112:1910-1915, 1983.
- Winneker, R.C., Guthrie, S.C. and Clark, J.H.: *Characterization of a triphenylethylene-antiestrogen binding site on rat serum low density lipoprotein.* *Endocrinology*, 112:1823-1827, 1983.
- Yochim, J.M. and De Feo, V.J.: *Control of decidual growth in the rat by steroid hormones of the ovary.* *Endocrinology*, 71:134-142, 1962.
- Yochim, J.M. and De Feo, V.J.: *Hormonal control of the onset, magnitude and duration of uterine sensitivity in the rat by steroid hormones of the ovary.* *Endocrinology*, 72:317-326, 1963.
- Zeilmaker, G.H.: *Experimental studies on the effects of ovariectomy and hypophysectomy on blastocyst implantation in the rat.* *Acta Endocrinol.*, 44:355-366, 1963.