大韓不妊學會雜誌 : 第14卷 第1號 1987
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 14, No. 1, 1987, 6.

흰쥐 착상시기에 자궁내 난소 홀몬 수용체와 Prostaglandin 및 cAMP 농도변화에 관한 연구*

연세대학교 의과대학 내분비연구실* · 약리학교실**

윤 미 정* · 유 경 자**

=Abstract=

Studies on the Concentrations of Receptors for Ovarian Steroids, Prostaglandins and cAMP in Uterine Tissue during the Period of Implantation in Rats

M. Yoon* and K. Ryu**

*Endocrine Laboratory** and Department of Pharmacology**, Yonsei University College of Medicine*

In the present study, hormonal changes in uterine tissue and circulation were evaluated during the implantation period in rats in order to understand the mechanism by which implantation takes place.

The results obtained were as follows.

1. Concentrations of serum estradiol and progesterone were significantly increased on days 4 and 5.
2. Concentration of estrogen receptor reached maximum on day 5 when implantation normally occurred in rats. On the other hand, progesterone receptor was gradually decreased, reaching the lowest on day 5.
3. Uterine PGs and cAMP concentrations were significantly increased on day 5.
4. Uterine PGs and cAMP concentrations in implant sites were significantly greater than those in non-implant sites.

It is, therefore, concluded that prostaglandins and cAMP in uterine tissue as well as circulating ovarian steroid hormones were increased during the period of implantation, suggesting that these hormones might be actively involved in the process of implantation in rats

서 론

사람을 위시한 포유동물에서 수정란이 자궁내막에 착상하는 기전에 관하여는 많은 연구가 계속되어 왔으나 정확한 기전은 아직 밝혀지지 않고 있다. 착상은 자궁내로 이동되어 온 blastocyst시기까지 발달된 수정란과 blastocyst가 착상할 부위인 자궁내막이 복잡한 상호작용 및 공헌을 함으로써 이루어진다.

Blastocyst가 착상을 하기 위해서는 모체에서 생리적, 생화학적, 면역학적 변화가 일어나는 것으로 알려졌다. 특히 자궁내막은 수정란이 성공적으로 착상이 되도록 estrogen 및 progesterone의 정교한 영향을 받는다(Dey and Johnson, 1980). Estrogen과 progesterone은 표적세포에 존재하는 이들의 receptor와 결합하여 핵내에서 특정 유전자의 발현을 조절함으로써 생물학적 작용을 나타낸다(Bayard et al., 1978; Cao et al., 1985).

한편, 여러 동물에서 밝혀진 바로는 blastocyst가 자궁내막에 착상하기 위해서는 자궁내막 착상부위의 모세혈관 투과성이 증가되고 decidualization이 일어나며 이에는 histamine(Dey and Johnson,1980)과 prostaglandin(Kennedy and Armstrong, 1981)이 관여하는 것으로 알려져 있다. Prostaglandin (PG)은 착상을 포함한 여러가지 자궁의 기능을 조절하는 것으로 알려져 있으며, PG의 합성을 억제시키면 흰쥐(Kennedy, 1977; Johnson and Dey, 1980)

*본 연구는 과학재단 연구비(1985~1986)에 의하여 이루어졌음.

나 가토(Hoffmann et al., 1978; Lee et al., 1985)에서 착상이 저해되며 delayed implanting mice (Saksena, 1976)에서는 estradiol-17β에 의해 유도된 착상이 저해되었다. 한편 본 실험실 연구결과에 의하면 착상시기에 prostaglandin E가 모체의 면역 반응을 억제하는 것으로 나타났다(Cho et al., 1987; Yoon and Ryu, 1987). 또한 세포대사 작용에서 second messenger로 작용하는 cAMP를 자궁에 투여하였을 때 estrogen의 작용과 유사하게 착상을유도하였다(Webb, 1975, 1977; Holmes and Bergström, 1975). 이와 같은 사실로 보아, 자궁에서 PG이 합성되는 데는 난소 hormone들의 조절작용이 있을 것으로 생각되며 위에 열거된 것들 간에는 일련의 상호관련성이 있을 것으로 생각된다.

따라서 본 연구에서는 착상의 기전을 밝히는데 필요한 기본적인 홀몬의 상호작용을 이해하기 위하여 첫째, 착상기간동안의 혈청 estradiol, progesterone 농도와 그들의 receptor의 변화양상을 알아보고 둘째, 착상기간동안의 uterine PGE, $PGF_{2\alpha}$ 및 cAMP의 농도를 조사하였으며 셋째, 착상부위와 비착상부위에서의 PGE, $PGF_{2\alpha}$ 및 cAMP의 농도를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

생후 2~3개월 (200~250g)된 암컷 흰쥐(Sprague Dawley)를 사용하였으며, 교배시킨 다음날 아침 질부에서 질전가 관찰되면 임신 제 1일(day 1)로 하였다.

2. 실험 방법

흰쥐로부터 5~10ml을 채혈한 후 자궁을 적출하였고, 적출된 자궁은 즉시 indomethacin (10μg/ml)과 6mM theophylline이 함유된 ice-cold saline으로 세척한 후 혈액과 지방층을 제거하였으며 blastocyst착상부위를 관찰하여 착상부위와 비착상부위의 조직을 따로 분리하였고, 분석시까지 혈청과 조직을 -70℃에서 보관하였다.

1) Progesterone 및 estradiol 측정

Progesterone은 solid phase방법을 이용한 방사면역 측정법(Diagnostic Products Corporation, USA)으로 측정하였으며, estradiol은 second antibody방법을 이용한 방사면역 측정법(Serono,Switzerland)으로 측정하였다. 항원·항체 결합체의 방사능은 gamma counter(PACKARD AUTO-GAMMA 500, USA)에서 1분간 측정하였다.

2) Receptor의 측정

Estrogen(Park et al., 1986) 및 progesterone receptor(Park et al., 1986)는 본 연구실에서 개발된 방법에 의하여 측정하였다. 자궁 0.5g에 TEDMG (Tris-HCl 10mM, EDTA 1mM, dithiothreitol 1mM, sodium molybdate 20mM, glycerol 20% V/V, pH 7.4) buffer를 넣고 polytron P-10을 이용하여 균질화한 후 1,000×g에서 10분간 원심분리하였다. 침전물은 2번 더 균질화하여 nuclear receptor를 포함한 crude nuclei를 준비하였으며, 상등액은 다시 100,000×g에서 1시간동안 초원심분리하여 cytosol receptor를 분리하였다.

Cytosol receptor를 측정하기 위해서는 cytosol 0.2ml에 0.1ml의 ^{3}H-estradiol(Amersham, UK)을 혼합한 후 4℃에서 24시간 반응시키거나 0.1ml의 ^{3}H-R5020(NEN, USA)을 혼합한 후 4℃에서 4~5시간 반응시켰다. Radioligand의 결합형과 유리형을 분리하기 위하여 dextran-coated charcoal을 첨가하여 5분간 반응시킨후 원심분리하여 상등액 0.5ml을 취하여 결합형의 방사능을 측정하였다. Nuclear receptor를 측정하기 위해서는 0.2ml의 nuclear suspension에 0.1ml의 ^{3}H-estradiol을 넣고 30℃에서 1시간동안 반응시켰으며 2ml의 buffer로 3회 반복 세척하였다. 침전물에 1ml의 ethanol을 넣고 12시간 반응시켜 결합형을 용해시키고원심분리하여 상등액 0.5ml을 취하여 방사능을 liquid scintillation counter (PACKARD TRI-CARB 300, USA)에서 5분씩 측정하였다.

3) Prostaglandin(PG) 측정

(1) Prostaglandin 추출 : 자궁내막조직에 1ml의 PBS(0.01M phosphate, 0.15M NaCl, pH 7.4)와 용매혼합액(ethyl acetate: isopropanol: 0.2N HCl = 3:3:1, V/V/V) 3ml을 넣고 polytron homogenizer(Brinkmann Instruments, Switzerland)로 균질화 한 후, 2ml의 ethyl acetate와 3ml의 증류수를 넣고, 15초씩 2번 vortex mixer로 혼합하였다. 1,000×g에서 10분간 원심분리한 후, PG이 용해되어 있는 유기용매층을 다른 시험관에 옮기고 55℃ water bath에서 질소가스를 통과시켜 말린후 gel tris buffer를 넣어 추출된 PG을 reconstitute하였다.

(2) $PGF_{2\alpha}$와 PGE의 측정 : PG의 농도는 second antibody방법을 이용한 방사면역(Clinical Assays, USA)으로 측정하였다.

4) cAMP 추출 및 측정

자궁내막조직에 4mM EDTA용액 1ml을 넣고, 4℃에서 균질화한 후 6% TCA용액 1ml을 넣

어 vortex mixer에서 5초동안 혼합하였다. 4℃에서 1,000×g로 25분간 원심분리한 후 상등액을 다른 시험관에 옮기고 여기에 5ml의 water-saturated ethylether를 넣고 vortex mixing하고 실온에 30분간 방치한후 water층을 −70℃에서 냉동시켜 ether층을 완전히 제거하고 cAMP가 들어있는 water층을 24시간동안 freeze-drying하여 cAMP를 추출한 후 Tris/EDTA buffer(50mM Tris-HCl, 4 mM EDTA, pH 7.5)에 용해시켜 정량하였다. cAMP는 binding protein을 이용한 competitive protein binding assay(Amersham, UK)로 측정하였다. cAMP와 binding protein 결합체의 방사능을 liquid scintillation counter에서 5분씩 측정하였다.

결 과

1. 착상전후 estradiol과 progesterone혈중 농도의 변화

흰쥐와 생쥐에서는 blastocyst의 착상이 난소홀몬에 의해 조절되며 정교한 hormonal balance가 요구되므로, 착상전후 난소 hormone의 혈중 농도를 측정하였다 (Fig. 1). 흰쥐에서 착상은 제 5일에 일어난다. Estradiol의 농도는 배란직후인 임신 제 1일에 45.92±5.05pg/ml을 나타내었고 제 2일에 감소(26.81±1.71 pg/ml)하였으며 제 4일부터 유의하게 증가(41.14±5.45 pg/ml)하기 시작하여 ($P<0.05$), 제 7일에 최고치(68.26±6.53pg/ml)를 나타냈다.

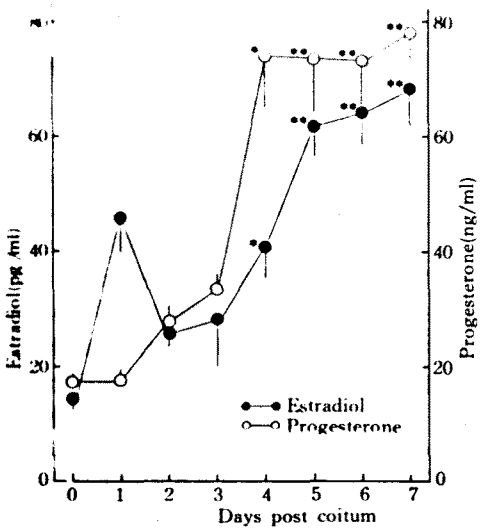

Fig. 1. Concentrations of serum estradiol and progesterone during early pregnancy in rats. *P <0.05, **P<0.01

한편, progesterone의 농도는 임신 제 1일에는 17.40±1.29 ng/ml이었으나 수정후, 점차 증가하여 임신 제 4일에는 78.48±10.17 ng/ml로 유의하게 증가하였으며($P<0.05$) 제 7일에는 79.62±4.09 ng/ml로 최고치를 나타냈다.

2. 착상전후 흰쥐자궁의 estradiol 및 progesterone receptor 농도의 변화

Estrogen과 progesterone의 작용은 표적세포에 존재하는 receptor와의 결합에 의해 매개되므로 혈중 hormone의 농도에 의해 영향을 받는다. 따라서 임신초기의 receptor의 농도를 측정하였다. Estradiol receptor의 경우(Fig. 2) cytosol receptor뿐만 아니라 nuclear receptor가 수정후 증가하기 시작하여 제 5일에 cytosol receptor의 농도는 429±41 fmol/mg protein, nuclear receptor의 농도는 212±9.9 fmol/mg DNA로 최고치를 나타냈고 그 이후 감소하였다. Progesterone의 cytosol receptor (Fig. 3)는 제 3일을 제외하고는 수정후 점차적으로 감소하여 착상시기인 제 5일에 954±157.4fmol/mg protein으로 최저 농도를 나타냈다.

3. 착상전후 흰쥐 자궁조직의 PGs 및 cAMP 농도의 변화

자궁내막에 blastocyst가 착상하는 데는 난소홀몬 이외에도 PG이 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 왔다. Estrogen이 PG 생성이나 작용에 어떻게 영향을 미치는가를 규명하고, estrogen의 작용과 유사하게 착상을 유도하는 것으로 알려진 cA

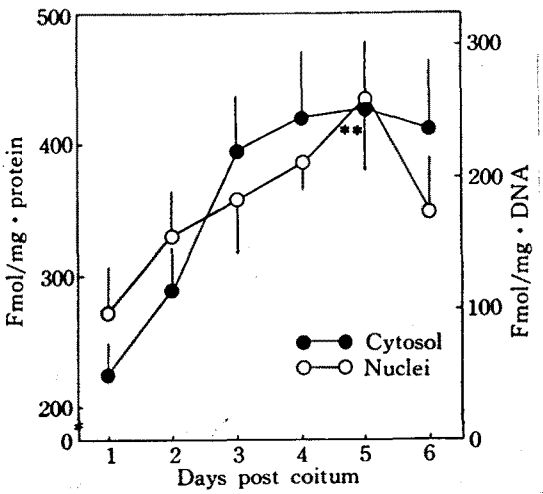

Fig. 2. Cytosolic and nuclear estrogen receptor concentrations in the rat uterus during early pregnancy. **P<0.01

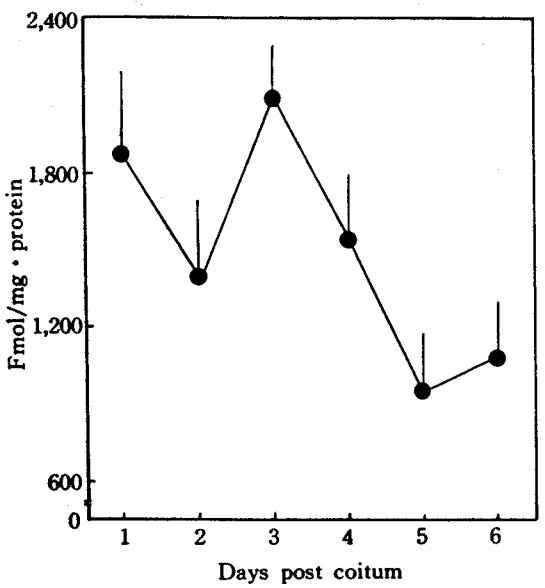

Fig. 3. Cytosolic progesterone receptor concentration in the rat uterus during early pregnancy.

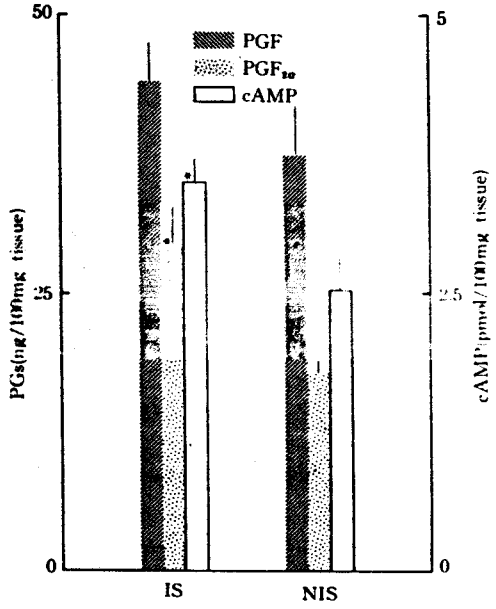

Fig. 5. Uterine PGs and cAMP concentrations in implant (IS) and non-implant sites (NIS) of uterus on day 6 of pregnancy. *P<0.05.

MP와는 어떤 상호연관이 있는지를 알아보기 위하여 일차적으로 임신 초기동안 자궁조직의 PGs 및 cAMP의 농도를 측정하였다(Fig. 4). 임신 제 1일에 PGE, $PGF_{2\alpha}$ 및 cAMP 농도는 급격히 증가하였으며 PGE는 비교적 일정한 상태를 유지하였으나 $PGF_{2\alpha}$ 및 cAMP 농도는 서서히 증가하여 제 5일에 모두 최고치에 도달하였다. 착상시기인 제 5일

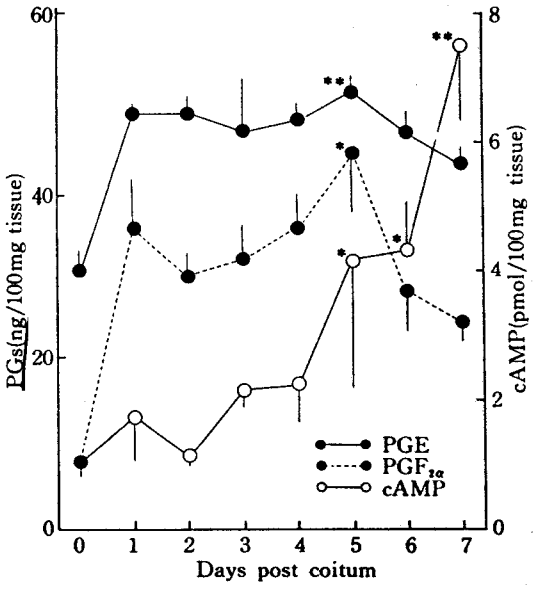

Fig. 4. Uterine prostaglandins (PGs) and cAMP concentrations during early pregnancy. *P<0.05, **P<0.01

에 PGE(50.04±0.79 ng/100 mg tissue, P<0.01)와 $PGF_{2\alpha}$(43.5±0.94 ng/100 mg tissue, P<0.05)의 농도뿐만 아니라, cAMP (4.20±2.24 p mol/100mg wt., P<0.05)의 농도도 통계적으로 유의하게 증가하였다.

4. 자궁내 착상부위의 PGs 및 cAMP의 농도

착상시기에 전체 자궁조직내 PGE, $PGF_{2\alpha}$와 cAMP농도가 증가되었다. 그러므로 자궁내 착상부위와 비착상부위 사이에 어떤 차이가 있는가를 보았다. 제 6일의 자궁을 착상부위와 비착상부위로 분리하여 각각에서 cAMP 및 PGE, $PGF_{2\alpha}$의 농도를 측정하였는데(Fig. 5), 착상부위의 농도가 비착상부위의 농도에 비하여 모두 증가되었다. cAMP의 농도는 착상부위에서 3.5±0.20 pmol/100 mg tissue, 비착상부위에서는 2.53±0.28 pmol/100 mg tissue. 로 유의한 차이를 보였으며(P<0.05), PGE의 농도는 착상부위에서 44.1±3.71 ng/100 mg tissue, 비착상부위에서는 37.42±5.01 ng/100 mg tissue 로 착상부위에서 높은 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다. $PGF_{2\alpha}$의 농도는 비착상부위(17.76± 0.88 ng/100 mg tissue)에 비하여 착상부위(29.2±3.77 ng/100 mg tissue)에서 통계적으로 유의하게 증가되었다(P<0.05).

고 찰

수정란의 착상과정동안 나타나는 형태적·생화학적 변화는 종에 따라 다양하나, 착상의 다양성과는 관계없이 hormone은 착상을 조절하는데 중요한 역할을 한다(McLaren, 1973). 특히 흰쥐나 생쥐의 경우 가토(Kwun and Emmens, 1974), 햄스터(Harper et al., 1966), 양(Bindon, 1971)과는 달리 착상이 이루어지기 위해서는 progesterone뿐만 아니라 estrogen이 반드시 필요하다. 본 연구에서 초기 임신기간동안 측정한 난소 홀몬의 농도를 보면, 착상직전 및 착상시기인 4일과 5일에 혈중 estradiol과 progesterone의 농도가 통계적으로 유의하게 증가되었다. 이와같은 난소 홀몬 농도의 증가는 수정란이 자궁에 착상할 수 있도록 자궁을 conditioning 시킨다는 다른 보고와 일치한다(Dickmann, 1979).

Estrogen과 progesterone은 표적세포에 존재하는 그들의 receptor와 결합하여 핵내에서 특정 유전자의 발현을 조절하므로써 생물학적 작용을 나타내므로 혈중내의 hormone의 농도뿐만 아니라 그들의 receptor의 변화 양상도 대단히 중요하다. 본 실험에서 estradiol receptor의 경우 cytosolic receptor뿐만 아니라 nuclear receptor의 농도도 제1일부터 5일까지 증가하였으며 제 5일에 최고치를 나타냈다. Estrogen receptor의 수는 4, 5일에 통계적으로 유의하게 증가되어 혈중 hormone이 이 시기에 자궁에 많은 영향을 미칠것으로 생각된다.

Progesterone receptor의 경우, estrogen receptor와는 달리 착상시기인 임신 제 5일에 cytosol receptor의 농도가 954±157.4 fmol/mg protein으로 가장 낮았으며, 이는 guinea pig(Milgrom et al., 1972)와 흰쥐(Vu Hai et al., 1977)에서 얻어진 다른 보고들과 일치하며, 이러한 결과는 estrogen과 progesterone이 함께 처리되었을 경우 endometrium과 myometrium에서 cytosolic progesterone receptor가 nucleus속에서 redistribution되어 착상시기에 감소한다는 사실로 설명될 수 있다 (Gorodeski et al., 1987).

본 실험에서 임신초기 흰쥐 자궁조직의 PGs 및 cAMP의 농도를 보면, 착상시기인 제 5일에 PGE, $PGF_{2\alpha}$ 및 cAMP의 농도가 통계적으로 유의하게 증가하였다. 여러 동물에서 밝혀진 바로는 수정란이 자궁내막에 착상하기 위해서는 미량의 PG이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 착상 전이나 또는 착상시기에 PG 합성억제제인 indomethacin을 투여하면, 마우스(Saksena et al., 1976)나 흰쥐 (Phillips and Poyser, 1981)에서는 착상이 억제되나 가토에서는 착상이 완전히 억제되지는 않고 착상부위의 수가 현저히 감소한다고 보고되어 있다(Hoffmann, 1978; Lee, 1985). 이와같이 착상시기인 제 5일에 PG 농도의 증가는 착상을 위해 반드시 요구되어지며 이러한 PG이 모세혈관 투과성과 decidualization을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 그러나 본 실험결과에 따르면 제 1일에도 PGE는 46.06±0.65 ng/100 mg tissue, $PGF_{2\alpha}$는 35.34±6.56 ng/100 mg tissue로 상당히 높은 농도를 나타냈는데 사람의 semen내에는 혈중 농도의 1,000배 가량의 prostaglandin이 들어있다는 사실로 보아 아마도 흰쥐에서도 교미 후 semen으로부터 고농도의 PGs이 contamination되었기 때문이 아닌가 생각된다. 따라서 이에 관하여는 연구를 진행하고 있다.

세포대사 작용시 second messenger역할을 하는 cAMP가 estrogen의 작용과 유사하게 착상을 유도할 뿐만아니라 자궁의 decidual cell reaction을 triggering하는 것으로 보고되어 있어 착상에 관여함을 알 수 있다(Rankin et al., 1977). 본 실험에서 cAMP는 착상전에는 아주 낮은 농도로 존재하다가 착상시기부터 통계적으로 유의하게 증가하였는데, 이러한 cAMP와 착상과의 관계에 대해 Webb(1975)는 cAMP가 estrogen의 작용을 직접 대행하거나, 또는 estrogen에 의해 자궁조직에서 생성되는 adenyl cyclase를 촉진시키므로써 수정란을 활성화시키는 물질의 작용을 mimic할 수 있으므로 자궁이나 수정란에 작용할 것이라고 보고했다.

또한 cAMP와 PG이 이러한 착상과정에 관여하는지의 여부를 이해하기 위하여 제 6일의 자궁의 착상 부위와 비착상 부위에서 cAMP, PGE 및 $PGF_{2\alpha}$의 농도를 측정한 바 비착상 부위에서의 농도에 비하여 착상부위에서 모두 증가되었으며 특히 cAMP와 $PGF_{2\alpha}$의 농도는 통계적으로 유의하게 증가되었다. 이러한 연구결과는 흰쥐의 착상과정동안 PG과 cAMP가 관여하리라는 설을 뒷받침한다. 흰쥐의 자궁내막에는 PGE와 PG분해산물인 6-keto-$PGF_{1\alpha}$가 착상시기에 최고치를 보이며, 자궁내막 조직중 특히 착상부위에 PGE, PGF(Kennedy, 1977)와 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ (Kennedy and Zemecnik, 1978)가 가장 높은 농도로 존재한다고 보고되어 있으며, 흰쥐의 착상 부위는 비착상 부위에 비하여 cAMP와 cGMP가 모두 증가하였는데 이러한 두개의 nucleotides가 착상의 전 과정에 positive effector로 작용할 것이라는 가설이 보고되었다(Vilar-Rojas, 1982). 따라서 본 실험 결과는 흰쥐의 자궁내막에 수정란이 착상하는 과정에는 estrogen, progesterone뿐만 아니라 PG과 cAMP가 관여하리라는 설을 뒷받침한다. 수정란의 정상적인 착상은 estrogen과 progesterone의 정교한 균형에 의존하므로 자궁의 PG합성에 이들hor-

mone들이 영향을 줄 수 있으리라 생각된다. 실제로 최근에 몇몇 연구들은 estrogen이 PG 합성효소의 촉진을 통해 PG 합성을 증가시킨다고 보고하였다(Dey et al., 1982; Pakrasi et al., 1983). 또한Gars등(1979)은 adenylate cyclase의 inhibitor로 알려진 alloxan이 자궁의 PGE와 PGF의 농도를 감소시킨다고 하였으므로 본인들은 흰쥐의 착상과정중 estrogen, cAMP, PG이 상호관련성을 가지고 작용하리라고 생각하여 이에 관한 연구를 더욱 진행시키고 있다.

결 론

본 연구는 착상의 기전을 밝히는데 필요한 기본적인 홀몬의 상호작용을 이해하기 위하여 착상에 관련된 estradiol, progesterone, PGs 및 cAMP의 농도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 착상직전 및 착상시기인 4일과 5일에 혈중 estradiol과 progesterone의 농도는 통계적으로 증가되었다.

2. 착상시기인 5일에 estrogen receptor의 농도가 최대치로 나타났으며, cytosolic progesterone receptor의 양은 초기임신 기간동안 감소하는 경향을 나타냈다.

3. 자궁조직내의 PGE와 $PGF_{2\alpha}$는 착상시기인 5일에 최대치로 나타났으며 착상부위의 농도가 비착상부위의 농도에 비하여 모두 증가되었다.

4. 자궁의 cAMP의 농도는 임신 5일에 유의하게 증가되었으며 비착상부위에서 보다 착상부위에서 더 높은 농도를 나타냈다.

본 연구를 수행하는데 small supplies program에 의하여 소모품 일부를 제공하여준 WHO에 감사드립니다.

REFERENCES

Bayard, F., Damilano, S., Robel, P. and Baulieu, E.E.: *Cytoplasmic and nuclear estradiol and progesterone receptors in human endometrium. J. Clin. Endocrinol. Metab., 46:635, 1978.*

Bindon, B.M.: *The role of progesterone in implantation in the sheep. Aust. J. Biol. Sci., 24:149, 1971.*

Cao, Z-D., Jones, M.A. and Harper, M.K.J.: *Progesterone and oestradiol receptor concentration and translocation in uterine tissue of rabbits treated with indomethacin. J. Endocrinol, 107 : 197, 1985.*

Cho, H.S., Ryu, K., Jung, N. and Hong, S.S.: *Maternal immune response was depressed during the period of implantation in rabbits. Submitted to Journal of Reproduction and Fertility for publication, 1987.*

Dey, S.K., Hoversland, R.C. and Johnson, D. C.: *Phospholipase A_2 activity in the rat uterus: modulation by steroid hormones. Prostaglandins, 23(5):619, 1982.*

Dey, S.K. and Johnson, D.C.: *Embryo-uterine interaction in implantation. Life Sciences, 27 : 2381, 1980.*

Dey, S.K. and Johnson, D.C.: *Re-evaluation of histamine in implantation. In: Endometrium. Spectrum Publ. Inc. Jamica, NY, p.269,1980.*

Dickmann, Z.: *Blastocyst estrogn: An essential factor for the control of implantation. J. Steroid. Biochem. 11:771, 1979.*

Gars, S.K., Desouza, A.N. and Chaudhury, R. R.: *Relationship between prostaglandins and cyclic AMP in the process of implantation in rats. Prostaglandins. Med., 3(1):1, 1979.*

Gorodeski, I.G., Geier, A., Lunenfeld, B., Beery, R. and Bahary, C.M.: *Progesterone(P) receptor dynamics in estrogen primed normal human cervix following P injection. Fertil. Steril., 47(1):108, 1987.*

Harper, M.J.K., Prostokoff, B.T. and Reeve, R.T.: *Implantation and embryonic development in the ovariectomized hamster. Acta. Endocr. Copenh, 52:465, 1966.*

Hoffmann, L.H.: *Antifertility effects of indomethacin during early pregnancy in the rabbit. Biol. Reprod., 18:148, 1978.*

Hoffmann, L.H., Dipieetro, D.L. and Mckenna, T. J.: *Effects of indomethacin on uterine capillary permeability and blastocyst development in rabbits. Prostaglandins, 15:823, 1987.*

Holmes, P.V. and Berström, S.: *Induction of blastocyst implantation in mice by cyclic AMP. J. Reprod. Fert., 43:329, 1975.*

Johnson, D.C. and Dey, S.K.: *Role of histamine in implantation: Dexamethasone inhibits estradiol-induced implantation in the rat. Biol. Reprod. 22:1136, 1980.*

Kennedy, T.G.: *Evidence for a role for prostaglandins in the initiation of blastocyst implantation in the rat. Biol. Reprod. 16:286, 1977.*

Kennedy, T.G. and Armstrong, D.T.: *The role of prostaglandin in endometrial vascular changes at implantation. In: Cellular and molecular aspects of implantation. Plenum. Press. NY, p. 349, 1981.*

Kennedy, T.G., Barbe, G.J. and Evans, C.A.: *Prostaglandin I_2 and increased endometrial vascular permeability proceeding the decidual cell reaction. In: Endometrium. Plenum. Press NY, p. 349, 1980.*

Kennedy, T.G. and Zemecnik, J.: *The concentration of 6-oxo-PGF is markedly elevated at the site of blastocyst implantation in the rat. Prostaglandins, 16:599, 1978.*

Kwun, J.K. and Emmens, C.W.: *Hormonal requirements for implantation and pregnancy in the ovariectomized rabbit. Aust. J. Biol. Sci., 27: 275, 1974.*

Lee, W.H., Ryu, K. and Hong, S.S.: *The role of prostaglandin in the process of implantation in rabbit. Yonsei. Med. J. 18(1):205, 1985.*

McLaren, A.: *Endocrinology of implantation. J. Reprod. Fert. Suppl., 18:159, 1973.*

Mester, I., Martel, D., Psychoyos, A. and Baulieu, E.E.: *Hormonal control of oestrogen receptor in uterus and receptivity for ovoimplantation in the rat. Nature, 250:776, 1974.*

Milgrom, E., Atger, M., Perrot, M. and Baulieu, E.E.: *Progesterone in uterus and plasma: Uterine progesterone receptors during the estrus cycle and implantation in guinea pig. Endocrinology, 90:1071, 1972.*

Pakrasi, P.L., Cheng, H.C. and Dey, S.K.: *Prostaglandins in the uterus: modulation by steroid hormones. Prostaglandins, 26(6):991,1983.*

Park, C.K., Rhee, K.H., Seo, K., Rhee, K.S., Yoon, M. and Ryu, K.: *Determination of optimal conditions for cytosolic progesterone receptor assay in rat uterus. Korean J. Fertil. Steril., 13(2):187, 1986.*

Park, C.K., Rhee, K.S., Cho, H.S. and Ryu, K.: *Determination of optimal conditions for cytosolic and nuclear estrogen receptor assay in rat uterus. Korean J. Endocrinol., 1(2): 133, 1986.*

Phillips, C.A. and Poyser, N.L.: *Studies on the involvement of prostaglandins in implantation in the rat. J. Reprod. Fert., 62:73, 1981.*

Rankin, J.C., Ledford, B.E. and Bagget, B.: *Early involvement of cyclic nucleotides in the artificially stimulated decidual cell reaction in the mouse uterus. Biol. Reprod.,17:549, 1977.*

Saksena,. S.K., Lau, I.F. and Chang, M.C.: *Relationship between oestrogen, prostaglandin F and histamine in delayed implantation in the moule. Acta. Endocr. Copenh., 81:801, 1976.*

Vilar-Rojas, C., Castro-Osuna, G. and Hicks, J.J.: *Cyclic AMP and cyclic GMP in the implantation site of the rat. Int. J. Fertil., 27(1):56, 1982.*

Vu Hai, M.T., Logeat, F., Warembourg, M. and Milgrom, E.: *Hormonal control of progesterone receptors. Ann. NY Acad. Sci., 286:199, 1977.*

Webb, F.T.G.: *Implantation in ovariectomized mice treated with dibutyryl adenosine 3', 5'-monophosphate (dibutyryl cyclic AMP). J Reprod. Fert., 42:511, 1975.*

Webb, F.T.G.: *Cyclic AMP and the preparation of the mouse uterus for implantation. J. Reprod. Fert., 50:83, 1977.*

Yoon, M. and Ryu, K.: *Immunosuppression of peripheral lymphocytes and thymocytes during implantation in rats. Submitted to Journal of Reproduction and Fertility for publication, 1987.*