

## 緬羊에 있어서 炎症誘發後의 血中代謝物의 動態 그리고 그後의 過剩排卵處置에 대한 卵巢反應

權 五 鏡

서울大學校 獸醫科大學

### 緒 論

過剩排卵處置에 對한 卵巢反應이 개체따라 다르다는 사실은 많은 研究者에 의해 報告되어 왔다.<sup>12,13)</sup> 또한 卵巢反應의 差에 대한 原因도 多樣하며<sup>1,4,7,12,13)</sup>, 이 중에는 血中總cholesterol(T-CHO)值에 의해 나타나는 體의 代謝狀態도 關係하고 있는 것으로 알려져 있다.<sup>10,12)</sup> 血中T-CHO值는 疾病發生에 의해 低下되며 그後에도 低T-CHO의 狀態가 어느정도 持續되는 것으로 알려지고 있다.<sup>8)</sup> 特히 乳牛에 있어서는 泌乳에 의해 T-CHO值는 有意的으로 變動하며<sup>11)</sup>, 이것은 血中 lipoprotein 代謝 및 이에 關聯하는 酵素와의 사이의 密接한 關係에서 緣由되는 것으로 생각되어지고 있다.<sup>14,15)</sup> 末梢組織에 있어서의 炎症은 그 部位에 있어서 lipoprotein 代謝에 異常을 초래하며 肝臟에서의 lipoprotein 生産을 低下시킨다고 생각된다. 소에 있어서 低T-CHO는 末梢組織의 異常에 의해서도 일어날 수 있으며, 低T-CHO值와 卵巢反應의 低下사이에는 疾病發生에 의한 stress가 關係하고 있지 않은가 생각된다.

以上の 것들을 確實히 할 目的으로 緬羊에 實驗的인 炎症을 誘發시켜 그後의 代謝狀態의 變化 그리고 過剩排卵處置에 대한 卵巢反應과의 關係를 檢討하였다.

### 材料 및 方法

이 實驗은 Suffolk種 緬羊 10頭를 使用하여 繁

殖季節인 9~11月사이에 行해졌다. 合成 progesterone製劑(MAP, 60mg, Upjohn社, Australia)로 發情同期化하여 發情後 8日째에 炎症群 5頭에起炎劑로 LPS(Lipopolysaccharide *E. coli*, Wako社, Japan; 0.2mg/kg)를 12時間 간격으로 2回 乳腺組織內에 注入하였다. LPS注射後 2回以上の 正常的인 發情周期를 되풀이한 後에 過剩排卵處置를 하였다.

過剩排卵處置는 FSH-PG法으로 發情後 8日째부터 FSH(Antrin, Denka製藥, Japan)3mg을 1日 2回 3.5日間 筋肉內注射하였다. 黃體退行을 위해서 Cloprostenol(Estrumate, ICI社, 英國)100  $\mu$ g을 5回째의 FSH投與時 筋肉內注射하였다.

發情觀察은 精管結扎雄緬羊을 使用하여 行해졌으며 發情確認後 繁殖性이 좋은 雄緬羊을 導入하여 自然受精하였다. 胚回收는 發情後 6~7日째에 手術的方法으로 行해졌다.

炎症誘發後의 血中代謝物의 動態를 檢討하기 위해 LPS注射後 6時間 간격으로 2日間, 그後에는 每日 1回씩 8日間 그리고 過剩排卵處置時에 採血하였다. 採血後 3時間以內 血清을 分離하여 血中代謝物을 測定할 때까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 冷凍保管하였다. 調査한 血中代謝物의 項目은 T-CHO,  $\gamma$ -GTP GOT 그리고 NEFA였다. 炎症誘發後의 體溫의 變化도 觀察하였다.

LPS注射後의 血中代謝物의 動態는 注射前值와의 平均值의 差를 student t檢定으로 檢討하였다. 過剩排卵處置結果는 中央值와 範圍(最低值-最高值)로 表示하였으며 LPS注射群과 對照群

사이의 차는 Mann-Whitney法으로 檢討하였다.<sup>3)</sup>

### 結果

LPS注射綿羊 5頭中 1頭는 2回제의 注射後 疼痛, 呼吸困難과 같은 shock 症狀을 보이면서 斃死하였다. 他 4頭에 있어서도 呼吸數의 增加, 疼痛, 食慾不振과 같은 症狀을 보였으나 注射 2日後부터는 上記諸症狀을 觀察할 수 없었다. LPS 注射 1時間後부터 體溫의 增加도 觀察되었으며 특히 3, 6時間後에는 各各 40.8℃, 40.2℃로 6時間後에는 有意적으로 增加하였다(Table 1).

血清NEFA値는 注射 1時間後부터 有意적으로 增加하였다. ( $p < 0.01$ , Table 2). 注射 12~24時間

Table 1. The Changes in Body Temperature from the Time of LPS Injection

Time after LPS injection	Body temperature (°C)	
	mean	SD
0h	39.4	0.1
1h	39.7	0.8
3h	40.8	1.2
6h	40.2*	0.6
12h	39.6	0.6
18h	39.7	0.7

SD : standard deviation.

LPS : lipopolysaccharide *E. coli*.

\* : significant difference from the time of LPS injection (0 h,  $p < 0.05$ ).

Table 2. The Changes in NEFA Levels from the Time of LPS Injection

Time after LPS injection	NEFA level (mEg/L)	
	mean	SD
0h	0.10	0.02
1h	0.28**	0.09
3h	0.22	0.10
6h	0.27	0.14
12h	0.62	0.55
18h	0.48	0.40
24h	0.50	0.39
1 5d	0.29	0.23
3 d	0.28	0.23
4 d	0.15	0.08
6 d	0.27	0.16
8 d	0.34	0.22
2 month	0.11	0.05

\*\* :  $P < 0.01$

사이에는 0.5mEq/ℓ 前後의 高値를 나타냈다.

血清GOT値는 注射3時間後부터 增加의 傾向을 보여, 12時間後에는 有意적으로 增加하였다 (Table 3).  $\gamma$ -GTP値를 Table 4에 表示하였으나 有意적인 變動을 인정할 수 없었다.

Table 3. The Changes in GOT Levels from the Time of LPS Injection

Time after LPS injection	GOT level (IU)	
	mean	SD
0h	30.0	6.1
1h	30.5	5.3
3h	32.2	3.0
6h	34.9	2.2
12h	39.4*	2.6
18h	38.0	5.5
24h	31.8	4.4
1.5d	27.8	4.4
3 d	35.2	10.5
4 d	34.9	8.7
6 d	35.3	8.8
8 d	28.7	5.3
2 month	34.0	1.7

SD : standard deviation.

LPS : lipopolysaccharide *E. coli*.

\* :  $p < 0.05$

Table 4. The Changes in  $\gamma$ -GTP Levels from the Time of LPS Injection

Time after LPS injection	$\gamma$ -GTP level (mU/ml)	
	mean	SD
0h	37.2	11.4
1h	33.8	5.9
3h	37.2	7.6
6h	36.1	4.4
12h	37.2	3.8
18h	36.1	7.9
24h	36.1	7.9
1.5d	33.2	6.1
3 d	39.0	12.5
4 d	33.7	7.0
6 d	31.4	7.0
8 d	35.5	11.0
2 Month	31.4	7.9

SD : standard deviation.

LPS注射時의 血清T-CHO値는 51.6mg/dl로서 注射18, 24時間後에는 各各 45.8mg/dl,

44.8mg/dl로서 有意的으로 低下되었다( $p < 0.05$ , Table 5).

## 考 察

Table 5. The Changes in the Total Cholesterol Levels from the Time of Injection

Time after LPS injection	Cholesterol level(mg/dl)	
	mean	SD
0h	51.6	2.0
1h	50.5	4.3
3h	47.9	2.4
6h	50.0	3.4
12h	47.4	3.6
18h	45.8*	3.4
24h	44.8*	4.0
1.5d	45.8	4.5
3 d	47.4	2.0
4 d	47.1	4.3
6 d	48.4	4.0
8 d	58.3	5.9
2 Month	50.0	4.8

그러나 上記 血清化學成分值의 變動은 一時的인 것으로 約 2개월後의 過剩排卵處置時에는 LPS注射時의 値와 類似하였다.

LPS注射後의 初回發情은 1頭가 22日後, 2頭가 26日後, 나머지 1頭가 35日後에 觀察되었다. 以後 2回째의 發情은 全實驗羊群에 있어 15~17日사이에 觀察되었다.

過剩排卵處置에 대한 結果를 Table 5에 提示하였다. 黃體數, 殘存卵胞數, 回收 그리고 正常胚數에 있어 LPS注射群과 對照群사이에 有意差를 인정할 수 없었다.

이번 實驗에 使用한 LPS는 Gram陰性 *E. coli*의 細胞膜成分의 抽出物로서 炎症誘發試驗에 使用되고 있는 製劑이다.<sup>2)</sup> LPS注射에 의해 發熱, 疼痛과 같은 炎症 特有의 全身症狀를 觀察할 수 있었다. LPS注射에 의해 代謝狀態와 關係있는 몇가지 血中代謝物의 變化를 초래하였으며 NEFA, GOT值는 增加하고 T-CHO值는 低下되었다. 그러나 肝組織 特有의 酵素인  $\gamma$ -GTP值는 有意的인 變化를 보이지 않았다. 소에 있어서 分娩前後의 血液成分의 變動과 疾病發生과의 關係를 檢討한 報文<sup>8)</sup>에는  $\gamma$ -GTP도 增加한다고 하였다. 이는 分娩이란 特別한 條件下에 體蓄積 脂肪에서의 脂肪動員이 일어나나 肝臟에서의 處理能力不足 즉 肝機能低下로 인한 脂肪沈着과 이로 인한 脂肪組織의 機械的인 障害때문에  $\gamma$ -GTP가 增加된다고 생각된다. 이번 實驗에 있어서의 T-CHO值의 低下  $\gamma$ -GTP值의 無變化는 炎症誘發에 의해 먼저 肝機能의 低下가 초래된다고 말할 수 있다. 炎症誘發에 의한 肝機能低下는 lipoprotein과 이에 關連된 酵素와의 密接한 關係로 說明될 수 있다.<sup>14)</sup> 末梢組織에서의 異常은 그 部位에 存在하는 lipoprotein lipase 活性을 低下시키며 이로인해 低比重 lipoprotein에서의 中性脂肪의 利用이 抑制된다. 이와 同時에 低比重 lipoprotein外側에 存在하는 cholesterol, phospholipid의 高比重 lipoprotein으로의 移動도 抑制된다. 이와같은 末梢組織에 있어서의 lipoprotein 利用低下는 肝臟에서의 生産低下로 連結되며 이로인해 血中 T-CHO值도 低下되는 것으로

Table 6. Superovulation Results

Results	Groups		Significance
	LPS injection (n=4)	Control (n=5)	
No. CL	10 (10-22) <sub>a</sub>	14 (7-20)	NS
No. Follicles	3 (2-11)	1 (0-4)	NS
No. recovered embryos	8.5 (0-10)	6 (0-10)	NS
No. normal embryos	4 (0-9)	4 (0-9)	NS

<sub>a</sub> medians (lowest-highest)  
NS : non-significance.

생각된다. 以上の 것을 綜合하면 血中 T-CHO值의 低下는 體의 어딘가에 異常이 持續되고 있는 狀態라고도 말할 수 있다.

이번 實驗에서는 LPS處值群과 無處值群 사이에 過剩排卵處置 結果에 有意的인 差를 認定할 수 없었다. 血液化學成分值의 變動에서 알 수 있듯이 過剩排卵處置時에는 LPS注射에 의한 影響이 없어졌으며 이는 正常發情周期가 2回 持續되었다는 사실에서도 알 수 있다. 權 등<sup>9)</sup>에 의하면 分娩前後의 疾病發生牛에 있어서 그렇지 않은 牛보다 性機能回復이 늦어졌다고 하였다. 山羊에 endotoxins을 注射하면 注射量에 比例하여 15-keto-13, 14-dihydro-PGF<sub>2α</sub>가 增加한다고 하였으며 發情周期도 短縮된다고 하였다.<sup>6)</sup> 過剩排卵處置中の hydrocortisone 혹은 dexamethasone의 注射는 卵胞發育障害 그리고 排卵障害를 誘發시켜 排卵數의 低下, 殘存卵胞數의 增加를 일으킨다고 한다.<sup>5)</sup> 病症發生에 의한 stress는 性機能에 惡影響을 미치며 이러한 stress가 持續되는한 過剩排卵處置에 對한 結果도 좋지않다고 생각된다.

이 實驗의 結果를 綜合하면 LPS注射에 의한 炎症誘發은  $\gamma$ -GTP을 除外한 上記 他 血液化學成分에 有意的인 變動을 일으켰으나 一時的인 것으로 約 2개월後의 過剩排卵處置에는 有意的인 影響을 미치지 않았다.

### 結 論

綿羊에 LPS注射에 의한 實驗的인 炎症을 誘發하여 그後의 代謝狀態의 變化 그리고 過剩排卵處置에 대한 卵巢反應과의 關係를 檢討하였다. LPS注射後의 NEFA, GOT,  $\gamma$ -GTP, 總 cholesterol 그리고 體溫의 變化를 觀察하였다. LPS注射後 2回以上の 正常發情周期를 되풀이한 綿羊에 대해 FSH-PG法에 의해 過剩排卵處置을 하였다.

LPS 注射에 의해 單時間內에 體溫의 上昇, GOT, NEFA值의 增加 그리고 總 cholesterol值의 低下가 觀察되었다. 그러나  $\gamma$ -GTP值는 有意的인 變化를 보이지 않았다. 上記 諸化學成分의 變化는 一時的인 것이 었으며 約 2개월後의 過剩排卵處置에는 影響을 미치지 않았다.

### 參 考 文 獻

1. Betteridge, K.J.: Embryo transfer in farm animals. A review of techniques and applications. Agriculture Canada, (1977) Monograph, 16.
2. Bodmes, B. and Siboo, R.: Isolation of mouse C-reactive protein from liver and serum. *J. immunol.*, (1977) 118: 1086~1089.
3. Campbell, R.C.: Statistics for Biologists. Cambridge University Press, (1974) pp. 50~76.
4. Critser, J.K., Rowe, R.F., Del-Compo, M.R. and Ginther, L.J.: Embryo transfer in cattle; Factors affecting superovulatory response, number of transferable embryos and length of post-treatment estrous cycles. *Theriogenology*, (1980) 13: 397~406.
5. Ewy, Z., Wierzechos, E., Bielanski, A. and Gajda, B.: Effect of dexamethasone and hydrocortisone on the course of superovulation in cattle. *Theriogenology*, (1985) 23: 415~420.
6. Fredriksson, G., Kindahl, H. and Edqvist, L.-E.: Some aspects of endotoxins on luteal function in female goats. 10th International Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination, (1984) Vol. III, p. 506.
7. Hasler, J.F., McCauley, H.D., Schermerhorn, E.C. and Foote, R.H.: Suproovulatory responses of Holstein cows. *Theriogenology*, (1983) 19: 83~99.
8. Kweon, O.K., Ono, H., Yamashina, H. and Kanagawa, H.: Changes in various serum chemical components level before and after calving in Holstein cows. *J. Hokkaido Vet. Med. Assoc.*, (1985) 29: 7~13 (in Japanese).
9. Kweon, O.K., Ono, H., Yamashina, H. and Kanagawa, H.: Blood chemical components and occurrence of diseases before and after calving in relation to fertility status in Holstein cows. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, (1985) 31:

- 63~6/ (in Japanese with English summary)
10. Kweon, O.K., Ono, H., Yamashina, H., Seike, N., Mori, K., Iwazumi, Y. and Kanagawa, H.: Relationship between serum total cholesterol and progesterone levels and the number of transferable embryos in superovulated Holstein heifers and cows. *Jpn. J. Anim. Reprod.*, (1985) 31: 231~235.
  11. Kweon, O.K., Ono, H., Osasa, K., Onda, M., Oboshi, K., Uchisugi, H., Kurosawa, S., Yamashina, H. and Kanagawa, H.: Factors affecting serum total cholesterol level of lactating Holstein cows. *Jpn. J. Vet. Sci.*, (1986) 48: 481~486.
  12. Kweon, O.K., Kanagawa, H., Takahashi, Y., Seike, N., Iwazumi, Y., Aoyagi, Y. and Ono, H.: Factors affecting superovulation response in cattle. *Jpn. J. Vet. Sci.*, (1986) 48: 495~503.
  13. Monniaux, D., Chupin, D. and Saumande, J.: Superovulatory response of cattle. *Theriogenology*, (1983) 19: 55~81.
  14. Puppione, D.L.: Implications of unique features of blood lipid transport in the lactating cow. *J. Dairy Sci.*, (1977) 61: 651~659.
  15. Raphael, B.C., Dimick, P.S. and Puppione, D.L.: Lipid characterization of bovine serum lipoproteins throughout gestation and lactation. *J. Dairy Sci.*, (1973) 56: 1025~1032.

## **Changes in Some Metabolites and Ovarian Response to Superovulation Treatment after the Induction of Inflammation in Sheep**

Oh-Kyeong Kweon, D.V.M., Ph.D.

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

### **Abstract**

The effects of inflammation on the changes in some blood metabolites and ovarian response to superovulation treatment in sheep were investigated. Inflammation was induced artificially with LPS (Lipopolysaccharide *E. coli*; 0.2mg/kg). Changes in the levels of NEFA, GOT,  $\gamma$ -GTP and body temperature after LPS injection were observed. Superovulation was carried out about 2 months after LPS injection.

The body temperature, the levels of NEFA and GOT increased, and the level of total cholesterol decreased transiently. However, the level of  $\gamma$ -GTP did not change significantly. Superovulation results were not different between LPS injection and control groups.

It was indicated that superovulation results did not decrease in the sheep which showed regular estrous cycle even after the induction of inflammation.