

흰쥐 초기배아 발생기간 중 수란관조직의 알카리성 Phosphatase활성도에 관한 연구

이화여자대학교 의과대학 의학과, 한양대학교 자연과학대학 생물학과*

김 성 례 · 김 문 규*

A Study on the Activity of Alkaline Phosphatase of Rat Oviduct During Early Embryonic Development

Sung Rye Kim and Moon Kyoo Kim*

College of Medicine, Ewha Womans University, Department of Biology, College of Natural Sciences,
Hanyang University, Seoul 133-791, Korea*

= Abstract =

The present investigation has been undertaken to elucidate the functional role of ovarian steroids on the mechanism of oviduct differentiation during early embryonic development in rat.

The activity of alkaline phosphatase (ALPase) was measured in the oviduct tissue under different steroids treatment regime on day 9 pregnancy. The ALPase activity of the oviduct of pseudopregnant rat was compared with that of normal pregnant rat. The results of day 9 pregnancy rat oviduct clearly demonstrated that 17β -estradiol and progesterone were effective in pseudopregnant rat oviduct. In the ovary intact group the ALPase activity was similar in both of normal and pseudopregnant oviduct, but in the 17β -estradiol treated group the ALPase activity in normal pregnancy was significantly higher than that in pseudopregnancy. The effect of estradiol on the normal pregnant rat oviduct was apparently found on day 3 and day 9 pregnancy.

This study, therefore, clearly demonstrates that 17β -estradiol is much potent in oviduct tissue differentiation. It is suggested that absence of 17β -estradiol effect on pseudopregnant rat oviduct is due to there is no embryo passing through the oviduct.

서 론

포유류 난자는 배란된 후 수란관 팽대부에서 수정되며 난할을 거듭하여 포배(blastula)에 이르러 자궁에 도달하여 착상하게 된다. 이 기간에 수란관은 어떤 기작으로 수정난으로 하여금 난할중단(cleavage block)을 극복하고 착상을 위한 분화, 발생을 할 수 있도록 유도하지는 아직도 명확히 밝혀지지 않고 있으며, 또한 초기배아의 착상조절기작을 규명하려는 연구들은 자궁조직분화에 관한 것은 많이 있으나 수

본 연구는 1989년도 문교부 기초과학육성 연구비의 지원에 의한 것임.

란관에 관한 연구는 거의 찾아 볼 수 없는 실정이다.

본인 등도 착상 조절기작을 규명할 연구의 일환으로 초기 임신기간중 자궁조직분화에 미치는 난소호르몬의 영향등을 연구 수행해 온 바, 자궁조직 분화에 지표가 되는 알카리성 phosphatase(ALPase)의 활성이 estradiol분비 양상과 자궁조직세포의 핵내 estradiol수용체 양과 상응하는 관계가 있음을 관찰 보고하였다(Kim et al., 1982;1985;1986).

이처럼 자궁조직변화와 관련이 있는 효소가 난소호르몬의 영향하에 합성되고 있으므로 이 난소호르몬은 표적세포내 핵내 유전인자를 조절하여 조직분화와 관련있는 효소단백질을 합

성할 것으로 사료된다.

이 기간에 자궁은 난소호르몬인 estradiol과 progesterone의 작용으로 형태적(Moulton, 1981; Kim, 1983a; Anderson, 1986), 기능적(Kim, 1983b; 1984; 1985; Anderson, 1986)으로 변화하며, 특히 단백질을 합성(Lejeune, et al., 1985)하여 강소내로 분비하거나 흡수하여 수정란 분화에 적절한 환경을 조성하고 배아가 착상을 할 수 있도록 제반 여건을 갖추게 된다고 알려졌다.

이러한 연구들로 미루어 볼때 수란관 역시 난소호르몬의 영향하에서 수정란을 분화하게 할 것으로 생각한다. 그러므로 본인은 호르몬의 관여로 인한 생식수관 조직의 생화학적, 조직화학적, 내분비 생리학적인 변화를 관찰, 분석하여 착상유도 및 초기 배아발생 유도기작을 규명하고자 일차적으로 배아의 착상 준비 단계인 임신 제 3일과 착상시기인 임신 제 6일의 수란관에서 ALPase의 활성을 측정, 보고한 바 있다(Kim & Choi, 1990).

본 실험에서는 개체간의 차이를 해소하며 수란관을 통과하는 배아가 없는 상태에서 수란관 조직의 분화에 관한 것을 고찰하고자 가임신을 유도한 흰쥐의 수란관에서 ALPase 활성도를 측정하여 정상임신군과 비교 연구하였다.

재료 및 방법

A. 실험동물

본 실험에서는 생후 3-4개월($250 \pm 20g$)된 암흰쥐(Sprague-Dawley strain)를 실험진행전에 조명장치(14시간 명, 10시간 암)가 되어 있는 곳에서 일정기간 적응시킨 후, 정상 발정주기를 나타내는 것을 사용하였다.

B. 실험군

1. 정상임신군(Pregnant Group)

(A) 대조군 : 발정전기에 생식능력이 있는 수컷과 동서시킨 다음날 아침, 질부에서 정자가 관찰되면 이를 임신 제 1일(Day 1)로 하였으며 임신 제 3일(Day 3), 제 6일(Day 6), 제 9일(Day 9)군으로 구분하여 그림 1(A)에서와 같이 수행하였다.

(B) 처리군 : 임신된 흰쥐에서 임신 제 2일에 난소를 제거하고 호르몬을 처리하였는데 용매로 sesame oil만 처리한 vehicle처리군 (V), 17β -estradiol 처리군 (E), progesterone 처리군

(P), 17β -estradiol과 progesterone 동시 처리군 (E+P)으로 구분하였다.

2. 가임신군(Pseudopregnant group)

(A) 대조군: 정상 성주기를 나타내는 암컷 흰쥐를 발정전기에 자궁 질부를 tapping(120회/1분)하여 가임신을 유도한 후, 다음날 아침 백혈구(leukocyte)가 관찰되면 이를 가임신 제 1일로 하였다. 계속 백혈구가 관찰되면 가임신이 유도된 것으로 간주하여 그림 1(B)와 같이 가임신 제 4일에 탈락막 형성(decidua) 유도를 위하여 한쪽 자궁의 수란관과 자궁 연접부위에 sesame oil (0.1ml/개체)을 주입하여 traumatization을 하였다.

(B) 처리군: 가임신 제 4일에 양쪽 난소를 제거한 후, 호르몬처리는 정상임신군과 같이 하였다.

C. 호르몬 처리방법

흰쥐의 복강에 Nembutal sodium solution (0.1ml/100g)을 주사하여 마취시킨후, 배복측 부분절개수술로 양쪽 난소를 제거하였으며, E($1\mu g$ /개체)와 P($2mg$ /개체)을 각각 혹은 동시에 매 24시간 간격으로 피하주사 하였다. E와 P는 ethyl alcohol로 용해시킨 후 sesame oil에 녹였다.

D. 알카리성 phosphatase 활성도 측정

ALPase활성도 측정을 위한 시료는 매 실험군 당 5마리의 동물에서 다음과 같은 방법으로 수확하였다. 각 실험군의 흰쥐는 ether로 마취하고 수란관을 적출하여 ice-cold saline으로 적셔진 흡착지 위에서 여분의 지방, 혈액을 제거한 후, 각 실험군의 수란관을 개체당 1ml의 0.25M sucrose에 균질화시켰으며 시료 채취의 전 과정은 $4^{\circ}C$ 에서 행하였다.

수확한 수란관조직은 1.5ml Eppendorf tube에 옮겨 초음파분쇄기(sonic dismembrator, Fisher Model 300)로 30초간 sonication(output 30%)한 후, $4^{\circ}C$ 에서 10,000g로 10분간 원심분리하여(Beckmam Model J2-21) 상등액을 사용하였다.

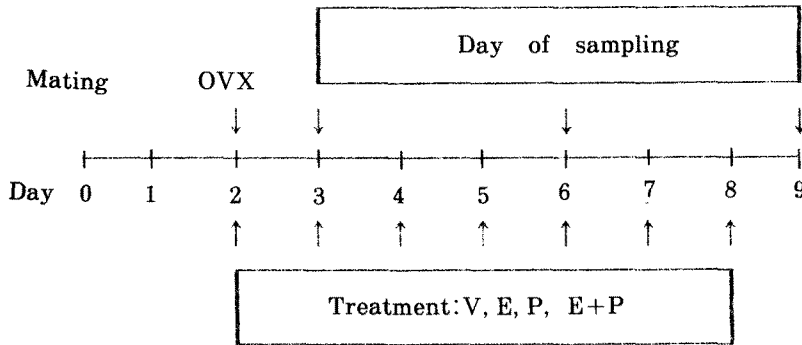
ALPase활성도는 Bowers와 McComb(1975)의 방법을 변용하였다. 즉, 조직내의 p-nitrophenyl phosphate(p-NPP)가 함유된 반응액과 작용시켜서 유리되는 p-NP를 측정하여 효소의 활성도로 하였다. 즉, pH 10.33인 반응액(0.89M 2-amino-2-ethyl-1-propanol:300 μ l, 50mM Mg Cl₂:100 μ l, 300mM p-NPP:100 μ l)에 조직액 100

Table 1. Alkaline phosphatase activity of the oviduct in early pregnant rat

| Day of Pregnancy | Treatment | | | | |
|------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------|--------------------|
| | Control | Vehicle | E | P | E+P |
| 3 | 109.3±4.5 ^a (100) | 87.2±11.0 (80) | 117.7± 5.5 (108) | 80.4±5.6 (74) | 68.3±8.4 (63) |
| 6 | 107.1±6.1 (100) | 77.3±10.3 (72) | 91.0±11.0 (85) | 90.3±5.5 (84) | 98.8±6.2 (92) |
| 9 | 100.7±7.9 (100) | 100.2± 9.0 (100) | 133.7± 7.4 (133) | 97.0±5.1 (96) | 117.2±6.2 (116) |
| 9 pseudo | 103.8±1.7 (100) | 89.0± 9.3 (86) | 94.3± 7.4 (91) | 102.8±5.4 (99) | 123.9±9.0 (119) |

^a: Mean±SE(μ mole p-NP/mg protein/min), n=5, Numerical numbers in parenthesis indicate the relative value(%) for ALPase activity of control.

(A) Pregnant Group



(B) Pseudopregnant Group

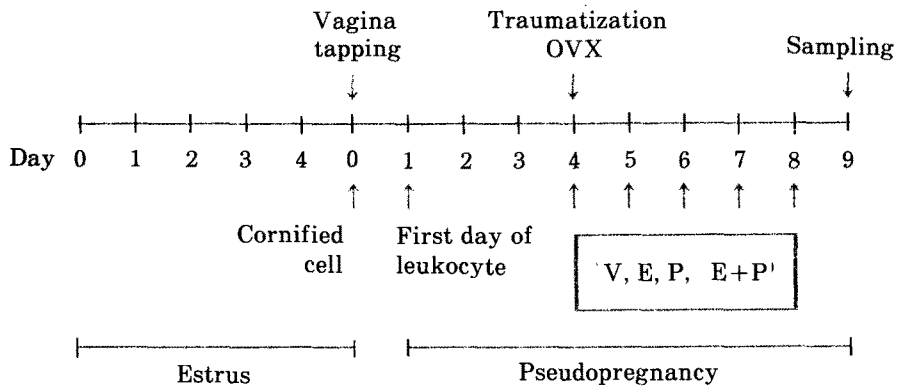


Fig. 1. Experimental scheme. OVX:Ovaryectomy, V:Vehicle (0.1ml sesame oil), E:17 β -Estradiol (1 μ g/0.1ml sesame oil), P:Progesterone (2mg/0.1ml sesame oil), E+P:Estradiol+Progesterone.

수를 가하여 37°C에서 20분간 반응시킨 후, 37.5% trichloroacetic acid(TCA) 0.3ml을 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 2N NaOH 0.6ml로 재발색시킨 다음 분광광도계(spectrophotometer, Shimadzu, UN-150-02)로 파장 405nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 standard로는 p-NP(Sigma)를 사용하였다. 한편 단백질 정량은 Bradford(1976)의 방법을 적용하였으며, 이때 standard로는 bovine serum albumin(BSA, Sigma)을 사용하였다. ALPase활성도는 $\mu\text{mole p-NP/mg protein/min}$ 로 나타내었으며, 각군에서 측정된 효소활성도의 통계적 유의성 검정은 Student's t-test로 하였다.

결 과

가임신 흰쥐의 초기 배아 발생 기간중 수란관 분화에 관한 기작을 고찰하고자 정상임신군과 가임신군에서 임신 제 9일에 대조군과 난소 제거 호르몬처리군의 ALPase활성도를 조사한 결과를 표 1과 그림 2, 3, 4에 나타내었으며, 정상임신군의 초기배아 발생기간중 착상전 생식수관 분화가 가장 활발한 임신 제 3일과 착상시기인 제 6일에서 조사한 본인등(1990)의 연구 결과를 표 1과 그림 5에 나타내었다.

1. 정상임신군(Normal pregnancy)

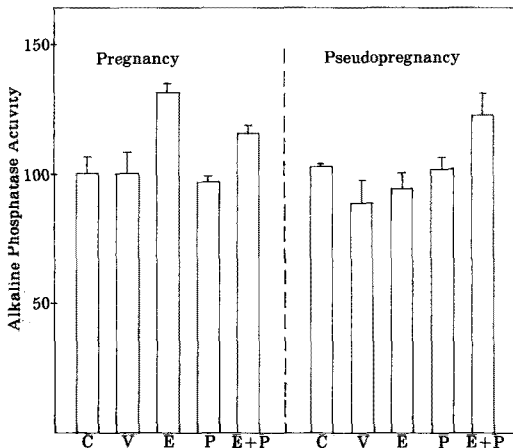


Fig. 2. Alkaline phosphatase activity ($\mu\text{mole p-NP/mg protein/min.}$) in the rat oviduct on Day 9 treated with or without steroid(s). C: Ovary intact, without treatment as control, V: Vehicle(0.1ml sesame oil), E: 17β -Estradiol($1\mu\text{g}/0.1\text{ml}$ sesame oil), P: Progesterone($2\text{mg}/0.1\text{ml}$ sesame oil), Bar indicates the standard error of mean value.

정상임신 제 9일에서 대조군의 ALPase활성도는 $100.7\mu\text{mole}$ 인데 E처리군에서는 $133.7\mu\text{mole}$ 로 높아졌다. 한편 P처리군에서는 $97.0\mu\text{mole}$ 로 감소하고 있어 E처리군은 대조군($p<0.05$)과 P처리군($p<0.01$)보다 공히 유의한 차이로 활성도가 높아졌다. 이 두 호르몬을 동시에 처리한 E+P처리군에서는 $117.2\mu\text{mole}$ 의 활성도를 나타냈다.

대조군의 활성도(100%)를 기준으로 처리군의 활성도를 비교하였을 때 E처리군의 비교치는 133%로 증가하나 P처리군에서는 96%, E+P처리군에서는 116%로 증가하였다. 한편 용매처리군의 활성도와 비교해도 대조군과 비교하였을 때와 같은 경향을 나타내어 수란관에서는 P의 영향이 관찰되지 않았다.

2. 가임신군(Pseudopregnancy)

가임신 제 9일의 ALPase 활성도는 대조군에서 $103.8\mu\text{mole}$ 이며 용매처리군에서는 $89.0\mu\text{mole}$, E처리군에서는 $94.3\mu\text{mole}$, P처리군에서는 $102.8\mu\text{mole}$ 을 나타내어 처리군간에 차이가 없었다. E+P처리군에서는 $123.9\mu\text{mole}$ 로 가장 높은 활성도를 나타내었다.

대조군의 활성도(100%)를 기준하였을 때 처리군에서는 86%로, E처리군에서 91%로 감소하고 있는 P처리군에서는 99%가 되어 대조군의 활성도와 같은 수준에 도달하였으며, E+

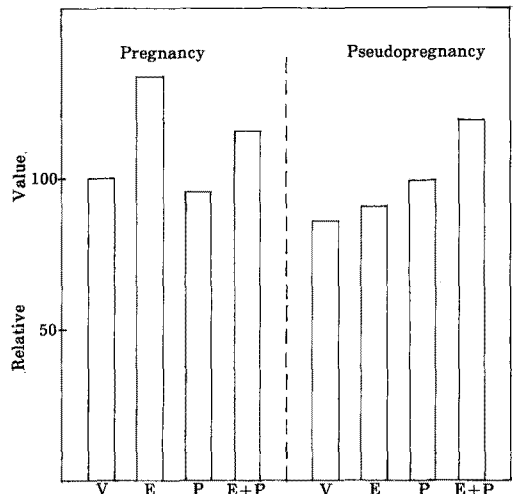


Fig. 3. Relative value(%) of alkaline phosphatase activity of the oviduct on Day 9 for the value of intact ovary. The abbreviations are the same as in Fig. 2.

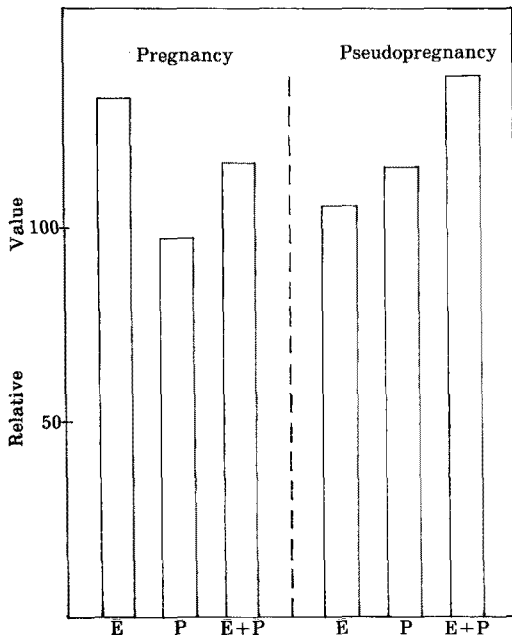


Fig. 4. Relative value(%) of alkaline phosphatase activity of the oviduct on Day 9 for the value of ovariectomized and vehicle treated rats. The abbreviations are the same as in Fig. 2.

P처리군에서는 119%로서 대조군보다 높은 활성도를 나타내었다.

처리군의 활성도와 비교해 보았을 때 E처리군에서는 106%를 나타내었으며 P처리군에서는 116%로 증가하였다. E+P처리군에서는 139%로 유의한($p < 0.05$) 차이를 나타내었다.

임신 제 9일의 수란관조직에서의 ALPase 활성도를 정상임신군과 가임신군간에 비교해 보면(표 3, 그림 1) 대조군에서는 정상임신군(100.7 μ mole)과 가임신군(103.8 μ mole)간에 차이가 없으며, 난소제거 처리군간에도 차이가 없다. E처리군에서는 정상임신군(133.7 μ mole)이 가임신군(94.3 μ mole)보다 유의한 차이($p < 0.02$)로 활성도가 높아졌으나 P처리군과 E+P처리군에서는 정상임신군과 가임신군간에 유의한 차이가 없다.

대조군의 활성도는 임신 제 3일(109.3 μ mole)과 제 6일(107.1 μ mole)간에 차이가 없었다. 임신 제 3일의 E처리군의 활성도(117.7 μ mole)가 가장 높아서 처리군의 활성도(87.2 μ mole)보다 증가하였으나 P처리군(80.4 μ mole)에서는 별다른 영향이 나타나지 않았다.

임신 제 6일 E처리군(91.0 μ mole)과 P처리군(90.3 μ mole)의 활성은 거의 같으며, 용매처리

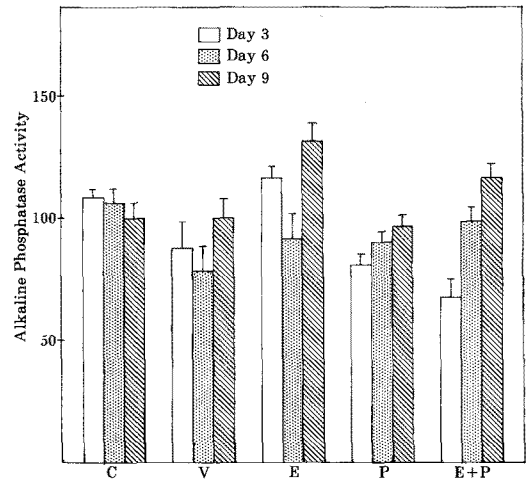


Fig. 5. Alkaline phosphatase activity(μ mole p-NP/mg Protein/min.) of the oviduct in the normal pregnant rats. The abbreviations are the same as in Fig. 2.

군과 비교하였을 때 E처리군과 P처리군에서 각각 118%와 117%를 나타내어 용매만 처리했을 때 보다는 호르몬의 영향이 나타나고 있으나 임신 제 3일에서 처리 E처리의 영향은 나타나지 않았다.

정상임신 제 9일에서도 E처리군의 ALPase 활성도(133.7 μ mole)가 대조군(100.7 μ mole)과 P처리군(97.0 μ mole)보다 유의한 차이($p < 0.05$)로 증가하고 있어 임신 제 3일과 마찬가지로 E호르몬의 영향이 나타났다. 또한 정상임신군이 가임신군의 E처리군(94.3 μ mole) ($p < 0.02$)보다 유의한 차이($p < 0.02$)로 호르몬의 영향을 나타내었다.

고 찰

포유류 난자는 수란관 상부에서 수정된 후 난할을 거듭하며, 4-5일간 수란관을 거쳐 자궁으로 하강하여 착상하게 된다. 자궁은 이 기간에 난소호르몬인 estrogen과 progesterone의 작용으로 형태적, 기능적 변화를 하며, 특히 단백질을 합성하여 강소내로 분비하거나 흡수하여 수정란 분화에 적절한 환경을 조성하고 배아가 착상할 수 있도록 제반 여건을 갖추어 된다고 알려져 있으나 초기배아 발생기간 동안의 수란관 분화에 관한 연구는 거의 찾아볼 수 없다.

일차적으로 본인등(Kim & Choi 1990)은 착상전 자궁조직분화가 왕성한 시기인 임신 제

3일과 착상시기인 임신 제 6일에서 자궁조직분화의 지표가 되는 ALPase의 활성도를 관찰 보고하였으며, 본 연구는 가임신을 유도한 흰쥐에서 수란관조직분화가 왕성한 임신 제 9일과 정상임신 제 9일에서 ALPase 활성도를 비교 관찰하였다.

가임신 제 9일 대조군의 ALPase 활성도(103.8 μ mole)는 정상임신 제 9일의 활성도(100.7 μ mole)과 제 6일의 활성도(107.1 μ mole)와도 유사한 활성을 나타내었다. 이처럼 대조군의 ALPase 활성도는 초기 임신기간중의 기간에 관계없이 수란관에서는 변화가 없었다.

수란관에서는 초기 임신기간중 ALPase 활성이 혈중 호르몬양에 관계없이 대조군에서 일정한 활성을 나타내어 호르몬의 영향을 받지 않는 것 같으나 난소제거 후 E처리군에서는 정상임신 제 9일의 경우 처리군은 대조군의 133%로 유의한 차이($p < 0.05$)를 나타내며, 임신 제 3일의 E처리군에서도 처리군의 135%로 증가하여 E의 영향을 받는 것으로 나타났다. 임신 제 6일에서는 비교치가 118%, 가임신군에서는 106%으로 증가 폭이 적었다.

본인등(Kim et al., 1983b)은 임신 제 3일은 혈중 estradiol농도가 second peak를 나타내는 시기이며, 임신 제 6일은 progesterone이 현저하게 높아지는 것을 관찰하였으며, 한편 본인은 1986년 이 시기의 자궁내막조직층(endometrium)을 기질층(stroma)과 내막상피층(endometrial epithelium)으로 분리하여 ALPase활성도를 관찰하였을 때 전 자궁내막조직층에서는 3일과 6일간에 큰 차이가 없으나, 내막상피층에서는 혈중 estradiol 농도가 높은 임신 제 3일에서, 그리고 기질층에서는 P농도가 높은 임신 제 6일에서 ALPase활성도가 높게 나타나는 것을 관찰하였다.

대조군의 혈중 호르몬 양에 관계없이 수란관내 ALPase활성도가 일정한 것은 자궁내막조직층을 기질층과 상피층으로 분리하지 않고 관찰하였을 때와 같은 현상이다. 한편 정상임신 제 3일과 9일의 수란관에서 estradiol의 영향이 용매처리군에 비해 33% 증가한 것은 수란관조직에서도 호르몬의 영향을 나타낸 결과이다. ALPase는 영양물질의 수송과 관련있는 조직, 분비작용을 하는 기관, 그리고 분열중에 있는 조직에서 그 활성도가 높게 나타난다고 하였다(Fernley, 1971). 본인등(Kim et al., 1980)도 정상 발정주기 각 시기의 자궁조직에서 ALPase

활성도가 발정전기와 발정기에 높고, 발정후기에는 낮아지는 것을 보고 하였는데, 이 결과는 estrogen 분비가 peak일때 산성과 알칼리성 phosphatase가 왕성하게 합성된다고한 Henzl등(1972)의 보고와 일치하는 결과이다. 그리고 배란 후 이 두 호르몬의 분비가 최저가 되는 발정후기에는 이 효소의 활성도가 감소되다가 progesterone이 second peak를 이루는 발정간기에는 다시금 활성도가 증가하기 시작한다(Kim et al., 1980). 이와 같이 난소호르몬 분비량의 변화와 자궁조직의 효소활성간의 관련성은 자궁조직의 변화가 이 호르몬의 영향을 받는다는 것을 시사한다.

이상의 결과들로 미루어 보아 수란관에서도 자궁에서와 같은 양상으로 호르몬의 영향을 받으며 ALPase를 합성하여 착상전 배아의 분화발생을 위한 영양물질을 수란관내로 분비하게 되는 것으로 사료된다.

한편 estradiol의 영향이 가임신군에서는 나타나지 않았는데, 가임신군은 수란관을 통과할 배아가 없기 때문에 정상임신군과는 다른 결과를 나타낸다고 생각된다. 이와 같은 결과는 가임신군의 자궁에서도 관찰할 수 있었다. 즉 배아가 없기 때문에 trauma를 받은 자궁에서는 호르몬의 영향이 나타났고, trauma를 받지 않은 대조군에서는 호르몬의 영향이 나타나지 않았다(미 발표).

본 실험의 결과를 종합적으로 고찰해 보면 수란관 조직은 스테로이드 호르몬중에서 estradiol의 영향이 특히 착상 전후(3일, 9일) 시기에 현저하게 나타났다. 대조군에서는 ALPase의 활성도에 차이가 없으므로 자궁내막조직에서와 같이 상피층을 기질층과 분리하여 호르몬의 표적세포로 관찰하여야 겠으며, 수란관 조직에서 호르몬수용체의 수와 혈중호르몬의 양을 조사하여 ALPase활성과의 상호관계를 규명함으로써, 수란관 조직세포의 분화 기작을 연구하여야 될 것으로 사료되어 이에 관한 연구를 추진중에 있다.

결 론

흰쥐 초기배아 발생기간 중 수란관 분화에 관한 기작을 고찰하고자 정상임신군과 가임신군에서 임신 제 9일에 대조군과 난소제거후 17 β -estradiol(E) 또는 Progesterone(P) 처리군과 정상임신 초기배아 발생기간 중 착상전 생식수

관 분화가 가장 활발한 임신 제 3일과 착상시기인 임신 제 6일에서 ALPase 활성도를 조사한 결과는 다음과 같다.

정상임신 제 9일의 수란관에서는 17β -estradiol의 영향이 뚜렷하였으나 가임신궁에서는 17β -estradiol과 progesterone 동시처리군에서만 호르몬의 영향이 나타났다. 정상임신궁이나 가임신궁의 대조군에서는 다같이 수란관조직의 ALPase 활성도에 차이가 없었으나, 17β -estradiol처리군에서는 정상임신궁이 가임신궁보다 유의하게 높은 활성도를 나타내었다. 정상인신 제 3일과 9일의 수란관조직에서는 17β -estradiol의 영향이 나타났으며 가임신궁에서는 영향이 나타나지 않았다. 가임신궁에서 영향이 나타나지 않는 것은 수란관을 통과하는 배아의 어떤 역할이 없기 때문인 것으로 생각된다.

인 용 문 헌

- Anderson TL, Olson GE, Hoffman LH: Stage-specific alterations in the apical membrane glycoproteins of endometrial epithelial cells related to implantation in rabbit. *Biol Reprod* 1986, 34, 701-720.
- Bowers GN, McComb B: Measurement of total alkaline phosphatase activity in human serum. *Clinical Chemistry* 1975, 13, 1988-1995.
- Bradford MM: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein. *Anal Biochem* 1976, 72, 248-254.
- Chaminadas G, Propper AY, Royer M, Prost O, Remy-Martin JP, Adessi GL: Culture of epithelial and stromal cells of guinea-pig endometrium and the effect of oestradiol- 17β on the epithelial cells. *J Reprod Fert* 1986, 77, 547-558.
- Davis BD, Tai PC: The mechanism of protein secretion, acrosome membranes. *Nature* 1980, 283:433-438.
- Ernst SA: Transport adenosine triphosphatase cytochemistry. 1. Biochemical characterization of a cytochemical medium for the ultrastructural localization of a ouabain-sensitive, potassium-dependent phosphatase activity in the avian salt gland. *J Histochem Cytochem* 1972, 20, 13-22.
- Fernley HN: Mammalian alkaline phosphatase. In: the enzymes. Vol IV, pp. 417-449. Ed. P. D. Boyer. Academic press, 1971, New York.
- Henzl MR, Smith RE, Boost G, Tyler ET: Lysosomal concept of menstrual bleeding in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1972, 34, 860-875.
- Kim MK, Kim SR, Cho WK: Changes in phosphatase activity of the mouse uterus during the estrus cycle. *Korean J Zool* 1980, 23(2), 61-68.
- Kim SR, Cho WK: On the activity of phosphatase in the endometrium of the rat uterus during the early pregnancy. *Korean J Fertil Steril* 1981, 8, 1-11.
- Kim SR, Kim MK, Cho WK: The effects of ovarian steroid hormones on the phosphatase activity on the rat uterine endometrium at the early pregnancy. *Kor J Fertil Steril* 1982, 9, 55-68.
- Kim SR: Ultrastructural and cytochemical studies on the uterine endometrial cells of rat at preimplantation stage. *The Ewha Med J* 1983a, 6, 115-138.
- Kim SR, Kang SG, Ryu KZ, Cho WK: Estrogen and progesterone levels in peripheral plasma and the concentration of nuclear estradiol receptor in uterine endometrium at the early pregnant rats. *The Ewha Med J* 1983b, 6, 261-268.
- Kim SR, Ryu KZ, Cho WK: Studies on the cyclic AMP concentration and uterine tissue differentiation during the early pregnancy of rats. *Kor J Fertil Steril* 1984, 11(2), 41-49.
- Kim SR, Ryu KZ, Cho WK: The effect of estradiol and progesterone on the concentration of estradiol receptor in uterine tissue during the early pregnancy of rats. *The Ewha Med J* 1985, 8, 49-55.
- Kim SR: The effects of ovarian steroid hormones on the alkaline phosphatase activity in the luminal epithelial and stromal cells of early pregnancy rat uterus. *Korean Journal of Research Institute For Better* 1986.
- Kim SR: Studies on the effect of ovarian steroid

- hormones on the differentiation and metabolism in the rat uterine endometrium. *Kor J Fert Steril* 1987, 14, 149-158.
- Kim SR, Choi KJ: A study on the differentiation of the reproductive organs at early pregnant rats. *The Ewha Med J* 1990, 13: 127-138.
- Lejeune B, Lamy F, Lecocq R, Deschacht J, Leroy F: Pattern of protein synthesis in the endometrial tissues from ovariectomized rats treated with oestradiol and progesterone. *J Reprod Fert* 1985, 73, 223-228.
- Moulton BC, Ingle CB: Uterine lysosomal cathepsin D activity, rate of synthesis and immunohistochemical localization following initiation of decidualization in pseudopregnant rats. *Biol Reprod* 1981, 25, 393-398.
- Paratheasarathy G, Purandare T, Katrak B, Juneja HS, Munshi SR: Changes in uterine phosphatase levels in mice deprived of LH during early pregnancy. *J Reprod Fert* 1979, 56, 297-300.
- Sloane BF: Lysosomal apparatus in uterine
miscle: Effects of estrogen and of ovariectomy. *Biol Reprod* 1980, 23, 867-876.
- Smith MSR: Changes in distribution of alkaline phosphatase during early implantation and development of the mouse. *Aust J Biol Sci* 1973, (23), 209-217.
- Segerson EC, Diehl JR, Stuart LD: Uterine-specific proteins in luminal secretions of swine leukocyte antigen-inbred miniature awine with cystic endometrial hyperplasia. *Biol Reprod* 1988, 38, 1085-1091.
- Surani HAH: Hormonal regulation of protein in the uterine secretion of ovariectomized rats and the implication for implantation and embryonic diapause. *J Reprod Fert* 1975, 43:411-417.
- Surani MAH: Uterine luminal proteins at the time of implantation in the rats. *J Reprod Fert* 1976, 48:141-145.
- Tarachand U, Heald PJ: The purification of alkaline phosphatase from rat uterine deciduomata and raising of a specific antiserum. *Biol Reprod* 1979, 20, 617-627.
-