韓國家畜繁殖學會誌 18(3) : 167~174(1994)
Korean J. Animal Reprod.

脾臟摘出이 姙娠 rat의 血液成分 및 繁殖力에 미치는 影響

정원철 · 오석두 · 성환후* · 정진관* · 윤창현 · 이병오
경상대학교 농과대학

Effect of Splenectomy on the Blood Component and Reproductive Performance according to Gestation in Rats

Jung, W.C., S.D. Oh, H.H. Seong*, J.K. Jung*, C.H. Yun and B.O. Lee
College of Agriculture, Gyeongsang National University

SUMMARY

This experiment was undertaken to investigate the effect of splenectomy on the hematology and maintenance of pregnant rats. Those animals that had shown regular 4 or 5 day estrous cycles for more than two cycles were used. The day after mating was designated Day 0 of pregnancy. Spleen was removed from Day 0(early), 6(middle) and 13(late) of pregnant rat, respectively. Blood was collected on Day 1, 7, 14 and 21 of the pregnancy.

1. The total serum protein was increased significantly ($P<0.05$) to the progress of pregnancy in control rat. All rats that splenectomized groups were decreased significantly($P<0.05$) at Day 21 of pregnancy than control rats.
2. Albumin was not significantly changed.
3. Globulin was decreased significantly($P<0.05$) between control and middle treatment at Day 7, 14 of pregnancy.
4. Glucose was increased for the due to the pregress of pregnancy. It was no significance differences among the each groups.
5. Rate of abortion was increased in groups of early and middle of splenectomy compared with control.
6. Period of pregnancy was delayed in middle and late splenectomized groups companed with control.
7. Litter size was lowed significantly ($P<0.05$) in early and middle splenectomized groups compared with control.

Ⅰ. 서 론

혈액은 동물체내 각종 영양소와 대사물 및 신체반응 조절물질 그리고 항체 등을 필요로 하는 장소로 운반하며, 이는 체내에서 단독으로 기능을 하기보다는 생체 각 조직과 긴밀하게 서로 연관하여 각 조직에 주어진 특징을 조절하는데 관여한다. 특히 임신기 동물에 있어서 태아의 발달과 유지에 중요한 면역물질을 혈액성분이 합성과 운반하는 것으로 알려져 있다.

* 축산시험장 (Livestock Experiment Station)

임신 동물에 관해서 총단백량은 남 등(1970)이 rat에서 임신 경과에 따라서 증가하였다고 하였고, albumin과 globulin에 대하여서는 김 등(1970)이 가토에서, glucose는 Selye(1959)가 stress와 관련하여 보고하였다. 비장적출과 관련하여서는 Geroge 등(1959)이 소를 이용하여 albumin과 globulin의 변화를 보고하다.

최근 면역학적 기능을 담당하는 비장이 포유동물에 있어서 정상적인 혈액상의 구성성분을 형성하는 데 중요한 역할을 하며 특히 임신유지와 분만 등에 모체로부터 태아의 면역공급을 하는데 중요한 기능을 하는 것으로 알려져 있다. 발정전기의 난소에서 배란후 파열된 난포에 비장에서 macrophase가 유도되어 모세혈관을 통해 침입하여 황체 형성을 촉진하고,progesterone분비를 유도하는 기능을 한다고 알려져 있다(Matsuyama 등, 1990). 또한 $PGF_{2\alpha}$가 황체퇴행을 촉진한다는 보고가 있다.

이와 같이 비장은 황체의 형성과 유지 및 황체 퇴행에 관여하여 정상적인 임신과 발정주기를 반복하는데 중요한 역할을 담당할 가능성이 극히 높다. 그러나 임신 전기간중 비장이 임신유지에 어떤 작용을 하는지에 대한 보고는 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구는 임신초기, 중기 및 말기에 각각 비장을 적출하여 임신유지의 관찰과 임신 각 시기별로 혈액성분의 변화를 검토하고, 모체의 번식력에 미치는 영향을 조사하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 공시동물

체중 200~220g(12~15주령) 정상적인 성주기가 2회 이상 반복되는 Wistar계 성숙 암컷을 선발하여 시험에 공시하였다. 사양관리는 일반적인 관행(조명 : 14시간, 물과 사료 : 자유공급, 온도 :20~24℃)을 따랐다.

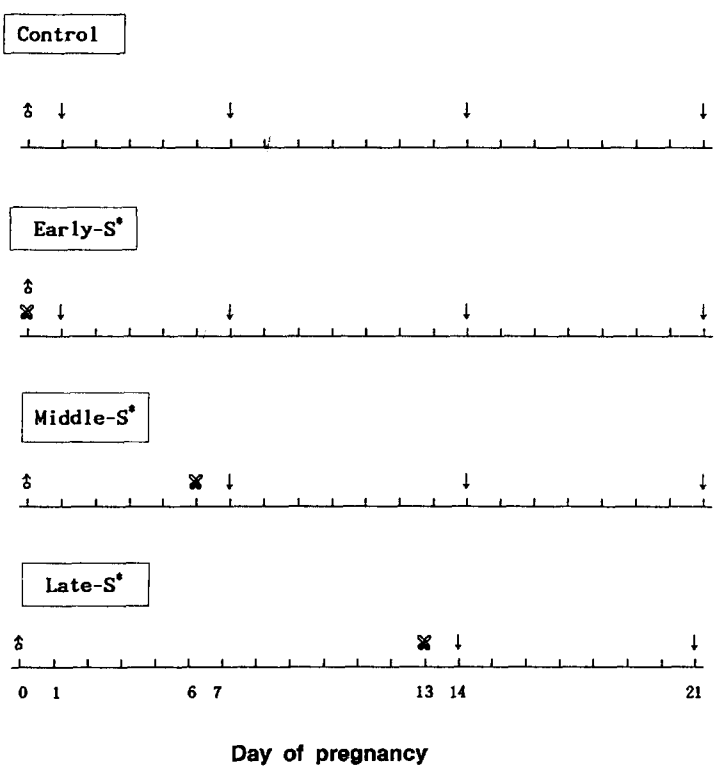

Fig. 1. Experimental design. S* : splenectomy, ⇕ : mating, ✂ : splenectomy, ↓ : blood collection

2. 시험설계

발정전기일 17:00에 동종의 수컷과 1:1로 합사시켜 다음날 오전에 질도말을 통하여 질전이나 정자가 확인된 것을 임신 제 0일로 하였다. 정상 임신구를 대조구로 하여, 비장적출을 한 처리구는 초기(임신 0일), 중기(임신 6일) 및 말기(임신 13일)의 3개군으로 구분하였고, 수술로 인한 스트레스를 최소화하기 위하여 ether흡입 마취를 한 후 비장을 적출하였다. 임신경과에 따라 임신 1, 7, 14 및 21일에 각각 약 1ml의 혈액을 심장채취하여 혈청를 분리한 후 총단백량과 albumin, globulin, glucose 측정에 사용하였으며, 임신에서 분만에 이르는 번식상태도 관찰하였다. 각 처리구 및 처리일에 반복수는 7~9마리로 하였다.

3. 시험 방법

혈액성분의 혈청총단백량(total protein)은 Bin-Ko사제(Japan)의 protein refractometer(Range 0~12%)에 의하여 측정하였고, albumin치와 glucose함량은 研榮化學(Japan: 1993)의 kit에 의해서 측정하였으며, globulin은 총단백량에서 albumin치를 제외한 수치로 하였다. 유산율은 수정이 확인된 총 수에 유산된 모체수를 나누어 백분율을 구하였고, 임신기간은 rat의 질구에서 정자가 확인된 날을 임신 제 0일(7:00~9:30)로 하여 분만일 까지로 하였으며, 産存數는 모체 1마리당 분만된 仔 rat의 수를 평균하여 계산하였다.

4. 통계처리

통계처리는 SAS package program을 이용하여 각 반복간의 평균과 표준오차를 산출하였고, 각 반복간의 차이는 Student's t-test에 의하여 유의성을 검정하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 임신 기간중 비장적출이 혈청 총단백량에 미치는 영향

혈청총단백량은 Table 1에서 나타내고 있는 바와 같이 임신이 지속됨에 따라 정상 임신구에서는 1일째 6.90±0.30 g/100ml에서 21일째 7.80±0.11 g/100 ml로 시간경과에 따라 증가하는 유의차($P<0.05$)가 나타났다. 이는 辛(1968)이 혈청단백질과 갑상선이 밀접한 관계가 있으며, 태아 형성과 수유(授乳)에 많은 양의 단백질이 필요하기 때문에 일어나는 생체반응의 결과라 하였고, 김 등(1970)은 가토에서 임신은 갑상선의 기능변화를 일으켜 임신이 단백질의 양을 변화시키는 중요한 요인으로 작용하였다는 보고와 유사한 견해이다. 그리고 남 등(1970)이 rat에서, Moor 등(1978)이 말에서 임신경과에 따라 혈청총단백량에서 증가하였다는 보고와 일치하였다. 그러나 임신 가토에서 혈청단백량이 임신기에 계속 저하되었으며 임신 4

Table 1. Changes in serum protein content (g/100ml) after splenectomy in pregnant rats

Group	Day of pregnancy			
	1	7	14	21
Control	6.90±0.30[b]	7.30±0.13[ab]	7.38±0.07[ab]	7.80±0.11[a] A
Early S*	6.84±0.13	6.69±0.23	6.83±0.24	6.61±0.36 B
Middle S*	–	6.68±0.18	6.85±0.24	7.14±0.17 B
Late S*	–	–	7.30±0.31	7.37±0.51 AB

Value are means ± SE

a, b : Means in the same row with different superscripts differ($P<0.05$)

A, B : Means in the same column with subscripts differ($P<0.05$)

S* : Splenectomy

주에는 유의성있는 감소를 나타내다가 분만 1주후에 정상으로 회복되었다는 趙(1972)의 보고와는 상이하다. 대조구와 처리구 사이에는 임신 21일째 대조구에 비하여 모든 처리구에서 낮은 유의차($P<0.05$)를 보였다. Geroge 등(1959)은 소에서 비장적출후 혈청 protein이 감소하였다가 1개월 후에는 점차 회복하였는데, 이는 비장조직이 혈청 protein 생산에 관여하는 것 뿐만 아니라 비장외의 임파조직에서도 혈청 protein증가에 기여한다고 한 보고와 같은 견해이다.

2. 임신 기간중 비장적출이 혈청중 Albumin함량에 미치는 영향

Table 2에서 나타내고 있는 바와 같이 임신 rat에 있어서 혈청 albumin함량은 임신경과에 따라 다소 감소 하다가 말기 이후에 증가하는 경향이었으나 유의차는 없었다. 이러한 결과는 김 등(1970)이 임신기간 중에 근소하게 감소하다가 분만 전후에 증가하였다는 보고와 유사하였다. George 등(1959)이 소에서 비장적출후 시간경과에 따라 albumin량이 감소하였다는 보고와 유사하다.

3. 임신 기간중 비장적출이 혈청중 Globulin 함량에 미치는 영향

Globulin은 Table 3에서 나타내고 있는 바와 같이

Table 2. Changes in serum albumin content (g/100ml) after splenectomy in pregnant rats

Group	Day of pregnancy			
	1	7	14	21
Control	3.55±0.31	3.34±0.28	3.11±3.67	3.67±0.45
Early S*	3.84±0.13	3.21±0.23	3.22±0.13	3.49±0.40
Middle S*	–	3.49±0.19	3.65±0.26	3.27±0.74
Late S*	–	–	3.65±0.28	3.47±0.10

Value are means ± SE
a, b : Means in the same row with different superscripts differ($P<0.05$)
A, B : Means in the same column with subscripts differ($P<0.05$)
S* : Splenectomy

Table 3. Changes in serum globulin content (g/100ml) after splenectomy in pregnant rats

Group	Day of pregnancy			
	1	7	14	21
Control	3.20±0.46	4.24±0.20 A	4.27±0.07 A	3.86±0.45
Early S*	2.93±0.24	3.47±0.30 AB	3.61±0.23 AB	3.69±0.40
Middle S*	–	3.21±0.25 B	3.26±0.29 B	3.74±0.21
Late S*	–	–	3.90±0.16 AB	3.34±0.33

Value are means ± SE
A, B : Means in the same column with subscripts differ($P<0.05$)
S* : Splenectomy

Table 4. Changes in blood glucose content (g/100ml) after splenectomy in pregnant rats

Group	Day of pregnancy			
	1	7	14	21
Control	118.71±5.66	122.15±5.40	126.47±5.84	138.31±4.20
Early S*	116.81±9.92	125.38±7.50	130.42±7.14	136.95±10.2
Middle S*	–	119.82±7.78	123.28±12.3	135.94±8.97
Late S*	–	–	112.73±7.52	129.06±6.61

Value are means ± SE
S* : Splenectomy

임신경과에 따라 전 시험구 모두가 다소 증가한 경향은 있었으나 유의차는 없었다. 대조구와 처리구간에는 임신 7 및 14일째 대조구에 비하여 처리구에서 비장적출후 감소하는 유의차($P<0.05$)가 있었다. 이는 George등(1959)이 젖소에서 globulin이 정상구에 비하여 비장적출구가 낮은 수치를 보였으며, 특히 비장적출직후 감소하였던 globulin이 시간경고에 따라 점차 증가하였다는 보고와 유사하다.

4. 임신 기간중 비장적출이 혈당량(Glucose)에 미치는 영향

혈당치는 Table 4에서 나타내고 있는 바와 같이 임신경과에 따라 1일째 118.71±5.66에서 21일째 138.31으로 유의차는 없었으나 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 淵向 등(1962)이 말의 임신에서 부터 분만시까지 혈당치가 증가하였는데 혈당량의 증가는 stress양과 관련이 있으며, 김 등(1970)은 가토 임신 4주째 증가의 높은 유의차를 나타내었다고 하였고, 林(1974)은 개에 있어서 분만시 증가하였다고 보고하였다. 이와 관련하여 Selye(1958)은 생체내 stress가 유발되면 비특이적 작용에 저항하려는 energy를 대사하게 되므로 혈당량이 증가된다고 하였고, Webster(1974)는 stress를 받게 되면 catecholamine의 증가로 glycogen이 분해되고 糖이 새롭게 생성되어 혈중 glucose농도가 증가된다고 한 것과 관련이 있는 것으로 추측된다.

5. 임신 기간중 비장적출이 유산율에 미치는 영향

임신중 비장적출이 유산에 미치는 영향에 대하여 Fig.1과 같이 유산율은 대조구에서 5%이었으나, 초기 처리구에서는 71.4%, 중기 처리구에서는 84.9%로 상당히 높게 나타났으며, 말기 처리구에서는 14.3%로

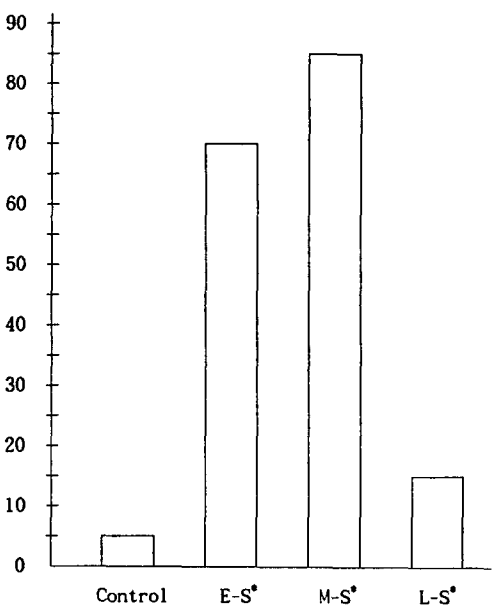

Fig. 2. Changes in rate of abortion(%) after splenectomy in pregnant rats.
S* : Splenectomy

나타났다.

송 등(1991)은 rat에서 정상적인 분만비율이 84.9±74%였고, 4산째에는 53.1%로 낮게 나타났다고 보고하였고, Heap 등(1976)은 임신한 후 일정기간을 지나기 전에 황체를 제거하면 태아가 유산되거나 흡수되어 버린다고 보고하였다. 趙와 李(1979)은 $PGF_{2\alpha}$를 투여한 생쥐가 임신일령 10일 부터 분만말기에 이르기까지 유산을 일으켰으며 이는 임신기간중의 각종 호르몬의 상호관계와 태반의 형성정도에 따라서 차이가 있다고 보고하였다. 또한 태아가 착상하여 분화를 시작하는 시기가 임신 9일째이라고 한 김(1991)의 보고를 미루어 임신 13일째 비장이 임신유지, 특히 태아의 급속한 성장이 이루어지는 임신중기에서 모체가 태아에 필요한 면역물질을 공급하는데 비장이 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

6. 임신 기간중 비장적출이 임신기간 및 산자수에 미치는 영향

임신중 비장적출이 임신기간에 미치는 영향에 대해서는 Table 5에서와 같이 대조구에서는 21.6±0.14일로 초기 처리구의 21.9±0.15와는 비슷하였고, 대조구와 처리구간에 유의성은 나타나지 않았으나, 중기 처리구의 22.5±0와 말기 처리구의 24.2±1.79로서 특히 임신말기의 비장적출구에서 임신기간이 길게 나타났다. 이러한 결과로 미루어 비장이 분만을 유도하는 기전에 관여하고 있음을 시사하고 있다. 또한 Koichiro 등(1988)이 위임신 말기의 rat에서 비장적출로 인해 progestrone이 감소되었다는 보고를 미루어 볼 때 비장이 황체를 일정기간 유지하는 기능을 하는 것으로도 추측된다. 송 등(1991)이 rat의 임신 기간이 25.1±0.43일 이었다는 보고와는 다소 차이가 있었다. 이것은 종간에 대한 임신기간의 차이로 인식된다. Chung(1961)이 임신 기간에 영향을 주는 요인은 같은 계통이라도 모체의 일령, 산차, 태자의 크기, 산자수, 모체의 생리적조건에 따라서 달리 나타난다고 보고하였는데, 정상구의 임신기간이 다른 여러 연구자에 따라 다소 차이가 나타나는 것은 비장적출이라는 신체적 stress와 함께 사육환경 및 交配방식에 의한 産次와 世代를 되풀이 하면서 일어나는 요인이라고 추측되며, 이런 요인에 의한 임신기간의 차이를 비교하기란 번식성적에 대한 보고가 빈곤한 상태에서 다소 어려운 점이 많다.

한편 임신중 비장적출이 산자수에 미치는 영향은 정상임신구인 대조구에서 산자수가 13.0±0.69마리로 나타났으나, 비장적출을 한 초기처리구와 중기처리구에는 각각 10.5±0.59마리와 11±0마리로 유의적인 ($P<0.05$) 감소 현상이 있었고, 말기 처리구에서는 12.7±0.88마리로 대조구에 비하여 차이는 없었다. 정상임신구는 송 등(1991)이 rat의 평균산자수가 12.7±0.51마리였다는 보고와 유사하다. 중기처리구에서

Table 5. Effect of splenectomy on reproductive performance in pregnant rats

Group	No. of recipient	Pregnation (days)	Head. of litter size
Control	7	21.6±0.14	13.0±0.69 A
Early S*	7	21.9±0.15	10.5±0.59 B
Middle S*	9	22.5±0	11.0±0 B
Late S*	7	24.2±1.79	12.7±0.88 AB

Value are means ± SE
A, B : Means in the same column with subscripts differ($P<0.05$)
S* : Splenectomy

낮게 나타난 것은 Finn와 Martin(1969)는 배아가 자궁내막층에 착상을 하기 위해서는 배아와 내막층간에 상호 작용이 필요하며, Surani(1977) 배아가 자궁내막층에 착상을 하기 위해서는 배아와 내막층간에 상호 작용이 필요하며, Surani(1977)의 이런 인식의 매개는 특수한 단백질 성분이 작용을 한다고 하고, Koichiro 등(1988)은 비장에서 분비하는 macrophage가 난소 세포 성분 사이에 접착성 물질로 작용한다는 보고들이 있다. 이상으로 미루어 볼 때 대조구에 비하여 비장을 적출한구에서 산자수가 상대적으로 적게 나타나는 것은 비장에서 분비하는 면역성단백체인 macrophage가 부족하기 때문이라고 추측된다.

Ⅳ. 적 요

본 연구는 정상적인 성주기가 2회 이상 반복되는 약 12~15주령의 Wistar係 rat를 이용하여 면역학적 기능뿐만 아니라, 혈액의 저장 및 생산에도 관연하는 비장을 적출함으로써 임신한 동물에 비장이 미치는 영향을 검토할 목적으로 비장 非적출구를 대조구로 하고, 처리구는 임신초기(수정당일), 임신중기(임신 6일째) 및 임신말기(임신 13일째)에 각각 비장적출을 하였다. 혈액은 임신 1, 7, 14 및 21일째 채취하여 혈액화학치와 번식력(임신기간, 산자수, 유산율)에 대하여 조사하였다.

1. 혈청총단백량은 임신경과에 따라 대조구에서 증가의 유의성($P<0.05$)이 있었고, 대조구와 처리구간에는 임신 21일째 비장적출후 감소한 유의성($P<0.05$)이 있었다.
2. Albumin은 유의차가 나타나지 않았다.
3. Globulin은 7 및 14일째 대조구와 처리구 사이에 유의성($P<0.05$)이 나타났다.
4. 혈당량은 임신이 경과함에 따라 증가하는 경향이었고, 대조구와 처리구간에 있어서는 별다른 차이가 없었다.
5. 유산율은 대조구에 비하여 비장적출의 처리구에서 높게 나타났다.
6. 임신기간은 대조구에 비해 중기 및 말기 비장적출구에서 분만 지연현상이 일어났다.
7. 산자수는 대조구에 비하여 초기 및 중기처리구에서 낮은 유의성($P<0.05$)을 나타냈다.

Ⅴ. 인용문헌

1. Chung, S.T. 1961. The physiological data in laboratory animals. Aeromedical Laboratory, ROKAF. 179~225.
2. Finn, C.V. and L. Martin. 1969. Hormone secretion during early pregnancy in the mouse. J. Endocrinal. 4:57~65.
3. George, T.D., E.F. Lon and G.T. Schrader. 1959. Electrophoretic Studies of Bovine Serum. 1. Changes in the Serum Proteins After Splenectomy. Am. J. Vet. Res. March; 270~272.
4. Heap, R.B., R.J. Holdswerth, J. E. Gadsby, J.A. Laing and D.E. Walters. 1976. Pregnancy diagnosis in the cow from milk progesterone. Br. Vet. J. 132:445~449.
5. Koichiro, A., T. Kodama, S. Akimoto and J. Shimazaki. 1988. Characteristics of progestin binder in hypertrophic human prostate. Endocrinal, Japan. 35:899~906.
6. Matsuyama, S., M. Otha and M. Takahashi. 1987. The Critical preiod in which splenectomy causes Functional Disorder of the ovary in adult Rats. Endocrinol, Japan, 34 (6), 849~855.
7. Mitruka, B.M. and R.M. Howard. 1981. Clinical biochemical and hematologcao reference values in normal experimental animals and normal humans (2nd edition). PP:9~58. Masson publishing USA.
8. Moor, A.D., C. V. D. Hende and Y. Moens. 1978. Influence of promazine of on the venous hematocrit and plasma protein concetrartion in the horse. Zbl. Vet. Med. A. 25:189~197.
9. Selye, H. 1938. Recent progress in stress research. J. of Dental Medicine. 14:194~200.
10. Surani, M.A.H. 1977. Qualitative and quantitative examination of protein of rat uterine

luminal fluid during pro-oestrus and prognancy and comparison with those of serum. J. Reprod. Fert. 50:281~287.
11. Webster, A.J.F. 1974. In environmental physiology I. (Robertshaw, D. ed.) University Park Press. Baltimore.
12. 淵向正四郎, 尺ロヨシノ, 久木田陸夫, 安田純夫, 村土大藏. 1962. 姙娠竝びに 分娩が馬の 外貌. 臨床諸元 竝び 血液性狀に 及ぼす 影響. 日本獸醫學會誌. 24:503.
13. 林正利. 1974. ビーグル犬刀 性週期中 姙娠中および 分娩後の 血液. 血清成分値の 變動に そつ. 日本家畜繁殖誌. 20:89~94.
14. 김선균, 이규승, 정영채, 김영묵. 1970. 가토의 임신기간에 따른 혈청성분의 변화에 관한 연구. 한국축산학회지. 12:91~99.
15. 김성례. 1991. 가임신 흰쥐 자궁조직의 착상분위 분화에 관한 연구. 한국동물학회지. 32:479~490.
16. 남치주, 김영섭, 김상균, 이강욱, 이홍식. 1970. 임신 rat의 혈액상에 대하여. 한국축산학회지. 12:172~175.
17. 송창우, 김형진, 한상섭. 1991. SPF SD 랫드의 계획생산과 번식성적에 관하여. 한국실험동물학회지. 751:15~21.
18. 辛孝善. 1968. 雄性家兎에서 甲狀腺機能이 血清成分에 미치는 影響. 原子力研究論文集. 8:81.
19. 趙聲煥, 李且秀. 1979. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ 투에 의한 생쥐태반의 조직학적 변화. 대한수의 동물학회지. 19:91~97.
20. 趙忠鎬. 1972. 娠家兎의 血液像과 血清成分에 관한 研究. 大韓獸醫學會誌. 12:7~14.