

## 자궁내막증 환자의 복강액내 IGF가 자궁내막 기질세포 증식에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 산부인과학교실

김정구 · 서창석 · 김석현 · 최영민 · 문신용 · 이진용

### Effects of Insulin-like Growth Factor in Peritoneal Fluid of Patients with Endometriosis on the Proliferation of Endometrial Stromal Cells

Jung Gu Kim, Chang Seok Suh, Seok Hyun Kim, Young Min Choi,  
Shin Yong Moon and Jin Yong Lee

Department of Obstetrics & Gynecology, College of Medicine,  
Seoul National University, Seoul 110-744, Korea

The purposes of this study were to evaluate the effects of insulin-like growth factor (IGF)s in peritoneal fluid (PF) from patients with and without endometriosis on the proliferation of endometrial stromal cells and to investigate the effects of type I IGF receptor antibody on the response of endometrial stromal cells to PF from patients with endometriosis. IGFs in PF from patients with endometriosis (n=14) and without endometriosis (n=10) were measured by immunoradiometric assay and PF samples were divided into low IGF-I PF group (less than 85 ng/ml) and high IGF-I PF group (more than 85 ng/ml). Endometrial stromal cells from patients without endometriosis were cultured in serum free media in the presence or absence of 1% PF and thymidine incorporation test were used to evaluate the proliferation of endometrial stromal cells. Also cultures were incubated with type I IGF receptor monoclonal antibody ( $\alpha$ IR<sub>3</sub>) before adding PF. PF from patients with endometriosis and without endometriosis increased thymidine incorporation in endometrial stromal cells. In patients with endometriosis, high IGF-I PF group had high IGF-II levels and resulted in higher thymidine incorporation than low IGF-I PF group but no significant difference in increase in thymidine incorporation between high IGF-I and low IGF-I PF group was noted in patients without endometriosis. There was not a significant correlation between increase in thymidine incorporation and IGF-I levels in PF from patients without endometriosis but in PF from patients with endometriosis. Preincubation with  $\alpha$ IR<sub>3</sub> significantly inhibited the mitogenic response of endometrial stromal cells to PF. Our data indicate that IGF-I in PF may be involved in the growth of ectopic endometrium in patients with endometriosis.

**Key Words:** Endometriosis, IGF, Peritoneal fluid, Endometrial stromal cells

자궁내막증이란 정상적으로 여성생식기의 자궁내강 안쪽층에 있는 자궁내막조직이 자궁내강 바깥에 존재함으로써 골반통 등 여러가지 다양한

증상을 유도하는 질환으로서 일반적으로 생식 연령층 여성의 10~15%로 발생한다. 주요 발생 부위인 골반내 장기, 복막에 자궁내막 착상물의 존

\*\* 이 논문은 1997년도 서울대학교병원 일반연구비 (과제번호: 04-97-021) 지원에 의해 이루어진 것임.

재는 월경시 월경혈액의 역류에 의한 착상설 등 (Ramey & Archer, 1993)에 의하여 설명될 수 있을 지라도 그 성장에 관여하는 인자는 확실하지 않다. 폴반내 다른 기관처럼 자궁내막 착상물은 복강내 복강액에 꾸준히 계속적으로 접촉하는데 자궁내막증 환자의 복강액이 자궁내막증이 없는 환자의 것보다 인간의 정상 자궁내막 기질세포의 증식을 더 많이 초래한다고 보고되어 (Surrey & Halme, 1990) 복강액내 어떤 성분이 자궁내막증식의 성장 및 유지에 중요한 역할을 할 가능성이 시사되고 있다. 오래 전부터 자궁내막 착상물의 중요한 성장인자로 알려져 있던 성스테로이드 호르몬의 농도 차이가 자궁내막증 환자와 대조환자의 복강액내에서 관찰되지 않았다 (Deleon et al., 1986; Ylikorkala et al., 1986; Mahmood & Templeton, 1991). 최근 성스테로이드 호르몬에 의존적인 조직을 포함한 많은 조직에서 국소적 성장인자들이 세포의 증식 및 분화에 관여하는 것이 밝혀지고 있으나 epidermal growth factor (EGF), fibroblastic growth factor (FGF)의 경우 자궁내막증 환자와 자궁내막증이 없는 환자의 복강액에서 그들의 농도와 차이가 없었다고 보고되었다 (Huang et al., 1996).

한편 인슐린유사 성장인자 (insulin-like growth factor; 이하 IGF로 약함)는 IGF-I과 IGF-II의 2종류가 있으며, 이들은 세포수용체를 통하여 작용한다 (Jones & Clemmons, 1995). IGF는 조직에 따라 에스트로젠과 transforming growth factor (TGF), EGF, FGF 등 여러 성장인자들의 중개자 역할이 밝혀지고 있다 (김 등, 1996). 또한 IGF는 체외에서 자궁내막 기질세포의 분화 및 증식에 관여하며 (Halme & Hammond, 1995) 인간의 자궁내막조직 (Giudice et al., 1993; Zhou et al., 1994), 폐포 (alveolar) 거핵세포 (Rom et al., 1988), 생쥐의 복강내 거핵세포 (Arkins et al., 1993)에서 IGF가 생성될 수 있다고 하는데 자궁내막증 환자에서 이러한 거핵세포의 활성이 보고되고 있다. 더우기 최근 Giudice 등 (1994)은 7명의 불임여성의 복강액내에서 IGF가 존재함을 시사하였는데 최근 본 연구자 등 (1999)은 자궁내막증 환자의 복강액내 IGF-I 농도가 대조환자보다 높은 것을 관찰한 바 있다. 그러나 이제까지 복강액내 IGF들 농도에 따른 무혈청 배양액에서 배양된 자궁내막 기질세포의 특이적 증식에 대한 작용을 분석한 보고는 없었다.

따라서 본 연구자 등은 자궁내막증 환자와 자궁내막증이 없는 환자의 복강액내 IGF의 농도에 따라 자궁내막 기질세포 증식에 미치는 영향을 비교 분석하고 자궁내막증 환자의 복강액을 단독으로 첨가된 배양액과 I형 IGF 수용체에 대한 단일 클론성항체  $\alpha$ IR<sub>3</sub>와 복강액을 순차적으로 첨가된 배양액에서 배양된 자궁내막 기질세포 증식을 비교 분석함으로써 복강액내 IGF가 자궁내막증 환자에서 이소성 자궁내막조직의 성장에 관여하는가를 알아보려고 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

골반통, 난소종양, 불임 등 기타 원인으로 월경주기의 후기증식기에 복강경을 시행하여 자궁내막증으로 진단된 자궁내막증 환자 14명과 자궁내막증이 없는 대조환자 10명으로부터 채취된 24예의 복강액을 대상으로 하였다. 이러한 환자들은 규칙적인 월경주기를 가지고 있으면서 적어도 3개월간 복강경 시술 전에 어떤 약제도 사용한 적이 없었고 자궁내막증 환자의 경우 미국불임학회 분류로 볼 때 제 1~2 임상 병기에 있었다. 또한 자궁내막 기질세포 채취를 위하여 자궁의 양성질환 (자궁내막병변이 있는 환자는 제외)으로 월경주기 중 후기증식기에 자궁적출술을 받을 35세 이전의 환자 10명이 포함되었다. 월경주기는 최종 월경력에 따라 판단하였다. 이런 대상자들에 대한 연구가 본 병원 임상실험 윤리위원회에 의하여 승인되었다.

### 2. 복강액 채취

복강액은 복강내 복강경을 삽입 후 세척 등 어떤 처치를 시행하기 전에 무균적으로 채취하였고 혈액이 오염된 경우는 사용하지 않았다. 채취 직후 1000 x g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 -70°C에 보관하였다가 실험에 사용하였다.

### 3. 복강액중 IGFBP들로부터 IGF를 분리

복강액내 IGFBP-IGF 복합체로부터 IGF들을 분리하기 위하여 Mohan과 Baylink (1995)이 개발한 Bio-gel P 10을 이용한 IGF의 분리법을 변형하여 사용하였다. 즉 10 g/L 우혈청 알부민 (bovine serum albumin; 이하 BSA로 약함), 0.1 M/L NaCl을 함유하는 acetic acid (1 M/L) 150 ml에서 Bio-gel

P-10 10 g을 실온에서 16~18시간 적시고 약간씩 휘저음으로써 10~15분 동안 가스를 제거하였다. 90~95%의 입자들이 가라앉을 때까지 방치하고 입자들을 포함하고 있는 상층액 30 ml를 제거 후 3 ml씩 Biospin 원주 (column)에 부은 후 원주의 양끝을 막고 사용시까지 실온에 방치하였다. 사용 직전에 1250 x g, 3~5분간 원심분리하고 0.05 ml 복강액과 0.2 ml 1.25 M/L acetic acid, 0.125 M/L NaCl과 혼합하여 10분간 반응시켜서 얻은 검체 0.05 ml를 원주의 중심 부위에 넣은 후 3~5분간 원심분리하였다. Biospin 유출원충용액 즉 0.1 M/L NaCl을 포함하는 1 M/L acetic acid 0.05 ml를 추가 후 재원심분리하였다. 원주를 1.5 ml 완충용액으로 붓고 5분간 원심분리하여 유출액을 모은 후 speed-vac을 사용하여 건조시켰다. 이들을 20 mM/L acetic acid 0.2 ml에 넣고 1분간 음파처리 (sonication) 하고 1.2 M/L Tris base 용액으로 중화시킨 후 면역방사선 측정에서 사용하였다.

#### 4. IGF-I, IGF-II의 면역방사선 측정 (immunoradiometric assay)

상기 처리된 복강액에서 미국 Diagnostic System Lab사 (Texas, USA)에서 구입한 면역방사선 측정 키트를 사용하여 IGF-I 농도를 측정하였다. 즉, 항 IGF-I 항체가 미리 부착된 튜브에 복강액, 항  $I^{125}$ -IGF-I 항체를 순차적으로 넣고 1~2초 부드럽게 혼합시킨 후 실온에 있는 진탕기 (shaker)에서 3시간 180 rpm으로 진탕시켰다. 그후 내용물을 버린 후 증류수로 3회 튜브를 세척한 후 감마 방사능 계측기로 측정하고 표준 곡선에서 농도를 구하였다. 측정 민감도는 0.8 ng/ml 이었고 intrassay variation 은 3.4% 이었다.

혈청 IGF-II 농도 또한 동일한 회사에서 구입한 면역방사선 측정키트를 사용하여 측정하였다. 즉 항 IGF-II 항체가 미리 부착된 튜브에 복강액을 넣고 IGF-I 측정에서처럼 실온에 있는 진탕기 (shaker)에서 3시간 180 rpm으로 진탕시켰다. 그후 내용물을 버리고 증류수로 3회 튜브를 세척한 후, 항  $I^{125}$ -IGF-II 항체를 넣고 실온에서 진탕기 (180 rpm)를 사용하여 1시간 반응시켰다. 다시 내용물을 버린 다음 증류수를 사용하여 3회 세척 후 감마 방사능 계측기로 측정하고 표준 곡선에서 농도를 구하였다. 측정 민감도는 12 ng/ml 이었고 intrassay variation은 4.3% 이었다.

#### 5. 자궁내막 기질세포의 분리 및 배양

자궁적출 직후 무균적인 상태에서 자궁 앞면에서 자궁내막강을 노출시킨 뒤 수술칼로 두께 0.5 cm, 면적 2 x 2 cm으로 자궁내막을 절제하여 항생제를 포함한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Ham's F-12 (이하 DMEM/F-12로 약함) 배양액에 넣어 실험실로 운반하였다. 자궁내막조직을 2회 배양액으로 세척하여 혈액을 제거하고 배양접시 내에서 미세수술 가위를 이용하여 크기가 1 mm 이하로 되도록 잘게 잘랐다. 자궁내막조직을 잘게 자른 부유액을 시험관에 옮겨 2000 rpm에서 5분 동안 원심분리하여 상층액을 버리고 하층의 앙금 (pellet)을 0.2% collagenase와 함께 부유시킨 뒤 37°C 진탕기에서 60분간 반응시켰다. 원심분리 후 침전물을 항생제를 포함한 DMEM/F-12/10% 우태아 혈청 (fetal bovine serum; 이하 FBS로 약함)로 2회 세척한 후 동일한 배양액에 재부유하여 38  $\mu$ m 망 (mesh)에 통과시켰다. 여과물을 400 x g, 10분 원심분리하고 앙금을 배양액에 재부유시켜서 배양접시에 넣어 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에 30분간 방치하여 적혈구 및 부화되지 않은 상피세포들을 흡인하였다. 자궁내막 기질세포 우세 (dominance)는 위상차 현미경에 의한 형태로 판단하였고 95% 이상인 경우 실험에 사용하였다. 부착된 기질세포를 모은 다음 2회 세척 후 trypan blue 세포생존 검사 (cell viability test)를 시행하여 90% 이상 생존 세포가 관찰되는 경우에 항생제를 포함한 DMEM/F-12/10% FBS에 5 x 10<sup>4</sup>/ml로 희석하여 T-25 플라스크에 넣어 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 배양액을 3~4일마다 교환하였고 2주간 배양 후 -196°C에 냉동 보관하였다.

#### 6. 자궁내막 기질세포 증식 검사

냉동 보관하였던 기질세포를 해빙 후 1~2주간 DMEM/F-12/10% FBS에서 배양하고 세포수를 측정한 후 DMEM/MCDB(3:1)/1% FBS 배양액에 넣어 96구멍 배양판에서 24시간 배양하였다. 그 후 50  $\mu$ g/ml ascorbic acid, 1 mg/ml BSA, 5  $\mu$ g/ml transferrin, herpes buffer, 1  $\mu$ M/L progesterone을 함유한 DMEM/MCDB(3:1) 배양액 (무혈청 배양액)으로 세척하고 자궁내막증 환자와 대조환자의 복강액 (1%)이 첨가된 무혈청 배양액에서 3일간 배양하였다. 복강액이 첨가되지 않은 무혈청 배양액에서 배양된 경우가 실험대조군으로 사용되었다.

1  $\mu\text{Ci}$ 의  $^3\text{H}$ -thymidine을 부가한 후 24시간에 0.2% EDTA 50  $\mu\text{l}$ 을 각 구멍에 넣고 자동 세포수집기 (automatic cell harvester)로 세포를 채취 후 각 구멍에서의 방사능을  $\beta$ 계측기로 방사능을 측정하였다. 또한 자궁내막 기질세포 증식에 대한 복강액 내 IGF의 작용이 특이적인지를 평가하기 위하여 어떤 실험에서는 자궁내막증 환자의 복강액을 첨가하기 1시간 전 1형 IGF 수용체에 대한 단일 클론성 항체인  $\alpha\text{IR}_3$  (1~15  $\mu\text{g/ml}$ )와 반응시킨 기질세포를 동일 배양액에서 배양한 후 상술한 thymidine incorporation 검사를 시행하였다.

### 7. 통계 분석

모든 자료는 평균치 $\pm$ 표준오차로 표시하였다. 복강액에 의한 자궁내막 기질세포 증식실험에서는 각 복강액마다 배양판의 4구멍을 사용하여 적어도 4회 실험하였고 그 결과를 무혈청 배양액에서의 것에 대한 백분율로 환산하였다. 통계적 검정에는 student's t-test와 paired t-test, 단순회귀분석법을 이용하여 분석하였으며 p값이 0.05 미만인 경우에 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 자궁내막증 환자와 대조환자의 복강액내 IGF 농도에 따른 자궁내막 기질세포의 증식

복강액을 자궁내막 기질세포의 무혈청 배양액

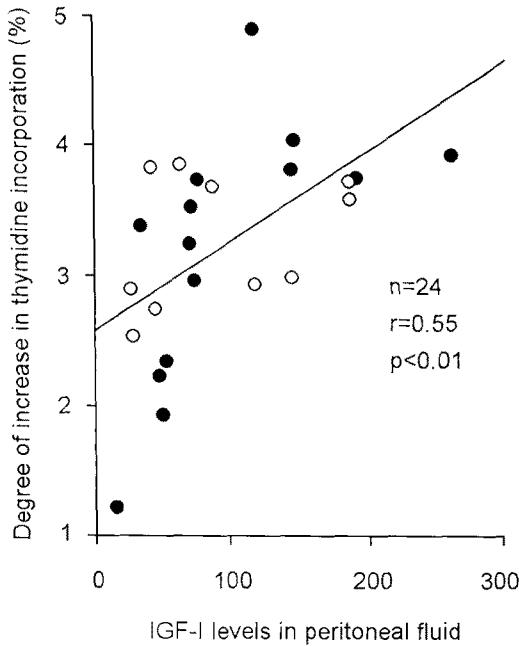
에 첨가한 경우 무혈청 배양액에서만 배양된 경우에 비하여  $324.99 \pm 16.50\%$  thymidine incorporation이 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.0001$ ). 자궁내막증 환자와 대조환자의 복강액을 따로 분석시에도 각각 무혈청 배양액에서만 배양된 경우의  $322.06 \pm 26.39\%$ ,  $329.05 \pm 16.09\%$  thymidine incorporation이 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.0001$ ). 복강액내 IGF-I 농도가 85 ng/ml 이하인 경우를 저 IGF-I군, 그 이상인 경우를 고 IGF-I군으로 분류한 경우 자궁내막증 환자의 복강액중 고 IGF-I군에서 저 IGF-I군에 비하여 IGF-II 농도가 높으면서 ( $p < 0.0001$ ) thymidine incorporation 증가율이 유의하게 높았다 ( $p < 0.005$ ). 대조환자의 경우 저 IGF-I군과 고 IGF-I군 사이에 IGF-II 농도와 thymidine incorporation 증가율의 차이는 없었다 (Table 1).

자궁내막증 환자의 복강액과 대조환자의 복강액을 모두 합하여 단순회귀분석법을 사용하여 그들 사이의 상관성을 분석한 결과 자궁내막 기질세포에서의 thymidine incorporation 증가율과 복강액내 IGF-I 농도 사이에 유의한 상관관계가 있었으나 ( $r = 0.55$ ,  $p < 0.01$ , Figure 1) 복강액내 IGF-II 농도는 상관관계가 없었다. 이와 같은 상관양상이 자궁내막증 환자의 복강액만을 대상으로 한 경우에 관찰되었으나 대조환자의 복강액만을 대상으로 한 경우에는 관찰되지 않았다.

**Table 1.** Mitogenic effects of low and high IGF-I peritoneal fluid (PF) from patients with endometriosis and control patients on endometrial stromal cells

Type	IGF levels		Degree of increase in thymidine incorporation (%)
	IGF-I (ng/ml)	IGF-II (ng/ml)	
Endometriosis (n=14)	$96.4 \pm 8.15^*$	$362.74 \pm 5.61$	$322.06 \pm 6.39$
Low IGF-I PF (n=9)	$54.58 \pm 0.49^a$	$320.71 \pm 2.75^b$	$272.89 \pm 8.10^c$
High IGF-I PF (n=5)	$171.86 \pm 5.19^a$	$438.40 \pm 3.32^b$	$411.20 \pm 0.57^{c,g}$
Control (n=10)	$92.99 \pm 9.77$	$335.35 \pm 3.98$	$329.05 \pm 6.09$
Low IGF-I PF (n=6)	$48.65 \pm 0.51^d$	$336.07 \pm 7.66$	$326.50 \pm 4.59$
High IGF-I PF (n=4)	$159.50 \pm 7.12^d$	$334.28 \pm 9.0$	$333.00 \pm 0.28$
Total (n=24)	$95.02 \pm 3.13$	$351.33 \pm 7.83$	$324.99 \pm 6.50$
Low IGF-I PF (n=15)	$52.21 \pm 0.04^e$	$326.86 \pm 7.05$	$294.33 \pm 0.16^f$
High IGF-I PF (n=9)	$166.37 \pm 5.16^e$	$392.12 \pm 5.44$	$376.44 \pm 9.35^f$

\*: Mean  $\pm$  SE; Low IGF-I:  $< 85$  ng/ml; High IGF-I:  $> 85$  ng/ml  
a,b,e:  $p < 0.0001$ ; c,d:  $p < 0.005$ ; f,g:  $p < 0.05$



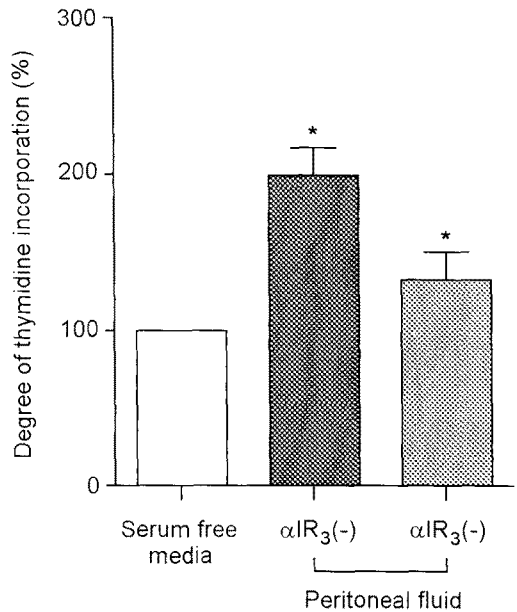
**Figure 1.** The relationship between IGF-I levels in peritoneal fluid and degree of increase in thymidine incorporation in endometrial stromal cells cultured in vitro. The solid line represents the linear correlation when peritoneal fluid samples from patients with endometriosis (●) and from control patients (○) were combined.

2. 1형 IGF 수용체 항체 전처치가 자궁내막증 환자의 복강액에 대한 자궁내막 기질세포의 증식 변화에 미치는 영향

1형 IGF 수용체 항체로 자궁내막 기질세포 전처치없이 자궁내막증 환자의 복강액을 무혈청 배양액에 첨가 후 배양된 자궁내막 기질세포에서의 thymidine incorporation은 무혈청 배양액에서 배양된 경우의  $200.52 \pm 17.36\%$  이었으나 복강액을 첨가하기 전 1형 IGF 수용체 항체로 전처치된 자궁내막 기질세포에서는  $136.06 \pm 16.41\%$ 로 전처치를 하지 않은 세포에 비하여  $66.77 \pm 14.31\%$  감소하였다 ( $p < 0.05$ ) (Figure 2).

## 고 찰

자궁내막증의 존재가 알려진 이래 반세기 이상 상당한 노력을 하였음에도 불구하고 아직 정확한 원인이 알려져 있지 않다. 이러한 자궁내막



**Figure 2.** Effect of pretreatment of type I IGF receptor antibody ( $\alpha IR_3$ ) on the mitogenic response of endometrial stromal cells to peritoneal fluid from patients with endometriosis ( $n=6$ ). \* $p < 0.05$

증의 병인에 대한 가설, 즉 월경시 월경혈액의 역류에 의한 착상설, 체강상피의 이상 분화설 (Cellomic metaplasia theory), 유도설 (Induction theory) 등의 가설들 (Ramey & Archer, 1993)은 자궁내막 세포들이 어떻게 자궁 바깥 부위에 도달할 수 있는가를 설명할 수 있을지라도 골반강내에서의 이소성 자궁내막조직의 성장에 대하여는 설명하지 못한다. 본 연구에서는 자궁내막증 환자의 복강액내 IGF 성분 중 IGF-I이 이소성 자궁내막조직의 성장인자일 가능성을 제시하였다.

IGF는 여러 종류의 세포에서 유사분열 (mitosis) 과 분화를 증가시키는 저분자량의 펩티드이며 두 종류의 IGF 펩티드 즉 IGF-I과 IGF-II가 있다. IGF 들은 조직내에서 그 세포수용체를 통하여 내분비 (endocrine), 축분비 (panacrine), 방분비 (autocrine) 양상으로 작용한다 (Jones & Clemmons, 1995). IGF의 세포수용체로 I형과 II형의 수용체가 있지만 대부분의 IGF-I과 IGF-II의 생리학적 작용은 이들에 대하여 높은 친화력을 가진 막 (membrane) tyrosine kinase인 I형 수용체를 통하여 이루어지는 것으로 알려져 있다.

Giudice 등 (1994)이 복강경을 시행하는 7명의 불임여성 (이중 1명이 자궁내막증)의 복강액내에

서 IGF계의 존재를 시사하였다. 최근 본 연구자 등 (1999)은 자궁내막증 환자의 복강액내에서 대조환자보다 IGF-I이 유의하게 높다는 것을 관찰한 바 있었으나 본 연구에서는 이런 차이를 관찰하지 못하였다. 이런 차이는 연구 대상 검체의 수 및 IGF 측정 방법의 차이에 기인되었을 것으로 사료된다.

자궁내막증 환자의 복강액이 자궁내막증이 없는 환자의 것보다 인간의 정상 자궁내막 기질세포의 증식을 더 많이 초래한다는 보고 (Surrey & Halme, 1990)가 있을지라도 Koutsilieris 등 (1991)과 Overton 등 (1997)은 자궁내막증 환자와 자궁내막증이 없는 환자의 복강액을 자궁내막증이 없는 환자의 정상 자궁내막 기질세포의 배양액에 첨가시 첨가된 복강액의 농도에 따라 자궁내막 기질세포의 증식이 증가되며 양군 사이에 복강액 첨가에 따른 이러한 증식의 차이가 없음을 관찰하였다고 한다. 이런 연구자들은 복강액내 IGF계 성분을 고려하지 않았는데 반하여 본 연구에서는 복강액내 IGF-I 농도에 따라 저 IGF-I군, 고 IGF-I군으로 구분하여 비교한 결과 자궁내막증 환자의 복강액중 고 IGF-I군에서 저 IGF-I군에 비하여 자궁내막 기질세포에서의 thymidine incorporation 증가율이 유의하게 높았으나 대조환자의 경우 이런 현상이 관찰되지 않았다. 또한 자궁내막증 환자의 복강액내 IGF-I 농도와 자궁내막 기질세포에서의 thymidine incorporation 증가율 사이에 유의한 상관관계가 있었다. 이러한 결과는 체외에서 IGF-I이 자궁내막 기질세포의 증식을 초래하였다는 Halme와 Hammond (1995)의 보고와 함께 복강액내 IGF-I이 골반강내 이소성 자궁내막조직의 성장에 관여할 수 있는 중요한 성장인자 중의 하나임을 시사하는 소견이라고 사료된다.

저 IGF-I군의 복강액을 자궁내막 기질세포의 무혈청 배양액에 첨가시 무혈청 배양액에서만 배양한 경우보다 thymidine incorporation이 증가하였는데 이는 IGF-I 이외의 다른 인자도 관여할 가능성을 시사하는 소견일 수 있다. EGF, FGF의 경우 체외에서 자궁내막 기질세포의 증식을 초래하고 자궁내막 착상물은 EGF 수용체 및 FGF의 전령 리보핵산 (messenger ribonucleic acid)를 가지고 있다고 하는 보고들 (Hammond, 1993; Huang & Yeh, 1994; Dunselman, 1995)이 발표되었다. 그러나 Huang 등 (1996)은 자궁내막증 환자에서 복강액내 EGF와 bFGF는 5배 정도로 농축된 복강액에서 측정하더

라도 그 농도가 매우 낮아 일부 환자에서만 측정되고 측정된 경우라도 자궁내막증이 없는 환자의 복강액에서의 농도와 차이가 없다는 결과를 얻었다고 한다.

한편 체액내에서 IGF는 IGF 결합단백질 (IGF binding protein; 이하 IGFBP로 약함)에 결합된 상태로 존재하는데 조직에서 IGF의 작용은 이런 IGFBP에 의하여 조절된다 (Jones & Clemmons, 1995). 최근 본 연구자 등 (1999)은 western ligand blot과 특이적 항체를 사용한 면역침전법에 의하여 자궁내막증 환자와 대조환자에서 복강액내 IGFBP-3, IGFBP-2, 26 kDa IGFBP, 24 kDa IGFBP들이 존재를 규명하였고 이러한 IGFBP 중 IGFBP-3가 자궁내막증 환자의 복강액내 유의하게 낮은 것을 관찰하였다. 본 연구에서 비슷한 고 IGF-I군의 복강액일지라도 자궁내막증 환자에서의 것이 대조환자보다 자궁내막 기질세포 증식을 더 초래하였는데 이는 자궁내막증 환자에서의 이러한 IGFBP-3의 감소로 인하여 IGF와의 복합체 형성을 적게함으로써 그 만큼 IGF의 유용성을 증가시킨 것에 기인되었다고 사료된다.

1형 IGF-I 수용체가 미리 차단된 자궁내막 기질세포에서 이런 수용체 항체로 전처리하지 않은 세포에서보다 복강액에 의한 증식이 억제되었다는 본 연구 결과는 자궁내막증 환자의 복강액내 IGF-I이 자궁내막 기질세포의 증식에 특이적으로 관여한다는 것을 시사한다. 그러나 본 연구는 대조환자로부터 채취한 자궁내막 기질세포만을 사용하여 자궁내막증 환자에서의 기질세포와의 차이 유무를 알 수 없어 향후 이에 대한 연구 및 IGF 이외의 다른 용질성 인자에 대한 연구가 더 필요하다.

## 결 론

복강액내 IGF가 자궁내막증 환자에서 이소성 자궁내막조직의 성장에 관여하는가를 알아보고자 자궁내막증 환자와 자궁내막증이 없는 환자의 복강액내 IGF의 농도에 따라 자궁내막 기질세포 증식에 미치는 영향을 비교 분석하고 자궁내막증 환자의 복강액을 단독으로 첨가한 배양액과 1형 IGF 수용체에 대한 단일 클론성 항체  $\alpha$ IR<sub>3</sub>와 복강액을 순차적으로 첨가한 배양액에서 배양된 자궁내막 기질세포 증식을 비교 분석하였다. 자궁내막증 환자와 대조환자의 복강액 1%를 각각 무혈청 배양

액에 첨가한 경우 첨가하지 않은 경우보다 자궁 내막 기질세포에서의 thymidine incorporation이 유의하게 증가하였다. 자궁내막증 환자의 복강액중 IGF-I 농도가 85 ng/ml 이상인 경우 (고 IGF-I군)에 그 이하인 경우 (저 IGF-I군)에 비하여 IGF-II 농도가 높으면서 ( $p < 0.0001$ ) thymidine incorporation 증가율이 유의하게 높았다 ( $p < 0.005$ ). 대조환자의 경우 저 IGF-I군과 고 IGF-I군 사이에 IGF-II 농도와 thymidine incorporation 증가율의 차이는 없었다. 자궁내막증 환자의 복강액내 IGF-I 농도와 자궁 내막 기질세포에서의 thymidine incorporation 증가율 사이에 유의한 상관관계가 있었으나 대조환자의 복강액만을 대상으로 한 경우에는 이런 상관성이 관찰되지 않았다. 1형 IGF 수용체 항체로 전처치된 자궁내막 기질세포에서는 전처치를 하지 않은 세포에 비하여 복강액에 의한 세포증식이 유의하게 감소하였다. 이러한 결과로 자궁내막증 환자의 복강액내 IGF-I이 특이적으로 이소성 자궁내막조직의 성장에 관여하는 인자 중의 하나라고 사료된다.

## 참 고 문 헌

Arkines S, Regeiz NM, Biragyn A, Reese DL, Kelley KW. Murine macrophages express abundant insulin-like growth factor-1 class I Ea and Eb transcripts. *Endocrinol* 1993; 133: 2334-43.

DeLeon FD, Vijayakumar R, Brown M, Rao CV, Yussman MA, Schultz G. Peritoneal fluid volume, estrogen, progesterone, prostaglandin, and epidermal growth factor concentrations in patients with and without endometriosis. *Obstet Gynecol* 1986; 68: 189-94.

Dunselman SAJ. Peritoneal environment in endometriosis. In: Shaw RW, eds, *Endometriosis; current understanding and management*. London: Blackwell Science Ltd., 1995; 47-74.

Giudice LC, Dsuspian BA, Jin IH, Vu TH, Hoffman AR. Differential expression of messenger ribonucleic acids encoding insulin-like growth factors and their receptors in human uterine endometrium and decidua. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 1115-22.

Giudice LC, Dsupin BA, Gargosky SE, Rosenfeld RG, Irwin JC. The insulin-like growth factor sys-

tem in human peritoneal fluid; Its effect on endometrial stromal cells and its potential relevance to endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1284-93.

Halme J, Hammond MG. The role of growth factors in endometriosis. In: Brosens I, Donnes J, eds. *The current status of endometriosis*. New York: The Parthenon Publishing Group, 1995; 211-9.

Hammond MG, Oh ST, Anners J, Surrey ES, Halme J. The effect of growth factors on the proliferation of human endometrial stromal cells in culture. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168: 1131-8.

Huang JC, Papasakelariou C, Yusoff Dawood M. Epidermal growth factor and basic fibroblast growth factor in peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 1996; 65: 931-4.

Huang JC, Yeh J. Quantitative analysis of epidermal growth factor receptor gene expression in endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1079-101.

Jones JJ, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: Biological actions. *Endo Rev* 1995; 16: 3-34.

김정구, 김석현, 최영민, 신창재, 문신용, 장윤석, 이진용. 성장인자들이 인간의 황체화과립막 세포에서의 인슐린유사 성장인자 및 그 결합 단백질들의 생성에 미치는 영향. *대한산부인과학회지* 1996; 39: 261-78.

김정구, 서창석, 김석현, 최영민, 문신용, 강순범, 이진용. 자궁내막증 환자의 복강액내 IGF들과 IGFBP들 및 IGFBP-3 protease 활성도의 양상에 관한 연구. *대한산부인과학회지* 1999; 42: 1101-7.

Koutsilieris M, Michaud LA, Fortier M, Lemay A. Mitogens for endometrial-like cells can be detected in human peritoneal fluid. *Fertil Steril* 1991; 56: 888-93.

Mahmood TA, Templeton A. Peritoneal fluid volume and sex steroids in the preovulatory period in mild endometriosis. *Br J Obstet Gynaecol* 1991; 98: 179-83.

Mohan S, Baylink DJ. Development of a simple valid method for the complete removal of insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins from IGFs in human serum and other biologic fluids;

- Comparison with acid-ethanol treatment and C<sub>18</sub> Sep-pak separation. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 637-47.
- Overton CE, Fernandez-Shaew S, Hicks B, Barlow DH, Starkey P. In vitro culture of endometrial stromal and gland cells as a model for endometriosis: The effect of peritoneal fluid on proliferation. *Fertil Steril* 1997; 67: 51-6.
- Ramey JW, Archer DF. Peritoneal fluid; its relevance to the development of endometriosis. *Fertil Steril* 1993; 60: 1-14.
- Rom WN, Bassett P, Fells GA, Nukiwa T, Trapnell BC, Crystal RG. Alveolar macrophages release an insulin-like growth factor-1 type molecule. *J Clin Invest* 1988; 82: 1685-93.
- Surrey ES, Halme J. Effect of peritoneal fluid from endometriosis patients on endometrial stromal cell proliferation in vitro. *Obstet Gynecol* 1990; 76: 792-7.
- The American Fertility Society. Revised American Fertility Society classification of endometriosis. *Fertil Steril* 1985; 43: 351-2.
- Zhou J, Dsupin BA, Giudice LC, Bondy CA. Insulin-like growth factor system gene expression in human endometrium during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1723-4.
- Ylikorkala O, Koskimies A, Laatkainen T, Tenhunen A, Viinikka L. Peritoneal fluid prostaglandins in endometriosis, tubal disorders and unexplained infertility. *Obstet Gynecol* 1984; 63: 616-20.
-