

Rat의 포유조절이 혈중 Insulin-like Growth Factor- I 수준에 미치는 영향

오석두[†] · 성환후* · 민관식* · 윤창현**
진주산업대학교 낙농자원학과

Effect of Suckling on Serum Insulin-like Growth Factor- I Levels in the Primiparous Rat

Oh, S. D., H. H. Seong, K. S. Min and C. H. Yoon

Dept. of Dairy Science & Technology, Chinju National University

ABSTRACT

This experiment was conducted to investigate how restricted-lactation and regulation of weaning-time influence the levels of insulin-like growth factor- I (IGF- I) in primiparous rats during the suckling period.

All the rats were raised in the individual cage from a few days before parturition through the whole suckling period. The restrictedlactation (RL) and weaned (W) groups were subdivided into 5 subgroups as RL0, RL5, RL10, RL15 and RL20 as well as W0, W5, W10, W15, and W20 according to the day of onset of suckling only 4 pups in restriction lactation and of suckling no pups in weaned group, respectively, in contrast to suckling 8 pups per litter in normal lactation (NL) group. The results obtained were summarized as follows:

1. The serum IGF- I concentration of NL rats was $750.59 \pm 3.52 \text{ ng/ml}$ on Day 0, which was not changed until Day 15, and then it was increased through the subsequent suckling period to $1690.20 \pm 4.42 \text{ ng/ml}$ on Day 25.
2. The IGF-I concentrations of early restricted lactation (RL0, RL5) were $1395.90 \pm 3.45 \text{ ng/ml}$ and $1351 \pm 3.23 \text{ ng/ml}$ on Day 10, respectively. It was significantly higher ($P < 0.05$) than NL group ($745.96 \pm 2.24 \text{ ng/ml}$), and then was not different between group from day 15 of lactation.
3. The IGF- I concentration of W-group in the early lactation was higher ($P < 0.05$) than NL group during the first week of lactation. But it was decreased to the similar concentration as NL group on Day 10.

These data show that lactation stimulus may regulate the IGF- I concentration.

(Key words: Insulin-like growth factor- I, Lactation regulation)

* 축산기술연구소(National Livestock Research Institute, R.D.A.)

** 경상대학교 낙농학과(Dept. of Dairy Science, Gyeongsang National University)

[†] Corresponding Author : Chil Am-Dong, Chinju, Kyeong Nam, Korea

I. 서론

Rat를 비롯한 설치류는 불완전 성주기 동물로서 난포의 발달과 성숙, 그리고 배란과 함께 형성된 황체에서 progesterone을 분비하기 전에 즉시 황체퇴행이 일어남과 동시에 차기 난포의 발달과 배란 등을 반복하게 되는 4~5일의 짧은 성주기를 가진다(Masuda 등, 1990; Seong 등, 1992). 그러나 임신을 하게 되면 배란후 형성된 황체세포로부터 지속적으로 progesterone을 분비하는 생리적인 현상으로 임신을 유지하게 된다. 이러한 현상은 뇌하수체에서 prolactin (PRL)이 분비되어 임신초기에는 임신황체로부터 progesterone이 분비되도록 20α -hydroxysteroid dehydrogenase(20α -HSD)을 특이하게 억제하기 때문이며(Seong 등, 1992), 임신중기 이후에는 태반에서 분비하는 placenta lactogen이 임신황체의 기능을 조절하는 것으로 알려져 있다(Shiota 등, 1997). 분만 시에는 rat의 경우, 24시간 이내에 배란이 일어나며 이때, 배란후 형성된 황체는 약 3주간의 비유기를 통해 황체가 지속적으로 존재하여 난포성장과 배란을 억제하게 된다(Taya, 1992). 오 등(1999)은 포유기간 중 8마리의 정상포유군은 혈중 progesterone농도가 높은 상태를 유지되어 난포의 발달을 억제하였으나, 4마리의 제한포유군은 불규칙한 성주기와 progesterone농도가 점차 낮은 경향을 보였다고 하여 포유자극의 강약이 난소기능에 중요하게 작용하는 것으로 나타났다.

최근, Insulin-like growth factor-I(IGF-I)은 생식선의 기능조절에 중요하게 작용하는 것으로 잘 알려져 있다. 즉, IGF-I은 임신 중 태아와 분만 후 자아의 성장에 중요한 역할을 한다고 보고하였으며(Liu 등, 1996), 난소와 정소의 steroid hormone의 합성에 중요하게 작용하는 것으로 보고하였으며(Adashi 등, 1990a; 1990b; Spicer 등, 1993; Lavranos 등, 1996), Giudice(1992)는 IGF-I은 난소의 과립막세포에서 분비하여 난포의 성숙에 깊이 관여한다고 보고하였다. 또한 성 등(1999)은 한우 난소의 황체세포는 IGF-I을 분비하며 LH첨가는 IGF-I분비를 유익적으로 촉진하는 작용을 하는 것으로 보고하여 IGF-I은 생식세포의 기능에 중요하게 작용하는 것으로 사료된다.

다. 그러나 포유기간 중에 난소기능의 조절에는 포유자극의 강약에 따라 IGF-I과의 어떠한 관계가 있는지에 대해서는 아직 검토된 바가 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 Wistar계 흰쥐를 이용하여 포유기간 중 포유자의 수를 조절하고, 또한 포유기간 중 이유시기를 조절하여 포유자극의 강약이 혈중 IGF-I 농도에 미치는 영향을 구명하고자 했다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물

본 실험에 사용된 공시동물은 국립보건연구원으로부터 분양받은 생후 10~12주령, 체중 220~250g의 Wistar계 흰쥐를 공시하였으며, 사육조건은 온도 22~24℃, 습도 50~55%, 일조시간은 14(명)/10(암)시간으로 조절하였으며 사료(실험동물용 펠렛사료, 푸리나)와 물은 자유급여하였고, 매일 오전 10~11시 사이에 성주기를 관찰하여 정상적으로 성주기가 2회이상 반복되는 rat를 발정전기에 수컷과 합사시켜 다음날 질smear로 정자가 확인되면 임신 제 0일째로 하였고, 임신 16일에는 단독케이지에 수용하여 분만 당일을 비유 제 0일로 정하였다.

2. 실험설계 및 혈청분리

실험설계는 오 등(1999)의 방법으로 실시하였다. 즉, 각 처리군 및 분만후 포유일령에 따라서 공시동물을 배치하였다. 분만일을 0일로 정하여 분만직후 포유자를 8마리로 조절한 군을 정상포유군(normal-lactation group : NL)으로 하였으며, 제한포유군(restricted-lactation group : RL)은 분만직후(0일), 분만 5, 10, 15 및 20일에 각각 포유자 8마리를 4마리로 조절하였다. 완전이유군(Weaning group : W)은 역시 분만직후(0일)와 분만후 5일과 10, 15 및 20일에 각각 포유자를 완전 이주시켰다. 각 처리구당 사용된 모체는 NL구는 5두로 하였고, RL구 및 W구는 각각 3두의 모체를 이용하여 총 35두를 이용하였다. 혈청은 시험 당일 오전 10~11시 사이에 ethyl ether로 흡입 마취시켜 심장채혈하였으며 실온에서 약 4시간 정지한 후 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하고 호르몬 분석시까지 -20℃에 보관하였다.

III. 결과 및 고찰

3. 혈중 IGF-I 농도의 측정

혈중 IGF-I 농도는 Dignostic Systems Laboratories(DSL-5600, USA)의 rat용 immunoradiometric-assay (IRMA) kit를 이용하여 혈청 내에 IGF-I binding protein을 추출하여 분석하였다. 즉, 표준용액(0, 160, 350, 750, 1,600, 4,000ng/100μl buffer)과 각 혈청으로부터 추출된 시료 50μl씩을 1차 항체(Biotinylated anti-IGF-I)가 코팅된 시험관에 첨가 후 2차 항체(¹²⁵I-labeled-Goat-antibody)를 200μl씩(70,000~80,000cpm) 각각 첨가하여 혼합한 다음 실온에서 180rpm으로 진탕하면서 3시간 배양하였다. 배양 후 상층액은 제거하고 증류수로 3회 정도 세척하여 비결합된 ¹²⁵I-anti-IGF-I을 완전히 제거한 다음 48시간 이내에 γ-counter(Beckman, USA)로 측정하여 계산하였다. 이와 같은 방법으로 standard curve와 비교하여 혈중 IGF-I 농도를 계산하였다.

4. 통계처리

자료의 분석은 통계분석 프로그램인 SAS를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 각 처리간의 유의성 검정은 Duncan 검정을 사용하였다.

1. 제한포유군의 혈중 IGF-I 농도 변화

Table 1은 NL군과 RL군의 혈중 IGF-I 농도변화를 나타내었다. 즉, 포유기간중 NL군의 IGF-I 농도는 분만직후에는 750.6±3.5ng/ml를 나타내어 포유 15일까지는 일정한 수준을 유지하다가 그 이후 점차 증가하기 시작하여 포유 25일에는 1690.2±4.4 ng/ml까지 증가되었다.

Taya와 Sasamoto(1987)의 보고에서 rat는 분만 후 배란을 일으켜 기능 황체가 형성되어 progesterone을 포유기간 중 분비하면서 난포발달을 억제하는 생리적 기능을 가진다고 하였다. 본 실험에서 나타난 바와 같이 포유기간중 IGF-I 분비양상은 난포의 발달과 함께 증가되었으나 지속적으로 높은 수준을 나타낸 것은 IGF-I은 난소의 발달뿐만 아니라 배란 및 황체 형성에도 관여하거나 난소외의 다른 조직의 기능에도 관여하고 있는 것으로 사료된다.

포유 10일째 RL0 군과 RL5 군에서 각각 1,395.9±3.5ng/ml, 1,351.7±3.2ng/ml로서 NL구의 745.9±2.2ng/ml 보다 유의적(P<0.05)으로 높게 나타났으나 그 후 감소하여 포유 15일부터는 NL구와 차이가 없었다.

Table 1. Serum IGF- I concentrations of rats in normal- and restricted-lactation groups

(unit : ng /ml)

Treatment	NL	RL0	RL5	RL15	RL20
Day of lactation					
0	750.6±3.5	—	—	—	—
5	747.7±2.9 ^a	1,131.2 ±2.7 ^b	—	—	—
10	745.9±2.2 ^a	1,395.9 ±3.5 ^b	1,351.7 ±3.2 ^b	—	—
15	835.9±4.4	1,019.97±3.3	1,001.48±2.9	—	—
20	1,017.5±4.2 ^a	904.7 ±2.5 ^a	980.2 ±2.3 ^a	568.8±1.3 ^b	—
23	1,200.4±2.6 ^a	—	—	1,052.7±2.4 ^a	761.3±1.6 ^b
25	1,690.2±4.4	—	—	1,650.6±3.2	1,586.5±2.3

NL : Normal-lactation groups(8 pups lactation)

RL0 : restricted-lactation groups(4 pups lactation on 0 day)

RL5 : restricted-lactation groups(4 pups lactation on 5th day)

RL15 : restricted-lactation groups(4 pups lactation on 15th day)

RL20 : restricted-lactation groups(4 pups lactation on 20th day)

* Values with different superscripts in the same lactation stage were significantly different (P<0.05).

*: Values are expressed as mean±SE.

포유 후기의 RL군의 IGF- I 농도는 RL15구에서 포유 20일째에 $568.8 \pm 1.3 \text{ ng/ml}$, 포유 20일째의 RL20구는 포유 23일에 $761.3 \pm 1.6 \text{ ng/ml}$ 로서 각각 RL군의 $1,017.5 \pm 4.2 \text{ ng/ml}$, $1,200.4 \pm 2.6 \text{ ng/ml}$ 보다 유의적($P < 0.05$)으로 낮은 수준을 보이다가 RL15군은 23일에, RL20군은 25일에 각각 $1,052.7 \pm 2.4 \text{ ng/ml}$, $1,586.5 \pm 2.3 \text{ ng/ml}$ 로 증가하여 NL군과 같은 수준으로 회복되는 경향을 보였다.

따라서, 포유초기의 RL군(RLO)의 IGF- I 농도는 정상포유후기의 IGF- I 농도와 비슷하게 높은 농도를 보였는데 이러한 결과는 분만후 배란과 함께 형성된 황체는 포유초기에 제한포유를 시킴으로써 황체의 progesterone 분비기능이 약화되어 황체퇴행이 일어나고 동시에 난포발달과 함께 IGF- I 농도가 포유후기의 농도와 비슷한 수준으로 높게 나타났다고 사료된다. 그러나 포유후기의 RL군은 포유초기의 RL군과 달리 NL군과 비슷한 수준으로 유지되었다.

이와 같은 결과는 포유후기의 제한포유는 황체의 기능적 퇴행을 유도하지 못하여 난포의 발달이 이루어지지 못하였기 때문에 혈중 IGF- I 농도는 정상포유와 비슷한 수준으로 유지되었다고 사료된다.

2. 완전이유군의 IGF- I 농도 변화

Table 2는 포유자를 완전히 이유시킨 군(W군)의 혈중 IGF- I 농도를 NL군과 비교한 것이다. 분만직후 완전이유군의 IGF-I 농도는 이유 3일에 $1,481.9 \pm 2.7 \text{ ng/ml}$, 이유 5일에 $1,428.4 \pm 3.6 \text{ ng/ml}$ 로서 NL군 5일의 농도보다 유의적($P < 0.05$)으로 높은 수준을 나타내었다. 또한 이유 10일에는 NL군과 비슷한 수준으로 감소되었고, 포유 5일에 W군(W5)은 분만 7일(이유 2일째)에 $1,251.3 \pm 2.4 \text{ ng/ml}$, 분만 10일(이유 5일째)에 $1,190.3 \pm 3.8 \text{ ng/ml}$ 로서 NL군 10일째의 $745.9 \pm 2.2 \text{ ng/ml}$ 보다 유의적($P < 0.05$)으로 높은 수준을 나타내다가 분만 15일(이유 후 10일)에는 $972.7 \pm 2.5 \text{ ng/ml}$ 로 감소되어 NL군의 $835.9 \pm 4.4 \text{ ng/ml}$ 과 차이를 보이지 않았다.

포유 후기에 포유자를 완전 이유시켰을 때의 IGF- I 농도는 포유 15일과 20일의 W군(W15와 W20)에서 모두 NL군보다 낮은 수치를 보였으나 유의차는 없었으며 포유후기에 증가하는 경향을 보였다.

이와 같이 NL군에서 IGF-I 농도의 변화는 비유 중기 이후부터 서서히 증가하여 비유 말기에는 최대수준

Table 2. Serum IGF- I concentrations of rats in normal-lactation and weaned groups (unit : ng / ml)

Day of lactation	Treatment				
	NL	W0	W5	W15	W20
0	750.6 ± 3.5	-	-	-	-
3	-	$1,481.9 \pm 2.7$	-	-	-
5	747.7 ± 2.9^a	$1,428.4 \pm 3.6^b$	-	-	-
7	-	$1,256.8 \pm 1.2$	$1,251.3 \pm 2.4$	-	-
10	745.9 ± 2.2^a	942.7 ± 2.1^a	$1,190.3 \pm 3.8^b$	-	-
13	-	-	$1,156.4 \pm 2.4$	-	-
15	835.9 ± 4.4	-	972.7 ± 2.5	-	-
17	-	-	-	804.5 ± 2.1	-
20	$1,017.5 \pm 4.2$	-	-	819.3 ± 3.2	-
23	$1,200.4 \pm 2.6$	-	-	$1,020.3 \pm 4.4$	$1,055.7 \pm 1.7$
25	$1,690.2 \pm 4.4$	-	-	$1,462.3 \pm 3.2$	$1,324.3 \pm 2.5$

NL : Normal-lactation groups (8 pups lactation)

W0 : Pups removal on 0 days

W5 : Pups removal on 5 days

W15 : Pups removal on 15 days

W20 : Pups removal on 20 days

* Values with different superscripts in the same lactation stage were significantly different ($P < 0.05$).

*: Values are expressed as mean \pm SE

W groups: Weaned groups

을 유지하였는데, 이와 같은 결과는 비유 말기에는 난포의 과립막세포에서 분비되는 estradiol-17 β 분비가 증가하는 것과 관련이 있을 것으로 추측되며, 비유초기의 제한 포유군과 완전 이유군에 있어서도 IGF-I의 농도는 증가하였는데 이러한 결과도 Taya와 Sasamoto(1987)의 비유 초기에 제한 및 완전 이유시 6시간 이후부터 estradiol-17 β 농도가 증가하여 3일에 최고수준을 유지한 후 급격히 감소한다고 한 보고와, IGF-I은 소의 과립막 세포의 성숙과 estrogen과 progesterone 분비를 촉진시키는 작용을 한다는 연구보고(Spicer 등, 1993; Lavranos 등, 1996) 등과 난포 성장과 분화 및 estrogen의 세포종식 신호를 간접적으로 매개하는(Rajkumar 등, 1996) 보고 등으로 보아 비유초기의 제한포유 및 완전이유로 인한 IGF-I의 농도 증가는 estradiol-17 β 농도와 깊은 관계가 있는 것으로 사료된다. 또한, 포유 초기에 제한 포유 및 W군에서 IGF-I 농도가 증가하는 것은 분탄 후 24시간 이내에 일어나는 배란 시기에 제한 포유 및 완전 이유로 인하여 포유자극 조절에 의한 난소의 기능변화에도 기인하는 것으로 사료된다.

W군이 RL군에 비해 IGF-I 농도변화가 유의적으로 낮은 것은 난소의 황체퇴행 및 난포발달이 왕성하게 진행되는 것으로 추측된다. 따라서 RL군이나 W군의 IGF-I 농도가 증가하는 것은 progesterone을 생리학적 기능이 없는 20 α -dihydroprogesterone으로 대사하는 20 α -hydroxy steroid dehydrogenase의 활성이 높은 것(성 등, 1995)과 깊은 관련이 있는 것으로 사료된다. 이와 같은 작용의 정확한 자료를 확보하기 위해서는 각 시기별 난소의 조직학적 특성을 비교해 볼 가치가 있는 것으로 사료된다.

본 실험에서 NL군의 비유중기부터 IGF-I의 수준이 천천히 증가한 본 연구의 결과에 대해서, 포유강약의 조절이 민감하게 변화되는 IGF-I은 난소의 어떤 기능에 관여하고 또한 난소 이외의 다른 요인이 관계되는지 앞으로 구체적으로 연구되어야 할 과제라고 생각된다.

IV. 요약

본 연구는 Wistar계 rat를 이용하여 포유기간 중 제한포유시기와 이유시기를 조절하여, 혈중 IGF-I 수준

변화에 대해 검토하였다.

NL군(NL)은 포유자의 수를 8마리로 조절하였으며, RL군(RL)과 W군(W)은 RL0, RL5, RL10, RL15 및 RL20, 그리고 W0, W5, W10, W15 및 W20으로 각각 5개 군으로 구분하여, RL군은 각 개시일에 포유자의 수를 8마리에서 4마리로 조절하였으며, W군은 각 개시일에 포유자의 수를 완전히 이유시켜 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. NL군의 혈중 IGF-I 농도는 분탄직후(Day 0) 750.59 \pm 3.52ng/ml을 나타내어 15일까지 일정한 수준을 유지하다가 그 후 포유 25일에 1,690.20 \pm 4.4ng/ml 까지 증가되었다.
2. 포유초기 RL군(RL0, RL5)의 IGF-I 농도는 포유 10일에 RL0군과 RL5군에서 각각 1,395.90 \pm 3.45 및 1,351.73 \pm 3.23ng/ml로서 NL군의 745.96 \pm 2.24ng/ml 보다 유의적(P<0.05)으로 높게 나타났으나 포유 15일부터는 차이가 없었다.
3. 포유초기 W군의 IGF-I 농도는 이유 후 일주일 정도는 NL군에 비해 높은 수준(P<0.05)을 나타내다가 10일경에 NL군과 같은 수준으로 감소하였다.

포유자극의 강약은 난소의 생리적 변화와 함께 혈중 IGF-I의 농도를 조절하는 것으로 사료된다.

V. 인용문헌

1. Adashi, E. Y., C. E. Resnick, E. R. Hernandez, A. Hurwitz and R. G. Rosenfeld. 1990a. Ovarian granulosa cell-derived insulin-like growth factor (IGF) binding proteins: release of low molecular weight, high-affinity IGF-selective species. *Mol. Cell Endocrinol.*, 74: 175-184.
2. Adashi, E. Y., C. E. Resnick, E. R. Hernandez, A. Hurwitz and R. G. Rosenfeld. 1990b. Follicle-stimulating hormone inhibits the constitutive release of insulin-like growth factor-binding proteins by cultured rat ovarian granulosa cells. *Cell Endocrinol.*, 126:1305-1307.
3. Giudice, L. C. 1992. Insulin-like growth fac-

- tors and ovarian follicular development. *Endocr. Rev.*, 13:641-669.
4. Lavranos, T. C., P. C. O'Leary and R. J. Rodgers. 1996. Effects of insulin-like growth factors and binding protein 1 on bovine granulosa cell division in anchorage-independent culture. *J. Reprod. Fertil.*, 107:221-228.
 5. Liu, Y. J., T. Tsushima, S. Minei, M. Sataka, T. Nagashima, K. Yanagisawa and Y. Omori. 1996. Insulin-like growth factor (IGFs) and IGF-binding protein(IGFBP-1, -2 and -3) in diabetic pregnancy: relationship to macrosomia. *Endocr. J.*, 43:221-231.
 6. Masuda, J., K. Noda, K. Shiota and M. Takahashi. 1990. Participation of ovarian 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase in lutrophic and luteolytic processes during rat pseudopregnancy. *J. Reprod. Fert.*, 88:4467-4474.
 7. Rajikumar, K., T. Dheen, M. Krsek and L. J. Murphy. 1996. Impaired estrogen action in the uterus of insulin-like growth factor binding protein-1 transgenic mice, *Endocrinology*. 137:1258-1264.
 8. Seong, H. H., K. Shiota, N. Noda, N. Ogura, T. Asano and M. Takahashi. 1992. Expression of activities of two 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase isozymes in rat corpora lutea. *J. Reprod. Fert.*, 96:573-580.
 9. Shiota, K., K. S. Min, R. Miura, M. Horosawa, N. Hattori, N. Noda and T. Ogawa. 1997. Molecular diversity of rat placental lactogens - A review-. *Trophoblast Research*, 9:1-11.
 10. Spicer, L. J., E. Alpizar and S. E. Echternkamp. 1993. Effects of insulin-like growth factor-I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production and(or) insulin-like growth factor-1 production *in vitro*. *J. Anim. Sci.*, 71: 1231-1241.
 11. Taya, K. 1992. Lactation and reproduction. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 45: 239-246.
 12. Taya, K. and S. Sasamoto. 1987. Difference in the response of follicular maturation and ovulation between early and late lactating rats after removal of the litter. *J. Endocr.*, 113:271-276.
 13. 오석두, 성환후, 민관식, 윤창현. 1999. 포유중인 rat의 progesterone 분비에 대한 포유 효과. *한국가축번식학회지*, 23(2):95-103.
 14. 성환후, 오석두, 이병오, 윤창현. 1995. 임신 rat 난소에 있어서 progesterone 이화효소, 20 α -Hydroxysteroid dehydrogenase 활성의 분포. *한국축산학회지*, 39:59-65.
- (접수일자 : 2000. 1. 20. /채택일자 : 2000. 3. 15.)