

암컷 랫트에서 Progesterone 투여가 Insulin-like Growth Factors(IGFs) 및 IGF-binding proteins(IGFBPs)에 미치는 효과

김송군, 박수현, 강창원*

전북대학교 수의과대학, 생체안전성연구소

(게재승인 : 2002년 11월 28일)

Effect of progesterone on insulin-like growth factors(IGFs) and IGF-binding proteins(IGFBPs) in female rat

Song-Jun Jin, Soo-Hyun Park and Chang-Won Kang*

Bio-safety Research Institute, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Jeonju, Korea

(Accepted : November 28, 2002)

Abstracts : The sex steroid hormone progesterone is essential for normal development and maturation of the endometrium in preparation for the embryo implantation and the maintenance of pregnancy. Insulin-like growth factor (IGF) system that is composed of IGF-I, IGF-II, IGF binding proteins (IGFBPs) is also involved in the maintenance of pregnancy. In addition, liver, kidney, and uterus is a target tissue for IGF system. However, the effect of exogenous progesterone on IGF system was not elucidated in female rats. Therefore, we investigated the effect of progesterone on insulin-like growth factors (IGFs) and IGF-binding proteins in serum, liver, kidney, and uterus in female ovariectomized rats. IGFs concentration was measured by radioimmunoassay (RIA) and IGFBPs levels by western ligand blotting(WLB). IGF-I concentration was increased in serum, liver, and uterus, but not in kidney of progesterone-treated ovariectomized rats, compared to control ($P<0.05$). IGF-II concentration was decreased in liver, but not in serum, kidney, and uterus of progesterone-treated rats, compared to control ($P<0.05$). IGFBP-3 was increased in serum, but not in liver of progesterone-treated rats, compared to control. IGFBP-2 was decreased in kidney, but not in others tissues of progesterone-treated rats, compared to control. These results suggest that progesterone may exert diverse physiological functions via the tissue-specific regulation of IGFs/IGFBPs system in female rats.

Key words : Progesterone, IGFs, IGFBPs

서 론

Sex steroid hormone 중에 하나인 progesterone은 자궁내막에 태아착상 및 성장발육 과정에서 임신유지에 필수적인 호르몬이다^{1,2}. 이는 주로 생체내 황체에서 생산되며 임신 후에 태반에서 다량 생산되는 호르몬으로 자궁

내막 혈류량을 증가시켜서 수정란 착상을 도우며, 뇌하수체의 gonadotropin의 분비와 자궁수축을 억제시키는 중요한 작용을 한다³. 또한 포유류 생식기능의 발현에 있어서 고전적인 성선자극 호르몬과 스테로이드 호르몬이 중추적인 역할을 한다는 사실은 오래 전부터 알려져 왔으나 최근 들어 성장인자에 관한 연구가 진척됨에 따

이 논문은 2000년도 전북대학교 지원 연구기반조성 특별지원비로 연구하였으며 2002년도 전북대학교 생체안전성 연구소 학술 연구비의 일부지원으로 이루어 졌음 (CNUOBSRI, No 2002-**).

* Corresponding author: Chang-Won Kang

Bio-safety Research Institute, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Jeonju, Korea

Tel : 063-270-3715, E-mail : cwkang@chonbuk.ac.kr

라 성장인자들 또한 생식기능의 발현에 중요한 역할을 하고 있음이 밝혀지고 있다^{4,5}. 다양한 성장 인자들중, **insulin-like growth factors (IGFs)**는 자궁 및 태반 등 생식기계에서 중요한 역할을 하는 대표적인 성장인자로 알려져 있다.

IGFs (IGF-I 및 IGF-II)는 세포성장 및 분화에 중요한 조절인자로 잘 알려져 있으며, 혈중 IGF-I은 대부분 친화성이 높은 **insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP1~6)**과 결합한 상태로 존재하며, 그 변화에 의하여 IGF-I의 **bioavailability**를 조절한다. IGFs는 혈중에서 주요 결합 단백질인 **IGFBP-3**와 **85 kDa acid-labile subunit (ALS)**와 결합하여 **150 kDa** 복합체 형태로 존재하며, IGFs의 일부는 분자량이 작은 **IGFBP-1, -2** 및 **4**와 결합한 **50 kDa** 복합체 형태로 존재한다⁶. 순환혈액 내 존재하는 이러한 IGF-I은 간장 조직에서 합성된다⁷. 신장 역시 IGF-I의 합성에 중요한 장기로서 **autocrine, paracrine** 및 **endocrine** 조절을 통해 생체의 생리적인 작용에 관여하는 것으로 보고되고 있다⁸. **IGFBP**를 **rat** 생체내에 주사했을 때 간장과 신장에 위치한다는 보고 역시 IGF의 작용에 있어 간장과 신장이 중요한 위치를 차지하고 있다는 것을 보여주고 있다.

IGF-I 분비조절은 대부분 성장호르몬에 의하여 조절되며, 또한 **steroidal hormone**에 의해서도 혈중 IGF-I 농도에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다⁹. **Sex steroid hormone**의 하나인 **estrogen**은 생식계통의 IGF-I 및 **IGFBPs**를 조절하여 생체내 기능에 관여하는 것으로 많은 연구자들에 의해 보고되고 있는 상황이다^{10,11}. 한편, **progesterone**과 IGFs와의 관련성에 대해 살펴보면 **progesterone** 투여시 유방암의 여성의 혈 중 IGF-I의 변화나¹² 자궁내에서 IGF-I 변화 작용에 대한 보고 만이 이루어지고 있다¹³. 따라서 생체내에서 **progesterone**이 IGF-I, IGF-II 및 **IGFBP**의 조절작용 및 장기별 변화작용에 대한 연구가 필요한 시점에 이르렀다. 본 연구자들은 암컷 랫트에서 **sex steroid hormone** 중의 하나이며 임신기 및 생식기에 중요한 **hormone**인 **progesterone**을 근육 주사하여 앞서 기술한 대로 혈 중, 간장, 신장 및 자궁에서 IGFs 및 **IGFBPs**에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

랫트 (Sprague-Dawley, 체중 200 - 220g) 암컷들을 난소적출술을 실시하였다. 난소적출술은 **Ketamine/Xylazine**

마취 (**80/10 mg/kg** 복강내주사) 한 후 배복부로 접근하여 난소를 노출시킨 후 난관을 결찰 후 난소를 적출시켰다. 수술 후 1주일 후부터, **Cardona-Gomez** 등¹⁴의 실험 방법에 기초를 하여 **progesterone**을 3일에 1회 씩 2주간 근육 주사 (**vehicle, 4mg/kg, 12mg/kg, 24mg/kg**; 대조군 및 실험군 I, II, III)하여 혈액, 신장, 간장 및 자궁을 분리하고 시료를 **-70°C**에 보관한 후 IGFs농도 및 **IGFBPs** 특성을 분석하였다.

2. 시료의 전 처리

시료에 존재하는 대부분 IGFs는 **IGFBPs**와 결합된 형태로 존재하므로 이를 **IGFBPs**로부터 IGFs를 분리하기 위하여 **Sep-Pak C₁₈ cartridge** (Millipore Corp., Milford, MA) 추출 방법¹⁵을 이용하였다. 이를 요약하면, 분리한 혈청 0.2 ml에 1% **trifluoroacetic acid (TFA)** 1.3 ml 첨가하고 혼합한 다음 실온에서 10분간 방치한 후 **C₁₈ cartridge**를 각각 3 ml **acetonitrile**, 3 ml 3차 증류수, 3 ml 0.1% **TFA**로 활성화한 후 **Sep-Pak C₁₈ cartridge**에 혈청을 loading하면 **IGFBPs**는 **cartridge**를 통과하고 IGFs는 **cartridge**에 결합하게 된다. 그 후 3 ml 0.1% **TFA**로 **C₁₈ cartridge**를 세척한 후 **C₁₈ cartridge**에 3 ml 0.1% **TFA**가 함유한 **acetonitrile**로 **elution**시켜 유리형과 결합형을 분리하여 분석에 사용하였다. 간장과 신장 조직을 각각 0.25g을 1% **trifluoroacetic acid (TFA)** 2 ml에 넣어 **homogenizer**로 마쇄하고 원심 분리하여 상층액을 취한 다음 **Sep-Pak C₁₈ cartridge** 추출 방법으로 **IGF binding proteins**으로부터 IGFs를 분리하여 방사성 면역 측정법으로 IGFs의 농도를 측정하였다.

3. IGFs(IGF-I과 II) 추적자 제조

Chloramin-T 방법¹⁶을 약간 변형시킨 것으로서 이를 요약하면, 0.2M **sodium phosphate buffer (pH 7.4)** 10 μ l에 **rhIGFs** 1 μ g을 첨가한 후 [¹²⁵I] (Amersham Life Science, ILL, USA) 1 mCi를 첨가하고 0.04 mg/ml의 **chloramin-T**를 넣어서 신속히 교반한 후 **cellulose CF-II column** (Bio-Rad, CA, USA)에 혼합물을 가한 다음 **barbital buffer**로 **column**을 세척하였다. 그 후 12% **bovine serum albumin (BSA)**로 용출시키고, IGF-II는 **sephadex G-25** (Pharmacia LKB., Biotechnology AB, Sweden) **column**을 통하여 0.2M **sodium phosphate buffer**(0.2% **BSA** 포함)에 용출시켜 분획 수집기(20 drops) 받아서 **gamma counter** (Packard, ILL, USA)로 **cpm**을 측정하고 방사능이 3×10^6 **cpm**이 되도록 각각 분주하여 **-70°C**에 냉동보관 하였다.

4. IGFs 방사면역 측정법

혈청내의 IGFs 농도는 [¹²⁵I]-IGFs에 polyclonal anti-IGFs를 사용한 방사면역 측정법 (radioimmunoassay, RIA)을 이용하였다. 이를 요약하면, IGFs RIA 완충액으로 0.5% BSA, 0.12 M NaCl, 0.1% sodium azide를 함유한 0.04 M 인산 완충액 (pH 7.4)을 사용하였다. IGFs 표준액과 시료에 1000배 희석시킨 polyclonal anti-IGFs 50 μl을 첨가하여 실온에서 1시간 반응시킨 후 각각의 시험관에 [¹²⁵I]-IGFs (20000 cpm/100 μl)을 첨가하여 4 °C에서 18시간 반응시켰다. 그 후 horse serum 50 μl와 12% polyethylene glycol #8000 (PEG) 1 ml를 첨가하여 3,000 rpm에서 30분간 원심 분리시켜 결합형과 비결합형을 분리시켰고 결합형의 방사능을 gamma counter (Packard, ILL, USA)로 측정하였다.

5. Western Ligand Blot (WLB)

IGFBPs 분석은 Hossenlopp 등¹⁷의 방법에 준하여 시행하였다. 이를 요약하면, 혈청을 sample buffer로 30배 희석한 후 10 μl를 12% SDS-PAGE를 사용하여 non-reducing 조건하에서 전기영동을 실시하였다. 전기영동으로 분리된 단백질을 semi-dry electrophoretic transfer unit를 이용하여 nitrocellulose membrane (0.45 μm pore size)에 이전시킨 후 3% NP 40을 함유한 tris buffer saline (TBS)로 30분 세척하였다. 1% BSA를 함유한 TBS로 실온에서 2시간 동안 반응시킨 다음 0.1% tween 20을 함유한 TBS로 10분간 세척하였다. 이를 1% BSA와 0.1% tween 20을 함유한 TBS용액에 IGF-I과 II가 혼합된 [¹²⁵I]-IGFs (2 × 10⁶ cpm)을 첨가하여 4°C에서 18시간 배양하였다. 그 다음 0.1% tween 20을 함유한 TBS로 3회 세척한 후 TBS로 3회 세척하고 실온에서 건조시켰다. 건조시킨 nitrocellulose membrane을 암실에서 X-Ray film과 함께 cassette에 넣어 -70°C에서 7일간 방치하였다.

7. 통계처리

본 실험에서 측정된 결과는 mean ± SD로 나타내었고 group간의 차이는 Student's t-test를 이용하였으며, (p<0.05) 경우를 유의한 차이로 인정하였다.

결 과

1. Progesterone 투여시 혈중 IGFs 농도 변화

대조군 랫트 혈중 total IGF-I 농도는 65.16 ± 3.84 ng/ml로 나타났으며 progesterone (5 mg/kg, 15 mg/kg, 또는 25 mg/kg)을 투여시에는 각각 75.18 ± 11.41, 94.56 ± 15.32, 및 100.89 ± 11.54 ng/ml로 나타났다. 혈중

IGF-II 농도 역시 대조군, 실험군별로 각각 38.64 ± 11.28, 47.32 ± 5.12, 46.33 ± 5.12, 및 44.39 ± 4.77 ng/ml이었다. 따라서 IGF-I 농도는 대조군에 비하여 progesterone 투여시 농도의존적으로 증가하였다(p<0.05). 그러나 혈중 IGF-II 농도는 대조군과 실험군과의 차이를 확인할 수 없었다(Fig. 1).

2. Progesterone 투여시 간장, 신장 및 자궁의 IGFs 농도 변화

대조군 랫트에서의 간장 IGF-I 농도는 36.36 ± 4.31 ng/g이었으며, progesterone을 투여시 실험군 랫트 간장의 IGF-I 농도는 각각 36.96 ± 3.54, 54.57 ± 5.52, 및 67.20 ± 16.16 ng/g으로 나타났다. 한편 대조군 및 progesterone 처리군 랫트의 간장 IGF-II 농도는 각각 20.49 ± 1.74, 16.88 ± 1.09, 15.10 ± 1.43, 및 15.07 ± 1.69 ng/g으로 나타났다. 이러한 결과는 간장 IGF-I의 농도는 progesterone 투여시 농도 의존적으로 증가한다는 것을 나타내고 있다 (p < 0.05). 이에 반하여 간장 IGF-II 농도는 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 확인할 수 있었다 (p<0.05)(Fig. 2).

신장 IGF-I농도는 대조군과 progesterone 투여군에서 각각 77.9 ± 18.90, 70.67 ± 17.94, 63.14 ± 20.26, 및 66.56 ± 21.09 ng/g이었으며, IGF-II 농도는 각각 14.37 ± 0.64, 12.77 ± 0.59, 12.93 ± 0.49, 및 14.02 ± 0.97 ng/g으로 나타났다. 따라서 이 결과는 progesterone 투여시 랫트 신장의 IGF-I 및 IGF-II 농도는 유의한 차이가 없다는 것을 나타내주고 있다 (Fig. 3).

자궁의 IGF-I 농도는 대조군과 progesterone 투여군에서 각각 103.6 ± 6.84, 105.80 ± 12.91, 146.00 ± 18.25, 및 169.80 ± 9.81 ng/g이었으며, 자궁의 IGF-II 농도는 각각 17.35 ± 1.58, 16.57 ± 2.03, 14.17 ± 2.14, 및 12.19 ± 1.36 ng/g이었다. 이 결과는 랫트 자궁의 IGF-I의 농도는 progesterone 투여시 대조군에 비하여 농도의존적으로 증가한다는 것을 나타내고 있다 (p<0.05). 이에 반하여 랫트 자궁의 IGF-II의 농도는 대조군에 비하여 실험군에서 유의성 있는 변화는 관찰할 수 없었다 (p<0.05) (Fig. 4).

3. Progesterone 투여시 혈중 IGFBPs의 변화

Western liganding blotting을 이용하여 progesterone을 투여한 랫트의 혈중 IGFBPs를 분석한 결과 혈중 IGFBPs는 42 kDa IGFBP-3, 34 kDa IGFBP-2 및 24 kDa IGFBP-4를 관찰할 수 있었다. Progesterone 투여시 혈중 IGFBP-3는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 증가하였다. 이에 반하여 IGFBP-2와 IGFBP-4는 대조군과 실험군에서의 차이를 관찰할 수 없었다 (Fig. 5 A).

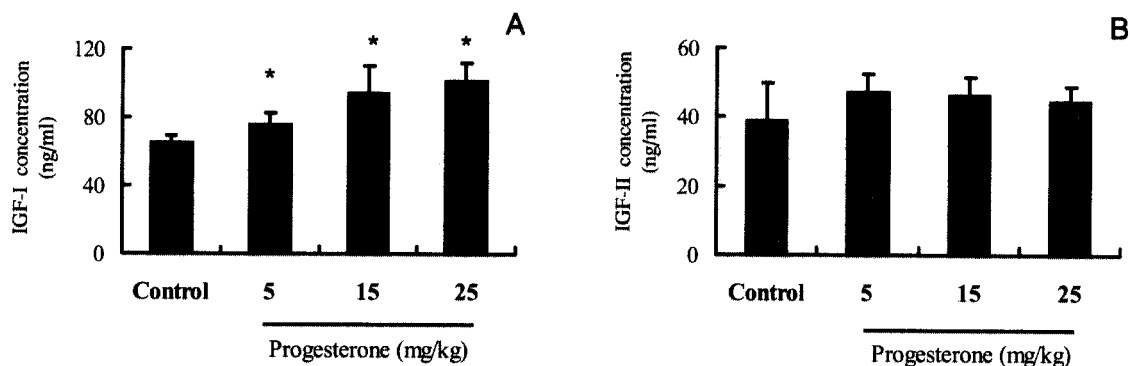


Fig. 1. Effects of progesterone on IGF-I(A) and IGF-II(B) concentration in ovariectomized rat serum. Statistical comparisons were done by student's *t*-test. Values are mean \pm S.D. (n=5), *p<0.05 vs. control.

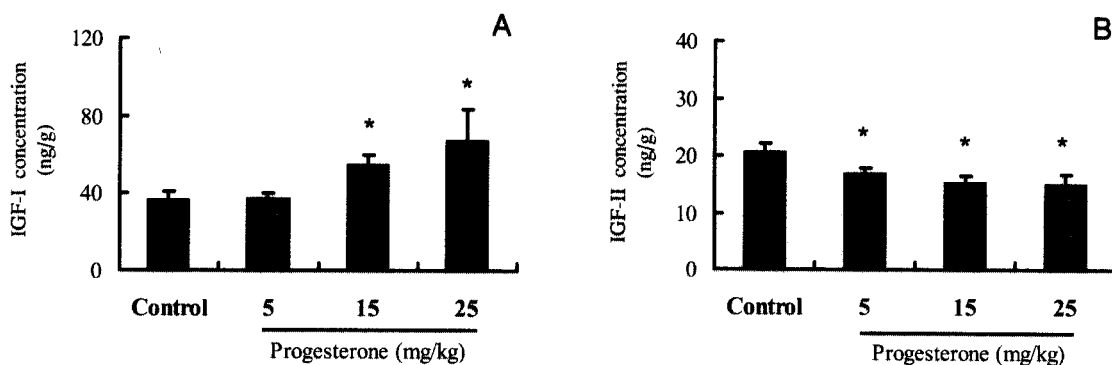


Fig. 2. Effects of progesterone on total IGF-I(A) and IGF-II(B) concentration in ovariectomized rat liver. Statistical comparisons were done by student's *t*-test. Values are mean \pm S.D. (n=5), *p<0.05 vs. control.

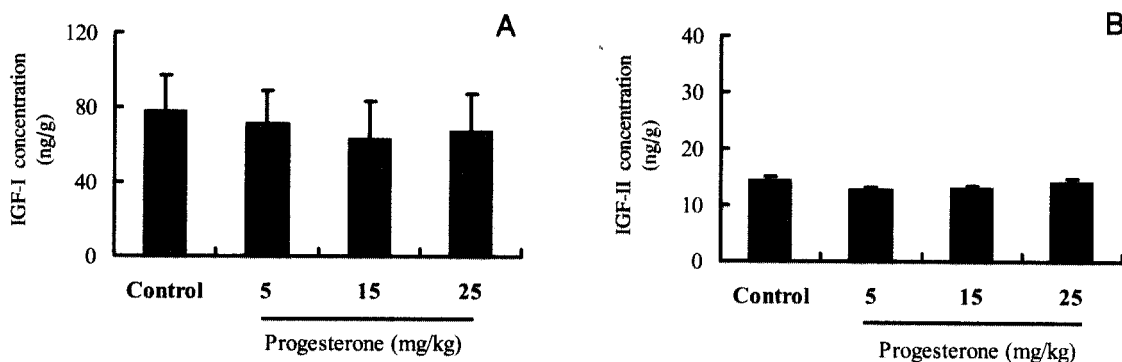


Fig. 3. Effects of progesterone on total IGF-I(A) and IGF-II(B) concentration in ovariectomized rat kidney. Statistical comparisons were done by student's *t*-test. Values are mean \pm S.D. (n=5), *p<0.05 vs. control.

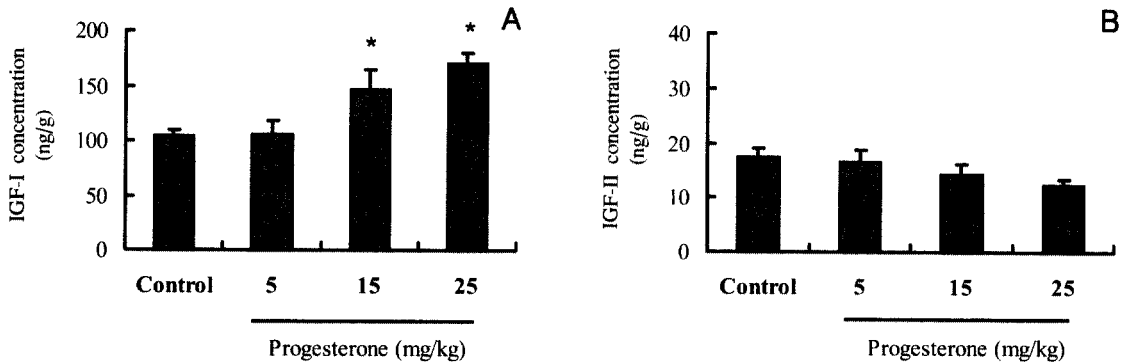


Fig. 4. Effects of progesterone on total IGF-I (A) and IGF-II (B) concentration in ovariectomized rat uterus. Statistical comparisons were done by student's *t*-test. Values are mean \pm S.D. (n=5), *p<0.05 vs. control.

Fig. 5. IGFBPs pattern of rat serum (A), liver (B), kidney (C), uterus (D) with control (1) and progesterone treated group(2, 3, 4) by western ligand blotting. The pooled sample 10 μ l was electrophoresed on 12% SDS/PAGE gel. The proteins were transferred onto nitrocellulose membrane, incubated with [¹²⁵I]-IGF-I, and exposed to X-ray film. IGFBP-3, 42 kDa; IGFBP-2, 34 kDa; IGFBP-4, 24 kDa.

4. Progesterone 투여시 간장, 신장 및 자궁의 IGFBPs 변화

대조군 및 progesterone 처리군에서 랫트 간장 IGFBPs의 조절을 알아본 결과 대조군 및 실험군 모두에서 IGFBP-3, IGFBP-2 및 IGFBP-4를 관찰할 수 있었다. 그러나 대조군과 실험군간에 IGFBP-3, IGFBP-2 및 IGFBP-4는 차이를 관찰할 수 없었다 (Fig. 5B). 랫트 신장에서의 IGFBPs 수준은 progesterone 투여시 대조군에 비하여 progesterone 농도의존적으로 IGFBP-2의 현저한 감소를 관찰할 수 있었다 (Fig. 5C). 또한 랫트 자궁에서의 IGFBPs는 IGFBP-2를 관찰할 수 있었고 대조군과 실험군에서의 유의성 있는 변화는 관찰할 수 없었다 (Fig. 5D).

고 찰

Progesterone은 주로 생체내 임신기 황체에서 생산되며 자궁내막 혈류량을 증가시켜 수정란 착상 뿐만 아니라 성장인자들과 상호작용을 하여 생체내 기능을 유지하는 것으로 알려져 있다³. 또한 IGFs는 생체의 성장과 대사에 관여하며 특히 간장에서 합성이 이루어지며 세포의 증식, 단백질 합성, 대사작용을 하는 것으로 알려져 있으며¹⁸, 신장에서는 사구체여과율 등의 생리적 기능에 영향을 미치고 있다¹⁹. 따라서 본 연구는 난소 적출술을 실시한 랫트에 progesterone을 근육내 단독 주사하여, 이때 혈중, 간장, 신장 및 자궁에서 IGFs와 IGFBPs

에 미치는 효과를 관찰하였다.

본 연구에서 progesterone 처리시 혈중 IGF-I의 증가 작용을 관찰 할 수 있었다. 유방암이 있는 여성에게 progesterone 처리하였을 때도 본 실험과 같은 유사한 작용이 관찰되었다¹². 이러한 혈중 IGF-I의 변화에 대한 원인을 알기 위해서 우선 IGFs 합성장소인 간장 및 조직에서 progesterone 투여에 의한 IGFs 농도를 측정된 결과 간장 IGF-I 농도는 실험II군과 실험III군이 대조군에 비하여 증가하였고 신장에서는 차이가 없는 것으로 관찰되었다. 이러한 간장에서의 IGF-I의 증가는 혈 중 IGF-I의 대부분은 간장에서 합성 및 분비된다는 사실과 동일한 결과로 보인다²⁰. 신장에서 IGF-I의 변화가 보이지 않는 것은 progesterone에 의한 IGF-I의 작용이 신장에서는 표적기관이 아닌 것으로 사료된다. 최근 연구에 의하면 자궁 평활근종에서 IGF-I mRNA 발현은 sex steroid 호르몬에 의존적이라고 하여 자궁에서 성호르몬에 의한 작용 가능성을 시사해주고 있다²¹. 본 연구에서 progesterone 투여시 자궁 IGF-I 농도는 progesterone 농도 의존적으로 증가되었다. 난소를 제거한 마우스와 정상 랫트에서 progesterone 투여시 estrogen과 비의존적으로 자궁 IGF-I mRNA가 증가한다는 결과와 일치하였다¹³. 그러나 stromal 세포를 이용한 연구에서는 progesterone을 처리한 후 5-10일에서 IGF-I mRNA 발현이 증가하고 15-20일 후에는 IGF-I mRNA 발현이 90%가 억제되었다고 보고되었다²². 이 보고는 본 실험에서 progesterone의 2주간 처리는 IGF-I의 증가를 나타낼 수 있다는 것을 말해주고 있으나 이 이상의 장기간의 처리는 억제할 수도 있다는 것을 시사해주고 있다. 이러한 처리시간 이외에도, 세포 및 조직 특이성 및 실험 조건 (in vivo 대 in vitro) 과 관련되어 이러한 결과들의 차이점이 나타나는 것으로 사료된다. 따라서 임신기에는 간 및 혈중의 IGF-I의 증가작용을 통하여 자궁의 IGF-I을 증가 시켜 임신유지에 관여한다는 것을 시사해준다.

한편 IGFs의 또 하나의 축인 IGF-II는 태아의 간과 근육 등에서 높은 수준이 발현되나 생후에는 모든 조직에서 발현 수준이 급격하게 줄어들어 따라 세포의 분화에 관여하고 있다고 보고되고 있다^{23,24}. 랫트 태아기에 혈중 IGF-II 농도가 높고 생후 급속하게 감소한 반면, 인간과 대동물에서는 생후에도 꾸준히 IGF-II가 증가됨을 보고 하였다^{25,26}. 이러한 혈중 IGF-II에서는 합성장소가 아직 분명하지 않은 상태에서 IGFs는 순환기를 통하여 뇌에 전달되고 뇌의 시상하부 신경내분비에 영향을 미쳐 생체 증식 및 대사에 관여하는 것으로 이미 알려져 있다²⁷⁻²⁹. Progesterone과 IGF-II과의 관계를 살펴보면 혈중 IGF-II의 농도는 progesterone에 의해서 변하지 않는 것

으로 관찰되었다. 혈중의 IGF-II 농도 변화는 progesterone 과 무관하다는 보고¹²와 본 실험결과로 볼 때 이러한 관계는 progesterone은 IGF-I에 비해 IGF-II의 작용에는 전신적으로 작용하지 않고 국소적으로 작용할 수 있다는 것을 시사해주고 있다. 흥미스러운 것 중 하나는 조직별로 조사했을 때 progesterone 처리시 혈중에는 변화가 없었으나 간장의 IGF-II 분비가 억제되었다는 것이다. 지금까지 progesterone에 대한 간장 IGF-II 효과에 대한 보고는 없는 상태이지만 steroid hormone 처리시 태아 간장의 IGF-II mRNA 발현이 감소하였다는 보고^{30,31} 등에 기초하여 간장에 steroid hormone이 IGF-II의 경우 억제적으로 작용하지 않을까 사료된다. 이러한 간장의 progesterone에 의한 IGF-II 억제작용은 최초의 보고로서 의의를 찾을 수 있을 것으로 본다. 이들이 어떠한 기능을 갖는지에 대해서는 차후 연구에 필요하리라 사료된다. 자궁과 같은 생식기계 조직의 경우 progesterone과 estrogen을 동시 투여시 IGF-II mRNA 발현이 증가되는 것으로 보아 progesterone이 IGF-II에도 관련되는 것으로 추측이 되었다³². 하지만, 본 실험에서는 progesterone을 직접 처리시 대조군과 유의성있는 IGF-II 변화는 인정되지 않았다.

Progesterone과 IGFBP와의 관계를 살펴보면, 생체내 IGFs 분비 조절, 활성도 및 수명 등에 관여하는 IGFBPs 특성을 분석한 결과, progesterone 투여시 혈중 IGFBP-3 농도는 대조군에 비하여 증가하였다. 본 실험에서 progesterone 처리군에서 혈중 IGFBP-3의 농도 증가는 혈중 IGFBP-3는 혈중에서 주로 IGF-I과 주로 결합하며 작용을 나타낸다는 보고로 미루어 보아 IGF-I의 증가와 일맥상통하는 것 같다³³. 생체에 존재하는 6개 IGFBPs 중 대부분은 IGFBP-3이고, 이들 대부분이 간장에서 합성되며 특히 간장에서 IGFBP-3 합성 증가가 혈중 IGFBP-3 농도를 증가시킨다고 알려져 있다³⁴. 그러나 본 실험에서는 대조군과 비교해 볼 때 progesterone처리군에서 간장 IGFBP-3의 발현 변화는 인정되지 않았다. Arany 등³⁵은 혈중 IGFBP-3의 약 30% 정도는 위장관과 관련하여 작용한다고 하였다. Lemmey 등³⁶ 역시 혈중 IGFBP-3는 간장의 IGFBP-3의 증가를 통하지 않고 증가할 수 있다고 하였다. 이러한 보고들과 본 실험결과를 고려해 볼 때 이는 혈액중의 IGFBP-3의 증가는 간장이 아닌 다른 장기에 기인 할 수 있다는 것을 시사해준다. 한편, progesterone 처리시 신장에서는 IGFBP-2가 감소하였다. IGFBP-2는 신장에서 사구체 및 집합관등에서 발현이 나타나는 것으로 알려져 있으나 이들에 대한 기능은 아직까지 잘 알려져 있지 않고 있다³⁷. 이러한 IGFBP-2는 신장에서 당뇨병이나 저산소증 상황일 때 감소되는 것으로 알려져 있다^{38,39}. 그러나, 신장에서의 progesterone

에 대한 IGFBP-2 감소의 생리학적 의미는 알 수 없었다. 이러한 결과 자체가 향후 연구에 중요한 밑거름이 될 것으로 사료된다. 생식기계에 있어서는 몇몇 보고가 이루어지고 있는 상황이다. 최근학자들은 progesterone을 처리한 stromal 세포에서 IGFBP-3, IGFBP-2 및 IGFBP-6를 분석하였으며, 그 결과 IGFBP-2와 IGFBP-3가 증가하였다고 보고하였다⁴⁰. 또한 랫트의 자궁내막에서 IGFBP-3와 IGFBP-2 농도는 월경주기에 의하여 변화됨을 보고하였다⁴¹. 본 실험에서 자궁에서 IGFBP-2의 발현수준은 나타났다. 이는 IGFBP-2는 생식기계에서 발현되는 주요한 IGFBP로 중요한 IGF-I의 조절 인자라는 보고와 일치하였다⁴². 그러나 본 실험에서 progesterone 처리시 IGFBPs의 변화수준은 감지되지 않았다. 이는 직접적으로 자궁에서 progesterone은 IGFBP의 변화를 거치지 않고 직접 IGF-I의 증가를 유도한다는 것을 말해주고 있다. 다른 보고들에서 보였던 IGFBP의 변화가 보이지 않는 차이점은 종(사람 과 랫트) 및 방법(intact 와 난소적출술)적인 차이점 일 것으로 사료된다.

따라서 난소 적출술한 암컷 랫트에 progesterone투여시 생체내 IGFs/IGFBPs계는 혈중, 간장, 신장 및 자궁에 각각 특이적으로 작용하는 것으로 관찰되었으며, 이 변동은 세포의 성장과 대사 등에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

결 론

본 연구에서 난소 적출술한 암컷 랫트에 sex steroid hormone중의 하나이며 임신기 및 생식기계에 중요한 역할을 하는 progesterone을 근육 주사하여 IGFs의 중요한 발현 장기인 혈액, 간장 및 신장과 생식기계를 대표하는 자궁에서 IGFs 농도, IGFBPs특성 즉 IGF/IGFBPs system에 미치는 효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

랫트에 progesterone을 투여시 혈액, 간장 및 자궁의 IGF-I 농도는 대조군에 비하여 증가하였고, 신장에서 IGF-I 농도는 차이가 없었다. 혈액, 신장 및 자궁의 IGF-II농도는 대조군에 비하여 차이가 없었으며, 간장에서 IGF-II농도는 대조군에 비하여 억제되었다. 랫트에 progesterone을 투여시 혈중 IGFBP-3는 대조군에 비하여 증가하였지만, 간장에서 IGFBP-3는 차이가 없었다. 신장에서 IGFBP-2는 progesterone 처리군이 대조군에 비하여 감소하였으며, 혈액, 간장 및 자궁에서는 차이가 없었다. IGFBP-4는 혈액, 간장, 신장 및 자궁에서 차이가 없었다.

참고문헌

1. Wynn RM. The human endometrium. Cyclic and gestational changes. *In Biology of the Uterus*, pp. 289-331, 1989.
2. Sauer MV. Use of progesterone in assisted reproduction. *J Reprod Med*. 44:197-202, 1999.
3. MacLaughlin DT, Sylvan PE, Richardson GS. The search for progesterone-dependent proteins secreted by human endometrium. *Adv Exp Med Biol*, 138:113-131, 1981.
4. Giordano G, Barreca A, Minuto F. Growth factors in the ovary. *J Endocr Invest*, 15:689-707, 1992.
5. Giudice LC, Saleh W. Growth factors in reproduction. *Trends Endocrinol Metab*, 6:60-69, 1995.
6. Baxter RC, Martin JL, Beniac VA. High molecular weight insulin-like growth factor (IGF) binding protein from bone cellconditioned medium: a potential local regulator of IGF action. *Proc Natl Acad Sci*, 86:8338-8342, 1989.
7. Jones JJ, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev*, 16:3-34, 1995.
8. Hirschberg R. Insulin-like growth factor I in the kidney. *Miner Electrolyte Metab*, 22:128-132, 1995.
9. Barengolts EI, Kouznetsova T, Segalene A, et al. Effects of progesterone on serum levels of IGF-I and on femur IGF-I mRNA in ovariectomized rats. *Blackwell Science Inc*, 11:1406-1412, 1996.
10. Rutanen EM. Insulin-like growth factors in endometrial function. *Gynecol Endocrinol*. 12(6):399-406, 1998.
11. Adesanya OO, Zhou J, Bondy CA. Sex steroid regulation of insulin-like growth factor system gene expression and proliferation in primate myometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 81:1967-1974, 1996.
12. Reed MJ, Christodoulides A, Koistinen R, et al. The effect of endocrine therapy with medroxyprogesterone acetate, 4-hydroxyandrostenedione or tamoxifen on plasma concentrations of insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II and IGFBP-1 in women with advanced breast cancer. *Int J Cancer*, 52(2):208-212, 1992.
13. Kapur S, Tamada H, Dey SK, et al. Expression of insulin-like growth factor-I(IGF-I) and its receptor in the peri-implantation mouse uterus, and cell-specific regulation of IGF-I gene expression by estradiol and

- progesterone. *Biol Reprod*, 46:208-219, 1992.
14. Cardona-Gomez GP, Chowen JA, Garcia-Segura LM. Estradiol and progesterone regulate the expression of insulin-like growth factor-I receptor and insulin-like growth factor binding protein-2 in the hypothalamus of adult female rats. *J Neurobiol*. 43:269-281, 2000.
 15. Ohlth KM, Bagnell CA. Relaxin-induced deoxyribonucleic acid synthesis in porcine granulosa cells is mediated by insulin-like growth factor-I. *Biol Reprod*, 53:1286-1292, 1995.
 16. Lee CY, Henricks DM. Comparisons of various acidic treatments of bovine serum on insulin-like growth factor-I immunoreactive and binding activity. *J Endocrinol*, 127:139-148, 1990.
 17. Hossenlopp P, Seurin D, Segovia-Quinson B, et al. Analysis of serum insulin-like growth factor binding proteins using western blotting: use of the method for titration of the binding proteins and competitive binding studies. *Anal Biochem*, 154:138-143, 1986.
 18. Rosen CJ, Pollak M. Circulating IGF-I: New Perspectives for a New Century. *Trends Endocrinol Metab*. 10:136-41, 1999.
 19. Lee CY. The insulin-like growth factor system at the interface of growth, metabolism and nutrition. *J Anim. Sci. & Technol*, (Kor.) 42:795-816, 2000.
 20. Collet-Solberg PF, Cohen P. The role of the insulin-like growth factor binding proteins and the IGFBP proteases in modulating IGF actions. In: Vassallo J, editor. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America. Growth and Growth Disorders*, Philadelphia: W. B. Saunder Company, pp 591-614, 1996.
 21. Giudice LC, Irwin JC, Dsupin BA, et al. Insulin-like growth factor(IGF), IGF binding protein (IGFBP), and IGF receptor gene expression and IGFBP synthesis in human uterine leiomyomata. *Hum Reprod*, 8:1796-1806, 1993.
 22. Gao JG, Zhu HH, Fan J, et al. Progestin and antiprogestin differentially regulate the expression of insulin-like growth factors(IGF-I and IGF-II) messenger ribonucleic acid in human endometrial stromal cells. *Biol Reprod*, 53:355-360, 1995.
 23. Brown AL, Fraham DE, Nissley SP, et al. Developmental regulation of insulin-like growth factor II mRNA in different rat tissues. *J Biol Chem*, 261:13144-13150, 1986.
 24. Lee CY, Chung CS, Simmen FA. Ontogeny of the porcine insulin-like growth factor system. *Mol Cell Endocrinol*, 93:71-80, 1993.
 25. Daughaday WH, Rotwein P. Insulin-like growth factors I and II. Peptide messenger ribonucleic acid and gene structure serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev*, 10:68-91, 1989.
 26. Lee CY, Bazer FW, Etherton TD, et al. Ontogeny of insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) and IGF-binding proteins in porcine serum during fetal and postnatal development. *Endocrinology*, 128:2336-2344, 1991.
 27. Reinhardt RR, Bondy CA. Insulin-like growth factors cross the blood-brain barrier. *Endocrinology*, 135:1753-1761, 1994.
 28. Carro E, Nunez A, Busiguina S, et al. Circulating insulin-like growth factor mediates effects of exercise on the brain. *J Neurosci*, 20:2926-2933, 2000.
 29. Becker K, Stegenga S, Conway, S. Role of insulin-like growth factor I in regulating growth hormone release and feedback in the male rat. *Neuro endocrinology* 61:573-583, 1995.
 30. Martinoli MG, Pelletier G. Dihydrotestosterone (DHT) regulation of insulin-like growth factor II mRNA in neonatal rats. *Peptides*. 12:1267-1271, 1991.
 31. Kitraki E, Philippidis H, Stylianopoulou F. Hormonal control of insulin-like growth factor-II gene expression in the rat liver. *J Mol Endocrinol*. 9:131-6, 1992.
 32. Olujemisi O, Adesanya JZ, Carolyn AB. Sex steroid regulation of insulin-like growth factor system gene expression and proliferation in primate myometrium. *J Clin Endocrinol Metab*, 81:1967-1974, 1996.
 33. Leung KC, Ho KK. Measurement of growth hormone, insulin-like growth factor I and their binding proteins: the clinical aspects. *Clin Chim Acta*. 313:119-23, 2001.
 34. Albiston AL, Herington AC. Tissue distribution and regulation of insulin-like growth factor(IGF)-binding protein-3 messenger ribonucleic acid(mRNA) in the rat: comparison with IGF-I mRNA expression. *Endocrinology*, 130:497-502, 1992.
 35. Arany E, Zabel P, Hill DJ. Rapid clearance of human insulin-like growth factor binding protein-3 from the rat circulation and cellular localization in liver, kidney and stomach. *Growth Regul*. 6:32-41, 1996.
 36. Lemmey AB, Glassford J, Flick-Smith HC, et al. Differential regulation of tissue insulin-like growth

- factor-binding protein (IGFBP)-3, IGF-I and IGF type I receptor mRNA levels, and serum IGF-I and IGFBP concentrations by growth hormone and IGF-I. *J Endocrinol.* 154:319-328, 1997.
37. Landau D, Chin E, Bondy C, *et al.* Expression of insulin-like growth factor binding proteins in the rat kidney: effects of long-term diabetes. *Endocrinology.* 136(5):1835-1842, 1995.
 38. McLellan KC, Hooper SB, Bocking AD, *et al.* Prolonged hypoxia induced by the reduction of maternal uterine blood flow alters insulin-like growth factor-binding protein-1 (IGFBP-1) and IGFBP-2 gene expression in the ovine fetus. *Endocrinology.* 131:1619-1628, 1992.
 39. Fervenza FC, Tsao T, Hoffman AR, *et al.* Regional changes in the intrarenal insulin-like growth factor-I axis in diabetes. *Kidney Int.* 51(3):811-818, 1997.
 40. Giudice LD, Milkowski DA, Lamson G, *et al.* Insulin-like growth factor binding proteins in human endometrium: steroid-dependent messenger ribonucleic acid expression and protein synthesis. *J Clin Endocrinol Metab,* 72(4): 779-787, 1991.
 41. Giudice LC, Irwin JC, Dsupin BA, *et al.* Insulin-like growth factors(IGFs), IGF binding proteins(IGFBPs) and IGFBP protease in human uterine endometrium: their potential relevance to endometrial cyclic function and maternal-embryonic interactions. In Baxter RC, Gluckman PD, Rosenfeld RG eds. *The insulin-like growth factors and their regulatory proteins. Amsterdam: Elsevier Science,* 351-361, 1994.
 42. Cann CH, Fairclough RJ, Browne CA, *et al.* Uterine luminal content of insulin-like growth factor (IGF)-I and endometrial expression of mRNA encoding IGF-binding proteins 1 and 2 during the oestrous cycle and early pregnancy in the ewe. *Reprod Fertil Dev.* 10:155-163, 1998.