

설치류 배란 시 난포세포의 증식-분화 전이 조절 기전: Interferon- α System의 역할

전남대학교 호르몬연구센터/생명과학기술학부¹, 고려대학교 생명과학대학 생명과학부²

전상영¹ · 전미진¹ · 서유미¹ · 김태성²

Mechanisms of Granulosa Cell Transition from Proliferation to Differentiation During the Ovulatory Process in Rodents: Role of Interferon- α System

Sang-Young Chun¹, Mee-Jin Jeon¹, You-Mi Seo¹, Tae Sung Kim²

¹Department of Biological Sciences & Technology and Hormone Research Center,
Chonnam National University, Kwangju, Korea

²School of Life Sciences & Technology, Korea University, Seoul, Korea

서 론

포유류 난소의 난포 (follicle)는 생식세포인 난자 (oocyte)를 둘러싸고 있는 체세포, 즉 과립막세포 (granulosa cells)와 난포막세포 (theca cells)로 구성된 조직 단위를 지칭한다. 난포의 성장은 난자와 체세포의 긴밀한 상호작용 하에 조절되며 둘 중 하나라도 이상이 생기면 그 난포는 퇴화되어 죽는다. 난포는 성장 단계에 따라 원시난포 (primordial follicle), 미성숙난포 (immature follicle) 및 배란전난포 (pre-ovulatory follicle)로 구분할 수 있으며, 성장 단계 중 일어나는 중요한 현상에는 난포 성장 개시 (initiation), 모집 (recruitment), 선발 (selection) 및 배란 (ovulation) 등이 포함된다.¹ 난포 성장은 뇌하수체에서 분비되는 LH와 FSH 뿐만 아니라 난포에서 분비되는 각종 난소국부호르몬들에 의해 통합적으로 정교하게 조절된다. 난소국부호르몬들은 일반적으로 난포 성장 과정에서 특이한 시기에만 발현되어 특정한 기능을 수행함으로써 난포가 배란을 성공적으로 이룰 수 있도록 도와준다.

난소의 배란전난포는 시상하부호르몬인 luteini-

zing hormone (LH) surge를 받으면 난포의 세포층이 분해, 파열되어 난자가 나팔관으로 들어가 수정을 위한 준비를 하는 배란 (ovulation)이 일어나게 된다.² 배란은 생체 내에서 생리적으로 조직이 생식주기에 따라 파열되었다가 재조합하는 유일무이한 현상이며, 단태성 동물에서는 수십만 개의 난포 중 하나만이 선발되어 배란에 사용된다. 엄격히 규정짓자면, LH surge에 의해 유도되는 배란에는 4가지 독립적 현상, 즉, 난자성숙 (oocyte maturation), 난포 파열 (follicle rupture), cumulus 팽창 (expansion) 및 황체형성 (corpus luteum formation)이 포함된다 (Figure 1). 난자성숙 기전에 관한 연구는 60년대부터 진행되어 현재는 많은 사실이 규명 되어 있다. 80년 중반부터 난포파열에 관한 연구가 활발히 진행되었으며, 난포벽을 형성하고 있는 구조 연구 및 분해되는 과정과 이를 조절하는 유전자 연구가 주를 이루었다. 그러나 과립막세포가 배란 시 황체세포로 분화하는 기전에 관한 연구는 거의 밝혀져 있지 않은 실정이다. 본 중설에서는 최근 수행한 microarray 결과를 토대로 하여 황체세포로의 분화에 중요하다고 여겨지는 인자를 중심으로 하여 증식에서 분화로 전이하는 기전을 나름대로 확립하고자 하였다.

주관책임자: 김태성, 우) 136-701 서울특별시 성북구 안암동 5가 1번지, 고려대학교 생명과학부

Tel: (02) 3290-3416, e-mail: tskim@korea.ac.kr

*본 연구는 과학기술부 특정기초연구사업의 연구비 (RO1-2005-000-10459-0) 지원으로 수행되었음.

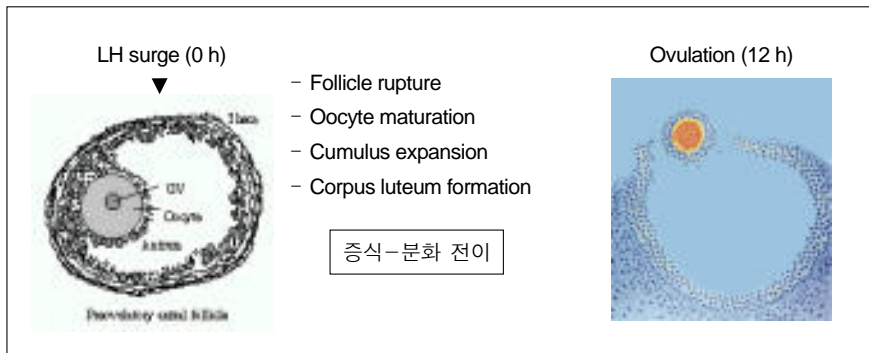


Figure 1. Ovulation in rodents: four independent processes and characteristics.

배란 실험 모델 및 한계점

In vivo 모델로는 주로 superovulation 모델을 사용하고 있다. 즉, 미성숙 rat이나 mouse에 FSH 유사체인 PMSG (pregnant mare's serum gonadotropin)를 주사하여 많은 수의 난포가 배란전난포로 성장하게끔 유도한다. 이 모델에서 유의할 사항은 PMSG 주사에 반응하는 쥐의 나이가 한정되어 있다는 점이다. Rat에서는 보통 생후 24~27일에 10~20 IU의 PMSG를 주사하면 40~80개 정도의 배란전난포가 성장된다. PMSG에 가장 민감하게 반응하는 정확한 생후 날수는 strain에 따라 다르기 때문에 예비 실험을 거쳐 쥐의 생후 날수를 정해야 한다. 또한 PMSG 투여량을 20 IU 이상 높이면 조기 배란이 유도될 수 있기 때문에 피하는 것이 좋다. Mouse는 rat 보다 성장이 조금 빠르기 때문에 보통 생후 21~24일에 5~10 IU PMSG를 주사한다. PMSG 주사는 장시간 효과를 요하기 때문에 subcutaneous로 투여하는게 좋으며, 보통 오전 10시 이전에 투여해야 한다. PMSG 투여 이틀 후 hCG (human chorionic gonadotropin) 5~10 IU를 복강주사하면 12시간 후 배란이 일어난다. Human hCG를 투여한 다음날 오전 난관에 배란된 난자를 회수하여 배란율을 검사할 수 있다. 배란율에 미치는 물질을 검색하는 방법으로는 난소국부 투여인 intrabursa injection을 사용할 수 있다. 이는 복강을 열어 검색할 물질을 난소를 둘러싸고 있는 막인 bursa 안에 가는 주사바늘을 사용하여 투여하는 방법이다. 이 방법은 투여할 물질의 양을 syste-

matic 투여보다 5배 가량 낮출 수 있는 장점이 있으나, 투여 방법이 어렵고 성공율이 50% 정도라는 문제점을 지니고 있다.

PMSG 투여 2일 후 난소를 배양액에 넣은 상태에서 해부현미경 하에서 배란전난포를 절개하거나 배란전난포의 과립막세포를 회수하여 in vitro에서 배양을 할 수 있다. Serum-free 상태로 배양해야 LH 수용체를 유지할 수 있다. 배란전난포 배양은 산소 농도가 높을수록 세포 생존율이 높다고 알려져 있어,³ 보통 95% O₂-5% CO₂ 하에 배양한다. 난포 배양은 조직 배양이기 때문에 과립막세포 배양보다 처리할 물질의 농도를 보통 5배 정도 높여주는 것이 좋다.⁴ 또한 고려할 사항은 처리할 물질이 난포의 theca와 basement membrane의 통과 여부를 검사해야 한다. 배란전난포 배양은 과립막세포 배양에 비해 ex vivo 적인 측면이 있기 때문에 결과에 대한 신뢰성이 높은 점이 일반적인 견해이다. 특히 스테로이드 호르몬 분비 측정이나 세포고사 검색 실험은 난포의 특정상 난포 배양을 해야만 한다. 과립막세포 배양은 일반세포 배양과 동일한 조건 하에 수행한다. 과립막세포 회수 시 배란전난포에서만 과립막세포를 얻는 것이 좋다. 과립막세포 회수 시 약 40% 가량의 세포는 죽는 경향이 있으므로 배양할 때는 죽은 세포들은 제거해야 한다. 보통 collagen 혹은 fibronectin을 coating한 배양 dish를 사용하여 serum-free 상태에서 약 2시간 동안 attach 시킨 후 테스트할 물질을 처리한다.

배란 기전 연구에서 가장 어려운 점은 실험 방법상의 한계점이며, 이를 두 가지로 요약할 수 있다.

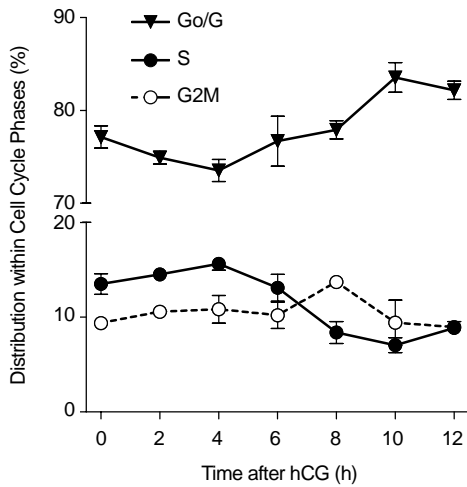


Figure 2. FACS analysis demonstrating changes in cell cycle phases of preovulatory granulosa cells after the ovulatory dose of hCG administration.

먼저 배란난포의 과립막세포는 완전 성숙된 세포이기 때문에 transfection이 용이하지 않다는 점이다. 또한 serum하에서 배양하면 LH 수용체가 없어지기 때문에 transfection이 거의 불가능하다고 할 수 있다. 두 번째 한계점은 in vivo 현상을 mimic 할 수 있는 in vitro 배란 모델이 없다는 점이다. 배란전난포를 배양하면 난자성숙과 cumulus expansion은 일어나지만, 난포과열과 황체세포로의 분화는 일어나지 않는다. 따라서 검색할 물질이 난포벽을 과열시키는 정도나 과립막세포가 황체세포로 분화하는데 미치는 영향을 직접적으로 규명할 수 없다는 한계점이 있다. 이러한 배란 연구의 한계점을 극복할 수 있는 방안이 고안되면 배란 조절 기전 연구는 획기적으로 진척이 될 것이다.

세포주기의 변화

배란전난포의 과립막세포는 최고치의 증식에 도달한 세포이며, 배란을 일으키는 LH surge의 자극에 의해 증식을 멈추고 분화의 길로 접어들게 된다.⁵ 이러한 확인한 가설에도 불구하고 증식에서 분화로 전이하는 기전에 관한 연구는 앞서 밝힌 한계점 때문에 전혀 알려져 있지 않은 실정이다. 단지 황체세포가 발달되면 P450_{scc} 효소나 Sgk 등이 증가한다는 간접적인 index만 있을 뿐이다.⁶

본 연구팀에서는 배란 후 과립막세포의 세포주기별 분포를 시간별로 FACS 분석을 통해 조사하였다. 배란 유도 호르몬인 LH/hCG를 주사한 후 4시간까지는 G₂/M과 S 기의 세포 수가 늘며 G₀/G₁ 기의 세포 수는 감소하는 경향을 보였다 (Figure 2). 그러나 4시간 후 부터 12시간까지는 역으로 G₀/G₁ 기의 세포 수는 서서히 증가하는 반면 S 기의 세포 수는 현저히 감소함을 볼 수 있다. 4시간에 15.6%이던 S 기 세포는 10시간째에는 7.0%로 감소하며, primary 세포임을 감안할 때 이 감소율은 생리적으로 의미가 있는 것이다. 본 결과는 배란 시작 후 세포주기가 일정한 패턴으로 변함을 보여주며, 세포주기를 조절하여 증식하던 과립막세포의 증식을 멈추게 하고 이 때 세포사망을 방지하는 기전이 존재하며 그 후 황체세포로 분화시키는 조절 물질이 존재함을 시사하고 있다.

Interferon- α 시스템

Interferon은 세포 증식을 억제하고 동시에 분화를 촉진하는 면역조절 물질로 알려져 있다. Interferon family에는 α , β , γ 세 가지가 있으며 interferon- α 에는 12가지 isoform이 존재한다. 또한 interferon regulatory factors (IRFs)가 interferon의 발현을 조절한다고 알려져 있다.⁷ 본 연구팀은 mouse 배란전난포 체외 배양과 DNA microarray 기법을 이용하여 배란활성 조절 물질을 조직적으로 발굴하였다. Microarray 데이터를 분석한 결과 증식에서 분화로 변이를 촉진하는 인자들 다수가 LH 호르몬에 의해 특정한 시간에 발현이 촉진되었다. 특히 interferon- α 7 시스템에 관련된 유전자들 다수가 검색되었다. Figure 3에서 볼 수 있듯이, interferon- α 7을 제외한 interferon- γ , interferon- β 그리고 나머지 interferon- α subtypes의 발현은 배란 유도 호르몬인 LH/hCG에 의해 촉진되지 않았다. Interferon receptor type I과 II는 LH/hCG에 의해 발현이 증가하지는 않았지만, 어느 정도의 수준에서 지속적으로 유지되었다. 약 10종류로 알려진 IRFs 중 IRF1/3/7의 발현 정도가 높은 편이었으며, 특히 IRF7은 LH/hCG에 의해 현저히 그 발현이 촉진되었다. 본 결과는 interferon- α 7만이 배란 시 발현되며 interferon과 관련된 유전자 6~7개가 동시에

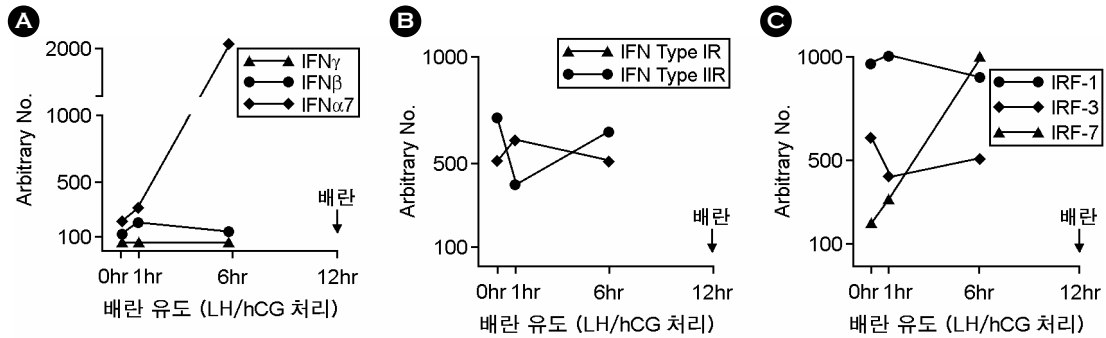


Figure 3. Analysis of microarray data showing the expression pattern of interferon family (A), interferon receptors (B) and interferon regulatory factors (C) after LH/hCG stimulation in the mouse ovary.

발현한다는 사실은 interferon- α 7이 배란에 중요한 기능을 담당하리라는 점을 시사한다. 따라서 interferon- α 7이 황체세포로 분화를 촉진하는 주요인자라는 가정 하에 그 기능 및 작용 기전을 밝히는 연구가 남아 있다.

배란 및 증식-분화 전이 조절인자

단백질 분해 효소를 난포액이나 난포벽에 노출시키면 난포가 파열되며, plasmin 활성화 시스템 및 matrix metalloproteinases (MMPs)의 활성화에 의해 배란이 이루어진다.⁸ 80년대 초기 연구에서는 방사선동위원소를 이용하여 난포의 collagen이 배란 과정 동안 현저히 분해 됨을 보고하였다.⁹ 최근 들어, 20가지 이상의 MMPs 유전자가 존재함이 확인되면서 배란에 직접적으로 관여하는 MMP의 규명에 관한 연구가 이루어졌다. MMPs는 기질특이성에 따라 6가지 그룹으로 분류할 수 있으며, 난포벽 분해에 중요한 MMPs로는 surface epithelium 및 basement membrane을 이루고 있는 collagen IV/V를 분해하는 MMP-9이 보고 되었다.¹⁰ MMP-2는 난소에 활성화된 상태로 존재하다가 성선자극호르몬의 자극에 의해 불활성화되는 반면, MMP-9은 LH/hCG에 의해 배란전난포에서 활성화가 촉진되었다. Rat interstitial collagenase라 불리는 MMP-13은 난포벽에 존재하는 collagen I/III을 분해하는 'true' collagenase일 것이라는 가설에도 불구하고 그 기능 및 작용은 아직 규명되지 않고 있다. MMP-13의 promoter에 AP-1 결합 부위가 존재하는 것으로 미루어 아마 LH surge가

배란전난포에 MMP-13의 발현을 유도할 것으로 예상하고 있다. 최근에는 membrane-anchored MMP인 MMP-23 발현이 난소에서 세포특이적으로 성선자극호르몬에 의해 조절됨이 보고 되었다.¹¹ 이러한 난포벽 파열에 가장 중요한 인자는 progesterone receptor (PR)이다. 전사인자인 PR의 발현이 LH/hCG에 의해 배란전난포의 과립막세포에 일시적으로 유도됨이 밝혀졌다.^{12,13} PR knock-out mice는 배란이 전혀 일어나지 않으며, 황체형성이나 난자성숙 등은 정상이지만 단지 난포벽이 파열되지 않는 현상을 확인하면서 PR의 작용 및 표적유전자 탐색에 연구의 초점을 두게 되었다.¹⁴ PR 전사조절 부위의 분석 연구는 다양한 인자들의 상호결합에 의한 조절 때문에 명백한 규명은 하지 못하고 있는 실정이다.

Cumulus expansion을 조절하는 인자에 관한 연구는 최근 10여년간 괄목할만한 진척을 이루었으며, Prostaglandin (PG)이 중요함이 확인되었다. Cyclooxygenase inhibitor인 indomethacin 투여는 난자성숙이나 황체형성에는 영향을 미치지 않고 단지 난포파열만 억제하였으며, indomethacin에 의해 억제된 배란은 rat에서는 PGE₂, rabbit/monkey에서는 PGF_{2 α} 의 투여에 의해 정상적으로 환원되었다.^{15,16} 최근에는 4가지 세포막 PGE₂ 수용체 (EP₁₋₄)가 클로닝되면서 PGE₂의 작용 기전에 관한 규명이 이루어지게 되었다. EP₃나 EP₄ knock-out mice는 생식 능력이 정상인 반면에 EP₂ knock-out mice는 생식 능력이 현저히 저하되었다.¹⁷ 그 원인이 cumulus 세포의 expansion에 이상이 발생하여 수정이 이루어지지 않기 때문인 것으로 밝혀져, PG가 MMP의 활성을 조절하여

cumulus expansion을 정상적으로 유지하는 작용에 의해 배란에 기여하는 것으로 가닥이 잡혔다.

과립막세포가 증식을 멈추고 황체세포로 전이하는 기전에 대해서는 전혀 알려져 있지 않다. 황체세포로의 분화에 중요한 인자는 CCAAT/enhancer-binding protein β (C/EBP β)이다. Basic leucine zipper를 지닌 전사조절인자인 C/EBP β 유전자 발현은 LH/hCG에 의해 30분 이내에 배란전난포의 과립막세포에 유도되며 4~7시간 사이에 최고치에 도달한다.¹⁸ C/EBP β knock-out mice는 배란에 이상이 생겨 황체가 형성되지 않아 sterile이며, PGS-2 및 P450 aromatase 유전자 발현이 wild type mice에 비해 배란 과정 동안 높은 수준으로 장시간 동안 유지되는 현상을 보였다.¹⁹ 배란 과정에서 C/EBP β 의 표적유전자 및 작용 기전에 관한 연구가 장래의 숙제로 남아있다. 기타 증식-분화 전이를 조절할 가능성이 있는 후보 인자들을 정리하면 다음과 같다.

1. Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)

PACAP은 신경펩타이드호르몬이며, 난소에서는 hCG에 의해 PACAP 유전자 및 단백질이 배란전난포의 과립막세포에서 일시적으로 발현되었다.²⁰ 또한, PACAP 수용체도 PACAP과 동일한 발현 양상을 보여 PACAP이 autocrine 작용으로 배란을 조절하리라는 가설을 얻을 수 있다.

2. Nerve growth factor inducible-B (NGFI-B)

Mouse에서는 Nur77이라 지칭되는 NGFI-B는 고아핵수용체로서 초기발현 전사인자로 알려져 있다. 난소에서는 NGFI-B가 난포막세포에 발현되다가 LH surge의 자극을 받으면 1시간 내로 급격히 배란전난포의 과립막세포에 그 발현이 유도되어 6시간 후 사라진다.²¹ 흥미로운 사실은 LH 수용체의 신호전달경로 중 atypical PKC에 속하는 PKC ζ 활성화가 NGFI-B 발현에 필요하다는 사실이다. 배란 과정에서 새로운 신호전달경로인 PKC ζ 에 의한 cascade가 어떠한 생리적 기능과 연관되어 있는지를 규명하는 연구가 남아있다. 또한 LH에 의한 PKC ζ 의 활성화 경로는 지금까지 전혀 알려지지 않았기 때문에 이에 대한 연구는 배란 조절 기전을 밝히는데 새로운 지

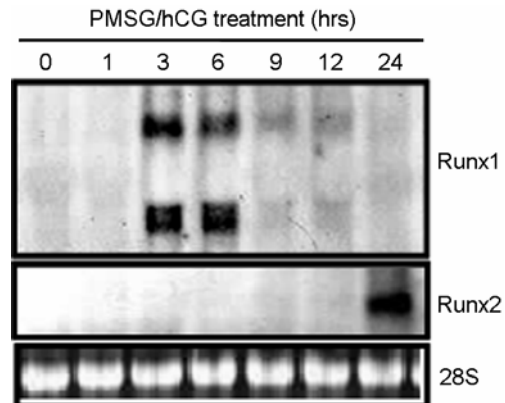


Figure 4. Northern analysis showing the expression of Runx genes during the LH/hCG- induced ovulation.

표를 부여할 것이다.

3. p11

Calpactin I light chain이라고도 불리는 p11은 S100 계열의 칼슘결합 단백질로 알려져 있다.²² 최근에는 p11이 세포고사인자인 Bcl-2-associated death promoter (BAD)와 결합하여 세포 생존에 필요한 인자임이 보고 되었다.²³ 난소에서는 p11이 LH/hCG에 의해 배란전난포의 과립막세포에서 6~9시간 사이에 최고치를 이루는 일시적 발현 양상을 보였다.²⁴ 배란 과정 동안 p11이 지닌 생리적 기능 및 작용 기전을 규명하는 연구가 앞으로 필요할 것이다.

4. Runx1

Runx1은 runt box라 불리는 DNA 결합 부위를 지닌 전사조절인자로 knock-out mice 연구에 의해 혈구세포분화에 중요한 인자로 알려져 있다.²⁵ 여러 시스템에서 runx는 초기분화를 촉진하는 기능을 보고하였으며, LH에 의한 초기 황체분화에 따른 발현 변화를 조사했다. Figure 4에서 보듯이, runx1의 발현은 배란 유도 후 3~6시간 사이에 현저히 촉진되었다가 9시간 지나서는 완전히 발현이 사라졌다. 반면 runx2의 발현은 배란이 종료된 후 24시간에 발현이 촉진되었다. 발현되는 세포를 알기 위하여 in situ hybridization을 수행한 결과, LH/hCG를 투여하기 전의 난소에서는 (Figure 5, control) 전혀 발현되지 않다가, LH/hCG 투여 3시간째 난소에서는 runx1과

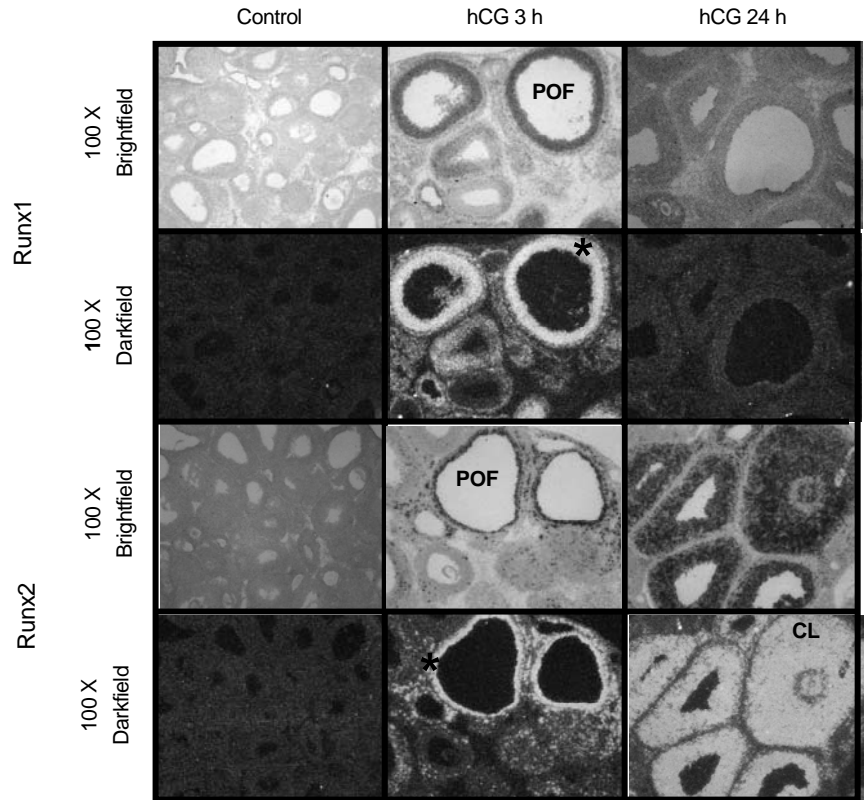


Figure 5. In situ hybridization analysis showing the cell-type specific expression of Runx in the ovary. POF, Preovulatory follicle; CL, corpus luteum.

runx2 모두 단지 배란전난포의 과립막세포에만 특이적으로 그 발현이 관찰되었다 (Figure 5, hCG 3h). 성장 중인 난포에서는 발현을 보여주지 않았다. 배란이 끝나 황체가 형성된 난소인 24시간째 난소에서는 runx2가 황체세포에서 현저히 높은 수준으로 관찰되었다. 본 결과는 runx1은 배란 시 초기분화에 중요하며 발현되는 시점을 고려하면 interferon- α 의 전사를 조절할 런지도 모른다는 점을 시사한다. 반면 runx2는 황체형성 보다는 황체 유지에 필요한 전사조절인자 인 듯하다.

황체세포로의 분화 전이 조절에 대한 가설

일반적으로 분화로 전이하는 세포는 G₀ 기로 들어가 세포주기를 멈추게 된다. 이 때 일련의 현상들이 발생하는데, 우선 세포주기가 멈추기 전에 약 3

세포주기는 G₁ 기가 짧은 매우 빠른 속도의 주기를 보이며, 이를 "maturation division"이라 지칭한다.²⁶ 그 후 세포는 P21^{cip1}, P27^{kip1} 등 억제인자에 의해 G₁/G₀ 기로 들어가 분화를 한다.²⁷ G₁/G₀ 기에 있는 세포는 분화/축진 인자의 자극이 없으면 세포자멸사 (apoptosis)가 쉽게 일어나므로 세포자멸사를 억제하는 인자가 필요하다. 배란 과정에서도 유사한 현상이 존재한다. 즉 FSH (=PMSG) 호르몬에 의해 과립막세포는 최고치의 증식을 달성하며 LH (=hCG) 호르몬에 의해 증식을 하던 과립막세포는 황체세포로 분화를 한다. 그러나 그 기전은 전혀 알려져 있지 않으며, 최근 얻은 microarray 결과 및 기타 연구결과를 토대로 하여 배란 과정 동안 증식-세포주기 중단-분화를 조절하는 기전에 대해 가설을 세울 수 있다 (Figure 6). 즉, 아직 그 기능이 잘 알려져 있지 않은 cyclin G₂나 cyclin L은 FSH에 의한 maturation division을 유도하며, LH surge를 받으면 배란전난포

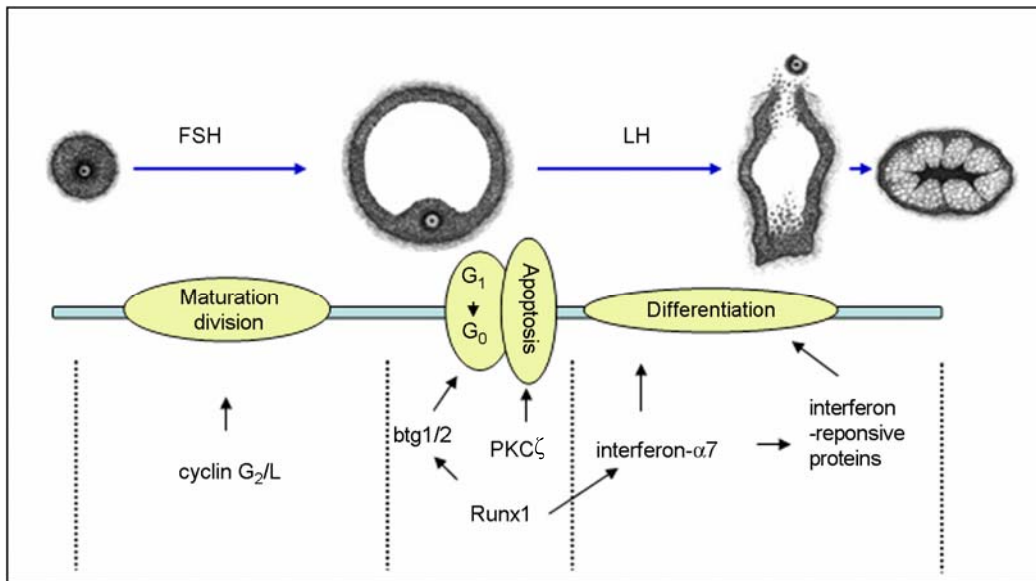


Figure 6. Hypothetical model showing control mechanism of granulosa cell transition from proliferation into corpus luteum differentiation during ovulation.

의 과립막세포에서 Btg가 발현되어 세포를 G₀ 기로 들어가게 한다. 또한 PKC ζ 경로는 과립막세포의 세포자멸사를 억제하며, Runx1 \rightarrow interferon- α 7 \rightarrow interferon-responsive proteins 활성화 경로는 황체세포로의 분화를 지속적으로 촉진하는 역할을 한다는 가설이다.

임상적 고찰: 황체기 결함 질환의 내분비적 원인 규명

황체기 결함이란 배란은 일어나기 때문에 황체는 형성되고 황체에서 프로게스테론은 생성되지만 그 분비량이 미약하여 자궁내막이 부실해지는 현상을 말한다. 임상적으로는 자궁내막생검으로 판단한 월경 날짜가 예정일보다 3일 이상 차이가 나는 현상이 2회 일 때라고 정의한다. 따라서 황체기 결함이 있으면 불임의 원인이 된다거나 습관성 유산의 원인이 된다고 하여 임상에서 주목을 받아 왔다.²⁸ 황체기 결함의 발생 빈도는 불임환자의 3~4%에서 관찰되며 습관성 유산환자의 내분비적 요인 중 가장 관련이 높은 질환으로 알려져 있다. 황체기 결함의 진단은 애매한 면이 있다. 기초체온의 상승기간이 10일 이하이거나 상승되는 경사가 둔할 때 황체기 결

함으로 판정하지만 개인간의 상승시기가 다르기 때문에 일차적으로 적용하는 데는 적합하지 않다. 그 외 혈청 황체호르몬 측정법, 자궁내막생검, 자궁내막 단백질 검사법 등을 사용하고 있다. 황체기 결함의 진단이 애매하듯이 치료 또한 논란이 많다. 황체호르몬을 보충해 주는 방법이 이용되나 그 효과에 대해서는 찬반이 있다.²⁹ 배란 유도를 하고자 할 때 가장 먼저 사용하는 약제로서 시상하부의 GnRH의 기능이 가벼운 정도로 이상이 생겨 배란이 되지 않는 환자에게 배란 유도 용으로 사용하고 있는 약제인 clomiphene을 처리하기도 하나 항에스트로겐의 약리작용으로 인해 유산의 위험이 높아진다는 단점을 지니고 있다. 기타 배란 유도제를 투여하여 난포의 성장을 자극하는 방법이 사용되나 난포의 사망을 유발할 위험성을 내포하고 있다.³⁰ 임상에서 볼 수 있는 황체기 결함의 원인은 프로락틴과다혈증, 체중감소, 난소의 노화, 난소의 자궁내막증 등을 들 수 있으며, 이들은 무월경의 원인과 거의 동일하다고 할 수 있다. 황체기 결함의 내분비학적 원인으로는 주로 난포기, 배란기, 황체기 시 뇌하수체에서 분비되는 FSH나 LH가 감소하는 양상이 알려져 있을 뿐이다. 따라서 황체기 결함 질환 연구분야의 가장 큰 취약점은 그 원인 인자와 기초 기전이 전혀 알려져

있지 않다는 점이며, 그 결과 적절한 진단과 치료 방법이 없다고 할 것이다. 황체세포로의 분화를 조절하는 기전을 규명하려는 시도는 황체기 결함의 원인 유전자를 발굴하는 것과 직접적인 연관성을 지니고 있다. 또한 황체분화와 황체기 결함 질환의 기초-임상 간의 연관성을 고려하면, 황체기 결함 질환의 새로운 진단과 치료법 개발도 본 종설에서 제시한 가설이 규명되면 실현 가능성이 높다고 할 수 있을 것이다.

사사

This work was supported by grant (RO1-2005-000-10459-0) from the Basic Research Program of the Korea Science & Engineering Foundation.

참 고 문 헌

1. Richards JS. Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endoc Rev* 1994; 15: 725-51.
2. Robker RL, Russell DL, Yoshioka S, Sharma SC, Lydon JP, D'Malley BW, et al. Ovulation: a multi-gene, multi-step process. *Steroids* 2000; 65: 559-70.
3. Roby KF, Terranova PF. Effects of tumor necrosis factor- α in vitro on steroidogenesis of healthy and atretic follicles of the rat: theca as a target. *Endocrinology* 1990; 126: 2711-8.
4. Park JI, Kim WJ, Wang L, Park HJ, Lee J, Park JH, et al. Involvement of progesterone in gonadotrophin-induced pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide gene expression in preovulatory follicles of rat ovary. *Mol Human Reprod* 2000; 6: 238-45.
5. Robker PL, Richards JS. Hormonal control of cell cycle in ovarian cells: proliferation versus differentiation. 1998; 59: 476-82.
6. Richards JS. Perspective: the ovarian follicle-a perspective in 2001. *Endocrinology* 2001; 142: 2184-93.
7. Taniguchi T, Takaoka A. The interferon- α/β system in antiviral responses: a multimodel machinery of gene regulation by the IRF family of transcription factors. *Current Opinion Immunol* 2002; 14: 111-6.
8. Lipner H. Mechanism of mammalian ovulation. In: Knobil E, Neill J, editor. *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven prss; 1988. p. 447-85.
9. Reich R, Tsafrii A, Mechanic GL. The involvement of collagenolysis in ovulation in the rat. *Endocrinology* 1985; 116: 521-27.
10. Robker RL, Russell DL, Yoshioka S, Sharma SC, Lydon JP, D'Malley BW, et al. Ovulation: a multi-gene, multi-step process. *Steroids* 2000; 65: 559-70.
11. Ohnishi J, Ohnishi E, Jin M, Hirano W, Nakane D, Matsui H, et al. Cloning and characterization of a rat ortholog of MMP-23 (matrix metalloproteinase-23), a unique type of membrane-anchored matrix metalloproteinase and conditioned switching of its expression during the ovarian follicular development. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 747-64.
12. Park O-K, Mayo KE. Transient expression of progesterone receptor messenger RNA in ovarian granulosa cells after the preovulatory luteinizing hormone surge. *Mol Endocrinol* 1991; 5: 967-78.
13. Natraj U, Richards JS. Hormonal regulation, localization and functional activity of the progesterone receptor in granulosa cells of rat preovulatory follicles. *Endocrinology* 1993; 133: 761-9.
14. Lydon JP, De Mayo F, Funk CR, Mani SK, Hughes AR, Montgomery CA, et al. Mice lacking progesterone receptor exhibit reproductive abnormalities. *Genes Dev* 1995; 9: 2266-78.
15. Tsafrii A, Lindner HR, Zor U, Lamprecht SA. Physiological role of prostaglandins in the induction of ovulation. *Prostaglandins* 1972; 2: 1-10.
16. Wallach EE, Bronson R, Hamada Y, Wright KH, Stevens VC. Effectiveness of prostaglandin F_{2 α} in restoration of hMG-hCG induced ovulation in indomethacin-treated rhesus monkeys. *Prostaglandins* 1975; 10: 129-38.
17. Hizaki H, Segi E, Sugimoto Y, Hirose M, Saji T, Ushikubi F, et al. Abortive expansion of the cumulus and impaired fertility in mice lacking the prostaglandin E receptor subtype EP₂. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 10501-6.
18. Sirois J, Richards JS. Transcriptional regulation of the

- rat prostaglandin endoperoxide synthase 2 gene in granulosa cells. Evidence for the role of a cis-acting C/EBP beta promoter element. *J Biol Chem* 1993; 268: 21931-8.
19. Sterneck E, Tessarollo L, Johnson PF. An essential role for C/EBP β in female reproduction. *Genes Dev* 1997; 11: 2153-62.
 20. Lee J, Park HJ, Choi HS, Kwon HB, Lee BJ, Choi WS, Arimura A, Chun S-Y. gonadotropin stimulation of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) messenger ribonucleic acid in the rat ovary and the role of PACAP as a follicle survival factor. *Endocrinology* 1999; 140: 818-26.
 21. Park JI, Park HJ, Choi HS, Lee K, Lee WK, Chun S-Y. Gonadotropin regulation of NGFI-B messenger ribonucleic acid expression during ovarian follicle development in the rat. *Endocrinology* 2001; 142: 3051-9.
 22. Masiakowski P, Shooter EM. Nerve growth factor induces the genes for two proteins related to a family of calcium-binding proteins in PC12 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 1277-81.
 23. Hsu SY, Kaipia A, Zhu L, Hsueh AJW. Interference of BAD (Bcl-XL/Bcl-2-associated death promoter)-induced apoptosis in mammalian cells by 14-3-3 isoforms and p11. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 1858-67.
 24. Chun S-Y, Bae HW, Kim WJ, Park JH, Hsu SY, Hsueh AJW. Expression of messenger ribonucleic acid for the antiapoptosis gene p11 in the rat ovary: gonadotropin stimulation in granulosa cells of preovulatory follicles. *Endocrinology* 2001; 142: 2311-7.
 25. Coffman JA. Runx transcription factors and the developmental balance between cell proliferation and differentiation. *Cell Biol International* 2003; 27: 315-32.
 26. Brown G, Hughes PJ, Michell RH. Cell differentiation and proliferation - simultaneous but independent? *Exp Cell Res* 2003; 291: 282-8.
 27. Matushansky I, Radparvar F, Skoultchi AI. Manipulating onset of cell cycle withdrawal in differentiated erythroid cells with cyclin-dependent kinases and inhibitors. *Blood* 2000; 96: 2755-64.
 28. Nakajima ST, Molloy MH, Oi RH, et al. Clinical evaluation of luteal function. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 219-21.
 29. Karamardian LM, Grimes DA. Luteal phase deficiency: effect of treatment on pregnancy rate. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 167: 1391-8.
 30. Blackwell RE. Luteal phase defects and related dysfollicular entities. In: seibel MM, Blackwell RE, editor. ovulation induction. New york : Raven press; 1994; p. 73-80.