

## Platelet-Activating Factor (PAF)가 생쥐의 배란, 초기배아의 발달 및 착상에 미치는 영향

충남대학교 의과대학 산부인과학교실

강길전 · 이영일

### Effect of Platelet-Activating Factor (PAF) on Murine Ovulation, Early Embryo Development and Implantation

Kil-Chun Kang, M.D., Ph.D. and Young-IL Lee, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Chungnam National University*

#### = Abstract =

An embryo-derived platelet activating factor (PAF) has been demonstrated to play an important role in reproduction.

This report examined the effect of PAF on ovulation, fertilization, embryo development, implantation and fetal viability by using murine model. PAF had no stimulatory effect on ovulation and fertilization. But PAF had stimulatory effect on embryo development in in-vitro test, in spite of no effect on implantation and fetal viability.

These results demonstrate that exogenous PAF could enhance embryo development and implantation and give suggestion that PAF may play a role in human IVF program.

#### 서론

1872년 Benveniste 등은 혈소판을 자극하면 어떤 물질이 유리되고, 그것이 혈관을 수축하는 성질이 있음을 관찰하였으며, 이 물질을 platelet-activating factor (이하 PAF)라 명명하였다. 그 이후 PAF는 다형백혈구 (Mueller et al., 1983), 대식세포 (Ninio et al., 1982), natural killer lymphocyte (Malavasi et al., 1986), 혈관내피세포 (Camussi et al., 1983) 및 호염기구 (Pinckard et al., 1979) 등에서 생성되며, 염증반응을 일으키는데 관여하고 (Hanahan, 1986, Pinckard, 1982), 혈압의 하강작용 (Stimler et al., 1981), 혈관의 투과성 증가 (Bjork et al., 1983), 근육세포의 수축 (Findlay et al., 1981), 그리고 간에서는 탄수화물의 분해를 촉진하며 (Buxton et

al., 1986), 개 및 토끼에서는 태생기의 폐조직의 성숙과 표면활성에 관여하며 (Kumar et al., 1985), 그리고 사람에서는 분만 직전 양수내 PAF가 분만개시에 관여한다 (Billa et al., 1983)는 사실등이 밝혀지게 되었다.

최근에는 PAF가 자궁내막조직 (Yasuda et al., 1986), 난관조직 (Kudolo et al., 1988) 및 정충 (Kumar et al., 1988) 등에서 발견되어 PAF가 생식생리 분야에도 무관하지 않으리라는 추측이 가능하게 되었다.

또한, 쥐의 난소 활액막 (bursa)에 PAF길항제를 주사하여 배란이 억제되고, 이것이 PAF에 의하여 회복된다는 사실은 PAF가 배란에도 관여하고 (Abisogun et al., 1989), PAF가 생쥐 배아에서 lactate의 이용율을 증가시킨다는 보고 (Ryan et al., 1989)는 PAF가 배아발달에도 관여하며, 사람과 생쥐의 배아에서 PAF가 생성·분비되어 배아의 생명력을 증강시키고 (Ryan et al., 1990a, Spinks et al., 1990), PAF가 자궁내막에 직접 작용하여 혈관 투과성을 증가시키

\* 이 논문은 1990년도 문교부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었음.

고 (Humphrey et al., 1982), 탈락막화를 증가시킨다 (Acker et al., 1989)는 사실등은 PAF가 착상하기전 자궁내막을 준비하는데 있어서 배아와 자궁내막간의 신호체계를 형성하는 것으로 알려지고 있다.

그러나, 다른 한편으로는 PAF가 토끼의 포배에서는 증명되지 않는다는 보고 (Angle et al., 1988a), 생쥐에서 PAF길항제를 투여하여도 착상이 억제되지 않는다는 보고 (Milligan et al., 1990) 및 항 PAF항체를 이용한 방사면역측정법으로 생쥐 배아에서 PAF가 증명되지 않는다는 점 (Small et al., 1990) 등은 아직도 이 분야에 관하여 상반된 논리가 존재하고 있음을 의미하는 것이다.

따라서 본 연구는 생쥐를 실험 모델을 이용하여 PAF가 생쥐의 배란, 수정, 배아발달, 착상 및 태아생존력 등에 미치는 영향 등을 관찰하고자 시도되었다.

## 재료 및 방법

### 1. 배양액 및 시약의 제조

#### 1) Ham F-10/1% BSA 용액의 제조

Ham F-10 powder를 1L의 5차 증류수에 녹히고, 여기에 penicillin 18.75 mg, streptomycin 12.5 mg, Ca lactate 245 mg 및  $\text{NaHCO}_3$  1.58 gm을 차례로 혼합하여 Ham F-10 용액을 만들고 이를 삼투압 280-285 mOsm/kg와 pH 7.4가 되도록 조정하고 filter sterilization시켰다. 그리고 용적비가 1%가 되도록 bovine serum albumin 용액을 Ham F-10 용액에 첨가하여 Ham F-10/1% BSA 용액을 만들었다.

#### 2) PAF의 실험용액 제조

PAF-acether 1 mg을 absolute ethanol 1 ml에 용해시킨 다음  $\text{N}_2$ 하에서 증발시키고, 이를 PBS/0.25% BSA 10 ml 용액에 혼합하여 저장용액을 만들고  $-20^\circ\text{C}$ 에서 보관하였다.

실험용액은 PBS/0.25 BSA 용액 200 ul에 PAF가 0.1, 1, 3 및 12 ug이 함유되도록 적당량 첨가하여 제조하였다.

#### 3) PBS/0.25 BSA 용액의 제조

Dulbecco PBS powder를 1L의 5차 증류수에 용해시키고, 여기에  $\text{CaCl}_2$  100 mg, penicillin 18.75 mg 및 streptomycin 12.5 mg을 첨가하여 PBS 용액을 만들고, 이를 삼투압 280-285 mOsm/kg와 pH 7.4가 되도록 bovine serum albumin 용액을 PBS 용액에 첨가하여 PBS/0.25% BSA 용액

을 만들었다.

### 2. 생쥐의 사육

실험동물은 암컷은 생후 6-8주, 수컷은 10-12주 된 것을 분양받아 실온에서 명암조절과 물 및 사료를 최적으로 유지시키면서 사육하였다.

### 3. 실험내용

#### 1) 배란전 투여한 PAF가 배란에 미치는 영향

Pregnant Mare Serum Gonadotropin (이하 PMSG) 7 IU를 생쥐 복강내 주사하고, 48시간 후 Human Chorionic Gonadotropin (이하 HCG) 3 IU를 복강내 주사한 다음 (이 날을 0일로 정함) 즉시 수컷을 암컷의 우리에 넣어 교미토록 하였다. 다음날 아침 질전이 확인되면 임신된 것으로 간주하고 이 날을 제 +1일이라 하였다.

PAF가 배란에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 PAF 용액을 농도별로 0.1, 1, 3 및 12 ug을 200 ul을 PBS/0.25% BSA 용액에 섞어 제 -2일, 제 -1일 및 0일에 각각 생쥐 복강내 주사하고 HCG 주사 16-24시간 후 (제 +1일) 생쥐를 경구탈구하여 희생시키고 난관에서 난자를 채취하였으며, 채취한 난자는 성숙도를 판정하기 위하여 0.1% hyaluronidase 용액으로 난구세포를 제거한 다음 역반사현미경하에서 제 1극체의 유무를 관찰하였다.

이때, 대조군은 PAF 용액 대신 200 ul의 PBS/0.25% BSA 용액을 사용하였다.

#### 2) 배란전 투여한 PAF가 수정에 미치는 영향

PMSG 7 IU를 생쥐 복강내 주사하고, 48시간 후 HCG 7 IU를 복강내 주사한 다음 (이 날을 0일로 정함), 즉시 수컷을 암컷의 우리에 넣어 교미토록 하였다. 다음날 아침 질전이 확인되면 임신된 것으로 간주하고 이 날을 제 +1일이라 하였다.

배란전 투여한 PAF가 수정에 미치는 영향을 관찰하고자 PAF 용액을 농도별로 0.1, 1, 3 및 12 ug을 200 ul의 PBS/0.25% BSA 용액에 섞어 제 -2일, 제 -1일 및 0일에 각각 생쥐 복강내 주사하고 HCG 주사 44-48시간 후 (제 +2일) 생쥐를 경구탈구하여 희생시키고 난관에서 2-세포기의 수정난을 관찰하였다.

대조군은 200 ul의 PBS/0.25% BSA 용액을 사용하였다.

#### 3) 배란전 투여한 PAF가 배아 발달에 미치는 영향

PMSG 7 IU를 생쥐 복강내 주사하고, 48시간

후 HCG 7IU를 복강내 주사한 다음(이 날을 0일로 정함), 즉시 수컷을 암컷의 우리에 넣어 교미토록 하였다. 다음 날 아침 질전이 확인되면 임신된 것으로 간주하고 이 날을 제 +1일이라 하였다.

배란전 투여한 PAF가 배아 발달에 미치는 영향을 관찰하고자 PAF용액을 농도별로 0.1, 1, 3 및 12ug을 200ul의 PBS/0.25% BSA용액에 섞어서 제 -2일, 제 -1일 및 0일에 각각 생쥐 복강내 주사하고 제 +4일에 생쥐를 경구 탈구하여 희생시키고 난관 및 자궁각에서 배아를 채취하고 포배의 수를 조사하였다.

대조군은 200ul의 PBS/0.25% BSA 용액을 사용하였다.

#### 4) 배란 전 투여한 PAF가 착상에 미치는 영향

PMSG 7IU를 생쥐 복강내 주사하고, 48시간 후 HCG 7IU를 복강내 주사한 다음(이 날을 0일로 정함), 즉시 수컷을 암컷의 우리에 넣어 교미토록 하였다. 다음 날 아침 질전이 확인되면 임신된 것으로 간주하고 이 날을 +1일이라 하였다.

배란전 투여한 PAF가 착상에 미치는 영향을 관찰하고자 PAF용액을 농도별로 0.1, 1, 3 및 12ug을 200ul의 PBS/0.25% BSA용액에 섞어서 제 -2일, 제 -1일 및 0일에 각각 생쥐 복강내 주사하고 제 +10일에 생쥐를 경구탈구하여 희생시키고 자궁각을 절개하여 태자를 관찰하였다.

대조군은 200의 PBS/0.25% BSA용액을 사용하였다.

#### 5) 수정후 투여한 PAF가 배아발달에 미치는 영향

PMSG 7IU를 생쥐 복강내 주사하고 48시간 후 HCG 7IU를 복강내 주사한 다음(이 날을 0일로 정함), 즉시 수컷과 교미시켰다. 다음 날 아침 질전을 확인하고 질전이 확인되면 임신된 것으로 간주하고 이 날을 제 +1일이라 하였다.

PAF를 수정후 투여하였을 때 배아발달에 미치는 영향을 관찰하고 PAF용액을 농도별로 0.1, 1, 3 및 12ug을 200ul의 PBS/0.25% BSA에 섞어서 제 +1일, 제 +2일, 제 +3일 및 제 +4일에 각각 복강내 주사하였다. 제 +4일 오후 생쥐를 경구탈구하여 희생시키고 생쥐의 난관 및 자궁각에서 배아를 채취하여 포배의 수를 조사하였다.

#### 6) 수정후 투여한 PAF가 착상에 미치는 영향

PMSG 7IU를 생쥐 복강내 주사하고 48시간

후 7IU를 복강내 주사한 다음(이 날을 0일로 정함), 즉시 수컷과 교미시켰다. 다음 날 아침 질전을 확인하고 질전이 확인되면 임신된 것으로 간주하고 이 날을 제 +1일이라 하였다.

PAF를 수정 후 투여하였을 때 착상에 미치는 영향을 관찰하고자 PAF용액을 농도별로 0.1, 1, 3 및 12ug을 PBS/0.25% BSA용액에 섞어 제 +1일, 제 +2일, 제 +3일 및 제 +4일에 각각 생쥐의 복강내 주사하였다. 제 +10일에 생쥐를 경구탈구하여 희생시키고 자궁각을 절개하여 태자를 관찰하였다.

대조군은 200ul의 PBS/0.25% BSA용액을 사용하였다.

#### 7) 시험관에서 PAF가 초기배의 발달에 미치는 영향

PMSG 7IU를 생쥐 복강내 주사하고, 48시간 후 HCG 7IU를 복강내 주사한 다음, 즉시 수컷과 교미시켰다. 다음 날 아침 질전이 확인되면 임신된 것으로 간주하였다. HCG주사 44-48시간 후 생쥐를 경구탈구하여 희생시키고 난관에서 2-세포기의 수정란을 채취하였다.

채취한 수정란은 PAF용액의 농도별로 0.1, 1, 3 및 12ug이 함유된 Ham F-10/1% BSA 2ml용액에 넣고 72시간 동안 배양한 후 포배형성을 즉 2-세포기 배아에 대한 포배의 수를 조사하였다.

대조군은 PAF용액을 첨가하지 않은 Ham F-10/1% BSA용액만을 사용하였다.

## 4. 통계처리

본 연구에서의 통계처리는 Student t-검정 및 Fisher 직접확률법으로 하였으며, 유의 수준은 0.05미만으로 하였다.

## 결 과

### 1. 배란전 투여한 PAF가 배란에 미치는 영향

표 1에서 보는 바와 같이 PAF를 농도별로 0.1, 1, 3 및 12ug을 매일 투여하였을 때 배란된 평균 난자의 수는 각각 29.0, 26.7, 28.7 및 27.7로써 대조군의 27.1과 비교하여 유의한 차이는 없었다.

### 2. 배란전 투여한 PAF가 수정에 미치는 영향

배란된 난자의 수에 대한 2-세포기 배아의 수를 수정율로 표시하였을 때, 표 2에서 보는 바와 PAF를 0.1, 1, 3 및 12ug을 투여시 수정

율은 각각 87.5%, 84.4%, 83.8% 및 89.7%로써 대조군의 88.9%와 비교하여 유의한 차이가 없었다.

### 3. 배란전 투여한 PAF가 배아발달에 미치는 영향

표 3에서 보는 바와 같이 PAF를 농도별로 0.1, 1, 3 및 12ug을 투여하였을 때 난관 및 자궁각에서 채취한 배아중 포배가 차지하는 비율은 각각 79.4%, 82.2%, 80.9% 및 84.0%로써 대조군의 82.9%에 비하여 유의한 차이가

**Table 1.** Effect of preovulatory PAF administration on mouse ovulation

Dose of PAF (ug)	No. of animals	Mean No. of ova per animal
0 (control)	15	27.1 ± 1.1
0.1	15	29.0 ± 1.4
1	13	26.7 ± 0.7
3	12	28.7 ± 1.0
12	14	27.7 ± 1.7

**Table 2.** Effect of prevulatory PAF administration on mouse fertilization

Dose of PAF (ug)	Total No. of ova	Total No. of 2-cell embryos	Fertilization rate (%)
1 (control)	243	216	88.9
0.1	288	252	87.5
1	334	281	84.4
3	266	223	83.8
12	271	243	89.7

**Table 3.** Effect of preovulatory PAF administration on mouse embryo development

Dose of PAF (ug)	Total No. of ova	Blastocyst (%)	Morula (%)	Degenerated ova (%)
0 (control)	260	82.9	8.5	8.5
0.1	221	79.4	9.1	11.4
1	234	82.2	6.7	11.1
3	257	80.9	11.2	7.9
12	240	84.0	7.7	8.3

**Table 4.** Effect of preovulatory PAF administration on mouse implantation

Dose of PAF (ug)	Total No. of animal	Mean No. of implanted fetus	Mean No. of viable fetus
0 (control)	13	21.4 ± 1.6	18.1 ± 2.3
0.1	15	20.7 ± 2.5	17.5 ± 1.7
1	14	20.8 ± 3.0	17.1 ± 2.8
3	15	20.5 ± 3.1	17.2 ± 3.0
12	13	21.0 ± 1.8	18.2 ± 2.7

없었으며, 또한 상실배가 차지하는 비율도 대조군에 비하여 유의한 차이가 없었다. 따라서 PAF는 배아발달에 유의한 영향을 미치지 않았다.

### 4. 배란전 투여한 PAF가 착상에 미치는 영향

표 4에서 보는 바와 같이 PAF를 농도별로 0.1, 1, 3 및 12ug을 투여하였을 때, 평균 착상된 태자의 수는 각각 20.7, 20.8, 20.5 및 21.0으로써 대조군의 21.4에 비하여 유의한 차이가 없었으며, 또한 착상된 태자중 흡수된 태자를 제외하고 살아있는 태자의 평균 수는 각각 17.5, 17.1, 17.2 및 18.2로써 대조군과 유의한 차이가 없었다.

### 5. 수정후 투여한 PAF가 배아발달에 미치는 영향

표 5에서 보는 바와 같이 PAF를 농도별로 0.1, 1, 3 및 12ug을 투여하였을 때, 난관 및 자궁각에서 채취한 포배가 차지하는 비율은 각각 86.7%, 87.5%, 82.7% 및 83.6%로써 대

**Table 5.** Effect of postovulatory PAF administration on mouse embryo development

Dose of PAF (ug)	Total No. of ova	Blastocyst (%)	Morula (%)	Degenerated ova (%)
0 (control)	282	84.2	7.1	8.7
0.1	234	86.7	5.3	7.9
1	248	87.5	3.6	8.9
3	257	82.7	7.1	10.2
12	331	83.6	7.0	9.5

**Table 6.** Effect of postovulatory PAF administration on mouse implantation

Dose of PAF (ug)	Total No. of animal	Mean No. of implanted fetus	Mean No. of viable fetus
0 (control)	15	19.6 ± 2.2	18.5 ± 1.7
0.1	14	19.4 ± 1.9	18.2 ± 2.0
1	15	22.5 ± 2.7*	20.5 ± 3.3*
3	13	21.7 ± 2.6*	20.9 ± 2.5*
12	12	23.0 ± 2.9*	21.5 ± 2.2*

\* :  $p < 0.05$  compared to control

**Table 7.** Effect to PAF addition to culture media on in vitro development of 2-cell mouse embryos

Dose of PAF (ug)	Total No. of 2-cell embryos	No. of blastocyst (%)
0 (control)	218	118 (54.1)
0.1	223	133 (59.6)
1	240	206 (85.6)**
3	207	163 (78.7)*
12	239	172 (71.9)*

\* :  $p < 0.05$  compared to control

\*\* :  $p < 0.01$  compared to control

조군의 84.2%에 비하여 유의한 차이가 없었으며, 또한 상실배가 차지하는 비율도 대조군과 유의한 차이가 없었다. 따라서 PAF는 배아발달에 유의한 영향을 미치지 않았다.

#### 6. 수정후 투여한 PAF가 착상에 미치는 영향

표 6에서 보는 바와 같이 PAF를 농도별로 투여하였을 때 평균 착상한 태자의 수는 0.1ug을 투여한 경우는 19.4로써 대조군의 19.6에 비하여 유의한 차이가 없었으나 1, 3 및 12ug을 투여하였을 경우는 각각 22.5, 21.7, 23.0으로써 대조군에 비하여 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 높았으며, 또한 착상된 태자 중에서 흡수된 태자를 제외한 살아있는 태자의 평균도 0.1ug을 투여한 경우는 대조군과 유의한 차이는 없었으나, 1, 3 및 12ug을 투여한 경우는 대조

군과 유의한 차이가 없었으나 1, 3 및 12ug을 투여한 경우는 대조군에 비하여 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 높았다.

#### 7. 시험관에서 배양액에 첨가한 PAF가 배아 발달에 미치는 영향

표 7에서 보는 바와 같이 PAF를 농도별로 배양액에 첨가했을 때 포배 형성율은 0.1ug을 첨가한 경우는 59.6%로써 대조군의 54.1%에 비하여 유의한 차이가 없었으나 1ug을 첨가한 경우는 85.8%로써 대조군에 비하여 유의하게 ( $p < 0.01$ ) 높았으며, 3 및 12ug을 첨가한 경우도 각각 78.9% 및 71.9%로써 대조군에 비하여 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 높았다.

## 고 찰

O'Neill (1985a)은 생쥐에서 임신 제 1일과 제 6일 사이에 임신에 대한 첫 모측 변화로써 혈소판감소증이 나타남을 관찰하였고, 이 혈소판감소증이 생쥐 배아에서 유래되는 PAF에 기인하는 것이라 하였다 (O'Neill, 1986b). 이러한 사실은 Angle등 (1988b)에 의하여 추시되어 생쥐 배아에서 PAF가 분비된다는 사실이 확인되었으며, 뿐만 아니라 O'Neill (1985a)은 사람의 체외수정 시술에 의해 임신된 여성에서도 임신 제 1일과 6일 사이에 혈소판감소증이 나타남을 관찰하였고 사람의 배아에서도 PAF가 생성·분비됨을 관찰하였다.

이와 같이 PAF가 배아에서 분비되는 것으로 확인되었으나 초기 배아에서 왜 PAF가 분비되어야 하며, 분비된 PAF가 어떤 작용을 하는가에 관하여는 아직 확실히 모르는 상태이다.

따라서 본 연구에서는 생쥐를 실험모델로 하여 생체실험 및 시험관실험을 통하여 PAF가 배란, 수정, 배발달, 착상 및 태아생존력에 미치는 영향을 관찰하여 이것을 사람의 체외수정 시술에 응용할 방안이 있을까 하고 시도된 것이었다.

본 연구에서 PAF가 배란에 미치는 영향은 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았는데 이는 Spinks (1988)의 결과와 일치하는 소견이었으나 Abisogun (1989)과는 다른 소견이었다. 즉 Abisogun의 결과와 본 연구의 결과와 차이가 나는 이유는 확실치 않으나, 본 연구에서는 PAF를 복강내 주입한데 비하여 Abisogun은 난소의 활액낭(bursa)에 주입한 차이가 있으므로 혹시 이러한 PAF의 주입경로의 차이가 결과와 차이를 나타낸 것이 아닌가 추측되었다.

본 연구에서 PAF가 수정에 미치는 영향은 대조군에 비하여 유의한 차이가 없는 것으로 나타났는데, PAF가 수정에 미치는 영향에 관하여는 문헌상 나타난 것이 없으므로 타 연구자와의 비교는 좀 더 기다려 보아야 하겠으며, 또한 본 연구에서는 생체실험을 통하여 PAF가 수정에 미치는 영향을 관찰한 것이었으나 앞으로 생쥐를 이용하여 시험관에서의 체외수정시 PAF를 배양액에 첨가하므로써 PAF가 시험관에서의 수정에는 어떤 영향을 미칠 것인가에 관하여도 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

본 연구에서 PAF가 배아발달에 미치는 영향에 관하여는 다소 이해하기 어려운 결과가 나타났다. 즉 배란전 PAF를 투여한 경우와 임신후 PAF를 투여한 경우는 대조군에 비하여 배아발달에 유의한 차이가 없었으나 시험관에서 PAF를 투여한 경우는 배아발달이 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었다. 이와 같이 생체실험과 시험관 실험과의 사이에 차이가 나는 이유에 대하여는 확실치 않으나 생체내 실험은 PAF를 투여하였을 때 혈중에 존재하는 PAF분해 효소의 영향(Blank et al., 1983)을 받기 때문에 아닌가 추측되었다.

본 연구의 시험관 실험에서 PAF가 배아발달을 촉진하는 소견은 시험관에서 생쥐배아의 배양액에 PAF를 첨가하면 glucose와 lactate의 대사율이 증가한다는 Ryan (1989, 1990a)의 보

고, 생쥐배아의 배양액에 PAF를 첨가하면 난황구의 수가 증가한다는 Ryan (1990b)의 보고 및 생쥐배아의 시험관 배양에서 PAF길항제를 첨가하면 포배형성율이 감소한다는 Spinks (1990)의 보고와 일치하는 소견이었으나, PAF가 배아발달에는 영향을 주지 않는다는 Ando (1990) 및 Acker (1988)의 보고와는 상반되었다.

PAF가 배아발달을 촉진하는 기전에 대하여는 본 연구에서는 시행되지 않았으나, PAF가 생쥐배아의 glucose 및 lactate의 대사를 촉진한다는 사실(Ryan et al., 1990b)과 초기 배아에는 PAF특이결합부위가 존재한다는 사실(Harper et al., 1989)등을 미루어 보아 PAF가 배아의 결합부위를 통하여 배아의 대사작용을 촉진하는 것이 아닌가 추측되었다.

본 연구에서 PAF가 착상에 미치는 영향에 관하여는 PAF를 배란전 투여한 경우와 수정후 투여한 경우와는 다른 결과가 나타났다. 즉 PAF를 배란전 투여한 경우는 대조군에 비하여 착상율에 있어서 유의한 차이가 없었으나, PAF를 수정후 투여한 경우에는 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다. 이와 같이 생체실험에서 PAF를 배란전 투여한 경우 착상율에 아무런 영향을 주지 않는다는 사실은 PAF가 배란, 수정 및 배아발달에 영향을 주지 않는다는 표 1, 2 및 3의 결과와 상통하는 결과로써 결국 PAF를 배란전에 투여하면 그것이 수정, 배란 및 착상 등에는 아무런 영향을 미치지 못함을 시사하는 것이었다.

배란전 투여한 PAF가 착상에 미치는 영향에 관하여는 타 연구자의 보고가 없으므로 비교·검토할 수 없으나, 수정후 투여한 PAF가 착상에 미치는 영향에 관하여 타 연구자와 비교하면, 생쥐배아를 시험관에서 72시간 PAF에 노출시킨 다음 배아이식을 하면 착상율이 증가한다는 O'Neill (1989)의 보고, 생쥐의 첫 임신 4일 동안 PAF길항제를 투여하면 착상이 억제된다는 Spinks (1990), Humphrey (1982) 및 Acker (1988)등의 보고와 본 연구와는 일치하였으나, PAF가 착상에 아무런 영향을 미치지 않는다는 Milligan (1990)의 보고와는 상반되었다.

PAF가 어떤 기전으로 배아의 착상을 돕는가에 대하여는 본 연구에서 시도되지 않았으나, 타 연구자의 결과를 미루어 보아 다음과 같이 추측할 수 있었다. 즉 1) 임신 초기의 PAF길항제를 투여하면 착상이 억제되고 이 착상 억제현상이 prostaglandin을 투여하므로써 구원된

다는 Humphrey (1982)의 보고를 미루어 보아 PAF가 Prostaglandin이라는 중개자를 통하여 착상에 관여하리라 생각할 수 있고, 2) PAF가 초기배아를 자극하여 early pregnancy factor (Mortone et al., 1974, 이하 EPF)의 분비를 촉진한다는 Orozco (1990)의 보고로 미루어 보아 PAF가 EPF라는 중개자를 이용하여 착상에 관여하리라 생각할 수 있고, 3) 사람의 과립막 세포 배양이나, 돼지의 과립막 세포 배양에서 PAF를 첨가하면 progesterone분비가 증가된다는 O'Neill (1987)과 Lee (1989)의 보고를 미루어 보아 PAF가 황체를 자극하여 progesterone분비를 촉진하므로써 착상을 도울 수도 있을 것으로 생각할 수 있고, 4) PAF가 뇌하수체를 자극하여 prolactin의 분비를 증가시킨다는 Braquet (1987)의 보고와 동물에서는 prolactin이 황체기능을 증강시킨다는 사실을 미루어 보아 PAF는 prolactin을 통하여 착상을 돕는다고 생각할 수 있으며, 5) PAF는 혈소판을 자극하여 PDGF (platelet derived growth factor)라는 세포성장인자의 분비를 촉진한다는 Kaplan (1979)의 보고로 미루어 보아 PAF가 모체의 혈소판을 자극하여 PDGF를 분비케 하므로써 배아에 직접작용하여 착상을 돕는다고 생각할 수도 있고, 6) PAF길항제를 배아 수여자 (recipient)에 투여한 후 배아 이식한 경우에 비하여 PAF길항제를 배아 공여자 (donor)에 투여후 대조군의 수여자에 배아 이식을 한 경우에서 보다 더 유의하게 착상이 억제된다는 Spinks (1990)의 보고를 미루어 보아 PAF자체가 배아에 직접적으로 작용하여 착상을 도울 수도 있을 것이며, 7) PAF가 비임신 자궁내막에서도 생성되거나 포배가 자궁강내에 있으면 자궁내막에서 더 많은 양의 PAF가 생성된다는 Angle (1988a)의 보고와 배아 수여자 (recipient)에 미리 PAF길항제를 투여한 다음 정상 배아를 이식하면 착상율이 현저히 감소한다는 Ando (1990)의 보고 등을 미루어 보아 외부에서 투여된 PAF가 자궁내막에 작용하여 착상을 도울 수도 있을 것이다.

본 연구에서 PAF투여가 배아생존율에 미치는 영향에 관하여는 PAF를 배란전에 투여한 경우는 대조군에 비하여 유의한 차이가 없었으나, PAF를 수정후 투여한 경우는 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타내었는데 이러한 태아 생존율의 증가는 착상율이 증가하였기 때문에 생존하는 태아의 수도 증가하는 것으로 풀이되

었다. 본 연구의 결과는 생쥐배아를 시험관에서 72시간 노출시킨 뒤 배아 이식했을 때 대조군에 비하여 태아 생존율이 유의하게 증가했다는 O'Neill (1989)의 보고와 일치하였으나 PAF와 태아생존율과는 무관하다는 Ando (1990)와는 상반되는 결과이었다.

## 결 론

본 연구는 생쥐를 모델로 하여 PAF가 배란, 수정, 배아발달, 착상 및 태아 생존력 등에 미치는 영향을 알아보기로써 생체실험 및 시험관실험을 시도하였으며 그 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. PAF는 배란에는 영향을 미치지 않았다.
2. PAF는 수정에도 영향을 미치지 않는다.
3. PAF는 배아발달에 미치는 영향에 관하여는 생체실험에서는 영향을 미치지 않았으나 시험관 실험에서는 배아발달을 유의하게 증가시켰다.

4. PAF는 착상율을 유의하게 증가시켰다.

5. PAF는 태아생존율을 유의하게 증가시켰다.

이상의 결과를 미루어 보아 PAF는 생식분야에 있어서 특히 배아발달, 착상 및 태아생존 등에 작용한다는 사실을 알 수 있었으며 이러한 사실을 사람의 체외수정 기법에 응용하여 동일한 결과가 나타날 수 있다면 사람의 체외수정과 배아이식의 성공율을 높히는데 기여할 수 있을 것으로 사료되었다.

## 인 용 문 헌

- Abisogun AO, Braquet P, Tsafiriri A: The involvement of platelet-activating factor in ovulation. *Science* 1989, 243, 381.
- Acker G, Hequet F, Etienne A, Braquet P, Mencia-Huerta JM: Role of platelet-activating factor (PAF) in the ovoidimplantation in the rat: effect of the specific PAF-acether antagonist, BN 52021. *Prostaglandins* 1988, 35, 233.
- Acker G, Braquet P, Mencia-Huerta JM: Role of platelet-activating factor (PAF) in the initiation of the decidual reaction in the rat. *J Reprod Fertil* 1989, 85, 623.
- Ando M, Suginami H, Matsuura S: Pregnancy suppression by a structurally related antago-

- nist for platelet activating factor, CV-6209, in mice. *Asia-Osian J Obstet Gynecol* 1990, 16, 283.
- Angle MJ, Jones MA, McManus LM, Pinckard RN, Harper MJK : Platelet-activating factor in the rabbit uterus during early pregnancy. *J Reprod Fert* 1988a, 83, 711.
- Angle J, Byrd W, Johnston JM : Embryonic production of platelet-activating factor in culture. Fertil Steril 44th Meeting Program Supple : 1988b, S96 (Abstr. p 158).
- Benveniste J, Henson PM, Cochrane CG : Leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelets : the role of IgE, basophils and platelet-activating factor. *J Exp Med* 1972, 136, 1356.
- Billah MM, Johnston JM : Identification of phospholipid in human platelet-activating factor (1-0-alkyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine) in human amniotic fluid and urine. *Biochem Biophys Res Commun* 1983, 113, 51.
- Bjork J, Smedgard G : Microvascular response to platelet activating factor (PAT-acether). *J Allergy Clin Immunol* 1983, 71, 145.
- Blank ML, Hall MN, Cress EA, Synder F : Inactivation of 1-alkyl-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine by a plasma acetylhydrolase : higher activities in hypotensive rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1983, 113, 666.
- Braquet P, Pola-Pleszezynski M : Platelet-activating factor and cellular immune responses. *Immunology Today* 1987, 8, 345.
- Buxton DB, Fisher RA, Hanahan DJ, Olson MS : Platelet-activating factor-mediated vasoconstriction and glycogenolysis in the perfused rat liver. *J Biol Chem* 1986, 261, 644.
- Camussi G, Aglietta M, Malavasi F, Tetta C, Piacibello W, Sanavio F, Bussolino F : The release of platelet-activating factor (PAF) from human endothelial cells in culture. *J Immunol* 1983, 131, 2397.
- Findlay SR, Lichtenstein LM, Hanahan DJ, Pinckard RN : Contraction of guinea pig ileal smooth muscle by acetyl glyceryl ether phosphorylcholine. *Am J Physiol* 1981, 241, C130.
- Hanahan DJ : Platelet activating factor : A biologically active phospho-glyceride. *Ann Rev Biochem* 1986, 55, 483.
- Harper MJK, Kudolo GB, Alecozay AA, Jones MA : Platelet-activating factor (PAF) and blastocyst-endometrial interactions. *Progr Clin Biol Res* 1989, 294, 305.
- Humphrey DM, McManus LM, Satouchi K, Hanahan DJ, Pinckard RN : Vasoactive properties of acetyl glyceryl ether phosphorylcholine and analogues. *Lab Invest* 1982, 46, 422.
- Kaplan KL, Broekmann MJ, Chernoff A, Lesznik GR, Drillings M : Platelet alpha-granule proteins ; Studies on release and subcellular localization. *Blood* 1979, 53, 604.
- Kudolo GB, Harper JK : Binding parameters of rabbit uterine PAF-receptors ; pilot study. *Biol Reprod* 1988, 38 (S1), 153.
- Kumar R, King RJ, Hanahan DJ : Occurrence of glyceryl ether in the phosphatidylcholine fraction of surfactant from dog lungs. *Biochem Biophys Acta* 1985, 836, 19.
- Kumar R, Harper MJK, Hanahan DJ : Occurrence of platelet-activating factor in rabbit spermatozoa. *Arch Biochem Biophys* 1988, 260, 497.
- Malavasi F, Tetta C, Funaro A, Bellone G, Ferrero E, Colli FA, Dellabona P, Rusci R, Matera L, Camussi G, Caligaris-Cappio F : Fc receptor triggering induces expression of surface activation antigens and release of platelet-activating factor in large granular lymphocytes. *Pro Natl Acad Sci USA* 1986, 83, 2443.
- Milligan SR, Finn CA : Failure of platelet-activating factor (PAF-acether) to induce decidualization in mice and failure of antagonists of PAF to inhibit implantation. *J Reprod Fert* 1990, 88, 105.
- Morton H, Hegh V, Clunie GJA : Immunosuppression detected in pregnant mice by rosette inhibition test *Nature (London)* 1974, 249, 459.
- Mueller HW, O'Fhaherty JT, Wykle RL : Biosynthesis of platelet activating factor in rabbit polymorphonuclear neutrophils. *J Biol Chem* 1983, 258, 6213.



- Ninio E, Mencia-Herta JM, Heymans F, Benveniste J : Biosynthesis of platelet activating factor 1. Evidence for an acetyltransferase activity in murine macrophages. *Biochem Biophys Acta* 1982, 710, 23.
- O'Neill C : Thrombocytopenia is an initial maternal response to fertilization in mice. *J Reprod Fertil* 1985a, 73, 559.
- O'Neill C : Examination of the causes of early pregnancy-associated thrombocytopenia in mice. *J Reprod Fertil* 1985b, 73, 567.
- O'Neill C : Embryo-derived platelet-activating factor; a preimplantation embryo mediator on maternal recognition of pregnancy. *Domest Anim Endocrinol* 1987, 4, 69.
- O'Neill C : PAF; an essential embryonic autocoid and an initial mediator of maternal recognition of pregnancy. Society Gynecol Invest Scien Prog Abst, 36th Ann Meeting, 1989, p 38.
- Orozco C, Cock I, Perkins AV, Clarke FM : Platelet-activating factor and serum components from oestrous mice co-operate to mimic the activity of 'early pregnancy factor' in the rosette inhibiting assay. *J Reprod Fert* 1990, 88, 447.
- Pinckard RN, Farr RS, Hanahan DJ : Physicochemical and functional identity of platelet-activating factor (PAF) released in vivo during IgE anaphylaxis with PAF release in vitro from IgE sensitized rabbit basophils. *J Immunol* 1979, 123, 1874.
- Pinckard RN, McManujs LM, Hanahan DJ : Chemistry and biology acetyl glyceryl ether phosphorylcholine (platelet-activating factor). *Adv Inflammation Res* 1982, 4, 147.
- Ryan JP, Spinks NR, O'Neill C, Ammit AJ, Wales RG : Platelet activating factor (PAF) production by mouse embryos in vitro and its effect on embryonic metabolism. *J Cell Biochem* 1989, 40, 387.
- Ryan JP, O'Neill C, Wales RG : Oxidative metabolism of energy substrates by preimplantation mouse embryos in the presence of platelet-activating factor. *J Reprod Fert* 1990a, 89, 301.
- Ryan JP, Spinks NR, O'Neill C, Wales RG : Implantation potential and fetal viability of mouse embryos cultured in media supplemented with platelet-activating factor. *J Reprod Fert* 1990b, 89, 309.
- Small MA, Dziadek M, Cooney SJ, Attard M, Baldo BA : Examination for platelet-activating factor production by preimplantation mouse embryos using a specific radioimmunoassay. *J Rrprod Fert* 1990, 90, 419.
- Spinks NR, O'Neill C : Antagonists of embryo-derived platelet-activating factor prevent implantation in the mouse. *J Reprod Fertil* 1988, 84, 89.
- Spinks NR, Ryan JP, O'Neill C : Antagonists of embryo-derived platelet-activating factor act by inhibiting the ability of the mouse embryo to implant. *J Reprod Fert* 1990, 88, 241.
- Stimler NP, Bloor CM, Hugli TE, Wykle RL, McCall CE, O'Flaherty JT : Anaphylactic actions of platelet-activating factor. *Am J Pathol* 1981, 105, 64.
- Yasuda K, Satouchi K, Saito K : Platelet-activating factor in normal rat uterus. *Biochem Biophys Commun* 1986, 138, 1231.
- 이윤어, 강길전 : Platelet-activating factor (PAF)가 돼지 과립막세포의 progesterone 생성에 미치는 영향. *충남의대잡지* 1989, 16, 78.