

배란 전, 후 생쥐 난자-난구 복합체의 미세구조의 변화

김문규 · 김종흡 · 권혁방 *

한양대학교 자연과학대학 생물학과, *전남대학교 자연과학대학 생물학과

생쥐에 PMSG와 hCG를 주사한 후 난자-난구복합체의 미세구조의 변화를 관찰함으로써 난구세포의 분산현상을 규명하고자 본 실험을 행하였다.

난자는 PMSG 주사후 48시간까지 별 다른 변화가 없었고 다만 표면막에 microvilli와 coated pit의 수가 감소하는 경향을 보였다. 그러나 PMSG-hCG주사 12시간 후에 배란된 난자의 표면은 microvilli와 coated pit가 사라져서 평평하게 되었다.

방사관세포는 PMSG주사 48시간 후에 밀착해 있던 투명대와 간격이 생기기 시작하였고, 투명대를 통과하여 난자의 표면막과 desmosome으로 연결되어 있던 세포질돌기도 퇴화의 징후를 보였다. PMSG-hCG주사 후에는 급속히 격리, 분산되고 세포질돌기는 퇴화하였으며 desmosome도 사라졌다.

난구세포들은 대조군에서 밀집되어 있었고 거의 gap junction으로 연결되어 있었는데, PMSG주사 24시간 후에는 모양이 둥글게 되고 더욱 밀집되었으며, 48시간 후에는 거의 loose junction으로 연결되었고 분산되기 시작하였다. 결국 PMSG-hCG주사 12시간 후에는 완전히 분산되었고 거의 모두 핵응축과 과사현상을 보였다.

난자-난구 복합체의 분산은 배란전에 PMSG에 의하여 시작되고 hCG에 의하여 촉진 완결된다는 것이 확실하다.

KEY WORDS: Oocyte-cumulus complex, Corona radiata, Expansion, Gap junction

포유동물의 여포내 난자는 많은 난구세포들로 둘러싸여 있는데, 이를 난자-난구 복합체 (oocyte-cumulus complex, OCC)라 한다. 난구세포의 분산은 난자와 방사관세포, 그리고 난구세포들 사이의 연결 및 상호 연관된 접착력의 감소로 일어나는데 이는 연결매체인 desmosome 혹은 gap junction의 감소 (Albertini and Anderson, 1974; Lawrence *et al.*, 1978; Burghardt and Anderson, 1979; Burghardt and Matheson, 1982; Schultz, 1985), hyaluronic acid와 glycosaminoglycan (GAG)의 합성과 분비 (Eppig, 1979), 그리고 난자의 난구세포간의 물질대사적 괴리 (uncoupling)의 결과라고 알려졌다 (Dekel *et al.*, 1981; Eppig and Ward-Bailey, 1982; Racowsky, 1984; Racowsky and Satterlie, 1985; Motlik *et*

al., 1986).

그런데 *in vitro*에서 포유동물의 OCC를 단순한 배양액에서 배양하였을 때 생쥐의 경우의 난자는 자발적으로 성숙을 하였지만 난구세포의 분산이 일어나지 않았으므로 난자의 성숙과 난구세포의 분산과는 직접적인 관계가 없다고 하였다 (Dekel and Beers, 1980; Eppig, 1982; Kwon, 1982). 돼지의 경우, *in vitro*에서 배양액에 FSH나 LH를 첨가하였을 때 분산을 유도할 수 있었으며 (Dekel and Beers, 1978), 이때 FSH는 OCC의 분산 요인으로 알려진 hyaluronic acid와 GAG의 합성을 유발하고 (Eppig, 1979), LH는 분산을 크게 촉진한다고 하였다 (Dekel and Kraicer, 1978; Eppig, 1979).

위의 여러 보고들은 *in vitro*에서 OCC를 배양하면서 난자의 성숙과 난구세포의 분산에 관한 결론론적인 것들로써 오히려 *in vitro* 상태에서의 연

본 연구는 1986년도 문교부 학술연구조성비에 의해 수행된 연구의 일부임

구, 특히 OCC의 미세구조의 변화 과정에 관한 면밀한 관찰은 미흡한 실정이다. 따라서 본 실험은 생쥐에 PMSG와 hCG로 난자의 성숙과 난구세포의 분산을 유도하면서 그 미세구조의 변화과정을 관찰함으로써 난구세포의 분산기작을 밝히는 기초자료를 얻고자 행하였다.

재료 및 방법

본 실험에는 복잡한 생식주기의 영향을 배제하기 위하여 생후 3주된 미성숙한 생쥐(ICR-strain, 체중 $12.5 \pm 0.5g$, 한양대 생물학과 사육실)를 사용하였다. OCC는 생쥐의 복강에 3iu PMSG를 주사한 후 12, 24, 48 시간만에 도살하여 난소를 적출한 뒤 아주 큰 그래프여포들만을 터뜨려 수집하고, 각각 실험군 P-12, P-24, P-48로, 그리고 PMSG를 주사 후 48시간 지나서 3iu hCG를 주사한 후 12시간만에 수란관에서 수집한 OCC는 실험군 PH-12로 구분하였다. 대조군의 OCC는 생쥐에 생리식염수만을 주사한 후 실험군의 시간에 맞추어 도살하여 난소를 적출한 뒤 여포를 터뜨리지 않은 채 사용하였다.

위와 같이 수집한 OCC는 3% glutaraldehyde와 0.2M phosphate완충용액을 1:1 혼합한 용액에 40분간 전고정한 후, 같은 완충용액으로 세척한 뒤 2% OsO₄와 0.2M phosphate완충용액을 1:1 혼합한 용액에 60분간 후고정 하였다. 고정한 재료는 ethyl alcohol로 탈수한 후 propylene oxide로 치환하여 Epon혼합액에 포매하였다. 포매된 재료는 초박편 절단기(Ultratome V, LKB)로 1 μm 의 두께로 자른 후 1% sodium tetraborate(borax)에 녹인 0.5% toluidin blue로 염색하여 조직학적 관찰을 하고 미세구조 관찰이 필요한 부위를 thin section 하였다. 초박절편은 uranyl acetate로 염색하고 Reynolds (1963)의 방법에 따라 lead citrate로 재 염색한 후 전자현미경(Hitachi, 600, 75KV)을 사용하여 미세구조를 관찰하였다.

결 과

조직학적 관찰 소견

난자는 PMSG처리 후에 별다른 형태적 변화가 없었으나 hCG처리 후에는 난자의 표면막에 불규칙한 굴곡이 생기면서 perivitelline space(PS)가 넓어졌으며 세포질은 진하게 염색되었다(Plate I, Fig. 1-4).

난자는, 대조군에서 방사관세포(corona radiata)가 투명대(zona pellucida)에 밀착되어 있었고 난구세포들은 불규칙한 무정형으로 대개 일정한 세포간격을 두고 밀집되어 있었다(Plate I, Fig. 1). PMSG처리군에서 난구세포들은 처리 후 24시간까지 점점 둥근모양으로 변하고 세포간격도 밀접하게 되었으며 핵 분열상이 많이 관찰되었다(Plate I, Fig. 2). 처리 후 48시간에 이르면 점액질이 많아지고 세포간격이 오히려 느슨하여져서 분산현상이 일어나기 시작하였다(Plate I, Fig. 3). 그리고 PMSG-hCG 처리군에서 난구세포들은 다른 실험군보다 진하게 염색되었는데 완전히 분산되었고 대부분의 세포들은 핵응축이 일어나고, 표면막에는 흑 같은 세포질 돌기가 많이 생겨나고 퇴화의 경우를 보였다(Plate I, Fig. 4).

난자의 미세구조

난자가 PMSG와 hCG를 처리한 후 성숙하는 동안, 투명대와 표면막 그리고 세포질내 소기관들의 미세구조적 변화가 관찰되었다.

대조군의 미성숙 난자는 표면막에 불규칙하게 많은 microvilli가 돌출되어 있었고 군데 군데 coated pit가 관찰되었으며 투명대에는 방사관세포의 수 많은 세포질돌기들이 뿌리를 내려 난자의 표면막과는 desmosome junction이 있었다(Plate II, Fig. 1). P-24군에서는 대조군과 거의 같은 형태였으나(Plate II, Fig. 2), P-48군의 경우 microvilli와 coated pit의 수가 감소하는 경향을 보였으며(Plate II, Fig. 3), PH-12군에서는 표면막에 이런 미세구조들이 아주 적어져 다만 평형하게 되었으며 투명대내 방사관의 세포질 돌기가 퇴화 하였고 desmosome junction도 거의 볼 수 없었다(Plate II, Fig. 4).

난자의 세포질내 소기관을 보면 난자가 성숙하면서 피질부위에 여러 골지체들이 분포하였고 세포질 전반에 microbody(MB)가 많이 생겼으며 지방적(lipid droplet, L.)도 더러 관찰되었다. 그리고 활면소포체는 막 내면이 떨어져서 포상화(vesiculation)되어 있었다. 그러나 이들 밖의 다른 소기관들에 있어서는 별 다른 새로 변화를 관찰할 수 없었다.

난구세포의 미세구조

난구세포는 대조군에서 대체로 부정형인데 둥근모양의 세포사이에는 대체로 일정한 간격이 있었으며 접촉부위에는 대부분이 gap junction으로 연결되어 있다 (Plate III, Fig. 1). 핵은 대체로 둥글고 핵막은 약간 굴곡이 있었으며 미토콘드리아는 대체로 둥근 모양이었고 cristae는 발달하지 않았다. 소포체는 핵 주위에 동심원적으로 배열하고 있었는데 대부분 활면소포체 (smooth endoplasmic reticulum, SER)이었으나 더러 조면소포체 (rough endoplasmic reticulum, RER)도 관찰되었다.

P-12군과 P-24군의 경우, 대조군에 비해 변화한 것은 난구세포와 핵의 모양이 둥글게 되었고 세포간격이 좁아졌는데, 도리어 접촉부위는 gap junction보다 loose junction이 더 많아졌다. 미토콘드리아는 수적으로 증가하고 모양이 길어졌고 소포체는 매우 발달하였다 (Plate III, Fig. 2).

P-48군의 경우 난구세포 사이에는 다시 간격이 생겼고 붕괴되고 있는 세포파생체(cellular derivatives)가 많이 있었다. 접촉부위는 loose junction으로 되었고 핵 모양은 둥그나 핵막은 다소 굴곡이 생겼고 이질염색질(heterochromatin)이 많아지는 경향을 보였다. 난구세포는 세포내 소기관의 특징으로 보아 크게 두가지로 구분되었다. 한 종류는 미토콘드리아의 모양이 더 길어지고 cristae에도 많이 발달하였으며 소포체가 핵을 중심으로 동심원적으로 길게 배열되고 막 사이가 많이 떨어져 있었는데, 다른 종류는 미토콘드리아의 모양이 구형으로 cristae도 별로 발달하지 않았고 소포체는 작은 포상을 하고 있었다 (Plate III, Fig. 3). 이 두가지 난구세포들에는 발달된 골지체가 많이 관찰되었다 (Plate III, Fig. 3).

PH-12군의 경우 난구세포들은 부정형으로 되었는데 어떤 것은 표면막이 불규칙하게 돌출되어 아메바 형태를 하거나 또는 가늘고 긴 돌기가 나와 마치 거미모양을 한 것도 있었다. 세포간은 완전히 격리되어 있고, 대부분의 핵에서는 불규칙한 굴곡을 이루고 있는 핵막과 응축된 이질염색질이 관찰되었다. 세포내 소기관들은 막 구조가 희미해지거나 터지고 엉겨 붙어서 multivesicular complex를 형성하는 등 급차 퇴화 혹은 괴사하고 있는 것으로 관찰되었다 (Plate III, Fig. 4, arrow head).

고 찰

난자와 방사관세포 그리고 난구세포들 간에는 desmosome과 gap junction으로 연결되어 있어서 이들이 난자의 성장 성숙을 조절하는 물질의 통로가 된다 (Gilula *et al.*, 1978; Heller *et al.*, 1981; Centola, 1982)는 것이 재확인 되었다. 미성숙 난자-난구 복합체를 수집하기 위하여 그라아프어 포를 터트렸을 경우 난자와 난구세포들은 너무나 쉽게 떨어져서 복합체 상태를 얻기는 매우 어렵다. 본 실험에서 PMSG주사 12시간 후에는 난자-난구 복합체를 쉽게 얻을 수 있었는데, 이는 난구세포들이 FSH의 자극을 받아 hyaluronic acid를 합성 분비한다 (Eppig, 1979; Lee and Kwon, 1986)는 사실로 뒷받침된다.

난구세포는 PMSG주사 24시간 후에 구형으로서 서로 더욱 밀착되어 있으며 둥근핵과 발달된 소기관들을 갖고 있었고, 세포분열상이 많이 보였다. 이는 PMSG의 자극에 의하여 생리적으로 활성화된다 (Bae and Channing, 1981; Talbot and DiCarantonio, 1984)는 보고와 일치한다.

PMSG주사 48시간 후 난구세포들은 다양한 형태를 나타냈는데, 즉 toluidin blue에 대한 염색 정도가 다양하고, 핵응축과 세포소기관의 활성도를 나타내는 구조가 일정하지 않았다. 이런 결과는 다른 연구자들의 보고 (Hillensjö *et al.*, 1976; Polan *et al.*, 1984; Laufer *et al.*, 1984; Downs *et al.*, 1985; Kim *et al.*, 1987)와 같은 결과이다. 특히 포상소포체를 갖는 세포와 층상소포체를 갖는

세포로 구별되는데 전자는 mitochondria나 Golgi complex가 수량적으로 쇠퇴되었고 핵내 heterochromatin이 많은 것으로 보아 퇴화과정에 있는 것으로 사료된다.

다른 한편 난구세포들 사이의 gap junction들이 점차 loose junction으로 되는 것은 PMSG의 자극으로 합성된 hyaluronic acid가 세포표면으로 분비된 후 수화되어 체적이 늘어나면서 세포사이를 벌리기 때문으로 생각되며, hCG주사 후에 분산이 촉진되어 완전히 일어나게 되는 것은 합성 분비된 hyaluronic acid가 표면에 누적됨으로서 난구세포들이 날날이 격리되나 그 점성의 증가로 응집되는 것으로 추측된다.

PMSG-hCG주사 12시간 후 배란된 난자-난구 복합체는 완전히 분산되었고 toluidin blue에 매우 민감하여 검게 염색되었는데, 이는 난자가 성숙분열을 통하여 극체를 방출하고 표면막에 microvilli와 coated pit가 사라지고 활면소포체가 포상화되었고, 난구세포는 핵축축 및 소기관들의 퇴화 징후를 갖는 등 생리적으로 불활성 상태를 나타내는 것으로 생각된다. 이는 난자가 성숙되면서 난구세포들이 점진적으로 분산된다는 보고 (Gilula *et al.*, 1978; Lawrence *et al.*, 1978; Laufner *et al.*, 1984)들과 같은 결과이다.

Ko 등(1988)은 난자-난구 복합체를 배양하여 분산을 유도하면서, 물질이동율을 보았을 때 hCG처리후 급격히 물질이동율이 저하한다고 보고하였는데 이는 본 실험에서 PMSG주사 48시간 후에 이미 분산이 시작되었고 hCG주사 후에는 난자와 방사관세포 혹은 난구세포 사이의 desmosome과 gap junction이 급속히 감소하였다는 관찰과 일치하는 결과이다. 난자-난구 복합체를 배양하면서 난구세포내 cAMP를 증가 시키면 분산이 일어나는데 (Racowsky, 1984, 1985; Kwon *et al.*, 1978a, 1978b), 이로써 cAMP가 분산에 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있다. 한편 난자-난구 복합체를 배양하면서 RNA나 단백질 합성을 억제하였을 때 분산이 억제된 것 (Schuetz and Dubin, 1981; Kwon, 1983; Maruska *et al.*, 1984; Ball *et al.*, 1985)을 보면 분산에 RNA와 단백질 합성이 필요 불가결하다는 것도 알 수 있다. 이때 합성되는 단백질 중에는 hyaluronic acid의 합성

에 관여하는 효소들이 틀림없이 포함될 것이다.

난자-난구 복합체의 분산은 배란전에 PMSG에 의하여 시작되고 hCG에 의하여 촉진 완결 된다는 결론을 얻었다. 그러나 본 실험에서 밝힌 난자-난구 복합체의 미세구조적 변화와 지금까지 밝혀진 생리적 현상은 분산을 유도함에 있어서 어떻게 연관되어 있는지 아직도 그 상관관계를 밝히기 위하여 많은 연구가 필요하다.

인용문헌

- Albertini, D. F. and E. Anderson, 1974. The appearance and structure of intercellular connections during the ontogeny of the rabbit ovarian follicle with particular reference to gap junction. *J. Cell Biol.* **63**:234-250.
- Bae, In-Ha and C. P. Channing, 1981. Effect of FSH and hCG on progesterone secretion by cultured oocyte-cumulus complexes and granulosa cells from porcine antral follicles: Influence of follicular development. *Gamete Res.* **4**:473-483.
- Ball, G. D., E. D. Wieben, and A. P. Byers, 1985. DNA, RNA, and protein synthesis by porcine oocyte-cumulus complexes during expansion. *Biol. Reprod.* **33**:739-744.
- Burghardt, R. C. and E. Anderson, 1979. Hormonal modulation of ovarian interstitial cells with particular reference to gap junction. *J. Cell Biol.* **81**:104-114.
- Burghardt, R. C. and R. L. Matheson, 1982. Gap junction amplification in rat ovarian granulosa cells. 1. A direct response to follicle-stimulating hormone. *Dev. Biol.* **94**:206-215.
- Centola, G. M., 1982. Light microscopic observations of alterations in staining of the zona pellucida of porcine follicular oocyte: Possible early indication of atresia. *Gamete Res.* **6**:293-304.
- Dekel, N. and W. H. Beers, 1978. Rat oocyte maturation *in vitro*: Relief of cyclic AMP inhibition by gonadotropins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**:4369-4373.
- Dekel, N. and P. F. Kraicer, 1978. Induction *in vitro* of mucification of rat cumulus oophorus by gonadotropins and adenosine 3',5'-monophosphate. *Endocrinology* **102**:1797-1802.
- Dekel, N., T. S. Lawrence, N. B. Gilula, and W. H. Beers, 1981. Modulation of cell-to-cell communication in the cumulus-oocyte complex and the regulation of oocyte maturation by LH. *Dev. Biol.* **86**:356-362.
- Downs, S. M., D. L. Coleman, P. F. Ward-Bailey and J. J. Eppig, 1985. Hypoxanthine is the principal in-

- hibitor of murine oocyte maturation in a low molecular weight fraction of porcine follicular fluid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**:454-458.
- Eppig, J. J., 1979. FSH stimulates hyaluronic acid synthesis by oocyte-cumulus cell complexes from mouse preovulatory follicles. *Nature* **281**:483-484.
- Eppig, J. J., 1982. The relationship between cumulus cell-oocyte coupling, oocyte meiotic maturation, and cumulus expansion. *Devl. Biol.* **89**:268-272.
- Eppig, J. J. and P. F. Ward-Bailey, 1982. The mechanism of cumulus cell-oocyte uncoupling: Evidence for the participation of both cumulus cells and oocytes. *Gamete Res.* **6**:145-154.
- Gilula, N. B., M. L. Epstein, and W. H. Beers, 1978. Cell-to-cell communication and ovulation: A study of the cumulus-oocyte complex. *J. Cell Biol.* **78**:58-74.
- Heller, D. T., D. M. Chill, and R. M. Schultz, 1981. Biochemical studies of mammalian oogenesis: Metabolic cooperativity between granulosa cells and growing mouse oocytes. *Devl. Biol.* **84**:455-464.
- Hillensjö, T., N. Dekel, and K. Ahren, 1976. Effects of gonadotrophins on the cumulus oophorus of isolated rat Graafian follicles. *Acta Physiol. Scand.* **96**:558-568.
- Kim, M. K., Y. H. Lee, J. H. Kim, and Y. D. Yoon, 1987. A study on the fine structural changes of porcine ovarian follicles during atresia. *Kor. J. Zool.* **30**:351-370.
- Ko, S. K., C. H. Ra, and H. B. Kwon, 1988. Studies on the metabolic cooperativity between oocyte and cumulus cells in mammalian oocyte cumulus complexes *in vitro*. *Kor. J. Zool.* **31**:81-86.
- Kwon, H. B., 1982. On the study of the cumulus cell dispersion in mammalian oocyte-cumulus complexes *in vitro*. *J. Natur. Sci.* **13**:93-104.
- Kwon, H. B., 1983. Effect of puromycin and actinomycin D on the hCG-induced expansion of cumulus oophorus *in vitro*. *Kor. J. Zool.* **26**:225-233.
- Kwon, H. B., S. K. Ko, and W. B. Im, 1987a. Studies on the cumulus expansion and oocyte maturation of mouse cumulus-oocyte complexes: Regulation of intracellular cAMP level. *Kor. J. Zool.* **30**:1-9.
- Kwon, H. B., W. K. Lee, N. J. Kim, M. K. Kim, and C. H. Ra, 1987b. Regulation of cumulus expansion of porcine cumulus-oocyte complexes *in vitro*: Involvement of cAMP and calcium. *Kor. J. Zool.* **30**:107-116.
- Laufer, N., A. H. DeChmey, F. P. Haseltine, and H. R. Behrman, 1984. Steroid secretion by the human egg-corona-cumulus-complex in culture. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **58**:1153-1157.
- Lawrence, T. S., W. H. Beers, and N. B. Gilula, 1978. Transmission of hormonal stimulation by cell-to-cell communication. *Nature* **272**:501-506.
- Lee, W. K. and H. B. Kwon, 1986. Cumulus expansion and oocyte maturation of oocyte-cumulus complexes isolated from different ages of mice *in vitro*. *Kor. J. Fertil. Steril.* **13**:195-200.
- Maruska, D. V., M. L. Leibfried, and N. L. First, 1984. Role of calcium and the calcium-calmodulin complex in resumption of meiosis, cumulus expansion, viability and hyaluronidase sensitivity of bovine cumulus-oocyte complexes. *Biol. Reprod.* **31**:1-6.
- Motlik, J., J. Fulka, and J. E. Flechon, 1986. Changes in intercellular coupling between pig oocyte and cumulus cells during maturation *in vivo* and *in vitro*. *J. Reprod. Fert.* **76**:31-37.
- Polan, M. L., N. Laufer, R. Ohkawa, W. Botero-Ruiz, F. P. Haseltine, A. H. DeChmey, and H. R. Behrman, 1984. The association between granulosa cell aromatase activity and oocyte-corona-cumulus-complex maturity from individual human follicles. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **59**:170-174.
- Racowsky, C., 1984. Effect of forskolin on the spontaneous maturation and cyclic AMP content of rat oocyte-cumulus complexes. *J. Reprod. Fert.* **72**:107-116.
- Racowsky, C., 1985. Effect of forskolin on maintenance of meiotic arrest and stimulation of cumulus expansion, progesterone and cyclic AMP production by pig oocyte-cumulus complexes. *J. Reprod. Fert.* **74**:9-21.
- Racowsky, C. and R. A. Satterlie, 1985. Metabolic, fluorescent dye electrical coupling between hamster oocytes and cumulus cells during meiotic maturation *in vivo* and *in vitro*. *Devl. Biol.* **108**:191-202.
- Reynolds, E. S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electroopaque stain in electron microscope. *J. Cell Biol.* **17**:208-212.
- Schuetz, A. W. and N. H. Dubin, 1981. Progesterone and prostaglandin secretion by ovulated rat cumulus cell-oocyte complexes. *Endocrinology* **108**:457-463.
- Schultz, R. M., 1985. Roles of cell-to-cell communication in development. *Biol. Reprod.* **32**:27-42.
- Talbot, P. and G. DiCarantonio, 1984. The oocyte-cumulus complex: Ultrastructure of the extracellular components in hamsters and mice. *Gamete Res.* **10**:127-142.

(Accepted October 5, 1988)

Ultrastructural Changes of the Oocyte-Cumulus Complex before and after Ovulation in Mouse

Moon Kyoo Kim, Jong Heup Kim, and Hyuk Bang Kwon* (Department of Biology, Hanyang University, Seoul 133-791; *Department of Biology, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

The ultrastructural changes of the oocyte-cumulus complexes of mouse after injection of PMSG and hCG have been investigated in order to elucidate expansion phenomenon of the cumulus cells.

The oocytes until 48 hours after PMSG injection showed no change except a tendency of decrease in numbers of microvilli and the coated pits on surface membrane. However, surface membrane of the ovulated oocytes 12 hours after PMSG-hCG injection changed to be smooth due to disappearance of microvilli and coated pits. Corona radiata cells tightly attaching to zona pellucida 48 hours after PMSG injection began to be detached and their cytoplasmic processes connected by desmosome to oocyte surface membrane showed a degeneration symptom. Thereafter the detachment and degeneration were accelerated by hCG injection and followed by disappearance of desmosome.

The cumulus cells in control group were compacted and connected by almost gap junction each another. The cumulus cells 24 hours after PMSG injection were changed to be round form and more tightly compacted. However, the cumulus cells 48 hours after PMSG injection were connected by almost loose junction and showed the beginning of expansion. Eventually, the cumulus cells 12 hours after PMSG-hCG injection were completely expanded, and became pyknotic and necrotic in most.

It is clear that the expansion of oocyte-cumulus complex were initiated by PMSG, then accelerated and completed by hCG before ovulation.

EXPLANATION OF PLATES

Abbreviation

CG: cortical granule

CP: coated pit

CR: corona radiata

G :Golgi complex

GJ: gap junction

L : lipid droplet

LJ: loose junction

M : mitochondria

Scale bars = 1 μ m

MB : microbody

MV : microvilli

N : nucleus

PS : perivitelline space

RER: rough endoplasmic reticulum

SER: smooth endoplasmic reticulum

Y : yolk

ZP : zona pellucida

Plate I. The Oocyte-Cumulus Complex

1. Microphotograph of control group showing the compaction of polymorphous cumulus cells, with relatively constant intercellular spaces. (X 500)
2. Microphotograph of P-24 group. Note that the cumulus cells became round form and compacted more tightly. (X 500)
3. Microphotograph of P-48 group. Note the initiation of cumulus expansion and the partial pyknotic or degeneration. (X 500)
4. Microphotograph of PH-12 group showing the complete expansion and the degeneration. Note darkly stained oocyte. (X 500).

Plate II. The Cortical Portion of Oocyte

1. Electron microphotograph of control group, showing well-developed microvilli(MV) and coated pit(CP).
2. Electron microphotograph of P-24 group, showing little changes as compared with control group.
3. Electron microphotograph of P-48 group. Note somewhat shortened and decreased number of microvilli.
4. Electron microphotograph of PH-12 group. Note the smooth surface membrane and abundant microbodies(MB) in ooplasm.

Plate III. The Cumulus Cell

1. Electron microphotograph of control group. Note the connection by gap junction(GJ).
2. Electron microphotograph of P-24 group. Note the round forms of cells and their nuclei, and tight compaction as compared with other groups.
3. Electron microphotograph of P-48 group. Note elongated mitochondria(M), well-developed Golgi complexes(G), and vesicular and laminar SER.
4. Electron microphotograph of PH-12 group. Note the wrinkled cell shape and disruption point(arrow head) of surface membrane.

Plate I

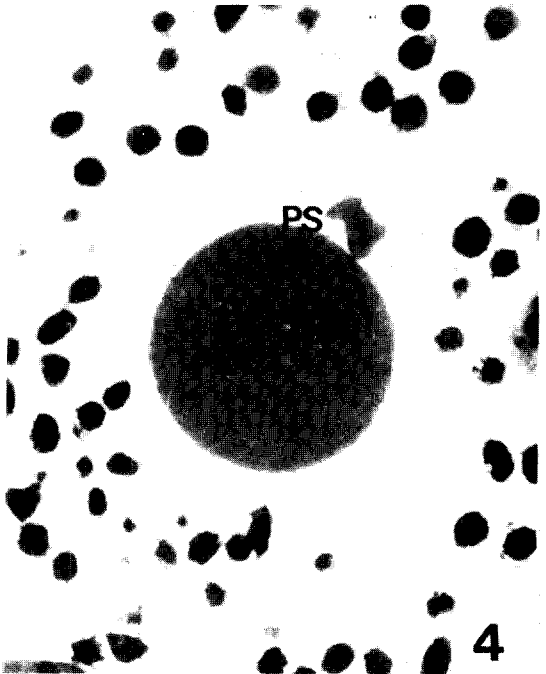
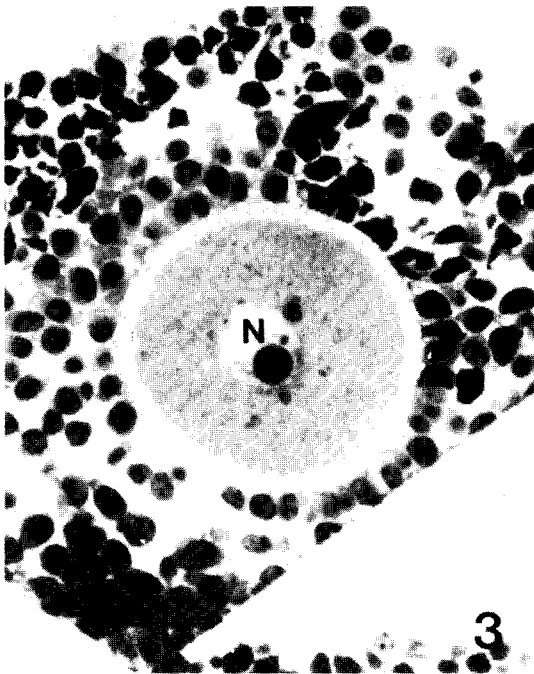
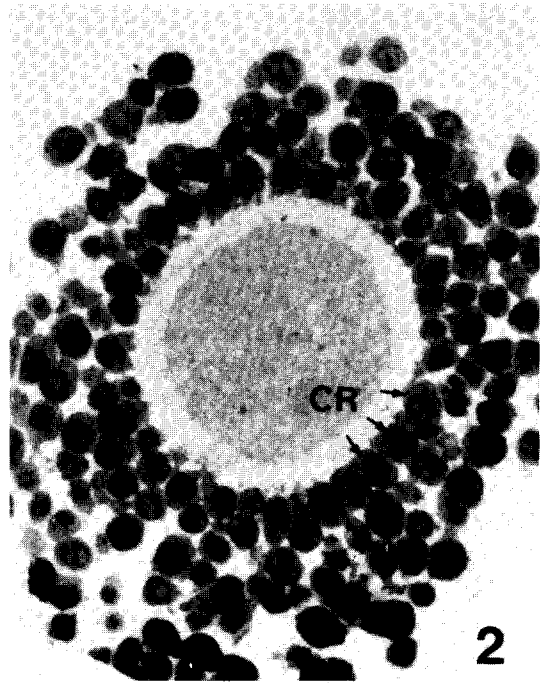
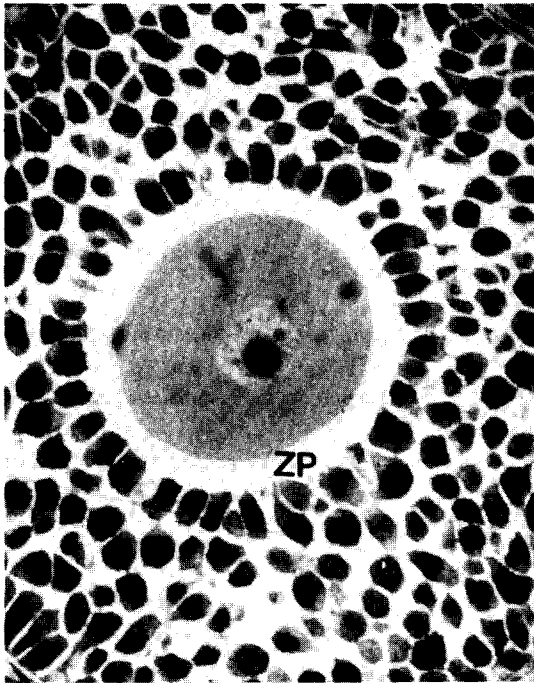


Plate II

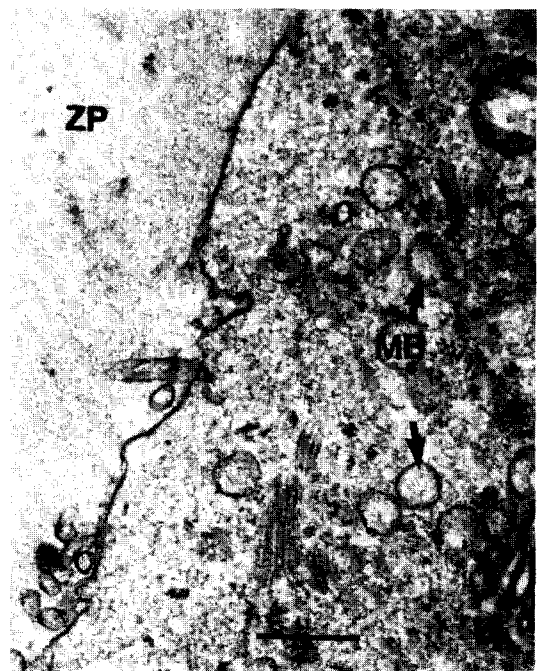
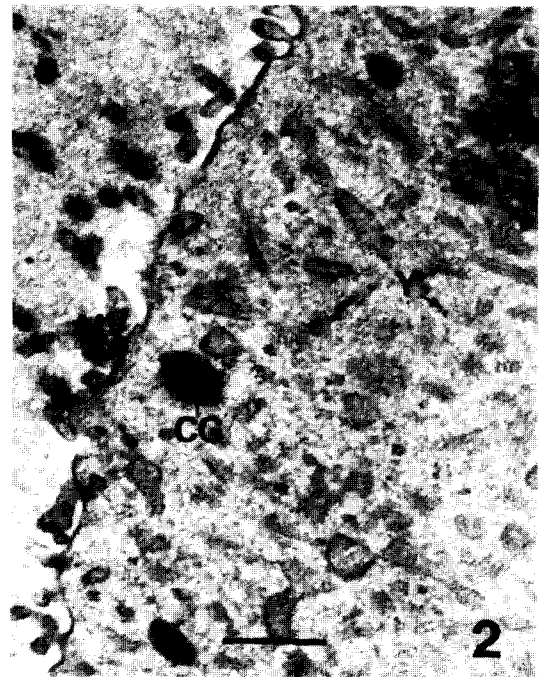
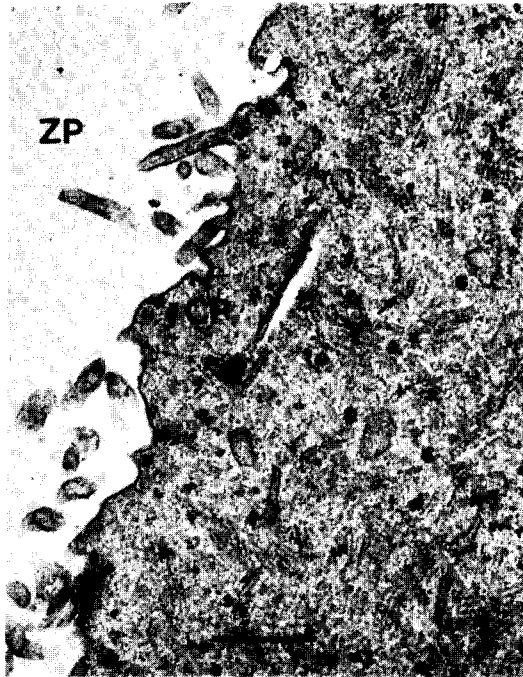


Plate III

