

Progesterone의 異化효소, 20α -hydroxysteroid dehydrogenase의
활성 및 활용에 관한 연구
1. 20α -hydroxysteroid dehydrogenase의 활성 및
혈청 progesterone농도의 변화

姜正夫·郭守東

경상대학교 수의과대학
(1994년 9월 7일 접수)

Activity and application of 20α -hydroxysteroid dehydrogenase in rat
1. Changes in activities of 20α -hydroxysteroid dehydrogenase and serum
progesterone concentration

Chung-boo Kang, Soo-dong Kwak

College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University
(Received Sept. 7, 1994)

Abstract : Progesterone catabolizing enzyme, the enzyme 20α -hydroxysteroid dehydrogenase(20α -HSD) is pivotal in the regulation of ovarian function in rodents, which catabolizes progesterone into biologically inactive 20α -hydroxypregn-4-en-3-one(20α -OHP). In this study was carried out the influence of 20α -HSD activity of ovarian function, we investigated changes in ovarian cytosol 20α -HSD activity and serum progesterone concentration during the estrous cycles and pregnancy in rat. During the estrous cycles, the 20α -HSD activities were highest on the progestrous, but serum progesterone concentration was lowest on this phase. During the pregnancy, the 20α -HSD activities were relatively higher early pregnancy(day-1-3 gestation) and late pregnancy(day 21 to parturition), serum progesterone concentration was maintained significantly high to day 19 of gestation. The 20α -HSD activities were lower during the middle pregnancy.

From these results, ovarian 20α -HSD activities may possibly act as physiologically very important in the control and maintenance of estrous cycles in rat.

Key words : 20α -hydroxysteroid dehydrogenase(20α -HSD), catabolizing enzyme, 20α hydroxypregn-4-en-3-one (20α -OHP), progesterone, rat.

緒 論

Matsuda et al¹은 rat, mouse와 같은 설치류의 progesterone분비에는 물론 임신에 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase(20 α -HSD)의 역할이 기본적인을 밝혀 근원적인 생식생리의 생체 mechanism 규명 및 산업에의 활용을 위해서는 20 α -HSD 규명에 대한 중요성을 시사해 주고 있다. Wilcox² 및 Wiest et al^{3,6}은 20 α -HSD는 progesterone을 catabolize시켜 20 α -hydroxypregn-4-en-3-one(20 α -dihydroprogesterone, 20 α -OHP)으로 되면 생리활성이 없어짐을 보고 하였다. hashimoto et al⁷은 쥐의 위임신 또는 임신중 progesterone의 분비와 20 α -OPH 간의 관계는 20 α -HSD에 의해 조절됨을 밝힌 바 있다. Pupkin et al⁸은 정상 발정주기에서는 오래된 황체에서 20 α -HSD가 많이 생산, 분비됨으로 20 α -HSD는 황체소실 및 기능유지에 깊은 관련이 있음을 밝힌 바 있다.

Smith et al¹⁰ 및 Murakami et al¹¹은 20 α -HSD와 prolactin과의 관계를, Saito et al^{12,13}은 prolactin의 20 α -HSD 활성 억제작용은 transforming growth factor- β (TGF β)에 의해 소실됨을 보고한 바 있다. Matsuda et al¹은 rat의 실험에서 신생황체에서는 progesterone 함성이 활발하게 이루어지나 이의 함성은 20 α -HSD의 활성에 좌우되어 20 α -HSD의 활성이 억제되는 앞으면 progesterone은 생리활성이 없는 20 α -hyseoxy-pregn-4-en-3-one(20 α -dihydroprogesterone, 20 α -OHP)로 대사됨이 구체적으로 입증된 바 있다²⁴. 최근에는 면역세포(immunocytes)의 일종인 macrophage(M ϕ)가 주로 분비하는 interleukin 1(IL-1) 및 tumor necrosis factor α (TNF α)가 시상하부, 하수체의 작용, 난포의 황체화를 억제하여 황체 퇴행(regression of corpus luteum)을 결정하는 paracrine으로서 주목되고 있으나¹³ 이들의 활성 및 활용에 관한 연구는 거의 되어 있지 않아 이들의 상호관련성에 대한 분석을 실시하여 새로운 차원에서의 생식생리의 기전연구에는 물론 향후 임신조절, 수태율 향상, 불임의 원인 규명에 활용코저 혈중 progesterone농도 측정과 동시에 20 α -HSD와 macrophage의 활성 및 조직학적 변화에 대한 검색을 실시하였다.

材料 및 方法

供試動物 : 본 대학 실험동물 사육실에서 사육중인 Wistar strain rat(우)를 성주기별(비임신군)과 임신군으로 나누어 각각 7마리 이상 사용, 급수 및 사료은 자유

로이 섭취하도록 하였다. 실내온도는 22 $^{\circ}$ C전후로, 점등 시간은 14시간, 소등시간은 10시간의 조건으로 하여 실시하였다.

實驗群 : 9주령 이상(10-15주령)의 미경산인 랫드를 하루에 2회(09:00, 18:00)씩 陰塗抹하여 4~5일 간격의 규칙적인 性週期가 3회 이상 반복되는 것만을 성주기 별군으로 하였고, 性週期는 4단계(發情前期, 發情期, 發情後期 및 發情靜止期)로 나누어서 실시하였다. 妊娠期群은 수컷과 1:1로 합사시켜 다음날 오전 09:00~10:00에 陰塗抹하여 정자나 질전이 확인된 것을 수정 1일로 하여 실시하였다. 試料는 妊娠日數에 따라 1~2일 간격으로 09:00~10:00에 採取하였고 분만직후의 試料만은 분만중인 것을 관찰한 후 분만이 종료되었을 때 採取하였다.

試料採取 : 卵巢採取는 채혈후 경추탈구법으로 도살하여 즉시 난소 피막과 주위 지방조직을 제거한 후 난소조직만을 절제하여 -28 $^{\circ}$ C에 급속 냉동하였다. 동결된 난소 2개(1마리분)의 重量을 測定하여 20배 容量의 buffer 용액[5 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0), 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 10% glycerol에 사용 직전 10 μ g/ml leupeptin, 200 μ m, phenylmethylsulfonyl fluoride, 1 mM dithiothreitol(DTT)를 첨가]첨가하여 4 $^{\circ}$ C에서 glass homogenizer로 均質化하여 이 균질액을 Quick-Seal (Beckman) 원심관에 옮겨 超遠心分離機(Beckman L-80)를 使用하여 4 $^{\circ}$ C, 105,000 \times g에서 90분간 원심분리, 이의 상층액을 20 α -HSD의 活性度 測定時까지 -28 $^{\circ}$ C에 보관하여 측정하였다.

20 α -HSD의 活性度 測定 : 20 α -HSD 活性度는 20 α -dihydroprogesterone(20 α -OHP)가 20 α -HSD에 의해 progesterone으로 전환됨에 따라 상응하여 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP)가 환원되어 생성되는 NADPH의 양으로 하여 Ronald et al¹⁴의 방법에 따라서 測定하였다. 기질용액[60 μ M 20 α -OHP (Sigma Chem. Co.), 0.1 M Tris-HCl(pH 8.0), 6% ethanol, 1 mM EDTA에 사용직전 300 μ M β -NADP (Sigma Chem Co), 5 mM DTT를 첨가] 500 μ l를 石英 micro-cuvette에 넣어 37 $^{\circ}$ C 항온조에 3분간 incubation 후에 氷冷된 卵巢細胞液을 25 μ l 첨가하여 즉시 혼합해서 分光光度計(Shimazu UV-2201) 340 nm에서 吸光度 변화를 3분간 경시적으로 기록, 난소액 중에는 NADP⁺를 환원시켜 NADPH를 생성할 수 있는 약간의 活性이 존재하기에 기질이 있을 때와 없을 때의 결과치의 차이를 구하여 20 α -HSD의 活性으로 나타내었다.

20 α -HSD 活性度 1 unit는 37 $^{\circ}$ C에서 NADPH가

1 μ mol/min/ml 생성되는 양으로 나타내었다.

卵巢細胞液이蛋白質量은 Bradford 方法¹⁵에 따라 희석한 卵巢細胞液 100 μ l에 기질액(0.01% Coomassie brilliant blue G-250, 4.7% ethanol, 8.5% phosphoric acid) 5ml를 가하여 室溫에서 반응후 1시간내에 分光光度計 595 nm에서 測定하여 bovine serum albumin을 사용한 표준곡선에 의해 定量하였다.

Progesterone 濃度 測定 : 혈청 progesterone 濃度 測定은 姜 등¹⁶의 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 方法에 준하여 실시하였다.

結 果

性週期別에 대한 20 α -HSD 活性度 變化 : 20 α -HSD 活性度は 發情前期에서는 94.7 \pm 11.7 mU/mg protein으로 높았고 發情期에서는 92.5 \pm 6.7 mU/mg protein, 發情後期에서는 79.7 \pm 7.2 mU/mg protein, 發情靜止期에서는 66.7 \pm 11.5 mU/mg protein으로 점차적으로 減少하였다(Fig 1).

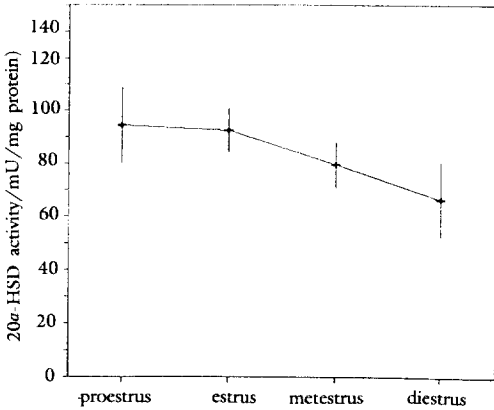


Fig 1. Changes in ovarian cytosol 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase(20 α -HSD) activity during the estrus cycle. All values are expressed as the means \pm SD

性週期別에 따른 血清 progesterone 濃度 변화 : 血清 progesterone 濃度 變化는 發情後期에서는 20.1 \pm 6.9 ng/ml으로 제일 높았고 發情靜止期에서는 9.3 \pm 0.7 ng/ml, 發情前期에서는 9.3 \pm 3.4 ng/ml으로 減少하였다가 發情期에 14.2 \pm 3.6 ng/ml으로 다시 增加하였다(Fig 2).

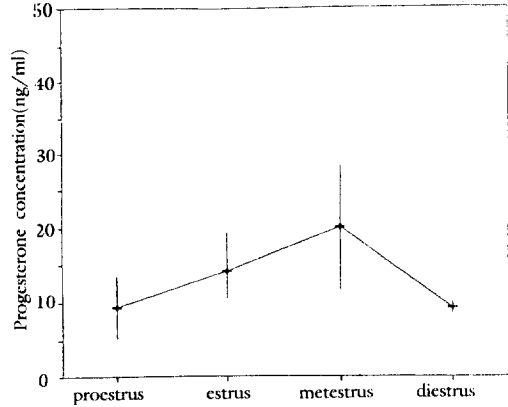


Fig 2. Changes in serum progesterone concentration during the estrous cycle. All values are expressed as the mean \pm SD

妊娠期間中の 20 α -HSD 活性度 變化 : 20 α -HSD 活性度は 妊娠 1, 2 일에는 61.2 \pm 11.7, 75.6 \pm 13.4 mU/mg protein, 이후 감소하여 妊娠 5 일에는 35.6 \pm 13.2 mU/mg protein으로 減少하였다. 妊娠 9 일에 47.6 \pm 9.3 mU/mg protein으로 다시 약간 增加하였지만 이후 점차적으로 減少하여 妊娠 13일에 20.1 \pm 7.2 mU/mg protein, 15 일에 15.9 \pm 3.2 mU/mg protein으로 매우 낮았다. 분만이 가까운 妊娠 20 일에 25.1 \pm 6.1 mU/mg protein에서 妊娠 21 일에 70.4 \pm 32.9 mU/mg protein으로 급격히 增加하여 분만직후(95.1 \pm 5.3 mU/mg protein)까지 계속 增加하였다(Fig 3).

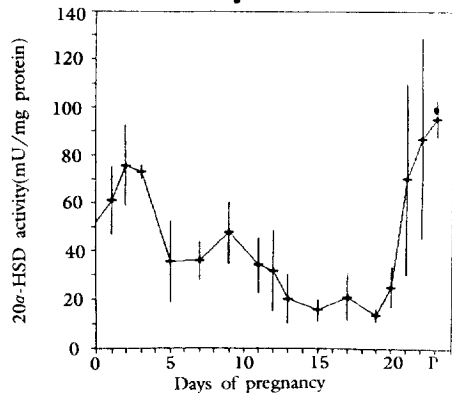


Fig 3. Changes in ovarian cytosol 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase(20 α -HSD) activity during pregnancy P=immediately after parturition. All values are expressed as the mean \pm SD

妊娠期間中の血清 progesterone 濃度の變化 : 血清 progesterone 濃度は妊娠 1, 3, 5 일에 각각 29.1 ± 6.8 , 64.9 ± 11.7 , 95.0 ± 10.6 ng/ml로 점차 増加하였다가 妊娠 9 일에는 42.2 ± 6.0 ng/ml로 減少하여 妊娠 12일에는 99.0 ± 13.0 ng/ml로 다시 増加하였다. 분만이 가까운 妊娠 19일 이후에 급격히 減少하여 妊娠 20 일에서 분만 직후까지는 20.2 ± 7.5 ~ 9.1 ± 3.6 ng/ml로 매우 낮게 나타났다(Fig 4).

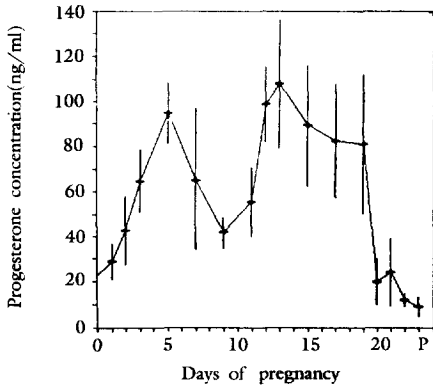


Fig 4. Changes in serum progesterone concentration during pregnancy P=immediately after parturition. All values are expressed as the mean \pm SD

考 察

본 실험에서 20 α -HSD 活性度は 發情前期에서 가장 높았고 發情期, 發情後期, 發情靜止期순으로 점차적으로 減少하였다. 이러한 결과는 Bast et al¹⁷이 卵巢細胞液에서 20 α -HSD 活性度 増加는 LH의 増加와 관련이 있으며 다른 性週期보다 黃體의 퇴행시기에 높게 존재하며 發情靜止期에 가장 낮고 發情前期에 2배로 상승하였다가 發情期에 다시 낮아 진다고 한 보고와 유사하였다. 또한 Turolla et al¹⁸은 性週期동안 組織化學的 方法으로 2 α -HSD 양성을 나타내는 黃體를 관찰한 결과 發情後期 發情靜止期에 새로 형성된 黃體에서는 20 α -HSD의 양성을 나타내는 黃體는 없어 이 시기에 酵素 活性를 나타내는 黃體는 앞서 性週기에 형성된 黃體이고 새로 형성된 黃體는 發情靜止期和 發情前期 사이에서 20 α -HSD 活性를 나타내기 시작하여 發情前期와 發情期 동안의 모든 黃體에서 20 α -HSD 活性를 나타내었

으나 완전히 퇴축한 항체는 20 α -HSD 活性가 없다고 보고하였다. 또한 20 α -HSD 活性를 나타내는 黃體가 완전히 퇴축되어 사라지는 시기는 黃體生成 後 16~20일 정도이고 性週期 마다 각 난소에는 10개 정도의 黃體가 생성되며 性週期中 20 α -HSD 活性를 나타내는 黃體가 가장 많은 시기는 發情前期로 약 40개이며, 發情期, 發情後期, 發情靜止期 순으로 減少하였다고 했다. 또한 Anderson et al¹⁹은 性週期別 난소조직의 黃體에서 progestins의 생성은 모든 性週期中에서 progesterone 보다 20 α -OHP가 많이 생성되며 發情前期에 20 α -OHP가 3~4배로 다른 性週期에 비해 가장 많이 생성되었다고 하였는데 이 시기에 黃體에서는 20 α -HSD 活性도가 가장 높아 progesterone이 20 α -OHP로 的 전환이 매우 활발하기 때문에 생각된다.

性週期 동안에 progesterone 濃度は 發情後期에 높고 發情靜止期에 減少하여 發情期에 増加하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Butcher et al²⁰이 4일 간격의 性週期를 갖는 랫드에서 3시간 간격으로 progesterone 濃度を 測定한 결과 發情 黃體의 짧은 기간(24시간)의 영향으로 發情後期에 靜止期에 이르는 시기에 점차적인 増加後 靜止期 이후에 減少하여 排卵前에 급격한 増加가 있었다고 보고하였으나 본 실험에서는 發情後期の 増加는 관찰되었으나 増加는 관찰되었으나 배란전의 급격한 増加는 관찰하지 못했다.

20 α -HSD(20 α -hydroxysteroid dehydrogenase)는 progesterone을 catabolise시켜 20 α -OHP(20 α -dihydroprogesterone)로 대사되면 progesterone 원래의 생리활성을 잃게 된다는 물론이다²⁶. 임신기간중 progesterone 濃도와 20 α -HSD 活性度は 함께 増加하기 시작하여 progesterone 濃度は 妊娠 5일 까지, 20 α -HSD 活性度は 妊娠 2 일까지의 増加하였다. 20 α -HSD 活性도가 2일 까지 増加한 것은 이미 존재하던 黃體의 퇴행과 깊은 관계가 있는 것으로 생각된다¹.

妊娠한 랫드의 난소에는 2 세대 이상의 黃體를 가지고 있으며²¹ Wiest et al⁵은 임신한 랫드의 난소 조직에서 20 α -HSD의 조직화학적 반응 양성세포를 관찰한 바 妊娠初期에는 退行하는 黃體에서 반응이 강하고 반면에 妊娠黃體는 반응이 나타나지 않았으며, 妊娠中期에는 미리 존재하던 黃體는 퇴축, 소실되어 20 α -HSD 양성을 나타내는 항체는 볼 수 없었고, 妊娠 19일에 妊娠 黃體의 일부에서 양성을 나타내기 시작하여 妊娠 21일에 모든 黃體가 양성반응을 나타내었다고 하였다.

본 실험에서 妊娠 20일에 20 α -HSD 活性도가 급격하게 増加하기 전에 progesterone 濃度は 급격하게 減少하였고 妊娠 21일 이후에 20 α -HSD 活性度は 3~4배

로 증가하였으나 progesterone 濃度は 20일과 유사하게 낮았다. 이러한 결과는 Lacy et al²²이 임신말기에 progesterone 농도 減少가 있는 후에 20 α -OHP 濃度の增加와 20 α -HSD 活性度增加가 있었으며 妊娠 22일에 20 α -OHP 濃度增加가 20 α -HSD 活性度增加보다 10시간 먼저 나타났으며 20 α -HSD 活性度は 妊娠 23일까지 계속 增加하였지만 20 α -OHP 농도는 더 이상增加가 없었으므로 妊娠黃體의 퇴행은 20 α -HSD 단일 효소에 의해서라기 보다는 progesterone 합성과 減少에 관여하는 더 복잡한 현상에 의한 것이라고 보고한 결과와 비슷하였으며 임신 후반기 20 α -HSD 活性은 LH, lutetrophin-releasing hormone, hCG, PGF_{2 α} , aminoglutethimide의 투여와 태아태반의 제거와 자궁적출에 의해서 증가되고 prolactin에 의해서 억제되는 것으로 알려져 있어 여기에 대한 검증이 필요할 것으로 생각됨은 물론이다^{23,25}.

개와 고양이에서의 자연발생체의 악성 肉重에서는 양성 肉重에 비해 20 α -HSD 活性도가 매우 높아²⁶ 肉重의 정도에 대한 분석에도 활용가능할 것으로 믿어진다.

생체내의 progesterone 합성은 20 α -HSD의 활성에 좌우되며, 20 α -HSD의 활성유지에는 prolactin이 크게 관여하고 prolactin의 활성 소실은 TGF- β (transforming growth factor- β)에 함이 밝혀져 가고 있어¹⁰ 이들 상호 생리활성물질에 대한 관련성에 대한 연구가 선행되어야 겠으나 본 실험에서 發情前期, 妊娠初期와 末期, 哺乳初期 末期(미발포)에서 progesterone의 濃度は 낮고 20 α -HSD 活性度は 높았으며 이와는 달리 妊娠中期, 哺乳中期에는 progesterone의 濃度は 높고 20 α -HSD 活性度は 낮은 것으로 나타나 난소에서 20 α -HSD는 성주기별에 있어서는 물론 임신중의 혈중 progesterone의 濃度調節에 절대적인 역할을 하고 있는 것으로 생각된다.

結 論

Rat, mouse와 같은 설치류의 생체내 progesterone의 분비, 합성에는 물론 대사에도 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase(20 α -HSD) 活性이 매우 관계가 클 것으로 추측되어 이를 규명코져 Wistar strain rat를 사용하여 성주기별 및 임신기간중의 卵巢細胞液中 20 α -HSD 활성과 혈중 progesterone 농도를 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻게 되었다.

性週期別中の (20 α -HSD) 活性度は 發情前期에서 가장 높았으나 이와는 달리 혈청 progesterone 濃度は 發

情前期에서 가장 낮게 나타났다. 妊娠期中 20 α -HSD 活性度は 妊娠初期(1~3일)와 妊娠後期(21일에서 분만까지)에는 약간 높았고 임신중에는 낮게 나타났으나 혈청 progesterone 濃度は 妊娠 19일까지 매우 높게 유지되었다.

이러한 결과로 보아 성주기별에 있어서는 물론 임신기간중에 있어 卵巢의 20 α -HSD는 혈중 progesterone 濃度調節에 매우 중요한 조절기능을 하는 것으로 생각되며 또한 性成熟과 관련된 steroid 합성 경로의 變化와도 매우 관계가 깊을 것으로 생각된다.

參 考 文 獻

1. Matsuda J, Noda K, Shiota K, et al. Participation of ovarian 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase in lutetolytic processes during rat pseudopregnancy. *J Reprod Fert* 1990; 88: 467-474.
2. Wilcox RB, Wiest WG. Comparative effectiveness of progesterone and 4-pregnen-20 α -ol-3-one in the development of deciduomata. *Endocrinology* 1960; 82: 844-859.
3. Weinstein Y. 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase: T lymphocyte associated enzyme. *J Immunol* 1977; 119: 1223-1229.
4. Wiest WG, Forbes TR. Failure of 20 α -hydroxy- Δ^4 -pregnen-3-one and 20 β -hydroxy- Δ^4 -pregnen-3-one to maintain pregnancy in ovariectomized mice. *Endocrinology* 1964; 74: 149-152.
5. Wiest WG, Kidwell WR, Balogh k Jr. Progesterone catabolism in the rat ovary; a regulatory mechanism for progestational potency during pregnancy. *Endocrinology* 1968; 82: 844-850.
6. Wiest WG. Purification of ovarian 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase. *Methods Enzymol* 1969; 15: 638-641.
7. Hashimoto I, Wiest WG. Correlation of the secretion of ovarian steroids with function of a single generation of corpora lutea of the immature rat. *Endocrinology* 1969; 84: 873-885.
8. Hashimoto I, Henricks DM, Anderson LL, et al. Progesterone and pregn-4-en-20 α -ol-3-one on ovarian venous blood during various reproductive states in the rat. *Endocrinology* 1968; 82: 333-341.

9. Pupkin M, Bratt H, Weisz J, et al. Dehydrogenase in the rat ovary. I. A histochemical study of Δ^5 -3 β - and 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase and enzymes of carbohydrate oxidation during the estrous cycle. *Endocrinology* 1966; 79: 316-327.
10. Smith MS, Freeman ME, Neill JD. The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the rat: prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology* 1975; 96: 219-226.
11. Murakami N, Takahashi M, Susuki Y. Conditions for establishment of reflex ovulation in light estrous rat. *Endocr Japan* 1978; 25: 299-303.
12. Saito S, Matsuyama S, Shiota K, et al. Involvement of splenocytes in the control of corpus luteum function in the rats: *Endochem Biophys Acta* 1988; 89: 557-560.
13. Saito S, Matsuyama S, Yamanochi K, et al. Change in ratios of phagocytotic macrophages in the splenic adherent cells during estrous cycle and pseudopregnancy in the rats. *J Reprod Dev* 1992; 38(2): 115-120.
14. Ronald CS, et al. human placental 17 β -estradiol dehydrogenase and 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase. *J Biol Chem* 1981; 256: 316-321.
15. Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantitation microgram quantities utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-254.
16. 姜正夫, 李孝宗, 崔尙龍. 소의 조기 妊娠診斷 kit의 개발 II. 조기 妊娠診斷 kit의 개발 대한수의학회지 1991; 31(2): 223-228.
17. Bast JD, Melampy RM. Luteinizing hormone, prolactin and ovarian 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase levels during pregnancy and pseudopregnancy in the rat. *Endocrinology* 1971; 91: 1499-1505.
18. Turolla E, et al. Histochemistry of ovarian 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase in the during the estrus cycle. *Specialia XXII* 1966 15X; 675-676.
19. Anderson LM, et al. Progesterin production during superfusion of ovaries from cycling rats. *Endocrinology* 1973; 92: 625-674.
20. Butcher RL, Collins WE, Fugo NW. Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 1974; 94: 1704-1708.
21. Murakami N, et al. Responsiveness of dispersed rat luteal cells to luteinizing hormone and prolactin during the estrous cycle and early pseudopregnancy. *Endocrinology* 1982; 111(2): 500-508.
22. Lacy LR, et al. Progesterone metabolism by the ovary of the pregnant rat: Discrepancies in the catabolic regulation model. *Endocrinology* 1976; 99: 929-934.
23. David HS, Kuhn NJ. Diurnal variation in the inducibility of luteal 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase in pregnant rats. *J Endocrinology* 1980; 85: 145-149.
24. Kuhn BNJ, Briley MS. The roles of pregn-5-ene 3 β 20 α -diol and 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase in the cocontrol of progesterone synthesis preceding parturition and lactogenesis in the rat. *Biochem J* 1970; 117: 193-201.
25. Redwey RG, et al. Hormonal control of luteal 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase and Δ^5 -3 β -hydroxy steroid dehydrogenase during luteolysis in the pregnant rat. *Biochem J* 1975; 152: 433-443.
26. Shiota K, Sasaki N, Hattori N, et al. Cytosolic 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase activity in spontaneous neoplasms in the dog and cat. *J Vet Med Sci* 1991; 53(4): 549-552.