

Progesterone의 異化효소, 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase의
활성 및 활용에 관한 연구
II. 脾臟內 macrophage의 활성 및 난소에서의 조직학적 변화

姜正夫·郭守東

경상대학교 수의과대학
(1994년 9월 7일 접수)

Activity and application of 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase in rat
II. Changes in activities of the splenic macrophages and ovarian histological findings

Chung-boo Kang, Soo-dong Kwak

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

Abstract : Progesterone catabolizing enzyme, the enzyme 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase(20 α -HSD) is pivotal in the regulation of ovarian function in rodents, which catabolizes progesterone into biologically inactive 20 α -hydroxypregn-4-en-3-one(20 α -OHP). In this study was carried out the influence of 20 α -HSD activity to ovarian function and regulation such as ovulation, formation of corpus luteum, maintenance of estrous cycles and pregnancy, we investigated changes in activities of the splenic macrophages and ovarian histological findings in rat.

During the estrous cycles, the ratios of phagocytotic macrophage in splenic adherent cells were highest on the proestrous, but they were lowest on metestrous. During the pregnancy, the ratios of phagocytotic macrophages in splenic adherent cells were lowest by 1 day and then significantly increased toward the pregnancy, which were highest pregnancy on day 12. On histological findings in rat ovary, the mean number of growing, antral and mature follicles were 15.9(72.9%), 3.4(15.9%), and 2.4(11.2%), respectively. Growing follicles reached to lowest number at diestrus and mature follicle reached to lowest number at metestrus. The numbers of corpus luteums per tissue section of the ovary were 14.4 and the number of normal and atretic follicles were 11.0(76.4%) and 3.4(23.6%), respectively. The number of corpus luteum with vacolated cell were 1.7(11.8%).

In this study suggests splenic macrophages are as a source of the substance which maintains progesterone secretion from luteal cells, and are recognized pass the vessels and reside in the fresh corpora lutea soon after ovulation via inflammatory reactions, and these macrophages are felt to have a stimulatory effect on the formation of corpora lutea. In view of the results include previous report¹⁴, ovarian 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase enzyme and splen-

ic macrophages consider play central role in the control and maintenance of estrous cycles and pregnancy, and also applicable to both clinical and research in a wide variety such as control of reproductive system.

Key words : splenic macrophage, phagocytosis, follicle, corpus luteum, 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 규명이 시급함을 시사한 바 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 보고하였다. Hashimoto et al^{7,8}은 쥐의 위임신 또는 임신중 progesterone의 분비와 20 α -OHP간의 관계는 20 α -HSD에 의해 조절됨을 밝힌 바 있다. Pupkin et al⁹은 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 조절됨을 보고한 바 있다. Matsuda et al¹은 rat의 실험에서 신생황체에서는 progesterone 함성이 활발하게 이루어지나 이의 함성은 20 α -HSD의 활성에 좌우되어 20 α -HSD의 활성이 억제되지 않으면 합성된 progesterone은 생리활성이 없는 20 α -hyseoxy-pregn-4-en-3-one(20 α -dihydroprogesterone, 20 α -OHP)로 대사됨이 구체적으로 입증된 바 있다^{2,4}. 최근에는 면역세포(immunocytes)의 일종인 macrophage (M ϕ)가 주로 분비하는 interleukin 1(IL-1) 및 tumor necrosis factor α (TNF- α)가 시상하부, 하수체에 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 활용코져 혈중 progesterone 농도 측정과 동시에 20 α -HSD와 macrophage의 활성 및 조직학적 변화에 대한 검색을 실시시켜 앞서의 20 α -HSD 활성 측정과 혈중 progest-

erone 농도와의 관련성에 대한 규명에 이어 macrophage는 황체기능 조절작용의 발현에 관여하고 있을 가능성이 커^{1,5,13,15-19} 여기에 따라 난소의 조직학적 변화도 관계가 있을 것으로 예측되어 脾臟內的 macrophage의 활성 측정과 동시에 난소에서 조직학적 변화에 대한 검색을 실시하였다.

材料 및 方法

供試動物 : 본 대학 실험동물 사육실에서 사육중인 Wistar strain rat(♀)를 성주기별(비임신군)과 임신군으로 나누어 사용하였으며, 급수 및 사료는 자유로이 섭취하도록 하였다. 실내온도는 22℃ 전후로, 점등시간은 14시간, 소등시간은 10시간의 조건으로 하여 실시하였다.

實驗群 : 脾臟內的 macrophage의 활성에 대한 檢索은 각 그룹별로 7마리 이상의 랫드로 9주령 이상(10-15주령)의 미경산인 랫드를 하루에 2회(09:00, 18:00씩) 陰塗抹하여 4-5일 간격의 규칙적인 性週期가 3회 이상 반복되는 것만을 성주기별군으로 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 실시하였다. 卵巢의 조직학적 검사에는 상기의 실험군과 동일한 조건의 랫드로 성주기별 각각 4마리씩으로 하여 실시하였다.

脾細胞의 採取 및 培養 : 성주기가 확인된 rat 2匹 이상씩을 한 그룹으로 하여 성주기별 군 및 임신군으로 나누어 오전 6시 이전 切頭器로 신속히 切頭, 머리부분을 아래로 향한 상태에서 신속히 放血시켜 開腹하여 다른 장기 부분(脾臟 등)이 전혀 포함되지 않도록 하여 脾臟 摘出을 실시하였다.

摘出した 脾臟은 바로 buifer A 용액이 들어 있는 culture plate로 옮겨 멸균 가위, forcep 등을 사용, 아주 잘게 切斷한 후 멸균 주사기(20ml)통에 넣어 위에서 아래로 누르는 식으로 homogenize시켜 culture tube (15ml, Falcon)에 分注, 원심 분리하여 사용하였다. 이상의 전과정은 氷上(4℃)에서 실시하였으며 이후의 脾

細胞의 分離採取, 生細胞數 확인, 培養은 Maysuyama et al¹⁵의 방법에 의거하여 실시하였으나 배양세포 수준은 2×10^6 /ml로 조정하여 500 μ l/well로 배양하였다. Buffer A, DMEM-1 및 HEPES용액 調製 역시 Matsuyama et al¹⁵의 방법에 준하였다.

脾臟內의 macrophage의 活性 : 앞서 순수 배양한 脾細胞(付着細胞)만을 harvest하여 이때의 총세포수를 계산한 후 Saito et al¹³ 및 Moiser²⁰의 방법에 의거 horseradish peroxidase(HRP, Sigma Co. USA)에 대한 食食세포수의 비율을 macrophage의 활성으로 하여 나타내었다.

卵巢의 조직학적 검사 : 성 주기별로 양측 난소를 절취하여 10% 중성 formalin액에 고정하고 paraffin 조직 절편을 만들어 H-E 염색을 하고 각 난소의 일정한 간격의 조직 절편 중에서 관찰된 난포를 성장난포, 강난포 및 성숙난포별로 구분하고 각 조직 절편당 출현하는 수를 조사한 후 그 비율을, 황체는 정상황체와 퇴행황체로 구분하여 그 수들을 조사, 그 비율을 구하였다.

結 果

性週期別에 대한 脾臟內 macrophage의 활성 : 食食細胞(Fig 5) 數의 비율 즉 macrophage의 활성은 發情前期에서는 $68 \pm 6.4\%$, 發情期에서는 $57 \pm 6.2\%$, 發情後期에서는 $49 \pm 4.6\%$, 發情靜止期에서는 $62 \pm 4.9\%$ 로 發情前期에서 가장 높게, 發情後期에서 가장 낮게 나타났.

妊娠期間中의 脾臟內의 macrophage의 활성 : ma-

crophage의 활성은 임신초(1일)까지는 5% 이내로 매우 낮았으나 5일 이후 부터는 증가하기 시작하여 임신중기(12일 전후)에서는 급격히 증가하여 $86 \pm 7.8\%$ 내외로 높았으나 이후 부터 분만시 까지는 약간의 감소는 있었으나 계속 높은 수준을 유지하였다.

卵巢에서의 조직학적 변화 : 난소의 각 조직절편에서 출현하는 난포를 크기와 형태에 따라 2층 이상의 과립 세포가 있으면서 난포강이 형성되지 않은 난포를 성장난포, 난포강이 형성된 난포를 강난포, 배란직전 까지 성장한 난포를 성숙난포로 하여 3단계로 구분하여 성주기별로 조직절편당 이들 난포들의 수와 비율을 조사한 결과는 Table 1과 같이 각 단계별의 난포가 거의 모든 성주기에서 거의 일정한 비율로 관찰되었으나 성장난포는 발정정지기에서 그 수가 가장 적었고, 성숙난포는 발정기에서 발정후기로 갈 수록 그 수가 감소하였다.

난소조직 절편당 출현하는 황체중 형태가 원형이고 황체세포가 대부분을 차지하는 것을 정상황체로, 황체가 위축되고 부정형의 형태로 취하거나 또는 결합조직이 많이 증식되고 일부에만 황체세포가 남아 있는 것을 퇴행황체로 하여 성주기별로 조사한 결과에서는 Table 1과 같이 전체 평균 14.4개중 정상황체는 11.0개(76.4%), 퇴행황체는 3.4개(23.6%)로 결과적으로는 성주기에 거의 관계없이 정상황체와 퇴행황체가 거의 일정한 비율로 관찰되었으나 정상황체는 발정후기에서 퇴행황체는 발정정지기에서 그 수가 가장 많았고 정상황체중에서는 소수의 空胞化한 황체세포를 가진 황체도 1.7개(11.8%)씩 관찰되었다(Table 1 및 Fig 1-4).

Table 1. Number and rate of the follicles and corpus luteums per ovary section throughout estrous cycles in rat

Estrous cycle	Follicle(%)				Corpus luteum(%)		
	Growing	Antral	Mature	Total	Normal	Atastic	Total
Proestrus	16.4(73.5)	2.9(13.1)	2.8(12.7)	22.1(100)	10.5(77.1)	3.1(22.8)	13.6(100)
Estrus	12.7(73.0)	2.9(16.7)	1.8(10.3)	17.4(100)	12.4(76.1)	3.9(23.9)	16.3(100)
Metaestrus	16.5(78.2)	3.3(15.7)	1.3(6.2)	21.1(100)	11.9(82.7)	2.5(17.4)	14.4(100)
Diestrus	9.4(67.2)	4.3(17.6)	3.7(15.2)	24.4(100)	9.3(70.5)	3.9(29.5)	13.2(100)
Mean	15.9(72.9)	3.4(15.9)	2.4(11.2)	21.4(100)	11.0(76.4)	3.4(23.6)	14.4(100)

考 察

최근 면역기능이 생식기능에 어떻게 작용하고 있는지에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 예로 胚發生 초기 단계인 排卵은 卵胞壁과열이라는 과정을 수반하기에 생체로 보서는 큰 사전에 해당된다고 볼 수 있어 여기에는 macrophage(M ϕ)를 포함한 각종 인자가 작용하고 있을 것으로 판단된다. M ϕ 는 각종 성장인자, interleukin 등과 같은 생리활성물질 즉 cytokine을 분비하는 사실이 알려져 있어 황체기능 조절을 포함한 난소기능 발현에도 크게 관여하고 있을 것으로 추측된다. 최근에는 cytokine중의 하나인 形質轉換成長因子- β (transforming growth factor- β ; TGF- β)는 prolactin(PRL)과 같은 작용으로 황체세포의 progesterone분비 유지작용을 갖고 있음이^{21,22}, 抗 TGF- β 항체 존재하에서는 PRL 작용이 없어짐이 밝혀져 가고 있어²³ TGF- β 는 PRL작용을 증대하는 황체내 세포의 정보 전달물질의 가능성이 높아져 가고 있다.

본 실험에서 성주기별 脾臟內 macrophage 활성은 발정전기에서 가장 높고 발정후기에서 가장 낮았는데 이와 같은 성적은 Saito et al¹³의 보고 내용과 거의 일치하였다. 임신기간중의 macrophage 활성은 임신 초기인 1일 까지는 5% 이내로 매우 낮아 흥미로웠다. 이후부터는 증가하기 시작해 임신 12일째에는 86 \pm 7.8%로 가장 높았고 이후부터 분만시 까지는 거의 같은 수준을 유지하였는데 여기에 대해서는 명확하지는 않으나 특히 설치류에서의 prolactin은 황체내에서의 20 α -HSD의 활성을 억제시켜 progesterone의 분비를 촉진시킴이 알려져 있고, TGF- β 역시 황체에 대해서는 prolactin과 같은 작용을 갖고 있어²³ 본 실험에서는 여기에 대한 분석은 실시하지 않았으나 prolactin을 별도로 생각하더라도 TGF- β 에 의한 영향이 큼을 쉽게 추측할 수 있었다. 왜냐하면 TGF- β 생선세포는 기능황체내의 macrophage임이 밝혀져 있기 때문이다²¹. 저자들이 앞서 보고¹⁴한 20 α -HSD의 활성과 혈중 progesterone과의 관계에서 20 α -HSD활성은 발정전기에서 가장 높았으나 이 시기의 혈중 progesterone 농도는 가장 낮아 이 시기의 모든 황체에서는 20 α -HSD 활성을 그대로 유지, 활성을 나타낸 결과로 풀이되며 혈중 progesterone 농도는 20 α -HSD 활성에 좌우됨을 알 수 있었다. 이와는 별도로 20 α -HSD 활성²⁴은 악성 肉重과 양성 肉重과의 감별에도 응용 가능할 것으로 믿어져 매우 흥미롭다.

임신기간중의 macrophage의 활성이 임신 1일 까지는 5% 이하로 매우 낮았는데 排卵은 卵巢壁과열을 수반하기에 실제로는 排卵前 卵胞 주위에는 다수의 면역계 세포가

모여들 것으로 생각된다. 임신 1일까지는 macrophage 활성이 매우 낮았던 것은 排卵일종의 生理的 外傷에 따른 수습에 주로 동원이 된 관계로 생각되고 이후부터 증가하기 시작된 것은 임신의 과정에서 돌출될 수 있는 외부상황에 대한 예비 대처능력의 결과로 생각된다¹⁷.

황체중에서도 퇴행황체에서는 다수의 M ϕ 가 존재함이, 퇴행기의 황체에서는 M ϕ 가 분비되는 腫瘍壞死因子(tumor necrosis factor- α ; TNF- α) 생성이 증가됨이 알려져 있어 TNF- α 가 황체퇴행을 결정하는 인자일 가능성도^{19,22,25} 있다. M ϕ 가 합성, 분비하는 interleukin 1(IL-1)은 卵胞液중에 존재, 卵胞의 성숙단계에서의 황체퇴행화를 억제한다는 보고도^{26,27} 있어 이와 같은 사실은 정상적인 난포의 발육에 IL-1을 필요로 하고 있지 않나 여겨지고 있어 이와같이 관련된 다른 인자와의 관련성, 영향에 대한 분석이 있어야 체계적인 파악이 가능할 것으로 생각된다.

동물의 난소에는 많은 원시 난포가 있으면서 태생기부터 많은 수의 원시난포가 성장을 계속하고 있다. 성장한 동물에서 매 성주기마다 배란하기 위하여 동원되는 난포수에 대하여 Van Cappellen et al²⁸은 양쪽 난소에서 120개 정도가 성장을 시작하여 대부분은 중도에서 퇴축하고 약 10%인 12개 만이 배란한다고 하였고, 발정기별로 난포 형태별 수는 30-100 μ m의 작은 난포는 발정정지기에 많고 400 μ m이상의 큰 난포는 발정기에 수가 많다고 하였다. Pedersen et al²⁹은 mouse에서 방사선 자기법으로 성장중의 난포를 조사한 바 성주기 중에서 40%와 임신중에는 21-40%의 난포가 성장이 지속되고 있고 임신기간 중에도 같은 속도로 성장하며 큰 난포도 15.9-22.3%가 성장이 계속되고 있었음을 보고한 바 있다.

본 조사의 rat에서도 발정전기와 발정기에서는 크기가 큰 성숙난포 수의 비율이 12.7%와 10.3%로 증가되었으나 발정후기에는 6.2%로 감소하였고 그 후 발정후기에는 15.2%로 다시 증가되어 큰 난포는 비율의 차이는 있었으나 모든 성주기에 관계없이 존재하고 있음을 알 수 있었다. 난소에서 관찰되는 성장난포를 포함한 난포수에 관하여는 Kaur et al³⁰은 rat에서 발정전기에서 48.5개, 발정기에서 29.2개, 발정후기에서 32.9개, 발정정지기에서 27.2개로 발정정지기에서 그 수가 가장 적었음을 보고한 바 있다. 본 조사에서는 조직절편당 난포수가 발정전기에서 22.1, 발정기에서 17.4, 발정후기에서 21.1, 발정정지기에서 24.2개로 발정기에서 난포의 전체수가 가장 적음을 알 수 있었다. 이러한 소견은 발정기에는 난포의 크기는 증가하는 반면 성장난포의 새로운 출발이 적었기 때문으로 생각되며 성숙난포는 발정기에서 발정후기로 진행됨에 따라 그 수가 적어지는 것은 성숙난포의 황체

화가 진행되기 때문으로 생각된다.

소의 황체는 다음 발정 1-2일 후에는 완전히 소실되므로 난소조직에서 황체가 관찰되는 예가 적으나 설치류의 난소에서는 많은 수의 황체가 관찰된다. Rat에서 Pedersen et al²⁹은 직전 발정으로 생긴 황체는 다음 임신후 12일째부터 퇴행한다고, Van Cappellen et al²⁸은 rat에서 매 발정기당 12개의 난포가 배란한다고 한 바 있어 난소에는 30개 이상의 황체가 항시 잔존하고 있을 것으로 생각된다. 그러나 Pedersen et al²⁹은 서로 가까이 있는 황체는 융합하여 있다고 하여 실제 계산적인 숫자보다는 훨씬 적을 것으로, Shiota et al³¹은 임신기간 동안 황체의 수가 8-21개 였으나 태아의 수는 11.9-15.5개 였다고 한 바 있다. 본 조사에서는 전체 황체수는 조사하지 않았으나 실제 현미경적 관찰에서 임신되지 않은 rat의 난소조직 절편에서 관찰된 수를 조사한 14.4개는 매우 좋은 실용적인 자료가 될 것으로 판단된다. 소에서는 황체내에 큰 낭(cavity)을 가진 것이 황체중 Kito et al³²은 37.2%였음을, Okuda et al³³은 42.1%였음을 보고한 바 있으나 본 조사의 rat의 황체에선 황체내부의 공간인 황체강이 형성된 것은 관찰되지 않았다. 다만 황체세포의 일부는 공포변성은 있었으나 정상적으로 큰황체에만 있고 퇴행황체에는 이러한 소견이 없어 중요한 퇴행소견이 아닌 것으로 판단된다.

본 실험에서 발정 정지기에서 퇴행황체가 많았던 것은 성숙난포의 황체화가 가장 빠르게 일어나는 단계이기 때문이며, 발정후기에서 퇴행황체수가 적었던 것은 황체퇴행이 가장 빠르게 일어나는 단계이기 때문으로 생각되나 이와 같은 현상에는 황체의 생성과 퇴행을 조절하는 脾臟 유래의 macrophage가 따로 존재하고 있을 가능성이 커^{34,35} 발정정지기에 퇴행황체수는 많았으나 macrophage 활성화는 발정전기에 비해 낮았고, 발정후기에서 macrophage 활성화가 가장 낮았던 것은 이들 퇴행황체 역시 다수의 macrophage를 갖고 있으나 이들은 TGF- β 를 생성하지 않는 사실과 관계가 매우 깊을 것으로 판단된다¹⁶.

卵巢에는 M \emptyset 이외에도 임파구, 호중구 및 肥滿細胞 등과 같은 골수 유래의 세포가 존재함이 알려져 있어 난소기능과 이들 면역계 세포와의 관련성이 주목되나

지금까지의 결과로 보아 20 α -HSD는 생체내 progesterone의 생성, 유지만이 아니고 성주기 및 임신 조절, 유지에 매우 깊이 관여하고 있음을 알 수 있었다.

結 論

이미 밝힌 rat의 각 성주기별 및 임신기간중의 progesterone 농도와 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase의 활성변동에 이어 脾臟內 macrophage 활성화는 發情前期에서는 68 \pm 6.4%, 發情期에서는 57 \pm 6.2%, 發情後期에서는 49 \pm 4.6%, 發情靜止期에서는 62 \pm 4.9%로 發情前期에서 가장 높게, 發情後期에서 가장 낮았다. 妊娠期間中の 脾臟細胞中の macrophage의 활성화는 임신초(1일)까지는 5% 이내로 매우 낮았으나 5일 이후 부터는 증가하기 시작하여 임신중기(12일 전후)에서는 급격히 증가하여 86 \pm 7.8% 전후로 높았으나 이후 부터 분만시까지는 약간의 감소는 있었으나 높은 수준을 유지하였다.

난소의 조직학적 검색에서는 난소조직 절편당 평균 출현하는 성장난포 이상의 난포수와 황체의 수를 조사한 난포의 수는 21.4개(11.2%)이었다. 성주기별로는 모든 성주기에서 모든 단계의 난포가 거의 일정한 수준의 비율로 관찰되었으나 성장난포는 발정정지기에서, 성숙난포는 발정후기에서 그 수가 적었다. 난소조직 절편상 관찰된 수는 14.4개 이었으며 이중 정상황체는 11.0개(76.4%), 퇴축황체는 34개(23.6%), 공포화한 황체세포를 가진 정상 황체에서는 1.7개(11.8%)이었다.

난소의 조직학적 검사에서 성장난포는 발정휴지기에서, 성숙난포는 발정후기에서 가장 적어 20 α -HSD와 macrophage의 활성화는 난소의 조직학적 변화와도 상관관계가 있음을 알 수 있었다.

지금까지의 결과로 보아 20 α -HSD는 생체내 Progesterone 생성과 대사, 유지만이 아니고 성주기, 임신 조절과 유지에 깊이 관여하고 있음이 밝혀져 향후 20 α -HSD 유전자의 분리 및 발현은 새로운 차원에서의 임상활용에는 물론 생식생리 기전 연구에 크게 기여될 것으로 확신된다.

Legends for figures

Fig 1. Many growing and one mature follicles and several corpus luteum in ovary during diestrous are present. H-E stain. \times 20.

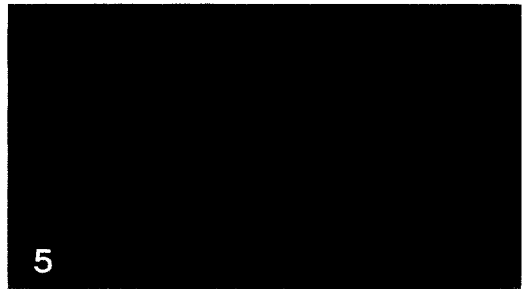
Fig 2. Many large normal corpus luteum and two corpus luteum with cytoplasmic vacuoles (arrows) in early stage

of atresia during proestrous are present. H-E stain. $\times 20$.

Fig 3. Two large mature follicles with many corpus luteums during estrous are present. H-E stain. $\times 20$.

Fig 4. Some normal corpus luteums and one atretic corpus luteum (arrow), and one preovulatory follicle during estrous are present. H-E stain. $\times 20$.

Fig 5. Phagocytotic macrophages (arrows) in splenic adherent cells. $\times 400$.



參考文獻

1. Matsuda J, Noda K, Shiota K, et al. Participation of ovarian 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase in luteolytic processes 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 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 rat. *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. 姜正夫, 郭守東. Progesterone의 異化효소, 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase의 활성 및 활용에 관한 연구 I. 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase의 활성 및 혈청 progesterone 농도의 변화. *대한수의학회지* 1994; 34(4): 871-876.
15. Matsuyama S, Ohta M, Takahashi M. The critical period in which splenectomy causes functional disorder of the ovary in adult rat. *Endocrinol Japan* 1987; 34: 849-855.
16. Yamanouchi K, Matsuyama S, Nishihara M, et al. Splenic macrophages enhance prolactin-induced progesterin secretion from mature rat granulosa cells in vitro. *Biol Reprod* 1992; 46: 1109-1113.
17. Espey LL. Ovulation as an inflammatory reaction—a hypothesis. *Biol Reprod* 1980; 22: 73-106.
18. Kirsch TM, Friedman AC, Vogel RL, et al. Macrophages in corpora lutea of mice: characterization and effects on steroid secretion. *Biol Reprod* 1981; 25: 629-638.
19. Edwards CK, Lorence RM, Dunham DM, et al. Hypophysectomy inhibits the synthesis of tumor necrosis factor α by rat macrophages: partial restoration by exogenous growth hormone of interferon γ . *Endocrinology* 1991; 128: 989-996.
20. Adashi EY. The potential relevance of cytokines to ovarian physiology: The emerging role of resident ovarian cells of the white blood cell series. *Endo Rev* 1990; 11: 454-464.
21. Matsuyama S, Shiota, K, Takahashi M. possible role of transforming growth factor- β as a mediator of luteotropic action of prolactin in rat luteal cell cultures. *Endocrinology* 1990; 127: 1561-1567.

22. Hernandez ER, Hurwitz A, Payne DW, et al. Transforming growth factor- β 1 inhibits ovarian androgen production: gene expression, cellular localization, mechanisms(s), and site(s) of action. *Endocrinology* 1990; 127: 2804-2811.
23. Matsuyama S, Shiota K, Tachi C, et al. Splenic macrophages enhance prolactin and luteinizing hormone action in rat luteal cell cultures. *Endocrinol Japon* 1992; 39(1): 51-57.
24. 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.
25. Adashi EY, Resnick CE, PackmanJN, et al. Cytokine-mediated regulation of ovarian function: tumor necrosis factor- α inhibits gonadotropin-supported progesterone accumulation by differentiating and luteinized murine granulosa cells. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 162: 889-899.
26. Fukuoka M, Taii S, Yasuda K, et al. Inhibition effects of interleukin-1 on luteinizing hormone-stimulated adenosine 3', 5'-monophosphate accumulation by cultured porcine granulosa cells. *Endocrinology* 1989; 125: 136-143.
27. Fukuoka M, Yasuda K, Taii S, et al. Interleukin-1 stimulates growth and inhibits progesterone secretion in the culture of porcine granulosa cells. *Endocrinology* 1989; 124: 884-890.
28. Van Cappellen WA, Osman P, Meijs-Roelofs HAM. Model of antral follicle dynamics during the 5-day cycle in rats based on measurement of antral follicle in flow. *J Reprod Fertil* 1993; 99: 57-63.
29. Pedersen T, Peters H. Follicle growth and cell dynamics in the mouse ovary during pregnancy. *Fertil Steril* 1971; 22(1): 42-52.
30. Kaur P, Guraya SS. Follicular growth and kinetics during the estrous cycle, pregnancy and postpartum in the indian mole rat. *Am J Anat* 1983; 166: 469-482.
31. Shiota K, Seong HH, Noda K, et al. 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase activity in rat placenta. *Endocrine J* 1993; 40(6): 673-681.
32. Kito S, Okuda K, Miyazawa K, et al. Study on appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Therigenology* 1986; 25: 2.
33. Okuda K, Kito S, Sumi N, et al. A study of the central cavity in the bovine corpus luteum. *et Record* 1988; 123: 1880-1883.
34. Grossman CJ. Regulation of the immune system by sex steroids. *Endocrine Rev* 1984; 5: 435-455.
35. Grossman CJ. Interactions between the gonadal steroids and the immune system. *Science* 1985; 227: 257-261.