

## Progesterone이 rat 자궁과 난소의 증식세포 분포에 미치는 영향에 대한 면역조직화학적 연구

박성식 ·곽수동  
경상대학교 수의과대학  
(1995년 2월 6일 접수)

### An immunohistochemical study on distribution of proliferating cells in uterus and ovary of progesterone-treated rats

Sung-sik Park, Soo-dong Kwak

*College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University*  
(Received Feb 6, 1995)

**Abstract :** The study was designed to investigate the effects of progesterone on the reproductive system. This investigation was performed by immunohistochemical methods using anti-bromodeoxyuridine-antibody following bromodeoxyuridine(Brdur) injection for labeling proliferating cells in the uterus and ovary of rats. Sixteen female rats(Wistar), weighing initially 300g, were randomly allotted into ovariectomized and unovariectomized large groups. These two large groups were subdivided into three subgroups of control, 3-day and 6-day groups, respectively. 3-days and 6-days group were injected with 1mg of progesterone/rat/day for 3 or 6 days, respectively.

In gross findings, the uterus of ovariectomized groups markedly atrophied, and were not hypertrophied by progesterone injection for 3 days or 6 days and the uterus of unovariectomized groups also were not hypertrophied.

Labeling index(LI, %) was measured by counting the number of Brdur-positive cells from 300 to 3,000 cells per layer in the uterus tissue. The average LI of the uterus in unovariectomized groups was higher than that of ovariectomized groups. The subgroups with higher LI in unovariectomized groups were ordered as 6-day group, 3-day group. So progesterone considerably effected to the proliferating of the cells in the uterus of unovariectomized groups.

The layers with higher LI in the uterus wall were ordered as the functional zone of endometrium, epithelial layer of endometrium, basal zone of endometrium, myometrium and perimetrium.

The cell types with higher LI in the uterus of unovariectomized groups were ordered as the surface epithelial cells, stromal cells, glandular epithelial cells and muscle cells.

Growing follicles with proliferating cells from secondary and tertiary follicles in the ovary of unovariectomized groups appeared to be 37.66% in control group, 39.23% in 3-day groups, 39.47% in 6-day groups. Mature follicles in the ovary were more number in control group than those in 3-day groups but not appeared in 6-day groups. So

progesterone not nearly effects to the number of the growing follicles but appeared to be related to suppression of the development and protrusion of the mid-tertiary and mature follicles on the ovary surface.

The cell types with higher LI in the ovary of unovariectomized groups were respectively ordered as granulosa cells, theca interna cells in secondary follicles; theca interna cells, granulosa cells, theca externa cells in tertiary follicles; fibroblasts, theca in terna cells in atretic follicles; fibroblasts, luteal cells in corpus luteum.

**Key words** : uterus, ovary, progesterone, bromodeoxyuridine, proliferating cells

## 서 론

progesterone은 estrogen과 같이 난소 hormone으로 포유류의 성주기 및 임신유지에 관계하는 steroid hormone이며 시상하부와 뇌하수체 전엽의 영향하에 있다. estrogen은 난포에서 분비되어 자궁, 질, 유선 등의 생식계통을 발달시키나, progesterone은 황체에서 주로 분비되고 그의 태반, 부신피질에서도 분비되며 그 기능은 수정란의 착상, 자궁수축의 억제, 임신의 지속, 태아의 발달, 새로운 배란의 억제 및 유선발달 등에 작용한다. estrogen과 progesterone의 이와같은 작용을 이용하여 수정란의 이식, 임신의 조절, 분만의 유기, 유전공학 등에 응용되고 있다<sup>1-10</sup>.

hormone이 어떤 기관에 작용하는 것은 그 기관의 세포중에 이들 hormone을 받아들이는 receptor가 있기 때문이며 이들 receptor에서 hormone의 자극을 받으면 세포의 기능이 활성화 되고, 특히 주기적 조직 변화가 있는 생식기 계통에서는 세포의 비대, 증식이 일어나게 된다. 이들 receptor 보유세포에 대해서는 주로 생화학적으로 cytosol내 수용체 단백질을 분리하여 이 단백용성 항체를 이용한 면역조직화학적 방법이 많이 보고되고 있으나<sup>11-26</sup>, 수용체 보유세포가 이들 hormone을 주입하였을 때 자극을 받아 분열이 일어나는 것에 대하여 조직화학적으로 보고된 바 없다.

조직내에서 자극을 받아 분열 증식하려는 세포를 구명하는 방법은 여태까지 <sup>3</sup>H-thymidine과 <sup>3</sup>H-uracil 등을 이용한 방사선 자기법을 많이 이용하여 왔다<sup>2,9,17,23,26-35</sup> 그러나 이 방법은 방사능물질의 오염, 4주 이상 조직을 냉암실에서 감작을 요하는 점 등의 문제점이 많았다. 그러므로 근래에는 nucleotides의 구성성분인 bromodeoxyuridine(Brdur)이나 PCNA(proliferating cell nuclear antigen) 등을 미리 투여하여 세포의 복제되는 DNA와 결합하게 하여 Brdur의 항체를 적용하여 면역조직화학적으로 분열세포를 검색하는 방법이 개발되어

세포의 발생, 성장, 교체, 상처치유 효과, 암의 진단 등에 광범위하게 이용되고 있다<sup>28,29,31,36</sup>.

본 연구는 정상적으로 성숙한 암컷 rat에서 난소를 절제하지 않은 군과 난소를 절제한 군에서 progesterone이 생식기관에 미치는 영향을 조사하기 위하여 먼저 progesterone을 주사하여 target cell을 자극하게 한 후 Brdur을 주사하여 분열세포와 결합하게 하고, Brdur에 대한 monoclonal antibody를 이용하여 면역조직화학적 방법으로 분열세포를 관찰하였던 바 이를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

공시동물의 처치 : 공시동물은 체중 300g 내외의 성숙한 rat(Wistar, 9주령) 비임신 암컷 10수를 난소비절제군과 난소절제군 두군으로 각각 5수씩 구분하였다. 난소절제는 atrophine(0.05mg/kg, BW)으로 전처치하고 rumpun(0.2%)과 ketamine(50mg/ml)의 혼합액(3:7, 0.7ml/300g, BW)으로 마취하여 복부의 털을 깎은 후 povidone iodine으로 소독하고 정중선을 절개하여 난소를 절제한 다음 소작(cauterization)으로 지혈하고 복강에 saline(0.05ml/g, BW)을 주입한 후 봉합하였으며 후처치로 회복기 까지 항생제(Baytril)를 2회 투여하였고 3주간 사육하였다. 이후 난소비절제군과 난소절제군의 두군으로 나누어 발정휴지기 상태에서 progesterone을 saline 1ml당 1mg되게 희석하여 1일 1mg씩 3일간 또는 6일간씩 투여하는 두군(이하 3일 투여군과 6일 투여군)으로 다시 나누어 피하로 주사하였으며, 이외에 난소비절제군과 난소절제군에 progesterone을 투여하지 않은 대조군을 별도로 두었다.

hormone 최종 투여후 익일 오전 7-8시에 Brdur(Sigma)을 saline ml당 40mg되게 희석하여 초음파분해한 후 체중 g당 0.2mg씩 1회 복강내 주입하고 주입

1시간 후 ether로 마취하여으며, 4% neutral buffer paraformaldehyde로 관류 고정하고 각 장기를 채취한 후 10% 중성 formalin에 48시간 이상 재고정 하였다.

Table 1. Experimental designs for progesterone treatment

Groups	Ovariectomized			Unovariectomized		
	Control	3-days*	6-days	Control	3-days	6-days
No of rats	2	3	3	2	3	3

3-days\* : Rats were injected with 1mg of progesterone/ rat/day for 3 days.

조직 화학적 방법 : 생식기관인 자궁과 난소를 채취하여 paraffin 조직절편을 만들어 일부는 통상적인 방법으로 H-E 염색을 하고, 일부 조직절편은 면역조직화학적 방법을 위하여 diagram과 같이 조직내에 자연적으로 존재하는 peroxidase를 제거하기 위하여 과산화수소가 0.3% 첨가된 증류수에 30분간 처리한 후 2 N HCl에 1시간 denature 처리하고 0.1M PBS에 수세한 후 0.1% protease(Sigma)에 10분간 처리하여 1차 항체로 mouse anti-Brdur IgG(Oncogene science) 1:100~1:200 희석액에 overnight 처리한 후, 2차 항체로 goat anti-mous IgG를 1:200~1:500 희석액으로 1시간 처리한 다음 3차 항체인 mouse peroxidase-anti peroxidase complex(Sigma) 1:100~1:250 희석액으로 1시간 반응 시켰다. 각 항체의 희석용액은 phosphate buffer goat serum triton-X 100(PBGT)를 사용하였고 각 항체 처리시 단계간 수세는 0.1 M PBS에서 5분간씩 3회 실시하였다. 다음으로 tris-buffer saline(pH 7.6)에 0.05% 되게 용해한 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(Sigma)에 과산화수소수를 0.5% 첨가한 액에서 5~10분간 발색시켜 hematoxyline으로 대조염색한 후 세포의 핵이 황적색으로 발색되는 세포를 분열세포로 간주하였고 이들 세포의 비율은 microreticle이 장치된 광학현미경에서 300~3,000개의 세포를 관찰하여 계산하였다(Diagram).

Paraffin sections



Blocking of endogenous peroxidase: 0.5% hydrogenperoxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) in buffer

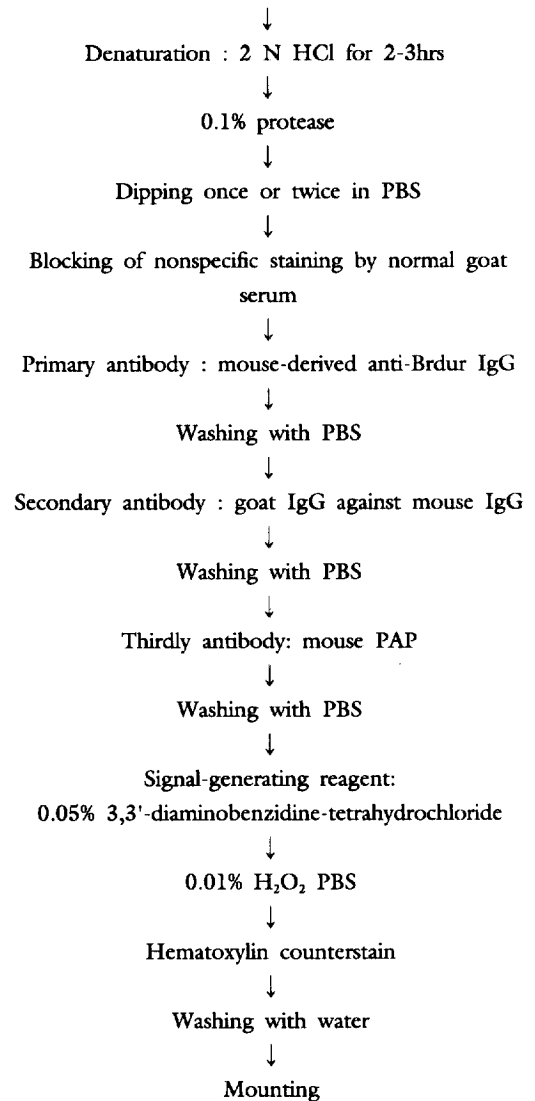


Diagram ; Procedures for immunohistochemical staining

## 결 과

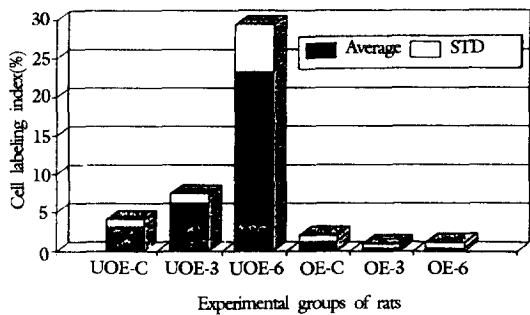
progesterone이 생식기관의 분열세포 분포에 미치는 영향을 조사하기 위하여 성숙한 rat 암컷을 Table 1과 같이 난소비절제군과 난소절제군으로 구분하고 이들 두군을 다시 progesterone 3일 투여군, 6일 투여군 및 progesterone을 투여하지 않은 대조군으로 나누어 관찰 하였다.

육안적으로 생식기관의 크기에서 난소비절제군에 비해 난소절제군은 자궁의 굵기, 길이, 중량 등에서 현저히 감소되어 자궁의 위축(Fig 1)이 있었으나 이들 두군에서 progesterone 투여에 따른 자궁의 육안적 크기의 증대는 인정되지 않았다.

조직학적으로 통상염색표본에서 난소절제군의 3개군의 자궁은 세포가 위축되므로서 핵이 밀집되고 조직이 치밀하였으며 선구조의 위축 및 감소가 있었고 자궁내막, 자궁근층의 폭이 현저히 감소하였다(Fig 2). 그러나 난소비절제군이나 난소절제군의 각각에서 progesterone 투여에 의한 자궁의 통상염색 상태에서 조직학적 차이를 관찰하기는 불가능하였다(Fig 2).

Brdur와 이 항체를 이용한 면역조직 화학적방법으로 자궁에서 분열율이 높은 자궁내막의 표면상피세포, 선상피세포, 기질세포, 자궁근층의 근세포 등을 대상으로 하여 분열세포로 표지된 세포의 분포부위를 조사하고 이들 각 세포종에서 증식세포로 표지된 세포의 비율을 조사하였던 바는 다음과 같다(Figs 3-7).

자궁내막의 표면상피세포는 Graph 1과 같이 난소비절제군의 대조군은  $3.21 \pm 0.89\%$ , progesterone 3일 투여군은  $6.23 \pm 1.15\%$ , 6일 투여군은  $23.27 \pm 6.06\%$ 으로 이들 평균은  $10.90\%$ 였고, 난소절제군 중에서 대조군은  $1.24 \pm 0.77\%$ , 3일 투여군은  $0.42 \pm 0.43\%$ , 6일 투여군은  $0.42 \pm 0.71\%$ 로서 그 높은 순서는 난소 비절제군의 6일 투여군, 3일 투여군, 대조군, 난소절제군의 대조군, 6일 투여군, 3일 투여군 순이었다. 이와같이 pro-



Graph 1. Levels of the labeled proliferating cells from the surface epithelial cells in the uterus of 6 groups of unovariectomized and ovariectomized rats

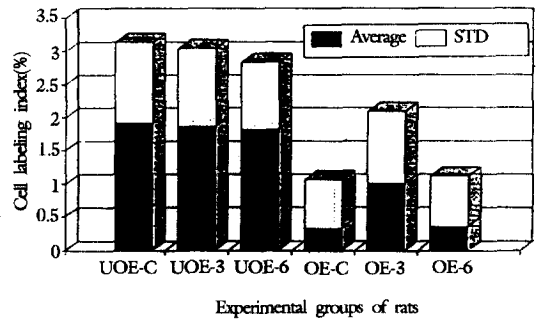
UOE-C : unovariectomized control group

UOE-e : 3-day group of unovariectomized rats

OE-C : Ovariectomized control group

gesterone은 상피세포 증식에 난소절제군에서는 거의 영향을 미치지 못하였고, 비절제군에서는 3일 투여군과 6일 투여군에서 현저히 증가되었다.

자궁내막의 선상피세포는 Graph 2와 같이 난소비절제군 중에서 대조군은  $1.91 \pm 1.22\%$ 였고, 3일 투여군은  $1.87 \pm 1.17\%$ , 6일 투여군은  $1.82 \pm 1.01\%$ 으로 이들 평균은  $1.86\%$ 였고, 난소절제군 중에서 대조군은  $0.33 \pm 0.73\%$ , 3일 투여군은  $1.01 \pm 1.08\%$ , 6일 투여군은  $0.36 \pm 0.76\%$ 로서 난소절제 여부에 관계없이 pro-

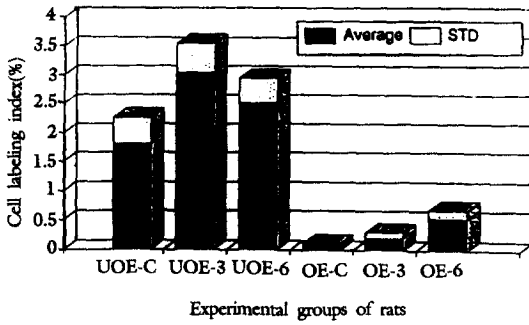


Graph 2. Levels of the labeled proliferating cells from the glandular epithelial cells in the uterus of experimental 6 groups

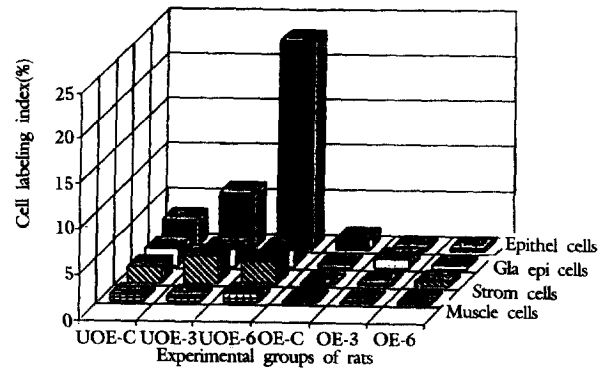
gesterone은 선상피세포 증식에 영향이 적은 것으로 사료되었다.

자궁내막의 기질세포는 Graph 3과 같이 난소비절제군 중에서 대조군은  $1.82 \pm 0.45\%$ , 3일 투여군은  $3.05 \pm 0.51\%$ , 6일 투여군은  $2.52 \pm 0.42\%$ 로 이들 평균은  $2.46\%$ 였고, 난소절제군 중에서 대조군은  $0.08 \pm 0.03\%$ , 3일 투여군은  $0.21 \pm 0.09\%$ , 6일 투여군은  $0.54\%$  순으로서 난소절제군에서는 progesterone의 투여 여부에 관계없이 영향을 미치지 못하였고 난소비절제군의 기질세포들은 자궁내막 전반에서 보다 기능대에서 현저한 증가현상을 보였다.

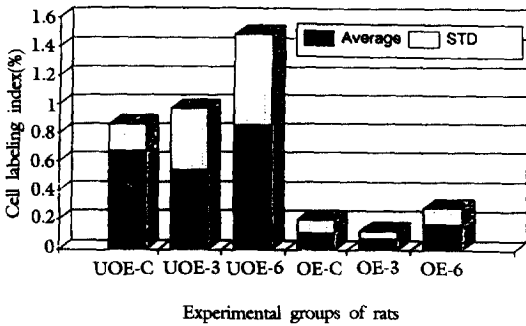
자궁근육층의 근세포는 Graph 4와 같이 난소비절제군 중에서 대조군은  $0.68 \pm 0.18\%$ , 3일 투여군은  $0.55 \pm 0.42\%$ , 6일 투여군은  $0.86 \pm 0.63\%$ 로 이들 평균은  $0.69\%$ 였고 난소절제군 중에서 대조군은  $0.12 \pm 0.09\%$ , 3일 투여군은  $0.08 \pm 0.05\%$ , 6일 투여군은  $0.18 \pm 0.11\%$ 로서 난소비절제군이 다소 높은 편이나 전반적으



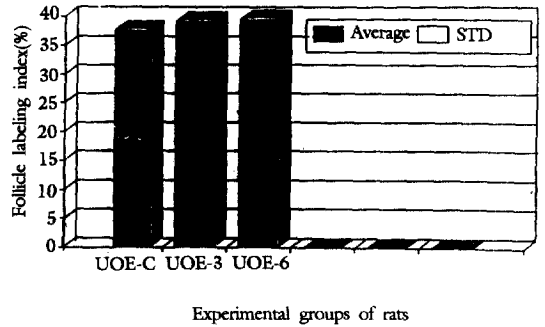
Graph 3. Levels of the labeled proliferating cells from the stromal cells in the uterus of experimental 6 groups



Graph 5. Comparative levels of the labeled each proliferating cells in the uterus



Graph 4. Levels of the labeled proliferating cells from the muscle cells in the uterus of experimental 6 groups



Graph 6. Levels of the secondary and tertiary follicles with the labeled proliferating cells in the ovaries of unovariectomized 3 groups

로 난소절제 여부와 progesterone 투여여부에 관계없이 낮았고 선상피세포나 기질세포 보다도 더 낮았다.

이상의 종합에서 실험군별로 분열세포로 표지된 세포율의 평균은 난소비절제군은 3.98%로 높았고(Figs 3-6) 난소절제군은 0.41%로 현저히 낮았으며(Fig 7) 난소비절제군에서는 progesterone 6일 투여군(7.11%), 3일 투여군(2.92%), 대조군(1.90%) 순으로 높아 progesterone이 자궁의 여러 세포들을 증식시키고 있었으나 난소절제군에서는 거의 영향이 없어 estrogen과 공통작용이 필요한 것으로 사료되었다.

자궁의 조직 층별로 분열세포의 율이 높은 순서는 표면상피층, 상피를 제외한 하부의 자궁내막층, 자궁근육

층, 장막층 순이었고 자궁내막에서는 관강의 표면상피 세포는 그 하부 보다 높았으나 기능대와 기저대로 구분하면 자궁내막의 기능대, 표면상피층, 자궁내막의 기저대, 근육층, 자궁외막층 순이었다.

자궁에서 분열세포로 표지된 세포의 종류별로는 난소절제군과 난소비절제군 공히 자궁에서는 관강상피세포, 기질세포, 선상피세포, 근육세포가 주였으며 이들 세포들의 비율은 난소비절제군에서는 관강상피세포 10.90%, 기질세포 2.46%, 선상피세포 1.86%, 근육층의 근세포 0.69%였고 난소절제군에서는 progesterone 투여에 관계없이 이 보다 훨씬 낮았다.

이상에서 난소절제는 자궁조직을 위축시켜 pro-

gesteron의 작용을 현저히 저하시킴을 알 수 있었고 난소비절제군에서 progesterone은 상피세포와 기질세포 증식에 영향이 크나 선상피세포와 근육세포에는 영향이 적었다.

난소비절제군의 난소의 전체 2차, 3차 난포에서 세포분열이 일어나고 있는지의 여부에 따라 성장중의 난포 또는 퇴축중의 난포로 구분하고 전체 2차 3차 난포 중에서 성장난포수의 비율을 조사한 바 대조군은 37.66%, progesterone 3일 투여군은 39.23%, 6일 투여군은 39.47%로 비율의 차이가 적었다(Figs 8-12). 각 조직 표본상에서 난소당 성숙난포의 수를 조사한 바 대조군은 3~4개 정도씩 3일 투여군은 1~2개 정도씩 관찰되어 성숙난포의 수는 대조군, progesterone 3일 투여군 순이었고 6일 투여군은 관찰되지 않아 progesterone은 난포별로는 2차 및 초기 3차 난포에는 영향이 적고, 중기 이상의 3차난포에서 성장억제와 난소 표면으로의 돌출을 억제하여 배란을 억제하는 것으로 간주되었다.

난소비절제군의 난소에서 분열세포로 표지된 세포의 종류는 progesterone 투여군과 대조군에서 다같이 난포 내막세포, 과립세포, 황체세포, 섬유모세포가 주였고 세포별 분열율은 난포의 성장단계에 따라 차이가 있었는데 2차 난포는 과립세포 난포내막세포, 3차 난포는 난포내막세포 과립세포 난포외막세포, 퇴축난포는 섬유모세포 난포내막세포 순이었는데 섬유모세포는 난포 벽에서 보다 난포강에서도 많이 관찰되었고 형성된 황체에서는 섬유모세포, 황체세포 순이었고 형성되고 있는 황체는 관찰되지 않았다(Figs 9-12).

## 고 찰

난소는 estrogen과 progesterone을 분비하며 이 두 hormone은 생식기관의 발달에 중요한 역할을 한다<sup>39,23</sup>. 본 실험에서 이들 hormone의 작용을 차단하기 위하여 난소를 절제한 바 자궁에서 육안적으로 현저한 위축이 있었고 조직학적으로는 progesterone을 다시 투여해도 자궁의 증대는 관찰할 수 없고 난소비절제군에서도 progesterone의 3일 투여군과 6일 투여군에서 육안적 증대 현상을 관찰할 수 없었다. 이와 같은 난소절제군의 자궁의 퇴축현상은 난소가 성장하는 동물의 생식기의 성장에 중요한 역할을 하는 자료로 사료되었다.

동물의 생식기 중에 난소의 난포와 황체, 자궁의 내막은 성주기를 통해 증식과 퇴축이 주기적으로 연속되

고 있으나 이와 관련하여 분열증식이 일어나는 세포들을 면역조직화학적으로 조사한 바는 찾아 볼 수 없었다.

면역조직화학적 염색에서 전체 세포중 분열세포로 표지된 세포율의 평균에 관하여는 팍 등<sup>28</sup>은 위, 소장, 대장에서 각각 8.7%, 21.0%, 25.1% 였다고 한 바 있고 Omori et al<sup>36</sup>은 대뇌에서 10% 이내, Riso et al<sup>32</sup>은 종양에서 6.33~6.21%라고 보고한 바 있고 그외에도 위장<sup>31,34</sup>, 뇌, 종양에 관하여 조사한 바 있다. 본 조사의 난소비절제군의 자궁에서 관강상피세포 10.9%, 기질세포 2.46%, 선상피세포 1.86%는 위 기관들 보다는 낮은 편이었고 또 난소절제 여부에 관하여는 난소비절제군은 3.98%였고, 난소절제군은 0.41%로 낮아 난소가 자궁의 발달에 중요한 기능을 함을 분열세포의 비율로서도 확인할 수 있었다.

황체 hormone인 progesterone은 수정란의 착상, 임신지속, 태아의 발달 등의 기능이 있다. 본 조사에서 progesterone은 실험군별로는 난소절제군들에서는 거의 영향이 없었으나 난소비절제군에서는 progesterone 6일 투여군, 3일 투여군, 대조군 순이었다. 이러한 소견은 progesterone은 자궁의 세포증식에 영향을 미치고 있으나 난소절제군에서 처럼 다른 난소 hormone의 지원이 없이 그 단독으로는 거의 영향을 일으키지 못하고 estrogen 등의 협동작용이 필요함을 나타내고 있다.

Perrot-Appianat et al<sup>17</sup>은 progesterone receptor는 estrogen에 의하여 자궁의 모든 세포에서 증가된다고 하였고 이 증가기전에 대하여는 Press와 Greene<sup>19</sup>은 progesterone의 receptor는 먼저 estrogen이 확산작용으로 estrogen receptor와 결합한 후 다시 핵 chromatin과 결합하여 messenger RNA의 특이한 set를 생산하면 이 set의 일부가 progesterone receptor를 반응토록 한다고 하였다.

progesterone receptor를 보유한 progesterone target cell의 분포에 대하여는 방사선 자기법을 이용하여 Warembourg<sup>24</sup>은 자궁근층과 내막, 장 등에서 관찰되었다고 하였고, Sar와 Stumpf<sup>22</sup>는 난관, 자궁, 질, 간장, 횡경막, 근육, 선상피 등에서 관찰되었다고 하였으며 Hild-Petito et al<sup>13</sup>은 원숭이 자궁의 선상피세포, 기질세포, 평활근세포 등의 핵내에서 관찰 되었다고 한 바 있으나 표지된 세포수의 비율과 또 progesterone이 이에 미치는 영향에 대하여 조사된 바 없다.

본 조사에서 자궁출혈 분열세포의 율이 높은 순서는 자궁내막의 기능대와 상피층이었고 세포종별로는 상피

세포, 기질세포, 선상피세포, 근세포 순이었다. 이러한 소견은 자궁의 관강쪽 표면인 기능대는 수정란의 착상과 임신지속에 관련이 많은 부위이기 때문이며 기저대와 근육층 등도 임신 중기 이후에는 증가할 것으로 생각된다. 본 조사에서 선상피세포의 증식율이 높지 않은 것은 향후의 계속적인 조사가 요구되는 것으로 생각된다.

동물은 출생시에 하나의 난소에 수십만개의 난자가 함유되어 있으나 평생동안 수백개만 배란되고 대부분의 난자는 성장과정에서 퇴축된다. 조직화학적으로 퇴축난포를 구별하기는 쉽지 않고 2차 난포에서 퇴축난포를 구별하기는 거의 불가능하다.

본 조사에서는 분열세포를 염색하여 관찰할 수 있으므로 성장난포와 퇴축난포를 명확히 구별할 수 있어 난소비절제 3군의 전체 2차, 3차 난포수에서 성장난포의 비율이 37.66%~39.47% 범위내로 3군의 차이가 없어 progesterone이 성장난포에는 영향이 없고 성숙난포에만 있는 것을 명확히 알 수 있었다. 그러나 성숙난포를 관찰한 바 progesterone은 성숙난포에는 영향이 있음을 형태적으로 확인할 수 있었다.

## 결 론

progesterone이 생식기관의 분열세포 분포에 미치는 영향을 조사하기 위하여 성숙한 rat 암컷을 난소비절제군과 난소절제군으로 구분하고 이들 각군을 다시 progesterone 3일 투여군과 6일 투여군 및 대조군으로 구분하여 처리한 후 자궁을 육안적으로 관찰하고 bromodeoxyuridine과 그 항체를 이용한 면역조직화학적 방법으로 분열세포로 표지된 세포율을 조사하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 육안적 소견에서 난소절제군의 자궁은 현저히 위축되었고, 난소비절제군과 난소절제군 모두에서 progesterone의 투여에 따른 자궁의 육안적 증대가 인정되지 않았다.

2. 면역조직 화학적 염색에서 각 실험군별 자궁에서의 분열세포 출현율의 평균은 난소비절제군에 비해 난소절제군이 현저히 낮아 progesterone투여는 난소절제군 자궁의 세포증식에 미치는 영향이 거의 없었으며, 난소비절제군에서는 progesterone 6일 투여군, 3일 투여군, 대조군 순으로 높아 progesterone이 자궁이 세포증식에 영향하였다.

3. 난소비절제군에서 자궁조직 층별로 분열세포 출현율이 높은 순서는 자궁내막층의 기능대, 자궁내막층의 상피층, 자궁내막기저대, 근육층, 자궁외막층의 순이었다.

4. 난소비절제군의 자궁에서 세포별로 분열세포 출현율이 높은 순서는 관강의 상피세포, 기질세포, 선상피세포, 근육층의 근세포 순이었다.

5. 난소내 전체 2차, 3차 난포에서 분열세포가 출현하는 성장난포의 비율은 대조군 37.66%, progesterone 3일 투여군 39.23%, 6일 투여군 39.47%로 그 차이는 적었으나 성숙난포의 수는 대조군, progesterone 3일 투여군 순이었고 6일 투여군은 관찰되지 않아 progesterone이 난포별로 2차 및 초기 3차 난포에는 영향이 적고, 중기 이상의 3차 난포에서 성장 및 난소 표면으로의 돌출을 억제하는 것으로 간주되었다.

6. 난소의 난포와 황체세포에서 분열세포 출현율이 높은 순서는 2차 난포에서는 과립세포 난포내막세포, 3차 난포에서는 난포내막세포 과립세포 난포외막세포, 퇴축난포에서는 섬유모세포 난포내막세포 순이었고, 황체에서는 섬유모세포, 황체세포 순이었다.

## Legends for figures

- Fig 1. Atrophied uterus(left) of ovariectomized rat and normal uterus and ovaries(right) of unovariectomized rat are seen.
- Fig 2. Atrophied uterus of ovariectomized rat. The cells in the uterus wall were atrophied and the cellular nuclei are small, dense, crowded. H-E stain.  $\times 50$ .
- Fig 3. 3-day injection group of Unovariectomized rats. Numerous labeled proliferating cells are seen at the functional zone of the endometrium. Immunohistochemical stain.  $\times 50$ .
- Fig 4. Higher magnification of lumen area in figure 5. Proliferating cells in the functional zone composed of

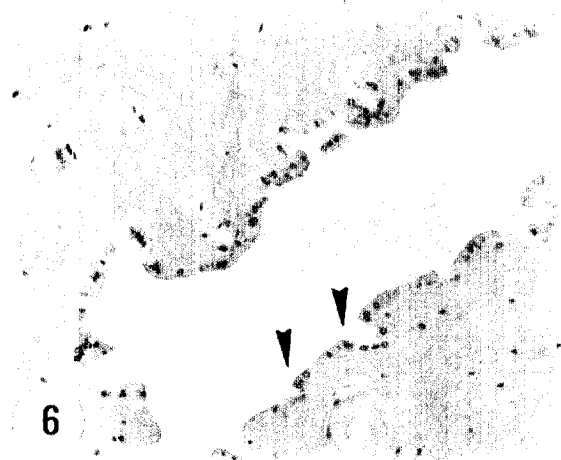
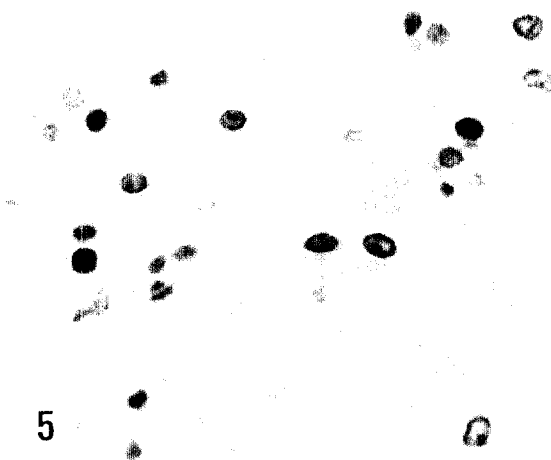
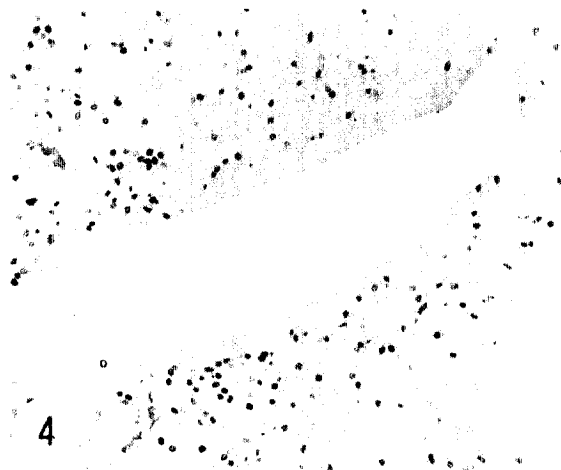
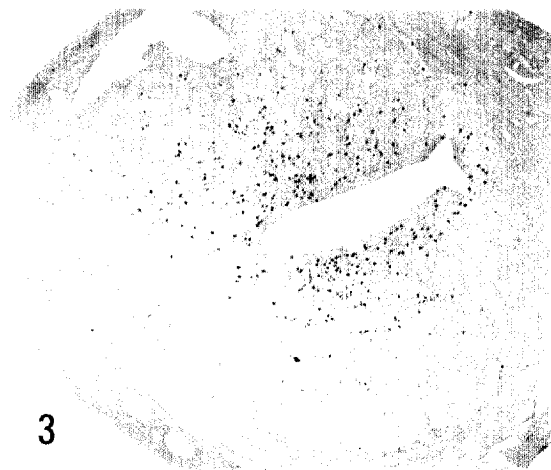
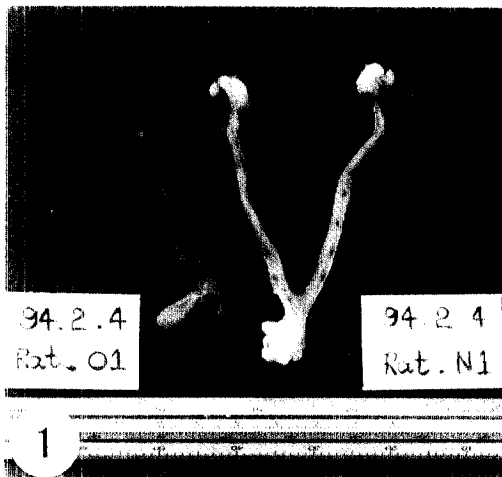
numerous stromal cells and a few surface epithelial cells. Immunohistochemical stain.  $\times 150$ .

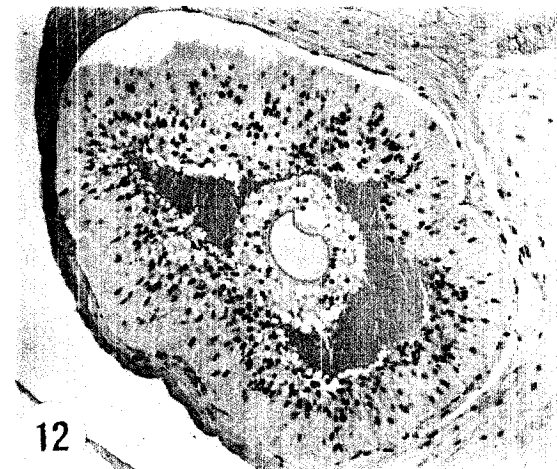
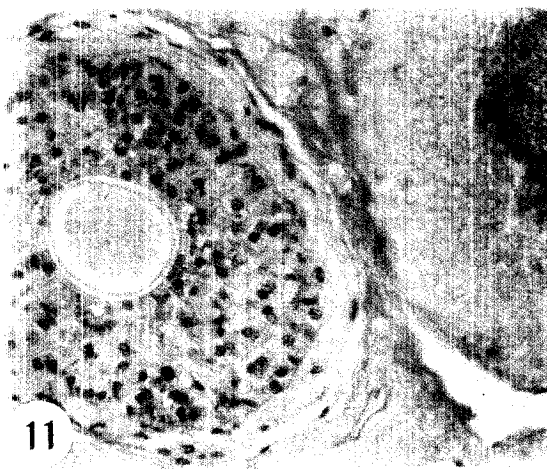
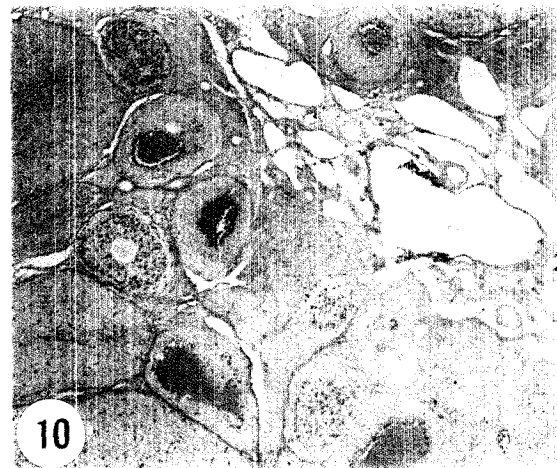
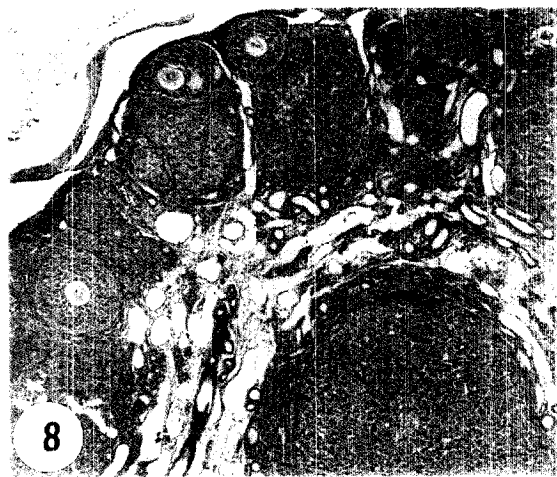
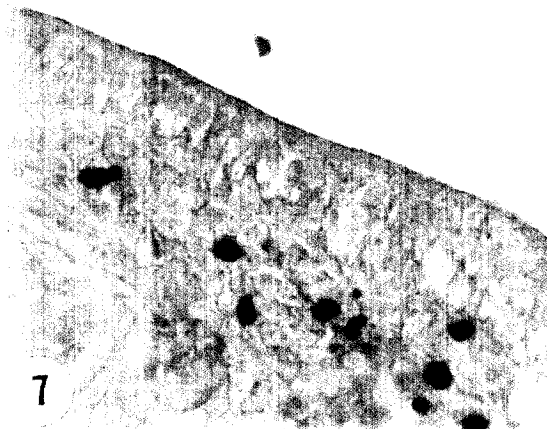
- Fig 5. 3-day injection group of unovariectomized rats. Numerous labeled proliferating cells, a few surface epithelial cells and glandular epithelial cells are seen in the functional zone of the endometrium. Immunohistochemical stain.  $\times 150$ .
- Fig 6. 6-day injection group of unovariectomized rats. Surface epithelial cells (arrow heads) with higher labeling index and stromal cells with lower labeling index are seen in the endometrium. Immunohistochemical stain.  $\times 50$ .
- Fig 7. 6-day injection group of ovariectomized rats. Some labeled proliferating stromal cells are seen to be crowded in the functional zone of endometrium. Immunohistochemical stain.  $\times 150$ .
- Fig 8. 6-day injection group of unovariectomized rats. Several follicles and corpus luteum are seen. But different histological findings between growing follicles and atretic follicles were not appeared. H-E stain.  $\times 20$ .
- Fig 9. Control group of unovariectomized rats. Some growing secondary follicles with labeled proliferating cells and some atretic secondary follicles without proliferating cells in the ovary are seen. Immunohistochemical stain.  $\times 50$ .
- Fig 10. 6-day injection group of unovariectomized rats. Many growing follicles with labeled proliferating cells, atretic follicles without labeling proliferating cells and corpus luteum with or without labeling proliferating cells are seen. Immunohistochemical stain.  $\times 20$ .
- Fig 11. 3-day injection group of unovariectomized rats. A large atretic mature follicle with labeled proliferating fibroblasts on the periphery are seen. Immunohistochemical stain.  $\times 50$ .
- Fig 12. 6-day injection group of unovariectomized rats. A growing secondary follicle with labeled proliferating granulosa cells and a atrophic secondary follicle without labeled proliferating granulosa cells are seen. Immunohistochemical stain.  $\times 100$ .

## 참 고 문 헌

1. Allegranza A, Girlando S, Arrigoni GL, et al. Proliferating cells nuclear antigen expression in central nervous system neoplasms. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1991; 419(5): 417-423.
2. Chiras DD, Greenwald GS. Analysis of ovarian follicular development and thymidine incorporation in the cyclic golden hamster. *Anat Rec* 1980; 157: 309-317.
3. Dellman H, Brown EM. Female reproductive system in *Textbook of Veterinary histology*. 3rd ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 1987; 313-399.
4. Hung TT, Preyer J, Ribas D, et al. Artificially induced menstrual cycle with natural estradiol and progesterone. *Fertil Steril* 1989; 51: 968-971.
5. 김상근, 김민국 등. 우유의 혈청내 Progesterone 농도의 간이 측정에 의한 임신진단에 관한 연구. 가축번식학회지 1989; 13(3): 157-163.
6. 김정우. Milk progesterone test(EIA)에 의한 소의 임신조기진단 정확도 향상에 관한 연구. 가축번식학회지 1989; 13(3): 157-163.
7. 김정우, 김종배, 정길생 등. Progesterone 단일크론 항체의 수동면역이 mouse 수정란의 착상저해에 미치는 효과. 가축번식학회지. 1990; 14(3): 157-164.
8. 김정우, 홍승욱. 단일크론항체를 이용한 milk progesterone(EIA) 측정의 개발에 의한 소의 발정 및 임신조기진단의 정확도 향상에 관한 연구. 가축번식학회지 1990; 14(3): 165-173.
9. Ross HM, Reith EJ. Female reproductive system in *Histology*. Harper and Row, New York, 1985; 658-717.
10. 윤창현, 민관식, 장규태 등. 한국재래산양 분만의 인위적 조절에 관한 연구. I. Prostaglandin  $F_{2a}$  투여에 의한 분만유기 효과. 가축번식학회지 1991;







- 15(2): 109-115.
11. Fujii-hanamoto H, Seiki K, Sakabe K, et al. Progesterone receptor in the thymus of ovariectomized immature rats. *J Endocr* 1985; 107: 223-229.
  12. Haslam SZ, Shyamala G. Effect of oestradiol on progesterone receptors in normal mammary glands and its relationship with lactation. *Biochem J* 1979; 182: 127-131.
  13. Hild-Petito S, Stouffer RL, Brenner RM. Immunocytochemical localization of estradiol and progesterone receptors in the monkey ovary throughout the menstrual cycle. *Endocrinology* 1988; 123: 2896-2905.
  14. Hild-Petito S, Vehage HG, et al. Immunocytochemical localization of estrogen and progesterone receptors in the Baboon (*Papio anubis*) uterus during implantation and pregnancy. *Endocrinology* 1992; 130: 2343-2353.
  15. Isola J, Koreat JM, Yuohimaa P. Immunocytochemical localization of progesterone receptor in the chick ovary. *Endocrinology* 1987; 121(3): 1034-1040.
  16. Okulica WC, Savasta AM, et al. Biochemical and immunohistochemical analyses of estrogen and progesterone receptors in the rhesus monkey uterus during the proliferative and secretory phases of artificial menstrual cycles. *Fertil Steril* 1990; 53: 913-920.
  17. Perrot-Applanat M, Groyer-Picard MT, Milgrom E, et al. Immunocytochemical demonstration of estrogen and progesterone receptors in muscle cells of uterine arteries in rabbits and humans. *Endocrinology* 1988; 123: 1511-1519.
  18. Perrot-Applanat M, Groyer-Picard MT, Milgrom E, et al. Immunocytochemical demonstration of estrogen and progesterone receptors in muscle cells of uterine arteries in rabbits and humans. *Endocrinology* 1988; 123: 1511-1519.
  19. Press MF, Greene GL. Localization of progesterone receptor with monoclonal antibodies. *Endocrinology* 1985; 116: 1473-1484.
  20. Press MF, Nousek-Goebel NA, et al. Estrogen receptor localization in the female genital tract. *Am J Pathol* 1986; 123: 280-292.
  21. Press MF, Udove JA, Greene G. Progesterone receptor distribution in the human endometrium. Analysis using monoclonal antibodies to the human progesterone receptor. *Am J Pathol* 1988; 131: 112-124.
  22. Sar M, Stumpf WE. Cellular and subcellular localization of <sup>3</sup>H-progesterone or its metabolites in the oviduct, uterus, vagina and liver of the guinea pig. *Endocrinology* 1974; 94: 116-1125.
  23. Shughrue PJ, Stumpf WE, Sar M. The distribution of progesterone receptor in the 20-day-old fetal mouse: An autoradiographic study with [<sup>125</sup>I] progesterone. *Endocrinology* 1988; 123(5): 2382-2389.
  24. Warembourg M. Radioautographic study of the guinea pig uterus after injection and incubation with <sup>3</sup>H-progesterone. *Endocrinology* 1974; 94: 665-670.
  25. West NB, McClellan MC, et al. Immunocytochemistry versus binding assays of the estrogen receptor in the reproductive tract of spayed and hormone-treated macaques. *Endocrinology* 1987; 121(1): 1-6.
  26. 박수동. 家畜 및 實驗動物 消化管腺의 構造에 관한 연구. II. 哺乳 mouse 腸粘膜炎의 細 再生週期에 대하여. *대한수의학회지* 1992; 32(1): 1-6.
  27. 박수동. 腦 神經膠細胞 集團의 發生과 移動에 대한 放射線 自記法的 관찰. II. 腦 外胚葉性 神經膠細胞의 分裂과 移動에 대하여. *대한수의학회지* 1992; 32(4): 489-496.
  28. 박수동, 방성식, 강원화. Anti-bromodeoxyuridine monoclonal antibody를 이용한 랫드 胃와 腸의 분열 상피세포에 관하여. *대한수의학회지* 1993; 33(4): 597-603.
  29. Labrecque C, Huard J, Dansereau G, et al. In vitro bromodeoxyuridine labeling of nuclei: Application to myotube hybridization. *J Histochem Cytochem* 1991; 39(10): 1421-1426.
  30. Pedersen T, Perters H. Follicle growth and cell dynamics in the mouse ovary during pregnancy. *Fertil Steril* 1971; 22(1): 42-52.
  31. Potten CS, Kellett M, Roerts SA, et al. Measurement of in vivo proliferation in human colorectal mouse using bromodeoxyuridine. *Gut* 1992; 33: 71-78.
  32. Raza A, Spiridonidis C, Ucar K, et al. Double labeling of S-phase murine cells with bromodeoxyuridine and a second DNA-specific probe. *Cancer Research* 1985; 45: 2283-2287.

33. Risio M, Coverlizza S, Ferrari A, et al. Immunohistochemical study of epithelial cell proliferation in hyperplastic polyps, adenomas, and adenocarcinomas of the large bowel. *Gastroenterology* 1988; 94: 899-926.
34. Schutte B, Reynders MMJ, Bosman FT, et al. Studies with antibromodeoxyuridine antibody: Simultaneous immunohistochemical detection of antigen expression and DNA synthesis by vivo labeling of mouse intestinal mucosa. *J Histochem Cytochem* 1987; 35(3): 371-374.
35. Sujihasi H, Nakanishi A, et al. Cell proliferation of human tumors determined by BrdU and Ki-67 immunostaining. *J Urol* 1991; 145(4): 846-849.
36. Ohmori K, Hong Y, Fujiwara M, et al. In situ demonstration of proliferating cells in the rat central nervous system during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Lab Invest* 1992; 66(1): 54-62.