

17 β -Estradiol이 progesterone target cell 분포에 미치는 영향에 대한 면역조직화학적 연구

II. 면역조직화학적 방법에 의한 증식세포수의 영향에 대하여

곽수동

경상대학교 동물면역연구소

(1995년 11월 1일 접수)

Immunohistochemical study on distribution of progesterone target cells by 17 β -estradiol

II. Effect on the number of proliferating cells by immunohistochemical methods

Soo-dong Kwak

Animal Immunology Research Institute, Gyeongsang National University

(Received Nov 1, 1995)

Abstract : This study was designed to investigate the effect of estrogen(Est) on the proliferating of progesterone(Prog) target cells. The spayed 13 rats(Wistar, approximately 300gm) were randomly allotted into 3 groups. One group was the control group and another Prog-treated group was injected with 1mg of Prog/rat/day for 2 consecutive days, and Est- and Prog-treated group was injected intramuscularly with 17 β -estradiol 20 μ g/rat/day for 3 consecutive days and then with Prog for 2 days as above from 4th day. Rats were administrated intraperitoneally with bromodeoxyuridine(Brdur, 0.2mg/ BW once) before 2 hours of exsanguination.

In gross finding, the groups with more level of dimension and weight on the uterus were ordered as Est- and Prog-treated group, Prog-treated group and control group.

The investigation by immunohistochemical methods using paraffin sections of the uteri was performed by using anti-Brdur antibody for labeling proliferating cells of Prog target cells. The groups with higher labeling index(LI) were ordered as Prog-treated group, Est- and Prog- treated group and control group.

The number of proliferating cells from Prog target cells in the rats were rather decreased by Prog injection following Est injection than prog injection only.

The cell types with higher LI in the wall layers of all 3 groups were ordered as endometrial stromal cells, glandular epithelial cells, luminal epithelial cells, myometrial muscle cells and serosa methodelial cells, and the region with highest LI was functional zone of the endometrium and the region with lower LI was muscular layer and then those with lowest LI was serosa and also the considerable different LI from individual rat were observed.

Key words : estrogen, progesterone, receptor, proliferating cells, bromodeoxyuridine, rats.

서 론

암컷의 성 hormone은 생식기의 기능조화를 유지시켜 생리적 주기를 조절한다. 이러한 생식기의 기능은 hormone의 작용을 받아들이는 수용기(receptors)를 보유한 세포가 있어 이 수용기를 통한 상호 밀접한 협동 또는 견제관계에 있기 때문이다. 이러한 상관관계로 인한 receptor(Recep)를 보유한 target cell의 조사는 작용부위 및 기전규명, 타 hormone과의 상관관계 및 효능비교, 불임치료 및 발정유기, hormone 관련 암세포의 규명 및 치료 등 다양한 목적에 응용을 위하여 많이 연구되고 있다¹⁾.

암컷의 생식기의 발달은 성 hormone을 투여하면 Recep를 보유한 세포가 자극을 받아 활성화되어 비대하고 분열증식하였기 때문이라 하며 이 기전은 어떤 hormone에 대한 세포내 Recep는 DNA와 결합하여 RNAs의 특수한 set를 생산하게 하여 세포기능과 성장에 관련하게 된다. 그러므로 어떤 hormone에 대한 Recep 보유세포의 규명은 그 hormone에 대해 자극을 받아 분열한 세포의 분포규명으로서 간접증명 할 수 있다.

각종 hormone 보유세포나 분열세포의 규명은 이 때까지 동위원소를 결합시킨 hormone이나 ³H-thymidine(³H-TdR) 등을 이용한 방사선자기법을 많이 응용하여 왔다²⁾. 이 방법은 세포가 증식할 때 분열하기 전인 간기(interphase)에는 복제전기, 합성기, 복제후기의 3기가 있는데 이중에 합성기에 DNA 복제가 일어나는데 복제되는 DNA에는 adenine, guanine, cytosine 및 thymine 등으로 구성되므로 세포가 분열할 때 이들 성분이 필요한데 이중에 방사선 동위원소를 결합한 thymine의 일부인 ³H-TdR을 투여하여 결합하게 하여 방사선자기법으로서 분열하는 세포를 은입자(silver grains)를 표지토록 하여 검색하여 왔다. 이런 원리를 이용하여 근래에는 세포들이 증식할 때 세포핵의 nucleotides의 구성성분인 bromodeoxyuridine(Brdur)를 미리 투여하면 이들 물질이 합성기의 증식세포의 DNA와 결합하게 되므로 이 Brdur의 단클론 항체(monoclonal antibody)를 이용하여 면역조직화학적 방법으로 DNA 합성세포인 분열세포를 검색하는 획기적인 방법이 개발되어 의학계에서는 소화기관과 생식기관 등의 상피의 재생에 대한 연구, 암의 악성 양성구별, 상처치유에 대한 약물의 효과 등 다양하게 응용되고 있다³⁾.

성 hormone 중에 estrogen(이하 Est)은 자궁을 발달시키고 progesterone Recp(이하 Prog Recep)를 증가시킨다고 하며⁴⁾ 그 기전까지 보고한 바 있다⁵⁾. 반면에

Prog는 Est에 길항작용이 있으며 Prog Recep를 불활화하고 Est Recep와 Prog Recep를 감소시킨다고 한다⁶⁾.

본 연구는 Est 제제인 17 β -estradiol(이하 17 β -E)를 투여한 후 Prog를 투여할 때 제 1보에서 방사선 자기법으로 조사한 Prog의 target cell의 분열세포의 수가 증가 또는 감소되는지를 조사코자 난소를 적출한 rat에서 Brdur의 항체를 이용한 면역조직화학적 방법으로 조사하고 상호비교 검토코자 한다.

재료 및 방법

실험동물의 정상 발정주기의 확인 : 성숙한 rat-(Wistar) 암컷 체중 300gm 내외를 매일 오후 일정시간에 vaginal smear를 실시하여 Giemsa 염색을 실시한 후 제 1보의 mouse에서와 같은 방법으로 실시하였다.

난소 절제 : Rat는 수당 ketamine(함량 50mg/ml, 유한양행) 0.4ml와 Rompun(함량 20mg/ml, Bayer Co) 0.1ml를 근육주사하여 마취한 후에 결박하여 고정하고 등의 정중선 부위에 털을 깎은 후 alcohol과 iodine sol로 술야를 소독하고 rat는 2~3cm 정도 길이로 피부를 절개하고, 제 1보의 mouse에서와 같은 방법으로 실시하였다.

Hormone의 주입 및 조직고정 :

Prog 투여군 : 김과 한⁷⁾의 방법에 따라 Prog(Sigma)를 ethanol, propyleneglycol, 증류수의 순서로 그 용량 비율을 1:4.5:4.5의 비율로한 총 2ml 용량에 용해하여 rat에 1일 수당 Prog 1mg 함유량 1ml를 1회씩 2일간 근육주사하고 3일째는 오전 8~9시경에 Brdur-(Sigma)를 체중 gm당 0.2mg씩 복강내 주입하고, 1~2시간 경과후 ether로 마취하고 개복하여 4% neutral buffer paraformaldehyde로 관류고정하고 각 장기를 채취하여 10% 중성 formalin액에 재고정 하였다.

Est 투여후 Prog 투여군 : Rat에 17 β -estradiol(17 β -E, Sigma)를 위의 Prog와 같은 비율로 희석하여 1일 17 β -E 20 μ g되는 함량을 3일간 근육주사한 후, 제4일째 부터는 Prog 투여군과 같이 Prog를 수당 1일 1mg씩 2일간 근육주사한 후 제6일째는 위와 같이 Brdur를 투여한 후 마취하고 고정하였다.

대조군 : 제3군은 hormone을 투여하지 않고 Brdur만을 투여한 후에 위와 같은 방법을 거쳐 고정하였다.

면역조직화학적 방법 : Paraffin 절편으로 1차항체는 1:50~100으로 희석한 mouse anti-Brdur IgG(On-

Table 1. Experimental design for immunohistochemistry in spayed Wistar rats

Groups	No of rats tested	Treatment	
		materials	Volume and duration
Prog-treated	5	Prog alone*	1mg/rat/day for 2 days
Est-and	5	17 β -E**	20 μ g/rat/day for 3 days
Prog-treated		Prog	1mg/rat/day for 2 days from 4th day
Control	3	None	

Prog* ; progesterone, 17 β -E** ; 17-estradiol

cogene science)를, 2차항체는 1:50~1:100으로 희석한 goat anti-mouse IgG(Sigma)를, 3차 항체는 mouse PAP(Sigma)를 각각 1:50~100배 액으로 희석하여 사용하거나 또는 2차항체 부터는 Vectastain ABC kit(Vector Lab)를 사용한 후, 발색제는 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB)만을 사용하거나 또는 nickel chloride를 가하여 사용하여 발색토록 한 후 hematoxylin으로 대조염색을 하여 황갈색 또는 흑색으로 발색되는 세포를 분열세포로 간주하고 종양의 부위에 따른 분열세포의 분포와 그 비율을 microreticle이 장착된 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

Est가 생식기관에서 Prog target cells의 분열세포수에 미치는 영향을 면역조직화학적 방법으로 조사하기 위하여 rat에 난소를 적출하여 성 hormone의 영향을 제거하고 Table 1과 같이 제1군은 Prog만을 2일간 투여한 군(이하 Prog 투여군), 제2군은 Est를 3일간 투여한 후 Prog를 2일간 투여한 군(이하 Est 투여후 Prog 투여군), 제3군은 난소만을 절제한 군(이하 대조군)으로 구분하고 각 군별로 자궁조직을 대상으로 하여 조사하였다.

육안적 조사에서 자궁의 크기와 중량의 증대는 Est 투여후 Prog 투여군, Prog 투여군, 대조군의 순으로서 Est 투여후 Prog 투여군이 가장 증대되었다(Fig 1).

조직학적 조사는 자궁조직을 근육층과 자궁내막층 및 장막층으로 구분하고 다시 자궁내막은 광양의 표면상피세포, 선상피세포 및 기질세포로 구분하여

Brdur 항체를 이용한 면역조직화학적 방법으로 Brdur 항체의 양성반응 세포의 분포양상을 조사하였다.

자궁내막의 기질세포와 근육층의 근세포의 조사는 현미경하의 확대배율 400배에서 microreticle을 이용하여 한 시야(실넓이 250 \times 250 μ m)당 나타나는 양성세포의 수를 조사하였다.

기질세포(Fig 2~6)의 양성반응 수는 Prog 투여군의 최소에서 최고수가 6~86개의 범위로 범위가 넓고 이 평균은 27.5 \pm 14.6개였고, Est 투여후 Prog 투여군은 6~55개의 범위로 이 평균은 22.3 \pm 14.1개였고, 대조군은 7~36개의 범위로 이 평균은 19.9 \pm 7.6개로 Prog 투여군, Est 투여후 Prog 투여군, 대조군 순이었다. 특히 자궁내막층 중에서 기능대에 많았다.

자궁근육층(Fig 3)의 근세포의 양성반응 수는 Prog 투여군은 0~9개의 범위로 이 평균은 3.7 \pm 2.4개였고, Est 투여후 Prog 투여군은 0~11개의 범위로 이 평균은 5.7 \pm 3.1였고, 대조군은 1~8개의 범위로 이 평균은 3.8 \pm 2.5개로 Est 투여후 Prog 투여군, 대조군, Prog 투여군 순이었고, 전체적으로 양성반응 세포수가 시험군별로 차이가 있었으나 근세포는 기질세포보다 수가 월등히 적어 그 영향이 적은 것으로 인정되었다.

자궁내막의 광상표면의 상피세포(Fig 4, 6)에 대한 조사는 면적당의 조사가 불가능하므로 하나의 자궁관의 조직절편당 나타나는 Brdur 양성반응 세포의 수를 조사하였던 바 Prog 투여군은 4~84개의 범위로 그 범위가 넓었고, 이 평균은 25.9 \pm 21.2개였고, Est 투여후 Prog 투여군은 0~6개의 범위로 그 평균은 0.4 \pm 0.7개였고, 대조군은 0~6개의 범위로 그 평균은 1.3~2.1개였고, Prog 투여군이 가장 높았고 그 다음은 대조군, Est 투여후 Prog 투여군 순이었으며 군별보다는 개체별로 차이가 더 많은 경우도 있었다.

자궁내막의 선상피(Fig 2, 5, 6)에 대한 조사는 자궁관의 하나의 조직절편에서 나타나는 선관의 단면들의 전체수(12~72개의 범위로 이 평균은 42.1 \pm 13.0개) 중에서 한세포 이상의 양성반응 세포가 나타나는 선관단면들의 수를 조사한 바 Prog 투여군은 0~22.6개의 범위로 이 평균은 9.8 \pm 8.0개, Est 투여후 Prog 투여군은 0~19.5개의 범위로 그 평균은 8.5 \pm 5.9개, 대조군은 1.8~12.8개의 범위로 이 평균은 5.7 \pm 2.6개로 Prog 투여군, Est 투여후 Prog 투여군, 대조군 순이었고 한 선관의 단면당 양성반응 세포는 1개가 가장 많았고 2~3개의 양성세포를 나타내는 선관들의 수는 소수였다.

이상에서 실험군별 양성반응 세포가 가장 많이 나타난 순서는 Prog 투여군, Est 투여후 Prog 투여군, 대조군 순으로 Prog 투여직전에 Est의 투여는 Prog의 receptor 보유세포의 증식효과를 증대시키지 못하였고 오히려 감소시켰다.

자궁에서 부위세포별 Est와 Prog에 의한 증식세포의 증가되는 순서는 기질세포, 선상피세포, 관강상피세포, 근세포, 장막의 증피세포 순으로 자궁내막의 기질층에 양성반응세포 분포가 가장 많았고, 선상피세포와 관강상피세포는 그 다음이었으며 근육층은 적었고 장막에서는 거의 관찰되지 않았다고 개체별로 차이가 많았다.

고 찰

성 hormone 중에 Est는 발정행위, 상피의 증식, 난관의 수축 등의 작용이 있고 Prog는 임신보존, 자궁수축 억제작용이 있으며 Est와 Prog는 공히 자궁과 유선을 발달시킨다고 하였고 또 Ennis와 Stumpf은 rat에 estradiol를 5 μ g씩 4일간 투여한 바 자궁의 형태가 변하고 중량이 증가되었다고 하였다. 본 조사에서는 육안적 크기는 Est 투여후 Prog 투여군, Prog 투여군, 대조군 순으로 나타나 Est 투여후 Prog 투여군은 투여기간의 증가됨에 따른 작용시간의 증가는 물론이고 그 외에도 Est이 자궁증대에 중요한 역할을 하는 소견으로 사료되었다.

생식기에서 Est Recept의 분포에 관하여는 자궁에서 관강의 표면상피, 선상피, 기질, 평활근 등에 분포되어 있다고 보고한 바가 많고, Gee et al¹⁰은 자궁의 기질세포와 선상피세포에 많고 나팔관, 질, 정상 또는 암성의 유선에 관찰되었다고 하였고, 생식기관 외에 관하여서는 McClellan et al¹¹과 Perrot-Appianat et al¹²은 비장, 12지장, 결장, 식도, 골격근, 횡격막 등에는 없다고 하였다.

Raymond와 Leong¹³은 사람의 유방암 조직세포에서 최소 7%에서 최고 94%까지 Est Recept 양성반응을 보였다고 하였고, 시기별로는 Hild-Petito et al¹⁴은 임신초기는 자궁혈관벽과 자궁근층의 평활근세포에, 임신말기에는 평활근세포에만 있고 내막과 혈관에는 없다고 하여 Est는 임신초기에 작용함을 보고하였다.

본 조사에서도 Est를 투여한 후 증식세포를 조사한 바 자궁내막의 기질세포, 선상피세포, 관강표면상피세포, 근세포 등에서 Brdur 양성반응 세포가 관찰되어 위의 Recept 보유세포 조사의 보고와 일치함을 알 수 있었다.

난소를 절제하여 steroid hormone이 없는 상태에서 Est치가 높아지면 Est Recept와 Prog Recept가 증가된다^{2,8,10}. 그 이전에 관하여는 Press와 Greene¹⁵은 Est이 세포내에서 특수결합력으로 Est Recept와 결합하여 Est Recept 장치가 활성화하여 핵과 작용하여 messenger RNAs의 set가 생산되고 이중 하나가 Prog Recept에 정보가 전달되어 Prog 반응이 일어난다고 하였다. 그러므로 Est Recept가 많은 세포는 Prog Recept가 많게 된다고 하였다.

반대로 Prog는 Est에 길항작용이 있고 또 Prog Recept 합성을 직접 불활화하여 억제한다고 Haslam과 Shyamala¹⁶는 보고하였고 또 Slayden et al¹⁷도 Prog는 Est Recept의 작용을 막고 억제한다고 하였다. 이 예로 Sternfeld et al¹⁸은 원숭이에서 Est Recept 양성세포는 Est가 증가되는 난포기는 자궁상피세포와 기질세포에서 96.6%와 86.0%였으나 Prog가 증가하는 황체기에는 27.8%와 32.0%로 현저히 감소하여 Est Recept는 Prog에 의하여 감소함을 보고한 바 있고, Haslam과 Shyamala¹⁶는 자궁을 절제하거나 않는 mouse의 유선에는 Prog Recept가 없었고 이 상태에서 estradiol을 투여하여도 Prog Recept는 없었다고 하였고 처녀 mouse는 Prog Recept가 있었고 estradiol 주사에 의하여 Prog Recept가 증가되었다고 하였다.

본 조사에서는 전체적으로 위의 보고보다 수치가 월등히 낮은 것은 Recept 보유세포 중에서도 자극을 받아 분열하는 세포만을 조사하였으므로 위의 수치보다 월등히 낮은 것으로 생각되었다.

세포 종별로는 근세포는 기질세포보다 낮았고 실험군별로는 Prog 투여군 보다 Est 투여후 Prog 투여군이 오히려 낮았다. 이러한 결과는 Est가 Prog Recept의 양은 증가시키나 Est 투여로 Est가 잔존하고 있는 상태에서 다시 Prog를 투여하였으므로 Est와 길항작용이 일어나 Est와 Prog의 작용이 억제되고 Prog Recept를 불활화하기 때문으로 Brdur 양성세포가 적은 것으로 생각된다. 이로 보아 Prog의 작용은 Est의 직전 투여에 의하여 억제됨을 알 수 있고 이러한 소견은 Prog는 Est에 억제 또는 길항작용이 있다는 보고와 일치한다고 본다.

자궁은 Est와 Prog의 작용에 의하여 새 조직이 증생하여 발달하게 되며 조직의 부위별 발달의 차이에 대하여는 조사된 바가 없다. 본 조사에서 양성반응세포수의 비율이 높은 순서는 기질세포, 선상피세포, 관강상피세포, 근세포 순으로 기질세포와 선상피세포가 가장 많았고 근세포의 수가 가장 적었고, 증피세포는 거의 관찰되지 않았다. 이러한 소견은 자궁내막의 기질세포와 상피세포는 성주기적으로 증식과 탈락이 반복되므로 자궁내막의 기질세포와

선상피세포에 이들 hormone에 대한 Recep가 많아 양성세포 비율이 가장 많으며 근세포는 주기적으로 변화가 없이 영구적으로 보존되는 조직이므로 발달의 속도가 느린 것으로 생각된다. 이러한 양성세포 수 비율의 차이는 제1보의 방사선자기법에서 나타난 silver granis를 함유한 세포들의 차이와 일치하는 소견이었다.

결 론

Estrogen(Est)이 생식기관에서 Progesterone(Prog) target cells의 분열세포수에 미치는 영향을 조사하기 위하여 rat에 Prog만을 2일간 투여한 군(이하 Prog 투여군), Est를 3일간 투여한 후 Prog를 2일간 투여한 군(이하 Est 투여후 Prog 투여군), 난소만을 절제한 군(이하 대조군)으로 구분하고 각 군별로 조사한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

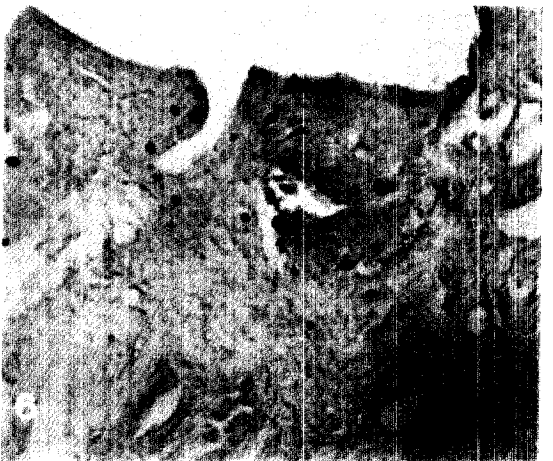
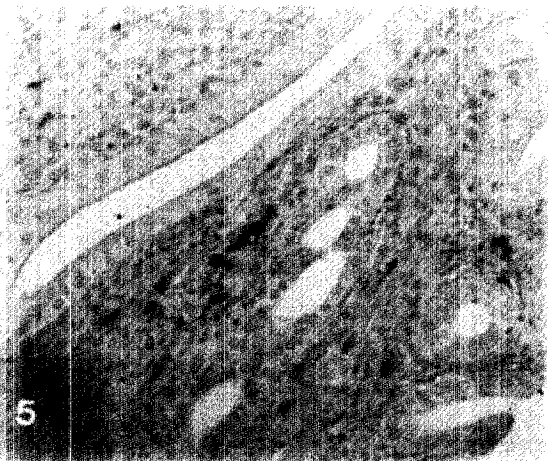
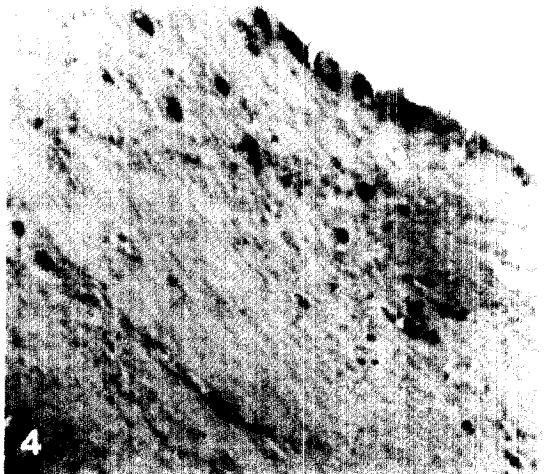
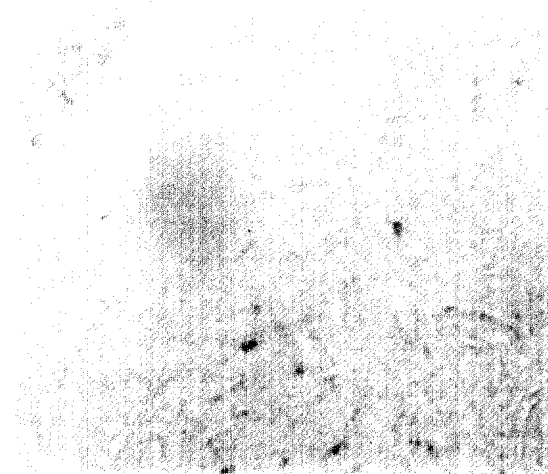
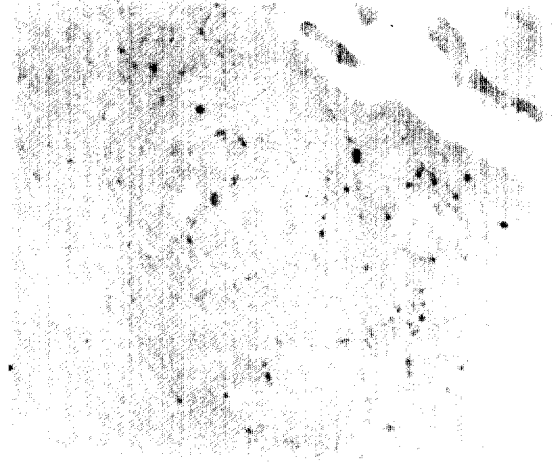
육안적 자궁의 크기와 중량의 증대는 Est 투여후 Prog 투여군, Prog 투여군, 대조군의 순으로서 Est 투여후 Prog 투여군이 가장 증대되었다.

면역조직화학적 방법으로는 bromodeoxyuridine 항체의 양성반응 세포의 분포양상을 조사한 바 실험군별 양성반응 세포가 가장 많이 나타난 순서가 Prog 투여군, Est 투여후 Prog 투여군, 대조군 순으로 Prog 투여직전에 Est의 투여는 Prog의 receptor 보유 세포의 증식효과를 증대시키지 못하였고 오히려 감소시켰다.

자궁조직을 구성하는 주요 층별 세포별 Est와 Prog에 의한 양성반응 세포수가 높은 순서는 자궁내막의 기질세포, 선상피세포, 관강상피세포, 근육층의 근세포, 상막의 중피세포 순이었고, 자궁내막 중에서도 기능대에 양성반응 세포분포가 가장 많았고, 근육층은 적었고 장막에서는 거의 관찰되지 않았고 개체별로 비율의 차이가 많았다.

Legends for figures

- Fig 1. Gross appearance of the uteri. Three hypertrophied uteri(left) of spayed rats injected with 17β -estradiol(Est) for 3 consecutive days and then progesterone for 2 days, and two atrophied uteri(right) of spayed rats injected with progesterone(Prog) only for 2 consecutive days.
- Fig 2. Many Brdur positive cells from the stromal cells and glandular epithelial cells in the endometrium of Prog-treated group are seen. Immunohistochemistry stain. $\times 50$.
- Fig 3. Some Brdur positive cells from muscle cells(upper left) in the myometrium and stromal cells(right) in the endometrium of Prog-treated group are seen. Immunohistochemistry stain $\times 100$.
- Fig 4. Some Brdur positive cells from the stromal cells and luminal epithelial cells in the endometrium of Est- and Prog-treated group are seen. Immunohistochemistry stain using nickel chloride as signal-generating reagent. $\times 200$.
- Fig 5. Many Brdur positive cells from the stromal cells and glandular epithelial cells in the endometrium of Est- and Prog-treated group are seen. Immunohistochemistry stain. $\times 50$.
- Fig 6. Several Brdur positive cells from the luminal epithelial cells, glandular epithelial cells, and stromal cells in the endometrium of Est- and Prog-treated group are seen. Immunohistochemistry stain. $\times 100$.



참 고 문 헌

- Ennis BW, Stumpf WE. Differential induction of progesterin-binding sites in uterine cell types by estrogen and antgestrogen. *Endocrinology* 1988; 123: 1747~1753.
- Gasc JM, Renoir JM, Radanyi C, et al. Progesterone receptor in the chick oviduct: an immunohistochemical study with antibodies to distinct receptor components. *J Cell Biol* 1984; 99: 1193~1201.
- Gee JMW, Nicholson RI, Jasani B, et al. An immunocytochemical method for localization of estrogen receptors in rat tissues using a dinitrophenyl(DNP)-labeled rat monoclonal primary antibody. *J Histochem Cytochem* 1990; 38: 69~78.
- 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.
- Hild-Petito S, Verhage HG, Fazleabas AT, et al. Immunocytochemical localization of estrogen and progesterin receptors in the Baboon(*Papio anubis*) uterus during implantation and pregnancy. *Endocrinology* 1992; 130: 2343~2353.
- 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.
- McClellan MC, West NB, Tacha DE, et al. Immunocytochemical localization of estrogen receptors in the Macaque reproductive tract with monoclonal anti-estrophilins. *Endocrinology* 1984; 114: 2002~2014.
- 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.
- Perrot-Applanat M, Logeat F, Groyer-Picard MT, et al. Immunocytochemical study of mammalian progesterone receptor using monoclonal antibodies. *Endocrinology* 1985; 116: 1473~1484.
- Press MF, Greene GL. Localization of progesterone receptor with monoclonal antibodies to the human progesterin receptors. *Endocrinology* 1988; 122: 1165~1175.
- Press MF, Nousek-Goebel NA, Bur M, et al. Estrogen receptor localization in the female genital tract. *Am J Pathol* 1986; 123: 280~292.
- Press MF, Nousek-Goebel N, King WJ, et al. Immunohistochemical assessment of estrogen receptor distribution in the human endometrium through the menstrual cycle. *Lab Invest* 1984; 51: 495~503.
- 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.
- Raymond WA, Leong ASY. Oestrogen receptor staining of paraffin-embedded breast carcinomas following short fixation in formalin: A comparison with cytosolic and frozen section receptor analysis. *J Pathol* 1990; 150: 295~303.
- Slayden OD, Hirst JJ, Brenner RM, et al. Estrogen action in reproductive tract of rhesus monkeys during antiprogesterin treatment. *J Endocrinol* 1993; 132: 1845~1856.
- Sternfeld MD, West NB, Brenner RM. Immunocytochemistry of the estrogen receptor in spontaneous endometriosis in rhesus macaques. *Fertil Steril* 1988; 49: 342~348.
- 윤창현. 민관식, 장규태 등, 한국재래산양 분만의 인위적 조절에 관한 연구, III. Prostaglandin E₂와 estradiol-benzoate 병용투여에 의한 분만유기 효과. *가족번식학회지* 1992; 16: 109~166.
- Ballare C, Bravo AI, Sori I, et al. The expression of progesterone receptors coincides with an arrest of DNA synthesis in human breast cancer. *Cancer* 1991; 67: 1352~1358.
- Chiras DD, Greenwald GS. Analysis of ovarian follicular development and thymidine incorporation in the cyclic golden hamster. *Anat Rec* 1980; 157: 309~317.
- Fukumatsu Y, Katabuchi Y, Naio M, et al. Effect of macrophage on proliferation of granulosa cells in the ovary in rats. *J Reprod Fert* 1992; 96: 241~249.
- Sar M, Stumpf WE. Cellular and subcellular localization of ³H-progesterone or its metabolites in the oviduct, uterus, vagina and liver of the guinea pig. *Endocrinology* 1974; 94: 116~125.
- Uribe A, Rubio C. Cell kinetics of rat gastrointestinal mucosa. Autoradiographic study after treatment with 15(R)15-methyl-Prostaglandin E₂. *Gastroenterology* 1986; 21: 246~252.
- Warembourg M. Radioautographic Study of the

- guinea pig uterus after injection and incubation with ^3H -progesterone. *Endocrinology* 1974; 94: 665~679.
24. 광수동, 家畜 및 實驗動物 消化管腺의 構造에 관한 연구. II. 哺乳 mouse 腸粘膜의 細胞再生週期에 대하여. 대한수의학회지 1992; 32: 1~6.
 25. 광수동, 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: 489~496.
 26. Potten CS, Kellett M, Roberts SA, et al. Measurement of in vivo proliferation in human colorectal mucosa bromodeoxyuridine. *Gut* 1992; 33: 71~78.
 27. Raza A, Spiridonidis C, Ucar K, et al. Double labeling of S-phase murine cells with bromodeoxyuridine and a second DNA-specific probe. *Cancer Res* 1985; 45: 2283~2287.
 28. Schutte B, Reynders MMJ, Bosman FT, et al. Studies with anti-bromodeoxyuridine antibody. Simultaneous immunohistochemical detection of antigen expression and DNA synthesis by in vivo labeling of mouse intestinal mucosa. *J Histochem Cytochem* 1987; 35: 371~374.
 29. 광수동, 박성식, 강원화. Anti-bromodeoxyuridine monoclonal antibody를 이용한 Rat 胃와 腸의 분열 상피세포의 분포에 대하여. 대한수의학회지 1993; 33: 597~603.
 30. 광수동, 김종섭, 강정부, 닭의 대퇴부 골단조직의 세포증식에 대한 면역조직화학적 관찰. 대한수의학회지 1994; 34: 237~242.
 31. 박성식, 광수동. Progesterone이 rat 자궁과 난소의 증식세포 분포에 미치는 영향에 대한 면역조직화학적 연구. 대한수의학회지 1995; 35: 217~228.
 32. 김곤섭, 한수남, Estradiol-17 β 를 처리한 쥐 뇌에 있어서 cAMP phosphodiesterase 특성에 관한 연구. 서울수의대논문집 1986; 11: 23~39.