韓國臨床獸醫學會誌 第5卷 第2號
J. Korean Soc. Vet. Clin. Med.
Vol. 5, No. 2, December, 1988.

炎症誘發 생쥐에 있어서 過剩排卵處置後 卵巢內 卵胞의 定量形態學的觀察

權 五 鏡

서울大學校 獸醫科大學

緖 論

stress와 繁殖과의 사이에는 깊은 關係가 있는 것으로 알려져 있으며, 牛[7,14]그리고 rat[12]에 있어서 stress는 排卵障害를 일으킨다고 한다. 過剩排卵處置中의 hydrocortisone 혹은 dexamexasone의 注射는 卵胞發育障害 그리고 排卵障害를 誘發시켜 排卵數의 低下, 殘存卵胞數의 增加를 일으킨다고 한다.[1,3] 疾病發生으로 인한 stress와 過剩排卵處置에 對한 卵巢反應과의 사이에도 關係가 있는 것으로 報告되고 있다.[5,6]

本 實驗은 stress終了後 이에 대한 影響이 過剩排卵處置에 對한 卵巢反應에 어느정도 持續되는가를 檢討하기 위해 생쥐에 炎症誘發劑인 turpentine oil을 注射한 後, 正常發情周期를 되풀이하게된 생쥐에 過剩排卵處置를 하여 卵巢內 卵胞의 定量形態學的觀察를 하였다.

材料 및 方法

供試動物은 靜岡實驗動物 center에서 購入하여 北海道 大學醫學部 附屬實驗動物 center에서 飼育한 8週齡의 ICR系 成熟未經產 생쥐였다. 飼育室의 溫度는 23~26℃, 濕度는 50~60%로 点燈時間은 7:00~21:00의 14時間이 였다. 飼料와 물은 不斷給與로 하였다. 每日 午前 10時에서 12時사이에 膣smear檢査를 하였으며, 5日周期를 적어도 1回以上 되풀이한 것을 確認한 後, 다음 周期의 休止期 1日째 炎症誘發을 하였다.

炎症誘發은 turpentine oil 25㎕을 3日간격으로 2回 腹腔內注射하는 것으로 행해졌다. 無處置의 對照 그리고 炎症誘發생쥐의 膣smear를 每日 檢査하여 最終 turpentine oil 投與後 2回以上의 正常發情周期를 되풀이한 생쥐를 本 實驗에 供하였다.

過剩排卵處置는 發情休止期 1日째의 17:00時에 7.5IU PMSG를 腹腔內投與하는 것으로 행해졌다. 處置時의 正常卵胞數는 對照 그리고 炎症誘發 생쥐에서 休止期 1日째의 생쥐를 각각 5마리씩 골라 檢討하였다. 過剩排卵處置後의 正常卵胞數는 PMSG注射 48時間後의 생쥐를 각각 5마리씩 골라 검토하였다. 屠殺後 즉시 卵巢를 摘出하여 Lavdowsky氏液에 固定한 後 paraffin包埋하여 15㎛의 連續切片을 製作하여 hematoxylin-eosin 染色하였다.

卵胞의 크기는 顯微鏡의 接眼用 micrometer를 使用하여 長徑과 이것에 直角인 短徑을 側定하여 이것들의 平均을 計算함으로써 求해졌다. 徑의 平均이 100~400㎛ 以上의 卵胞에 대해 50㎛씩 區分하여 檢討하였다. 正常卵胞와 閉鎖卵胞의 判別은 Braw & Tsafviri(1980)[2]의 方法에 準하였다. 最大口徑切片에 있어서 濃染細胞가 2개 以下이고, 顆粒膜細胞의 配列이 規則的인 卵胞 그리고 卵細胞의 核이 休止期에 있는 것을 正常卵胞로 하였다.

對照 그리고 實驗群의 正常卵胞數의 平均値의 差는 student의 t檢定에 의해 有意性을 檢討하였다.

結果 및 考察

turpentine oil의 腹腔內注射後 즉시 處置 생쥐의 全例에 있어서 背彎姿勢 혹은 비틀거림과 같은 疼痛症狀을 보였다. 注射後 5日까지 元氣消失, 運動忌避 그리고 粗毛가 觀察되었으며 이 사이에 50마리중 14마리가 斃死하였다. 剖檢에서 腹腔內의 腸管을 포함한 全域에 發赤 혹은 充血이 觀察되었다. 炎症誘發 約 20日後에 正常發情周期를 되풀이하고 있는 생쥐 10마리에서는 剖檢時 腹腔內에 廣範圍한 癒着이 觀察되었다. 卵巢는 大網膜에 의해 癒着되어 있었으나 卵巢의 組織學的檢査에서는 炎症의 徵候가 보이지 않았다.

炎症誘發後 發情周期의 異常이 36마리中 28마리에서 2周期에 걸쳐 觀察되었다. Pollard *et al.*[12] (1975) 그리고 Schwartz[13] (1964)는 rat에 있어서 急性의 stress는 發情周期의 異常을 惹起한다고 하였다.

發情周期의 異常은 stress에 의한 副腎皮質에서 放出되고 있는 것으로 推定되는 黃體호르몬의 上昇때문이라고 한다.[4,9,11] stress에 의한 高濃度의 黃體호르몬은 性腺刺戟호르몬의 分泌pattern에 異常을 초래하여 繁殖性에 惡影響을 미친다고 推測한다.[11] 過剩排卵處置中의 dexamethasone 혹은 hydrocortisone의 注射는 過剩排卵處置에 대한 卵巢反應을 抑制하며 그 理由는 上記物質이 下垂體에서의 性腺刺戟 호르몬의 放出에 異常을 초래하기 때문이라고 하였다.[3]

過剩排卵處置時의 徑200～349μm의 正常卵胞數는 41.2個로서 過剩排卵處置 48時間後의 21.8個보다 많은 傾向을 보였다(Table 1). 徑400μm以上의 正常卵胞數는 過剩排卵處置時의 7.6個에서 過剩排卵處置 48時間後의 24.6個로 增加하였다($p<0.001$). 過剩排卵處置에 의해 徑200～349μm의 卵胞가 徑400μm以上의 卵胞로 發育된다고 생각된다.

흰쥐에 있어서 徑400μm以上의 卵胞는 排卵豫定의 成熟卵胞이며,[10] 過剩排卵處置에 대한 卵巢反應은 過剩排卵處置時의 卵巢內 發育卵胞數와 關係있는 것으로 報告되고 있다.[8]

徑200～399μm의 正常卵胞數는 對照群에서 49.6個로서 炎症誘發群의 30.4個 보다 많은 傾向을 보였다. 그러나 過剩排卵處置 48時間後의 徑

Table.1.Number of Normal Follicles after PMSG Injection

Mice	Follicular diameters(μm)						
	100–	150–	200–	250–	300–	350–	400–
Controls							
At the time of	203.0[a]	88.8	21.0	11.0*	9.2	8.4	7.6**
PMSG treatment	32.0[b]	11.5	7.9	6.1	5.8	3.0	5.8
48 hrs. after	200.4	90.4	13.6	3.8	4.4	7.0	24.6
PMSG treatment	47.6	29.7	6.3	2.9	6.3	3.2	11.9
Turpentine oil treated groups							
At the time of	180.8	68.8	16.0	5.0	4.0	5.4	8.3
PMSG treatment	120.2	68.5	11.7	2.9	1.9	4.2	8.6
48 hrs. after	176.2	67.0	10.8	5.2	2.6	7.8	29.8
PMSG treatment	67.8	24.4	6.5	5.1	1.9	5.4	10.4

Five mice were used in each group.
PMSG was given at 17:00 h on diestrus 1.
Inflammation was artificially induced by injecting 25μl of turpentine oil intraperitoneally 2 times at the interval of 3 days.
[a]Means, [b]Standard deviations
*$P<0.05$, **$P<0.01$

400μm以上의 正常卵胞數를 比較한 結果, 對照그리고 炎症誘發群의 卵胞數는 各各 24.6個와 29.8個로서 兩者사이에는 有意差가 認定되지 않았다.

炎症誘發 흰쥐에 있어서 炎症誘發後 正常的인 發情周期를 되풀이하는 경우에는 過剩排卵處置에 대해 徑400μm以上의 成熟卵胞數의 減少가 보이지 않았다.

結 論

stress終了後 이에 대한 影響이 過剩排卵處置에 대한 卵巢反應에 어느정도 持續되는가를 檢討하기 위해, 생쥐에 turpentine oil 注射에 의한 炎症을 誘發시킨後 正常發情周期을 되풀이하는 생쥐에 過剩排卵處置을 하여 卵巢內 卵胞의 定量形態學的 觀察을 하였다.

過剩排卵處置에 의해 徑400μm 以上의 正常卵胞는 過剩排卵處置時 7.6個에서 處置 48時間後 24.6個로 增數하였다. 過剩排卵處置 48時間後의 徑400μm以上의 正常卵胞數는 對照와 炎症誘發群사이에 有意差가 認定되지 않았다.

以上에서 부터 炎症誘發經驗 생쥐에 있어서 炎症誘發後 正常的인 發情周期를 되풀이하는 경우에는 過剩排卵處置後의 排卵豫定의 正常卵胞數의 減少가 보이지 않았다.

참 고 문 헌

1. Bielanski, A.: Ovarian response and cortisol and progesterone blood levels in superovulated heifers treated with dexamethsone. Theriogenology, (1985)23: 178(abstr.).
2. Braw, R.H. and Tsafriri, A.: Effect of PMSG on follicular atresia in the immature rat ovary. J. Reprod. Fert. (1980)59: 267～272.
3. Ewy, Z., Wierzchos, E., Bielanski, A. and Gajda, B.: Effect of dexamethasone and hydrocortisone on the course of superovulation in cattle. Theriogenology. (1985)23: 415～420.
4. Feder, H.H., brown-grant, K. and Correr, C.S.: Preovulatory progesterone, the adrenal cortex and the critical period for luteinizing hormone release in rats. J. Reprod. Fert. (1971)50: 29～39.
5. Kweon, O.K., Ono, H., Yamashida, H., Seike, N., Mori, K. and Kanagawa, H.: Relationship between serum total cholesterol and progesterone levels and the number of transferable embryos in superovulated Holstein heifers and cows. Jpn. J. Anim. Reprod. (1985)31: 231~235.
6. Kweon, O.K., Kanagawa, H., Takahashi, Y., Yamashida, H., Seike, N., Iwazumi, Y., Aoyagi, Y. and Ono, H.: Factors affecting superovulation response in cattle. Jpn. J. Vet. Sci. (1986)48: 495～503.
7. Moberg, G.P. and Stoebel, D.P.: The effect of cortisol on ovulation in the dairy cow. Proc. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I. Madrid. (1980) Vol.III: 103.
8. Monniaux, D., Chupin, D. and Saumande, J.: Superovulatory response of cattle. Theriogenology (1983)19: 55～81.
9. Nequin, L.G., Alvarez, J.A. and Campbell, C.S.: Alterations in steroid and gonadotropin release resulting from surgical stress during the morning of proestrus in 5-day cyclic rats. Endocrinology (1975)97: 718～724.
10. Numazawa, A. and kawashima, S.: Morphometric studies on the ovarin follicles and corpora lutea during the estrous cycle in the mouse. J. Reprod. Fert. (1982)64: 275～283.
11. Ogle, T.F. and Kitay, J.I.: Ovarian and adrenal steroids during pregnancy and the estrous cycle in the rat. J. Endocr. (1977)74: 89～98.
12. Pollard, I., White, B.M., Bassett, J.R. and Cairncross, K.: Plasma glucocorticoid elevation and desynchronization of the estrous cycle following unpredictable stress in the rat. Behavl. Biol. (1975)14: 103～108.
13. Schwartz, N.B.: Acute effects of ovariectomy on pituitary LH, uterine weight and vaginal cornification. Am. J. Physiol. (1964)

207: 1251 ~ 1259.
14. Stoebel, D.P. and Moberg, G.P.: Repeated acute stress during the follicular phase and luteinizing hormone surge of dairy heifers. J. Dairy Sci. (1982)62: 92~96.

Morphometric Observations on the Ovarian Follicles after Superovulation in Inflammation Induced Mice

Oh-kyeong Kweon, D. V. M., Ph. D.
College of Veterinary Medicine, Seoul National University

Abstract

Morphometric observation on the ovarian follicles of ICR strain-female mice has been conducted to investigate the effect of induced inflammation on the follicular populations. Inflammation was induced by administering 25$\mu\ell$ of turpentine oil intraperitoneally 2 times at the interval of 3 days. Mice showing 5-day estrous cycle about 20 days after induction of inflammation are placed in experimental group.

Normal follicles of 100~399μm in diameter increased at estrus but those of over 400μm decreased. superovulation increased the number of normal follicles of over 400μm. The number of normal follicles of over 400μm 48 hours after superovulation was not significantly different between experimental and control groups.

Present results indicated that the number of preovulatory follicles 48 hours after PMSG injection did not decrease in the mice which showed regular estrous cycle even after the induction of inflammation.