

난포의 폐쇄기작 : (I) 형태적, 기능적 변화

윤 용 달

한양대 자연대 생물학과

Mechanism of Follicular Atresia : (I) Morphological and Functional Changes

Y. D. Yoon

Department of Biology, College of Natural Sciences, Hanyang University

Summary

Follicular atresia is a universal and characteristic phenomenon of both non-mammalian and mammalian vertebrates. Generally it is estimated that greater than 99% of follicles become atretic in higher domestic animals and human. The number of selected follicles developing to the preovulatory stage are thus fewer. Follicles can become atretic at any stage of development.

The previous studies emphasized on descriptive and retrospect aspects of a limited population of the fully grown preovulatory follicle. The main efforts in ovarian physiological researches are focused on follicular development culminating in ovulation but recent advances have resulted in a better understanding of atresia. Nowadays, recent studies are concentrated on the induction of atresia in a selected population of follicles and of the associated cellular, endocrine, biochemical and molecular changes. The factors initiating atresia and follicle selections are worthy of investigations. Another intriguing question is whether one can predict when a follicle will become atretic, i.e., what biochemical markers indicate that a follicle is destined for atresia.

It is generally agreed that atretic process may vary even in antral follicles at different stages of their differentiations and among species. The decisive factors are follicular responsiveness and the hormonal milieu. Some generalizations can be made on the basis of experimental induction of atresia. Alteration of the pattern of follicular steroid production is associated with the initiation stage of atretic process. Atresia appears to be a process unfolding gradually and affecting progressively in increasing number of functions and components of the follicle. The oocyte may be the latest to be afflicted in the atretic process. The high steroidogenic activity of atretic follicles lends support to the notion that atresia is not necessarily a degenerative process and that atretic follicles may play an essential role in ovarian physiology. The simultaneous occurrence of growth and atretic processes may render the search for regulatory mechanisms involved in atresia difficult extremely.

The questions such as how follicles are selected to undergo ovulation rather than atresia or what the mechanism of atresia is remain unanswered. However, the factors regulating or modifying ovarian hormonal milieu for the initiation of follicular growth and maturation or of atresia are being elucidated.

서 론

일반적으로 난소내 생식세포의 퇴화(Atresia; a=not, tretos=perforated)는 배란이외의 방법으로 난소에서 제거되는 것을 지칭해왔다(Ingram, 1962;

Byskov, 1978, 1979; Peters와 McNatty, 1980). 즉, 난포형성과정(folliculogenesis)전 생식세포의 퇴화(germ cell degeneration), 소난포 및 성장중인 난포가 성장-성숙과정 중의 각각의 시기에서 퇴화되는 것을 뜻한다. 그러나 난소내 난포의 퇴화(follicle

degeneration) 는 난자나 초기 강소형성전 난포의 퇴화(oocyte and preantral follicle degeneration)를 지칭하고, 강소를 형성한 난포(antral follicle)가 배란되지 못하는 것은 폐쇄(atresia)로 지칭하는 것이 생리학적인 면이나 원인을 다루는 면에서 타당하다. 일반적으로 폐쇄는 생체내 관상구조가 막힘을 뜻하였으나, 난소내의 폐쇄는 퇴화하여 소멸하는 현상을 의미하는 것 보다는 난포가 성장하는 과정중 난포의 분화(follicular differentiation)가 변형(modification)된 것으로 보여지며, 이런 좁은 의미의 퇴화를 폐쇄라고 지칭한다(Weir와 Rowlands, 1977). 일반적으로 난포형성전 난자(prefollicular oocyte), 휴지중인 난포(non-growing follicle), 또한 성장을 개시한 강소형성전 난포(growing preantral follicle)의 퇴화(degeneration) 기작은 강소형성후의 난포(antral follicle) 즉 제3차 난포(tertiary follicle)의 폐쇄기작과는 다르다. 또한 폐쇄는 연속적 과정으로 각각의 성장과정에서 발생하는 폐쇄중인 난포의 형태적 구조는 서로 다르다(Byskov, 1978).

척추동물의 난포내 폐쇄는 일반적 현상으로 (Saidapur, 1978), 가임성의 생식주기중 불과 몇개만이 성장하여 각 생식주기에서 배란되며 대부분은 퇴화되어 소멸한다(Table 1). 폐쇄과정은 1) 비 배란시기(period of anovulation); 즉 a) 태아기와 미성숙기(fetal and immature life), b) 임신기, c) 수유기(lactation period), d) 폐경기 후 등을 포함하여 모든 시기에서 일어난다(Brambell, 1956; Peters, 1969; Hage등, 1978; Tsafirri와 Braw, 1984). 또한 2) 정상

의 난소주기중 언제나 일어나고(Engle, 1927; Greenwald, 1961; Turnbull등, 1977; Koering, 1969), 3) 또한 생식소자극에 의해 발정기가 유도되는 동물(reflex ovulator)의 발정기에서도 발생된다(Hill와 White, 1933; Tsafirri와 Braw, 1984). 일단 성장이 시작되면 그 난포는 배란되거나 또는 폐쇄된다.

난소내 전체 난포중 폐쇄난포와 정상난포의 비(atretic follicle / normal follicle, A / N × 100)는 임신 가능한 시기중에는 비교적 일정하며 동물의 종류에 따라 차이를 가진다(Fig.1). 즉 흰쥐에서는 강소 난포(antral follicle)의 70%, 생쥐에서는 50%, 토끼에서는 60%, 사람에서는 50~70%에 달한다(Byskov, 1978). 그러나 A / N의 비는 난포의 크기가 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타낸다(Himelstein - Braw 등, 1976; Byskov, 1978). 그러므로 대부분의 난포는 폐쇄되고 극히 일부만이 폐쇄과정에서 벗어난다(Fig. 1).

폐쇄기작에 대한 연구는 현저한 형태적 퇴화가 일어난 후에야 폐쇄양상을 알게되므로 폐쇄가 시작되는 기작에 대한 연구는 매우 어려운 상태에 있다. 설치류의 경우 정상적인 대난포의 수는 배란되는 난포의 최대치의 약 2배가 발정간기(diestrus)의 시기에 보이며, 이들 정상과 폐쇄하는 난포를 구별하는 방법이 없었다(Byskov, 1979). 그러므로 대부분의 기존 연구는 폐쇄의 시기를 결정(determination of atretic stages)하거나, 그에 따른 형태적 조직화학적 연구에 국한되었었다.

그러나 최근에서야 형태적인 연구는 난포내 여려가

Table 1. Number of oocytes lost by ovulation and atresia during the fertile period in different mammalian species

Species	Total number*	Ovulated ova #	Atresia(%) §
Human	390,000	360	99.9
Monkey	200,000	280	99.9
Dog	70,000	60	99.9
Guinea pig	15,000	250	99
Pig	100,000	1190	98
Mouse	3,000	630	77
Rat	5,000	1260	75

* : the total number of oocytes by the onset of fertile period.

: the total number of oocytes ovulated during the fertile period.

§ : the oocytes that disappeared by atresia as % of total number of ova.

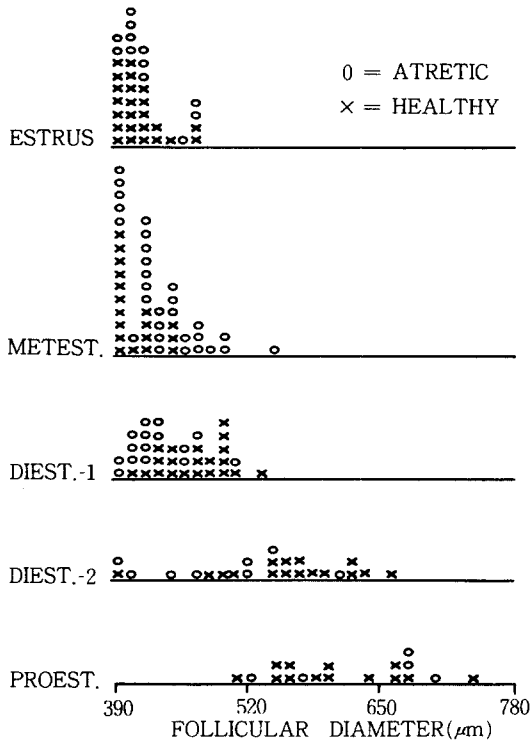


Fig. 1. Distribution of atretic large follicles in the rat throughout the estrus cycle

지 구성요인들의 기능과 연관되어 연구되기 시작하였다. 특히 폐쇄를 유발하는 요인들에 대해 연구되어 폐쇄난포의 생화학적 지표를 찾으려 노력해 왔다. 이들을 살펴보면 1) 난포액내 구성성분의 변화(determination of follicular components) 2) 생식소자극호르몬의 수용체 변화(changes in gonadotropin receptors) 3) 과립세포의 steroidogenesis의 변화(steroidogenesis of granulosa cells) 4) 난포 구성세포(follicular cell)를 분리하거나 전체난포 또는 그 일부를 분리(segment of whole follicle)하여 배양하면서 생리적 변화를 추구하고 있다. 그리고 5) 난포의 폐쇄과정에 따른 스테로이드 및 각물질의 생합성능력의 변화(changes in biosynthetic activity)등이 연구되어 왔다.(Yoon, 1981; Tsafirri와 Braw, 1984; Guraya, 1985).

폐쇄에 따른 내분비학적 연구는 매우 일찍 시작되었다. 첫째로 뇌하수체절제(hypophysectomy, HPX)에 의해 강소가 형성된 난포의 폐쇄가 유발된다고 보고되었다(Ingram, 1953). 그러나 뇌하수체절제후

estrogens 나 GTH등을 처리하면 폐쇄율이 현저히 감소된다. 또한 androgen이 폐쇄를 유발시키고, 난포에 LH가 배란시기보다 일찍 노출될 때에도 폐쇄가 일어난다고 보고되었다. 그러나 반대로 PMSG나

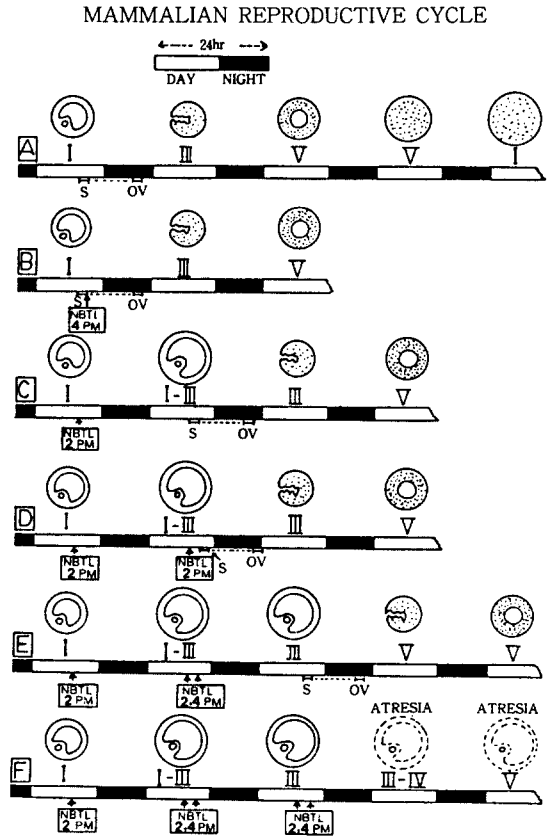


Fig. 2. Induction protocol to induce atretic follicles by Nembutal

Schematic representations of the normal cycle(A) and of characteristic results of different regimes of Nembutal treatment (B to F) to female rat(4-day cycle, controlled lighting : 14 hrs / day). Vaginal stages indicated by Roman numerals over each time scale : symbol above these show the corresponding follicle and corpus luteum stages. The device marked S defines the critical period, the time limits of pituitary activation as experimentally determined. OV indicates normal ovulation time in A and estimated ovulation time elsewhere. NBTL indicates intraperitoneal injection of Nembutal

FSH는 폐쇄를 방지하는 것으로 알려져왔으나 난포의 상태에 따라 오히려 폐쇄를 유발시키는 것으로 알려지고 있다(Byskov, 1978, 1979; Tsafriri와 Braw, 1984; Guraya, 1985).

위의 사실에 비추어 볼 때 가능한 많은 수의 폐쇄 난포를 유도하는 실험적인 방법의 개발이 폐쇄기작의 연구를 진전시키게 된다는 것은 자명하다(Table 2). 폐쇄난포는 1) pentobarbitone sodium 등으로 황체

자극호르몬(LH)의 배란전 분비(preovulatory surge)를 억제하여 유발시켜 왔다(Fig. 2). 또한 2) 발정전기(proestrus)에 뇌하수체절체로 생식선자극호르몬의 분비를 전적으로 제거하는 것도 한 방법이었다(Taya와 Greenwald, 1980). 그리고 3) 미성숙 개체에 PMSG 또는 anti-PMSG 처리와 뇌하수체제거를 하는 것이나(Hubbard와 Greenwald, 1983), 4) androgen 을 처리하는 방법등을 이용하여 왔다. 최근

Table 2. Experimental induction of follicular induction in rodent animal model

Model	References	Sources
1. Hypophysectomy at proestrus	Braw et al., 1981 (rat)	BR 25:989
2. HPX+PMSG, then anti-PMSG	Bill & Greenwald, 1981 (hamster)	BR 24:913
3. Pentobarbital delay of ovulation	Braw & Tsafriri, 1980	JRF 59:259
	Uilenbroek et al., 1980 (rat)	BR 23:219
	Terranova, 1980 (hamster)	BR 23:92
4. PMSG to immature	Peter et al., 1975 (mouse)	JRF 45:559
	Peluso & Steger, 1978	JRF 54:275
	Braw & Tsafriri, 1980b (rat)	JRF 59:267
	Matson et al., 1984 (hamster)	JRF 70:675
5. HPX of prepuberty E ₂ or DES treat then withdrawl	Schwall & Erickson, 1981 (rat)	DOF PP29-34
6. Androgen treatment of HPX	Bagnell et al., 1982 (rat)	BR 27:903
7. Ketamin-HCl	Yoon et al., 1989 (rat)	KJFS 17:

HPX ; hypophysectomy. PMSG ; pregnant mares serum gonadotropin. E₂ ; estradiol. DES ; diethylstilbesterol. BR ; Biol Reprod. JRF ; J Reprod Fert. DOF ; Dynamics of Ovarian Function. KJFS ; Kor J Fertil Steril.

에는 5) Yoon 등에 의해 Ketamin-HCl 이나 GnRH 를 처리하여 폐쇄를 유발시키고 있다(Yoon등, 1989).

폐쇄에 따른 형태적 변화(Morphological changes during atresia)

폐쇄는 난포내 모든 구성요소에서 관찰된다. 즉 난자, 과립세포, 협막층(theca layer), 기저막(basement membrane), 난포액 등에서 퇴화현상을 볼 수 있다. 이 폐쇄과정은 대략 초기(stage 1, st. 1), 중기(st. 2), 후기(st. 3) 등 세가지 단계로 구별된다(Tsafriri와 Braw, 1984).

A. 난자의 퇴화(Degeneration of oocyte)

정상난자의 핵은 전기(prophase)의 dictyate상태에 머물러 있다. 그러나 난포의 폐쇄가 시작되면 많은 변화가 일어난다(Table 3). 특히 중기(st.2)에 이르면 핵이 감수분열과 함께 핵막이 소실(germinal vesicle breakdown, GVBD) 되거나, 감수분열 중기(meta-phase I)로 되거나 극체가 방출된다(Austin, 1961; Oakberg, 1979; Braw와 Tsafriri, 1980a). 특히 흰쥐에서는 과립세포에서 퇴화현상이 일어난후 24시간에 난자에 변화가 생기고, 또 24시간 후에 난자와 cumulus cell간의 gap junction 연결이 끊어지게 된다(Chiquoine, 1960; Thibault등, 1976; Osman, 1985). 그러나 양에서는 후기까지 이 연결이 유지된다(Moor와 Trounson, 1977). 이때 과립세포의 LH binding capacity도 감소하는 것으로 보아 LH가 이들의 communication을 유지시키는 것으로 보인다.

Table 3. Summarized histological and ultrastructural criteria of oocyte in atretic follicle

1. Pyknosis of nucleus, necrosis of nuclear membrane, increase of shrinkage(St. 1)
2. Breakdown of nuclear membrane(GVBD or polar body. St.2)
3. Fragmentation of nucleus, pseudocleaved, shrunked, necrotic
4. Changes of cellular organells: Mitochondrial aggregration around ER, Prominant Golgi apparatus
5. Shrinkage and hyalinization of zona pellucida, GC penetrated and scattered on ZP
6. Changes in ooplasm: Cytoplasmic crystalloid bodies, Characteristic lipid yolk, Cortical granules in ooplasm, Large and empty vacuoles
7. Interruption of connection with cumulus

St.1 : early atretic stage. St.2 : middle atretic stage. St.3 : late atretic stage. GVBD : germinal vesicle breakdown, GC : granulosa cell. ER : endoplasmic reticulum. ZP : zona pellucida.

난포가 폐쇄의 후기(st.3)에 이르면 난자는 주글어지고(shrunked), necrosis(흰쥐 23%)를 일으키며 과도로 분할된다. 즉, pedomaturation, pseudocleavage나 fragmentation이 생긴다. 또 과립세포가 투명대와 난자를 뚫고 들어온다(McKay등, 1961; Zamboni등, 1972; Byskov, 1979; Yoon, 1981; Lee와 Yoon, 1985; Kim등, 1987).

미세구조는 폐쇄가 진행됨에 따라 난자내 세포소기관이 응집(agggregation)되고, 핵막은 길게 늘어나거나 파괴되어 불규칙해진다(Vazques-Nin와 Sotelo, 1967; Peluso등, 1979; Westergard, 1985). 또 활면소포체(smooth endoplasmic reticulum:SER)가 나타나고 골지체가 현저히 발달된다(Zamboni, 1970).

한편 mitochondria는 소포체와 인접된 부위에 발견되는데(Hope, 1965), 소나 양에서는 특이한 구조인 "hooded"형을 나타낸다(Senger와 Saacke, 1970; Cran등, 1980). 난자를 둘러싼 투명대(zonapellucida)가 난자의 cumulus cell과 난자 자체에 세포질이 돌출(cytoplasmic projections)하여 관통되고 있다(Lindner등, 1974). 한편 폐쇄초기(st.1)에는 투명대가 Shorris S3 stain에 초록색(정상)에서 약한 오렌지색으로 염색되는 것이 보고되었다(Centola, 1982). 이는 투명대의 다당류가 변화한 때문으로 생각된다. 폐쇄의 후기(st.3)에는 과립세포가 투명대를 뚫고 들어와 stroma에 널리 퍼져 나타난다(Centola, 1982).

또한 정상 난자의 세포질(ooplasm) 내에서도 속이 텅빈 공포(empty vacuole)가 관찰되고 있다(Cran등, 1980; Tassel와 Kennedy, 1980). 또한 개의 난자에서는 lipid yolk material 이 특징적으로 관찰된다(Tesoriero, 1981). Cortical granule도 세포질에서

관찰된다(Hope, 1965; Cran등, 1980).

B. 과립세포의 형태적 변화(Morphological changes of granulosa cells)

과립세포의 변화는 지금까지 매우 많이 연구되어 왔으며 일반적으로 폐쇄기준으로 사용되는 형태적 변화를 Table 4에 요약하였다.

배란 난포(preovulatory follicle)의 과립세포층은 기능적으로 2개로 구분되어 있는 것으로 알려지고 있다(Table 5). 1) 기저막 쪽의 과립세포층은 가중층 원주세포층(pseudostratified elongated cell layer)을 형성하고 있다. 그리고 이 부분에서는 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase(3 β -HSD), glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)등의 활성이 높고 지질덩어리(lipid drop)가 많다. ³H-thymidine의 incorporation 도 높으며 steroid의 hydroxylation을 시키는 산소효소의 활성에 주요 요소인 cytochrome P-450(cyt. P-450)도 존재한다. 그러므로 험막세포와 같이 steroid 합성의 주요 부위로 생각되어 왔다(Zoller와 Weisz, 1978; Mori등, 1979, 1982). 2) 그러나 난자가 있는 강소쪽(area lining antrum)에는 다중층(polystratified zone)을 형성하는 둥근세포(round cell)로 형성되어 있다(Zoller와 Weisz, 1979; Mori등, 1979, 1982). ³H-thymidine의 incorporation을이나 위의 효소의 활성도도 낮으며 cyt. P-450의 농도 역시 낮다. 그러므로 steroid의 합성 등의 기능이 구분되어 있다고 사료된다. 개의 난포에서 폐쇄는 2가지 형태를 보인다. 즉 type A는 강소형성전 난포에서 난자와 투명대가 현저히 necrotic 해지고 난후 과립세포가 변하는 경우이다. 반면, type B는 제3

Table 4. Potential histological markers of atresia on granulosa cells

1. Number of GC Increase of free floating cells with pyknotic nuclei absence of mitosis(low mitotic index)
2. Cell division of GC: Reduced intensively, Reduced incorporation of ³ H-proline, Reduced incorporation of ³ H-thymidine
3. Enzyme activity: Reduced : 3-β HSD, G-6-PDH, cyt. P-450, Increased : acid phosphatase, aminopeptidase, cathepsin-D
4. Morphological changes of GC : increase of chromatolysis and necrotic nuclei, pyknotic sudanophilic cytoplasm and lipid drops, hyalinization of membrane granulosa cytoplasmic blebbing and vacuolation
5. Morphological changes of GC : layer Invasion of connective tissue, Hypertrophy and luteinization (St. 2), Decreased compactness (St. 2,3), Decrease of thickness (St. 3)
6. Cyst formation : Lack of granulosa layer (St.3)
7. GC in follicular fluid : Increase of free floating pyknotic cell, Increase of cell debris and cloudness of fluid, Increase of phagocytosis

Table 5. Functional specialization of granulosa cell layer during atresia

	Peripheral area close to basement	Area lining antrum
1. Cell layer	Elongated cell Pseudostratified	Round cell Polystratified
2. Activity of enzymes		
1) 3 β-HSD	High	Low, Increased (St.2)
2) G-6-PDH	High	Low
3) Cyto P-450	Present	Absent
4) Lysosomal	Low	Increased
3. Lipid drops	More	Less
4. ³ H-T -uptake	High	Low
5. ³ H-PRO-uptake	-	-
6. Pyknotic nuclei	Rare	Largely increased
7. GC layer	Vacuolated	Floated
8. Lipid drops	Little	Increased
9. Cell organelles	Clumped	Degenerated
10. Phagocytosis	---	Autophasic
11. Mitosis	Still high	Reduced

차 난포에서 일어나며 과립세포가 우선 변화하고 후에 난자에 변화가 생기는 경우이다.

정상난포(non-atretic follicle)의 과립세포는 분열이 왕성하며 ³H-proline과 ³H-thymidine의 incorporation이 높다(Byskov 1979; Spanel-Borowski등, 1981). 한편, 핵에서 이상핵 응축(pyknosis)이 일어나는 경우

는 매우 적다(Byskov, 1978; Tsafri와 Braw, 1984). 그러나 원생의 dominant follicle에서는 GC의 퇴화가 정상 난포에서도 일어나고 있다(Koering 등, 1982). 폐쇄난포의 구분은 난포의 가장 큰 절편상에서 과립세포의 이상핵응축이 1~2개 관찰되는 것을 가장 좋은 지표로 하여 왔다. 정상난포는 1.2% 이상

의 핵응축비율(pyknotic GC/total GC)과 11.5%의 mitotic index(metaphase GC/total GC)을 가지는데 비해, 초기의 폐쇄난포는 5%~10.9%의 이상핵응축 비율을 나타내는 것으로 알려져 있다(Byskov, 1974; Westergard 등, 1982). 또한 DNA-S phase가 16%이상시 정상으로, 또 16% 이하시 폐쇄난포로 구분하기도 한다(Westergard 등, 1982, 1985). 그러나 이 구분은 동물 종류에 따라 차이를 보여 이들에 의해 판정하는 기준은 완전하지 않다고 알려지고 있다.

초기(st.1)의 폐쇄과정의 특징은 강소 쪽의 과립세포에서 pyknotic nuclei가 늘고(약 20%), lipid가 축적된다. 또한 ³H-proline의 incorporation이 현저히 줄고, 과립세포의 증식이 줄고 세포의 괴사가 생기기 시작한다. 그러나 ³H-thymidine incorporation과 mitosis는 비교적 높게 유지된다(Byskov, 1974; Peluso 등, 1977; Spanel-Borowski 등, 1981).

중기(st.2)에서는 이상핵응축(nucleus: 5~20%)과 lipid의 축적이 크게 증가하며, ³H-thymidine incorporation에 크게 줄고 mitosis가 거의 없어진다(Byskov, 1974, 1979; Spanel-Borowski, 1981). 난포액내 세포수가 늘며 강소쪽의 과립세포에 pyknotic nuclei가 융합된 atretic bodies(15~400 μm)를 만든다(Hay 등, 1976, 1979). 또한 난포액내 leukocyte나 macrophage가 들어오고 과립세포는 lysis나 phagocytosis로 수가 감소한다(Hay 등, 1976; Peluso 등, 1980; Bukovsky 등, 1979, 1984).

과립세포의 효소계의 변화를 보면, 폐쇄의 초기(st.1)에는 가수분해효소(hydrolytic enzyme)인 acid phosphatase, aminopeptidase, cathepsin-D와 같은 lysosomal 효소의 활성이 증가하고 조직이 파괴된다(Lobell 등, 1961; Ryan, 1981; Dhanasekharan 등, 1983; Kim 등, 1987). 한편, 3β-hydroxysteroid dehydrogenase의 활성도도 증가한다(Deane 등, 1962; Rahamin 등, 1976; Breitenacker 등, 1978; Yoon, 1986).

과립세포의 미세구조를 보면 정상에서는 단백질을 합성하는 세포의 특성을 나타낸다(Table 6). 즉 mitochondria는 작고 elongated되고 laminal cristae를 가지며 조면소포체(rough endoplasmic reticulum; RER)가 잘 발달되고 있다. Golgi complex는 작고 핵에 인접하며, lipid 및 glycogen 덩어리 등이 보인다(Christiansen와 Gillim, 1969; Hay와 Moor, 1975;

Table 6. Ultrastructural changes of granulosa cells

1. Characteristics of steroid secreting cells
2. Small, elongated mitochondria with large tubular cristae
3. Reduced Golgi complex
4. Accumulated lipids and glycogen drops
5. Reduced gap junction between cumulus and ova
6. Clumped cell organelles
7. Vacuolated and autophasic ooplasm

Tassell와 Kennedy, 1980). 많은 gap junction이 과립세포에 존재하고 cumulus나 난자와도 연결되고 있다. 그러므로 이 세포연접으로 cAMP 크기의 분자나 이온들이 잘 투과되고(Azarnia 등, 1974), 전기적, 신진대사의 동시성을 가지게 된다(Gilula 등, 1978; Loewenstein, 1981; Tsafiriri 등, 1982). 그러나 폐쇄의 초기에 steroid-분비성 세포(steroid-producing cell)로 바뀐다. 즉, SER이 크게 발달하고 tubular cristae를 가진 대형 mitochondria와 lipid drop이 많아진다(Amin 등, 1976; Kim 등, 1987). PMSG로 처리한 미성숙 흰쥐의 난포는 초기에 배란난포가 발달하나 곧이어 퇴화하는데 난포가 폐쇄되는 현상이 진행된다. 즉 핵은 응축하고 과립세포중내 공포가 늘고 세포질은 공포를 가지며 세포질내 소기관들이 핵주위내 또는 일부에 덩어리를 형성하며 lipid drop이 생기고, autophagic vacuole이 생긴다. 폐쇄의 후기에는 과립세포의 수가 현저히 감소한다(Kim 등, 1987).

C. 협막세포의 형태적 변화(Morphological change of theca cells)

정상 난포의 협막내층(theca interna, TI)의 세포는 기저막(basement membrane)과 나란하게 배열하고, elongated cells로 소수층을 만든다. 일부는 fibroblast와 거의 같은구조로 RER이 발달되고 일부는 steroid를 합성하는 특성을 가진다. 즉, SER이 발달하고 ribosome의 수는 비교적 적으며 원형이나 계란형 mitochondria를 가지며 그 내부의 cristae는 tubular form이며 때로는 lipid drop을 가진다(O'Shea 등, 1978a; Mori 등, 1979; Tassell와 Kennedy, 1980). 협막내층은 혈관계가 매우 잘 분포되어 있다(Bjersing와 Cajander, 1974; O'Shea 등, 1978a). 대부분의 설치류나 영장류에서는 폐쇄기에 협막세포층이 hypertrophy를 일으킨다(Table 7).

Table 7. Morphological changes of thecal layer

1. Theca interna
1) Hypertropy : unchanged (St.1) to hypertropied (St. 2,3) luteinized : steroid synthesizing characters
2) Fibroblasts : increased (St. 2, 3)
3) Collagen fibre : increased (St. 2, 3)
4) Vascularization : increased cell debris in blood vessel (St. 3)
5) Increased autophasic vacuole
6) Irregular layer, parallel to basement membrane
7) Decreased DNA synthesis
2. Theca externa
1) Similar changes as theca interna
2) Increase of smooth muscle-like cell
3) Lack of layer and formation of cyst (St. 3)

폐쇄의 초기(st.1)에는 기저막과 TI에는 변화가 없다. 그러나 진행됨에 따라 기저막이 불규칙하게 (irregular)되고 혈관계는 증가하며 autophagic vacuole 이 생기고 이 속에 acid phosphatase가 증가하는 것으로 알려지고 있다. 폐쇄중기(st.2)에는 현저히 변하여 핵이나 세포질 응축(nuclear and cytoplasmic condensation)이 일어나며 핵이나 세포(nuclear and cellular fragment)가 과분열 된다. 이후 옆의 협막세포(viable thecal cell)에 의해 phagocytosis 된다(O'Shea등, 1978b). 일부는 퇴화하지만 대부분은 hypertrophy되고 lipid drop이 증가되며 agranular ER이 크게 증가한다(Byskov, 1979). 그리고 steroid합성량이 증가하며(Moor등, 1978; Silavin과 Greenwald, 1984), 혈관계는 cell debris로 막히게 된다(O'Shea등, 1978b). 폐쇄의 후기(st.3)에는 TI가 증식(hypertrophic)하고 많은 fibroblast와 collagen fibre를 가지며 interstitial tissue의 일부로 된다(Mossman 과 Duke, 1973). 일부의 동물(Himmelstein-Braw등, 1976)에서는 협막세포가 강소가 수축하는 끝에서 바깥쪽으로 원주(irregular short column)되고 있고 그 사이에 fibroblast가 띠를 이루어 보인다. 이때 TI의 DNA합성율은 현저히 감소한다(Nicosia, 1980). 또한 적혈구의 수가 혈관내에서 감소

하고 난포내 미세소혈관이 감소한다(Findly와 Carson, 1980).

협막외층(theca externa, TE)은 TI와 구별되지 않고 fibroblast와 smooth muscle-like cell(SMLC)이 생긴다(Burden, 1972; Tassell과 Kennedy, 1980).

생쥐에서는 폐쇄후기에 협막층이 떨어져 나오는 것이 관찰되며 결국에는 소멸되어 난포를 파괴시키는 역할을 하는 것으로 보인다(Motta와 Familiari, 1981).

D. 폐쇄난포의 배란성과 수정가능성(Ovulability and fertilizability of atretic follicles)

GTH의 preovulatory surge는 수정가능한 난자(fertilizable ovum)를 배란하고 난포를 황체화 시킨다(Lindner등, 1977; Espey, 1978). 난포의 배란능력(ovulability)은 GTH surge를 억제하면 감소한다. 즉, 흰쥐에서는 pentobarbitone을 처리하여 GTH surge를 억제시킨 후에 2일째 부터 현저히 감소하여 4일째에는 30%만이 배란가능한 난포로 남는다. 또한 발정간기 즉 배란직전일에 뇌하수체로부터 GTH surge를 제거하면 수술후 8-12시간내에 배란능력을 잃게된다(Greenwald, 1978; Braw등, 1981). 그러므로 LH의 basal level이 유지되도록 pentobarbitone처리시에는 비교적 천천히 배란능력이 감소되는 것을 의미한다. 즉 tonic basal level이 배란전 난포의 폐쇄를 지연시키는 것으로 사료된다(Daane와 Parlow, 1971; Ashiru와 Blake, 1978). 그러므로 exogenous gonadotropin에 반응하여 배란이 억제되는 현상을 폐쇄의 기능적 판단(functional criterion of atresia), 즉 기능적으로 폐쇄된 정도의 판정에 이용할 수 있다고 사료된다.

난포내의 난자의 퇴화(degeneration of oocytes)는 난포가 폐쇄된 후에 일어난다. 그러므로 형태적으로 정상으로 보이는 난자(morphologically healthy oocytes)를 가진 난포의 과립세포에서 핵응축(pyknotic nuclei)이 많이 보이는 경우도 있다. 폐쇄가 매우 진행된 양의 난포에서 난자를 적출하여 수정시킬 경우 50%의 난자는 정상적인 낭배(blastocyst)까지 도달한다(Moor와 Trounson, 1977), 그리고 pentobarbitone 으로 처리한 후에 뽑은 폐쇄난포의 난자도 exogenous GTH에 의해 배란되며 정상과 같이 수정

능력을 가지고 있고 또한 viable하다. 즉 난자의 oxygen 소비량은 정상과 같다는 것이 보고되었다 (Shalgi등, 1981; Magnusson등, 1983). 그러나 pentobarbitone을 처리후 정상적인 교배를 시키면 수란관내의 난자는 약 10%만이 수정한다. 즉 in vitro 배양방법이 폐쇄여포의 난자의 발생능력(developmental capacity) 상태만을 나타내는 것과는 달리 in vivo에서는 난자의 성숙(oocyte maturation), 배란(ovulation), 교배(mating)등의 생식시기와의 불일치(asynchrony), 수란관의 환경요인이 부적절함이 수정율을 낮추는 요인으로 생각된다. 이들은 난포의 폐쇄에 따른 호르몬 환경의 변화에 기인하는 것으로 사료되며, 폐쇄난포의 난자는 비교적 후기까지도 developmental capacity를 가지고 있음을 뜻한다. 그러므로 난자의 상태가 퇴화하는 것은 폐쇄의 후기에 일어나는 현상으로 해석된다.

폐쇄에 따른 기능적 변화(Functional aspects of atresia)

A. 스테로이드 호르몬의 합성(Steroidogenesis)

배란난포(preovulatory follicle, POF)는 progestins androgens과 estrogens등 3가지 종류의 steroid hormone을 분비한다(Lindner등, 1974; Channing등, 1980; Peters와 McNatty, 1980).

난소내 steroid hormone의 전구물질인 cholesterol은 난포 구성성분 각각의 세포질에 있는 지질덩어리(cytoplasmic lipid drop)에 축적되어 있다. Mitochondria는 20 α -hydroxylase, 22-hydroxylase와 20, 22-desmolase를 이용하여 cholesterol의 측쇄를 깨뜨려 pregnenolone으로 전환시킨다(Fig. 3). 난포의 과립세포 및 맥락세포 모두가 pregnenolone을 progestins으로 전환시키며 이때 3 β -ol dehydrogenase(3 β -HSD)와 isomerase등 2가지 효소를 사용한다(Tsafirri와 Braw, 1984). Androgen은 주로 협막세포에서 생성되는데 pregnenolone에서 Δ 5 경로(pregnenolone-dehydroepiandrosterone(DHEA)로 또는 Δ 4경로(progesterone-androstenedione)을 통하여 androstenedione(A) 및 testosterone(T)등으로 분비된다. Pregnenolone을 androstenedione으로 바꾸는 효소들(C21 steroid 17 α -hydroxylase, 17-20 desm-

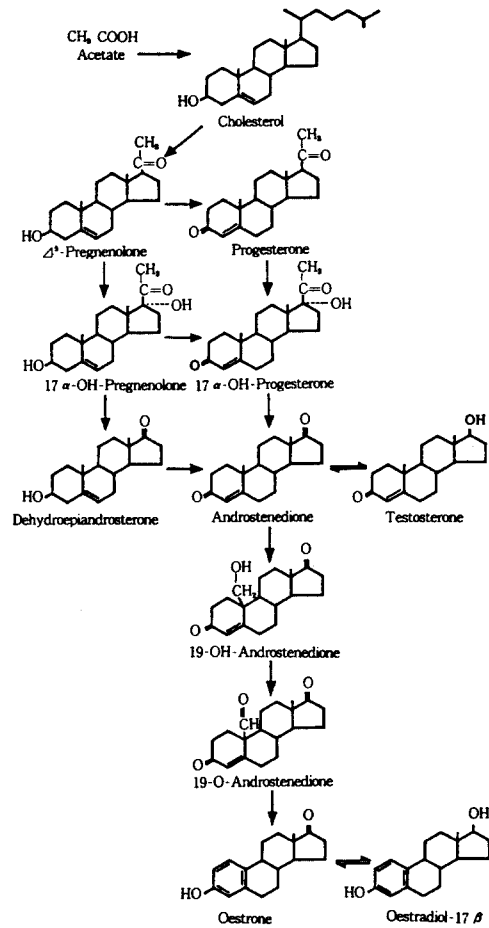


Fig. 3. Schematic illustration of the pathway for the production of ovarian steroid hormones

olase, 3 β HSD와 isomerase)은 microsome에 존재한다. estradiol(E_2)와 estrone(E_1)은 난포의 주 estrogen이며, C19 steroid(androgen)을 C18 steroid(estrogen)으로 전환시키는 효소는 microsome내의 aromatizing enzyme이다. 난포내 맥락세포와 과립세포는 공동작용으로 estrogen을 합성분비한다.

Falck(1959)가 2-세포 합작설(two-cell theory)을 제창한 이래 난포의 steroid 합성경로는 다음과 같이 알려지고 있다(Fig. 4). 즉, 협막내층세포(theca interna cell, TI)는 LH의 영향으로 androgen을 생성하고 이는 과립세포로 수송되어 FSH에 의해 estrogen으로 바뀐다고 알려져 왔다. 햄스타, 토끼, 흰 쥐, 양 등의 동물종에서 estrogen은 과립세포에서

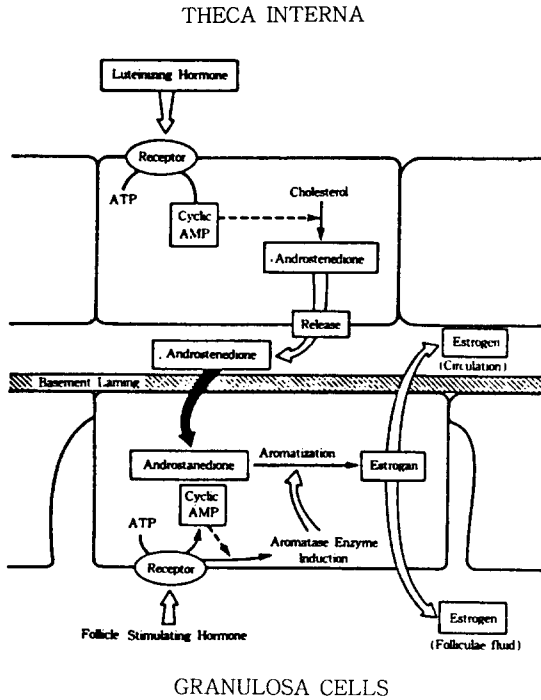


Fig. 4. Diagram of two-cell, two gonadotropins concept of follicular estrogen biosynthesis

주로 생성된다. 그러나 영장류(primates)나 돼지의 난포에서는 혈막세포도 estrogen의 합성에 관여하며, 또한 과립세포 역시 androgen을 합성하는 것으로 알려지고 있다(Tsafirri와 Braw, 1984; Lee와 Yoon, 1985). 그러므로 steroid의 합성은 모든 종에서 구획화 되어 있지 않으며 또한 난포의 성숙분화(follicular differentiation)에 따라 다르게 일어나므로 2-세포합작설이 모두 적용된다고는 볼 수 없다.

폐쇄난포의 steroid 합성율은 정상난포에 비해 높다고 보고되고 있다(Moore등, 1978; Braw와 Tsafirri, 1980b; Braw등, 1981; Tsafirri와 Braw, 1984; Lee와 Yoon, 1985). 체외배양된 폐쇄난포에서는 progesterone (P_4) 합성은 변화가 없다는 보고(Uilenbroek등, 1980)가 있으나, 폐쇄난포에서 P_4 의 생성이 증가하고 androgen이나 E_2 의 생성은 억제된다는 것이 일반적 견해이다(Braw와 Tsafirri, 1980b; Braw등, 1981; Yoon, 1981; Terranova, 1981). 한편, 뇌하수체를 절제하고 동시에 PMSG를 처리한 햄 스타에 PMSG의 항체를 처리하거나 PMSG를 처리한 흰쥐에

pentobarbitone등을 처리하여 폐쇄난포를 유도하면 혈청내 E_2 는 현저히 감소하나 P_4 는 변화하지 않는다(Tsafirri와 Braw, 1984; Yoon등 1990). 이때, pentobarbitone을 처리받은 퇴화난포내 과립세포는 3β -HSD 활성은 증가하며(Prabhu와 Weisz, 1970; Lee등, 1990), aromatase의 활성보다는 17-20desmolase의 활성이 억제된다고 알려지고 있다(Braw등, 1981). 그러나 돼지 또는 소의 폐쇄난포액내 P_4 의 농도는 현저히 감소되어 있다는 보고도 있다(Yoon, 1981). 그러므로 P_4 의 생성이 증가, 또는 감소하거나 변동이 없는 것은 종에 따라 또는 난포의 상태에 따라 다른 것으로 사료된다. 특히, 장시간 체외 배양하는 granulosa-lutealized cell의 영향에 의해 P_4 의 농도가 증가하는 것으로 사료된다.

그러나 폐쇄현상의 일반적인 초기에는 androgen의 합성이 억제되는 것이 아니고 오히려 aromatase의 활성도가 감소되고 있다고 알려지고 있다. Estrogen의 합성은 감소하는 경향을 나타낸다(McNatty등, 1979a,b). 한편, 폐쇄가 진행함에 따라 estrogen의 생성이 감소하는 현상은 일반적인 것으로 받아들여지고 있다. 그러나 난포의 크기가 다른 난포에서는 상반된 결과를 보인다(Tsafirri와 Braw, 1984; Lee와 Yoon, 1985).

위의 사실로 보아 폐쇄현상이 일어나는 주요 요인의 하나는 steroid 합성의 불균형(imbalance)이 주요 요인으로 생각되며 이들의 호르몬의 비율이 폐쇄난포의 지표로 사용될 수 있을 것으로 사료된다(Lee와 Yoon, 1985). 본 연구팀의 결과로 보아 폐쇄난포는 T이외에 P, DHT의 양이 많아 기능적으로 P, T-dominant-E-depleted 상태라고 판단된다(Lee와 Yoon, 1985; Yoon등, 1987). 또한 난포액내에는 이들 스테로이드가 축적되어 난포의 상태를 판정할 수 있는 지표로 사용되고 있다(Fig. 5). 즉 일반적으로 난포액내 T의 양이 많고 P와 E의 양이 적은 난포를 폐쇄난포로 판정하고 있으나(Tsafirri와 Braw, 1984; Guraya, 1985), 폐쇄난포액 내에는 생물학적 활성을 지닌 P, T, DHT의 양이 많고 E의 양이 적어 판정 기준의 재고가 필요하다(Yoon등, 1988a,b; Lee등, 1989; Yoon등, 1989a). 한편 폐쇄의 유발은 androgen에 의해 T와 E의 수용체 감소가 변화한 때문으로 보고되고 있다(Yoon등, 1989b). 최근의 결과들을 종합하여 볼때 androgen은 미성숙난포(

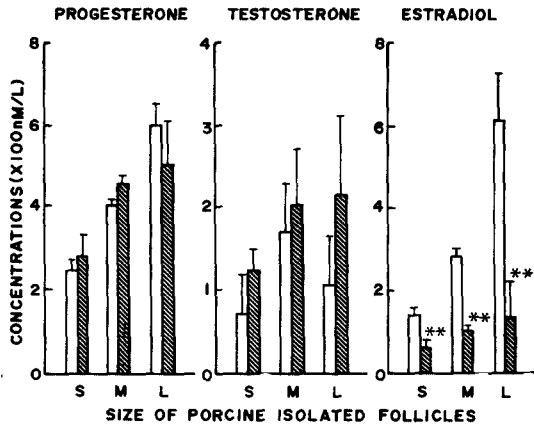


Fig. 5. Concentrations of steroid hormones in porcine follicular fluid of normal and atretic follicles

The follicles were isolated and grouped as S (small, <3mm; n=34 for normal follicles (N) and n=45 for atretic ones (A), M (medium, 3-5mm; n=28(N) and n=35(A)), and L (large > 7mm; n=42(N) and n=37(A)). The atretic follicles (shaded bars) were classified by the criteria of pale vascularization of thecal layer, opaque or dark portion of the isolated follicles, oil drop and cell debris in the follicular fluids under stereomicroscope, and of higher pyknotic index (>40%) and also of degenerating, necrotic or fragmented oocytes (Yoon 등, Korean J Zool 32:281,1989).

immature follicle)에서의 과립세포를 조기성숙 (premature differentiation) 및 조기 가황체화 (quasiluteinization) 시킴으로 폐쇄를 유발한다고 사료된다. 또한 난포가 성장한후는 aromatizing activity가 최고도에 달할때 androgen은 난포를 성숙시키고 배란하도록 한다고 사료된다 (Tsafriri와 Braw, 1984; Guraya, 1985; Greenwald와 Terranova, 1989).

B. 생식소자극호르몬(Gonadotropins)

배란난포(POF)의 성장, 성숙은 과립세포와 협막세포의 GTH에 대한 반응성(responsiveness)변화에 따라 달라진다(Richard, 1980). 발정전기(proestrus)의 배란난포는 LH surge에 의해 배란하고, 이어 협막

및 과립세포가 황체화(Luteinization) 된다. 그러나 발정기의 미성장난포(smal follicle)는 외부의 GTH에 의해 배란되거나 맥락 및 과립세포가 황체화되지 않는다.

설치류에서 GTH의 preovulatory surge는 2가지 기능을 가진다. 즉, 1) LH surge는 배란과 황체화를 시키며, 2) FSH는 다음 발정기에서 배란될 난포의 선택에 필요하다. 만약 이들 surge를 없애면 초기강소난포(early antral follicle)가 난소에서 폐쇄되며 이에 FSH를 투여하면 다시 정상화 한다(Hirshfield와 Midglet, 1978b; Sheela 등, 1977). 그러므로 GTH receptor가 많은 난포는 GTH와 결합하여 성장(growth)하고 배란하며, 퇴화하거나 또는 수용체가 적은 난포는 폐쇄되는 것으로 알려지고 있다(Richard, 1980; Yoon, 1981; Chang 등, 1986).

그러나, 난포내 과립세포의 GTH수용체의 수는 폐쇄가 진행된 후기에서만 감소되며 초기에는 수가 감소되지 않는다고 보고되었다(Tsafriri와 Braw, 1984; Chang 등, 1986). 이런 결과를 종합해 볼때 GTH receptor의 수적인 감소는 폐쇄의 원인이라기 보다는 결과로 보아야 한다. 또 난포액에는 혈청의 1/3에 해당하는 FSH, LH가 존재하며, 이들은 생물학적 활성이 있다고 보고 되었다(Yoon 등, 1989c). 그리고 GTH의 생물학적/면역학적 활성도의 비율이 폐쇄난포에서는 현저히 낮아짐으로 이를 변화시키는 요인도 폐쇄의 유발요인으로 생각되고 있다(Fig. 6).

강소를 형성하기전의 난포의 성장은 GTH들을 제거해도 일어난다는 것이 일반적으로 알려져 왔다. 강소형성에 관계없이 난포의 협막세포는 LH수용체를 가진다. 또 강소형성전 소난포(small preantral follicle) 및 대부분의 난포의 과립세포는 FSH수용체를 가진다. 그러나 과립세포의 LH수용체는 대강소난포(large antral follicle)만 가진다(Richard, 1980; Tsafriri와 Braw, 1984). 그러므로 배란난포(ovulatory follicle)의 생성은 FSH, LH, steroids들의 균형에 의해 생기고, 이것이 파괴되면 난포의 성장시기의 어느 단계에서 폐쇄가 일어난 것으로 가정된다.

C. Prolactin

거의 모든 포유동물에서 수유기(lactation period)에는 난포의 성장이 지연된다(Lamming, 1978;

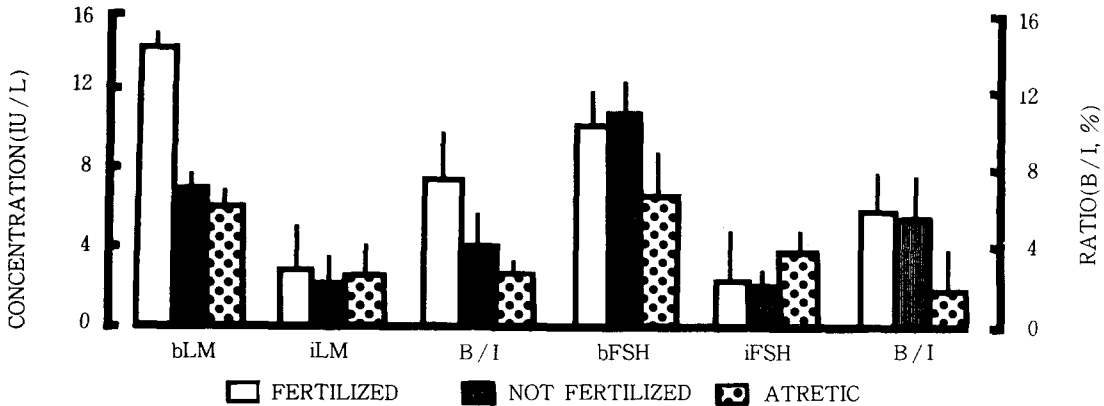


Fig. 6. Biological and immunological activities of gonadotropins in follicular fluids of the preovulatory follicles in the hyperstimulated ovary
 bLH or bFSH represents the biological activities and iLH, iFSH depicts the immunological activity. Their ratios(B/I) were calculated. The bLH was determined in the follicular fluids after hCG was absorbed by hCG antibody. The follicles were grouped based upon the fertilizability of the oocytes, pyknosis of granulosa cells and the contents of steroids in follicular fluids. * indicates $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ (fertilized vs atresia or unfertilized. (From Yoon et al., Kor J Fertil Steril 16:119, 1989).

McNeilly, 1979). 수유시 뇌하수체의 생식소자극호르몬(GTH)의 분비가 감소되고 난포의 활동(follicular activity)도 감소하는데, prolactin(PRL)은 난소에 직접적으로 작용하는 것으로 보인다(McNeilly 등, 1982). 즉 수유중인 흰쥐의 난포를 떼어내어 배양하면 estradiol의 생성량이 감소된다(Van der Schoot 등, 1982).

최근에 PRL이 배양중에 있는 난소의 세포들에 미치는 직접적인 영향들이 연구되어 왔다(Fig. 7). PRL은 사람이나 돼지의 과립세포의 P 생성을 촉진 또는 억제한다(McNatty 등, 1974; Veldhuis와 Hammond, 1980). 이러한 작용은 난포의 성장단계(developmental stage)에 따라 다르며, 또한 estrogen에 의해 변한다(Veldhuis와 Hammond, 1980; Veldhuis 등, 1981). 또한 PRL은 basal and GTH-stimulated estrogen synthesis를 억제한다(Wang 등, 1980; Dorrington 와 Gore-Langton, 1981). 그리고 협막세포나 간층적 세포(interstitial cell)에서 LH에 의한 androgen생성을 억제한다(Magoffin와 Erickson, 1982). 더욱이, 발정전기전 1~2일에 PRL을 처리하거나, 수유함으로 생긴 PRL과 분비(sucking-induced

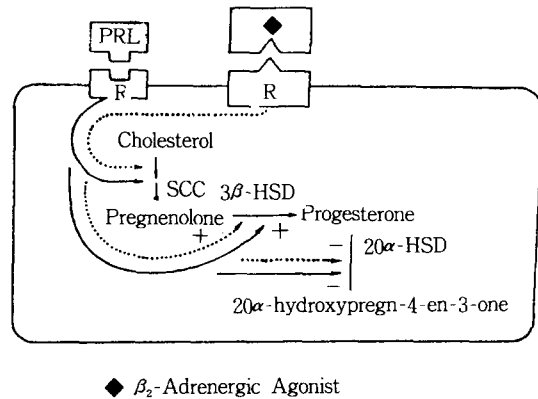


Fig. 7. Gonadotropin and prolactin modulation of progesterin biosynthetic enzymes in cultured granulosa cells
 SCC=side-chain cleavage enzyme; 3β-HSD= 3β-hydroxysteroid dehydrogenase; 20α-HSD = 20α-hydroxysteroid dehydrogenase; 20α-OHP = 20α hydroxypregn-4-en-3-one

hyperprolactinemia)에 의해 혈청내 PRL의 농도가 높아지면 배란전 난포의 E₂생성이 감소한다. 또한 발생전기에 적출한 흰쥐의 난포에 PRL을 처리하면 T나 E의 생성이 억제한다. 그리고 PRL은 흰쥐의 과립세포에 FSH를 처리하여 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase가 활성화되는 것을 억제한다(Eckstein와 Nimrod, 1979). 짓을 분비하는 흰쥐에 bromocriptin을 처리하여 PRL분비를 억제하면 E₂의 농도가 높아진다(Uilenbroek등, 1982). Pentobarbitone을 처리하여 폐쇄난포의 빈도를 크게한 흰쥐에 bromocriptin을 처리하여 PRL의 농도를 낮추면 폐쇄난포 유발이 감소하는 것으로 미루어 PRL은 폐쇄난포를 유발하는 것으로 보고 되었다(Van der Schoot등, 1982). 또한 배양중인 토기난소에 LH를 처리하여 배란을 유도할 때 PRL은 이 효율을 낮춘다(Hamada등, 1980). 또 최근 PRL의 cDNA가 합성되고 이를 응용한 in situ hybridization technique을 이용하여, 폐쇄난포를 HPX로 유발시킨 난소의 PRL 유전자가 발현된다는 보고도 있다(Yoon등, 1989).

결국 PRL은 난포의 steroidogenesis에 직접적인 영향을 주어 폐쇄를 유발하는 것으로 보이나 그 기본 기작은 불명한 상태에 있다.

D. 폐쇄를 유발하는 요인들(Factors involved in atretic process)

1. 협막층의 혈액공급의 변화(Changes in thecal blood vasculature)

양의 난포가 폐쇄된 경우에는 맥락세포층에 분포한 혈관의 크기가 감소한다. 그러므로 난포세포에 영양물질의 공급이 감소하고 폐쇄는 증가하는 것으로 보고되고 있다(Kenney등, 1979). 그러나 혈관내 전체 혈액유출량(total capillary flow)에는 큰 변화가 없는 것으로 보아 여포의 미세혈관 분포의 변화가 폐쇄여포에 미치는 영향은 더욱 연구가 필요하다.

2. 폐쇄와 염증유발반응 관계(Atresia as an inflammatory response)

난포에서 뽑아낸 과립세포(isolated granulosa cell)와 in vivo의 난포내 과립세포의 생리작용은 매우 다르다고 보고되고 있다(Farookhi, 1981). 즉, 혈청은 in vivo의 과립세포에 성장저해 작용을 나타내고, 혈청이 존재할때 FSH에 의해 LH수용체가 유도되는 것이 억제된다고 보고되었다.

난포액내 혈청단백질(serum protein)의 상대적인 농도는 분자량에 따라 역으로 비례한다(Shalgi등, 1983; Yoon, 1981). 난포의 막(follicular membrane)은 단백질 분자의 유통을 조절하는 molecular sieve로 작용한다고 사료된다. 즉 complement protein은 난포로 유입되어지나 IgG나 IgM같은 거대 단백질은 통과되지 못한다. 그러므로 Farookhi(1981)는 기저막의 투과변이도와 항체나 plasminogen activator등의 여포내 유입등으로 complement system이 활성화된 결과 폐쇄가 생긴다고 가정하였다. 즉, 폐쇄는 일종의 염증(inflammatory response)으로 간주하였다. 그러나 이러한 complement activity나 난포의 투과율(follicular permeability)등과 폐쇄현상과의 관계는 보다 많은 연구가 필요하다.

3. 난포내 비스테로이드성 폐쇄유발 요인(Intrafollicular nonsteroidal factors)

난소내에는 난포의 성장, 성숙, 퇴화, 폐쇄에 관여하는 것으로 알려진 비스테로이드성 국부조절인자들이 다량 보고 되고 있다(Franchimont와 Channing, 1981; Channing등, 1981; Channing와 Segal, 1982; Fujii와 Channing, 1982; Tsafirri와 Braw, 1984).

폐쇄와 직·간접으로 작용하는 요인들은 다음과 같다고 보고되고 있다(Fig. 8). 즉, 1) inhibin은 FSH 분비를 억제하여 폐쇄를 유발하며 2) luteinization inhibitor(LI)는 GTH에 의해 활성화되는 과립세포의 adenylyl cyclase의 활성을 억제한다. 또한 3) stimulator of luteinization, 즉 돼지의 난포액내에서는 나타나지 않으나 혈청과 같이 과립세포를 배양하면 세포내 lysosome의 양적증가가 억제되는 물질도 보고되었다. 4) 돼지난포액내에 존재하는 세포분열 촉진물질(mitosis stimulating substance), 5) 사람의 난포액내에 존재하는 물질로 GTH의 작용을 억제하는 물질(FSH-and LH-binding inhibitors), 6) gonadotropin releasing hormone-like peptide, 7) atretogenic factor가 난포액내 존재하며 과립세포의 퇴화 및 P의 생성 감소효과를 나타내는 것으로 보고 되었다. 즉 이러한 물질들(ovarian regulatory factors)들이 여포의 폐쇄와 직접·간접적으로 관여할 것으로 보고되고 있다. 난소내 난포는 GTH에 의해 성장, 성숙하거나 퇴화 또는 폐쇄됨으로 이 GTH를 주조절원인(chief regulator)으로 본다면, 난포의 운명에 관여하는 이들

- of alterations in staining of the zona pellucida of porcine follicular oocytes: possible early indication of atresia. *Gamete Res.*, 6:293-304.
- Channing, C. P., Anderson, L. D., Hoover, D. J., Kolena, J., Osteen, K. G., Pomerantz, S. H., and Tanabe, K. 1981. The role of non-steroidal regulators in control of oocyte and follicular maturation. *Rec. Progr. Horm. Res.*, 8:311-400.
- Channing, C. P., Schaerf, F. W., Anderson, L. D., and Tsafiriri, A. 1980. Ovarian follicular and luteal physiology. In: *Reproductive Physiology*, Vol. 3 (ed. R. O. Greep) pp.117-201. University Park Press, Baltimore.
- Channing, C. P. and Segal, S. J. 1982. *Intraovarian Control Mechanisms*, Plenum Press, New York.
- Chiquoine, A. D. 1960. The development of the zona pellucida in the mammalian ovum. *Am. J. Anat.*, 106:149-169.
- Christiansen, A. K. and Gillim, S. W. 1969. The correlating of fine structure and function in steroid-secreting cells, with emphasis on those of the gonads. In: *The Gonads* (ed. K. W. McKerns) pp.415-488. Appleton Century Crofts, New York.
- Cran, D. G., Moor, R. M. and Hay, M. F. 1980. Fine structure of the sheep oocyte during antral follicle development. *J. Reprod. Fert.*, 59:125-132.
- Danne, T. A. and Parlow, A. I. 1971. Periovarian patterns of rat serum follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone during the normal estrous cycle: Effect of pentobarbital. *Endocrinology*, 88: 653-663.
- Deane, H. W., Lobel, B. L. and Romney, S. L. 1962. Enzymatic histochemistry of normal human ovaries of the menstrual cycle, pregnancy and the early puerperium. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 83:281-294.
- Dhanasekharan, N., Sheela Rani, C. S., and Moudgal, N. R. 1983. Studies on follicular atresia: Effect of gonadotropin stimulation and withdrawal on lysosomal enzymes of rat granulosa cells. 65th Annual Meeting, The Endocrine Society, San Antonio, Texas, p.299, Abstr. 875.
- Dorrington, J. and Gore-Langton, R. E. 1981. Prolactin inhibits oestrogen synthesis in the ovary. *Nature Lond.*, 290:600-602.
- Eckstein, B. and Nimrod, A. 1979. Effect of human chorionic gonadotropin and prolactin on 20 α -hydroxysteroid dehydrogenase activity in granulosa cells of immature rat ovary. *Endocrinology*, 104:7 11-714.
- Engle, E. T. 1927. A quantitative study of follicular atresia in the mouse. *Am. J. Anat.*, 187-203.
- Espey, L. L. 1978. Ovulation. In: *The Vertebrate Ovary* (ed. R. E. Jones) pp.503-532. Plenum Press.
- Falck, B. 1959. Site of production of oestrogen in rat ovary as studied in micro-transplants. *Acta Physiol. Scand.* 47, Suppl. 163:1-100.
- Farookhi, R. 1981. Atresia: An hypothesis. In: *Dynamics of Ovarian Function* (ed. N. B. Schwartz and M. Hunzicker-Dunn) pp.13-23. Raven Press, New York.
- Findlay, J. K. and Carson, R. S. 1980. Selective binding of gonadotropins and the control of follicular growth and atresia. In: *Advances in Physiological Science*, Vol. 15: *Reproduction and Development* eds. B. Flerko, G. Setalo, and L. Tima, pp.79-89. Pergamon, Budapest.
- Franchimont, P. and Channing, C. P. 1981. *Intraovarian Regulation of Reproduction*, Academic Press, London.
- Fujii, T. and Channing, C. P. 1982. *Non-steroidal Regulators in Reproductive Biology and Medicine*. Pergamon Press, Oxford.
- Gilula, N. B., Epstein, M. L., and Beers, W. H. 1978. Cell-to-cell communication and ovulation: A study of the cumulus-oocyte complex. *J. Cell Biol.*, 78: 58-75.
- Greenwald, G. S. 1961. Quantitative study of follicular development in the ovary of the intact or unilaterally ovariectomized hamster. *J. Reprod. Fert.*, 2: 351-361.
- Greenwald, G. S. 1978. Ovarian response of hypophysectomized hamsters to deferred injection of LH. *J. Reprod. Fert.*, 54:323-324.
- Guraya, S. S. 1985. Follicular atresia. In: *"Biology of*

- Ovarian Follicles" Chap 7:pp.228-275. Springer-Verlag, Berlin.
- Hage, A. J., Groen-Klevant, A. C., and Welschen, R. 1978. Follicle growth in immature rat ovary. *Acta Endocr. Copenh.*, 88:375-382.
- Hamada, Y., Schlaff, S., Kobayashi, Y., Santulli, R., Wright, K. H., and Wallach, E. E. 1980. Inhibitory effect of prolactin in ovulation in the in vitro perfused rabbit ovary. *Nature, Lond.*, 285:161-163.
- Hay, M. F., Cran, D. G. and Moor, R. M. 1976. Structural changes occurring during atresia in sheep ovarian follicles. *Cell Tissue Res.*, 169:515-529.
- Hay, M. F. and Moor, R. M. 1975. Distribution of 5- β -hydroxysteroid dehydrogenase activity in the Graafian follicle of the sheep. *J. Reprod. Fert.*, 43:313-322.
- Hay, M. F., Moor, R. M., Cran, D. G., and Dott, H. M. 1979. Regeneration of atretic sheep ovarian follicles in vitro. *J. Reprod. Fert.*, 55:195-207.
- Hill, M. and White, W. E. 1933. The growth and regression of follicles in the oestrous rabbit. *J. Physiol.*, 80:174-178.
- Himelstein-Braw, R., Byskov, A. G., Peters, H., and Faber, M. 1976. Follicular atresia in the infant human ovary. *J. Reprod. Fert.*, 46:55-59.
- Hirshfield, A. N. and Midgley, A. R. 1978b. The role of FSH in the selection of large ovarian follicles in the rat. *Biol. Reprod.*, 19:606-611.
- Hope, J. 1965. The fine structure of the developing follicle of the Rhesus ovary. *J. Ultrastruct. Res.*, 12:592-610.
- Hubbard, C. J. and Greenwald, G. S. 1983. In vitro effects of luteinizing hormone on induced atretic Graafian follicles in the hamster. *Biol. Reprod.*, 28:849-859.
- Ingram, D. L. 1953. The effect of hypophysectomy on the number of oocytes in the adult albino rat. *J. Endocr.*, 9:307-311.
- Ingram, D. L. 1962. Atresia. In: *The Ovary*, Vol.1(ed. S. Zuckerman) pp.247-273. Academic Press, New York, London.
- Kenney, R. M., Condon, W., Ganjam, V. K., and Channing, C. P. 1979. Morphological and biochemical correlates of equine ovarian follicles as a function of their state of viability of atresia. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, 27:163-171.
- Kim, M. K., Lee, Y. H., Kim, J.H. and Yoon, Y. D. 1987. A Study on the fine structural changes of porcine ovarian follicles during atresia. *Korean J Zool.* 30:351-370.
- Koering, M. J., Goodman, A. L., Williams, R. F. and Hodgen, G. D. 1982. Granulosa cell pyknosis in the dominant follicle of monkeys. *Fertil. Steril.*, 37:837-844.
- Lamming, G. E. 1978. Reproduction during lactation. In: *Control of Ovulation*(eds. D. B. Crighton, N. B. Haynes, G. R. Foxcroft, and G. E. Lamming) pp. 335-353. Butterworth, London.
- Lee, C. J., Yoon, Y. D., Kim, J. H. and Kim, M. K. 1989. The relationship between the pyknosis of granulosa cell and the change of steroid concentration in porcine ovarian follicles. *Kor. J. Fert. Steril.*, 16:35-40.
- Lee, Y. K. and Yoon, Y. D. 1985. Changes of the concentration of steroid hormones in the porcine follicular fluids on atresia. *Kor. J. Fert. Steril.*, 12:83-98.
- Lindner, H. R., Amsterdam, A., Salomon, Y., Tsafirri, A., Nimrod, A., Lamprecht, S. A., Zor, U. and Koch, Y. 1977. Intraovarian factors in ovulation: Determinants of follicular response to gonadotropins. *J. Reprod. Fert.*, 51:215-235.
- Lindner, H. R., Tsafirri, A., Lieberman, M. E., Zor, U., Koch, Y., Bauminger, S. and Branea, A. 1974. Gonadotropin action on cultured graafian follicles: Induction of maturation division of the mammalian oocyte and differentiation of the luteal cell. *Rec. Prog. Horm. Res.*, 30:79-138.
- Lobell, B. L., Rosenbaum, R. M. and Deane, H. W. 1961. Enzymatic correlates of physiological regression of follicles and corpora lutea in ovaries of normal rats. *Endocrinology* 68:232-247.
- Loewenstein, W. R. 1981. Junctional intercellular comm-

- unication: The cell-to-cell membrane channel. *Physiol. Rev.*, 61:829-913.
- Magnusson, C., Bar-Ami, S., Braw, R., and Tsafiri, A. 1983. Oxygen consumption by rat oocytes and cumulus cells during induced atresia. *J. Reprod. Fert.*, 68:97-103.
- Magoffin, D. A. and Erickson, G. F. 1982. Prolactin inhibition of luteinizing hormone-stimulated androgen synthesis in ovarian interstitial cells cultured in defined medium: Mechanism of action. *Endocrinology* 111:2001-2007.
- McKay, D. G., Pinkerton, J. H. M., Hertig, A. T., and Danziger, S. 1961. The adult human ovary: A histochemical study. *Obstet. Gynecol.*, 18:13-39.
- McNatty, K. P., Makris, A., DeGrazia, C., Osathanondh, R., and Ryan, K. J. 1979a. The production of progesterone, androgens and estrogens by granulosa cells, thecal tissue and stromal tissue from human ovaries in vitro. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 49: 687-699.
- McNatty, K. P., Makris, A., DeGrazia, C., Osathanondh, R., and Ryan, K. J. 1979b. The production of progesterone, androgens and oestrogens by human granulosa cells in vitro and in vivo. *J. Steroid Biochem.*, 11:775-779.
- McNatty, K. P., Sawers, R. S., and McNeilly, A. S. 1974. A possible role for prolactin in control of steroid secretion by the human Graafian follicle. *Nature, Lond.*, 250:653-655.
- McNeilly, A. S. 1979. Effect of lactation on fertility. *Br. med. Bull.*, 35:151-154.
- McNeilly, A. S., Glazier, A., Jonassen, J., and Howie, P. W. 1982. Evidence for direct inhibition of ovarian function by prolactin. *J. Reprod. Fert.*, 65:559-569.
- Moore, R. M., Hay, M. F., Dott, H. M., and Cran, D. G. 1978. Macroscopic identification and steroidogenic function of atretic follicles in sheep. *J. Endocr.*, 73:309-318.
- Moor, R. M. and Trounson, A. O. 1977. Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocytes in vitro and their subsequent developmental capacity. *J. Reprod. fert.*, 49:101-109.
- Mori, T., Takenaka, A., Yoshida, Y., Suzuki, A., Fujita, Y., and Nishimura, T. 1979. Preovulatory changes in morphology of rabbit ovarian follicles. *Endocrinol. Jpn.*, 26:379-388.
- Mori, T., Fujita, Y., Nihnobu, K., Ezaki, Y., Kubo, K., and Nishimura, T. 1982. Steroidogenesis in vitro by human ovarian follicles during the process of atresia. *Clin Endocr.*, 16:391-400.
- Mossman, H. W. and Duke, K. L. 1973. *Comparative Morphology of the Mammalian Ovary*, University of Wisconsin Press, Madison.
- Motta, P. M. and Familiari, G. 1981. Occurrence of a contractile tissue in the theca externa of atretic follicles in the mouse ovary. *Acta Anat.*, 109:103-114.
- Nicosia, S. V. 1980. In vitro studies of follicular morphogenesis, development and atresia. In: *Endocrine Physiopathology of the Ovary* (eds. R. I. Tozzini, G. Reeves, and R. L. Pineda) pp.43-63, Elsevier/North-Holland Biomedical Press.
- Oakberg, E. F. 1979. Follicular growth and atresia in the mouse. *In Vitro*, 15:41-49.
- O'Shea, J. D., Cran, D. G., Hay, M. F., and Moore, R. M. 1978a. Ultrastructure of the theca interna of ovarian follicles in sheep. *Cell Tissue. Res.*, 187: 457-472.
- O'Shea, J. D., Hay, M. F., and Cran, D. G. 1978b. Ultrastructural changes in the theca interna during follicular atresia in sheep. *J. Reprod. Fert.*, 54:183-187.
- Osman, P. 1985. Rate and course of atresia during follicular development in the adult cyclic rat. *J. Reprod. Fert.*, 73:261-270.
- Peluso, J. J., Brown, I., and Steger, R. W. 1979. Effect of cyproterone acetate, a potent antiandrogen, on the preovulatory follicle. *Biol. Reprod.*, 21:929-936.
- Peluso, J. J., England-Charlesworth, C., Bolender, D. L., and Steger, R. W. 1980. Ultrastructural alterations associated with the initiation of follicular atresia. *Cell Tissue Res.*, 211:105-115.

- Peluso, J. J. and Steger, R. W. 1978. Role of FSH in regulating granulosa cell division and follicular atresia in rats. *J. Reprod. Fert.*, 54:275-278.
- Peluso, J. J., Stegner, R. W., and Hafez, E. S. E. 1977. Sequential changes associated with the degeneration of preovulatory rat follicles. *J. Reprod. Fert.*, 49:215-218.
- Peters, H. 1969. The development of the mouse ovary from birth to maturity. *Acta Endocr. Copenh.*, 62:98-116.
- Peters, H., and McNatty, K. P. 1980. *The Ovary*. Granada Publishing, London.
- Prabhu, V. K. K. and Weisz, J. 1970. Effect of blocking ovulation in the rat by pentobarbital on ovarian 3β -hydroxysteroid dehydrogenases: a histochemical study. *Endocrinology* 87:481-485.
- Rahamin, E., Eshkol, A. and Lunenfeld, B. 1976. Histochemical demonstration of $45\text{-}3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase activity in ovaries of intact in fant mice and mice treated with anti-rat gonadotropin. *Fertil. Steril.*, 27:328-334.
- Richards, J. S. 1980. Maturation of ovarian follicles: Action and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiol. Rev.*, 60:51-89.
- Ryan, K. J. 1981. Follicular atresia: Some speculations of biochemical markers and mechanisms. In: *Dynamics of Ovarian Function*(eds. N. B. Schwartz and M. Hunzicker-Dunn) pp.1-11. Raven Press, New York.
- Saidapur, S. K. 1978. Follicular atresia in the ovaries of nonmammalian vertebrates. *Int. Rev. Cytol.*, 54:225-244.
- Senger, P. L. and Saacke, R. G. 1970. Unusual mitochondria of the bovine oocyte. *J. Cell Biol.*, 46:405-408.
- Shalgi, R., Kaplan, R., Nevel, L., and Kraicer, P. F. 1981. The male factor in fertilization of rat eggs in vitro. *J. exp. Zool.*, 217:399-402.
- Shalgi, R., Kraicer, P. F., Rimon, A., Pinto, M., and Soferman, N. 1973. Proteins of human follicular fluid: The blood-follicle barrier. *Fertil. Steril.*, 24:429-434.
- Sheela Rani, C. S. and Moudgal, N. R. 1977. Role of proestrus surge of gonadotropins in the initiation of follicular maturation in the cyclic hamster: A study using antisera to follicle stimulating hormone and luteinizing hormone. *Endocrinology* 101:1484-1494.
- Silavin, S. L. and Greenwald, G. S. 1984. Steroid production by isolated theca and granulosa cells after initiation of atresia in the hamster. *J. Reprod. Fert.*, 71:387-392.
- Spanel-Borowski, K., Trpel, F., Schnick, P., and Pilgrim, C. 1981. Aspects of cellular proliferation during follicular atresia in the dog ovary. *Cell Tissue Res.*, 219:173-183.
- Spanel-Borowski, K. 1981. Morphological investigations on follicular atresia in canine ovaries. *Cell Tissue Res.*, 214:155-168.
- Szollasi, D., Gerard, Y., Menezo, Y., and Thibault, C. 1978. Permeability of ovarian follicle: Corona cell-oocyte relationship in mammals. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.*, 18:511-521.
- Tassell, R. and Kennedy, J. P. 1980. Early follicular development and atretic changes in the ovary of the lamb-fine structure and histochemistry. *Aust. J. Biol. Sci.*, 33:675-687.
- Taya, K. and Greenwald, G. S. 1980. In vitro ovarian steroidogenesis in the long term hypophysectomized hamster. *Endocrinology* 106:1092-1098.
- Terranova, P. F. 1981. An estradiol-progesterone shift in atretic follicles of the pentobarbital-treated hamster. In: *Dynamics of Ovarian Function*(eds. N. B. Schwartz and M. Hunzicker-Dunn) pp.35-40. Raven Press, New York.
- Tesoriero, J. V. 1981. Early ultrastructural changes of developing oocytes in the dog. *J. Morph.*, 168:171-179.
- Thibault, C., Gerard, M., and Menezo, Y. 1976. Nuclear and cytoplasmic aspects of mammalian oocyte maturation in vitro in relation to follicle size and fertilization. *Sperm Action Prog. Reprod. Biol.*, 1:233-240.

- Tsafiriri, A. and Braw, R., 1984. Experimental approach to atresia in mammals. In: *Oxford Review of Reproductive Biology*, Vol 6, pp.226-265. Oxford Univ. Press.
- Tsafiriri, A., Dekel, N., and Bar-Ami, S. 1982. The role of oocyte maturation inhibitor in follicular regulation of oocyte maturation. *J. Reprod. Fert.*, 67: 83-90.
- Turnbull, K. E., Braden, A. W. H., and Mattner, P. E. 1977. The pattern of follicular growth and atresia in the bovine ovary. *Aust. J. Biol. Sci.*, 30:229-241.
- Uilenbroek, J. T. J., van Schoot, P., den Besten, D., and Lankhorst, R. R. 1982. A possible direct effect of prolactin on follicular activity. *Biol. Reprod.*, 27:1119-1125.
- Uilenbroek, J. T. J., Woutersen, P. J. A., and Van der Schoot, P. 1980. Atresia of preovulatory follicles: Gonadotropin binding and steroidogenic activity. *Biol. Reprod.*, 23:219-229.
- Van der, Schoot, P., de Greef, W. J., Uilenbroek, J. T. J., Jansen, H. G., and de Koning, J. 1982. The hypothalamo-hypophyseal-ovarian axis during lactation in rats. In: *Follicular Maturation and Ovulation*(eds. R. Rolland, E. V. van Hall, S. G. Hillier, K. P. McNatty, and J. Schoemaker) pp. 111-119. *Excerpta Medica, Int. Congr. Ser.*, 560, Amsterdam.
- Vazques-Nin, G. H. and Sotelo, J. R. 1967. Electron microscope study of the atretic oocytes of the rat. *Z. Zellforsch. Abt. Histochem.*, 80:518-533.
- Veldhuis, J. D. and Hammond, J. M. 1980. Oestrogens regulate divergent effects of prolactin in the ovary. *Nature, Lond.*, 284:262-264.
- Veldhuis, J. D., Klase, P., and Hammond, J. M. 1981. Sex steroids modulate prolactin action in spontaneously luteinizing porcine granulosa cell in vitro. *Endocrinology* 108:1463-1468.
- Wang, C., Hsueh, A. J. W., and Erickson, G. F. 1980. Prolactin inhibition of oestrogen production by cultured rat granulosa cells. *Md. Cell. Endocrinol.*, 20:135-144.
- Weir, B. J. and Rowlands, J. W. 1977. Ovulation and atresia. In: *The Ovary*, Vol. 1(eds. S. Zuckerman and B. J. Weir) pp.265-301. Academic Press, New York.
- Westergard, L. 1985. Follicular atresia in relation to oocyte morphology in non-pregnant and pregnant women. *J. Reprod. Fert.*, 74:113-118.
- Westergard, L., McNatty, K. P., Christensen, I., Larsen, J. K., and Byskov, A. G., 1982. Flow Cytometric deoxyribonucleic acid analysis of granulosa cells aspirated from human ovarian follicles: A new method to distinguish healthy and atretic ovarian follicles. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 55:693-698.
- Yoon, Y. D. 1981. Studies on the quantitative changes of the mammalian follicular components. Ph. D. Dissertation, Seoul Nat'l Univ.
- Yoon, Y. D. and Kim, S. R. 1987. Luminescence immunoassays and their applications for dihydrotestosterone and testosterone (I): Establishment of LIA. *Kor. J. Fertil. Steril.*, 14:138-148.
- Yoon, Y. D., Lee, C. J., Chun, E. H., and Lee, J. Y. 1989a. Changes in steroid receptor numbers of and bioactivity of gonadotropins in the follicular fluid of porcine atretic follicle. 1. Bioavailable testosterone. *Korean J. Zool.*, 32:281-289.
- Yoon, Y. D., Lee, C. J., Chun, E. H., and Lee, J. Y. 1988b. Concentrations of bioavailable testosterone and dihydrotestosterone determination by luminescence immunoassay in serum. *Kor. J. Fertil. Steril.*, 15:83-92.
- Yoon, Y. D., Lee, C. J., Chun, E. H., Kim, M. K., and Lee, J. Y. 1989c. Changes in steroid receptor number of and bioactivity of gonadotropins in the follicular fluid of porcine ovarian atretic follicles, 2. testosterone receptor. *Kor. J. Fertil. Steril.*, 16:23-34.
- Yoon, Y. D., Chun, E. H., Kim, M. K., and Kwon, H. B. 1989d. Gonadotropin bioactivity and steroids in ovarian follicles matured by hyperstimulation. *Kor. J. Fertil. Steril.*, 16:119-130.
- Yoon, Y. D., Do, B. R., and Lee, C. J. 1989. Effect of ketamine-HCl on the steroidogenesis and atresia

- of rat ovarian follicle.(in preparation).
- Yoon, Y. D., Song, E. S., and Lee, C. J. 1989. Expression of prolactin messenger ribonucleic acid in hypophysectomized rat ovary.(in preparation).
- Yoon, Y. D., Lee, C. J., Do, B. R., Kim, J. H., and Kim, M. K. 1990. Biochemical studies on the metabolism of follicular maturation(II). Protein composition and steroid concentration in individual isolated medium-sized follicular fluid of pig ovary. Korean J. Zool. 33:63-69.
- Zamboni, L. 1970. Ultrastructure of mammalian oocytes and ova. Biol. Reprod(Suppl). 2:44-63.
- Zamboni, L., Moore S, D., and Thompson, R. S. 1972. Migration of follicle cells through the zona pellucida and their sequestration by human oocytes in vitro. J. Exp. Zool., 181:319-340.
- Zoller, L. C. and Weisz, J. 1978. Identification of cytochrome P-450, and its distribution in the membrana granulosa of the preovulatory follicle, using quantitative cytochemistry. Endocrinology 103:310-313.
- Zoller, L. C. and Weisz, J. 1979. A quantitative cytochemical study of glucose-6-phosphate dehydrogenase and delta5-3B-hydroxysteroid dehydrogenase activity in the membrana granulosa of the ovulable type of follicle of the rat. Histochemistry., 62:125-135.