

생쥐 자궁벽에 있어서 β -hCG에 대한 단일클론항체를 이용한 면역세포화학적 연구

오선희 · 최임순

연세대학교 이과대학 생물학과

생쥐에 hCG를 투여한 후 자궁벽에서 hCG와 결합하는 세포의 종류를 판별하고, 그 세포가 hCG에 의해 어떠한 영향을 받는지를 알아보기 위하여 면역세포화학적 염색을 수행하였다. β -hCG에 대한 단일클론항체에 양성반응을 나타내는 세포는 주로 자궁벽의 자궁근막 삼각과 자궁내막 기저층에 분포하였으며, 세포질에서 양성반응을 일으킨 것으로 관찰되었다. hCG를 투여하고 3, 6, 24시간 후에 각각 자궁벽과 자궁근막에서 양성반응세포를 관찰한 결과, 양성반응세포의 이동현상을 관찰할 수 있었다. 즉, 자궁근막에서 보면, 3시간 후에는 자궁근막의 혈관내부와 주변에서 다수가 관찰되었으며, 6시간 후에는 소수가 관찰되었고, 24시간 후에는 관찰되지 않았다. 또한 동일 시간에 적출된 자궁벽에서는 6시간에서 가장 많은 수의 양성세포가 관찰되었다. 따라서 자궁벽과 자궁근막에서 관찰되는 양성반응세포의 수 사이에는 반비례적 상관관계를 나타냈다. 한편, 난소를 적출한 생쥐의 자궁에서는 양성반응세포의 수가 현저히 감소된 것으로 나타났으며, hematoxylin-eosin 염색 결과 양성반응세포로 추정되는 세포의 세포질에서 호산성과립이 관찰되었다.

이와 같은 결과로 볼 때, 양성세포는 GMG(granulated metrial gland) 세포로 판단되었으며, 이 세포의 이동은 스테로이드호르몬에 의해 영향을 받는 것으로 사료되었다.

KEY WORDS: hCG, Monoclonal anti β -hCG, Uterus, GMG, Immunocytochemistry

사람의 태반 생식선자극호르몬(human chorionic gonadotropin; hCG)은 임신초기에 태반의 융합세포영양막(syncytiotrophoblast)에서 합성되어(Bahl, 1977; Banik, 1975), 황체의 기능을 유지시키는 황체자극호르몬으로써 수정란이 착상하기에 적합하도록 자궁벽을 비후시키는 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다(Findlay, 1970; Griffin, 1986; Ottobre and Stouffer, 1984). 또한 hCG는 뇌하수체 황체형성호르몬(luteinizing hormone; LH)과 생물학 및 면역학적 측면에서 유사한 기능을 나타내기 때문에(Morgan and Canfield, 1971) 시험관내 수정시 배란을 촉진할 목적이나(Biggers *et al.*, 1971), 또는 무배란증(anovulation)과 성기능부전(hypogonadotropic hypogonadism)으로 인한 불임 치료시에 LH 대용으로 사용되기도

한다(Pritchard *et al.*, 1985). LH와 hCG는 α 와 β subunit로 구성된 당단백호르몬(glycoprotein hormone)으로, α subunit는 동일하나 β subunit가 달라서 이들 호르몬의 특이성은 β subunit에 의해 결정된다(Bahl, 1977; Ross, *et al.*, 1971). 또한 이 두 호르몬은 동일한 수용체에 작용하는데, 수용체는 정소의 간질세포 또는 난소의 난포막세포와 황체세포의 세포막에 위치하므로(Marklanen and Rajaniemi, 1980; Moyle, 1988), 동물의 암컷에 있어서 hCG의 주요 표적기관은 난소로 알려져 있다. 호르몬과 수용체는 결합을 한 후 세포막에 있는 adenylate cyclase를 활성화시켜 cAMP 합성을 촉진하게 됨으로써 스테로이드호르몬 합성을 촉진한다(Jaffe, 1986; Marsh, 1967; Nismender *et al.*, 1980). 그러나 Zeicik 등(1986)에 의하여 돼

지의 자궁에서 LH/hCG 수용체가 검출된 이래로 hCG의 자궁에서의 존재와 기능에 대한 연구가 활발하게 수행되어 왔다. 이에 앞서 Presl(1972)은 어린 생쥐의 자궁에서 hCG 수용체가 검출되었다고 보고하였으며, Verma 등(1979)과 Joshi와 Nandedkar(1984)는 토끼와 생쥐에서 착상전의 수정란으로부터 hCG와 유사한 기능을 갖는 물질을 발견하고, 이 물질은 수정란이 자궁에 성공적으로 착상하는데 필요한 것이라고 보고하였다. 또한 Pritchard 등(1985)은 자궁내의 프로그스테론의 농도는 혈중 스테로이드호르몬 뿐 아니라 LH/hCG에 의해서도 조절된다고 보고하였다. Perry-Jacques 등(1989)은 흰쥐의 수정란 착상과정에서 hCG가 자궁벽에 직접 작용하여 자궁내에서 스테로이드호르몬을 합성할 수 있을 가능성에 대해서 설명한바 있고, Sawitzke와 Odell(1991)은 쥐의 자궁에서 LH/hCG 수용체가 hCG에 의하여 down-regulation이 된다고 보고하였다. 한편, 면역학적 측면에서 hCG는 태아의 동종이식(fetal allograft)에 반응하는 모체의 림프구를 억제시킴으로써 태아가 모체의 자궁내에 안전하게 착상하여 발달하는 데에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Adcock *et al.*, 1973; Han, 1974; Portilo *et al.*, 1972).

이와 같이 자궁벽에 LH/hCG 수용체가 존재한다는 보고는 다수가 있으나, 이 수용체의 생리적 기능이나 또는 면역학적 기능을 수행하는데 관여하는 세포에 대해서는 밝혀져 있지 않다. 그러므로 본 실험은 자궁벽에서 hCG와 결합하는 세포를 판별하고, 그 세포가 hCG에 의하여 어떠한 영향을 받는지를 보기 위하여 생쥐에 hCG를 투여한 후 β -hCG에 대한 면역조직화학적 염색을 수행하여 양성반응을 일으킨 세포의 출현부위, 분포변화 등을 관찰하였으며, hematoxylin-eosin 염색을 시행하여 양성반응세포의 성상을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험재료

생쥐(ICR계)는 동일 조건하에서 표준사료로 사육하여 체중 18-20 g 내외의 임신 경험이 없는 것으로 발정주기가 4일인 생쥐를 선별하여 사용하였다. hCG는 biological potency가 5000 IU/mg(Sigma)를 구입하여 생리식염수에 용해하여 사용하였다.

실험방법

매일 오전 9시에서 10시 사이에 절도말을 하여 Papanicolaou 염색을 시행한 후 Lillie(1965) 방법에 따라 발정주기를 판별하였으며, 다수의 유행상피가 관찰되는 발정전기에 있는 생쥐를 사용하였다. 난소를 적출한 방법은, 에테르 마취하에서 등쪽 피부를 절개하고 양쪽 난소를 적출한 후 다시 봉합하였다. hCG 투여량은 생쥐의 과배란 유도시에 사용되는 양으로 2 IU/0.2 ml 되게 희석하여 사용하였으며, hCG를 투여하고 3, 6, 24시간 후에 경부탈구에 의해 희생시켰다.

광학현미경 관찰 및 면역조직화학적 실험

자궁을 적출하여 자궁각의 중간부위 절편을 B-5 용액에 고정한 후 탈수과정을 거쳐 파라핀에 매몰하였다. 면역조직화학 염색은 kit(Sigma Diagnostics, USA)를 사용하였으며, labeled avidin-biotin(LAB) 방법으로 β -hCG에 대한 단일클론항체에 양성반응을 일으키는 세포를 관찰하였다. 파라핀에 매몰한 조직을 3 μ m 두께로 박절하여 37°C에서 18시간 건조시킨 후 파라핀을 제거하고 함수과정을 거쳐 lugol 용액과 sodium thiosulfate를 처리하여 mercury pigment를 제거하였다. 면역조직화학적 염색을 시행하기 전에 내인성 peroxidase의 활성화를 제거하기 위하여 메탄올에 희석한 3% H₂O₂로 30분간 처리한 후 PBS로 수세하였고, 이어서 1% normal mouse serum을 10분간 처리하여 비특이적 결합(nonspecific binding)을 제거하였다.

항체는 biotinylated monoclonal anti- β hCG로 1시간 반응시키고, 대조군은 biotinylated mouse Ig G를 동일 시간동안 반응시켰다. 다시 PBS에 수세한 후 avidin-conjugated peroxidase를 20분간 반응시켰으며, 발색제는 AEC(3-amino-9-ethylcarbazole)를 사용하였다. 마지막 단계로 Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 시행한 후 글리세린 젤리로 봉입하여 관찰하였으며, 위의 모든 과정은 humidity chamber 안에서 수행하였다. 일부 조직절편은 hematoxylineo-sin 염색을 시행하여 세포의 성상을 관찰하였다.

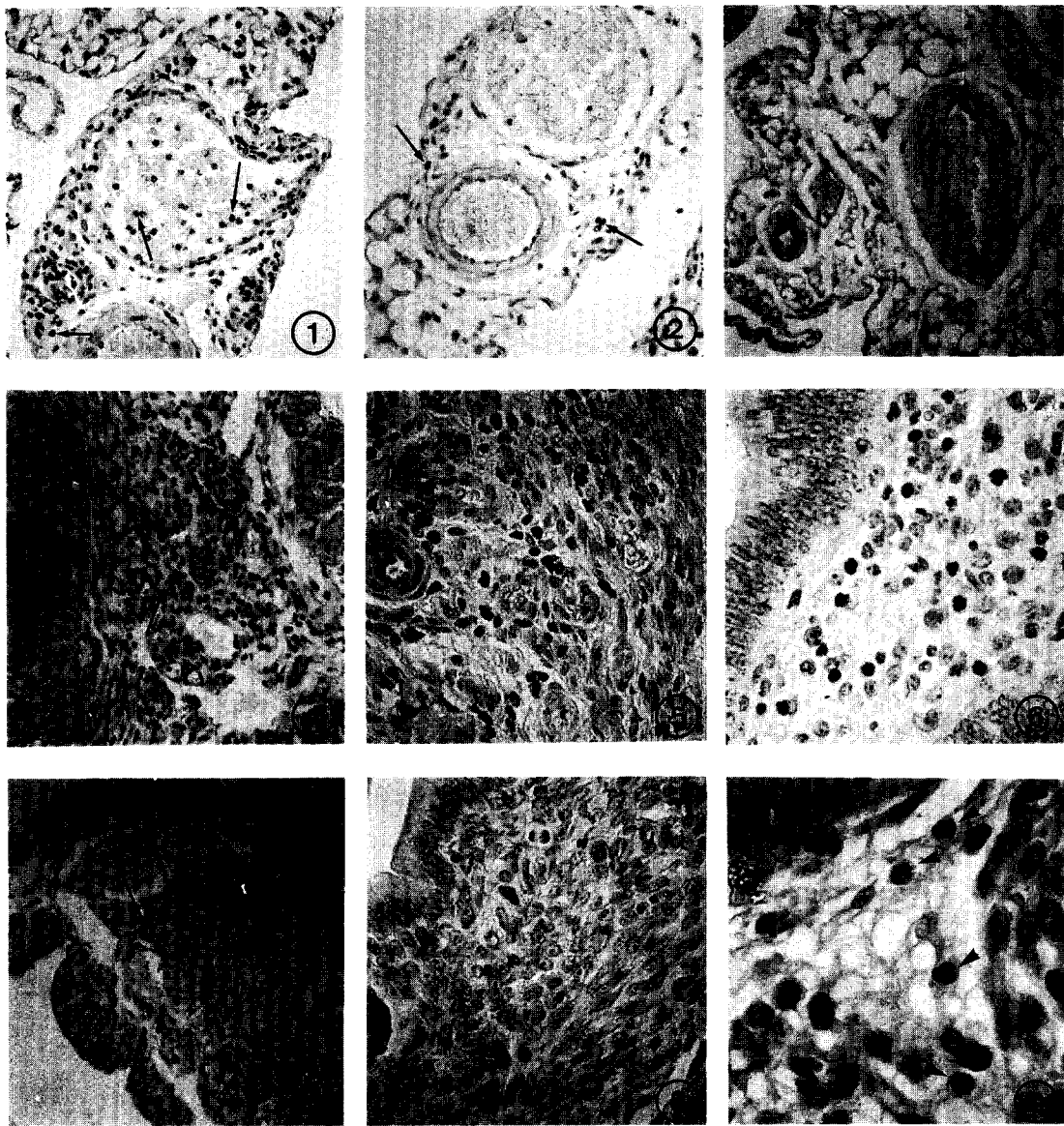
결과

hCG를 투여한 후 β -hCG에 대한 단일클론 항체에 양성반응을 일으키는 세포를 관찰한 결과는 다음과 같다. Monoclonal anti- β hCG 대신에 mouse Ig G를 처리한 대조군에서는 AEC에 의해 암적색으로 발색이된 양성반응세포를 관찰할 수 없었다(Fig. 8). 그러나 hCG를 투여하고 monoclonal anti- β hCG에 반응시킨 실험군에서는 다수의 양성반응세포가 관찰되었으며, 세포질에서 양성반응을 일으킨 것으로 관찰되었다(Fig. 5, 6). 양성반응세포는 주로 환상근층에 인접해 있는 점막고유관(자궁내막 기저층)과 혈관분포가 많은 자궁근막 삼각에서 다수가 관찰되었으며, 근육층과 상피세포층에서는 관찰되지 않았다. hCG를 투여하고 3시간 후에는 자궁근막의 혈관주위와 혈관안에서 다수의 양성반응세포가 관찰되었으며(Fig. 1), 6시간 후에는 혈관주위에서 소수가 관찰되었다(Fig. 2). 그러나 24시간 후에는 거의 관찰되지 않았다(Fig. 3). 자궁근막과 동일 시간에 적출한 자궁벽에서의 양성반응세포를 관찰한 결과를 보면, 3시간 후에는 자궁내막 기저층에서 소수의 양성반응세포가 관찰되었고(Fig. 4), 6시간 후에는 자궁내막 기저층과 자궁근막 삼각에서 다수가 관찰되었다(Fig. 5). 24시간 후에는 주로 상피세포층에

인접해 있는 고유층(자궁내막 기능층), 특히 자궁내강쪽으로 돌출된 부분에서 다수가 관찰되었으나, 그외의 다른 층에서는 관찰되지 않았다(Fig. 6). 한편, 난소를 적출하고, hCG를 투여한 동물의 자궁벽에서 관찰되는 양성세포의 수는 난소를 적출하지 않은 동물에 비하여 현저히 감소되었다. 그러나 양성세포의 출현부위는 난소 비적출군에서와 마찬가지로 자궁근막 삼각과 고유층에서 관찰되었다(Fig. 7). 동일한 조직의 절편을 hematoxylineo-sin 염색을 시행한 결과 monoclonal anti- β hCG에 양성반응을 일으킨 것으로 추정되는 세포에서 호산성과립을 함유하고 있는 것으로 관찰되었으며, 분열된 핵은 짙은 염색상을 나타냈다(Fig. 9).

고찰

hCG의 가장 중요한 기능은 임신시기에 난소에 작용하여 스테로이드호르몬 합성을 촉진함으로써 자궁에 수정란이 착상하기에 적합하도록 자궁벽을 비후시키는데 관여하므로, hCG의 주요 표적기관은 난소로 알려져 있다(Griffin, 1986; Moyle, 1988). 그러나 많은 연구보고에서 자궁벽에서도 LH/hCG 수용체가 검출된 바 있으며(Presl, 1972; Sawitzka and Odell, 1991; Zeicik, 1986), 본 실험에서도 monoclonal anti- β hCG에 대한 면역조직화학적 염색을 시행한 결과, 호산성과립을 함유하고 있는 세포의 세포질에서 양성반응을 일으킨 것으로 관찰되었다. 방사선자기법 연구(autoradiographic study)와 Peroxidase anti-peroxidase(PAP) complex 방법에 의해 ^{125}I -hCG는 황체세포의 세포막에 결합하는 것으로 보고되었다(Han, 1974; Kinnunen *et al.*, 1981). 그러나 면역조직화학적 연구에 의해 생체 및 시험관내에서 시행한 hCG-수용체 복합체는 세포질에 위치하는 것으로 보고되었으며(Abel *et al.*, 1978; Petruaz and Sar, 1978), Han(1974)은



Light micrographs showing distribution of positive cells for monoclonal anti β -hCG. panels 1, 4 are 3hrs after hCG treatment in mesometrium and in uterine wall from intact mice. Panels 2, 5 are at 6hrs and panels 3, 6 are at 24hrs after hCG treatment, panel 7 shows a micrograph of an uterine wall at 24hrs after hCG treatment from ovariectomized mice. Positive reaction appeared as a black-rose. Tissues were counterstained with hematoxylin.

Figs. 1, 4. Many positive cells can be seen around and within the blood vessels of mesometrium (1), but a few positive cells can be seen in uterine wall (4). $\times 80$.

Figs. 2, 5. Some cells are positive in the mesometrium (2), but many positive cells can be seen in the mesometrial triangle of the uterine wall (5). $\times 80$.

Figs. 3, 6. Positive cell can not be seen in the mesometrium (3), but many positive cells were distributed in stroma functionalis under the luminal epithelium of the uterine wall (6) $\times 80$.

Fig. 7. A few positive cells can be seen in the uterine wall of the ovariectomized mice. $\times 80$.

Fig. 8. Negative control treated with mouse Ig G instead for monoclonal anti β -hCG. Positive cell can not be seen. $\times 80$.

Fig. 9. Uterine wall of hCG treated intact mice stained with hematoxylin-eosin. Note that the cells have eosinophilic

호르몬-수용체 복합체는 시간이 경과함에 따라 세포질내로 이동된다고 보고함으로써 양성반응을 일으키는 부위가 다른점은 ^{125}I -hCG의 반응시간에 따른 차이로 생각되었다.

한편, 자궁은 노출된 항원에 반응하여 항체를 합성할 수 있는 local immunological reactive tissue으로써 B-, T- 및 대식세포 등의 여러 가지 림프구성세포로 구성되어 있다 (Kamat and Isaacson, 1987; Morris *et al.*, 1985). hCG는 혈중 림프구의 부열을 촉진하지만 (Bulmer *et al.*, 1987; Simcha *et al.*, 1989), 또한 림프구의 유사분열물질 (mitogen)인 Plant lectin phytohemagglutinin (PHA) 과 동종항원 (alloantigen)에 대한 림프구의 분열을 억제하는 것으로 나타나서 (Contractor and Davis, 1973; Han, 1974) 림프구에 hCG 수용체가 있을 것으로 생각되었으나, 배양중인 림프구나 섬유모세포에 ^{125}I -hCG를 반응시킬 경우 ^{125}I -hCG가 결합되지 않아서 이들 세포에는 hCG 수용체가 없는 것으로 보고되었다 (Siebers *et al.*, 1978). 또한 사람의 자궁내막에는 과립형 세포 (stromal granulocyte, K cell; SG)가 존재하는데, 이 세포는 대형 과립림프구 (large granular lymphocyte)의 일종으로 월경주기의 분비기와 임신초기에 탈락막에 다수가 출현한 후 점차 감소하여 임신말기에는 거의 소실되는 것으로 밝혀졌다 (Bulmer *et al.*, 1987; Hampel, 1955; Pace *et al.*, 1989). 쥐와 생쥐의 자궁벽에서 관찰되는 granulated metrial gland (GMG) 세포는 SG와 비교할 때 크기가 다소 작은점을 제외하고는 매우 유사한 것으로 밝혀졌으며 (Bulmer *et al.*, 1980), 자궁근막 삼각 (mesometrial triangle) 과 자궁내막 기저층 (stroma bas-alis)에 분포한다고 보고되어 (Peel *et al.*, 1983) 본 실험결과와 양성반응세포의 분포와 일치하였다. GMG 세포는 프로그스테론의 영향하에서 자궁내막의 미분화된 간질세포로부터 분화하거나 (Hamperl and Hellweg, 1958; Dallenbach-Hellweg, 1981), 또는 말초혈액내

에서 유입된 림프구와 유사한 전구세포로부터 자궁내막내에서 분화된다는 서로 다른 보고가 있다 (Peel and Bulmer, 1977; Stewart and Peel, 1977). 그러나 면역조직화학적 연구에 의해 GMG 세포는 leucocyte common antigen (LCA)에 양성반응을 보였으며, 방사선을 조사한 생쥐에 흰쥐의 골수를 이식한 실험결과에 의해 GMG는 골수 파양 림프구성세포 (bone marrow-derived lymphoid cell)로 밝혀졌다 (Bulmer and Sunderland, 1983; Peel *et al.*, 1983). Holmes와 Davie (1948)는 혈관내에서 GMG 세포를 관찰하였는데, 이와 같은 결과를 GMG 세포가 다른 조직과 관련이 있기 때문이라고 추정한 바 있으며, Bulmer와 Sunderland (1983)는 자궁내막에서 볼 수 있는 GMG 세포로 추정되는 T세포 계통의 과립형세포는 호르몬의 영향이나 또는 세포와의 접촉에 의해 임신과 같은 특이한 반응이나 또는 발정주기 중의 어느 특별한 시기에 흉선으로부터 미성숙 세포가 흘러나와서 분화될 수 있다고 가정하였다. 또한 본 실험 결과에서도 양성반응세포는 자궁근막의 혈관내에서 먼저 출현하였다. 따라서 이러한 결과들은 GMG 또는 SG가 혈관으로부터 자궁벽으로 이동된다는 것을 시사해준다. 사람의 자궁내막에서 SG는 수정란이 착상한 시기부터 임신 3개월 이내에 태반에서 가장 많은 수를 보이다가 점차 감소하여 임신 말기에는 거의 소실된다고 보고되어 (Hamperl and Hellweg, 1958; Pace *et al.*, 1989) 임신 60-70일 경에서 hCG의 양이 가장 높은 현상과 (Pritchard *et al.*, 1985) 상관관계가 있는 것으로 생각되었으며, Hampel과 Wellweg (1958) 그리고 Dallenbach-Hellweg (1981) 등은 스테로이드호르몬에 의하여 SG의 순환이 조절된다고 보고하였다. 또한 본 실험결과에서 난소를 적출한 생쥐의 자궁벽에서는 양성반응세포의 수가 현저히 감소된 것으로 관찰되었다. 따라서 타자연구자들의 실험결과와 본 실험결과로 미루어 볼때, hCG에 의하여 난소에서 합성이 증가된 스테로이드호르몬은 혈관내

의 GMG 또는 SG 세포를 자궁내로의 이동을 촉진하는 것으로 사료되었다.

그러나 GMG 또는 SG의 자궁벽에서의 확실한 기능에 대해서는 보고된 바가 없다. Mitchell 등(1980)은 GMG 세포가 면역글로블린(immunoglobulin)을 함유하고 있어서 임신 시기에 모체와 태아 사이의 면역반응에 관여할 수 있다고 시사하였으며, Blalock 등(1985)은 림프구는 특이한 면역원성 자극에 의하여 호르몬과 유사한 여러 가지 펩타이드를 합성한다고 보고하였다. 또한 말초 림프구는 시상하부의 황체형성호르몬 방출호르몬(LH-RH)과 유사한 생물학 및 면역학적 특성을 갖는 LH-RH를 함유하고 있다고 보고되어(Emanuele *et al.*, 1990) 림프구에 의해 호르몬이 합성될 수 있는 가능성이 높아지고 있다.

따라서 타 연구자들의 연구보고와 본 실험결과를 종합해 볼 때, 본 실험결과에서 관찰되는 양성세포는 GMG 세포로 생각되었으며, 이 세포는 스테로이드호르몬의 영향에 의해 말초혈액내에 있는 전구세포로부터 hCG를 저장하거나 또는 합성할 수 있는 세포로 분화하여 hCG의 기능이 발휘될 수 있는 자궁내로 유입되는 것으로 생각되었으나, 이에 대한 정확한 원인에 대해서는 계속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

인용문헌

- Abel, J.H., T.T. Chen, D.B. Endres, M.C. McClellan, M. A. diekman H.R. Sawyer, D.G. Niswender, M.H.J. Schmitz and M.P. Pineda, 1978. Sites of binding and metabolism of gonadotropic hormones in the mammalian ovary. *In: Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones: A Multidisciplinary Approach* (Straub, R.W. and L. Bolis, eds.). Raven Press, New York, pp.183-202.
- Adcock, E.W., F. Teasdale, C.S. August, S. Cox. G. Meschia, F.C. Battaglia and M.A. Naughton, 1973. Human chorionic gonadotropin: its possible role in maternal lymphocyte suppression. *Scienc* **181**: 845-847.
- Bahl, O.Ph., 1977. Human chorionic gonadotropin, its receptor and mechanism of action. *Federation Proc.* **36**: 2119-2127.
- Banik, U.K., 1975. Pregnancy-terminating effect of human chorionic gonadotropin in rats. *J. Reprod. Fert.* **42**: 67-76.
- Biggers, J.D., W.K. Whitten and D.G. Whittingham, 1971. The culture of mouse embryo in vitro. *In: Methods in mammalian embryology* (Freem J.C.D., ed.). San Francisco, pp.86-166.
- Blalock, J.E., K.L. Bosr and E.M. Smith, 1985. Neuroendocrine peptide hormones and their receptors in the immune system production, processing and action. *J. Neuroimmunol.* **10**: 31-40.
- Bulmer, J.N., I.J. Stewart, B.S. Mitchelr and S. Pell, 1980. Endometrial granulocytes in the human uterus. *J. Anat.* **131**: 754.
- Bulmer, J.N. and C.A. Sunderland, 1983. Bone-marrow origin of endometrial granulocytes in the early human placental bed. *J. Reprod. Immunol.* **5**: 383-387.
- Bulmer, J.N., D. Hollings and A. Ritson, 1987. Immunocytochemical evidence that endometrial stromal granulocytes are granulated lymphocytes. *J. Pathol.* **153**: 281-288.
- Contractor, S.F. and H. Davis, 1973. Effect of human chorionic gonadotropin on phytohemagglutinin induced lymphocyte transformation. *Nature* **243**: 284-286.
- Dallenbach-Hellwer, G., 1981. The normal histology of the endometrium. *In: Histopathology of the endometrium.* Berlin. springer, pp.22-88.
- Emanuele, N.V., M.A. Emanuele, J. Tentler, L. Kirssteins, N. Azad and A.M. Lawrence, 1990. Rat spleen lymphocytes contain an immunoreactive and bioactive luteinizing hormone-releasing hormone. *Endocrinology* **126**: 2482-2486.
- Findlay, J.K., 1970. The endocrinology of the preimplantation period. *In: Pregnancy and parturition* (Martini, L. and V.H.T. James, eds.). Current Topics in Endocrinology. New York, Academic Press, pp.35.
- Griffin, P.D., 1986. A fertility regulating vaccine based on the carboxyl-terminal peptide of the beta subunit of human chorionic gonadotropin *In: Immunological Approaches to Contraception and Protein of Fertility* (G.P. Talwar, ed.). Plenum Press, pp.43-59.
- Hamperl, H., 1955. The granular endometrial stroma cells: A new type. *J. Pathol.* **69**: 358-359.
- Hamperl, H. and G. Hellwag, 1958. Granular endometrial stroma cells. *Obstet. Gynecol.* **11**: 379-387.
- Han, T., 1974. Inhibitory effect of human chorionic gonadotropin on lymphocyte blastogenic response to mitogen, antigen and allogeneic cells. *Clin. Exp.*

- Immunol.* **18**: 529-535.
- Jaffe, R.B., 1986. Protein hormones of the placenta decidua and fetal membranes. In: Reproductive Endocrinology (Yen, Samuel S.C. and Jaffe, R.B. eds.). W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp.758-769.
- Joshi, N.J. and T.D. Nandedkar, 1984. Effects of intrauterine instillation of antiserum to hCG during early pregnancy in mice. *Acta Endocr.* **107**: 268-274.
- Kamat, B.R. and P.G. Isaacsson, 1987. The immunocytochemical distribution of leukocytic subpopulations in human endometrium. *Am J. Pathol.* **127**: 66-73.
- Kinnunen, R., M. Karjalainen and H. Rajaniemi, 1981. Immunocytochemical localization of receptor-bound human chorionic gonadotropin in pseudopregnant rat ovaries. *J. Histochem. Cytochem.* **29**: 9-16.
- Lillie, R.D., 1965. Histologic technic and practical histochemistry (3rd ed.). McGraw-Hill Book Co., pp. 561-562.
- Markkanen, S.O. and H. Rajaniemi, 1980. Role of internalization and degradation in the removal of receptor-bound human chorionic gonadotropin in rat luteal cells in vivo. *Endocrinology* **109**: 1399-1403.
- Mitchell, B.S., R. Craggs, and S. Peel, 1980. The localization of immunoglobulin (Ig G) within the rat metrial gland. *J. Reprod. Immunol.* **32**: 235-238.
- Morgan, F. and R.C. Canfield, 1971. Nature of the subunits of human chorionic gonadotropin. *Endocrinology* **88**: 1045-1053.
- Morris, H., J. Edward, A. Tiltman and M. Emms, 1985. Endometrial lymphoid tissue: An immunohistological study. *J. Clin. Pathol.* **38**: 644-652.
- Moyle, W.R., 1988. In oxford reviews of reproductive biology (Finn, C.A., ed.). Clarendon, Oxford, England, Vol. 2, pp.123-204.
- Ottobre, J.S. and R.L. Stouffer, 1984. Persistent versus transient stimulation of the macaque corpus luteum during prolonged exposure to human chorionic gonadotropin: A function of age of the corpus luteum. *Endocrinology* **114**: 2175-2182.
- Pace, D., L. Morroson and J.N. Bulmer, 1989. Proliferative activity in endometrial stromal granulocytes throughout menstrual cycle and early pregnancy. *J. Clin. Pathol.* **42**: 35-39.
- Peel, S. and J.N. Bulmer, 1977. The fine structure of the rat metrial gland in relation to the origin of the granulated cells. *J. Anat.* **126**: 687-696.
- Peel, S., I.J. Stewart and D. Bulmer, 1983. Experimental evidence for the bone-marrow origin of granulated metrial gland cells of the mouse uterus. *Cell Tissue Res.* **233**: 647-656.
- Petrusz, P., 1973. Light microscopic localization of binding sites for human chorionic gonadotropin in luteinized rat ovaries by a peroxidase-labeled antibody method. *J. Histochem. Cytochem.* **21**: 279-282.
- Petruaz, P. and M. Sar, 1978. Light microscopic localization of gonadotropin binding sites in ovarian target cells. In Cell Membrane Receptors for Drugs and Hormones: A Multidisciplinary approach (Straub, R.W. and L. Bolis, eds.). Raven Press, New York, pp. 167-182.
- Pierre-Jagues, B., A. Benhaim and P. Leymarie, 1989. Human chorionic gonadotropin affects tissue levels of progesterone and cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate in the metestrus rat uterus in vitro. *Biol. Reprod.* **40**: 511-516.
- Portilo, D.T., H.M. Hallgren and E.J. Yunis, 1972. Depressed maternal lymphocyte response to phytohemagglutinin in human pregnancy. *Lancet* **1**: 769-771.
- Presl, J., J. Popisil, V. Figarova and Wagner, 1972. Developmental changes in uptake of radioactivity by the ovaries, pituitary and uterus after ¹²⁵I-labeled human chorionic gonadotropin administration in rats. *J. Endocr.* **52**: 585-586.
- Pritchard, J.A., P.C. MacDonald and N.F. Gant, 1985. Williams Obstetrics (7th ed.). A Publishing Division of Prentice-Hall, Inc., Appleton-Century-Crofts, pp.121.
- Ross, R. and S.J. Klebanoff, 1967. Fine structural changes in uterine smooth muscle and fibroblast in response to estrogen. *J. Cell Biol.* **32**: 155-167.
- Sawitzke, A.L. and A.D. Odell, 1991. Uterine binding sites for LH/hCG can be modulated by hormonal status in rabbits and rats. *Acta Endocrinologica (Copenh)*, **124**: 322-330.
- Siebers, J.W. Vogel and W. Engel, 1978. Human lymphocytes, fibroblasts and amniotic fluid cells are not endowed with human chorionic gonadotropin receptors. *Am J. Obstet. Gynecol.* **130**: 504-505.
- Simcha, Y., S. Ranjit, M.S. Parhar and K.L. Peeyush, 1980. Tropic effects of first-trimester human trophoblasts and human chorionic gonadotropin on lymphocyte proliferation. *Am J. Obstet. Gynecol.* **160**: 946-953.
- Stewart, I. and S. Peel, 1978. The differentiation of the decidua and the distribution of metrial gland cells in the pregnant mouse uterus. *Cell Tissue Res.* **187**: 167-179.
- Verma, S.K., M.Y. Dawood, F. Haour, C.P. Channing and B.B. Saxena, 1979. Gonadotropin-like substance in preimplantation rabbit blastocyst. *Fertil. Steril.* **31**: 68-75.

- Zeicik, A.J., P.D. Stanchev and J.E. Tilton, 1986. 1163.
Evidence for the presence of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin-binding sites in the porcine uterus. *Endocrinology* **119**: 1159-1163. (Accepted August 15, 1992)

Immunocytochemical Study on the Mouse Uterine Wall using Monoclonal Anti β -hCG

Seon Hee Oh and Lim Soon Choi (Department of biology, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea)

To identify the cell type of the uterine wall components and to investigate the effect of hCG on the cell shown positive reaction for monoclonal anti- β hCG, immunostaining was performed with uterine sections from intact and ovariectomized mice following hCG treatment.

In immunostained sections, the positive cells were abundantly distributed in the basalis stroma and particularly, mesometrial triangle of uterine wall, and the positive reaction appeared in cytoplasm. The distribution of positive cells in the uterine wall and mesometrium of uterus 3, 6 and 24 hrs after hCG treatment was as follows. In the mesometrium, many positive cells were observed around the blood vessels as well as within the blood vessels at 3 hrs, but thereafter decline and were virtually absent at 24 hrs. In uterine wall, the number of positive cells was dramatically increased at 6 hrs. The positive cells were distributed in stromal functionalis under the luminal epithelium at 24 hrs and the number of the cell was decreased slightly. Therefore, the number of positive cells between the mesometrium and uterine wall appeared the relationship inversely. In addition, the number of positive cells was decreased markedly in the uterus of ovariectomized mice. In hematoxylin-eosin stained sections, the distribution of cells containing eosinophilic granules was similar to positive cell by immunostaining.

The present data suggest that positive cells thought to be GMG cells and the circulation of the positive cells may be controlled by steroid hormones.