

임신우에서 발생된 난포의 기능에 대한 면역조직화학적 관찰

곽수동 · 고필옥 · 양제훈 · 원정길 · 강정부*

경상대학교 수의과대학 농업생명과학연구원
(게재승인: 2003년 11월 28일)

Immunohistochemical observation on the functions of follicles developed in ovaries of pregnant cows

Soo-Dong Kwak, Phil-Ok Koh, Je-Hoon Yang, Chung-Kil Won, and Chung-Boo Kang*

College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Institute of Agriculture-Life Sciences,
Jinju 660-701, Korea
(Accepted: November 28, 2003)

Abstract : Incidence of estrus or abortions in pregnant cows may be affected by large follicles developed together with corpus luteum in pair ovaries of pregnant cows. But the follicles of pregnant phase were not assessed about histological findings. Determination of the healthy and atretic follicles by presence of proliferative cells or apoptotic cells and histological compositions of follicles would be used as important data on measurements of ovarian functions. This study was focussed mainly to investigate macroscopical, histological and immunohistochemical findings of ovarian follicles of pregnant Korean native cows and dairy cows (Holstein). In immunohistochemical methods, assessments of proliferative cells using PCNA antibody and apoptotic cells using TUNEL methods were performed. The follicles were observed on all 24 pregnant cows (17 Korean native cows and 7 Holstein cows). Follicles of greater than 10 mm in diameter were developed in 37.5% (9/24 heads) of these pregnant cows. largest follicles from in these cows were 16.0×15.0 mm in diameter in a Korean native cow(120 days of gestation), 13.4×10.1 mm in a Korean native cow(50 days of gestation), 12.9×11.5 mm in a Holstein cow (120 days of gestation). 40.5% among all follicles having diameter of greater than 1.0 mm in pregnant cows were assessed as atretic follicles and in addition, healthy follicles also showed less in number and smaller in size and thinner in wall layer compared with those of cyclic phase ovaries. In immunohistochemical findings, also proliferative positive cells and apoptotic positive cells on the granulosa cell layers in the healthy follicles of pregnant cows appeared less than on those of cyclic follicles. So these follicles were assessed as weakly active follicles. In large follicles, above positive cells were not nearly appeared but granulosa cell debris were more appeared among the granulosa cells. So these large follicles were assessed as inactive or atretic follicles. The above findings suggest that small follicles of pregnant phase were weakly active or atretic and large follicles were inactive or atretic.

Key words : pregnant cows, follicles, atretic, healthy

서 론

난소에서 난포와 황체는 한 쪽이 발달하면 다른 한 쪽은 퇴축 소멸하므로 성숙한 단계에서 상호 공존하는 시기는 매우 짧거나 없으며, 만약 생리적 이상으로 난포

또는 황체 중에 한쪽의 퇴축이 지연되면 난포와 황체가 공존하며 성주기가 정지 또는 지연되어 공태기간이 길게 된다 [2, 3, 6, 9, 11, 23].

임신이 되면 다음 난포의 발달은 정지상태가 되어 새로운 성주기가 연속되지 않고 황체만 발달하여 성주기

* 연구는 한국과학재단(과제번호 : R01 2000-000-00210-0)지원으로 수행되었다.

*Corresponding author: Chung-Boo Kang

College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea
[Tel: 82-55-751-5814, Fax: 82-55-751-5803, E-mail: cbkang@gsnu.ac.kr]

의 황체보다 더 크서 임신기간동안 지속되며 임신황체가 되어 태아의 자궁환경에 중요한 역할을 한다 [13, 18-21].

그러나 Rayos *et al.* [22]은 임신우에서 황체 반대쪽의 난소에서 8-11 mm의 난포들이, 다른 한 실험군에서는 12-16 mm 난포들이 가끔 관찰되고 10 mm 이하의 난포는 어떤 경우에나 있었다고 하였고, 또 임신우에서 임신 첫 3개월 동안 발정증상의 행위를 나타내는 경우가 많은데 이는 임신황체와 공존하는 난포의 작용과 관련이 있을 것이고 임신 100일 이전에 progesterone 결핍으로 유산하는 경우가 있는데 이 때는 난포가 estrogen 수준을 증가시켜 황체의 퇴화를 유도했을 가능성이 있다고 하였다.

그러나 임신중에 공존하는 난포와 황체에 대한 상호 영향이나 기능의 변화에 대한 형태학적 면에 대해서는 전혀 규명된 바 없다.

난소의 기능은 혈액이나 우유내 progesterone과 estrogen 등 steroid hormone의 측정치에 의하여 추정하는데 이 중 progesterone은 황체가 분비하므로 이 측정치는 황체의 크기, 중량 및 형태와 밀접한 관계가 있고, 한편 estrogen은 난포가 분비함으로 난포의 형태와 관련이 있다. 그러므로 황체와 난포에 조직학적 구조는 그 기능의 중대 또는 감퇴를 측정하는 귀중한 자료가 될 것이다 [9, 10, 13, 14, 18, 21, 23].

어떤 장기나 조직에서 조직학적 구조 외에도 어떤 세포의 증식이나 소멸은 그 기능을 추정하는 자료가 된다.

조직의 증식세포의 규명에는 PCNA(proliferating cell nuclear antigen)의 항체를 이용한 면역염색으로 증식세포를 검색하는 방법이 개발되었고 [7, 12, 13], 세포의 자연사인 apoptosis의 규명은 TUNEL법이 개발되어 조직손상으로 인한 상처치유나 악성종양 증대 등 각종 종양진단과 치료 등 여러 기관의 발생학적, 조직학적 및 병리학적 연구에 적용하고 있다 [4, 5, 7, 8, 13, 15, 24, 25].

만약 조직학적 검사에서 어떤 장기가 퇴축되고 있다면 그 실질세포의 apoptosis가 일어나는 세포가 많을 것이고, 기능이 활성적이라면 세포의 apoptosis 보다 증식이 더 많이 일어날 것이다. 난소에서도 샘세포인 황체세포가 임신을 지속하기 위해 progesterone을 분비하고 있다면 이러한 황체는 소수의 세포가 apoptosis가 일어나는 반면에 계속해서 많은 세포가 계속작용하고 있거나 더 증식하며 대치하고 비대하고 있을 것이고 또한 난포도 그 기능에 따라 샘세포인 과립막세포의 apoptosis나 증식소견의 차이가 있을 것이다.

본 연구는 임신우에서 황체와 공존하는 난포의 기능에 대하여 조직학적 및 면역조직화학적 방법으로 조사한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

2002년 1월~12월중에 경남도내 3개 도축장에서 도살우 중에 임신한 한반우 17두와 유우(Holstein)7두 총 24두와 대조군으로 비임신우 2두를 대상으로 하여 양쪽 난소와 임신된 태자를 채취한 후 10% 중성 포르마린이 함유된 표본병에 넣어 실험실에 운반하였다. 임신 일령의 측정은 채취한 태자의 체장, 즉, 두부에서 미부까지 장축의 길이인 두미장(crownrump lenght, CRL)을 측정하고 태아 체장과 대령간의 대비표에 의하여 임신일령을 산정하였다 [1, 23].

이후 난소의 내부실질 조직의 육안적 관찰을 위해 팽대된 쪽은 4-5 mm 두께로 5-8쪽으로 절개하고 다른 반대쪽 난소문이 있는 수질부분은 부착된 상태로 두어 차후에도 난소별로 재조사가 될 수 있게 하였다.

육안적 관찰은 개체별 양쪽 난소의 실질내부에 형성된 난포, 황체, 백색체 등을 대상으로 단면의 내부상태, 크기, 색깔, 팽출도, 견실도 및 황체강의 형성여부 등을 관찰한 후, 계측계(Mitutoyo Co, Japan)를 이용하여 난포의 직경이 5-6 mm 이상인 것을 대상으로 가장 넓은 부위와 가장 좁은 부위의 두 직경을 측정하였다.

채취한 난소는 paraffin 절편을 만들고 통상 방법과 같이 hematoxylin-eosin (H-E) 염색을 실시하여 난포의 형태를 광학현미경적으로 관찰하였고, 면역조직화학적 관찰에서 apoptosis 양성반응세포는 TUNEL법 [4, 5, 8, 15]에 따라 *in situ* apoptosis detection kit (Oncogene, USA)를 이용하여 난소조직의 paraffin 절편을 proteinase K, 2% H₂O₂, working strength TdT enzyme, anti-digoxigenin_peroxidase를 차례로 적용한 후, diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)로 발색하고 hematoxylin으로 대조염색을 하였고, 증식세포를 관찰하기 위한 PCNA 항체의 양성반응세포는 paraffin 절편을 1차 항체는 PCNA antibody (Oncogene, Cambridge, MA, USA)를, 2차 항체는 Vectastain ABC kit (Vector Lab Inc, Burlingame, CA, USA)를 사용한 후 DAB를 사용하여 발색하고 hematoxylin으로 대조염색 하여 황갈색으로 발색되는 세포에 대하여 조사하였다.

결 과

임신우에서 난포의 존재와 기능을 확인하기 위하여 한반우와 유우(Holstein) 중에서 임신우를 대상으로 양쪽 난소에서 육안적으로 난포의 발생에 대하여 수와 크기를 조사 분류한 바 Table 1과 같이 임신 한우 17두 중에 난포의 직경이 10 mm 이상은 6두(35.3%), 5-9 mm는 6두(35.3%), 5 mm 이하는 5두(29.4%)였고, 유우는 7두중에 10 mm 상은 3두(42.9%), 5-9 mm는 1두(14.3%), 5 mm

Table 1. Developments of follicles in ovaries of pregnant cows

Species of cows	No. of pregnant cows invested	No. of cows based on follicle diameter		
		>10 mm	5-9 mm	5 mm>
Korean native cows	17	6(35.3%)	6(35.3%)	5(29.4%)
Holstein	7	3(42.9%)	1(14.3%)	3(42.9%)
Total	24	9(37.5%)	7(29.2%)	8(33.3%)

이하는 3두(42.9%)였다. 이상에서 전체 임신우 24두 중에 난포는 모든 임신우에서 발달되어 있었고 그 중에 10 mm 이상은 9두(37.53%), 5-9 mm는 7두(29.2%), 5 mm 이하는 8두(33.3%)였다.

이상의 10 mm 이상의 난포를 가진 9두에 대하여 Table 2와 같이 개체별로 조사한 바 난포의 직경이 가장 큰 소의 난포는 임신 110일 경의 한우에서 16.0×15.0 mm, 임신 50일 경의 한우에서 13.4×10.1 mm, 임신 120일 경의 유우에서 12.9×11.5 mm였다.

조직학적으로 난포의 수와 난포벽의 형태와 과립막세포의 배열상태에 의해 임신우 난포의 정상여부를 조사

한 바 전체 임신우에서 직경이 1,000 μm 이상인 난포에 대하여 퇴축여부를 조사한 바 40.5%(17/42개)가 퇴축하는 난포였다(Fig. 3,7,8).

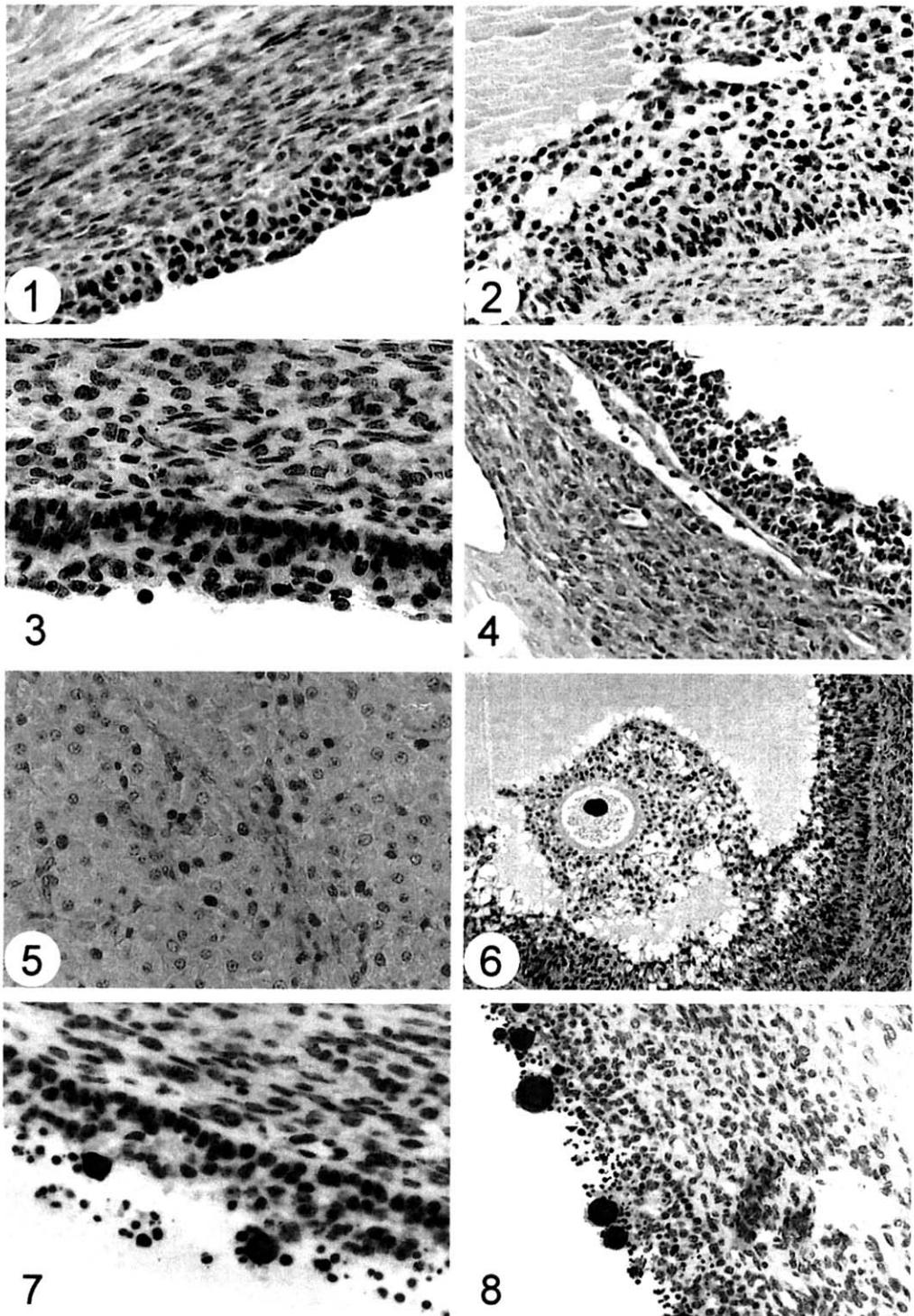
임신우와 비임신우에서 정상형태의 난포 수와 과립막세포층의 수를 조사한 바 한 조직 절편당 직경 1,000 μm 이상의 난포의 수가 임신우에서는 2-3개 정도, 비임신우에서는 3-6개 정도가 관찰되었다. 난포의 과립막세포층의 두께는 임신우는 얇은 쪽은 3-5세포층에서 두터운 층은 10-15세포층이나(Fig. 1-8), 비임신우에서는 얇은 쪽은 5-8세포층, 두터운 층은 15-20세포층 정도로 임신우는 얇은 층은 2-3층, 두터운 층은 5층 이상 더 얇았다. 이와 같이 정상형태의 난포도 벽이 얇을 뿐 아니라 과립막세포의 배열이 느슨하고 농축된 과립막세포의 잔재의 출현이 많았다(Fig. 1,3,4,7,8). 임신 초기일수록 황체는 증식세포가 많고(Fig. 5) 보다 작은 난포일수록 증식세포가 많이 출현하였고(Fig. 2,6). 보다 큰 난포는 증식세포와 apoptosis가 일어나는 세포가 적은 퇴축형의 난포가 많았고(Fig. 4,7,8) 난포의 크기와 수는 비임신우 보다 더 작고 더 적어 임신우 보다 기능이 약한 것으로 생각되었다.

면역조직화학적으로 정상적으로 배열된 과립막세포층을 가진 난포에서는 PCNA 양성반응세포(Fig. 1,2)와

Table 2. Developments of follicle with diameter of more than 10 mm on ovaries of pregnant cows

Species	No.	Age (years)	CRL ^a of fetus	Pregnant days measured	Ova ^b No.	Follicular diameter (mm)
Korean native cows	1	3	4 cm	50	1 2	① 9.8×8.8, ② 13.4×10.1
	2	5	15 cm	90	1 2	① 7.9×7.0 ① 10.0×9.6
	3	3	3 cm	40	1 2	① 12.5×10.8, ② 7.5×7.5 ① 10.5×10.5
	4	5	15 cm	90	1 2	① 11.8×10.0, ② 11.8×5.9
	5	5	22 cm	110	1 2	① 16.0×15.0 ① 8.5×8.5
	6	5	21 cm	100	1 2	① 11.3×8.7, ② 11.5×11.5
Holstein	1	6	40 cm	150	1 2	① 12.0×10.1, ② 8.5×7.5
	2	6	27 cm	120	1 2	① 8.4×7.5, ② 6.5×5.5 ① 12.9×11.5
	3	7	84 cm	240	1 2	① 10.2×9.2

CRL^a: crownrump length, ova^b: ovary



- Fig. 1.** Many proliferative positive cells (black brown cells) on the compact and thin granulosa layer of a healthy follicle(3.3 mm in diameter) in a pregnant Korean native cows are seen. PCNA immunostain and hematoxylin counterstain. $\times 200$.
- Fig. 2.** Numerous proliferative positive cells (black brown cells) on the compact and thick granulosa layer of a healthy follicle (2600 μm in diameter) in a pregnant Korean native cow are seen. PCNA immunostain and hematoxylin counterstain. $\times 200$.
- Fig. 3.** and **4.** Many apoptotic positive cells (black brown cells) are seen on the thin granulosa layer of an atretic follicle (3680 μm in diameter) seen as healthy follicle in a pregnant Korean native cow. TUNEL stain and hematoxylin counterstain, $\times 400$.
- Fig. 4.** A few proliferative positive cells are seen on the loose and thin granulosa cell layer of an atretic follicle (2900 μm in diameter) in a pregnant Korean native cow. PCNA immunostain and hematoxylin counterstain, $\times 200$.
- Fig. 5.** Many proliferative positive cells (black brown) on the corpus luteum of a pregnant Korean native cow are seen. PCNA immunostain and hematoxylin counterstain, $\times 200$.
- Fig. 6.** Numerous proliferative positive cells (black brown cells) on the cumulus oophorus and on the thin compact granulosa layer of a healthy follicle (950 μm in diameter) in a pregnant Korean native cow are seen. PCNA immunostain and hematoxylin counterstain, $\times 40$.
- Fig. 7.** Many apoptotic positive cells (dark brown) and apoptotic debris on the loose granulosa cell layer and in antrum of an atretic follicle (4100 μm in diameter) in a pregnant Koran native cow are seen. Immunostain, $\times 400$. TUNEL stain and hematoxylin counterstain, $\times 400$.
- Fig. 8.** A little proliferative positive cells and large round apoptotic debris on the loose granulosa cell layer and in antrum of an atretic follicle (2500 μm in diameter) on delivery day in a pregnant Koran native cow are seen. PCNA immunostain and hematoxylin counterstain, $\times 100$.

apoptosis 양성반응세포(Fig. 3,4,7,8)가 관찰되고 있어 정지상태에 있지 않고 기능이 계속되고 있으나, 비임신우의 양성반응세포 보다는 월등히 낮았고 보다 큰 난포들은 양성반응세포들이 거의 관찰되지 않아 기능이 정지 상태에 있거나 퇴축하고 있는 것으로 생각되었다.

고 찰

난포는 난포호르몬인 estrogen을 분비하여 발정을 유도한다. 이러한 난포 기능의 평가는 혈장내 농도측정치에 의하거나, 조직학적으로는 난포의 형태학적 소견에 의하여 평가한다.

임신우 난소에서 난포의 출현에 관하여서는 Rayos *et al.* [22]는 사춘기 전의 처녀우에도 적경 12 mm 난포가 있었고, 임신우는 10 mm 이하의 난포는 어떤 경우에나 있었고, 큰 난포는 황체의 반대쪽 난소에 있는 경우가 대부분이고 같은 난소에서 하나 이상 있는 경우도 있고 가장 큰 난포는 18 mm 였고 또 한 실험군에서 황체 반대쪽에 8-11 mm의 난포들이, 다른 한 실험군에서는 12-16 mm 난포들이 가끔 관찰되었고 임신우 4두중 2두에서 하나 이상의 난포가 관찰되었다고 하였다.

양에서는 정상 큰난포의 크기는 5-10 mm이고 매 성주기마다 1-4개의 성숙한 난포가 발달한다 [18, 23]. Driancourt *et al.* [10]는 양에서 성주기 때나 임신한 때 나타나는 난포는 3 mm 이하의 작은 난포는 수의 차이

는 없었고 3-5 mm의 중간 크기는 임신 80일째는 감소되었고 임신 110일째는 5 mm 이상의 큰 난포는 검출되지 않았다고 하였다.

본 조사에서는 임신한 한우와 유우 24두중에 10 mm 이상의 난포가 있는 소는 9두(37.5%), 5-9 mm는 7두(29.2%), 5 mm 이하는 8두(33.3%)로 어떤 경우도 난포가 관찰되었고 특히 10 mm 이상의 난포는 37.5%의 임신우에서 관찰되었다. 개체별로는 한우에서 10 mm 이상의 난포는 임신 110일경에서 16.0×15.0 mm, 임신 50 일경에서 13.4×10.1 mm, 유우는 임신 120일경에서 12.9×11.5 mm의 난포가 관찰되었다. 이러한 소견은 Rayos *et al.* [22]의 조사 결과와 유사하며, Driancourt *et al.* [10]의 대난포는 검출되지 않았다는 소견과는 차이가 있다. 본 조사에서 관찰된 큰 난포의 크기를 21일 성주기 과정으로 추정하면 성주기 16-19일째 경에서 발달한 난포의 크기에 해당되며 이 때는 개체의 estrogen 수준이 평상시와 같거나 약간 상승하는 시기의 크기에 해당된다 [9].

임신우 난포의 작용에 대하여는 Robert [23]는 소에서 임신초기에 6% 내에서 발정증상이 있고 이는 낭종과 관련이 있다고 하였고, Rayos *et al.* [22]은 임신 첫 3개월 동안 소가 발정증상의 행위를 나타내는 것은 난포의 작용과 관련이 있을지 모르며 임신 100일 이전에 progesterone 결핍으로 유산하는 경우 때때로 난포가 있었고 이 대난포가 estrogen 수준을 증가시켜 황체의 퇴화를 유도했을지 모른다고 하였다. 반대로 McNatty

et al. [16]는 사람의 성주기중의 황체기에서 1 mm 보다 더 큰 난포의 94%가 atretic 상태였다고 하였다.

본 조사에서는 난포의 수와 난포벽의 형태와 과립막세포의 배열상태에 의해 임신우 난포의 정상여부를 조사한 바 임신우의 난소에서는 비 임신우 보다 난소의 절편당 직경 1,000 μm 이상의 난포의 수가 더 적었고 난포의 과립막세포층의 두께는 얇은 층은 2-3세포층, 두터운 층은 5세포층 이상 더 적었고 전체 임신우에서 직경이 1,000 μm 이상인 난포 중에 40.5%가 퇴축하는 난포였고 정상상태의 큰 난포도 벽이 얇고 과립막세포의 배열이 느슨하고 농축된 과립막세포의 잔재물의 출현이 많아 그 기능이 미약한 것으로 보였다.

성장하는 난포는 과립막세포가 분열증식하고, 퇴축하는 난포는 분열증식하지 않고 변성 소멸(apoptosis)이 많이 일어난다 [4, 7, 15].

이러한 apoptotois가 일어나는 세포의 규명에는 Yuan과 Giudice [25]는 H-E 염색에서는 apoptotic bodies로, 면역염색에서는 세포의 DNA fragmentation을 apoptotic kit를 이용하여 관찰할 수 있다고 하였고 난포와 황체의 기능평가는 apoptosis로 평가할 수 있고 양성세포는 변성하는 황체에 큰 난포에 많다고 하였다.

난소에 apoptosis에 관하여는 Murodoch [17]는 배란시에는 난소표면 상피 백색막 첨부에 apoptotic cell이 점차 증가한다고 하였고, Vaughan *et al.* [24]는 소의 난포에서 apoptosis는 난포기 초기에 원시난포와 일차난포 및 2차난포에서는 일어나지 않고, 200 μm 정도의 전강난포의 과립막세포에서 일어났고, 1.1-2 mm 크기의 난포에서 과립막세포에서 더 많이 일어났고 난포 속막에서도 산재되어 일어나며 이러한 결과는 난포의 퇴축이 촉진되고 있음을 나타낸다고 하였다.

증식세포의 규명에 대하여서는 Gaytan *et al.* [12]는 랫드 난소에서 5-bromodeoxyuridine (BrdU)를 이용하는 면역염색법이 가장 좋은 방법이라고 하였고 근래에는 BrdU 대신에 PCNA의 단크론 항체를 이용한 면역염색법이 이용되고 있다. 난포에서 증식세포비율은 난포의 크기와는 관계가 없고 퇴축하는 난포에는 수가 낮고 발정후기의 발달하는 황체에서 높다고 하였다.

본 조사에서는 난포의 과립막세포의 apoptosis를 관찰하기 위하여 면역염색법으로 TUNEL 염색을 실시하고 증식세포규명을 위하여 PCNA 항체를 이용한 바, 정상적으로 배열된 과립막세포층을 가진 다소 큰 난포에서도 PCNA 양성반응세포가 다소 높은 비율로 그리고 apoptosis 양성반응세포는 더 낮은 비율로 관찰되고 있어 난포가 정지상태에 있지 않고 작용은 계속되고 있으나 비임신우 보다는 월등히 낮아 작용은 미미한 것으로 보였고 또 과립막세포 층이 얇고 농축된 분비과립이 소

견이 많아 분비기능의 미미하거나 정지상태에 있는 것으로 결론되었다.

이러한 결론은 Rayos *et al.* [22]이 임신우의 난소내 큰 난포, 작은 난포 등은 혈청내 sex steroid의 농도에 영향을 미치지 못하고 큰 난포는 혈청내 estrogen을 증가시키지 못하며 임신황체의 유행에 영향을 미치지 못한다는 보고와 같은 결과이다.

결 론

임신우에서 난포의 기능을 조사하기 위하여 임신한 한반우와 유우(Holstein) 24두에서 양쪽난소에서 발달된 난포에 대하여 조사한 바 모든 임신우에서 난포가 존재하였고 이중에 10 mm 이상의 난포를 가진 우는 24두중에 9두(37.5%)였고, 난포의 직경이 가장 큰 난포는 한우는 임신 120일경의 소에서 16.0×15.0 mm, 임신 50일경의 소에서 13.4×10.1 mm, 유우는 임신 120일경의 소에서 12.9×11.5 mm인 큰 난포가 관찰되었다.

조직학적으로 임신우에 발달된 직경 1.0 mm 이상의 난포의 40.5%가 퇴축하는 난포였다. 정상형태 난포도 비임신우 보다 난포의 크기와 수가 더 적었고 벽이 더 얇았다.

면역조직화학적으로 정상적으로 배열된 과립막세포층을 가진 난포에서는 PCNA(증식세포항원) 양성반응세포와 apoptosis 양성반응세포가 관찰되었으나 비임신우 보다는 비율이 낮아 활성이 미미하게 계속되고 있는 것으로 관찰되었으며 큰 난포들은 양성반응세포가 거의 관찰되지 않고 농축된 분비과립이 많이 출현하고 있어 정지상태에 있거나 퇴축하고 있는 것으로 생각되었다.

이상에서 임신우에도 큰 난포들이 출현하였으나 그 수가 적고 조직학적으로는 벽이 얕고 TUNEL 양성반응세포와 PCNA 양성반응세포의 비율이 낮고 분비과립의 농축이 많아 기능이 미약하거나 퇴축상태에 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. 강종구, 곽수동, 김무강, 김성호, 신태균, 양홍현, 윤여성, 이재현, 정병현, 정희태. 태아태령측정, 가축발생학. pp. 79-83, 경북대학교 출판부. 대구. 2001.
2. 곽수동, 표병민, 양제훈, 김철호, 서득록, 고필옥, 강정부. 경남지방의 도태우에 불임과 관련된 난소의 형태학적 관찰. 2. 난소낭종의 발생과 낭종형태에 대하여. J. Vet. Clin. 2002, 19, 153-158.
3. 양제훈, 표병민, 서득록, 고필옥, 강정부, 김종섭, 곽수동. 경남지방의 도태우에 불임과 관련된 난소의 형

- 태학적 관찰. 1. 난포와 황체의 출현에 대하여. *J. Vet. Clin.* 2002, **19**, 147-152.
4. Auletta, F. J., Williams, R. E., Kelm, L. B. and Kenny, H. In Situ detection of apoptotic cells in the regressing sheep corpus luteum. *Bibliographr. Reprod.* 1994, **63**, 30.
 5. Bacci, M. L., Barazzoni, A. M., Forni, M. and Costerbosa, G. L. In situ detection of apoptosis in regressing corpus luteum of pregnant sow: evidence of an early presence of DNA fragmentation. *Domest. Anim. Endocrinol.* 1996, **13**, 361-372.
 6. Bloom, W. and Fawcett, D. W. Female reproductive system in "a textbook of histology". 10th ed. Saunder. Philadelphia, 1975, 858-904.
 7. Bom, H. S., Yoo, C. M., Rew, D. S. and Choi, S. K. Autoradiographic and immunohistochemical study on the proliferative kinetics of intestinal metaplasia. *Korean J. Internl Medicine.* 1991, **6**, 8-15.
 8. Bruce, N. W., Hisheh, S. and Dharmarajan, A. M. Patterns of apoptosis in the corpora lutea of the rat during the oestrous cycle, pregnancy and *in vitro* culture. *Reprod. Fertil. Dev.* 2001, **13**, 105-109.
 9. Dellmann, H. D. and Eurell, J. A. Female reproductive system in "Textbook of veterinary histology". pp. 247-269, 5th ed, Lippincott Williams, Philadelphia, 1998.
 10. Driancourt, M. A., Fevre, J., Martal, J. and AL-Gubory, K. H. Control of ovarian follicular growth and maturation by the corpus luteum and the placenta during pregnancy in sheep. *J. Reprod. Fertil.* 2000, **120**, 151-158.
 11. Fortune, J. E. and Hansel, W. The effects of 17 β -estradiol on progesterone secretion by bovine theca and granulosa cells. *Endocrinology.* 1979, **104**, 1834-1838.
 12. Gaytan, F., Morales, C., Bellido, C. and Aguilar, E. Proliferative activity in the different ovarian compartments in cycling rat estimated by the 5-bromodeoxyuridine technique. *Biol. Reprod.* 1996, **54**, 1356-1365.
 13. Gaytan, F., Fellido, C., Morales, C. and Aguilar, E. Evidence of steroidogenic luteal cell hypertrophy and hyperplasia during pregnancy in the rat. *J. Endocrinol.* 1997, **154**, 211-217.
 14. Gunther, J. D., Foley, C. W., Gaverick, H. A. and Plotka, E. D. Comparision of milk and blood plasma progesterone concentrations in cycling and pregnant mares. *J. Anim. Sci.* 1980, **51**, 1131-1138.
 15. Jolly, P. D., Tishdall, D. J., Heath, K., Lun, S. and McNatty, K. P. Apoptosis of bovine granulosa cells occurs in healthy follicles or is an early event in follicle atresia. *Biol. Reprod.* 1994, **50**, 184.
 16. McNatty, K. P., Hillier, S. G., van den Boogaard, A. M. and Jr, van Hall, E. V. Follicular development during the luteal phase of the human menstrual cycle. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1983, **56**, 1022-1031.
 17. Murdoch, W. J. Programmed cell death in preovulatory ovine follicles. *Biol. Reprod.* 1995, **53**, 8-12.
 18. Norman, A. W. and Litwack, G. Steroid hormone in Hormones. pp. 578-583, Academic press, Orlando, 1987.
 19. Okuda, K., Sato, K., Ono, H. and Miyake, M. Die beziehung zwischen den morphologischen eigenschaften des corpus luteum und dem progesteronehalt im bluteserum bei Kuehen. *Obihiro Univ. Report.* 1981, **12**, 115-124.
 20. O'Shea, J. D. and McCoy, K. Weight, composition, mitosis, cell death and content of progesterone and DNA in the corpus luteum of pregnancy in the ewe. *J. Reprod. Fert.* 1988, **83**, 107-117.
 21. O'Shea, J. D., Rodgers, R. J. and D'Occhio, M. J. Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow. *J. Reprod. Fertil.* 1989, **85**, 483-487.
 22. Rayos, A. A., Miyazawa, K. and Okuda, K. Relationship between ovarian follicles and peripheral levels of sex steroid hormones during midpregnancy in cows. *Jpn. J. Vet. Sci.* 1986, **48**, 1147-1115.
 23. Roberts, S. J. Examination for pregnancy in "Veterinary obstetrics and genital diseases". pp. 14-35, 2nd ed. Itheca New York, 1971.
 24. Vaughan, L., Fitzpatrick, E. and Boland, M. P. A histological study of corpus lutea from superovulated beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 1996, **43**, 1-14.
 25. Yuan, W. and Giudice, L. C. Programed cell death in human ovary is a function of follicle and corpus luteum status. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997, **82**, 3148-3155.