

생쥐의 난소내 스테로이드호르몬 농도에 미치는 γ -선의 영향

이영근 · 김진규 · 윤용달*

한국원자력연구소, 한양대학교*

요 약

생쥐의 난소에 미치는 방사선의 조직학적 및 기능적 영향을 조사하기 위하여 2.88Gy 및 7.2Gy의 방사선(Co-60)을 전신조사하였다. 7 μ m 두께의 조직질편을 제작하여 조직학적 관찰을 하였고, 방사면역측정법을 이용하여 난소마쇄현탁액내 프로게스테론, 테스토스테론 및 에스트라디올을 정량하였다. 방사선조사로 유강소난포 및 무강소난포가 공히 높은 폐쇄율을 보였고, 난포내 프로게스테론의 농도가 증가되었으며 테스토스테론 및 에스트라디올의 농도는 감소되었다. 즉, 방사선을 조사함으로써 난소내 난포세포인 협막세포에 영향이 미친 결과 3 β -HSD(3 β -hydroxysteroid dehydrogenase) 및 isomerase의 활성이 억제 혹은 둔화되어 테스토스테론 및 에스트라디올의 합성이 저하되었고 그 결과 난포의 폐쇄가 가속화 되었다고 사료된다.

중심단어 : γ -선, 생쥐 난소, 폐쇄(atresia), 스테로이드 호르몬

서 론

세포에 대한 방사선의 영향은 lymphocytes, 장내 Lieberkuhen crypts의 세포, 간 및 신장, 그리고 whole lymph glands 등의 체세포에서도 나타남이 확인되었다[1]. 일반적으로 방사선은 세포의 핵 및 세포질의 변화를 유발시키며[2, 3] 특히 생식세포(germ cell)가 매우 큰 감수성을 나타낸다고 알려져 왔다[4-6].

Samuels[7]는 자성 흰쥐(rat) 혹은 자성 토끼에 α -선원인 polonium-210을 주사한 후 자가방사법(autoradiography)으로 분포를 조사한 결과 난소의 난포세포(follicular cell)에 많이 분포되며,

자궁(uterus) 주변에도 역시 분포된다고 보고하였다. 즉, 생식세포가 방사선에 매우 민감함을 재차 확인하였다. Ronnback[8]은 흰쥐에 전리방사선원인 strontium-90을 투여한 결과 태아의 난소내 세포수가 감소하는 경향을 발견하였다. 또한 α -선, γ -선, 중성자선(neutrons) 및 양자선(photons) 등에 대한 미성숙 난자의 감수성 역시 매우 민감하다고 보고되어 왔다[9]. 흰쥐에 1.5 Gy 상당의 π -meson을 조사했을 때는 흉선(thymus)의 무게가 줄고, 난자의 수가 줄었으며, spleen colony forming unit(CFU-S)가 나타나는 등 돌연변이유도와 유사한 영향이 있다[10]. 또한 최근에 널리 보급되고 있는 여러 파장의 laser를

흰쥐에 조사한 결과 성숙과정의 난포 즉, 감소형 성 초기 및 Graaf 난포시기에 방사선에 가장 예민한 감수성을 나타낸다고 하였다[11]. Graaf 난포내 과립세포의 핵융축은 X-선 조사 후 4시간 이전에 일어나는 것으로 관찰되었고[12], 무강소 난포의 변화는 후기에 일어나서 그 세포의 수가 줄어들다가 난자가 퇴화되고 결국은 사멸되는 것으로 보고되었다. 중난포의 경우는 조사 후 10일까지도 관찰되고 있으며, 12Gy의 방사선을 조사할 때 난소내 모든 여포가 손상을 받으나, 사멸되지는 않는다고 하였다[12]. 반면에 Graaf 난포는 방사선 감수성이 커서 조사 후 15.5시간에는 과립세포가 핵융축되며, 많은 경우에 있어서 난포내 난자의 핵이 1차 혹은 2차의 성숙분열을 하게 되며, 3일째는 Graaf 난포를 관찰할 수가 없게 된다고 하였다.

각종 방사선이 생식세포에 미치는 영향에 관한 조직학적인 연구들은 위와 같이 비교적 많이 되어 있는 반면 방사선 및 생식세포와 관련된 내분비학적 기능변화에 관한 연구는 최근까지도 매우 미흡하였다. 최근에 microwave를 조사한 쥐의 혈청내에서 corticosterone, prolactin(PRL) 농도의 증가 및 thyrotropin(TSH) 농도의 감소를 보고 하였으며[13], 미성숙한 흰쥐에 γ -선을 조사한 결과 혈청내 P(progesterone)의 농도가 상승한다고 보고되고 있고[14], 임신한 자성 생쥐의 경우 γ -선을 조사하면 혈청내 T(testosterone)의 농도가 상승한다고 보고되었다[15]. 위의 연구 결과들은 방사선 조사가 난소내 난포의 스테로이드 합성과정에 영향을 준다는 것을 시사하고 있다. 특히 폐쇄과정에서도 난포세포의 형태적 변화에 앞서 기능적 변화가 선행된다는[16] 관점에서 볼 때 방사선에 의한 난포의 내분비학적 변화를 연구하는 것은 매우 중요하다고 판단된다.

따라서 본 연구는, 생쥐에 방사선(Co-60)을 조사함으로써 난포세포에 미치는 조직학적 영향을 검토하고, 그와 관련한 난포내 스테로이드 합성능의 변화를 조사함으로써 난소에 미치는 방사선의 영향을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

한국과학기술원 생물검정실에서 사육한 생쥐(ICR, 생후 5주)를 사용하였으며 14/10시간(light/dark)의 조명조건하에서 1주일간 적응시켜 사용하였다.

2. 방사선의 조사 및 시료 채취

본실험에 사용한 생쥐는 성주기를 일량하게 만들기 위하여 smear test를 하여 estrus 시기를 맞추고 자체제작한 1마리용 생쥐케이스에 넣었다. 한국원자력연구소의 감마선 발생장치(Cobalt-60, 약 1,000 Ci의 용량, panoramic irradiator, Atomic Energy of Canada Ltd.)를 이용하여 상온, 공기중에서 0.5 Gy/min의 선량률로 조사하였다. LD_{49.4(30)}에 해당하는 7.2 Gy와 LD_{21.8(30)}에 해당하는 2.88 Gy로 각각 조사하였다. 조사선량률은 Friche dosimeter로 측정하였으며[17], 시간을 변수로 하여 원하는 선량을 조사하였다.

대조군과 estrus 시기에 방사선 조사한 실험군은 방사선 조사 후, 첫번째 estrus cycle(4일), 두번째 estrus cycle 시기(8일)에 각각 diethyl ether로 마취를 시켰다. 오른쪽 난소는 적출해낸 후 500 μ l의 gelatin phosphate buffered saline (GPBS, NaH₂PO₄, 2.35g(Merck); NaHPO₄, 11.6g(Merck); NaCl, 8.8g(Merck); Thimerosal, 0.1g

(Sigma) ; gelatin, 1g(Sigma))에 마쇄하여 현탁시킨 다음 100 μ l를 사용하여 0.1%의 nigrosin용액(Sigma)으로 haemocytometer(Neubauer, Superior) 상에서 과립세포생존률(GC viability)을 측정하였다[18]. 나머지 현탁액은 3000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 steroid hormone량을 측정하기 위해 deep freezer(-70°C, So Low Co.)에 보관하였다.

3. 난소의 조직절편 제작

적출해낸 왼쪽 난소는 Bouin용액(picric acid : formaldehyde(40%) : glacial acetic acid=75 : 25 : 5, V/V)에 고정(24-48시간)하고 탈수한 후 paraplant(Monoject)에 포매하여 7 μ m의 두께로 박편을 만들었다. 차례로 배열된 박편들 중에서 10번째 박편마다 slide glass에 부착시킨 후 난소당 10종류의 절편군을 제작하였다. Hematoxylin, PAS(periodic acid-Schiff), 그리고 trichrome으로 조직표본을 제작한 후 쌍안현미경(Olympus, Model BHA-413) 하에서 검경하였다.

4. 난소의 조직절편 관찰

실험군에 대한 형태학적인 고찰을 위해 과립세포층의 상태와 강소의 형성여부에 따라 무강소난포와 유강소난포로 나누고 관찰하였다. 난포내 과립세포의 분열세포(mitotic cell) 및 염색질이 상용축세포(pyknotic cell)의 수, 혈막세포층의 이상비대여부, 난포액내 적혈구의 존재유무, 과립세포층의 일량성, 난포액내 지질방울의 존재여부 등을 종합하여 정상난포와 폐쇄난포로 구분하였다[19].

5. 스테로이드호르몬의 정량

난소현탁액내에 존재하는 progesterone(P), te-

stosterone(T), 그리고 estradiol-17 β (E)의 농도는 방사면역측정법에 의해 정량하였다[16, 20]. 스테로이드호르몬의 추적자(tracer, 1,2,6,7-³H-P, spec. act. : 110Ci/mM, Amersham ; 1,2,6,7-³H-T, spec. act. : 88.5Ci/mM, Amersham ; 2,4,6,7-³H-E, spec. act. : 98Ci/mM, Amersham)를 순수분리하기 위하여 Sephadex LH-20(Pharmacia Fine Chem.) 6g을 30ml의 전개용매(cyclohexane ; chloroform : ethyl alcohol=15 : 2 : 4, V/V)에 용해하여 column(직경 1.8cm \times 길이 21.7cm)에 충전하였다. 50 μ Ci의 각 추적자를 conical tube에 옮기고 37°C의 항온수조에서 질소개스로 증발시킨 후 500 μ l의 전개용매에 재용해시켜 column에 전개시켰다. 1-2ml의 순수정제된 분획만을 모아 상기방법에 의해 증발시킨 후 90%의 ethyl alcohol로 희석하여 보관하였다. 표준 스테로이드호르몬은 Steraloids사의 제품을 사용하였으며 90%의 ethyl alcohol에 mg/ml의 농도로 조제하여 stock solution으로 보관하였다. 여기에서 일정량을 희석하여 working solution으로 사용하였다.

P의 항체는 P-11 α -hemisuccinate-bovine serum albumin(BSA) 또는 P-2-carboxymethyloxime(CMO)-BSA를 토끼에 면역주사하여 얻은 항혈청(역가 1/35000)을 이용하였다. 다른 스테로이드호르몬과의 교차반응도는 5 α -dihydro progesterone(5 α -DHT)이 14%, 17-hydroxyprogesterone, 20-dihydro progesterone은 0.5%, T가 0.2%, cortisol은 0.01%, 기타 스테로이드호르몬과는 0.001% 이하였다. P의 회수율(recovery ratio)은 82.0 \pm 13.9%를 나타냈으며 내정도관리(intrassay variation)의 변이계수값은 17.4%(QC1), 9.6%(QC2)였다. 외정도관리(between assay variation)의 변이계수값은 6.49%였다.

T의 항체는 T-3-CMO-BSA에 대한 토끼의 항혈청(역가 1/84000)을 사용하였다. 다른 스테로이드호르몬과의 교차반응도는 5 α -DHT이 14%, 5-androstenediol이 6%, androstenedione은 0.8%였다. T의 회수율은 78.0 \pm 5.3%를 나타냈으며 내정도관리의 변이계수값은 10.4%(QC1), 7.8%(QC2)이었다. 외정도관리의 변이계수값은 1.52%였다.

E의 항체는 E-3-CMO-BSA에 대한 토끼의 항혈청(역가 1/10500)을 사용하였다. 교차반응도는 estrone이 1.7%, T 및 cortisol 그리고 기타 스테로이드호르몬과는 0.0001% 이하였다. E의 회수율은 86.0 \pm 9.6%를 나타냈으며 내정도관리의 변이계수값은 12.6%(QC1)%, 10.2%(QC2)였다. 외정도관리의 변이계수값은 18.47%였다.

6. 통계 분석

각 군간의 통계적인 차이는 student's 't' test로 비교한 후 p값이 0.05보다 작은 경우를 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 실험동물의 생존율

방사선조사에 따른 생쥐의 LD₅₀₍₃₀₎과 LD₂₀₍₃₀₎을 결정하기 위하여 15마리씩의 생쥐를 0.5Gy/min의 선량율로 2.5, 5.0, 7.5, 그리고 10.0 Gy를 조사한 후 30일간의 생존율을 조사하였다. 각 선량별 생존율을 조사한 결과의 생존곡선식은 $Y = -0.064X + 96.667$ 이었으며, 반치사량(50% lethal dose)인 LD₅₀₍₃₀₎은 7.29 Gy였으며 LD₂₀₍₃₀₎은 2.60 Gy였다.

2. 난포 폐쇄율의 조직학적 관찰결과

정상의 유강소난포는 과립세포층과 혈막세포층이 일랑하고 정상적인 과립세포의 핵모양을 갖는데 비해, 각실험군에서 공히 폐쇄난포에서는 혈막세포층이 이상비대하였으며 과립세포의 핵이 이상용축되거나, 강소쪽 표면에 있는 과립세포가 부유되는 현상 등이 관찰되었다. 정상 유강

Table 1. Atretic ratio(%) and granulosa cell viability(%) in ovarian follicle of the whole-body irradiated mouse.

day	dose (Gy)	follicular atretic ratio(%)		granulosa cell viability (%)
		preantral	antral	
0	0	36.80 \pm 5.35	40.08 \pm 4.70	64.57 \pm 9.34
	2.88	40.31 \pm 6.13	31.58 \pm 5.24	71.61 \pm 8.02
	7.2	38.59 \pm 6.03	32.31 \pm 7.00	56.92 \pm 9.97
4	2.88	75.22 \pm 10.81*	84.38 \pm 5.56*	46.67 \pm 6.19*
	7.2	84.63 \pm 13.88*	80.00 \pm 7.11*	59.49 \pm 3.42
8	2.88	68.23 \pm 9.65*	71.43 \pm 6.10*	64.84 \pm 6.41
	7.2	77.49 \pm 11.18*	79.30 \pm 7.54*	64.54 \pm 11.25

* : p<0.05, n=8.

소난포의 난자-난구복합체는 일정한 투명대(zona pelucida)와 정상적인 핵(GV, germinal vesicle)을 갖는데 비해, 폐쇄된 유강소난포의 난자-난구 복합체는 불균일한 투명대와 GV를 갖는 것으로 나타났다. 유강소난포의 경우 대조군에 비해 2.88 Gy 및 7.2 Gy 조사군 공히 높은 폐쇄율을 보였다(각각, $p < 0.05$, Table 1). 무강소난포의 폐쇄율 역시 유강소난포의 경우와 유사하게 대조군에 비해 증가하였다(각각, $p < 0.05$). 그러나 유강소난포와 무강소난포 사이에 조사선량에 따른 폐쇄율의 차이는 없었다. 과립세포생존율은 2.88 Gy 조사후 4일군에서 대조군에 비해 현저히 낮았다($p < 0.05$, Table 1). 그러나 8일군에서는 과립세포의 생존율은 대조군과 유사한 수준을 나타내었다. 과립세포의 생존율 역시 난포의 폐쇄율과 유사하게 2.88 Gy와 7.2 Gy 조사군간, 즉 방사선량에 따른 차이는 없었다.

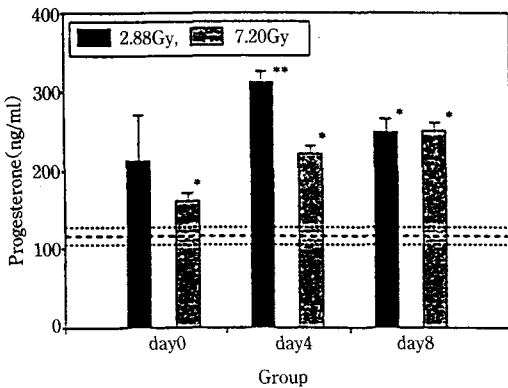


Fig. 1. Progesterone concentration in homogenized ovary of the whole-body irradiated mouse was determined by radioimmunoassay. Data represent mean(box) \pm sem(line), $n=8$, * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$. Dotted lines represent mean (heavy dot) \pm sem(dot) of control group.

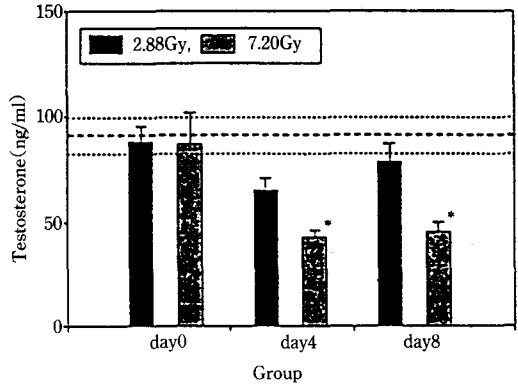


Fig. 2. Testosterone concentration in homogenized ovary of the whole-body irradiated mouse was determined by radioimmunoassay. Data represent mean(box) \pm sem(line), $n=8$, * : $p < 0.05$. Dotted lines represent mean (heavy dot) \pm sem(dot) of control group.

3. 스테로이드호르몬의 농도변화

P의 농도는 0일군에서 대조군(116.48 ± 10.64 ng/ml)에 비해 높은 농도를 나타내었으며(각각 $p < 0.05$), 4일군 및 8일군에서 약 2-3배 정도의 높은 농도를 나타내었다(각각, $p < 0.05$; 2.88 Gy 조사후 4일군, $p < 0.01$, Fig. 1). 시간의 경과에 따라 보면 2.88 Gy 조사군의 경우 4일군(311.93 ± 10.69 ng/ml)까지 증가하다가 8일군(249.69 ± 16.69 ng/ml)에서 낮아졌으나 대조군 및 0일군에 비해서는 높았으며, 7.2 Gy 조사군의 경우는 계속해서 높아지는 경향을 보였다. 조사선량에 따른 변화는 없는 것으로 나타났다.

T의 농도는 시간 경과에 따라 전반적으로 낮아지는 경향을 보였으며, 특히 7.2 Gy 조사후 4일군(43.2 ± 2.37 ng/ml), 8일군(45.5 ± 3.35 ng/ml)에서 대조군(90.30 ± 8.70 ng/ml)에 비해 유의성 있게 낮았다($p < 0.05$, Fig. 2). 2.8 Gy 조사군은 4일군에서 대조군 보다 낮아졌다가 8일군에서 대조군

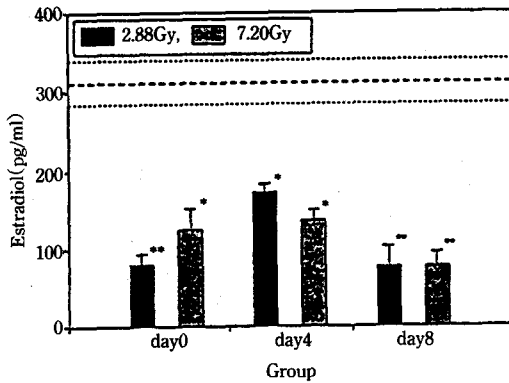


Fig. 3. Estradiol concentration in homogenized ovary of the whole-body irradiated mouse was determined by radioimmunoassay. Data represent mean(box) \pm sem(line), $n=8$, * : $p<0.05$, ** : $p<0.01$. Dotted lines represent mean (heavy dot) \pm sem(dot) of control group.

수준과 비슷해지는 경향을 보였다.

E의 농도는 0일군에서 대조군(310.32 ± 29.18 pg/ml)에 비해 2.8-4.2배 가량 감소하였고, 전 실험군을 통하여 대조군 보다 유의성 있게 낮았다(Fig. 3). 2.88 Gy 조사군의 경우 0일군(81.72 ± 12.82 pg/ml)에 비하여 4일군(172.76 ± 6.85 pg/ml)에서 증가하다가 8일군(78.49 ± 24.43 pg/ml)에서는 감소하는 현상을 보였으며, 7.2 Gy 조사군의 경우 시간의 경과에 따라 감소하는 양상을 띠었다. 조사선량에 따른 변화는 없는 것으로 나타났다.

논 의

본 연구에서의 생쥐의 반치사량은 7.29 Gy로 나타났는데 Hobbs와 McClellan[21]의 결과(7.96 Gy)와 비교해 보면 약간의 차이가 있음을 알 수 있다. 이는 실험동물의 종, 조사선원(X선), 선량

율 및 기타 방사선 조사의 조건의 차이에 기인한 것으로 생각된다.

난포의 폐쇄는 난포의 성장에 부수적인 과정이라고 보는 견해가 지배적이어서[22, 23], 본 연구에서는 무강소난포 및 유강소난포로 크게 이분하여 폐쇄과정과의 관련성을 고찰하였는데 그 결과 각각의 실험군에서 공히 자연발생의 폐쇄난포의 특징과 유사한 양상을 보였다. 즉 협막세포가 비대해지고 과립세포의 핵응축 정도가 높게 나타났으며, 대부분 핵막이 나타나지 않았고 나타나다라도 변형된 염색질의 형태인 듯한 모양을 하였다. 이는 Byskov[19]의 자연발생의 폐쇄경우와 부합되는 결과였다. 전반적으로 대조군에 비해 폐쇄율이 높았으며 조직절편내 난자의 수가 적은 양상을 보였다. 위의 결과를 Dobson과 Felton[5]의 보고와 연계해서 고찰해보면 방사선에 의한 난자의 치사(cell killing)로 말미암아 폐쇄율이 높게 나타날 수 있을 것이고, 난소내 방사선에 대한 표적(target size)이 과립세포보다는 크나 난자보다는 적다는 보고[9, 21]를 참고해 보면 과립세포에 대한 방사선의 영향으로 말미암아 난포의 폐쇄율이 높아진 것을 추측할 수 있다. 또한 두번째 발정기 때 폐쇄율이 낮아지는 경향이 있는 것으로 보아 난포에 대한 방사선의 영향이 시간의 경과에 따라 회복되고 있음을 시사해 준다. 자연발생의 난포폐쇄의 경우는 과립세포 혹은 협막세포가 폐쇄의 시발점이라는 보고들[19, 23, 24]이 있는 것으로 미루어 방사선 조사군 역시 과립세포에서 시작된 폐쇄의 징후가 난소 및 그밖의 난포세포로 파급되어 높은 폐쇄율을 보인 것으로 여겨진다.

난소내 난포가 폐쇄됨에 따라 특징적인 형태적 변화보다 난포내 스테로이드 호르몬의 생합성과정의 변화가 우선된다는 보고[25]가 지배적이며, 이러한 변화에 관한 연구가 진행되고 있다.

특히 난포액내에 존재하는 progestin, androgen, estrogen 등의 스테로이드호르몬은 난포의 성장 단계 및 성숙단계에 따라 주변 세포들에 대한 이들의 분비속도가 달라지게 된다고 보고되었다 [26]. 방사선조사 후 난소마쇄현탁액내 P의 농도는 증가하였으나 T 및 E의 농도는 현저히 감소하였다. 즉, 방사선조사로 인해 P를 T로 전환시켜 주는 3β -hydroxysteroid dehydrogenase(HSD) [27] 혹은 isomerase의 활성이 둔화된 것은 물론 T를 E로 변환시켜 주는 aromatase의 활성 역시 억제된 결과[28]로 여겨진다. 이는 정상적인 과립세포보다 폐쇄난포의 경우는 LH(luteinizing hormone) 수용체수가 감소된다는 보고[29]가 있지만, LH 수용체수가 감소되는 이유보다 방사선에 의한 급격한 LH 분비의 중지로 인해 난포가 폐쇄될 수 있다는 가능성을 시사해 준다[30]. 즉, 협막세포는 물론 과립세포에도 방사선의 영향이 미친 결과, 협막세포에서 P가 T로 전환이 덜 되었고, 그로 말미암은 과립세포에서 T로부터 E로의 전환이 덜 된 결과라고 생각된다. Taya와 Greenwald[31]는 hamster를 뇌하수체절제한 후 그 난소를 1-8일 동안 배양한 결과 많은 양의 P를 생성해 내는 반면 T 및 E는 소량생산해 낸다고 하였다. 또한 발정전기의 흰쥐에 pentobarbital을 반복하여 처리한 경우도 난포의 스테로이드합성능에 있어서 위와 유사한 결과를 얻었다 [24]. 이는 여포의 폐쇄가 형태적으로 일어나기 전에 스테로이드 생합성의 변화가 먼저 일어난 때문으로[25] 생각된다.

그러나 난포에 대한 방사선의 작용기작은 다른 보고들의 경우와 서로 다른 것으로 여겨진다. 즉, 뇌하수체를 절제한 실험에서 3β -HSD, isomerase는 물론 aromatase에도 영향을 끼치는 것으로 보고되었으며[31], pentobarbital 처리 및 ketamine-HCl 처리를 한 실험에서는 aromatase에

대한 영향보다 3β -HSD 및 isomerase에 대한 영향이 더 큰 것으로 여겨지고 있다[32].

Tilly 등[33]은 돼지의 난소내 폐쇄난포세포의 예정세포사(apoptosis)에 대한 가설에서 난포내 국부적 신호에 의해 과립세포 및 협막세포의 endonuclease 활성이 둔화되고 DNA(deoxyribonucleic acid) fragmentation이 형태적, 기능적 변화보다 선행될 것이라고 하였고, 이어서 난소내 특정 genes의 발현이 줄어들어 난포의 사멸을 예측할 것이라고 하였다. 본 실험결과에 비추어 보면 방사선이 직접 3β -HSD, isomerase 및 aromatase의 불활성을 초래한 결과인지 또는 위의 가설처럼 방사선이 internucleosomal fragmentation을 일으켜서 위 효소들의 합성이 불가능하게 된 것인지는 정확히 알 수 없기 때문에 앞으로 이를 규명하기 위한 연구가 요구된다.

결론적으로 과립세포생존율이 그다지 크게 저하되지 않는 것으로 보아 방사선을 조사함으로써 난소내 난포세포인 협막세포에 영향이 미친 결과 3β -HSD 및 isomerase의 활성이 억제 혹은 둔화되어 T 및 E의 합성이 저하되었고 그 결과 난포의 폐쇄가 가속화 되었다고 사료된다.

참 고 문 헌

1. H. Auda, A.M. Rashid, A.H. Khaleel, and M. J. Nasser, "Radiation-induced changes in liver and kidney alkaline phosphatase and esterase of mice." *Radiat. Res.*, **111**. 457-463 (1987).
2. Z.M.Naib, "The effects of irradiation and other therapies." In: *Exfoliative Cytopathology*, pp. 575-589. Little, Brown and Co. (1985).
3. I. Ramzy, "Effects of radiation and chemo-

- therapy." In: *Clinical cytopathology and aspiration biopsy, fundamental principles and practice*. pp. 107-116. Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut(1990).
4. T.G.Baker, "The sensitivity of oocytes in post-natal rhesus monkeys to X-irradiation." *J. Reprod. Fert.* **12**. 183-192(1966).
 5. R.L.Dobson and J.S. Felton, "Female germ cell loss from radiation and chemical exposures." *Am. J. Indust. Med.* **4**. 175-190(1983).
 6. B.H.Erickson, "Effects of ionizing radiation and chemicals on mammalian reproduction." *Vet. Hum. toxicol.* **27**. 409-416(1985).
 7. L.D.Samuels, "Effects of polonium-210 on mouse ovaries." *Int. J. Rad. Biol.* **11**. 117-129(1966).
 8. C. Ronnback, "Effect of different strontium-90 doses on the microscopic structure of foetal mouse ovaries." *Acta Radiol. Oncology* **19**, 145-152(1980).
 9. T.Straume, R.L. Dobson, and T.C. Kwan, "Neutron RBEs and the radiosensitive target for mouse immature oocyte killing." *Radiat. Res.* **111**. 47-57(1987).
 10. N.N.Clapp, "Ovarian tumor types and their incidence in intact mice following wholebody exposure to ionizing radiation." *Radiat. Res.* **74**. 405-414(1978).
 11. K. Manova-Todorova, M. Bakalska-Nesheva, A. Boyadjieva-Michailova, R. Tsarvulkova-Denkova, L.S. Kuncheva, and V.J. Stefanov, "Structure of the ovary and induction of superovulation in infantile rats after local treatment with laser rays." *C. R. Acad. Bulg. Sci.* **40**. 105-108(1987).
 12. L. Halberstaedter and M. Ickowicz, "The early effects of X-rays on the ovaries of the rat." *Radiology*, **48**. 369-373(1947).
 13. S.-T.Lu, N.A. Lebeda, S.-J. Lu, S. Pettit, and S.M. Michaelson, "Effects of microwaves on three different strains of rats." *Radiat. Res.* **110**. 173-191(1987).
 14. A. Freud and U.A. Sod-Moriah, "Progesterone and estradiol plasma levels in neonatally irradiated cycling rats." *Endocrine Res.* **16**. 221-229(1990).
 15. H.Inano, K. Suzuki, H. Ishi-Ohba, Y. Imada, R. Kumagai, S. Kurihara, and A Sato, "Steroid hormone production in testis, ovary, and adrenal gland of immature rats irradiated in utero with ⁶⁰Co." *Radiat. Res.* **117**. 293-303(1989).
 16. Y.-K.Lee and Y.-D. Yoon, "Changes of the concentrations of steroid hormones in the porcine follicular fluids on atresia." *Kor. J. Fertil. Steril.* **12**. 83-98(1985).
 17. W. H. Niels and J. B. Roger, *Manual on Radiation Dosimetry*, Marcel Dekker Inc., New York.(1970).
 18. M.G.Metcalf, "Estimation of viability of bovine granulosa cells." *J. Reprod. Fert.* **65**. 425-429(1982).
 19. A.G.S.Byskov, "Atresia", In: *Ovarian Follicular Development and Function* (ed) Jones, R.F., pp. 533-562. Plenum Press, New York (1979).
 20. Y.-D. Yoon, Studies on the quantitative changes of the mammalian follicular components. Ph. D. dissertation, Seoul Nat'l Univ.

- Seoul Korea(1981).
21. C.H.Hobbs and R.O. McClellan, Casarett and Doull's Toxicology : Toxic Effects of Radiation and Radioactive Materials. (ed) Klassen, C.D. pp. 669-705, MacMillan(1986).
 22. J.S.Richards, "Maturation of ovarian follicles : Actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation." *Physiol. Rev.* **60**. 51-89(1980).
 23. G.S.diZerega and G.D.Hodgen, "Folliculogenesis in the primate ovarian cycle." *Endocrine Rev.* **2**, 27-49 (1981).
 24. A. Tsafiri and R.H. Braw, "Experimental approaches to stesia in mammals." *Oxford Rev. Reprod. Biol.* **6**. 226-265(1984).
 25. C.H.Bill and G.S. Greenwald, "Acute gonadotropin deprivation. I. A model for the study of follicular stesia." *Biol. Reprod.* **24**. 913-921(1981).
 26. K.P.McNatty, D.M. Smith, A. Makris, R. Osa-thanondh, and K.J. Ryan, "The microenvironment of the human antral follicle : interrelationships among the steroid levels in antral fluid, the population of granulosa cells, and the status of the oocyte in vivo and vitro." *J. Clin. Endocr. Metab.* **49**. 851-860(1979).
 27. K. Suzuki and B.I. Tamaoki, "Postovulatory decrease in estrogen production is caused by the diminished supply of aromatizable androgen to ovarian aromatase." *Endocrinology* **107**. 2115-2116(1980).
 28. R.S.Carson, J.K. Findlay, I.J.Clarke, and H.G. Burger, "Estradiol, testosterone, and androstenedione in ovine follicular fluid during growth and atresia of ovarian follicles." *Biol. Reprod.* **24**. 105-113(1981).
 29. J.J.Peluso, I. Brown, and R.W. Steger, "Effect of cyproterone acetate, a potent antiandrogen, on the preovulatory follicle." *Biol. Reprod.* **21**. 929-936(1979).
 30. B.Gondos, "Ultrastructure of follicular atresia in the rat." *Gamete Res.* **5**. 199-206(1982).
 31. K. Taya and G.S. Greenwald, "In vitro ovarian steroidogenesis in the long term hypophysectomized hamster." *Endocrinology* **106**. 1092-1098(1980).
 32. B.R.Do, Effect of ketamine-HCl on the steroidogenesis and atresia of rat ovarian follicle. MS dissertation, Hanyang Univ. Seoul, Korea 1989.
 33. J.L.Tilly, K.I. Kowalski, D.W. Schomberg, and A.J.W. Hsueh, "Apoptosis in atretic ovarian follicles is associated with selective decreases in messenger ribonucleic acid transcripts for gonadotropin receptors and cytochrome P 450 aromatase." *Endocrinology* **131**. 1670-1676(1992).

γ -ray Effects on Steroid Hormone Concentration of Mouse Ovarian Follicles

Young-Keun Lee · Jin Kyu Kim · Yong-Dal Yoon*

*Korea Atomic Energy Research Institute, Hanyang University**

ABSTRACT

Mice were whole body irradiated with dose of 2.88 Gy and 7.2 Gy(Co-60) in order to observe the morphological and functional changes in radio sensitive mouse ovary. Microtechnical sectionates of 7 μ m thickness from ovary were made for light microscopy and concentrations of progesterone, testosterone and estradiol in ovarian homogenates were analyzed by radioimmunoassay. Gamma radiation resulted in the increase of atretic ratio of preantral and antral follicles, the increase of progesterone concentration in ovarian homogenates, and the low level of testosterone and estradiol. It is suggested that radiation protect the activity of 3 β -HSD(hydroxysteroid dehydrogenase) and isomerase in the follicular theca cell followed by low level of testosterone and estradiol and thereafter follicular atresia proceed.

Key words : radiation, mouse ovary, atresia, steroid hormone