

## 흰쥐 난포의 성장과 퇴화에 따른 bcl-2 단백질 발현에 관한 면역조직화학적 연구

고필옥 · 정성윤\* · 조경제\* · 최완성\* ·곽수동

경상대학교 수의과대학 동물의학연구소  
경상대학교 의과대학 해부학교실\*  
(1999년 1월 8일 접수)

### Immunohistochemical study on the expression of bcl-2 protein during follicular development and atresia in the rat ovary

Phil-ok Koh, Sung-yoon Jeong\* , Gyeong-jae Cho\* , Wan-sung Choi\* , Soo-dong Kwak

*Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine  
Department of Anatomy, College of Medicine Gyeongsang National University\**  
(Received Jan 8, 1999)

**Abstract** : In the mammalian ovary, follicular development and atresia continuously occur during the reproductive cycles. Follicular atresia occurs through granulosa cell apoptosis. Apoptosis is known as the physiological cell death, which is regulated by bcl-2 gene family. In the bcl-2 gene family, bcl-2 and bcl-xLong are known as inhibitors of apoptosis, whereas bax and bcl-xShort are known as inducer of apoptosis. We thought that bcl-2 protein is associated with follicular development and atresia. But it is not known that the distribution of cells containing bcl-2 protein during follicular development and atresia. Therefore, to examine the distribution of cells with bcl-2 protein during ovarian follicular development and atresia, the immunohistochemistry was used in the rat ovary. Bcl-2 immunoreactivity was localized in the interstitial cells, theca externa cells and granulosa cells around of antrum. All positive signals were observed in the cytoplasm of these cells. Positive signals were strongly observed in the interstitial and theca externa cells of growing antral follicles. While, positive signals were weakly observed in these cells from atretic antral follicles. Positive signals were very weakly observed in the granulosa cells of growing and atretic antral follicles.

According to these data, we suggested that bcl-2 proteins which were strongly expressed in the interstitial cells and theca externa cells of growing antral follicles inhibit follicular atresia. And we purposed that bcl-2 proteins regulated follicular development and atresia through the action of bcl-2 gene family.

**Key words** : apoptosis, bcl-2, immunohistochemistry, ovary, rat.

## 서 론

포유류의 난소는 발정주기에 따라 난포의 성장과 퇴화가 끊임없이 일어나지만 이중 완전히 성숙하여 배란에 까지 이르는 난포는 전체 난포의 0.1% 정도에 불과하며 대부분의 난포는 성장중 퇴화의 과정을 거치게 된다<sup>1,2</sup>. 이러한 난포의 퇴화는 자연적인 세포사로 알려진 apoptosis에 의해 일어난다<sup>3</sup>.

Apoptosis는 180~200bp의 규칙적인 DNA 절단, 염색질의 응축, 세포막의 농포, 아포토시스소체(apoptotic body) 형성 등의 형태학적인 변화와 APO-1/Fas, TNF- $\alpha$ , bcl-2, bax, p53 등의 유전자들의 변화를 나타냄으로 세포의 괴사인 necrosis와는 다른 개념으로 규정되고 있다<sup>4</sup>. 이러한 유전자의 변화로 apoptosis가 일어나는 것은 여러단계의 과정을 필요로 한다. Apoptosis 과정을 보면 먼저 TNF, Fas ligand가 세포막의 TNF receptor와 Fas에 반응하여 이들 receptor의 death domain을 활성화시키고 Flice(caspase 8)에 의해서 미토콘드리아막의 투과성 변화(permeability transition)가 일어난다. 이 과정에서 미토콘드리아 내막의 cytochrome C가 세포질로 방출되어 procaspase 3를 caspase 3로 전환한다. 활성화된 caspase 3는 actin, fordin, lamin B, PARP를 포함하는 핵단백질을 붕괴시켜 DNA의 절단, 핵의 응축과 함께 세포질의 응축을 보이게 된다<sup>5-8</sup>. 이들 단계에서 bcl-2는 미토콘드리아에서 cytochrome C의 방출을 차단하여 apoptosis를 억제하게 된다<sup>5,6</sup>.

Bcl-2는 세포막, 미토콘드리아, 형질내세망 및 핵막 등에 위치하는<sup>9,10</sup> apoptosis를 억제하는 유전자이며 bcl-2 gene family에 속하는 bax와 heterodimer를 형성하여 apoptosis의 유도에 관련하는데 이때는 bcl-2와 bax의 구성비율이 세포의 생존에 중요한 역할을 한다<sup>11</sup>. 지속적으로 apoptosis가 진행되는 난소에서는 apoptosis 억제유전자인 bcl-2 및 bcl-xlong과 apoptosis 유도유전자인 bax 및 bcl-xshort의 발현이 보고되었다<sup>12,13</sup>.

난소에서의 apoptosis의 과정은 호르몬에 의해 조절되는데 FSH와 estrogen은 apoptosis를 억제하며<sup>14,15</sup> GnRH와 androgen은 apoptosis를 유도하는 것으로 알려져 있다<sup>15,16</sup>. 또한 gonadotrophin의 투여는 과립세포의 apoptosis를 억제하게 되는데 이때 bax의 현저한 감소가 나타나게 된다<sup>12</sup>. 이들 호르몬들은 apoptosis에 관련된 유전자들을 조절하므로 난포의 성장과 퇴화는 apoptosis를 조절하는 유

전자에 의해 영향을 받을 것으로 생각된다. 난포의 성장과 퇴화에 관련된 기전을 이해하기 위해서는 이들 유전자의 형태학적 분포에 관한 연구가 필요하다.

따라서 본 연구에서는 흰쥐 난소의 성장하는 난포와 퇴화하는 난포에서 TUNEL 법에 의해 apoptosis가 일어나는 세포의 분포와 bcl-2 단백질이 발현되는 세포를 면역조직화학적 방법으로 조사하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료 및 조직처리** : 실험동물은 Sprague-Dawley계 흰쥐(체중 250gm)를 사용하였다. 조직을 채취하기 위하여 ketamine hydrochloride(케타라, 50mg/ml)와 xylazine(룸폰, 20mg/ml)을 체중 100gm당 0.15ml 및 0.05ml씩 섞은 용액을 복강내 주사하여 마취시킨 후 심장을 통하여 4% neutral buffered paraformaldehyde로 난소를 관류고정하였다. 관류고정된 난소를 채취하여 동일 고정액에서 12시간의 후고정을 시행하였다. 이어 5 $\mu$ m 두께의 파라핀 절편을 만들고 일반적인 조직의 형태를 관찰하기 위해서 H & E 염색을 실시하였다.

**TUNEL 방법** : Apoptosis가 진행되는 난포를 확인하기 위하여 Palumbo<sup>17</sup>의 방법에 따라 digoxigenin-dUTP를 이용한 ApopTag Kit(Oncor, 미국)를 사용하였다. 절편한 조직을 proteinase K(20 $\mu$ g/ml)로 처리한 후 equilibration buffer를 점적하여 실온에서 5분간 반응시켰다. Terminal deoxynucleotidyl transferase(TdT)와 digoxigenin-dUTP를 TdT buffer에 혼합하여 점적하고 plastic cover slip을 덮어 wet chamber를 이용하여 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시켰다. Stop/wash buffer로 반응을 정지시켰고 anti-digoxigenin-peroxidase를 점적하여 30분 반응시킨 후 3,3'-diaminobenzidine으로 발색하고 hematoxylin으로 대조염색을 하여 세포핵이 짙은 갈색으로 발색되는 세포를 양성반응 세포로 간주하였다.

**면역조직화학적 방법** : Bcl-2 단백질이 발현되는 세포를 조사하기 위하여 아래와 같은 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 조직자체의 peroxidase를 제거하기 위해서 과산화수소수가 0.3% 첨가된 methanol에 30분간 처리한 후 0.1M sodium phosphate buffer(0.1M PB)에 5분간 3회 수세하고 1차 항체로 1:40~1:80으로 희석한 bcl-2 mouse IgG(Calbiochem)를 4 $^{\circ}$ C에서 overnight 처리하였다. 2차 항체는 1:200으로 희석한 biotinylated anti-mouse IgG

(Vectastain)를 실온에서 한시간 반응시킨 후 peroxidase가 표지된 avidin-biotin complex 용액에서 한시간 반응시켰다. 항체처리시 각 단계의 수세는 0.1M PB로 5분간씩 3회 실시하였다. 3,3'-diaminobenzidine(Sigma)으로 발색한 후 hematoxylin으로 대조염색을 하여 짙은 갈색으로 발색되는 세포를 양성세포로 간주하여 이들 세포들의 분포를 광학현미경으로 조사하였다.

## 결 과

흰쥐 난소에서 3차난포를 대상으로 난포강이 처음 형성되는 초기 강난포(초기 강난포)와 난구가 형성될 정도로 난포강이 증대된 중기 이후 강난포(중기 이후 강난포)를 대상으로 조사하였다. 이들 난포들중에 성장하는 난포와 퇴화하는 난포의 구분은 Hughes<sup>3</sup>와 Hirshfield *et al*<sup>1</sup>의 기준에 따라 과립세포가 치밀하고 규칙적으로 배열되며 건강해 보이는 난포를 성장하는 난포로, 과립세포층이 얇아지거나 불규칙적으로 배열되며 일부 과립세포가 난포강내로 탈락되거나 일부 핵이 농축 또는 붕괴되어 있는 난포를 퇴화하는 난포로 간주하였다. 이러한 소견의 기준에 대한 3차 난포에 대하여 TUNEL 법에 강한 양성반응을 나타내는 세포와 bcl-2 단백질의 발현세포를 그 반응정도에 따라 조사하여 Table 1과 같은 결과를 얻었다.

성장하는 초기 강난포에서 TUNEL 법에 양성반응은 과립세포, 난포막세포, 간질세포에서는 관찰되지 않았고 bcl-2 단백질에 대한 양성반응세포는 이들 난포주변의 간질세포에서 강하게 관찰되었고 난포외막세포에서도 양성반응세포가 관찰되었으며 난포강 주위의 과립세포에서도 소수의 양성반응세포를 관찰할 수 있었다(Fig 1a, 1b, 1c).

건강한 중기 이후 강난포에서 TUNEL 법에 양성반응은 난포막세포, 간질세포에서는 관찰되지 않았고 대부분의 과립세포에서도 양성반응이 관찰되지 않았으나 난포강 주위 몇몇 극소수의 세포들에서 약한 양성반응이 관찰되었다. 이들 세포에서 bcl-2 단백질에 대한 양성반응세포들은 난포주변의 간질세포, 난포외막세포와 난포강 주위의 과립세포들에서 양성반응세포를 관찰할 수 있었다(Fig 2a, 2b, 2c).

퇴화하는 초기 강난포에서 TUNEL 법에 강한 양성반응을 나타내는 세포들은 난포강의 벽을 형성하고 있는 과립세포와 난포강내로 탈락된 일부 세포에서 관찰되었고 난포막세포와 간질세포에서는 극소수의 세포에서만 아주 약한 양성반응이 관찰되었다. Bcl-2 단백질에 대한 양성반응세포들은 이들 세포에서 관찰되었으나 그 반응이 약하였고 소수의 난포강 주위의 과립세포에서도 약하게 관찰되었다(Fig 3a, 3b, 3c).

퇴화하는 중기 이후 강난포에서 TUNEL 법에 양성반응을 나타내는 세포들은 과립세포와 난포강 내로 탈락된 세포에서 강한 양성반응을 나타내었고 난포막세포와 간질세포에서는 양성반응이 나타나지 않았다. 이들 세포에서 bcl-2 단백질에 대한 양성반응은 난포외막세포와 난포강 주위의 과립세포, 간질세포에서 관찰되었으나 아주 약한 양성반응을 나타내었다(Fig 4a, 4b, 4c).

## 고 찰

난포의 퇴화는 과립세포의 apoptosis에 의해 일어난다고 하였으나<sup>3</sup> Palumbo *et al*<sup>17</sup>은 과립세포외에 난포막세포에서도 apoptosis가 진행됨을 보고하였다. 본 연구에서도 퇴화하는 난포의 과립세포에서 TUNEL에 강한 양성반응을 주로 관찰할 수 있었고 난포막세포와 간질세포

Table 1. Appearance of apoptotic cells and expression of bcl-2 protein at different stages of follicles in rat ovaries

	Healthy follicle						Atretic follicle					
	Early antral follicle			Antral follicle			Early antral follicle			Antral follicle		
	GC	TC	IC	GC	TC	IC	GC	TC	IC	GC	TC	IC
TUNEL	-	-	-	-	-	-	+++	-	-	+++	-	-
Bcl-2	+	++	+++	+	++	++	+	+	+	+	+	+

Signal intensity; -, no or very weak; +, weak; ++, moderate; +++, intense. GC, Granulosa cell; TC, Theca externa cell; IC, Interstitial cell.

에서는 극소수의 세포에서만 아주 약한 양성반응을 나타내어 난포의 퇴화는 주로 과립세포의 apoptosis에 의해서 일어남을 확인할 수 있었다.

난소에서 apoptosis를 억제하는 bcl-2 단백질의 발현에 관한 연구로 Krajewski *et al*<sup>18</sup>은 bcl-2 protein family에 속하는 bak 단백질이 난포내막에서 Hsu *et al*<sup>19</sup>은 bcl-2를 과다하게 발현시킨 transgenic mouse에서 bcl-2 단백질이 난포막세포와 간질세포의 세포질에서 발현된다고 보고하였다. 본 연구에서는 bcl-2 단백질이 난포주위의 간질세포, 난포외막세포와 난포강 주위 과립세포에서 발현되었으며 성장하는 초기 강난포와 중기 이후 강난포의 난포주위의 간질세포와 난포외막세포의 세포질에서 강하게 발현되어 apoptosis를 억제하고 퇴화하는 초기 강난포와 강난포의 간질세포와 난포외막세포에서 약하게 발현되어 난포의 성장과 퇴화에 따라 발현양에 따른 반응의 차이를 보였다.

Foghi *et al*<sup>20</sup>은 apoptosis가 활발하게 진행되지 않는 난포막세포와 간질세포에 TGF $\alpha$ 와 TGF $\beta$ 의 혼합처리는 bcl-2 mRNA를 현저하게 감소시켜 apoptosis를 유도하고 이들 각각의 단독처리는 bcl-2 mRNA의 증가와 ICE (interleukin-1 $\beta$  converting enzyme)의 감소로 apoptosis를 억제한다고 보고하였다. 이들의 결과는 난포막세포와 간질세포에서 bcl-2 mRNA의 증가와 감소가 apoptosis를 유도하거나 억제하는데 관련이 있다는 것을 의미하며 본 조사와 일치한다고 생각된다. 앞선 본 연구자의 연구를 보면<sup>21</sup> 흰쥐의 난소에서 bcl-2 mRNA는 간질세포와 난포외막세포에서 주로 발현되고 성장하는 난포의 간질세포와 난포외막세포에서는 발현양이 증가하였으나 퇴화하는 난포의 이들 세포에서는 감소하는 소견을 *in situ* hybridization을 통해서 형태학적으로 관찰한 바 있다.

또한 난포의 과립세포에서 bcl-2 단백질은 난포의 성장과 퇴화에 관계없이 제한적으로 발현되었고 발현양의 변화는 없었다. Tilly *et al*<sup>12</sup>은 eCG(equine chronic gonadotropin)가 과립세포의 apoptosis를 억제하여 난포를 성장시키며 난포의 성장과 퇴화는 bcl-2 gene family의 bcl-2와 bax에 의해 유도되고 eCG를 투여하여 난포를 성장시킨 후 과립세포에서의 bcl-2와 bax의 변화를 비교분석한 결과 bcl-2 mRNA는 117 $\pm$ 11% 정도로 증가하는 반면 bax mRNA는 29 $\pm$ 5%로 감소하였다고 보고하였다. 이를 통하여 bcl-2 및 bcl-xlong mRNA의 변화는 거의 일정하였지만 bax mRNA가 감소하여 난포의 성장을 유도하며

Oltvai *et al*<sup>11</sup>이 보고한 bcl-2와 bax의 비율이 세포의 생존에 중요한 역할을 한다는 사실을 증명해주었다. 조 등<sup>22</sup>은 난포의 과립세포는 난포의 성장과 퇴화에 관계없이 bcl-2 mRNA의 발현양이 일정하게 유지되는 반면 퇴화하는 난포의 과립세포에서 bax mRNA가 현저하게 증가하여 난포의 퇴화를 유도함을 형태학적으로 보여주었다. 이들의 결과는 난포의 과립세포에서 bcl-2 단백질이 성장하는 난포와 퇴화하는 난포에서는 발현양이 변화가 없다는 본 연구의 결과와 일치하였다.

Hsu *et al*<sup>19</sup>은 bcl-2를 과다하게 발현시킨 transgenic mouse의 난소가 증대되고 난포퇴화가 55% 이상 줄어 들었으며 PMSG로 과배란을 유도했을 때 배란율이 정상군은 17% 였으나 transgenic mouse는 61%로 증가되어 bcl-2의 과다한 발현이 난포의 성장과 배란율을 증가시켰다고 보고한 바 있다. Ratts *et al*<sup>22</sup>은 생쥐에서 bcl-2의 제거에 의해 일차난포와 난자의 수가 줄어드는 것을 보고하였다. 본 연구에서는 bcl-2 단백질의 정량은 조사하지 않았지만 발현의 강도로 보아 성장하는 난포의 난포외막세포와 간질세포에서 많은 양이 발현되었고 퇴축하는 난포의 이들 세포에서는 적은 양이 발현되었다.

Kudlow *et al*<sup>23</sup>이 TGF- $\alpha$ (transforming growth factor- $\alpha$ )는 난포외막세포와 간질세포에 발현이 되지만 과립세포에 존재하는 수용체와 반응하여 과립세포를 성장, 분화시켜 난포를 성장시킨다고 보고하였다. 따라서 bcl-2 단백질도 간질세포와 난포외막세포에 주로 발현되어 난포의 퇴화를 억제하지만 이는 bcl-2 단백질이 단독으로 작용하는 것이 아니라 bcl-2 gene family의 bax, bad, bcl-xLong 등의 단백질과의 결합을 통한 상호작용으로 난포의 성장과 퇴화를 조절하는 것으로 추측된다.

## 결론

흰쥐 난소의 성장하는 난포와 퇴화하는 난포에서 apoptosis를 강력하게 억제하는 bcl-2 단백질이 발현되는 세포를 조사하기 위하여 난포강을 형성한 3차 난포들을 대상으로 초기 강난포와 중기 이후의 강난포로 구분하였고 이들 난포들에서 성장하는 난포와 퇴화하는 난포를 TUNEL 반응에 따라 apoptosis 세포의 출현을 조사하고 난포의 성장과 퇴화에 따른 bcl-2 단백질의 발현세포를 면역조직화학적 방법으로 조사하였다.

Bcl-2 단백질은 모든 강난포에서 난포주위의 간질세

포, 난포외막세포와 난포강 주위의 과립세포에서 발현되었으나 성장하는 초기 강난포와 건강한 중기 이후 강난포의 간질세포와 난포외막세포에서 강한 양성반응을 나타내었고 이들 퇴화하는 난포의 간질세포와 난포외막세포에서 약한 양성반응을 나타내어 성장과 퇴화에 따

른 차이를 나타내었다. 그러나 과립세포에서는 난포의 성장과 퇴화에 따른 발현의 변화는 관찰되지 않았다.

따라서 bcl-2 단백질은 주로 난포주위의 간질세포와 난포외막세포에서 발현되고 성장하는 난포의 이들 세포에서 증가하여 apoptosis를 억제할 것으로 생각되었다.

## Legends for figures

**Fig 1 and 2.** Localization of cell death and bcl-2 protein in the growing follicles.

1a: In early antral follicles, granulosa cells appear healthy and form multiple layers surrounding the oocyte. H-E. The bar represents 100 $\mu$ m. 2a: In a preovulatory antral follicle, large antrum has formed, granulosa layer was thick and well defined, and the oocyte were surrounded by intact layers of cumulus cells. H-E. The bar represents 100 $\mu$ m. 1b and 2b: Positive signals of TUNEL method in the growing follicle were not observed. 1c and 2c: Positive reactions of bcl-2 were observed in the interstitial cells, theca externa cells and granulosa cells around of antrum. Especially, bcl-2 proteins were strongly expressed in the theca externa cells and interstitial cells. A arrow indicates interstitial cells and a arrowhead indicates theca externa cells.

**Fig 3 and 4.** Localization of cell death and bcl-2 protein in the atretic follicles.

3a: In early antral follicles, granulosa cells had pyknotic nuclei and were detached from the antral wall. H-E. The bar represents 100 $\mu$ m. 4a: In the antral follicles, granulosa cells were partially detached. H-E. The bar represents 100 $\mu$ m. 3b, 4b: Strong positive signals of TUNEL method were observed in the granulosa cells. Arrowheads indicate apoptotic nuclei. 3c, 4c: Positive immunoreactivity of bcl-2 were observed in the granulosa cells and were weakly observed in the theca externa cells and interstitial cells.

## 참 고 문 헌

- Hirshfield AN. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol*, 124:43-101, 1991.
- Tsafri A, Brow RH. Experimental approaches to atresia in mammals. *Oxf Rev Reprod*, 6:226-265, 1984.
- Hughes FM, Gorospe WC. Biochemical identification of apoptosis(programmed cell death) in granulosa cells: Evidence for a potential mechanism underlying follicular atresia. *Endocrinology*, 129:267-277, 1991.
- Schwartzman RA, Cidlowski JA. Apoptosis: the biochemistry and molecular biology of programmed cell death. *Endocr Rev*, 14:133-51, 1993.
- Yang J, Bhalla K, Kim CN, *et al*. Prevention of apoptosis by bcl-2: release of cytochrome C from mitochondria blocked. *Science*, 275:1129-1132, 1997.
- Kluck RM, Wetzel EB, Green DR, *et al*. The release of cytochrome C from mitochondria: a primary site for bcl-2 regulatory of apoptosis. *Science*, 275:1132-1136, 1997.
- Muzio M, Chinnaiyan AM, Kischkel FC, *et al*. FLICE, a novel FADD-homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to the CD95(Fas/APO-1) death-inducing signaling complex. *Cell*, 14:85:817-27, 1996.
- Nicholson DW, Ali A, Thornberry NA, *et al*. Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis. *Nature*, 6:376:37-43, 1995.
- Hockenberry D, Nunez G, Milliman C, *et al*. Bcl-2 is



- a inner mitochondria membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature*, 348:334-336, 1990.
10. Jacobson MD, Burne JF, King MP, *et al.* Bcl-2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA. *Nature*, 361:365-369, 1993.
  11. Oltvai ZN, Milliman CL, Korsmeyer SJ. Bcl-2 heterodimerizes *in vivo* with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell*, 74:609-619, 1993.
  12. Tilly JL, Tilly KI, Kento ML, *et al.* Expression of members of the bcl-2 gene family in the immature rat ovary: equine chorionic gonadotropin-mediated inhibition of granulosa cell apoptosis is associated with decreased bax and constitutive bcl-2 and bcl-xlong messenger ribonucleic acid levels. *Endocrinology*, 136:232-241, 1995.
  13. Johnson AL, Bridgham JT, Witty JP, *et al.* Susceptibility of avian ovarian granulosa cells to apoptosis is dependent upon stage of follicle development and is related to endogenous levels of bcl-xlong gene expression. *Endocrinology*, 137:2059-66, 1996.
  14. Billig H, Furuta I, Hsueh AJ. Estrogens inhibit and androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology*, 133:2204-2212, 1993.
  15. Chun SY, Eisenhauer KM, Minami S, *et al.* Hormonal regulation of apoptosis is early antral follicle; Follicle-stimulating hormone as a major survival factor. *Endocrinology*, 137:1447-1456, 1996.
  16. Billig H, Furuta I, Hsueh AJ. Gonadotropin-releasing hormone directly induces apoptotic cell death in the rat ovary: biochemical and *in situ* detection of eox-yribonucleic acid fragmentation in granulosa cells. *Endocrinology*, 134:245-252, 1994.
  17. Palumbo A, Yeh J. *In situ* localization of apoptosis in the rat ovary during follicular atresia. *Biol Reprod*, 51:888-895, 1994.
  18. Krajewski S, Krajewska M, Reed JC. Immunohistochemical analysis of *in vivo* patterns of Bak expression a proapoptotic member of the Bcl-2 protein family. *Cancer Research*, 15:2849-2855, 1996.
  19. Hsu SY, Lai RJ, Finegold M, *et al.* Targeted overexpression of Bcl-2 in ovaries of transgenic mice leads to decreased follicle apoptosis, enhanced folliculogenesis, and increased germ cell tumorigenesis. *Endocrinology*, 137:4837-43, 1996.
  20. Foghi A, Teerds KJ, van der Donk H, *et al.* Induction of apoptosis in thecal/interstitial cells: action of transforming growth factor (TGF) alpha plus TGF beta on bcl-2 and interleukin-1 beta-converting enzyme. *J Endocrinol*, 157:489-94, 1998.
  21. 조경제, 고필옥, 박수동 등. 흰쥐 난포의 성장과 퇴화에 따른 CDK inhibitor(CDI) p57 및 bcl-2 mRNA 발현. 대한해부학회지, 31(3):361-370, 1998.
  22. Ratts VS, Flaws JA, Kolp R, *et al.* Ablation of bcl-2 gene expression decreases the numbers of oocytes and primordial follicles established in the post-natal female mouse gonad. *Endocrinology*, 136:3665-3668, 1995.
  23. Kudlow JE, Kobrin MS, Purchio AF, *et al.* Ovarian transforming growth factor-alpha gene expression: immunohistochemical localization to the theca-interstitial cells. *Endocrinology*, 121:1577-1579, 1987.