

< Original Article >

한우에서 거세에 의한 Testosterone 결핍이 사이토카인의 변화에 미치는 영향 연구

김성범 · 조아라 · 최창용 · 정영훈 · 류재규 · 김은주 · 도윤정*

농촌진흥청 국립축산과학원 가축질병방역팀

The change aspects between testosterone and cytokines by castration in Hanwoo cattle

Seong Bum Kim, Ara Cho, Changyong Choe, Younghun Jung,
Jae Gyu Yoo, Eunju Kim, Yoon Jung Do*

Animal diseases & Biosecurity Team, National Institute of Animal Science,
Rural Development Administration, Wanju 55365, Korea

(Received 28 September 2017; revised 13 November 2017; accepted 17 November 2017)

Abstract

The purpose of this study is to determine the changes of cytokines and immune cells in blood in castrated Hanwoo. The cytokine production and the number of immune cells were determined by collecting blood from jugular vein before castration and on 1, 7, and 28 days then after. Results of the hemato-logical test showed that the number of leukocyte tend to increase after castration, and it significantly decreased on day 7 and day 28 ($P < 0.05$). Lymphocytes decreased significantly on day 1 and 7 ($P < 0.05$), and then recovered as in neutrophils on day 28. The levels of serum testosterone, TNF- α , IL-6, and anti-inflammatory IL-10 significantly decreased ($P < 0.05$) after castration. There was also a decrease in IL-2, IFN- γ , and IL-4 but showed no significant difference when compared to intact ones. These results suggest that testosterone-deficiency does not affect the number of immune cells in blood, but has a close relationship with cytokine production.

Key words : Testosterone, Cytokine, Castration, Hanwoo

서 론

2016년 12월 기준으로 도축된 한우 중 거세우 비율은 363,332두(49.3%)로(APGS, 2017) 쇠고기 생산에 한우 거세우가 상당부분 차지하고 있다. 비육우에서 주로 거세를 실시하며, 방법으로는 고환을 제거하는 외과적 수술 법, 화학적(약물주입) 방법 등이 있고, 외과적 수술(surgical Castration) 또는 화학적 거세(chemical castration)를 통해 테스토스테론(testosterone) 호르몬의 생성을 현저하게 감소시킨다(Cohen 등,

1990). 외과적 수술로 제거하게 되는 고환은 곱슬정세관(semiferous tubule)과 간질조직(interstitium)으로 나뉘며, 곱슬정세관에서 정자를 생산하고(Ariyaratne 등, 2000; Tae 등, 2016). 간질세포는 고환 내 내분비 기능을 담당하며 테스토스테론 같은 성 호르몬을 분비한다(Zirkin과 Chen, 2000).

성 호르몬인자가 면역에 미치는 영향으로는 직접적으로 일차 림프 기관(primary lymphoid organs)과 간접적으로 사이토카인(cytokine)을 통해 말초 면역 세포(peripheral immune cells)와 상호 작용하여 면역 시스템의 발달과 조절에 관여하는 것으로써(Cutolo 등, 2004), 서로 다른 사이토카인을 생산하는 T helper1

*Corresponding author: Yoon Jung Do, Tel. +82-63-238-7222,
Fax. +82-63-238-7235, E-mail. clonea@korea.kr

(Th1)과 T helper2 (Th2) 림프구 반응의 균형을 유지한다. 세포(매개)성 면역(Cell-mediated immunity)인 Th1은 interleukin-2 (IL-2), interferon-gamma (IFN- γ) 및 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)의 생산에 주로 관여하며, 체액성 면역(humoral immunity)인 Th2는 interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), 생성에 관여한다(Raphael 등, 2015). *In vitro* 실험결과에서 테스토스테론은 T 림프구의 Th1과 Th2에 대한 분화에 영향을 미치는 것으로 나타났으며(Piccinni 등, 1995; Gilmore 등, 1997), 마우스를 이용한 *in vivo* 실험에서는 암컷보다 수컷에서 Th2 관련 사이토카인이 Th1 사이토카인보다 더 많이 생산되는 것으로 나타났다(Cua 등, 1995; Bebo 등, 1997). 또한 과도한 면역 반응에 의해 유발되는 자가면역질환 모델인 실험용 마우스와 랫드를 이용하여 자가면역 뇌척수염(experimental autoimmune encephalomyelitis) (Bebo 등, 1998; Matejuk 등, 2005; Ziehn 등, 2012)과 자가면역 고환염(experimental autoimmune orchitis) (Steenstra 등, 1989; Fijak 등, 2011) 등 자가면역 질환과 호르몬과의 관계에 대해 다양한 연구가 진행되고 있다.

이와 같이 실험동물을 이용한 성호르몬과 면역인자간의 연관성에 대한 연구는 진행된 바 있으나, 산업동물인 소에서의 거세 전·후 생체변화 연구는 육질변화 및 사양관리에 대해 집중되어 있다. 기존 보고를 토대로 소에서 역시 거세 후 호르몬 변화에 의해 혈중 면역인자의 수치가 영향을 받을 것으로 기대되며, 이를 확인하기 위하여 본 연구에서는 한우 거세 전·후 혈중 호르몬 변화와 그에 따른 백혈구 및 사이토카인 변화를 조사하여 비교 분석 하였다.

재료 및 방법

공시 축 및 혈액채취

본 연구의 실험동물은 국립축산과학원에 보유중인 한우 중 거세 대상축인 8두(평균체중 230 kg, 9개월령)를 공시하였으며, 5가지 주요 전염병(우 결핵, 요네병, 구제역, 브루셀라증, 소 백혈병)에 감염되지 않았다는 것을 확인하였다. 시료채취는 거세수술 전부터 거세수술 후 1일, 7일, 28일까지 경정맥에서 채혈하여 검사 목적에 따라 EDTA처리 및 비처리 채혈 병에 보존하였다. 또한, 연구에 사용된 실험동물의 관리 및 절차에 관해서는 국립축산과학원 동물실험

리위원회(Wanju, Korea)의 승인(승인번호: 2015-673)을 받아 수행하였다.

혈청분석

혈청 내 Cortisol, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α 에 대해 ELISA kits (Cusabio Biotech Co., Ltd, Wuhan, Hubei Province, China)를 사용하였고, 마이크로 플레이트 리더(Spectra Max i3)와 Soft Max Pro 6.4.1로 그 결과를 측정 및 분석하였다. 테스토스테론 분석은 네오딘벡랩(cobas 8000 e601)에 의뢰하여 Electrochemiluminescence 방법으로 분석하였다.

혈액학적 분석

혈액학적 분석은 혈액 일반 성분 자동 분석기(IDEXX ProCyt Dx Hematology Analyzer, IDEXX Laboratories, Maine, USA)를 이용하여, 시료채취 당일 1시간 이내에 백혈구(white blood cell), 호중구(NE, neutrophils), 림프구(LY, lymphocytes), 단핵구(MO, monocytes), 호산구(EO, eosinophils)를 분석하였다.

통계분석

시험에서 얻어진 모든 분석치는 각 처리구별로 평균±표준오차로 표시하였으며, 거세 전(Be C: before castration)을 대조구로 하여 이에 대한 그룹간의 유의성 검증 SPSS 통계 프로그램(2012, version 21.0)을 이용하여 *P*-value가 0.05 미만인 경우 유의성이 있는 것으로 평가하였다.

결 과

한우의 거세 전·후 혈액학적 분석

한우 8두에 대해 거세 전·후 시간에 따른 혈중 백혈구, 호중구, 림프구, 단핵구, 호산구수를 분석하였다(Table 1).

백혈구수는 거세 전 $13.36 \pm 1.14 \times 10^3/\mu\text{L}$ 를 나타내었으며, 거세 후 $14.70 \pm 1.19 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 증가하였지만 유의적인 차이는 보이지 않았다. 거세 후 7일에 $11.00 \pm 0.84 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 나타나 거세 전보다 유의적으로 감소하였으며($P < 0.05$), 28일에 $12.29 \pm 0.93 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로

Table 1. The difference of WBC profiles in prior to castration and after castration

Analyte (n=8)	WBC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	NE ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	LY ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	MO ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	EO ($\times 10^3/\mu\text{L}$)
Reference range	11.0~22.0	4.48~7.52	6.6~18.7	0.3~1.25	0.2~1.1
Before castration	13.36 \pm 1.14	4.65 \pm 0.42	7.49 \pm 0.68	0.87 \pm 0.05	0.35 \pm 0.10
1 day	14.70 \pm 1.19	7.51 \pm 0.58*	5.94 \pm 0.57*	1.03 \pm 0.09*	0.21 \pm 0.05*
7 day	11.00 \pm 0.84*	3.55 \pm 0.30*	6.43 \pm 0.60*	0.85 \pm 0.06	0.17 \pm 0.04*
28 day	12.29 \pm 0.93*	4.14 \pm 0.41	7.13 \pm 0.59	0.83 \pm 0.05	0.19 \pm 0.05*

WBC: white blood cell, NE: neutrophils, LY: lymphocytes, MO: monocytes, EO: eosinophils.

Data represent the mean \pm SE derived from eight Hanwoo cattle per days.

* $P < 0.05$ compared with the levels of the before castration.

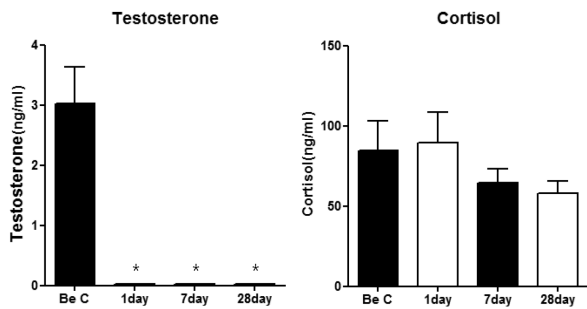


Fig. 1. The comparison of hormone level according to castration in Hanwoo cattle. Be C (before castration). Data represent the mean \pm SE derived from eight Hanwoo cattle per days. * $P < 0.05$ compared with the levels of the before castration.

거세 전보다 유의적으로 감소하지만($P < 0.05$), 거세 후 7일 보다는 증가함으로써 거세 전으로 회복되는 경향을 보였다.

호중구수(NE)는 거세 전 $4.65 \pm 0.42 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 나타났으며, 거세 후 1일에 $7.51 \pm 0.58 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 유의적으로 증가하였다($P < 0.05$). 7일에는 $3.55 \pm 0.30 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 거세 전보다 유의적으로 감소하였고($P < 0.05$), 28일에 $4.14 \pm 0.41 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 거세 전 수준으로 회복되는 결과를 나타내었다.

림프구수(LY)는 거세 전 $7.49 \pm 0.68 \times 10^3/\mu\text{L}$ 를 나타내었으며, 거세 후 1일에 $5.94 \pm 0.57 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 나타나 유의적인 감소를 보였다($P < 0.05$). 7일에는 $6.43 \pm 0.60 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 거세 전보다 유의적으로 감소하였으나($P < 0.05$) 1일 보다는 증가한 수치였다. 28일에는 $7.13 \pm 0.59 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 거세 전 수준으로 회복되는 결과를 나타내었다.

단핵구수(MO)는 거세 전 $0.87 \pm 0.05 \times 10^3/\mu\text{L}$ 를 나타내었으며, 거세 후 1일에 $1.03 \pm 0.09 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 유의적인 증가를 보였다($P < 0.05$). 이후 7일에는 $0.85 \pm 0.06 \times 10^3/\mu\text{L}$, 28일에는 $0.83 \pm 0.05 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 거세 전 수준으로 감소한 것으로 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다.

호산구수(EO)는 거세 전 $0.35 \pm 0.10 \times 10^3/\mu\text{L}$ 를 나타내었으나, 거세 후 1일에 $0.21 \pm 0.05 \times 10^3/\mu\text{L}$, 7일에

$0.17 \pm 0.04 \times 10^3/\mu\text{L}$ 그리고 28일에 $0.19 \pm 0.05 \times 10^3/\mu\text{L}$ 로 나타나 거세 전 보다 유의적으로 감소하는($P < 0.05$) 경향을 보여주었다.

한우의 거세 전·후 혈청 내 호르몬의 변화

거세 전·후 테스토스테론과 cortisol 수치를 비교 분석하였다(Fig. 1). 혈청 내 테스토스테론은 거세 전 $3.03 \pm 0.61 \text{ ng/mL}$ 를 나타내었으며, 거세 후 1일, 7일, 28일에서 0.03 ng/mL 로 유의적인 감소($P < 0.05$)를 나타내었다. Cortisol의 경우 거세 전 $84.75 \pm 18.47 \text{ ng/mL}$ 이었으며, 거세 후 1일에 $89.79 \pm 19.11 \text{ ng/mL}$ 로 소폭으로 증가하지만 유의적인 차이는 없었고, 7일 $64.66 \pm 8.65 \text{ ng/mL}$ 와 28일 $57.83 \pm 7.66 \text{ ng/mL}$ 로 감소하였지만 유의적인 차이는 없었다.

한우의 거세 전·후 Th1/Th2 사이토카인의 변화

거세 후 테스토스테론 결핍에 따라 Th1/Th2에 의해 생산되는 사이토카인을 비교하였다(Fig. 2). IL-2는 거세 전 $37.42 \pm 12.06 \text{ pg/mL}$ 와 거세 후 1일 $41.51 \pm 21.07 \text{ pg/mL}$ 로 큰 변화는 없었고 7일에는 $25.95 \pm 11.88 \text{ pg/mL}$ 와 28일에 $15.10 \pm 3.98 \text{ pg/mL}$ 수준으로 감소하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 없었다. IFN- γ 역시 거세 전 $0.37 \pm 0.21 \text{ ng/mL}$ 와 거세 후 1일 $0.38 \pm 0.22 \text{ ng/mL}$ 로 큰 변화는 없었고 7일 $0.25 \pm 0.17 \text{ ng/mL}$ 와 28일 $0.08 \pm 0.04 \text{ ng/mL}$ 로 감소하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 없었다. IL-4는 거세 전 $6.06 \pm 2.41 \text{ pg/mL}$ 와 거세 후 1일 $7.61 \pm 2.88 \text{ pg/mL}$, 7일 $9.65 \pm 3.48 \text{ pg/mL}$ 로 큰 변화는 없었고 28일 $22.85 \pm 16.10 \text{ pg/mL}$ 에서 증가하는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 없었다. 그러나 TNF- α , IL-6, IL-10에서 대조적인 결과를 확인 하였다. TNF- α 는 거세 전 $62.72 \pm 47.56 \text{ ng/mL}$ 와 비교하여 거세 후 1일 $4.82 \pm 4.59 \text{ ng/mL}$, 7일 $7.70 \pm 1.79 \text{ ng/mL}$, 28일

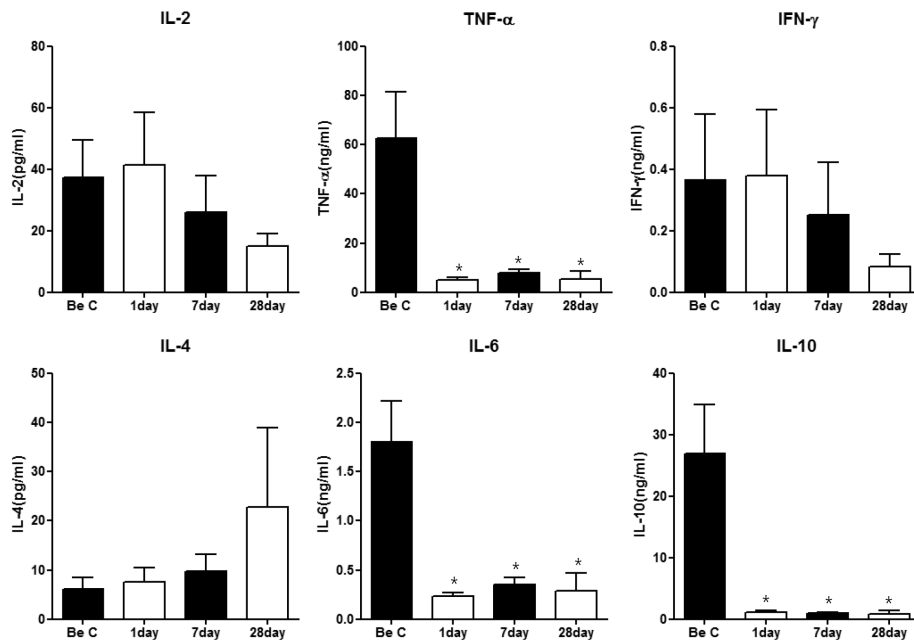


Fig. 2. The comparison of Th1/Th2-type cytokine level according to castration in Hanwoo cattle. Be C (before castration). Data represent the mean±SE derived from eight Hanwoo cattle per days. * $P < 0.05$ compared with the levels of the before castration.

5.48±3.21 ng/mL에서 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). IL-6는 거세 전 1.80±0.41 ng/mL와 비교하여 거세 후 1일 0.23±0.04 ng/mL, 7일 0.35±0.07 ng/mL, 28일 0.29±0.18 ng/mL 수준으로 유의적인 감소를 보였다($P < 0.05$). IL-10 역시 거세 전 26.93±8.05 ng/mL와 비교하여 거세 후 1일 1.06±0.26 ng/mL, 7일 0.93±0.18 ng/mL, 28일 0.76±0.58 ng/mL 수준으로 유의적인 감소를 보였다($P < 0.05$).

고 찰

거세는 고환을 제거하는 것으로 안드로겐(Androgen)의 종류 중 하나인 테스토스테론의 생성이 감소되며, 외과적 수술에 따른 스트레스, 염증 반응, 면역 억제 등이 유발될 수 있다(Molony 등, 1995; Fisher 등, 1996). 또한 테스토스테론은 고환 내 간질세포에서 분비되는(Zirkin과 Chen, 2000) 성 호르몬인자로서 면역 시스템의 발달과 조절에 관여한다(Cutolo 등, 2004). 면역세포에서 생산되는 사이토카인은 다양한 면역인자 중 하나로서 감염에 대한 숙주의 반응뿐만 아니라 기능적으로도 면역계의 발달에 중요한 역할을 한다. 그리고 거세(Banding, Burdizzo)로 인한 허혈은 조직괴사와 염증을 일으켜 염증성 사이토카인 생산을 유도할 수 있다(Pang 등, 2009). 본 연구에서는 한우 거세 전·후 혈중 호르몬 변화와 그에 따른 백

혈구 및 사이토카인 변화를 조사하여 비교 분석 하였다. Chase 등(1995)가 Angus, Brahman, Hereford 소를 대상으로 실시한 거세 전·후 혈액학적 검사 결과에서 거세 후 2일에 백혈구수가 증가하고 5일에는 감소하며 그 이후 다시 증가하는 것으로 나타났으며, 본 결과에서는 한우 거세 후 1일에 증가하고 7일에는 감소하며 28일에 증가되는 것으로 나타나 이전 보고와 유사한 결과를 보였다(Table 1). Cohen 등(1990)이 보고한 바에 의하면 Holstein에서 거세 후 테스토스테론은 3시간 이후 감소하며, Cortisol은 거세 후 6시간에 높아졌다가 다시 감소하는 것으로 나타났다. 본 결과에서도 테스토스테론은 거세 전보다 거세 후 1일부터 유의적으로 감소하였으며($P < 0.05$), Cortisol의 경우 거세 전과 거세 후 1일에 비슷한 경향을 보였고, 7일 이후 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다(Fig. 1). 고환을 제거 함으로써 테스토스테론 결핍상태는 유지되며, 거세로 인한 cortisol 수치는 시간이 지남에 따라 안정을 찾는 것으로 판단된다. Fig. 2는 거세 후 테스토스테론 결핍에 따라 Th1/Th2에 의해 생산되는 사이토카인을 비교하였다. Th1의 면역 반응에 해당하는 사이토카인 IL-2, TNF-α, IFN-γ와 Th2에 해당되는 IL-4, IL-6, IL-10은 거세 전·후 채혈하여 분리된 혈청으로 분석하였다. 선천성면역과 적응면역 반응에서 대식세포 활성화에 중요한 IFN-γ와 (Schoenborn과 Wilson, 2007) IL-2는 거세 전과 거세 후 1일에서 큰 변화는 없었고 7일과 28일에서 감소하

는 경향을 보였지만 유의적인 차이는 없었다. Page 등(2006)의 보고에 의하면 사람의 Peripheral blood lymphocytes 세포 실험에서 테스토스테론의 생성 억제제로 알려진 Acyline 처리했을 경우 $CD4^+/CD8^+$ T 세포의 비율은 변화가 없었고, 활성화된 $CD8^+$ IFN- γ 는 감소한다고 한 내용과 유사하였다. 또한 Th2에 해당되는 IL-4 역시 거세 전과 거세 후 1일, 7일까지 큰 변화는 보이지 않았으며, 28일에서 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다. 그러나 염증 반응과 밀접한 관계를 가지는 TNF- α , IL-6, IL-10에서 대조적인 결과를 확인하였다. 염증성 질환과 질병 진단에 중요한 지표인 TNF- α (Arend와 Dayer, 1995)와 또 다른 염증성 사이토카인 IL-6, 항염증성 사이토카인 IL-10의 경우 거세 전보다 거세 후 1일과 7일, 28일에서 혈청 농도가 유의적인 감소를 보였다($P < 0.05$). 이와 같은 결과는 랫드 실험에서 거세를 하거나 테스토스테론 수용체를 차단 함으로써 TNF- α , IL-6의 유의적인 감소를 보였다는 이전 보고와 유사하였다(Wang 등, 2005). IL-10의 경우 뇌척수염이 유도된 실험용 쥐의 비장세포를 이용한 *in vitro* 실험에서 5 α -dihydrotestosterone 처리군의 IL-10이 증가하는 것으로 보고된(Dalal 등, 1997; Liva와 Voskuhl, 2001) 결과와 본 실험에서 나타난 IL-10의 감소를 직접적으로 비교 할 수 없지만 유사한 결과를 확인할 수 있었다. 하지만 W.Y. Pang 등(2011)이 Holstein을 대상으로 실시한 Banding과 Burdizzo 거세 방법에서 염증과 관련된 사이토카인들(TNF- α , IL-6, IL-10과 IFN- γ)의 유전자 발현을 시술 후 48시간까지 검사한 결과 시술 전과 비교하여 의미 있는 변화가 나타나지 않아, 거세 수술 후 혈청 내 일부 사이토카인들이 감소한 본 실험 결과와 상반되는 결과를 보였다. 하지만 조류(greenfinches)에 대해 테스토스테론 처리 후 Sindbis virus를 자연 감염시키고 7일간 Viraemia를 검사한 결과 감염 후 3일까지는 Viraemia를 감소 시키지만 그 이후에는 Viraemia가 증가하는 것으로 나타나는 등(Lindström 등, 2001) 테스토스테론과 면역은 어떤 식으로든 밀접한 관계를 가지는 것으로 생각된다.

본 연구의 결과 혈액학적 검사에서 백혈구, 호중구, 림프구 숫자는 거세 수술 이후 28일에서 거세 전으로 회복되는 경향을 보였으며, 테스토스테론을 생산하는 조직의 제거로 인한 호르몬 결핍상태는 회복되지 않는 것으로 나타났다. 염증 반응과 밀접한 관계를 가지는 사이토카인의 감소를 확인하였는데, 혈액학적 검사의 면역세포수와 사이토카인의 생산량을 비교해

볼 때 테스토스테론의 결핍 상태가 면역세포수에는 밀접한 영향을 주지 않는 것으로 생각되지만 TNF- α 와 IL-6 및 IL-10 생산에는 매우 밀접한 영향을 주는 것으로 생각된다. 하지만 서로 억제작용을 하는 Th1/Th2에 의해 생산되는 사이토카인들이 왜 감소했는지는 앞으로 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

본 연구는 한우에서 외과적 수술로 고환을 제거했을 경우 테스토스테론 결핍에 따른 면역세포의 변화를 알아보기 위해 수행하였다. 사이토카인 생산량과 면역세포수를 거세 전·후 1일, 7일, 28일째에 경정맥에서 채혈한 혈액을 분석하여 확인하였다. 혈액학적 검사에 있어 백혈구수는 거세 전보다 거세 후 1일에서 증가하였지만 유의적인 차이는 없었고, 7일과 28일에서 거세 전보다 유의적으로 감소하였다($P < 0.05$). 호중구수는 거세 전보다 거세 후 1일에서 유의적으로 증가하였고($P < 0.05$), 7일에는 거세 전보다 유의적으로 감소하였으며($P < 0.05$), 28일 역시 감소하지만 7일 보다 증가하는 양상을 보였다. 림프구수는 거세 전보다 거세 후 1일과 7일에 유의적으로 감소하였고($P < 0.05$), 28일에는 거세 전으로 회복되는 양상을 보였다. 혈청 내 테스토스테론은 거세 후 유의적으로 감소한 것을 확인하였다($P < 0.05$). 또한 거세 후 1일, 7일, 28일에 동일하게 사이토카인의 생산량을 측정하였으며, 그 중 TNF- α , IL-6, IL-10이 유의적으로 감소하는($P < 0.05$) 것을 확인하였다. IL-2와 IFN- γ 및 IL-4의 경우 거세 전·후 비교하여 생산량에 있어 유의적인 차이는 보이지 않았다. 이상의 결과로 면역세포수는 거세 후 28일에 회복되는 경향을 보였으므로 테스토스테론의 결핍에 의한 변화로 판단하기 어렵지만, 사이토카인의 생산량은 거세 후 28일에도 회복되지 않아 테스토스테론의 결핍이 사이토카인의 생산량에 매우 밀접한 영향을 주는 것으로 생각되며, 테스토스테론과 사이토카인의 연관성에 대해 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 성과물은 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 소

주요 질병예방을 위한 표준 면역 및 생체 지표 활용 매뉴얼 개발: PJ01197806)의 지원에 의해 이루어진 것임.

본 연구는 2017년도 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구원 과정 지원사업에 의해 이루어진 것임.

REFERENCES

- Animal Products Grading Service. 2017. <http://www.apgs.co.kr>
- Arend WP, Dayer JM. 1995. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 38: 151-160.
- Ariyaratne HB, Chamindrani Mendis-Handagama S. 2000. Change in the testis interstitium of sprague dawley rats from birth to sexual maturity. *Biol Reprod* 62: 680-690.
- Bebo BF Jr, Schuster JC, Vandenbark AA, Offner H. 1999. Androgens alter the cytokine profile and reduce encephalitogenicity of myelin-reactive T cells. *J Immunol* 162: 35-40.
- Bebo BF Jr, Zelinka-Vincent E, Adamus G, Amundson D, Vandenbark AA, Offner H. 1998. Gonadal hormones influence the immune response to PLP 139-151 and the clinical course of relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol* 84: 122-130.
- Chase CC Jr, Larsen RE, Randel RD, Hammond AC, Adams EL. 1995. Plasma cortisol and white blood cell responses in different breeds of bulls: a comparison of two methods of castration. *J Anim Sci* 73: 975-980.
- Cohen RDH, King BD, Thomas LR, Janzen ED. 1990. Efficacy and stress of chemical versus surgical castration of cattle. *Canadian Journal of Animal Science* 70: 1063-1072.
- Cua DJ, Hinton DR, Stohman SA. 1995. Self-antigen-induced Th2 responses in experimental allergic encephalomyelitis (EAE)-resistant mice: Th2-mediated suppression of autoimmune disease. *J Immunol* 155: 4052-4059.
- Cutolo M, Sulli A, Capellino S, Villaggio B, Montagna P, Seriolo B, Straub RH. 2004. Sex hormones influence on the immune system: basic and clinical aspects in autoimmunity. *Lupus* 13: 635-638.
- Dalal M, Kim S, Voskuhl RR. 1997. Testosterone therapy ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis and induces a T helper 2 bias in the autoantigen-specific T lymphocyte response. *J Immunol* 159: 3-6.
- Fijak M, Schneider E, Klug J, Bhushan S, Hackstein H, Schuler G, Wygrecka M, Gromoll J, Meinhardt A. 2011. Testosterone replacement effectively inhibits the development of experimental autoimmune orchitis in rats: evidence for a direct role of testosterone on regulatory T cell expansion. *J Immunol* 186: 5162-5172.
- Fisher AD, Crowe MA, Alonso de la Varga ME, Enright WJ. 1996. Effect of castration method and the provision of local anaesthesia on plasma cortisol, scrotal circumference, growth and feed intake of bull calves. *J Anim Sci* 74: 2336-2343.
- Gilmore W, Weiner LP, Correale J. 1997. Effect of estradiol on cytokine secretion by proteolipid protein-specific T cell clones isolated from multiple sclerosis patients and normal control subjects. *J Immunol* 158: 446-451.
- Lindström KM, Krakower D, Lundström JO, Silverin B. 2001. The effects of testosterone on a viral infection in greenfinches (*Carduelis chloris*): an experimental test of the immunocompetence-handicap hypothesis. *Proc Biol Sci* 268: 207-211.
- Liva SM, Voskuhl RR. 2001. Testosterone acts directly on CD4+ T lymphocytes to increase IL-10 production. *J Immunol* 167: 2060-2067.
- Matejuk A, Hopke C, Vandenbark AA, Hum PD, Offner H. 2005. Middle-age male mice have increased severity of experimental autoimmune encephalomyelitis and are unresponsive to testosterone therapy. *J Immunol* 174: 2387-2395.
- Molony V, Kent JE, Robertson IS. 1995. Assessment of acute and chronic pain after different methods of castration of calves. *Appl Anim Behav Sci* 46: 33-48.
- Page ST, Plymate SR, Bremner WJ, Matsumoto AM, Hess DL, Lin DW, Amory JK, Nelson PS, Wu JD. 2006. Effect of medical castration on CD4+ CD25+ T cells, CD8+ T cell IFN-gamma expression, and NK cells: a physiological role for testosterone and/or its metabolites. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290: E856-863.
- Pang W, Earley B, Sweeney T, Gath V, Crowe MA. 2009. Temporal patterns of inflammatory gene expression in local tissues after banding or burdizzo castration in cattle. *BMC Vet Res* 5: 36.
- Pang WY, Earley B, Murray M, Sweeney T, Gath V, Crowe MA. 2011. Banding or Burdizzo castration and carprofen administration on peripheral leukocyte inflammatory cytokine transcripts. *Res Vet Sci* 90: 127-132.
- Piccinni MP, Giudizi MG, Biagiotti R, Beloni L, Giannarini L, Sampognaro S, Parronchi P, Manetti R, Annunziato F, Livi C, Romagnani S, Maggi E. 1995. Progesterone favors the development of human T helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. *J Immunol* 155: 128-133.
- Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, Forsthuber TG. 2015. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. *Cytokine* 74: 5-17.
- Schoenborn JR, Wilson CB. 2007. Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses. *Advances in Immunology* 96: 41-101.
- Steenstra R, Neblett H, Teuscher C. 1989. Serum testosterone (T) levels in BALB/cByJ and BALB/cJ substrain mice: potential relationship with differential susceptibility to experimental allergic orchitis (EAO). *Autoimmunity* 2: 285-289.

- Tae HJ, Ahn DC, Lee YD, Na SJ, Park BY, Kim IS. 2016. Morphometric study of the Leydig cell in Korean native cattle. *Korean J Vet Serv* 39: 141-149.
- Wang M, Tsai BM, Kher A, Baker LB, Wairiuko GM, Meldrum DR. 2005. Role of endogenous testosterone in myocardial proinflammatory and proapoptotic signaling after acute ischemia-reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288: H221-226.
- Ziehn MO, Avedisian AA, Dervin SM, Umeda EA, O'Dell TJ, Voskuhl RR. 2012. Therapeutic testosterone administration preserves excitatory synaptic transmission in the hippocampus during autoimmune demyelinating disease. *J Neurosci* 32: 12312-12324.
- Zirkin BR, Chen H. 2000. Regulation of Leydig cell steroidogenic function during aging. *Biol Reprod* 63: 977-981.