

# 뇌의 Thyrotropin Releasing Hormone 수용체 분포에 관한 연구\*

서울대학교 의과대학 내과학교실

궁 성 수†·김 승 택†·정 준 기  
이 명 철·조 보 연·고 창 순

서울대학교 약학대학

유 은 숙

서울대학교병원 핵의학과

박 은 미·서 일 택

= Abstract =

## Characterization of Thyrotropin Releasing Hormone Receptor in Brain

Sung Soo Koong, M.D.,† Seung Taik Kim, M.D.,† June-Key Chung, M.D.  
Myung Chul Lee, M.D., Bo Youn Cho, M.D., and Chang-Soon Koh, M.D.

*Department of Internal Medicine, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea*

Eun Sook Yoo

*Department of Pharmacology, Seoul National University, Seoul, Korea*

Eun Mey Park and Il Tak Seo

*Department of Nuclear Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea*

To evaluate the utility of autoradiographic technique in the detection of TRH receptor changes in brain after the various kinds of stimulation or drug administration, we tried the characterization of TRH receptor in mouse brain and autoradiography in rat brain as a preliminary study.

The Kd value of [3-H] MeTRH to TRH receptors of adult male ICR mouse brain (cerebellum and spinal cord were excluded) was  $3.55 \pm 0.6$  nM and Bmax was  $3.44 \pm 0.52$  fmol/mg wet tissue by saturation analysis. The Kd value of TRH to TRH receptors was  $133.8 \pm 28.2$  nM by competition analysis.

And we could visualize the distribution of TRH receptors in rat brain by autoradiographic technique.

## 서 론

Thyrotropin-releasing hormone (TRH)는 3개의

peptide로 구성된 hormone으로서, 시상하부 및 뇌하수체에 존재하며 시상하부-뇌하수체-갑상선축의 조절에 중요한 역할을 하고 있음이 잘 알려져 있다. 한편 TRH는 뇌의 시상하부, 뇌하수체이외에도 대뇌피질, 척수, 후용기(olfactory tubercle), 췌장, 소화관 등에도 존재하면서<sup>1-5)</sup> ergotropic system 및 자율신경계의 작용에 관여하며, neuropsychiatric effect가 있고, 척수

\*본 논문은 1987년도 서울대학교 대학발전 기금중 대우 학술 연구비에 의해 이루어 졌음.

†충북대학교 의과대학 내과학교실

운동뉴론의 피작극성, 췌장의 외분비기능에도 영향을 미치고 있음이 알려졌다<sup>8~10</sup>. 그러나 아직 TRH의 뇌하수체 이외에서의 작용 및 그 기전에 대하여서는 거의 모르고 있는 실정이며 특히 각종 신경 전달물질의 상호작용에 대하여서는 매우 논란이 많은 상태이다<sup>11~15</sup>.

이에 저자들은 뇌내의 TRH수용체의 분포 및 각종 자극에 의한 TRH수용체의 변화를 보기위한 예비실험으로 생쥐 뇌에서의 TRH수용체 성상확인(characterization)과 뇌조직 막편(brain section)의 autoradiography를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 뇌조직 처리

생후 4~6주된 male ICR mouse를 경부탈구(cervical dislocation)의 방법으로 희생시킨 후에 바로 단두(decapitation)하여 뇌를 꺼냈다. 꺼낸뇌는 0°C상태에서 소뇌 및 척수를 제거하고, 나머지 뇌무게의 10~20배 용적의 ice-cold 20 nM sodium phosphate buffer solution (pH 7.4)에 넣어 Polytron homogenizer로 homogenization (No. 7,20초간)시켰다. Homogenization된 조직은 4°C에서 30,000g로 30분간 원심 분리한 후 상층액을 버리고 ice-cold sodium phosphate buffer solution을 투여하여 resuspension시켜 조직으로 이용하였다. 처리된 뇌조직 용액의 농도는 125 mg/ml로 하였다.

### 2. Saturation Analysis

처리된 뇌조직용액 20  $\mu$ L에 7가지 농도의 (0.625 nM, 1.25 nM, 2.5 nM, 5 nM, 10 nM, 15 nM, 20 nM) [3H] MeTRH (67.7 Ci/mmole, DU PONT 사) 20  $\mu$ L를 투여하고, 10  $\mu$ L의 20 nM sodium phosphate buffer solution을 투여하여 0°C에서 90분동안 반응시킨 후, Whatman GF/B filter (2.5 cm)를 이용하여 진공여과시키고, 4 ml의 ice-cold 0.9% NaCl로 3번 세척한 후, GF/B filter에, scintillation cocktail을 투여하여 12시간 방치하고, liquid scintillation counter로 측정하여 total binding을 구하였다. Non-specific binding은 10  $\mu$ L의 20 nM phosphate buffer solution대신 50  $\mu$ M TRH를 10  $\mu$ L투여하고, 같은 방법으로 반응시키고, 진공여과 측정하여 구하였으며 그 차이를 specific

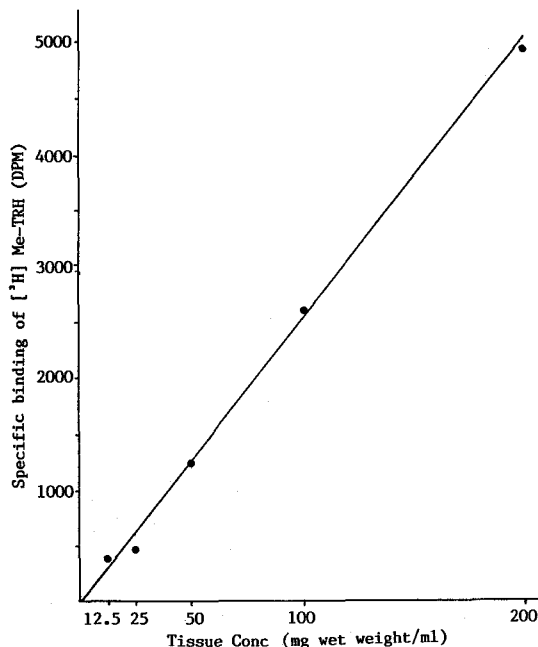


Fig. 1. Linearity of [3H] MeTRH binding with resuspension of mouse brain. Specific binding point in this figure is the mean of triplicate determinations.

binding으로 하였다. 모든 분석은 triplicate로 하였다. 처리된 뇌조직용액의 최종 실험상태에서의 농도는 50 ng/ml로 하였는데 뇌조직농도에 따른 specific binding은 12.5 mg/ml에서 200 mg/ml의 범위까지 linear하였다 (Fig. 1).

Equilibrium study상 반응시간에 따른 specific binding은 40분에 최대반응치를 보였으며 300분까지 specific binding에 변화가 없어 90분을 이용하였다 (Fig. 2).

### 3. Competition Analysis

처리된 뇌조직용액 20  $\mu$ L에 5 nM[3H]MeTRH 20  $\mu$ L를 투여하고 9가지 농도의 ( $5.5 \times 10^{-5}$ ,  $1.1 \times 10^{-5}$ ,  $5.5 \times 10^{-6}$ ,  $1.1 \times 10^{-6}$ ,  $5.5 \times 10^{-7}$ ,  $1.1 \times 10^{-7}$ ,  $5.5 \times 10^{-8}$ ,  $1.1 \times 10^{-8}$ ,  $5.5 \times 10^{-9}$  M) TRH 10  $\mu$ L를 투여한 후 saturation analysis와 같은 방법으로 반응시키고, 진공여과, 측정하였다.

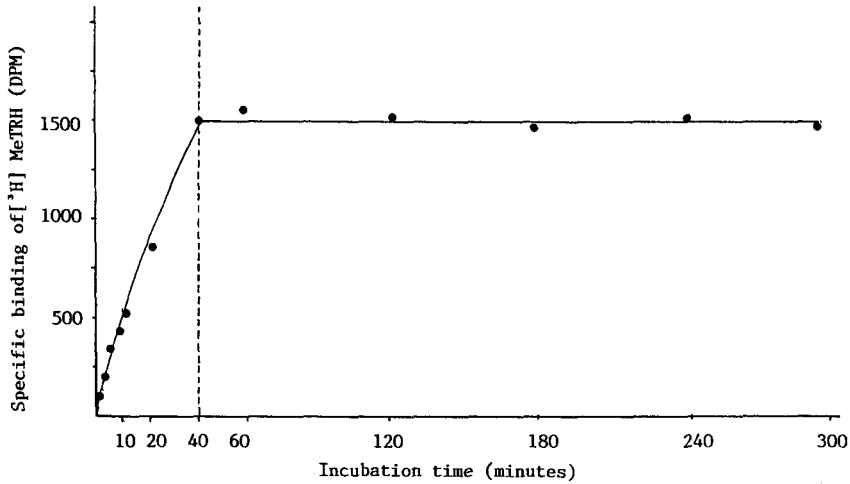


Fig. 2. Specific binding of [<sup>3</sup>H] MeTRH to resuspension of mouse brain with increasing incubation time shows plateau at 40 minutes. Specific binding points in this figure is the mean of triplicate determinations.

#### 4. Autoradiography

Male Sprague-Dawley rat (250 g)을 urethane (1.5 g/kg, i.p.)으로 마취한 후 5% dimethylsulfoxide (DMSO) in 0.15 M NaCl를 사용하여 intracardial perfusion하고 단두하였다. 다음 뇌를 신속하게 절제하여 dry ice에서 microtome chuck에 올려 냉동시키고 -15°C로 유지시킨 AO cryostat에 2시간 동안 두어 온도 평형을 이루게 한후 24 μM의 coronal section을 얻었다. 각 section은 미리 준비한 acid-washed subbed glass slide에 thaw-mounted하여 잘 말린다음 사용할 때까지 -20°C에 보관하였다.

Slide-mounted 24 μM tissue section을 실온으로 한 다음 ice-cold 0.15 M NaCl에 수초간 세척한 후에 dry oven에 4분간 말렸으며, 말린 slide는 4°C에서 5분간 방치한 후 10 nM [<sup>3</sup>H]MeTRH를 포함하는 20 nM sodium phosphate buffer용액(pH 7.4)에서 1시간 반응시켰다. 이때 non-specific binding을 보기위한 slide에는 TRH의 농도가 10 μM이 되게 하였다. 반응이 끝난 다음 각 slide를 cold 20 nM sodium phosphate buffer 용액으로 5초간 4회, 이차중류수로 5초간 4회 ice-bath 하에서 세척하고 cold air stream으로 짧은 시간동안 건조시켰다. 건조 시킬 slide들을 저온실의 desiccator에 잘 넣은 후 하루동안 방치하여 완전히 건조시킨 다음

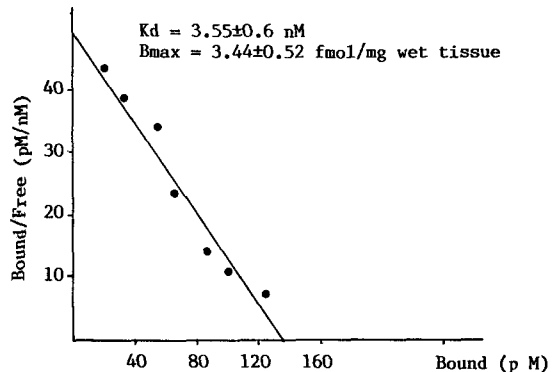


Fig. 3. Scatchard plot for binding of [<sup>3</sup>H] MeTRH to resuspension of mouse brain.

tritium sensitive film (Amersham)을 대어 cassette holder에서 16주간 노출시켰다(4°C). 8주후 Kodak D-19과 Rapid Fixer를 사용하여 현상한 후 film을 digital autoradiography analysis system (AVP system: Amersham, RAS-3000)을 이용하여 digitized image를 얻었다. Tritium sensitive film에 노출을 끝낸 tissue section은 cresyl violet염색을 하여 해부학적 세부구조를 확인하였다.

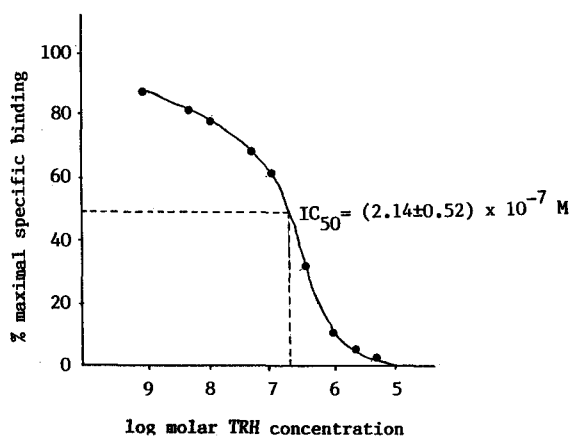


Fig. 4. Competition by TRH for binding of 2nM [<sup>3</sup>H] MeTRH to resuspension of mouse brain.

## 결 과

### 1. Saturation Analysis

뇌조직용액(소뇌와 척수 제외)을 이용하여 시행한 saturation analysis의 Scatchard분석은 linear하게 single binding site의 양상을 보였으며 triplicate로 8번의 실험을 하여 구한 Kd값은  $3.55 \pm 0.6$  nM였고 Bmax는  $3.44 \pm 0.52$  fmol/1 mg wet tissue였다(Fig. 3).

### 2. Competition Analysis

뇌조직용액(소뇌와 척수제외)을 이용하여 시행한 competition analysis는 TRH농도가 10-10 M농도에서 평평하게 되어 single binding site의 양상을 보였으며, 5번의 실험에서 구한 TRH의 IC50는  $(2.14 \pm 0.52) \times 10^{-7}$  M, Kd값은  $133.8 \pm 28.2$  nM이었다(Fig. 4).

### 3. Autoradiography

TRH를 투여하지 않고 10 nM [<sup>3</sup>H] MeTRH만을 투여하고 반응시켜 얻은 tissue section의 autoradiographic image는 amygdala의 lateral, central, basal 및 cortical nucleus와 temporal cortex에서 가장 높은 grain density를 보였고, paraventricular nuclei, nucleus accumbens, lateral septum, hypothalamus의 ventromedial nucleus 및 dorsomedial nucleus, thalamus의 ventral nucleus에서도 주위 조직에 비하

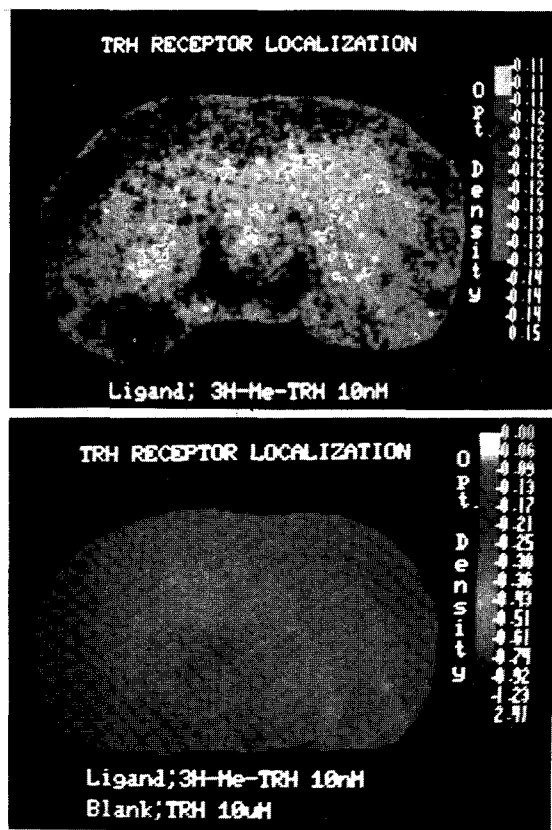


Fig. 5. Autoradiographic images showing [<sup>3</sup>H] MeTRH binding in coronal sections of rat brain at the level of upper midbrain.

- A. autoradiogram of tissue section incubated with 10 nM [<sup>3</sup>H] MeTRH
- B. autoradiogram of tissue section incubated with 10 nM [<sup>3</sup>H] MeTRH and 10 μM TRH

여 높은 grain density를 순서대로 보였다(Fig. 5A).

한편 10 nM [<sup>3</sup>H] MeTRH와 10 μM의 TRH를 함께 투여하고 반응시켜 얻은 autoradiographic image의 경우에는 뇌조직내의 특정부위에서 주위조직에 비하여 높은 농도의 grain density를 보이는 부위가 없었으며, 뇌조직 전반에 미만성으로 낮은 농도의 grain density를 보였다(Fig. 5B).

## 고 안

Tripeptide인 TRH는 시상하부에서 최초로 분리된 뇌하수체 유리성인자로서 뇌하수체에서 thyrotropin유

리를 유발하는 강한 자극물이며 정상 뇌하수체-갑상선 기능을 유지하는데 매우 중요한 요소로 작용함이 잘 알려져 있다. 그러나 TRH가 시상하부 및 뇌하수체 이외의 뇌 및 내장에서도 발견되며<sup>1-5)</sup> extrahypothalamic TRH가 시상하부에서 유래된 것이 아니며<sup>16)</sup> 동물실험에서 synthetic TRH를 투여함으로써 다양한 extra-pituitary effect를 유발할 수 있다는 사실이<sup>6-10)</sup> 알려짐에 따라, TRH는 중추신경계에서 신경전달물질 혹은 신경조절 물질로서의 작용을 한다고 추정되고 있으며 TRH의 새로운 기능에 대한 연구가 진행되고 있다.

각종 자극에 의한 TRH의 변화는 방사성동위원소 측정법과 receptor binding assay에 의하여 측정될 수 있는데, 방사성 동위원소 측정법은 TRH의 분자량이 작아 합성이 용이하고 면역화학적으로 균일하다는 장점이 있으나, 조직내에 존재하는 TRH농도가 매우 낮고, 대부분의 조직 및 혈청내에 TRH-분해효소가 많이 있어, 정확한 측정을 위해서는 TRH를 조직에서 추출한 후에 측정하게 되는데 이과정의 복잡하여 부정확한 결과를 얻게 되는 주요원인이 된다<sup>17)</sup>. 한편 [3H]TRH보다 강력한 유도체인 [3H]MeTRH의 중추신경계에서의 binding site는 binding affinity 및 약리학적 특성이 뇌하수체 TRH수용체와 같아 TRH-수용체로 확인되었다. Receptor binding의 측정은 해부학적 및 기능에 대한 정보를 제공하게 되는데, 뇌의 국소부위에 따른 TRH-수용체의 국소분포는 그동안 gross dissection의 방법으로 많이 시행되어 왔는데 기술상의 어려움 및 많은 시간과 노력이 요구되는 등의 단점이 있어, 최근 autoradiographic technique를 이용하여 이러한 단점을 극복할 수 있음이 알려졌다. 이에 저자들은 autoradiography를 이용하여<sup>18)</sup> 각종 자극에 의한 TRH-수용체의 변화를 용이하게 검출할 수 있는 가능성을 알아보기 위한 예비 실험으로 생쥐뇌의 TRH-수용체의 정상확인과 쥐뇌의 TRH-수용체 autoradiography를 시행하였다.

TRH receptor binding assay에 사용한 조직은 연령 및 성별에 의한 변화를 극소화시키기 위하여 생후 4~6주된 adult male ICR mouse를 이용하였다. 실험에 사용하는 조직의 처리는 crude homogenate, purified plasma membrane fraction 등의 다양한 방법이 있으나 본 실험에서는 조직처리에 소요되는 시간이 짧으면서도 조직내의 수용성 간섭물질을 제거할 수 있는 total

particulate fraction을 만들어 사용하였는데, 희생후 바로 뇌조직을 꺼내고 즉시 처리한 후 0°C 상태에서 바로 실험을 시작함으로써 endogenous peptidase에 의한 TRH-수용체의 파괴를 더욱 극소화 하였다<sup>19-20)</sup>. 이 방법으로 실험한 경우 조직농도 200 mg/ml까지에서 specific binding의 linearity가 유지됨을 관찰하였다.

본 실험에서 사용한 [3H]MeTRH는 [3H]TRH에 비하여 TRH-수용체에 대한 affinity가 약 10배 가량 강하다고 알려졌으며<sup>21)</sup> [3H]MeTRH의 시험관 부착을 막기 위하여 0.1%의 소혈청알부민을 포함하도록 하였다. Non-specific binding 측정시 사용된 TRH는 그 농도를 10  $\mu$ M로 하였는데 수용체에 관한 실험을 할 때 blank의 농도가 너무 높으면 specific-binding이 실제보다 높게 나오고, 낮으면 반대의 현상이 나타날 수 있어, 일반적으로 IC50값의 100배 농도를 사용하는데 본 연구에서 구한 TRH의 IC50값은  $133.8 \pm 2.8$  nM이었으며 blank로 10  $\mu$ M을 사용한 것은 적절하다고 사료되며 이는 대부분의 연구자들이 사용한 농도와 일치한다. Equilibrium에 도달하는 반응시간은 실험온도, ligand 농도, affinity, 조직의 처리방법에 따라 달라지는데 본 실험의 경우 40분에서 specific binding이 최고치를 보였고 300분까지 변화가 없었으며, 실험의 편의를 위하여 반응시간을 90분으로 하였는데 이는 Burt 및 Taylor 등이 권장한 시간과 일치한다<sup>22)</sup>.

본 실험에서 adult male ICR mouse를 이용한 saturation analysis에서 구한 [3H]MeTRH의 TRH-수용체에 대한 Kd값은 각 실험마다 차이가 작고 재현성이 있었으며 기존 보고값인 2~6 nM에 유사하였다<sup>21,23-25)</sup>. TRH-수용체의 binding site는 대다수의 연구자들이 single binding site로 보고하고 있으나, 몇몇 소수학자들의 경우 수용체-heterogeneity의 가능성을 보고하였는데 정말로 수용체-heterogeneity가 있는 것인지, transducer protein의 다양성에 의해서 나타나는 현상인지에 관하여는 논란이 있으며<sup>23,26-28)</sup>, 본 실험의 경우 Scatchard분석상 linear하게 single binding site의 양상을 보였다.

Competition analysis를 시행하여 얻은 TRH의 TRH receptor에 대한 Kd값은  $133.8 \pm 28.2$  nM로써 기존의 보고값인 25~40 nM에 비하여<sup>29-31)</sup> 차이가 있는데 이에 대하여는 추시로 확인하여야 할 것으로 생각된다.

뇌의 homogenate를 이용한 실험에서 얻은 각종 포유 동물에서의 TRH-수용체 국소 분포결과 및 [3H] MeTRH binding의 약리학적 특성결과와 정량적 autoradiography방법으로 얻은 결과간에는 밀접한 일치성이 있다고 여러 연구자에 의하여 보고되었고<sup>32-34)</sup>, 뇌하수체를 제외한 뇌에서 발견된 TRH-수용체의 binding affinity 및 약리학적 특성이 pituitary gland에서 발견되는 TRH-수용체와 같다는 사실이 알려졌다<sup>35)</sup>. 이들 연구자의 경우 autoradiography에 사용하는 [3H]MeTRH의 농도는 competition analysis에서의 경우보다 높은 농도를 사용하였는데 본 연구에서는 10 nM을 이용하였다. 본 연구에서 사용된 autoradiography방법은 Pilote 등이<sup>36)</sup> 제시한 방법을 이용하였는데 조직의 동결에 의한 TRH-수용체의 손실을 방지하기 위하여 5% dimethyl sulfoxide (DMSO) in 0.15 M NaCl을 사용한 경우 specific binding의 total binding에 대한 비 (SB/TB)는 54.1%로 보고하였으며 본 연구의 경우 SB/TB는 53.6%였다.

각종 포유동물 뇌에서의 TRH-수용체 국소분포는 동물에 따라 차이가 있는데 사람의 경우 amygdala 및 hippocampus에 높은 농도를 보인다고 보고되었다<sup>32)</sup>. Taylor 등은<sup>37)</sup> 쥐의 뇌를 해부학적 세부구조에 따라 분리하여 homogenate를 이용한 실험으로, TRH-수용체의 국소분포를 조사하였는데, amygdala와 temporal cortex에서 가장 높은 Bmax를 관찰하였으며, 그외에 olfactory bulb, tubercle, hippocampus 등에서도 TRH-수용체를 발견하였다. 이러한 결과는 후에 Rinehart 등이<sup>38)</sup> 시행하여 얻은 결과와 비교하여 Bmax치의 절대값에는 차이가 있으나 해부학적 세부구조에 따른 Bmax의 상대적 비교값은 일치하였다.

Pillote 등이<sup>36)</sup> autoradiography방법을 이용하여 구한 쥐뇌의 TRH 수용체 국소분포는 amygdala에 가장 높은 TRH-수용체 분포를 보였으며, 그외에 paraventricular nuclei, nucleus accumbens, lateral septum 등에서도 국소분포를 확인하였다.

본 실험에서는 amygdala의 lateral, central, basal 및 cortical nucleus와 temporal cortex에서 가장 높은 grain density가 관찰되었고, paraventricular nucleus, nucleus accumbens, lateral septum, hypothalamus의 ventromedial nucleus 및 dorsomedial nucleus, thalamus의 ventral nucleus에서도 주위조직

에 비하여 높은 grain density가 관찰되었는데, 이러한 부위들의 높은 grain density가 10  $\mu$ M TRH를 동시 투여하여 얻은 autoradiographic image에서는 소실됨으로써 [3H] MeTRH와 쥐뇌조직내의 TRH-수용체간의 specific binding에 의한 것으로 사료되었다.

## 결 론

Adult male ICR brain (cerebellum & spinal cord 제외)에서 구한 [3H]MeTRH의 Kd value는  $3.55 \pm 0.6$  nM이었으며, Bmax는  $3.44 \pm 0.52$  fmol/mg wet tissue 이었고 autoradiography를 시행하여 TRH-receptor의 distribution을 가시화할 수 있었다.

## REFERENCES

- 1) Winokur A, Vtiger RD: *Thyrotropin-releasing hormone: Regional distribution in rat brain. Science* 185:265-267, 1974
- 2) Kreider MS, Winokur A, Vtiger RD: *The olfactory bulb is rich in TRH immunoreactivity. Brain Res* 217:69-77, 1981
- 3) Aratan-Spire S, Wolf B, Portha B, et al: *Streptozotocin treatment at birth induces a parallel depletion of thyrotropin-releasing hormone and insulin in the rat pancreas during development. Endocrinology* 114:2369-2373, 1984
- 4) Morley JE: *Extrahypothalamic thyrotropin-releasing hormone (TRH) its distribution and its function. Life Sci* 25:1539-1550, 1979
- 5) Spindel ER, Wurtman RJ: *TRH immunoreactivity in rat brain regions, spinal cord and pancreas: Validation by high-pressure liquid chromatography and thin-layer chromatography. Brain Res* 201:279-288, 1980
- 6) Metcalf G, Dettmar PW: *Is thyrotropin-releasing hormone an endogenous ergotropic substance in the brain? Lancet* 1:586-589, 1981
- 7) Miyamoto M, Nagawa Y: *Mesolimbic involvement in the locomotor stimulant action of thyrotropin-releasing hormone (TRH) in rats. Eur J Pharmacol* 44:143-152, 1977
- 8) Smith JR, Lahann TR, Chesnut RM, et al: *Thyrotropin-releasing hormone: Stimulation of colonic activity following intracerebroventricular*

- administration. *Science* 196:660-662, 1977
- 9) Cooper BR, Boyer CE: *Stimulation action of thyrotropin releasing hormone on cat spinal cord. Neuropharmacology* 17:153-156, 1978
  - 10) Lundstorm LH, Gunne LM, Ost LG, Persson E: *Thyrotropin-releasing hormone (TRH) in chronic schizophrenia. Acta Psychiatr Scand* 55:74-80, 1977
  - 11) Agarwal RA, Rostogi RB, Singhal RL: *Enhancement of locomotor activity and catecholamine and 5-hydroxytryptamine metabolism by thyrotropin releasing hormone. Neuroendocrinology* 23:236-247, 1977
  - 12) Bennett GW, Marsden CA, Sharp T, Stolz JF: *Simultaneous measurement of endogenous release of dopamine, noradrenaline, 5-hydroxytryptamine and thyrotropin-releasing hormone (TRH) from rat brain slices in vitro. Br J Pharmacol* 70:1319, 1980
  - 13) Desiles M, Puech AJ, Rips R: *Involvement of central  $\alpha$ -adrenoreceptor system in antidepressant potentiation of hyperthermia induced by thyrotropin releasing hormone. Br J Pharmacology* 69:163-166, 1980
  - 14) Heal DJ, Green AR: *Administration of thyrotropin-releasing hormone (TRH) to rats release dopamine in N. Accumbens but not in N. caudatus. Neuropharmacology* 80:735-739, 1981
  - 15) Malthe-Sorensen D, Wood PL, Cheney DL, Costa E: *Modulation of the turnover rate of acetylcholine in rat brain by intraventricular injections of thyrotropin-releasing hormone, somatostatin, neurtensin, and angiotensin II. J Neurochem* 31:685-691, 1978
  - 16) Brownstein MJ, Vtiger RD, Palkovits M, Kizer JS: *Effect of hypothalamic deafferentation on thyrotropin-releasing hormone levels in rat brain. Proc Natl Acad Sci USA* 72:4177-4179, 1975
  - 17) Emerson CH: *Extrapituitary effects of thyrotropin releasing hormone. In: Ingbar SH, Braverman LE, eds. Werner's the thyroid. 5th ed, p1472, Philadelphia JB Lippincott Co, 1986*
  - 18) Young WS, Kuhar MJ: *A new method for receptor autoradiography: [ $^3$ -H] opioid receptors in rat brain. Brain Res.* 179:255-270, 1979
  - 19) Tayler RL: *Preparation of 3-H-[3-M3-His $^2$ ] TRH as an improved ligand for TRH receptors. Neuroendocrinology* 32:310-316, 1981
  - 20) Tayler RL, Burt DR: *Properties of [ $^3$ -H] (3-Me-His $^2$ ) TRH binding to apparent TRH receptors in the sheep central nervous system. Brain Res.* 218:207-217, 1981
  - 21) Simasko SM, Horita A: *Characterization and distribution of 3-H (3Me His $^2$ ) thyrotropin releasing hormone receptors in rat brain. Life Sci.* 30:1793-1799, 1982
  - 22) Burt DR, Taylor RL: *TRH receptor binding in CNS and pituitary. In: Griffiths EC, Bennett GW, eds. Thyrotropin-releasing hormone. New York Raven Press, 1983*
  - 23) Shariff NA, Burt DR: *Modulation of receptors for thyrotropin-releasing hormone by benzodiazepines: Brain regional differences. J Neurochemistry* 43:742-746, 1984
  - 24) Bowling AC, DeLorenzo RJ: *Micromolar affinity benzodiazepine receptors: Identification and characterization in central nervous system. Science* 216:1247-1251, 1982
  - 25) Shariff NA, Burt DR: *Sulfhydryl groups in receptor binding of thyrotropin-releasing hormone to rat amygdala. J Neurochemistry* 39:1763-1766, 1982
  - 26) Priscilla SD, Maiana SM: *Differential ability of thyrotropin-releasing hormone and N-methyl-thyrotropin-releasing hormone to affect. Prolactin and thyrotropin production in primary rat pituitary cell cultures. Endocrinology* 106:107-112, 1980
  - 27) Burt DR: *Thyrotropin releasing hormone (TRH): apparent receptor binding in rat brain membranes. Brain Res.* 93:309-328, 1975
  - 28) Ogawa N, Yamawaki Y, Kuroda H, et al: *Discrete regional distributions of thyrotropin releasing hormone (TRH) receptor binding in monkey central nervous system. Brain Res* 205:169-174, 1981
  - 29) Geoffrey G, Wylie V, Roger G: *Interaction of thyrotropin releasing factor with membrane receptors of pituitary cells. Biochem Biophys Res communication* 46:28-34, 1972
  - 30) Burd DR, Taylor RL: *Binding site for thyrotropin-releasing hormone in sheep nuclear accumbens resemble pituitary receptors. Endocrinology* 106:1416-1423, 1980
  - 31) Patricia MH, Eugene LW, Armen HT: *Receptor-binding affinities and biological activities of analogs of thyrotropin-releasing hormone in prolactin-producing pituitary cells in culture. J Biol Chemistry* 249:3085-3090, 1974
  - 32) Manaker S, Eichen A, Winokur A, et al: *Autoradiographic localization of thyrotropin releasing hormone receptors in human brain. Neurology* 36:641-646,

1986

- 33) Manaker S, Winoker A, Rostene WH, et al: *Autoradiographic localization of thyrotropin releasing hormone (TRH) receptors in the rat CNS. J Neurosci* 5: 167-174, 1985
  - 34) Parker CR Jr, Capdevila A: *Thyrotropin releasing hormone (TRH) binding sites in the adult human brain, localization & characterization. Peptides* 5:701-706, 1984
  - 35) Pazos A, Cortes R, Palacios JM: *Thyrotropin releasing hormone receptor binding sites: autoradiographic distribution in the rat and guinea pig brain. J Neurochemistry* 45:1448-1463, 1985
  - 36) Pilotte NS, Shariff NA, Burt DR: *Characterization and autoradiographic localization of TRH receptors in sections of rat brain. Brain Res* 293:372-376, 1984
  - 37) Taylor RL, Burt DR: *Species differences in the brain regional distribution of receptor binding for thyrotropin-releasing hormone. J Neurochem* 38: 1649-1656, 1982
  - 38) Rinehart RK, Barbaz B, Iyengar S, et al: *Benzodiazepine interactions with central thyroid-releasing hormone binding sites. J Pharmacology and Experimental Therapeutics* 238:178-185, 1986
-