

생쥐의 유선발달에 있어서 Elvax 40P Implant를 이용한 서방형 Adenosine의 역할

여인서 · 박춘근 · 홍병주
강원대학교 축산대학

Effect of Sustained-Release of Adenosine by Elvax 40P Implant on Mouse Mammary Development

Yuh, I. S., C. K. Park and B. J. Hong

College of Animal Agriculture, Kangwon National University

SUMMARY

To examine local response of adenosine(purine nucleoside) on the developing mammary gland, Elvax 40P implants containing adenosine were surgically implanted into mammary fat pad of the five week old female ICR mice. Inguinal(the 4th) mammary glands of anesthetized mice were exposed and placed the implants for 12 days. One gland was treated with an adenosine implant, while the contralateral gland received a blank implant as control. For whole-mount preparations, glands were stained with alum carmine, and for histological observation, micro-sectioned mammary glands were stained with hematoxylin and eosin Y. Implantation with Elvax 40P did not affect on the damage of neighboring mammary tissue. Adenosine 25 or 250 μg per slow-release implant stimulated local mammary end bud formation of ovariectomized mice such as end bud size and numbers of end bud per gland in a dose dependent manner($P < 0.05$), and lower concentration of adenosine(2.5 or 25 μg /implant) increased numbers of end bud($P < 0.05$) and end bud size($P < 0.1$) of intact mice. Adenosine treatment and intact ovarian function had moderate interaction effects on the stimulation of end bud formation at 2.5 μg adenosine /implant($P < 0.1$). In histological observation, adenosine implants increased numbers of mammary epithelial type of cells at mammary duct in the presence or absence of ovary. These results indicate that adenosine should be one of regulators in mouse mammary ductal growth.

I. 서 론

Purine nucleoside인 adenosine은 혈관의 이완작용, 혈소판 응집작용 억제, 지방 분해작용 및 섬유아세포의 증식작용 등 포유동물의 대사조절과 기타 생리조절작용을 담당하는 생리조절자로서 알려져 있다(Daly, 1985; Rozengurt, 1982; Williams, 1987). 지금까지 생리조절자로서 알려진 adenosine은 서로

다른 2가지 종류의 receptors를 매체로 adenylate cyclase의 활성도를 서로 다르게 조절하므로써 생리현상을 다양하게 조절하는 것으로 보고되어 왔다. 즉 A1 receptor는 adenylate cyclase의 활성도를 억제하여 세포내 2nd messenger인 cyclic AMP(cAMP)의 함량을 감소시키고, A2 receptor는 A1 receptor와 달리 adenylate cyclase의 활성도를 상승시켜 세포내 cAMP의 함량을 증가시키므로써 protein kinase A와 관련되어 있는 생리작용을 지배하는

것으로 알려져 왔다(Bruns, 1980; Londos 등, 1980).

동물의 생체내에서 생리조절자로서 이용 가능한 adenosine의 근원 또는 이의 형성은 adenosine의 전구물질에 의하여 생화학적 합성 또는 세포내 ADP 또는 ATP와 같은 purine nucleotide의 분해작용에 의하여 다양하게 합성되어질 수 있는데(Billig 등, 1989), 이들 purine nucleoside 및 nucleotide들은 세포안과 밖을 자유로이 이동하면서 단계별 효소작용에 의하여 자유로이 상호전환될 수 있는 분자물질이다(Billig 등, 1989). 최근에는 세포밖에 존재하는 ATP가 adenosine receptor와는 상이하게 다른 purinergic receptor를 통하여 섬유아세포의 증식작용을 유발시킨다고 보고(Huang 등, 1989; Gonzalez 등, 1990)되어 있어 purine nucleoside 또는 nucleotide가 여러 조직에 대하여 특이성을 가지고 세포의 증식작용은 물론 기타 생리작용을 조절하는 중요한 생리 조절자임이 검토되어 왔다.

최근에 Yuh 와 Sheffield(1991)는 실험관 실험을 통하여 생쥐의 유선상피세포에 adenosine을 첨가한 결과 이들 세포의 성장을 유의하게 증가시키는 것으로 나타났는데, 이와 같은 사실은 adenosine이 유선조직의 발달에 매우 중요한 생리조절자라는 가능성을 제시하여 준다고 볼 수 있다. 본 실험은 ethylene-vinyl acetate copolymer(Silberstein 등, 1982)를 이용하여 adenosine implant를 만든 후, 이를 목적기관(target organ)인 생쥐의 생체내 유선조직에 이식시켜 소량의 adenosine을 일정기간 동안 분비시킨 후 야기되는 국소 부위의 유선 발달을 관찰함으로써 adenosine이 생체내에서 유선조직을 발달시키는데 중요한 생리조절자임을 검토하고, adenosine에 의한 유선발달 기작을 규명하기 위한 기초자료를 얻고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 서방형 adenosine 준비

유선조직내에서 소량의 adenosine(Sigma Chemical Co., MO, USA)을 장기간 누출시키기 위하여 40%(w/v) Ethylene acetate copolymer(EVX 또는 Elvax 40P implant, Aldrich Chemical Co.,

WI, USA)를 운반자로 이용하였으며 EVX implant 준비는 Silberstein과 Daniel(1982)의 방법에 준하였다. 간략히, EVX를 1주일간 95% ethanol에 세척한 후 10% EVX용액이 되도록 methylene chloride(w/v)로 용해시켰으며, 동시에 adenosine을 첨가하여 adenosine-EVX 혼합물을 만들었다. Adenosine-EVX혼합물을 냉동 건조시킨 후 1×1×2mm 크기의 pellets으로 절단하여 생쥐의 유선조직에 이식시켰다.

2. Adenosine-EVX의 조직내 이식

5주령된 미경산 암컷 ICR 생쥐에 pentobarbital(20 µg/g 체중)을 주사하여 마취시킨 후 전체 생쥐의 반은 난소제거 수술(ovariectomy)을, 나머지는 가수술(intact or sham operated)을 실시하였고, 그 후 즉시 생쥐 복부의 살갓을 절개하여 서혜부 유선조직(4th mammary gland)을 돌출시켰으며 핀셋을 이용하여 우측 유선은 adenosine이 함유된 EVX를, 좌측 유선은 무처리 EVX를 각각 12일동안 이식시켰다. Adenosine-EVX implant는 유선의 임과절 상단 약 2 mm 부위에 이식하였고, 12일 후 경추탈골법에 의하여 생쥐를 도살한 후 서혜부 유선을 제거시켜 유선발달 유무를 관찰하였다.

3. 유선조직의 염색 및 관찰

1) Alum carmine 염색

생쥐를 도살한 후, 유선조직을 채취하여 망사위에 각 유선조직을 펼치고 glacial acetic acid:ethanol(1:3, v/v)에 1시간 고정시켰으며, 70% ethanol 및 증류수에 각각 10분씩 세척하였다. 그 후 alum-carmine(Aldrich Chemical Co., WI, USA)용액에서 18시간 염색시켰다. 염색후 유선조직을 70, 95 및 100% ethanol에 각각 15분씩 세척한 후 toluene에 담구어 adenosine-EVX 처리 부위의 유선발달을 관찰하였다.

2) Hematoxylin과 Eosin Y염색

Alum carmine염색하여 관찰한 직후 각 유선 조직을 100, 95 및 70% ethanol의 역순으로 세척하여 10% formalin buffer에 2일간 고정시킨 후, paraffin으로 덮어 5 µm의 두께로 절단하였다. 박편된 조직의 paraffin을 제거한 후 hematoxylin(Sigma Chemical Co., Mo, USA)으로 1차 염색시켰으며, eosin

Y(Aldrich Chemical Co., WI, USA)로 counter 염색하였다.

4. 통계분석

본 연구에서 얻어진 성적들에 대한 통계분석은 PC-SAS PACKAGE를 이용하여 실시하였고, adenosine처리 주효과는 대조구 유선조직과의 paired sample analysis에 의하여 비교하였다. 난소제거 수술과 가수술에 따른 유선발달 비교는 one-way 분산분석 후 preplanned comparison에 의하여 비교하였으며, 난소 분비기능과 adenosine의 상호작용효과(interaction effect)는 직교대비에 의하여 분석하였다(Steel and Torrie, 1960).

III. 결과 및 고찰

1. Adenosine implant 이식과 유선 발달

유선발달 시기에는 여러가지 생리조절자 즉, 호르몬, 성장인자(growth factor) 또는 기타 분자물질들 간에 체계적이고 상호 간섭작용에 의해 어떤 특정 생리조절자의 작용이 가려져 관찰되지 않는 경우가 많다. 따라서 본 실험에서 adenosine을 목적기관인 유선조직의 국소 부위에 장기간 직접 누출시키므로써 가능한 adenosine에 의한 주효과(primary effect)를 극대화 시켰다. 또한 난소분비 호르몬인 estrogen과 progesterone은 유선발달 시기에 영향을 미치는 중요한 유선발달 인자이기 때문에(Imagawa et al., 1990), 난소를 제거 또는 정상의 난소를 유지시키므로써 adenosine의 주효과를 구체화 시키고 유선발달에 있어서 난소호르몬과 adenosine의 상호작용의 가능성을 검토하였다.

Fig. 1은 난소 제거수술과 가수술한 생쥐에 adenosine-EVX implant를 이식시켰을 때 국소 부위의 유선발달을 실제 현미경으로 관찰한 것이다. 난소 제거 수술을 실시한 유선은 난소를 가수술한 생쥐의 유선조직보다 유관의 두께 및 end bud의 수 등 유선의 전체적인 발달이 저조한 것으로 나타났으며, 난소를 제거시킨 생쥐 가운데 25 μ g adenosine /implant를 함유하고 있는 처리구의 유선은 대조구에 비교하여 유관의 두께 및 end bud 수가 증가 됨을 관찰 할 수 있었다. 또한 난소를 제거시키지 않은 생쥐의 유선에 aden-

osine implant를 이식시킨 처리구에 있어서도 대조구에 비교하여 유선발달이 빠름을 관찰할 수 있다.

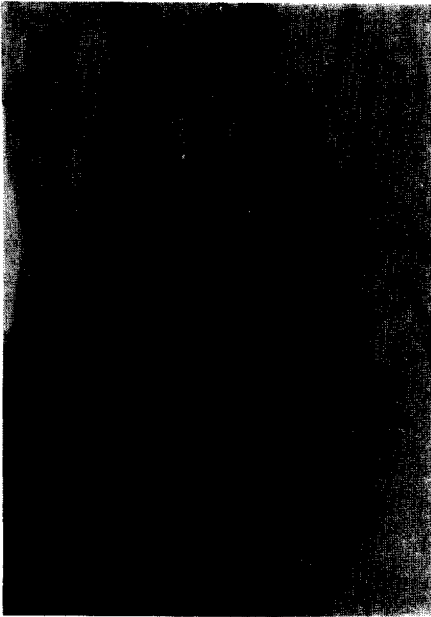
Adenosine implant를 유선조직에 이식시켰을 때 이식 부위의 염증이나 조직의 괴사작용 등이 전혀 관찰되지 않아 이식 근접 부위의 유선조직은 정상인 것으로 사료된다.

Fig. 2는 adenosine implant를 이식시킨 국소 부위의 end bud 수를 나타낸 것으로, 처리구의 효과(우측 유선조직)를 동일 개체내의 대조구(좌측 유선조직)와 비교하였다. End bud는 유선발달(mammogenesis) 시기에 지방 및 섬유성 결합조직으로 구성되어 있는 유선조직 내에서 일련의 유선상피세포(mammary epithelial cell)의 증식작용이 활발히 일어나고 있는 곧봉 모양의 미분화 세포집단을 의미하는 것으로, 난소를 제거시킨 생쥐에 25 또는 250 μ g adenosine /implant를 이식시켰을 때 유선조직내 end bud의 수를 대조구에 비교하여 50~60% 증가되었으며($P < 0.05$), 난소를 제거시키지 않은 생쥐에 있어서는 2.5 또는 25 μ g adenosine /implant구가 대조구에 비교하여 각각 41 또는 30% 증가되었다($P < 0.05$).

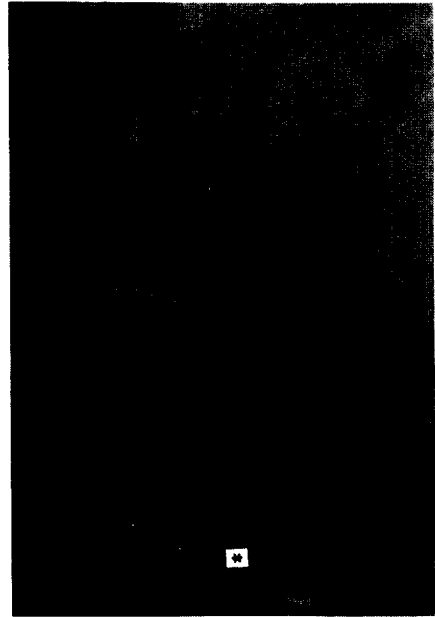
특히 난소를 제거하지 않은 구는 난소를 제거시킨 구보다 낮은 adenosine /implant 농도에서 end bud의 수가 증가시켰는데, 난소 기능의 유무에 따른 adenosine의 효과는 Fig. 5~7에서 상세히 설명하고 지 한다. End bud의 지름을 측정된 결과(Fig. 3) 난소를 제거한 구에서 25, 250 μ g adenosine /implant가, 그리고 난소를 제거하지 않은 구에서 25 μ g adenosine /implant를 처리한 유선이 반대쪽 유선인 대조구에 비하여 end bud의 지름을 각각 48, 28 및 39% 증가시켰으며($P < 0.05$), 기타 2.5 μ g adenosine /implant는 난소제거 및 제거하지 않은 구에서, 그리고 250 μ g adenosine /implant는 난소를 제거한 구에서 각각 end bud의 지름을 증가시키는 경향을 보였다($P < 0.1$).

Fig. 4는 adenosine implant 이식에 따른 국소 부위 유관의 지름을 측정된 것으로 난소를 제거시킨 구에 25 및 250 μ g adenosine /implant를 이식시켰을 때 완만하게 유관의 크기를 증가시켰으며($P < 0.1$), 난소를 제거시키지 않은 그룹에서 25 μ g adenosine /implant구가 대조구에 비하여 유관의 지름을 1.8배 증가시켰다($P < 0.05$)

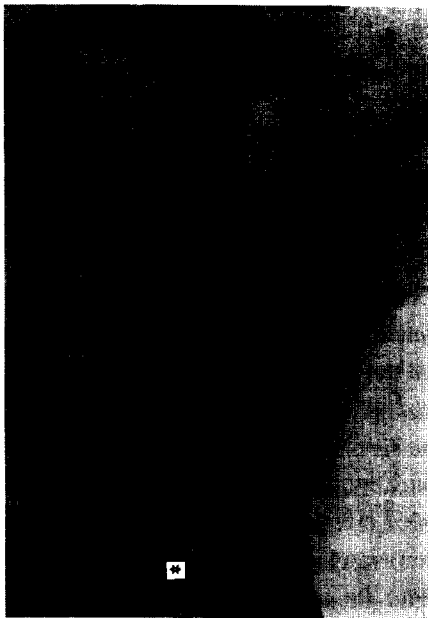
A) Ovariectomy
a) 25 μ g adenosine /implant



b) contralateral control to a)



B) Intact
a) 25 μ g adenosine /implant



b) contralateral control to a)

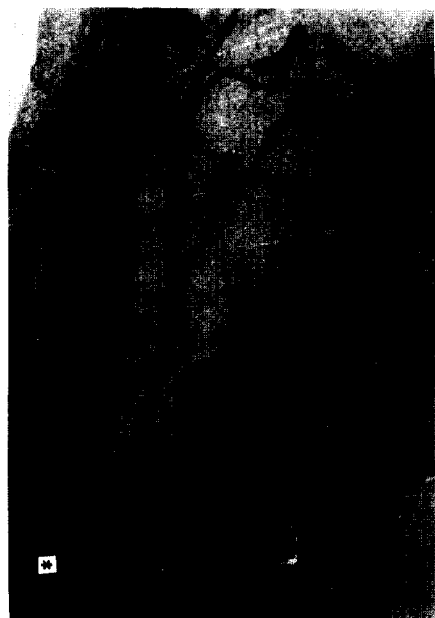


Fig. 1. Whole-mount photomicrographs illustrating the local effect of adenosine on mammary gland in intact or ovariectomized mice(35X). A) mammary gland from ovariectomized mice; a) 25 μ g adenosine/implant, b) contralateral control to a). B) mammary gland from intact mice; a) 25 μ g adenosine/implant, b) contralateral control to a). *; position of adenosine containing implant

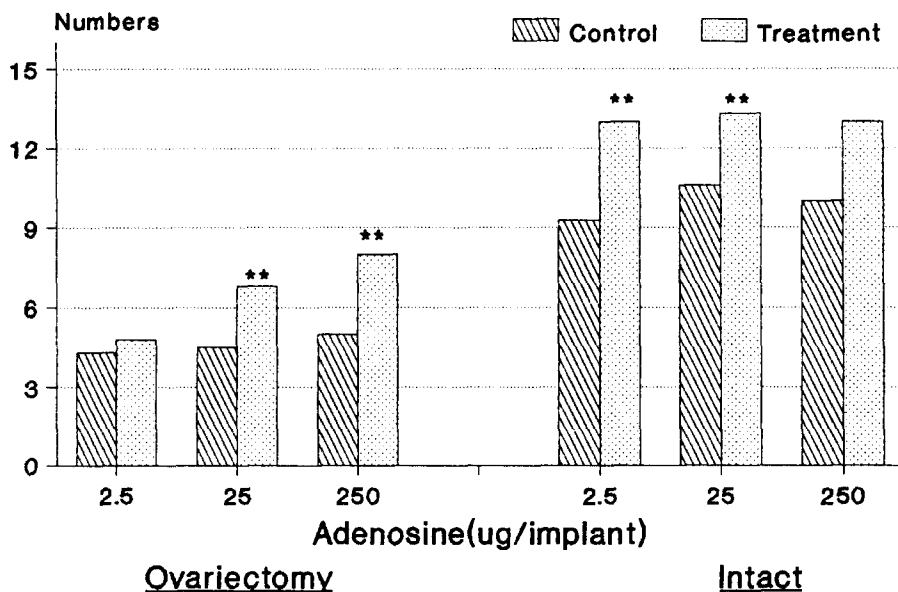


Fig. 2. Growth stimulatory effects of adenosine implant on the number of end buds per gland in intact or ovariectomized mice. Adenosine treated-glands were compared to contralateral glands containing blank implant by paired comparison at a given concentration of adenosine. **, at $P < 0.05$, (n=6).

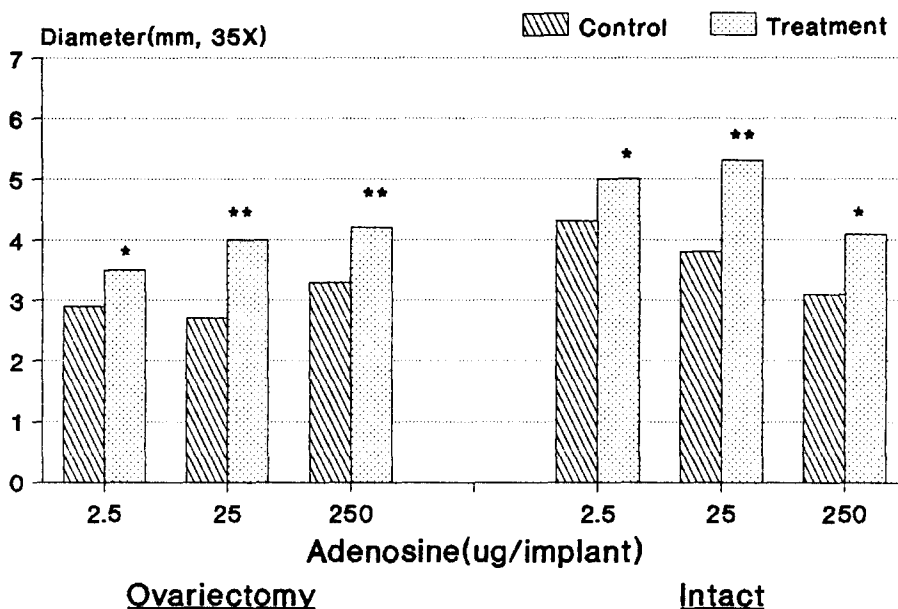


Fig. 3. Growth stimulatory effects of adenosine implant on end bud size which were determined by measuring end bud diameter. Adenosine treated-glands were compared to contralateral glands containing blank implant by paired comparison. *, at $P < 0.1$, **, at $P < 0.05$, (n=6).

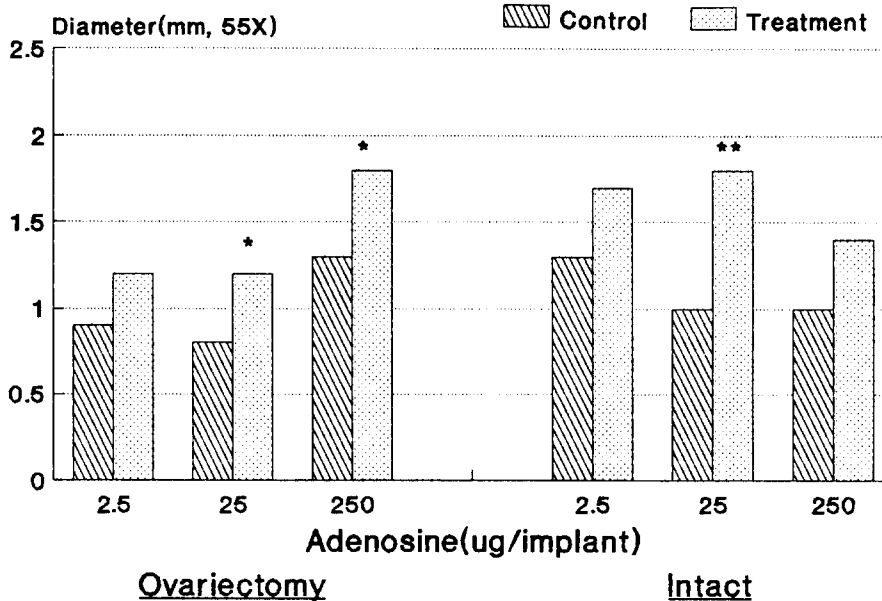


Fig. 4. Growth stimulatory effects of adenosine implant on mammary duct diameter. Adenosine treated-glands were compared to contralateral glands containing blank implant by paired comparison. *: at $P < 0.1$, **: at $P < 0.05$, ($n=6$).

2. 난소의 기능과 adenosine효과

Fig. 5, 6 및 7은 미경산 생쥐의 유선 발달에 있어서 adenosine과 난소 분비기능과의 상호작용 효과를 검토하기 위한 것으로 생쥐 개체당 좌우측 유선을 각각 독립된 표본으로 가정하고 통계분석하여 고찰하였다. 그림 5의 대조구내에서, 난소를 제거시키지 않은 그룹은 난소를 제거시킨 그룹보다 end bud의 수가 2.2배 증가하였으며($P < 0.01$), 2.5 μg adenosine /implant 구에서는 adenosine과 정상적인 난소 분비 기능이 end bud수를 증가시키는데 상호작용(interaction effect) 또는 상승효과를 나타내는 경향을 보였다($P < 0.1$).

End bud 지름의 크기에 있어서, 대조구와 250 μg adenosine /implant 구 내에서 난소를 제거시키지 않은 그룹과 난소를 제거시킨 그룹간에는 통계적 유의성이 없었으나($P > 0.05$), 2.5 μg 과 25 μg adenosine /implant 구 내에서는 난소를 제거시키지 않은 그룹이 난소를 제거시킨 그룹보다 end bud 지름의 크

기를 각각 42.9와 32.5%로 증가시켰다($P < 0.05$).

Adenosine 처리에 따른 유관의 크기 증가에 있어서는, 난소 분비기능과 adenosine 상호작용이 2.5 μg adenosine /implant에서 나타난 경향 이외에는 모든 처리 효과가 end bud 크기에서 나타난 바와 매우 유사하였는데(Fig. 7), 이와 같은 결과는 유선 발달시 end bud에서 유선상피세포의 분열이 왕성하게 일어나고, 이들 세포들이 유선조직의 fat pad내에 유관을 형성시키기 때문에 end bud의 발달과 유관의 발달 경향이 유사하게 나타난 것으로 사료된다. 정상의 난소를 지닌 250 μg adenosine /implant 구에서는 end bud의 크기나 유관의 발달이 25 μg adenosine /implant 처리구보다 저하되는 경향을 보였는데, 정상의 난소기능이 고농도의 adenosine작용을 억제 또는 간섭하므로서 유관의 발달을 저하시켰는지 의문시 된다.

유선상피세포를 저농도(1~10 μM)와 고농도의 adenosine(1mM)과 배양했을시 저농도에서는 왕성한 세포분열을, 고농도에서는 세포분열을 억제 또는 치사작용을 가져온다는 보고하였는데(Yuh and

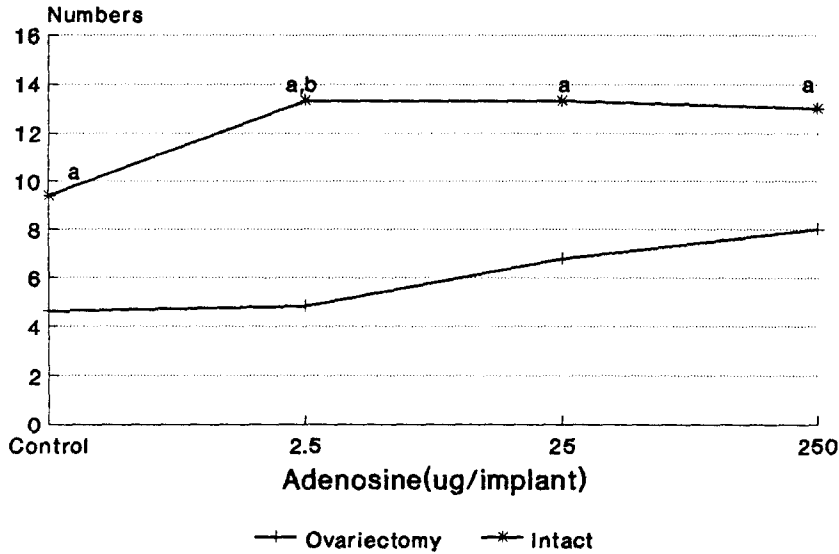


Fig. 5. The number of end buds per gland treated with adenosine implant in intact or ovariectomized mice. All mammary glands were considered as independent samples for the statistical analysis. a; Significant difference between intact and ovariectomized mice at a given concentration of adenosine/implant ($P < 0.05$), b; interaction effect between intact ovarian function and adenosine at a given concentration of adenosine ($P < 0.1$, intact(blank implant) minus ovariectomy(blank implant) vs intact(adenosine implant) minus ovariectomy(adenosine implant)).

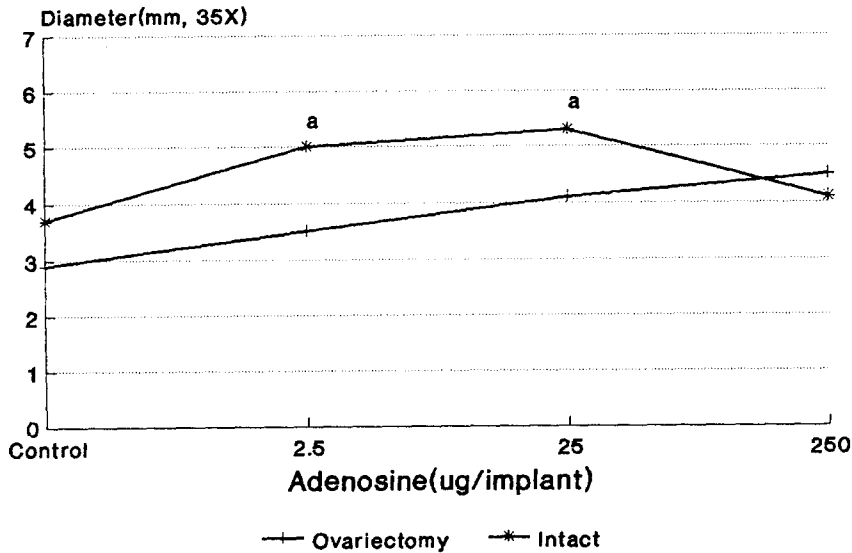


Fig. 6. End bud diameter treated with adenosine implant in intact or ovariectomized mice. a; Significant difference between intact and ovariectomized mice at a given concentration of adenosine/implant ($P < 0.05$).

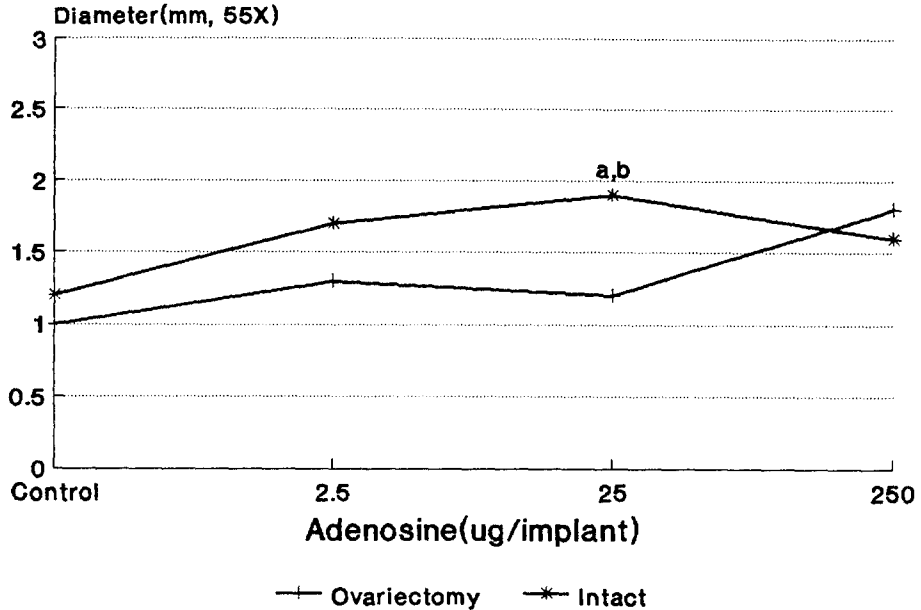


Fig. 7. Duct diameter treated with adenosine implant in intact or ovariectomized mice. **a:** Significant difference between intact and ovariectomized mice at a given concentration of adenosine/implant ($P < 0.05$). **b:** interaction effect between intact ovarian function and adenosine at a given concentration of adenosine ($P < 0.1$). Interaction effect was calculated like that of Fig. 5.

Sheffield, 1991), 본 연구에서 adenosine implant로부터 분비되는 adenosine의 양이 불명확한 점이 있어, implant에서 분비된 adenosine의 양과 난소 분비 기능과 유선발달에 어떤 영향을 미쳤는지에 관해서는 좀더 세심한 연구가 요구된다.

Fig. 8은 난소의 기능을 갖고 있는 생쥐의 유선과 난소를 제거시킨 유선에 25 μg adenosine /implant를 이식시킨 근접 부위의 유관을 미세 절단하여 hematoxylin-eosin Y로 2중 염색시킨 것으로 난소를 제거시키지 않은 그룹과 난소제거 그룹내에서 각각 adenosine 처리가 무처리구에 비하여 유관의 상피세포 증식 작용을 가져옴을 관찰할 수 있는데, 특히 난소 기능이 정상인 개체에 adenosine을 처리한 구에서 유관내 상피세포층이 두껍고 다량의 생피세포 핵이 관찰되었음을 알 수 있었다. 이와 같은 결과들은 end bud 및 유관의 발달을 양적 측정(quantitative measurement)에 의하여 제시된 앞의 결과와 거의 일치된다고

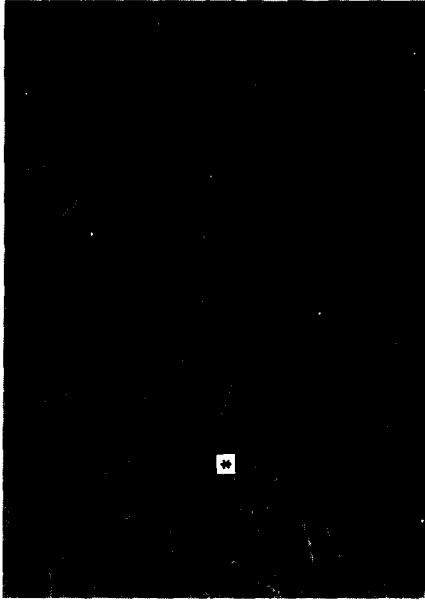
볼 수 있으며, 특히 adenosine 처리가 유선내 상피세포의 증식작용에 관련되어 있음을 단면적으로 나타낸 결과로 볼 수 있다.

본 실험에서 adenosine을 서방형으로 유선조직에 분비시켰을 때 명백히 유선의 발달을 가져왔으며, 특히 난소의 정상적인 기능을 갖고 있는 개체에서 adenosine이 end bud 및 유관의 발달을 상승시키는 경향을 보였는데, 이는 대부분의 가축이 임신기간 동안에 난소분비 호르몬인 estrogen 및 progesterone이 왕성해진다는 점에서 adenosine이 발정주기동안은 물론 임신기간동안 난소분비 호르몬과 유선발달에 매우 중요한 조절자임을 제시하여주는 결과라 할 수 있다.

생쥐 또는 미경산 젖소의 생체 및 실험관 실험을 모델로 하여 cyclic nucleotide인 cAMP가 정상의 유선조직 또는 유선상피세포의 성장에 관여하는 중요한 정보 전달자임이 확인되어 왔다(Loizzi, 1983; Sapag-

A) Ovariectomy

a) 25 μ g adenosine /implant

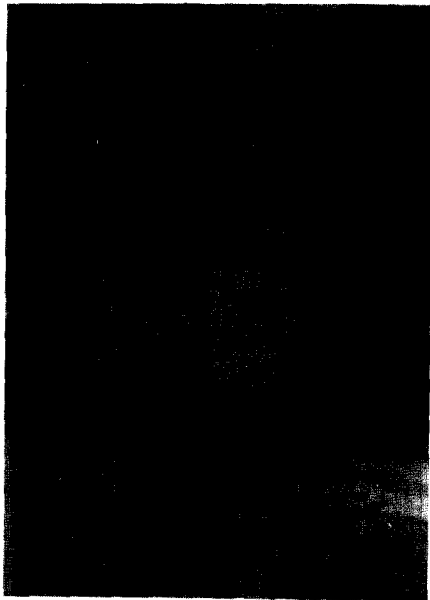


b) contralateral control to a)



B) Intact

a) 25 μ g adenosine /implant



b) contralateral control to a)



Fig. 8. Photomicrographs of mammary duct treated with 25 μ g adenosine/implant in intact or ovariectomized mice(400X). *; mammary epithelial cell layer.

Hagar 와 Greenbaum, 1974 ; Sheffield, 1991, Yuh 와 Sheffield, 1991). 앞에서 언급한 바와 같이 adenosine이 A2 receptor(adenylate cyclase 활성화 증진)를 통하여 cAMP 정보전달체계를 매체로 여러조직의 생리작용을 조절한다고 알려졌었던바, adenosine이 cAMP의 정보전달 체계를 매체로 유선 발달을 일으키게 하는 생리조절자 중에 하나라는 가능성을 생각하지 않을 수 없다. 그러나 최근 Yuh와 Sheffield(1991)는 adenosine이 유선 상피세포내의 cAMP농도를 변화시키지 않는 반면 세포내 ATP함량을 급격히 증가시킨다는 점, A2 receptor에 관련되어 있는 adenosine analog에 의한 세포증식작용이 극히 적다는 사실 등에 의하여 adenosine에 의한 유선상피세포의 성장이 cAMP 정보전달체계와 무관하거나 극히 일부 관련되어 있을 것으로 보고하였다.

현시점에서 adenosine에 의한 유선상피세포의 정보전달체계(signal transduction system)를 명확히 규명하고, 가축의 유선조직내에서 adenosine의 근원, 가축 발육단계에 따른 adenosine의 생리적 농도(physiological concentration)의 변화와 유선발달의 상관 관계, 또는 adenosine에 의한 유선발달이 adenosine의 대사물질에 의하여 기인되었는지에 관한 보고가 극히 적은 바 이들에 관한 연구가 요구된다.

IV. 적 요

Adenosine이 유선조직 발달에 관여하는 생리조절 인자임을 검토하기 위하여 adenosine이 함유되어 있는 Elvax 40P Implants를 생쥐의 유선조직에 이식시켜 국소 부위 반응을 관찰하였다. 5주령된 암컷 ICR 생쥐의 복부를 외과적으로 수술하여 adenosine이 함유되어 있는 Elvax 40P Implants를 서혜부 유선 좌측에, 무처리 implant는 우측에 12일간 이식시켰다. 이식부위의 전체 유선발달을 관찰하기 위하여 alum carmine으로 염색하였으며, 유관의 미세구조를 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin Y로 2중 염색시켰다.

난소를 제거시킨 생쥐의 유선에 25 또는 250 μg adenosine /implant가, 그리고 난소를 제거시키지 않은 유선에서는 2.5 또는 25 μg adenosine /implant가

이식 근접부위의 end bud 수와 크기를 증가시켰으며 ($P < 0.05$), 25 μg adenosine /implant를 난소를 제거시키지 않은 생쥐의 유선조직에 이식시켰을 경우 유관의 크기를 증가시켰다($P < 0.05$). 2.5 μg adenosine /implant와 정상난소 기능 간에는 유선조직내 end bud 형성에 완전한 상호작용 효과를 보여주었다 ($P < 0.1$). Adenosine 처리에 따른 유관의 미세구조 관찰에서, 난소제거 수술에 관계없이 adenosine 처리가 유관내 상피세포층을 두껍게 하고, 세포층내 다량의 핵이 관찰되었는데 이는 adenosine이 유관내 상피세포 증식에 관여하는 것으로 사료된다. 이와 같은 결과들은 adenosine이 유선발달에 관여하는 중요한 생리조절자임을 제시하여 준다고 볼 수 있다.

V. 인용문헌

1. Billig, H., S. Rosberg, C. Johanson, and K. Ahren 1989. Adenosine as substrate and receptor agonist in the ovary. *Steroids* 54:523-542.
2. Bruns, R. F. 1980. Adenosine receptor activation in human fibroblasts: Nucleoside agonists and antagonists. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 58:673-691.
3. Daly, J. W. 1985. Adenosine receptors. *Adv. Cycl. Nucleotide and Protein Phosphorylation Res.* 19:29-47.
4. Fox, I. H., and W. N. Kelly 1978. The role of adenosine and 2'-deoxyadenosine in mammalian cells. *Ann. Rev. Biochem.* 47:655-686.
5. Gonzalez, F. A., D. J. Wang, N. N. Huang, and L. A. Heppel 1990. Activation of early events of the mitogenic response by a P2Y purinoreceptor with covalently bound 3'-o-(4-benzoyl)-benzoyl-adenosine 5'-triphosphate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:9717-9729.
6. Huang, N., D. Wang, and A. A. Heppel 1989. Extracellular ATP is a mitogen for 3T3, 3T6, and A431 cells and acts synergistically with other growth factors. *Proc. Natl. Acad. Sci.*

- USA 86:7904-7915.
7. Imagawa, W., G. K. Bandyopadhyay, and S. Nandi 1990. Regulation of mammary epithelial cell growth in mice and rats. *Endocrine reviews* 11:494-523.
 8. Loizzi, R. F. 1983. Cyclic AMP changes in guinea pig mammary gland and milk. *Amer. J. Physiol.* 8:E549-E554.
 9. Londos, C., D. M. F. Cooper, and J. Wolff 1980. Subclasses of external adenosine receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:2551-2554.
 10. Rozengurt, E. 1982. Adenosine receptor activation in quiescent swiss 3T3 cells. *Exp. Cell Res.* 139:71-78.
 11. Sheffield, L. G. 1991. Oligonucleotides antisense to catalytic subunit of cyclic AMP-dependent protein kinase inhibit mouse mammary epithelial cell DNA synthesis. *Exp. Cell Res.* 192:307-310.
 12. Silberstein, G. B., and C. W. Daniel 1982. Elvax 40P implants: Sustained, local release of bioactive molecules influencing mammary ductal development. *Develop. Biol.* 93:272-278.
 13. Spag-Hagar, M. and A. L. Greenbaum 1974. Adenosine 3':5'-monophosphate and hormone interrelationships in the mammary gland of the rat pregnancy and lactation. *Eur. J. Biochem.* 47:303-312.
 14. Steel, R. G. and Torrie, J. H. 1960. Principles and procedures of statistics. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York.
 15. Williams, M. 1987. Purine receptors in mammalian tissues: Pharmacology and functional significance. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 27:315-345.
 16. Yuh, I. S. and L. G. Sheffield 1990. Photoreactive cyclic AMP analog promotes DNA synthesis of mouse mammary epithelial cells. *J. Dairy Sci. (Suppl. 1)* 73:156.
 17. Yuh, I. S., and L. G. Sheffield 1991. Effect of adenosine or adenosine analogs on mouse mammary growth. *J. Dairy Sci. (Suppl.)* 74:128.