

# 흰쥐 자궁에서 Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide와 수용체 유전자의 발현

이 성 호

상명대학교 자연과학대학 생물학과

## Expressions of Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide and Its Receptor Gene in the Rat Uterus

Sung-Ho Lee

Department of Biology, College of Natural Sciences, Sangmyung University,  
Seoul 110-743, Korea

**요 약 :** 본 연구에서는 흰쥐 자궁에서 pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP)과 그 수용체 유전자들이 발현되는가와 각각 어떠한 유형의 transcript들이 발현되는 가를 조사하였고, 이를 위해 역전사 중합효소 연쇄반응 (RT-PCR)을 시행하였다. 시상하부와 정소에서 공통적으로 존재함이 알려진 PACAP common exon 부위에 해당되는 primer를 사용하여 PCR을 시행한 결과 자궁을 포함한 모든 조직에서 예상대로 297 bp의 band가 확인되었다. 흰쥐 자궁에서 발현되는 PACAP mRNA에 정소 특이적인 exon 1이 포함되는가를 조사하기 위해 정소 특이적인 primer를 사용하여 PCR을 시행한 결과, 정소에서만 예상대로 586 bp의 band가 검출되었고 자궁을 포함한 다른 조직에서는 발견되지 않았다. 흰쥐의 PACAP 수용체 PCR에서는 자궁에서 923 bp와 839 bp 크기의 band를 확인할 수 있었으며, 이는 알려진 PACAP type I 수용체의 splicing variant들 가운데 hip-hop (923 bp)과 hip- 또는 hop-type (839 bp)의 예상 크기와 일치하였다. 인위적으로 성적인 성숙을 유도한 PMSG 주사모델하에서 자궁내 PACAP transcript 수준은 주사 24 시간 후 실험군에서 증가하여 생식주기상 proestus 시기에 해당되는 주사 48 시간까지 증가하였다가 72 시간후에는 control보다 낮은 수준을 보였는데, 이는 자궁의 PACAP 유전자발현이 생리적으로 조절됨을 나타내는 것이다. 본 연구는 흰쥐의 자궁에서 PACAP과 그 수용체 isoform들의 유전자가 발현됨을 최초로 보고한 것으로, 자궁 자체에서 발현되는 PACAP이 autocrine 또는 paracrine하게 자궁의 생리 및 기능 조절을 담당함을 시사한다.

**ABSTRACT :** The present study was performed to analyze the gene expressions of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide(PACAP) and its receptor in the rat uterus, a candidate for novel extrahypothalamic source and target. The PACAP cDNA fragments corresponding to the common exon region which is found in both the rat hypothalamus and testis were produced from all tissue samples including the rat uterus by reverse transcriptionpolymerase chain reaction (RT-PCR). No PCR product was amplified from the rat hypothalamic, pituitary, ovarian and uterine samples when the 5' primer corresponding to the testis-specific exon 1 region was used, while the predicted size of product was detected from the testis sample. RT-PCR using the uterine RNA and specific primers for the PACAP receptor yielded products with predicted sizes. Transcripts for the rat uterine PACAP receptor were identified as type I isoforms with hip-hop and hip- or hop-type inserts. After pregnant mare's serum gonadotropin (15 IU) treatment of immature rats (day 25), the level of PACAP mRNA was increased in 24 h and 48 h group, and was declined to the lowest in 72 h group. The present study shows the presence of transcripts for PACAP and its receptor isoform in the rat uterus. These findings suggest that the uterine PACAP might act as a novel autocrine and/or paracrine factor via its specific receptors on the regulation of rat uterine function and physiology during the reproductive cycle.

**Key words :** PACAP, Receptor, Gene expression, Rat uterus, RT-PCR.

### 서 론

#### Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PAC-

본 연구는 1997년도 교육부 유전공학 학술연구조성비 (과제번호 229)의 일부로 이루어졌음.

AP)는 양의 시상하부에서 최초로 분리된 신경펩타이드로 176개의 아미노산 잔기체로부터 PACAP-38과 PACAP-27의 두 가지 생물학적 활성형이 만들어진다 (Miyata et al., 1989; Arimura and Shioda, 1995). PACAP은 시상하부에서 분비되어 문맥계를 통해 뇌하수체 전엽에 작용하여 adenylate cyclase를 자극, 세포내 이차전달자인 cyclic AMP의 합성을

촉진하여 Growth Hormone (GH), Prolactin, Luteinizing Hormone (LH), Follicle Stimulating Hormone (FSH), Corticotropin (ACTH) 등의 유전자 발현이나 분비를 조절한다 (Hart et al., 1992; Aoki et al., 1997; Winters et al., 1997).

PACAP 신경세포는 중추신경계인 뇌와 시상하부에서 가장 많이 발견되지만 호흡관도, 위장관 및 암컷의 생식도관내 혈관이나 평활근, 상피세포와 분비선 등 체내 여러 말초신경계에도 존재한다 (Arimura et al., 1991; Uddman et al., 1991; Sundler et al., 1992; Steenstrup et al., 1994). 한편 신경계외의 조직들에서는 흰쥐의 정소내 세정관과 난소의 과립세포 그리고 림프절에서 PACAP mRNA와 펩타이드가 존재하는 것이 알려졌다 (Kononen et al., 1994; Gräs et al., 1996; Gaytan et al., 1994). Northern blot analysis를 통해 확인된 흰쥐의 PACAP mRNA의 크기는 시상하부와 대뇌 피질에서의 경우 2.3 kb인데 비해 정소에서는 0.8 kb로 나타났으며, 그 염기서열을 조사한 결과 시상하부에서 발견된 것과는 다른 정소특이적인 exon 1을 갖고 있음이 나타났다 (Hurley et al., 1995). 또한 흰쥐의 난소에서는 시상하부형인 2.3 kb외에도 3.0 kb와 1.2 kb의 mRNA들이 검출되는데, 이는 PACAP 유전자의 조직특이적인 발현 조절 기작이 존재함을 시사한다 (Gräs et al., 1996).

PACAP 수용체의 유전자 발현이나 단백질의 존재는 뇌하수체외에도 시상하부, 대뇌피질, 해마, 소뇌 등 뇌의 여러 부위 (Shivers et al., 1997), 암컷의 난소와 생식도관들 (Shivers et al., 1991; Steenstrup et al., 1994; Scaldaferrri et al., 1996), 부신 (Frödin et al., 1995), 그리고 수컷의 생식기관 가운데 정소, 부정소, 저정낭에 PACAP-binding site가 존재함이 보고되었다 (Shivers et al., 1991). PACAP 수용체는 type I과 II 두 유형으로 나뉘는데, 그 염기서열은 vasoactive intestinal polypeptide (VIP)와 growth hormone-releasing hormone (GHRH) 수용체의 유전자들과 대단히 유사하다 (Hashimoto et al., 1993; Pisegna & Wank, 1993). PACAP type I 수용체의 경우 ligand로 PACAP-38과 PACAP-27에 특이적인데 비해 type II 수용체의 경우는 PACAP과 VIP에 거의 유사한 친화도로 결합함이 알려졌다 (Arimura & Shioda, 1995). 또한 PACAP type I 수용체의 유전자 발현의 결과로 5종류의 splicing variant가 만들어질 수 있는데, 흥미롭게도 이들은 각각 상이한 세포내 신호 전달기작을 갖는 것으로 보고되었다 (Spengler et al., 1993).

본 연구에서는 흰쥐를 재료로 (1) 자궁에서 PACAP과 그 수용체 유전자들이 발현되는가와, (2) 각각 어떠한 유형의 transcript들이 발현되는가, 그리고 (3) 자궁의 PACAP 유전

자발현에 미치는 뇌하수체 호르몬의 영향을 조사하였고, 이를 위해 기존에 보고된 흰쥐의 PACAP과 수용체에 대한 primer들을 사용하여 역전사 중합효소 연쇄반응 (Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)을 시행하여 그 결과로 흰쥐의 자궁에서도 PACAP과 그 수용체의 유전자들이 발현되고, 자궁에서의 PACAP 유전자발현이 생리적으로 조절됨을 발견하였다.

## 재료 및 방법

### 1. RNA 추출

성숙한 암컷 흰쥐 (Sprague-Dawley strain, 생후 8~10주)의 자궁을 획득하여 즉시 Guanidium thiocyanate-phenol-chloroform 추출 방법 (Chomzynski & Sacchi, 1987)을 기초로 제작된 TRIzol 용액 (Gibco-BRL, USA)으로 분쇄하고 chloroform (0.2 vol)을 가한 뒤 4°C에서 10,000xg로 15분간 원심분리하였다. 분리된 상층액에 isopropyl alcohol(1 vol)을 가하고 4°C에서 10,000xg로 15분간 원심분리하여 RNA 침전물을 얻고 이를 75% ethanol로 세척하였다. RNA 침전물은 공기중에서 완전히 건조시킨 후 DEPC-treated water에 용해하여 실험전까지 -70°C에 보관하였다. 한편 생후 25일 된 암컷에 식염수로 희석한 Pregnant Mare's Serum Gonadotropin (PMSG, Sigma)를 마리당 15 IU씩 복강주사하여 인위적으로 성적 성숙을 유도한 뒤 실험군에 따라 주사후 0, 24, 48, 72 시간후 도살하여 자궁으로부터 RNA를 추출하였다.

### 2. 역전사 (Reverse transcription)

RNA 용액 (1 µg total RNA/10 µl DEPC-water)에 oligo-dT<sub>25</sub> primer (10 pmol)를 넣고 70°C에서 10 분간 가열한 후 5× Reaction buffer 4 µl, 1M DTT 2 µl, 10 mM dNTP mixture 1 µl, Super-Script™ II Reverse Transcriptase (GIBCOBRL) 10 unit을 혼합하여 37°C에서 2 시간 동안 반응시킨 후 70°C에서 10 분간 가열하여 반응을 정지시키고 -20°C에서 보관하였다.

### 3. 중합효소 연쇄반응 (Polymerase chain reaction)

PCR에 사용된 primer들은 한국 Bioneer에서, Taq DNA polymerase는 TAKARA Korea로 부터 구입하였다. 이미 알려진 흰쥐의 시상하부형과 정소형 PACAP과 PACAP 수용체의 cDNA 염기서열을 참고로 primer들을 제작하였으며 (Ogi et al., 1990; Hurley et al., 1995; Hashimoto et al.,

1993; Svoboda et al., 1993), PACAP PCR을 위해서는 P1, P2, P3 그리고 oligo-dT<sub>25</sub> primer를, PACAP 수용체 PCR을 위해서는 P4와 P5 primer를 각각 사용하였다 (Fig. 1 & Table 1). 각 반응은 10×PCR buffer 5 μl, 10 mM dNTP mixture 4 μl, 각각의 primer 1 μl (10pmol)과 Taq DNA Polymerase 1.25 unit와 cDNA template 1 μl (20 ng)를 넣은 후 3차 증류수로 총 50 μl로 조정하였다. 반응조건은 94°C에서 2분간 denaturation을 1회, denaturation (94°C, 30 초), annealing (54°C, 30 초), elongation (72°C, 1 분) step을 35회 실시하였고 최종적으로 72°C에서 10분간 extension 시켰다. 증폭된 PCR 산물은 2% agarose gel에서 전기영동을 시행하고 ethidium bromide로 염색하여 확인하였다. 각 산물들을

**Table 1. Sequences and positions of primers used in RT-PCR**

Name	Sequences	Positions
P1	GAAACCCGCTGCAAGACTTCTA	331-352
P2	TGTCTGTGAAGATGCCGTCCGA	606-627
P3	GATACGGCTCAACTTCATGCAG	41-62
P4	CCTGAGTCTGGAGATCAGGAT	756-776
P5	ATCGGTTACCTTTCCTGCTCC	1658-1678
dT	ATAGAATTC-dT25	-
L1	GAACATTGATGATGGCACCTC	96-115
L2	ACCATTGTTCTTCCCTGTCTTG	375-396

Sequences are all 5' to 3' direction. All oligos were purchased from Korea Bioneer. L1 and L2 primers were used in L27 PCR for internal control (see Materials and Methods for details).

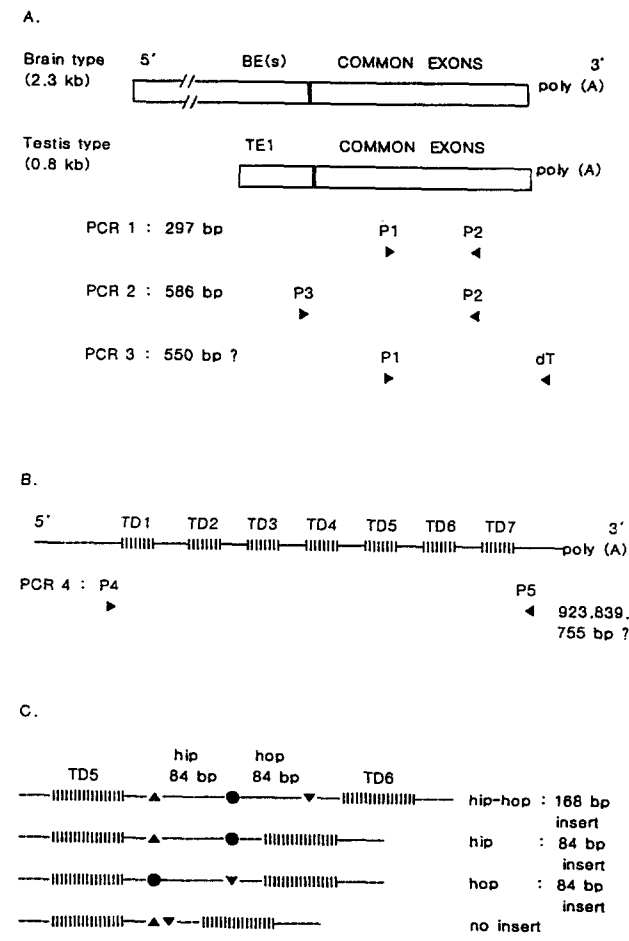
gel로부터 추출한 뒤 Top™ DNA sequencing kit (한국 Bioneer)를 사용하여 염기서열을 비교하여 PCR이 정확하게 수행되었음을 확인하였다.

**4. Semi-quantitative PCR**

PMSG에 의해 성적성숙이 유도된 흰쥐 자궁내 PACAP mRNA의 정량적인 비교를 위해 semi-quantitative PCR 방법이 사용되었다. 각 실험군으로부터의 얻은 동량의 역전사산물 (1 μl)을 각각 PACAP과 internal control인 ribosomal protein L27 (Lebeau et al., 1991)에 대한 PCR 반응에 사용하였고, L27 PCR에 사용된 primer는 L1과 L2 이었다 (Table 1). L27 PCR 산물을 전기영동후 각 실험군 간의 양을 비교한 뒤 이를 기준으로 보정하여 PACAP의 PCR 산물을 전기영동하여 양적인 차이를 분석하였다.

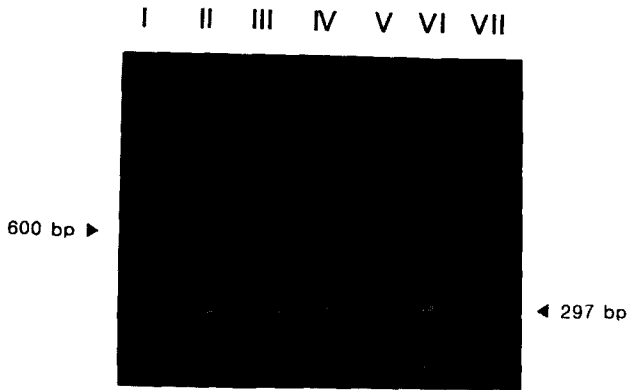
**결 과**

흰쥐의 시상하부, 뇌하수체, 난소, 정소와 자궁으로 부터 추출한 total RNA로 oligo-dT<sub>25</sub> primer를 사용하여 cDNA를 합성하고 시상하부와 정소에서 공통적으로 존재함이 알려진 PACAP common exon 부위에 해당되는 P1과 P2 primer를 사용하여 PCR을 시행한 결과, 모든 조직에서 예상대로 297 bp의 band가 확인되었고 (Fig. 2), cDNA만이 생략된 음성대조군에서는 band가 나타나지 않았다. 이는 흰쥐 자궁에서 PACAP 유전자가 발현됨을 최초로 확인한 결과이며, 뇌하수체와 난소에서의 검출 결과는 각각 흰쥐 뇌하수체 전엽의 gonadotrope에서와 흰쥐 난소의 과립세포에서 PACAP이 발현된다는 기존의 보고들과 일치한다 (Jarry et al., 1995; Scaldaferrri et al., 1996; Gräs et al., 1996). 자궁 (Lane VI)에서 보이는 750 bp의 band는 추출후 2차 PCR로 확인한 결과 ar-



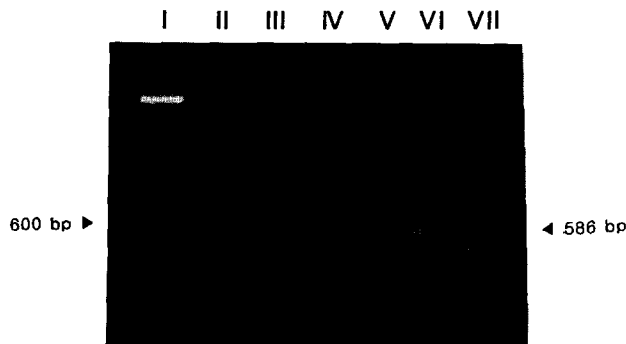
**Fig. 1. Schematic representation of the structures of rat PACAP and its receptor transcripts.**

Primer positions and expected size of the PCR products are marked (See Table 1 for details). A. Rat PACAP cDNA. BE (s), brain type exon (s); TE1, testis-specific exon 1; dT, oligo-dT primer. B. Rat PACAP receptor (type I) cDNA. TD, transmembrane domain. C. Splicing variants of type I receptor mRNAs.



**Fig. 2. PCR amplification of the cDNA fragments coding the common exon part of PACAP mRNA in rat tissues.**

RT-PCR products generated with P1 and P2 primers were electrophoresed using 2% agarose gel (See Fig. 1A). The predicted size of the cDNA products was depicted on the right of the panel. Lanes I, 100 bp DNA size marker (Gibco-BRL); II, hypothalamus; III, pituitary; IV, ovary; V, testis; VI, uterus; and VII, negative control.



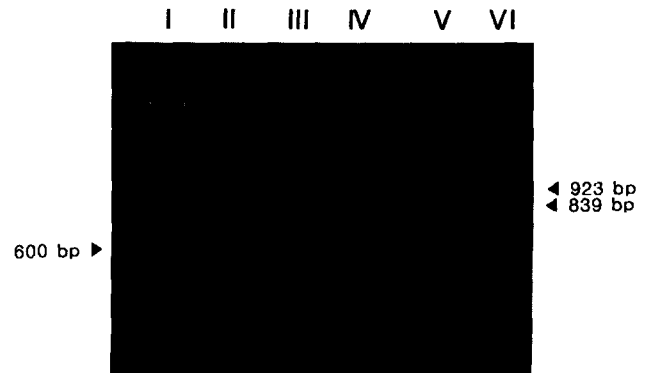
**Fig. 3. Detection of the amplified rat PACAP cDNA with testis-specific exon 1 by PCR.**

In this study, the 5' primer (P3) corresponding to the unique testis-specific exon 1 of PACAP transcript and common 3' primer (P2) were used (See Fig. 1A). Lanes I, 100 bp DNA size marker (Gibco-BRL); II, hypothalamus; III, pituitary; IV, ovary; V, uterus; VI, testis; and VII, negative control.

tifact로 나타났다.

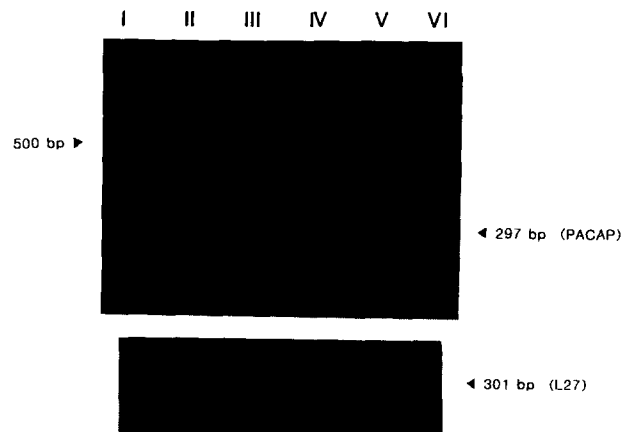
흰쥐 자궁에서 발견되는 PACAP mRNA에 정소특이적인 exon 1이 포함되는가를 조사하기 위해 정소특이적인 5' primer (P3)와 앞서 사용된 3' primer (P2)를 사용하여 PCR을 시행한 결과, 정소에서는 예상대로 586 bp의 band가 검출되었으나 시상하부, 뇌하수체, 난소, 자궁과 음성대조군에서는 발견되지 않았다 (Fig. 3). 한편 공통 exon 부분에 대한

primer인 P1과 oligo-dT25 primer를 사용한 PACAP 3' rapid amplification of cDNA end PCR (3' RACE-PCR) 결과 모든 조직에서 550 bp 산물이 검출되었으며, 이는 각 조직들에서 발견되는 PACAP cDNA의 3'-end 부분이 동일함을 의미한다 (data not shown). 흰쥐의 PACAP type I 수용체에 대한 primer (P4와 P5)를 사용한 PCR에서 음성대조군을 제외한 시상하부, 뇌하수체, 자궁, 정소에서 923 bp와 839 bp 위치에서 band를 확인하였는데 (Fig. 4), 이는 알려진 기존의 PACAP type I 수용체의 splicing variant들 가운데 hip-hop



**Fig. 4. PCR amplification of the rat PACAP type I receptor cDNA fragments.**

P4 and P5 primers correspond to the 5' upstream part to the transmembrane domain I and 3' downstream part to the transmembrane domain VI, respectively (See Fig. 1B). Lanes I, 100 bp DNA size marker (Gibco-BRL); II, hypothalamus; III, pituitary; IV, testis; V, uterus; and VI, negative control.



**Fig. 5. Semi-quantitative RT-PCR of the rat PACAP transcript in the uteri from PMSG-injected rats.**

Lanes I, 100 bp DNA size marker (Korea Bioneer); II, control (immature rat); III, PMSG 24 h; IV, 48 h; V, 72 h; and VI, negative control. PCR amplification of L27, a transcript encoding ribosomal protein was performed to normalize the data in this figure.

(923 bp)과 hip- 또는 hop-type (839 bp)의 예상 크기와 일치하였다 (Hashimoto et al., 1993; Svoboda et al., 1993). 이 결과는 흰쥐의 PACAP type I 수용체가 자궁에서 발현됨을 최초로 증명하는 것이고, 면역조직화학법으로 시상하부에서의 type I 수용체 단백질이 존재한다는 기존의 보고를 mRNA의 존재로 확인하고 (Shioda et al., 1997), 흰쥐 정소의 PACAP binding site가 type I variant들로부터 유래될 가능성을 보여주는 것이다. 인위적으로 성적인 성숙을 유도한 PMSG 주사모델하에서 자궁내 PACAP transcript는 주사 24 시간후부터 생식주기상 proestus 시기에 해당되는 주사후 48 시간까지 증가하였다가 estrus 시기에 해당되는 주사후 72 시간에는 미성숙 대조군의 수준 이하로 감소하였다 (Fig. 5).

## 고 찰

시상하부의 여러 분비호르몬 가운데 PACAP과 그 수용체는 비교적 최근에 그 유전자 구조가 밝혀졌으며, 뇌하수체 전엽에서의 호르몬들의 분비 조절 기능이 조사된 이래로 체내 여러 조직에서의 유전자 발현과 조직특이적인 기능들이 계속 알려지고 있다. PACAP은 시상하부와 뇌에서 신경펩타이드로 작용하고 부신수질의 chromaffin 세포의 카테콜아민 분비와 neurotrophic 효과를 나타내며 (Shioda et al., 1997; Frödin et al., 1995), 림프절에서 발현되어 면역세포들의 분화나 기능 조절에 관여하는 것으로 추정된다 (Gaytan et al., 1994). 생식기관의 경우 PACAP은 특히 정소와 난소에서 발현되어 스테로이드 호르몬의 합성과 분비를 조절하고 정자형성과정과 배란의 조절에 관여하리라 추정된다 (Kononen et al., 1994; Zhong & Kasson, 1994; Gräs et al., 1996). 포유류 암컷의 자궁과 태반에 분포된 신경말단 부분에 특히 PACAP-38이 다량으로 존재함이 보고된 바 있으나 (Steenstrup et al., 1994), 말초 신경외의 자궁 조직에서 국부적으로 PACAP이 발현, 합성되는가와 자궁내 PACAP 수용체의 유전자 유형에 대한 정보는 전무하였다.

본 연구결과는 흰쥐의 자궁에서 PACAP과 그 수용체 isoform들의 mRNA가 존재함을 최초로 보고한 것으로, 이는 시상하부의 지역 (extrahypothalamic region)에서의 PACAP 생성 및 작용 부위에 자궁이 추가됨을 의미한다. PACAP 펩타이드의 경우 증폭된 cDNA 부분이 PACAP 전구체를 coding하고 있는 부분이므로 흰쥐 자궁내 근육이나 혈관에 분포된 말초성 PACAP 신경외의 세포들에서도 직접 발현되고 PACAP 펩타이드가 합성되어 국부적으로 작용할

수 있음을 시사한다. 정소특이적인 exon 1 부분에 대한 primer를 사용한 PCR의 경우 자궁으로부터 얻은 cDNA에서 증폭이 일어나지 않은 것으로 보아 자궁내 존재하는 PACAP mRNA는 정소형과는 다른 5'-untranslated region (UTR)을 갖는 것으로 보이며, 현재 흰쥐 자궁에서 발현되는 PACAP mRNA의 5'-UTR 부분이 시상하부형과 동일하거나 또는 자궁특이적인가의 여부를 조사중이다.

PACAP은 glucagon/peptide histidine isoleucine amide (PHI)/secretin/ GHRH family에 속하는데, 포유동물 여러 종들에서 PACAP의 아미노산 서열은 특히 VIP와 약 70% 정도가 일치하는 것으로 보아 진화과정에서 하나의 공통 유전자로부터 유래된 것으로 추정된다 (Arimura & Shioda, 1995). PACAP 수용체들의 아미노산 서열 역시 VIP와 GHRH 수용체의 것과 대단히 유사하여 서로간에 친화도의 차이는 있으나 어느 정도 교차로 결합할 수 있음이 알려져 있으며, 이들은 모두 7개의 transmembrane domain을 갖는 전형적인 G-protein coupled receptor로서 ligand와 결합시 공히 cAMP 합성의 증가가 야기된다 (Arimura & Shioda, 1995). 그런데 PACAP type 수용체의 경우는 alternative splicing에 의해 5 종류의 variant가 존재할 수 있고, 이로부터 합성된 type I 변형들과 type II 수용체들은 상이한 세포내 이차신호전달계를 선별적으로 작동시킴으로서 동일한 자극에 대한 다양한 세포 반응을 초래함이 보고되었다 (Spengler et al., 1993). 본 연구는 흰쥐 자궁내에 존재하는 PACAP 수용체 단백질이 type 수용체 isoform인 hip-hop, hip- 또는 hop-type의 splicing variant들로부터 합성될 가능성을 보여주는 것이다. 근육의 수축이나 각종 분비 과정에 calcium ion이 결정적인 역할을 한다는 사실과 포유류의 자궁내 혈관이나 조직의 평활근 활성화와 태아-태반간의 혈액순환의 조절에 PACAP이 관여한다는 보고 (Steenstrup et al., 1996)를 미루어 볼 때 흰쥐 자궁에서의 PACAP 작용이 type I 수용체 variant들을 통해 cyclic AMP외에 주로 calcium과 phosphatidyl inositol을 이차전달자로 사용하는 신호전달기작을 매개로 일어날 가능성을 시사한다.

포유동물에서의 생식현상의 조절은 시상하부-뇌하수체-생식소 (hypothalamus-pituitary-gonadal axis)의 호르몬축에 의해 조절됨은 주지의 사실이다. 자궁의 경우는 난소로부터의 분비요인들 가운데 특히 estrogen과 progesterone의 영향에 의해 자궁내막세포들의 급격한 성장과 사멸, 혈관의 분포와 소실, 자궁액 분비 양상의 변화가 초래되며, 자궁내 여러 요인들의 유전자발현이 이러한 현상들과 관련되어 있는 것으로 추정된다 (Ojeda, 1996). PMSG 주사모델을 사용한 본

실험의 결과는 흰쥐 자궁내 PACAP 유전자발현이 뇌하수체 호르몬인 FSH에 의해 조절될 수있음을 보여주는데, FSH가 직접 자궁에 작용하기보다는 아마도 FSH에 의해 성숙이 유도된 난소로부터 분비되는 스테로이드 호르몬들에 의한 것으로 추정되고 생식주기의 진행에 따라 자궁의 PACAP 유전자발현이 조절될 가능성을 시사한다.

결론으로, 본 연구를 통해 흰쥐의 자궁에서 PACAP과 PACAP type 수용체 isoform인 hip-hop, hip- 또는 hop-type의 splicing variant들이 발현됨을 증명하였다. 본 연구 결과들은 흰쥐의 자궁 자체에서 발현되는 PACAP이 autocrine 또는 paracrine하게 자궁의 생리 및 기능 조절을 담당함을 시사하는데, 그 기능으로 암컷의 생식주기에 따른 자궁의 분화, 자궁내막 세포들의 분비, 자궁내 근육수축, 혈류 조절, 면역세포의 활성화 등에 영향을 줄것으로 추정된다. 흰쥐 자궁내 PACAP이 어떠한 유형의 세포들에서 발현되는가와 유전자 발현의 조절 및 작용기작 그리고 생식과정에서의 기능들에 대해서 보다 자세한 연구가 필요하다고 사료된다.

## 인용문헌

- Aoki Y, Iwasaki Y, Katahira M, Oiso Y, Saito H (1997) Regulation of the rat proopiomelanocortin gene expression in AtT-20 cells. II: Effects of the pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) and vasoactive intestinal peptide. *Endocrinology* 138:1930-1934.
- Arimura A, Shioda S (1995) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) and its receptor: neuroendocrine and endocrine interaction. *Front Neuroendocrinol* 16:53-88.
- Arimura A, Somogyvari-Vigh A, Miyata A, Mizuno K, Coy DH, Kitada C (1991) Tissue distribution of PACAP as determined by RIA: highly abundant in the rat brain and testis. *Endocrinology* 129:2787-2789.
- Chomczynski P, Sacchi N (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162: 156-159.
- Frödin M, Hannibal J, Wuff BS, Gammeltoft S, Fahrenkrug J (1995) Neuronal localization of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide 38 in the adrenal medulla and growth-inhibitory effect on chromaffin cells. *Neuroscience* 65:599-608.
- Gaytan F, Martinez-Fuentes AJ, Garcia-Navarro F, Vaudry H, Aguilar E (1994) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) immunolocalization in lymphoid tissues of the rat. *Cell Tissue Res* 276: 223-227.
- Gräs S, Hannibal J, Georg B, Fahrenkrug J (1996) Transient periovulatory expression of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in the rat ovarian cells. *Endocrinology* 137:4779-4785.
- Hart GR, Gowing H, Burrin JM (1992) Effects of novel hypothalamic peptide, pituitary adenylate cyclase-activating peptide, on pituitary hormone release in rats. *J Endocrinol* 134:33-41.
- Hashimoto H, Ishihara T, Shigemoto R, Mori K, Nagata S (1993) Molecular cloning and tissue distribution of a receptor for pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Neuron* 11:333-342.
- Hurley JD, Gardiner JV, Jones PM, Bloom SR (1995) Cloning and molecular characterization of complementary deoxyribonucleic acid corresponding to a novel form of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Endocrinology* 136:550-557.
- Jarry H, Böttner M, Benter S, Wüttke W (1995) Rat gonadotropes express PACAP: *in vivo* upregulation of mRNA levels by a GnRH agonist. In: Proc. 77th Annual Meeting of Endocrine Society, Washington DC, USA, P2-51.
- Kononen J, Paavola M, Penttilä TL, Parvinen M, Peltou-Huikko M (1994) Stage-specific expression of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP): mRNA in the rat seminiferous tubules. *Endocrinology* 135:2291-2294.
- Lebeau M-C, Alvarez-Bolado G, Braissant O, Wahli W, Catsicas S (1991) Ribosomal protein L27 is identical in chick and rat. *Nuc Acid Res* 19:1337.
- Miyata A, Arimura A, Dahl RR, Minamino N, Uehara A, Jiang L, Culler MD, Coy MD (1989) Isolation of a novel 38 residue-hypothalamic polypeptide which stimulates adenylate cyclase in pituitary cells. *Biochem Biophys Res Commun* 164:467-474.
- Ogi K, Kimura C, Onda H, Arimura A, Fujino M (1990)

- Molecular cloning and characterization of cDNA for the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP). *Biochem Biophys Res Commun* 173:1271-1279.
- Ojeda S (1996) Female reproductive function. In: Griffin J. and Ojeda S (eds), *Textbook of Endocrine Physiology*. New York: Oxford University Press, pp164-200.
- Pisegna JR, Wank SA (1993) Molecular cloning and functional expression of the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide type receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:6345-6349.
- Scaldefferri L, Arora K, Lee SH, Catt KJ, Moretti C (1996) Expression of PACAP and type-I receptor isoforms in the rat ovary. *Mol Cell Endocrinol* 117: 227-232.
- Shioda S, Shuto Y, Somogyvari-Vigh A, Legradi G, Onda H, Coy DH, Nakajo S, Arimura A (1997) Localization and gene expression of the receptor for pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide in the rat brain. *Neurosci Res* 28:345-354.
- Shivers BD, Gorcs TJ, Gottschall PE, Arimura A (1991) Two high affinity binding sites for pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide have different tissue distributions. *Endocrinology* 128:3055-3065.
- Spengler D, Waeber C, Panaloni C, Holsboer F, Bockaert J, Seeburg PH, Journot L (1993) Differential signal transduction by five variant of the PACAP receptor. *Nature* 365:170-176.
- Steenstrup BR, Ottesen B, Jorgensen M, Jorgensen JC (1994) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide induces vascular relaxation and inhibits non-vascular smooth muscle activity in the rabbit female genital tract. *Acta Physiol Scand* 152:129-136.
- Steenstrup BR, Jorgensen JC, Alm P, Hannibal J, Junge J, Fahrenkrug J, Ottesen B (1996) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP): Occurrence and vasodilatory effect in the human uteroplacental unit. *Regul Pept* 61:197-204.
- Sundler F, Ekbland F, Absood A, Hakanson R, Kovacs K, Arimura A (1992) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP): a novel vasoactive intestinal peptide-like neuropeptide in gut. *Neuroscience* 46:439-454.
- Svoboda M, Tastenoy M, Ciccarelli E, Stievenart M, Christophe J (1993) Cloning of a splicing variant of the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP): type receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 195: 881-888.
- Uddman R, Luts A, Arimura A, Sundler F (1991) Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP), a new vasoactive intestinal peptide (VIP)-like peptide in the respiratory tract. *Cell Tissue Res* 265: 197-201.
- Winters SL, Dalkin AC, Tsujii T (1997) Evidence that pituitary adenylate cyclase activating polypeptide suppresses follicle stimulating hormone-beta messenger ribonucleic acid levels by stimulating follistatin gene transcription. *Endocrinology* 138:4324-4329.
- Zhong Y, Kasson BG (1994): Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide stimulates steroidogenesis and adenosine 3',5'-monophosphate accumulation in cultured rat granulosa cells. *Endocrinology* 135:207-213.