

흰쥐 유선에서의 Luteinizing Hormone (LH)과 수용체 유전자 발현

류종순¹ · 김재만² · 이성호^{1†}

¹상명대학교 생물학과, ²목포대학교 생물학과

Expression of Luteinizing Hormone (LH) and Its Receptor Gene in Rat Mammary Gland

Jong-Soon Ryu¹, Jaeman Kim² and Sung-Ho Lee^{1†}

¹Department of Biology, Sangmyung University, Seoul 110-743

²Department of Biology, Mokpo National University, Chonnam 534-729

요 약: Gonadotropin-releasing hormone (GnRH)과 그 수용체가 흰쥐의 난소, 정소, 자궁, 태반 그리고 유선 등의 생식기관에서 발현됨이 알려져 있다. 더욱이, 뇌하수체 전엽에 작용하는 GnRH의 표적 산물로 알려진 luteinizing hormone (LH)이 흰쥐 생식소에서도 발현됨이 알려졌는데, 이는 생식소 내에 GnRH-LH로 이루어진 국부 회로 (local circuit)가 존재함을 시사하는 것이다. 본 연구는 LH와 그 수용체 유전자가 흰쥐 유선에서도 발현되는가를 규명한 것이다. 이를 위해 reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)과 LH 방사면역측정법 (radioimmunoassay, RIA)을 사용하였다. RT-PCR을 시행한 결과 생식 주기중인 임신하지 않은 흰쥐 유선에서 뇌하수체 유형의 LH β 전사체 (exon 1-3)가 증폭되었으나 정소특이적 LH β exon 부분은 검출되지 않았다. 뇌하수체 glycoprotein hormone에서 공통적으로 존재하는 α -subunit과 LH 수용체에 대한 전사체 역시 흰쥐 유선에 존재함이 확인되었다. 또한 기존의 보고에서 수유중인 흰쥐 유선에서만 발현된다고 알려진 GnRH가 임신하지 않은 흰쥐 유선에서도 발현됨을 확인하였다. LH 방사면역측정법을 시행한 결과 흰쥐 유선조직 추출물에서 immunoreactive LH 분자들이 검출되었으며, LH standard curve와 parallelism을 보이므로 흰쥐 유선의 LH가 뇌하수체 형과 동일할 가능성을 확인하였다. 본 연구는 흰쥐 유선에서 LH subunit들과 수용체 유전자가 발현됨을 최초로 보고한 것으로서, 흰쥐 유선이 LH의 생성처이면서 동시에 작용처이며 유선에서 합성된 GnRH의 조절하에 국부적인 인자로 작용할 가능성을 시사한다.

ABSTRACT: Recent studies have clearly shown that the expression of genes for gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its receptor in the rat reproductive organs including ovary, testis, placenta, uterus and mammary gland. Moreover, luteinizing hormone (LH) classically known to be a main target product of GnRH in anterior pituitary has been found in rat gonads. These findings suggested the presence of local circuit composed of GnRH and LH in the rat gonads. The present study was undertaken to elucidate whether the genes for LH and its receptor are expressed in rat mammary gland. Expression of LH and its receptor genes in the rat mammary gland was demonstrated by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and specific LH radioimmunoassay (RIA). The LH β transcripts in the mammary gland from cycling rats contained the pituitary type of LH β exons 1~3 encoding the entire LH β polypeptide but lacked the rat testis-specific LH β exon(s). Presence of α -subunit transcripts in the rat mammary gland were determined by RT-PCR. The cDNA fragments encoding exons 2~7 of rat LH receptor transcripts were amplified in both rat ovary and mammary gland samples. We could detect the GnRH expression in mammary gland from cycling virgin rats, and this result disagreed with previous report that mammary GnRH expression is occurred in lactating rats only. Considerable amounts of immunoreactive LH molecules with good RIA parallelism in standard curve were detected in crude extracts from the rat mammary gland, indicating that the immunoreactive LH materials in the gland might be identical to authentic pituitary LH. To our knowledge, the present study demonstrated for the first time the expression of LH subunits and LH receptor in the rat mammary gland. Our findings suggested that the mammary gland might be the novel source and target of LH and the mammary LH could be act as a local regulator with auto- and/or paracrine manner under the regulation of local GnRH.

Key words : Rat mammary gland, Expressions of LH and its receptor.

This work was supported by Korea Research Foundation Grant(KRF-98-019-D00128)

[†]교신저자: 서울시 종로구 홍지동7, 상명대학교 생물학과 (우) 110-743
(전) 02-2287-5139 (팩) 02-396-6133 e-mail: shlee@pine.sangmyung.ac.kr

서 론

포유동물의 시상하부에서 분비되는 gonadotropin-releasing hormone (GnRH)와 그 작용으로 뇌하수체 전엽에서 합성·분비되는 luteinizing hormone (LH)와 follicle stimulating hormone (FSH)은 생식소의 기능을 조절하는 가장 중요한 내분비 요인들로 알려져 왔다 (Ojeda, 1995). 그런데 최근 GnRH와 그 수용체가 흰쥐의 생식소, 자궁 그리고 태반 등의 생식기관에서 발현됨이 보고된 바 있고 (Khodr and Siler-Khodr, 1980; Richards, 1994; Ikeda et al., 1996; Gnessi et al., 1997), 더욱이 LH도 흰쥐 생식소에서 발현됨이 보고되었다 (Zhang et al., 1995; Lee, 1998). 이와 같이 시상하부-뇌하수체 이외 조직에서 GnRH와 LH가 발현된다는 사실은 기존의 시상하부-뇌하수체-생식소 (hypothalamus-pituitary-gonadal axis)를 잇는 생식호르몬 축 개념에 수정·보완이 필요함을 의미한다. 즉 포유동물의 생식 현상의 조절에서 시상하부-뇌하수체로부터의 GnRH와 LH에 의한 고전적인 내분비 (endocrine) 조절 외에도 i) 생식소에서 합성되는 GnRH와 LH에 의한 autocrine 또는 paracrine 조절이 존재하고, ii) 시상하부-뇌하수체 이외의 조직에서도 GnRH-LH로 이루어진 국부 조절회로 (local regulatory circuit)가 존재할 가능성을 시사하는 것이다.

포유동물의 유선은 암컷의 생식 주기에 따라 난소나 부신으로부터의 스테로이드 호르몬, 뇌하수체 호르몬 등 생식내분비 호르몬의 조절을 받는 주요 호르몬 표적기관이며, 외분비에 의한 모유 분비를 통해 신생아의 성장과 분화, 면역기능 및 내분비 활성에 영향을 미칠 수 있다. 유선은 사춘기 이후 생식주기에 따라 세포분열과 자연사 양상을 반복하는데, 특히 임신기와 수유기에 급격한 세포 증식과 혈관 분화 (differentiation)가 일어난 후 수유기가 끝나면 모유 분비 기능이 정지되면서 다시 임신기 이전 상태로 복귀하는 탈분화 (dedifferentiation) 과정을 거친다 (Ojeda, 1995). 이와 같은 분화와 탈분화, 외분비 기능과 생리적인 조절이라는 측면에서 유선은 생식생리학과 발생학적으로 중요한 연구분야로 취급되어 왔다. 흥미롭게도 1970년대에 이미 모유에서 GnRH가 검출된 바 있으며 (Baram et al., 1977), 최근에는 흰쥐 유선에서 GnRH와 그 수용체 유전자 발현이 확인되었다 (Palmon et al., 1994; Levi et al., 1996). 그런데 유선 GnRH의 국부적인 기능과 생리적인 의의 그리고 국부적인 LH 생산 가능성에 관해서는 연구된 바가 없다.

본 연구는 뇌하수체뿐만 아니라 다른 GnRH 발현 조직에서도 GnRH와 더불어 circuit을 구성할 것으로 추정되는 LH와

그 수용체 유전자가 흰쥐 유선에서도 발현되는가를 규명한 것으로서, LH subunit들과 수용체에 대한 전사체의 존재를 reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 방법으로 검증하였고 LH 분자의 존재를 방사면역측정법 (radioimmunoassay, RIA)을 사용하여 증명하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

상명대학교 실험동물 사육장에서 생후 3~5개월된 성숙한 암컷 흰쥐 (Sprague-Dawley strain)를 일정한 광주기 (12시간 조명, 12시간 소등)와 먹이와 물의 접근이 자유롭게 (*ad libitum*) 사육하였다. 흰쥐의 발정 주기는 매일 오전 7시 경 vaginal smear 방법, 즉 질 상피세포를 채취하여 혈미경으로 세포 유형을 판정하였고, 2회의 정상적인 발정 주기를 보인 동물을 실험에 사용하였다. 동물을 희생한 직후 조직을 얻어 즉시 RNA를 추출하였고, 방사면역측정법을 위한 조직은 -40°C 냉동고에 보관하였다.

2. 방사면역측정법 (Radioimmunoassay, RIA)

조직내 LH 함량 측정은 1N acetic acid (10 vol)으로 분쇄한 조직을 원심분리하여 얻은 상층액을 1N NaOH로 중화한 후 측정하였다. Chloramine-T 방법을 사용하여 I^{125} (NEN)로 방사표지한 LH reference peptide (NIADDK, Bethesda, USA)와 anti-rat LH antiserum (최종 희석 1:200,000)을 사용하여 제공자의 방법을 따라 시행하였다 (Lee, 1998).

3. RNA와 DNA의 분석

1) Total RNA 추출

조직에서의 RNA 추출은 acid phenol-guanidium isothiocyanate-chloroform 방법을 기초로 제작된 Trizol 용액 (GIBCO-BRL)을 사용하여 공급자의 방법에 따라 시행하였다. 최종 pellet은 75% ethanol에 씻어주고 건조시킨 후 0.1% DEPC-water에 녹인 뒤 UV spectrophotometer로 정량하였다.

2) Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

추출한 RNA와 역전사효소 (SuperScript RT RNase H; GIBCO-BRL)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. 흰쥐 뇌하수체와 생식소에서 공통적으로 발현되는 부분 또는 정소특이적인 LH β -subunit (LH β) 유전자의 exon 부분에 해당되는

Table 1. Sequences of the PCR primers used in the present study

ID	Sequences
rat common- α 5'	atacttctccaagctgggtgc
rat common- α 3'	cgacactcagtgcctatcgca
rat LH β 5' (pituitary type)	tgtccggcgttcaagca
rat LH β 3' (pituitary type)	cagggtcattgttgagtccgt
rat LH-T 5' (testis type)	ggagctcaactgaccaccatc
rat LH Rc 5'	tccatcacaagcittcagg
rat LH Rc 3'	gttgtacagactcggttttc
rat GnRH 5'	gcacagcaactggcttatgg
rat GnRH 3'	gcccatcctcttcataatc
rat GnRH Rc 5'	ctgttcagtggtatgtcg
rat GnRH Rc 3'	tcaaaccaggattcattcc

The directions of the sequence are all 5' to 3'. Rc, receptor.

각각 20 base pair의 해당하는 5'과 3' primer용 oligomer들을 제작하고 (Zhang et al., 1995), 앞서 합성한 cDNA와 Taq DNA polymerase (Takara)를 사용하여 PCR을 시행하였다. 각 PCR 반응 조건은 최초 94°C에서 2분간 denaturation을 1회 시행 후 denaturation (94°C, 30초), annealing (54°C, 30초), elongation (72°C, 1분) 과정을 35회 반복 실시한 후 최종적으로 1회 extension (72°C, 10분)을 시행하였다. 1회의 PCR로 충분한 증폭이 일어나지 않을 경우 touchdown 방식을 채택하여 annealing 온도를 최초 Tm + 2°C 부터 시작하여 1회 실시하고 이후의 cycle에서 차례로 0.3°C 하강시켜 최종 40 cycle을 시행하였다. 반응산물의 크기는 전기영동 (2% agarose gel) 후 ethidium bromide 용액으로 염색·확인하였다. 흰쥐 α -subunit, LH 수용체, GnRH, GnRH 수용체에 대한 PCR도 상기한 방법과 동일하였으며, 사용된 primer의 염기서열을 Table 1에 기술하였다 (refs. Godine et al., 1982; McFarland et al., 1989; Adelman et al., 1986; Moumni et al., 1994).

3) PCR 산물의 DNA sequencing

RT-PCR로 cDNA 산물이 정확히 증폭되었는가를 확인하기 위해서 DNA fragment들을 전기영동으로 분리한 후 dideoxy chain termination-PCR 방법을 기초로 제작된 PCR sequencing kit (바이오니아)로 염기서열을 결정하였다.

결과

1. 흰쥐 유선에서의 LH subunit 유전자 발현

흰쥐 뇌하수체 전엽에서 발현되는 glycoprotein hormone인 LH, FSH 그리고 TSH에 공통적으로 존재하는 α -subunit

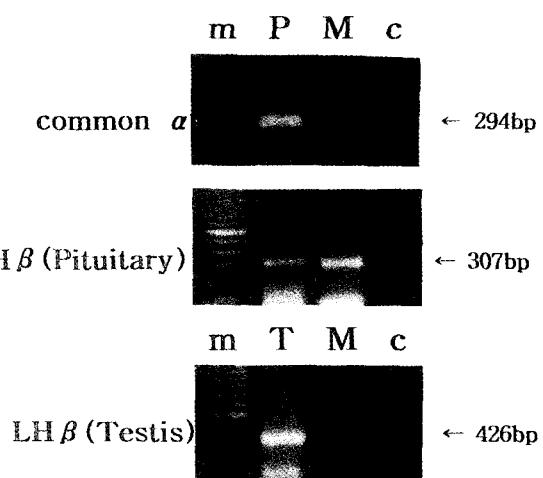


Fig. 1. Presence of the transcripts for LH subunits in the rat mammary gland. PCR and electrophoresis were carried out as described in Materials and Methods. m, 100bp DNA size marker; P, rat anterior pituitary; M, mammary gland from cycling virgin rats; T, rat testis; c, negative control.

transcript에 대한 RT-PCR을 시행한 결과, 흰쥐 뇌하수체는 물론 유선에서도 예상대로 294 bp 크기의 cDNA가 증폭되었다 (Fig. 1, top). 흰쥐 뇌하수체 전엽에서 발현되는 LH β , 즉 LH β -subunit 분자를 암호화 하는 exon 1에서 3에 해당되는 부분을 표적으로 RT-PCR을 시행한 결과 흰쥐 뇌하수체와 유선에서 추출한 RNA로부터 예상한 바와 같이 307bp 크기의 cDNA가 증폭되었다 (Fig. 1, middle). 그러나 흰쥐의 정소특이적인 LH β -subunit 전사체의 exon 부분을 5' primer로 사용한 실험에서는 흰쥐 정소에서만 예상 산물 (426 bp)이 증폭되었고 유선에서는 검출되지 않았다 (Fig. 1, bottom).

2. 흰쥐 유선에서의 LH 수용체, GnRH, 그리고 GnRH 수용체 유전자 발현

흰쥐 난소와 유선을 사용한 LH 수용체에 대한 RT-PCR에서 예상대로 exon 2에서 7에 해당되는 345 bp 크기의 cDNA가 증폭됨을 확인하였다 (Fig. 2, top). 한편 흰쥐 유선내 GnRH와 그 수용체 전사체의 존재를 확인하기 위해 시행한 RT-PCR에서도 각각 194bp와 565bp 크기의 예상산물이 검출되었다 (Fig. 2, middle and bottom). 이 결과는 흰쥐 유선 GnRH가 수유중인 동물에서만 검출된다는 기존의 보고 (Palmon et al., 1994)와는 달리 생식주기 중인 임신하지 않은 흰쥐 유선에서도 GnRH가 발현됨을 나타냈으며, 이는 아마도 사용한 primer과 PCR 반응 조건의 차이에 기인하는 것으로 추정되었다.

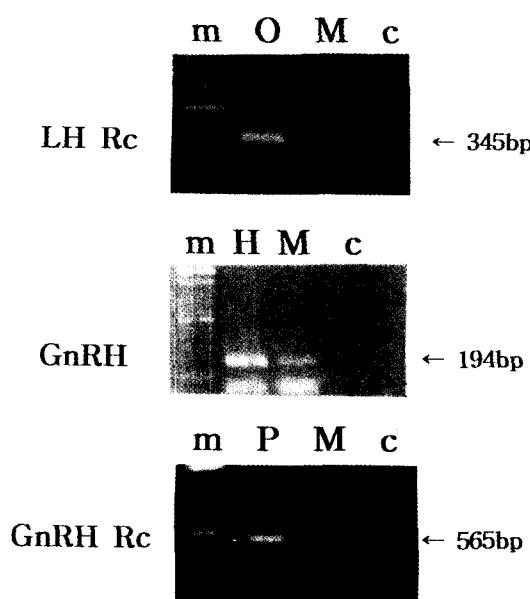


Fig. 2. Detection of transcripts for LH receptor, GnRH and its receptor from cycling virgin rats. m, 100bp DNA size marker; O, ovary; M, mammary gland from cycling virgin rats; H, hypothalamus; P, anterior pituitary; c, negative control.

3. 흰쥐 유선 조직 추출물을 사용한 LH 방사면역측정법
유선내 LH 웨بت아이드의 존재를 규명하기 위해 흰쥐 뇌하수체와 유선 조직을 1 N acetic acid로 분쇄하여 LH 방사면역측

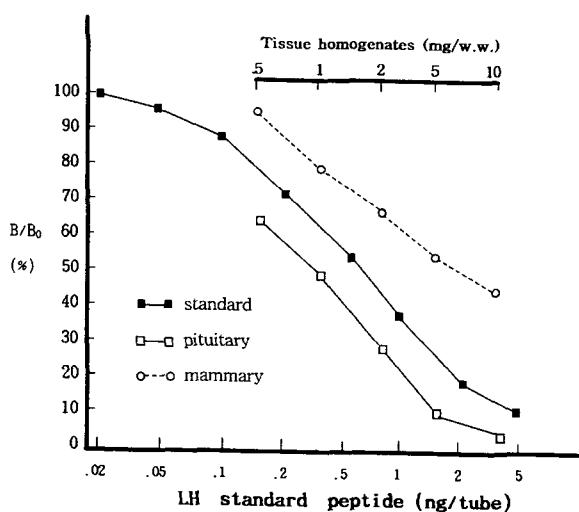


Fig. 3. LH radioimmunoassay (RIA) parallelism. Competition curve with increasing amounts of the rat mammary extracts was parallel to rat LH standard curve with known amount of LH peptide. Tissues were homogenized in 0.1 N acetic acid (10 vol). After centrifugation (at 10,000×g for 10 min), the supernatant was neutralized with 1 N NaOH prior to LH RIA. Pituitary samples were diluted with assay buffer ($\times 50$).

정법을 시행한 결과, 두 조직에서 공히 LH standard curve와 competition curve간에 평행함을 보임으로써 이들 조직 내에 immunoreactive LH-like 웨بت아이드가 존재함을 증명하였다 (Fig. 3). 흰쥐 유선 내 LH 함량은 뇌하수체 내 함량의 1/50정도로 낮았으나 RIA 검출 한계 내에서 검출되었다.

고찰

포유동물의 경우 출생후 신생아는 수유기 동안 모체의 유선에서 분비된 모유를 공급받아 성장과 생리 활성 조절 등에 필요한 성분들을 섭취한다. 이처럼 유선은 포유동물의 발생과 성장 과정 중에서 최초로 이루어지는 개체 수준의 연관인 모체-신생아간을 매개하는 독특한 기관이다. 유선은 일생 동안 존재하며, 분화와 기능면에서도 사춘기 이후 임신기에 급격한 세포 증식과 현저한 분화 (differentiation)현상이 일어나고 수유기가 끝나면 분비 기능이 정지되면서 다시 임신기 이전 상태로 복귀하는 탈분화 (dedifferentiation) 과정을 연속적으로 반복한다 (Ojeda, 1995). 유선의 분화와 생리 기능 역시 신경계와 내분비계에 의해 조절되는데, 신경계 단독에 의한 조절의 예로 태아의 모유 섭취시에 일어나는 흡입반사 (suckling reflex)에 의한 자극이 시상하부의 supraoptic nucleus로 전달되어 뇌하수체 후엽으로부터의 oxytocin 분비가 증가하고 이는 직접 유선의 근상피 (myoepithelial cell)의 수축을 야기하여 유즙의 분비가 초래된다 (Lincoln and Paisley, 1982). 난소로부터 분비되는 estrogen과 progesterone은 의문의 여지 없이 유선 세포의 증식과 분화를 조절하는 주요 내분비 입력이며 (Lyon, 1993), 더불어 뇌하수체 전엽 호르몬인 prolactin (PRL)과 growth hormone (GH) 역시 유선내 유즙 생성 상피세포의 증식과 분화 및 유즙 분비의 촉진 요인으로 알려졌다 (Travers et al., 1996).

고등동물에 있어서 개놈의 등가성 (genome equivalency)을 잘 설명하는 amine precursor uptake decarboxylation (APUD) 세포들의 경우 완전히 분화가 끝난 여러 유형의 조직들에서 유사한 유전자 발현 양상을 보인다 (Ben-Jonathan et al., 1996). PRL과 GH 유전자는 APUD 세포에서 공통적으로 발현되는 전형적인 예로 뇌하수체 전엽외에도 주 표적기관인 유선에서도 발현됨이 보고되었다 (Kurtz et al., 1993; Mol et al., 1995; Ben-Jonathan et al., 1996). 유선 기능의 조절에 뇌하수체로 부터의 PRL과 GH가 결정적인 역할을 담당함은 주지의 사실이지만, 임신기와 수유기 그리고 이유기 각 단계에서 일어나는 유선의 분화와 기능 조절은 뇌하수체 호르몬, 스테로이드들과 더불어 자체적으로 합성된 다수의 웨بت아이드성

요인들로 구성되는 일종의 'network'이 형성되어 정교한 조절이 이루어지는 것으로 추정된다 (Yu-Lee et al., 1998). 최근에는 GnRH와 그 수용체 역시도 흰쥐의 유선에서 발현됨이 증명되었다 (Palmon et al., 1994; Levi et al., 1996). 본 연구에서는 최초로 흰쥐 유선에서 LH와 그 수용체가 발현되는 것을 확인하였는데, 국부적으로 합성된 LH 역시 GnRH와 더불어 유선의 분화와 생리 기능을 조절하는데 관여하리라 예상된다. 특히 LH 수용체가 유선에서 발현한다는 사실은 뇌하수체로부터 분비되는 oxytocin, PRL 그리고 GH 외에도 LH에 의한 고전적인 내분비 조절도 존재할 가능성을 강력히 시사하는 것이다.

발생학적 또는 생리학적으로 예정된 현상인 세포자연사는 종양 발생의 원인과 진행을 이해하는데 대단히 유용한데, 세포자연사 기작에 오류가 생길 경우 비정상적인 세포 분열과 종양 발생으로 이어진다고 추정된다. 유선에서는 사춘기 이후 반복적으로 진행되는 분화-탈분화 과정에서 분비세포의 급격한 증식과 세포자연사가 일어나는데, 이러한 과정은 종양발생 (tumorigenesis)기작의 연구에 유용한 모델이 될 수 있다. 유선은 난소 스테로이드에 의한 주요 암발생 부위인데, 유선 자체내의 세포 분열 조절 기작이나 세포자연사 조절 기작의 이상이 중요한 원인으로 추정된다 (Pike et al., 1993). 그런데 흰쥐 난소에서의 세포자연사 조절에 LH와 GnRH가 관여함이 보고된 바 있으므로 (Billig et al., 1994), 유선에서 발현되는 LH와 GnRH의 기능중 하나로 유선 상피세포의 세포자연사 조절을 추정할 수 있다. 또한 시상하부-뇌하수체의 GnRH-LH circuit의 활성이 난소로 부터의 스테로이드에 의한 negative feedback에 의해 조절됨은 잘 알려진 사실이므로 (Ojeda, 1995), 흰쥐 유선 내에서도 난소 스테로이드의 영향하에 있는 GnRH-LH circuit이 존재하는 것으로 보인다. 기존에 보고된 바와 같이 유선 내에서 발현되는 PRL과 GH에 의한 유선 상피세포의 증식과 세포자연사 조절에 GnRH-LH가 별개로 혹은 함께 관여하는가에 대한 연구는 흥미로운 주제가 될 것이다. 이와 같이 유선에서의 세포증식과 세포자연사를 조절하는 분자생물학적인 기작에 대한 이해가 증진될 경우 여성에게 빈발하는 유방암 발생 기전과 치료 방법에 개발에 기여할 것으로 생각된다. 또한 모유의 분비, 즉 유선의 외분비 기능의 조절에 GnRH-LH가 관여할 가능성에 대한 연구 역시 응용 가능성이 높을 것으로 추정되는데, 이는 모유내 존재하는 GnRH 또는 LH에 의한 모체-신생아간의 생리 조절 기작과 모유분비 조절기작에 대한 이해를 증진시킬 것으로 기대된다.

결론으로, 본 연구에서 흰쥐 유선에서 LH subunit들과 수

용체 유전자가 발현됨을 확인하였으며, 흰쥐 유선이 LH의 생성처이면서 동시에 작용처이며, 유선에서 합성된 GnRH와 기타 다른 내분비 입력의 조절 하에서 LH가 국부적인 인자로 작용하여 흰쥐 유선의 분화와 기능을 조절할 가능성을 시사하는 것이다.

인용문헌

- Adelman JP, Mason AJ, Hayflick JS, Seeburg PH (1986) Isolation of the gene and hypothalamic cDNA for the common precursor of gonadotropin-releasing hormone and prolactin releasing-inhibiting factor in human and rat. Proc Natl Acad Sci USA 83: 179-183.
- Baram T, Koch Y, Hazum E, Fridkin M (1977) Gonadotropin -releasing hormone in milk. Science 198: 300-302.
- Ben-Jonathan N, Mershon JL, Allen DL and Steinmetz RW (1996) Extrapituitary prolactin : distribution, regulation, functions, and clinical aspects. Endocr Rev 17: 439-509.
- Billig H, Furuta I, Hsueh AJW (1994) Gonadotropin-releasing hormone directly induces apoptotic cell death in rat ovary : Biochemical and *in situ* detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in granulosa cells. Endocrinology 134: 245-252.
- Gnessi L, Fabbri A, Spera G (1997) Gonadal peptides as mediators of development and functional control of the testis : An integrated system with hormones and local environment. Endocr Rev 18: 541-609.
- Godine JE, Chin WW, Habener JF (1982) Alpha subunit of rat pituitary glycoprotein hormones: primary structure of the precursor determined from the nucleotide sequence of cloned cDNAs. J Biol Chem 257: 8368-8371.
- Ikeda M, Taga M, Sakakibara H, Minaguchi H, Ginsburg E, Vonderhaar BK (1996) Gene expression of gonadotropin -releasing hormone in early pregnant rat and steroid hormone exposed mouse uteri. J Endocrinol Invest 19: 708 -713.
- Khodr GS, Siler-Khodr TM (1980) Placental luteinizing hormone releasing factor and its synthesis. Science 207: 315-317.
- Kauryz A, Bristol LA, Tóth BE, Lazar-Wesley E, Takács L and Kacsóh B (1993) Mammary epithelial cells of lactating rats express prolactin messenger ribonucleic acid. Biol Reprod 48: 1095-1103.

- Lee SH (1998) Expression of luteinizing hormone(LH) subunit genes in the rat ovary. *Kor J Fertil Steril* 25: 199-205.
- Levi LN, Ben-Aroya N, Tel-Or S, Palmon A, Burstein Y, Koch Y (1996) Expression of the gene for the receptor of gonadotropin-releasing hormone in the rat mammary gland. *FEBS Lett* 379: 186-190.
- Lincoln DW, Paisley AC (1982) Neuroendocrine control of milk ejection. *J Reprod Fert* 65: 571-586.
- Lyons WR (1993) Hormonal synergism in mammary growth. *Proc Soc Exp Biol Med* 149: 303-325.
- McFarland KC, Sprengel R, Phillips HS, Koehler M, Roseblit N, Nikolic K, Segaloff DL, Seeburg PH (1989) Lutropin-choriogonadotropin receptor: An unusual member of the G protein-coupled receptor family. *Science* 245: 494-499.
- Mol JA, Henzen-Logmans SC, Hageman PH, Misdorp W, Blankenstein MA and Rijnberk A (1995) Expression of the gene encoding growth hormone in the human mammary gland. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 3094-3096.
- Moumni M, Kotler M-L, Counis R (1994) Nucleotide sequence analysis of mRNAs predicts that rat pituitary and gonadal gonadotropin-releasing hormone receptors have identical primary structure. *Biochem Biophys Res Commun* 200: 1359-1366.
- Ojeda SR (1995) Female reproductive function. In: Griffin JE, Ojeda SR (eds.), *Textbook of endocrinology*. 3rd ed. Oxford University Press; pp 164-200.
- Palmon A, Aroya NB, Tel-Or S, Burstein Y, Fridkin M, Koch Y (1994) The gene for the neuropeptide gonadotropin-releasing hormone is expressed in the mammary gland of lactating rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 4994-4996.
- Pike MC, Spicer DV, Dahmoush L, Press MF (1993) Estrogens, progesterones, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 15: 17-35.
- Richards J (1994) Hormonal control of gene expression in the ovary. *Endocr Rev* 15: 725-751.
- Travers MT, Barber MC, Tonner E, Quarrie L, Wilde CJ and Flint DJ (1996) The role of prolactin and growth hormone in the regulation of casein gene expression and mammary cell survival: relationships to milk synthesis and secretion. *Endocrinology* 137: 1530-1539.
- Yu-Lee LY, Luo G, Book ML and Morris SM (1998) Lactogenic hormone signal transduction. *Biol Reprod* 58: 295-301.
- Zhang FP, Rannikko A, Huhtaniemi I (1995) Isolation and characterization of testis-specific cDNAs for luteinizing hormone β -subunit in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 210: 858-865.