

분화중인 흰쥐 유선내 Luteinizing Hormone (LH) 유전자 발현의 생리적인 조절

이 성 호

상명대학교 생물학과

Physiological Regulation of Luteinizing Hormone(LH) Expression in Rat Mammary Gland during Differentiation

Sung Ho Lee

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

요 약 : 태반이나 생식소 등 시상하부 이외의 조직에서도 gonadotropin releasing hormone(GnRH)과 그 수용체가 발현되어 조직 특이적인 기능을 담당하는 잘 알려진 사실이다. 최근 GnRH와 그 수용체 유전자가 흰쥐 유선에서도 발현됨이 증명되었고, LH α -와 β -subunit와 LH 수용체에 대한 전사체 역시 흰쥐 유선에 존재함이 확인되었다. 본 연구는 흰쥐 유선 LH의 발현과 유선의 분화과정 간의 상관관계를 조사하기 위해서 생식주기, 임신, 수유, 이유기에 걸쳐 얻은 유선을 재료로 LH 함량 변화를 방사면역측정법으로 측정하였다. 또한 동일한 실험동물에서 얻은 RNA를 사용한 reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR)과 Southern blot analysis를 통해 전사수준에서의 변화를 측정하였다. 난소 steroid에 의한 유선 LH의 발현조절 가능성을 조사하기 위해서 난소 제거(ovariectomy, OVX)후 steroid 처리 실험동물 모델을 사용하였다. 생식주기중인 흰쥐의 혈중 LH 수준과 유선 내 LH 함량의 변화는 공히 proestrus 시기에 가장 높고 diestrus I 시기에 최저 수준을 보였다. 임신 17일 경으로부터 이유기까지 혈중 LH 수준은 등락을 보였으나, 유선 LH 함량은 수유기 중 현저히 감소한 후 이유기에 상승하였다. Southern blot analysis에서 흰쥐 유선 내 GnRH와 LH의 발현은 대체로 diestrus I 시기에 가장 낮고 이후 diestrus II, proestrus, estrus 시기를 거치며 증가하였고 임신 이후 수유기와 이유기까지 높은 수준으로 유지됨이 확인되었다. 한편 OVX 실험 동물모델에서 혈중 LH 수준은 예상한 바처럼 estrogen에 의한 negative feedback의 작용으로 OVX+OIL 실험군(418.6±73.4 ng/ml)에 비해 OVX+E₂ 실험군(125.9±45.4 ng/ml)에서 감소하였으며, 유선 내 LH 함량 역시 OVX+OIL 실험군(1.48±0.20 ng/mg)에 비해 OVX+E₂ 실험군(1.07±0.13 ng/mg)에서 유의성 있게 감소하였다. 본 연구결과는 유선 LH가 생식주기, 임신, 수유, 이유 등의 생리적인 변화에 맞물려 조절되고, 특히 estrogen에 의해 유선 LH 합성이 조절될 수 있음을 시사하였다. 유선 LH의 기능으로는 모유의 생산·분비와 유선 상피세포의 분화와 같은 유선의 기능과 생리조절에 관여하는 것으로 추정된다.

ABSTRACT : The ectopic expression of gonadotropin releasing hormone(GnRH) and luteinizing hormone(LH) in several tissues is a quite intriguing phenomenon. Recently, the presence of GnRH and its receptor has been clearly demonstrated in rodents and human mammary gland. In this context, one can postulate that the presence of local circuit composed of GnRH and LH in the gland. The present study was undertaken to elucidate whether there is a correlation between the LH expression in rat mammary gland and physiological status during the process of mammary differentiation. LH contents in mammary gland from cycling to weaning rats were measured by radioimmunoassay(RIA). In cycling rats, changes of the LH level in both serum and mammary gland showed similar pattern as the highest level in proestrus and the lowest level in diestrus II stage. While the serum LH levels were fluctuated from pregnant through involution stage, a sharp decline of mammary LH contents was observed in the lactating rats. This decrement was recovered in involuting rats to the level of proestrus stage. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Southern blot analyses demonstrated that the transcriptional activities of the mammary LH and GnRH were increased from diestrus I stage to estrus stage, and the increased levels were maintained in pregnant, lactation and involution stages. To test the hypothesis that the alteration in mammary LH expression might be steroid-dependant, ovariectomy(OVX) and steroid supplement model was employed. As expected, supplement of estradiol(E₂) after OVX remarkably decreased serum LH level compared to that in serum from vehicle-only treated rats. Likewise, administration of E₂ significantly reduced the mammary LH content. The present study demonstrated that (i) the LH expression

in mammary gland could be altered by some physiological parameters such as estrous cycle, pregnancy, lactation and involution, and (ii) ovarian steroid especially estrogen seems to be one of major endocrine factors which are responsible for regulation of mammary LH expression.

Key words : Luteinizing hormone, Rat mammary gland, Gene expression, Physiological regulation, Differentiation.

서 론

포유류의 유선은 발생과 분화라는 측면에서 체내 대부분의 기관에서 공통적으로 일어나는 세포 증식과 세포자연사 등 일련의 과정들이 극적으로 일어나므로 발생학과 종양학의 중요 연구 대상이 되어왔다. 고전적인 개념 하에서 유선의 분화와 기능은 (i) 뇌하수체 전엽 호르몬인 prolactin(PRL)과 growth hormone(GH), 후엽 호르몬인 oxytocin, (ii) 난소와 부신의 steroid hormone들, 그리고 (iii) thyroid hormone과 insulin-like growth factor(IGF) 등의 여러 내분비 요인들에 의해 조절된다고 여겨졌다(Topper et al., 1980). 이러한 견해는 지난 20년 사이에 밝혀진 다수의 유선 내 국부조절인자들이 포함되는 새로운 조절 개념으로 전환되고 있다(Medina, 1998; Rudland et al., 1998).

자성 포유류에서 태반, 난소, 자궁 등 시상하부 이외의 조직에서도 gonadotropin releasing hormone(GnRH)과 그 수용체가 발견되어 조직 특이적인 생식 조절 기능을 담당하는 잘 알려진 사실이다(Leung & Peng, 1996; Reis et al., 2000). 1970년대에 모유에서 GnRH가 검출된 바 있으며(Baram et al., 1977), 최근에는 흰쥐 유선에서 GnRH와 그 수용체 유전자가 발견됨이 확인되었다(Palmon et al., 1994; Levi et al., 1996). 한편 고전적인 호르몬 축 개념에서 시상하부로부터의 GnRH에 의해 뇌하수체 전엽에서 합성·분비되는 luteinizing hormone(LH)의 α 와 β subunit들과 LH 수용체에 대한 mRNA와 LH-like molecule이 흰쥐 유선에서도 존재함이 확인되었다(Ryu et al., 2000). 그러나 현재까지 유선에서 합성되는 LH의 국부적인 기능, 생리적인 의의 그리고 유선에서의 LH 생합성과 분비 조절 기작에 관해서는 연구된 바가 없다.

본 연구에서는 흰쥐 유선에서의 LH 발현과 유선의 분화과정 간의 상관관계를 조사하기 위해서 (i) 생식주기 별, 임신, 수유, 이유기에 걸쳐 얻은 유선을 재료로 LH 함량 변화를 측정하였고, (ii) 이 때 GnRH와 LH의 유전자 발현 변화를 동일한 실험동물에서 얻은 RNA를 사용한 reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR)과 Southern blot analysis로 조사하였으며, (iii) 난소 steroid에 의한 유선 LH의 발현조절 가능성을 조사하기 위해서 난소제거 후 estradiol-17 β

capsule을 피하 이식하는 실험동물 모델을 사용하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

상명대학교 실험동물사육장에서 일정한 조명(14시간 조명, 10시간 소등)과 먹이와 물이 자유롭게 공급되는 조건에서 사육한 흰쥐(Sprague-Dawley strain) 중 성숙한 암수(생후 12~15주)를 사용하였다.

1) 생식 주기 및 임신에서 이유기까지 실험군

생리식염수를 질 내에 주입하여 vaginal smear 방법으로 채취한 암컷의 질 상피세포를 광학현미경하에서 세포 유형을 판정하였으며, 생식주기 당 4일을 보이는 동물만을 사용하였다. 생식주기는 diestrus I(D I), diestrus II(D II), proestus(P) 그리고 estrus(E)로 세분하였다. 임신과 출산을 유도하기 위해서 생식주기상 proestrus 시기인 암컷을 수컷과 합사시킨 후 임신 17일째(17.5 days post coitus, dpc) 동물을 희생시켜 임신군(pregnant, P₁₇)으로 하였고, 출산 후 7일, 14일, 21일째인 동물을 희생하여 각각 수유 7일군(lactation, L₇), 수유 14일군(L₁₄), 그리고 수유 21일군(L₂₁)으로 정했다. 마지막으로 출산 후 21일째인 어미를 분리하여 3일 경과 후 희생시킨 이유군(involution, In)과 수유 14일째 강제 이유한 후 5일 후 희생시킨 강제 이유군(artificial involution, AI)을 설정하였다.

2) 난소제거와 steroid hormone 처리 실험군

난소제거와 steroid hormone 처리 효과를 보기 위해서 경미한 ether 마취 하에서 양쪽 난소를 모두 제거한 후 7일간 회복기를 거치고 sesame oil(Sigma)이 들어있는 silastic capsule(Dow-Corning; 길이 12 mm, 내경 1.55mm, 외경 3.125 mm)를 경부 피하에 이식한 대조군(OVX+OIL)과 estradiol-17 β (Sigma; 235 μ g/ml in sesame oil)를 넣은 capsule을 피하 이식한 실험군(OVX+E₂)을 설정하였다.

3) 조직의 채취

실험 동물을 정해진 시간에 단두법으로 희생시킨 후 즉시 혈액을 얻었으며, 유선을 얻은 후 최대한 지방 성분을 제거

하였다. 방사면역측정법을 위해서 유선 조직의 무게를 측정 한 후 바로 -20°C 에 실험 직전까지 보관하였다. 유선 RNA를 추출하기 위해서 조직을 얻은 즉시 RNA 획득용 buffer를 사용하여 분쇄하였다.

2. 호르몬 방사면역측정법(radioimmunoassay, RIA)

LH RIA는 rat LH reference peptide와 1차 항체(NIDDK pituitary program) 그리고 anti-rabbit gamma globulin(Sigma)을 2차 항체로 사용하였다(Ryu et al., 2000). 방사표지는 Na-I^{125} (ICN; 1mCi/iodination)을 사용한 chloramine-T 방법으로 하였으며, free와 iodinated hormone의 분리는 Sephadex G-50 column을 사용한 gel filtration 방법을 사용하였다. 동물을 희생시킨 후 채취한 유선 조직을 1 N acetic acid로 분쇄한 뒤 원심분리(10,000x g, 20분, 4°C)하여 상층액을 얻어 LH 함량 측정에 사용하였다. 혈액은 응고시킨 후 원심분리(1,500x g, 15분, 4°C)하여 serum 성분을 분리하여 사용하였다.

3. RNA와 DNA 분석

1) Total RNA 추출

Total RNA 추출은 acidic guanidium thiocyanate-phenol-chloroform 방법(Chomzincsky & Sacchi, 1987)을 기본으로 제작된 TRIzol solution(GIBCO-BRL)을 사용하여 연속적으로 2회 반복 시행하였다. 최종 침전물은 75% ethanol로 세척하고 건조시킨 후 DEPC-water에 녹인 뒤 전기 영동을 시행하여 ethidium bromide(EtBr, Sigma)로 염색한 후 Imager III(Bioneer)로 분석하여 genomic DNA의 제거 여부 확인과 RNA 정량을 시행하였다.

2) RT-PCR

RNA를 reverse transcriptase(RNase H- SuperScript II RT, GIBCO-BRL)와 oligo d(T)₂₅ primer(Bioneer)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. 역전사한 cDNA와 Taq DNA polymerase(Takara)를 사용하여 PCR을 수행하였다. PCR에서 사용된 primer의 염기 서열은 기 보고에 사용한 것과 동일하였다(Ryu et al., 2000). PCR 반응 조건은 최초 94°C 에서 2분간 초기 denaturation을 1회 시행 후 denaturation(94°C , 30초), annealing(56°C , 30초), elongation(72°C , 1분) 과정을 35회 반복 실시하였고, 최종적으로 1회 extension(72°C , 10분)을 시행하였다. 1차 시도에서 증폭이 이루어지지 않을 경우 예상되는 산물의 내부에 해당되는 nest primer와 희석된 1차 산물을 사용하여 2차 PCR을 실시하였다. 반응이 끝난 후 EtBr이 포함된 1.5%

또는 2.0% agarose gel을 사용한 전기영동으로 분리하였으며, 이를 Imager III system으로 분석·정량하였다. Semi-quantitative RT-PCR에서는 실험군 간의 오차를 최소화하기 위해 1x PCR 용액으로 10배 희석시킨 RT 반응액 $10\ \mu\text{l}$ 를 각 PCR 반응에 투입하였고, control 실험군으로 ribosomal protein L27 또는 GAPDH에 대한 PCR을 시행하여 각 반응간의 결과를 보정하였다.

3) Southern blot

PCR 산물을 전기영동한 후 turboblotter(Schleicher & Schwell)를 사용한 capillary system에 의해 nylon membrane(Nytran, Schleicher & Schwell)으로 전이시켰다. 전이 후 membrane은 UV crosslinking(Stratagen, $120\text{J}/\text{cm}^2$)하였고 80°C oven에서 30분간 구워 4°C 에 보관하였다. Hybridization solution(5x SSC, 0.5% SDS, 50% formamide, 5x Denhardt's reagent, $100\ \mu\text{g}/\text{ml}$ denatured salmon sperm DNA)에서 42°C 에서 2시간 동안 prehybridization 시킨 후 32P -radiolabelled cDNA probe를 hybridization solution에 첨가하여 42°C 에서 20시간 동안 hybridization시켰다. Probe의 제작에서 template는 PCR을 사용하여 준비하였고 random-primed DNA labelling kit(iNtRON)를 사용하였다.

Membrane은 (i) 2x SSC/0.1% SDS 용액에서 42°C , 15분간 2회 반복, (ii) 0.2x SSC/0.1% SDS 용액에서 42°C , 15분간 2회 반복, (iii) 0.1x SSC/0.1% SDS 용액에서 45°C , 15분간 3회 반복하였다. 세척 후 membrane은 -70°C 에서 10분에서 3시간 동안 X-ray film (AGFA)에 노출시킨 후 현상하였다.

결 과

1. 생식 주기 각 단계에서 이유기까지 흰쥐 혈중 및 유선 LH 함량의 변화

생식주기중인 성숙한 흰쥐의 혈중 LH 수준은 예상대로 proestrus 시기($563 \pm 121\ \text{ng}/\text{ml}$)에 가장 높았고 diestrus I 시기($205 \pm 36\ \text{ng}/\text{ml}$)에 가장 낮았으며, 이후 임신기에서 이유기까지 등락을 보였다(Fig. 1, upper panel). 생식 주기 중 흰쥐 유선 내 LH 함량은 혈중 LH 수준의 변화와 유사한 경향을 보여 proestrus 시기($2.04 \pm 0.33\ \text{ng}/\text{mg}$)에 가장 높았고 반면 diestrus I 시기($1.22 \pm 0.10\ \text{ng}/\text{ml}$)에 가장 낮았다(DI-E in Fig. 1, lower panel). 한편 임신기에서 감소하기 시작하여 수유 7일 실험군($0.46 \pm 0.08\ \text{ng}/\text{ml}$)에서 가장 낮았고, 수유 21일에서부터 증가하여 이유기($1.85 \pm 0.26\ \text{ng}/\text{ml}$)에 가장 높은 수준을 보였으며, 강제 이유기(AI, $1.59 \pm 0.21\ \text{ng}/\text{ml}$)의 경우 수유기 보

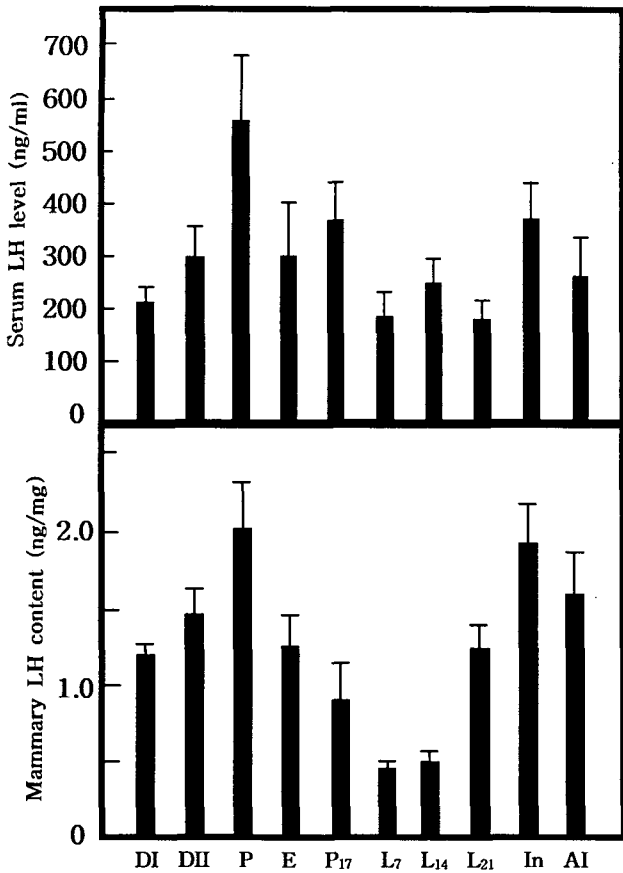


Fig. 1. Temporal changes in serum LH level and mammary LH content from cycling to weaning stage rats. Upper panel, serum LH levels; lower panel, mammary LH contents. DI, diestrus I; DII, diestrus II; P, proestrus; E, estrus; P₁₇, rats at 17.5 days of pregnancy; L₇, lactating rat at 7 days post partum(dpp); L₁₄, lactating rat at 14 dpp; L₂₁, lactating rat at 21 dpp; In, involuting rats at 3 days after weaning (24 dpp); AI, artificially involuting rats at 5 days after obliged weaning (19 dpp). Bar indicates the mean LH level or content(±S.E.) of repeated experiments(n=3~5).

다 높은 함량을 보였다(P₁₇-AI in Fig. 1, lower panel).

2. 흰쥐 유선에서 GnRH와 LH의 발현 양상

흰쥐 유선 내 GnRH의 발현은 diestrus I 시기에는 검출되지 않았으나 이후 diestrus II, proestrus, estrus 시기를 거치며 증가하였으며, 임신 이후 수유기와 이유기까지 높은 수준으로 유지되었다(Fig. 2, upper panel). 생식 주기 중인 흰쥐 유선에서는 GnRH mRNA가 존재하지 않고 임신 이후 검출된다는 보고(Palmon et al., 1994)와는 달리 본 연구에서는 유선에서 GnRH 전사물이 비록 diestrus 시기에는 없거나 적게 검출되지만 proestrus와 estrus 시기에는 상당 수준이 확인되었는데, 이는 RT-PCR에서 annealing temperature나 증폭에 사용된

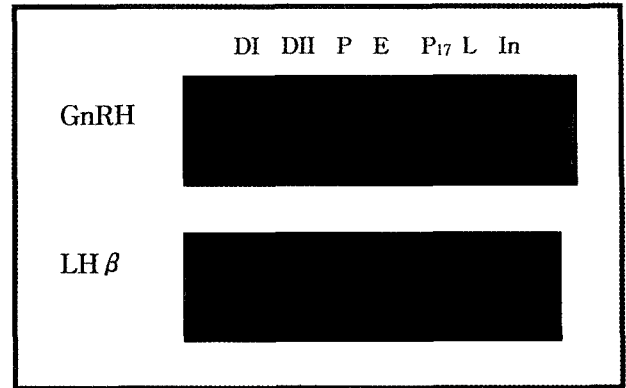


Fig. 2. Changes in the transcriptional activity of mammary GnRH and LH β subunit during the process of differentiation. DI, diestrus I; DII, diestrus II; P, proestrus; E, estrus; P₁₇, rats at 17.5 days of pregnancy; L, lactating rat at 14 dpp; In, involuting rats at 3 days after weaning(24 dpp). For the details of RT-PCR and Southern blot analysis, see Materials and Methods.

primer의 위치 등 실험 조건에서의 차이에 기인한 것으로 보인다. 한편 흰쥐 유선 내 LH의 발현은 GnRH의 경우와 유사한 양상을 보여, diestrus I 시기에 가장 낮았고, 이후 증가하여 임신 이후 수유기와 이유기까지 높게 유지되었다(Fig. 2, lower panel).

3. 난소 제거와 steroid hormone 처리에 의한 유선 내 LH 함량 변화

혈중 LH 수준의 경우 난소제거 후 estrogen을 투여한 실험군(OVX + E₂; 125.9±45.4 ng/ml)이 vehicle(sesame oil)을 처리한 대조군(OVX+OIL; 418.6±73.4 ng/ml) 보다 훨씬 감소하였는데(Fig. 3, upper panel), 이는 잘 알려진 난소 steroid에 의한 음성 되먹임(negative feedback)이 소실된 결과이다. 한편 유선 내 LH 함량 역시 OVX+OIL 실험군(1.48±0.20 ng/mg)에 비해 OVX+E₂ 실험군(1.07±0.13 ng/mg)에서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 3, lower panel).

고 찰

최근 흰쥐 유선에서 LH와 그 수용체가 발현됨이 보고된 바 있으며(Ryu et al., 2000), 본 연구에서는 흰쥐 유선에서의 LH 발현이 분화 과정 중 생리적인 신호(들), 즉 유선 GnRH 나 난소 steroid에 의해 조절될 가능성으로 확인하였다. 뇌하수체 전엽성 호르몬 가운데 이미 GH와 PRL도 유선에서 발현됨이 보고된 바 있다(Kurtz et al., 1993; Mol et al., 1995). 유선에서 국부적으로 합성된 PRL과 GH의 역할은 뇌하수체

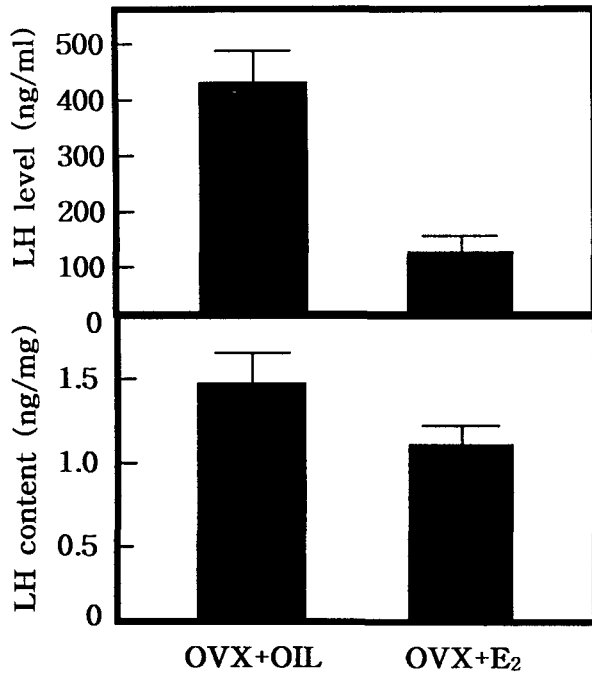


Fig. 3. Effects of *in vivo* estrogen treatment on changes of serum LH level and mammary LH content in ovariectomized rats. OVX ± OIL, ovariectomized and sesame oil-treated rats; OVX ± E₂, ovariectomized and estradiol-17β (235 ug/ml in sesame oil)-treated rats. Bar represents mean LH level or content (± S.E.) of repeated experiments (n=3~5).

로부터의 동일 ligand들과 더불어 casein이나 β-lactoglobulin (BLG)의 발현을 조절하여 젖 단백질의 생성과 분비를 촉진시키는 외부비 조절과 젖 분비세포의 증식과 세포자연사 억제제를 통한 유선 분화의 조절로 알려졌다(Feldman et al., 1993; Travers et al., 1996).

생식과 관련된 연구나 임상에서 널리 사용되는 chorionic gonadotropin(CG)은 LH, FSH, TSH와 더불어 glycoprotein hormone family에 속하는데, 특히 β-subunit의 경우 LH와 유전자 구조 및 아미노산 서열이 대단히 유사할 뿐만 아니라 기능적으로도 LH와 동등한 배란 유도과 생식소 자극 효과를 나타낸다(Pierce & Parsona, 1981). CG의 경우 태반 용모막(chorion)에서 합성·분비되므로 LH-like 물질이 뇌하수체 이외의 지역에서도 발견되어 작용한다는 좋은 예가 된다. 흥미롭게도, 마치 시상하부-뇌하수체 circuit에서의 GnRH-LH 관계와 흡사하게 태반에서 CG의 분비가 GnRH에 의해 조절됨이 알려져 있다(Siler-Khodr et al., 1986). 본 연구에서 분화중인 유선 내 GnRH와 LH의 발현이 유사한 양상으로 나타남은 흰쥐 유선 내에 시상하부-뇌하수체 혹은 태반에서 작동하는 GnRH-LH 조절 기작이 존재할 가능성을 시사한다. 현재까지

영장류를 제외한 포유류에서 CG가 발견된 경우는 없으며, 흰쥐의 경우 태반에서 LH α와 β subunit 유전자가 발견됨이 보고된 바 있으므로 비영장류의 유선 역시 CG 대신 LH가 합성되어 작용하는 것으로 예상된다(Shinozaki et al., 1997).

배란 또는 성호르몬 합성 조절 외에도 CG는 세포자연사를 촉발하여 유선 종양의 성장을 억제함이 알려져 있으며(Srivastava et al., 1998), 이는 임신 경력이 없는 흰쥐에게 CG를 투여할 경우나 임신중인 흰쥐의 경우 chemical에 의한 유선 carcinoma의 형성 개시와 진전이 억제됨에서 잘 입증된다(Russo & Russo, 2000). 본 연구 결과에서 흰쥐 유선의 LH 함량이 임신 및 수유기에 낮아졌다가 이유기에 상승하는 경향은 같은 기간에 유선 상피세포의 세포자연사 변화 양상과 대체로 잘 부합된다.

사춘기에 개시되는 급격한 세포 증식, 생식 주기에 따른 주기적인 분열과 사멸, 유방의 종양 형성 유도 등에서 보는 바와 같이 난소에서 분비되는 estrogen은 유선에서의 세포 증식을 조절하는 결정적인 요인이다(Pike et al., 1993). 그 수용체는 ER α와 ER β로 나뉘는데, ER α의 경우 epithelial cell과 stroma cell에 공히 존재하며, knock-out 동물의 경우 유선의 발생과 분화에 ER α의 역할이 보다 더 중요함이 알려져 있다(Cunha et al., 2000). 본 연구에서는 비록 serum LH 수준에서 관찰된 극적인 변화는 없었으나 유선 LH의 발현 역시 estrogen에 의존적임을 관찰하였다. 이는 난소로부터의 estrogen이 암컷 흰쥐의 뇌하수체 및 유선의 LH 합성과 분비에 공히 주된 조절자일 가능성을 시사한다. 또한 유선 세포증식과 세포자연사의 조절에 있어서도 estrogen의 효과가 ER α and/or ER β를 매개로 조절되는 유선 LH의 활성화와 상관관계가 있을 가능성을 시사한다. 유선의 분화와 생리의 조절에는 (i) steroid, PRL, GH와 같은 고전적인 호르몬들이 1차적인 신호로 작용하고, (ii) TGF와 같은 각종 성장인자와 PRL, GH, LH, GnRH 등의 국부적인 요인들이 2차적으로 정밀한 조절을 담당하는 것으로 보인다(Lyon, 1993). 특히 국부적인 요인들은 유선 내의 mesenchyme cell과 epithelial cell 간의 cross-talk에서 신호물질로써 paracrine 또는 autocrine loop를 형성하는 것으로 추론된다(Medina, 1998; Rudland et al., 1998; Cunha et al., 2000). 국부조절인자들의 paracrine 또는 autocrine 역할 연구에 있어서 어려운 점은 기존의 endocrine 역할을 나타내는 ligand 간의 구별이 어렵다는 점이다. 그런데, 다행스러운 것은 LH의 경우 호르몬 축의 상위 조절자인 GnRH와 하위 조절 대상인 steroid들과 더불어 고등동물의 생식내분비 조절에 있어서 핵심 요소로 여겨져 왔고, 이에 대해 지난 수 십년 간 방대한 양의 연구 결과가 축적되어 있다. 따라서 포유류 유선에서의

LH 발현 조절과 조직특이적 기능에 대한 연구에 기존의 정보를 참고할 경우 다른 유선 국부조절인자들 보다 유리한 위치에 있다고 판단된다. 이러한 시도는 특히 여성 암 가운데 높은 빈도로 발생하는 유방암의 발생 기작과 내분비적인 치료법 등의 연구에 도움이 되리라 사료된다.

인용문헌

- Baram T, Koch Y, Hazum E, Fridkin M (1977) Gonadotropin-releasing hormone in milk. *Science* 198:300-302.
- Chomzynski P, Sacchi N (1987) Single-step method of RNA isolation by RNA guanidium thiocyanate phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162:156-159.
- Cunha GR, Wiesen JF, Werb Z, Young P, Hom YK, Cooke PS, Lubahn DB (2000) Paracrine mechanisms of mouse mammary ductal growth. *Adv Exp Med Biol* 480:93-97.
- Feldman M., Ruan W, Cunningham BC, Well JC (1993) Evidence that the growth hormone receptor mediates differentiation and development of the mammary gland. *Endocrinology* 133:1602-1608.
- Leung PC, Peng C (1996) Gonadotropin-releasing hormone receptor : gene structure, expression and regulation. *Biol Signals* 5:63-69.
- 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 Letter* 379:186-190.
- Lyons WR (1993) Hormonal synergism in mammary growth. *Proc Royal Soc Biol* 149:303-325.
- Kurtz A, Bristol LA, Tóth BE, Lazar-Wesley E, Takács L, Kacsóh B (1993) Mammary epithelial cells of lactating rats express prolactin messenger ribonucleic acid. *Biol Reprod* 48:1095-1103.
- Medina D (1996) The mammary gland: a unique organ for the study of development and tumorigenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1:5-19.
- Mol JA, Henzen-Logmans SC, Hageman PH, Misdorp W, Blankenstein MA, Rijnberk A (1995) Expression of the gene encoding growth hormone in the human mammary gland. *J Clin Endocrinol Metab* 80:3094-3096.
- 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.
- Pierce J, Parsona T (1981) Glycoprotein hormones: structure and function. *Ann Rev Biochem* 50:465-495.
- Pike MC, Spicer DV, Dahmouch L, Press MF (1993) Estrogens, progesterones, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 15:17-35.
- Reis FM, Cobellis L, Luisi S, Driul L, Florio P, Faletti A, Petraglia F (2000) Paracrine/autocrine control of female reproduction. *Gynecol Endocrinol* 14:464-475.
- Rudland PS, Barraclough R, Fernig DG, Smith JA (1998) Growth and differentiation of the normal mammary gland and its tumours. *Biochem Soc Symp* 63:1-20.
- Russo IH, Russo J (2000) Hormonal approach to breast cancer prevention. *J Cell Biochem Suppl* 34:1-6.
- Ryu JS, Kim JM, Lee SH (2000) Expression of luteinizing hormone(LH) and its receptor genes in rat mammary gland. *Devel Reprod* 4:231-236.
- Shinozaki M, Uchida H, Ikeda S, Min K, Shiota K, Ogawa T (1997) Expression of LH-alpha and -beta subunit mRNAs in the rat placenta. *Endocr J* 44:79-87.
- Siler-Khodr TM, Khodr GS, Valenzuela G, Rhode J (1986) Gonadotropin-releasing hormone effects on placental hormones during gestation: I. Alpha-human chorionic gonadotropin, human chorionic gonadotropin and human chorionic somatomammotropin. *Biol Reprod* 34:245-254.
- Srivastava P, Russo J, Mgbonyebi OP, Russo IH (1998) Growth inhibition and activation of apoptotic gene expression by human chorionic gonadotropin in human breast epithelial cells. *Anticancer Res* 18(6A):4003-4010.
- Topper YS, Freeman CS (1980) Multiple hormone interactions in the developmental biology of the mammary gland. *Physiol Rev* 60:1049-1105.
- Travers MT, Barber MC, Tonner E, Quarrie L, Wilde CJ, 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.