

암컷 흰쥐의 사춘기 개시에 미치는 Genistein의 효과

이 경 엽 · 이 성 호[†]

상명대학교 생명과학전공

Effect of Genistein on the Onset of Puberty in Female Rats

Kyeong-Yeup Lee and Sung-Ho Lee[†]

Department of Life Sciences, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea

ABSTRACT : There is growing concern that dietary soy intake is associated with protection of breast cancer. However, questions persist on the potential adverse effects of the main soy constituent genistein(GS) on female reproductive physiology. In this study, we examined whether prepubertal exposure to GS affected on the onset of puberty and the associated reproductive parameters such as hormone receptor expressions in female rats. GS(100mg/kg/day) was administrated daily from postnatal day 25(PND 25) to the day when the first vaginal opening(VO) was observed, and the animals were sacrificed on the day after VO occurred. Gross anatomy and tissue weight were compared to test the GS's effect on the cell proliferation. Furthermore, histological studies were performed to assess the structural alterations in tissues. Specific radioimmunoassay(RIA) were carried out to measure serum LH levels. To determine the transcriptional changes in progesterone receptors(PR), total RNAs were extracted from ovary and uterus and were applied to semi-quantitative reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR). As a results, advanced VO was shown in the GS group(PND 31.2±0.6) compared to the vehicle group (PND 35.3±0.7). GS treatment significantly increased wet weight of ovaries and uteri compared to the vehicle group. Increased serum LH levels were also shown in the GS group. Graafian follicles and corpora lutea(CL) were observed only in the ovaries from GS treated animals. Similarly, hypertrophy of luminal and glandular uterine epithelium were found only in the GS group. Collectively, these effects were probably due to the estrogenic effects of GS. In the semi-quantitative RT-PCR studies, the transcriptional activities of PR in both ovary and uterus from GS-treated group were significantly higher than those from the vehicle group. The present studies demonstrated that acute exposure to GS, at levels comparable to the ranges of human exposure, during the critical period of prepubertal stage activates the reproductive system resulting precocious puberty in immature female rats.

Key words : Phytoestrogen, Genistein, Vaginal opening, Progesterone receptors, Puberty.

요 약 : 콩류 섭취가 유방암이나 골다공증, 그리고 심혈관계 질환 예방에 도움이 된다는 사실은 학계는 물론 일반인들에게 지 큰 관심을 불러 일으키고 있다. 그러나 콩류, 특히 그 주성분인 genistein(GS)이 상기한 긍정적인 효과 외에도 여성의 생식계에 잠재적으로 부정적인 영향을 미칠 가능성에 대한 의문이 계속되어 왔다. 본 연구에서는 GS가 암컷 흰쥐의 사춘기 개시에 미치는 효과와 호르몬 수용체 등 이때의 다양한 생식 지표들의 변화를 조사하였다. GS(100mg/kg/day i.p.)를 생후 25일부터 사춘기 개시의 지표인 최초의 질구 개방(vaginal opening, VO)이 일어나는 날까지 투여하였다. 다음 날 희생시킨 후 난소와 자궁의 외양 변화와 조직 무게를 측정하여 GS가 이들 조직의 세포분열에 미치는 효과를 확인하였고, 조직절편의 현미경 관찰을 통해 해부학적인 변화 양상을 조사하였다. 한편 채취한 혈액내의 LH 수준은 방사면역측정법(RIA)로 측정하였다. 또한 자궁 성숙의 지표가 되는 프로게스테론 수용체(PR)의 mRNA 수준에 대한 정량적인 RT-PCR 조사를 수행하였다. GS 투여에 의해 질구 개방이 앞당겨짐이 확인되었고(35.3±0.7 day in control group vs 31.2±0.6 day in GS group, $p<0.01$), 이 때 GS군의 체중이 대조군에 비해 유의하게 낮음을 관찰하였다. 난소와 자궁의 크기와 무게, 그리고 혈중 LH 수준이 GS군에서 유의하게 증가함이 관찰되었다. GS군의 난소에서는 성숙의 지표가 되는 그래프 난포(Graafian follicle)와 황체가 관찰되었으나 대조군의 난소는 미성숙한 난포들만이 관찰되었다. 자궁의 경우도 GS군에서는 내막층과 근막층은 물론 상피층까지 잘 발달된 과다 성장 상태와 함께 분비선 수의 증가가 나타났으나 대조군에서는 모든 세포층의 발달이 미약한 상태였다. 이러한 결과들은 GS의 에스트로겐 유사 효과에 기인하는 것으로 보인다. RT-PCR에서 난소와 자궁에서의 PR mRNA 수준은 GS 투여에 의해 발현 증가가 나타났다. 결론적으로, 본 연구는 사춘기 전 특정 시기에 단기적인 GS 투여에 의해 암컷 흰쥐의 생식계가 활성화되고, 그 결과 조기 사춘기가 유도될 수 있음을 시사한다.

본 연구는 상명대학교 자연과학연구소 연구비 지원(S-H Lee)을 받아 수행되었음.

[†] 교신저자: 서울시 종로구 홍지동 7, 상명대학교 생물학과. (우) 110-743, (전) 02-2287-5139, (팩) 02-394-9585, E-mail: shlee@smu.ac.kr

서 론

Isoflavone계 물질인 genistein(GS)은 에스트로겐과 구조가

비슷할 뿐만 아니라 에스트로겐 수용체(ER- α 와 ER- β)에 비록 친화력은 약하지만 결합 능력이 있어 phytoestrogen 이라 칭해진다(Casanova *et al.*, 1999; Magee & Rowland, 2004). 이와 같은 내인성 호르몬 수용체와의 결합 능력과 agonist성 에스트로겐 유사 효과 때문에 GS은 내분비 장애 물질(endocrine disrupting compounds, EDCs) 또는 내분비 활성물질(endocrine-active compounds, EACs)의 범주에 포함 되는데, 특히 콩을 기반으로 하는 식재료에 많이 포함되어 있기 때문에 최근 관심이 집중되고 있다(Fitzpatrick, 2003; McClain *et al.*, 2006).

아시아계 사람들이 다량으로 섭취하는 콩을 주 재료로 한 식사 스타일에 의해 유방암, 전립선암, 그리고 결장암의 발생이 감소된다는 보고들에 의해 GS의 암 예방 효과에 대한 연구가 가속화되었으며, 그 과정에서 골다공증, 고지혈증, 폐경 후 증상들(menopausal symptoms), 그리고 동맥경화(atherosclerosis)와 심장질환들에 대한 GS의 예방 효과가 밝혀졌다(Goldwyn *et al.*, 2000; Suthar *et al.*, 2001a,b). 이처럼 GS 등의 phytoestrogen계 물질이 폐경기 이후 여성과 같이 특정 연령층의 사람들의 건강에는 대단히 유효한 것으로 보이지만, 다른 연령층의 에스트로겐 민감 표적 기관, 즉 태생기나 사춘기 이전의 발생 중인 생식기관에는 비정상적 혹은 심지어 유해한 효과를 미칠 가능성이 상존한다.

암컷 흰쥐를 대상으로 GS가 생식계에 미치는 효과에 대한 연구는 주로 태아기나 신생아기에 투여하여 이후 발생 과정에서의 생식 기관의 분화, 생식 주기의 변화 그리고 생식 행동 패턴의 변화 등을 조사한 것이었는데, 대체로 GS의 에스트로겐 유사 효과를 지지하는 것이지만 연구자에 따라서 정반대의 결과를 보이기도 한다. 임신기 16일에서 20일까지 GS(5mg)를 매일 주사할 경우, 대조군에 비해 사춘기 개시의 지표인 질구 개방(vaginal opening, VO)이 지연되었다(Levy *et al.*, 1995). 반면 GS(12.5, 25, 50, 100 mg/kg B.W.)를 출생 후 1일에서 5일까지 투여했을 때는 사춘기 개시 시기에 변화가 없었고, 최고 농도(100mg/kg BW)에서 생식 능력의 소실과 함께 난소와 자궁의 기형이 관찰되었다(Nagao *et al.*, 2001). 또한 임신한 쥐에 GS(16mg/100g feed)와 함께 다른 isoflavone계 물질인 daidzein(14mg/100g feed)를 사료를 통해 투여할 경우, 이유 시기에 새끼의 체중 대비 자궁 비율의 증가와 함께 사춘기 개시가 빨라짐이 보고되었다(Casanova *et al.*, 1999). 따라서 GS의 투여 농도, 투여 기간, 투여 시기, 표적 조직 등 제 변수에 대한 합리적이고 다양한 고려가 요구된다.

본 연구는 GS가 암컷 흰쥐의 사춘기 개시에 미치는 효과를

측정하기 위해, 인간이 섭취하는 범위에 들어가는 생리적인 농도(100mg/kg B.W.)를 사춘기 전(생후 25일) 흰쥐에 질구 개방이 일어날 때까지 매일 투여하는 모델을 채택하였고, 생식 기관의 성숙 상태를 조사하였고, 생식 기관의 성숙과 관련된 프로그스테론 수용체(PR)의 발현 양상을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

상명대학교 실험동물 사육장에서 18~22℃로 일정하게 유지되는 온도와 일정한 광주기(12시간 조명, 12시간 소동) 그리고 먹이와 물의 접근을 자유롭게 한 상태(*ad libitum*)에서 사육한 Sprague-Dawley(SD) strain 흰쥐를 사용하였다.

생후 25일(53~58g)의 미성숙한 암컷 흰쥐에 GS(100mg/kg B.W., Biospectrum)를 매일 복강 주사하였고, 대조군으로는 corn oil(Sigma, USA)을 개체 당 200 μ L씩 복강 주사하였다. 동물들은 매일 오전 10시에 질구 개방 여부를 확인하였으며, 질구 개방이 일어난 경우 생리식염수를 사용한 질도말법(vaginal smear)으로 슬라이드에 도포한 질 상피세포를 현미경하에서 확인하였으며 다음 날 오후 5시에 희생시켰다. 희생 후 즉시 조직 무게를 측정하고 RNA를 추출하였고, 혈액은 원심분리(4℃, 1500 \times g, 15분)하여 혈장을 얻은 후 LH 방사 면역 측정법을 시행하기 전까지 -20℃에 보관하였다.

2. 난소와 자궁의 조직학적 관찰

대조군과 실험군에서 얻은 난소와 자궁의 성적인 성숙 정도를 조사하기 위하여 paraformaldehyde(4%)에 고정한 조직을 ethanol로 탈수한 다음 파라핀으로 포매한 후 5~7 μ m 두께로 연속 절편을 얻었다. 조직 절편들은 hematoxylin-eosin으로 대조 염색하여 광학현미경(Olympus) 하에서 관찰하였다.

3. LH 방사 면역 측정법(RIA)

혈중 LH 수준은 double antibody RIA reagent를 사용하여 측정하였다(Lee *et al.*, 1994). Iodination용 펩타이드인 NIDDK-rLH-I-9과 Na-I125(1 μ Ci, NEN)를 chloramine T 방법으로 표지하였다. 흰쥐 LH에 대한 항혈청은 NIDDK-rLH-S-10, reference 펩타이드는 NIDDK-rLH-RR-2를 사용하였다. RIA variation의 intra-와 inter-assay의 coefficient는 각각 5~7%와 8~10%였다.

4. RNA 추출과 Semi-quantitative RT-PCR

조직의 total RNA는 guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction method (Chomzynski & Sacchi, 1987)에 따라 추출하였다. 1 µg의 total RNA를 주형으로 하고 0.5 µg의 dT₂₀ primer와 AccuPower™ RT PreMix(Bioneer)를 사용하여 역전사하였다. PCR 반응은 1 µL의 역전사 산물을 주형으로 하여 각각의 전사물에 해당하는 primer들과 Taq DNA polymerase(Takara)를 사용하였으며, 최종 반응 volume은 20 µL이었다. Table 1은 본 실험에서 사용된 primer들의 염기서열과 annealing 온도를 표시하였다. PCR 산물은 전기영동으로 분리하였고 ethidium bromide로 염색 후 Imager III -1D main software(Bioneer)로 정량하였다. 정량을 위한 internal control PCR로는 GAPDH를 수행하였다.

5. 통계 처리

실험 결과의 통계적 처리는 Student's *t*-test에 의해 이루어졌으며 *P*-value 0.05 이하를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

암컷 흰쥐의 사춘기 개시 지표로 널리 사용되는 질구 개방의 경우 GS군에서는 주사 개시 후 7일째로 생후 31.2±0.6일, 그리고 대조군에서는 주사 개시 후 11일째인 생후 35.3±0.7일에 일어나 GS에 의해 유의하게(*p*<0.01) 성적인 성숙이 촉진됨이 확인되었다(Fig. 1). 질구 개방이 일어난 다음날 희생시키기 전 체중을 비교한 결과 대조군에 비해 GS 군에서 유의한 감소가 나타났다(대조군, 93.0±3.5g vs GS 군, 85.5±3.6g, *p*<0.01, Fig. 2). 혈중 LH 수준은 GS 투여에 의해 2배 가까이 증가하는 경향을 보였다(Table 2). GS 군에서 질구 개방이 일어난 날 질도말법으로 질 상피세포를 확인한 결과, 질구 개방이 일어나지 않은 대조군은 상피세포를 채취할 수 없었으며(Fig. 3 A&C), GS 군에서는 발정 주기에서 estrus

Table 1. Primer sets for quantitative RT-PCR analyses

Gene	Sequences of nucleic acid	Product size (bp)	A.T. (°C)
PR	F 5'-CAGCATGTCGTCTGAGAAAG	472 bp	61
	R 5'-TATAGCATCTGTCCACTGAC		
GAPDH	F 5'-CCATCACCATCTTCCAGGAG	576 bp	50
	R 5'-CCTGCTTACCACCTTCTTG		

PR, progesterone receptor; F, forward; R, reverse; A.T., annealing temperature.

시기임을 나타내는 각질 세포들(cornified cells; Urbanski & Ojeda, 1985))이 나타났다(Fig. 3 B&D). 조직 외형 관찰에

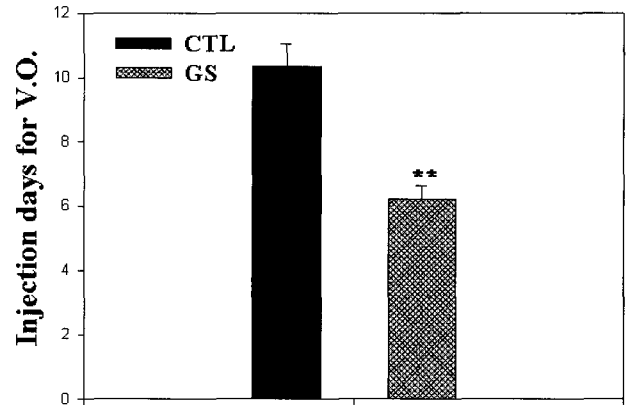


Fig. 1. Advanced vaginal opening(VO) in immature female rats treated with GS. CTL, control group; GS, genistein-treated group(100mg/kg B.W.). Bars are mean±S.E. (*n*=10 per group). ** Significantly different from control group, *p*<0.01.

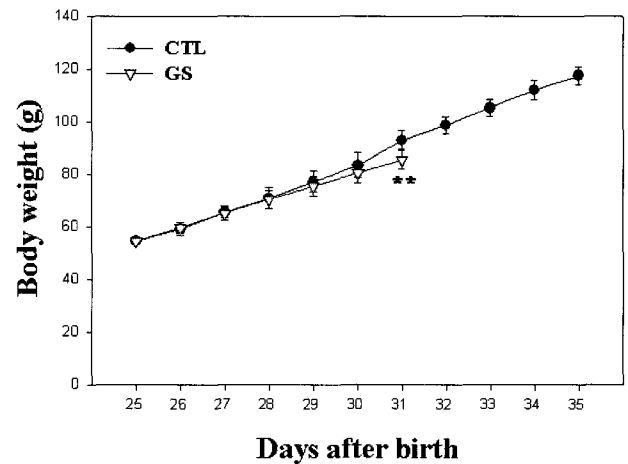


Fig. 2. Changes in body weight during the 7-day of GS administration. Values are expressed as mean±S.E. (*n*=10 per group). ** Significantly different from control group, *p*<0.01.

Table 2. Body weight and serum LH levels at the day after VO

	Control	GS
Body weight(g)	93.0±3.5	85.5± 3.6**
Serum LH (pg/ml)	16.5±7.1	29.8±11.3

Note. Values are expressed as mean±S.E. (*n*=10).

** Significantly different from control group, *p*<0.01.

서, GS 군의 난소는 대조군에 비해 크고 바깥쪽으로 잘 발달된 난포들이 위치하였고, 자궁 역시 GS 군에서 더 발달된 상태를 보였다(Fig. 4 A&B). 또한 GS 군의 난소와 자궁의 무게가 대조군에 비해 모두 유의하게 증가함이 확인되었다(Fig. 4 C&D). 조직학적인 연구에서, 대조군의 난소는 작고 미성숙한 1차와 2차 난포들이 주로 관찰된 것에 비해 GS 군에서는 난소 성숙의 지표가 되는 그라프 난포와 황체가 다수 관

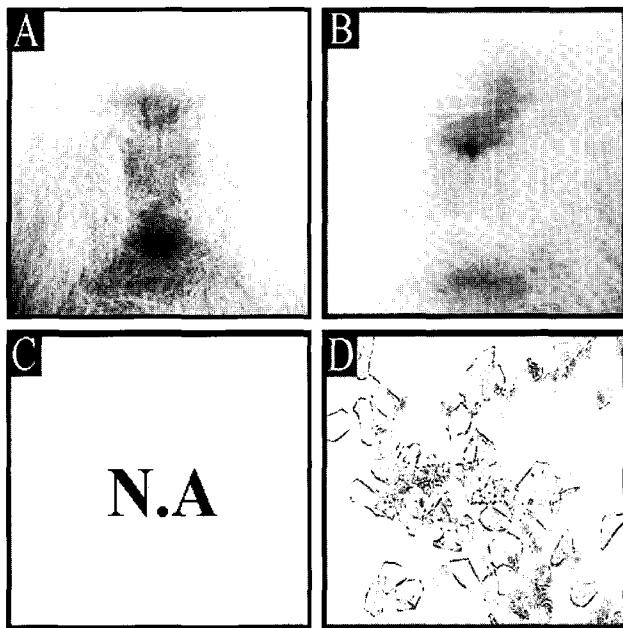


Fig. 3. Comparison of V.O. status and smeared vaginal cells between control and GS-treated immature female rats. (A) V.O. is not occurred in control rats sacrificed on PND 32. (B) V.O. is evident in GS-treated rats sacrificed on same day. (C) Vaginal cells are not available in control rats. (D) Smeared vaginal epithelial cells from GS-treated rats. The cornified feature of cells represents estrus status.

찰되었다(Fig. 5 A&B). 자궁의 경우, GS 군에서는 내강측 상피(luminal epithelium), 내막층과 근막층은 물론 상피층까지 잘 발달된 과다 성장(hypertrophy) 상태와 함께 분비선의 증가가 나타났으나 대조군에서는 모든 세포층과 분비선의 발달이 미약한 상태였다(Fig. 5 C&D). 유전자 발현에 있어서 암컷 성성숙 개시의 지표가 되는 프로그스테론 수용체의 mRNA 수준을 조사한 결과 난소와 자궁 모두 GS 군이 대조군에 비해 유의하게 높았다(Fig. 6 A&B).

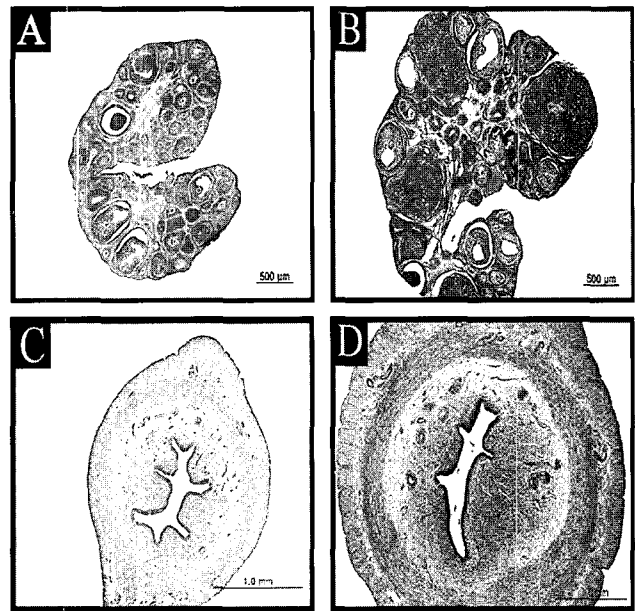


Fig. 5. Microphotographs of ovaries and uteri from controls and GS-treated animals at PND 32. Only a small follicle is apparent in control group(A). Note several corpora lutea and Graafian follicles in GS group(B). Hypertrophy of both luminal and glandular uterine epithelium is evident in GS group(D) compared to the immature state of control uteri(C). Hematoxylin and eosin staining, $\times 20$.

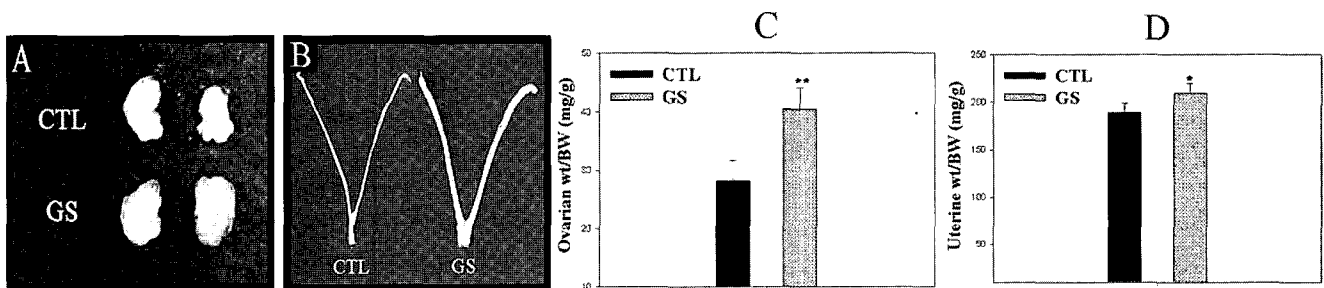


Fig. 4. Comparison of shape and weight of the organs between control and GS-treated immature female rats. Enlarged ovaries(A) and uteri(B) are found in GS-treated rats. (C) The relative ovarian weights per body weights in control(CTL) and GS-treated rats(GS). (D) The relative uterine weights per body weights in control and GS-treated rats. Values are expressed as mean \pm S.E. ($n=10$ per group). * Significantly different from control group, $p<0.05$. ** Significantly different from control group, $p<0.01$.

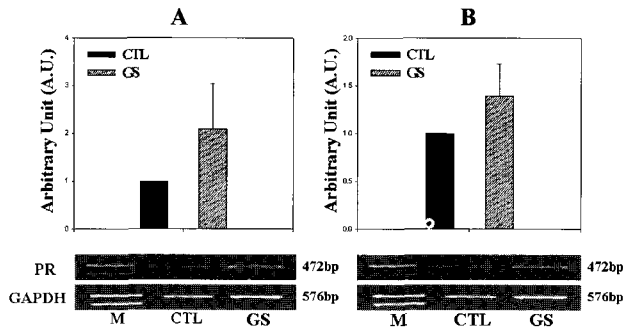


Fig. 6. Effects of prepubertal GS administration on the expression of PR in the ovaries(A) and uteri(B) in rats sacrificed on PND 33. Animals were sacrificed on the day after V.O. occurred. Semi-quantitative RT-PCR was carried out as described in 'Materials and Methods'. Values are expressed as mean \pm S.E. ($n=6$ per group).

고찰

유방암이나 전립선암의 발병률이 서구인들에 비해 동양인들에게서 현저히 낮은 이유 중의 하나가 다량의 콩류 음식 섭취라는 설명은 서구 사회로의 이민자 제2세대와 같이 동양인이 서구형 식사 습관을 갖게 될 때 암 예방 효과가 사라진다는 것으로 입증된다(Lamartiniere *et al.*, 1998). 이러한 암 예방 내지 항암 효과는 콩류에 다량 존재하는 phytoestrogen인 isoflavone계 물질들에 의한 것임이 다수의 연구들에 의해 증명되었고, 특히 그 가운데 에스트로겐과 구조가 비슷하고 수용체와 결합 능력이 있는 GS에 대한 연구가 집중되어 왔다(Messina *et al.*, 1997). 실제로 GS는 tyrosine kinase 억제(Akiyama *et al.*, 1987), 혈관 신생(angiogenesis) 억제(Fortis *et al.*, 1993), lipid peroxidation 억제(Jha *et al.*, 1985), PDGF와 EGF에 의해 유도되는 *c-fos* 발현을 억제하고(Tripathi *et al.*, 1992), 그리고 항산화 특성(Gyorgy *et al.*, 1964)이 있으며, 이러한 특성을 통해 항암 효과를 나타내는 것으로 추정된다.

한편 난소 기능의 소실로 에스트로겐 합성이 급격히 줄어드는 폐경기 이후의 제반 증상들인 골다공증, 고지혈증, 심·혈관계 질환, 인지 능력 감소의 예방 및 완화를 위한 호르몬 보충 요법(hormone replacement therapy, HRT)이 삶의 질과 관련된 보건상의 중요한 이슈로 떠오르고 있으며, 실제로 전세계적으로 2,000만명 이상이 현재 이 요법을 사용 중이다(Nelson *et al.*, 2002; Tormey *et al.*, 2006). 상기한 여러 증상들은 HRT와 같은 맥락에서 콩류를 주로 하는 식사 습관에 의해 어느 정도 예방됨이 알려져 있는데, 여러 성분 중에서 특히 에스트로겐 agonist 효과를 나타내는 GS가 특히 유효한

물질로 추정된다(Goldwyn *et al.*, 2000; Suthar *et al.*, 2001 a,b). 이처럼 GS는 적어도 폐경기 이후 여성들의 골다공증, 심혈관계 질환이나 유방암 발병을 억제 또는 예방하는 긍정적인 효과가 있음은 확실시되지만, 생의 다른 시기들, 즉 태생기나 영·유아기와 같이 분화가 활발히 진행 중인 시기에 비정상적인 영향을 미칠 가능성이 상존한다. 이러한 부정적인 영향에 대한 가능성은 GS와 마찬가지로 내분비계 장애물질로 분류되면서 암 유발 효과로 잘 알려진 강력한 에스트로겐 agonist인 diethylstilbesterol(DES)이 인간이나 가축의 생식 기관 분화, 생식 능력과 신경계에도 부정적 영향을 미침에서 잘 나타난다(Sweeney, 2002; Li *et al.*, 2003; Panzica *et al.*, 2005). GS의 경우 투여 농도와 기간은 물론 투여 시기 즉, 태아기에서 신생아기는 물론 사춘기 전후와 성체기 및 노화기 등에 따라 나타나는 효과의 차이가 예상된다. 아울러 성차, 조직 특이성, 지속 기간에 따른 급성 또는 만성적인 효과의 차이 등을 고려한다면 반드시 긍정적이지 않은 않을 것이므로 다양하면서도 상세한 연구가 시급히 요구된다.

현재 GS 섭취의 잠재적인 부정적 효과로는 사춘기 시작의 교란을 들 수 있다. 조기 사춘기(precocious puberty)로 대변되는 성적 조숙(precocious sexuality)은 공업화가 많이 진행된 여러 나라에서 최근 20년간 증가하는 추세에 있다(Kaplowitz, 2004). 조기 사춘기는 유전적인 소인이 있는 경우, 임상적으로 여아의 경우 8세 이전, 그리고 남아의 경우 9세 이전에 일어난다(Carel *et al.*, 2004). 최근 관심이 고조되는 분야는 직접적인 유전적인 요인이 없이도 10세 전후에 나타나는 조기 사춘기로서, 이는 아마도 영양 상태의 전반적인 개선과 함께 선호하는 음식 종류의 변화, 체지방 및 혈중 leptin 수준의 변화 등에 기인하는 것으로 추정된다(Kelesidis & Mantzoros, 2006). 이러한 성적 조숙이 문제가 되는 이유는 성성숙과 골성장(bone maturation) 기간의 괴리이다. 즉, 성적 조숙이 일어날 경우, 골성장 역시 조기에 개시된 후 정상인에 비해 상대적으로 일찍 종료되어 결국 정상인보다 키가 작게 되며, 이는 해당자에게 육체적인 측면은 물론 삶의 질이란 관점에서 상당한 정신적인 문제를 야기할 수 있다(Carel *et al.*, 2004). 궁극적으로 조기 사춘기는 시상하부-뇌하수체-생식소 호르몬 축의 활성 증진에 의해 유도되므로 에스트로겐 유사 효과를 갖는 GS가 사춘기 개시에 영향을 미칠 가능성은 충분하다. 실제로 태아기에 GS에 노출된 흰쥐의 질구 개방이 지연된다는 보고(Levy *et al.*, 1995)가 있는 반면 daidzein과 동시 투여시 오히려 촉진된다는 보고가 있다(Casanova *et al.*, 1999). 본 연구에서는 사춘기 직전의 비교적 단기간 GS에 노출될 경우 사춘기 개시가 유의하게 빨

라짐을 보여준 것으로 앞서 언급한 바처럼 GS에 대한 노출 시기가 주요한 관건으로 추정된다. 이 결과는 인간의 경우에 적용될 경우 유전적 소인이 없이 촉진되는 성적 조숙 현상의 설명중 하나가 될 수 있을 것이다.

GS가 난소와 자궁의 세포 분열을 촉진하는 기작은 아마도 TGF α 나 EGF 신호 체계를 통하는 것으로 보인다. 이유직전인 생후 16, 18, 20일의 흰쥐에 GS(500mg/kg B.W.)를 주사한 경우 자궁 상피세포들의 과도 성장(hypertrophy)을 보이는데 EGF와 그 수용체의 발현은 증가하는데 비해 TGF α 는 감소하였다(Brown & Lamartiniere, 2000). 이와 유사하게 GS 투여에 의해 흰쥐 유선에서의 TGF α 와 EGF 수용체 발현이 증가함이 보고된 바 있다(Brown *et al.*, 1998). 이러한 신호 전달 과정은 궁극적으로 조직에서의 성스테로이드 호르몬 수용체 발현을 조절할 것인데(Cotroneo *et al.*, 2001), 임신 11일에서 20일까지 GS(1~100mg/kg BW)를 투여했을 때 임신 20일 암컷 새끼의 자궁과 난소에서의 PR의 발현이 최대 5.7배까지 농도 의존적으로 증가함이 관찰되었다(Naciff *et al.*, 2002). 본 연구 결과는 사춘기 개시 이전의 GS 투여 역시 난소와 자궁에서의 PR 유전자 발현을 촉진함을 나타낸 것이다. 한편 ER 유전자 발현에 미치는 영향은 조직 특이적인 것으로 보인다. 본 연구자들은 난소와 자궁에서 공히 ER- α 와 ER- β 모두의 유전자 발현이 증가됨을 관찰하였는데(data not shown), 이와 관련하여 흰쥐 시상하부 paraventricular nucleus(PVN)의 경우 GS 투여에 의해 ER- β 발현은 증가하지만 ER- α 발현의 변화는 없다는 보고가 있다(Patisaul *et al.*, 2002).

결론적으로, 본 연구는 사춘기 전 특정 시기에 단기적인 GS 투여에 의해 암컷 흰쥐의 성호르몬 조절 축이 활성화되어 그 결과로 조기 사춘기가 유도됨을 보여준 것으로, 아동기의 식이 습관에 의해서 사춘기 개시가 조절될 가능성을 시사한다. GS가 인간의 건강에 대단히 유익하다고 알려진 콩류의 주성분이라는 점에서 향후 GS의 투여 시기, 농도와 효과에 대한 다양하고도 세밀한 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

인용문헌

- Akiyama T, Ishida J, Nakagawa S, Ogawara H, Watanabe S, Itoh N, Shibuya M, Fukami Y (1987) Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J Biol Chem* 262:5592-5595.
- Brown NM, Lamartiniere CA (2000) Genistein regulation of transforming growth factor-alpha, epidermal growth factor(EGF), and EGF receptor expression in the rat uterus and vagina. *Cell Growth Differ* 11:255-260.
- Brown NM, Wang J, Cotroneo MS, Zhao YX, Lamartiniere CA (1998) Prepubertal genistein treatment modulates TGF-alpha, EGF, and EGF-receptor mRNAs and proteins in the rat mammary gland. *Mol Cell Endocrinol* 144: 149-165.
- Carel JC, Lahlou N, Roger M, Chaussain JL (2004) Precocious puberty and statural growth. *Hum Reprod* 10:135-147.
- Casanova M, You L, Gaido KW, Archibeque-Engle S, Janszen DB, Heck HA (1999) Developmental effects of dietary phytoestrogens in Sprague-Dawley rats and interactions of genistein and daidzein with rat estrogen receptors alpha and beta *in vitro*. *Toxicol Sci* 51:236-244.
- Chomczynski P, Sacchi N (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162:156-159.
- Cotroneo MS, Wang J, Eltoum IA, Lamartiniere CA (2001) Sex steroid receptor regulation by genistein in the prepubertal rat uterus. *Mol Cell Endocrinol* 173:135-145.
- Fitzpatrick LA (2003) Soy isoflavones: hope or hype? *Maturitas* 44(supp 11):S21-S29.
- Fortis T, Pepper M, Adlercreutz H, Fleischmann G, Hase T, Montesano R, Schweigerer L (1993) Genistein, a dietary-derived inhibitor of *in vitro* angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:2690-2694.
- Goldwyn S, Lazinsky A, Wei H (2000) Promotion of health by soy isoflavones: efficacy, benefit and safety concerns. *Drug Metabol Drug Interact* 17:261-289.
- Gyoergy P, Murata K, Ikehata H (1964) Antioxidants isolated from fermented soybeans(tempeh). *Nature* 204: 870-872.
- Jha HC, von Recklinghausen G, Zilliken F (1985) Inhibition of *in vitro* microsomal lipid peroxidation by isoflavonoids. *Biochem Pharmacol* 34:1367-1369.
- Kaplowitz P (2004) Clinical characteristics of 104 children referred for evaluation of precocious puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 89:3644-350.
- Kelesidis T, Mantzoros CS (2006) The emerging role of leptin in humans. *Pediatr Endocrine Rev* 3:239-248.
- Lamartiniere CA, Zhang JX, Cotroneo MS (1998) Genis-

- tein studies in rats: potential for breast cancer prevention and reproductive and developmental toxicity. *Am J Clin Nutr* 68(suppl):1400S-1405S.
- Lee SH, Song ES, Yu SK, Kim C, Lee DK, Choi WS, Kim K (1994) Temporal changes in ovarian gonadotropin releasing hormone mRNA levels by gonadotropins in the rat. *Mol Cells* 4:39-44.
- Levy JR, Faber KA, Ayyash L, Hughes CL Jr (1995) The effect of prenatal exposure to the phytoestrogen genistein on sexual differentiation in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 208:60-66.
- Li S, Hursting SD, Davis BJ, McLachlan JA, Barrett JC (2003) Environmental exposure, DNA methylation, and gene regulation: lessons from diethylstilbesterol-induced cancers. *Ann NY Acad Sci* 983:161-169.
- Magee PJ, Rowland IR (2004) Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *Br J Nutr* 91:513-531.
- McClain RM, Wolz E, Davidovich A, Pfannkuch F, Edwards JA, Bausch J (2006) Acute, subchronic and chronic safety studies with genistein in rats. *Food Chem Toxicol* 44:56-80.
- Messina M, Barnes S, Setchell KD (1997) Phyto-oestrogens and breast cancer. *Lancet* 350:990-994.
- Murrill WB, Brown NM, Zhang JX, Manzolillo PA, Barnes S, Lamartiniere CA (1996) Prepubertal genistein exposure suppresses mammary cancer and enhances gland differentiation in rats. *Carcinogen* 17:1451-1457.
- Naciff JM, Jumo ML, Torontail SM, Carr GJ, Daston JP, Overmann GJ, Daston GP (2002) Gene expression profile induced by 17alpha-rthynyl estradiol, bisphenol A, and genistein in the developing female reproductive system of the rat. *Toxicol Sci* 68:184-199.
- Nagao T, Yoshimura S, Saito Y, Nakagomi M, Usumi K, Ono H (2006) Reproductive effects in male and female rats of neonatal exposure to genistein. *Reprod Toxicol* 15:399-411.
- Nelson HD, Humphrey LL, Nygren P, Teutsch SM, Allan JD (2002) Postmenopausal hormone replacement therapy: scientific review. *JAMA* 288:872-881.
- Panzica GC, Viglietti-Panzica C, Ottinger MA (2005) Introduction: neurobiological impact of environmental estrogens. *Brain Res Bull* 65:187-191.
- Patisaul HB, Melby M, Whitten PL, Young LJ (2002) Genistein affects ER beta- but not ER alpha-dependent gene expression in the hypothalamus. *Endocrinology* 143:2189-2197.
- Suthar AC, Banavalikar MM, Biyani MK (2001a) Pharmacological activities of genistein, an isoflavone from soy (*Glycine max*): part I - anti-cancer activity. *Indian J Exp Biol* 39:511-519.
- Suthar AC, Banavalikar MM, Biyani MK (2001b) Pharmacological activities of genistein, an isoflavone from soy (*Glycine max*): part II - anti-cholesterol activity, effects on osteoporosis and menopausal symptoms. *Indian J Exp Biol* 39:520-525.
- Sweeney T (2002) Is exposure to endocrine disrupting compounds during fetal/post-natal development affecting the reproductive potential of farm animals? *Domest Anim Endocrinol* 23:203-209.
- Tormey SM, Malone CM, McDermott EW, O'Higgins NJ, Hill AD (2006) Current status of combined hormone replacement therapy in clinical practice. *Clin Breast Cancer* 8(Suppl 2):S51-57.
- Tripathi YB, Lim RW, Fernandez-Gallardo S, Kandala JC, Guntaka RV, Shukla SD (1992) Involvement of tyrosine kinase and protein kinase C in platelet-activating-factor-induced *c-fos* gene expression in A-431 cells. *Biochem J* 286:527-533.
- Urbanski HF, Ojeda SR (1985) *In vitro* simulation of prepubertal changes in pulsatile luteinizing hormone release enhances progesterone and 17 beta-estradiol secretion from immature rat ovaries. *Endocrinology* 117:638-643.