

## 프로게스테론의 비유전자 수준 작용 : 포유류 난소에서의 신호 전달 경로를 중심으로

이 성 호<sup>†</sup>

상명대학교 생명과학전공

## Non-Genomic Actions of Progesterone : Focussed on the Signaling Pathways in the Mammalian Ovary

Sung-Ho Lee<sup>†</sup>

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

**ABSTRACT** : Progesterone(P4) is an important intermediate in the synthesis of androgens and estrogens. Furthermore, P4 itself plays a crucial role in ovulation, atresia and luteinization, and is essential for the continuation of early pregnancy in all mammalian species. In spite of the hormone's physiological importance, the exact action mechanism(s) of P4 in mammalian ovary has not been fully understood yet. In this context, a decades-long controversy regarding the identity of receptors that mediate non-genomic, transcription-independent cellular responses to P4 is presently attracting huge scientific interests. P4 may exert its action in mammalian ovary by several ways: 1) the well-documented genomic pathway, involving hormone binding to so-called classic cytosolic receptor(PGR) and subsequent modulation of gene expression by the ligand-receptor complex as transcription factor. 2) pathways are operating that do not act on the genome, therefore referred to as non-genomic actions. The prominent characteristics of the non-genomic P4 actions are: (i) rapid, (ii) insensitive to transcription inhibitors, (iii) transduced by membrane associated molecules. In particular, the non-genomic P4 actions could be mediated by: (a) classic genomic P4 receptor(PGR) that localizes at or near the plasma membrane, (b) a family of membrane progestin receptors(MPR  $\alpha$ , MPR  $\beta$  and MPR  $\gamma$ ), (c) progesterone receptor membrane component I(PGRMC1), and (d) a membrane complex composed of serpine I mRNA binding protein(SERBP1). The present review summarized these rapid signaling pathways of P4 in the mammalian ovary.

**Key words** : Progesterone, Non-genomic action, Membrane receptor, Mammalian ovary.

**요약** : 본 논문은 포유동물 난소에서의 신속한 프로게스테론(P4) 신호 전달경로에 관해 현재 통용되는 지식을 요약하였다. P4는 안드로겐과 에스트로겐 합성 과정에서의 중요한 중간 산물이면서 그 자체로도 배란, 난포폐쇄(atresia), 황체형성 과정(luteinization)에서 결정적인 역할을 하며, 모든 포유동물의 초기 임신 유지에 필수적이다. 이와 같은 생리적인 중요성에도 불구하고 포유동물 난소에서의 정확한 P4 작용기작은 아직까지도 완전히 알려져 있지 않다. 이러한 관점에서 볼 때, 비유전자 수준이면서 전사와 무관한 P4의 세포내 작용을 매개하는 수용체의 실체에 관해 오래 동안 계속된 의문과 논란은 과학적인 흥미를 유발하는 생식생리학의 주요 관심사이다.

포유류 난소에서 P4는 1) 잘 알려진 유전자 수준의 경로(genomic pathway)인 호르몬이 소위 고전적인 세포 내의 수용체에 결합하고, 이어 리간드-호르몬 복합체가 전사조절물질로 작용하여 표적 유전자 발현을 조절하거나, 2) 유전자에 직접 작용하지 않기 때문에 비유전자 수준이라 불리는 경로(non-genomic pathway)로 작용한다. P4의 비유전자 수준 작용의 주요한 특징은 (i) 신속하고, (ii) 전사억제제에 반응하지 않고, (iii) 세포막과 연관된 물질들에 의해 신호가 전달된다. 아마도 난소에서 P4의 비유전자 수준 작용은 (a) 세포막 또는 그 근처에 위치한 고전적인 P4 수용체(PGR), (b) 세포막 프로게스틴 수용체(membrane progestin receptors; MPR  $\alpha$ , MPR  $\beta$  and MPR  $\gamma$ ) 패밀리, (c) progesterone receptor membrane component I(PGRMC1), 그리고 (d) serpine I mRNA binding protein(SERBP1)의 세포막 복합체에 의해 매개되는 것으로 추정된다. 포유류 난소에서의 P4 작용에 대한 완전한 이해를 위해서는 향후 많은 연구가 필요할 것이다.

<sup>†</sup> 교신저자: 서울시 종로구 홍지동 7 상명대학교 생명과학전공. (우) 110-743, (전) 02-2287-5139, (팩) 02-2287-0070, E-mail: shlee@smu.ac.kr

프로게스테론(progesterone, P4)은 생식소에서 합성·분비되는 성 스테로이드 호르몬으로, 뇌하수체 전엽에서 분비되는 생식소자극호르몬(gonadotropin)의 자극에 의해 난소에서는 theca/stroma 세포, 과립세포와 황체세포에서 합성되며, 정소에서는 Leydig 세포에서 합성된다(Niswender & Nett, 1988; Gore-Langton & Armstrong, 1988). 생식소에서 분비된 P4는 시상하부-뇌하수체 축 수준에 작용하여 생식소자극호르몬의 분비를 조절하며(Mahesh & Muldoon, 1987), 유선의 발달을 촉진하고(Kurita *et al.*, 2001), 자궁 내막의 분화를 포함한 다양한 자궁 생리 조절과 태반의 발달을 촉진한다(Spencer *et al.*, 2004). 이와 같이 생식계 전반에 미치는 다양한 영향 때문에 P4의 작용기작에 대한 연구는 생식생리학에서 매우 중요한 연구 주제로 여겨져 왔다. 현재는 적어도 두 개의 세포내 P4 수용체(PGR-A와 PGR-B)가 전사조절인자로 작용하여 일련의 유전자 발현 조절이 일어나고, 결과적으로 다양한 P4의 생물학적인 효과가 나타나는 것으로 이해되고 있다(O'Malley, 2005).

한편 난소에서 합성된 P4가 국부적인 조절인자로 난소에 직접 작용하리라는 가설이 1980년대부터 대두되었는데, 최초 황체세포에서의 P4 분비를 스스로 조절한다는 보고로부터 시작하여 난포 성장과 관련된 과립세포 기능의 조절과까지 확장되었다(Rothchild, 1981, 1996). 그런데, 설치류의 경우, 배란을 유도하는 LH 분비 급등(preovulatory LH surge) 이전에는 황체세포와 과립세포가 기존에 알려진 P4 수용체를 발현하지 않는다는 점에서 가설과 현상의 괴리가 있었다(Natraj & Richards, 1993; Park & Mayo, 1991; Park-Sarge *et al.*, 1995). 그런데, 핵 수용체를 매개로 하는 유전자 수준에서의 스테로이드 작용에 대한 상세한 모델들이 수립되어가던 지난 10여년의 기간에 비유전자 수준에서의 작용에 대한 증거들도 계속 축적되어왔다. 따라서 P4의 경우도 고전적인 핵 수용체를 매개로 하는 유일한 작용 경로보다는 다양한 작용 경로가 존재할 것이라는 주장이 설득력을 갖게 되었다. 자연스럽게, 상기한 괴리는 포유동물이 아닌 일부 종들 또는 난소 이외의 조직들에서 기존의 P4 수용체와 별개로 P4와 결합할 수 있는 수용체들이 특히 세포막에 존재함이 알려지면서 해결의 실마리를 찾게 되었다(Zhu *et al.*, 2003a,b; Meyer *et al.*, 1996; Selmin *et al.*, 1996). 즉, 난소에서의 P4 작용들 가운데 상당 부분은 이들 막 P4 수용체(membrane P4 receptor, MPR)를 매개로 일어나리라는 설명이다. 본 논문은 포유동물 난소에서의 P4 작용 기작에 대한 현재의 이해를 요약한 것으로, 특히 P4의 비유전자 수준의 작용(non-genomic action)에 대해 초점을 맞추었다.

## 포유류 난소에서의 P4 작용들

주로 설치류를 대상으로 하는 *in vivo* 실험들을 통해 P4가 난포 성숙을 억제함이 알려져 왔는데(Hirshfield, 1984; Moore & Greenwald, 1974; Kim & Greenwald, 1987; Setty & Mills, 1987; Buffler & Roser, 1974), 영장류에서도 배란 직전의 P4 분비 급등시 과립세포의 세포증식과 세포자연사가 감소함이 보고되었다(Stouffer, 2003). 이때 P4 분비 급등이 뇌하수체의 생식소자극호르몬 분비에는 영향을 주지 않는 것으로 보아 P4가 과립세포에 직접 작용한 것으로 추정되었다. 이는 *in vitro* 실험들을 통해 P4가 과립세포의 P4 분비 증진과 에스트로겐 분비 억제, 세포증식 유도제의 효과 완화, 그리고 과립세포의 세포자연사를 억제하였다는 사실로 증명되었다(Schreiber *et al.*, 1980; Fortune & Vincent, 1983; Chaffkin *et al.*, 1993; Makriganakis *et al.*, 2000). 이러한 결과들은 P4가 안트럼 난포(antral follicle)로의 성장을 및 퇴화 난포(atretic follicle)로의 전이율을 늦추는 중요한 난소내 조절자 역할을 담당함을 시사한다. 배란 직전 LH 분비 급등과 그 결과인 P4 분비에 의해 유도된 일련의 유전자 발현들에 의해 배란전 난포(preovulatory follicle)내의 과립세포는 황체세포로 분화한다(Richards, 2001; Richards *et al.*, 2002). 황체세포에서의 P4 작용은 P4 자체의 분비를 촉진하는 것과 세포자연사를 억제하는 것이다(Rothchild, 1981, 1996; Stouffer, 2003). 통상 P4의 작용 모드에서 스테로이드 합성과 분비, 세포증식과 세포자연사 조절에는 대개 mRNA/단백질들의 새로운 합성이 필요하므로 수 시간 이상이 소요되며 상당히 높은 농도(nM 수준)의 P4가 필요하다. 그러나, 낮은 농도(pM 수준)의 P4에 의해 세포내 Ca<sup>2+</sup> 및 inositol triphosphate(IP3) 농도 상승이 수초 내에 일어남이 돼지의 과립세포에서 관찰되었다(Lieberherr *et al.*, 1999). 이는 기존의 작용 모드와는 다른 방식의 P4 작용기작의 존재를 시사한 것이다.

## 유전자 수준(Genomic)과 비유전자 수준(Non-genomic)의 P4 효과 비교

모든 스테로이드 호르몬 효과와 마찬가지로 P4의 효과 역시 유전자 수준과 비유전자 수준으로 나눌 수 있다. 먼저 유전자 수준 효과는 작용시간이 수 시간 이상 소요되는데 비해 비유전자 수준 효과는 수초에서 수십 분 안에 신속히 일어난다. 유전자 수준 효과는 전사 억제제(예, actinomycin D)나 번역 억제제(예, cycloheximide)에 의해 차단되지만 비유전자 수준 효과는 영향을 받지 않는다. 핵이 없는 세포(예, 적혈구),

핵 수용체가 없는 세포, 분리된 세포막, 그리고 세포막을 통과할 수 없는 P4(예, P4-BSA 중합체) 처리의 경우, 모두 유전자 수준의 효과가 나타나지 않지만 비유전자 수준 효과는 확인할 수 있다. 마지막으로 고전적인 핵 수용체에 대한 억제제(예, RU486)를 처리할 경우, 유전자 수준 효과는 차단되지 만 비유전자 수준 효과는 지속된다(Bramley, 2003).

### 고전적인 P4 핵 수용체(Classic Genomic or Nuclear P4 Receptor)와 작용 기작

현재 알려진 genomic progesterone receptor(PGR)은 리간드 결합에 의해 유도되는 핵내 전사조절인자인 DNA binding superfamily 또는 steroid receptor superfamily의 일원이며, 유사한 수용체로는 기타 스테로이드, 갑상선 호르몬, vitamin D, retinoic acid 수용체 및 여러 'orphan' 수용체들이 있다(Losel *et al.*, 2003). 인간의 PGR 중 PGR-B 형은 8개의 엑손과 7개의 인트론으로 구성되며, 여러 기능 도메인이 위치한 933개 아미노산(116kDa)으로 이루어진 단백질을 암호화하고 있다. PGR-A는 N-터미널 부분이 잘려 164개의 아미노산 부분이 결여된 94kDa 단백질이며, PGR-C는 엑손1과 대부분의 엑손2가 결여된 60kDa 단백질이다. 기타 다른 프로모터에 의해 전사되는 PGR-S와 PGR-T형은 엑손4에서 엑손8과 일부 염기들이 추가된 형태로 암호화되었는데, 상기한 A, B, C형과 PGR-S isoform에는 리간드 결합도메인(ligand binding domain, LBD)과 DNA 결합도메인(DNA binding domain, DBD)이 모두 포함되어 있으나 PGR-T형은 LBD만이 온전하다(Bramley, 2003).

현재 일반적으로 받아들여지는 스테로이드 작용에 대한 이론은 i) 수동적인 확산 또는 특이한 운반체 단백질에 의해 호르몬이 세포 안으로 유입되고, ii) 세포질에 위치한 세포내 수용체와 결합하고, iii) 수용체의 구조변화(conformational change)가 일어나서 활성화된 형태로 전환되고, iv) DNA 결합 부위의 DNA 결합력이 증가된 스테로이드-수용체 복합체가 핵 안으로 이동하고, v) 표적 유전자와 이량체(dimer) 형태의 수용체가 결합하여 전사에 영향을 주고, vi) 단백질 합성이 일어나 궁극적으로 P4의 생리적 효과를 나타내게 된다(Losel *et al.*, 2003). 난소에서의 고전적인 PGR의 매개 작용은 상기한 경로로 유전자 수준 효과를 나타내는 것으로 추정되는데, 아마도 다양한 isoform들이 세포내에서 공동 발현되어 P4 효과를 조절하는 것으로 추정된다. 즉 PGR-B가 전형적인 유전자 수준의 작용을 매개하는 데, PGR-A 또는 PGR-C가 동일한 세포내에서 공동 발현될 경우, PGR-B의 활성이 조절될

수 있다(Vegeto *et al.*, 1993; Wei *et al.*, 1997). 더욱이, 이들 PGR의 활성은 이들과 결합하는 샤프론 분자들(Smith, 2000)과 핵내 보조활성자들(Rowan *et al.*, 2000)에 의해 차별적으로 조절되며, cytokine이나 성장인자들의 자극에 의해 기타의 세포내 신호 전달 경로들(예, MAPK, Src, tyrosine kinase, phosphatidyl inositol 3-kinase 등)과의 상호 조절에 의해 영향을 받을 수 있다(Richer *et al.*, 2001; Boonyaratanakornkit *et al.*, 2004; Bagowski *et al.*, 2001). 나아가, PGR은 여러 단계의 기능적 상태로 존재할 수 있으며(Smith *et al.*, 2000), P4와 결합하지 않은 상태 또는 이량체가 아닌 단량체(monomer)로도 직접적인 비유전자 수준 효과를 매개하는 것으로 보인다(Weigel & Zhang, 1998; Cohen-Solal *et al.*, 1993). 심지어 PGR-A와 PGR-B는 같은 세포내에서 다른 무리의 유전자들을 활성화 시킴이 알려졌다(Richer *et al.*, 2002). 이는 표적세포에서의 P4 작용이 엄청난 다양성과 복잡성을 갖음을 보여주는 것으로, 대부분 자궁이나 유방암과 같은 난소이외의 조직에서 얻어진 결과들이지만 난소에서의 P4 작용에 적용될 개연성은 충분하다고 사료된다.

### 난소이외의 조직에서의 비유전자 수준 P4 작용에 대한 증거들

1942년 Hans Seyle는 P4를 복강주사했을 때 여러 호르몬 효과들이 나타나는데 수 시간에서 수 일이 소요되는 데 비해 마취 효과는 불과 수 분 내에 나타남을 발견하고 이러한 차이가 서로 다른 수용체에 의해 야기된 것으로 해석하였다(Seyle, 1942). 이후 P4의 신속한 효과는 비유전자 수준인 것으로 이해되었으며, 마취 효과 외에도 개의 적혈구 체외배양에 생리적인 농도의 P4 처리가  $Na^+$  교환에 영향을 줌이 보고되었다(Spach & Streeten, 1964). 이 연구는 핵이 없는 포유동물의 적혈구를 사용한 것이었기 때문에 상기한 P4 작용이 비유전자적 경로를 통한다는 증거를 최초로 제시한 것이었다. 비유전자 수준의 P4 작용에 대한 결정적인 증거는 난소절제 후 에스트라디올로 사전 처리한 PGR 녹아웃(PGR-KO) 생쥐에 P4를 주사하였을 때 교미시에 일어나는 암컷의 전형적인 성반응인 몰도시스(lordosis) 현상이 정상 생쥐에서와 동일하게 10분 이내에 관찰된 것이다(Frye & Vongher, 1999). 따라서 고전적인 핵 수용체 외에 별개의 P4 수용체가 존재하리라는 가정하에 이를 발견하려는 연구들이 시도되었다. 한 예로, 돼지의 세포막에 존재하는 P4 결합 단백질(25-Dx)의 유사체가 PGR-KO 생쥐에서 정상 생쥐보다 훨씬 높은 수준으로 발현함이 보고되었다(Krebs *et al.*, 2000). 이 결과는 알도스테론의

경우처럼 25-Dx의 발현이 PGR의 활성화에 의해 억제됨을 시사한다. 흥미로운 실험 대상으로 정자를 들 수 있는데, 포유동물의 정자는 세포질이 거의 없고 응축된 핵을 가지므로 P4가 작용할 경우 일반 체세포에서와 같이 전사와 단백질 합성에 의해 장시간이 소요되는 유전자 수준에서의 작용이 일어나기가 어렵기 때문이다. 실제로 P4는 비유전자 수준의 작용으로 인간 정자의  $Ca^{2+}$  농도를 불과 수초 내에 증가시킨다(Blackmore *et al.*, 1990). 따라서 난자의 zona pellucida glycoprotein(ZP3)과 더불어 P4는 정자 침체반응(acrosome reaction)을 자극하는 생리적 물질로 여겨진다(Meizel & Turner, 1991; Osman *et al.*, 1989). 이 경우, 상당히 높은 P4 농도(1~10uM)에서 최대의 정자 내  $Ca^{2+}$  농도 상승 효과가 나타나지만, 이는 난자 주위 cumulus 층에서 국부적으로 자연스럽게 형성되는 농도이다(Baldi *et al.*, 1999).

난소에서의 비유전자 수준의 P4 작용에 대한 증거 역시 PGR-A/PGR-B 녹아웃 생쥐에서 얻어졌다. 흥미롭게도 이 생쥐에서 난포성숙이 정상적으로 일어나는데(Lydon *et al.*, 1996), 이처럼 배란전 LH 분비 급등 이전에 미성숙한 난포내 과립세포에서의 P4 작용이 생리적인 농도의 P4에 의해 일어난다는 사실은 기존의 PGR이 아닌 별개의 수용체 혹은 수용체 유사물질에 의해 매개됨을 시사한다(Lydon *et al.*, 1996; Peluso *et al.*, 2002). 유사한 증거로, 생식주기가 짧은 생쥐나 흰쥐에서는 황체세포에서 PGR이 발현되지 않지만 P4 작용이 일어난다(Park-Sarge *et al.*, 1995; Shao *et al.*, 2003; Goyenche *et al.*, 2003; McRae *et al.*, 2005). 난소에서 기존의 PGR이 아닌 별개의 P4 수용체 혹은 수용체 유사물질을 찾으려는 초기 연구들에서 주목받은 물질들로는 GABA<sub>A</sub> 수용체(Mehta & Ticku, 1999), 글루코코르티코이드 수용체(Schreiber *et al.*, 1982; Peluso *et al.*, 2001), 옥시토신 수용체(Grazzini *et al.*, 1998). 그리고  $Na^{+}-K^{+}$  ATPase(Morrill *et al.*, 2005)가 있다. 그러나 이들은 P4와 결합할 능력이 있지만 그 어느 것도 다양한 P4 작용을 충분히 매개할 수 없거나 이들이 없어도 P4 작용이 일어날 수 있다는 점에서 별개의 P4 수용체로 인정받을 수 없었다.

## 난소에서의 비고전적이고 신속한 P4 작용들과 매개 물질

### 1. 양서류의 난자 성숙과 고전적인 PGR

오래 전부터 잘 알려진 P4의 비유전자 수준의 작용으로는 양서류인 *Xenopus* 난자 성숙 유도기작을 들 수 있는데, 이는 actinomycin D에 의해 영향을 받지 않으므로 핵 수용체보다

는 세포막 수용체에 의해 매개된다고 여겨졌다(Smith & Ecker, 1969). 실제로 세포막을 통과하지 못하는 P4-BSA와 같은 중합체를 난자 외부에 처리해도 성숙이 유도된다(Maller & Krebs, 1977; Godeau *et al.*, 1978). 흥미롭게도, 난자 외부에 처리한 free P4가 난자 성숙을 유도할 수 있는데 비해 난자 내에 P4를 주입했을 때는 성숙 유도가 되지 않았다(Masui & Markert, 1971). 그러나 최근 *Xenopus*의 고전적인 P4 수용체(XPR-1)에 대한 안티센스 올리고뉴클레오티드를 난자에 미세주입했을 때 P4에 의한 난자 성숙유도가 억제된다는 보고(Tian *et al.*, 2000)와 더불어 truncated XPR-1 mRNA를 미세주입했을 때 오히려 난자 성숙이 촉진됨이 보고되었는데(Bayaa *et al.*, 2000), 이는 고전적인 P4 수용체가 난자 성숙과정에 관여한다는 직접적인 증거이다. 그런데 두 경우, 공히 actinomycin D 처리에 의해 영향을 받지 않았으므로 새로운 단백질 합성이 필요하지 않고 기존의 XPR 단백질에 의해 신속한 P4 작용이 매개되는 것으로 추정되었다. 난자 성숙과 관련된 XPR은 세포막에 부착된 형태로, phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K) 활성화와 연관되며, p42 MAPK에 의해 불활성화됨이 보고되었다(Bagowski *et al.*, 2001).

### 2. Membrane Progesterin Receptor(MPR)

세포막 프로게스틴 수용체(MPR)은 바다 송어에서 최초로 발견된 단백질로, 전형적인 PGR 패밀리와는 다른 일곱 개의 막 통과 도메인을 갖는 전형적인 G 단백질-결합 수용체(seven transmembrane G protein-coupled receptor)이다(Zhu *et al.*, 2003a,b). 현재 이들의 isoform 가운데 MPR  $\alpha$ , MPR  $\beta$  그리고 MPR  $\gamma$ 가 발견되었으며, 이중 MPR  $\alpha$ 는 P4에 대한 친화도가 높지만(Kd는 약 30nM) P4 길항제인 RU486과는 거의 결합하지 않는다는 점에서 고전적인 PGR과 상이하다(Leonhardt *et al.*, 2003). P4에 의한 MPR  $\alpha$ 의 활성화는 MAPK 3/1 kinase의 활성을 증가시키고 adenylyl cyclase(AC)의 활성을 감소시킨다(Zhu *et al.*, 2003a,b). 세 종류의 MPR들 모두 흰쥐 난소에서 발현되는데, MPR  $\beta$ 의 활성이 일정하게 지속되는 데 비해 임신중 황체에서의 MPR  $\alpha$ 와 MPR  $\gamma$ 의 수준은 높게 나타남이 보고되었다(Cai & Stocco, 2005). 또 MPR  $\alpha$ 와 MPR  $\beta$  수준은 출산 직전에 감소하였으며, 이와 유사하게 돼지의 경우, 황체가 퇴화할 때 MPR  $\alpha$  mRNA 수준이 감소함이 알려졌다(Diaz & Wiltbank, 2004).

### 3. P4 Membrane Receptor Component 1(PGRMC1)

돼지의 간에서 클로닝되어 현재 P4 Membrane Receptor Component 1(PGRMC1)라 지칭되는 단백질과 P4가 결합함이

알려졌는데, 이 단백질은 하나의 막 통과 도메인을 갖는 194개의 아미노산으로 구성된다(Meyer *et al.*, 1996; Falkenstein *et al.*, 1996). 이어 차례로 흰쥐, 인간, 소의 PGRMC1가 클로닝되었다(Selmin *et al.*, 1996; Gerdes *et al.*, 1998; Cenedella *et al.*, 1999). 인간의 PGRMC1는 3개의 엑손과 2개의 인트론으로 이루어졌으며, TATA 박스가 결여된 프로모터와 AP2, NF-AT, C/EBP, Ahr/Arnt 등의 DNA motif를 갖는다(Bernauer *et al.*, 2001). PGRMC1의 mRNA는 생쥐의 배란전 난포(McRae *et al.*, 2005), 돼지의 과립세포(Jiang *et al.*, 2004), 그리고 배양중인 인간의 과립세포/황체세포(Sasson *et al.*, 2004)에서 발견되었다. 흰쥐의 과립세포에서 발현되는 PGRMC1는 eCG 처리 전에는 소수의 세포에서 발현되고 거의 핵에 위치하지만, eCG 처리 후에는 발현이 증가하고 대부분 세포막에서 위치한다(Peluso, 2006). 현재 PGRMC1의 신호 전달 경로에 대해서는 거의 알려진 것이 없는데, 매우 짧은 세포질 도메인에 3개의 Src homology 도메인이 존재함이 밝혀졌다(Peluso, 2006).

#### 4. Serpine 1 mRNA Binding Protein(SERBP1)

최초에 PGR에 대한 항체(C-262)를 사용하여 소의 황체세포에서 검출된 55~60 kDa의 단백질이 흰쥐의 과립세포의 세포막에도 존재함이 알려졌으며, 이 항체에 의해 P4의 세포자연사 방지 효과가 소멸됨이 보고되었다(Peluso *et al.*, 2002). Serpine 1 mRNA binding protein(SERBP1)이라 명명된 이 단백질은 면역조직화학법에 의해 theca/stroma 세포층, 난소 표면상피세포층 그리고 황체세포에서도 발견되었으며, 난포 발달과정에서 과립세포 내에서 발현 수준이 증가함이 보고되었다(Peluso *et al.*, 2005). SERBP1는 최종적으로 세포막의 바깥쪽을 향해 위치하여 P4 작용을 매개하는 것으로 보인다. SERBP1는 막 통과 도메인이 없기 때문에 신호 전달기작에 대한 연구가 어렵다. P4 작용을 매개하기 위해서는 SERBP1가 다른 단백질과 상호작용할 것으로 추측되었는데, 실제로 SERBP1이 PGRMC1과 결합함이 보고되었다(Peluso *et al.*, 2005). SERBP1-PGRMC1 복합체는 세포막 수용체처럼 작용하여 P4의 세포자연사 방지와 세포증식 억제 효과를 매개하는 것으로 추정된다.

### 결론 - 현재 수준의 이해

현재까지의 연구 결과들을 종합하면 적어도 4개의 P4 신호 전달 경로가 존재하는 것으로 보인다. 첫 번째는 고전적이며 유전자 수준의 PGR 매개 경로로서, 전형적인 스테로이

드 호르몬 신호 전달 경로이며 유전자 수준의 작용들을 매개한다(O'Malley, 2005). 두 번째는 비유전자 수준의 PGR 매개 경로로서, P4가 PGR의 SH3 도메인에 결합하면 Src kinase의 결합과 활성을 촉진하는데, 활성 증가는 수분 이내에 관찰된다(Boonyaratanakornkit & Edwards, 2004). Src kinase 활성은 다시 다양한 신호 전달 경로에 영향을 미치고 궁극적으로 특정 유전자들의 순차적인 발현 조절이 야기된다(Shupnik, 2004). 세 번째는 MPR 패밀리를 매개 경로로서, 황체세포에 존재하는 MPR에 의해 세포내 AC 활성의 저하와 세포내 cAMP 농도 감소가 일어나고 MAPK 3/1 활성이 증가한다(Zhu *et al.*, 2003a,b). 네 번째는 SERBP1-PGRMC1 복합체 매개 경로로, SERBP1-PGRMC1 복합체는 PGRMC1의 세포질 도메인 꼬리 부분에 위치한 Src homology 도메인과 다양한 kinase들의 상호작용을 통해 작용을 매개하는 것으로 추정되며, protein kinase G(PKG)의 활성화를 야기하는 것으로 보인다(Peluso & Pappalardo, 2004).

상기한 신호 전달 경로들은 상호 배타적인 것은 아니며, 실제로 P4 작용은 이들 P4 수용체 물질들의 발현 패턴, 수용체 물질 간의 cross-talk, 각 수용체 물질들의 P4 친화도, 가용한 P4 량에 따라 매우 다양하게 나타나는 것으로 추정된다.

### 인용문헌

- Bagowski CP, Myers JW, Ferrell JE, Jr (2001) The classical progesterone receptor associates with p42 MAPK and is involved in phosphatidylinositol 3-kinase signaling in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem* 276:37708-37714.
- Baldi E, Luconi M, Bonaccorsi L, Maggi M, Francavilla S, Gabriele A, Properzi G, Forti G (1999) Nongenomic progesterone receptor on human spermatozoa: biochemical aspects and clinical implications. *Steroids* 64:143-148.
- Bayaa M, Booth RA, Sheng Y, Liu XJ (2000) The classical progesterone receptor mediates *Xenopus* oocyte maturation through a nongenomic mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:12607-12612.
- Bernauer S, Wehling M, Gerdes D, Falkenstein E (2001) The human membrane progesterone receptor gene: genomic structure and promoter analysis. *DNA Seq* 12:13-25.
- Blackmore PF, Beebe SJ, Danforth DR, Alexander N (1990) Progesterone and 17 alpha-hydroxyprogesterone. Novel stimulators of calcium influx in human sperm. *J Biol Chem* 265:1376-1380.

- Boonyaratanakornkit V, Edwards DP (2004) Receptor mechanisms of rapid extranuclear signalling initiated by steroid hormones. *Essays Biochem* 40:105-120.
- Bramley T (2003) Non-genomic progesterone receptors in the mammalian ovary: some unresolved issues. *Reproduction* 125:3-15.
- Buffler G, Roser S (1974) New data concerning the role played by progesterone in the control of follicular growth in the rat. *Acta Endocrinol(Copenh)* 75:569-578.
- Cai Z, Stocco C (2005) Expression and regulation of progestin membrane receptors in the rat corpus luteum. *Endocrinology* 146:5522-5532.
- Cenedella RJ, Sexton PS, Zhu XL (1999) Lens epithelia contain a high-affinity, membrane steroid hormone-binding protein. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40:1452-1459.
- Chaffkin LM, Luciano AA, Peluso JJ (1993) The role of progesterone in regulating human granulosa cell proliferation and differentiation *in vitro*. *J Clin Endocrinol Metab* 76:696-700.
- Cohen-Solal K, Bailly A, Rauch C, Quesne M, Milgrom E (1993) Specific binding of progesterone receptor to progesterone-responsive elements does not require prior dimerization. *Eur J Biochem* 15;214:189-195.
- Diaz FJ, Wiltbank MC (2004) Acquisition of luteolytic capacity: changes in prostaglandin F<sub>2</sub>α regulation of steroid hormone receptors and estradiol biosynthesis in pig corpora lutea. *Biol Reprod* 70:1333-1339.
- Falkenstein E, Meyer C, Eisen C, Scriba PC, Wehling M (1996) Full-length cDNA sequence of a progesterone membrane-binding protein from porcine vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 229:86-89.
- Fortune JE, Vincent SE (1983) Progesterone inhibits the induction of aromatase activity in rat granulosa cells *in vitro*. *Biol Reprod* 28:1078-1089.
- Frye CA, Vongher JM (1999) Progesterone has rapid and membrane effects in the facilitation of female mouse sexual behavior. *Brain Res* 815:259-269.
- Gerdes D, Wehling M, Leube B, Falkenstein E (1998) Cloning and tissue expression of two putative steroid membrane receptors. *Biol Chem* 379:907-911.
- Godeau JF, Schorderet-slatkine S, Hubert P, Baulieu EE (1978) Induction of maturation in *Xenopus laevis* oocytes by a steroid linked to a polymer. *Proc Natl Acad Sci USA* 75:2353-2357.
- Gore-Langton P, Armstrong D (1988) Follicular steroidogenesis and its control. In: Knobil E, Neill J(eds.) *The Physiology of Reproduction*, vol. 1. Raven Press, New York, pp331-387.
- Goyeneche AA, Deis RP, Gibori G, Telleria CM (2003) Progesterone promotes survival of the rat corpus luteum in the absence of cognate receptors. *Biol Reprod* 68:151-158.
- Grazzini E, Guillon G, Mouillac B, Zingg HH (1998) Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature* 392:509-512.
- Hirshfield AN (1984) Stathmokinetic analysis of granulosa cell proliferation in antral follicles of cyclic rats. *Biol Reprod* 31:52-58.
- Jiang H, Whitworth KM, Bivens NJ, Ries JE, Woods RJ, Forrester LJ, Springer GK, Mathialagan N, Agca C, Prather RS, Lucy MC (2004) Large-scale generation and analysis of expressed sequence tags from porcine ovary. *Biol Reprod* 71:1991-2002.
- Kim I, Greenwald GS (1987) Stimulatory and inhibitory effects of progesterone on follicular development in the hypophysectomized follicle-stimulating hormone/luteinizing hormone-treated hamster. *Biol Reprod* 36:270-276.
- Krebs CJ, Jarvis ED, Chan J, Lydon JP, Ogawa S, Pfaff DW (2000) A membrane-associated progesterone-binding protein, 25-Dx, is regulated by progesterone in brain regions involved in female reproductive behaviors. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:12816-12821.
- Kurita T, Wang YZ, Donjacour AA, Zhao C, Lydon JP, O'Malley BW, Isaacs JT, Dahiya R, Cunha GR (2001) Paracrine regulation of apoptosis by steroid hormones in the male and female reproductive system. *Cell Death Differ* 8:192-200.
- Leonhardt SA, Boonyaratanakornkit V, Edwards DP (2003) Progesterone receptor transcription and non-transcription signaling mechanisms. *Steroids* 68:761-770.
- Lieberherr M, Grosse B, Machelon V (1999) Phospholipase C-β and ovarian sex steroids in pig granulosa cells. *J Cell Biochem* 74:50-60.
- Losel RM, Falkenstein E, Feuring M, Schultz A, Tillmann HC, Rossol-Haseroth K, Wehling M (2003) Nongenomic steroid action: controversies, questions, and answers. *Physiol Rev* 83:965-1016.
- Lydon JP, DeMayo FJ, Conneely OM, O'Malley BW (1996)

- Reproductive phenotypes of the progesterone receptor null mutant mouse. *J Steroid Biochem Mol Biol* 56:67-77.
- Mahesh VB, Muldoon TG (1987) Integration of the effects of estradiol and progesterone in the modulation of gonadotropin secretion. *J Steroid Biochem* 27:665-675.
- Maller JL, Krebs EG (1977) Progesterone-stimulated meiotic cell division in *Xenopus* oocytes. Induction by regulatory subunit and inhibition by catalytic subunit of adenosine 3':5'-monophosphate-dependent protein kinase. *J Biol Chem* 252:1712-1718.
- Masui Y, Markert CL (1971) Cytoplasmic control of nuclear behavior during meiotic maturation of frog oocytes. *J Exp Zool* 177:129-145.
- Makrigiannakis A, Coukos G, Christofidou-Solomidou M, Montas S, Coutifaris C (2000) Progesterone is an autocrine/paracrine regulator of human granulosa cell survival *in vitro*. *Ann N Y Acad Sci* 900:16-25.
- McRae RS, Johnston HM, Mihm M, O'Shaughnessy PJ (2005) Changes in mouse granulosa cell gene expression during early luteinization. *Endocrinology* 146:309-317.
- Mehta AK, Ticku MK (1999) An update on GABAA receptors. *Brain Res Brain Res Rev* 29:196-217.
- Meizel S, Turner KO (1991) Progesterone acts at the plasma membrane of human sperm. *Mol Cell Endocrinol* 77:R1 - R5.
- Meyer C, Schmid R, Scriba PC, Wehling M (1996) Purification and partial sequencing of high-affinity progesterone-binding site(s) from porcine liver membranes. *Eur J Biochem* 239:726-731.
- Moore PJ, Greenwald GS (1974) Effect of hypophysectomy and gonadotropin treatment on follicular development and ovulation in the hamster. *Am J Anat* 139:37-48.
- Morrill GA, Erlichman J, Gutierrez-Juarez R, Kostellow AB (2005) The steroid-binding subunit of the Na/K-ATPase as a progesterone receptor on the amphibian oocyte plasma membrane. *Steroids* 70:933-945.
- Natraj U, Richards JS (1993) Hormonal regulation, localization, and functional activity of the progesterone receptor in granulosa cells of rat preovulatory follicles. *Endocrinology* 133:761-769.
- Niswender G, Nett T (1988) The corpus luteum and its control. In: Knobil E, Neill J, (eds.) *The Physiology of Reproduction*, vol. 1. Raven, New York, pp489-526.
- O'Malley BW (2005) A life-long search for the molecular pathways of steroid hormone action. *Mol Endocrinol* 19:1402-1411.
- Osman RA, Andria ML, Jones AD, Meizel S (1989) Steroid induced exocytosis: the human sperm acrosome reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 160:828-833.
- Park OK, Mayo KE (1991) Transient expression of progesterone receptor messenger RNA in ovarian granulosa cells after the preovulatory luteinizing hormone surge. *Mol Endocrinol* 5:967-978.
- Park-Sarge OK, Parmer TG, Gu Y, Gibori G (1995) Does the rat corpus luteum express the progesterone receptor gene?. *Endocrinology* 136:1537-1543.
- Peluso JJ (2006) Multiplicity of progesterone's actions and receptors in the mammalian ovary. *Biol Reprod* 75:2-8.
- Peluso JJ, Pappalardo A (2004) Progesterone regulates granulosa cell viability through a protein kinase G-dependent mechanism that may involve 14-3-3sigma. *Biol Reprod* 71:1870-1878.
- Peluso JJ, Fernandez G, Pappalardo A, White BA (2001) Characterization of a putative membrane receptor for progesterone in rat granulosa cells. *Biol Reprod* 65:94-101.
- Peluso JJ, Fernandez G, Pappalardo A, White B (2002) Membrane-initiated events account for progesterone's ability to regulate intracellular free calcium and inhibit rat granulosa cell mitosis. *Biol Reprod* 67:379-385.
- Peluso JJ, Pappalardo A, Losel R, Wehling M (2005) Expression and function of PAIRBP1 within gonadotropin-primed immature rat ovaries: PAIRBP1 regulation of granulosa and luteal cell viability. *Biol Reprod* 73:261-270.
- Richards JS (2001) Graafian follicle function and luteinization in nonprimates. *J Soc Gynecol Investig* 8:S21-S23.
- Richards JS, Russell DL, Ochsner S, Hsieh M, Doyle KH, Falender AE, Lo YK, Sharma SC (2002) Novel signaling pathways that control ovarian follicular development, ovulation, and luteinization. *Recent Prog Horm Res* 2002 57:195-220.
- Richer JK, Lange CA, Manning NG, Owen G, Powell R, Horwitz KB (1998) Convergence of progesterone with growth factor and cytokine signaling in breast cancer. Progesterone receptors regulate signal transducers and activators of transcription expression and activity. *J Biol Chem* 273:31317-31326.

- Richer JK, Jacobsen BM, Manning NG, Abel MG, Wolf DM, Horwitz KB (2002) Differential gene regulation by the two progesterone receptor isoforms in human breast cancer cells. *J Biol Chem* 277:5209-5218.
- Rothchild I (1981) The regulation of the mammalian corpus luteum. *Recent Prog Horm Res* 37:183-298.
- Rothchild I (1996) The corpus luteum revisited: are the paradoxical effects of RU486 a clue to how progesterone stimulates its own secretion?. *Biol Reprod* 55:1-4.
- Rowan BG, Garrison N, Weigel NL, O'Malley BW (2000) 8-Bromo-cyclic AMP induces phosphorylation of two sites in SRC-1 that facilitate ligand-independent activation of the chicken progesterone receptor and are critical for functional cooperation between SRC-1 and CREB binding protein. *Mol Cell Biol* 20:8720-8730.
- Sasson R, Rimon E, Dantes A, Cohen T, Shinder V, Land-Bracha A, Amsterdam A (2004) Gonadotrophin-induced gene regulation in human granulosa cells obtained from IVF patients: modulation of steroidogenic genes, cytoskeletal genes and genes coding for apoptotic signalling and protein kinases. *Mol Hum Reprod* 10:299-311.
- Schreiber JR, Nakamura K, Erickson GF (1980) Progestins inhibit FSH-stimulated steroidogenesis in cultured rat granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 19:165-173.
- Schreiber JR, Nakamura K, Truscillo AM, Erickson GF (1982) Progestins inhibit FSH-induced functional LH receptors in cultured rat granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 25:113-124.
- Selmin O, Lucier GW, Clark GC, Tritscher AM, Vanden Heuvel JP, Gastel JA, Walker NJ, Sutter TR, Bell DA (1996) Isolation and characterization of a novel gene induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rat liver. *Carcinogenesis* 17:2609-2615.
- Setty SL, Mills TM (1987) The effects of progesterone on follicular growth in the rabbit ovary. *Biol Reprod* 36:1247-1252.
- Seyle H (1942) Correlations between the chemical structure and the pharmacological actions of the steroids. *Endocrinology* 30:437-453.
- Shao R, Markstrom E, Friberg PA, Johansson M, Billig H (2003) Expression of progesterone receptor (PR) A and B isoforms in mouse granulosa cells: stage-dependent PR-mediated regulation of apoptosis and cell proliferation. *Biol Reprod* 68: 914-921.
- Shupnik MA (2004) Crosstalk between steroid receptors and the c-Src-receptor tyrosine kinase pathways: implications for cell proliferation. *Oncogene* 23:7979-7989.
- Smith DF (2000) Chaperones in progesterone receptor complexes. *Semin Cell Dev Biol* 11:45-52.
- Smith LD, Ecker RE (1969) Role of the oocyte nucleus in physiological maturation in *Rana pipiens*. *Dev Biol* 19:281 - 309.
- Smith CL, Wolford RG, O'Neill TB, Hager GL (2000) Characterization of transiently and constitutively expressed progesterone receptors: evidence for two functional states. *Mol Endocrinol* 14:956-971.
- Spach C, Streeten DH (1964) Retardation of sodium exchange in dog erythrocytes by physiological concentrations of aldosterone, *in vitro*. *J Clin Invest* 43:217-227.
- Spencer TE, Johnson GA, Burghardt RC, Bazer FW (2004) Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. *Biol Reprod* 71:2-10.
- Stouffer RL (2003) Progesterone as a mediator of gonadotrophin action in the corpus luteum: beyond steroidogenesis. *Hum Reprod Update* 9:99-117.
- Tian J, Kim S, Heilig E, Ruderman JV (2000) Identification of XPR-1, a progesterone receptor required for *Xenopus* oocyte activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:14358-14363.
- Vegeto E, Shahbaz MM, Wen DX, Goldman ME, O'Malley BW, McDonnell DP (1993) Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function. *Mol Endocrinol* 7:1244-1255.
- Wei LL, Norris BM, Baker CJ (1997) An N-terminally truncated third progesterone receptor protein, PR(C), forms heterodimers with PR(B) but interferes in PR(B)-DNA binding. *J Steroid Biochem Mol Biol* 62:287-297.
- Weigel NL, Zhang Y (1998) Ligand-independent activation of steroid hormone receptors. *J Mol Med* 76:469-479.
- Zhu Y, Bond J, Thomas P (2003a) Identification, classification, and partial characterization of genes in humans and other vertebrates homologous to a fish membrane progesterin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:2237-2242.
- Zhu Y, Rice CD, Pang Y, Pace M, Thomas P (2003b) Cloning, expression, and characterization of a membrane progesterin receptor and evidence it is an intermediary in meiotic maturation of fish oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:2231-2236.