

포유류 생식 내분비 기능 조절에서 Ghrelin의 역할

이 성 호[†]

상명대학교 생명과학과

Role of Ghrelin in the Control of Reproductive Endocrine Function

Sung-Ho Lee[†]

Dept. of Life Science, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea

ABSTRACT : Numerous factors can affect the activities of hypothalamus-pituitary-gonad (HPG) hormonal axis, resulting in alteration of reproductive capacity or status such as onset of puberty and menopause. Soon after the finding of leptin, a multifunctional hormone secreted from adipocytes, a close relationship between reproduction and body energy balance have been manifested. Ghrelin, another multifunctional hormone from gastrointestinal tract, is an endogenous ligand of growth hormone secretagogue receptor (GHSR), and is thought to be a counterpart of leptin in the regulation of energy homeostasis. As expected, ghrelin can also modulate the reproductive capacity through the modulation of activities of HPG axis. This paper summarizes the current knowledge on the discovery, gene structures, tissue distribution and roles of ghrelin and GHSRs in mammalian reproduction in particular modulation of reproductive hormone secretion in HPG axis. Like POMC gene expression in pituitary gland, preproghrelin gene can generate a complex repertoire of transcripts which further undergo alternative splicing and posttranslational modifications. Concerning the roles of preproghrelin gene products in the control of body physiology except energy homeostasis, limited knowledge is available so far. Several lines of evidence, however, show the interplay of ghrelin between metabolism and reproduction. In rat and human, the distribution of ghrelin receptor GHSRs (GHSR1a and GHSR1b) has been confirmed not only in the hypothalamus and pituitary which were originally postulated as target of ghrelin but also in the testis and ovary. Expression of the preproghrelin gene in the brain and gonads was also verified, suggesting the local role (s) of ghrelin in HPG axis. Ghrelin might play a negative modulator in the secretions of hypothalamic GnRH, pituitary gonadotropins and gonadal steroids though the action on pituitary is still questionable. Recent studies suggest the involvement of ghrelin in regulation of puberty onset and possibly of menopause entry. It is now evident that ghrelin is a crucial hormonal component in 'brain-gut' axis, and is a strong candidate links between metabolism and reproduction. Opposite to that for leptin, ghrelin signaling is likely representing the 'hunger' state of body energy balance and is necessary to avoid the energy investment into reproduction which has not a top priority in maintaining homeostasis. Further researches are needed to gain a deep insight into the more precise action mechanism and role of ghrelin in reproduction, and to guarantee the successful biomedical applications.

Key words : GH secretagogue, Ghrelin, GHSRs, Brain-gut axis, HPG axis, Energy homeostasis, Reproduction.

요약 : 시상하부-뇌하수체-생식소(hypothalamus-pituitary-gonad, HPG) 호르몬 축의 활성화에 영향을 미치는 수많은 인자들은 생식 기능을 조절하고, 사춘기 개시와 폐경기 진입과 같은 뚜렷한 생식 능력의 단계 전이를 초래한다. 지방세포로부터 분비되는 다기능적 호르몬인 leptin의 발견 이후, 곧 이어 생식과 신체의 에너지 균형 사이의 긴밀한 관계에 대한 증거들이 밝혀졌다. 위장관으로부터 분비되는 또 다른 다기능 호르몬인 ghrelin은 이미 알려져 있던 growth hormone secretagogue receptor(GHSR)의 내인성 리간드이며, 에너지 항상성의 조절에서 leptin에 상응하는 물질로 알려졌다. 예상대로, ghrelin 또한 HPG 축의 활성화의 조절을 통해 생식 능력을 조절함이 증명되었다. 이 논문은 ghrelin의 발견과 유전자 구조, 조직

내의 분포, 그리고 역할과 HPG 축에서의 생식 호르몬 분비 조절에 대한 포유동물의 생식에서의 ghrelin-GHSR 신호에 관한 최신 정보를 요약한 것이다. 뇌하수체에서의

[†] 교신저자: 서울시 종로구 홍지동 7 상명대학교 생명과학과. (우) 110-743, (전) 02-2287-5139, (팩) 02-2287-0070, E-mail: shlee@smu.ac.kr

POMC 유전자 발현과 유사하게, preproghrelin 유전자는 alternative splicing과 번역 후 변형(posttranslational modification)을 거치는 복잡한 레퍼토리의 전사체들과 펩티드 산물을 만들어 낸다. 에너지 항상성을 제외한 신체 생리 기능의 조절에서의 preproghrelin 유전자 산물의 역할에 관한 정보는 제한적이지만, 신진 대사와 생식 사이에서의 ghrelin의 상호작용에 관해서는 충분한 증거들이 있다. 흰쥐와 인간에서, ghrelin 수용체인 GHSRs(GHSR1a와 GHSR1b)의 분포는 본래 ghrelin의 표적으로 여겨진 시상하부와 뇌하수체뿐만 아니라 정소와 난소에서도 확인되었다. 뇌와 생식소에서도 preproghrelin 유전자 발현이 확인되었는데, 이것은 HPG 축에서 ghrelin이 국부적인 역할을 담당할 가능성을 시사한다. 비록 뇌하수체에서의 기능은 아직 확실치 않지만, ghrelin은 시상하부의 GnRH, 뇌하수체의 생식소자극호르몬과 생식소의 성 스테로이드 호르몬 분비에 대한 음성적인 조절자로서의 역할을 수행하는 것으로 보인다. 최근의 연구들은 사춘기 개시, 그리고 아마도 폐경기 진입의 조절에서 ghrelin의 관여를 시사한다. 이제 ghrelin이 ‘뇌-위장관’ 축의 필수적인 호르몬 요인이며, 신진 대사와 생식 사이를 연결하는 조절 물질이라는 가능성은 매우 높다. ‘배부름’을 반영하는 leptin 신호와는 정반대인 ghrelin 신호는 신체 에너지 균형 상태로 볼 때 ‘배고픔’을 표현하는 것으로 생각되며, 항상성의 유지에서 최우선 사항으로 고려되지 않는 생식으로의 에너지 투자가 이루어지지 않도록 하는데 필수적일 것으로 사료된다. 생식능력 조절에 있어서 ghrelin의 보다 명확한 작용 메커니즘과 역할에 대한 깊은 통찰력을 얻고 성공적인 생의학적 적용을 위해서는 향후 더 많은 연구들이 필요하다.

포유동물의 생식은 궁극적으로 시상하부-뇌하수체-생식소 축(hypothalamus-pituitary-gonad axis, HPG axis)에서 각각의 조직에서 분비되는 호르몬들에 의해 조절되는데, GnRH(시상하부)-생식소자극호르몬(FSH와 LH; 뇌하수체 전엽)-성 스테로이드(대표적으로 에스트로겐과 테스토스테론; 난소와 정소)로 이루어진 HPG 호르몬 조절 축은 다수의 내외 요인들에 의해 영향을 받아 성공적인 생식 기능 수행 여부가 결정된다. 지난 20여 년 간의 연구에 따르면 이들 주요 생식 호르몬들 외에도 다양한 신경, 내분비 및 국부조절 인자들이 추가적으로 전체 HPG 축 활성의 조절에 개입됨이 알려졌는데, 예를 들어 사춘기, 노화, 사회적 관계 변화, 일주기 변화, 스트레스, 내분비장애물질에의 노출 등을 경험할 때 상기한 조절 요인들이 서로 영향을 미치는 복잡한 네트워크를 형성하면서 개체의 생식능력이 변동이 있게 된다(Sam & Frohman, 2008; Plant, 2008; Tsutsumi & Webster, 2009). 한편, 지방 세포로부터 분비되는 leptin의 생식조절 능력이 알려진 이래 최근에는 특히 체내 에너지 항상성과 생식 능력간의 관계에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Crown et al., 2007; Pinelli & Tagliabue, 2007). 본 논문은 소화기관들로부터 분비되는 내분비 인자인 ghrelin이 생식내분비 기능 조절에 미치는 영향에 대한 최근까지의 연구들을 정리하여 소개하였다.

Ghrelin의 발견

과도하게 섭취한 음식물로부터의 잉여 에너지를 지방으로 전환하여 저장하는 곳으로만 여겨졌던 지방세포가 체내 에

너지 균형을 맞추기 위해 호르몬성 물질인 leptin을 분비하고, 이 leptin이 뇌에 작용하여 여타 신경펩티드들과 함께 식욕 및 섭식 행동의 변화를 야기하여 비만과 결정적으로 관련되었다는 보고는 내분비생리학 분야에 있어서 일대 발견이었다(de Luis et al., 2009). 이어진 연구들은 leptin이 다기능 호르몬이며, HPG 호르몬 축의 활성을 조절하여 생식내분비적의 변화는 물론 사춘기 개시나 폐경과 같은 보다 근본적인 생식 관련 단계를 변화시킬 수 있음을 확인하였고, 이는 생식 조절기작에 있어서 HPG 축 개념 외에도 뇌-말초기관(예, 지방조직) 축이 관여하는 보다 복잡하고 정교한 조절 네트워크가 존재함을 증명한 것이었다(Crown et al., 2007; Blüher & Mantzoros, 2007).

한편, GH 분비를 자극하는 GH secretagogue(GHS)들은 성장과 체내 대사 조절에 관한 과학적인 가치 외에도 임상과 산업으로의 응용이 매우 유망하기 때문에 주요한 연구 주제가 되어왔다. GHS는 시상하부로부터의 GHRH와는 별개로 인간을 포함한 다양한 종들을 대상으로 한 *in vivo*와 *in vitro* 연구에서 농도의존적으로 GH 분비를 촉진하는 물질들을 총칭하며, 크게 GH releasing peptide(GHRP)와 같은 합성 펩티드 류와 비펩티드성 물질들로 나뉘었다(Bowers et al., 1980; Bowers et al., 1980; Casanueva & Dieguez, 1999). 내인성(endogenous) GHS 리간드의 실체가 규명되지 않은 상태에서 먼저 인간의 GSH 수용체인 GHSR1a가 클로닝되고 시상하부와 뇌하수체에서 발현됨이 보고되었다(Howard et al., 1996). 따라서 28개의 아미노산으로 구성된 acylation된 형태의 내인성 펩티드의 발견은 전형적인 역유전학(reverse gene-

tics) 또는 역약리학(reverse pharmacology)적 방법론의 개가였으며, 바로 GH를 분비한다는 의미로 GH와 relin을 결합하여 'ghrelin'이라는 이름이 붙여졌다(Kojima et al., 1999).

Ghrelin와 GHSR의 분자생물학적 특성

초기 연구에서 인간의 preproghrelin 전구체는 3번 염색체 short arm(3p26-p25)에 위치한 GHRL 유전자에 의해 암호화 되고, 4개의 exon(exon 1~4)으로 구성되어있다고 보고되었다(Kojima et al., 1999). 후속 연구들에 의해 exon 1에 앞서 두 개의 부가적인 exon들(exon-1과 exon 0)이 존재함이 밝혀졌다(Kanamoto et al., 2004; Seim et al., 2007). 한편, 생쥐의 경우 6번 염색체에 인간의 GHRL과 거의 동일한 Ghrl 유전자가 위치하고, 인간에서의 exon 0은 확인되었지만 exon-1은 없으며 대신 독특한 exon 2 α 가 intron 2에 존재하며, 'mature ghrelin'의 경우 28개의 아미노산 가운데 단 2곳만 인간과 다르다(Seim et al., 2007). 117개의 아미노산으로 구성된 preproghrelin 폴리펩티드는 프로세싱 과정을 거치면서 23개의 아미노산으로 구성된 signal 펩티드가 잘려나가고 94개의 아미노산으로 이루어진 proghrelin(아미노산#24~117)으로 된다. 이 펩티드는 Pro-Arg 위치에서 절단되어 28개의 아미노산으로 구성된 ghrelin(아미노산#24~51)과 66개의 아미노산으로 구성된 C-ghrelin(아미노산#52~117)로 잘려진다(Leite-Moreira & Soares, 2007). 한편, ghrelin은 ghrelin 막결합형(membrane-bound) O-acyltransferase(MBOAT) 패밀리의 일원인 O-acyltransferase(GOAT)에 의해 번역후 공정(posttranslational process)에서 octanoyl group(C₇H₁₅CO)이 3번째 아미노산 serine에 결합한 형태로 전환되는데(Yang et al., 2008), 이 acylation에 의해 뇌-혈관장벽(brain-blood barrier) 통과가 가능해지고 수용체(GHSR1a) 결합능력이 향상되는 것으로 보인다. 실제로 이 과정을 거치지 못한 형태 [des-acyl ghrelin, des-ghrelin 또는 unacyl ghrelin(UAG)라고 불림]는 수용체에 결합할 수 없다(van der Lely et al., 2004). 한편, alternative splicing 산물인 des-Gln14-ghrelin이 흰쥐 위장에서 분리·동정되었으며 GHSR1a에 결합능력이 있음이 확인되었다(Hosoda et al., 2000).

위장에서 주로 합성되는 C-ghrelin은 preproghrelin 유전자의 exon2~4에 암호화된 66개 아미노산으로 구성된 펩티드로, 흰쥐와 사람의 혈중 농도가 ghrelin보다 높은 것으로

보아 반감기, 제거율, 대사율이 서로 다르지만 조직 내 분포를 볼 때 ghrelin과 상관관계가 높다(Bang et al., 2007). 최근에 동정된 obestatin은 23개의 아미노산으로 구성되며, C 터미널에 amidation이 일어난 형태이며 ghrelin 수용체 패밀리의 하나인 GPR39에 결합하여 ghrelin과 반대 작용을 한다고 알려졌지만(Zhang et al., 2005), 그 수용체의 기능에 관해서는 상반된 보고가 있다(Lauwers et al., 2006). Size-exclusion HPLC(SE-HPLC) 또는 reverse-phase HPLC(RP-HPLC)와 방사면역측정법을 결합한 분석에서 C-ghrelin의 존재는 확인되었지만 obestatin은 검출되지 않은 것으로 보아 혈중 obestatin은 내분비적(endocrine)이라기보다 autocrine/paracrine 방식으로 생성·작용하는 것으로 추정된다(Bang et al., 2007). 생식과 관련된 C-ghrelin과 obestatin의 직접적인 효과는 알려진 바가 없으며, 있더라도 간접적인 것으로 추정된다. Ghrelin의 최대 원천은 위장으로, 흰쥐의 경우 A-like type 그리고 인간의 경우 P/D1 type 세포들에서 합성되며(Rindi et al., 2002), 위절제술 이후 보상 방식으로 분비가 증가한다(Ariyasu et al., 2001).

현재까지 알려진 ghrelin 수용체는 두 종류로, 각각 GHSR1a와 GHSR1b이다. GHSR1a는 366개의 아미노산으로 구성되며, 7개의 막관통 도메인(transmembrane domain)을 갖는 전형적인 G protein-coupled receptor(GPCR)이며(Kojima et al., 1999), alternative splicing이 일어난 형태인 GHSR1b는 289개의 아미노산으로 구성된 truncated form으로 5개의 막관통 도메인을 가지며 ghrelin 결합능이 없다(Howard et al., 1996). Ghrelin-GHSR1a 신호에 의해 촉발되는 세포 내 신호전달은 phospholipase C(PLC)와 protein kinase C(PKC)에 의해 시작되어 inositol 1,4,5-triphosphate와 세포 내 Ca²⁺ 농도 증가가 일어났다(Chen, 2000). GHSR과 GHRH 수용체를 동시에 발현시킨 세포(HeLa-T4) 배양에서 ghrelin 자극은 단독으로는 cAMP 상승을 유도하지 못하지만, GHRH와 동시 처리할 때 GHRH 작용을 강화시키어 PLC 또는 PKC와는 무관한 기작으로 cAMP 농도를 증가시켰다(Cunha & Mayo, 2002). 한편, somatotrope 유래 GH3 세포주를 사용한 연구에서 ghrelin은 cGMP/PKG 신호전달 경로를 조절하여 voltage-gated K⁺ 전류를 감소시켜 GH 분비를 촉진시킴이 확인되었다(Han et al., 2005). GHSR1a는 뇌의 몇몇 nucleus, 뇌하수체에서 다량 발현되며, 갑상선, 췌장, 비장, 심근, 부신 그리고 생식소에서도 발현되며, GHSR1b 역시 이와 유사한 발현

양상을 보였다(Guan et al., 1997; Tena-Sempere et al., 2002; Gaytan et al., 2003; Ghelardoni et al., 2006).

Ghrelin의 생식내분비 조절 기능

흰쥐 시상하부 궁상핵(arcuate nucleus, ArC)에서도 ghrelin 펩티드가 발견되었는데(Lu et al., 2002), 주로 n-octanoyl-ghrelin과 des-acyl ghrelin 유형임이 보고되었다(Cowley et al., 2003; Sato et al., 2005). 24~48 시간 단식한 흰쥐의 경우 시상하부에서의 ghrelin mRNA 수준, n-octanoyl ghrelin과 des-acyl ghrelin 함량 모두 유의하게 감소한 데 비해 위장에서는 ghrelin 합성·분비가 증가하였고, 에너지원처럼 세포내로 흡수는 되나 분해되지 않아 선택적으로 탄수화물 대사 차단능력이 있는 glucose 유사체인 2-deoxy-d-glucose (2-DG)을 흰쥐에 주사한 경우에도 시상하부 ghrelin 함량의 감소가 관찰되었으나, 위장에서는 증가하였다(Sato et al., 2005). 이 결과는 조직 특이적인 ghrelin 발현 조절 기작이 존재하고, 시상하부-뇌하수체에서는 에너지 균형 조절 외에도 생식 기능 조절과 같은 다른 기능이 있을 가능성, 그리고 그 기작이 내분비는 물론 국부적으로 일어날 수 있음을 시사하는 것이었다. Ghrelin의 생식 기능 조절은 위-장관에서 합성·분비되어 전신 순환을 통해 생식계 각 조직들에 작용하는 내분비 조절(endocrine mode) 방식과 HPG 축의 생식 기관에서 직접 합성·분비되어 국부적으로 조절(autocrine and/or paracrine) 하는 두 가지 방식 모두에 의해 일어나는 것으로 추론된다.

전형적인 신경내분비 실험방식을 적용하여 ghrelin을 뇌실 내 주입(intracerebroventricular injection; 0.1 nmol/0.3 μ l)한 연구에서 맥동적인 LH 분비가 억제됨이 난소 절제한 흰쥐에서 최초로 보고되었는데, 이는 ghrelin이 식욕/대사 조절 이외에 생식호르몬 분비 조절능력을 가짐을 밝힌 최초의 보고였다(Furuta et al., 2001). 이어 ghrelin이 암수 흰쥐 공히 시상하부 GHRH 분비의 맥동성과 뇌하수체에서의 FSH와 LH의 합성·분비를 조절함이 보고되었다(Fernandez-Fernandez et al., 2005a). 사춘기 전 또는 진행 중인 수컷 흰쥐에 반복적으로 ghrelin을 투여하면 혈중 FSH 수준은 변화가 없었으나 LH와 테스토스테론 수준은 감소하고 성적 성숙이 지연됨이 보고되었다(Fernandez-Fernandez et al., 2005b). 한편, 암컷 흰쥐에 반복적으로 ghrelin을 투여할 경우, 저농도(0.5 nmol/12 h 10일간) 투여군에서는 혈중 호르몬 수준과 사춘기 개시

신호(예, 질구 개방)가 관찰되지 않았으나, 고농도(1 nmol/12 h) 투여군에서는 질구 개방, 난포 발달과 배란이 일어났다(Fernandez-Fernandez et al., 2005b). 이 결과는 암수 흰쥐 공히 ghrelin의 억제적 조절에 반응하지만 수컷이 보다 더 민감하다는 것을 의미하는데, leptin의 사춘기 개시에서 보이는 허용적 조절에 암컷이 더 민감하다는 사실과 대조된다(Fernandez-Fernandez et al., 2006). 유사한 결과가 rhesus monkey와 양을 대상으로 한 연구에서 도출되었고(Vulliamoz et al., 2004; Iqbal et al., 2006). 반면, *in vitro* 실험을 통해 ghrelin이 nitric oxide 의존적 기작을 경유하여 뇌하수체의 LH 분비를 촉진하고 에스트로겐에 의해 조절됨이 보고되었다(Fernandez-Fernandez et al., 2007). 최근 acylated ghrelin을 건강한 남성에게 지속적으로 주입할 경우 GnRH에 의한 gonadotropin 분비 반응성 증가에는 영향을 주지 않으면서 LH의 분비는 감소시키지만 FSH 분비에는 영향을 주지 않음이 보고되었다(Lanfranco et al., 2008). 이 연구에서 ghrelin은 오피오이드 수용체 길항제인 naloxone에 의한 LH 분비 촉진을 억제하였는데, 이는 ghrelin이 중추신경계 특히 오피오이드 시스템에 작용하여 시상하부-뇌하수체-생식소 축을 조절할 가능성을 보여준 것이다. 실제로, 오피오이드 외에도 neuropeptide Y(NPY), agouti-related peptide(AgRP)와 orexin 뉴런 등이 시상하부와 그 주변 영역에서 식욕과 섭식행동을 조절하는 복잡한 네트워크를 형성하고 있으며, 이들 뉴런들이 HPG 축의 활성을 억제함이 알려져 있다(Mircea et al., 2009). Ghrelin도 직·간접적으로 이 네트워크에 포함되어 섭식은 물론 생식과 관련된 신경내분비 조절에 참여하는 것으로 추정되는데, 이를 뒷받침하는 증거로 최근 흰쥐 시상하부 기관 배양중 ghrelin을 투여하면 궁상핵에서의 NPY와 AgRPqkfgus이 증가함이 보고되었고(Goto et al., 2006), 흰쥐 궁상핵 내에서 POMC 뉴런과 ghrelin 뉴런 간에 시냅스가 형성되어 있음이 보고되었다(Guan et al., 2008).

Leptin과 유사하게, ghrelin과 GHSR은 생식소에서도 발현되어 내분비적 조절 외에도 autocrine 또는 paracrine 조절 물질로 작용하는 것으로 보인다(Löffler et al., 2001; Herrid et al., 2008). 흰쥐 난소에서 ghrelin 발현은 생식주기중 변화하고 임신중 지속적으로 감소되는데, 황체 세포에서 다량 발현되고 GnRH antagonist 주사로 배란 유도 LH surge를 교란할 경우 난소내 ghrelin 발현 패턴도 교란되었다(Caminos et al., 2003). 인간 난소에서 ghrelin은 주로 비교적 새로 생

긴 황체에서 검출되었으며, GHSR1a의 경우 난자, 난포세포, 난소 표면 상피세포와 모든 황체에 존재하였다(Gaytan et al., 2003). 최근 GHSR1a와 1b 유형이 인간의 과립-황체세포에서 검출되고, 체외 배양 모델에서 ghrelin에 의해 농도 의존적($10^{-11} \sim 10^{-7}$ mol/l)으로 에스트라디올과 프로게스테론 분비를 유의하게 저해됨이 보고되었다(Viani et al., 2008).

정소에서의 ghrelin 발현은 생후부터 검출되며 뇌하수체로 부터의 gonadotropin에 의해 일정부분 조절되는 것으로 보인다. Ghrelin 펩티드는 인간과 흰쥐의 Leydig 세포에서 다량 발견되며, 인간 정소의 Sertoli 세포에서도 미량 확인되었다(Tena-Sempere et al., 2002; Gaytan et al., 2004). 흰쥐 정소를 생후 15일부터 90일까지 조사한 결과 ghrelin mRNA가 지속적으로 검출되었고, Leydig 세포를 선택적으로 사멸시키는 ethylene dimethane sulfonate(EDS)를 투여할 경우 ghrelin 발현은 사라졌으나 GHSR1a는 계속 검출되었으며, *in vitro* 모델에서 hCG에 의해 유도된 테스토스테론 분비 농도 의존적으로 유의하게 감소시켰는데, 이는 hCG에 의해 증가된 스테로이드 합성 관련 인자들의 발현을 ghrelin이 감소시킴에 의한 것으로 보인다(Tena-Sempere et al., 2002). 이어 흰쥐 정소내 Leydig 세포에서의 ghrelin 발현이 태아기에서부터 시작되고, hCG(25 IU/rat) 주사에 의해 ghrelin mRNA 수준이 4시간 만에 증가한데 비해 FSH(12.5 IU/rat) 주사는 영향이 없음이 보고되었다(Barreiro et al., 2002). 흥미롭게도 흰쥐 정소에서 GHSR1a는 사춘기 이전에는 발현되지 않다가 이후 급격히 증가하여 성체에 최고에 도달하고 Sertoli 세포와 Leydig 세포에서 주로 검출되며, FSH를 미리 주사한 쥐에서 분리한 세정관 배양(*ex vivo*)에 ghrelin을 투여할 경우 농도 의존적으로 GHSR1a 발현이 증가함이 확인되었다(Barreiro et al., 2003), 한편, 인간 정소내에서 ghrelin 펩티드는 Leydig 세포에서 주로 검출되고 Sertoli 세포에서 소량 존재하며 생식세포에서는 검출되지 않는데 비해, GHSR1a는 정모세포(pachyten stage)에서 다량 발현되고 Sertoli 세포와 Leydig 세포에서도 확인되었다(Gaytan et al., 2004). 또한 ghrelin은 흰쥐 정소에서 stem cell factor(SCF) 발현을 FSH의 영향하에서 유의하게 감소시키는데(Barreiro et al., 2004), SCF는 Sertoli 세포에서 분비되는 paracrine 물질로서 생식세포와 Leydig 세포의 분화 및 생존 요인임은 잘 알려져 있다. 상기한 연구 결과들은 영양 상태가 열악할 때 정자 형성과 테스토스테론 분비를 저하시켜 생식기능을 억제하는 방

식으로 ghrelin 신호가 성적 성숙과 생식 기능 조절에 직접적으로 관여할 가능성을 시사한다. 미성숙하거나 정소를 제거한 수컷 흰쥐에 ghrelin을 주사하면 LH 분비가 억제되었으나 FSH 분비에는 영향이 없다는 사실은 흥미로운 사실인데(Fernandez-Fernandez et al., 2007), 이처럼 ghrelin에 의한 억제적 신호가 뇌하수체 수준의 LH와 FSH 분비에 차별적으로 반영된다면 이는 향후 좋은 연구 대상이 될 것이다. 반면, 건강한 20대 남성들에게 ghrelin(50 μ g)을 시간당 1회로 야간에 4회 주사한 결과 유의하게 혈중 FSH 수준이 감소된다는 보고가 있다(Kluge et al., 2009).

사춘기와 폐경 전후와 같은 생식 능력 측면에서 중요한 전환기에 ghrelin 신호가 작용할 가능성을 지지하는 증거들이 계속 보고되고 있다. 먼저 Leptin에서의 연구 결과들을 기반으로, ghrelin이 HPG 축 활성을 저하시킨다는 사실로부터 ghrelin이 사춘기 개시에 억제적 신호로 작용할 가능성이 제기되어 왔다. 이에 관한 주요 정황 증거들로는, 인간의 경우 생후 2년까지 혈중 ghrelin 수준의 상승과 GnRH 뉴런의 분비 활성 감소가 관찰되며, 체내 에너지 저장과 ghrelin 수준간에 역(negative)의 상관관계가 존재하고, leptin 연구에서 확인된 에너지 가용성과 사춘기 개시와의 연관성-예를 들어 비만의 경우 조기 사춘기 개시가 일어나고 식욕부진 또는 거식증(anorexia) 환자의 경우 사춘기 개시가 지연됨-을 들 수 있다(Martos-Moreno et al., 2009). 실제로 앞서 언급한 바처럼 사춘기 전 또는 진행중인 흰쥐에 반복적으로 ghrelin을 투여하면 임수 공히 성적인 성숙이 지연됨이 보고되었다(Fernandez-Fernandez et al., 2005a, b). 한편, 인간의 경우에도 사춘기 동안 혈중 ghrelin 수준이 점진적으로 감소하는 것으로 보아 흰쥐에서의 유사한 ghrelin의 억제적 효과가 있음을 시사한다(Soriano-Guillen et al., 2004). 무월경 상태 또는 월경이 유지된 운동선수들의 혈중 ghrelin, leptin 그리고 성 스테로이드 호르몬 수준을 비교한 결과, 무월경군에서 유의하게 ghrelin 수준은 높고 leptin은 낮았으며, 테스토스테론-ghrelin 그리고 에스트로겐-leptin으로 각각 역과 정(positive)의 상관관계가 있음이 보고되었다(Christo et al., 2008). 성인 남성과 폐경 전후 여성들의 혈중 ghrelin과 성 스테로이드 호르몬 수준을 비교 조사한 결과, ghrelin 수준은 남성과 폐경후 여성의 테스토스테론과 정의 상관관계가 있었으나, 폐경전 여성에서는 상관관계가 없었다(Greenman et al., 2009). 보다 큰 조망에서 사춘기 개시와 관해서는 leptin-암컷 그리고 ghrelin-수컷으로, 그리고 폐경 전후에는 ghrelin-

암수 공통으로 작용 효율이 다른 것으로 나타나는데, 이러한 성적이형성은 에너지 대사와 사용에 있어서의 성적 차이와 일정 부분 반영된 것으로 생각된다.

결 론

돌연변이 비만 생쥐(ob/ob mice)를 사용한 연구에서 지방 세포에서 합성·분비되는 leptin이 체내 에너지 과잉에 대한 신호로 작용하는 비만관련 Ob 유전자 산물임이 밝혀진 이래 (Pellemounter et al., 1995), 시상하부-뇌하수체-표적조직이라는 고전적인 호르몬 조절 축 외에도 뇌-지방조직(brain-adipose tissue)과 같은 뇌-표적조직 축이 추가적으로 존재함이 예측되었다. 특히 leptin과 상반된 작용을 하는 대사 호르몬, 즉 체내 에너지 고갈에 대한 신호물질의 존재에 대한 규명이 주요 연구 주제가 되었다. 고아유전자(orphan receptor)였던 GHSR의 리간드로서 발견된 ghrelin은 체내 에너지 상태의 조절과정에서 leptin의 상대 역할을 하는 뇌-소화기관(brain-gut) 축의 핵심 호르몬이며, 신진 대사와 생식 사이를 연결하는 강력한 후보 물질로 부각되고 있다. Leptin이 ‘배부름’을 나타내는 에너지 과잉 신호라면 ghrelin은 반대로 ‘배고픔’을 표현하는 에너지 고갈 신호인데, 생식이 개체의 생명을 보전함에 필요한 항상성 유지에서 최우선 사항이 아니라는 점에서 ghrelin은 불요불급한 곳으로 제한된 에너지 투자가 이루어지지 않도록 기능하는 것으로 사료된다.

Ghrelin은 최근 발견된 호르몬성 물질 가운데 특히 향후 효용성이 높을 것으로 추정되는데, 본질이 내인성 GHS 리간드라는 점에서 성장 조절, 비만이나 고지혈증 등 대사 이상과 관련된 성인기발생 질병들(adult onset diseases)의 치료제 외에도 성적 성숙 조절이나 갱년기 호르몬 보충 요법 등으로의 적용이 가능해 보인다. 이와 관련하여 폐경후 에스트로겐 보충요법(estrogen supplement therapy)이 시상하부-뇌하수체 축의 ghrelin 민감성을 증가시켜 GH 분비를 증가시키는 흥미로운 사실이다(Kok et al., 2008). 생식현상에서 ghrelin의 보다 명확한 작용 메커니즘과 역할에 대한 깊은 통찰력을 얻고 성공적인 생의학적 적용을 위해서는 더 많은 연구들이 필요하다.

인용문헌

Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K,

- Akamizu T, Suda M, Koh T, Natsui K, Toyooka S, Shirakami G, Usui T, Shimatsu A, Doi K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K (2001) Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4753-4758.
- Bang AS, Soule SG, Yandle TG, Richards AM, Pemberton CJ (2007) Characterisation of proghrelin peptides in mammalian tissue and plasma. *J Endocrinol* 192:313-323.
- Barreiro ML, Gaytán F, Caminos JE, Pinilla L, Casanueva FF, Aguilar E, Diéguez C, Tena-Sempere M (2002) Cellular location and hormonal regulation of ghrelin expression in rat testis. *Biol Reprod* 67:1768-1776.
- Barreiro ML, Suominen JS, Gaytán F, Pinilla L, Chopin LK, Casanueva FF, Diéguez C, Aguilar E, Toppari J, Tena-Sempere M (2003) Developmental, stage-specific, and hormonally regulated expression of growth hormone secretagogue receptor messenger RNA in rat testis. *Biol Reprod* 68:1631-1640.
- Barreiro ML, Gaytan F, Castellano JM, Suominen JS, Roa J, Gaytan M, Aguilar E, Dieguez C, Toppari J, Tena-Sempere M (2004) Ghrelin inhibits the proliferative activity of immature Leydig cells *in vivo* and regulates stem cell factor messenger ribonucleic acid expression in rat testis. *Endocrinology* 145:4825-4834.
- Blüher S, Mantzoros CS (2007) Leptin in reproduction. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 14:458-464.
- Bowers CY, Momany F, Reynolds GA, Chang D, Hong A, Chang K (1980) Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone *in vitro*. *Endocrinology* 106:663-667.
- Bowers CY, Momany FA, Reynolds GA, Hong A (1984) On the *in vitro* and *in vivo* activity of a new synthetic hexapeptide that acts on the pituitary to specifically release growth hormone. *Endocrinology* 114:1537-1545.
- Caminos JE, Tena-Sempere M, Gaytán F, Sanchez-Criado JE, Barreiro ML, Nogueiras R, Casanueva FF, Aguilar E, Diéguez C (2003) Expression of ghrelin in the cyclic

- and pregnant rat ovary. *Endocrinology* 144:1594-1602.
- Casanueva FF, Dieguez C (1999) Growth hormone secretagogues: physiological role and clinical utility. *Trends Endocrinol Metab* 10:30-38.
- Chen C (2000) Growth hormone secretagogue actions on the pituitary gland: multiple receptors for multiple ligands? *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27:323-329.
- Christo K, Cord J, Mendes N, Miller KK, Goldstein MA, Klibanski A, Misra M (2008) Acylated ghrelin and leptin in adolescent athletes with amenorrhea, eumenorrhea athletes and controls: a cross-sectional study. *Clin Endocrinol* 69:628-633.
- Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL (2003) The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 37:649-661.
- Crown A, Clifton DK, Steiner RA (2007) Neuropeptide signaling in the integration of metabolism and reproduction. *Neuroendocrinology* 86:175-182.
- Cunha SR, Mayo KE (2002) Ghrelin and growth hormone (GH) secretagogues potentiate GH-releasing hormone (GHRH)-induced cyclic adenosine 3',5'-monophosphate production in cells expressing transfected GHRH and GH secretagogue receptors. *Endocrinology* 143:4570-4582.
- de Luis DA, Perez Castrillón JL, Dueñas A (2009) Leptin and obesity. *Minerva Med* 100:229-236.
- Fernández-Fernández R, Tena-Sempere M, Navarro VM, Barreiro ML, Castellano JM, Aguilar E, Pinilla L (2005a) Effects of ghrelin upon gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin secretion in adult female rats: *in vivo* and *in vitro* studies. *Neuroendocrinology* 82:245-255.
- Fernández-Fernández R, Navarro VM, Barreiro ML, Vigo EM, Tovar S, Sirotkin AV, Casanueva FF, Aguilar E, Dieguez C, Pinilla L, Tena-Sempere M (2005b) Effects of chronic hyperghrelinemia on puberty onset and pregnancy outcome in the rat. *Endocrinology* 146:3018-3025.
- Fernandez-Fernandez R, Martini AC, Navarro VM, Castellano JM, Dieguez C, Aguilar E, Pinilla L, Tena-Sempere M (2006) Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. *Mol Cell Endocrinol* 254-255: 127-132.
- Fernández-Fernández R, Tena-Sempere M, Roa J, Castellano JM, Navarro VM, Aguilar E, Pinilla L (2007) Direct stimulatory effect of ghrelin on pituitary release of LH through a nitric oxide-dependent mechanism that is modulated by estrogen. *Reproduction* 133:1223-1232.
- Furuta M, Funabashi T, Kimura F (2001) Intracerebroventricular administration of ghrelin rapidly suppresses pulsatile luteinizing hormone secretion in ovariectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun* 288:780-785.
- Gaytan F, Barreiro ML, Chopin LK, Herington AC, Morales C, Pinilla L, Casanueva FF, Aguilar E, Diéguez C, Tena-Sempere M (2003) Immunolocalization of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in the cyclic human ovary. *J Clin Endocrinol Metab* 88:879-887.
- Gaytan F, Barreiro ML, Caminos JE, Chopin LK, Herington AC, Morales C, Pinilla L, Paniagua R, Nistal M, Casanueva FF, Aguilar E, Diéguez C, Tena-Sempere M (2004) Expression of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in normal human testis and testicular tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 89:400-409.
- Ghelardoni S, Carnicelli V, Frascarelli S, Ronca-Testoni S, Zucchi R (2006) Ghrelin tissue distribution: comparison between gene and protein expression. *J Endocrinol Invest* 29:115-121.
- Goto M, Arima H, Watanabe M, Hayashi M, Banno R, Sato I, Nagasaki H, Oiso Y (2006) Ghrelin increases neuropeptide Y and agouti-related peptide gene expression in the arcuate nucleus in rat hypothalamic organotypic cultures. *Endocrinology* 147:5102-5109.
- Greenman Y, Rouach V, Limor R, Gilad S, Stern N (2009)

- Testosterone is a strong correlate of ghrelin levels in men and postmenopausal women. *Neuroendocrinology* 89:79-85.
- Guan JL, Okuda H, Takenoya F, Kintaka Y, Yagi M, Wang L, Seki M, Hori Y, Kageyama H, Shioda S (2008) Synaptic relationships between proopiomelanocortin- and ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Regul Pept* 145:128-132.
- Guan XM, Yu H, Palyha OC, McKee KK, Feighner SD, Sirinathsinghji DJ, Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD (1997) Distribution of mRNA encoding the growth hormone secretagogue receptor in brain and peripheral tissues. *Brain Res Mol Brain Res* 48:23-29.
- Han XF, Zhu YL, Hernandez M, Keating DJ, Chen C (2005) Ghrelin reduces voltage-gated potassium currents in GH3 cells via cyclic GMP pathways. *Endocrine* 28:217-224.
- Herrid M, O'Shea T, McFarlane JR (2008) Ontogeny of leptin and its receptor expression in mouse testis during the postnatal period. *Mol Reprod Dev* 75:874-880.
- Hosoda H, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K (2000) Purification and characterization of rat des-Gln14-Ghrelin, a second endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. *J Biol Chem* 275:21995-2000.
- Howard AD, Feighner SD, Cully DF, Arena JP, Liberato PA, Rosenblum CI, Hamelin M, Hreniuk DL, Palyha OC, Anderson J, Paress PS, Diaz C, Chou M, Liu KK, McKee KK, Pong SS, Chung LY, Elbrecht A, Dashkevich M, Heavens R, Rigby M, Sirinathsinghji DJ, Dean DC, Melillo DG, Patchett AA, Nargund R, Griffin PR, DeMartino JA, Gupta SK, Schaeffer JM, Smith RG, Van der Ploeg LH (1996) A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273:974-977.
- Iqbal J, Kurose Y, Canny B, Clarke I (2006) Effects of central infusion of ghrelin on food intake and plasma levels of growth hormone, luteinizing hormone, prolactin, and cortisol secretion in sheep. *Endocrinology* 147:510-519.
- Kanamoto N, Akamizu T, Tagami T, Hataya Y, Moriyama K, Takaya K, Hosoda H, Kojima M, Kangawa K, Nakao K (2004) Genomic structure and characterization of the 5'-flanking region of the human ghrelin gene. *Endocrinology* 145:4144-4153.
- Kluge M, Uhr M, Bleninger P, Yassouridis A, Steiger A (2009) Ghrelin suppresses secretion of FSH in males. *Clin Endocrinol* 70:920-923.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402:656-660.
- Kok P, Paulo RC, Cosma M, Mielke KL, Miles JM, Bowers CY, Veldhuis JD (2008) Estrogen supplementation selectively enhances hypothalamo-pituitary sensitivity to ghrelin in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 93:4020-4026.
- Lanfranco F, Bonelli L, Baldi M, Me E, Broglio F, Ghigo E (2008) Acylated ghrelin inhibits spontaneous luteinizing hormone pulsatility and responsiveness to naloxone but not that to gonadotropin-releasing hormone in young men: evidence for a central inhibitory action of ghrelin on the gonadal axis. *J Clin Endocrinol Metab* 93:3633-3639.
- Lauwers E, Landuyt B, Arckens L, Schoofs L, Luyten W (2006) Obestatin does not activate orphan G protein-coupled receptor GPR39. *Biochem Biophys Res Commun* 351:21-25.
- Leite-Moreira AF, Soares JB (2007) Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discov Today* 12:276-88.
- Leung PK, Chow KB, Lau PN, Chu KM, Chan CB, Cheng CH, Wise H (2007) The truncated ghrelin receptor polypeptide (GHS-R1b) acts as a dominant-negative mutant of the ghrelin receptor. *Cell Signal* 19:1011-1022.
- Löffler S, Aust G, Köhler U, Spanel-Borowski K (2001) Evidence of leptin expression in normal and polycystic

- human ovaries. *Mol Hum Reprod* 7:1143-1149.
- Lu S, Guan JL, Wang QP, Uehara K, Yamada S, Goto N, Date Y, Nakazato M, Kojima M, Kangawa K, Shioda S (2002) Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci Lett* 321:157-160.
- Martos-Moreno GA, Chowen JA, Argente J (2009) Metabolic signals in human puberty: Effects of over and undernutrition. *Mol Cell Endocrinol in press*.
- Mircea CN, Lujan ME, Pierson RA (2009) Metabolic fuel and clinical implications for female reproduction. *J Obstet Gynaecol Can* 29:887-902.
- Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F (1995) Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 269:540-543.
- Pinelli G, Tagliabue A (2007) Nutrition and fertility. *Minerva Gastroenterol Dietol* 53:375-582.
- Plant TM (2008) Hypothalamic control of the pituitary-gonadal axis in higher primates: key advances over the last two decades. *J Neuroendocrinol* 20:719-726.
- Rindi G, Necchi V, Savio A, Torsello A, Zoli M, Locatelli V, Raimondo F, Cocchi D, Solcia E (2002) Characterisation of gastric ghrelin cells in man and other mammals: studies in adult and fetal tissues. *Histochem Cell Biol* 117:511-519.
- Sam S, Frohman LA (2008) Normal physiology of hypothalamic pituitary regulation. *Endocrinol Metab Clin North Am* 37:1-22.
- Sato T, Fukue Y, Teranishi H, Yoshida Y, Kojima M (2005) Molecular forms of hypothalamic ghrelin and its regulation by fasting and 2-deoxy-d-glucose administration. *Endocrinology* 146:2510-2516.
- Seim I, Collet C, Herington AC, Chopin LK (2007) Revised genomic structure of the human ghrelin gene and identification of novel exons, alternative splice variants and natural antisense transcripts. *BMC Genomics* 8:298.
- Soriano-Guillén L, Barrios V, Chowen JA, Sánchez I, Vila S, Quero J, Argente J (2004) Ghrelin levels from fetal life through early adulthood: relationship with endocrine and metabolic and anthropometric measures. *J Pediatr* 144:30-35.
- Tena-Sempere M, Barreiro ML, González LC, Gaytán F, Zhang FP, Caminos JE, Pinilla L, Casanueva FF, Diéguez C, Aguilar E (2002) Novel expression and functional role of ghrelin in rat testis. *Endocrinology* 143:717-725.
- Tsutsumi R, Webster NJ (2009) GnRH pulsatility, the pituitary response and reproductive dysfunction. *Endocr J* 56:729-737.
- van der Lely AJ, Tschöp M, Heiman ML, Ghigo E (2004) Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr Rev* 25:426-457.
- Viani I, Vottero A, Tassi F, Cremonini G, Sartori C, Bernasconi S, Ferrari B, Ghizzoni L (2008) Ghrelin inhibits steroid biosynthesis by cultured granulosa-lutein cells. *J Clin Endocrinol Metab* 93:1476-1481.
- Vulliémoz NR, Xiao E, Xia-Zhang L, Germond M, Rivier J, Ferin M (2004) Decrease in luteinizing hormone pulse frequency during a five-hour peripheral ghrelin infusion in the ovariectomized rhesus monkey. *J Clin Endocrinol Metab* 89:5718-5723.
- Yang J, Brown MS, Liang G, Grishin NV, Goldstein JL (2008) Identification of the acyltransferase that octanoylates ghrelin, an appetite-stimulating peptide hormone. *Cell* 132:387-396.
- Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretchmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, Hsueh AJ (2005) Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 310:996-999.
-
- (received 30 November 2009, received in revised form 10 December 2009, accepted 11 December 2009)