

남성생식기능에서 성장인자의 역할 (The role of Growth Factors in Male Reproductive Function)

한림 의대 비뇨기과학교실

이 상 곤

서 론

성장인자 (growth factor)는 세포의 증식과 분화를 조절하는 다단백물질로써 특정수용체에 작용함으로써 대상조직에서 생리적 조절과 생물학적 효과를 발휘하게 된다¹. 성장인자가 호르몬과 다른 점은 여러 조직에서 다발성으로 생성분비되고 그 대상조직에 작용경로도 혈액으로 분비되는 내분비, 인접세포에 작용하는 paracrine, 분비하는 자신도 그 인자에 영향을 받는 autocrine 등 여러 경로를 통해 작용한다는 점이다². 같은 성장인자도 대상조직에 따라 서로 다른 경로를 통해서 효과를 나타내게 된다. 예를 들면 somatostatin은 뇌하수체에서는 신경분비물로 작용하고 Langerhan's islet내에서는 paracrine 인자로, 췌장에서는 내분비계통으로 분비된다². 이러한 성장인자에 대한 분자의 생화학적 특성 및 구조를 비롯하여, 생리적, 유전적 정보가 급격히 증가됨에 따라 최근에 활발히 연구되고 있는 분야이다. 고환에서 정자생성에 LH, FSH, testosterone이 필요하다는 것은 잘 알려져 있으나 정상적 정자생성과정에서 성장인자와 같은 물질이 중요한 역할을 한다는 것은 최근에 널리 연구되었다.

고환내의 성장인자는 최초로 1980년에 Feig 등이 Sertoli세포에 세포분화를 증진하는 다단백이 존재한다고 발표한 뒤³ 고환에서는 최근에 세포상호간에 영향을 미치는 여러가지 종류의 성장인자를 분비하는 것으로 알려져 있다. 1984년에는 Verhoeven이 Sertoli세포 배양액에 Leydig세포의 steroidogenesis를 자극하는 인자가 있다고 발표했다⁴. 그후 고환에서 여러 종류의 성장인자가 autocrine, paracrine으로 작용한다는 것이 알려졌다. 고환조직은 독특하게 혈액고환장벽 (blood-testis barrier)에 의해 혈액순환과 차단되어 있다. 대다수의 세포가 혈액순환을 통해 분비되는 영양소를 받아 그 생명력을 유지하듯이 혈액순환과 격리되어 있는 고환에서는 정세관내세포의 상호작용을 통해서 정자생성을 정상적으로 유지한다. Sertoli세포는 이런 인자를 생성하고 분비하는 기능을 담당하는 중추역할을 한다.

고환내 세포의 상호작용

고환조직에서의 성장인자의 역할을 이해하기 위해서는 우선 고환조직의 세포상호작용을 밝히는 것이 중요하다. 고환조직에는 Sertoli세포, 정세관주위세포 (peritubular cell), Leydig세포 등의 체세포 (somatic cell)과 생식세포 (germ cell)로 이루어져 있는데 이 세포들이 상호간에 영향을 미치면서 정자의 생성을 조절한다. 세포간에 상호작용의 유형은 크게 세 가지

로 구분될 수 있다. 첫째는 세포외적환경과의 상호작용 (environmental interaction)으로써, 인접한 세포들사이에는 세포상호간에 물질교환, 또는 이동을 하기위한 통로나 반대로 이동을 차단하는 구조 (cytoarchitecture)가 형성되어 있다. Sertoli세포들 사이에 존재하는 연결복합체 (junctional complex), Sertoli세포와 생식세포에 존재하는 원형질의 管形돌출 (tubulobulbar projection)인 관형복합체(tubulobulbar complex) 등이 그것이다. 반면에 Sertoli 세포사이에 있는 강력한 접합부위는 間質에서 정세관내로 거대분자 (macromolecule)가 이동하는 것을 차단하여 정세관내에서의 격리된 독특한 환경을 유지할 수 있게 한다.

특히 Sertoli세포와 생식세포사이의 이러한 형태적 구조물은 정자생성과정에서 소멸하거나 재형성하는 등 활발한 변화를 한다. Sertoli세포에서 분비하는 plasminogen activator나 protease와 같은 효소가 이러한 조직의 재형성 (remodeling)에 관여하는 것으로 알려져 있다⁵. 정세관주위세포와 Sertoli세포사이에있는 기저막 (basement membrane)은 혈액교환장벽을 보강해주는 역할을 한다. 반면에 이러한 연결구조물은 Sertoli세포와 Leydig세포사이, Leydig세포와 정세관주위세포사이에는 존재하지 않는다. 둘째는 세포상호간에 에너지대사물, 광물질, 비타민 같은 필수적인 영양소를 공급하는 작용 (nutritional interaction)이다. 혈액교환장벽 때문에 생식세포에 대한 영양공급은 주로 Sertoli세포가 담당한다. 혈당을 이용할 수 없는 생식세포에 ATPase가 존재하고 Sertoli세포는 inositol과 같은 당대사물을 만들어내는 것은 Sertoli세포가 생식세포에 에너지원을 제공한다는 사실을 뒷받침한다⁶. 작은 분자는 세포사이에 있는 연결복합체를 통해 이동되고 큰분자는 용해율이 낮거나 독특한 특성 때문에 단백질과 결합하여 세포사이를 이동한다. 철분이나 구리는 Sertoli세포에서 생산된 transferrin, ceruloplasmin과 같은 결합단백질과 결합하여 생식세포로 이동된다. Sertoli 세포에서 분비되는 sulfated glycoprotein은 지방산이동에 관여하는 것으로 알려져 있다. 셋째는 분자수준에서 세포상호간에 세포기능을 조절하는 작용 (regulatory interaction)으로 세포에서 분비되는 여러 종류의 성장인자로 autocrine, paracrine 작용이 그것이다. 이 작용은 고환내 모든 세포사이에서 이루어진다⁵. Leydig세포와 Sertoli세포는 구조적으로 분리되어 있어서 정자생성조절은 Sertoli세포와 생식세포와의 상호작용과 밀접한 관계가 있다 (Fig 1).

두 세포의 상호작용을 알기 위해 가장 많이 쓰이는 방법은 두 세포를 같이 배양시키는 방법이다. Sertoli세포와 gonocyte를 같이 배양했을 때 세포활동을 하는 gonocyte를 볼 수 있고⁷ 생식세포에서 RNA와 DNA의 합성을 자극하는 것을 볼 수 있다⁶. 또한 세포분열을 억제시키는 약제를 투여하여 Sertoli세포를 결핍시킨 백서에서 생식세포의 감소를 동반하는 것을 볼 수 있다⁷. Khan은 Leydig세포에서의 androgen생성이 LH와 성장인자가 상승작용 (synergism)이 있음을 관찰했다¹⁰. 이러한 결과들은 세포상호작용이 존재함을 간접적으로 증명해준다. 성장인자가 고환에서 생식세포의 증식과 감수분열 (meiosis), 분화 등의 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 추정된다. 대부분의 실험이 동물 (비고등동물)에서 Sertoli 세포, 생식세포, 정세관주위세포들을 배양하여 생화학적, 면역학적 연구를 바탕으로한 결과지만 같은 성장인자가 여러 종의 실험동물에서 여러 장기에 유사한 작용을 하는 것으로 보아 인체내에서도 이와 같은 작용이 일어나리라고 추정한다. 따라서 이에 대한 연구는 정자생성의 조절에 대한 규명에 중요한 열쇠가 된다.

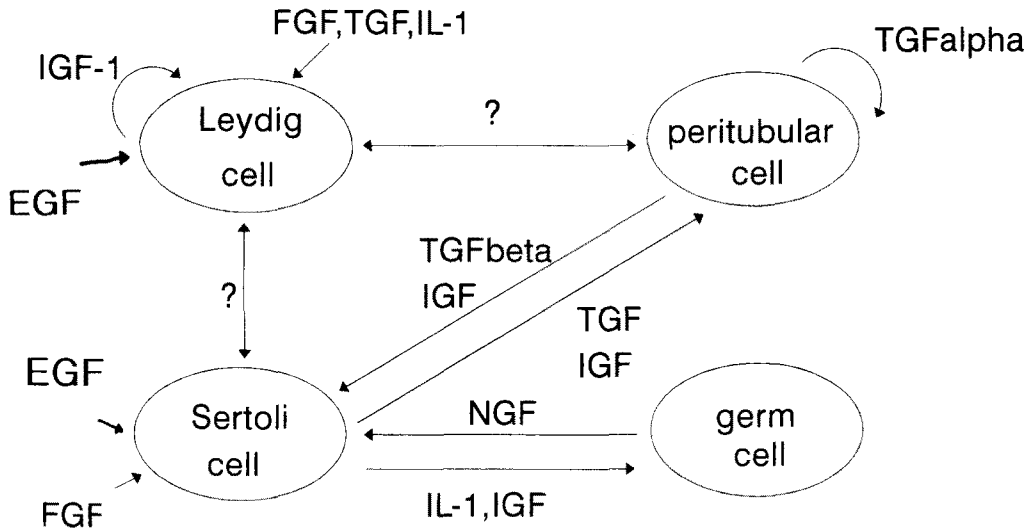


Fig. 1. Growth factors mediated cell-cell in interaction in the testis.

고환 조직과 성장인자

FSH나 testosterone은 정자생성을 조절하는 주요 호르몬이다. 이 호르몬의 수용체가 정세관내에서는 유일하게 Sertoli세포에서 발견되고 있어 이 두 호르몬들이 Sertoli세포를 통해서 생식세포에 작용하는 것으로 추정된다. Sertoli세포에서는 성장인자를 포함하여 여러 가지 종류의 단백질을 분비하는데 이 분비작용은 대부분 두 호르몬의 영향을 받는다. 여러 종류의 성장인자가 고환조직을 이루고 있는 세포에서 발현되거나 검출되고 세포기능에 영향을 준다. 그 중에서 Sertoli세포에서 분비하는 단백질은 정세관내에 존재하는 위치적 특성으로 정자생성에 직접적으로 관여하는 것으로 추정된다.

Sertoli세포는 몇 가지 종류의 단백질을 분비하는 것으로 알려져 있다. 첫째는 transferrin, ceruloplasmin, androgen 결합단백 등 영양소를 운반하는 운반용 단백질을 분비한다. 둘째는 호르몬이나 성장인자와 유사한 특성을 갖고 있는 물질을 분비한다. Inhibin, insulin growth factor (somatomedin C), EGF-like growth factor, fibroblast like growth factor 등이다. 세째는 효소작용을 조절하는 물질을 분비한다. Plasminogen activator, alpha-lactalbumin-like activity 등이 그것이다. 네째는 기저막형성에 관여하는 단백질인데 type IV collagen, laminin 등이다. 여기에는 세포外基質 (extracellular matrix)를 이루는 물질도 포함된다. 그외 에너지 대사물, lactate, estrogen 등을 분비하고 있다¹¹. Peritubular myoid cell은 Sertoli세포나 Leydig세포를 조절하는 P-Pod-S와 같은 단백질을 분비한다¹¹.

Epidermal growth factor (EGF)

EGF는 용성 백서의 하악골 선 (submandibular gland)에서 처음 추출된 53개의 아미노산

으로 구성된 분자량이 6,045인 다단백이다¹². EGF의 정자생성과정에서의 역할을 확실치 않으나 관련이 있는 증거는 여러 보고에서 확인되고 있다. 체내에서 EGF의 주생성은 하악골선인데 Tsutsumi는 14주된 웅성백서에서 하악골절제술 (sialoadenectomy)하였더니 혈청 EGF치는 급격히 감소하였고 3주후는 검출되지 않는 것을 관찰하였다. 4주후 부고환의 정자는 대조군의 45%까지 감소하고 EGF를 4주간 투여하게 되면 정자의 감소가 억제되었다¹³. 그러나 혈청내 testosterone이나 FSH치는 변화가 없었다. 이 결과는 EGF가 정자의 생성에 영향을 미친다는 사실을 보여주고 있다. EGF의 정확한 작용기전은 확실치 않으나 정모세포의 감수분열을 자극하는 것으로 추측되고 있다. Liu¹⁴는 8주된 웅성백서에서 하악골절제술한 결과 EGF치의 감소와 함께 혈청 testosterone 치의 상승을 관찰했다. 투여한 EGF의 작용기전이 antiandrogen투여효과를 우회하는 것으로 보아 androgen작용을 통하지 않고 직접 정자생성과정에 작용하는 것으로 추정했다. Testosterone 치에 대한 반응이 상반된 것은 후자가 미성숙된 백서를 사용했기 때문으로 추정되었다. Russel¹⁵은 하악골절제술후 정자수 감소가 현저하지 않았다고 다른 견해를 나타냈으나 EGF가 정자생성에 영향을 미친다는 견해는 부정을 못하고 있다. EGF의 testosterone에 대한 영향은 억제와 자극효과를 모두 갖고 있는데 짧은 시간의 노출은 억제성으로 장기간의 노출은 자극성으로 영향을 미친다.

Smith¹⁶는 백서에서 EGF가 정모세포와 preleptotene 정모세포의 DNA합성을 증가시키는 것을 관찰하였다.

EGF수용체가 쥐와 원숭이에서는 Sertoli세포에서 발견되고¹⁷ Skinner¹⁸는 정세관주위세포에 존재하고 생식세포나 Sertoli세포에는 존재하지 않는다. 사람에서는 정세관주위세포와 Leydig세포에서 발견되었다^{19,20}. EFG는 백서Sertoli세포에서 inhibin생성을 FSH와 같이 자극을 한다²¹. 또한 in vitro실험에서 돼지의 Leydig 세포에서 스테로이드 생성을 자극한다²².

Insulin growth factor (IGF)

IGF는 여러 세포에서 세포 분열과 단백질생성을 증진시키는 단백질 호르몬인데 구조에 따라 IGF-I과 IGF-II로 구분한다. IGF-I은 초기에 somatomedin-C라고 불리어졌고 70개의 아미노산으로 이루어져 있다²³. IGF는 쥐의 Sertoli세포배양액에서 검출되고 Leydig세포에서는 IGF-I mRNA가 측정되어 정세관주위세포나 Sertoli세포에서 생성되는 것으로 보인다²³. 이 mRNA는 FSH, LH, 성장호르몬에 의해 증진된다²⁴. 특히 Leydig세포에서는 autocrine으로 작용하는 것으로 추정된다. Hansson은 쥐실험에서 생후 1-2주 사이에 IGF-I이 Leydig세포, 정세관주위세포와 정모세포에서 검출하고 정자생성과정에서 세포분화에 관여하는 것으로 추정했다²⁵.

Leydig세포를 Sertoli세포와 같이 배양하여 IGF-I항체로 IGF를 중화시키면 Sertoli세포의 Leydig세포에 대한 steroidogenesis자극효과가 감소된다. 이 결과는 Leydig세포에서 androgen생성을 자극한다는 것을 의미한다. 특히 사춘기 쥐에서 더 예민하게 반응하는 것으로 보아 고환의 성숙에 관여하는 것으로 추측된다²⁶. IGF-I은 Sertoli세포에서 aromatization을 억제하여 estrogen생성에 영향을 미친다²⁷.

Transforming growth factor

TGF는 어떤 세포에서 표현형 (phenotype)을 변형시키는 다단백물질군인데 EGF계열의 성장인자로 태아의 성장에 관여하고 EGF수용체에도 반응한다²⁸. 분자구조로 TGF α 와 - β 로 구분하는데 TGF α 는 EGF와 35-40%가 유사한 구조를 갖고 있고 TGF- β 는 inhibin과 activin이 포함된다²⁹. Skinner는 Sertoli세포와 정세관주위세포에서 분비하는 단백질이 모두 TGF수용체에 결합하는 것을 보고 두 세포가 모두 TGF- β 를 분비하는 것으로 보았다¹⁸.

TGF- β 는 정세관주위세포와 Leydig세포, Sertoli세포간의 상호작용에 관여한다^{30,31}. Sertoli세포에서 분비된 TGF- β 유사인자는 Leydig세포에서 steroidogenesis를 자극하고 FSH에 의해 Sertoli세포에서의 TGF의 분비가 억제된다³². Paracrine작용이 있음을 보여준다. 정세관주위세포의 분화에도 작용한다. Fradin은 TGF- β 가 정자세포와 정모세포 모두에서 ³H-Uridine uptake가 증가를 보여 RNA생성이 증가함을 보였다³³. TGF- β 는 정자생성과정에서 이 두가지 정세포에 관여함을 암시한다.

Inhibin과 Activin, Mullerian inhibiting substance (MIS)

Inhibin과 activin, MIS은 모두 TGF- β 계열로 inhibin과 activin은 뇌하수체와 고환 또는 난소에서 생성되는데 서로 길항작용을 한다. MIS는 태령기 Sertoli세포에서 분비되는 물질로 Mullerian duct의 퇴화를 유도한다. 또한 사춘기전에 정세포의 분화에 관여한다³⁴. Inhibin은 glycoprotein호르몬으로 Sertoli세포에서 생성된다. 뇌하수체에서 FSH분비를 억제시키고 activin은 증가시킨다. 고환에서는 스테로이드생성과 세포의 증식을 inhibin은 자극하고 activin은 억제한다. Inhibin은 성숙된 백서의 고환균질액 (homogenate)에서 다량검출된다³⁵. Leydig세포와 정조세포 (spermatogonia)가 inhibin의 작용부위로 추정된다. Inhibin을 백서의 고환에 주사했을 때 미분화된 정조세포의 수는 변함이 없었으나 분화된 정조세포의 수가 감소했음을 관찰하였다³⁶.

Inhibin과 activin은 정세포의 분화에 영향을 미칠 뿐만아니라 Leydig세포의 steroidogenesis에도 영향을 미친다. Activin은 testosterone의 생성을 억제시킨다³⁷. Androgen은 inhibin생성을 억제시킨다. Mather 등은 activin투여가 Sertoli세포와 생식세포 배양에서 ³H-thymidine 자가방사기록법 (autoradiography)에서 label이 Sertoli세포층에 인접되어 있는 정조세포에 군집이 형성되는 것으로 보아 activin이 정조세포의 분화를 자극하는 것으로 추정된다³⁸. 반면에 Inhibin은 모든 정세포에 결합했다³⁹.

Fibroblast-like growth factor (FGF)

FGF는 1974년 뇌와 뇌하수체추출물에서 분리된 성장인자로 조직의 혈관형성을 자극하는 강력한 혈관형성자극 인자 (angiogenic factor)이다. FGF가 고환에서 검출되지만 고환내의 생성부위는 확실치 않고 Sertoli세포와 Leydig세포에 작용하는 것으로 추정된다. FGF는 heparin에 강한 친화성을 갖고 있다는 것이 독특한 특성이다⁴⁰.

강한 산성을 나타내는 aFGF와 알카리성인 bFGF가 있는데 알카리성 형태는 중배엽이나

신경외배엽에서 분화된 조직에서 발견되는 반면에 산성형은 대부분 신경조직이나 망막에 국한되어 발견된다.

Feig 등이 최초로 발견한 고환의 분화물질이 *seminiferous tubule growth factor*이었는데 FGF계열로 밝혀졌다³. Bellve 등이 배양된 정세관균질액에서 3T3 fibroblast배양에 미치는 영향을 관찰했는데 DNA생성의 척도를 알아보는 ³H-thymidine incorporation 검사에서 thymidine 사용이 증가했고 이 효과는 부고환에서는 대부분이 소실된다고 했다⁴⁰. 이러한 결과로 최초 정세관에서 FGF와 유사한 성장인자가 존재한다고 했는데 이를 *seminiferous tubule growth factor*라 하였다. 이 인자는 protease와 열에 약하고 분자량은 약 15,500dalton이다⁴¹. *Seminiferous tubule growth factor (SGF)*는 미성숙 Sertoli세포의 배양에서 존재하는데 활동성은 배양액에 분비된 용액보다는 세포의 균질액에서 더 크다⁴².

최근에는 Smith가 Sertoli cell 배양에서 *c-fos messenger RNA*의 발현을 자극하는 FGF-like 인자를 갖고 있음을 밝혔다⁴³. FGF는 각각 다른 여러 세포에 증식효과를 보인다. aFGF는 단지 TM3 Leydig세포에만 증식효과를 보이는 반면 bFGF는 TM3, TM4 Sertoli세포 모두에 증식효과를 보이지 않는다^{44,45}. bFGF는 bovine과 사람의 고환에서 추출되었고 Sertoli세포에서 transferrin의 분비를 조절한다^{46,47}.

FGF의 정자생성과정에서의 역할은 확실치 않다. Mayerhofer는 pachytene 정모세포에서 30 kDa의 bFGF유사단백을 발견했는데 Western blot분석에서 큰형태의 bFGF와 같음을 밝혀 정자생성에 관여함을 암시하였다⁴⁸. Smith는 Sertoli세포 FGF유사인자가 배양된 Sertoli세포의 *c-fos*발현을 증가시킴을 관찰하였다. 이는 Sertoli세포에서의 단백질생성을 자극한다는 것을 시사한다⁴³. bFGF는 Sertoli세포에서 plasminogen activator의 분비를 자극한다.

Interleukin-1

IL-1은 활성화된 대식세포 (macrophage)에서 추출되는 호르몬으로서 임파구의 성장과 분화를 조절하는 lymphokine이다. 감염이나 손상에 대한 체내의 방어인자로서의 역할을 하는 면역조절단백이다. 정세관내 세포배양에서 IL-1이 검출되고 정세관주위근세포배양에서는 검출되지 않는 것으로 보아 Sertoli 세포에서 분비되는 것으로 추정된다⁴⁹. 분자량은 17,000정도이고 IL-1 α 와 IL-1 β 로 구분된다⁵⁰.

백서의 배양된 정세관에서의 IL-1의 분비는 성적 발육이 활발한 시기인 생후 60-90일에 최고도에 달한다⁴⁸. Parvinen은 백서에서 정세관을 분화기 (stage)별로 구분추출하여 IL-1을 투여한 결과 정조세포에서의 DNA생성을 증진시키는 것을 관찰하였다. 이는 IL-1이 정조세포의 분열을 자극한다는 것을 의미한다^{51,52}. 이외에도 fibroblast, keratinocytes, glial cell, chondrocyte, 갑상선 세포, 등에서 증식효과를 보인다. 뇌하수체를 제거한 쥐에서 interleukin-1의 분비가 감소되는 것으로 보아 뇌하수체의 영향을 받는 것으로 보인다. IL-1의 수용체는 Leydig세포에 존재하고 in vitro에서 Leydig세포의 testosterone생성을 억제한다⁵³.

Sertoli cell secreted growth factor(SCSGF)

Holmes⁵⁴이 1986년에 Sertoli 세포배양액에 세포증식 효과를 보이면서 EGF수용체를 차단

하는 activity가 있음을 발견하고 이것이 EGF나 TGF계열의 물질이라고 추정하였다. 그리고 이 물질이 Sertoli세포에서만 분비하기 때문에 Sertoli cell-secreted growth factor라 명명했다. 그후 Buch 등⁵⁵은 사람의 Sertoli세포에서 분리된 이 인자는 A431 cell (사람의 피부세포암주)에 모든 성장인자 중에서 유일하게 증식효과를 보이고 ³H-thymidine uptake가 증가되어 EGF와는 다른 물질임을 밝혔다. 반면에 EGF를 비롯한 다른 성장인자는 A431 cell에 증식효과를 나타내지 않는다. SCSGF는 내열성이고, 산성처리, trypsin처리에 안정된 성질을 갖고 있고 분자량이 8,000이다⁵⁶. 백서에서도 이와 유사한 특성을 가진 물질이 분비되는데 내열성이고 산성처리에 안정되고 protease에 민감하며 분자량이 14,000인 것이 발견되었다⁵⁵. SCSGF는 유독 Sertoli세포에서만 분비되기 때문에 정자형성조절에 관여할 것으로 추정된다.

신경성장인자 (β -Nerve Growth Factor)

NGF는 교감신경원, 말초감각신경원 등 신경조직의 발달에 필요한 성장인자이다. 정모세포와 정자세포에서 β -NGF 유전자발현이 있고 NGF면역반응이 나타났다⁵⁷. NGF수용체는 쥐의 Sertoli세포에서 발견되고 androgen의 조절을 받는 것으로 밝혀졌다⁵⁸. 생식세포가 NGF를 생성하고 Sertoli세포에 NGF수용체가 있다는 것은 생식세포와 Sertoli세포 사이에 조절하는 상호작용이 있음을 암시한다. 그러나 NGF의 Sertoli세포에 대한 영향은 아직 확실히 밝혀지지 않았다.

기타 성장인자

Kancheva⁵⁹는 생후6-12일 되는 백서에서 열처리와 trypsin처리에 약한 mitogen을 발견했는데 이는 前期정조세포 (prespermatogonia)에 선택적으로 작용한다고 했다. 생후 5-6일되는 백서에 투입결과 germ cell의 세포분열이 자극되었다. 이를 mitosis inducing substance라 명명했다. Tung⁶⁰은 heparin 또는 heparin like-glycosaminoglycans이 Sertoli세포에서 분비되고 peritubular myoid cell의 성장에 영향을 준다고 발표했다. 그런데 heparin은 in vivo에서 myoid cell의 유지에 관여한다고 알려져 있다.

결 론

내분비 호르몬인 LH, FSH와 testosterone은 정상적인 정자생성에 필요하다는 것은 잘 알려져 있으나 정자생성을 조절하는데 성장인자가 paracrine, autocrine 방식으로 관여한다는 것은 최근에 밝혀졌다. 성장인자는 그 작용의 다양성때문에 그 생리적 기능을 근간으로 분류하기가 쉽지 않고 어느 것이 생식세포의 분화과정에 필수불가적인지에 대해선 아직 논란이 있다.

정자생성과정에서의 독특한 세포상호관계 (cell-cell interaction)를 이해하기 위해서는 고환에서 세포상호작용을 매개하는 paracrine, autocrine factor에 대한 세포학적 분자수준의 연구가 필요한데 이를 중개하는 인자를 정확히 분리추출하여 그 특성을 밝히고 작용하는 곳이 어느 부위인지를 규명하는 것이 필수적이다.

REFERENCES

1. Burgess WA: Growth factors: The beginnings, *Growth factors* 1; 1-6, 1988.
2. Underwood LE and Van Wyk JJ: Normal and aberrant growth. *Williams Textbook of Endocrinology* Saunder 8th ed.; 1079-1138, 1992.
3. Feig LA, Bellve AR, Horbach-Erickson N, Klagsbrun M: Sertoli cells contain a mitogenic polypeptide. *Proc Natl Acad Sci* 77: 4774-4778, 1980.
4. Verhoeven G, Gailleau J: A factor in spent media from Sertoli cell-enriched cultures that stimulates steroidogenesis in Leydig cells. *Mol Cell Endocrinol* 440: 57-68, 1985.
5. Skinner KM: Cell-cell interaction in the testis. *Endocrine reviews* 12: 1: 45-77, 1991.
6. Robinson R, Fritz IB: Myoinositol biosynthesis by Sertoli cells and levels of myoinositol biosynthesis enzymes in testis and epididymis. *Can J Biochem* 57: 962-967, 1979.
7. Orth JM, McGuinness MP: Neonatal gonocytes co-cultured with Sertoli cells on a laminin-containing matrix resume mitosis and elongate. *Endocrinol* 129: 1119-1121, 1991.
8. Rivarola MA, Sanchez P, Saez JM: Stimulation of ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid synthesis in spermatogenic cells by their coculture with Sertoli cells. *Endocrinol* 117: 1796, 1985.
9. Orth JM, Gunsalus GL, Lamperti AA: Evidence from Sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. *Endocrinol* 122(3); 787-794, 1988.
10. Khan S, Teerds K, Dorrington J: Growth factor requirements for DNA synthesis by Leydig cells from the immature rat. *Biol Reproduct* 46; 335-341, 1992.
11. Griswold MD: Protein secretions of Sertoli cells. *Int-Rev-Cytol* 110; 133-156, 1988.
12. Cohen S: Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *J Biol Chem* 237: 1555-1562, 1962.
13. Tsutsumi O, Kurachi H, Oka T: A physiological role of epidermal growth factor in male reproductive function. *Science* 233: 975-977, 1986.
14. Liu A, Flores C, Kinkead T, Carboni AA, Menon M, Seethalakshmi L: Effects of sialoadenectomy and epidermal growth factor on testicular function of sexually mature male mice. *J Urol* 152: 554-561, 1994.
15. Russel LD, Weis T, Goh JC, Curl JL, Liu AL: The effect of submandibular gland removal on testicular and epididymal parameters. *Tissue Cell* 22: 263, 1990.
16. Smith FF, Tres LL, Kierszanhaum AL: Ornithine decarboxylase activity during rat spermatogenesis in vivo and in vitro: selective effect of hormones and growth factors. *J Cell Physiol* 133: 2: 305-312, 1987.
17. Suarez Quian CA, Dai MZ, Onoda M, Kriss RM and Dym M: Epidermal growth factor receptor localization in the rat and monkey testes. *Biol Reprod* 41: 921, 1989.

18. Skinner MK, Takacs K, Coffey RJ: Transforming growth factor alpha gene expression and action in the seminiferous tubule: Peritubular cell-Sertoli cell interactions. *Endocrinol* 124: 845-854, 1989.
19. Stubbs SC, Hargreave TB, Habib FK: Localization and characterization of epidermal growth factor receptors on human testicular tissue by biochemical and immunohistochemical techniques. *J Endocrinol* 125: 485, 1990.
20. Nakazumi H, Sasano H, Maehara I, Orikasa S: Transforming growth factor-alpha, epidermal growth factor, and epidermal growth factor receptor in human testis obtained from biopsy and castration: immunohisto-chemical study. *Tohoku J Exp Med* 178(4): 381-388, 1996.
21. Morris PL, Vale WW, Cappel S, Bardin CW: Inhibin production by primary Sertoli cell-enriched cultures: regulation by follicle-stimulating hormone, androgens, and epidermal growth factor. *Endocrinol* 122; 2: 717-725, 1988.
22. Sordollet C, Chauvin MA, de Peretti, E Morera AM and Benahmed M: Epidermal growth factor stimulates steroidogenesis in primary cultures of porcine Leydig cells: actions and sites of action. *Endocrinol* 122: 717, 1988.
23. Smith EP, Svoboda ME, Van Wyk JJ, Kierszenbaum AL, Tres LL: Partial characterization of somatomedin-like peptide from the medium of cultured rat Sertoli cells. *Endocrinol* 120; 186-193, 1987.
24. Closset J, Gothot A, Sente B, Scippo ML, Igout A. Vandebroeck M, Dombrowicz D, Henin G: Pituitary hormones dependent expression on insulin like growth factor I and II in the immature hypophysectomized rat testis. *Mol Cell Endocrinol* 3: 1125-1131, 1989.
25. Hansson HA, Billig H, Isgaard J: Insulin like growth factor I in the developing and mature rat testis: Immunohistochemical aspects. *Biol Reprod* 40: 1321-1328, 1989.
26. Gelber SJ, Hardy MP, Mendis-Handagama SLMC, Casella SJ: Effects of Insulin-like growth factor-I on androgen production by highly purified pubertal and adult rat Leydig cell. *J Androl* 13; 2: 125-130, 1992.
27. Rappaport MS, Smith EP: Insulin-like growth factor I inhibits aromatization induced by follicle-stimulating hormone in rat sertoli cell culture. *Biol Reprod* 54(2): 446-452, 1966.
28. Sundell H, Serenius FS, Barthe P, et al: Effect of EGF on fetal lamb lung maturation. *Pediatr Res* 9: 371-376, 1975.
29. Fisher DA, Lakshmanan J: Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals. *Endocrine reviews* 11; 3: 418-442, 1990.
30. Skinner MK, Moses HL: Transforming growth factor beta gene expression and action in the seminiferous tubule: peritubular cell-Sertoli cell interactions. *Mol Endocrinol* 3; 4: 625-634, 1989.
31. Lin T, Blaisdell J, Haskell JF: Transforming growth factor- β inhibits Leydig cell steroidogenesis in primary culture. *Biochem Biophys Comm* 146; 2: 387-394, 1987.

32. Benahmed M, Cochet C, Keramidas M, Chauvin MA, Morera AM: Evidence for a FSH dependent secretion of a receptor reactive transforming growth factor beta-like material by immature Sertoli cells in primary culture. *Biochem Biophys Res Commun* 15; 154(3); 1222-1231, 1988.
33. Fradin S, Barbey P, Drosowsky MA: In vitro effects of growth factors on rat germ cell RNA synthesis and their modulation by Sertoli cell-secreted proteins. *Mol Reprod Dev* 1(2); 122-128, 1989.
34. Hirobe S, He WW, Lee MM and Donahoe PK: Mullerian inhibiting substance messenger ribonucleic acid expression in granulosa and Sertoli cells coincides with their mitotic activity. *Endocrinol* 131: 854, 1992.
35. Bicsak TA, Vale W, Vaughan J, et al: Hormonal regulation of inhibin production of cultured Sertoli cells. *Mol Cell Endocrinol* 49: 211-215, 1987.
36. van Dissel-Emiliani FMF, Grootenhuis AJ, de Jong FH, de Rooij DG: Imhabin reduces spermatogonial numbers in testes of adult mice and chinese hamster. *Endocrinol* 125: 4: 1898-1903, 1989.
37. Hsueh AJ, Dahl KD, Vaughan J, Tucker E, Rivier J, Bardin CW and Vale W: Heterodimers and homodimers of inhibin subunits have different paracrine action in the modulation of leuteinizing hormone-stimulated androgen biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 5082, 1987.
38. Mather JP, Attie MK, Woodruff TK, Rice GC, and Phillips DM: Activin stimulates spermatogonial proliferation in germ-Sertoli cell cocultures from immature rat testis. *Endocrinol* 127: 3206-3214, 1990.
39. Woodruff TK, Borree J, Attie KM, Cox ET, Rice GC and Mather JP: Stage specific binding of inhibin and activin to subpopulations of rat germ cells. *Endocrinol* 130: 871, 1992.
40. Bohlen P, Baird A, Esch F, et al.: Isolation and partial molecular characterization of pituitary fibroblast growth factor. *Proc. Natl Acad Sci* 81: 5364-5368, 1984.
41. Bellve AR, Feig LA: Cell proliferation in the mammalian testes: biology of the seminiferous growth factor. In recent prog. *Hormone Res.* Edited by R.O. Greep. New York Academic Press 40; 534-561, 1984.
42. Feig LA, Klabsbrun M and Bellve AR: Mitogenic polypeptide of the mammalian seminiferous epithelium: biochemical characterization and partial purification. *J Cell Biol* 97: 1435-1443, 1983.
43. Smith EP, Hall SH, Monaco L, French FS, Wilson EM, Conti M: A rat Sertoli cell factor similar to basic fibroblast growth factor increase c-fos messenger RNA in cultured Sertoli cells. *Mol Endocrinol* 3: 954-961, 1989.
44. Zheng WX, Butwell TJ, Heckert L, Griswold MD, Bellve AR: Pleiotypic actions of the seminiferous growth factor on two testicular celllines: comparisons with acidic and basic fibroblast growth factors. *Growth Factors* 3; 1: 73-82, 1990.

45. Braunhut SJ, Rufo GA, Ernisee BJ, Zheng WX, Bellve AR: The seminiferous growth factor induces proliferation of TM4 cells in serum free medium. *Biol Reprod* 42: 4: 639-648, 1990.
46. Story TM, Sasse J, Kakuska D, Jacob CS and Lawson KR: A growth factor in bovine and human testes structurally related to basic fibroblast growth factor. *J Urol* 140: 422-427, 1988.
47. Boockfer FR and Schwarz LK: Fibroblast growth factor modulates the release of transferrin from cultured Sertoli cells. *Mol Cell Endocrinol* 73: 187-194, 1990.
48. Mayerhofer A, Russel LD, Grothe C, Rudolf M and Gratzl M: Presence and localization of a 30 kDa basic fibroblast growth factor like protein in rodent testes. *Endocrinol* 129: 921, 1991.
49. Syed V, Soder O, Arver S, Lindh M, Khan S, Ritzen EM: Ontogeny and cellular origin of an interleukin-1-like factor in the reproductive tract of the male rat. *Int J Androl* 11: 5: 437-447, 1988.
50. March CJ, Mosley B, Larsen A, Pat Ceretti D, Braedt G, Price V, Gillis S, Henney CS, Kronheim SR, Grabstein K, Conlon PJ, Hopp PT and Cosman D: Cloning, sequence and expression of two distinct human interleukin-1 complementary DNAs. *Nature* 315: 641-647, 1985.
51. Pollanen P, Soder O, Parvinen M: Interleukin-1 α stimulation of spermatogonial proliferation in vivo. *Reprod Fertil Dev* 1: 85, 1989.
52. Parvinen M, Soder O, Mali P, Froyasa B and Ritzen EM: In vitro stimulation of stage-specific deoxyribonucleic acid synthesis in rat seminiferous tubule segments by interleukin-1 alpha. *Endocrinol* 129: 1614-1620, 1991.
53. Takao T, Mitchell WM, Tracey DE and De Souza EB: Identification of interleukin-1 receptors in mouse testis. *Endocrinol* 127: 251-258, 1990.
54. Holmes SD, Lipshultz LI, Smith RG: Rat Sertoli cells secrete a growth factor that blocks epidermal growth factor binding to its receptor. *J Biol Chem* 261: 4076-4080, 1986.
55. Buch JP, Lamb DJ, Lipshultz LI: Smith RG. Partial characterization of a unique growth factor secreted by human Sertoli cells. *Fertil Steril* 49(4); 658-665, 1988.
56. Lamb DJ, Spotts GS, Shubhada S and Baker KR: Partial characterization of a unique mitogenic activity secreted by rat Sertoli cells. *Mol Cell Endocrinol* 79; 1-12, 1991.
57. Ayer-LeLievre C, Olson L, Ebenda T, Hallbood F and Persson H: Nerve growth factor mRNA and protein in the testis and epididymis of mouse and rat. *Proc Natl Acad Sci* 85: 2628-2632, 1988.
58. Persson H, Ayer-LeLievse C, Soder O, Villar MJ, Metsis M, Loson L, Ritzen M and Hokfelt T: Expression of beta nerve growth factor receptor mRNA in Sertoli cells downregulated by testosterone. *Science* 247: 704-707, 1990.
59. Kancheva LS, Martiniva YS and Georgrev VD: Prepubertal rat Sertoli cell secrete a mitogenic factor(s) that stimulates germ and somatic cell proliferation. *Mol Cell Endocrinol* 5: 69: 121-127, 1992.

60. Tung PS, Fritz IB: Sertoli cells in culture secrete paracrine factor(s) that inhibit peritubular myoid cell proliferation: identification of heparinoids as likely candidates. *J Cell Physiol* 147: 470-478, 1991.