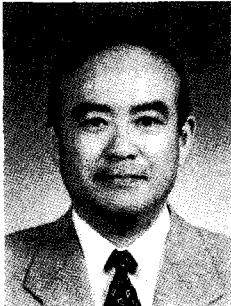


동물학논단

시상하부 GnRH 뉴런의 신경내분비학적 연구 (Neuroendocrine Study on Hypothalamic GnRH Neuron)



김 경 진

1975년 서울대 문리대 동물학과 (이학사)
 1979년 서울대 대학원 동물학과 (이학석사)
 1984년 미국 일리노이대 생리학 및 생물물리학과 (이학석사, 이학박사)
 1992~1993년 독일 괴팅겐 외대 (홀볼트 연구교수)
 1996~1997년 미국 윌리엄 보먼 병원 (객원교수)
 1994~1999년 서울대학교 실험동물사육장장
 현재 서울대학교 자연대 분자생물학과 교수
 (전공 : 발생 · 신경내분비학)

조세형 · 최영식 · 한진 · 이석원 · 박준희 · 성재영 · 김경진

(서울대 자연과학대학 분자생물학과 및 세포분화연구센터)

요 약

시상하부에 극히 적은 수로 존재하는 신경분비세포인 성선자극호르몬-방출호르몬(gonadotropin-releasing hormone; GnRH) 뉴런은 인간을 포함한 포유동물의 생식과 발생 과정에 있어 중요한 역할을 담당하고 있다. GnRH 뉴런은 배아 발생과정 중에 후관에서 유래하여 시상하부의 여러 영역으로 이동하며, 생후와 사춘기를 거치면서 분화를 계속한다. GnRH 뉴런에서 합성, 분비되는 10개의 아미노산으로 이루어진 작은 신경호르몬인 GnRH는 맥동적으로 분비되어 뇌하수체 성선자극 세포막에 존재하는 GnRH 수용체와 결합한 후 일련의 신호전달과정을 거쳐 성선자극호르몬의 합성과 분비를 제어하게 된다. GnRH의 합성과 분비는 글루탐산, 노르에피네프린, GABA와 같은 각종 신경입력과 스테로이드 호르몬에 의한 액성 피드백 신호에 의해 조절되나 이들의 GnRH

유전자 발현에 미치는 영향은 최근에 연구되고 있는 실정이다. GnRH 뉴런의 분화와 발생에는 다양한 신경영양인자들이 영향을 미치나 그 분자생물학적 기작은 아직 밝혀져 있지 않다. 본 논문에서는 신경호르몬인 GnRH와 그 수용체에 관하여 최근 연구성과를 중심으로 살펴보고자 한다.

1. 서 론

성선자극호르몬-방출호르몬 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH)은 10개의 아미노산으로 이루어진 작은 신경호르몬 (neurohormone)으로서 시상하부의 여러 영역에 흩어져 존재하는 뉴런에서 합성된다. 합성된 GnRH는 뇌하수체로 연결된 문맥계 (portal vessels)로 맥동적으로 분비되며, 뇌하수체에 존재하는 성선자극세포 (gonadotrope)를 자극하여 황체형성호르몬 (luteinizing hormone, LH)이나 여포자극호르몬 (follicle-stimulating hormone, FSH)과 같은 성선자극호르몬의 합성과 분비를 제어한다. 뇌하수체에서 분비된 LH나 FSH는 체순환계를 따라 이동하여 암컷의 난소나 수컷의 정소와 같은 성선을 자극하여 에스트로젠 (estrogen), 프로제스테론 (progesterone), 테스토스테론 (testosterone)과 같은 성스테로이드 (sex steroid)나 액티빈 (activin), 인히빈 (inhibin)과 같은 펩티드호르몬의 합성과 분비를 조절하게 된다. 한편, 분비된 LH/FSH나 스테로이드 호르몬 등은 뇌로 피드백하여 GnRH 뉴런의 활성을 제어하는데, 이를 통하여 시상하부-뇌하수체-생식소를 잇는 생식내분비축이 완결된다. 이러한 생식내분비축에서 GnRH는 상위 단계에서 오는 각종 신경입력과 표적조직에서 피드백되는 호르몬에 의한 액성 입력을 통합하는 기능을 하고 있으며, 따라서 인간을 포함한 포유동물의 발생과 생식을 관장하는 최상위 단계의 조절자라 할 수 있겠다.

1950년대 중반 영국 옥스포드 대학의 제프리

W. 해리스 (Geoffrey W. Harris) 교수는 시상하부에서 어떤 신경액성인자 (neurohumoral factor)가 분비되고, 이 액성인자가 뇌하수체에서 분비되는 호르몬의 분비를 제어함으로써 생식기능이 조절된다는 획기적인 가설을 제안하였다 (Harris, 1955). 이로부터 시상하부의 추출물에서 성선자극호르몬의 분비를 촉진하는 신경액성인자를 동정해 내고자 하는 세기적인 경주가 여러 연구그룹에 의해 경쟁적으로 시작되었고, 마침내 1970년대 초, 로저 질레민 (Roger Guillemin)과 앤드류 샬리 (Andrew Schally) 그룹에 의하여 독립적으로 성선자극호르몬의 분비를 촉진하는 GnRH의 일차구조가 동정되었다 (Matsuo et al., 1971; Burgus et al., 1972). 이어서, GnRH가 LH의 분비와 때를 맞추어 시상하부와 뇌하수체를 잇는 문맥계 (hypothalamo-hypophyseal portal vessels)로 방출된다는 것이 입증되었다 (Sarkar et al., 1976). 1980년대 중반에는 GnRH 코딩서열에 대한 올리고뉴클레오티드 탐침을 이용하여 인간 게놈 라이브러리에서 GnRH 유전자가 최초로 클로닝되었다 (Seeburg and Adelman, 1984). GnRH 유전자의 발견으로 GnRH 유전자가 포유류의 생식에 얼마나 중요한지 다시 한 번 입증되었는데, 성기능부전의 (*hypogonadal*, *hpg*) 생쥐에 정상적인 GnRH 유전자를 도입하여 형질전환을 시키면 *hpg* 생쥐의 생식능력이 회복된다는 것을 확인한 것이다 (Mason et al., 1986a; 1986b). 이으로써, 시상하부에서 합성, 분비되는 GnRH가 포유류의 생식과 발생을 제어하는 최상위 단계의 신경조절자임이 확립되었다.

GnRH 뉴런은 그 수가 매우 적을 뿐만 아니라 뉴런들이 한 곳에 신경핵을 이루어 집중되어 있지 않고 산만하게 흩어져 존재함에도 불구하고, 합성된 GnRH 펩티드는 맥동적이면서도 동기화된 방식으로 문맥계로 분비되어 뇌하수체에서 LH나 FSH와 같은 성선자극호르몬의 합성과 분비를 제어한다. 이때 GnRH의 작용은 뇌하수체의 성선자극세포 (gonadotrope) 막에 존재하는 특이적인 GnRH 수용체에 결합함으로써 촉발되는데, GnRH 수용체를 특성화하는 작업은 뇌하수체에 존재하는 수용체의 수가 극히 적다는 문제로 인하여 많은 어려움을 겪어왔다. 그러나, 멜론 (P. Mellon) 박사과 그 동료들에 의하여 성선자극세포주인 α T3-1이

확립되면서 (Windle et al., 1990), 마침내 GnRH 수용체도 클로닝될 수 있었다 (Tsutsumi et al., 1992). α T3-1 세포주는 1.8 kb의 당단백질 호르몬 α 소단위 유전자의 프로모터에 SV40 T 항원의 구조 유전자를 융합한 유전자를 이용하여 만들어진 형질전환 생쥐에서 확립된 세포주이다. 마찬가지로 방법으로, 멜론 박사팀은 2.3 kb의 흰쥐 GnRH 유전자 프로모터 부위를 SV40 T 항원의 구조유전자에 융합한 유전자를 만들고, 이를 이용하여 형질전환생쥐를 만들었다. 이때 형질전환된 생쥐에서 시상하부의 종양이 나타났으며, 이 종양에서부터 GnRH 뉴런의 세포주인 GT1을 얻게 되었다 (Mellon et al., 1990). α T3-1이나 GT1과 같은 체외배양이 가능한 세포주들이 가능해지면서, GnRH와 그 수용체에 대한 이해가 크게 증대되었다.

최근에는 흰쥐, 생쥐, 인간과 연어에서 GnRH 유전자의 프로모터 서열이 동정되면서 GnRH 유전자 발현의 전사적 조절에 대한 연구가 한창 진행되고 있다. 본 논문에서는 인간을 포함한 포유동물의 생식과 발생을 제어하는 중추적인 신경호르몬인 GnRH에 대해 최근 연구 성과를 중심으로 살펴보고자 한다 (Cho and Kim, 1997; Kim et al., 1997).

2. GnRH의 신경해부학

2.1. 시상하부에서의 분포

GnRH는 시신경전역 (preoptic area, POA)이나 전측시상하부 (anterior hypothalamus, AH)에 존재하는 뉴런에서 합성되는데, 이 뉴런의 말단은 대부분 정중용기 (median eminence, ME)로 뻗어 있다. 이 말단에서 분비된 GnRH는 시상하부와 뇌하수체를 잇는 미세문맥계를 타고 뇌하수체로 전달된다. GnRH 뉴런은 다른 뉴런과는 달리 뇌의 특정 부위에 모여 신경핵을 이루지 않고, 흩어진 상태의 느슨한 연결 구조를 가지고 있다 (Silverman et al., 1994). 대부분의 종에서 GnRH 뉴런은 종뇌 (telencephalon)에 위치한 Broca 대각대 (diagonal band of Broca)와 배측중격영역 (dorsal septal area)에서부터 분계조 (stria terminalis)의 기저핵과 간뇌 (diencephalon)의 여러 영역에 이르기까지 폭넓게

분포한다 (Shivers et al., 1986). GnRH 뉴런의 축삭 말단은 상대적으로 널리 뻗어 있는데, 최종적으로 신경수초(stria medullaris)나 정중소뇌편도 (medial amygdala)에 이르기도 하지만 (Leonardelli and Poulain, 1977; Jennes, 1987), 가장 중요한 중격-시신경전역-누두체 경로 (septo-preoptico-infundibular pathway)는 정중유기로 뻗고 있으며, 이 경로가 바로 뇌하수체에서 성선자극호르몬의 합성과 분비를 제어하는 경로가 된다 (Barry, 1979; Silverman et al., 1994).

2.2. GnRH 뉴런의 발생과정

GnRH 뉴런은 발생과정 중 후관(olfactory placode)에서 유래한다 (Schwanzel-Fukuda and Pfaff, 1987; Schwanzel-Fukuda et al., 1992; Wray et al., 1989). 흰쥐의 초기 배아 발생과정에서 GnRH 뉴런은 배아 발생 15일째부터 후각상피(olfactory epithelium)에서부터 코쪽의 전뇌 부위로 이동한다. 이러한 이동기간에 GnRH 뉴런 중의 일부가 여러 개의 작은 신경절(ganglion)을 형성하게 되는데, 이 신경절은 평생 동안 지속되며, 후구의 정중면을 따라 존재한다. GnRH 뉴런이 전뇌로 진입하는 경로도 다양한데, 최초로 GnRH 뉴런이 전뇌에 나타나는 것은 대략 배아 발생 16일째에 해당한다 (Schwanzel-Fukuda et al., 1987). 그후 2~4일 동안 GnRH 뉴런은 이동을 계속하여 정중격-대각대 (medial septum-diagonal band), 정중부 시신경전역과 시신경교차 상부의 시상하부 영역으로 이동하게 된다. 대부분의 GnRH 뉴런은 태어나기 직전까지는 최종 목적지에 도달한다. 그러나 이 시기에는 그 축삭이 매우 짧고, 생후 2~3주간에 걸쳐 발생을 지속한다. 성숙한 흰쥐에서 GnRH 뉴런이 가장 많이 존재하는 곳이 종관맥락 (organum vasculosum of the lamina terminalis, OVLT)으로서, 이 부위에서 GnRH 뉴런은 V자를 거꾸로 세워 놓은 모양으로 배열되어 있다. 이러한 패턴은 대각대를 따라 정중격에까지 이어져 있다. 특기할 만한 것은 흰쥐에서는 중저 시상하부 부위에는 GnRH 뉴런의 세포체가 없다는 것이다.

GnRH 뉴런의 이동과정이 올바르게 진행되지 않으면 정상적인 생식 기능을 갖지 못하게 된다.

1943년 칼만과 그의 동료들은 현재는 칼만증후군 (Kallmann syndrome)이라 명명된 질환을 보고한 바 있는데, 이것은 여성과 남성에서 생식기능저하증 (hypogonadism)과 무후각증 (anosmia)이 함께 일어나는 현상이었다. 후각과 생식기의 형성부전 (dysplasia)이 함께 일어나는 이 병리학적 현상의 신경해부학적 결함은 바로 GnRH 뉴런의 비정상적인 이동에 기인하는 것이다. 1971년 GnRH가 동정되면서 칼만증후군의 원인은 GnRH에 기인하는 것임이 밝혀지게 되었으며, GnRH를 환자에 맥동적으로 주사하면 성선자극호르몬의 정상적인 분비를 유도할 수 있음이 알려졌다.

최근 들어, 칼만증후군의 그 유전적 기초가 분자수준에서 규명되었다 (Schwanzel-Fukuda et al., 1989; Radovick et al., 1991b; Lutz et al., 1993; Legouis et al., 1994; Quinton et al., 1996; 1997). 반성유전되는 칼만증후군 태아에서는 GnRH 뉴런의 이동과 후각을 담당하는 뉴런의 축삭 발생이 잘못되어 있다 (Legouis et al., 1994; Quinton et al., 1996). 가족성 칼만증후군 환자의 가계를 조사한 연구를 통하여 X 염색체의 말단 부위 일부가 결손되어 있음을 알게 되었는데 (Hardelin et al., 1993), 이때 결손되는 KAL 유전자를 동정하여 특성화하게 되었다. KAL 단백질은 680개의 아미노산으로 이루어진 분비성 단백질로서 단백질분해 효소 억제 도메인과 피브로넥틴 (fibronectin) III 형의 반복서열을 가지고 있는 특이한 단백질이다. KAL 단백질은 약 100 kDa 크기의 막에 존재하는 당단백질로서, 막 위에서 단백질 분해효소에 의해 잘려 45 kDa에 달하는 확산가능한 물질을 방출하게 된다 (Rugarli et al., 1996). 이러한 사실은 KAL 단백질이 확산되는 화학유인물질 (chemoattractant)로서 작용하여 GnRH 뉴런의 이동을 관장하고 있는 것이 아닌가 추측하게 한다 (Franco et al., 1991). 그러나, KAL 유전자가 신경세포의 상호작용이나 이동 혹은 신경돌기 성장에 어떠한 영향을 미치는가에 대해서는 더 많은 연구가 수행되어야 할 것이다.

일단 뇌로 이동하고 나면 GnRH 뉴런의 신경회로는 개체가 태어난 후와 사춘기를 겪으면서 변화를 겪는다. 이때 대표적인 변화가 GnRH 뉴런의 형태학적 변화로서, GnRH 뉴런이 부드러운

모양에서 뾰족한 가시형의 모양으로 변한다(Wray and Hoffman, 1986). 이러한 형태적 변화가 어떤 생리적 중요성을 갖는가는 아직 확실하지 않지만, 아마도 가시형의 GnRH 뉴런은 보다 많은 신경 말단과 시냅스를 이루고 있기 때문인 것으로 생각된다. 최근 연구에 의하면 GABA는 사춘기 이전에는 GnRH 뉴런을 흥분시키는 신경입력으로 작용하지만 사춘기가 지나고 나면 억제적 신경입력으로 작용한다는 것이 밝혀져 주목되고 있다(Mitsushima et al., 1994; Moguilevsky et al., 1991). 본 연구실과 다른 연구자들의 연구결과에 의하면 GnRH 뉴런에 PKC의 활성화제인 TPA를 처리하면 신경돌기가 자라고 GABA에 대한 GnRH 뉴런의 반응성이 역전되는 것을 알 수 있었는데(Ochoa et al., 1997; Kim, 1997), 이러한 사실은 성적 성숙과 사춘기의 개시가 바로 GnRH 뉴런의 GABA에 대한 반응성이 바뀌기 때문이라는 가설을 지지하고 있다(Felder et al., 1996).

2.3. 시상하부 이외 부위에서의 분포

GnRH나 GnRH의 mRNA는 시상하부에서만 발견되는 것이 아니다. 최근 연구에 의하면, GnRH는 성선과 생식도관(van Minne, 1988; Chieffi et al., 1991; Goubau et al., 1992)뿐 아니라, 후구(olfactory bulb)(Schwanzel-Fukuda et al., 1987), 후각 능형피질(olfactory pyriform cortex)(Choi et al., 1994), 면역세포(Azad et al., 1991) 및 전립선(Azad et al., 1993)에서도 발견된다. 이렇게 시상하부 이외의 부위에서 발견되는 GnRH가 어떠한 기능을 수행하는지는 잘 알려져 있지 않지만, 아마도 이들 조직 내에서 국부적인 조절에 관여하고 있을 것으로 생각된다.

3. GnRH 유전자

3.1. GnRH 유전자의 구조

GnRH의 아미노산 구조가 동정되면서, GnRH 생합성 과정의 선구체를 찾고자 하는 시도가 있었으나 번번이 실패하고 말았는데, 이는 잘못된 방법론에 기인한 것이었다. 그러나 재조합 DNA

기술의 발달과 더불어 GnRH의 유전자도 클로닝 될 수 있었다(Seeburg et al., 1987). 클로닝된 GnRH 유전자의 염기서열을 통하여 GnRH 단백질의 구조와 공정과정에 대해서도 유추해 낼 수 있게 되었다. 더구나, GnRH 유전자의 구조가 밝혀지면서 생식불능의 *hpg* 생쥐를 유전자치료를 통해 생식기능을 회복하게 하는데 성공함으로써 GnRH가 생식과정에서 갖는 중요성을 다시 한 번 입증하는 계기가 되기도 하였다(Mason et al., 1986a; 1986b).

GnRH 유전자는 인간의 게놈 라이브러리에서 최초로 클로닝되었는데, 이때 GnRH를 코딩하는 부위에 대한 올리고뉴클레오티드를 탐침으로하여 찾게 된 것이다. 한편 GnRH의 cDNA도 인간 태반의 cDNA 라이브러리를 스크리닝하여 찾을 수 있었다(Seeburg and Adelman, 1984). 이어서 인간(Adelman et al., 1986; Radovick et al., 1990), 생쥐(Mason et al., 1986a), 흰쥐(Adelman et al., 1986; Bond et al., 1989)에서 GnRH 유전자가 클로닝되었다. GnRH 유전자는 네 개의 엑손과 세 개의 인트론으로 이루어진다. 첫 번째 엑손은 5'-미번역영역(untranslated region, UTR)에 해당하며, 두 번째 엑손은 신호펩티드(signal peptide), GnRH와 GnRH-associated peptide(GAP)의 N-말단쪽 11개의 아미노산을 코딩하고 있다. 세 번째 엑손은 GAP의 12-43까지의 아미노산을 코딩하며, 네 번째 엑손은 GAP의 C-말단쪽 13개의 아미노산과 3'-미번역영역(3'-UTR)을 코딩하고 있다. 본 연구실의 최근의 연구 성과에 의하면 GnRH 유전자의 일차 전사체(primary transcript)로부터 성숙한 GnRH의 mRNA로의 공정이 되는 스플라이싱(splicing) 과정은 GnRH 뉴런에서 특이적으로 나타남을 알게 되었다. 즉, 두 번째 및 세 번째 인트론과는 달리 첫 번째 인트론은 GnRH 뉴런에서만 선별적으로 스플라이싱이 일어나며, 이 과정에는 GnRH 뉴런에 특이적인 스플라이싱 인자가 존재할 것으로 사료되며, 세 번째 및 네 번째 엑손에 존재하는 스플라이싱 인핸서(exonic splicing enhancer; ESE)가 이에 중요한 역할을 매개할 것으로 생각된다(Seong et al., 1999).

3.2. GnRH 선구체의 공정

GnRH mRNA의 서열이 밝혀지면서 GnRH 선구체의 완전한 구조도 알 수 있게 되었다. GnRH 선구체는 신호펩티드, 10개의 아미노산으로 이루어진 GnRH 및 56개의 아미노산으로 이루어진 GAP의 세 가지 펩티드가 연결된 구조이다. 생물학적인 활성을 갖는 GnRH는 연구된 모든 종에서 N-말단과 C-말단이 모두 변형된 상태로 존재하게 되는데, 그 과정은 다음과 같다. 먼저 신호펩티드가 잘려나가면 GnRH의 N-말단쪽의 글루타민(Gln)잔기가 노출된다. 이 글루타민은 자발적인 원형화 반응이 일어나 피로글루타민(pyro-Gln)이 된다. 다음에는 C-말단쪽의 12와 13번째 아미노산에 해당하는 리신-아르기닌(Lys-Arg) 잔기가 잘려나간다. 다음, 11번째 아미노산인 글리신(Gly)에 존재하는 아미드(NH₂-) 잔기를 공여자로 해서 10번째 아미노산인 글리신이 글리신아מיד(Gly-NH₂)로 변형된다(즉, Gly-Gly에서 Gly-NH₂로 변형된다). 이렇게 되면 성숙한 10개의 아미노산으로 이루어진 GnRH가 완성되는 것이다.

한편 선구체의 공정과정에서 GAP이 만들어진 다. GnRH 선구체의 C-말단쪽에 존재하는 56개의 아미노산으로 이루어진 GAP은 인간, 생쥐 및 흰쥐에서 대략 85% 정도 보존되어 있다(Adelman et al., 1986; Mason et al., 1986a; Seeburg et al., 1987). GAP은 27번째 아미노산이 시스테인(Cys)으로서 GAP이 리보솜에서 합성된 다음에 이합체(dimer)가 될 것임을 시사한다. GAP의 정확한 기능은 아직 잘 알려져 있지 않으나 흰쥐의 뇌하수체 전엽세포를 이용한 연구에서 프로락틴의 분비를 강력히 막는 것으로 알려져 있으며(Nikolics et al., 1985), 최근의 연구에서는 이러한 프로락틴 분비 억제제의 기능이 펩티드 내부에 존재하는 HLH(helix-loop-helix) 구조에 의한 것으로 보고되었다(Chavali et al., 1997).

3.3. GnRH 유전자의 진화

여기에서 GnRH와 그 수용체의 진화학적 측면에 대해 잠깐 살펴보자(King and Millar, 1995; Lovejoy, 1996). 진화의 과정에서 GnRH 유전자는 유전자 중복(duplication)이 일어나고 구조적인 변

화가 생긴 것으로 생각되며, 다양한 형태의 아형태(isoform)가 알려지고 있다. 이제까지 다양한 GnRH의 변형체가 알려져 있는데, 연구된 척추동물의 모든 종에서 적어도 두 가지 종류의 GnRH가 발견된다. 즉, 하나의 고유한 GnRH 형태와 닭에서 처음 발견된 형태의 GnRH인 GnRH II(chicken GnRH II; cGnRHII)가 그것이다. 최근에는 인간에서도 두 번째 GnRH 유전자(human GnRH II; hGnRHII)가 발견되었는데(White et al., 1998), hGnRHII가 인간에서 어떤 기능을 하고 있는지는 앞으로 연구되어야 할 과제이다. 현재까지 알려진 GnRH의 펩티드 서열 중에서 1, 2, 4, 9, 10번째 아미노산은 불변이고, 5~8번째 아미노산은 변이가 심하다.

4. GnRH 합성과 분비의 조절

GnRH의 합성과 분비를 제어하는 다양한 인자들이 이미 밝혀져 있는데, 여기에는 (1) 글루탐산(gluatamate), 노르에피네프린(norepinephrine), 도파민(dopamine), 세로토닌(serotonin), γ -아미노부티르산(γ -aminobutyric acid, GABA), 일산화질소(nitric oxide, NO)와 같은 신경전달물질, (2) 뉴로펩티드 Y, 오피오이드(opioids), CRH, 엔지오텐신 II 등과 같은 펩티드, (3) 에스트로젠, 프로게스테론, 테스토스테론, 글루코코르티코이드 등과 같은 스테로이드 호르몬 및 (4) 형질전환성장인자(transforming growth factor α , TGF α), TGF β , 인슐린유사성장인자(insulin-like growth factor 1, IGF1), IGF2, 섬유아세포성장인자(fibroblast growth factor, FGF) 등과 같은 신경영양인자(neurotropic factor)들이 여기에 속한다. 이들 인자중에는 GnRH 뉴런에 직접적으로 작용하지 않고, 인터뉴런과 같은 곳에 작용하여 간접적으로 GnRH의 분비를 제어하는 것도 있다. 간접적인 작용의 경우는 GnRH 뉴런 내에 그 인자에 대한 수용체가 없다는 사실로도 시사되는 것이다. 그러나, GnRH 뉴런 내에 그 인자에 대한 수용체가 있다고 하더라도 간접적인 작용의 가능성을 완전히 무시할 수는 없다.

4.1. 신경전달물질에 의한 조절

다양한 신경전달물질이 GnRH의 맥동적 분비 (Ramirez et al., 1980b; Baraclough and Wise, 1982; Kalra and Kalra, 1983; Ramirez et al., 1984)와 GnRH 유전자 발현을 제어한다 (Stojilkovic et al., 1994a; Gore and Roberts, 1997; Kim et al., 1997). 대표적으로 카테콜아민류, 흥분성 아미노산인 글루탐산, 억제성 아미노산 유도체인 GABA 및 갈라닌 (galanin) 등이 여기에 속한다.

4.1.1. 카테콜아민류

아드레날린성 신경입력이 배란의 과정을 매개한다는 최초의 증거는 1947년으로 거슬러 올라가는데 (Sawyer et al., 1947), 이로부터 수십 년 간 카테콜아민류가 GnRH의 분비와 유전자 발현을 조절한다는 증거가 누적되어 왔다 (Gore and Roberts, 1997; Kim et al., 1997). 예를 들어, 노르에피네프린의 합성을 막거나 (Negro-Vilar et al., 1982), 북부쪽의 노르아드레날린 신경다발을 파괴하여 (Kawakami and Ando, 1981) 아드레날린성 신경입력을 억제하면, 난소절제된 쥐에서 LH의 맥동적인 분비가 억제된다. 카테콜아민성 신경입력은 배란 전 LH의 급격한 분비 (surge)를 만드는데 중요할 뿐만 아니라 (Rance et al., 1981; Wise et al., 1981), 사춘기의 개시를 앞당기는 데에도 중요하다 (Gore and Terasawa, 1991). GnRH의 분비를 촉진하는 노르에피네프린 (노르아드레날린이라고도 함)의 기능은 시상하부에 존재하는 α -아드레날린 수용체 (α -adrenergic receptor)에 의해 매개되는 것으로 생각되는데, 이 수용체는 아데닐산 사이클라아제 (adenylate cyclase)에 연결되어 있다 (Drouva et al., 1982; Estes et al., 1982; Ojeda et al., 1979). 그러나 생쥐에서 유래한 GT1 세포주를 이용한 최근의 연구에서는 β -아드레날린 수용체가 그 기능을 하는 것으로 조사되어 혼동을 주고 있다 (Findell et al., 1993; Weiner et al., 1992). 이러한 차이는 흰쥐와 생쥐 사이의 종간 차이일 수도 있으나, 체외배양된 세포주가 갖는 결합일 가능성도 있어 주의를 요한다.

최근의 연구결과에 의하면 카테콜아민류는 GnRH의 분비를 촉진할 뿐만 아니라 GnRH의 유

전자 발현에도 관여하는 것으로 생각되고 있다. 수컷 흰쥐에 카테콜아민성 신경세포의 신경독 (neurotoxin)인 6-하이드록시도파민 (6-hydroxydopamine)을 투여하면 GnRH mRNA의 수준이 감소하는데, 이러한 감소 효과는 노르에피네프린을 투여하면 회복된다 (Kim et al., 1993b). 한편, 뇌의 노르에피네프린을 선택적으로 감소시키는 약물인 5-ADMP를 뇌실내로 주입하면 GnRH mRNA의 수준이 크게 감소하는 것을 알 수 있다 (Kim et al., 1993a). 노르에피네프린성 신경입력은 스테로이드에 의한 GnRH 유전자 발현의 증가를 매개하는 것으로 생각되는데, 왜냐하면, 도파민 β -하이드록실라아제 (dopamine β -hydroxylase)의 억제제인 DDC를 처리하여 노르에피네프린의 합성을 막으면 GnRH의 분비가 억제될 뿐만 아니라 프로세스 테론에 의해 유도되는 GnRH mRNA의 증가현상이 사라지기 때문이다 (Kim et al., 1994).

주목할만한 것은 카테콜아민 신경세포가 에스트로젠 수용체를 갖는 동시에 GnRH 뉴런과 시냅스를 이루고 있다는 사실이다 (Heritage et al., 1977; Sar, 1984; Chen et al., 1989). 시상하부의 GnRH 뉴런에는 에스트로젠의 수용체가 없다는 사실을 생각해볼 때, GnRH 뉴런에 대한 에스트로젠의 작용은 카테콜아민 뉴런을 경유할 가능성을 시사하는 것이다. 또한, GnRH 뉴런의 세포주인 GT1에서는 $\alpha 2$ - 및 β -아드레날린 수용체가 존재하고 있어 (Findell et al., 1993; Weiner et al., 1992), 카테콜아민은 GnRH 뉴런에 직접 영향을 주는 것으로 생각된다.

4.1.2. 흥분성아미노산: 글루탐산

대표적인 흥분성 아미노산 (excitatory amino acids; EAA)인 글루탐산 (glutamate)이 GnRH와 LH의 분비에 중요한 역할을 한다는 사실은 잘 알려져 있다 (Bourguignon et al., 1989; Grattan et al., 1995; Brann and Mahesh, 1994; Gore and Roberts, 1997; Kim et al., 1997). 게다가, 글루탐산은 사춘기의 개시에도 중요한 역할을 하는 것으로 생각되는데, 글루탐산 수용체의 항진제인 N-메틸-D-아스파르트산 (N-methyl-D-aspartate; NMDA)을 정맥에 맥동적으로 주사하면 생식계가 조기에 성숙하기 때문이다 (Plant et al., 1989; Urbansky and Ojeda, 1987).

이때 NMDA의 일차적인 작용 부위는 시상하부인 것으로 생각되는데, 왜냐하면 NMDA는 뇌하수체 수준에서는 LH의 분비에 아무런 효과도 미치지 못하기 때문이다(Ondo et al., 1988). 더구나, GnRH의 길항제를 함께 투여하면, NMDA에 의한 LH 분비가 억제된다(Cicero et al., 1988). 더구나 GT1 세포에서는 NMDA 수용체가 존재함이 밝혀져(Mahachoklertwattana et al., 1994), NMDA는 GnRH 뉴런에 직접 영향을 미치는 것으로 생각된다.

글루탐산 신경입력이 GnRH 유전자 발현에 관여한다는 많은 증거가 이미 누적되어 있다. 수컷 흰쥐에 NMDA를 투여하면 15분 이내에 GnRH mRNA가 빠른 속도로 증가하는 것을 알 수 있다(Petersen et al., 1991). 더구나, NMDA 수용체의 비경쟁적 길항제인 MK-801은 프로세스테론에 의한 GnRH 유전자 발현의 증가를 막는다(Seong et al., 1993). LH 분비의 경우에는 카인산(kainic acid) 처리에 의해 LH의 분비가 영향을 받는다는 보고가 있기는 하지만(Price et al., 1978), NMDA 이외의 다른 글루탐산 수용체 타입은 GnRH 유전자 발현과는 거의 관련되지 않는 것으로 생각된다. 왜냐하면, CNQX와 같은 NMDA 이외의 글루탐산 수용체에 대한 항진제는 흰쥐 시상하부나(Seong et al., 1993) GT1-1 세포주(Jung et al., 1998)에서 모두 GnRH 유전자 발현에 아무런 영향을 미치지 않기 때문이다.

최근, GT1 세포주를 이용하여 NMDA 수용체를 통한 신호전달의 경로가 연구되었다(Spergel et al., 1994; Belsham et al., 1996; Jung et al., 1998). NMDA 수용체에 NMDA가 결합하면 시냅스후 뉴런이 탈분극(depolarization)되며, 전압에 의해 열리는 칼슘채널이 열린다. 이렇게 하여 세포내 Ca^{2+} 의 수준이 증가하면 칼슘의존성 단백질 키나아제의 활성화를 비롯한 다양한 세포내 반응의 연쇄반응이 일어나게 된다(Spergel et al., 1994). 또 다른 기작으로는 NMDA 수용체를 통한 신호는 확산성 신호전달자인 일산화질소(nitric oxide, NO; Bredt and Snyder, 1992)의 수준을 높여 작용한다는 보고도 있다(Belsham et al., 1996; Jung et al., 1998). NO가 증가하면 이것이 즉각반응유전자(immediate early gene)인 *c-fos*나 *c-jun*과 같은 유전자의 발현을 유도한다. 이러한 전사인자의 발현

이 GnRH 유전자 프로모터의 기부쪽에 존재하는 DNA 요소를 통해 GnRH 유전자 발현을 전사 수준에서 조절한다는 것이다(Belsham et al., 1996; Jung et al., 1998). 본 연구팀은 NMDA가 낮은 농도(100 μ M)에서는 GnRH의 mRNA 수준과 프로모터 활성을 증가시키는 한편 *c-jun*의 발현을 유도하지만, 높은 농도(1 mM 이상)에서는 GnRH mRNA나 프로모터 활성에 대한 효과가 사라지는 한편 *c-fos*와 *c-jun*의 발현을 동시에 유도하는 현상을 관찰하였다. 본 연구팀은 Fos나 Jun을 과발현시키는 연구를 통하여 NMDA의 농도에 따른 차등적인 효과가 Fos와 Jun의 선택적 발현에 의해 매개된다는 것을 입증하였다(Fig. 1). GT1 세포주와는 달리 흰쥐 시상하부에서는 NMDA에 의해 매우 짧은 시간 이내에(15분~1시간) GnRH mRNA 수준이 증가하는데, 이러한 증가는 전사에 의한 것이 아니라 전사후 공정과정에서의 조절에 의한 것으로 보인다(Gore and Roberts, 1994).

글루탐산과 카테콜아민 시스템은 서로 교신(cross-talk)하는 것으로 생각된다. 실제로 NMDA는 청반(locus ceruleus)에 존재하는 노르에피네프린 뉴런을 활성화하는데, 이 뉴런은 시상하부로 뻗어 있으며, 시상하부 절편에 NMDA를 처리하면 노르에피네프린의 분비가 촉진된다(Saitoh et al., 1991). 더구나, $\alpha 1$ 이나 β -아드레날린 수용체를 막으면 NMDA에 의한 GnRH 유전자 발현의 증가가 감소한다(Suh et al., 1994). 따라서, 체외 배양중인 GT1 세포에서는 NMDA가 직접적으로 작용한다는 것이 확실하다고 하더라도 실제 생체 내에서는 NMDA가 카테콜아민성 신경입력을 통해 간접적으로 GnRH 유전자 발현을 조절할 가능성이 있다.

4.1.3. 감마-아미노부티르산 (GABA)

감마-아미노부티르산(GABA)은 GnRH와 LH의 분비에 억제적인 효과를 미치며(Fuchs et al., 1984; Lamberts et al., 1983; Mitsushima et al., 1994), 배란 전 LH의 급격한 분비를 막는 효과가 있다(Herbison and Dyer, 1991). 시신경전역(POA)에서 분비되는 GABA를 측정해보면 GABA의 양은 혈중 LH의 수준과 반비례의 관계에 있음을 알 수 있다(Jarry et al., 1988; 1992). 더구나, GABA 뉴

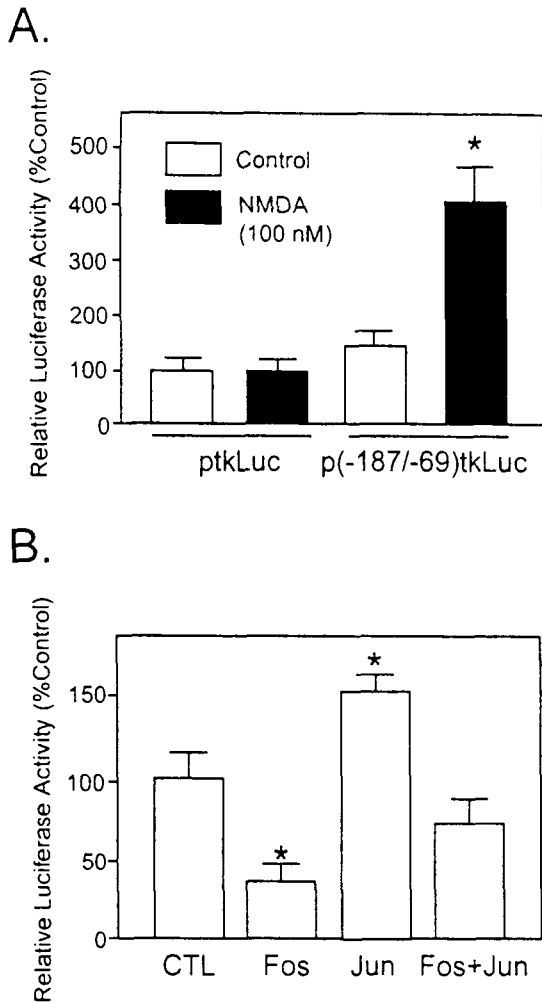


Fig. 1. NMDA에 의한 GnRH 유전자 발현의 농도 의존적인 효과는 Fos와 Jun의 차등적 발현 유도에 의해 매개된다. (A) 생쥐 GnRH 프로모터의 -187/-69의 부위를 tk 프로모터에 의해 유도되는 루시페라아제 벡터에 융합시킨 유전자(p(-189/-69) tkLuc)와 대조군 벡터(ptkLuc)를 GT1세포에 도입한 다음 NMDA를 처리하여 루시페라아제 활성을 측정된 결과이다. (B) GT1 세포주에 Fos나 Jun 혹은 Fos/Jun 모두를 과발현시켰을 때 GnRH 프로모터 활성의 변화를 측정된 결과이다 (Jung et al., 1998).

은 에스트로젠 수용체를 포함하고 있고 (Flugge et al., 1986), 에스트로젠에 의해 유도되는 LH의

급격한 분비의 과정 중에는 POA로부터 분비되는 GABA의 양이 줄어드는 것이 관찰되었는데 (Demling et al., 1985; Jarry et al., 1988; 1992; Seltzer and Donoso, 1992), 이러한 사실은 GABA 뉴런이 에스트로젠에 의한 음성 피드백 효과를 매개하고 있다는 가설을 지지하는 것이다.

그러나, GABA가 GnRH나 LH의 분비를 촉진한다는 상반되는 보고도 있다. 난소절제된 쥐나 난소절제후 에스트로젠과 프로게스테론을 처리한 쥐에 GABA를 투여하면 LH 분비가 촉진된다 (Vijayan and McCann, 1978). 더구나, GABA나 GABA_A 수용체의 길항제는 체외배양중인 정중용기 절편에서 GnRH의 분비를 촉진하는 것이 관찰되었다 (Masotto et al., 1989; Nikolarakis et al., 1988). 왜 이렇게 상반된 결과가 존재하는가에 관한 정확한 이유는 알 수 없지만 아마도 GABA에 대한 GnRH 뉴런의 반응은 생리적 상황에 따라 달라지는 것이 아닌가 생각된다. 아니면 GABA가 다양한 수준에서 작용하기 때문에 실험조건에 따라 촉진적 혹은 억제적인 결과를 낳는 것인지도 모른다.

여러 증거로 볼 때 성적인 성숙이 일어나는 동안 GnRH 뉴런의 GABA에 대한 반응은 역전되는 것으로 생각된다. 즉, 사춘기 이전의 단계에는 GABA가 GnRH 뉴런을 활성화하는 반면에, 사춘기 동안이나 그 이후의 성체에서는 GnRH 뉴런을 억제한다는 것이다 (Mitsushima et al., 1994; Moguilevsky et al., 1991). 더구나 GT1 세포주를 이용한 연구에서도 TPA를 처리하면 GABA에 대한 반응성이 역전되는 것을 관찰하였다 (Kim, 1997; Sun et al., 1999). 이러한 결과는 GnRH 뉴런의 분화과정에서 GABA에 대한 반응성이 역전된다는 것을 뜻한다.

GnRH 유전자 발현에 있어 GABA의 역할은 아직 명확하지 않다. GABA를 장기적으로 처리하면 GnRH 유전자 발현의 변화는 실험자에 따라 다르게 나타난다 (Bergen et al., 1991; Li and Pelletier, 1993a). 더구나 이들의 연구는 GABA에 의해 혈중 LH의 수준이 저하되고 오랜 시간이 지난 다음에 GnRH mRNA의 수준을 조사하였기 때문에 그 결과를 제대로 해석하기 힘들다. 최근 들어 혈중 LH의 수준이 억제되었을 때 GnRH mRNA

의 수준을 조사하였다 (Kang et al., 1995; Leonhardt et al., 1995). 난소절제된 쥐에서는 GABA_A 수용체의 길항제인 무시몰 (muscimol)을 뇌실내부로 투여하면 시신경전역에서 GnRH mRNA의 수준이 크게 감소하지만 GABA_B 수용체의 길항제인 바클로펜 (baclofen)은 GnRH의 분비나 유전자 발현에 아무런 효과도 미치지 못한다. 그러나 난소절제후 에스트로젠과 프로제스테론을 투여한 쥐에서는 바클로펜 투여에 의해서만 GnRH mRNA의 수준이 농도 의존적으로 증가하는 반면, 두 약물 모두 LH의 분비는 억제한다. 이러한 결과는 GABA의 효과가 체내의 스테로이드 환경 (steroidal milieu)에 의해 조절될 수 있다는 것을 보여주는 것이기는 하지만, GABA의 GnRH 유전자 발현에 대한 효과를 분명히 밝혀내기 위해서는 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 보인다.

4.1.4. 기타 신경전달물질과 신경조절물질 (neuromodulator)

그밖에 여러 가지 신경활성물질들이 GnRH 유전자의 발현을 조절하는 것으로 조사되었다. 예를 들어서 내인성 오피오이드 펩티드 (endogenous opioid peptide; EOP)는 GnRH 분비를 억제하는 것으로 알려져 있는데 (Orstead and Spies, 1987), EOP는 GnRH의 유전자 발현도 억제한다 (Li and Pelletier, 1993b). LH와 GnRH 분비를 억제하는 또 하나의 물질로 인터류킨-1 β (interleukin-1 β ; IL-1 β)가 있는데 (Rivier and Vale, 1990), GnRH 유전자 발현에 미치는 효과는 아직 불확실하다. 예컨대, 성숙한 암컷 흰쥐의 측뇌실에 4-6일간 장기적으로 IL-1 β 를 처리하면 GnRH mRNA를 발현하는 세포의 수가 감소할 뿐 아니라 GnRH mRNA의 수준이 감소하는 것으로 나타난다 (Rivest et al., 1993). 그러나, 수컷 흰쥐를 사용하여 단기간 (8 시간 이하) IL-1 β 를 처리하면 혈중 LH 수준의 감소와 더불어 GnRH mRNA의 번역효율이 감소하지만 GnRH mRNA의 수준은 변하지 않는다 (Kang et al., 1999). 따라서, IL-1 β 의 빠른 효과는 전사후 조절단계에서 나타나는 것으로 생각되는 반면, 장기적인 효과는 GnRH의 전사 수준에서 나타나는 것이 아닌가 생각된다. 그러나, 이러한 문제를 해결하기 위해서는 더 많은 연구가 진행

되어야 할 것이다.

4.2. 스테로이드 호르몬

스테로이드 호르몬이 GnRH와 LH의 분비를 조절한다는 것은 잘 알려져 있다. 그러나, 스테로이드가 GnRH나 LH의 유전자 발현에 미치는 효과는 연구자에 따라 상반되는 결과도 많으며, 생식 내분비학에서 가장 논란의 여지가 많은 영역중의 하나이다 (Gore and Roberts, 1997; Kim et al., 1997). 설치류의 경우에는 생체내의 GnRH 뉴런에서 스테로이드의 수용체가 발현하지 않는 것으로 오랫동안 알려져 있었다 (Fox et al., 1990; Shivers et al., 1983). 따라서, 스테로이드가 GnRH의 분비나 유전자 발현에 미치는 효과는 주로 GnRH 뉴런과 시냅스를 이루는 다른 뉴런을 경유한 간접적인 경로인 것으로 생각되어 왔다. 그러나, 최근에는 체외배양중인 GT1 세포주에서 몇몇 스테로이드 수용체가 발견되었고, 심지어 글루코코르티코이드의 수용체가 생체내의 GnRH 뉴런에 존재한다는 보고도 있었다. 따라서, 실제로 생체내에서 스테로이드가 GnRH 뉴런을 직접 조절하는 것인지, 아니면 간접적인 조절을 하는지에 대해서는 아직도 논란의 여지가 있다.

에스트로젠, 프로제스테론, 테스토스테론, 글루코코르티코이드와 같은 스테로이드는 핵내에 존재하는 수용체에 결합하여 작용하게 되는데, 이들 수용체는 리간드에 반응하는 전사인자로 기능을 한다 (Gronemeyer, 1992; Reichel and Jacob, 1993; Glass, 1994; Zillacus et al., 1995; Weigel, 1996; Shibata et al., 1997). 즉, 고전적인 개념은 스테로이드가 핵내에 존재하는 수용체를 활성화하여 표적이 되는 유전자의 전사에 직접적으로 영향을 미친다는 것이다.

그러나, 최근의 연구는 전사 수준에서 영향을 미치는 스테로이드의 고전적인 효과와 더불어 스테로이드가 표적 기관에서 전사 이외의 수준에서도 조절에 관여하고 있음을 보여준다 (Ramirez and Zheng, 1996; Moss et al., 1997; Wiebe, 1997). 전사 이외의 수준에서 일어나는 스테로이드의 이러한 효과는 선택적이면서도 매우 빠른 시간 (수 밀리초-몇 분) 이내에 일어나게 된다. 이때 스테로

이드의 효과가 일어나는 가능한 기작으로는 지질 이중층에 직접 영향을 미친다던가, 세포막에 존재하는 스테로이드 수용체를 경유한 기작, 신경 전달물질이나 이온채널을 직접적으로 조절하는 기작과, 이차전달계를 직접적으로 조절하는 기작 등을 들 수가 있다. 여기에서 중요하게 부각되는 개념의 하나가 신경스테로이드 (neurosteroid)이다 (Baulieu, 1997; Rupprecht et al., 1996). 신경스테로이드란 중추신경계나 말초신경계의 뉴런 안에서 콜레스테롤로부터 합성되는 스테로이드를 뜻하는 것으로, 신경작용성 스테로이드 (neuroactive steroid)와는 구별되는 개념이다. 점증되는 연구결과에 의하면 신경스테로이드는 신경계의 발생과 재생에 중요한 영향을 미치는 것으로 생각된다 (Schumacher et al., 1996).

이제까지 GnRH 유전자 발현에 대한 스테로이드의 효과는 주로 전사 수준에서 연구되어 왔으며, 전사 이외의 수준에서 스테로이드가 GnRH를 조절하는 기작은 최근에야 조금씩 연구가 수행되고 있다 (Alonso-Solis et al., 1996; Melcangi et al., 1997; Wiebe, 1997).

4.2.1. 생식주기 동안 GnRH의 분비와 mRNA 수준의 변화

대부분의 종에서 LH의 맥동적 분비 양상은 생식주기에 따라 변하게 된다 (Knobil, 1980; Sarkar, 1995). 흰쥐에서는 발정전기 (proestrus)의 오후에 혈중 LH의 수준이 최고치에 도달하며, 발정기 (estrus)나 발정후기 (diestrus)에는 기저 수준으로 감소한다 (Fox and Smith, 1985). LH의 급격한 분비가 일어나는 발정전기의 오후에는 GnRH의 수준도 역시 급격히 증가함이 알려졌다 (Sarkar, 1976; Sherwood et al., 1980; Levine and Ramirez, 1982; Park and Ramirez, 1989). GnRH mRNA의 수준도 생식주기에 따라 변화를 겪게 되는데, GnRH의 mRNA는 발정전기의 오후에 GnRH의 급격한 분비가 있고난 다음에 증가하는 것을 알 수 있는데 (Zoeller and Young, 1988; Park et al., 1990), 이러한 현상은 분비되고 난 다음 줄어든 GnRH의 잔고를 다시 채우기 위한 것으로 생각된다. 이렇듯, GnRH의 분비와 mRNA의 수준은 생식주기 동안 스테로이드 환경이 바뀌에 따라 주기적인 변화를

겪는다. 이러한 사실은 GnRH 분비와 유전자 발현이 스테로이드에 의해 조절됨을 내포하고 있는 것이다.

4.2.2. 에스트로젠

에스트로젠이 GnRH 뉴런의 신경분비활성 즉, GnRH의 분비를 조절한다는 것은 잘 알려진 사실이다. 에스트로젠은 GnRH의 분비에 음성 피드백 효과를 미치기도 하지만, LH의 급격한 분비가 일어나는 발정전기의 오후에는 GnRH의 분비에 양성 피드백 효과를 미친다 (Moenter et al., 1992). 그러나 에스트로젠이 GnRH mRNA의 수준에 미치는 효과는 분명하지 않은데, 연구자에 따라 다양하면서도 서로 상충되는 결과가 보고되고 있다 (Kim et al., 1997). 예를 들어 난소절제된 흰쥐에 에스트로젠을 이틀간 투여하면 GnRH mRNA의 수준이 유의하게 감소한다 (Zoeller et al., 1988; Cho et al., 1994). 그러나, 다른 연구자들은 에스트로젠이 GnRH mRNA의 수준을 증가시킨다고 보고하기도 하였다 (Roberts et al., 1989; Rothfeld et al., 1989). 이렇게 서로 상반되는 연구결과가 나타나는 이유는 생식기를 제거한 이후 경과한 시간, 스테로이드를 처리하는 기간과 양, 그리고 어떤 스테로이드를 사용하였는가에 의존하는 것으로 생각된다. 실제로 에스트로젠 투여 후 이틀이 경과한 다음 POA와 OVLT에서 GnRH mRNA의 수준은 혈중 LH 수준이 낮은 아침에는 감소하지만, LH 수준이 증가하는 오후에는 높게 유지되는 것으로 나타났다 (Petersen et al., 1995). 이렇듯 GnRH 유전자 발현에 미치는 에스트로젠의 효과는 일반적으로 억제적이지만 에스트로젠이 양성 피드백 작용을 하는 발정전기의 오후에는 촉진적 효과를 미치는 것으로 보인다.

4.2.3. 프로제스테론

프로제스테론도 역시 경우에 따라 GnRH와 LH의 분비를 억제하기도 하고 촉진하기도 한다. 프로제스테론이 GnRH의 분비에 억제적인 효과를 미친다는 기초적인 단서는 프로제스테론의 수준이 높게 유지되는 가임신 (pseudopregnancy)기나 임신기에는 배란되지 않는다는 것이다. 수십 년 전에 이미 프로제스테론의 투여가 흰쥐의 자발적

인 배란을 억제한다는 것이 보고된 바 있다 (Everett, 1948). 그러나 에스트로젠을 미리 투여한 쥐에서는 프로제스테론이 GnRH나 LH의 분비에 촉진적인 효과를 미치는 것으로 조사되었다 (Kim and Ramirez, 1985; 1986). 생체 및 체외배양 실험에서 난소절제후 에스트로젠을 투여한 쥐에서는 프로제스테론이 GnRH의 분비를 유도하는 것으로 나타났다 (Kim and Ramirez, 1985; Ramirez et al., 1980a).

이렇듯 프로제스테론의 촉진적인 효과는 에스트로젠의 사전 투여가 필요한 것으로 생각되는데 그 이유는 다음과 같이 생각할 수 있다. 즉, 에스트로젠을 사전 투여하면 생화학적인 변화가 야기되어 시상하부에서 프로제스테론에 의해 GnRH의 분비가 유도될 준비가 갖추어진다고 할 수 있겠다. 실제로 에스트로젠을 사전 투여하면 다른 뇌 영역과는 달리 오직 시신경전역에 존재하는 프로제스테론의 수용체가 증가하는 것을 알 수 있는데, 이러한 결과는 에스트로젠이 일으키는 압컷의 성행동을 프로제스테론이 촉진하는 것에도 일치한다 (McEwen, 1992; Pfaff et al., 1994).

난소절제후 에스트로젠이 사전 처리된 성숙한 흰쥐에서는 프로제스테론이 GnRH의 mRNA 수준을 증가시키는 것으로 나타났다 (Kim et al., 1989; Cho et al., 1994; Seong et al., 1998). 특기할만한 것은 난소절제후 에스트로젠이 처리된 쥐에서 프로제스테론에 의해 증가된 GnRH mRNA의 수준은 결코 난소절제된 쥐에서 나타나는 GnRH mRNA의 수준을 넘지 못한다는 것이다. 이러한 사실은 GnRH 유전자 발현에 관한 다른 연구에서도 똑같이 나타났다 (Park et al., 1990). LH의 급격한 분비가 일어날 때 나타나는 GnRH mRNA의 증가는 비교적 오랫동안 지속되며, 심지어 LH의 수준이 다시 감소하고 난 다음까지도 유지된다 (Petersen et al., 1995; Seong et al., 1998). 이러한 결과는 생식주기를 겪고 있는 흰쥐에서 관찰되는 것에도 일치하는 것으로, 발정전기에 2배 정도로 높게 유지된 GnRH mRNA는 발정기까지도 높게 유지된다 (Zoeller et al., 1988). GnRH mRNA가 비교적 장기간 높게 유지되는 것은 LH의 급격한 분비가 일어나는 동안과 직후에 GnRH 분비가 오랫동안 높게 유지되는 것과 관련된 것으로 생각

된다 (Kaiser et al., 1993; Mason et al., 1994; Moenter et al., 1992).

본 연구팀은 최근에 수행된 연구를 통하여 시신경전역 (POA)에 존재하는 GnRH mRNA의 수준과 후측 정중시상하부 (posterior mediobasal hypothalamus, pMBH)에 존재하는 GnRH 수용체의 mRNA는 에스트로젠과 프로제스테론에 대한 반응성에 있어 서로 정반대의 경향을 보인다는 것을 알게 되었다 (Fig. 2; Seong et al., 1998). 뿐만 아니라, 에스트로젠에 의해 증가되는 pMBH의 GnRH 수용체 mRNA의 증가를 막으면 프로제스테론에 의한 LH의 급격한 분비도 억제된다. 이러한 결과는 pMBH에 존재하는 GnRH 수용체의 유전자 발현이 GnRH의 신경활성을 동기화하여 LH의 급격한 분비를 만들어내는데 중요한 역할을 하리라는 점을 시사하는 것이다 (Seong et al., 1998).

4.2.4. 테스토스테론

수컷의 정소를 제거하여 테스토스테론에 의한 피드백 작용을 막으면 혈중 LH의 수준이 증가하고, 이때 테스토스테론을 투여하면 LH의 수준이 다시 감소하는 것을 볼 수 있다 (Steiner et al., 1982; Strobl et al., 1989). 따라서, 테스토스테론은 GnRH나 LH의 분비에 억제신호로 작용한다고 생각된다. 그러나, 정소를 제거하면 체외실험에서 GnRH의 분비가 크게 감소할 뿐 아니라 (Kalra, 1985), 정중유기에 존재하는 GnRH의 양도 감소한다는 상반되는 결과도 있다 (Culler et al., 1988; Kalra et al., 1977). 수컷의 정소를 제거하면 기저 수준의 GnRH 뿐만 아니라 각종의 분비유도물질 (KCl, 프로스타글란딘 E₂, 날록손 등)에 의해 유도되는 GnRH 분비도 줄어드는데 (Kalra and Kalra, 1989; Ramirez et al., 1980b), 이 때 테스토스테론을 처리하면 다시 회복되는 것을 볼 수 있다 (Kalra and Kalra, 1980; Kalra et al., 1984). 따라서, 테스토스테론에 의한 GnRH 분비의 조절은 LH 분비의 조절보다 훨씬 복잡한 것으로 생각된다.

테스토스테론에 의해 증가하는 GnRH 함량과 분비의 증가는 새로운 단백질의 합성이나 번역후 공정과정의 증가를 필요로 하는 것으로 사료된다. 실제로, 정소를 제거하면 GnRH mRNA의 수준이 감소하며, 테스토스테론을 투여하면 다시 회복되

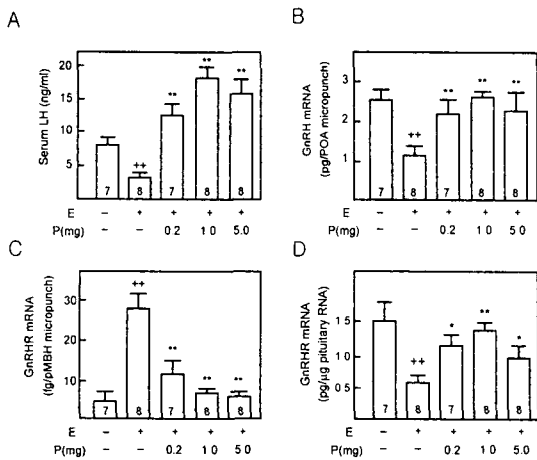


Fig. 2. 에스트로젠과 프로제스테론에 대한 반응성에 있어 POA의 GnRH mRNA와 pMBH의 GnRH 수용체 mRNA는 서로 상반된다. 본 실험은 난소절제된 흰쥐에 에스트로젠을 투여한 후 다양한 농도의 프로제스테론을 처리하였을 때, 혈청내의 LH 수준 (A), POA에서의 GnRH mRNA (B), pMBH에서의 GnRH 수용체 mRNA (C), 뇌하수체에서의 GnRH 수용체 mRNA의 수준 (D)을 방사면역측정법과 경쟁적 역전사 중합효소연쇄반응 (competitive RT-PCR)의 방법으로 정량한 것이다 (Seong et al., 1998).

는 것을 볼 수 있다 (Park et al., 1988). 더구나, GnRH mRNA의 변화는 GnRH 함량과 분비의 변화와 비례한다. 다른 연구에서는 정소제거에 의해 GnRH mRNA가 증가하고 디하이드로테스토스테론 (dihydrotestosterone; DHT) 처리에 의해 다시 회복되는 반대의 결과를 보고하기도 하였다 (Toranzo et al., 1989). 이렇게 상반되는 결과는 정소절제후 경과한 시간, 테스토스테론을 투여한 시간, 투여한 테스토스테론의 양 등의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

4.2.5. 글루코코르티코이드

흰쥐의 경우 글루코코르티코이드는 뇌하수체에 작용하여 시상하부-뇌하수체-생식소를 잇는 생식 내분비축을 억제하는 것으로 알려져 있다 (Suter

and Schwartz, 1985). 그러나 원숭이에서는 글루코코르티코이드가 일차적으로 뇌하수체가 아닌 시상하부에 작용하여 GnRH의 합성과 분비를 억제하는 것으로 나타났다 (Dubey and Plant, 1985). 최근 들어, 암컷 흰쥐에서 글루코코르티코이드가 시상하부에 작용하여 GnRH의 분비를 조절한다는 보고도 있다 (Brann and Mahesh, 1991). 생체내의 GnRH 뉴런이나 배양중인 GnRH 뉴런의 세포주인 GT1에는 글루코코르티코이드의 수용체 (GR)가 존재하는 것으로 밝혀졌는데 (Ahima and Harlan, 1992; Chandran et al., 1994), 이러한 사실은 글루코코르티코이드가 GnRH 뉴런에 직접적으로 작용하여 GnRH의 분비와 유전자 발현을 제어하는 것으로 생각된다. 실제로 GT1 세포에 글루코코르티코이드의 항진제인 덱사메타손 (dexamethasone)을 처리하면 GnRH mRNA 뿐 아니라 GnRH 프로모터의 활성도 억제되는 것을 알 수 있다 (Chandran et al., 1994; 1996). 그러나, 이 결과가 갖는 생리적 함의는 아직 알려져 있지 않다.

4.2.6. 핵호르몬 수용체를 통한 GnRH 전사의 직접적 조절

스테로이드나, 갑상선호르몬, 비타민 A의 유도체인 레티노이드나 비타민 D와 같은 소수성의 호르몬은 핵내에 존재하는 수용체를 통해 작용하게 되는데, 이 핵호르몬 수용체 (nuclear hormone receptors)는 리간드에 반응하는 전사인자로 기능한다 (Beato, 1989; Evans, 1988; O'Malley, 1990). 앞서 기술한 바와 같이 *in situ* hybridization이나 면역조직화학법으로 조사했을 때 생체내에서는 GnRH 뉴런에서 스테로이드의 수용체가 발견되지 않는다. 더구나, 흰쥐 GnRH 프로모터의 서열을 조사해보면 스테로이드의 결합부위가 발견되지 않기 때문에 (Kepa et al., 1992), 스테로이드는 GnRH 유전자 발현을 다른 뉴런을 경유하여 간접적으로 조절한다고 생각해 왔다.

그러나, GT1 세포주를 이용한 최근의 연구에서는 스테로이드가 GnRH 유전자를 전사 수준에서 직접적으로 조절할 가능성이 제기되고 있다. 에스트로젠은 GT1 세포에 결합할 뿐 아니라 스테로이드의 대사과정을 야기하고 (Poletti et al., 1994), GT1 세포의 과분극을 야기하기도 한다 (Lagrange

et al., 1995). 기니피그의 뇌에서는 GnRH 뉴런의 일부에서 프로세스테론의 수용체가 발견되기도 하였다(King et al., 1995). 더구나 최근 수행된 연구에서는 에스트로젠이 시상하부에서도 GnRH 유전자를 전사 수준에서 조절한다는 증거가 제시되기도 하였다(Petersen et al., 1996). 그러나, 이러한 생체 실험의 결과는 인터뉴런을 경유한 간접적 조절의 가능성을 배제할 수가 없다는 단점이 있다.

에스트로젠이 GnRH의 전사를 직접 조절한다는 최초의 단서는 태반의 세포주인 JEG-3를 이용한 연구에서 비롯되었다(Wierman et al., 1992). JEG-3 세포주에 에스트로젠의 수용체를 도입하면 흰쥐 GnRH 프로모터의 활성이 50% 가량 감소한다. 이때 에스트로젠에 의한 억제를 매개하는 프로모터 부위는 -73에서 -16사이의 근접 부위이다. 태반에서는 인간의 GnRH 유전자도 에스트로젠에 의해 전사활성이 억제된다(Dong et al., 1996). 그러나 인간 GnRH 유전자의 경우는 프로모터를 -169까지로 줄이면 에스트로젠의 효과가 억제에서 촉진으로 역전된다는 차이가 있다(Radovick et al., 1991a). 이러한 연구는 에스트로젠이 GnRH의 전사를 적어도 태반에서는 직접적으로 조절할 가능성을 보여주는 것이기는 하지만, 시상하부 GnRH 뉴런에서 에스트로젠의 역할에 대해서는 더 연구가 진행되어야 할 것이다.

시상하부에서 유래한 GT1 세포주는 프로세스테론에 의해 GnRH 유전자가 전사 수준에서 조절된다(Kepa et al., 1996). GT1-7 세포에서는 프로세스테론 수용체의 mRNA가 발견될 뿐만 아니라 프로세스테론을 처리하면 GnRH 프로모터의 활성이 감소한다. 이때 프로세스테론에 의한 억제에 중요한 프로모터 부위는 -171에서 -73사이의 부분인데, 이 부위에는 스테로이드 수용체가 결합할 만한 서열은 존재하지 않는다. 그러나 이 부위에는 비특이적으로 프로세스테론 수용체가 결합하는 것으로 생각되며, 이를 통해 GnRH의 전사를 억제하는 것으로 생각된다.

글루코코르티코이드도 GT1 세포주에서 GnRH의 전사를 억제한다(Attardi et al., 1997; Chandran et al., 1994; 1996). 글루코코르티코이드의 수용체는 생체내의 GnRH 뉴런에서 뿐 아니라(Ahima and Harlan, 1992), GT1 세포에서 발견된다(Chandran

et al., 1994). 글루코코르티코이드에 의한 GnRH 유전자 전사를 억제하는데 중요한 프로모터 부위는 -237/-201 사이의 부분과 -184/-150 사이의 두 부분이다. 이 두 부위는 기존에 알려져 있는 음성 글루코코르티코이드 반응요소(negative glucocorticoid response element, nGRE)와는 유사점이 없지만 이 부위에는 글루코코르티코이드 수용체가 결합할 수 있는 것으로 밝혀져, 글루코코르티코이드가 GnRH의 전사를 직접 조절할 가능성을 높여 주고 있다.

한편, 비타민 A의 활성대사산물인 레티노이드(retinoid)는 시각, 면역, 발생과 분화에 중요한 조절자로 알려져 있는데, 비타민 A가 정상적인 뇌 기능에 미치는 효과는 거의 알려져 있지 않았다. 그러나, 최근 본 실험실에서 수행된 연구는 활성 레티노이드의 하나인 레티노산(retinoic acid; RA)이 GnRH의 합성과 분비를 제어하는 것으로 보고하였다(Cho et al., 1998). 시상하부나 GT1 세포주에서는 여러 가지의 레티노이드 수용체(retinoid receptor)가 존재하며, RA를 처리하면 GT1 세포주에서 GnRH mRNA의 수준 뿐 아니라 GnRH 프로모터의 활성도 농도와 시간에 의존적으로 증가한다(레티노이드 수용체도 스테로이드 수용체와 마찬가지로 핵호르몬 수용체의 하나이다). 이때 RA에 의한 유전자 발현조절에 중요한 GnRH 프로모터의 부위는 -1640에서 -1438에 이르는 202 bp로 조사되었는데(Fig. 3), 이 부위에는 AGGTCA에 유사한 서열의 반복이 많이 발견된다. 따라서, RA는 레티노이드 수용체를 매개로 하여 GnRH 유전자 발현을 전사 수준에서 직접 조절할 가능성이 높다(Cho et al., 1998).

4.3. 세포내 신호전달자에 의한 조절

신경전달물질이나 펩티드를 비롯해서 GnRH 뉴런으로 전달되어 오는 신호는 많은 경우 세포막에 존재하는 수용체를 통해 그 작용을 하게 되는데, 수용체를 통한 신호는 cAMP, DAG, 칼슘과 같은 이차전달자를 거쳐 PKA나 PKC와 같은 인산화효소를 활성화한다. 따라서, 세포내 신호전달계를 직접적으로 활성화했을 때 나타나는 GnRH 분비와 유전자 발현의 변화에 대한 연구가 수행

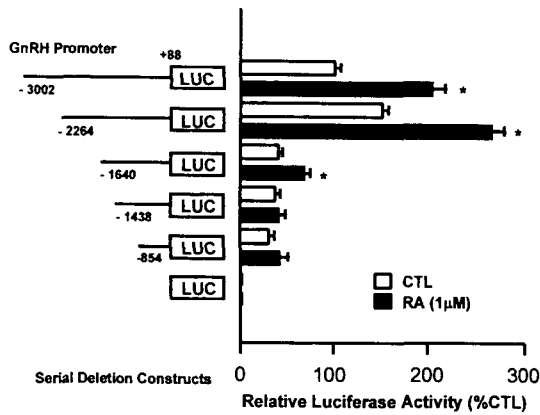


Fig. 3. GnRH 프로모터 활성화에 대한 RA의 촉진적인 효과는 GnRH 프로모터의 -1640/-1438의 상류 프로모터 영역에 의해 매개된다. 본 실험은 3 kb의 원위 GnRH 프로모터를 순차적으로 결손시킨 벡터를 GT1 세포주에 도입한 다음 RA를 처리하여 나타나는 루시페라아제 활성의 변화를 조사한 것이다 (Cho et al., 1998).

되어 왔다. 원위의 시상하부에 PKA의 촉진제인 포스콜린 (forskolin)이나 PKC의 촉진제인 포볼에스터 (phorbol ester)를 처리하면 두 시간만에 GnRH mRNA의 수준이 증가한다 (Lee et al., 1990). 그러나 체외에서 배양되는 GT1 세포주의 경우에는 포볼에스터나 이오노마이신 (ionomycin)을 장기간 (6시간 이상) 처리하면 GnRH mRNA가 감소하는 반면, 포스콜린은 아무런 효과가 없다 (Bruder et al., 1992; Weisel et al., 1993; Yeo et al., 1996; Yu et al., 1994). 그러나 분비되는 GnRH 펩티드의 양을 측정해보면 포스콜린, 포볼에스터, 이오노마이신 모두가 GnRH의 분비를 촉진한다 (Yu et al., 1994). 생체내에 존재하는 GnRH 뉴런과 체외배양 중인 GT1 세포주에서 이렇게 반응이 다르게 나타나는 이유는 분명하지 않지만 적어도 부분적으로는 생체내의 GnRH 뉴런에서 GnRH mRNA의 전환율이 빠르다는 사실에 기인하는 것으로 생각된다 (Gore et al., 1995; Gore and Roberts, 1997). 한편, 신경영양인자에 의한 GnRH 유전자 발현의 조절에는 MAPK 경로가 관여하는 것으로 생각된다 (Tsai et al., 1995).

최근 들어 GT1 세포에서 PKC를 통한 신호전달이 GnRH 유전자 발현의 조절로 연결되는 기작이 조사되었다. GT1 세포에 PKC의 활성화제인 TPA (12-O-tetradecanolyphorbol-13-acetate)를 처리하면 GnRH mRNA 뿐 아니라 프로모터의 활성도 감소하는데, 이때 GnRH 프로모터의 근접부위가 PKC를 통한 전사적 조절에 중요한 것으로 보고되었다 (Bruder and Wierman, 1994; Eraly and Mellon, 1995; Bruder et al., 1996; Sun et al., 1997). TPA를 장기간 처리하면 처음에는 PKC의 활성을 높이지만 나중에는 PKC 자체의 양을 감소시킨다. 따라서, GnRH 유전자 발현의 감소가 PKC의 활성화에 의한 것인지 아니면, PKC의 수준이 줄어들기 때문인지가 모호하였다. 그래서 TPA를 처리하는 대신에 PKC α 의 발현벡터를 이용하여 GT1 세포에서 PKC α 를 과발현시켜 보면 GnRH 프로모터의 활성이 감소하므로 (Sun et al., 1997), TPA에 의한 GnRH 유전자 발현의 조절은 PKC의 활성화를 통한 것으로 생각된다. 한편, 라도빅 (S. Radovick) 박사팀은 Gn11과 NLT라는 두 가지 GnRH 뉴런의 세포주를 이용하여 인간 GnRH 프로모터의 활성을 조사한 바 있는데, 흥미롭게도 이 경우에는 TPA에 의해 GnRH 프로모터의 활성이 증가하는 것으로 나타났다 (Zakaria et al., 1996). 뿐만 아니라 인간의 GnRH 유전자에서는 -402에서 -396 사이에 AP-1의 결합부위인 TGACTCA가 존재한다. 따라서, TPA에 의한 GnRH 유전자 발현의 조절에는 종특이성 (species-specificity)이 있는 것으로 생각된다.

4.4. 신경영양인자에 의한 조절

다양한 신경영양인자 (neurotropic factor)가 신경계의 특정 부위의 발생에 중요한 역할을 한다는 사실은 잘 알려져 있지만, 특정한 신경영양인자가 GnRH 뉴런의 발생과 기능에 어떤 영향을 미치는가는 잘 알려져 있지 않다. 여러 신경영양인자 중에서도 염기성 섬유아세포 성장인자 (basic fibroblast growth factor; bFGF)가 GnRH 뉴런을 조절하는 과정이 가장 잘 알려져 있다 (Tsai et al., 1995; Tsai and Weiner, 1996; Voigt et al., 1996; Weisel et al., 1996; Ochoa et al., 1997). 신경성장

인자가 GnRH 뉴런에서 중요한 역할을 하리라는 통찰을 제공해 준 것은 후각 수용체 뉴런에 대한 연구였다 (Dehamer et al., 1994). bFGF는 신경간세포(neural stem cell)의 생존과 증식을 촉진하는 한편, 후각수용체 뉴런으로 분화하는 최종적 단계를 늦춰 후각신경의 발생을 유도하는데 이 뉴런들은 GnRH 뉴런과 그 배발생 단계의 기원이 같다는 점을 주목할 필요가 있다. 실제로 생체내에 존재하는 GnRH 뉴런에 FGF 수용체(FGF receptor; FGFR)가 존재하는지는 모르지만 적어도 GT1 세포에서는 FGFR1과 FGFR3가 존재하는 것으로 확인되었다(Tsai et al., 1995). 더구나 bFGF는 GT1 세포에서 42~44 kDa의 MAPK를 인산화하며, 혈청의 수준을 낮게 유지했을 때 GT1세포에서 신경돌기의 성장과 세포의 생존을 향상시킨다. 이러한 결과는 일차 배양된 GnRH 뉴런에서 bFGF가 신경돌기의 성장을 촉진시킨다는 이전의 보고와도 일치하는 것이다(Voigt et al., 1996). bFGF는 실험조건에 따라 GT1 세포의 증식을 촉진하기도 하고(Voigt et al., 1996; Ochoa et al., 1997), 증식에는 아무런 효과를 미치지 못하기도 한다(Tsai et al., 1995). bFGF는 완전히 성숙한 GnRH 펩티드의 분비에는 아무런 영향을 미치지 않는다. 대신에 bFGF는 GT1-7 세포에서 단백질분해효소인 PC2의 발현을 조절하여 GnRH 선구체의 공정과정에 영향을 미친다(Wetsel et al., 1996; Voigt et al., 1996). 그러나 보다 최근에 수행된 연구에서는 bFGF가 GnRH mRNA의 수준을 증가시킬 뿐 아니라 흰쥐 GnRH 프로모터의 활성도 증가시키는 것으로 나타났다(Ochoa et al., 1997).

다른 신경영양인자의 효과는 아직 분명하지 않다. 형질전환성장인자 α (transforming growth factor; TGF α)는 시상하부에서 합성되며, GnRH의 분비에 직접적인 영향을 미치지 않지만 신경교세포를 매개하여 GnRH의 분비를 조절하는 것으로 생각된다(Voigt et al., 1996). 표피성장인자(epidermal growth factor; EGF)는 GT1-7 세포주에서는 GnRH의 분비나 mRNA 수준 및 세포의 증식에 직접적인 효과를 미치지 않았으나(Voigt et al., 1996), GT1-1 세포주에서는 세포의 증식을 억제하는 것으로 나타났다(Ochoa et al., 1997). GnRH 뉴런의 발생과 기능 조절에 이러한 신경영양인자

들이 어떤 효과를 미치는가에 대해서는 더욱 많은 연구가 수행되어야 할 것이다.

4.5. GnRH 유전자의 조직특이적 발현의 조절

GnRH 유전자는 몇몇 기관에서 소량 발현되는 것을 제외하고는 주로 GnRH 뉴런에서만 특이적으로 발현된다. 이렇게 조직특이적으로 GnRH 유전자가 발현되는 데에는 POU 도메인을 갖는 전사인자가 중요한 것으로 생각된다. 즉, POU 도메인 전사인자가 GnRH 유전자가 조직특이적으로 발현되도록 전사 수준에서 유도한다는 것이다.

멜론(P. Mellon) 박사팀은 흰쥐 GnRH 프로모터의 분석을 통해 -1863에서 -1571 사이의 약 300 bp 정도의 프로모터 부위가 GnRH 유전자를 뉴런에서만 특이적으로 전사되도록 유도하는데 중요함을 밝혀 내었다(Whyte et al., 1995). 즉, 이 부위가 뉴런특이적 인핸서(neuron-specific enhancer; NSE)로 기능함을 밝힌 것이다. 한편, 인간의 GnRH 유전자의 경우에는 GnRH 뉴런에서 활성을 갖는 프로모터와 태반에서 활성을 갖는 프로모터의 두 가지 프로모터 부위가 존재한다(Dong et al., 1993; 1997). 이러한 사실은 시상하부와 태반에서 발현되는 GnRH mRNA의 크기가 다른 이유도 설명해 주고 있다. 형질전환생쥐를 이용한 연구에서는 인간 GnRH 유전자 프로모터의 -1134에서 -484 사이의 영역이 GnRH 뉴런에 특이적 발현을 조절하는 것으로 확인되기도 하였다(Wolfe et al., 1996). 이러한 연구를 종합해 보면, GnRH의 조직특이적 발현은 적어도 조직특이적 전사가 관여하고 있음을 보여준다고 하겠다.

유전자의 조직특이적 전사는 많은 경우 조직특이적 전사인자에 의해서 조절된다(Wingender, 1993). 발생이나 분화가 일어나는 동안에 유전자 발현을 조절하는 조직특이적 전사인자의 한 가족이 알려져 있는데, POU 도메인 전사인자(POU domain transcription factors)가 그것이다. POU란 Pit, Oct, Unc라는 세 가지 전사인자의 약자로 시상하부나 뇌하수체에서의 조직특이적 발현조절에 중요한 것으로 알려져 있다(Ingrahm et al., 1990; Scholer, 1991; Treacy and Resenfeld, 1992; Sharp and Morgan, 1996). 이러한 POU 도메인 전사인자는 GnRH 유

전자의 조직특이적 발현에도 중요한 것으로 보고되고 있다. 앞서 기술한 NSE 부위에는 AT가 풍부한 서열이 있고, 이 부위에 POU 도메인 전사인자의 하나인 Oct-1이 결합한다 (Clark and Mellon, 1995). 더구나 이 부위를 돌연변이시키면 NSE의 활성이 사라진다. 한편, 비어만 (M. E. Wierman) 박사팀은 GT1 세포에 제3계열의 POU 전사인자인 SCIP/Oct-6/Tst-1이 존재하며, 뉴런에 SCIP/Oct-6/Tst-1를 발현시키면 GnRH 프로모터의 활성이 억제되는 것을 확인하였다 (Wierman et al., 1997). 이러한 연구는 GnRH의 조직특이적 발현에 POU 전사인자가 중요함을 보여주고 있다.

4.6. 그 밖의 조절기작

최근 GT1 세포주에서 LH/hCG의 수용체가 존재한다는 것이 밝혀지면서 (Lei and Rao, 1994) LH가 GnRH의 유전자 발현을 전사 수준에서 조절할 가능성이 보고되고 있다. GT1 세포에 hCG (인간 태반의 장막에서 유래한 성선자극호르몬으로 LH와 같은 활성을 갖는다)를 처리하면 GnRH mRNA 수준이 농도와 시간에 의존적으로 감소한다. 이때, hCG는 GT1 세포에서 PKC가 아닌 PKA를 활성화하며 (Lei and Rao, 1995), GnRH의 유전자를 전사 수준에서 조절하게 되는데, 이때 hCG에 의한 유전자 발현의 억제에 중요한 GnRH 프로모터 부위는 -126에서 -73까지의 약 53 bp 정도이다 (Lei and Rao, 1997). 흥미롭게도 이 부위에는 -91에서 -87, 그리고 -85에서 -81에 걸쳐 AT가 풍부한 서열 (AT-rich sequence)이 있는데, 이 부위를 돌연변이를 통해 파괴하면 hCG에 의한 억제 효과가 일어나지 않는다. 따라서, hCG는 이 부위에 결합하는 전사인자를 통해 GnRH의 유전자 발현을 억제하는 것으로 생각된다. 또한, hCG는 GT1-7 세포에서 GnRH 수용체의 유전자 발현도 전사 수준에서 억제하는 것으로 밝혀져, GnRH 뉴런의 자가조절 기작도 hCG에 의해 영향을 받음을 시사하고 있다.

한편, GnRH의 합성과 분비가 스스로 조절된다는 자가조절 (autoregulation)의 개념은 1970년대 초 마티니 (Martini) 등에 의해 제안된 바 있다 (Hyyppa et al., 1971). 그 이후로 GnRH의 분비가 GnRH 자

체에 의해 억제된다는 많은 증거가 누적되어 왔다 (Bedran de Castro et al., 1985; Bourguignon et al., 1987; DePaolo et al., 1987; Naylor et al., 1989; Sarkar, 1987; Valenca et al., 1987; Zanisi et al., 1987). GnRH 뉴런은 시신경전역에서 서로 시냅스를 이루고 있고 (Leranth et al., 1985; Pelletier, 1987; Witkin and Silverman, 1985), GnRH 수용체는 체외 배양중인 GT1 세포주는 물론, 시상하부 영역에서도 발견된다 (Krsmanovic et al., 1993; Jennes and Conn, 1994). 이러한 사실은 분비된 GnRH가 스스로의 합성과 분비를 조절한다는 가설을 지지해 주고 있다. 최근 GT1 세포에서 수행된 연구에 의하면 GnRH는 GnRH의 분비 뿐 아니라 GnRH의 유전자 발현도 전사 수준에서 억제하는 것으로 보고되고 있다 (Cho et al., 1997). GnRH의 합성 유도체인 부세렐린 (buserelin)을 처리하면, GnRH의 전사가 강력히 억제되며, GnRH의 분비도 24시간 만에 억제되는 것으로 조사되었다 (Fig. 4). 이 때, 부세렐린에 의한 효과는 길항제인 안타이드에 의해서 억제되지 않는데, 이러한 사실은 GT1 세포주에 새로운 타입의 GnRH 수용체가 존재할 가능성을 보여준다. 한편 흰쥐에서도 측뇌실에 GnRH의 길항제를 투여하면 POA의 GnRH mRNA와 pMBH의 GnRH 수용체 mRNA가 감소하는데, 이러한 사실은 GnRH 유전자 발현의 자가조절 기작이 생체내에서도 작용할 것임을 시사하고 있다 (Han et al., 1999).

5. GnRH 수용체와 신호전달

정중용기로 뻗어 있는 GnRH 뉴런의 신경말단을 통해 분비된 GnRH는 시상하부와 뇌하수체 전엽을 잇는 문맥계를 통해 뇌하수체로 전달된다. 뇌하수체에 도달한 GnRH는 성선자극세포의 세포막에 존재하는 특이적인 수용체를 통해 작용하게 되는데, 이 GnRH 수용체는 7개의 세포막 종단 도메인을 갖는 G-단백질에 연결된 수용체의 하나이다. GnRH 수용체에 대한 연구는 뇌하수체에 존재하는 성선자극세포의 수가 적고, 발현되는 GnRH 수용체의 양이 적어 많은 어려움을 겪어왔으나 최근 뇌하수체에서 유래한 성선자극세포주가 가용해지면서 수용체에 대한 연구도 활기를

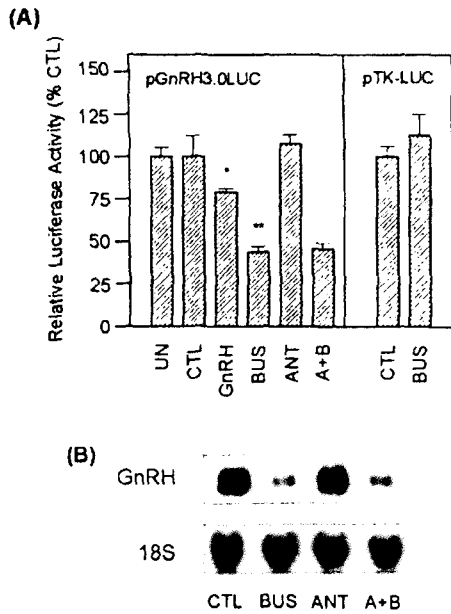


Fig. 4. GnRH와 그 유도체에 의한 GnRH 유전자 발현의 자가조절. (A) GT1 세포주에 3 kb의 GnRH 프로모터에 의해 유도되는 루시페라아제 벡터 (pGnRH3.0Luc)와 대조군 벡터 (pTK-Luc)를 도입한 다음 GnRH와 GnRH의 항진제인 부세렐린 (BUS), 길항제인 안타이드 (ANT), 혹은 항진제와 길항제를 동시 처리 (A + B)하고 24시간이 지난 후 루시페라아제 활성의 변화를 측정 한 결과이다. (B) GT1 세포주에 GnRH, 부세렐린 (BUS), 안타이드 (ANT), 부세렐린과 안타이드를 동시에 처리 (A + B) 한 지 24시간이 지난 다음 GnRH mRNA의 변화를 Northern 분석법으로 측정한 결과이다 (Cho et al., 1997).

며고 있다. 여기서는 GnRH 수용체의 분자적 구조와 수용체를 통한 신호전달에 대해 살펴보자.

5.1. GnRH 수용체의 분자생물학

이제까지 마우스 (Tsutsumi et al., 1992), 흰쥐 (Reinhart et al., 1997) 및 인간 (Kakar, 1997)에서 GnRH 수용체의 유전자 구조가 밝혀져 있으며, 더불어 마우스 (Albarracin et al., 1994) 및 흰쥐

(Reinhart et al., 1997)의 GnRH 수용체의 프로모터도 밝혀져 GnRH 수용체의 전사적 조절과 GnRH 수용체 유전자 발현의 분자적 기작에 대한 연구도 가능해졌다. GnRH 수용체의 유전자는 인간의 경우 4번 염색체에 존재하며, 세 개의 엑손과 2개의 인트론으로 이루어져 있다. 첫 번째 인트론이 4번째 세포막 중단도메인의 중앙에 놓여있고, 두 번째 인트론이 5번째와 6번째 세포막 중단도메인을 갈라놓고 있다. 프로모터 부위를 살펴보면, 생쥐의 GnRH 수용체 유전자의 경우 정확한 전사 개시 위치를 찾는 데 중요한 TATA 서열이 보이지 않고, 대신에 -30 부근에 GATA 모티프가 발견되는데, TATA가 없는 유전자 구성은 LH나 FSH의 수용체 및 소마토스타틴의 제I형 수용체와 같은 다른 G-단백질에 연결된 수용체에서도 보고된 바 있다. GnRH 수용체 프로모터에서 발견되는 중요한 DNA 요소로는 AP-1 결합 부위 이외에 성선자극세포에 특이적인 요소 (gonadotropespecific element; GSE)와 유사한 구조가 발견된다. GSE는 성선자극호르몬의 α -소단위 유전자를 성선자극세포에서 특이적으로 발현하도록 유도하는 DNA 요소로 알려져 있다.

GnRH 수용체가 클로닝되면서 GnRH 수용체의 구조도 밝혀지게 되었는데 (Stojilkovic et al., 1994b), 327~328개의 아미노산으로 이루어진 GnRH 수용체는 예상했던 대로 G-단백질에 연결된 수용체에서 보편적으로 나타나는 구조인 7개의 나선구조를 보인다. 그러나 GnRH 수용체가 갖는 특이적인 구조도 나타나는데 그것은 C-말단의 꼬리가 없다는 것이다. 이렇게 C-말단의 꼬리가 없는 구조는 다른 수용체에서는 발견되지 않는 GnRH 수용체의 고유한 특징이다. GnRH cDNA를 탐침으로 GnRH mRNA를 조사해 보면 생쥐에서 유래한 α T3-1 세포에서는 4.3 kb와 2 kb 크기의 두 가지 mRNA가 발견된다 (Reinhart et al., 1992; Tsutsumi et al., 1992). 흰쥐나 양의 뇌하수체에서는 5.0-5.5 kb에 이르는 또 하나의 전사체가 발견되는데 (Kaiser et al., 1992; Illing et al., 1993), 이러한 차이가 종간의 차이에 의한 것인지 아니면 체외배양 세포주와 생체내의 뇌하수체가 갖는 차이에 기인한 것인지는 분명하지 않다.

5.2. GnRH 수용체 발현의 전사적 조절

최초로 생쥐의 GnRH 수용체의 프로모터를 특성화한 연구에 의하면, 1.2 kb의 GnRH 수용체 프로모터의 활성화는 GnRH 항진제에 의해 크게 증가하는 것으로 보고되었다(Albarracín et al., 1994). GnRH와 마찬가지로 GnRH 수용체도 조직특이적인 발현양상을 보이며, 여기에는 분명 “조직특이적 조절자”들이 관여하고 있을 것으로 생각된다. 실제로 1.2 kb의 프로모터만으로도 성선자극세포에 특이적인 발현이 나타남이 확인되었다(Albarracín et al., 1994). GnRH 수용체의 조직특이적 전사조절에 관한 최근의 연구는 GnRH 수용체에 삼분된 기본 인핸서(tripartite basal enhancer)가 존재하며, 이러한 인핸서가 GnRH 수용체 발현의 활성화 염기서열을 통해 조직특이적 발현을 유도하는 것으로 보고되고 있다(Duval et al., 1997b). 한편, GnRH 수용체 유전자의 발현을 향상시키는 인핸서 부위에는 steroidogenic factor-1에 대한 결합부위가 존재하며, 이러한 결합이 GnRH 수용체의 발현조절에 중요하리라 생각된다(Duval et al., 1997a).

5.3. 신호전달 기작

포유류의 GnRH 수용체가 클로닝되면서 GnRH 수용체와 그 리간드(즉, GnRH, GnRH 유도체 및 그 길항제들)와의 상호작용에 대한 연구가 한창 진행중에 있다(Sealfon et al., 1997). 리간드에 대한 선택성, 리간드와의 결합후의 구조적 변화, 결합에 중요한 아미노산 잔기 등에 대한 많은 정보가 얻어지고 있으며, 이러한 정보들을 토대로 모델을 세우고 다시 이러한 모델을 실험을 통해 검증해 나가고 있다. 여기서는 α T3-1 세포주에서 밝혀진 GnRH 수용체를 통한 신호전달기작에 대해서 간략히 살펴보자. GnRH 수용체에 GnRH나 그 길항제가 결합하면 GnRH 수용체의 활성화가 일어난다. α T3-1 세포주에서 GnRH 수용체는 G_q/G_{11} 가족에 속하는 G-단백질에 연결되어 있다. 수용체와 G-단백질, 포스포리파아제 C (phospholipase C; PLC)간의 상호작용을 통해 디아실글리세롤(diacylglycerol; DAG)과 인노시톨삼인산(inositol triphosphate; IP_3)이 만들어지고, 칼슘의

분비와 PKC의 활성화로 이어지게 된다(Stojilkovic et al., 1994b; Kaiser et al., 1997). 이로부터 표적 세포 안에서 다양한 반응이 일어나는 것이다. 이러한 GnRH 수용체의 PKC 경로를 통한 신호전달 기작은 뇌하수체의 성선자극세포주인 α T3-1뿐만 아니라 GT1 세포주에서도 나타난다. α T3-1 세포주에서는 GnRH 수용체를 통한 신호전달기작이 주로 PKC 경로를 통하는 것으로 보이며, MAPK 경로가 활성화된다는 보고도 있지만 cAMP는 관련되지 않는 것으로 알려져 있다. 그러나, 일차 배양된 뇌하수체의 세포 등을 통한 다른 연구에서는 cAMP/cGMP 경로와 PLD 경로 등 다른 신호전달 경로와의 상호작용도 보고되고 있다(Stojilkovic et al., 1994a; Kaiser et al., 1997). 특히 GnRH 수용체와 TRH 수용체를 모두 발현하도록 만들어진 GGH₃ 세포주에서는 GnRH 수용체를 통한 신호전달기작이 α T3-1과 차이가 있는데, GGH₃ 세포주에서는 GnRH 수용체가 활성화되면 IP_3 와 칼슘이 증가할 뿐 아니라 cAMP의 수준도 증가한다(Kaiser et al., 1997).

6. GnRH의 생리적 기능

b b GnRH의 일차적 기능은 뇌하수체에 작용하여 LH나 FSH와 같은 성선자극호르몬의 합성과 분비를 조절하는 것이며, 이와 더불어 성행동(sexual behavior)의 조절에도 관련되어 있다. 뿐만 아니라 GnRH는 다른 여러 조직에서도 소량 발현하는데, 이러한 말초 조직에서는 GnRH가 국부적인 조절인자로 기능할 것으로 생각된다.

6.1. 성선자극호르몬(LH/FSH)의 분비와 합성의 조절

문맥계로 방출되면 GnRH는 뇌하수체에 있는 성선자극세포에 존재하는 GnRH 수용체를 통하여 직접적으로 작용하여 LH나 FSH의 합성과 분비를 제어한다. 앞서 기술한 바와 같이 GnRH의 수용체가 활성화되면 IP_3 와 세포내 칼슘의 수준이 급격히 높아지게 되고, 칼슘과 활성화된 PKC는 다양한 세포내 반응을 조절하며, 서로 상호작용하는 신호로서 기능하여 LH/FSH의 분비는 물론 생

합성과 유전자 발현의 과정을 조절하게 된다.

GnRH가 LH의 분비와 때를 맞추어 문맥계로 방출된다는 것은 1970년대 중반에 이미 입증된 바 있다(Sarkar et al., 1976). 생체 내에서 LH의 분비는 맥동적으로 일어나는데, LH 펄스의 빈도나 그 진폭은 사춘기나 여성의 생식주기에 따라 달라지며, 계절에 따라 변하는 동물도 있다(Lincoln et al., 1985). LH 분비의 맥동성은 GnRH 분비의 맥동성에 기인하는 것으로 생각된다. GnRH 뉴런은 구조적으로는 넓은 영역에 걸쳐 매우 느슨하게 분포하고 있음에도 서로 동기화된 분비의 패턴을 보여준다. 즉, 시상하부-뇌하수체를 잇는 문맥계로 분비되는 GnRH는 맥동적이면서도 동기화되어 분비되는 것이다(Stojilkovic et al., 1994a; Krsmanovic et al., 1996). 특히 GnRH의 맥동적인 분비는 시상하부에서 나타나는 간헐적인 전기적 활성화(episodic electrical activity)와 관련되어 있다(Knobil, 1990). GnRH 뉴런이 나타내는 맥동적 분비의 양상은 조사된 모든 포유동물에 공통적인 것이다. 이와 같은 여러 관찰결과들을 토대로 하여 노빌(E. Knobil) 박사는 형태학적으로는 산만하면서도 기능적으로는 완전히 서로 연결되어 있는 GnRH 뉴런의 신경망이 존재한다고 생각하여 이를 GnRH 펄스 발전기(GnRH pulse generator)라 명명하였다. GT1 세포주나 태아의 시상하부세포를 이용한 최근의 연구결과는 GnRH의 신호전달과 분비의 특징에 관한 깊은 통찰을 제공해주었는데, 태아의 GnRH 뉴런이나 GT1 세포주는 생체 내에서 발견되는 것과 유사한 방식으로 자발적인 맥동적 분비 양상을 보인다(Krsmanovic et al., 1992; Martinez de la Escalera et al., 1992; Wetsel et al., 1992). 이러한 사실은 GnRH 뉴런의 맥동성에는 다른 뉴런의 도움이 필요하지 않다는 것을 의미하는 것이다.

GnRH는 성선자극호르몬의 분비 뿐 아니라 유전자 발현에도 영향을 미치는데, 이 중에도 α -소단위의 유전자 발현 조절에 대한 연구가 심도있게 수행되었다. α T3-1 세포주에 GnRH를 처리하면 α -소단위 mRNA가 증가한다(Windle et al., 1990). 이러한 증가 효과는 PKC의 활성화제인 TPA에 의해서도 일어나지만 GnRH와 함께 투여했을 때 더 증가되지는 않는 것으로 보아 GnRH가

PKC를 매개하여 α -소단위 유전자 발현을 증가시키는 것으로 보인다(Horn et al., 1991; 1992). GnRH에 의한 α -소단위 mRNA의 증가는 처리후 12-24 시간만에 최고조에 이르며, 향후 24시간 정도 지속된다(Chedrese et al., 1994). 이렇게 mRNA가 증가되는 이유는 α -소단위 유전자의 전사가 촉진되는 한편, mRNA의 안정성이 증가하기 때문이다. 전사율을 측정해 보면 GnRH 처리후 1시간 이내에 전사 속도가 2~3배 가량 증가하지만 12시간이 경과하면 다시 기저 수준으로 떨어진다. 따라서, 지속적인 mRNA의 증가는 전사가 촉진되는 한편, mRNA의 안정성이 증가하기 때문이다. 실제로 GnRH 처리후 α -소단위 mRNA의 안정성을 조사해 보면 반감기가 처리전의 1.2 시간에서 8시간으로 늘어난 것을 알 수가 있다.

유전자 도입 실험을 통해 GnRH에 의한 α -소단위 유전자 발현의 증가에 중요한 프로모터 부위를 밝혀낼 수 있었는데, α -소단위 유전자 프로모터의 -507에서 -205 사이의 서열은 GnRH뿐 아니라 TPA나 cAMP에 의한 α -소단위 유전자 발현의 조절에도 중요하다(Schoderbek et al., 1993). 이 부위를 좀 더 세밀히 조사해 보면 -416/-385와 -344/-300의 두 부위가 특히 중요하다는 것을 알 수 있는데, -416/-385는 PKC에도 반응한다. 생쥐의 α -소단위 유전자를 이용하여 GnRH 반응요소(GnRH response element, GnRH-RE)를 조사한 최근의 연구에서는 Ets 인자(Ets factor)라고 하는 MAPK 신호전달경로에 의해 활성화되는 전사인자가 GnRH-RE에 결합하는 것으로 조사되었다(Roberson et al., 1995). 이러한 연구는 GnRH 수용체를 통한 신호가 MAPK 신호전달경로도 이용한다는 점을 시사하고 있다. 그러나 Ras, ERK1, ERK2의 우성으로 작용하는 음성 돌연변이체(dominant negative mutant)를 도입해 보면 인간의 α -소단위 유전자의 발현이 감소하기는 하지만 GnRH에 의해 유도되는 유전자 발현에는 영향이 없다(Sundaresan et al., 1996). 이러한 차이는 종간의 차이일 수도 있지만 정확한 이유는 아직 모르고 있다.

6.2. 성행동의 조절

GnRH는 성선자극호르몬의 분비를 촉진할 뿐만

아니라, 생식행동 특히 여성의 생식행동을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Meisel and Sachs, 1994; Pfaff et al., 1994; Ottinger et al., 1997). GnRH의 아미노산 구조가 동정되고 얼마 되지 않아서 GnRH가 암컷 쥐의 척추전만 행동(lordosis behavior)을 촉진한다는 것이 밝혀진 바 있다(Moss and McCann, 1973; Pfaff, 1973). 여성의 생식행동을 촉진하도록 하는 GnRH의 기능은 뇌의 중심회백질(central gray) 부위에서 일어나는 것으로 생각된다. 왜냐하면, 이 부위에 GnRH를 투입하면 척추전만 행동이 강화될 뿐 아니라, 이 부위에 GnRH의 항혈청을 넣으면 척추전만 행동이 억제되기 때문이다(Sakuma and Pfaff, 1980). 즉, 중심회백질에서 GnRH는 행동 제어 기작의 중요한 요소 중 하나인 것으로 생각된다.

남성의 경우에도 GnRH는 성행동을 촉진하는 것으로 보고되고 있으나 GnRH와 남성의 성행동 사이의 관계에 대해서는 아직까지도 논란이 많다. 프로락틴을 과분비하는 수컷 쥐에서는 교미행동을 못하는데, 이 때 GnRH를 한번 주사하면 교미행동을 유발할 수 있다. 생식소를 제거한 수컷 쥐에 뇌하수체를 이식하고 테스토스테론을 투여한 다음, 여기에 GnRH를 투여하면 교미행동이 나타나는데, 이 때 기저 수준의 테스토스테론을 유지시켜 주어야 한다(Dennison et al., 1996). 이러한 결과는 교미행동을 하기 위해서는 GnRH에 의해 분비되는 테스토스테론이 필요한 것이 아니라 기저 수준의 테스토스테론만이 필요하다는 것을 의미하며, GnRH 자체가 성행동을 조절한다는 가설을 지지하는 것이다. 최근에 중년기의 수컷 흰쥐를 이용한 연구에서는 GnRH 뉴런의 숫자와 성행동 사이의 관계가 보고되기도 하였다(Tsai et al., 1997). 즉, 정상적인 성행동을 하는 쥐에서 GnRH 뉴런의 수가 가장 많은 반면, 성행동을 하지만 사정은 하지 못하는 쥐에서는 GnRH 뉴런의 수가 적고, 전혀 성행동을 하지 않는 쥐에서 가장 적은 수의 GnRH 뉴런이 존재한다는 것이다. 이러한 연구는 적어도 쥐에서는 나이에 따른 성행동의 변화와 GnRH 뉴런의 숫자 사이에 어떤 관계가 있을 것임을 시사하고 있다.

GnRH가 성행동을 조절할 뿐 아니라, 어류를 이용한 최근의 연구에서는 행동이나 사회적 지위

에 따라 GnRH 뉴런이 바뀌는 경우도 보고되고 있다(Rissman, 1996). 여러 종의 물고기에서 보고된 바에 의하면 사회적 환경이 바뀔 때 따라서 성체에서 생식적 지위(reproductive status)가 달라지고 심지어 성(sex)이 뒤바뀌는 경우가 있으며, GnRH 뉴런의 수와 크기가 사회적 지위에 따라 변한다. 비둘기의 경우 교미를 하면 난소의 여포 성숙이 촉진되며 수컷에서는 남성호르몬의 합성이 증가한다. 또한 교미를 하는 동안에 GnRH를 발현하는 마스트 세포(mast cell; 면역세포의 일종)가 뇌로 들어가기도 하는데, 이러한 연구결과는 행동내분비와 면역계 사이가 서로 연결되어 있음을 뜻하는 것이다.

참 고 문 헌

- Adelman JP, Mason AJ, Hayflick JS, Seeburg PH 1986 Isolation of the gene and hypothalamic cDNA for the common precursor of gonadotropin-releasing hormone and prolactin-inhibiting factor in human and rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:179-183.
- Ahima RS, Harlan RE 1992 Glucocorticoid receptors in LHRH neurons. *Neuroendocrinology* 56:845-850.
- Albarracin CT, Kaiser UB, Chin WW 1994 Isolation and characterization of the 5'-flanking region of the mouse gonadotropin-releasing hormone receptor gene. *Endocrinology* 134:2300-2306.
- Alonso-Solis R, Abreu P, Lopez-Coviella I, Hernandez G, Fajardo N, Hernandez-Diaz F, Diaz-Cruz A, Hernandez A 1996 Gonadal steroid modulation of neuroendocrine transduction: a transynaptic view. *Cell Mol Neurobiol* 16:357-382.
- Attardi B, Tsujii T, Friedman R, Zeng Z, Roberts JL, Dellovade T, Pfaff DW, Chandran UR, Sullivan MW, DeFranco DB 1997 Glucocorticoid repression of gonadotropin-releasing hormone gene expression and secretion in morphologically distinct subpopulations of GT1-7 cells. *Mol Cell Endocrinol* 131:241-255.
- Azad N, Emanuele NV, Halloran MM, Tentler J, Kelley MR 1991 Presence of luteinizing

- hormone-releasing hormone (LHRH) mRNA in rat spleen lymphocytes. *Endocrinology* 128:1679-1681.
- Azad N, Uddin S, Paglia NL, Kirsteins L, Emanuele NV, Lawrence AM, Kelley MR 1993 Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) in rat prostate: characterization of LHRH peptide, messenger ribonucleic acid expression, and molecular processing of LHRH in intact and castrated male rats. *Endocrinology* 133:1252-1257.
- Barracough CA, Wise PM 1982 The role catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion. *Endocr Rev* 3:91-119.
- Barry J 1979 Immunohistochemistry of luteinizing hormone releasing hormone-producing neurons of vertebrates. *Annu Rev Cytol* 60:179-219.
- Baulieu EE 1997 Neurosteroids: of the nervous system, by the nervous system, for the nervous system. *Recent Prog Horm Res* 52:1-32.
- Beato M 1989 Gene regulation by steroid hormones. *Cell* 56:335-344.
- Bedran de Castro JC, Khorram O, McCann SM 1985 Possible negative ultra-short loop feedback of luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) in the ovariectomized rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 179:132-135.
- Belsham DD, Wetsel WC, Mellon PL 1996 NMDA and nitric oxide act through the cGMP signal transduction pathway to repress hypothalamic gonadotropin-releasing hormone gene expression. *EMBO J* 15:538-547.
- Bergen HT, Hejtmancik JF, Pfaff DW 1991 Effects of gamma-aminobutyric acid receptor agonist and antagonist on LHRH synthesizing neurons as detected by immunocytochemistry and *in situ* hybridization. *Exp Brain Res* 87:46-56.
- Bond CT, Hayflick JS, Seeburg PH, Adelman JP 1989 The rat gonadotropin-releasing hormone: SH locus: structure and hypothalamic expression. *Mol Endocrinol* 3:1257-1262.
- Bourguignon JP, Gerard A, Debougnoux G, Rose J, Franchimont P 1987 Pulsatile release of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) from the rat hypothalamus *in vitro*: calcium and glucose dependency and inhibition by superactive GnRH analogs. *Endocrinology* 121:993-999.
- Bourguignon JP, Gerard A, Franchimont P 1989 Direct activation of gonadotropin-releasing hormone secretion through different receptors to neuroexcitatory amino acids. *Neuroendocrinology* 49:402-408.
- Brann DW, Mahesh VB 1991 Detailed examination of the mechanism and site of action of progesterone and corticosteroids in the regulation of gonadotropin secretion: Hypothalamic gonadotropin-releasing hormone and catecholamine involvement. *Biol Reprod* 44:1005-1015.
- Brann DW, Mahesh VB 1994 Excitatory amino acids: Function and significance in reproduction and neuroendocrine regulation. *Front Neuroendocrinol* 15:3-49.
- Bredt DS, Snyder SH 1992 Nitric oxide: A novel neuronal messenger. *Neuron* 8:3-11.
- Bruder JM, Krebs WD, Nett TM, Wierman ME 1992 Phorbol ester activation of the protein kinase C pathway inhibits gonadotropin-releasing hormone gene expression. *Endocrinology* 131:2552-2558.
- Bruder JM, Spaulding AJ, Wierman ME 1996 Phorbol ester inhibition of rat gonadotropin-releasing hormone promoter activity: role of Fos and Jun in the repression of transcription. *Mol Endocrinol* 10:35-44.
- Bruder JM, Wierman ME 1994 Evidence for transcriptional inhibition of GnRH gene expression by phorbol ester at a proximal promoter region. *Mol Cell Endocrinol* 99:177-182.
- Burgus R, Butcher M, Amoss M, Ling N, Monahan M, Rivier J, Fellows R, Blackwell R, Vale W, Guillemin R 1972 Primary structure of ovine hypothalamic luteinizing hormone-releasing factor (LRF). *Proc Natl Acad Sci USA* 69:278-282.
- Chandran UR, Attardi B, Friedman R, Dong KW, Roberts JL, DeFranco DB 1994 Glucocorticoid

- receptor-mediated repression of gonadotropin-releasing hormone promoter activity in GT1 hypothalamic cell lines. *Endocrinology* 134:1467-1474.
- Chandran UR, Attardi B, Friedman R, Zheng Z, Roberts JL, DeFranco DB 1996 Glucocorticoid repression of the mouse gonadotropin-releasing hormone gene is mediated by promoter elements that are recognized by heterodimeric complexes containing glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 271:20412-20420.
- Chavali GB, Nagpal S, Majumdar SS, Singh O, Salunke DM 1997 Helix-loop-helix motif in GnRH associated peptide is critical for negative regulation of prolactin secretion. *J Mol Biol* 272:731-740.
- Chedrese PJ, Kay TWH, Jameson JL 1994 Gonadotropin-releasing hormone stimulates glycoprotein α -subunit messenger ribonucleic acid (mRNA) levels in α T3 cells by increasing transcription and mRNA stability. *Endocrinology* 134:2475-2481.
- Chen W-P, Witkin JW, Silverman A-J 1989 Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons are directly innervated by catecholamine terminals. *Synapse* 3:288-290.
- Chieffi G, Pierantoni R, Fasano S 1991 Immunoreactive GnRH in hypothalamic and extra-hypothalamic areas. *Int Rev Cytol* 127:1-55.
- Cho BN, Seong JY, Cho H, Kim K 1994 Progesterone stimulates GnRH gene expression in the hypothalamus of ovariectomized, estrogen treated adult rats. *Brain Res* 652:177-180.
- Cho S, Cho H, Geum D, Kim K 1998 Retinoic acid regulates gonadotropin-releasing hormone release and gene expression in the rat hypothalamic fragments and GT1-1 neuronal cells *in vitro*. *Mol Brain Res* 54:74-84.
- Cho S, Han J, Sun W, Choi D, Kwon HB, Jarry H, Wuttke W, Kim K 1997 Evidence for autocrine inhibition of gonadotropin-releasing hormone gene transcription by GnRH in hypothalamic GT1-1 neuronal cells. *Mol Brain Res* 50:51-58.
- Cho S, Kim K 1997 Molecular neuroendocrine regulation of GnRH and its receptor. *J Kor Endocr Soc* 12:493-503.
- Choi WS, Kim MO, Lee BJ, Kim JH, Sun W, Seong JY, Kim K 1994 Presence of gonadotropin-releasing hormone mRNA in the rat olfactory piriform cortex. *Brain Res* 648:148-151.
- Cicero TJ, Meyer ER, Bell RD 1988 Characterization and possible opioid modulation of N-methyl-D-aspartic acid induced increases in serum luteinizing hormone levels in the developing male rat. *Life Sci* 42:1725-1732.
- Clark ME, Mellon PL 1995 The POU homeodomain transcription factor Oct-1 is essential for activity of the gonadotropin-releasing hormone neuron-specific enhancer. *Mol Cell Biol* 15:6169-6177.
- Culler MD, Valenca MM, Merchenthaler I, Flerko B, Negro-Vilar 1988 Orchidectomy induces temporal and regional changes in the processing of the luteinizing hormone-releasing hormone prohormone in the rat brain. *Endocrinology* 122:1968-1976.
- Dehamer MK, Guevara JL, Hannon K, Olwin BB, Calof AL 1994 Genesis of olfactory receptor neurons *in vitro*: Regulation of progenitor cell divisions by fibroblast growth factors. *Neuron* 13:1083-1097.
- Demling J, Fuchs E, Baumert M, Wuttke W 1985 Preoptic catecholamine, GABA, and glutamate release in ovariectomized estrogen primed rats utilizing a push-pull cannula technique. *Neuroendocrinology* 41:212-218.
- Dennison E, Bain PA, Bartke A, Meliska CJ 1996 Systemically administered gonadotrophin-releasing hormone enhances copulatory behaviour in castrated, testosterone-treated hyperprolactinaemic male rats. *Int J Androl* 19:253-9.
- DePaolo LV, King RA, Carrillo AJ 1987 *In vivo* and *in vitro* examination of an autoregulatory mechanism for luteinizing hormone-releasing hormone. *Endocrinology* 120:272-279.
- Dong KW, Chen ZG, Cheng KW, Yu KL 1996

- Evidence for estrogen receptor-mediated regulation of human gonadotropin-releasing hormone promoter activity in human placental cells. *Mol Cell Endocrinol* 117:241-246.
- Dong KW, Yu KL, Chen ZG, Chen YD, Roberts JL 1997 Characterization of multiple promoters directing tissue-specific expression of the human gonadotropin-releasing hormone gene. *Endocrinology* 138:2754-2762.
- Dong KW, Yu KL, Roberts JL 1993 Identification of a major up-stream transcription start site for the human progonadotropin-releasing hormone gene used in reproductive tissues and cell lines. *Mol Endocrinol* 7:1654-1666.
- Drouva S, Laplante E, Kordon C 1982 α 1-adrenergic receptor involvement in the LH surge in ovariectomized estrogen primed rats. *Eur J Pharmacol* 81:341-344.
- Duval DL, Nelson SE, Clay CM 1997b The tripartite basal enhancer of the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor gene promoter regulates cell-specific expression through a novel GnRH receptor activating sequence. *Mol Endocrinol* 11:1814-1821.
- Duval DL, Nelson SE, Clay CM 1997a A binding site for steroidogenic factor-1 is part of a complex enhancer that mediates expression of the murine gonadotropin-releasing hormone receptor gene. *Biol Reprod* 56:160-168.
- Dubey AK, Plant TM 1985 A suppression of gonadotropin secretion by cortisol in castrated male rhesus monkey (*Macaque mulatto*) mediated by the interruption of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone release. *Biol Reprod* 33:423-431.
- Eraly SA, Mellon PL 1995 Regulation of gonadotropin-releasing hormone transcription by protein kinase C is mediated by evolutionarily conserved promoter proximal elements. *Mol Endocrinol* 9:848-859.
- Estes K, Simpkins J, Kalra SP 1982 Resumption with clonidine of pulsatile LH release following acute norepinephrine depletion in ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 35:56-62.
- Evans RM 1988 The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 240:889-895.
- Everett JW 1948 Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat. *Endocrinology* 43:389-405.
- Felder C, Jarry H, Leonhardt S, Wuttke W, Moguilevsky 1996 The GABAergic control of gonadotropin-releasing hormone secretion in male rats during sexual maturation involves effects on hypothalamic excitatory and inhibitory amino acid systems. *Neuroendocrinology* 64:305-312.
- Findell PR, Wong KH, Jackson JK, Daniels DV 1993 β 1-adrenergic and dopamine (D1)-receptors coupled to adenylyl cyclase activation in GT1 gonadotropin-releasing hormone neurosecretory cells. *Endocrinology* 132:682-688.
- Flugge G, Oertel WH, Wuttke W 1986 Evidence for estrogen-receptive GABAergic neurons in the preoptic/anterior hypothalamic area of the rat brain. *Neuroendocrinology* 43:1-5.
- Fox SR, Harlan RE, Shivers BD, Pfaff DW 1990 Chemical characterization of neuroendocrine targets for progesterone in the female rat brain and pituitary. *Neuroendocrinology* 51:276-283.
- Fox SR, Smith MS 1985 Changes in the pulsatile pattern of luteinizing hormone secretion during the rat estrous cycle. *Endocrinology* 116:1485-1492.
- Franco B, Guioli S, Pragliola A 1991 A gene deleted in Kallmann's syndrome shares homology with neural cell adhesion and axonal path-finding molecules. *Nature* 353:529-535.
- Fuchs E, Mansky T, Stock K-W, Vijayan E, Wuttke W 1984 Involvement of catecholamines and glutamate in GABAergic mechanism regulatory to luteinizing hormone and prolactin secretion. *Neuroendocrinology* 38:484-489.
- Glass CK 1994 Differential recognition of target genes by nuclear receptor monomers, dimers,

- and heterodimers. *Endocr Rev* 15:391-407.
- Gore AC, Ho A, Roberts JL 1995 Translation efficiency of gonadotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid is negatively regulated by phorbol ester in GT1-7 cells. *Endocrinology* 136:1620-1625.
- Gore AC, Roberts JL 1994 Regulation of gonadotropin-releasing hormone gene expression by the excitatory amino acids, kainic acid and N-methyl-D,L-aspartate in the male rat. *Endocrinology* 134:2026-2031.
- Gore AC, Roberts JL 1997 Regulation of gonadotropin-releasing hormone gene expression *in vivo* and *in vitro*. *Front Neuroendocrinol* 18:209-245.
- Gore AC, Terasawa E 1991 A role for norepinephrine in the control of puberty in the female rhesus monkey, *Macaca mulatta*. *Endocrinology* 129:3009-3017 .
- Goubau S, Bond CT, Adelman JP, Misra V, Hynes MF, Schultz GA, Murphy BD 1992 Partial characterization of the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene transcript in the rat ovary. *Endocrinology* 130:3098-3100.
- Grattan DR, Park SK, Selmanoff M 1995 Orchidectomy and NMDA increase GnRH secretion as measured by push-pull perfusion of rat anterior pituitary. *Am J Physiol* 268:E685-E692.
- Gronemeyer H 1992 Control of transcription activation by steroid hormone receptors. *FASEB J* 6:2524-2529.
- Han Y-G, Kang SS, Seong JY, Geum D, Suh Y-H, Kim K 1999 Negative regulation of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin-releasing hormone receptor gene expression by a gonadotropin-releasing hormone agonist in the rat hypothalamus. *J Neuroendocrinol* 11:195-201.
- Hardelin JP, Leveilliers J, Young J, Pholsena M, Legouis R, Kirk J, Bouloux P, Petit C, Schaison G 1993 Xp22.3 deletions in isolated familial Kallmanns syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 76:827-831.
- Harris GW 1955 *Neural control of the pituitary Gland*. Edward Arnold Publisher, London, pp. 1-298.
- Herbison AE, Dyer RG 1991 Effect on luteinizing hormone secretion of GABA receptor modulation in the medial preoptic area at the time of the proestrous luteinizing hormone surge. *Neuroendocrinology* 54:420-423.
- Heritage A, Grant L, Stumpf W 1977 ³H-estradiol in catecholamine neurons of rat brain stem: combined localization by autoradiography and formaldehyde-induced fluorescence. *J Comp Neurol* 176:607-630.
- Horn F, Bilezikjian LM, Perrin MH, Bosma MM, Windle JJ, Huber KS, Bount AL, Hille B, Vale W, Mellon PL 1991 Intracellular responses to gonadotropin-releasing hormone in a clonal cell line of the gonadotropin-releasing hormone in a clonal cell line of the gonadotrope lineage. *Mol Endocrinol* 5:347-355.
- Horn F, Windle JJ, Barnhart KM, Mellon PL 1992 Tissue-specific gene expression in the pituitary: the glycoprotein hormone α -subunit gene is regulated by a gonadotrope-specific protein. *Mol Cell Biol* 12:2143-2153.
- Hyypya M, Motta M, Martini L 1971 "ultrashort" feedback control of follicle-stimulating hormone factor secretion. *Neuroendocrinology* 7:227-235.
- Illing N, Jacobs GFM, Becker II, Flanagan CA, Davidson JS, Eales A, Zhou W, Sealson SC, Milar RP 1993 Comparative sequence analysis and functional characterization of the cloned sheep gonadotropin-releasing hormone receptor reveal differences in primary structure and ligand specificity among mammalian receptors. *Biochem Biophys Res Commun* 196:745-751.
- Ingraham HA, Albert VR, Chen RP, Crenshaw 3d EB, Elsholtz HP, He X, Kapiloff MS, Mangalam HJ, Swanson LW, Treacy MN, *et al* 1990 A family of POU-domain and Pit-1 tissue-specific transcription factors in pituitary and neuroendocrine development. *Annu Rev Physiol* 52:773-791.

- Jarry H, Hirsch B, Leonhardt S, Wuttke W 1992 Amino acid neurotransmitter release in the preoptic area of rats during the positive feedback actions of estradiol on LH release. *Neuroendocrinology* 56:133-140.
- Jarry H, Perschl A, Wuttke W 1988 Further evidence that preoptic anterior hypothalamic GABAergic neurons are part of the pulse and surge generator. *Acta Endocrinol* 118:573-579.
- Jennes L 1987 Sites of origin of gonadotropin releasing hormone containing projections to the amygdala and interpeduncular nucleus. *Brain Res* 404:339-344.
- Jennes L, Conn PM 1994 Gonadotropin-releasing hormone and its receptors in rat brain. *Front Endocrinol* 15:51-77.
- Jung N, Sun W, Lee H, Cho S, Kim K 1998 Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene regulation by N-methyl-D-aspartic acid in GT1-1 neuronal cells: differential involvement of Fos and Jun protooncogenes. *Mol Brain Res* 61:162-169.
- Kaiser UB, Conn PM, Chin WW 1997 Studies of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) action using GnRH receptor-expressing pituitary cell lines. *Endocr Rev* 18:46-70.
- Kaiser UB, Jakubowski A, Steinberger A, Chin WW 1993 Regulation of rat pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor mRNA levels in vivo and in vitro. *Endocrinology* 133:931-934.
- Kaiser UB, Zhao D, Cardona GR, Chin WW 1992 Isolation and characterization of cDNAs encoding the rat pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 189:1645-1652.
- Kakar SS 1997 Molecular structure of the human gonadotropin-releasing hormone receptor gene. *Eur J Endocrinol* 137:183-192.
- Kalra PS 1985 Further study on the effects of castration and gonadal steroid treatment on hypothalamic LHRH and serum LH levels: castration-induced delayed response. *Neuroendocrinology* 41:219-223.
- Kalra PS, Kalra SP 1980 Modulation of hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone levels by intracranial and subcutaneous implants of gonadal steroids in castrated rats: effects of androgen and estrogen antagonists. *Endocrinology* 106:390-397.
- Kalra SP, Kalra PS 1983 Neural regulation of luteinizing hormone secretion in the rat. *Endocr Rev* 4:311-351.
- Kalra SP, Kalra PS 1989 Do testosterone and estradiol-17 β enforce inhibition of stimulation of luteinizing hormone-releasing hormone secretion? *Biol Reprod* 41:559-570.
- Kalra SP, Kalra PS, Mitchell EO 1977 Differential response to luteinizing hormone-releasing hormone in the basal hypothalamus and preoptic area following anterior hypothalamic deafferentiation and/or castration in male rat. *Endocrinology* 100:201-204.
- Kalra PS, Simpkins JW, Kalra SP 1984 Testosterone raises LHRH levels exclusively in the median eminence of castrated rats. *Neuroendocrinology* 39:45-48.
- Kang SH, Seong JY, Cho S, Cho H, Kim K 1995 Acute increase of GABAergic neurotransmission exerts a stimulatory effect on GnRH gene expression in the preoptic/anterior hypothalamic area of ovariectomized, estrogen- and progesterone-treated adult female rats. *Neuroendocrinology* 61:486-492.
- Kang SS, Leonhardt S, Jarry H, Wuttke W, Kim K 1999 Effect of interleukin-1 β on gonadotropin-releasing hormone and its receptor gene expression in the castrated male rats. *J Neuroendocrinol* (under revision),
- Kawakami M, Ando S 1981 Lateral hypothalamic mediation of midbrain catecholaminergic influences on preovulatory surges of serum gonadotropin and prolactin in female rats. *Endocrinology* 108:66-71.
- Kepa JK, Jacobsen BM, Boen EA, Prendergast P,

- Edwards DP, Takimoto G, Wierman ME 1996 Direct binding of progesterone receptor to nonconsensus DNA sequence represses rat GnRH. *Mol Cell Endocrinol* 117:27-39.
- Kepa JK, Wang C, Neeley CI, Reynolds MV, Gordon DF, Wood WM, Wierman ME 1992 Structure of the rat gonadotropin-releasing hormone (rGnRH) gene promoter and functional analysis in hypothalamic cells. *Nucl Acids Res* 20: 1393-1399.
- Kim K, Jarry H, Knoke I, Seong JY, Leonhardt S, Wuttke W 1993a Competitive PCR for quantitation of GnRH mRNA level in a single micropunch of the rat preoptic area. *Mol Cell Endo* 97:153-158.
- Kim K, Lee BJ, Cho BN, Kang SS, Choi WS, Park SD, Lee CC, Cho WK, Wuttke W 1994 A blockade of noradrenergic neurotransmission with diethylthiocarbamic acid decreases mRNA level of gonadotropin releasing hormone (GnRH) in the hypothalamus of ovariectomized, steroid-treated prepubertal rats. *Neuroendocrinology* 59:539-544.
- Kim K, Lee BJ, Park Y, Cho W 1989 Progesterone increases messenger ribonucleic acid (mRNA) level in the hypothalamus of ovariectomized estradiol-primed prepubertal rats. *Mol Brain Res* 6:151-158.
- Kim K, Lim IS, Cho BN, Kang SS, Lee BJ, Choi KH, Chung CH, Lee CC, Cho WK, Wuttke W 1993b A partial blockade of catecholaminergic neurotransmission with 6-hydroxydopamine decreases mRNA level of gonadotropin-releasing hormone in the male rat hypothalamus. *Neuroendocrinology* 58:146-152.
- Kim K, Ramirez VD 1982 *In vitro* progesterone stimulates the release of luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) from superfused hypothalamic tissues from ovariectomized, estradiol-primed prepubertal rats. *Endocrinology* 111:750-756.
- Kim K, Ramirez VD 1985 *In vitro* luteinizing hormone releasing hormone (LHRH) release from superfused rat hypothalami: Site of action of progesterone and effect of estrogen. *Endocrinology* 116:252-258.
- Kim K, Ramirez VD 1986 *In vitro* LHRH release as a function of the rat estrous cycle: the effect of progesterone. *Neuroendocrinology* 42:392-398.
- Kim K, Seong JY, Kang SS, Sun W 1997 Neuroendocrine regulation of GnRH gene expression. In: Parhar IS, Sakuma Y ed. *GnRH neurons: gene to behavior*. Brain Shuppan, Tokyo, pp 401-427.
- Kim K 1997 Gene expression and differentiation of GnRH neurons. *International Symposium on the Comparative Biology of GnRH Neurons*, pp15, University of Tokyo, Japan, (Nov. 22-23), 1997.
- King JA, Millar RP 1995 Evolutionary aspects of gonadotropin-releasing hormone and its receptor. *Cell Mol Neurobiol* 15:5-23.
- King JC, Tai DW, Hanna IK, Pfeiffer A, Haas P, Ronsheim PM, Mitchell SC, Turcotte JC, Blaustein JD 1995 A subgroup of LHRH neurons in guinea pigs with progestin receptors is centrally positioned within the total population of LHRH neurons. *Neuroendocrinology* 61:265-275.
- Knobil E 1980 The neuroendocrine control of gonadotropin secretion of the menstrual cycle. *Recent Prog Horm Res* 36:53-88.
- Knobil E 1990 The GnRH pulse generator. *Am J Obstet Gynecol* 163:1721-1727.
- Krsmanovic LZ, Stojilkovic SS, Merelli F, Dufour SM, Virmani MA, Catt KJ 1992 Calcium signaling and episodic secretion of gonadotropin-releasing hormone in hypothalamic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:8462-8466.
- Krsmanovic LZ, Stojilkovic SS, Catt KJ 1996 Pulsatile gonadotropin-releasing hormone release and its regulation. *Trends Endocrinol Metab* 7:56-59.
- Krsmanovic LZ, Stojilkovic SS, Mertz LM, Tomic M, Catt KJ 1993 Expression of gonadotropin-releasing hormone receptors and autocrine regulation of

- neuropeptide release in immortalized hypothalamic neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:3908-3912.
- Lagrange AH, Ronnekleiv OK, Kelly MJ 1995 Estradiol-17 β and m-opioid peptides rapidly hyperpolarize GnRH neurons: A cellular mechanism of negative feedback. *Endocrinology* 136: 2341-2344.
- Lamberts R, Vijayan E, Graf M, Mansky T, Wuttke W 1983 Involvement of preoptic-anterior hypothalamic GABA neurons in the regulation of pituitary LH and prolactin release. *Exp Brain Res* 52:356-362.
- Lee BJ, Kim K, Cho WK 1990 Activation of intracellular pathways with forskolin and phorbol ester increases LHRH mRNA level in the rat hypothalamus superfused *in vitro*. *Mol Brain Res* 8:185-191.
- Legouis R, Cohen-Salmon M, Del Castillo I, Petit C 1994 Isolation and characterization of the gene responsible for the X chromosome-linked Kallmann syndrome. *Biomed Pharmacother* 48:241-246.
- Lei ZM, Rao CV 1994 Novel presence of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin (hCG) receptors and the down-regulating action of hCG on gonadotropin-releasing hormone gene expression in immortalized hypothalamic GT1-7 neurons. *Mol Endocrinol* 8:1111-1121.
- Lei ZM, Rao CV 1995 Signaling and transacting factors in the transcriptional inhibition of gonadotropin releasing hormone gene by human chorionic gonadotropin in immortalized hypothalamic GT1-7 neurons. *Mol Cell Endocrinol* 109:151-157.
- Lei Z, Rao CV 1997 *Cis*-Acting elements and trans-acting proteins in the transcriptional inhibition of gonadotropin-releasing hormone gene by human chorionic gonadotropin in immortalized hypothalamic GT1-7 neurons. *J Biol Chem* 272:14365-14371.
- Leonardelli J, Poulain P 1977 About a ventral LHRH preoptico-amygdaloid pathway in the guinea pig. *Brain Res* 124:538-543.
- Leonhardt S, Seong JY, Kim K, Thorun Y, Wuttke W, Jarry H 1995 Activation of central GABAA-but not of GABAB-receptors rapidly reduces pituitary LH release and GnRH gene expression in the preoptic/anterior hypothalamic area of ovariectomized rats. *Neuroendocrinology* 61:655-662.
- Leranth CS, Segura LMG, Palkovits M, MacLusky NJ, Shanabrough M, Naftolin F 1985 The LHRH-containing neuronal network in the preoptic area of the rat: demonstration of LHRH-containing nerve terminals in synaptic contact with LH-RH neurons. *Brain Res* 345:332-336.
- Levine JE, Ramirez VD 1982 Luteinizing hormone-releasing hormone release during the rat estrous cycle and after ovariectomy, as estimated with push-pull cannulae. *Endocrinology* 111:1439-1448.
- Li S, Pelletier G 1993a Chronic administration of muscimol and pentobarbital decreases gonadotropin-releasing hormone mRNA levels in the male rat hypothalamus determined by quantitative *in situ* hybridization. *Neuroendocrinology* 58:136-139.
- Li S, Pelletier G 1993b Opioid regulation of gonadotropin-releasing hormone gene expression in the male rat brain as studied by *in situ* hybridization. *NeuroReport* 4:331-333.
- Lincoln DW, Fraser HM, Lincoln GA 1985 Hypothalamic pulse generator. *Recent Prog Horm Res* 41:369-419.
- Lovejoy DA 1996 Peptide hormone evolution: functional heterogeneity within GnRH and CRF families. *Biochem Cell Biol* 74:1-7.
- Lutz B, Ruarli EI, Eichele G, Ballabio A 1993 X-linked Kallmann syndrome. A neuronal targeting defect in the olfactory system? *FEBS Lett* 325:128-134.
- Mahachoklertwattana P, Sanchez J, Kaplan SL, Grumbach MM 1994 N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors mediate the release of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) by NMDA in a hypothalamic GnRH neuronal cell line (GT1-1). *Endocrinology* 134:1023-1030.
- Martinez de la Escalera G, Choi ALH, Weiner RI

- 1992 Generation and synchronization of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) pulses: intrinsic properties of the GT1-1 GnRH neuronal cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:1852-1855.
- Mason AJ, Hayflick JS, Zoeller RT, Young III WS, Phillips HS, Seeburg PH 1986a A deletion truncating the gonadotropin-releasing hormone gene is responsible for hypogonadism in the hpg mouse. *Science* 234:1366-1371.
- Mason AJ, Pitts SL, Nikolics K, Szonyi E, Wilcox JN, Seeburg PH, Stewart TA 1986b The hypogonadal mouse: Reproductive functions restored by gene therapy. *Science* 234:1372-1378.
- Mason DR, Arora KK, Mertz LM, Catt KJ 1994 Homologous down-regulation of gonadotropin-releasing hormone receptor sites and messenger ribonucleic acid transcript in α T3-1 cells. *Endocrinology* 135:1165-1170.
- Masotto C, Wisniewski G, Negro-Vilar A 1989 Different g-aminobutyric acid receptor subtypes are involved in the regulation of opiate-dependent and independent luteinizing hormone secretion. *Endocrinology* 125:548-553.
- Matsuo H, Baba Y, Nair RMG, Arimura A, Schally AV 1971 Structure of the porcine LH- and FSH-releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. *Biochem Biophys Res Commun* 43:1334-1339.
- McEwen BS 1992 Effects of the steroid/thyroid hormone family on neural and behavioral plasticity. In: Nemeroff CB (ed) *Neuroendocrinology*. CRC press, London, pp. 333-351.
- Melcangi RC, Galbiati M, Messi E, Magnaghi V, Cavarretta I, Riva MA, Zanisi M 1997 Astrocyte-neuron interactions in vitro: role of growth factors and steroids on LHRH dynamics. *Brain Res Bull* 44:465-469.
- Mellon PL, Windle JJ, Goldsmith PC, Padula CA, Roberts JL, Weiner RI 1990 Immortalization of hypothalamic GnRH neurons by genetically targeted tumorigenesis. *Neuron* 5:1-10.
- Meisel RL, Sachs BD 1994 The physiology of male sexual behavior. In: Knobil E, Neill JD (Eds.) *The Physiology of Reproduction*. Vol 2, 2nd ed, Raven Press, Ltd., New York, 1994, pp. 3-105.
- Mitsushima D, Hei DL, Terasawa E 1994 γ -aminobutyric acid is an inhibitory neurotransmitter restricting the release of luteinizing hormone-releasing hormone before the onset of puberty. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:395-399.
- Moenter SM, Brand RC, Karsch FJ 1992 Dynamics of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion during the GnRH surge: Insights into the mechanism of GnRH surge induction. *Endocrinology* 130:2978-2984.
- Mogulevsky JA, Carbone S, Szwarcfarb B, Rondina D 1991 Sexual maturation modifies the GABAergic control of gonadotropin secretion in female rats. *Brain Res* 563:12-16.
- Moss RL, Gu Q, Wong M 1997 Estrogen: nontranscriptional signaling pathway. *Recent Prog Horm Res* 52:33-68.
- Moss RL, McCann SM 1973 Induction of mating behavior in rats by luteinizing hormone-releasing factor. *Science* 181:177-179.
- Negro-Vilar A, Advis J, Ojeda SR, McCann SM 1982 Pulsatile luteinizing hormone (LH) patterns in ovariectomized rats: involvement of norepinephrine and dopamine in the release of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone (GnRH). *Brain Res Bull* 21:677-683.
- Naylor AM, Porter DWF, Lincoln DW 1989 Inhibitory effect of central LHRH in the preoptic area of the brain. *Neuroendocrinology* 49:531-536.
- Nikolarakis KE, Loeffler JP, Almeida OFX, Herz A 1988 Pre- and postsynaptic actions of GABA on the release of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone (GnRH). *Brain Res Bull* 21:677-683.
- Nikolics K, Mason AJ, Szonyi E, Ramachandran J, Seeburg PH 1985 A prolactin-inhibiting factor within the precursor for human gonadotropin-releasing hormone. *Nature* 316:511-517.

- Ochoa A, Domenzain C, Clapp C, Martinez de la Escalera G 1997 Differential effects of basic fibroblast growth factor, epidermal growth factor, transforming growth factor-alpha, and insulin-like growth factor-I on a hypothalamic gonadotropin-releasing hormone neuronal cell line. *J Neurosci Res* 49:739-749.
- Ojeda SR, Negro-Vilar A, McCann SM 1979 Release of prostaglandin Es by hypothalamic tissue: evidence for their involvement in catecholamine-induced luteinizing hormone-releasing hormone release. *Endocrinology* 104:617-624.
- O'Malley B 1990 The steroid hormone receptor superfamily: More excitement predicted for the future. *Mol Endocrinol* 4:363-369.
- Ondo JG, Wheeler DD, Dom RM 1988 Hypothalamic site of action of N-methyl-D-aspartate (NMDA) on LH secretion. *Life Sci* 43:2283-2286.
- Orstead KM, Spies HG 1987 Inhibition of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone release by endogenous opioid peptides in the female rabbit. *Neuroendocrinology* 62:155-165.
- Ottinger MA, Thompson N, Viglietti-Panzica C, Panzica GC 1997 Neuroendocrine regulation of GnRH and behavior during aging in birds. *Brain Res Bull* 44:471-7.
- Park O-K, Gugneja S, Mayo KE 1990 Gonadotropin-releasing hormone gene expression during the rat estrous cycle: Effects of pentobarbital and ovarian steroids. *Endocrinology* 127:365-372.
- Park O-K, Ramirez VD 1989 Spontaneous changes in LHRH release during the rat estrous cycle as measured with repetitive push-pull perfusion of the pituitary gland in the same female rats. *Neuroendocrinology* 50:66-72.
- Park Y, Park SD, Cho WK, Kim K 1988 Testosterone stimulates LHRH-like mRNA level in the rat hypothalamus. *Brain Res* 451:255-260.
- Pelletier G 1987 Demonstration of contacts between neurons staining for LHRH in the preoptic area of the rat brain. *Neuroendocrinology* 45:457-459.
- Petersen SL, McCrone S, Keller M, Gardener E 1991 Rapid increase in LHRH mRNA levels following NMDA. *Endocrinology* 129:1679-1681.
- Petersen SL, Gardener E, Adelman J, McCrone S 1996 Examination of steroid-induced changes in LHRH gene transcription using 33P- and 35S-labeled probes specific for intron 2. *Endocrinology* 137:234-239.
- Petersen SL, McCrone S, Keller M, Shores S 1995 Effects of estrogen and progesterone on luteinizing hormone-releasing hormone messenger ribonucleic acid levels: consideration of temporal and neuroanatomical variables. *Endocrinology* 136:3604-3610.
- Pfaff DW 1973 Luteinizing hormone-releasing factor (LRF) potentiates lordosis behavior in hypophysectomized ovariectomized female rats. *Science* 182:1148-1149.
- Pfaff DW, Schwartz-Giblin S, McCarthy MM, Kow L-M 1994 Cellular and molecular mechanisms of female reproductive behaviors. In: Knobil E, Neill JD (Eds.) *The Physiology of Reproduction*. Vol 2, 2nd ed, Raven Press, Ltd., New York, 1994, pp. 107-220
- Plant TM, Gay VL, Marshall GR, Arslan M 1989 Puberty in monkeys is triggered by chemical stimulation of the hypothalamus. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:2506-2510
- Poletti A, Melcangi RC, Negri-Cesi P, Maggi R, Martini L 1994 Steroid binding and metabolism in the luteinizing hormone-releasing hormone-producing neuronal cell line GT1-1. *Endocrinology* 135:2623-2628.
- Price MT, Olney JW, Cicero TJ 1978 Acute elevations of serum luteinizing hormone induced by kainic acid, N-methyl aspartic acid or homocysteic acid. *Neuroendocrinology* 26:352-358.
- Quinton R, Duke VM, de Zoysa PA, Platts AD, Valentine A, Kendall B, Pickman S, Kirk JM, Besser GM, Jacobs HS, Bouloux PM 1996 The neuroradiology of Kallmanns syndrome: a genotypic and phenotypic analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 81:3010-3017.

- Quinton R, Hasan W, Grant W, Thrasivoulou C, Quiney RE, Besser GM, Bouloux PM 1997 Gonadotropin-releasing hormone immunoreactivity in the nasal epithelia of adults with Kallmann's syndrome and isolated hypogonadotropic hypogonadism and in the early midtrimester human fetus. *J Clin Endocrinol Metab* 82:309-314.
- Radovick S, Ticknor CM, Nakayama Y, Notides AC, Rahman A, Weintraub BD, Cutler GB Jr, Wondisford FE 1991a Evidence for direct estrogen regulation of the human gonadotropin-releasing hormone gene. *J Clin Invest* 88:1649-1655.
- Radovick S, Wondisford FE, Nakayama Y, Yamada M, Cutler GB Jr, Weintraub BD 1990 Isolation and characterization of the human gonadotropin-releasing hormone gene in the hypothalamus and placenta. *Mol Endocrinol* 4:476-480.
- Radovick S, Wray S, Lee E, Nicols DK, Nakayama Y, Weintraub BD, Westphal H, Cutler Jr GB, Wondisford FE 1991b Migratory arrest of gonadotropin-releasing hormone neurons in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 88:3402-3406.
- Ramirez VD, Dluzen D, Lin D 1980a Progesterone administration *in vivo* stimulates release of luteinizing hormone-releasing hormone *in vitro*. *Science* 208:1037-1039.
- Ramirez VD, Gallardo E, Hartter D 1980b Factors altering the secretion of LHRH from superfused fragments of rat hypothalamus. *J Endocrinol Invest* 3:29-37.
- Ramirez VD, Feder HH, Sawyer CH 1984 The role of brain catecholamines in the control of LH secretion: a critical inquiry. *Front Neuroendocrinol* 8:27-84.
- Ramirez VD, Zheng J 1996 Membrane sex-steroid receptors in the brain. *Front Neuroendocrinol* 17:402-439.
- Rance N, Wise P, Selmnoff M, Barraclough C 1981 Catecholamine turnover rates in discrete hypothalamic areas and associated changes in median eminence luteinizing hormone-releasing hormone and serum gonadotropins on proestrus and diestrus day 1. *Endocrinology* 108:1795-1802.
- Reichel RR, Jacob ST 1993 Control of gene expression by lipophilic hormones. *FASEB J* 7:427-436.
- Reinhart J, Mertz LM, Catt KJ 1992 Molecular cloning and expression of cDNA encoding the murine gonadotropin-releasing hormone receptor. *J Biol Chem* 267:21281-21284.
- Reinhart J, Xiao S, Arora KK, Catt KJ 1997 Structural organization and characterization of the promoter region of the rat gonadotropin-releasing hormone receptor gene. *Mol Cell Endocrinol* 130:1-12.
- Rissman EF 1996 Behavioral regulation of gonadotropin-releasing hormone. *Biol Reprod* 54:413-9.
- Rivest S, Lee S, Attardi B, Rivier C 1993 The chronic intracerebroventricular infusion of interleukin-1 beta alters the activity of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of cycling rats. I. Effect on LHRH and gonadotropin biosynthesis and secretion. *Endocrinology* 133:2324-2330.
- Rivier C, Vale W 1990 Cytokines act within the brain to inhibit LH secretion and ovulation in the rat. *Endocrinology* 127:849-856.
- Roberson MS, Misra-Press A, Laurance ME, Stork PJS, Maurer RA 1995 A role for mitogen-activated protein kinase in mediating activation of the glycoprotein hormone α -subunit promoter by gonadotropin-releasing hormone. *Mol Cell Biol* 15:3531-3539.
- Roberts JL, Dutlow CM, Jakubowski M, Blum M, Millar RP 1989 Estradiol stimulates preoptic area-anterior hypothalamic pro-GnRH-GAP gene expression in ovariectomized rats. *Mol Brain Res* 6:127-134.
- Rothfeld J, Hejtmancik JF, Conn PM, Pfaff DW 1989

- In situ* hybridization for LHRH mRNA following estrogen treatment. *Mol Brain Res* 6:121-125.
- Rugarli EI, Ghezzi C, Valsecchi V, Ballabio A 1996 The Kallmann syndrome gene product expressed in COS cells is cleaved on the cell surface to yield a diffusible component. *Hum Mol Genet* 5:1109-1115.
- Rupprecht R, Hauser CA, Trapp T, Holsboer F 1996 Neurosteroids: molecular mechanisms of action and psychopharmacological significance. *J Steroid Biochem Mol Biol* 56:163-168.
- Saitoh Y, Silverman A-J, Gibson MJ 1991 Norepinephrine neurons in mouse locus coeruleus express *c-fos* protein after N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) treatment: Relation to LH release. *Brain Res* 561:11-19.
- Sakuma Y, Pfaff DW 1980 LH-RH in the mesencephalic central gray can potentiate lordosis reflex of female rats. *Nature* 283:566-567.
- Sar M 1984 Estradiol is concentrated in tyrosine-hydroxylase-containing neurons of the hypothalamus. *Science* 223:938-940.
- Sarkar DK 1987 *In vivo* secretion of LHRH in ovariectomized rats is regulated by a possible autocrine system. *Neuroendocrinology* 45: 510-513.
- Sarkar DK 1995 Neuroendocrine control of gonadotropin release. In: Sarkar DK, Barnes CD (eds) *The Reproductive Neuroendocrinology of Aging and Drug Abuse*. CRC Press, pp1-39.
- Sarkar DK, Chiappa SA, Fink G 1976 Gonadotropin-releasing hormone surge in pro-oestrous rats. *Nature* 264:461-463.
- Sawyer CH, Markee JE, Hollinshead WH 1947 Inhibition of ovulation in the rabbit by the adrenergic-blocking agent, dibenamine. *Endocrinology* 41:39-47.
- Schoderbek WE, Roberson MS, Maurer RA 1993 Two different DNA elements mediate gonadotropin-releasing hormone effectson expression of glycoprotein hormone α -subunit gene. *J Biol Chem* 268:3903-3910.
- Scholer HR 1991 Octaminia: The POU factors in murine development. *Trends Genet* 7:323-329.
- Schumacher M, Robel P, Baulieu EE 1996 Development and regeneration of the nervous system: a role for neurosteroids. *Dev Neurosci* 18:6-21.
- Schwanzel-Fukuda M, Garcia MS, Morell JI, Pfaff DW 1987 Distribution of luteinizing hormone-releasing hormone in the nervus terminalis and brain of the mouse detected by immunocytochemistry. *J Comp Neurol* 255:231-244.
- Schwanzel-Fukuda M, Bick D, Pfaff DW 1989 Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH)-expressing cells do not migrate normally in an inherited hypogonadal (Kallmann) syndrome. *Mol Brain Res* 6:311-326.
- Schwanzel-Fukuda M, Jorgenson KL, Bergen HT, Weesner GD, Pfaff DW 1992 Biology of normal luteinizing hormone-releasing hormone neurons during and after their migration from olfactory placode. *Endocr Rev* 13:623-634.
- Schwanzel-Fukuda M, Pfaff DW 1987 Origin of luteinizing hormone-releasing hormone neurons. *Nature* 338:161-164.
- Sealfon SC, Weinstein H, Millar RP 1997 Molecular mechanisms of ligand interaction with the gonadotropin-releasing hormone receptor. *Endocr Rev* 18:180-205.
- Seeburg PH, Adelman JP 1984 Characterization of cDNA for the precursor of luteinizing hormone-releasing hormone. *Nature* 311:666-668.
- Seeburg PH, Mason AJ, Stewart TA, Nikokics 1987 The mammalian GnRH gene and its pivotal role in reproduction. *Recent Prog Horm Res* 43:69-98.
- Seltzer AM, Donoso AO 1992 Restraining action of GABA on estradiol-induced LH surge in the rat: GABA activity in brain nuclei and effects of GABA mimetics in the medial preoptic nucleus. *Neuroendocrinology* 55:28-34.
- Seong JY, Kang SS, Kam K, Han YG, Kwon HB, Ryu K, Kim K 1998 Differential regulation of

- gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor expression in the posterior mediobasal hypothalamus by steroid hormones: implication of GnRH neuronal activity. *Mol Brain Res* 53:226-235.
- Seong JY, Lee YK, Lee CC, Kim K 1993 NMDA receptor antagonist decreases the progesterone-induced increase in GnRH gene expression in the rat hypothalamus. *Neuroendocrinology* 58: 234-239.
- Seong JY, Park S, Kim K 1999 Enhanced splicing of the first intron from the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) primary transcript is a prerequisite for mature GnRH mRNA: Presence of GnRH neuron-specific splicing factors. *Mol Endocrinol* (under revision).
- Sharp ZD, Morgan WW 1996 Brain POU-er. *Bioessays* 18:347-350.
- Sherwood NM, Chiappa SA, Sarkar DK, Fink G 1980 Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in pituitary stalk blood from proestrous rats: Effects of anesthetics and relationship between stored and released GnRH and luteinizing hormone. *Endocrinology* 107:1410-1417.
- Shibata H, Spencer TE, Onate SA, Jenster G, Tsai SY, Tsai MJ, O'Malley BW 1997 Role of co-activators and co-repressors in the mechanism of steroid/thyroid receptor action. *Recent Prog Horm Res* 52:141-164.
- Shivers BD, Harlan RE, Hejtmancik JF, Conn PM, Pfaff DW 1986 Localization of cells containing LHRH-like mRNA in rat forebrain using in situ hybridization. *Endocrinology* 118:883-885.
- Shivers BD, Harlan RE, Morrell JI, Pfaff DW 1983 Absence of oestradiol concentration in cell nuclei of LHRH-immunoreactive neurons. *Nature* 304:345-347.
- Silverman A-J, Livne I, Witkin JW 1994 The gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neuronal systems: immunocytochemistry and in situ hybridization. In: Knobil E, Neill JD (Eds.) *The Physiology of Reproduction*. 2nd ed, Raven Press, Ltd., New York, 1994, pp. 1683-1709.
- Spergel DJ, Krsmanovic LZ, Stojilkovic SS, Catt KJ 1994 Glutamate modulates $[Ca^{2+}]_i$ and gonadotropin-releasing hormone secretion in immortalized GT1-7 neurons. *Neuroendocrinology* 59:309-317.
- Steiner RA, Bremner WJ, Clifton DK 1982 Regulation of luteinizing hormone pulse frequency and amplitude by testosterone in the adult male rat. *Endocrinology* 111:2055-2061.
- Stojilkovic SS, Krsmanovic LZ, Spergel DJ, Catt KJ 1994a Gonadotropin-releasing hormone neurons: intrinsic pulsatility and receptor-mediated regulation. *Trends Endocrinol Metab* 5:201-209.
- Stojilkovic SS, Reinhart J, Catt KJ 1994b Gonadotropin-releasing hormone receptors: structure and signal transduction pathways. *Endocr Rev* 15:462-499.
- Strobl FJ, Gilmore CA, Levine JE 1989 Castration induces luteinizing hormone (LH) secretion in hypophysectomized pituitary-grafted rats receiving pulsatile LH-releasing hormone neurons. *Endocrinology* 124:1140-1144.
- Suh J, Song ES, Yu M-H, Kim K 1994 Cross-talk between N-methyl-D-aspartate and adrenergic neurotransmission in the regulation of hypothalamic GnRH gene expression. *Brain Res* 645:36-40.
- Sun W, Choe YS, Lee YJ, Kim K 1997 Suppression of GnRH gene expression in GT1-1 hypothalamic neuronal cells: action of protein kinase C. *NeuroReport* 8:3541-3546.
- Sun W, Lee H, Choe YS, Kim K 1999 Functional differentiation of GT1-1 neuronal cells by TPA. *Mol Brain Res* (submitted).
- Sundaresan S, Colin IM, Pestell RG, Jameson JL 1996 Stimulation of mitogen-activated protein kinase by gonadotropin-releasing hormone: evidence for the involvement of protein kinase C. *Endocrinology* 137:304-311.
- Suter DE, Schwartz N 1985 Effects of glucocorticoids on secretion of luteinizing hormone and follicle-

- stimulating hormone by female rat pituitary cells *in vitro*. *Endocrinology* 117:849-854.
- Toranzo D, Dupont E, Simard J, Labrie C, Couet J, Labrie F, Pelletier G 1989 Regulation of pro-gonadotropin-releasing hormone gene expression by sex steroids in the brain of male and female rats. *Mol Endocrinol* 3:1748-1756.
- Treacy MN, Resenfeld MG 1992 Expression of a family of POU-domain protein regulatory genes during development of the central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 15:139-165.
- Tsai YF, Tsai HW, Tai MY, Huang RL, Peng MT 1997 Male sexual behavior is associated with LHRH neuron number in middle-aged rats. *Neurosci Lett* 237:81-4.
- Tsai P-S, Werner S, Weiner RI 1995 Basic fibroblast growth factor is a neurotropic factor in GT1 gonadotropin-releasing hormone neuronal cell line. *Endocrinology* 136:3831-3838.
- Tsai P-S, Weiner RI 1996 Regulation of gonadotropin-releasing hormone neurons by basic fibroblast growth factor. *Trends Endocrinol Metab* 7:65-68.
- Tsutsumi M, Zhou W, Millar RP, Mellon PL, Roberts JL, Flanagan CA, Dong K, Gillo B, Sealfon SC 1992 Cloning and functional expression of a mouse gonadotropin-releasing hormone receptor. *Mol Endocrinol* 6:1163-1169.
- Urbansky HF, Ojeda SR 1987 Activation of luteinizing hormone-releasing hormone release advances the onset of female puberty. *Neuroendocrinology* 46:273-276.
- Valenca MM, Johnston CA, Ching M, Negro-Vilar A 1987 Evidence for a negative ultrashort loop feedback mechanism operating on the luteinizing hormone-releasing hormone neuronal system. *Endocrinology* 121:2256-2259.
- van Minne J 1988 Production and exocrine secretion of LHRH-like material by the male rat reproductive tract. *Peptides* 9:515-518.
- Vijayan E, McCann SM 1978 The effects of intraventricular injection of g-aminobutyric acid (GABA) on prolactin and gonadotropin release in conscious female rats. *Brain Res* 155:35-41.
- Voigt P, Ma YJ, Gonzalez D, Fahrenbach WH, Wetsel WC, Berg-von der Emde K, Hill DF, Taylor KG, Costa ME, Seidah NG, Ojeda SR 1996 Neural and glial-mediated effects of growth factors acting via tyrosine kinase receptors on luteinizing hormone-releasing hormone neurons. *Endocrinology* 137:2593-2605.
- Weigel NL 1996 Steroid hormone receptors and their regulation by phosphorylation. *Biochem J* 319:657-667.
- Weiner RI, Wetsel W, Goldsmith P, Martinez de la Escalera G, Windle J, Padula C, Choi A, Negro-Vilar A, Mellon P 1992 Gonadotropin-releasing hormone neuronal cell lines. *Front Neuroendocrinol* 13:95-119.
- Wetsel WC, Eraly SA, Whyte DB, Mellon PL 1993 Regulation of gonadotropin-releasing hormone by protein kinase-A and -C in immortalized hypothalamic neurons. *Endocrinology* 132:2360-2370.
- Wetsel WC, Hill DF, Ojeda SR 1996 Basic fibroblast growth factor regulates the conversion of pro-luteinizing hormone-releasing hormone (Pro-LHRH) to LHRH in immortalized hypothalamic neurons. *Endocrinology* 137:2606-2616.
- Wetsel WC, Valenca MM, Merchenthaler I, Liposits Z, Lopez FJ, Weiner RI, Mellon PL, Negro-Vilar A 1992 Intrinsic pulsatile secretory activity of immortalized luteinizing hormone-releasing hormone-secreting neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 89:4149-4153.
- Whyte DB, Lawson MA, Belsham DD, Eraly SA, Bond CT, Adelman JP, Mellon PL 1995 A neuron-specific enhancer targets expression of the gonadotropin-releasing hormone gene to hypothalamic neurosecretory neurons. *Mol Endocrinol* 9:467-477.
- White RB, Eisen EA, Kasten TL, Fernald PD 1998 Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:305-309

- Wiebe JP 1997 Nongenomic actions of steroids on gonadotropin release. *Recent Prog Horm Res* 52:71-99.
- Wierman ME, Kupa JK, Sun W, Gordon DF, Wood WM 1992 Estrogen negatively regulates rat gonadotropin-releasing hormone (rGnRH) promoter activity in transfected placental cells. *Mol Cell Endocrinol* 86:1-10.
- Wierman ME, Xiong X, Kupa JK, Spaulding AJ, Jacobsen BM, Fang Z, Nilaver G, Ojeda SR 1997 Repression of gonadotropin-releasing hormone promoter activity by the POU homeodomain transcription factor SCIP/Oct-6/Tst-1: a regulatory mechanism of phenotype expression? *Mol Cell Biol* 17:1652-1665.
- Windle JJ, Weiner RI, Mellon PL 1990 Cell lines of the pituitary gonadotrope lineage derived by targeted oncogenesis in transgenic mice. *Mol Endocrinol* 4:597-603.
- Wingender E 1993 *Gene Regulation in Eukaryotes*. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, pp. 1-22.
- Wise P, Rance N, Barraclough C 1981 Effects of estradiol and progesterone on catecholamine turnover rates in discrete hypothalamic regions in ovariectomized rats. *Endocrinology* 108:2186-2193.
- Witkin JW, Silverman A-J 1985 Synaptology of luteinizing hormone-releasing hormone neurons in rat preoptic area. *Peptides* 6:263-271.
- Wolfe AM, Wray S, Westphal H, Radovick S 1996 Cell-specific expression of the human gonadotropin-releasing hormone gene in transgenic animals. *J Biol Chem* 271:20018-20023.
- Wray S, Hoffman G 1986 Postnatal morphological changes in rat LHRH neurons correlated with sexual maturation. *Neuroendocrinology* 43:93-97.
- Wray S, Gant P, Gainer H 1989 Evidence that cells expressing luteinizing hormone-releasing hormone mRNA in the mouse are derived from progenitor cells in the olfactory placode. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:8132-8136.
- Yeo TTS, Gore AC, Jakubowski M, Dong K, Blum M, Roberts JL 1996 Characterization of gonadotropin-releasing hormone gene transcripts in a mouse hypothalamic neuronal GT1 cell line. *Mol Brain Res* 42:255-262.
- Yu K-L, Yeo TTS, Dong K-W, Jakubowski M, Lackner-Arkin C, Blum M, Roberts JL 1994 Second messenger regulation of mouse gonadotropin-releasing hormone gene expression in immortalized mouse hypothalamic GT1-3 cells. *Mol Cell Endocrinol* 102:85-92.
- Zakaria M, Dunn IC, Zhen S, Su E, Smith E, Patriquin E, Radovick S 1996 Phorbol ester regulation of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene in GnRH-secreting cell lines: a molecular basis for species differences. *Mol Endocrinol* 10:1282-1291.
- Zanisi M, Messi E, Motta M, Martini L 1987 Ultrashort feedback control of luteinizing hormone-releasing hormone secretion *in vitro*. *Endocrinology* 121:2199-2204.
- Zilliaccus J, Wright APH, Carlstedt-Duke J, Gustafsson J-A 1995 Structural determinants of DNA-binding specificity by steroid receptors. *Mol Endocrinol* 9:389-400.
- Zoeller RT, Seeburg PH, Young III W 1988 In situ hybridization histochemistry for messenger ribonucleic acid (mRNA) encoding gonadotropin-releasing hormone (GnRH): effect of estrogen on cellular levels of GnRH mRNA in female rat brain. *Endocrinology* 122:2570-2577.
- Zoeller RT, Young III W 1988 Changes in cellular levels of messenger ribonucleic acid encoding gonadotropin-releasing hormone in the anterior hypothalamus of female rats during the estrous cycle. *Endocrinology* 123:1688-1689.