

흰쥐 발정주기와 난소절제에 따른 질상피의 glycoconjugates, estrogen receptor- α , c-fos 및 c-jun 분포변화

길영기¹ · 김강련¹ · 김순옥¹ · 최영현² · 이준혁³ · 최병태^{3*}

¹고신대학교 의과대학 해부학교실, 동의대학교 한의과대학

²생화학교실, ³해부학교실

Differential expression of glycoconjugates, estrogen receptor- α , c-fos and c-jun in the vagina of normal and ovariectomized rat

Young-Gi Gil¹, Soon-Ok Kim¹, Kang-Ryne Kim¹, Yung-Hyun Choi²,
Jun-Hyuk Lee³ and Byung-Tae Choi^{3*}

¹Department of Anatomy, Medical School, Kosin University

Departments of ²Biochemistry and ³Anatomy, College of Oriental Medicine, DongEui University

Abstract

We investigated the compositional changes of glycoconjugates (GCs) and expression of estrogen receptor (ER)- α , c-fos and c-jun in the vagina of normal and ovariectomized rats by histochemical and immunohistochemical methods. The mucinous transformation of the superficial layer that occurred from late diestrus to proestrus was accompanied with extensive enrichment of GCs. According to the cyclic changes of the vagina, distinct reactivity patterns such as SBA affinity in the diestrus and Con A affinity in the diestrus and estrus phase was observed. However, weak staining for GCs was detected in the atrophied vaginal epithelium of ovariectomized rats.

ER- α immunoreaction was mainly demonstrated in the basal layer of epithelium and estrus cycle-related variation in the number of ER- α immunoreaction were not pronounced. But the stromal cells showing ER- α immunoreaction were abundantly observed from diestrus to estrus phase. The most numerous c-fos immunoreactive cells were observed in the basal and intermediate layer of epithelium and stromal cells from the proestrus to estrus phase and c-jun in the basal layer of epithelium during estrus phase. The c-jun immunoreaction of stromal cells expressed only in the estrus phase. In the ovariectomized rats, a few of ER- α , c-fos and c-jun immunoreactive cells were observed in the vaginal epithelium and no immunoreaction were found in the stromal cells.

ER- α and c-fos immunoreaction fully expressed in the proestrus coincident with the cell proliferation, mucinous transformation and cornification of vaginal epithelium. These data indicate that vagina epithelium and stromal cells express multiple protein such as ER- α , c-fos and c-jun by estrogen that may function in process of cells proliferation and differentiation of vagina epithelium.

Key words — vagina, glycoconjugates, estrogen receptor- α , c-fos, c-jun

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : 051-850-8653, Fax : 051-853-4036

E-mail : choibt@dongeui.ac.kr

서 론

질은 성호르몬의 표적기관으로 상피는 발정주기와 연령에 따라서 다양한 기능적 변화를 수행한다. 특히 설치류에서 볼 수 있는 질상피의 특징적인 변화로 상피세포의 증식, 점액세포화, 각질화는 estrogen 같은 성호르몬의 주된 영향 아래 형성된다[15].

Estrogen은 생리주기에 따라 질상피 바닥층의 세포증식을 유도하고[10,16], 늦은 발정사이기와 발정전기에 걸쳐 3-4 층의 표면층 편평상피에 vacuole이 축적되고 곧 점액과립을 가진 중층의 입방세포로 변하는 점액세포화 (mucinous transformation)에 관여한다[25,28].

계속된 estrogen작용은 발정기에 점액과립을 가진 중층입방세포아래 각질세포를 형성하여 점액세포를 질내강으로 밀어내어 각질중층편평상피를 형성하며 발정후기와 발정사이기에는 백혈구가 특징적으로 관찰된다[10,16,20]. 이러한 질상피의 주기적 변화에 대한 의미는 명확히 밝혀져 있지 않으나 발정기에 형성되는 교접으로 보아 생식적 기능에 중요함을 시사한다.

발정주기에 따른 estrogen 변화는 질상피 glycoconjugates (GCs)의 양과 질적 변화를 수반하며, growth factor (GF), GF-receptor, oncogene product, estrogen receptor (ER) 또는 progesteron receptor 같은 nuclear protein 유전자발현에 관여한다[17,21,33].

Estrogen은 ER 활성을 통해 생식기계의 세포증식과 세포분화를 촉진하게 되는데[8], c-fos 유전자에는 ER 결합부위를 가지고 있으며 전사인자로 AP-1과 관련된 c-jun 와 함께 estrogen이 생식기계에 작용하는데 직접적 연관성을 가지고 있다 [7,29,36]. 즉 estrogen에 대한 표적세포의 반응은 ER뿐 아니라 proto-oncogene이 관여한다[13,22].

설치류의 생식기계는 세포성장과 분화에 대한 성호르몬 효과연구에 매우 뛰어난 모델로서 특히 자궁점막의 증식, 분화에 대한 다양한 연구가 있으나 그에 따른 질점막 단백질 발현에 대한 연구는 많지 않다. 본 실험은 발정주기와 난소절제시 성호르몬 변화에 의한 질의 GCs 성상 그리고 ER- α , oncogene product 인 c-fos와 c-jun 분포를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 절편제작

10주된 건강한 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐를 2주간 자

유급식법으로 실험실 환경 ($23\pm1^{\circ}\text{C}$)에 순화시키며 질도말 표본을 통해 생리주기가 일정한 개체를 실험에 사용하였다. 난소는 sodium pentobarbital (Entobal, 한림제약) 3 mg/100 g를 복강내 주사하여 마취시킨 후 복부를 절개하여 난소를 절제하였으며 절제 10주 후 실험에 사용하였다.

에테르로 마취한 후 질의 중간부분을 절취하여 4% paraformaldehyde 용액 (in phosphate buffered saline, 0.01 M, pH 7.4)에 4°C 16시간동안 고정하였다. PBS로 수세후 순차적인 탈수 및 투명화를 거쳐 paraffin에 포매하여 5 μm 연속절편을 만들었다.

GCs에 대한 조직화학적 관찰

Neutral GCs에 대한 관찰은 periodic acid Schiff반응법을, acid GCs는 alcian blue pH 2.5염색을 실시하였다. acid GCs 중 sulfated GCs는 alcian blue pH 1.0염색을, sulfated와 nonsulfated GCs 구별은 aldehyde fuchsin pH 1.7-alcian blue pH 2.5염색을 사용하였다.

GCs 잔기에 특이적인 lectin 조직화학을 위하여 탈파라핀한 조직을 3% methanolic hydrogen peroxide에 실온에서 30분간 처리하고, PBS로 10분간 3회 세척한 후 1% bovine serum albumin용액에 실온에서 30분간 두었다. 이를 biotinylated lectin (Vector Lab.) 중 α -D-mannose, α -D-glucose를 인지하는 Con A (*Canavalia ensiformis*)를 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, β -N-acetyl-D-glucosamine, α/β -N-acetyl-D-galactosamine, α -D-galactose를 각각 인지하는 succinylated WGA (*Triticum vulgaris*), SBA (*Glycine max*), BSL-1 (*Bandeiraea simplicifolia*)을 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 HEPES buffer (10 mM HEPES, pH 7.5, 0.15 M NaCl, 0.1 mM Ca^{2+} , 0.01 mM의 Mn^{2+})에 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. PBS로 세척후 상용화된 ABC kit (Vector Lab., PK-4000)에 60분간 반응시키고 DAB substrate kit (Vector Lab., SK-4100)로 실온에서 5분간 발색시켜 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색하였다. 각 kit의 사용법은 제조회사의 매뉴얼에 근거하여 실시하였다.

ER- α , c-fos, c-jun에 대한 면역조직화학적 관찰

면역조직화학적 관찰을 위해 탈파라핀한 후 95°C 10 mM sodium citrate buffer (pH 6.0)에 5분간 처리하였고 이를 3% methanolic hydrogen peroxide에 30분간 실온에서 처리하였다. PBS로 세척한 후 goat normal serum (Vector Lab.,

흰쥐 발정주기와 난소절제에 따른 질상피의 glycoconjugates, estrogen receptor- α , c-fos 및 c-jun 분포변화

PK-6101)으로 30분간 처리하였으며, Santa Cruz Biotechnology Inc.의 ER- α (sc-542), c-fos (sc-253), c-jun (sc-1694) 을 모두 500:1로 희석하여 4°C의 humidity chamber에서 16시간 동안 반응시켰다.

PBS로 세척하고 biotinylated anti-rabbit IgG (Vector Lab., PK-6101)를 실온에서 30분 동안 반응 시켰으며 PBS 세척후 상용화된 ABC kit (Vector Lab., PK-6101)에 실온에서 60분간 반응시켰다. 다시 PBS로 세척한 후 DAB substrate kit (Vector Lab., SK-4100)로 실온에서 5분간 발색시켰다. 각 kit의 사용법은 제조회사의 매뉴얼에 근거하여 실시하였다. 상기 실험 방법 중 일차항체대신 10% BSA/PBS을 처리하고 동일한 과정으로 염색한 것을 대조군으로 삼았다.

결 과

GCs에 대한 조직화학적 관찰

발정주기에 따른 질상피의 변화를 보면 표면층세포의 점액세포화와 각질세포화가 뚜렷이 관찰되었다. 발정사이기의 질상피는 8-12층의 중층편평상피로 표면층세포에 미약한 GCs에 대한 반응을 보이거나 발정전기에 이르면 표면층세포가 많은 GCs를 함유한 중층입방형의 점액세포로 변하였다. 발정기에는 점액세포 아래에서 형성된 각질세포가 점액세포를 질 내강으로 밀어내어 표면층은 중층편평형의 각질세포로 대치되었다. 발정후기에는 표면층에서 각질세포가 사라지고 미약한 GCs를 가진 편평세포가 다시 관찰되었다. 난소절제시에는 질은 심하게 위축되어 3-5층의 중층편평상피를 형성하였다.

고전적 방법에 의한 질상피의 GCs성상을 보면 neutral GCs와 acid GCs의 혼합성이며 acid GCs성상으로 보아 nonsulfated GCs가 대부분이었다. 발정주기에 따른 GCs변화를 보면 늦은 발정사이기와 발정전기에 이르는 점액세포에 가장 풍부한 GCs가 관찰되었다. 난소가 절제된 흰쥐 질상피는 표면층세포1-2층에서만 미약한 GCs에 대한 반응이 관찰되었다(Fig. 1).

Lectin조직화학에 의한 변화를 보면 sWGA와 BSL-1에 반응하는 GCs는 상피의 중간층에서 주로 관찰되며 발정주기에 따른 변화는 없었으나 BSL-1은 점액세포와 각질세포에서도 관찰되었다. SBA와 Con A는 모든 상피층에서 관찰되며 SBA는 발정사이기의 모든 층에서, Con A는 발정전기의

바닥층 및 발정기의 중간층에서 다른 기에 비해 강한 반응을 보였다. 난소절제 흰쥐 질에서 sWGA와 BSL-1에 대한 반응은 나타나지 않으며 SBA와 Con A는 표면층의 점액세포에서만 약한 반응을 보였다(Fig. 2).

ER- α , c-fos, c-jun에 대한 면역조직화학적 관찰

ER- α 는 상피 중 바닥층 세포 핵에서 주로 관찰되며 발정주기에 따른 반응세포수의 현저한 변화는 없었다. 베텁질세포핵에서 관찰되는 반응세포수는 발정사이기부터 발정기로 감에 따라 반응수가 증가하다 발정후기에 감소하였다. 난소절제시에는 상피세포에서 적은 반응세포수가 관찰되며 베텁질세포에서는 관찰되지 않았다(Fig. 3).

c-fos는 상피의 모든 층과 베텁질세포의 핵에서 관찰되며 발정전기 중간층의 반응이 가장 강하였다. 발정주기에 따른 반응세포수는 상피세포와 베텁질세포 모두 발정전기에 가장 많으며 발정기부터 감소하기 시작하였다. 난소절제시에는 상피에서 적은 수의 세포만 관찰되며 베텁질세포에서 관찰되지 않았다(Fig. 4).

c-jun은 바닥층과 표면층의 각질세포 핵에서 주로 관찰되며 바닥층은 발정기에 가장 많은 반응세포수를 보였으며 베텁질세포에서는 발정기에만 관찰되었다. 난소절제시에는 상피세포에서만 소수 관찰되고 베텁질세포에서는 관찰되지 않았다.

고 칠

자궁과 질 같은 암컷 생식기계의 GCs는 방어나 생식기능에 중요한 기능을 가지고 있으며 발정주기, 성호르몬, 감염, 및 질환 등에 따라 양과 성상이 변화한다[19]. 발정주기에 따른 성호르몬의 영향으로 estrogen은 sulfated GCs를 포함한 acid GCs 생성을 촉진하고, progesterone은 acid GCs 생성을 차단함과 동시에 GCs 생성양을 감소시키는 것으로 알려져 있다[3,12].

Lectin조직화학으로 보면 각 발정주기에 따라 특이적으로 반응하는 GCs를 가지며 발정사이기에는 그 반응이 약한데 비해 가장 현저한 변화가 표면층의 편평세포가 점액세포화 되어 입방형세포로 변하는 발정전기에 형성되는데 이는 광범위하고 많은 GCs복합체가 증가함을 시사한다[20,34].

질상피 표면층세포가 점액세포로 되는 것은 가장 현저한

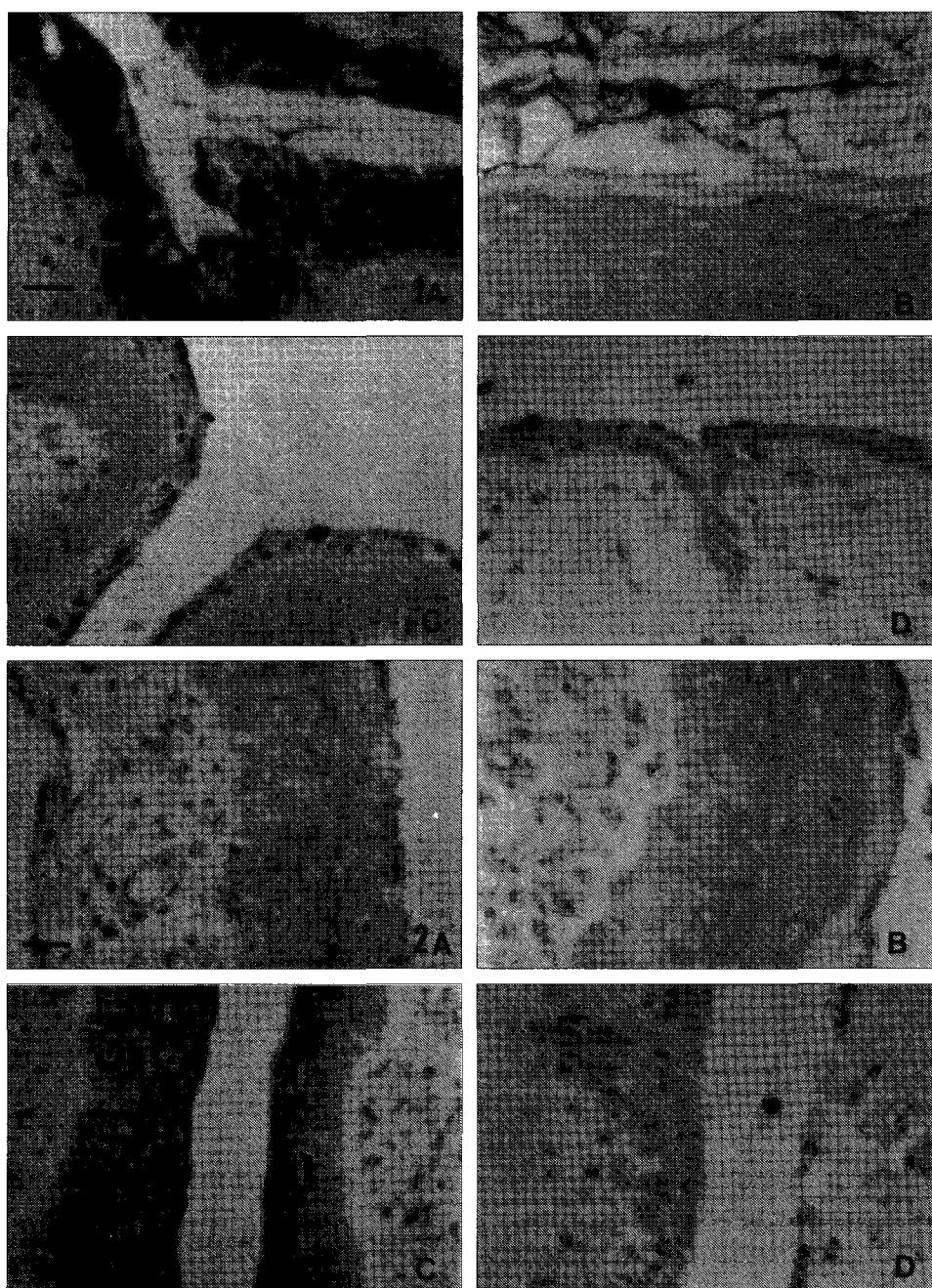


Fig. 1. PAS reaction in the vagina of the proestrus (A), estrus (B) and metestrus (C) and ovariectomized rats (D). Marked PAS stainability to GCs containing neutral one was abundantly observed in the mucinous layer of proestrus phase. The superficial layer become keratinized in the estrus phase and lumen was filled with mucinous cells that have shed during late proestrus and early estrus phase. Note an atrophied vaginal epithelium and weak stainability in the ovariectomized rats. Scale bar = 50 μm .

Fig. 2. SBA affinity to GCs containing α / β -N-acetyl-D-galactosamine in the vagina of the proestrus (A), estrus (B) and diestrus (C) and ovariectomized rats (D). In the diestrus phase, a strong affinity in the intermediate and superficial layer of vaginal epithelium was observed compared with the other estrus phase. A weak SBA affinity was demonstrated in the vaginal epithelium of ovariectomized rats. Scale bar = 50 μm .

흰쥐 발정주기와 난소절제에 따른 질상피의 glycoconjugates, estrogen receptor- α , c-fos 및 c-jun 분포변화

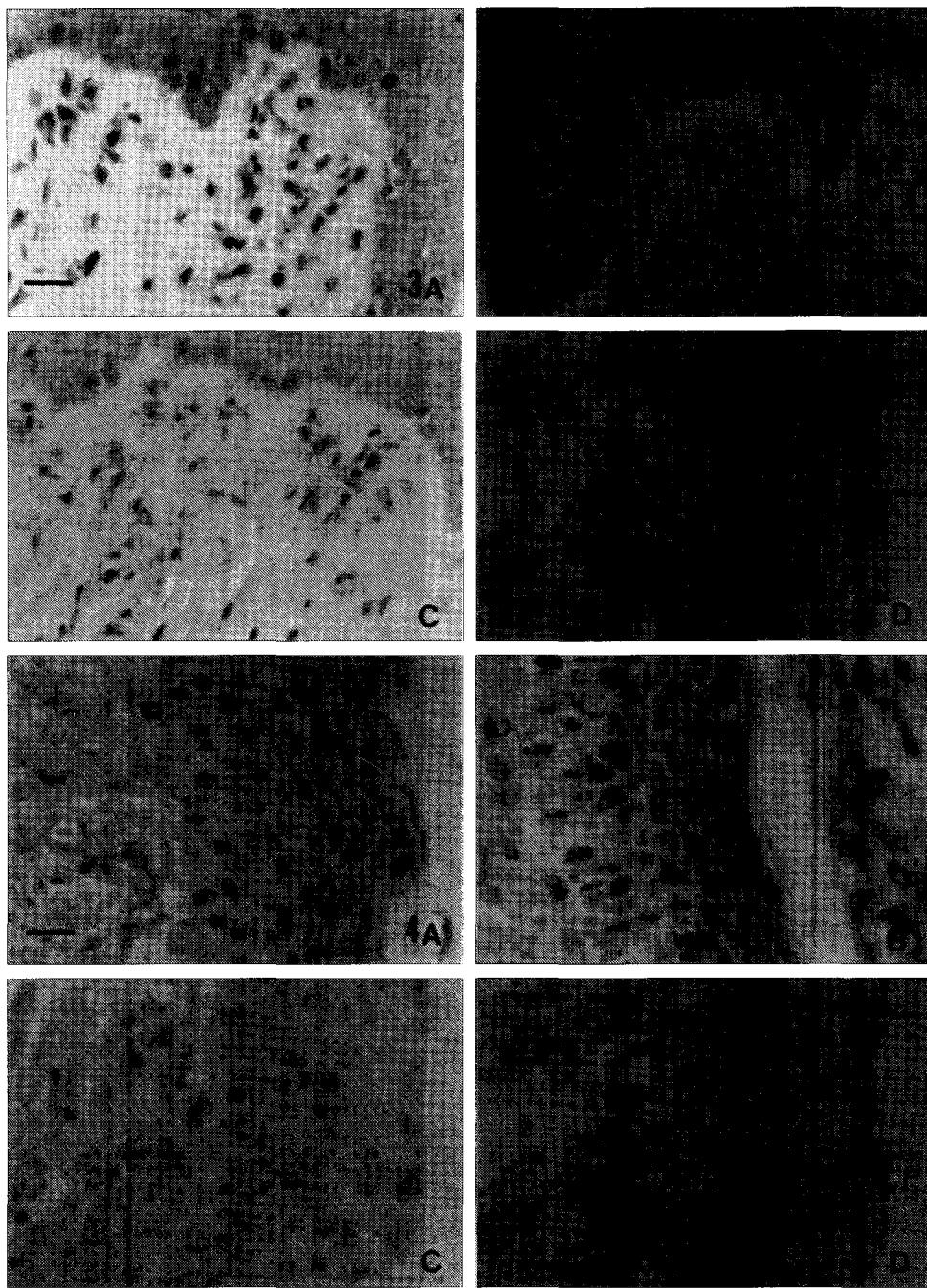


Fig. 3. ER- α immunoreaction of the vagina in the proestrus (A), estrus (B) and metestrus (C) and ovariectomized rats (D). More numerous immunoreaction cells were observed from proestrus to estrus phase in the stromal cells. No immunoreaction showed in the stromal cells of ovariectomized rats. Scale bar = 50 μm .

Fig. 4. c-fos immunoreaction of the vagina in the proestrus (A), estrus (B) and metestrus (C) and ovariectomized rats (D). Note more numerous immunoreaction cells in the basal and intermediate layer of epithelium and stroma in the proestrus and estrus phase compared with other estrus phase. Although a few cells in the vaginal epithelium of the ovariectomized rats showed weak immunoreaction, no immunoreaction in the stromal cells was detected. Scale bar = 50 μm .

당단백질의 변화로서 이러한 당단백질이 질의 윤활, 세균감염방지, 정자에 대한 수정능력 증대, 질마개 형성 등 주요한 기능을 가진다[20]. 이와 같이 성호르몬은 질상피세포의 증식과 GCs생성에 관여하므로 난소를 절제하면 상피세포의 위축과 더불어 GCs생성량도 줄어든다[12,20].

본 실험에서도 발정주기에 따라 독특한 GCs성상과 양의 변화를 볼 수 있으며 특히 발정사이기와 발정전기에 나타나는 점액세포에 가장 풍부한 GCs양과 성상의 다양성을 보여주었다. 난소절제시에는 매우 위축된 상피 표면층의 세포에만 매우 약한 GCs반응을 보여 주어 성호르몬은 질상피의 증식과 GCs형성에 영향을 주는 것을 알 수 있다.

Estrogen은 ER을 통해 표적기관에 작용하는데 ER은 질상피 바닥층에서 가장 강한 반응을 나타낸다. 질상피세포의 증식은 베텁질세포 ER을 통해 간접적으로 나타내며 질상피의 각질화는 상피세포와 베텁질세포의 ER 모두에 의해 형성되어 estrogen에 의한 질 세포증식과 분화는 서로 직접적인 연관성은 없다[5,31,32]. 그리고 ER 아형 중 ER- α 는 상피세포와 상피아래 베텁질세포에 많이 관찰되며 ER- β 는 베텁질세포에서만 나타나 기관내 상이한 분포를 나타낼 뿐 아니라 생식기관에서 상이하게 작용한다[4,6].

사람에서 ER은 폐경전후 모두 관찰되며 주로 바닥층과 세포가 분화되는 바닥층주위세포, 베텁질세포의 핵, 그리고 민무늬근에서 관찰되며 베텁질세포에서만 월경주기의 초기와 증식기에 많이 관찰되며 그 외는 생리주기나 폐경에 따른 변화가 없다[18,24,30].

Oncogene product로 알려져 있으며 특정 자극에 대해 즉시 발현되는 c-fos와 c-jun도 질 환경조성에 중요한 기능을 가지는데 이들은 표적기관에서 estrogen에 의해 유도되어 세포증식과 분화에 관여한다[1,2,26]. 난소절제 후 17 β -estradiol을 주입하면 초기에 c-fos가 일시적으로 증가하고 c-jun은 감소하나 후기 이 두 oncoprtoein의 공존은 자궁내막상피의 증식에 관여한다[27,35,36].

특히 질에서 c-fos 발현은 발정주기 중 상피세포 분화의 최종시기 즉 각질세포화 과정을 바닥세포에서 표면층으로 가는 형태적 변화를 수반한 극단적인 cell death로 볼 때 각질화되기 직전에 관찰되며 상피세포의 분화 특히 cell death와 각질화에 관여한다[14,27]. 난소절제시에는 c-fos반응이 나타나지 않으며 estradiol 투여시 각질세포 형성과정에 강한 반응을 보임으로서 c-fos는 상피세포가 각질세포로 분화

되는 과정에 일시적으로 생성된다[9,11,13,23].

본 실험결과에서 ER- α 는 질상피에서 생식주기에 따른 현저한 변화가 없었으나 베텁질세포는 세포증식이 활발하며 점액세포와 각질세포가 형성되는 발정사이기부터 발정기로 감에 따라 반응수가 현저히 증가하여 베텁질세포의 ER- α 활성이 질상피의 세포증식과 분화에 중요한 기능을 가짐을 알 수 있다. 그리고 c-fos반응세포수는 세포의 증식과 각질세포가 분화되기 시작하는 발정전기에 가장 많으며 각질세포화가 마무리되는 발정기부터 감소하며 c-jun은 상피에서 발정기에 가장 강한 반응을, 베텁질세포에서는 발정기에만 관찰되어 발정주기에 따른 상이한 변화를 보였다. 난소절제에 의해서는 c-fos와 c-jun은 상피세포에서 반응세포수가 매우 적게 관찰되며 상피세포의 질상피증식과 분화에 영향을 주는 베텁질세포에서는 ER- α , c-fos, c-jun이 관찰되지 않았다.

이상의 결과로 보아 발정주기와 난소절제에 따른 estrogen 변화는 ER- α 활성 뿐 아니라 즉시 발현되는 oncogene product인 c-fos와 c-jun 같은 단백질 등과 연관된 autocrine/paracrine에 의해 질상피의 세포성장, 분화, 발생에 중요한 인자로 작용할 수 있음을 알 수 있었다.

요 약

흰쥐 발정주기와 난소절제에 따른 질의 GCs, ER- α , c-fos 및 c-jun 변화를 조직화학적 및 면역조직화학적으로 관찰하였다. 질상피는 발정사이기와 발정전기로 이어지는 점액세포화과정에서 현저한 GCs의 양적 증가를 관찰할 수 있으며 발정사이기의 SBA, 발정전기와 발정기의 Con A와 같이 발정주기에 따른 특이적 GCs가 관찰되었다. 난소절제시에는 매우 위축된 표면층 평평세포에서만 미량의 GCs가 관찰되었다. 질에서 ER- α , c-fos, c-jun 등은 주로 핵에서 반응을 나타내는데, ER- α 는 상피세포 중 바닥층에서 주로 관찰되며, 반응세포수로 보아 발정주기에 따른 변화는 없었으나 베텁질세포에서는 발정사이기부터 발정기사이에 가장 많이 관찰되었다. c-fos는 상피의 바닥층과 중간층세포 그리고 베텁질세포에서 발정전기와 발정기사이에 가장 많이 관찰되며 c-jun은 발정기의 상피 바닥층에서 가장 많이 관찰되나 베텁질세포에서는 발정기에만 관찰되었다. 난소절제시 ER- α , c-fos, c-jun 모두 상피의 적은 세포에서만 관찰되며 베텁

질세포에서는 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 보아 발정주기와 난소절제에 따라 특이적인 GCs분포를 보일 뿐 아니라 ER- α , c-fos, c-jun 같은 단백질의 상이한 분포를 보여 주고 있어 이들이 질상피세포의 증식과 분화에 관여함을 알 수 있다.

참 고 문 헌

- Angel, P. and M. Karin. 1991. The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochim. Biophys. Acta* **1072**, 129-157.
- Bigsby, R. M. and A. Li. 1994. Differentially regulated immediate early genes in the rat uterus. *Endocrinology* **134**, 1820-1826.
- Bo, W. J., S. Smith, R. Reiter and D. J. Pizzarello. 1965. The effect of ovarian hormones on the sulphomucopolysaccharides of the uterus. *J. Histochem. Cytochem.* **13**, 461-469.
- Boutin, E. L. and G. R. Cunha. 1997. Estrogen-induced epithelial proliferation and cornification are uncoupled in sinus vaginal epithelium associated with uterine stroma. *Differentiation* **62**, 171-178.
- Buchanan, D. L., T. Kurita, J. A. Taylor, D. B. Lubahn, G. R. Cunha and P. S. Cooke. 1998. Role of stromal and epithelial estrogen receptors in vaginal epithelial proliferation, stratification, and cornification. *Endocrinology* **139**, 4345-4352.
- Celli, G., N. Darwiche and L. M. De Luca. 1996. Estrogen induces retinoid receptor expression in mouse cervical epithelia. *Exp. Cell Res.* **226**, 273-282.
- Chalbos, D., A. Philips and H. Rochefort. 1994. Genomic cross-talk between the estrogen receptor and growth factor regulatory pathways in estrogen target tissues. *Semin. Cancer Biol.* **5**, 361-368.
- Couse, J. F., S. W. Curtis, T. F. Washburn, J. Lindzey, T. S. Golding, D. B. Lubahn, O. Smithies and K. S. Korach. 1995. Analysis of transcription and estrogen insensitivity in the female mouse after targeted disruption of the estrogen receptor gene. *Mol. Endocrinol.* **9**, 1441-1454.
- David, S. L. M., C. Chiappetta and G. M. Stancel. 1988. Estrogen regulation of c-fos messenger ribonucleic acid. *Mol. Endocrinol.* **2**, 946-951.
- Dorfman, R. I. 1962. Standard methods adopted by official organization, pp.707-729, In Dorfman, R. I. (eds.), *Methods hormon research*, New York Academic Press.
- Dotto, G. P., M. Z. Gilman, M. Maruyama and R. A. Weinberg. 1986. c-myc and c-fos expression in differentiating mouse primary keratinocytes. *EMBO J.* **5**, 2853-2857.
- Endo, M. and Z. Yosizawa. 1973. Hormonal effect on glycoproteins and glycosaminoglycans in rabbit uteri. *Arch. Biochem. Biophys.* **156**, 397-403.
- Falck, L. and J. G. Forsberg. 1996. Immunohistochemical studies on the expression and estrogen dependency of EGF and its receptor and c-fos proto-oncogene in the uterus and vagina of normal and neonatally estrogen-treated mice. *Anat. Rec.* **245**, 459-471.
- Fisher, C., M. R. Byers, M. J. Iadarola and E. A. Powers. 1991. Patterns of epithelial expression of fos protein suggest important role in the transition from viable to cornified cell during keratinization. *Development* **111**, 253-258.
- Forsberg, J. G. 1995. A morphologist's approach to the vagina-age-related changes and estrogen sensitivity. *Maturitas* **22**, S7-S15.
- Fuxe, K. and O. Nilsson. 1963. The mouse uterine surface epithelium during the estrous cycle. *Ant. Rec.* **145**, 541-548.
- Gheri, G., S. G. Bryk, G. Taddei, D. Moncini and I. Noci. 1996. Sugar residue content and distribution in atrophic and hyperplastic postmenopausal human endometrium: Lectin histochemistry. *Histol. Histopathol.* **11**, 861-867.
- Gould, S. F., J. M. Shannon and G. R. Cunha. 1983. The autoradiographic demonstration of estrogen binding in normal human cervix and vagina during the menstrual cycle, pregnancy, and the menopause. *Am. J. Anat.* **168**, 229-238.
- Hafez, E. S. E. 1980. Human reproduction. Conception and Contraception, pp. 221-252, Harper and Row.
- Horvat, B., H. A. Multhaupt and I. Damjanov. 1993. Glycoproteins of mouse vaginal epithelium: Differential expression related to estrous cyclicity. *J. Histochem. Cytochem.* **41**, 1351-1357.
- Horwitz, K. B. and W. L. McGuire. 1979. Estrogen control of progesterone receptor induction in human breast cancer: Role of nuclear estrogen receptor. *Adv. Exp. Med. Biol.* **117**, 95-110.
- Long, X., R. Steinmetz, N. Ben-Jonathan, A. Caperell-Grant, P. C. Young, K. P. Nephew and R. M. Bigsby.

2000. Strain differences in vaginal responses to the xenoestrogen bisphenol A. *Environ. Health Perspect.* **108**, 243-247.
23. Loose-Mitchell, D. S., C. Chiappetta and G. M. Stancel. 1988. Estrogen regulation of c-fos messenger ribonucleic acid. *Mol Endocrinol* **2**, 946-951.
24. MacLean, A. B., L. A. Nicol and M. B. Hodgins. 1990. Immunohistochemical localization of estrogen receptors in the vulva and vagina. *J. Reprod. Med.* **35**, 1015-1016.
25. Nelson, J. F., L. S. Felicio, P. K. Randall, C. Sims and C. E. Finch. 1982. A longitudinal study of estrous cyclicity in aging C57BL/6J mice: I. Cycle frequency, length and vaginal cytology. *Biol. Reprod.* **27**, 327-339.
26. Nephew, K. P., M. Tang and S. A. Khan. 1994. Estrogen differentially affects c-jun expression in uterine tissue compartments. *Endocrinology* **134**, 1827-1834.
27. Papa, M., V. Mezzogiorno, F. Bresciani and A. Weisz. 1991. Estrogen induces c-fos expression specifically in the luminal and glandular epithelia of adult rat uterus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **175**, 480-485.
28. Putti, R. and L. Varano. 1979. Histological and histochemical modifications of the uterine and vaginal mucosa of the mouse during the oestrus cycle. *Basic Appl. Histochem.* **23**, 25-37.
29. Salmi, A., P. Heikkila, S. Lintula and E. M. Rutanen. 1998. Cellular localization of c-jun messenger ribonucleic acid and protein and their relation to the proliferation marker Ki-67 in the human endometrium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **83**, 1788-1796.
30. Sjöberg, I., E. Rylander and B. Von Schoultz. 1989. Menstrual variation of estrogen receptor content in vaginal tissue. *Gynecol. Obstet. Invest.* **27**, 48-51.
31. Tomooka, Y., R. P. DiAugustine and J. A. McLachlan. 1986. Proliferation of mouse uterine epithelial cells in vitro. *Endocrinology* **118**, 1011-1018.
32. Uchima, F. D., M. Edery, T. Iguchi, L. Larson and H. A. Bern. 1987. Growth of mouse vaginal epithelial cells in culture: Functional integrity of the estrogen receptor system and failure of estrogen to induce proliferation. *Cancer Lett.* **35**, 227-235.
33. Valdizan, M. C., J. Julian and D. D. Carson. 1992. WGA-binding, mucin glycoproteins protect the apical cell surface of mouse uterine epithelial cells. *J. Cell Physiol.* **151**, 451-465.
34. Vrčić, H., B. Horvat and I. Damjanov. 1993. Lectin histochemistry of mouse vagina during the estrous cycle. *J. Histochem. Cytochem.* **39**, 1685-1692.
35. Webb, D. K., B. C. Moulton and S. A. Khan. 1993. Estrogen induces expression of c-jun and c-jun-B protooncogenes in specific rat uterine cells. *Endocrinology* **133**, 20-28.
36. Yamashita, S., A. Takayanagi and N. Shimizu. 1996. Temporal and cell-type specific expression of c-fos and c-jun protooncogenes in the mouse uterus after estrogen stimulation. *Endocrinology* **137**, 5468-5475.

(Received April 18, 2002; Accepted May 31, 2002)