

설치류 수컷 생식기관에서의 에스트로겐 기능 : 에스트로겐 수용체 녹아웃(ERKO) 생쥐 모델을 중심으로

이 성 호[†] · 최 돈 찬¹

상명대학교 자연과학대학 자연과학부, ¹용인대학교 자연과학대학 환경생명학부

Roles of Estrogen in the Reproductive Organs of Male Rodents : Focus on ERKO Mice Model

Sung-Ho Lee[†] and Donchan Choi¹

Division of Natural Sciences, College of Natural Sciences, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea

¹*Division of Environmental and Biological Sciences, College of Natural Sciences, Yongin University, Yongin 449-714, Korea*

ABSTRACT : It has been known for many years that administration of estrogen, a so-called female hormone, has harmful effects on male fertility. However, studies employing transgenic mice deficient in estrogen receptors reveal substantial roles for estrogen in male fertility. The aim of this article is to review and summarize the current knowledge on the estrogen receptor localization in male reproductive organs including male germ cells of rodents. Also, informations about the mice models with disrupted estrogen signaling and associated phenotypes will be provided.

Key words : Estrogen receptor, Male reproductive organs, Localization, ERKO, Phenotypes.

요 약 : 1930년대 이후부터 소위 여성호르몬이라 지칭되는 에스트로겐이 남성 생식에 유해함이 잘 알려져 왔다. 그러나 에스트로겐 수용체를 녹아웃한 형질전환생쥐(estrogen receptor knockout, ERKO)를 사용한 연구들에 의해 에스트로겐이 남성 생식에서 중요한 역할을 담당함이 밝혀졌다. 본 논문의 목적은 정자를 포함한 설치류 수컷 생식기관에서 에스트로겐 수용체의 분포, 발현 및 기능에 대한 근간의 연구들을 요약하고, 아울러 녹아웃 생쥐 모델과 그 표현형에 대한 정보를 제공함에 있다.

서 론

포유동물의 성 스테로이드 호르몬(sex steroid hormone)은 에스트로겐(estrogen)이라는 여성호르몬과 안드로젠(androgen)이라는 남성호르몬(테스토스테론 (testosterone)과 다이하이드로테스토스테론(dihydrotestosterone)이 있지만, 이는 정확한 개념을 명시하지 못한다. 주지하는 바와 같이, 안드로젠은 콜레스테롤로부터 시작하여 에스트로겐에 이르는 성 스테로이드 호르몬 합성과정(steroidogenesis)의 중간 산물이므로 남성(수컷으로 표기)의 경우 안드로젠에서 더 나아가 에스트로겐까지도 합성하며, 여성(암컷으로 표기)에서는 안드로젠 단계에서 분비되어 작용하기도 한다. 수컷 생쥐의 생식기관에서 에스트로겐 존재가 밝혀진 것은 1930년대이며(Burrows, 1935), 이후 에스트로겐이 정소에서 파라크린 요인으로 작용하고, 특

히 정자형성과정의 정교한 조절에 관여하리라 추정되었다(Carreau, 1996; Hess *et al.*, 2001; Carreau *et al.*, 2003). 또한 현재까지 축적된 실험 결과들에 의하면 에스트로겐이 부정소나 수출세관(efferent ductule), 정관, 전립선, 저정낭과 같은 부속 생식기관에서도 기능을 발휘함이 밝혀졌으며, 심지어 정자에도 에스트로겐 합성 효소인 aromatase와 에스트로겐 수용체(estrogen receptor, ER)가 존재함이 보고되었다(Carreau *et al.*, 2001; Bourguiba *et al.*, 2003; Lambard *et al.*, 2004). 따라서 에스트로겐이 지녀온 여성 특이성이 더욱 감소하는 현상 상황에서 에스트로겐이 수컷 생식에서 담당하는 역할에 대한 연구는 중요성을 더하며, 향후 수컷 생식기관의 기능 부전이나 종양의 치료에 바로 응용될 수 있을 것이다. 포유류 수컷에서의 에스트로겐 기능에 대한 연구를 주 연구 대상 단백질로 나누면 크게 에스트로겐 수용체 분야와 aromatase 분야로 양분된다. 본 논문은 이 가운데 에스트로겐 수용체에 초점을 맞추고 있으며, 특히 에스트로겐 수용체 녹아웃(estrogen receptor knockout, ERKO) 생쥐 모델을 사용하여 수행된 연구들을 중심으로 정리·요약하였다.

[†]교신저자: 서울시 종로구 홍지동 7, 상명대학교 자연과학대학 자연과학부. (우) 110-743, (전) 02-2287-5139, (팩) 02-394-9585, E-mail: shlee@smu.ac.kr

에스트로겐 수용체 유전자

스테로이드 호르몬에 대한 수용체가 세포 어느 부위에 존재하는가에 대한 논란의 와중에서 Jensen과 Gorski 그룹 등은 1960년대 이후 세포내 수용체에 대한 증거를 꾸준히 제시하였으며, 실제로 에스트로겐의 세포내 수용체 규명 이후 테스토스테론, 프로게스테론, 갑상선호르몬, 비타민 D와 retinoic acid 등에 대한 세포내 수용체가 규명되었다(Evans, 1988). 또한 1990년대에는 이들 스테로이드/갑상선호르몬 수용체 슈퍼패밀리(superfamily) 단백질들이 핵 내에서 어떻게 표적 유전자의 전사를 조절하는가에 대한 자세한 정보들이 축적되었고, 심지어 리간드(ligand)에 대한 정보가 전혀 없는 상태에서 소위 orphan receptor라 불리는 유사 핵 수용체(nuclear receptor-like) 단백질들에 대한 발견들까지 포함하여 150개 이상의 핵 수용체 단백질들이 추가되었다(Mangelsdorf *et al.*, 1995).

오랫동안 에스트로겐에 대한 핵 수용체는 한 가지 유형(ER α)만이 파악되었다가 1990년대 중반에 각기 다른 염색체상에 존재하는 두 번째 유형(ER β)이 주요 종들에서 발견되었다(Kuiper *et al.*, 1996; Mosselman *et al.*, 1996; Tremblay *et al.*, 1997). 생쥐 ER α 유전자는 9개의 exon으로 구성되며 전사체는 6.3kb이고 595개의 아미노산으로 구성된 66kDa 단백질이고, 한편 생쥐와 흰쥐의 ER β 는 최초 485개의 아미노산으로 구성된 54kDa 단백질로 보고되었으나 527~530개의 아미노산으로 된 약 60kDa 단백질도 존재함이 알려져 있다(Fig. 1, O'Donnell *et al.*, 2001).

ER α 와 ER β 단백질은 스테로이드/갑상선호르몬 수용체 슈퍼패밀리 단백질에서 공통적으로 존재하는 A-F까지 6개의 기능적인 도메인으로 구성되어 있다(Fig. 2, Couse & Korach,

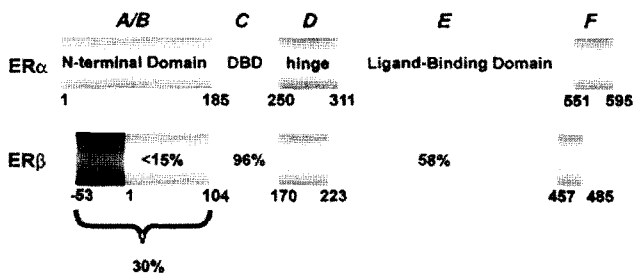


Fig. 1. Comparison of the structure of mouse ER α and ER β protein. The functional domains A-F and the percentage homology of ER β compared with ER α are shown. Indicated are the N-terminal domain(A/B domain), the DNA binding domain (DBD)(C domain), the hinge region(D domain), the ligand-binding domain(E domain), and the C-terminal region(F domain). The two potential start sites on ER β are designated -53 and +1(O'Donnell *et al.*, 2001).

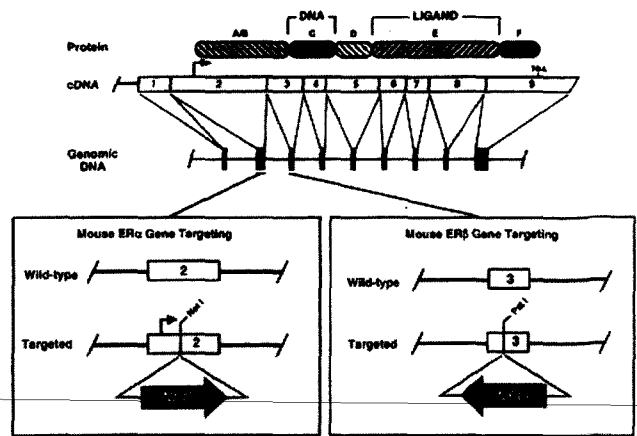


Fig. 2. Drawing of the mouse ER proteins, cDNAs, and genes as well as the targeting scheme employed to generate the ERKO mice via homologous recombination. Shown are the common functional domains of the ER α and ER β receptor proteins, indicating the residues involved in DNA and ligand binding. The common structure of the cDNAs and genomic genes for the ERs is illustrated, indicating the exon sequences that encode the functional domains of the receptor. Generation of the α ERKO mouse involved the targeted insertion of a 1.8-kb NEO sequence into exon 2 of the ER α gene such that the translational reading frame(indicated by the direction of the arrow) of the genes was the same. Generation of the β ERKO mouse involved a similar scheme, in which a 1.8-kb NEO sequence was inserted into exon 3 of the ER β gene; however, in this case the NEO gene is in the reverse orientation. The schematic drawing of the genomic DNA was adapted from that of the human ER α gene(Couse and Korach, 1999).

1999). N 터미널의 A/B 도메인은 인간의 ER α 과 ER β 의 경우 17%정도의 상동성을 가지나 두 개의 zinc finger로 이루어진 helix-loop-helix 모티프가 포함된 C 도메인(DNA binding domain)은 상동성이 가장 높다. E 도메인은 ligand binding domain으로, 두 수용체 유형간 60% 정도의 상동성을 보이지만 에스트로겐에 대한 결합력은 별 차이가 없다. D 도메인은 수용체의 핵 내 위치에 대한 신호를 담당하며 30%의 상동성을 보인다. 마지막으로 C 터미널의 F 도메인은 난소와 부신 특이적인 발현을 보이며 상동성이 낮다. 또한 ER α 는 homodimer를, 그리고 ER β 는 ER α 와의 heterodimer를 선호함이 알려졌다(Couse & Korach, 1999).

수컷 생식기관에서의 에스트로겐 수용체 발현

1970년대 이후 에스트로겐이 부정소 상피에 존재하는 수용체에 결합하여 미지의 기능을 담당할 가능성이 제안된 이래, 수출세관과 부정소 상피세포에서의 ³H-Estradiol 결합이

관찰되었고(Schleicher *et al.*, 1984), 면역세포화학법으로 ER α 의 존재가 수출세관과 부정소에서 확인되었다(Goyal *et al.*, 1997; Hess *et al.*, 1997). ER β 의 경우 정소, 수출세관, 부정소와 전립선에서 존재가 확인되었다(Kuiper *et al.*, 1996; Hess *et al.*, 1997; Saunders *et al.*, 1998; Prins *et al.*, 2001). ER α 와 ER β 의 생쥐 수컷 생식기관에서의 발현 양상을 RT-PCR로 비교 조사한 연구에서 정소와 부정소에서 ER α 의 발현이 두드러진 반면 전립선에서는 미약하였고, ER β 의 경우 부정소가 가장 높은 발현을 보였으며 다음 전립선, 정소 순이었다(Couse *et al.*, 1997).

대부분의 포유류에서 ER을 가장 많이 발현하는 조직은 수출세관인데, 이 관은 정소망(retetestis)과 부정소 두부를 잇는 다수의 관이다. 이 세관내의 비섬모세포(non-ciliated cell)들은 잘 발달된 식세포작용 시스템을 갖고 있어 액체 재흡수를 담당하고 또한 정자 수송에도 관여한다(Hess *et al.*, 2001). 흰쥐의 경우 정자가 이 관을 통과하는 데는 약 45분 정도 소요되며, 여기서 연구자에 따라 다르지만 대략 74-96%의 세정관 상피 분비액, 단백질과 ion들이 재흡수된다(Clulow *et al.*, 1998). 에스트로겐은 수출세관에서의 재흡수에 적극 관여하는 것으로 추정되는데, 이는 수출세관 상피에 ER이 높게 발현되고 에스트로겐이 정소망 용액에 다량 존재하기 때문이다(Lee *et al.*, 2000, 2001). 실제로, α ERKO 생쥐에서 수출세관의 조직학적인 이상, 용액 재흡수 이상이 관찰된다(Eddy *et al.*, 1996). 이 생쥐의 경우 사춘기 이전까지의 정소는 정상이지만 생후 150일경에는 atrophy 상태를 보이며, 비정상 정자들의 출현과 함께 부정소 내 정자수가 격감함이 관찰되었고, 용액 재흡수 이상으로 정소망과 수출세관이 팽창하였다(Eddy *et al.*, 1996). 이러한 팽창은 결국 사정될 정자수를 희석시켜 궁극적으로 불임이 초래되는 것으로 추정된다(Zhou *et al.*, 2001).

에스트로겐이 설치류 정자형성과정에 중요한 역할을 담당함은 잘 알려진 사실이다(O'Donnell *et al.*, 2001). 설치류에서 ER α 와 ER β 는 태아기, 신생아기, 사춘기, 성체에 이르기까지 전 시기에 걸쳐 정소의 Leydig cell에서 발현되며(van Pelt *et al.*, 1999; Nielsen *et al.*, 2000), ER β 의 경우 spermatogonia로부터 사정된 sperm까지의 거의 전 단계에서 발현됨이 보고되었다(Aquila *et al.*, 2004; Delbes *et al.*, 2004). 기능으로는 diethylstilbesterol(DES)을 주사한 흰쥐에서 정자형성과정중의 세포들에서 Fas/FasL 시스템 작동에 의한 세포 자연사가 유발되는 것으로 보아 정상 상태에서는 에스트로겐이 세포 자연사를 방지하는 것으로 보이며, 그 효과는 ER β 를 경유하는 것으로 보인다(Nair & Shaha, 2003; Selva *et al.*, 2004). 또한

ER α 는 미분화된 태아기 10.5~11.5 dpc(days postcoitus) 정소의 Leydig cell에서 안드로겐 수용체보다 먼저 발현되므로 정소 분화 초기에 모종의 역할을 담당할 것으로 추정된다(Nielsen *et al.*, 2000).

한편 ER α 와 ER β 는 출생 이후 흰쥐 부정소, 정관, 전립선에서 연령특이적/ 세포특이적/조직특이적인 발현 양상을 보인다(Atanassova *et al.*, 2001). 흰쥐 전립선에서 ER α 염색은 상피세포에서는 발견되지 않지만 신생아기 초기에 prostatic bud를 둘러싼 결합조직에서는 발견되며, ER β 염색은 ventral/dorsolateral lobe의 상피세포에서 강하게 보인다(Sar & Welsch, 2000). 그러나 신생아기에 ER β 염색은 부정소에서는 발견되지만 전립선에서는 보이지 않다가 생후 5일 이후부터 강하게 나타나기 시작한다(Sar & Welsch, 2000).

ERKO 생쥐 실험모델

오랫동안 에스트로겐이 여성호르몬이라는 인식하에서 그 생식생리학적 기능에 대한 연구는 대부분 암컷 생식기관에서 활발히 수행되었다. 1970년대 이후 에스트로겐이나 내분비계 장애물질인 xenoestrogen을 태아기나 신생아기에 투여할 경우 잠복정소(cryptorchidism), 부정소 이상, 생식력 감소, 정소암 발생 빈도 증가 등이 관찰되었으나, 1990년대까지 에스트로겐이 수컷 생식에서 담당하는 중요한 생리적인 기능은 확인되지 못했다. 이러한 연구의 제약은 에스트로겐 수용체를 녹아웃시킨 ERKO와 같은 유용한 실험모델의 성공적인 도입으로 해소되어 이제 수컷에서의 에스트로겐 기능에 대한 연구가 축적되고 있다(Walker & Korach, 2004).

가장 먼저 개발된 ERKO 모델은 당연히 ER α 를 대상으로 한 것(α ERKO)이고 이후 ER β (β ERKO), 그리고 ER α 와 ER β 를 동시에 이중 녹아웃한 모델(double-knockout model)인 $\alpha\beta$ ERKO 생쥐가 가장 늦게 개발되었다(Fig. 2; Walker & Korach, 2004). 그런데 이중 $\alpha\beta$ ERKO의 경우 상대적으로 연구 진행이 더딘 편이고, 대부분 α ERKO와 유사한 표현형을 보인다.

전반적으로 볼 때 에스트로겐 작용이 부분적으로 결핍된 α ERKO 생쥐 또는 $\alpha\beta$ ERKO 생쥐에서 나타나는 생식 호르몬 수치와 생식 조직/세포의 기형성, 생식능력 등 제반 양상은 β ERKO 생쥐보다도 에스트로겐 결핍 모델인 ArKO(aromatase knockout) 생쥐에서 나타나는 양상들과 대단히 유사하다(Table 1 & 2, Couse & Korach, 1999; O'Donnell *et al.*, 2001; Murata *et al.*, 2002). 예를 들어 시상하부-뇌하수체-정소를 잇는 호르몬 축의 경우, α ERKO 생쥐와 ArKO 생쥐에서 혈중

Table 1. Serum hormone levels in adult wild-type and α ERKO mice

Hormone	Female		Male	
	Wild type	α ERKO	Wild type	α ERKO
Gonadal steroids				
Estradiol (pg/ml)	29.5± 2.5	84.3±12.5*	11.8±3.4	12.9±3.4
Progesterone (ng/ml)	2.3± 0.6	4.0± 1.1	0.5±0.3	0.3±0.1
Testosterone (ng/ml)	0.4± 0.4	3.2± 0.6	9.3±4.0	16.0±2.3
Anterior pituitary				
LH (ng/ml)	0.3± 0.04	1.7± 0.3*	2.4±1.2	3.7±0.7
FSH (ng/ml)	4.9± 0.6	5.4± 0.7	26.0±1.4	30.0±1.1
Prolactin (ng/ml)	18.8±10.7	3.5± 1.3	ND	ND

Data presented as mean \pm standard error of the mean. ERKO, Estrogen receptor knockout; FSH, follicle stimulating hormone; LH, luteinizing hormone; ND, not determined. The values above are the means from assays on individual samples and therefore are more likely to reflect the true levels in the two genotypes. **t*-test, wild type versus ERKO, $P < 0.001$ (Ref. Couse and Korach, 1999).

LH와 테스토스테론 수치는 정상 생쥐에 비해 상승하였고 FSH는 변화가 없었는데, β ERKO와 α ERKO 생쥐에 대해서는 연구가 이루어지지 않았다(Fisher *et al.*, 1998; Lindzey *et al.*, 1998). 정소의 기능에 있어서, α ERKO에서는 생식세포의 소

실이 확연하고, 수출세관의 액체 흡수 기능 이상에 따른 세정관 내강의 팽창이 관찰된다(Eddy *et al.*, 1996). 이러한 내강 팽창은 앞서 언급한 바와 같이 정자형성과정의 실패를 초래한다. 반면 β ERKO 생쥐의 정소는 해부학적으로 정상인 것으로 보인다(Dupont *et al.*, 2000). 그리고 α ERKO 생쥐의 경우는 α ERKO의 경우와 유사한 양상이었다(Couse *et al.*, 1999). 정소 내 생식세포의 경우, α ERKO 생쥐의 경우도 정상 생쥐의 정소에 이식할 경우 정상적인 분화가 일어나며 (Mahato *et al.*, 2000), 이는 에스트로겐이 정자형성과정에 관여함을 반증하며 ArKO 생쥐의 경우 spermatid 수의 감소와 세포 자연사가 관찰되는 것으로 보아 에스트로겐의 세포자연사 저항 기능을 유추할 수 있다(Robertson *et al.*, 1999). 수출세관의 경우, α ERKO 생쥐는 심각한 기형을 보이고 이곳에서의 액체 재흡수 기능의 실패로 인한 세정관 팽창이 관찰되는데(Hess *et al.*, 1997), ArKO 생쥐의 경우는 세정관 팽창이 전혀 관찰되지 않으므로 에스트로겐을 경유하지 않는 액체 재흡수 경로가 존재할 가능성이 높다(Robertson *et al.*, 2001). 부정소의 경우, α ERKO 생쥐에서는 광범위한 기형이 관찰되지만(Hess *et al.*, 2000), β ERKO 생쥐에서는 일부 상피세포의 이상만이 확인된다(Hess, 2000). 정자의 경우, α ERKO 생쥐에서는 부정소 내 정자 수의 감소, 운동성과 수정능의 감소가 나타나는데, β ERKO 생쥐의 부정소 내 정자수는 정상 생쥐 수준이며 운동성 등도 변화가 없다(Couse *et al.*, 1999). 마지막으로 성행동의 경우, α ERKO 생쥐는 교미 시

Table 2. Phenotypes of α ERKO and β ERKO mice(Couse and Korach, 1999)

Tissue	Observation	
	α ERKO	β ERKO
Testis	Progressive dilation and degradation of tubules, low sperm count, nonfunctional sperm	Normal structure, normal sperm count, and fertility
Uterus	Immature, unresponsive to estradiol	Normal development and response to estrogen
Ovary	Enlarged, hemorrhagic cysts, follicles arrested at preantral stage, no corpora lutea, no ovulation, elevated serum estrogen and T levels	Subfertile, infrequent, and inefficient ovulation; normal estrogen and T
Mammary (female)	Ducts do not develop beyond epithelial rudiment at nipple, no alveolar development	Normal, fully functional. Able to nurse offspring
Pituitary	FSH β , LH β , α GSU, mRNAs all elevated, prolactin mRNA reduced	Normal serum gonadotropin levels
Cardiovascular (male)	Lower basal nitric oxide, estrogen protection in vascular injury not lost. Increase in calcium channels, delayed cardiac depolarization	?
Bone	Shorter; female, smaller diameter; male, lower density	Normal
Brain	Male, no intromission, ejaculation decreased aggression; female, no receptive behaviors	Normal sexual behavior

암컷에게 올라타는 동작까지의 성적 흥분 유도는 정상적으로 보이지만, 삽입 회수의 감소와 사정 실패가 나타난다(Eddy *et al.*, 1996). 반면 β ERKO 생쥐의 성 행동은 정상 생쥐와 같았다.

전 망

에스트로겐이 정소와 부정소에서 기능을 보인다는 점을 과거에는 예상할 수 없었으나, 정소 내 aromatase의 존재와 정소, 수출세관 및 부정소에서의 에스트로겐 수용체 존재가 밝혀지면서 개연성이 확보되었다. 따라서 남성 호르몬으로서의 에스트로겐에 대한 새로운 개념 정립이 필요한 상황이며, 여기에는 기존의 에스트로겐 유사체 투여 모델 외에도 에스트로겐 결핍(estrogen deficiency) 모델인 ArKO와 에스트로겐 둔감(estrogen insensitive) 모델인 ERKO 생쥐가 크게 기여해왔고 앞으로도 그러할 것이다(Carreau *et al.*, 2002).

에스트로겐이 만약 일정 부분 남성 생식에 관여한다면 노화과정과 관련된 생식능력 감소와 에스트로겐 생산이나 작용 감소 간에 상관관계가 성립될 수 있을 것이다. 즉, 최근 남성 생식과학 분야에서 주목받고 있는 남성 갱년기 현상(andropause)의 해석 역시 중년 이후 각종 생식능력 지표의 하락과 비만 증가, 근육 감소 등 제반 현상이 기존에 알려진 테스토스테론의 생산/작용 감소는 물론 이에 따른 에스트로겐의 생산/작용 감소에 의할 수 있음을 시사한다(Lombardi *et al.*, 2001). 특히 에스트로겐 수용체나 aromatase가 정자형성의 거의 전 과정에서 발현된다는(O'Donnell *et al.*, 2001; Carreau *et al.*, 2003) 점은, 노화가 진행되면서 동반되는 정자수 감소가 에스트로겐의 생산 및 작용 변화와 연관될 가능성이 있으므로 이에 대한 조사가 필요할 것이다.

마지막으로, 속칭 환경호르몬인 내분비계 장애물질들이 수컷에 미치는 다양한 피해가 최근 점증적으로 보고되고 있다. 실험로 흰쥐 모델에서 xenoestrogen 중 잘 알려진 phthalate에 노출될 경우 Leydig cell 과다 증식이 관찰되며(Akingbemi *et al.*, 2004a), bisphenol에 노출될 경우도 스테로이드 호르몬 합성과 분비 교란 등 다양한 내분비 교란현상이 보고되었다(Akingbemi *et al.*, 2004b). 또한 이들의 영향은 생식계의 변화에 그치지 않고 심혈관계나 골격계 등에도 영향을 초래할 가능성이 높다. 주지하는 바와 같이 내분비계 장애물질은 대개 약한 에스트로겐 효과 또는 에스트로겐 수용체 결합 능력을 나타내므로, 내인성 에스트로겐 자체의 작용에 대한 연구는 xenoestrogen에 의한 각종 생리적인 영향을 조사함에도 기여할 것이다.

인용문헌

- Aquila S, Sisci D, Gentile M, Middea E, Catalano S, Carpino A, Rago V, Ando S (2004) Estrogen receptor(ER) alpha and ER beta are both expressed in human ejaculated spermatozoa: evidence of their direct interaction with phosphatidylinositol-3-OH kinase/Akt pathway. *J Clin Endocrinol Metab* 89: 1443-1451.
- Akingbemi BT, Sottas CM, Koulova AI, Klinefelter GR, Hardy MP (2004a) Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. *Endocrinology* 145:592-603.
- Akingbemi BT, Ge R, Klinefelter GR, Zirkin BR, Hardy MP (2004b) Phthalate- induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. *Proc Natl Acad Sci USA*. 101:775-780.
- Atanassova N, McKinnell C, Williams K, Turner KJ, Fisher JS, Saunders PT, Millar MR, Sharpe RM (2001) Age-, cell- and region-specific immunoexpression of estrogen receptor alpha (but not estrogen receptor beta) during postnatal development of the epididymis and vas deferens of the rat and disruption of this pattern by neonatal treatment with diethylstilbestrol. *Endocrinology* 142:874-886.
- Bourguiba S, Lambard S, Carreau S (2003) Steroids control the aromatase gene expression in purified germ cells from the adult male rat. *J Mol Endocrinol* 31:83-94.
- Burrows H (1935) Pathological conditions induced by oestrogenic compounds in the coagulating gland and prostate of the mouse. *Am J Cancer* 23:490-512.
- Carreau S (1996) Paracrine control of human Leydig cell and Sertoli cell functions. *Folia Histochem Cytobiol* 34:111-119.
- Carreau S, Bourguiba S, Lambard S, Galeraud-Denis I, Genissel C, Bilinska B, Benahmed M, Levallet J (2001) Aromatase expression in male germ cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 79:203-208.
- Carreau S, Bourguiba S, Lambard S, Galeraud-Denis I, Genissel C, Levallet J (2002) Reproductive system: aromatase and estrogens. *Mol Cell Endocrinol* 193:137-143.
- Carreau S, Lambard S, Delalande C, Denis-Galeraud I, Bilinska B, Bourguiba S (2003) Aromatase expression and role of

- estrogens in male gonad : a review. *Reprod Biol Endocrinol* 1:1-35.
- Clulow J, Jones RC, Hansen LA, Man SY (1998) Fluid and electrolyte reabsorption in the ductuli efferentes testis. *J Reprod Fertil Suppl* 53:1-14.
- Couse JF, Korach KS (1999) Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocr Rev* 20:358-417.
- Couse JF, Lindzey J, Grandien K, Gustafsson JA, Korach KS (1997) Tissue distribution and quantitative analysis of estrogen receptor- α (ER α) and estrogen receptor- β (ER β) messenger ribonucleic acid in the wild-type and ER α -knockout mouse. *Endocrinology* 138:4613-4621.
- Couse JF, Hewitt SC, Bunch DO, Sar M, Walker VR, Davis BJ, Korach KS (1999) Postnatal sex reversal of the ovaries in mice lacking estrogen receptors alpha and beta. *Science* 286:2328-2331.
- Delbes G, Levacher C, Pairault C, Racine C, Duquenne C, Krust A, Habert R (2004) Estrogen receptor beta-mediated inhibition of male germ cell line development in mice by endogenous estrogens during perinatal life. *Endocrinology* 145:3395-3403.
- Dupont S, Krust A, Gansmuller A, Dierich A, Chambon P, Mark M (2000) Effect of single and compound knockouts of estrogen receptors α (ER α) and β (ER β) on mouse reproductive phenotypes. *Development* 127:4277-4291.
- Eddy EM, Washburn TF, Bunch DO, Goulding EH, Gladen BC, Lubahn DB, Korach KS (1996) Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. *Endocrinology* 137:4796-4805.
- Evans RM (1988) The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 240:889-895.
- Fisher CR, Graves KH, Parlow AF, Simpson ER (1998) Characterization of mice deficient in aromatase (ArKO) because of targeted disruption of the cyp19 gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:6965-6970.
- Goyal HO, Bartol FF, Wiley AA, Khalil MK, Chiu J, Vig MM (1997) Immunolocalization of androgen receptor and estrogen receptor in the developing testis and excurrent ducts of goats. *Anat Rec* 249:54-62.
- Hess RA, Gist DH, Bunick D, Lubahn DB, Farrell A, Bahr J, Cooke PS, Greene GL (1997) Estrogen receptor (alpha and beta) expression in the excurrent ducts of the adult male rat reproductive tract. *J Androl* 18:602-611.
- Hess RA (2000) Oestrogen in fluid transport in efferent ducts of the male reproductive tract. *Rev Reprod* 5:84-92.
- Hess RA, Bunick D, Lubahn DB, Zhou Q, Bouma J (2000) Morphologic changes in efferent ductules and epididymis in estrogen receptor- α knockout mice. *J Androl* 21:107-121.
- Hess RA, Bunick D, Bahr J (2001) Oestrogen, its receptors and function in the male reproductive tract - a review. *Mol Cell Endocrinol* 178:29-38.
- Kuiper GC, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA (1996) Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:5925-5930.
- Lambard S, Galeraud-Denis I, Saunders PT, Carreau S (2004) Human immature germ cells and ejaculated spermatozoa contain aromatase and oestrogen receptors. *J Mol Endocrinol* 32:279-289.
- Lee KH, Hess RA, Bahr JM, Lubahn DB, Taylor J, Bunick D (2000) Estrogen receptor alpha has a functional role in the mouse rete testis and efferent ductules. *Biol Reprod* 63:1873-1880.
- Lee KH, Finnigan-Bunick C, Bahr J, Bunick D (2001) Estrogen regulation of ion transporter messenger RNA levels in mouse efferent ductules are mediated differentially through estrogen receptor (ER) alpha and ER beta. *Biol Reprod* 65:1534-1541.
- Lombardi G, Zarrilli S, Colao A, Paesano L, Di Somma C, Rossi F, De Rosa M (2001) Estrogens and health in males. *Mol Cell Endocrinol* 178:51-55.
- Lindzey J, William WC, Couse JF, Stoker T, Cooper R, Korach KS (1998) Effects of castration and chronic steroid treatments on hypothalamic gonadotropin-releasing hormone content and pituitary gonadotropins in male wild-type and estrogen receptor α -knockout mice. *Endocrinology* 139:4092-4101.
- Mahato D, Goulding EH, Korach KS, Eddy EM (2000) Spermatogenic cells do not require estrogen receptor- α for development or function. *Endocrinology* 141:1273-1276.
- Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, Herrlich P, Schutz G, Umesono K, Blumberg B, Kastner P, Mark M, Chambon P, Evans RM (1995) The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 83:835-839.
- Mosselman S, Polman J, Dijkema R (1996) ER β : identification and characterization of a novel human estrogen receptor.

- FEBS Lett 392:49-53.
- Murata Y, Robertson KM, Jones ME, Simpson ER (2002) Effect of estrogen deficiency in the male: the ArKO mouse model. *Mol Cell Endocrinol* 193:7-12.
- Nair R, Shaha C (2003) Diethylstilbestrol induces rat spermatogenic cell apoptosis *in vivo* through increased expression of spermatogenic cell Fas/FasL system. *J Biol Chem* 278:6470-6481.
- Nielsen M, Bjornsdottir S, Hoyer PE, Byskov AG (2000) Ontogeny of oestrogen receptor α in gonads and sex ducts of fetal and newborn mice. *J Reprod Fertil* 118:195-204.
- O'Donnell L, Robertson KM, Jones ME, Simpson ER (2001) Estrogen and spermatogenesis. *Endocr Rev* 22:289-318.
- Prins GS, Birch L, Couse JF, Choi I, Katzenellenbogen B, Korach KS (2001) Estrogen imprinting of the developing prostate gland is mediated through stromal estrogen receptor alpha: studies with alpha ERKO and beta ERKO mice. *Cancer Res* 61:6089-6097.
- Robertson KM, O'Donnell L, Jones ME, Meachem SJ, Boon WC, Fisher CR, Graves KH, McLachlan RI, Simpson ER (1999) Impairment of spermatogenesis in mice lacking a functional aromatase (cyp 19) gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:7986-7991.
- Robertson KM, Simpson ER, Lacham-Kaplan O, Jones ME (2001) Characterization of the fertility of male aromatase knockout mice. *J Androl* 22:825-830.
- Sar M, Welsch F (2000) Oestrogen receptor alpha and beta in rat prostate and epididymis. *Andrologia* 32:295-301.
- Saunders PT, Fisher JS, Sharpe RM, Millar MR (1998) Expression of oestrogen receptor beta (ER beta) occurs in multiple cell types, including some germ cells, in the rat testis. *J Endocrinol* 156:R13-17
- Schleicher G, Drews U, Stumpf WE, Sar M (1984) Differential distribution of dihydrotestosterone and estradiol binding sites in the epididymis of the mouse. An autoradiographic study. *Histochemistry* 81:139-147.
- Selva DM, Tirado OM, Toran N, Suarez-Quian CA, Reventos J, Munell F (2004) Estrogen receptor beta expression and apoptosis of spermatocytes of mice overexpressing a rat androgen-binding protein transgene. *Biol Reprod* 71:1461-1468.
- Tremblay GB, Tremblay A, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Labrie F, Giguere V (1997) Cloning, chromosomal localization, and functional analysis of the murine estrogen receptor- β . *Mol Endocrinol* 11:353-365.
- van Pelt MM, de Rooij DG, van der Burg B, van der Saag PT, Gustafsson JA, Kuiper GJM (1999) Ontogeny of estrogen receptor-beta expression in rat testis. *Endocrinology* 140:478-483.
- Walker VR, Korach KS (2004) Estrogen receptor knockout mice as a model for endocrine research. *ILAR J* 45:455-461.
- Zhou Q, Clarke L, Nie R, Carnes K, Lai LW, Lien YH, Verkman A, Lubahn D, Fisher JS, Katzenellenbogen BS, Hess RA (2001) Estrogen action and male fertility: roles of the sodium/hydrogen exchanger-3 and fluid reabsorption in reproductive tract function. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:14132-14137.