

흰쥐 부정소 내의 스테로이드 호르몬 수용체, 5 α -reductase 그리고 Aromatase 발현에 미치는 EDS의 영향

손혁준·이성호[†]

상명대학교 생명과학전공

Effect of Ethane 1,2-Dimethane Sulfonate(EDS) on the Expression of Steroid Hormone Receptors, 5 α -reductase and Aromatase in the Rat Epididymis

Hyeok-Joon Son and Sung-Ho Lee[†]

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

ABSTRACT : Ethane 1,2-dimethane sulfonate(EDS), a Leydig cell specific toxicant, has been widely used to create the reversible testosterone withdrawal rat model. Though the maintenance of epididymal structure and function is highly dependent on the testosterone secreted from testis, its derivatives, dihydroxytestosterone(DHT) and estrogen, might have crucial roles. The aim of present study was to monitor the expression patterns of sex steroid receptors, cytochrome P450 aromatase(P450arom) and 5 α -reductase in the rat epididymis up to 7 weeks after EDS injection. Adult male rats(350~400 g) were injected with a single dose of EDS(75 mg/kg i.p.) and sacrificed on weeks 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7. The transcriptional activities of the target genes were evaluated by semi-quantitative RT-PCRs. The transcript level of estrogen receptor alpha(ER α) in EDS group was significantly higher than control level on week 1($P<0.01$). After week 2, there was no significant difference in ER α levels between EDS group and control. The transcript level of estrogen receptor beta(ER β) in EDS group was significantly higher than control level on week 1($P<0.05$), lowered on weeks 2 and 3($P<0.05$ and $P<0.01$, respectively), fluctuated during weeks 4 and 6, and elevated on week 7($P<0.05$). The androgen receptor (AR) message levels increased significantly week 2($P<0.01$), then returned to control level on week 3. In contrast, expression of cytochrome P450 aromatase(P450arom) decreased sharply during weeks 1~3($P<0.01$ on weeks 1 and 2; $P<0.05$ on week 3), then went back to control level on week 4. The mRNA level of 5 α -reductase type 2(5 α -RT2) increased significantly on week 4($P<0.01$), then returned to control level. The present study indicated that EDS administration could induce reversible alterations in the transcriptional activities of sex steroid hormone receptors and androgen-converting enzymes in rat epididymis. EDS injection model will be useful to clarify the regulation mechanism of mammalian epididymal physiology.

Key words : Ethane 1,2-dimethane sulfonate(EDS), Sex steroid receptors, P450arom, 5 α -reductase, Rat epididymis.

요약 : Ethane 1,2-dimethane sulfonate(EDS)는 Leydig 세포의 선별적 사멸을 유도하는 약물로서 가역적인 테스토스테론 결핍 흰쥐를 만드는데 널리 사용된다. 부정소의 구조와 기능 유지는 크게 보아 정소에서 분비되는 테스토스테론에 의존적이지만, 테스토스테론으로부터 유도되는 dihydroxytestosterone(DHT)와 에스트로겐도 중요한 역할을 한다. 본 연구에서는 EDS 주사 후 7주까지 부정소에서의 스테로이드 호르몬 수용체, cytochrome P450aromatase(P450arom)와 5 α -reductase의 유전자 발현 양상을 조사하였다. 성숙한 수컷 흰쥐(350~400 g)에 EDS를 1회 복강 주사하고(75 mg/kg i.p.) 주사 후 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7주가 경과한 날에 희생하였다. 표적 유전자들의 전사 활성은 반 정량적 역전사 증합효소 반응법(semi-quantitative RT-PCRs)으로 측정하였다. Estrogen receptor alpha(ER α) 전사 수준은 EDS 실험군에서 대조군에 비해 주사 1주후에 유의하게 상승했으나($P<0.01$) 2주 후부터는 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. Estrogen receptor beta(ER β)의 전사 수준은 주사 1주후 EDS 실험

[†] 교신저자: 서울시 종로구 홍지동 7, 상명대학교 생명과학전공, (우) 110-743, (전) +82-2-2287-5139, (팩) +82-2-2287-0070, E-mail: shlee@smu.ac.kr

군에서 대조군에 비해 유의하게 증가했다($P<0.05$), 2주와 3주에는 감소하였고($P<0.05$ 와 $P<0.01$), 4주와 6주까지는 변동 폭을 보이다가 7주 후에는 대조군에 비해 증가하였다($P<0.05$). Androgen receptor(AR) 전사 수준은 주사 2주 후에 유의하게 증가하다가($P<0.01$) 3주 후부터는 대조군 수준으로 회복하였다. 반면, P450arom는 주사 1주 후부터 3주까지 급격하게 감소했다($P<0.01$ 1주와 2주; $P<0.05$ 3주), 4주에 대조군 수준으로 회복하였다. 5α -reductase type 2(5α -RT2)의 mRNA 수준은 4주 후 유의하게 증가했다($P<0.01$), 이후 대조군 수준으로 회복하였다. 본 연구는 EDS 주사가 성 스테로이드 호르몬 수용체들과 안드로겐 전환 효소들의 전사 활성에 가역적인 변화를 유도함을 보여준 것이다. EDS 주사 모델은 부정소의 생리 조절 기작을 이해하는데 유용할 것으로 사료된다.

서론

다기능적인 수컷 부속 생식기관인 부정소는 정소의 유출 도관 계통(excurrent duct system)으로써 해부학 및 생리학적으로 initial segment, 두부(caput), 체부(corpus) 그리고 미부(cauda) 4개 부위로 나뉘어져 있다(Orgebin-Crist, 1969; Jervis & Robaire, 2001). 부정소의 주된 기능은 독특한 내강(lumen) 미세환경(microenvironment)을 제공하여 미성숙 정자의 저장과 수송이 일어나게 하고, 수정 능력을 갖도록 성숙시킨다(Jones, 2004). 내강의 미세환경은 안드로겐, fibroblast growth factor(FGF), androgen binding protein(ABP), retinoic acid(RAs), 기타 각종 성장인자 등과 같은 정소 요인들에 의해 조절된다(Cornwall & Hann, 1995; Ezer & Robaire, 2003). 안드로겐은 부정소의 상피세포 증식과 분비성 세포 증식을 자극하고 성체 시기에 상피세포를 유지시키는 역할을 하며, 안드로겐의 감소는 부정소의 상피세포 자연사(apoptosis)를 유발한다(Fan & Robaire, 1998).

부정소의 생리 기능 조절에 있어서 안드로겐은 그 자체의 역할 말고도 androgen-converting enzyme들에 의해 생긴 산물들에 의해 intracrine 조절 기작에 참여하기도 한다. 부정소 내 정자 성숙과정에서 중요한 역할을 하는 에스트로겐(Nitta et al., 1993)은 수출도관과 부정소에서 발현되는 cytochrome P450 aromatase(P450arom)에 의해 테스토스테론이 전환되어 만들어진다(Carpino et al., 2004; Pereyra-Martinez et al., 2001; Wiszniewska, 2002). 또한, 부정소에서 가장 풍부한 활성화 형태의 안드로겐인 dihydrotestosterone(DHT)은 5α -reductase(5α -RT)에 의해 테스토스테론으로부터 전환되는데(Hinton et al., 1998), DHT는 정자의 운동성과 수정능 획득, 정자와 난자의 상호작용, 정자와 zona pellucida(ZP) 또는 난황과의 융합과 침투에 필수적이다(Holland et al., 1992; Lakoski et al., 1988; Boue et al., 1994; Saling, 1982).

Leydig 세포에 알킬화 반응을 유도하는 약물인 ethane 1,2-

dimethane sulfonate(EDS)는 1회 주사를 통하여 선택적으로 Leydig 세포의 자연사가 유도되어 주사 후 24시간 이내에 75%, 3일 이내에 100%의 세포 사멸이 일어나며(Jackson & Jackson, 1984; Mendis-Handagama & Ariyaratne, 2001), 2주부터 4주까지 일시적인 불임을 유발한다(Jackson, 1973). 본 연구자들은 EDS 처리에 의한 Leydig cell 사멸에 의해 유도되는 부정소 기능 부전과 회복 과정에서의 스테로이드 호르몬 수용체, androgen-converting enzyme인 5α -RT와 P450arom의 발현 양상을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

상명대학교 실험동물 사육장에서 일정한 온도와 광주기(18~22°C; 12시간 조명, 12시간 소등)와 먹이와 물의 접근을 자유롭게 한 상태(*ad libitum*)에서 사육한 흰쥐(Sprague-Dawley strain)를 사용하였다. 성숙한 수컷 흰쥐(300~350 g B.W.; 생후 120~150일)에 vehicle(DMSO:DW=1:3 volume)에 녹아 있는 EDS(75 mg/kg B.W.)를 1회 복강 주사하였으며, 대조군은 vehicle(2 mL/kg B.W.)만 주사하였다. EDS는 이전에 보고된 방법(Jackson & Jackson, 1984)을 따라 합성하였다. 각각 1주 단위로 7주까지 희생시킨 후 부정소를 적출하여 total RNA를 추출하였다.

2. RNA 추출과 Semi-quantitative RT-PCR

조직의 total RNA는 guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction 방법(Chomczynski & Sacchi, 1987)에 따라 추출하였다. 1 μ g의 total RNA를 주형으로 0.5 μ g의 dT20 primer와 AccuPower™ RT PreMix(Bioneer)를 사용하여 최종 반응 volume 20 μ L로 역전사하였다. PCR 반응은 1 μ L의 역전사 산물을 주형으로 하여 각각의 전사물에 해당하는 primer들과 Taq DNA polymerase(Takara)를 사용하여

Table 1. Primer sets for semi-quantitative RT-PCR analysis

Name of the gene	Sequence of primers	Size of fragment
ER α	5'-GTC GAT TCC GCA TGA TGA AC 3'-AAT GTG CTG AAG TGG AGC TG	378 bp
ER β	5'-ACC ACC GAA TGC CAA GTT CT 3'-GCA GGC TCT AAG GAT GTA AC	270 bp
AR	5'-AGA GTT TGG ATG GCT CCA GA 3'-TGC CAG AGA AGT AGT GCA GA	350 bp
P450arom	5'-GAG AGA TCC GTC AAG GAC TT 3'-ACT CGA GCC TGT GCA TTC TT	494 bp
5 α -RT2	5'-ATC CTG TGC TTA GGG AAA C 3'-CAT ACG TAA ACA AGC CAC C	299 bp
GAPDH	5'-CCA TCA CCA TCT TCC AGG AG 3'-CCT GCT TCA CCA CCT TCT TG	570 bp

다. Table 1은 본 실험에서 사용된 primer들의 염기 서열과 예상 산물 크기(bp)를 표시하였다. PCR 산물은 전기영동으로 분리하였고, ethidium bromide로 염색 후 ImagerIII-1D main software(Bioneer)로 정량하였다. 정량을 위한 internal control PCR에서는 GAPDH primer를 사용하였다.

3. 통계 처리

실험 결과의 통계적 처리는 one-way ANOVA에 의해 P -value 0.05 이하를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

RT-PCR 실험 결과, 흰쥐 부정소의 ER α 유전자는 주사 1주 후 유의하게 증가하여 최고치에 도달하였고(control vs W1=1.00 vs 1.53 \pm 0.17, P <0.01), 2주부터 감소하여 5주에는 대조군 수준으로 회복하였다(Fig. 1). ER β 의 경우, 주사 1주후에 최고치로 증가했다가(control vs W1= 1.00 vs 1.47 \pm 0.13, P <0.05) 급격히 감소하여 주사 2주 후(control vs W2= 1.00 vs 0.31 \pm 0.18, P <0.05)와 3주 후(control vs W3=1.00 vs 0.47 \pm 0.15, P <0.01)에 대조군보다 낮은 수준을 보이다가 회복하여 주사 7주 후에는 대조군보다 유의하게 높은 수준(control vs W7=1.00 vs 1.49 \pm 0.46, P <0.05)을 보였다(Fig. 2). P450arom 발현은 EDS 주사 후 급격하게 감소하여 1주 후에 최소치에 이르며(control vs W1=1.00 vs 0.24 \pm 0.27,

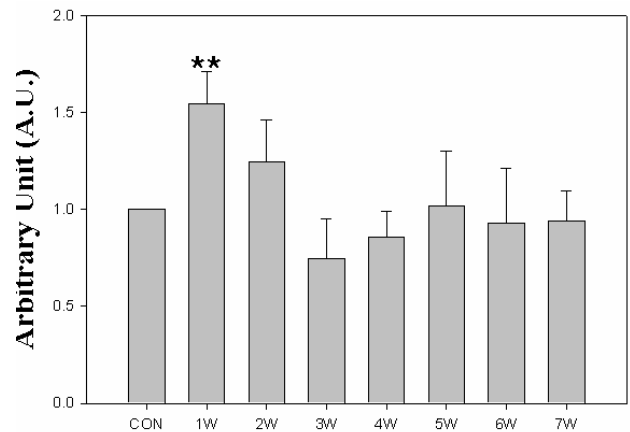


Fig. 1. Semi-quantitative RT-PCR of the transcripts for ER α in the epididymis from rats treated with EDS(75 mg/kg BW). Each bar is the mean \pm SEM of repeated experiments(n=4~7). The asterisks indicate significant differences from control value(** P <0.01) by ANOVA.

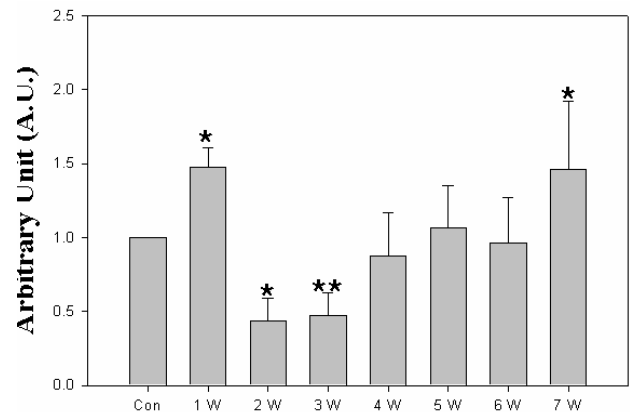


Fig. 2. Semi-quantitative RT-PCR of the transcripts for ER β in the epididymis from rats treated with EDS(75 mg/kg BW). Each bar is the mean \pm SEM of repeated experiments(n=4~7). The asterisks indicate significant differences from control value(* P <0.05, ** P <0.01) by ANOVA.

P <0.01) 이러한 경향은 3주까지 계속되다가(control vs W3= 1.00 vs 0.49 \pm 0.15, P <0.05) 4주 후부터 증가하여 대조군 수준으로 회복하였다(Fig. 3). AR 유전자는 주사 후 증가하여 2주 후에 최고치에 이르며(control vs W2=1.00 vs 2.04 \pm 0.85, P <0.01), 후에 다시 정상 수준으로 감소하였다(Fig. 4). 5 α -RT2는 주사 후 차츰 증가하는 경향을 보이다가 주사 4주 후에 유의하게 상승한 후(control vs W4=1.00 vs 1.59 \pm

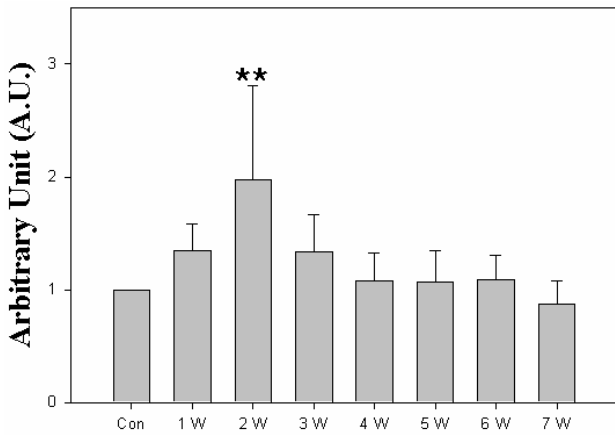


Fig. 3. Semi-quantitative RT-PCR of the transcripts for P450arom in the epididymis from rats treated with EDS(75 mg/kg BW). Each bar is the mean±SEM of repeated experiments (n=4~7). The asterisks indicate significant differences from control value(* P <0.05, ** P <0.01) by ANOVA.

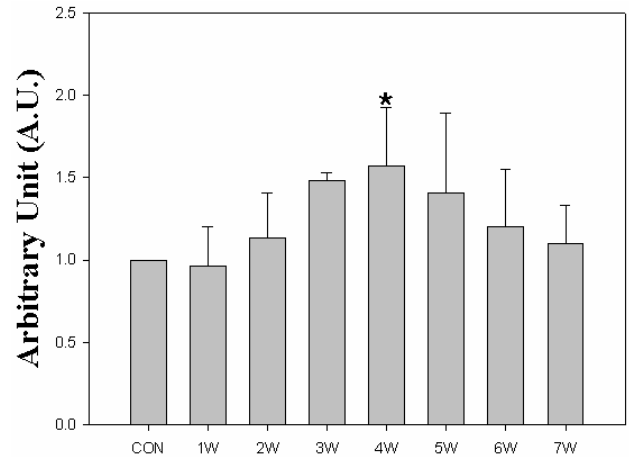


Fig. 5. Semi-quantitative RT-PCR of the transcripts for 5α-RT2 in the epididymis from rats treated with EDS(75 mg/kg BW). Each bar is the mean±SEM of repeated experiments (n=4~7). The asterisks indicate significant differences from control value(* P <0.05) by ANOVA.

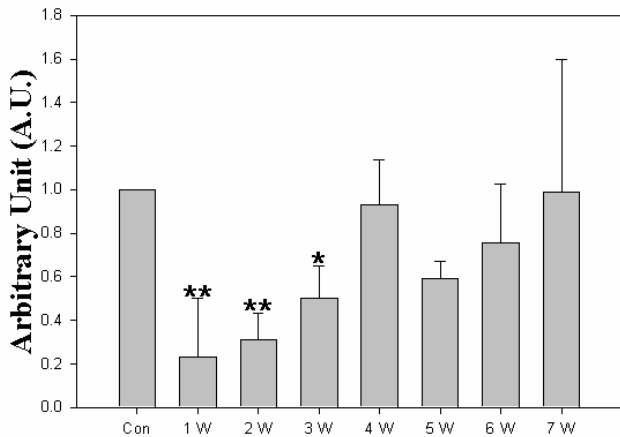


Fig. 4. Semi-quantitative RT-PCR of the transcripts for AR in the epididymis from rats treated with EDS(75 mg/kg BW). Each bar is the mean±SEM of repeated experiments(n=4~7). The asterisks indicate significant differences from control value(** P <0.01) by ANOVA.

0.33, P <0.05) 대조군 수준으로 감소하였다(Fig. 5).

고찰

EDS 모델은 1회 주사로 Leydig 세포를 선별적으로 사멸시키고, 이후 전구세포들이 이를 보충하는 기작을 통해 정소

내 안드로겐 생합성 능력의 가역적인 손상과 회복을 유도할 수 있기 때문에 정소절제모델(orchidectomized model, ORX) 보다 유용할 수 있다(Mendis-Handagama & Ariyaratne, 2001). 본 연구자들은 이전 연구를 통하여 EDS 주사 후 부정소에서 세포 자연사 관련 유전자 발현의 가역적인 변화가 유발되고 (Son & Lee, 2006), 뇌하수체에서도 생식소 자극 호르몬 유전자들의 발현 역시 가역적으로 변화함을 관찰하였다(Son et al., 2007). 따라서 EDS 주사 모델은 생식호르몬들에 의한 부속 생식기관들의 기능 조절에 관한 연구에도 유용할 것으로 사료된다.

부정소에서 에스트로겐 수용체(ER)는 α 와 β 두 가지 유형이 존재하는데, ER α 는 부정소와 정소를 이어주는 수출소관(efferent duct)의 섬모세포(ciliated cell)와 무섬모세포(non-ciliated cell)의 핵에서 가장 많이 존재하며(Fisher et al., 1997), initial segment에도 존재하는 것으로 밝혀졌다(Hess et al., 2002). ER β 는 initial segment에는 거의 존재하지 않지만, 체부와 미부 그리고 수출소관에 풍부하게 존재함이 알려져 있다(Hess et al., 2002). ER α 녹아웃 생쥐 실험 결과, 수출소관에서 재흡수가 일어나지 않아 불임이 유발됨이 관찰되었으나(Eddy et al., 1996; Dupont et al., 2000), ER β 녹아웃 생쥐는 수정 능력에 아무런 변화가 없었다(Krege et al., 1998). 흰쥐에 에스트라다이올(estradiol)을 주사하면 ER α

유전자 발현은 감소하나 ER β 발현은 변화가 없으며, 테스토스테론 보충에 의해 ER β 발현이 감소됨이 보고되었다(Oliveira et al., 2004). LH 수용체(LH-R) 녹아웃 생쥐의 부정소 ER α 유전자 발현이 증가하고 ER β 발현은 감소됨이 보고되는데, 정소에서는 부정소와 상이한 결과가 나타남이 보고되었다(Lei et al., 2003). 또한, EDS 모델에서 Leydig 세포에서의 LH-R 유전자는 감소하는데 비해 ER β 의 발현은 증가됨이 보고되었다(Sriraman et al., 2003). 이러한 사실들은 LH-R과 ER α /ER β 간에 상호 조절 기능이 존재할 가능성을 의미한다.

안드로겐을 에스트로겐으로 전환시키는 P450arom은 수출소관과 부정소에서 발현됨이 보고되었고(Carpino et al., 2004; Pereyra-Martinez et al., 2001; Wiszniewska, 2002), 부정소 배양을 통해 P450arom에 의해 전환된 에스트로겐이 분비됨이 보고되었다(Wiszniewska, 2002). 본 연구 결과에서는 P450arom 전사체가 부정소에 존재하고, 주사 후 3주 동안 발현이 감소하는 것을 관찰하였다. ORX 모델을 사용하여 항 안드로겐(flutamide)을 주사한 실험에서 부정소 P450arom mRNA 발현이 감소되고 DHT에 의해 회복됨이 보고되었는데, 이는 부정소 P450arom 발현이 안드로겐과 LH에 의해 주로 조절될 가능성을 시사한다(Shayu & Rao, 2006).

한편, AR은 부정소의 두부와 미부의 상피세포와 간질세포에 존재하며, 몇몇 종의 경우 수출소관의 섬모세포와 무섬모세포에도 존재하는 것으로 알려져 있다(Yamashita, 2004; Zhou et al., 2002). AR은 테스토스테론과 DHT의 수용체로서 이들의 작용을 매개하며, 테스토스테론보다는 DHT와의 결합력이 더 좋은 것으로 알려져 있다(Wilson & French, 1976). 본 연구에서 주사 후 2주까지 AR mRNA가 증가하는 것을 관찰할 수 있는데, 다른 연구자 역시 EDS 주사 5일 후 부정소에서 AR 발현이 증가함을 보고한 바 있다(Blok et al., 1992). 이러한 부정소 AR 발현의 증가는 리간드인 테스토스테론과 DHT의 감소에 의한 것으로 보인다. 테스토스테론을 활성 안드로겐인 DHT로 전환시키는 5 α -RT는 type1과 2가 존재하는데(Russell & Wilson, 1994), 부정소와 기타 부속 생식기관에는 type2가 다량 존재하면서 DHT로의 전환에 관여하는 것으로 알려져 있다(Jin & Penning, 2001). 부정소와 정소를 연결시켜주는 수출소관을 절제하여 정소로부터의 직접적인 영향을 제거한 동물모델에서 부정소의 initial segment 부위의 5 α -RT1 mRNA 수준은 감소하는데 비해 5 α

-RT2 mRNA는 증가함이 보고되었다(Viger & Robaire, 1996). 본 연구에서도 5 α -RT2 mRNA는 EDS 주사후 4주까지 증가하는 경향을 보였다. 이것은 부정소에서의 5 α -RT2 발현이 테스토스테론 결핍과 이에 수반되는 부정소의 생리적 변화에 의해 조절됨을 시사한다.

결론적으로, 본 연구는 EDS 주사가 성 스테로이드 호르몬 수용체들과 안드로겐 전환 효소들의 전사 활성화에 가역적인 변화를 유도함을 보여준 것이다. 이러한 EDS 주사 모델은 부정소의 생리 조절 기작을 이해하는데 유용할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 상명대학교 자연과학연구소 연구비(2007) 지원으로 수행되었음.

인용문헌

- Blok LJ, Bartlett JM, Bolt-De Vries J, Themmen AP, Brinkmann AO, Weinbauer GF, Nieschlag E, Grootegoed JA (1992) Effect of testosterone deprivation on expression of the androgen receptor in rat prostate, epididymis and testis. *Int J Androl* 15:182-198.
- Boue F, Berube B, De Lamirande E, Gagnon C, Sullivan R (1994) Human sperm-zona pellucida interaction is inhibited by an antiserum against a hamster sperm protein. *Biol Reprod* 51:577-587.
- Carpino A, Bilinska B, Siciliano L, Magiolini M, Rago V (2004) Immunolocalization of estrogen receptor β in the epididymis of mature and immature pigs. *Folia Histochem Cytobiol* 42:13-17.
- Chomczynski P, Sacchi N (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162:156-159.
- Cornwall GA, Hann SR (1995) Specialized gene expression in the epididymis. *J Androl* 16:379-383.
- Dupont S, Krust A, Gansmuller A, Dierich A, Chambon P, Mark M (2000) Effect of single and compound knock-outs of estrogen receptors a (ER a) and b (ER b) 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. *Endocrinol* 137:4796-4805.
- Ezer N, Robaire B (2003) Gene expression is differentially regulated in the epididymis after orchidectomy. *Endocrinol* 144:975-988.
- Fan X, Robaire B (1998) Orchidectomy induces a wave of apoptotic cell death in the epididymis. *Endocrinology* 139: 2128-2136.
- Fisher JS, Millar MR, Majdic G, Saunders PT, Fraser HM and Sharpe RM (1997) Immunolocalisation of oestrogen receptor-alpha within the testis and excurrent ducts of the rat and marmoset monkey from perinatal life to adulthood. *J Endocrinol* 153:485-495.
- Hess RA, Zhou Q, Nie R (2002) The role of estrogens in the endocrine and paracrine regulation of the efferent ductules, epididymis and vas deferens. The epididymis: from molecules to clinical practice. In: Robaire B, Hinton BT(ed.) New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers 317-338.
- Hinton BT, Lan ZJ, Rudolph DB, Labus JC, Lye RJ (1998) Testicular regulation of epididymal gene expression. *J Reprod Fertil* 53:47-57.
- Holland MK, Vreeburg JT, Orgebin-Crist MC (1992) Testicular regulation of epididymal protein secretion. *J Androl* 13:266-273.
- Jackson CM, Jackson H (1984) Comparative protective actions of gonadotrophins and testosterone against the anti-spermatogenic action of ethane dimethanesulphonate. *J Reprod Fertil* 71:393-401.
- Jackson H (1973) Chemical methods of male contraception. *Am Sci* 61:188-193.
- Jervis KM, Robaire B (2001) Dynamic changes in gene expression along the rat epididymis. *Biol Reprod* 65: 696-703.
- Jin Y, Penning TM (2001) Steroid 5 α -reductases and 3 α -hydroxysteroid dehydrogenases: key enzymes in androgen metabolism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 15:79-94.
- Jones R (2004) Sperm survival versus degradation in the mammalian epididymis: a hypothesis. *Biol Reprod* 71: 1405-1411.
- Krege JH, Hodgin JB, Couse JF, Enmark E, Warner M, Mahler JF, Sar M, Korach KS, Gustafsson JA, Smithies O (1998) Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:15677-15682.
- Lakoski KA, Carron CP, Cabot CL, Saling PM (1988) Epididymal maturation and the acrosome reaction in mouse sperm: response to zona pellucida develops coincident with modification of M42 antigen. *Biol Reprod* 38:221-233.
- Lei ZM, Zou W, Mishra S, Li X, Rao ChV (2003) Epididymal phenotype in luteinizing hormone receptor knockout animals and its response to testosterone replacement therapy. *Biol Reprod* 68:888-895.
- Mendis-Handagama SM, Ariyaratne HB (2001) Differentiation of the adult Leydig cell population in the postnatal testis. *Biol Reprod* 65:660-671.
- Nitta H, Bunick D, Hess RA, Janulis L, Newton SC, Millette CF, Osawa Y, Shizuta Y, Toda K, Bahr JM (1993) Germ cells of the mouse testis express P450 aromatase. *Endocrinology* 132:1396-1401.
- Oliveira CA, Mahecha GA, Carnes K, Prins GS, Saunders PT, França LR, Hess RA (2004) Differential hormonal regulation of estrogen receptors ERalpha and ERbeta and androgen receptor expression in rat efferent ductules. *Reproduction* 128:73-86.
- Orgebin-Crist MC (1969) Studies on the function of the epididymis. *Biol Reprod* 1:155-175.
- Payne AH, Youngblood GL (1995) Regulation of expression of steroidogenic enzymes in Leydig cells. *Biol Reprod* 52:217-225.
- Pereyra-Martinez AC, Roselli CE, Stadelman HL, Resko

- JA (2001) Cytochrome P450 aromatase in testis and epididymis of male rhesus monkeys. *Endocrine* 16:15-19.
- Russell DW, Wilson JD (1994) Steroid 5 α -reductase: two genes/two enzymes. *Annu Rev Biochem* 63:25-61.
- Saling P (1982) Development of the ability to bind to zona pellucidae during epididymal maturation: Reversible immobilization of mouse spermatozoa by Lanthanum. *Biol Reprod* 26:429-436.
- Shayu D, Rao AJ (2006) Expression of functional aromatase in the epididymis: role of androgens and LH in modulation of expression and activity. *Mol Cell Endocrinol* 249:40-50.
- Son HJ, Lee SH (2006) Effect of ethane 1,2-dimethane sulfonate(EDS) on the apoptosis in the rat epididymis. *Dev Reprod* 10:203-209.
- Son HJ, Kim SW, Paick JS, Lee SH (2007) Effect of ethane 1,2-dimethane sulfonate(EDS) on the expression of pituitary gonadotropin in male rats. *Dev Reprod* 11: 49-54.
- Sriraman V, Sairam MR, Rao AJ (2003) Evaluation of relative roles of LH and FSH in regulation of differentiation of Leydig cells using an ethane 1,2-dimethylsulfonate-treated adult rat model. *J Endocrinol* 176:151-161.
- Viger RS, Robaire B (1996) The mRNAs for the steroid 5 alpha-reductase isozymes, types 1 and 2, are differentially regulated in the rat epididymis. *J Androl* 17: 27-34.
- Wiszniewska B (2002) Primary culture of the rat epididymal epithelial cells as a source of oestrogen. *Andrologia* 34:180-187.
- Wilson EM, French FS (1976) Binding properties of androgen receptors: evidence for identical receptors in rat testis, epididymis and prostate. *J Biol Chem* 251:5620-5629.
- Yamashita S (2004) Localization of estrogen and androgen receptors in male reproductive tissue of mice and rats. *Anat Rec* 279A:768-778.
- Zhou Q, Nie R, Prins GS, Saunders PT, Katzenellenbogen BS, Hess RA (2002) Localization of androgen and estrogen receptors in adult male mouse reproductive tract. *J Androl* 23:870-881.