大韓不妊學會雜誌: 第23卷 第3號 1996
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 23, No. 3, 1996, 12

흰쥐의 시상하부외 지역에서의 Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) 유전자발현

뇌하수체내 국부인자로서 Lactotroph분화에 관여할 가능성에 대하여

상명대학교 자연대학 생물학과

이 성 호

Extrahypothalamic Expression of Rat Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) : a possible intrapituitary factor for lactotroph differentiation ?

Sung Ho Lee

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

=Abstract=

Biosynthesis and secretion of anterior pituitary hormones are under the control of specific hypothalamic stimulatory and inhibitory factors. Among them, Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) is the major stimulator of pituitary somatotrophs activating GH gene expression and secretion. Human GHRH is a polypeptide of 44 amino acids initially isolated from pancreatic tumors, and the gene for the hypothalamic form of GHRH is organized into 5 exons spanning over 10 kilobases (kb) on genomic DNA and encodes a messenger RNA of 700-750 nucleotides. Several neuropeptides classically associated with the hypothalamus have been found in the extrahypothalamic regions, suggesting the existence of novel sources, targets and functions. GHRH-like immunoreactivity has been found in several peripheral sites, including placenta, testis, and ovary, indicating that GHRH may also have regulatory roles in peripheral reproductive organs. Furthermore, higher molecular weight forms of the GHRH transcripts were identified from these organs (1.75 kb in testis; 1.75 and >3 kb in ovary). These tissue-specific expression of GHRH gene suggest the existence of unique regulatory mechanism of GHRH expression and function in these organs. In fact, placenta-specific and testis-specific promoters for GHRH transcripts which are located in about 10 kb upstream region of hypothalamic promoter were reported. The use of unique promoters in extrahypothalamic sites could be refered in a different control of GHRH gene and different functions of the translated products in these tissues.

Somatotrophs and lactotrophs have been thought to be derived from a common bipotential progenitor, the somatolactotrophs, which give origins to either phenotypes. Although the precise mechanism responsible for the lactotroph differentiation in the anterior pituitary gland has not been yet clalified, there are several candidators for the generation of lactotrophs. In human, the presence of GHRH peptides with different size from authentic hypothalamic form in the normal

anterior pituitary and several types of adenoma were demonstrated. Recently our group found the existence of immunoreactive GHRH and its transcript from the normal rat anterior pituitary (gonadotroph> somatotroph> lactotroph), and the GHRH treatment evoked the increased proliferation rate of anterior pituitary cells in vitro. The transgenic mouse models clearly shown that GHRH or NGF overexpression by anterior pituitary cells induced development of pituitary hyperplasia and adenomas particularly GH-oma and prolactinoma. Taken together, we hypothesize that the pituitary GHRH could serve not only as a modulator of hormone secretion but as a paracrine or autocrine regulator of anterior pituitary cell proliferation and differentiation. Interestingly enough, the expression of Pit-1 homeobox gene (the POU class transcription factor) was confined to somatotrophs, lactotrophs and somatolactotrophs in which GHRH receptors are expressed commonly. Concerning the mechanism of somatolactotroph and lactotroph differentiation in the anterior pituitary, we have focused following two possibilities; (1) changes in the relative levels or interactions of both hypothalamic and intrapituitary factors such as dopamine, VIP, somatostatin, NGF and GHRH; (2) alterations of GHRH-GHRH receptor signaling and Pit-1 activity may be the cause of lactotroph differentiation or pituitary hyperplasia and adenoma formation. Extensive further studies will be necessary to solve these complicated questions.

서 론

1. 시상하부의 GHRH

Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH)은 44개의 아미노산으로 구성되는 펩타이드 호르몬으로, 고등포유동물의 시상하부에서 합성되어 문맥계를 통해 뇌하수체로 분비되어 전엽에 위치한 somatotroph 또는 somatolactotroph에 작용하여 이들로 부터의 Growth Hormone (GH) 분비를 촉진한다 (Guillemin et al., 1982; Gick et al., 1984). 분비된 GH는 간 등의 체내 여러 목표 기관에 작용하여 somatomedin C 또는 insulin-like growth factor (IGF)를 매개로 하여 세포의 성장이나 대사조절과 같은 다양한 기능을 수행하며, 다시 이 somatomedin C 또는 IGF는 GH와 함께 시상하부와 뇌하수체에 억제적 피이드백작용을 하는 시상하부-뇌하수체-목표기관의 호르몬축을 구성함이 잘 알려져 있다 (Berelowitz et al., 1981; Mayo et al., 1995). GHRH의 유전자 염기서열은 다른 시상하부의 분비호르몬들에 비해 비교적 일찍 알려졌는데, 흰쥐, 생쥐 그리고 사람의 GHRH mRNA의 크기는 약 750 bp로 추정되고 있다 (Mayo et al., 1985; Suhr et al., 1989). 흰쥐 시상하부형의 GHRH 유전자는 크기가 약 10 kb 정도인 단일 유전자이고 5개의 exon으로 존재하는데, 이 중 exon 3과 exon 4의 일부에 GHRH 펩타이드서열이 암호되어있으며 GHRH 펩타이드 전구체는 약 103-108 개의 아미노산으로 구성되리라 예상된다 (Mayo et al., 1985). 시상하부형 GHRH 유전자는 사람, 흰쥐, 생쥐에서 공히 TATA box와 CCAAT box를 포함한 전형적인 프로모터를 갖는다 (Mayo et al., 1995). 시상하부에서 GHRH를 발현하는 세포들은 거의 대부분 arcuate nuclei 지역, 특히 ventromedial hypothalamus (VMH)와 dorsomedial hypothalamus (DMH) 지역에 위치하고 있다 (Mayo, 1989). 시상하부에서의 GHRH 유전자발현의 정도는 성간에 차이를 보이며 (Argente et al., 1991), 그외에도 대사율의 차이, 섭식정도, 그리고 당뇨병의 유무 등에 의해 따라 상이한 양상을 보인다 (Bruno et al., 1993; Mayo et al., 1995). 포유동물의 생식기능의 조절에 관한 시상하부-뇌하수체-생식소를 잇는 호르몬축의 하위 기관들도 GHRH 유전자발현에 중요한 영향을 미치는데, 흰쥐에서 테스토스테론은 촉진적인 그리고 에스트로젠은 억제적인 효과를 미치며 (Zeitler et al., 1990), 뇌하수체절제 (hypophysectomy)는 상당기간 동안 증가된 발현을 유지시킨다 (Mayo, 1989).

2. 시상하부외 조직에서의 GHRH: 유전자발현과 조직특이적 기능들

한편 지난 10여년 동안 고전적인 의미에서의 여러 시상하부 분비호르몬 (예, LHRH, TRH,

CRH)들이 뇌의 다른 지역이나 생식소, 태반 등의 조직들에서도 발현됨이 많은 연구자들에 의해 밝혀졌는데, 이러한 시상하부외 지역 (extrahypothalamic region)에서 발현되는 분비호르몬들은 그 조직내에서 국부조절인자로서의 여러 기능을 수행하고 있음이 밝혀져있거나 추정되고 있다 (Khodr & Siler-Khodr, 1989; Shambaugh et al., 1983; Yoon et al., 1988). 최초 사람의 GHRH는 acromegaly 환자의 췌장암으로부터 추출,분리되었는데, 이는 GHRH가 시상하부외의 조직에서도 발현될 수 있다는 가능성을 처음부터 시사하는 것이었다 (Guillemin et al., 1982). 실제로 현재까지 GHRH 유전자는 태반 (Margioris et al., 1990), 정소 (Berry & Pescovitz, 1990), 난소 (Moretti et al., 1990b; Bagnato et al., 1992), 임파구 (Weigent et al., 1991), Pheochromocytoma (Saito et al., 1993; Lee & Catt, in preparation)에서도 발현됨이 보고되었는데, 매우 흥미로운 사실은 GHRH mRNA의 크기가 각 조직들에서 차이가 난다는 점과 이들 조직에 존재하는 GHRH 펩타이드의 크기도 시상하부의 것보다 다양하다는 점이다 (Table 1). 이러한 일련의 보고들은 다음의 여러 가능성들을 시사하는 것이었는데, 현재와 앞으로의 연구 방향을 잘 제시하고 있다. 첫째로, 각 조직은 각각 다른 전사조절기구를 사용하여 GHRH 유전자를 발현시킨다. 이는 세포기원이 다르고 생리적으로 상이한 조건하에 있는 각 조직들이 각기 다른 방식으로 GHRH 유전자를 작동시키리라는 가능성을 의미한다. 현재까지 흰쥐의 태반에서 발현되는 GHRH의 mRNA는 시상하부에서 발현되는 것과 유사한 크기이지만 전사에 사용되는 프로모터는 시상하부형의 프로모터가 아니고 그로 부터 5' 방향으로 10 kb 정도 떨어져 위치한 TATA box가 없는 유형이며, 전사조절물질 가운데 하나인 Oct-1 homeobox 단백질에 대한 concensus binding sequence들을 포함함이 알려져 있다 (Gonzalez-Crespo & Boronat, 1991; Mayo et al., 1995). 따라서 흰쥐의 태반형 GHRH mRNA는 시상하부와는 다른 exon 1으로 부터 시작 되며 exon 2부터는 동일한 구조를 갖는다. 또 흰쥐의 정소에서는 태반형에서 다시 5' 방향으로 700 bp 정도 떨어진 곳에 위치한 정소특이적인 프로모터를 사용하며 그

Table 1. 흰쥐와 사람의 시상하부지역에서 발현되는 GHRH

조직	검출방법	mRNA (kb)	펩타이드 (kD)	추정되는 기능
흰쥐				
태반	IHC, ISH, RIA, NB	0.7	5	fetal GH, lactogen 분비
정소	IHC, ISH, RIA, NB	1.75	5 &	스테로이드 합성과 분비
			12.5	정자형성과정 (?)
난소	RIA, PCR, NB	1.75 &	5 &	스테로이드 합성과 분비
		>3	16.5	여포성숙과정
뇌하수체	RIA, IHC, PCR, NB	0.8 (?)	-	GH (PRL) 분비
				전엽세포의 분열 및 분화 (?)
임파구	PCR	-	-	-
PC	PCR	-	-	-
사람				
생식소	IHC	1.75	-	스테로이드 합성과 분비 (?)
뇌하수체	IHC, ISH, RIA	-	5, 10	전엽세포의 분열 및 분화 (?)
			30-45	tumorigenic activity
(adenoma)	RIA	-	5	-

* Abbreviation : IHC, immunohistochemistry; ISH, in situ hybridization RIA, radioimmunoassay; NB, Northern blot; PCR, polymerase chain reaction; PC, pheochromocytoma.

mRNA들의 경우 몇 개의 alternative splicing form이 존재함이 보고되었다 (Srivastava et al., 1995). 난소의 경우 그 mRNA의 크기 (>3 kb)가 여타 조직에서의 것보다 훨씬 크며, 정소형과 태반형외에도 난소특이적인 프로모터를 사용하리라고 추정되며, 이 경우에도 조직특이적 alternative splicing 기작이 존재함이 추정된다 (Bagnato et al., 1992: Lee et al., in preparation). 이와 같이 각 조직들은 상이한 프로모터와 전사조절부위를 갖음으로써 조직특이적인 GHRH mRNA와 발현조절기작을 보이는 것으로 사료되는데, 그 자세한 조절기작은 알려진 바 없다. 둘째로, 시상하부외 지역의 조직들은 GHRH 유전자 산물들을 각각의 상황에 맞는 다양한 용도로 이용하고 있음을 시사한다. 태반 GHRH는 주로 cytotrophoblast (흰쥐)와 giant trophoblast와 labyrinth (생쥐)에서 발현되고 출산 3-5일전에 최대치를 나타내는데, 그 기능중 하나는 fetal growth hormone과 placental lactogen의 분비를 조절하는 것으로 추정된다 (Margioris et al., 1990). 정소에서는 Leydig 세포와 생식세포들에서 발현됨이 보고되었는데, 이 정소형 GHRH의 기능 가운데 스테로이드호르몬의 합성 및 분비조절 (steroidogenesis)이 확인되었고, Sertoli 세포의 기능조절과 아마도 정자형성과정에도 관여하리라 여겨진다 (Ciampani et al., 1992; Srivastava et al., 1993). 흰쥐의 난소에서는 GHRH가 특히 granulosa 세포들에서 발현되어 스테로이드호르몬 합성과 분비를 조절함이 보고되었고, GHRH 또는 Vasoactive Intestinal Peptide (VIP)에 대한 수용체가 발현됨이 RT-PCR 방법으로 증명되었다 (Moretti et al., 1990a; Lee et al., in preparation). GHRH와 VIP는 Glucagon/Secretin family에 속하며 GHRH의 경우 VIP 수용체에도 작용할 수 있는데, 실제로 흰쥐의 GHRH와 VIP에 대한 수용체의 아미노산 및 염기서열은 대단히 유사하다 (Mayo, 1992). 셋째로, 한 유전자로 부터 전사 또는 post-translation 수준에서의 변형에 의해 만들어질 수 있는 여러 산물들, 즉 상이한 크기의 펩타이드들이 기존에 알려진 분자량의 펩타이드에 대해 agonist나 antagonist로 작용하거나, 이미 알려진 내분비학적인 기능 (예, GH 분비촉진)외에도 밝혀져있지 않은 다른 기능들을 담당할 가능성으로서, 뇌하수체에서 발현되는 GHRH의 경우 그러한 가능성이 높은 것으로 추측된다.

3. 뇌하수체에서의 GHRH 유전자발현과 기능

본 연구자들은 정상인 흰쥐의 뇌하수체 전엽에서도 GHRH가 발현되고 in vitro 조건하에서 세포분열을 촉진하며, 흰쥐로 부터 유래된 somatolactotroph성질을 갖는 tumor 세포인 GH3 세포에서도 GHRH 유전자가 발현되고, 정상적인 뇌하수체 전엽세포를 분리한 결과 GHRH 함량이 gonadotroph > somatotroph > lactotroph 순으로 나타남을 관찰하였다 (Lee et al., 1996). 한편 사람의 뇌하수체에서 발견되는 adenoma 유형 가운데 일부에서 GHRH의 mRNA와 여러 크기의 immunoreactive GHRH 펩타이드가 존재함이 보고되었는데 (Levy & Lightman, 1992; Rauch et al., 1995), 이러한 결과들은 GHRH가 뇌하수체에서의 세포분화와 분열과정에 중요한 역할을 담당하고 있음을 시사하는 것이다.

현재까지 포유동물 뇌하수체에서의 lactotroph의 분화와 기능조절에 에스트로겐, VIP, nerve growth factor (NGF), epidermal growth factor (EGF) 등이 관여함이 보고되었으나 (Missale et al., 1995), 그 상세한 분자생물학적인 기작은 알려져 있지 않다. 뇌하수체의 전엽을 구성하는 세포군 중에서 somatotroph와 lactotroph는 bipotential한 somatolactotroph로 부터 분화된다고 알려져 있는데, 이를 뒷받침하는 과거의 실험결과들은 대부분 immunohistochemistry 또는 immunocytochemistry 방법으로 얻어진 것들이며 역동적으로 일어나는 성체에서의 세포분화를 설명하는데 한계가 있는 것으로 사료된다 (Dubois & Hemming, 1991). 실제로 성체의 경우 뇌하수체내에 일종의 간세포 (stem cell)가 존재하고 적절한 요인들 (예, 스테로이드호르몬)의 영향하에 somatotroph, somatolactotroph 그리고 lactotroph 순으로 분화할 가능성을 배제할 수 없다 (Hoeffler et al., 1985). 흰쥐의 경우 다른 뇌하수체 전엽세포들의 출현보다 늦은 임신 16일 이후 gonadotroph의 영향하에서 lactotroph로의 분화가 일어나고, 출생 직후 에스트로겐의 영향하에서 급격한 세포수의 증가가 일어남이 알려져 있다 (Dubois & Hemming, 1991). 뇌하수체 전엽에서 somatotroph와 lactotroph, 그리고 somatolactotroph는 모두 GHRH에 대한 수용체를 갖고 있다. 또한 흥미롭게도 GHRH 수용체와 GH 그리고 Prolactin의 프로모터 부위에는 공히 POU class homeobox의 전사조절물질인 Pit-

1에 대한 결합부위가 있다 (Simmons et al., 1990; Mayo, personal communication). 이 Pit-1의 경우 본래의 31-33 kD 단백질은 Prolactin 유전자발현을 증진시키는데 반해 alternative splicing에 의해 170 bp 짧은 mRNA 로 부터 만들어지는 24-27 kD 단백질은 Prolactin 유전자발현을 억제함이 보고되었다 (Day & Day, 1994).

사람의 GHRH 유전자를 과다발현하는 형질전환 생쥐 (transgenic mouse)는 생후 8개월후 정상인 생쥐의 것보다 약 5배로 비대해진 뇌하수체를 갖게되고 이는 궁극적으로 종양으로 진행되는데, 주로 GHRH를 다량 함유하는 somatotroph, lactotroph 그리고 thyrotroph adenoma 순으로 형성되며 (Mayo et al., 1988) 이들에서 높은 수준의 Pit-1 단백질이 검출되었다 (Okamura et al., 1993). 이러한 결과들은 인위적으로 주입된 유전자에 존재하는 metallothionein I (MT) 프로모터 자체에 의한 효과라기 보다는 비정상적으로 증가된 GHRH 발현 및 분비에 의한 것으로 사료된다. 또한 사람의 adenoma에서 관찰되는 것과 유사하게, 상이한 고분자형의 GHRH 펩타이드가 다량으로 뇌하수체와 췌장 등에 존재함이 보고되었다 (Frohman et al., 1990). 또 이와 유사한 실험 모델로 NGF를 과다발현하는 형질전환 생쥐의 경우도 뇌하수체 adenoma, 특히 prolactinoma가 발생함이 보고되었다 (Borrelli et al., 1992). NGF는 정상적인 뇌하수체 전엽세포들에서도 합성,분비되며 GHRH 처리에 의해 분비가 억제됨이 알려졌다 (Patterson & Childs, 1994). 이러한 보고들을 종합해 볼 때 NGF와 GHRH가 somatotroph로부터 somatolactotroph와 lactotroph로의 분화에 관여하는 뇌하수체내 국부조절인자들인 것으로 추정되는데, 이들이 다른 유형의 세포들 간의 상호조절물질인가의 여부와 직접적 혹은 간접적으로 분화조절에 관여하는가 등의 기작은 현재까지 알려져 있지 않다.

결 론

지난 10년간의 여러 연구결과들은 GHRH가 시상하부외 지역에서 합성 및 분비되며 다양한 생물학적인 기능들을 조직특이적으로 수행하고 있음을 보여주고 있다. 본 연구자들은 뇌하수체에서 발현되는 GHRH가 GH 분비촉진 기능외에도 뇌하수체내에서 GHRH에 대한 수용체를 갖는 특정 세포들의 분열과 분화조절에 관여하리라고 추측한다. 또 사람의 adenoma와 형질전환 생쥐 모델을 사용한 일련의 연구 결과들을 종합해 볼 때 뇌하수체의 역동적인 성숙과정에서 GHRH-GHRH 수용체 신호전달기작의 이상이 뇌하수체 hyperplasia와 adenoma 형성의 원인 가운데 하나이거나, 또는 그 과정에서 나타나는 특징이 되리라 예상된다. 또한 뇌하수체 GHRH는 정상적인 somatolactotroph와 lactotroph로의 분화에도 관여하리라 추정되는데, 이 과정에는 (1) 에스트로젠, NGF, VIP, 도파민등과 같은 기존에 알려진 다른 요인들과의 양적인 조화, (2) GHRH 또는 VIP 수용체의 민감도의 변화, (3) 크기가 다른 GHRH 펩타이드에 의한 신호변조, (4) 전사조절물질 (예, Pit-1) 수준에서의 변조 등의 여러 경로를 통해 lactotroph 분화의 여러 단계에서 촉진적 또는 억제적인 영향을 미치리라고 사료된다 (Table 2). 현재 이러한 가설을 증명하기 위한 실험들이 수행중에 있다.

Table 2. Somatolactotroph와 Lactotroph 분화의 가상적인 기작

1. 변형 또는 증가된 외부입력 (에스트로젠)
2. 뇌하수체내 국부조절인자들의 합성 및 분비 수준의 변화
   (1) GHRH 발현, 분비의 변화 → (somatotroph의 분열양상의 변화)
   (2) NGF 발현, 분비의 변화 → (somatolactotroph로의 분화시작)
3. 뇌하수체내 국부조절인자들의 활성의 변화
   (1) GHRH processing의 변화 (낮은 MW에서 높은 MW로)
   (2) GHRH (또는 VIP) 수용체의 정량, 정성적인 변화
   (3) 전사조절물질 (Pit-1)의 발현의 변화 → (somatolactotroph 단계)
   (4) GH와 Prolactin 유전자 발현양상의 변화 → (lactotroph 단계)
   * NGF에 의한 세포내 신호전달의 변화 (미확인)
4. Phenotype의 변화
   세포유형의 출현 순서: somatotroph → somatolactotroph → lactotroph

인 용 문 헌

Argente J, Chowen JA, Zeitler P, Clifton DK, Steiner RA: Sexual dimorphism of growth hormone-releasing hormone and somatostatin gene ex-

pression in the hypothalamus of the rat during development. *Endocrinology* 1991, 128, 2369-2375.

Bagnato A, Moretti C, Ohnishi J, Frajese G, Catt K: Expression of the growth hormone-releasing hormone gene and its peptide product in the rat ovary. *Endocrinology* 1992, 130, 1097-1102.

Berelowitz M, Szabo M, Frohman LA, Firestone S, Chu L, Hintz RL: Somatomedin C mediates growth hormone negative feedback by effects on both the hypothalamus and the pituitary. *Science* 1981, 212, 1279-1281.

Berry SA, Pescovitz OH: Ontogeny and pituitary regulation of testicular growth hormone-releasing hormone-like messenger ribonucleic acid. *Endocrinology* 1990, 127, 1404-1411.

Borrelli E, Sawchenko PE, Evans RM: Pituitary hyperplasia induced by ectopic expression of nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89, 2764-2768.

Bruno JF, Song J, Xu Y, Berelowitz M: Regulation of hypothalamic preprogrowth hormone-releasing factor messenger ribonucleic acid expression in food-deprived rats: a role for histaminergic neurotransmission. *Endocrinology* 1993, 133, 1377-1381.

Ciampani T, Fabbri A, Isidori A, Dufau ML: Growth hormone-releasing hormone is produced by rat Leydig cell in culture and acts as a positive regulator of Leydig cell function. *Endocrinology* 1992, 131, 2785-2792.

Day RN, Day KH: An alternatively spliced form of Pit-1 represses prolactin gene expression. *Mol Endocrinol* 1994, 8, 374-381.

Dubois PM, Herrming FJ: Fetal development and regulation of pituitary cell types. *J Electron Micro Tech* 1991, 19, 2-20.

Frohman LA, Downs TR, Kashio Y, Brinster RL: Tissue distribution and molecular heterogeneity of human growth hormone-releasing factor in the transgenic mouse. *Endocrinology* 1990, 127, 2149-2156.

Gick GG, Zeytin FN, Brazeau P, Ling NC, Esch FS, Bancroft C: Growth hormone-releasing factor regulates growth hormone mRNA in primary cultures of rat pituitary cells. *Proc Natl Acad Sci* USA 1984, 81, 1553-1555.

Gonzalez-Crespo S, Boronat A: Expression of the rat growth hormone releaing hormone gene in placenta is directed by an alternative promoter. Proc Natl Acad Sci USA 1991, 88, 8749-8753.

Guillemin R, Brazeau P, Bohlen P, Esch F, Ling N, Wehrenberg WB: Growth hormone releasing factor from a human pancreatic tumor that caused acromegaly. *Science* 1982, 218, 585-587.

Hoeffler JP, Bookfor FR, Frawley LS: Ontogeny of prolactin cells in neonatal rats: initial prolactin secretors also release growth hormone. *Endocrinology* 1985, 117, 187-195.

Khodr GS, Siler-Khodr TM: Placental LRF and its synthesis. *Science* 1989, 207, 315-317.

Lee SH, Cesnaj M, Ohnishi J, Moretti C, Catt KJ: Expression of GHRH gene in rat pituitary gland. Endocrinology 1996, in submission.

Lee SH, Moretti C, Frajese G, Catt KJ: Tissue specific expression of GHRH gene in rat ovary: existence of ovary-specific promoter and alternative splicing mechanism. in preparation.

Lee SH, Catt KJ: Expression of GHRH gene in rat adrenal gland and pheochromocytoma (PC12) cell-line. in preparation.

Levy A, Lightman SL: Growth hormone-releasing hormone transcripts in human pituitary adenomas. *J Clin Endo Metab* 1992, 74, 1474-1476.

Margioris AN, Brockmann G, Bohler HCL, Grino M, Vamvakopoulos N, Chrousos GP: Expression and localization of growth hormone relasing hormone messenger ribonucleic acid in rat placenta: in vitro secretion and regulation of its peptide product. *Endocrinology* 1990, 126, 151-158.

Mayo KE: Advances in growth hormone and growth factor research. Muller EE, Cocchi D, Locatelli V, eds. *Heidelberg, Springer-Verlag* 1989, 217-230.

Mayo KE: Molecular cloning and expression of pituitary-specific receptor for growth hormone releasing hormone. *Mol Endocrinol* 1992, 6, 1743-1744.

Mayo KE, Cerelli GM, Rosenfeld MG, Evans RM:

Characterization of cDNA and genomic clones encoding the precursor of rat hypothalamic growth hormone-releasing factor. *Nature* 1985, 314, 464-467.

Mayo KE, Godfrey PA, Suhr ST, Kulik DJ, Rahal JO: Growth hormone-releasing hormone : synthesis and signaling. *Recent Prog Horm Res* 1995, 50, 35-73.

Mayo KE, Hammer RE, Swanson LW, Brinster RL, Rosenfeld MG, Evans RM: Dramatic pituitary hyperplasia in transgenic mice expressing a human growth hormone-releasing factor gene. *Mol Endocrinol* 1988, 2, 606-612.

Missale C, Boroni F, Frassine M, Caruso A, Spano P: Nerve growth factor promotes the differentiation of pituitary mammotroph cells in vitro. *Endocrinology* 1995, 136, 1205-1213.

Moretti C, Bagnato A, Solan N, Frajese G, Catt KJ: Receptor-mediated actions of growth hormone releasing factor on granulosa cell differentiation. *Endocrinology* 1990a, 127, 2117-2126.

Moretti C, Fabbri A, Gnessi L, Bonifacio V, Bolotti M, Arizzi M, Nazzicone Q, Spera G: Immunohistochemical localization of growth hormone-releasing hormone in human gonads. *J Endocrinol Invest* 1990b, 13, 301-305.

Okamura RY, Oda K, Utsunomiya H, Inada K, Umemura S, Shibuya M, Katakami H, Voss JW, Mayo KE, Rosenfeld MG: Immunohistochemical expression of Pit-1 protein in pituitary glands of human GRF transgenic mice: its relationship with hormonal expressions. *Endocr Jap* 1993, 40, 133-139.

Patterson JC, Childs GV: Nerve growth factor in the anterior pituitary: regulation of secretion. *Endocrinology* 1994, 135, 1697-1704.

Rauch C, Li JY, Croissandeau G, Berthet M, Peillon F, Pagesy P: Characterization and localization of an immunoreactive growth hormone-releasing hormone precursor form in normal and tumoral human anterior pituitaries. *Endocrinology* 1995, 136, 2594-2601.

Saito H, Sano T, Yamasaki R, Mitsuhashi S, Hosoi E, Saito S: Demonstration of biological activity of growth hormone-releasing hormone-like substance produced by a pheochromocytoma. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1993, 129, 246-250.

Shambaugh G, Kubek M, Wilber JF: Characterization of rat placental TRH-like material and the ontogeny of placental and fetal brain TRH. *Placenta* 1983, 4, 329-335.

Simmons DM, Voss JW, Ingraham HA, Halloway JM, Broide RS, Rosenfeld MG, Swanson LW: Pituitary cell phenotypes involve cell-specific Pit-1 mRNA transformation and synergistic interactions with other classes of transcription factors. *Genes Dev* 1990, 4, 695-711.

Srivastava CH, Breyer PR, Rothrock JK, Peredo MJ, Pescovitz OR: A new target for growth hormone-releasing hormone action in rat: the Sertoli cell. *Endocrinology* 1993, 133, 1478-1481.

Srivastava CH, Monts BS, Rothrock JK, Peredo MJ, Pescovitz OR: Presence of spermatogenic-specific promoter in the rat growth hormone-releasing hormone gene. *Endocrinology* 1995, 136, 1502-1508.

Suhr ST, Rahal JO, Mayo KE: Mouse growth hormone-releasing hormone: precursor structure and expression in brain and placenta. *Mol Endocrinol* 1989, 3, 1693-1700.

Weigent DA, Riley JE, Galin FS, LeBoeuf RD, Blalock JE: Detection of growth hormone and growth hormone-releasing hormone-related messenger RNA in rat leukocytes by the polymerase chain reaction. *Proc Soc Exp Biol Med* 1991, 198, 643-648.

Yoon DJ, Sklar C, David R: Presence of immunoreactive corticotropin-releasing factor in rat testis. *Endocrinology* 1988, 122, 759-766.

Zeitler P, Argente J, Chowen-Breed JA, Clifton DK, Steiner RA: Growth hormone-releasing hormone messenger ribonucleic acid in the hypothalamus of the adult male rat is increased by testosterone. *Endocrinology* 1990, 127, 1362-1368.