

도파민이 Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) 신경세포의 활성화에 미치는 영향에 관한 연구

전북대학교 치의학전문대학원 구강생리교실 및 구강생체과학연구소

한 성 규

Effects of Dopamine on the Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) Neurons

Han Seong Kyu

Department of Oral Physiology & Institute of Oral Bioscience, School of Dentistry, Chonbuk National University, Jeonju

ABSTRACT

Background: The gonadotropin releasing hormone (GnRH) neurons represent the final output cells of the neural network that controls fertility. Dopamine (DA) has been shown to control gonadotropin release in many species. However, the direct membrane effects of DA and the related receptors on GnRH neurons remain poorly understood. The purpose of this study was to investigate the direct actions of DA on GnRH neurons and the related receptors using brain slice electrophysiology.

Methods: Gramicidin-perforated patch clamp recordings were made from the GnRH neurons to examine the direct membrane effects of DA in GnRH-EGFP mut5 mice.

Results: DA induced hyperpolarization of the GnRH neurons, which was maintained in the presence of tetrodotoxin (TTX), a Na⁺ channel blocker, suggesting a direct, rather than indirect, action of DA on GnRH neurons. DA-induced hyperpolarizing effects were blocked by prazosin, an α₁-adrenergic antagonist, and mimicked by phenylephrine (PE), an α₁-adrenergic agonist.

Conclusions: These data indicate that DA exerts a direct inhibitory effect on GnRH neurons via the α₁-adrenergic receptors. These results support the general concept that dopaminergic afference represents a predominantly inhibitory component of the GnRH neuronal network (J Kor Soc Endocrinol 20:488~495, 2005).

Key Words: gonadotropin releasing hormone (GnRH) neuron, gramicidin perforated patch clamp, dopamine, brain slice, α₁-adrenergic receptor

서 론

성선자극호르몬유리호르몬(gonadotropin releasing hormone, GnRH) 신경세포는 번식기능을 담당하는 시상하부-뇌하수체-성선 축을 조절하는 핵심 중추로서 정중용기(median eminence)에 분지를 내서 GnRH를 분비한다. GnRH는 혈류를 따라 뇌하수체 전엽으로 이동되어 황체형성호르

몬(luteinizing hormone, LH), 난포자극호르몬(follicle stimulating hormone, FSH)과 같은 성선자극호르몬(gonadotropin) 분비를 조절한다[1].

도파민은 번식기능에 있어서 중요한 역할을 하는 신경전달물질로, 특히 성선자극호르몬의 변화를 조절함으로써 계절번식 동물에서의 번식 주기를 유지하는 데 결정적 역할을 한다. 먼양의 경우 도파민은 번식의 계절에서 D₂ 도파민 수용체를 매개로 LH의 분비를 억제하고, D₂ 도파민 수용체의 길항제를 투여시 수컷 및 암컷 모두에서 LH의 분비가 증가된다[2~6]. 또한 도파민은 D₁ 및 D₂ 도파민 수용체를 매개

접수일자: 2004년 8월 8일
통과일자: 2005년 9월 20일
책임저자: 한성규, 전북대학교치과대학 구강생리학교실

로 자발적인 LH 분비 및 GnRH에 의해 유발되는 LH 분비도 억제한다[7~10]. 도파민은 발정휴지기의 면양에서 LH 박동의 빈도수 억제에 관여하는데, 예를 들어 도파민 수용체 작용제인 apomorphine 투여시 LH 박동의 빈도수가 억제되고 도파민 수용체 길항제인 pimozone에 의해 빈도수 억제가 반전된다[11]. 반면에 도파민이 GnRH를 분비하는 무한증식세포인 GT1 세포에서 D₁ 도파민 수용체를 매개로 GnRH 분비를 증가시킨다는 보고도 있다[12]. 위에서 언급한 것처럼 도파민이 GnRH 신경세포의 활성을 직접적으로 증가 또는 억제하여 GnRH의 분비를 조절함으로써 번식기능에 직접적으로 관여할 수 있다고 추정되지만, 전기생리학적으로 도파민이 GnRH 신경세포의 활성화에 직접적으로 미치는 영향에 대한 보고는 미약하다. 따라서 본 연구에서는 gramicidin perforated patch clamp 방법을 이용하여 GnRH 신경세포만 특이적으로 녹색의 형광을 발하는 형질전환 마우스에서 도파민이 GnRH 신경세포의 활성화에 미치는 효과를 관찰하고, 그 효과가 GnRH 신경세포에 직접적으로 작용하는지의 여부와 관련된 수용체를 규명하였다.

대상 및 방법

1. 대상

실험동물로는 영국 Babraham 연구소 Herbison 실험실에서 GnRH 신경세포만 녹색의 형광을 발하도록 형질을 개량한 형질전환 마우스 (GnRH-EGFP-mut5)를 이용하였다[13]. 실험동물 사육실은 12시간 빛 12시간 어둠 상태를 유지하였고, 사료와 물은 무제한 공급하였다.

2. 뇌절편 제조

33~75일령 암컷 형질전환 마우스를 경추탈골로 희생시키고 절두후 신속하게 뇌를 적출하여 4°C의 인공뇌척수액 (artificial cerebrospinal fluid, cACSF)에 담가 차가워질 때까지 3~4분간 기다렸다. 인공뇌척수액(cACSF)은 NaCl 118, KCl 3, CaCl₂ 0.5, MgCl₂ 6, D-glucose 11, HEPES 10, NaHCO₃ 25 mM로 조성하였고, 95% O₂, 5% CO₂로 포화 시 pH는 7.4로 유지되었다. 적출된 뇌는 순간접착제 (cyanoacrylate)로 차가운 냉장 뇌절편제조기 (VT1000S, Leica, Nussloch, Germany)에 고정시키고 medial septum과 preoptic area를 포함하는 150~200 μm 두께의 뇌절편을 만들었다. 제조된 뇌절편은 NaCl 118, KCl 3, CaCl₂ 2.5, MgCl₂ 1.2, D-glucose 11, HEPES 10, NaHCO₃ 25 mM의 조성을 가진 30°C의 인공뇌척수액 (rACSF)에서 1시간 이상 배양시켜 뇌절편 제조에 의한 손상에서 충분히 회복되도록 하였다.

3. 전기생리학

1시간 이상 배양한 뇌절편을 기록용 챔버에 옮기고 rAC-

SF를 4~5 ml/min의 속도로 계속하여 관류시켰다. 뇌절편은 업라이트 형광 현미경 (Axioskop FS, Carl Zeiss, Germany)에서 10배, 40배의 대물렌즈 (Achromat 0.75W, Ph2, Carl Zeiss)와 fluorescein isothiocyanate filter block 15 (H546, Carl Zeiss) 또는 Normaski differential interference contrast (DIC) optics를 사용하여 관찰하였다. 저배율에서 뇌절편내 형광을 보이는 세포를 관찰하고, DIC optics로 전환하기 전 고배율에서 형광을 확인함으로써 GnRH 신경세포임을 재차 확인하였으며 모든 기록은 실온 (20~23°C)에서 수행되었다.

미세유리전극은 thin-wall borosilicate glass capillary tubing (GS150TF, 외경 1.5 mm, Harvard Apparatus Ltd, Edenbridge, UK)을 미세유리전극 제조기 (P-97, Sutter Instruments Co. Novato, CA)를 이용하여 만들었다. 유리전극 용액은 KCl 130, NaCl 5, CaCl₂ 0.4, MgCl₂ 1, HEPES 10, EGTA 1.1 mM로 조성하였고, KOH를 이용하여 pH를 7.3으로 보정한 후 0.22 μm filter를 통해 여과시켰다. Gramicidin (Sigma, St. Louis, MO)은 DMSO에 녹여 2.5 mg/mL 농도로 만들고 5분간 고주파음을 이용해 분쇄하고 유리전극 용액에 1,000배 희석 (최종 농도 2.5 μg/mL)한 후 15분간 고주파음을 이용해 분쇄하였다. 유리전극의 끝을 gramicidin이 없는 용액을 채우고, 이어서 gramicidin이 첨가된 유리전극 용액을 뒷부분에 채웠다. Gramicidin perforated patch clamp recording은 Axoclamp 2B amplifier (probe gain, x0.1 MU with HS-2 probe, Axon instruments, Foster City, CA)를 이용하여 bridge mode에서 수행하였고, 유리전극 용액을 채운 후 저항은 4~6 MΩ이었다. 유리전극과 bath 용액 사이의 junction potential은 gigaseal을 형성하기 전에 보정하였다. Gigaseal 형성 후 gramicidin에 의하여 pore가 형성되고 막전압이 -45 mV 이하로 떨어져 안정되었을 때 도파민을 비롯한 다른 약물들을 처치하였다[14]. GnRH 신경세포의 전기적 활성은 digidata 1200 interface (Axon Instruments)를 이용하여 컴퓨터의 하드디스크에 직접 저장하고 신호는 3 kHz로 여과하였으며, 후에 pClamp8 software (Axon Instruments)를 이용하여 분석하였다.

4. 통계

모든 실험결과는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며, n은 기록된 신경세포의 수를 나타낸다. 막전압 변화의 유의한 차이를 관찰하기 위해 Microcal Origin7.0 프로그램 (OriginLab, USA)으로 one-way ANOVA test를 실시하였으며 P < 0.05 일 때 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

Gramicidin perforated patch recording 방법으로 20마리

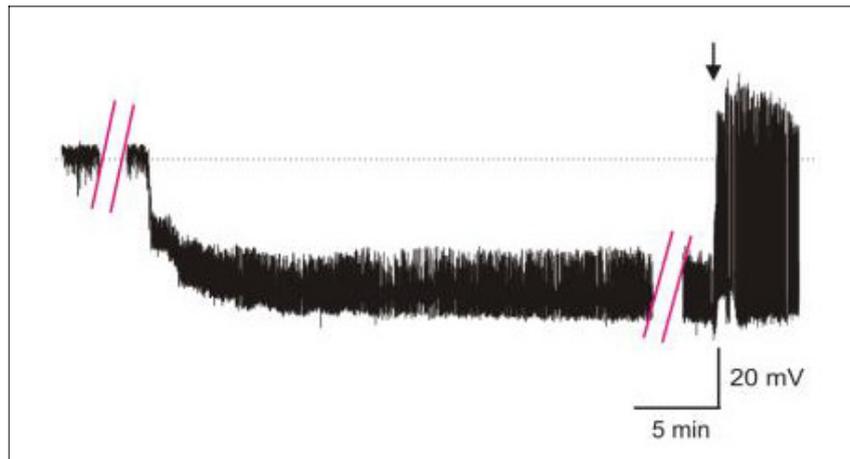


Fig. 1. This trace shows the process of making pores. Usually, 5 to 20 minutes after gigaseal formation, gramicidin starts to make pores. When gramicidin starts to make pores, resting membrane potential (RMP) is decreased by making pores. When the RMP was stable, DA and other chemicals tested were applied. In perforated mode, access resistance between the pipette and cell was approximately 40 to 100 M Ω . The arrow indicates the point when the perforated mode becomes whole cell mode, and then the access resistance is lowered below 10 M Ω and shows overshooting of action potentials.

의 형질전환 마우스에서 막전압의 변화를 기록하였다. 각 동물 당 한 개의 GnRH 신경세포만을 기록하였기 때문에 표본의 크기는 동물의 수와 일치한다. Perforated mode에서 GnRH-EGFP-mut5 마우스 GnRH 신경세포의 평균 안정막 전위는 -58.7 ± 1.29 mV (n=20)이었다.

Fig. 1은 gigaseal 이후에 gramicidin에 의하여 pore가 형성되는 과정을 보여주고 있다. Gigaseal 이후에 약 5~20분 정도 경과 후 pore가 형성되면서 막전압이 점차적으로 감소되었고, 막전압이 일정하게 유지되는 부분인 perforated mode에서의 access resistance는 40~100 M Ω 이었다. 일부 기록조건에서는 시간이 지남에 따라서 pore가 커지거나 유리전극 tip과 신경세포와의 연결부분이 약해져 유리전극과 연결된 부분이 파열됨으로서 whole cell mode로 바뀌게 되면 (Fig. 1 화살표) 활동전위가 갑자기 커져 overshooting이 일어나고 access resistance는 10 M Ω 이하로 감소되었다.

10~100 μ M 도파민은 기록한 모든 세포에서 적용 후 10 초 이내에 과분극을 유발하였고, 후에 완전히 회복되었다 (Fig. 2A). 10 μ M 도파민에 의해 5.17 ± 0.41 mV (n=10), 100 μ M 도파민에 의해 5.88 ± 0.86 mV (n=10)의 막전압 과분극이 유발되었으며, 10 μ M과 100 μ M에서 도파민에 의해 유발된 막전압 변화 사이에는 유의한 차이가 없었다. Na⁺ 통로 차단제인 tetrodotoxin (TTX, 0.5 μ M)에 의해 자발적인 활동전위가 억제되었으며, TTX 전처치시 도파민에 의한 GnRH 신경세포의 과분극이 유발되었다 (Fig. 2B, n=3). 10 μ M 도파민에 의해 유발되는 과분극 현상 (Fig. 3A)은 6개

중 5개의 신경세포에서 α_1 -아드레날린 수용체 길항제인 prazosin (10 μ M) 전처치에 의해 억제되었으며 (Fig. 3B), α_1 -아드레날린 수용체 작용제인 phenylephrine (PE, 10 μ M)에 의해 과분극이 유발되었다 (Fig. 3C, 5.80 ± 0.35 mV, n=3).

고 찰

성선자극호르몬유리호르몬 (GnRH)은 1971년에 처음 소개되었고, 모든 포유류의 시상하부에 주로 위치하는 GnRH 신경세포에서 합성 및 분비된다[15]. 정중용기에 분비된 GnRH는 혈류를 따라서 뇌하수체전엽으로 이동되어 성선자극호르몬분비세포 (gonadotropes)에 작용하여 LH 및 FSH의 분비를 촉진하고, 이들 성선자극호르몬은 성선으로부터 에스트로겐, 프로게스테론, 테스토스테론등과 같은 성호르몬 분비를 촉진하고, 이들 성호르몬은 뇌척수액에 의해 시상하부에 존재하는 GnRH 신경세포의 활성을 조절한다 [16]. 성선자극호르몬의 분비 양상은 박동성 패턴을 보이는데, 이러한 박동성 분비 패턴은 성선의 생리학적 조절에 필수적이다. 남성에 있어서 성선자극호르몬 분비패턴은 상대적으로 일정한 반면, 여성에 있어서는 생리주기에 따라 분비 패턴이 달라지는데, 특히 초기 follicular phase에서는 에스트로겐에 의한 음성되먹이기전에 의해 LH의 분비가 감소하고, 이후 증가된 에스트로겐에 의한 양성되먹이기전에 의하여 과도한 LH의 분비가 일어나 배란을 유발한다[16]. 이러한 박동성의 성선자극호르몬 분비는 GnRH의 박동성

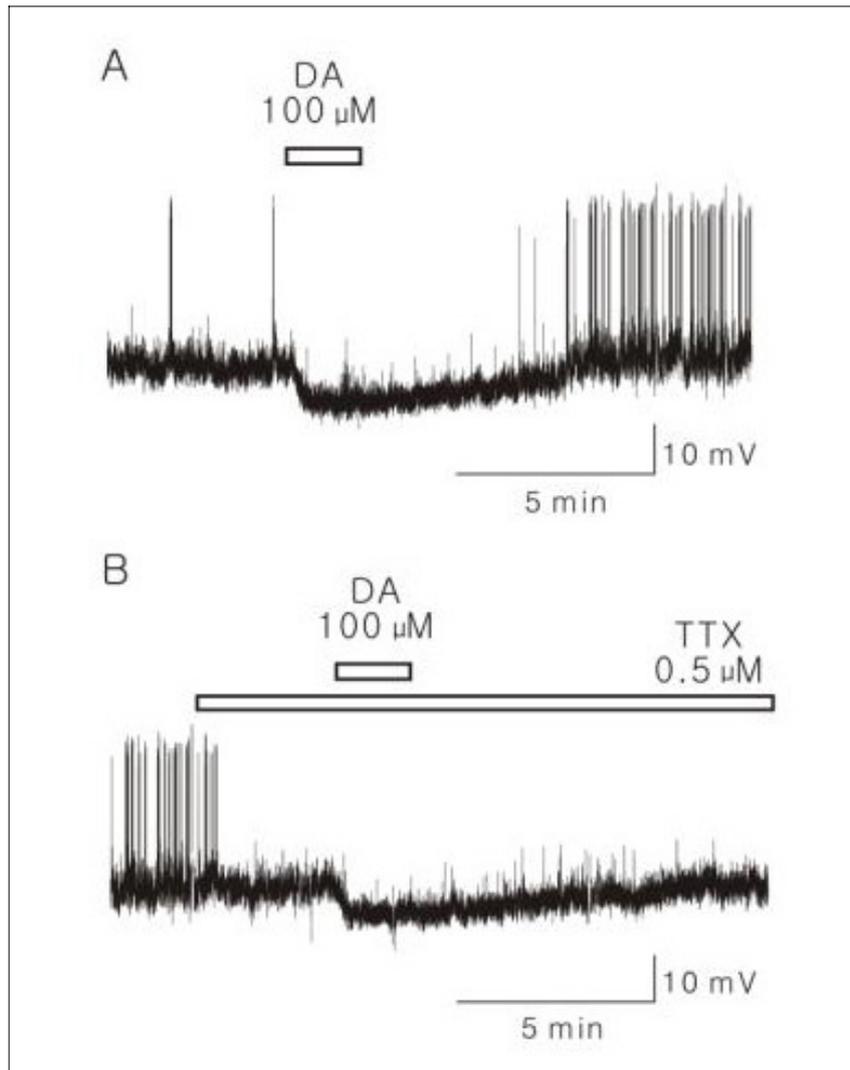


Fig. 2. Gramicidin perforated-patch recordings showing the hyperpolarizing responses of GnRH neurons to dopamine (DA). A, GnRH neurons showed a hyperpolarizing response to 1 min exposure to 100 μ M DA (74 day-old, RMP=-59 mV). B, DA-induced hyperpolarizing response was persisted in the presence of tetrodotoxin (TTX, 0.5 μ M, 74 day-old, RMP=-59 mV).

분비에 의해 이루어짐이 밝혀짐으로서 번식기능을 조절하는 가장 핵심적인 중추는 GnRH 신경세포임이 확인되었다 [17,18].

번식기능의 핵심 중추인 GnRH 신경세포는 뇌에서 생성되는 것이 아니라 코 부분의 olfactory placode에서 발생되어 임신 기간 중 뇌로 이주하여 시상하부에 정착하는데, 포유류의 경우 약 1,000~2,000개의 GnRH 신경세포가 특정 신경핵(nucleus)에 밀집되어 있지 않고 산발적으로 분포한다. 이러한 이유 때문에 뇌절편에서 GnRH 신경세포를 육안적으로 구분한다는 것은 사실상 불가능하여 GnRH 신경세포에 대한 전기생리학적 연구가 많은 제한을 받고 있다 [1]. 따라서 많은 연구자들이 GT1 세포주를 이용하여 Gn-

RH 신경세포의 활성화에 대한 연구를 수행하였다[19,20,21]. 본연구의 장점중의 하나는 GnRH 신경만이 녹색의 형광을 발하는 형질전환 마우스를 이용함으로써 GnRH 신경세포가 아닌 다른 신경세포를 선택하여 기록하는 오류를 최소화할 수 있었다는 것이다. 또한 도파민은 G-단백과 연계된 수용체로서 세포내 2차 전달계를 매개로 하여 특정 효과를 내기 때문에 일반적인 whole cell mode보다는 gramicidin등을 이용한 perforated patch clamp 방법이 아주 유용함을 알 수 있다[13]. Gramicidin은 1가 양이온만을 통과시키는 이온운반체로서, 세포내 Cl^- , Ca^{2+} 및 2차 전달자 시스템을 그대로 유지한 상태에서 whole cell mode에서 기록하는 방법과 같이 세포막 전체 이온 통로의 활성을 기록할 수 있는 장점이

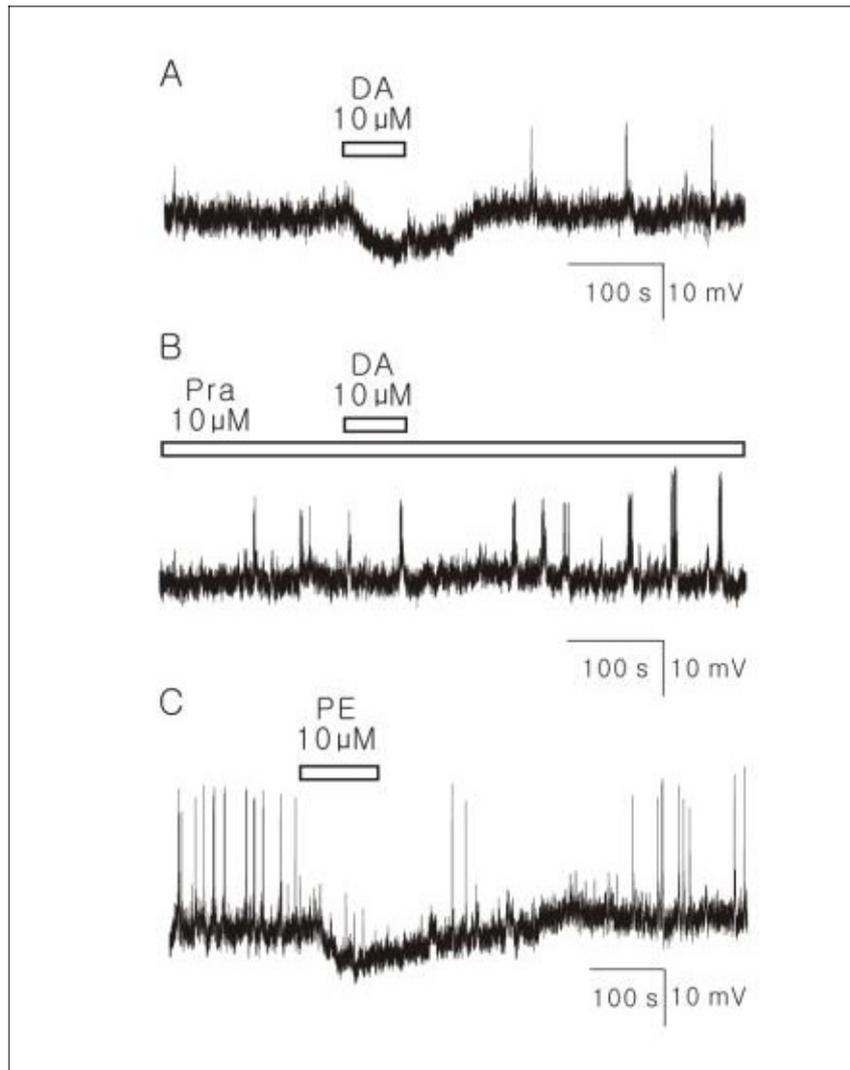


Fig. 3. Hyperpolarizing effect of dopamine (DA) on GnRH neurons was mediated by α_1 adrenergic receptor. A. DA (10 μ M) hyperpolarized a GnRH neuron (48 day-old, RMP = -60 mV). B. DA-induced hyperpolarizing response was blocked by prazosin (Pra, 10 μ M), an α_1 -adrenergic antagonist (70 day-old, RMP = -66 mV). C. DA-induced hyperpolarizing response was mimicked by phenylephrine (PE, 10 μ M), an α_1 -adrenergic agonist (48 day-old, RMP = -60 mV).

있다[22].

도파민은 주로 GnRH 분비를 억제함으로써 번식기능에 관여한다. GnRH의 분비를 억제함에 있어서 주로 정중용기의 GnRH 신경세포 말단에 작용하여 시냅스전 억제에 의해 일어난다고 알려져 있는데[23], Leranath 등[24]은 GnRH 신경세포 연접부에서 tyrosine hydroxylase 면역염색성을 보이는 varicosity를 관찰함으로써 도파민 시스템이 GnRH 신경세포에 직접적으로 분지를 낸다는 것을 보였다. 이는 도파민 시스템이 GnRH 신경세포의 활성을 직접적으로 조절할 수 있다는 가능성을 시사하였고, 본 실험을 통해서 도파민이 GnRH 신경세포를 과분극, 즉 억제성 작용을 나타냄

으로서 도파민이 기능적으로 GnRH 신경세포의 활성을 조절함을 확인하였다.

본 실험에서는 뇌절편을 이용하였기 때문에 뇌절편내에 국소적인 신경회로가 그대로 존재할 수 있다. 따라서 도파민을 적용하였을 때 유도되는 과분극 현상이 γ -aminobutyric acid (GABA)와 같은 억제성 신경전달물질을 매개로한 간접적인 반응인지 또는 GnRH 신경세포에 직접적으로 작용하는지는 알 수 없다. 도파민의 작용이 직접적인지 또는 개재성 신경을 매개로한 간접적인 작용인지를 알아보기 위해서 Na^+ 통로 차단제인 TTX가 흔히 이용된다. TTX가 신경 전도를 차단함으로써 기록하는 세포를 전기적으로 고

립시켜 시냅스전 신경세포에서의 glutamate나 GABA 분비 변화에 의해 나타나는 간접적인 작용을 배제할 수 있다. TTX 전처치에서도 도파민은 GnRH 신경세포의 과분극을 유발함을 확인함으로써 GnRH 신경세포에 직접적으로 작용함을 알 수 있다. 따라서 도파민이 GnRH 신경세포의 활성을 직접적으로 억제하고, 활동전위의 발생빈도를 줄여, 이로 인해 GnRH의 분비가 감소됨으로서 이후 뇌하수체 전엽으로부터 LH 및 FSH의 분비가 감소될 것으로 추측할 수 있으며, 도파민이 성선자극호르몬의 분비를 억제한다는 결과와 일치한다[2-6]. 도파민이 성선자극호르몬의 분비를 억제함으로써 번식기능의 저하를 가져온다는 여러 가지 생체내 결과가 발표되었으나 세포수준에서 도파민이 GnRH 신경세포에 대한 직접적인 작용기전은 밝혀져 있지 않았다. 따라서 본 연구에서 얻은 결과는 세포수준에서의 작용기전을 부분적으로 밝힌데 그 의미가 있다. 또한 번식기능은 스트레스나 분위기(mood)에 따라서 큰 영향을 받는다. 도파민의 경우 그러나 GT1 세포에서 도파민은 D₁ 도파민 수용체를 매개로 GnRH 분비를 증가시킨다[12]는 보고와 상반된 결과를 얻었는데, 이는 GT1 세포가 본 실험에서 기록한 GnRH 신경세포와는 같지 않다는 점을 고려해야 할 것이다.

초기 100 μM의 도파민을 적용하여 직접적인 반응을 살펴보고, 이후 농도의존적인 반응을 조사한 바 10 μM과 100 μM에서의 반응성의 차이가 관찰되지 않았기 때문에, 이후 길항제를 이용한 실험에서는 회복시간을 줄이기 위하여 10 μM의 도파민을 적용하였다. 본 실험결과 중 주목해야 할 점은 도파민이 도파민 수용체를 매개로 GnRH 신경세포의 과분극을 유발하는 것이 아니라 α₁-아드레날린 수용체를 매개로 한다는 것이다. 이는 도파민 시스템과 노르아드레날린 시스템이 상호 연관성이 있음을 시사한다. Cornil 등[25]은 메추라기 preoptic area 신경세포에서 도파민이 α₁ 및 α₂ 아드레날린 수용체를 매개로 억제성 효과를 보임을 관찰하였다. 또한 도파민이 노르아드레날린으로 전환될 수 있는 가능성을 배제하기 위하여 dopamine-β-hydroxylase 억제제를 전처치 했을 때도 유사한 반응 양상을 보임으로써, 노르아드레날린으로의 전환에 의해서 일어나는 반응이 아니라 도파민이 아드레날린 수용체에 직접적으로 작용한다는 것을 암시한다. 도파민과 아드레날린 수용체간의 교차대화 기전은 현재까지 잘 알려져 있지 않으나, 말초에서 도파민의 농도가 증가함에 따라 점차적으로 D₁, β₁ 그리고 α₁/α₂ 아드레날린 수용체를 활성화시킬 수 있다[25]. 이는 도파민과 노르아드레날린의 구조가 유사하기 때문에 농도가 높으면 도파민이 아드레날린 수용체에 결합할 수 있을 가능성을 시사한다[26]. 추가적으로 도파민 D₂/D₃ 수용체 작용제인 bromocriptine (n=2, 그림제시하지 않음)은 도파민 적용시와 같은 과분극을 유발하지 않았다. 이는 도파민에 의한 과분극 현상이 D₂/D₃ 수용체를 매개로 하지 않는다는 것을 보여주고

있으나 기록된 세포수가 적고, 다른 도파민 수용체 작용제 및 길항제의 작용을 관찰하지 못하였기 때문에 도파민 수용체를 매개로한 직접적인 작용을 밝히기 위해서는 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

결론적으로 본 연구 결과는 GnRH 신경세포로 가는 도파민성 구심신경섬유가 GnRH 신경세포망에 관여하며, 도파민이 α₁-아드레날린 수용체를 매개로 GnRH 신경세포의 활성을 직접적으로 억제하여 번식기능에 관여할 수 있는 가능성을 시사하고 있다.

요 약

연구배경: Gonadotropin releasing hormone (GnRH) 신경세포는 번식기능을 담당하는 HPG (hypothalamo-pituitary-gonadal) 축을 조절하는 핵심 중추이다. 도파민은 성선자극호르몬의 변화를 조절함으로써 계절 번식동물에서의 번식 주기 결정 등과 같이 번식기능에 중요한 역할을 한다. 여러 가지 생체내 결과들에 의하면 도파민이 GnRH 신경세포의 활성을 직접적으로 억제할 가능성을 제시하지만 전기생리학적으로 실증된 결과는 미약하다. 본 연구는 도파민이 GnRH 신경세포의 활성화에 미치는 직접적인 작용과 관련된 수용체를 뇌절편을 이용한 전기생리학적 방법으로 규명하고자 하였다.

방법: GnRH-EFGF 형질전환 마우스에서 gramicidin-perforated patch clamp 방법으로 DA이 GnRH neuron의 활성화에 미치는 직접적인 작용 및 관련된 수용체를 조사하였다.

결과: Perforated mode에서 GnRH-EGFP-mut5 마우스 GnRH 신경세포에서 10~100 μM 도파민은 과분극을 유발하였다. Na⁺ 통로 차단제인 tetrodotoxin (TTX, 0.5 μM) 전처치에 의하여 자발적인 활동전위가 억제되었으며, TTX 전처치하에서도 도파민은 GnRH 신경세포의 과분극을 유발하였다. 도파민에 의한 과분극 현상은 α₁-아드레날린 수용체 길항제인 prazosin 10 μM 전처치에 의해 억제되었으며, α₁-아드레날린 수용체 작용제인 phenylephrine (PE, 10 μM)에 의해 도파민에 의한 과분극과 유사한 반응을 보였다.

결론: 도파민은 GnRH 신경세포의 활성을 직접적으로 억제하며 이는 α₁-아드레날린 수용체를 매개로 이루어진다. 도파민이 GnRH 신경세포의 흥분성을 억제한다는 사실은 GnRH 신경세포로 가는 도파민성 구심신경섬유가 GnRH 신경세포망에서 주로 억제성 요소로 작용한다는 일반적인 개념을 뒷받침해준다.

감사의 글

본 연구를 수행하는데 많은 도움을 준 뉴질랜드 오타

고 의과대학 Allan E. Herbison 교수와 본 논문 작성 및 교정에 많은 도움을 준 전북대학교 치과대학 구강생리학교실 박수정 교수님께 감사드립니다. 본 연구는 2004년도 전북대학교 지원 연구비에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

1. Herbison AE: GnRH neuron. In: *Encyclopedia of hormones. Vol 2* (Henry H, Norman A, eds), pp 171-177, San Diego, Academic Press, 2003
2. Clarke IJ, Cummins JT: The temporal relationship between gonadotropin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology* 111:1737-1739, 1982
3. Deaver DR, Dailey RA: Effects of dopamine and serotonin on concentrations of luteinizing hormone and estradiol-17 β in plasma of cycling ewes. *Biol Reprod* 28:870-877, 1983
4. Meyer SL, Goodman RL: Neurotransmitters involved in mediating the steroid-dependent suppression of pulsatile luteinizing hormone secretion in anestrus ewes: effects of receptor antagonists. *Endocrinology* 116:2054-2061, 1985
5. Curlewis JD, Naylor AM, McNeilly AS: Evaluation of a possible role for the dopamine D₁ and D₂ receptors in the steroid-dependent suppression of luteinizing hormone secretion in the seasonally anoestrous ewe. *J Neuroendocrinol* 3:387-391, 1991
6. Tortorese DJ, Lincoln GA: Photoperiodic modulation of the dopaminergic control of pulsatile LH secretion in sheep. *J Endocrinol* 143:25-32, 1994
7. Chang JP, Peter RE: Effects of dopamine on gonadotropin release in female goldfish, *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology* 36:351-357, 1983
8. Chang JP, Peter RE, Nahorniak CS, Sokolowska M: Effects of catecholaminergic agonists and antagonists on serum gonadotropin concentration and ovulation in goldfish: evidence for specificity of dopamine inhibition of gonadotropin secretion. *Gen Comp Endocrinol* 55:351-360, 1984
9. Omeljaniuk RJ, Shih SH, Peter RE: In-vivo evaluation of dopamine receptor-mediated inhibition of gonadotropin secretion from the pituitary gland of the goldfish, *Carrassius auratus*. *J Endocrinol* 114:449-458, 1987
10. Yu KL, Peter RE: Adrenergic and dopaminergic regulation of gonadotropin releasing hormone release from goldfish preoptic anterior hypothalamus and pituitary in vitro. *Gen Comp Endocrinol* 85:138-146, 1992
11. Goodman RL: Functional organization of the catecholaminergic neural systems inhibiting luteinizing hormone secretion in anestrus ewes. *Neuroendocrinology* 50:406-412, 1989
12. Weiner RI, Martinez de la Escalera G: Pulsatile release of gonadotropin releasing hormone (GnRH) is an intrinsic property of GT1 GnRH neuronal cell lines. *Hum Reprod suppl* 2:13-17, 1993
13. Han SK, Todman MG, Herbison AE: Endogenous GABA release inhibits the firing of adult gonadotropin releasing hormone neurons. *Endocrinology* 145:495-499, 2004
14. Ebihara S, Shirato K, Harata N, Akaike N: Gramicidin-perforated patch recording: GABA response in mammalian neurons with intact intracellular chloride. *J Physiol* 484:77-86, 1995
15. Silverman AJ, Witkin JW: Biocytin synthesis of gonadotropin-releasing hormone during the rat estrous cycle: a cellular analysis. *Neuroendocrinology* 59:545-551, 1994
16. Herbison AE: Noradrenergic regulation of cyclic GnRH secretion. *Rev Reprod* 2:1-6, 1997
17. Xia L, Van Vugt D, Alston EJ, Luckhaus J, Ferin M: A surge of gonadotropin-releasing hormone accompanies the estradiol-induced gonadotropin surge in the rhesus monkey. *Endocrinology* 131:2812-2820, 1992
18. Karsch FJ, Bowen JM, Caraty A, Evans NP, Moenter SM: Gonadotropin-releasing hormone requirements for ovulation. *Biol Reprod* 56:303-309, 1997
19. Watanabe M, Sakuma Y, Kato M: High expression of the R-type voltage gated Ca²⁺ channel and its involvement in Ca²⁺ dependent gonadotropin releasing hormone release in GT1-7 cells. *Endocrinology* 145:2375-2383, 2004
20. Costantin JL, Charles AC: Modulation of Ca²⁺ signaling by K⁺ channels in a hypothalamic neuronal cell line (GT1-1). *J Neurophysiol* 85:295-304, 2001
21. Wetsel WC, Eraly SA, Whyte DB, Mellon PL: Regulation of gonadotropin releasing hormone by protein kinase A and C in immortalized hypothalamic neurons. *Endocrinology* 132:2360-2370, 1993
22. Rhee JS, Ebihara S, Akaike N: Gramicidin perforated patch-clamp technique reveals glycine-gated outward

- chloride current in dissociated nucleus solitari neurons of the rat. J Neurophysiol 72:1103-1108, 1994*
23. Contijoch AM, Gonzalez C, Singh HN, Malamed S, Troncoso S, Advis JP: *Dopaminergic regulation of luteinizing hormone-releasing hormone release at the median eminence level: immunocytochemical and physiological evidence in hens, Neuroendocrinology 55: 290-300, 1992*
24. Leranath C, MacLusky NJ, Shanabrough M, Naftolin F: *Catecholaminergic innervation of luteinizing hormone-releasing hormone and lutamic acid decarboxylase immunopositive neurons in the rat medial preoptic area An electron-microscopic double immunostaining and degeneration study. Neuroendocrinology 48: 591-602, 1984*
25. Cornil CA, Balthazart J, Motte P, Massotte L, Seutin V: *Dopamine activates noradrenergic receptors in the preoptic area. J Neurosci 22:9320-9330, 2002*
26. Ooi H, Colucci WS: *Pharmacological treatment of heart failure. In: The pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, eds. p901, New York: McGraw-Hill, 2001*