

미성숙 쥐 자궁에서 Tamoxifen의 Antiestrogen 효과에 관한 연구 : III. DNA 함량, 단백질 함량 및 자궁의 중량에 관하여

이효종 · 조충호* · 박무현

경상대학교 농과대학 수의학과 · 서울대학교 수의과대학*

(1986. 12. 4 接受)

Study on Antiestrogenic Effects of Tamoxifen in Immature Rat Uterus: III. Effects on Content of DNA and Protein and Uterine Wet Weight

Hyo-jong Lee, Choong-ho Jo* and Moo-hyun Park

Department of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University

College of Veterinary Medicine, Seoul National University*

(Received December 4th, 1986)

Abstract: The present study has been carried out to elucidate the antiestrogenic effects of tamoxifen in immature rat uterus. The content of DNA and protein and uterine wet weight were measured after the injections of 5 μ g of estradiol-17 β , 50 μ g of tamoxifen, a combination of both, or vehicle only subcutaneously.

The results obtained were summarized as follows:

1. DNA content in uterus was increased at 48 hours after estradiol-17 β or tamoxifen injection ($p < 0.01$).
2. The increment rate of uterine DNA content was significantly ($p < 0.01$) lower in tamoxifen treated group than that in estradiol-17 β treated group.
3. Antiestrogenic effect of tamoxifen on protein content in uterus was apparent at 72 hours after simultaneous administration of both drugs.
4. The uterine wet weight was started to increase at three hours after the injection of estradiol-17 β or tamoxifen.
5. While estradiol-17 β increased steadily uterine wet weight up to 138.5mg at 72 hours after the injection, but tamoxifen failed to increase it after 48 hours. Tamoxifen inhibited significantly ($p < 0.01$) the effect of estradiol-17 β on it thereafter.

서 론

Tamoxifen(trans-1-(P-B-dimethylamino-ethoxyphenyl)-1,2-diphenyl but-1-ene)은 triphenylethylene계의 non-steroid성 물질로서 쥐에 투여하였을 경우 착상의 실패, 질 상피세포의 각질화 방지, 자궁중량의 증가 억제 등 강한 항estrogen 작용이 있음이 1966년 Harper 와 Walpole에 의하여 최초로 밝혀진 이래 유암의 치료

목적으로 널리 사용되고 있다(Patterson 등, 1980; Pritchard 등, 1980; Kiang과 Kennedy, 1977). Tamoxifen의 항estrogen 효과는 동물 종류에 따라 차이가 있으나(Davies 등, 1979; Sutherland 등, 1977; Terenius, 1971), 그 작용 기전은 estrogen의 표적 기관에서 세포질에 분포하는 estrogen 수용체와 estrogen과는 경쟁적으로 tamoxifen이 대신 결합하여 tamoxifen-estrogen 수용체 결합체를 이루어 핵안으로 이행하고 또한 이

결합체가 핵내에서 오랜동안 정체함으로써 수용체의 replenishment를 억제하여 estrogen에 대하여 길항작용을 나타내는 것으로 믿어져 오고 있으며(Sudo 등, 1983; Jordan과 Bowser-Finn, 1982; Katzenellenbogen 등, 1978), 저자들은 tamoxifen이 미성숙 쥐 자궁에서 estradiol 수용체의 세포질내 및 핵내 농도 변화에 관하여 그리고 RNA 및 단백질 합성 능력에 어떻게 작용하는가를 조사 보고한 바가 있다(이효종 등, 1986; 이효종 등, 1985).

본 실험은 이러한 연구의 일환으로서 미성숙 쥐 자궁에서의 DNA 함량, 단백질 함량 및 자궁 증량에 있어서 tamoxifen이 estrogen에 대하여 어떻게 길항작용을 하는지를 조사하여 봄으로써 tamoxifen의 항estrogen 작용 기전을 추적코져 하였다.

재료 및 방법

공시동물 : 본 실험에서는 21~25일령의 45~50g인 Sprague-Dawley계의 미성숙 암 쥐를 사용하였다. 실험동물은 20~25°C의 실온에서 1일 12시간씩(09:00~21:00) 광선을 허용하였으며 물(수도물)과 사료(삼양사 펠렛사료)는 자유로이 급식시키면서 사육하였다.

실험군의 배치 및 약물투여 : 본 실험에서 실험군의 배치 및 약물투여 방법은 다음과 같다. 각 실험군에는 미성숙 암 쥐 42마리씩을 완전 임의 배치하였다.

Estradiol-17 β (E2) 투여군 : estradiol-17 β 5 μ g을 polyethylene glycol, 증류수 및 ethanol이 4.5 : 4.5 : 1의 비율(v/v)로 혼합된 부형제에 녹여 암쥐의 경부피하에 24시간 간격으로 3일간 계속 주사하였다.

Tamoxifen(TAM) 투여군 : tamoxifen 50 μ g을 위와 같이 혼합된 부형제에 녹여 암쥐의 경부피하에 24시간 간격으로 3일간 계속 주사하였다.

Estradiol-17 β 와 tamoxifen(E2+TAM) 동시 투여군 : 위와 같은 부형제에 녹인 estradiol-17 β 5 μ g과 tamoxifen 50 μ g을 암쥐의 경부피하에 24시간 간격으로 3일간 계속 주사하였다.

대조군 : 부형제만 0.2ml씩 암쥐의 경부피하에 24시간 간격으로 3일간 계속 주사하였다.

자궁의 적출 및 중량 측정 : 주사 전 및 최초 주사시로부터 1, 3, 6, 12, 24, 48 및 72시간마다 각 실험군에서 6마리씩을 잠수 방혈하고 3분 이내에 개복하고 자궁을 적출하여 주위 지방조직과 인대를 분리하였다. 적출한 자궁은 즉시 top-loading balance(PC-440, Mett-

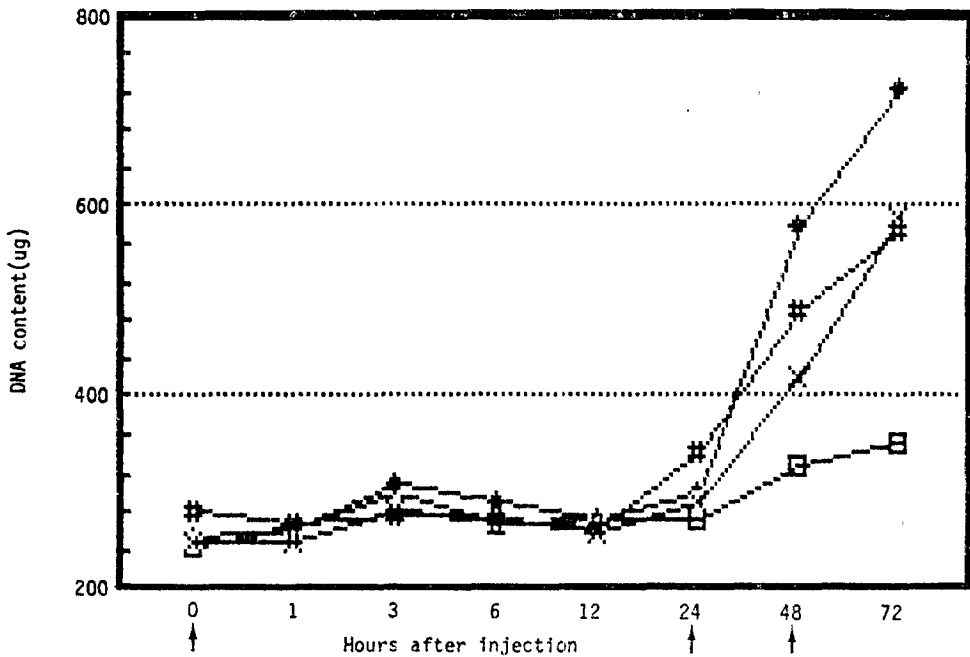


Fig. 1. Antiestrogenic effect of tamoxifen on DNA content in immature rat uteri

□ : control + : estradiol-17 β × : tamoxifen
: estradiol-17 β +tamoxifen ↑ : injection

er, Switzerland)로 중량을 측정하였다.

DNA 정량 : DNA 정량은 salmon testis DNA를 표준액으로 하여 Burton법(1956)에 따라 정량하였다.

단백질 정량 : 단백질 정량은 bovine serum albumin (fraction V)을 표준으로 하여 Lowry등의 방법(1951)으로 정량하였다.

결 과

DNA 함량의 변화 : 미성숙 쥐 자궁에서의 DNA 함량의 변화에 대한 tamoxifen의 antiestrogen 효과를 측정된 결과는 Fig. 1에 나타난 바와 같다. 즉, E2 투여군에서 DNA 함량은 주사 후 24시간까지는 유의적인 변화를 나타내지 아니 하였으나 48시간 후에는 그 함량이 $579.74 \pm 55.22 \mu\text{g}$ 으로서 대조군($326.36 \pm 32.13 \mu\text{g}$) 및 주사 전($252.91 \pm 7.71 \mu\text{g}$)에 비하여 유의적으로 증가하였다($p < 0.01$). 72시간 후에는 그 함량이 $724.96 \pm 24.54 \mu\text{g}$ 으로서 다른 군에서보다 현저히 증가하였다($p < 0.01$).

TAM 투여군에서 DNA 함량은 주사 후 24시간까지 대조군에 비하여 유의적인 변화를 나타내지 아니하였으나, 48시간 후에는 그 함량이 $421.04 \pm 39.8 \mu\text{g}$ 으로서 주사 전($251.11 \pm 13.40 \mu\text{g}$)에 비하여 증가하는 현상이 뚜렷하였고($p < 0.01$), 72시간 후에는 대조군에 비하여 그 함량이 현저히 증가하였으나 E2 투여군에 비하여는

유의적으로 낮았다($p < 0.01$). E2+TAM 투여군에서 DNA 함량은 다른 처리군에서와 같이 주사 후 24시간까지는 대조군 및 주사 전의 그 함량에 비하여 유의적인 변화를 나타내지 아니하였다. 주사 48시간 후에는 그 함량이 $492.58 \pm 40.49 \mu\text{g}$ 으로서 대조군($326.36 \pm 32.13 \mu\text{g}$) 및 주사 전($280.54 \pm 15.21 \mu\text{g}$)에 비하여 현저히 증가하였다($p < 0.01$). 그러나 E2 투여군 및 TAM 투여군에 비하여는 유의적인 차이가 없었다. 주사 72시간 후에는 그 함량이 $574.64 \pm 38.74 \mu\text{g}$ 으로 더욱 증가하였으나 E2 투여군에 비하면 유의적으로 낮았고($p < 0.01$), TAM 투여군에 비하면 동일한 수준이었다.

단백질 함량의 변화 : 미성숙 쥐 자궁에서의 단백질 함량에 대한 tamoxifen의 antiestrogen 효과를 측정된 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같다. 즉, E2 투여군에서 단백질 함량은 주사 후 6시간까지는 주사 전에 비하여 유의적인 변화를 나타내지 아니 하다가 12시간 후에는 그 함량이 $5.00 \pm 0.23 \text{mg}$ 으로서 대조군($3.58 \pm 0.11 \text{mg}$) 및 주사 전($3.17 \pm 0.14 \text{mg}$)에 비하여 유의적으로($p < 0.05$) 증가하기 시작하였다. TAM 투여군에서 단백질 함량은 주사 후 12시간까지는 대조군 및 주사 전에 비하여 유의적인 변화를 나타내지 아니하였고 주사 24시간 후에는 그 함량이 $6.63 \pm 8.30 \text{mg}$ 으로서 대조군($3.42 \pm 0.06 \text{mg}$) 및 주사 전($3.29 \pm 0.19 \text{mg}$)에 비하여 현저히($p < 0.01$) 증가하였다. 그 이후 단백질 함

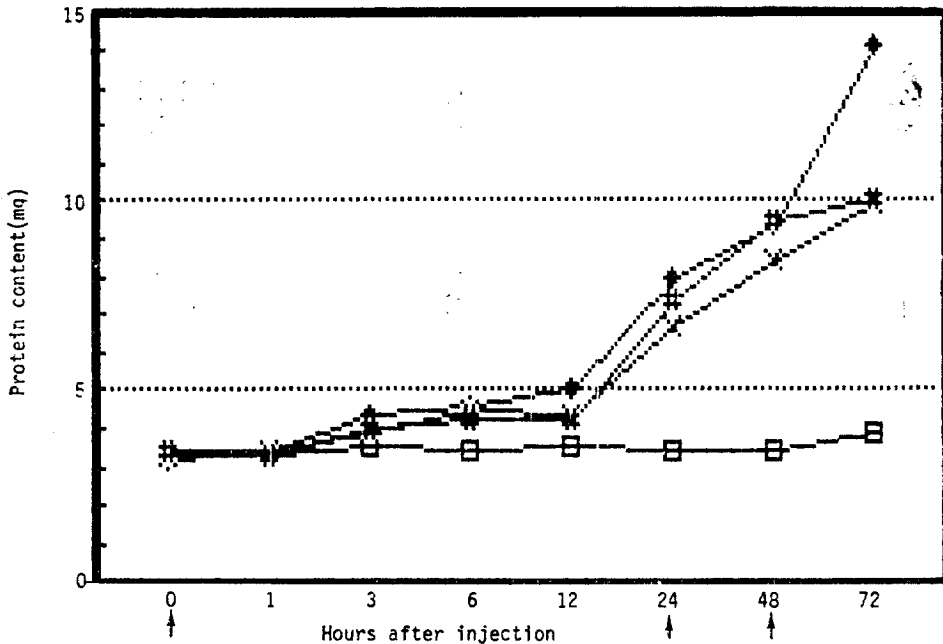


Fig. 2. Antiestrogenic effect of tamoxifen on protein content in immature rat uteri

□ : control + : estradiol-17β × : tamoxifen
 # : estradiol-17β+tamoxifen ↑ : injection

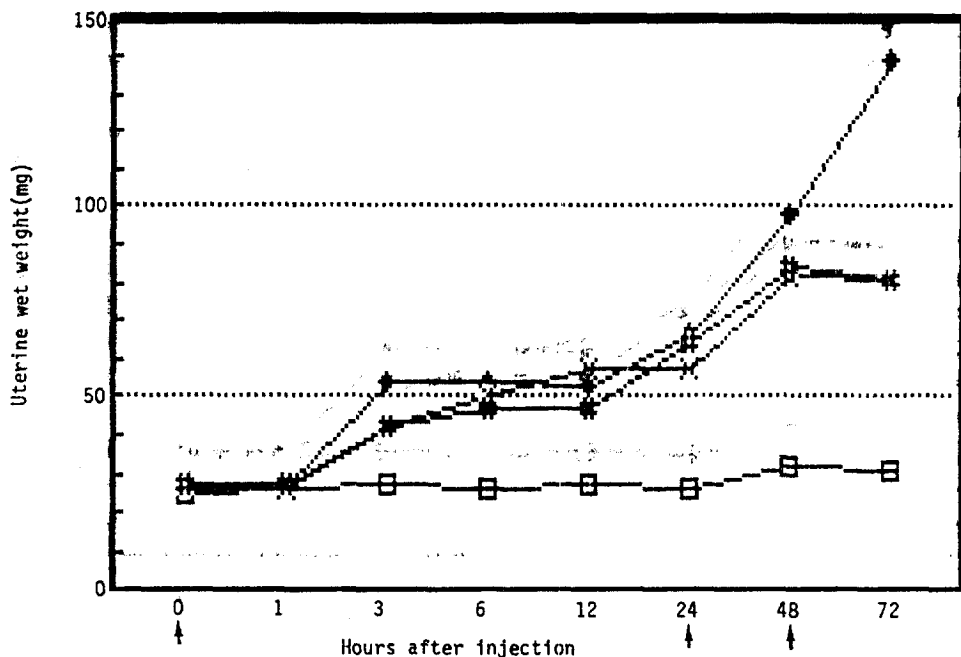


Fig. 3. Antiestrogenic effect of tamoxifen on uterine wet weight in immature rat uteri

□ : control + : estradiol-17β × : tamoxifen
 # : estradiol-17β+tamoxifen † : injection

량은 대조군에 비하여 고도의 유의성 ($p < 0.01$)을 나타내면서 계속 증가하였으나 E2 투여군보다는 낮은 수준이었다. E2+TAM 투여군에서 단백질 함량은 주사 후 24시간부터 증가하는 현상이 뚜렷하였다 ($p < 0.01$). 그 이후 단백질 함량은 계속 증가하였으나 그 증가폭이 둔화되어 72시간 후에는 E2 투여군에 비하여 유의적으로 ($p < 0.01$) 저하되어 TAM 투여군과 같은 수준이었다.

자궁 중량의 변화 : estradiol-17β와 tamoxifen을 각각 혹은 동시에 쥐의 경부 피하에 주사하고, 주사전 그리고 첫 주사 후 1, 3, 6, 12, 24, 48 및 72시간만에 자궁을 적출하여 그 중량을 측정할 결과는 Fig. 3에 나타난 바와 같다. 즉, E2 투여군에서 자궁의 중량은 주사 3시간 후 $53.58 \pm 2.45\text{mg}$ 으로서 주사 전의 그것 ($25.92 \pm 1.57\text{mg}$)에 비하여 유의적으로 ($p < 0.01$) 증가하였다. 그 이후 대조군의 그것과는 유의적인 차이를 나타내면서 계속 증가하였다. 그러나 TAM 투여군 및 E2+TAM 투여군과 비교하여 볼 때에 주사 후 24시간까지는 이들 군 간에 유의적인 차이가 인정되지 아니하였으나 48시간 이후부터는 E2 투여군에서 그 중량이 현저히 ($p < 0.01$) 증가하였다. TAM 투여군에서 자궁의 중량은 주사 3시간 이후부터 대조군의 그것에 비하

여 유의적으로 ($p < 0.01$) 증가하기 시작하였다. 그 이후 계속 증가하는 경향을 나타내었으나 주사 48시간 이후부터는 그 증가폭이 둔화되어 E2 투여군과 유의적인 ($p < 0.01$) 차이를 나타내었다. E2+TAM 투여군에서 자궁의 중량은 E2 투여군 및 TAM 투여군에서의 변화와 마찬가지로 주사 3시간 이후부터 대조군에 비하여 유의적으로 ($p < 0.01$) 증가하기 시작하였고, 주사 48시간 이후부터는 TAM 투여군에서의 증가 변화과정과 같은 경향을 나타내었다.

자궁의 중량과 DNA 함량과의 상관관계 : 각 실험군에서 주사 후 24시간에서 72시간까지 자궁 중량의 증가와 DNA 함량의 증가와는 긴밀한 양의 상관관계에 있었다. 상관관계가 가장 긴밀하였던 순서대로 실험군을 나열하면 E2 투여군 ($r = 0.833$, $p < 0.01$), TAM 투여군 ($r = 0.724$, $p < 0.01$), E2+TAM 투여군 ($r = 0.605$, $p < 0.05$) 및 대조군 ($r = 0.531$, $p < 0.05$)의 순이었다 (Fig. 4).

자궁의 중량과 단백질 함량과의 상관관계 : 각 실험군에서 주사 후 6시간에서 72시간까지 자궁 중량의 증가와 단백질 함량의 증가와는 긴밀한 양의 상관관계에 있었다. 상관관계가 가장 긴밀하였던 순서대로 실험군을 나열하면 E2 투여군 ($r = 0.926$, $p < 0.001$), E2+

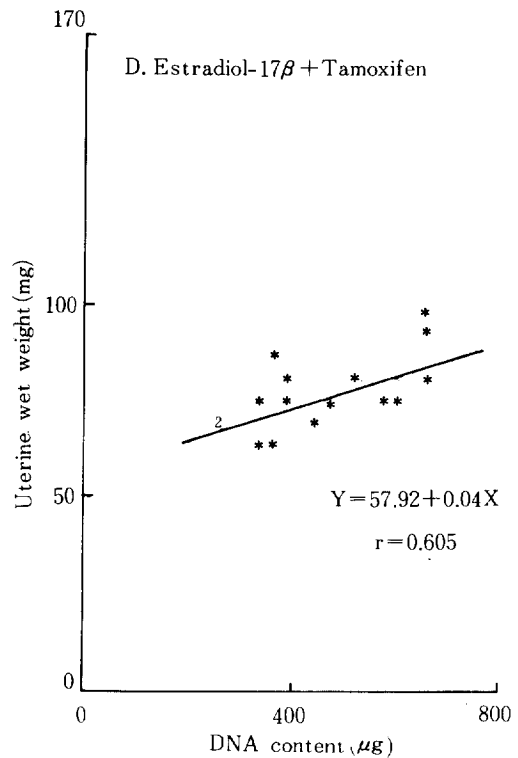
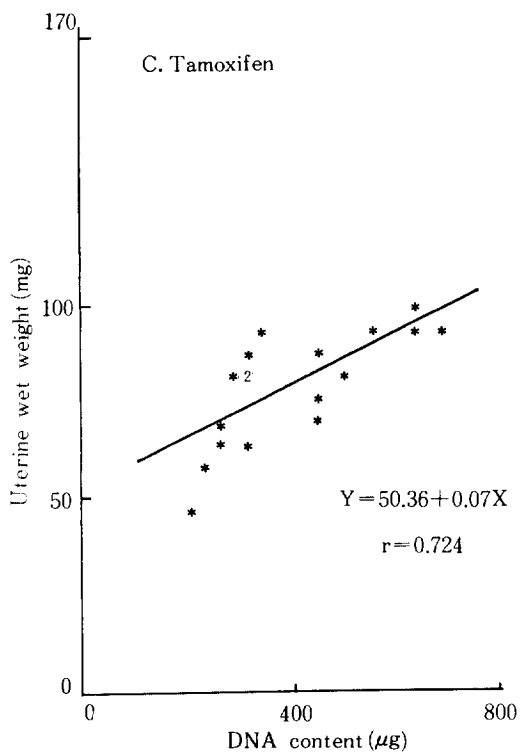
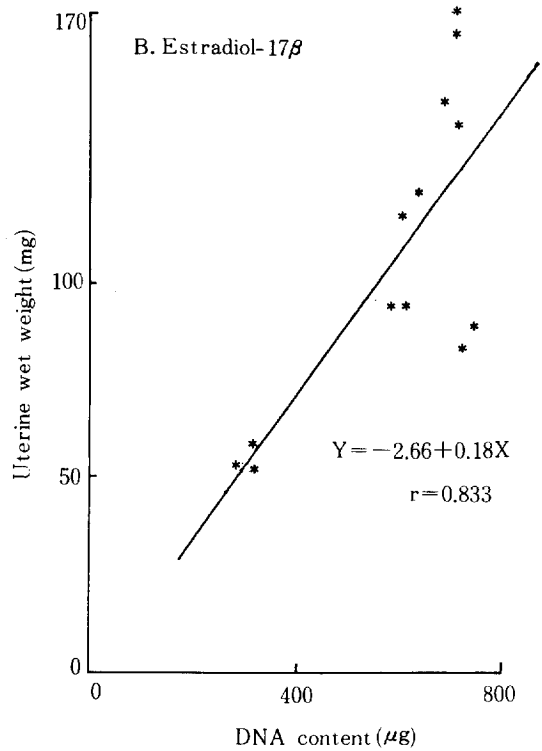
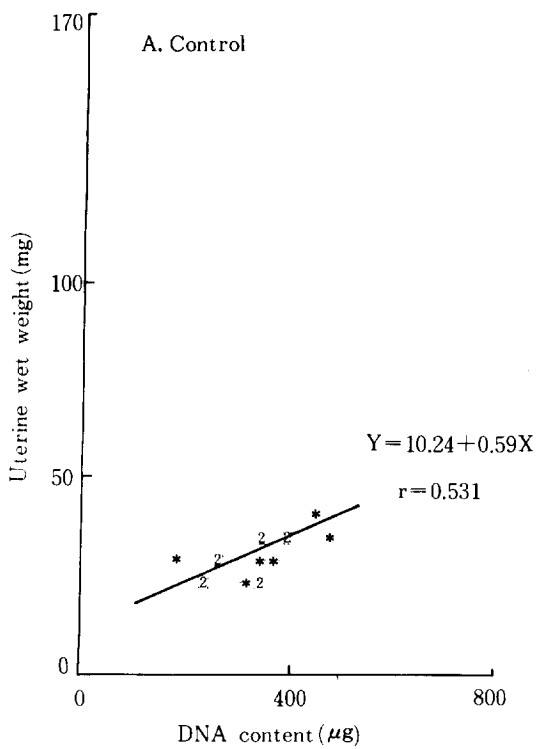


Fig. 4. Correlation between DNA content and uterine wet weight in immature rat uterus from 24 to 72 hours after injection.

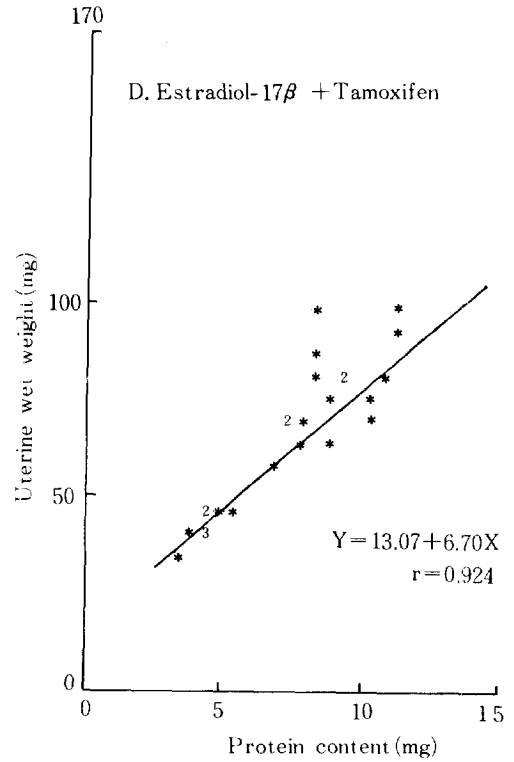
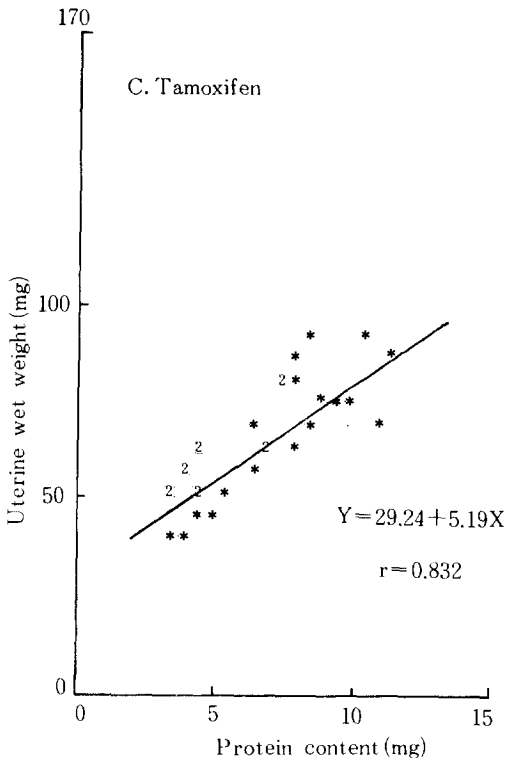
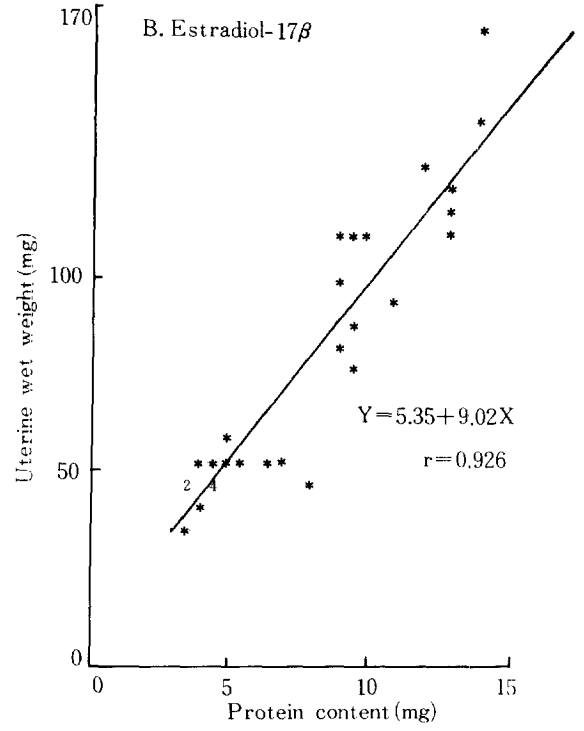
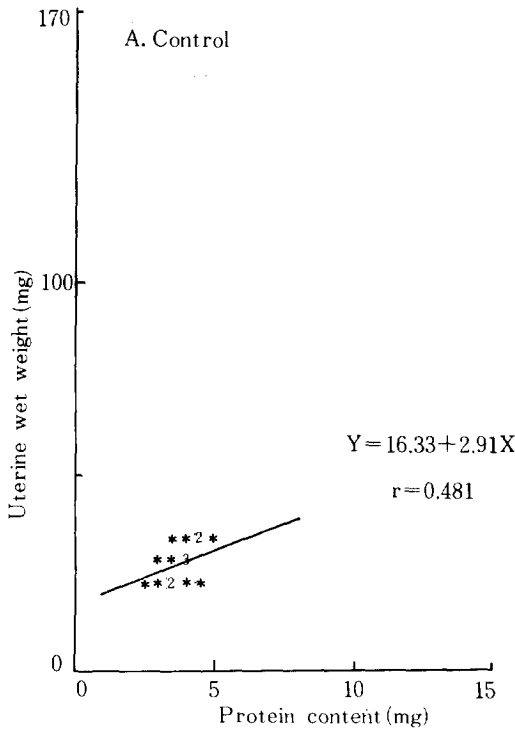


Fig. 5. Correlation between protein content and uterine wet weight in immature rat uterus from 6 to 72 hours after injection.

TAM 투여군($r=0.924$, $p<0.001$), TAM 투여군($r=0.832$, $p<0.001$) 및 대조군($r=0.481$, $p<0.01$)의 순이었다(Fig. 5).

고 찰

미성숙 쥐의 자궁에서 DNA 합성에 대한 tamoxifen의 antiestrogen 효과를 측정하기 위하여 DNA 함량을 조사하였던 바, estradiol-17 β 와 tamoxifen을 각각 혹은 동시에 투여한 후 24시간까지는 DNA 함량의 증가 현상이 관찰되지 않았다. estradiol-17 β 를 주사하고 48시간 후에는 DNA 함량이 $597.9 \pm 6.6 \mu\text{g}$ 으로서 주사 전($252.9 \pm 7.7 \mu\text{g}$)에 비하여 236.4% 증가하였고, 72시간 후에는 DNA 함량이 $725.0 \pm 24.5 \mu\text{g}$ 으로서 주사 전에 비하여 286.7% 증가하는 변화를 보였다(Fig. 1 참조). 이러한 변화는 여러 학자들의 보고 내용과 같은 경향을 보였는데, Kaye 등(1972)은 미성숙 쥐 자궁에서 estradiol 5ng을 투여하였을 때 DNA 합성이 현저하게 증가하였으며, 24시간 후에 그 합성 능력이 최고조에 도달하였다고 한다.

Kirkland 등(1984), Quarmby와 Korach(1984) 및 Mukku 등(1981)은 estradiol을 쥐 또는 생쥐에 투여하고 24시간 후 자궁의 luminal epithelium, stroma 및 myometrium에서 세포분열이 왕성하게 일어남을 관찰하였다. 본 실험에서는 각 군에서 주사 24시간 후에 약간의 DNA 함량 증가 현상이 있었으나, 대조군에 비하여 유의성이 인정되지 않았고, 48시간 이후부터는 급격한 증가 현상이 나타났다. DNA 합성 능력에 대한 위의 보고 결과와 본 실험 결과의 시간적 차이는 자궁에서 DNA 합성 능력이 증가한 다음 DNA 함량이 증가할 것이므로, 본 실험에서는 그 효과가 늦게 나타난 것으로 추리된다.

TAM 투여군에서도 48시간 후 DNA 함량의 현저한 증가가 일어났고. 그러나 그 함량은 $421.0 \pm 39.8 \mu\text{g}$ 으로서 E2 투여군에 비하여 72.6%에 해당하는 낮은 양이었다($p<0.01$). 이러한 결과는 Jordan 등(1978)이 난소절제된 생쥐에 tamoxifen 50 μg 을 주사하고 72시간 후에 자궁에서의 DNA 함량을 측정된 결과(74.7% 증가)와 일치하는 경향이었고, Clark 등(1978)의 실험결과에서 나타난 60%에 비하면 높은 비율인데, 이들은 미성숙 쥐에 tamoxifen 25 μg 을 1회 주사하였는데 대하여 본 실험에서는 50 μg 을 2회 주사하였기 때문에 높은 증가율을 나타낸 것으로 여겨진다.

Tamoxifen을 투여하면 쥐 자궁에서 ^3H -thymidine의 DNA에로의 결합이 증가하는 것을 관찰할 수 있다고 하며(Nicholson과 Griffiths, 1980), 아울러 세포분열

이 증가하며, 48시간 후에는 세포수가 현저하게 증가하였다고 한다(Martin과 Middleton, 1978).

E2+TAM 투여군에서는 주사 72시간 후 자궁에서의 DNA 함량은 $574.6 \pm 38.7 \mu\text{g}$ 으로서 대조군에 비하여 67.3% 증가하였으나, E2 투여군에 비하여 현저히 낮았고, TAM 투여군과는 유의성이 없었다. 이러한 결과는 Jordan 등(1977)이 난소절제된 생쥐의 자궁에서 tamoxifen이 estradiol에 의한 DNA 합성을 억제하였다고 보고한 내용과 동일한 경향이였다.

그러나 estrogen이 표적기관에서 DNA 합성을 유도하는 기전에 관하여는 아직도 불명한 점이 많으며, tamoxifen이 estrogen에 의한 DNA 합성을 어떻게 하여 억제시키는가에 대한 명확한 규명을 위하여는 방사능 표지 thymidine을 이용한 DNA 합성 과정과 DNA polymerase의 활성 및 핵 내 수용체 농도 등의 관계에 관하여 면밀한 연구가 더 수행되어야 할 것으로 본다.

미성숙 쥐의 자궁 증량에 대한 tamoxifen의 antiestrogen 효과를 조사하였던 바, E2 투여군에서는 자궁의 증량이 주사 3시간 후부터 대조군에 비하여 유의적으로 증가하기 시작하였다($p<0.01$). 이 시기에는 단백질 합성 능력이 증가되긴 하였으나 단백질 함량은 주사 전에 비하여 유의적인 변화가 없었고 또한 DNA 함량에도 변화가 없었다. 그러므로 단백질 합성의 증가로 인한 세포의 비대나 DNA 합성의 증가로 인한 세포의 증식과는 무관한 것으로 판단된다. 단지 Spaziani와 Szego(1959)가 보고한 바와 같이 estradiol에 의한 자궁에서의 혈류의 증가와 hyperemia에 수반한 수분과 전해질(특히 Na)의 흡수가 증가되었기 때문인 것으로 믿어진다.

자궁의 증량은 estradiol-17 β 주사 24시간 이후부터 급격히 증가하여 48시간 후에는 $98.7 \pm 2.9 \text{mg}$, 72시간 후에는 $138.5 \pm 5.6 \text{mg}$ 으로서 대조군($31.3 \pm 11.4 \text{mg}$)에 비하여 314.3% 및 442.5% 증가하는($p<0.01$) 유의적인 변화를 보였다.

Estradiol-17 β 를 주사하고 6시간 이후 부터는 자궁의 증량과 단백질 함량과의 상관계수는($r=0.926$)이었고, 고도의 양이 상관관계($p<0.001$)를 나타내었으므로 단백질 합성의 증가에 의한 세포의 비대가 일어났음을 추정할 수 있으며, 아울러 주사 48시간 이후 부터는 DNA 함량이 현저하게 증가하였고 이와 자궁의 증량과는 역시 양의 상관관계($r=0.833$)를 나타내었고 고도의 유의성이 인정되었다. 그러므로 DNA 합성의 증가로 인한 세포의 증식도 자궁의 증량의 증가에 관여하였을 것으로 추정된다.

Tamoxifen을 주사하고 3시간 이후부터 24시간까지는

자궁의 중량이 E2 투여군과 거의 대등한 수준으로 증가하였는데, 이러한 현상은, Davies등(1979), Koseki 등(1977)의 실험 결과와 일치하였다. 그리고 이 때에 luminal epithelial cell의 비대가 관찰되었다고 한다 (Nicholson과 Griffiths, 1980).

그러나 tamoxifen 주사 후 48시간부터 72시간 까지에서는 자궁 중량의 증가현상이 나타나지 않았으며, E2 투여군에 비하여 현저하게 가벼웠다($p < 0.01$). 이 시기에는 전 단계 실험에서 단백질 합성 능력의 저하가 관찰되었으므로 자궁에서의 단백질 합성에 따른 세포의 비대가 지속적으로 일어나지 않았던 것으로 추정되어진다.

E2+TAM 투여군에서도 주사 후 48시간까지는 자궁의 중량이 증가하는 경향을 나타내었으나, 그 이후에는 증가 현상을 나타내지 아니 하였으므로 단백질 합성 및 DNA 합성에 있어서 tamoxifen이 estradiol-17 β 에 길항적으로 작용하여서 일어난 결과로 보여진다(Jordan 등, 1977; Harper와 Walpole, 1966).

결 론

본 연구는 미성숙 쥐의 자궁에서 tamoxifen의 antiestrogen 효과를 규명하기 위하여 수행되었다.

실험동물은 estradiol-17 β 투여군, tamoxifen 투여군, estradiol-17 β 와 tamoxifen 동시 투여군 및 대조군으로 나누었다. 실험군은 estradiol-17 β 5 μ g, tamoxifen 50 μ g, 혹은 상기 용량의 두 가지 약물을 동시에 그리고 대조군은 부형제 0.2ml씩을 암쥐의 경부 피하에 주사하고, 주사 전, 첫 주사 후, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 및 72시간만에 자궁을 적출하여 DNA의 함량, 단백질의 함량 및 중량을 측정하였으며 아울러 DNA 함량과 중량과의 관계 그리고 단백질 함량과 중량과의 관계를 조사하여 본 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. DNA 함량의 증가는 estradiol-17 β 혹은 tamoxifen의 주사 후 48시간만에 관찰되었다($p < 0.01$).

2. tamoxifen의 주사에 의한 DNA 함량의 증가율은 72시간 후 167.3%로서 estradiol-17 β 에 의한 그것(205.5%)보다 낮았다. 또한 tamoxifen은 estradiol-17 β 의 DNA 합성 능력을 현저하게 억제하였다($p < 0.01$).

3. 자궁 내 단백질 함량에 대한 tamoxifen의 antiestrogen 효과는 주사 72시간 후에 현저하게 나타났다($p < 0.01$).

4. estradiol-17 β 혹은 tamoxifen에 의한 자궁 중량의 증가현상은 주사 3시간이후부터 나타났다.

5. estradiol-17 β 는 주사후 72시간까지 지속적으로 자궁의 중량을 증가시켰으나(평균 138.5mg) tamoxifen은

주사 48시간 이후부터는 자궁의 중량을 증가시키지 못하였으며(평균 81.2mg) 또한 estradiol-17 β 의 자궁 중량의 증가 효과를 억제시켰다.

참 고 문 헌

- Burton, K. (1956) A study of the condition for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.*, 62:315~323.
- Clark, E.R., Dix, C.J., Jordan, V.C., Prestwich, G. and Sexton, S. (1978) A comparison, at the cellular and subcellular levels, of the effects of tamoxifen and oestradiol benzoate on the immature rat uterus. *Br. J. Pharmacol.*, 62: 442~443.
- Davies, P., Syne, J.S. and Nicholson, R.I. (1979) Effects of estradiol and the antiestrogen tamoxifen on steroid hormone receptor concentration and nuclear ribonucleic acid polymerase activities in rat uteri. *Endocrinology*, 105: 1336~1342.
- Harper, M.J.K. and Walpole, A.L. (1966) Contrasting endocrine activities of cis and trans isomers of a series of substituted triphenylenes. *Nature*, (Lond.), 212:87~87.
- Jordan, V.C. and Bowser-Finn, R.A. (1982) Binding of 3 H monohydroxy-tamoxifen by immature rat tissues in vivo. *Endocrinology*, 110:1281~1291.
- Jordan, V.C., Dix, C.J., Rowsby, L. and Prestwich, G. (1977) Studies on the mechanism of action of the nonsteroidal antiestrogen tamoxifen(I.C.I. 46, 474) in the rat. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 7:177~192.
- Katzenellenbogen, B.S., Katzenellenbogen, J.A., Ferguson, E.R. and Krauthammer, N. (1978) Anti-estrogen inter action with uterine estrogen receptors: studies with a radiolabeled anti-estrogen (C.J-628). *J. Biol. Chem.*, 253:697~707.
- Kaye, A.M., Sheratzky, D. and Lindner, H.R. (1972) Kinetics of DNA synthesis in immature rat uterus: age dependence and estradiol stimulation. *Biochem. Biophys. Acta.*, 261: 475-486.
- Kiang, D.T. and Kennedy, B.J. (1977) Factors affecting estrogen receptors in breast cancer.

- Cancer, 40:1571~1576.
- Kirkland, J.L., Mukku, V.R., Hardy, M. and Stancel, G.M. (1984) Hormonal control of uterine growth: Alterations in luminal epithelial deoxyribonucleic acid synthesis after intraluminal application of estrogen. *Endocrinology*, 114:969~973.
- Koseki, Y., Zava, D.T., Chamness, G.C. and McGuire, W.L. (1977) Progesterone inter action with estrogen and antiestrogen in the rat uterus: receptor effects. *Steroid*, 30:169~177.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193:265~275.
- Martin, L. and Middleton, E. (1978) Prolonged estrogenic and mitogenic activity of tamoxifen in the ovariectomized mouse. *J. Endocrinology*, 78:125~129.
- Mukku, V.R., Kirkland, J.L., Hardy, M. and Stancel, G.M. (1981) Stimulatory and inhibitory effects of estrogen and antiestrogen on uterine cell division. *Endocrinology*, 109:1005~1010.
- Nicholson, R.I., Davies, P. and Griffiths, K. (1977) Effects of oestradiol- 17β and tamoxifen on nuclear oestradiol- 17β receptors in DMBA-induced rat mammary tumours. *Eur. J. Cancer*, 13:201~208.
- Nicholosen, R.I. and Griffiths, K. (1980) The biochemistry of tamoxifen action. In: Thomas JA, Singhal RL(eds) *Advances in Sex hormone Research*. Urban and Schwarzenberg, Baltimore, Vol. 4:119~151.
- Patterson, J.S., Batterby, L.A. and Bach, B.K. (1980) Use of tamoxifen in advanced male breast cancer. *Cancer Treat. Rep.* 64:801~804.
- Pritchard, K.I., Thomson, D.B., Myers, R.E., Sutherl, D.J.A. Mobbs, B.G. and Meakin, J.W. (1980) Tamoxifen therapy in premenopausal patients with metastatic breast cancer. *Cancer Treat. Rep.*, 64:787~796.
- Quarmby, V.E. and Korach, K.S. (1984) The influence of 17β -estradiol on patterns of cell division in the uterus. *Endocrinology*, 114:694~702.
- Spaziani, E. and Szego, C.M. (1959) Early effects of estradiol and cortisol on water and electrolyte shifts in the uterus of the immature rat. *Am. J. Physiol.*, 197(2):355~359.
- Sudo, K., Jr, Monsma, F.J. and Katzenellenbogen, B.S., (1983) Antiestrogen-binding sites distinct from the estrogen receptor: Subcellular-localization, ligand specificity and distribution in tissue of the rat. *Endocrinology*, 112:425~ff.
- Sutherland, R., Mester, J. and Baulieu, E.E. (1977) Tamoxifen is a potent "pure" antiestrogen in the chick oviduct. *Nature (Lond.)*, 267:434~435.
- Terenius, L. (1971) Structure-activity relationships of antiestrogen with regard to interaction with 17β -estradiol in the mouse uterus and vagina. *Acta. Endocrinol. (Copenh.)*, 66:431~447.
- 이효종, 조충호, 박무현 (1985) 미성숙 쥐 자궁에서 tamoxifen의 antiestrogen 효과에 관한 연구: I. 세포질 내 및 핵 내 estradiol 수용체 농도의 변화에 관하여. *대한수의학회지*, 25:187~196.
- 이효종, 조충호, 박무현 (1986) 미성숙 쥐 자궁에서 tamoxifen의 antiestrogen 효과에 관한 연구: II. Ribonucleic Acid 및 단백질 합성능력에 관하여. *대한수의학회지*, 26:31~37.