

# ヒト女性ステロイドホルモン受容体の isoform および variant mRNA について

—エストロゲン受容体 $\alpha$  (ER $\alpha$ ), エストロゲン受容体 $\beta$  (ER $\beta$ ), プロゲステロン受容体 (PR)—

正田 朋子<sup>1)</sup>, 平田 修司<sup>1)</sup>, 加藤 順三<sup>2)</sup>, 星 和彦<sup>1)</sup>

1) 山梨大学大学院医学工学総合研究部臨床医学系産婦人科学  
2) 帝京平成大学ヒューマンケア学部

## はじめに

ヒト女性ステロイドホルモン受容体の“読み枠”は、8つのエクソンから構成されている。加えて、5'-非翻訳領域、3'-翻訳領域に複数のエクソンが存在し、また、従来イントロンと思われていた部分にエクソンが存在することが明らかとなった。このような多くのエクソンが選択的に利用されることより、さまざまな isoform および variant mRNA が転写されることが明らかとなっている。われわれは、これらの isoform および variant mRNA を 7 種類に分類した (表 1) [1]。Type 1 は、翻訳開始点の選択的利用、type 2 は、1 つもしくは複数のエクソンが欠失したもの、type 3 は、1 つもしくは複数のエクソンが重複したもの、type 4 は、5'-非翻訳領域のエクソンの選択的利用によるもの、type 5 は 3'-翻訳領域のエクソンの選択的利用によるものである。さらに、従来イントロンと考えられていた領域の新規のエクソンを利用した type 6 および新規のエクソンが挿

入された type 7 がある。なお、これらには遺伝子そのものの mutation は含まれない。本稿では、これらのヒト女性ステロイドホルモン受容体の isoform および variant について概説する。

## 分類と構造

### ER $\alpha$

ヒト ER $\alpha$  遺伝子では、エクソン 1 - 8 に加えて、エクソン 1 の上流に 8 つの 5'-側非翻訳エクソンが存在し、エクソン 3 と 4 の間にエクソン S が同定された。これまで、type 2, 3, 4, 6 isoform および variant が転写されることが報告されてきた (図 1)。

Type 2 : Fuqua らによってエクソン 5 欠失 mRNA variant の報告がなされてから [9], 多くのエクソン欠失型 mRNA variant が報告されてきた。これまで報告された type 2 mRNA variant は、del.1 [9], del.2, del.4, del.6, del.7, del.2+3, del.4+7 [10] そして del.4+5 [11] である。その他さまざまなエクソン欠失 ER $\alpha$  mRNA variant が報告されてきた [10-13]。

Type 3 : 多くのエクソン重複タイプの ER $\alpha$  mRNA variant が報告されているが (dup.6, dup.3+4 [17], dup.6+7 [18]), いまだ重複のメカニズムについては未解明である。

Type 4 : 5'-側の非翻訳エクソンの利用によって、複数の ER $\alpha$  mRNA isoform が転写される。(A)-1 ER $\alpha$  mRNA isoform, B-1, C-1, D-1, T1-T2-1, T1-1, F-E2-1, F-1, E1-E2-1 ER $\alpha$  mRNA isoform である [2-7]。翻訳開始点がエクソン 1 に存在するアクセプターサイトより下流に存在するため、これらの mRNA isoform からは同一の ER $\alpha$  タンパクが翻訳される。これらの mRNA の発現が組織によって異なっていることから、5'-側の多重非翻訳エクソン選択機構が、組織特異的な遺伝子発現の調節に関与していると考えら

表 1 ヒト女性ステロイドホルモン受容体の isoform および variant mRNA

type	構造および受容体
type 1	翻訳開始点の選択的利用 (PR)
type 2	ひとつもしくは複数のエクソンが欠失したもの (ER $\alpha$ , ER $\beta$ , PR)
type 3	ひとつもしくは複数のエクソンが重複したもの (ER $\alpha$ )
type 4	5'-非翻訳領域のエクソンの選択的利用によるもの (ER $\alpha$ , ER $\beta$ )
type 5	3'-翻訳領域のエクソンの選択的利用によるもの (ER $\beta$ )
type 6	イントロンに存在した新規エクソンを利用したもの (ER $\alpha$ , ER $\beta$ , PR)
type 7	新規エクソンが挿入されたもの (PR)

ER $\alpha$  : estrogen receptor alpha, ER $\beta$  : estrogen receptor beta, PR: progesterone receptor

連絡先 : 正田朋子, 山梨大学大学院医学工学総合研究部臨床医学系産婦人科学,  
〒409-3898 山梨県中巨摩郡下河東1110  
TEL: 055-273-9632  
FAX: 055-273-6746  
E-mail: tko@yamanashi.ac.jp

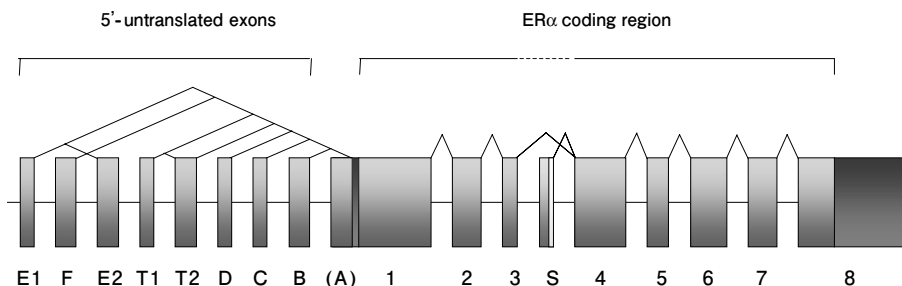


図1 ヒトエストロゲン受容体α (ERα) の構造

ヒトERα遺伝子には翻訳領域の8つのエクソンに加えて、5'-非翻訳領域に8つの非翻訳エクソンが存在する。エクソンE1, F, T1, D, CおよびBは、非翻訳第一エクソンであるが、エクソンE2およびT2は、第一エクソンとエクソン1との間に位置するエクソンであるので、第一エクソンではない。エクソン1のスプライシング・アクセプターサイトより上流の部分のエクソンAから転写されるものもある。これらの5'-非翻訳領域のエクソンからは、異なった5'-非翻訳領域構造を有する10種類のmRNAが転写される。また、エクソンが欠失するタイプや重複するタイプも存在する。加えて、エクソンSから下流が転写されタイプ6 isoform mRNAが転写される。

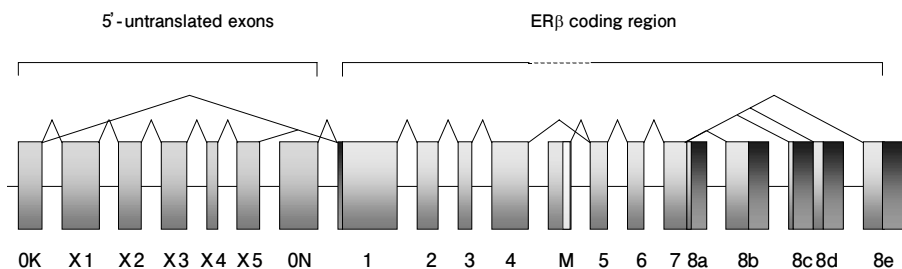


図2 ヒトエストロゲン受容体β (ERβ) の構造

翻訳領域にはエクソン1からエクソン7と、5種類のエクソン8 (エクソン8a, 8b, 8c, 8d, 8e)が存在する。エクソン8aはエクソン7の3'-側に連続して存在しており、エクソン8dはエクソン8cの3'-側に連続している。これらからは、3'-側の構造が異なるmRNAが転写される。また、5'-領域にも7種類のエクソンが存在している。それらのうち、エクソンOKおよびエクソンONは非翻訳第一エクソンであるが、エクソンOX1からエクソンOX5までは第一エクソンではない。また、エクソンがひとつもしくは複数欠失するタイプや、また、さらに、エクソン4とエクソン5の間にエクソンMが存在し、エクソンMから下流が転写されるタイプ6 isoform mRNAが存在する。

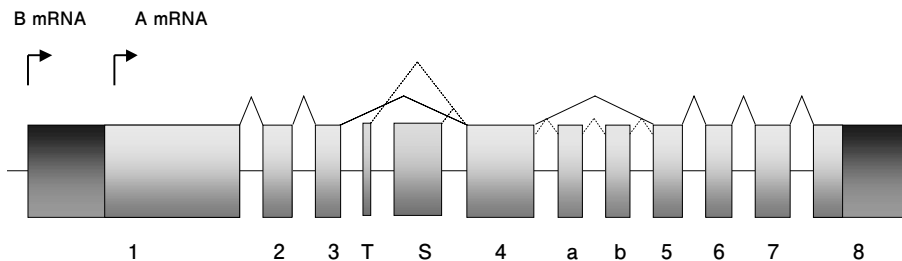


図3 ヒトプロゲステロン受容体 (PR) の構造

翻訳領域には、エクソン1から8がある。2種類の異なる転写開始点を有している (PR isoform A および isoform B)。加えて、エクソン3とエクソン4の間にエクソンTおよびSが存在し、エクソン4と5の間にエクソンi45aおよびi45bが存在している。エクソンTおよびSから下流が転写されるタイプ6 isoform mRNAが存在する。さらにエクソンi45aおよびi45bはエクソン4と5の間に選択的スプライシングにより挿入される。

れる [2-7].

Type 6 : エキソン S およびエキソン 4 - 8 から構成される ER $\alpha$  isoform S cDNA が, ヒト精巣において同定された [8]. 興味深いことに, ER $\alpha$  isoform S mRNA がコードするタンパクの構造は, ラットの下垂体で報告された TERP-1 mRNA がコードする ER タンパクと類似していた. ヒト ER $\alpha$  isoform S mRNA はエキソン S から翻訳される 11 アミノ酸の部分と D ドメイン, E ドメイン, F ドメインを有している.

Type 7 : ヒト ER $\alpha$  mRNA において, エキソン 5 と 6 の間に 69bp が挿入された variant が報告されている. しかしながら, 69bp の一部分の mutation により, 選択的スプライシングがおこり, 挿入されたものである. この variant は, type 7 の分類には入らない.

## ER $\beta$

ヒト ER $\beta$  の翻訳領域はエキソン 1 - 7 [28-29] と 5 種類のエキソン 8 から構成されている [21-23]. それに加えて 7 種類の 5'-非翻訳エキソンが [23-24], またエキソン 4 と 5 の間にエキソン M が存在する [25] (図 2). ヒト ER $\beta$  mRNA は, type 2, 4, 5, 6 isoform および variant が報告されている. 齧歯類においてのみ type 7 の報告がある [26-28]. ヒト ER $\beta$  タンパクは, 少なくとも 3 種類の isoform が合成されるが, これらの翻訳開始点はすべてエキソン 1 に存在して, 同一の mRNA から翻訳されるため, type 1 には加えていない.

Type 2 : 種々のエキソン欠失 mRNA variant (del.5, del.6, del.5+6, del.2, del.2+5+6, del.3, del.4, del.2+5, del.2+6, del.2+3+6) が報告されている [29].

Type 4 : 2 種類の非翻訳第 1 エキソン (OK, ON) および 5 種類の非翻訳, 非第 1 エキソン (OX-1-OX-5) が存在し, 3 種類の異なった 5'-領域をもつ isoform が転写される (OK-1, OK- (OX-1-OX-5) -1, ON-1 ER $\beta$  mRNA isoform) [23-24]. これらは同一の翻訳開始点を利用するため, 同一の ER $\beta$  タンパクが翻訳される. 5'-非翻訳領域の選択的利用により, 組織特異的な ER $\beta$  の発現調節に関与していると考えられる.

Type 5 : エキソン 1 - 7 およびエキソン 8 b から構成される wild type ER $\beta$  mRNA に加えて, 異なったエキソン 8 を利用することによって 4 種類の isoform および variant mRNA が転写される [21-23, 30]. ER $\beta$  2 variant はエキソン 8 d を利用するが, 別名 ER $\beta$  cx mRNA と呼ばれている [21]. エキソン 8 e を利用した ER $\beta$  3 variant, エキソン 8 c + 8 d を利用した ER $\beta$  4 variant, エキソン 8 a を利用した ER $\beta$  5 variant が存在する. エキソン 8 は ER $\beta$  の翻訳エキソンであるので,

これらの isoform は別々のタンパクを合成する.

Type 6 : エキソン M およびエキソン 5 - 8 を利用してヒト ER $\beta$  isoform M mRNA が転写される. エキソン M からの新規のアミノ酸配列と, リガンド結合領域のほとんどと F ドメインを有している.

Type 7 : このタイプの isoform mRNA はヒト ER $\beta$  において報告されていないが, 齧歯類において, ER $\beta$  2 variant が報告されている. ER $\beta$  2 variant は, エキソン 5 と 6 の間に 54bp が挿入されるものである. この 54bp からは, 18 アミノ酸が合成され, リガンド結合領域に挿入される. この 54bp は独立した 1 つのエキソンであることも確認されている. しかしながら, ヒトでは, このエキソン i56 に相当する塩基配列は存在しない.

## PR

ヒト PR の翻訳領域は, エキソン 1 - 8 から構成される [33-35]. 加えて, エキソン 3 と 4 の間にエキソン T およびエキソン S が, また, エキソン 4 と 5 の間にエキソン i45a および i45b が同定された.

Type 1 : 異なる転写開始点の利用により PR isoform A および B が存在する. 上流の転写開始点からは, isoform A mRNA が転写され, 下流の転写開始点からは isoform B mRNA が転写される. PR isoform A の N 末端側の 164 アミノ酸が欠失したものが PR isoform B である.

Type 2 : いくつかのエキソン欠失した mRNA variant (del.2 [43], del.4, del.6, del.5+6, del.4+6, del.4+5+6, del.3+4, del.3+4+5+6 [44]) が報告されている del.6 variant は PR isoform A および isoform B の活性を阻害するとの報告もある [43].

Type 6 : エキソン S および T, エキソン 4 - 8 を利用して, 2 種類の PR isoform が転写される (PR isoform S mRNA, PR isoform T mRNA) [36, 37]. これらの isoform は, リガンド結合領域をほとんど有しており, A/B ドメインおよび DNA 結合領域を欠失した構造をしている. この構造は ER $\alpha$  isoform S や ER $\beta$  isoform M と同一である. これらの機能については, さらなる検討を要する.

Type 7 : ヒト PR isoform variant (i45 PR mRNA variant) は, エキソン i45a および i45b が, エキソン 4 と 5 の間に挿入されるものである. この isoform mRNA は PR del.6 variant と類似した構造であるので, その機能も類似している可能性がある [43].

## 局在と機能

性ステロイドホルモン受容体の数々の isoform および variant の働きについては未解明なことが多いが、近年の多くの研究がなされ、その機能解析が行われている。

### ER $\alpha$ および ER $\beta$

エストロゲンは子宮内膜の組織形成、維持や分化に欠かせないものである。正常子宮内膜には ER $\alpha$  del.5は存在しておらず、内膜癌細胞株において del.5は ER 調節プロモーターにドミナントポジティブな活性を有しているという報告がある [45]。また、ラットの精巣導帯においては、ER $\alpha$  wild type とともに、エキソン 2 に翻訳開始点をもつ isoform が存在し、精巣の下降に重要な働きをしていると考えられている [47]。

ER $\alpha$  陽性乳癌症例に対して抗エストロゲン療法が施行されているが、その30%が無効となっている。最近、ER $\beta$  cx (ER $\beta$  2) の発現が認められるヒト乳癌症例では、ホルモン療法に対する反応が良好との報告があり [48]、その関連性が検討されている。また、閉経後の女性の骨芽細胞における検討では、wild type の ER $\beta$  のみならず、ER $\beta$  del.2が発現しており、骨代謝に wild type とは ER $\alpha$  異なった役割があると報告されている [49]。マウスにおける報告では、ER $\beta$  cx は、E2に対する感受性は wild type ER $\beta$  より劣るが、タモキシフェンに対する感受性は優位に強い [50]。ヒトでは、ER $\beta$  cx タンパクは、wild type と二量体を形成し、wild type の働きを抑制することが報告されている [21, 31, 32]。また、ラット下垂体において、エストロゲンは wild type ER $\beta$  と ER $\beta$  cx mRNA の発現に異なった調節機構をもつことが報告されている [51]。

Isoform および variant の機能を解析する際、その局在を解明することは重要である。これまで、エストロゲン存在下で、wild type ER $\alpha$ 、wild type ER $\beta$ 、ER $\beta$  cx は、細胞内の核内に凝集して存在しているが、ER $\beta$  del.3、ER $\beta$  cx del.3 isoform は、エストロゲン下で核内に散在していることが報告された [52]。

また、type 6 であるラットの TERP-1 タンパクは、wild type ER $\alpha$  と二量体を形成し wild type の働きを抑制することが知られている。また、この構造は ER $\alpha$  isoform S や ER $\beta$  isoform M と同一である。これらの isoform は、リガンド結合領域をほとんど有しており、A/B ドメインおよび DNA 結合領域を欠失した共通の構造をしている。われわれは、type 6 isoform についてその働きを検討する目的で、wild type ER $\alpha$ 、wild type ER $\beta$ 、ER $\alpha$  S isoform および ER $\beta$  M isoform について

ヒト子宮内膜癌細胞株における局在を解析したところ、wild type ER $\alpha$ 、wild type ER $\beta$  は核内に存在しており、type 6 isoform は核内ならびに細胞質内に存在していた。これらのことから、type 6 isoform と遺伝子の転写・活性を介さない「non-genomic action」との関連が示唆される。

### PR

Type 1 の 2 種類の isoform は、正常ならびに癌組織において異なった働きをすると報告されている [38-40]。さらに、最近、マウスを使った研究では、それぞれの isoform を選択的に破壊することによって、これら 2 種類の PR isoform の生理学的な役割を明らかにしようとしている [41, 42]。PR del.6は、リガンド結合領域を欠損しており、乳癌組織の61.5%に認められるが、正常組織では7.7%しか存在しない。そのため、乳癌との関連が推測されている [53]。

## おわりに

1980年代に、ヒト性ステロイドホルモン受容体がクローニングされ、それからさまざまな isoform および variant が発見され研究されてきた。それにより、ヒト性ステロイドホルモン受容体遺伝子の転写の機構は、当初考えられてきたものより複雑であることが明らかとなった。これらの isoform および variant mRNA の存在意義とそれがコードするタンパクの機能についての今後の研究の展開が期待される。

## 文献

1. Hirata S, Shoda T, Kato J, Hoshi K (2003) Isoform/variant mRNAs for sex steroid hormone receptors in humans. *Trends Endocrinol Metab* 14, 124-129.
2. Flouriot G et al (1998) Differentially expressed messenger RNA isoforms of the human estrogen receptor-alpha gene are generated by alternative splicing and promoter usage. *Mol Endocrinol* 12, 1939-1954.
3. Kos M et al (2001) Minireview: Genomic organization of the human ER  $\alpha$  gene promoter region. *Mol Endocrinol* 15, 2057-2063.
4. Reid G et al (2002) Human estrogen receptor-alpha: regulation by synthesis, modification and degradation. *Cell Mol Life Sci* 59, 821-831.
5. Sand P et al (2002) Untangling the human estrogen receptor gene structure. *J Neural Transm* 109, 567-583.
6. Brand H et al (2002) A novel promoter is involved in the expression of estrogen receptor  $\alpha$  in human testis and epididymis. *Endocrinology* 143, 3397-3404.
7. Okuda Y et al (2003) Novel splicing events of untranslated first exons in human estrogen receptor alpha (ER $\alpha$ ) gene.

- Endocrine J (in press)
8. Hirata S et al (2002) The novel isoform of the estrogen receptor-alpha cDNA (ER alpha isoform S cDNA) in the human testis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 80, 299-305.
  9. Fuqua SA et al (1991) Variant human breast tumor estrogen receptor with constitutive transcriptional activity. *Cancer Res* 51, 105-109.
  10. Poola I et al (2000) Identification of twenty alternatively spliced estrogen receptor alpha mRNAs in breast cancer cell lines and tumors using splice targeted primer approach. *J Steroid Biochem Mol Biol* 72, 249-258.
  11. Anandappa SY et al (2000) Variant estrogen receptor alpha mRNAs in human breast cancer specimens. *Int J Cancer* 88, 209-216.
  12. Ye Q et al (2000) Identification and characterization of estrogen receptor variants in prostate cancer cell lines. *J Steroid Biochem Mol Biol* 75, 21-31.
  13. Koduri S and Poola I (2001) Quantitation of alternatively spliced estrogen receptor alpha mRNAs as separate gene populations. *Steroids* 66, 17-23.
  14. Bollig A and Miksicsek R J (2000) An estrogen receptor-alpha splicing variant mediates both positive and negative effects on gene transcription. *Mol Endocrinol* 14, 634-649.
  15. Fasco M J et al (2000) Expression of an estrogen receptor alpha variant protein in cell lines and tumors. *Mol Cell Endocrinol* 166, 156-169.
  16. Horvath G et al (2002) Function of the exon 7 deletion variant estrogen receptor alpha protein in an estradiol-resistant, tamoxifen-sensitive human endometrial adenocarcinoma grown in nude mice. *Gynecol Oncol* 84, 271-279.
  17. Murphy LC et al (1996) Novel mutations in the estrogen receptor messenger RNA in human breast cancers. *J Clin Endocrinol Metab* 81, 1420-1427.
  18. Pink J J et al (1996) A novel 80 kDa human estrogen receptor containing a duplication of exons 6 and 7. *Nucleic Acids Res* 24, 962-969.
  19. Mosselman S et al (1996) ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett* 392, 49-53.
  20. Enmark E et al (1997) Human estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab* 82, 4258-4265.
  21. Ogawa S et al (1998) Molecular cloning and characterization of human estrogen receptor betacx: a potential inhibitor of estrogen action in human. *Nucleic Acids Res* 26, 3505-3512.
  22. Moore JT et al (1998) Cloning and characterization of human estrogen receptor beta isoforms. *Biochem Biophys Res Commun* 247, 75-78.
  23. Lewandowski S et al (2002) Estrogen receptor beta. Potential functional significance of a variety of mRNA isoforms. *FEBS Lett* 524, 1-5.
  24. Hirata S et al (2001) The multiple untranslated first exons system of the human estrogen receptor beta (ER $\beta$ ) gene. *J Steroid Biochem Mol Biol* 78, 33-40.
  25. Shoda T et al (2002) Cloning of the novel isoform of the estrogen receptor beta cDNA (ER $\beta$  isoform M cDNA) from the human testicular cDNA library. *J Steroid Biochem Mol Biol* 82, 201-208.
  26. Chu S and Fuller P J (1997) Identification of a splice variant of the rat estrogen receptor beta gene. *Mol Cell Endocrinol* 132, 195-199.
  27. Dang ZC et al (2002) Exposure of KS483 cells to estrogen enhances osteogenesis and inhibits adipogenesis. *J Bone Miner Res* 17, 394-405.
  28. Hanstein B et al (1999) Functional analysis of a novel estrogen receptor-beta isoform. *Mol Endocrinol* 13, 129-137.
  29. Poola I et al (2002) Identification of ten exon deleted ER beta mRNAs in human ovary, breast, uterus and bone tissues: alternate splicing pattern of estrogen receptor beta mRNA is distinct from that of estrogen receptor alpha. *FEBS Lett* 516, 133-138.
  30. Tong D et al (2002) Expression of estrogen receptor beta isoforms in human breast cancer tissues and cell lines. *Breast Cancer Res Treat* 71, 249-255.
  31. Omoto Y et al (2002) Evaluation of oestrogen receptor beta wild-type and variant protein expression, and relationship with clinicopathological factors in breast cancers. *Eur J Cancer* 38, 380-386.
  32. Saunders PT et al (2002) ER beta 1 and the ER beta 2 splice variant (ER beta cx/beta 2) are expressed in distinct cell populations in the adult human testis. *J Clin Endocrinol Metab* 87, 2706-2715.
  33. Misrahi M et al (1987) Complete amino acid sequence of the human progesterone receptor deduced from cloned cDNA. *Biochem Biophys Res Commun* 143, 740-748.
  34. Kastner P et al (1990) Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J* 9, 1603-1614.
  35. Misrahi M et al (1993) Structure of the human progesterone receptor gene. *Biochim Biophys Acta* 1216, 289-292.
  36. Hirata S et al (2002) The novel exon, exon T, of the human progesterone receptor gene and the genomic organization of the gene. *J Steroid Biochem Mol Biol* 80, 365-367.
  37. Hirata S et al (2000) The novel isoform of the progesterone receptor cDNA in the human testis and detection of its mRNA in the human uterine endometrium. *Oncology* 59 (Suppl) 1, 39-44.
  38. Bamberger AM et al (2000) Progesterone receptor isoforms, PR-B and PR-A, in breast cancer: correlations with clinicopathologic tumor parameters and expression of AP-1 factors. *Hormone Res* 54, 32-37.
  39. Attia GR et al (2000) Progesterone receptor isoform A but not B is expressed in endometriosis. *J Clin Endocr Metab* 85, 2897-2902.
  40. Richer JK et al (2002) Differential gene regulation by the two progesterone receptor isoforms in human breast cancer cells. *J Biol Chem* 277, 5209-5218.
  41. Mulac-Jericevic B et al (2000) Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor-B isoform. *Science* 289, 1751-1754.
  42. Conneely OM et al (2002) Reproductive functions of progesterone receptors. *Recent Prog Horm Res* 57, 339-355.
  43. Richer J K et al (1998) Progesterone receptor variants found in breast cells repress transcription by wild-type receptors. *Breast Cancer Res Treat* 48, 231-241.
  44. Misao R et al (2000) Identification of exon-deleted progesterone receptor mRNAs in human uterine endometrial can-

- cers. *Oncology* 58, 60-65.
45. Bryant W, Snowwhite AE, Rice LW, Shupnik MA (2005) The Estrogen Receptor (ER) a variant  $\Delta 5$  exhibits dominant positive activity on ER-regulated promoter in endometrial carcinoma cells. *Endocrinology* 146, 751-759.
  46. Sakaguchi H, Fujimoto J, Hong BL, Tamaya T (2005) Quantitative analysis of estrogen receptor proteins in rat ovary. *J Steroid Biochem Mol Biol* 94, 83-91.
  47. Staub C, Rauch M, Ferriere F, Trepos M, Dorval-Coiffec I, Saunders PT, Cobellis G, Flouriot G, Saligaut C, Jegou B (2005) Expression of estrogen receptor ESR1 and its 46 kDa variant in the gubernaculum testis. *Biology of Reproduction* (papers in press, published online ahead of print June 8, 2005)
  48. Palmieri C, Lam EWF, Mansi J, MacDonald C, Shousha S, Madden P, Omoto Y, Sunters A, Warner M, Gustafsson JA, Coombes RC (2004) The expression of ER  $\beta$  in human breast cancer and the relationship of endocrine therapy and survival. *Clinical Cancer Research* 10, 2421-2428.
  49. Chen FP, Hsu T, Hu CH, Wang WD, Wang KC, Teng LF (2004) Expression of estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  in human osteoblasts; identification of exon-2 deletion variant of estrogen receptor  $\beta$  in postmenopausal women. *Chang Gung Med J* 27, 1007-115.
  50. Zhao C, Toresson G, KuL, Koehler KF, Gustafsson JA, Dahlgren-Wright K (2005) Mouse estrogen receptor  $\beta$  isoforms exhibit differences in ligand selectivity and coactivator recruitment. *Biochemistry* 44, 7936-7944.
  51. Tena-Sempere M, Navarro VM, Mayen A, Bellido C, Sanchez-Criado E (2004) Regulation of estrogen receptor (ER) isoform messenger RNA expression by different ER ligands in female rat pituitary. *Biol Reprod* 70, 671-678.
  52. Price RH, Butler CA, Webb RU, Kushner P, Handa RJ (2001) A splicing variant of estrogen receptor  $\beta$  missing exon 3 displays altered subnuclear location and capacity for transcriptional activation. *Endocrinology* 142, 2039-2049.
  53. Hisatomi H, Kohno N, Wakita K, Nagano K, Hirata H, Hikiji K, Harada S (2003) Novel alternatively spliced variant with a deletion of 52BP in exon 6 of the progesterone receptor gene is observed frequently in breast cancer tissues. *Int J Cancer* 105, 182-185.