

## 내분비계 장애물질이 착상전 생쥐 배아의 발생 및 Apoptosis 조절 유전자 발현에 미치는 영향

정경남 · 유정민 · 유성진 · 김주란 · 정철희<sup>1</sup> · 김현찬<sup>2</sup> · 강성구<sup>†</sup>

인제대학교 생물학과, <sup>1</sup>대구여성차병원 산부인과, <sup>2</sup>인제대학교 의과대학 산부인과학교실

### The Effects of Endocrine Disruptors on the Development of Mouse Preimplantation Embryos and the Regulation of Apoptotic Gene Expression

Kyung-Nam Chung, Jeong-Min Yu, Seong-Jin Yoo, Ju-Ran Kim,  
Chul-Hoi Jeong<sup>1</sup>, Hyun-Chan Kim and Sung-Goo Kang<sup>†</sup>

Department of Biology, College of Natural Sciences, Inje University, Kimhae, Gyeongnam 621-749, Korea

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, Taegu Cha Women's Hospital, Taegu 705-031, Korea

<sup>2</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Inje University, Busan 633-165, Korea

**ABSTRACT** : Endocrine disruptors have been reported to adversely affect reproduction and embryonic development in wild animals. One of the major abnormalities observed during early embryonic development is cellular fragmentation. In this study, we exposed mouse preimplantation embryos to PCB, BPA and DDT *in vivo* or *in vitro*. Embryos exposed to endocrine disruptor showed a variety of morphological abnormalities such as fragmentation, irregular blastomeres and cracked empty zonae pellucidae. To investigate the levels of gene expression related which genes contribute to apoptosis in preimplantation mouse embryos, we carried out the reverse transcription polymerase chain reaction to assess mRNA levels for apoptotic gene. Bcl-2, bad and bax expression levels were compared between control group and endocrine disruptor treated group. Expression level of bcl-2 gene tended to be lower in the treated group than control while expression levels of bad and bax genes were higher in the treated group. Results of this study may provide a useful tool for rapidly screening developmental toxicants in preimplantation embryos exposed to endocrine disruptors *in vivo* or *in vitro*.

**Key words** : Endocrine disruptor, PCB, BPA, DDT, Embryonic development, Apoptotic gene.

**요 약** : 내분비계 장애물질은 다양한 동물의 생식과 배아의 발생에 위해한 영향을 미친다고 보고되었다. 이러한 초기 배아의 비정상 발생 중 대표적인 것이 할구파편이다. 본 연구에서는 착상 전 생쥐 초기 배아를 PCB, BPA, DDT에 체내, 체외에서 각각 노출시켰다. 내분비계 장애물질에 노출시켰던 배아는 할구파편, 불규칙한 할구와 깨짐, 일부 파괴된 투명대 배아 등의 다양한 형태학적 비정상 양상을 보였다. 착상 전 생쥐 초기배아의 세포괴사에 관여하는 유전자를 조사하기 위하여 RT-PCR을 사용하여 mRNA 수준에서 평가하였다. Bcl-2, bad 그리고 bax 유전자 발현 정도를 대조군과 내분비계 장애 물질 처리군으로 나누어 비교하였다. Bcl-2 유전자는 내분비계 장애물질 처리군에서 낮아지는 경향을 보였고, bad와 bax는 내분비계 장애물질 처리군에서 보다 높은 경향을 보였다. 이러한 연구 결과는 착상 전 생쥐 초기배아를 체내와 체외에서 내분비계 장애물질에 노출시킴으로써 발생적 독성물질을 신속히 판단할 수 있는 유용한 수단이 될 수 있을 것으로 생각한다.

## 서 론

내분비계 장애물질은 체내 호르몬의 생산, 분비, 이동, 대

\* 본 연구는 한국과학재단, 인제대학교 BPRC(2002년) 지원으로 수행되었음.

<sup>†</sup>교신저자: 경남 김해시 아방동 607, 인제대학교 생명공학부. (우) 621-749, (전) 055-320-3213, (팩) 055-336-7706, E-mail: biosgkan@injc.inje.ac.kr

사, 결합작용 및 배설을 간섭하는 외인성 물질을 말한다. 즉, 내분비 기능에 변화를 일으켜, 생체 또는 그 자손의 건강에 위해한 영향을 나타내는 외인성 물질이라 정의된다. 내분비계 장애물질의 특성은 생태계 내 소비자에 의해 쉽게 분해되지 않고, 매우 안정되게 인체 또는 생물의 지방 조직에 농축되어 대물림된다는 것이다. 그러므로 환경과 생태계 내에 잔류하여 지속적인 위협을 준다. 이러한 내분비계 장애물질은 무척추동물, 곤충류, 어패류, 양서, 파충류, 조류, 포유류 등의

내분비계를 교란하여 생식과정에 장애를 유발하고 발생과정의 이상을 초래하며, 성 행동, 신경과 면역계의 이상 발생, 암의 발생을 야기한다고 보고되고 있다(Lee & Yoon, 2001).

Polychlorinated biphenyl(PCB)는 1929년부터 생산된 후, 1935년 Monsanto Chem Co.가 PCB를 생산하여 공급하기 시작하고 General Electric 사는 이를 스위치, 전류차단기, 축전기, 변압기, 전기용품에 사용하고, 전등, 라디오, 진공청소기, 냉장고(냉각액 공업제품)등 20세기 가전제품의 핵심 부품에 이용하였다. Dichlorodiphenyl trichloroethane(DDT)는 1938년에 Mueller가 합성하여, 기적적인 약으로 알려졌고, 모기를 박멸시켜 말라리아로부터 인류를 구제하였다. DDT는 1947~1949년 당시 39억 달러가 투입되어 시판되고 농장, 가정, 정원, 도시 가로수 등에 뿌려졌다(Lee & Yoon, 2001). 이러한 DDT는 어머니의 자궁이나 모유를 통하여 신생아로 오염이 확산된다고 보고되었다(Colborn et al., 1996). Bisphenol A(BPA)는 polycarbonate 및 epoxy 수지의 원자재이며, 산화방지 및 염화비닐의 안정제로 사용된다. 캔의 내부에 칠해지는 플라스틱 코팅제에 BPA가 사용된다(Brotons et al., 1995). 베이비 푸드의 용기, 젓병, 가열기 등에서 BPA가 검출된다고 한다(Krishnan et al., 1993; Furukawa et al., 1994; Nikula et al., 1999). 사람들은 음식용기와 치과용 접착제를 통하여 많은 양의 BPA에 노출되어 있다. 그러나 이들의 생물학적 영향력은 아직 밝혀져야 할 것으로 남아 있다(Brotons et al., 1995; Olea et al., 1996).

PCB는 1 µg/ml~10 µg/ml의 농도에서 생쥐의 체외 수정률을 낮추고 난자를 퇴화시키고 초기 배아의 비정상 발생을 증가시켰다는 보고가 있다(Kholkute et al., 1994). BPA는 포유동물의 세포 배양에 있어서 cell-transforming과 genotoxic activity를 유발하고 잠재적 발암 물질임이 알려져 있다(Tsutsui et al., 1998). DDT는 29 µg/ml의 농도에서 모든 배아를 퇴화시켰다(Alm et al., 1996). 이러한 연구 결과는 내분비계 장애물질이 생쥐 배아 발생에 세포독성효과를 나타냄을 알 수 있게 하며, 그것은 생쥐배아의 각 발생 단계에 대해 특이적인 것으로 생각된다. 또한 내분비계 장애물질의 영향으로 배아의 세포질은 세포사멸(apoptosis)이 유발되어 할구과편(fragmentation) 또는 퇴화(degeneration)가 유도될 것으로 추측된다. 할구과편이 일어나고 있는 배아에서 apoptotic 유전자의 발현이 부분적으로 바뀌고, 이때 세포사와 관련된 유전자(MA-3, p53, bad, bax)는 증가하는, 반면 세포생존 유전자(bcl-2)는 줄어들었다(Juriscova et al., 1998).

이와 같은 연구결과를 바탕으로 본 실험에서는 1-세포기, 2-세포기, 상실배에서 각 내분비 장애물질의 발생장애효과를

*in vivo*와 *in vitro*에서 조사하고 내분비계 장애물질에 노출시켰던 배아의 bcl-2, bad, bax 유전자들의 발현을 비교해 보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물 및 관리

본 실험에서는 4주령의 ICR 암컷 생쥐와 8주령 이상의 ICR 수컷 생쥐를 (주) 대한실험동물센터에서 구입하여 사용하였다. 24°C~26°C의 온도 조절과 명기 12시간, 암기 12시간 하에서 사육하였으며, 물과 먹이는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 과배란을 유도하기 위하여 암컷 생쥐에 pregnant mare's serum gonadotropin(PMSG; Folligon, Intervet) 5 I.U.(international unit)를 복강 내 주사하고 48시간 후 human chorionic gonadotropin(hCG; Folligon, Intervet) 5 I.U.를 복강 내 주사하였다.

### 2. 내분비계 장애물질의 체내 노출

내분비계 장애물질인 PCB, BPA, DDT 등은 물에는 녹지 않아, sesame oil에 녹여서 과배란 유도 시 hCG 주사와 동시에 복강 주사하였다. 대조군 생쥐는 동량의 sesame oil만 주사하고 각각 실험군 생쥐에 PCB(25 mg/kg), BPA(50 mg/kg) 및 DDT(24 mg/kg)주사하였다. HCG 주사 후 수컷과 1:1로 합사시킨 후 다음 날 아침 질전(plug) 유무를 판단하고, 질전이 확인된 생쥐를 24, 48, 72시간후에 난관을 관류(flushing)하였다. 난관 관류로 획득한 각각의 배아는 Ham's F-10(0.4% BSA) 새 배양액으로 옮겨 배아의 발생 상태를 관찰하였다.

### 3. 내분비계 장애물질에 대한 생쥐 초기배아의 체외 노출

암컷 생쥐를 과배란 유도하고 수컷 생쥐와 1:1로 합사하여 hCG 주사 24시간 후 1-세포기 수정란을, 48시간 후 늦은 2-세포기 배아를, 72시간 후 상실기 배아를 난관 관류법(flushing)으로 수집하였다. 각 단계 별 배아는 PCB(10 µg/ml), BPA(46 µg/ml), DDT(7.5 µg/ml)의 Ham's F-10(0.4% BSA) 배양액에 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기 내에서 24시간 동안 각각 배양시켜 각 실험군별로 배아의 발생에 미치는 영향을 관찰하였다. 체외수정은 PCB(31.3 µg/ml)와 BPA(62.5 µg/ml)가 함유된 Ham's F-10 배양액에서 과배란된 난자와 정자를 수정시켰다. 24시간 배양후 수정률과 발생상태를 조사하였다.

### 4. Bcl-2, Bad, Bax 유전자 발현

내분비계 장애물질에 24시간 동안 노출시켰던 각각의 발

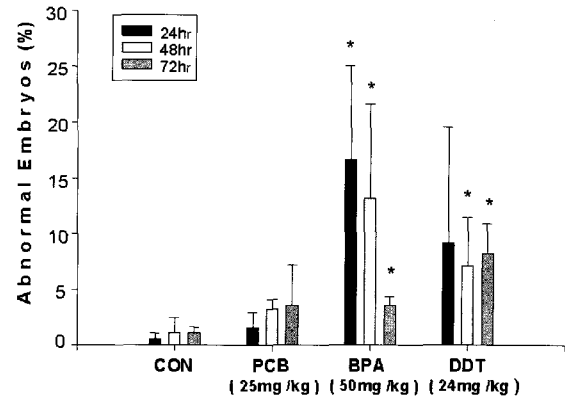
**Table 1. Primers designed for amplification of RT-PCR**

Primer	Up(u) and Down(d) primer sequence	Product size
Bcl-2	u5'-TACCGTCGTGACTTCGCAGAG-3' d5'-GGCAGGCTGAGCAGGGTCTT-3'	350bp
Bad	u5'-AGAGTTTGAGCCGAGAGTA-3' d5'-CGCTTTGTCGCATCTGTG-3'	365bp
Bax	u5'-GGATCGAGCAGGGAGGAT-3' d5'-GCGAGGCGGTGAGGACTC-3'	458bp
$\beta$ -actin	u5'-CCAAGGCCAACCGCGAGAAGATGAC-3' d5'-AGGGTACATGGTGGTCCCGCCAGAC-3'	587bp

생단계별 배아 40개로부터 total RNA를 추출하기 위하여 Tri-reagent(Sigma, T-9424)를 사용하였다. 추출한 total RNA로부터 RT-PCR kit(Perkin Elmer)에 의한 역전사 PCR을 수행하여 bcl-2, bad, bax 유전자 발현을 각 실험군별로 조사하였다. 먼저 40개의 배아에서 추출한 total RNA를 95°C에서 5분간 가열한 후 역전사 반응 용액에는 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1× PCR buffer, 2.5 mM oligod(T), 1 mM dNTP, 1 U/ $\mu$ l RNase inhibitor와 2.5 U/ $\mu$ l reverse transcriptase로 구성되어 있다. PCR 반응 용액의 조성은 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 1× PCR buffer, 2.5 U Taq polymerase(Promega), down stream primer 0.15  $\mu$ M, upstream primer 0.15  $\mu$ M로 하였다. 실험에 사용한 primer의 염기배열은 Table 1과 같다. PCR 수행 과정은 bad와 bax 유전자의 경우 95°C에서 5분, 57°C에서 5분, 72°C에서 5분에서 1회 수행한 다음, 95°C에서 1분, 57°C에서 1분, 72°C에서 1분의 조건으로 35회 반복 수행하였고, 마지막으로 72°C에서 10분간 반응시켰다. Bcl-2는 96°C에서 1분, 59°C에서 1분, 72°C에서 25초에서 2회 수행한 다음, 94°C에서 1분, 59°C에서 1분, 72°C에서 25초의 조건으로 18회 반복 수행하였고, 96°C에서 1분, 59°C에서 30초, 72°C에서 25초의 조건으로 20회 반복 반응시켰다. 20  $\mu$ l의 PCR 산물을 2% agarose gel에서 100V로 30분 동안 전기영동한 후 Kodak ID image analysis software의 densitometer를 사용하여 각 실험군별 유전자의 발현 정도를 비교하였다. 각 실험의 통계분석은 T-test와 [chi]<sup>2</sup> test를 이용하였고, P 값이<0.05인 것을 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

**결 과**

**1. 내분비계 장애물질을 생쥐 체내에 노출시켰을 때 생쥐 배아의 발생에 미치는 영향**



**Fig. 1. Effects of endocrine disruptors on the development of mouse embryos *in vivo*.** Four-week-old female ICR mice were superovulated by an intra-peritoneal injection of 5 I.U. pregnant mare's serum gonadotropin, followed by 5 I.U. human chorionic gonadotropin and endocrine disruptors (PCB, BPA, DDT) 48 h later, and subsequently mated with males of the same strain. The stage-specific embryos were collected by oviduct-flushing at specific time. (\*, p<0.05, T-test). Control mice were superovulated by the same treatment without endocrine disruptors. CON, Control.

과배란 유도시 hCG 주사와 동시에 내분비계 장애물질을 복강 주사하고 수컷과 암컷을 합사시킨 후, 24시간 후 1-세포기 배아를 회수하였다. BPA 투여군에서 퇴화 또는 할구과편을 보이는 비정상 발생률이 17% ± 9%로 대조군에 비해 유의하게 높았다(P<0.05). PCB, DDT 투여군에서는 비정상 발생률이 대조군보다 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 48시간 후 늦은 2-세포기 배아를 회수하여 비교 관찰했을 때 PCB, BPA, DDT 투여군 모두에서 비정상 발생률이 대조군보다 높았으나 통계적 유의성은 없었다. 72시간 후 상실배를 회수하여 비교 관찰했을 때 BPA, DDT 투여군에서 비정상 발생률이 각각 4% ± 1%, 8.0% ± 3%로 대조군에 비해 유의하게 높았다(P<0.05). PCB 투여군에서도 비정상 발생률이 대조군보다 높았으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 1).

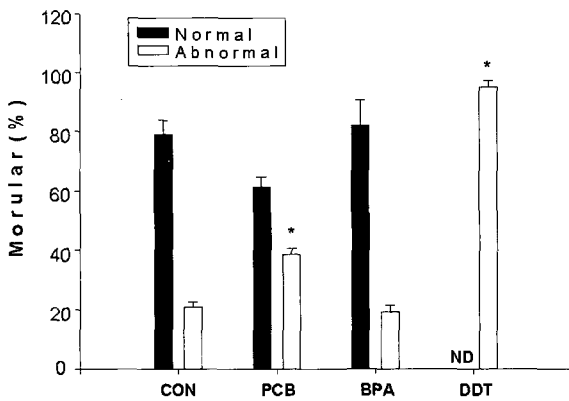
**2. 내분비계 장애물질을 체외 노출시켰을 때 체외수정 및 배아의 발달에 미치는 영향**

내분비계 장애물질이 포함된 배양액에서 과배란 난자와 수컷 생쥐의 부정소 부위에서 추출한 정자를 체외 수정시켰다. 수정 24시간 후에 2-세포기가 된 것을 수정된 것으로 판단하였다. PCB(37.5  $\mu$ g/ml), BPA(62.5  $\mu$ g/ml)의 Ham's F-10 (0.4% BSA)에서 체외수정시켰을 때 수정률(%)은 대조군에서 80 ± 1, 실험군에서 5 ± 2, 16 ± 3로 대조군에 비해 유의하게 낮았다(P<0.05). 할구 과편률(%)은 대조군에서 7 ± 1, 실험군

**Table 2. Effects of *in vitro* treatment of PCB and BPA on the rates of fertilization and abnormal embryos for 24h culture**

Group	Total No.	Normal Embryos		Abnormal Embryos	
		1-cell	2-cell	Degenerated Embryos	Fragmented Embryos
Control	46	4( 8.8±1.3)	37(80.4±2.1)	2(4.3±0.5)	3( 6.5±1.2)
PCB(37.5 $\mu$ g/ml)	60	21(35.0±2.7)*	3( 5.0±1.8)*	3(5.0±2.5)	33(55.0±3.0)*
BPA(62.5 $\mu$ g/ml)	71	16(22.5±2.8)*	11(15.5±3.0)*	6(8.5±2.4)	38(53.5±3.1)*

\* Significantly different from control(P<0.05).



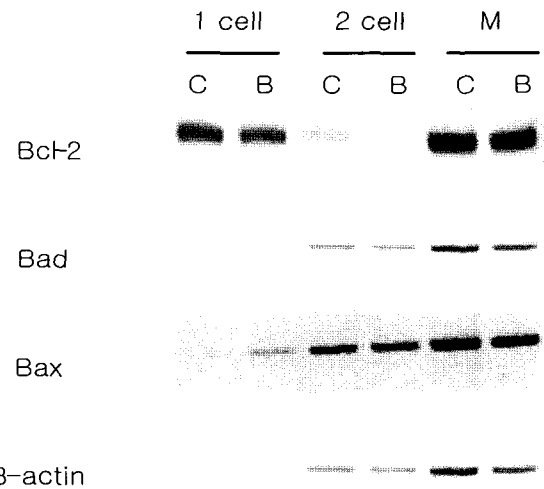
**Fig. 2. Effects of PCB, BPA and DDT on the development of mouse morula stage embryos after 24 h culture.** Four to six-week-old female ICR mice were superovulated by an intra peritoneal injection of 5 I.U. pregnant mare's serum gonadotropin, followed by 5 I.U. human chorionic gonadotropin 48 h later, and subsequently mated with males of the same strain. The morulas were collected by oviduct-flushing and then cultured for 24hrs in culture media with PCB(10  $\mu$ g/ml), BPA(46  $\mu$ g/ $\mu$ l) and DDT(7.5  $\mu$ g/ml) ND, No Detection. CON, Control.

에서 55±3, 53±3로 대조군에 비해 유의하게 높았다(P<0.05)(Table 2).

PCB(10  $\mu$ g/ml), BPA(46  $\mu$ g/ml), DDT(7.5  $\mu$ g/ml)의 Ham's F-10(0.4% BSA) 배양액에서 상실배를 각각 24시간 배양하였다. 비정상 발생률은 실험군이 대조군에 비해 높았으나, 통계적 유의성은 PCB와 DDT 처리군에서 나타났다.(P<0.05)(Fig. 2).

**3. BPA에 체외 노출시킨 발생단계별 배아의 bcl-2, bad, bax 유전자 발현의 비교**

1-세포기, 2-세포기, 상실배를 각각 BPA(46  $\mu$ g/ml)가 함유된 Ham's F-10(0.4% BSA) 배양액에 24시간 배양시킨 후 각 실험군에서 total RNA를 추출하고 RT-PCR을 이용하여 bcl-2, bad, bax 유전자 발현을 비교하였다. bcl-2 유전자는 1-세포기와 2-세포기 노출군에서 대조군에 비해 낮은 발현을 나타내



**Fig. 3. Amplification of Bcl-2, Bad and Bax transcripts by RT-PCR after *in vitro* exposure of mouse embryos to BPA(46  $\mu$ g/ml) for 24 h.** Amplified patterns of bcl-2, bad and bax cDNA products were analyzed on 2% agarose electrophoresis.  $\beta$ -actin cDNA was amplified to certify the aberration of amplified total RNA. M, Morula; C, Control; B, BPA.

었으나 통계적으로 유의성을 보이지 않았다. Bad 유전자는 대조군과 실험군을 비교했을 때 거의 차이를 보이지 않았다. Bax 유전자는 1-세포기에서는 노출군에서 대조군에 비해 높은 발현을 보였다. 그러나, 2-세포와 상실배에서는 대조군과 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 3).

**고 찰**

내분비계 장애물질은 동물 자신은 물론 후세대의 내분비계를 교란시켜 비정상적인 성생활, 발생과 생식의 기형 및 정자수 감소 등의 불임유발, 성행동, 신경과 면역계의 이상, 암까지 유발하는 것으로 알려지고 있다. 내분비계 장애물질은 체내에 잔류되며 먹이사슬로 축적된다는 의미에서 야생 동물은 물론 인간의 생존을 어렵게 만든다고 판단되고 있다. 그러므로 적극적인 연구와 대책이 마련되어야 한다고 생각

된다(Lee & Yoon, 2001). 내분비계 장애물질의 체내 노출(*in vivo*) 실험 결과 한번의 과량 투여로도 착상전 생쥐 초기 배아에 치명적인 영향을 미침을 알 수 있었다. 특히, 72시간 짜 BPA와 DDT에 노출된 상실배의 높은 비정상 발생률은 이 시기에 치밀화 현상(compaction)이 일어남과 동시에 할구 사이에서 처음으로 간극연결(gap junction)이 이루어지는 시기이므로(Ziomek & Johnson, 1981) 그 영향이 더 크다고 생각한다(Fig. 1). 간극연결은 정상 세포의 성장과 분화를 조절하는 것에 관여하는 것으로 알려져 있다(Bager et al., 1994). Lindenau (1996)는 2~4세포기의 생쥐 배아가 배양 환경의 변화에 가장 민감하므로 발생도중 PCB 등의 영향을 가장 많이 받는다고 하였다(Lindenau & Fischer, 1996). 착상 전 생쥐 초기배아에 대한 체외 노출 실험은 내분비계 장애물질이 발생을 저해하는 독성물질인지의 여부를 짧은 시간 내에 검색할 수 있는 방법이다. 저농도의 DDT에 생쥐배아를 노출시킨 경우 배반포기까지의 발생률이 크게 저하되고 배아 한 개당 평균 세포수도 줄었다는 보고가 있다(Anne et al., 1999). Kholkute 등(1994)에 의하면 배양액 내 Aroclor-1254의 농도가 높아질수록 2-세포기에서 4-세포기로의 발생이 저하되고, 4-세포기 배아에서 배반포기까지의 발생도 현저히 억제되었다고 한다(Kholkute, 1994). 또, Takai 등(2000)에 의하면 낮은 농도의 BPA(13 nM)는 2-세포기 생쥐 배아의 팽윤 배반포기까지의 발생률을 증가시키고, 반면 고농도의 BPA(100  $\mu$ M)는 발생률을 현저히 감소시킨다고 보고하였다. 이러한 보고들은 본 실험의 체외 노출(*in vitro*) 실험 결과와 일치하였다. Alm 등(1996)에 의하면 29  $\mu$ g/ml의 DDT에서 8-세포기의 모든 배아가 퇴화하였고, 14.5  $\mu$ g/ml의 DDT에서는 57.5%가 팽윤 배반포기까지 발생하고, 7.25  $\mu$ g/ml의 DDT에서는 85.9%가 팽윤 배반포기까지 발생하였다. 그러나 본 실험에서 7.5  $\mu$ g/ml의 DDT에서 24시간 배양시킨 결과 대부분의 배아가 발생이 정지되거나 퇴화되는 결과를 보였다(Fig. 2). Kholkute 등(1994)은 PCB(A-1254)는 생쥐의 체외 수정과 초기 배아 발생에 위해한 영향을 미친다고 보고하였다. 이러한 결과는 본 실험의 체외수정 결과와도 일치한다(Table 2).

배아의 초기 발생과정 중 관찰되는 주요한 비정상 발생지표 중 하나가 세포의 할구 파편이다(Juriscova et al., 1998; Exley et al., 1999). 배아의 할구 파편이 일어나는 동안 apoptosis에 관계되는 유전자의 발현이 변화되는데 apoptosis에 관계되는 유전자인 MA-3, P53, bad, bax의 발현은 증가하는 반면, 세포의 생존에 관계하는 유전자인 bcl-2의 발현은 감소한다고 하였다(Exley et al., 1999; Warner et al., 1998). 이를 근거로 본 실험에서 내분비계 장애 물질에 노출시켜 할구 파편

및 퇴화가 일어날 것이 예상되는 배아로부터 RT-PCR을 통하여 세포사에 관련된 유전자의 발현의 변화를 대조군과 비교하고자 하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 내분비계 장애물질에 노출시켰던 배아의 bad의 발현은 대조군과 큰 차이가 없었고, bax는 대조군에 비해 증가하였다. 반면, bcl-2 발현은 대조군에 비해 낮은 경향을 보였다. 또한 bcl-2와 bax의 발현 비율이 세포의 괴사 여부를 결정짓는다고 하였다(Negrini et al., 1987; Oltvai et al., 1993). 본 실험 결과는 apoptosis를 유발하는 유전자가 착상 전 초기배아의 생존 가능 여부를 미리 예측할 수 있는 지표로 사용될 수 있음을 시사한다. 이와 같은 실험 결과에 비추어 볼 때, 내분비계 장애물질은 발생에 치명적인 영향을 주고 세포의 형태뿐만 아니라 mRNA 수준에서도 변화를 일으킨다는 것을 알 수 있었다.

## 인용문헌

- Alm H, Tiemann U, Torner H (1996) Influence of organochlorine pesticides on development of mouse embryos *in vitro*. *Reprod Toxicol* 10:321-326.
- Anne RG, Cory AQ, Richard LB (1999) Developmental alterations in murine embryos exposed *in vitro* to an estrogenic pesticide, o,p- DDT. *Reprod Toxicol* 13:555-565.
- Bager Y, Kenne K, Krutovskikh V, Mesnil M, Traub O, Warngard L (1994) Alteration in expression of gap junction proteins in rat liver after treatment with tumor promoter 3,4,5,3,4-pentachlorobiphenyl. *Carcinogenesis* 15:2439-2443.
- Brotons JA, Olea-Serrano MF, Villalobos M, Pedraza V, Olea N (1995) Xenoestrogen released from lacquer coatings in food cans. *Environ Health Perspect* 103:608-612.
- Colborn T, Dumanoski D, Myers JP (1996) Our stolen future. The Spieler Agency.
- Exley GE, Tang C, McElhinny AS, Warner CM (1999) Expression of caspase and bcl-2 apoptotic family members in mouse preimplantation embryos. *Biol Reprod* 61:231-239.
- Furukawa F, Nishikawa A, Mitsui M, Sato M, Suzuki J, Imazawa T, Takahashi M (1994) A 13-week subchronic toxicity study of bisphenol A in B6C3F1 mice. *Eisei Shikenj Hokoku* 112:89-96.
- Juriscova A, Latham KE, Casper RF, Casper RF, Varmuza SL (1998) Expression and regulation of genes associated with cell death during murine preimplantation embryonic development. *Mol Reprod Dev* 51:243-253.

- Kholkute SD, Rodriguez J, Dukelow WR (1994) Reproductive toxicity of Aroclor-1254: effects on oocyte, spermatozoa, *in vitro* fertilizations and embryo development in the mouse. *Reprod Toxicol* 8:487-493.
- Krishnan AV, Stathis P, Permuth SF, Tokes L, Feldman D (1993) Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology* 132:2279-2286.
- Lee CJ, Yoon YD (2001) Effect of endocrine disrupters on reproductive and development. *Dev Reprod* 4:3-11.
- Lindenau A, Fischer B (1996) Embryotoxicity of polychlorinated biphenyls(PCBs) for preimplantation embryos. *Reprod Toxicol* 10:227-230.
- Negrini M, Silini E, Kozak C, Tsujimoto Y, Croce CM (1987) Molecular analysis of mbcl-2: structure and expression of the murine gene homologous to the human gene involved in follicular lymphoma. *Cell* 49:455-63.
- Nikula H, Talonpoika T, Kaleva M, Toppari J (1999) Inhibition of hCG-stimulated steroidogenesis in cultured mouse Leydig tumor cells by bisphenol A and octylphenols. *Toxicol Appl Pharmacol* 157:166-173.
- Oltvai ZN, Milliman CN, Korsmeyer SJ (1993) Bcl-2 heterodimerizes *in vivo* with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74:609-619.
- Olea N, Pulgar R, Perez P, Olea-Serrano F, Rivas A, Novillo-Fertrell A, Pedraza V, Soto AM, Sonnenschein C (1996) Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environ Health Perspect* 104:298-305.
- Takai Y, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Hiroi H, Osuga Y, Momoeda M, Yano T, Taketani Y (2000) Estrogen receptor-mediated of a xenoestrogen, bisphenol A, on preimplantation mouse embryos. *Biochem Biophys Res Commun* 270:918-921.
- Tsutsui T, Tamura Y, Yagi E, Hasegawa K, Takahashi M, Maizumi N, Yamaguchi F, Barrett JC (1998) Bisphenol- A induces cellular transformation, aneuploidy and DNA adduct formation in cultured Syrian hamster embryo cells. *Int J Cancer* 75:290-294.
- Warner CM, Cao W, Exley GE, McElhinny AS, Alikani M, Cohen J, Scott RT, Brenner CA (1998) Genetic regulation of egg and embryo survival. *Hum Reprod* 13:178-190.
- Ziomek CA, Johnson MH (1981) Cell surface interaction induces polarization of mouse 8-cell blastomeres at compaction. *Cell* 21:935-942.