

Bisphenol A 가 zebrafish의 발달단계에 미치는 영향

여민경
경희대학교 환경응용화학부
(2003년 2월 25일 접수; 2003년 5월 19일 채택)

Effects of bisphenol A on development stage in zebrafish

Min-Kyeong Yeo

Dept. of Environment, Kyunghee University, Youngin 449-701, Korea

(Manuscript received 25 February, 2003; accepted 19 May, 2003)

The effects of bisphenol A on the catalase activities in the development stage of zebrafish were investigated. In this study, the catalase activities for zebrafish fries exposed to bisphenol A of 1×10^{-10} g/l during 1 week, 2 week, and 4 week post-hatching were examined. Also, the changes of organs weight and the catalase activities for adult zebrafishes exposed to bisphenol A during 3 weeks were investigated.

Catalase activities for zebrafish fries exposed to bisphenol A of 1×10^{-10} g/l during 1 week post-hatching were significantly lower, compared to the control. Somewhat, for zebrafish fries exposed to bisphenol A during 4 week post-hatching, catalase activities were significantly increased.

For adult zebrafishes, the effects of bisphenol A were higher for female than male. Specially, catalase activities were significantly increased in the ovary of zebrafishes exposed to bisphenol A during 3 weeks. The ovary weight were increased for zebrafishes exposed to bisphenol A during 3 weeks. Catalase activities were increased in the intestine of female exposed to bisphenol A during 3 weeks. Catalase activities were increased in testis exposed to bisphenol A during 3 weeks but there was no significance.

In conclusion, the damages of an endocrine disrupter were higher in the earlier development stage compared with adult. The damages were higher for female exposed to an endocrine disrupter compared with male.

Key words : Bisphenol A, Endocrine disrupter, Zebrafish, Catalase activity

1. 서 론

내분비 교란물질로 의심받고 있는 물질에는 다이옥신을 포함한 유기염소계 화학물질, 산업용 화학물질 및 제초제 등 광범위한 유해화학물질이 포함되며, 이들이 환경 중에 방출되면 야생생물에 대한 생식기능 장애와 기형 등을 유발하여 생태계에 심각한 위협을 초래하는 것으로 알려져 있다.^{1,2)} 특히, 내분비계 장애물질 중에서 잔류성 유기오염물질에 속하는 것들은 환경 중에서 매우 안정된 상태로 존재하기 때문에 분해가 잘 되지 않고 먹이사슬을 통해 체내에 축적되고 일정량 이상이 축적될 경우 폐해를 발생시키는 것으로 조사되었다. 이에 국가별로

내분비 교란물질의 생산과 이용에 제한을 두고 있지만 유통이나 유독성 물질의 지정기준 등에는 철저한 관리가 이루어지지 못하고 있는 실정이다.³⁾

이러한 내분비 교란물질이 살충제나 화학약품뿐만 아니라 일상 생활 중에 흔히 사용되는 생활용품에서도 용출되어 내분비 교란물질에 지속적으로 노출되고 있다는 우려가 제기되고 있다. 플라스틱 제품의 제조시 사용되는 bisphenol A는 주로 식품이나 음료수캔의 코팅물질에 사용되는 epoxy, polycarbonate와 부식방지 불포화 polyester-styrene resin을 만드는데 사용된다.⁴⁻⁶⁾ Bisphenol A는 에스트로겐과 유사하여 에스트로겐 수용체에 대한 친화도는 17β -estradiol 보다 200배정도 약하나 매우 강력한 항안드로겐성 에스트로겐 유사물질이다.⁷⁾ Bisphenol A에 의한 유해효과를 살펴보면 설치류에서는 bisphenol A에 의한 자궁 무게의 증가,⁸⁾ 프로렉틴의

Corresponding Author : Min-Kyeong Yeo, Dept. of Environment, Kyunghee University, Youngin 449-701, Korea
Phone : +82-31-201-2413
E-mail : bioclass@khu.ac.kr

여민경

분비가 촉진되며,⁹⁾ 수컷 생쥐에서 bisphenol A의 저농도와 고농도에 의해 다향 거대 간세포가 높은 빈도를 나타내었으며, 생식계 이상도 다수 보고되었다. 김과 이¹⁰⁾는 생쥐에서의 bisphenol A 노출은 조혈 세포암과 관련이 있었다고 하였으며, Sax¹¹⁾는 인간에서는 피부를 통한 bisphenol A 흡수가 신장, 비장, 이자, 폐에 심한 손상을 초래하였다고 보고하였다. 이러한 내분비 교란물질이 생식계 이상이나 암형성에 중요한 역할을 한다는 보고가 있으나 관련성에 있어서는 아직까지 논란의 여지가 있다.¹²⁾

생물은 대사과정 중 필수적으로 생성된 산소라디칼에 의해 DNA의 손상을 받는데 이를 방어, 복구하는 항산화시스템을 가지고 있다. 이러한 항산화시스템으로 SOD(Superoxide dismutase), Catalase(CAT, EC 1.11.1.6)와 같은 효소와 베타카로틴, 비타민 E, C와 같은 항산화제가 있다. 이러한 항산화시스템이 미처 제거하지 못한 산소라디칼은 질병과 발암의 원인이 된다.^{13~15)} 그러나 임신과 같은 생리적 변화 시에 CAT의 활성이 태반에서는 증가한 반면, 간에서는 감소¹⁶⁾하는 등 각 기관에 따라 다른 활성도를 보였고, 흰쥐의 경우 수태 직후에는 CAT의 활성이 감소하였다가 수태 5~10일 경과 후에는 활성이 정상치로 증가하는 것으로 조사되었다. 즉 CAT가 항산화효소로서 생체 방어 작용을 담당하지만, 임신과 같은 여성호르몬 분비의 변화시기에는 산소라디칼을 제거하는 항산화효소로서의 기능에 영향을 받는 것으로 나타났다.

Bisphenol A는 다수의 보고에서 여성 호르몬인 에스트로겐과 유사한 효과를 나타내는 것으로 보고되었다.^{8,10)} 이는 임신, 발생 주기이외에도 bisphenol A의 영향에 노출되면 에스트로겐성 효과에 의해 항산화효소인 CAT의 산소라디칼 제거 기능에 장애를 받을 수 있다고 볼 수 있다. 특히 임신, 발생기에 나타나는 호르몬 변화는 발생과정에 영향을 미치게 되는데 바로 이시기에 bisphenol A와 같은 에스트로겐성 물질에 노출되면 호르몬 분비 변화가 비교적 안정한 성체기에 노출되는 것 보다 그 영향이 크다고 하겠다. 이는 bisphenol A와 같은 에스트로겐성 내분비교란물질의 영향이 주로 동물의 발생기와 성장초기에 나타난 다수의 연구와 유사하다.^{17~20)}

Bisphenol A로 인한 에스트로겐 효과에 관해 다수의 연구에서 생식기 이상의 관찰⁸⁾, 난황 전구단백질인 비텔로제닌(vitellogenin)의 측정²¹⁾등 직접적인 호르몬 효과를 주로 다루었다. 그러나 내분비 교란물질의 특성상 장기간 생체 내에 조금씩 축적되어 그 영향이 나타날 때까지 오랜 실험 관찰이 필요하지만, 내분비 교란물질로 의심받고 있는 많은 화학

물질들과 각 물질마다 생체에 미치는 영향을 알아보는 연구는 사태의 심각성에 비추어 볼 때 연구기간이 많이 소요되는 단점을 안고 있다. 또한 수질환경이나 식품 등에서 미량 검출되는 내분비 교란물질의 검출 법으로는 생체에 미치는 영향에 관한 증거자료로 채택되는데 어려움이 있으며 무엇보다 내분비 교란물질에 관한 사전 조치의 차원에서 부적합하다. 따라서 본 연구에서는 이러한 내분비 교란물질의 생체 실험을 단축할 수 있는 방법으로, 척추동물 중 발생과 성장의 주기가 비교적 빠른 zebrafish(*Danio rerio*, wild-type)를 이용하여 특정 시기에 내분비 교란물질에 관한 영향이 나타나는지에 관해 연구하였다. 특히, 내분비계 교란물질중 bisphenol A의 에스트로겐성 효과가 항산화효소인 CAT의 산소라디칼 제거 기능에 미치는 영향을 알아보기 위해 CAT의 활성도를 측정하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험동물

실험동물은 3~5월령의 zebrafish를 수족관에서 구입하여 사육하였다. 60 L의 유리수조에 탄소여과 장치를 거친 물의 환경에서 사육하였으며, 수온은 $28 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 를 유지하였고 광주기는 14시간으로 하였다. Zebrafish의 알의 채취는 채취 전날 특수망을 설치한 알 채취용 수조에 암컷과 수컷 성어를 1:2로 비율로 넣고 다음날 광주기 시작 1~2시간 경과 후 알을 채취하였다. 배(embryo)와 자어, 치어, 그리고 성어는 Westerfield가²²⁾ 제시한 방법에 따라 사육하였다. 배에서 부화한 자어(부화 후 2주까지)는 lansy shrimp 분말(INVE 사)을 물 1 L당 50 g의 비율로 타서 100 micron 규격의 체로 덩어리를 거른 후 1일 5~7회 7~8 ml 씩 주어 사육하였다. 부화후 2주가 경과한 치어는 brine shrimp의 알을 해수에서 $28.5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 온도를 유지하여 하루가 경과한 후 부화된 brine shrimp로 사육하였다. 성어는 blood worm과 brine shrimp를 1일 3회 공급하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 자어와 치어의 실험군 처리

채취한 알을 대조군과 실험군으로 나누어 각기 수조에서 부화시켰다.

실험군의 수조 환경에 사용된 bisphenol A(97%, Sigma-Aldrich Korea)는 메탄올(99%, Merck)에 용해시켜 0.1 M의 stock solution을 만들어 사용하였다. 실험군의 수조환경의 bisphenol A의 농도는 $1 \times 10^{-10} \text{ g/l}$ 로 하였으며, 대조군의 환경엔 실험군의 bisphenol A stock solution에 포함된 메탄올을 감안하여 수조에 메탄올을 처리하였다.²³⁾

Bisphenol A 가 zebrafish의 발달단계에 미치는 영향

대조군과 실험군 모두 부화 후 1주 및 2주 경과된 자어, 그리고 부화후 4주 경과된 치어의 CAT 활성도를 측정하였다.

2.2.2. 성어의 실험군 처리

본 실험실에서 16주 이상 적응 사육된 7~9월령의 zebrafish 암컷과 수컷을 각기 실험군과 대조군으로 임의로 나누었다. 실험군과 대조군의 수조 환경은 자어와 치어의 실험군 처리 조건을 따라 실험군의 수조환경의 bisphenol A 농도는 1×10^{-10} g/l로 하였으며, 대조군의 환경엔 실험군의 bisphenol A stock solution에 포함된 메탄올을 감안하여 수조에 메탄올을 처리하였다. 실험군과 대조군 모두 각기 4주 경과 후 생식기(난소, 정소), 소화기, 혈액과 나머지 조직의 CAT 활성도를 측정하였다.

2.2.3. CAT 활성도 측정

CAT의 활성도 측정은 Goth²⁴⁾의 방법에 따랐다. 자어와 치어의 단계에서는 phosphate buffer (0.1 M, pH 7.3)와 함께 균질화 시킨 후 4°C에서 9,000 g로 5분간 원심분리하여 상층액을 효소원으로 사용하였다. 성어는 차거운 얼음물로 처리하여 희생시킨 후 난소, 정소 및 소화기를 적출하고 phosphate buffer (0.1 M, pH7.3)를 첨가하여 균질화 시킨 후 4°C에서 9,000 g로 5분간 원심분리하여 상층액을 효소원으로 하였다. 각 단계별 효소원은 H₂O₂ 기질과 37°C에서 1분간 반응한 후 32.4 mmol/L의 ammonium molybdate를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 UV-Vis 분광광도계(UV-1601PC, Shimadzu, Japan)를 이용하여 405 nm에서 CAT의 활성도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 부화 후 4주까지의 CAT의 활성도

각 성장단계별 CAT의 활성도는 부화 후 1주일 경과시에는 대조군에 비해 1×10^{-10} g/l의 bisphenol A로 처리한 군은 0.75 kU/L에서 0.57 kU/L로 24% 정도 감소하는 경향을 보였다(P<0.001). 이러한 항산화 효소의 활성 감소는 bisphenol A에 의한 치명

적인 영향이 나타난 것으로 보여진다(Table 1). 이는 세포가 발생을 거듭해야하는 성장 초기에는 DNA분열이 활발한 세포 성장기로 주로 성장에 치중한 나머지 내분비 교란물질과 같은 외부 위험 요인에 대처하는 방어계가 아직 그 역할을 충분히 하지 못하는 결과로 생각된다.

그러나 치어의 단계인 부화 4주 경과 시에는 대조군의 CAT 활성도가 0.89 ± 0.01 kU/L로 나타난데 비해 bisphenol A 처리한 군에서 17.19 ± 0.57 kU/L로 항산화 효소 활성도가 1831% 증가하였다(Table 1).

부화 4주 경과시에는 자어에서 치어의 단계로 안정된 성장기로 들어섬에 따라 세포는 성장뿐 아니라 내분비교란물질의 작용으로 세포 내 형성된 free radical을 제거하는 자체 방어계인 항산화 효소계의 작용이 활발하게 진행되고 있음을 항산화 효소인 CAT의 활성도 증가로 알 수 있었다.

따라서 주로 내분비 교란물질의 피해는 세포가 성장과 분열에 치중하는 발생 단계와 성장 초기 단계에서 나타난다²⁵⁾는 결론과 같았다. 또한 내분비 교란물질의 작용에 관한 연구중에서 인간의 대표적인 사례로 꼽히는 DES가 임신의 특정 단계에서만 영향을 미치며 그 단계가 태아의 세포분열이 주로 일어나는 초기단계였다는 IARC¹⁷⁾의 보고와 유사한 결과를 나타내었다.

3.2. 성어의 CAT의 활성도와 장기별 무게 변화

본 연구에서 성어기부터 1×10^{-10} g/l의 bisphenol A로 3주간 처리한 환경에서 사육된 경우에서 암컷은 대조군 암컷에 비해 난소의 CAT 활성도가 110.16 ± 31.64 kU/L로 유의성 있게 증가하였으며 (P<0.001), 소화기인 장의 경우도 45.70 ± 22.85 kU/L로 대조군의 29.30 ± 31.05 kU/L 보다 CAT 활성도의 증가를 보였으나 난소의 CAT활성도의 증가에 비해 낮은 유의성을 보였다(P<0.1). 수컷의 경우 bisphenol A 처리군의 정소가 대조군에 비해 효소의 활성도가 증가하였지만 유의성은 나타나지 않았으며, 소화기인 장의 경우도 거의 차이가 없었다 (Table 2).

Table 1. Catalase activities for zebrafish fries exposed to bisphenol A(1×10^{-10} g/l). The numbers of zebrafish fries are shown in parenthesis. Values are given as mean \pm SD

Group	Post-hatching	Catalase activity (kU/L)		
		1 week	2 week	4 week
Control		0.75 ± 0.01 (25)	1.27 ± 0.37 (25)	0.89 ± 0.01 (25)
Bisphenol A (1×10^{-10} g/l)		0.57 ± 0.06 (25)*	1.28 ± 0.32 (25)	17.19 ± 0.57 (25)*

*P<0.001 control versus bisphenol-A-exposed group

여민경

Table 2. Catalase activities for zebrafish adults exposed to bisphenol A(1×10^{-10} g/l). The numbers of zebrafish are shown in parenthesis. Values are given as mean \pm SD

	Catalase activity (kU/L)			
	Female		Male	
Ovary	Intestine	Testis	Intestine	
Control	64.45 \pm 52.73(13)	29.30 \pm 31.05	27.54 \pm 21.68	28.13 \pm 14.65
Bisphenol A (1×10^{-10} g/l)	110.16 \pm 31.64(24)**	45.70 \pm 22.85*	34.57 \pm 18.16	29.30 \pm 8.79

*P<0.1 control versus bisphenol-A-exposed group, **P<0.001

Table 3. The wet weight of organs of zebrafish adults exposed to bisphenol A(1×10^{-10} g/l). The numbers of zebrafish are shown in parenthesis. Values are given as mean \pm SD

	Female				Male			
	Ovary, g	Intestine, g	Testis, g	Intestine, g	Ovary, g	Intestine, g	Testis, g	Intestine, g
Control	1.15 \pm 0.14(13)	1.09 \pm 0.07(13)	1.03 \pm 0.04(14)	1.07 \pm 0.05(14)				
Bisphenol A (1×10^{-10} g/l)	1.21 \pm 0.16(24)	1.08 \pm 0.06(24)	1.03 \pm 0.03(14)	1.05 \pm 0.01(14)*				

*P<0.1 control versus bisphenol-A-exposed group

이는 에스트로겐 유사물질인 bisphenol A에 처리된 zebrafish의 성어에서 대조군에 비해 항산화 효소인 CAT의 활성도가 높게 나타나 상대적으로 자거나 치어에 비해 성장을 위한 세포 분열이 적은 성체의 세포가 내분비 교란물질에 대한 생체 방어작용으로 항산화 효소계가 활발히 작용하여 free radical을 제거시키는 것으로 추정되었다.^{13~15)}

이러한 결과는 내분비 교란물질에 의한 영향이 성체보다는 발생과 성장기의 어린 개체에 심각한 영향이 나타난다는 악어의 사례에서 보고된 바와 유사하며,¹⁾ 인간의 사례인 DES의 경우에도 예외가 아니었다. DES를 복용한 산모에게는 별다른 영향을 나타내지 않은 것으로 조사되었지만 임신 중에 합성 에스트로겐인 DES를 복용한 산모에게서 태어난 아들과 딸에서 심각한 이상이 나타난 결과¹⁷⁾도 발달의 특정시기엔 생체 방어시스템이 제 역할을 못하다가 발달과 분열이 느린 성체에선 생체방어시스템이 활발하게 작동된 결과로 생각된다.

3.3. 성어의 장기별 무게 변화

Bisphenol A를 3주간 처리한 성어의 암컷과 수컷에서 각 장기별 무게의 비교는 Table 3에 나타난 바와 같다. Bisphenol A 처리군에서 난소의 무게가 대조군(1.15 ± 0.14 g) 보다 1.21 ± 0.16 g으로 증가하였지만 유의성은 없었다. 암컷의 경우 소화기인 장의 무게는 거의 차이가 없었고, 수컷의 경우 정소의 무게에 차이가 나타나지 않은 반면, 장의 무게는 대조군에서 1.07 ± 0.05 g로 측정된데 비해 bisphenol A 처리군에서 1.05 ± 0.01 g으로 유의성 있는 감소를

보였다($P<0.1$). 이는 내분비 교란물질인 bisphenol A의 주요 영향이 암컷의 생식기관에 집중되는 것을 보여준 다른 보고들과 같다.^{8,25)} 또한 소화기인 장에서의 CAT 활성도 측정도 bisphenol A 처리된 경우, 수컷보다는 암컷에서 CAT 활성이 증가하는 결과를 보여 에스트로겐성 유사물질인 bisphenol A가 암컷에 미치는 영향이 큰 것으로 나타났다.

4. 결 론

Bisphenol A가 zebrafish의 발달 단계에 미치는 영향을 알아보기 위하여 1×10^{-10} g/l의 bisphenol A로 처리 조건에서 부화시켜 발달 초기 단계인 1주, 2주 및 4주 경과시의 CAT 활성도를 측정하였다. 또한 zebrafish 성어를 3주간 bisphenol A에 노출시킨 후 각 장기별 CAT의 활성도와 무게 변화를 측정하였으며, 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

- 1) 발달 초기인 부화 1주 경과 시에는 대조군의 CAT 활성도가 0.75 ± 0.01 kU/L인 반면 bisphenol A 처리군의 CAT 활성이 0.57 ± 0.06 kU/L로 유의성 있게 감소하였다($P<0.001$).
- 2) 부화 후 4주 경과 시에는 대조군의 CAT 활성도가 0.89 ± 0.01 kU/L로 나타난데 비해 bisphenol A 처리한 군에서 17.19 ± 0.57 kU/L로 유의성 있는 항산화 효소 활성도가 1831% 증가를 보였다
- 3) 성체의 경우 수컷보다는 암컷에서 내분비 교란물질의 영향이 크게 나타났다. 특히, 내분비계 교란물질인 bisphenol A에 3주간 노출된 암컷에서 대조군 암컷에 비해 난소의 CAT 활성도가 110.16

Bisphenol A 가 zebrafish의 발달단계에 미치는 영향

± 31.64 kU/L로 유의성 있게 증가하였으며($P < 0.001$), 난소의 무게 증가가 나타났다. 또한 암컷에서 소화기인 장의 경우도 45.70 ± 22.85 kU/L로 대조군의 29.30 ± 31.05 보다 CAT 활성도의 증가를 보였으나 난소의 CAT활성도의 증가에 비해 낮은 유의성을 보였다($P < 0.1$). 이에 비해 수컷의 경우는 bisphenol A 처리군의 정소가 대조군에 비해 효소의 활성도가 증가하였지만 유의성은 나타나지 않았으며, 소화기인 장의 경우도 거의 차이가 없었다. 또한 같은 조건의 내분비 교란물질에 노출이 되어도 그 영향이 크게 나타나는 시기와 장기가 다르며, 특히 성별에 따른 차이가 나타났다.

감사의 글

본 연구를 위한 실험기기 사용을 허락해 주신 차영일 교수님께 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 1) 권복규, 1997, 도둑 맞은 미래, 서울, 사이언스북스, 15-25pp.
- 2) Guillette, L., T. Gross, D. Gross, A. Rooney and H. Percival, 1995, Gonadal steroidogenesis in vitro from juvenile alligators obtained from contaminated or control lakes, Environmental Health Perspectives, 103(4), 31-36.
- 3) 여민경, 2002, 환경호르몬의 영향과 규제방안에 관한 연구, 한국형사정책연구원, 141-143pp.
- 4) NIOSH, 1985, 4, 4'-Isopropylidenediphenol, NIOSH registry of toxic effects of chemical substances, Washington D. C., NIOSH, 4, 3263.
- 5) Colborn, T., F. S. Von Saal and A. M. Soto, 1993, Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans, Environ. Health Perspect, 101, 378-384.
- 6) Krishnan, A., P. Stathis, S. Permuth, L. Tokes and Feldman, 1993, Bisphenol-A, an estrogenic substances is released from polycarbonate flasks during autoclaving, Endocrinology, 132(8), 2279-2286.
- 7) Routledge, E. J. and J. P. Sumpter, 1996, Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen, Environ. Toxicol. Chem., 15, 241-248.
- 8) Bond, G. P., P. M. McGinnis, K. I. Cheever, S. J. Harris, H. B. Platnick and R. W. Neimeier, 1980, Reproductive effects of bisphenol A, 19th Annual Meeting of the Society of Toxicology, Washington D. C., 294pp.
- 9) Steinmetz, R., N. G. Brown, D. L. Allen, R. M. Bigsby and N. Benjonathan, 1997, The environmental estrogen bisphenol a stimulates prolactin release in vitro and in vivo, Endocrinology, 138, 1780-1786.
- 10) 김정미, 조인호, 2000, 환경호르몬에 의한 생화학적, 분자생물학적 효과, 대한내분비학회지, 15 (2), 150-157.
- 11) Sax, N. I., 1975, Toxicology of phenols, In Dangerous properties of industrial chemicals, New York, A Wiley Company, 458-1008pp.
- 12) Safe, S. H., 1995, Environmental and dietary estrogens and human health. Is there a problem?, Environ. Health Perspect, 103, 346-351.
- 13) Guengerich, F., W. Johnson, Y. Ueng, H. Yamazaki and T. Shimada, 1996, Involvement of cytochrome P450, glutathione S-transferase and epoxide hydrolase in the metabolism of aflatoxin B1 and relevance to risk of human liver cancer, Environmental Health Perspectives, 104(3), 557-562.
- 14) Kanke, Y., Y. Itoi, M. Iwasaki, Y. Iwase, M. Iwama, M. Kimira, T. Takahashi, S. Tsugane, S. Watanabe and M. Akabane, 1996, Effects of human diets of two different Japanese populations on cancer incidence in rat hepatic drug-metabolizing and antioxidant enzyme systems, Nutrition & Cancer 26(1), 63-71.
- 15) Mace, K., F. Gonzalez, I. McConnell, R. Garner, O. Avanti, C. Harris and A. Pfeifer, 1994, Activation of promutagens in a human bronchial epithelial cell line stably expressing human cytochrome P450 1 A2, Molecular Carcinogenesis, 11(2), 65-73.
- 16) 송용범, 변광의, 장성근, 1994, 수태중인 흰쥐의 항산화 효소 활성에 관한 연구, 27(2), 161-164.
- 17) IARC, 1979, Sex Hormones, IARC Monogr. Eval. Carcinogen Risk Chem. Hum., 21, 173-221.
- 18) Carlsen, E., A. Giwerman, N. Keiding and N. Skakkebaek, 1992, Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years, British Medical Journal, 305, 609-613.

여 민 경

- 19) Marselos, M. and L. Tomatis, 1992, Diethylstilbestrol I pharmacology, toxicology and carcinogenicity in human, *Eur. J. Cancer*, 28, 1182-1189.
- 20) Marselos, M. and L. Tomatis, 1992, Diethylstilbestrol II pharmacology, toxicology and carcinogenicity in experimental animals, *Eur. J. Cancer*, 29, 149-155.
- 21) Ryu, B. H., 1999, Vitellogenin as a biomarker of endocrine disruptor in the aquatic environment, *J. of Food Hygiene and Safety*, 14 (4), 408-414.
- 22) Westerfield, M., 1995, *Westerfield the zebrafish book: a guide for the laboratory use of zebrafish*, Oregon, University of Oregon Press, 23-30pp.
- 23) Yeo, M. K., 2002, Effects of environmental chemicals on development stage in zebrafish, *The 3rd International Symposium Environmental Issue in Korea and Japan*, Kyunggido, 131-136pp.
- 24) Goth, L., 1991, A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range, *Clin. Chim. Acta.*, 196, 143-152.
- 25) Williams, B. A., K. T. Mills, C. D. Bruuoughs and H. A. Bem, 1989, Reproductive alterations in female C57BL/Drgl mice exposed neonatally to zearalonone, an estrogenic mycotoxin, *Cancer Lett.*, 46, 225-230.