

Synthetic Maternal Stress Hormone Can Modulate the Expression of Hox Genes

Sook Jin Yu, Ji-Yeon Lee, Sang Hoon Kim, Custer C. Deocaris and Myoung Hee Kim[†]

Department of Anatomy, Embryology Lab., Brain Korea 21 Project for Medical Science,
Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, Korea

All living things have been developed efficient strategies to cope with external and internal environmental changes via a process termed 'homeostasis'. However, chronic prenatal maternal stress may significantly contribute to pregnancy complications by disturbing hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and the autonomic nervous system (ANS), and results in unfavorable development of the fetus. Dysregulation of these two major stress response systems lead to the increased secretion of the glucocorticoids (GCs) which are known to be essential for normal development and the maturation of the central nervous system. As *Hox* genes are master key regulators of the embryonic morphogenesis and cell differentiation, we aimed to determine the effects of dexamethasone, a potent synthetic glucocorticoid, on gene expression in mesenchymal stem cell C3H10T1/2. Analysis of 39 *Hox* genes based on reverse transcription PCR (RT-PCR) method revealed that the expression patterns of *Hox* genes were overall upregulated by long dexamethasone treatment. These results indicate that maternal stress may have a deleterious effect on early developing embryo through the stress hormone, glucocorticoid.

Key Words: Hox genes, Maternal stress, Stress hormone, Corticosteroid, Glucocorticoid, Dexamethasone, Embryogenesis

임산부는 심리적, 육체적으로 많은 변화를 경험하면서 많은 스트레스적 요인에 노출된다. 인간은 스트레스에 노출되면 스스로 이를 방어할 수 있는 능력을 가지고 있는데, 이것은 부신피질에서 분비되는 glucocorticoid 호르몬 (corticosteroid)을 비롯한 선천적 유지능력 덕분이다. 부신을 제거하거나 기능이 나쁜 경우 작은 스트레스에도 생명의 위협을 느끼게 되며, 이를 방지하기 위하여 합성 glucocorticoid인 Dexamethasone (Dex)을 처방한다 (Choi, 2003). 뿐만 아니라 Dexamethasone은 다양한 치료제로 널리 이용되고 있는데 예를 들어 류마티스 관절염 (rheumatoid arthritis)이나 전신홍반성 루푸스 (lupus erythematosus)와 같은 염증 질환 (Lian et al., 1997)이나 천식 등의 치료에 사용이 되며 면역억제제로서의 효능이 있다고 알려져 있다. 한편 유럽과 북미지역에서는 태아의 호흡기 질환을 예방하기 위해 임산부들이 빈번히

섭취하고 있다고도 알려져 있다. 합성 glucocorticoid인 Dexamethasone은 신체 성장 및 뼈 형성에 관여한다고 보고되어 있으며 (Chen & Feldman, 1979; Wong et al., 1990; Klaus et al., 2000), 특히 뼈의 발생과정 중 골화작용을 연구하는 데에 널리 이용되고 있다.

발생단계의 중간엽 세포에 Dexamethasone을 처리하면 osteoblast로 분화하는데 (Bellows et al., 1990), 특히 돼지의 bone marrow stromal cell (BMSc) 배양시, Dexamethasone을 처리하면 mineralized bone matrix 축적이 유도되고 특히 osteocalcin과 같은 bone-related marker gene을 upregulation 한다는 보고가 있다 (Carlson et al., 1993; Ringe et al., 2002). 또 쥐에서도 marrow stromal cell 배양시 Dexamethasone을 처리하면 osteoblast mRNAs들이 유도된다는 보고가 있으며 (Leboy et al., 1991), 따라서 최근 들어서는 골수간엽줄기세포를 골 유사세포로 유도 분화시킬 때 골형성유도제로서 Dexamethasone, ascorbic acid, beta-glycerophosphate 등이 배지에 첨가된 골형성배지에도 활용이 되고 있다 (Jaiswal et al., 1997; Pittenger et al., 1999).

그러나 이런 여러 치료제 및 뼈 발생 조절 유도제로 널리 쓰이고 있는 Dexamethasone은 조골세포의 분화

*접수일: 2009년 8월 27일 / 수정일: 2009년 9월 1일

채택일: 2009년 9월 4일

[†]교신저자: 김명희, (우) 120-752 서울특별시 서대문구 신촌동 134, 연세대학교 의과대학 해부학교실

Tel: +82-2-2228-1647, Fax: +82-2-365-0700

e-mail: mhkim1@yuhs.ac

(osteoblastic differentiation)와 기질 골화 (matrix mineralization)에 언제나 긍정적인 영향을 주는 것은 아니다. 농도와 처리 시간에 따라 또 세포의 성숙도에 따라 부정적인 영향도 주는 것으로 알려져 있다 (Leboy et al., 1991; Smith et al., 2000).

Dexamethasone의 부정적 영향은 위에서 언급한 질환 등의 치료용으로 장기 투여할 경우 생리학적 수치보다 고농도의 glucocorticoid에 노출되게 됨으로서 조골세포 (osteoblast)의 기능이 억제되거나, 조골세포 수가 감소하여 골다공증이 된다 (Dempster et al., 1997; Hughes & Boyce, 1997). 또 glucocorticoid가 중추신경계의 발달에 주요한 물질로 알려져 있는데 (Matthews, 2001), 모체가 스트레스를 많이 받아 고농도의 glucocorticoid에 장기간 노출되면 해마의 추체 신경세포가 쇠퇴하며, 수상돌기가 위축되는 등 신경 독성이 나타나고 (Sapolsky, 1996a; Sapolsky, 1996b; Magariños & McEwen, 1995) 태아 중추신경계의 시상하부-뇌하수체-부신 축 (hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA 축)의 기능적 변이가 일어나 태어난 후 성인이 되어도 정상인과 다르게 호르몬의 조절이 용이하지 않고 성장력이 떨어진다고 보고되고 있다 (Koehl et al., 1999). 최근 glucocorticoid의 태반내 장벽인 제 2형 11-beta-HSD (11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2)에 대한 inhibitor를 처리하거나 이 유전자가 결손된 knock-out mice에서 태아의 크기가 감소할 뿐만 아니라 태어난 자손이 hypertension, hyperglycemia, anxiety behavior를 갖도록 프로그래밍 된다는 보고로 볼 때 임신 중 glucocorticoid와 모체의 스트레스가 태아의 비정상 프로그래밍에 직접적으로 관여한다는 것을 알 수 있다 (Benediktsson et al., 1993; Matthews, 2000; Murphy et al., 2002; Holmes et al., 2006).

DNA 결합 단백질을 암호화하는 Hox 유전자들은 발생 초기 세포의 운명에 결정적 영향력을 행사하며 동물의 형태를 형성하는데 관여하는 것으로 알려져 있으며, 동물의 전후축 (anteroposterior axis, AP axis)을 따라 배아 발생을 프로그래밍한다 (Krumlauf, 1994). 발생과정 중 Hox 유전자의 발현에 이상이 생기면 몸의 일부가 다른 부위의 형태로 바뀌는 호메오틱변이가 일어난다는 것은 잘 알려져 있으나 임신 중, 즉 발생과정 중 모체의 스트레스가 태아의 형태형성에 미치는 영향에 대한 연구는 아직까지 시도된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 스트레스 model로 세포에 dexamethasone을 처리한 다음, 4개의 Hox cluster에 존재하고 있는 모든 Hox 유전자 (총

39개) 발현 양상의 총체적 분석을 시도하였다.

우선 생쥐의 mesenchymal cell line인 C3H10T1/2 (ATCC, USA) 세포주를 fetal bovine serum (FBS) 10%와 60 µg/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin을 포함하고 있는 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 배지로 37°C, 5% CO₂ 환경의 인큐베이터에서 배양하였다. Dexamethasone은 Sigma사로부터 구입하여 ethanol에 10 mM 용액으로 조제하였고 3 µM의 농도로 세포에 처리하여 각각 0시간, 12시간, 48시간 후에 세포를 회수하였다. 그 다음 RNA-Bee™ kit (TEL-TEST, Japan)을 이용하여 total RNA를 분리하였고, Promega사의 ImProm-2 reverse transcriptase를 이용하여 cDNA를 합성하였다. PCR 반응은 Hox 유전자의 경우 (각각의 primer는 Table 1에 열거하였음) 94°C에서 2분 후 94°C에서 40초, 58°C에서 30초, 72°C에서 1분으로 35~38 cycle 진행하였으며 control β-actin의 경우 동일 조건에서 28 cycle 반응시켰다. 또 각 Hox 유전자의 상대적인 발현 양은 agarose gel상의 band intensity를 Multi Gauge V3.0 (Fuji) software를 이용하여 정량하여 분석하였다.

Fig. 1을 보면 일반적으로 Dex를 처리하지 않은 정상 상태에서는 4개의 Hox cluster 중 HoxA 유전자들이 가장 많이 발현하였으며 HoxB, -C, -D cluster에 속한 유전자들은 몇몇 개를 제외하고는 거의 발현하지 않았다. 흥미롭게도 제 2 아가미궁에서 연골형성을 제한하여 뼈 발달을 억제하는 것으로 알려진 Hoxa2 gene (Kanzler et al., 1998)의 발현은 약하게나마 Dex의 노출에 의해 억제되고 있는 것을 볼 수 있었다. 또 뼈 형성 (bone formation) 시 필수 전사 인자 (Mikami et al., 2007)로 알려진 Runx2 유전자가 Hoxa10이 없을 경우 초기 뼈세포 형성력이 떨어진다고 알려져 있는데 (Hassan et al., 2009), 본 실험에서 Hoxa10은 Dex 처리에 따라 약간의 증가가 관찰되었다. 이것은 Mikami 등 (2007)이 보고한 성숙 조골세포에서 Dex가 osteocalcin (OCN)이나 osteopontin (OPN) 같은 osteoblastic 마커 유전자 발현과 골화 즉, mineralization을 유도한다는 보고와도 부합한다.

전반적인 Hox 유전자의 발현은 세포가 Dexamethasone에 노출된 시간이 길어질수록 점진적으로 발현이 증가하였으며, 48시간 배양한 세포에서의 Hox 유전자 발현은 Dex를 처리하지 않은 0시간이나 12시간 처리한 세포보다 현격히 유전자의 발현이 증가했음을 알 수 있었다. 특히 HoxB, -C, 그리고 -D cluster에 위치하는 유전자들의 경우 0, 12 시간에서는 발현하지 않거나 미미하게 발현하던 것들이 거의 대부분 48시간 Dex 존재 하에서는 발현

Table 1. Primers for RT-PCR analysis of HOX expression

Hox	Accession no.	Sequence (5' → 3')	Tm (°C)	Product size (bp)
A1	NM_010449	F-TTCCTTTCTCGTCCCATCTG	60.19	207
		R-ACTGTTCTCCAGCCGACATC	60.27	
A2	NM_010451	F-GCTGGCCTAAACAATGACAG	58.38	257
		R-CAAAGGCGTTTTGTTTGTG	59.25	
A3	NM_010452	F-ATGGGACCCACACTTACAG	59.7	278
		R-CTGGGCCCATCATCACAG	61.11	
A4	NM_008265	F-CTCCTGCTCCTGTCTCATC	59.94	293
		R-GGCCTGCTTCTTCTGCATAC	59.98	
A5	NM_010453	F-AAAAACTCCCTGGGCAACTC	60.48	224
		R-GGGCCACCTATATTGTCTGTG	60.21	
A6	NM_010454	F-CTCACCTCGGGCAATAAC	60.47	252
		R-TCCTTCTCAAGTCCAGTGTC	59.59	
A7	NM_010455	F-CACTGAGCGCCAGATCAAG	60.72	240
		R-TTAAAGACGCTTTTCCAAGTGTG	59.82	
A9	NM_010456	F-AGAACCGCAGGATGAAAATG	60.07	202
		R-ACTGCCAGTGGGAGATG	59.61	
A10	NM_008263	F-CTGGGGGAAAAAGCCATATC	60.63	217
		R-ATTGACCTCAGGCCAGACAC	60.12	
A11	NM_010450	F-CTCCTAGCAGCCACCTTCTG	60.15	227
		R-TGCCTGACAGACACCAAATC	59.68	
A13	NM_008264	F-CCACCTCTGGAAGTCCACTC	59.68	216
		R-TGGAACCAGATTGTGACCTG	59.52	
B1	NM_008266.4	F-TGGGGATCCTACAGGTCTTG R-TCACACTCAAACGCATCCTC	59.92 59.84	249
B2	NM_134032.2	F-GAGCCCCTACCCGAAGAC R-AAGGAGGACCAGACGGAAAG	59.61 60.62	249
B3	NM_010458.2	F-TCCCACTCCCTCCACTTTC R-GAGCGAAGCTGGACTTTCTG	60.03 60.28	235
B4	NM_010459.5	F-GACTGCTCACTCCCTCCAC R-ATTCCCAGCTCCCAGAACTC	59.84 60.6	214
B5	NM_008268.1	F-GGAAGGGTCAAAGTGTGGAC R-TTGGCCTGACCCAGACTATC	59.4 60.07	214
B6	NM_008269.1	F-ATGCTCATGTCCTTGTGAG R-ATTTACGTCCGGAGCTAAG	58.83 59.34	258
B7	NM_010460.2	F-TGTGCCTCCCCTTTTCTATG R-CAGCCAAAATGCACCAGAC	60.07 60.26	211
B8	NM_010461.2	F-TAAGCAAGGACTCCCTCGTC R-AGTGAGCGGGAGACAGAAAAG	59.43 59.6	213
B9	NM_008270.2	F-ACAGTGCTGTTTCCCCATTC R-CCTTCTCTATGGTGGGGTTG	59.97 59.4	217
B13	NM_008267.3	F-AGGGGAAGAGGGCTTGTC R-TTATCACCACGGTCCAGATG	59.18 59.37	220
C4	NM_013553	F-GACTCCCCAACACCAAAGTG R-GACAAGGGAGGAGGCAAGAG	60.4 61.3	286
C5	NM_175730	F-CATGCCTGTTTGTGTCTATC R-CATTGTGGAAGGCTGGAGAG	60.27 60.79	206

Table 1. Continued

Hox	Accession no.	Sequence (5' → 3')	Tm (°C)	Product size (bp)
C6	NM_010465	F-CCTTGCACCCCTCTCTTCTC	61.3	214
		R-CAGACAAGCCAGGAAGAAGC	60.13	
C8	NM_010466	F-CGTCCAAGACTTCTTCCACCACGGC	67.0	449
		R-CACTTCATCCTTCGATTCTGGAACC	60.6	
C9	NM_008272	F-CGACCTGGACCCTAGCAAC	60.66	218
		R-TCATCTTCATCCTCCGGTTC	60.01	
C10	NM_010462	F-CAAGGGACCTATGGTTCGTG	60.37	285
		R-GAAATGCAGCAAGGAAGGAG	59.96	
C11	NM_001024842	F-CGAGGAGGAGAACACGAATC	59.8	222
		R-TGTCGGTCTGTCAGGTTTCAG	59.86	
C12	NM_010463	F-GAATCCGACTCCAGTTCGTC	59.66	204
		R-CAGAAACTCGCCCTCCAG	59.49	
C13	NM_010464	F-GTCCCATTCCACCCCTAATC	60.01	227
		R-GCACAGGAAGAGGCAAGAAC	59.99	
D1	NM_010467.2	F-AGTGGCAGGCCTTCTTAGTC	58.55	214
D3	NM_010468.2	R-GGCACACGAAGAGGTAGGAG	59.87	234
		F-TTAATCGCACACATCTGCAAG	59.89	
D4	NM_010469.2	R-TGCTCTGGCAAATCCTATTG	60.22	214
		F-AAGGTAAGTGTGGGGGTGGAC	61.06	
D8	NM_008276.2	R-TTGCAAATTCATCCACCAG	59.52	225
		F-TGGAAACGGACTTTACCTGTG	60.02	
D9	NM_013555.3	R-ATGTTGTTGAGGCAAACCAC	58.47	220
		F-GGGGGACACTGTATTTGCTC	59.41	
D10	NM_013554.3	R-CTGTTTGGGAGGCTGGATAG	59.69	228
		F-TGTGGTTAGCCCATGAACTC	58.57	
D11	NM_008273.1	R-GCACCACAAGGAAAGGCTAC	59.74	258
		F-TCCAACCAGCTGTGAGTTTG	59.87	
D12	NM_008274.2	R-TTTGTCATCGCTCTCCACAC	59.84	219
		F-AAAGCTTTTAAGGCCCAAG	59.73	
D13	NM_008275.2	R-AATCATGAGCCTTTGGGATG	59.89	223
		F-CATGGGTGGAACTTCTGTC	60.36	
		R-AAGCACTGCTCACACACTG	60.15	

이 되었다. HoxA cluster에 위치하는 유전자에서도 역시 48시간 Dex 처리시 발현이 유지되거나 증가되는 경향을 보이는 것으로 볼 때 오랜 시간 Dex에 노출되면 대부분의 Hox가 발현한다는 것을 알 수 있었다.

이 발견은 매우 흥미로운 것으로 모체가 장시간 스트레스에 노출되면 배자의 정확한 시·공간에서 발현되어 정확하게 배자의 형태를 만들어야 할 Hox 유전자들이 거의 모두 upregulation되어 발현할 수도 있다는 것을 의미한다. 이런 Hox의 mal-expression이 태아의 발달에 매우 치명적인 영향을 주고, 한 두 Hox가 아닌 대부분의 Hox가 발현되어 회박하기는 하나 더 나아가 homeotic

transformation을 유도할 수 있을 것임을 의미한다.

지금까지는 스트레스에 의해 CNS 즉, 뇌를 포함하여 중추신경계의 발달과 태어난 후 어른이 된 후의 행동특성에 영향을 미친다는 보고는 있었으나 (Benediktsson et al., 1993) 배아의 형태를 만드는데 직접적으로 관여하는 Hox 유전자의 발현을 이렇게 총체적으로 upregulation한다는 보고는 없었다. 장시간의 stress가 한 두 개의 Hox 유전자 발현 조절이 아니라 거의 대부분의 유전자를 upregulation한다는 점은 태아의 형태발생이 거의 일어나지 못하게 하는 치명적인 상황일 것이다. 이 점은 stress를 받으면 임신이 잘 안 되는 사실에 대한 약간의 설명

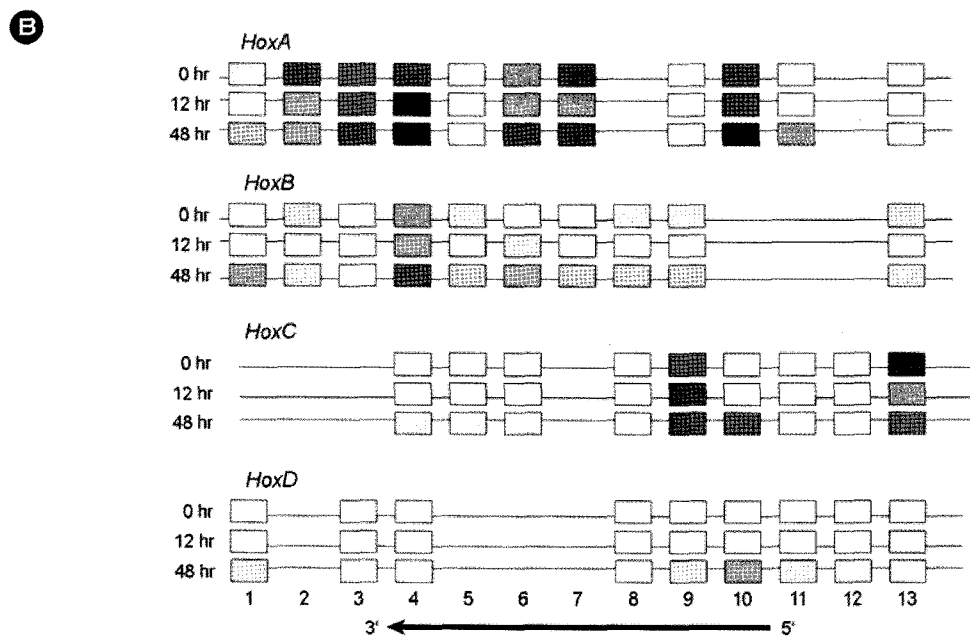
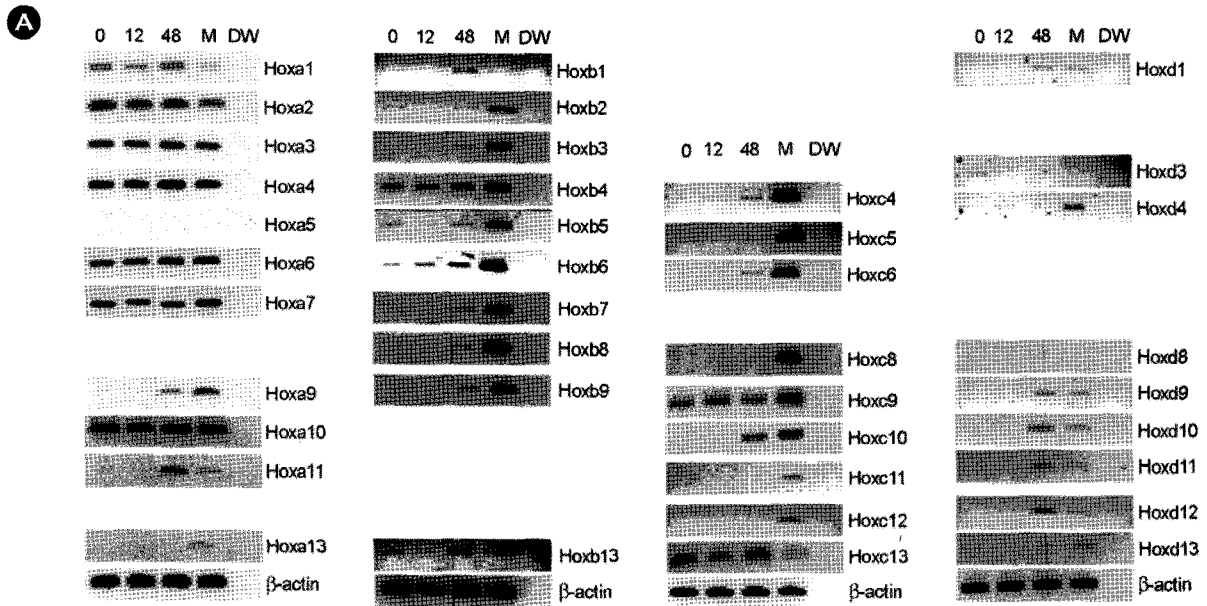


Fig. 1. Expression patterns of HOX genes modulated by Dexamethasone (Dex). **(A)** Total RNAs were extracted from the C3H10T1/2 cells incubated in the presence of Dex, and then RT-PCR was performed with Hox primers (see Table 1). The numbers, 0, 12 and 48, written on the top row indicate the exposed time in hours. As controls, mRNAs isolated from MEF, mouse embryonic fibroblast prepared from embryo of day 13.5 post coitum (M), and distilled water (DW) containing no mRNA template were used as a positive and a negative control. **(B)** Schematic quantitative representation of Hox expression following Dex incubation (for 0, 12, 48 hr). The relative expression levels of Hox genes determined by Multi Gauge (FUJI Film, Tokyo, Japan) were represented as black shade. Black color means the highest expression. All the expression values were first normalized to that of beta-actin. Each box indicates individual Hox gene located along the 4 different Hox cluster (HoxA, Hox B, HoxC, and HoxD). At the bottom, Hox paralogous group and the expression direction of Hox genes are indicated as number (1~13) and an arrow along with the 5' to 3' polarity, respectively.

이 될 수도 있을 것으로 생각된다. 생쥐의 결과에 미루어보면, 사람의 경우 임신 초기 약 3~4주에 장배형성 (gastrulation)이 활발히 일어나며 Hox 유전자의 발현 또

한 활발할 것으로 기대되는데, 이때 배자의 전후축 (AP axis)을 따라 정확한 시기에 정확한 위치에서 특정 Hox 유전자가 발현되어야 한다. 그러나 모체가 스트레스를 받

으면 체내 glucocorticoid의 양이 증가하고 이것이 배아로 전달되어 배아의 전후축을 따라 시공간적으로 differential 하게 발현해야 할 Hox 유전자들이 거의 모두 발현할 것으로 예상할 수 있다. 이런 상황은 배자의 발달을 중지시켜 낙태에 이르게 할 수도 있을 것이다. 엄밀히 말하면 불임과 낙태는 다른 의미이나 임신 초기 장애형성 기에 낙태가 되면 임신부는 자신의 임신여부를 알기도 전에 낙태가 된 것이므로 불임으로 간주하게 될 것이다.

지금까지 본 연구에서는 세포가 장시간 dexamethasone에 노출되면 배자의 형태형성에 관여하는 대부분의 Hox 유전자에 발현 이상이 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과는 임신 중 스트레스로 인해 야기되는 불임에 대해 분자수준에서의 고찰을 위한 실마리를 제공할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부의 기초과학연구사업 (R01-2-8-000-10549-0 및 2009-0070964)과 농촌진흥청 바이오그린21사업 (20070401-034-030)의 지원으로 수행된 것임.

REFERENCES

- Bellows CG, Heersche JN, Aubin JE. Determination of the capacity for proliferation and differentiation of osteoprogenitor cells in the presence and absence of dexamethasone. *Dev Biol.* 1990. 140: 132-138.
- Benediktsson R, Lindsay RS, Noble J, Seckl JR, Edwards CR. Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. *Lancet* 1993. 341: 339-341.
- Carlson CS, Tulli HM, Jayo MJ, Loeser RF, Tracy RP, Mann KG, Adams MR. Immunolocalization of noncollagenous bone matrix proteins in lumbar vertebrae from intact and surgically menopausal cynomolgus monkeys. *J Bone Miner Res.* 1993. 8: 71-81.
- Chen TL, Feldman D. Glucocorticoid receptors and actions in subpopulations of cultured rat bone cells. Mechanism of dexamethasone potentiation of parathyroid hormone-stimulated cyclic AMP production. *J Clin Invest.* 1979. 63: 750-758.
- Choi KM. Corticosteroid therapy for adrenal insufficiency. *J Associa Fam Med.* 2003. 24: 1-5.
- Cushing H. The basophil adenomas of the pituitary body and their clinical manifestations (pituitary basophilism). *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital* 1932. 50: 137-195.
- Dempster DW, Moonga BS, Stein LS, Horbert WR, Antakly T. Glucocorticoids inhibit bone resorption by isolated rat osteoclasts by enhancing apoptosis. *J Endocrinol.* 1997. 154: 397-406.
- Hassan MQ, Saini S, Gordon JA, van Wijnen AJ, Montecino M, Stein JL, Stein GS, Lian JB. Molecular switches involving homeodomain proteins, HOXA10 and RUNX2 regulate osteoblastogenesis. *Cells Tissues Organs.* 2009. 189: 122-125.
- Holmes MC, Abrahamsen CT, French KL, Paterson JM, Mullins JJ, Seckl JR. The mother or the fetus? 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 null mice provide evidence for direct fetal programming of behavior by endogenous glucocorticoids. *J neurosci.* 2006. 26: 3840-3844.
- Hughes DE, Boyce BF. Apoptosis in bone physiology and disease. *Mol Pathol.* 1997. 50: 132-137.
- Jaiswal N, Haynesworth SE, Caplan AI, Bruder SP. Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells in vitro. *J Cell Biochem.* 1997. 64: 295-312.
- Kanzler B, Kuschert SJ, Liu YH, Mallo M. Hoxa-2 restricts the chondrogenic domain and inhibits bone formation during development of the branchial area. *Development* 1998. 125: 2587-2597.
- Klaus G, Jux C, Fernandez P, Rodriguez J, Himmele R, Mehls O. Suppression of growth plate chondrocyte proliferation by corticosteroids. *Pediatr Nephrol.* 2000. 14: 612-615.
- Koehl M, Darnaudéry M, Dulluc J, Van Reeth O, Le Moal M, Maccari S. Prenatal stress alters circadian activity of hypothalamo-pituitary-adrenal axis and hippocampal corticosteroid receptors in adult rats of both gender. *J Neurobiol.* 1999. 40: 302-315.
- Krumlauf R. Hox genes in vertebrate development. *Cell* 1994. 78: 191-201.
- Leboy PS, Beresford JN, Devlin C, Owen ME. Dexamethasone induction of osteoblast mRNAs in rat marrow stromal cell cultures. *J Cell Physiol.* 1991. 146: 370-378.
- Lian JB, Shalhoub V, Aslam F, Frenkel B, Green J, Hamrah M, Stein GS, Stein JL. Species-specific glucocorticoid and 1,25-dihydroxyvitamin D responsiveness in mouse MC3T3-E1 osteoblasts: dexamethasone inhibits osteoblast differentiation and vitamin D down-regulates osteocalcin gene expression. *Endocrinology* 1997. 138: 2117-2127.
- Magariños AM, McEwen BS. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: comparison of stressors. *Neuroscience* 1995. 69: 83-88.
- Matthews SG. Antenatal glucocorticoids and programming of

- developing CNS. *Pediatr Res*. 2000. 47: 291-300.
- Mattews SG. Antenatal glucocorticoids and the developing brain: mechanisms of action. *Semin Neonatol*. 2001. 6: 309-317.
- Mikami Y, Omoteyama K, Kato S, Takagi M. Inductive effects of dexamethasone on the mineralization and the osteoblastic gene expressions in mature osteoblast-like ROS17/2.8 cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007. 362: 368-373.
- Murphy VE, Zakar T, Smith R, Giles WB, Gibson PG, Clifton VL. Reduced 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity is associated with decreased birth weight centile in pregnancies complicated by asthma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002. 87: 1660-1668.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999. 284: 143-147.
- Ringe J, Kaps C, Schmitt B, Büscher K, Bartel J, Smolian H, Schultz O, Burmester GR, Häupl T, Sittinger M. Porcine mesenchymal stem cells. Induction of distinct mesenchymal cell lineages. *Cell Tissue Res*. 2002. 307: 321-327.
- Sapolsky RM. Why stress is bad for your brain. *Science* 1996a. 273: 749-750.
- Sapolsky RM. Stress, Glucocorticoids, and Damage to the Nervous System: The Current State of Confusion. *Stress* 1996b.1: 1-19.
- Smith E, Redman RA, Logg CR, Coetzee GA, Kasahara N, Frenkel B. Smith E, Redman RA, Logg CR, Coetzee GA, Kasahara N, Frenkel B. Glucocorticoids inhibit developmental stage-specific osteoblast cell cycle. Dissociation of cyclin A-cyclin-dependent kinase 2 from E2F4-p130 complexes. *J Biol Chem*. 2000. 275: 19992-20001.
- Wong MM, Rao LG, Ly H, Hamilton L, Tong J, Sturtridge W, McBroom R, Aubin JE, Murray TM. Long-term effects of physiologic concentrations of dexamethasone on human bone-derived cells. *J Bone Miner Res*. 1990. 5: 803-813.