

## 〈총 설〉

## 척추동물의 난황형성과 환경에스트로젠

계 명 찬 · 한 명 수<sup>1</sup>

경기대학교 자연과학부 생물학과, 한양대학교 자연과학대학 생물학과

**적 요** - 난황형성 (vitellogenesis)은 난생동물의 번식에서 매우 중요한 과정으로 간에서 난황전구물질 (vitellogenin, Vg)의 생성과 단백질 수준에서 Vg의 변형과 난자내 축적 및 난황물질 (vitellin)로의 전환을 포함한다. 난황은 경골어류의 배아의 영양물질 및 삼투압 조절을 통한 부유훈성의 조절에 관여한다. 척추동물의 Vg 유전자는 lipoprotein 계열의 유전자로 복수의 Vg 유전자가 존재하며 서로 다른 크기의 Vg 단백질을 암호화한다. 에스트로젠에 의해 이들 단백질이 발현되는 정도에는 차이가 있다. 난생 척추동물의 암컷에서 에스트로젠의 조절하에 생성되는 Vg은 천연 에스트로젠 및 합성에스트로젠에 의해 어류, 양서류, 파충류, 조류등 다양한 척추동물의 수컷 체내에서도 형성되며 수온 및 생식주기에 의존적이다. 따라서 수컷에서 일어나는 난황전구물질의 생성은 환경오염물질 가운데 여성호르몬과 유사한 작용을 하는 물질의 규명과 위해성 여부를 판정할 수 있는 생물학적 지표로서 전세계적으로 이용되고 있다. 국내의 경우 Vg 유도여부를 통한 야생생태계에서 환경호르몬 오염과 동물의 번식장애에 대한 연구에 있어서 번식주기, 동물의 지리적 분포와 생물다양성의 차이에 대한 고려가 중요하다.

## 서 론

## Vitellogenin 유전자

난황형성 (vitellogenesis)은 난생동물의 번식에서 매우 중요한 과정으로 간에서 일어나는 난황전구물질 (vitellogenin, Vg)의 생성과 단백질 수준에서 Vg의 변형과 난자내에 축적 및 난황물질 (vitellin)로의 전환과정을 포함한다. 이 분야의 연구는 동물번식에 대한 이해를 위해 전통적으로 다양한 동물에서 연구되어 왔다. 최근 내분비장애물질 (endocrine disrupting chemical, EDC)에 의해 다양한 동물의 수컷 체내에서 Vg 형성이 유도된다는 일련의 연구 결과들이 발표되면서 초유의 관심이 이 분야에 집중되고 있다. 특히 자연생태계에서 환경호르몬의 오염과 위해성 여부를 판정할 수 있는 생물학적 지표로서 수컷에서 일어나는 난황전구물질의 생성이 기준으로 이용되고 있다. 다만 동물의 지리적 분포의 차이에 따른 환경호르몬에 의한 야생동물의 번식장애에 관련된 지역 연구의 활성화 과정이 진행 중에 있다.

최근 Vg의 아미노산조성, 펩타이드 부위의 분석, 항원의 면역학적 특징, 유전자 클로닝에 대한 연구를 통해 척추동물에서 다양한 Vg 유전자의 클로닝 (Xenopus, Jaggi *et al.* 1982; Baker *et al.* 1985; Gerber-Huber *et al.* 1987; avian, van het Schip *et al.* 1987; Oreochromis aureus, Ding *et al.* 1990; lamprey, Sharrock *et al.* 1992; Lee *et al.* 1994; sturgeon, Bidwell and Carlson 1995; rainbow trout, Mouchel *et al.* 1996) 또는 Vg 단백질에 대한 확인이 이뤄졌다 (freshwater turtle, Ho *et al.* 1982; garter snake, Garstka *et al.* 1985; lizard, Morales *et al.* 1991; sea turtle, Heck *et al.* 1997; tuatara, Brown *et al.* 1997; tropical venomous snake, Janeiro-Cinquini *et al.* 1999). 복수로 구성된 Vg 유전자는 진화적으로 보존되어 있으며 (Wahli *et al.* 1981; Bidwell and Carlson 1995), polypeptide내에 유사한 염기서열을 갖지만 서로 다른 Vg 유전자 사이에는 발현에 양적인 차이를 보인다 (Wang and Williams 1980; Wahli *et al.* 1981). Vg 유전자는 전사조절부위에 estrogen responsive element (ERE)가 존재하며 estrogen에 의해 전사가 활성화된다 (Corthesy *et al.* 1988). Estrogen receptor (ER)-alpha와 ER-

\* Corresponding author: Myung-Chan Gye, Tel. 031-249-9646  
Fax. 031-253-1165, E-mail. mcgye@kuic.kyonggi.ac.kr

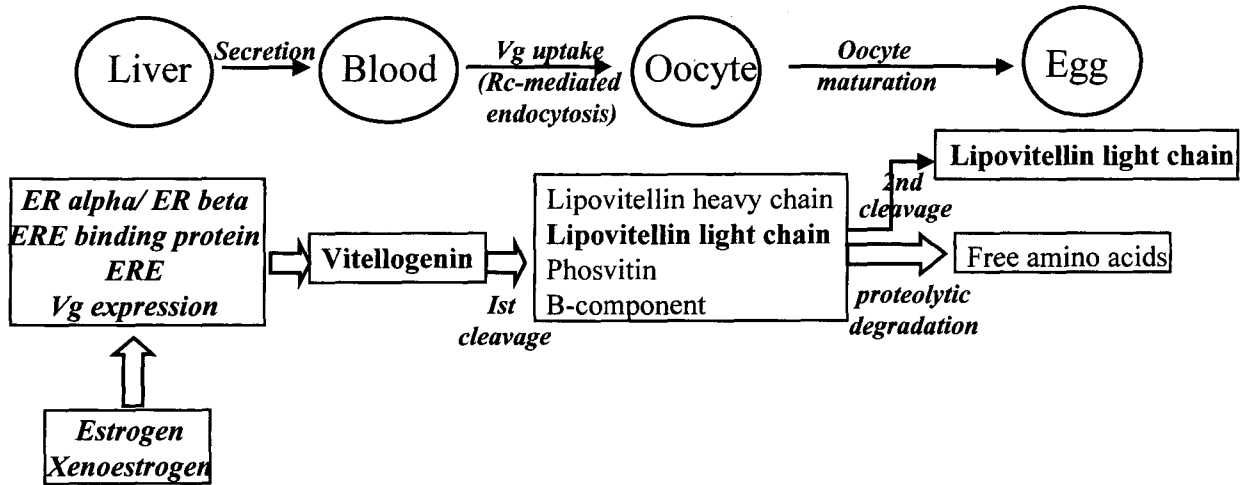


Fig. 1. Synthesis, molecular alterations of vitellogenins and vitellogenin-derived yolk polypeptides during vitellogenesis and oocyte maturation. ER, estrogen receptor; ERE, estrogen responsive element; Vg, vitellogenin; Rc, receptor.

beta 모두 Vg의 ERE와 매우 높은 친화력을 갖고 결합 하지만 생체 estrogen 및 xenoestrogen은 ER-beta와 더 높은 친화력을 갖고 결합한다 (Anderson *et al.* 1998; Pennie *et al.* 1998). 최근 Vg 유전자의 전사조절에 관여하는 Vg gene-binding protein이 밝혀졌다 (chicken, Iyer *et al.* 1991). Xenopus에서 Vg 유전자의 promoter 부위와 ERE가 확인되었고 다양한 estrogen에 의한 promoter활성 조절에 관한 결과가 알려져 있다 (Tremea *et al.* 1989; Nardulli *et al.* 1996). 따라서 Vg 유전자들의 발현은 다양한 estrogen, ERE, promoter부위, ER 및 Vg gene-binding protein의 상호작용에 의해 정교히 조절되는 전사조절연구의 좋은 모델이라 할 수 있으며 이러한 측면은 환경에스트로젠에 의한 생리현상 변화에 관한 연구과정에서 고려되어야 한다.

### 난황전구단백질 및 난황단백질

Vg는 난황전구물질로 Vg는 주로 성적으로 성숙한 암컷에서 생성되는 sex-specific protein이며 에스트로젠의 자극에 의해 간에서 3종 이상의 Vg 유전자의 발현으로 생성되어 혈액으로 분비된다. 혈액내의 Vg는 난소내 난포의 발생중인 난자로 receptor mediated endocytosis를 통해 흡수되어 (Mommsen and Walsh 1988) 난황물질로 전환된다 (Fig. 1). Vg는 lipovitellin계열의 단백질과 다량의 인산화 잔기를 포함하는 phosvitin 단백질로 전환되며 난자내에서 일어나는 Vg의 peptide cleavage에 의해 Vg 유전자의 수에 비해 더 많은 수의 난황단백질이 난자에서 발견된다 (Matsubara *et al.* 1999). Vg 단백질의

N-말단 또는 C-말단에 특이적인 항체를 사용하여 조사한 결과 적어도 몇 군데 이상에서 peptide의 분절화가 진행되며 난자가 성숙되는 과정에서는 더 작은 조각으로 나뉘어 아미노산으로 분해된다. 이러한 현상은 적어도 경골어류에서는 공통적인 현상으로 삼투압에 영향을 미쳐 수중에서 발생하는 난자의 부유 특성에 변화를 미치며 어류가 다양한 염분농도에서 번식하기 위해 진화적으로 적응한 결과이다 (Wallace and Selman 1985; Matsubara *et al.* 1999). 경골어류의 혈액내에 존재하는 Vg는 분자량 150~250 kDa의 동일한 subunit가 결합한 300~550 kDa의 dimeric form으로 존재한다. Vg는 지질, 인, 금속이온을 난자내로 전달하는 단백질로 기능하며 이들은 발생중인 배아의 영양물질로 이용된다. 어류종에 따라 Vg의 지질 및 인의 함량은 차이를 보인다 (Fremont and Riazi 1988). 지금까지 어류에서는 다양한 Vg 단백질 (flounder, Emmersen and Petersen 1976; goldfish, Hori *et al.* 1979; catfish, Sundararaj *et al.* 1982; salmon, Ueda *et al.* 1984; Oreochromis aureus, Lim *et al.* 1991; eel, Peyon *et al.* 1993; Kwon and Mugiya 1994; rainbow trout, Bon *et al.* 1997; English sole, Roubal *et al.* 1997; Mugiya and Tanahashi 1998; gilthead seabream, Mosconi *et al.* 1998; medaka, Gronen *et al.* 1999; goby) 및 Vg의 난자내 축적에 관여하는 vitellogenin receptor (Xenopus, Okabayashi *et al.* 1996)가 분리되었다. 간에서 Vg 유전자의 발현으로 생성된 Vg 단백질들은 혈액으로 방출되어 난소에 도달한다. Vg는 난자 표면에 존재하는 low-density lipoprotein receptor supergene family protein인 vitellogenin receptor (Sch-

neider 1996)와 결합한 후 receptor mediated endocytosis를 통해 난자내로 이동한다. 지금까지 다양한 척추동물에서 Vg 수용체가 확인되었다(Xenopus, Okabayashi *et al.* 1996; rainbow trout, Perazzolo *et al.* 1999; sea bass, Mananos *et al.* 1997; piscine, Stifani *et al.* 1995; white perch, Tao *et al.* 1996; lizard, Romano and Limatola 2000; chicken, Hiesberger *et al.* 1995; quail, Elkin *et al.* 1995).

### Vitellogenin 발현의 조절

#### 1. 에스트로젠에 의한 조절

기본적으로 암컷에서 일어나는 난황형성 과정은 에스트로젠에 의존적이다(Bergink *et al.* 1974; Hori *et al.* 1979; Le Menn *et al.* 1980; Maitre *et al.* 1986; Boehem and Ilan 1988; Kwon *et al.* 1993, 1994; Anderson *et al.* 1996). 생식소 자극 호르몬의 자극에 따라 난포세포에서의 생성되어 방출된 에스트로젠은 혈류를 통해 간세포에 도달하여 에스트로젠 수용체를 자극하여 다양한 유전자의 전사를 개시한다. Vg는 이러한 경로를 통해 발현이 유도되는 다양한 종류의 유전자 가운데 하나이다. Estrogen은 두 종류(alpha, beta)의 estrogen receptor (ER)의 발현을 조절(rainbow trout, Pakdel *et al.* 1989; Flouriot *et al.* 1997)하며, ER과 Vg의 발현은 에스트로젠에 대해 다른 정도의 감수성을 나타내는데 Vg의 발현은 ER보다 더 높은 농도의 에스트로젠을 요구한다. Vg는 주로 성적으로 성숙한 암컷에서 생성되는 sex-specific protein이지만 에스트로젠 처리시 수컷과 미성숙 개체에서도 발현이 유도된다(frog, Wangh and Knowland 1975; Herbener *et al.* 1983; Carnevali *et al.* 1995; Palmer and Palmer 1995; turtle, Palmer and Palmer 1995; fish, Chang *et al.* 1995; Allner *et al.* 1999; Arukwe *et al.* 1999; Pedersen *et al.* 1999; Schmieder *et al.* 1999; Yadetie *et al.* 1999; Folmar *et al.* 2000; Funkenstein *et al.* 2000; Sole *et al.* 2000). 양서류의 경우 estrogen 이외에도 growth hormone과 prolactin이 Vg의 발현을 유발할 수 있는데, 번식기에는 GH에 의해, 번식기 전에는 에스트로젠에 의해 Vg 발현이 유도된다(Carnevali *et al.* 1993; Carnevali *et al.* 1995).

#### 2. 수온에 의한 조절

야생의 많은 척추동물들의 번식은 계절적 양상을 갖는다. 에스트로젠 노출에 따라 개체가 보이는 반응 특히 Vg 합성은 수온에 매우 민감하다. 예로 하계에 번식하는

어류에서 Vg의 합성은 저온상태에서는 불가능하거나 매우 미미하다. 17β-estradiol 투여시 수컷 어류의 혈액 내 Vg 농도가 증가하며 수온에 민감하다(carp, Hernandez *et al.* 1992; trout, Mackay and Lazier 1993). 국내에 서식하는 민물망둑어에서도 같은 결과가 확인된다. 한편 간에서 일어나는 Vg의 합성은 estrogen 뿐 아니라 estrogen 수용체의 수에 의한 조절을 받는다. 특히 저수온 상태에서는 estrogen 수용체의 발현이 저조하다(Hernandez *et al.* 1992). 따라서 하계번식 어종의 경우 동계 또는 저수온 상태에서 ER의 발현의 저하는 에스트로젠 투여에 의한 Vg 합성이 저조한 원인으로 이해할 수 있다.

#### 3. 광주기에 의한 조절

많은 척추동물의 번식과정이 생식주기를 조절하는 호르몬의 영향하에 있다. 특히 야생의 동물에서는 이런 현상이 더욱 뚜렷한데 계절적 번식을 하는 야생동물에서는 동면기간이 Vg 합성에 필요하며(lizard, Gavaud 1991), 양서류의 경우 비번식기에는 에스트로젠이 아닌 뇌하수체 기원의 호르몬에 의해 Vg의 생성이 유도된다(Carnevali and Mosconi 1992). 냉수성 어종의 경우 수온이 낮은 동계에 번식기가 찾아온다. 따라서 Vg의 발현이 적절히 높은 수온 조건에서만 이뤄진다고 할 수 없으며 광주기 또는 번식주기에 따른 조절기작이 관여하는 것으로 해석된다. 번식의 조절에 관여하는 호르몬이 작용하는 뇌-생식소 축에서 생식소 자극호르몬의 생성과 이에 따른 생식소에서 생성된 에스트로젠의 자극이 결국 간에서 Vg의 발현을 유발한다. 따라서 계절적 번식주기를 갖는 야생동물에서 환경에스트로젠에 의한 Vg 유도여부를 확인할 경우 번식기 또는 번식기 직전의 시기에 있는 동물을 대상으로 조사가 이뤄져야 할 것이다.

#### 4. 내분비장애물질의 위해성 평가를 위한 생물학적 지표로서 수컷에서 Vg의 발현

내분비장애물질(endocrine disrupter, EDC) 또는 환경 호르몬에 의한 생식기능 특히 남성생식기능의 교란현상이 전세계적으로 확인되고 대중매체를 통해 소개되어 사람들을 공황으로 몰고 갔으며 지금도 충격은 사라지지 않고 있다(Colborn *et al.* 1996). EDC의 위해성에 관한 연구는 독성학적 접근을 통해 잠정적 위험을 내포하는 물질을 찾고 그 위험의 강도 규명하고 생산 및 사용의 허용기준을 마련하는 한편 환경내 EDC의 오염실태 및 생태계에서 생식교란 현상을 규명하기 위한 연구가 진행되었다(DeRosa *et al.* 1998; Gray 1998b). 한국은 빠른 속도로 공업화가 진행되는 과정에서 국토가 광범위하게 EDC를 포함한 공해물질로 오염되었다. 현재도 플

라스틱제조과정, 쓰레기소각장, 하수종말처리장 등에서 bisphenol A, dioxin, octylphenol 및 nonylphenol 등의 환경에스트로젠들이 다량으로 방출되고 있으므로 이에 따른 생태계의 변화는 필연적 현상이다. 이미 많은 종류의 야생 척추동물들이 서식지의 감소와 오염으로 인해 그 수가 줄어들었으며 멸종위기에 처한 동물들도 많으며 EDC는 이러한 현상의 보이지 않는 원인으로 추측된다 (Blaustein *et al.* 1994; Stebbin and Cohen 1995; Guillette 2000).

EDC 가운데 에스트로젠과 유사한 효과를 보이는 물질들이 있다. 식물성의 phytoestrogen은 주로 식물물을 통해 섭취되며 에스트로젠의 효과를 나타내며 합성물로 주로 환경오염물질에서 기원된 것을 환경에스트로젠으로 정의된다. 환경에스트로젠들은 다양한 척추동물에서 여성호르몬과 유사한 효과를 나타낸다 (birds, Nowicki and Norman 1972; Lucier and McDaniel 1979; Kosutzky *et al.* 1979; Robinson and Gibbins 1984; reptile, Bergeron *et al.* 1994; Palmer and Palmer 1995; frog, Palmer and Palmer 1995; Ratnasabapathy *et al.* 1997; mammals, Hess *et al.* 1997; Gray, 1998a; fish, Anderson *et al.* 1999; Gronen *et al.* 1999). 널리 연구된 어류의 경우 환경에스트로젠의 여성호르몬 유사효과 발현에서 종특이성은 없는 것으로 보고되었다 (Sumpter and Jobling 1995). 일부 EDC가 어류의 수컷에서 Vg 형성을 유발하는 것이 확인되면서 (Sumpter 1995; Wahli *et al.* 1998; Gronen *et al.* 1999) Vg 형성은 수환경내에 에스트로젠 유사효과를 갖는 물질의 오염을 나타내는 생물학적지표로 이용된다 (Sumpter and Jobling 1995). 이때 수컷의 간 또는 간세포의 일차배양체, 혈액, 또는 생식소에서 일어나는 Vg의 발현을 RNA 및 단백질 수준에서 확인하기 위해 역전사중합반응(RT-PCR) 또는 정제된 Vg 항원으로 부터 제조된 항체를 이용하여 Vg 단백질의 존재를 확인함으로써 여성호르몬과 유사한 EDC의 환경내 오염을 추적하는 도구로 활용되고 있다 (Heppell *et al.* 1995; Lutz and Kloas 1999).

국내의 육상생태계에서 환경호르몬의 위해성 평가를 위해서는 분류군 별로 전체 종에 대한 연구가 궁극적으로 이뤄져야 하지만 환경호르몬 위해성의 정밀한 평가를 위해서는 적절한 모델동물의 선정이 중요하다. 이 때 국내 분포의 광범위성, 야외채집의 용이성, 실험실 사육의 용이성, 소형종으로 기초 생물학적 연구가 축적되어 있는 종들이 적합할 것이다. 그러나 아직까지도 난황형성과정 및 에스트로젠에 의한 Vg 발현의 조절에 대한 기초연구는 일부 양서류 및 어류에서 이뤄졌을 뿐, 수컷에서 생체내 에스트로젠 및 xenoestrogen에 의한 Vg 유도

에 관한 결과는 *Xenopus*, 송어, 송사리, 잉어, 가금류 등 일부 실험동물 및 가축에 제한되어 있다. 특히 국내 생태계내의 양서류, 어류, 파충류, 조류 등 난생척추동물을 대상으로 환경호르몬의 오염실태 및 위해성 평가에 대한 자료는 미진하므로 이에 대한 확인이 필요하다. 이들 대부분의 야생동물들이 계절적으로 번식하며 서식지별로 오염원에 대한 노출정도에 차이가 있을 것으로 예상되므로 이들을 대상으로 환경호르몬의 위해성평가를 위한 생물학적지표로서 수컷에서 Vg 생성 여부를 조사할 경우 조사시기, 번식주기, 지역적 특성에 대한 고려가 중요하다.

## 인용문헌

- Allner B, G Wegener, T Knacker T and P Stahlschmidt-Allner. 1999. Electrophoretic determination of estrogen-induced protein in fish exposed to synthetic and naturally occurring chemicals. *Sci. Total Environ.* 233: 21-31.
- Anderson I, CR Bartley, RA Lerch, WG Gray, PD Friesen and J Gorski. 1998. Estrogen receptor alpha requires no accessory factors for high-affinity binding to a consensus response element. *Biochemistry* 37:17287-17298.
- Andersson PL, A Blom, A Johannisson, M Pesonen, M Tysklind, AH Berg, P Olsson and L Norrgren. 1999. Assessment of PCBs and hydroxylated PCBs as potential xenoestrogens: in vitro studies based on MCF-7 cell proliferation and induction of vitellogenin in primary culture of rainbow trout hepatocytes. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 37:145-150.
- Anderson MJ, H Olsen, F Matsumura F and DE Hinton. 1996. In vivo modulation of 17 beta-estradiol-induced vitellogenin synthesis and estrogen receptor in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver cells by beta-naphthoflavone. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 37:210-18.
- Arukwe A, T Grotmol, TB Haugen, FR Knudsen and A Goksoyr. 1999. Fish model for assessing the in vivo estrogenic potency of the mycotoxin zearalenone and its metabolites. *Sci. Total Environ.* 236:153-161.
- Baker BS, J Steven and JR Tata. 1985. Vitellogenin genes and their products in closely and distantly related species of *Xenopus*. *Comp. Biochem. Physiol. [B]* 82:497-505.
- Bergeron JM, D Crews and JA McLachlan. 1994. PCBs as environmental estrogens: turtle sex determination as a biomarker of environmental contamination. *Environ. Health Perspect.* 102:780-781.
- Bidwell CA and DM Carlson. 1995. Characterization of

- vitellogenin from white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *J. Mol. Evol.* 41:104-112.
- Blaustein A, D Wake, W Sousa. 1994. Amphibian declines: Judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conserv. Biol.* 8:60-71.
- Bon E, U Barbe, J Nunez Rodriguez, B Cuisset, C Pelissero, JP Sumpster and F Le Menn. 1997. Plasma vitellogenin levels during the annual reproductive cycle of the female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): establishment and validation of an ELISA. *Comp. Biochem. Physiol. [B]* 117:75-84.
- Boehm KDRL and J Ilan. 1988. Induction of vitellogenin in primary monolayer cultures of cockerel hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:3450-3454.
- Brown MA, A Carne and GK Chambers. 1997. Purification, partial characterization and peptide sequences of vitellogenin from a reptile, the tuatara (*Sphenodon punctatus*). *Comp. Biochem. Physiol. [B]* 117:159-68.
- Carnevali O and G Mosconi. 1992. In vitro induction of vitellogenin synthesis in *Rana esculenta*: role of the pituitary. *Gen. Comp. Endocrinol.* 86:352-358.
- Carnevali O, G Mosconi, K Yamamoto, T Kobayashi, S Kikuyama and AM Polzonetti-Magni. 1993. In-vitro effects of mammalian and amphibian prolactins on hepatic vitellogenin synthesis in *Rana esculenta*. *J. Endocrinol.* 137:383-389.
- Carnevali O, MG Sabbieti, G Mosconi and AM Polzonetti-Magni. 1995. Multihormonal control of vitellogenin mRNA expression in the liver of frog, *Rana esculenta*. *Mol. Cell Endocrinol.* 114:19-25.
- Chang CF, EL Lau and BY Lin. 1995. Stimulation of spermatogenesis or of sex reversal according to the dose of exogenous estradiol-17 beta in juvenile males of protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 100:355-367.
- Colborn T, D Dumanoski and JP Myers. 1996. Our Stolen Future. The Spieler Agency.
- Corthesy B, R Hipskind, I Theulaz and W Wahli. 1988. Estrogen-dependent in vitro transcription from the vitellogenin promoter in liver nuclear extracts. *Science* 239:1137-1139.
- DeRosa C, P Richter, H Pohl and DE Jones. 1998. Environmental exposures that affect the endocrine system: public health implications. *J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev.* 1:3-26.
- Ding JL, B Ho, Y Valotaire, K LeGuellec, EH Lim, SP Tay and TJ Lam. 1990. Cloning, characterisation and expression of vitellogenin gene of *Oreochromis aureus* (Teleostei, Cichlidae). *Biochem. Int.* 20:843-852.
- Elkin RG, I MacLachlan, M Hermann and WJ Schneider. 1995. Characterization of the Japanese quail oocyte receptor for very low density lipoprotein and vitellogenin. *J. Nutr.* 125:1258-1266.
- Emmersen BK and IM Petersen. 1976. Natural occurrence, and experimental induction by estradiol-17 $\beta$ , of a lipophosphoprotein (Vitellogenin) in Flounder (*Platichthys flesus*, L.). *Biochem. Physiol.* 55B:315-321.
- Flouriot G, F Pakdel, B Ducouret, Y Ledrean and Y Valotaire. 1997. Differential regulation of two genes implicated in fish reproduction: vitellogenin and estrogen receptor genes. *Mol. Reprod. Dev.* 48:317-323.
- Folmar LC, M Hemmer, R Hemmer, C Bowman, K Kroll and ND Denslow. 2000. Comparative estrogenicity of estradiol, ethynyl estradiol and diethylstilbestrol in an in vivo, male sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*), vitellogenin bioassay. *Aquatic Toxicol.* 49:77-88.
- Fremont L and A Riazi. 1988. Biochemical analysis of vitellogenin from rainbow trout (*Salmo gairdneri*): fatty acid composition of phospholipids. *Reprod. Nutr. Dev.* 28:939-952.
- Funkenstein B, CJ Bowman, ND Denslow, M Cardinali and O Carnevali. 2000. Contrasting effects of estrogen on transthyretin and vitellogenin expression in males of the marine fish, *Sparus aurata*. *Mol. Cell Endocrinol.* 167:33-41.
- Garstka WR, RR Tokarz, M Diamond, A Halpert and D Crews. 1985. Behavioral and physiological control of yolk synthesis and deposition in the female red-sided garter snake (*Thamnophis sirtalis parietalis*). *Horm. Behav.* 19:137-153.
- Gavaud J. 1991. Cold entrainment of the annual cycle of ovarian activity in the lizard *Lacerta vivipara*: thermoperiodic rhythm versus hibernation. *J. Biol. Rhythms* 6:201-215.
- Gerber-Huber S, D Nardelli, JA Haefliger, DN Cooper, F Givel, JE Germond, J Engel, NM Green and W Wahli. 1987. Precursor-product relationship between vitellogenin and the yolk proteins as derived from the complete sequence of a *Xenopus* vitellogenin gene. *Nucleic Acids Res.* 15:4737-4760.
- Gray LE Jr. 1998a. Xenoendocrine disrupters: laboratory studies on male reproductive effects. *Toxicol. Lett.* 102-103:331-335.
- Gray LE Jr, 1998b. Tiered screening and testing strategy for xenoestrogens and antiandrogens. *Toxicol. Lett.* 102-103:677-680.
- Gronen S, ND Denslow, S Manning, S Barnes, D Barnes and M Brouwer. 1999. Serum vitellogenin levels and reproductive impairment of male Japanese medaka

- (*Oryzias latipes*) exposed to 4-tert-octylphenol. Environ. Health Perspect. 107:385-390.
- Guillette LJ Jr. 2000. Contaminant-induced endocrine disruption in wildlife. Growth Horm. IGF Res. 10 Suppl B:S45-50.
- Heck J, DS MacKenzie, D Rostal, K Medler and D Owens. 1997. Estrogen induction of plasma vitellogenin in the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). Gen. Comp. Endocrinol. 107:280-288.
- Hepell SA, ND Denslow, LC Folmar and CV Sullivan. 1995. Universal assay of vitellogenin as a biomarker for environmental estrogens. Environ. Health Perspect. Suppl 7:9-15.
- Herbener GH, RC Feldhoff and ML Fonda. 1983. A correlated morphometric and biochemical study of estrogen-induced vitellogenesis in male *Rana pipiens*. J. Ultrastruct. Res. 83:28-42.
- Hernandez I, A Poblete, R Amthauer, R Pessot and M Krauskopf. 1992. Effect of seasonal acclimatization on estrogen-induced vitellogenesis and on the hepatic estrogen receptors in the male carp. Biochem. Int. 28:559-567.
- Hess RA, D Bunick, KH Lee, J Bahr, JA Taylor, KS Korach and DB Lubahn. 1997. A role for oestrogens in the male reproductive system. Nature 390:509-512.
- Hiesberger T, M Hermann, L Jacobsen, S Novak, RA Hodits, H Bujo, M Meilinger, M Huttinger, WJ Schneider and J Nimpf. 1995. The chicken oocyte receptor for yolk precursors as a model for studying the action of receptor-associated protein and lactoferrin. J. Biol. Chem. 270:18219-18226.
- Ho SM, S Taylor and IP Callard. 1982. Effect of hypophysectomy and growth hormone on estrogen-induced vitellogenesis in the freshwater turtle, *Chrysemys picta*. Gen. Comp. Endocrinol. 48:254-260.
- Hori SH, T Kodama and T Tanahashi. 1979. Induction of vitellogenin synthesis in goldfish by massive doses of androgens. Gen. Comp. Endocrinol. 37:306-320.
- Iyer SV, DL Davis, SN Seal and JB Burch. 1991. Chicken vitellogenin gene-binding protein, a leucine zipper transcription factor that binds to an important control element in the chicken vitellogenin II promoter, is related to rat DBP. Mol. Cell Biol. 11:4863-4875.
- Jaggi RB, T Wyler and GU Ryffel. 1982. Comparative analysis of *Xenopus tropicalis* and *Xenopus laevis* vitellogenin gene sequences. Nucleic Acids. Res. 10:1515-1533.
- Janeiro-Cinquini TR, PE Ribolla, M de L Capurro and CE Winter. 1999. Vitellogenin and yolk protein processing in *Bothrops jararaca* (Wied), a tropical venomous snake. Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. 122:189-198.
- Kosutzky J, O Adamec and E Bobakova. 1979. Effects of polychlorinated biphenyls on poultry reproduction. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 21:737-742.
- Kwon HC, S Hayashi and Y Mugiya. 1993. Vitellogenin induction by estradiol-17 $\beta$  in primary hepatocyte culture in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Comp. Biochem. Physiol. 104B:381-386.
- Kwon HC and Y Mugiya. 1994. Involvement of growth hormone and prolactin in the induction of vitellogenin synthesis in primary hepatocyte culture in the eel, *Anguilla japonica*. Gen. Comp. Endocrinol. 93:51-60.
- Le Menn F, H Rochefort and M Garcia. 1980. Effect of androgen mediated by the estrogen receptor of fish liver : vitellogenin accumulation. Steroids 35:315-328.
- Lee BH, EH Lim, TJ Lam and JL Ding. 1994. Two major groups of vitellogenin cDNA clones from *Oreochromis aureus* (Steindachner). Biochem. Mol. Biol. Int. 34:75-83.
- Lim EH, JL Ding and TJ Lam. 1991. Estradiol-induced vitellogenin gene expression in a teleost fish, *Oreochromis aureus*. Gen. Comp. Endocrinol. 82:206-214.
- Lucier GW and OS McDaniel. 1979. Developmental toxicology of the halogenated aromatics: effects on enzyme development. Ann. N Y Acad. Sci. 320:449-457.
- Lutz I and W Kloas. 1999. Amphibians as a model to study endocrine disruptors: I. Environmental pollution and estrogen receptor binding. Sci. Total Environ. 225:49-57.
- Mackay ME and CB Lazier. 1993. Estrogen responsiveness of vitellogenin gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) kept at different temperatures. Gen. Comp. Endocrinol. 89:255-266.
- Maitre JL, Y Valotaire and C Guguen-Guillouzo. 1986. Estradiol-17 $\beta$  stimulation of vitellogenin synthesis in primary culture of male rainbow trout hepatocytes. In Vitro Cell Dev. Biol. 22:337-343.
- Mananos EL, J Nunez Rodriguez, F Le Menn, S Sanuy and M Carrillo. 1997. Identification of vitellogenin receptors in the ovary of a teleost fish, the Mediterranean sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Reprod. Nutr. Dev. 37:51-61.
- Matsubara T, N Ohkubo, T Andoh, CV Sullivan and A Hara. 1999. Two forms of vitellogenin, yielding two distinct lipovitellins, play different roles during oocyte maturation and early development of barfin flounder, *Verasper moseri*, a marine teleost that spawns pelagic eggs. Dev. Biol. 213:18-32.
- Mommsen TP and PJ Walsh. 1988. Vitellogenesis and

- oocyte assembly. pp. 347-406. In Fish Physiology (Hoar WS and DJ Randall, eds.). Vol XIA. Academic Press, New York.
- Morales MH, R Osuna and E Sanchez. 1991. Vitellogenesis in *Anolis pulchellus*: induction of VTG-like protein in liver explants from male and immature lizards. *J. Exp. Zool.* 260:50-58.
- Mosconi G, O Carnevali, R Carletta, M Nabissi and AM Polzonetti-Magni. 1998. Gilthead seabream (*Sparus aurata*) vitellogenin: purification, partial characterization, and validation of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Gen. Comp. Endocrinol.* 110:252-261.
- Mouchel N, V Trichet, A Betz, JP Le Pennec and J Wolff. 1996. Characterization of vitellogenin from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Gene* 174:59-64.
- Mugiya Y and A Tanahashi. 1998. Inhibitory effects of aluminium on vitellogenin induction by estradiol-17 $\beta$  in the primary culture of hepatocytes in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 109:37-43.
- Nardulli AM, LE Romine, C Carpo, GL Greene and B Rainish. 1996. Estrogen receptor affinity and location of consensus and imperfect estrogen response elements influence transcription activation of simplified promoters. *Mol. Endocrinol.* 10:694-704.
- Nowicki HG and AW Norman. 1972. Enhanced hepatic metabolism of testosterone, 4-androsterone-3, 17-dione, and estradiol-17 in chickens pretreated with DDT or PCB. *Steroids* 19:85-99.
- Okabayashi K, H Shoji, T Nakamura, O Hashimoto, M Asashima and H Sugino. 1996. cDNA cloning and expression of the *Xenopus laevis* vitellogenin receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 224:406-413.
- Pakdel F, C Le Guellec, C Vaillant, MG Le Roux and Y Valotaire. 1989. Identification and estrogen induction of two estrogen receptors (ER) messenger ribonucleic acids in the rainbow trout liver: sequence homology with other ERs. *Mol. Endocrinol.* 3:44-51.
- Palmer BD and SK Palmer. 1995. Vitellogenin induction by xenobiotic estrogens in the red-eared turtle and African clawed frog. *Environ. Health Perspect.* 103 Suppl 4:19-25.
- Pedersen SN, LB Christiansen, KL Pedersen, B Korsgaard and P Bjerregaard. 1999. In vivo estrogenic activity of branched and linear alkylphenols in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Sci. Total Environ.* 233:89-96.
- Pennie WD, TC Aldridge and AN Brooks. 1998. Differential activation by xenoestrogens of ER alpha and ER beta when linked to different response elements. *J. Endocrinol.* 158:R11-14.
- Perazzolo LM, K Coward, B Davail, E Normand, CR Tyler, F Pakdel, WJ Schneider and F Le Menn. 1999. Expression and localization of messenger ribonucleic acid for the vitellogenin receptor in ovarian follicles throughout oogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Biol. Reprod.* 60:1057-1068.
- Peyon P, S Baloch and E Burzawa-Gerard. 1993. Synthesis of vitellogenin by eel (*Anguilla anguilla* L.) hepatocytes in primary culture: requirement of 17 beta-estradiol-priming. *Gen. Comp. Endocrinol.* 91:318-329.
- Ratnasabapathy R, M Tom and C Post. 1997. Modulation of the hepatic expression of the estrogen-regulated mRNA stabilizing factor by estrogenic and antiestrogenic nonsteroidal xenobiotics. *Biochem. Pharmacol.* 53:1425-1434.
- Robinson GA and AM Gibbins. 1984. Induction of vitellogenesis in Japanese quail as a sensitive indicator of the estrogen-mimetic effect of a variety of environmental contaminants. *Poult. Sci.* 63:1529-1536.
- Romano M and E Limatola. 2000. Oocyte plasma membrane proteins and the appearance of vitellogenin binding protein during oocyte growth in the lizard *Podarcis sicula*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 118:383-392.
- Roubal WT, DP Lomax, ML Willis, LL Johnson. 1997. Purification and partial characterization of English sole (*Pleuronectes vetulus*) vitellogenin. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 118:613-622.
- Schmieder P, M Tapper, A Linnum, J Denny, R Kolanczyk and R Johnson. 1999. Optimization of a precision-cut trout liver tissue slice assay as a screen for vitellogenin induction: comparison of slice incubation techniques. *Aquatic Toxicol.* 49:251-268.
- Schneider WJ. 1996. Vitellogenin receptors: oocyte-specific members of the low-density lipoprotein receptor supergene family. *Int. Rev. Cytol.* 166:103-137.
- Sharrock WJ, TA Rosenwasser, J Gould, J Knott, D Hussey, JI Gordon and L Banaszak. 1992. Sequence of lamprey vitellogenin. Implications for the lipovitellin crystal structure. *J. Mol. Biol.* 226:903-907.
- Sole M, C Porte and D Barcelo. 2000. Vitellogenin induction and other biochemical responses in carp, *Cyprinus carpio*, after experimental injection with 17 alpha-ethynylestradiol. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 38: 494-500.
- Stebbin R and N Cohen. 1995. A Natural History of Amphibians. Princeton Univ. Press.
- Stifani S, F Le Menn, JN Rodriguez and WJ Schneider. 1995. Regulation of oogenesis: the piscine receptor for

- vitellogenin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1045:271-279.
- Sumpter JP. 1995. Feminized responses in fish to environmental estrogens. *Toxicol. Lett.* 82-83:737-742.
- Sumpter JP and S Jobling. 1995. Vitellogenesis as a biomarker for estrogenic contamination of the aquatic environment. *Environ. Health. Perspect.* 103 Suppl 7: 173-178.
- Sundararaj BI, SV Goswami and VJ Lamb. 1982. Role of testosterone, estradiol-17 $\beta$ , and cortisol during vitellogenin synthesis in the catfish, *Heteropneustes fossilis* (Block). *Gen. Comp. Endocrinol.* 48:390-397.
- Tao Y, DL Berlinsky and CV Sullivan. 1996. Characterization of a vitellogenin receptor in white perch (*Morone americana*). *Biol. Reprod.* 55:646-656.
- Tremea F, SR Batistuzzo de Medeiros, B ten Heggeler-Bordier, JE Germond, A Seiler-Tuyns and W Wahli. 1989. Identification of two steroid-responsive promoters of different strength controlled by the same estrogen-responsive element in the 5'-end region of the *Xenopus laevis* vitellogenin gene A1. *Mol. Endocrinol.* 3:1596-1609.
- Ueda H, O Hiroi, A Hara, K Yamauchi and Y Nagahama. 1984. Changes and serum concentrations of steroid hormones, thyroxine, and vitellogenin during spawning migration of the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 53:203-211.
- van het Schip FD, J Samallo, J Broos, J Ophuis, M Mojet, M Gruber and G AB. 1987. Nucleotide sequence of a chicken vitellogenin gene and derived amino acid sequence of the encoded yolk precursor protein. *J. Mol. Biol.* 196:245-260.
- Wahli W, IB Dawid, GU Ryffel and R Weber. 1981. Vitellogenesis and the vitellogenin gene family. *Science* 212: 298-304.
- Wahli T, W Meier, H Segner and P Burkhardt-Holm. 1998. Immunohistochemical detection of vitellogenin in male brown trout from Swiss rivers. *Histochem. J.* 30:753-758.
- Wallace RA and K Selman. 1985. Major protein changes during vitellogenesis and maturation of *Fundulus oocytes*. *Dev. Biol.* 110:492-498.
- Wang SY and DL Williams. 1980. Identification, purification, and characterization of two distinct avian vitellogenins. *Biochemistry* 19:1557-1563.
- Wangh LJ and J Knowland. 1975. Synthesis of vitellogenin in cultures of male and female frog liver regulated by estradiol treatment in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72:3172-3175.
- Yadete F, A Arukwe, A Goksoyr and R Male. 1999. Induction of hepatic estrogen receptor in juvenile Atlantic salmon in vivo by the environmental estrogen, 4-nonylphenol. *Sci. Total Environ.* 233:201-210.

---

### Vitellogenesis in Vertebrates and Environmental Estrogen

Myung-Chan Gye and Myung-Soo Han<sup>1</sup>

Department of Biology, College of Natural Sciences, Kyonggi University, Suwon 442-760, Korea,

<sup>1</sup>Department of Biology, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

**Abstract** - Vitellogenesis, an important reproductive process in oviparous animals, includes the processes of hormonally regulated synthesis of yolk precursor protein, vitellogenin (Vg), and their deposition in ovarian oocytes as a vitellin which is an important energy source as well as buoyancy regulator of the egg. Vg genes consist of a gene family that encompasses a large number of lipoproteins and produce different Mr. Vg proteins in liver. The expression of Vg is largely dependent on the estrogen, and both reproductive cycle and temperature also influence Vg synthesis. Synthetic estrogens or estrogenic pollutants was sufficient to induce Vg in both sexes of oviparous vertebrates. Therefore, the estrogenic induction of vitellogenesis in male has been used for biological marker in the screening of estrogenicity of certain endocrine disrupting compounds and the monitoring the world-wide contamination of estrogenic compounds in wild life. In the studies on the biological hazard and influence of endocrine disrupting chemicals using the Vg induction in oviparous males, it is important to consider the reproductive cycle, zoogeography and biodiversity of the wild life animals in Korea.

**Key words** : vitellogenin, vertebrates, estrogen

---

(2000년 5월 25일 접수; 2000년 7월 3일 채택)