

출생 전 · 후 뇌의 성분화 결정시기에 DDT에 의한 KAP3 유전자 조절에 대한 연구

강한승 · 전부일 · 최은정¹ · 이병주¹ · 이채관 · 강성구[†]

인제대학교 생물학과, ¹울산대학교 생물학과

Study on the Regulation of KAP3 Gene Involved in the Brain Sexual Differentiation by DDT during the Critical Period of Fetal and Neonatal Age

Han-Seung Kang, Bu-il June, Eun-Jung Choi¹, Byung-Ju Lee¹,
Chae-Kwan Lee and Sung-Goo Kang[†]

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

¹Department of Biology, College of Natural Sciences, Ulsan University, Ulsan 680-749. Korea

요 약: 환경에 방출되어 있는 많은 내분비교란물질들은 사람과 동물의 내분비계에 교란을 일으킬 수 있는 잠재력을 가진다. 뇌의 성분화는 생식소 호르몬 영향하에 비가역적으로 진행되며 흰쥐의 경우 이 시기는 임신말기에서 생후 7~10일 가량이다. 최근에 본 연구진은 흰쥐의 뇌 성 분화의 결정적인 시기에 발현되는 KAP3 유전자를 클로닝하였다 (Choi & Lee, 1999). KAP3의 기능은 신경세포를 포함한 세포에서 axonal transport를 조절하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 흰쥐 뇌 발생의 결정적인 시기에 내분비 교란물질인 Dichlorodiphenyl trichloroethane (DDT)가 KAP3 유전자 발현과 성분화에 미치는 영향을 검토하였다. DDT에 노출된 임신 17일된 흰쥐 태아 암컷과 수컷의 뇌에서 KAP3 mRNA의 발현이 증가하였다. 그러나 출생후 DDT에 노출된 흰쥐 암컷과 수컷의 뇌에서는 KAP3 mRNA의 발현은 감소하였다. 또한 태어난 직후 DDT에 노출된 경우 체중이 현저히 감소하였으며 수정율도 DDT에 노출되지 않은 흰쥐에 비하여 크게 낮았다. 이러한 결과는 내분비 교란물질인 DDT가 뇌의 성 분화와 관련된 유전자인 KAP3의 전사에 영향을 미치며, 내분비 교란물질에 노출된 태아의 뇌 분화에서 독성을 보이는 것을 의미한다. 그리고 KAP3 유전자는 동물의 신경세포의 발생에 미치는 내분비 교란 물질의 독성을 분자생물학적으로 연구하기 위한 유전자 지표로도 사용 가능하다고 생각된다.

ABSTRACT: A large number of man-made chemicals that have been released into the environment have the potential to disrupt the endocrine system of animals and humans. There is a critical developmental period during which sexual brain differentiation proceeds irreversibly under the influence of gonadal hormone. Recently we identified KAP3 gene expressed during the critical period of rat brain sexual differentiation. KAP3 functions as a microtubule-based motor that transports membranous organelles anterogradely in cells, including neurons. In the present study, we aimed to investigate the effect of endocrine disruptor, Dichlorodiphenyl trichloroethane (DDT), on the KAP3 gene expression during critical period of rat brain development. Maternal exposure to DDT increased the level of KAP3 mRNA in male and female fetus brains when examined on the gestational day 17 (GD17). In postnatal day 6, DDT suppressed the expression of KAP3 gene in male and female rat brain. Also, the body weight and fertilization rate were decreased in the DDT exposed rats. These results showed that endocrine disruptor, DDT, can affect the transcriptional level of brain sexual differentiation related gene, KAP3, in the prenatal and the neonatal rat brain and that maternal exposure to endocrine disruptors may lead to a toxic response in embryonic differentiation of brain. And so KAP3 gene may be used a gene maker to analyse the molecular mechanism for toxic response in animal nerve tissues exposed to endocrine disruptors.

Key word: Endocrine disruptors, KAP3, DDT, Fertilization rate, Brain sexual differentiation.

서 론

본 연구는 학술진흥재단의 과학기술 기초연구 유전공학 분야(1998)의 지원을 받았다.

[†]교신저자: 경남 김해시 어방동, 인제대학교 생물학과 (우) 621-749 (전) 055-320-3212 (팩) 055-336-7706 e-mail: biosgkan@line.inje.ac.kr

포유동물의 뇌는 발생과정의 '결정적인 시기'에 생식소 호르몬 (androgen)의 작용에 의해 기능적, 구조적인 성분화가

일어난다. 이 시기에 안드로겐이 있으면 생식기관과 중추신경계의 형태, 그리고 성적행동도 남성화 혹은 탈 여성화 현상이 나타난다. 설치류의 경우, 성 분화에 있어서 '결정적인 시기'는 임신말기에서 생후 7~10일 가량이다 (vom Saal & Bronson, 1980; Weisz & Ward, 1980). 이 시기에 남성화 혹은 여성화된 행동의 특성, gonadotropin의 주기적인 분비기작 혹은 뇌의 형태적인 특성 등의 몇 가지 신경계통의 성적이형형질이 나타난다. 뇌 성 분화의 '결정적인 시기'에 에스트로젠은 gonadotropin의 분비와 성 행동에 각인을 가함으로써 영구적으로 생물체에 영향을 미친다. 에스트로겐에 의한 뇌의 분화는 영구적인 것으로서 3가지 단계로서 요약할 수 있다. 태아의 신경생성, 출생 직후의 신경망 형성과 성체에서 synaptic remodeling이 그것이다 (Naftolin et al., 1990). 스테로이드 호르몬에 의한 성 분화 기작을 연구하는데 고전적으로 널리 사용되는 모델은 출생 직후 성분화의 '결정적인 시기'에 고농도의 에스트로겐을 주입함으로써 성 분화를 저해한 estrogen sterilized rat (ESR) 이다 (Arai & Gorski, 1968). ESR 암컷의 경우, 정상적인 암컷에 비하여 성행동이 남성화하며 sexually dimorphic nucleus - preoptic area (SDN-POA)가 커진다 (Groomer et al., 1971; Tattelin & Gorski, 1988; Faber & Hughes, 1991). 또한 사춘기가 현저히 연기 혹은 사라지고 시상하부-뇌하수체-생식소축에 영구적인 결손이 발생하여 luteinizing hormone releasing hormone (LHRH)과 luteinizing hormone (LH) surge가 사라진다. 그리고 기본적인 LH 분비량도 현저히 감소한다 (Harlan & Gorski, 1978; Faber et al., 1991; 1993).

우리 주위의 도처에 다량으로 방출되어 있는 인공 화학물질들은 사람과 동물의 내분비계통을 교란시킬 수 있는 잠재력을 가지고 있다. 이 인공화학물질들은 일명 '내분비교란물질'이라고 하며, 생물생존의 기본조건인 생식과 생육에 악영향을 미친다. DDT는 대표적인 내분비 교란물질이며, 에스트로겐 수용체와 결합하여 내분비계 장애와 암을 유발하는 것으로 알려져 있다. 또한, DDT를 임신한 흰쥐에 투여했을 때 DDT의 분해산물인 2,2-bis(*p*-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene (DDE)는 안드로겐 차단물질로 작용하여 태아의 발생에 이상을 유발한다고 알려져 있다 (Faber et al., 1991; Kostka et al., 1996; You et al., 1998).

최근에 본 연구진은 KAP3 유전자를 흰쥐의 뇌에서 확인하여 클로닝하였다 (Hirokawa, 1997; Choi & Lee, 1999). KAP3는 kinesin superfamily proteins (KIFs) 등을 세포 내 소기관의 막과 결합시키는 기작에 관여함으로써 axonal transport를 조절하는 것으로 알려져 있다 (Yamazaki et al., 1996). KAP3 mRNA의 길이는 3.5kb 이다. KAP3의 발현은 흰쥐 암

컷의 경우 사춘기에 해당하는 생후 28일경에 크게 증가하며 수컷에서는 사춘기에도 변화가 적었다 (Choi & Lee, 1999).

본 연구는 대표적인 내분비교란물질로 알려진 DDT가 estrogen response gene이며 암컷의 성 분화와 사춘기 개시에 중요한 역할을 하는 KAP3 유전자의 발현과 흰쥐의 성분화에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 관리

실험동물은 Sprague Dawley strain (*Rattus norvegicus*) 흰쥐를 사용하였다. 조절된 온도(24~26°C)와 광 조건(명기 14시간, 암기 10시간)하에서 사육하였으며, 물과 먹이는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 임신한 흰쥐와 태아를 얻기 위해서 암컷을 수컷과 합사하여 임신을 유도한 후 vaginal smear에 의해 정자가 관찰된 날을 임신 0일로 설정하였다.

2. 내분비 교란물질의 처리

성분화의 결정적인 시기에 따라 2개의 군으로 나누어 실험하였다. 첫 번째 군은 임신말기의 흰쥐로서, 임신이 확인된 흰쥐를 임신 16일째에 DDT(30 mg/kg B.W)를 주사하고, 대조군은 동량의 sesame oil만을 주사하였다. 임신 17일과 18일에 각각 도살하여 암, 수 구분이 된 태아의 뇌를 적출하였다. 두 번째 군은 출생 직후의 흰쥐로서, 출생일 부터 5일간 DDT(30 mg/kg B.W)를 주사한 후 6일에 경추 탈골법으로 도살하여 뇌를 적출하였다.

3. RNA의 추출

Total RNA 추출은 Tri-Reagent (Sigma St Louis, MO, USA.)을 사용하였다. Sample 0.1g에 Tri-Reagent 1ml을 넣고 homogenizer를 사용하여 얼음에 tube를 담은 상태에서 약 30초간 마쇄하였다. 마쇄액이 든 tube에 chloroform 0.2ml을 넣고 실온에서 15분간 방치 후, 4°C, 13,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액을 수거한 후 동량의 isopropanol을 가하여 RNA를 침전시켰다. 침전된 RNA는 formamide에 녹여 사용하였다.

4. Northern Blot Analysis

30 μ g의 total RNA를 1% agarose/2.2 M formaldehyde gel에서 50 V로 3시간 동안 전기영동하였다. 전기영동 후 RNA transfer kit(Trans Vac, Hoefer San Francisco, USA)를 사용하여 total RNA를 nylon membrane으로 옮긴 후, vacuum oven에서

80°C로 2시간동안 반응시켰다. Nylon membrane에 hybridization buffer를 가하고, 42°C에서 2시간동안 prehybridization 한 후, KAP3 cRNA probe (1×10^9 cpm/ml)를 첨가하여 42°C에서 18시간 동안 hybridization하였다. Hybridization buffer의 조성은 50% deionized formamide, $5 \times$ SSC ($1 \times$ SSC: 0.15 M NaCl and 0.015 M sodium citrate), $5 \times$ Denhardt's solution($1 \times$ Denhardt's solution: 0.01% polyvinyl pyrrolidone, 0.01% Ficoll and 0.01% BSA), 0.1% SDS, 2 mg salmon sperm DNA 이었다. Hybridization이 끝난 후 비 특이적인 결합을 제거하기 위하여 세척액($1 \times$ SSC+0.1% SDS, $0.2 \times$ SSC+0.1% SDS)을 사용하여 각각 2회씩 세척한 후, X-ray film (X-OMAT, Kodak, New Haven, CT, USA)으로 1~4일 동안 -70°C에서 감광시켰다.

5. KAP3 cRNA Probe의 제작

pGEM-T Easy Vector(Promega, Madison, WI, USA)에 클로닝된 KAP3 유전자를 제한효소 Spe I으로 절단하였다. 직선상의 KAP3 유전자 주형에 T7 RNA polymerase를 포함한 *in vitro* transcription kit (Promega)와 [α -³²P] UTP(Amersham Pharmacia, Buckinghamshire, England)를 사용하여 probe를 합성하였다. 합성된 antisense cRNA probe를 Nick column (Amersham Pharmacia, Buckinghamshire, England)에 통과시켜 정제하고, SET buffer (0.1% SDS, 1 mM EDTA, 10 mM Tris, 10 mM dithiothreitol)로 추출하였다.

6. DDT에 노출된 흰쥐의 수정율 조사

DDT에 노출된 흰쥐의 수정율을 조사하기 위하여 DDT에 노출된 (출생후 1~5일) 흰쥐를 6주간 사육한 후, 암수 구분, DDT 노출 여부에 따라 다음과 같이 4개의 군으로 나누어 실험하였다. 정상 수컷, 정상 암컷군 정상 수컷, DDT 암컷군 DDT 수컷, 정상 암컷군 DDT 수컷, DDT 암컷군. 암수 각각 1 마리씩 군별로 20쌍을 합사하여 28일간 방치한 후 수정율을 조사하였다. 수정은 임신 여부와 도살 후 수정란의 착상 여부를 확인하여 판정하였다.

결 과

1. 내분비 교란물질이 출생 직후의 흰쥐 체중에 미친 영향

출생 후 5일 동안 DDT를 주사한 흰쥐를 대상으로 이들의 체중을 측정한 결과 대조군 흰쥐는 체중이 $10(\pm 2.7)$ g으로 나타난 것에 비하여, DDT 처리군에서는 $6.8(\pm 2.3)$ g으로 32%의 체중 감소를 보였으나 통계적 유의성은 없었다 (Fig. 1).

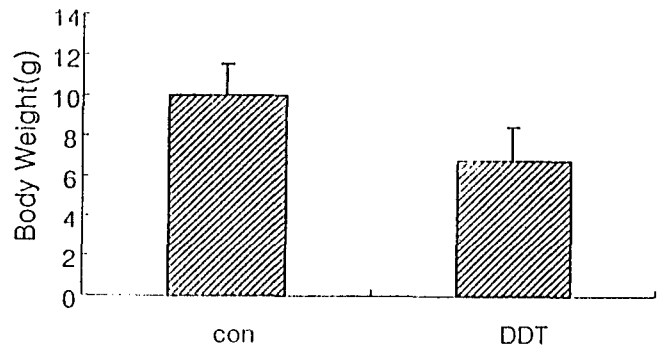


Fig. 1. Effect of DDT on the body weight of rat neonatals. Rat neonatal bodies were weighed after DDT (30 mg/kg)/sesame oil or sesame oil(control) administration each from day 1 to day 5 and subsequently sacrificed at day 6. Data was calculated by mean of SE. CON, Control; DDT, Dichlorodiphenyl trichloroethane.

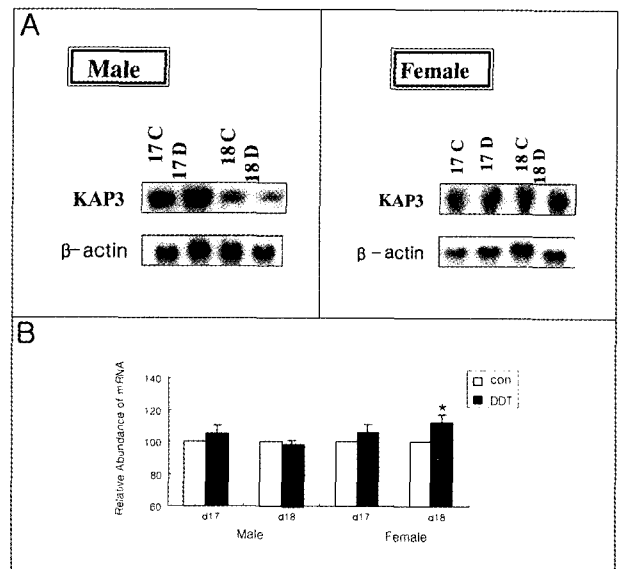


Fig. 2. Northern blot analysis of KAP3 mRNA expression in male and female fetus brain obtained from the pregnant rat that had been exposed to DDT. Total RNA was isolated from fetus brain after DDT (30 mg/kg) administration of the pregnant rat. Control animals were injected with sesame oil at pregnant day 16 and sacrificed at day 17 and 18, respectively. (A) Replicate northern blots containing 30µg of total RNAs were cRNA probed to analysis the expression of KAP3 mRNA level and were exposed to film for 48hrs. (B) Relative levels of KAP3 mRNA normalized with β-actin levels and calculated as % of control values. Each point represents the mean (±SE) of KAP3 mRNA levels from triplicated experiments (*, P<0.05). 17 C, Control of gestational day 17; 17 D, Injection of DDT at gestational day 17; 18 C, Control of gestational day 18; 18 D, Injection of DDT at gestational day 18.

2. DDT처리가 KAP3 유전자의 발현에 미치는 영향

DDT 노출군과 대조군 흰쥐 태아 암컷과 수컷의 뇌로부터 KAP3 mRNA 양을 분석한 결과 흰쥐 수컷은 임신 17일군에서 대조군과 비교하여 DDT처리군의 KAP3 mRNA 양이 증가되었다. 암컷의 경우는 임신 17~18일 DDT 노출군에서 KAP3 mRNA의 양이 증가하였다 ($P < 0.05$) (Fig. 2). 출생 후 5일간 DDT를 주사한 흰쥐 암컷과 수컷의 뇌에서 KAP3 mRNA 양을 분석한 결과 암, 수 모두 DDT처리군이 대조군과 비교하여 KAP3 mRNA 양이 감소되었다(Fig. 3, $P < 0.05$).

3. DDT처리가 흰쥐의 수정율에 미치는 영향

출생후 5일간 DDT에 노출된 흰쥐의 수정율을 대조군과 비교 검토한 결과, DDT에 노출되지 않은 대조군 흰쥐의 수정율 80%와 비교하여, 정상인 수컷과 DDT에 노출된 암컷에서는 40%, DDT에 노출된 수컷과 정상인 암컷에서는 50%, 암컷과 수컷이 동시에 DDT에 노출되었을 경우는 10%로 수정율이 감소되었다 (Table 1).

고 찰

내분비계(호르몬계)란 생체의 항상성(homeostasis), 생식, 발생, 행동 등에 관여하는 각종 호르몬을 합성, 분비하는 기관으로서 선(gland), 호르몬(hormone), 표적세포(target cell) 등 3가지 부분으로 나누어지며 생산된 호르몬은 직접 혈류 속으로 들어가 표적세포와 조직의 다양한 기능을 활성화시키고 조절한다.

내분비 교란물질이란 생명체의 정상적인 호르몬 기능에 영향을 주는 합성 혹은 자연 상태의 화학물질을 말하며 “환경 중에 배출된 화학물질이 생물체내에 유입되어 마치 호르몬처럼 작용한다”고 하여 환경호르몬이라고도 칭한다. 내분비 교란물질의 작용은 수용체와 결합과정에서의 호르몬 모방작용(mimics), 차단작용(blocking), 촉발작용(trigger), 그리고 간접영향작용 등으로 대별된다. 내분비 교란물질은 종류에 따라 교란시키는 호르몬의 종류 및 교란 방법이 서로 다르다. Polychlorinated biphenyl(PCB), bisphenol A(BPA)는 에스트로겐 유사체로 촉발 또는 모방작용(Gallant et al., 2000; Long et al., 2000; Vakharia & Gierthy, 2000)을 하며, DDT는 대사과정에서 DDE로 변형되는데, DDE는 테스토스테론과 에스트로겐 차단작용(Sheeler et al., 2000)을 하는 것으로 알려져 있다. 현재 알려진 내분비 교란물질은 약 100여종 이상으로 추정하고 있다. 이 내분비 교란물질은 자연 상태에 잔류할 뿐만 아니라, 생물체내로 유입된 후 축적되어 세대를 걸친 독성을 가진다. 내분비 교란물질은 호르몬의 특성을 가지므로 미량으로도 큰 과급효과를 일으켜 발생 및 생식 등에 이상을 초래한다고 보고되어 있다(Palanza et al., 1999). 특히, 이들은 성 분화 과정에 관여하여 성 구분의 혼란, 성기 기형, 생식능력을 감소시킴으로서 생태계를 위협한다.

포유동물에 있어서의 성 분화는 생식기 발달 이전에 뇌의 성분화가 선행된다. 뇌의 성 분화에 관련된 유전자로 유력시되는 KAP3 유전자는 KIF3A/3B 와 관련된 단백질로서 사춘기 개시에 중요한 역할을 한다. 최근에 많은 KIFs들이 클로

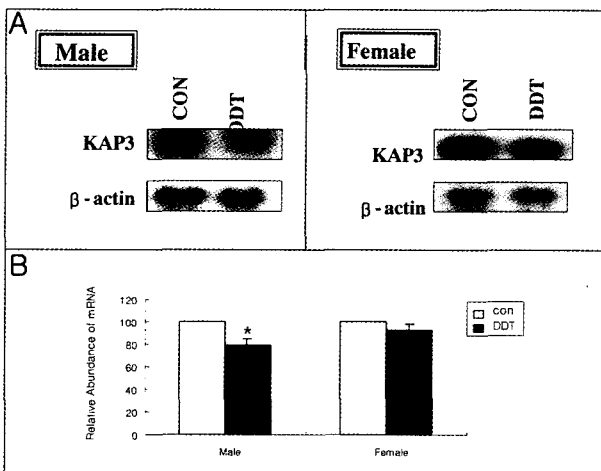


Fig. 3. Northern blot analysis of KAP3 mRNA expression in rat male and female neonatal brain affected by DDT. Total RNA was isolated from neonatal brain that had been exposed to DDT (30 mg/kg). Control neonatal animals were injected with sesame oil from day 1 to day 5 and subsequently sacrificed at day 6. (A) Replicate northern blots containing 30µg of total RNAs were cRNA probed to analysis the expression of KAP3 mRNA level and were exposed to film for 48hrs. (B) Relative levels of KAP3 mRNA normalized with β-actin levels and calculated as % of control values. Each point represents the mean (±SE) of KAP3 mRNA levels obtained from 3 times experiments (*, $P < 0.05$). CON, Control; DDT, Dichlorodiphenyl trichloroethane.

Table 1. Fertilization rates of each male and female with or without the exposure to the DDT

| Male | Female | Fertilization rate (%) |
|--------|--------|------------------------|
| Normal | Normal | 80 |
| Normal | DDT | 40 |
| DDT | Normal | 50 |
| DDT | DDT | 10 |

닝 되었는데, kinesin은 microtubule - based motor로서 신경세포 등의 세포에서 원형질막의 전구체, synaptic vesicles, mitochondria 수송을 담당한다 (Brady, 1985; Vale et al., 1985; Hirokawa et al., 1991; Hirokawa, 1993; 1997). KAP3은 KIF3A/3B의 꼬리부분에 결합하며 KIF3A/3B의 활성화에는 영향을 미치지 않으나 KIF3A/3B와 운반체의 결합기작에 관여한다 (Yamazaki et al., 1996).

본 연구에서는 흰쥐 뇌 성 분화의 결정적인 시기인 임신말기와 출생 후 초기에 내분비 교란물질로 알려진 DDT가 흰쥐의 성 분화와 KAP3 유전자 발현에 미치는 영향을 조사하였다. DDT투여는 임신말기와 출생 후 초기 흰쥐 암컷과 수컷 태아의 뇌에서 KAP3 유전자의 발현에 교란을 일으켰다 (Fig. 2, 3). 그리고 DDT를 주사한 흰쥐의 체중은 대조군과 비교하여 감소되었는데 이것은 PCB에 노출된 어미에게서 태어난 생쥐들이 노출되지 않은 생쥐들보다 뇌와 체중이 감소된다는 보고(Ness et al., 1993; Dennis et al., 1996)와 유사한 결과이다(Fig. 1). 그리고 DDT에 노출된 흰쥐의 수정을 또한 현저히 감소되었다 (Table 1). 본 연구진은 선행된 연구에서 에스트로겐에 의한 흰쥐의 KAP3 유전자 발현조절과 성분화에 미치는 영향을 보고하였다 (Choi and Lee, 1999). 에스트로겐은 KAP3 유전자의 발현을 억제하였으며, 인위적인 KAP3 유전자 발현억제는 estrus cycle의 개시를 지연시켰다. 이러한 결과는 KAP3 유전자가 흰쥐의 뇌 성분화에 중요한 역할을 하며, 과도한 에스트로겐투여에 의한 KAP3유전자 발현억제는 정상적인 성분화를 교란시킴을 의미한다. 그리고 본 연구에 사용된 DDT 또한 생체내에서 에스트로겐 차단작용을 나타낸다고 알려져 있다 (Palanza et al., 1999). 위와 같은 결과들로 보아 내분비교란물질로 알려진 DDT가 흰쥐 뇌 성분화의 '결정적인 시기'에 과량 노출될 경우 사춘기 개시와 뇌의 성분화에 중요한 역할을 한다고 알려진 KAP3 유전자의 발현에 영향을 미치는 등 정상적인 뇌 성분화를 교란시키는 것으로 생각된다. 이러한 결과는 DDT가 에스트로겐 반응체로 작용한다는 사실 (Palanza et al., 1999; Edmunds et al., 2000; Sheeler et al., 2000)과 에스트로겐이 KAP3 유전자 발현에 영향을 미친다는 보고와도 일치된다 (Choi & Lee, 1999). 그리고 KAP3 유전자는 동물의 신경세포 발생에 대한 내분비 교란물질의 독성을 분자생물학적으로 연구하기 위한 유전자 지표로 사용 가능하다고 생각된다.

인용문헌

Arai Y, Gorski RA (1968) Critical exposure time for

androgenization of the developing hypothalamus in the female rat. *Endocrinology* 82: 1010-1014.

Brady ST (1985) A novel brain ATPase with properties expected for the fast axonal transport motor. *Nature* 317: 73-75.

Choi EJ, Lee BJ (1999) Identification of genes involved in the onset of female puberty of rat. *Korean J Biol Sci* 3: 319-329.

Dennis CM, Eva KW, Wendelies W (1996) Alterations in rat brain thyroid hormone status following pre-and postnatal exposure to polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254). *Toxicology and Applied Pharmacology* 136: 269-279.

Edmunds JS, McCarthy RA, Ramsdell JS (2000) Permanent and functional male-to-female sex reversal in d-rR strain medaka (*Oryzias latipes*) following egg microinjection of o,p'-DDT. *Environ Health Perspect* 108: 219-224.

Faber KA, Hughes CL, Jr (1991) The effect of neonatal exposure to DES, genistein, and zearalenone on pituitary responsiveness and SDN-POA volume in the castrated adult rat. *Biol Reprod* 45: 649-653.

Faber KA, Basham K, Hughes CL, Jr (1991) The effect of neonatal exposure to DES and o,p'-DDT on pituitary responsiveness to GnRh in adult castrated rats. *Reprod Toxicol* 5: 363-369.

Faber KA, Ayyash L, Dixon S, Hughes CL Jr (1993) Effect of neonatal diethylstilbestrol exposure on volume of the sexually dimorphic nucleus of preoptic area of the hypothalamus and pituitary responsiveness to gonadotroin-releasing hormone in female rats of known anogenital distance at birth. *Biol Reprod* 48: 947-951.

Gallant TL, Singh A, Chu I (2000) PCB 118 induces ultrastructural alterations in the rat liver. *Toxicology* 145: 127-134.

Groomer N, Saxena RN, Sheth AR (1971) Effect of neonatal testosterone and oestradiol treatment on the development of the hypothalamo-hypophysial axis in the female rat. *J Reprod Fertil* 50: 239-249.

Harlan RE, Gorski RA (1978) Effects of postpubertal ovarian steroids on reproductive function and sexual differentiation of lightly androgenized rats. *Endocrinology* 102: 1716-1724.

Hirokawa N (1993) Axonal transport and the cytoskeleton. *Curr Opin Neurobiol* 3: 724-731.

Hirokawa N (1997) The mechanisms of fast and slow transport in neurons: identification and characterization of the new

- kinesin superfamily motors. *Curr Opin Neurobiol* 7: 605-614.
- Hirokawa N, Sato-Yoshitake R, Kobayashi N, Pfister KK, Bloom GS, Brady ST (1991) Kinesin associates with anterogradely transported membranous organelles *in vivo*. *J Cell Biol* 114: 295-302.
- Kostka G, Kopec-Szlezak J, Pault D (1996) Early hepatic changes induced in rats by two hepatocarcinogenic organohalogen pesticides; bromopropylate and DDT. *Carcinogenesis* 17: 407-412.
- Long X, Steinmetz R, Ben-Jonathan N, Caperell-Grant A, Young PC, Nephew KP, Bigsby RM (2000) Strain differences in vaginal responses to the xenoestrogen bisphenol A. *Environ Health Perspect* 108: 243-247.
- Naftolin F, Garcia-Segura LM, Keefe D, Leranath C, Maclusky NJ, Brawer JR (1990) Estrogen effects on the synaptology and neural membranes of the hypothalamic arcuate nucleus. *Biol Reprod* 42: 21-28.
- Ness DK, Schantz SL, Moshtaghian J, Hansen LG (1993) Effects of perinatal exposure to specific PCB congeners on thyroid hormone concentrations and thyroid histology in the rat. *Toxicol Lett* 68: 311-23.
- Palanza P, Parmigiani S, Liu H, vom Saal FS (1999) Prenatal exposure to low doses of the estrogenic chemicals diethylstilbestrol and o,p-DDT alters aggressive behavior of male and female house mice. *Pharmacol Biochem Behav* 64:665-672.
- Sheeler CQ, Dudley MW, Khan SA (2000) Environmental estrogens induce transcriptionally active estrogen receptor dimers in yeast: activity potentiated by the coactivator RIP140. *Environ Health Perspect* 108: 97-103.
- Tarttelin MF, Gorski RA (1988) Postnatal influence of diethylstilbestrol on the differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the rat is as effect as perinatal treatment. *Brain Res* 456: 271-274.
- Vakharia DD, Gierthy JF (2000) Use of a combined human liver microsome-estrogen receptor binding assay to assess potential estrogen modulating activity of PCB metabolites. *Toxicol Lett* 114: 55-65.
- Vale RD, Reese TS, Sheetz MP (1985) Identification of a novel force-generating protein, kinesin, involved in micro-tubule-based motility. *Cell* 42: 39-50.
- vom Saal FS, Bronson FH (1980) Sexual characteristics of adult female mice are correlated with their blood testosterone levels during prenatal development. *Science* 208: 597-599.
- Weisz J, Ward IL (1980) Plasma testosterone and progesterone titers of pregnant rats, their male and female fetuses, and neonatal offspring. *Endocrinology* 106: 306-316.
- Yamazaki H, Nakata T, Okada Y, Hirokawa N (1996) Cloning and characterization of KAP3: a novel kinesin superfamily-associated protein of KIF3A/3B. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 8443-8448.
- You L, Casanova M, Archibeque-Engle S, Sar M, Fan LQ, Heck HA (1998) Impaired male sexual development in perinatal Sprague-Dawley and Long-Evans hooded rats exposed in utero and lactationally to p,p-DDE. *Toxicol Sci* 45: 162-173.