

# 금붕어 수정란의 2,3,7,8-TCDD 노출에 따른 다이옥신 관련 유전자의 발현 및 형태학적 변화

오승민, 유병택, 김하룡, 정규혁\*

성균관대학교 약학부

## Early Life Stage Toxicity of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-Dioxin (TCDD) in Goldfish (*Carassius auratus*)

Seung-Min Oh, Byung-Taek Ryu, Ha-Ryong Kim and Kyu-Hyuck Chung\*

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon, Gyeonggi 440-746, Korea

### ABSTRACT

In this study, we obtained the fertilized eggs from goldfish (*Carassius auratus*) and observed normal developmental stage (from fertilized eggs to larvae) in non-exposed groups. Goldfish embryos at 3 h postfertilization (hpf) were statically exposed for 1 h to either dimethylsulfoxide (DMSO, 0.1%, v/v) or TCDD (0.5 µg/L). Toxicity and morphological changes were characterized from 3 to 120 h postfertilization (hpf). Egg mortality (0~48 hpf) and hatching ratio (72~83 hpf) in TCDD-exposed group were significantly different from control groups. However, pericardial edema was first observed at 72 hpf, followed by the onset of yolk sac edema and mortality. In addition, goldfish embryos-larvae exposed to TCDD significantly increased TCDD-related gene such as CYP1A (24~72 hpf) and AhR2 (72 hpf). This is the first study about in-depth characterization of TCDD-induced developmental toxicity in goldfish (*Carassius auratus*).

**Key words** : goldfish, TCDD developmental toxicity, early life stage, AhR2, CYP1A

### 서 론

Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) 및 dibenzofurans (PCDFs)와 같은 halogenated aromatic hydrocarbons (HAHs)는 환경 중에 폭넓게 분포되어 있는 난분해성 물질로써 (Safe, 1994), 먹이 연쇄를 통해 생물들에 축적되고 지속

적으로 독성을 유도하는 물질로 알려져 있다(Cook *et al.*, 1993; Zabel *et al.*, 1995; Cook *et al.*, 1997). 이러한 물질들은 arylhydrocarbon receptor (AhR) 및 arylhydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT)의 signaling pathway를 통해 cytochrome P4501A 효소 및 다양한 독성을 유도하는 것으로 보고되어 있다(Zabel *et al.*, 1995; Hahn *et al.*, 1996; Clemons *et al.*, 1997). 이 중 가장 독성이 강한 물질인 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD)은 포유동물에서 면역기능저하 (immunosuppression), 발암유도 (carcinogenesis), 간 독성 (hepatotoxicity), 약물 대사효소의

\* To whom correspondence should be addressed.  
Tel: +82-31-290-7714, Fax: +82-31-290-7771  
E-mail: khchung@skku.edu

유도 (xenobiotic metabolizing enzyme induction), 기형유발 (teratogenesis), 흉선퇴행 (thymic involution), 불임 (infertility), 에스트로겐 길항작용 (antiestrogenic effect) 및 피부염증을 수반하는 염소좌창 (chloracne) 등의 다양한 중 특이적 및 조직 특이적인 독성을 나타내는 것으로 확인되었다 (Poland *et al.*, 1982; Safe, 1986; Couture *et al.*, 1990; Whitlock, 1993; Fernandez-Salguero *et al.*, 1995; Peters *et al.*, 1999). 또한 다이옥신류에 노출된 어류 중의 경우에는 산란율과 부화율의 감소, 생식소 발달 억제, 난세포 성숙 억제, 성호르몬과 난황전구물질 농도의 감소 및 성결정에 영향을 미친다 (Westernhagen *et al.*, 1981; Hansen *et al.*, 1985; Andersson *et al.*, 1988; Thomas, 1989; Monosson *et al.*, 1994; Matta, 1998; Jeong *et al.*, 2004). 어류 초기생활단계 (early life stage, ELS)에 대한 다이옥신 독성 연구는 rainbow trout, killifish, medaka 및 zebrafish와 같은 다양한 종에서 이루어지고 있는데 (Walker *et al.*, 1994; Elonen *et al.*, 1998; Hahn, 2001), 특히 TCDD에 노출된 어류 수정란은 부하율 감소, 성장장애, 심박부종, 난황부종, 출혈, 안면기형 및 사망률 증가가 유도됨이 밝혀지고 있다 (Walker *et al.*, 1994). 이러한 다이옥신의 어류 초기생활단계인 배아-치어단계 (embryo-larval stage)에 대한 민감성은 인간과 수생생물 종들의 위해성 평가에 좋은 모델로써 제시되고 있다 (Stegeman and Hahn, 1994).

현재 국내에서는 POPs (persistent organic pollutants) 모니터링 중으로써 붕어 (crucian carp, *Carassius auratus*)를 활용하고 있다. 그러므로 붕어종의 환경오염물질에 대한 반응성을 조사할 필요가 있다. 선행연구에서는 붕어종의 다이옥신류에 대한 반응성을 보기 위해 금붕어를 이용하여 다이옥신 관련 유전자인 CYP1A를 클로닝하여 서열 분석하고 다이옥신류에 대한 반응성을 확인한 결과 민감한 독성반응을 유도하는 것이 확인되었다 (Oh *et al.*, 2008). 그러나 아직까지 붕어종의 수정란 즉 초기 생활단계에서의 다이옥신 독성반응에 관한 연구는 수행된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 비교적 일정한 공급이 가능하며 실험실적 연구가 용이한 금붕어 (*Carassius auratus*)를 사용하여 초기생활단계 즉 붕어의 산란, 수정, 치어까지의 생활사 변화를 관찰함과 아울러 TCDD 노출에 따른 독성반응의 변화를 조사하였다.

## 실 험 방 법

### 1. 금붕어 암컷 및 수컷의 합사와 수정

실험용 어류로서 금붕어 (*Casassius auratus*) 암컷 18마리 및 수컷 32마리를 이인 관상어수족관 (충남 공주소재)에서 구입하였다. 사육수의 온도는 20~21°C 정도로 맞추었으며, 난 수집망을 설치하고 암컷과 수컷의 합사 후 매시간 수정을 관찰하였다. 난 산란 후 2시간이 경과하기 전에 깨끗하고 안정된 사육수에 모아두었다.

### 2. 금붕어 수정란에 대한 TCDD의 노출 및 배양 시간별 독성 관찰

수정 후 3시간이 경과한 난을 2 그룹으로 나누어 각각 0.1% DMSO (대조군)와 5 µg/L TCDD를 1시간 동안 노출시켰으며 노출시킨 후 모든 난을 사육수로 3회 세척하였다. 대조군과 TCDD 노출군의 난을 5 mL의 사육수가 있는 6-well plate에 well 당 각각 36개씩 넣었으며 시간별 관찰 (24, 36, 48, 72 및 120시간)을 위해 총 5그룹으로 나누어 21°C에서 배양하였다. 각각의 시간대에 각 well에서 난의 외관상 형태학적인 독성을 BX40-Olympus 현미경과 DP70-Olympus 디지털 카메라를 이용하여 관찰 촬영하였다. 또한 TCDD관련 유전자의 발현을 확인하기 위해 각 군의 시료를 액화질소에 급속 냉동시켜 -70°C에 보관하였다.

### 3. 다이옥신 관련 유전자 발현 확인

냉동보관된 시료를 Trizol (GIBCO)을 이용해서 total RNA를 분리하였으며 reverse transcription (RT) 및 real-time PCR을 통해 다이옥신 관련 유전자 (AhR1, AhR2 및 CYP1A)의 발현을 관찰하였다. RT반응은 분리한 1 µg total RNA, 1 µL AMV reverse transcriptase (9 unit/mL), 4 µL AMV RT 5X Buffer, 0.5 µL RNase inhibitor, 1 µL 10 mM dNTPs 및 Random Hexamer (0.5 mg/mL)를 총 20 µL로 하여 상온에 10분간 방치시키고 42°C에서 50분 반응시킨 후 94°C에서 5분간 반응시켰다. 모든 RT관련 시약은 promega제품 (Madison, WI)을 사용하였다. RT를 통해 얻어진 cDNA는 real-time PCR에 활용하였으며 관찰하고자 하는 유전자의 specific primer를 2X

SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> (Takara BIO INC, Japan)에 0.5 μM씩 첨가하여 최종적으로 20 μL의 반응액을 만든 후 real-time PCR을 수행하였다. PCR은 Smart cycler system (Chepheid, USA)을 사용하여 처음 94°C에서 10초간 반응시킨 후 94°C에서 5초, 51°C (β-actin) 또는 53.5°C (CYP1A, AhR1, AhR2)에서 20초, 72°C에서 20초씩 총 45회 반복된 PCR 과정을 실시하였다. 실험은 3회 반복하여 평균값을 구하였다. 사용된 AhR1, AhR2, CYP1A 및 β-actin의 프라이머 서열은 다음과 같다.

AhR1 upstream : 5'-GAGCTCGTTCACACTGAAG-3'  
 AhR1 downstream : 5'-GTAGACAAGTGTGGCG-TTGA-3'

AhR2 upstream : 5'-GGACATTCACCGACCAGTC-T-3'

AhR2 downstream : 5'-CAGTTGTCAAGGAGGCCA-CC-3'

CYP1A upstream : 5'-TCACCGACTCGCCCATCA-TCAAC-3'

CYP1A downstream : 5'-TTCAGCTCTGTACCGT-CTGC-3'

β-actin upstream : 5'-CACTGTGCCCATCTACGAG-3'

β-actin downstream : 5'-CCATCTCCTGCTCGAAG-TC-3'

### 결과 및 고찰

#### 1. 금붕어의 난 발달 과정

붕어종의 경우 외관상 암수 구분이 어려운 것으

로 알려져 있다. 본 연구에서는 산란기인 4월에서 8월경에 수컷 금붕어의 경우 앞 지느러미에 흰색 돌기가 돋아 있는 특징이 있어 이를 근거로 암수 구분을 명확히 하였다 (Fig. 1). 금붕어의 수정란은 실험실내 수조에서 암수비율 1:2 정도로 24시간 정도 합사시킨 결과, 수집망에서 얇은 노란색을 띠고 있는 수정된 난을 확보할 수 있었으며 (Fig. 2), Fig. 3에서 보는 바와 같이 시간별 발달과정을 확인할 수 있었다. 24시간 때부터 물고기의 윤곽이 envelope 내부에서 확인되었으며, 48시간 때에는 분명한 눈의 발달과 척추의 모습을 확인할 수 있었다. 수정 후 60시간에는 envelope의 내부에 완전한 물고기 형태를 띠고 있는 것을 확인하였으며 72시간 때에 부화가 시작되었고 83시간에는 100%의 부화율을 확인할 수 있었다.

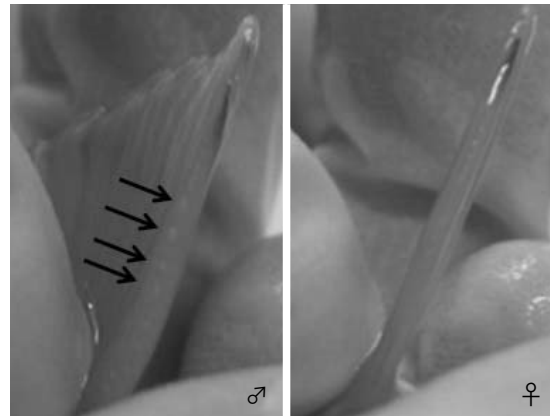


Fig. 1. The characterization of male and female goldfish. Arrows indicate small white breeding tubercles in male fish.

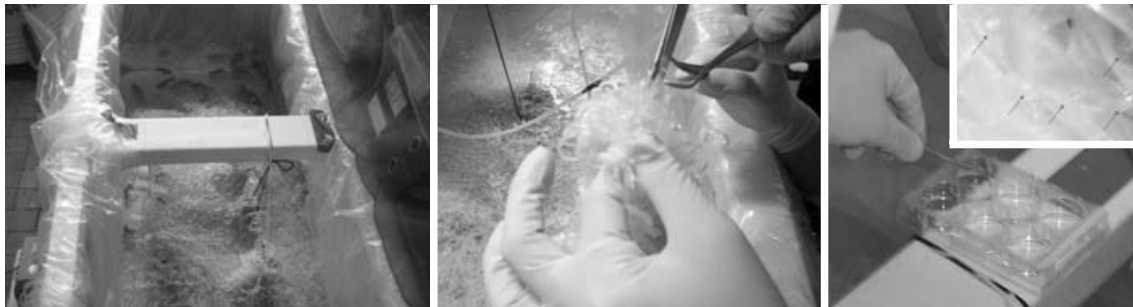


Fig. 2. Fertilization and collection of goldfish eggs.

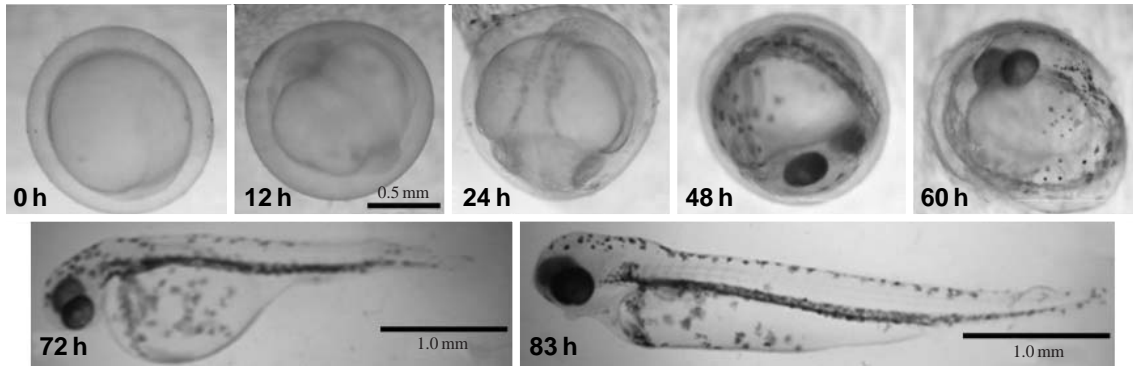


Fig. 3. Morphological changes at developmental stages of goldfish embryos.

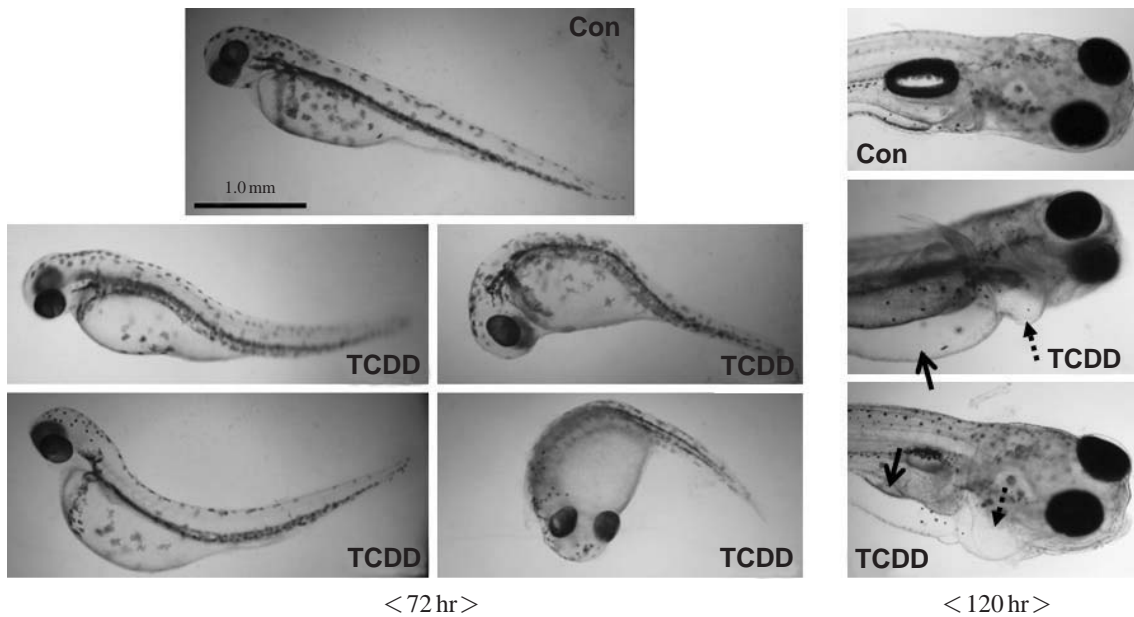
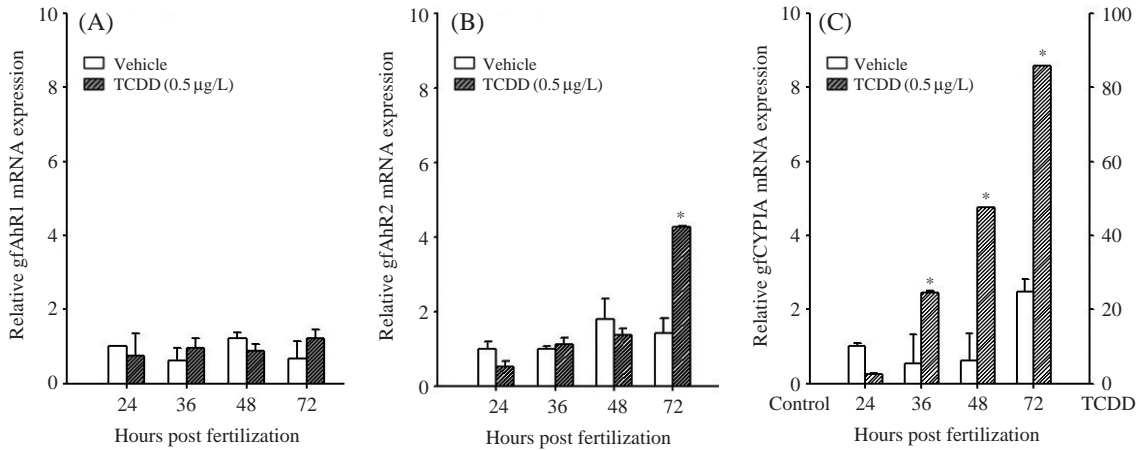


Fig. 4. Morphological changes after hatching of goldfish embryos exposed to TCDD ( $0.5 \mu\text{g/L}$ ).  $\rightarrow$ : yolk sac edema;  $\cdots$ : pericardial edema.

## 2. 금붕어 수정란의 다이옥신 노출에 따른 형태학적 독성 확인

다이옥신 노출에 따른 형태학적 독성영향을 확인하기 위해 수정된 난을 비노출군(대조군) 및 TCDD 노출군( $0.5 \mu\text{g/L}$ )으로 나누어 각각 관찰하였다. 수정 후 발달과정에서 처음 부화된 시점인 72 시간에는 TCDD 노출군의 경우 대조군에 비해 부화율은 크게 차이가 나지 않았으나 Fig. 4에서 보

는 바와 같이 척추측만증(scoliosis)이 확인되었고 정상크기보다 작은 개체의 형태가 관찰되었으며 대부분 심장박동이 관찰되지 않아 부화 직후 사망한 것으로 확인되었다. 부화 후 생존한 개체에 대해 관찰한 결과 TCDD 노출군에서 심막부종(pericardial edema) 및 난황부종(yolk sac edema)이 수정 후 72시간부터 관찰되기 시작하여 120시간이 경과한 시기에는 명확히 관찰되었으며(Fig. 4) 부종이 관찰된 개체들의 경우 시간이 경과하면서 사망



**Fig. 5.** Time course of gfAhR1 (A), gfAhR2 (B), and gfCYP1A (C) mRNA expression in goldfish fertilized egg exposed to vehicle (DMSO) and TCDD (0.5 µg/L) by quantitative real-time PCR. Values for each primers were used to quantify mRNAs for: gfAhR1 (A), gfAhR2 (B) and gfCYP1A (C), note that the scale of the ordinate for the vehicle-treated egg (left) is 1/10th of that for the TCDD-treated egg (right). Values for each primer pair were normalized to  $\beta$ -actin mRNA levels. Each bar represents mean  $\pm$  SD, n=3. \*Significantly different from vehicle control at the same time (p < 0.05).

하는 것으로 나타났다. 일반적으로 부종(edema)은 TCDD의 발생독성에 대한 주요 지표로써 어류, 조류 및 몇몇 포유류에서 관찰되어왔다(Peterson *et al.*, 1993). TCDD에 대한 발생독성 연구에 우수한 모델로 알려져 있는 Zebrafish의 경우 수정 직후 노출되었을 경우에는 수정 후 72시간 내에 부종이 관찰되나, 부화 이후인 96시간이 경과한 이후에 노출되었을 경우에는 부종이 관찰되지 않는다고 보고된 바 있다(Henry *et al.*, 1997; Belair *et al.*, 2001; Andreasen *et al.*, 2002a; Dong *et al.*, 2002; Tanguay *et al.*, 2003). 이와 같이 TCDD에 의해 유도되는 부종은 발생과정 상에 특히 부화 시에 민감하게 영향을 미치는 독성반응임이 보고되었다(Belair *et al.*, 2001). 한편 TCDD에 의해 부종이 나타나는 기전은 초기 발생단계에서 osmotic balance를 유지시키는데 중요한 물의 permeability barrier 기능의 역할에 의한 것임이 밝혀졌다(Hill *et al.*, 2004).

### 3. 금붕어 수정란의 다이옥신 노출에 따른 다이옥신 관련 유전자 발현 확인

어류의 발달 단계에서의 TCDD 독성에 있어 다이옥신 관련 유전자 즉 CYP1A, AhR1 및 AhR2의

역할이 매우 중요한 것으로 알려져 있다. 따라서 난의 수정부터 치어에 이르기까지의 각 유전자의 발현 정도와 TCDD 노출에 의해 나타나는 변화를 real-time PCR을 이용하여 정량적으로 관찰하였다. 그 결과 Fig. 5에서 보는 바와 같이 AhR1은 대조군에 비해 TCDD 노출군에서 유의적인 차이를 보이지 않았으나 AhR2는 수정란의 노출 후 72시간, CYP1A는 36시간부터 대조군에 비해 유의적인 증가를 나타냈다. AhR은 TCDD의 발생독성에 있어서 매우 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 있는데(Fernandez-Salguero *et al.*, 1996; Mimura *et al.*, 1997; Peters *et al.*, 1999), 특히 zebrafish의 경우 AhR2와는 달리 AhR1은 TCDD와의 결합력이 없고 일반적인 AhR-ARNT signaling pathway를 가지지 않아 발생과정에서의 다이옥신 독성에 크게 작용을 미치지 않는 것으로 알려져 있다(Andreasen *et al.*, 2002b). 한편 CYP1A는 AhR pathway에 의해 유도되는 유전자로써 TCDD에 노출된 어류(zebrafish, lake trout)에서 부종(edema)이 유발되기 이전에 vascular endothelium에 발현되어 있는 것이 확인되었다(Hornung *et al.*, 1999; Andreasen *et al.*, 2002a). 본 연구에서는 pericardial edema가 부화가 시작되는 72시간부터 서서히 나타나기 시작하여 120시간에는 뚜렷하게 관찰할 수 있었으며, CYP1A

mRNA 발현은 부종 형성 이전 시간, 즉 발생단계 초기인 24시간부터 72시간까지 대조군에 비해 CYP1A mRNA 발현이 유의하게 증가되었다(Fig. 5). CYP1A knock-down 연구에서는 어류 배발생과정에서 TCDD에 의해 유도된 CYP1A가 다이옥신의 독성에 중요한 작용을 함을 확인한 바 있다(Cantrell *et al.*, 1996; Teraoka *et al.*, 2003; Dong *et al.*, 2004). 따라서 본 연구에서 대조군에 비해 TCDD 노출군에서 CYP1A의 발현이 유의하게 증가되었으며, TCDD 노출과 관련된 것으로 알려져 있는 다양한 형태학적인 독성이 나타나는 것으로 보아 금붕어의 배발생 과정에 TCDD가 민감하게 영향을 미치는 것으로 판단되었다.

## 결 론

국내에서 붕어를 환경 모니터링의 지표종으로 다양하게 사용되고 있어 붕어 종의 환경오염물질의 노출에 대한 독성반응에 관한 연구가 요구된다. 따라서 본 연구에서는 아직까지 연구가 수행되어 있지 않은 붕어 종의 초기생활단계(early life stage)에 미치는 다이옥신의 독성반응에 관해 연구하고자 금붕어의 산란, 수정, 치어까지의 초기생활단계 변화를 관찰함과 아울러 TCDD 노출에 따른 독성반응의 변화를 조사하였다. 붕어의 수정난을 이용한 초기생활단계의 변화를 관찰하기 위해 본 연구에서는 실험실내에서 금붕어의 수정난을 확보하고 또한 부하 후 치어 단계까지 사육이 가능하도록 기초적인 조건을 확립하였다. 한편 금붕어의 수정난의 TCDD 노출연구에서는 이미 연구 보고된 바 있는 다른 어류종과 유사하게 심막부종(pericardial edema), 난황부종(yolk sac edema) 등 TCDD 독성반응 지표와 TCDD 관련 유전자(AhR 및 CYP1A)의 발현이 유도되는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구결과는 붕어 수정난을 이용한 초기생활단계에서의 다이옥신류의 독성평가와 기전연구에 활용될 것으로 기대된다.

## 감사의 글

본 연구는 한국환경기술진흥원의 차세대핵심환

경기술개발사업(과제번호: 091-071-054) 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Andersson T, Fölin L, Hädig J and Larsson A. Physiological disturbances in fish living in coastal water polluted with bleached kraft pulp mill effluents, *Can J Fish Aquat Sci* 1988; 45: 1525-1536.
- Andreasen EA, Spitsbergen JM, Tanguay RL, Stegeman JJ, Heideman W and Peterson RE. Tissue-specific expression of AHR2, ARNT2, and CYP1A in zebrafish embryos and larvae: effects of developmental stage and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin exposure, *Toxicol Sci* 2002a; 68: 403-419.
- Andreasen EA, Hahn ME, Heideman W, Peterson RE and Tanguay RL. The zebrafish (*Danio rerio*) aryl hydrocarbon receptor type 1 is a novel vertebrate receptor, *Mol Pharmacol* 2002b; 62: 234-249.
- Belair CD, Peterson RE and Heideman W. Disruption of erythropoiesis by dioxin in zebrafish, *Dev Dyn* 2001; 222: 581-594.
- Cantrell SM, Lutz LH, Tillitt DE and Hannink M. Embryotoxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD): The embryonic vasculature is a physiological target for TCDD-induced DNA damage and apoptotic cell death in medaka (*Orizias latipes*), *Toxicol Appl Pharmacol* 1996; 141: 23-34.
- Clemons JH, Dixon DG and Bols NC. Derivation of 2,3,7,8-TCDD toxic equivalent factors (TEFs) for selected dioxins, furans and PCBs with rainbow trout and rat liver cell lines and the influence of exposure time, *Chemosphere* 1997; 34: 1105-1119.
- Cook PM, Erickson RJ, Spehar RL, Bradbury SP and Ankley GT. Interim report on data and methods for assessment of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin risks to aquatic life and associated wildlife. EPA/600/R-93/055. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC 1993.
- Cook PM, Zabel EW and Peterson RE. The TCDD toxicity equivalence approach for characterizing risks for early life stage mortality in trout. In Rolland RM, Gilbertson M, Peterson RE (eds), chemically induced alterations in functional development and reproduction of fishes, SETAC, Pensacola, FL, USA 1997; pp. 9-27.
- Couture LA, Abbott BD and Birnbaum LS. A critical review of the developmental toxicity and teratogenicity of

- 2,3,7,8-tetrachlorobenzo-*p*-dioxin: recent advances toward understanding the mechanism, *Teratology* 1990; 42: 619-627.
- Dong W, Teraoka H, Yamazaki K, Tsukiyama S, Imani S, Imagawa T, Stegeman JJ, Peterson RE and Hiraga T. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin toxicity in the zebrafish embryo: local circulation failure in the dorsal mid-brain is associated with increased apoptosis, *Toxicol Sci* 2002; 69: 191-201.
- Dong W, Teraoka H, Tsujimoto Y, Stegeman JJ and Hiraga T. Role of arylhydrocarbon receptor in mesencephalic circulation failure and apoptosis in zebrafish embryos exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, *Toxicol Sci* 2004; 77: 109-116.
- Elonen GE, Spehar RL, Holcombe GW, Johnson RD, Fernandez JD, Erickson RJ, Tietge JE and Cook PM. Comparative toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin to seven freshwater fish species during early life stage development, *Environ Toxicol Chem* 1998; 17: 472-483.
- Fernandez-Salguero PM, Hilbert DM, Rudikoff S, Ward JM and Gonzalez FJ. Aryl-hydrocarbon receptor-deficient mice are resistant to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-induced toxicity, *Toxicity Appl Pharmacol* 1996; 140: 173-179.
- Fernandez-Salguero P, Pineau T, Hilbert DM, McPhail T, Lee SS, Kimura S, Nebert DW, Rudikoff S, Ward JM and Gonzalez FJ. Immune system impairment and hepatic fibrosis in mice lacking the dioxin-binding Ah receptor, *Science* 1995; 268: 722-726.
- Hahn ME. Ah receptors and the mechanism of dioxin toxicity: Insights from homology and phylogeny. In: DiGiulio RD, Monosson E (eds), interconnections between human and ecosystem health. London: Chapman and Hall publishers 1996; pp. 9-26.
- Hahn ME. Dioxin toxicology and the aryl hydrocarbon receptor: insights from fish and other non-traditional models, *Mar Biotechnol* 2001; 3: S244-S238.
- Hansen PD, von Westernhagen HV and Rosenthal H. Chlorinated hydrocarbons and hatching success in Baltic herring spring spawners, *Mar Environ Res* 1985; 15: 59-76.
- Henry TR, Spitsbergen JM, Hornung MW, Abnet CC and Peterson RE. Early life stage toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in zebrafish (*Danio rerio*), *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 142: 56-68.
- Hill AJ, Bello SM, Prasad AL, Peterson RE and Heideman W. Water permeability and TCDD-induced edema in zebrafish early-life stages, *Toxicol Sci* 2004; 78: 78-87.
- Hornung MW, Spitsbergen JM and Peterson RE. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin alters cardiovascular and craniofacial development and function in sac fry of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Toxicol Sci* 1999; 47: 40-51.
- Jeong SY, Jin YG, Lee JS. Effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) on the reproduction of the oily bitterling, *Acheilognathus koreensis* (Teleostei: Cyprinidae). *Korean J Environ Biol* 2004; 22: 159-166.
- Matta MB, Cairncross C and Kocan PM. Possible effects of polychlorinated biphenyls on sex determination in rainbow trout, *Environ Toxicol Chem* 1998; 17: 26-29.
- Mimura J, Yamashita K, Nakamura K, Morita M, Takagi TN, Nakao K, Ema M, Sogawa K, Yasuda M, Katsuki M and Fujii-Kuriyama Y. Loss of teratogenic response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in mice lacking the Ah (dioxin) receptor, *Genes Cells* 1997; 2: 645-654.
- Monosson E, Fleming WJ and Sullivan CV. Effects of the planar PCB 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (TCB) on ovarian development, plasma levels of sex steroid hormones and vitellogenin, and progeny survival in the white perch (*Morone americana*), *Aquat Toxicol* 1994; 29: 1-19.
- Oh SM, Ryu BT, Kim HR, Choi KH and Chung KH. Molecular cloning of CYP1A gene and its expression by benzo (a)pyrene from goldfish (*Carassius auratus*), *Environ Toxicol* 2008; in press.
- Peters JM, Narotsky MG, Elizondo G, Fernandez-Salguero PM, Gonzalez FJ and Abbott BD. Amelioration of TCDD-induced teratogenesis in aryl hydrocarbon receptor (AhR)-null mice, *Toxicol Sci* 1999; 47: 86-92.
- Peterson RE, Theobald HM and Kimmel GL. Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds: Cross-species comparisons, *Crit Rev Toxicol* 1993; 23: 283-335.
- Poland A and Knudson JC. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons: examination of the mechanism of toxicity, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1982; 22: 517-554.
- Safe SH. Comparative toxicology and mechanism of action of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans, *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1986; 26: 371-399.
- Safe SH. Polychlorinated biphenyls (PCBs): environmental impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment, *Crit Rev Toxicol* 1994; 24: 87-149.
- Stegeman JJ and Hahn ME. Biochemistry and molecular biology of monooxygenases: current perspectives on forms, functions, and regulation of cytochrome P450 in aquatic species. In: Ostrander GK, Malins DD (eds), *Aquatic toxicology: molecular, biochemical, and cellular perspectives*. Lewis Publishers, BocaRaton, FL, USA 1994; pp. 87-206.

- Tanguay RL, Andreason EA, Walker MK and Peterson RE. Dioxin toxicity and arylhydrocarbon receptor signaling in fish. In Schecter A and Gasiexicz TA, Dioxins and health, John Wiley & Sons, New York 2003; pp. 603-628.
- Teraoka H, Dong W, Tsujimoto Y, Iwasa H, Endoh D, Ueno N, Stegeman JJ, Peterson RE and Hiraga T. Induction of cytochrome P4501A is required for circulation failure and edema by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in zebrafish, *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 304: 223-228.
- Thomas P. Effects of Aroclor 1254 and cadmium on reproductive endocrine function and ovarian growth in Atlantic croaker, *Mar Environ Res* 1989; 28: 499-503.
- Walker MK and Peterson RE. Aquatic toxicity of dioxins and related chemicals. In: Schecter A (eds), Dioxins and health, John Wiley & Sons, New York: Plenum Press 1994; pp. 347-387.
- Westernhagen H, von Rosenthal H, Dethlefsen V, Ernst W, Harms U and Hansen PD. Bioaccumulating substances and reproductive success in Baltic flounder (*Platichthys flesus*), *Aquat Toxicol* 1981; 1: 85-99.
- Whitlock JP Jr. Mechanistic aspects of dioxin action, *Chem Res Toxicol* 1993; 6: 754-763.
- Zabel EW, Cook PM and Peterson RE. Toxic equivalency factors of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin, dibenzofuran and biphenyl congeners based on early life stage mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquat Toxicol* 1995; 31: 315-328.