

J. Exp. Biomed. Sci. 2011, 17(3): 231~238

Effects of Dexamethasone on Embryo Development and Hox Gene Expression Patterns in Mice

Sang Hoon Kim, Ji-Yeon Lee, Sung Joo Park 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

During pregnancy, stress induces maternal glucocorticoid secretion, which in turn is known to affect structural malformation, retardation of growth, reduced birth weight of the fetus. As Hox genes are master transcription factors which fulfill critical roles in embryonic development, we aimed to explore the possibility that alterations of the Hox gene expression might be involved in stress-induced malformation. The pregnant mice were injected with dexamethasone at a dose of 1 mg/kg or 10 mg/kg on day 7.5, 8.5 and 9.5 p.c. (post coitum), as well as saline as control. Embryos of E11.5 and E18.5 were obtained by sacrificing pregnant animals. Weight and crown-rump length (CRL) were measured. RT-PCR was performed to examine the Hox gene expression levels. Embryos given dexamethasone at day 7.5~9.5 p.c. had small CRL and weighed less both in E11.5 and E18.5. The percentage of embryos showing abnormalities was high in groups received high dose of dexamethasone. To define the molecular basis for abnormal embryonic development, we analyzed the Hox gene expression pattern and found that many Hox genes display altered expression. Effects of prenatal dexamethasone treatment on embryonic development might be associated with the aberrant Hox gene expression.

Key Words: Maternal stress, Embryonic development, Hox gene expression, Glucocorticoid, dexamethasone

서 론

생물체는 내적 또는 외적 환경 변화에 대응하여 생물체 내의 환경을 변화시키지 않거나 일정하게 유지하려는 성질을 가지며 이를 항상성 (homeostasis)이라 한다. 스트레스를 받으면 인간은 이에 대응하여 스트레스 조절 시스템인 hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis를 통해서 글루코코르티코이드라는 호르몬을 방출하게 된다 (Owen et al., 2005). 우리 몸이 스트레스 인자에 노출되면, 시상하부 (Hypothalamus)가 이에 반응하여 corticotrophin-releasing hormone (CRH)을 방출하게 되고, CRH는 뇌하수체전엽 (anterior pituitary)을 자극하여 부신피질자극호르몬 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH)을 분비하며 부신피질자극호르몬은 부신피질 (adrenal cortex)을 자극하여 스테

로이드 호르몬계 일종인 글루코코르티코이드를 분비한다.

출생 초기나 출생 전에 태아가 받게 되는 여러 가지 상황들은 후에 성인병 발병에 중대한 역할을 할 수 있음이 알려져 있다 (Barker et al., 1993; Benediktsson et al., 1993; Swolin-Eide et al., 2002; Gale and Martyn, 2004; Kajantie et al., 2005; Kapoor et al., 2009). 태아 발달 과정 중 스트레스 자극이나 상해를 입는다면 이는 이후의 삶에서 오랜 기간 동안 영향을 미치게 되며, 이를 'programming'이라고 한다 (Matthews, 2000; Swolin-Eide et al., 2002). 임신 중 스트레스로 인해 모체에서 글루코코르티코이드가 분비되면 이는 태아에게 전달되어 태아의 발달에 영향을 미친다 (Swolin-Eide et al., 2002; Owen et al., 2005; Kapoor et al., 2008; Entringer et al., 2009). 동물 실험을 통해, 임신 기간 중 어미의 스트레스에 의해 분비된 글루코코르티코이드나 dexamethasone 같은 합성 글루코코르티코이드가 태아에게 미치는 부정적인 영향들이 많이 알려져 있는데, 신경계의 문제나, 기형 (structural malformation), 출생 시 산자의 무게 감소, 생후 성장의 지연 등이 그것이다 (Woolley et al., 1990; Swolin-Eide et al., 2002; Owen et al., 2005; Lemaire et al., 2006; Mesquita et al., 2009).

*접수일: 2011년 4월 15일 / 수정일: 2011년 7월 7일

채택일: 2011년 7월 7일

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

Tel: 02-2228-1647, Fax: 02-365-0700

e-mail: mhkim1@yuhs.ac

또한, 장기적으로 고농도의 글루코코르티코이드에 노출되었을 경우 성장기에 뼈의 성장을 억압할 수 있다는 것이 알려져 있다 (Swolin-Eide et al., 2002). Dexamethasone은 류머티즘성 관절염, 알레르기성 질환이나 피부 질환 등의 치료에 사용된다. 또한, 임산부들이 조산의 위험이 있을 경우 임신 24주에서 34주 사이에 태아의 폐 성숙을 위해 dexamethasone을 사용하고 있는데 (Matthews, 2000), dexamethasone은 강력한 합성 글루코코르티코이드로 태반 내 장벽인 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases type 2에 의한 불활성화 없이 태반을 바로 통과하여 태아에게 영향을 준다 (Swolin-Eide et al., 2002). 또, 고농도의 글루코코르티코이드는 조골세포의 복제나 collagen 발현 억제, collagenase 발현의 증가 같은 직간접적인 기작을 통해 뼈 형성을 억제하기도 하며 (Chen and Feldman, 1979; Wong et al., 1990; Canalis, 1996), 뼈의 재흡수 (bone resorption)를 증가시킨다고도 알려져 있다 (Hofbauer et al., 1999).

Hox 유전자는 초기 배 발생 과정 중 동물의 전후축 (anterior-posterior axis, AP axis)을 따라 특정한 시기와 특정한 위치에서 발현하여 배아의 형태 형성에 관여한다 (Gehring and Hiromi, 1986; Kim and Kessel, 1993; Maulbecker and Gruss, 1993; Duboule, 1994; Krumlauf, 1994; Forlani et al., 2003). Hox 유전자의 발현에 이상이 생기면 원래의 위치에서 만들어져야 할 형태가 다른 부위의 형태로 바뀌는 것을 볼 수 있는데 이를 호메오틱 변이 (homeotic mutation)라고 한다 (Gehring and Hiromi, 1986; Akam, 1989). Hox 유전자들은 하등동물부터 고등 포유류까지 매우 잘 보존되어 있으며, 사람이나 생쥐같은 고등동물에서는 39개의 유전자가 4개의 cluster (HoxA, HoxB, HoxC, HoxD)로 나뉘어 존재하고 있다 (McGinnis et al., 1984; Gehring and Hiromi, 1986; Akam, 1989).

본 연구에서는 모체의 스트레스가 배아 발달에 미치는 영향을 알아보기 위하여 임신 중인 어미 쥐에 합성 글루코코르티코이드인 dexamethasone을 처리한 다음, 발생 중인 배아의 무게와 crown-rump length를 측정하였다. 또 배자로부터 RNA를 분리하고 배아의 형태를 만드는 데 중요한 Hox 유전자의 발현양상을 RT-PCR을 통하여 분석하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 dexamethasone의 처리

오후 6시 경에 ICR 생쥐 (Samtako, Osan, Korea) 암컷과

수컷을 합사시킨 후 다음 날 오전 9시 경 암컷에서 질전이 확인되면, 이 때를 발생 0.5일 (E0.5)로 정하였다. 임신 7.5일, 8.5일, 9.5일째에 Dexamethasone 21-phosphate disodium salt (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 임신 중인 어미 생쥐 무게 당 10 mg/kg, 또는 1 mg/kg로 오전 9~11시 경에 매일 한 번씩 복강 내 주사를 실시하였다. 대조군으로는 saline을 동량 주사하였다.

배자의 분리 및 처리

발생 11.5일과 18.5일째에 오전 10시경 어미 생쥐를 경추탈골 시키고 배자를 꺼내어 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 처리한 1×인산염완충액 (Phosphate buffered saline; PBS) (4°C)에서 배자와 태반을 분리하였다. 한 어미로부터 나온 배자들 중 절반은 형태학적 분석에 사용하였으며, 절반은 Hox 유전자의 발현 패턴을 보기 위하여 RNA 실험에 이용하였다. RNA 분리를 위한 배자들은 머리와 내장을 제거한 다음 각각을 따로 tube에 담아서 액체질소로 얼린 후 바로 -70°C 급속냉동기에 넣어서 보관하였다.

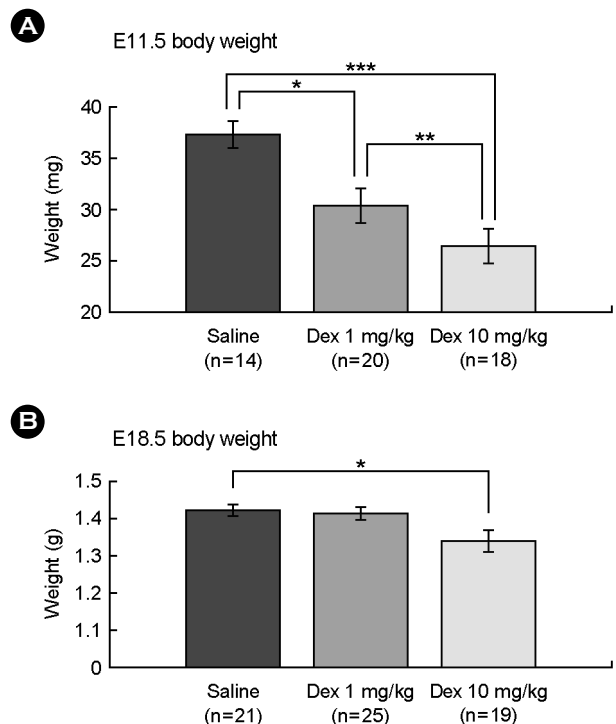


Fig. 1. Total body weight of embryos at E11.5 (A) and E18.5 (B). 'Saline' is control. 'Dex 1 mg/kg' and 'Dex 10 mg/kg' are dexamethasone-treated groups. The number of embryos (n) analyzed in each group are from 2 to 4 littermates. Results represents means \pm SEM. * P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001.

형태학적 변이 분석

배자의 무게 측정은 배자를 꺼낸 직후 실시하였다. 1×PBS에 담겨 보관되어 있던 배자의 물기를 깨끗이 제거한 후, 저울 (GB303; Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland)을 이용하여 무게를 측정하였다. Crown-Rump length (CRL) 측정은 배자를 꺼낸 당일에 바로 실시하였으며 발생 11.5 일째 배자의 경우 1×PBS에 담겨 보관된 상태로 현미경 하에서 petri dish 밑에 있는 눈금자를 이용해 배자의 머리-꼬리 길이를 측정하였다. 발생 18.5일째 배아의 경우는 육안으로 길이를 측정하였다. Dexamethasone 1 mg/kg 과 10 mg/kg으로 주사한 실험군의 배자들과 saline을 주사한 대조군의 배자들의 평균을 각각 계산하였다. 오차는 SEM (standard error of the mean)으로 나타내었으며, T-test 를 통해 대조군과 Dex 1 mg/kg군, 대조군과 Dex 10 mg/kg군, Dex 1 mg/kg군과 Dex 10 mg/kg군 간의 차이를 각각

비교하였다.

RNA 분리 및 RT-PCR

머리와 내장을 제거한 나머지 배자 부분을 액체질소가 들어있는 막자사발에 넣고 분쇄한 다음, Trizol reagent를 이용하여 제조사의 지침에 따라 RNA를 분리하였다. 분리한 RNA는 Nanodrop ND-1000 spectrophotometer를 이용하여 정량하였다. 1 µg의 RNA로부터 Improm-II™ Reverse transcriptase (Promega, Madison, WI, U.S.A)를 이용하여 cDNA를 합성하고 PCR을 수행하였다. Hox 유전자 증폭을 위한 PCR은 95°C 3분 후, 95°C 40초, 58°C 30초, 72°C 1분으로 35 cycle 진행하였으며, β-actin은 28 cycle 진행하였다. Hox 유전자와 β-actin의 증폭을 위해 사용한 primer 들은 이전 논문에 제시된 바 있다 (Yu et al., 2009). 각 유전자의 발현 정도는 agarose gel 확인 후 Multi Gauge V3.0 (FUJIFILM)으로 정량화하였다.

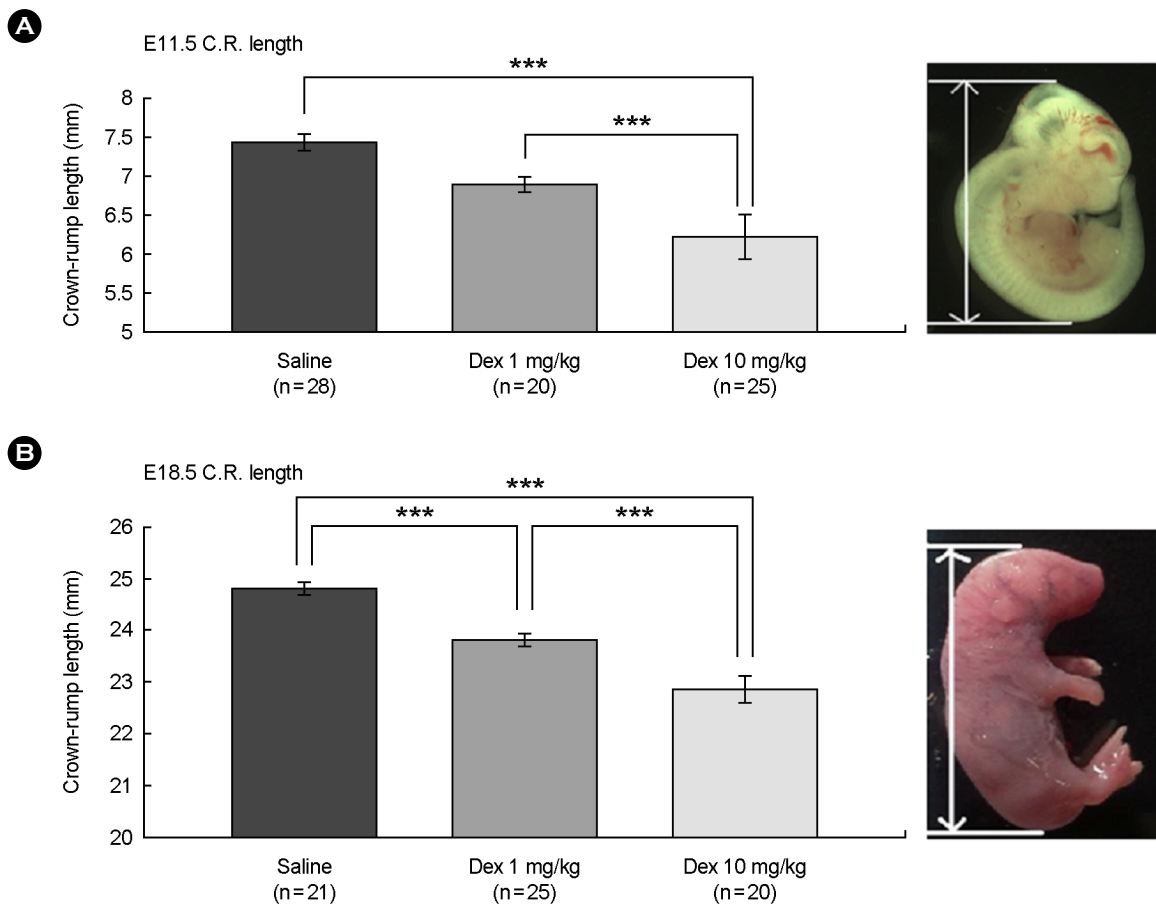


Fig. 2. Crown-rump length (CRL) of embryos at E11.5 (A) and E18.5 (B). 'Saline' is control. 'Dex 1 mg/kg' and 'Dex 10 mg/kg' are dexamethasone-treated groups. The number of embryos (n) analyzed in each group are from 3 to 4 littermates. Results represents means \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

결 과

마우스 배자 발생에 있어서의 dexamethasone의 영향

모체가 임신 중 받는 스트레스로 인해 스트레스 호르몬의 일종인 글루코코르티코이드 (glucocorticoid) 분비가 증가되며 이는 정상적인 배자 발생을 저해한다고 알려져 있다. 본 연구에서는 마우스 임신 7.5일부터 9.5일 사이에 합성 글루코코르티코이드의 일종인 dexamethasone을 처리한 후 배자 발생에 미치는 영향을 알아보았다. 임신 중인 어미 쥐에 dexamethasone을 1 mg/kg 혹은 10 mg/kg으로 주사한 실험군과 saline을 주사한 대조군에서 각각 발생 11.5일, 18.5일째에 배자를 분리하여 배자의 무게와 crown-rump length (CRL)를 측정하고 그 차이를 비교하였다. 발생 11.5일과 18.5일 모두 dexamethasone을 주사한 실험군이 saline을 주사한 대조군과 비교하여 무게의 감소가 일어나는 것이 관찰되었다 (Fig. 1). 또 dexamethasone을 주사한 실험군이 saline을 주사한 대조군에 비해서

발생 11.5일과 18.5일 모두에서 CRL이 감소하는 것을 알 수 있었다 (Fig. 2). 실험군끼리 비교해 보았을 때는 dexamethasone을 1 mg/kg을 주사하였을 때보다 10 mg/kg으로 주사한 실험군에서 무게와 CRL이 더 현저히 줄어드는 것을 관찰할 수 있었다. 그리고 배자가 발달하지 못하고 도태되어 버리는 melting 비율도 대조군에 비해 실험군에서 더 많이 관찰되었다 (Fig. 3 and Table 1). 이는 실험군끼리의 비교에서도 dexamethasone을 1 mg/kg을 주사하였을 때보다 10 mg/kg으로 주사한 실험군에서 melting된 배아의 비율이 더 높았다 (Table 1).

Dexamethasone 처리에 의한 Hox 유전자의 발현 변화

임신 중 스트레스, 즉 dexamethasone을 처리한 경우 배자의 무게와 CRL이 각각 감소하고 또 배자의 발생이 지속되지 않은 melting 비율이 증가하였으므로 이런 현상이 배자의 형태 형성에 중요한 전사인자인 Hox 유전자의 발현 이상에 기인한 것인지 그 연관성을 분석해 보고자 Hox 유전자의 발현 패턴을 분석하였다. 형태를 관찰한 다음 동일한 조건의 발생 11.5일째의 배아 조직으로부터 분리한 RNA를 이용하여 RT-PCR을 수행하였다. A-D cluster에 존재하는 39개 Hox 유전자들의 발현 패턴을 관찰한 결과, Hoxa5, Hoxa7, Hoxa11, Hoxa13, Hoxb5, Hoxc10, Hoxc13, Hoxd3, Hoxd4, Hoxd9들이 대조군에 비해 dexamethasone을 주입한 실험군에서 유의적인 발현양의 차이를 보였다 (Fig. 4A and B). Hoxa5, Hoxa7, Hoxa11, Hoxa13, Hoxb5, Hoxc10, Hoxc13, Hoxd4, Hoxd9의 경우 dexamethasone에 의해 발현이 감소하였고, Hoxd3의 경우는 발현이 증가하였다. 특히 dexamethasone의 주입량이 더 많은 실험군 (Dex 10 mg/kg)에서 대조군과의 차이가 더 큰 것을 확인할 수 있었다.

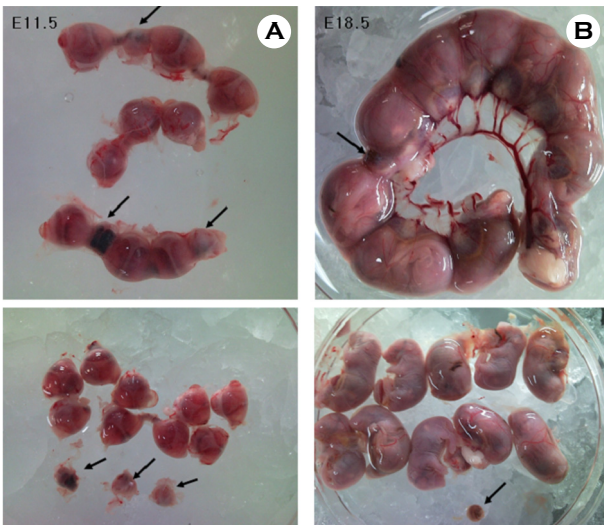


Fig. 3. Melted embryos at E11.5 (A) and E18.5 (B). Arrows indicate the melted embryos.

고 찰

스트레스를 받으면 인간은 그에 대응하여 스트레스 조

Table 1. Effects of dexamethasone on embryo melting at E11.5 and E18.5

Group	E11.5			E18.5		
	Total number of embryos	Melted	Incidence of melting (%)	Total number of embryos	Melted	Incidence of melting (%)
Saline	70	3	4.3%	50	0	0%
Dex 1 mg/kg	43	4	9.3%	50	2	4%
Dex 10 mg/kg	47	11	23.4%	53	19	35.8%

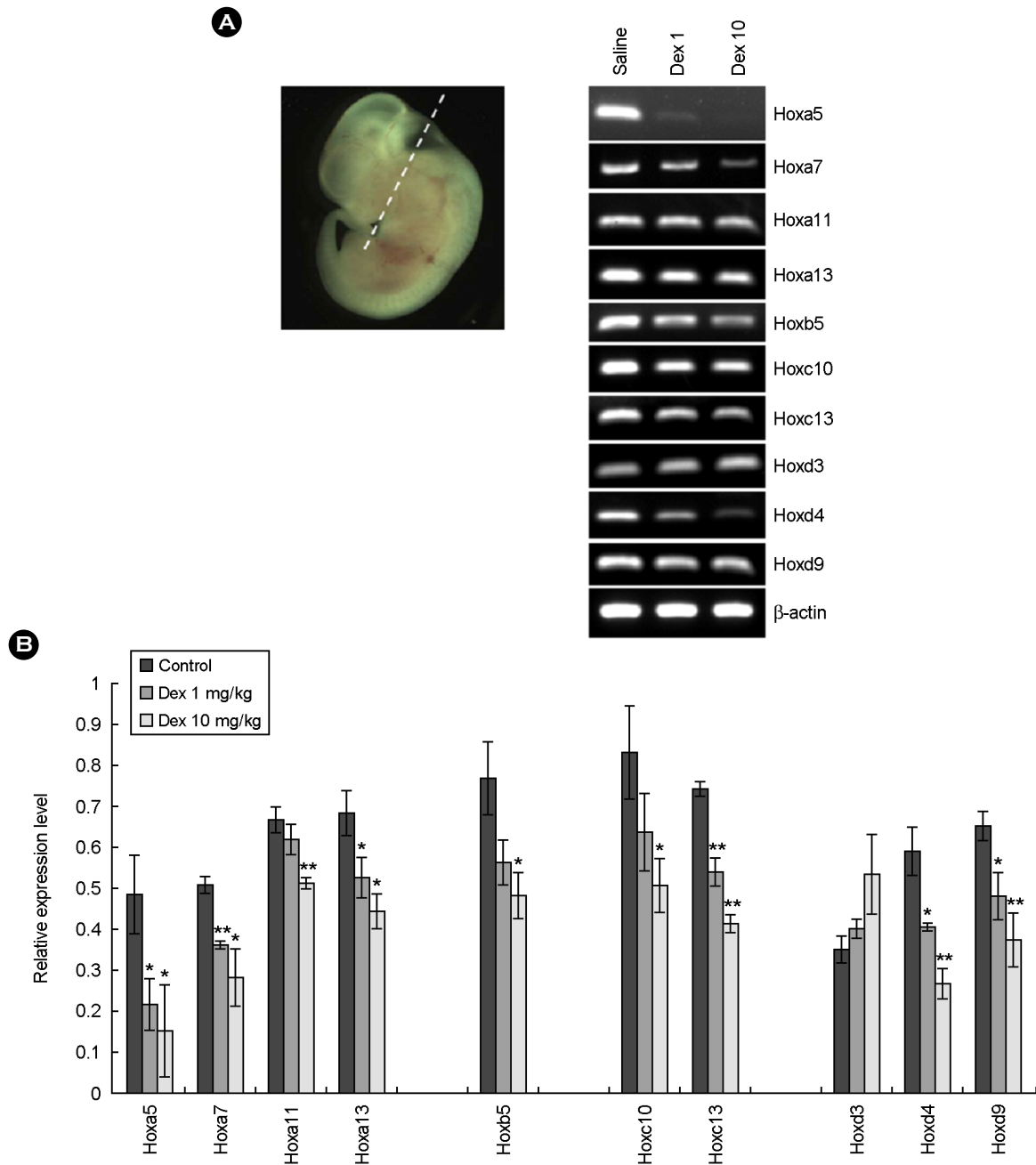


Fig. 4. RT-PCR Analysis of Hox gene expression pattern. (A) At E11.5, head part is removed from the body of the embryo (dashed line). Total RNA samples were isolated from trunk part and were used for RT-PCR to analyse expression patterns of Hox genes. β -actin served as internal control. Data are representative of three independent experiments with similar results. C, control saline treated group; Dex 1, Dex 1 mg/kg treated group; Dex 10, Dex 10 mg/kg treated group. (B) Semi-quantitative analysis of RT-PCR results. Expression levels of Hox genes were measured for statistical analysis. Values are means \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control values.

절 시스템인 hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis를 통해서 글루코코르티코이드라는 호르몬을 방출하게 되며 (Owen et al., 2005), 임신 중인 모체에서 분비된 글루코코르티코이드는 태아에게 전달되어 태아의 발달에 영향을 미친다고 보고되어 있다 (Swolin-Eide et al., 2002; Kapoor

et al., 2008). Hox 유전자는 배아의 발생에 있어서 결정적인 역할을 수행하는 중요한 전사 인자로 발생 과정 중 전후축 (anteroposterior axis, AP axis)을 따라 특이적으로 발현하며 동물의 형태를 형성하는데 관여한다고 알려져 있다. Hox 유전자의 발현에 이상이 생기면 원래의 자리에

생겨야 하는 형태가 아닌 다른 부위의 형태로 바뀌는 것을 볼 수 있는데 이를 호메오틱 변이 (homeotic mutation) 라고 한다 (Gehring and Hiromi, 1986; Akam, 1989). 그러나 임신 중 스트레스가 배아의 형태나 발생 중인 배아에서의 Hox 유전자 발현에 어떤 영향을 미치는지에 관한 연구는 거의 알려진 바가 없다.

본 실험에서는 합성 글루코코르티코이드인 dexamethasone을 임신 중인 생쥐 복강 내로 주입한 후 발생 11.5일과 18.5일째의 배자를 얻고 발생 중인 배자의 형태와 Hox 유전자의 발현 패턴을 비교 분석하였다. 발생 11.5일과 18.5일 모두 dexamethasone을 주사한 실험군이 saline을 주사한 대조군과 비교하여 무게와 CRL이 감소하였으며, 실험군끼리 비교를 했을 때에도 보다 과량의 dexamethasone을 주사한 군의 무게 또는 CRL 감소량이 더 크게 나타난 것은 임신기간 중의 스트레스의 정도가 클수록 배자의 발달에 더 크게 부정적인 영향을 미친 결과로 보인다. 이를 통해, 임신기간 중 모체의 스트레스에 의해 분비된 글루코코르티코이드가 태아의 출생 시 무게와 키에 영향을 미치며, 그 정도는 분비된 글루코코르티코이드의 양에 반비례한다고 볼 수 있다. 또 더 나아가 대조군에 비해 실험군에서 더 많이 melting된 배자들이 관찰되었으며 실험군끼리의 비교에서도 고농도의 dexamethasone 처리군에서 더 많은 배자가 melting된 것을 보아, 스트레스에 의해 글루코코르티코이드 분비량이 많아질수록 태아가 유산될 확률이 많아짐을 유추할 수 있다. 마우스를 이용한 다른 동물 실험에서 임신 후기 15~17일에 dexamethasone을 주입한 경우에도 배자의 무게 감소 효과가 있었다 (Baisden et al., 2007). 그러나, 배자의 발생 단계에 따라 dexamethasone이 영향을 미치는 범위가 다를 것이므로 처리시기에 따라 외부, 내부의 형태학적인 변이가 다르게 나타날 가능성이 높다.

동일 조건의 배자로부터 RNA를 분리하여 Hox 유전자 발현 패턴을 분석한 결과에서 여러 유전자들의 발현 양이 증가 또는 감소함을 보인 것은 dexamethasone에 의해 Hox 유전자의 비정상적인 발현이 유도됨을 보여주며 dexamethasone의 양이 더 증가할수록 즉, 스트레스가 더 심할수록 Hox 유전자의 발현 변화 정도가 더 심화됨을 알 수 있었다.

이전의 연구결과를 보면 Hoxa5는 소화기관의 형태 형성에 관여하며, midgut의 발달기간 동안 강하게 발현하는 것으로 알려져 있으며 mutant mice의 경우 소장 (small intestine)의 형태와 기능에 이상이 있음이 알려져

있다 (Aubin et al., 1999). Hoxa11의 경우 배아의 물러관 (paramesonephric duct)에서 발현되며, Hoxa11이 비정상적으로 적게 발현되면 생식기관의 기형이 나타날 수 있다고 보고되어 있다 (Schwab et al., 2006; Liatsikos et al., 2010). Hoxa13은 생쥐 배아의 사지 (limb) 발달에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며 (Perez et al., 2010), Hoxb5는 생쥐 fetal lung의 성숙과 형성에 중요한 역할을 하며, dexamethasone을 처리하면 Hoxb5는 발현이 감소된다고 이미 보고된 바 있다 (Chinoy et al., 1998). Hoxc10은 생쥐의 hindlimb에서 연골 형성 (chondrogenesis)과 골 형성 (osteogenesis)에 중요한 역할을 하는데 돌연변이 생쥐의 경우 lumbar motor neurons이 감소하며, locomotor behavior에 변화를 초래한다고 알려져 있다 (Hostikka et al., 2009). Hoxc13은 생쥐 hair follicle (모낭)의 발달에 관여한다고 알려져 있으며 돌연변이체는 털이 거의 없어지고 normal mice보다 더 짙은 색의 털을 가진다고 보고되어 있다 (Awgulewitsch, 2003). Hoxd3에 돌연변이가 생기면 atlas와 axis 형성에 결함이 관찰된다 (Manley and Capecchi, 1998). Hoxd4는 생쥐에서 spinal cord와 prevertebrate에서 발현하는데, null mutant mice의 경우 경추 (cervical vertebra)의 기형이 보고되었다 (Folberg et al., 1997, Folberg et al., 1999). Hoxd9 mutant mice는 요추 (lumbar, L)와 천추 (sacral vertebra, S)에서 기형이 관찰되는데, 특히 L2, L3, L4, S1, S3에서 기형이 보고되었다 (Fromental-Ramain et al., 1996). 이상과 같이 본 실험에서 발현 이상을 보인 대부분의 Hox 유전자들에 변이가 생겼을 경우 주로 trunk 부위의 기관이나 조직에 이상이 있음을 알 수 있으며, 추후 본 실험에서 사용한 발생 11.5일의 배자보다 더 나중 시기 배자의 유전자 발현 패턴이나 태어난 생쥐의 기관 형성 및 기능을 분석해 보는 것도 매우 흥미로운 것으로 생각된다.

위의 *in vivo* 결과 외에도 배양세포를 이용한 *in vitro* 실험에서도 dexamethasone 처리에 의해 Hox 유전자의 발현 증감이 유도됨을 보고한 바 있다 (Yu et al., 2009). Hoxa7과 Hoxc13의 경우는 *in vitro* 실험에서와 마찬가지로 *in vivo*에서도 dexamethasone에 의해 발현양이 감소되는 유사한 결과를 보여주었다. 그러나 그 외 여러 Hox 유전자의 발현 증감에서는 *in vitro*와 *in vivo* 실험에서 많은 차이를 보였다. 이것은 mesenchymal cell line인 C3H10T1/2 cell을 이용한 *in vitro* 실험과는 달리 본 *in vivo* 연구에서 사용한 발생 11.5일 배자의 trunk 부분은 내배엽, 외배엽, 중배엽 유래의 모든 세포와 조직을 다 포함하고 있기 때

문인 것으로 추측된다. 그러나 dexamethasone이 세포의 종류에 따라 그 영향의 차이는 있으나 일반적으로 많은 Hox 유전자의 발현을 비정상적으로 증가 또는 감소시키는 것으로 보인다. 각각의 Hox 유전자는 독립적으로 또는 서로 협력하여 특정 부위의 발생에 관여하므로 본 연구에서 살펴본 배자의 외형적인 변화가 어떤 부분의 발생학적 결함에 의해 나타난 결과인지, 어떤 Hox 유전자가 그 부분에서 비정상적으로 발현하는지에 대한 추가적인 연구가 필요하며, 이를 통해 배자 발생에 있어서의 dexamethasone의 영향과 Hox 유전자와의 관련성에 대한 구체적인 해답을 얻게 될 것이다. 글루코코르티코이드 주입에 의한 직접적인 효과 이외에도 임신 중에 노출되는 여러 가지 종류의 psychosocial stress에 의해서 유전자 발현 패턴의 변화와 태아의 성장지연, 저체중, 인지능력저하 등이 유도됨이 동물 실험 뿐만 아니라 사람에 대한 코호트 연구 (cohort study)를 통해 보고되고 있으며 이런 모든 결과들은 스트레스에 대한 노출시기에 따라 다르게 나타난다 (Davis and Sandman, 2010; Choe HK et al., 2011). 본 연구결과는 임신 초기에 dexamethasone을 주입한 결과를 확인한 것으로, 과도한 스트레스에 의해 분비된 글루코코르티코이드가 태아의 발생을 유도하는데 중요한 Hox 유전자의 정상적인 발현을 방해하며 태아의 발육 이상 또는 자연 유산 등의 결과와 연관되어 있을 가능성이 있음을 보여준다.

Acknowledgements

본 연구는 한국연구재단 (2010-0000155, 2010-0026759, 2010-0025149) 및 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업 (20070401-034-030)의 일부로 수행되었음.

REFERENCES

- Akam M. Hox and HOM: Homologous gene clusters in insects and vertebrates. *Cell* 1989. 57: 347-349.
- Aubin J, Chailier P, Ménard D, Jeannotte L. Loss of Hoxa5 gene function in mice perturbs intestinal maturation. *Am J Physiol* 1999. 277: 965-973.
- Awgulewitsch A. Hox in hair growth and development. *Naturwissenschaften*. 2003. 90: 193-211.
- Baisden B, Sonne S, Joshi RM, Ganapathy V, Shekhawat PS. Antenatal dexamethasone treatment leads to changes in gene expression in a murine late placenta. *Placenta* 2007. 28: 1082-1090.
- Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phipps K, Clack PM. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (Syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 1993. 36: 62-67.
- Benediktsson R, Lindsay RS, Noble J, Seckl JR, Edwards CR. Glucocorticoid exposure in utero: new model for adult hypertension. *Lancet* 1993. 341: 339-341.
- Canalis E. Clinical review 83: Mechanisms of glucocorticoid action in bone: implications to glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996. 81: 3441-3447.
- 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.
- Chinoy MR, Volpe MV, Cilley RE, Zgleszewski SE, Vosatka RJ, Martin A, Nielsen HC, Krummel TM. Growth factors and dexamethasone regulate Hoxb5 protein in cultured murine fetal lungs. *Am J Physiol*. 1998. 274: 610-620.
- Choe HK, Son GH, Chung S, Kim M, Sun W, Kim H, Geum D, Kim K. Maternal stress retards fetal development in mice with transcriptome-wide impact on gene expression profiles of the limb. *Stress*. 2011. 14: 194-204.
- Davis EP, Sandman CA. The timing of prenatal exposure to maternal cortisol and psychosocial stress is associated with human infant cognitive development. *Child Dev*. 2010. 81: 131-148
- Duboule D. Temporal colinearity and the phylotypic progression: A basis for the stability of a vertebrate bauplan and the evolution of morphologies through heterochrony. *Dev Suppl*. 1994. 135-142.
- Entringer S, Kumsta R, Hellhammer DH, Wadhwa PD, Wüst S. Prenatal exposure to maternal psychosocial stress and HPA axis regulation in young adults. *Horm Behav*. 2009. 55: 292-298.
- Folberg A, Kovács EN, Featherstone MS. Characterization and retinoic acid responsiveness of the murine Hoxd4 transcription unit. *J Biol Chem*. 1997. 272: 29151-29157.
- Folberg A, Kovács EN, Huang H, Houle M, Lohnes D, Featherstone MS. Hoxd4 and Rarg interact synergistically in the specification of the cervical vertebrae. *Mech Dev*. 1999. 89: 65-74.
- Forlani S, Lawson KA, Deschamps J. Acquisition of Hox codes during gastrulation and axial elongation in the mouse embryo. *Development* 2003. 130: 3807-3819.

- Fromental-Ramain C, Warot X, Lakkaraju S, Favier B, Haack H, Birling C, Dierich A, Dollé P, Chambon P. Specific and redundant functions of the paralogous Hoxa-9 and Hoxd-9 genes in forelimb and axial skeleton patterning. *Development*. 1996. 122: 461-472.
- Gale CR, Martyn CN. Birth weight and later risk of depression in a national birth cohort. *Br J Psychiatry* 2004. 184: 28-33.
- Garcia-Fernandez J. Hox, ParaHox, ProtoHox: facts and guesses. *Heredity* 2005. 94: 145-152.
- Gehring WJ, Hiromi Y. Homeotic genes and the homeobox. *Ann Rev Genet* 1986. 20: 147-173.
- Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Khosla S. Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 1999. 140: 4382-4389.
- Hostikka SL, Gong J, Carpenter EM. Axial and appendicular skeletal transformations, ligament alterations, and motor neuron loss in Hoxc10 mutants. *Int J Biol Sci*. 2009. 5: 397-410.
- Kajantie E, Osmond C, Barker DJ, Forsen T, Phillips DI, Eriksson JG. Size at birth as a predictor of mortality in adulthood: a follow-up of 350,000 person-years. *Int J Epidemiol*. 2005. 34: 655-663.
- Kapoor A, Kostaki A, Janus C, Matthews SG. The effects of prenatal stress on learning in adult offspring is dependent on the timing of the stressor. *Behav Brain Res*. 2009. 197: 144-149.
- Kapoor A, Petropoulos S, Matthews SG. Fetal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function and behavior by synthetic glucocorticoids. *Brain Res Rev*. 2008. 57: 586-595.
- Kim MH, Kessel M. Homeobox genes as regulators of vertebrate development. *AgBiotech News Information*. 1993. 5: 301-308.
- Krumlauf R. Hox genes in vertebrate development. *Cell* 1994. 78: 191-201.
- Lemaire V, Lamarque S, Le Moal M, Piazza PV, Abrous DN. Postnatal stimulation of the pups counteracts prenatal stress-induced deficits in hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry* 2006. 59: 786-792.
- Liatsikos SA, Grimbizis GF, Georgiou I, Papadopoulos N, Lazaros L, Bontis JN, Tarlatzis BC. HOX A10 and HOX A11 mutation scan in congenital malformations of the female genital tract. *Reprod Biomed Online* 2010. 21: 126-132.
- Manley NR, Capecchi MR. Hox group 3 paralogs regulate the development and migration of the thymus, thyroid, and parathyroid glands. *Dev Biol*. 1998. 195: 1-15.
- Matthews SG. Antenatal glucocorticoids and programming of developing CNS. *Pediatr Res*. 2000. 47: 291-300.
- Maulbecker CC, Gruss P. The oncogenic potential of deregulated homeobox genes. *Cell Growth Differ*. 1993. 4: 431-441.
- McGinnis W, Garber RL, Wirz J, Kuroiwa A, Gehring WJ. A homologous protein-coding sequence in *Drosophila* homeotic genes and its conservation in other metazoans. *Cell* 1984. 37: 403-408.
- Mesquita AR, Wegerich Y, Patchev AV, Oliveira M, Leão P, Sousa N, Almeida OF. Glucocorticoids and neuro- and behavioural development. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2009. 14: 130-135.
- Owen D, Andrews MH, Matthews SG. Maternal adversity, glucocorticoids and programming of neuroendocrine function and behaviour. *Neurosci and Biobehav Rev* 2005. 29: 209-226.
- Perez WD, Weller CR, Shou S, Stadler HS. Survival of Hoxa13 homozygous mutants reveals a novel role in digit patterning and appendicular skeletal development. *Dev Dyn*. 2010. 239: 446-457.
- Schwab K, Hartman HA, Liang HC, Aronow BJ, Patterson LT, Potter SS. Comprehensive microarray analysis of Hoxa11/Hoxd11 mutant kidney development. *Dev Biol*. 2006. 293: 540-554.
- Swolin-Eide D, Dahlgren J, Nilsson C, Wikland KA, Holmang A, Ohlsson C. Affected skeletal growth but normal bone mineralization in rat offspring after prenatal dexamethasone exposure. *J Endocrinology* 2002. 174: 411-418.
- Woolley CS, Gould E, McEwen BS. Exposure to excess glucocorticoids alters dendritic morphology of adult hippocampal pyramidal neurons. *Brain Res*. 1990. 531: 225-231.
- 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 cell. *J Bone Miner Res*. 1990. 5: 803-813.
- Yu SJ, Lee JY, Kim SH, Deocaris CC, Kim MH. Synthetic maternal stress hormone can modulate the expression of Hox genes. *J Exp Biomed Sci*. 2009. 15: 249-255.