

ダイオキシン母体曝露による胎児副腎ステロイド合成系への影響と性差

武田, 知起

九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

服部, 友紀子

九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

藤井, 美彩紀

九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

田浦, 順樹

九州大学大学院薬学研究院分子衛生薬学分野

他

<https://doi.org/10.15017/26705>

出版情報：福岡醫學雑誌. 104 (4), pp.143-151, 2013-04-25. 福岡医学会

バージョン：

権利関係：



ダイオキシン母体曝露による胎児副腎ステロイド合成系への影響と性差

九州大学大学院薬学研究院 分子衛生薬学分野

武田 知起, 服部友紀子, 藤井美彩紀, 田浦 順樹, 石井祐次, 山田 英之

The Gender-Specific Effect of Maternal Exposure to Dioxin on Fetal Steroidogenesis in the Adrenal Gland

Tomoki TAKEDA, Yukiko HATTORI, Misaki FUJII, Junki TAURA, Yuji ISHII and Hideyuki YAMADA

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

Abstract Maternal exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) causes a number of toxic effects on development such as growth retardation and sexual immaturity in the offspring. However, the toxic mechanism remains unknown. Our previous studies have revealed that single oral administration of TCDD (1 µg/kg) to pregnant rats at gestational day (GD) 15 attenuates the fetal expression of testicular steroidogenic proteins such as steroidogenic acute-regulatory protein (StAR) and cytochrome P450 (CYP) 17 by targeting the fetal production of pituitary gonadotropins. In addition, we provided evidence that TCDD-produced damage on the fetal pituitary-gonad axis leads to imprint defects in sexual behaviors at adulthood. In this study, we investigated whether TCDD also affects fetal steroidogenesis in the adrenal gland. When pregnant Wistar rats were orally treated with TCDD, the fetal expression of CYP21, CYP11B1 and CYP11B2 mRNAs was either induced or tended to be induced in the male adrenal gland during GD17 and GD19, while the expression of mRNAs coding for StAR, CYP11A1 and 3β-hydroxysteroid dehydrogenase was insensitive to TCDD treatment. The above alterations did not seem to be caused through a change in the upstream regulator, because TCDD exhibited little ability to attenuate the expression of adrenocorticotropin, a pituitary hormone stimulating adrenal steroidogenesis, in the male and female fetuses. In contrast to the males, TCDD effect on the adrenal gland was not observed in the female fetuses. These results suggest that maternal exposure to TCDD disrupts fetal steroidogenesis in adrenal as well as gonadal glands in a male specific manner, and the mechanism underlying the effect on adrenal gland is independent of the alteration of pituitary regulator.

Key words : 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin(TCDD) · Adrenal · Steroidogenesis · Fetus · Sex difference

はじめに

2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) に代表されるダイオキシン類は、生体に対して多岐にわたる毒性を引き起こす¹⁾。中でも、妊娠期や授乳期の母親への低用量曝露によって児に出現する後世代毒性は、他の毒性に比較して閾値が低いこと、ならびに世代を越えて影響が及ぶことから問題が大きい²⁾。具体的には、TCDD 曝

露母体より出生した児が成長したのちに、精子産生能の低下、排卵低下および交尾行動障害等の性未成熟、ならびに低体重、知能低下および社会行動の異常等の発達障害が惹起される。近年の多くの研究により、その障害発生機構として性ステロイド搅乱作用が一端を担う可能性が見出されている^{3)~10)}。例えば、性ステロイドシグナリングに対する影響³⁾⁶⁾⁹⁾、受容体の発現減少⁴⁾¹⁰⁾、性ステロイド合成/分泌抑制⁷⁾および代謝酵素の誘導⁵⁾⁸⁾

Corresponding author : Hideyuki YAMADA
 Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyusyu University
 Tel : +81-92-642-6585 Fax : +81-92-642-6588
 E-mail : hyamada@phar.kyushu-u.ac.jp

等である。しかし、これらがどの種の障害に直結するかは理解されていない。

当研究室では後世代毒性の発現機構解明を目指し、ラットを用いた研究を実施している。これまでに、妊娠 (gestational day; GD) 15日目の母体への1 µg/kg TCDDの経口投与により、出生前後の児の脳下垂体において luteinizing hormone (LH) の合成が低下し、これを起点に精巣の steroidogenic acute-regulatory protein (StAR) や cytochrome P450 (CYP) 17等の性ステロイド合成系タンパク質の発現低下、ならびに成長後の交尾行動障害が惹起されることを明らかにしている^{11)~14)}。これは、胎児期に低下する LH の補給により、TCDD 依存的な StAR や CYP17 の発現低下^{11)~14)}のみならず、成長後の交尾行動障害¹³⁾が改善する事実に基づく。一方、TCDD (1 µg/kg) 母体曝露が GD20 の雌胎児卵巣の StAR 等の性ステロイド合成系に及ぼす影響は雄に比較すると小さく¹³⁾、また生殖腺以外の胎児ステロイド産生臓器である副腎、胎盤および視床下部の StAR および CYP17 の発現は、少なくとも GD20 胎児においては影響がないこと¹⁵⁾も見出している。しかし、性ステロイド以外のステロイド

の合成系が周産期の児に特異的な障害を受けるか否かについては全く明らかになっていない。

性ステロイド以外のステロイドホルモンとして知られるのが、糖質コルチコイドおよび鉱質コルチコイドの副腎皮質ホルモンである。これらは、性ステロイドと同様にコレステロールを出発原料として種々の酵素反応を経て合成されるが、CYP21, CYP11B1 および CYP11B2 が合成を担う酵素として重要である¹⁶⁾ (Fig. 1)。副腎皮質ホルモンは、生体のストレス応答/恒常性維持 (血糖および電解質調節) に必須のホルモンであるが、胎児期における糖質コルチコイドの過剰状態は成長遅滞を引き起こすことが広く知られている^{17)~19)}。一方、脳、肺、骨および胰臓等の局所においては正常な発達に重要な報告もある^{20)~23)}。従って、胎児期における副腎皮質ホルモンの変調は児の発育と密接に関わるため、TCDD による影響を明確にすることは、発達障害との関連性を論じる上で有用と考えられる。そこで本研究では、TCDD 母体曝露が胎児副腎のステロイド合成系に及ぼす影響を明らかにするため、副腎ステロイド合成酵素群の発現変動を解析した。

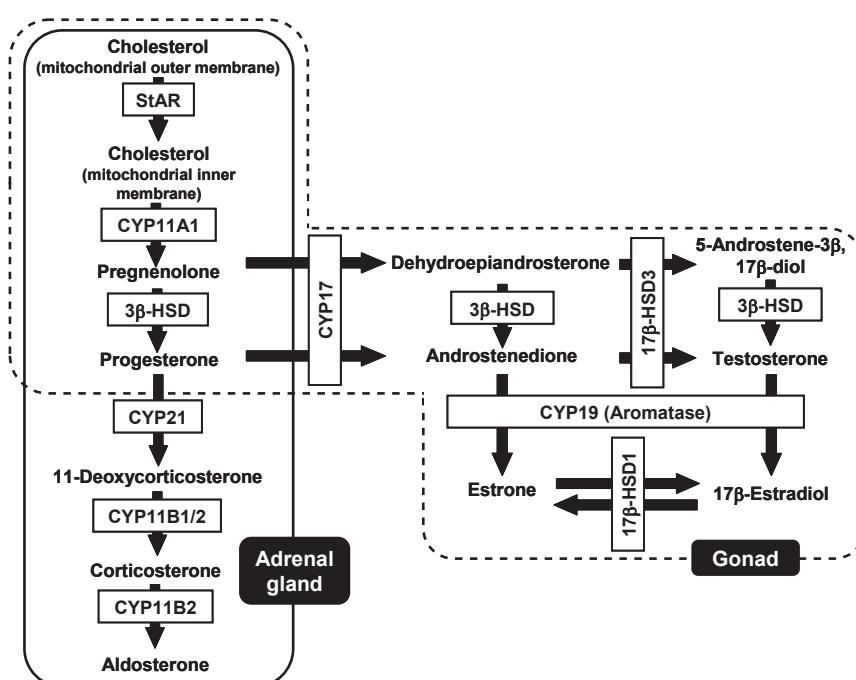


Fig. 1 The steroidogenic pathways in the adrenal and gonadal glands of rodents.
Abbreviations used : CYP, cytochrome P450 ; HSD, hydroxysteroid dehydrogenase ; StAR, steroidogenic acute-regulatory protein.

Table 1 The design of primer sequence for real-time PCR

Target mRNA	Forward (5' -> 3') Reverse (5' -> 3')	Product size (bp)	Accession No. ^a
StAR	ACACTTTGGGGAGATGCCTG CGTGAGTTGGTCTTGAGG	109	U76419
CYP17	GCACAATCCTGAGGTGAAGA CTGATACGCAGCACTCTCG	135	M31681
CYP11A1	TCAAAGCCAGCATCAAGGAG TTCTCGACCCATGGCATAGC	146	M22615
CYP21	GCTGACCCAGGAATTCTGTG GAGACAGCTGATGATACTGC	103	NM_057101
CYP11B1	TTCTTACCCAAGAGCTTGAC ATCTCGGATATGACACTCC	161	NM_012537
CYP11B2	TGCCTGGGATGTCATCTCTG TAGTGCAGCCACAATGCCAC	106	NM_012538
3 β -HSD	AGATCTGGGCTATGTGCCAC CCCTTTCTGTCACTGAGACT	124	M38178
ACTH	TCACCACGGAAAGCAACCTG AGTCAAGGGCTGTTCATCTC	104	NM_139326
β -actin	CACCATGTACCCAGGCATCGC AGCCACCAATCCACACAGAG	122	V01217

^aGenbank accession No. is shown.

実験方法

1. 実験材料

TCDD は、AccuStandard 社 (New Haven, CT, USA) より購入した。Corn oil は、味の素株式会社の市販品を購入した。その他の試薬は、実験に適した純度のものを使用した。

2. 動物実験

TCDD は 40 μ g/mL acetone 溶液を調製し、使用まで-30°C に保存した。用時に必要量 corn oil と混和したのち、acetone を窒素ガスにて留去し、TCDD が 0.5 μ g/mL となるように調製した。

Wistar 系雌性ラット (7 週齢) および雄性ラット (10 週齢) は、九動株式会社 (佐賀県鳥栖市) より購入した。雌雄ラットを一晩交配し、翌日膣内に精子が確認された日を GD0 とした。GD15 に、TCDD (1 μ g/kg/2 mL corn oil)，あるいは対照群として corn oil (2 mL/kg) を投与した。GD16~20 に胎児を摘出し、脳下垂体、副腎、生殖腺および血液を採取した。採取した血液は、室温にて 2 時間程度放置したのち、4°C、3,000 rpm に

て 15 分間遠心分離を行い血清とした。臓器及び血清は、液体窒素にて急速凍結し、使用まで-80°C に保存した。

3. リアルタイム RT-PCR

mRNA 発現量は、リアルタイム reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて解析した²⁴⁾。摘出臓器より、RNeasy Mini Kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany) を用いて total RNA を抽出した。Total RNA は、PrimeScript RT reagent kit with gDNA Eraser (タカラバイオ株式会社、滋賀県大津市) を用いて、添付説明書に従って cDNA を合成した。リアルタイム PCR は、Fast SYBR Green Master Mix (Life Technologies 社, Carlsbad, CA, USA) を使用し、反応条件は [95°C, 20 秒-40 サイクル (95°C, 3 秒-60°C, 30 秒)] とした。この反応ののち、増幅産物の特異性を確認するために融解曲線 [95°C, 15 秒-60°C, 1 分-60 to 95°C (0.3°C ずつ上昇、各 15 秒)] を作製した。使用したプライマーは Table 1 に示す。目的遺伝子の発現量は、 β -actin に対する相対値として解析した。

4. Enzyme immunoassay (EIA)

血清 adrenocorticotropin (ACTH) 濃度は、市販の ACTH EIA kit (Phoenix Pharmaceuticals 社, Burlingame, CA, USA) を用いて、添付説明書に従って測定した。血清は測定時に滅菌水にて2倍希釈して使用した。

結 果

TCDD 母体曝露が胎児の副腎ステロイド合成系に及ぼす影響を解析する前に、陽性対照として TCDD の母体曝露が胎児生殖腺の性ステロイド合成系に及ぼす影響とその出現時期を検討した。ステロイドホルモンの原料であるコレステロールをミトコンドリア内へ輸送するタンパク質である StAR²⁵⁾ および性ステロイド合成に必須の酵素である CYP17²⁶⁾ の mRNA 発現変動を解析した結果、雄胎児精巣においては TCDD 依存的に StAR および CYP17 の発現が GD17~20 にかけて低下した (Fig. 2A)。一方、TCDD は雌胎児卵巣の StAR および CYP17 の発現に対しては影響を及ぼさなかった (Fig. 2B)。これらの結果は、既報¹³⁾¹⁵⁾ と同様の傾向を示し、TCDD が胎児生殖腺に及ぼす影響は雄に特異性が高いことが再確認された。

TCDD 母体曝露による胎児副腎のステロイド合成酵素の mRNA 発現変動を解析した結果、雄胎児では副腎皮質ホルモンの合成酵素である CYP21, CYP11B1 および CYP11B2 の発現が GD17~19 にかけて上昇ないし上昇傾向を示した (Fig. 3)。一方、StAR, CYP11A1 および 3β-hydroxysteroid dehydrogenase (3β-HSD) に関しては、検討期間内における有意な変動は観察されなかった (Fig. 3)。雌胎児においては、いずれも変化は認められなかった (Fig. 4)。また、副腎ステロイド合成の上位制御因子である脳下垂体の脳下垂体の ACTH の発現変動を解析した結果、mRNA および血清中濃度とともに、TCDD による変動は観察されなかった (Fig. 5)。

考 察

本研究では、TCDD 母体曝露 (1 μg/kg, 経口) が胎児副腎のステロイド合成系に及ぼす影響を明らかにするため、副腎皮質ホルモン合成関連タンパク質の発現変動を解析した。その結果、StAR,

CYP11A1 および 3β-HSD は無影響であったものの、副腎皮質ホルモン合成に必須である CYP21, CYP11B1 および CYP11B2 の発現が雄胎児特異的に誘導され、TCDD による胎児ステロイド合成攪乱作用は精巣に限定されないことが見出された。さらに、TCDD は胎児脳下垂体の ACTH の合成／分泌に対しては影響を及ぼさず、上位制御因子の変動では説明できないことが示唆された。本研究では、雄胎児特異的な変動の機構は明らかにできなかつたが、CYP21, CYP11B1 および CYP11B2 のみで誘導が起こる事実から、副腎の部位特異的な障害を介する可能性が考えられる。副腎皮質は、外側より球状帯、束状帯および網状帯の3層から成り、球状帯は鉱質コルチコイド、束状帯は糖質コルチコイド、網状帯は性ステロイドを合成／分泌する¹⁶⁾。すなわち、各層間で酵素の発現水準が異なり、例えば CYP11B2 は球状帯のみで発現し、CYP11B1 は束状帯に最も多い²⁷⁾²⁸⁾。従って、誘導の分子種特異性を踏まえると、TCDD は球状帯および束状帯に対して選択的に作用することで CYP11B1 や CYP11B2 の発現を誘導する一方、網状帯に多く発現する StAR, CYP11A1 および 3β-HSD には影響が起らなかった可能性がある。球状帯は、GD17~19 の間にレニン-アンギオテンシン系の刺激による分化が起こることが示唆されている²⁸⁾。これは、本研究で見出した CYP11B2 の発現誘導の時期と一致する。TCDD の周産期曝露は雄児マウスのアンギオテンシン II に対する感受性を高めることから²⁹⁾、雄胎児ラットにおいても同様の現象が起こることにより、分化が促進された可能性が考えられる。一方、TCDD が ACTH 以外の刺激物質あるいは副腎内での直接的な影響を介して雄胎児の副腎ステロイド合成系を選択的に誘導する可能性も否定はできない。事実、ラットへの TCDD 曝露により血中の ACTH 量は変動しないが、糖質コルチコイド量が雄のみで上昇傾向を示すことが報告されている³⁰⁾。ACTH 以外の発現促進因子としては、上述のアンギオテンシン II³¹⁾のほか、束状帯に作用して糖質コルチコイドを増加させる corticotropin releasing hormone (CRH)³²⁾ および interleukin (IL) 6³³⁾等が TCDD の標的候補として挙げられる。TCDD はサルやマウスにおいて CRH および IL6 の発現を誘導することから³⁴⁾³⁵⁾,

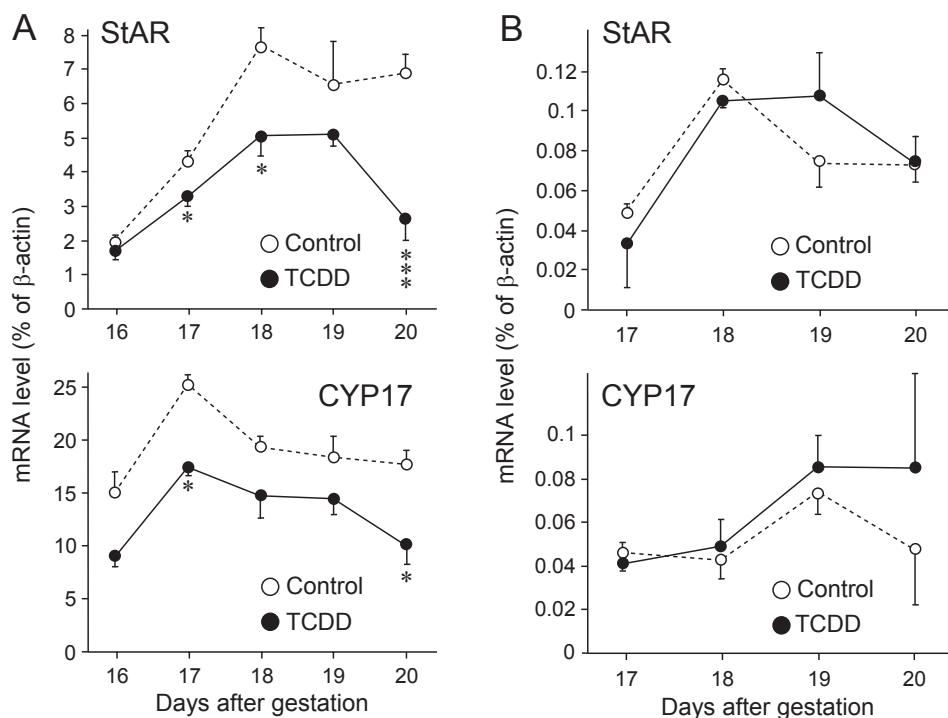


Fig. 2 Effect of maternal exposure to TCDD on the gonadal expression of StAR and CYP17 mRNAs in male (A) and female (B) fetal rats. Pregnant rats (GD15) were orally treated with TCDD (1 µg/kg), and fetal gonads were removed from GD16 to GD20. The expression of target mRNAs was normalized by β-actin mRNA. Each plot represents the mean ± S.E.M. of 3–6 fetuses which were removed from different dams. Significantly different from control : * $p < 0.05$ and ** $p < 0.001$.

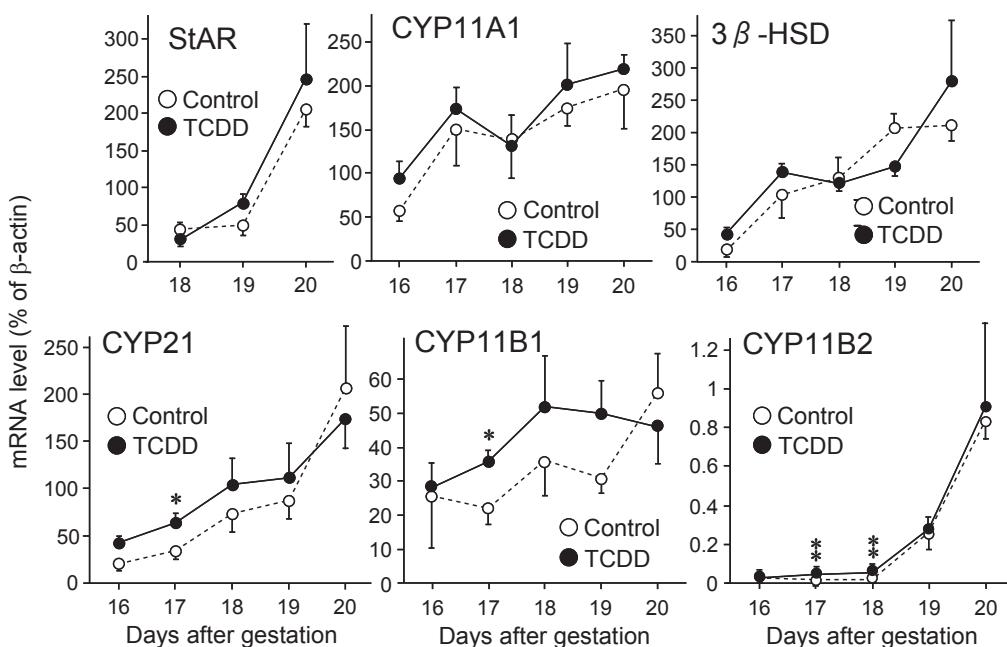


Fig. 3 Effect of TCDD on the fetal expression of steroidogenic protein mRNAs in the male adrenal. Each plot represents the mean ± S.E.M. of 3–6 fetuses which were removed from different dams. Significantly different from control : * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$.

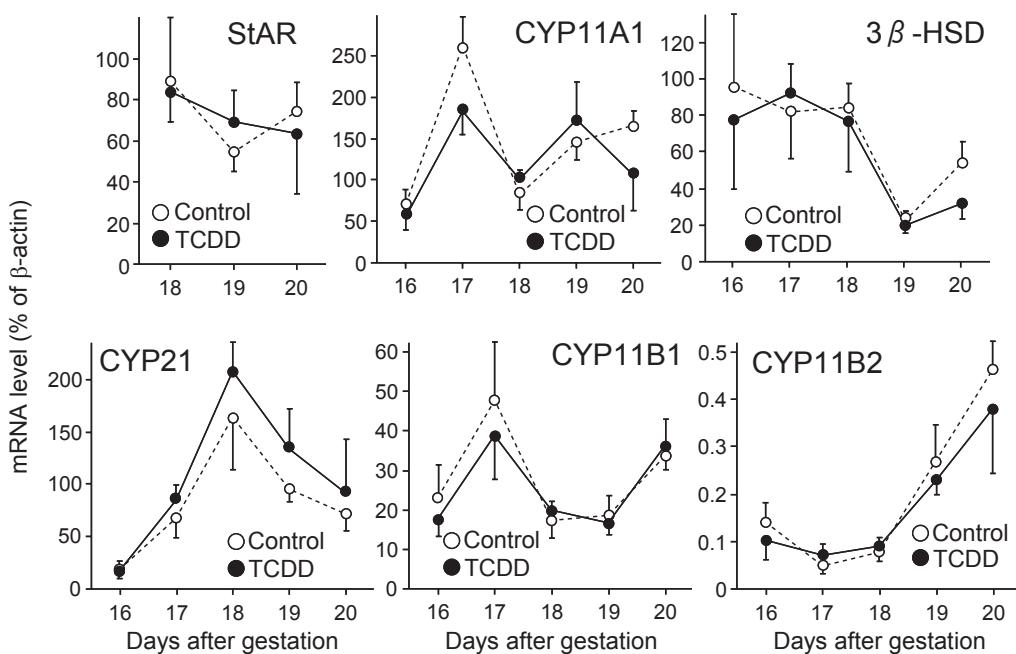


Fig. 4 Absence of TCDD effect on the fetal expression of steroidogenic protein mRNAs in the female adrenal. Each plot represents the mean \pm S.E.M. of 3–6 fetuses which were removed from different dams.

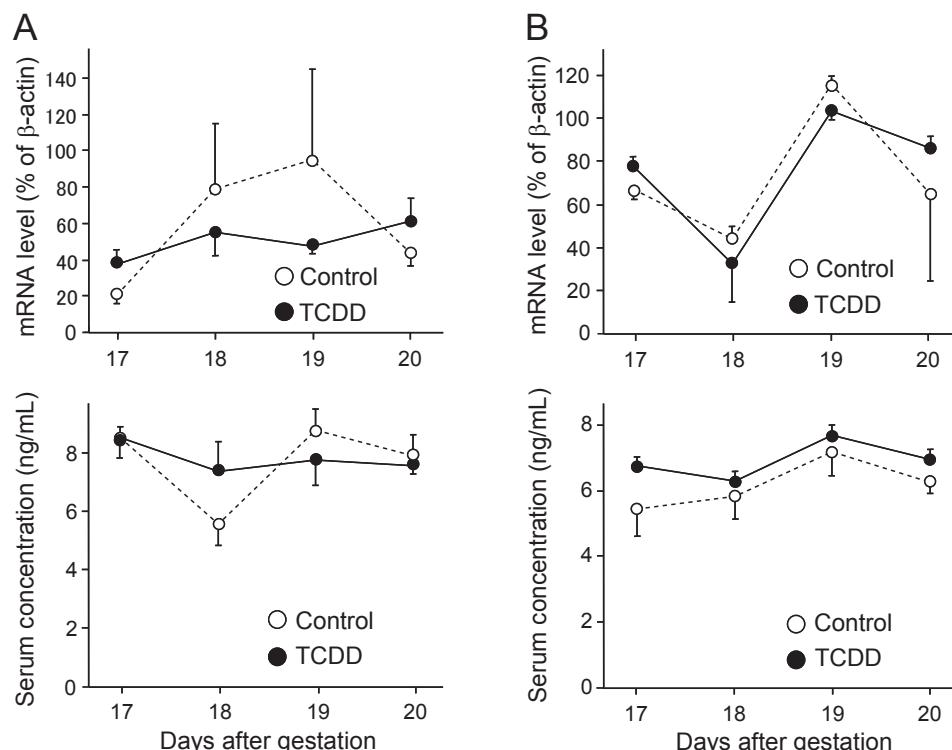


Fig. 5 Absence of TCDD effect on the pituitary expression of ACTH mRNA and serum concentration of ACTH in male (A) and female (B) fetuses. Each plot represents the mean \pm S.E.M. of 3–6 fetuses which were removed from different dams.

雄胎児ラットにおいてこれらの変動が起こるか否かについても注視する必要がある。また、ダイオキシン類は細胞質に存在する芳香族炭化水素受容体 (AhR) に結合し、多くの遺伝子上流に存在するコンセンサス配列 [xenobiotic responsive element (XRE)] への結合を介してそれらの遺伝子発現変動を引き起す³⁶⁾。CYP21, CYP11B1 および CYP11B2 の遺伝子上流 10,000 base pair に関して XRE のコア配列 (5'-CACGC-3') を検索したところ、いずれも一ヶ所以上に存在が確認された。AhR は、胎児後期において副腎と肝臓に最も高発現するとの報告もあることから³⁷⁾、TCDD が AhR 依存的にこれらの遺伝子発現を誘導する可能性も無視できない。

本研究においては、TCDD による胎児生殖腺ステロイド合成系への影響の出現時期についても詳細に検討した。その結果、胎児精巣における StAR および CYP17 の発現低下は、GD17 より起こることが判明した。さらに、胎児卵巣においては影響が観察されず、雄胎児精巣に感受性が高いことが再確認された。胎児精巣に対する障害性は上位制御因子である脳下垂体の LH 低下に起因することは緒論で述べた通りである^{11)~14)}。しかし、LH 低下は GD19 以前には認められないことから¹⁴⁾、GD17~19 における影響は LH 低下以外の機構で惹起されることが想定される。その機構として、副腎皮質ホルモン合成系への影響との関連性が考えられる。糖質コルチコイドは精巣における性ステロイド合成を負に制御する^{38)~40)}。つまり、GD17~19 において副腎のステロイド合成が亢進する結果、精巣の性ステロイド合成低下が惹起された可能性が考えられる。この推定は、GD17~19 の雄胎児において精巣の StAR および CYP17 は低下するのに対し、副腎ステロイド合成系は誘導するという本研究結果と符合する。また、精巣の分化抑制に起因する可能性もある。生殖腺および副腎は、同一の始原生殖細胞を起点として steroidogenic factor-1 (SF1), dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia congenita critical region on the X-chromosome, gene-1 (DAX1) および wingless-type MMTV integration site family, member 4 (Wnt4) 等の転写因子の発現に伴って選択的に分化する^{41)~43)}。我々は過去に、TCDD 母体曝露により胎児精巣において

SF1 の発現が低下すること¹¹⁾、ならびに胎児卵巣ではいずれも変動しないことを確認している（未発表データ）。従って、SF1 低下を介して精巣特異的に分化が抑制され、StAR 等の低発現に繋がった可能性も考えられる。これが事実ならば、雄胎児では精巣の分化減少に伴って過剰な副腎への分化が起りうる一方で、雌胎児では卵巣分化が正常に起るため副腎には影響が生じない、すなわち副腎への影響の性差が説明できる可能性がある。TCDD が両組織のステロイド合成系に及ぼす影響の機構を明らかにするため、副腎ステロイド量や生殖腺／副腎の分化への影響に着目した解析が今後必要であろう。

結論

TCDD 母体曝露は、雄胎児特異的に副腎のステロイド合成系を誘導することが明らかになった。誘導を受ける酵素の分子種特異性から、TCDD は副腎皮質の球状帯や束状帯に対して選択的に影響する可能性が推定される。一方、脳下垂体 ACTH の変動は観察されず、上記の影響は上位制御因子の変動では説明できないことが示唆された。

謝辞

本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）（課題番号：H24-食品-指定-014）によった。

参考文献

- Poland A and Knutson JC : 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons : examination of the mechanism of toxicity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 22 : 517-554, 1982.
- Peterson RE, Theobald HM and Kimmel GL : Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds : cross-species comparisons. *Crit. Rev. Toxicol.* 23 : 283-335, 1993.
- Gallo MA, Hesse EJ, Macdonald GJ and Umbreit TH : Interactive effects of estradiol and 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on hepatic cytochrome P-450 and mouse uterus. *Toxicol. Lett.* 32 : 123-132, 1986.
- Romkes M, Piskorska-Pliszczynska J and Safe

- S : Effects of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on hepatic and uterine estrogen receptor levels in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 87 : 306-314, 1987.
- 5) Spink DC, Lincoln II DW, Dickerman HW and Gierthy JF : 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin causes an extensive alteration of 17 beta-estradiol metabolism in MCF-7 breast tumor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87 : 6917-6921, 1990.
- 6) Kharat I and Saatcioglu F : Antiestrogenic effects of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin are mediated by direct transcriptional interference with the liganded estrogen receptor. *J. Biol. Chem.* 271 : 10533-10537, 1996.
- 7) Moran FM, Conley AJ, Corbin CJ, Enan E, VandeVoort C, Overstreet JW and Lasley BL : 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin decreases estradiol production without altering the enzyme activity of cytochrome P450 aromatase of human luteinized granulosa cells in vitro. *Biol. Reprod.* 62 : 1102-1108, 2000.
- 8) Badawi AF, Cavalieri EL and Rogan EG : Effect of chlorinated hydrocarbons on expression of cytochrome P450 1A1, 1A2 and 1B1 and 2- and 4-hydroxylation of 17 β -estradiol in female Sprague-Dawley rats. *Carcinogenesis* 21 : 1593-1599, 2000.
- 9) Khan S, Barhoumi R, Burghardt R, Liu S, Kim K and Safe S : Molecular mechanism of inhibitory aryl hydrocarbon receptor-estrogen receptor/Spl cross talk in breast cancer cells. *Mol. Endocrinol.* 20 : 2199-2214, 2006.
- 10) Ohtake F, Baba A, Takeda I, Okada M, Iwasaki K, Miki H, Takahashi S, Kouzmenko A, Nohara K, Chiba T, Fujii-Kuriyama Y and Kato S : Dioxin receptor is a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase. *Nature* 446 : 562-566, 2007.
- 11) Mutoh J, Taketoh J, Okamura K, Kagawa T, Ishida T, Ishii Y and Yamada H : Fetal pituitary gonadotropin as an initial target of dioxin in its impairment of cholesterol transportation and steroidogenesis in rats. *Endocrinology* 147 : 927-936, 2006.
- 12) Taketoh J, Mutoh J, Takeda T, Ogishima T, Takeda S, Ishii Y, Ishida T and Yamada H : Suppression of fetal testicular cytochrome P450 17 by maternal exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin : a mechanism involving an initial effect on gonadotropin synthesis in the pituitary. *Life Sci.* 80 : 1259-1267, 2007.
- 13) Takeda T, Matsumoto Y, Koga T, Mutoh J, Nishimura Y, Shimazoe T, Ishii Y, Ishida T and Yamada H : Maternal exposure to dioxin disrupts gonadotropin production in fetal rats and imprints defects in sexual behavior. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 329 : 1091-1099, 2009.
- 14) Takeda T, Fujii M, Taura J, Ishii Y and Yamada H : Dioxin silences gonadotropin expression in perinatal pups by inducing histone deacetylases : a new insight into the mechanism for the imprinting of sexual immaturity by dioxin. *J. Biol. Chem.* 287 : 18440-18450, 2012.
- 15) 武田知起, 田浦順樹, 藤井美彩紀, 古賀貴之, 石井祐次, 山田英之 : ダイオキシン母体曝露が胎児ステロイド産生臓器の性ステロイドホルモン合成系に及ぼす影響. *福岡医誌.* 102 : 159-166, 2011.
- 16) Omura T and Morohashi K : Gene regulation of steroidogenesis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 53 : 19-25, 1995.
- 17) Seckl JR : Prenatal glucocorticoids and long-term programming. *Eur. J. Endocrinol.* 151 : U49-U62, 2004.
- 18) Seckl JR and Meaney MJ : Glucocorticoid programming. *Ann. NY Acad. Sci.* 1032 : 63-84, 2004.
- 19) Hewitt DP, Mark PJ and Waddell BJ : Glucocorticoids prevent the normal increase in placental vascular endothelial growth factor expression and placental vascularity during late pregnancy in the rat. *Endocrinology* 147 : 5568-5574, 2006.
- 20) Gronowicz G, McCarthy MB and Raisz LG : Glucocorticoids stimulate resorption in fetal rat parietal bones in vitro. *J. Bone Miner. Res.* 5 : 1223-1230, 1990.
- 21) Ward RM : Pharmacologic enhancement of fetal lung maturation. *Clin. Perinatol.* 21 : 523-542, 1994.
- 22) Komatsu S, Yamamoto M, Arishima K and Eguchi Y : Maternal adrenocortical hormones maintain the early development of pancreatic B cells in the fetal rat. *J. Anat.* 193 : 551-557, 1998.
- 23) Matthews SG : Antenatal glucocorticoids and programming of the developing CNS. *Pediatr. Res.* 47 : 291-300, 2000.
- 24) Matsumoto Y, Ishida T, Takeda T, Koga T, Fujii M, Ishii Y, Fujimura Y, Miura D, Wariishi H and Yamada H : Maternal exposure to dioxin reduces hypothalamic but not pituitary metabolome in fetal rats : a possible mechanism for a fetus-specific reduction in steroidogenesis. *J. Toxicol. Sci.* 35 : 365-373, 2010.
- 25) Manna PR, Dyson MT and Stocco DM : Regulation of the steroidogenic acute regulatory protein gene expression : present and future

- perspectives. *Mol. Hum. Reprod.* 15 : 321-333, 2009.
- 26) Payne AH and Youngblood GL : Regulation of expression of steroidogenic enzymes in Leydig cells. *Biol. Reprod.* 52 : 217-225, 1995.
- 27) Morohashi K : Gonadal and Extragonadal Functions of Ad4BP/SF-1 : Developmental Aspects. *Trends Endocrinol. Metab.* 10 : 169-173, 1999.
- 28) Wotus C, Levay-Young BK, Rogers LM, Gomez-Sanchez CE and Engelstad WC : Development of adrenal zonation in fetal rats defined by expression of aldosterone synthase and 11beta-hydroxylase. *Endocrinology* 139 : 4397-4403, 1998.
- 29) Aragon AC, Goens MB, Carbett E and Walker MK : Perinatal 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin exposure sensitizes offspring to angiotensin II-induced hypertension. *Cardiovasc. Toxicol.* 8 : 145-154, 2008.
- 30) Pitt JA, Buckalew AR, House DE and Abbott BD : Adrenocorticotropin (ACTH) and corticosterone secretion by perfused pituitary and adrenal glands from rodents exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD). *Toxicology* 151 : 25-35, 2000.
- 31) Rainey WE, Bird IM and Mason JI : Angiotensin-II-directed glomerulosa cell function in fetal adrenal cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 43 : 847-854, 1992.
- 32) Andreis PG, Neri G, Mazzocchi G, Musajo F and Nussdorfer GG : Direct secretagogue effect of corticotropin-releasing factor on the rat adrenal cortex : the involvement of the zona medullaris. *Endocrinology* 131 : 69-72, 1992.
- 33) Päth G, Bornstein SR, Ehrhart-Bornstein M and Scherbaum WA : Interleukin-6 and the interleukin-6 receptor in the human adrenal gland : expression and effects on steroidogenesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82 : 2343-2349, 1997.
- 34) Shridhar S, Farley A, Reid RL, Foster WG and Van Vugt DA : The Effect of 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on corticotrophin-releasing hormone, arginine vasopressin, and pro-opiomelanocortin mRNA levels in the hypothalamus of the cynomolgus monkey. *Toxicol. Sci.* 63 : 181-188, 2001.
- 35) DiNatale BC, Schroeder JC and Perdew GH : Ah receptor antagonism inhibits constitutive and cytokine inducible IL6 production in head and neck tumor cell lines. *Mol. Carcinog.* 50 : 173-183, 2011.
- 36) Mimura J and Fujii-Kuriyama Y : Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD. *Biochim. Biophys. Acta* 1619 : 263-268, 2003.
- 37) Abbott BD, Birnbaum LS and Perdew GH : Developmental expression of two members of a new class of transcription factors : I. Expression of aryl hydrocarbon receptor in the C57BL/6N mouse embryo. *Dev. Dyn.* 204 : 133-143, 1995.
- 38) Orr TE and Mann DR : Role of glucocorticoid in the stress-induced suppression of testicular steroidogenesis in adult male rats. *Horm. Behav.* 26 : 350-363, 1992.
- 39) Gao HB, Shan LX, Monder C and Hardy MP : Suppression of endogenous corticosterone levels in vivo increases the steroidogenic capacity of purified rat Leydig cells in vitro. *Endocrinology* 137 : 1714-1718, 1996.
- 40) Rengarajan S and Balasubramanian K : Corticosterone induces steroidogenic lesion in cultured adult rat Leydig cells by reducing the expression of StAR protein and steroidogenic enzymes. *J. Cell. Biochem.* 103 : 1472-1487, 2008.
- 41) Vainio S, Heikkilä M, Kispert A, Chin N and McMahon AP : Female development in mammals is regulated by Wnt-4 signalling. *Nature* 397 : 405-409, 1999.
- 42) Keegan CE and Hammer GD : Recent insights into organogenesis of the adrenal cortex. *Trends Endocrinol. Metab.* 13 : 200-208, 2002.
- 43) Fujieda K and Tajima T : Molecular basis of adrenal insufficiency. *Pediatr. Res.* 57 : 62R-69R, 2005.

(Received for publication March 22, 2013)