

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20241231008 CSTR: 32064.14.AJE.1673-5897.20241231008

汪敏, 谷鹏飞, 姚淑媛, 等. 壬基酚和17 β -雌二醇对子陵吻鰕虎鱼下丘脑-垂体-性腺轴的毒性作用机制[J]. 生态毒理学报, 2025, 20(3): 210-221.

WANG M, GU P F, YAO S Y, et al. Mechanism of toxic effects of estradiol and 17 β -nonylphenol on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in *Rhinogobius giurinus* [J]. Asian journal of ecotoxicology, 2025, 20(3): 210-221.

壬基酚和17 β -雌二醇对子陵吻鰕虎鱼下丘脑-垂体-性腺轴的毒性作用机制

汪敏¹, 谷鹏飞², 姚淑媛², 谈凯², 赵凯², 宋婧^{2,*}

1. 安庆医药高等专科学校基础医学院, 安庆 246052

2. 安庆师范大学生命科学学院, 安庆 246011

收稿日期: 2024-12-31 录用日期: 2025-02-13

摘要: 壬基酚(nonylphenol, NP)是一种典型的环境异种雌激素,而17 β -雌二醇(17 β -estradiol, E₂)是生物体内合成的天然雌激素。这2种物质都可能对水生生物的内分泌系统产生干扰,进而影响其生殖和发育过程。为了揭示NP和E₂对水生生物的毒性作用机制,本研究以子陵吻鰕虎鱼为模型,深入探讨了短期暴露于不同浓度雌激素对下丘脑-垂体-性腺轴(HPG轴)相关激素水平的影响。研究发现,子陵吻鰕虎鱼在E₂(浓度分别为0、1、10、100 ng·L⁻¹)和NP(浓度分别为0、10、100、1 000 ng·L⁻¹)暴露下,其促黄体生成激素(LH)水平呈现下降趋势,尤其是在100 ng·L⁻¹ E₂暴露下更为明显。促黄体生成激素受体(LHR)在10 ng·L⁻¹ E₂和1 000 ng·L⁻¹ NP暴露下较高。此外,外源性E₂和NP的暴露使得子陵吻鰕虎鱼血浆中的E₂水平呈上升趋势,对雌激素受体 α (ER α)的影响有限,但雌激素受体 β 1(ER β 1)的表达在E₂和NP处理下与对照组相比显著降低。同时,卵黄蛋白原(VTG)表达量在E₂和NP的作用下显著增加,并随浓度升高呈现先增后减的趋势。综上所述,本研究揭示了外源性E₂和NP通过影响子陵吻鰕虎鱼HPG轴的关键激素和受体,进而干扰其生殖内分泌系统。这些发现强调了环境雌激素对水生生物生殖健康的潜在风险,并为未来水环境雌激素污染的监测和管理提供了重要的科学依据。

关键词: 雌二醇;壬基酚;子陵吻鰕虎鱼;下丘脑-垂体-性腺轴

文章编号: 1673-5897(2025)3-210-12 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Mechanism of Toxic Effects of Estradiol and 17 β -Nonylphenol on the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in *Rhinogobius giurinus*

WANG Min¹, GU Pengfei², YAO Shuyuan², TAN Kai², ZHAO Kai², SONG Jing^{2,*}

1. School of Basic Medical Sciences, Anqing Medical College, Anqing 246052, China

2. Life Sciences College, Anqing Normal University, Anqing 246011, China

Received 31 December 2024 accepted 13 February 2025

Abstract: Nonylphenol (NP) is a typical environmental xenoestrogens, and 17 β -estradiol (E₂) is a natural estrogen synthesized in living organisms. These two substances can interfere with the endocrine systems of aquatic organisms, thereby affecting their reproductive and developmental processes. To elucidate the toxicological mechanisms of NP and E₂ on aquatic organisms, this study explored the effects of short-term exposure to different concentrations of estrogens on the hormone level of the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis using the

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金项目(2024AH040170, 2022AH052546, 2023AH010041)

第一作者: 汪敏(1981—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生态毒理学, E-mail: jeany663@sohu.com

* 通信作者(Corresponding author), E-mail: rosongj@163.com

Rhinogobius giurinus as a model species. Results show that the levels of luteinizing hormone (*lh*) in the *R. giurinus* decreased with the increase of concentrations of E_2 (0, 1, 10, and 100 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) and NP (0, 10, 100, and 1 000 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$), and the decrease is more obvious when exposed to E_2 at the concentration of 100 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$. The level of luteinizing hormone receptor (*lhr*) is significantly higher at concentrations of 10 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ E_2 and 1 000 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ NP exposure. In addition, exposure to exogenous E_2 and NP increased the level of E_2 in the plasma and decreased the level of estrogen receptor beta (*er β 1*), however, the impact on estrogen receptor alpha (*er α*) was limited. Furthermore, vitellogenin (VTG) is significantly affected by E_2 and NP, the expression of which initially increased and then decreased with the increase of E_2 and NP concentration. In summary, this study reveals that exogenous E_2 and NP interfere with the reproductive endocrine system of *R. giurinus* by affecting key hormones and receptors of the HPG axis. These findings highlight the potential risks of environmental estrogens to the reproductive health of aquatic organisms and provide scientific basis for the monitoring and management of estrogen pollution in aquatic environments.

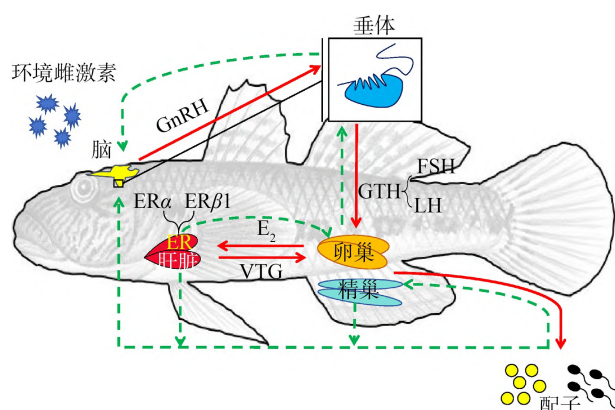
Keywords: 17 β -estradiol; nonylphenol; *Rhinogobius giurinus*; hypothalamic-pituitary-gonadal axis

0 引言

内分泌干扰物(endocrine disrupting chemicals, EDCs)对生物体可能造成的影响越来越受到重视。环境雌激素(environmental estrogen, EEs), 作为一类具有雌激素活性的 EDCs, 能够干扰生物体内分泌系统的平衡。EEs 的来源包括人类和动物体内自然产生的雌激素, 如雌酮(estrone, E_1)、17 β -雌二醇(17 β -estradiol, E_2)、雌三醇(estriol, E_3), 以及人工合成的雌激素, 例如乙炔雌二醇(17 α -ethynyl estradiol, EE_2)、烷基酚类化合物, 如 4-对壬基酚(4-nonylphenol, 4-NP)、4-*t*-辛基酚(4-*tert*-octylphenol, 4-*t*-OP)和双酚 A (bisphenol A, BPA)^[1-2]。其中, E_2 主要通过和雌激素受体(estrogen receptor, ER)结合产生雌激素效应。 E_2 与 ER 结合后, ER 作为转录因子与基因组中的雌激素反应元件(estrogen response element, ERE)结合, 调控基因的转录^[3]。NP 的作用机制较为复杂, 其化学结构与 E_2 相似, 可以竞争性抑制 E_2 与 ER 的结合。NP 与 ER 结合后, 形成配体-受体复合物, 调控基因转录, 启动一系列雌激素依赖的生理生化过程^[4]。雄性斑马鱼暴露在 E_2 或 BPA 中导致雄性性腺雌性化, 并且将脂质代谢转变为雌性模式积聚更多脂质^[5]。4-NP 对非洲鲶鱼(*Clarias gariepinus*)产生毒性影响, 包括引起细胞凋亡和 DNA 损伤^[6]。黑头鲷鱼(*Pimephales promelas*)暴露在高浓度二甲双胍中导致雄性双性性腺的发育, 即雄性生殖组织显示出雌性化^[7]。 E_2 在斑鳢早期性别分化中促进雌性性腺的发育, 抑制雄性性腺的发育, 从而实现性逆转^[8]。雄性斑马鱼暴露于 EEs 混合物能显著降低了性腺体细胞指数和精子数量^[9]。研究显示, EEs 在水体

中的分布及其风险评估表明, 这些化合物有可能在生物体内通过食物链积累和放大, 引起生殖毒性效应影响鱼类生殖发育能力, 最终对种群结构和水生生态系统稳定性构成潜在威胁^[10-13]。

下丘脑-垂体-性腺轴(hypothalamic-pituitary-gonadal axis, HPG 轴)是鱼类生殖内分泌系统的主要通路, EEs 通常通过正反馈或负反馈机制, 直接或间接影响 HPG 轴, 从而对水生生物产生作用(图 1)^[14-15]。下丘脑负责合成促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRH)激发垂体腺, 促使其合成并分泌促性腺激素(gonadotropin, GtH), 其中包括促卵泡激素(follicle-stimulating hormone, FSH)和黄体生成激素(luteinizing hormone, LH)。雌激素能够促进这些激素合成, 随后这些激素进入血液循环系统激活卵泡刺激素受体(follicle-stimulating hormone receptor, FSHR)和黄体生成素受体(luteinizing hormone receptor, LHR), 从而对性腺的功能进行调节^[16-18]。而雌激素受体 α (ER α) 和雌激素受体 β (ER β) 识别 ERE 调控基因表达^[19], 其中 E_2 作为主要雌激素与 ER 结合激活卵黄蛋白原基因转录, 促进肝脏中卵黄蛋白原(vitellogenin, VTG)的合成和分泌^[3,20-21]。研究表明, EEs 暴露诱导斑马鱼、青鳉、杂色鳉双亲的后代中肝脏 VTG 含量及雌性性腺指数都发生改变, 亲代暴露剂量与子代体内负荷量之间存在显著的正相关关系^[22]。成年斑马鱼暴露于双酚 S (bisphenol S, BPS) 时, 显著降低了雌性的 *vtg* mRNA 的表达, 而雄性 *vtg* mRNA 的丰度显著升高^[23]。 E_2 能够在体内和体外环境中促进草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)垂体细胞中 *lh β* mRNA 的



注:红色实线表示正反馈调控路径,绿色虚线表示负反馈调控路径;参与调控的主要生物学标志物分别为促性腺激素释放激素(GnRH)、促性腺激素(GTH)、促卵泡激素(FSH)、促黄体激素(LH)、 17β -雌二醇(E_2)、卵黄蛋白原(VTG)及雌激素受体(ER)、雌激素受体 α (ER α)和雌激素受体 β (ER β)。

Note: The red solid line represents the positive feedback control pathway, while the green dashed line denotes the negative feedback control pathway; key biological markers involved in this regulatory process include gonadotropin-releasing hormone (GnRH), gonadotropin (GTH), follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), 17β -estradiol (E_2), vitellinogen (VTG), estrogen receptor (ER), estrogen receptor alpha ($ER\alpha$), and estrogen receptor beta 1 ($ER\beta 1$).

图1 子陵吻虾虎鱼神经内分泌调控系统 (HPG 轴) 模式图
Fig. 1 The following pattern diagram illustrates the neuroendocrine regulatory system (HPG axis) in *Rhinogobius giurinus*

表达及其分泌^[24]。此外类似的效应也在斑马鱼中被观察到, E_2 与 $ER\beta$ 结合, 青春期前的斑马鱼垂体水平上促进 LH 的分泌和合成^[25-26]。这表明 E_2 对垂体现激素的影响在不同鱼类中具有相似性。雄性斑马鱼暴露于 EE_2 和混合环境雌激素后, 肝脏中卵黄蛋白原 1 和雌激素受体 1 的 mRNA 水平升高, 血浆中 E_2 水平下降, 11-KT/ E_2 比值显著升高, 同时精巢中精子数量减少, 增殖的生殖细胞数量增加, 细胞凋亡增强, 相关基因表达上调^[27]; 4-壬基酚暴露导致雄性非洲鲶鱼 17 β -雌二醇、黄体生成激素和皮质醇显著增加, 而甲状腺激素、睾酮和促卵泡激素水平显著下降^[28]; 研究表明, 环境浓度的 2,4-二氯苯酚暴露使成年雌性斑马鱼的卵黄发生前期卵泡比例增加, 完全发育期卵泡比例降低, 累计产卵量显著降低, 同时 VTG 水平及 HPG 轴相关基因和 *csr2a* 的转录水平平均下调^[29]。由此可见, EEs 对鱼类 HPG 轴的不同靶组织产生影响, 进而对鱼类的早期性腺发育产生不利影响。

鱼类因有较好的耐受性、广布性,并且对污染物有明显的生物毒性效应,可以用作水环境污染的生物指示剂。虾虎鱼在海水、湖泊、溪流中均有分布,繁殖能力强,对环境温度、盐度具有较强适应性。有研究表明,纹缟虾虎鱼对铜、镉、氨氮污染物的累积概率高于大部分海洋生物,特别是在已收集到毒性数据背景的 8~12 种海洋鱼类中,纹缟虾虎鱼对 3 种污染物的耐受性均较高^[30]。虾虎鱼对环境的耐受性是其具备作为环境生物指示物种的重要前提条件。有研究表明,不同发育阶段的诸氏鲷虾虎鱼对水污染物的敏感性有所不同,早期仔鱼在水污染物急性毒性评价方面具有显著的优势^[31]。已有学者用海水虾虎鱼(黄鳍刺虾虎鱼 *Acanthogobius flavimanus*)监测日本沿海的环境雌激素污染^[32]。子陵吻虾虎鱼(*Rhinogobius giurinus*)是常见的淡水广布鱼类,从河口流域至山区溪流均有分布^[30]。虾虎鱼对多种环境污染物具有敏感反应,虾虎鱼对多种环境污染物具有敏感反应,氨氮暴露会引起纹缟虾虎鱼肝组织结构退化和细胞畸变^[30];矛尾复虾虎鱼暴露于过量的铜和镉时,会出现呼吸频率降低、身体表面出现斑点和损伤痕迹现象^[33];这些优质的环境适应能力再次凸显了虾虎鱼在环境监测中的潜在应用价值^[30,34-35]。然而,虾虎鱼类对淡水环境 EEs 影响的抵抗机制和自我调节能力尚不清楚。本研究将以淡水虾虎鱼的典型代表-子陵吻虾虎鱼为目标生物,通过天然雌激素 E₂ 和人工合成雌激素 NP 的暴露实验,旨在解析环境雌激素(EEs)对子陵吻虾虎鱼的下丘脑-垂体-性腺轴(HPG 轴)调控的影响及其响应差异。本研究希望通过评估 EEs 对子陵吻虾虎鱼 HPG 轴的影响,为构建淡水水域鱼类生物指示标准提供科学依据,进而为淡水环境的保护和管理提供支持。

1 材料与方法

1.1 化学物质

本研究采用 2 种不同的 EEs, 17 β -雌二醇(E₂)和壬基酚(NP)为化学纯, 分别购自美国 Sigma-Aldrich 公司和日本 Kanto 化学公司。

1.2 实验设计

10 月在洁净水域捕获未成熟的子陵吻鰕虎鱼,驯化 1 周后进行 EEs 处理。将鱼随机分组,分别给予对照组和 EEs 处理 1 周,每个处理共 7 尾鱼,随机分为 2 组。EEs 暴露标称剂量为:1、10、100 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ E_2 溶解于 DMSO(化学纯,北京索莱宝科技有限公司)或 10、100、1 000 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ NP 溶解于丙酮(化学纯,

北京索莱宝科技有限公司),溶出度均为 0.001% (V:V)。实验温度为(22±0.7)℃,12 h L:12 h D 光周期下进行,每个处理的处理水每天更换。

1.3 肝脏中 *crα* 和 *ctβ1* 的表达情况

采用 qRT-PCR 分析基因表达,*crα* 和 *ctβ1* 扩增所用引物设计如表 1 所示。使用 384 孔微孔板,在 1 孔中加入 10 μL 反应混合物,包括 250 ng RNA 样品,并按照制造商的说明使用 FasteStart Essential DNA Green Master 试剂盒(Roche Diagnostics, USA)进行分析。

qRT-PCR 反应体系在 95℃条件下反应 5 min,95℃条件下反应 10 s,60℃条件下反应 15 s,72℃条件下反应 15 s,共 55 个循环,40℃条件下反应 10 s 终止。基因表达量计算公式为:*crα* mRNA 表达量=*crα* mRNA×10³ copies/1 μg 总 RNA。

1.4 血浆性类固醇和 VTG 测定

所有使用血液抗凝剂(肝素钠,1 000 IU·mL⁻¹)的鱼采集尾端血管血样,4℃下 1 800×g 离心 15 min。血浆样品在血浆 E₂ 和 VTG 检测前储存在-80℃。

血浆 E₂ 用 Estradiol EIA Kit(Cayman Chemical, USA)提取,用酶标仪(Bio-RAD,美国伯腾仪器有限公司)在 405 nm 吸光度下测定显色反应。在 Estradiol EIA Kit 中,其他模拟化合物的交叉反应性为:雌酮 14%,雌三醇 0.30%,乙炔雌二醇 0.03%,雄烯二醇 0.02%,皮质醇、黄体酮、17α-羟基黄体酮和睾酮小于 0.01%。

VTG 浓度采用酶联免疫吸附测定测定,使用针对子陵吻鲷虎鱼 VTG 的抗体。显色反应用酶标仪(Bio-RAD)在 450 nm 吸光度下测定。

1.5 垂体 *lh* 和性腺 *lhr* 的转录

lh 和 *lhr* 扩增所用引物设计如表 1 所示。qRT-PCR 反应系统采用与 *crα* 和 *ctβ1* mRNA 表达相同的方法。

1.6 统计学分析

采用 SPSS Statistics 27 进行统计学分析,*P*<0.05 为显著性水平。*crα*、*ctβ1*、*lh*、*lhr* 的转录在每个 E₂ 或 NP 处理中与对照组使用独立样本 *t* 检验进行比较。

2 结果

2.1 E₂ 和 NP 对垂体 *lh* 转录的影响

E₂ 暴露时对照组 *lh* 基因平均表达量为 2.20×10⁸ copies·μg⁻¹(以 RNA 计)。不同浓度(分别为 1、

10、100 ng·L⁻¹)处理时 *lh* 的表达量均有下降,范围在 1.31×10⁸~1.61×10⁸ copies·μg⁻¹(以 RNA 计),见图 2(a)。其中在 100 ng·L⁻¹ 的处理下,出现了显著的下降(*P*<0.05)。

NP 暴露时,*lh* mRNA 表达量也有下降的趋势,但无统计学的差异(*P*>0.05),见图 2(b)。在 10~1 000 ng·L⁻¹处理中,*lh* mRNA 表达量的范围为 1.20×10⁸~1.66×10⁸ copies·μg⁻¹(以 RNA 计)。

2.2 E₂ 和 NP 对性腺 *lhr* 转录的影响

E₂ 暴露下对照组 *lhr* 平均表达量为 6.41×10⁷ copies·μg⁻¹(以 RNA 计)。不同浓度处理时 *lhr* 的平均表达量为 3.80×10⁷~14.70×10⁷ copies·μg⁻¹(以 RNA 计),见图 3(a)。其中在 10 ng·L⁻¹ E₂ 处理下,出现了显著的上升(*P*<0.05)。

相反,*lhr* 表达在 NP 暴露中增加,在 10~1 000 ng·L⁻¹处理中平均表达量为 1.10×10⁸~1.42×10⁸ copies·μg⁻¹(以 RNA 计),见图 3(b)。其中 1 000 ng·L⁻¹ NP 处理组显著上升(*P*<0.01)。

2.3 E₂ 和 NP 对肝脏 *crα* 和 *ctβ1* 转录的影响

实验表明,E₂ 暴露下,所有子陵吻鲷虎鱼肝脏样本的 *crα* mRNA 转录量均未发生显著变化(*P*>0.05)。其中对照组 *crα* 基因平均表达量为 18.90×10¹⁰ copies·μg⁻¹(以 RNA 计)。在不同浓度(分别为 1、10、100 ng·L⁻¹)处理下,平均表达量为 7.68×10¹⁰~22.04×10¹⁰ copies·μg⁻¹(以 RNA 计),见图 4(a)。

NP 暴露时,对照组 *crα* 基因平均表达量为 20.06×10¹⁰ copies·μg⁻¹(以 RNA 计)。不同浓度(分别为 10、100、1 000 ng·L⁻¹)处理的平均表达量为 13.42×10¹⁰~54.24×10¹⁰ copies·μg⁻¹(以 RNA 计)。其

表 1 扩增引物序列
Table 1 Amplified primer sequences

Gene	Oligo name	Primer sequence (5'→3')
RG- <i>crα</i>	RT-F	ATGTSTCYTGABCASGTGC
	RT-R	TGCCCTCTGTGTACGGTC
RG- <i>ctβ1</i>	RT-F	TGCWSGCYGGASGTG
	RT-R	ACNGBTCGSGBGASAA
	RT-F	AGSSCTGGRCTYARACTCTT
RG- <i>vtg</i>	RT-R	ATCWGAGSGTTBCYWGCTG
	RT-F	GTSACASCTYACTGCYWCAG
RG- <i>lh</i>	RT-R	TAGRCSAAGSAYCYCGTGAG
	RT-F	GAATAWGYGDCNCAWGAYGC
RG- <i>lhr</i>	RT-R	CASADTTWCGAWGSCSATGA

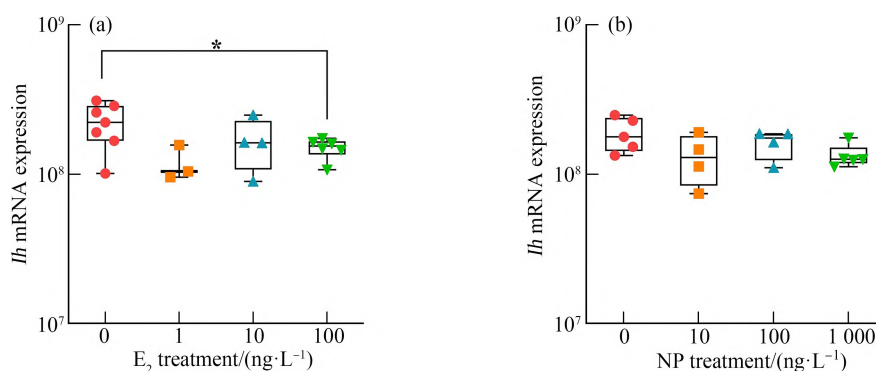


图2 不同浓度的 E_2 (a) 或 NP (b) 对子陵吻鰕虎鱼 *lh* 转录水平的影响

Fig. 2 Effect of different concentrations of E_2 (a) or NP (b) on the transcription level of *lh* in *Rhinogobius giurinus*

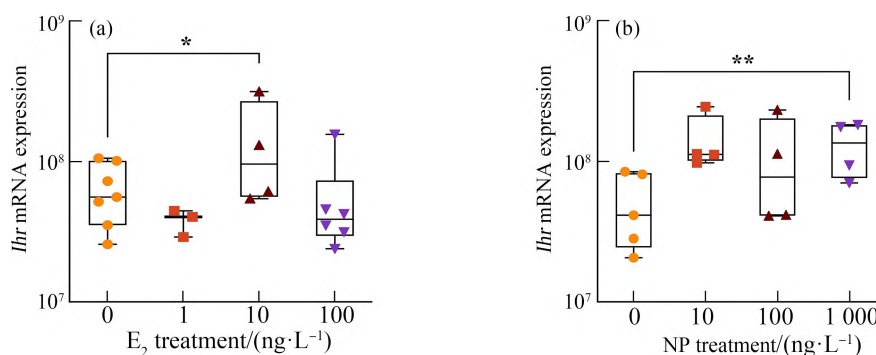


图3 不同浓度的 E_2 (a) 或 NP (b) 对子陵吻鰕虎鱼性腺 *lh* 转录水平的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of E_2 (a) or NP (b) on gonad *lh* transcription levels in *Rhinogobius giurinus*

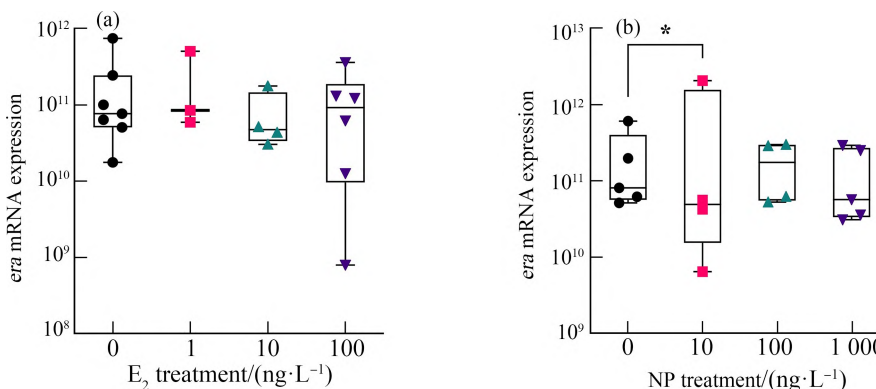


图4 不同浓度的 E_2 (a) 或 NP (b) 对子陵吻鰕虎鱼 *era* 转录水平的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of E_2 (a) or NP (b) on *era* transcription levels in *Rhinogobius giurinus*

中与对照组相比,10 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ NP 暴露时 *era* 基因表达量显著升高($P < 0.05$),见图4(b)。

E_2 暴露时对照组 *erβ1* 平均表达量为 3.25×10^8 copies· μg^{-1} (以 RNA 计)。与对照组相比,不同浓度(分别为1、10、100 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)处理下,表达量显著降低,见图5(a),其表达量分别为 1.22×10^7 copies· μg^{-1} (以 RNA 计)($P < 0.05$)、 1.20×10^7 copies· μg^{-1} (以 RNA 计)

($P < 0.01$)、 1.34×10^7 copies· μg^{-1} (以 RNA 计)($P < 0.01$)。

NP 暴露时对照组 *erβ1* 平均表达量为 3.58×10^8 copies· μg^{-1} (以 RNA 计)。与对照组相比,不同浓度(分别为10、100、1 000 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)处理下,表达量也显著降低,见图5(b),其表达量分别为 8.54×10^6 copies· μg^{-1} (以 RNA 计)($P < 0.001$)、 1.47×10^7 copies· μg^{-1} (以 RNA 计)($P < 0.001$)、 1.35×10^7 copies· μg^{-1} (以 RNA 计)

计)($P<0.001$)。

2.4 E₂ 和 NP 对血浆卵黄蛋白原(VTG)水平的影响

子陵吻鲈虎鱼暴露在 E₂ 中,我们发现对照组血浆 VTG 平均值为 $0.19\times10^3\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。用不同浓度 E₂ (分别为 1、10、100 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)处理,血浆 VTG 显著升高,见图 6(a),其平均值分别为 $788.16\times10^3\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P<0.01$)、 $2\,672.07\times10^3\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P<0.001$)、 $675.06\times10^3\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P<0.01$)。数据显示,随着 E₂ 处理组间的浓度上升,VTG 浓度呈现先上升后下降的趋势。

暴露在 NP 中对照组血浆 VTG 的平均值为 $0.15\times10^3\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。用不同浓度 NP(分别为 10、100、1 000 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)处理,血浆 VTG 也显著升高,见图 6(b),其平均值分别为 $1\,768.31\times10^3\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P<0.001$)、 $3\,878.00\times10^3\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P<0.001$)、 $973.58\times10^3\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ ($P<0.001$)。数据显示,随着 NP 处理组间的浓度上升,VTG 浓度也呈现先上升后下降的趋势。

2.5 E₂ 和 NP 对血浆 17 β -雌二醇水平的影响

在实验中,子陵吻鲈虎鱼被置于 E₂ 中暴露 7 d。

研究结果显示,在未受 E₂ 影响的对照组中,血浆 17 β -雌二醇的均值为 $740.36\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。相比之下,当子陵吻鲈虎鱼暴露于不同浓度(分别为 1、10、100 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)的 E₂ 后,其血浆 17 β -雌二醇浓度均值分别达到了 927.61、910.51、1 066.81 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$,见图 7(a)。尽管不同浓度的 E₂ 处理在统计学上没有显著差异($P>0.05$)。

同样将子陵吻鲈虎鱼置于 NP 中暴露 7 d。发现对照组中血浆 17 β -雌二醇均值为 $601.36\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 。不同浓度(分别为 10、100、1 000 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)的 NP 处理其血浆 17 β -雌二醇的均值分别为 471.97、669.15、571.15 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$,见图 7(b)。不同浓度处理并无统计学差异($P>0.05$),如图 7 所示,随着 E₂ 浓度的增加,血浆中 17 β -雌二醇水平呈现上升趋势。

3 讨论

本研究探讨了 NP 和 E₂ 对子陵吻鲈虎鱼的短期影响。研究发现,这 2 种物质能够干扰与 HPG 轴相关的生理和生化指标以及相关基因的表达,尤

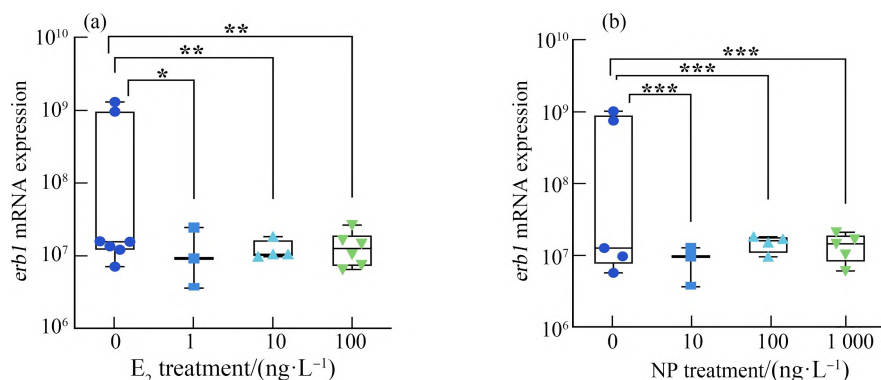


图5 不同浓度的 E₂ (a) 或 NP (b) 对子陵吻鲈虎鱼 *erb1* 转录水平的影响

Fig. 5 Effect of different concentrations of E₂ (a) or NP (b) on *erb1* transcription levels in *Rhinogobius giurinus*

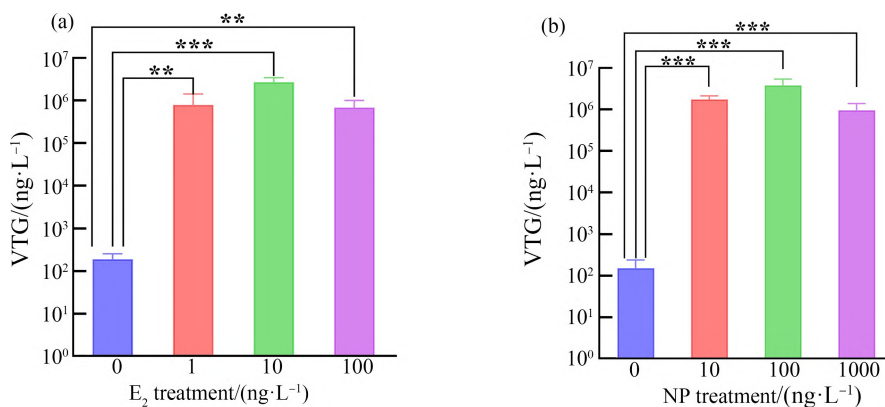


图6 不同浓度的 E₂ (a) 或 NP (b) 对子陵吻鲈虎鱼卵黄蛋白原浓度的影响

Fig. 6 Effect of different concentrations of E₂ (a) or NP (b) on the concentration of vitellogenin in *Rhinogobius giurinus*

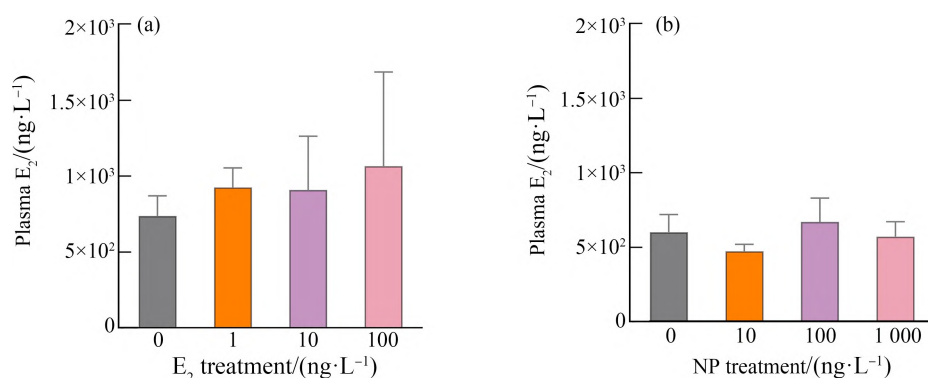


图7 不同浓度的 E₂(a) 或 NP(b) 对子陵吻虾虎鱼血浆 17β-雌二醇浓度的影响

Fig. 7 Effect of different concentrations of E₂ (a) or NP (b) on plasma 17β-estradiol concentration in *Rhinogobius giurinus*

其是与雌激素反应相关的基因表达水平受到了显著影响。

EEs 能够通过多种机制影响生物体内的激素平衡。研究表明,环境中的高浓度 EEs 能导致 E₂ 在生物体内积累。在幼年虹鳟中,0.473 μg·L⁻¹ E₂ 处理组与对照组相比,其体内的 E₂ 含量显著增加,相较于水体环境中的 E₂ 水平则高出 23 倍和 16 倍^[36]。此外,已有文献报道,在多种硬骨鱼中,EEs 在鱼体组织中的积累可能导致 EEs 浓度逐营养级升高的生物放大效应^[37-39]。在研究不同浓度壬基酚聚氧乙烯醚对斑马鱼雄性成鱼 HPG 轴的影响时,发现能诱导斑马鱼 *cyp19a* 基因的表达,促进了内源雌激素的合成^[40]。这表明 EEs 不仅可以直接影响生物体内的激素水平,还可以通过调节相关基因的表达直接影响激素合成。在本研究中,尽管实验组水中 E₂ 浓度增加时,子陵吻虾虎鱼血浆中的 E₂ 水平在统计学上没有显著差异,但图 7 中显示其呈现上升趋势, NP 处理组也表现出类似现象。因为其自身的脂溶性和较小的分子结构,EEs 可能通过渗透作用进入鱼体,在 HPG 轴中通过刺激下丘脑释放 GnRH,从而调节垂体释放 GnH 刺激性腺合成 E₂,导致血浆中的 E₂ 水平上升。这表明水体中 EEs 浓度的增加可能通过调节 HPG 轴,促进子陵吻虾虎鱼体内 E₂ 的积累。

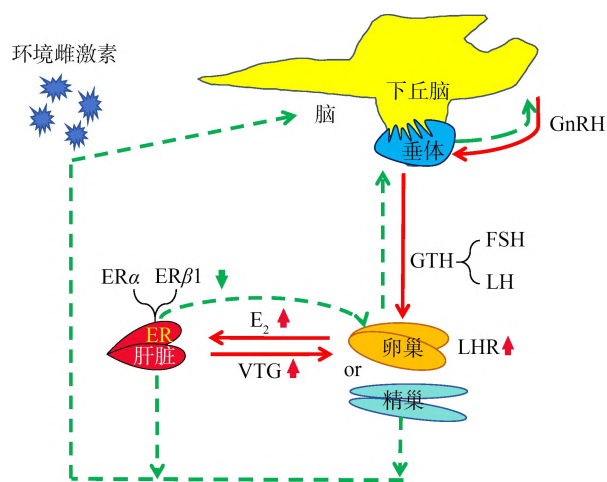
尽管 NP 和 E₂ 对性腺系统的影响已有大量研究,但是不同鱼类对 EE₂ 的敏感度和响应机制存在显著差异。ER 在多个器官中都有分布,包括生殖组织(卵巢、子宫)、肝脏、下丘脑等^[41]。有研究表明 EE₂ 暴露显著诱导了日本青鳉肝脏中 *erα* 基因的表达,并且这种诱导作用呈现出剂量依赖性^[42];17β-雌二醇显著诱导了虹鳟肝脏中 *erα* 基因的表达水平显著

上升^[43];环境剂量水平的 EE₂ 显著诱导了雄性虾虎鱼肝脏中 *erα* 和 *erβ* 基因表达显著上升^[44]。相比之下,本研究发现,在 E₂ 处理组中,随着 E₂ 浓度增加,*erβ1* 的表达量则呈现下调趋势,这可能与负反馈机制有关。当 E₂ 浓度较高时,它会与 *erβ* 结合并激活其功能,然而,这种激活可能触发细胞内的负反馈机制,以防止雌激素信号传导过度增强。负反馈机制可能通过抑制 *erβ* 基因的转录或增加 *erβ* mRNA 的降解来降低 *erβ* 的表达水平^[45]。在斑马鱼中 EE₂ 暴露主要诱导 *erα* 基因的表达,相比之下海水青鳉暴露在 EE₂ 中对 *erα* 与 *erβ* 基因的表达影响更为复杂,低剂量 EE₂ 可能诱导 *erβ* 基因的表达,而高剂量则抑制其表达^[46]。在本研究的 NP 处理组中,*erα* 的表达有上调趋势,而 *erβ1* 的表达显著下调,这与 E₂ 处理组的结果存在差异,这表明环境雌激素可能通过不同的机制影响不同 ER 亚型的转录水平。由于环境雌激素对鱼类中 ER 的 2 种亚型具有不同的结合力。在部分雌激素(如植物雌激素、双酚 A 等)影响下,雌激素对 ERβ 的结合力高于 ERα^[47-49],因此,当环境雌激素通过渗透作用进入生物体时,它们会优先与 ERβ 结合,导致 *erβ* 的转录水平发生变化。这也解释了为什么在雌激素暴露时,*erβ* 的表达量变化更为显著。这些都说明,不同鱼类对环境雌激素的敏感度不同,不同雌激素受体基因对环境雌激素的响应也不尽相同。

肝脏中的 ER 在结合 E₂ 后,会介导 VTG 的合成。VTG 是评估鱼类在接触外源性 EDCs 后,通过 ERs 信号通路产生内分泌干扰效应的关键生物标志物^[50-51]。研究表明,天然雌激素和人工合成激素能够显著诱导斑马鱼胚胎中 *vtg* 基因的表达。如双酚 A 和己烯雌酚暴露斑马鱼 *vtg* 表现出明显的剂量-

效应关系^[52];EE₂暴露下日本青鲈显著诱导肝脏 *vtg1* 基因表达^[46];17 β -雌二醇可以诱导雄性唐鱼 (*Tanichthys albonubes*)产生 VTG,并对其生长和性腺发育产生负面影响^[53]。在本研究中,子陵吻鲷虎鱼暴露于不同浓度的 NP 和 E₂ 时,其血浆 VTG 水平显著升高,进一步证实了外源性 EEs 能够诱导 VTG 的合成。这一结果与斑马鱼的研究结果相似,表明不同鱼类对环境雌激素的响应具有一定的共性。然而,子陵吻鲷虎鱼对 E₂ 和 NP 的敏感性表现在其生殖系统对环境雌激素的响应上,这可能与斑马鱼存在差异。例如,斑马鱼中 E₂ 和 NP 的联合暴露对肝脏中 *vtg* 基因表达的影响表现为协同或相加效应^[54],而子陵吻鲷虎鱼中 *vtg* 的诱导可能更多地依赖于单一激素的浓度和暴露时间。

环境雌激素可以影响生物体内相关基因的表达水平。研究发现,例如 BPA 这样的环境雌激素可以抑制类固醇激素合成急性调节蛋白 (steroidogenic acute regulatory protein, STAR)、3 β -类固醇脱氢酶 (3 β -hydroxysteroid dehydrogenase, HSD3B1) 和 CYP17A1 的基因转录。导致孕激素(P)水平或卵巢芳香化酶表达量降低^[55-56]。有研究证明,己烯雌酚和氟他胺使斑马鱼 HPG 轴中关键基因(如脑中的 *gnrh3*、*fshb* 和 *lhb* 以及性腺中的 *dmrt1*、*sfl*、*cyp17a1* 和 *cyp11b2*)的 mRNA 水平受到抑制^[57]。这些都说明环境雌激素可能通过直接或间接作用于 HPG 轴,干扰性腺和配子的功能,从而影响生育能力。*lh* 和 *lhr* 是 HPG 轴中的关键基因,*lh* 通过与 *lhr* 结合可以促进性腺生成性腺类固醇激素,调节性腺功能,促进性腺发育。研究表明,雌激素在 HPG 轴的具有正反馈和负反馈调控的作用^[58-59],E₂ 可以抑制 GnRH 神经元中的 GnRH 表达^[60],下丘脑 GnRH 的抑制导致垂体无法接收 GnRH,无法表达 *lh*。在本研究中,E₂ 和 NP 实验组的子陵吻鲷虎鱼随着 E₂ 和 NP 浓度的升高,其 *lh* 基因的转录水平并未显著变化,这表明外源性 EEs 可能抑制下丘脑释放 GnRH,间接抑制了垂体中 *lh* 基因的转录。E₂ 和 NP 处理组中的 *lhr* 水平也相应发生变化,其中随着 E₂ 处理浓度上升,*lhr* 的转录水平呈现先下降再升高的趋势,说明低剂量的 E₂ 会抑制 *lhr* 的转录,而高浓度的 E₂ 会促进 *lhr* 的转录。在 NP 处理组中 *lhr* 转录水平整体呈现升高的趋势,这一点与 E₂ 处理组结果有所差异,这说明了即使是同一物种的同一种基因对不同的环境雌激素响应也不尽相同。



注:红色实线表示正反馈调控路径,绿色虚线表示负反馈调控路径;LHR 表示促黄体生成激素受体。

Note: The red solid line represents the positive feedback control pathway, while the green dashed line denotes the negative feedback control pathway; LHR stands for luteinizing hormone receptor.

图8 子陵吻鲷虎鱼暴露对环境雌激素中对腺体和肝脏产生的直接影响

Fig. 8 The direct effects of exposure to environmental estrogens on the glands and liver of the *Rhinogobius giurinus*

4 结论

水体中 EEs 浓度的增加能够通过调控 HPG 轴来诱导子陵吻鲷虎鱼体内 E₂ 的累积(图8)。在 HPG 轴中,EEs 可以与子陵吻鲷虎鱼的肝脏雌激素受体结合,直接对雌激素受体的基因表达水平产生影响,但同一种鱼类的不同雌激素受体基因表达水平对环境雌激素的响应不尽相同。与子陵吻鲷虎鱼的肝脏雌激素受体结合的 EEs 可以诱导肝脏合成 VTG,使血浆中的 VTG 水平上升。EEs 可以通过在 HPG 轴的上游抑制下丘脑释放 GnRH 来抑制子陵吻鲷虎鱼垂体的 *lh* 转录水平,但不同的 EEs 对 *lhr* 转录水平的影响不同。这些发现强调了环境雌激素对水生生物生殖健康的潜在风险,并为未来水环境雌激素污染的监测和管理提供了重要的科学依据。

通信作者简介:宋婧(1989—),女,博士,副教授,主要研究方向为生态毒理学。

5 参考文献

- [1] 张盈盈,李英文,刘智皓.环境雌激素联合处理对雄性斑马鱼繁殖行为的影响[J].重庆师范大学学报(自然科学版),2024,41(1):20-25.

ZHANG Y Y, LI Y W, LIU Z H. Effects of combined en-

- vironmental estrogen treatment on male reproductive behavior of zebrafish[J]. Journal of Chongqing Normal University (natural science), 2024, 41(1): 20-25.
- [2] KEIDING N, ALI M M, ERIKSSON F, et al. The use of time to pregnancy for estimating and monitoring human fecundity from demographic and health surveys[J]. Epidemiology, 2021, 32(1): 27-35.
- [3] KOVÁCS T, SZABÓ-MELEG E, ÁBRAHÁM I M. Estradiol-induced epigenetically mediated mechanisms and regulation of gene expression[J]. International journal of molecular sciences, 2020, 21(9): 3177.
- [4] 俞捷, 吴芹, 张镖, 等. 壬基酚对机体的毒性影响及其机制[J]. 环境卫生学杂志, 2013, 3(3): 268-272.
YU J, WU Q, ZHANG B, et al. Toxic effects of nonylphenol on the organisms and its mechanism[J]. Journal of environmental hygiene, 2013, 3(3): 268-272.
- [5] SUN S X, WU J L, LYU H B, et al. Environmental estrogen exposure converts lipid metabolism in male fish to a female pattern mediated by AMPK and mTOR signaling pathways[J]. Journal of hazardous materials, 2020, 394: 122537.
- [6] QIU Z M, WANG Y, CHEN J. Perinatal exposure to nonylphenol induces microglia-mediated nitric oxide and prostaglandin E2 production in offspring hippocampus[J]. Toxicology letters, 2019, 301: 114-124.
- [7] NIEMUTH N J, KLAPER R D. Emerging wastewater contaminant metformin causes intersex and reduced fecundity in fish[J]. Chemosphere, 2015, 135: 38-45.
- [8] 杨慧荣, 张淑瓶, 曾芳, 等. 性别特异分子标记在斑鳢全雄育种上的应用[J]. 中山大学学报(自然科学版中英文), 2025, 64(1): 125-132.
YANG H R, ZHANG S P, ZENG F, et al. Application of sex-specific molecular markers for all-male breeding in *Channa maculata*[J]. Acta scientiarum naturalium Universitatis Sunyatseni, 2025, 64(1): 125-132.
- [9] TAN M L, SHEN Y J, CHEN Q L, et al. Environmentally relevant estrogens impaired spermatogenesis and sexual behaviors in male and female zebrafish[J]. Aquatic toxicology, 2024, 273: 107008.
- [10] NURULNADIA M Y, KOYAMA J, UNO S, et al. Biomagnification of endocrine disrupting chemicals (EDCs) by *Pleuronectes yokohamae*: Does *P. yokohamae* accumulate dietary EDCs? [J]. Chemosphere, 2016, 144: 185-192.
- [11] ZHANG W, SHAN B. Spatial distribution and risk assessment of endocrine disrupting chemicals in the typical station of Pearl River [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2018, 38: 115-124.
- [12] ISMANTO A, HADIBARATA T, KRISTANTI R A, et al. Endocrine disrupting chemicals (EDCs) in environmental matrices: occurrence, fate, health impact, physio-chemical and bioremediation technology [J]. Environmental pollution, 2022, 302: 119061.
- [13] XIAO Y, HAN D M, CURRELL M, et al. Review of endocrine disrupting compounds (EDCs) in China's water environments: implications for environmental fate, transport and health risks [J]. Water research, 2023, 245: 120645.
- [14] ACEVEDO-RODRIGUEZ A, KAUFFMAN A S, CHERINGTON B D, et al. Emerging insights into hypothalamic-pituitary-gonadal axis regulation and interaction with stress signalling [J]. Journal of neuroendocrinology, 2018, 30(10): e12590.
- [15] GIBERT Y, CHUNG B C. Fish as a model for endocrine systems[J]. Molecular and cellular endocrinology, 2021, 531: 111316.
- [16] WANG H Q, ZHANG W D, YUAN B, et al. Advances in the regulation of mammalian follicle-stimulating hormone secretion[J]. Animals, 2021, 11(4): 1134.
- [17] DUAN J, XU P Y, ZHANG H B, et al. Mechanism of hormone and allosteric agonist mediated activation of follicle stimulating hormone receptor[J]. Nature communications, 2023, 14(1): 519.
- [18] 黄春艳, 陈华谱, 郭煜文, 等. 卵形鲳鲹促性腺激素 β 亚基的克隆鉴定及其受雌二醇的调控[J]. 中山大学学报(自然科学版中英文), 2025, 64(1): 172-181.
HUANG C Y, CHEN H P, GUO Y W, et al. Cloning and characterization of gonadotropin β subunit genes in pompano (*Trachinotus ovatus*) and their regulation by estradiol[J]. Acta scientiarum naturalium Universitatis Sunyatseni, 2025, 64(1): 172-181.
- [19] PROSSNITZ E R, BARTON M. The G protein-coupled oestrogen receptor GPER in health and disease: an update [J]. Nature reviews endocrinology, 2023, 19(7): 407-424.
- [20] HIRAMATSU N, TODO T, SULLIVAN C V, et al. Ovarian yolk formation in fishes: molecular mechanisms underlying formation of lipid droplets and vitellogenin-derived yolk proteins[J]. General and comparative endocrinology, 2015, 221: 9-15.
- [21] 李天慧, 翟刚, 贺江燕, 等. 雄激素受体缺乏抑制肝脏 Vtg 合成导致卵巢发育障碍[J]. 水生生物学报, 2022, 46(9): 1277-1284.

- LI T H, ZHAI G, HE J Y, et al. Androgen receptor deficiency causes ovarian dysgenesis *via* reducing the hepatic vitellogenin production in zebrafish[J]. *Acta hydrobiologica sinica*, 2022, 46(9): 1277-1284.
- [22] 赵飞, 杨艳羽, 汝少国, 等. 内分泌干扰物对鱼类跨世代毒性效应及机制的研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2022, 17(4): 1-16.
- ZHAO F, YANG Y Y, RU S G, et al. Transgenerational toxicity induced by endocrine disrupting chemicals on fish and underlying mechanisms[J]. *Asian journal of ecotoxicology*, 2022, 17(4): 1-16.
- [23] PARK C B, KIM G E, ON J, et al. Sex-specific effects of bisphenol S with tissue-specific responsiveness in adult zebrafish: the antiandrogenic and antiestrogenic effects[J]. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2022, 229: 113102.
- [24] QIN X F, XIAO Y Q, YE C, et al. Pituitary action of E2 in prepubertal grass carp: receptor specificity and signal transduction for luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone regulation [J]. *Frontiers in endocrinology*, 2018, 9: 308.
- [25] LI G F, TANG H P, CHEN Y, et al. Estrogen directly stimulates LHb expression at the pituitary level during puberty in female zebrafish[J]. *Molecular and cellular endocrinology*, 2018, 461: 1-11.
- [26] LI S Z, LIU W, LI Z, et al. greb1 regulates convergent extension movement and pituitary development in zebrafish[J]. *Gene*, 2017, 627: 176-187.
- [27] WANG Y Q, LI Y W, CHEN Q L, et al. Long-term exposure of xenoestrogens with environmental relevant concentrations disrupted spermatogenesis of zebrafish through altering sex hormone balance, stimulating germ cell proliferation, meiosis and enhancing apoptosis [J]. *Environmental pollution*, 2019, 244: 486-494.
- [28] SAYED A E H, ISMAIL R F K. Endocrine disruption, oxidative stress, and testicular damage induced by 4-nonylphenol in *Clarias gariepinus*: the protective role of *Cydonia oblonga*[J]. *Fish physiology and biochemistry*, 2017, 43(4): 1095-1104.
- [29] 胡艳, 漆永梅, 黄德军. 2,4-二氯酚通过抑制 esr2a 信号导致雌性斑马鱼生殖障碍[C]// 中国毒理学会. 中国毒理学会第十次全国毒理学大会论文集. 珠海: 中国毒理学会, 2023: 2.
- [30] 郝雅, 朱丽岩, 巩文静, 等. 纹缟虾虎鱼对 Cu²⁺、Cd²⁺ 和氨氮的毒性响应和敏感性分析[J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(6): 163-170.
- HAO Y, ZHU L Y, GONG W J, et al. Toxic response and sensitivity of *Tridentiger trigonocephalus* to Cu²⁺, Cd²⁺ and ammonia nitrogen[J]. *Asian journal of ecotoxicology*, 2016, 11(6): 163-170.
- [31] 李建军, 黄韧. 不同发育阶段诸氏鲮虾虎鱼对水污染物的敏感性比较[J]. *实验动物与比较医学*, 2013, 33(5): 354-357.
- LI J J, HUANG R. Comparison of the sensitivity of *Mugilogobius chulae* at different developmental stages to aquatic pollutants[J]. *Laboratory animal and comparative medicine*, 2013, 33(5): 354-357.
- [32] SONG J, NAGAE M, TAKAO Y J, et al. Field survey of environmental estrogen pollution in the coastal area of Tokyo Bay and Nagasaki City using the Japanese common goby *Acanthogobius flavimanus*[J]. *Environmental pollution*, 2020, 258: 113673.
- [33] 刘香江. 重金属铜和镉(Cu 和 Cd)及乙酰甲胺磷对矛尾复虾虎鱼毒性效应的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010: 11-12.
- [34] MALLIK A, MARTIN XAVIER K A, NAIDU B C, et al. Ecotoxicological and physiological risks of microplastics on fish and their possible mitigation measures[J]. *Science of the total environment*, 2021, 779: 146433.
- [35] 凌岚馨, 范共, 胡云, 等. 环境 DNA 技术与传统捕捞揭示崇明岛内河鱼类多样性[J]. *上海海洋大学学报*, 2022, 31(6): 1434-1444.
- LING L X, FAN G, HU Y, et al. Integrating environmental DNA technology and traditional fish survey to reveal the diversity of fishes in the rivers on the Chongming Island[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2022, 31(6): 1434-1444.
- [36] OSACHOFF H L, SHELLEY L K, FURTULA V, et al. Induction and recovery of estrogenic effects after short-term 17 β -estradiol exposure in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 2013, 65(2): 276-285.
- [37] FERREIRA-LEACH A M R, HILL E M. Bioconcentration and distribution of 4-tert-octylphenol residues in tissues of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Marine environmental research*, 2001, 51(1): 75-89.
- [38] HANSON A M, KITTILSON J D, MCCORMICK S D, et al. Effects of 17 β -estradiol, 4-nonylphenol, and β -sitosterol on the growth hormone-insulin-like growth factor system and seawater adaptation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2012, 362: 241-247.
- [39] VOISIN A S, FELLOUS A, EARLEY R L, et al. Delayed

- impacts of developmental exposure to 17- α -ethinylestradiol in the self-fertilizing fish *Kryptolebias marmoratus*[J]. Aquatic toxicology, 2016, 180: 247-257.
- [40] 姜锦林, 刘仁彬, 张宇峰, 等. 壬基酚聚氧乙烯醚对成年雄性斑马鱼 HPG 轴相关基因表达的影响[J]. 中国环境科学, 2018, 38(8): 3135-3142.
- JIANG J L, LIU R B, ZHANG Y F, et al. Effects of non-ylphenol ethoxylate exposure on genes expression along HPG axis of adult male zebrafish[J]. China environmental science, 2018, 38(8): 3135-3142.
- [41] 赵晓民, 徐小明. 雌激素受体及其作用机制[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(12): 154-158.
- ZHAO X M, XU X M. Estrogen receptor and its molecular mechanism[J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, 2004, 32(12): 154-158.
- [42] ZHANG X W, HECKER M, PARK J W, et al. Real-time PCR array to study effects of chemicals on the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal axis of the Japanese medaka[J]. Aquatic toxicology, 2008, 88(3): 173-182.
- [43] OSACHOFF H L, SHELLEY L K, FURTULA V, et al. Induction and recovery of estrogenic effects after short-term 17 β -estradiol exposure in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Archives of environmental contamination and toxicology, 2013, 65(2): 276-285.
- [44] HUMBLE J L, SAARISTO M, LINDSTRÖM K, et al. Effects of 17 α -ethinyl estradiol exposure on estrogen receptors α and β and vitellogenins A, B and C mRNA expression in the liver of sand goby (*Pomatoschistus minutus*)[J]. Marine environmental research, 2014, 96: 12-18.
- [45] 宋明月, 单喜双, 陈细华, 等. 兴国红鲤 ER 基因克隆表达及 EE2 暴露对肝中 ER 表达的影响[J]. 水生生物学报, 2017, 41(1): 26-32.
- SONG M Y, SHAN X S, CHEN X H, et al. Clone and expression of ER genes in Xingguo red carp and their expression in liver upon EE2 exposure in juveniles[J]. Acta hydrobiologica sinica, 2017, 41(1): 26-32.
- [46] 张民, 安哲, 彭会. 海水青鳉雌激素受体基因的克隆、组织表达特性及环境雌激素 EE2 对其表达的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(2): 158-168.
- ZHANG M, AN Z, PENG H. Molecular cloning, tissue distribution and 17 α -ethinylestradio (*EE2*) exposure effect on mRNA expression of three estrogen receptor genes in marine medaka *Oryzias melastigma*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2018, 33(2): 158-168.
- [47] 陈洁, 王蔚, 汝少国. 植物雌激素影响鱼类生殖发育的作用机理研究进展[J]. 海洋科学, 2011, 35(3): 99-107.
- CHEN J, WANG W, RU S G. Advances on mechanism of phytoestrogens influencing reproductive development of fish[J]. Marine sciences, 2011, 35(3): 99-107.
- [48] MCLACHLAN J A. Environmental signaling: what embryos and evolution teach us about endocrine disrupting chemicals[J]. Endocrine reviews, 2001, 22(3): 319-341.
- [49] ABBOTT D A, MANCINI M G, BOLT M J, et al. A novel ER β high throughput microscopy platform for testing endocrine disrupting chemicals[J]. Heliyon, 2024, 10(1): e23119.
- [50] 任志华, 杨晓溪, 孙振东, 等. 环境内分泌干扰物对雌激素受体表达与转录激活的调控效应及分析技术[J]. 化学进展, 2022, 34(10): 2121-2133.
- REN Z H, YANG X X, SUN Z D, et al. Regulation of environmental endocrine disrupting chemicals on the expressions and transactivation of estrogen receptors and the related analytical techniques[J]. Progress in chemistry, 2022, 34(10): 2121-2133.
- [51] YILMAZ O, SULLIVAN C V, BOBE J, et al. The role of multiple vitellogenins in early development of fishes[J]. General and comparative endocrinology, 2024, 351: 114479.
- [52] 陈敏杰. 斑马鱼(*Danio rerio*)胚胎模型评价内分泌干扰物的类雌激素效应[D]. 武汉: 华中农业大学, 2012: 45.
- [53] 温茹淑, 方展强, 陈伟庭. 17 β -雌二醇对雄性唐鱼卵黄蛋白原的诱导及性腺发育的影响[J]. 动物学研究, 2008, 29(1): 43-48.
- WEN R S, FANG Z Q, CHEN W T. Effects of 17 β -estradiol on vitellogenin inducement and gonad development in male *Tanichthys albonubes* [J]. Zoological research, 2008, 29(1): 43-48.
- [54] 范家诚, 崔晓莹, 武亚男, 等. 雌二醇、壬基酚和三丁基锡对斑马鱼雌激素响应基因表达的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2019, 49(11): 66-73.
- FAN J C, CUI X Y, WU Y N, et al. Combined effects of 17 β -estradiol, nonylphenol, and tributyltin on estrogen-responsive genes of zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Periodical of Ocean University of China, 2019, 49(11): 66-73.
- [55] 侯苹, 张娴文, 白洁. 环境雌激素的生殖毒性的分子机理研究进展[J]. 生命科学, 2013, 25(11): 1121-1125.
- HOU P, ZHANG X W, BAI J. Progress in molecular mechanisms on reproductive toxicity of environmental estrogens[J]. Chinese bulletin of life sciences, 2013, 25(11): 1121-1125.
- [56] 王璐, 鹿群, 王斌. 环境内分泌干扰物-双酚 A 与女性生殖健康关系的研究进展[J]. 中国生育健康杂志,

- 2021, 32(2): 179-182.
- [57] YIN P, LI Y W, CHEN Q L, et al. Diethylstilbestrol, flutamide and their combination impaired the spermatogenesis of male adult zebrafish through disrupting HPG axis, meiosis and apoptosis[J]. Aquatic toxicology, 2017, 185: 129-137.
- [58] 赵梓宇, 王晓宁, 徐鸿毅, 等. 促黄体生成素在辅助生殖技术中的研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2023, 32(3): 469-474.
- ZHAO Z Y, WANG X N, XU H Y, et al. Research progress of luteinizing hormone in assisted reproductive technology[J]. Journal of reproductive medicine, 2023, 32(3): 469-474.
- [59] MOENTER S M, SILYUEIRA M A, WANG L H, et al. Central aspects of systemic oestradiol negative- and positive-feedback on the reproductive neuroendocrine system [J]. Journal of neuroendocrinology, 2020, 32(1): e12724.
- [60] NG Y, WOLFE A, NOVAIRA H J, et al. Estrogen regulation of gene expression in GnRH neurons[J]. Molecular and cellular endocrinology, 2009, 303(1/2): 25-33. ◆