

环境污染物的抗雌激素效应及机制研究进展

汝少国, 郭琳琳

中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003

摘要 列举了10余种具有抗雌激素效应的环境污染物,从拮抗 E_2 水平、拮抗 E_2 功能、拮抗雌性性征3个方面阐释了这些物质的抗雌激素效应,并进一步论述了其在 E_2 合成、运输、受体结合及代谢等方面发挥抗雌激素效应的机制。展望了环境污染物的抗雌激素效应及相关机制的研究方向。

关键词 环境污染物;抗雌激素效应;17 β -雌二醇;雌激素受体;芳香烃受体

中图分类号 X171.5

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.09.016

Research progress on antiestrogen effects and mechanism of environmental pollutants

RU Shaoguo, GUO Linlin

College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

Abstract This paper identifies ten kinds of environmental pollutants with antiestrogen effects, focusing on their antagonist effects on the E_2 levels, the E_2 function and the female characters. Furthermore, the mechanism of antiestrogen effects in the synthesis, the transportation, the receptor binding and the metabolism of E_2 is discussed. Finally, based on the above analyses, the future researches of the antiestrogen effects and the underlying mechanism of environmental pollutants are suggested.

Keywords environmental pollutants; antiestrogen effects; 17 β -estradiol; estrogen receptor; aryl hydrocarbon receptor

近年来,中国乳腺癌的发病率逐年上升,已成为乳腺癌发病率增长最快的国家之一。抗雌激素疗法是治疗乳腺癌的重要手段之一,现有的抗雌激素药物主要是通过干扰雌激素与雌激素受体的结合,促使癌细胞凋亡,或是通过抑制体内芳香化酶的活性降低雌激素水平^[1]。近期研究发现,环境污染物不但可以发挥抗雌激素药物类似的效应,还可通过其他途径拮抗生物体内的雌激素水平或功能^[2-4]。目前国内外有关环境污染物抗雌激素效应及机制的报道较多,但由于每种污染物的抗雌激素效应及机制不尽相同,研究者的看法也存在差异。为此,本文综述国内外环境污染物的抗雌激素效应及机制,并展望未来研究的发展方向。

1 具有抗雌激素效应的环境污染物

目前已报道的具有抗雌激素效应环境污染物达几十种,其中通过干扰雌激素受体(estrogen receptor, ER)发挥抗雌激素效应的典型环境污染物以三苯氧胺(tamoxifen, TAM)、氟维司群(fulvestrant, ICI)和雷洛昔芬(raloxifene, RLX)等抗雌激素药物为代表,其抗雌激素活性较强;通过与芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)作用拮抗17 β -雌二醇(17 β -estradiol, E_2)水平和功能的污染物以工业用化学物质二噁英类化合物(tetrachlorodibenzo-p-dioxin, TCDD)为主;农业常用的唑类化合物主要通过抑制 E_2 合成途径的芳香化酶发挥抗雌激素效应;而多氯联苯(polychlorinated biphenyls, PCBs)、

收稿日期:2014-12-23;修回日期:2015-02-12

基金项目:国家自然科学基金项目(31170322)

作者简介:汝少国,教授,研究方向为生态毒理学、污染生态学等,电子信箱:rusg@ouc.edu.cn

引用格式:汝少国,郭琳琳. 环境污染物的抗雌激素效应及机制研究进展[J]. 科技导报, 2015, 33(9): 93-99.

多环芳烃类化合物(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAHs)抗雌激素活性较弱,只有与E₂联合暴露时才会发挥抗雌激素效

应;另外,近年还发现了一些具有抗雌激素效应的新型环境污染物质,如氨基脲和全氟化合物(表1)。

表1 具有抗雌激素效应的环境污染物

Table 1 Environmental pollutants with antiestrogen effects

名称	来源	环境浓度	抗雌激素效应	参考文献
氟维司群	医疗废水	0~0.15 ng/L	与ER作用,拮抗E ₂ 功能	[5,6,7]
三苯氧胺	医疗废水	0~8.61 ng/L	与ER作用,拮抗E ₂ 功能	[5,8]
雷洛昔芬	医疗废水	0~71 ng/L	与ER作用,拮抗E ₂ 功能	[5,8]
二噁英类化合物	垃圾焚烧、化工冶金产业等	0.5~1.16×10 ⁵ pg/g	与AhR作用,拮抗E ₂ 水平和功能	[4,9]
多氯联苯	工业热载体、绝缘油、润滑油	生物体0.1~1.23 ng/g;水体4.5~985 ng/L	与AhR作用拮抗E ₂ 水平和功能	[10,11,12]
多环芳烃化合物	石油生产、加工和使用过程	10.8~4870 ng/g	与AhR作用拮抗E ₂ 水平和功能	[13,14]
唑类化合物	抗真菌药物、杀菌剂	0~0.78 ng/L(以曲唑为例)	芳香化酶抑制剂,拮抗E ₂ 水平	[5,15]
氨基脲	咪唑类药物、偶氮二甲酰胺的分解;次氯酸作用等	生物体(6.46±0.03) μg/kg;水体(46.41±21.22) μg/L	拮抗E ₂ 水平;降低ERmRNA表达水平	[16,17,18]
全氟化合物	污水处理厂	生物体27~614 ng/g;水体64~546 pg/m ³	改变ER构象,拮抗E ₂ 功能	[19,20]

2 环境污染物的抗雌激素效应

2.1 拮抗E₂水平

E₂是生物体内最为重要、活性最高的雌激素,许多环境污染物质能够通过拮抗生物体内E₂水平发挥抗雌激素效应。Donath等^[21]采用5 mg/kg TAM处理成年雌性大鼠,发现TAM能够在发情前期显著降低血浆中的E₂水平;Maranghi等^[18]研究发现,氨基脲暴露雌性大鼠28 d能够引起血浆中E₂水平呈现剂量效应关系地降低;Spink等^[22-24]的研究发现,二噁英(TCDD)以及其他AhR激动剂能够诱导MCF-7细胞系合成促进E₂氧化代谢的细胞色素P4501A1和P4501B1,从而降低胞内的E₂水平。

2.2 拮抗E₂的功能

一般生物体合成E₂后,被运输到各个靶组织或靶器官,与相应的ER结合,作用于靶基因上游的雌激素效应反应元件(estrogen response element, ERE),诱导目的基因转录。环境污染物质可通过干扰以下途径中的ER水平,拮抗E₂发挥雌激素功能。

2.2.1 降低ERmRNA表达水平

许多环境污染物质可以通过降低ER的基因表达量,在分子水平上拮抗E₂功能。Sun等^[2]研究发现,TAM暴露雌性斑马鱼离体肝细胞,引起ERαmRNA的表达水平显著降低;Gao等^[16]的研究表明,1.0~1000.0 μg/L氨基脲暴露导致雌鱼体内ERα、ERβ、vtg-1mRNA表达量显著下降,具有明显的抗雌激素效应。

2.2.2 降低ER蛋白水平

ER作为雌激素受体主要以蛋白形式存在,一些环境污染

物可以通过降低ER的蛋白水平减少ER的数量,阻碍E₂发挥雌激素功能。Long等^[6]发现ICI182,780能够促进ERα降解,降低蛋白水平。Ohtake等^[25]研究发现3-甲基胆蒎(3-methylcholanthrene, 3MC)与AhR结合促进ERα降解。

2.2.3 干扰ER核质穿梭过程

细胞内的ER存在往返于细胞质与细胞核之间的穿梭运动。研究表明ICI16480和ICI182780能够通过增加ER蛋白的周转率降低ER的稳定性^[26-28],而Dauvois等^[7]的研究发现,ICI16480和ICI182780通过干扰ER的核质穿梭阻碍ER的核吸收,使得ER在细胞质中累积、失活。

2.2.4 改变ER构象

还有一些环境污染物质虽然不能与ER上的E₂靶位点结合,但是可以通过直接结合到ER的其他位置,改变ER蛋白构象从而拮抗E₂发挥功能。这些污染物质在单独暴露时表现为弱雌激素效应,当与E₂联合暴露时,表现为抗雌激素效应。Liu等^[19]采用全氟化合物单独暴露尼罗非鱼原代肝细胞诱导卵黄原蛋白(vitellogenin, VTG)合成,而当与E₂联合暴露时,会显著抑制E₂诱导的VTG生成,o,p'-DDT对原代虹鳟鱼肝细胞也具有同样的作用^[29]。

2.3 拮抗雌性特征

一部分环境污染物质的抗雌激素效应还表现在拮抗雌性特征上。例如,Gao等^[30]研究发现TCDD处理未成熟雌性大鼠,引起促卵泡激素(follicle-stimulating hormone, FSH)和促黄体生成素(luteotropic hormone, LH)的排卵期峰值显著降低,排卵量较对照组下降70%~80%;Zhang等^[31]研究发现,法维唑能够抑制日本青鳉的生殖能力,降低雌鱼的产卵量;

Maranghi^[32]、Gao 等^[16]研究表明,氨基脲暴露能够引起雌鼠子宫内膜厚度下降,雌性斑马鱼性腺指数降低;梁勇等^[33]采用多环芳烃化合物苯并芘、 β -萘黄酮分别暴露原代培养的鲫鱼肝细胞,发现它们能够通过 AhR 结合诱导 CYP1A 的表达,降低 VTG 含量,Kirby 等^[34,35]研究发现 PCBs 也具有同样的作用。

3 环境污染物的抗雌激素效应机制

3.1 干扰 E₂ 合成

3.1.1 干扰胆固醇向 E₂ 的合成过程

生物体内的 E₂ 主要是在性腺中合成。性腺中存在胆固醇向 E₂ 的合成途径,该途径涉及一系列 E₂ 合成酶,如胆固醇侧链裂解酶(P450_{scc})、细胞色素 P450 羟化酶(P450_{c17})、芳香化酶(P450_{arom})等。许多环境污染物通过抑制这些关键酶(P450_{arom}、P450_{17 α} 、P450_{scc}、 3β -HSD 等)的水平发挥抗雌激素效应。

芳香化酶(P450_{arom})存在于脊椎动物的脑和性腺中,催化 E₂ 合成的最终限速步骤即孕酮向雌二醇的转化^[3]。一些环境污染物能够通过调控 P450_{arom} 的表达和功能,改变 E₂ 的产生速率,降低 E₂ 水平。一些具有杂环芳烃结构的唑类化合物能够通过抑制脊椎动物体内芳香化酶的活性发挥抗雌激素效应。例如,唑类药物阿那曲唑、法厥唑、来曲唑以及农药氯苯嘧啶醇都能够强有效地抑制大鼠卵巢细胞的芳香化酶活性^[36],也可在低浓度下抑制 MCF-7 中的芳香化酶活性^[37]。咪唑类杀菌剂如咪鲜胺、抑霉唑、克霉唑能够抑制哺乳动物^[38,39]和鱼体内的芳香化酶活性^[40,41]。

在脊椎动物的性腺中,环境污染物也会抑制细胞色素氧化酶(CYPs)、羟类固醇脱氢酶(HSDs)等其他 E₂ 合成酶。胆固醇侧链裂解酶(P450_{scc})是作为 E₂ 合成的关键限速酶调控 E₂ 合成的第一步,即胆固醇向孕烯醇酮的转化。17 α 羟化酶(P450_{c17})也属于 CYPs 家族,在 E₂ 的合成过程中催化多步反应。Ankley 等^[42,43]研究发现酮康唑是 E₂ 合成途径中 P450_{scc} 和 P450_{c17} 的主要抑制剂。Walsh 等^[44]采用乐果暴露鼠 MA-10 睾丸间质肿瘤细胞,引起 P450_{scc} 活性显著降低。Skolness 等^[45]的研究发现咪鲜胺暴露雌性黑头呆鱼 6 h 引起 P450_{c17} mRNA 表达水平降低,进而降低血浆 E₂ 水平。虽然羟类固醇脱氢酶(HSDs)在 E₂ 合成过程中也起到关键作用,但仅有少量报道表明环境污染物如金雀异黄酮、大豆苷元等植物黄酮类能够抑制离体细胞中 3β -HSD 的活性^[46-48]。Villeneuve 等^[49]研究发现 3β -HSD 抑制剂曲洛斯坦暴露雌性黑头呆鱼导致其血浆 VTG 水平降低。

3.1.2 干扰 HPG 轴对 E₂ 的调控

E₂ 在合成过程中还会受到下丘脑-垂体-性腺(HPG)轴的调控。下丘脑促性腺激素释放激素(gonadotropin-releasing hormone, GnRHs)激发脑垂体分泌促性腺激素(gonadotropins, GtHs),GtHs 包括促卵泡激素(FSH)和促黄体生成素(LH)两种形式。GtHs 对性腺中性激素的合成和分泌起调节作用,性激素又可以通过负反馈调节影响 GnRHs 和

GtHs 的分泌^[50]。一些污染物通过降低 GnRHs、GtHs 水平,间接影响 E₂ 水平。

位于下丘脑视前区的 GnRH 是一种十肽神经激素,是下丘脑-垂体-性腺轴中的起始因子,在生殖过程中起关键作用。GnRH-1 参与调控脊椎动物的生殖过程。E₂ 诱导的 GnRH-1 神经元的正负反馈调节主要发生在雌性动物的月经期和发情期^[51]。Temple 等^[51]的研究发现,E₂ 可作为一种 DNA 转录因子直接作用于 GnRH-1 神经元,增加其活性。但是,目前尚无外源物质通过作用于 GnRH 直接影响 E₂ 的报道。

GnRH 以脉冲形式分泌,作用于下丘脑前叶的促性腺激素分泌细胞,刺激 FSH 和 LH 的分泌^[52]。Yong 等^[53]的研究发现 FSH 能够显著提高 P450_{AmRNA} 的表达水平和 E₂ 水平,而 LH 能够诱导 P450_{scc} 表达,提高孕激素的水平。Gao 等^[30]发现,向未成熟的雌性大鼠注射 TCDD,能够抑制外源促性腺激素诱导下 LH 和 FSH 水平的升高,进而引起卵细胞数降低了 75%~80%。Donath 等^[21]采用 TAM 暴露成年雌性大鼠发现,TAM 通过抑制 LH 对 E₂ 和 T 的正负反馈调节,引起 LH、T、E₂ 水平降低,进而抑制排卵。

3.2 干扰 E₂ 的运输

环境中的化学物质还能够通过干扰雌激素在体内的运输过程发挥抗雌激素效应。在大部分脊椎动物中,性激素在体内的循环运输需要与具有高亲和力的性激素结合蛋白(sex steroid-binding proteins, SBP)结合^[54]。Martin 等^[55]研究发现,木酚素(去甲二氢愈创木酸、肠内酯、肠二醇)和异黄酮(雌马酚、二嗪农、染料木黄酮)等植物雌激素能够抑制性激素与人的 SBP 结合,且这种抑制作用表现出剂量效应关系。Tollefsen 等^[54]的研究表明,在虹鳟鱼体内,乙炔雌二醇、木黄酮、双酚 A、4-羟基三苯氧胺、乙烯雌酚等污染物能够与 E₂ 竞争性结合 SBP,取代雌二醇在 SBP 上的结合位点,阻碍雌激素在体内的运输和代谢。

3.3 干扰 E₂ 与相应受体结合

在性腺中合成的 E₂ 经血液被运输到体内各个靶组织,与相应受体结合诱导效应基因转录。环境污染物可以进入生物体内干扰这一受体介导过程,进而发挥抗雌激素效应,主要包括 ER 和 AhR 两种受体介导模型。

3.3.1 干扰 E₂ 与 ER 结合

ER 是核激素受体家族(nuclear hormone receptor, NHR)的一员,包括 ER α 和 ER β 两种亚型。ER α 主要作用于乳腺、子宫,参与保护生物体内骨骼稳态,调控新陈代谢;而 ER β 主要是对免疫系统和中枢神经系统产生影响^[56]。

ERs 介导的抗雌激素效应主要发生在细胞核内和细胞膜上。

1) 细胞核内 ERs 介导途径。在细胞核内,E₂ 激活的 ER 可直接与目的基因启动子上的 ERE 结合,诱导目的基因转录。TAM 和 RLX 两种抗雌激素药物的结构与 E₂ 类似,通过与 E₂ 竞争性结合 ER,抑制目的基因转录,发挥抗雌激素效应。例如,Sun 等^[21]采用 30、100、300 μ g/L 的 TAM 暴露雌性斑马鱼

离体肝细胞 72 h, 发现 $ER\alpha$ 、 $vtg-1$ 和 $vtg-2$ mRNA 的表达水平均出现显著性降低。Shang 等^[8]的研究发现, 在 MCF-7 和 Ishikawa 两种细胞系中, TAM 和 RLX 能够通过募集转录抑制因子 NCOR、SMRT 以及组蛋白去乙酰化酶集合到 E_2 的目的基因 *catd* 启动子上, 抑制基因表达。

在细胞核内, ERs 还可通过蛋白质之间的相互作用与连接在目的基因上的转录因子复合体结合, 间接调控目的基因转录。例如, E_2 通过激活 ERs 与 AP-1 位点上的 FOS 和 JUN 蛋白的相互作用, 诱导胰岛素类生长因子 *IGF-I* 转录^[57]。而一些环境污染物可以通过干扰该途径拮抗 E_2 功能。例如, Attanasio 等^[58]的研究发现, RLX 能够使患有肢端肥大症的女性体内的 *IGF-I* 水平降低。Decensi 等^[59]选取 68 位正在服用 TAM 进行乳腺癌预防实验的健康女性, 服用前和服用两个月后进行采血, 血浆中 *IGF-I* 水平约降低了 25%。

ICI182, 780 还能通过影响 ER 蛋白水平发挥抗雌激素效应。例如, Dauvois 等^[7]的研究表明, ICI182, 780 能够影响 ER 的核质穿梭过程, 使得 ER 在细胞质中积累。Long 等^[6]发现, ICI182, 780 诱导 $ER\alpha$ 和细胞角蛋白 CK8 和 CK18 相互作用, 诱导 $ER\alpha$ 接近核基质关联蛋白酶, 促进 $ER\alpha$ 的降解。

另有研究发现, $ER\beta$ 能够通过影响细胞凋亡和细胞循环来增强抗雌激素效应。Hodges-Gallagher 等^[60]通过建立一个 $ER\beta$ 表达水平可调控的 MCF-7 细胞系发现 $ER\beta$ 可加强 TAM、ICI、RLX 3 种药物的抗雌激素效应, 进而抑制乳腺癌细胞的增殖。

2) 细胞膜上 ERs 介导。ER 还在细胞膜参与 E_2 的调控^[61], 已有大量证据表明 E_2 可以通过作用于细胞膜上的 ER 调控 MAPK、PKA 等快速的非基因效应信号途径^[57]。Seval 等^[62]研究发现, ICI182, 780 能够抑制 E_2 通过 ER 激活的丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路的磷酸化作用。Yamakawa 等^[63]发现抗雌激素 ICI182, 780 或 4-羟基三苯氧胺处理催乳素细胞 88 h 后, 能够抑制 E_2 /ER 通过蛋白激酶 A (cyclic-AMP dependent protein kinase A, PKA) 途径引起的细胞增殖。

3.3.2 干扰 E_2 与 AhR 结合

游离态的 AhR 存在于细胞质中, 与 Hsp90/XAP2 分子伴侣复合物相互作用。配体激活的 AhR 由细胞质进入细胞核, 并从分子伴侣复合物上解离下来, 与 AhR 核转运蛋白 (AhR nuclear transportor, Arnt) 结合。这种异源二聚体能够识别外源性反应元件 XRE, 募集一系列转录因子, 进而诱导, 例如 CYP1A1、CYP1B1 和谷胱甘肽-S-转移酶等目的基因的转录^[4]。配体激活的 AhR 能够通过一系列不同的作用机制与雌激素受体 ER 相互作用, 进而干扰 ER 介导的信号通路, 发挥抗雌激素效应。

1) AhR 竞争结合 ER 通路辅因子。AhR 和 ER 结合到各自的目标基因启动子上都需要募集一系列的转录因子, 但 AhR 会竞争性结合与 ER 共同的转录子, 干扰 ER 通路^[4]。例如, Arnt 除了担任 AhR 的转运蛋白外, 还是 ERs 依赖的强有

力的转录辅因子。Arnt 的这种辅助激活作用主要取决于它的 C 末端区域与 ERs 之间的物理作用。而只有当 E_2 激活 ERs 配体结合域, ER 和 Arnt 才能发挥这种相互作用^[64]。Kobayashi^[65]、Kamei 等^[66]研究发现, 组蛋白乙酰转移酶 CBP/p300 除参与 AhR/Arnt 介导的转录激活过程外, CBP/p300 也是包括 ER 介导的基因激活作用中不可缺少的辅因子。

2) 促进 ER 降解。一些环境污染物与 AhR 结合后, 能够降低 ER 的蛋白水平, 而对 ER 的基因表达量并无影响。1991 年, Medlock 等^[67]研究发现 TCDD 能够降低大鼠卵巢中 $ER\alpha$ 的蛋白水平, 但对其机制并不清楚。Ohtake 等^[68]研究发现, AhR 被 3-甲基蒽酮 (3MC)、 β -萘黄酮 (β NF) 等污染物激活后, 内源性 $ER\alpha$ 、 $ER\beta$ 的蛋白水平出现显著性降低, 而 $ER\alpha$ 、 $ER\beta$ mRNA 表达水平却无变化。后续研究^[25]发现, 配体激活的 AhR 能够与 CUL4B 蛋白抗体、Arnt、Rbx1 蛋白、26S 蛋白酶体等一起组成泛素连接酶复合物 CUL4B^{AhR}, 促进 $ER\alpha$ 降解。在复合物 CUL4B^{AhR} 中, AhR 作为一种底物识别募集 ER。

3) 竞争 ER 启动子结合位点。在 ER 的目标基因上存在抑制性外源物质效应反应元件 (iXRE), TCDD 诱导的 AhR/Arnt 二聚体通过与 ER 目的基因上的 iXRE 作用, 阻碍 ER 信号通路^[69]。Krishnan 等^[70]研究发现, TCDD 单独作用 MCF-7 细胞系不能引起 E_2 效应基因 *cathepsinD* mRNA 表达水平的变化, 但是与 E_2 联合作用发现, TCDD 能够降低 E_2 诱导的 *cathepsinD* mRNA 水平和蛋白水平, 而 *cathepsinD* 的启动子区含有与 XRE 核心序列一致的 iXRE, TCDD 激活的 AhR 可结合到 *cathepsinD* 启动子区的 iXRE 上, 竞争性结合 E_2 诱导下 ER 的启动子区, 抑制 *cathepsinD* mRNA 转录^[4]。

4) 诱导合成抑制因子。TCDD 能够诱导合成某种抑制因子, 干扰 E_2 诱导下目的基因的转录。Rogers 等^[71]的研究发现, 在 BG-1 卵巢癌细胞中, TCDD 能够抑制 E_2 诱导的 *pS2* mRNA 表达水平, 但是在加入蛋白合成抑制剂环乙酰亚胺后, 能够解除这种抑制作用。

3.4 干扰 E_2 代谢

一些环境污染物能够通过 AhR 结合, 诱导细胞色素 P4501A1 和 P4501B1 的合成, 而细胞色素 P4501A1 能够催化 E_2 上的 C-2、C-15 α 和 C-6 α 位点发生羟基化, 细胞色素 P4501B1 是一种能够有效催化 E_2 代谢的 4-羟化酶, 这两种细胞色素 P450 可以通过上述两种作用方式促进体内雌二醇的氧化代谢^[22]。Spink 等^[23,24]的研究表明, TCDD 及其他 AhR 激活剂能够诱导 MCF-7 中细胞色素 P4501A1、P4501B1 生成, 导致 E_2 的氧化代谢增强, 降低细胞内 E_2 水平。

4 展望

4.1 以孕激素为指标研究抗雌激素效应

雌性动物在排卵前期, 体内 GtHs 出现峰值, 而孕激素 (progesterone, P_4) 和孕激素受体 (progesterone receptors, PR) 是参与该过程的重要组分。Nishino 等^[72]采用 TAM 和纯抗雌激素 ZK191703 分别处理未成熟雌性大鼠, 24 h 后处理组 P_4

水平极显著降低。而在 *PR* 基因敲除或 *ERβ* 基因敲除的雌鼠中,形态学观察结果均显示未破裂的卵泡数量增加^[73]。Donath 等^[21]研究发现,抗雌激素 TAM 在排卵前不但能够降低 E_2 的水平,还能够显著降低 P_4 水平。因此,某些环境污染物是否通过拮抗 P_4 的水平或功能而发挥抗雌激素效应还需进一步探讨。

4.2 从神经内分泌角度研究抗雌激素效应

4.2.1 从神经内分泌因子角度研究抗雌激素效应

一些环境污染物可以通过作用于神经内分泌因子发挥抗雌激素效应。例如,Soga 等^[74]研究表明,地塞米松通过增加促性腺激素抑制激素(gonadotropin-inhibitory hormone, GnIH)神经细胞数量,提高 GnIH 受体 *GPR147*、*GPR74*mRNA 表达水平,下调 *GnRH*mRNA 表达量,进一步推迟阴道打开时间,导致雌鼠青春期发育延迟。 γ -氨基丁酸(GABA)是中枢神经系统中的抑制性神经递质^[75]。Santos 等^[76]的研究证实新型污染物氨基脲通过抑制 GABA 合成酶谷氨酸脱羧酶(GAD)抑制 GABA 的合成;Maranghi 等^[18]的研究发现氨基脲暴露雌性大鼠 28 d 能够引起血浆内 E_2 水平呈现剂量效应关系地降低。因此,今后可从环境污染物对神经内分泌因子的作用入手研究其抗雌激素效应。

4.2.2 从神经源性 E_2 角度研究抗雌激素效应

生物体内的 E_2 主要在性腺中合成,还有少量在脑中合成。Naftolin 等^[77]研究发现下丘脑中的雌烯二酮在芳香化酶的催化下合成 E_2 。最近研究发现,在鸟类和鼠的下丘脑中,神经源性 E_2 作为一种神经递质存在^[78,79];神经源性 E_2 还可保护啮齿类动物因缺氧引起的细胞死亡^[80,81]。Temple 等^[51]的研究发现, E_2 可作为一种 DNA 转录因子直接作用于 GnRH-1 神经元,增加其活性。而 GnRH 作为 HPG 轴上关键的起始因子参与性激素水平的调控。因此,今后可从污染物对神经源性 E_2 的作用入手研究其抗雌激素效应。

4.3 从 HPA、HPT、HPG 轴的交互作用角度研究抗雌激素效应

下丘脑-垂体-性腺(HPG)轴、下丘脑-垂体-甲状腺(HPT)轴以及下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴分别调控脊椎动物中的生殖系统、甲状腺系统和肾上腺系统。这些系统能够协调体内激素的合成、分泌、运输和代谢。Liu 等^[82]的研究发现,300 $\mu\text{g/L}$ 的咪鲜胺暴露成年雌性斑马鱼引起 HPA 轴 *CRH*mRNA 表达量下调,并进一步降低血浆中 E_2 和 T 的水平。将雌性斑马鱼暴露于甲基硫氧嘧啶的研究发现,100 mg/L 的甲基硫氧嘧啶能够降低 HPT 轴甲状腺素 T_3 和三点甲状腺氨酸 T_4 的水平,引起 HPG 轴 FSH 和 LH 的水平升高以及性激素合成相关酶基因 *StAR*、*3 β -HSD* 和 *17 β -HSD*mRNA 表达量上调。因此,今后可从 3 大轴线交互作用入手探讨环境污染物的抗雌激素效应及机制。

参考文献(References)

[1] 冯长根,邓霞飞,向华,等.治疗乳腺癌的抗雌激素药物研究进展[J].中国新药杂志,2006,15(13):1051-1057.

- Feng Changgen, Deng Xiafei, Xiang Hua, et al. Anti-estrogens: Current status and trends in the treatment of breast cancer[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2006, 15(13): 1051-1057.
- [2] Sun L, Wen L, Shao X, et al. Screening of chemicals with anti-estrogenic activity using *in vitro* and *in vivo* vitellogenin induction responses in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Chemosphere, 2010, 78(7): 793-799.
- [3] Chumsri S, Howes T, Bao T, et al. Aromatase, aromatase inhibitors, and breast cancer[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2011, 125(1-2): 13-22.
- [4] Safe S, Wormke M. Inhibitory aryl hydrocarbon receptor-estrogen receptor α cross-talk and mechanisms of action[J]. Chemical Research in Toxicology, 2003, 16(7): 807-816.
- [5] Besse J P, Latour J F, Garric J. Anticancer drugs in surface waters: What can we say about the occurrence and environmental significance of cytotoxic, cytostatic and endocrine therapy drugs[J]. Environment International, 2012, 39(1): 73-86.
- [6] Long X, Nephew K P. Fulvestrant (ICI182,780)-dependent interacting proteins mediate immobilization and degradation of estrogen receptor- α [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(14): 9607-9615.
- [7] Dauvois S, White R, Parker M G. The antiestrogen ICI 182780 disrupts estrogen receptor nucleocytoplasmic shuttling[J]. Journal of Cell Science, 1993, 106: 1377-1388.
- [8] Shang Y, Brown M. Molecular determinants for the tissue specificity of SERMs[J]. Science, 2002, 295(5564): 2465-2468.
- [9] 段磊,杨胜科,王文科,等.环境中二噁英的浓度水平及其控制技术[J].地球科学与环境学报,2006,28(2):84-88.
Duan Lei, Yang Shengke, Wang Wenke, et al. Dioxins concentration in environment and its control technology[J]. Journal of Earth Sciences and Environment, 2006, 28(2): 84-88.
- [10] 黄冬梅,于慧娟,沈晓盛.水产品中多氯联苯检测方法的研究[J].食品科学,2008,29(7):359-361.
Huang Dongmei, Yu Huijuan, Shen Xiaosheng. Study an analytical method for trace polychlorobiphenyls in aquatic products[J]. Food Science, 2008, 29(7): 359-361.
- [11] 聂湘平,安太成,杨宇峰,等.珠江三角洲池塘养殖中多氯联苯的环境归趋[J].生态学报,2005,25(5):1138-1145.
Nie Xiangping, An Taicheng, Yang Yufeng, et al. Analysis of PCBs in the sediments and fish from freshwater fishponds in the Pearl River Delta, China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(5): 1138-1145.
- [12] Colborn T, Vom S F S, Soto A M. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans[J]. Environmental Health Perspectives, 1993, 101(5): 378-384.
- [13] Yang W, Lang Y, Bai J, et al. Quantitative evaluation of carcinogenic and non-carcinogenic potential for PAHs in coastal wetland soils of China[J]. Ecological Engineering, 2014, 74: 117-124.
- [14] Nicolas J. Vitellogenesis in fish and the effect of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminants[J]. Aquatic Toxicology, 1999, 45(2): 77-90.
- [15] Cheshenko K, Pakdel F, Segner H, et al. Interference of endocrine disrupting chemicals with aromatase CYP19 expression or activity, and consequences for reproduction of teleost fish[J]. General and Comparative Endocrinology, 2008, 155(1): 31-62.
- [16] Gao S, Wang W, Tian H, et al. An Emerging water contaminant, semicarbazide, exerts an anti-estrogenic effect in Zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2014, 93(3): 280-288.
- [17] 高素,汝少国.氨基脲的毒性效应研究进展[J].环境科学研究,2013,26(6):637-644.
Gao Su, Ru Shaoguo. Research progress on the toxicity of semicarbazide[J]. Research of Environmental Sciences, 2013, 26(6): 637-644.
- [18] Maranghi F, Tassinari R, Marcoccia D, et al. The food contaminant

- semicarbazide acts as an endocrine disrupter: Evidence from an integrated *in vivo in vitro* approach[J]. *Chemico-Biological Interaction*, 2010, 183(1): 40-48.
- [19] Liu C, Du Y, Zhou B. Evaluation of estrogenic activities and mechanism of action of perfluorinated chemicals determined by vitellogenin induction in primary cultured tilapia hepatocytes[J]. *Aquatic Toxicology*, 2007, 85(4): 267-277.
- [20] 史亚利, 潘媛媛, 王杰明, 等. 全氟化合物的环境问题[J]. *化学进展*, 2009, 21(2/3): 369-376.
Shi Yali, Pan Yuanyuan, Wang Jieming, et al. Perfluorinated chemicals related environmental problems[J]. *Progress in Chemistry*, 2009, 21(2/3): 369-376.
- [21] Donath J, Nishino Y. Effects of partial versus pure antiestrogens on ovulation and the pituitary-ovarian axis in the rat[J]. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 1998, 66(4): 247-254.
- [22] Spink D C, Lincoln D W, Dickerman H W, et al. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin causes an extensive alteration of 17 α -estradiol metabolism in human breast cancer cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1990, 87(17): 6917-6921.
- [23] Spink D C, Eugster H P, Lincoln D W, et al. 17 α -Estradiol hydroxylation catalyzed by human cytochrome P4501A1: A comparison of the activities induced by 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin in MCF-7 cells with those from heterologous expression of the cDNA[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1990, 293(2): 342-348.
- [24] Spink D C, Johnson J A, Connor S P, et al. Stimulation of 17 α -estradiol metabolism in MCF-7 cells by bromochloro- and chloromethyl-substituted dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans: Correlations with antiestrogenic activity[J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1994, 41(4): 451-466.
- [25] Ohtake F, Fujii-Kuriyama Y, Kato S. AhR acts as an E₃ ubiquitin ligase to modulate steroid receptor functions[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2009, 77(4): 474-484.
- [26] Dauvois S, Danielian P S, White R, et al. Antiestrogen ICI 164,384 reduces cellular estrogen receptor content by increasing its turnover[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, 1992, 89(9): 4037-4041.
- [27] Gibson M K, Nemmers L A, Beckman W C Jr, et al. The mechanism of ICI 164, 384 antiestrogenicity involves rapid loss of estrogen receptor in uterine tissue[J]. *Endocrinology*, 1991, 129(4): 2000-2010.
- [28] Reese J C, Katzenellenbogen B S. Examination of the DNA-binding ability of estrogen receptor in whole cells: Implications for hormone-dependent transactivation and the actions of antiestrogens[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1992, 12(10): 4531-4538.
- [29] Okoumassoun L E, Averill-Bates D, Gagné F, et al. Assessing the estrogenic potential of organochlorine pesticides in primary cultures of male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes using vitellogenin as a biomarker[J]. *Toxicology*, 2002, 178(3): 193-207.
- [30] Gao X, Petroff B K, Rozman K K, et al. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) partially reverses the inhibitory effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on ovulation in the immature gonadotropin-treated rat[J]. *Toxicology*, 2000, 147(1): 15-22.
- [31] Zhang X, Hecker M, Park J W, et al. Time-dependent transcriptional profiles of genes of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in medaka (*Oryzias latipes*) exposed to fadrozole and 17 β -trenbolone [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27(12): 2504-2511.
- [32] Maranghi F, Tassinari R, Lagatta V, et al. Effects of the food contaminant semicarbazide following oral administration in juvenile Sprague-Dawley rats[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, 47(2): 472-479.
- [33] 梁勇, 黄港住, 徐盈, 等. 2, 3, 7, 8-四氯代二苯并二英(TCDD)和苯并芘(B[a]P)对原代培养鲫鱼肝细胞中卵黄蛋白原诱导的影响[J]. *科学通报*, 2004, 49(16): 1605-1610.
- Liang Yong, Huang Gangwang, Xu Ying, et al. Effects of 2,3,7,8-TCDD and benzo[a]pyrene on modulating vitellogenin induction in primary culture of crucian carp (*Carassius auratus*) hepatocytes[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2004, 49(16): 1605-1610.
- [34] Kirby M F, Neall P, Bateman T A, et al. Hepatic ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity in flounder (*Platichthys flesus*) from contaminant impacted estuaries of the United Kingdom: Continued monitoring 1999-2001[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 49(1-2): 71-78.
- [35] Kirby M F, Allen Y T, Dyer R A, et al. Surveys of plasma vitellogenin and intersex in male flounder (*Platichthys flesus*) as measures of endocrine disruption by estrogenic contamination in United Kingdom estuaries: Temporal trends, 1996 to 2001[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, 23(3): 748-758.
- [36] Odum J, Ashby J. Detection of aromatase inhibitors *in vitro* using rat ovary microsomes[J]. *Toxicology Letters*, 2002, 129(1-2): 119-122.
- [37] Sanderson J T, Boerma J, Lansbergen G W, et al. Induction and inhibition of aromatase (CYP19) activity by various classes of pesticides in H295R human adrenocortical carcinoma cells[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2002, 182(1): 44-54.
- [38] Vinggaard A M, Hass U, Dalgaard M, et al. Prochloraz: An imidazole fungicide with multiple mechanisms of action[J]. *International Journal of Andrology*, 2006, 29(1): 186-192.
- [39] Trösken E R, Scholz K, Lutz R W, et al. Comparative assessment of the inhibition of recombinant human CYP19 (aromatase) by azoles used in agriculture and as drugs[J]. *Endocrine Research*, 2004, 30(3): 387-394.
- [40] Shilling A D, Carlson D B, Williams D E. Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, as a model for aromatase inhibition[J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 1999, 70(1-3): 89-95.
- [41] Ankley G T, Jensen K M, Durhan E J, et al. Effects of two fungicides with multiple modes of action on reproductive endocrine function in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) [J]. *Toxicological Science*, 2005, 86(2): 300-308.
- [42] Ankley G T, Jensen K M, Kahl M D, et al. Ketoconazole in the fathead minnow (*Pimephales promelas*): Reproductive toxicity and biological compensation[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2007, 26(6): 1214-1223.
- [43] Ankley G T, Bencic D C, Breen M S, et al. Endocrine disrupting chemicals in fish: Developing exposure indicators and predictive models of effects based on mechanism of action[J]. *Aquatic Toxicology*, 2009, 92(3): 168-178.
- [44] Walsh L P, Webster D R, Stocco D M. Dimethoate inhibits steroidogenesis by disrupting transcription of the steroidogenic acute regulatory (StAR) gene[J]. *Journal of Endocrinology*, 2000, 167(2): 253-263.
- [45] Skolness S Y, Durhan E J, Garcia-Revero N, et al. Effects of a short-term exposure to the fungicide prochloraz on endocrine function and gene expression in female fathead minnows (*Pimephales promelas*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 103(3-4): 170-178.
- [46] Ohno S, Shinoda S, Toyoshima S, et al. Effects of flavonoid phytochemicals on cortisol production and on activities of steroidogenic enzymes in human adrenocortical H295R cells[J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2002, 80(3): 355-363.
- [47] Ohno S, Matsumoto N, Watanabe M, et al. Flavonoid inhibition of overexpressed human 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase type II[J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2004, 88(2): 175-182.
- [48] Wong C K, Keung W M. Bovine adrenal 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase (E.C. 1.1.1.145)/5 α -ene-4 α -ene isomerase (E.C. 5.3.3.1): Characterization and its inhibition by isoflavones[J]. *The Journal of*

- Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 1999, 71(5-6): 191-202.
- [49] Villeneuve D L, Blake L S, Brodin J D, et al. Effects of a 3β -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor, trilostane, on the fathead minnow reproductive axis[J]. *Toxicological Science*, 2008, 104(1): 113-123.
- [50] 史熊杰, 刘春生, 余珂, 等. 环境内分泌干扰物毒理学研究[J]. *化学进展*, 2009, 21(2-3): 340-349.
Shi Xiongjie, Liu Chunsheng, Yu Ke, et al. *Toxicological Research on Environmental Endocrine Disruptors*[J]. *Progress in Chemistry*, 2009, 21(2/3): 340-349.
- [51] Temple J L, Laing E, Sunder A, et al. Direct action of estradiol on gonadotropin-releasing hormone-1 neuronal activity via a transcription-dependent mechanism[J]. *The Journal of Neuroscience*, 2004, 24(28): 6326-6333.
- [52] 王新, 谭建华, 赖小平, 等. GnRH脉冲模式对FSH分泌的影响[J]. *中国细胞生物学学报*, 2011, 33(3): 275-278.
Wang Xin, Tan Jianhua, Lai Xiaoping, et al. The effect of GnRH impulse mode on FSH[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2011, 33(3): 275-278.
- [53] Yong E L, Hillier S G, Turner M, et al. Differential regulation of cholesterol side-chain cleavage (P450_{scc}) and aromatase (P450_{arom}) enzyme mRNA expression by gonadotrophins and cyclic AMP in human granulosa cells[J]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 1994, 12(2): 239-249.
- [54] Tollefsen K E. Interaction of estrogen mimics, singly and in combination, with plasma sex steroid-binding proteins in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2002, 56(3): 215-225.
- [55] Martin M E, Haourigui M, Pelissero C, et al. Interactions between phytoestrogens and human sex steroid binding protein[J]. *Life Sciences*, 1996, 58(5): 429-436.
- [56] Paterni I, Granchi C, Katzenellenbogen J A, et al. Estrogen receptors alpha (ER α) and beta (ER β): Subtype-selective ligands and clinical potential[J]. *Steroids*, 2014, 90: 13-29.
- [57] Björnström L, Sjöberg M. Mechanisms of Estrogen Receptor Signaling: Convergence of Genomic and Nongenomic Actions on Target Genes[J]. *Molecular Endocrinology*, 2004, 19(4): 833-842.
- [58] Attanasio R, Barausse M, Cozzi R. Raloxifene lowers IGF-I levels in acromegalic women[J]. *European Journal of Endocrinology*, 2003, 148(4): 443-448.
- [59] Decensi A, Robertson C, Ballardini B, et al. Effect of tamoxifen on lipoprotein(a) and Insulin-like GrowthFactor-1(IGF-1) in healthy women[J]. *European Journal of Cancer*, 1999, 35(4): 596-600.
- [60] Hodges-Gallagher L, Valentine C D, El Bader S, et al. Estrogen receptor beta increases the efficacy of antiestrogens by effects on apoptosis and cell cycling in breast cancer cells[J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2008, 109(2): 241-250.
- [61] Mauvais-Jarvis F. Estrogen and androgen receptors: Regulators of fuel homeostasis and emerging targets for diabetes and obesity[J]. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2011, 22(1): 24-33.
- [62] Seval Y, Cakmak H, Kayisli U A, et al. Estrogen-Mediated regulation of p38 mitogen-activated protein kinase in human endometrium[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2006, 91(6): 2349-2357.
- [63] Yamakawa K, Arita J. Cross-talk between the estrogen receptor-, protein kinase A-, and mitogen-activated protein kinase-mediated signaling pathways in the regulation of lactotroph proliferation in primary culture[J]. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2004, 88(2): 123-130.
- [64] Brunnberg S, Pettersson K, Rydin E, et al. The basic helix-loop-helix-PAS protein ARNT functions as a potent coactivator of estrogen receptor-dependent transcription[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100(11): 6517-6522.
- [65] Kobayashi A, Numayama-Tsuruta K, Sogawa K, et al. CBP/p300 Functions as a possible transcriptional coactivator of Ah receptor nuclear translocator (Arnt)[J]. *Journal of Biochemistry*, 1997, 122(4): 703-710.
- [66] Kamei Y, Xu L, Heinzl T, et al. A CBP integrator complex mediates transcriptional activation and AP-1 inhibition by nuclear receptors[J]. *Cell*, 1996, 85(3): 403-414.
- [67] Medlock K L, Lyttle C R, Kelepouris N, et al. Estradiol down-regulation of the rat uterine estrogen receptor[J]. *Experimental Biological and Medicine*, 1991, 196(3): 293-300.
- [68] Ohtake F, Takeyama K, Matsumoto T, et al. Modulation of oestrogen receptor signalling by association with the activated dioxin receptor[J]. *Nature*, 2003, 423(6939): 545-550.
- [69] Matthews J, Gustafsson J A. Estrogen receptor and aryl hydrocarbon receptor signaling pathways[J]. *Nuclear Receptor Signaling*, 2006, 4: e16.
- [70] Krishnan V, Porter W, Santostefano M, et al. Molecular mechanism of inhibition of estrogen-induced cathepsin D gene expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD) in MCF-7 cells[J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1995, 15(12): 6710-6719.
- [71] Rogers J M, Denison M S. Analysis of the antiestrogenic activity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in human ovarian carcinoma BG-1 cells[J]. *Molecular Pharmacology*, 2002, 61(6): 1393-1403.
- [72] Nishino T, Yamanouchi H, Ishibashi K, et al. Antiovaratory effect of a single injection of pure antiestrogen ZK 191703 at early stage of rat estrus cycle[J]. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2009, 114(3-5): 152-160.
- [73] Krege J H, Hodgin J B, Couse J F, et al. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor β [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(26): 15677-15682.
- [74] Soga T, Dalpatadu S L, Wong D W, et al. Neonatal dexamethasone exposure down-regulates GnRH expression through the GnIH pathway in female mice[J]. *Neuroscience*, 2012, 218: 56-64.
- [75] 堀江典子, 菅美奈子, 金武祚. GABA(γ -氨基丁酸)的功能性[J]. *中国食品添加剂*, 2010(6): 169-173.
Noriko Horie, Minako Suga, Mujo Kim. Functionality of GABA (γ -Amino Butyric Acid)[J]. *China Food Additives*, 2010(6): 169-173.
- [76] Santos J M, Carlos E M, Brandão M L. Gabaergic mechanisms of hypothalamic nuclei in the expression of conditioned fear[J]. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2008, 90(3): 560-568.
- [77] Naftolin F, Horvath T L, Jakab R L, et al. Aromatase immunoreactivity in axon terminals of the vertebrate brain. an immunocytochemical study on quail, rat, monkey, and human tissues[J]. *Neuroendocrinology*, 1996, 63(2): 149-155.
- [78] Balthazart J, Ball G F. Is brain estradiol a hormone or a neurotransmitter [J]. *Trends in Neuroscience*, 2006, 29(5): 241-249.
- [79] Hojo Y, Murakami G, Mukai H, et al. Estrogen synthesis in the brain-role in synaptic plasticity and memory[J]. *Molecular and Cell Endocrinology*, 2008, 290(1-2): 31-43.
- [80] Lebesgue D, Traub M, De Butte-Smith M, et al. Acute administration of non-classical estrogen receptor agonists attenuates ischemia-induced hippocampal neuron loss in middle aged female rats[J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8642.
- [81] Yang L C, Zhang Q G, Zhou C F, et al. Extranuclear estrogen receptors mediate the neuroprotective effects of estrogen in the rat hippocampus [J]. *PLoS One*, 2010, 5(5): e9851.
- [82] Liu C, Zhang X, Deng J, et al. Effects of prochloraz or propylthiouracil on the cross-talk between the HPG, HPA, and HPT axes in Zebrafish [J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, 45(2): 769-775.

(责任编辑 吴晓丽)