苏可欣,卢 婷,王鑫伟,等.两种有机磷酸酯对斑马鱼内分泌性别依赖性影响 [J]. 中国环境科学, 2026,46(2):1015-1027.
Su K X, Lu T, Wang X W, et al. Effects of two types of organophosphates on endocrine sex-dependent development in zebrafish [J]. China Environmantal Science, 2026,46(2):1015-1027.

两种有机磷酸酯对斑马鱼内分泌性别依赖性影响

苏可欣,卢 婷,王鑫伟,李 梅* (南京大学,环境学院水污染控制与资源绿色循环全国重点实验室,江苏 南京 210023)

摘要：为探讨有机磷酸酯阻燃剂磷酸三(1-氯-2-丙基)酯(TCPP)和间苯二酚双(二苯基)磷酸酯(RDP)对水生生物的内分泌干扰机制及性别差异化响应,以斑马鱼成鱼为模式生物,开展浓度分别为 96h-LC_{50} 的 1%(400 μg/L)和 1‰(40 μg/L)的暴露实验.结果表明: TCPP 和 RDP 暴露对斑马鱼雌/雄个体的肥满度、脑体指数和性腺体指数均未引发显著变化,但乙酰胆碱酯酶活性在所有暴露组均显著下降(7.80%~31.31%, P<0.01),其中雌鱼对 TCPP 的响应更为敏感.同时,各暴露组斑马鱼丙二醛水平升高(34.37%~166.25%),谷胱甘肽含量下降(29.51%~58.64%),显示 TCPP 和 RDP 均诱导了氧化应激反应.进一步研究发现,TCPP 和 RDP 暴露显著扰动斑马鱼下丘脑-垂体-甲状腺轴(HPT)功能,导致甲状腺激素三碘甲状腺原氨酸水平下降、甲状腺素水平升高,且雌鱼受影响更为显著(P<0.01, P<0.05).基因表达分析显示,TCPP 和 RDP 显著抑制雌鱼体内 HPT 轴相关基因 *crh* 和 *tshβ* 的表达(P<0.05),而雄鱼相关基因未见明显变化,进一步证实两种 OPEs 对 HPT 轴的干扰存在性别依赖性.此外,TCPP 和 RDP 暴露干扰雌/雄斑马鱼性激素水平,其中雄鱼体内睾酮(T)水平显著升高,雌二醇(E2)水平显著降低(P<0.001),同时下丘脑-垂体-性腺轴(HPG)关键基因表达也受到影响,其中 *cyp19ala* 下调,抑制 T 向 E2 的转化,导致 E2 水平降低,影响雄鱼的精子生成及运动能力.综上,TCPP 和 RDP 暴露均可通过 HPT 轴和 HPG 轴引发显著的内分泌干扰,且干扰具有明显的性别依赖性.本研究强调在环境污染物生态毒性评价中系统考虑性别差异的重要性.

关键词：有机磷酸酯；斑马鱼；内分泌毒性；HPT 轴；HPG 轴
中图分类号：X503 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2026)02-1015-13

Effects of two types of organophosphates on endocrine sex-dependent development in zebrafish. SU Ke-xin, LU Ting, WANG Xin-wei, LI Mei* (State Key Laboratory of Water Pollution Control and Green Resource Recycling, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China). *China Environmental Science*, 2026,46(2)：1015~1027

Abstract：To elucidate the endocrine-disrupting mechanisms and sex-dependent responses of organophosphate flame retardants (OPEs), tris(1-chloro-2-propyl) phosphate (TCPP) and resorcinol bis(diphenyl) phosphate (RDP), adult zebrafish (*Danio rerio*) were employed as a model organism. Exposure experiments were conducted at two concentrations corresponding to 1% (400 μg/L) and 1‰ (40 μg/L) of the 96h median lethal concentration (LC_{50}). The results showed that neither TCPP nor RDP exposure caused significant changes in body condition factor, brain somatic index (BSI), or gonad somatic index (GSI) in either female or male zebrafish. However, acetylcholinesterase (AChE) activity was significantly inhibited in all exposed groups by 7.80%~31.31% (P<0.01), with females exhibiting greater sensitivity to TCPP. Meanwhile, malondialdehyde (MDA) levels were significantly elevated (34.37%~166.25%), whereas glutathione (GSH) contents were markedly reduced (29.51%~58.64%) indicating that both TCPP and RDP induce oxidative stress in zebrafish. Exposure to TCPP and RDP significantly disrupted the function of the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis, as evidenced by decreasing triiodothyronine (T3) levels and increasing thyroxine (T4) levels, with more pronounced effects observed in females (P<0.01, P<0.05). Gene expression analysis further revealed that TCPP and RDP significantly downregulated the HPT axis-related genes *crh* and *tshβ* in females (P<0.05), whereas no significant alterations were detected in males, confirming a clear sex-dependent disruption of the HPT axis by these OPEs. In addition, TCPP and RDP exposure disturbed sex hormone homeostasis in zebrafish. In males, testosterone levels were significantly increased, while estradiol levels were markedly decreased (P<0.001). Consistent with these hormonal alterations, the expression of *cyp19a1a*, a key gene involved in the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis, was significantly downregulated, inhibiting the conversion of testosterone to estradiol. This disruption may impair spermatogenesis and sperm motility in males zebrafish. Overall, TCPP and RDP exposure induced pronounced endocrine disruption via interfering with both the HPT and HPG axes, with distinct sex-dependent effects. This study underscores the importance of considering sex differences in the toxicological evaluation.

Key words：OPEs；zebrafish；endocrine toxicity；HPT axis；HPG axis

收稿日期：2025-07-16
基金项目：国家自然科学基金资助项目(22576100,52192682,22176094)

* 责任作者，教授, meili@nju.edu.cn

有机磷酸酯(OPEs)是溴代阻燃剂的主要替代品,因兼具阻燃性与增塑性,广泛应用于电子设备、建筑材料和纺织等领域,生产和使用量持续增长[1-2].近年来 OPEs 在全球水体、大气及沉积物中被频繁检出,环境浓度呈现上升趋势,潜在生态风险引发广泛关注.其中,磷酸三(1-氯-2-丙基)酯(TCPP)是应用最广的氯代OPEs,广泛用于聚氨酯泡沫塑料等产品;而间苯二酚双(二苯基)磷酸酯(RDP)作为新兴芳基OPEs,因优异的阻燃性能,全球使用量快速增长.欧盟 REACH 法规已将 TCPP 列入高度关注物质名单,我国《重点管控新污染物清单(2023 年版)》也将 RDP 纳入优先监测对象.TCPP 和 RDP 可通过工业废水排放、产品释放等多种途径进入水环境[3].TCPP 在我国渤海湾沿岸水体中检出浓度可达 4.6~921ng/L,部分东海近岸热点区域高达 1392ng/L,明显高于其他 OPEs(如磷酸三(2-氯乙基)酯、磷酸三苯酯)[3].尽管 RDP 环境浓度较低(如海河流域水体中最高 9.30ng/L,太湖沉积物中达 5.84ng/g dw),但较高的 log *K*ow (5.82)表明其具有较强的沉积物吸附能力和潜在的生物富集风险[4].此外,TCPP 因高水溶性(1200mg/L)和较强持久性(半衰期>100d),在鱼类肌肉中富集水平可达水体浓度的 120 倍[5];而高分子量的 RDP(分子量>500)则可能通过食物链传递在高营养级生物中富集,甚至引发跨代效应[6].

在脊椎动物中,内分泌系统通过下丘脑-垂体-性腺轴(HPG)、下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)和下丘脑-垂体-甲状腺(HPT)轴等多条信号通路共同维持机体稳态[7].其中,HPT 轴主要调节发育、生长及代谢过程[8],HPG 轴则在生殖功能调控中发挥核心作用[9].内分泌轴的紊乱常导致激素失衡,诱发多种疾病,甚至影响多个器官功能,危及生物体健康[10].研究表明,OPEs 具有内分泌干扰作用,能够激活或拮抗雌激素、雄激素及甲状腺激素受体,影响激素水平,同时干扰 HPG 轴与 HPT 轴相关基因的表达[11].尽管部分研究已证实 TCPP 和 RDP 可引起斑马鱼甲状腺滤泡增生、卵黄蛋白原(VTG)异常表达及生殖行为改变[12-15],但关于两者通过 HPT 轴和 HPG 轴介导内分泌干扰机制仍缺乏深入探讨.值得关注的是,OPEs 的内分泌干扰效应可能存在显著性别差异.流行病学研究表明,男性终生暴露于有机磷酸盐所致的神经毒性通常高于女性[16].动物实验也发现,TCPP 和 RDP 可引发斑马鱼性别依赖性的肠道菌群与代谢改变,雄性个体表现出更高的敏感性[17].此外,氯代 OPEs 磷酸三(1,3-二氯丙基)酯暴露也可诱导斑马鱼性别特异性的激素水平变化,同时在 HPT、HPA 及 HPG 轴关键基因表达中的影响也呈现性别差异[18].这些结果提示,TCPP 和 RDP 可能通过性别特异性机制影响斑马鱼的内分泌系统,但相关机制尚未明晰.

综上所述,尽管已有研究揭示了 TCPP 与 RDP 的内分泌干扰潜力,但主要集中于初步毒性评估,缺乏对两者通过 HPT 轴与 HPG 轴介导的内分泌毒性机制及性别差异效应的系统性解析.因此,本研究探讨 TCPP 与 RDP 对不同性别斑马鱼内分泌系统的毒性效应及潜在机制,关注 HPT 轴和 HPG 轴的激素水平调控、关键基因表达变化及性别特异性的毒性响应,为阐明 OPEs 的内分泌干扰机制提供参考,并为水环境中 OPEs 的风险评估及污染管理策略制定提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 化学品与试剂

TCPP(CAS 号:13674-84-5,纯度>99.7%)购自阿拉丁试剂公司,RDP(CAS 号:57583-54-7,纯度>98%)购自麦克林试剂公司.

1.2 斑马鱼饲养与样品收集

实验所用成年斑马鱼(AB 型,4 月龄)购自中国科学院水生生物研究中心(武汉).实验前,在经紫外线照射的曝气水中驯养 14d,驯养及毒性试验均在 4L 圆柱型玻璃缸(溶液体积 3L)中进行,水温保持在(27±1)℃,光暗周期为 14h 光 10h 暗,每日更换 50%曝气水,并在早晚各投喂一次新鲜丰年虾.若在驯养期间死亡率低于 10%,即可开展正式实验.

正式实验开始后,选取生长发育正常、个体大小一致的斑马鱼,随机分配至 4L 玻璃缸中,每缸饲养 10 条同性别个体.根据前期 96h-LC_{50} 结果,TCPP 和 RDP 的暴露浓度分别设为 40 和 400μg/L,分别标记为 TCPP-L、TCPP-H、RDP-L 和 RDP-H,每组均设置 3 个平行缸.空白对照组使用紫外线消毒的曝气水.实验采用半静态暴露方式,每 24h 更换 50%暴露溶液,并在每日早晚各喂食一次新鲜丰年虾.实验持续 21d,期间未观察到实验组和对照组的斑马鱼死亡

现象.

暴露结束前 1d 停止投喂.实验结束后,斑马鱼经过 0.03% MS−222 麻醉后置于冰上处理.擦干体表水分,测量体长和体重,随后断尾取血,每 10 条同性别斑马鱼混合作为 1 个样品,置于 200μL 含肝素锂的离心管中,3000r/min 离心 20min 收集血浆,储存于−80°C.之后在冰上解剖,分别收集大脑、肝脏和性腺组织.用于组织病理学分析的样本立即置于 4%多聚甲醛固定液中,常温保存;用于生化分析的样品 4°C 保存,并于当日完成测定;其余组织样本经液氮速冻后储存于−80℃待后续分析.

1.3　组织病理学观察

斑马鱼脑和性腺组织(n=3)经 4%多聚甲醛固定后,依次经乙醇梯度(70%,80%,90%,95%和 100%)脱水,再经二甲苯和乙醇透明处理后石蜡包埋,并切片(厚度 5μm).切片在 48℃烘烤 5h 后,常温保存备用.

H&E 染色步骤如下:切片用自来水冲洗 10s,苏木素染色 3~5min,冲洗去除多余染液后放入分化液中分化,再次冲洗.随后经梯度乙醇脱水,伊红染色 5min,染色结束后再次脱水、透明处理,并用中性树胶封片.切片采用正置白光显微镜(Eclipse Ci−L, Nikon,日本)观察,并利用全景切片扫描仪(3DHISTECH,CaseViewer2.4,匈牙利)采集图像[19-20].

1.4　生理指标测定

1.4.1　生理状态指标测定　称量斑马鱼体重并记录体长,解剖后分别称量脑和性腺质量(n=30),计算肥满度(K)、脑体指数(BSI)和性腺体指数(GSI),用于评估 TCPP 和 RDP 对斑马鱼生理状态的影响.计算公示如下:

$$K = W / L \tag{1}$$

$$\mathrm{BSI} = (W_\mathrm{b} / W) \times 100 \tag{2}$$

$$\mathrm{GSI} = (W_\mathrm{g} / W) \times 100 \tag{3}$$

式中,W 为体重,g;L 为体长,cm;W_b 和 W_g 分别为脑和性腺质量,g.

1.4.2　甲状腺激素、性激素和卵黄蛋白原测定　采用断尾法从静脉取血,将 10 条雌鱼或 10 条雄鱼的血液混合作为一个样品(n=3).样品置于含肝素锂的 200μL 离心管中,立即以 3000r/min 离心 20min,收集上清血浆备用.采用双抗体夹心法测定三碘甲状腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)、VTG、睾酮(T)和雌二醇(E2)水平.所有试剂盒均购自艾方生物科技有限公司,实验操作严格按照说明书执行,最终计算测定结果.

1.4.3　乙酰胆碱酯酶和氧化损伤指标测定　将 3 条斑马鱼脑组织混合为一个样本,3 条雌鱼性腺混合作为一个样本,10 条雄鱼性腺混合作为一个样本(n=3),按质量(g)与体积(mL)比例 1:9 加入生理盐水制备匀浆,匀浆液以 2500r/min 离心 10min,取上清测定总蛋白(TP)含量、乙酰胆碱酯酶(AchE)活性、谷胱甘肽(GSH)含量和丙二醛(MDA)水平.所有试剂盒均购自南京建成生物工程研究所,实验过程严格遵循说明书.

1.5　RT−qPCR

每 5 条斑马鱼脑或性腺组织混合作为一个样本(n=3),用于基因转录水平检测.采用 Takara MiniBEST Universal RNA Extraction Kit 提取总 RNA,使用 PrimeScript™ RT Master Mix(Takara)逆转录合成 cDNA.

实时荧光定量 PCR(RT−qPCR)采用 SYBR 荧光法,在 StepOnePlus™实时荧光定量 PCR 仪上进行.引物设计使用 Primer Premier 3.0 软件(http://bioinfo.ut.ee/primer3−0.4.0/),选用 β−actin 作为内参基因.

基因表达量采用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算,结果以平均值±标准差(mean ± SD)表示.显著性检验使用 SPSS 24.0 软件进行单因素方差分析(ANOVA),以 P<0.05 为差异显著的判断标准.

1.6　数据处理与分析

所有数据分析使用 GraphPad Prism 软件(版本 9.5.0).处理组与对照组之间的差异采用单因素方差分析(ANOVA)检验,组间多重比较采用 Tukey′s 事后检验,显著性水平设定为 P<0.05(显著)、P<0.01(非常显著)和 P<0.001(极其显著).

2　结果和讨论

2.1　TCPP 和 RDP 对斑马鱼的生理机能和代谢的影响

斑马鱼暴露 21d 后,与对照组相比,TCPP 和 RDP 对雌/雄斑马鱼的 K、BSI 和 GSI 均未引起显著变化.甲状腺激素(T3、T4)在斑马鱼生长发育和基础代谢的调节中发挥关键的调节作用,是维持其正常生命

活动的重要激素[21].为进一步探讨 TCPP 和 RDP 暴露对斑马鱼生理机能和代谢的潜在影响,本研究检测了暴露 21d 后斑马鱼血浆中 T3 和 T4 的含量(图 1).

结果显示,与对照组相比,雄鱼中 T3 水平在 TCPP-L 和 RDP-L 组均有所升高,但差异不显著;而在高浓度暴露组(TCPP-H 和 RDP-H)中则显著下降(P<0.01).雌鱼的 T3 水平在 TCPP-H、RDP-L 和 RDP-H 组均显著下降(P<0.01),而 TCPP-L 组未见明显变化.在 T4 水平方面,雄鱼 TCPP-L 组 T4 含量显著升高(P<0.05),但 TCPP-H、RDP-L 和 RDP-H 组则无显著变化.相较而言,雌鱼对污染物暴露更为敏感,在 TCPP-L、RDP-L 和 RDP-H 组中,T4 含量均显著升高(P<0.05),而 TCPP-H 组未见明显差异.T4 是一种激素原,生理活性较低,可在外周组织中通过脱碘酶转化为活性更高的 T3.血液中大部分的 T3 来源于 T4 的转化[22].低剂量 TCPP 暴露可能轻微抑制脱碘酶活性,导致 T4 向 T3 的转化略受阻,T3 水平轻度下降.雌鱼体内可能产生代偿机制,下丘脑-垂体通过分泌促甲状腺激素(TSH)刺激甲状腺释放更多 T4,以补偿 T3 下降[23].由于脱碘酶活性仍受轻微抑制,T3 未能显著恢复,而 T4 则大量堆积,水平显著升高.高剂量 TCPP 暴露时,可能强烈抑制脱碘酶活性[24],并直接损害甲状腺滤泡细胞的功能[25],导致 T3 水平显著下降,同时甲状腺合成 T4 的能力受限,血液中 T4 仅呈轻度升高.因此,T3 和 T4 对 TCPP 低、高剂量的暴露存在不同响应模式.

上述结果表明,雌鱼甲状腺激素水平对外源污染物干扰更为敏感,尤其在 RDP 暴露下反应更为显著.甲状腺激素水平通常受负反馈调节,其稳定性对生长发育至关重要.无论 T3 和 T4 水平升高或降低,均可能扰乱内分泌平衡,进而影响正常生长发育过程[26].综上,TCPP 和 RDP 暴露均可通过扰动甲状腺激素水平影响斑马鱼的内分泌功能和生长发育,且雌鱼对 RDP 的响应更为明显,提示雌性个体在 OPEs 污染环境中可能面临更高的生长发育风险.

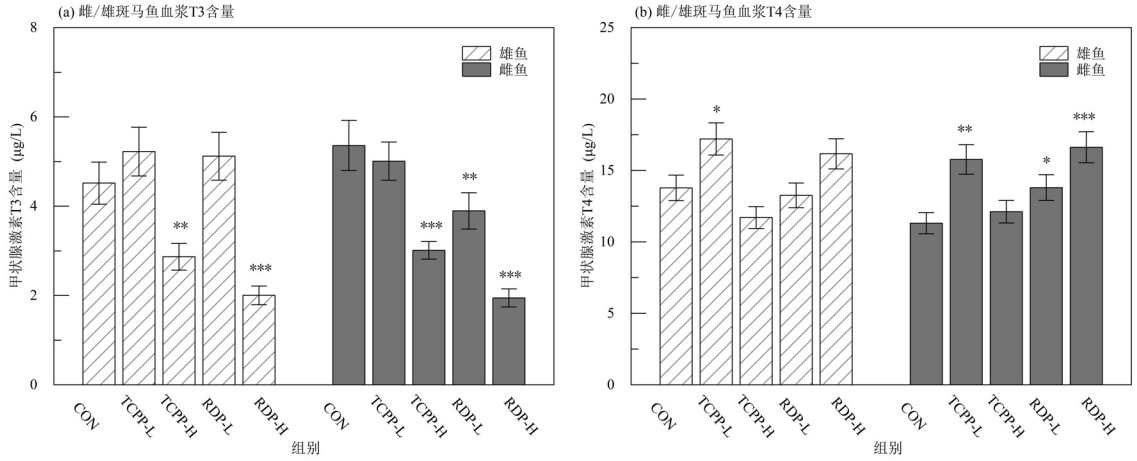


图 1 TCPP 和 RDP 暴露对雌/雄斑马鱼血浆 T3 和 T4 水平的影响

Fig.1 Effects of TCPP and RDP exposure on plasma T3 and T4 levels in male and female zebrafish

表示与对照组相比具有显著差异,P<0.01,**P<0.05,***P<0.001

2.2 TCPP 和 RDP 对斑马鱼大脑和性腺组织的病理学分析

图 2 通过视神经层、表面纤维层及室周灰质层等结构的变化,评估其组织损伤程度.对照组中,雌/雄斑马鱼大脑外周神经和纤维层结构完整,深层颗粒细胞数量丰富,排列整齐,室周灰质层厚度适中,未见明显病理学损伤.

在 TCPP-L 暴露组,雌鱼大脑中深层颗粒细胞分布不均,部分细胞聚集于视神经层,室周灰质层明显变薄;雄鱼大脑颗粒细胞数量减少,室周灰质层排列不均匀,并伴有局部细胞脱落.在 TCPP-H 组,雌鱼大脑颗粒细胞明显减少,室周灰质层排列不均并出现局部脱落;而雄鱼大脑的室周灰质层相对整齐,但部分区域出现异常破坏.

在 RDP-L 暴露组,雌鱼外周神经层的颗粒细胞聚集于表层,深层颗粒细胞数量减少;雄鱼大脑中颗

粒细胞同样减少,室周灰质层细胞排列紊乱.在 RDP-H 组,雌/雄鱼大脑的室周灰质层均明显增厚,并伴有部分细胞脱落.

以上结果表明,TCPP 和 RDP 暴露均可诱导雌/雄斑马鱼大脑组织发生不同程度的病理性损伤,且损伤模式具有性别差异性.大脑是内分泌系统的中枢调控器官,TCPP 和 RDP 引发的大脑组织结构异常,可能意味着其对内分泌系统产生了较强干扰效应[27],进一步影响神经调控和生长发育过程.

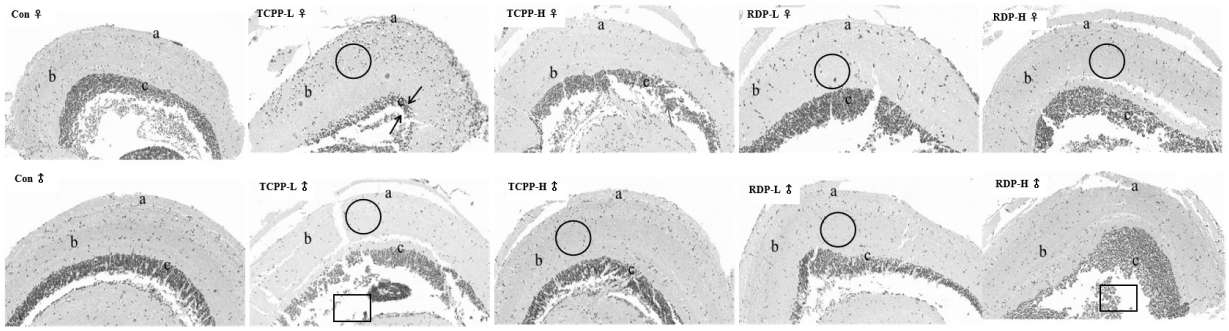


图 2　两种 OPEs 暴露对雌/雄斑马鱼大脑损伤

Fig.2　Brain injury in male and female zebrafish induced by exposure to two OPEs

a 为神经层,b 为纤维层以及 c 为室周灰质层.圆圈为颗粒细胞减少,箭头为室周灰质层变薄,方框为室周灰质层局部脱落

斑马鱼性腺内细胞的生长发育状况直接决定生殖能力,可能影响生殖细胞数量和质量,从而降低繁殖成功率[28].为评估 TCPP 和 RDP 对斑马鱼生殖系统的潜在干扰,本研究对雌/雄斑马鱼性腺组织进行 H&E 染色分析,以观察两种 OPEs 暴露对斑马鱼性腺组织的损伤特征(图 3).在雌鱼性腺中,TCPP-L 组各阶段卵母细胞数量未见明显变化,但初级生长期卵母细胞分布较为分散;TCPP-H 组中,初级生长期卵母细胞数量减少,且排列无序.相比之下,RDP-L 和 RDP-H 组的初级生长期卵母细胞数量均显著增加,提示 RDP 暴露可能延缓卵母细胞的发育和成熟周期.卵母细胞的成熟高度依赖于 HPG 轴调控的性激素水平[29-30],这一现象可能源于 RDP 对 HPG 轴功能的干扰,进而影响雌鱼性激素的正常分泌.此前,Shi 等[31]报道,BDE-47 暴露可抑制雌性斑马鱼卵巢发育、破坏卵巢结构并导致生殖功能受损.结合本研究结果推测,RDP 诱导的卵巢发育异常可能引发生殖毒性,从而影响雌鱼的繁殖能力.

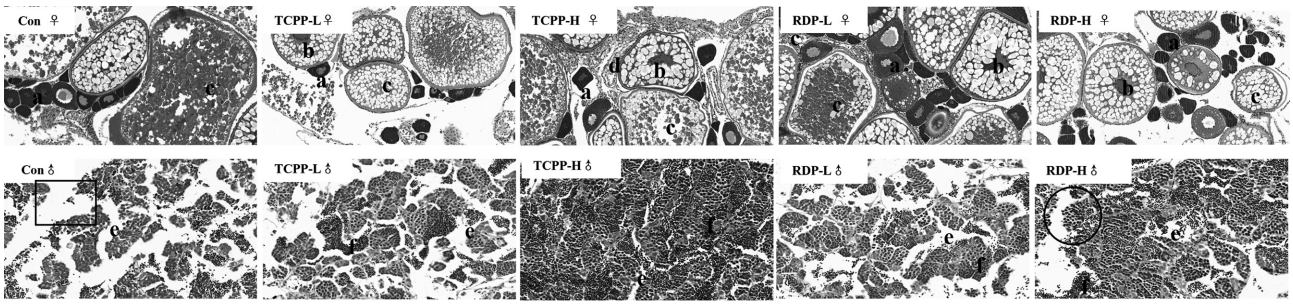


图 3　两种 OPEs 暴露对雌/雄斑马鱼性腺组织损伤

Fig.3　Gonadal tissue injury in male and female zebrafish induced by exposure to two OPEs

a 为初级卵母细胞,b 为次级卵母细胞,c 为卵黄滴,d 为卵泡,e 为生精小管,f 为精子头.方框为生精小管排列松散,圆圈为细胞核外泄

在雄鱼性腺中,TCPP-L 和 RDP-L 组的部分区域可见精子头,精原细胞数量变化不明显,生精小管排列略显松散,未观察到明显组织损伤,表明低浓度暴露下精子细胞内细胞核的浓缩效应较弱.然而,在 TCPP-H 和 RDP-H 组中,精子头数量显著增加,生精小管排列趋于紧密,不同类型生殖细胞的比例发生明显变化.尤其在 RDP-H 组,性腺组织内普遍出现细胞核外泄现象,且损伤程度更为严重.

这些结果表明,高浓度 TCPP 和 RDP 暴露均可干扰雄鱼精子发生过程,导致生精功能异常,RDP 暴露的影响尤为明显.Meng 等[32]的研究指出,雄鱼性腺损伤可能引发交配行为异常,包括追逐、碰撞等受精行为减少,甚至导致精子损伤和繁殖能力下降.结合本研究结果推测,TCPP 和 RDP 诱导的雄鱼性腺损伤,可能对生殖功能造成严重影响,其中 RDP 的毒性风险更高.

2.3 TCPP 和 RDP 对斑马鱼 AchE 活性和氧化损伤的影响

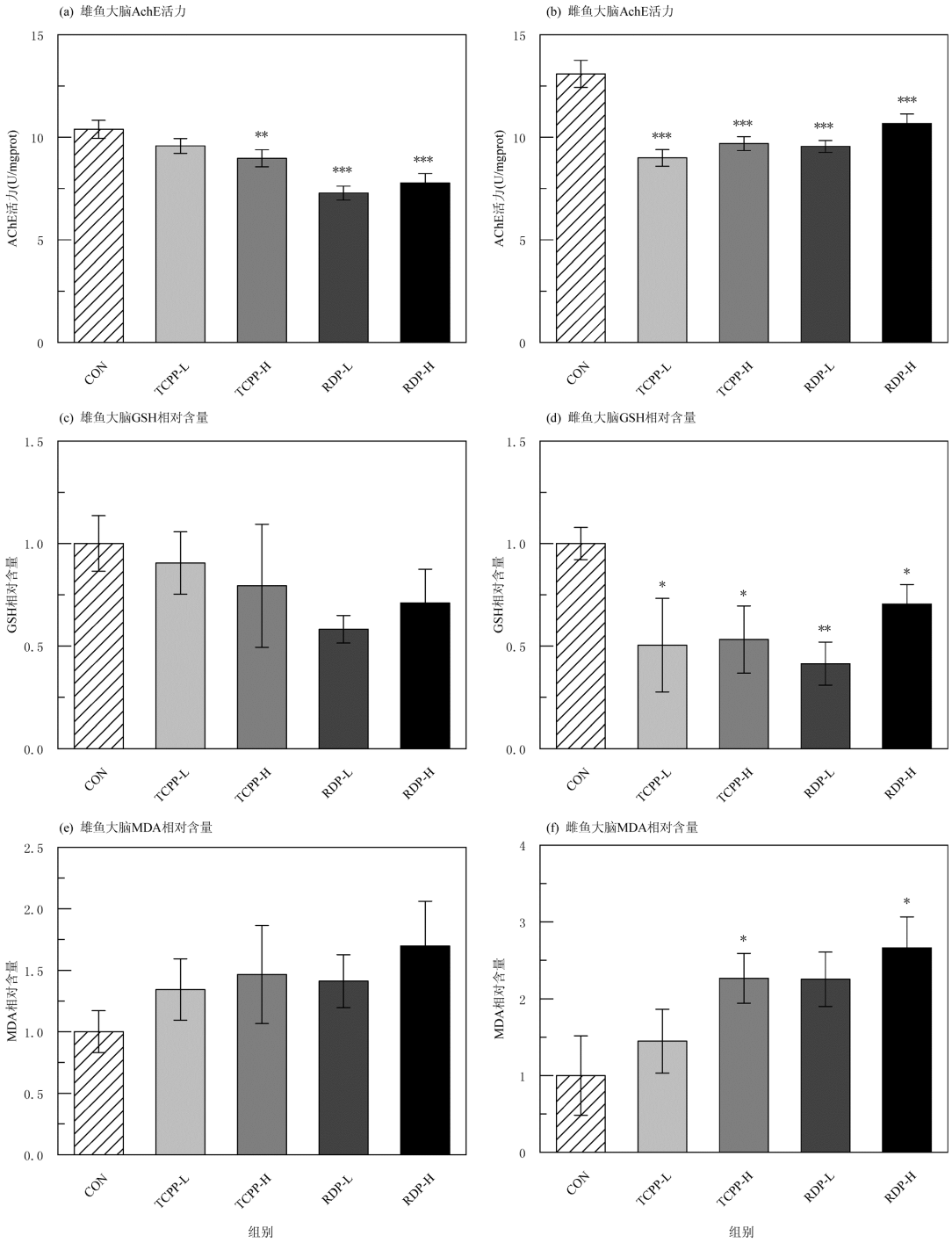


图 4 TCPP 和 RDP 暴露对雌/雄斑马鱼大脑 AchE 活力、MDA 和 GSH 含量的影响

Fig.4 Effects of TCPP and RDP exposure on AchE activity, MDA and GSH content in the brains of male and female zebrafish

下丘脑位于大脑底部,是 HPT 轴和 HPG 轴的关键调控中心.AchE 是胆碱能神经传递的关键酶,其活

性变化被广泛用于衡量神经毒性水平[33].如图 4(a、b)所示,除雄鱼 TCPP−L 组外,其余暴露组 AchE 活性均显著下降(P<0.01).在雌鱼中,AChE 活性抑制率为 18.47%~31.31%,而雄鱼中 AchE 抑制率为 7.80%~29.98%.这些结果表明,TCPP 和 RDP 暴露均会抑制 AchE 活性,降低乙酰胆碱分解速率,从而引发神经毒性并干扰神经系统的正常功能.值得注意的是,雌鱼在 TCPP 暴露下的 AchE 活性抑制更为明显,提示 TCPP 对雌性胆碱能神经传递系统的影响可能更强.

污染物暴露通常诱发氧化应激反应,进而对中枢神经系统造成损伤[34-35].MDA 是脂质过氧化的重要产物,其含量能够直接或间接反映细胞氧化损伤程度[36].GSH 作为水溶性抗氧化剂,在解毒代谢和氧化应激防御中发挥核心作用,维持细胞内 ROS 的稳态平衡,从而减轻氧化损伤[37-38].为进一步评估 TCPP 和 RDP 暴露对斑马鱼氧化损伤的影响,本研究测定了 MDA 和 GSH 水平,结果见图 4 (c−f).与对照组相比,所有暴露组的雌/雄斑马鱼 MDA 含量均显著升高,反映出抗氧化系统无法有效清除过量 ROS,导致脂质过氧化水平上升,对大脑组织造成严重损伤[39].与此同时,GSH 含量在所有暴露组中均呈下降趋势,其中雌鱼体内 GSH 含量显著降低(P<0.05),而雄鱼虽呈下降趋势,但未达到显著水平.结果显示,尽管斑马鱼通过消耗 GSH 抵御 ROS 积累,但仍无法阻止 MDA 水平升高,说明大脑组织遭受了持续的氧化损伤,此外,TCPP 和 RDP 诱导的氧化应激效应在雌鱼中表现更为明显,雌鱼对神经毒性的响应更强,进一步揭示两种 OPEs 在诱导神经毒性和氧化损伤过程中存在明显的性别差异.

2.4　TCPP 和 RDP 对斑马鱼性激素和卵黄蛋白原水平的影响

性激素是调控性别分化、性腺发育、生殖细胞成熟及生殖行为等关键过程的重要内源性代谢物[40].为评估 TCPP 和 RDP 的生殖毒性效应,本研究测定了暴露 21d 时斑马鱼血浆中 E2、T 及 VTG 水平的变化(图 5).在 E2 水平方面,与对照组相比,TCPP 暴露显著提高了雌鱼血浆中的 E2 含量,而 RDP 暴露则导致 E2 水平明显下降(P<0.05);雄鱼中,无论 TCPP 还是 RDP 暴露,均引起 E2 含量显著降低(P<0.001).雌性个体中 E2 主要由卵巢合成,雄性个体中的 E2 则主要源自 T 的转化[41].研究表明,E2 下降会损伤雄鱼生精小管结构,降低精子活力,从而削弱雄性生殖能力[42].本研究结果显示,RDP 暴露在雌/雄斑马鱼中均显著抑制 E2 合成,而 TCPP 暴露则表现出明显的性别差异性,促使雌鱼 E2 升高,雄鱼 E2 下降,提示 TCPP 和 RDP 均可能降低雄性斑马鱼的生殖能力,甚至影响其繁殖能力.

在 T 水平方面,除 TCPP−H 组外,其余暴露组均引起雌鱼 T 水平的显著变化;而雄鱼中,各暴露组 T 水平虽有波动,但未达到显著性差异.这表明,TCPP 和 RDP 对雌鱼 T 水平的干扰更加明显,其中 RDP 的影响尤为突出.

VTG 作为内分泌干扰化合物,是影响生殖系统的重要生物标志物[43-44],在本研究中表现出明显性别依赖性.雌鱼中,TCPP−L 和 RDP−H 组的 VTG 含量显著下降;而雄鱼中,所有暴露组的 VTG 水平均显著升高.结果表明,TCPP 和 RDP 对 VTG 水平的干扰存在性别差异,暴露后可能诱导异常的性激素合成与分泌,从而扰乱生殖功能.

性类固醇激素(T 和 E2)及其比值(E2/T)在鱼类的性别分化过程中具有重要调控作用[45].结果显示,TCPP 暴露显著降低雄鱼 E2/T 比值,而雌鱼的 E2/T 比值则显著升高(P<0.001),表明 TCPP 暴露导致性激素平衡发生性别特异性改变.相比之下,RDP 暴露使雄鱼和雌鱼的 E2/T 比值均显著下降(P<0.001),表明 RDP 对性激素平衡的干扰效应在雌/雄间较为一致.TCPP 对性激素的效应具有性别依赖性,在雌鱼中 TCPP 可能通过上调芳香酶的表达,促进 T 向 E2 的转化[46];而在雄鱼中,则可能通过反馈抑制或直接抑制睾丸中的芳香酶活性,同时可能刺激雄激素合成通路,最终导致 E2/T 比值下降[47];而 RDP 对性激素的效应具有靶点特异性,可能抑制芳香酶活性[48],阻断 E2 的合成,导致 T 的相对积累,从而在雌/雄鱼中均表现为 E2/T 比值的降低.

综上所述,TCPP 和 RDP 暴露均会显著扰乱斑马鱼体内性激素水平,破坏内分泌稳态.虽然两种 OPEs 均对雌/雄个体产生影响,但对雄鱼造成的后果更为严重,E2/T 值显著降低会影响雄鱼的精子生成和运动能力,长期暴露可能严重削弱雄性斑马鱼的生殖能力,甚至导致繁殖能力丧失,从而威胁种群延续与生态平衡.

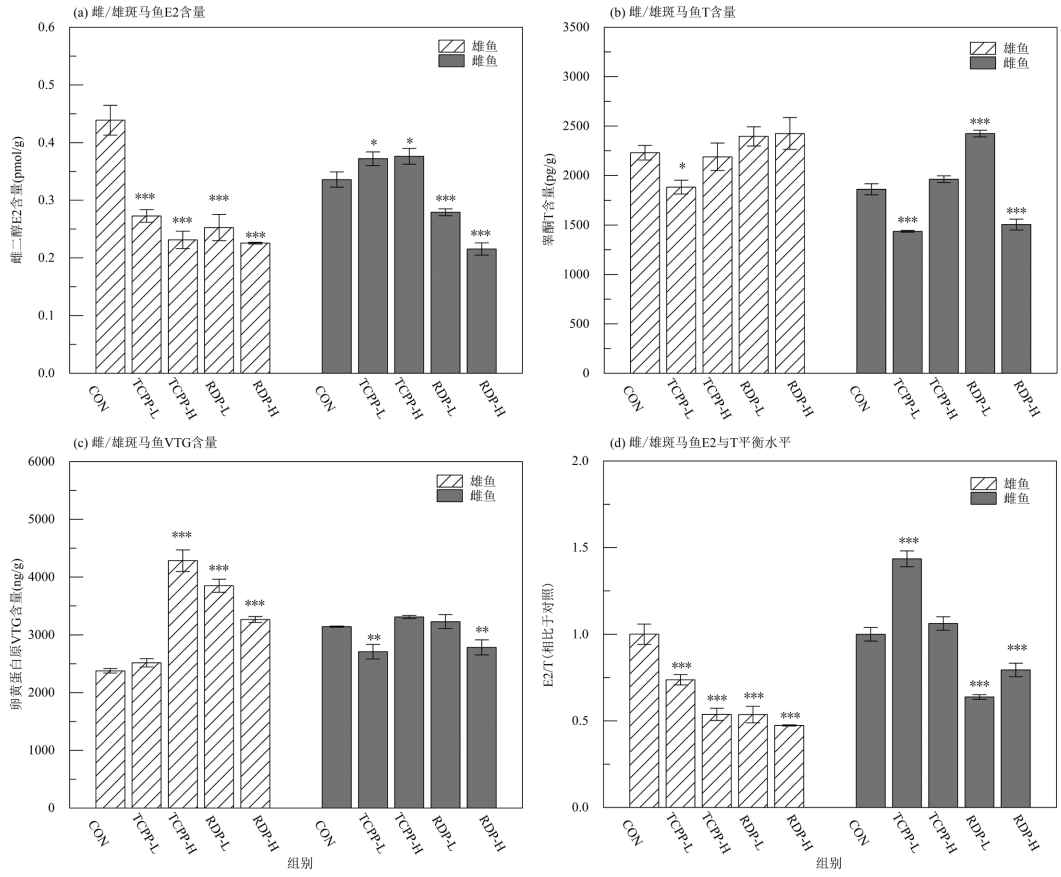


图 5 TCPP 和 RDP 暴露对雌/雄斑马鱼性激素含量的影响

Fig.5 Effects of TCPP and RDP exposure on sex hormone levels in male and female zebrafish

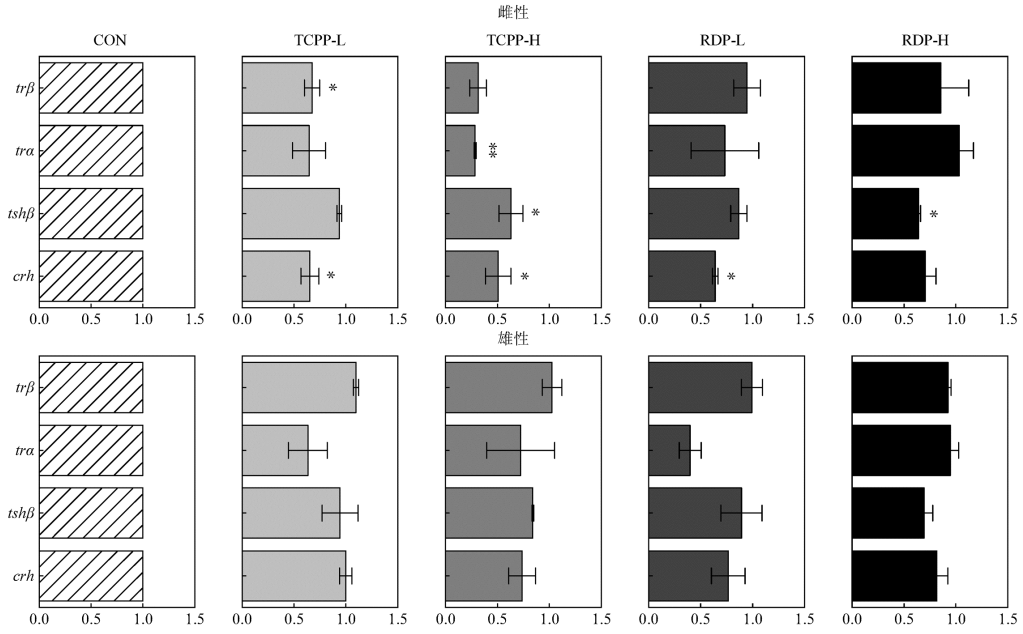
2.5 TCPP 和 RDP 对斑马鱼 HPT 轴和 HPG 相关基因转录水平的影响

如图 6(a)所示,TCPP 和 RDP 暴露均引发斑马鱼 HPT 轴相关关键基因的表达变化.暴露后,雌/雄个体中 *crh*、*trα*、*trβ* 和 *tshβ* 的转录水平整体呈下调趋势.具体来看,在雌鱼中,TCPP 和 RDP 暴露显著抑制 *crh* 的表达(P<0.05),*trα*、*trβ* 对 TCPP 暴露更为敏感,其表达在 TCPP−H 中显著下调,而 RDP 暴露未引起明显变化.此外,两种 OPEs 在高浓度下均显著降低了 *tshβ* 的表达量.相比之下,雄鱼虽然也出现基因表达波动,但暴露后未观察到显著变化.

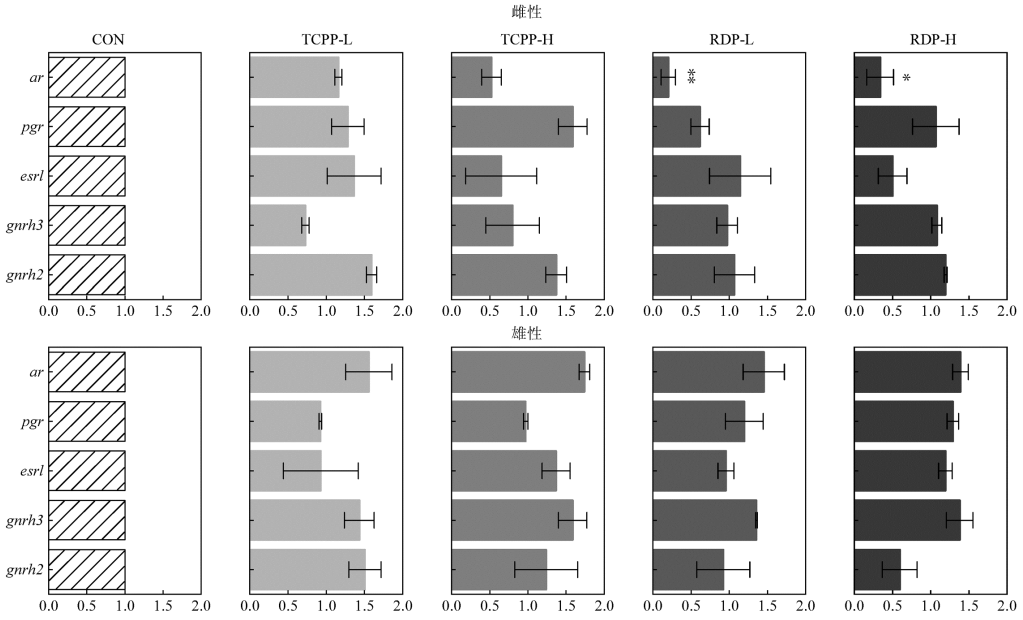
TCPP 和 RDP 暴露后,斑马鱼 HPG 轴相关基因的表达水平出现明显变化(图 6(b−c)).在雌鱼大脑中,RDP−L 和 RDP−H 暴露均显著(P<0.05)抑制 *ar* 的表达(分别下降 0.80 倍和 0.66 倍);而雄鱼中,TCPP−H 暴露显著(P<0.05)上调 *Gnrh3* 的表达(上升 0.59 倍).然而,其他大脑相关基因(*Gnrh2*、*esrl* 和 *pgr*)在各暴露组中未发生显著变化,表明 TCPP 和 RDP 对 HPG 轴大脑层面基因的干扰较弱.

如图 6(c)所示,在雌鱼性腺中,TCPP−L 和 RDP−L 组暴露均显著(P<0.05)上调 *esrl* 的表达(分别上升 0.43 倍和 0.39 倍),但 TCPP−H 组暴露则显著(P<0.01)下调(0.66 倍);*cyp17* 的表达在 TCPP−L 和 RDP−L 暴露组显著上调(P<0.05),但在高浓度组未见显著变化;*Vtg1* 的表达在 TCPP 和 RDP 低浓度暴露下显著上调(P<0.05),高浓度暴露则显著下调(P<0.01);*pgr* 的表达在 TCPP−L 组显著下调(P<0.05);此外,*cyp19a1a* 的表达在所有暴露组中均显著下调(分别为 0.62 倍、0.85 倍、0.40 倍和 0.51 倍,P<0.05),表明 TCPP 和 RDP 均可能制雌鱼性腺的激素合成功能.在雄鱼性腺中,促卵泡激素受体基因(*fshr*)的表达在 TCPP−L 和 RDP−H 组中显著上调(分别为 0.68 倍和 0.74 倍,P<0.05),*cyp11a1* 的表达在 TCPP−H、RDP−L 和 RDP−H 组中均显著下调(分别为 0.58 倍、0.68 倍和 0.58 倍,P<0.01).此外,TCPP 高浓度暴露显著抑制 *esrl* 的表达(下调 0.60 倍) (P<0.05),而在其他暴露组未见显著变化.*cyp17* 的表达在 TCPP−L 组中显著上调(0.61 倍,P<0.05),*cyp11b* 在 RDP−H 组中也

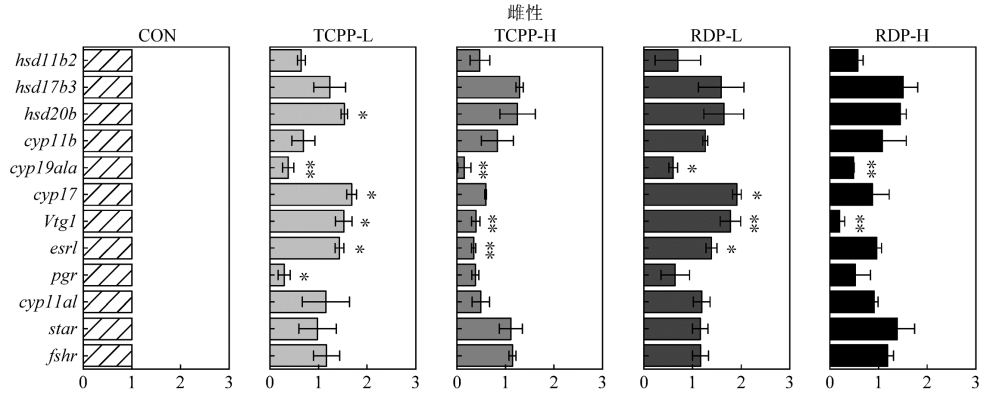
显著升高(0.69 倍,P<0.05).同时,*Vtg1* 在 TCPP-L 暴露下显著下调(0.65 倍) (P<0.05).其他 HPG 轴相关基因(*star*、*hsd20b*、*hsd17b3* 和 *hsd11b2*)在雌/雄斑马鱼性腺中均未显示显著变化.



(a) HPT轴大脑mRNA相对表达量



(b) HPG轴大脑mRNA相对表达量



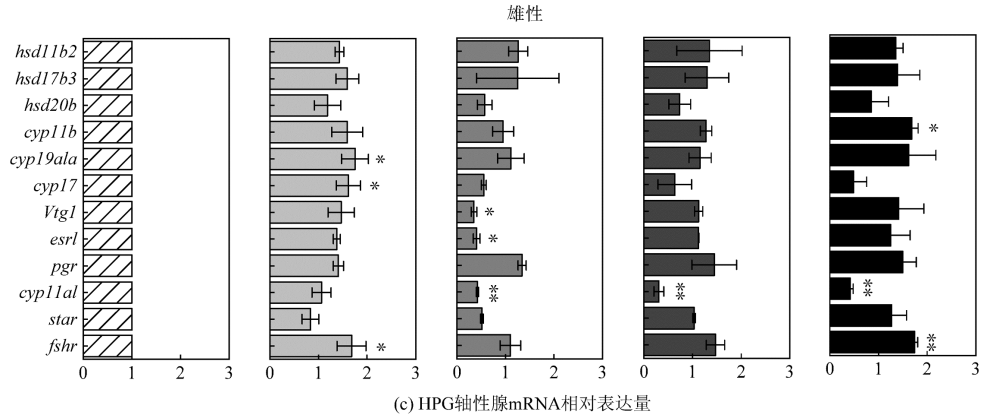


图 6 TCPP 和 RDP 暴露对 HPT 和 HPG 基因 mRNA 相对表达量的影响

Fig.6 Effects of TCPP and RDP exposure on the relative mRNA expression levels of genes involved in HPT and HPG

2.6 TCPP 和 RDP 通过 HPT 轴和 HPG 轴对斑马鱼内分泌毒性的影响机制

上述结果表明,TCPP 和 RDP 暴露对雌鱼 HPT 轴的干扰效应更加显著,且 TCPP 的抑制作用强于 RDP,暗示 TCPP 更易引发雌鱼代谢紊乱.TCPP 和 RDP 通过 HPT 轴和 HPG 轴对斑马鱼内分泌的干扰机制如图 7 所示.HPT 轴是调节个体发育、生长和代谢稳态的重要内分泌通路[49].研究发现,TCPP 和 RDP 暴露引起 T4 水平升高、T3 水平下降,导致 T4/T3 比值上升.T4/T3 变化会通过负反馈机制下调下丘脑中 *crh* 和 *trα* 的表达,进而抑制垂体 *tshβ* 的转录,影响 T3 与 T4 的合成调节过程,以维持甲状腺激素的稳态.同时,T4/T3 比值的升高还会抑制甲状腺激素受体 *trβ* 的表达,进一步造成代谢紊乱.尤其是在 TCPP 高浓度暴露组,雌鱼中 HPT 轴关键基因(*crh*、*trα*、*trβ* 和 *tshβ*)的表达均显著下调,表明 TCPP 对雌鱼 HPT 轴的干扰效应更为强烈.这种干扰可能导致 HPT 轴功能失调,持续引起 T3 与 T4 水平紊乱,最终干扰雌鱼的正常代谢.

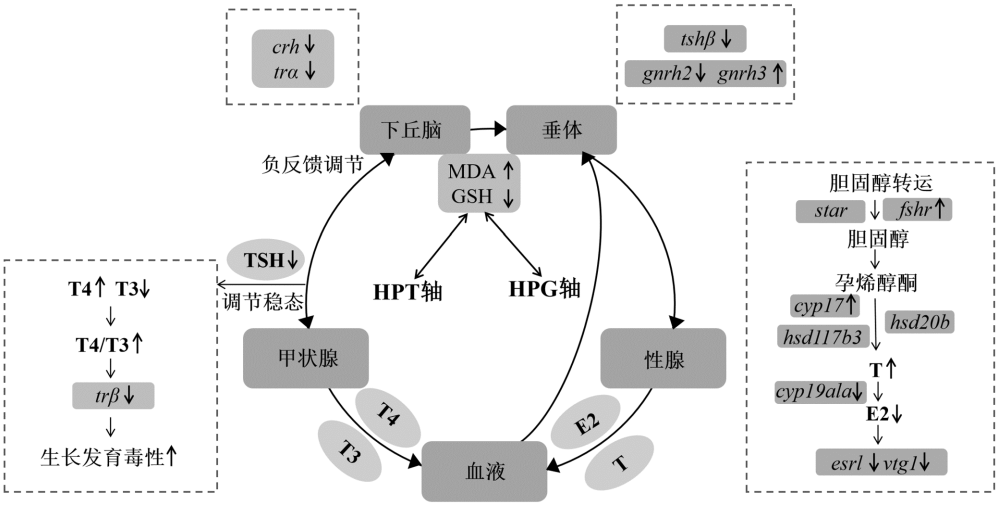


图 7 TCPP 和 RDP 对 HPT 和 HPG 轴的干扰机制

Fig.7 Interference mechanisms of TCPP and RDP on the HPT and HPG axes

HPG 轴关键基因的表达变化与性激素水平密切相关[50].本研究发现,TCPP 和 RDP 暴露显著改变了 HPG 轴关键基因的表达模式,从而影响性激素的合成过程.在性腺组织中,性激素的生物合成起始于 *star* 和 *fshr* 介导的胆固醇转运[51].研究结果显示,*fshr* 在雌/雄斑马鱼中的表达均显著上调,提示 TCPP 和 RDP 暴露可能促进胆固醇在性腺中的转运过程.随后,胆固醇向孕烯醇酮的转化主要由 *cyp17* 催化,这一过程是类固醇激素合成中的限速步骤[19].本研究发现,在 TCPP-L、RDP-L 和 RDP-H 组的雌鱼 *cyp17*

的表达水平显著升高,而其他暴露组中未见显著变化.这表明,TCPP 和 RDP 暴露可能加速胆固醇向孕烯醇酮的转化,从而促进性激素的合成.在雌鱼中,所有暴露组 *cyp19ala* 的表达水平均显著下调,表明该基因可能是 TCPP 和 RDP 干扰 HPG 轴的潜在靶标.*cyp19a1a* 的下调会抑制 T 向 E2 的转化,导致性腺内 E2 含量明显降低,T 水平相应升高,严重扰乱性腺内性激素的合成与转化,进而影响性腺功能.此外,E2 含量下降也可能导致 *Vtg1* 和 *esr1* 表达水平发生显著变化,进一步影响雌鱼的生殖调控功能.

所有暴露组斑马鱼中 MDA 含量显著升高、GSH 含量下降,说明氧化应激水平升高且抗氧化防御系统被削弱,尤其在大脑组织中更为明显,雌鱼受影响程度更大.值得注意的是,氧化应激与 TCPP 和 RDP 诱导的 HPT 轴和 HPG 轴紊乱存在密切双向作用,形成相互加剧的毒性循环[52].过量 ROS 积累可损害下丘脑-垂体功能,抑制相关基因(如 *crh*、*tra*、*tshβ*)的表达,进一步扰乱甲状腺激素合成[53-55];同时,脂质过氧化产物(如 MDA)可干扰性腺类固醇合成过程,影响 *cyp17*、*cyp19a1a* 等酶活性,导致 E2/T 比值失衡[56].

另一方面,HPT 和 HPG 轴功能障碍又会削弱机体的抗氧化能力.T3 水平下降降低抗氧化酶活性,导致 ROS 清除不足[57];而 E2 水平下降则削弱其神经保护和抗氧化能力,加剧了雌鱼对氧化损伤的敏感性[58],形成正反馈循环.

3　结论

3.1　本研究表明,TCPP 和 RDP 暴露均干扰雌/雄斑马鱼的代谢稳态.荧光实时定量分析显示,相较于雄鱼,雌鱼 HPT 轴关键基因(*crh*、*tshβ*)的表达对 TCPP 和 RDP 暴露更为敏感,均显著下调(P<0.05);激素检测显示雌鱼 T3 水平在 TCPP-H、RDP-L 和 RDP-H 组显著下降(P<0.01),T4 水平在 TCPP-L、RDP-L 和 RDP-H 组显著升高(P<0.05),表明雌鱼的代谢稳态受这两种污染物的干扰效应更为显著.

3.2　慢性暴露于 TCPP 和 RDP 可显著抑制斑马鱼大脑 AchE 活性(P<0.01),抑制率为 7.80%~31.31%,其中雌鱼对 TCPP 的响应更为敏感(抑制率 18.47%~31.31%),性别差异明显.此外,两种 OPEs 均可诱导斑马鱼大脑氧化应激,各暴露组 MDA 水平升高 34.37%~166.25%,GSH 含量下降 29.51%~58.64%,提示神经毒性风险,可能进一步损害神经系统功能.

3.3　TCPP 和 RDP 暴露显著扰动雌/雄斑马鱼体内性激素水平,且对雄鱼 HPG 轴的干扰效应和可能造成的后果更为严重.结果显示,雄鱼 E2 水平显著降低(P<0.001),性腺 *cyp19a1a* 基因显著下调(0.40 倍~0.85 倍),高浓度暴露组生精小管结构异常、精子头数量显著增加,RDP-H 组还出现细胞核外泄现象.这表明 TCPP 和 RDP 暴露可能诱发雄性斑马鱼生殖毒性,抑制其生殖功能,从而对种群繁殖能力和生态安全构成潜在威胁.

参考文献：

[1] Xia M, Wang X, Xu J, et al. Tris (1-chloro-2-propyl) phosphate exposure to zebrafish causes neurodevelopmental toxicity and abnormal locomotor behavior [J]. Science of the Total Environment, 2021,758:143694.

[2] Castro-jimenez J, Gonzalez-gaya B, Pizarro M, et al. Organophosphate Ester flame retardants and plasticizers in the global oceanic atmosphere [J]. Environmental Science & Technology, 2016,50(23): 12831-12839.

[3] Chen M H, Ma W L. A review on the occurrence of organophosphate flame retardants in the aquatic environment in China and implications for risk assessment [J]. Science of the Total Environment, 2021,783: 147064.

[4] Wang Y, Sun H, Zhu H, et al. Occurrence and distribution of organophosphate flame retardants (OPFRs) in soil and outdoor settled dust from a multi-waste recycling area in China [J]. Science of the Total Environment, 2018,625:1056-1064.

[5] Wang Q, Zhao H, Bekele T G, et al. Organophosphate esters (OPEs) in wetland soil and Suaeda salsa from intertidal Laizhou Bay, North China: Levels, distribution, and soil-plant transfer model [J]. Science of the Total Environment, 2021,764:142891.

[6] Arukwe A, Carteny C C, Eggen T, et al. Novel aspects of uptake patterns, metabolite formation and toxicological responses in Salmon exposed to the organophosphate esters—Tris(2-butoxyethyl)- and tris(2-chloroethyl) phosphate [J]. Aquatic Toxicology, 2018,196: 146-153.

[7] 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 & Technology, 2011, 45(2):769-775.

[8] Hershman J M, Beck-peccoz P. Discoveries around the hypothalamic-pituitary-thyroid axis [J]. Thyroid: Official Journal of the American Thyroid Association, 2023,33(7):785-790.

[9] Kaprara A, Huhtaniemi I T. The hypothalamus-pituitary-gonad axis: Tales of mice and men [J]. Metabolism: clinical and experimental, 2018,86:3-17.

[10] Neumann A M, Schmidt C X, Brockmann R M, et al. Circadian

regulation of endocrine systems [J]. Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical, 2019,216:1−8.

[11] Hu W, Peng G, Lei W, et al. Endocrine disrupting toxicity of aryl organophosphate esters and mode of action [J]. Critical Reviews in Environmental Science & Technology, 2023,53(1):1−18.

[12] Mcgee S P, Cooper E M, Stapleton H M, et al. Early zebrafish embryogenesis is susceptible to developmental TDCPP exposure [J]. Environmental Health Perspectives, 2012,120(11):1585−1591.

[13] Yuan L, Li J, Zha J, et al. Targeting neurotrophic factors and their receptors, but not cholinesterase or neurotransmitter, in the neurotoxicity of TDCPP in Chinese rare minnow adults (*Gobiocypris rarus*) [J]. Environmental Pollution, 2016,208:670−677.

[14] Marklund A, Andersson B, Haglund P. Screening of organophosphorus compounds and their distribution in various indoor environments [J]. Chemosphere, 2003,53(9):1137−1146.

[15] Lee S, Jeong W, Kannan K, et al. Occurrence and exposure assessment of organophosphate flame retardants (OPFRs) through the consumption of drinking water in Korea [J]. Water Research, 2016,103: 182−188.

[16] Comfort N, Re D B. Sex−specific neurotoxic effects of organophosphate pesticides across the life course [J]. Current Environmental Health Reports, 2017,4(4):392−404.

[17] Wang X, Lu T, Yang B, et al. Exposure to resorcinol bis (diphenyl phosphate) induces colonization of alien microorganisms with potential impacts on the gut microbiota and metabolic disruption in male zebrafish [J]. Science of the Total Environment, 2024,932: 172892.

[18] Liu X, Lu X, Hong J, et al. Effects of long−term exposure to TDCPP in zebrafish (*Danio rerio*) – Alternations of hormone balance and gene transcriptions along hypothalamus−pituitary axes [J]. Animal Models and Experimental Medicine, 2022,5(3):239−247.

[19] Tan T, Yu R M K, Wu R S S, et al. Overexpression and knockdown of hypoxia−inducible factor 1 disrupt the expression of steroidogenic enzyme genes and early embryonic development in zebrafish [J]. Gene Regulation and Systems Biology, 2017,11:1177625017713193.

[20] Crump D, Chiu S, Kennedy S W. Effects of tris(1,3−dichloro−2−propyl) phosphate and tris(1−chloropropyl) phosphate on cytotoxicity and mRNA expression in primary cultures of avian hepatocytes and neuronal cells [J]. Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology, 2012,126(1):140−148.

[21] Ihn Y, Cho Y, Lee Y, et al. Thyroid and sex hormone disrupting effects of DEHTP at different life stages of zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chemosphere, 2024,358:142105.

[22] Bianco A C, Dumitrescu A, Gereben B, et al. Paradigms of dynamic control of thyroid hormone signaling [J]. Endocrine reviews, 2019, 40(4):1000−1047.

[23] Tian D, Yu Y, Yu Y, et al. Tris(2−chloroethyl) phosphate exerts hepatotoxic impacts on zebrafish by disrupting hypothalamic–pituitary–thyroid and gut–liver axes [J]. Environmental Science & Technology, 2023,57(24):9043−9054.

[24] Yu L, Deng J, Shi X, et al. Exposure to DE−71 alters thyroid hormone levels and gene transcription in the hypothalamic–pituitary–thyroid axis of zebrafish larvae [J]. Aquatic Toxicology, 2010,97(3):226−233.

[25] Freitas J, Cano P, Craig−Vetic C, et al. Detection of thyroid hormone receptor disruptors by a novel stable in vitro reporter gene assay [J]. Toxicology *in Vitro*, 2011,25(1):257−266.

[26] Vujovic F, Farahani R M. Thyroid hormones and brain development: a focus on the role of mitochondria as regulators of developmental time [J]. Cells, 2025,14(3):150.

[27] Zhang L, Liu N, Shao J, et al. Bidirectional control of parathyroid hormone and bone mass by subfornical organ [J]. Neuron, 2023, 111(12):1914−1932.e6.

[28] Zha W, Hu W, Ge C, et al. Zebrafish as a model system for studying reproductive diseases [J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2024,12:1481634.

[29] Santhi J J, Issac P K, Velayutham M, et al. Reproductive toxicity of perfluorobutane sulfonate in zebrafish (*Danio rerio*): Impacts on oxidative stress, hormone disruption and HPGL axis dysregulation [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2025,289:110122.

[30] Santhakumar K. Neuroendocrine regulation of reproduction in fish – Mini review [J]. Aquaculture and Fisheries, 2024,9(3):437−446.

[31] Shi X, Wu R, Wang X, et al. Effects of 2,2′,4,4′−tetrabromodiphenyl ether (BDE−47) on reproductive and endocrine function in female zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022,248:114326.

[32] Meng X, Su S, Wei X, et al. Exposure to bisphenol A alternatives bisphenol AF and fluorene−9−bisphenol induces gonadal injuries in male zebrafish [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 253:114634.

[33] Walczak−nowicka Ł J, Herbet M. Acetylcholinesterase inhibitors in the treatment of neurodegenerative diseases and the role of acetylcholinesterase in their pathogenesis [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021,22(17):9290.

[34] Salim S. Oxidative stress and the central nervous system [J]. The journal of pharmacology and experimental therapeutics, 2017,360(1): 201−205.

[35] Rodriguez P, Lopez−landa A, Romo−parra H, et al. Unraveling the ozone impact and oxidative stress on the nervous system [J]. Toxicology, 2024,509:153973.

[36] Li W, Zhu L, Du Z, et al. Acute toxicity, oxidative stress and DNA damage of three task−specific ionic liquids ($[C_2NH_2MIm]BF_4$, $[MOEMIm]BF_4$, and $[HOEMIm]BF_4$) to zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chemosphere, 2020,249:126119.

[37] Cao Z, Zou L, Wang H, et al. Exposure to diclofop−methyl induces immunotoxicity and behavioral abnormalities in zebrafish embryos [J]. Aquatic Toxicology, 2019,214:105253.

[38] Monteiro D A, Almeida J A de, Rantin F T, et al. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2006,143(2):141−149.

[39] Jiang N, Song P, Li X, et al. Dibutyl phthalate induced oxidative stress and genotoxicity on adult zebrafish (*Danio rerio*) brain [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022,424:127749.

[40] Varticovski L, Stavreva D A, Mcgowan A, et al. Endocrine disruptors

of sex hormone activities [J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2022,539:111415.

[41] Hoshi S, Saito N, Kusanagi K, et al. Adjuvant effects of fluoride on oral immunization of chickens [J]. Veterinary immunology and immunopathology, 1998,63(3):253−263.

[42] Shi X, Du Y, Lam P K S, et al. Developmental toxicity and alteration of gene expression in zebrafish embryos exposed to PFOS [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2008,230(1):23−32.

[43] Spaan K, Haigis A C, Weiss J, et al. Effects of 25thyroid hormone disruptors on zebrafish embryos: A literature review of potential biomarkers [J]. Science of the Total Environment, 2019,656:1238−1249.

[44] Baumann L, Holbech H, Schmidt−posthaus H, et al. Does hepatotoxicity interfere with endocrine activity in zebrafish (*Danio rerio*)? [J]. Chemosphere, 2020,238:124589.

[45] Wu K, Yue Y, Zhou L, et al. Disrupting Amh and androgen signaling reveals their distinct roles in zebrafish gonadal differentiation and gametogenesis [J]. Communications Biology, 2025,8(1):371.

[46] 钟　圳,陈肇文,王有基,等.微纳米塑料和有机磷阻燃剂的联合毒性效应研究进展 [J]. 生态毒理学报, 2022,17(6):37−68.
Zhong Z, Chen Z, Wang Y J, et al. Research progress on the combined toxic effects of micro− and nanoplastics and organophosphorus flame retardants [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022,17(6):37−68.

[47] Wang Q, Lam J C W, Man Y C, et al. Bioconcentration, metabolism and neurotoxicity of the organophorous flame retardant 1,3−dichloro 2−propyl phosphate (TDCPP) to zebrafish [J]. Aquatic Toxicology, 2015,158:108−115.

[48] Liu X, Ji K, Choi K. Endocrine disruption potentials of organophosphate flame retardants and related mechanisms in H295R and MVLN cell lines and in zebrafish [J]. Aquatic Toxicology, 2012, 114−115:173−181.

[49] Freitas J S, Kupsco A, Diamante G, et al. Influence of temperature on the thyroidogenic effects of diuron and its metabolite 3,4−DCA in tadpoles of the American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) [J]. Environmental Science & Technology, 2016,50(23):13095−13104.

[50] 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 nonylphenol ethoxylate on gene expression related to the hypothalamic−pituitary gonadal axis in adult male zebrafish [J]. China Environmental Science, 2018,38(8):3135−3142.

[51] Zhang W, Sheng N, Wang M, et al. Zebrafish reproductive toxicity induced by chronic perfluorononanoate exposure [J]. Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands), 2016,175:269−276.

[52] Halliwell B, Gutteridge J M C. Free radicals in biology and medicine [M]. Oxford University Press, 2015:607−672.

[53] Niu L, Zhang Z, Zhang K, et al. Thyroid disruption and the association with multi−toxicity endpoints in zebrafish embryos exposed to hymexazol [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2025,302:118697.

[54] Gaillard R C. Interaction between the hypothalamo−pituitary−adrenal axis and the immunological system [J]. Annales d'endocrinologie, 2001,62(2):155−163.

[55] Huang Y, Cai H, Han Y, et al. Mechanisms of heat stress on neuroendocrine and organ damage and nutritional measures of prevention and treatment in poultry [J]. Biology, 2024,13(11):926.

[56] Lombó M, Herráez P. The effects of endocrine disruptors on the male germline: an intergenerational health risk [J]. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society, 2021,96(4):1243−1262.

[57] Mancini A, Di Segni C, Raimondo S, et al. Thyroid hormones, oxidative stress, and inflammation [J]. Mediators of inflammation, 2016,2016:6757154.

[58] Behl C, Moosmann B. Antioxidant neuroprotection in Alzheimer's disease as preventive and therapeutic approach [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2002,33(2):182−191.

作者简介：苏可欣(2002−),女,甘肃平凉人,南京大学博士研究生,主要从事环境毒理学研究.发表论文 1 篇.652024250003@smail.nju.edu.cn.