

有机磷农药类雌/抗雄激素效应研究进展

Research progress of estrogenic/anti-androgenic activity induced by organophosphorus pesticides

王汝平¹, 王 军¹, 孙长青², 汝少国¹

(1. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 中国海洋大学 环境科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2014)12-0128-08
doi: 10.11759/hyxx20140225001

有机磷农药是世界范围内使用最广、用量最大的高效广谱杀虫剂之一^[1], 产量占我国农药总产量的40%以上^[2]。农药的使用量中只有不到1%能对靶生物起作用, 大部分漂浮在空气或残留在土壤中, 并通过降雨、沉降和径流进入河流湖泊造成水体污染。2010年我国珠江河口流域水体中有机磷农药检测浓度范围为18.76~344.94 ng/L, 其中甲拌磷已接近人类可接受范围的临界点^[3]。此外, 邕江、桑沟湾海域、厦门近海等^[4-6]多个水域均检出有机磷农药, 可见有机磷农药对水环境质量和人体健康具有潜在的风险。

近年来的研究表明, 环境背景浓度的有机磷农药长期暴露, 除了能导致大鼠胰腺^[7]和硬骨鱼类肝胰脏等^[8]发生氧化性损伤外, 还能够发挥类雌/抗雄激素效应, 扰乱睾酮、雌二醇等激素的分泌, 诱发生殖毒性。例如, 李赟^[9]报道了久效磷暴露诱导雄性孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)性腺睾酮水平下降, 雌二醇水平升高; 进而导致雄鱼交配器长度和精子数均显著降低, 出现第二性征雌性化, 降低了雄鱼的繁殖成功率。在马拉硫磷、二嗪农对硬骨鱼类^[10-11]及甲基对硫磷对大鼠^[12]的研究中也有类似报道。目前有机磷农药的类雌激素效应研究较为深入, 而其抗雄激素效应的相关研究还处于起步阶段。本文对有机磷农药的类雌/抗雄激素效应进行了综述。

1 有机磷农药的类雌激素效应及其机制

1.1 有机磷农药类雌激素效应

目前在体内、体外筛选实验中, 至少10种有机磷农药表现出类雌激素效应(表1)。有机磷农药发挥类雌激素效应, 能够诱导17 β -雌二醇(17 β -estradiol,

E₂)、睾酮(testosterone, T)和11-酮基睾酮(11-ketotestosterone, 11-KT)等性激素水平失衡, 从而导致生殖毒性, 包括改变第二性征、影响生殖器官功能、降低生殖细胞质量等。研究表明, 15 mg/kg 乐果使雄性大鼠睾丸内T水平下降近50%^[21]; 甲拌磷(35, 50 mg/kg)暴露30 d导致雄性大鼠睾丸质量减轻, 曲细精管直径、睾丸内生殖细胞和支持细胞数量均显著下降^[22]。马拉硫磷能够显著抑制雌性黄鳝(*Monopterus albus*)卵巢芳香化酶活性, 造成T和E₂水平紊乱^[23], 最终导致其卵巢退化^[24]。二嗪农^[25]对蓝鳃太阳鱼(*Lepomis macrochirus*)、久效磷^[26]对斑马鱼(*Danio rerio*)的影响研究也得到了相似的结果。同时, 有机磷农药还能够导致雌激素受体(estrogen receptors, ERs)等相关基因表达水平的上调。例如, 乐果暴露能够诱导雄性大鼠脑、肝脏的ER α 、ER β mRNA表达水平极显著升高^[27]。

具有类雌激素效应的有机磷农药能够通过扰乱性激素平衡, 导致雄性生殖能力下降; 对于雌性, 则会造成床前胚胎丢失率、自然流产率上升, 对繁殖产生不利影响。Amina等^[28]以乐果(7, 15, 28 mg/(kg·d))染毒雄性小鼠20 d后与雌鼠交配, 结果显示雄性交配指数、生育指数均显著降低, 研究认为T水平下降以及贮精囊、前列腺等器官损伤是导致雄性性欲降低、生殖力下降的直接原因。同样, 二嗪农能够降低

收稿日期: 2014-02-25; 修回日期: 2014-05-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31101905)

作者简介: 王汝平(1988-), 女, 山东青岛人, 硕士研究生, 主要从事内分泌扰乱化学物质研究, 电话: 13864277334, E-mail: wrp.123.w@163.com; 汝少国, 通信作者, 教授, 博士生导师, 从事污染生态学, E-mail: rusg@ouc.edu.cn

表 1 发挥类雌激素效应的有机磷农药

序号	农药名称	实验材料	效应	参考文献
1	杀螟威(Chlorfenvinphos)	人类乳腺癌上皮细胞	具有弱类雌激素效应	[13]
2	二嗪农(Diazinon)	大鼠垂体 MtT/S 细胞	具有类雌激素效应	[14]
3	乐果(Dimethoate)	人类乳腺癌上皮细胞	具有类雌激素效应	[15]
4	甘草磷(Glyphosphate)	人绒毛膜癌 JEG3 细胞	具有类雌激素效应	[16]
5	马拉硫磷(Malathion)	小鼠子宫增重实验	引起小鼠子宫内膜上皮细胞高度和基质层厚度的增加, 具有类雌激素效应	[17]
6	久效磷(Monocrotophos)	金鱼	通过上调芳香化酶、FSH- β mRNA 表达, 提高雌二醇浓度, 降低睾酮浓度, 发挥类雌激素效应	[18]
7	对硫磷(Parathion)	人类乳腺癌上皮细胞	具有类雌激素效应	[15]
8	丙硫磷(Prothiophos)	大鼠垂体 MtT/S 细胞	具有类雌激素效应	[14]
9	甲基立枯磷(Tolclofos-methyl)	人类乳腺癌上皮细胞	具有类雌激素效应	[19]
10	喹硫磷(Quinalphos)	中国仓鼠卵巢细胞	与 ER α 结合, 具有类雌激素效应	[20]

雄性大西洋鲑(*Salmo salar*)血浆 T 含量, 抑制雄鱼对前列腺素 F2 α 的反应性, 从而减弱雄性生殖力^[29]。28 mg/kg 乐果引起着床所依赖的雌激素、孕激素比例失衡, 进而导致小鼠床前胚胎丢失率显著升高^[30]。

有机磷农药还能够通过发挥类雌激素效应影响硬骨鱼类的性别分化。鱼类的性别决定受多方面的调控, 主要可分为基因型性别决定和环境型性别决定^[31]。研究表明, 鱼类的性别决定主要受发育的关键窗口时期胚胎所处的激素环境影响^[32], 因而环境内分泌干扰物自鱼类发育早期开始暴露, 能够在一定程度上影响其性别分化方向。Zhang 等^[33]以 0.001, 0.010 和 0.100 mg/L 久效磷农药(40%水溶性制剂)自受精卵起暴露斑马鱼(*Danio rerio*)至 40 dph, 结果发现久效磷农药能够导致斑马鱼性比偏雌性化, 0.100 mg/L 暴露组雌性个体比例高达 71%, 这是由于久效磷农药通过促进卵巢分化相关转录因子 *foxl2* 基因表达, 并抑制精巢分化相关转录因子 *dmrt1* 基因表达, 上调性腺芳香化酶表达, 从而直接促进斑马鱼卵巢的分化, 导致其性比向雌性偏离; 久效磷农药还能够上调脑芳香化酶基因, 间接通过 HPG 轴的调控作用, 进一步导致斑马鱼雌性化。但这方面的研究由于实验设计、有机磷农药类型、实验物种等方面的差异, 所得结果不尽一致^[34]。例如, Tian 等^[35]研究报道, 孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)自出生至成年暴露于久效磷农药(0.01, 0.1 mg/L), 性别比例没有变化, 推测原因在于性别分化的敏感度在不同物种间存在一定差异。

1.2 有机磷农药类雌激素效应机制

1.2.1 干扰性激素的合成与转化

性激素的合成转化过程是在细胞的线粒体和滑

面内质网中以胆固醇为底物进行的一系列酶促反应, 该过程的主要限速步骤主要有: 需要类固醇激素合成急性调节蛋白(steroidogenic acute regulatory protein, StAR)将合成底物胆固醇从线粒体外膜运送至线粒体内膜的转运过程; 胆固醇侧链裂解酶(cholesterol side chain cleavage enzyme, CYP11A1)和 17 α 羟化酶(cytochrome P450 17 α -hydroxylase, CYP17)催化胆固醇向 T 转化的过程; 性腺芳香化酶 P450 (cytochrome P450 aromatase, CYP19A)负责催化 T 芳构化为 E₂ 的过程, 以及 11 β -羟化酶催化 T 向 11 β -羟基睾酮转化的过程; 最后由 11 β -羟类固醇脱氢酶 II(11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type II, 11 β -HSD2)作用生成 11-KT^[36]。研究认为 StAR、CYP11A1、CYP17、CYP19A 等均可作为环境雌激素发挥作用的主要靶位点^[37]。

有机磷农药可以通过干扰性腺中 StAR 活性或 StAR mRNA 表达水平, 影响胆固醇被转运至线粒体内膜, 导致性激素合成底物的减少, 使性激素合成水平急剧下降或性激素合成途径中断; 也可以诱导类固醇生成酶例如 17 β -羟类固醇脱氢酶(17 β -hydroxysteroid dehydrogenase, 17 β -HSD)、P45017 α 和 P450arom 等基因表达的上调或下调, 使酶活性的增强或减弱, 最终升高或降低机体的性激素水平, 影响机体正常的生殖功能。例如, 50 μ g/mL 乐果暴露 MA-10 小鼠睾丸间质瘤细胞 2~4 h, 导致 StAR mRNA 表达水平显著降低, 从而使进入线粒体内膜的胆固醇含量降低, T 合成量显著下降^[38]。Bagchi 等^[39]证明, 喹硫磷能够抑制胡鲇(*Clarias batrachus*)性激素合成过程中 3 β -HSD、17 β -羟类固醇脱氢酶(17 β -hydroxysteroid dehydrogenase, 17 β -HSD)的活性, 从而使雄激素合成过程受阻, 发挥类雌激素效应。本实验室研究证明, 40%久效磷农药诱导

雄性金鱼(*Carassius auratus*)性腺 *CYP19A* mRNA 表达量升高,促进了 T 向 E_2 的转化,从而引发一系列生殖毒性。此外,金鱼性腺中 *StAR*、*P450scc*、*3 β -HSD*、*P450c17*、*P45011 β* 、*11 β -HSD2* mRNA 表达水平受到抑制,而 *20 β -HSD*、*17 β -HSD1* mRNA 表达水平则上调,说明有机磷农药发挥类雌激素效应可能通过影响性激素合成过程中多种关键酶的表达水平,导致血浆性激素含量的变化^[40-41]。

此外,部分有机磷农药能够模仿内源性激素与相应受体(包括雄激素受体、雌激素受体)结合,形成配体受体复合物,随后结合到细胞核 DNA 结合域的雌激素反应元件上从而影响靶基因的转录,进而扰乱一系列激素依赖性生理过程^[42]。

1.2.2 影响 HPG 轴对性激素的调控

性激素的合成过程还受到下丘脑-垂体-性腺轴(HPG 轴)的影响,其中垂体分泌的两种促性腺激素(gonadotropic hormones, GtHs): 卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)和促黄体激素(luteinizing hormone, LH)均能促进性类固醇激素的合成过程^[43];而下丘脑分泌的促性腺激素释放激素(Gonadotropin-Releasing Hormone, GnRH)对于 GtHs 的分泌具有调节作用。因此,有机磷农药可通过干扰 GtHs、GnRH 分泌改变性激素的水平;反之也可通过反馈作用调节 GtHs、GnRH 的释放。例如 Laura 等^[44]发现,二嗪农能够通过干扰蓝鳃太阳鱼(*L. macrochirus*)的 HPG 轴,降低促性腺激素 GtHs 的生成,进而抑制卵巢中雌激素的合成。27 mg/kg 马拉硫磷使雄性大鼠下丘脑 GnRH 含量显著降低,导致血浆 FSH、LH 水平下降,最终抑制的 T 合成,引起精子数量下降、能动性减弱等生殖毒性^[45];马拉硫磷对印度囊鳃鲶(*Heteropneustes fossilis*)也具有类似的影响^[46]。

2 有机磷农药的抗雄激素效应及其机制

2.1 有机磷农药抗雄激素效应

目前在体内筛选实验中表现出抗雄激素效应的有机磷农药见表 2。有机磷农药发挥抗雄激素效应能够降低机体 T 合成量,而 T 在雄性的生长发育中起着决定性作用,可促进其第二性征出现、生殖器官发育并维持正常功能;睾酮合成量受到影响最终会导致雄性精子数量、质量下降,前列腺、储精囊等器官重量减轻^[51],并干扰雄激素依赖性分化进程^[52]。Viswanath 等^[47]报道,毒死蜱、哌草磷能够影响性激素合成过程中的关键酶(*P450scc*、*3 β -HSD*、*17 β -HSD*)的 mRNA 表达量,导致 Leydig 细胞睾酮合成量显著降低。Joshi 等^[53]以 30 mg/kg 甲基对硫磷暴露 SD 大鼠 30 d,暴露组大鼠睾丸、附睾、储精囊和前列腺等雄激素依赖器官的质量较对照组分别下降了 33.75%、9.89%、0.34%、11.72%。大鼠 Hershberger 实验表明,甲基毒死蜱在单独使用时并不表现出抗雄激素效应,但 50 mg/kg 甲基毒死蜱与丙酸睾酮(testosterone propionate, TP)联合暴露时,大鼠的前列腺、储精囊等器官重量显著下降,证明甲基毒死蜱可通过拮抗 TP 的雄激素活性,发挥了抗雄激素效应^[54]。此外,雄激素(T、11-KT)具有调控雄激素受体(androgen receptor, AR)表达水平与功能的作用^[55]。研究证明抗雄激素能够通过下调雄激素含量,导致肝脏、性腺等器官 AR 表达水平下降。例如,敌敌畏暴露导致仔鼠阴茎皮肤组织中 AR mRNA 表达水平显著降低^[56]。另外,环境抗雄激素黑名单中的利谷隆等也具有类似的作用^[57]。

表 2 发挥抗雄激素效应的有机磷农药

序号	农药名称	实验材料	效应	参考文献
1	毒死蜱(Chlorpyrifos)	NIH3T3 细胞荧光素酶报告基因实验	拮抗睾酮介导的雄激素活性	[47]
2	敌敌畏(Dichlorvos)	中国仓鼠卵巢细胞	与甲雄三烯醇酮(R1881)竞争 AR, 对 R1881 产生拮抗作用	[48]
3	杀螟硫磷(Fenitrothion)	体外雄激素受体的重组酵母实验	与雄激素二氢睾酮(DHT)共同作用时竞争 AR, 对 DHT 产生拮抗作用	[49]
4	倍硫磷(Fenthion)	NIH3T3 细胞荧光素酶报告基因实验	拮抗 DHT 介导的雄激素活性	[50]
5	甲基对硫磷(Methyl parathion)	中国仓鼠卵巢细胞	拮抗 DHT 介导的雄激素活性	[20]
6	哌草磷(Piperophos)	NIH3T3 细胞荧光素酶报告基因实验	拮抗睾酮介导的雄激素活性	[47]

有机磷农药发挥抗雄激素效应,能够影响雄性生殖行为,导致雄性性欲降低;暴露妊娠大鼠会对其产下的子代雄性产生不利影响。杀螟硫磷暴露雄性三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)26 d,能够导致受雄激素调控的肾 spiggin 胶蛋白浓度下降,影响三刺鱼的筑巢和求偶行为^[58]。0.2 µg/mL 毒死蜱暴露孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)3 d,能够显著降低雄性孔雀鱼性欲,减少交配次数;使雌性产仔数和子代存活率下降,说明毒死蜱作为抗雄激素影响了孔雀鱼的繁殖^[59]。Turner 等^[60]则证明,杀螟硫磷暴露妊娠大鼠,导致产下的雄性子代大鼠出现生殖道发育异常,表现为肛门到生殖器距离缩短,从而影响子代大鼠的生殖能力。

由于有机磷农药抗雄激素效应的研究还处于起步阶段,其发挥抗雄激素效应所引起的生殖毒性以及对子代的影响等方面远不及类雌激素效应研究的深入,并且该领域大多以大鼠、小鼠为实验材料,缺乏硬骨鱼类、鸟类等物种的相关资料。另外,有研究认为同一种 EDCs 可能对雄/雌性产生不同的内分泌干扰效应。例如,氰戊菊酯对雄性大鼠血清 E_2 含量无影响,但能极显著降低血清和睾丸的 T 含量,抑制精子发生^[61-62]。沈苏南^[63]则发现,氰戊菊酯暴露导致雌性大鼠血浆 E_2 含量显著上升, T 浓度无显著性差异,则氰戊菊酯对雌性大鼠可能存在类雌激素效应。杀螟硫磷、咪鲜胺等对雄/雌性大鼠的暴露实验也得到了类似的结论^[64-65]。但是此类研究在有机磷农药中开展较少,需要拓展探究。

2.2 有机磷农药抗雄激素效应可能机制

目前较为公认的环境抗雄激素大多通过影响 AR 信号通路来发挥作用。AR 属于核受体超家族中的类固醇受体,由四个结构域组成: N 端转录激活区(NTD)、DNA 结合区(DBD)、铰链区以及配体结合区(LBD)^[66-67]。通常 LBD 与热休克蛋白连接,雄激素进入靶细胞后在胞浆内作为配体与 AR 结合,使 AR 构型改变并解离热休克蛋白,从而增高与 DNA 亲和力(亦称作受体活化)。研究认为具有抗雄激素效应的有机磷农药,例如敌敌畏、毒死蜱、呋草磷等均与 AR 呈现一定的亲和力^[47-48],在不引起细胞毒性的情况下对 AR 表现出拮抗作用,阻止体内雄激素与 AR 结合,抑制靶基因表达发挥抗雄激素效应。环境抗雄激素与 AR 结合所引起的构型改变与正常的构型改变存在差异,这种差异抑制了 AR 的活化,使 AR 无

法进入细胞核内与 DNA 结合,导致相关基因的转录翻译无法进行^[68-69]。

正常情况下,经过活化的 AR 会转移到细胞核内,在一系列共调节因子作用下以头对头或头对尾方式形成同源二聚体,识别靶基因上的相关应答元件并与之结合,进而诱导转录活化、基因表达,促进性分化和性发育^[70-73]。在调控靶基因转录过程中,AR 需通过共调节因子并发生蛋白质-蛋白质相互作用,才能有效地影响转录。Kelce 等^[74]认为环境抗雄激素可以通过影响共调节因子导致靶基因转录下调,例如烯菌酮(vinclozolin, V)和二氯二苯三氯乙烷(1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene, p, p'-DDE)在机体内均能抑制由雄激素调节的 prostateinsubunit C3 基因表达,但是有机磷农药这方面的研究较为少见。

环境抗雄激素还可以影响 HPG 轴中某些环节的激素合成、分泌、激活、代谢来发挥作用。例如,硫丹、氰戊菊酯暴露能通过抑制大鼠睾丸中 17β -HSD、 3β -HSD 表达量影响 T 的合成^[75-76]。另有研究证明,甲基对硫磷能显著降低长尾鸬鹚血浆中 FSH、LH、T 的水平,并引起生殖腺重量下降、曲细精管直径减小等生殖毒性,这主要是由于甲基对硫磷通过降低 HPG 轴中 GtHs 的分泌,抑制性类固醇激素合成过程,导致 T 水平下降引发生殖毒性,发挥抗雄激素效应^[77]。类固醇激素在水中的溶解度较小,其转运过程依赖于运载蛋白,如睾酮需有睾酮结合球蛋白和白蛋白两者运输才能到达靶细胞^[70]。因此,影响相关运载蛋白也可以导致雄激素的分布和代谢发生改变,从而产生抗雄激素作用,但是在有机磷农药中这方面的相关研究较少。

3 展望

3.1 开发新的生物标志物,筛选具有抗雄激素效应的有机磷农药

环境中的有机磷农药多以低剂量形式存在,开发灵敏度高、特异性强的生物标志物检测抗雄激素类物质具有重要意义。近年来,睾丸抑制前列腺信使 2(TRPM-2)、附睾 aquaporin9(AQP9)蛋白、芳香化酶等受雄激素调控的基因和蛋白成为潜在抗雄激素生物标志物^[78-79]。然而,有研究发现,这几种指标在不同的实验生物中对抗雄激素类物质的反应存在一定差异。例如, p, p'-DDE 暴露大鼠,能诱导芳香化酶蛋白显著增加,但在大鼠肝细胞实验中并没有得到类似的结果^[79]。因此,今后需要大量研究验证以上潜在

抗雄激素生物标志物在不同物种中引起的反应是否一致, 是否能够达到理想检测敏感度, 以及是否比现有的生物标志物(spiggin 蛋白、 $6\alpha/15\alpha$ -羟化酶比值)具有更广泛的应用范围等。

3.2 从多个层面探究有机磷农药的抗雄激素效应机制

在有机磷农药的抗雄激素效应机制的研究中, 研究者侧重于由雄激素受体信号通路介导的抗雄激素效应机制, 其他机制的研究相对较少。因此, 可以借鉴类雌激素机制的研究思路, 重点探究有机磷农药作为环境抗雄激素对 HPG 轴的影响以及对激素合成、转运的干扰。另外, 部分有机磷农药在不同实验条件下会表现出不同的内分泌干扰效应。例如, 杀螟硫磷在雄性大鼠的体内实验中发挥抗雄激素效应, 且在体外实验中能够竞争结合 AR^[80-81], 但单晓英等^[82]发现, 杀螟硫磷能够导致雌性大鼠子宫明显增重, 而大鼠子宫增重实验是评价化学物具有雌激素活性的经典方法之一^[83], 推测杀螟硫磷具有潜在的类雌激素效应。可见, 同一种有机磷农药在不同物种、不同性别、不同剂量的实验条件下所发挥的内分泌干扰效应差异较大。因此, 在进行有机磷农药的抗雄激素效应研究的过程中应当体内、体外实验相结合, 选用分子、蛋白、器官、个体等多个层面的指标对作用条件及机制进行探索。

3.3 以对内分泌系统的研究为基础, 探究与生殖系统、神经系统的相互影响

有机磷农药作为类雌/抗雄激素对机体内分泌功能具有直接的扰乱作用, 然而其对内分泌系统的作用会间接导致对生殖细胞、生殖器官的毒性效应, 并最终导致机体的生殖能力下降。另外有研究证明, 有机磷农药暴露能够抑制机体包括下丘脑在内的多个脑部部位的乙酰胆碱酯酶活性^[84-85], 下丘脑是机体 HPG 轴中重要的一环, 其分泌的 GnRH 对 GtHs、T、E₂ 等激素具有调节作用, 说明有机磷农药的内分泌干扰效应与其神经毒性存在一定联系。因此, 研究有机磷农药的类雌、抗雄激素效应可将内分泌系统、生殖系统、神经系统相结合, 明确各系统间的相互作用, 以便对其作用机制做出更为全面的阐释。

参考文献:

[1] Singh B K, Walker A. Microbial degradation of organophosphorus compounds[J]. FEMS Microbiol Rev, 2006,

30: 428-471.

- [2] 李钦云, 赵玲玲. 有机磷农药对食品的污染及防治[J]. 工业卫生与职业病, 2005, 31(4): 260-263.
- [3] 杨璇. 珠江河口水体常见有机磷农药污染现状及风险评估[D]. 广州: 暨南大学, 2011.
- [4] 田艳, 廖平德, 邓超冰, 等. 邕江南宁段和南宁城市内河中的有机磷农药调查[J]. 广西科学院学报, 2012, 28(3): 216-218.
- [5] 白红研, 韩彬, 孙丕喜, 等. 桑沟湾水体及沉积物中有机磷农残时空分布特征. 海洋科学, 2013, 37(1): 54-61.
- [6] 李永玉, 洪华生, 王新红, 等. 厦门海域有机磷农药污染现状与来源分析[J]. 环境科学学报, 2005, 25(8): 1071-1077.
- [7] Gokalp O, Buyukvanl B, Cicek E, et al. The effects of diazinon on pancreatic damage and ameliorating role of vitamin E and vitamin C[J]. Pest Biochem Physiol, 2005, 81: 123-128.
- [8] Dogan D, Can C, Kocyigit A. Dimethoate-induced oxidative stress and DNA damage in *Oncorhynchus mykiss*[J]. Chemosphere, 2011, 84(1): 39-46.
- [9] 李赞. 久效磷对孔雀鱼(*Poeciliareticulata*)性征的影响[M]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
- [10] Singh P B, Singh T R. Impact of malathion and γ -BHC on steroidogenesis in the freshwater catfish[J]. Aquat Toxicol, 1992, 22: 69-79.
- [11] Maxwell L B, Dutta H. Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, *LePomis macrochirus*[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2005, 60: 21-27.
- [12] Narayana K, Prashanthi N, Nayanatara A. A broad-spectrum organophosphate pesticide O, O-dimethyl O-4-nitrophenylphosphorothioate (methyl parathion) adversely affects the structure and function of male accessory reproductive organs in the rat[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2006, 22: 315-324.
- [13] Vinggaard A, Breinholt V, Larsen J C. Screening of selected pesticides for oestrogen receptor activation in vitro[J]. Food Addit. Contam, 1999, 16: 533-542.
- [14] Manabe M, Kanda S, Fukunaga K, et al. Evaluation of the estrogenic activities of some pesticides and their combinations using MtT/Se cell proliferation assay[J]. Int J Hyg Environ Health, 2006, 209: 413-421.
- [15] 卢锋, 乔玲. 有机磷农药环境雌激素样的作用[J]. 解放

- 军预防医学杂志, 2004, 22(5): 338-340.
- [16] Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, et al. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase[J]. Environ Health Perspect, 2005, 113: 716-720.
- [17] 郑光, 周志俊, 戴旭峰, 等. 用 MCF-7 细胞检测有机磷农药拟雌激素样活性[J]. 中国工业医学杂志, 2004, 17(5): 273-276.
- [18] Hua Tian, Shaoguo Ru. Effects of monocrotophos on the reproductive axis in the female goldfish(*Carassius auratus*)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 2010, 152: 107-113.
- [19] Grunfeld HT, Bonefeld-Jorgensen EC. Effect of in vitro estrogenic pesticides on human estrogen receptor alpha and beta mRNA levels[J]. Toxicol Lett, 2004, 151: 467-480.
- [20] Hiroyuki Kojima, Eiji Katsura, Shinji Takeuchi. Screening for estrogen and androgen receptor activities in 200 Pesticides by in vitro reporter gene assays using chinese hamster ovary cells[J]. Environmental Health Perspectives, 2004, 112(5): 524-531.
- [21] Mariana Astiz, Graciela E, Hurtado de Catalfo. Involvement of lipids in dimethoate induced inhibition of testosterone biosynthesis in rat interstitial cells[J]. Lipids, 2009, 44(8): 703-718.
- [22] Ram Bahadur Kuwar, Chandra Bhusan Jha, Ajit Kumar Saxena. Effect of phosphamidon on the testes of albino rats: a histological study[J]. Nepal Med Coll J, 2006, 8(4): 224-226.
- [23] Hanuman S. Effects of malathion on steroidogenesis and sex reversal in *Monopterus albus*[J]. Marine Environmental Research, 1993, 35(1-2): 159-164.
- [24] Hanuman S. Interaction of xenobiotics with reproductive endocrine functions in a protogynous teleost, *Monopterus albus*[J]. Responses of Marine Organisms to Pollutants, 1989, 28(1-4): 285-289.
- [25] Dutta H M, Maxwell L B. Histological examination of sublethal effects of diazinon on ovary of bluegill, *Lepomis macrochirus*[J]. Environmental Pollution, 2003a, 121: 95-102.
- [26] 史清毅. 久效磷对斑马鱼(*Danio rerio*)世代繁殖的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [27] Astiz M, Acas-Fonseca E, Garcia-Segura LM. Sex differences and effects of estrogenic compounds on the expression of inflammatory molecules by astrocytes exposed to the insecticide dimethoate[J]. Neurotox Res, 2014, 25(3): 271-285.
- [28] Amima T Faraga, Ahmed F El-Aswad, Nasra A Shaaban. Assessment of reproductive toxicity of orally administered technical dimethoate in male mice[J]. Reproductive Toxicology, 2007, 23(2): 232-238.
- [29] Moore A, Waring C P. Sublethal effects of the pesticides diazinon on olfactory function in mature male Atlantic almonparr[J]. Fish Biol, 1996, 48(4): 758-775.
- [30] Mahadevaswami M P, Kaliwal B B. Effect of dimethoate administration schedules on compensatory ovarian hypertrophy follicular dynamics and estrous cycle in hemicastrated mice [J]. J Basic Clin Physiol Pharmacol, 2002, 13(3): 225-248.
- [31] 杨洁, 吴宏达, 范兆廷. 鱼类性别决定机制的研究进展[J]. 渔业经济研究, 2007, 3: 14-19.
- [32] Piferrer F, Donaldson E M. The comparative effectiveness of the natural and a synthetic estrogen for the direct feminization of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. Aquaculture, 1992, 106(2): 183-193.
- [33] Xiaona Zhang, Lei Gao. Monocrotophos pesticide modulates the expression of sexual differentiation genes and causes phenotypic feminization in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 2013, 157: 33-40.
- [34] Khafizyanova R K, Burykin I M, Aleeva G N, et al. Effect of dimephosphone(monophosphonate) on the course of pregnancy and fetal development in rats[J]. Bull Exp Biol Med, 2004, 137(4): 375-378.
- [35] Hua Tian, Yun Li, Wei Wang, et al. Exposure to monocrotophos pesticide during sexual development causes the feminization/demasculinization of the reproductive traits and a reduction in the reproductive success of male guppies (*Poecilia reticulata*) [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2012, 263(2): 163-170.
- [36] Zhang W L, Zhou L Y, Senthikumar B, et al. Molecular cloning of two isoforms of 11β -hydroxylase and their expressions in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. General and Comparative Endocrinology, 2010, 165: 34-41.
- [37] Ankley G T, Cavallin J E, Durhan E J, et al. A time-course analysis of effects of the steroidogenesis inhibitor ketoconazole on components of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis of fathead minnows [J]. Aquatic Toxicology, 2012, 114(115): 88-95.
- [38] Walsh L P, Webster D R, Stocco D M. Dimethoate inhibits steroidogenesis by disrupting transcription of

- the steroidogenic acute regulatory(StAR) gene[J]. J.Endocrinol, 2000, 167: 253-263.
- [39] Bagchi P. Effect of quinalphos, organophosphorus insecticide, on testicular steroidogenesis in fish, *Clarias batrachus*[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1990, 44(6): 871-875.
- [40] Hua Tian, Shaoguo Ru. Effects of monocrotophos on the reproductive axis in the male goldfish (*Carassius auratus*): Potential mechanisms underlying vitellogenin induction[J]. Aquatic Toxicology, 2010, 98: 67-73.
- [41] 王慧. 久效磷农药对雄性金鱼(*Carassius auratus*)性激素合成与转化的影响机制研究[M]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [42] Jobling S, Reynolds T, Willte R. A variety of environmental Persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic[J]. Environ Health Perspect, 1995, 103(6): 582-587.
- [43] Josep V Planas, Jaime Athos. Regulation of ovarian steroidogenesis in vitro by follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone during sexual maturation in salmonid fish[J]. Biology of Reproduction, 2000, 62: 1262-1269.
- [44] Laura B M, Dutta H M. Diazinon-induced endocrine disruption in bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2005, 60: 21-27.
- [45] Fatma Gokce Uzun, Suna Kalender, Dilek Durak. Malathion induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E [J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(8): 1903-1908.
- [46] Singh H, Singh T P. Effect of some pesticides on hypothalamo- hypophyseal-ovarian axis in the freshwater catfish, *Heteropneustes fossilis*(Bloch)[J]. Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological, 1982, 27(4): 283-288.
- [47] Gunda Viswanath. Anti-androgenic endocrine disrupting activities of chlorpyrifos and piperophos Journal of Steroid[J]. Biochemistry & Molecular Biology, 2010, 120: 22-29.
- [48] Andersen H R, Cook S J, Waldbillig D. Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity and aromatase activity in vitro[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2002, 179: 1-12.
- [49] Sohoni P, Lefevre P A, Ashby J. Possible androgenic/anti-androgenic activity of the insecticide fenitrothion[J]. Appl Toxicol, 2001, 21(3): 173-178.
- [50] Shigeyuki K, Suzuki T, Ohta S. Antiandrogenic activity and metabolism of the organophosphorus pesticide fenthion and related compounds[J]. Environ Health Perspect, 2003, 111(4): 503-508.
- [51] Saumen Kumar Maitra. Testicular functions and serum titers of LH and testosterone in methyl parathion-fed roseringed parakeets[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 71: 236-244.
- [52] Tamura H, Maness S C, Reischmann K. Androgen receptor antagonism by the organophosphate insecticide fenitrothion[J]. Toxicol Sci, 2001, 60(1): 56-62.
- [53] Joshi S C, Mathur R, Gajraj A, et al. Influence of methyl parathion on reproductive parameters in male rats[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2003, 14(3): 91-98.
- [54] Hwan Goo Kang, Sang Hee Jeong. Chlorpyrifos-methyl shows anti-androgenic activity without estrogenic activity in rats[J]. Toxicology, 2004, 199: 219-230.
- [55] Zhu L J, Hardy M P, Inigo I V, et al. Effects of androgen on androgen receptor expression in rat testicular and epididymal cells: a quantitative immunohistochemical study[J]. Biol Reprod, 2000, 63: 368-376.
- [56] 张霄. 雄激素受体在敌敌畏诱导小鼠尿道下裂中的表达[J]. 山西医科大学学报, 2008, 39(5): 424-426.
- [57] McIntyre B S, Barlow N J, Wallace D G, et al. Effects of in utero exposure to linuron on androgen-dependent reproductive development in the male Crl: CD(SD)BR rat [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2000, 167(2): 87-99.
- [58] Sebire M, Scott A P, Tyler C R. The organophosphorous pesticide, fenitrothion, acts as an anti-androgen and alters reproductive behavior of the male three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*[J]. Ecotoxicology, 2009, 18(1): 122-133.
- [59] De Sliva, La Samayawardhena. Effects of chlorpyrifos on reproductive performances of guppy [J]. Chemosphere, 2005, 58(9): 1293-1299.
- [60] Turner K J, Barlow N J, Struve M F, et al. Effects of in utero exposure to the organophosphate insecticide fenitrothion on androgen-dependent reproductive development in the Crl: CD(SD)BR rat[J]. Toxicol Sci, 2002, 68(1): 174-183.
- [61] Mani U, Islam F, Prasad A K, et al. Steroidogenic alterations in testes and sera of rats exposed to formulated fenvalerate by inhalation[J]. Hum Exp Toxicol, 2002, 21(11): 593-597.
- [62] 姚克文, 王介东. 氰戊菊酯对大鼠精子及生殖激素的

- 影响[J].生殖医学杂志, 2008, 17(1): 58-61.
- [63] 沈苏南, 侯亚义, 姚根宏, 等. 氰戊菊酯对未成熟雌性大鼠的体液免疫及性激素的影响[J].环境与健康杂志, 2002, 19(3): 179-181.
- [64] Vinggaard A, Breinholt V, Larsen J C. Screening of selected pesticides for oestrogen receptor activation in vitro [J]. Food Addit Contam, 1999, 16: 533-542.
- [65] Andersen H R, Cook S J, Waldbillig D. Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2002, 179: 1-12.
- [66] Enmark E, Gustafsson J A. Orphan nuclear receptors- the first eight years[J]. Mol Endocrinol, 1996, 10(11): 1293-1307.
- [67] Kumar R, Johnson B H. Overview of the structural basis for transcription regulation by nuclear hormone receptors[J]. Essays Biochem, 2004, 40: 27-39.
- [68] Kempainen J A. Androgen receptor phosphorylation, turnover, nuclear transport, and transcriptional activation. Specificity for steroids and antihormones[J]. J Biol Chem, 1992, 267(2): 968-974.
- [69] Langley E, Zhou Z X, Wilson E M. Evidence for an anti-parallel orientation of the ligand-activated human androgen receptor dimer[J]. J Biol Chem, 1995, 270(50): 29983-29990.
- [70] Wong C I, Kelce W R, Sar M, et al. Androgen receptor antagonist versus agonist activities of the fungicide vinclozolin relative to hydroxyflutamide[J]. J Biol Chem, 1995, 270(34): 19998-20003.
- [71] Tan J A, Marschke K B, Ho K C, et al. Response elements of the androgen-regulated C3 gene[J]. J Biol Chem, 1992, 267(7): 4456-4466.
- [72] Chang C Y, McDonnell D P. Androgen receptor-cofactor interactions as targets for new drug discovery [J]. Trends Pharmacol Sci, 2005, 26(5): 225-228.
- [73] Heemers H V, Tindall D J. Androgen receptor (Ar) coregulators: a diversity of functions converging on and regulating the Ar transcriptional complex[J]. Endocr Rev, 2007, 28(7): 778-808.
- [74] Kelce W R, Lambright C R, Gray Le Jr, et al. Vinclozolin and p, p'-DDE alter androgen-dependent gene expression: in vivo confirmation of an androgen receptor-mediated mechanism[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1997, 142(1): 192-200.
- [75] Schrader T J, Cooke G. Examination of selected food additives and organochlorine food contaminants for androgenic activity in vitro[J]. Toxicol Sci, 2000, 53(2): 278-288.
- [76] Viswanath G. Anti-androgenic endocrine disrupting activities of chlorpyrifos and piperophos Journal of Steroid [J]. Biochemistry & Molecular Biology, 2010, 120: 22-29.
- [77] Saumen Kumar Maitra. Testicular functions and serum titers of LH and testosterone in methyl parathion-fed roseringedparakeets[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 71: 236-244.
- [78] Pastor-Soler N, Isnard-Bagnis C, Herak-Kramberger C, et al. Expression of aquaporin 9 in the adult rat epididymal epithelium is modulated by androgens[J]. Biol Reprod, 2002, 66(6): 1716-1722.
- [79] You Li, Sar M, Bartolucci E, et al. Induction of hepatic aromatase by p, p'-DDE in adult male rats[J]. Mol Cell Endocrin, 2001, 178: 207-214.
- [80] Bowman C J, Barlow N J, Turner K J, et al. Effects of in utero exposure to finasteride on androgen-dependent reproductive development in the male rat [J]. Toxicol Sci, 2002, 74(2): 393-406.
- [81] Okubo T, Yokoyama Y, Kano K, et al. Estimation of estrogenic and antiestrogenic activities of selected pesticides by MCF-7 cell proliferation assay[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2004, 46(4): 445-453.
- [82] 单晓英, 李百祥, 郑历. 农药杀螟硫磷环境雌激素活性的研究[J]. 预防医学论坛, 2007, 13 (8): 724-726.
- [83] Ashby J, Tinwell H U. Teratogenic activity of bisphenol A in the immature rat[J]. Environ Health Perspect, 1998, 106(11): 719-720.
- [84] Ma T, Kramer R E. Effects of chronic dermal exposure to nonlethal doses of methylparathion on brain regional acetylcholinesterase and muscarinic cholinergic receptors in female rats[J]. J Neurosci Res, 2003, 71(1): 138-145.
- [85] Kumar M V, Desiraju T. Effect of chronic consumption of methylparathion on rat brain regional acetylcholinesterase activity and on levels of biogenic amines [J]. Toxicology, 1992, 75(1): 13-20.

(本文编辑: 康亦兼)