

# 皮质醇影响青鳉鳃内钠钾 ATP 酶基因表达的研究

侯彦峰<sup>1,2</sup>, 张照斌<sup>1</sup>, 胡建英<sup>1,\*</sup>

1. 北京大学城市与环境学院, 北京 100871

2. 河南省文物考古研究所, 郑州 450000

**摘要:** 目前河流中存在较高浓度的天然和人造糖皮质激素(如皮质醇等)污染,其可能对鱼类的渗透压调节和海河洄游产生影响。鱼类鳃内钠钾 ATP 酶对调节渗透压平衡、适应海河洄游等起关键性作用,有研究表明鱼类鳃内钠钾 ATP 酶基因表达受皮质醇调控。为此,论文克隆了青鳉钠钾 ATP 酶  $\alpha$  和钠钾 ATP 酶  $\beta$  基因的序列片段,建立了实时定量 RT-PCR 测定方法,研究了盐度的增加对其基因表达的影响,并重点探讨了皮质醇对鱼类适应盐度时鳃内钠钾 ATP 酶基因表达变化的影响。结果表明,适应 15‰ 盐水的青鳉鳃内钠钾 ATP 酶  $\alpha$  和钠钾 ATP 酶  $\beta$  基因表达显著升高;在转入淡水 48h 后,钠钾 ATP 酶  $\alpha$  和钠钾 ATP 酶  $\beta$  基因表达基本恢复到正常水平,但是转入含有  $100\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  皮质醇暴露水平的淡水中,48h 后钠钾 ATP 酶  $\alpha$  基因表达仍处于较高水平,表明  $100\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度的皮质醇能够显著诱导鳃内钠钾 ATP 酶  $\alpha$  的基因表达,可能干扰渗透压调节,对一些洄游鱼类的溯河过程可能构成潜在影响。

**关键词:** 青鳉; 皮质醇; 钠钾 ATP 酶; 基因表达

文章编号: 1673-5897(2009)2-212-06

中图分类号: X171.5, X503

文献标识码: A

## Effects of Cortisol on $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ Gene Expression in Gill of Medaka (*Oryzias latipes*)

HOU Yan-feng<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhao-bin<sup>1</sup>, HU Jian-ying<sup>1,\*</sup>

1. College of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871

2. Henan Provincial Institute of Cultural Relics and Archaeology, Zhengzhou 450000

Received 15 September 2008

accepted 23 October 2008

**Abstract:** Studies have reported higher levels of (natural or man-made) glucocorticoids (such as cortisol) in the aquatic environments which may affect the osmoregulation in anadromous migration of fishes.  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  plays important role in the course of anadromous migration which is known to be regulated by cortisol in teleost. In this study, the partial length genes encoding the  $\alpha$  and  $\beta$  subunits of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  were cloned from medaka gill. The effects of cortisol on the transcriptional expression of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$   $\alpha$  and  $\beta$  subunit genes were studied by quantitative real-time PCR method. The medaka which had been acclimated to saltwater of 15‰ were transferred to freshwater containing 0 (control), 10,  $100\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  cortisol for 48 hours. Results showed that  $100\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  of cortisol significantly obstructed the decrease of the expression  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$   $\alpha$  mRNA, which would disturb the normal hypoosmoregulation during the fish migration of oceanic diadromous fish.

**Keywords:** medaka; cortisol;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ; genes expression

收稿日期: 2008-09-15 录用日期: 2008-10-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 40632009; No. 40471116)

作者简介: 侯彦峰 (1979—), 男, 硕士, 河南省文物考古研究所助理馆员; \* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: hujy@urban.pku.edu.cn

## 1 引言(Introduction)

在过去十几年中,全球环境科学家进行了广泛的内分泌干扰物的环境研究,在环境污染和环境影响方面获得了一些重要结果(Stone, 1994; Ejaz *et al.*, 2004; Heberer, 2002). 但是这些研究主要集中在性类固醇激素及其类似物. 最近的研究表明,在城市污水和地表水中还存在较高浓度的糖皮质激素污染,并且发现糖皮质激素水平远高于雌激素(Chang *et al.*, 2007). 如北京城市污水厂原水中糖皮质激素——氢化可的松(皮质醇, Cortisol)和可的松(Cortisone)的污染水平分别达到  $13\sim 65\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $9\sim 51\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ , 而雌二醇的水平仅为  $1\sim 10\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ (Chang *et al.*, 2007);另外在北京的一些河道水中,皮质醇和可的松的污染水平甚至超过城市污水厂出水的浓度(Chang *et al.*, 2007). 但是到目前为止,尚未见有关皮质醇的生态危害性研究.

在哺乳动物中,糖皮质激素的主要功能是参与应激反应和糖代谢. 但在鱼类体内,糖皮质激素的功能不仅体现在应激反应和糖代谢方面,还起到了调节渗透压的作用(Marshall, 2003; Fontainhas-Fernandes *et al.*, 2003; Dean *et al.*, 2003). 研究表明,皮质醇能刺激鱼类鳃上皮细胞密度增加,增强鳃内钠钾 ATP 酶的活性,从而使过多的盐分排出体外(Sunny and Oommen, 2001; Pelis *et al.*, 2001; McCormick, 1995; Lin *et al.*, 2000). 鱼类在从低盐度向高盐度环境的迁移过程(如由江河进入海洋)中,皮质醇的升高对适应高盐环境起到重要作用. 但是在从高盐度向低盐度环境的迁移过程(如溯河洄游)中,河道中皮质醇污染将可能影响钠钾 ATP 酶活性的正常调节,从而引起渗透压平衡紊乱(McCormick, 1995). 已有离体实验表明,平鲷(*Rhabdosargus sarba*)鳃细胞暴露皮质醇( $10\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )后钠钾 ATP 酶  $\alpha$  基因表达升高(Deane and Woo, 2005). 但目前还没有关于环境皮质醇污染对鱼类钠钾 ATP 酶影响的报道.

青鳉(*Oryzias latipes*)是研究内分泌干扰物常用的实验动物,也是研究渗透压调节机制的推荐模式鱼类之一(Sakamoto *et al.*, 2001; Inoue and Takei, 2003). 本文通过克隆青鳉钠钾 ATP 酶  $\alpha$  和钠钾 ATP 酶  $\beta$  基因的部分序列,建立了实时定量 RT-PCR 方法;并将该方法应用到了环境浓度水平下的皮质醇对青鳉由高盐度向低盐度环境的适应

过程中鳃内钠钾 ATP 酶基因表达的影响研究.

## 2 材料与方法(Materials and methods)

### 2.1 化学试剂

皮质醇购自中国医药集团上海化学试剂公司,白色结晶性粉末,含量  $>99.97\%$ ,以 DMSO/水为  $0.005\%$ (体积比)配制所需浓度,实验用水为经曝气和活性炭处理的普通自来水.

### 2.2 实验动物

青鳉(Medaka, *Oryzias latipes*), Orange Red 品系,在本实验室已经驯化多年,淡水青鳉. 培养水为经曝气和活性炭处理的普通自来水. 养殖和暴露条件控制在水温  $25\sim 28^\circ\text{C}$ , 水硬度  $8.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 值  $7.5\sim 7.8$ , 溶解氧  $8.0\sim 9.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 光周期控制在昼:夜 = 16h:8h. 饲料为新孵化的活体卤虫.

### 2.3 暴露方法

#### 2.3.1 预实验

实验一:随机选取成体青鳉(4月龄,体重  $0.4\sim 0.5\text{g}$ ,雌雄不限)24尾,平均分成4组,每组6尾. 选取一组为淡水对照组(淡水组),其余3组暴露于  $15\%$  的盐水(人工海水)中(青鳉适应  $15\%$  的盐水不需盐度梯度过渡(Inoue and Takei, 2003)),在第4、7、10d时分别选取其中一组鱼,MS-222(Sigma公司,美国)麻醉,解剖分离鱼鳃提取总 RNA,淡水组于第4d提取总 RNA. 检测青鳉转入  $15\%$  的盐水后,在不同时间鳃内钠钾 ATP 酶基因表达情况.

实验二:随机选取成体青鳉(4月龄,体重  $0.4\sim 0.5\text{g}$ ,雌雄不限)30尾,平均分成5组,每组6尾. 各组均于  $15\%$  的盐水(人工海水)中暴露10d. 选取一组为盐水对照组(盐水组),剩余4组转入淡水,在12、24、48、96h分别选取其中一组鱼,MS-222麻醉,解剖分离鱼鳃提取总 RNA,盐水组于第12h提取总 RNA. 检测适应  $15\%$  盐水后的青鳉转入淡水后,在不同时间鳃内钠钾 ATP 酶基因表达情况.

#### 2.3.2 暴露实验

随机选取成体青鳉(4月龄,体重  $0.4\sim 0.5\text{g}$ ,雌雄不限)60尾,平均分成5组,每组12尾,选一组仍培养在淡水中作为淡水组,另外4组于  $15\%$  的盐水(人工海水)中暴露10d,选取一组作为盐水

组,其余3组鱼分别转入DMSO对照组(0.005% DMSO (v/v))和环境浓度水平的皮质醇暴露组(10ng·L<sup>-1</sup>和100ng·L<sup>-1</sup>)中暴露(Chang *et al.*, 2007)48h,各组随机选取6尾鱼,MS-222麻醉,解剖分离鱼鳃保存于液氮中用于提取总RNA。

## 2.4 实验方法

### 2.4.1 总RNA提取和cDNA第一链合成

采用Trizol试剂(Gibco BRL, Life Technologies, Gaithersburg, MA, 美国)提取组织总RNA,然后对提取的总RNA进行DNAase I(大连宝生物公司)处理和纯化。所得总RNA紫外光吸收A260/A280大于1.8,0.8%甲醛变性凝胶电泳证实无降解。采用Superscript 反转录酶(Invitrogen, Paisley, 英国)合成cDNA第一条链。

### 2.4.2 青鳉钠钾ATP酶 $\alpha$ 和钠钾ATP酶 $\beta$ 基因序列克隆与分析

根据NCBI GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)上已经发布的相关基因序列进行比对,利用Primer Premier 5设计兼并引物(表1),PCR反应扩增目标基因。纯化PCR产物并连接到pMD 18-T质粒(大连宝生物公司)上,转入感受态大肠杆菌,提取质粒,通过M13引物测序获得相应序列。采用Clustal X软件(Bury *et al.*, 2003)将推算的青鳉钠钾ATP酶 $\alpha$ 和 $\beta$ 氨基酸序列和Genbank公布的氨基酸序列进行了比对。

### 2.4.3 实时定量PCR方法

定量PCR引物采用软件Primer Express 2.0设计。引物序列见表2,cDNA标准品为纯化的普通PCR产物。20 $\mu$ L体系PCR反应液包括SYBR<sup>®</sup> Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, 美国)10 $\mu$ L,25 $\mu$ mol·L<sup>-1</sup>实时定量RT-PCR钠钾ATP酶 $\alpha$ (C)、钠钾ATP酶 $\beta$ (D)和GAPDH(E)的正义和反义引物各0.4 $\mu$ L,及cDNA和双蒸馏水。PCR反应程序为50 $^{\circ}$ C 2min,95 $^{\circ}$ C 10min;40个循环:95 $^{\circ}$ C 15s,60 $^{\circ}$ C 60s;在最后一个循环结束后做溶解曲线,确定PCR反应质量。GAPDH被用作内参基因校正实验误差。96孔光学PCR板和光学透明塑料盖膜购自Applied Biosystems公司。仪器采用ABI7000型荧光定量PCR仪(ABI Prism<sup>®</sup> 7000 Sequence Detection System, Applied Biosystems, 美国)。

表1 克隆青鳉钠钾ATP酶 $\alpha$ (A)和 $\beta$ (B)基因所用兼并引物序列

Table 1 Degenerate primer pairs of medaka Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$  (A) and  $\beta$  (B) genes for clone

基因	引物	引物序列	PCR产物/bp
A	上游引物	5' -ATGACNGTNGC [C/T] CACATGTGGTT-3'	1728
	下游引物	5'-GTANGGNAAGGCACA[GA] AACCACCA-3'	
B	上游引物	5'-AT [T/C/A]TTCAT[T/C]GG [C/A/G]ACCATCCA-3'	639
	下游引物	5'-C[C/T]A[C/G]CAG[A/C/G/T]GGCTG[G/C]AG[G/A]TA-3'	

表2 实时定量RT-PCR钠钾ATP酶 $\alpha$ (C)、 $\beta$ (D)和GAPDH(E)引物

Table 2 Primer pairs of SYBR<sup>®</sup> Green Real-time PCR Assay for medaka Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$ (C),  $\beta$ (B)and GAPDH(E)genes

基因	引物	引物序列
C	上游引物	5'-TCCTGGCAGAACAAGACAAAGT-3'
	下游引物	5'-GAGGCATCTCCAGCCACATC-3'
D	上游引物	5'-GCAAACCGTGTGTCATTGTGA-3'
	下游引物	5'-GGATGCTGTCGTTGGAGAAG-3'
E	上游引物	5'-TGTGGAAAAGGCCTCACTTCA-3'
	下游引物	5'-CAGACACGACCACACGCTGT-3'

## 2.5 统计分析

采用SPSS软件(Ver 11.5; Chicago, IL, 美国)的单向方差分析(one-way ANOVA)和Tukey多重比较来检验相关数据的差异。当 $p < 0.05$ 时认为差异显著。所有数据和图表均以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。

## 3 结果与分析(Results and analysis)

### 3.1 青鳉钠钾ATP酶 $\alpha$ 和钠钾ATP酶 $\beta$ 基因序列的克隆与分析

本文克隆了650个碱基的青鳉钠钾ATP酶 $\alpha$ 基因序列,编码216个氨基酸,在Genbank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)公布的序列号为DQ486033。青鳉钠钾ATP酶 $\alpha$ 氨基酸序列分别与罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*, AAD11455)、平鲷(*Rhabdosargus sarba*, AAT48993)、欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*, CAA53714)、斑马鱼(*Danio rerio*, AAG27060)、虹鳉(*Oncorhynchus mykiss*, AAQ82788)钠钾ATP酶 $\alpha$ 氨基酸序列的相似性为90%、87%、86%、85%、83%。本文还克隆了青鳉鳃内374个碱基的钠钾ATP酶 $\beta$ 基因序列,编码124个氨基酸,在Genbank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)

公布的序列号为 DQ486034. 青鳉和平鳉 (*Rhabdosargus sarba*, AAT48994)、斑马鱼 (*Danio rerio*, AAG30273)、欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*, CAA53715) 钠钾 ATP 酶 $\beta$  氨基酸序列的相似性分别为 74%、68%、67%. 基于这些基因片段, 本文建立了青鳉钠钾 ATP 酶 $\alpha$  和 $\beta$  基因表达的实时定量 RT-PCR 方法.

### 3.2 皮质醇暴露对青鳉钠钾 ATP 酶基因表达的影响

青鳉从淡水转入 15‰ 的海水 1 周后, 肌肉含水量恢复正常, 鳃弓上 MR 细胞的尺寸和密度显著增加 (Inoue and Takei, 2003; Sakamoto *et al.*, 2001). 本研究对转入 15‰ 盐水的青鳉鳃内 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$ 、 $\beta$  基因在 4、7、10d 时的表达量进行了检测, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$  基因表达结果分别为 0.004965 ± 0.00039、0.005212 ± 0.00065、0.005599 ± 0.00072 (钠钾 ATP 酶  $\alpha$  mRNA/GAPDH mRNA 的拷贝数比值, 以下相同), 各组均显著高于淡水组 ( $p < 0.05$ ), 组间差异不显著. 在 4、7、10d 时, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\beta$  基因表达量同淡水组相比差异不显著. 将适应 15‰ 盐度的青鳉转入到淡水中, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$  基因表达在 12h (0.002788 ± 0.000367)、24h (0.003828 ± 0.000275)、48h (0.003907 ± 0.000257)、96h (0.00375 ± 0.000336) 时显著低于盐水组. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\beta$  基因表达量各组变化不显著.

将适应 15‰ 盐度的青鳉, 转入含有皮质醇 (10、100ng·L<sup>-1</sup>) 的淡水中, 暴露 48h 后, 分析了鳃内钠钾 ATP 酶  $\alpha$  和  $\beta$  基因表达的变化 (图 1). 结果发现, 暴露于 100ng·L<sup>-1</sup> 的皮质醇, 青鳉鳃内钠钾 ATP 酶  $\alpha$  基因表达显著高于对照组 (DMSO 对照组) ( $p < 0.05$ ). 淡水组即未暴露盐水组钠钾 ATP 酶  $\alpha$  mRNA 水平为 0.003614 ± 0.000135, 盐水组钠钾 ATP 酶  $\alpha$  mRNA 水平为 0.005599 ± 0.00072, 显著高于淡水组 ( $p < 0.05$ ), DMSO 组鳃内钠钾 ATP 酶  $\alpha$  mRNA 水平为 0.00338 ± 0.000306, 10ng·L<sup>-1</sup> 皮质醇暴露组钠钾 ATP 酶  $\alpha$  mRNA 水平为 0.002997 ± 0.00019, 与 DMSO 对照组差异不显著, 100ng·L<sup>-1</sup> 皮质醇暴露组的钠钾 ATP 酶  $\alpha$  mRNA 基因表达为 0.004845 ± 0.000353, 显著高于 DMSO 对照组 (图 1).

但是从青鳉鳃内钠钾 ATP 酶  $\beta$  基因表达变化看, 淡水组、盐水组、DMSO 对照组、10ng·L<sup>-1</sup> 和 100ng·L<sup>-1</sup> 皮质醇暴露组的钠钾 ATP 酶  $\beta$  mRNA

水平分别为 0.267933 ± 0.124938、0.375102 ± 0.074086、0.246513 ± 0.038468、0.261427 ± 0.10834 和 0.292208 ± 0.101933, 暴露皮质醇组的青鳉鳃内钠钾 ATP 酶  $\beta$  基因表达量与对照组 (DMSO 对照组) 相比无显著性变化 ( $p > 0.05$ ).

图 1 表明, 适应 15‰ 盐度的成体青鳉, 转入到含有 10、100ng·L<sup>-1</sup> 皮质醇的淡水中, 100ng·L<sup>-1</sup> 皮质醇暴露组青鳉鳃内钠钾 ATP 酶  $\alpha$  mRNA 回落水平受阻 (48h), 钠钾 ATP 酶  $\beta$  mRNA 无显著变化. 这与 Deane 和 Woo (2005) 对海鲷鳃的实验结果一致. 因为鱼类鳃内 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 是调节渗透压的关键性酶, 并且钠钾 ATP 酶  $\alpha$  mRNA 的表达量直接关系 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 活性 (Deane and Woo, 2005; Madsen *et al.*, 1995), 因此水环境中的皮质醇污染可能影响鱼类溯河洄游过程中渗透压的调节.

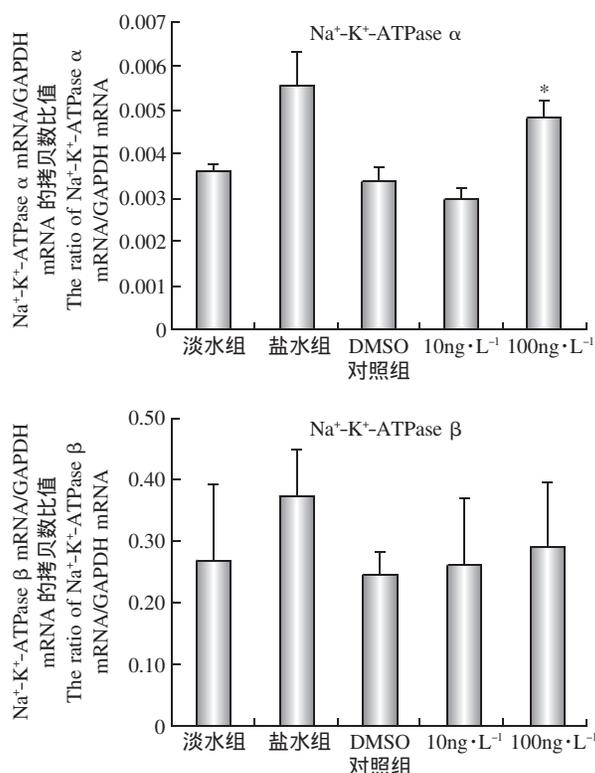


图 1 实时定量 RT-PCR SYBR Green 荧光染料法检测淡水组、盐度组 (salinity 15‰)、对照组 (0.005% DMSO)、暴露皮质醇组 (10、100ng·L<sup>-1</sup>) 青鳉鳃内 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$  和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\beta$  基因表达定量结果 (n=6 mean±S.D.; \* 实验组与 DMSO 对照组相比差异显著 ( $p < 0.05$ ))

Fig.1 Gene expressions of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$  and  $\beta$  in gill of medaka in fresh water, salinity (15‰), control (0.005% DMSO), hydrocortisone (10, 100ng·L<sup>-1</sup>) exposed groups by real-time PCR, SYBR Green detection (n=6; mean±S.D.; \*; compared with the DMSO control group,  $p < 0.05$ )

### 3.3 皮质醇污染以及可能造成的生态危害

我国每年生产的皮质醇及其类似物达数百吨,仅天津某一厂家年产皮质醇就达20吨之多,另外在生产过程中的大量中间产物和提纯过程中的成品流失也不容忽视(Marshall, 2003).除了医药品使用造成的环境污染以外,人体排放也是皮质醇一个重要的污染源.人类尿液中皮质醇的排放量约为雌二醇的100~1000倍,源于人类排泄的天然糖皮质激素污染已经成为一个重要的环境问题.2007年,研究人员在北京城市污水厂原水和一些河道水中,已检测到一定水平的糖皮质激素(皮质醇、可的松)污染(Chang *et al.*, 2007).总之,目前环境中存在着潜在的皮质醇及其类似物的环境污染.

皮质醇是调节鱼类和其他脊椎动物发育和老化,成功适应外界刺激的一个关键因素(McEwen and Sapolsky, 1995).大量关于北极嘉鱼、鲈鱼、鳊鱼、鲑鱼等鱼类的研究发现,神经内分泌应激系统是一个容易被环境污染干扰的敏感靶目标(Jørgensen *et al.*, 1999; Waring and Moore, 2004),但是目前关于下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的环境影响研究却很少.一直以来,皮质醇作为一个生理指标用于环境污染胁迫,其本身作为污染物的研究尚鲜有报道.然而目前一些实验室暴露研究已经证明糖皮质激素对鱼类具有潜在的生态毒性.据报道,长期喂食皮质醇,不仅抑制鱼类的活动和进攻行为(Øverli *et al.*, 2002),还可降低鱼类的免疫反应(Halpenny *et al.*, 2002).与没有暴露皮质醇的更小的虹鳟鱼相比,暴露了皮质醇的虹鳟鱼很明显地在配对竞争中处于劣势(Gilmour *et al.*, 2005).研究表明,血清皮质醇的正常变化对鱼类洄游过程中的渗透平衡调节至关重要(Dean *et al.*, 2003).如果正常血清皮质醇平衡受到外界干扰将可能引起洄游鱼类的渗透压调节失败,使大量洄游鱼类死于河口.最近几十年来,许多洄游鱼类如鲟鱼、鲑鱼、胭脂鱼等的种群数量急剧降低,是否与皮质醇及其类似物的污染有关值得深入探索.人工合成皮质醇及其类似物(如强的松、丁酸氢化可的松等)这类物质的副作用,如可导致水电解质平衡失调、骨质疏松、免疫力下降、自身肾上腺萎缩、药源性皮质醇增多症,诱发溃疡病、促发精神异常和儿童生长发育异常等,也不容忽视(国家基本药物领导小组, 1999).如2003年爆发的非

典型肺炎中皮质醇药物曾经大量使用,结果引起许多治愈者的骨质疏松.但是到目前为止有关此类物质潜在的生态危害性研究还没有引起足够的重视,亟待深入研究.

通讯作者简介:胡建英(1965—),女,博士,北京大学城市与环境学院教授,博士生导师,主要从事环境中微量有害化学物质的环境行为研究及化学物质的环境风险评估.

### References

- Bury N R, Sturm A, Le Rouzic P, Lethimonier C, Ducouret B, Guiguen Y, Robinson-Rechavi M, Laudet V, Rafestin-Oblin M E, Prunet P. 2003. Evidence for two distinct functional glucocorticoid receptors in teleost fish [J]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 31(1): 141-156
- Chang H, Hu J Y, Shao B. 2007. Occurrence of natural and synthetic glucocorticoids in sewage treatment plants and receiving river waters [J]. *Environmental Science & Technology*, 41(10): 3462-3468
- Dean D B, Whitlow Z W, Borski R J. 2003. Glucocorticoid receptor upregulation during seawater adaptation in a euryhaline teleost, the tilapia (*Oreochromis Mossambicus*) [J]. *General and comparative endocrinology*, 132(1): 112-118
- Deane E E, Woo N Y. 2005. Cloning and characterization of sea bream Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$  and  $\beta$  subunit genes: *In vitro* effects of hormones on transcriptional and translational expression [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 331(4): 1229-1238
- Ejaz S, Akram W, Lim C W, Lee J J, Hussain I. 2004. Endocrine disrupting pesticides: A leading cause of cancer among rural people in Pakistan [J]. *Experimental Oncology*, 26(2): 98-105
- Fontaínhas -Fernandes A, Gomes E F, Reis -Henriques M A, Coimbra J. 2003. Effect of cortisol on some osmoregulatory parameters of the teleost, *Oreochromis niloticus* L., after transference from freshwater to seawater [J]. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 55(5): 562-567
- Gilmour K M, DiBattista J D, Thomas J B. 2005. Physiological causes and consequences of social status in salmonid fish [J]. *Integrative and Comparative Biology*, 45(2): 263-273
- Halpenny C M, Kocan R M, Winton J R, Perry J A. 2002. Elevated temperature exacerbates *Ichthyophonus* infections in buffalo sculpin [J]. *Fish Health Newsletter*, 30(2): 17-20
- Heberer T. 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data [J]. *Toxicology Letters*, 131(1-2): 5-17
- Inoue K, Takei Y. 2003. Asian medaka fishes offer new models for studying mechanisms of seawater adaptation [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 136(4): 635-645

- Jørgensen E H, Bye B E, Jobing M. 1999. Influence of nutritional status on biomarker responses to PCB in the Arctic charr (*Salvelinus Alpinus*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 44(4): 233-244
- Lin L Y, Weng C F, Hwang P P. 2000. Effects of cortisol and salinity challenge on water balance in developing larvae of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [J]. *Physiological and Biochemical Zoology*, 73(3): 283-289
- Madsen S S, Jensen M K, Nhr J, Kristiansen K. 1995. Expression of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase in the brown trout, *Salmo trutta*: *in vivo* modulation by hormones and seawater [J]. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 38(6): R1339-R1345
- Marshall W S. 2003. Rapid regulation of NaCl secretion by estuarine teleost fish: coping strategies for short-duration freshwater exposures[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1618(2): 95-105
- McCormick S D. 1995. Hormonal control of gill Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase and chloride cell function [A]// Wood C M, Shuttleworth T J. *Cellular and Molecular Approaches to Fish Ionic Regulation* [C]. New York: Academic Press, 285-315
- McEwen B S, Sapolsky R M. 1995. Stress and cognitive function [J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 5(2): 205-216
- Øverli Ø, Kotzian S, Winberg S. 2002. Effects of cortisol on aggression and locomotor activity in rainbow trout[J]. *Hormones and Behavior*, 42(1): 53-61
- Pelis R M, Zydlewski J, McCormick S D. 2001. Gill Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter abundance and location in Atlantic salmon: Effects of seawater and smolting [J]. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 280(6): R1844-R1852
- Sakamoto T, Kozaka T, Takahashi A, Kawauchi H, Ando M. 2001. Medaka(*Oryzias latipes*) as a model for hypoosmoregulation of euryhaline fishes[J]. *Aquaculture*, 193(3-4): 347-354
- Stone R. 1994. Environmental estrogens stir debate [J]. *Science*, 265(5170): 308-310
- Sunny F, Oommen O V. 2001. Rapid action of glucocorticoids on branchial ATPase activity in *Oreochromis mossambicus*: an *in vivo* and *in vitro* study [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 130(3): 323-330
- Waring C P, Moore A. 2004. The effect of atrazine on Atlantic salmon (*salmo salar*) smolts in fresh water and after sea water transfer[J]. *Aquatic Toxicology*, 66(1): 93-104

#### 中文参考文献

- 国家基本药物领导小组. 1999. 国家基本药物临床手册[M]. 北京: 华夏出版社, 99-102 ◆