原创精选
Selected articles

双酚 AP 和双酚 AF 对斑马鱼的早期神经发育毒性作用研究

顾杰[1,2]，王宏烨[2]，廖振东[2]，石利利[1]，吉贵祥[1]

1. 环境保护部南京环境科学研究所，江苏 南京 210042
2. 南京医科大学公共卫生学院，现代毒理学教育部重点实验室，江苏 南京 211166

摘要：

[目的] 双酚 AP（bisphenol AP，BPAP）和双酚 AF（bisphenol AF，BPAF）大规模的生产和使用，对水生生态环境具有潜在威胁。关于 BPAP 和 BPAF 的神经毒性研究甚少，本文以斑马鱼作为模式动物，研究 BPAP 和 BPAF 对斑马鱼的早期神经发育毒性作用。

[方法] 本研究选取斑马鱼幼鱼作为实验对象，将斑马鱼胚胎随机分为 5 组，以 BPAP（20 μg/L 和 200 μg/L）和 BPAF（20 μg/L 和 200 μg/L）进行染毒，染毒时间为受精后 4 h 至受精后 144 h。通过斑马鱼的运动行为学测试，原位杂交和荧光定量 PCR 方法来阐述 BPAP 和 BPAF 的早期神经发育毒性作用及其可能的作用机制。

[结果] 行为学测试结果显示，与对照组相比，染毒组的斑马鱼幼鱼的运动总距离和速度均明显下降，热图显示染毒组幼鱼有过多呆滞不动的现象，表明 BPAP、BPAF 均抑制了斑马鱼幼鱼的移动距离和速度。荧光定量 PCR 结果可见，与对照组相比，BPAP（20 μg/L 和 200 μg/L）和 BPAF（20 μg/L 和 200 μg/L）都抑制了斑马鱼神经发育关键基因（*mbp* 和 *syn2a*）的表达（$P<0.001$），同时原位杂交结果也验证了基因的结果。

[结论] 初步认为 BPAF 和 BPAP 对斑马鱼具有潜在的神经发育毒性作用。

关键词： 双酚 AF；双酚 AP；斑马鱼；神经发育毒性

Neurodevelopmental toxicities of bisphenol AP and bisphenol AF in early life of zebrafish

GU Jie[1,2], WANG Hong-ye[2], LIAO Zhen-dong[2], SHI Li-li[1], JI Gui-xiang[1] (1.*Nanjing Institute of Environmental Sciences, MEP, Nanjing, Jiangsu* 210042, *China;* 2.*Key Laboratory of Modern Toxicology of Ministry of Education, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu* 211166, *China)*

Abstract:

[Objective] Mass production and utilization of bisphenol AP (BPAP) and bisphenol AF (BPAF) has posed potential ecological risk to aquatic ecosystem. However, few studies have focused on the neurotoxicities of BPAP and BPAF. This study investigates the developmental neurotoxicities of BPAP and BPAF in the early life of zebrafish.

[Methods] We selected zebrafish larvae as experimental subjects. Zebrafish embryos were randomly divided into five groups. BPAP (20 μg/L and 200 μg/L) and BPAF (20 μg/L and 200 μg/L) were administered with the designed drug exposure profile from 4 h to 144 h after fertilization. The early developmental neurotoxicities of BPAP and BPAF and their possible mechanisms were discussed by locomotion behavior test, *in situ* hybridization, and fluorescence quantitative PCR.

[Results] Compared with the control group, the total moving distance and the speed of the zebrafish larvae in the exposed groups were significantly decreased, and the thermo gram showed that the larvae in the exposed groups were sluggish, indicating that both BPAP and BPAF inhibited the moving distance and speed of zebrafish larvae. The results of fluorescence quantitative PCR showed that compared with the control group, BPAP (20 μg/L and 200 μg/L) and BPAF (20 μg/L and 200 μg/L) significantly inhibited the expressions of key genes (*mbp* and *syn2a*) involved in zebrafish neurodevelopment. The results of *in situ* hybridization also verified the results of the genes.

[Conclusion] The findings tentatively suggest that BPAF and BPAP may have potential developmental neurotoxic effects on zebrafish.

Keywords: bisphenol AF; bisphenol AP; zebrafish; developmental neurotoxicity

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2019.18404

基金项目
现代毒理学教育部重点实验室（南京医科大学）开放项目（NMUMT201811）

作者简介
顾杰（1993—），男，硕士生；
E-mail：gujie1993@njmu.edu.cn

通信作者
吉贵祥，E-mail：jgx@nies.org

利益冲突 无申报
收稿日期 2018-06-14
录用日期 2018-11-11

文章编号 2095-9982(2019)01-0011-06
中图分类号 R114
文献标志码 A

▸引用
顾杰，王宏烨，廖振东，等.双酚 AP 和双酚 AF 对斑马鱼的早期神经发育毒性作用研究[J].环境与职业医学，2019，36（1）：11-16.

▸本文链接
www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2019.18404

Funding
This study was funded.

Correspondence to
JI Gui-xiang, E-mail: jgx@nies.org

Competing interests None declared
Received 2018-06-14
Accepted 2018-11-11

▸To cite
GU Jie, WANG Hong-ye, LIAO Zhen-dong, et al. Neurodevelopmental toxicities of bisphenol AP and bisphenol AF in early life of zebrafish[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2019, 36(1): 11-16.

▸Link to this article
www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2019.18404

双酚A（bisphenol A，BPA）、双酚AF（bisphenol AF，BPAF，$C_{15}H_{10}F_6O_2$）、双酚AP（bisphenol AP，BPAP，$C_{20}H_{18}O_2$）、双酚F（bisphenol F，BPF）等双酚化合物广泛应用于高分子材料、精细化工和医药行业中[1]。BPA及其类似物的大量应用导致了环境中双酚污染物的大量残留，目前部分国家与地区如欧盟、加拿大等已明令禁止进口以及使用含有BPA的婴幼儿奶瓶。作为BPA的替代品，BPAF和BPAP等被大量广泛使用[2-3]。BPAF是一类含氟化合物，目前主要作为交联剂用于含氟橡胶的制造，在食品包装、电子产品和光纤的制造中也广泛使用[4]。BPAP主要用于化工合成工业中，是一种很重要的阻燃剂和塑化剂，同时还用于橡胶、塑料的合成[5]。

BPAP和BPAF大规模的生产和使用，导致它们释放到环境中，特别是对水生生态环境具有潜在威胁[6]。有大量数据表明，在水环境、土壤、人体血液、尿液、肉类食物中都可检出BPAP和BPAF[7-10]。在太湖、辽河和浑河水样和沉积物中亦有发现，例如在太湖水样中BPAP的质量浓度为0.39 ng/L，沉积物中为0.40 ng/g；在浑河水样中检测出BPAF的质量浓度为11 ng/L，沉积物中为0.01 ng/g[6]。此外，在女性乳腺和腹部脂肪组织的提取物中发现了BPAF[11]。BPAP和BPAF可以通过各种暴露途径进入到环境基质及生物体中，对生态与健康存在潜在的风险。

虽然关于BPA的毒性实验很多，但是关于BPAP和BPAF的毒性研究较少。杨洋等[12]研究发现BPAF暴露对胚胎期和幼鱼期斑马鱼具有发育毒性。李靖[13]研究发现，BPAF还可能干扰睾丸的脂代谢和具有潜在的甲状腺毒性。Cano-Nicolau等[14]研究中发现BPAF具有雌激素效应，而BPAP没有显示雌激素活性。徐静等[15]研究发现了BPAP对底栖生物摇蚊的繁殖发育毒性。

BPAP和BPAF与BPA结构相似，BPA具有神经毒性，但是关于BPAP和BPAF的神经毒性研究甚少，因此BPAP和BPAF是否具有神经发育毒性值得关注。近年来，斑马鱼由于其脑部透明、结构简单的特点，逐渐成为探究神经系统的理想动物模型。在少突胶质细胞中表达的髓磷脂碱性蛋白基因（*mbp*）通常作为斑马鱼和人类的神经系统发育中枢轴突髓鞘化的生物标志物[16-18]。突触蛋白基因（*syn2a*）是哺乳动物中形成突触的生物标志物，在突触发生和神经递质释放中起重要作用[18]。本研究以斑马鱼作为模式动物，通过对斑马鱼幼鱼运行轨迹、荧光定量PCR和原位杂交（*mbp*和*syn2a*）的研究，来探讨BPAP和BPAF的神经毒性效应。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器：荧光PCR仪（罗氏，美国），荧光显微镜（OLYMPUS，日本），运动行为分析仪（Noldus，荷兰）。

试剂：BPAP（纯度：99%；CAS：1571-75-1）和BPAF（纯度：99%；CAS：1478-61-1）购自百灵威科技有限公司（上海）；二甲基亚砜（DMSO）购买于Sigma公司；原位杂交探针试剂盒（*mbp*和*syn2a*）购买于博士德生物有限公司（武汉），探针包括胃蛋白酶（×10）2 mL、预杂交液2 mL、Bcl-2寡核苷酸探针杂交液2 mL、封闭液5 mL、生物素化鼠抗地高辛5 mL、过氧化物酶标记的链霉亲和素（SABC-POD）5 mL、生物素化过氧化物酶5 mL、柠檬酸钠（SSC）缓冲液（3%柠檬酸、2×SSC、0.5×SSC、0.2×SSC、原位杂交用PBS）。

1.2 胚胎的收集

本实验所用的斑马鱼均为野生AB型，购买于武汉水生模式动物研究所，置于南京医科大学公共卫生学院斑马鱼动物中心统一饲养。饲养采用恒温曝气自来水（23~25℃），每日喂食丰年虫两次。交配前一天下午5:00开始配笼，按照2：1的比例分别将雄鱼雌鱼放置于交配笼中，次日早上9:00抽板，交配进行2 h后收取胚胎。将收集好的胚胎放入曝气水中培养4 h，挑去发育异常的胚胎进行染毒实验。

1.3 胚胎与斑马鱼幼鱼染毒实验

参考任文娟等[19]和朱小乔等[20]的研究，选择斑马鱼胚胎急性毒性LC_{50}的1/10和1/100，即20、200 μg/L的BPAP和BPAF进行染毒。BPAP和BPAF都微溶于水，所以BPAP和BPAF用DMSO配制成母液，-20℃保存，使用时逐级稀释至应用液（应用液DMSO含量小于$1/10^4$）。胚胎收取后培养至受精后4 h（4 hours post fertilization，4hpf），挑选发育正常的斑马鱼胚胎进行染毒，随机分组分别暴露于剂量为0（对照）、20和200 μg/L BPAP和BPAF的处理液中。每个剂量组中放置鱼卵50粒，每个剂量组设置3个平行，间隔12 h更换胚胎处理液以保证染毒组浓度，期间观察斑马鱼胚胎发育生长的过程，挑出死亡的胚胎。正常斑马鱼胚胎在48hpf开始孵化，72hpf孵化完全破膜成为幼鱼。

1.4 行为学测试

每个剂量选取受精后6 d（6 days post fertilization，6dpf）的斑马鱼幼鱼进行行为学测试，依据Nery等[21]的操作流程，各剂量组随机选择24条斑马鱼幼鱼放置到24孔板，斑马鱼行为轨迹分析测试仪记录幼鱼的运动

行为学数据，通过观测斑马鱼幼鱼在自由游泳状态下以及在光周期中的运动情况，从而间接评估胚胎神经生长发育情况。使用 Etho Vision 软件分别采集幼鱼 40 min 内的运动轨迹、运动热图、运动距离和运动速度等指标。

1.5 胚胎整鱼原位杂交

在原位杂交实验中，幼鱼胚胎在 24hpf 加入 1- 苯基 -2- 硫脲（1-phenyl-2-thiourea PTU）除去黑色素至第 6 天[22]，6dpf 斑马鱼幼鱼中加入多聚甲醛固定，保存。原位杂交实验历时 3 d，第 1 天选取每个剂量组中 10~15 个胚胎，乙醇脱水，蛋白酶 K 消化，三乙醇胺酸化处理后加入核酸杂交液以及地高辛标记的 *syn2a* 和 *mbp* 核酸探针，60℃ 水浴杂交过夜；第 2 天加入 2×SSC 原位杂交液以及 0.2×SSC 处理完胚胎后加入地高辛抗体，4℃ 摇床过夜；第 3 天使用 1% 单克隆抗体置换抗体溶液后加入显色液 BM purple 染色，每间隔 30 min 显微镜下观察染色情况，成功染色后加入甲醇终止染色并固定拍照。

1.6 荧光定量 PCR

每个剂量组收取 30 个胚胎使用 Trizol 法提取总 RNA。逆转录试剂盒逆转录合成 cDNA，后向 cDNA 中加入 SYBR green 以及正反向引物进行实时定量 PCR 实验。基因引物信息如下：（1）*syn2a*：正向引物，5′-GTGACCATGCCAGCATTTC-3′；反向引物，5′-TGGTTCTCCACTTTCACCTT-3′。（2）*mbp*：正向引物，5′-AATCAGCAGGTTCTTCGGAGGAGA-3′；反向引物，5′-AAGAAATGCACGACAGGGTTGACG-3′。（3）*β*-actin：正向引物，5′-ACAGGGAAAAGATGACACAGATCA-3′；反向引物，5′-CAGCCTGGATGGCAACGTA-3。

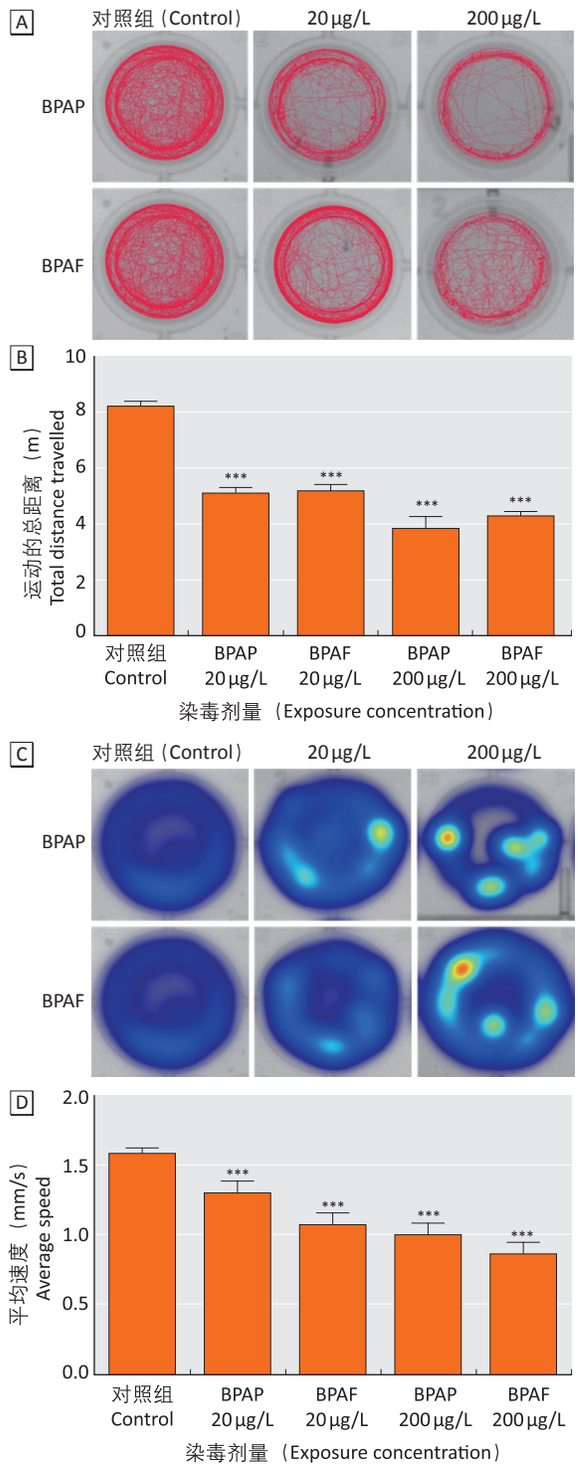
1.7 统计学分析

采用单因素方差分析研究 BPAP 和 BPAF 对斑马鱼运动距离、平均速度和神经发育关键基因表达的影响。所有统计分析使用 SAS 统计分析系统（version 9.13，SAS Institute，Cary，NC）进行，检验水准 α=0.05。

2 结果与分析

2.1 BPAP 和 BPAF 对斑马鱼幼鱼运动行为的影响

行为学测试记录了幼鱼的运动轨迹（图 1A）、运动距离（图 1B）、运动热图（图 1C）和运动平均速度（图 1D）。如图 1 所示，与对照组相比，BPAP、BPAF 均抑制了斑马鱼幼鱼的移动距离和速度。同时图 1A 运动轨迹验证了移动距离和速度；图 1C 是斑马鱼幼鱼的运动热图，幼鱼正常游动时颜色为蓝色，幼鱼在某处呆滞时间越长，该处显示颜色由蓝至黄，最后显示红色，在 BPAP 和 BPAF 高剂量组有明显的幼鱼呆滞现象。



[注] A：不同染毒组斑马鱼幼鱼行为轨迹；B：不同染毒组斑马鱼幼鱼运动总距离；C：不同染毒组斑马鱼幼鱼热图；D：不同染毒组斑马鱼幼鱼运动平均速度。与对照组相比，***：P<0.001。

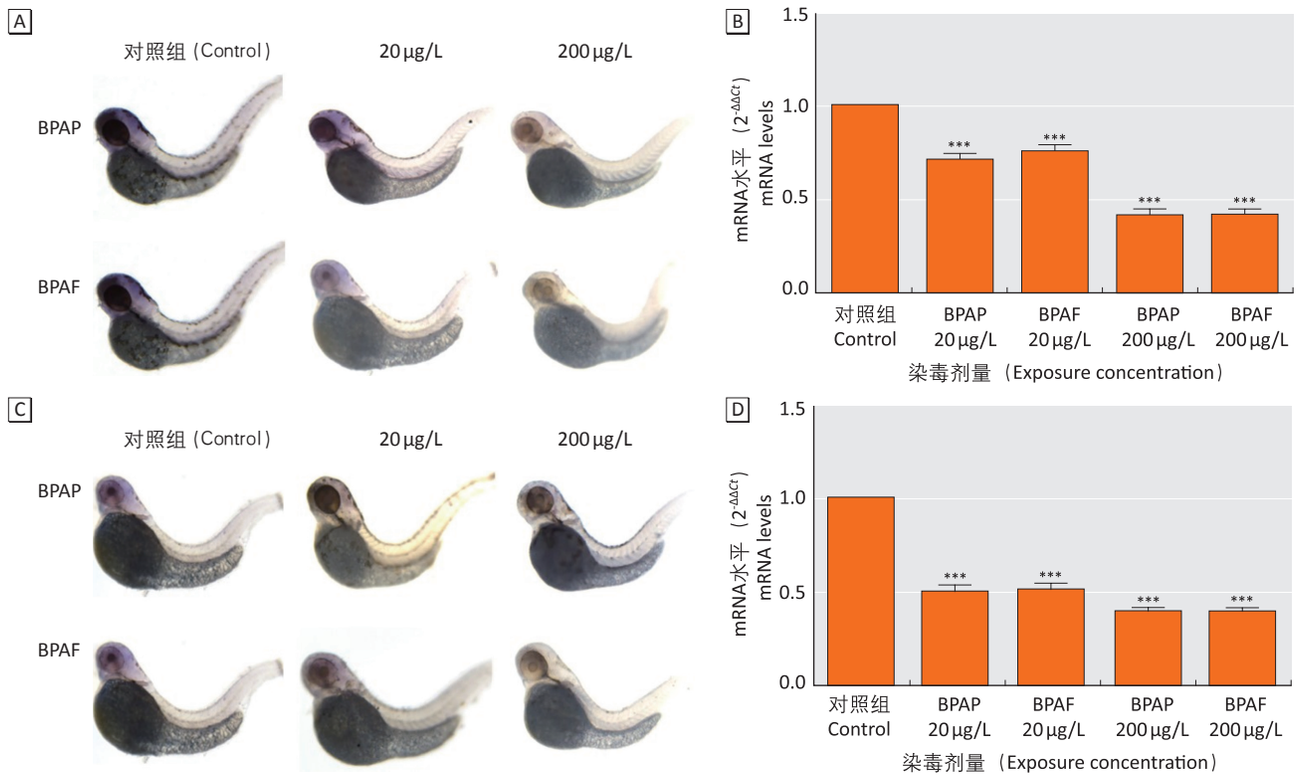
[Note] A：Zebrafish larvae behavioral trajectories in different exposure groups；B：Total moving distance of zebrafish larvae in different exposure groups；C：Thermogram of zebrafish larvae in different exposure groups；D：Average speed of zebrafish larvae in different exposure groups. Compared with the control group，***：P<0.001.

图 1 BPAP 和 BPAF 染毒对斑马鱼幼鱼运动行为的影响

Figure 1 Effects of BPAP or BPAF exposure on locomotion behavior of zebrafish larvae

2.2 BPAP和BPAF对斑马鱼幼鱼神经发育关键基因的影响

在mRNA水平对神经系统发育相关基因*syn2a*以及*mbp*进行检测，结果显示：与对照组相比，BPAP（20 μg/L和200 μg/L）和BPAF（20 μg/L和200 μg/L）可抑制*syn2a*基因及*mbp*基因的表达，具有统计学差异（图2B、图2D）。如图2A所示，与对照组相比，200 μg/L BPAP和BPAF均显著抑制了*syn2a*基因的表达（*syn2a*和*mbp*探针标记在斑马鱼幼鱼脑部，颜色越深代表表达量高）。如图2C所示，与对照组相比，斑马鱼脑部*mbp*的表达量在200 μg/L BPAF受到抑制，而在200 μg/L BPAP中略有降低但差异不明显。原位杂交*syn2a*和*mbp*基因的表达，部分验证了荧光定量PCR的结果。



[注] A：不同剂量染毒组斑马鱼幼鱼*syn2a*原位杂交；B：不同剂量染毒组斑马鱼幼鱼*syn2a*基因的改变；C：不同剂量染毒组斑马鱼幼鱼*mbp*原位杂交；D：不同剂量染毒组斑马鱼幼鱼*mbp*基因的改变。与对照组相比，***：$P<0.001$。

[Note] A：*syn2a in situ* hybridization of zebrafish larvae in different exposure groups；B：Changes of *syn2a* gene of zebrafish larvae in different exposure groups；C：*mbp in situ* hybridization of zebrafish larvae in different exposure groups；D：Changes of *mbp* gene of zebrafish larvae in different exposure groups. Compared with the control group，***：$P<0.001$.

图2 BPAP和BPAF对斑马鱼幼鱼神经发育相关基因的影响

Figure 2 Effects of BPAP or BPAF exposure on neurodevelopment-related genes of zebrafish larvae

3 讨论

随着BPA的逐渐禁用，BPAP和BPAF作为BPA同系物产量逐渐增加，应用领域不断扩大。BPA有心脏发育毒性、生殖毒性、免疫毒性、内分泌毒性以及神经发育毒性等[23]。BPAP和BPAF同BPA化学结构相类似，可能有着与BPA相类似的毒理学机制。有研究发现BPAF有更强的内分泌毒性，BPAF与雌激素受体α的亲和力是BPA的20倍，与雌激素受体β的亲和力是BPA的48倍[4]。同时，任文娟等[19]研究发现高剂量的BPAF会诱导斑马鱼心肌发育毒性，造成斑马鱼心包腔水肿、心率降低等表型。Lee等[24]的研究表明了BPAF通过上调大鼠脑中ROS的产生，激活MAPK路径，诱导海马区神经细胞以及神经前体细胞的凋亡。相比于BPAF，有研究发现BPAP也可以与雌激素受体相结合，发挥同BPA以及BPAF相似的内分泌干扰效应[25]，BPAP同样会发挥心脏毒性，但是对于BPAP造成的神经发育毒性鲜有报道。

本研究发现BPAP和BPAF染毒对斑马鱼幼鱼的运动行为具有抑制作用，这可能与神经发育关键基因的表达下调有关。运动行为代表神经控制的活动系统，已被广泛用于测试环境化学品的神经毒性。

在髓鞘少突胶质细胞中发现的*mbp*基因被认为

是神经发育的生物标志物。在本研究中 *mbp* 基因表达下调，表明 BPAP 和 BPAF 染毒可能会影响少突胶质细胞，进一步影响髓鞘的形成。最近的一项研究结果显示，暴露于甲胺磷的斑马鱼幼鱼产生神经毒性，*mbp* 基因也明显下调[26]。

syn2a 基因结合突触小泡在哺乳动物中进一步诱导突触形成的神经元磷酸蛋白，在突触形成和神经递质释放中起重要作用[18]。赵丹[27]研究发现，缺氧导致斑马鱼幼鱼神经系统损伤，*syn2a* 基因的表达量明显下调。在朱小乔等[20]研究中，雌性斑马鱼和雄性斑马鱼暴露于 BPAF，*syn2a* 基因的表达量随 BPAF 染毒浓度的增大而下调，这与本次实验结果相一致，而 BPAP 染毒也下调了 *syn2a* 基因的表达量。

综上所述，本研究发现，斑马鱼幼鱼在早期神经发育阶段暴露于 BPAP（20 μg/L 和 200 μg/L）和 BPAF（20 μg/L 和 200 μg/L）可能会通过抑制神经发育关键基因的表达从而导致神经毒性。本研究尚有一些不足，一是染毒剂量分组有限，不能明确剂量效应关系，二是关于神经毒性的机制研究不够深入，有待进一步研究。

参考文献

[1] 张洪昌，陈良燕，刘树深，等. BPA 与 3 种双酚类化合物的联合作用雌激素效应 [J]. 环境科学，2009，30 (1)：260-265.

[2] FISCHNALLER M，BAKRY R，BONN GK. A simple method for the enrichment of bisphenols using boron nitride [J]. Food Chem，2016，194：149-155.

[3] CHEN D，KANNAN K，TAN H，et al. Bisphenol analogues other than BPA：environmental occurrence，human exposure，and toxicity—a review [J]. Environ Sci Technol，2016，50 (11)：5438-5453.

[4] MATSUSHIMA A，LIU X，OKADA H，et al. Bisphenol AF is a full agonist for the estrogen receptor ERα but a highly specific antagonist for ERβ [J]. Environ Health Perspect，2010，118 (9)：1267-1272.

[5] VANDENBERG LN，COLBORN T，HAYES TB，et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals：low-dose effects and nonmonotonic dose responses [J]. Endocr Rev，2012，33 (3)：378-455.

[6] JIN H，ZHU L. Occurrence and partitioning of bisphenol analogues in water and sediment from Liaohe River Basin and Taihu Lake，China [J]. Water Res，2016，103：343-351.

[7] LIAO C，LIU F，GUO Y，et al. Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries：implications for human exposure [J]. Environ Sci Technol，2012，46 (16)：9138-9145.

[8] LIAO C，LIU F，MOON HB，et al. Bisphenol analogues in sediments from industrialized areas in the United States，Japan，and Korea：spatial and temporal distributions [J]. Environ Sci Technol，2012，46 (21)：11558-11565.

[9] SONG S，RUAN T，WANG T，et al. Distribution and preliminary exposure assessment of bisphenol AF (BPAF) in various environmental matrices around a manufacturing plant in China [J]. Environ Sci Technol，2012，46 (24)：13136-13143.

[10] YANG Y，GUAN J，YIN J，et al. Urinary levels of bisphenol analogues in residents living near a manufacturing plant in south China [J]. Chemosphere，2014，112：481-486.

[11] FERNÁNDEZ MF，RIVAS A，OLEA-SERRANO F，et al. Assessment of total effective xenoestrogen burden in adipose tissue and identification of chemicals responsible for the combined estrogenic effect [J]. Anal Bioanalyt Chem，2004，379 (1)：163-170.

[12] 杨洋，陈亚文，唐天乐，等. 双酚 AF 暴露对胚胎期和幼鱼期斑马鱼的毒性效应 [J]. 环境科学研究，2015，28 (8)：1219-1226.

[13] 李靖. 双酚 AF (BPAF) 对青春期前雄性大鼠睾丸毒性效应的研究 [D]. 合肥：安徽大学，2015.

[14] CANO-NICOLAU J，VAILLANT C，PELLEGRINI E，et al. Estrogenic effects of several BPA analogs in the developing zebrafish brain [J]. Front Neurosci，2016，10：112.

[15] 徐静，刘济宁，汪贞，等. 水体和沉积物加标法评估 BPAP 对摇蚊的毒性 [J]. 生态毒理学报，2017，12 (5)：176-183.

[16] BRÖSAMLE C，HALPERN ME. Characterization of myelination in the developing zebrafish [J]. Glia，2002，39 (1)：47-57.

[17] MÜLLER C，BAUER NM，SCHAFER I，et al. Making myelin basic protein-from mRNA transport to localized translation [J]. Front Cell Neurosci，2013，7：169.

[18] KAO HT，PORTON B，CZERNIK AJ，et al. A third member of the synapsin gene family [J]. Proc Natl Acad Sci USA，1998，95 (8)：4667-4672.

[19] 任文娟，汪贞，王蕾，等. 双酚 A 及其类似物对斑马鱼胚胎及幼鱼的毒性效应 [J]. 生态毒理学报，2017，12 (1)：

184-192.

[20] 朱小乔，唐天乐，彭翔，等. 双酚AF暴露降低斑马鱼学习记忆能力并影响神经系统相关基因表达 [J]. 生态毒理学报，2017，12 (1)：119-126.

[21] NERY LR，ELTZ NS，HACKMAN C，et al. Brain intraventricular injection of amyloid-β in zebrafish embryo impairs cognition and increases tau phosphorylation，effects reversed by lithium [J]. PLoS One，2014，9 (9)：e105862.

[22] 樊竑冶，彭忠禄，谢华平，等. 斑马鱼整体原位杂交的技术改良 [J]. 激光生物学报，2010，19 (1)：115-119.

[23] 国先芬，王贻鑫，耿存珍，等. 环境激素双酚A的毒理学研究进展 [J]. 环境科学与技术，2013，36 (2)：86-92.

[24] LEE S，KIM YK，SHIN TY，et al. Neurotoxic effects of bisphenol AF on calcium-induced ROS and MAPKs [J]. Neurotox Res，2013，23 (3)：249-259.

[25] COLEMAN KP，TOSCANO JR WA，WIESE TE. QSAR models of the *in vitro* estrogen activity of bisphenol a analogs [J]. Mol Inform，2003，22 (1)：78-88.

[26] HE X，GAO J，DONG T，et al. Developmental neurotoxicity of methamidophos in the embryo-larval stages of zebrafish [J]. Int J Environ Res Public Health，2017，14 (1)：E23.

[27] 赵丹. 急、慢性缺氧对斑马鱼幼鱼神经系统损伤机制的初步研究 [D]. 广州：南方医科大学，2014.

（**英文编辑**：汪源；**编辑**：丁瑾瑜；**校对**：王晓宇）

【告知栏】

《环境与职业医学》杂志2019年全新改版

自1984年创刊起，《环境与职业医学》杂志始终坚持以环境医学与职业医学为主体，融合相关学科的内容；以维护人群尤其是职业人群的健康为目标；以突出报道学科前沿研究成果为方向；以立足国内学术前沿，汲取国际研究精华，推进环境与职业医学学科发展，提高职业和全体人群健康水平为宗旨。

2019年起，《环境与职业医学》杂志全新改版！

此次改版给《环境与职业医学》杂志注入了焕然一新的活力，更突出环境医学与职业医学的跨学科发展，更顺应媒体融合发展新趋势，更聚焦热点研究，更好地发挥学科引领作用，以科学可信的数据为政府决策提供依据，保障公众健康。

新封面设"本期推荐"，介绍本期的专栏、原创精选或重点推荐文章。内页全新布局，伦理审批、利益冲突、引用、链接等文章信息一目了然。此外，新的视觉效果兼顾舒适的纸质和电子阅读体验。

欢迎广大读者、作者订阅，或登录本刊官方网站www.jeom.org免费阅读、下载。