

## 三氯生单独暴露对斑马鱼幼鱼眼部的毒性研究

张 灵<sup>1</sup>, 刘 秘<sup>1</sup>, 王雯雯<sup>1</sup>, 叶嘉星<sup>1</sup>, 方周溪<sup>1</sup>, 王慧利<sup>1</sup>, 周志明<sup>2</sup>, 艾为明<sup>1\*</sup>

(1. 温州医科大学 检验医学院 生命科学学院, 中国浙江 温州 325000; 2. 浙江省海洋水产养殖研究所, 中国浙江 温州 325000)

**摘 要:** 三氯生(2,4,4'-三氯均二苯脲, triclosan, TCS)是环境中应用最为广泛的新兴外源性污染物之一,可强烈地吸附在土壤、沉积物、胶体中。TCS具有生物蓄积作用,在生物体内的富集浓度远超过在水、土壤等环境中的浓度,并且可通过生物富集作用进入食物链。本实验以斑马鱼(*Danio rerio*)胚胎为模型,探讨不同浓度的TCS暴露对斑马鱼胚胎、幼鱼发育的影响。结果发现,TCS暴露对斑马鱼胚胎和幼鱼具有较强的致畸、致死效应。为了进一步了解TCS对斑马鱼眼部超微结构的影响,将其眼部电镜切片放在透射电镜下观察。结果显示,TCS暴露后斑马鱼幼鱼眼部感光细胞外节盘数量明显减少,外网状层及内网状层较对照组明显变薄且空泡化严重,外核层细胞核固缩现象严重甚至部分细胞核出现溶解的现象。实验结果表明TCS暴露对斑马鱼幼鱼眼部发育有潜在的毒性作用,这可为进一步探讨TCS对人体潜在的毒性作用提供科学、可靠的依据。

**关键词:** 三氯生(TCS); 斑马鱼; 眼; 感光细胞; 透射电镜(TEM)

中图分类号: Q955, X171.5

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2019)04-0290-07

## Toxic Effect of Triclosan Exposure on the Eyes of Zebrafish Larvae

ZHANG Ling<sup>1</sup>, LIU Mi<sup>1</sup>, WANG Wen-wen<sup>1</sup>, YE Jia-xing<sup>1</sup>, FANG Zhou-xi<sup>1</sup>,  
WANG Hui-li<sup>1</sup>, ZHOU Zhi-ming<sup>2</sup>, AI Wei-ming<sup>1\*</sup>

(1. School of Laboratory Medicine and Life Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, Zhejiang, China; 2. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325000, Zhejiang, China)

**Abstract:** Triclosan (2,4,4'-trichloro-diphenylurea, TCS) is one of the most widely used emerging environmental contaminants in the environment, and it can be strongly adsorbed in soil, sediments, and colloids. The bioaccumulation of TCS makes its concentration in organisms far exceed those in water, soil and other environments. TCS is able to enter the food chain through bioaccumulation. Herein, zebrafish (*Danio rerio*) embryos were used as the model to discuss the effects of different concentrations of TCS on the development of zebrafish embryos and larvae. The results showed that TCS exposure had obviously teratogenic and lethal effects on zebrafish embryos and larvae. In order to further understand the effects of TCS on the ocular microstructures of zebrafish, the sections were made and observed by transmission electron microscopy. It showed that the number of extracellular photosensitive nodes in the eyes of zebrafish larvae was significantly reduced after TCS exposure. The outer reticular and intramural layers were significantly thinner and showed more severe vacuolation than those in the control group. The pyknosis was severe as well, even some nuclei of the outer nuclear layer dissolved. These results indicated that TCS exposure may have potential toxic effects on eye development of zebrafish larvae. This provides a scientific basis for further exploring the poten-

收稿日期: 2019-04-09; 修回日期: 2019-05-24

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(LY15C030004); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201810343014); 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划项目(2018R413024); 温州市科技计划项目(S20170002)

作者简介: 张灵(1998-), 男, 浙江杭州人, 学生; 张灵和刘秘对本文的贡献相同, 为本文共同第一作者; \* 通讯作者: 艾为明(1976-), 男, 江西进贤人, 温州医科大学副教授, 主要从事斑马鱼毒理生态学研究, Tel: 0577-86699098, E-mail: youmeawm@wmu.edu.cn.

tial toxic effects of TCS on human body.

**Key words:** triclosan (TCS); zebrafish; eye; photoreceptor cells; transmission electron microscopy (TEM)

(*Life Science Research*, 2019, 23(4): 290-296)

三氯生(2,4,4'-三氯均二苯脲, triclosan, TCS)是国际公认的高效广谱抗菌剂,已广泛应用于医药、化妆品、洗涤剂以及日常护理用品(pharmaceuticals and personal care products, PPCPs)等领域,是常见的PPCPs污染物之一<sup>[1-2]</sup>。TCS具有易沉积性和生物富集作用,在河流的藻体、鱼体甚至人类孕妇的血清中均有检出<sup>[3-5]</sup>;此外,它是一种稳定的亲脂性化合物,易被人体皮肤和口腔黏膜吸收,存在于人体各种组织和体液中<sup>[6]</sup>。TCS的高脂溶性及生物蓄积性,使其能通过食物链逐级富集、迁移,最终在动物和人体内蓄积而危及健康<sup>[2]</sup>。

环境中低剂量的TCS长期作用于水生生态系统会引发慢性致毒效应,并可通过生物富集作用放大“积累毒性”,或与多种药物在环境中产生协同作用,影响水生生物的生存,危害人类的健康,是人们最容易忽视的环境威胁之一<sup>[7]</sup>。已有研究表明,TCS对鱼类、无脊椎动物、两栖类生物的发育有急性或长期慢性暴露毒性,TCS暴露可干扰激素调节和脂肪代谢,诱导氧化应激、细胞凋亡等<sup>[6,8]</sup>。最近有许多报道指出TCS具有潜在的神经毒性,但是对眼部的影响尚不明确<sup>[9-10]</sup>。斑马鱼(*Danio rerio*)是一类具有高度视觉的物种,广泛用于视觉系统发育、解剖、生理和分子生物学的研究<sup>[11]</sup>。其视网膜与哺乳动物(包括人类)的结构非常相似,分层排列,包括神经视网膜和视网膜色素上皮层。神经视网膜具有特征性的3个细胞层,含7种主要细胞(包括6种神经元和Muller's胶质细胞)。其感光细胞与人类具有相似的形态学特点,有胞体和盘状的外节盘。斑马鱼眼部表达的5种视蛋白,均位于感光细胞的外节盘<sup>[12-13]</sup>。基于以上研究背景,本实验通过透射电镜观察暴露于TCS中斑马鱼的眼部各层细胞发育的畸变情况,以探究TCS暴露对斑马鱼眼部组织结构的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

斑马鱼亲本选用健康野生型AB品系斑马鱼,购于中国科学院水生生物研究所国家斑马鱼资源中心(China Zebrafish Resource Center, CZRC)。雌雄鱼分开饲养于斑马鱼养殖系统,光周期为14 L

(light):10 D (dark),水温 $27.0\pm 1$  °C,电导率保持在 $550\pm 50$   $\mu$ S, pH为 $7.5\pm 0.5$ ,溶解氧95%饱和,成年鱼每天饲喂两次丰年虾。

### 1.2 主要试剂

文中采用的试剂主要有三氯生(TCS,美国Sigma公司)、丙酮(阿拉丁公司)和2.5%戊二醛(Solarbio公司)等。

### 1.3 主要仪器

SZX7体视显微镜(Olympus公司,日本);AE-2000倒置生物显微镜(Motic公司);日立E-1010离子溅射仪(日立公司,日本);Power Tome-XL型超薄切片机(RMC公司,美国);H-7500型透射电子显微镜(日立公司,日本)等。

### 1.4 胚胎收集

产卵前一晚将健康斑马鱼成鱼按雌雄比例1:1置于交配缸中,中间隔以透明隔板并黑暗处理10 h。次日早上8点抽去隔板使雌雄追尾产卵,并观察产卵情况。产卵行为约30 min结束,随后收集胚胎并将其转移到含有胚胎培养液(embryo culture medium, ECM; 配比成分见表1)的无菌培养皿中,做好标记,置于恒温培养箱(光周期为14 L:10 D,温度 $28.5\pm 0.5$  °C)培养。每日更换培养液并及时去除死胚胎、脱下的壳膜及其他杂物。

### 1.5 斑马鱼胚胎暴露实验

将较低浓度的TCS-丙酮溶液和丙酮按不同比例溶于ECM中配置暴露液。选取发育至6 hpf(受精后小时数)的健康胚胎,将其置于96孔细胞培养平板中,每孔一枚,使胚胎暴露于TCS梯度浓度(0.4 mg/L, 0.6 mg/L, 0.8 mg/L, 1.0 mg/L, 1.2 mg/L, 1.4 mg/L)暴露液中,每组设有20枚胚胎,每个浓度设置2个平行组,并设有空白对照(溶液中只含ECM,无丙酮)和助溶剂对照(丙酮对照组),每个孔中加入200  $\mu$ L暴露液。加入暴露液和胚胎后,将96孔细胞培养平板用封口膜封好,放到光照恒温培养箱(光周期为14 L:10 D,温度 $28.5\pm 0.5$  °C)培养。实验期间采取换水式培养方法,即每天更换一次暴露液,每次更换150  $\mu$ L。

实验开始后,在设定的时间点( $t=12$  hpf、24 hpf、48 hpf、72 hpf、96 hpf、120 hpf、144 hpf)用体式显微镜观察对照组和实验组中胚胎的孵化、畸形与死

表 1 胚胎培养液的成分以及配制方法  
Table 1 Compositions and methods for preparing ECM

Number of solution	Composition	Volume/(mL·L <sup>-1</sup> )
1	8.0 g NaCl, 0.4 g KCl, 100 mL DI water	10
2	0.35 g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 0.60 g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 100 mL DI water	1
3	0.72 g CaCl <sub>2</sub> , 50 mL DI water	10
4	DI water	959
5	1.23 g MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, 50 mL DI water	10
6	0.35 g NaHCO <sub>3</sub> , 10 mL DI water	10

注: 溶液 1、2、3、5 于 4 °C 条件下保存; 溶液 6 需要现配现用。配制 ECM 时按以上编号顺序添加母液, 最后调节 pH 为 7.2, 4 °C 下保存备用。

Notes: Solutions 1, 2, 3 and 5 should be stored at 4 °C. Solution 6 should be prepared immediately before application. When ECM is prepared, stock solutions should be added in the order of above numbers, and finally the pH value should be adjusted to 7.2 and stored in 4 °C.

亡情况, 并统计各组的死亡率和孵化率。两个对照组的死亡率均不超过 5%, 否则重新进行实验。

### 1.6 透射电镜样品的制备

按照参考文献[14]的方法进行透射电镜样品的制备, 主要操作步骤如下: 根据前期实验所得到的 144 hpf 半数致死浓度, 设置 TCS 梯度浓度 (0.1 mg/L, 0.2 mg/L, 0.4 mg/L) 暴露液组及空白对照、助溶剂对照, 每组设有 20 枚胚胎; 连续暴露至 144 hpf, 取存活的斑马鱼幼鱼置于自制的蜡板上, 采用“双刀切割法”快速剖取幼鱼眼部组织, 并于 4 °C 预冷的固定液中修成 1 mm<sup>3</sup> 大小, PBS (phosphate buffered saline) 缓冲液漂洗后, 2.5% 戊二醛固定过夜; 0.1 mol/L PBS 冲洗 15 min 后, 室温下于 1% 锇酸中固定 1 h; 随后, 0.1 mol/L PBS 缓冲液漂洗 15 min, 醋酸铀染色液染色, 50%、70%、80%、90%、100% (I、II) 的丙酮脱水各 10 min; 浸透以及包埋聚合后, 半薄切片 (2 μm) 进行甲苯胺蓝染色, 并进行光镜观察定位; 最后, 将超薄切片 (70 μm) 置于铜网上, 用醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。实验采用日立 H-7500 型透射电子显微镜观察视网膜各层并照相记录<sup>[8-9]</sup>。

### 1.7 数据处理

数据的处理以及图表的制作采用 SPSS 18.0 软件和 GraphPad Prism 6 软件, 统计结果用平均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 统计学差异用 SPSS 18.0 软件进行回归分析、方差分析, 显著性分析的 *P* 值定为 0.05。

## 2 结果

### 2.1 TCS 对斑马鱼幼鱼生长发育的影响

将斑马鱼胚胎用不同浓度的 TCS 暴露液培养至 144 hpf, 实验结果如图 1 所示, 两个对照组

胚胎发育正常, 各时期胚胎或幼鱼死亡率均低于 5%, 说明胚胎质量满足后续实验要求。暴露培养至 48 hpf 时, 1.4 mg/L TCS 暴露组的胚胎死亡率约为 30%; 暴露培养至 96 hpf 后, 该组胚胎全部死亡。暴露至 144 hpf 时, 两个对照组幼鱼全部存活, 0.4 mg/L、0.6 mg/L、0.8 mg/L、1.0 mg/L、1.2 mg/L 和 1.4 mg/L TCS 暴露组的死亡率分别为 5%、5%、70%、80%、90% 和 100%。此外, 两个对照组胚胎在 48 hpf 时开始孵化, 72 hpf 后基本孵化完全; 而 1.0 mg/L、1.2 mg/L 和 1.4 mg/L 实验组中均存在大量胚胎未孵化。由统计分析可知, 斑马鱼幼鱼死亡率与 TCS 暴露时间和暴露浓度呈正相关性。由回归分析得出, 96 hpf-LC<sub>50</sub> 为 1.048 mg/L (*P*<0.05), 144 hpf-LC<sub>50</sub> 为 0.782 mg/L (*P*<0.05)。实验结果表明, TCS 暴露会影响斑马鱼胚胎/幼鱼的孵化率、死亡率, 并且随着浓度的升高, 死亡率越高, 表现出明显的剂量依赖性。

### 2.2 TCS 暴露对斑马鱼眼部组织超微结构的影响

为进一步研究 TCS 暴露对斑马鱼幼鱼眼部结构的影响, 本实验分别在 10 000× 和 20 000× 透射电子显微镜下观察暴露 144 hpf 后幼鱼眼部组织的超微结构。

#### 2.2.1 TCS 暴露对斑马鱼眼部感光细胞的影响

如图 2 所示, 两个对照组斑马鱼眼部的感光细胞有外节盘形成, 数量较多, 排列整齐 (图 2, A1 和 B1), 感光细胞外节盘层状结构清晰, 排列整齐, 未见层状结构松散 (图 2, A2 和 B2), 且附近的线粒体数量较多, 体积较大, 形态完好, 未见线粒体空泡 (图 2, A1~B3)。各 TCS 暴露组幼鱼眼部感光细胞虽然也有外节盘形成 (图 2, C1~E3), 但是数量较对照组少, 排列松散; 外节盘层状结构松散, 呈空泡化; 色素层细胞与外节盘间出现吞噬现象,

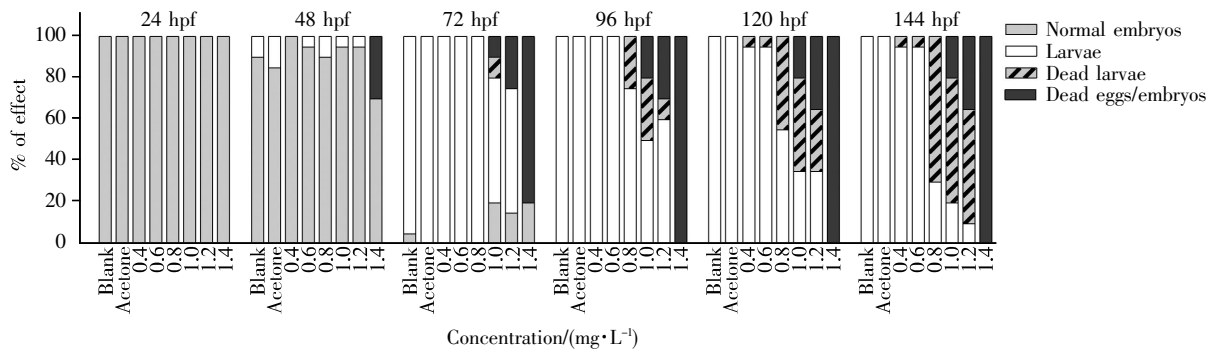


图 1 TCS 暴露至 144 hpf 对斑马鱼胚胎和幼鱼的影响

Fig.1 Effects of TCS exposure on zebrafish embryos and larvae during 144 hours post-fertilization

边缘空隙明显。同时, 0.2 mg/L 和 0.4 mg/L TCS 实验组中外节盘与色素层出现明显的肿胀、空泡现象(图 2, D2 和 E2)。此外, 随着 TCS 暴露浓度的升高, 感光细胞外节盘附近的线粒体数量相对减少, 出现明显的肿胀和空泡化, 并有结构溶解现象(图 2, D3 和 E3), 而且 0.4 mg/L TCS 暴露组的视杆细胞和色素上皮之间甚至出现类似外节的膜样物质异常堆积。

2.2.2 TCS 暴露对斑马鱼眼部外网状层和内网状层的影响

如图 3 所示, 两个对照组斑马鱼眼部的视网膜突触结构完整, 数量较多, 外网状层较厚(图 3, A1 和 A2); 0.1 mg/L TCS 实验组外网状层突触结构较完整, 数量较多, 排列较整齐, 但是部分突触

出现肿胀空泡(图 3, A3); 0.2 mg/L TCS 实验组外网状层突触结构不完整, 数量减少, 排列较疏松, 出现大量空泡(图 3, A4); 0.4 mg/L TCS 实验组外网状层突触结构散乱, 数量明显减少, 排列无规律, 外网状层较对照组明显变薄, 突触连接部位高度肿胀, 空泡化严重(图 3, A5)。

与外网状层的观察结果类似, 两个对照组斑马鱼眼部的内网状层突触结构完整, 数量较多, 且内网状层较厚(图 3, B1 和 B2); 0.1 mg/L TCS 实验组内网状层突触结构与对照相比无较大差异, 部分突触出现肿胀、空泡现象(图 3, B3); 0.2 mg/L TCS 实验组内网状层突触结构不完整, 数量减少, 排列较疏松, 出现大量空泡(图 3, B4); 0.4 mg/L TCS 实验组内网状层突触结构散乱, 数量明显减少,

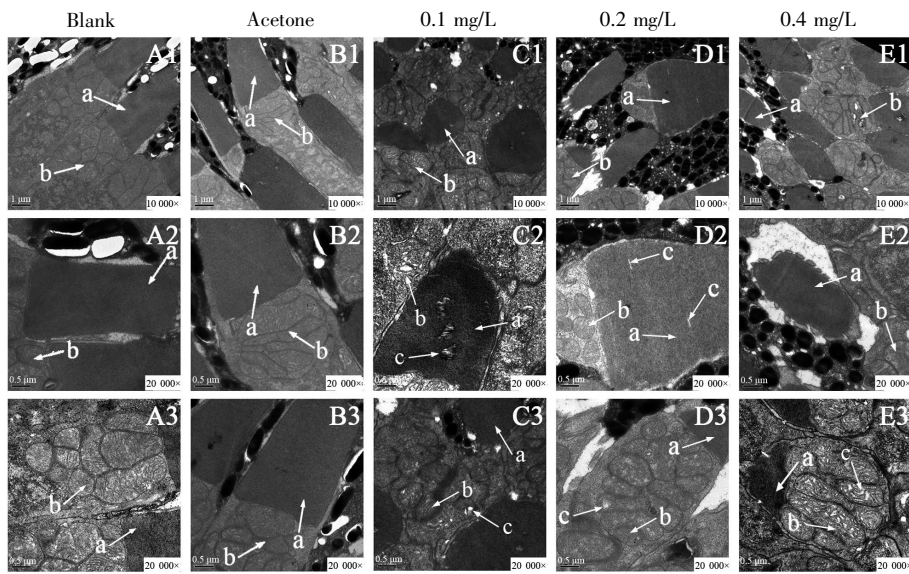


图 2 TCS 暴露至 144 hpf 时斑马鱼眼部感光细胞的透射电镜观察

A1~E1: 10 000×视野; A2~E3: 对应组图 1 中 a、b 所指位置的 20 000×视野。a: 感光细胞外节盘; b: 线粒体; c: 空泡。

Fig.2 Transmission electron microscope observation of zebrafish eye photoreceptor after TCS exposure for 144 hpf

A1~E1: Visual field of 10 000 times; A2~E3: 20 000 times field of view at the position indicated by "a" and "b" in corresponding group figure 1. a: The photoreceptor outer segment; b: Mitochondrion; c: Vacuolar.

排列无规律,内网状层较对照组明显变薄,突触连接部位高度肿胀,空泡化严重(图3, B5)。

### 2.2.3 TCS 暴露对斑马鱼眼部外核层细胞的影响

如图4所示,两个对照组斑马鱼眼部外核层细胞的细胞核结构清晰,排列整齐,可观察到3种不同类型细胞核且细胞核形态完好,未见细胞核固缩的现象(图4, A和B); 0.1 mg/L TCS 实验组外核层细胞的细胞核出现固缩现象,同时细胞核之间出现明显的间隙,染色质出现浓缩(图4C); 0.2 mg/L TCS 实验组外核层细胞的细胞核同样出现固缩的现象,染色质出现高度浓缩(图4D); 0.4 mg/L TCS 实验组外核层细胞的细胞核固缩现象更严重,细胞核染色质高度浓缩,且部分出现溶解的

现象(图4E)。

## 3 讨论

近年来多项研究报道表明 TCS 的大量使用会导致很多的健康问题,例如:微生物抗性、皮肤刺激、内分泌紊乱、免疫反应、甲状腺激素代谢改变以及癌症等<sup>[15-18]</sup>。与其他新兴污染物不同, TCS 未被重视为化学污染物,这导致 TCS 在各种家用产品中广泛使用,从而导致其在水生和陆地环境中浓度增加。本研究结果表明 TCS 暴露对斑马鱼胚胎和幼鱼均具有较强的致畸、致死效应,且毒性效应与其浓度密切相关。在本研究中,暴露于 1.0 mg/L、1.2 mg/L、1.4 mg/L TCS 的胚胎在 48 hpf 和 72 hpf

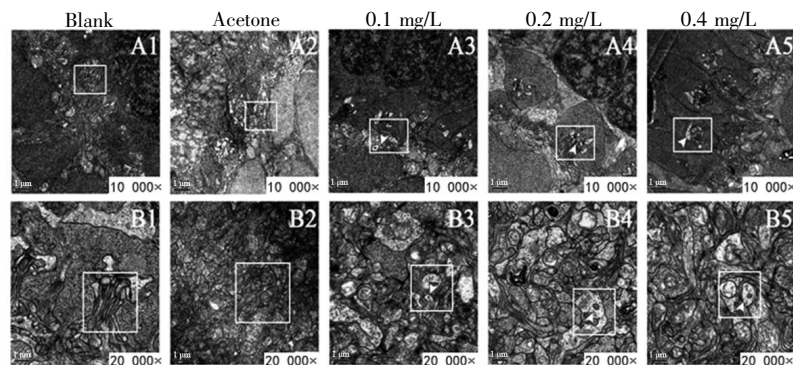


图3 TCS 暴露至 144 hpf 时斑马鱼眼部外网状层和内网状层的透射电镜观察

A: 外网状层; B: 内网状层。白色方框: 网状层观察部位; 箭头: 空泡。

Fig.3 Transmission electron microscope observation of zebrafish eye outer and inner plexiform layers after TCS exposure for 144 hpf

A: Outer plexiform layers; B: Inner plexiform layers. White box: Observation site of plexiform layer; Arrow: Vacuolar.

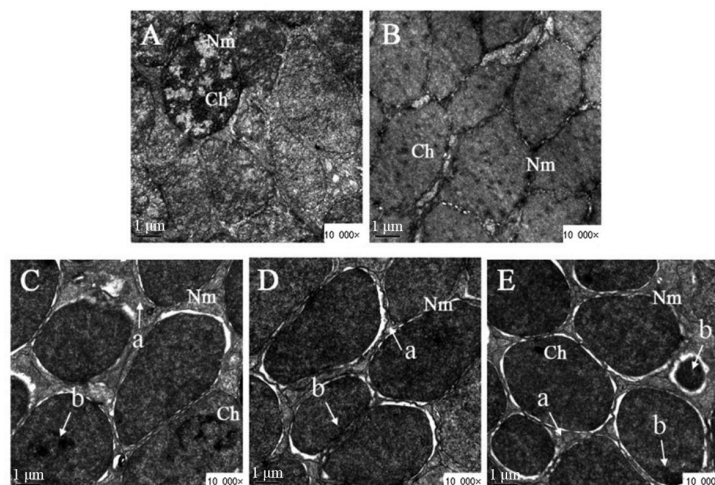


图4 TCS 暴露至 144 hpf 时斑马鱼眼部外核层的透射电镜观察

A: 空白对照组; B: 丙酮对照组; C: 0.1 mg/L TCS 暴露组; D: 0.2 mg/L TCS 暴露组; E: 0.4 mg/L TCS 暴露组。Nm: 核膜; Ch: 核染色质; a: 细胞核间隙; b: 核固缩。

Fig.4 Transmission electron microscope observation of zebrafish eye outer nuclear layer after TCS exposure for 144 hpf

A: Blank group; B: Acetone group; C: 0.1 mg/L TCS exposure group; D: 0.2 mg/L TCS exposure group; E: 0.4 mg/L TCS exposure group. Nm: Nuclear membrane; Ch: Chromatin; a: Nuclear space; b: Pyknotic nucleus.

出现了明显的孵化延迟,这与 Elodie 等<sup>[19]</sup>报道的结果一致,提示随着 TCS 浓度的增加,斑马鱼胚胎孵化率和幼鱼存活率均降低。

有研究发现, TCS 暴露会诱导斑马鱼幼鱼中枢神经系统(central nervous system, CNS)发生凋亡,影响 CNS 的结构,并减少轴突密度和长度;而且, TCS 暴露下发育的斑马鱼的体型缩短,头部结构畸形,眼睛的尺寸随 TCS 浓度增加而减小<sup>[10]</sup>。斑马鱼早期眼球占身体比例较大,便于形态学研究和发育过程观察。其视觉系统发育迅速,受精后 24 h,眼部主要器官原基基本形成;受精后 3 d,视杯、视网膜结构即可发育成熟,细胞种类和神经细胞突触也基本建立,并开始对光反应;受精后 5 d,视觉系统具有功能性<sup>[20]</sup>。近年来,包括白内障、青光眼、糖尿病视网膜疾病、年龄相关性黄斑变性在内的多种眼疾病均已建立斑马鱼生物模型,大规模遗传突变筛选也鉴定了一批特定眼睛表型的突变体<sup>[13]</sup>。因此,本研究在评价 TCS 毒理学效应时,模拟环境中鱼类眼部与 TCS 的接触环境,通过透射电镜观察斑马鱼眼部各层细胞的超微结构,进一步了解 TCS 暴露对斑马鱼眼部组织结构发育的影响。透射电镜结果显示,低浓度 TCS 暴露时斑马鱼幼鱼眼部感光细胞中大多数核染色较深,少数核皱缩甚至固缩;随着药物浓度的升高,感光细胞数量逐渐减少,外节、内节均变薄,排布紊乱,外节盘层状结构混乱,出现卷曲,大量外节盘与色素层细胞出现吞噬现象;对照组内网状层神经终末空泡少,突触复合体数量多,突触小泡丰富,而 TCS 暴露组内网状层轴突内线粒体肿胀、空化,树突终末微管溶解,突触稀少,突触小泡稀少。

同时, TCS 暴露组感光细胞的染色质浓缩并聚集于核膜边缘,临近核孔消失,呈现细胞凋亡的特征。根据文献<sup>[21]</sup>可知,随着感光细胞的退变,其与双极细胞之间连接的突触大量减少,外网状层逐渐变薄、中断甚至消失。值得注意的是,虽然此时双极细胞和节细胞的细胞形态及数量没有明显变化,但其线粒体高度膨胀,线粒体嵴断裂或消失。因此,我们推测感光细胞作为视觉传入的光感受细胞,其退变引起输入成分消失,导致下一级神经元(包括双极细胞和节细胞)的部分细胞器在早期发生异常,从而发生跨神经元变性,影响斑马鱼视觉形成。

综上所述,本研究通过对 TCS 暴露下斑马鱼幼鱼眼部的超微结构的观察表明, TCS 对斑马鱼

早期眼部发育有一定的毒性作用。感光细胞数量减少,内、外网状层逐渐变薄,表明视网膜神经元之间连接减少,影响了视网膜的正常功能。线粒体肿胀,可见空泡状线粒体,表明感光细胞内线粒体功能严重受损,影响了递质合成及释放,进而干扰视觉信号传递,甚至累及整个神经元。电镜观察还发现突触稀少、突触囊泡减少等现象,表明 TCS 对神经元突触结构具有直接破坏作用。总之,本研究首次初步评价了 TCS 对斑马鱼早期眼部发育的影响,为今后眼部疾病的机制以及 TCS 毒性效应的研究奠定了一定的基础。

### 参考文献(References):

- [1] LI J, ZHOU Q, CAMPOS L C. Removal of selected emerging PPCP compounds using greater duckweed (*spirodela polyrhiza*) based lab-scale free water constructed wetland[J]. Water Research, 2017, 126: 252-261.
- [2] WEATHERLY L M, GOSSE J A. Triclosan exposure, transformation, and human health effects[J]. Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews, 2017, 20(8): 447-469.
- [3] DHILLON G S, KAUR S, PULICHARLA R, et al. Triclosan: current status, occurrence, environmental risks and bioaccumulation potential[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2015, 12(5): 5657-5684.
- [4] WEI L, QIAO P, SHI Y, et al. Triclosan/triclocarban levels in maternal and umbilical blood samples and their association with fetal malformation[J]. Clinica Chimica Acta, 2017, 466: 133-137.
- [5] 高海萍, 周雪飞, 张亚雷, 等. 三氯生对水生生物的毒性效应研究进展[J]. 环境化学(GAO Hai-ping, ZHOU Xue-fei, ZHANG Ya-lei, et al. Advances in studies on the toxic effects of triclosan on aquatic organisms[J]. Environment Chemistry), 2012, 31(8): 1145-1150.
- [6] HUANG H, DU J, ZHANG W, et al. The *in vitro* estrogenic activities of triclosan and triclocarban[J]. Journal of Applied Toxicology, 2014, 34(9): 1060-1067.
- [7] YUEH M F, TUKEY R H. Triclosan: a widespread environmental toxicant with many biological effects[J]. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2016, 56: 251-272.
- [8] RUSZKIEWICZ J A, LI S, RODRIGUEZ M B, et al. Is triclosan a neurotoxic agent[J]. Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews, 2017, 20(2): 104-117.
- [9] LIU J, XIANG C, HUANG W, et al. Neurotoxicological effects induced by up-regulation of miR-137 following triclosan exposure to zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Aquatic Toxicology, 2019, 206: 176-185.
- [10] KIM J, OH H, RYU B, et al. Triclosan affects axon formation in the neural development stages of zebrafish embryos (*Danio rerio*)[J]. Environmental Pollution, 2018, 236: 304-312.

- [11] D'AMORA M, GIORDANI S. The utility of zebrafish as a model for screening developmental neurotoxicity[J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2018, 12: 976.
- [12] 张艳琼. CRX 基因和全反式视黄酸对斑马鱼感光细胞发育的影响[D]. 上海: 复旦大学(ZHANG Yan-qiong. The Effect of CRX Gene and All-*trans* Retinoic Acid on the Development of Zebrafish Photoreceptors[D]. Shanghai: Fudan University), 2016.
- [13] MEIER A, NELSON R, CONNAUGHTON V P. Color processing in zebrafish retina[J]. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2018, 12: 327.
- [14] 钟霄毓, 胡娜, 袁琳, 等. 透射电镜样品制备方法的改进[J]. 医学信息(ZHONG Xiao-yu, HU Na, YUAN Lin, *et al.* Improvement of TEM sample preparation method[J]. *Medical Information*), 2015, 28(11): 257-258.
- [15] SCHWEIZER H P. Triclosan: a widely used biocide and its link to antibiotics[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 202(1): 1-7.
- [16] ADOLFSSON-ERICI M, PETTERSSON M, PARKKONEN J, *et al.* Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden[J]. *Chemosphere*, 2002, 46(9): 1485-1489.
- [17] ANDERSON S E, FRANKO J, KASHON M L, *et al.* Exposure to triclosan augments the allergic response to ovalbumin in a mouse model of asthma[J]. *Toxicological Sciences*, 2013, 132(1): 96-106.
- [18] YUEH M F, TANIGUCHI K, CHEN S, *et al.* The commonly used antimicrobial additive triclosan is a liver tumor promoter[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2014, 111(48): 17200-17205.
- [19] ELODIE F, ANNESOPHIE V, FRÉDÉRIC S. Impacts of triclosan exposure on zebrafish early-life stage: toxicity and acclimation mechanisms[J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 189: 97-107.
- [20] 鱼音慧. 顶端极性蛋白复合物在斑马鱼晶状体细胞运动与组织中的功能[D]. 杭州: 浙江大学(YU Yin-hui. The Function of Apical Polarity Complexes on Cellular Migration and Organization of Zebrafish Lens[D]. Hangzhou: Zhejiang University), 2017.
- [21] FUCHS Y, STELLER H. Programmed cell death in animal development and disease[J]. *Cell*, 2011, 147(4): 742-758.

---

(上接第 275 页)

- [19] SUZUKI H, KATAYAMA K, TAKENAKA M, *et al.* A spontaneous mutation of the *Wwox* gene and audiogenic seizures in rats with lethal dwarfism and epilepsy[J]. *Genes Brain and Behavior*, 2009, 8(7): 650-660.
- [20] GEMBERLING M, KARRA R, DICKSON A L, *et al.* Nrg1 is an injury-induced cardiomyocyte mitogen for the endogenous heart regeneration program in zebrafish[J]. *Elife*, 2015, 4: e05871.
- [21] HU W, XIN Y, ZHAO Y, *et al.* Shox2: the role in differentiation and development of cardiac conduction system[J]. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2018, 244(3): 177-186.
- [22] WANG Y, LI M, XU L, *et al.* Expression of Bcl-2 and microRNAs in cardiac tissues of patients with dilated cardiomyopathy[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2017, 15(1): 359-365.
- [23] MORALES M O, PRICE R L, GOLDSMITH E C. Expression of discoidin domain receptor 2 (DDR2) in the developing heart[J]. *Microscopy and Microanalysis*, 2005, 11(3): 260-267.
- [24] ADAMS R H, WILKINSON G A, WEISS C, *et al.* Roles of ephrinB ligands and EphB receptors in cardiovascular development: demarcation of arterial/venous domains, vascular morphogenesis, and sprouting angiogenesis[J]. *Genes and Development*, 1999, 13(3): 295-306.
- [25] FAHED A C, GELB B D, SEIDMAN J G, *et al.* Genetics of congenital heart disease: the glass half empty[J]. *Circulation Research*, 2013, 112(4): 707-720.
- [26] 高莉洁, 赵仲堂, 李栋, 等. 中枢神经系统先天畸形危险因素病例对照研究[J]. 中华流行病学杂志(GAO Li-jie, ZHAO Zhong-tang, LI Dong, *et al.* A case-control study on the risk factors of central nervous system congenital malformations[J]. *Chinese Journal of Epidemiology*), 2004, 25(9): 794-798.