

doi: 10.7541/2017.12

两种抗雌激素药物对雌性斑马鱼脂肪代谢的影响

姚亚运^{1,2,3,4} 贾永义^{1,2,3,4} 孙胜香¹ 吴思苹¹ 张运妮¹ 乔芳¹ 张美玲¹
周忠良¹ 杜震宇¹

(1. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200241; 2. 农业部淡水渔业健康养殖重点实验室, 湖州 313001; 3. 浙江省鱼类健康与营养重点实验室, 湖州 313001; 4. 浙江省淡水水产研究所, 湖州 313001)

摘要: 为探究雌激素对雌鱼体内脂肪代谢的影响, 研究分别使用50和250 $\mu\text{g/L}$ 的来曲唑(Letrozole、LET)与他莫昔芬(Tamoxifen、TAM)两种抗雌激素药物, 构建了雌性斑马鱼(*Danio rerio*)雌激素缺乏模型和雌激素受体竞争抑制模型, 并检测两种药物处理后斑马鱼肝脏、内脏和肌肉的甘油三酯(TG)含量变化以及肝脏内雌激素和脂肪代谢相关基因的变化。结果显示, 低浓度LET处理后雌鱼肝脏和内脏TG显著上升($P < 0.05$); 高浓度TAM处理后肝脏TG含量显著降低($P < 0.05$), 其他各组处理TG均无差异。基因mRNA检测结果表明, 两种浓度LET和TAM处理的雌性斑马鱼芳香化酶(*CYP19A*)表达均显著下调($P < 0.05$), 低浓度TAM暴露导致雌激素受体(*ER α*)表达显著下调($P < 0.05$)。此外, 两种浓度LET处理均引起了脂肪酸合成酶(*FAS*)表达显著上调, 微粒体的TG转运蛋白(*MTP*)表达显著下调($P < 0.05$); 低浓度TAM引起了*MTP*表达显著下调($P < 0.05$), 而高浓度TAM组则引起了*MTP*表达显著上调($P < 0.05$)。综合各相关指标, 研究结果表明雌激素确实在雌性斑马鱼脂肪代谢中发挥作用, 然而不同程度和方式的雌激素抑制会导致不同的脂代谢失调表现, 这提示鱼体内雌激素紊乱所导致的脂代谢失调与雌激素浓度和作用通路上的受阻位点有关, 并受到多重因子参与的内分泌调控网络的调节。

关键词: 雌激素; 脂肪代谢; 来曲唑; 他莫昔芬; 斑马鱼

中图分类号: S963.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2017)01-0095-06

鱼类脂肪代谢异常, 包括脂肪肝和腹部脂肪过度沉积是当前养殖鱼类中常见的营养性病害, 因此鱼类脂代谢异常的成因成为当前鱼类营养生理学的重点研究内容之一。目前, 此领域的研究主要将焦点集中在营养与饲料对脂代谢的影响上^[1]。此外, 也有研究关注环境因素包括环境污染物对鱼类脂肪代谢的影响^[2, 3]。然而, 作为脂代谢的重要相关生理因素, 内分泌环境对鱼类脂代谢的影响至今仍少有人关注。在人体内, 绝经期和更年期妇女体重往往高于绝经前的妇女, 容易出现脂代谢紊乱并在腹部积蓄脂肪^[4, 5], 而这些女性一旦采用雌激素

药物治疗, 其脂肪代谢就逐渐趋于正常^[6, 7]。因此, 雌激素在人类脂肪代谢与脂肪沉积过程中起到了重要的作用^[7]。在哺乳动物中, 编码雌激素合成最后一步关键酶-细胞色素P450芳香化酶的*CYP19A*基因敲除的小鼠在肝脏和腹部的脂肪积蓄都有明显增多^[8, 9]。也有报道指出, 雌激素受体 α (*ER α*)敲除的小鼠同样出现腹部脂肪严重积累的现象^[10, 11]。这些研究表明, 哺乳动物脂代谢受到雌激素的调控。然而, 雌激素在鱼类脂肪代谢中的作用至今尚无研究报道。为了解雌激素对雌性鱼类脂代谢的可能影响, 本研究采用雌性斑马鱼(*Danio rerio*)为

收稿日期: 2016-01-06; 修订日期: 2016-04-01

基金项目: 农业部淡水渔业健康养殖重点实验室和浙江省鱼类健康与营养重点实验室开放课题(ZJK2014004); 国家重大基础研究项目(2014CB138600); 国家自然科学基金(31472290); 华东师范大学研究生科研创新实践项目(YJSKC201518)资助 [Supported by the Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Health Cultivation of the Ministry of Agriculture (ZJK2014004), the National Basic Research Program of China (2014CB138600), National Natural Science Foundation of China (31472290) and ECNU Research Innovation Foundation for Postgraduates(YJSKC201518)]

作者简介: 姚亚运(1990—), 男, 安徽东至人; 硕士; 研究方向为生态毒理学。E-mail: lifeyyy@126.com 贾永义(1979—), 男, 山东潍坊人; 硕士; 研究方向为水产种质资源与遗传育种。E-mail: yongyi_jia@163.com

通信作者: 杜震宇, 男, 教授; E-mail: zydu@bio.ecnu.edu.cn; 周忠良, 男, 副教授; E-mail: zlzhou@bio.ecnu.edu.cn

实验对象, 通过在水体中分别加入两种不同浓度的抗雌激素药物来曲唑(Letrozole, LET)与他莫昔芬(Tamoxifen, TAM), 分别抑制雌激素合成路径和雌激素与受体结合路径, 经过5周暴露后, 以雌鱼的肝脏、内脏和肌肉甘油三酯沉积为表型指标, 结合相关基因的表达影响, 来探讨两种抗雌激素对雌性斑马鱼脂肪代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器: 酶标仪(BIO-TEK), 普通PCR仪(My-Cycler, BIO-RAD), q-PCR仪(CFX Connect, BIO-RAD), 微量紫外分光光度计(Thermo Nanodrop2000), 全自动样品快速研磨仪(上海净信科技有限公司), 冷冻离心机(Eppendorf centrifuge5415R)。

试剂: 他莫昔芬(Tamoxifen, TAM): 分子量为371.51, 纯度>99.0%, 购自阿达玛斯试剂有限公司、来曲唑(Letrozole, LET): 分子量为285.31, 纯度>99.0%, 购自湖北远成药业有限公司、二甲基亚砷(DMSO)购自上海凌峰化学试剂有限公司、甘油三酯测试盒购自南京建成生物工程研究所、反转录试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司(TaKaRa biotechnology)、SYBR荧光定量PCR试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司。

1.2 实验材料

实验所用的斑马鱼购自上海市羽一热带观赏鱼养殖场, 3—4月龄, 初始平均体重(0.14±0.01) g。水温控制在(28±1)°C, 每天保持光照14h、黑暗10h, 实验用水为曝气并除氯后的自来水。实验鱼在实验室环境中适应一周后, 挑选健康活泼的雌性个体进行实验。

1.3 实验设计

在对鱼类慢性暴露研究中, LET和TAM的浓度在300 µg/L内均有选择, 如有研究用LET和TAM对日本青鳉(*Oryzias latipes*)进行暴露, 发现300 µg/L以内的LET与TAM都未引起生理毒性^[12-14]。由此, 本实验采用浓度为50和250 µg/L的LET和TAM两种药物来对雌性斑马鱼进行慢性水体暴露, 药物均使用国际类似研究中通用的二甲基亚砷(DMSO)作为助溶剂^[15-17]。对照组为DMSO组, 其浓度为10 µL/L。每个暴露实验在7 L鱼缸中进行, 每种处理设两个重复, 每个平行缸养鱼25条。实验期间, 每天以新配置的含相同药物浓度的水将缸中水换去1/3, 保证养殖水体的药物浓度保持一致。养殖过程中持续增氧, 水温控制在(28±1)°C, 每天保持光照14h、

黑暗10h。每天定量喂食两次(饲料购自山东升索渔用饲料研究中心, 每次投喂量定为体重2%)。根据此前的预实验结果, 5周的抗雌激素药物暴露可以使得斑马鱼出现明显的脂代谢紊乱现象。因此, 本实验持续5周, 5周后取肝脏、内脏和肌肉, 取样前禁食12h, 取样过程均在冰上进行。其中抽提RNA的样品过液氮后至-80°C保存待用。

1.4 实验步骤

肝脏、内脏和肌肉组织的甘油三酯测定

分别随机取8尾鱼的肝脏、内脏(去肝脏外的部分)及肌肉组织, 两尾鱼的组织混一个样, 其中肝脏(0.0041±0.0027) g、内脏(0.023±0.009) g和肌肉(0.034±0.010) g, 分别按照重量(g): 体积(µL)=1: 10、1:20、1:20加入无水乙醇, 匀浆后在4°C, 2500 r/min条件下离心10min。取上清液, 使用甘油三酯测试盒(GPO-PAP酶法)测定甘油三酯含量。

肝脏组织的实时荧光定量PCR 每组随机取6尾鱼肝脏组织, 每份肝脏组织(0.0041±0.0027) g, 按照RNA提取步骤提取总RNA, 并在微量紫外分光光度计上测定 A_{260}/A_{280} 以及总RNA浓度, 然后将提取的总RNA使用反转录试剂盒反转录为cDNA。在NCBI上查找到*DGAT2*、*MTP*的序列, 然后通过primer5.0设计引物, 所有引物均由铂尚生物技术(上海)有限公司合成, 详细列表如下。根据实时荧光定量PCR试剂盒的要求进行实时荧光定量PCR。其中以 β -actin基因为内参基因, 以DMSO组为对照组, 最后采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行数据分析。

1.5 数据统计分析

所有数据采用SPSS17.0软件进行单因素方差分析(one way-ANOVA)及Tukey法检验各组间差异性。实验数据采用平均值±标准误表示。

2 结果

2.1 LET与TAM暴露雌性斑马鱼对肝脏、内脏及肌肉甘油三酯的影响

50 µg/L的LET可以引起雌性斑马鱼的肝脏和内脏的甘油三酯显著性上调($P<0.05$); 而250 µg/L的TAM则引起雌性斑马鱼肝脏甘油三酯显著降低($P<0.05$, 表2)。

2.2 LET与TAM暴露雌性斑马鱼对其肝脏内雌激素相关基因表达的影响

如图1所示, 两种浓度的LET均能显示*CYP19A*显著性下调($P<0.05$)。两种浓度的LET均没有引起*ER α* 显著性差异($P>0.05$)。两种浓度的TAM也均能引起*CYP19A*显著性下调($P<0.05$); 而50 µg/L的

表 1 用于实时荧光定量PCR分析的引物序列

Tab. 1 Sequences of real time PCR primers

引物名称 Primer	引物序列Sequence (5'-3')	引物来源 Source of primer
β -actin	F: TCTGGTGATGGTGTGACCCA R: GGTGAAGCTGTAGCCACGCT	刘晓丽等 ^[18]
CYP19A	F: CTGAAAGGGCTCAGGACAA R: TGGTCGATGGTGTCTGATG	Shi, 等 ^[19]
ER α	F: TCAGCGTTCCAGTCTTC R: CTGCTGGTTGTGGGTGTA	刘晓丽等 ^[18]
FAS	F: GGAGCAGGCTGCCTCTGTGC R: TTGCGGCCTGTCCCACTCCT	吴俊琳 ^[20]
DGAT2	F: ACGCATAACCTGCTTCCC R: TCCTGTGGCTTCTGTCCC	本研究
PPAR α	F: CTGCGGGACATCTCTCAGTC R: ACCGTAAACACCTGACGACG	吴俊琳 ^[20]
CPT1	F: GCATTGACCTTCAGCTCAGC R: CTGCCAACACCAGCACGAAC	吴俊琳 ^[20]
MTP	F: AAGATCAGAAGCCTCTATGC R: TCAACCAGACATTTCCCT	本研究
APOA-IV	F: AGCTGCACAATCCTCGTCTGC R: TGCAGGAGCCTGTGTTTGCCT	GM Her, 等 ^[21]

表 2 斑马鱼肝脏、内脏、肌肉中的脂肪含量

Tab. 2 Effects of LET and TAM on the triglyceride content in liver, viscera and muscle of female zebrafish (%)

组别 Group	肝脏脂肪含量 Lipids of liver	内脏脂肪含量 Lipids of visceral	肌肉脂肪含量 Lipids of muscle
对照组	3.45±0.49 ^a	7.08±1.03 ^a	4.26±0.75
低浓度LET	4.61±0.33 ^b	11.3±2.64 ^b	5.33±0.99
高浓度LET	3.75±0.75 ^a	6.84±1.96 ^a	4.52±0.85
低浓度TAM	3.69±0.73 ^a	8.14±1.11 ^a	3.78±1.29
高浓度TAM	1.52±0.04 ^c	5.00±1.61 ^a	3.45±1.02

注: 数据表示为平均值±标准差, 同一列标注不同字母表示差异显著, $P<0.05$

Note: Values are the mean±standard errors. Values in same row with different letters are significantly different, $P<0.05$

TAM处理则引起ER α 显著性下调($P<0.05$), 250 $\mu\text{g/L}$ 的TAM则未引起ER α 引的显著性差异。

2.3 LET与TAM暴露雌性斑马鱼对其肝脏脂肪代谢相关基因表达的影响

如图 2所示, 两种浓度的LET均能引起脂肪酸合成酶mRNA(FAS)显著性上调($P<0.05$), 此外均引起了微粒体的甘油三酯转运蛋白(MTP)表达显著性下调($P<0.05$); 低浓度的TAM引起MTP显著性下调($P<0.05$), 但是高浓度的TAM却引起MTP显著性上调($P<0.05$)。

3 讨论

本研究的目的是通过LET与TAM两种药物分别构建雌激素缺乏模型和雌激素受体竞争抑制模型, 以期探讨雌激素及雌激素受体与雌鱼脂肪代谢的关系。两种浓度的LET均引起了CYP19A下调, 表明雌激素的合成代谢已受到药物暴露的干扰。而脂肪含量测定结果表明, 低浓度的LET的确导致脂肪在雌性斑马鱼各组织中的积累。从脂肪代谢基因表达来看, 两种浓度LET均引起了脂肪酸合成酶(FAS)表达显著上调, 微粒体的甘油三酯转运蛋白(MTP)表达显著下调, 甘油三酯合成基因DGAT2有上调趋势, 而脂肪分解相关基因CPT-1和PPAR α 则有下调趋势。这提示在LET处理的雌性斑马鱼中, 出现了脂肪酸和甘油三酯合成增加、脂肪酸分解下降的代谢失衡。又由于MTP的表达下调, 这又将减弱肝脏将甘油三酯向肝外转运的效率, 从而最终导致甘油三酯在组织中的积累。与本研究相类似, 雌激素缺乏的小鼠会引起脂肪积累和肥胖倾向^[8, 9]。值得注意的是, 在本研究中, 虽然不同浓度的LET暴露后, 雌性斑马鱼的脂肪代谢基因变化情况相似, 然而就组织脂肪积蓄而言, 仅有低浓度的LET会显著导致肝脏和内脏甘油三酯积累, 但是高浓度的LET却并未引起各组织的甘油三酯的积累。此结果提示, 雌激素对于雌鱼的脂肪代谢的影响并不是线性的, 不同浓度雌激素可能存在不同的对鱼体代谢起作用的作用途径。对其他动物的研究表明, 雌激素合成相关的芳香化酶的缺乏会增加体内睾酮和瘦素的浓度, 从而影响脂肪代谢^[9], 因此雌激素缺乏会通过干扰其他内分泌因子的浓度变化从而影响脂肪代谢。在本实验中, 两种浓度的LET暴露均下调了CYP19A的表达, 而最终所导致的体内脂肪积累趋势不同, 这也提示雌激素所介导的脂肪代谢调控网络与体内的雌激素浓度或与受抑制程度存在相关性, 值得进一步研究。

在本实验中, 尽管两种浓度TAM也都引起了CYP19A的下调, 低浓度的TAM还引起了ER α 的下调。然而, 与LET效果不同, 在本实验中TAM暴露并没有引发脂肪在组织中的积蓄, 肝脏脂肪反而在高浓度TAM处理组有显著下降。基因结果表明, 两种浓度的TAM暴露同时导致脂肪酸合成酶(FAS)和脂肪分解基因(CPT-1, PPAR α)出现下调趋势, 表明脂肪合成和分解均有所下降。而低浓度的TAM引起了MTP下调, 从而可能抑制肝脏将甘油三酯向肝外转运, 这可能是该组肝脏脂肪较对照略有上升的原因。而高浓度TAM组则引起了MTP的上调, 或

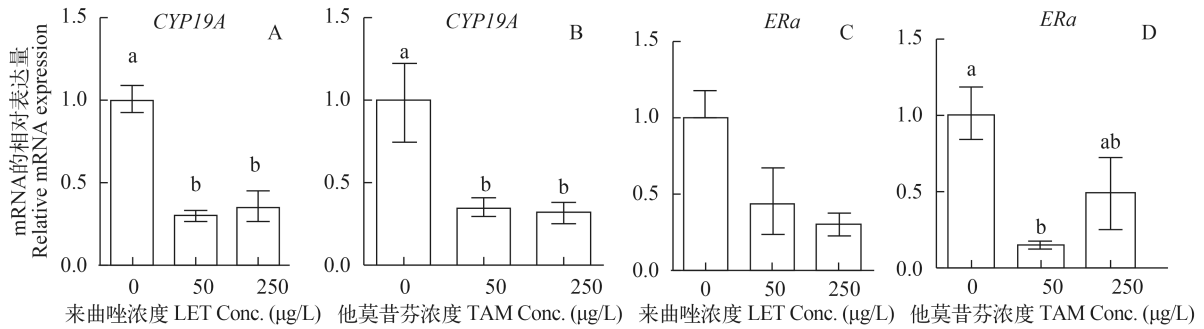


图 1 LET与TAM对雌性斑马鱼暴露, 肝脏CYP19A与ERα基因相对表达量
Fig. 1 Effect of LET and TAM on hepatic genes related to estrogen synthesis and estrogen receptor of female zebrafish

图中各组之间标注不同字母表示差异显著, $P < 0.05$; 下同

Values in groups with different letters are significantly different, $P < 0.05$; the same applies below

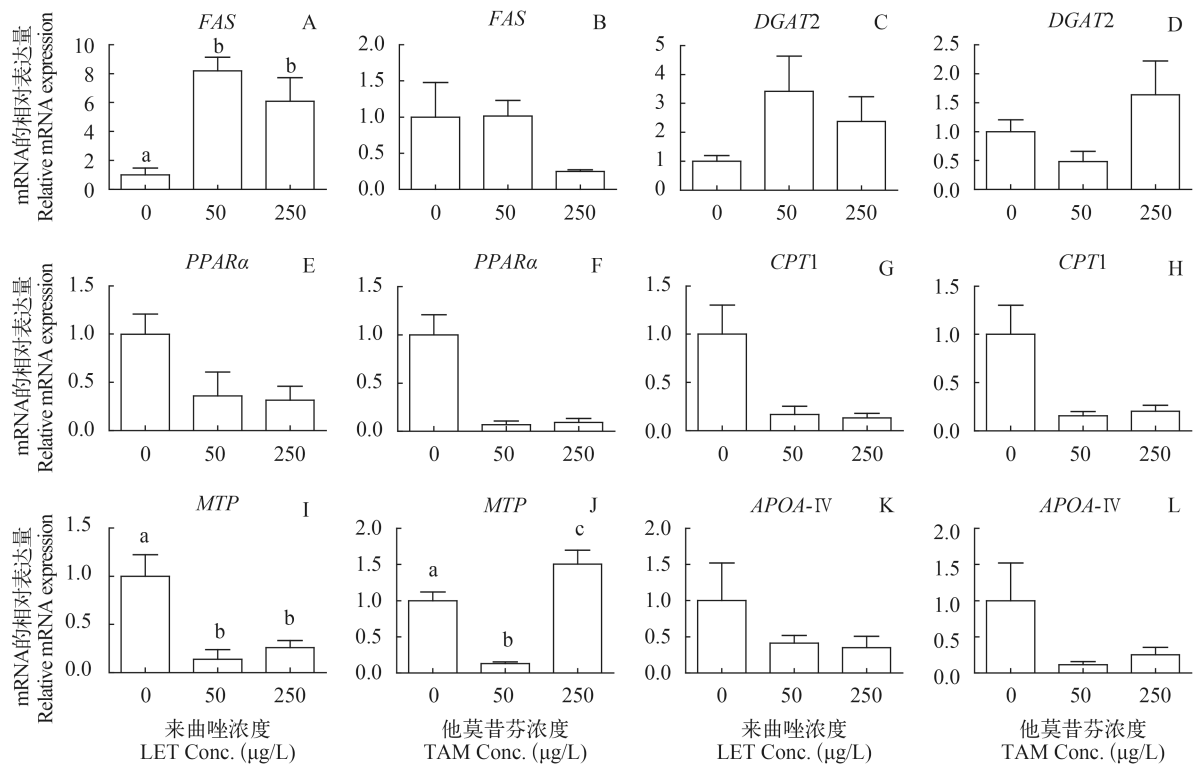


图 2 LET与TAM对雌性斑马鱼暴露, 肝脏相关脂肪代谢基因的相对表达量

Fig. 2 Effect of LET and TAM on hepatic genes related to lipid metabolism of female zebrafish

许意味着促进肝脏中甘油三酯向肝外转运, 从而出现如表型所显示的那样高浓度TAM导致肝脏脂肪降低的结果。此前已有多篇文章报道了ER和脂肪代谢存在相关性, 如E2与ERα结合后会通过增加棕色脂肪合成来增强能量消耗^[10], 而ERα的减少所导致的ERα与ERβ比率变化也可能会影响脂肪代谢^[22]。已有证据表明, 当ERα减少, 体内E2会更多的与ERβ或者其他的ER结合发挥效应^[23]。根据这些在哺乳动物中的结果分析与假设, 在低浓度TAM下, CYP19A与ERα均减少本可能削弱E2与ERα结合后促进能量消耗的效应, 导致脂肪的积累。但是, 这

一效应在本实验中并不明显, 这说明鱼类的ERα对脂肪代谢的影响或存在与哺乳动物不同的机制, 值得进一步探索。另外, 和LET处理一样, 高低剂量的TAM暴露也造成了不同的脂肪沉积表型。这再次提示, 体内雌激素紊乱对鱼类脂代谢的影响可能与雌激素浓度与作用通路上的受阻位点有关。此外, 高浓度的TAM与高浓度LET所可能导致的毒性效应也有可能干扰脂肪代谢, 出现与低浓度TAM和LET暴露所不同的代谢表现。

此外, 需要指出的是, 脂肪作为鱼类的主要能源物质, 在生长发育和繁殖过程中都起到重要作

用。本实验中的雌性斑马鱼为3—4月龄,处于性成熟的关键期,此时在雌激素的作用下,性腺功能增强,同时伴随着卵黄增生和体积增长^[24]。由于卵黄合成需要脂类物质作为合成前体,因此在性腺成熟过程中,机体可能会通过雌激素对脂代谢的调控作用,增加脂类物质的合成和转化,满足性腺发育的需求。本文中,LET与TAM两种药物能分别阻断雌激素合成及雌激素与受体结合的过程,因而也很有可能通过影响雌激素的功能来干扰鱼类的性腺发育,从而改变性腺对脂类物质的需求,影响鱼类的脂肪代谢。

综上所述,通过对雌激素合成步骤和受体结合步骤的抑制,本实验证明雌激素紊乱将导致雌性斑马鱼脂肪代谢失调。然而,不同浓度的雌激素抑制药物在不同组织中出现了脂肪代谢的不同作用效应,这说明雌激素紊乱所导致的鱼体脂代谢失调可能与雌激素的浓度与雌激素作用通路上的受阻位点有关,并受到多因子内分泌调控网络的调控。

参考文献:

- [1] DU Z Y. Causes of fatty liver in farmed fish: a review and new perspectives [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, **38**(9): 1628—1638 [杜震宇. 养殖鱼类脂肪肝成因及相关思考. 水产学报, 2014, **38**(9): 1628—1638]
- [2] Pierron F, Baudrimont M, Bossy A, et al. Impairment of lipid storage by cadmium in the European eel (*Anguilla anguilla*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2007, **81**(3): 304—311
- [3] Riu A, Mccollum C W, Pinto C L, et al. Halogenated bisphenol-A analogs act as obesogens in zebrafish larvae (*Danio rerio*) [J]. *Toxicological Sciences an Official Journal of the Society of Toxicology*, 2014, **139**(1): 48—58
- [4] Ley C J, Lees B, Stevenson J C. Sex-and menopause-associated changes in body-fat distribution [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1992, **55**(5): 950—954
- [5] Lemieux S, Prud'Homme D, Bouchard C, et al. Sex differences in the relation of visceral adipose tissue accumulation to total body fatness [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, **58**(4): 463—467
- [6] Gambacciani M, Ciaponi M, Cappagli B, et al. Body weight, body fat distribution, and hormonal replacement therapy in early postmenopausal women [J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1997, **82**(2): 414—417
- [7] Haarbo J, Marslew U, Gotfredsen A, et al. Postmenopausal hormone replacement therapy prevents central distribution of body fat after menopause [J]. *Metabolism-clinical & Experimental*, 1991, **40**(12): 1323—1326
- [8] Jones M E, Thorburn A W, Britt K L, et al. Aromatase-deficient (ArKO) mice have a phenotype of increased adiposity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, **97**(23): 12735—12740
- [9] Jones M E, Thorburn A W, Britt K L, et al. Aromatase-deficient (ArKO) mice accumulate excess adipose tissue [J]. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 2001, **79**(s1—5): 3—9
- [10] Heine P A, Taylor J A, Iwamoto G A, et al. Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-alpha knockout mice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, **97**(23): 12729—12734
- [11] Ohlsson C, Hellberg N, Parini P, et al. Obesity and disturbed lipoprotein profile in estrogen receptor- α -deficient male mice [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2000, **278**(3): 640—645
- [12] Sun L, Zha J, Spear P A, et al. Tamoxifen effects on the early life stages and reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Environmental Toxicology & Pharmacology*, 2007, **24**(1): 23—29
- [13] Sun L, Zha J, Spear P A, et al. Toxicity of the aromatase inhibitor letrozole to Japanese medaka (*Oryzias latipes*) eggs, larvae and breeding adults [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*, 2007, **145**(4): 533—541
- [14] Sun L, Shao X, Jian C, et al. Transcriptional responses in the brain, liver and gonad of Japanese ricefish (*Oryzias latipes*) exposed to two anti-estrogens [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*, 2011, **153**(4): 392—401
- [15] Percec V, Clough R S, Grigoras M, et al. Reductive dehalogenation versus substitution in the polyetherification of 4, 4'-dihalodiphenyl sulfones with bisphenolates [J]. *Macromolecules*, 1993, **26**(14): 3650—3662
- [16] Schrader T J, Langlois I, Soper K, et al. Mutagenicity of bisphenol A (4, 4'-isopropylidenediphenol) in vitro: effects of nitrosylation [J]. *Teratogenesis Carcinogenesis & Mutagenesis*, 2002, **22**(6): 425—441
- [17] Luo L F, Yang L Q, Wu D S, et al. Effects of bisphenol A on OCT4 and SOX2 genes expression in mouse embryonic stem cells [J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2013, **47**(2): 164—169
- [18] Liu X L, Wang Q, Jia L Z, et al. Alterations in testicular histology and the mRNAs of enzymes responsible for sex steroid synthesis in the zebrafish (*Danio rerio*) exposed to nonphenol [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011, **31**(11): 2523—2529 [刘晓丽, 汪奇, 贾林芝, 等. 壬基酚对斑马鱼精巢组织及性激素合成酶基因表达的影响. 环境科学学报, 2011, **31**(11): 2523—2529.]
- [19] 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 & Applied Pharmacology*, 2008, **230**(1): 23—32

- [20] Wu J L. Evaluation of the distribution of fatty tissues in fish using magnetic resonance imaging (MRI) and effects of gender on lipid metabolism in zebrafish, *Danio rerio* [D]. Thesis for Master of Science. East China Normal University. 2015 [吴俊琳. 鱼类脂肪组织核磁共振成像研究及斑马鱼(*Danio rerio*)脂代谢中的性别差异. 硕士学位论文. 华东师范大学, 上海. 2015]
- [21] Her G M, Hsu C C, Hong J R, *et al.* Overexpression of gankyrin induces liver steatosis in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2011, **1811**(9): 536—548
- [22] Cowley S M, Hoare S, Mosselman S, *et al.* Estrogen receptors α and β form heterodimers on DNA [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, **272**(32): 19858—19862
- [23] Das S K, Taylor J A, Korach K S, *et al.* Estrogenic responses in estrogen receptor-alpha deficient mice reveal a distinct estrogen signaling pathway [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1997, **94**(24): 12786—12791
- [24] Paul C. Begovac †, Wallace R A. Stages of oocyte development in the pipefish, *Syngnathus scovelli* [J]. *Journal of Morphology*, 2005, **197**(3): 353—369

EFFECTS OF TWO ANTI-ESTROGEN DRUGS EXPOSURE ON LIPID METABOLISM OF FEMALE ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*)

YAO Ya-Yun^{1,2,3,4}, JIA Yong-Yi^{1,2,3,4}, SUN Sheng-Xiang¹, WU Si-Ping¹, ZHANG Yun-Ni¹, QIAO Fang¹, ZHANG Mei-Ling¹, ZHOU Zhong-Liang¹ and DU Zhen-Yu¹

(1. School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200241, China; 2. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Health Cultivation of the Ministry of Agriculture, Huzhou 313001, China; 3. Key Laboratory of Fish Health and Nutrition of Zhejiang Province, Huzhou 313001, China; 4. Institute of Freshwater Fisheries, Huzhou 313001, China)

Abstract: In higher animals, estrogen can regulate lipid metabolism of females; however, whether estrogen regulates fish lipid metabolism is unclear. To explore effects of estrogen on lipid metabolism in zebrafish, letrozole (LET) and tamoxifen (TAM) were treated female zebrafish (0.14±0.01) g for 5 weeks to measure triglyceride (TG) concentrations in liver, visceral and muscle and the expressions of the hepatic genes related to estrogen and lipid metabolism. The results showed that low dose LET significantly increased TG in liver and viscera but not in muscle. Low dose TAM did not impact No TG content in all tested tissues but high dose TAM significantly decreased liver TAG. LET and TAM significantly induced *CYP19A* mRNA, and low dose TAM decreased *ER α* . LET increased FAS but decreased MTP expression. DGAT had an increase tendency, and CPT-1 and PPAR α had a decreased tendency. It suggests a dyslipidemia symptom in the LET exposure groups. Low dose TAM reduced MTP and high dose TAM enhanced it ($P<0.05$). These results showed important role of estrogen in lipid metabolism in female zebrafish with a complex dosage- and tissue-dependent pattern.

Key words: Estrogen; Lipid metabolism; Letrozole; Tamoxifen; Zebrafish