

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20130514001

杨蓉, 李娜, 马梅, 等. 全氟辛基磺酸及其替代产品的内分泌干扰效应评价[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(5): 702-707

Yang R, Li N, Ma M, et al. Hormonal activity assessment of PFOS and its substitutes [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(5): 702-707 (in Chinese)

全氟辛基磺酸及其替代产品的内分泌干扰效应评价

杨蓉, 李娜, 马梅*, 王子健

中国科学院生态环境研究中心 环境水质学国家重点实验室 北京 100085

摘要: 为研究全氟辛基磺酸(PFOS)及其替代品的内分泌干扰效应, 将重组人雌激素/雄激素/孕激素/甲状腺激素/维甲酸受体基因的双杂交酵母暴露于不同浓度的 PFOS 及替代品中, 并结合体外代谢活化技术检测直接和间接的类/抗激素活性。结果表明, 被替代品 PFOS 表现为雄激素受体、甲状腺受体和维甲酸受体拮抗剂, 且在代谢活化后新增了雌激素受体拮抗效应, 其半数效应浓度(EC_{50}) 在 $3.0 \times 10^{-4} \sim 4.8 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间; 同时 4 种替代化学品没有任何效应检出, 说明不会通过与核受体结合干扰天然激素的正常功能。研究结果说明, 与原化学品相比, 替代产品的应用在内分泌干扰效应方面可能具有更低的环境风险。

关键词: 全氟辛基磺酸; 替代化学品; 重组酵母; 核受体; 激素效应

文章编号: 1673-5897(2013) 5-702-06 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Hormonal Activity Assessment of PFOS and Its Substitutes

Yang Rong, Li Na, Ma Mei*, Wang Zijian

State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

Received 14 May 2013 accepted 28 August 2013

Abstract: To study the endocrine disrupting effects of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and its substitutes, the two-hybrid recombinant yeast cells were exposed to different concentration levels of test substances to detect their hormonal activity with or without the metabolic activation technology. Results of the bioassay indicated that PFOS could act as the androgen receptor, thyroid receptor and retinoic X receptor antagonist, and additionally showed estrogen receptor antagonistic activity after the in vitro metabolic activation, with the half effective concentrations (EC_{50}) ranging from 3.0×10^{-4} to $4.8 \times 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Simultaneously, four substitutes did not show significant effect, suggesting they did not disrupt the normal function of natural hormones by binding to the nuclear receptors. Thus, compared with PFOS, the application of substitutes may be deemed a lower environmental risk in the aspect of hormonal activity.

Keywords: PFOS; chemical substitute; recombinant yeast; nuclear receptor; hormonal activity

在化学品安全管理中,为了防范风险,应当认识到替代工艺和替代品的重要性。促进创新,提倡和

支持开发利用更安全的替代品,而不仅仅是补救危害。从控制和消减持久性有机污染物(POPs)的角

收稿日期: 2013-05-14 录用日期: 2013-08-28

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2010AA065105)

作者简介: 杨蓉(1987-),女,博士,研究方向为水生生态毒理学, E-mail: ygrg1987@gmail.com;

* 通讯作者(Corresponding author) E-mail: mamei@rcees.ac.cn

度,中国国务院针对斯德哥尔摩公约批准的《国家履约实施计划》也指出,推进替代品和替代技术研究是履约行动之一,要开展替代技术研发,推广替代品和替代技术^[1]。需要强调的是,开发替代技术不仅要考虑经济可行性和替代品的使用功效,也要考虑其环境安全性,以及对生产者、使用者和消费者的安全性。为了避免在替代品开发中产生新的环境污染物,强化新化学品的毒性和风险评价非常必要。

全氟辛基磺酸(PFOS)具有疏水疏油的性质,被大量用作表面去污处理剂、表面活性剂、特殊洗涤剂^[2]等,已在环境中广泛存在。以中国为例,金一和等^[2]于 2004 年检测了中国不同水体和自来水中的 PFOS 浓度,发现包括自来水、地面水、地下水和海水的全部样品都有 PFOS 检出,浓度在 0.20 ~ 44.60 ng·L⁻¹ 之间。同时,PFOS 可以在生物的肝脏和血液中蓄积存在,相关研究在郭睿等^[3]的综述中有所论述。OECD 风险评估报告显示 PFOS 是一种稳定难分解、可在生物体内积累的有毒化学品(PBTs)^[4]。2006 年欧盟开始限制其含量^[5]。2009 年被加入斯德哥尔摩公约管制名单^[6]。作为一种被限制生产和使用的 POPs,PFOS 对内分泌系统的潜在危害已有文献报道。因此,有必要进行 PFOS 和替代化学品内分泌干扰效应的研究和比较,判断其替代品在内分泌干扰方面是否具有更低的环境风险。

与活体测试相比,离体测试具有高通量、低成本、灵敏度高、重复性好等优点,适合针对特定作用位点进行快速初筛。雌激素受体(ER)、雄激素受体(AR)、孕激素受体(PR)、甲状腺激素受体(TR)和维甲酸受体(RXR)都是重要的转录调节因子,可与激素或配体结合后转移到细胞核内,激活靶基因转录并发

挥调节作用^[7]。与生殖过程、新陈代谢调节和分化发育密切相关。本实验室根据激素-受体作用理论构建了 4 株重组基因双杂交酵母^[8],利用双杂交技术重组了相关激素受体基因和共激活因子,和单杂交酵母相比能更好地模拟哺乳动物体内的真实环境,已被用来检测化合物和环境样品的类/抗激素活性^[9-13]。

本研究采用双杂交酵母测试方法,选取 PFOS 作为被替代品(原化学品),与其相应的 4 种替代化学品一同进行多种核受体干扰效应的检测。并结合大鼠肝脏微粒体酶系统(S9)代谢方法,检测间接内分泌干扰作用。通过 PFOS 及其替代品内分泌干扰活性的比较,阐述该替代方法的可行性,并为化学品替代技术研发中的毒性测试和风险评估提供参考。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 试剂

二甲基亚砜(DMSO)、O-nitrophenol-β-D-galactopyranoside (ONPG)、17-β-雌二醇(E2)、二氢睾酮(DHT)、三碘甲状腺原氨酸(T3)、9-顺式维甲酸(RA)、氟他胺(flutamide)、全氟辛基磺酸(PFOS)均购自 Sigma (St. Louis, USA); 孕酮(PG)购自 MP Biomedicals (Lübeck, Germany); 4-羟基它莫西芬(4-OHT)购自 Toronto Research Chemicals Inc. (Toronto, Canada); 米非司酮(RU486)购自北京紫竹药业; 盐酸胺碘酮(NH3)购自上海制药厂; 大鼠肝脏微粒体酶系统(S9)购自 Oriental Yeast (Tokyo, Japan); 待测的 4 种替代化学品(详见表 1)由武汉风帆表面工程股份有限公司合成。实验中使用的试剂纯度均为分析纯或以上。

表 1 原化学品和替代化学品
Table 1 PFOS and its substitutes

类别 Category	化学品名称 Chemical name	浓度范围/(g·L ⁻¹) Concentration range/(g·L ⁻¹)
原化学品 Original chemical	PFOS	5.00 × 10 ⁻⁵ ~ 5.00 × 10 ⁻²
替代化学品 Substitute chemical	#1 全氟丁基有机铵盐阳离子表面活性剂 Perfluorobutyl organic ammonium salt cationic surfactant	5.00 × 10 ⁻⁸ ~ 5.00 × 10 ⁻²
	#2 调聚法合成的三防织物整理剂 Tri-fabric finishing agent synthesized by telomerization	5.00 × 10 ⁻⁸ ~ 5.00 × 10 ⁻²
	#3 电解氟化法合成的 C4 织物三防整理剂 C4 tri-proof finishing agents synthesized by electrolysis fluorination	5.00 × 10 ⁻⁸ ~ 5.00 × 10 ⁻²
	#4 电解氟化法合成的 C6 织物三防整理剂 C6 tri-proof finishing agents synthesized by electrolysis fluorination	5.00 × 10 ⁻⁸ ~ 5.00 × 10 ⁻²

1.2 酵母菌种的保存和复苏

重组 ER 基因、AR 基因、TR 基因、RXR 基因及共激活因子 GRIP1 的双杂交酵母由本实验室自主构建^[14]。培养基为缺乏色氨酸和亮氨酸的营养缺陷型培养基(SD/-Trp/-Leu)。重组 PR 基因酵母由 Gaido 教授(Office of Applied Research and Safety Assessment/CFSAN/FDA, USA)赠送。培养基为补充CuSO₄、腺嘌呤、赖氨酸、色氨酸的 SC 培养基^[15]。

酵母细胞的冻存采用添加 15% (体积分数) 无菌甘油的 SD 培养基。将新鲜的酵母细胞培养至将酵母培养液稀释 10 倍后波长 600 nm 处吸光度在 0.15~0.5 之间, 以 1 mL 为单位分装到 Eppendoff 管中, 经梯度降温置于 -80 °C 低温冰箱长期保存。复苏和培养同样采用 SD 培养基。将一支冻存菌液加入含约 15 mL SD 培养基的锥形瓶中, 置于转速 150 r·min⁻¹、温度 30 °C 全温振荡培养箱(HZQ-F100 哈尔滨)中培养 20 h^[8]。

1.3 β-半乳糖苷酶活性的测定

1.3.1 类激素活性的测定

β-半乳糖苷酶活性的测定参照文献描述进行^[10]。为了选择处于指数生长期的酵母进行实验, 用分光光度计(Unico UV22000, 上海)检测 10 倍稀释后的酵母培养液在波长 600 nm 处的吸光度值。其读数(OD₆₀₀)要求在 0.15~0.5 之间。加入培养基, 调节酵母菌株吸光度值为 0.75。在无菌条件下将 995 μL 菌株培养液和 5 μL DMSO 溶解的样品混匀成暴露培养液。200 μL 暴露液加入无菌的 96 孔培养板(Corning, USA)中, 微孔摇床(Heidolph, incubator 1000, Germany)30 °C 下振荡培养 2 h, 酶标仪(Tecan, GENios, Australia)测定 OD₆₀₀。从培养板中吸出 150 μL 菌液, 加入 120 μL 测试缓冲液, 微孔摇床上预培养 5 min 后加入 20 μL 三氯甲烷, 以 300 r·min⁻¹、10 min 破碎酵母细胞。再加入 40 μL ONPG 反应液启动酶反应, 并计时直至出现明显的黄色, 加入 100 μL 1 mol·L⁻¹ 碳酸钠溶液终止反应。吸取 200 μL 转移到酶标板中测定 OD₄₂₀ 值。

1.3.2 抗激素活性的测定

具体操作方法与 1.3.1 类激素活性测定方法基本一致。暴露培养液为混合均匀的 990 μL 菌株培养液、5 μL 溶于 DMSO 的化合物样品及 5 μL 最大效应浓度的阳性对照物(ER: 2 × 10⁻¹⁰ mol·L⁻¹ E2; AR: 5 × 10⁻⁸ mol·L⁻¹ DHT; PR: 1 × 10⁻⁹ mol·L⁻¹ PG; TR: 5 × 10⁻⁶ mol·L⁻¹ T3; RXR: 5 × 10⁻⁶ mol·L⁻¹ RA)。

1.3.3 引入代谢活化(S9)的检测方法

S9 是大鼠肝匀浆的去线粒体上清液, 是许多体

外实验常用的体外活化系统, 以混合功能氧化酶(MFO)为主要有效成分。许多污染物的生物转化过程都依赖 MFO 系统展开, 因此 S9 的引入可模拟生物体内真实情况, 测定化学品经内环境酶类代谢活化后的间接内分泌干扰效应。对于类激素活性的测定, 暴露培养液组成为 845 μL 菌株培养液、150 μL S9 混合液和 5 μL 化合物样品; 对于抗激素活性的测定, 暴露培养液组成为 840 μL 菌株培养液、150 μL S9 混合液、5 μL 化合物样品和 5 μL 最大效应浓度的阳性对照物。其他操作与无代谢活化测定方法相同^[16]。

1.4 数据处理

β-半乳糖苷酶活性(U)的计算公式如下:

$$U = (OD_{420s} - OD_{420b}) \times D / (t \times V \times OD_{600}) \quad (1)$$

其中 OD_{420s}、OD_{420b} 分别表示样品和空白对照的 OD₄₂₀ 值; OD₆₀₀ 为样品的 OD₆₀₀ 值; t 为酶反应时间; V 为测定时溶液体积, 本实验取 0.2 mL; D 为稀释倍率, 即加入碳酸钠后与加入测试缓冲液前的体系体积比, 本实验为 6.6。

各化合物不同浓度下的类激素与抗激素效应应用诱导或抑制 β-半乳糖苷酶活性的程度来表征:

$$\text{诱导率} \% = U_s / U_p \times 100 \quad (2)$$

$$\text{抑制率} \% = (1 - U_s / U_p) \times 100 \quad (3)$$

式中 U_s 和 U_p 分别为样品和阳性对照物质诱导激素受体酵母产生的酶活性。为了定量表征测试化合物的干扰效应, 选用诱导/抑制 50% 最大效应值所需的化合物浓度 EC₅₀ 来表征测试化合物的诱导/抑制效应强度。实验结果用 Sigmaplot 11.0 (SPSS Incorporation, USA) 进行处理。

2 结果 (Results)

为了考察待测化合物对所选 5 种核受体的干扰作用(包括诱导和抑制), 将化合物按照表 1 所示浓度梯度进行杂交酵母细胞的暴露实验。检测拮抗效应时需要添加最大效应浓度的阳性对照物, 进行体外代谢时加入 S9 混合液共同暴露。结果表明, 无代谢活化时, PFOS 未检出任何类激素活性, 但观察到其暴露 AR、TR、RXR 酵母细胞可抑制天然激素诱导的 β-半乳糖苷酶活性, 呈现出显著的剂量效应关系, EC₅₀ 在 3.0 × 10⁻⁴ ~ 4.8 × 10⁻³ g·L⁻¹ 之间; 同时 4 种替代化学品未对受试核受体表现出诱导或抑制效应。经 S9 代谢活化后, PFOS 除以上效应外另表现出中等强度的 ER 抑制效应, EC₅₀ 值在 3.0 × 10⁻⁴ ~ 6.7 × 10⁻³ g·L⁻¹ 之间; 其 4 种替代品均无诱导或抑制效应检出(实验结果见表 2)。

表 2 PFOS 和其替代品的内分泌干扰效应
Table 2 Hormonal activity of PFOS and its substitutes

		ER		AR		PR		TR		RXR	
		诱导	抑制	诱导	抑制	诱导	抑制	诱导	抑制	诱导	抑制
		Induction	Inhibition	Induction	Inhibition	Induction	Inhibition	Induction	Inhibition	Induction	Inhibition
PFOS	-S9	nd	nd	nd	3.3E-4	nd	nd	nd	3.0E-4	nd	4.8E-3
	+ S9	nd	1.4E-3	nd	3.0E-4	nd	nd	nd	6.7E-3	nd	5.0E-4
#1	-S9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	+ S9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
#2	-S9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	+ S9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
#3	-S9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	+ S9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
#4	-S9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	+ S9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

注: nd 未检出; 数值为各化合物干扰相应受体的 $EC_{50}/(g \cdot L^{-1})$ 。
Note: nd, not detected; numerical values represent the $EC_{50}(g \cdot L^{-1})$ of each chemical for disrupting the five receptors.

表 2 同时展示了 S9 的加入对实验结果的影响。通过 $\pm$ S9 的对比,可看到 PFOS 的 ER 抑制效应随着代谢活化的进行有所升高(从与空白对照无显著性差异到 $EC_{50} = 1.4 \times 10^{-3} g \cdot L^{-1}$),RXR 抑制活性升高(EC_{50} 减小近一个数量级),TR 抑制效应降低(EC_{50} 增大 10 倍以上);另外,S9 对 PFOS 的 AR 抑制活性影响不大,且其存在与否均无 PR 干扰效应检出。这说明体外代谢活化的进行会造成化合物毒性发生变化,这样可模拟体内真实环境的增毒或解毒过程。

3 讨论 (Discussion)

PFOS 的毒理研究主要涉及肝脏毒性、免疫毒性、发育毒性、生殖毒性及潜在的致癌性等,内分泌干扰效应也是研究的重要组成^[17]。对 PFOS 的报道多集中在其对雄性发育和甲状腺功能的不良影响上

(见表 3)。本研究发现 PFOS 是 AR、TR 和 RXR 的拮抗剂,且在代谢活化后表现出 ER 抑制活性,具有干扰多个核受体的能力,对内分泌系统的作用方式不是单一的、而是多方面的。虽然在离体测试中化学品对各受体的干扰被分开检测,但生物体不同的激素系统间存在相互作用,表现为一个有机整体。一些化合物可以与多受体共同作用发挥特定的干扰效应,例如 p,p'-DDE 和 BPA 可以同时具有类雌激素和抗雄激素活性^[9-10]。本研究结果说明 PFOS 具有干扰内分泌系统和影响发育的潜力,其机制与多个核受体的作用相关,可能是多受体共同作用的结果。通过对 PFOS 及其替代品进行成组酵母检测,可以综合考察化学品的内分泌干扰作用位点和强度,有助于对其干扰机理和模式开展研究。

表 3 已报道的 PFOS 对内分泌系统的影响
Table 3 Endocrine disrupting effects of PFOS in published literatures

受试物 Test organisms	结果 Results	参考文献 References
MCF-7 细胞 MCF-7 cell	MCF-7 增殖试验中未表现出雌激素效应 Show no estrogenic effect in MCF-7 breast cancer cell proliferation test	[18]
斑马鱼胚胎 Zebrafish embryos	影响 cyp19b 芳香化酶活性,干扰甲状腺发育和性别分化相关基因表达 Disrupt the cyp19b activity, the development of thyroid gland and the gene expression related to sex differentiation	[19]
斑马鱼 Zebrafish	可改变斑马鱼体内 VTG 的含量,雄鱼可能对暴露更为敏感 Change the VTG level in zebrafish, and male zebrafish may be more sensitive to the exposure	[20]
大鼠 Rat	改变大鼠的发情周期,影响其神经内分泌系统 Affect the estrous cyclicity and the neuroendocrine system in rats	[21]

在替代技术方面,有采用全氟丁基(PFBS)类产品替代 PFOS 类产品的。PFBS 作为表面活性剂应用,其性能同样优越,且符合环保健康的要求;另外,6 个碳的全氟及多支链化合物也被用来替代 PFOS^[22]。本文测试的 4 种替代品中包含不同方法合成的 C₄ 和 C₆ 的化合物,无论有无代谢活化,在测试浓度范围内均不存在内分泌干扰效应,说明短链的 4 种替代品相对 PFOS 具有更低的内分泌干扰风险。但是,内分泌系统是一个复杂精密的体系,环境污染物不仅可以通过影响天然激素与受体结合的受体介导途径发生作用,还可通过干扰激素合成、分泌、转运、代谢等过程的非受体介导途径干扰内分泌系统的正常运作。本文采用的双杂交酵母测试可以检测化合物和核受体的相互作用,但不能排除受试物有非核受体作用的影响,需要活体实验进一步证实。

对离体测试而言,缺少生物体内的内环境是其局限之一。缺少体内可以代谢外来化合物的关键酶类可能导致代谢活化不足,从而造成假阴性和假阳性的出现^[16]。S9 提供了环境污染物生物转化关键的 MFO 系统,其中以细胞色素 P450 最为重要。MFO 可氧化代谢进入生物体的外源污染物,导致原化合物毒性增强的激活反应(增毒),或使原化合物转化成低度或无毒物质的降解反应(解毒)。由前文所述,本研究中 S9 的加入增大了 PFOS 的 ER 和 RXR 抑制活性,降低了其 TR 抑制活性,基本未改变其他干扰效应。这说明在氧化酶的作用之后,PFOS 的代谢产物是更强的 ER 和 RXR 拮抗剂(增毒),减弱的 TR 拮抗剂(解毒),但未能改变与 AR 和 PR 受体的亲和力。对同一化合物, S9 的作用针对不同激素受体有不同影响,其作用前后受试物的 EC₅₀ 值可表现出数量级上的差异,使间接内分泌干扰效应强度和直接效应的强度出现很大差距。因此有必要引入 S9 作为体外代谢活化系统,通过待测化学品直接和间接干扰活性的比较更加全面地评价其内分泌干扰效应。

综上,本文讨论了 PFOS 及其替代品核受体作用途径的干扰效应,发现相对于原化学品而言,替代品的激素活性更低,从这一角度判断它们的替代使用有利于生态环境和人体健康的安全。然而,本实验使用的双杂交酵母测试方法仅能反映内分泌干扰过程中的数个与核受体作用相关的位点和作用方式,无法对更加复杂的干扰方式做出检测。因此,进

一步安全评估需要结合活体测试展开。

通讯作者简介:马梅(1967—),女,博士,研究员,主要研究方向为水生态毒理学,在国内外发表学术论文 90 余篇。

参考文献:

- [1] 国家履行斯德哥尔摩公约工作协调组办公室. 中华人民共和国履行《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》国家实施计划[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2008: 1 - 10
- [2] 金一和, 刘晓, 秦红梅, 等. 我国部分地区自来水和不同水体中的 PFOS 污染[J]. 中国环境科学, 2004, 24(2): 166 - 169
Jin Y H, Liu X, Qin H M, et al. The status quo of perfluorooctane sulfonate (PFOS) pollution in tap water and different waters in partial areas of China [J]. China Environmental Science, 2004, 24(2): 166 - 169 (in Chinese)
- [3] 郭睿, 蔡亚岐, 江桂斌, 等. 全氟辛烷磺酰基化合物 (PFOS) 的污染现状与研究趋势[J]. 化学进展, 2006, 18 (6): 808 - 813
Guo R, Cai Y Q, Jiang G B, et al. Current research of perfluorooctane sulfonate [J]. Progress in Chemistry, 2006, 18 (6): 808 - 813 (in Chinese)
- [4] Organisation for Economic Co-operation and Development. Cooperation on Existing Chemicals, Hazard Assessment of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and its Salts [R]. Paris: OECD, 2002
- [5] Bureau Veritas Consumer Products Services, Inc. European Parliament Moves to Restrict Perfluorooctane Sulfonates (PFOS) [EB/OL]. (2012-01-08) [2012-11-16]. https://www.iaaqaservices.bureauveritas.com/reach-ecr/regulation_updates/48820.html
- [6] Wikipedia. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants [EB/OL]. (2012-11-08) [2012-11-16]. http://en.wikipedia.org/wiki/Stockholm_Convention_on_Persistent_Organic_Pollutants
- [7] 李剑, 饶凯锋, 马梅, 等. 核受体超家族及其酵母双杂交检测技术[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(6): 521 - 532
Li J, Rao K F, Ma M, et al. Nuclear receptor superfamily and yeast two-hybrid system [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(6): 521 - 532 (in Chinese)
- [8] 李剑, 马梅, 饶凯锋, 等. 酵母双杂交技术构建重组人雌激素受体基因酵母[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(1): 21 - 26
Li J, Ma M, Rao K F, et al. Construction the recombinant human estrogen receptor (hER) gene yeast using two-hybrid

- yeast technique [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2008, 3(1): 21 – 26 (in Chinese)
- [9] Li J, Li N, Ma M, et al. In vitro profiling of the endocrine disrupting potency of organochlorine pesticides [J]. Toxicology Letters, 2008, 183(1-3): 65 – 71
- [10] Li J, Ma M, Wang Z J. In vitro profiling of endocrine disrupting effects of phenols [J]. Toxicology in Vitro, 2010, 24(1): 201 – 207
- [11] Li N, Jiang W W, Rao K F, et al. Estrogen-related receptor γ disruption of source water and drinking water treatment processes extracts [J]. Journal of Environmental Sciences, 2011, 23(2): 301 – 306
- [12] Li N, Ma M, Rao K F, et al. In vitro thyroid disrupting effects of organic extracts from WWTPs in Beijing [J]. Journal of Environmental Sciences, 2011, 23(4): 671 – 675
- [13] Jiang W W, Yan Y, Ma M, et al. Assessment of source water contamination by estrogenic disrupting compounds in China [J]. Journal of Environmental Sciences, 2012, 24(2): 320 – 328
- [14] 李剑. 核受体超家族检测环境内分泌干扰物新技术 [D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2008: 29 – 60
- Li J. Novel bioassays based on nuclear receptor superfamily for screening the endocrine disrupting chemicals [D]. Beijing: Graduate School of Chinese Academy of Science, 2008: 29 – 60 (in Chinese)
- [15] Gaido K W, Leonard L S, Lovell S, et al. Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 1997, 143(1): 205 – 212
- [16] 崔青, 李剑, 饶凯锋, 等. 检测饮用水中雌激素物质的方法——结合 S9 代谢活化的重组基因酵母法 [J]. 高技术通讯, 2007, 17(6): 643 – 647
- Cui Q, Li J, Rao K F, et al. Screening for estrogens in drinking water using recombinant gene yeast bioassay after metabolic activation by rat liver S9 fraction [J]. Chinese High Technology Letters, 2007, 17(6): 643 – 647 (in Chinese)
- [17] 王亚韡, 蔡亚岐, 江桂斌. 斯德哥尔摩公约新增持久性有机污染物的一些研究进展 [J]. 中国科学: 化学, 2010, 40(2): 99 – 123
- Wang Y W, Cai Y Q, Jiang G B. Research processes of persistent organic pollutants (POPs) newly listed and candidate POPs in Stockholm Convention [J]. Scientia Sinica Chimica, 2010, 40(2): 99 – 123 (in Chinese)
- [18] Vanparrys C, Maras M, Lenjou M, et al. Flow cytometric cell cycle analysis allows for rapid screening of estrogenicity in MCF-7 breast cancer cells [J]. Toxicology in Vitro, 2006, 20(7): 1238 – 1248
- [19] Shi X J, Du Y B, Lam P K S, et al. Developmental toxicity and alteration of gene expression in zebrafish embryos exposed to PFOS [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2008, 230(1): 23 – 32
- [20] 程艳, 崔媛, 何平, 等. 全氟辛烷磺酸(PFOS)对斑马鱼血浆和组织匀浆中卵黄蛋白原含量的影响 [J]. 生态毒理学报, 2012, 7(1): 65 – 70
- Cheng Y, Cui Y, He P, et al. Effect of perfluorooctane sulfonate (PFOS) on vitellogenin levels in blood plasma and tissue homogenate of zebrafish (*Brachydanio rerio*) [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2012, 7(1): 65 – 70 (in Chinese)
- [21] Maureen E A, Badrinarayanan S K, Matthew B, et al. Neuroendocrine effects of perfluorooctane sulfonate in rats [J]. Environmental Health Perspectives, 2003, 111(12): 1485 – 1489
- [22] 陈荣圻. PFOS 的禁用及相关产品的替代(三) [J]. 印染, 2008(20): 42 – 45
- Chen R Q. Prohibition and substitution of chemicals containing PFOS(III) [J]. Dyeing and Finishing, 2008(20): 42 – 45 (in Chinese)
- ◆