

六溴环十二烷转甲状腺素蛋白结合活性及其发育期暴露的甲状腺激素干扰效应研究

冀秀玲¹, 刘洋¹, 刘芳¹, 鲁越¹, 钟高仁²

(1. 东华大学环境学院环境科学系, 上海 201620; 2. 复旦大学放射医学研究所, 上海 200032)

摘要:为了探讨新型溴代阻燃剂六溴环十二烷(HBCDs)的潜在健康危害,采用体外研究与动物暴露实验相结合的方法,分析了HBCDs与转甲状腺素蛋白(TTR)的结合活性,以及不同剂量HBCDs暴露对发育期大鼠体内甲状腺激素水平的干扰作用。TTR竞争结合实验显示,HBCDs与¹²⁵I-T4竞争结合TTR的能力随溶液浓度的增加而升高,但即使在80 μmol·L⁻¹的高浓度下,¹²⁵I-T4与TTR的结合率仍高达75.08%,表明HBCDs抑制甲状腺激素T4与转运蛋白结合的能力较弱。动物实验结果表明,新生3 d大鼠暴露于0.2 mg/kg及1 mg/kg剂量的HBCDs 21 d后,与对照组相比,暴露组大鼠血清中总三碘甲状腺原氨酸TT3、游离三碘甲状腺原氨酸FT3的含量显著升高($p < 0.05$, $p < 0.05$);总甲状腺激素TT4、游离甲状腺激素FT4含量下降约20%,促甲状腺激素水平上升30%~230%,但3个指标变化均不具统计学意义。结合体内实验及动物实验结果,HBCDs可能通过对甲状腺激素T3的协同或替代作用产生直接和间接的甲状腺干扰效应。低剂量的HBCDs暴露即可导致发育期大鼠甲状腺激素内稳态失衡,对HBCDs发育期暴露的毒性作用值得关注。

关键词:六溴环十二烷;TTR结合;甲状腺激素干扰;发育期暴露;作用机制

中图分类号:X18; R994.6 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)09-2191-05

Transthyretin-binding Activity of Hexabromocyclododecanes (HBCDs) and Its Thyroid Hormone Disrupting Effects After Developmental Exposure

Ji Xiu-ling¹, Liu Yang¹, Liu Fang¹, Lu Yue¹, Zhong Gao-ren²

(1. Department of Environmental Science, Donghua University, Shanghai 201620, China; 2. Institute of Radiation Medicine, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: *In vivo* and *in vitro* research approaches were carried out to survey the potential health risk of environmental exposure by hexabromocyclododecanes (HBCDs). Transthyretin-binding assay was designed to test for the potency of HBCDs to compete with thyroxine (T4) for binding to the transport protein. The results showed that the binding of ¹²⁵I-T4 and T4 was only slightly inhibited even at the highest competitive concentration of HBCDs (75.08%, 80 μmol·L⁻¹), indicating the marginally interfere potency of HBCDs in the transportation of T4. Sprague-Dawley rats of 3-days old were exposed to 0.2 mg/kg and 1 mg/kg HBCDs for 21 d to examine the thyroid hormones (THs) disrupting effects of HBCDs after developmental exposure. Compared with the controls, levels of total 3,3',5-triiodothyronine (TT3), free 3,3',5-triiodothyronine (FT3), increased significantly ($p < 0.05$, $p < 0.05$) in low- and high-dose exposures, thyroid stimulating hormone (TSH) also increased slightly while the total thyroxine (TT4), free thyroxine (FT4) had a decline about two-fold inversely. Combined both the *in vivo* and *in vitro* results, the possible mode of action of HBCDs on THs disruption may through the synergy or substitution effect of T3. The findings support further investigation of the potential THs disrupting effects of HBCDs on public health, especially on children during brain development.

Key words: hexabromocyclododecanes (HBCDs); transthyretin (TTR)-binding; thyroid hormone disruption; developmental exposure; mechanism of action

继多溴联苯醚(PBDEs)之后,六溴环十二烷(hexabromocyclododecane, HBCDs, 又称HBCDD、HBCD)已成为使用量最大的溴代阻燃剂之一,被广泛应用于建筑热绝缘材料、纺织品、塑料、电子产品中。HBCDs具有稳定的环状结构、高度的疏水性(log K_{ow} = 5.62),在环境中很难进行生物/非生物降解。迄今为止,HBCDs已成无处不在的全球性环境污染物质^[1~3],其环境行为初步呈现出持久性有机污染物的典型特征。

作为一种新兴的潜在环境污染物,目前对HBCDs的健康风险研究尚处于起步阶段,相关毒理学资料仍待完备。现有的毒理学研究资料显示,HBCDs的重要毒性效应之一为甲状腺毒性,HBCDs

收稿日期:2009-11-08;修订日期:2010-01-12

基金项目:国家自然科学基金项目(20907007);教育部霍英东基金优选项目(114044);教育部新教师基金项目(20070255017);上海市重点学科开放基金项目(B604)

作者简介:冀秀玲(1975~),女,博士,副教授,主要研究方向为复合污染物生态毒理效应,E-mail:ling_jx@dhu.edu.cn

暴露将导致大鼠及鱼类的甲状腺滤泡上皮细胞增生、甲状腺激素循环水平改变等^[4-6]。但目前对环境水平 HBCDs 发育期暴露的甲状腺干扰效应研究还非常缺乏。

事实表明,处于脑发育期的儿童是 HBCDs 暴露的高风险人群^[7,8]。英国伯明翰地区的一项调查显示,当地儿童经室内尘土摄入 HBCDs 的日均总量经过体重校正后,已达到成人的职业暴露水平^[9]。当前迫切需要开展脑发育期 HBCDs 暴露的健康效应及风险评价研究。

对典型环境甲状腺激素干扰物如 PBDEs、TBBPA 等的研究显示,影响甲状腺激素转运过程及甲状腺激素的内稳态是污染物产生干扰作用的 2 条重要作用途径^[10-12]。因此,本研究采用体外测试与动物暴露实验相结合的方法,利用转甲状腺素蛋白结合活性实验(TTR-binding)检测 HBCDs 对甲状腺激素 T4 转运过程的影响潜力;同时,选取不同暴露剂量对发育期幼鼠进行暴露实验,运用化学发光酶联免疫分析法检测血清中总甲状腺素(TT4)、总三碘甲状腺原氨酸(TT3)、游离甲状腺素(FT4)、游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)和促甲状腺激素(TSH)的水平,以期揭示 HBCDs 的甲状腺激素干扰效应,探讨 HBCDs 的毒性作用机制,评价 HBCDs 的公众健康风险提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

1.1.1 主要试剂

六溴环十二烷(HBCDs; CAS No. 3194-55-6; 97%)购自 Sigma-Aldrich 公司;转甲状腺素蛋白(Transthyretin, Kent, UK; Cat No. P171-1, 纯度 > 96%)购自北京中科恒益有限公司;1mL Sephadex G25 葡聚糖凝胶离心柱购自 Pharmacia 公司;化学发光酶联免疫检测 TT4、FT4、TT3、FT3 和 TSH 的试剂盒为 Abbott 公司产品,¹²⁵I 标记的 T4 为复旦大学放射医学研究所产品。其余试剂均为国产分析纯。

1.1.2 主要仪器

美国 Abbott AXSYM 型全自动微粒子化学发光仪(Abbott 公司);SN-682 型放免 γ 测量仪(原子核研究所日环仪器一厂)。

1.2 动物暴露

实验动物选用 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,清洁级。实验窝鼠购于中国科学院上海实验动物中心。自由摄食饮水,12 h 明/12 h 暗循环,(24 ± 1)℃ 条件

下饲养。

根据报道^[9],同时考虑不同个体、不同区域间的情况差异^[13],设计动物试验的暴露剂量(以体重计,下同)为 0.2 mg/kg 和 1 mg/kg,以反映真实环境水平暴露的特点。新生 3d 的仔鼠开始暴露实验。同一窝的仔鼠被分为对照组、0.2 mg/kg 及 1 mg/kg 暴露组共 3 组,各组仔鼠 10 只,分别来自至少 3 窝不同母鼠。染毒方法采用灌胃法,根据每晨称量的仔鼠体重,按暴露剂量分别灌入溶有 HBCDs 的花生油,对照组以等体积单纯花生油代替。暴露 21d 至仔鼠断乳后结束。

1.3 实验方法

1.3.1 TTR 结合活性的测定

TTR 结合活性实验方法参考 Meerts 等^[10]的方法并略加改进:体积为 200 μ L 的竞争结合反应液包含 0.1 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH = 8.0, 含有 0.1 mol/L NaCl, 0.1 mmol/L EDTA)、30 nmol/L 转运蛋白 TTR、55 nmol/L 的¹²⁵I-T4,以及 5 μ L 不同浓度梯度的竞争物 HBCDs。为消除竞争物溶剂产生的影响,本底组样品中加入 5 μ L 二甲亚砜空白溶剂,除不加入 TTR 蛋白外其它溶液组成不变。同时设置阳性对照组,检测无竞争物条件下甲状腺激素 T4 与运载蛋白 TTR 的结合率。

竞争结合反应液 4℃ 孵育过夜,以达到竞争结合平衡。孵育结束后,取 100 μ L 竞争结合反应液加到经预平衡处理过的 Sephadex G25 葡聚糖凝胶离心柱上,3 000 r/min 离心 2 min,去除未与转运蛋白 TTR 结合的游离¹²⁵I-T4,收集离心出的液体。用 γ 计数器测量收集到的离心液体的放射性,根据每管每 min 放射性计数(cpm),可求出待测 HBCDs 溶液与¹²⁵I-T4 竞争结合甲状腺素转运蛋白 TTR 的能力 η , η 值越低,表明 HBCDs 溶液的竞争结合能力越高。具体计算公式如下:

$$\eta = \frac{\text{待测管放射性} - \text{空白管放射性}}{\text{阳性管放射性}} \times 100\%$$

1.3.2 甲状腺激素相关指标的测定

各组仔鼠至暴露时间后戊巴比妥钠麻醉,静脉采血法采血。4℃、1 500 r/min 离心 10 min,取上层血清,采用化学发光酶联免疫测定试剂盒,在化学发光仪上测定 FT3、TT3、FT4、TT4 及 TSH。

1.4 统计分析

所有数据经 Excel 软件进行统计学处理,采用 t 检验分析方法,各组数据取 $\bar{x} \pm s$ 。

2 结果与分析

2.1 HBCDs 的 TTR 竞争结合抑制曲线

由单浓度实验确定 HBCDs 产生竞争结合的有效浓度,根据该浓度由高到低确定 HBCDs 溶液的浓度梯度.本实验中采用的 HBCDs 的竞争结合浓度梯度为 $8 \times 10^{-5} \sim 8 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$.

HBCDs 的 TTR 竞争结合抑制曲线如图 1 所示.在实验选取的 HBCDs 溶液待测浓度范围内,HBCDs 浓度增加并未产生明显的 TTR 竞争结合抑制.当 HBCDs 溶液浓度为 $8 \sim 40 \mu\text{mol/L}$ 时, η 值高于 85%.随着 HBCDs 溶液浓度的增加, η 值率略有下降,但在 $80 \mu\text{mol/L}$ 的高浓度下, η 值仍为 75.08%.

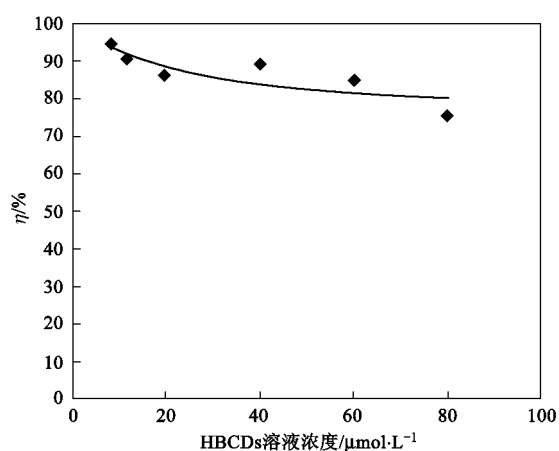


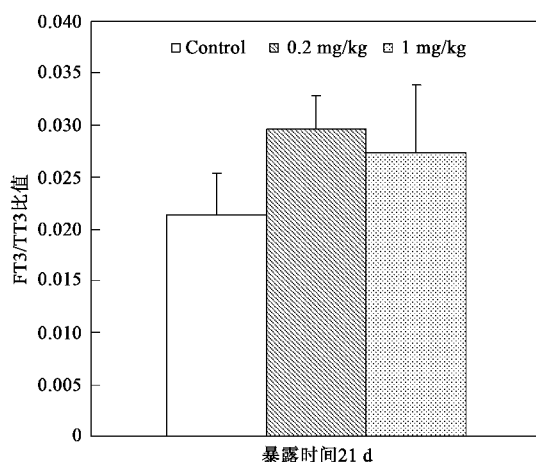
图 1 HBCDs 的 TTR 竞争结合抑制曲线

Fig.1 Profile of HBCDs TTR-binding potency

2.2 HBCDs 发育期暴露的甲状腺激素干扰作用

2.2.1 对大鼠血清中甲状腺激素水平的影响

不同暴露剂量下,大鼠血清中 TT4、FT4、TT3、



FT3、及 TSH 水平如表 1 所示.

与对照组相比,新生 3d 大鼠暴露于 0.2 mg/kg 和 1 mg/kg 剂量的 HBCDs 后,血清中 TT4、FT4 的含量均呈现下降趋势,但无统计学显著差异.

新生 3 d 大鼠暴露于不同剂量的 HBCDs 21 d 后, 0.2 mg/kg 及 1 mg/kg 暴露组大鼠血清中 TT3 的含量与对照组相比均出现显著上升 ($p < 0.05$, $p < 0.05$).各暴露组大鼠血清中 FT3 含量的变化趋势与 TT3 的变化相似.暴露 21 d 后,与对照组相比, 0.2 mg/kg 及 1 mg/kg 暴露组大鼠血清中 FT3 含量也均出现显著上升 ($p < 0.05$; $p < 0.05$).

经过 21 d 的暴露,各暴露组的大鼠血清中 TSH 含量与对照组相比无显著差异,但随暴露剂量的增加,暴露组大鼠血清中 TSH 含量呈明显的增高趋势.

表 1 HBCDs 暴露后大鼠血清中甲状腺激素水平

Table 1 Levels of thyroid hormones in rat serum after developmental exposure of HBCDs

项目	对照组	0.2 mg/kg 剂量组	1 mg/kg 剂量组
TT4/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	1.37 ± 0.53	1.00 ± 0.37	1.07 ± 0.42
FT4/ $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$	1.51 ± 0.98	1.20 ± 0.69	1.21 ± 0.61
TT3/ $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.96 ± 0.14	$1.14 \pm 0.30^*$	$1.13 \pm 0.22^*$
FT3/ $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$	1.94 ± 0.48	$2.80 \pm 0.18^*$	$2.70 \pm 0.67^*$
TSH/ $\mu\text{IU} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.11 ± 0.03	0.14 ± 0.06	0.26 ± 0.15

1) $n = 9$, * 表示 $p < 0.05$

2.2.2 HBCDs 暴露对大鼠血清中 FT3/TT3 和 FT4/TT4 的影响

不同暴露剂量下,HBCDs 暴露对大鼠血清中 FT3/TT3 和 FT4/TT4 比值的影响如图 2 所示.

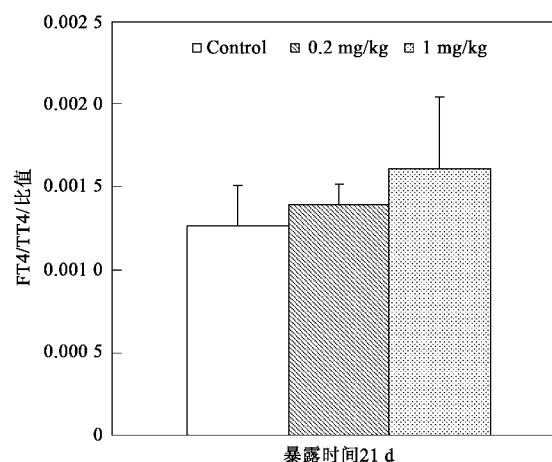


图 2 HBCDs 发育期暴露对大鼠血清甲状腺激素水平比值 FT3/TT3 和 FT4/TT4 的影响 ($n = 9$)

Fig.2 Ratio of FT3/TT3 and FT4/TT4 in rat serum after developmental exposure to HBCDs ($n = 9$)

HBCDs 暴露 21 d 后,各暴露组大鼠血清中的 FT3/TT3,以及 FT4/TT4 值与对照组相比都呈升高趋势,但并无统计学显著差异。

3 讨论

3.1 HBCDs 对总甲状腺激素转运过程的干扰

现有研究表明,与甲状腺激素 T4 竞争结合 TTR,影响甲状腺激素在体内的转运过程是许多环境污染物,如 TBBPA、PBDEs、多氯联苯 PCBs 等产生甲状腺激素干扰的主要作用途径^[14,15]。但本研究,对 HBCDs 的 TTR 竞争结合实验结果显示,即使在较高的竞争浓度下,HBCDs 也仅对 T4 与 TTR 的结合产生轻微抑制。表明 HBCDs 通过竞争结合 TTR 干扰甲状腺激素转运过程的能力较弱。动物实验中 FT3/TT3 和 FT4/TT4 的比值也可以部分反映甲状腺激素与运载蛋白的结合情况^[16,17]。HBCDs 暴露引起大鼠血清中 FT3/TT3 和 FT4/TT4 值的上升,表明大鼠血清内甲状腺激素与运载蛋白的结合程度有所减弱;但 FT3/TT3 和 FT4/TT4 与对照组相比并无显著差异,也说明 HBCDs 对机体内 THs 与运载蛋白结合的抑制作用有限。这可能与 HBCDs 的化学结构有关:TTR 竞争结合活性高的污染物多具有与甲状腺激素 T4 或 T3 相似的化学结构,使之能与体内甲状腺激素竞争结合运载蛋白 TTR;而 HBCDs 封闭的环状结构与甲状腺激素的结构存在较大差异,较难产生竞争结合。因此,HBCDs 可能通过其它途径产生甲状腺毒性作用。

3.2 HBCDs 发育期暴露对甲状腺激素内稳态的影响

甲状腺激素水平的变化可以直观地反映出污染物的甲状腺激素干扰效应。本实验中,新生 3 d 大鼠暴露于 0.2、1.0 mg/kg 剂量的 HBCDs 21 d 后,与对照组相比,暴露组大鼠出现了血清中 TT4 下降,TT3、FT3、TSH 升高的趋势。低剂量及高剂量 HBCDs 暴露均引起了 FT3、TT3 的显著升高($p < 0.05$ 、 $p < 0.05$)。研究结果表明即使较低剂量的 HBCDs 暴露,也会对脑发育期的新生幼鼠造成甲状腺激素,尤其是甲状腺激素 T3 的干扰作用。

Palace 等^[4]对彩虹鲷鱼的研究也显示,幼鱼暴露于 HBCDs 56 d 后,血液中出现 FT4 含量降低,FT3 上升的现象。Van der Ven 等^[5]对 wistar 大鼠进行的为期 28 d 的研究中,11 周的 wistar 大鼠暴露于 0~200 mg/kg 的 HBCDs 后,高剂量组暴露(≥ 100 mg/kg)雌性大鼠血清中 TT4 显著下降,免疫组化研

究显示垂体中 TSH 蛋白高于对照组,但文献^[17]并未对 FT3、FT4 等指标进行研究。虽然机体内绝大部分甲状腺激素 T4、T3 在血清中以非共价可逆方式与蛋白结合,仅有不到 1% 的甲状腺激素 T4、T3 以游离的形态存在,但由于分子量小,游离形态的甲状腺激素(FT3、FT4)可直接进入靶细胞发挥生物效应;同时,游离甲状腺激素对垂体分泌促甲状腺激素的过程还发挥着负反馈的作用。因此,游离甲状腺激素的改变对机体生理过程的影响更加显著。

3.3 HBCDs 甲状腺激素干扰作用机制探讨

TTR 竞争结合实验结果显示,与文献报道的其它甲状腺激素干扰物如 TBBPA、PBDEs 等相比,HBCDs 与 T4 竞争结合 TTR 的能力远低于上述物质,表明 HBCDs 对体内甲状腺激素运输过程的干扰可能性很小。

动物实验中,不同剂量的 HBCDs 暴露均引起大鼠血清中 TT3、FT3 含量的显著增加,而对 TBBPA、PBDEs 等物质的相关研究结果则相反:翟璟琰等^[17]对 TBBPA 的甲状腺激素干扰相关研究显示,TBBPA 暴露后,在全部 8 个暴露时间节点中红鲫血清内 TT3、FT3 含量均显著下降。对 PBDEs 的甲状腺干扰效应研究也显示,BDE-47 单体对孕期绵羊进行暴露后,子代羊羔血清中 TT3、TT4 均显著降低^[18]。低剂量的 PBDEs 混合物 DE-71 暴露亦导致水貂幼崽血清中 TT3 水平的显著下降^[19]。

上述体外实验及动物实验研究结果的差异表明,HBCDs 的甲状腺激素干扰机制有别于上述传统的环境甲状腺干扰物。Hamers 等^[20]进行的大鼠垂体细胞瘤(GH3)实验显示,在甲状腺激素 T3 存在的情况下,HBCDs 可显著地促进垂体细胞瘤的增长;即使无甲状腺激素 T3 存在,α 构型的 HBCDs 亦可促进由 T3 调控的垂体细胞瘤的增长,推测 HBCDs 具有对甲状腺激素 T3 的协同或替代作用。本实验中,HBCDs 暴露后,大鼠血清中 TT3、FT3 含量的显著增加也验证了 HBCDs 对甲状腺激素 T3 的协同效果。结合 HBCDs 体外的 TTR 蛋白竞争结合实验,HBCDs 可能通过影响 T3 的水平产生直接和间接的甲状腺干扰作用。脑发育期是对环境污染物暴露异常敏感的时期,对成年人无害的环境水平暴露就可能对子代产生不可逆转的毒性作用,对 HBCDs 的环境健康风险应引起高度关注,对 HBCDs 相关毒性作用机制的深入研究有待后续工作的进一步开展。

4 结论

HBCDs 的 TTR 竞争结合活性较低,但低剂量的 HBCDs 暴露也将导致发育期大鼠甲状腺激素内稳态的失衡,尤其是 TT3、FT3 的显著升高,表明 HBCDs 可能通过影响体内甲状腺激素 T3 的水平产生直接和间接的甲状腺干扰作用。

参考文献:

- [1] Kakimoto K, Akutsu K, Konishi Y, *et al.* Time trend of hexabromocyclododecane in the breast milk of Japanese women [J]. *Chemosphere*, 2008, **71**(6): 1110-1114.
- [2] Sormo E G, Salmer M P, Jenssen B M, *et al.* Biomagnification of polybrominated diphenyl ether and hexabromocyclododecane flame retardants in the polar bear food chain in Svalbard, Norway [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2006, **25**(9): 2502-2511.
- [3] Yu Z Q, Chen L G, Maw B X, *et al.* Diastereoisomer- and enantiomer-specific profiles of hexabromocyclododecane in the atmosphere of an urban city in South China [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**(11): 3996-4001.
- [4] Palace V P, Pleskach K, Halldorson T, *et al.* Biotransformation enzymes and thyroid axis disruption in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to hexabromocyclododecane diastereoisomers [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**(6): 1967-1972.
- [5] Van der Ven L T M, Van de Kuil T, Leonards P E G, *et al.* Endocrine effects of hexabromocyclododecane (HBCD) in a one-generation reproduction study in Wistar rats [J]. *Toxicol Lett*, 2009, **185**(1): 51-62.
- [6] Saegusa Y, Fujimoto H, Woo G H, *et al.* Developmental toxicity of brominated flame retardants, tetrabromobisphenol A and 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane, in rat offspring after maternal exposure from mid-gestation through lactation [J]. *Reprod Toxicol*, 2009, **28**(4): 456-467.
- [7] Abdallah M A E, Harrad S, Covaci A. Hexabromocyclododecanes and tetrabromobisphenol-A in indoor air and dust in Birmingham, UK: Implications for human exposure [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**(18): 6855-6861.
- [8] Stapleton H M, Allen J G, Kelly S M, *et al.* Alternate and new brominated flame retardants detected in US house dust [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**(18): 6910-6916.
- [9] Abdallah M A E, Harrad S, Ibarra C, *et al.* Hexabromocyclododecanes in indoor dust from Canada, the United Kingdom, and the United States [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**(2): 459-464.
- [10] Meerts I A T M, Van Zanden J J, Luijckx E A C, *et al.* Potent competitive interactions of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin in vitro [J]. *Toxicol Sci*, 2000, **56**(1): 95-104.
- [11] Jagtysch O, Opitz R, Lutz I, *et al.* Effects of tetrabromobisphenol A on larval development and thyroid hormone-regulated biomarkers of the amphibian *Xenopus laevis* [J]. *Environ Res*, 2006, **101**(3): 340-348.
- [12] Driscoll L L, Gibson A M, Hieb A. Chronic postnatal DE-71 exposure: effects on learning, attention and thyroxine levels [J]. *Neurotoxicol Teratol*, 2009, **31**(2): 76-84.
- [13] McDonald T A. A perspective on the potential health risks of PBDEs [J]. *Chemosphere*, 2002, **46**(5): 745-755.
- [14] Marchesini G R, Meimaridou A, Haasnoot W, *et al.* Biosensor discovery of thyroxine transport disrupting chemicals [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, **232**(1): 150-160.
- [15] Miller-Perez C, Sanchez-Islas E, Mucio-Ramirez S, *et al.* The polychlorinated biphenyls (PCBS) environmental pollutants and their effects on the Nervous System and health [J]. *Salud Mental*, 2009, **32**(4): 335-346.
- [16] Skaare J U, Bernhoft A, Wiig O, *et al.* Relationships between plasma levels of organochlorines, retinol and thyroid hormones from polar bears (*Ursus maritimus*) at Svalbard [J]. *J Toxicol Env Health*, 2001, **62**(4): 227-241.
- [17] 瞿璟琰, 施华宏, 刘青坡, 等. 四溴双酚-A 和五溴酚对红鲫甲状腺激素和脱碘酶的影响 [J]. *环境科学学报*, 2008, **28**(8): 1625-1630.
- [18] Abdelouahab N, Suvorov A, Pasquier J C, *et al.* Thyroid Disruption by Low-Dose BDE-47 in Prenatally Exposed Lambs [J]. *Neonatology*, 2009, **96**(2): 120-124.
- [19] Zhang S, Bursian S J, Martin P A, *et al.* Reproductive and developmental toxicity of a pentabrominated diphenyl ether mixture, DE-71, to ranch mink (*Mustela vison*) and hazard assessment for wild mink in the Great Lakes Region [J]. *Toxicol Sci*, 2009, **110**(1): 107-116.
- [20] Hamers T, Kamstra J H, Sonneveld E, *et al.* In vitro profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants [J]. *Toxicol Sci*, 2006, **92**(1): 157-173.