

## PFOS 对 BV-2 细胞的炎性损伤及机制研究

刘艳青<sup>1</sup>, 宋 词<sup>2</sup>, 王 军<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学公共卫生学院科研共享平台,<sup>2</sup>卫生毒理系,江苏 南京 211166)

**[摘要]** 目的:探讨环境内分泌干扰物全氟辛磺酸(perfluorooctane sulfonate, PFOS)对小鼠小胶质瘤细胞 BV-2 的损伤作用及其炎性反应。方法:利用体外培养的小胶质细胞,给予不同浓度和作用时间的 PFOS 进行染毒,通过 MTT 法检测 BV-2 细胞活力;实时定量 PCR 的方法观察诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthesis, iNOS)、白介素(interleukin, IL)-6 和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\alpha$  mRNA 的表达。ELISA 法检测炎性因子 IL-6, 免疫蛋白印迹法检测核转录因子 kappa B(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)等信号蛋白表达情况。结果:不同浓度 PFOS 对 BV-2 细胞染毒 12、24 h 后,细胞活力下降,引起明显的细胞损伤。ELISA 结果显示, PFOS 作用 BV-2 24 h 后,细胞炎性因子 IL-6 分泌增加。此外,PFOS 还可引起 iNOS、IL-6 基因表达上调,而 TNF- $\alpha$  表达有下降趋势。PFOS 与细胞孵育后,炎性通路 NF- $\kappa$ B 明显激活,表现为磷酸化程度升高。且随染毒浓度的增加, p-NF- $\kappa$ B 的表达有上升趋势;此外,随染毒时间的增加, p-NF- $\kappa$ B 的表达亦有上升趋势。结论:PFOS 可引起 BV-2 细胞活力降低,激活 NF- $\kappa$ B 通路,促进炎性因子的释放,该途径可为阐明 PFOS 引起的神经系统损伤的分子机制提供理论依据。

**[关键词]** PFOS; 环境内分泌干扰物; BV-2; 炎性因子; 信号通路

**[中图分类号]** R739.4

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2017)06-681-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20170606

## Inflammatory damage of BV-2 cells induced by PFOS and its mechanism

Liu Yanqing<sup>1</sup>, Song Ci<sup>2</sup>, Wang Jun<sup>2\*</sup>

(<sup>1</sup>The Core Facilities, <sup>2</sup>Department of Toxicology, School of Public Health, NJMU, Nanjing 211166, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of environmental endocrine disruptor perfluorooctane sulfonate(PFOS) on the cell damage and expression of inflammatory factors in mouse BV-2 microglial cells. **Methods:** The microglial cells were cultured by different concentrations of PFOS with various periods *in vitro*, and the activity of BV-2 cells was detected by using MTT method. Real-time PCR assay was performed to detect the mRNA expression of the inflammatory factors, including inducible nitric oxide synthesis(iNOS), tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$  and interleukin(IL)-6. At protein level, ELISA was used to analyze the excretion of IL-6 in BV-2 cells mediated by PFOS. Moreover, the signal pathway, especially the nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B), was evaluated by Western blot. **Results:** The BV-2 cells were incubated with varied doses of PFOS for 12 or 24 h, and then the cell viability was significantly decreased, which led to significant cell damage. ELISA data showed a significant increment of the cytokine factor IL-6 after BV-2 cells were incubated with PFOS for 24 h. PFOS markedly up-regulated iNOS and IL-6 mRNA expression, while TNF- $\alpha$  was down-regulated. Therefore, we discovered that PFOS substantially activated and phosphorylated the NF- $\kappa$ B pathway in a dose dependent manner. In addition, with the increase of exposure time, the expression of p-NF- $\kappa$ B was also increased. **Conclusion:** Our results showed that PFOS markedly decreased the BV-2 cell viability, activated the NF- $\kappa$ B pathway, and excreted the cytokines. These results taken together might provide a new molecular mechanism supporting the PFOS-induced neural damage.

**[Key words]** PFOS; environmental endocrine disruptors; BV-2; inflammation factor; signal pathway

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(06):681-685]

全氟辛磺酸(perfluorooctanesulfonate, PFOS)是一

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81202230, 81473012); 南京医科大学科技发展基金(2011NJMU275); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目(CX09B-264Z); 临床医学科技专项(BL2014088)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail:wangjun@njmu.edu.cn

种全氟类化合物。这类化合物被广泛用于织物、地毯、皮革的防污涂层, 纸制品的防油涂层, 泡沫灭火剂, 合成洗涤剂, 洗发香波, 食品添加剂, 农药等方面。PFOS 产量虽然相对较低( $\leq 4.54 \times 10^6$  kg/年), 但由于其具有持久性、生物累积性、难降解性, 故在短短 50 年里几乎已经传播到全球, 并已开始生物链

中逐级蓄积<sup>[1-2]</sup>。Olsen 等<sup>[3]</sup>报道美国职业性与非职业性暴露人群血清 PFOS 浓度范围分别是 0.06~20.06 mg/L 和 4.1~1 656.0 μg/L。PFOS 主要累积于人体肝脏及血清中,累积于大脑中的浓度约为血清中的 32%<sup>[4]</sup>。实验发现,PFOS 能够跨越胎盘屏障<sup>[5]</sup>及血脑屏障<sup>[6]</sup>,这为 PFOS 神经毒性研究提供了依据。

PFOS 暴露导致的神经毒性包括神经胶质细胞的灶性增生、蛛网膜下腔静脉的扩张或阻塞伴随轻微的灶性出血、神经细胞与静脉之间的距离扩大、神经纤维脱髓鞘。短期高剂量的 PFOS 暴露促使小鼠腹膜巨噬细胞炎症因子白介素(interleukin, IL)-6 的表达<sup>[7]</sup>。亚慢性的 PFOS 暴露促使成年雄性 C57BL/6 小鼠脾内的促炎细胞因子肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α、IL-6、IL-1β 的表达增加<sup>[8]</sup>。因此推测 PFOS 对机体的促炎作用影响其神经毒性。

中枢神经系统炎症由神经小胶质细胞、星形胶质细胞和巨噬细胞浸润激活。被激活的小胶质细胞及星形神经胶质可通过产生细胞因子诱发炎症反应<sup>[9]</sup>。在病理条件下,如损伤、感染、自身免疫性疾病、接触毒物,多种细胞因子表达水平显著增加,参与神经细胞损伤。小胶质细胞可释放炎症因子如 TNF-α、IL-1β、IL-6,引起神经细胞损伤,继而导致包括阿尔茨海默病、帕金森病、多发性硬化症等神经退行性病变的产生。但 PFOS 能否引起神经系统的炎症反应仍然未知。

因此本研究以小胶质细胞作为研究对象,观察 PFOS 暴露能否导致神经系统的炎症反应并阐述其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

小鼠 BV-2 胶质瘤细胞株(北京协和医学院细胞中心),胎牛血清(fetal bovine serum, FBS, Hyclone 公司,美国),MTT、鼠抗 β-actin (Sigma 公司,美国),小鼠 IL-6 ELISA 试剂盒、Valukine™ ELISA kit (R&D Systems 公司,美国),TRIzol 试剂、PCR 逆转录试剂盒、荧光试剂盒(TaKaRa 公司,日本),核转录因子 kappa B (nuclear factor-kappa B, NF-κB)、抗体(抗 NF-κB、抗 p-NF-κB, CST 公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

BV-2 细胞用 DMEM 培养基(10% FBS、1%的青霉素和链霉素)于 37℃、含 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中进行

培养。取生长状态良好的细胞进行实验。

#### 1.2.2 MTT 细胞活力实验

BV-2 细胞活力检测采用 MTT 法。将 BV-2 细胞以 2×10<sup>4</sup> 个/mL 的密度接种于 96 孔板,每孔 200 μL。培养 24 h 后,分别加入不同浓度 PFOS,使其终浓度为分别为 0、1×10<sup>-11</sup>、1×10<sup>-10</sup>、1×10<sup>-9</sup>、1×10<sup>-8</sup>、1×10<sup>-7</sup>、1×10<sup>-6</sup>、1×10<sup>-5</sup> mol/L,平行 3 样,重复 5 次。PFOS 分别与细胞共同孵育 12、24 h 后,弃原培养液,每孔加入含 10% MTT (5 mg/mL) 的 DMEM 培养液(不含 FBS),孵育 4 h,加入 DMSO 150 μL,混匀,酶标仪测定吸光度值,计算细胞增殖抑制率,并用 Bliss 法计算 PFOS 半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。细胞活性(%)=(实验孔吸光度值-背景吸光度值)/对照孔吸光度值×100%。

#### 1.2.3 ELISA 检测细胞上清中 IL-6

每孔加入 50 μL 稀释液(1×)分别将样品和不同浓度标准品加入相应孔中,室温孵育 2 h。每孔加洗涤液 400 μL 洗涤,重复 4 次;加入 100 μL 酶标检测抗体,室温孵育 2 h,洗涤;再加入 100 μL 显色底物,室温孵育 30 min;然后加入 100 μL 终止液,30 min 内在 450 nm 处测吸光度值,设定 540 nm 作为校正波长。

#### 1.2.4 实时荧光定量 PCR

采用美国 ABI 公司的 7300 实时定量 PCR 扩增仪进行荧光定量 PCR 检测。反应体系:SYBR Premix Ex Taq (Tli RNaseH Plus)(2×) Mix 10.0 μL, PCR Forward Primer (10 μmol/L) 0.4 μL, PCR Reverse Primer (10 μmol/L) 0.4 μL, ROX Reference Dye(50×) 0.4 μL, ddH<sub>2</sub>O 7.8 μL, cDNA 1 μL(总体积 20 μL)。反应条件:预变性 95℃ 30 s;PCR 反应 95℃ 5 s, 60℃ 31 s, 72℃ 45 s, 共 40 个循环;Dissociation stage(溶解曲线分析),使用 ABI7300 PCR 仪,95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 95℃ 15 s。以 β-actin 为内参对目的基因的扩增进行标化, mRNA 的相对表达量通过 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算获得。real-time PCR 引物见表 1。

#### 1.2.5 Western blot 检测

BV-2 细胞经药物处理 24 h 后, PBS 洗涤,每孔加入 200 μL RIPA 裂解液(含蛋白酶抑制剂 cocktail),充分裂解,于 4℃ 12 000 r/min 离心 15 min,上清即为总蛋白。BCA 法测定蛋白浓度。每孔蛋白的上样量为 40 μg,电泳,将分离后的蛋白从凝胶转移至 PVDF 膜,用 5% 脱脂奶粉室温封闭膜 2 h, TBST 洗膜(5 min×3 次);一抗用牛奶 1:1 000 稀释(β-actin 稀释比为 1:5 000), 4℃ 孵育过夜, TBST 洗膜(20 min×3 次);

表 1 Real-time PCR 引物  
Table 1 Primers of real-time PCR

基因	引物序列(5'→3')
TNF- $\alpha$	F:CCCAATCTGTGTCCTTCTAACT
	R:CACTACTTCAGCGTCTCGTGT
IL-6	F:GATTGTATGAACAGCGATGATG
	R:CTCCAGGTAGAAACGGAACCTC
iNOS	F:CTCAGGCTTGGGTCTTGTAG
	R:TGTTGTGGG/CTGGGAATAG
$\beta$ -actin	F:CCTCTATGCCAACACAGT
	R:AGCCACCAATCCACACAG

辣根过氧化物酶标记的二抗用牛奶稀释(稀释比 1:100 000),室温孵育 1 h, TBST 洗膜(15 min $\times$ 4 次);加发光液,显定影液预热待曝光;将胶片进行扫描采用 Image-J 软件处理分析条带光密度值。以  $\beta$ -actin 作为内参照,对目的蛋白表达量进行校正。

### 1.3 统计学方法

用 SPSS17.0 统计软件进行统计学处理,数据采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著差检验(least significant difference, LSD)。 $P\leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 PFOS 对 BV-2 细胞活力的影响

相同作用时间下,染毒浓度在  $1\times 10^{-8}$ ~ $1\times 10^{-2}$  mol/L 范围内,随着染毒剂量的增加( $P<0.05$ ),与对照组相比,PFOS 从  $1\times 10^{-5}$  mol/L 开始,细胞活力逐渐降低( $P<0.05$ )。同一染毒浓度条件下,随着染毒时间的延长,PFOS 处理 24 h 组细胞活力降低( $P<0.05$ ,表 2)。经 PFOS 染毒 12、24 h 后,计算得出 IC<sub>50</sub> 分别为  $1\times 10^{-4.43}$ 、 $1\times 10^{-4.64}$  mol/L。

### 2.2 PFOS 对细胞炎性因子分泌的影响

以 LPS 作为阳性对照,通过 ELISA 法发现,炎性因子 TNF- $\alpha$  及 IL-6 分泌增加( $P<0.05$ ),说明细胞对 LPS 刺激反应正常(图 1)。染毒结束后收集细胞上清液,用 ELISA 检测细胞因子 IL-6,结果显示,PFOS 染毒后促进了炎性因子 IL-6 的分泌,与对照组比较,PFOS 暴露浓度越大,炎性因子 IL-6 分泌越多,具有浓度依赖性(表 3)。

### 2.3 PFOS 染毒后对 iNOS、IL-6、TNF- $\alpha$ 基因表达的影响

$1\times 10^{-8}$ 、 $1\times 10^{-7}$ 、 $1\times 10^{-6}$ 、 $1\times 10^{-5}$ 、 $1\times 10^{-4}$  mol/L PFOS 作用 12 h 后,BV-2 细胞的 iNOS、IL-6 基因上调(图 2A、2B),iNOS mRNA 的相对表达水平分别是对照组的 1.08、1.26、2.17、1.04、1.39 倍,其中  $1\times$

表 2 不同剂量 PFOS 染毒不同时间后对 BV-2 细胞活性的影响  
Table 2 Effects of PFOS on BV-2 cell viability in varied concentrations and time

PFOS (mol/L)	12 h		24 h	
	D(490 nm)	细胞增殖率(%)	D(490 nm)	细胞增殖率(%)
0	1.648 $\pm$ 0.225	100.0	1.504 $\pm$ 0.081	100.0
$1\times 10^{-8}$	1.261 $\pm$ 0.148	76.5	1.353 $\pm$ 0.282	90.0
$1\times 10^{-7}$	1.368 $\pm$ 0.222	83.0	1.282 $\pm$ 0.117	85.2
$1\times 10^{-6}$	1.318 $\pm$ 0.074	80.0	1.305 $\pm$ 0.198*	86.7
$1\times 10^{-5}$	1.289 $\pm$ 0.056*	78.2	1.476 $\pm$ 0.078	98.1
$1\times 10^{-4}$	0.884 $\pm$ 0.018*	53.6	0.598 $\pm$ 0.046**	39.8
$1\times 10^{-3}$	0.308 $\pm$ 0.008*	18.7	0.079 $\pm$ 0.308**	5.2
$1\times 10^{-2}$	0.030 $\pm$ 0.012*	2.0	0.036 $\pm$ 0.008**	2.3

与 PFOS 0 mol/L 对照组比较,\* $P<0.05$ ,与同剂量 PFOS 12 h 处理组相比,\*\* $P<0.05$ , $n=5$ 。

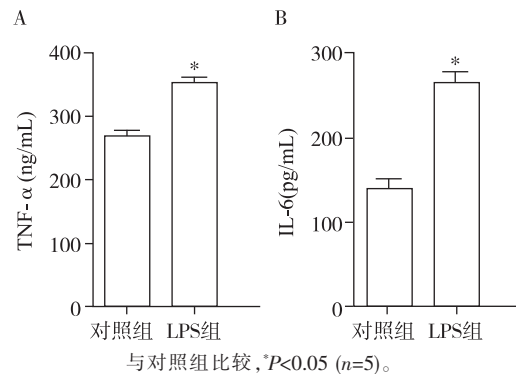


图 1 LPS 对 BV-2 细胞炎性因子 TNF- $\alpha$ (A) 和 IL-6(B) 分泌的影响

Figure 1 Effects of LPS on secretion of inflammatory factors TNF- $\alpha$ (A) and IL-6(B) in BV-2 cells

表 3 PFOS 对 IL-6 分泌的影响  
Table 3 Effects of PFOS on secretion of IL-6 (pg/mL)

PFOS 浓度	IL-6
对照组	46.700 $\pm$ 19.324
$1\times 10^{-7}$ mol/L	57.118 $\pm$ 13.608
$1\times 10^{-6}$ mol/L	75.624 $\pm$ 17.547*
$1\times 10^{-5}$ mol/L	80.196 $\pm$ 20.911*

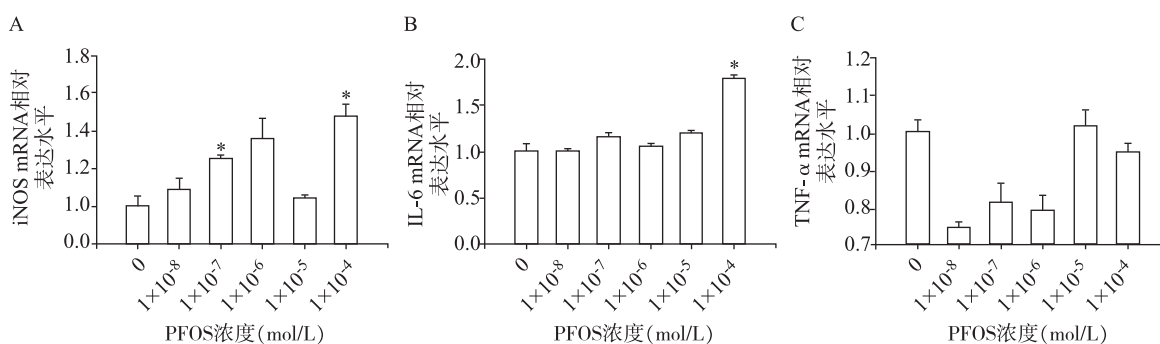
与对照组比较,\* $P<0.05$ ( $n=3$ )。

$10^{-7}$ 、 $1\times 10^{-4}$  mol/L PFOS 作用组与对照组相比,差异有统计学意义( $P<0.05$ ); $1\times 10^{-8}$ 、 $1\times 10^{-7}$ 、 $1\times 10^{-6}$ 、 $1\times 10^{-5}$ 、 $1\times 10^{-4}$  mol/L PFOS 作用 12 h 后,IL-6 mRNA 的相对表达水平分别是对照组的 1.02、1.17、1.06、1.19、1.80 倍, $1\times 10^{-4}$  mol/L PFOS 作用组与对照组比,差异有统计学意义( $P<0.05$ );而 TNF- $\alpha$  mRNA 的相对表达水平相对于对照组则有下降趋势(图 2C)。

### 2.4 PFOS 染毒后对 BV-2 细胞 NF-κB 信号通路的影响

相同作用浓度  $1 \times 10^{-6}$  mol/L 下,PFOS 染毒时间在 0~12 h 范围内,随着时间增加,与对照组相比,总

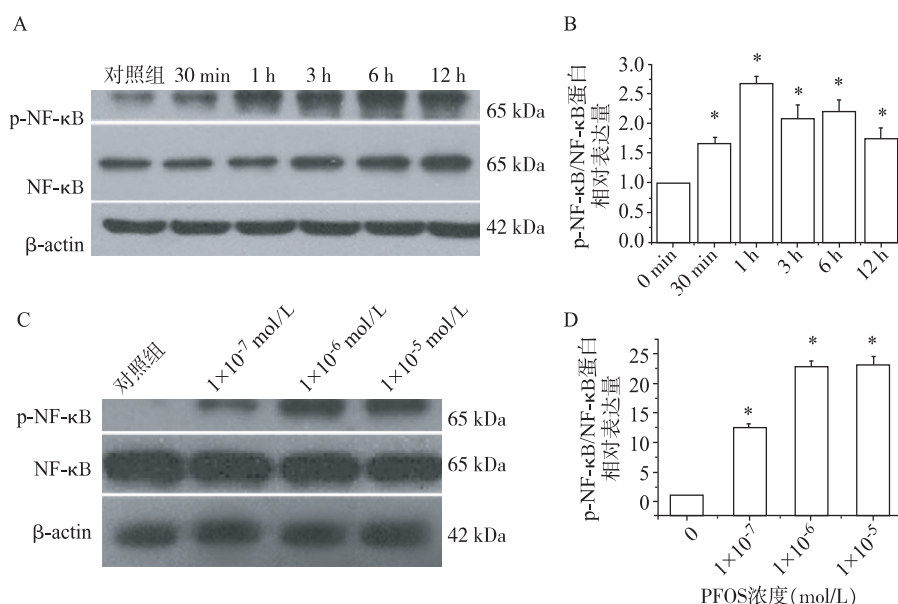
NF-κB 表达量无明显差异,而 p-NF-κB 表达量逐渐增加(图 3A、B);同一时间下(作用 24 h),PFOS 染毒浓度在  $0 \sim 1 \times 10^{-5}$  范围内,随着浓度的增加,p-NF-κB 的水平呈剂量依赖性增加(图 3C、D)。



与对照组比较, \* $P < 0.05$  ( $n=3$ )。

图 2 不同浓度 PFOS 作用 BV-2 后对 iNOS(A)、IL-6(B)、TNF-α(C) mRNA 水平的影响

Figure 2 Effects of different concentrations of PFOS on iNOS (A), IL-6 (B), and TNF-α (C) mRNA levels in BV-2 cells



A、B:  $1 \times 10^{-6}$  mol/L PFOS 作用不同时间 BV-2 细胞中 NF-κB 蛋白的表达情况;C、D: 不同浓度 PFOS 作用 24 h 时 BV-2 细胞中 NF-κB 蛋白表达情况。与对照组相比, \* $P < 0.05$  ( $n=3$ )。

图 3 PFOS 染毒后对 BV-2 细胞 NF-κB 信号通路的影响

Figure 3 Effects of PFOS on NF-κB signal pathway in BV-2 cells

### 3 讨论

中枢神经系统(central nervous system,CNS)损伤后普遍伴随着神经炎症反应。小胶质细胞被认为是 CNS 内一类重要的神经免疫细胞,在 CNS 损伤引起的炎症反应中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。本研究通过染毒 BV-2 细胞,探讨 PFOS 激活小胶质细胞的炎症反应。

生理条件下,小胶质细胞时刻监视其周围的微环境;病理状态下,小胶质细胞被激活,通过分泌多种炎症介质参与 CNS 神经损伤病理过程。大量研究

表明,小胶质细胞在对神经损伤和各种免疫刺激的应答过程中能够产生、释放多种导致神经元功能异常和引起细胞死亡的炎症介质,包括促炎细胞因子、趋化因子、NO 以及能够产生 ROS 和活性氮(reactive nitrogen species,RNS)的过氧化物自由基<sup>[11]</sup>。本研究中 MTT 结果显示,同一时间下,PFOS 染毒浓度在  $1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-2}$  mol/L 范围内,随着剂量的增加,细胞活力逐渐降低( $P < 0.05$ );而在同一 PFOS 浓度下,随着染毒时间的延长,PFOS 引起的细胞活力亦逐渐降低( $P < 0.05$ )。以上结果说明,PFOS 能够引起 BV-2 细

胞活力下降,导致细胞损伤。

iNOS 是炎症中的一种诱导性酶,其表达不但是反映胶质细胞增生的标志之一,还与神经元损伤有关,生理状态下神经元无表达或表达量低。当受到外界刺激,iNOS mRNA 表达增高,继而促进神经元的凋亡。本研究结果表明,1×10<sup>-8</sup>、1×10<sup>-7</sup>、1×10<sup>-6</sup>、1×10<sup>-5</sup>、1×10<sup>-4</sup>mol/L PFOS 作用 12 h 后,BV-2 细胞的 iNOS 基因上调,促进 BV-2 细胞 iNOS 的表达。

活化的小胶质细胞能分泌大量具有破坏性的前炎性细胞因子如 TNF-α 和 IL-6。其中,TNF-α 是小胶质细胞产生的具有神经毒性的最主要的细胞因子,它对皮质神经元和神经胶质细胞具有毒性作用,影响神经元膜电位、细胞内钙离子平衡和长时程增强,直接导致神经元死亡,也可通过诱导 NO 产生损害神经元。TNF-α 还能协同 IL-1 强烈诱导 IL-6 产生。IL-6 是一种具有破坏性的前炎性细胞因子,它可以介导中枢神经系统的免疫以及炎症反应。这些均与炎症过程中的细胞功能异常有关。本研究表明,1×10<sup>-8</sup>、1×10<sup>-7</sup>、1×10<sup>-6</sup>、1×10<sup>-5</sup>、1×10<sup>-4</sup> mol/L PFOS 作用 12 h 后,BV-2 细胞的 IL-6 基因上调,诱导小胶质细胞释放 IL-6,从而抑制细胞活性。但实验结果并未观察到 PFOS 对 TNF-α 的促释放作用,其原因仍需进一步分析。

NF-κB 是一种广泛存在于多种细胞内的核转录因子,目前已发现它调节 100 多种靶基因表达,大多数均参与宿主免疫和炎症反应。在静息状态时,NF-κB 通常与其抑制物 IκB 结合形成三聚体以无活性的复合物形式存在于细胞浆,当细胞受到细胞外信号刺激时,通过一个或多个信号转导途径,激活一系列激酶,调控细胞因子、化学趋化因子、黏附分子、iNOS 和协同刺激分子等相关基因的表达。本研究表明,随着时间的延长,NF-κB 通路激活,p-NF-κB 表达量增加。此外随 PFOS 浓度增加,p-NF-κB 表达亦逐渐增强,提示 PFOS 可特异性激活 NF-κB 途径,引发 BV-2 细胞的炎症反应。

综上,PFOS 可抑制 BV-2 细胞的活力,激活 NF-κB 途径,启动其下游靶基因 iNOS、IL-6 的表达。而炎性因子的大量分泌可能是引起神经元损伤的潜在机制,在后续实验中,将深入探讨由 PFOS 引起的炎性反应在神经元损伤中的作用。

#### [参考文献]

[1] Zhao YG, Wong CK, Wong MH. Environmental contami-

- nation, human exposure and body loadings of perfluorooctanesulfonate (PFOS), focusing on Asian countries[J]. *Chemosphere*, 2012, 89(4):355-368
- [2] Choi B, Na SH, Son JH, et al. Study on the biodegradation of perfluorooctanesulfonate(PFOS) and PFOS alternatives[J]. *Environ Health Toxicol*, 2016, 31(1):1-4
- [3] Olsen GW, Burris JM, Burlew MM, et al. Epidemiologic assessment of worker serum perfluorooctanesulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoate (PFOS) concentrations and medical surveillance examinations [J]. *J Occup Environ Med*, 2003, 45(3):260-270
- [4] Olsen GW, Church TR, Miller JP, et al. Perfluorooctanesulfonate and other fluorochemicals in the serum of american red cross adult blood donors[J]. *Environ Health Perspect*, 2003, 111(16):1892-1901
- [5] Chang SC, Ehresman DJ, Bjork JA, et al. Gestational and lactational exposure to potassium perfluorooctanesulfonate (K + PFOS) in rats: toxicokinetics, thyroid hormone status, and related gene expression[J]. *Reprod Toxicol (Elmsford NY)*, 2009, 27(3-4):387-399
- [6] Greaves AK, Letcher RJ, Sonne C, et al. Brain region distribution and patterns of bioaccumulative perfluoroalkyl carboxylates and sulfonates in east greenland polar bears (*Ursus maritimus*)[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2013, 32(3):713-722
- [7] Zhu J, Qian W, Wang Y, et al. Involvement of mitogen-activated protein kinase and NF-κB signaling pathways in perfluorooctane sulfonic acid-induced inflammatory reaction in BV2 microglial cells[J]. *J Appl Toxicol*, 2015, 35(12):1539-1549
- [8] Dong GH, Zhang YH, Zheng L, et al. Subchronic effects of perfluorooctanesulfonate exposure on inflammation in adult male C57BL/6 mice[J]. *Environ Toxicol*, 2012, 27(5):285-296
- [9] Plaza-Zabala A, Sierra-Torre V. Sierra a autophagy and microglia: novel partners in neurodegeneration and aging [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(3):598
- [10] Chen SH, Oyarzabal EA, Sung YF, et al. Microglial regulation of immunological and neuroprotective functions of astroglia[J]. *Glia*, 2015, 63(1):118-131
- [11] Dey S, Bishayi B. Effect of iNOS inhibitor LNMMA along with antibiotics chloramphenicol or ofloxacin in murine peritoneal macrophages regulates *S.aureus* infection as well as inflammation: An *in vitro* study[J]. *Microb Pathog*, 2017, 105:307-320

[收稿日期] 2016-07-11