

董光辉, 郑丽, 金一和, 等. 2009 全氟辛烷磺酸 (PFOS) 经口染毒对 C57BL/6 小鼠脾脏 T 细胞亚群 CD4⁺/CD8⁺ 的影响 [J]. 环境科学学报, 29 (1): 181–185

Dong G H, Zheng L, Jin Y H, *et al*. 2009. The effect of oral exposure to Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) on spleen T cell subsets CD4⁺/CD8⁺ of C57BL/6 mice [J]. Acta Scientiae Circumstantiae 29(1): 181–185

全氟辛烷磺酸 (PFOS) 经口染毒对 C57BL/6 小鼠脾脏 T 细胞亚群 CD4⁺/CD8⁺ 的影响

董光辉^{1*}, 郑丽², 金一和^{1,3}, 逯晓波¹, 刘洁¹, 何钦成¹

1 中国医科大学公共卫生学院, 沈阳 110001
2 中国医科大学免疫教研室, 沈阳 110001
3 大连理工大学环境与生命学院, 大连 116024

收稿日期: 2008-02-27 修回日期: 2008-05-14 录用日期: 2008-10-28

摘要: 采用每天一次经口灌胃染毒的方法, 探讨了全氟辛烷磺酸 (Perfluorooctane sulfonate PFOS) 经口重复剂量染毒对 C57BL/6 小鼠脾脏 T 细胞亚群 CD4⁺ 和 CD8⁺ 的影响. 选择雄性 C57BL/6 小鼠 24 只, 实验组 PFOS 染毒剂量分别为 5、10、20 mg kg⁻¹ (bw). 每天一次经口灌胃染毒 12d 后, 制备脾脏 T 淋巴细胞悬液, 经特异性荧光标记的 CD3 (FITC)、CD4 (PE)、CD8 (PERCP) 单克隆抗体作用后, 采用 FACS 流式细胞仪检测 T 淋巴细胞及其亚群百分数. 结果表明, 10 mg kg⁻¹ (bw) 和 20 mg kg⁻¹ (bw) PFOS 染毒组小鼠体重呈明显的下降趋势; 20 mg kg⁻¹ (bw) PFOS 染毒组小鼠胸腺和脾脏指数显著低于对照组 ($p < 0.05$), 而各剂量组小鼠肝脏指数均显著高于对照组 ($p < 0.05$). PFOS 染毒 20 mg kg⁻¹ (bw) 实验组 CD3⁺CD4⁺ 与 CD3⁺CD8⁺ T 细胞的绝对计数和百分比均显著低于对照组 ($p < 0.01$). 研究结果显示, PFOS 暴露可降低小鼠免疫器官中 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的含量, 表明 PFOS 可抑制小鼠的细胞免疫水平.

关键词: PFOS; 脾脏; T 淋巴细胞亚群

文章编号: 0253-2468(2009)01-181-05 中图分类号: R994.6 文献标识码: A

The effect of oral exposure to Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) on spleen T cell subsets CD4⁺/CD8⁺ of C57BL/6 mice

DONG Guanghui^{1*}, ZHENG Li², JIN Y He^{1,3}, LU Xiaobo¹, LIU Jie¹, HE Qincheng¹

1 School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110001
2 Department of Immunology, China Medical University, Shenyang 110001
3 School of Environmental and Biological Science, Dalian University of Technology, Dalian 116024

Received 27 February 2008; received in revised form 14 May 2008; accepted 28 October 2008

Abstract The objective of this experiment was to assess the effects of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) on spleen T cell subsets through detecting the average positive rate and the numbers of splenic subpopulations of CD4⁺ and CD8⁺ T cells. Twenty-four adult C57BL/6 male mice were divided into four groups. Animals were given 0, 5, 10 and 20 mg kg⁻¹ PFOS by oral gavage every day for 12 days, and then single-cell suspensions of splenocytes were prepared. After labeling with the Fluorescein Isothiocyanate (FITC) conjugated rat anti-mouse CD3 (monoclonal), phycoerythrin (PE) conjugated rat anti-mouse CD4 (monoclonal) and peridinin chlorophyll protein (Percp) conjugated rat anti-mouse CD8 (monoclonal), the phenotypes of splenocyte populations were analyzed by Flow Cytometry (FCM). The results showed that in the 12-d study, body weight of mice exposed to 10 mg kg⁻¹ and 20 mg kg⁻¹ of PFOS showed significant deterioration from their own pre-exposed baseline. Spleen and thymus mass were significantly decreased compared to the control following exposure to 20 mg kg⁻¹ of PFOS. Furthermore, liver mass was increased in each exposure group. Flow cytometric analysis showed that the average positive rate and the numbers of splenic subpopulations of CD4⁺ and CD8⁺ cells decreased significantly in the 20 mg kg⁻¹ PFOS group in comparison with normal C57BL/6 mice. This study indicates that PFOS may decrease the average positive rate of CD4⁺ and CD8⁺ T-cell in spleen organs, thus suppressing immune function.

Keywords PFOS; spleen; T lymphocytes subsets

基金项目: 国家自然科学基金 (No 20707041); 高等学校博士学科点专项科研基金项目 (No 20070159015)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No 20707041) and the Research Fund for the Doctor Program of Higher Education (No 20070159015)

作者简介: 董光辉 (1975—), 男, 副教授, E-mail: ghdong@mail.mu.edu.cn * 通讯作者 (责任作者)

Biography: DONG Guanghui (1975—), male, associate professor, E-mail: ghdong@mail.mu.edu.cn * Corresponding author

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1 引言 (Introduction)

全氟辛烷磺酸 (Perfluorooctane sulfonate, PFOS)是近年来引起科学家们关注的一种新型持久性有机化合物,该有机物被广泛用于机械润滑剂、涂料、农药和医药品、表面活性剂、纺织品和皮革制品表面防污剂、泡沫灭火剂等数百种工业和日用品生产领域 (Beglet *et al.*, 2005). 由于 PFOS在自然界中的难降解性和生物体内的高蓄积性,其已经在生态系统中得到广泛的传播,并且正在通过食物链途径的生物浓缩和生物放大进行生物种群间的转移,最终高浓度地蓄积在食物链高位生物包括食肉动物和人体内 (deVos *et al.*, 2008; Ericson *et al.*, 2008). 有研究表明,一个成年人通过饮食每天摄入 PFOS的量约为 $62.5 \sim 74.2 \text{ ng}$ (Ericson *et al.*, 2008). 人群血清流行病学调查显示,各国各族人群血清中均检测出不同浓度的 PFOS污染 (Calafat *et al.*, 2007; Jin *et al.*, 2007; Kannan *et al.*, 2004; Olsen *et al.*, 1999), 其中职业暴露人群血清中 PFOS浓度高达 $12.83 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (Olsen *et al.*, 1999); 甚至新生儿血清中也存在 PFOS污染 (Inoue *et al.*, 2004). 最近研究结果显示,人类血清中 PFOS生物半衰期平均为 8.67 a (范围为 $2.29 \sim 21.3 \text{ a}$, $\text{SD} = 6.12$), 最高达 21.3 a (Burris *et al.*, 2002). 而更值得关注的是,人体内 PFOS负荷呈逐年增高趋势. 日本学者的调查结果显示,在 1983~1999年期间,人群血清中 PFOS浓度以每年 $0.49 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 速度递增 (Harada *et al.*, 2007). 我国沈阳地区人群血清 PFOS浓度从 1987年的 $0.03 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 增加到 2002年的 $22.4 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 15a间人群血清中 PFOS浓度增加了 747倍 (Jin *et al.*, 2007).

人群流行病学调查显示, PFOS可降低新生儿体重 (Apeberg *et al.*, 2007), 并使职业人群患膀胱癌和前列腺癌的危险性增高 (Alexander *et al.*, 2003; Gilliland and Mandel, 1993). 大量的毒理学研究表明, PFOS可对机体的神经系统 (Johansson *et al.*, 2008)、生殖系统 (范轶欧等, 2005) 和内分泌系统 (Chang *et al.*, 2008) 产生损伤, 并具有胚胎发育毒性和遗传毒性 (Fuentes *et al.*, 2007). 但是, 目前对于 PFOS材料引起的免疫毒性研究资料还很少.

本研究中从 PFOS对小鼠脾脏 T淋巴细胞亚群的影响方面探讨 PFOS对免疫系统效应, 旨在为 PFOS的安全性评价提供科学依据.

2 材料和方法 (Materials and methods)

2.1 仪器与主要试剂

试剂: 全氟辛磺酸钾盐 (Heptadecafluorooctane-sulfonic Acid Potassium Salt, Fluka公司, 瑞士), 纯度 $> 98\%$, 使用时用体积分数为 2% 的吐温-80配制. 单克隆大鼠抗小鼠 CD3-FITC (553061)、CD4-PE (557308)、CD8-PERCP (553036) 均购自 BD 公司 (Franklin Lakes, NJ USA). $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液: 在 900 mL 去离子水 (dH_2O) 中溶解 8 g NaCl 、 0.2 g KCl 、 $1.15 \text{ g Na}_2\text{HPO}_4$ 和 $0.2 \text{ g KH}_2\text{PO}_4$, 用 HCl 调节溶液的 pH 至 7.4 补充 dH_2O 定容至 1000 mL , 高压蒸汽灭菌 15 min , $4 \sim 8^\circ\text{C}$ 下保存. 红细胞裂解液: 在 900 mL dH_2O 中溶解 $8.25 \text{ g NH}_4\text{Cl}$ 、 1.0 g KHCO_3 、 37 mg EDTA-Na 、 $2 \text{ H}_2\text{O}$, 补充 dH_2O 定容至 1000 mL , 过滤除菌, $4 \sim 8^\circ\text{C}$ 下保存.

仪器: 水平转头离心机 (CR411, 法国 Jouan); 光学显微镜 (Olympus M, 日本); 分析天平 (L-1660 DTP, 日本 Shimadzu); 流式细胞仪 (FACScan, 美国 BD 公司).

2.2 实验动物及染毒

雄性 C57BL/6小鼠 24只, 体重 $18 \sim 20 \text{ g}$, 由中国医学科学院实验动物研究所提供 (许可证编号: SCXK京 2004-0001). 实验室内适应性喂养 7 d 后按体重随机分为 4组, 每组 6只. 动物室温度为 $18 \sim 23^\circ\text{C}$, 相对湿度为 $45\% \sim 55\%$. 实验组 PFOS染毒剂量分别为 5 、 10 、 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} (\text{bw})$, 对照组给予 2% Tween-80 每天一次灌胃染毒 12 d .

2.3 脾细胞采集

染毒后第 13天, 颈椎脱位处死小鼠, 75% 酒精浸泡, 取出各组小鼠的胸腺、肾脏、肝脏、脾脏, 称量质量. 并采用下例公式计算器官指数: 器官指数 = $\frac{W_1}{W_2} \times 100$ (W_1 : 器官湿重 (g); W_2 : 体重 (g)). 常规制备脾细胞悬液, 用 10 mL 含 2% 热灭活 FCS 的 PBS 培养液制成细胞悬液, 350 g 下离心 10 min 经 $0.17 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NH_4Cl 裂解红细胞 5 min , 350 g 离心, 弃上清, 用 PBS 洗涤 2遍, 以台盼蓝染色检查脾细胞活性, 确定活细胞数超过 90% . 用含 2% 热灭活 FCS 的 PBS 将脾细胞终浓度调至 $1 \times 10^7 \text{ mL}^{-1}$.

2.4 染色

取 0.1 mL 脾细胞悬液, 加入 anti-CD3-FITC (553061)、anti-CD4-PE (557308)、anti-CD8-PERCP (553036) $0.2 \mu\text{g}$, 4°C 下避光孵育 30 min 加 2 mL PBS 混匀, 离心 5 min ($2000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$), 弃上清.

将剩余液体转入流式管上机检测。

2 5 流式细胞仪分析

流式细胞仪 (FACSCalibur 美国 R&D 公司)的激发波长为 488nm,利用 FACS CELLQUEST 软件获取细胞,每个样品分析 10000 个细胞;使用前向散射角 (FSC)及侧向散射角 (SSC)确定淋巴细胞群,以阴性对照为参考,将对照管所示的非特异荧光的 99% 以上作为本底扣除,以二维点或直方图阵图显示,记录 CD4+ T 细胞、CD8+ T 细胞的个数百分比. 并采用下列公式计算各细胞亚群的绝对数: 细胞亚群绝对数 = $P \times N$ (P : 门内阳性细胞的百分比, N : 脾细胞总数)。

2 6 统计学分析

采用 SAS8 2 统计软件进行数据的分析. 对数据进行正态性检验后,用均数 (Mean) 和标准差 (SD)描述正态分布数据的集中趋势和离散水平. 各组数据之间比较采用单因素方差分析。

3 结果 (Results)

3 1 PFOS 染毒对雄性 C57BL/6 小鼠体重和器官指数的影响

PFOS 染毒前各组小鼠体重没有显著差异 ($F = 0.63, p = 0.70$). 12d 经口染毒后,各剂量组小鼠体重均显著低于对照组 ($p < 0.05$),其中 PFOS $10\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $20\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组小鼠体重呈明显下降趋势 (图 1). 随着染毒剂量的增高,脾脏和胸腺指数呈下降趋势,而肝脏指数呈增高趋势 (表 1)。

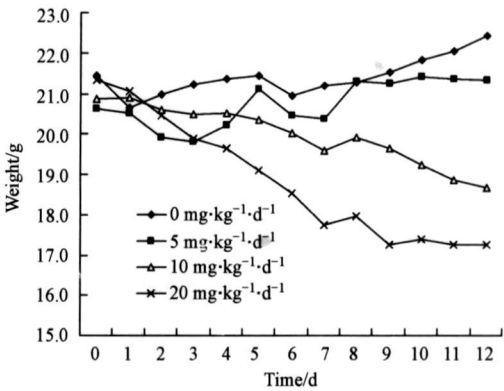


图 1 雄性 C57BL/6 小鼠暴露 PFOS 不同剂量下体重变化趋势

Fig 1 Body mass of adult male C57BL/6 mice treated with PFOS orally for 12 d

表 1 雄性 C57BL/6 小鼠暴露 PFOS 不同剂量下体重和器官指数水平

Table 1 Body weight and relative organ weight in adult male C57BL/6 mice treated with PFOS

PFOS / ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	n	染毒前体重 /g	染毒后体重 /g	脾脏指数	胸腺指数	肾脏指数	肝脏指数
0	6	21.45 ± 1.48	22.43 ± 1.08	0.46 ± 0.04	0.21 ± 0.02	1.45 ± 0.11	5.89 ± 0.13
5	6	20.63 ± 1.11	21.35 ± 1.49	0.43 ± 0.06	0.20 ± 0.02	1.61 ± 0.06	8.07 ± 1.75*
10	6	20.87 ± 1.27	18.66 ± 1.56*	0.38 ± 0.02*	0.13 ± 0.04*	1.44 ± 0.14	10.05 ± 0.94*
20	6	21.35 ± 1.49	17.27 ± 0.89*	0.27 ± 0.06*	0.06 ± 0.01*	1.36 ± 0.15	12.63 ± 0.46*

注: * 与对照组比较, $p < 0.05$ Note Asterisk indicates significantly different from control ($p < 0.05$)

3 2 PFOS 染毒对雄性 C57BL/6 小鼠脾细胞总数和 T 淋巴细胞亚群的影响

PFOS 经口灌胃染毒 12d 后,随着染毒剂量的增高,脾细胞总数呈下降趋势,其中, $20\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量组小鼠脾细胞总数 ($(4.80 \pm 1.06) \times 10^7$) 显著的低于对照组小鼠水平 ($(8.45 \pm 1.23) \times 10^7$) (图 2). PFOS $20\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量组小鼠 CD4+ T 淋巴细胞绝对数和阳性比均显著低于对照组 ($p < 0.05$), PFOS $10\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $20\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量组小鼠 CD8+ T 淋巴细胞绝对数和阳性比均显著低于对照组 ($p < 0.05$) (表 2)。

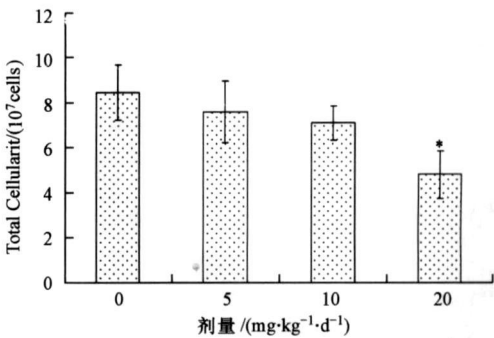


图 2 雄性 C57BL/6 小鼠暴露 PFOS 不同剂量下脾细胞数水平 (* 与对照组比较, $p < 0.05$)

Fig 2 Splenic cellularity in adult male C57BL/6 mice following an oral exposure to PFOS Asterisk indicates significantly different from control ($p < 0.05$)

表 2 雄性 C57BL/6 小鼠经口灌胃染毒 12 天后对脾 CD4+、CD8+ 细胞亚群的影响
Table 2 Splenic CD4/CD8 Subpopulations in Adult Male C57BL/6 Mice Treated With PFOS Orally for 12 d

PFOS / (mg kg ⁻¹ d ⁻¹)	n	CD4+		CD8+	
		百分数	绝对数 / (cells × 10 ⁷)	百分数	绝对数 / (cells × 10 ⁷)
0	6	17.57% ± 1.88%	1.49 ± 0.30	14.53% ± 2.02%	1.24 ± 0.35
5	6	17.94% ± 1.41%	1.36 ± 0.24	13.30% ± 1.62%	0.99 ± 0.08
10	6	16.71% ± 0.79%	1.19 ± 0.15	11.88% ± 1.07%*	0.84 ± 0.01*
20	6	14.93% ± 2.54%*	0.70 ± 0.11*	11.87% ± 1.47%*	0.57 ± 0.02*

注: * 与对照组比较, $p < 0.05$, Note: Asterisk indicates significantly different from control ($p < 0.05$)

4 讨论 (Discussion)

免疫系统是生物异源物质毒性效应的主要靶系统之一 (Janeway *et al.*, 1999). 研究者对许多异生物, 如多环芳烃、有机磷及重金属等对生物体的免疫调节过程及机理已经进行了大量深入的研究 (Lynes *et al.*, 2007; Veraldi *et al.*, 2006). 作为一种新型的环境有机污染物, 关于 PFOS 的免疫毒性效应研究报道较少. 本研究的结果显示, PFOS 可使小鼠的体重、脾脏指数和胸腺指数降低, 且随着 PFOS 染毒剂量的增高, 小鼠脾细胞数量及 T 淋巴细胞亚群 CD4+ 和 CD8+ 阳性数和阳性比呈下降趋势, 表明 PFOS 可能对机体可产生免疫抑制效应. 同时, PFOS 各染毒组小鼠肝脏指数均显著的高于对照组, 并呈剂量反应关系, 这与其它研究结果一致 (Peden-Adams *et al.*, 2007). 肝脏是机体胸腺以外 T 细胞分化的重要场所, 并可通过其分泌的生物活性物质影响免疫系统的结构与功能. 对于 PFOS 肝脏毒性的研究, 将会有助于了解肝脏在 PFOS 产生免疫抑制效应中的作用.

T 淋巴细胞亚群数量和比率的动态平衡是一个复杂的过程, 其调节机制并不十分清楚 (Boise and Thompson, 1996), 而 CD4 和 CD8 淋巴细胞的失调是许多疾病的主要表现特征 (Hyrza *et al.*, 2007; Hong *et al.*, 2006). Yang 等学者发现, 与 PFOS 理化性质相似的全氟辛酸 (Perfluorooctanoic acid, PFOA) 以 20 mg kg⁻¹ d⁻¹ 剂量连续染毒 7d 后, 可以导致脾脏和胸腺中 CD4+ 和 CD8+ T 淋巴细胞的绝对数量和百分比显著的下降 (Yang *et al.*, 2000). 全氟化杀虫剂氟虫胺在生物体内的主要代谢产物之一为 PFOS, 当对雌性小鼠以 30 mg kg⁻¹ d⁻¹ 剂量的氟虫胺经口灌胃连续染毒 14d 后, CD4+ T 淋巴细胞下降 38% (Peden-Adams *et al.*, 2007). 最近的研究结果显示, 当雌性小鼠在孕期暴露于 PFOS 时, 可使子代小鼠 NK 细胞的杀伤功能和 IgM 的分

泌水平显著下降 (Keil *et al.*, 2008). 以上这些研究主要是对 PFOS 免疫毒性效应的初步评价, 而关于 PFOS 毒性效应的机理还有待于进一步研究.

目前, 我国城市人群血清中 PFOS 浓度为 3.7~79.2 μg L⁻¹, 并且呈逐年增高趋势 (Yeung *et al.*, 2006). Burris 等 (2002) 认为, 人类血清中 PFOS 浓度还没有达到引起实验动物出现异常的水平, 而科学家们考虑到对外源性化合物生物效应的种属差异和个体差异, 提出有必要进行 PFOS 对人类健康的潜在性远期影响研究. 虽然人们已经掌握了一些有关 PFOS 的毒理学研究资料, 但至今尚不清楚它们引发的毒作用全貌. 因此, 在现有基础上进一步深入探讨 PFOS 毒作用敏感指标及毒作用机制, 将成为今后环境科学和预防医学领域的工作重点.

5 结论 (Conclusion)

PFOS 可降低脾细胞数量及 T 淋巴细胞亚群 CD4+ 和 CD8+ 阳性数和阳性比, 表明 PFOS 可能对机体可产生免疫抑制效应.

责任作者简介: 董光辉 (1975—), 男, 中国医科大学公共卫生学院, 副教授, 主要从事环境毒理与健康效应研究. E-mail: ghdong@mail.mnmu.edu.cn

参考文献 (References):

Alexander B H, Olsen G W, Burris J M, *et al.* 2003. Mortality of employees of a perfluorooctanesulphonyl fluoride manufacturing facility [J]. *Occup Environ Med*, 60(10): 722—729
Apelberg B J, Witter F R, Herbstman J B, *et al.* 2007. Cord serum concentrations of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in relation to weight and size at birth [J]. *Environ Health Perspect*, 115(11): 1670—1676
Begley T H, White K, Hongfort P, *et al.* 2005. Perfluorocarbons: potential sources of and migration from food packaging [J]. *Food Addit Contam*, 22(10): 1023—1031
Boise L H, Thompson C B. 1996. Hierarchical control of lymphocyte survival [J]. *Science*, 274(5284): 67—68

- Burris J M, Olsen G, Simpson C, *et al* 2002 Interim Report Determination of Serum Half-lives of Several Fluorinated Chemicals [M]. St Paul MN: 3M Company. U. S. EPA docket AR- 226- 1086. Washington, DC: U. S. Environmental Protection Agency, 38
- Calafat A M, Wong L Y, Kuklenyik Z, *et al* 2007 Polyfluoroalkyl chemicals in the U. S. population: data from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003–2004 and comparisons with NHANES 1999–2000 [J]. Environ Health Perspect 115(11): 1596–1602
- Chang S C, Thibodeaux J R, Eastvold M L, *et al* 2008. Thyroid hormone status and pituitary function in adult rats given oral doses of perfluorooctanesulfonate (PFOS) [J]. Toxicology 243(3): 330–339
- de Vos M G, Huijbregts M A, van den Heuvel G, *et al* 2008. Accumulation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in the food chain of the Western Scheldt estuary: Comparing field measurements with kinetic modeling [J]. Chemosphere 70(10): 1766–1773
- Ericson J, Mart-Cid R, Nadal M, *et al* 2008 Human exposure to perfluorinated chemicals through the diet: intake of perfluorinated compounds in foods from the catalan (Spain) market [J]. J Agric Food Chem, 56(5): 1787–1794
- 范轶欧, 金一和, 麻懿馨, 等. 2005. 全氟辛烷磺酸对雄性大鼠生殖功能的影响 [J]. 卫生研究, 34(1): 37–39
- Fan Y O, Jin Y H, Ma Y X, *et al* 2005. Effects of perfluorooctane sulfonate on spermiogenesis function of male rats [J]. Journal of Hygiene Research, 34(1): 37–39 (in Chinese)
- Fuentes S, Colina M T, Vicens P, *et al* 2007. Concurrent exposure to perfluorooctane sulfonate and restraint stress during pregnancy in mice: effects on postnatal development and behavior of the offspring [J]. Toxicol Sci 98(2): 589–598
- Gilliland F D, Mandel J S. 1993. Mortality among employees acid production plant [J]. Occup Med 35(9): 950–954
- Hong C, Lee H, Oh M, *et al* 2006. CD4⁺ T cells in the absence of the CD8⁺ cytotoxic T cells are critical and sufficient for NKT cell-dependent tumor rejection [J]. J Immunol 177(10): 6747–6757
- Hyrca M D, Kovacs C, Loutfy M, *et al* 2007. Distinct transcriptional profiles in ex vivo CD4⁺ and CD8⁺ T cells are established early in human immunodeficiency virus type 1 infection and are characterized by a chronic interferon response as well as extensive transcriptional changes in CD8⁺ T cells [J]. J Virol 81(7): 3477–3486
- Harada K, Koizumi A, Saito N, *et al* 2007. Historical and geographical aspects of the increasing perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate contamination in human serum in Japan [J]. Chemosphere 66(2): 293–301
- Inoue K, Okada F, Ito R, *et al* 2004. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and related perfluorinated compounds in human maternal and cord blood samples: assessment of PFOS exposure in a susceptible population during pregnancy [J]. Environ Health Perspect 112(11): 1204–1207
- Janevay C A, Travers P, Walport M, *et al* 1999 Immunobiology: The immune system in health and disease (4th Edn) [M]. New York: Garland Publishing 471–482
- Johansson N, Fredriksson A, Eriksson P. 2008. Neonatal exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) causes neurobehavioral defects in adult mice [J]. Neurotoxicology 29(1): 160–169
- Jin Y, Saito N, Harada K H, *et al* 2007. Historical trends in human serum levels of perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate in Shenyang, China [J]. Tohoku J Exp Med, 212(1): 63–70
- Kannan K, Corsolini S, Fakandysz J, *et al* 2004. Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated chemicals in human blood from several countries [J]. Environ Sci Technol 38(17): 4489–4495
- Keil D E, Mehlmann T, Bottenworth L, *et al* 2008. Gestational exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) suppresses immune function in B6C3F1 mice [J]. Toxicol Sci 103(1): 77–85
- Lynes M A, Kang Y J, Sensi S L, *et al* 2007. Heavy metal ions in normal physiology, toxic stress and cytoprotection [J]. Ann N Y Acad Sci 1113: 159–172
- Olsen G W, Burris J M, Mandel J H, *et al* 1999. Serum perfluorooctane sulfonate and hepatic and lipid clinical chemistry tests in fluorinated chemical production employees [J]. J Occup Environ Med 41(9): 799–806
- Peden-Adams M M, Eudaly J G, Dabra S, *et al* 2007. Suppression of humoral immunity following exposure to the perfluorinated insecticide sulfamylid [J]. J Toxicol Environ Health A, 70(13): 1130–1141
- Yang Q, Xie Y, Depierre J W. 2000. Effects of peroxisome proliferators on the thymus and spleen of mice [J]. Clin Exp Immunol 122: 219–266
- Yeung L W, So M K, Jiang G, *et al* 2006. Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated chemicals in human blood samples from China [J]. Environ Sci Technol 40(3): 715–720
- Vera K I A, Costantini A S, Bolejack V, *et al* 2006. Immunotoxic effects of chemicals: A matrix for occupational and environmental epidemiological studies [J]. Am J Ind Med 49(12): 1046–1055