

双酚类化合物对BRL 3A肝细胞增殖、氧化应激和致突变作用研究

张真, 洪颖, 盖雅婷, 林丽花, 翁鹭娜, 李玲玲

厦门市食品药品质量检验研究院药理科, 福建 厦门 361012

摘要: **目的** 比较双酚A (BPA)、双酚S (BPS)、双酚F (BPF) 和双酚AF (BPAF) 对大鼠BRL 3A肝细胞增殖及氧化应激的影响, 并研究其致基因突变作用。**方法** 体外培养的BRL 3A肝细胞分别暴露于0、5、10、25、50、100、150和200 $\mu\text{mol/L}$ 的BPA、BPS、BPF和BPAF, 48 h后采用CCK-8法测定细胞存活率, 计算半数抑制浓度 (IC_{50}); 选择对细胞增殖有抑制作用的最低浓度, 采用DCFH-DA荧光探针法检测BRL 3A肝细胞内活性氧 (ROS) 水平, 反映细胞氧化应激程度; 采用Ames试验研究1 000、200、40、8和1.6 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 的4种双酚类化合物对组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门菌 (TA1535、TA97a、TA98、TA100和TA102) 回变菌落的影响。**结果** BPA和BPF在100~200 $\mu\text{mol/L}$, BPAF在25~200 $\mu\text{mol/L}$, 肝细胞存活率随浓度增加而明显下降, BPS在5~200 $\mu\text{mol/L}$, 肝细胞存活率无明显变化; BPA、BPS、BPF和BPAF对BRL 3A肝细胞的 IC_{50} 分别为131.7、 >200 、187.5和21.6 $\mu\text{mol/L}$ 。BPS (100 $\mu\text{mol/L}$) 和BPAF (25 $\mu\text{mol/L}$) 未引起ROS水平明显变化; BPA (100 $\mu\text{mol/L}$) 和BPF (100 $\mu\text{mol/L}$) 显著升高ROS水平。Ames试验结果显示, 4种双酚类化合物对TA1535、TA97a、TA98、TA100和TA102均未呈现致基因突变作用。**结论** BPAF对BRL 3A肝细胞的毒性最大, BPS低剂量暴露的影响较小; 双酚类化合物对肝细胞的毒性效应可能与诱导氧化应激有关。在本试验条件下, 4种双酚类化合物均未呈现致基因突变性。

关键词: 双酚类化合物; BRL 3A肝细胞; 氧化应激; Ames试验; 致突变性

中图分类号: R114 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2022) 03-0302-05

Effects of bisphenols on proliferation and oxidative stress of BRL 3A rat liver cells and their mutagenicities

ZHANG Zhen, HONG Ying, GAI Yating, LIN Lihua, WENG Luna, LI Lingling

Department of Pharmacology, Xiamen Institute for Food and Drug Quality Control, Xiamen, Fujian 361012, China

Abstract: Objective To examine the effects of bisphenol A (BPA), bisphenol S (BPS), bisphenol F (BPF) and bisphenol AF (BPAF) on the proliferation and oxidative stress of BRL 3A rat liver cells, and to preliminarily evaluate their mutagenicities. **Methods** *In vitro* cultured BRL 3A rat liver cells were treated with BPA, BPS, BPF and BPAF at concentrations of 0, 5, 10, 25, 50, 100, 150 and 200 $\mu\text{mol/L}$ for 48 h, respectively. Then, the cell viability was determined using the CCK-8 assay, and the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) was calculated. The minimum inhibitory concentration for BRL 3A cell proliferation was screened, and the intracellular reactive oxygen species (ROS) was measured in BRL 3A cells using the 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) assay. In addition, the effects of BPA, BPS, BPF and BPAF at concentrations of 1 000, 200, 40, 8 and 1.6 $\mu\text{g}/\text{plate}$ on the mutant colonies of histidine-deficient *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA97a, TA98, TA100 and TA102) were tested using the Ames test. **Results** Treatment with BPA and BPF at concentrations of 100 to 200 $\mu\text{mol/L}$ and with BPAF at concentrations

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2022.03.018

基金项目: 厦门市市场监督管理局科技计划项目 (XMSJ201910)

作者简介: 张真, 博士, 副主任药师, 主要从事药理毒理检验与研究
研究工作

通信作者: 张真, E-mail: albumen_zz@163.com

of 25 to 200 $\mu\text{mol/L}$ inhibited BRL 3A cell survival at a concentration-dependent manner, while exposure to BPS at concentrations of 5 to 200 $\mu\text{mol/L}$ resulted in no changes in BRL 3A cell survival. The IC_{50} values of BPA, BPS, BPF and BPAF were 131.7, >200, 187.5 and 21.6 $\mu\text{mol/L}$ against BRL 3A cells, respectively. Treatment with BPS at 100 $\mu\text{mol/L}$ or BPAF at 25 $\mu\text{mol/L}$ caused no significant changes in the ROS level; however, exposure to BPA at 100 $\mu\text{mol/L}$ and BPF at 100 $\mu\text{mol/L}$ significantly increased the ROS level. Ames test showed that BPA, BPS, BPF and BPAF did not induce mutagenicity in TA1535, TA97a, TA98, TA100 or TA102 strains. **Conclusions** BPAF shows the highest cytotoxicity to BRL 3A cells, and low-concentration exposure to BPS has few effects on BRL 3A cells. The cytotoxicity of bisphenols against BRL 3A cells may be associated with the induction of oxidative stress. None of the four bisphenols show mutagenic effects under the present experimental conditions.

Keywords: bisphenols; BRL 3A rat liver cells; oxidative stress; Ames test; mutagenicity

双酚 A (bisphenol A, BPA) 是合成聚碳酸酯、环氧树脂和聚丙烯等塑料材料的重要原料, 具有潜在生物毒性和雌激素活性, 可破坏肝脏的抗氧化防御系统, 提高活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平, 引起肝脏损伤^[1-2]。双酚 S (bisphenol S, BPS)、双酚 F (bisphenol F, BPF) 和双酚 AF (bisphenol AF, BPAF) 等双酚类化合物是应用较为普遍的 BPA 结构类似物, 其安全性受到越来越多的关注^[3]。有研究显示, BPS 暴露可引起小鼠肝细胞氧化应激, 诱导 ROS 生成^[4]; BPA 和 BPS 可引起人前列腺上皮细胞 RWPE-1 DNA 损伤^[5], 且 BPA 可诱导 CHO 细胞染色体结构改变^[6]。食品和环境中的双酚类化合物的污染水平和人群暴露水平均较低, 但双酚类化合物可能呈现非单调性剂量效应^[7], 因此应关注低剂量下的生物学效应。本研究检测 BPA、BPS、BPF 和 BPAF 对大鼠 BRL 3A 肝细胞增殖、氧化应激的影响, 以及对组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门菌株基因回变菌落的影响, 为双酚类化合物的潜在肝脏毒性和遗传毒性研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 M1000 酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); DMIL 倒置显微镜 (德国 Leica 公司); CCL-170B-8 CO_2 培养箱、AC2-6S1 生物安全柜 (新加坡 ESCO 公司); HRH-AMES116 全自动 Ames 仪 (北京慧荣和科技有限公司); Czone G6T 菌落计数仪 (杭州迅数科技有限公司); IC813C 恒温培养箱 (日本 Yamato 公司); ML204T/02 电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司)。BPA ($\geq 99.0\%$)、BPS ($\geq 98.0\%$)、BPF ($\geq 98.0\%$)、BPAF ($\geq 99.0\%$)、二甲基亚砷 (dimethyl sulfoxide, DMSO) (美国 Sigma-Aldrich 公司); DMEM 培养基 (美国 Hyclone 公司); 胎牛血清 (美国 Gibco 公司); CCK-8 试剂盒 (中国 MedChemExpress 公司); ROS 测定试剂盒 (南京建成生物工程

研究所); 营养肉汤培养基 (英国 Oxoid 公司); 琼脂粉 (北京索莱宝科技有限公司); 哺乳动物微粒体酶 (10% 预制 S9 混合液, 由多氯联苯处理健康雄性 SD 大鼠肝脏获得)、组氨酸-生物素溶液 (上海宝录生物科技有限公司); 其他试剂均为分析纯。BRL 3A 肝细胞 (中科院上海细胞库); 组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门菌 TA1535、TA97a、TA98、TA100 和 TA102 (菌株来源于美国 Moltex 公司, 购于上海宝录生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 CCK-8 法测定细胞存活率 BRL 3A 肝细胞采用含 10% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素的 DMEM 培养基, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、含 5% CO_2 的培养箱中培养。取对数生长期的 BRL 3A 肝细胞以 2×10^4 个/mL 的密度每孔 100 μL 接种于 96 孔培养板中, 分别暴露于不同浓度 (0、5、10、25、50、100、150 和 200 $\mu\text{mol/L}$) 的 BPA、BPS、BPF 和 BPAF (均用含 0.1% DMSO 的培养基溶解), 每个浓度设 3 个平行孔。48 h 后, 每孔加入 10 μL CCK-8 溶液, 孵育 2 h, 酶标仪 450 nm 处测定吸光度 (A)。计算细胞存活率和细胞抑制率, 细胞存活率 (%) = $(A_{\text{双酚}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$, 细胞抑制率 (%) = $(A_{\text{对照}} - A_{\text{双酚}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$ 。采用细胞抑制率对剂量的对数绘图, 计算半数抑制浓度 (IC_{50})。

1.2.2 DCFH-DA 荧光探针法测定肝细胞 ROS 取对数生长期的 BRL 3A 肝细胞以 1×10^5 个/mL 的密度每孔 3 mL 接种于 6 孔培养板中, 根据细胞存活率试验结果, 分别暴露于对 BRL 3A 肝细胞有增殖抑制作用的最低浓度 BPA、BPS、BPF 和 BPAF, 并设阴性对照组 (DMSO, 终浓度为 0.1%) 和阳性对照组 (试剂盒提供的活性氧供氢体, 终浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$), 每组设 3 个平行孔。48 h 后, 采用 DCFH-DA 荧光探针法, 按照 ROS 测定试剂盒的操作说明, 在荧光显微镜下拍摄显微照片, 采用 Image J 图像分析软件

测定平均荧光强度。当细胞内存在 ROS 时, DCFH-DA 被氧化成强绿色荧光物质, 因此测得的荧光强度与细胞内 ROS 水平成正比, 反映双酚类化合物对细胞氧化应激程度的影响。

1.2.3 Ames 试验研究致基因突变作用 根据 BPA、BPS、BPF 和 BPAF 的溶解度, 设置 5 000、1 000、200 和 40 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 进行预试验, 显示 1 000 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 为最低抑菌浓度, 因此设 1 000、200、40、8 和 1.6 $\mu\text{g}/\text{皿}$ 进行正式试验, 并设自发回变组、溶剂 (DMSO) 对照组和阳性对照组 (无代谢活化系统时: TA1535 为叠氮化钠 0.5 $\mu\text{g}/\text{皿}$, TA97a、TA98 为敌克松 50 $\mu\text{g}/\text{皿}$, TA100、TA102 为甲基磺酸甲酯 1 $\mu\text{L}/\text{皿}$; 有代谢活化系统时: TA1535 为 2-氨基蒽 5 $\mu\text{g}/\text{皿}$, TA97a、TA98 和 TA100 为 2-氨基苄 10 $\mu\text{g}/\text{皿}$, TA102 为 1, 8-二羟蒽醌 60 $\mu\text{g}/\text{皿}$)。参照 GB/T 21786—2008 《化学品 细菌回复突变试验方法》^[8], 采用平皿掺入法, 将含 0.5 mmol/L 组氨酸-生物素溶液的顶层琼脂培养基 2.0 mL 分装于试管中, 45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴保温, 每管依次加入试验菌株增菌液 0.1 mL、双酚类化合物溶液 0.1 mL (溶剂对照组为 DMSO 0.1 mL, 阳性对照组为相应阳性对照物 0.1 mL) 和 S9 混合液 0.5 mL (需代谢活化时), 充分混匀后迅速倾入底层琼脂平皿上, 转动平皿, 使之均匀分布。水平放置待冷凝固化后, 倒置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱孵育 48 h, 计数每皿回复突变菌落数, 每个浓度设 3 个平行皿。若 BPA、BPS、BPF 和 BPAF 各浓度组回复突变菌落数是溶剂对照组的 2 倍及以上, 并出现剂量-反应关系或任一浓度下出现阳性反应并有可重复性, 则判定为致基因突变阳性。

1.3 统计分析 采用 GraphPad Prism 8.0 软件统计分析, 定量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 描述, 组间比较采用 Dunnett-*t* 检验。采用加权最小二乘法对 Ames 试验中的剂量-反应关系进行非线性拟合分析^[9]。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 BRL 3A 肝细胞存活率 BPA 和 BPF 在 5~50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 时, BRL 3A 肝细胞存活率未见明显降低; 在 100~200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 时, BRL 3A 肝细胞存活率随浓度增加降低, 与 0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组比较, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。BPS 在 5~200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 时, BRL 3A 肝细胞存活率未见明显降低, 与 0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。BPAF 在 25~200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 时, BRL 3A 肝细胞存活率降低, 与 0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组比较, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。BPA、BPS、

BPF 和 BPAF 对 BRL 3A 肝细胞的 IC_{50} 分别为 131.7、>200、187.5 和 21.6 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 。见表 1。

表 1 双酚类化合物不同浓度组 BRL 3A 肝细胞存活率比较 ($n=3$)

Table 1 Comparison of BRL 3A liver cell viability with different concentrations of bisphenols ($n=3$)

浓度 Concentration/ ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	细胞存活率 Cell viability/%			
	BPA	BPS	BPF	BPAF
0	100.00 \pm 6.72	100.00 \pm 1.93	100.00 \pm 14.65	100.00 \pm 11.38
5	104.48 \pm 10.78	96.80 \pm 5.67	101.60 \pm 9.52	102.92 \pm 2.41
10	100.68 \pm 7.26	96.40 \pm 3.03	87.57 \pm 13.03	96.26 \pm 1.56
25	100.83 \pm 7.20	92.45 \pm 3.12	84.71 \pm 8.86	34.70 \pm 5.35 ^a
50	82.27 \pm 11.35	90.76 \pm 4.68	77.81 \pm 4.22	2.74 \pm 1.02 ^a
100	75.52 \pm 6.90 ^a	94.11 \pm 5.39	73.44 \pm 1.82 ^a	2.81 \pm 0.70 ^a
150	41.66 \pm 9.93 ^a	93.41 \pm 5.77	53.22 \pm 5.07 ^a	0.32 \pm 0.13 ^a
200	13.38 \pm 1.48 ^a	91.75 \pm 1.79	44.69 \pm 9.44 ^a	0.35 \pm 0.07 ^a
<i>F</i> 值	48.820	1.593	14.530	339.400
<i>P</i> 值	<0.001	0.208	<0.001	<0.001

注: a 表示与 0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组比较 $P<0.05$ 。Note: a, $P<0.05$ compared with 0 $\mu\text{mol}/\text{L}$ group.

2.2 BRL 3A 肝细胞 ROS 水平 选择 BPA 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 、BPF 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 、BPS 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ (因其在所用浓度下未呈现肝细胞增殖抑制作用, 采用与 BPA 相同的浓度) 和 BPAF 25 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 进行试验。与阴性对照组比较, BPA 和 BPF 组荧光强度值增加, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 即肝细胞内 ROS 水平显著升高。见表 2。

表 2 各组 BRL 3A 肝细胞荧光强度比较 ($n=3$)

Table 2 Comparison of fluorescence intensity of BRL 3A liver cells ($n=3$)

组别 Group	荧光强度 Fluorescence intensity
BPA (100 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	72.25 \pm 4.94 ^a
BPS (100 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	21.13 \pm 4.59
BPF (100 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	44.55 \pm 3.58 ^a
BPAF (25 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	27.17 \pm 6.67
阳性对照 Positive control group	244.57 \pm 13.32 ^a
阴性对照 Negative control group	22.03 \pm 6.55
<i>F</i> 值	435.000
<i>P</i> 值	<0.001

注: a 表示与阴性对照组比较 $P<0.05$ 。Note: a, $P<0.05$ compared with negative control group.

2.3 4种双酚类化合物的致基因突变作用 各剂量组背景菌苔生长良好,自发回变符合要求。无论有无代谢活化系统,4种双酚类化合物不同浓度组 TA1535、TA97a、TA98、TA100 和 TA102 试验菌株回复突变菌落数均未达到溶剂对照组的2倍,即在该试验条件下,4种双酚类化合物未呈现致基因突变性。

3 讨论

肝脏是环境雌激素分解代谢的主要器官,易受到环境雌激素的影响。本研究采用 CCK-8 法检测 BPA、BPS、BPF 和 BPAF 4种双酚类化合物在不同剂量下对大鼠 BRL 3A 肝细胞存活率的影响,发现暴露 48 h 后, BPAF 对细胞增殖的抑制作用最强,而 BPS 在剂量范围内未呈现明显的抑制作用。PEYRE 等^[10]研究发现, BPA 和 BPS 对不同种属肝细胞的毒性具有相似性,但 BPS 毒性较小,不会破坏体外肝细胞的正常功能。FENG 等^[11]比较 BPA、BPS、BPF 和 BPAF 对人肾上腺皮质腺癌细胞 H295R 的毒性作用发现,暴露 72 h 后, BPAF 和 BPA 表现出较大的细胞毒性, BPF 则表现出较小的细胞毒性。RUSSO 等^[12]研究 8 种双酚类化合物对人乳腺癌细胞 MCF-7、人宫颈癌细胞 HeLa、小鼠胚胎成纤维细胞 3T3-L1 和大鼠神经胶质瘤细胞 C6 的 IC₅₀, 发现与 BPA 相比, BPAF 对 4 种细胞系的毒性均最大; BPF 除对 C6 细胞的毒性最小外,对其他细胞的影响均与 BPS 相当。以上研究提示, 4 种双酚类化合物中 BPAF 的细胞毒性最大, 而不同细胞对 BPS 和 BPF 的敏感性存在差异。

氧化应激与肝细胞损伤密切相关。BPA 在体内外均可引起肝细胞氧化应激, 诱导产生过量 ROS^[13-14]。本研究结果显示, 100 μmol/L 的 BPA 和 BPF 均引起 BRL 3A 肝细胞内 ROS 水平显著升高; BPAF 因浓度较低 (25 μmol/L), ROS 水平未见明显变化; BPS (100 μmol/L) 也未引起 ROS 水平明显变化。MAĆCZAK 等^[15]在体外试验中发现, BPAF (5~100 μg/mL)、BPA (25~250 μg/mL)、BPF (100 和 250 μg/mL) 和 BPS (250 μg/mL) 均不同程度地诱导红细胞 ROS 水平升高, 其中 BPAF 引起的氧化损伤程度最强, 而 BPS 影响较小, 仅使 ROS 水平轻微升高。HUANG 等^[16]研究发现, BPA (100 μmol/L)、BPS (100 μmol/L)、BPF (100 μmol/L) 和 BPAF (10 和 100 μmol/L) 均可引起人卵巢颗粒细胞 KGN 活力下降、ROS 水平升高, 且细胞增殖抑制作用呈

剂量依赖性。本研究中, BPAF 和 BPS 未引起细胞内 ROS 水平升高, 与在红细胞和人卵巢颗粒细胞的研究结果不同, 可能是由于所用浓度较低, 且不同细胞对双酚类化合物的敏感性存在差异。因此, 双酚类化合物可能通过诱导氧化应激引起细胞损伤, 后续应增加剂量组, 进一步探讨双酚类化合物对肝细胞的作用机制。

Ames 试验是经典的化学物致基因突变性测定方法, 尤其适用于对化学物诱变点突变能力的检测, 鉴于化学物的致突变性与致癌作用密切相关, 故也广泛应用于致癌物的筛选。采用组氨酸营养缺陷型菌株进行试验, 其中 TA97a 和 TA98 菌株检测移码突变, TA100 和 TA1535 菌株检测碱基对置换突变, TA102 菌株对醛、过氧化物和 DNA 交联剂较敏感。在本试验条件下, 无论是否存在代谢活化系统, 4 种双酚类化合物各剂量组对试验菌株的诱变结果均为阴性, 未发现 4 种双酚类化合物致基因突变作用。另一项双酚类化合物遗传毒性研究也发现, 无论是否加入 S9, BPA、BPS、BPF 和 BPAF 对 TA98 和 TA100 试验菌株均未呈现致基因突变作用, 但该研究未显示 TA1535、TA97a 和 TA102 等其他试验菌株的结果^[17]。

综上所述, 4 种常用双酚类化合物中, BPAF 的肝细胞毒性最大, 其用于各类产品的安全性需引起更多重视; BPS 低剂量暴露对肝细胞的影响较小, 是相对安全的 BPA 结构类似物, 更高剂量暴露对肝脏的影响有待进一步研究。双酚类化合物可能通过诱导生成 ROS, 引起肝细胞氧化损伤, 后续将进一步探讨其作用机制。此外, Ames 试验结果初步判断 4 种双酚类化合物未呈现致基因突变性, 后续将结合基因突变试验、染色体畸变试验、微核试验和长期致癌试验等对 4 种双酚类化合物的遗传毒性和致癌性进行综合评价。

参考文献

- [1] CHEN D, KANNAN K, TAN H L, et al. Bisphenol analogues other than BPA: environmental occurrence, human exposure, and toxicity—a review [J]. *Environ Sci Technol*, 2016, 50 (11): 5438-5453.
- [2] WANG K, ZHAO Z G, JI W. Bisphenol A induces apoptosis, oxidative stress and inflammatory response in colon and liver of mice in a mitochondria-dependent manner [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117 (2019-07-01) [2021-12-30]. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109182>.
- [3] USMAN A, AHMAD M. From BPA to its analogues: is it a safe journey? [J]. *Chemosphere*, 2016, 158: 131-142.

- [4] ZHANG R, LIU R T, ZONG W S. Bisphenol S interacts with catalase and induces oxidative stress in mouse liver and renal cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64 (34): 6630-6640.
- [5] KOSE O, RACHIDI W, BEAL D, et al. The effects of different bisphenol derivatives on oxidative stress, DNA damage and DNA repair in RWPE-1 cells: a comparative study [J]. *J Appl Toxicol*, 2020, 40 (5): 643-654.
- [6] XIN L L, LIN Y, WANG A Q, et al. Cytogenetic evaluation for the genotoxicity of bisphenol-A in Chinese hamster ovary cells [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2015, 40 (2): 524-529.
- [7] 张真, 翁鹭娜, 洪颖, 等. 双酚 S 的毒理学效应及其作用机制的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2018, 39 (2): 344-351.
- ZHANG Z, WENG L N, HONG Y, et al. Research progress on toxicological effects and mechanism of bisphenol S [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2018, 39 (2): 344-351.
- [8] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 化学品 细菌回复突变试验方法: GB/T 21786—2008 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine, Standardization Administration of the People's Republic of China. Chemicals—Test method of bacterial reverse mutation: GB/T 21786—2008 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [9] 王晓萌, 张萍, 钟儒刚, 等. Ames 试验的剂量效应关系及统计学方法探讨 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23 (15): 3151-3154.
- WANG X M, ZHANG P, ZHONG R G, et al. Study on dose-effect relationship and statistical analysis of Ames test [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2013, 23 (15): 3151-3154.
- [10] PEYRE L, ROUIMI P, DE SOUSA G, et al. Comparative study of bisphenol A and its analogue bisphenol S on human hepatic cells: a focus on their potential involvement in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 70: 9-18.
- [11] FENG Y X, JIAO Z H, SHI J C, et al. Effects of bisphenol analogues on steroidogenic gene expression and hormone synthesis in H295R cells [J]. *Chemosphere*, 2016, 147: 9-19.
- [12] RUSSO G, CAPUOZZO A, BARBATO F, et al. Cytotoxicity of seven bisphenol analogues compared to bisphenol A and relationships with membrane affinity data [J]. *Chemosphere*, 2018, 201: 432-440.
- [13] WANG K, ZHAO Z G, WU J. Bisphenol A induces apoptosis, oxidative stress and inflammatory response in colon and liver of mice in a mitochondria-dependent manner [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 117 (2019-07-01) [2021-12-30]. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109182>.
- [14] PIAO X M, LIU Z R, LI Y Y, et al. Investigation of the effect for bisphenol A on oxidative stress in human hepatocytes and its interaction with catalase [J/OL]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2019, 221 (2019-03-22) [2021-12-30]. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117149>.
- [15] MAĆCZAK A, CYRKLER M, BUKOWSKA B, et al. Bisphenol A, bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF induce different oxidative stress and damage in human red blood cells (*in vitro* study) [J]. *Toxicol In Vitro*, 2017, 41: 143-149.
- [16] HUANG M Q, LIU S, FU L, et al. Bisphenol A and its analogues bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF induce oxidative stress and biomacromolecular damage in human granulosa KGN cells [J/OL]. *Chemosphere*, 2020, 253 (2020-08-09) [2021-12-30]. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126707>.
- [17] FIC A, ŽEGURA B, SOLLNER DOLENC M, et al. Mutagenicity and DNA damage of bisphenol A and its structural analogues in HepG2 cells [J]. *Arh Hig Rada Toksikol*, 2013, 64 (2): 189-200.

收稿日期: 2021-11-08 修回日期: 2021-12-30 本文编辑: 吉兆洋

(上接第 301 页)

- [15] World Health Organization. Pedestrian safety: a road safety manual for decision-makers and practitioners [R]. Geneva: World Health Organization, 2013.
- [16] 杨柳, 周林, 张军, 等. 2011—2015 年济南市道路交通伤害死亡病例特征 [J]. *山东大学学报 (医学版)*, 2017, 55 (12): 78-81.
- YANG L, ZHOU L, ZHANG J, et al. Epidemiological characteristics of death caused by road traffic injury in Jinan City during 2011-2015 [J]. *J Shandong Univ (Health Sci)*, 2017, 55 (12): 78-81.
- [17] 徐慧兰, 肖水源, 陈继萍, 等. 湖南省城乡部分老年人口自杀流行病学研究 [J]. *中国心理卫生杂志*, 2000, 149 (2): 80-83.
- XU H L, XIAO S Y, CHEN J P, et al. Epidemiological study on committed among the elderly in some urban and rural areas of Hunan Province [J]. *Chin Mental Health J*, 2000, 149 (2): 80-83.

收稿日期: 2021-10-12 修回日期: 2021-12-22 责任编辑: 吉兆洋