基础研究 文章编号:0253-3626(2011)07-0800-05

羟基多氯联苯与人和大鼠羟基固醇类硫酸基转移酶的相互作用

刘云岗，屠鸿薇
（南方医科大学公共卫生与热带医学学院毒理学系，广州 510515）

【摘 要】目的：多氯联苯(Polychlorinated biphenyls，PCBs)是一类持久性环境污染物，对人类健康有潜在危害。羟基多氯联苯(Hydroxylated PCBs，OH-PCBs) 是 PCBs 在体内的生物活性形式；已有报道 OH-PCBs 是多种亚型的酚类硫酸基转移酶(Sulfotransferases，SULTs)抑制剂和底物，本研究拟观察 OH-PCBs 与人和大鼠羟基固醇类 SULT 有无相互作用。方法：采用重组表达人羟基固醇类 SULT(SULT2A1)和其大鼠同源酶 SULT2A3 的大肠杆菌菌株，分离纯化所表达的酶蛋白；分析 3 种 OH-PCBs 的酶促硫酸基结合或抑制生理性底物结合反应的活性；以辅酶转化产物 3'，5'-二磷酸腺苷(Adenosine 3'，5'-diphosphate，PAP)形成反映酶促硫酸基结合的水平。结果：4-OH PCB 34 和 4'-OH PCB 68 一定浓度(1~200 μmol/L)对人 SULT2A1 具有底物活性；二者都存在底物抑制(在 50 μmol/L 以上抑制明显)。4'-OH PCB 9 对此酶不具底物活性，但对去氢表雄酮(Dehydroepiandrosterone，DHEA)和 1-甲醇基芘的酶促硫酸基结合有抑制作用，且呈竞争性抑制。不同的是 3 种 OH-PCBs 对大鼠 SULT2A3 都不具底物活性，且对该酶作用下以 DHEA 为底物的反应仅微弱抑制。结论：人和大鼠两个种属的羟基固醇类 SULT 对 OH-PCBs 的底物特异性及亲和力存在显著差异，OH-PCBs 与人 SULT2A1 具有比与大鼠 SULT2A3 活跃的相互作用。

【关键词】重组大肠杆菌；硫酸基转移酶；多氯联苯；羟基多氯联苯
【中国图书分类法分类号】R963 【文献标志码】A 【收稿日期】2011-01-18

Interactions of hydroxylated polychlorinated biphenyls with human and rat hydroxysteroid sulfotransferases

LIU Yun-gang，TU Hong-wei
(*Department of Toxicology，School of Public Health and Tropical Medicine，Southern Medical University*)

【Abstract】*Objective*：Polychlorinated biphenyls(PCBs) are a group of persistent pollutants，which are potentially harmful to human health. Hydroxylated PCBs(OH-PCBs) are the biologically active form of PCBs，and there have been reports that OH-PCBs are potent inhibitors of phenol sulfotransferases(SULTs)；the present study was to investigate the interactions between OH-PCBs and hydroxysteroid SULTs of human and rat. *Methods*：Recombinant *E.coli* strains expressing human hydroxysteroid SULT (SULT2A1) and its rat homologous enzyme SULT2A3 were used as the sources of the expressed enzymes which were then purified to apparently homogeneous proteins；three OH-PCBs were applied to investigate their activities as substrates for the enzymes or inhibitors for the sulfation of other substrates；the enzyme activity was assayed by the formation of 3'，5'-diphosphoadenosine，the reaction product of the co-factor of SULTs. *Results*：4-OH PCB 34 and 4'-OH PCB 68 were substrates for human SULT2A1；4'-OH PCB 9 did not show substrate activity toward human SULT2A1；however，it inhibited the sulfation of dehydroepiandrosterone(DHEA)and 1-pyrenemethanol catalyzed by this enzyme，and in the mode of competitive inhibition. None of the three OH-PCBs were substrates for rat SULT2A3，nor did they show potent inhibition of the enzyme-catalyzed sulfation of DHEA，a physiologic substrate for the enzyme. *Conclusion*：There exist significant species differences between human and rat hydroxysteroid SULTs in their specificity and affinity toward OH-PCBs，with human SULT2A1 possessing much more active interactions with OH-PCBs than rat SULT2A3.

【Key words】recombinant *E.coli*；sulfotransferase(SULT)；polychlorinated biphenyls(PCBs)；hydroxylated PCBs(OH-PCBs)

多氯联苯(Polychlorinated biphenyls，PCBs)是一类持久性的环境污染物，虽然在各国立法停止生产和运输 PCBs 已有 30 年左右，但它们因为化学性质非常稳定，在自然界中很难分解，因而在环境中持久存在[1]。PCBs 在体内首先要由细胞色素 P450 酶系代谢为羟基化 PCBs(Hydroxylated PCBs，OH-PCBs)才具有生物学活性[2]，而硫酸基转移酶(Sulfotransferases，SULTs)作为一个Ⅱ相代谢酶家族，可能参与 OH-PCBs 的灭活代谢，也可能受其抑制而影响对其他生理性底物的结合

作者介绍：刘云岗(1964-)，男，教授，博士，
研究方向：遗传毒理与代谢活化。

基金项目：广东省高等学校人才引进专项基金资助项目(编号：粤财教[2010]343 号)。

反应。已有报道 OH-PCBs 可以强烈地抑制人 SULT1E1 对雌激素的硫酸基结合反应（雌激素灭活）[3]，并且被认为是 OH-PCBs 拟雌激素作用的一个机制。羟基固醇类硫酸基转移酶（在人类为 SULT2A1、大鼠为 SULT2A3）是影响类固醇激素平衡[4]、胆酸代谢[5]及负责多环芳烃醇类衍生物代谢活化为致突变、致癌物质[6]的一个重要 SULT 亚型，一般认为其底物结构特征为含有醇羟基。OH-PCBs 是含有酚基的化学物，与此酶的相互作用如何是一个涉及其底物谱宽窄的问题。本研究利用在大肠杆菌重组表达的人 SULT2A1 和大鼠 SULT2A3 观察 3 种 OH-PCBs（分别含有 2、3、4 个氯取代基）作为潜在的底物或（和）抑制剂与这两个同源性 SULT 亚型的相互作用。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

腺苷 3'-磷酸 5'-磷酰硫酸（Adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate，PAPS）、腺苷 3'，5'-二磷酸（Adenosine 3'，5'-diphosphate，PAP）、脱氢表雄酮（Dehydroepiandrosterone，DHEA）、PAP-琼脂糖购自 Sigma-Aldrich 公司（St. Louis，MO，USA）。二硫苏糖醇（Dithiolthreitol，DTT）购自 Research Products International 公司（Mt. Prospect，IL，USA）。PAPS 以二乙氨基乙基纤维素（DEAE cellulose，DE52）柱层析法进一步纯化[7]达到 99%以上纯度（用高效液相色谱法鉴定）后才用于本试验。4'-OH PCB 9、4-OH PCB 34 和 4'-OH PCB 68（化学结构见图 1）由美国爱荷华大学公共卫生学院环境与职业卫生系 Larry W. Robertson 教授赠送。

1.2 菌株

重组表达大鼠 SULT2A3 菌株的构建是采用了大鼠 SULT2A3 cDNA-pET-3c 载体（含一个 T7 增强子）转染大肠杆菌 BL21（DE3）细胞，重组细胞在氨苄青霉素选择性培养基上生长[8]。表达人 SULT2A1 的菌株以同一方法构建[9]。在-70℃存放 3~4 年后，这两个重组菌株表达的蛋白产物都出现变异，前者表达两个蛋白质分子，分子量分别为 33.6 kD（等于大鼠 SULT2A3 的分子量）和 31.5 kD（二蛋白分子均从亲和层析柱上洗脱下来，说明都具有 SULT 特有的对 PAP 的亲和力）；后者的细胞提取液中人 SULT2A1 比活性从菌株变异前的 9 nmol/（mg·min）降低为本研究时的 0.3 nmol/（mg·min）。

1.3 平板划线法分离单菌落

琼脂平板由 1%氯化钠、1%胰蛋白胨、0.5%酵母提取物及 2%琼脂分别在 7 个 10 cm 平皿中制成（15 ml/皿），含 50 μg/ml 氨苄青霉素。用接种环在 LB（Luria broth）液体培养基中生长成浑浊状的细菌混悬液中轻轻蘸取少量，即以四象限法在一个琼脂平板上连续划线，共在 7 个平板上划线。然后倒置培养于 37℃恒温箱中，约 20 h 后出现大小不等的菌落，即用接种环挑取分布较稀疏、直径较小的圆形单菌落，加入并混匀在 3 ml 液体培养基中，于 27℃中以 250 r/min 的频率振摇培养；24 h 后，取 100 μl 细胞混悬液加入 20 ml 新鲜液体培养基中，1 h 后加入 1 mmol/L IPTG，继续培养 23 h 后收获细胞。

1.4 细胞提取液的制备和酶活性测定

按我们报道过的方法[9]，细胞经过超声破碎后所得匀浆在 24 000 g 离心 30 min，上清液即为细胞提取液。

大鼠 SULT2A3 和人 SULT2A1 活性的测定采用亚甲兰离子对抽提法[10]。反应液 pH 为 5.5，底物为 DHEA（50 μmol/L），辅基为 PAPS（200 μmol/L）；反应在 37℃水浴中进行 30 min。根据其蛋白质含量（由改良 Lowry 法、以牛血清白蛋白为标准测定）计算出酶活性。

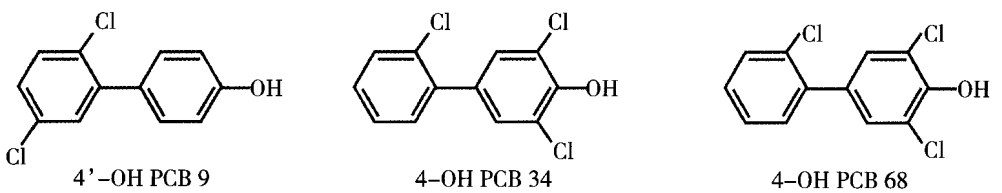
1.5 酶蛋白的分离纯化

大鼠 SULT2A3 蛋白由相应细胞提取液的纯化是用 PAP-琼脂糖亲和柱层析法进行[11]，随洗脱液进入酶蛋白溶液中的 PAP 用凝胶柱过滤层析（PD-10 柱子，GE Healthcare 公司，Piscataway，NJ，USA）[采用 PM-10 滤膜（Millipore 公司，Billerica，MA，USA）]去除。人 SULT2A1 蛋白由相应细胞提取液的纯化是采用近年我们报道过的 DE52 阴离子交换柱层析及羟基磷灰石柱层析二步法进行[12]。

1.6 重组菌的纯化

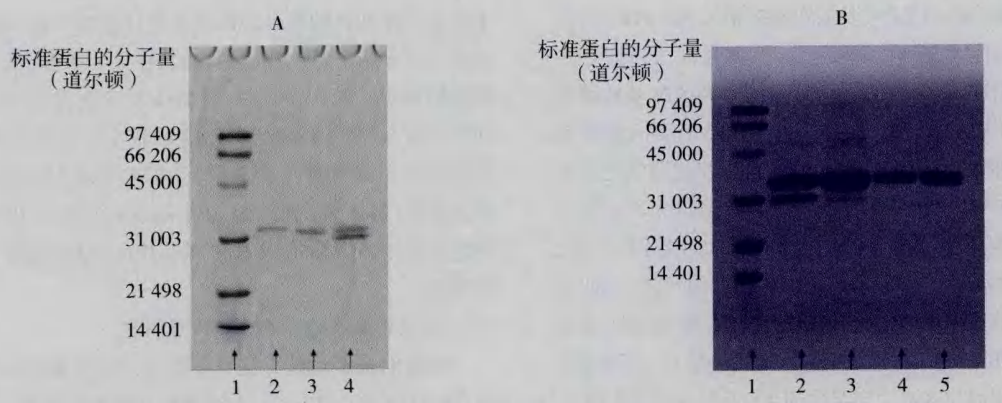
从重组表达大鼠 SULT2A3 和人 SULT2A1 的菌株通过划线分离分别得到 9 个和 13 个单菌落，细胞扩增后其细胞提取液酶活性水平高低不平，从两组单菌落中各取酶的比活性最高的单菌落（分别为第 9 号和第 11 号单菌落）进行鉴定，其纯化的酶蛋白活性为195 nmol/（mg·min）（大鼠 SULT2A3）和 97 nmol/（mg·min）（人 SULT2A1），分别与二酶蛋白在出现表达变异以前的水平相符。

重组表达酶蛋白的分子量和纯度以 SDS-PAGE 法鉴定。如图 2（A）所示，重组表达大鼠 SULT2A3 的菌株总是出现 2 个分子量不同（分别为 33.6 kD 和 31.0 kD）的蛋白产物；而从划线分离法选出的 9 号菌落得到的酶蛋白经 SDS-PAGE 显示为单一蛋白条带，其分子量为 33.6 kD，与大鼠 SULT2A3 分子量的理论值（33.3 kD）相近[8]。图 2（B）显示从重组表达人 SULT2A1 的菌株分离的单菌落（11 号）得到的蛋白终产物为单一蛋白条带，分子量为 35.2 kD，与人 SULT2A1 理论分子量（33.7 kD）相近[9,12]。



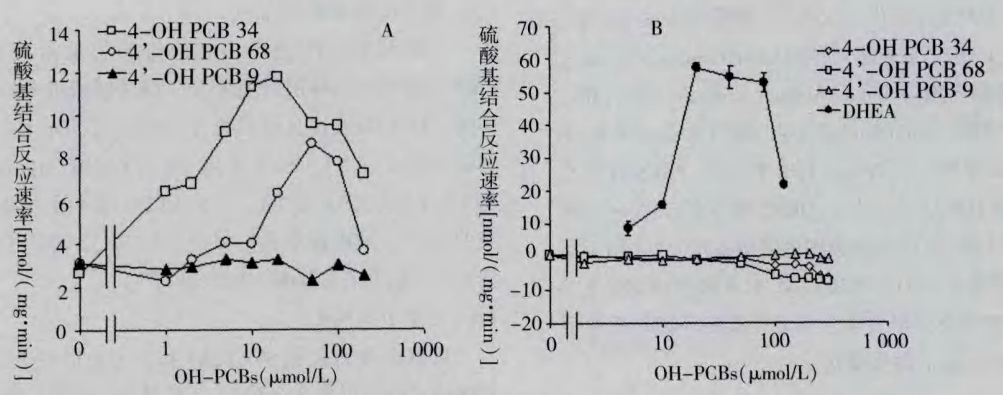
4'-OH PCB 9　　4-OH PCB 34　　4-OH PCB 68

图 1 受试 OH-PCBs 的化学结构



A. 第 1 道为蛋白标准，第 2、3 道为从单菌落 9 的细胞以 PAP-琼脂糖亲和柱层析法纯化的蛋白质产物 1.5、1.9 μg，第 4 道为从未经划线筛选的细胞纯化的蛋白产物 2.8 μg；B. 第 1 道为蛋白标准，第 2、3 道为由单菌落 11 的细胞提取液以 DE52 阴离子交换柱层析法纯化蛋白的中间二阶段产物，第 4、5 道为蛋白终产物 2、3 μg

图 2　从表达大鼠 SULT2A3 的单菌落 9（A）和表达人 SULT2A1 的单菌落 11（B）所扩增的细胞纯化的 PAP- 结合蛋白经 SDS-PAGE 和考马斯亮兰染色的图像



数据为 2 个样本的均数（对于 OH-PCBs）或 3 个样本的均数 ± 标准误（对于 DHEA）

图 3　由人 SULT2A1（A）和大鼠 SULT2A3（B）催化的 3 种 OH-PCBs 硫酸基结合的量 - 效关系图

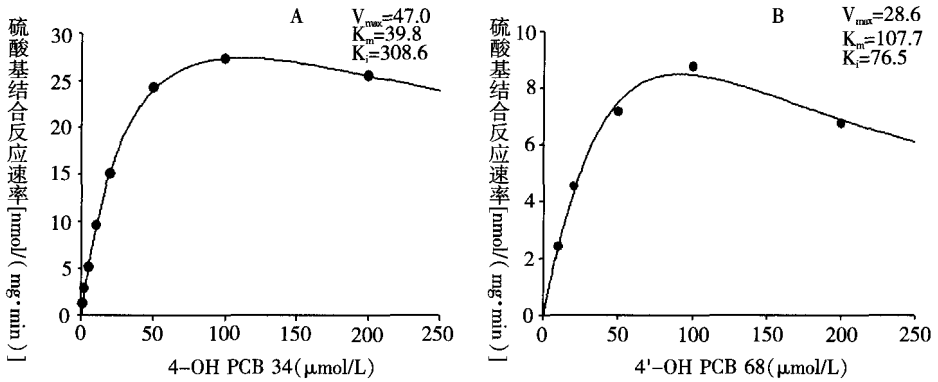
1.7　OH-PCBs 作为人 SULT2A1 或大鼠 SULT2A3 可能的底物的试验

SULTs 催化的结合反应中硫酸酯的形成以辅酶 PAPS 的分解产物 PAP 的量来反映，后者采用高效液相色谱（HPLC）法测定[9,10]。反应条件是：30 μl 的反应混和液中含有0.25 mol/L磷酸钾缓冲液（pH 7.0）、0.2 mmol/L PAPS、7.5 mmol/L 2-巯基乙醇、不同浓度的OH-PCBs、5%丙酮（作为OH-PCBs的溶剂），以及 0.3 μg 纯化的人 SULT2A1 蛋白或 0.5 μg 纯化的大鼠 SULT2A3 蛋白。反应在 37℃水浴中进行 15 min。反应速度以底物依赖的 PAP 形成量计算。有底物抑制现象存在时，底物浓度与反应速度的动力学研究是将二者资料按底物抑制方程进行拟合：$v = V_{max}/[1 + (Km/[S]) + ([S]/K_{is})]$（v 为反应速度，$V_{max}$ 为最大反应速度，K_m 为米氏常数，[S]为底物浓度，K_{is} 为底物抑制常数）。

1.8　OH-PCBs 对人 SULT2A1 和大鼠 SULT2A3 酶活性抑制作用的试验

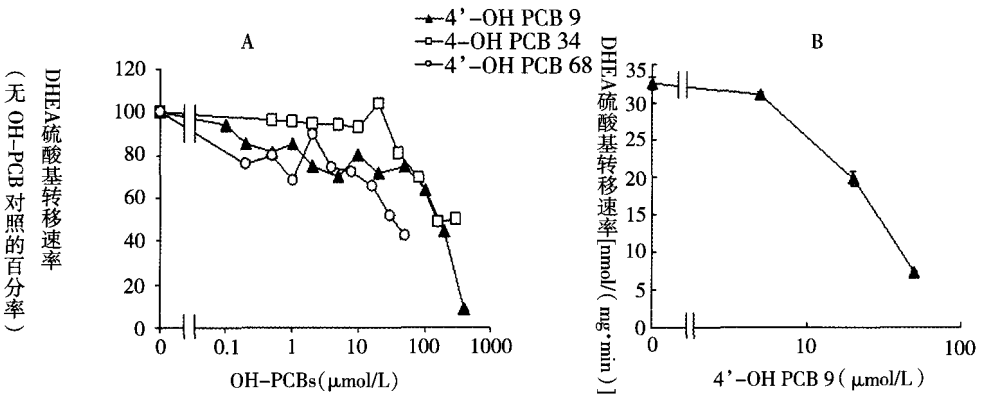
对于经上述试验表明不具有底物活性的 OH-PCBs，则继续观察其有无抑制相应酶活性的作用。反应混合物的构成与 1.7 的描述基本相同，所不同的只是生理性底物 DHEA（5 μmol/L）存在于反应液中。丙酮被作为 OH-PCBs 和 DHEA 共同的溶剂，其总浓度不超过 5%。反应在 37℃水浴中进行，时间为 6 min（对大鼠 SULT2A3）和 15 min（对人 SULT2A1）。同样以底物依赖的 PAP 形成量计算反应速度。

由于 DHEA 在人 SULT2A1 和大鼠 SULT2A3 作用下的硫酸基结合反应在动力学上都呈现底物抑制作用[9,12]，因此不能用其作为底物测定酶抑制剂的抑制动力学参数。1-甲醇基芘可被大鼠 SULT2A3 转化为致突变性代谢物[13]，但它作为底物在这两个酶的作用下的硫酸基结合反应的动力学尚未报道。本研究发现 1-甲醇基芘对这两个酶都有较强的底物活性，但它对大鼠 SULT2A3 呈现底物抑制作用，而对人 SULT2A1 没有底物抑制。因此可用它作为底物来分析 OH-PCBs 对人 SULT2A1 的抑制动力学。应用系列浓度的 1-甲醇基芘和系列浓度的 OH-PCB 于人 SULT2A1 的酶促反应体系中，所得酶活性和相应底物浓度取双倒数进行 Lineweaver-Burk 作图，采用 SigmaPlot 8.0（Enzyme Kinetics Module 1.1）进行线性拟合，以探出抑制类型（相关系数最高者）并得到抑制常数（Ki）值。



数据为两个测量值的均数。曲线是根据底物抑制方程进行计算拟合（见材料与方法）所得；两条曲线计算拟合的相关系数均大于 0.92

图 4　4-OH PCB 34 和 4'-OH PCB 68 在人 SULT2A1 催化下硫酸基结合反应的动力学图



A. 数据为 2 个重复观测值的均数　　B. 3 个重复观测值的均数 ± 标准误

图 5　OH-PCB 对大鼠 SULT2A3（A）和人 SULT2A1（B）催化的 DHEA 硫酸基结合反应的抑制作用

2　结　果

2.1　OH-PCBs 对人 SULT2A1 和大鼠 SULT2A3 底物活性的观察

由图 3(A)可见，3 种 OH-PCBs 中 4-OH PCB 34 和 4'-OH PCB 68 是人 SULT2A1 的底物，且二者均对自身的结合反应呈现底物抑制作用；而 4'-OH PCB 9 在 200 μmol/L 浓度范围都没有底物活性。从图 3(B)可见 3 种 OH-PCBs 都不是大鼠 SULT2A3 的底物，而生理性底物 DHEA 作为阳性对照具有与历史水平相当的硫酸基结合反应，其底物抑制作用也与过去的观察相符[8]。

由图 4 可见，4-OH PCB 34 和 4'-OH PCB 68 在人 SULT2A1 催化下的硫酸基结合反应，前者的最大反应速度较大、与酶亲和力较高（K_m 值较低），底物抑制作用较弱于后者（K_i 值较高）。

2.2　OH-PCBs 对人 SULT2A1 和大鼠 SULT2A3 酶活性的影响

由图5可见，3种OH-PCBs对大鼠SULT2A3催化的 DHEA 硫酸基结合反应抑制作用较弱，而4'-OH PCB 9对人SULT2A1 的活性抑制作用较强。由于其半对数抑制曲线不呈典型的 S 型，难以得出准确的半数抑制浓度（IC_{50}）。

2.3　OH-PCBs 对 SULTs 抑制作用的动力学分析

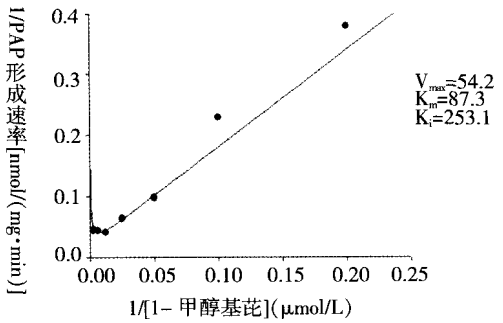
由图 6 可见，1-甲醇基芘是大鼠 SULT2A3 的底物，且存在底物抑制。1-甲醇基芘也对人 SULT2A1 呈现底物活性，但没有底物抑制现象（未发表资料），因此可用其作为底物分析 4'-OH PCB 9 对人 SULT2A1 的抑制动力学参数。

如图 7 在 4'-OH PCB 9 作用下 1-甲醇基芘浓度与反应速度的双倒数作图可见，4'-OH PCB 9 对人 SULT2A1 催化的 1-甲醇基芘硫酸基结合反应呈现竞争性抑制作用，抑制常数为 10.2 μmol/L。

3　讨　论

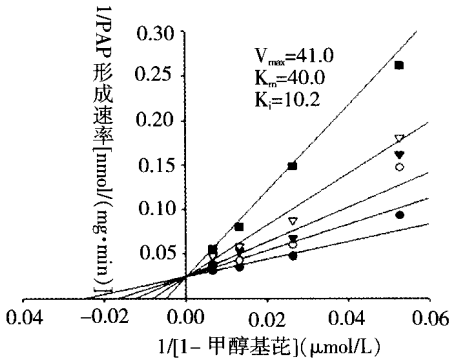
本研究发现人和大鼠的羟基固醇类 SULT 对所观察的 3 种 OH-PCBs 具有显著不同的特异性：人 SULT2A1 可以催化 4-OH PCB 34 和 4'-OH PCB 68 的硫酸基结合反应，且 4'-OH PCB 9 具有一定的抑制该酶催化 DHEA 结合反应的作用；然而这 3 种 OH-PCBs 对大鼠 SULT2A3 都不具有底物活性，对其催化 DHEA 的反应也没有像 4'-OH PCB 9 对人 SULT2A1 那样强的抑制作用。因此，作为一种生物灭活途径，OH-PCBs 在大鼠可能主要依靠酚类 SULTs 催化进行硫酸基结合的反应[3,14,15]；而在人类，羟基固醇类 SULTs 具有较宽的、不局限于醇类的底物特异性，其与酚类 SULTs 均可催化某些 OH-PCBs 的硫酸基结合反应[16]。

从图 3 可见，4-OH PCB 34 在 1 μmol/L 浓度即可观察



数据为 2 个重复测定值的均数；曲线按底物抑制方程计算拟合的相关系数为 0.95

图6 大鼠SULT2A3催化的1-甲醇基芘硫酸基结合反应的动力学图



实验采用系列浓度的 1-甲醇基芘（0、20、40、80、160 μmol/L），4'-OH PCB 9 浓度为 0（黑圆点）、5（白圆点）、10（黑三角型）、20（白三角型）和 40 μmol/L（黑方形）；数据为观察值，直线为所有数据经竞争性抑制方程计算拟合（相关系数为 0.967）而成

图 7 4'-OH PCB 9 对人 SULT2A1 催化的 1- 甲醇基芘硫酸基结合反应的抑制作用

到硫酸基结合反应的发生，而这一浓度是在接触 PCBs 水平较高的情况下人体内可能达到的[17]，提示人 SULT2A1 对某些 OH-PCBs 的Ⅱ相代谢可能具有重要的作用。

由图 6 可见，虽然在高浓度时存在一定的底物抑制作用，1-甲醇基芘可被大鼠 SULT2A3 催化进行硫酸基结合。这一结合反应的产物不稳定，可裂解为生物活性更强的代谢物，与用重组表达大鼠 SULT2A3 的 V79 细胞观察到的 1-甲醇基芘的致突变作用相符合[13]。

由图 7 可知人 SULT2A1 也可催化间接致突变物 1-甲醇基芘的硫酸基结合（代谢活化）反应。提示酶促硫酸基结合在人类也是 1-甲醇基芘的代谢活化途径。此外，4'-OH PCB 9 对这一反应的竞争性抑制，Ki 值低至 10 μmol/L，提示它可以抑制 1-甲醇基芘的代谢活化反应，从而降低其致突变及致癌作用。这是不同化学物间通过对代谢酶的作用而产生的生物活性相互影响的又一范例。

参 考 文 献

[1] Guo L, Zhang B, Xiao K, et al. Levels and distribution of polychlorinated biphenyls in sewage sludge of urban wastewater treatment plants[J]. J Environ Sci, 2009, 21(4): 468-473.

[2] Matsusue K, Ariyoshi N, Oguri K, et al. Involvement of cytochrome b5 in the metabolism of tetrarchlorobiphenyls catalyzed by CYP2B1 and CYP1A1[J]. Chemosphere, 1996, 32(3): 517-523.

[3] Kester M H, Bulduk S, Tibboel D, et al. Potent inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated PCB metabolites: a novel pathway explaining the estragenic activity of PCBs[J]. Endocrinology, 2000, 141(5): 1897-1900.

[4] Chang H J, Shi R, Rehse P, et al. Identifying androsterone (ADT) as a cognate substrate for human dehydroepiandrosterone sulfotransferase (DHEA-ST) important for steroid homeostasis: structure of the enzyme-ADT complex[J]. J Biol Chem, 2004, 279(4): 2689-2696.

[5] Kitada H, Miyata M, Nakamura T, et al. Protective role of hydroxylsteroid sulfotransferase in lithocholic acid-induced liver toxicity[J]. J Biol Chem, 2003, 278(20): 17838-17844.

[6] Glatt H. Sulfation and sulfotransferases 4: bioactivation of mutagens via sulfation[J]. FASEB J, 1997, 11(5): 314-321.

[7] Sekura R D. Adenosine 3'-phosphate 5'-phosphosulfate[J]. Methods Enzymol, 1981, 77(5): 413-415.

[8] Chen X, Yang Y S, Zheng Y, et al. Tyrosine-ester sulfotransferase from rat liver: bacterial expression and identification[J]. Protein Expr Purif, 1992, 3(5): 421-426.

[9] Sheng J, Duffel M W. Enantioselectivity of human hydroxysteroid sulfotransferase ST2A3 with naphthyl-1-ethanols[J]. Drug Metab Dispos, 2003, 31(6): 697-700.

[10] Sheng J, Sharma V, Duffel M W. Current Protocols in Toxicology [M]. 1st Edition. New York: John Wiley & Sons, 2001.1-9.

[11] Liu Y G, Smart J T, Song Y, et al. Structure-activity relationships for hydroxylated polychlorinated biphenyls as substrates and inhibitors of rat sulfotransferases and modification of these relationships by changes in thiol status[J]. Drug Metab Dispos, 2009, 37(5): 1065-1072.

[12] Gulcan H O, Liu Y G, Duffel M W. Pentachlorophenol and other chlorineated phenols are substrates for human hydroxylsteroid sulfotransferase hSULT2A1[J]. Chem Res Toxicol, 2008, 21(8): 1503-1508.

[13] Czich A, Bartsch I, Dogra S, et al. Stable heterologous expression of hydroxysteroid sulphotransferase in Chinese hamster V79 cells and their use for toxicological investigations[J]. Chem-Biol Interact, 1994, 92(1-3): 119-128.

[14] Wang L Q, Lehmler H J, Robertson L W, et al. In vitro inhibition of human hepatic and cDNA-expressed sulfotransferase activity with 3-hydroxybenzo[a]pyrene by polychlorobiphenylols[J]. Env Health Persp, 2005, 113(6): 680-687.

[15] Schuur A G, Brouwer A, Bergman A, et al. Inhibition of thyroid hormone sulfation by hydroxylated metabolites of polychlorinated biphenyls [J]. Chem-Biol Interact, 1998, 109(1-3): 293-297.

[16] Wang L Q, Lehmler H J, Robertson L W, et al. Polychlorobiphenyls are selective inhibitors of human phenol sulfotransferase 1A1 with 4-nitrophenol as a substrate[J]. Chem-Biol Interact, 2006, 159(3): 235-246.

[17] Jacobson J L, Jacobson S W, Humphrey HEB. Effects of exposure to PCBs and related compounds on growth and activity in children[J]. Neurotoxicol Teratol, 1990, 12(4): 319-326.

（责任编辑：关蕴良）