

◇ 预防医学研究 ◇

母鼠摄入 BPA 对子代 AHR mRNA 表达和 Th17 细胞的影响

房 魏¹ 李 云¹ 李应配¹ 蒋建华² 朱启星³ 沈 彤^{1,3}

摘要 目的 研究母鼠围生期经饮水摄入低剂量双酚 A (BPA) 对子代芳香烃受体 (AHR) 和辅助性 T (Th) 17 细胞的影响。方法 将确认妊娠的 ICR 母鼠随机分成空白对照组和溶剂对照组、10、100 和 1 000 nmol/L BPA 组; 母鼠自妊娠第 0 天 (GD 0) 至仔鼠出生后第 21 天 (PND 21) 经饮水摄入 BPA。PND 21 时处死仔鼠, 取血用 ELISA 法测血清白细胞介素 (IL) -17 和 IL-23 含量, 取脾脏, 流式细胞术检测 Th17 细胞比例, 实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测维甲酸相关孤儿核受体 γ t (ROR γ t) 和 AHR mRNA 表达水平。结果 与空白对照组比较, 各 BPA 剂量组母鼠孕期体重、仔鼠出生和 PND 21 时体重、窝仔数差异均无统计学意义; 100 和 1 000 nmol/L BPA 组仔鼠 PND 21 时脾脏 Th17 细胞比例均显著升高 ($P < 0.05$), 脾脏 ROR γ t mRNA 和 AHR mRNA 表达水平明显上调 ($P < 0.01$), 血清 IL-17 和 IL-23 含量也明显上升 ($P < 0.01$); 脾脏 Th17 细胞比例和 ROR γ t mRNA 表达水平与 AHR mRNA 表达水平均呈正相关性 ($P < 0.01$)。结论 围生期母鼠暴露于低剂量 BPA 可导致子代断乳时 AHR 表达上调, 并经 ROR γ t 途径促进 Th17 细胞发育。

关键词 双酚 A; 芳香烃受体; Th17; 免疫发育毒性

中图分类号 R 114; R 994.6

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2015)07-0958-05

环境内分泌干扰物双酚 A (bisphenol A, BPA) 是世界范围内大量生产使用的工业原料, 广泛应用于食品饮料包装、牙科密封剂等塑料制品生产^[1]。流行病学资料^[2]提示人类广泛暴露于环境 BPA 污染。生命早期的暴露会对出生后机体免疫系统产生长久的影响, 如减少调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 的数量^[3-4]。辅助性 T (T helper, Th) 17 细胞是近年来新发现的一种效应 T 细胞亚群, 其分化依赖于特异性转录因子维甲酸相关孤儿核受体 (retinoic acid related orphan receptor, ROR) γ t 的表达, 主

要通过分泌白细胞介素 (interleukin, IL) -17、IL-23、IL-6 等炎性细胞因子而发挥促炎作用^[5]。研究^[6-7]表明配体激活转录因子芳香烃受体 (aryl hydrocarbon receptor, AHR) 以配体依赖的方式调节 Th0 细胞向 Treg 或 Th17 细胞分化。然而, 围生期 BPA 暴露对出生后 Th17 细胞和 AHR 的影响, 以及其中 Th17 细胞和 AHR 的关系目前还不清楚。该研究通过动物实验, 探讨母鼠围生期经水摄入低剂量 BPA 对子代断乳时 Th17 细胞和 AHR 表达的影响, 并分析两者之间的关系, 为阐明 BPA 发育免疫毒性机制提供基础。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂 BPA (99.9% 分析纯) (国药集团化学试剂北京有限公司); 二甲亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) (美国 Sigma 公司); 藻红蛋白 (phycoerythrin, PE)-anti-CD4 抗体、异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC)-anti-IL-17 抗体 (美国 Biologend 公司); RNA 提取纯化试剂盒 RNeasy Mini Kit (德国 QIAGEN 公司); 逆转录试剂盒 PrimeScript[®] RT Master Mix、实时 PCR 试剂盒 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II [宝生物工程 (大连) 有限公司]; IL-17 和 IL-23 ELISA 试剂盒 (上海西唐生物科技有限公司); EPICS XL-MCL 流式细胞仪 (美国 Beckman Coulter 公司); Applied Biosystems 7500 实时 PCR 仪 (美国 AB 公司); Universal 320R 型台式低温高速离心机 (德国 Hettich 公司); Elx 800 TM 酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司)。

1.2 实验动物及处理 SPF 级 ICR 8 周龄雌鼠和 9 周龄雄鼠, 购自安徽省实验动物中心, 饲养于清洁级动物房, 自由进食, 保持 12 h 光照/12 h 黑暗的昼夜节律。适应性饲养 1 周后, 雌: 雄按 2: 1 合笼, 次日清晨查到阴栓定为妊娠第 0 天 (gestational day, GD 0)。孕鼠随机分为空白对照组、溶剂对照组、10、100、1 000 nmol/L BPA 组, 其中 1 000 nmol/L BPA 组 5 只, 其余每组均为 4 只。孕鼠自 GD 0 至断乳, 即子代出生后第 21 天 (postnatal day, PND 21) 经饮水暴露 BPA。每天记录母鼠一般情况和饮水量,

2015-03-31 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81473015)

作者单位: 安徽医科大学公共卫生学院¹ 卫生毒理学系、³ 职业卫生与环境卫生学系, 合肥 230032

² 安徽医科大学第一附属医院临床营养科, 合肥 230022

作者简介: 房 魏, 男, 硕士研究生;

沈 彤, 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: ahmushit@163.com

每周称重 1 次。记录子代出生情况,仔鼠每周称重 1 次。PND 21 时,眼球摘除法收集仔鼠外周血,分离血清;处死仔鼠,无菌操作下取脾脏。

1.3 流式细胞术检测仔鼠脾脏 CD4⁺T 细胞中 Th17 细胞比例 取仔鼠脾脏组织约 0.3 g,剪碎,200 目不锈钢筛过滤,PBS 冲洗制成单细胞悬液;1 500 r/min 离心 10 min,弃上清液;台盼蓝染色活细胞计数,细胞活力大于 90% 时用于实验;用含 10% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的 RPMI-1640 培养液调整密度至 8×10^7 个/L。取 200 μ l 悬液(约 10^6 个细胞)加至培养板,加入 20 μ l 莫能菌素(0.1 μ g/ml)、50 μ l 佛波醇乙酯(1 μ g/ml)和 5 μ l 离子霉素(50 μ g/ml),37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱孵育 4 h,1 500 r/min 离心 5 min,弃上清液,振荡均匀;加入 0.5 μ l PE-anti-CD4,避光静置 10 min 行细胞外染色,加入 50 μ l 固定剂和打孔剂进行固定和打孔,再加入 1 μ l FITC-anti-IL-17 避光孵育 30 min 行细胞内染色,24 h 内测定 Th17 细胞数量,使用 FCS Express V3 软件分析,结果以 Th17 细胞占 CD4⁺细胞的比例表示。

1.4 实时荧光定量聚合酶链反应(real time-quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)测脾脏 ROR γ t 和 AHR mRNA 表达水平 将新鲜脾脏制成匀浆,用 RNeasy Mini Kit 试剂盒提取总 RNA,PrimeScript[®] RT Master Mix 试剂盒逆转录为 cDNA,在 Applied Biosystems 7500 实时 PCR 仪上用 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II 试剂盒进行扩增,扩增条件:第一步:95 $^{\circ}$ C 30 s;第二步(40 个循环):95 $^{\circ}$ C 变性 5 s,60 $^{\circ}$ C 退火 34 s,扩增完成后从 60 $^{\circ}$ C 开始升温作熔解曲线验证产物的特异性。以 GAPDH 作为内参,

2^{- $\Delta\Delta$ Ct}法分析 ROR γ t、AHR 和内参基因相对表达水平。引物序列如下,ROR γ t 上游引物:5'-CCGCT-GAGAGGGCTTCAC-3',下游引物:5'-TGCAGGAG-TAGGCCACATTACA-3';AHR 上游引物:5'-CGC-CTCCGGGACGCAGGTGG-3',下游引物:5'-AAA-GAAGCTCTTGGCCCTCAG-3';GAPDH 上游引物:5'-AGCAATGCCTCCTGCACCACCAAC-3',下游引物:5'-CCGGAGGGGCCATCCACAGTCT-3'。

1.5 ELISA 法测定血清 IL-17 和 IL-23 含量 用 ELISA 试剂盒检测小鼠血清中 IL-17 和 IL-23 的含量,按试剂盒说明书操作。酶标仪 450 nm 波长下测吸光度(optical density, OD)值,用标准曲线计算结果。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间均数比较用单因素方差分析(One-Way ANOVA),两组间的比较采用 LSD 法,相关分析用线性 Pearson 相关。

2 结果

2.1 一般情况 各组母鼠孕期一般情况良好,未出现中毒死亡、流产、死胎和死产现象,不同时点体重差异均无统计学意义(表 1);子代出生和断乳时,各组仔鼠平均窝仔数及平均体重差异均无统计学意义(表 2)。

2.2 母鼠饮水摄入 BPA 对仔鼠 PND 21 时脾脏 Th17 细胞数量影响 用 PE-anti-CD4 和 FITC-anti-IL-17 抗体标记仔鼠 PND 21 时脾脏细胞悬液,FCM 检测 Th17 细胞数量,见图 1。空白对照组与溶剂对照组比较,仔鼠脾脏 Th17 数量差异无统计学意义,仔鼠脾脏 Th17 细胞比例随母鼠 BPA 暴露剂量的增

表 1 饮水摄入不同剂量 BPA 母鼠孕期体重(g, $\bar{x} \pm s$)

时间	空白对照组 (n=4)	溶剂对照组 (n=4)	BPA 组			F 值	P 值
			10 nmol/L(n=4)	100 nmol/L(n=4)	1 000 nmol/L(n=5)		
GD 0	32.68 \pm 2.86	31.60 \pm 1.21	31.78 \pm 4.08	32.83 \pm 2.00	31.98 \pm 1.72	0.188	0.941
GD 6	36.13 \pm 2.75	33.28 \pm 2.87	34.00 \pm 5.25	35.10 \pm 2.06	33.84 \pm 1.75	0.544	0.706
GD 12	43.23 \pm 4.38	40.98 \pm 2.66	42.78 \pm 7.24	43.08 \pm 2.41	40.58 \pm 4.24	0.335	0.850
GD 18	62.40 \pm 5.59	58.80 \pm 3.84	64.18 \pm 11.38	67.05 \pm 6.26	62.28 \pm 10.74	0.526	0.718

表 2 BPA 暴露母鼠所生子代出生和 PND 21 时平均窝仔数(只, $\bar{x} \pm s$)及仔鼠平均体重(g, $\bar{x} \pm s$)

时间	项目	空白对照组 (n=4)	溶剂对照组 (n=4)	BPA 组			F 值	P 值
				10 nmol/L(n=4)	100 nmol/L(n=4)	1 000 nmol/L(n=5)		
PND 0	窝仔数	13.50 \pm 3.11	12.25 \pm 2.06	15.00 \pm 4.97	15.00 \pm 3.37	13.40 \pm 3.97	0.419	0.793
	体重	1.54 \pm 0.13	1.60 \pm 0.11	1.53 \pm 0.09	1.57 \pm 0.24	1.58 \pm 0.10	0.194	0.938
PND 21	窝仔数	12.50 \pm 2.38	9.75 \pm 2.50	11.50 \pm 4.20	11.25 \pm 5.38	13.00 \pm 3.74	0.469	0.757
	体重	8.86 \pm 1.74	8.89 \pm 0.72	9.41 \pm 2.52	9.04 \pm 1.10	8.99 \pm 3.36	0.039	0.997

加而升高;与空白对照组比较,100、1 000 nmol/L BPA 组仔鼠脾脏 Th17 细胞比例升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 3。

2.3 母鼠饮水摄入 BPA 对仔鼠 PND 21 时脾脏 ROR γ t mRNA 表达水平影响 空白对照组与溶剂对照组比较,仔鼠脾脏 ROR γ t mRNA 表达差异无统计学意义,仔鼠脾脏 ROR γ t mRNA 表达水平随母鼠 BPA 暴露剂量的增加而上调;与空白对照组比较,100、1 000 nmol/L BPA 组仔鼠脾脏 ROR γ t mRNA 表达明显上调($P < 0.01$)。见表 3。

2.4 母鼠饮水摄入 BPA 对仔鼠 PND 21 时血清

IL-17 和 IL-23 含量影响 空白对照组与溶剂对照组仔鼠血清 IL-17 和 IL-23 含量差异无统计学意义;仔鼠血清 IL-17 和 IL-23 含量均随母鼠 BPA 暴露剂量的增加而升高,100、1 000 nmol/L BPA 组仔鼠血清 IL-17 和 IL-23 含量明显高于空白对照组($P < 0.01$)。见表 4。

2.5 母鼠围生期饮水摄入 BPA 对仔鼠 PND21 脾脏 AHR 影响 各组 AHR mRNA 表达水平分别为:空白对照组(1.30 ± 0.07),溶剂对照组(1.32 ± 0.07),10 nmol/L BPA 组(1.41 ± 0.06),100 nmol/L BPA 组(1.63 ± 0.09),1 000 nmol/L BPA 组(1.81

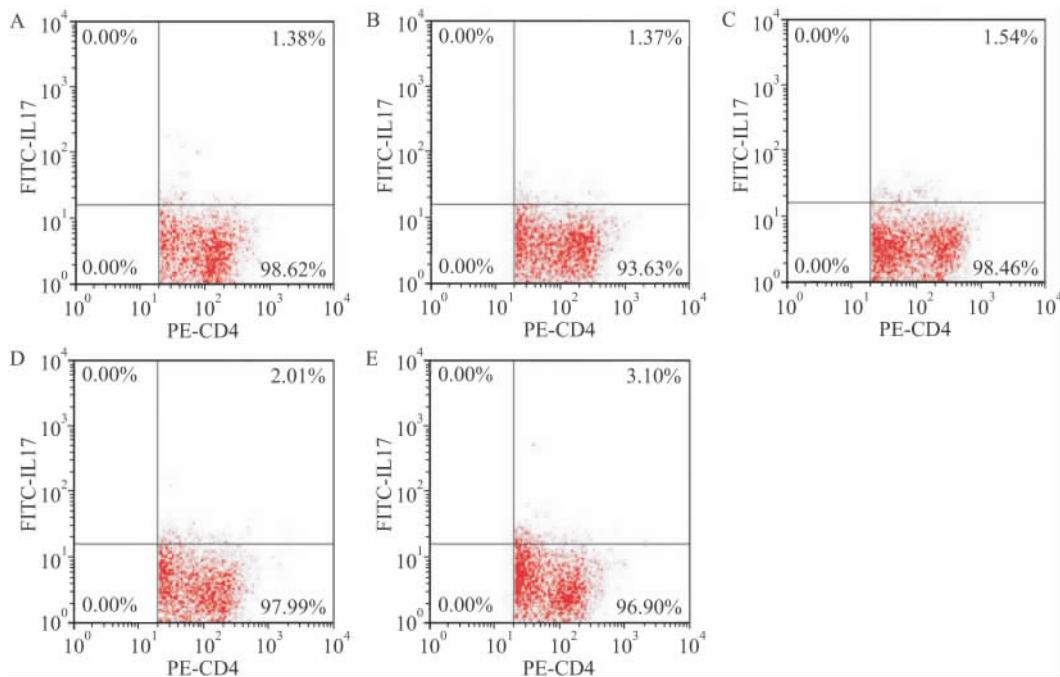


图1 流式细胞术检测围生期 BPA 暴露母鼠所生仔鼠 PND 21 时脾脏 Th17 细胞

A: 空白对照组; B: 溶剂对照组; C: 10 nmol/L BPA 组; D: 100 nmol/L BPA 组; E: 1 000 nmol/L BPA 组

表3 母鼠围生期 BPA 暴露对子代 PND 21 时脾脏 Th17 细胞比例(%) 和 ROR γ t mRNA 表达的影响

项目	空白对照组	溶剂对照组	BPA 组			F 值	P 值
			10 nmol/L	100 nmol/L	1 000 nmol/L		
Th17 细胞比例	1.23 ± 0.36	1.25 ± 0.36	1.58 ± 0.35	2.02 ± 0.50*	3.10 ± 0.62**	26.160	<0.001
n	8	8	8	8	10		
ROR γ t mRNA 表达	1.38 ± 0.06	1.41 ± 0.08	1.50 ± 0.08	1.71 ± 0.11**	1.85 ± 0.11**	30.600	<0.001
n	6	6	6	6	6		

与空白对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表4 母鼠围生期暴露 BPA 对仔鼠 PND 21 时血清 IL-17 和 IL-23 含量影响(pg/ml $n = 6$)

项目	空白对照组	溶剂对照组	BPA 组			F 值	P 值
			10 nmol/L	100 nmol/L	1 000 nmol/L		
IL-17	9.86 ± 1.95	9.83 ± 2.21	12.97 ± 2.69	17.81 ± 2.96**	24.21 ± 4.49**	25.057	<0.001
IL-23	47.84 ± 5.18	49.09 ± 5.37	55.05 ± 6.59	69.86 ± 9.69**	77.74 ± 9.32**	18.836	<0.001

与空白对照组比较: ** $P < 0.01$

± 0.07)。空白对照组与溶剂对照组比较,子代脾脏 AHR mRNA 表达水平差异无统计学意义。AHR mRNA 表达水平随母鼠 BPA 暴露剂量的增加而上调,与空白对照组比较,10 nmol/L BPA 组 AHR mRNA 表达上调,差异有统计学意义($P < 0.05$),100 nmol/L BPA 组和 1 000 nmol/L BPA 组 AHR mRNA 表达差异更显著($P < 0.01$)。

2.6 仔鼠脾脏 Th17 细胞比例和 ROR γ t mRNA 表达水平与 AHR mRNA 表达水平的相关性 仔鼠脾脏 Th17 细胞比例与 AHR mRNA 表达水平作相关分析,显示两者呈正相关性且有统计学意义($r = 0.975, P < 0.01$); ROR γ t mRNA 表达水平与 AHR mRNA 表达水平作相关分析,两者也呈正相关性且有统计学意义($r = 0.998, P < 0.01$)。

3 讨论

环境 BPA 暴露主要通过消化道和皮肤接触等途径,本研究母鼠暴露 BPA 采用饮水摄入的方式,与人类暴露途径类似。BPA 具有弱的雌激素作用,研究^[3]显示环境相当剂量 BPA 暴露可对机体生殖、神经、代谢和内分泌等系统产生不良影响,本研究中母鼠 BPA 暴露的最高剂量为 1 000 nmol/L,按照母鼠每天饮水量 5~10 ml 计算,每天 BPA 摄入量最高为 45.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$,仍低于美国环保署(EPA)规定的参考剂量 50 μg 。

研究^[8]表明出生前 BPA 暴露可引起机体免疫功能改变,如引起 Th2 细胞产生的细胞因子减少和 Treg 数量下降等。Th17 细胞主要通过分泌 IL-17 等参与炎症、自身免疫性疾病和肿瘤等的发生和发展^[5]。Treg 与 Th17 细胞的平衡在维持机体的免疫稳态中发挥重要作用^[9]。本研究表明母鼠围生期低剂量 BPA 暴露可促进子代出生后 Th17 细胞的发育和功能改变。

ROR γ t 是 Th17 细胞特征性表达的转录因子,不仅在 Th17 细胞的分化发育中起着调控作用,还在 Th17 细胞功能中发挥关键作用^[5]。本研究 RT-qPCR 检测结果显示母鼠围生期 BPA 暴露可能上调子代 ROR γ t 的表达,促进 Th17 细胞分化发育和功能发挥。

AHR 是细胞内一类重要的外源化学物受体和配体活化的转录因子,与配体结合后可诱导靶基因转录。研究^[6]显示,AHR 还调节 Th17 细胞的分化发育。本研究显示仔鼠脾脏 AHR mRNA 随母鼠

BPA 摄入剂量的增加而上调,提示母鼠围生期环境低剂量 BPA 暴露可上调子代 AHR 的表达。这与研究^[10]结果一致。相关分析显示仔鼠脾脏 AHR mRNA 表达水平与 Th17 细胞比例和 ROR γ t mRNA 表达水平均呈正相关性,提示母鼠 BPA 暴露所致子代 AHR 表达上调可能在其导致子代 Th17 细胞比例增加和 ROR γ t 表达上调中起着调节作用。

综上所述,母鼠围生期饮水摄入低剂量 BPA 可能通过上调 AHR 表达、调控 ROR γ t 表达增加、促进仔鼠出生后 Th17 细胞的分化发育,从而影响仔鼠免疫功能。该结果为环境 BPA 暴露免疫发育毒性机制提供了一定的实验资料,至于母鼠暴露低剂量 BPA 诱导 AHR 上调、调控 ROR γ t 表达和 Th17 细胞分化发育的具体分子作用机制仍需进一步探讨。

参考文献

- [1] Huang Y Q, Wong C K, Zheng J S, et al. Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts[J]. *Environ Int*, 2012, 42: 91-9.
- [2] Vandenberg L N, Chahoud I, Heindel J J, et al. Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A [J]. *Environ Health Perspect*, 2010, 118(8): 1055-70.
- [3] Rochester J R. Bisphenol A and human health: A review of the literature [J]. *Reprod Toxicol*, 2013, 42: 132-55.
- [4] 丁宋军,李云,房魏,等.围生期高剂量双酚 A 暴露对仔鼠生命早期调节性 T 细胞的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(1): 26-9.
- [5] Miossec P, Korn T, Kuchroo V K. Interleukin-17 and type 17 helper T cells [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(9): 888-98.
- [6] Hayes M D, Ovcinnikovs V, Smith A G, et al. The aryl hydrocarbon receptor: differential contribution to T helper 17 and T cytotoxic 17 cell development [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e106955.
- [7] Quintana F J, Basso A S, Iglesias A H, et al. Control of T(reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor [J]. *Nature*, 2008, 453(7191): 65-71.
- [8] Yan H, Takamoto M, Sugane K. Exposure to Bisphenol A prenatally or in adulthood promotes TH2 cytokine production associated with reduction of CD4CD25 regulatory T cells [J]. *Environ Health Perspect*, 2008, 116(4): 514-9.
- [9] Littman D R, Rudensky A Y. Th17 and regulatory T cells in mediating and restraining inflammation [J]. *Cell*, 2010, 140(6): 845-58.
- [10] Nishizawa H, Morita M, Sugimoto M, et al. Effects of in utero exposure to bisphenol A on mRNA expression of arylhydrocarbon and retinoid receptors in murine embryos [J]. *J Reprod Dev*, 2005, 51(3): 315-24.

母亲孕期增重与婴儿气质的关系研究

朱 瑞¹ 张志刚² 高京华³ 袁 丁³ 王 敏³ 蔡淑英³ 赵 蕊¹ 徐 亮¹ 曹秀菁¹

摘要 目的 探讨孕期增重与婴儿气质的关系。方法 选取 5~7 月龄婴儿及其母亲为研究对象,根据美国医学研究所推荐的孕期增重适宜范围将其分为:孕期增重偏低、适中和偏高 3 组。结果 婴儿气质 9 个维度中的节律性、适应性、持久性和反应阈在不同的孕期增重组中差异有统计学意义,并且增重偏低组节律性和持久性的得分高于增重偏高组,增重偏高组反应阈得分高于增重适中组。分层分析进一步显示:母亲年龄 ≤ 30 岁时,孕期体重的变化对婴儿气质的节律性、适应性、心境和反应阈有影响($P < 0.05$),不管是母

亲受教育程度为中学及以下还是高中及以上时,节律性得分在 3 组之间差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 孕期增重异常可能会影响子代的气质,孕期保健应该加强对孕妇体重的监测,防止其对婴儿发育产生不良影响。

关键词 孕期;增重;婴儿;气质

中图分类号 R 172; R 715.3

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2015)07-0962-04

2015-04-14 接收

基金项目:安徽省高校省级自然科学研究重大项目(编号:KJ2014ZD18);国家自然科学基金(编号:30970906)

作者单位:¹安徽医科大学公共卫生学院儿少卫生与妇幼保健学系,合肥 230032

²安徽省宿州妇幼保健所 宿州 234000

³安徽省萧县妇幼保健所 宿州 235200

作者简介:朱 瑞,女,硕士研究生;

曹秀菁,女,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: xiujing-cao@yeah.net

妊娠期宫内环境的变化可对子代造成多方面的损害,孕期增重过多或过少会增加低出生体重、小于胎龄儿、早产和剖宫产等的风险^[1-2]。研究^[3]表明,孕期增重异常会增加子代患自闭症等的风险。气质是一种稳定的、持久的个性心理特征之一,主要表现在心理活动的强度、速度、稳定性和灵活性上,影响着婴儿的心理活动和行为,是个体发展的基础。气质不仅取决于遗传因素,同时也受环境因素的影响,如产前应激会导致子代节律性和持久性表现较差^[4]。目前关于孕妇孕期体重变化对婴儿气质影

Effects of perinatal maternal exposed to BPA on AHR mRNA expression and Th17 cell of offspring mice

Fang Wei, Li Yun, Li Yingpei, et al

(Dept of Health Toxicology, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective The present study was to investigate the effects of low-dose bisphenol A (BPA) exposure by drinking water during perinatal period on aryl hydrocarbon receptor (AHR) and Th17 cells in its offspring.

Methods The pregnant ICR mice were randomly divided into 5 groups: blank control, vehicle control, 10, 100 and 1 000 nmol/L BPA groups and exposed to BPA by drinking water from gestational day 0 (GD 0) to postnatal day 21 (PND 21). Fetuses were sacrificed on PND 21. The levels of IL-17 and IL-23 in serum were detected by ELISA, and the proportion of Th17 cells in spleen was measured by flow cytometry. RT-qPCR was conducted to detect the mRNA levels of ROR γ t and AHR in spleen. **Results** As compared to the control group, the maternal body weight during pregnancy, fetal body weight at birth and PND 21, the number of fetuses per litter, were all found of no significant difference in BPA groups. In fetuses at PND 21 in 100 and 1 000 nmol/L BPA groups, the proportion of Th17 cells in spleen was significantly increased ($P < 0.05$); the mRNA levels of ROR γ t and AHR were markedly raised ($P < 0.01$); meanwhile, serum IL-17 and IL-23 were significantly increased ($P < 0.01$), compared with the control. A positive correlation was observed between the proportion of Th17 cells and the mRNA levels of ROR γ t, AHR ($P < 0.01$). **Conclusion** Perinatal exposure of BPA at a low dose can increase the level of AHR, and promote the differentiation of Th17 cells through ROR γ t in offspring after weaning.

Key words bisphenol A; AHR; Th17; developmental immunotoxicity