



# 食品中化学危害暴露组与毒理学测试新技术 中国技术路线图



吴永宁

卫生部食品安全风险评估重点实验室(国家食品安全风险评估中心), 北京 100021

E-mail: wuyongning@cfsa.net.cn

2013-04-01 收稿, 2013-07-15 接受

国家重点基础研究发展计划(2012CB720804)、国家科技支撑计划(2012BAK01B01)和卫生行业公益性科研专项(201202005)资助

**摘要** 对于中国食品安全评估结果用于风险管理的转化技术路线图进行简单评述. 传统食品安全风险评估依赖于确定性模型技术, 现有毒理学测试存在由动物外推到人的缺陷, 现有膳食暴露没有实现个体化暴露组的评估. 本文阐述了 21 世纪毒理学测试新技术(TT21C)和暴露科学的新动向, 特别是中国食品安全风险评估中转化毒理学和暴露组学平台建设的中国技术路线图.

## 关键词

化学危害  
暴露组  
TT21C  
中国技术路线图  
食品安全

食品安全监管建立在风险分析框架之上, 其中风险评估是其重要科学基础<sup>[1,2]</sup>. 在传统食品安全领域中, 比较成熟的化学危害风险评估主要依赖确定性方法, 如使用未观察到有害效应的剂量水平(NOAEL)和膳食暴露平均水平或较高水平<sup>[3,4]</sup>. 伴随着新技术的进展, 概率性评估和分布方法已经用于危害和暴露的表征, 这为群体变异和风险估计的不确定性描述提供了更好的手段<sup>[5]</sup>. 在风险描述方面也有新进展, 如暴露边界比(margin of exposure, MOE)对不能实际定量描述风险的情况下健康关注程度描述提出了一个相对指标<sup>[6-10]</sup>.

## 1 风险评估结果的描述

### 1.1 健康指导值(health-based guidance values, HBGVs)

每日允许摄入量(ADI)/耐受摄入量(TI)或急性毒性参考剂量(ARfD)为风险管理者使用风险评估信息提供了定量手段, 使得确定人群健康保护水平成为可能<sup>[10]</sup>. 联合国粮农组织(FAO)/世界卫生组织(WHO)

食品添加剂联合专家委员会(JECFA)和农药残留联席会议(JMPR)针对食品(有时也包括饮用水)中不同化学品设立这些 HBGVs, 由健康终点(point of departure, POD)除以合适的安全系数(或称不确定系数)得到, 用来定量表达经口慢性或急性暴露的安全剂量<sup>[5,10]</sup>.

能够设立 HBGVs 是这一化学危害在有害效应机制中所呈现线性剂量-反应关系上的非线性 POD(阈值), 是从风险评估动物染毒关键研究中表征出的关键终点(如最敏感动物、最相关健康终点中不可逆的健康效应). 在化学危害的健康风险评估中的 POD 所采用的 NOAEL, 是其毒性反应与对照组比较没有统计学差别的最大剂量水平, 确定 NOAEL 需要娴熟的毒理学经验<sup>[6]</sup>. 鉴于这一工作较少利用动物试验的不同剂量, 新推广的基准剂量(benchmark dose, BMD)方法通过建立剂量-反应关系曲线的数学模型可克服这一缺点<sup>[8,9]</sup>; 这是指定特定风险或者效应的背景水平(基准反应, BMR)下拟合模型曲线所对应的剂量, 在规定可信度(如 95%)的 BMD 下限就是 BMDL<sup>[11]</sup>. 在风险评估时, 由于 BMDL 使用下限, 更加保守意味对健康保护更高. 毒理学实验由动物外推到人, 不

**引用格式:** 吴永宁. 食品中化学危害暴露组与毒理学测试新技术中国技术路线图. 科学通报, 2013, 58: 2651-2656

Wu Y N. China roadmap to explore food chemical exposome and new toxicology test (TT21C) (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2013, 58: 2651-2656, doi: 10.1360/972013-379

同人之间也存在个体差异,可分别指定 10 倍的不确定系数,因此传统意义上基于 NOAEL 的结果除以 100 倍的不确定系数(也叫安全系数)就得出 HBGVs<sup>[6-10]</sup>.

## 1.2 暴露边界比(MOE)

对遗传毒性致癌物剂量-反应关系,传统假设是直到零剂量都存在线性(或者转化为线性),即任何暴露水平都有某种程度的风险.因此,JECFA 对于这类化学物质不制定 HBGVs.由此,确定健康风险采用另外两个方法;一是直接确定所暴露剂量的癌症发生概率以确定风险在公共卫生意义上是否可以接受(如  $10^{-5}$ );另外一个就是最近发展的 MOE 方法(POD 与人群暴露估计的比值),用来估计人群暴露量与实验动物或者流行病学观察人群中产生可以测量效应的剂量相差多少.其 MOE 数值越大越安全,这为风险管理者确定风险管理优先行动和不同化学危害物确定应急行动提供了方法学手段<sup>[6-10]</sup>.

## 2 21 世纪毒理学测试新技术(TT21C)与转化毒理学

现有风险评估能力如果基于人群流行病学结果,全球每年能够完成一个化合物就十分不易;基于整体实验动物的毒理学评估每年能够完成的数量在 100 个,但真正能够符合条件的不足 10 个.但化学品成千上万,评估能力明显与新开发化合物的需求不适应,对原有化合物也没有得到很好评估.现代生物学技术的发展,一系列组学技术和毒性机制研究可以积累成千上万数据<sup>[12-15]</sup>.由此,提出转化毒理学(translational toxicology)的需求,就是将毒理学基础研究(甚至现代生物学基础研究)的成果转化为真正的公共卫生手段,这在黄曲霉毒素上进行了 50 年的实践<sup>[16]</sup>.伴随着动物福利问题的提出,减少、优化、替代动物试验(3R)成为当前的急迫需求,催生出美国科学院国家研究理事会(NRC)起草的科学咨询展望报告:21 世纪毒理学测试新技术(TT21C)<sup>[14]</sup>.TT21C 特别强调基于人的生物学,通过优先使用人的细胞系并直接预测人所暴露的安全评估,开启了现代评估实践的转化与转变,一旦成功将解决基于动物高剂量测试研究外推到普通人群低剂量暴露的问题,并使重点从危害鉴定转移到以风险为基础的

框架.不再因为评价人体暴露而对动物进行高剂量染毒.取而代之的是,采用基于毒性通路的方法去表征可能不产生损害的暴露剂量.这一技术的好处在于,对于人体健康风险评估提供与人更加相关的科学基础;如果这一新技术能够实现高通量,就可以覆盖更多的化合物、健康效应、生命阶段和混合物;当然获得良好结果所需要的时间和代价也大大减少;体外方法、系统生物学、计算机为基础的模型转化与技术转变将极大减少对实验动物的依赖.新模型中动物使用量大大减少,也使科学界和动物福利法等更加容易接受.

## 3 化学危害暴露组的表征技术

现行暴露评估绝大多数采用确定性模型,如果需要更精确结果(人群变异和不确定度描述)就要采用概率性和分布性评估方法.暴露评估是要与健康效应相联系的.尽管许多慢性病由遗传和环境共同作用,但其风险可能 70%~90% 归因于环境因素.流行病学研究疾病时,医学家更愿意依赖基因组相关研究(GWAS),仅采用询问调查表来表征“环境暴露”.由于不精确的环境数据使得花费颇巨的 GWAS 在环境相关疾病归因成效大打折扣,甚至发生偏差.这些流行病学研究对于不同因素的碎片化,如在大气和水污染、职业、膳食、肥胖、应急、行为或感染因素中仅涉及某个特定环境因素,对事实上可能通过多介质、多途径都发挥作用的这些环境因素并没有得到表征.国际癌症研究中心(IARC)主任 Wild<sup>[17]</sup>首先提出了暴露组的定义,即需要研究一个个体在其一生中所遇到的单个暴露与环境暴露的集合和继承.作为肿瘤病因学者,他强调为了更好地理解每一次暴露的作用要去重构这一个体过去所经历的暴露,才可产生真正的病因学研究假设.同样的,Barabasi<sup>[18]</sup>为了揭示在肥胖原因中涉及的环境和社会因素构建了疾病暴露组学;Goh 等人<sup>[19]</sup>对人类疾病有相似基因突变者建立人类疾病网络.所有这些有一个共同点就是在疾病的发生和演变机制及关键因子鉴定中具有类似特征研究.

要更全面表征环境暴露,就需要认识化学物质在体内对于关键分子、细胞和生理过程介导的效应,更要了解身体内部的化学环境及其内环境中生物有效化学物质的暴露.这就不仅是有关空气、水和食物的暴露测量,也需要考虑炎症、应急、脂质过氧化、

感染、肠道菌群和其他自然过程产生的内源性化学物质,如内源性亚硝化能力与外源性亚硝胺暴露要同时考虑。因此,暴露组从概念上讲是环境暴露总和<sup>[20,21]</sup>。尽管完全表征个体的暴露组十分困难,但对于其某个生命周期的关键时刻还是有可能的。极端的例子是“自下而上”方法,测量某个体某段时间暴露组的主要化合物外源暴露。另外,“自上而下”的方法是测定个体生物样品中的主要化合物,一旦暴露确定再探索其来源。这就是基于暴露生物标志物和高通量筛选技术来表征暴露组。

#### 4 中国膳食暴露评估研究进展及其在食品安全标准制定中的应用

总膳食研究(total diet study, TDS)是将食物样品经过烹调加工成为即食状态后进行测定,不仅能较好地解决人群针对性,还可覆盖较多的调查对象,是最经济有效的膳食暴露评估方法,WHO 一直致力推广这一技术。中国是成功开展 TDS 的发展中国家,并结合膳食调查和污染物监测数据所得到的膳食暴露数据,有效地用于食品安全风险评估与国家标准的制定,并为国家食品安全风险评估工作提供了技术保障<sup>[22]</sup>。

##### 4.1 食物消费量数据发布及更新

中国每 10 年开展一次膳食、营养与健康调查,但是从未系统地分析并公布高端食物消费量数据。2012 年通过向 WHO 提交食物消费量中国参数,被编入 WHO 膳食暴露评估方法的有关文件<sup>[23]</sup>,JECFA 短期(急性)膳食暴露评估中已经采纳食物消费量 P97.5 的

中国数据;特别是 JMPR 评估农药残留时采纳中国数据(14 个国家数据之一),结束了过去仅用美、英、德、法、荷、加、日、澳等发达国家数据的历史。

##### 4.2 应用于重金属与真菌毒素膳食暴露评估

向 WHO 提交有关铅、镉、汞(含甲基汞)、砷(含无机砷)、铝、丙烯酰胺、氯丙醇、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)和伏马菌素的中国膳食暴露量数据以及母乳中高氯酸盐的数据,被 WHO 技术报告采纳(WHO TRS 959, 960 和 966)<sup>[24-27]</sup>,有关家禽中甲基汞和粮食中隐蔽性 DON 数据仅来自中国。

##### 4.3 膳食铅和镉的暴露评估

我国先后开展了 4 次 TDS(1990, 1992, 2000 和 2007 年),得到的每人每日铅膳食摄入量分别为 86.3, 81.5, 81.1 和 50.5  $\mu\text{g}$ (图 1(a)),说明食品污染物限量国家标准 GB2762-2005 实施对 2007 年铅膳食暴露有明显改善(达 37%以上)。利用获得的全国 12 个省的代表性膳食样品以及膳食调查数据,得到中国居民 10 个性别年龄组的铅暴露量(48.7~116.7  $\mu\text{g}/\text{d}$ )、分布状况、膳食来源以及评价其暴露分布状况。2~7 岁及 8~12 岁组儿童少年的铅暴露不容乐观,其平均值和中位数对于 WHO 评估报告以智力影响为健康终点的 BMDL 计算 MOE 小于 1,甚至达到 0.1~0.3,属于急需采取控制措施的污染物。2007 年的铅暴露变异范围明显大于 2000 年;各年龄组铅暴露的中位数,2007 年明显低于 2000 年,说明整体铅暴露水平有明显下降;而高端暴露人群的铅暴露明显高于 2000 年,说明经 1996 年禁止使用含铅汽油后膳食铅暴露状况

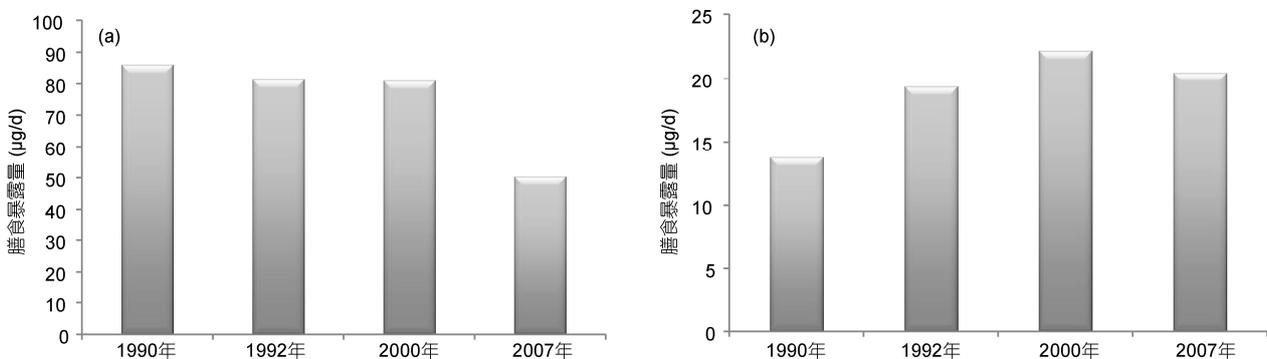


图 1 中国 TDS 中居民铅(a)和镉(b)膳食暴露量的变化趋势

在面源污染有了明显的改善,但是在铅污染整体改善的情况下在个别地区仍然存在,甚至出现新的污染(点源污染).因此全方位地降低食品中铅的含量,对保障低年龄组儿童少年意义非同寻常且势在必行<sup>[24,28]</sup>.这与国际社会全面修订更加严格的限量并从低年龄组儿童少年开始一致.

中国膳食镉暴露量评估提示我国镉污染在GB2762-2005实施前为增长趋势,即使实施GB2762-2005效果也有限,2007年TDS结果仅减少不到8%(图1(b)).JECFA最新修改的镉的暂定每月可耐受摄入量(PTMI)为25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重,而TDS获得的我国居民10个性别年龄组的镉的摄入量为每月16.3~36.9  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重.进一步评估膳食镉的食物来源主要是谷类,尤其是大米,贡献率接近50%.因此有效控制大米中镉的含量对于降低中国各性别年龄组的膳食镉暴露至关重要,中国食品安全国家标准GB2762-2012规定限量为0.2  $\text{mg}/\text{kg}$ (与欧盟一致),严于国际食品法典规定的限量(0.4  $\text{mg}/\text{kg}$ ).

#### 4.4 膳食无机砷与总砷的暴露评估及其大米砷限量国际标准制定

2007年第4次中国TDS结果表明,我国居民膳食总砷摄入量为6.9  $\mu\text{g}/\text{d}$ ,无机砷摄入量为3.0  $\mu\text{g}/\text{d}$ ;其中谷类食品是无机砷的主要来源,占70%.2010年JECFA鉴于原定PTWI与人群流行病学研究新证据,即与以肺癌为健康终点的日剂量BMDL<sub>0.5</sub>为3.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重(范围为2~7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  体重)接近,而撤销了健康指导值(HBGV).中国膳食无机砷的暴露接近BMDL<sub>0.5</sub>.因此,控制谷类食品,尤其是大米中无机砷的含量对于控制膳食无机砷的暴露水平至关重要,纳入中国食品安全国家标准GB2762-2012(限量为0.2  $\text{mg}/\text{kg}$ ).

2010年从全国12个省采集的近500份稻米、糙米和精米,测定其中总砷以及无机砷的含量水平,总体无机砷含量最小值、最大值、平均值、中位数、90百分位数、95百分位数和99百分位数分别为<0.04, 0.45, 0.13, 0.12, 0.21, 0.24和0.32  $\text{mg}/\text{kg}$ .其中精米中无机砷的平均含量相当于糙米的45.5%(范围12.6%~99.3%).说明大米的精加工可以有效去除其无机砷的含量.由于中国在全球食品中无机砷限量标准的制定处于先导地位,国际食品法典委员会授权中国牵头稻米砷限量与控制规范国际标准的电子工作组.

通过整合世界各国大米中总砷和无机砷的含量水平获得全球污染频数分布<sup>[29,30]</sup>,并充分使得中国数据可以有效地为食品安全限量国际/国家标准所引用和采纳,体现中国作为负责任大国在食品安全领域的贡献.

## 5 展望

无论是环境与健康研究,还是食品安全风险评估实践,目前均采用单一化合物的评估.但实际上,我们所暴露的环境与摄入食品中的化学危害,绝大多数是长期、低剂量的化学危害混合暴露.现有风险评估方法利用动物开展毒理学评价存在着如下不确定性:动物向人外推、高剂量向低剂量外推、敏感人群预测.TT21C采用基于毒性通路的试验策略,研究关键靶组织、器官和某个生命阶段的毒性通路,以及它们与整个生物机体和暴露途径的相互联系.化学危害混合暴露风险评估是当前的难点和挑战,需要开展以人群为基础的化学物暴露组特征的研究,并将毒性通路与暴露组技术结合.在分子流行病学中已经设想将个体暴露组用于疾病与健康群体的区分.其应用目标一是在疾病与健康中寻找病因,其二是鉴定有害暴露并减低这一暴露.风险评估手段和信息的进展会为风险管理者提供更多手段,包括转化毒理学和暴露组学平台<sup>[30,31]</sup>.

目前,美国科学院国家研究理事会(NRC)展望的TT21C,仍然需在以下方面开展研究:(1)研发合适的通路测试技术;(2)研究通路扰动与有害效应/反应之间的关系;(3)对于通路功能构建细胞模型和解释技术;(4)研发体外测试外推到整体结果的剂量-反应关系模型;(5)基于人体健康风险评估将各种研究数据按照风险证据权重进行整合.由此,目前的当务之急是基于人传代细胞有关毒性通路模型构建和基于生物信息学的计算毒理学技术的开发.展望21世纪暴露科学和TT21C的技术发展趋势和需求,基于中国食品安全现状和环境健康研究领域的基础,根据国际进展提出中国技术路线图(图2),应重点在如下技术领域取得突破:(1)基于人源性细胞系发展替代动物试验;(2)发展敏感、高通量的毒性通路检测技术(qHTS);(3)效应终点与标志物筛选技术;(4)暴露组分析技术;(5)基于剂量反应关系的计算毒理学技术(QSAR);(6)数据挖掘、整合与分析技术.

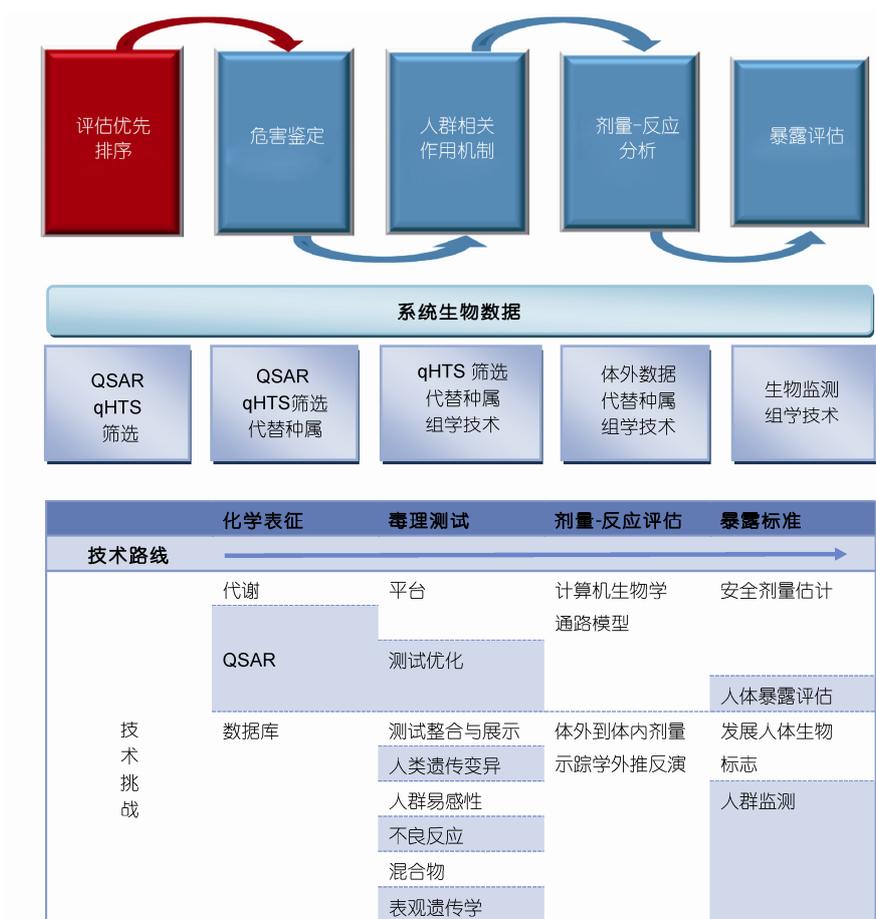


图2 化学危害暴露组与毒理学测试新技术中国技术路线图

## 参考文献

- 1 Wu Y N, Chen Y. Editorial: Food safety in China. *J Epidemiol Community Health*, 2013, 67: 478–479
- 2 FAO. Food Safety Risk Analysis, A Guide for National Food Safety Authorities (FAO Food and Nutrition Paper 87). Roma: FAO, 2006
- 3 Abt E, Rodricks J, Levy J, et al. Science and decisions: Advancing risk assessment. *Risk Anal* 2010, 30: 1028–1036
- 4 吴永宁 陈君石. 开展食品污染监测 强化暴露评估研究. *中华预防医学杂志*, 2007, 41: 435–437
- 5 Slob W, Pieters M N. A probabilistic approach for deriving acceptable human intake limits and human health risks from toxicological studies: General framework. *Risk Anal*, 1998, 18: 787–798
- 6 Allen B C, Kavlock R J, Kimmel C A, et al. Dose-response assessment for developmental toxicity II. Comparison of generic benchmark dose estimates with no observed adverse effect levels. *Fundam Appl Toxicol*, 1994, 23: 487–495
- 7 Barnes D, Dourson M. Reference dose (RfD): Description and use in health risk assessments. *Regul Pharmacol Toxicol*, 1988, 8: 471–486
- 8 Bokkers B G H, Bakker M I, Boon P E, et al. The practicability of the integrated probabilistic risk assessment (IPRA) approach for substances in food. In RIVM rapport 320121001. 2009. <http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/320121001.html>
- 9 European Food Safety Authority (EFSA). Guidance of the Scientific Committee on a request from EFSA on the use of the benchmark dose approach in risk assessment. *EFSA J*, 2009, 1150: 1–72
- 10 International Programm on Chemical Safety (IPCS). Environmental Health Criteria 240: Principles and Methods for the Risk Assessment of Chemicals in Food. Geneva: WHO, 2009
- 11 USEPA. Benchmark dose software (BMDS). 2010. <http://www.epa.gov/ncea/bmds/>
- 12 Carrington C, Bolger P M. The limits of regulatory toxicology. *Tox Appl Pharmacol*, 2010, 243: 191–197
- 13 Collins F S, Gray G M, Bucher J R. Toxicology, transforming environmental health protection. *Science*, 2008, 319: 906–907

- 14 National Research Council of the National Academy of Science (NRC). Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy. Washington, DC: The National Academies Press, 2007
- 15 Bhattacharya S, Zhang Q, Carmichael P L, et al. Toxicity testing in the 21st century: Defining new risk assessment approaches based on perturbation of intracellular toxicity pathways. *PLoS One*, 2011, 6: e20887, doi: 10.1371/journal.pone.0020887
- 16 Kensler T W, Roebuck B D, Wogan G N, et al. Aflatoxin: A 50-year odyssey of mechanistic and translational toxicology. *Toxicol Sci*, 2011, 120: S28–S48
- 17 Wild C P. Complementing the Genome with an “exposome”: The outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14: 184–188
- 18 Barabasi A L. Network medicine—From obesity to the diseaseome. *N Engl J Med*, 2007, 357: 404–407
- 19 Goh K I, Cusick M E, Valle D, et al. The human disease network. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 8685–8690
- 20 Lioy P, Rappaport S M. Exposure science and the exposome: An opportunity for coherence in the environmental health sciences. *Environ Health Perspect*, 2012, 119: A466–A469
- 21 Rappaport S M, Smith M T. Environment and disease risks. *Science*, 2010, 330: 460–461
- 22 李筱薇, 吴永宁, 陈君石. 中国总膳食研究二十年的发展演变. *中华流行病学杂志*, 2011, 32: 456–459
- 23 FAO. Joint FAO/WHO Expert Meeting on Dietary Exposure Assessment Methodologies for Residues of Veterinary Drugs: Final Report Including Report of Stakeholder Meeting. Rome: FAO, 2012
- 24 WHO. WHO Technical Report Series 959. Evaluation of Certain Food Contaminants: Seventy-second Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO, 2010
- 25 WHO. WHO Technical Report Series 960. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Seventy-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO, 2011
- 26 WHO. WHO Technical Report Series 966. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Sixty-fourth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva: WHO, 2012
- 27 吴永宁. 中国食品安全风险评估需从膳食暴露评估起航. *环境与健康展望*, 2013, 121: 3–4
- 28 李筱薇, 刘卿, 刘丽萍, 等. 应用中国总膳食研究评估中国人膳食铅暴露分布状况. *卫生研究*, 2012, 41: 456–459
- 29 CCCF. CX/CF12/6/8 Proposed draft Maximum Levels for Arsenic in Rice (at Step 4). In: The 5th Session of the Codex Committee on Contaminants in Foods (CCCF), Maastricht, Netherlands, 26–30 March 2012. [ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf6/cf06\\_08e.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf6/cf06_08e.pdf)
- 30 Wu Y N. Translational toxicology and exposomics for food safety risk management. *J Transl Med*, 2012, 10 (Suppl 2): A41–A43
- 31 National Research Council of the National Academy of Science (NRC). Exposure Science in the 21st Century: A Vision and a Strategy. Washington, DC: The National Academies Press, 2012

---

## China roadmap to explore food chemical exposome and new toxicology test (TT21C)

WU YongNing

*Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment, Ministry of Health (China National Center for Food Safety Risk Assessment), Beijing 100021, China*

This is a brief perspective on China roadmap for risk management technology translation dealing with the new outcome from risk assessment. Traditionally, risk assessment is based on deterministic endpoints. From this start point, the disadvantage is reviewed in current toxicology test and dietary exposure, e.g., the result extrapolation from high dose in animal test to human being, rare in individuals' exposomes. The vision and strategy has been explored for exposure science and toxicity testing in the 21st century (TT21C), China roadmap should be explored how to establish the platform and combining translational toxicology and exposomics in food safety risk assessment in China.

**chemical hazard, exposome, TT21C, China roadmap, food safety**

doi: 10.1360/972013-379