

环境污染物复合暴露毒性和健康风险评估方法研究进展

杨立新, 王静涵

中国环境科学研究院, 环境基准标准与风险管控全国重点实验室, 北京 100012

摘要: 目前常用的环境污染物毒性和健康风险评估方法主要针对环境中单一污染物和单一暴露途径所致的毒性和健康风险。事实上, 人类和野生动物不可避免地遭受来源于环境介质、食物和饮用水中多种化学污染物的暴露, 同时受到病原生物、射线、发育阶段、心理和个人所从事职业等多种因素的影响。本文总结了环境化学污染物复合暴露、毒性和健康风险评估方法以及所面临的挑战, 结果表明: 每个组分的浓度或暴露剂量即使低于其未观察到有害效应水平 (NOAEL) 或暴露剂量限值, 但由其组成的混合物的复合暴露能够产生毒性以及导致不良健康结局; 忽视环境化学污染物复合暴露毒性, 将低估环境化学污染物复合暴露所造成的环境影响和健康损害; 建立定量估算化学污染物复合暴露毒性和评价其健康风险的科学方法是当前急需解决的关键问题。基于以上研究结果, 提出以下两点建议: 一是运用基因组、转录组、蛋白质组和代谢组学技术, 筛选、鉴别与环境污染物复合暴露毒性和不良健康结局直接相关的生物标志物; 二是建立基于生物标志物水平定量计算环境化学污染物复合暴露毒性和不良健康结局的方法, 为制订环境化学污染物管理政策提供科学依据。

关键词: 化学污染物; 毒性; 健康风险评估; 生物标志物

中图分类号: X18

文章编号: 1001-6929(2025)02-0419-09

文献标志码: A

DOI: 10.13198/j.issn.1001-6929.2024.12.11

Advances in Toxic Effects and Health Risk Assessment of Combined Exposure to Multiple Pollutants

YANG Lixin, WANG Jinghan

State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

Abstract: Currently, toxic effects and health risk assessments are typically conducted on the basis of individual pollutant, mostly addressing a single source of exposure (i.e., one pollutant and one exposure route). In fact, wildlife and humans are continuously exposed to mixtures of both known and unknown chemicals from environmental media, food, and drinking water through different routes and duration of exposure. Simultaneously, exposure to pathogens, radiation, and psychosocial stressors (e.g., fear of violence, lack of social network) varies widely depending on life stage and occupation. This review aims to summarize the findings on the toxicity and adverse effects associated with exposure to multiple chemicals and to identify current challenges in the implementing health risk assessments of such combined exposures. Several lines of evidence suggest that exposure to multiple chemicals at levels below the effect thresholds for individual chemicals (i.e., NOAEL or ED₁₀) may still lead to toxic effects or adverse outcomes due to potential combined effects. Ignoring the possibility of joint actions of multiple chemicals can significantly underestimate the toxicity and health risks. There is an urgent need to establish paradigms to assess the toxicity and health risk associated with exposure to combinations of multiple chemicals. Based on these findings, we recommend that the toxicological signatures causally related to the toxicity and/or adverse effects of combined chemical exposure should be identified using Omics approaches (i.e., genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics). These signatures associated with toxic effects and/or apical outcomes of diseases could be used to develop predictive models for assessing the toxicity and/or diseases associated with chemicals mixtures.

Keywords: chemical pollutants; toxicity; health risk assessment; signatures

收稿日期: 2024-10-22

修订日期: 2024-11-20

作者简介: 杨立新(1966-), 男, 陕西汉中, 研究员, 博士, 主要从事分子毒理学和神经生物学研究, yanglx@craes.org.cn

基金项目: 国家重点研发计划项目 (No.2023YFC3205802)

Supported by National Key Research and Development Program of China (No.2023YFC3205802)

化工技术的进步使得人类合成化学物质的种类和数量快速增加,2024年7月美国化学学会物质合集(CAS registry)发布的化学物质数量为2.19亿。根据理论计算,化学物质的数量可能在 10^{18} ~ 10^{200} 之间^[1]。目前人类使用的超过95%的人造商品和物品由化学物质制成。全球19个国家和地区用于生产和消费的化学物质的数量超过35万种^[2],其中年产量1t以上的化学物质数量超过3万种,在欧盟市场上销售的商品中使用的化学物质大约7万种^[3]。广泛存在于环境介质、日用品、食物和饮用水中的化学物质造成人类或野生动物不可避免地受到多种污染物的持续暴露。2019年美国发布的《第四个人体生物监测报告》报道了352种已知毒性的化学物质及其代谢产物检测结果^[4],其中汞、双酚A、丙烯酰胺、全氟化合物(per-and polyfluoroalkyl substance, PFAS)和多溴联苯醚(polybrominated diphenyl ether-47, PBDE-47)检出率为90%~100%。成人生物样本、脐带血和孕期女性生物监测数据说明,每一个成人和胎儿发育过程广泛暴露于多种环境化学污染物^[5-6]。

环境污染物暴露导致的环境灾难和健康损害引起了公众的高度关注,受到国际组织和世界各国的高度重视。例如,水俣病^[7]、印度博帕尔异氰酸甲酯泄露^[8]和墨西哥湾深海漏油事件^[9]导致的健康损害、公共安全和环境灾难的影响犹存。儿童神经系统的发育对环境因素最敏感,统计数据显示,早产儿中有近一半的婴儿具有先天性神经缺陷,神经系统缺陷导致美国13.1%婴幼儿死亡^[10-11]。越来越多的证据表明,婴幼儿中超过60%的神经发育缺陷、行为异常和智力损害与环境因素,尤其是广泛存在于环境中的化学物质有关^[12]。动物实验已经确认具有神经毒性的化学物质超过1000种,可导致成人神经系统损伤的化学物质有214种^[13]。PBDE-47和有机磷农药毒死蜱每年分别导致欧盟3290和59300名新生儿出现智力缺陷,由此导致的经济损失高达1560亿欧元^[14-15]。邻苯二甲酸酯类化合物暴露导致2018年美国56595名婴儿早产,经济损失达38.4亿美元^[16]。此外,孕期PFAS暴露与儿童染色体结构异常相关^[17]。

研究^[12-13]表明,环境因素(尤其是环境化学污染物暴露)是导致人类疾病和健康损害的重要原因,环境因素导致的人类疾病被列入21世纪人类面临的最重要的挑战之一。为了应对化学污染物对人类健康和生存环境的危害,发达国家以及国际组织和机构相继建立了对化学品实施全面安全评价计划以及对危险化学品进行严格管理的制度。例如,欧盟实施的化

学品登记、评价、授权和限制(REACH)计划;2016年生效的美国面向21世纪化学品安全法(Lautenberg Chemical Safety for the 21st Century Act, LCSA)清单中收录近8万种化合物,包括2.5万种目前广泛应用的化学物质以及3000种年销售量超过100万磅的化学物质^[18]。目前环境化学污染物管理政策和环境健康基准几乎全部依据单一化学污染物毒性和健康效应数据^[19-20],包括环境质量标准、未观察到有害效应浓度(NOAECs)、每日允许摄入量(acceptable daily intake/tolerable daily intake, ADI/TDI)和参考剂量(reference dose, RfD)等,将环境污染物复合暴露毒性研究结果纳入管理的案例较少^[3]。

近20年来,大量研究对“组成环境有害化学污染物混合物的每种组分的浓度如果低于其安全浓度,即NOAECs,那么由这些组分组成的混合物的环境影响和健康风险可以忽略不计”这一假说提出了挑战^[21-22]。研究^[19,23]发现,使用已有健康风险评价方法,即基于单个环境有害化学污染物毒性和单一暴露途径所导致的健康损害的因果关系,不能有效保护人类健康。基于原有的健康风险评价方法建立的环境质量标准不能有效保护环境安全。如按照欧盟水质框架协议对300多种环境化学污染物(占REACH注册登记的146000种化学物质的0.2%)进行监测的管理政策,并没有实现欧盟地表水质量管理的预期目标^[23]。此外监测数据分析结果^[23]揭示,环境化学污染物复合暴露是限制地表水物种丰度的因素。基于这些研究,欧盟以及世界卫生组织(WHO)、经合组织(OECD)和美国环境保护局(US EPA)相继提出对化学污染物复合暴露的健康风险进行评估,对环境化学污染物混合物进行管理的建议^[3,24]。

现行的污染物管理实践,通常应用污染物的NOAELs,结合1/1000~1/10不确定性因子确定暴露限值或用于确定风险指导值。考虑到剂量加和效应能够近似地估算污染物混合物的健康风险,目前采用危险指数法(hazard index, HI)、分离点指数法(point of departure index, PODI)、暴露阈值法(margin of exposure, MOE)和相对效能因子法(relative potency factors, RPF)来评价污染物复合暴露的健康风险^[24]。例如,US EPA建立的累计风险评价(cumulative risk assessment, CRA)方法,包括污染物暴露评估、毒性评价和污染物混合物风险表征。污染物暴露评估主要评价受体(个人)遭受的所有相关化合物、所有相关来源、多种暴露途径和暴露时间等暴露数据。由于对污染场地的大部分污染物种类有一定的认知,

US EPA 给出特殊污染场地污染物暴露评估建议清单, 其中包括 52 种挥发性、67 种半挥发性化合物以及 30 种农药和 23 种金属。经暴露评估后, 估算个人总暴露剂量。依据单一化合物的 RfD 定量估算混合物毒性。按照致癌性和非致癌性混合物健康效应进行风险表征。污染物混合物的总致癌风险依据单一污染物致癌风险计算, 非致癌风险按照 HI 估算。欧盟采用毒性单位 (toxic unit) 来评估污染物混合物的生态风险^[3]。CRA 方法仅局限于评价呈现剂量加和效应的污染物复合暴露的健康风险, 不能用于评估经多种暴露途径、多种化合物及不同发育阶段暴露的健康风险。如何有效评价环境有害化学污染物混合物的环境影响和健康损害成为当前最受关注的核心问题。本研究将在总结污染物混合物暴露现状、毒性估算和健康风险评估方法研究进展和面临挑战的基础上, 提出建立基于毒性或疾病直接相关的生物标志物变化水平来预测和计算环境化学污染物复合暴露毒性和健康风险评估方法, 以期创建科学的预测污染物复合暴露所致毒性和健康风险评估方法提供依据。

1 低浓度化学污染物混合物所致毒性和健康风险

研究^[25-28]发现, 无论是急性、亚急性还是慢性污染物复合暴露, 尤其是污染物的每个组分的浓度低于其 NOAECs 的情况下, 均可能产生显著的毒性、有害效应和不良健康结局。例如, 低于 NOAECs 的 8 种和 5 种雌激素干扰剂的混合物能够产生显著的雌激素活性效应^[25-26]。5 种低于 NOAECs 的类固醇激素类药物混合物显著抑制鱼类产卵数量^[27]。即使每个组分的浓度低于其 NOAECs 的内分泌干扰剂混合物, 也能够干扰和改变甲状腺激素 T4 水平^[28]。研究^[29]显示, 当斑马鱼胚胎暴露于地表水中广泛检出的 15 种化学污染物的混合物时, 即使所有组分浓度均低于其效应浓度阈值 (如 NOAECs), 也能导致斑马鱼出现显著的毒性。研究^[30]发现, 用人类胚胎羊水中检出的 15 种化学污染物的混合物暴露爪蟾胚胎, 当所有组分的浓度与羊水中污染物浓度相同时, 也能影响爪蟾胚胎甲状腺活性和水平, 并导致脑发育异常。最近一项研究^[31]发现, 用孕期女性尿液中检出的 20 种具有激素活性的污染物的混合物暴露小鼠、爪蟾、斑马鱼和人类细胞, 当各组分浓度与尿液中污染物处于相同水平条件下, 污染物复合暴露不但可以干扰小鼠、爪蟾、斑马鱼及人类细胞信号通路, 而且受复合暴露干扰的信号通路与导致实验动物肥胖、行为异常和

性器官发育缺陷有关。与此相似, 实验动物和人类细胞暴露于孕期女性血液中检出的 45 种内分泌干扰剂的混合物, 即使在所有组分浓度与血液中污染物浓度相同的情况下, 也产生了与尿液混合物相似的毒性效应^[31]。此外, 研究^[32-34]发现, 当水生动植物 (包括微藻、水蚤、斑马鱼和爪蟾等) 暴露于按欧盟水质环境质量标准浓度制备的 14 种优控污染物和 19 种有害化学物质的混合物后, 均产生毒性效应, 尤其当混合物的每个组分浓度低于其 NOAECs 的 1/100 时, 复合暴露依然产生毒性。

按照不同的健康结局, 一般将人类和哺乳动物污染物复合暴露的毒性效应分为遗传毒性“三致效应”(致癌、致突变和致畸)、呼吸毒性、生殖毒性、内分泌毒性、免疫毒性和神经毒性等。生态毒性研究工作主要关注在环境介质中广泛存在的化学品、农药、重金属和表面活性剂等混合物对非人类生物体的毒性效应。虽然污染物复合暴露呈现多样的毒性和健康效应, 但是污染物复合暴露所呈现出的毒性高于各组分预期的毒性效应的事实 (如超额毒性) 是环境健康风险评估需要解决的关键问题^[35]。预测复合暴露导致的超额毒性或健康风险的核心问题是“是否可以依据混合污染物各组分的毒性来估算复合暴露的毒性、评价健康风险”, 为了解决这一核心问题, 在用污染物组分的毒性来预测或计算复合毒性效应的大量研究工作 (如基于药物毒性的评价方法) 基础上, 研究人员建立了一系列用于估算污染物复合暴露毒性和评价健康风险的数学模型^[32]。近年来, 化学物质混合物的毒性估算和健康风险评估方法虽然取得了进展, 但是目前仍然缺乏预测污染物复合暴露所致人群健康风险和危害的科学方法。

2 化学污染物复合毒性和健康风险评估方法

理论上, 通过测试环境化学污染物组成的混合物的毒性, 或通过模型按照混合物的组分和浓度估算混合物毒性的方法, 能够定量分析污染物复合暴露的毒性和评价其健康风险。事实上, 测试混合物毒性方法无法实现应对真实环境中存在的不计其数的污染物混合物的毒性测试需求。此外, 由于绝大多数环境化学污染物缺少毒性相关数据, 按照混合物组分和浓度来估算混合物的毒性和健康风险的方法也受到诸多限制。鉴于此, 借鉴估算药物混合物毒副作用的方法, 如浓度加和、独立作用和交互作用等数学模型^[36-37], US EPA 及有毒物质和疾病登记署 (ATSDR)、WHO 与化学品安全国际计划 (IPCS)、欧洲食品安全管理科学委员会 (EFSA) 和 OECD 相继提出和建立了环

境化学污染物混合物的环境影响和健康风险评价框架和指导原则。

2.1 浓度/剂量加和

使用浓度加和方法计算污染物的复合毒性所需要的前提条件是组成混合物的所有组分遵循相同的作用模式 (mode of action, MoA), 作用于相同的生物靶点, 而且每一个组分的毒性效能不同。也就是组成混合物的每一个组分根据其浓度, 按照一定的比例产生毒性, 无论其组分浓度是否低于其 NOAELs。毒性估算公式参考文献 [27], 模型模拟结果如图 1 所示。

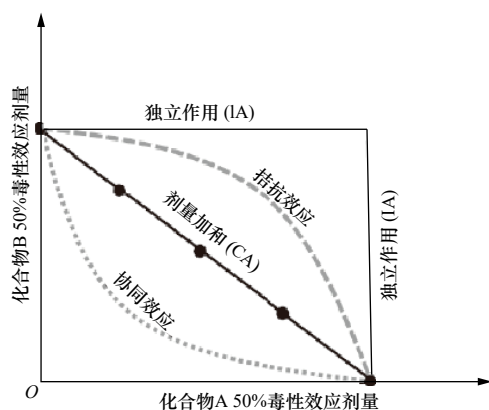


图 1 化合物 A 和 B 单独暴露的毒性效应与模型计算的混合物复合毒性效应关系^[38]

Fig.1 Illustrating the possible effects of a binary combination of chemicals A and B with equivalent effect levels (ED₅₀)^[38]

二噁英类化合物, 包括多氯二苯并对二噁英 (PCDDs)、多氯二苯并呋喃 (PCDFs) 和多氯联苯 (PCBs) 均通过结合细胞的芳香烃受体 (AhR) 产生毒性^[21], 即这些化合物具有相同的 MoA。按照浓度加和模型的前提条件, 将毒性最强的二噁英 (TCDD) 的毒性当量因子 (TEF) 设定为 1.0, 即 TEF=1.0。根据不同的二噁英类化合物毒性与 TCDD 毒性的比值, 赋予不同种类二噁英类化合物的毒性当量后, 将所有组分的毒性当量累加来计算二噁英类污染物的毒性。与此相似, 通过累加所有组分的 RPF, 可以计算多环芳香烃类 (PAH) 和 PFAS 组成的混合物的毒性。使用 RPF 方法时, 需要将混合物中所有组分的毒性按照标准物质的毒性转换成标准物质的等效浓度或剂量。使用浓度加和方法的核心制约因素是如何判断一种化合物属于某一个特定的化合物类别^[39]。同时, 由于某一类化合物可能存在多个靶器官, 而且每一种化合物的代谢途径不同, 在使用毒性当量因子方法计算该类混合物毒性时, 需要考虑这些差异

带来的不确定性。例如, PFAS 可能通过结合多个细胞核受体产生肝脏毒性、发育毒性、免疫毒性和致癌性^[40], 因此在评价 PFAS 的发育毒性时, 需要考虑其对孕期女性的影响, 及其间接影响胎儿发育所造成的不良发育结局的风险。

基于对具有相同或不同 MoA 的化合物可能影响相同细胞生物学过程的认知, EFSA 提出了累积评价群 (CAG) 概念, 用于指导对具有相同生物学效应的化合物组成的混合物的健康风险评价。例如, 导致运动障碍的乙酰胆碱酯酶活性抑制剂 (农药)、产生脂肪肝和神经管畸形的化合物等组成的混合物复合暴露的健康风险评价^[24]。虽然浓度加和模型在估算污染物混合物复合毒性方面仍存在不足, 但是浓度加和模型对包括农药、化学品、食品添加剂、化妆品组分和药物等 80 种化合物的混合物的复合毒性预测结果与实验结果呈现较好的一致性^[41], 因此 EFSA 推荐浓度加和方法作为评价累积健康风险的方法^[42]。

2.2 独立作用

使用独立作用方法计算污染物的复合毒性所需要的前提条件是组成混合物的所有组分按照不同 MoA 作用于不同的生物靶点, 而且组分之间不存在相互作用。独立作用模型遵循随机原理, 即混合物的毒性由其组分的毒性概率的乘积来计算。理论上, 组成混合物组分的浓度低于其 NOAEC (即零毒性浓度) 时, 混合物将不产生毒性。由 100 种化合物组成的混合物分别产生 1% 和 0.1% 毒性效应的条件下, 按照独立作用模型计算的混合物的复合毒性分别为 63% 和 9.5%, 而体内毒性实验能够测试的毒性最低限值为 10%~30%, 由此将导致毒性计算误差^[41]。毒性估算公式参考文献 [27], 模型模拟结果如图 1 所示。

研究^[24]发现, 食物中所有化学污染物的浓度如果低于其安全浓度限值时, 食物中化学污染物的所有组分之间不太可能发生独立作用, 从而产生超过浓度加和方法计算的毒性效应, 即产生超额毒性。例如, 对 5 种类固醇激素组成的混合物抑制鱼类产卵效应的估算结果与实验结果比较发现, 独立作用模型估算的混合物毒性效应与实验结果的一致性好于用浓度加和模型计算的结果。研究^[27]发现, 能减少雌性成鱼排卵数量 18%~40% 的 5 种激素组成的混合物复合暴露雌性成鱼后, 雌性成鱼的产卵数量为 0, 说明 5 种激素组成的混合物产生的毒性效应超过了根据浓度加和方法计算的毒性。事实上, 在低浓度或环境浓度暴露的情况下, 无论是浓度加和还是独立作用模型在计算复合暴露的毒性效应时均出现较大的不确

定性^[43-45]。

2.3 交互作用

交互作用特指混合物的复合毒性效应不同于剂量加和或独立作用模型,即混合物毒性低/弱于各组分的加和效应,呈现拮抗/抑制效应(antagonistic effects);混合物效应强于各个组分的加和效应,呈现协同效应(synergistic effects)(见图1)^[38]。例如,赭曲霉毒素 A(OTA) 导致细胞产生氧化应激,细胞色素 P450 酶(CYP) 参与代谢赭曲霉毒素 A,而抑制 P450 酶活性的 1-氨基苯并三唑(ABT) 能够显著增强赭曲霉毒素 A 导致的肝脏毒性,而且肝脏毒性可以在 1-氨基苯并三唑不产生肝脏毒性的剂量条件下出现^[46]。以上结果表明,由两种不同 MoA 的化合物组成的混合物毒性强于二者单独暴露的毒性,即出现毒性协同效应^[46]。对 2 个二噁英类(TCDD 和 PCDD)、4 个呋喃(TCDF、1-PCDF、4-PCDF 和 OCDF) 和 12 个 PCBs 按比例组成的混合物影响大鼠血清 T4 甲状腺素水平的研究^[28] 发现,浓度为 NOAEC 的任意组分组成的混合物对血清中 T4 浓度的下降呈现剂量依赖性的协同效应,协同效应的强度约是浓度加和效应的 2.5 倍。评价污染物混合物协同和拮抗效应的健康风险模型包括 HI 和药代动力学(PBPK) 模型,但是两种方法需要假设条件和引入不确定性常数,因此不能有效估算和评价混合物复合毒性和健康风险。

2.4 基线剂量

基线剂量方法是依据剂量效应关系确定某一有害健康结局的剂量水平,用于确定发生不良健康结局的发生率或程度。基线响应剂量(BMR) 计算公式参考文献^[47]。

NOAEL/NOAECs 均依赖毒性研究方法和所使用的统计方法,因此不同的研究会产生不同的 NOAEL 或 NOAECs,而且不能估算任意剂量的毒性。与 NOAEL/NOAECs 相比,用基线剂量方法计算不同研究结果所得数据呈现较好的一致性以及具有更合理的不确定度估算方法,因此 EFSA 认为基线剂量方法在科学性上优于用 NOAEL/NOECs 估算的有害效应的参考剂量,建议用基线剂量方法评估食品化学污染物的健康风险,并出版了基线剂量(BMD) 导则。导则建议采用 95% 置信区间下限设置的最低基线剂量(BMDL) 作为参考点(RP) 或分离点来确定污染物健康风险指导值,包括 RfDs、ADIs 和风险水平(RVs)。此外,US EPA 也出版了 BMD 计算方法^[48]。

2.5 Chou-Talalay 方法(CT)

CT 方法是依据平衡稳态下的质量作用定律,建

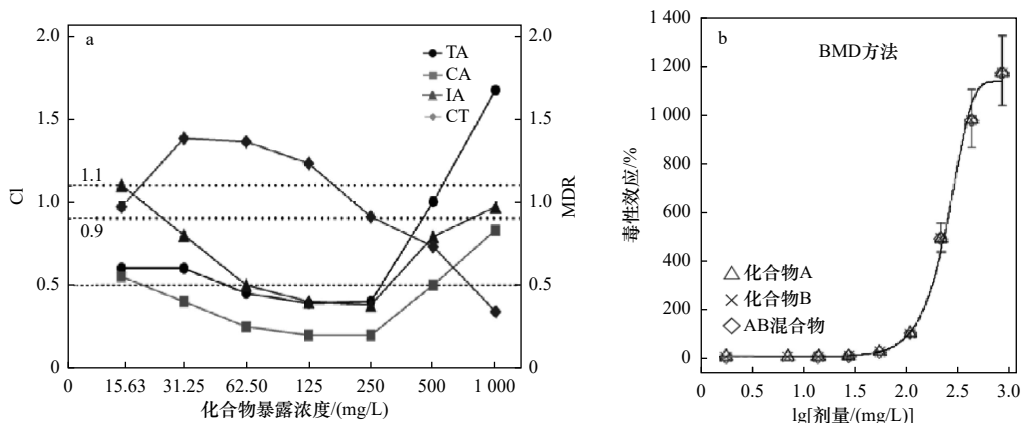
立计算多种药物复合作用的通用方法。依据组合指数(CI) 来确定药物相互作用类型,即 $CI < 1$ 表示药物混合物组分之间呈现协同效应, $CI = 1$ 表示药物混合物组分之间呈现浓度加和, $CI > 1$ 表示药物混合物组分之间呈现拮抗效应。组合指数计算公式参考文献^[49]。

3 污染物复合暴露毒性和健康风险评价方法面临的挑战

3.1 污染物复合暴露毒性和健康风险评价方法计算结果比较

浓度加和、独立作用、交互作用、CT 方法和基线剂量模型在计算污染物混合物复合毒性时,计算结果均与实验结果存在一定偏差,区别之处在组分的不同浓度对混合物复合毒性效应计算结果的影响(见图2)。目前,浓度加和及独立作用模型主要用于预测致死性、高浓度污染物的混合物的急性毒性和致癌性/非致癌性污染物混合物的健康风险评价^[43]。虽然内分泌干扰剂组成的混合物的毒性实验结果支持这两种模型^[44],但是在预测低浓度和实际环境浓度暴露情况下的混合物的复合毒性效应时,这两种模型计算的结果呈现出较大的不确定性^[45]。由图2可见:浓度加和模型在预测化合物 A 和 B 组成的混合物的复合毒性时,在低浓度和高浓度暴露情况下,计算结果与实验结果的一致性较好;独立作用模型计算的结果在中等浓度暴露情况下与实验结果出现偏离;而 CT 方法计算的结果在高浓度时发生偏离;BMD 方法计算的毒性结果与浓度加和效应实验结果的一致性最好。由此可见,除了计算化合物复合暴露毒性的浓度加和模型外,目前缺乏预测协同和拮抗效应的标准模型。由于缺乏有效地估算污染物协同和拮抗效应的标准数学模型,目前无法制订应对具有协同和拮抗效应污染物混合物统一的管理政策。

研究^[38] 显示,由非致癌剂量的单一致癌剂组成的混合物暴露能导致人类出现癌变,人类致癌剂组成的混合物的致癌效应呈现浓度加和或独立作用。具有雌激素活性的污染物复合暴露产生的毒性效应与浓度加和模型计算的毒性呈现较强的一致性^[25]。研究^[50] 发现,当雄性小鼠暴露于具有繁殖毒性化合物的混合物后,生殖器官发生畸形的比例显著高于单一污染物暴露的比例,混合物的复合毒性呈现明显的协同性。此外,水生生物暴露于具有相似 MoA 的农药组分组成的混合物后,出现的毒性效应与浓度加和模型计算的毒性结果相近,而水生生物暴露于不同 MoA 农药组分组成的混合物后,产生的毒性效应与独立作用模型计算结果相近^[36]。系统分析(191 项研



注: TA 表示理论浓度加和模型; CA 表示浓度加和模型; IA 表示独立作用模型; CT 表示 Chou-Talalay 方法。组合指数 (CI) < 0.9 为协同效应, CI 在 0.9~1.1 为浓度加和, CI > 1.1 为拮抗效应。模型偏离率 (MDR) < 0.5 为协同效应, MDR 在 0.5~2.0 之间为浓度加和, MDR > 2.0 为拮抗效应。数据来源于文献 [45]。

图 2 不同数学模型预测浓度加和效应的结果比较

Fig.2 Comparison of model prediction for concentration additivity

究) 经单一重金属和类金属暴露后, 77 种不同生物的毒性效应 (包括死亡率、生长率、酶活性、金属硫蛋白表达量、摄食和生物累积性等) 及其复合暴露的毒性效应发现, 27% 的实验结果与浓度加和方法计算的复合暴露毒性呈现一致性, 30% 的实验结果显示的复合毒性效应比使用浓度加和模型计算的毒性强, 而 43% 的实验结果显示的复合毒性比使用浓度加和模型计算的毒性效应弱^[51-52]。

为了降低污染物复合暴露的健康风险, WHO 颁布了食品中农药健康风险评价和化妆品中化学物质复合暴露健康风险评价方法或导则^[3], 但食品中农药和化妆品中化合物复合暴露导致人体健康风险的研究数据较为有限, 仅满足评估少数污染物复合暴露的健康效应, 制约了导则的广泛试用。此外, 欧盟水框架指令中虽然纳入了二噁英类化合物混合物质量标准, 但是目前仍然无法估算二噁英类化合物之间或与其他化合物组成的混合物的毒性和生态效应。因此, 研究建立新的、有效的环境化学污染物混合物毒性、环境影响和健康风险评价方法成为解决环境有害化学物质管理的关键和核心。

3.2 污染物复合暴露所致毒性和健康风险评价方法研究现状

为了实现建立科学、统一的污染物复合暴露毒性和健康风险评价方法, 欧盟委员会通过支持基础研究, 预期实现以下目标: ①建立环境化学污染物混合物内、外暴露数据共享平台; ②开发暴露评价模型; ③建立基于计算机和细胞毒性的污染物复合暴露毒性评价工具; ④构建流行病学-毒理学联合评价污染

物复合暴露的健康风险和优控污染物复合暴露所致健康风险评价方法。从 2012 年起, 欧盟委员会相继支持、并开展了以下基础研究计划: ①内分泌干扰剂复合暴露所致的健康风险评价 (EDC-MixRisk) 研究计划; ②由 28 个国家参与的欧洲人体生物监测 (HBM4EU) 计划; ③以影响肝脏脂肪水平、性器官和头面部发育异常的有害结局通路 (AOPs) 为核心, 建立污染物复合暴露所致肝脏毒性、生殖和发育毒性的健康风险评价模型 (EuroMix) 研究计划^[53]; ④创建适用于欧盟水体中复杂混合物全面监测、评价和优先排序的工具, 推动以分子机理为基础的毒性测试和风险评价 (EU-ToxRisk) 研究计划^[54]。通过这些研究计划, 欧盟实现了进一步完善化学污染物复合暴露的环境影响和健康风险评价理论, 为最终建立科学、统一的来源于不同暴露途径的污染物复合暴露的健康风险评价方法奠定基础^[54]。

此外, 为了应对 21 世纪人类面临的环境因素导致的人类疾病和环境安全的挑战, 美国提出定量分析化学物质结构活性关系 (QSAR)、高通量毒性测试 (HTS)、PBPK、生理机制和剂量依赖的生物学效应方法、模型作为应对化学物质毒性测试需求的挑战。目前, AOPs 是进展最快、应用最多的污染物毒性预测方法。随着基因组学、转录组学、代谢组学和蛋白质组学技术的发展, 显著提高了揭示环境化学污染物毒性和有害结局通路的能力。例如, 通过系统分析 330 种化合物对人肝癌细胞基因转录水平的影响, 即通过分析体现基因表达差异的 6 000 个转录组学数据, 能够有效预测化合物的致癌性 (72.2%) 和遗传毒

性(82.3%)^[55]。对11种环境污染物影响斑马鱼胚胎基因表达水平的研究发现,每一种化学污染物暴露导致的基因表达变化与其毒性存在特有的相关性^[56]。对3种相同或不同MoA化合物单一和复合暴露斑马鱼胚胎转录组数据分析发现,用单一化合物的转录组能够预测化合物复合暴露的毒性效应^[57]。对人脐带血中检出的11种金属和类金属的浓度是否影响胎盘转录组的研究^[58]发现,与对照人群相比,胎盘中的显著性差异表达基因的功能涉及表观遗传、炎症和胚胎发育不良等,而这些变化与胎盘中11种金属和类金属浓度呈相关性。非靶向代谢组学研究^[59]发现,遭受PFAS暴露的人群出现的氨基酸以及脂质代谢变化、代谢异常与总PFAS浓度的相关性远高于任意单一PFAS化合物。国际癌症研究机构(IARC)筛选了908个代谢产物作为食品和污染物暴露的生物标志^[60]。蛋白质组学研究^[61]发现,PFAS暴露与肥胖青少年以及有代谢异常或哮喘病成人体内参与免疫调节蛋白和JAK-STAT信号途径的蛋白质表达水平变化之间存在相关性。此外,研究方法和技术的进步推动了暴露组学(exposome)的快速发展,为进一步揭示人体内、外环境中化学、生物因素、射线等复合暴露以及社会关系和社会经济地位等因素对人类健康的复杂影响,研判这些因素与疾病的因果关系提供了新的方法和途径^[60]。

目前,确定环境化学污染物混合物中哪些组分,或组分的不同组合与混合物的复合毒性之间的因果关系非常困难,但是无论是单一还是污染物混合物暴露导致的生命个体的基因、蛋白质或代谢产物变化是其产生毒性或不良健康结局的初始生物反应。因此,揭示与毒性终点直接相关的基因、蛋白质或代谢产物水平,不仅能揭示环境化学污染物毒性机理,确定毒性与健康结局的关系,建立独立于污染物MoA和AOPs的毒性评价方法,还能通过生物标志物水平预测其环境影响和健康风险。事实上,研究^[56,62-65]发现,环境化学污染物诱导表达的基因谱不仅具有发育阶段特异性,而且通过基因表达变化可以有效鉴定化学污染物种类和毒性,尤其是污染物混合物的种类和毒性。携带Nrf2/Keap1响应元件的人类乳腺癌和肝癌细胞系以及携带肾上腺糖皮质激素受体的胚胎肾脏细胞系已经用于分析化合物毒性效应和地表水质^[66]。此外,人类蛋白质芯片(HuProt)已经用于鉴别污染物和药物的靶蛋白^[67]。综上,基因、蛋白质、代谢产物分析技术的进步为建立基于生物标志物的环境化学污染物混合物毒性估算和健康效应评价方法

提供了技术基础。

4 结论

a) 环境污染物复合暴露的毒性效应和健康风险与其诱导的基因、蛋白质或代谢产物之间的变化直接相关。运用基因组、转录组、蛋白质组和代谢组学技术,结合细胞高通量毒性测试、实验动物药代动力学模型和有害结局通路研究成果,在系统分析单一化学污染物毒性和健康效应的基础上,研究、筛选和鉴别与环境污染物复合暴露毒性和不良健康结局直接相关的生物标志物。

b) 定量分析生物标志物,不但能够确定污染物复合暴露与毒性和不良健康结局之间的因果关系,建立独立于污染物MoA和AOPs的毒性评价方法,还能预测和计算污染物复合暴露所致环境影响和健康风险。因此,运用酶联免疫方法、基因/蛋白质芯片技术,建立基于生物标志物水平定量预测和计算环境化学污染物复合暴露所致毒性和不良健康结局的方法,突破现有评价方法的局限性,为制订污染物混合物环境管理政策提供科学依据。

参考文献(References):

- [1] GRYN'OVA G,BEREAU T,MÜLLER C,et al.EDITORIAL: chemical compound space exploration by multiscale high-throughput screening and machine learning[J].*Journal of Chemical Information and Modeling*,2024,64(15):5737-5738.
- [2] WANG Z Y,WALKER G W,MUIR D C G,et al.Toward a global understanding of chemical pollution:a first comprehensive analysis of national and regional chemical inventories[J].*Environmental Science & Technology*,2020,54(5):2575-2584.
- [3] KORTENKAMP A,FAUST M.Regulate to reduce chemical mixture risk[J].*Science*,2018,361(6399):224-226.
- [4] US CDC.Fourth national report on human exposure to environmental chemicals,updated tables[R/OL].Atlanta,GA: National Center for Environmental Health,(2021-03-01) [2024-10-22].https://stacks.cdc.gov/view/cdc/105343/cdc_105343_DS1.pdf.
- [5] WOODRUFF T J,ZOTA A R,SCHWARTZ J M.Environmental chemicals in pregnant women in the United States:NHANES 2003-2004[J].*Environmental Health Perspectives*,2011,119(6):878-885.
- [6] LEE W C,FISHER M,DAVIS K,et al.Identification of chemical mixtures to which Canadian pregnant women are exposed:the MIREC Study[J].*Environment International*,2017,99:321-330.
- [7] HARADA M.Minamata disease:methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution[J].*Critical Reviews in Toxicology*,1995,25(1):1-24.
- [8] BROUGHTON E.The Bhopal disaster and its aftermath:a review [J].*Environmental Health*,2005,4(1):6.
- [9] KING G M,KOSTKA J E,HAZEN T C,et al.Microbial responses to the Deepwater Horizon oil spill:from coastal wetlands to the deep sea[J].*Annual Review of Marine Science*,2015,7:377-401.

- [10] PETRINI J,DAMUS K,JR JOHNSTON R B.An overview of infant mortality and birth defects in the United States[J]. *Teratology*,1997,56(1/2):8-10.
- [11] STILLERMAN K P,MATTISON D R,GIUDICE L C,et al. Environmental exposures and adverse pregnancy outcomes:a review of the science[J]. *Reproductive Sciences*,2008,15(7):631-650.
- [12] GRANDJEAN P,LANDRIGAN P J.Neurobehavioural effects of developmental toxicity[J]. *The Lancet Neurology*,2014,13(3):330-338.
- [13] GRANDJEAN P,LANDRIGAN P.Developmental neurotoxicity of industrial chemicals[J]. *The Lancet*,2006,368(9553):2167-2178.
- [14] BELLINGER D C.A strategy for comparing the contributions of environmental chemicals and other risk factors to neurodevelopment of children[J]. *Environmental Health Perspectives*,2012,120(4):501-507.
- [15] BELLANGER M,DEMENEIX B,GRANDJEAN P,et al. Neurobehavioral deficits,diseases,and associated costs of exposure to endocrine-disrupting chemicals in the European Union[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*,2015,100(4):1256-1266.
- [16] TRASANDE L,NELSON M E,ALSHAWABKEH A,et al.Prenatal phthalate exposure and adverse birth outcomes in the USA:a prospective analysis of births and estimates of attributable burden and costs[J]. *The Lancet Planetary Health*,2024,8(2):e74-e85.
- [17] HASEGAWA K,MOTOKI N,INABA Y,et al.Maternal exposure to per- and polyfluoroalkyl substances and offspring chromosomal abnormalities:the Japan environment and children's study[J]. *Environmental Health Perspectives*,2024,132(9):97004.
- [18] US EPA.Assessing and managing chemicals under TSCA.the Frank R. Lautenberg chemical safety for the 21st Century act[R]. Washington DC:Office of Health and Environmental Assessment, 2018:12-41.
- [19] CLAHSEN S C S,van KAMP I,HAKKERT B C,et al.Why do countries regulate environmental health risks differently? a theoretical perspective[J]. *Risk Analysis*,2019,39(2):439-461.
- [20] 杨立新.世界卫生组织(WHO)颁布环境健康基准的历程及对我国的借鉴[J]. *环境科学研究*,2021,34(12):3012-3028.
YANG L X.World health organization (WHO) environmental health criteria (EHC) programme and the practical usefulness to China[J]. *Research of Environmental Sciences*,2021,34(12):3012-3028.
- [21] BLOCH D,DIEL P,EPE B,et al.Basic concepts of mixture toxicity and relevance for risk evaluation and regulation[J]. *Archives of Toxicology*,2023,97(11):3005-3017.
- [22] ZOUPA M,ZWART E P,GREMMER E R,et al.Dose addition in chemical mixtures inducing craniofacial malformations in zebrafish (*Danio rerio*) embryos[J]. *Food and Chemical Toxicology*,2020,137:111117.
- [23] POSTHUMA L,BRACK W,van GILS J,et al.Mixtures of chemicals are important drivers of impacts on ecological status in European surface waters[J]. *Environmental Sciences Europe*,2019,31(1):71.
- [24] ROTTER S,BERONIUS A,BOOBIS A R,et al.Overview on legislation and scientific approaches for risk assessment of combined exposure to multiple chemicals:the potential EuroMix contribution[J]. *Critical Reviews in Toxicology*,2018,48(9):796-814.
- [25] SILVA E,RAJAPAKSE N,KORTENKAMP A.Something from 'nothing':eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects [J]. *Environmental Science & Technology*,2002,36(8):1751-1756.
- [26] BRIAN J V,HARRIS C A,SCHOLZE M,et al.Accurate prediction of the response of freshwater fish to a mixture of estrogenic chemicals[J]. *Environmental Health Perspectives*,2005,113(6):721-728.
- [27] THRUPP T J,RUNNALLS T J,SCHOLZE M,et al.The consequences of exposure to mixtures of chemicals:something from 'nothing' and 'a lot from a little' when fish are exposed to steroid hormones[J]. *Science of the Total Environment*,2018,619:1482-1492.
- [28] CROFTON K M,CRAFT E S,HEDGE J M,et al.Thyroid-hormone-disrupting chemicals:evidence for dose-dependent additivity or synergism[J]. *Environmental Health Perspectives*,2005,113(11):1549-1554.
- [29] JAKOBS G,KRÜGER J,SCHÜTTLER A,et al.Mixture toxicity analysis in zebrafish embryo:a time and concentration resolved study on mixture effect predictivity[J]. *Environmental Sciences Europe*,2020,32(1):143.
- [30] FINI J B,MUGHAL B B,Le MÉVEL S,et al.Human amniotic fluid contaminants alter thyroid hormone signalling and early brain development in *Xenopus* embryos[J]. *Scientific Reports*,2017,7:43786.
- [31] CAPORALE N,LEEMANS M,BIRGERSSON L,et al.From cohorts to molecules:adverse impacts of endocrine disrupting mixtures[J]. *Science*,2022,375(6582):eabe8244.
- [32] KORTENKAMP A.Ten years of mixing cocktails:a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals[J]. *Environmental Health Perspectives*,2007,115(Suppl 1):98-105.
- [33] CARVALHO R N,ARUKWE A,AIT-AISSA S,et al.Mixtures of chemical pollutants at European legislation safety concentrations: how safe are they?[J]. *Toxicological Sciences*,2014,141(1):218-233.
- [34] ALTENBURGER R,BACKHAUS T,BOEDEKER W,et al.Simplifying complexity:mixture toxicity assessment in the last 20 years[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*,2013,32(8):1685-1687.
- [35] HERMENS J,LEEUEWANGH P,MUSCH A.Joint toxicity of mixtures of groups of organic aquatic pollutants to the guppy (*Poecilia reticulata*) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1985,9(3):321-326.
- [36] BOPP S K,KIENZLER A,RICHARZ A N,et al.Regulatory assessment and risk management of chemical mixtures:challenges and ways forward[J]. *Critical Reviews in Toxicology*,2019,49(2):174-189.
- [37] KIENZLER A,BOPP S K,van der LINDEN S,et al.Regulatory assessment of chemical mixtures:requirements,current approaches and future perspectives[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*,2016,80:321-334.
- [38] RIDER C V,McHALE C M,WEBSTER T F,et al.Using the key characteristics of carcinogens to develop research on chemical mixtures and cancer[J]. *Environmental Health Perspectives*,2021, 129(3):35003.

- [39] RIDER C V. Mixture math: deciding what to add in a cumulative risk assessment[J]. *Current Opinion in Toxicology*, 2022, 31: 100358.
- [40] FENTON S E, DUCATMAN A, BOOBIS A, et al. Per- and polyfluoroalkyl substance toxicity and human health review: current state of knowledge and strategies for informing future research[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2021, 40(3): 606-630.
- [41] KORTENKAMP A. Low dose mixture effects of endocrine disrupters and their implications for regulatory thresholds in chemical risk assessment[J]. *Current Opinion in Pharmacology*, 2014, 19: 105-111.
- [42] van der VEN L T M, van OMMEREN P, ZWART E P, et al. Dose addition in the induction of craniofacial malformations in zebrafish embryos exposed to a complex mixture of food-relevant chemicals with dissimilar modes of action[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2022, 130(4): 47003.
- [43] GOODRUM P E, ANDERSON J K, LUZ A L, et al. Application of a framework for grouping and mixtures toxicity assessment of PFAS: a closer examination of dose-additivity approaches[J]. *Toxicological Sciences*, 2021, 179(2): 262-278.
- [44] SERRA H, SCHOLZE M, ALTENBURGER R, et al. Combined effects of environmental xeno-estrogens within multi-component mixtures: comparison of *in vitro* human- and zebrafish-based estrogenicity bioassays[J]. *Chemosphere*, 2019, 227: 334-344.
- [45] LASCH A, LICHTENSTEIN D, MARX-STOELTING P, et al. Mixture effects of chemicals: the difficulty to choose appropriate mathematical models for appropriate conclusions[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 260: 113953.
- [46] HASSAN R, GONZÁLEZ D, HOBLOSS Z, et al. Inhibition of cytochrome P450 enhances the nephro- and hepatotoxicity of ochratoxin A[J]. *Archives of Toxicology*, 2022, 96(12): 3349-3361.
- [47] SLOB W, SETZER R W. Shape and steepness of toxicological dose-response relationships of continuous endpoints[J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2014, 44(3): 270-297.
- [48] HABER L T, DOURSON M L, ALLEN B C, et al. Benchmark dose (BMD) modeling: current practice, issues, and challenges[J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2018, 48(5): 387-415.
- [49] CHOU T C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies[J]. *Pharmacological Reviews*, 2006, 58(3): 621-681.
- [50] CHRISTIANSEN S, SCHOLZE M, DALGAARD M, et al. Synergistic disruption of external male sex organ development by a mixture of four antiandrogens[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2009, 117(12): 1839-1846.
- [51] NORWOOD W P, BORGMANN U, DIXON D G, et al. Effects of metal mixtures on aquatic biota: a review of observations and methods[J]. *Human and Ecological Risk Assessment*, 2003, 9(4): 795-811.
- [52] CHAPMAN P M. Environmental risks of inorganic metals and metalloids: a continuing, evolving scientific odyssey[J]. *Human and Ecological Risk Assessment*, 2008, 14(1): 5-40.
- [53] BOPP S K, BAROUKI R, BRACK W, et al. Current EU research activities on combined exposure to multiple chemicals[J]. *Environment International*, 2018, 120: 544-562.
- [54] DRAKVIK E, ALTENBURGER R, AOKI Y, et al. Statement on advancing the assessment of chemical mixtures and their risks for human health and the environment[J]. *Environment International*, 2020, 134: 105267.
- [55] LI A, LU X D, NATOLI T, et al. The carcinogenome project: *in vitro* gene expression profiling of chemical perturbations to predict long-term carcinogenicity[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2019, 127(4): 47002.
- [56] YANG L X, KEMADJOU J R, ZINSMEISTER C, et al. Transcriptional profiling reveals barcode-like toxicogenomic responses in the zebrafish embryo[J]. *Genome Biology*, 2007, 8(10): R227.
- [57] SCHÜTTLER A, JAKOBS G, FIX J M, et al. Transcriptome-wide prediction and measurement of combined effects induced by chemical mixture exposure in zebrafish embryos[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2021, 129(4): 47006.
- [58] EAVES L A, BULKA C M, RAGER J E, et al. Metal mixtures modeling identifies birth weight-associated gene networks in the placentas of children born extremely preterm[J]. *Chemosphere*, 2023, 313: 137469.
- [59] GOODRICH J A, WALKER D I, HE J X, et al. Metabolic signatures of youth exposure to mixtures of per- and polyfluoroalkyl substances: a multi-cohort study[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2023, 131(2): 27005.
- [60] VINEIS P, ROBINSON O, CHADEAU-HYAM M, et al. What is new in the exposome? [J]. *Environment International*, 2020, 143: 105887.
- [61] CHEN J C, GOODRICH J A, WALKER D I, et al. Exposure to per- and polyfluoroalkyl substances and high-throughput proteomics in Hispanic youth [J]. *Environment International*, 2024, 186: 108601.
- [62] 康博伦, 王静涵, 郭少娟, 等. 砷对斑马鱼胚胎发育和基因表达的影响 [J]. *环境科学研究*, 2024, 37(9): 2074-2083.
KANG B L, WANG J H, GUO S J, et al. Effects of arsenic on embryonic toxicity and gene expression of zebrafish [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2024, 37(9): 2074-2083.
- [63] WANG R H, GUO S J, KANG B L, et al. Toxicogenomic signatures associated with methylmercury induced developmental toxicity in the zebrafish embryos [J]. *Chemosphere*, 2023, 313: 137380.
- [64] YANG L X, ZENG C, ZHANG Y Y, et al. Functions of thioredoxin1 in brain development and in response to environmental chemicals in zebrafish embryos [J]. *Toxicology Letters*, 2019, 314: 43-52.
- [65] 罗紫蝶, 郭少娟, 曾晨, 等. 镉暴露对斑马鱼胚胎发育的毒性效应研究 [J]. *环境科学研究*, 2022, 35(5): 1315-1322.
LUO Z D, GUO S J, ZENG C, et al. Toxic effects of cadmium exposure on zebrafish embryo development [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2022, 35(5): 1315-1322.
- [66] HUCHTHAUSEN J, BRAASCH J, ESCHER B I, et al. Effects of chemicals in reporter gene bioassays with different metabolic activities compared to baseline toxicity [J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2024, 37(5): 744-756.
- [67] SYU G D, DUNN J, ZHU H. Developments and applications of functional protein microarrays [J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2020, 19(6): 916-927.