

## 毒作用模式和有害结局路径的关系及其在风险评估中的应用

黄河海 肖勇梅

中山大学公共卫生学院预防医学系劳动卫生与环境卫生学, 广州 510080

通信作者: 肖勇梅, Email: xiaoym@mail.sysu.edu.cn

**【摘要】** 风险评估方法是保障人类健康和环境安全的必要技术手段。基于动物实验获取毒性数据的传统风险评估, 由于动物实验通量低、周期长、成本高和高剂量外推至人类暴露剂量的不确定性等问题, 难以满足大量化学品亟需开展风险评估的需求。毒作用模式(MOA)和有害结局路径(AOP)风险评估框架的提出为我们开发新型、高效的评价方法指明了方向。本综述介绍了MOA和AOP的基本概念、内容以及两者之间的关系, 并以丙烯酰胺(AA)为例, 简述MOA/AOP框架在化学物风险评估中的具体应用, 以期为更好运用MOA/AOP框架进行化学物风险评估提供理论指导。

**【关键词】** 危险性评估; 毒性作用; 有害结局路径

**基金项目:** 国家重点研发计划(2017YFC1600201)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2020.02.020

### The association between mode of action and adverse outcome pathway and its application in risk assessment

Huang Hehai, Xiao Yongmei

Department of Occupational and Environmental Health, Faculty of Preventive Medicine, School of Public Health, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China

Corresponding author: Xiao Yongmei, Email: xiaoym@mail.sysu.edu.cn

**【Abstract】** Risk assessment is a necessary technical means to protect human health and environmental safety. Traditional risk assessment based on toxicity data obtained from animal experiments was difficult to meet the need for risk assessment for a large number of chemicals due to the low throughput, long cycle, high cost and uncertainty of extrapolation to human exposure dose. The proposed risk assessment frameworks, the model of action (MOA) and the adverse outcome pathway (AOP), pointed the way for us to develop new and efficient evaluation methods. In this review, the basic concepts and contents of MOA and AOP, as well as the relationship between them, were introduced. Taking acrylamide (AA) as an example, this review briefly described the application of MOA/AOP framework in chemical risk assessment, so as to provide theoretical guidance for better application of MOA/AOP framework in chemical risk assessment.

**【Key words】** Risk assessment; Toxic actions; Adverse outcome pathway

**Fund program:** National key research and development Program (2017YFC1600201)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2020.02.020

随着社会发展,大量的外源化学物进入我们的生产、生活以及周围环境,人们对外源化学物暴露的健康危害愈发关注。传统上对化学物的风险评估是基于高剂量的动物暴露实验的特定的实验性证据,但此方法却存在着风险评估周期长、成本高且由高剂量外推至人类暴露剂量的不确定性问题。为了寻找更高效的评价方法,1996年,美国环境保护署(United States Environmental Protection Agency, US EPA)首先于肿瘤领域提出了采用毒作用模式(mode of action, MOA)进行风险评估<sup>[1]</sup>,此后,MOA逐渐被应用于非

肿瘤领域<sup>[2-4]</sup>。进入21世纪,应美国环境保护署的要求,美国国家科学院国家研究委员会于2007年出版了21世纪新的毒理学检测策略,推荐使用以分子为靶标的体外实验方法检测化学物毒效应<sup>[5]</sup>。这种方法是基于化学物的毒性通路(细胞反应通路)进而导致机体不良健康效应<sup>[5]</sup>。据此,人们在不断完善MOA过程中,发展了与之相辅相成的另一毒理学评价工具有害结局路径(adverse outcome pathway, AOP)评价框架,使得MOA/AOP在外源化学物风险评估中发挥了越来越重要的作用。

### 一、MOA 与 AOP 基本概念和关系

从概念上讲,MOA 是指一系列的在生物学上有意义的可导致不良效应的关键事件(key event, KE)<sup>[6]</sup>,AOP 则描绘了分子始发事件(molecular initiating event, MIE)与风险评估相关的生物层面的有害结局之间的联系<sup>[7-8]</sup>。两者具有相似之处,其共同点均需对化学物作用于机体过程中的 KE 进行鉴定和描述<sup>[9]</sup>。KE 反映的是一系列的因果关联的可观察到的、可测量的、可重复的、必要的生化或生物事件<sup>[10-11]</sup>,对于触发有害结局非常必要。关键事件关系(key event relationships, KERs)则构成了 AOP 系统生物学网络,将 MIE 与可观察到的晚期效应连接起来,使得人们可以通过测量早期关键事件来发展对有害结局的可预测性标志物<sup>[12]</sup>。KERs 还可以作为 AOP 网络里面主要的定量预测元素,对疾病模型的设计与发展做出有效预测<sup>[13]</sup>。

根据定义,AOP 范围更加广泛,其核心内容在于规范化和模块化了从分子、细胞、组织、器官乃至最终个体与群体水平的一系列毒性发生事件。其关注点主要在预测方面,例如可根据 MIE 和早期 KE 生物学进程来推断有害结局;MOA 则被认为是一种特定的化学物或群体基础,并考虑其毒动力学和新陈代谢的各个方面,是基于机制方面的信息<sup>[12]</sup>,仅是对化学物引起机体 KEs 过程的描述,无法单独进行结局的预测。MOA 可以根据化学物特定的信息(如化学物的吸收、分布、代谢和排泄)从 AOP 中构建出来<sup>[9]</sup>;而用于 AOP 评估数据的证据权重(weight of evidence, WoE)则建立在先前存在的 MOA 框架<sup>[14]</sup>;因此,就框架构建而言,MOA 和 AOP 互为基础,相互补充。对于经过 WoE 建立好的 AOP 框架,其评价结果可用于化学物所致机体不良结局的监管,如果不同化学物引起机体的 MIE 一致,则会被认为这些化学物具有相同的 AOP。不同化学物的 AOP 可能一致,但 MOA 不同。

### 二、AOP 框架建立的主要内容

AOP 作为一种具有广泛潜力的毒理学和人类风险评估的新工具<sup>[8]</sup>,其建立内容包括三个连续的步骤,即识别主要信息块、数据汇总和评估<sup>[15]</sup>。

1. 识别主要信息块:典型的 AOP 包含 3 个信息块——MIE、一系列的中间步骤以及有害结局。MIE 是 AOP 的第一个锚点,它描述的是一种化学物质与生物系统在细胞分子层面上的相互作用,例如特异性的配体-受体结合、蛋白与核酸结合等以及非特异性的相互作用。MIE 对识别导致最终有害作用相关的级联是至关重要的,认识和理解 MIE 可确定化学物导致的扰动的性质。通常,一种化学物在不同靶部位的靶分子不同。而当化学物对 MIE 的影响或作用累积到一定程度时,则进入中间步骤,其中,中间的关键事件至关重要,它包括从 MIE 到有害结局之间有因果关系的最小数量的其他事件,是可以观察或测试的生物标志,是化学物 MOA 的必要元素<sup>[16]</sup>。当一个关键事件存在于多个 AOP 中时,AOP 之间可以共享信息<sup>[17]</sup>。有害结局被认为是 AOP 的第二个锚,代表实际的毒物终点,可能位于从细胞到

群体水平的不同级别的生物组织,如细胞增殖、分化等。一个 AOP 仅仅有一个 MIE 和有害结局,但可能包括有数量不受限制的中间步骤,所以,对于这些中间步骤(包括关键事件)的鉴定可以来自于各类实验数据、高通量筛选、高内涵筛选、组学方法<sup>[18]</sup>以及计算机模拟方法<sup>[19-20]</sup>等。

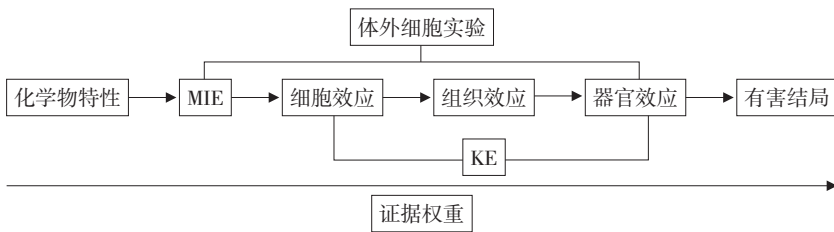
2. 数据汇总:AOP 报告最常用的方法是使用流程图。也可以使用多种方式链接不同的信息元素,这些链接可以是假设的、预测性的、经验性的、可信的或已建立的<sup>[7]</sup>,还通常伴随着对支持 MIE、KE 和有害结局的科学证据强度的评估。

3. 评估:在对 AOP 定性和定量认识的评估过程中均需要做到对关键步骤和证据可靠性的评定<sup>[17]</sup>。AOP 评估主要分两个阶段——在第一阶段中,根据 Hill<sup>[21]</sup>提出的六条标准来进行 WoE 的评估,这些标准确定了在不同 AOP 模块之间建立起因果关联的最低要求;第二阶段则是回答由经济合作与发展组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)提出的 5 个关键问题,分别为:AOP 的特征性如何? MIE 和关键事件与结局之间的因果关系如何? 支持 AOP 的证据有什么局限性? AOP 是否特异于切确的组织、生命阶段或年龄别? MIE 和关键事件是否会在跨类群中保存下来<sup>[15]</sup>? AOP 评估框架作为一种方法学,其核心是通过收集、组织生物学上现有的、可信的知识,然后将这些知识运用在评估生物系统分子水平的扰动与有害结局之间关系的经验性判断<sup>[14]</sup>。由此可见,AOP 框架重点在于描述化学物毒性通路过程中的有潜在预测价值的关键步骤或检测点<sup>[22]</sup>。

### 三、AOP 在化学物风险评估中的一般策略

如上所述,每个 AOP 都代表了对 MIE、KEs 以及机体有害结局的现有知识的链接。经证据权重建立的 AOP 框架,具有良好的预测性,可以更加高效、快捷地做出评估决定。为了更好地理解和运用该框架,笔者在阅读 OECD 系列 AOP 框架后,例如皮肤过敏 AOP 框架<sup>[23]</sup>、肝纤维化 AOP 框架<sup>[24]</sup>、鱼类生殖功能障碍 AOP 框架<sup>[25]</sup>以及学习和记忆功能损伤 AOP 框架<sup>[26]</sup>,总结出如下使用 AOP 一般策略,以供参考。具体评估框架如图 1 所示。

MIE 作为 AOP 框架的第一个锚,其能引起一系列的生物学反应过程而最终导致生物体有害结局的产生。因此,在建立化学物 AOP,首要任务是确立该化学物与机体的 MIE。具体包括:首先要了解化学物的生物学特性,理解了化学物的结构和性质才能更好判断所引发的 MIE 类型;其次是明确该化学物或其代谢产物的检测方法。当进行相关实验时,要有可靠的检测方法检测 MIE 相关指标,例如配体-受体结合等,这些体外实验均需相应检测方法和技术;最后是收集已有的相关知识或是实验证据,从证据权重出发,判断该化学物引发的 MIE 在证据链上是否足够以及在不同物种间的适用性,从而最终确认该化学物作用于机体的 MIE。当由 MIE 进入 KE,随着效应累积,机体分别从细胞、组织、器官等层面出现生物学效应,而这些效应是可通



MIE: 分子始发事件; KE: 关键事件

图1 运用有害结局路径风险评估一般框架

过一系列实验测量得到。通过实验开展相应机制探讨,形成该化学物特定MOA。最终确认通过由MIE引发的、KE累积所导致的最结局,例如某化学物诱导皮肤发生过敏现象等,形成该化学物完整AOP。

因此,要建立某化学物新的AOP,需要对MIE、KEs以及有害结局进行证据权重后的有机结合。对一些实验证据的需求,有时可以通过计算毒理学的方式进行获取以及预测结果。

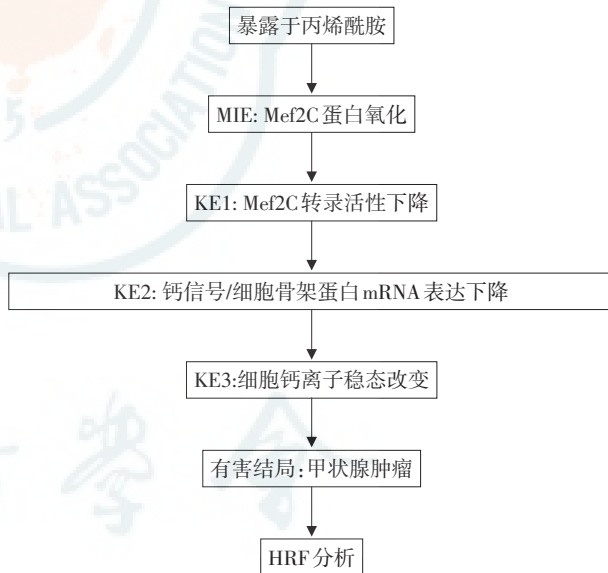
#### 四、MOA/AOP框架在化学物风险评估中的应用

迄今为止,MOA/AOP框架主要用于环境监测管理决策。伴随着世界各国管理机构的努力,MOA框架不断更新<sup>[27]</sup>。确立某一化学物的MOA,主要包含2个策略:一是以目的为导向的考虑该化学物暴露检测技术方法、管理范围以及后续决策(提出问题);二是基于假设,以证据为支持的关键事件的探究,形成具体MOA(解决问题)<sup>[10]</sup>。而在这一过程中,需要考虑如下方面:(1)关键事件与终点事件之间剂量-反应关系的一致性;(2)时间关联性;(3)毒性效应发生率和关键事件的关联强度、一致性和特异性;(4)生物学的合理性<sup>[10, 28]</sup>。同时,AOP的使用与证据评估和可信度紧密相连,为了能够更加完全解释可能会影响到最结局的生物进程,管理决定往往需要考虑AOP相互作用网<sup>[9]</sup>。在MOA/AOP发展过程中,人们还建立了新的方法——测试和评估的综合方法(integrated approaches to testing and assessment, IATA),用于反复评估目前的信息<sup>[29-30]</sup>。同时,通过整合毒理学检测的新技术,例如高通量组学、计算毒理学等发展出来的毒性检测替代方法,人们在危险评估过程中可以使用最少的毒性检测结果资料去预测最终的生物结局<sup>[31]</sup>,极大程度上缩短了危险评估的周期与成本。因此,基于MOA/AOP框架的化学物风险评估包括化学物的交叉参照、设计高效的实验策略、测试的优先顺序以及定量的风险评估<sup>[32]</sup>,重点是减少、替代和优化基于动物的测试<sup>[33]</sup>。

如果能够在人群流行病学结果中验证化学物MOA的细胞或动物实验结果,将会更客观地将该化学物MOA外推至人类<sup>[34]</sup>;这往往需要人类相关性框架(human relevance framework, HRF)提供实验结果外推的物种间一致性<sup>[10, 28]</sup>。HRF具体以解决下述问题为目的:(1)建立的动物MOA的WoE是否充分;(2)动物MOA的关键事件在人类是否具有合理性;(3)根据毒代动力学和毒效动力学因素判断动物MOA中的关键事件在人类中是否具有合理性<sup>[3]</sup>。因此,

HRF分析框架提供了一种严格而公开的方法去判断实验数据是否支持一种化学物假定的MOA并且评估其对人类的相关性。

在此,以丙烯酰胺(acrylamide, AA)为例,简单阐述基于MOA/AOP的风险评估<sup>[35]</sup>。首先,对于丙烯酰胺MOA做出合理假设,包括基因毒性/致突变性,或者甲状腺激素调节异常;基于丙烯酰胺MOA设计具体的实验方法(合理的暴露途径),然后观测到MIE为Mef2C蛋白氧化;接着利用RNA-seq等技术检测到关键事件一为Mef2C转录活性下降;关键事件二为钙信号/细胞骨架蛋白mRNA表达下降;关键事件三为细胞钙离子稳态改变;最终引起有害结局为发生甲状腺肿瘤。因此,认为丙烯酰胺独特MOA是以甲状腺为目标,最终通过扰乱钙离子信号稳态进而引发肿瘤。该结果与一项长达两年的肿瘤生物测定实验报告结果一致<sup>[36]</sup>。在与人类相关性分析中发现,动物实验结果与一项职业暴露工人调查结果一致<sup>[37]</sup>。以上结果表明,由实验得出的丙烯酰胺致癌MOA同样适用于人类。基于丙烯酰胺MOA/AOP的风险评估流程图如图2所示,主要证据见表1。



MIE: 分子始发事件; Mef2C: 肌细胞增强因子 2C; KE: 关键事件; HRF: 人类相关性框架

图2 丙烯酰胺毒作用模式/有害结局路径的风险评估流程

#### 五、问题与展望

随着毒理学技术的发展,MOA/AOP框架在化学物风险评估中发挥了至关重要的作用。采用MOA/AOP框架进行化学物风险评估,能有效整合化学物机制信息,帮助确定哪些信息可有助于有害结局的评估。同时,MOA/AOP方法与化学物暴露和效能的结合,能够把研究重点放在与具体评估最相关的问题上,避免试图阐明所有机制而不考虑与具体结果相关性所造成的资源低效率使用,使有限资源能够

表 1 丙烯酰胺毒作用模式/有害结局路径评估的具体模块信息及主要证据支持

模块	具体证据	参考文献
MIE: Mef2C 蛋白氧化	Mef2C 具有对氧化还原反应敏感的 Cys39 结构域	[38]
KE: Mef2C 转录活性下降, 进而导致钙信号/细胞骨架蛋白 mRNA 表达下降和细胞钙离子稳态改变	F344 大鼠经饮水分别暴露于浓度为 0、0.5、1.5、3、6、12 mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> 的丙烯酰胺, 暴露时间分别为 5、15、31 d; 暴露结束后, RNA 转录组测序发现钙信号/细胞骨架蛋白 mRNA 表达下降; 细胞钙信号改变导致胞内钙离子稳态发生变化	[35]、[39]
有害结局: 甲状腺肿瘤	本研究结果与一项长达两年的甲状腺肿瘤生物测定实验报告结果一致; 同时也与职业暴露人群调查结果一致	[36]、[37]

注: MIE 为分子始发事件; Mef2C 为肌细胞增强因子 2C; Cys39 为半胱氨酸 39 位点; KE 为关键事件

有效地分配和使用<sup>[7]</sup>。在众多学者们的努力下, MOA/AOP 框架被广泛运用于不同领域化学物风险评估, 例如食品安全、环境重金属暴露评估等<sup>[40-41]</sup>。

但 MOA/AOP 框架在实际运用中仍面临着一系列挑战, 如体外细胞测试模型对整体反应的代表性问题; 不了解暴露的内剂量情况, 将体外实验结果外推至整体所带来的不确定性; 低浓度新型化学污染物暴露检测技术的限制性; 高通量组学技术的分子生物信息学分析技术瓶颈等是当前开展化学物风险评估亟待解决的关键技术问题。

要充分实施 MOA/AOP 概念, 需要新的毒性测试和建模方法, 以便将一个层次的生物组织或一个实验系统内的化学物剂量与其他层次的生物组织及与作用机理和结局有关的其他实验系统相联系。因此, MOA/AOP 框架的运用必将促进一些新技术的运用和多学科的交叉融合, 比如运用 3D 打印技术开发体外测试系统, 使得体外细胞培养更加优化和接近于体内真实的培养环境; 采用计算毒理学补充现有的毒性试验以预测毒性, 确定化学品的优先顺序, 探索化学物暴露与人群不良健康结局之间定性及定量的关系等。可以预见, 随着组学技术、人工智能技术的发展, MOA/AOP 框架评价体系在化学物风险评估中必将扮演着不可或缺的角色。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参 考 文 献

- [1] United States Environmental Protection Agency. Fact Sheet: EPA's Guidelines for Carcinogen Risk Assessment [EB/OL]. [2019-02-12]. <https://cfpub.epa.gov/ncea/risk/recordisplay.cfm?deid=119032>.
- [2] Seed J, Carney E, Corley R, et al. Overview: Using mode of action and life stage information to evaluate the human relevance of animal toxicity data[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2005, 35(8-9):664-672. DOI: 10.1080/10408440591007133.
- [3] Boobis A, Doe J, Heinrich-Hirsch B, et al. IPCS framework for analyzing the relevance of a noncancer mode of action for humans[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2008, 38(2):87-96. DOI: 10.1080/10408440701749421.
- [4] Julien E, Boobis A, Olin S. The Key Events Dose-Response Framework: a cross-disciplinary mode-of-action based approach to examining dose-response and thresholds[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2009, 49(8): 682-689. DOI: 10.1080/10408390903110692.
- [5] National Research Council of the U.S. National Academy of

Science. Toxicity testing in the 21st century: a vision and a strategy [EB/OL]. [2019-02-12]. [http://refhub.elsevier.com/S0300-483X\(13\)00230-8/sbref0140](http://refhub.elsevier.com/S0300-483X(13)00230-8/sbref0140).

- [6] Sonich-Mullin C, Fielder R, Wiltse J, et al. IPCS conceptual framework for evaluating a mode of action for chemical carcinogenesis[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2001, 34(2): 146-152. DOI: 10.1006/rtp.2001.1493.
- [7] Ankley G, Bennett R, Erickson R, et al. Adverse outcome pathways: a conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2010, 29(3):730-741. DOI: 10.1002/etc.34.
- [8] Vinken M. The adverse outcome pathway concept: a pragmatic tool in toxicology[J]. *Toxicology*, 2013, 312: 158-165. DOI: 10.1016/j.tox.2013.08.011.
- [9] Edwards S, Tan Y, Villeneuve D, et al. Adverse outcome pathways-organizing toxicological information to improve decision making[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2016, 356(1): 170-181. DOI: 10.1124/jpet.115.228239.
- [10] Meek M, Boobis A, Cote I, et al. New developments in the evolution and application of the WHO/IPCS framework on mode of action / species concordance analysis[J]. *J Appl Toxicol*, 2014, 34(1):1-18. DOI: 10.1002/jat.2949.
- [11] Villeneuve D, Crump D, Garcia-Reyero N, et al. Adverse outcome pathway (AOP) development I: strategies and principles[J]. *Toxicol Sci*, 2014, 142(2): 312-320. DOI: 10.1093/toxsci/kfu199.
- [12] Bal-Price A, Meek M. Adverse outcome pathways: Application to enhance mechanistic understanding of neurotoxicity[J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 179: 84-95. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.05.006.
- [13] Wittwehr C, Aladjov H, Ankley G, et al. How Adverse Outcome Pathways Can Aid the Development and Use of Computational Prediction Models for Regulatory Toxicology[J]. *Toxicol Sci*, 2017, 155(2): 326-336. DOI: 10.1093/toxsci/kfw207.
- [14] Organization for Economic Co-operation and Development. Revised Guidance Document on Developing and Assessing Adverse Outcome Pathways[EB/OL]. [2019-02-12]. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/5jlv1m9d1g32-en.pdf?expires=1557074742&id=id&accname=guest&checksum=A2C0152384203DADFEC8B8BD59218FCA>.
- [15] Organization for Economic Co-operation and Development. Proposal for a template and guidance on developing and assessing the completeness of adverse outcome pathways. [EB/OL]. [2019-02-12]. [http://refhub.elsevier.com/S0300-483X\(13\)00230-8/sbref0145](http://refhub.elsevier.com/S0300-483X(13)00230-8/sbref0145).
- [16] 周宗灿. 毒作用模式和有害结局通路[J]. *毒理学杂志*, 2014(1):1-2.
- [17] 王艳华, 段化伟. 有害结局路径策略在毒理学研究中的发展和应用[J]. *中华预防医学杂志*, 2015, 49(12):1115-1118.

- DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2015.12.019.
- [18] Hines A, Staff F, Widdows J, et al. Discovery of Metabolic Signatures for Predicting Whole Organism Toxicology[J]. *Toxicol Sci*, 2010, 115(2): 369-378. DOI: 10.1093 / toxsci / kfq004.
- [19] Egeghy P, Sheldon L, Isaacs K, et al. Computational Exposure Science: An Emerging Discipline to Support 21st-Century Risk Assessment[J]. *Environ Health Perspect*, 2016, 124(6): 697-702. DOI: 10.1289/ehp.1509748.
- [20] Chushak Y, Shows H, Gearhart J, et al. In silico identification of protein targets for chemical neurotoxins using ToxCast in vitro data and read-across within the QSAR toolbox[J]. *Toxicol Res (Camb)*, 2018,7(3):423-431. DOI: 10.1039/c7tx00268h.
- [21] Hill AB. The environment and disease: association or causation?[J]. *Proc R Soc Med*, 58(5): 295-300.
- [22] Organization for Economic Co-operation and Development. Users' handbook supplement to the guidance document for developing and assessing AOPs [EB/OL]. [2019-02-12]. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/5jlv1m9d1g32-en.pdf?expires=1557076515&id=id&acname=guest&checksum=B1FD2B43E7029404C3525CDE6857D0ED>.
- [23] Organization for Economic Co-operation and Development. The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins Part 1 and Part 2 [EB / OL]. [2019-02-12]. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264221444-en.pdf?expires=1544154523&id=id&acname=guest&checksum=B7A9E75CA5AEB652104A33EC7DB13C71>.
- [24] Organization for Economic Co-operation and Development. Adverse Outcome Pathway on Protein Alkylation Leading to Liver Fibrosis [EB / OL]. [2019-02-12]. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/5jlsvw16g7r5-en.pdf?expires=1544366533&id=id&acname=guest&checksum=61DF53CC05A7AEA95DB6AB3D6A0DE4F3>.
- [25] Organization for Economic Co-operation and Development. Adverse Outcome Pathway on Aromatase Inhibition Leading to Reproductive Dysfunction (in Fish) [EB/OL]. [2019-02-12]. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/5jlsv05mx433-en.pdf?expires=1544366761&id=id&acname=guest&checksum=8F59E91BC257508E5931D8FFA56D736A>.
- [26] Organization for Economic Co-operation and Development. Adverse Outcome Pathway on binding of agonists to ionotropic glutamate receptors in adult brain leading to excitotoxicity that mediates neuronal cell death, contributing to learning and memory impairment [EB / OL]. [2019-02-12]. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/5jlr8vqgm630-en.pdf?expires=1544366651&id=id&acname=guest&checksum=F885EB0630F18C3B92235740515FF8EB>.
- [27] Meek M. Recent developments in frameworks to consider human relevance of hypothesized modes of action for tumours in animals[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2008, 49(2): 110-116. DOI: 10.1002/em.20369.
- [28] Meek M, Palermo C, Bachman A, et al. Mode of action human relevance (species concordance) framework: Evolution of the Bradford Hill considerations and comparative analysis of weight of evidence[J]. *J Appl Toxicol*, 2014, 34(6): 595-606. DOI: 10.1002/jat.2984.
- [29] Tollefsen K, Scholz S, Cronin M, et al. Applying Adverse Outcome Pathways (AOPs) to support Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2014, 70(3): 629-640. DOI: 10.1016 / j. yrph.2014.09.009.
- [30] Organization for Economic Co-operation and Development. Report of the Workshop on a Framework for the Development and Use of Integrated Approaches to Testing and Assessment[EB / OL]. [2019-02-12]. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264274747-en.pdf?expires=1557076826&id=id&acname=guest&checksum=F599C930EC9AD8766416203E1FAE3B1B>.
- [31] Thomas R, Philbert M, Auerbach S, et al. Incorporating new technologies into toxicity testing and risk assessment: moving from 21st century vision to a data-driven framework[J]. *Toxicol Sci*, 2013,136(1):4-18. DOI: 10.1093/toxsci/kft178.
- [32] Perkins E, Antczak P, Burgoon L, et al. Adverse Outcome Pathways for Regulatory Applications: Examination of Four Case Studies With Different Degrees of Completeness and Scientific Confidence[J]. *Toxicol Sci*, 2015,148(1):14-25. DOI: 10.1093/toxsci/kfv181.
- [33] Burden N, Sewell F, Andersen M, et al. Adverse Outcome Pathways can drive non-animal approaches for safety assessment[J]. *J Appl Toxicol*, 2015, 35(9): 971-975. DOI: 10.1002/jat.3165.
- [34] 张波, 杨萍, 陈雯. 基于毒性通路的毒理学危险度评价方法[J]. *中华预防医学杂志*, 2010,44(7):587-590. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2010.07.004.
- [35] Chepelev N, Gagné R, Maynor T, et al. Transcriptional profiling of male F344 rats suggests the involvement of calcium signaling in the mode of action of acrylamide-induced thyroid cancer[J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 107(Pt A): 186-200. DOI: 10.1016/j.fct.2017.06.019.
- [36] Maronpot R, Thoolen R, Hansen B. Two-year carcinogenicity study of acrylamide in Wistar Han rats with in utero exposure [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2015,67(2):189-195. DOI: 10.1016/j.etp.2014.11.009.
- [37] Pennisi M, Malaguarnera G, Puglisi V, et al. Neurotoxicity of Acrylamide in Exposed Workers[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2013, 10(9): 3843-3854. DOI: 10.3390 / ijerph 10093843.
- [38] Okamoto S, Nakamura T, Cieplak P, et al. S-Nitrosylation-Mediated Redox Transcriptional Switch Modulates Neurogenesis and Neuronal Cell Death[J]. *Cell Rep*, 2014,8(1):217-228. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.06.005.
- [39] Hoth M. CRAC channels, calcium, and cancer in light of the driver and passenger concept[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(6 Pt B):1408-1417. DOI: 10.1016/j.bbamer.2015.12.009.
- [40] 李子琪, 郑唯韡, 刘颖, 等. 食品用纳米材料的管理、安全性评价现状与展望[J]. *中华预防医学杂志*, 2018,52(10): 1082-1088. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2018.10.023.
- [41] 张爱华, 王大朋. 重视环境砷污染健康风险评估研究[J]. *中华预防医学杂志*, 2018,52(10):969-972. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2018.10.001.

(收稿日期:2019-03-21)

(本文编辑:张振伟)