

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20230802001

孙翌, 李媛, 龙奇, 等. 有机化学品非动物替代风险评估组学研究进展[J]. 生态毒理学报, 2024, 19(1): 162-172

Sun Y, Li Y, Long Q, et al. Advances in omics research for risk assessment of non-animal alternatives to organic chemicals [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2024, 19(1): 162-172 (in Chinese)

有机化学品非动物替代风险评估组学研究进展

孙翌^{1,2}, 李媛², 龙奇², 左涛^{2,*}, 徐平^{1,2,3,#}

1. 中国医科大学公共卫生学院 环境毒理学研究室, 沈阳 110122

2. 军事科学院军事医学研究院生命组学研究所, 国家蛋白质科学中心(北京)/北京蛋白质组研究中心, 医学蛋白质组全国重点实验室, 北京 102206

3. 中国医学科学院蛋白组学与新药研发创新单元, 北京 102206

收稿日期: 2023-08-02

录用日期: 2023-12-25

摘要: 暴露评估是有机化学品风险评估的关键环节。准确评估有机化学品对动物或人体的危害程度能够有效降低其潜在风险。化学品风险评估的传统方法主要基于动物实验, 然而相对于复杂的体内实验, 体外细胞毒性实验具有经济、快速、易于量化和可重复的优势。基于人类细胞或细胞系的高通量检测和筛选方法, 更有利于表征化学品的毒性效应, 满足有机化学品管控的需求。随着生命科学步入后基因组学时代, 研究的视角更加广泛, 借助于基因组、转录组、蛋白质组、代谢组等组学工具, 能够从基因表达的时空分布、蛋白质结构和功能的特性、蛋白质翻译后修饰以及代谢物的动态变化视角为化学品暴露风险评估提供多维度信息。本文从组学角度出发, 系统地对近年来国内外有机化学品风险评估的研究进展、组学的研究策略以及组学在有机化学品风险评估中的应用进行了综述和展望, 提出组学的联合应用将更加系统全面地探究化学品毒性机制, 为我国非动物替代有机化学品暴露风险评估提供技术指引和参考。

关键词: 有机化学品; 体外风险评估; 毒性测试; 组学技术

文章编号: 1673-5897(2024)1-162-11

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

Advances in Omics Research for Risk Assessment of Non-animal Alternatives to Organic Chemicals

Sun Yi^{1,2}, Li Yuan², Long Qi², Zuo Tao^{2,*}, Xu Ping^{1,2,3,#}

1. Research Unit of Environmental Toxicology, School of Public Health, China Medical University, Shenyang 110122, China

2. State Key Laboratory of Medical Proteomics, Beijing Proteome Research Center, National Center for Protein Sciences (Beijing), Institute of Lifeomics, Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 102206, China

3. Innovation Unit of Proteomics and New Drug Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 102206, China

Received 2 August 2023

accepted 25 December 2023

Abstract: Exposure assessment serves as a pivotal component in the risk evaluation of organic chemicals. Precise evaluation of the potential hazards posed by these chemicals to animals or humans is essential for effectively

基金项目: 国家自然科学基金专项项目(32141003); 国家自然科学基金青年项目(32101190); 国家蛋白质科学中心(北京)主体设施技术创新开放共享课题(2021-NCPSB-001)

第一作者: 孙翌(2000—), 女, 硕士研究生, 研究方向为利用组学技术进行低剂量化学品风险评估, E-mail: sunyi_synne@163.com

*** 通信作者 (Corresponding author),** E-mail: zuotao1123@163.com

共同通信作者 (Co-corresponding author), E-mail: xuping_bprc@126.com

mitigating their associated risks. Traditional approaches to chemical risk assessment have traditionally relied on animal studies. However, *in vitro* cytotoxicity experiments present distinct advantages, such as economic efficiency, rapid execution, ease of quantification, and reproducibility, when compared to intricate *in vivo* experiments. Quantitative automated high-throughput assays, particularly those employing human cells or cell lines, prove advantageous in delineating the toxic effects of chemical substances and addressing the regulatory requirements for controlling organic chemicals. As life sciences transition into the post-genomics era, research perspectives have been broadened. Leveraging omics tools like genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics enables the provision of multi-dimensional insights for chemical exposure risk assessment. These insights encompass spatial and temporal distributions of gene expression, properties of protein structure and function, post-translational modifications of proteins, and dynamic changes in metabolites. This review systematically examines and outlines recent advancements in organic chemical risk assessment at both domestic and international levels. The review underscores the research strategy of omics and explores its application in organic chemical risk assessment, providing a comprehensive perspective. It is suggested that the collaborative application of omics methodologies will facilitate a more systematic and comprehensive exploration of the toxicity mechanisms of chemicals. Furthermore, this review puts forth technical guidelines and references to support the risk assessment of exposure to non-animal substitute organic chemicals in China.

Keywords: organic chemical substances; *in vitro* risk assessment; toxicity test; omics techniques

随着经济和工业的高速发展,我国已成为化学品生产和使用的大国。种类繁多的化学品广泛应用于社会生活的各个领域,对其安全需求及潜在的风险评估的需要也日益增加^[1]。然而,目前我国化学品安全性评价水平与欧美国家相比还存在一定差距,国产化学品想要走向世界,就必须与国际先进的理念和技术接轨。这对国内生产化学品的企业和化学品监督管理部门提出了更高的标准和要求。传统的化学品风险评估方法往往依赖于动物实验,相对高昂的成本以及难以在满足伦理考虑的同时对大量的化学品进行风险评估^[2]。即使是基于人源性细胞系或细胞组分的体外实验也存在灵敏度低和假阳性率高的缺点,因此建立准确、特异、灵敏的化学品风险评估方法显得尤为重要。

目前,组学技术飞速发展,并在各个研究领域得到广泛应用,特别是毒理学研究中,组学可以高效、准确地生成与不良后果相关的分子动态信息^[3],这将有助于深入研究化学品的毒性效应。多层次、全方位的组学联合应用,可以更全面深入的研究化学品的毒理机制,为化学品的风险评估提供数据支持。

1 传统化学品风险评估方法 (Traditional chemical risk assessment methods)

对化学品进行系统深入的风险评价,一方面有利于保护公众免受有机化学品暴露的潜在危害,另一方面有利于实现从数据中预测有机化学品的危

害^[4]。准确可靠的有机化学品毒性检测方法是对有机化学品进行风险评估的先决条件。传统的有机化学品毒性评估主要是基于动物的体内实验,通过包括解剖检查、脏器称量质量、血液生化指标检测及病理形态学检查来表征受试动物的器官毒性^[5]。虽然基于实验动物的毒理学实验方法为化学物质的毒性评价做出了贡献,但由于实验动物与人遗传背景不同,对不同化学物质的毒性响应和耐受性不同,以实验动物出现毒性甚至致死为依据推断这些化学物质对人的潜在毒性存在巨大的安全风险^[6]。此外,有机化学品相关的动物实验还涉及动物福利的问题,需要以牺牲动物为代价来进行有机化学品的安全性评价,与我们所倡导的动物实验原则:“替代(replacement)、减少(reduction)、优化(refinement)”相违背^[7]。

2007年美国国家研究委员会(National Research Council, NRC)提出《21世纪毒性测试:愿景与策略》^[8],指出未来毒性测试的方向和发展策略,即由传统的以整体动物为基础的毒性测试体系转向使用基于人源性细胞系或细胞组分的高通量体外毒性评价方法,大力推动了毒性测试的变革。在体外细胞毒性评价中,通常是以细胞的数量、形态、结构及生理特征为指标来评价有机化学品对细胞的毒性效应,针对特定的细胞损伤指标已建立起相应的检测方法(表1)。基于细胞水平(细胞膜完整性^[9]、细胞代谢^[10-12]、细胞增殖能力^[13]、细胞形态^[14-15])和亚细胞水

表 1 细胞损伤标志物检测方法比较
Table 1 Comparison of detection methods for markers of cell damage

检测项目 Test item	检测方法 Detection methods	优点 Advantages	局限性 Limitations
细胞膜完整性 Membrane integrity	通过台盼蓝染色,死细胞被染成蓝色 Dead cells are stained blue by trypan blue staining	应用广泛;价格低廉;操作简便 Wide range of applications; low price; easy to operate	难以区分细胞凋亡和坏死;灵敏度差 Difficult to distinguish between apoptosis and necrosis; poor sensitivity
线粒体活性 Mitochondrial activity	MTT、XTT、MTS、WST 比色法,活细胞产生甲瓞复合物,通过测定 OD 值,确定增殖情况 MTT, XTT, MTS, WST colourimetric assay, live cells produce metazan complexes and proliferation is determined by measuring OD values	适用于多种真核细胞;可以同时评估多样本;操作简便;成本低 Suitable for a wide range of eukaryotic cells; multiple samples can be evaluated simultaneously; easy to use; low cost	存在细胞毒性;灵敏度差 Cytotoxicity; poor sensitivity
DNA 复制 DNA replication	³ H-胸腺嘧啶或 BrdU 掺入量的测定 Measurement of DNA synthesis [³ H]-thymidine and BrdU incorporation	操作简便,时间短 Easy to operate, short time consuming	标记试剂是潜在的致癌物 Labelling reagents are potential carcinogens
细胞代谢 Cell metabolism	阿尔玛蓝染色,钙黄绿素乙酰甲酯染色,通过荧光产生或颜色变化指示代谢 Almablue staining, calcium xanthophyll acetyl methyl ester staining, indication of cellular metabolism by fluorescence production or colour change	无细胞毒性 Non-cytotoxic	耗时长;存在假阳性;贴壁细胞检测不敏感 Time-consuming; false positives; insensitive to adherent cell detection
ATP 含量 ATP content	利用 NADPH 在 340 nm 处的特征吸收峰,通过分光光度法测定 ATP 含量 Measurement of ATP content by spectrophotometric method using the characteristic absorption peak of NADPH at 340 nm	耗时短;应用广泛 Short time-consuming; wide range of applications	不能区分细胞毒性或细胞抑制作用 Cannot distinguish between cytotoxic or cytostatic effects
细胞蛋白含量 Cell protein content	利用磺酰罗丹明 B 比色法,检测 540 nm 处的吸光度,定量检测细胞数量 Quantification of cell number by measuring the absorbance at 540 nm using a colourimetric method with sulforodamine B	适用于高通量筛选;适用于少量细胞的长期研究 Suitable for high-throughput screening; suitable for long-term studies with small numbers of cells	不能区分活细胞和死细胞 Cannot distinguish between living and dead cells
蛋白酶活性差异 Protease activity difference	利用福林-酚试剂进行蛋白酶活力标志物测定,以比色法测定 Determination of markers of protease activity by colourimetric assay using forskolin-phenol reagent	无细胞毒性;可区分活细胞和死细胞;耗时短 Non-cytotoxic; can distinguish between live and dead cells; short time consuming	标记物不稳定导致检测的毒性剂量不准确 Inaccurate toxic doses detected due to marker instability
细胞的增殖能力 The ability of cells to proliferate	克隆细胞存活实验,通过对细胞处理后在细胞培养板上的克隆形成能力测定细胞的增殖能力 Clonal cell survival assay, the proliferation capacity of cells was determined by the ability to form clones on cell culture plates after treatment of cells	适合于长期细胞毒性研究和可逆损伤或药物耐药性实验 Suitable for long-term cytotoxicity studies and reversible damage or drug resistance experiments	缺乏动态范围;仅适用于针对 DNA 合成的药剂的影响 Lack of dynamic range; only applies to effects of agents targeting DNA synthesis
细胞形态检测 Cell morphology detection	苏木精和伊红染色,光学显微镜下观察细胞的形态变化,或透射电镜观察细胞的超形态学变化 Hematoxylin and eosin staining, morphological alterations in cells observed under light microscope or ultra-morphological changes in cells observed by transmission electron microscopy	操作简便,直观,可获取易于保存的标本进一步进行研究 Simple and intuitive operation, enabling access to specimens that are easy to store for further research	部分细胞在凋亡过程中不发生形态学的变化 Some cells do not undergo morphological changes during apoptosis
线粒体膜电位变化 Changes of mitochondrial membrane potential	使用荧光亲脂性阳离子染料对细胞和组织进行染色,通过荧光信号的增减反映线粒体内膜电负性的变化 Staining of cells and tissues with fluorescent lipophilic cationic dyes reflecting changes in the electronegativity of the inner mitochondrial membrane by an increase or decrease in fluorescent signal	适用于揭示细胞凋亡早期的线粒体膜电位变化,操作简便 Suitable for revealing mitochondrial membrane potential changes in the early stage of apoptosis, easy to operate	膜电位变化受 pH 影响,存在假阳性 Membrane potential changes are affected by pH; false positives

平(线粒体活性^[9,13,16]、线粒体膜电位变化^[17]、ATP 含量^[9]、细胞蛋白含量^[18]、蛋白酶活性差异^[19]和 DNA 复制^[20])的毒性测试方法被广泛使用。尽管这类方法具有操作简便、成本低廉的优势,常因假阳性率高,对低剂量有机化学品暴露敏感性差,导致上述方法在化学品风险评估中的应用存在缺陷,亟待寻找新的准确高效的风险评估策略。

2 基于组学的新一代暴露风险评估的方法(A new generation of exposure risk assessment methods based on omics)

传统的体外毒性评价方法往往通过检测细胞毒性指标来估计毒性阈值并生成半数抑制浓度(IC₅₀)曲线,但由于无法高通量的对多种有机化学品毒性进行高效精准检验与预测,并且很大程度上忽略了毒性效应机制^[21],限制了其在体外毒理学研究中的应用。随着组学技术的发展和兴起,组学技术的应用可以更加高效、系统、准确地分析有机化学品毒性,预测有机化学品的潜在风险。

2.1 基因组学在有机化学品暴露风险评估中的应用

生命源于基因,基因组学是破译生命密码的钥匙。作为研究有机化学品内在机制的关键,基因组学也是解析毒性模型中药代动力学和药效动力学的基础^[22]。单基因如生物酶基因的变异对药代动力学有重要影响,如可待因被 CYP2D6 生物激活为其主要代谢物吗啡,抗血小板药物氯吡格雷被 CYP2C19 生物激活等。借助于基因组学的高通量 DNA 测序、下一代测序和单核苷酸多态性微阵列等技术,我们能够探索特定基因功能或基因突变与有机化学品暴露之间的联系,搭建临床症状与内在损伤机制之间的桥梁,从而为临床前数据提供决策支持^[23]。

利用基因组技术评估与有机化学品暴露相关的健康风险具有重大潜力,Thomas 等^[24]通过分析剂量-反应微阵列数据计算基准剂量(benchmark dose, BMD)估计值与传统方法得到的 BMD 估计值相似,提示了将基因组信息应用于风险评估有很大潜力。此外,Pinheiro 等^[25]通过使用基因特异性的人类诱导多能干细胞结合全基因组关联技术,成功证明了阿霉素通过引发基因突变产生心脏毒性。Burridge 等^[26]发现阿霉素诱导基因表达的跨系差异可以预测细胞损伤的程度,与心脏发育相关的多个转录因子的表达水平均随阿霉素浓度的升高而下调。通过基因组学研究有助于探索有机化学品暴露时的 DNA 水平变化,并有助于实现基因水平对有机化学品的

风险评估。

2.2 转录组学在有机化学品暴露风险评估中的应用

转录组学被广泛应用于毒理学研究,很大程度上是由于转录组学技术具有相对较低的成本、高信噪比、样本使用量小、生物学覆盖范围广等优点^[27-28]。与传统的实时荧光定量 PCR 相比,转录组学具有更高的通量。对转录组数据进行生物信息学分析,即可实现从 RNA 水平研究人类组织应对外界刺激而做出的基因表达响应。重要的是,转录组学能够将有害结局路径(adverse outcome pathways, AOPs)中 mRNA 稳态水平与表型结果联系起来^[29]。例如,Liu 等^[17]通过检测在子宫中暴露于邻苯二甲酸酯的大鼠胎儿睾丸中的全基因组表达,确定与邻苯二甲酸酯诱导的大鼠睾丸发育不良机制相关的转录变化,建立 mRNA 稳态水平和表型结果的联系。

基于细胞的体外模型结合高通量转录组学(high-throughput transcriptomics, HTTr)是较早开展的体外替代方法,并越来越多地应用于动物替代的毒性测试^[30]。HTTr 作为新一代化学品毒性检测方法,利用基因表达谱作为终点,已经在化学品的生物活性表征中得到应用^[31]。Harrill 等^[32]以 MCF7 细胞为模型,采用时空转录组测序技术(temporally resolved in situ sequencing, Tempo-seq)对包括影响 MCF7 细胞中表达的特定分子靶标的化学品、引起广泛细胞毒性的化学品和对 MCF7 细胞不表达但对只存在于真菌或植物中的靶标有活性的除草剂在内的 44 种环境化合物进行 HTTr 分析,并开发了一种新的基于基因表达特征的剂量反应模型,以确定基因表达开始出现扰动的阈值。此外,Webster 等^[33]发现不同的测序技术得到的基于转录组的 BMD 值基本是一致的,并且通过体外细胞实验进行转录组分析计算得到的 POD(point of departure, POD)和长期动物实验观察到病理变化的有机化学品暴露浓度数量级相当。Sprenger 等^[4]也证实转录组学可以结合体外研究用作危害识别的一线工具。总之,转录组测序以 mRNA 为切入点,通过揭示基因表达的动态变化为有机化学品风险评估提供更加全面和高效的方法。

2.3 蛋白质组学、糖蛋白组学和磷酸化蛋白质组学在有机化学品暴露风险评估中的应用

随着人类基因组计划的完成,生命科学进入了后基因组学时代,蛋白质组以其巨大的复杂性、瞬息万变的动态性,提供了生物系统与生命万象结构、功

能的物质基础。虽然蛋白质组学能够实现生物体内几乎所有蛋白质的序列鉴定和定量分析,但是蛋白质活性的调控并不局限于其表达水平,还可通过翻译后修饰进一步对蛋白质结构和功能进行精细地调控,从而发挥生物学功能^[34]。在已知的300多种蛋白质修饰中,糖基化修饰和磷酸化修饰均是常见和复杂的翻译后修饰方式^[35],糖基化修饰几乎参与所有的生理病理过程,磷酸化修饰贯穿细胞应对有机化学品刺激产生的复杂信号传导过程始终^[36]。

磷酸化蛋白质组学、糖蛋白组学和蛋白质组学相比,区别主要在于,蛋白质组学主要通过标记定量和非标记定量技术^[37],通过质谱检测得到蛋白的定量信息,而磷酸化蛋白质组学和糖蛋白组学主要是通过蛋白质组学技术对样品中的蛋白质翻译后修饰进行大规模鉴定和定量研究^[38-39]。技术层面上,蛋白质组学通过 Bottom-up 和 Top down 这2种质谱分析策略^[40],以蛋白质组为研究对象,研究细胞、组织或生物体的蛋白质组成及变化规律。磷酸化蛋白质组学通过蛋白酶解得到肽段,利用金属离子亲和层析、金属氧化物亲和层析^[38]等方法富集磷酸化肽段;糖蛋白组学通过蛋白酶解得到肽段,利用凝集素亲和层析、多孔石墨化碳法等方法富集糖肽^[39]。最终通过质谱鉴定和生物信息学分析评估有机化学品的暴露风险。

通过蛋白质组学和磷酸化蛋白质组学可以识别有机化学品的损伤效应并揭示作用机制,从而更加深入地理解有机化学品毒性机理,实现靶向预防有机化学品的风险^[41]。Geng 等^[42]利用蛋白质组学方法研究经玉米烯酮处理 MTEC1 细胞中蛋白的表达变化,揭示了玉米烯酮通过抑制线粒体功能障碍和细胞增殖造成对胸腺上皮细胞的毒性。Li 等^[43]应用糖蛋白组学确定 HP 和 HSP90AA1 是潜在的全氟辛酸磺酸诱导肝毒性的糖蛋白生物标志物。Caruso 等^[44]应用磷酸化蛋白质组学确定了 Hg^{2+} 可以破坏 B 细胞中关键的 B 细胞受体(B cell receptor, BCR)信号通路,并指出 phospho-Lyn 是 Hg^{2+} 暴露的潜在生物标志物。Sampadi 等^[45]研究表明磷酸化蛋白质组学分析是表征和剖析暴露于不同类型应激源后探究各种细胞信号通路变化的有力工具。本实验室基于磷酸化蛋白质组学技术开展了较低剂量有机化学品生物学效应检测及 POD 预测的研究,发现低剂量咖啡因、香豆素和槲皮素处理 HepG2 细胞短时间(10 min),其磷酸化蛋白质组学即发生较为明显的变化,

而此时转录组和蛋白组尚无显著变化^[36]。转录组学计算的 POD 值比磷酸化蛋白质组学计算的 POD 值高 7 倍~37 倍^[46],提示磷酸化蛋白质组学可以更为敏感地识别有机化学品引起的细胞效应,减少基于转录组分析方法计算 POD 的不确定性,可为较低剂量化学物质暴露下生物学效应检测的生物标志物研究提供更为多样的候选分子。该研究也表明磷酸化蛋白质组学在识别低剂量有机化学品引起的细胞效应中较转录组和蛋白质组具有更高的灵敏度。

2.4 代谢组学在有机化学品暴露风险评估中的应用

随着基因芯片技术的飞速发展和质谱技术的不断优化,转录组学和蛋白质组学在有机化学品风险评估中得到了越来越多的应用。但是转录组学和蛋白质组学均不能提供疾病诊断终点标志或药物风险的直接证据,而代谢组学实现了这种可能^[47]。代谢组学是继基因组学、转录组学、蛋白质组学之后发展起来的一门新的组学,被定义为定量测定生命系统对病理生理刺激或遗传修饰的动态多参数代谢反应^[48]。代谢组学通过鉴定、定性和定量分析血浆、尿液、唾液、细胞和组织提取液等样本中代谢物,揭示生物体内代谢物的动态变化,提供生物真实的反应终点物质组成及水平,也填补了细胞对外源性有机化学品暴露反应的信息^[49]。

由于疾病、药物或毒素会引发涉及关键细胞信号途径内源性代谢物浓度和代谢通量的扰动,并可为代谢组学研究直接揭示,因此,代谢组学的研究对呈现生命的状态和功能具有重要意义。例如,细胞对有毒有机化学品或其他应激源的反应通常会导致细胞内和细胞外环境的调整,以保证其内环境稳态^[49]。Bannuscher 等^[50]利用代谢组学技术探究 TiO_2 纳米材料暴露的毒性生物标志物,发现在大鼠肺上皮细胞(RLE-6TN)中脂质和生物胺水平倾向于增加,而在肺泡巨噬细胞(NR8383)中则倾向于降低,提示了代谢组学在有机化学品风险评估中的重要作用。代谢组学正在成为一种新兴的有机化学品风险评估方法,并将日渐得到广泛应用。

2.5 基于组学的新一代暴露风险评估方法比较

为了捕捉毒理学反应的全部复杂性,系统毒理学利用高性能组学技术,收集、分析和解释因接触有毒有机化学品而导致的基因表达和蛋白质活性变化的数据,系统反映从 mRNA(转录组学)、蛋白质(总细胞蛋白质组学)和蛋白质修饰(翻译后修饰蛋白质组学),直至代谢物的变化(代谢组学)。比较了这些组

学技术在有机化学品风险评估中的优缺点及局限性,结果如表 2 所示。

早期的研究往往仅使用单一的组学技术进行毒理机制分析,虽然可以筛选和预测某些有机化学品暴露的生物标志物,但是只能捕获生物级联的部分变化,不能提供对毒性途径或 AOPs 的系统理解^[51]。生命的调控并不仅仅停留在单一层面,而是涉及到基因组、转录组、蛋白质组及代谢组等多个层面的共同作用。因此,联合组学技术将更加全面、系统地评估有机化学品的潜在风险,在有毒有机化学品的致病机理研究、潜在靶点筛选、疾病预防与治疗方面起巨大的推动作用^[3]。

日前,组学已应用于多种有机化学品的风险评估中(图 1)。在低剂量香豆素处理细胞仅 10 min 时,基于传统方法无法检测到细胞毒性效应,此时发

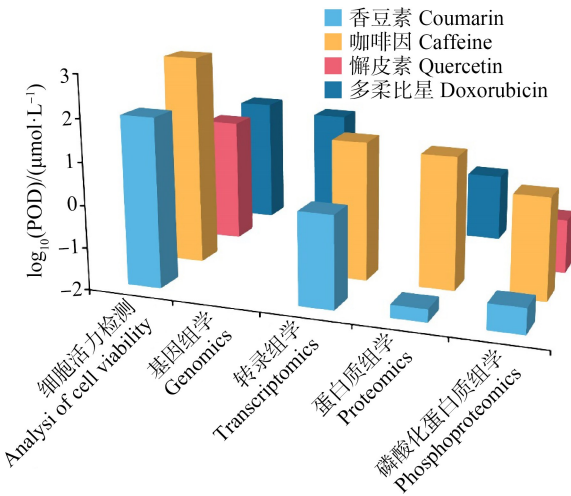


图 1 常见有机化学品不同检测方法检出限比较
Fig. 1 Comparison of detection limits by different methods for common organic chemicals

表 2 基于组学技术的新一代暴露风险评估方法比较			
Table 2 Comparison of new generation exposure risk assessment methods based on omics techniques			
组学技术 Omics technologies	研究内容 Content of research	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
基因组学 Genomics	基因组的结构、功能、进化、定位和编辑 Genome structure, function, evolution, localisation and edition	利用体外细胞模型来提供一种测试化合物在体内毒性潜力的定量信息 ^[23] The use of <i>in vitro</i> cellular modelling to provide quantitative information on the toxicity potential of a test compound <i>in vivo</i> ^[23]	非模式生物的基因组注释不完整 ^[52] Incomplete genome annotation for non-model organisms ^[52]
	磷酸化蛋白/肽段/位点的鉴定及定量分析 Identification and quantitative analysis of phosphorylated proteins/peptide segments/sites	灵敏响应短时间有机化学品的刺激,可作为有机化学品风险评估的灵敏指标 ^[36] Sensitive to short duration chemical stimuli and can be used as a sensitive indicator for chemical risk assessment ^[36]	目前的富集方法对某些磷酸肽群体具有偏好,可能存在定量偏差 ^[53] ;较高的样本使用量,技术覆盖度不足,重现性较差 ^[54] Current enrichment methods have a preference for certain groups of phosphopeptides and may have a quantitative bias ^[53] ; higher sample usage, insufficient technique coverage, poor reproducibility ^[54]
代谢组学 Metabolomics	细胞内所有代谢物的集合 The collection of all metabolites within a cell	提供真实的生物终点;补充蛋白质组学对外源性物质暴露的反应所提供的信息 ^[49] Providing realistic biological endpoints; complementing the information provided by proteomics in response to exogenous substance exposure ^[49]	缺乏明确的定义的最佳实践和报告标准 ^[55] Lack of clearly defined best practices and reporting standards ^[55]
转录组学 Transcriptomics	从 RNA 水平研究基因表达的情况,研究细胞表型和功能 Study of gene expression at the RNA level to study cellular phenotype and function	成本较低;高信噪比;样本量小;生物学覆盖范围广 ^[27-28] ;转录组预测的 POD 和长期动物实验中观察到病理结局的 POD 处于相似的数量级 ^[33] Lower cost; high signal-to-noise ratio; small sample size; wide biological coverage ^[27-28] ; POD predicted by the transcriptome and POD observed in long-term animal experiments with pathological outcomes are in a similar order of magnitude ^[33]	染色体不稳定频率过高,拷贝数状态和基因表达水平变化差异大 ^[56] Excessive frequency of chromosomal instability and high variability in copy number status and gene expression levels ^[56]

现基于转录组计算的 POD 显著低于引起细胞活力发生显著变化的 POD,此外,在短时间暴露时磷酸化蛋白质组较转录组和蛋白质组更早发生响应,这在咖啡因和槲皮素暴露的研究中也得到验证^[46]。与传统方法相比,利用基因组学技术还可以在更低剂量处检测到抗肿瘤药物多柔比星的毒性^[57-58],充分说明组学技术在检测通量和灵敏度方面有了进一步的提升,有助于收集生物系统和有机化学品干扰机制的信息,提高对有机化学品毒性效应的预测能力。

3 总结与展望 (Conclusion and prospect)

3.1 组学技术在有机化学品风险评估中的重要性

有机化学品风险评估的主要目标之一,就是根据动物实验的数据和其他有关资料,推测人体所能承受的安全剂量。为了减少动物滥用和种属差异,在细胞和亚细胞层面的体外实验正在逐步取代体内实验。但因其敏感性较低,使得现有的毒性检测方法具有一定的假阴性率,并且缺乏有效的生物学证据。

在新一代风险评估(next generation risk assessment, NGRA)中,旨在使用包括硅芯片和建模工具、人工智能和机械学习系统、高通量数据等在内的新方法表征损伤效应,通过检测关键的生物途径或靶点,利用细胞或有机化合物分析识别 POD 以高效识别具有潜在毒性或危害效应的有机化学品^[59-61]。当细胞暴露于化学品时,某些化学品可以与细胞内的受体或酶等发生特异性作用,激活或抑制一种或多种毒性通路,引发分子和形态变化。但也有部分化学品可能不存在特定的分子靶标,但可能通过激发细胞的应激反应而发挥作用^[62-63]。无论化学品如何发挥其生物学效应,对化学品诱导产生的变化进行检测均可作为生物标志物,包括多种特定细胞和分子进程,如受体结合、酶抑制作用、免疫调节、DNA 损伤等^[64-66]。

但是,靶向检测和针对性分析,由于无法充分涵盖化学品扰动的整个生物进程,尤其是难以探究分子作用模式未知的新型化学品,而存在一定的局限性。随着组学技术的飞速发展,使得对细胞中发生的分子变化进行全面的综合分析成为了可能,基因组学作为遗传分析的基础,搭建了基因突变与有机化学品暴露评估的桥梁^[23];转录组学从 RNA 水平结合体外模型已实现在毒理研究中的广泛应用,有助于从基因表达的动态变化出发,进行高效地化学品风险评估;蛋白质作为生物功能的执行者,提供了

更显示的毒性病理效应,为细胞和组织的代谢提供了更真实的描述^[67],同时避免了阻碍测定代谢产物的个体间差异^[41];代谢组学在提供生物真实的反应终点物质的同时揭示了生物体内代谢物的动态变化^[49]。组学技术的快速发展,允许同时分析生物体接触有机化学品时大量基因及其转录和翻译产物的变化,筛选、鉴定灵敏的暴露生物标志物^[68],从而更加高效灵敏地全面评估有机化学品的风险。此外,在细胞应对各种内部或外部刺激时,转录因子作为真核细胞内多种信号传导途径的汇合点,在控制许多生物过程中也起着重要作用^[69]。已有研究表明,转录因子可以作为排斥反应的生物标志物^[70]和疾病预防和治疗的靶点^[71],探究发生外界刺激时转录因子的响应变化,有助于补充现有组学技术在化学物质风险评估领域的空白,更加全面地对化学物质进行风险评估。

3.2 组学技术在新一代风险评估应用潜力和价值的展望

尽管组学技术是毒理学研究中具有良好发展前景的工具,相比于传统的评估方法有着巨大的优势,但要将其更广泛地应用于有机化学品风险评估中仍然面临一些挑战。

首先组学技术虽然飞速发展,但是仍未实现从科学研究到监管应用的转化^[72]。要将组学技术方法应用于有机化学品的监管,研究结果必须具有可重复性和可解释性。目前众多机构和学者致力于此。欧盟-毒素风险项目中成功测试将转录组学应用于有机化学品行业的监督管理^[73],美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)和全球 100 多个单位的科学家共同参与了微阵列质量控制(Microarray Quality Control, MAQC)项目,旨在建立基因芯片、新一代测序规范和标准化的 DNA 测序数据集^[74],为基础研究和监管部门确立质量控制指标。

此外,组学技术应用于风险评估的关键挑战在如何将其与有害结局建立科学可信的联系^[75]。风险评估的目的在于识别和评估潜在的风险,探究有机化学品导致有害结局的可能。组学反映的生物现象往往是分子水平,而风险评估和有害结局往往关注于个体水平。因此,组学技术想要有效应用于有机化学品的风险评估,就要在组学响应和有害结局之间建立可靠的联系。这种联系是多层面的,单一组学的应用往往会出现假阴性结果,而组学联合应用,可以多层次、多角度地对 AOPs 中的关键事件进行

分析,从而实现组学技术在有机化学品风险评估中的监管作用。

立法规定和社会期望都需要我们采用一种不同的化学安全评估方法,而过去只收集了与人类或环境相关的少数化学品的大量数据,目前需要以具有成本效益的方式确定数万种现有的和新物质的潜在生物效应^[76],AOPs旨在通过简单的线性模型捕捉生物系统扰动的基本元素来代表关键的体内现象,已被越来越多地用于支持体外数据在有机化学品危害评估中的整合^[77]。AOPs通过证据权重分析评估化学物质与生物系统的初始相互作用在更高的生物组织水平引起的扰动^[78],短时间内,独特的AOPs结构可从广泛不同的数据源中获取有关关键事件的信息,以支持在研究中使用证据权重分析而无需进行终点测试^[79]。在中长期的研究中AOPs方法也有助于定义POD,在不需要动物试验的情况下可用于评估人类过敏反应的风险^[80]。将AOPs方法充分纳入毒理学研究,根据计算机模拟和立体实验对低层次(分子或细胞水平)毒性试验进行预测,从而推断出高层次(器官、个体水平)的毒性事件,将在新一代风险评估中发挥重要作用。此外,评估有机化学品的暴露风险离不开对风险阈值的评估,通过对体外细胞进行刺激可利用基准计量模型计算得到POD^[81],然而依据POD推断化学品的参考剂量时,仍可能由于下游效应不存在阈值而出现问题^[82],还需结合已有的动物试验数据确定化学品的参考剂量。

随着我国科技的不断发展,越来越多的有机化学品将投入生产,进入我们的日常生活。科学准确地评价有机化学品的风险,对保护人体健康和生态环境具有重大意义。随着毒理机制研究的不断深入、生物信息数据的大量收集以及技术的不断发展,组学技术在有机化学品风险评估中将发挥越来越重要的作用。

通信作者简介:左涛(1989—),男,博士,副研究员,主要研究方向为疾病蛋白质组学。

共同通信作者简介:徐平(1969—),男,博士,研究员,国家万人领军人才,北京市科技领军人才,主要研究方向为蛋白质组学驱动的精准医学研究。

参考文献(References):

- [1] Sun J C, Fang R C, Wang H, et al. A review of environmental metabolism disrupting chemicals and effect biomarkers associating disease risks: Where exposomics meets metabolomics [J]. *Environment International*, 2022, 158: 106941
- [2] Ahari H, Nowruzi B, Anvar A A, et al. The toxicity testing of cyanobacterial toxins *in vivo* and *in vitro* by mouse bioassay: A review [J]. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2022, 22(8): 1131-1151
- [3] Min E K, Lee A N, Lee J Y, et al. Advantages of omics technology for evaluating cadmium toxicity in zebrafish [J]. *Toxicological Research*, 2021, 37(4): 395-403
- [4] Sprenger H, Kreuzer K, Alarcan J, et al. Use of transcriptomics in hazard identification and next generation risk assessment: A case study with clothianidin [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2022, 166: 113212
- [5] 刘涛, 郭辰, 赵晓红. 毒理学研究中的体外细胞毒性评价[J]. *生命科学*, 2014, 26(3): 319-324
Liu T, Guo C, Zhao X H. *In vitro* cytotoxicity evaluation in toxicology [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2014, 26(3): 319-324 (in Chinese)
- [6] Bercu J P, Morinello E J, Sehner C, et al. Point of departure (PoD) selection for the derivation of acceptable daily exposures (ADEs) for active pharmaceutical ingredients (APIs) [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2016, 79(Suppl 1): S48-S56
- [7] Russell W M S, Burch R L. The principles of humane experimental technique [J]. *Medical Journal of Australia*, 1960, 1(13): 500
- [8] Krewski D, Acosta D Jr, Andersen M, et al. Toxicity testing in the 21st Century: A vision and a strategy [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B, Critical Reviews*, 2010, 13(2-4): 51-138
- [9] Kumar P, Nagarajan A, Uchil P D. Analysis of cell viability by the MTT assay [J]. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018, 2018(6): 29858338
- [10] Batchelor R H, Zhou M J. Use of cellular glucose-6-phosphate dehydrogenase for cell quantitation: Applications in cytotoxicity and apoptosis assays [J]. *Analytical Biochemistry*, 2004, 329(1): 35-42
- [11] Karácsi E, Jakab K, Homolya L, et al. Calcein assay for multidrug resistance reliably predicts therapy response and survival rate in acute myeloid leukaemia [J]. *British Journal of Haematology*, 2001, 112(2): 308-314
- [12] Sharma N, Arya G, Kumari R M, et al. Evaluation of anticancer activity of silver nanoparticles on the A549 human lung carcinoma cell lines through alamar blue assay [J]. *Bio-protocol*, 2019, 9(1): e3131
- [13] Adan A, Kiraz Y, Baran Y. Cell proliferation and cytotoxicity assays [J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*,

- 2016, 17(14): 1213-1221
- [14] Guo M J, Lu B, Gan J L, et al. Apoptosis detection: A purpose-dependent approach selection [J]. *Cell Cycle*, 2021, 20(11): 1033-1040
- [15] Parton R G. Twenty years of traffic: A 2020 vision of cellular electron microscopy [J]. *Traffic*, 2020, 21(1): 156-161
- [16] Buranaamnuay K. The MTT assay application to measure the viability of spermatozoa: A variety of the assay protocols [J]. *Open Veterinary Journal*, 2021, 11(2): 251-269
- [17] Liu K J, Lehmann K P, Sar M, et al. Gene expression profiling following *in utero* exposure to phthalate esters reveals new gene targets in the etiology of testicular dysgenesis [J]. *Biology of Reproduction*, 2005, 73(1): 180-192
- [18] Shakil M S, Rana Z, Hanif M, et al. Key considerations when using the sulforhodamine B assay for screening novel anticancer agents [J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2022, 33(1): 6-10
- [19] Al-Nasiry S, Geusens N, Hanssens M, et al. The use of alamar blue assay for quantitative analysis of viability, migration and invasion of choriocarcinoma cells [J]. *Human Reproduction*, 2007, 22(5): 1304-1309
- [20] Alvarez K L F, Poma-Acevedo A, Fernández-Sánchez M, et al. An EdU-based flow cytometry assay to evaluate chicken T lymphocyte proliferation [J]. *BMC Veterinary Research*, 2020, 16(1): 230
- [21] Jennings P. The future of *in vitro* toxicology [J]. *Toxicology in vitro*, 2015, 29(6): 1217-1221
- [22] Roden D, McLeod H, Relling M, et al. Pharmacogenomics [J]. *The Lancet*, 2019, 394: 521-532
- [23] van Hummelen P, Sasaki J. State-of-the-art genomics approaches in toxicology [J]. *Mutation Research*, 2010, 705(3): 165-171
- [24] Thomas R S, Allen B C, Nong A, et al. A method to integrate benchmark dose estimates with genomic data to assess the functional effects of chemical exposure [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2007, 98(1): 240-248
- [25] Pinheiro E A, Fetterman K A, Burrridge P W. hiPSCs in cardio-oncology: Deciphering the genomics [J]. *Cardiovascular Research*, 2019, 115(5): 935-948
- [26] Burrridge P W, Li Y F, Matsa E, et al. Human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes recapitulate the predilection of breast cancer patients to doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *Nature Medicine*, 2016, 22(5): 547-556
- [27] Hatherell S, Baltazar M T, Reynolds J, et al. Identifying and characterizing stress pathways of concern for consumer safety in next-generation risk assessment [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2020, 176(1): 11-33
- [28] House J S, Grimm F A, Klaren W D, et al. Grouping of UVCB substances with dose-response transcriptomics data from human cell-based assays [J]. *ALTEX*, 2022, 39(3): 388-404
- [29] Liang X F, Martyniuk C J, Simmons D B D. Are we forgetting the “proteomics” in multi-omics ecotoxicology? [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 2020, 36: 100751
- [30] Lee F, Shah I, Soong Y T, et al. Reproducibility and robustness of high-throughput S1500+ transcriptomics on primary rat hepatocytes for chemical-induced hepatotoxicity assessment [J]. *Current Research in Toxicology*, 2021, 2: 282-295
- [31] Harrill J, Shah I, Setzer R W, et al. Considerations for strategic use of high-throughput transcriptomics chemical screening data in regulatory decisions [J]. *Current Opinion in Toxicology*, 2019, 15: 64-75
- [32] Harrill J A, Everett L J, Haggard D E, et al. High-throughput transcriptomics platform for screening environmental chemicals [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2021, 181(1): 68-89
- [33] Webster A F, Chepelev N, Gagné R, et al. Impact of genomics platform and statistical filtering on transcriptional benchmark doses (BMD) and multiple approaches for selection of chemical point of departure (PoD) [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0136764
- [34] Titz B, Elamin A, Martin F, et al. Proteomics for systems toxicology [J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2014, 11(18): 73-90
- [35] Prescher J A, Bertozzi C R. Chemical technologies for probing glycans [J]. *Cell*, 2006, 126(5): 851-854
- [36] Zhang Z P, Zhang Y, Li Y, et al. Quantitative phosphoproteomics reveal cellular responses from caffeine, coumarin and quercetin in treated HepG2 cells [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2022, 449: 116110
- [37] Rozanova S, Barkovits K, Nikolov M, et al. Quantitative mass spectrometry-based proteomics: An overview [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2021, 2228: 85-116
- [38] Zhang Z R, Wu S, Stenoién D L, et al. High-throughput proteomics [J]. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 2014, 7: 427-454
- [39] Carregari V C. Phosphopeptide enrichment techniques: A pivotal step for phosphoproteomic studies [J]. *Advances*

- in Experimental Medicine and Biology, 2022, 1382: 17-27
- [40] Riley N M, Bertozzi C R, Pitteri S J. A pragmatic guide to enrichment strategies for mass spectrometry-based glycoproteomics [J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2021, 20: 100029
- [41] Madeira C, Costa P M. Proteomics in systems toxicology [J]. Advances in Protein Chemistry and Structural Biology, 2021, 127: 55-91
- [42] Geng H R, Tan X T, Zhao M, et al. Proteomic analysis of zearalenone toxicity on mouse thymic epithelial cells [J]. Journal of Applied Toxicology, 2022, 42(4): 660-670
- [43] Li D P, Jiang L L, Hong Y J, et al. Multilayered glycoproteomic analysis reveals the hepatotoxic mechanism in perfluorooctane sulfonate (PFOS) exposure mice [J]. Environmental Pollution, 2021, 268(Pt A): 115774
- [44] Caruso J A, Stemmer P M, Dombkowski A, et al. A systems toxicology approach identifies Lyn as a key signaling phosphoprotein modulated by mercury in a B lymphocyte cell model [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2014, 276(1): 47-54
- [45] Sampadi B, Pines A, Munk S, et al. Quantitative phosphoproteomics to unravel the cellular response to chemical stressors with different modes of action [J]. Archives of Toxicology, 2020, 94(5): 1655-1671
- [46] Li Y, Zhang Z P, Jiang S H, et al. Using transcriptomics, proteomics and phosphoproteomics as new approach methodology (NAM) to define biological responses for chemical safety assessment [J]. Chemosphere, 2023, 313: 137359
- [47] Lindon J C, Holmes E, Bollard M E, et al. Metabonomics technologies and their applications in physiological monitoring, drug safety assessment and disease diagnosis [J]. Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals, 2004, 9(1): 1-31
- [48] Holmes E, Tang H R, Wang Y L, et al. The assessment of plant metabolite profiles by NMR-based methodologies [J]. Planta Medica, 2006, 72(9): 771-785
- [49] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. 'Metabonomics': Understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. Xenobiotica; the Fate of Foreign Compounds in Biological Systems, 1999, 29(11): 1181-1189
- [50] Bannuscher A, Hellack B, Bahl A, et al. Metabolomics profiling to investigate nanomaterial toxicity *in vitro* and *in vivo* [J]. Nanotoxicology, 2020, 14(6): 807-826
- [51] Canzler S, Schor J, Busch W, et al. Prospects and challenges of multi-omics data integration in toxicology [J]. Archives of Toxicology, 2020, 94(2): 371-388
- [52] Zhou X, Liu Z H. Unlocking plant metabolic diversity: A (pan)-genomic view [J]. Plant Communications, 2022, 3(2): 100300
- [53] Low T Y, Mohtar M A, Lee P Y, et al. Widening the bottleneck of phosphoproteomics: Evolving strategies for phosphopeptide enrichment [J]. Mass Spectrometry Reviews, 2021, 40(4): 309-333
- [54] Liu Z X, Wang Y B, Xue Y. Phosphoproteomics-based network medicine [J]. The FEBS Journal, 2013, 280(22): 5696-5704
- [55] Olesti E, González-Ruiz V, Wilks M F, et al. Approaches in metabolomics for regulatory toxicology applications [J]. The Analyst, 2021, 146(6): 1820-1834
- [56] Ciriello G, Miller M L, Aksoy B A, et al. Emerging landscape of oncogenic signatures across human cancers [J]. Nature Genetics, 2013, 45(10): 1127-1133
- [57] Holmgren G, Sartipy P, Andersson C X, et al. Expression profiling of human pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes exposed to doxorubicin-integration and visualization of multi-omics data [J]. Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology, 2018, 163(1): 182-195
- [58] Hsu C H, Tomiyasu H, Liao C H, et al. Genome-wide DNA methylation and RNA-seq analyses identify genes and pathways associated with doxorubicin resistance in a canine diffuse large B-cell lymphoma cell line [J]. PLoS One, 2021, 16(5): e0250013
- [59] Schlüter U, Meyer J, Ahrens A, et al. Exposure modelling in Europe: How to pave the road for the future as part of the European Exposure Science Strategy 2020-2030 [J]. Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology, 2022, 32(4): 499-512
- [60] Brescia S, Alexander-White C, Li H Q, et al. Risk assessment in the 21st Century: Where are we heading? [J]. Toxicology Research, 2023, 12(1): 1-11
- [61] Paul Friedman K, Gagne M, Loo L H, et al. Utility of *in vitro* bioactivity as a lower bound estimate of *in vivo* adverse effect levels and in risk-based prioritization [J]. Toxicological Sciences, 2020, 173(1): 202-225
- [62] Simmons S O, Fan C Y, Ramabhadran R. Cellular stress response pathway system as a sentinel ensemble in toxicological screening [J]. Toxicological Sciences, 2009, 111(2): 202-225
- [63] Zhang Q, Bhattacharya S, Pi J B, et al. Adaptive posttranslational control in cellular stress response pathways and its relationship to toxicity testing and safety assessment [J]. Toxicological Sciences: An Official Journal of

- the Society of Toxicology, 2015, 147(2): 302-316
- [64] Bergamini G, Bell K, Shimamura S, et al. A selective inhibitor reveals PI3K γ dependence of TH17 cell differentiation [J]. *Nature Chemical Biology*, 2012, 8: 576-582
- [65] Hendriks G, Derr R S, Misovic B, et al. The extended ToxTracker assay discriminates between induction of DNA damage, oxidative stress, and protein misfolding [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2016, 150(1): 190-203
- [66] Baltazar M T, Cable S, Carmichael P L, et al. A next-generation risk assessment case study for coumarin in cosmetic products [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2020, 176(1): 236-252
- [67] Martins C, Dreij K, Costa P M. The state-of-the art of environmental toxicogenomics: Challenges and perspectives of “omics” approaches directed to toxicant mixtures [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(23): 4718
- [68] Portugal J, Mansilla S, Piña B. Perspectives on the use of toxicogenomics to assess environmental risk [J]. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 2022, 27(10): 294
- [69] Vaquerizas J M, Kummerfeld S K, Teichmann S A, et al. A census of human transcription factors: Function, expression and evolution [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2009, 10: 252-263
- [70] Satoda N, Shoji T, Wu Y L, et al. Value of FOXP3 expression in peripheral blood as rejection marker after miniature swine lung transplantation [J]. *The Journal of Heart and Lung Transplantation: The Official Publication of the International Society for Heart Transplantation*, 2008, 27(12): 1293-1301
- [71] Niu N, Xu S W, Xu Y N, et al. Targeting mechanosensitive transcription factors in atherosclerosis [J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2019, 40(4): 253-266
- [72] Sauer U G, Deferme L, Gribaldo L, et al. The challenge of the application of omics technologies in chemicals risk assessment: Background and outlook [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2017, 91(Suppl 1): S14-S26
- [73] Escher S E, Kamp H, Bennekou S H, et al. Towards grouping concepts based on new approach methodologies in chemical hazard assessment: The read-across approach of the EU-ToxRisk project [J]. *Archives of Toxicology*, 2019, 93(12): 3643-3667
- [74] Salit M, Woodcock J. MAQC and the era of genomic medicine [J]. *Nature Biotechnology*, 2021, 39(9): 1066-1067
- [75] Marx-Stoelting P, Braeuning A, Buhrke T, et al. Application of omics data in regulatory toxicology: Report of an international BfR expert workshop [J]. *Archives of Toxicology*, 2015, 89(11): 2177-2184
- [76] Carusi A, Davies M R, De Grandis G, et al. Harvesting the promise of AOPs: An assessment and recommendations [J]. *The Science of the Total Environment*, 2018, 628-629: 1542-1556
- [77] Tebbby C, Gao W, Delp J, et al. A quantitative AOP of mitochondrial toxicity based on data from three cell lines [J]. *Toxicology in vitro*, 2022, 81: 105345
- [78] Ankley G T, Bennett R S, Erickson R J, et al. Adverse outcome pathways: A conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2010, 29(3): 730-741
- [79] Burden N, Sewell F, Andersen M E, et al. Adverse outcome pathways can drive non-animal approaches for safety assessment [J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2015, 35(9): 971-975
- [80] Maxwell G, MacKay C, Cubberley R, et al. Applying the skin sensitisation adverse outcome pathway (AOP) to quantitative risk assessment [J]. *Toxicology in vitro: An International Journal Published in Association with IBRA*, 2014, 28(1): 8-12
- [81] Spassova M A. Statistical approach to identify threshold and point of departure in dose-response data [J]. *Risk Analysis: An Official Publication of the Society for Risk Analysis*, 2019, 39(4): 940-956
- [82] Spassova M A, Miller D J, Nikolov A S. Kinetic modeling reveals the roles of reactive oxygen species scavenging and DNA repair processes in shaping the dose-response curve of KBrO₃-induced DNA damage [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 2015: 764375
- ◆