



评述

面向化学品风险评价的计算(预测)毒理学

王中钰, 陈景文*, 乔显亮, 李雪花, 谢宏彬, 蔡喜运

工业生态与环境工程教育部重点实验室; 大连理工大学环境学院, 大连 116024

*通讯作者, E-mail: jwchen@dlut.edu.cn

收稿日期: 2015-08-10; 接受日期: 2015-09-01; 网络版发表日期: 2015-11-04

国家杰出青年科学基金(编号: 21325729)资助项目

摘要 进入 21 世纪以来, 为快速高效地评价和预测化学品的环境与生态健康风险, 毒性测试方法发生着巨大的变革. 计算毒理学无疑处于这场变革的前沿——它融合毒理学、计算化学、化学/生物信息学、系统生物学等学科资源, 构建数学或计算机模型以实现化学品的环境暴露、危害性与风险性的高效预测和评价, 并提升对毒性机制的认识. 计算毒理学可显著减少毒性测试所需的动物数量、成本和时间, 支持化学品风险的预先防范. 本综述介绍了计算毒理学在辅助化学品风险评价以及剖析毒性机制时常用的策略与模型, 并就其在化学品风险管理领域的外延进行了讨论.

关键词 计算毒理学, 模型, 化学品, 风险评价, 定量构效关系

1 计算毒理学的源起

环境化学品(如工业化学品、农药、药物及个人护理用化学品、阻燃剂等)是影响人体与生态健康最重要的风险源^[1,2]. 为从源头上解决化学品污染问题, 需要在化学品流入市场之前对其环境暴露、危害性与风险性进行评价, 并对高风险化学品加以管控^[3]. 这种风险防范理念催生了人类历史上最严格的化学品管理法规(Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of CHemicals, REACH)^[4], 也推动着全球化学品管理的政策转向.

然而, 化学品风险评价遇到了瓶颈. 首先, 化学品的数量巨大, 据 REACH 统计, 人类市场上使用的化学品有 14 万多种, 80% 以上既有化学品的环境安全信息是缺失的^[5,6]. 由于新化学品进入市场的速度(约

500~1000 种/年)远大于传统化学品风险评价的速度(2~3 年/种), 仅依赖实验数据对化学品进行风险评价, 会导致大量新化学品和既有化学品的替代品^[7~9]未经风险评价而无法投入使用.

20 世纪以来, 作为评价化学品毒理效应的核心学科, 毒理学发展缓慢, 长期依赖活体(*in vivo*)动物测试, 与替代(replacement)动物实验、减少(reduction)实验动物数目、改进(refinement)动物实验方法的动物实验伦理 3R 原则相去甚远. 另外, 传统的 *in vivo* 测试存在跨物种外推至人类、高-低剂量外推等诸多不确定因素, 难以准确预测化学品对人体和生态健康的毒理效应.

近年来, 化学品毒性测试方法有了新的变革, 主要体现在离体(*in vitro*)毒性测试技术的快速发展. *In vitro* 测试采用生物大分子、细胞系、生物组织、器

引用格式: 王中钰, 陈景文, 乔显亮, 李雪花, 谢宏彬, 蔡喜运. 面向化学品风险评价的计算(预测)毒理学. 中国科学: 化学, 2016, 46: 222-240
Wang ZY, Chen JW, Qiao XL, Li XH, Xie HB, Cai XY. Computational toxicology: oriented for chemicals risk assessment. *Sci Sin Chem*, 2016, 46: 222-240, doi: 10.1360/N032015-00169

官作为受试靶标来代替完整的活体动物^[10]。2007 年, 美国国家科学研究委员会发表了“21 世纪毒性测试: 愿景与策略”报告, 强调毒性通路概念, 并倡导毒理学从以描述为主的科学向更多地基于人体组织和细胞的、更具预测潜力的 *in vitro* 测试转变; 倡导发展计算模型来表征化学品毒性通路, 评价其暴露、危害与风险, 以减少实验动物数目、时间和成本, 并增进对化学物质毒性效应机制的认识^[11]。毒性通路, 泛指“被化学分子过分干扰后能引起有害健康效应的细胞生化通路”, 这一还原理论赋予了 *in vitro* 测试以科学根据。2008 年, 美国 Tox21 项目融合自动化技术, 单次 *in vitro* 测试化学品数目超过 1000 种, 实现了针对化学品的“高通量”筛选(high-throughput screening, HTS), 其数据生成速度及稳定性显著提升^[12,13]。最新的 HTS 可以直接采用人源细胞作为受试靶标, 避免跨物种差异弊端, 并反映遗传差异与毒效的关系^[14,15]。此外, 高分辨成像技术能直观精细地呈现受试细胞形态学变化等“高内涵”的表型现象^[16], 为描述细胞毒性效应提供了全新思路。

尽管前述毒性测试方法学的变革在一定程度上推动了毒理学发展, 以 HTS 为代表的新毒理学方法的使用、验证与意义仍然有待商榷^[17-19]。一方面, *in vitro* 测试终点与 *in vivo* 毒性终点之间不是简单的线性关系; 另一方面, *in vitro* 测试仍然面临着机理解释、假阳性困扰等难题^[20]。同时应注意到, HTS 仍然较为昂贵, 严重依赖专门的仪器设施。尚在起步阶段的 HTS 所表征的化学品总量(Tox21 项目, 2008~2013 年, 约 10000 种^[17])不及 2014 年美国化学文摘社(www.cas.org)日均注册的化学品数目(>15000 种)。因而, 当前的毒理学测试体系仍不能满足化学品风险评价的需求, 不能满足毒理学科发展的需求。这些需求促进了一个新兴的研究领域, 即计算毒理学(亦称预测毒理学)的发展。

计算(预测)毒理学基于计算化学、化学/生物信息学和系统生物学原理, 通过构建计算机(*in silico*)模型, 来实现化学品环境暴露、危害与风险的高效模拟预测^[21]。进入 21 世纪以来, 发达国家非常重视计算毒理学的研究。例如, 美国国家环境保护局(EPA)于 2005 年成立国家计算毒理学中心^[22], 以统筹计算毒理学研究工作。于 2007 年, EPA 启动了 ToxCast 项目^[23], 借助计算毒理学方法探索 HTS 测试数据中分子/细胞水平的化学分子干扰与顶层毒性终点(apical

endpoints)(生殖、发育以及长期毒性/癌症)之间的联系^[24,25]。与此同时, 在 REACH 法规的要求下, 欧盟联合研究中心以及经济合作与发展组织(OECD)等国际性组织机构, 也广泛开展了计算毒理学研究以快速甄别化学品毒性。形成了一批计算毒理学方法的导则、开放网络工具平台和数据库。

与国外成果丰硕的研究现状相比, 我国计算毒理学研究尚处于起步阶段。本综述力争较全面地介绍计算毒理学的理念及其方法体系, 希望起到抛砖引玉的作用, 促进我国计算毒理学领域研究工作的快速推进。

2 计算毒理学与化学品风险评价

经典的化学品风险评价框架包含 4 个环节: 危害识别、暴露评价、效应评价(剂量-响应评价)、风险表征^[26]。最终的风险表征总是表现为“暴露值”与“效应阈值”的函数。为此, 计算毒理学的主要工作均围绕化学品“暴露值”与“效应阈值”及相关信息展开。

借鉴环境化学、物理化学、生理学、计算化学、系统毒理学等学科的理论工具, 一套面向现代风险评价需求, 模拟化学品从暴露到效应的连续性过程, 从而将化学品的源释放量、环境介质浓度、靶点暴露剂量、效应阈值等关键数据衔接起来的计算毒理学模型体系显现出来(图 1)。然而, 针对某一化学品的模型体系, 必须经过调整才能适用于其他化学品, 即模型体系中一切化学品的物理化学性质、环境行为参数和毒理学效应参数均需随之调整。此外, 在当前所掌握的毒性效应机制仍不足以实现“透明”模型构建的情况下, 仍需借助“剂量-效应关系”^[12,13,27]实验以测定毒性效应阈值。在计算毒理学领域, 主要由定量结构-活性关系(QSAR)模型提供大量化学品的暴露和效应模拟所依赖的基础参数(图 1)。

3 化学品环境暴露-毒性效应模拟

凡涉及化学品与生物系统的接触, 以及为“接触”提供信息的内容, 都属于暴露科学的研究范畴。通过化学品的暴露, 化学品与生物系统发生相互作用, 从而产生效应。风险评价重点关注其中的负面或有害效应。特别地, 就生物体而言, 毒性效应指的是使生物体系异常, 甚至造成局部/整体生理功能失灵

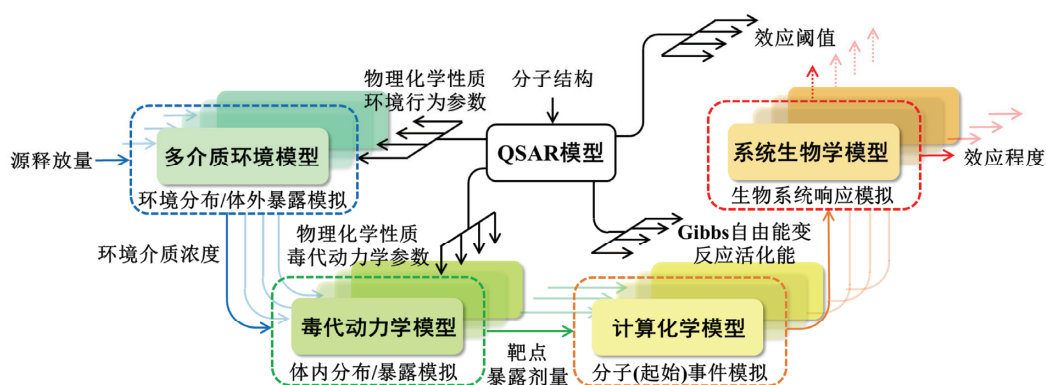


图1 面向化学品风险预测与评价的计算毒理学模型格局

的效应;对于生态系统而言,毒性效应也泛指种群功能以及生态系统功能的失灵。下文将分别介绍暴露与毒性效应的模拟预测。

3.1 化学品多介质暴露模拟

暴露是化学物质产生毒性效应的前提条件。暴露研究源起于职业病工作环境的考察,在环境健康领域则注重生物体外的环境介质中污染物浓度的测量,以及对生物体内部暴露标志的检测^[28]。在流行病学领域,环境因素与人类疾病的关系一直是研究的热点,2005年Wild^[29,30]提出了暴露组(学)(exposome)的概念,涵盖生命个体从形成到死亡全过程所承受的一切暴露,以对基因组加以补充,甚至可以将生命归结为二者的相互作用。2012年,美国国家科学研究委员会发布了“21世纪暴露科学:愿景与策略”的报告,全面阐述了暴露科学的概念,及其研究范畴和潜在方法学^[31]。

计算毒理学为了模拟暴露的复杂过程,首先需要抽象出数学模型,通常从化学品进入环境的排放量出发,构建不同尺度的模型来估算化学品的环境浓度水平,进而定义特定的暴露场景,计算生物体摄入量,并推算分布于靶组织的剂量或抵达生物大分子周边的化学分子数量。

3.1.1 化学品环境归趋的模拟

化学物质在环境介质中的浓度水平是暴露研究的基础。风险防范理念及有关化学品管理法规^[4]推动了化学品释放信息的规范化。例如,OECD要求编纂的化学品释放场景文档(Emission Scenario Documents, ESDs, <http://www.oecd.org/env/exposure/esd>)描述了

化学品的来源、生产过程与使用模式,其目的就是确定化学品在水、空气、土壤等环境介质中的排放量。ESDs被广泛地应用到国家与区域环境风险评价之中,如欧洲化学品管理局环境暴露评估相关指导文件就参考了现有ESDs。此外,美国EPA开发了很多通用场景,可作为风险评价中的默认排放场景。

在获得化学品的环境输入量之后,基于化学物质随流态环境介质的迁移及其在环境介质内的扩散与降解转化行为,以及若干基本的科学假设,即可构建数学模型来定量描述化学品在多介质环境中的分布。在众多的模型中,基于逸度(fugacity)原理的多介质环境模型简单、灵活、应用广泛^[32-34]。同时,在地理信息系统的支撑下,多介质环境模型在时空分辨率和可视化方面仍然有巨大的提升潜力^[34]。

多介质环境模型为化学物质的环境浓度水平提供了粗略的评估,也被称为远场(far-field)模型。然而,在建筑结构或交通工具等局域(半)封闭环境内,近距离暴露源对周围环境浓度的贡献超过环境背景值,需要构建更为逼真的暴露模型或暴露场景(exposure scenario)加以模拟^[35]。暴露场景相比远场模型更具有针对性,也更精准,又被称为近场(near-field)模型。远近场模型的物理原理是相似的,均可构建明确的数学表达式对化学物质的迁移转化行为加以定量描述。

3.1.2 暴露途径与暴露模式

暴露途径(exposure pathways)是对化学物质从环境介质进入生物体内部的具体描述。暴露途径具有物种特异性。例如,对于哺乳动物,表现为经口食入、呼吸摄入、表皮接触吸收等;而对于细菌,则表

现为胞吞作用或化学分子的跨膜输入。同时,暴露途径具有发育阶段特异性。例如,哺乳动物胚胎期的暴露途径主要为胎盘输运,与之后的婴幼儿期截然不同。尽管如此,在微观上,暴露意味着化学分子与生物大分子发生接触,为二者进一步相互作用提供空间基础。而暴露途径则是对应微观“接触”的宏观表现。

观察和实验是了解暴露途径的重要手段,而化学物质暴露的各种途径的加权汇总,即为暴露模式(pattern)。暴露模式与生命活动密切关联,具有不同的生活环境(暴露场景)和生活方式的人群,其暴露模式亦截然不同。因此,人类化学品暴露模式研究,经常以问卷调查的形式收集信息。总之,生态圈内任何一类物种,在其生命周期的任何一个阶段,处于任何一个暴露场景之中,都对应有独特的暴露模式。其中又以人类的暴露模式最为复杂多样。EPA于1989年发布了暴露因子手册(Exposure Factor Handbook),后于1997年和2011年对其做出更新和修订,以提供在暴露评价中使用到的统计信息。综上,暴露模式研究需要不同物种不同生命阶段、不同生活方式的数据。事实上,暴露科学的一个主要工作就是构建一套数据库系统囊括上述信息,通过调用和操纵数据,来模拟生物体对于周边环境化学物质的暴露模式,并估算进入生物体内的剂量。EPA开发的人类活动综合数据库(consolidated human activity database, CHAD, <http://www.epa.gov/heasd/chad.html>)就是记载人类生活方式与行为的典例,该数据库也是EPA展开系统性暴露评价的核心组件。

3.1.3 化学品在生物体内的分布

暴露可以根据化学物质在生物体外或体内而进一步区分为外暴露(external exposure)和内暴露(internal exposure);相应地,化学物质在体外的浓度称为外暴露浓度,在体内的浓度(剂量)则称为内暴露浓度(剂量)。内暴露是外暴露时间与空间上的自然延续。由于生物体内不同部位对同一种化学物质的暴露所产生的效应不同,例如,哺乳动物的肝脏可以代谢外源物质,而脂肪组织则会存储疏水性有机物,因此研究化学物质在生物体内的分布对于了解毒性效应机制非常有意义。

直接获取生物体内化学品暴露浓度可以通过采样分析(如 *in vivo* 实验测定受试生物各组织器官的实

际浓度)或大规模调查(如美国的全国健康和营养检查调查, <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm>, 能统计受检尿样与血样中上百种化学品及部分代谢产物浓度)。然而,受限于实验技术、生物样本类型、数量与能鉴定的化学物质种类,不可能完全采用生物监测获取上万种化学品的内暴露浓度。为此,计算毒理学借助毒代动力学(toxicokinetics)模型来模拟化学品的内暴露浓度。

化学品经多种暴露途径进入生物体后,随着生物的体液分布于各器官、组织及细胞,并被生物酶代谢转化,凡是涉及生物体对化学品的吸收(absorption)、分布(distribution)、代谢(metabolism)、排泄(excretion)与毒性(toxicity)的过程(ADME/T),均属于化学物质的毒代动力学研究范畴。毒代动力学(或药代动力学,二者统称为生物动力学(biokinetics^[36]))模型已经被广泛用于模拟有机化学品在鱼体^[37]、啮齿动物及人类体内的代谢与分布^[38]。其中,基于生理的药代/毒代动力学(physiologically based pharmac/toxicokinetics, PBP/TK, 本文统称为 PBTK)模型被广泛采用。以哺乳动物为例, PBTK 模型根据生理学构造划分成肺、肝、静脉、动脉等具有重要毒理学意义的“室”,根据“室”之间的联系列出质量/流量守恒微分方程组,继而求解各“室”的物质浓度。利用 PBTK 模型还可以从血液或尿液浓度反向求解摄入总量,把生物监测数据与暴露估计值合理关联在一起^[39],在一定程度上验证毒代动力学模型的合理性。根据研究需要,还可以进一步基于生物物理原理,模拟化学物质在特定器官中的分布,找到关键的靶细胞,或模拟其在特定细胞中的分布,找到关键的靶细胞器或靶蛋白,并将宏观的浓度值换算为分布在一定体积微观空间内一定数量的化学分子——空间尺度的转换将为进一步探索毒性机制的分子机理提供依据。

3.1.4 “自底向上”的“非线性”暴露模拟

计算毒理学以及前文所描述的模型体系所进行的还原真实暴露过程的尝试,走的是一条“自底向上(bottom-up)”的道路^[28]。无论是基础数据的搜集与相关数据库系统的构筑,还是多尺度模型的搭建与验证,这注定是一条工作浩繁的探索之路。“自底向上”的视角更符合直觉,有助于机理剖析,也可以直接为控制化学品风险提供操作性指导与定量依据。经过

长期的探索,在“自底向上”的暴露研究领域,也取得了一些创新成果.例如,EPA的ExpoCast项目^[40]开发的模型体系,贯通了化学品从释放到进入人体的全过程,能够根据美国人日常生活习惯模拟上千种化学品的人体暴露剂量^[41],并被用于揭示化学品风险排序^[42],实现对化学品高通量、多暴露模式,快速、高效的模拟预测.

值得注意的是,化学物质的暴露过程具有时间和空间上的连续性,用于模拟具体暴露场景下个体暴露的模型通常表现为确定形式的数学方程组(表1),这赋予不同时空暴露量之间可相互推导的特性.借助暴露模型的“逆推性”,可以在不同“断面”将化学品暴露与毒性效应信息加以比较.例如,可以利用毒代动力学模型从*in vitro*毒性测试数据逆向推导出人体摄入量的毒性效应阈值,与实测的或模型估算的摄入量进行比较^[43].

传统的暴露体系秉承了“从污染源到靶点”的线性模型理念,然而,暴露与效应并不是相互独立的,而是相互渗透、相互影响的.例如,长期暴露于有害化学物质会导致生物体的生理参数发生改变,从而影响原始PBTK模型的效果.同时,在暴露于特定的化学物质时,生物体会做出应激反应,表现出趋利避害的本能.例如,人类在不明刺激性气味下会捂住口鼻,以减少暴露.特别地,人类群体更能改造自然环境,改变社会规则,从而深入影响暴露模型体系的各项参数.真实的暴露具有非线性的特征.尤其是人群的暴露模拟、以往的统计分布律和依据该分布律的随

机模拟(如 Monte Carlo 模拟),将逐渐被更复杂的非线性模型体系所取代.有关暴露评价与暴露科学的最新进展可参考 Lioy 和 Smith^[31]撰写的评述.

3.2 化学品多尺度毒性效应模拟

化学品对生理稳态的干扰,等价于化学品暴露后生物系统的异常状态与正常状态间的偏差.计算毒理学借助物理、化学、生物学原理构建的模型蕴含着毒理学对毒性机制最深刻的认识.通过模拟化学品对生物系统的干扰,“观测”模型在干扰下的输出,就得到了对于化学干扰所致毒性效应的一种预估.当前最大的科学挑战是:如何构建出此类模型?

2010年,Ankley等^[44]提出了有害结局通路(adverse outcome pathways, AOPs)概念框架,进一步系统论述了(毒性)作用模式/机制(mode/mechanism of action)、毒性通路、生物学网络(biological networks)的涵义及其在AOPs框架中的定位.AOPs框架呈现了对化学品毒性效应的多尺度图景(图2),其假设化学物质的毒性源于外源化学分子与生物大分子的相互作用,即分子起始事件(molecular initiating events, MIEs),并触发后续的细胞信号传导等一系列关键事件(key events),最终在宏观尺度表现出有害效应.

注意到,起于MIEs直至宏观毒性效应的有害结局(图2)^[45],也具备源于生命系统本身(生物大分子、细胞、组织、器官)的多尺度特性.在每层空间尺度内,都有各自的模拟方法和模型体系^[46].接下来,将从微观到宏观的顺序简要对各类模型进行介绍.

表1 计算毒理学研究化学品行为跨越的空间尺度、适用模型、学科与方法

	建模对象	尺度	模型	主要学科 ^{a)}	形式	参考文献
暴露	化学品环境介质浓度估计(远场)	宏观	环境多介质模型	物理化学、环境化学	常微分方程(ODEs)、线性方程组	[32,33]
	化学品局部环境暴露浓度估计(近场)	宏观	暴露场景模型	物理化学、暴露科学	ODEs、线性方程组	[35,40,41]
	环境介质中化学品的转化	微观	分子模型	环境化学、计算化学	数学物理方程、经验力场	[62,63,66]
	生物体内化学品分布、代谢过程	宏观	生物动力学模型 PBTK模型	物理化学、生理学、毒理学、药理学	ODEs	[36~39,95~100]
毒性效应	化学品引发的器官、组织毒理效应	介观	基于主体的虚拟组织/器官模型(ABM)、概念模型	生物物理、毒理学、病理学、系统生物学、生物信息学	给定规则下的迭代模拟、映射关系网络拓扑	[74,82~85,89,90,93]
	化学品对细胞信号通路的干扰	介观	细胞信号模型 信号元件/网络模型	细胞生物学、分子生物学、组学、系统生物学	ODEs	[74~80,84,92]
	化学品与生物大分子相互作用(反应)	微观	分子模型	生物化学、计算化学、统计力学	数学物理方程、经验力场	[48,59,61,101~105]

a) 数学与计算机科学对于建模都是必需的,此处不再重复

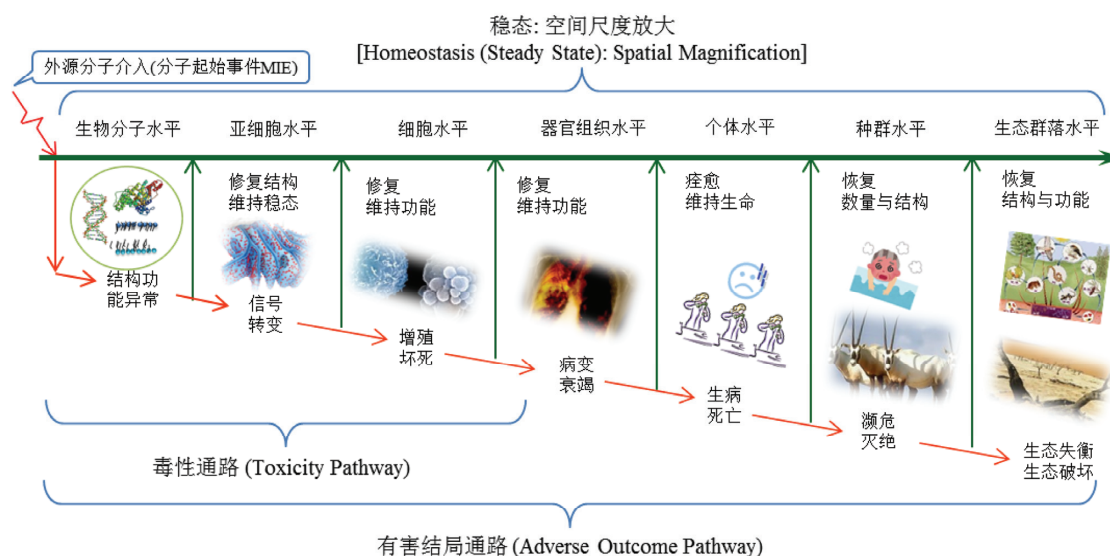


图2 跨越多尺度的化学品(生态)毒性效应

3.2.1 分子尺度的计算化学模拟

化学品毒性效应始于 MIEs, 即化学分子与生物大分子的相互作用^[44]. 目前的实验仪器尚不完全具备观测微观的分子原子运动过程的时空分辨率, 而这些过程却蕴含了关键的机理. 计算化学的出现, 标志着化学不再是纯实验的科学. 在描述分子尺度过程时, 计算毒理学借助计算化学的方法, 构建毒性物质-生物大分子靶标的分子模型, 模拟并观测其行为, 使得探索分子水平的机理成为可能^[47]. 相比实验而言, 计算化学模型不存在实验过程导致的误差, 但随着模型的简化, 其准确度也有不同程度的下降.

计算化学由两个主要分支组成: 一个基于量子力学, 另一个基于经典力学. 采用量子力学定律来描述分子具有比经典力学高的精度, 能够计算分子的电子结构变化与化学反应的基元过程. 量子力学方法通常可分成从头算和半经验两类. 第一类, 从头算 (*ab initio*), 暗示着该方法不含经验参数. 该领域包括 Hartree-Fock、组态相互作用 (configuration interaction)、多体微扰理论 (many-body perturbation theory)、耦合团簇 (coupled-cluster) 理论等. 第二类, 半经验 (semi-empirical) 方法, 包括一些对量子力学法则做出严格近似, 然后采用一些经验参数, 如实验测定值, 替代部分计算量极大的物理量. 这些方法包括 MNDO (Modified Neglect of Diatomic Overlap)、Austin

模型 1 (Austin model 1, AM1) 等. 密度泛函理论 (density functional theory, DFT) 则是难以被归类的量子化学方法, 因为部分 DFT 方法未采用经验参数, 另一些则严重依赖于经验校准. 合适的 DFT 方法比经典的 *ab initio* 方法快速, 同时具备与高阶 *ab initio* 基组 (basis set) 相媲美的精度, 因此在应用计算化学领域受到广泛的欢迎. 例如, 用 DFT 探索细胞色素 P450 酶活性物种 Cpd I 氧化有机物质的反应位点和活化能^[48,49].

然而, 纯粹的量子化学能计算的体系尺度受到限制, 目前难以计算生物大分子体系. 适当条件下, 用经典力学模拟分子也非常有价值, 这种方法又称为“分子力学” (molecular mechanics, MM) 或“力场” (force field) 方法. 所有的分子力学方法都是经验的, 其模型参数通过拟合实验数据或高精度量化计算结果获取. 可用经典力学来描述化学键长、键角、二面角及分子间作用力等. 力场方法的计算速度比量子力学方法快得多, 能够模拟原子数目上百万的生物分子体系. 常用于生物大分子模拟的分子力场包括 CHARMM (Chemistry at HARvard Molecular Mechanics) 力场^[50]、AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement) 力场^[51]等. 其参数复杂度比量子力学方法高, 搭建模型过程也相对复杂, 需要考虑的因素较多, 如不同氨基酸残基的质子化程度^[52]等. 对于化学品参与的 MIEs, 化学分子的力场参数与拓扑

结构信息需要额外“订制”。为此, AMBER 开发者发展了 GAFF (General AMBER Force Field)^[53], CHARMM 开发者相应地发布了 CGenFF (CHARMM General Force Field)^[54]以拓展力场的覆盖面。此外, 计算力场参数的复杂流程被制成图形用户界面(如 Visual Molecular Dynamics, VMD^[55])的插件^[56], 基于网站的力场参数生成程序(如 SwissParam^[57])也为获取小分子力场参数提供了便利。力场方法可以模拟化学分子与生物大分子的生物物理过程, 如阻燃剂分子与核受体蛋白的结合^[58]。

分子力学方法不考虑化学键的形成与断裂, 而化学反应尤其酶促反应是维持生命功能的关键过程。为了模拟生物大分子体系中的化学反应, 量子力学/分子力学(QM/MM)组合方法应运而生, 即对发生化学反应的核心部位采用量子力学理论, 而对周围的生物大分子部分采用经典力学理论^[59]。目前, 专门的量子力学/分子力学接口软件^[60]可以实现 QM/MM 计算, 而 QM/MM 方法也被广泛地用于生物酶对环境化学品的化学修饰模拟, 如谷胱甘肽转移酶对于杀虫剂 DDT 的代谢行为^[61]。

除了模拟生物体内的化学反应, 分子模型还可用于模拟预测化学品的环境转化, 如羟基自由基引发的单乙醇胺^[62]、多溴联苯醚^[63]及短链氯代石蜡^[64]大气化学转化行为及动力学、抗生素的水解途径及动力学^[65]等, 这些计算为完善暴露模型提供了重要的动力学参数。此外, 量子化学模拟溶解性有机质与 C₆₀ 的相互作用^[66], 以及碳纳米管和小分子物质的吸附^[67], 也能为理解化学品与纳米材料的环境行为提供理论依据。

需要注意的是, 计算化学方法虽然在一定程度上摆脱了对实验数据的依赖, 部分 DFT 方法仍会使用经验参数; 而模拟生物大分子体系时, 一般都会借助分子力学等经验方法。总之, 为化学品毒性效应 MIEs 构建的分子模型, 依赖诸多近似假设及大量经验参数, 因此选择最优的化学模型与方法对于计算结果的准确度影响颇为显著, 而计算结果若能与实验数据匹配, 则会提升模型的可信度和说服力。

分子模拟能够从机理上解释实验现象^[68], 辅助化学品风险评价工作, 为暴露评价提供信息, 给出 *in silico* 预筛的优先化学品清单^[47]。模拟多尺度毒性效应时, 分子模型有潜力阐明关键的 MIEs。然而, 量子力学可计算的原子数目和分子动力学可模拟的时间

尺度仍然受到计算机性能的约束, 而对于很多在毒理学效应中扮演重要角色的生物大分子, 并没有 3D 结构支持其分子模型的构建。尽管计算化学与分子模型方法在毒理学的应用中存在上述局限性, 它仍然提供了非实验环境将化学物质纳入生物系统的接口, 而这正是化学品毒性效应链的起点。

3.2.2 细胞-组织-器官的系统生物学模拟

化学品触发 MIEs 之后, 激活受体蛋白调控的毒性通路, 可进一步引起后续的氧化应激、热休克、DNA 损伤等响应。细胞作为生命系统基本功能单元, 其稳态、增殖、分化、凋亡等行为受到细胞内部信号通路网络的精细调控。

生物信息学通过分析分子生物学技术产生的海量数据, 即基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学等数据, 使用网络模型来映射细胞生化组分间的关系, 如上游 DNA 序列与其级联转录与翻译的 RNA 与蛋白质之间的关系, 并借此将基因与其功能联系到一起。当组学实验涵盖外源化学品(xenobiotics)引起的毒性效应时, 可将化学品与其引发的 DNA、RNA、蛋白质网络变化关联到一起, 并进一步链接至表现的 *in vitro* 毒性或 *in vivo* 毒性终点(包括疾病)。这种化学-生物信息学(chemo-bioinformatics)技术, 成为生物与毒理领域重要的交叉领域。化学-生物信息学技术可以推断化学品与生物分子之间的相互作用关系网络, 解析关键的毒性通路, 并找到化学分子作用的靶点。例如, 可分析基因或功能 RNA 与人类疾病相关性的基因功能关系网络^[69,70], 以及可预测现有药物预期靶点之外干扰位点的生物-分子网络^[71]。同时, 该技术能够筛选出早期 *in vitro* 终点中更有价值的测试组, 剔除关联性弱的测试项目, 节约实验资源并为后期设计 *in vitro* 毒性测试组提供依据, 从而令毒性测试体系事半功倍^[72]。然而, 想要深度理解 *in vitro* 与 *in vivo* 毒性效应之间的关系, 并进一步模拟和预测细胞毒性, 尚需要深入理解“化学-生物网络”的组成与其动态响应机制, 这属于系统生物学的研究范畴^[73,74]。系统生物学借鉴控制论的概念, 抽象出负反馈、正反馈、前馈等通用性的网络组件(motifs), 并进一步组合出超敏化^[75]、周期性震荡^[76]、细胞记忆等功能模块, 借助数学和计算机模型模拟细胞信号通路网络的动态变化^[77]。

计算系统生物学通路(computational systems

biology pathway, CSBP)模型假设网络中的分子浓度在细胞质或细胞核空间中完全均匀混合(well-mixed)并可以用连续变量表达, 构建常微分方程(ordinary differential equations, ODEs)来描述细胞信号网络, 是动态通路模拟的重要工具. 典型的 CSBP 模型包含一套 ODEs, 描述网络组分的浓度变化速率, 并将已知的生物化学相互作用涵盖在方程式中. 模型的数值参数以及初始条件通常根据文献和 *in vitro* 数据来设定, 最终通过 ODEs 求解程序来计算系统的时间序列特性. 尽管基于 ODEs 的方法没有考虑基因表达过程的空间弥散性和噪音, 它仍然有助于人们理解细胞周期调控、信号传导等基础的细胞生物学过程. 进一步, 可利用随机模拟算法来为确定的 ODEs 添加随机波动性, 从而更真实地模拟基因表达过程. 部分基因表达, 如发育过程的基因调控通常仅有成功或失败两种结果, 此时 Boolean 网络模型(Boolean network models)可以描述此类的基因表达, 这种二元的模型降低了对定量参数的依赖性, 可以对毒性现象给出定性的结论^[74].

CSBP 模型可以与 *in vitro* 测试结果相互印证, 因而成为新型风险评价方法的关键元素^[78], 显现出极高的科学价值. 例如, 可用前馈控制解释人体 I、II 相反应中外源物质代谢网络在低剂量化学暴露时的毒性兴奋效应(hormesis)^[79]. 又如, CSBP 模型可完整地表述核转录因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)调控的抗氧化应激行为等重要细胞响应通路^[80]. 此外, Quignot 和 Bois^[81] 基于 *in vitro* 实验数据开发的“性腺类固醇合成”通路模型能够模拟卵巢合成与分泌性激素的过程以及化学品干扰下内分泌功能的异常.

前述模型均基于细胞信号拓朴网络, 忽略了细胞内部分子之间的空间异质性. 真实细胞条件下, 细胞核、细胞器与内质网将胞质隔离成不同区间, 区间内的分子浓度各不相同, 假设区间内部完全均匀混合, 可考虑区间之间的分子扩散, 分别为各区间构建 ODEs 模型. 然而, 要真实还原细胞内拥挤的空间, 需要借助其他形式的模型, 如基于主体的模型(agent-based models, ABM), 亦称基于个体的模型(individual-based models). ABM 中的主体可以是一个细胞或其他的实体, 这些实体构成了离散点阵形式的虚拟世界, 每一个主体代表了一种独特的数据结构, 类似于程序设计中的“对象”概念. 主体可以进入

到虚拟世界的物理空间中, 根据预先定义的一套规则与邻近的主体互动, 经过大量的迭代计算模拟, 产生宏观的现象, 即模型系统的“涌现性特征”. ABM 中的主体作为离散的实体占据着物理空间, 因此不再基于完全混合假设, 然而 ABM 对于指导主体行为的规则极为依赖. 当主体为单个细胞时, ABM 可以在细胞、组织或器官的尺度进行模拟, 如 CompuCell3D 软件^[82]能够模拟细胞生长、分化等行为, 以及血管组织生成等. 目前已经有工具平台, 如 NetLogo (<http://ccl.northwestern.edu/netlogo/>), 整合视窗与命令行界面, 可用于 ABM 建模. 近年来 ABM 模型被广泛地应用于生物学领域, 模拟肿瘤形成、炎症、伤口愈合等病理生理学现象, 在设定化学品剂量-效应的预定规则后, 可进一步模拟化学品对血管发育等生理过程的干扰, 即模拟化学品引发的毒性效应^[83].

器官由分化的细胞组织有机组成, 根据器官内组织的空间分布, 即可构建出虚拟器官. 肝脏负责外源化学物质代谢, 极易遭受损伤, 一直备受毒理学界关注. 基于系统生物学方法, 美国 Hamner 健康科学研究所主导了 DILI-symTM 模型^[84]的开发, 用于预测药物引起的肝损伤, EPA 则启动了虚拟肝项目(http://www.epa.gov/ncct/virtual_liver/), 构建化学品效应网络智库, 为关键的分子、细胞、回路系统模型提供支持, 结合 *in vitro* 肝组织实验信息, 使用 ABM 模拟化学品在肝叶模型内部的质量传递, 及其对肝叶细胞分布的影响^[85]. 同样的系统生物学方法可用于开发虚拟骨髓、肾脏等重要的毒性靶点. 国际生理科学联盟的生理组学计划(physiome project)^[86]所开发的多种组织器官模型可结合局部剂量与毒性效应, 预测化学品诱导的细胞异常与组织病理现象.

与发挥稳定生理功能的器官和组织不同, 作为生殖与发育毒理学的研究对象, 胚胎处于动态变化之中, 复杂程度堪比一个微缩的生命体. 目前, 人们已经建立了胚胎数据库与虚拟组织学胚胎, 导出胚胎的 3D 影像^[87,88], 此外, 信息学方法也被广泛用于表征化学品与生殖毒性之间的关系. 注意到, 利用胚胎毒性在 AOPs 框架下的关系映射提供的是一种概念模型^[89,90], 这突破了组织、器官原有的物理形式, 更加注重其生物学功能的模拟, 表现出局限的科学水平与建模能力向高度复杂生命体系的实用主义妥协. 当现阶段没有透明的机理指导模型的构建时, 采用信息学手段发掘的经验规律仍然具有较高的实用

价值.

3.2.3 剂量-时间-效应关系

剂量-效应关系是生命系统暴露于外源化学品所涌现出的表象. 传统化学品风险评价环节通过实验测定剂量-响应/效应关系曲线, 依赖数学方法确定“阈值”, 这些过程都停留在毒理学表象上, 尤其在外推低剂量阈值时, 其可靠性遭受质疑^[27]. 阈值可以理解为“生物系统暴露于应激源(stressor)后, 维持稳态而不崩坏的最大应激源容量”^[91]. 显然阈值与生物系统的稳态有紧密的关联, 而 CSBP 模型已能描述生物化学系统的回复力与适应性^[76,92]. 近年来, CSBP 模型被用于为特定细胞尺度毒性效应终点的剂量-响应关系提供解释, 从机理上计算出毒性“阈值”. 模拟发现积分反馈、前馈等网络组件能够产生“完美阈值”, 正比例反馈或超敏性^[75]组件则产生类似阈值的响应, 而某些前馈控制则能产生毒性兴奋效应. CSBP 模型的出现颠覆了传统毒性测试的格局, 为从机理上推导出细胞毒性阈值提供了思路, 而细胞毒性阈值则可作为进一步推断组织尺度、器官尺度、个体尺度毒性效应阈值的依据.

时间-效应关系的本质是生命系统暴露于外源化学品后, 其各项性质的时间序列. 使用基于明确机制的计算毒理学模型, 一旦涉及时间变量, 其模拟结果自然具备时间序列的特性, 即呈现出时间-效应关系. 例如, 对于急性毒性效应, PBTK 模型可以快速给出中毒后的时间-分布水平, 定位作用靶点, 随后, ABM 模型可以模拟靶器官/组织毒性效应的强度, 结合二者实现毒效动力学(toxicodynamics)模拟. 同时, 基于透明的机理, 并不断纳入新的认识, 虚拟组织与虚拟器官有望实现对慢性毒性/低剂量长期暴露毒性的模拟和预测^[93].

总之, 由于剂量-效应与时间-效应关系本质上都是生命系统暴露于外源化学品后的表象, 一旦模型抓住了生命系统与化学品相互作用的本质特点, 这两类关系将自然蕴含在模拟数据之中. 如何科学而精准地构建出抓住生命系统与化学品相互作用本质特点的机理模型, 才是未来必须应对的最大挑战.

计算系统生物学还在不断地完善和发展中, 但这并不妨碍其在化学品风险评价领域的运用^[94]. 计算系统生物学模型能够模拟生物系统在化学品干扰下发生的异常, 定量预测生物系统偏离稳态的程度.

可以预见, 随着对生物系统与毒性机制认识水平的提升, 在未来将能采用完全虚拟的器官组织, 乃至虚拟生物体作为化学品以及其他应激源的毒性测试受体——这可能是计算毒理学发展的终极状态.

3.3 计算毒理学的多尺度机理模型体系

基于透明机制与明确的科学原理的机理模型, 也被形容为“白箱”模型. 这类模型覆盖了化学品在环境介质中的分布、转化, 在生物体内的分布、代谢等的暴露过程, 以及始于 MIEs 的多尺度毒性效应过程. 由于不同空间尺度的物理学及数学表述形式不尽相同, 机理模型的形式非常丰富. 表 1 对计算毒理学领域的机理模型做了简要汇总.

4 化学品理化性质、环境行为和毒理效应的高通量预测

如前所述, 为单一化学品构建的暴露-效应模型体系须经过调整才能适用于其他化学品, 即模型体系中一切化学品的物理化学性质、环境行为、毒理效应参数等均需随之调整. 而数量众多化学品的理化性质、环境行为和毒理效应数据的缺失, 是计算毒理学需要应对的一个关键问题.

近年来, HTS 技术高效的数据产生能力以及互联网端数据共享模式开启了毒理学的“大数据”时代^[106]. 至 2014 年, ToxCast 项目涵盖多达 700 种毒性终点, 包括非细胞的生物化学分析(以核受体蛋白等生物大分子为对象)、完整细胞以及模式生物(特别是斑马鱼)的测试, 共计 1526359 种化学品-毒性终点组合^[24]. 同时, 越来越多的化学品性质参数被整合到互联网数据库系统, 如美国国家健康研究院的化学信息门户 PubChem 生物分析(BioAssay)数据库^[107]、EPA 的集成计算毒理学资源(Aggregated Computational Toxicology Resource, ACToR)^[108]、美国食品药品监督管理局开发的内分泌干扰物知识库(Endocrine Disruptor Knowledge Base, EDKB)^[109]等. 下文将介绍利用现有数据资源预测化学品性质/活性的方法与策略.

4.1 依据分子结构预测化学品的理化性质、环境行为及毒理效应

分子结构是决定有机化学品物理化学性质、环境行为和毒理学效应的内因. 因此, 可依据分子结构信

息预测化学品的物理化学性质(如蒸气压、正辛醇/水分配系数)、环境行为(如生物降解速率常数、光降解速率常数)和毒理学效应(如脂肪组织/血浆分配系数、半数效应浓度 EC_{50})参数. 基于分子结构定量预测化学品物理化学性质、环境行为和毒理学效应参数的数学模型, 本文统称为定量构效关系(QSAR)模型.

4.1.1 QSAR 与交互比对(read-across, RA)

QSAR 研究往往“基于特定(毒性)终点的先验数据, 使用规则、模型与算法, 预测新的分子是否具有相似的(毒性)倾向”^[110], 包括定性分类(如判定是内分泌干扰效应的激动剂还是拮抗剂^[111], 是否具有雌激素干扰活性^[112])与定量预测(如受体蛋白结合能^[113]), 统计学上也称为数值的回归分析. 分类与回归只是数据信息的类型不同(离散与连续量), 本质是类似的.

构建 QSAR 模型需要: (1) 一组化学品理化性质/环境行为/毒理效应参数的数据集; (2) 一组描述分子结构或结构相关特性的数据集, 习惯上称为分子结构描述符(molecular structural descriptors); (3) 一种能够关联两组数据集的方法(如多元统计分析或机器学习方法). 得到初步数学模型之后, 还需进一步验证模型的稳健性并表征其应用域. 关于 QSAR 基本原理、建模流程及模型应用可参考相关综述^[110,114], 对于 QSAR 构建和验证, OECD (<http://www.oecd.org>)已经发布了相关的导则和工具包.

在化学品分类和毒性预测时, 交互比对/交叉参照(read-across, RA)^[115]比 QSAR 更为简便. 进行 RA 之前, 先根据化学品的相似性进行分组, 进而读取同组化学品中相似度最高的源化学品(source chemicals)数据, 或综合相似度最高的若干(如 3~5 种)源化学品数据, 依据某种算法(如均值法、原子中心碎片法^[116]等)计算出调整值, 以填补目标化学品(target chemicals)对应的空缺数据项. 也可以基于 RA 方法, 预测同一个化学品对不同相近物种的毒理效应阈值.

QSAR 与 RA 都是化学品风险评价填补数据缺口的重要工具, 两者有类似之处: 都针对某一特定的毒性终点, 都依赖分子结构信息, 都能对化学品做出定性分类或定量的预测; 在找不到相似化学品, 或相似性达不到进行 RA 的底限时, 这类似于化学品落在 QSAR 的应用域之外的情形, 此时无论是 RA 还是 QSAR 都不再适用, 只能诉诸其他的方法(如 *in vitro*

测试). 比较两者, QSAR 注重稳健的预测模型及其应用域内化学品性质的预测效果, 而 RA 则注重对化学相似性的判定标准, 往往在比对分子结构与物理化学性质(即 QSAR 的描述符体系)之余, 还会考虑化学品的生物有效性以及代谢、毒性作用模式等方面的相似性^[117]. 鉴于 RA 考虑因素的灵活性, 亦存在使用 RA 作跨毒性终点、跨物种外推的案例.

在欧盟推出 REACH 法规后, 非测试策略, 尤其是 RA, 因其简单快速的特性而成为企业最热衷的填充毒性数据的手段. 然而, 部分毒理学者质疑 RA 方法在类推毒性数据上的可靠性^[115,118]. 不仅针对 RA, Reuschenbach 等^[119]发现, 基于 QSAR 的水生生物毒性工具包 ECOSAR 的毒性预测效果仍不令人满意. 在现代毒性测试体系的背景之下, QSAR 亟需反思与改进.

4.1.2 QSAR 机理的透明性与描述的合理性

机理越透明, QSAR 预测的可靠性与效果也越好. 例如, 预测化学品物理化学性质时, QSAR 效果极佳; 对于麻醉毒性等机制不太复杂的急性毒性, 或生物富集因子等与化学品物理化学性质有显著线性关系的参数时, QSAR 也具有良好的效果; 然而, 对遗传毒性、致癌性等机制复杂的慢性毒性效应, QSAR 的预测效果显著下降^[120]. 究其原因, 一方面, 从化学品分子结构导出的分子描述符, 无法全面体现化学物质与生物大分子的相互作用以及后续的复杂响应过程. 另一方面, 化学品导致的慢性毒性效应具有较长的时间跨度, 其深层的机理不尽相同, 可能并不具备机器学习理论假定存在的关联模式, 因而用分子描述符强行映射 *in vivo* 毒性终点得到的结果也将是不可信赖并难以接受的. 而毒性通路概念的提出, 则有助于梳理出特定的毒性作用模式, 从而根据相对透明的机理构建 QSAR 模型. 在 AOPs 框架中, QSAR 被用于明确分子事件的定性筛选和定量预测, 其机理透明性和预测效果都会有显著的提升^[121-123]. 总之, 在构建或使用 QSAR 模型之前对化学品聚类, 针对作用模式明确的毒性终点建模, 本质上都在降低化学空间与生物学空间复杂性, 提升发现规律的机会^[112,120,121].

注意到, QSAR 可以借鉴计算化学结果, 筛选描述符来预测分子性质. 例如, 利用 QM/MM 方法模拟人体甲状腺受体蛋白与含卤素有机物结合机制,

据此可设定明确的描述符来预测化学品的内分泌干扰性^[101]。同时, QSAR 可以将耗时的计算化学模型输出结果转化为规律性的经验, 提升模型预测速度/通量和应用能力。例如, Rydberg 与 Olsen 等^[102-105]提炼了量子化学计算 P450 酶活性中心与多类配体反应的规律, 开发出基于网络端的 SMARTCyp 应用 (<http://www.farma.ku.dk/smartcyp/>), 能够快速准确地预测代谢位点及氧化反应活化能^[124]。此外, 分子力学方法通过适当简化也可以实现虚拟高通量筛选 (virtual HTS, v-HTS), 如药物设计领域常用的打分函数^[125]、比较分子力场方法^[126]与分子对接^[127], 这都与 QSAR, 尤其是 3D-QSAR (3-dimension QSAR)^[126,128]的研究领域有所交叉。计算化学视角下, QSAR 模型的机理透明性及预测能力都得到了显著提升。

覆盖化学-生物学空间的分子结构描述符体系有助于改善 QSAR 模型的预测性与机理性。现有的描述符种类冗杂, 大部分描述符没有明确的物理意义, 严重限制了 QSAR 模型对毒性机理的启示。Thomas 等^[20]指出, 分子结构描述符生成软件(目前, EPA 官方 QSAR 项目仍然采用 Dragon6 生成分子结构描述符 <http://www.epa.gov/nrmrl/std/qsar/qsar.html>)仅适用于单一有机化合物。而许多重金属(无机物)及其烷基化衍生物(有机金属化合物、配合物)都具有毒性, 以有机金属化合物为例, 此类化合物含有金属内核与若干有机分子碎片, 会被描述符生成软件误解为混合物, 从而不能为其产生描述符。另一方面, 化学品往往与特定的溶剂形成混合体系, 也可能吸附于环境、生物大分子(溶解性有机质、蛋白质等)表面或空腔内, 真实环境条件下, “溶剂效应”会影响化学分子的性质。以可电离物质为例, 其不同电离形态的生物化学活性^[101]、环境行为参数^[129]都有差别, 应该分别予以考虑。此外, 纳米颗粒物的 QSAR 研究近年来日趋得到重视, 但是描述和表征纳米颗粒物的结构仍是一个挑战^[130-133]。综上, 现有描述符体系所构建的 QSAR 模型不能覆盖管理者所关注的化学品空间, 势必会限制 QSAR 模型的应用。因此, 有必要开发新的描述符体系合理地表征分子解离状态、无机化合物、有机金属化合物以及纳米尺度的颗粒物, 同时还需兼顾便捷性和实用性^[134]。

另一方面, 将描述符体系拓展至化学-生物学空间, 就可能对特定毒性通路中的生物大分子做出描述, 从而提升 QSAR 模型的预测效果。例如, 药物设

计领域所发展的基于受体蛋白结构的打分函数^[125]与比较分子力场方法^[126,135], 被广泛用于定量评估化学分子与生物大分子的结合能力; 又如, HTS 产生的 *in vitro* 数据本质上为化学-生物学的交互, 因此也被用作追加描述符, 与传统的化学描述符一同用于预测 *in vivo* 毒性, 形成所谓的“定量结构 *in vitro-in vivo* 关系” (quantitative structure *in vitro-in vivo* relationship, QSIIR)^[136]。然而, Thomas 等^[20]采用多种统计分类方法, 结合分子描述符与 ToxCast 数据库上百种 *in vitro* 毒性数据, 针对 60 种 *in vivo* 毒性数据所构建的 QSIIR 模型, 其预测性与稳健性均不令人满意。因此 *in vitro* 数据或许并不适合直接作为表征生化信息的描述符。尽管如此, 纳入 *in vitro* 测试数据仍然代表了一种将描述符空间从化学延伸到生物空间的原创性探索。

得益于多元统计理论的完善与机器学习技术的快速发展, 相应的数值回归与分类方法非常丰富, 在化学品毒性“大数据”时代, 消耗计算资源少、处理速度快、理论体系越发成熟的 QSAR 技术, 仍将长期在化学品风险评价领域发挥重要作用^[24,25,110]。此外, 研发“既有更优良的性能(如药效、阻燃性、黏合力等), 又有更低危害”的理想化学品的问题^[137], 也可以借助于 QSAR 技术, 其本质都是在摸索化学品结构与其特殊性能间的关系。

4.2 利用化学品 *in vitro* 数据预测其 *in vivo* 效应阈值

进入 21 世纪以来, 动物实验受到限制, 以 Tox21 项目^[17]为代表的 HTS 成为新毒性数据的主要来源。当前, 解读并利用 *in vitro* 数据资源, 已成为 21 世纪毒性测试体系成功的关键。

早期人们曾尝试用 *in vitro* 阈值直接替代 *in vivo* 阈值, 从生物体不同部位(如肝、肾、血液、神经、肺、皮肤)提取细胞作为 *in vitro* 测试的素材以代表相应器官组织^[138]。尽管某些 *in vitro* 毒性终点与 *in vivo* 毒性终点存在一定的相关性(如上皮细胞组织因子上调与血栓风险^[139]), 但是 *in vivo* 与 *in vitro* 毒性数据总体差异巨大, 采用常规统计分类方法也难以利用 *in vitro* 数据准确预测 *in vivo* 毒性^[20]。注意到 *in vitro* 测试与 *in vivo* 测试的两类重要差异: (1) 毒性效应位点与剂量的不同。投加到培养基质中的剂量作为 *in vitro* 毒性剂量, 与经毒代动力学过程后的组织液浓

度相仿,而对于哺乳动物而言, *in vivo* 毒性剂量则通常源自喂食剂量或皮下组织/血液注射剂量; (2) 毒性终点不同. *in vitro* 测试不再以动物个体的死亡或生理行为异常为终点,大部分 *in vitro* 测试的受试素材是细胞与生物大分子,其毒性终点通常为细胞功能的异常/凋亡,或生物大分子功能的激活/抑制^[24].

我们注意到,可以利用 PBTK 模型实现 *in vitro* 与 *in vivo* 毒性效应阈值之间的外推(*in vitro-in vivo* extrapolation, IVIVE)^[36]. Brinkmann 等^[95]用 PBTK 模型将鱼类 *in vitro* 阈值调整后,提升了与 *in vivo* 阈值的相关性. 这种方法在药代动力学研究中已有应用^[97],目前对于肝、肾等器官的动力学外推机制已有较深刻的理解^[96,140]. Wetmore 等^[141]通过实验测定化学品代谢以及其与细胞质蛋白结合的动力学参数,结合高通量 *in vitro* 测试数据,构建了 *in vitro* 逆向药代动力学模型,并与美国人群经口当量剂量和实验室条件下的大鼠经口暴露剂量^[98]做了比较. 基于此, Judson 等^[142]搭建出一套概率评估毒性效应阈值的框架,并结合美国 EPA 的 ExpoCast 数据,实现了“高通量化学品风险评价”.

IVIVE 的核心是合适的 PBTK 模型^[99]. 当前免费可用的 PBTK 建模平台较少,尽管一些毒代动力学参数可以通过 *in vitro* 或 *in silico* 工具合理估算^[143],并存在针对环境化学品的简单 IVIVE 方法^[100],但总体而言,此类模型应用域不明,缺少描述穿透生理屏障、血液-组织间分配、以及代谢去除过程的必要参数和高通量测定这些参数的手段. 为此,2014 年,动物测试替代方法欧洲合作伙伴(European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing, EPAA)-欧盟动物测试替代法参考实验室(European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing, EURL ECVAM)召开联合专家会议,讨论了 PBTK 建模平台与参数估算工具等问题^[144]. 可以预见,构建 PBTK 模型的过程将更加规范,而为各类 *in vitro* 测试体系与生理构造各不相同的物种定制 IVIVE 拓展也将更加便捷.

4.3 智能/集成测试策略

关于化学品毒性测试有以下几个事实: (1) 由于 *in vivo* 实验有着毒理学传统的权威性,因此被保留作为最终验证手段,即所谓的“黄金准则”,尽管其与人类健康风险评价的相关性受到越来越多的质疑; (2)

用一种 *in vitro* 测试来替代某种传统毒性指标未必可行,很多化学品虽然能引发 *in vitro* 效应,在 *in vivo* 测试中却并不会引发毒性效应,体现为 *in vitro* 测试的“假阳性”; (3) 基于 QSAR 的 *in silico* 测试,其应用域局限于特定的化学-生物学空间,并不普遍适用于所有化学品毒性效应的甄别及预测; (4) 化学品对生命系统毒性效应的预测效果仍有提升的空间^[145].

在前述问题的驱动下,诞生了将各种毒性测试方法有机整合到一起的智能/集成测试策略(intelligent/integrated testing strategy, ITS)^[145,146]. 使用最终手段之前,先用廉价而不失精准的手段筛选化学品: 在虚拟筛选与 *in vitro* 测试之后,集中实验资源进行更高阶的 *in vivo* 验证,这种测试优先(prioritization)次序隐含在 ITS 的流程之中. ITS 包含 3 个主要步骤: (1) 尽可能多地挖掘相关数据; (2) 评估这些数据的可靠性、相关性与有效性; (3) 在 ITS 中运用这些数据^[147]. 欧盟通过集成非测试与测试信息对工业化学品风险评价的优化策略(Optimized Strategies for Risk Assessment of Industrial Chemicals through Integration of Non-test and Test Information, OSIRIS)^[147,148]为实现化学品管理,专门开发了 ITS 工具(<http://osiris.simppl.com/OSIRIS-ITS/welcome.do>). Willett 等^[149]借鉴 OECD 的概念框架利用美国 EPA 内分泌干扰物筛选项目(Endocrine Disruptor Screening Program, EDSP)数据,开发了针对内分泌干扰的 ITS. 此外, AOPs 框架可用于 ITS 设计, Patlewicz 等^[121,122]开发的皮肤敏感性测评集成方法(Integrated Approach to Testing and Assessment, IATA),不仅结合危害测试与毒代动力学预测,还囊括高内涵技术,其绝大多数信息都可追溯至 AOPs 框架的某一环节, IATA 中的 QSAR 模型几乎都是“机理透明”的. 与欧盟的 ITS 类似,美国在 20 世纪 80 年代就启动了集成风险信息系统(Integrated Risk Information System, IRIS)项目,以评价经口或呼吸摄入环境化学品剂量可能引起的癌症或非癌症类有害效应^[150,151]. 可以看出, ITS 在结合暴露信息之后,即具备独立完成化学品风险评价的能力^[145],而计算毒理学模型则是 ITS 的重要组成部分.

然而,基于统计分析或机器学习的模型(包括使用这些模型的 ITS)局限于特定的应用域,难以预测复合毒性及其他非常规因素. 当新毒性终点需要纳入 ITS 之内时,需要设计新实验,构建新模型,拓展应用域,从而增加既有 ITS 体系的复杂程度. 另一方

面, ITS 会随着毒理学机制研究的深入而不断“进化”, 越来越多的理论模型将被逐步纳入现有的 ITS 范畴, 从而极大地增强其应对非常规因素的能力。

5 展望

5.1 瞩目生态毒理学

人类发展对于生态系统究竟造成了什么样的影响? 2009 年, 一批来自不同领域的科学家在 *Nature* 期刊上提出了人类安全操作空间的概念, 设定若干警戒线, 一旦越界则会对地球造成不可逆的破坏^[152]。化学品污染也与气候变化、生物多样性锐减等共同威胁着地球生态系统的健康。

生态毒理学的目标之一是, 研究化学品对生态系统中各营养级物种的毒性效应^[26]。面对栖居于生态系统中种量惊人的生命, 一个关键问题在于化学品毒性的跨物种外推。在此方面, 计算毒理学诸多工具都非常有价值。例如, 可以通过调整 PBTK 模型参数, 预测不同发育阶段不同物种体内的化学品分布; 可以构建同源模型(homology models)考察不同物种不同基因序列生物大分子的结构和功能差异; 虚拟组织、器官、个体模型则能对特定生物体系做出更为逼真的模拟。关于化学品毒性跨物种外推可以参考 2011 年 SETAC 会议综述^[153]。任何物种的毒性研究都可以借鉴计算毒理学的方法学, 而在 AOPs 框架中, 个体生命的存活、发育、繁殖造成的变动与影响自然地延伸到种群、群落乃至整个生态系统(图 2)^[44], 体现为流行病学层次的现象或生态毒性效应。

生态系统可以类比于稳态下的生命体。2003 年 van Straalen^[154]指出: “生态毒理学正在转变为应激生态学(stress ecology)”, 并给出基于应激源的生态位概念, 而计算毒理学则为这个概念提供了定量的工具。将生物个体定义为主体, 赋予其行为活动的规则, 即可构建物种分布模型^[155], 使用空间环境数据推断物种的分布区及其对栖息地的适应性, 在此基础上确定物种生态位的时空成分, 从而直观地表征生命个体与环境之间的关系^[156]。此外, 针对生态系统服务的社会价值评估也为生态功能的定量化提供了思路和方法^[157,158]。可以想象, 结合基于应激源的生态位概念、生态暴露评价模型、物种分布模型以及高时空分辨精度的地理信息系统, 定量预测生态层次的有害结局将成为可能, 进一步, 为提供化学品污染的

警戒线提供可靠依据。

5.2 个人化(精准)风险评价

2003 年, 欧洲替代方法验证中心(European Centre for the Validation of Alternative Methods, ECVAM)举办了“基于毒理基因组学测试系统的验证”第一次研讨会, 讨论和定义了适用于毒理基因组学平台验证的原理以及包含毒理基因组学技术的特殊毒理学测试方法的验证体系^[159]。这些基因测试技术将被大量用于毒性预测项目。例如, 2006 年启动的欧盟项目 carcinoGENOMICS, 发展基于基因组学的 *in vitro* 筛选方法来预测肝、肾、肺的基因毒性、致癌性。以毒理基因组学^[160]、转录组学、蛋白组学、代谢组学为代表的组学技术, 一方面从深层机理上揭示了遗传毒性、致癌性等有害效应的根源, 另一方面能够表现出不同物种的差异以及不同生物个体之间的差异, 这在毒理学研究领域是史无前例的。

每个人都是与众不同的——每个人都有独特的基因组与暴露组。计算毒理学可以分析每一个独特的生命个体的基因-暴露组数据, 为其定制精准疗法^[161], 以及精准风险性评价。不同的基因组衍生出不同的生理组^[86], 这让人们对化学品以及其他应激源产生不同的生理响应, 意味着对于人群而言, 可能不存在确切的毒性阈值^[78,148], 而利用概率分布来确定化学品风险可能置少数弱势群体于风险之中。在未来, 每个人都将拥有属于自己的“风险化学品清单”, 而消费品安全说明书则会面向个人提供更全面的风险信息。当然, 这将涉及大量个人隐私与生化安全的问题, 为此, 新的化学品政策与社会管理体系也将应运而生。

5.3 合作与人才培养

ToxCast 与 Tox21 的案例显示, 美国先进的计算毒理学得益于多重政府机构与企业、学术界之间的紧密合作。政、商、研分别提供了法规或政策驱动力、资金和实践平台、前沿科学理论——合作让参与者获得利益, 推动科学进程并造福人类社会与自然生态系统。

计算毒理学研究需要各领域学者合理分工与密切合作。理想的计算毒理工作者将掌握以下技能: (1) 了解毒理学实验手段, 尤其是新兴的和前沿的方法(如毒理基因组学研究), 能够将实验原理与计算机模

型进行无缝对接,有效地从实验中挖掘出对计算毒理有价值的信息;(2)精通数学算法,并会使用统计分析或机器学习工具,以分析“大数据”蕴含的毒理学信息;(3)精通物理化学(量子化学、统计力学)、生物化学、生理学原理等基础学科,并会使用量子化学、基于分子力场的计算模拟软件、系统生物学建模语言等;(4)能使用若干门编程语言或软件,以搭建自动化数据处理流程甚至平台.从本综述所描绘的计算毒理学图景可以看出,计算毒理学包含的内容非常广泛,单凭一个人很难精通全部领域的知识.而各领域之间又存在着紧密的联系,这要求各领域之间的科学家能广泛地交流,相互理解.这正是交叉学科的特点.“全而不精”的培养模式是行不通的,交叉学科人才的培养并不意味着把相关学科都编排到计划课程当中,而是为各个学科的专家提供一个良好的交流平台.

6 结语

中国经济的快速发展浓缩了西方国家二三百年的环境问题.对于水体污染与雾霾这类能够切实体会的污染,国家已经投入大量资源整治,逐渐从末端治理转为调整能源与产业结构,防治结合的策略.然而,化学品对于人体健康与生态的风险并不是在天空变蓝,水变清澈之后才存在,而是与化学品经济同时诞生的.大量化学品被应用到生产、生活各领域,难以通过总量目标加以限制.化学品深入国民经济网络,是一个长久的话题,需要的主要是管理而不是治理.希望我国早日构建一种将化学品暴露链接到人群健康,乃至生态风险的评价体系.而计算毒理学提供了一种快速高效的方法学,对我国与国际组织开展合作,保障人民生命安全,以及建设生态文明等方面具有深远意义.

参考文献

- Geiser K, Edwards S. Instruments and approaches for the sound management of chemicals. In: Kemf E, Ed. *Global Chemicals Outlook—Towards Sound Management of Chemicals*. United Nations Environment Programme, 2013
- Rappaport SM, Smith MT. *Science*, 2010, 330: 460–461
- Schwarzman MR, Wilson MP. *Science*, 2009, 326: 1065–1066
- EU. Regulation (EC) No. 1907/2006 of the European parliament and of the council of 18 December 2006, concerning the registration, evaluation, authorization, and restriction of chemicals (REACH). EU, Brussels: Official Journal of the EU, 2006
- Hartung T. *Nature*, 2009, 460: 208–212
- Judson R, Richard A, Dix DJ, Houck K, Martin M, Kavlock R, Dellarco V, Henry T, Holderman T, Sayre P, Tan S, Carpenter T, Smith E. *Environ Health Perspect*, 2009, 117: 685–695
- Zimmerman JB, Anastas PT. *Science*, 2015, 347: 1198–1199
- Zimmerman JB, Anastas PT. *Science*, 2015, 347: 215–215
- Tickner JA, Schifano JN, Blake A, Rudisill C, Mulvihill MJ. *Environ Sci Technol*, 2015, 49: 742–749
- Lilienblum W, Dekant W, Foth H, Gebel T, Hengstler JG, Kahl R, Kramer PJ, Schweinfurth H, Wollin KM. *Arch Toxicol*, 2008, 82: 211–236
- Krewski D, Acosta D Jr, Andersen M, Anderson H, Bailar JC, III, Boekelheide K, Brent R, Charnley G, Cheung VG, Green S Jr, Kelsey KT, Kerkvliet NI, Li AA, McCray L, Meyer O, Patterson RD, Pennie W, Scala RA, Solomon GM, Stephens M, Yager J, Zeise L. *J Toxicol Environ Health B-Crit Rev*, 2010, 13: 51–138
- Inglese J, Auld DS, Jadhav A, Johnson RL, Simeonov A, Yasgar A, Zheng W, Austin CP. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 11473–11478
- Inglese J, Johnson RL, Simeonov A, Xia M, Zheng W, Austin CP, Auld DS. *Nat Chem Biol*, 2007, 3: 466–479
- Lock EF, Abdo N, Huang R, Xia M, Kosyk O, O'Shea SH, Zhou YH, Sedykh A, Tropsha A, Austin CP, Tice RR, Wright FA, Rusyn I. *Toxicol Sci*, 2012, 126: 578–588
- Abdo N, Xia M, Brown CC, Kosyk O, Huang R, Sakamuru S, Zhou YH, Jack JR, Gallins P, Xia K, Li Y, Chiu WA, Motsinger-Reif AA, Austin CP, Tice RR, Rusyn I, Wright FA. *Environ Health Perspect*, 2015, 123: 458–466
- Zanella F, Lorens JB, Link W. *Trends Biotechnol*, 2010, 28: 237–245
- Tice RR, Austin CP, Kavlock RJ, Bucher JR. *Environ Health Perspect*, 2013, 121: 756–765

- 18 Judson R, Kavlock R, Martin M, Reif D, Houck K, Knudsen T, Richard A, Tice RR, Whelan M, Xia M, Huang R, Austin C, Daston G, Hartung T, Fowle JR III, Wooge W, Tong W, Dix D. *ALTEX*, 2013, 30: 51–66
- 19 Patlewicz G, Simon T, Goyak K, Phillips RD, Rowlands JC, Seidel SD, Becker RA. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2013, 65: 259–268
- 20 Thomas RS, Black MB, Li L, Healy E, Chu TM, Bao W, Andersen ME, Wolfinger RD. *Toxicol Sci*, 2012, 128: 398–417
- 21 Kavlock R, Dix D. *J Toxicol Environ Health B-Crit Rev*, 2010, 13: 197–217
- 22 Collins FS, Gray GM, Bucher JR. *Science*, 2008, 319: 906–907
- 23 Dix DJ, Houck KA, Martin MT, Richard AM, Setzer RW, Kavlock RJ. *Toxicol Sci*, 2007, 95: 5–12
- 24 Judson R, Houck K, Martin M, Knudsen T, Thomas RS, Sipes N, Shah I, Wambaugh J, Crofton K. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2014, 115: 69–76
- 25 Kavlock R, Chandler K, Houck K, Hunter S, Judson R, Kleinstreuer N, Knudsen T, Martin M, Padilla S, Reif D, Richard A, Rotroff D, Sipes N, Dix D. *Chem Res Toxicol*, 2012, 25: 1287–1302
- 26 van Leeuwen CJ, Vermeire TG. *Risk Assessment of Chemicals: an Introduction*. 2nd Ed. New York: Springer, 2007
- 27 Lutz WK, Lutz RW. *Mutat Res*, 2009, 678: 118–122
- 28 Liroy PJ, Rappaport SM. *Environ Health Perspect*, 2011, 119: A466–A467
- 29 Wild CP. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14: 1847–1850
- 30 Wild CP. *Int J Epidemiol*, 2012, 41: 24–32
- 31 Liroy PJ, Smith KR. *Environ Health Perspect*, 2013, 121: 405–409
- 32 Arnot JA, Mackay D, Webster E, Southwood JM. *Environ Sci Technol*, 2006, 40: 2316–2323
- 33 Huang L, Batterman SA. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 13817–13825
- 34 贺莹莹, 李雪花, 陈景文. 科学通报, 2014, 59: 3130–3143
- 35 Mitchell J, Arnot JA, Joliet O, Georgopoulos PG, Isukapalli S, Dasgupta S, Pandian M, Wambaugh J, Egeghy P, Hubal EAC, Vallero DA. *Sci Total Environ*, 2013, 458: 555–567
- 36 Blaauboer BJ. *J Toxicol Environ Health B-Crit Rev*, 2010, 13: 242–252
- 37 Stadnicka J, Schirmer K, Ashauer R. *Environ Sci Technol*, 2012, 46: 3273–3280
- 38 Yang Y, Himmelstein MW, Clewell HJ. *Toxicol Vitro*, 2012, 26: 1047–1055
- 39 Tan YM, Liao KH, Clewell HJ. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2007, 17: 591–603
- 40 Wambaugh JF, Setzer RW, Reif DM, Gangwal S, Mitchell-Blackwood J, Arnot JA, Joliet O, Frame A, Rabinowitz J, Knudsen TB, Judson RS, Egeghy P, Vallero D, Hubal EAC. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 8479–8488
- 41 Isaacs KK, Glen WG, Egeghy P, Goldsmith MR, Smith L, Vallero D, Brooks R, Grulke CM, Oezkaynak H. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 12750–12759
- 42 Wambaugh JF, Wang A, Dionisio KL, Frame A, Egeghy P, Judson R, Setzer RW. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 12760–12767
- 43 Shin HM, Ernstoff A, Arnot JA, Wetmore BA, Csiszar SA, Fantke P, Zhang X, McKone TE, Joliet O, Bennett DH. *Environ Sci Technol*, 2015, 49: 6760–6771
- 44 Ankley GT, Bennett RS, Erickson RJ, Hoff DJ, Hornung MW, Johnson RD, Mount DR, Nichols JW, Russom CL, Schmieder PK, Serrano JA, Tietge JE, Villeneuve DL. *Environ Toxicol Chem*, 2010, 29: 730–741
- 45 Sturla SJ, Boobis AR, FitzGerald RE, Hoeng J, Kavlock RJ, Schirmer K, Whelan M, Wilks MF, Peitsch MC. *Chem Res Toxicol*, 2014, 27: 314–329
- 46 Southern J, Pitt-Francis J, Whiteley J, Stokeley D, Kobashi H, Nobes R, Kadooka Y, Gavaghan D. *Prog Biophys Mol Biol*, 2008, 96: 60–89
- 47 Rabinowitz JR, Goldsmith MR, Little SB, Pasquinelli MA. *Environ Health Perspect*, 2008, 116: 573–577
- 48 Wang X, Wang Y, Chen J, Ma Y, Zhou J, Fu Z. *Environ Sci Technol*, 2012, 46: 5126–5133
- 49 Fu Z, Wang Y, Wang Z, Xie H, Chen J. *Chem Res Toxicol*, 2015, 28: 482–489
- 50 Brooks BR, Brooks CL III, Mackerell AD Jr, Nilsson L, Petrella RJ, Roux B, Won Y, Archontis G, Bartels C, Boresch S, Caflisch A, Caves L, Cui Q, Dinner AR, Feig M, Fischer S, Gao J, Hodoseck M, Im W, Kuczera K, Lazaridis T, Ma J, Ovchinnikov V, Paci E, Pastor RW, Post CB, Pu JZ, Schaefer M, Tidor B, Venable RM, Woodcock HL, Wu X, Yang W, York DM, Karplus M. *J Comput Chem*, 2009, 30: 1545–1614
- 51 Salomon-Ferrer R, Case DA, Walker RC. *WIREs Comput Mol Sci*, 2013, 3: 198–210
- 52 Rostkowski M, Olsson MHM, Sondergaard CR, Jensen JH. *BMC Struct Biol*, 2011, 11: 6
- 53 Ozpinar GA, Peukert W, Clark T. *J Mol Model*, 2010, 16: 1427–1440
- 54 Vanommeslaeghe K, Hatcher E, Acharya C, Kundu S, Zhong S, Shim J, Darian E, Guvench O, Lopes P, Vorobyov I, MacKerell AD, Jr. *J*

- Comput Chem*, 2010, 31: 671–690
- 55 Humphrey W, Dalke A, Schulten K. *J Mol Graph*, 1996, 14: 33–38
 - 56 Mayne CG, Saam J, Schulten K, Tajkhorshid E, Gumbart JC. *J Comput Chem*, 2013, 34: 2757–2770
 - 57 Zoete V, Cuendet MA, Grosdidier A, Michielin O. *J Comput Chem*, 2011, 32: 2359–2368
 - 58 Pillai HK, Fang M, Beglov D, Kozakov D, Vajda S, Stapleton HM, Webster TF, Schlezinger JJ. *Environ Health Perspect*, 2014, 122: 1225–1232
 - 59 Senn HM, Thiel W. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 1198–1229
 - 60 Metz S, Kaestner J, Sokol AA, Keal TW, Sherwood P. *WIREs Comput Mol Sci*, 2014, 4: 101–110
 - 61 Li Y, Shi X, Zhang Q, Hu J, Chen J, Wang W. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 5008–5016
 - 62 Xie HB, Li C, He N, Wang C, Zhang S, Chen J. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 1700–1706
 - 63 Zhou J, Chen J, Liang CH, Xie Q, Wang YN, Zhang S, Qiao X, Li X. *Environ Sci Technol*, 2011, 45: 4839–4845
 - 64 Li C, Xie HB, Chen J, Yang X, Zhang Y, Qiao X. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 13808–13816
 - 65 Zhang H, Xie H, Chen J, Zhang S. *Environ Sci Technol*, 2015, 49: 1552–1558
 - 66 Wang Z, Chen J, Sun Q, Peijnenburg WJGM. *Environ Int*, 2011, 37: 1078–1082
 - 67 Zou M, Zhang J, Chen J, Li X. *Environ Sci Technol*, 2012, 46: 8887–8894
 - 68 Hong H, Branham WS, Ng HW, Moland CL, Dial SL, Fang H, Perkins R, Sheehan D, Tong W. *Toxicol Sci*, 2015, 143: 333–348
 - 69 Linghu B, Snitkin ES, Hu Z, Xia Y, DeLisi C. *Genome Biol*, 2009, 10: R91
 - 70 Li J, Wu Z, Cheng F, Li W, Liu G, Tang Y. *Sci Rep*, 2014, 4: 5576
 - 71 Keiser MJ, Setola V, Irwin JJ, Laggner C, Abbas AI, Hufeisen SJ, Jensen NH, Kuijter MB, Matos RC, Tran TB, Whaley R, Glennon RA, Hert J, Thomas KLH, Edwards DD, Shoichet BK, Roth BL. *Nature*, 2009, 462: 175–181
 - 72 Judson RS, Mortensen HM, Shah I, Knudsen TB, Elloumi F. *Mol Biosyst*, 2012, 8: 531–542
 - 73 Kitano H. *Nature*, 2002, 420: 206–210
 - 74 Bhattacharya S, Shoda LKM, Zhang Q, Woods CG, Howell BA, Siler SQ, Woodhead JL, Yang Y, McMullen P, Watkins PB, Andersen ME. *Front Physiol*, 2012, 3: 462
 - 75 Zhang Q, Bhattacharya S, Andersen ME. *Open Biol*, 2013, 3: 130031
 - 76 Novak B, Tyson JJ. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9: 981–991
 - 77 Zhang Q, Bhattacharya S, Andersen ME, Conolly RB. *J Toxicol Environ Health B-Crit Rev*, 2010, 13: 253–276
 - 78 Zhang Q, Bhattacharya S, Conolly RB, Clewell HJ, Kaminski NE, Andersen ME. *Environ Health Perspect*, 2014, 122: 1261–1270
 - 79 Zhang Q, Pi J, Woods CG, Andersen ME. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 237: 345–356
 - 80 Zhang Q, Pi J, Woods CG, Andersen ME. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2010, 244: 84–97
 - 81 Quignot N, Bois FY. *PLoS One*, 2013, 8: 653891
 - 82 Swat MH, Thomas GL, Belmonte JM, Shirinifard A, Hmeljak D, Glazier JA, Multi-scale modeling of tissues using CompuCell3D. In: Asthagiri AR, Arkin AP, Eds. *Computational Methods in Cell Biology. Vol. 110*. San Diego: Academic Press, 2012. 325–366
 - 83 Kleinstreuer N, Dix D, Rountree M, Baker N, Sipes N, Reif D, Spencer R, Knudsen T. *PLoS Comput Biol*, 2013, 9: e1002996
 - 84 Howell BA, Yang Y, Kumar R, Woodhead JL, Harrill AH, Clewell HJ, III, Andersen ME, Siler SQ, Watkins PB. *J Pharmacokinetics Pharmacodyn*, 2012, 39: 527–541
 - 85 Wambaugh J, Shah I. *PLoS Comput Biol*, 2010, 6: e1000756
 - 86 Hunter PJ, Crampin EJ, Nielsen PMF. *Brief Bioinform*, 2008, 9: 333–343
 - 87 Cleary JO, Modat M, Norris FC, Price AN, Jayakody SA, Martinez-Barbera JP, Greene NDE, Hawkes DJ, Ordidge RJ, Scambler PJ, Ourselin S, Lythgoe MF. *Neuroimage*, 2011, 54: 769–778
 - 88 Johnson JT, Hansen MS, Wu I, Healy LJ, Johnson CR, Jones GM, Capecci MR, Keller C. *PLoS Genet*, 2006, 2: 471–477
 - 89 Kleinstreuer NC, Smith AM, West PR, Conard KR, Fontaine BR, Weir-Hauptman AM, Palmer JA, Knudsen TB, Dix DJ, Donley ELR, Cezar GG. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 257: 111–121
 - 90 Knudsen TB, Kleinstreuer NC. *Birth Defects Res Part C-Embryo Today-Rev*, 2011, 93: 312–323
 - 91 Piersma AH, Hernandez LG, van Benthem J, Muller JJA, van Leeuwen FXR, Vermeire TG, van Raaij MTM. *Crit Rev Toxicol*, 2011, 41: 545–554
 - 92 Ma W, Trusina A, El-Samad H, Lim WA, Tang C. *Cell*, 2009, 138: 760–773
 - 93 Shah I, Wambaugh J. *J Toxicol Environ Health B-Crit Rev*, 2010, 13: 314–328
 - 94 Audouze K, Grandjean P. *Environ Health Perspect*, 2011, 119: 1754–1759

- 95 Brinkmann M, Eichbaum K, Buchinger S, Reifferscheid G, Thuy B, Schaeffer A, Hollert H, Preuss TG. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 3303–3309
- 96 Kusuhara H, Sugiyama Y. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2009, 24: 37–52
- 97 Malmberg J, Ploeger BA. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2013, 67: 203–213
- 98 Wetmore BA, Wambaugh JF, Ferguson SS, Li L, Clewell HJ III, Judson RS, Freeman K, Bao W, Sochaski MA, Chu TM, Black MB, Healy E, Allen B, Andersen ME, Wolfinger RD, Thomas RS. *Toxicol Sci*, 2013, 132: 327–346
- 99 Yoon M, Campbell JL, Andersen ME, Clewell HJ. *Crit Rev Toxicol*, 2012, 42: 633–652
- 100 Yoon M, Efremenko A, Blaauboer BJ, Clewell HJ. *Toxicol Vitro*, 2014, 28: 164–170
- 101 Yang X, Xie H, Chen J, Li X. *Chem Res Toxicol*, 2013, 26: 1340–1347
- 102 Olsen L, Rydberg P, Rod TH, Ryde U. *J Med Chem*, 2006, 49: 6489–6499
- 103 Rydberg P. *J Chem Theory Comput*, 2012, 8: 2706–2712
- 104 Rydberg P, Ryde U, Olsen L. *J Phys Chem A*, 2008, 112: 13058–13065
- 105 Rydberg P, Ryde U, Olsen L. *J Chem Theory Comput*, 2008, 4: 1369–1377
- 106 Zhu H, Zhang J, Kim MT, Boison A, Sedykh A, Moran K. *Chem Res Toxicol*, 2014, 27: 1643–1651
- 107 Wang Y, Bolton E, Dracheva S, Karapetyan K, Shoemaker BA, Suzek TO, Wang J, Xiao J, Zhang J, Bryant SH. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: D255–D266
- 108 Judson RS, Martin MT, Egeghy P, Gangwal S, Reif DM, Kothiyi P, Wolf M, Cathey T, Transue T, Smith D, Vail J, Frame A, Mosher S, Hubal EAC, Richard AM. *Int J Mol Sci*, 2012, 13: 1805–1831
- 109 Ding D, Xu L, Fang H, Hong H, Perkins R, Harris S, Bearden ED, Shi L, Tong W. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11: S5
- 110 Ekins S. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2014, 69: 115–140
- 111 Sun H, Veith H, Xia M, Austin CP, Tice RR, Huang R. *Mol Inf*, 2012, 31: 783–792
- 112 Rotroff DM, Martin MT, Dix DJ, Filer DL, Houck KA, Knudsen TB, Sipes NS, Reif DM, Xia M, Huang R, Judson RS. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 8706–8716
- 113 Chen Y, Cheng F, Sun L, Li W, Liu G, Tang Y. *Ecotox Environ Safe*, 2014, 110: 280–287
- 114 陈景文, 李雪花, 于海瀛, 王亚南, 乔显亮. 面向毒害有机物生态风险评价的(Q)SAR 技术:进展与展望. 中国科学 B 辑: 化学, 2008, 38: 461–474
- 115 Rand-Weaver M, Margiotta-Casaluci L, Patel A, Panter GH, Owen SF, Sumpter JP. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 11384–11395
- 116 Schueuermann G, Ebert RU, Kuehne R. *Environ Sci Technol*, 2011, 45: 4616–4622
- 117 Schultz TW, Amcoff P, Berggren E, Gautier F, Klaric M, Knight DJ, Mahony C, Schwarz M, White A, Cronin MTD. *Regul Toxicol Pharm*, 2015, 72: 586–601
- 118 Gilbert N. *Nature*, 2011, 475: 150–151
- 119 Reuschenbach P, Silvani M, Dammann M, Warnecke D, Knacker T. *Chemosphere*, 2008, 71: 1986–1995
- 120 Richard AM. *Chem Res Toxicol*, 2006, 19: 1257–1262
- 121 Patlewicz G, Kuseva C, Kesoya A, Popova L, Zhechev T, Pavlov T, Roberts DW, Mekenyan O. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2014, 69: 529–545
- 122 Tollefsen KE, Scholz S, Cronin MT, Edwards SW, de Knecht J, Crofton K, Garcia-Reyero N, Hartung T, Worth A, Patlewicz G. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2014, 70: 629–640
- 123 Vinken M. *Toxicology*, 2013, 312: 158–165
- 124 Rydberg P, Gloriam DE, Zaretski J, Breneman C, Olsen L. *ACS Med Chem Lett*, 2010, 1: 96–100
- 125 Wang RX, Lu YP, Wang SM. *J Med Chem*, 2003, 46: 2287–2303
- 126 Pourbasheer E, Aalizadeh R, Tabar SS, Ganjali MR, Norouzi P, Shadmanesh J. *J Chem Inf Model*, 2014, 54: 2902–2914
- 127 Kortagere S, Krasowski MD, Reschly EJ, Venkatesh M, Mani S, Ekins S. *Environ Health Perspect*, 2010, 118: 1412–1417
- 128 Dixon SL, Smondyrev AM, Knoll EH, Rao SN, Shaw DE, Friesner RA. *J Comput Aided Mol Des*, 2006, 20: 647–671
- 129 Wei X, Chen J, Xie Q, Zhang S, Ge L, Qiao X. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 4284–4290
- 130 Kleandrova VV, Luan F, Gonzalez-Diaz H, Ruso JM, Speck-Planche A, Cordeiro MNDS. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 14686–14694
- 131 Puzyn T, Rasulev B, Gajewicz A, Hu X, Dasari TP, Michalkova A, Hwang HM, Toropov A, Leszczynska D, Leszczynski J. *Nat Nanotechnol*, 2011, 6: 175–178
- 132 Yanamala N, Kagan VE, Shvedova AA. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65: 2070–2077
- 133 Gajewicz A, Rasulev B, Dinadayalane TC, Urbaszek P, Puzyn T, Leszczynska D, Leszczynski J. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64:

- 1663–1693
- 134 Hong H, Xie Q, Ge W, Qian F, Fang H, Shi L, Su Z, Perkins R, Tong W. *J Chem Inf Model*, 2008, 48: 1337–1344
- 135 Cramer RD, Patterson DE, Bunce JD. *J Am Chem Soc*, 1988, 110: 5959–5967
- 136 Sedykh A, Zhu H, Tang H, Zhang L, Richard A, Rusyn I, Tropsha A. *Environ Health Perspect*, 2011, 119: 364–370
- 137 Voutchkova AM, Osimitz TG, Anastas PT. *Chem Rev*, 2010, 110: 5845–5882
- 138 Xia M, Huang R, Witt KL, Southall N, Fostel J, Cho MH, Jadhav A, Smith CS, Inglese J, Portier CJ, Tice RR, Austin CP. *Environ Health Perspect*, 2008, 116: 284–291
- 139 Kleinstreuer NC, Yang J, Berg EL, Knudsen TB, Richard AM, Martin MT, Reif DM, Judson RS, Polokoff M, Dix DJ, Kavlock RJ, Houck KA. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 583–591
- 140 Barter ZE, Bayliss MK, Beaune PH, Boobis AR, Carlile DJ, Edwards RJ, Houston JB, Lake BG, Lipscomb JC, Pelkonen OR, Tucker GT, Rostami-Hodjegan A. *Curr Drug Metab*, 2007, 8: 33–45
- 141 Wetmore BA, Wambaugh JF, Ferguson SS, Sochaski MA, Rotroff DM, Freeman K, Clewell HJ III, Dix DJ, Andersen ME, Houck KA, Allen B, Judson RS, Singh R, Kavlock RJ, Richard AM, Thomas RS. *Toxicol Sci*, 2012, 125: 157–174
- 142 Judson RS, Kavlock RJ, Setzer RW, Hubal EAC, Martin MT, Knudsen TB, Houck KA, Thomas RS, Wetmore BA, Dix DJ. *Chem Res Toxicol*, 2011, 24: 451–462
- 143 Shen J, Cheng F, Xu Y, Li W, Tang Y. *J Chem Inf Model*, 2010, 50: 1034–1041
- 144 Bessems JG, Loizou G, Krishnan K, Clewell HJ, III, Bernasconi C, Bois F, Coecke S, Collnot EM, Diembeck W, Farcas LR, Geraets L, Gundert-Remy U, Kramer N, Kuesters G, Leite SB, Pelkonen OR, Schroeder K, Testai E, Wilk-Zasadna I, Zaldivar-Comenges JM. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2014, 68: 119–139
- 145 Hartung T, Luechtefeld T, Maertens A, Kleensang A. *ALTEX*, 2013, 30: 3–18
- 146 Jaworska J, Hoffmann S. *ALTEX*, 2010, 27: 231–242
- 147 Vermeire T, Aldenberg T, Buist H, Escher S, Mangelsdorf I, Paune E, Rorije E, Kroese D. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2013, 67: 136–145
- 148 EU Project cnG-C. Optimized strategies for risk assessment of industrial chemicals through integration of non-test and test information. 2011
- 149 Willett CE, Bishop PL, Sullivan KM. *Toxicol Sci*, 2011, 123: 15–25
- 150 Mills A, Foureman GL. *Toxicology*, 1998, 127: 85–95
- 151 Persad AS, Cooper GS. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, 233: 137–145
- 152 Rockstrom J, Steffen W, Noone K, Persson A, Chapin FS, III, Lambin EF, Lenton TM, Scheffer M, Folke C, Schellnhuber HJ, Nykvist B, de Wit CA, Hughes T, van der Leeuw S, Rodhe H, Sorlin S, Snyder PK, Costanza R, Svedin U, Falkenmark M, Karlberg L, Corell RW, Fabry VJ, Hansen J, Walker B, Liverman D, Richardson K, Crutzen P, Foley JA. *Nature*, 2009, 461: 472–475
- 153 Celander MC, Goldstone JV, Denslow ND, Iguchi T, Kille P, Meyerhoff RD, Smith BA, Hutchinson TH, Wheeler JR. *Environ Toxicol Chem*, 2011, 30: 52–63
- 154 van Straalen N. *Environ Sci Technol*, 2003, 37: 324A–330A
- 155 Kramer VJ, Etterson MA, Hecker M, Murphy CA, Roesijadi G, Spade DJ, Spromberg JA, Wang M, Ankley GT. *Environ Toxicol Chem*, 2011, 30: 64–76
- 156 Kearney M, Porter W. *Ecol Lett*, 2009, 12: 334–350
- 157 Sherrouse BC, Semmens DJ, Clement JM. *Ecol Indic*, 2014, 36: 68–79
- 158 Sherrouse BC, Clement JM, Semmens DJ. *Appl Geogr*, 2011, 31: 748–760
- 159 Corvi R, Ahr HJ, Albertini S, Blakey DH, Clerici L, Coecke S, Douglas GR, Gribaldo L, Groten JP, Haase B, Hamernik K, Hartung T, Inoue T, Indans I, Maurici D, Orphanides G, Rembges D, Sansone SA, Snape JR, Toda E, Tong WD, van Delft JH, Weis B, Schechtman LM. *Environ Health Perspect*, 2006, 114: 420–429
- 160 Waters MD, Fostel JM. *Nat Rev Genet*, 2004, 5: 936–948
- 161 Hong H, Zhang W, Shen J, Su Z, Ning B, Han T, Perkins R, Shi L, Tong W. *Sci China-Life Sci*, 2013, 56: 110–118

Computational toxicology: oriented for chemicals risk assessment

Zhongyu Wang, Jingwen Chen^{*}, Xianliang Qiao, Xuehua Li, Hongbin Xie, Xiyun Cai

Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering, Ministry of Education; School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China

**Corresponding author (email: jwchen@dlut.edu.cn)*

Abstract: Since the advent of the 21st century, toxicity testing is experiencing a revolution, towards a much more efficient assessment of chemicals risk on ecosystem health. In the frontiers of this paradigm shift resides computational toxicology, which combines toxicology, computational chemistry, chemo/bioinformatics, systems biology, etc., builds mathematical or computational models to predict and assess the exposure, hazard and risk of chemicals, and improves the understanding of toxicity mechanisms as well. The implementation of computational toxicology significantly reduces animals, expense and time consumed by toxicity testing, thus efficaciously supports the precautionary policy of chemicals. This review outlines common ideas, models and strategies adopted in computational toxicology-aided risk assessment of chemicals and toxicity mechanism profiling, and furthermore discusses the application of computational toxicology in chemicals regulation.

Keywords: computational toxicology, models, chemicals, risk assessment, QSAR

doi: 10.1360/N032015-00169