

风险评估专栏

基准剂量法及其在风险评估中的应用

方瑾, 贾旭东

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100021)

摘要: 风险评估的目的之一是确定人类对特定危害的安全暴露水平, 传统上通过未观察到有害作用剂量 (NOAEL) 法来推导。与传统的 NOAEL 法比较, 基准剂量 (BMD) 法有许多优点, 能更科学地进行风险评估。本文将系统介绍 BMD 法及其在风险评估中的应用。

关键词: 基准剂量; 未观察到有害作用剂量; 风险评估

中图分类号: R15; X820.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-8456(2011)01-0050-04

Benchmark dose method and its application in risk assessment

Fang Jin, Jia Xudong

(National Institute for Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100021, China)

Abstract: The objective of risk assessment is to establish the permissible exposure level of specific hazards for humans, which is traditionally achieved by no-observed-adverse-effect level (NOAEL) approach. Compared with the NOAEL approach, there are more advantages of the benchmark dose (BMD) approach on conducting scientific risk assessment. BMD approach and its application in risk assessment is introduced in the present review.

Key words: Benchmark dose (BMD); no-observed-adverse-effect level (NOAEL); risk assessment

风险评估包括危害识别、危害特征描述、暴露评估和风险特征描述 4 个部分, 是对暴露于危险因素的特定环境下, 对人类或环境产生不良影响的可能性和严重程度进行特征描述和定量估计的过程^[1], 其中危害识别和危害特征描述是进行风险评估的前提, 其主要目的是阐明危害的本质, 并得出发生有害作用和无作用的剂量水平, 并制定相应的安全限值如日容许摄入量 (acceptable daily intake, ADI) 或耐受量。对非遗传毒性化学物质而言, 传统的做法是通过动物实验来确定未观察到有害作用剂量 (no-observed-adverse-effect level, NOAEL), 然后除以一定的安全系数或不确定系数 (通常为 100), 来推算出人类的安全摄入水平 (如 ADI)。近年来, NOAEL 法的一些缺点受到了广泛的质疑, 越来越多的研究建议使用基准剂量 (benchmark dose, BMD) 法来代替 NOAEL 法。本文介绍 BMD 法及其在风险评估中的应用。

1 基准剂量法概述

收稿日期: 2010-07-06

基金项目: 公益性行业科研专项 (200903054-6)

作者简介: 方瑾 女 实习研究员 研究方向为食品毒理 E-mail: fangjin99168@163.com

通信作者: 贾旭东 男 研究员 研究方向为食品毒理

1.1 基本概念

1984 年, Crump^[2] 首次提出了 BMD 法, 试图通过纠正 NOAEL 的一些明显不足来更好地对非癌症终点进行评估。他将 BMD 定义为通过剂量-反应曲线获得的、使某种反应增加到某一个特定水平的剂量水平。该特定剂量水平所对应的反应称为基准反应 (benchmark response, BMR); BMD 的 95% 可信区间的下限值就是基准剂量下限值 (benchmark dose lower confidence limit, BMDL), 即通常所建议的用来代替 NOAEL 来推导人类安全暴露水平的基准剂量。

美国环境保护署 (EPA) 对 BMD 有一个类似的定义: 通过剂量-反应曲线获得的, 与背景值相比, 达到预先确定的损害效应发生率的统计学可信区间的剂量^[3]。例如, BMDL₀₁ 就是指引起对照组动物中出现 1% 概率的不良反应的 95% 统计学可信区间下限值, 其中 1% 为不良反应的基准水平 (BMR)。

1.2 使用步骤

一般来说, 确定一项研究的 BMDL 涉及以下 5 个主要步骤。

1.2.1 确定剂量-反应数据的类型

BMD 法既适用于计量资料, 也适用于计数资料; 不同的数据类型直接影响到 BMD 的统计学推论和 BMR 的选择。在 BMD 分析过程中, 计量资料可

以直接使用个体观察值;当个体观察值无法获得时,则使用总体数据,如平均值、标准差以及各剂量组的样本大小;计数资料需要各剂量组和样本量大小以及受影响个体数。

1.2.2 确定 BMR

对于计量资料,BMR 表示与背景值相比,连续的平均效应的改变;而对于计数资料的 BMR 则是指有害效应发生率的增加或减少。早期 BMD 法主要应用于计数资料,通常设定的 BMR 多为 1%、5% 或 10%。如果某个研究的反应敏感度比一般的反应性要高,则其 BMR 相应降低。例如,生殖毒性和发育毒性研究通常为嵌套式设计,反应敏感度较高,则 BMR 设定为 5%;流行病学研究敏感度更高,针对量化的人类数据一般 BMR 为 1%;BMR 越低,BMDL 对于剂量-反应模型的依赖性越大,因此 10% 较 1% 和 5% 的 BMR 更适用于计数资料^[4]。有研究发现,有关致死率的资料中,BMDL₁₀ 平均值与 NOAELs 一致^[5]。在人体研究中,通常选择 1% 的 BMR,如欧洲食品安全局(European Food Safety Authority,EFSA)就选用 1% 的 BMR 来计算黄曲霉毒素的 BMD/BMDL^[6]。但在研究对象数量较多的情况下,BMR 应做相应的改动。

对于计量资料,一般选用 5% 的 BMR;该 BMR 可降低 BMD/BMDL 对剂量-反应模型的依赖^[7]。对致畸实验而言,大多数资料显示,BMDL₀₅ 值与 NOAEL 值相比仅有轻微增高,而 BMDL₁₀ 的可信区间太宽,不能准确判断^[8]。

欧洲食品科学委员会(SCF)提出,在动物研究中,计数资料预先设定的 BMR 为 10%,计量资料的 BMR 为 5%;而且 BMR 可以根据研究中统计学和毒理学的要求进行调整^[9]。

1.2.3 候选的剂量-反应模型

通常,BMD 法是根据数据类型和反应特征来选择合适的候选反应模型。由于同一个反应数据和不同模型之间的统计学关联不同,因此所获得的 BMDs 和 BMDLs 也不同;因此 BMD 法使用多个模型来拟合相同的数据集,并从中获得与数据资料拟合度最好的模型。例如,计量资料常用的模型有指数模型和 Hill 模型等;计数资料常用的模型有 Weibull 模型和 Gamma 模型等。

1.2.4 拟合最佳剂量-反应模型

BMD 法通过最大似然比检验等统计学方法,确定具有合理参数个数的最佳模型并拟合;即最佳模型中的参数值能够使剂量-反应曲线与所观察到的结果基本一致,两者达到最优拟合。

1.2.5 确定 BMD(BMDL)

当剂量-反应关系资料完整时,同一个试验中每个潜在的关键性反应终点通过拟合最佳模型,结合 BMR 和可信区间,计算出每个反应终点的 BMD 及其下限值 BMDL,该试验将获得一个 BMDL 值的范围,反映了不同模型之间的差异;对于每个潜在的关键性反应终点的全部 BMDL,通常选择该范围内的最小值;最终确定全部反应终点的最小 BMDL 值,即为该研究的 BMDL 值。

而在剂量-反应关系资料不全的情况下,数据拟合模型所得的曲线差异较大,所观察到的 BMDL 范围也变大,这样的 BMDL 不能够为风险评估提供安全基础。针对这种情况,SCF 提出,同一试验中的每个反应终点拟合剂量-反应模型后,所获得的 BMDL 值应在一个数量级的范围内,若超出此范围,则需要对各个步骤进行修改,例如,增加 BMR,重新评估最佳模型或者平衡模型^[10]。

1.3 常用的 BMD 分析软件

目前,研究人员已经开发出多款 BMD 分析软件,其中应用最广泛的 BMD 软件有两种:美国环境保护署(EPA)开发的 BMDS 软件(Benchmark dose software, www.epa.gov/ncea)和荷兰公共卫生与环境国家研究院(RIVA)研发的 PROAST 软件(www.rivm.nl/proast)。

BMDS 和 PROAST 两个软件的原理基本一致,对计量资料和计数资料均适用,软件的计算过程主要有以下几个步骤:(1)利用软件的表格程序创建一个数据集或者直接以文本或 Excel 的形式导入;(2)根据数据类型选择合适的数据模型;(3)选定运行的模型以及相关参数(明确 BMR、可拟合的候选剂量-反应模型);(4)运行软件计算 BMD 和 BMDL,并获得文本及图表形式的结果^[11]。

与 BMDS 软件相比,PROAST 软件有以下优点:(1)提供了更多的分析选项,应用更加广泛,例如对分析中的协同变异和绘图选项进行了改进;(2)不仅应用于人类或生态毒性的风险评估,而且在其他研究领域的非线性回归中也可以使用;(3)可以将不同类型的数据组合成数据集进行分析(如,雌性和雄性,大鼠和小鼠,亚慢性和慢性实验等);(4)能够处理嵌套式数据(如发育毒性研究中的窝别效应),并且提供多种拟合模型(如乘幂模型和 Hill 模型)。当然,BMDS 软件在应用性和操作性上比 PROAST 软件更加容易和简单^[12]。

2 BMD 法与 NOAEL 法的比较

2.1 BMD 法的优点

与 NOAEL 法比较,BMD 法具有以下几个方面

的优点。

2.1.1 对实验剂量的依赖性低、毒理学判定更科学

在评价化学物的毒性作用时,无论是 NOAEL 法还是 BMD 法,均要对机体中的有害效应进行科学的毒理学判定。应用 BMD 法时,首先需要对剂量-反应模型、可信区间水平的大小、基准反应水平等进行选择,即预先确定效应大小,通过统计处理而获得 BMD 值,消除了实验设计时的随机性误差,使得 BMD 值对实验剂量的依赖性降低^[13]。而 NOAEL 值通常是实验中采用的某个剂量或者浓度,因此,NOAEL 值高度依赖于实验剂量的选择。

并且,BMD 法可以与某个明确的反应水平联系起来,能更好地在毒理学判断(选择 BMR)的基础上对研究进行分析,即:不同类型的毒性效应所选择的 BMR 水平也不同,而且不同实验均能提供针对符合某个反应终点的反应水平上的作用剂量,使得同一反应水平的不同实验之间具有可比性^[14]。

2.1.2 对样本量的依赖性低

BMD 法考虑到资料的实验误差,使用基准剂量的下限值(BMDL)作为推算安全剂量的起始点值(POD),使样本量问题的处理更加合理,同时为实验设计提供科学依据。例如,样本量越小,模型估计结果的不确定性越大,可信限的范围也就越大,从而使相应的 BMDL 降低;而较大的样本量会产生较高的 BMDL,原因是设计较好的试验会在资料中提供更多的统计检验效率,从而产生较高的 BMDL。

而 NOAEL 法高度依赖样本量的大小;样本量较少的实验会倾向于产生较大的 NOAEL 值,因为只有足够大的反应差别才能被认为具有统计学意义,这样就会产生因实验设计不足而导致的误差。

2.1.3 结果更可靠

BMD 法充分利用了所有的剂量-反应资料,并且通过可信区间下限值(BMDL)来说明数据的变异性及不确定性,因此,结果更加可靠。即便是在具体毒性作用机制不明的情况下,BMD 法也能推导出有用的信息^[15]。

而 NOAEL 值是基于单一的试验剂量,因此与对照组相比较确定统计学意义时,要考虑变异性因素;此外,由于变异性因素无法量化,因此 NOAEL 的可靠性和准确性难以评估;由于统计学和分析学的原因,不能够排除在 NOAEL 水平是完全无危险性的。

2.2 BMD 法的缺点

与 NOAEL 法比较,BMD 法的主要不足是其使用过程较为复杂,该方法需要建立剂量-反应模型,应用复杂的统计学方法进行分析判断。此外,BMD 法虽然利用了更多的剂量-反应信息,但只适用于符

合模拟要求的实验数据,并且对反应数据也有要求,即实验包含的剂量组数要多于反应模型中的参数个数,因此其使用也受到很大限制。例如,二分法模型至少需要设立 3 个剂量水平。如果模型与数据拟合度较高,可以使用参数个数与剂量组数相同的模型;剂量-反应曲线的复杂性还影响到剂量组数的确定^[16]。

3 BMD 法在风险评估中的应用

近几年,BMD 法在风险评估领域的应用越来越广泛,世界卫生组织(WHO)、美国环境保护署(EPA)、欧洲食品安全局(EFSA)均提出使用 BMD 法,并且制定出一系列的 BMD 法应用指导手册来进行推广。

EPA 利用 BMD 法分析妊娠妇女食用含甲基汞的谷物对婴儿神经系统的影响^[17]。Alexeeff 等^[18]采用 BMD 法评价了急性接触氟化氢对人体的潜在健康影响。Malsch 等^[19]利用 BMD 法研究铬经呼吸道接触的毒性,以支气管肺泡灌洗液的乳酸脱氢酶为临界效应指标,建议四价铬颗粒的急性参考剂量(RfD)为 0.34 mg/m³。2008 年,WHO 利用 BMD 法对婴幼儿奶粉中的三聚氰胺进行了评估,提出三聚氰胺的每日耐受摄入量(TDI)值为 0.2 mg/kg BW^[20]。2010 年 JECFA 公布了关于丙烯酰胺、砷、汞等化学物质的风险评估报告,绝大多数是通过 BMD 的方法计算健康参考值^[21]。

我国关于 BMD 法的研究和应用的报道尚不多。李颖和薛寿征^[22]利用 BMD 法对烯效唑的致畸性进行了研究。金泰虞和吴训伟^[23]等通过环境流行病学研究来估测环境镉接触引起的肾功能不全的 BMD。

BMD 法适用于食品中包括农药、添加剂或污染物在内的所有化学物质,而与其分类或来源无关;BMD 法还特别适用于下列情况:(1)不能确定 NOAEL;(2)为具有遗传毒性和致癌性物质的暴露限值提供参考值;(3)能对观察性流行病学数据进行剂量-反应评估。因此,EFSA 正在大力推行 BMD 法在食品风险评估中的应用。

需要注意的是,同 NOAEL 法一样,BMD 法也是通过使用不确定系数,对可接受的暴露水平(如 ADI)进行估计。尽管 BMD 法较 NOAEL 法有很多优点,但它只能在所得资料适用于数学模拟的情况下使用,因此,它并不能完全替代 NOAEL 法^[24]。

4 结语

BMD 法比传统的 NOAEL 法有诸多优势,大有

取代 NOAEL 法的趋势,但此方法的使用同样有其局限性。要意识到 BMD 法在一些方面还需要进一步深入研究,如,规范剂量-反应模型的拟合、BMR 的选定以及如何恰当地设计毒性实验从而更有利于确定 BMDL 等。

BMD 法已成为风险评估领域的又一重要评价方法,目前国内外对于 BMD 法的应用主要针对环境中的化学物,随着 BMD 法的日趋完善,其应用领域也将更加广泛;近些年,我国对食品安全领域的关注度大大提高,相信在不久的将来,BMD 法将作为一种有效的评估手段,广泛应用于我国的食品安全风险评估领域。

参考文献

- [1] McCLELLAN R. Human health risk assessment: A historical overview and alternative paths forward [J]. *Inhal Toxicol*, 1999, 11:477-518.
- [2] CRUMP K S. A new method for determining allowable daily intakes [J]. *Fundam Appl Toxicol*, 1984, 4(5):854-871.
- [3] EPA. The use of the benchmark dose approach in health risk assessment [EB/OL]. [1995-06-10]. <http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/benchmark.pdf>.
- [4] SAND S, FALK FILIPSSON A, VICTORIN K. Evaluation of the benchmark dose method for dichotomous data: model dependence and model selection [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2002, 36: 184-197.
- [5] FOWLES J R, ALEXEEFF G V, DODGE D. The use of benchmark dose methodology with acute inhalation lethality data [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 1999, 29:262-278.
- [6] EFSA. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to the potential increase of consumer health risk by a possible increase of the existing maximum levels for aflatoxins in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products [J]. *EFSA*, 2007, 446:1-127.
- [7] SAND S, von ROSEN D, VICTORIN K, et al. Identification of a critical dose level for risk assessment: developments in benchmark dose analysis of continuous endpoints [J]. *Toxicol Sci*, 2006, 90:241-251.
- [8] AUTON T R. Calculation of benchmark doses from teratology data [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 1994, 19:152-167.
- [9] BOKKERS B, SLOB W. Deriving a data-based interspecies assessment factor using the NOAEL and the Benchmark dose approach [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2007, 37:353-377.
- [10] EFSA. Use of the benchmark dose approach in risk assessment [J]. *EFSA*, 2009, 1150:1-72.
- [11] EPA. Benchmark Dose Software (BMDs) [EB/OL]. [2007-06-21]. http://www.epa.gov/ncea/bmds/bmds_training/software/overp.htm.
- [12] RIVM. PROAST: Software for dose-response modeling and benchmark dose analysis [EB/OL]. [2009-03-18]. <http://www.rivm.nl/en/foodnutritionandwater/foodsafety/proast.jsp>.
- [13] USEPA. Guidance for benchmark dose (BMD) approach-continuous data [EB/OL]. [2004-05-09]. <http://www.cdpr.ca.gov/docs/risk/bmdcont.pdf>.
- [14] KAVLOCK R J. Recent advances in mathematical modeling of developmental abnormalities using mechanistic information [J]. *Reprod Toxicol*, 1997, 11:423-434.
- [15] 赵启宇, 阚海东, 陈秉衡, 等. 危险度评价最新进展 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2004, 18(2):152-160.
- [16] FILIPSSON A F, SAND S, NILSSON J, et al. The benchmark dose method: review of available models, and recommendations for application in health risk assessment [J]. *Crit Rev Toxicol*, 2003, 33(5):505-542.
- [17] CRUMP K S, van LANDINGHAM C, SHAMLAYE C, et al. Benchmark concentrations for methylmercury obtained from the Seychelles Child Development Study [J]. *Environ Health Perspect*, 2000, 108:257-263.
- [18] ALEXEEFF G V, LEWIS D C, RAGLE N L. Estimation of potential health effects from acute exposure to hydrogen fluoride using a "benchmark dose" approach [J]. *Risk Anal*, 1993, 13: 63-69.
- [19] MALSCH P A, PROCTOR D M, FINLEY B L. Estimation of a chromium inhalation reference concentration using the benchmark dose method: a case study [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 1994, 20:58-82.
- [20] WHO. Overall Conclusions and Recommendations of Expert meeting to review toxicological aspects of melamine and cyanuric acid [EB/OL]. [2008-03-27]. http://www.who.int/foodsafety/fs_management/infosan_events/en/index.html.
- [21] JECFA. Summary and Conclusions of the seventy-second meeting [EB/OL]. [2010-02-16]. http://www.fao.org/ag/agn/agns/jecfa_output_en.asp.
- [22] 李颖, 薛寿征. 化学物致畸作用阈值判断-兼论烯效唑致畸的测试结果与 ADI 的拟订 [J]. *癌变·畸变·突变*, 1996, 8: 14-17.
- [23] 金泰虞, 吴训伟. 基准剂量在镉接触环境流行病学中的应用 [J]. *环境与职业医学*, 2003, 20(5):335-337.
- [24] 肖颖, 李勇, 陈君石. 欧洲食品安全: 食物和膳食中化学物的危险性评估 [M]. 北京: 北京医科大学出版社, 2005: 160-164.