

方法。交叉参照,即由一个(或多个)化合物的节点信息预测另一个(或多个)具有相似特性的化合物的同一节点,从而替代测试数据。科学合理的假说是交叉参照应用的前提条件,建立假说的基本原则包括:(1)化学结构相似性:具有相同的官能团,如醛基、环氧化物、酯键、特殊的金属离子等;规律性变化,如碳链的依次增加或缩短等,主要是一些碳氢化合物的溶剂、石油产物、天然复合物;额外增加或缺失官能团不会影响物质最终的毒性表征。其判断主要依赖于现有的毒理学数据,考虑该结构基团可能产生的毒性差异。目前用于预测类似物的软件 AIM (Analog Identification Methodology),可基于化学结构初步筛选类似物,但不能直接代替交叉参照。(2)性质相似性:具有相似的理化特性包括,分子量、溶解性、辛醇/水分配系数、蒸汽压、粒径等;基本的毒代动力学特性、代谢途径、作用机制等信息;具有相同的前体或分解产物。(3)物质鉴定:物质的组分、纯度和杂质特性需要进行评估。其中一些杂质可能会影响整体毒性,有必要确定杂质的成分和水平,明确杂质的危害特性,判断该差异是否会产生额外的影响。(4)类似物数据质量:合理假说建立的重要因素之一是类似物数据的相关性和可靠性。只有先保证现有的试验数据质量相关且可靠,交叉参照方法的结果才有效,才可能被接受。(5)其他支撑数据:分组法中,如筛选到的相似物质数量越多,得到的趋势越显著,评估的完整性越高。单节点的评估中,一些分子相关效应有利于增加可信度,如分子表现出亲电子,则皮肤致敏和致突变的概率将增加。有些缺失的相关信息,可尝试采用(Q)SAR模型预测,如Toxtree, OECD toolbox等。目前,交叉参照应用的限制因素主要包括科学上的限制和实际情况的影响。科学上的限制主要是指:(1)相似程度无法量化,只能主观描述;(2)作用机制相似性无法获得。实际情况的影响主要包括:(1)类似物的数据质量不受控制;(2)目标物质和类似物的物质表征无法比较。因此,交叉参照假说的建立可能存在不确定性,这往往取决于论据的充分性和可靠性,如试验数据的质量是否足够可靠,相似性假说建立是否合理,证据权衡结果是否明确等综合因素考虑。

E-mail: chenshuijuan@reach24h.cn

T17.13 皮肤致敏替代方法及化妆品安全评估

邢泰然, 宋 健

[欧莱雅(中国)研发中心亚太地区安全评估部, 上海 201206]

摘要: 基于化妆品的使用特点,皮肤致敏在化妆品的安全评估中,是非常关键的毒理学终端之一。也是各国法规要求和监管中,最严格的控制之一。皮肤致敏是一种由皮肤接触致敏物导致的超敏反应。超敏反应有四个类型,其中和化学物质经皮接触较为相关的是四型超敏反应,由于通常在接触后 24 ~ 72 h 之间出现炎症反应,故又称为迟发型超敏反应。在 1981 年,世界经济合作和发展组(OECD)已经批准了皮肤致敏的动物学实验方法 OECD 试验指南 406,并于 1991 年基于动物福利对其进行了修改。在这个试验指南中,主要介绍了两种动物试验方法,豚鼠局部封闭涂皮试验(Buehler test)和豚鼠最大值试验(GPMT test)。在 2002 年,OECD 又通过了第二个关于皮肤致敏的试验指南 429,小鼠局部淋巴分析试验(LLNA),并在 2010 年正式承认其作为替代方法可以替代豚鼠试验。和豚鼠试验相比,LLNA 试验的优势非常明显,其减少了试验动物,改良并优化了试验方法,并且可以定量的评估皮肤致敏的阈值。随着科技的发展和对动物福利的考虑,动物替代试验方法也有快速的发展。首先是根据皮肤致敏的机制而设计的离体试验,包括直接肽反应试验(DPRA),KeratinoSens 分析实验,人体细胞株激活试验(h-CLAT)以及骨髓 U937 皮肤致敏试验(MUSST)等。欧莱雅公司自上世纪 90 年代末就开始着手于皮肤致敏离体替代方法的研究,其中骨髓 U937 皮肤致敏试验就是由欧莱雅公司主要参与研发和设计的。虽然离体试验方法目前还在 OECD 的验证中,但通过多种离体试验的组合(ITS),在一定程度上可以鉴别出皮肤致敏性。其次是计算机模拟,也即定性/定量的构效关系(QSAR),现在已经有较为充分的数据库以及软件模拟方法支持对毒理学端点的计算机模拟,比如 DEREK 和 OECD QSAR TOOL BOX。但目前还不能替代生物试验。在化妆品的安全评估中,可通过不同水平的毒理学试验来识别化学物质的皮肤致敏性,并得到无致敏诱发阈值(NESIL),由于各种类的化妆品都有比较明确的使用方法,故可以统计出暴露值。在进行皮肤致敏的风险管理时,我们比较暴露

值和无致敏诱发阈值,并乘以相关的安全系数,来控制我们产品的安全性。

E-mail: Txing@rd.loreal.com; jisong@rd.loreal.com

T17.14 化妆品原材料与终产品的动物眼刺激实验替代策略

杨 军, 宋 健

[欧莱雅(中国)研发中心亚太安全评估部, 上海 201206]

摘要: 眼部刺激在化妆品原材料以及终产品毒理评估中是不可或缺的一个毒理学终点。眼刺激的实验是基于在眼部暴露化学物质后对结膜,角膜以及虹膜反应的综合评价研究。**Draize** 实验于 20 世纪 40 年代被提出,被认为是研究眼刺激的较好的体内动物模型。尽管 **Draize** 兔眼刺激实验存在评分主观性强,实验室间差异性大等缺点,其现在依然是各国法规机构认可的主要方法,但随着欧盟对化妆品动物实验禁令的发布,全球领域内用于替代动物眼刺激实验的体外眼刺激实验被广泛的关注并得到了快速的发展。在过去的数十年中,一系列动物替代实验涌现而出,如离体组织型的牛眼角膜浑浊度及通透性试验(**BCOP**),离体鸡眼试验(**ICE**)和鸡胚绒毛尿囊膜试验(**HET-CAM**)等,细胞培养型的荧光素渗漏试验(**Fluorescein Leakage**)和细胞传感器微生理仪试验(**Cytosensor Microphysiometer**)等,以及重构人类组织模型的 **EpiOcular EIT** 和 **SkinEthic HCE** 实验等,其中一些实验已被经济合作与发展组织(**OECD**)认证并在欧美等国家应用。这些实验对不同眼刺激水平的预测,刺激作用模式以及与测试物的物理化学性质兼容方面都有着相互互补之处。当前较为合理的动物实验替代方案是首先通过物理化学特性预判物质的刺激性程度,而后采用多步体外实验“自下而上(首先进行非刺激性试验)”方式准确识别非刺激物,采用“自上而下(首先进行刺激性试验)”方式准确识别严重刺激物。本文通过综述目前已被欧美接受的眼刺激替代实验方法并与动物学实验评估方法进行比较为化妆品原材料与终产品眼刺激替代方案提供思路与建议。

E-mail: JiSONG@rd.loreal.com

T17.15 危险废液急性毒性快速筛查评估体系

高 珊, 李国君, 马 玲, 敬海明, 谭壮生, 李 煜, 张 鹏, 郑 珊, 童 英

(北京市疾病预防控制中心/北京市预防医学研究中心, 食物中毒诊断溯源技术北京市重点实验室, 北京 100013)

摘要: 目的 研究以急性毒性评价为基点,用啮齿类实验动物、细胞、线虫 3 种模式同步进行毒性研究,摸索了危险废液毒性初筛方法及评价标准。**方法** 研究对 18 件某蔗糖生产线不同工段所产生的有机残液进行毒性评估,动物实验进行了小鼠经口毒性 LD_{50} 、小鼠急性吸入毒性 LC_{50} 、大鼠急性经皮毒性 LD_{50} 。**结果** 按照国家标准判定,18 件样品都不属于危险废物;18 件样品的线虫半数致死剂量(24 h LC_{50})为 $253.1 \sim 869.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;18 件样品的中性红细胞毒性半数致死剂量(24 h LC_{50})为 $19.87 \sim 75.93 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;但目前没有相关的细胞毒性、线虫毒性标准来判定研究对象是否为危险废液,在研究中,我们尝试以同步设定阴性对照、阳性对照的方法来进行结果的初步判定,细胞及线虫毒性判定标准的确立还需进一步研究与反复论证。**结论** 研究除了用传统的动物实验进行毒性评价外,把细胞毒性评价、线虫毒性评价方法作为危险废液毒性筛检的必要补充。它为建立危险废液快速、廉价、实用的多模式毒性评估体系提供科学依据。较传统的动物试验,细胞、线虫毒性的研究所需的成本低、实验周期快,在 24 h 内就能得到结果,是快速、廉价、实用的毒性评估体系。

基金项目: 国家自然科学基金(81273108);首都卫生发展科研专项(首发 2011-1013-03);北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养项目(2011)

E-mail: gosha1010@sina.com