

研究报告

基准剂量法推导3-氯丙醇及其酯的肾小管增生效应的BMDL值

唐语^{1,2}, 曹佩², 李国君³, 宁钧宇³, 陈锦瑶¹, 张磊², 张立实¹, 周萍萍²

- (1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院营养与食品卫生学系, 四川 成都 610041;
2. 国家食品安全风险评估中心/国家卫生健康委员会食品安全风险评估重点实验室, 北京 100022;
3. 北京市疾病预防控制中心, 北京 100013)

摘要:目的 基于基准剂量(BMD)法推导3-氯丙醇及其酯的肾小管增生效应的基准剂量95%置信区间下限(BMDL₁₀)。方法 利用3-氯丙醇的2年慢性毒性合并致癌性研究分析最敏感毒性终点肾小管增生,分别使用频率论模型法、频率论模型均衡法和贝叶斯模型均衡法进行BMD建模,通过对9个常规模型的拟合,获得平滑的剂量反应曲线,得到最佳拟合模型和BMDL₁₀值。结果 通过比较不同数据集的结果保守程度,选择最佳数据集。在相同数据集的情况下,模型参数限制与不限制、单一模型与模型均衡的选择是影响3-氯丙醇及其酯的BMDL结果的重要影响因素,通过综合拟合与保守程度,3-氯丙醇及其酯的肾小管增生效应的BMDL₁₀为0.87 mg/kg·BW,此结果还需结合不确定性系数进一步确定健康指导值。结论 研究结果将为我国重点食品中3-氯丙醇及其酯的风险评估服务,根据评估结果,进一步对重点食品的监管和管控提供科学建议。

关键词:3-氯丙醇酯;基准剂量法;贝叶斯模型均衡

中图分类号:R155 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8456(2022)05-0907-09

DOI:10.13590/j.cjfh.2022.05.008

Deduction of BMDL of 3-MCPD and its esters for renal tubular hyperplasia effect based on BMD method

TANG Yu^{1,2}, CAO Pei², LI Guojun³, NING Junyu³, CHEN Jinyao¹, ZHANG Lei²,
ZHANG Lishi¹, ZHOU Pingping²

- (1. Department of Nutrition and Food Hygiene, West China School of Public Health/West China Fourth Hospital, Sichuan University, Sichuan Chengdu 610041, China;
2. China National Center for Food Safety Risk Assessment/NHC Key Laboratory of Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022, China;
3. Beijing Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective To calculate the lower limit of 95% confidence interval of benchmark dose (BMDL) of 3-monochloro-1, 2-propanediol (3-MCPD) and its esters for renal tubular hyperplasia effect based on benchmark dose (BMD) method. **Methods** The data of the most sensitive endpoint of renal tubular hyperplasia in the 2-year chronic toxicity and carcinogenicity study of 3-MCPD were analyzed. BMD model and analysis were used by methods of frequentist, frequentist model averaging and Bayesian model averaging, respectively. Smooth dose response curve was obtained by fitting the nine conventional models, and then the optimal fitting model and BMDL₁₀ estimation value were obtained. **Results** The best data set was selected by comparing the conservative degree of results across different data sets. Under the same data set, the selection of restricted or non-restricted model parameters, and the selection of single model or model averaging, were key factors to affect the BMDL results of 3-MCPD and its esters. According to model fitting degree and conservative degree, BMDL₁₀ of the most sensitive endpoint of renal tubular hyperplasia of 3-MCPD and its esters was 0.87 mg/kg·BW. The health based guidance value (HBGV) needs to be further determined by the BMDL₁₀ with uncertainty factor. **Conclusion** The results of this research could be applied for the risk assessment of 3-MCPD and

收稿日期:2021-12-06

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1603605)

作者简介:唐语 女 在读研究生 研究方向为食品安全风险评估 E-mail:tangyu_scu@163.com

通信作者:周萍萍 女 研究员 研究方向为食品安全风险评估 E-mail:zhoupingping@cfsa.net.cn

陈锦瑶 女 副教授 研究方向为食品毒理学与食品安全风险评估 E-mail:umbrellay@163.com

its esters in key foods of China, and further provide scientific advice on the supervision and control of key foods based on the assessment results.

Key words: 3-MCPD and its esters; benchmark dose (BMD); Bayesian model averaging

氯丙醇酯是含脂食物在热加工过程中,尤其是在油脂精炼过程中形成的一类新型污染物,其中3-氯-1,2-丙二醇脂肪酸酯(简称3-氯丙醇酯,3-Monochloro-1,2-propanediol ester, 3-MCPD酯)的污染水平最高^[1]。国内外研究报道均表明,精炼植物油中氯丙醇酯污染最为显著,可以通过植物油带入导致含油食品的污染^[2],如婴幼儿配方粉、面包、蛋糕、饼干、液态乳、肉和汤料、煎炸食品等都有不同程度的污染^[3-4]。既往研究表明,3-MCPD酯在体内经胰脂肪酶水解后绝大部分会转化为具有肾脏毒性、生殖毒性、神经毒性和潜在致癌性的3-MCPD^[5],可将3-氯丙醇酯的毒性危害等同于3-MCPD的毒性。

近年来,许多国际组织或机构先后开展氯丙醇酯或3-MCPD(酯)的风险评估。2000年,国际癌症研究机构将3-MCPD归为“2B类”致癌物^[6]。2002年,根据一项未公开发表的F344大鼠2年慢性毒性合并致癌试验研究结果,联合国粮农组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)/世界卫生组织(World Health Organization, WHO)食品添加剂联合专家委员会(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)就制定了3-MCPD的暂定每日最大耐受量(Permissible tolerable daily intake, PMTDI)^[7];2018年, JECFA又正式开展3-MCPD及其酯的风险评估^[8]。2016,欧盟食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)食物链污染物专家组系统开展了氯丙醇酯的健康风险评估^[5],2018年又更新了食品中3-MCPD及其酯类的评估报告^[9]。但不同的组织或机构制定的3-MCPD及其酯类的健康指导值存在差异。JECFA和EFSA基于相同的毒性试验,采用不同的BMD方法和不

确定性系数(Uncertainty factor, UF),制定了3-MCPD及其酯类的不同健康指导值:JECFA设置PMTDI值为4 μg/kg·BW/d, EFSA设定每日耐受摄入量(Tolerable daily intake, TDI)值为2 μg/kg·BW/d。两个机构都认为其关键毒性效应为肾脏和生殖毒性效应,其中肾小管增生为最敏感毒性终点,但由于BMD方法的模型和参数选择存在差异,因此最终选择的BMDL值和健康指导值并不一致。本研究通过文献检索与筛选,选出适用于BMD法推导3-MCPD的数据集,通过使用不同的建模方法及应用不同软件,来探讨模型和参数选择不同导致的差异,在此基础上推导BMDL值,为建立我国3-MCPD及其酯类的健康指导值提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 数据来源

来源于SUNAHARA等^[10]在1993年和CHO等^[11]在2008年发表的2年期慢性毒性和致癌性研究文献中的原始数据。

1.2 BMD建模原始数据集及毒性效应终点选择

两篇研究结果显示,3-MCPD及其酯类化合物对于大鼠的主要靶器官是肾脏(肾小管增生)和雄性生殖器官(睾丸间质细胞增生)。雄性大鼠肾小管增生被确定为最敏感毒性终点。SUNAHARA等^[10]的剂量为0.11、1.1、5.2、28.3 mg/kg·BW,对应终点发生率为3/50、6/50、15/50、34/50(以下简称数据集1)。CHO等^[11]的剂量为0、2.0、8.3、29.5 mg/kg·BW,对应终点发生率为1/50、11/50、21/50、36/50(以下简称数据集2)。两其关键信息整理汇总结果见表1。

表1 3-氯丙醇2年期慢性毒性和致癌性研究

Table 1 Two-year chronic toxicity and carcinogenicity study of 3-MCPD

研究类型	SUNAHARA等 ^[10]				CHO等 ^[11]			
	2年慢性毒性和致癌试验研究				2年慢性毒性和致癌试验研究			
试验体系	Fischer 344大鼠(4组动物;每组雌雄各50只;5-6周龄)				SD大鼠(每组雌雄各50只;4组动物;4周龄)			
受试物	3-MCPD(Cas No. 96-24-02)				3-MCPD(Cas No. 96-24-02)			
试验周期	104周				104周			
给药方式	0、20、100或500 mg/L 3-MCPD的饮用水				0、25、100或400 mg/L 3-MCPD的饮用水			
雄性大鼠给药剂量/(mg/kg·BW)	0.11	1.1	5.2	28.3	0	2.0	8.3	29.5
雄性大鼠肾小管增生发生率	3/50	6/50	15/50**	34/50***	1/50	11/50*	21/50*	36/50*
雌性大鼠给药剂量/(mg/kg·BW)	0	1.4	7.0	35.0	0	2.7	10.3	37.0
雌性大鼠肾小管增生发生率	2/50	4/50	20/50***	31/50***	1/50	0/50	1/50	10/50*

注:*表示 $P<0.05$; **表示 $P<0.01$; ***表示 $P<0.001$

1.3 方法

分别采用频率论模型法、频率论模型均衡法和

贝叶斯模型均衡法对数据集1、2进行BMD建模。BMD建模过程中均选择BMR为0.1,风险类型为

额外风险,置信区间 95%,背景参数为“估计”。频率论模型法应用的软件为美国环境保护署(Environmental Protection Agency, EPA)的基准剂量模型系统(Benchmark dose modeling system, BMDS, 3.2 版),频率论模型均衡法应用的软件 EFSA 的 Proast(线上 70.0 版, <https://efsa.openanalytics.eu/>),贝叶斯模型均衡法应用的软件为美国印第安纳大学的贝叶斯 BMDS(Bayesian BMDS)线上系统(www.benchmarkdose.com)。

1.3.1 频率论模型法

依据美国 EPA 2012 年版指南^[12],使用 BMDS 进行 9 种常规模型拟合,分别设置优先选择限制参数和非限制参数进行 BMD 建模。BMDS 基于频率论法和最大似然估计得到最终结果,最优模型需经过拟合优度 P 值、残差、视觉拟合和赤池信息标准(Akaike's information criterion, AIC)比较。

在本研究条件和数据类型下, AIC 值是权衡 BMD 模型复杂度和拟合数据优良性的优先评判标准, AIC 考虑了对数似然和模型参数的个数,具有较低 AIC 的模型在参数较少的情况下具有更良好的拟合(在 BMDS 使用过程中,拟合的最优模型会自动标识并推荐)。根据推荐选择 $BMDL_{10}$ 最保守模型,同时查看 AIC 是否为最小或接近最小值;再核查 P 值大小(一般越接近 1 越理想)、残差是否在合理范围内(绝对值 <2),且图形视觉拟合效果是否接近真实情况(如图形表现为平缓下降则不符合生物学常理)。需要注意的是,拟合优度统计并不是为了比较不同的模型而设计的,一个模型的拟合优度 P 值较高并不一定表示比另一个 P 值较低的模型拟合得更好。

1.3.2 频率论模型平均法

依据 EFSA 推出的^[13]2017 年版指南,使用模型均衡^[14](Model average, MA)方法的 Proast 进行 BMD

分析,默认设置接受 AIC 的最大差异值为 2,使用多次迭代的 Bootstrap 方法,选择默认的 200 次迭代。在此软件的 BMD 应用中,单个模型结果将通过赋予权重进行组合,即模型均衡,拟合度更好的模型具有更高的权重(较小的 AIC 具有较大的权重),因此不必挑选出单个最优模型。

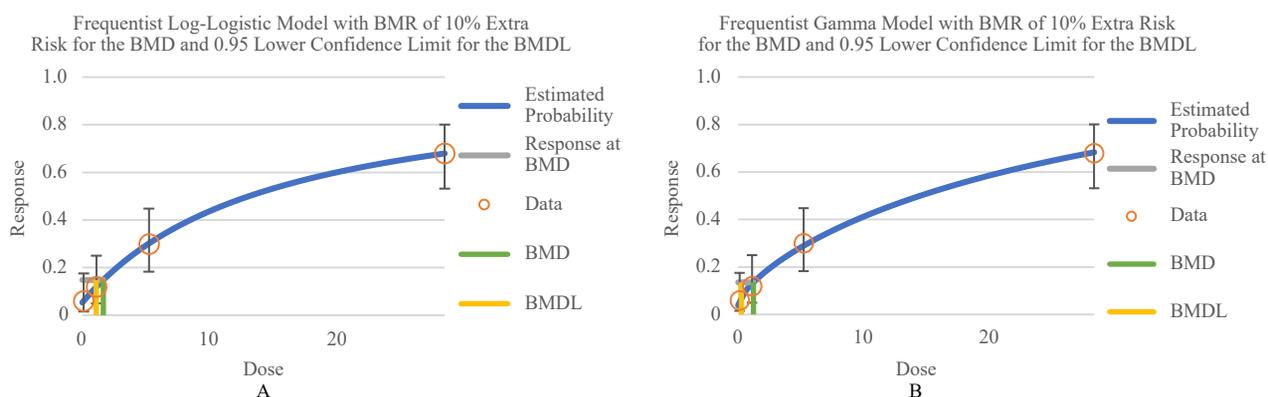
1.3.3 贝叶斯模型平均法

基于印第安纳大学的 SHAO 等^[15]开发的 BBMDS,该法通过马尔科夫链蒙特卡洛(Markov Chain Monte Carlo, MCMC)实现更精确的不确定性分布估计。用 BBMDS 对 3-MCPD 数据集进行 BMD 分析,选择默认迭代 30 000 次、预热百分比 50%、随机种子编号的默认设置进行 MCMC 模拟(根据测试,对于大多数常见的剂量-反应数据集,默认设置已经足够,因此笔者按照 BBMDS 操作指南建议在初始运行时使用默认设置),采用默认的 BBMD 类型(基于中心相对变化)和随机种子参数(数据集 1 为 99 441;数据集 2 为 72 702)。

2 结果

2.1 基于频率论模型法推导 3-MCPD 及其酯的肾小管增生 BMDL

用频率论模型法分别对数据集 1、2 进行 BMD 分析,各模型公式及参数条件详见表 2。当选择模型参数限制时,数据集 1、2 用 BMD 分析的 3-MCPD 肾小管增生毒性效应的最佳拟合模型均为 log-Logistic(数据集 1、2 的 P 值分别为 0.97、0.61)模型,得到 $BMDL_{10}$ ~ $BMDU_{10}$ 分别为 1.08~4.11、0.87~2.05 mg/kg·BW,剂量-反应曲线分别见图 1A、图 2A;当选择不限制模型参数时,数据集 1、2 用 BMD 分析的 3-MCPD 肾小管增生毒性效应的最佳拟合模型为分别为 Gamma($P=0.79$)、log-Logistic($P=0.51$)模型,得到 $BMDL_{10}$ ~ $BMDU_{10}$ 分别为



注:A:限制模型参数的 log-Logistic 曲线;B:不限制模型参数的 Gamma 曲线

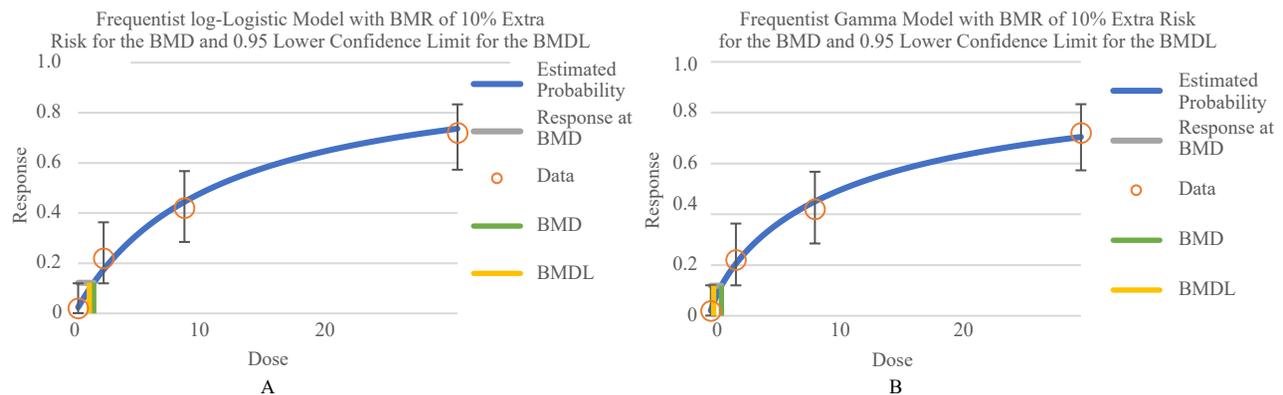
图 1 BMDS 对数据集 1 的模型拟合曲线

Figure 1 BMDS model fitting curves of dataset 1

表2 BMDS中分类数据模型公式及参数条件
Table 2 Dichotomous models and parameters in BMDS

模型	公式	参数条件	限制参数
Multistage	$p(\text{dose}) = g + (1 - g)(1 - \exp[-\sum_{j=1}^n \beta_j \text{dose}^j])$	$0 \leq g < 1$ $n \leq 23$	$0 \leq \beta$
Logistic	$p(\text{dose}) = \frac{1}{1 + \exp[-\alpha - \beta(\text{dose})]}$	$0 < \beta$	—
Probit	$p(\text{dose}) = \Phi(\alpha + \beta \text{dose})$ $\Phi(x) = \int_{-\infty}^x \phi(t) dt$ $\phi(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{t^2}{2}}$	$0 < \beta$	—
Log-logistic	$p(\text{dose}) = g + \frac{1 - g}{1 + \exp[-\alpha - \beta \log(\text{dose})]}$	$0 \leq g < 1$ $0 < \alpha \leq 18$ $0 < \beta$	$1 \leq \alpha$
Log-probit	$p(\text{dose}) = g + (1 - g)\Phi[\alpha + \beta \log(\text{dose})]$ $\Phi(x) = \int_{-\infty}^x \phi(t) dt$ $\phi(t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{t^2}{2}}$	$0 \leq g < 1$ $0 < \beta \leq 18$	$1 \leq \beta$
Gamma	$p(\text{dose}) = g + \frac{1 - g}{\Gamma(\alpha)} \int_0^{\beta \text{dose}} t^{\alpha-1} \exp(-t) dt$	$0 \leq g < 1$ $0.2 < \alpha < 18$ $0 < \beta$	$1 \leq \alpha$
Weibull	$p(\text{dose}) = g + (1 - g)(1 - \exp[-\beta \text{dose}^\alpha])$	$0 \leq g < 1$ $0 < \alpha \leq 18$ $0 < \beta$	$1 \leq \alpha$
Quantal Linear	$p(\text{dose}) = g + (1 - g)(1 - \exp[-\beta \text{dose}^\alpha])$	$0 \leq g < 1$ $\alpha = 1$ $0 < \beta$	—
Dichotomous Hill	$p(\text{dose}) = g + \frac{(v - vg)}{1 + \exp(-\alpha - \beta \log(\text{dose}))}$	$0 \leq g < 1$ $0 < v \leq 1$ $0 < \beta \leq 18$	$1 \leq \beta$

注: Φ 为标准正态分布累积函数, ϕ 为标准正态分布密度函数



注:A:限制模型参数的log-Logistic曲线;B:不限制模型参数的log-Logistic曲线

图2 BMDS对数据集2的模型拟合曲线

Figure 2 BMDS model fitting curves of dataset 2

0.25~4.02、0.22~1.91 mg/kg·BW, 剂量-反应曲线分别见图 1B、图 2B。

2.2 基于频率论模型平均法推导 3-MCPD 及其酯的肾小管增生 BMDL

用 Proast 分别对数据集 1、2 进行 BMD MA (BMD 模型均衡) 分析, 不同模型对数据集 1 拟合的频率 MA 权重范围为 0~0.21, $BMDL_{10}$ ~ $BMDU_{10}$ 为 0.28~4.21 mg/kg·BW; 不同模型对数据集 2 拟合的频率 MA 权重范围为 0.01~0.17, $BMDL_{10}$ ~ $BMDU_{10}$ 为 0.12~1.97 mg/kg·BW, 见表 3。脚本曲线见图 3。

需要说明的是, 模型均衡方法没有对模型参数

进行限制的选项, 默认对模型参数不限制, 因此模型均衡方法的结果, 与 BMDS 软件不限制参数的结果更接近。

2.3 基于贝叶斯基准剂量系统推导 3-MCPD 及其酯的肾小管增生 BMDL

用 BBMDS 分别对数据集 1、2 进行 BMD 分析。数据集 1 的 Z 分数为 7.38, BBMDS 对 3-MCPD 最敏感毒性效应进行贝叶斯 MA 的后验结果 $BMDL_{10}$ ~ $BMDU_{10}$ 为 1.91~10.07 mg/kg·BW, 权重最大(0.42)的 Quantal Linear 模型 $BMDL_{10}$ 为 1.95 mg/kg·BW, 与模型均衡的结果 1.91 mg/kg·BW 接近。数据集 2

表 3 Proast 进行 MA BMD 分析的各模型权重及置信区间
Table 3 Proast model weights and confidence interval for MA BMD analysis

数据集	two stage	log logistic	weibull	log probit	gamma	exp	hill	BMDL ₁₀	BMDU ₁₀
数据集 1	0	0.08	0.13	0.21	0.18	0.20	0.20	0.28	4.21
数据集 2	0.01	0.15	0.17	0.15	0.17	0.17	0.17	0.12	1.97

注: BMDU 为 BMD 置信区间上限; BMD 的置信区间基于 200 个脚本数据集

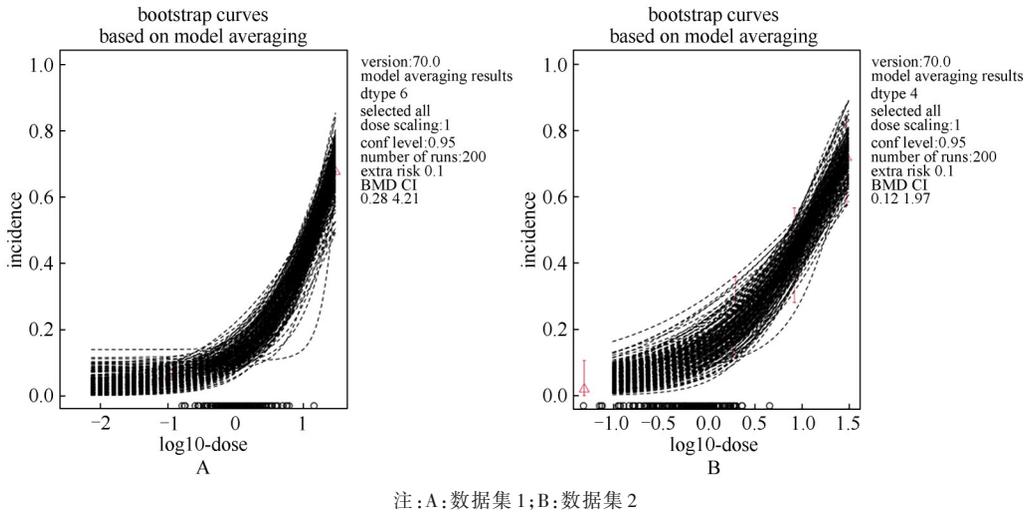


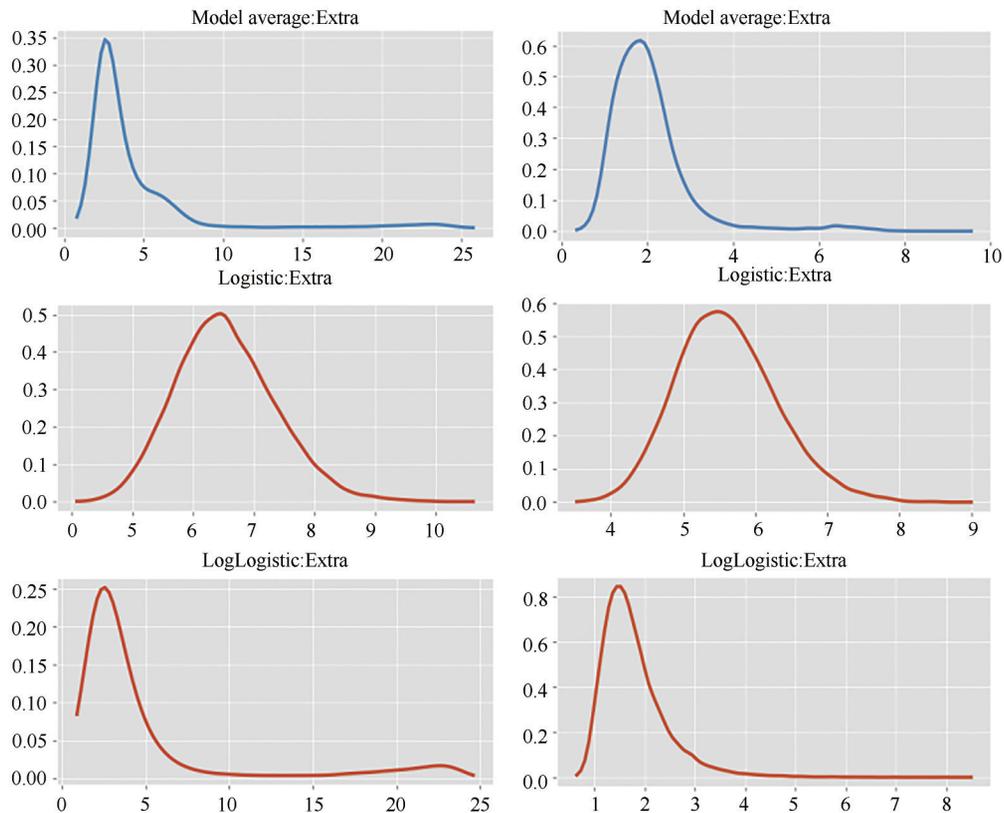
图 3 Proast 进行 MA BMD 分析的脚本曲线(基于 MA)

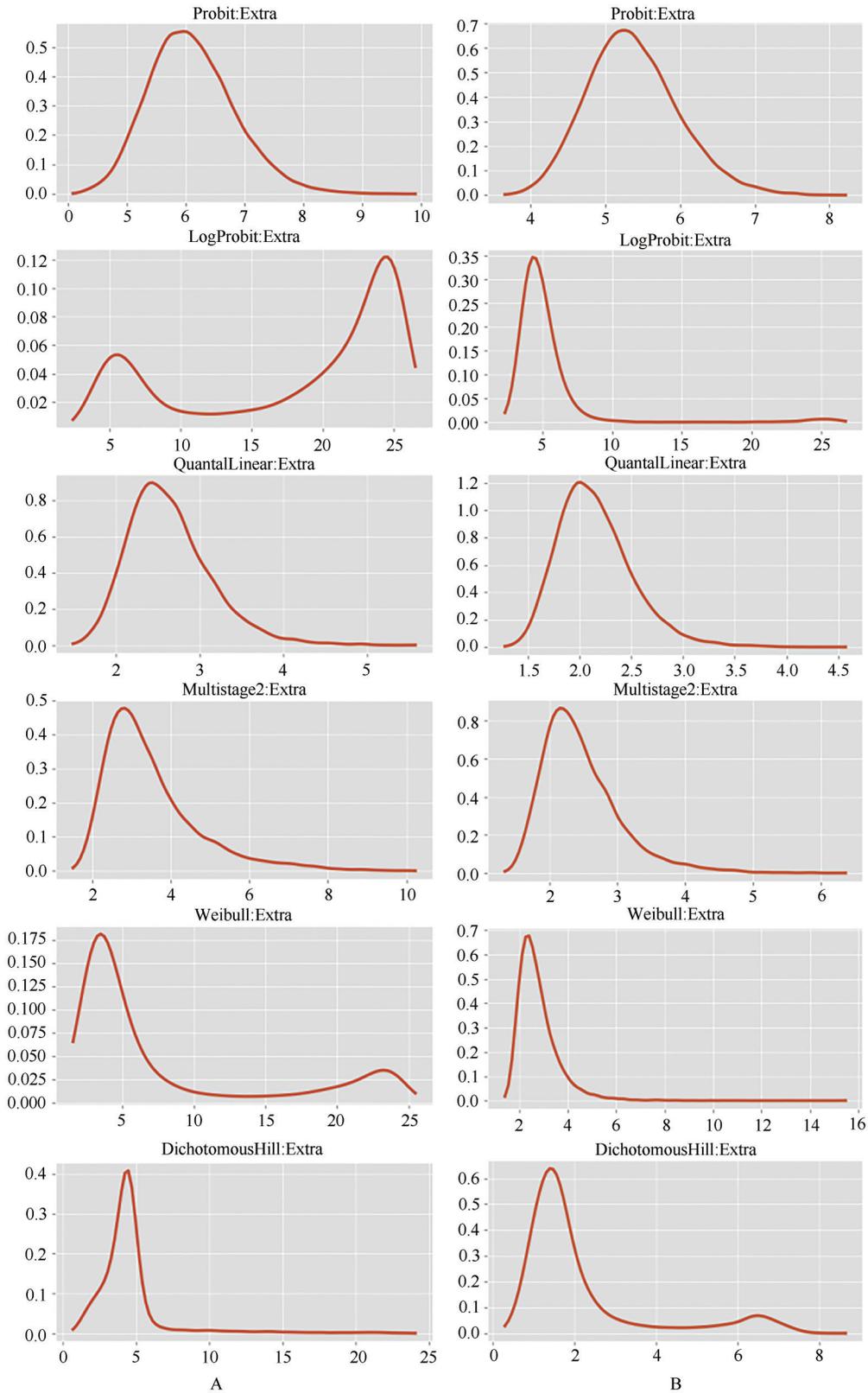
Figure 3 Proast bootstrap curves for MA BMD analysis (Based on MA)

的 Z 分数为 7.22, 贝叶斯 MA 的后验结果 BMDL₁₀~BMDU₁₀ 为 1.04~3.59 mg/kg·BW, 而权重最大(0.48)的 log logistic 模型 BMDL₁₀ 为 1.04 mg/kg·BW, 与模型均衡结果 1.04 mg/kg·BW 非常接近。两个数据集的各模型 BMD 分布图见图 4, BMD 计算权重和结果详见表 4。

2.4 不同软件不同 BMD 方法分析的结果对比

综上不同软件、不同参数设置条件下对 3-MCPD 关键毒性终点数据 BMD 分析的结果进行汇总, 见表 5。首先对比相同软件和方法的结果, 数据集 2 推导出的结果整体比数据集 1 更保守, 因此选择数据集 2 的 BMD 结果做下一步分析。其次, 分别比





注:A:数据集1;B:数据集2

图4 BBMDS中各模型BMD分布图

Figure 4 BMD distribution plots of each model in BBMDS

较不同设置下单一模型的结果和不同软件模型平均的结果:(1)在BMDS限制和不限参数设置的,选择限制参数的结果(根据US EPA的指南推荐^[12]),原因将在讨论部分进一步说明;(2)使用模

型均衡结果的Proast和BBMDS相比,Proast的结果更保守,但每个模型的权重都较低(最大不超过0.2,表3),即单一模型的拟合效果均不理想。在此情况下,即使进行加权平均也不能提高拟合的准确

表 4 BBMDS 对 3-MCPD 肾小管增生效应的分析

Table 4 BBMDS analysis on renal tubular hyperplasia effect of 3-MCPD

数据集	statistic	model average	logistic	log logistic	probit	log probit	quantal linear	multistage2	weibull	dichotomous hill
数据集 1	后验模型权重	N/A	0.04	0.18	0.05	0.01	0.42	0.13	0.08	0.08
	BMDL(5th 百分位)	1.91 [^]	5.27	1.54	5.00	4.67	1.95	2.15	2.41	1.90
	95th 百分位	10.07	7.98	21.11	7.41	25.48	3.55	6.04	23.59	9.29
数据集 2	后验模型权重	N/A	0.00	0.48	0.00	0.00	0.21	0.06	0.05	0.20
	BMDL(5th 百分位)	1.04 [^]	4.54	1.04	4.43	3.25	1.65	1.75	1.84	0.82
	95th 百分位	3.59	6.84	2.97	6.45	7.75	2.82	3.61	4.33	6.42

注:[^]:最终参考的结果,N/A:不适用

表 5 BMD 分析结果汇总

Table 5 Summary of BMD analysis results

数据集	软件/版本	BMR	限制/不限制参数	单一模型/模型平均	BMDL ₁₀ /(mg/kg·BW)	BMDU ₁₀ /(mg/kg·BW)
数据集 1	BMDS(3.2 版)	0.1	限制	log-logistic	1.08	4.11
	BMDS(3.2 版)	0.1	不限制	Gamma	0.25	4.02
	Proast(70.0 线上版)	0.1	不限制	频率模型平均	0.28	4.21
	BBMDS	0.1	—	贝叶斯模型平均	1.91(5th 百分位 [#])	10.07(95th 百分位 [#])
数据集 2	BMDS(3.2 版)	0.1	限制	log-logistic	0.87 [^]	2.05
	BMDS(3.2 版)	0.1	不限制	log-logistic	0.22	1.91
	Proast(70.0 线上版)	0.1	不限制	频率模型平均	0.12	1.97
	BBMDS	0.1	—	贝叶斯模型平均	1.04(5th 百分位 [#])	3.59(95th 百分位 [#])

注:[^]:最倾向选择的结果;[#]:后验样本的第 5 百分位数被认为是 BMDL,对应于美国环保局 BMDS 中使用的单边 95CI 的下限;后验样本的第 95 百分位数被认为是 BMDU,对应于美国环保局 BMDS 中使用的单边 95CI 的上限

程度,所以模型均衡的结果也不理想,因此倾向选择 BBMDS 的结果(最大后验权重为 0.48,表 4)。最后,将单一模型中的较优选择(BMDS 分析的限制参数的 log-logistic 模型)与模型均衡中较优选择(BBMDS 的结果)进行对比,选择更保守的结果。

本研究设置 BMR 为 0.1,综合考虑模型拟合程度、结果保守程度,拟选择 BMDS 分析数据集 2 限制参数后的 log-logistic 模型结果($P=0.61$),BMDL₁₀~BMDU₁₀ 范围为 0.87~2.05 mg/kg·BW,最终选择 BMDL₁₀ 为 0.87 mg/kg·BW。本研究选用 BMDS 限制参数的 log-logistic 结果,与 JECFA 最新的报告^[8]一致。

3 讨论

与传统方法相比,BMD 的优势可以归纳为两点^[16]:(1)BMD 考虑了整个剂量-反应曲线,即不仅局限在实验剂量内,并通过使用一致的 BMR 实现了不同研究之间的比较。(2)BMD 可以更有效地从实验给定数量的动物中获得更多信息和更好的估计。具有小样本量的数据集通常将具有较大的置信度限制,潜在地导致 BMDL 远小于相关联的 NOAEL。通常情况下,这样的 BMDL 会更好,因为它更恰当地反映了数据中的不确定性^[17]。对于 BMD 模型,同一模型不同参数的设置情况、单一模型或模型均衡选择会导致结果差异。因此,其结果的不确定性主要有几个来源:(1)BMD 分析是一种模拟或预测方法,因此模型不能完全真实地反映数据;(2)模型、参数的选择和是否选择模型均衡的不

确定性;(3)生物学和统计学考虑的相对权重带来的不确定性。

本研究设置 BMR 为 0.1,分类数据一般使用 0.1 作为标准报告数据,以便不同化学品或终点进行比较,因为在大多数癌症和规模相当的非癌症生物测定中,10% 的响应水平处于接近灵敏度的极限^[12]。但基于生物学或统计学角度考虑,有时也支持不同的 BMR(如采用嵌套设计的发育毒性研究支持 5% 的 BMR;流行病学数据通常使用 1% 的 BMR)。但在使用不同的 BMR 时,仍然需要展示 10%BMR 的结果以供比较。

本研究使用频率论模型法(BMDS 软件)对 3-MCPD 的最敏感毒性效应终点(雄性大鼠肾小管增生)两个关键研究数据进行 9 个常规模型的拟合,参考频率论模型均衡法、贝叶斯模型均衡法中模型均衡的结果,得到 3-MCPD 及其酯的肾小管增生效应的 BMDL₁₀ 为 0.87 mg/kg·BW。此结果还需要结合不确定系数,进一步确定健康指导值。

3.1 模型参数限制与非限制

US EPA 在 2012 年的最新指南^[12]中指出,应该优先运行限制的模型,以避免生物学意义上与实际情况不符合的剂量-反应曲线出现,比如剂量为 0 时出现无限斜率的极端情况。只有在任何受限模型都不能较好拟合时,才运行非限制模型。而 EFSA 2017 年的指南^[13]取消了优先运行受限模型的建议,认为限制参数可能导致人为的高 BMDLs 结果。SLOB 等^[18]提出一种假设情况,认为对 0 剂量无限斜率的担忧理由不充分,当剂量-反应拟合曲线的 X

轴是对数剂量而不是线性剂量时,原本在 0 剂量接近无限斜率的曲线会变成 0 斜率。他们还认为,如果在低剂量斜率很大的非限制模型运行数据集,推导出的 BMDL 值非常小,反映出的问题是没有足够的剂量反应数据来提供合理精度的 BMD 估计,这种情况下的解决办法不是限制参数,而是使用来自可比终点和可比研究的历史数据得出起始点。

本研究中数据集 2 的单一模型 Log-logistics 模型公式为 $p(\text{dose})=g+\frac{1-g}{1+\exp[-\alpha-\beta\log(\text{dose})]}$, 参数

条件为 $0\leq g<1, 0<\alpha\leq 18, 0<\beta$ 。限制参数的基本原理是为了避免剂量响应曲线在剂量为零时具有无穷大的斜率,为了使曲线在低剂量的坡度放缓,限制参数 $\alpha\geq 1$ 。因 3-MCPD 的毒性效应数据 X 轴是非对数性剂量,从毒理学角度上考虑,如果曲线能呈现更传统的剂量-反应形状(即低剂量区曲线更平缓的上升),表示这样的数据集质量更高,因此初始陡坡的数据集具有更高的不确定性^[18]。由于单一模型 log logistics 模型中不限制参数时 3-MCPD 毒性效应终点在低剂量区的曲线斜度呈极端陡峭(图 2),为避免个别模型的 BMDL 值极端保守,以降低更高的不确定性,本研究选择对模型参数 α 进行限制后,即 $1\leq\alpha\leq 18$ 时推导的结果。

3.2 单一模型/贝叶斯模型平均的选择

单一模型可能很好地反映了数据,但不同的模型会产生不同的 BMD 估计,由于没有任何一种模型能完全反映真实模型,所以模型与模型之间存在一种不确定性。MA 是解决剂量反应模型中模型不确定性的一种合适方法,使用 MA 时减少了在参数设置选项之间进行选择的困难,它使用不限制模型参数的模型,并为具有无限斜率的有问题的曲线赋予接近 0 的权重以避免生物学生的错误结论。但计算权重的方法可能不一致,Proast 使用基于拟合标准的频率法来计算权重(例如用于频率法的 AIC),而 BBMDS 使用基于拟合标准的 BIC 的后验模型概率。

有证据表明,在 BMD 估计之前直接进行模型选择可能导致极不正确的 BMDLs^[19],而相比之下,使用模型均衡可以缓解与这种单一模型选择策略相关的问题^[20],它涉及对更完整的一组充分拟合的模型进行加权。这样的平均值也有缺点,它并不是(平均 BMD)95%CI 的下限,只是考虑了特定 BMDL 的平均值,同时失去了单个估计模型的统计特性。在 EFSA 指南中,生物学上重要的拟合参数如视觉拟合或残差值没有在模型加权中考虑,也没有在模型均衡的首选方法和单个模型的选择上考虑。因

此,当单一模型从统计学和生物学上都有很好的拟合效果,模型均衡的方法不一定要作为首选。单一模型的低剂量区域十分关键,因为该区域与 BMD 估计有更强的相关性。Proast 和 BMDS 都没有考虑先验信息,而 BBMDS 提供了一种通过模型参数的先验分布纳入先验信息的方法,再根据后验模型概率的权重对所包括的模型后验样本平均值进行加权平均(权重计算方法来自于文献^[21]),这对于提高劣质数据的剂量-响应建模的可靠性有很大的帮助,因此 BBMDS 作为补充性工具的结果具有很好的参考价值。尽管最少只需要 3 个剂量组就可以进行 BMD 建模,但一般情况下,在低剂量区有更多数据的数据集质量会更高,模型拟合的效果也会更好。由于不同的研究设计有不同的剂量选择和不同的敏感性,因此本研究的结果仅基于现有条件和数据,未来的研究设计可以考虑增加低剂量区的剂量组,以提高 BMD 分析的数据质量。

参考文献

- [1] SVEJKOVSKÁ B, NOVOTNÝ O, DIVINOVÁ V, et al. Esters of 3-chloropropane-1, 2-diol in foodstuffs[J]. Czech Journal of Food Sciences, 2011, 22(5): 190-196.
- [2] ZELINKOVÁ Z, SVEJKOVSKÁ B, VELÍŠEK J, et al. Fatty acid esters of 3-chloropropane-1, 2-diol in edible oils[J]. Food Additives & Contaminants, 2006, 23(12): 1290-1298.
- [3] JĘDRKIEWICZ R, KUPSKA M, GŁOWACZ A, et al. 3-MCPD: A worldwide problem of food chemistry [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2016, 56(14): 2268-2277.
- [4] GAO B Y, LI Y F, HUANG G R, et al. Fatty acid esters of 3-monochloropropanediol: A review [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2019, 10: 259-284.
- [5] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food [J]. EFSA Journal, 2016, 14(5): e04426.
- [6] World Health Organization International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans [M]. Lyon: IARC, 2000.
- [7] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants: fifty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [M]. World Health Organization, 2002.
- [8] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain contaminants in food: eighty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [M]. World Health Organization, 2017.
- [9] PANEL ON CONTAMINANTS IN THE FOOD CHAIN (CONTAM) E F S A, KNUTSEN H K, ALEXANDER J, et al. Update of the risk assessment on 3-monochloropropane diol and

- its fatty acid esters [J]. *EFSA Journal European Food Safety Authority*, 2018, 16(1): e05083.
- [10] SUNAHARA G, MARCHESINI M. Carcinogenicity Study on 3-Monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) Administered in Drinking Water to Fischer 344 Rats. Unpublished Report NO. RE-SR93003 Submitted to WHO by Nestec Ltd, Research & Development, Switzerland; 1993.
- [11] CHO W S, HAN B S, NAM K T, et al. Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1, 2-diol in sprague-dawley rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46(9): 3172-3177.
- [12] US Environmental Protection Agency. Benchmark Dose Technical Guidance [M]. Washington DC: US EPA, 2012.
- [13] COMMITTEE E F S A S, HARDY A, BENFORD D, et al. Update: Use of the benchmark dose approach in risk assessment [J]. *EFSA Journal European Food Safety Authority*, 2017, 15(1): e04658.
- [14] WHEELER M W, BAILER A J. Model averaging software for dichotomous dose response risk estimation [J]. *Journal of Statistical Software*, 2008, 26(5): 1-15.
- [15] SHAO K, SHAPIRO A J. A web-based system for Bayesian benchmark dose estimation [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2018, 126(1): 017002.
- [16] HABER L T, DOURSON M L, ALLEN B C, et al. Benchmark dose (BMD) modeling: Current practice, issues, and challenges [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2018, 48(5): 387-415.
- [17] ZHU Y L, WESSEL M R, LIU T B, et al. Analyses of neurobehavioral screening data: Dose-time-response modeling of continuous outcomes [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2005, 41(3): 240-255.
- [18] SLOB W, SETZER R W. Shape and steepness of toxicological dose-response relationships of continuous endpoints [J]. *Critical Reviews in Toxicology*, 2014, 44(3): 270-297.
- [19] RINGBLOM J, JOHANSON G, ÖBERG M. Current modeling practice may lead to falsely high benchmark dose estimates [J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology: RTP*, 2014, 69(2): 171-177.
- [20] PIEGORSCH W W, AN L L, WICKENS A A, et al. Information-theoretic model-averaged benchmark dose analysis in environmental risk assessment [J]. *Environmetrics*, 2013, 24(3): 143-157.
- [21] WASSERMAN L. Bayesian model selection and model averaging [J]. *Journal of Mathematical Psychology*, 2000, 44(1): 92-107.