



**HUMANE SOCIETY
INTERNATIONAL**

国际人道对待动物协会

有害结局路径 (Adverse Outcome Pathway, AOP) -21世纪的毒理学测试策略

21世纪毒性测试中国公益项目

2016年6月21日

21世纪毒性测试体系产生背景

药品:

- 2004年，开发和测试一个新药的平均成本是9亿美元。到了2008年最低估计为13.94亿美元。开发一个新药到上市需要10-13年，但是92%通过动物实验的新药都未能上市，其主要原因就是不可预测的毒性和缺乏足够的人体功效；
- 新型化学物质的评价（例如纳米材料）



化学品:

- 化学数据缺口问题亟待解决；
- 法规审批中预测性，准确性，通量，成本压力；
- 复杂混合物的评估；
- 新的环境健康问题



农药:

- 法规要求根据现行标准来填补安全数据缺口，测试一个产品中的每一个新化学活性成分可能需要10000只以上的动物，耗时且昂贵；
- 开发绿色化学品的需要

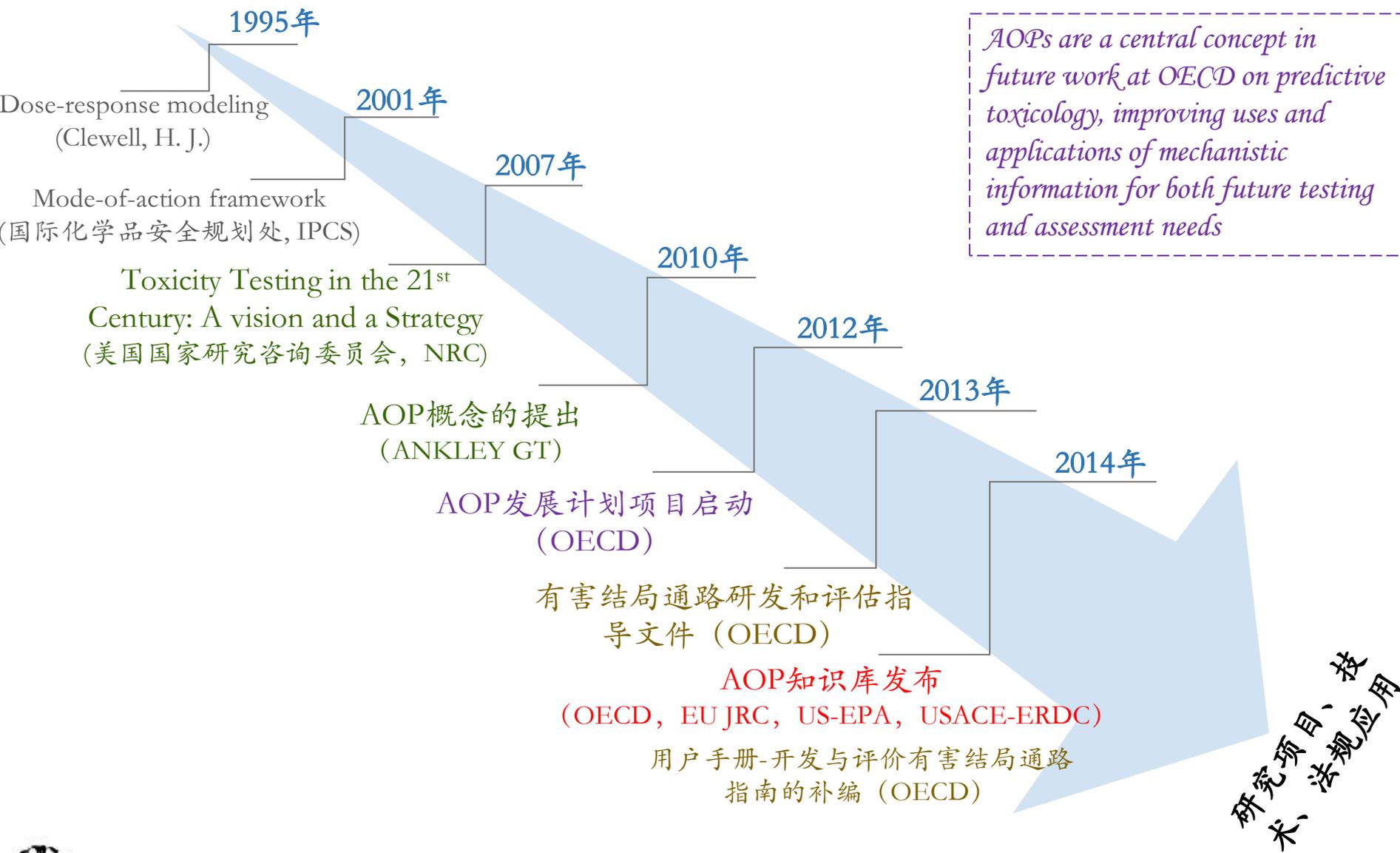


化妆品:

- 全球31国实施化妆品动物试验禁令；
- 全球消费者对化妆品安全性和动物试验的关注



AOP时间进程



21世纪毒性测试：愿景与策略

- » 广泛覆盖众多化学物，化学混合物，不同结局和生命阶段
- » 降低测试成本和时间
- » 减少动物用量，最大限度地减少动物痛苦
- » 为评价环境化学物的健康效应提供更为坚实的科学依据



21世纪毒性测试：愿景与策略

未来毒性测试策略的方案

方案1 体内试验	方案2 体内分层试验	方案3 体内和体外试验结合	方案4 体外试验
动物生物学	动物生物学	主要的人体生物学	主要的人体生物学
高剂量	高剂量	较宽的剂量范围	较宽的剂量范围
低通量	通量提高	高通量和中通量	高通量
花费多	花费少	花费少	花费少
耗时长	耗时短	耗时短	耗时短
动物使用数量 相对大	动物使用数量相对 小	动物使用数量大幅度减少	几乎不使用动物
基于终极测试 指标	基于终极测试指标	基于重要的细胞应答受干 扰程度	基于重要的细胞应 答受干扰程度
	部分筛选，通过计 算和体外方法进行； 比当前方法更灵活	尽可能通过计算方法进行 筛选；少量针对机制和代 谢的动物研究。	完全通过计算方法 进行筛选。



21世纪毒性测试：愿景与策略

未来的毒性测试和风险评价策略应以“毒性通路”为基础，通过使用计算生物学新方法和以人类生物学为基础的体外测试组合评价关键毒性通路中有显著生物学意义的干扰

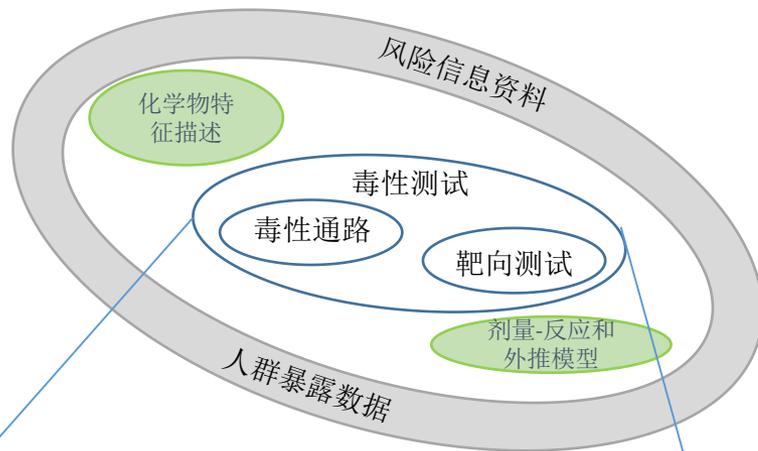
受在充分干扰时会导致有害健康效应的细胞应答通路，称为毒性通路。

毒性通路

- 评价毒性通路中的干扰而非终点
- 以应用细胞或细胞系（首选人源性）进行的高通量方法为重点
- 应用中等通量试验分析更系统的细胞反应。

靶向测试

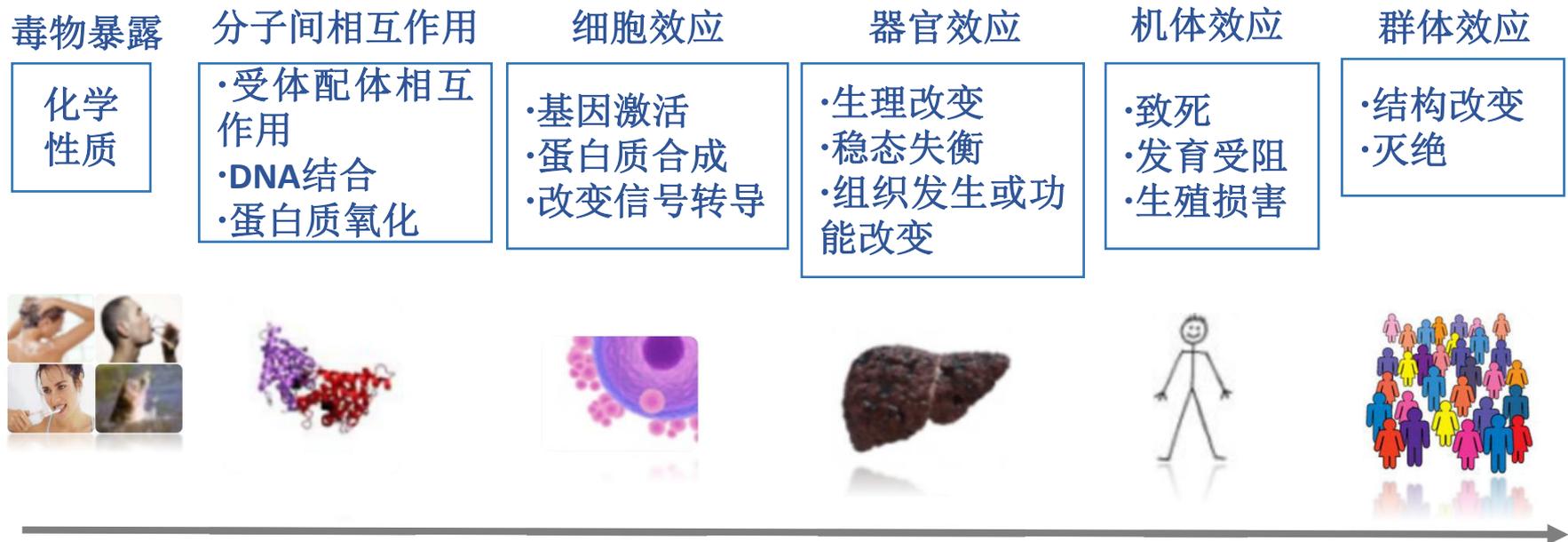
- 进行试验以评估代谢产物、靶组织，从基因水平了解受影响的细胞过程
- 有限种类和时间的体内研究，主要为14天暴露
- 在新化学种类中代表化学物的大规模试验



毒性测试组成

有害结局路径 (Adverse outcome pathway, AOP)

有害结局路径是一个概念框架，用以描述已有的关于一个直接的分子起始事件(molecular initiating event, MIE) (如:外源化合物与特定生物大分子的相互作用)与在生物不同组织结构层次(如:细胞、器官、机体、群体)所出现的与危险度评定相关的“有害结局”(Adverse outcome, AO)之间的相互联系。



AOP知识库 (AOP knowledge database, AOP-KB)



<https://aopkb.org/>

AOP-Wiki (<http://aopwiki.org>)



Page Discussion

[Read](#) [View source](#) [View history](#)

[Main Page](#)

[Main Page](#) > [Special:Search](#) > [Relationship:129](#) > [Special:WhatLinksHere/Relationship:129](#) > [Relationship:45](#)

Contents [hide]

- 1 Announcements
- 2 Welcome to the Collaborative Adverse Outcome Pathway Wiki (AOP-Wiki)
 - 2.1 Disclaimer
- 3 How to add a new AOP
 - 3.1 Before You Start
 - 3.2 OECD User Handbook
 - 3.3 Commenting on AOPs
 - 3.4 To create a new AOP
 - 3.5 To edit AOP wiki pages
 - 3.6 To edit other wiki pages (key events, MIE's, etc.)

Announcements

There was a minor software upgrade for the AOP-Wiki on 2/13/2016. A list of the bug fixes and new features is available here: [Release_Notes#Release_1.5_281.2F17.2F2016.29](#). If you notice any problems, please email aopwiki@googlegroups.com and/or report here: [Bug Reports](#).

Welcome to the Collaborative Adverse Outcome Pathway Wiki (AOP-Wiki)

If you are interested in contributing AOP-related knowledge to the AOP-KB, please follow the instructions laid out at the [OECD Adverse Outcome Pathways, Molecular Screening and Toxicogenomics](#) page. The [Guidance on Developing and Assessing AOPs](#) document is the basis for all work related to contributing and sharing AOP-related knowledge. A [Users' Handbook Supplement](#) to this Guidance has been written to aid systematic development and transparent assessment of Adverse Outcome Pathways (AOPs). The handbook contains a template to guide AOP description and provides focused and practical instructions for developers and assessors intended to assist in identifying, organizing, and evaluating critical information on key events and linkages (i.e., key event relationships (KER)) within the AOP, as well as guidance on how to assess the weight of evidence supporting the overall AOP.



AOP-Wiki (<http://aopwiki.org>)

AOP list

Adverse Outcome Pathways

[Back to Top](#)

API

Search AOPs

Search

AOPs Ready for Commenting

OECD Endorsed (WNT and TFHA)

Click [here](#) for links to the official OECD versions

Title
Covalent Protein binding leading to Skin Sensitisation

EAGMST Approved

Click [here](#) for links to the EAGMST approved versions

Title
Alkylation of DNA in male pre-meiotic germ cells leading to heritable mutations
Androgen receptor agonism leading to reproductive dysfunction
Aromatase inhibition leading to reproductive dysfunction (in fish)

AOPs Ready for Commenting

[OECD Endorsed \(WNT and TFHA\)](#)

[EAGMST Approved](#)

[EAGMST Under Review](#)

AOPs Under Development

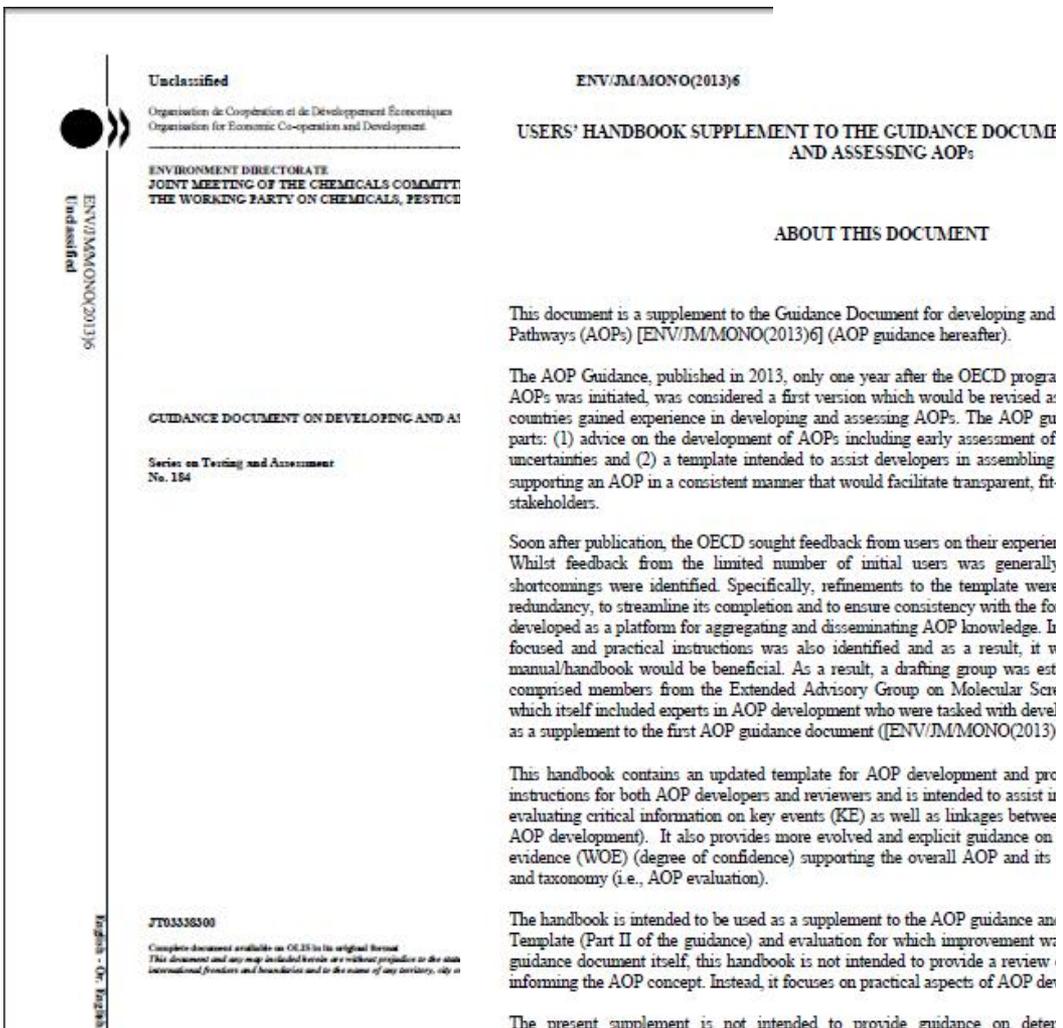
[EAGMST Under Development](#)

[SAAOP AOP Under Development](#)

[Recently Added](#)

AOP指导性文件

http://www.oecd.org/chemicalsafety/adverse-outcome-pathways-molecular-screening-and-toxicogenomics.htm#AOP_wiki



有害结局通路研发和评价指导文件
测试和评价系列丛书

第184号

程树军博士研究
小组翻译

译文的翻译质量及其与原文的一致性译者(们)的职责,在译文与原文发生任何不一致的情况下,应以英文原文为准。

英文原稿由经济合作与发展组织出版,标题如下:
Guidance Document on Developing and Assessing Adverse Outcome Pathways, Series on Testing and Assessment No. 184, (ENV/JM/MONO(2013)6)
© 经济合作与发展组织
© 2016 国际人道对待动物协会拥有本中文版版权

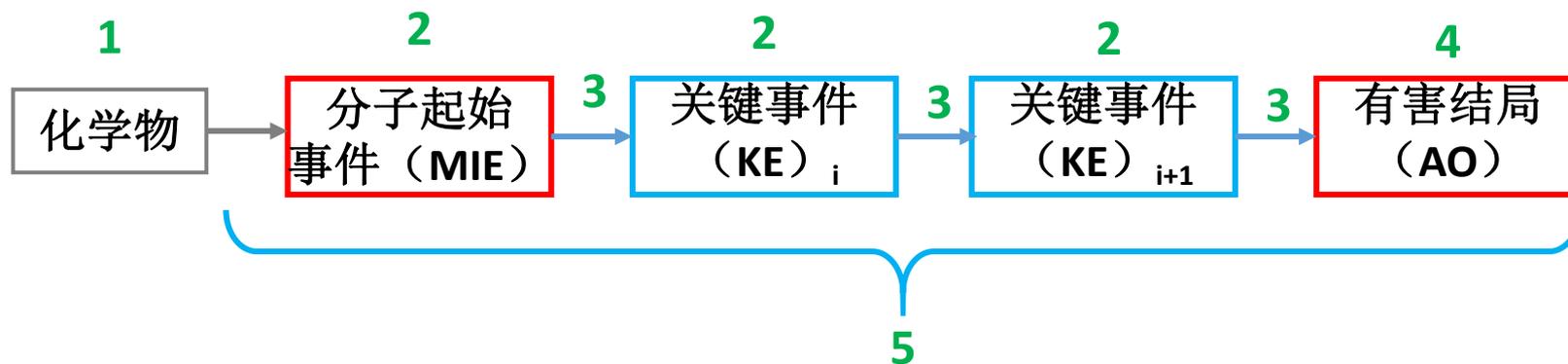
HSI中文版权©

AOP概念基本组成部分及其定义

分子起始事件	Molecular initiating event, MIE	代表生物体内分子水平的化学反应起始点的特定关键事件，该关键事件导致了启动AOP的扰动的发生。
关键事件	Key event, KE	一种可测量的生物状态改变，并且这种改变对已确定的、导致特定有害结局的生物学扰动进程是必不可少的。
关键事件关系	Key event relationship, KER	一个关键事件与另一个关键事件的科学性联系，它界定了两者的直接关系（即，将一个关键事件定义为上级事件，另一个则定义为AOP中的下级事件），有助于根据已知、已测量或可预测的上层关键事件推断或外推出下游关键事件的状态。
有害结局	Adverse outcome, AO	与已设定的安全监管目标相应、或与已被认可的法规监管毒性测试顶端终点相当的关键事件，是一种具有法规监管意义的特定类型的关键事件。



构建一个AOP的必要元素



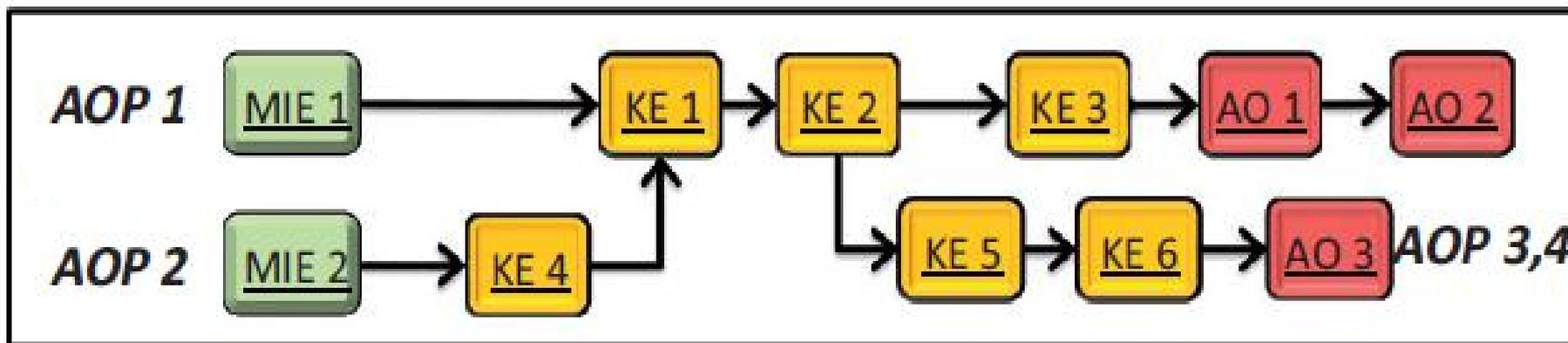
1. 化学引发剂
2. 关键事件
3. 关键事件关系
4. 有害结局
5. 有害结局通路

OECD指南指出提交AOP报告的内容包括：

- ①暴露特征描述，指明其暴露途径；
- ②化学性质描述，包括生物利用度，代谢机制等信息；
- ③确认分子起始事件；
- ④确认作用位点；
- ⑤从大分子水平描述化学物与分子靶点之间的交互作用如何对生化通路产生影响；
- ⑥从细胞/组织水平来描述可能与有害结局或与最终的有害结局相关的反应；
- ⑦从器官水平描述可能是最终的有害结局或者与最终有害结局相关的反应；
- ⑧从机体层次上描述可能是最终的有害结局或者与最终有害结局相关的反应；
- ⑨从群体或生态体系来描述可能是最终有害结局或与最终有害结局有关的整体效应。



AOP网络



AOP网络能更真实的反应现实世界里混合物的效应以及具有多重生物效应的单一毒物的情况。

Reality is a beautiful mess

AOP不同的开发策略概览

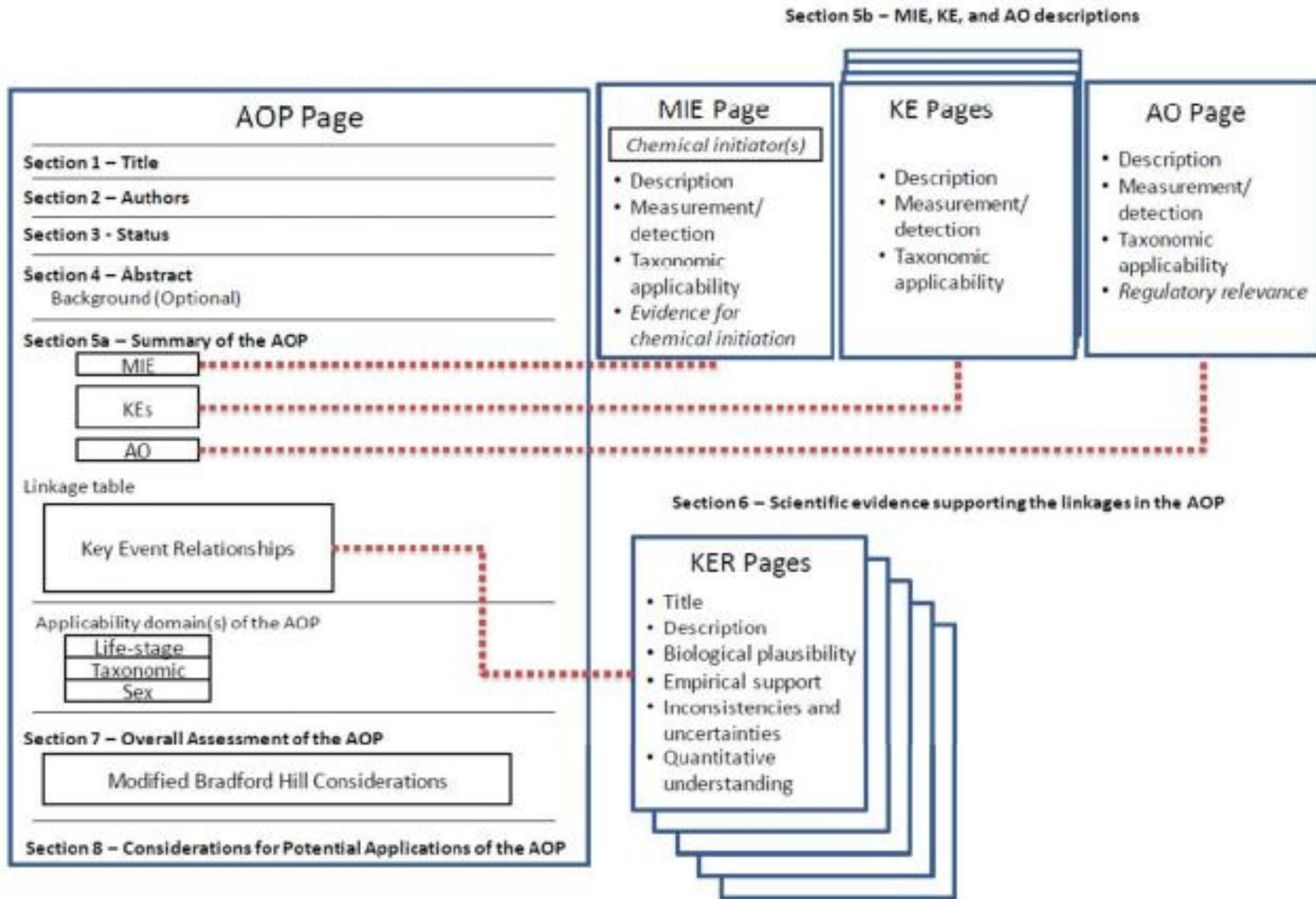
AOP开发策略	描述
从上至下的AOP开发策略	从顶端的一个有害结局开始进行研究，逐步探明其生物学组织层面的级联效应，将有害结局与一个或多个分子起始事件联系起来，以构建一个AOP。
从下至上的AOP开发策略	从一个已阐明的分子起始事件开始，建立与更高级层生物学组织的联系以构建一个AOP
从中间开始的AOP开发策略	从一个可观测的表型或生物学检测（例如一个关键事件）开始，可能刚开始并不与外源性物质或应激物诱导的扰动直接相关，也未建立其法规应用。而通过研究关键事件相关的作用机理，从而建立与有害结局之间的因果联系。
通过案例研究进行的AOP开发策略	通过一个已被详尽研究，分子起始事件至有害结局关系明确的化学物开始，继而收集其他产生同样类型扰动的化学物或应激物的相关科学依据，以建立AOP。
通过类推法进行的AOP开发策略	从一个在动物模型或其他特定生物体中已存在的AOP开始。侧重于研究现存AOP中哪些关键事件和关键事件联系在其他生物体或类别中具有保守性，从而开发相应的替代法。
通过数据挖掘进行的AOP开发策略	利用高内涵和高通量数据集，或其他类型的文献或数据挖掘方法来推断（通常是通过统计学）关键事件之间的联系。这种策略通常用于AOP开发的早期阶段。



AOP的评估

		高(强)置信度	中等置信度	低(弱)置信度
生物学合理性问题	在上游KE和下游KE之间是否存在存在与已知生物学知识一致的机制关系?	基于已有信息, 证据, 机理和理论。	相关科学认知尚不充分	经验主义证据支持
必要条件问题	如果上游的关键事件被阻滞, 是否下游的关键事件和/或有害结局会被抑制?	直接证据	间接证据 (如修饰因子改变带来的变化)	没有或存在相互矛盾的依据
经验性证据问题	上游关键事件的改变导致相应下游关键事件改变是否有经验性证据支持? 上游关键事件的发生比下游关键事件的作用剂量更小并且时间更早吗? 上游关键事件的发生率是否高于下游关键事件? 对于不同分类群、物种和应激物的经验性证据是否与假设的AOP的预期模式前后矛盾?	暴露于广泛范围应激物的一致性证据。	暴露于少量特定应激物的证据。不足之处尚可改进。	没有研究, 或现有证据不足以支撑该预测的作用模式。

AOP Wiki -AOP报告



AOP的法规应用

法规决策：

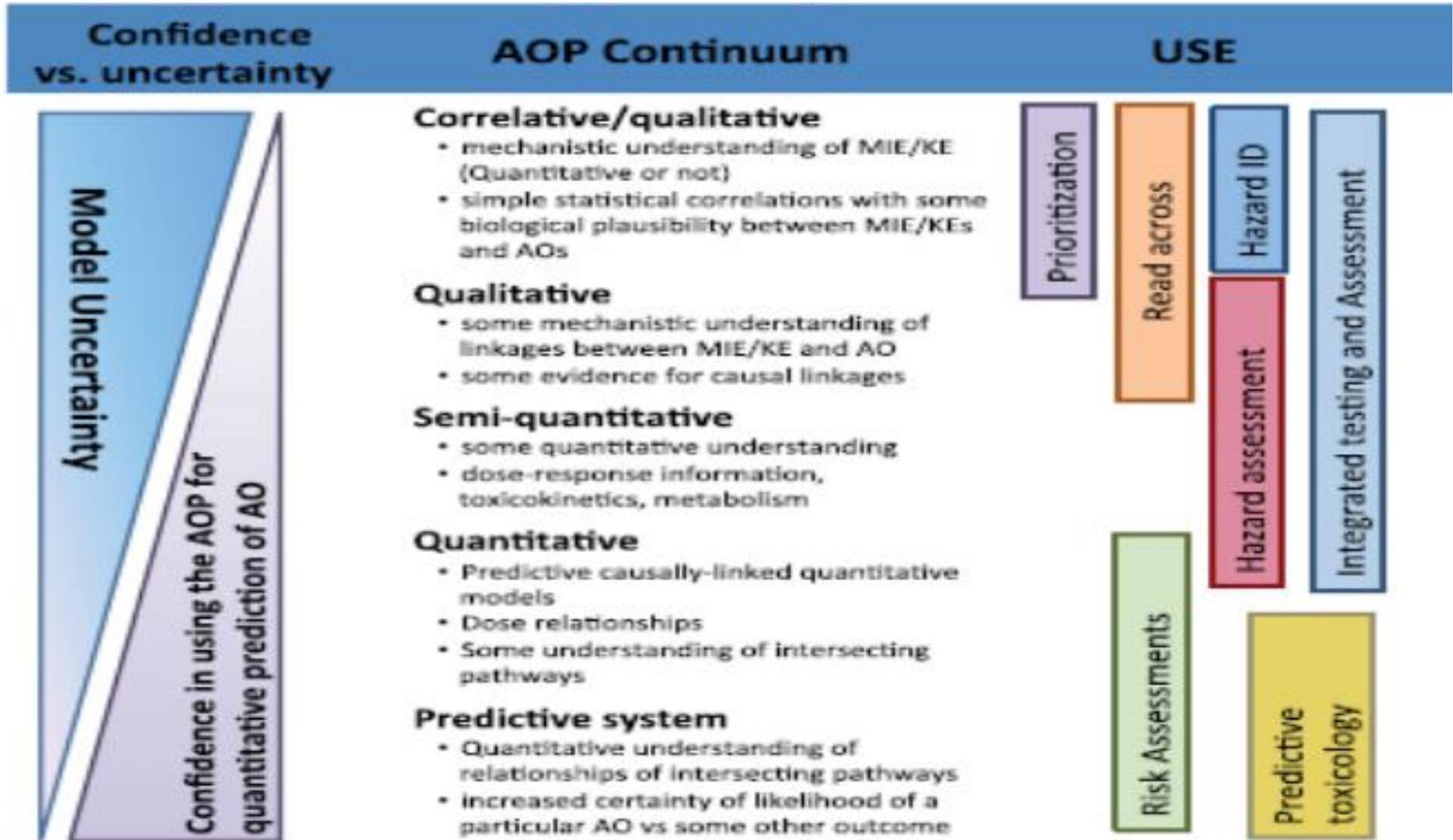
- 毒理学评价应与人体健康更相关；
- 精准预测；
- 广泛覆盖更多生物种类；
- 高效，经济
- 安全、和谐社会

AOP-旨在法规应用的毒理学系统：

- 基于机理研究因而与人体生物学更相关；
- 旨在构建更清晰、全面的毒理学系统；
- 最新体外技术（如3D模型、高通量筛选等）与非测试技术（Read across、计算生物学等）整合；
- 减少或不使用动物实验



AOP的法规应用



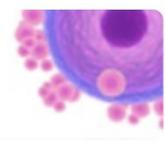
AOP案例分析-皮肤致敏



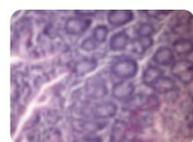
Exposure



Molecular Initiating Event



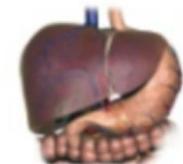
Cellular Effects



Tissue Effects



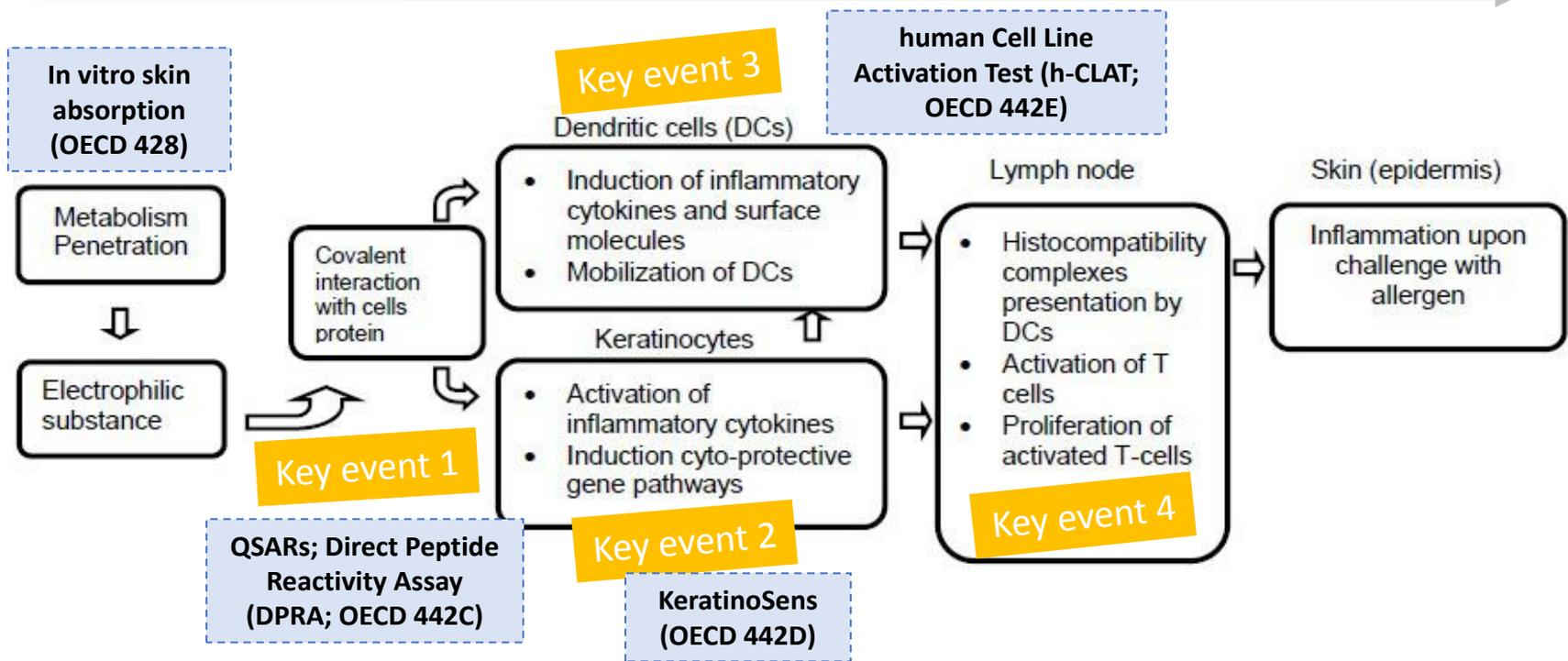
Organ Effects



Organ Systems Effects



Individual Effects



AOP案例分析-皮肤致敏

2016年OECD 签署的AOP

AOP Title: Covalent Protein binding leading to Skin Sensitisation

Short name: Skin Sensitisation AOP

Summary of the AOP

Please follow link to [widget page](#) to edit this section.

If you manually enter text in this section, it will get automatically altered or deleted in subsequent edits using the widgets.

Molecular Initiating Event

Molecular Initiating Event *	Support for Essentiality *
Protein, Covalent Binding	Strong

Key Events

Event *	Support for Essentiality *
Keratinocytes, Activation	Strong
Dendritic Cells, Activation	Strong
T-cells, Activation/Proliferation	Strong

OECD Endorsed (WNT and TFHA)

Adverse Outcome

Adverse Outcome *
skin, sensitisation

Relationships Among Key Events and the Adverse Outcome

Event *	Description *	Triggers *	Weight of Evidence *	Quantitative Understanding *
Protein, Covalent Binding	Directly Leads to	Keratinocytes, Activation	Strong	
Protein, Covalent Binding	Directly Leads to	Dendritic Cells, Activation	Strong	
Keratinocytes, Activation	Directly Leads to	Dendritic Cells, Activation	Moderate	
Dendritic Cells, Activation	Directly Leads to	T-cells, Activation/Proliferation	Strong	



AOP案例分析-皮肤致敏

REACH法规修订

Annex VII 2016年4月修定为

Annex VII (>1 T)

*8.3.1 Skin sensitisation, in vitro/in chemico
Information from in vitro/in chemico test
method(s) recognised according to article
13(3), addressing each of the following key
events of skin sensitisation*

- (a) Molecular interaction with skin proteins*
- (b) Inflammatory response in keratinocytes*
- (c) Activation of dendritic cells*

The(se) test(s) do not need to be conducted if
- an in vivo study according to point 8.3.2. is available, or
- the available in vitro/in chemico test methods are not
applicable for the substance or are not adequate for
classification and risk assessment according to point 8.3.
If information from test method(s) addressing one or two
of the key events in column 1 already allows classification
and risk assessment according to point 8.3, studies
addressing the other key event(s) need not to be conducted.



AOP案例分析-皮肤致敏

REACH法规修订



ECHA > News and Events >



- + About Us
- + Regulations
- + Addressing Chemicals of Concern
- + Information on Chemicals
- + Chemicals in our Life
- + Support

REACH annexes amended – registrants to use alternative test methods

ECHA/NA/16/20

The REACH requirements for skin corrosion/irritation, serious eye damage/eye irritation, acute dermal toxicity and skin sensitisation are changing, making non-animal testing the default requirement. ECHA reminds registrants of their obligations to consider and, where possible, use alternative methods.

Helsinki, 6 June 2016 – The amended REACH annexes concerning skin and eye irritation and acute dermal toxicity have been published in the Official Journal of the European Union and will enter into force on 20 June. In addition, the amendments for skin sensitisation are expected in autumn 2016. In many cases, the information needed under REACH for the classification or risk assessment of a substance will now be obtained through non-animal methods.

Companies need to take the changed requirements into account when submitting information to ECHA. To pass the completeness check of registration dossiers, registrants need to give information according to the new legal requirements as of 21 June 2016. This is the date when the new version of REACH-IT is launched. For skin sensitisation, the new requirements will be implemented in the completeness check in the autumn.

Registrants who have already submitted studies conducted in accordance with the previous requirements do not need to modify their registration dossiers immediately. However, when updating their dossier, they need to follow the new requirements. Those registrants who, for example, met the previous requirements with an *in vivo* study do not need to carry out additional *in vitro* studies. However, a justification for not submitting the *in vitro* study needs to be included at the time the dossier is updated.

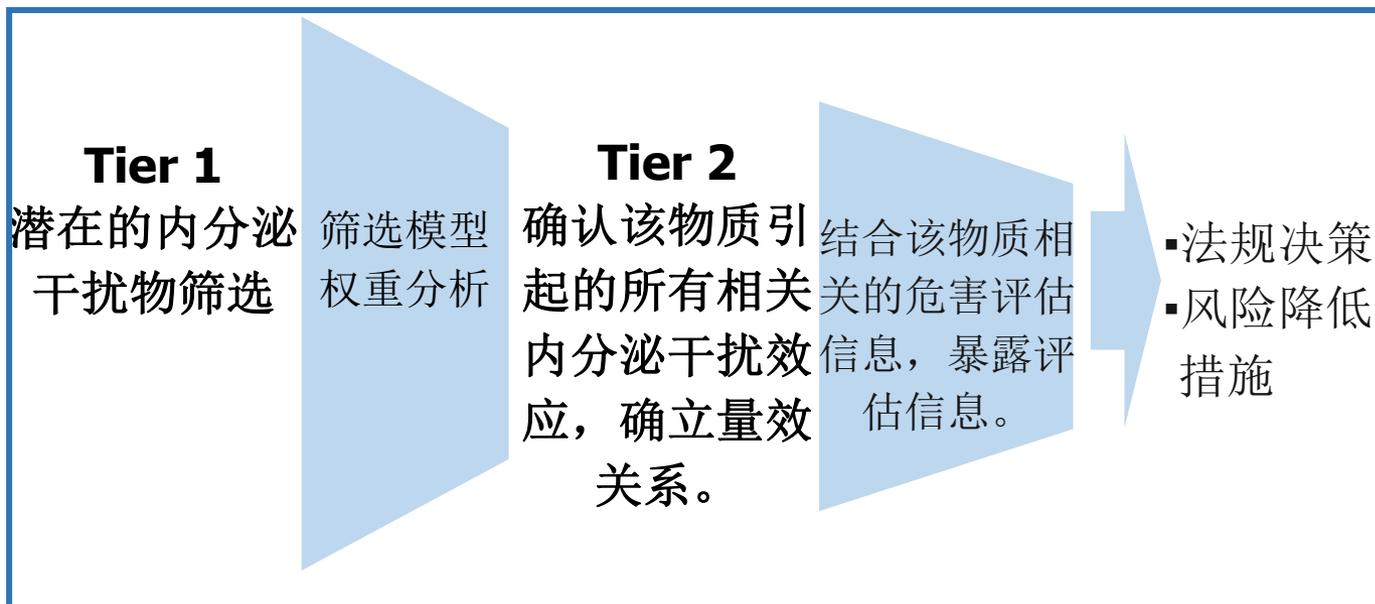
To help companies, ECHA is updating its guidance on information requirements in the autumn. The Agency will also shortly

AOP案例分析-内分泌扰动

内分泌扰动筛选计划(Endocrine disruption screening program, EDSP)- EPA

Molecular Initiating Event	Cellular response	Tissue/organ response	Individual response	Population response
ER binding	Altered gene/protein expression	Altered proteins in ova/testis	Sex reversal, altered behavior. ↓Reproduction	Skewed sex ratios. ↓ Population

EDSP策略



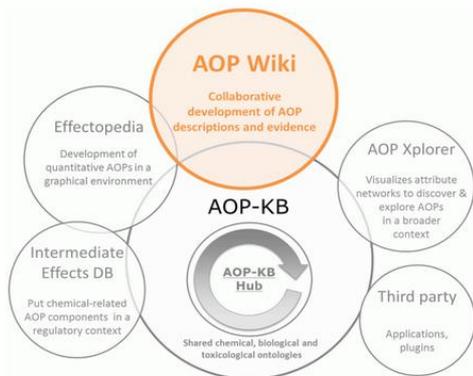
高通量筛选平台

- ER binding in vitro assay;
- ER transcriptional activation in vitro assay (ERTA);
- In vivo uterotrophic assay.

AOP信息资源

Adverse Outcome Pathway Knowledge Base (AOP-KB)

|| AOP-KB || Background || How to contribute ||



<http://aopkb.org/index.html>



OECD Home

About

Countries

Topics

> A to Z

Search

OECD Home > Chemical safety and biosafety > Adverse Outcome Pathways, Molecular Screening and Toxicogenomics

Adverse Outcome Pathways, Molecular Screening and Toxicogenomics

- > Testing of chemicals
- > Assessment of chemicals
- > Risk management of chemicals
- > Chemical accident prevention, transference and recovery

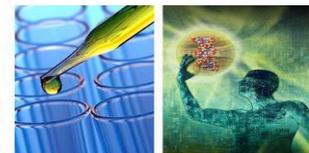
WHAT'S NEW

http://www.oecd.org/chemicalsafety/adverse-outcome-pathways-molecular-screening-and-toxicogenomics.htm#AOP_wiki

替代方法研究评价中心
The Center for Alternatives Research & Evaluation

首页 公告 新闻热点 中心简介 学术动态 行业快讯 技术平台 欧盟指令 法律法规 专题研究 学科知识

<http://www.vitrotox.com/>



HOME THE PROJECT THE CONSORTIUM SYSTEMS TOXICOLOGY 101 ABOUT "PATHWAYS" LATEST NEWS

AOPS 101
AOPS 201

About "Pathways"

<https://humantoxologyproject.org/>

小结

AOP的应用将：

短期内

- 充分利用已知信息和现有信息建立全面的毒理学系统，提高预测能力；
- 确认化学物质类别以及构效关系；
- 测试优先级排序；
- 危害评估；
- 为危害与风险评估开发整合测试策略。

长期内

- 确认复杂网络中的关键事件，开发新的非动物测试方法，建立机理信息和相应的测试体系；
- 提高毒性预测准确度、人体相关性、通量等；
- 最终不使用动物。





谢谢!



**HUMANE SOCIETY
INTERNATIONAL**

国际人道对待动物协会

