DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20250112

“真实世界暴露”的生殖发育毒理学综合研究策略：从人群流行病学到体内和体外实验

程千慧，李赛男，王琳琳*

［北京大学生育健康研究所/国家卫生健康委生育健康重点实验室（北京大学公共卫生学院），
北京大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系，
北京大学女性生育力促进全国重点实验室，北京 100191］

【摘要】人类在真实世界中长期、低剂量地暴露于数量庞大且成分复杂的化学混合物，这种暴露可能对健康，尤其是生殖发育健康，造成潜在威胁。因此，理解真实世界暴露，即化学混合物在环境水平的暴露对健康的影响及其作用机制至关重要。这需要整合人群流行病学数据与体内、体外毒理学研究，构建针对环境水平化学混合物暴露的真实世界暴露健康效应综合研究框架。本文系统阐述了真实世界暴露健康效应研究的最新进展，重点介绍了几种适用于体内和体外毒理学实验的化学混合物识别与确定方法，并综述了这些策略在生殖发育毒理学研究中的应用。相关研究为完善真实世界暴露健康效应的综合研究框架奠定了基础，并为更精准的生殖发育健康风险评估和干预策略提供了科学依据。

【关键词】真实世界暴露；化学混合物；环境水平；生殖毒理；发育毒理

中图分类号：R114　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**2096-8965（2025）01-0078-09

Integrated research strategies for reproductive and developmental toxicology of real-world exposure: Integrating population epidemiology with *in vivo* and *in vitro* experiments

Cheng Qianhui, Li Sainan, Wang Linlin*

[Institute of Reproductive and Child Health/National Health Commission Key Laboratory of Reproductive Health (School of Public Health, Peking University);
Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Peking University;
State Key Laboratory of Female Fertility Promotion, Peking University, Beijing 100191, China]

【Abstract】Humans are continuously exposed to large numbers of complex chemical mixtures at low doses in real-world environments, which may pose potential threats to health, particularly to reproductive and developmental health. Therefore, understanding real-world exposure—specifically, the effects of chemical mixtures at environmental concentrations on health and their underlying mechanisms—is crucial. This requires integrating population epidemiological data with *in vivo* and *in vitro* toxicological studies to establish an integrated research framework for assessing the health effects of real-world exposure to chemical mixtures at environmental concentrations. This review systematically examines recent advancements in evaluating the health

收稿日期：2025-01-14；**修回日期：**2025-02-18

基金项目：国家重点研发计划项目（2022YFC2705205）；国家自然科学基金面上项目（82473639）

通信作者：王琳琳（1976-），女，安徽泗县人，研究员，主要从事生育健康问题的研究与应用，E-mail：linlinwang@bjmu.edu.cn

effects of real-world chemical exposure, with a particular focus on methodologies for identifying and characterizing chemical mixtures suitable for *in vivo* and *in vitro* toxicological experiments. Additionally, it reviews the application of these strategies in reproductive and developmental toxicology research. These studies lay the foundation for refining an integrated research framework for real-world exposure health effects and provide scientific evidence for more precise reproductive and developmental health risk assessment and intervention strategies.

【Keywords】 Real-world exposure; Chemical mixture; Environmental concentration; Reproductive toxicity; Developmental toxicity

0 前言

随着全球工业化和现代化进程的推进，人类在真实世界中常常暴露于数量庞大、成分复杂的化学物质。这种“真实世界暴露”意味着环境化学物质通常以复杂混合物形式存在，并通过多种途径以长期、低剂量暴露的方式作用于人体[1]。研究[2-3]表明，即使单一化学物质暴露浓度低于法规安全限值，其化学混合物仍可能对人类健康构成潜在威胁。因此，相较于聚焦单一化学物质或高于实际暴露剂量的传统研究模式，研究真实世界暴露，即化学混合物在环境暴露水平下对健康的影响，显得尤为重要[4]。这需要整合人群流行病学研究和毒理学研究，构建针对真实世界暴露健康影响的综合研究框架（见图1）。通过从“人群–动物/细胞–分子”的多层次角度系统解析真实世界暴露的效应和机制，使研究更加贴近实际暴露情景，提升研究结果的现实意义。

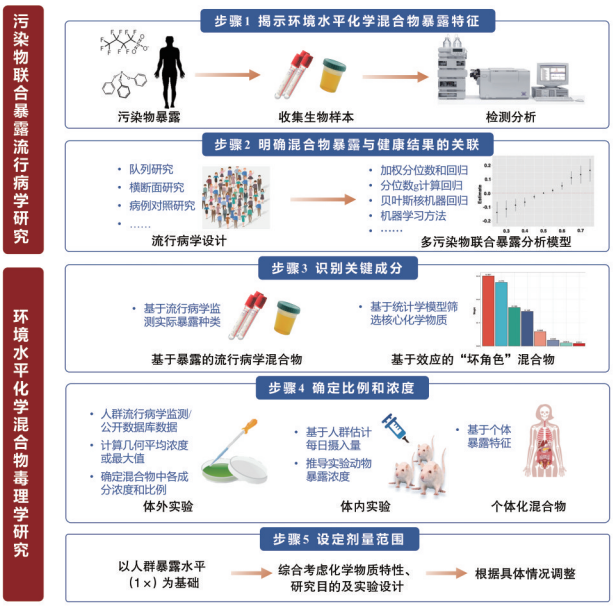


图1 真实世界暴露健康影响的综合研究策略
Figure 1 Integrated research strategies for health effects of real-world exposure

人类的生殖发育是一个高度敏感且复杂的过程，受到内分泌系统和遗传调控的精细控制，极易受到环境化学物质的干扰[5-6]。研究[2,7-8]表明，环境水平的化学混合物暴露与多种生殖发育异常密切相关，如生殖器官发育问题、神经发育不良和体格生长障碍等。在此背景下，真实世界暴露对生殖发育的影响尤为引人关注。因此，采用真实世界暴露健康影响的综合研究策略，能够更准确地评估真实暴露情景下的生殖健康风险，并为公共卫生干预和政策制定提供科学依据。

本文将系统阐述真实世界暴露健康影响研究的最新进展，重点介绍几种适用于体内和体外毒理学实验的真实暴露相关化学混合物识别与确定方法，总结出一种“真实世界暴露健康影响的综合研究策略”，并探讨其对生殖发育毒理学研究的意义。同时，针对当前研究的不足，提出未来发展方向，以期为优化健康风险评估和监管政策提供参考。

1 传统健康效应评价模式面临显著瓶颈

现代工业化进程使人类持续暴露于复杂的化学混合物。截至2024年，已注册化学物质超2亿种，其中7万种活跃于欧盟市场，并广泛存在于环境和消费品中[1,9]。生物监测表明，成人、孕妇及胎儿样本中均可检出多种化学污染物[10-11]。然而，现行环境健康基准和污染物管理政策主要依据单一物质的毒理学数据，忽视了混合物可能的协同、拮抗或加和效应，难以全面评估多种污染物共存带来的健康风险。例如，《欧盟水质框架协议》虽监测300余种污染物，仍未能有效遏制地表水生态退化[12]。因此，基于单一物质安全阈值的评估方法在混合物研究中存在局限性。

在暴露剂量设定方面，传统毒性研究通常依据“未观察到不良反应水平”（No Observed Adverse Effect Level，NOAEL）或“最低观察到不良反应水平”（Lowest Observed Adverse Effect Level，LOAEL）等阈值参数设置较高的剂量梯度，以观察显著毒性终点。然而，这一方法难以反映现实中

人体长期低剂量暴露的模式。即便单一物质的暴露浓度低于法规安全限值，多种污染物的联合暴露仍可能对健康构成威胁。例如，一篇发表在*Science*的研究[2]发现，即便符合法规限制，内分泌干扰物的低浓度联合暴露仍显著提升人类语言障碍的发生风险；14种欧盟优控污染物浓度分别仅为各自NOAEL的1%时，通过协同作用仍可导致斑马鱼胚胎发育毒性[3]。以单一物质高剂量暴露为基础的安全评价严重低估了复合暴露的复杂效应。另外，尽管危险指数法等工具尝试通过剂量加和模型评估混合毒性，但仍难以准确捕捉污染物间的协同作用及低剂量复合暴露的跨代遗传影响。

当前环境化学物质毒性评价仍聚焦于单一化学物质，难以反映长期低浓度混合暴露的真实健康风险。为突破这一瓶颈，亟需构建真实世界暴露评估策略，系统探索低剂量复合污染物对健康的累积效应，从而为公共卫生决策提供更科学的依据。

2 流行病学研究揭示真实世界暴露模式和潜在危害

在真实世界暴露健康影响的综合研究策略中，流行病学研究发挥了基础性和关键性作用。通过系统收集和分析人群暴露数据及其与健康结果的关联，流行病学研究不仅揭示了特定人群真实世界暴露特征及其潜在健康危害，还为后续毒理学机制研究提供科学依据，进而提升研究结果的现实相关性和应用价值。

2.1 揭示特定人群真实世界暴露特征

流行病学研究通过大规模人群调查，收集生物样本（如尿液、血液等），并采用高分辨率质谱与气相色谱或液相色谱联用等技术对生物样本中的化学物质进行检测分析，从而揭示特定人群的真实世界暴露特征。这一过程为后续体内和体外毒理学实验中混合物的成分和浓度确定提供了现实依据。例如，一项发表于*Science*的研究[2]探讨了孕期环境相关内分泌干扰物（Endocrine Disrupting Chemicals，EDCs）混合物暴露对子代神经发育的影响及机制。研究基于瑞典前瞻性母婴妊娠队列（Swedish Environmental Longitudinal, Mother and child, Asthma and allergy，SELMA），分析了母亲妊娠第10周尿液和血清中15种EDCs的浓度，揭示了这些化学物质的联合暴露模式。结果发现，即便单一化学物质的暴露浓度低于法规安全限值，其混合作用仍可能显著增加儿童语言发育迟缓的风险。随后，研究采用加权分位数和回归模型筛选出与语言发育迟缓显著相关的混合物成分，并在后续体内和体外实验中探讨了其机制。类似研究[7,13]同样基于SELMA队列，揭示了孕期长期、低剂量EDCs混合物暴露模式及其可能的生殖发育毒性，同时筛选出关键污染物成分以作为后续体内和体外实验的研究基础。

除了基于流行病学人群调查，生物监测数据在揭示真实世界暴露方面也发挥重要作用。例如，Liu等[14]基于美国疾病预防与控制中心第四次《全国人群环境化学物质暴露报告》，系统分析了23种环境化学物质在人群中的暴露水平，揭示了人群在真实世界中长期低剂量暴露于复杂化学混合物的暴露模式，然后据此构建代表性化学混合物，确保在体外实验中能够模拟人群实际暴露水平。

2.2 明确真实世界暴露与健康结果的关联

在流行病学研究中，根据不同的暴露情景和研究目的可采用不同的流行病学研究设计，同时结合多污染物联合暴露分析的统计方法，揭示真实世界暴露的健康影响，识别关键污染物成分，为后续毒理学机制探讨提供具体方向和目标。

常见的流行病学研究设计包括队列研究、横断面研究和病例对照研究等。其中，队列研究通过长期随访人群，评估长期低剂量混合物暴露对慢性健康结果如生殖发育的影响，适用于研究因果关系。横断面研究则能够在短时间内收集大量暴露数据，适用于初步评估暴露与健康结果的关联，但难以确定因果关系。病例对照研究适用于研究罕见疾病或特定健康结果的暴露风险因素，可高效评估病例与对照组间的暴露差异。

在统计方法方面，加权分位数和回归（Weighted Quantile Sum regression，WQS）、分位数g计算回归（Quantile g-computation，Qgcomp）、贝叶斯核机器回归（Bayesian Kernel Machine Regression，BKMR）以及多种机器学习方法（如随机森林回归、LASSO回归和支持向量机等）被广泛应用[15-20]。这些方法不仅能够评估真实世界暴露与健康结果的关联，还能识别与健康结果相关的关键化学物质。目前，在真实世界暴露健康影响的综合研究策略相关研究中，WQS回归是最常用的统计方法[2,7-8,13,21-22]，该方法为混合物中的化学物质赋予权重，不仅能够评估整体混合物对健康结果的影响，还能有效降维并识别对健康结果贡献较大的“坏角色”化学物质，这些“坏角色”可用于后续体内、外实验的混合物成分设计。

通过严谨的流行病学研究设计和多污染物联合暴露统计方法，研究者能够有效评估真实世界暴露

的健康影响，并在复杂混合物中识别关键成分，不仅为后续的机制研究明确方向，还为化学混合物的成分和剂量确定提供重要参考。

3 毒理学研究验证与探讨真实世界暴露的健康影响与机制

流行病学研究揭示了真实世界暴露与健康结局的关联，毒理学研究则可对该关联进行病因学确证和作用机制探讨。通过整合流行病学和生物监测数据，识别与确定环境水平复杂混合物并将其应用于体内和体外实验，从“人群–动物/细胞–分子”多层次解析其健康影响。

3.1 真实世界暴露化学混合物关键成分的识别

由于人类真实世界暴露相关的化学物质种类繁多，确定混合物成分面临诸多挑战。目前，已经提出并总结出两种主要的真实世界暴露混合物成分确定策略：基于暴露的流行病学混合物（Epidemiological mixture，EPI）和基于效应的“坏角色”混合物（Bad Actor mixture，BAD）。

3.1.1 基于暴露的流行病学混合物

这一策略通常基于流行病学监测获得的实际暴露种类确定混合物的成分，从而反映人群的实际暴露情况。

Iizuka 等[21]在中年女性健康研究（Midlife Women's Health Study，MWHS）队列研究中，根据MWHS报告的尿液中9种邻苯二甲酸酯代谢物的实际暴露种类，确定了用于体外研究的EPI混合物组成，其浓度与它们在MWHS研究中的尿液浓度相当。类似的，研究[8,22]基于MWHS队列中的尿代谢物数据确定EPI混合物，并在体外细胞模型中研究其对细胞功能的影响，验证了该方法在环境水平化学混合物暴露研究中的可行性和重要性。

此外，综合不同暴露来源的数据确定混合物成分也是一种可行的策略。Berntsen 等[23-24]基于既往发表的斯堪的纳维亚人群数据，选取在食物（以人类估计每日摄入量衡量）、血液和母乳中浓度较高的化合物，确定了包括氯化物、溴化物和全氟化合物在内的代表性持久性有机污染物，并将其应用于体内和体外实验研究。

另一种确定混合物成分的方法综合考虑了人群暴露水平、化学物生产量及毒性特征。例如，表征外源性混合物在人类相关水平上对乳腺癌细胞的生物效应时，研究人员根据生产量、环境和人类样本中的广泛存在、体内毒性及内分泌干扰等标准，确定了一个包含23种化学物质的外源性混合物，研究其对乳腺癌细胞的多重生物学效应[14]。

3.1.2 基于效应的“坏角色”混合物

由于化学物质的溶解性及实验操作的限制，常常难以配制包含所有真实世界暴露相关化学物质的混合物。因此，可以通过识别与特定健康影响密切相关的几种“坏角色”化学物质，并将其组合成混合物用于后续的毒理学研究。

在这一策略中，确定哪些化学物质是“坏角色”是确定混合物成分的核心。目前，基于WQS回归模型筛选核心化学物质并组成混合物是最常用的方法[2,7-8,13,21-22]。WQS回归评估各成分对健康结果的加权贡献，将权重大于1/c（c为化合物数量）的成分标记为“坏角色”。这种方法特别适用于处理高度相关的环境暴露数据，可以有效降维并评估混合物中各成分对总体效应的贡献。基于这一策略，Bornehag 等[13]通过针对瑞典SELMA妊娠队列的20种EDCs数据，筛选与男婴肛门生殖器距离缩短显著相关的关键污染物，发现邻苯二甲酸二丁酯（Di-Butyl Phthalate，DBP）、邻苯二甲酸丁苄酯（Butyl-Benzyl Phthalate，BBzP）、邻苯二甲酸二乙基己酯（Di-Ethyl-Hexyl Phthalate，DEHP)和邻苯二甲酸二异壬酯（Di-Isononyl Phthalate，DiNP）是关键“坏角色”，这些污染物成为后续体内实验混合物的核心成分，其他研究进一步验证了该策略的可行性。一项发表在*Science*的研究[2]，基于SELMA队列数据，采用WQS回归筛选出与后代语言发育迟缓显著相关的EDCs如邻苯二甲酸二乙酯（Diethyl Phthalate，DEP）、DBP、BBzP和全氟辛烷磺酸（Perfluorooctane Sulfonate，PFOS）等，并组合成混合物应用于体内和体外实验，验证并探究其分子机制。另外一项发表在*PNAS*的研究[21]则基于MWHS队列数据，采用WQS筛选出与血清雌二醇浓度相关的邻苯二甲酸单（2-乙基-5-羟基己基）酯[Mono-(2-Ethyl-5-Hydroxyhexyl) Phthalate, MEHHP]、邻苯二甲酸单异丁酯（Monoisobutyl Phthalate，MiBP）、邻苯二甲酸单乙酯（Monoethyl Phthalate，MEP）和邻苯二甲酸单苄酯（Monobenzyl Phthalate，MBzP）等邻苯二甲酸酯代谢物，并通过体外实验评估其混合物对雌激素受体活性及激素信号通路的影响。

目前，尽管尚无研究将其他污染物联合暴露统计学模型应用于体内、外实验中“坏角色”化学物质的筛选，但其他模型具备可行性。例如，Qgcomp模型作为一种较新的统计方法，结合WQS回归的推理简单性与g计算的灵活性，且无需假设暴露之间的线性关系或方向同质性，同样能够估计

每个污染物的权重，且这些权重值可正可负[25]，为筛选“坏角色”化学物质提供依据。此外，BKMR模型可以对混合物各成分进行后验分布推断，得到各成分的相对重要性指数（Proportional Importance of Parameters，PIP），PIP越高，表明该成分对健康影响的贡献越大[26]。因此，可以根据PIP的大小筛选“坏角色”。

综上所述，EPI混合物侧重于反映人群实际暴露情况，确保实验更贴近真实环境，而BAD则强调混合物中的关键化学物质与健康影响之间的统计关联，通过筛选关键污染物实现混合物成分降维。两种策略均可结合多种数据来源和筛选标准，为真实世界化学混合物暴露的毒理学研究及健康风险评估提供有效方法和科学依据。

3.2 真实世界暴露化学混合物浓度的确定

在确定了化学混合物的成分之后，合理设定各成分的比例和浓度至关重要。由于体外和体内研究在实验环境、暴露途径、药物代谢过程等方面存在显著差异，需要根据不同的实验设计，采用不同的混合物成分配比和浓度设计策略。

3.2.1 基于监测数据的体外实验浓度设定

在体外研究中，化学混合物通常直接添加到培养基中，以模拟人类细胞在真实世界中的暴露水平。此方法能够严格控制混合物的暴露剂量、时间等条件，从而揭示真实世界暴露的毒性机制、剂量–反应关系及潜在健康风险。该策略主要依托大规模人群流行病学或公开数据库中生物样本化学物浓度数据，通过计算几何平均浓度或最大值，确定混合物中各成分的浓度和比例。

目前，相关研究一般采用血清或血浆中化学物浓度的几何平均值作为基准浓度。如果缺乏血清或血浆浓度数据，可以将其他生物基质（如尿液）中的检测数据转换为血清或血浆浓度，再进行后续计算。例如，有研究基于SELMA队列的尿液监测数据[2,7,13]，首先估算这些关键物质的每日摄入量（Estimated Daily Intake，EDI），然后通过毒代动力学模型估算各物质在血清中的浓度，最终基于这些物质血清浓度的几何平均值确定混合物中各物质的混合比例，这一策略被后续多项研究采用并验证了可行性。

此外，也有研究认为，尿液和血液中的化学物浓度均可视为人体相关水平，无需转换即可作为混合物浓度的依据。例如，利用美国大规模生物监测数据，选取23种与人类暴露相关的化学物质，根据各物质在生物监测研究的尿液或血液浓度的加权最大或几何平均浓度，确定其在混合物中的浓度和比例[14]。

3.2.2 基于人群估计每日摄入量的体内实验浓度设定

化学混合物的体内实验涉及多种复杂因素，包括化学物质的暴露途径、代谢过程、体内分布及其在不同组织中的累积等。目前，真实世界混合物暴露体内实验中常用的混合物浓度确定主要基于人群估计EDI，并将其转换为实验动物暴露水平。

Berntsen等[23-24]首次提出了基于人群EDI推导实验动物混合物暴露剂量的策略。研究者根据斯堪的纳维亚人群血液、母乳和食物中29种代表性持久性有机污染物（Persistent Organic Pollutants，POPs）的浓度，以70 kg成人的标准体重为基础，推导出人类EDI数据，再结合小鼠平均体重和每日饲料摄入量，将人类EDI按比例调整为适用于小鼠的暴露水平。最终，研究者在小鼠暴露实验中设定了5 000倍EDI（低剂量）和10万倍EDI（高剂量），分别模拟人群的长期低水平暴露与高浓度累积效应，以研究POPs混合物的影响。在该研究中，尽管高剂量远超人类的实际暴露水平，但其浓度仍低于或接近NOAEL，以避免急性毒性。

然而，该策略未能考虑化学物质的多途径暴露（如灰尘吸入、饮用水和皮肤吸收），且实验动物与人类在吸收、代谢、分布和排泄方面存在差异，因此难以全面反映人群真实暴露情况，可能导致对化学物质毒性效应的低估或高估。

3.2.3 基于个体暴露特征的个体化混合物确定

随着精准医疗和个性化医学的发展，个体混合物暴露的健康风险评估逐渐受到关注。个体化学暴露受到居住环境、年龄、职业、生活方式等因素影响，即使在同一人群中，暴露差异仍显著。因此，个体化混合物能够更精准地模拟个体暴露，为研究个体特异性反应和易感性提供重要工具。

Strand等[27]基于瑞典Västerbotten干预计划队列构建了10种个体化POPs混合物，包括随机个体样本、高浓度个体样本、低浓度个体样本及基于主成分分析选择的代表性个体样本。研究还基于每种POPs在队列人群的最高和中位浓度配制对照混合物，在H295R肾上腺细胞系中评估各混合物对雌二醇和睾酮合成及细胞活力的影响，证明了化学混合物组成的个体间差异的影响。

尽管个体化混合物能够揭示个体暴露差异及毒性效应，但其操作复杂且成本高昂。同时，个体间差异较大、统一标准缺失，增加了实验结果的分析和比较难度。目前，该方法主要用于小规模精准研究，在大规模研究中的推广尚存在挑战。

3.3 真实世界暴露化学混合物剂量范围的设定

与针对单一化学物质的体内和体外实验剂量设定经验[28-29]不同，化学混合物成分复杂且缺乏可参考的毒理学效应阈值参数，如NOAEL和LOAEL，且基于不同人群暴露特征确定的混合物成分和浓度具有独特性，无法采用标准化的剂量梯度设置。因此，为了更好地反映人类的实际暴露浓度，混合物的剂量设置通常以人群暴露相关浓度（1×）为基础，并结合实验目的设置浓度梯度，以探索剂量–反应关系和毒性效应。在具体的化学混合物毒理学研究中，混合物剂量的设置需综合考虑化学品特性、研究目的及实验设计，并根据具体情况调整，以确保结果的科学性和适用性。

Caporale等[2]在探讨EDCs混合物对子代神经发育的影响时，为了反映实际人类内暴露水平，同时考虑到EDCs混合物可能的非线性或非单调性剂量反应，并适配不同体内和体外实验模型的灵敏度，在体外人类胎儿原代神经干细胞和三维皮质脑类器官暴露实验中，设定0.1×、1×、10×、100×和1 000×的混合物浓度梯度，评估混合物对基因表达、分子机制与神经发育的影响，其中1×浓度代表SELMA孕妇血清浓度的几何平均值；而在针对非洲爪蟾和斑马鱼的体内暴露实验中，混合物浓度梯度分别为1×至1 000×和0.01×至100×，分别探索暴露对甲状腺激素活性和神经发育的影响，以及对基因表达和行为的影响。类似的，一项研究[13]邻苯二甲酸酯混合物对子代肛门生殖器距离影响的小鼠体内暴露实验基于SELMA孕妇的几何平均暴露浓度（1×），设置了0.5×、10×和100×的剂量梯度，用以探索剂量–反应关系及毒性阈值。

4 真实世界暴露综合研究策略对生殖发育毒理学研究的意义

人类的生殖发育是一个高度敏感且复杂的过程，极易受到环境化学物质的干扰。真实世界暴露健康影响的综合研究策略在生殖发育毒理学中的应用，揭示了环境化学混合物对生殖系统、神经发育和体格生长的影响，为全面评估真实世界暴露的健康风险及制定环境污染物的风险管理策略提供了科学依据。

4.1 生殖系统的影响

环境水平EDCs混合物暴露对生殖系统的潜在危害已得到多个研究的证实。Iizuka等[21]基于MWHS队列的研究发现，暴露于邻苯二甲酸酯代谢物的混合物可影响子宫平滑肌瘤细胞的存活和生长，这种效应主要通过促进色氨酸的摄取和犬尿氨酸的生成，导致芳香烃受体激活增强实现的，其中MEHHP是关键风险因素。同样，Visser等[8]和Tarvainen等[22]的研究也分别揭示了邻苯二甲酸酯混合物对子宫内膜细胞和卵巢功能相关基因表达的显著影响。另外，体内实验[13]发现，孕期小鼠暴露于邻苯二甲酸酯混合物，其雄性后代出现了肛门生殖器距离缩短现象。

4.2 神经发育的影响

研究[30-34]表明，环境化学混合物暴露可以影响大脑发育和神经功能。一项妊娠小鼠经口暴露体内实验[24]发现，POPs混合物显著改变子代小鼠小脑神经元发育关键标志物PAX6和GluN2B的蛋白表达水平；同时，在体外实验中发现这些混合物引发小脑颗粒神经元的氧化应激反应，并导致基因表达的变化。基于SELMA队列的研究[2]也发现，EDCs混合物可显著干扰人类胎儿原代神经干细胞和三维皮质大脑类器官的荷尔蒙通路，并改变与自闭症谱系障碍相关基因的表达，在体内实验中观察到这些化学混合物对非洲爪蟾和斑马鱼甲状腺功能的干扰和神经发育的影响，进一步验证了EDCs混合物对神经系统的危害。这些发现为理解真实世界暴露对神经系统的复杂影响提供了重要依据。

4.3 体格生长的影响

出生体重作为衡量婴儿健康的重要指标，与环境污染物暴露之间存在密切联系。Lizunkova等[7]将基于SELMA队列筛选的与儿童低出生体重相关的BAD混合物添加到人类间充质干细胞的培养基中，发现低浓度EDCs混合物即可引起脂肪滴的积累，并影响与脂肪生成和热生成相关基因的DNA甲基化。表明EDCs混合物通过改变DNA甲基化和激活代谢相关的生物学通路，可能导致低出生体重等早期代谢编程效应。这些发现不仅揭示了EDCs混合物对体格生长的具体影响，还为预防和治疗相关代谢性疾病提供了新的策略。

此外，相比于单一化学物质，真实世界暴露综合研究策略在生殖发育毒理学中的混合物剂量设定仍面临挑战。由于化学混合物缺乏可参考的NOAEL或LOAEL阈值，且不同研究在人群暴露背景和健康结局上存在差异，各自采用的成分与浓度具有独特性。为应对这一问题，本文已介绍了多种混合物剂量设计策略，并举例说明针对生殖发育结局的剂量设定（见表1）。

综上所述，真实世界暴露的综合研究策略在生殖发育毒理学中的应用，不仅揭示了环境水平化学混合物对人类生殖、神经和体格发育的深远影响，还为全面评估这些真实世界暴露健康风险及制定有效的风险管理策略提供了科学依据，对推动生殖发育毒理学研究的发展具有重要意义。

表1 真实世界暴露健康影响的综合研究策略在生殖发育毒理学中的应用

Table 1 Application of integrated research strategies for health effects of real-world exposure in reproductive and developmental toxicology

参考文献	流行病学研究设计	真实世界暴露特征	联合暴露统计方法揭示健康风险	化学混合物关键成分识别	化学混合物浓度与比例确定	化学混合物剂量范围设定	对生殖与发育毒理学研究的意义
[2]	队列研究	孕早期母亲广泛暴露于15种EDCs	通过WQS回归分析揭示了特定EDC混合物暴露与儿童语言发育迟缓存在关联	基于效应的“坏角色”混合物	基于监测数据	体外实验：0.1×、1×、10×、100×和1 000×（1×为SELMA孕妇血清几何均值）；体内实验：非洲爪蟾1×至1 000×；斑马鱼0.01×至100×	系统揭示EDCs混合物的产前暴露与儿童神经发育异常的关联及机制，为生殖与发育毒理学研究提供重要启示
[7]	队列研究	孕10周母亲中超半数可检出41种EDCs	WQS回归分析显示特定EDC混合物与婴儿出生体重降低显著相关	基于效应的“坏角色”混合物	基于监测数据	体外实验：0.1×、1×、10×、100×、1 000×（1×为SELMA孕妇血清几何均值）	首次证实与低出生体重相关的EDC混合物可诱导hMSCs脂肪生成及DNA甲基化变化，为其影响胎儿发育提供细胞水平证据
[8]	队列研究	中年女性广泛暴露于多种邻苯二甲酸酯代谢物	WQS回归分析表明邻苯二甲酸酯代谢物混合物暴露与血清雌二醇水平显著相关	基于暴露的流行病学混合物、基于效应的“坏角色”混合物	基于监测数据	体外实验：1×、100×（1×为MWHS队列尿液几何均值）	短时邻苯二甲酸酯混合物暴露可改变子宫内膜细胞基因表达，影响细胞骨架、线粒体功能等关键通路，ME-HHP可能为主要驱动成分，对女性生殖健康及化学品风险评估具有重要价值
[13]	队列研究	孕早期母亲广泛暴露于20种EDCs	通过WQS回归分析发现特定EDC混合物暴露与男婴肛门生殖器距离缩短显著相关	基于效应的“坏角色”混合物	基于监测数据	体内实验：0.5×、10×、100×（1×为SELMA孕妇血清几何均值）	整合流行病学、生物监测和动物实验数据，确定肛门生殖器距离缩短的关键邻苯二甲酸酯，为评估化学混合物对生殖发育影响提供依据
[14]	基于多项生物监测数据	美国一般人群广泛暴露于23种环境有机污染物	无	基于暴露的流行病学混合物	基于监测数据	体外实验：GM、2GM、5GM、Max、5Max、10Max（GM为人群几何均值，Max为最高浓度）	多组学分析揭示23种化合物混合物在乳腺癌细胞中可诱导氧化应激及基因调控变化，即使低剂量暴露亦有分子水平效应，对环境暴露风险评估具有启示
[21]	队列研究	中年女性广泛暴露于9种邻苯二甲酸酯代谢物	WQS回归分析显示邻苯二甲酸酯代谢物混合物暴露与子宫平滑肌瘤风险正相关	基于暴露的流行病学混合物、基于效应的“坏角色”混合物	基于监测数据	体外实验：EPI混合物（9种邻苯二甲酸酯代谢物，基于尿液浓度）；BAD混合物（前4种与雌二醇相关的代谢物）单一化合物实验浓度：MEHHP 0.16 μmol/L、1.6 μmol/L、16 μmol/L；DEHP 1 μmol/L、10 μmol/L、100 μmol/L	明确MEHHP暴露促进子宫平滑肌瘤细胞存活，揭示其通过色氨酸代谢通路影响子宫平滑肌瘤发生机制，为环境污染物与肿瘤关系研究提供新视角
[22]	队列研究	中年女性广泛暴露于9种邻苯二甲酸酯代谢物	WQS回归分析表明邻苯二甲酸酯代谢物混合物暴露与血清雌二醇水平显著相关	基于暴露的流行病学混合物、基于效应的“坏角色”混合物	基于监测数据	体外实验：1×、100×（1×为MWHS队列女性尿液几何均值）	结合流行病学和体外模型，揭示邻苯二甲酸酯混合物可在女性卵巢细胞中引发特定基因表达改变，为风险评估及生物标志物筛选提供依据

续表

参考文献	流行病学研究设计	真实世界暴露特征	联合暴露统计方法揭示健康风险	化学混合物关键成分识别	化学混合物浓度与比例确定	化学混合物剂量范围设定	对生殖与发育毒理学研究的意义
[23]	基于多项监测研究的文献回顾	斯堪的纳维亚人群长期低剂量混合暴露于29种POPs	无	基于暴露的流行病学混合物	基于监测数据及基于人群EDI推导实验动物混合物暴露剂量	体外实验：POP浓度1×10^6（总混合物和部分子混合物）、1×10^7（部分子混合物） 体内实验：5 000×EDI、100 000×EDI（估计每日摄入量）	构建更真实的环境污染物混合物模型，解析氯化物、溴化物和全氟化合物对生殖发育的具体影响，提升POPs风险评估的现实性
[24]	基于多项监测研究的文献回顾	斯堪的纳维亚人群长期低剂量混合暴露于29种POPs	无	基于暴露的流行病学混合物	基于监测数据及基于人群EDI推导实验动物混合物暴露剂量	体外和体内实验剂量同[23]	孕期及哺乳期暴露于多种POPs可能导致后代小脑发育关键基因下调，揭示环境污染对神经发育的风险，为防控策略提供科学依据
[27]	队列研究	受试者广泛暴露于24种POPs，不同个体暴露浓度差异较大	无	基于个体暴露特征的个体化混合物	基于监测数据的个体暴露特征	体外实验：1×、10×、100×（1×为个体血液实测浓度）	个体化混合物毒理学研究表明，血中POPs配比影响内分泌干扰效应，微小激素扰动可能累积成生殖发育风险，对多污染物评估及个性化医学具有重要意义

5 总结与展望

相较于以往局限于单一化学物质或高于实际暴露剂量的传统研究模式，真实世界暴露健康影响的综合研究策略通过整合人群流行病学数据与毒理学实验，更能反映真实世界人群的暴露特征及其健康影响。特别是在生殖发育毒理学领域，该策略可在分子、细胞到整体水平多层次验证环境水平化学混合物暴露的生物学效应，并深入探究其作用机制，为全面、真实地理解真实世界暴露对生殖发育的潜在影响提供有力证据。

然而，这一策略的发展和应用仍处于探索阶段，未来可从以下几个方面继续推进：首先，随着新型污染物的不断涌现，人类面临更复杂的混合物暴露模式，应逐步扩大研究涵盖的化合物种类与暴露时间尺度，亟需探索多途径、长期低浓度的复杂暴露场景，以更接近人类实际暴露特征。此外，应同时关注个体易感性因素与非化学环境压力源（如社会经济因素、生活方式及生物制剂）对暴露效应的协同影响，从而更全面地模拟真实世界暴露条件。在混合物成分确定方面，应致力于建立更加标准化、可操作的混合物成分确定与浓度设定流程，以更准确地反映真实环境暴露水平。相信通过不断改进和创新，可构建更完善的真实世界暴露健康影响的综合研究框架，为精准评估生殖发育健康风险和制定策略提供坚实基础，推动人类健康保障与改善。

参考文献

[1] KORTENKAMP A, FAUST M. Regulate to reduce chemical mixture risk[J]. Science, 2018, 361(6399): 224-226.

[2] CAPORALE N, LEEMANS M, BIRGERSSON L, et al. From cohorts to molecules: Adverse impacts of endocrine disrupting mixtures[J]. Science, 2022, 375(6582): eabe8244.

[3] CARVALHO R N, ARUKWE A, AIT-AISSA S, et al. Mixtures of chemical pollutants at European legislation safety concentrations: How safe are they?[J]. Toxicol Sci, 2014, 141(1): 218-233.

[4] CARLIN D J, RIDER C V. Combined exposures and mixtures research: An enduring NIEHS priority[J]. Environ Health Perspect, 2024, 132(7): 75001.

[5] HASSAN S, THACHARODI A, PRIYA A, et al. Endocrine disruptors: Unravelling the link between chemical exposure and women's reproductive health[J]. Environ Res, 2024, 241: 117385.

[6] WANG A, PADULA A, SIROTA M, et al. Environmental influences on reproductive health: The importance of chemical exposures[J]. Fertil Steril, 2016, 106(4): 905-929.

[7] LIZUNKOVA P, ENGDAHL E, BORBÉLY G, et al. A mixture of endocrine disrupting chemicals associated with lower birth weight in children induces adipogenesis and DNA methylation changes in human mesenchymal stem cells[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(4): 2320.

[8] VISSER N, SILVA A V, TARVAINEN I, et al. Epidemiologically relevant phthalates affect human endometrial cells in vitro through cell specific gene expression changes related to the cytoskeleton and

mitochondria[J]. Reprod Toxicol, 2024, 128: 108660.
[9] GRYN'OVA G, BEREAU T, MÜLLER C, et al. Editorial: Chemical compound space exploration by multiscale high-throughput screening and machine learning[J]. J Chem Inf Model, 2024, 64(15): 5737-5738.
[10] TIAN T, LIU F, FU Y, et al. Environmental exposure patterns to 94 current-use pesticides in women of reproductive age who are preparing for pregnancy[J]. Sci Total Environ, 2024, 948: 174624.
[11] REN A, QIU X, JIN L, et al. Association of selected persistent organic pollutants in the placenta with the risk of neural tube defects[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(31): 12770-12775.
[12] POSTHUMA L, BRACK W, VAN GILS J, et al. Mixtures of chemicals are important drivers of impacts on ecological status in European surface waters[J]. Environ Sci Eur, 2019, 31(1): 71.
[13] BORNEHAG C G, KITRAKI E, STAMATAKIS A, et al. A novel approach to chemical mixture risk assessment-linking data from population-based epidemiology and experimental animal tests[J]. Risk Anal, 2019, 39(10): 2259-2271.
[14] LIU M, JIA S, DONG T, et al. Metabolomic and transcriptomic analysis of MCF-7 cells exposed to 23 chemicals at human-relevant levels: Estimation of individual chemical contribution to effects[J]. Environ Health Perspect, 2020, 128(12): 127008.
[15] CHENG Q, CHEN Y, LIU J, et al. Inadvertent antibiotic exposure during pregnancy may increase the risk for neural tube defects in offspring[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2024, 275: 116271.
[16] CHEN Y, CHENG Q, LI S, et al. Organotin exposure and DNA methylation in non-syndromic cleft lip and palate: Integrating findings from case-control studies and animal experiments[J]. Sci Total Environ, 2024, 954: 176214.
[17] NI W, YANG W, JIN L, et al. Levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in umbilical cord and risk of orofacial clefts[J]. Sci Total Environ, 2019, 678: 123-132.
[18] LIU L, WANG L, NI W, et al. Rare earth elements in umbilical cord and risk for orofacial clefts[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2021, 207: 111284.
[19] CUI M, GUO Q, ZHAO S, et al. An untargeted comparative metabolomics analysis of infants with and without late-onset breast milk jaundice[J]. PLoS One, 2024, 19(8): e0308710.
[20] YANG C, NING X, WANG B, et al. Association between spectrum of mycotoxins and semen quality: A cross-sectional study in Beijing, China[J]. J Hazard Mater, 2024, 476: 135124.
[21] IIZUKA T, YIN P, ZUBERI A, et al. Mono-(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phthalate promotes uterine leiomyoma cell survival through tryptophan-kynurenine-AHR pathway activation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2022, 119(47): e2208886119.
[22] TARVAINEN I, SOTO D A, LAWS M J, et al. Identification of phthalate mixture exposure targets in the human and mouse ovary in vitro[J]. Reprod Toxicol, 2023, 119: 108393.
[23] BERNTSEN H F, BERG V, THOMSEN C, et al. The design of an environmentally relevant mixture of persistent organic pollutants for use in in vivo and in vitro studies [J]. J Toxicol Environ Health A, 2017, 80(16/18): 1002-1016.
[24] BERNTSEN H F, DUALE N, BJØRKLUND C G, et al. Effects of a human-based mixture of persistent organic pollutants on the in vivo exposed cerebellum and cerebellar neuronal cultures exposed *in vitro*[J]. Environ Int, 2021, 146: 106240.
[25] KEIL A P, BUCKLEY J P, O'BRIEN K M, et al. A quantile-based g-computation approach to addressing the effects of exposure mixtures[J]. Environ Health Perspect, 2020, 128(4): 47004.
[26] BOBB J F, VALERI L, CLAUS HENN B, et al. Bayesian kernel machine regression for estimating the health effects of multi-pollutant mixtures[J]. Biostatistics, 2015, 16(3): 493-508.
[27] STRAND D, LUNDGREN B, BERGDAHL I A, et al. Personalized mixture toxicity testing: A proof-of-principle in vitro study evaluating the steroidogenic effects of reconstructed contaminant mixtures measured in blood of individual adults[J]. Environ Int, 2024, 192: 108991.
[28] 郝卫东. 毒理学系毒理学实验设计中存在的问题[J]. 中华预防医学杂志, 2005, 190(3): 218-219, 190.
[29] 郑敏, 赵文锦, 程娟, 等. 生殖和发育毒性筛选试验中基准剂量法的应用[J]. 卫生研究, 2017, 46(2): 291-297.
[30] DING J, DAI Y, ZHANG L, et al. Identifying childhood pesticide exposure trajectories and critical window associated with behavioral problems at 10 years of age: Findings from SMBCS[J]. Environ Int, 2024, 193: 109079.
[31] LI J, TU F, WAN Y, et al. Associations of trimester-specific exposure to perchlorate, thiocyanate, and nitrate with childhood neurodevelopment: A birth cohort study in China[J]. Environ Sci Technol, 2023, 57(49): 20480-20493.
[32] RÍOS-BONILLA K M, AGA D S, LEE J, et al. Neurotoxic effects of mixtures of perfluoroalkyl substances (PFAS) at environmental and human blood concentrations[J]. Environ Sci Technol, 2024, 58(38): 16774-16784.
[33] SONG A Y, KAUFFMAN E M, HAMRA G B, et al. Associations of prenatal exposure to a mixture of persistent organic pollutants with social traits and cognitive and adaptive function in early childhood: Findings from the EARLI study[J]. Environ Res, 2023, 229: 115978.
[34] ZHUO H, RITZ B, WARREN J L, et al. Ambient toxic air contaminants in the maternal residential area during pregnancy and cerebral palsy in the offspring[J]. Environ Health Perspect, 2025, 133(1): 17008.