

**编者按:**目前,暴露于多种不利外部环境因素导致的健康效应机制研究远远落后于现实需求,对产生健康效应的高敏感期(生命早期)、慢性(长期)蓄积性的认知还很缺乏。对多种癌症的病因研究表明,致癌风险更多来自环境暴露或遗传与暴露相互作用,故对暴露的深入研究势在必行!历经 10 年发展的暴露组学是暴露科学重要方向,旨在研究内、外暴露,推测暴露时间,探究混合暴露影响,探寻保护因素和危险因素,筛选反映早期健康影响的敏感生物标志物或组学标志物以便在尚未患病阶段进行预警,为公共健康和职业健康防护提供有力支撑,其在发达国家已进入实质性研究和应用阶段。我国应充分借鉴已有经验,明确暴露组学研究中的科学问题,制定长远规划,建立研究方法和应用体系,加强定量研究环境污染健康效应机制的能力建设,为降低环境污染对健康的影响提供指导,为环境管理和政策制定提供科学支撑。本刊特邀白志鹏教授进行专题评述,期冀对读者有所借鉴。

## 暴露组学的概念与应用

白志鹏<sup>1</sup>,陈莉<sup>2,1</sup>,韩斌<sup>1</sup>

1. 中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点实验室,北京 100012;2. 天津师范大学

**摘要:**暴露组学作为基因组学的补充是指从妊娠开始贯穿整个人生的环境暴露(包括生活方式因素)。暴露源包括外源(污染、辐射、饮食等)和内源(炎症、感染、微生物等)。继全基因组关联研究(GWAS)之后发展的全暴露组关联研究(EWAS)的目的是对在未知方式下暴露的评估。EWAS 方法通过比较患者和健康受试者暴露组的分析结果,确定有效的生物标志物,进而利用这些生物标志物来阐明暴露-效应关系(生化流行病学)、暴露和人体动力学来源(暴露生物学),以及作用机制(系统生物学)。“自下而上”和“自上而下”的方法在识别个体暴露上都具有科学价值。“自上而下”法用于揭示人类疾病的未知暴露源,而“自下而上”法是用于分析外暴露以及建立干预与预防的方法。生物标志物不仅可以用于研究外暴露,也可以用于研究内暴露。内暴露组学采用组学的方法进行研究,如基因组学、蛋白质组学、表观基因组学、代谢组学、转录组学、加合物组学等。人类生命早期暴露组学(HELIX)项目是近期启动的描述欧洲人群的早期暴露以及揭示组学标志物和儿童时期健康关系的第一次尝试。该文介绍了其研究方法、工具、思路及其重要意义,同时总结了暴露组学从概念到应用可能面临的挑战。

**关键词:**暴露组学;全暴露组关联研究;生物标志物;微生物组;基因组

**中图分类号:**R181.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-5914(2015)01-0001-09

### Exposome and exposomics: from concepts to application

BAI Zhi-peng\*, CHEN Li, HAN Bin

\*State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Science, Beijing 100012, China

**Abstract:** “Exposome” as the environmental complement to the genome encompasses lifecourse environmental exposures (including lifestyle factors) from gestation onwards. Exposures include external sources (e.g., pollution, radiation and diet) and internal sources (e.g., inflammation, infection and the microbiome). In parallel with the genome-wide association study (GWAS), the exposome-wide association study (EWAS) aims to assess effects of the exposome in an agnostic manner. In one type of EWAS, levels or prevalence of exposure biomarkers is compared in cases and controls. It is hoped that by using such an approach that exposure (dose) - response relationships, organ system dynamics (exposure biology) and mechanisms (or modes) of action (systems biology) will be clarified. There is scientific value in both the bottom-up and top-down approaches for characterizing individual exposomes. The top-down (agnostic) approach aims at discovering unknown causes of human disease whereas the bottom-up approach utilizes more comprehensive analyses of exposures and methods for intervention and prevention. Biomarkers can be used to study not only external exposures, but internal exposures as well. The internal exposome is studied using -omic methods, such as genomics, proteomics, epigenomics, metabolomics, transcriptomics and adductomics. The Human Early Life Exposome project (HELIX) is one of the first attempts to describe the early life exposome of European populations and to unravel its relationship to -omics markers and health in childhood. The study methods, tools, ideas and significance of HELIX were introduced. Lastly, the challenges and issues of developing the exposome were discussed.

**Key words:** Exposome; Exposome-wide association study; Biomarker; Microbiome; Genome

不同学科的专家对“暴露”的概念持有不同的观点,新的术语“暴露组”和“暴露组学”的出现和应用更是给跨学科的研究带来新的挑战,同时也存在巨大的机遇。笔者就暴露科学和暴露组学的历史、现在与未来进行了评述,以利于使读者更好理解和应用暴露组学新技术和新方法研究环境与健康问题。

## 1 暴露科学与暴露组学

### 1.1 暴露科学的发展

简单说,“暴露”是指“接触”,有外暴露和内暴露,涉及到界面、强度、持续时间、透过界面的途径、速度及透过量、吸收量等内容<sup>[1]</sup>。暴露评价是风险评价四步法中的重要一环,是连接环境污染与健康效应的桥梁。没有暴露,暴露风险就不存在。

暴露研究最初曾应用于探究职业病危险因素<sup>[2]</sup>。暴露的三个途径为呼吸、饮食和皮肤,暴露量与潜在剂量密切相关,支持暴露-效应曲线和/或剂量-效应曲线<sup>[1]</sup>。在空气污染与健康效应研究中,与暴露量相比,潜在剂量能更好地反映室内外空气中污染物与健康效应的关系<sup>[3]</sup>。近十余年来暴露学科发展迅速,已经发展成为暴露科学。

美国国家科学院国家研究理事会(NRC)于 2012 年给出暴露科学的新定义:收集与分析为了解受体(如人或生态系统)与物理、化学或生物应激物间接触的特性所需的定量和定性信息<sup>[4]</sup>。暴露科学力图捕捉对人群和生态系统具有急性与长期影响的时空维度暴露事件进行描述,该学科对于智能化和可持续的科学设计、预防和减缓有害暴露、开展风险分析以及最终保护人体健康具有基础性的决定意义。

表 1 总结了暴露科学的发展历程。

表 1 暴露科学发展历程

时间	发展历程
1920s <sup>[5]</sup>	暴露学家联合流行病学专家开展作为职业病源的工作场所暴露研究
1950s-1970s <sup>[6]</sup>	对室内外空气和水的暴露研究
1970s <sup>[5]</sup>	暴露学家在特定职业场所的污染源调查和周围环境污染源调查方面出现分歧;通过呼吸、饮食摄入和皮肤接触进入人体的化学物质的外部测量应用于个体暴露的调查
1980s <sup>[6-8]</sup>	内部标志物应用于个体暴露调查
1990s <sup>[9-11]</sup>	社区与个人暴露与环境污染建立联系
21 世纪 <sup>[9,12-14]</sup>	暴露科学家开始使用基于各种分类数据以及对生物体液和组织中污染物含量进行测量的各种模型来估测不同暴露水平。

### 1.2 暴露组概念的提出

笔者对 Web of Science 的初步统计显示,关于暴露组学的文献近年来呈极速增长的趋势,见图 1。

20 世纪 80—90 年代,分子流行病学开始用于探索基因和环境因素的关系,在个体研究中开始使用生物标志物。人类有 99% 的 DNA 是常见的,其余 1% 来

自于个体间的差异,如身体特征、疾病风险、行为等。1990 年,人类基因组计划发起。2000 年,作为人类基因组课题的补充,科学家已有能力测量成千上万个多态基因。2001 年,人类第一个基因组序列计划开始执行,而后又有 1 000 余个基因组计划发起,这些计划提供了可以作为识别所有单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNPs)的人类基因变化的信息。

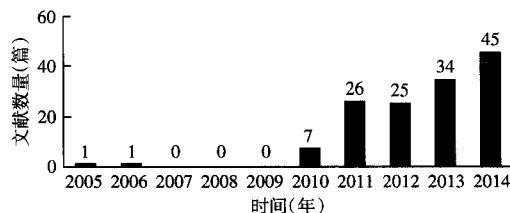


图 1 关于暴露组学文献汇总

中国疾病预防控制中心、中国协和医科大学、美国华盛顿大学健康指标和评估研究所(IHME)等机构的学者联合对中国的疾病负担进行了全面评估。其研究表明,城市化、收入增加和老龄化导致非传染性疾病突增,该疾病负担分析将为政策制定者应对中国疾病谱变化提供思路。该研究显示,2010 年,影响伤残调整寿命年的主要原因是心血管疾病(卒中和缺血性心脏病)、癌症(肺癌和肝癌)、腰背痛和抑郁症。膳食因素、高血压和烟草暴露是影响中国伤残调整寿命年的主要危险因素,就 2010 年伤残调整寿命年年龄标准化率而言,其诸多影响因素中,环境空气污染排名第 4(在 G20 中位居第 2),室内空气污染排名第 5(在 G20 中排名第 3)<sup>[15]</sup>。

基因组学的飞速发展并不能解释人类疾病内因与外因的问题,如癌症、心血管疾病、先天性缺陷等,在这些疾病的影响因素中,环境因素作用明显。

当前环境暴露及其机制的研究进展和水平远远落后于现实需求,环境因素致癌风险结论存在很大差异。体内的基因发生了突变或修改会导致基因疾病,如癌症。这些基因的改变有遗传的原因,但也与我们的生活环境更加密切相关。Hemminki 等<sup>[16]</sup>估算结果显示,对于大多数肿瘤来说,基因因素的影响占 1%~3%;而对于乳腺癌和前列腺癌,基因因素的影响占 10%~20%。对于心血管疾病,Marenberg 等<sup>[17]</sup>通过对风险因素的分析,发现瑞典 2 004 对双生子心脏病死亡率随着年龄的增长而下降,基于此结果,Rappaport 等根据性别和精卵结合方式把双生子分为四类,基因对于心脏病死亡的影响占 32%~61%,其中对于同卵双生男性,基因对心脏病死亡的影响占 61%,同卵双生女性占 59%,异卵双生男性占 40%,异卵双生女性占 32%<sup>[18]</sup>。家族病和双生子研究表明,癌症死亡因素的 90%和心脏病死亡因素的 50%不能用基因解释。2010 年全世界有 5 280 万死亡病例,其中约有 2/3 是由慢

性疾病引发,主要包括心血管病(>1 500 万例)和癌症(>700 万例)<sup>[19]</sup>。慢性疾病的决定因素是遗传或者环境,还是基于两者的某种联合作用?瑞典家庭癌症数据库汇编数据显示,15 种常见癌症中,遗传因素导致的致癌风险为 10%,甚至更低,致癌风险更多来自环境暴露或遗传与暴露的相互作用<sup>[20]</sup>。WHO 估算出各种环境因素对不同收入家庭致癌风险的比例(表 2<sup>[18]</sup>)。这些因素包括空气污染(城市空气污染和室内生物质燃烧产生的烟雾),饮食(低水平的水果和蔬菜摄入),生活方式(吸烟和酗酒,超重和肥胖,缺乏体育锻炼)和感染(不安全的性行为 and 污染注射)。表 2 数据说明环境因素显著的多样性和对低中收入和高收入国家的不同影响。导致患癌的因素中,环境因素约占 1/3,而非环境因素约占 2/3。与国外相比,我国环境污染物的来源不同,化学组分不同,个体的饮食、身体素质等也有很大差别,从而会影响个体对于环境污染的敏感性。所以急需进行我国人群对于环境因素风险的评估工作。

表 2 各种环境因素对不同收入家庭的癌症患者致癌风险估算<sup>[18]</sup>

环境因素	低收入国家癌症患者 (n=4 952 014)		高收入国家癌症患者 (n=2 066 388)	
	癌症病例数 (×10 <sup>3</sup> )	比例 (%)	癌症病例数 (×10 <sup>3</sup> )	比例 (%)
酗酒	262	5.3	88	4.3
吸烟	896	18.1	596	28.8
低水平水果和蔬菜消费	311	6.3	64	3.1
室内生物质燃烧产生的烟雾	16	0.3	0	0.0
城市空气污染	52	1.1	12	0.6
超重和肥胖	71	1.4	69	3.3
缺乏体育锻炼	84	1.7	51	2.5
被污染的医疗注射	108	2.2	3	0.1
不安全的性行为	218	4.4	17	0.8
环境因素综合影响		34		37

面对环境因素可能是很多人类疾病重要影响因素的现实,人们还难以模拟一个人一生所有环境暴露的问题,作为对基因组的环境因素的补充,Wild<sup>[21]</sup>于 2005 年首次提出暴露组(exposome)的概念,目的是为了引起科学家的重视,改进暴露评价在病因学研究中的作用。在此,应特别强调的是,此处的暴露组与传统上的与“对照组”对应的“暴露组”概念是截然不同的。

Wild<sup>[22]</sup>于 2012 年发表的文章细化了暴露组学的内涵,指出暴露组是从受精卵开始,贯穿整个人生的环境和职业暴露(包括生活方式等因素);暴露源包括外源(污染、辐射、饮食等)和内源(炎症、感染、微生物等),包括对化学性、物理性、生物性等应激物的暴露,其具备三个基本特征:(1)贯穿人的一生,(2)探究混合暴露影响,(3)强调环境因素。

人群疾病的谱阶为未患病、未患病-但对危险因子处于敏感状态的个体、发病前兆者、前期症状者、临床

患者、死亡,各谱阶间界线互相交错,并非截然分开,各阶段都有可能受不同源的影响,成为特定的暴露组。

**1.3 组学的应用** 组学(-omics)通常指生物学中对各类研究对象(一般为生物分子)的集合所进行的系统性研究,而这些研究对象的集合被称为组(-ome)。暴露组学关注个体一生中所有暴露的测量,及这些暴露如何与疾病建立联系。暴露组学是关于暴露组的科学,它依赖于其他学科的发展(如基因组学、蛋白质组学、脂类组学、糖组学、转录组学、代谢物组学、加合物组学等)。这些学科的共同点是:(1)利用生物标志物确定暴露、暴露的影响、疾病的发展过程和敏感因素;(2)新技术的应用产生海量数据;(3)利用数据挖掘技术发现暴露、暴露影响、其他因素(如基因)与疾病之间的统计学关系(详见 <http://www.cdc.gov/niosh/topics/exposome/>)。

暴露组的关键因素是可以准确地测量暴露和暴露的影响。很多组学技术有助于人类理解疾病的病因和过程。代谢组学和加合物组学已经用于建立暴露-疾病关系。

宏基因组学又称微生物环境基因组学、元基因组学<sup>[23]</sup>。它通过直接从环境样品中提取全部微生物的 DNA,构建宏基因组文库,利用基因组学的研究策略研究环境样品所包含的全部微生物的遗传组成及其群落功能,不需要分离微生物。它是在微生物基因组学的基础上发展起来的一种研究微生物多样性、开发新的生理活性物质(或获得新基因)的新理念和新方法。宏转录组学是一门在整体水平上研究某一特定环境、特定时期群体生物全基因组转录情况以及转录调控规律的学科。基于宏基因组和宏转录组学的发展,越来越多的科研团队开始专注于从群落水平上研究物种的组成、功能代谢以及与环境因子间的响应。

因此,确定应用哪些“组学”技术来定义暴露组的研究很重要,需要给出清晰的技术路线图。

**1.4 暴露组学(exposomics)的研究方法** Rappaport<sup>[18]</sup>对暴露组学的定义为:研究暴露组以及暴露组对人类疾病过程影响的学科,他提出了两个通用的方法用于描述暴露组学,见图 2。

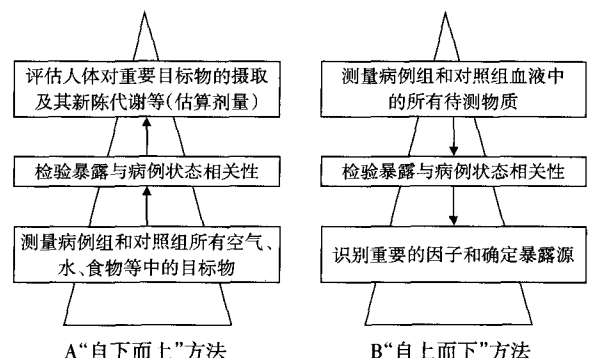


图 2 暴露组学研究方法<sup>[24]</sup>

“自下而上”的方法用于分析外暴露以及建立干预与预防的方法,关注于每一类的外暴露(空气、水、饮食、辐射、生活方式等),量化每类外暴露的强度,用加和的方式估算个体的暴露水平,检验病例组和对照组是否存在暴露差别。但在生活方式、生活工作压力等对健康影响方面的定量表征还需要进一步细化,并能够与化学物质的暴露相结合。

在空气污染的健康效应研究中,土地利用回归(land use regression)模型<sup>[25]</sup>近期被广泛应用。该模型基于地理信息系统,尽量详尽地发现各种源的影响,从而建立各种源对空气污染物浓度的贡献方程,并利用该方程模拟该空气污染物的个体暴露水平。这种方法只考虑外源的影响,例如农业用地等开放源、交通等移动源。已有 10 个欧洲出生队列——BAMSE(瑞典)、GASPII(意大利)、GINIplus 和 LISApplus(德国)、MAAS(英国)、PIAMA(荷兰)和 4 个 INMA 队列(西班牙)研究了空气污染与肺炎、哮喘及中耳炎之间的相关性,并使用 meta 分析得出综合效应估计值,评价了家长报告的经医师诊断的儿童早期肺炎、中耳炎以及哮喘发病与污染物全年平均浓度间的关联,污染物浓度的估计采用土地利用回归模型并根据儿童的出生住址分配。作为欧洲空气污染影响队列研究<sup>[26]</sup>(The European Study of Cohorts for Air Pollution Effects, ESCAPE)项目的一部分,每个研究区域都采用相同的方案建立回归模型。用 logistic 回归计算每个研究中校正后的效应估计值,用随机效应 meta 分析计算合并的估计值。对 ESCAPE 项目中 10 个欧洲出生队列进行的 meta 分析为空气污染和儿童早期肺炎之间的相关性找到一致性的证据,也为空气污染与中耳炎间的相关性找到了一些证据。

2013 年底我国发布了“暴露参数手册成人卷”,填补了我国在暴露参数方面的空白,有了我国自己的基本数据,有利于暴露组学“自下而上”方法的实施<sup>[27-28]</sup>,我国计划于 2015 年内出版“暴露参数手册儿童卷”。

“自下而上”的方法需要耗费大量精力来估计庞大的未知外源,但还是可能错过重要的内源。先期的暴露评价有个体暴露量法、方案评价法和内部剂量反推法<sup>[3,29]</sup>。内部剂量是指暴露发生后体内组织或器官中外源物质或其代谢物的含量。早期的研究往往只针对单一化学物质或少数几类化学物质,这一点与针对单个或少数几个基因多态位点的遗传学研究类似。内部剂量反推法的深入延伸就是“自上而下”的暴露组学方法,暴露组就是在一系列新技术的支持下,分析众多暴露标志物之间的复杂关系。

暴露组中“自上而下”的方法用于揭示人类疾病的未知暴露源。该方法主要用于环境和职业相关疾病,其主要目标是利用“组学”的方法测量血液和其他

体液中目标物质的种类和含量,检验各类物质与疾病之间的统计学联系,确定导致疾病的物质及暴露来源,并反推暴露和剂量。因为暴露源来自于人体内外,并且暴露水平随着时间的推移和个人原因(外源和内源的改变,如年龄、锻炼、感染、生活方式、压力和罹患疾病等)有很大的变化。面对这些多变因素,暴露学家更倾向于“自上而下”的方法,从而发现可能的暴露,即该方法可通过非目标的方法来测量生物体液中的暴露特征,估算暴露水平。无论是外源还是内源暴露都通过血液标本来表征。

暴露组学建立在几点假设之上:(1)可以识别的影响个体健康的具体或一系列的详细的暴露;(2)通过高通量技术建立明确的生物标志物;(3)确定内外暴露源。

新技术的不断涌现推动了更多组学标志物的测量,可以进行更深入的数据解释,但也要认识和考虑如下要点:(1)由于个体年龄和经历不同,内暴露的生物标志物是多变和动态的;(2)由于基因差异,健康效应存在个体间差异;(3)简单组分和复合组分的作用;(4)慢性暴露和急性暴露。

## 2 全基因组关联研究(GWAS)到全暴露组关联研究(EWAS)的转变

**2.1 GWAS 与 EWAS 的概念** GWAS(genome-wide association study)即全基因组关联研究,是指在人类基因组范围内找出存在的序列变异,从而筛选出与疾病相关的 SNPs<sup>[29]</sup>。EWAS(exposome-wide association study)即全暴露组关联研究。在 EWAS 研究中,并不针对单一或少数几种暴露物质,而是检测所有可能的暴露标志物,通过统计学分析发现病例组和对照组差异最显著且有统计学意义的暴露标志物,再在个人或多个独立样本中重复测定,最终获得验证后的暴露标志物。对得到验证的暴露标志物,可进一步采用动物实验或其他研究方法验证或进行致病机制研究。GWAS 和 EWAS 的共同点是数据驱动(data driven)、无研究假设(hypothesis free)或无明确研究假设,是从众多的比较中发现暴露与疾病之间的统计学联系,进而产生病因假设<sup>[30]</sup>。

**2.2 EWAS 研究方法** GWAS 已测试出 2 000~20 000 名受试者的 100 余万个单核苷酸的多态性。相比之下,以前个体环境暴露的影响推测主要来自于个人专访或问卷调查。基因表征与环境特征的特征差异使人们无法对基因与环境的综合作用进行彻底的研究。必须开发一种用于环境暴露研究的数据导向分析的技术和方法。

Rappaport 介绍了利用血液暴露组来研究病患及其对照组中重要暴露的两阶段法<sup>[31]</sup>。第一阶段,

Rappaport 发现, 暴露组涉及人体血液里约 20 万种化学物质, 包括金属、小分子化合物、蛋白质和外源性 DNA。通过比较患者和健康受试者非目标性血液暴露组的分析结果, 建议通过 EWAS 来查明具有特征性的化学物质, 在独立的病例和对照样本中鉴定出这些关键化学物质, 并在验证了它们与疾病的关联性之后, 第二阶段便可在大样本人群血液的目标性分析中将这此化学物质用作暴露或疾病恶化的生物标志物。因此, 用于发现和减少有害暴露的策略就是要进行原始数据导向的分析研究。发现有前景的生物标志物, 随后可以通过知识导向研究, 利用这些生物标志物来阐明暴露-效应关系(生化流行病学)、暴露和人体动力学来源(暴露生物学), 以及作用机制(系统生物学)。Rappaport 强调两阶段法将有利于减少有害暴露, 改善公共健康, 诊断早期的疾病, 以及制定个体化医疗干预措施。

在 EWAS 的实际应用方面, Patel 等<sup>[32]</sup>利用美国疾病预防控制中心每 2 年进行一次的全国健康与营养调查数据进行 2 型糖尿病 EWAS 分析 [分析时控制假发现率, 并调整年龄、性别、体质指数(BMI)、种族以及社会经济状况]。首先在各次调查样本内分析环境暴露标志物与 2 型糖尿病发病风险之间的关系。结果发现共计 37 种暴露标志物与 2 型糖尿病风险之间存在统计学联系; 然后对这 37 种暴露标志物重新通过 4 次人群调查进行“验证”, 最终发现环氧七氯、维生素 E 和多氯联苯-170 为 2 型糖尿病危险因素, 而  $\beta$ -胡萝卜素为 2 型糖尿病的保护因素。虽然这 4 次调查均为横断面调查, 无法得到这些危险因素与 2 型糖尿病因果关系, 但可作为全环境或全暴露组关联研究的雏形。

将基因与环境暴露进行综合分析, 开展全基因全环境交互作用 (gene-environment-wide interaction study, GEWIS) 研究或全基因全环境关联分析 (gene-environment-wide association study, GEWAS), 可以更全面揭示产生健康效应的成因和机制<sup>[33-34]</sup>。

### 3 生物标志物在内暴露组学中的应用

暴露组是高度变化和动态的, 贯穿个体的一生。由于基因和其他个体因素的原因, 环境和职业暴露的影响在个体水平上是不同的。一些人在某个暴露水平上会发生疾病, 而另一些人在相同甚至更高的暴露水平上也不会发生疾病。健康效应与暴露密切相关, 但要很好地测量暴露仍存在难度: (1) 由于贯穿人一生的暴露具有复杂性, 故难以勾画出个体的完整暴露; (2) 由于缺少发现敏感性因素的方法或者还不知道暴露已经发生, 所以具体的暴露很难测量; (3) 即使暴露已经被知晓, 由于大部分化学物会很快排泄出体外, 并且在体内被检出的时间非常短, 所以测量暴露还是

很困难的。

暴露组或许能帮助确定这种差别的潜在原因。过去的暴露可以用体内残留下来的生物标志物来反映, 例如生物标志物可以是对环境或职业暴露产生的抗体。

生物标志物涉及很多分子, 从外源物质到血液中的代谢物, 这些生物标志物与 DNA 和蛋白质形成共价物。Vineis 等<sup>[35]</sup>阐述了暴露组学概念在大队列研究中的应用。例如欧洲癌症和营养的前瞻性调查 (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition, EPIC) 研究就是依赖于 40 余万种生物物质。在这些大队列中, 生物标志物用来帮助理解环境因素与疾病的关系。相对于暴露, 疾病发作可能要延迟很多年, 而对于某些疾病, 如癌症, 甚至可能需要几十年, 因此 65% 的癌症不能归因于一种特定的原因<sup>[33]</sup>。

一种构建病因和疾病关系的可行方法是 Chadean-Hyam 及其同事倡导的以生物标志物为中间体的机制<sup>[36]</sup>, 即“中间相遇”原则(暴露—中间标志物—疾病), 其目标是识别暴露和疾病的可能关系, 探索中间生物标志物和疾病的关系, 同时回顾性探索这种生物标志物和过去环境暴露的关系。其过程分为三步: (1) 调查暴露和疾病的关系; (2) 探寻暴露和产生早期影响的生物标志物的关系; (3) 评估疾病结果和中间生物标志物、组学标志物的关系。例如, 研究发现可替宁 (Cotinine) 并不是一个区分个体是否是吸烟者的理想标志物。芳香烃受体阻遏因子基因 (aryl hydrocarbon receptor repressor gene, AHRR) 甲基化与个体以往的吸烟状态有关, AHRR 在受试者工作特征曲线 (ROC) 中得到一个高值 (0.77), 表明 DNA 甲基化是用于划分一个人是否为前期吸烟者的适合且持续的标志物。Vineis 和他的团队对这些新的生物标志物的研究近期已得到欧盟的项目资助<sup>[36]</sup>。关于内外暴露组学的数据也将被正在进行的一些研究所关注和收集, 而这些研究贯穿了生命的所有阶段。

基于内暴露组学方法, 可以收集个体新鲜的血液和尿液样本, 然后利用个人暴露监测来收集外暴露组学的的数据。这种方法可用于成千上万的课题研究和多种疾病 (包括哮喘、心血管疾病、癌症和神经发育相关的疾病) 的研究。Wild<sup>[21]</sup>认为如果 mRNA、蛋白质和代谢物的变化水平可以与特定的暴露相联系, 那么转录组学、蛋白质组学、代谢组学这些组学新技术可以帮助揭示环境暴露评估问题。具体方法包括: 目标性或普通生物标志物、传感器技术、便携式高性能计算机技术和内外标志物的结合。

实验胚胎学和组学的出现有助于对致癌机制的理解, 这些新的工具在暴露科学研究领域很有应用潜力。组学的到来使人们看到一个独一无二的暴露化学标记, 而这些标记可能是持久的或是不可逆转的。基

基因组学研究基因(DNA)及其功能;蛋白质组学是利用基因组来表达蛋白质的研究;转录组学是利用基因组来产生 RNA 分子的研究,提供了如何利用组学方法来反推暴露生物标志物的初步证据。利用转录组学可以识别出两种暴露的潜在标志物,一种独立于剂量,从而可能反映暴露本身;另一种依赖于暴露剂量,从而可能反映暴露的影响或对暴露的响应。加合物组学是针对 DNA 或血液蛋白质与某种化学物质结合的产物(加合物)的研究,可用来描述对亲电试剂的暴露,亲电试剂包括大量活性毒物,如醛类、醌类化合物及活性氧簇,其在体内与生物亲核试剂反应形成稳定加合物的时间很短。

暴露组学将流行病学、环境毒理学、分析化学、营养学和微生物学结合在一起,由于暴露组学应用多种分析技术(色谱、光谱测定法、光谱和传感器阵列技术)和生物信息学来表征个体的暴露组,它需要开发新技术来满足高分辨率、高灵敏度和高通量全暴露组关联研究及后续研究的要求。应用系统毒理学研究方法和集成“组学”技术,研究差异基因表达、差异蛋白表达、差异代谢物表达等。在一系列研究和样本的基础上,已经非常近似于使用一整套系统的方法(包括蛋白质组学、代谢组学、转录组学和加合物组学)来辨别健康人群和病患之间的差别。

通过暴露组的研究和测量暴露标志物,可以识别个体的暴露史和潜在的患病风险甚至潜在智力发展水平和能力,这些信息对个体求职、医保等都会产生直接的影响。因此暴露组的研究要坚持严格的道德准则,在确定暴露及与健康关系的时候要保障个人的权利,保护隐私。如美国政府对高血铅儿童的信息就要求做好个人信息不外泄的保密工作。

#### 4 暴露组学研究案例

欧洲在队列和环境流行病学合作研究方面开展

了很好的工作。HELIX(Human Early-life Exposome)项目由 13 家合作机构共同承担,测量 32 000 对母婴的环境暴露,以及对儿童成长、发育、健康的后续影响<sup>[37]</sup>。西班牙巴塞罗那环境流行病学研究中心项目协调员 Vrijheid 表示“孕期和生命早期被认为是由于环境破坏而产生终身后果的高敏感期,所以生命早期是研究暴露组学的重要起点”<sup>[37]</sup>。开展对孕期和生命早期的环境暴露-效应及其机制的研究意义深远。

HELIX 所用数据来源于 6 个生活在西班牙、法国、英国、挪威、希腊和立陶宛的欧洲母婴出生队列。调查人员已收集了大量的健康数据,另外还计划收集 1 200 对母婴的生物标志物数据作为子数据集。对于食品、水、空气污染、杀虫剂、噪声和辐射的外暴露测量将和来源于代谢组学、蛋白质组学、转录组学及其他组学研究的分子标志物进行整合。进而,研究者可以估算由于多种环境暴露而产生的儿童疾病负担的情况。生命早期暴露组学的特征是,探索可以重塑生物进程和影响身体发育及正常机能的关键胚胎发育时期,并适时给予干预措施。HELIX 项目将执行 4 年半,所期待的结果是可以帮助研究者识别未知的健康隐患,有利于更好地建立预防措施和法规。

HELIX 所用到的工具、方法包括:生物标志物、基于组学的方法、遥感和基于地理信息系统(GIS)的空间分析方法、个体暴露仪器、用于连接暴露和疾病负担的统计工具。其中一种新的工具是 ExpoApp 软件,这是一种用于追踪受试者活动水平的可移动应用程序。ExpoApp 利用全球定位系统(GPS)和智能手机来追踪受试者的位置并监测其每隔 10 s 的身体活动情况。受试者佩戴启用 ExpoApp 的智能手机一周,同时佩戴空气污染和辐射检测仪。这些数据用于计算吸入空气总量和个体对空气污染的暴露情况。HELIX 的研究思路见图 3。

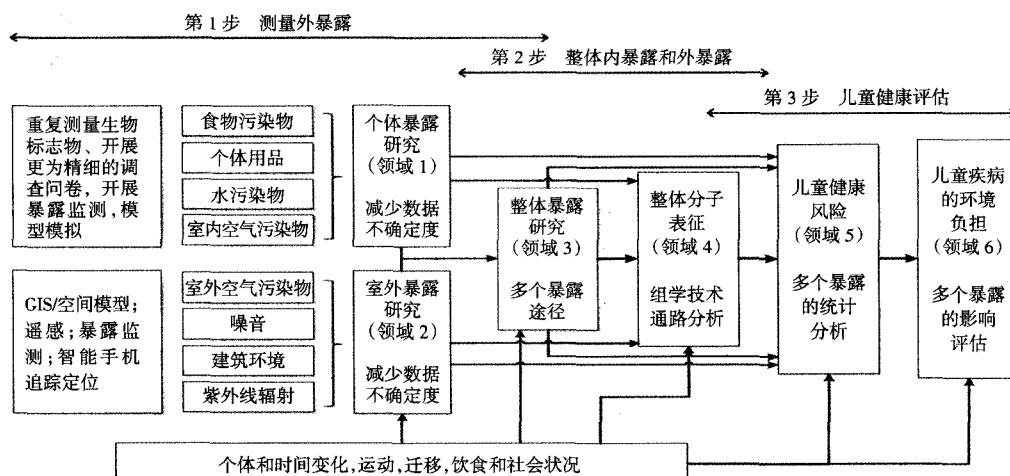


图 3 HELIX 项目研究思路

暴露组学研究需要收集大量数据、需要多方协作、需要大量经费支持及尖端的技术平台,新技术的不断出现大大提高了测量能力并可进行多终点的同步测量。HELIX 是第一次在多个方面应用暴露组学开展的研究工作。该项目中用于研究母婴队列参与者的方法需要很多不同工具,而这些工具跨越多个学科,该项目将对其他环境健康和暴露科学领域的研究有一定的启发,有助于将来建立基于较少人口的平行研究,来验证暴露组学的其余部分。

美国在暴露组的技术开发方面开展了很好的工作。全国儿童研究(The National Children's Study, NCS)<sup>[38-39]</sup>提供了一个前瞻性队列,关注人生前 21 年的相关数据和生物样本。暴露的生物标志物反映生物体系环境因子(化学的、物理的或生物学的)相互作用所引起的任何可测定的改变,包括生化、生理、免疫和遗传等多方面的改变,这些改变可发生在整体、器官、细胞、亚细胞和分子水平上。美国国家健康研究院(NIH)花费 12 亿美元在 40 个试点地区招募大约 5 700 名儿童进行了初步研究,但由于预算和管理的问题该研究计划在 2014 年底被取消了。

美国的国家生物监测项目(National bio-monitoring program, NBP)旨在评估人群营养状态及美国人口对环境化学和有毒有害物质的暴露水平,该项目测量人体中 300 余种与环境相关的化学物质和营养学指标<sup>[40]</sup>。

美国国家科学院已组织了两次有关暴露组的学术研讨会。2010 年 2 月 25—26 日召开了名为“The exposure: a powerful approach for evaluating environmental exposures and their influences on human diseases”的学术研讨会<sup>[41]</sup>;2011 年 12 月 8—9 日召开了名为“Emerging technologies for measuring individual exposomes”<sup>[42]</sup>的学术研讨会,推进了暴露组学的发展。

日本在暴露方面提出了深入的研究计划。开始于 2011 年的日本环境和儿童研究(The Japan Environment and Children's Study(JECS))<sup>[43]</sup>是一个出生队列研究,包括 10 万对父母和儿童,拟评估一系列环境因素对儿童健康和发育的影响。2008 年开始在四个大学做预研究,并将已有的 2 个队列(Hokkaido 和 Tohoku)样本用来建立暴露测量规范。经专家组及公众对研究目标和假设进行历时三年的充分讨论,2010 年 3 月发表了 JECS 的概念计划。2011 年正式发布了 JECS 计划,2014 年 3 月该研究招募了数十万名妊娠妇女。对孕妇孕早期至孕晚期生活条件及环境内外暴露情况、出生结局、新生儿健康状况及内外暴露情况、哺乳期母婴内外暴露情况及 6 月龄之后的暴露情况进行全面追踪调查,直至儿童年满 13 岁为止。该研究计划于 2032 年完成。

法国国家职业病监测和预防网络(RNV3P)成立

于 2001 年,包括 30 个大学附属医院的职业病咨询中心(服务对象为职业相关潜在疾病患者)和一家职业健康服务机构<sup>[44]</sup>,旨在监测职业和环境相关疾病。经过核验的数据用标准的职业健康报告的形式记录,并用国际和国家疾病分类方法进行编码。程序化健康监测通过以下途径实施:(1)每年对预先选定的疾病-暴露关联进行专家随访,获取相关数据;(2)通过职业健康服务机构对不同工作特征的职业人群的发病率进行估计。2001 至 2007 年共收集并分析 58 777 份职业健康报告。RNV3P 可获取具有一定职业暴露特征的在职和离职工人的职业暴露和患病情况信息。该方法对于疾病监测以及新发疾病-暴露关系假设的生成具有重要应用价值。暴露组学的研究在职业病前期筛查、防治及制定招工筛选标准方面具有重要作用。

为了推动全环境关联研究或全暴露组关联研究以及人类暴露组计划(Human Exposome Project, HEP),由美国加州大学 Berkeley 分校 [UC Berkeley(UCB)]、英国伦敦帝国学院和国王学院 [Imperial Colleges London (ICL) and King's Colleges London(KCL)]、国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)以及美国国家环境健康科学研究所(National Institute of Environmental Health Sciences, NIEHS)等单位共同发起成立了暴露组联盟(Exposome Alliance Project),暴露组联盟走向实质的标志是 ICL 的 Vineis 教授牵头项目——暴露组学研究项目(<http://www.exposomicsproject.eu/>)获得了欧盟的资助,该项目分为 10 个工作组和相关牵头人:(1)项目协调和管理, ICL 的 Paolo Vineis 教授;(2)数据协调、处理和集成,瑞士热带和公共健康研究所 Nicole Probst-Hensch 教授;(3)外暴露组-空气污染, ICL 的 John Gulliver 博士;(4)外暴露组-水污染,位于巴塞罗那的环境流行病学中心(Centre for Research in Environmental Epidemiology, CREAL)的 Manolis Kogevinas 教授;(5)代谢组学, IARC 的 Augustin Scalbert 博士;(6)加合物组学, KCL 的 David Phillips 教授;(7)中间的组学生物标志物,希腊国家研究基金(National Hellenic Research Foundation)有机和药物化学研究室 Soterios Kyrtopoulos 教授;(8)统计分析, ICL 的 Marc Chadeau-Hyam 博士;(9)应用改进的暴露评价和暴露内标志物的健康风险分析, Utrecht 大学风险评价研究所(IRAS)的 Roel Vermeulen 博士;(10)影响和宣传, IRAC 的 Christopher Wild 博士和 UCB 的 Martyn Smith 教授。

其他暴露组学相关的网站有:HELIX:<http://www.projecthelix.eu/>; 人类暴露组项目:<http://humanexposomeproject.com/>; 美国 CDC 暴露组学研究:<http://www.cdc.gov/niosh/topics/exposome/>; 欧盟基于大人群普查的健康与 EWAS 研究:<http://www.heals-eu.eu/>。

## 5 暴露组学面临的机遇与挑战

暴露组研究的目的是阐明居住在不同环境下、具有各种疾病危险因素的多种族个体的暴露组,清晰地了解人类暴露的多样性和类型,研究成果对于明确环境污染与人体健康及特定疾病的因果关系、采取恰当的防控措施具有巨大的应用价值。但暴露组学理论尤其是方法学尚待完善,高通量的技术尚不够成熟,当前我国人群生理生化参数数据库、暴露模型库、暴露组数据库亟待建设和完善,建议尽快设计和实施我国的暴露组学研究计划,有计划开展生物标志物的监测,组建国家环境暴露-效应关联中心,加快成果产出。

**5.1 暴露标志物的测量与数据分析** 生物标志物是改进暴露测量及效应、确定疾病易感性关系的阶梯,也是暴露组连接暴露、暴露-疾病效应的桥梁。理想的生物标志物应该能够准确测量并具有重复性、稳定性、特异性和敏感性,是能够表征暴露对机体产生影响的物质或效应。如果研究标志物的种类、数量不够充足,可能错过重要的潜在生物标志物。因为机体 DNA 修复能力和代谢酶基因是影响机体易感性的重要因素,因此在易感性生物标志物方面需要深入研究。

亟待开展的研究还包括:高通量、无偏倚的个体暴露测量;时间序列的暴露分析;筛选能够反映暴露-效应的因子并探讨多因子间的关系;将暴露组学与基因、转录、蛋白、代谢组学相结合,从环境-遗传相互作用角度揭示污染物的健康效应机制,开发单独和成套的暴露组生物标志物有效性评估和审核的信息平台;将外暴露与内暴露进行有机结合,实现多学科的综合。

**5.2 暴露时间的推断** 可靠的暴露测量及记录完整暴露历史对于暴露-效应研究至关重要,这需要队列研究、长时间的随访、详尽的问卷调查,并需要非常庞大的生物库来存储和分析生物样本。但在回顾性研究中,暴露估算具有很大不确定性,如何利用生物标志物反推较为准确的过去的暴露,并将暴露发生时间同内部剂量联系起来,在一定程度上揭示过去的暴露影响及效应机制,即通过识别过去暴露遗留下来的生物标志物来评估暴露及对疾病的关系至关重要。

**5.3 研究和报告的标准化** 收集和存储数据(流行病学、基因、生物标志物和暴露)方式的标准化有助于更好地进行完整暴露的确定并揭示导致疾病的各种因素的相互作用。为了使数据挖掘的信息更好地被理解和应用,应该大力推动实施暴露数据的收集和发布以及监测生物标志物的标准化工作。今后评估暴露科学在流行病学、风险评估、风险管理和法规中应用时,应充分考虑暴露科学中的生活方式、社会环境与行为等因素的影响。“自下而上”的方法和“自上而下”的方法均需要规范化、标准化、程序化,需要给出不确定性。

提供法规化、程序化的技术方法,提供标准技术手册,供大家借鉴和使用,推动暴露组学实用化进程。

**5.4 研究工具和数据共享** 发展统计学工具可以帮助估算暴露、基因和其他改变与疾病的关系,加强数据共享可以提高统计学效能并有助于对所有暴露、基因-环境相互作用、生物标志物与健康间的关系作深入分析。为了评估暴露组并最大化使用组学数据,急需发展生物信息学工具、加强模式匹配和人工神经网络的应用。

**5.5 发挥对公共健康和职业健康影响干预措施的支撑作用** 暴露组研究涉及到物理、化学或生物应激物/代谢产物,通过研发高通量筛选技术、确认早期暴露联系和剂量-效应关系,在大样本人群经历的外源和内源变化中描述暴露源,建立行为和病因关系的输入-响应机制,将非常有助于提高公共健康和职业健康干预的科技支撑能力。但要考虑到暴露组学的多变和不稳定性,以及贯穿整个生命进程的特征,同时还需要考虑复杂混合物和个体缺陷的影响。成功筛选出反映早期健康影响的敏感生物标志物或组学标志物,就可在日常体检中安排生物标志物监测和检测项目,在人体尚未进入患病阶段推导暴露来源、进行疾病预警和防治。新技术的发展对于降低社会成本,进一步提高人民的健康水平意义重大。

**5.6 环境因素对健康影响研究的挑战** 除去年龄、衰老因素,人体健康问题主要由于遗传因素、环境因素,或两者相互作用所致,但究竟各种环境因素单独或联合对健康的影响程度、影响时效如何,如何追溯历史暴露、研究环境因素致病机制、定量关联,如何建立不同年龄、不同暴露环境、不同暴露介质和暴露源的环境与健康完整因果关系,如何清晰区分混杂因素的影响,如何清晰认识影响的机制,还需要付出极大的努力。我国环境污染状况堪忧,但缺乏系统的环境与健康研究和工作成果,零散成果难以被公众及决策层接受和使用,甚至可能误导政府和公众,难以支撑国家战略。如何制定环境健康研究路线图是我国面临的战略问题。暴露组学是基于解决重要社会发展和环境问题需求而发展的,是环境与健康工作有效和必要的工具和技术手段,具有重要发展前景。研究成果支持社会发展、医疗保障、环境标准、干预预防措施的策划和实施等。建议针对我国特征暴露因素,如饮食的多样性、饮茶,散步、骑车上下班、社交方式等是否是保护性因素开展研究。总体上暴露组学的出现和发展给环境与健康机制研究打开了新的窗口,建议我国在“十三五”和中长期发展规划中,充分借助暴露组学技术大力推动环境与健康工作的进展。

志谢 该文是笔者在环保部科技司健康处组织的“环境健康暴露评价研讨会”(2014 年 10 月 30 日,北京)上所作的报告“暴露组学的发展及

国内外最新动态”基础上整理而成。感谢杜克大学全球健康研究所 Ming-Kei (Jake) Chung 博士审阅文稿并给出修改意见

### 参考文献

- [1] US EPA. Guidelines for exposure assessment [S]. US Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, Washington, DC, EPA/600/Z-92/001, 1992:16-18.
- [2] Franco G. Ramazzini and workers' health [J]. *Lancet*, 1999, 354: 858-861.
- [3] 白志鹏, 贾纯荣, 王宗爽, 等. 人体对室内外空气污染物的暴露量与潜在剂量的关系[J]. *环境与健康杂志*, 2002, 19(6): 425-428.
- [4] Liroy PJ, Smith KR. A discussion of exposure science in the 21st century: avision and a strategy [J]. *Environ Health Perspect*, 2013, 121:405-409.
- [5] Rappaport SM. Implications of the exposome for exposure science[J]. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2011, 21: 5-9.
- [6] Centers for Disease Control and Prevention. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals [R]. Atlanta, GA: National Center for Environmental Health, Centers for Disease Control and Prevention, 2009.
- [7] Hoffmann K, Becker K, Friedrich C, et al. The German Environmental Survey 1990/1992 (GerES II): cadmium in blood, urine and hair of adults and children [J]. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 2000, 10: 126-135.
- [8] Wallace LA, Pellizzari ED, Hartwell TD, et al. Personal exposures, indoor-outdoor relationships, and breath levels of toxic air pollutants measured for 355 persons in New Jersey [J]. *Atmos Environ*, 1985, 19:1651-1661.
- [9] Liroy PJ. Exposure science: a view of the past and milestones for the future[J]. *Environ Health Perspect*, 2010, 118:1081-1090.
- [10] Ott WR. Total human exposure: basic concepts, EPA field studies, and future research needs [J]. *J Air Waste Manage Assoc*, 1990, 40: 966-975.
- [11] Ott WR. Human exposure assessment: the birth of a new science[J]. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 1995, 5:449-472.
- [12] Cohen-Hubal EA, Richard AM, Shah I, et al. Exposure science and the U.S. EPA National Center for Computational Toxicology [J]. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2010, 20:231-236.
- [13] Georgopoulos PG, Sasso AF, Isukapalli SS, et al. Reconstructing population exposures to environmental chemicals from biomarkers: challenges and opportunities [J]. *J Expo Sci Environ Epidemiol*, 2009, 19:149-171.
- [14] Georgopoulos PG, Liroy PJ. From a theoretical framework of human exposure and dose assessment to computational system implementation: the Modeling Environment for Total Risk Studies (MENTOR) [J]. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 2006, 9:457-483.
- [15] Yang G, Wang Y, Zeng Y, et al. Rapid health transition in China, 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2013, 381:1987-2015.
- [16] Hemminki K, Czene K. Attributable risks of familial cancer from the Family-Cancer Database [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002, 11:1638e44.
- [17] Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, et al. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins [J]. *N Engl J Med*, 1994, 330:1041e6.
- [18] Rappaport SM. Discovering environmental causes of disease [J]. *J Epidemiol Community Health*, 2012, 66:99-102.
- [19] Lozano R. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010[J]. *Lancet*, 2012, 380:2095-2128.
- [20] Czene K, Lichtenstein P, Hemminki K. Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish Family-Cancer Database[J]. *Int J Cancer*, 2002, 99:260-266.
- [21] Wild CP. Complementing the genome with an "exposome": the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14:1847-1850.
- [22] Wild CP. The exposome: from concept to utility [J]. *Int J Epidemiol*, 2012, 41:24-32.
- [23] 贺纪正, 张丽梅, 沈菊培, 等. 宏基因组学(Metagenomics)的研究现状和发展趋势[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(2):209-218.
- [24] The Standing Committee on Use of Emerging Science for Environmental Health Decisions. The exposome: a powerful approach for evaluating environmental exposures and their influences on human disease[EB/OL]. 2010. <http://nas-sites.org/emergingscience/files/2011/05/exposome-newsletter-final1.pdf>
- [25] Jerrett M, Arain A, Kanaroglou P, et al. A review and evaluation of intra urban air pollution exposure models[J]. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 2005, 15:185-204.
- [26] Elaina AM, Ulrike G, Anna M, et al. Air pollution and respiratory infections during early childhood: an analysis of 10 European Birth Cohorts within the ESCAPE Project[J]. *Environ Health Perspect*, 2014, 122: 107-113.
- [27] 环境保护部. 中国人群环境暴露行为模式研究报告(成人卷)[M]. 北京:中国环境科学出版社, 2013.
- [28] 环境保护部. 中国人群暴露参数手册(成人卷)[M]. 北京:中国环境科学出版社, 2013.
- [29] Liroy PJ, Rappaport SM. Exposure science and the exposome: an opportunity for coherence in the environmental health sciences [J]. *Environ Health Perspect*, 2011, 119:466-467.
- [30] 任爱国. 暴露组与暴露组学 [J]. *中华流行病学杂志*, 2012, 33: 973-976.
- [31] Rappaport SM, Smith MT. Environment and disease risks [J]. *Science*, 2010, 330:460e1.
- [32] Patel CJ, Bhattacharya J, Butte AJ. An Environment-Wide Association Study (EWAS) on type 2 diabetes mellitus [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5: e10746.
- [33] Khoury MJ, Wscholder S. Invited commentary: from genome-wide association studies to gene-environment-wide interaction studies - challenges and opportunities [J]. *Am J Epidemiol*, 2009, 169:227-230
- [34] Thomas D. Gene-environment-wide association studies: emerging approaches[J]. *Nat Rev Genet*, 2010, 11:259-272
- [35] Vineis P, Veldhoven K, Chadeau-Hyam M, et al. Advancing the application of omics-based biomarkers in environmental epidemiology [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2013, 54: 461 - 467.
- [36] Scheepers PTJ, Beckmann G, Biesterbos JWH, et al. Biomarkers of environmental risk factors for prevention and research [J]. *Trends Anal Chem*, 2013, 52: 275 - 281
- [37] Vrijheid M, Slama R, Robinson O, et al. The Human Early-Life Exposome (HELIX): project rationale and design[J]. *Environ Health Perspect*, 2014, 122: 535-544.
- [38] The National Children's Study Research Plan: a review (2008).[EB/OL]. 2008. <http://www.nap.edu/catalog/12211/the-national-childrens-study-research-plan-a-review>
- [39] Reardon S. NIH ends longitudinal children's study[J]. *Nature*, 2014, doi:10.1038/nature.2014.16556, <http://www.nature.com/news/nih-ends-longitudinal-children-s-study-1.16556>
- [40] National Biomonitoring Program[EB/OL]. Center for Disease Control and Prevention, 2014, <http://www.cdc.gov/biomonitoring/about.html>
- [41] The exposome: a powerful approach for evaluating environmental exposures and their influences on human disease[C/OL]. Feb. 25-26, 2010. Washington DC, <http://nas-sites.org/emergingscience/meetings/exposome/>
- [42] Individual exposomes: emerging technologies for measuring individual exposomes[C/OL]. Dec. 8-9, 2011. Washington DC. <http://nas-sites.org/emergingscience/meetings/individual-exposomes/>
- [43] The Japan Environment and Children's Study (JECS)[EB/OL]. [2014-10-13]. <http://www.env.go.jp/en/chemi/hs/jecs/index.html>
- [44] Bonnetterre V, Faisandier L, Bicout D, et al. Programmed health surveillance and detection of emerging diseases in occupational health: contribution of the French national occupational disease surveillance and prevention network (RNV3P)[J]. *Occup Environ Med*, 2010, 67:178-186.