

陆地生态系统中低剂量毒物刺激作用 及拟合模型研究进展

郭雪雁, 马义兵*, 李 波

(中国农业科学院农业资源与农业区划研究所农业部植物营养与养分循环重点实验室, 北京 100081)

摘要:低剂量毒物刺激作用(hormesis)是在毒物剂量/效应关系中低剂量毒物可能表现出对生物生长的一种刺激作用。大量的实验数据表明毒物刺激作用发生的剂量低于未观察到毒性效应的剂量(NOAE),毒物刺激作用的最大刺激效应一般是对照的130%~160%,是一种客观存在的剂量/反应现象。就毒物刺激作用的概念、机理、毒物刺激作用剂量/反应曲线的一些定量特点和模型的拟合等方面进行了综述,并用实例说明毒物刺激作用模型的最新拟合方法的应用,最后提出了目前毒物刺激作用研究中存在的问题及今后的研究方向。

关键词:毒物刺激作用; 剂量/反应关系; 模型; 拟合

文章编号:1000-0933(2009)08-4408-12 中图分类号:Q143 文献标识码:A

Advances in the effects, mechanisms and modeling of hormesis in terrestrial ecosystems

GUO Xue-Yan, MA Yi-Bing*, LI Bo

Ministry of Agriculture Key Laboratory of Plant Nutrition and Nutrient Cycling, Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(8): 4408 ~ 4419.

Abstract: Hormesis is a dose-response phenomenon which is characteristic of a low dose stimulation. Large amounts of data indicate that hormesis starts to occur immediately below the no observed adverse effect levels (NOAE) and the maximum stimulatory response is generally approximately 30%—60% greater than the control, which exists objectively. This article provides an overview of hormesis, mainly including its concept, mechanisms, quantitative features and the fitting models. Also the examples of the model fitting are given. Finally, the key issues and orientation of research work on hormesis are also illustrated and proposed.

Key Words: hormesis; dose-response; modeling

随着工农业的迅猛发展,环境污染问题日趋严重,环境风险评价和环境质量标准的制定越来越受到人们的重视。剂量/反应关系是进行毒理学风险评估与环境质量标准制定的最基本原理。然而研究表明,在一些剂量/反应关系曲线中,毒物在低剂量时表现出对生物生长的刺激作用,在高剂量时则表现出了对生物生长的抑制作用。近 100 多年以来有很多这种低剂量毒物刺激作用现象的研究报道,涉及到很广范围内的物种(动物、植物和微生物),生物终点(生存、生长、繁殖、基因表达和酶的活性等)以及无机和有机化学物质^[1,2]。王东红等人^[3]在综述中总结了出现毒物刺激作用的大量有毒物质,暴露生物及在低剂量下的效应。但长久以来,在实验的设计上人们只注重高剂量的反应,很少关注更低剂量下的反应,当出现毒物刺激作用时,结果虽

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20677077, 40620120436);中国博士后科学基金资助项目

收稿日期:2008-04-24; 修订日期:2008-12-05

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ybma@caas.ac.cn

然可以重复,但由于不符合传统模型而被视为错误的结果,或被作为生物学不相关的随机变异而被忽略不计,从而忽视了客观存在的毒物刺激作用,造成了自然现象的解释和阈值的制定偏差。

最近一系列的新发现和对以往发现的重新验证使毒物刺激作用成为近年来的关注热点。Calabrese 和 Baldwin^[1,4] 基于研究设计、毒物刺激作用的一些定量特征、统计分析和试验数据的可重复性,制定了用来评估实验是否展现出低剂量毒物刺激作用判断标准,该标准在排除了化学品类型和物理因子、生物模型及观测终点的影响后,仍展现了多达 5600 例的毒物刺激作用,从而说明低剂量毒物刺激作用是客观存在的现象。随后在《自然》杂志上发表的文章,对长期用于化学物进行危险度评价的传统的模型提出质疑,提出了一个新的预测模型,即毒物刺激作用模型(hormetic dose-response model)^[5]。《Science》也发表了多篇关于低剂量毒物刺激作用(hormesis)的评论^[6,7]。在国外,以 Calabrese 为代表的科学家做了大量的工作^[1,2,4,5,8-16]。在国内也有相关的研究,并有几篇关于低剂量毒物刺激作用的综述,但主要集中在放射和衰老领域^[17-19],目前有关于陆地生态系统中低剂量环境污染物的刺激作用及拟合模型的综述性报道还很少。

本文简要叙述了陆地生态系统中低剂量毒物刺激作用概念,探讨了机理,总结了低剂量毒物刺激作用的定量特征,并重点讨论了低剂量毒物刺激作用拟合的模型,并结合具体的实例说明模型拟合的方法,最后提出了目前毒物刺激作用研究中存在的问题及今后的研究方向,以加深人们对低剂量毒物刺激作用的认识,促进低剂量毒物刺激作用模型的应用。

1 毒物刺激作用的概念

低剂量毒物刺激作用是在毒物剂量/效应关系中低剂量毒物可能表现出对生物生长的一种刺激作用。也可表述为与对照值相比,生理或生殖适应性的增强,但随着毒物暴露水平的提高会被抑制效应所替代^[10,20]。早在 1888 年,德国药理学家 Schulz^[21] 就描述过毒物刺激作用的现象,Schulz 通过几种有毒化学物质对酵母菌的毒性研究,发现低剂量的毒物可刺激酵母的生长,仅在高剂量才会抑制其生长,并提出这种刺激效应普遍存在于所有的有机物和有毒试剂中。直到 1943 年,Southam 和 Ehrlich^[22] 在研究红雪松的提取物对真菌新陈代谢的影响时正式提出毒物刺激作用(hormesis)这一术语。此后,不同的学科采用了不同术语来描述这种剂量-反应关系,如两相,非单调的,Bell 型,U-型,倒 U-型,J-型,过度反应(overshoot),矫正效应(rebound effect),功能性抗体(functional antagonism),预适应(preconditioning)和适应性的反应等,也有一些术语把这一现象当作一种生物学的定律,如 Hueppe 规则^[23],以及在 20 世纪早期又被称为 Arndt-Schulz 定律^[24]等,最近 Calabrese 等人在做一些工作,试图使各个学科在描述低剂量的毒物刺激作用时,能够使用一个统一的术语^[15]。

2 毒物刺激作用的机理

目前,虽然低剂量毒物刺激作用已被证实,但其作用机制仍然不清楚。现将几种可能的机理叙述如下:

2.1 过度补偿(overcompensation)理论

Calabrese^[9] 认为,毒物刺激作用显示了一种过度补偿效应,低剂量有毒物质刺激机体的有益反应,使机体的正常功能得以加强,从而更好地抵御之后的刺激。按照这一观点,生物体受到刺激,最初的抑制反应之后会出现一个补偿过程,使有益反应轻微地过度表达。过度补偿假说已有很久的历史^[13]。在大量分析了有关毒物刺激作用及其机制的报道后,Calabrese^[8] 认为不同类型的毒物刺激作用有着不同的生物学机制,而相同类型的毒物刺激作用却未必有相同的生物学机制。这一分类为评估毒物刺激作用提供了一个框架,能够区分不同毒性物质作用下特异的剂量/反应关系的相同点或不同点,该分类方法对揭示毒物刺激作用毒理学机制有重要参考价值。

2.2 矫正过度(overcorrection)理论

Stebbing^[25] 指出由于所有的有毒试剂在高浓度时都抑制生物的生长,毒物刺激作用可能是生物体对于低剂量抑制的一种反应,是生物体的一种自我矫正。任何通过这样的控制机制对抑制的矫正过度都会导致毒物刺激作用现象,而且该理论还指出在哺乳动物或单细胞生物体中出现的毒物刺激作用,其机理应是亚细胞

水平的。调节控制机制最有可能的方式是对生物合成速率进行调整,不仅表现在生物化学水平改变上,而且还表现在生物体发生毒物刺激作用现象的整个过程中,毒物刺激作用是调节生物体控制的副产品^[26]。

2.3 DNA 损伤修复理论

DNA 损伤是大多数有毒物质致机体损害作用的重要途径,机体对其修复能力的强弱直接关系到所受损害的大小。DNA 双链断裂被认为是电离辐射所致细胞 DNA 损伤的主要类型,低剂量辐射通过诱导某些 DNA 修复蛋白合成,增强 DNA 双链断裂修复能力,进一步表现为细胞对染色体畸变和基因突变的适应性反应^[27]。由于细胞 DNA 损伤修复是影响细胞存活的主要因素,目前认为低剂量刺激通过激活多种信号传导通路,最终激活 DNA 修复基因,使其转录。

研究表明毒物刺激作用不可能用单一的机制来解释。在医学上,毒物刺激作用的作用机制尤其是分子药理学关注的焦点。通过已有的理论基础和实践,其中部分反应机制已经在受体水平被阐明,并且发现并不是单一的机制在起作用,而是多种机制共同作用的结果。但是在陆地生态系统中,大部分毒理学研究者虽然报道了毒物刺激作用现象,然而并没有实验证据揭示出现这种剂量/反应的机理,另一方面由于出现毒物刺激作用现象的生物以及化学和物理刺激物各种各样,而评价毒物刺激作用的每个终点都会受到不同受体体系的影响,因此目前还没有被大家普遍接受的毒物刺激作用的机理。

3 毒物刺激作用曲线特征

3.1 毒物刺激作用曲线形状

剂量/效应关系是指不同剂量的外源化学物与其引起的质效应发生率之间的关系。剂量/效应曲线是通过以表示反应的百分率或比值为纵坐标,以剂量为横坐标,绘制散点图所得到的。不同毒物在不同条件下引起的反应类型是不同的,因此,在用曲线进行描述时可呈现不同类型的曲线(图 1)。(1)直线型,反应强度与剂量呈直线关系,即随着剂量的增加,反应的强度也随着增强,并成正比例关系。但在生物体内,此种关系较少出现,仅在某些体外实验中,在一定的剂量范围内存在。(2)S 形曲线,此曲线较为常见。它的特点是在低剂量范围内,随着剂量增加,反应强度增高较为缓慢,剂量较高时,反应强度也随之急速增加,但当剂量继续增加时,反应强度增高又趋于缓慢,成为“S”形状。(3)抛物线型,即随着剂量的增加,反应的强度也增高,且最初增高急速,随后变得缓慢,以致曲线先陡峭后平缓,而成抛物线形。(4)“倒 U”型(J 型)曲线,存在一个最大(或小)效应,高于或低于该效应浓度时均表现出效应减弱(或增强)。

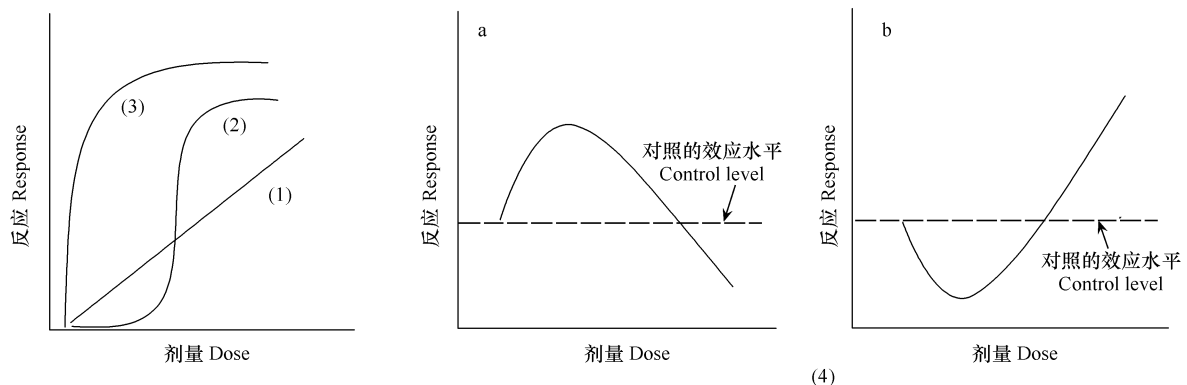


图 1 剂量/反应曲线的类型

Fig. 1 The types of dose-response curves

(1) 直线型 Linear; (2) S 形曲线 Sigmoidal curve; (3) 抛物线型 Parabolic curve; (4) “倒 U”型(图 a) Inverted U-shaped curve (figure a), J 型(图 b) J-shaped curve (figure b)

自 19 世纪末期,大量的毒理学文献报道的“倒 U”型(J 型)曲线,认为是典型毒物刺激作用。依据所检测的终点不同,毒物刺激作用剂量/反应曲线可以是倒 U 型,也可以是 J 型。前者主要表现为外源性化学物或

其他因子在低剂量时对机体的正常生命终点有轻微的刺激(兴奋)效应,优于对照组,在高剂量下则表现为抑制,如以生长情况(如多种有毒金属、除草剂和放射物在低剂量条件下对植物生长状况的影响)或存活情况(如低剂量 γ 射线对啮齿类寿命的影响)为观测终点时,其剂量/反应曲线呈倒U型;后者表现为外源性化学物质或其他因子在低剂量时对机体所受损伤(如肿瘤)的抑制效应,其发病率低于对照组,而在高剂量时则相反,如以发病率(如突变、畸变、癌症)为观测终点时,其剂量/反应曲线呈J型。Calabrese^[14]分析统计了大量存在毒物刺激作用的剂量/反应数据,其有毒物质涵盖了包括重金属化合物、氰化物、多环芳烃、多氯联苯、有机砷化物以及农药和一些抗生素在内的所有有毒物质,模式生物包括植物、动物、微生物和人在内的高等动物以及12种不同类型的观测终点。可以看出无论选用什么样的试剂、模式生物和观测终点,大量的实验数据反映了毒物刺激作用都具有一些共同特点,主要表现在低剂量毒物刺激作用的最大刺激效应,以及毒物刺激作用发生的剂量范围与未观察到毒性效应的剂量(NOAE)的关系都具有一些相似的特征。在刺激作用的概念下,其实隐含着在广剂量范围内,呈现不同的毒性种类,最终导致表现上的不同类型的形状。注意区分激素的作用和有毒物质低剂量下的刺激作用。

3.2 毒物刺激作用的发生剂量

毒物刺激作用实际上是传统剂量/反应中的一个组成部分,在高于NOAE值时,毒物刺激作用剂量/反应曲线和传统的S剂量/反应曲线是一样的,刺激作用出现在低于NOAE,即低于NOAE才是毒物刺激作用发生的剂量。通常最大刺激效应的剂量大部分(约占70%)在NOAE值的1/5~1/10倍的范围内^[14]。然而,由于所选用的生物模型之间的差异,也有一些最大刺激效应的剂量在NOAE值1/50倍范围内,有的甚至小于1/500倍^[11, 12]。由于NOAE值随模式生物,所研究的体系和观测的终点而变化,但根据已有的数据表明刺激区的宽度并不随模型生物显著变化,而随所选择的观测终点变化很大,有近20%免疫反应的最大刺激效应的剂量小于NOAE值的1/500倍,大部分刺激区的宽度较窄最有可能是观测终点以及各处理组的实验条件变化不大的缘故,然而目前还不能从机理上解释刺激区宽度的变化。经常报道的毒物刺激作用发生的剂量在 $10^{-5} \sim 10^{-9}$ mol/L范围内^[14]。毒物刺激作用的剂量范围是曲线的一个重要的特点,对于毒理学、公众健康、医疗和风险评价具有重要的意义。

3.3 毒物刺激作用最大刺激效应

在毒物刺激作用的剂量/反应曲线中,其峰值表示最大刺激效应,一般是对照的130%~160%,大约有80%的刺激反应在200%范围以内^[14](图2)。下面的表1中总结了常见的重金属和有机污染物的在选用不同的模式生物和观测的终点时,NOAE值以及毒物刺激作用最大效应和相应的剂量。

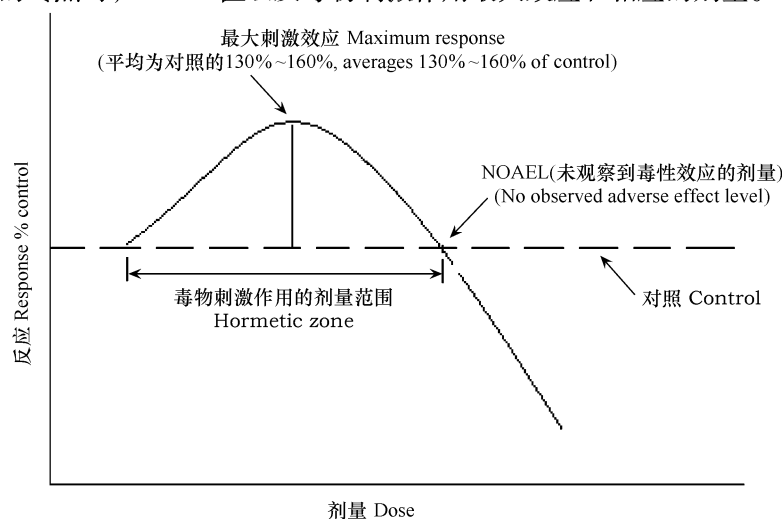


图2 剂量-反应关系中毒物刺激作用的定量特点^[16]

Fig. 2 Dose-response curve depicting the quantitative features of hormesis^[16]

表 1 陆地生态系统中的模式生物暴露在一些常见的环境污染物质中时表现出的毒物刺激作用的特征

Table 1 The characteristics of representative examples of hormesis displayed by common environmental pollutants and experimental models in terrestrial ecosystems								
有毒物质种类 Toxic substances	模式生物 Experimental models	评价指标 Measured endpoints	NOAEL	最大刺激作用的剂量 The dose of maximum stimulatory response	最大刺激效应 Maximum stimulatory response	参考文献 References		
重金属 Heavy metals	Cu	CuSO ₄ ·5H ₂ O	水蚤 Daphnia	幼虫的数目 Number of young in daphnia	0.072	0.06	138	[28]
	Pb	CuCl ₂	猴子花 Monkey flowers	发芽率 Germination	0.207	0.076	131	[29]
			浮游植物 Phytoplankton	光合作用 Photosynthesis	0.206	0.07	140	[30]
			跳虫 Springtail	生存率 Survival	1074*	76*	135	[31]
			线虫 Nematodes	数量的增长 Population growth	300*	200*	164	[32]
Cd	Pb(CH ₃ COO) ₂	驼孢锈病菌 Hemileia vastatrix	发芽率 Germination	0.96	0.107	189	[33]	
		PC12 神经细胞 PC12 neural cell	每个细胞的长度 Length/cell	0.312	0.0021	165	[34]	
		跳蚤 Springtail	生存率 Survival	1485*	12.7*	148	[31]	
		真菌 Fungi	线型生长 Linear growth	120	71	112	[35]	
		雄性 Wistar 鼠 Male Wistar rat	脑髓中 cAMP 磷酸二酯酶的活性 cAMP phosphodiesterase activity in brains	79	32.5	133	[36]	
Zn	CdCl ₂	雌性水蚤 Female daphnid	繁殖数 Number of offspring	0.0061	0.0028	178	[37]	
		链球菌 Streptococcus	排泄物的生长 Growth of faecalis	18	10	180	[38]	
		大豆 Soybean plants	植株的高度 Height	11	6.9	137	[39]	
		人 Human	1321N1 细胞的分裂 Proliferation of 1321N1 cells	1.60	0.009	189	[40]	
		中国鼠 Chinese hamster	卵巢细胞 CHO-Cdr 的存活数 The survival of ovary cell line CHO-Cdr	6.588	0.338	180	[41]	
Cr	ZnSO ₄	老鼠 Rat	成肌细胞的数目 Cell number of myoblasts	0.0026	0.00042	148	[42]	
		兔子 Rabbit	肌浆球蛋白中 ATP 酶的活性 ATPase activity in myosin	253.6	131.6	136	[43]	
		人 Human	ALA 脱水酶的活性 ALA dehydratase activity in erythrocytes	80.5	26.6	271	[44]	
		老鼠 Rat	脑膜中地卓西平键合 Dizocilpine binding in brain membranes	2.59	1.23	120	[45]	
		真菌 Fungi	干重 Dry weight	6.28	2.51	144	[46]	
Hg	CrCl ₃	牛 Cattle	肾上腺髓质细胞中儿茶酚胺的分泌 Catecholamine secretion in bovine adrenal medullary cells	4.283	0.438	130	[47]	
		淡水桡足类动物 Fresh-water copepod. B zschokkei	繁殖参数(总窝数) Reproductive parameters	0.012	0.003	128	[48]	
		星细胞 Astrocytes	纤维状神经胶质酸性蛋白的含量 Glial fibrillary acidic protein content	1.35	0.001	127	[49]	
		耐性植物 Tolerant race of plant	根伸长 Root elongation	0.0327	0.00077	168	[50]	

续表 1

有毒物质种类 Toxic substances	模式生物 Experimental models	评价指标 Measured endpoints	NOAEL	最大刺激作用的剂量 The dose of maximum stimulatory response	最大刺激效应 Maximum stimulatory response	参考文献 References
有机 污染物 Organic pollutants	浮萍 Duckweed	过氧化氢的活性 Catalase activity	0.06	0.008	123	[51]
	烃 Hydrocarbon 甲苯 Toluene	生长 Growth	32.359	0.861	203	[52]
	原油 Crude oil	生长 Growth	2.01	0.792	144	[53]
多氯联苯 Polychlorinated biphenyls	海藻 Algae					
	Clothen (PCB) A50	存活幼仔数目 Number of live kits	2.24*	1.26*	160	[54]
	成熟雌性 Mated female					
多溴联苯醚 Polybrominated diphenyl ethers	多溴联苯醚-100 PBDE-100	绕脚类幼虫 Copepod larval	0.645	0.011	129	[55]
	氯丹 Chlordane	真涡虫 Planarian	1.0 $\mu\text{L/L}$	0.76 $\mu\text{L/L}$	323	[56]
	乐果 Dimethoate	老鼠 Rat	0.530*	0.289*	142	[57]
农药 Pesticide	狄氏剂 Dieldrin	污棉虫 Cotton stainer	0.598 μg	0.34 μg	121	[58]
	比芬诺 PyrifenoX	蛾 Codling moth	7.5 ng ai cm^{-2}	1.76 ng ai cm^{-2}	144	[59]
	滴滴涕 DDT	黄瓜 Cucumber	14.9%	0.278%	128	[60]
药物 Medicament	壬基酚 4-Nonylphenol	雌性水蚤 Female daphnid	0.0276	0.0159	161	[61]
	异丁醇 Isobutylalcohol	莴苣 Lettuce	2.754	0.759	120	[62]
	草甘膦 Glyphosate	稗草 Barnyard grass	0.121 kg ae hm^{-2}	0.085 kg ae hm^{-2}	130	[63]
青霉素 Penicillin	青霉素 Penicillin	细菌 Bacteria	0.03 unit/ml	0.01 unit/ml	156	[64]
	邻苯二甲酸单 (2-乙基己基) 酯 Mono- (2-ethylhexyl) phthalate	老鼠 Rat	0.557	0.111	250	[65]
	三碘甲状腺氨酸 Triiodothyronine	幼鼠 Fetal rat	0.00065	0.000065	175	[66]

表中所列的剂量是用毒物刺激作用模型对文献中的试验数据拟合后得到,剂量的单位除特别标明外,其单位为 mg/L , 其中带 * 的单位为 mg/kg The dose listed in Table 1 obtained by fitting the data with hormesis model, the unit of dose is mg/L , except specially labelling, the asterisks represent mg/kg

单位 ng ai cm^{-2} 中“ai”代表有效成分(active ingredient); 单位 ng ae hm^{-2} 中“ae”代表酸当量(acid equivalent); NOAEL: 无观察毒性效应剂量 No observed adverse effect level

4 毒物刺激作用的模型拟合

既然已经证实毒物刺激作用是一种客观存在的剂量/反应现象,那么对于数据的分析就需要功能强大的统计分析模型来检验刺激作用是否存在以及预测出现毒物刺激作用时的特殊剂量。通常剂量/反应毒性数据符合 S 型曲线,可以用对数模型进行拟合。不同文献采用的方程形式略有差异^[67],下面的方程(1)是常用的一种形式。

对数模型,log-logistic 模型:

$$E[Y|x] = \delta + \frac{\alpha - \delta}{1 + \theta \exp[\beta \ln(x)]} \quad (1)$$

其中 $E[Y|x]$ 代表了在剂量为 x 时的平均反应; α 和 δ 分别是拟合曲线的反应上限值和下限值。参数 θ 和 β 分别与曲线的斜率及曲线的拐点有关。当 $\beta > 0$ 时,反应的趋势是单调的递减的,模型拟合得到曲线是关于拐点对称的曲线。

然而当出现毒物刺激作用时,上述的模型并不能很好的拟合实验的数据。但在处理数据时,普遍的做法就是要么把出现毒物刺激作用的数据点当作异常点去掉,要么仍用对数模型进行拟合。这样拟合的效果很差,对照的反应往往可能被过高的估计,而且会导致得到的 EC_x 估计值不正确。Brain 和 Cousens 于 1989 年^[68]对上述对数方程进行了修改,在分子上增加了一项 γx ,来表示毒物刺激作用的贡献,其提出的模型如下:

毒物刺激作用模型(又称 Brain-Cousens 模型):

$$E[Y|x] = \delta + \frac{\alpha - \delta + \gamma x}{1 + \theta \exp[\beta \ln(x)]} \quad (2)$$

方程中各个参数的含义同上,其中 γ 是低剂量下反应初始速率增加的度量。由于方程是非线性的,通常用非线性回归来拟合实验的数据,从而给出包括 γ 在内的各参数的估计值及相应的标准偏差和置信区间。Caux 和 Moore^[69]曾详细介绍了使用 Excel 软件对实验数据用模型(2)进行拟合的方法,也可以使用其它的非线性拟合统计分析软件,如 SAS, SPSS, Tablecurve, Origin 等。总的来说,这些软件能使统计分析过程大大简化。

在上述 Brain 和 Cousens 所提出的模型中,并不存在一些特殊剂量的简单表达式,如 EC_{50} ,因此要知道出现毒物刺激作用的剂量范围和最大刺激效应的剂量也是很困难的。Van Ewijk 和 Hoekstra^[62], Schabenberger 等人^[63]以及 Bailer 和 Oris 等^[70~73]应用推广了 Brain-Cousens 模型,所建立的参数化模型能够同时考虑毒物刺激作用和有效剂量的预测(表 2)。这种模型已经开始应用到毒物刺激作用的拟合^[74],相信会得到广泛的应用。

表 2 由对数模型和毒物刺激作用模型可以推导特定的剂量下的反应^[63]

Table 2 Parameterizations of the log-logistic and the Brain-Cousens models to allow inference about particular dosage effects^[63]

模型 Model	参数 * Parameter	定义参数 Defining relationship	$\omega =$	$E[Y x] =$
(1)	EC_{50}	$\theta = \omega \exp[-\beta \ln(EC_{50})]$	1	$\delta + \frac{\alpha - \delta}{1 + \exp[\beta \ln(x/EC_{50})]}$
(1)	EC_x	$\theta = \omega \exp[-\beta \ln(EC_x)]$	$\frac{\chi}{100 - \chi}$	$\delta + \frac{\alpha - \delta}{1 + \exp[\beta \ln(x/EC_x)]}$
(2)	EC_{50}	$\theta = \omega \exp[-\beta \ln(EC_{50})]$	$1 + \frac{2\gamma EC_{50}}{\alpha - \delta}$	$\delta + \frac{\alpha - \delta + \gamma x}{1 + \omega \exp[\beta \ln(x/EC_{50})]}$
(2)	EC_x	$\theta = \omega \exp[-\beta \ln(EC_x)]$	$\frac{\chi}{100 - \chi} + \left(\frac{100}{100 - \chi}\right) \frac{\gamma EC_x}{\alpha - \delta}$	$\delta + \frac{\alpha - \delta + \gamma x}{1 + \omega \exp[\beta \ln(x/EC_x)]}$
(2)	M^{**}	$\theta = \omega \exp[-\beta \ln(M)]$	$1 + \frac{M\gamma}{(\alpha - \delta)\beta - M\gamma(1 - \beta)}$	$\delta + \frac{\alpha - \delta + \gamma x}{1 + \omega \exp[\beta \ln(x/M)]}$

(1) 对数模型 Log-logistic model; (2) 毒物刺激作用模型 Brain-Cousens model or Hormetic dose-response model; * 模型中的参数 The parameter to be incorporated into the model; ** 出现毒物刺激作用的最大效应 The maximum response in the presence of hormesis

最近 Cedergreen 等人^[75]指出 Brain-Cousens 模型在描述毒物刺激作用时,由于要求参数 $\gamma > 0$ 和 $\beta > 1$,使用 Brain-Cousens 模型拟合实验数据有一定的局限性,如在某些情况下不能拟合实验数据。通过对毒物刺激作用模型做了部分修改,他们提出了下述经验模型:

$$E[Y|x] = \delta + \frac{\alpha - \delta + \gamma(-1/x^\alpha)}{1 + \theta \exp[\beta \ln(x)]} \quad (3)$$

方程中各个参数的含义同上,其中 α 决定了刺激效应增加的速率。

并用上述 3 种模型对实验数据进行拟合比较,表明经验模型(3)比模型(2)能更好地拟合实验数据,而且功能更强大。但模型(3)也存在一定的缺点,一般在剂量/反应曲线低剂量端的数据有限,故不能通过常规的拟合程序来估计 α 值,而 α 值只能固定为 3 个水平上:0.25, 0.5 或 1,另外不能直接通过模型中的参数获得有关毒物刺激作用最大刺激效应和特殊的剂量值的问题依然存在。

4.1 毒物刺激作用的显著性检验

在实际处理实验数据的时候,当遇到各个剂量下的反应都低于对照的反应时,可以从剂量/反应曲线明显看出,在所研究的剂量范围内,不存在毒物刺激作用;当遇到个别低剂量下的反应高于对照的反应时,如果仅从图上还不能判断这种现象是由毒物刺激作用引起的还是由试验的随机误差或者由系统误差引起的,则需要借助统计分析来判断是否存在毒物刺激作用。

Brain 和 Cousens^[68]提出:毒物刺激作用显著性检验的零假设 H_0 是 $\gamma = 0$,即 γ 与零无显著性差异。这就意味着,当 γ 为 0 时,不存在毒物刺激作用。检验采用 t 统计量,其数学定义为: $t_{\text{obs}} = \frac{\hat{\gamma}}{\text{e. s. e. of } \hat{\gamma}}$, ($\hat{\gamma}$ 是通过模型对实验数据进行拟合后所得到的估计值, e. s. e., 估计值的标准偏差), t 统计量服从 $n-5$ 个自由度的 t 分布(n 为数据点的数目)。统计分析软件,如 SPSS,将自动计算 t 统计量的观测值(t_{obs})和对应的概率 p 值。如果概率 p 值小于 0.05 的显著性水平,则应拒绝零假设,认为 γ 与零有显著性差异,存在毒物刺激作用;如果概率 p 值大于 0.05 的显著性水平,则不应拒绝零假设,认为 γ 与零无显著性差异,不存在毒物刺激作用,方程就简化成 log-logistic 模型。

Van Ewijk 和 Hoekstra^[62]提出了检验毒物刺激作用的另一种方法:由于一般的剂量反应曲线用对数模型进行拟合,在有毒物刺激作用时采用毒物刺激作用模型进行拟合(线型对数模型),故可以通过下述公式检验: $F_{\text{hormesis}} = (\text{SSE}_{\text{logistic}} - \text{SSE}_{\text{linlogistic}}) / \delta^2$, $\text{SSE}_{\text{logistic}}$ = 对数模型残差的平方和; $\text{SSE}_{\text{linlogistic}}$ = 毒物刺激作用模型残差的平方和; δ^2 残差变化的估计值,相当于 $\text{SSE}_{\text{linlogistic}} / \text{残差的自由度}$ 。 F 统计量服从 $(1, df)$ 个自由度的 F 分布,假设的检验同上。

Schabenberger 等人^[63]则提出了更为简单的判断方法。如果在 95% 的置信区间内, γ 的预测值不包括 0,那么数据就显示了统计学意义上显著的毒物刺激作用。

4.2 模型拟合优度的检验

Schabenberger 等人^[63]用调整的决定系数(R^2 -统计量)来进行拟合的优度检验,方法类似线性回归方程拟合优度的检验。但该方法当方程有下限值(δ)时才能使用,调整的决定系数可以通过下式来计算: $\text{Pseudo-} R^2 = 1 - \frac{\text{SSR}_{\text{es}}}{\text{SSTotal}_{\text{connected}}}$,一般来说,用调整的决定系数来判断方程的拟合优度时应谨慎使用。为了保证实验的精度,每个剂量下有好几个重复, Van Ewijk 和 Hoekstra^[62]则采用了类似毒物刺激作用的检验方法判断模型拟合的优度, $F_{\text{lof}} = \{ (\text{SSE} - \text{SS}_{\text{rep}}) / (df_e - df_{\text{rep}}) \} / \delta^2$, SSE = 当前模型残差的平方和, SS_{rep} = 总重复的平方和, df_e = 当前所使用的模型参数的自由度, df_{rep} = 重复之间的自由度, δ^2 残差变化的估计值,相当于 $\text{SS}_{\text{rep}} / df_{\text{rep}}$ 。 F 统计量服从 $(df_e - df_{\text{rep}}, df_{\text{rep}})$ 个自由度的 F 分布。

下面结合文献中的实例来说明使用毒物刺激作用模型对实验数据进行拟合的方法。

4.3 实例

下面的实验数据来自链球菌排泄物的生长与 CdCl_2 的浓度的关系^[38]。实验的数据分别用对数模型和毒

物刺激作用模型进行拟合(图3),所得到的相关数据见表3。调整的决定系数($\text{Adj } R^2$)是模型拟合好坏的一个检验指标,由表中的结果可以看出毒物刺激作用模型能更好的拟合实验的数据。使用对数模型拟合得到的曲线过高的估计对照达46%,而毒物刺激作用模型仅低估对照1%,因此毒物刺激作用模型拟合得到的曲线能更精确的反映对照值。毒物刺激作用拟合的结果可以看出,最大刺激效应对照的180%,而且还可以得到刺激作用的剂量区,即NOAEL值,这也是在进行风险评价时,需要知道的剂量。

5 结论和展望

目前,毒物刺激作用研究取得了很好的进展,对毒理学研究起到了很大的推动作用。毒物刺激作用的存在意味着毒物低剂量下的效应不能通过线性模型或阈值模型进行简单的外推,需要通过合理的实验设计来确定低剂量下的剂量/反应关系。毒物刺激作用发生的剂量低于未观察到毒性效应的剂量(NOAEL),最大刺激效应一般是对照的130%~160%,通过对这些定量特征的认识,对于毒理学和风险评价具有重要的意义。尽管对毒物刺激作用已经有了很好的认识,但是毒物刺激作用要得到广泛的应用,还有以下几个方面需要加强研究:

(1)以Calabrese为代表的科学家做了大量的毒物刺激作用方面的研究,已被证实毒物刺激作用是一种客观存在的剂量/反应现象,但毒物刺激作用是否为有毒物质与生物体作用的一个普遍现象,还需要进一步研究。

(2)毒物刺激作用是由过度补偿效应,矫正过度,还是通过激活DNA修复基因引起的,还是由多种机制共同作用的结果,还没有令人满意的解释。随着技术手段的提高,从分子水平上阐明毒物刺激作用的机制将是重要的研究热点。

表3 实验数据拟合得到的相关参数的估计值,括号内的区间为预测值95%的置信区间

Table 3 Results from fitting the data with the log-logistic and the Brain-Cousens models. The ranges given in parentheses are $\pm 95\%$ confidence interval

模型 Model	拟合得到的对照值 The fitted control values with models	EC_{10}	EC_{50}	γ	R^2	Adj. R^2
对数模型 Log-logistic model	1.46 (0.77 ~ 2.12)	18.4	20.2 (0.05 ~ 8910)		0.82	0.56
毒物刺激作用模型 Brain-Cousens model	0.988 (0.44 ~ 1.53)	19.2 (11.5 ~ 26.9)	25.2 (12.8 ~ 37.6)	13 (-4.7 ~ 30.9)	0.97	0.93

(3)已提出的Brain-Cousens模型以及在此基础进行修正的模型,虽然在拟合毒物刺激作用时取得了较为满意的结果,但这些模型存在一个共同的问题,即不能直接从模型中的参数获得人们关注的毒物刺激作用最大刺激效应和特殊的剂量值;在求一些特殊剂量时,还需要做一些数学变换,造成使用上的不便。所以,在毒物刺激作用的数据拟合方面应当加强拟合模型的唯一性,简便性和适用广泛性的研究。

References:

[1] Calabrese E J, Baldwin L A. The dose determines the stimulation (and poison): development of a chemical hormesis database. International

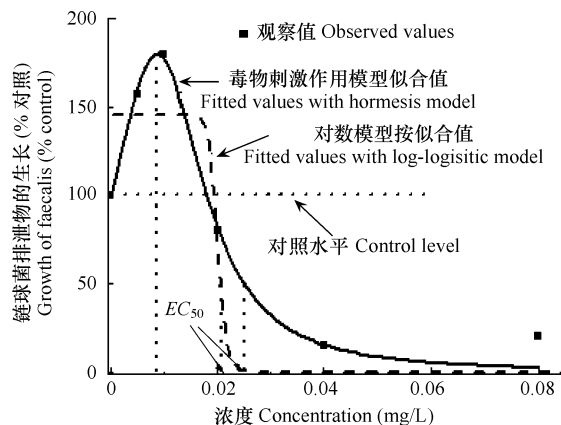


图3 链球菌排泄物的生长与 CdCl_2 的浓度剂量反应数据分别用对数模型和毒物刺激作用模型拟合的曲线

Fig. 3 The growth of streptococcus faecalis as a function of the concentration of CdCl_2 . Dash line represents data fitted with log-logistic model and solid line represents data fitted with Hormesis model

- Journal of Toxicology, 1997, 16(6): 545—559.
- [2] Calabrese E J, Blain R. The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2005, 202(3): 289—301.
- [3] Wang D H, Pen A, Wang Z J. Advances in study of hormesis. *Journal of Safety and Environment*, 2004, 4 (1): 18—21.
- [4] Calabrese E J, Baldwin L A. A quantitatively based methodology for the evaluation of chemical hormesis. *Human and Ecological Risk Assessment*, 1997, 3(4): 545—554.
- [5] Calabrese E J, Baldwin L A. Toxicology rethinks its central belief. *Nature*, 2003, 421(6924): 691—692.
- [6] Kaiser J. Hormesis: Sipping from a poisoned chalice. *Science*, 2003, 302 (5644): 376—379.
- [7] Kaiser J. Hormesis: A healthful dab radiation? *Science*, 2003, 302 (5644): 378.
- [8] Calabrese E J, Baldwin L A. A general classification of U shaped dose/response relationships in toxicology and their mechanistic foundations. *Human & Experimental Toxicology*, 1998, 17(7): 353—364.
- [9] Calabrese E J. Overcompensation stimulation: a mechanism for hormetic effects. *Critical Reviews in Toxicology*, 2001, 31 (4-5): 425—470.
- [10] Calabrese E J, Baldwin L A. Defining hormesis. *Human & Experimental Toxicology*, 2002, 21(2): 91—97.
- [11] Calabrese E J. Hormesis: changing view of the dose response—a personal account of the history and current status. *Mutation Research*, 2002, 551 (3): 181—189.
- [12] Calabrese E J, Baldwin L A. Applications of hormesis in toxicology, risk assessment and chemotherapeutics. *Trends Pharmacological Science*, 2002, 23 (7): 331—337.
- [13] Calabrese E J. Hormesis: from marginalization to mainstream: A case for hormesis as the default dose-response model in risk assessment. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2004, 197(2): 125—136.
- [14] Calabrese E J. Paradigm lost, paradigm found: The re-emergence of hormesis as a fundamental dose response model in the toxicological sciences. *Environmental Pollution*, 2005, 138(3): 379—412.
- [15] Calabrese E J, Bachmann K A, Bailer A J, *et al.* Biological stress response terminology: Integrating the concepts of adaptive response and preconditioning stress within a hormetic dose-response framework. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2007, 222(1): 122—128.
- [16] Calabrese E J. Hormesis: Why it is important to toxicology and toxicologists. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27 (7): 1451—1474.
- [17] Liu S Z. Advances in study of hormesis of low dose radiation. *Foreign Medical Sciences (Section of Radiation Medicine and Nuclear Medicine)*, 1996, 20(5): 219—223.
- [18] Yang X H, Zhuang Z X. Advances in study of hormesis. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2006, 40(1): 60—61.
- [19] Tao G H. Research status of the mechanism of hormesis. *Journal of the Graduates Sun YAT-SEN University (Natural Sciences, Medicine)*, 2007, 28(1): 16—21.
- [20] Wright D A, Welbourn P. *Environmental Toxicology*, Cambridge: Cambridge University Press.
- [21] Schulz H. Über Hefegifte. *Pflügers Archiv für die gesamte Physiologie des Menschen und der Tiere*, 1888, 42: 517—541.
- [22] Southman C M, Ehrlich J. Effects of extract of western red-cedar heartwood on certain wood-decaying fungi in culture. *Phytopathology*, 1943, 33: 517—524.
- [23] Hueppe F. *Principles of Bacteriology*. Translated from the German by Jordan E O. The Open Court Publishing Company, Chicago, IL, USA, 1896.
- [24] Schulz H. *Rudolf Arndt and the Fundamental Law of Biology*. L. Greifswald, Bamberg, Germany, 1918.
- [25] Stebbing A R D. Hormesis the stimulation of growth by low level of inhibitors. *The Science of the Total Environment*, 1982, 22(3): 213—234.
- [26] Stebbing A R D. Growth hormesis: a by product of control. *Health Physics*, 1987, 52(5): 543—547.
- [27] Zhou P K, Sui J L, Yang S H. Hormetic effect of low dose radiation on cellular DNA repair. *Chinese Journal of Radiological Medicine and Protection*, 1997, 17(3): 155—158.
- [28] Winner R W. Toxicity of copper to Daphnids in reconstituted and natural waters. *Ecological Research Series*, EPA-600/3-76-051, 1976.
- [29] Searcy K B, Mulcahy D L. The parallel expression of metal tolerance in pollen and sporophytes of *Silene dioica* (L.) Clairv., *S. alba* (Mill.) Krause and *Mimulus guttatus* DC. *Theoretical and Applied Genetics*, 1985, 69(5-6): 597—602.
- [30] Wood A M. Available copper ligands and the apparent bioavailability of copper to natural phytoplankton assemblages. *The Science of the Total Environment*, 1983, 28(1-3): 51—64.
- [31] Sandifer R D, Hopkin S P. Effects of temperature on the relative toxicities of Cd, Cu, Pb, and Zn to *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1997, 37(2): 125—130.
- [32] Parmelee R W, Wentzel R S, Phillips C T, *et al.* Soil microcosm for testing the effects of chemical pollutants on soil fauna communities and trophic

- structure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1993, 12(8): 1477—1486.
- [33] Nutman F J, Roberts F M. Stimulation of two pathogenic fungi by high dilutions of fungicides. *Transactions of the British Mycological Society*, 1962, 45(4): 449—456.
- [34] Crumpton T, Atkins D S, Zawia N H, *et al.* Lead exposure in phenochromocytoma (PC12) cells alters neural differentiation and Sp1 DNA-binding. *Neurotoxicology and Tetratology*, 2001, 22(1): 49—62.
- [35] Smith W H, Staskawicz B J, Harkov R S. Trace-metal pollutants and urban-tree leaf pathogens. *Transactions of the British Mycological Society*, 1978, 70(1): 29—33.
- [36] Sandhir R, Gill K D. Lead perturbs calmodulin dependent cyclic AMP metabolism in rat central nervous system. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 1994, 33(4): 729—742.
- [37] Bodar C W M, Van Leeuwen C J, Voogt P A, *et al.* Effect of cadmium on the reproduction strategy of *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 1988, 12(4): 301—310.
- [38] Doyle J J, Marshall R T, Pfander W H. Effects of cadmium on the growth and uptake of cadmium by microorganisms. *Applied Environmental Microbiology*, 1975, 29(4): 562—564.
- [39] Levings M K. Effects of cadmium chloride on growth and pigments in *Glycine Max* L., *Quercus rubra* L., *Acer saccharinum* L., and *Cucumis sativus* L. In: master of Science thesis. Purdue University, 1977. 1—73.
- [40] Mead C, Pentreath V W. Hypertrophy and increased glial fibrillary acidic protein are coupled to increased protection against cytotoxicity in glioma cell lines. *Toxicology in Vitro*, 1998, 12(2): 141—152.
- [41] Monia B P, Butt T R, Mirabelli C K, *et al.* Induction of metallothionein is correlated with resistance to auranofin, a gold compound, in Chinese hamster ovary cells. *Molecular Pharmacology*, 1987, 31(1): 21—26.
- [42] Von Zglinicki T, Edwall C, Ostlund E, *et al.* Very low cadmium concentrations stimulate DNA synthesis and cell growth. *Journal of Cell Science*, 1992, 103(4): 1073—1081.
- [43] Nimura E, Miura K, Shinobu LA, *et al.* Enhancement of Ca⁺-sensitive myosin ATPase activated by cadmium. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1987, 14(2): 184—189.
- [44] Meredith P A, Moore M R, Goldber A. Effects of aluminum, lead, and zinc on delta-aminolaevulinic acid dehydratase. *Enzyme*, 1977, 22(1): 22—27.
- [45] Reynolds I J. Interactions between zinc and spermidine on the N-methyl-D-aspartate receptor complex: Clues to the mechanism of action of 1,10-bis (guanidine)decane and pentamidine. *Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1992, 263(2): 632—638.
- [46] Draggan S. Interactive effects of chromium compounds and a fungal parasite on carp eggs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1977, 17(6): 653—659.
- [47] Liu P S, Lin M K. Biphasic effects of chromium compounds on catecholamine secretion from bovine adrenal medullary cells. *Toxicology*, 1997, 117(1): 45—53.
- [48] Brown R J, Rundle S D, Hutchinson T H, *et al.* A copepod life-cycle test and growth model for interpreting the effects of lindane. *Aquatic Toxicology*, 2003, 63(1): 1—11.
- [49] Cookson M R, Pentreath V W. Alterations in the glial fibrillary acidic protein content of primary astrocyte cultures for evaluation of glial cell toxicity. *Toxicology in Vitro*, 1994, 8(2): 251—259.
- [50] Patra J, Lenka M, Panda B B. Tolerance and co-tolerance of the grass *Chloris barbata* Sw. to mercury, cadmium and zinc. *New Phytologist*, 1994, 128(1): 165—171.
- [51] Subhara A V, Nanda, A K, Behera P K, *et al.* Acceleration of catalase and peroxidase activities in *Lemna mino* L. and *Allium cepa* L. in response to low levels of aquatic mercury. *Environmental Pollution*, 1991, 69(3): 169—179.
- [52] Dunstan W M, Atkinson L P, Natoli J. Stimulation and inhibition of phytoplankton growth by low molecular weight hydrocarbons. *Marine Biology*, 1975, 31(4): 305—310.
- [53] Mahoney B M, Haskin H H. The effects of petroleum hydrocarbons on the growth of phytoplankton recognized as food forms for the Eastern oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Environmental Pollution (Series A)*, 1980, 22(2): 123—132.
- [54] Brunstrom B, Lun B, Bergman A, *et al.* Reproductive toxicity in mink (*Mustela vison*) chronically exposed to environmentally relevant polychlorinated biphenyls (PCBs). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2001, 11(6): 489—495.
- [55] Breitholtz M, Wollenberger L. Effects of three PBDEs on development, reproduction and growth rate of the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes*. *Aquatic Toxicology*, 2003, 64(1): 85—96.
- [56] Best J B, Morita M, Abbotts B. Acute toxic responses of the freshwater planarian, *Dugesia dorotocephala*, to chlordane. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1981, 26(1): 502—507.

- [57] Folker-Hansen P, Krogh P H, Holmstrup M. Effect of dimethoate on body growth of representatives of the soil living mesofauna. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1996, 33(3): 207—216.
- [58] Hodjat S H. Effects of sublethal doses of insecticides and of diet and crowding of *dysdercus fasciatus* sign. (Hem., Pyrrhocoridae). *Bulletin of Entomological Research*, 1971, 60: 367—378.
- [59] Abivardi C, Weber D C, Dorn S. Effects of azinphos-methyl and pyrifenoxy on reproductive performance of *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae) at recommended rates and lower concentrations. *Annals of Applied Biology*, 1998, 132(1): 18—33.
- [60] Chapman R K, Allen T C. Stimulation and suppression of some vegetable plants by DDT. *Journal of Economic Entomology*, 1948, 41(4): 616—623.
- [61] Baldwin W S, Graham S E, Shea D, *et al.* Metabolic androgenization of female *Daphnia magna* by the xenoestrogen 4-nonylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1977, 16(9): 1905—1911.
- [62] Van Ewijk P H, Hoekstra J A. Calculation of the EC_{50} and its confidence interval when subtoxic stimulus is present. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1993, 25(1): 25—32.
- [63] Schabenberger O, Tharp B E, Kells J J, *et al.* Statistical tests for hormesis and effective dosages in herbicide dose response. *Agronomy Journal*, 1999, 91(4): 713—721.
- [64] Miller W S, Green C A, Kichen H. Biphasic action of penicillin and other sulphonamide similarity. *Nature*, 1945, 155(3929): 210—211.
- [65] Lloyd S C, Foster P M D. Effect of mono-(2-ethylhexyl) phthalate on follicle-stimulating hormone responsiveness of cultured rat sertoli cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1988, 95(3): 484—489.
- [66] Lorenzo M J, Cacicedo L, Tolon R M, *et al.* Triiodothyronine regulates somatostatin gene expression in cultured fetal rat cerebrocortical cells. *Peptides*, 1995, 16(2): 249—253.
- [67] Seefeldt S S, Jensen J E, Fuerst P. Log logistic analysis of herbicide dose response relationships. *Weed Technology*, 1995, 9(2): 218—227.
- [68] Brain P, Cousens R. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses. *Weed Research*, 1989, 29(2): 93—96.
- [69] Caux P Y, Moore D R J. A spreadsheet program for estimating low toxic effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1997, 16(4): 802—806.
- [70] Bailer A J, Oris J T. Estimating inhibition concentrations for different response scales using generalized linear models. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1997, 16(7): 1554—1559.
- [71] Bailer A J, Oris J T. Defining the baseline for inhibition concentration calculations for hormetic hazards. *Journal of Applied Toxicology*, 2000, 20(2): 121—125.
- [72] Bailer A J, Hughes M R, Denton D, *et al.* An empirical comparison of effective concentration estimators for evaluating aquatic toxicity test responses. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2000, 19(1): 141—150.
- [73] Bailer A J, Elmore R T, Shumate B J, *et al.* A simulation study of characteristics of statistical estimators of inhibition concentrations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2000, 19(12): 3068—3073.
- [74] Muysen B T A, Janssen C R. Zinc acclimation and its effect on the zinc tolerance of *Raphidocelis subcapitata* and *Chlorella vulgaris* in laboratory experiments. *Chemosphere*, 2001, 45(4-5): 507—514.
- [75] Cedergreen N, Ritz C, Streibig J C. Improved empirical models describing hormesis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(12): 3166—3172.

参考文献:

- [3] 王东红, 彭安, 王子健. 有毒物质低剂量刺激作用的研究进展. *安全与环境学报*, 2004, 4(1): 18~21.
- [17] 刘树铮. 低水平辐射兴奋效应研究进展. *国外医学·放射医学核医学分册*, 1996, 20(5): 219~223.
- [18] 杨晓华, 庄志雄. 毒物刺激作用的研究进展. *中华预防医学杂志*, 2006, 40(1): 60~61.
- [19] 陶功华. 低剂量兴奋效应作用机制的研究进展. *中山大学研究生学刊(自然科学、医学版)*, 2007, 28(1): 16~21.
- [27] 周平坤, 隋建丽, 杨素红. 低剂量辐射对细胞 DNA 修复兴奋效应. *中华放射医学与防护杂志*, 1997, 17(3): 155~158.