转基因植物食品安全问题

李小芳　郑云雁　王晓玲编译
(卫生部食品卫生监督检验所,北京　100021)

2000 年 5 月 29 日～6 月 2 日 FAO/WHO 联合专家委员会就生物技术食品问题在日内瓦召开会议。

1996 年、1993 年 FAO/WHO 和 OECD(经济合作发展组织)的专家委员会分别提出"实质等同性原则"(Substation Equivalence),认为该方法是评价供人消费的转基因植物食品、食品成分安全方法的重要组成部分。使用这个方法的目的不是要保证转基因食品的绝对安全,因为任何食品都不可能绝对安全,而是要确保转基因食品及其食品成分与传统的同类食品相比同样安全。

一些国家认为该方法是科学的、实用的,但也有国家批评这个方法未为转基因食品安全评价提供充分的依据,建议各国政府及国际组织考虑其它方法。

鉴于此,FAO 和 WHO 召开这次专家委员会,总结 1996 年以来的工作,讨论是否可以根据新的科学信息建立新的转基因食品安全评价方法,同时,根据新的科学研究,评价"实质等同性原则"概念的科学性、应用性和局限性。

这次会议讨论的范围是用 DNA 重组技术形成的转基因植物食品及食品成分的安全、营养问题,及用其他技术形成的转基因植物食品及食品成分的概念及原理。

本次会议所讨论的"转基因植物"或"转基因食品"指的是用 DNA 重组技术形成的转基因植物,或由 DNA 重组技术形成的转基因植物生产的食品及食品成分。

1　评价方法

很久以来,人们就认识到用常规毒理学方法研究整食品的安全性非常困难,其局限性在用动物试验评价辐照食品的安全性时就显得非常突出。

动物试验在许多安全性评价中是主要手段,如农药、食品添加剂的安全性评价。在这些评价中,绝大多数受试物的性质明了,纯度明了,无特殊营养价值,人的接触量少。这些受试物在一定的剂量范围内动物试验结果比较明显,而其中的一些受试物的剂量远远大于人实际接触的剂量。

相反,食品是由成分复杂、营养价值不等的化合物混合组成的。由于其体积和作用的关系,动物试验饲喂的量要模拟在人的食物中的量。另外还要考虑食物的营养价值及营养平衡,避免受试物以外的作用产生的有害结果。对于某一食品来说,发现有害作用并对有害作用与该食品某一特性的关系作出结论是非常困难的。是否用动物试验要考虑,在研究中动物试验是否能提供有意义的信息。

实际上,现在食用的食品很少做过毒理学研究,其安全性是人们经过世代食用而认知的。在研究新食品安全评价方法时,有必要确立一个安全食品的基准定义。1991 年 OECD 的安全食品的定义为:在适当的条件下食用后确实无害的食品是安全食品。

用传统的毒理学试验方法和危险评价程序评价整食品的安全性存在的诸多困难,决定了必须选择其他方法。由此产生了评价转基因食品的"实质等同性原则"(Substantial equivalence,以下简称 SE)这个概念。

用传统的安全性评价方法评价转基因食品非常困难。因为动物试验不能提供充分的有意义的信息,不能得到可靠而充分的安全评价结果,所以这次会议认为 SE 方法是转基因食品安全评价的好方法,该方法的另一个优点是可在毒理学研究中减少使用动物。

本次会议认为,SE 方法是安全评价过程中的关键步骤,但不是安全评价的全部内容,因为 SE 不能给危害定性,因而只是转基因食品安全评价的组成部分。

安全评价是首先将转基因物(植物、微生物或动物)及/或由转基因物生产的食品与其最接近的传统同类食品对比,以发现两者目的作用方面和非目的作用方面的区别,从而形成安全评价的位点,比较时使用的数据要来自经典的方法和可靠的统计分析,

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

比较时要考虑到农艺学、基因学和化学诸方面,只有这些都考虑到了,才能作出客观的安全评价。比较后进一步的研究方法及研究程度,取决于所比较出的"不同"的性质。

一些国际组织已制定了新食品、转基因植物、转基因微生物的安全性评价方法,其共同点是,安全评价应是从整体到部分到个别逐级地进行。一些专家研制了"判断树"(decision trees),以帮助解决特殊个例中的试验进行到什么程度的问题。在制定正确的安全评价方案时,这种方法非常有用。

转基因食品和传统同类食品的比较结果决定转基因食品的安全评价方案,其程序由一系列的因素构成。这些因素包括:同一性,来源,成分,加工/烹饪作用,基因转移过程,所结合的 DNA(插入体的稳定性、潜在的基因转移),新 DNA 的蛋白质表达产物(功能作用、潜在毒性、潜在致敏性),由基因表达或宿主 DNA 分裂或代谢产生的副作用,包括微量、常量营养素成分,拮抗营养素的成分,内源性毒素,致敏源、生理活性物质,潜在的饮食摄取方面的影响。以上这些因素是针对转基因植物食品的,在评价转基因动物食品、转基因微生物食品时要根据实际情况,考虑到其它一些因素。

如果出于食品本身的性质,所得到的数据不足以充分支持安全评价,就需要进行动物试验,尤其是可能是主要食品之一的食品、没有食用史的食品、因基因修饰而改变代谢方式的食品。如果转基因食品和传统同类食品相比出现一个或几个新基因及其产物,并可能可以将其分离出来,则可用类似研究食品添加剂那样用现行的毒理学试验方法研究。但必须保证所试验的物品在生物化学上、功能上与从转基因食品中得来的一致。这样的方法其敏感性高于直接用转基因食品饲喂试验,也可避免在整食品的毒理学试验中出现的人为因素。然而这仅在前面的详细分析中没有得到所期望的明显区别的情况下应用,并且可能还要进行整食品试验。用动物进行整食品试验时,应模拟人的消费方式,动物试验的类型根据试验个例的实际情况决定。此外,在研究潜在毒理学作用时,如果基因修饰直接或间接影响营养素的生物吸收率也要做动物试验。

对长期食用的转基因食品安全评价时应作毒理学研究。90 d 喂养动物试验是最低要求。试验前先做一个短期小试验。确保食物对试验动物来说是可口的,受试物的混合比例、含量是适宜的,即含相同水平对照成分的对照食物结果阴性,就像在传统食品中虽然也含有一定水平的天然毒素,但是安全的一样。任何动物试验,最大剂量为不引起营养不平衡的最大量,最低剂量为人的可能摄取量。

是否做其他毒理学试验可根据个例的实际情况,参考 90 d 喂养结果和其他研究结果,如在 90 d 喂养试验中发现组织增生变化,有必要做更长期的毒理学试验。

2 目的作用和非目的作用

通过插入特定的 DNA 序列到宿主细胞中可以得到有特殊靶性质的细胞(目的作用 intended effects),理论上讲也会增加或失去一些特性(非目的作用 unintended effects)。转基因食品的安全评价包括检测非目的作用的方法和评价其生物相关性的步骤及对食品安全的影响。

产生非目的作用的因素很多,如随机插入的片段打乱了原来的基因序列,改变了蛋白质的表达,或形成新代谢产物。高水平的酶表达可能会导致生化反应副作用,即由于改变代谢路线而改变了代谢形式。

使用 DNA 重组技术经常出现非目的作用,当然这种情形也常发生于机体的内部原因及常规养殖中。

由于基因修饰而产生的非目的作用可分为两种,一种是"可预知的"(predictable),这种非目的作用或是与目的作用联接的代谢,或是人们对插入位点的知识已有所了解。第二种是"不可预知的"(unexpected)。由于人为的基因修饰比自然发生的基因改变精密度高,因此预知非目的作用影响的代谢比较容易。

用于检测非目的作用的对照物应是在同样条件下生长的父母本同源的物质。实际上这不是绝对可行的,必要时可选择尽可能近的品系的物种,由此而带来的自然方面的不同应在评价非目的作用的统计学意义时考虑进去。

观察到有统计学意义的非目的作用的区别后,应评价其生物学意义。这可从导致变化的机制得知,为评价非目的作用的生物学和安全的关系,应比较转基因食品与传统食品的数据及文献,如果变化超过传统植物的自然变化,应作进一步的安全评价。

现行的非目的作用的安全评价方法部分是依靠特殊化学成分的检测(靶方法 targeted approach),为提高检测能力,一种概括性的检测技术被认为是十分有用的(非靶方法 non-target approach)。概括性检

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

测(profiling techniques,PT)可用于不同水平,即基因水平、蛋白质水平和代谢水平,因此比靶方法可检测的指标更多。但目前该方法还不完善,有一定的局限性。

将来,植物的基因修饰可能会更复杂,可能会有多重种间 DNA 转移,这将导致非目的作用出现的增多。

用于检测转基因食品与传统食品区别的 PT 法可能会根据不同的健康需要而不同。

这次会议认为目前评价转基因食品的最好方法是"实质等同性原则"。同时认为安全评价应与转基因技术的发展共同前进。新的方法学如 PT 法,提供了更细化的分析比较工具,但是这些方法还需经过相当的研究才能到达实用。

3 营养问题

一些转基因产品是针对营养问题的,如用 DNA 重组技术改变营养成分,改变营养成分含量和改变功能。可以预料将来会研制很多为解决人类健康问题的转基因食品。

有大量的为改善健康和增加食品功能而研制的转基因食品。如有两个转基因水稻品种:一个产β-胡萝卜素,另一个谷氨酸含量低。还有为降低总脂、低密度胆固醇水平而设计的 camla 油、豆油。一种叫"金谷"的转基因食品是针对 VA 缺乏症而设计的。这些食品的研制指出了研制减少人类与营养有关的疾病的转基因食品的潜力。

种内和种间交配和变种的传统植物配育技术是通过产生基因变化来选择最希望得到的基因表型,这是期望得到的结果(expected outcome),然而在所有的植物培育过程中都会产生意料外的结果(unexpected outcome)。低谷蛋白含量的基因修饰大米,明显改善酿酒所需的贮存蛋白质,但却使醇溶谷蛋白的含量上升,这说明,在特定的蛋白质水平上的关键性改变可影响其他蛋白质。醇溶谷蛋白水平的改变不影响其工业应用,但作为食品则影响其营养质量和有潜在的致敏性。赖氨酸含量高的基因修饰大豆的意外结果是油含量低。

用标准的营养分析方法,如总蛋白质、总氨基酸测定检测不出低谷蛋白大米的醇溶谷蛋白的变化。仅能用 SDS 凝胶电泳测出(sodium dodecyl sulfate)。同样标准营养分析方法也不能检测出强化β-胡罗卜素基因修饰大米中的 xanthophylls,而是用 HPLC 检测胡萝卜素时发现的。因此正确的营养素分析方法对发现意料外结果是非常重要的。

在谷类植物的培育中,包括使用 DNA 重组技术,至少通过两个途径导致大量变化,(1)改变植物成分组成的基因修饰能改变植物的综合营养状态,影响植物个体营养形式。(2)营养素的意料外改变也能影响植物的营养形式,进而影响人的营养状态。尽管是评价单个基因修饰植物成分的安全性,但还必须测定综合营养状态变化产生的影响。由于单个营养素的变化能影响植物的加工和营养结果,所以应推进和加强对营养素和毒性的综合评价。这适宜于所有类型植物培育造成的营养形式变化所导致的潜在的影响健康的植物。断定转基因食品的综合营养状态是否改变,转基因植物食品是否导致饮食摄取模式改变是非常重要的。明显的营养改变是通过消费后评价来断定综合饮食是否改变了,改变到何种程度,之后才能进行营养状态影响的评价。

查明基因修饰后的营养成分的生物可利用性、长期稳定性、加工、贮存后的稳定性是十分重要的。例如在发展中国家遇到这样的问题:在贮存条件下,转基因大米中的胡萝卜素的稳定性如何。

一方面人们在寻找新的安全保证,另一方面人们仍用传统的分析方法测定食品成分,如检测总蛋白、总脂肪、总灰分、总纤维和总微量元素,这些方法需不断增加新方法以检测意料外结果、改变了的营养状态、影响吸收和健康的生物利用性。

由于存在营养水平上的潜在变化,在一些情况下,变化了的营养素与其他营养成分的内部作用及意料外作用,需通过动物试验检测由于营养状态改变和营养的生物利用性改变产生的结果。正常范围内的营养变化评价程度低于超常范围的营养变化评价程度。

在发展中国家和发达国家,转基因食品可以改善食品的营养状态,提供人群具有强化功能的食品。主要问题是可能存在营养平衡问题和发生意料外的营养素改变和产生其他成分的问题。

一种特定的谷类植物的营养水平的改变可以从整体上影响饮食摄取。在这样的情况下,监测营养素水平的变化、生物可利用性的变化,评估它们对消费者营养和健康方面的潜在作用是十分重要的。然而,对消费者营养状态的影响的安全评价适用于所有原因引起的重要的饮食变化而不仅对转基因食品。

4 特别问题

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

特别的食品安全问题包括在消化道中转基因植物食品的基因转移物是否会转移到肠道微生物和哺乳动物细胞中,耐抗生素基因在转基因植物中常被选作标记物,带有这种基因的食品可能引起致敏,需对其评价。

人每天摄取 0.1～1.0 g RNA 和 DNA,并被大量吸收,人类食入的转基因食品的新 DNA 低于所摄入 DNA 总量的 1/250000,加之饮食 DNA 的消化率,基因从转基因食品转移到哺乳动物细胞的可能性非常低,即使有也可忽略不计。

在通常的饮食条件下植物的基因转移到微生物或哺乳动物细胞需具备以下条件:

® 植物 DNA 的相关基因以线性碎片形式释放出来。

® 基因不被植物中和胃肠道中的核酸酶消化。

® 基因与饮食中的其它 DNA 存在竞争性吸收。

® 被转移的微生物和哺乳动物细胞必须能接受转移来的基因,而转移来的基因还得不被受体的酶所破坏。

® 基因必须在极少发生的基因修补或重组时插入宿主 DNA 内。

为了评价植物 DNA 转移到微生物和哺乳动物细胞中的可能性,已做了大量的试验,目前还没有一个试验报告植物转移到这些细胞中。(Schubbert 等 1998 报告),在动物试验中,给小鼠口饲大剂量的含有转移 DNA 的细菌,结果表明,试验 DNA 片段明显地与细菌 DNA 和小鼠 DNA 结合。而其他报告则是没有或仅少量转移被发现,该实验的观察结果被严厉质询(Beever and kemp 2000),认为该数据不能说明植物 DNA 能转移并稳定地保留在哺乳动物细胞中。此外也无证据证实基因可以从植物基因上完整地转移到哺乳动物细胞中并表达。

还应注意的是,已知细菌的大部分没有自然转移能力,到目前为止也没有证据表明在自然条件下,植物基因能转移到细菌中并表达。在试验室条件下,同系物重组可导致基因转移(Nielsen et al. 1998),在许多情况下转基因植物中插入的基因序列与原核生物基因同源。这次会议认为应对用转基因玉米饲养的鸡和羊进行检验,检验消化道中正常菌群细菌的 DNA 吸收情况。

如果转基因食品的基因平行转移到细菌,那么这个基因(如耐抗生素基因)就可能改变受体细胞的正常状态。不正常的受体细胞不具备从基因库中去掉基因或基因片段的选择力,这样出现在细胞群中的 DNA 将成为受体种群演变的预备基因。

哺乳动物细胞吸收植物 DNA 的结果不同于细菌,因为已有的文献表明这种 DNA 不通过细菌系统转移。目前还不清楚含外源性 DNA 的细胞被吞噬的程度,也不清楚体细胞内结合 DNA 的稳定情况和复制情况。哺乳动物细胞会受外源性 DNA 影响,而不管来源如何。

基因平行转移的最重要的问题是从转基因食品中转移的基因的结果和在受体细胞中的表达。如果转移可能导致健康问题,那么应将这种转移的可能程度作为安全评价的一部分。

1993 年 WHO 已对常用于转基因植物中的抗生素耐性基因标记物进行了严格的评价,没有证据证实这些标记物对人类和家养动物有健康危害。但根据大量文献中报道的变异性基因的转移频率,尽管功能性抗生素耐性基因对受体细胞的转移和表达很少,但也不能忽视。如果受体细胞是抗抗生素作用的,抗药性细胞的增殖会破坏药物的治疗效果。这就需注意,是否已有大量的对该抗生素有抗性的培养细菌,是否该抗生素可能是有重要医学价值或有选择性的有效治疗效果。

对于一些通常用于转基因植物的抗生素耐性基因,现有文献认为,基因的平行转移基本上不会对相应药物的一般治疗作用有明显影响。还有一些对药物有抗性的基因,这些药物或有重要的特定治疗作用,或有一定程度的选择治疗作用,这些基因的转移和表达可能会有使转基因生物、转基因食品、转基因食品成分的基因组广泛传播的危险。

有大量产生不用抗生素耐性基因的商用转基因产品的办法,包括基因转移成功后移走抗性基因的方法,用选择性标记基因的方法。如果用选择性标记基因,也需进行安全评价。一些植物品种的实用性转移的相关方法的研究是必需的,这次会议鼓励以后的研究使用选择转移技术。而如果进行选择性技术的研究,就要大力开展相关问题的研究。

最常见的食物过敏是 IgE 介导的过敏反应。婴幼儿比成人易发生 IgE 介导的食物过敏。纯粹的食物过敏也包括细胞介导的过敏反应,1996 年国际食品技术委员会和国际生命研究院的致敏和免疫研究所提出一个"判断树"方法,该方法已被农业生物技术部门广泛采用。该方法针对基因的来源、新引进的蛋白质与已知过敏原的序列同源性、新引进的蛋白质与 IgE 的免疫化学结合性,(该 IgE 是由已知致敏物质刺激产生的,而该致敏物质中含有被转移的

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

基因片段)、新引进的蛋白质的物理化学性质。此研究已被这次会议认可用于评价转基因食品的致敏性。

由于转基因食品通常含有新蛋白质,其安全性应包括新蛋白质的致敏性评价。"判断树"方法需调查大量的食品致敏原参数。尽管仅确定过敏性单个指标是不够的,但这些性质有利于验证潜在的致敏基因物质。"判断树"所用的有关指标如下:

(1)转基因物质的来源:尤其要警惕来自含有已知过敏源的物质。

(2)序列同源性:许多过敏原的氨基酸序列是已知的。

(3)新引进蛋白质的免疫反应性:如果新蛋白移自已知的致敏原,或与已知的过敏原有序列同源性,那么这个新蛋白与过敏体质的个体血清 IgE 的反应性可被确定。

(4)pH 的影响/消化的影响:多数致敏原对胃酸和消化道蛋白酶有抗性。

(5)热及加工稳定性:食品中不稳定的致敏原烹饪后或加工后食用致敏性较小。

当转基因食品含有的基因来自已知过敏物质,就应考虑新基因产物是致敏的,除非能证明不是。现行的"判断树"提倡评价结合性,即新蛋白与过敏个体血清 IgE 的结合性,该血清 IgE 是由供体基因物质致敏产生的。

当转基因食品所含基因的供体无致敏历史时,现行的"判断树"方法主要依靠与已知过敏原比较序列同源性及看新蛋白对消化及加工的稳定性。现在普遍认为仅用这两个指标评价是不充分的。

现用的序列相似的标准为至少 8 个相邻氨基酸相同的片段,这一观点被批评,建议无须那么多,相似序列中 4 个相邻氨基酸是相同的即可。之所以用 8 个,可能是因为与 T 细胞结合的抗原决定簇最小长度为 8 个氨基酸。对那些不连续的,有立体构型的抗原决定簇这个指标是不适用的,因为这些抗原决定簇取决于蛋白质的三级结构。然而食品致敏原的热稳定性表明这些特殊的致敏原为非常明显线性的、连续的抗原决定族,会议认为国际科学界应探讨使用序列同源性评价转基因食品致敏性的方法。

在评价转基因食品的致敏性时,消化稳定性是一个相当有用的指标。模拟哺乳类动物胃肠消化模型已被用于评价已知食品致敏原和通过基因修饰引入食品的蛋白质和消化稳定性。一些新生蛋白质可能对消化液是稳定的但不是致敏原。所以需要检测这些蛋白质的潜在致敏性。

新蛋白表达的水平和位点是评价致敏潜在性"判断树"的一个重要部分。新蛋白的作用也应是评价致敏潜在性"判断树"的一部分。一些类别的蛋白质是已知的致敏原,如胡桃、向日葵籽。植物的许多与致病性有关的蛋白质显示致敏活性,所以所有类别的蛋白质都需要仔细检查。会议认为国际科学界应列出具有潜在致敏性的功能蛋白质的一览表。当然没在这表上的蛋白质也必须被评价,但功能蛋白质部分的评价是整个评价体系中最重要的部分。

会议讨论了用动物模型评价转基因食品致敏性的可能性,可惜的是目前还没有可靠、有效的评价转基因食品致敏性的动物模型。

会议还讨论了一些诸如分子量法的其他方法,但都无大裨益。

会议认为还应对转基因食品中能引起面筋敏感性肠道疾病的新蛋白质的作用进行评价。如果基因来自小麦、黑麦等相关谷物,必须认真考虑新蛋白质激发面筋敏感性肠道疾病的可能存在作用。如果对这些谷物进行了基因修饰,应考虑可能产生的作用。国际科学界应探索研制评价转基因食品的新蛋白在面筋致敏肠疾病中的作用的"判断树"方案。

基因修饰可使一些特殊食品中自然发生的蛋白质致敏原减少或受到制约。一个例子是通过抗敏感技术研制的转基因谷物品种,该品种显著地降低了重要的谷致敏原的水平。

中图分类号:R15,Q753　　**文献标识码**:E　　**文章编号**:1004 - 8456(2001)02 - 0041 - 05

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net