

## 玉米赤霉烯酮毒性研究进展(综述)\*

王怡净 张立实

(四川大学华西公共卫生学院,四川 成都 610041)

玉米赤霉烯酮(Zearalenone, ZEA), 又称 F-2 毒素, 是由镰刀菌产生的一种霉菌毒素。主要产毒菌株为禾谷镰刀菌, 此外, 粉红镰刀菌、尖孢镰刀菌、三线镰刀菌、串珠镰刀菌、黄色镰刀菌以及雪腐镰刀菌等也能产生 ZEA。玉米、小麦、燕麦和大麦等作物易受到 ZEA 污染, 由于 ZEA 具有生殖发育毒性、免疫毒性, 对肿瘤发生也有一定影响, 对人和动物的健康有潜在危害, 所以日益受到重视。本文就 ZEA 的毒性研究进展及其可能的作用机制作一简要综述。

### 1 理化性质及代谢

ZEA 最初于 1962 年由 Stob 等<sup>[1]</sup> 从污染了禾谷镰刀菌的发霉玉米中分离得到。ZEA 为白色晶体, 分子式  $C_{18}H_{22}O_5$ , 熔点 161 ~ 163, 不溶于水, 溶于碱性溶液、乙醚、苯及甲醇、乙醇等。其甲醇溶液在紫外光下呈明亮的绿-蓝色荧光。ZEA 为 2,4-二羟基苯甲酸内酯类化合物, 具有雌激素活性。

ZEA 主要有两条代谢途径与葡萄糖醛酸结合, 还原为玉米赤霉烯醇(Zearalenol, ZEL), ZEL 有两种非对应立体异构体  $\alpha$  和  $\beta$ 。 $\alpha$ -ZEL 熔点较低(168 ~ 169), 而  $\beta$ -ZEL 熔点较高(174 ~ 176)。前者的雌激素活性比 ZEA 高 3 倍, 后者与 ZEA 活性相同。

### 2 毒性

#### 2.1 对植物的影响

ZEA 侵染作物主要是由于作物的耕作、收获、运输和贮存期间温度适中而湿度较高时镰刀菌滋生、产毒所致。镰刀菌的生长、产毒与环境条件关系密切, 其最适生长温度为 20 ~ 30, 最适湿度为 40%。在冷暖交替时镰刀菌产毒能力较强, 秋收季节常有显著的温度变化, 可为镰刀菌的生长和产毒提供适宜条件。<sup>[2]</sup> 有报道表明在美国、加拿大、日本等国, ZEA 污染玉米、小麦、燕麦和大麦的情况较为

普遍。

ZEA 对植物具有多方面的生理效应。在组织培养中低浓度的 ZEA (0.01 ~ 1 mg/kg) 可促进愈伤组织的形成和生长, 促进再生植株和切芽的营养生长及茎尖分化; 而高浓度 (1 ~ 10 mg/kg) 则可抑制愈伤组织的形成和生长。<sup>[3]</sup>

ZEA 的消长情况与冬小麦的春化作用深度有关, 当 ZEA 的积累量达到高峰时, 标志着春化作用的完成。冬小麦、玉米、棉花等作物的花器官内 ZEA 的含量, 无论是雌蕊、雄蕊都以开花时达高峰, 表明它可能与授粉、受精有关。<sup>[4]</sup>

#### 2.2 对动物和人的影响

ZEA 可直接污染谷类等作物, 从而进入人或动物体内, 也可通过被污染的肉、奶等动物性食品进入人体。

##### 2.2.1 生殖发育毒性

早在 1928 年, McNutt 等<sup>[5]</sup> 就发现喂饲发霉玉米的猪发生雌激素综合征, 表现为外阴和乳腺肿大, 有的出现阴道和直肠脱垂。

单次给予未成熟大、小鼠 1 ~ 10 mg/kg BW ZEA 引起子宫重量增加, 连续 7 d 反复给予使累积剂量达 3.5 ~ 14 mg/kg BW 时也有这种作用。此效应是子宫特异性的, 且经口给予比其他途径更有效。组织病理学检查发现 ZEA 可促进子宫肌细胞的增殖和有丝分裂。

1988 至 1989 年, 内蒙古的两个村发生了一种不明原因的乳房肿大症的流行。病人的主要症状为乳房肿大、疼痛, 女性病人还有月经紊乱。病区母猪也有乳房肿大, 还有流产、死胎和产仔畸形等现象。从病区主食荞麦中分离到镰刀菌, 其侵染率 (34%) 显著高于非病区荞麦 (1%) 和小麦 (2%), 且病区荞麦试样提取液中可检出 ZEA, 含量为 75 ~ 200 mg/kg, 而非病区荞麦和小麦中未检出。<sup>[6]</sup>

用含 14 mg/kg ZEA 的干草喂饲奶牛, 可使其人工授精指数 (artificial insemination index, 指获得 1 次成功怀孕所需的授精数量) 从正常的 1.2 升高到 4。ZEA 可引起鲤鱼精子数量和质量下降。

\* 国家自然科学基金资助课题(环境类激素污染物对人类健康的影响及其作用机理研究, 批准号: 30030120)

给新生雌性大鼠单次皮下注射 1.0 mg ZEA, 成年后出现持续无卵性发情期 (persistent anovulatory estrus), 这些大鼠卵巢中保留有许多卵泡, 但没有新的黄体形成。<sup>[7]</sup> 这与新生期给予雌激素或雄激素产生无卵性不育是相似的。

雌性大鼠妊娠期每日给予 ZEA, 1 ~ 10 mg/kg BW 的剂量不对母体产生明显毒性, 但胚胎发生骨骼畸形, 且有剂量效应关系。

### 2.2.2 对肿瘤发生的影响

ZEA 能增加雌性小鼠肝细胞腺瘤及垂体腺瘤的发生率, 并有剂量 - 反应关系。<sup>[8]</sup>

Schoental<sup>[9]</sup> 在进行致癌试验时发现, 试验组大鼠出现由致癌剂处理而诱发的肿瘤, 此外, 试验组和对照组大鼠还发生了乳腺的腺纤维瘤、腺瘤、腺癌, 垂体腺癌, 睾丸间质肿瘤以及子宫纤维瘤等。在其他致癌试验中也有类似情况发生, 这些肿瘤所涉及的器官表明它们可能与动物饲料中的雌激素物质有关。因此 Schoental 认为它们是由污染饲料的 ZEA 或其代谢产物引起的。

Tomaszewski 等<sup>[10]</sup> 在增生和有腺癌发生的妇女子宫内中检出了 ZEA, 而正常子宫内中未检出, 提示 ZEA 对子宫腺癌的发生可能有一定作用。

给予 7 日龄和 20 日龄大鼠 ZEA 20 mg (约 1 mg/kg BW), 显著降低由 7,12 - 二甲基苯蒽 (DMBA) 诱导的乳腺癌的发生率, 且给予 ZEA 的大鼠发生的肿瘤都为腺癌。<sup>[11]</sup> 提示青春前期暴露于低剂量的 ZEA, 可能有保护乳腺免于致癌剂诱导的恶性转化的作用。

以上研究表明, ZEA 对肿瘤发生有不同的作用, 这可能与 ZEA 的剂量、人或动物暴露于 ZEA 时的年龄及种属差异等因素有关。

### 2.2.3 免疫毒性

以拌饲方式给予小鼠 10 mg/kg ZEA, 可显著降低小鼠对单核细胞增生李斯特氏杆菌的抵抗力, 但未引起组织病理学改变。<sup>[12]</sup> 已知 T 细胞依赖性巨噬细胞对早期防御李斯特氏菌有重要作用, 宿主随后的抵抗力是由 T 细胞介导的, 并伴有特定致敏 T 细胞和活化的巨噬细胞的产生。

在有 ZEA 存在时用十四烷酰佛波醇乙酯 (PMA) 作用于胸腺瘤细胞系 EL-4, ZEA 能显著升高 EL-4 的白细胞介素 2 (IL-2) 和白细胞介素 5 (IL-5) 的水平。<sup>[13]</sup>

ZEA 能抑制植物血凝素刺激的人外周血淋巴细胞增殖, 还能抑制刀豆素 A 和美洲商陆有丝分裂原刺激的 B 细胞和 T 细胞形成。

### 2.2.4 肝毒性

在大鼠肝细胞体外培养液中加入 0.5 ~ 15.0 mg/mL ZEA, 可使培养液中白蛋白及细胞内 DNA 含量下降。<sup>[14]</sup> 提示 ZEA 对体外培养大鼠肝细胞有损伤作用。

每日经口给予家兔 ZEA, 在第七天和第十四天, 低剂量组 (10 mg/kg BW) 碱性磷酸酶 (ALP) 显著升高, 高剂量组 (100 mg/kg BW) 丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、γ 谷氨酰胺转移酶 (GGT) 以及乳酸脱氢酶 (LD) 显著升高。<sup>[15]</sup>

给雌性大鼠腹腔内注射 ZEA (1.5 ~ 5.0 mg/kg BW), 48 h 后 ALT、AST、ALP、血清肌酐、胆红素等生化指标, 以及红细胞压积、平均红细胞容积 (MCV)、血小板和白细胞等血液学参数发生改变,<sup>[16]</sup> 表明 ZEA 有一定的肝毒性, 对血凝过程也有一定损害作用。

## 3 可能的作用机制

### 3.1 雌激素受体介导的途径

许多研究表明, ZEA 具有类似雌激素的作用。雌激素在靶组织中的生物效应依赖于胞浆中雌激素受体 (ER) 的存在。雌激素与 ER 结合后, ER 发生构型改变, 形成的复合物转移至胞核中, 与 DNA 模板结合, 调节靶基因转录和蛋白质合成。ER 与雌激素分子的结合亲和力非常高并有甾体特异性。ER 有 1 个高度变异的 N 末端区, 具有反式激活 (transactivation) 功能; 1 个高度保守的中央区, 负责特定的 DNA 结合、二聚化及核定位; 1 个 C 末端区, 参与配体结合及配体依赖的反式激活功能。<sup>[17]</sup> 大鼠 ER 有 2 种亚型, ER $\alpha$  和 ER $\beta$ , 二者有高度同源性, 但 C 末端配体结合区及 N 末端反式激活区不同。大鼠 ER $\alpha$  和 ER $\beta$  表达的组织分布和/或相对水平有很大差别。

ZEA 及其衍生物为非甾体化合物, 具有独特的大环内酯结构。但许多研究表明, ZEA 能与 17 $\beta$ -雌二醇竞争性结合胞浆 ER, 且甾体类抗雌激素 ICI182,780 能抑制 ZEA 的作用, 提示 ZEA 发挥雌激素作用也是由 ER 介导的。ZEA 与子宫 ER 的结合亲和力是雌二醇的 1/10。

ZEA 在 1 ~ 10 nmol/L 浓度能刺激 ER $\alpha$  和 ER $\beta$  的转录活性, 是 ER $\alpha$  的完全激动剂, ER $\beta$  的激动 - 拮抗剂。<sup>[18]</sup>

ZEA 与 ER 结合, 转移至胞核中, 与染色质结合, 继而调节基因转录和蛋白质合成, 从而影响细胞分裂和生长。ZEA 能刺激乳腺癌细胞 MCF-7 进入细胞周期,<sup>[19]</sup> 促进其增殖, 还能增加 MCF-7 细胞中雌激素调节基因 pS2 表达。

ZEA 和 1 $\beta$ -雌二醇都可引起雌性大鼠的无卵性不育,但 1 $\beta$ -雌二醇的作用能被雌激素结合蛋白-甲胎蛋白所阻断,而 ZEA 则不受甲胎蛋白影响,<sup>[7]</sup> Sheehan 等的研究也证明了这一点。<sup>[20]</sup> 这说明 ZEA 的作用机制与雌激素可能不完全相同。

### 3.2 损伤染色体

ZEA 可增加人外周血淋巴细胞姊妹染色单体交换(SCE)率;它在枯草杆菌重组试验中表现出 DNA 损伤效应,对溶源菌也有基因毒性,还有杀菌作用;ZEA 能在体外诱导 CHO 细胞的 SCE、染色体畸变和多倍性;还可小鼠肝、肾中形成 DNA 加合物。<sup>[21]</sup> ZEA 对溶源菌的毒性和形成加合物的效应都能被维生素 E 所抑制。

ZEA 对肿瘤发生的影响可能也与其对染色体的损伤有关。

### 3.3 干扰雄激素代谢

ZEA 还原为 ZEL 的反应由 3 $\alpha$ -羟甾脱氢酶(3 $\alpha$ -HSD)催化,而该酶通常催化肝灭活甾体激素的一个重要反应,即还原雄甾烷二酮为雄甾酮。Olsen 等发现,ZEA 在体外试验中能干扰此还原反应,而使 ZEL 的形成受到强烈抑制。<sup>[22]</sup> 这可能是 ZEA 发挥作用的另一途径,但尚需体内试验证实。

## 4 与其他霉菌毒素的相互作用

Boeira 等<sup>[23]</sup> 研究发现,ZEA 和脱氧雪腐镰刀菌烯醇(DON)对酿酒酵母有联合毒性作用,其作用按二者比例及所用酵母菌株的不同,可表现为相加、拮抗、协同等作用。但这种作用只在高浓度时才出现。

在检测霉菌毒素对小鼠免疫功能的影响时发现,ZEA 可显著降低同时给予的 DON 对小鼠迟发性超敏反应的抑制效应。<sup>[18]</sup>

## 5 小结

ZEA 是谷类作物中常见的一种霉菌毒素,其对作物的污染可能给农业生产带来损失,更重要的是,由于 ZEA 具有拟雌激素作用、生殖发育毒性和免疫毒性,对肿瘤发生也有一定影响,对动物和人类的健康可能产生较大危害。但由于 ZEA 的作用机制还未完全阐明,其对肿瘤发生的影响以及与其他物质(特别是环境中存在的一些类雌激素和抗雌激素物质)的相互作用也还所知甚少,因此有必要对其进行更深入的研究。此外,还需发展快速、灵敏、易行的检测方法和生物标志体系,以预防和控制 ZEA 对人类健康可能产生的危害。

## 参考文献:

- [1] Stob M, Baldwin RS, Tuite J, et al. Isolation of an anabolic, uterotrophic compound from corn infected with *Gibberella zeae*[J]. *Nature*, 1962,196:1318.
- [2] 李群伟,李德安. 影响镰刀菌生长与产毒的基本因素的研究[J]. *中国地方病学杂志*,1998,17:355—358.
- [3] 姚坤林,张帆,孟繁静. 玉米赤霉烯酮在组织培养中的生物效应[J]. *植物生理学通讯*,1991,27:29—31.
- [4] 王三根. 植物的甾类激素[J]. *生命的化学*,1992,12:29—31.
- [5] McNutt SH, Purwin P, Murray C. Vulvovaginitis in swine [J]. *J Am Vet Med Assoc*, 1928,73:484.
- [6] 张永红,朱少兵,佟伟军,等. “地方性乳房肿大症”病区荞麦中镰刀菌的分离和毒素测定[J]. *中华预防医学杂志*,1995,29:273—275.
- [7] Kumagai S, Shimizu T. Neonatal exposure to zearalenone causes persistent anovulatory estrus [J]. *Arch Toxicol*, 1982,50:279—286.
- [8] International Agency for Research on Cancer. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins [J]. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, 1993,56:245—540.
- [9] Schoental R. The role of nicotinamide and of certain other modifying factors in diethylnitrosamine carcinogenesis [J]. *Cancer*, 1977,40:1833—1840.
- [10] Tomaszewski J, Miturski R, Senczuk A, et al. Tissue zearalenone concentration in normal, hyperplastic and neoplastic human endometrium [J]. *Ginek Pol*, 1998,69:363—366.
- [11] Hilakivi CL, Onojafe I, Raygada M, et al. Prepubertal exposure to zearalenone or genistein reduces mammary tumorigenesis [J]. *Br J Cancer*, 1999,80:1682—1688.
- [12] Pestka JJ, Tai JH, Witt MF, et al. Suppression of immune response in the B6C3F<sub>1</sub> mouse after dietary exposure to the *fusarium* mycotoxins deoxynivalenol (vomitoxin) and zearalenone [J]. *Fd Chem Toxic*, 1987,25:297—304.
- [13] Marin ML, Murtha J, Dong W, et al. Effects of mycotoxins on cytokine production and proliferation in EL-4 thymoma cells [J]. *J Toxicol Environ Health*, 1996,48:379—396.
- [14] 孙美乐,王博文. 玉米赤霉烯酮对体外培养大鼠肝细胞的影响 [J]. *中国地方病防治杂志*,1997,12:69—70.
- [15] Conkova E, Laciakova A, Pastorova B, et al. The effect of zearalenone on some enzymatic parameters in rabbits [J]. *Toxicol Lett*, 2001,121:145—149.
- [16] Maaroufi K, Chekir L, Creppy EE, et al. Zearalenone induces modifications of haematological and biochemical parameters in rats [J]. *Toxicol*, 1996,34:535—540.
- [17] Clark JH, Schrader WT, O Malley BW. Mechanisms of action of steroid hormones [A]. In: Wilson J, Foster DW (eds) *Textbook of Endocrinology* [C]. WB Saunders Company, Philadelphia. 1992, 35—90.

- [18] Kuiper GGM, Lemmen JG, Carlsson B, et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor[J]. *Endocrinology*, 1998,139:4252—4263.
- [19] Dees C, Foster JS, Ahamed S, et al. Dietary estrogens stimulate human breast cells to enter the cell cycle[J]. *Environ Health Perspect*, 1997,105(suppl 3):633—636.
- [20] Sheehan DM, Branham WS, Medlock KL, et al. Estrogenic activity of zearalenone and zearalanol in the neonatal rat uterus[J]. *Teratology*, 1984,29:383—392.
- [21] Pfohl-Leschkowicz A, Chekir-Ghedira L, Bacha H. Genotoxicity of zearalenone, an estrogenic mycotoxin: DNA adduct formation in female mouse tissues[J]. *Carcinogenesis*, 1995,16:2315—2320.
- [22] Olsen M, Pettersson H, Kiessling KH. Reduction of zearalenone to zearalanol in female rat liver by 3-hydroxysteroid dehydrogenase[J]. *Acta Pharmacol Et Toxicol*, 1980,48:157—161.
- [23] Boeira LS, Bryce JH, Stewart GG, et al. The effect of combination of *Fusarium* mycotoxins (deoxynivalenol, zearalenone and fumonisin B1) on growth of brewing yeasts[J]. *J Appl Microbiol*, 2000,88:388—403.

[收稿日期:2002-05-29]

中图分类号:R15;Q949.32 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2002)05-0040-04

## 西洋参的免疫调节作用研究进展(综述)

王红梅 马玲

(北京市疾病预防控制中心卫生毒理所,北京 100013)

西洋参(*Panax quinquefolium* L. 或 *America ginseng*)又名西洋人参、洋参、花旗参、广东人参,为五加科植物——人参的一种,因为此物来自西洋,原产北美故得名,我国部分地区有栽培。西洋参的化学成分<sup>[2~4]</sup>主要为单糖、多糖、皂甙、氨基酸、蛋白质、酶类、有机酸和微量元素等。西洋参的主要功能为“益肺阴,清虚火,生津止渴”,主治肺虚久咳,失血,咽干口渴,虚热烦倦。<sup>[1]</sup>近年来,关于西洋参提取物及与其它中药配伍应用对机体免疫调节作用的研究已取得很大进展。目前,人们多集中于对西洋参多糖(Polysaccharide from *panax quinquefolium*, PPQ)、西洋参皂甙(*Panax quinquefolium* saponin, PQS)及西洋参复方合剂的免疫药理作用研究。

**西洋参多糖** 西洋参多糖(PPQ)是西洋参中含量最多,免疫活性较强的一类物质,西洋参总糖含量大约占50%~65%,近年来PPQ的免疫调节功能又引起许多学者的关注。在50、100、200、400 mg/kg BW剂量下,PPQ对环磷酰胺(Cyclophosphate, CY)所致的外周血白细胞减少有明显保护作用,并在200和400 mg/kg BW剂量下能拮抗CY作用下的胸腺、脾脏重量降低,增强正常及免疫低下小鼠网状内皮系统的吞噬功能,<sup>[5,6]</sup>提示PPQ有升高白细胞的作用,这可能是通过促进脾脏间质细胞增生,发挥代偿性骨髓外造血功能所致。PPQ能增加小鼠的非特异性免疫和细胞免疫功能,其免疫增强作用随剂量增加而增强,具有一定的量效关系,200 mg/kg BW时已基本达到高峰。<sup>[6]</sup>体外实验表明,PPQ可协同亚剂量

的Con A(1.25 mg/L)促进脾淋巴细胞转化及IL-2合成。<sup>[3]</sup>安刚等人<sup>[7]</sup>以膜片钳技术记录了T淋巴细胞钙依赖性钾通道电流,发现西洋参多糖(200 μg/mL)可使Con A激活的T淋巴细胞钙依赖性通道开放率增加,开放时间延长,关闭时间缩短,PPQ单独不能激活通道,这说明PPQ可使活化的T淋巴细胞内游离钙离子增加,从而促进淋巴细胞增殖分化,IL-2产生,促进细胞毒性T细胞杀伤活性,从而发挥其免疫增强作用。

因此不难看出PPQ不仅能增强正常及免疫低下动物的吞噬功能,还能增加正常小鼠的非特异性免疫和细胞免疫功能,促进IL-2的合成,从而提示PPQ可以用于今后癌症患者的放射治疗和化学治疗引起的不良反应,如消瘦、白细胞减少、唾液腺萎缩、抵抗力下降等,并能改变机体的应激状态,起到减轻胸腺、淋巴腺组织萎缩等作用。

**西洋参皂甙** 西洋参皂甙(PQS)是西洋参中的主要有效成分之一,也是生理活性最显著的物质。杨春隆等人<sup>[8]</sup>报道了西洋参皂甙的免疫增强作用和抗肿瘤作用,体内应用<sup>[4]</sup>PQS 8 d后,100 mg/kg BW组小鼠的T、B淋巴细胞转化率显著高于对照组( $P < 0.05$ ),并可以促进Con A诱导的IL-2产生,脾脏的T细胞百分率及B细胞的抗体产生水平显著高于对照组( $P < 0.01$ )。说明在100 mg/kg BW剂量下,PQS对T、B淋巴细胞功能有明显的增强作用,但对吞噬作用影响不明显。连续6 d给小鼠皮下注射50 mg/kg BW的PQS,可以通过造血相关因子的调节