

- [15] 高凤鸣·辐射和其它因素诱发细胞转化研究概况·中华放射医学与防护杂志 1983;3(5):60。
- [16] Margison C. P. ed. *Carcinogenesis* • Vol.1 • 1979:255—272.
- [17] Pienta, R. J. et al. • Morphological Transformation of Early Passage Golden Syrian Hamster Embryo Cells Derived Cryopreserved Primary Culture as a Reliable in Vitro Bioassay for Identifying Diverse Carcinogens Int. • J. Cancer 1977, 19:642.
- [18] Mondal, S et al. • Two-Stage Chemical Oncogenesis in cultures of C3H/10T 1/2 cells • Cancer Res 1976, 36: 2254.
- [19] Dipaolo, J. A. et al. • Quantitation of Chemically Induced Neoplastic Transformation of BALB 3T3 Cloned Cell Lines • Cancer Res 1972, 32:2686.
- [20] Cairns, J. • Mutation Selection and the Natural History of Cancer • Nature 1975, 255: 187.
- [21] Barns, D and Sato, G. • Methods for Growth of Cultured Cells in Serum-free Medium • Anal. Biochemistry 1980; 102: 255.
- [22] Katsuta, H. and Takaika, T • Carcinogenesis in Tissue culture XN • Malignant Transformation of Rat Liver Parenchymal Cells Treated with 4-Nitroquinoline-1-oxide in Tissue • J. Natl. Cancer Instn 1972;49:563.
- [23] Stoner, G. P. et al. In Vitro Transformation of Rat Esophageal Epithelial Cells with N-Nitrosobenzylamine Carcinogenesis 1982; 3:629.
- [24] Pai, S. B. et al. • P. Neoplastic Transformation of Primary Tracheal Epithelial Cell Culture Carcinogenesis 1983;4:369.
- [25] Sun NC. et al. • In Vitro Transformation of Syrian Hamster Epidermal Cells by N-Methyl-N'-Nitro-o-N-Nitrosoguanidine Cancer Res. 1981; 41: 1669.
- [26] 江泉观主编·基础毒理学·第一版·北京:化学工业出版社,1991: 223。

含锆食品的应用及问题(综述)

李贺成 北京有色金属研究总院 (100088)
徐晋康 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

锆过去主要用于电子工业。最近十几年锆的生理活性被人们所重视。尤其在日本,自1981—1987年每年用于医疗卫生方面的锆占日本全部锆用量的25%(以 GeO_2 计约3—5吨)。其中用于食品的占较大比重。我国近年来也正在开展锆的生物效应的研究,并已初步应用于饮料。近年来日本锆中毒的报道已引起各界的重视。欧共体据此提出今后要对添加锆的食品进行立法。为弄清中毒原因和锆的安全性。笔者着重就锆中毒问题收集了有关的文献资料,并进行分析,供有关研究和应用者参考。

1 锆应用于食品的理由

锆用于食品的原因大致有如下两个方面。

1.1 锆广泛存在于食品中

50年代日本浅井一彦发现人参等一些食用或药用植物中含有大量锆。人们还发现人参品质优劣和作用强弱与锆含量有关。如有人测定野生人参含锆400ppm、高丽人参250—300ppm、而人工栽培参则<50ppm。幡山等分析了日本兵库县市售36种食品,其中31种含锆:谷类0.33、种籽类0.36、有色蔬菜0.064,平均0.21ug/100g。从食堂简便饭菜中锆含量推算,每人每天摄锆量为10ug^[1]。因此正常人体器官中亦含锆。

柳原进分析从未服用锗的死者 12 个器官的平均锗含量为 $0.83(0.0019 - 8.82)\mu\text{g/g}$ [2]。另外, 锗还存在于矿泉水中。如法国的卢尔得村居民癌症发病率属世界最低, 据认为其原因与当地水含 Ge 、 Cu 、 Fe 等矿物质有关。

1.2 锗能提高机体免疫功能大量试验证明人工合成的 $\text{Ge} - 132[(\text{GeCH}_2\text{CH}_2\text{COOH})_2\text{O}_3]$ 在机体内能诱导干扰素, 从而激活 NK 活性和巨噬细胞活性。日本人对 20、40 和 60 年龄段的 12 名健康志愿者口服 $\text{Ge} - 132$ 25、50 和 75mg/kg , 观察到血液中干扰素的增加与 $\text{Ge} - 132$ 用量的剂量效应关系。有色院合成的 $\text{Ge} - 132$ 在北京药物研究所试验证明, $\text{Ge} - 132$ 既可提高正常小鼠的 NK 活性, 也可使荷瘤动物下降了的免疫功能重新恢复到正常水平; 在 307 医院对 22 名癌症患者进行 I 期临床试验表明, 22 名患者的 NK 活性都有所提高。

2 日本锗中毒的状况

日本含锗食品经厚生省批准上市已有十几年, 约有 60 多个社团把锗作为保健食品。市售 60 多个品种, 包括矿泉水、饮料、胶囊等。锗含量 $3 - 5 \times 10^4\text{ppm}$ 。美国则从日本购买 $\text{Ge} - 132$ 制成片剂、胶囊等剂型出售。未见到日本服用锗食品的人数统计资料, 美国有人估计日本有几十万人食用过。由于长期服用锗剂(实为 GeO_2)而引起中毒的病例, 始见于 1982 年 [3]。近年来中毒病例陆续出现。中毒者约有 30 名, 其中死亡 8 名(5—68 岁, 男 5、女 3, 服 Ge 4—24 个月, 25—324 克) [4—10], 已引起各界的高度重视。

3 锗中毒的证据

由于摄取含锗食品出现的中毒症状特点为: ①男女老少皆有(4—71 岁); ②初期很快出现食欲不振、呕吐、全身困乏; ③症状有: 1) 肌病: 体力下降和肌肉萎缩; 2) 末梢神经障碍引起麻木、知觉异常; 3) 普遍有正常血色素性贫血; 4) 普遍出现肾功能障碍, 表现为肾功能

检验指标与一般肾病不同: 虽然血尿素氮、血清尿酸和肌酐值很高, 但出现尿异常、尿蛋白阳性和潜血阳性者则很少。因此为了证实是否锗中毒, 需要从如下几方面考虑。

3.1 既往病史 和田等分析了 23 名患者, 除 3 名情况不明外, 没有一例患过肾病, 却都出现肾功能障碍 [11]。

3.2 与其它金属和药物的关系 S. Okuda 分析了 4 名患者中的 Hg 、 Cu 、 Pb 和 Ca , 与健康人无差别 [12]; 大坪等曾考虑某死者多器官功能不全, 用过针对 As 、 Pb 、 Hg 等中毒的治疗药物, 未见到症状改善 [13]; 小俣等对 4 名患者服药史进行考查, 排除了其它药物的干扰 [10]。

3.3 食用时间、剂量和组织中锗含量的关系 和田等对已判明摄取量的 18 名患者进行统计, 服用时间 5 个月—6 年, 平均 16 个月, 服用量 $35 - 2000\text{mg/天}$, 平均 260mg/天 。在所报道的患者组织中大都查出过量锗 [10]。 N. Nagata 等对长期服用锗的死者 and 未服锗的肝硬化死者进行解剖测定, 发现锗主要蓄积在脾 $19.8(0.108)$ 、甲状腺 $2.398(0.019)$ 、盲肠 $1.97(0.026)$ 和肾皮质 $3.184(0.046)\mu\text{g/g}$ (湿)。〔() 内数字为未服锗死者的锗含量〕 [14]。特别值得重视的是锗一旦蓄积在体内, 则较难排出体外。如 S. Okuda 对 3 名患者分别在中止服用锗剂后的 5、6 和 15 个月后测定尿中锗含量分别为 60、9 和 15ng/ml 。而 12 个健康人的对照尿锗含量则平均 $<5\text{ng/ml}$ [12]。

4 锗中毒原因

4.1 日本含锗食品中锗的化学结构

日本含锗食品中锗的化学结构大致有三种。一是人工合成的有机锗化合物(如 $\text{Ge} - 132$); 二是无机锗, 如山口武义提出的专利是把 GeO_2 直接溶于水配成含元素锗至少为 2000ppm 的含锗矿泉水; 三是螺旋藻类。从已报道的患者中凡能找到原服用的含锗食品, 经分析很多都含 GeO_2 。如佐内

对 6 名患者(除一名未查明外)食用过的含锗食品进行分析,5 个患者都是食用含 GeO_2 的食品^[15]。冈川报道 8 名服用无机锗饮料者中,有 5 名出现异常。3 例正常血色素性贫血(血红蛋白分别为 7.2、8.4 和 9.1g/dl);4 例肾功能下降(肌酐清除率分别为 19.0、34.4、16.5 和 35.0ml/min);2 例肌酐偏高(294 和 264U/ml);肾和大腿肌肉活检各一例、确认慢性间质肾炎和肌坏死现象;头发锗浓度高(56.4、173.7、88.0、184 和 22.2ug/g)^[16]。佐内报到两例分别服 $\text{Ge}-132$ 6 个月和 18 个月后均未异常,但此后改服 GeO_2 5 个月和 7 个月后则出现肾功能障碍。其中一例肾活检发现肾小球接近正常,却在远端肾小管上皮有暗紫色颗粒,与用 GeO_2 的动物试验结果完全一致^[17]。

因此要弄清日本含锗食品中毒的原因,还应从有机锗与无机锗在体内的不同行为来考虑。

4.2 $\text{Ge}-132$ 和 GeO_2 的毒性比较。

4.2.1 动物毒性 小鼠口服 $\text{Ge}-132$ 的 $\text{LD}_{50}=12500\text{mg/kg}$, 长期毒性试验表明 $\text{Ge}-132$ 毒性低、排泄快。永田给雄雌各 12 条小猎犬每日静脉注射一次 $\text{Ge}-132$, 剂量为 125、250 和 500mg/kg, 连续 6 个月。取得 3664 个数字,未见到毒性作用^[18]。鹿儿用 ^{14}C 标记的 $\text{Ge}-132$ 进行动物药代动力学试验表明,大鼠口服 $\text{Ge}-132$ (100mg/kg) 后在血液中的浓度于 3hr. 达到峰值,24hr. 几乎检不出;在 17 个器官中未见到高浓度 $\text{Ge}-132$ 蓄积,即 $\text{Ge}-132$ 几乎均匀地分布于全身各器官和组织中; $\text{Ge}-132$ 主要从尿排出体外,24hr. 排出 15—22%,48hr. 排出 92%,可以认为在体内几乎没有蓄积。

小鼠口服 GeO_2 的 $\text{LD}_{50}=5400—6400\text{mg/kg}$ 。波多野对大鼠进行 35 天的 GeO_2 亚急性毒性试验(150mg/kg),发现动物自发运动减少、体温下降、摄食量和体重下

降^[20]。

比较上述结果显然 GeO_2 具有较大的毒性。

4.2.2 人体毒性 上面已介绍了人体服用 GeO_2 饮料后的中毒情况。关于 $\text{Ge}-132$ 对人体的毒性,可从临床试验结果来分析。 $\text{Ge}-132$ 已在日本多个医疗单位进行临床试验。结果表明 $\text{Ge}-132$ 不但自身毒性很低,而且还可与其它毒性较大的药物并用以降低后者的副作用。如 $\text{Ge}-132$ 与顺铂(抗癌物)共用可降低顺铂的肾毒性。熊野报道 $\text{Ge}-132$ 对急性肾衰竭比超氧歧化酶和去铁敏的效果还好。 $\text{Ge}-132$ 的临床用量比保健用量大得多也未见中毒现象。如三地也对 24 名患者(15 男、9 女,25—77 岁)口服 $\text{Ge}-132$ 500—3000mg/日,时间最长者 120 天。 $\text{Ge}-132$ 总用量 14.0—238 克/人,未见毒性作用^[21];杉田对 18 名妇女服 $\text{Ge}-132$ (1000—3000mg/天,21—450 克),平均 109 克/人,未见毒性作用^[22]。

4.3 GeO_2 与 $\text{Ge}-132$ 对肾功能影响的直接实验观察

为弄清锗中毒的因果关系,日本做了大量的基础研究。总结各家用 GeO_2 进行动物试验的结果,可以看出 GeO_2 的中毒症状与上述日本人服用含锗食品的中毒症状极为相似。

佐内^[23]用 GeO_2 (150mg/kg) 和 $\text{Ge}-132$ (240mg/kg) 对小鼠进行 10 周的对比试验,结果表明:① GeO_2 组 体重下降、血细胞比容下降、血尿素氮上升、活动能力下降。这些与 $\text{Ge}-132$ 组、对照组显然不同,显示 GeO_2 较大的毒性;② $\text{Ge}-132$ 组与对照组相比较,除了尿蛋白[分别为 5.3 ± 3.1 和 2.1 ± 0.6 (注: GeO_2 组为 4.8 ± 2.1)mg/日]这一指标不同外,各项指标皆无差异;③三组的尿指标皆无差异。

佐内这个试验最有意义之处还在于肾组织检查中的发现,①三组的肾小球和间质都未见异常;②在 GeO_2 组,肾小管上皮,尤其是远

端肾小管上皮或集合处有明显的空泡形成。用PAS染色可观察到暗紫色的微小颗粒。此颗粒用X线鉴定出Ge的La线,用电子能量分光法鉴定出Ge的M₄₅线,证实此颗粒是锗沉积物。这就表明锗的不同化合物在机体内有不同的行为,即GeO₂有强的肾毒性,而Ge-132则几乎没有毒性。这个试验也可解释,①由含GeO₂食品引起的肾功能障碍的临床表现,尽管使肾功能严重下降,但却检不出尿蛋白,原因是肾小球尚未受到损坏,即锗中毒引起的肾脏损害不属一般肾脏病;②由于长期服含GeO₂食品在肾小管上产生沉积物,堵塞了尿的畅通排泄,而使肾成为第一个受害器官,这就使得主要从尿排出体外的锗无法排除,导致锗蓄积在别的一些器官中。

上述结果表明,在日本出现的锗中毒,源于食品中加入的为无机锗(GeO₂)。

4 关于锗中毒其他症状的原因

在锗中毒病例中,除了百分之百出现肾功能障碍和贫血外,还有部分患者有其他症状,如出现末梢神经障碍等。但这些症状与锗的服用剂量、时间或累计锗量没有相关性。这可能与人体间的体质差别相关。日本已用GeO₂对大鼠和猴的神经毒性进行过研究,但尚未得出有意义的结果。

5 结束语

大量数据证明有机锗(如Ge-132)是有一定的生理效应,因而有潜在的应用前景。不应因日本出现含锗食品引起锗中毒而对有机锗加以否定;但也不应因中毒者占服用者的比例极小而麻痹大意,必须加以重视。动物试验和人体试验都证明GeO₂是诱发肾功能障碍的原因。因此有关部门对含锗食品的制造和销售应严加管理,不准使用无机锗(GeO₂)加入或混入到食品中。为此还要有灵敏可靠的检测手段来监控上市的含锗食品是否有含GeO₂。我们发现用X射线来分析Ge-132中的GeO₂灵敏度不高。在Ge-132中加入GeO₂3%(以Ge计)仍无法检出无机锗的存

在。我们已研究出一种方法,可鉴别Ge-132中>0.2%的无机锗Ge⁺⁴。检验灵敏度为0.4ugGe⁺⁴/ml。

参 考 文 献

(1) 幡山,他・ゲルマニウムの食品中含有量C摂取量の推定・日本卫生学杂志/1982;37(1):202。

(2) 柳原进,他・ゲルマニウムのヒトの体内分布(肝硬変症およびGe剤服用者の剖検例について)・日本卫生学杂志/1985;40(1):184。

(3) 米山考,他・全身に高濃度のゲルマニウム沈着を認めを急性腎不全の一症例・日本肾脏学会志/1982;24(12):1355。

(4) 中村真,他・ゲルマニウム中毒によると思われる多臓器不全の一例・日本小児科学会志/1988;92(9):2013。

(5) 柿泽美保,他・市販のゲルマニウム剤を長期速用中に発症した慢性腎不全の1例・日本小児科学会志/1987;91(11):3597。

(6) 松阪泰二,他・二酸化ゲルマニウム(GeO₂)長期服用后死亡した1剖検例・日病理会志/1988;27(11):80。

(7) 村野文纪,他・急性腎不全で発症したゲルマニウム中毒が疑われた一例・日本肾脏学会志/1988;27(2):1658。

(8) 浅地聡,他・ゲルマニウム制剂中毒症の2例—とくに腎病変を中心に—・日本肾脏学会志/1989;31(12):1274。

(9) 根本博,他・ゲルマニウム中毒による神経・筋障害の2例・臨床神経学/1988;28(11):1333。

(10) 小俣正子,他・ゲルマニウム中毒性腎症・腎と透析/1988;25(5):869。

(11) 和田攻,长桥捷・健康食品によるゲルマニウム中毒・日本医师会杂志/1988;99(11):1929。

(12) S oicuda,etal.・Persistent Renal Dysfunction Induced by Chronic Intake of Germanium-Containing Compounds・Current Therapeutic Research 1987;41(2):265。

(13) 大坪修介,他・ゲルマニウム中毒による多臓

器不全の1例・日本小児科雑誌/1988;92(9):1994。

(14) N Nagata, et al. · Accumulation of Germanium in the Tissues of a Long-Term User of Germanium Preparation Died of Acute Renal Failure · J. Toxicol. Sei. 1985;10(2):333.

(15) 佐内透, 他. “二酸化ゲルマニウム含有健康食品による腎障害” Germanium dioxide induced nephropathy の検討・臨床と研究/1988;65(5):1850。

(16) 岡川和人, 他. “ゲルマニウム中毒と思われる35症例” 日内会誌/1988;77(1):1118。

(17) 佐内透, 他. “腎生検にて経時の観察した二酸化ゲルマニウム含有健康食品による腎障害の1例” 日内会誌/1989;78(3):86。

(18) 永田次雄, 他. “Ge-132の静脈内投与による

ビーグル犬のし6カ月間の慢性毒性試験” 応用薬理/1978;16(4):613。

(19) 鹿儿岛正丰, 他. “Ge-132の体内動態” 応用薬理/1984;32(1):71。

(20) 波多野, 他. “GeO₂の毒性学の研究(急性・亜急性・慢性毒性および長期点眼毒性試験)” 応用薬理/1981;21:773。

(21) 三地也, 他. “進行癌患者におけるGe-132の使用経験” 医学と薬学/1983;9(5):1501。

(22) 杉田, 他. “婦人科悪性腫瘍症例に対するGe-132の使用経験” 医学と薬学/1983;9(1):181。

(23) 佐内透, 他. “ゲルマニウム腎症に関する実験的研究: 二酸化ゲルマニウムおよびカンボキシエチンゲルマニウム三二酸化物の亜急性腎毒性の検討” 腎と透析/1989;26(4):775。

全国《食品安全性毒理评价程序》培训研讨会会议纪要

由卫生部食品卫生监督检验所委托上海市卫生防疫站举办的全国《食品安全性毒理评价程序》培训研讨会暨第四届全国食品毒理学习班于1992年11月9日至11月21日在上海举行。来自全国27个省、市、自治区的43名代表参加了这次研讨会。

研讨会开幕式由上海市卫生防疫站毒理科科长仲伟鉴主持。卫生部食检所副所长王茂起、上海市站副站长王雨舜、上海市食检所副所长方有宗及上海市卫生局防疫处李光耀同志出席开幕式并讲话。王茂起副所长向与会代表介绍了食品毒理工作的现状与初步发展计划。他说, 十几年来, 我国的食品毒理学在法规和队伍建设以及食品安全性评价方面做了大量的工作, 为我国的预防保健事业作出了巨大的贡献。但目前食品毒理工作也面临着很多问题, 食品安全性评价工作已远不能满足食品工业迅速发展的需要, 食品毒理实验室的建设相对缓慢, 条件设备落后, 毒理工作力量不足的矛盾日益突出。估计今后几年里, 食

品毒理工作将进入另一个快速发展时期, 我们要面对现实, 认清形势, 抓住时机。从明年起, 我们将从实验室认证工作入手, 强化质控工作, 提高我们的工作质量, 促进我国食品卫生工作的发展。

此次培训研讨会的内容及主讲教师分别是:

- 1 小鼠睾丸染色体畸变分析
北京市卫生防疫站 姚小曼教授
 - 2 果蝇伴性隐性致死试验
上海铁道医学院 叶思赐教授
 - 3 哺乳动物细胞(V79/HGPRT)基因突变试验
卫生部食检所 冯继农医师
 - 4 SOS 试验
上海市卫生防疫站 仲伟鉴医师
- 以上有的是国际组织已认可, 我国食品安全性毒理评价程序新列入或准备列入的方法, 有的是原“程序”虽已列入, 但由于技术较复杂目前尚未普遍开展的方法, 特别是体外培养细