

致突变物和致癌物检测短期遗传毒性测定的作用 (译文)

曹来福 徐晋康译 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

以往关于对哺乳动物的致突变物和致癌性之间的相关程度及其预测价值已进行了许多研究,对确定和适当地衡量致突变性和致癌性两者的相关的工作有所发展。但最近,对这两者之间关系的可靠性有争议。最近的资料〔Zeiger和Tennant(1986)和Tennant等(1987)〕对这种经验相关性(指Ames致突变性检测与致癌性的相关)提出了疑问,这些资料指出美国国家毒理学规划(National Toxicology program, NTP)认定的致癌物中只有约50%对沙门氏菌有致突变性。因此提出要重新评价这门科学的一些基本设想。

在致突变、致癌学科目前的发展阶段,必须用一些基本的概念取代当前的简单化的趋势。这些基本概念是(1)把肯定所哺乳类动物体内致突变性作为有重要毒理学意义的终点;(2)承认早已确定的致癌过程的多阶段性质,并使致突变性和致癌性之间的相关性更趋完善;(3)承认某些化学物质对致癌的某些阶段有特异的影响,而这些影响与致突变无关;(4)不要重复过去十年那样对最近由分子生物学研究中取得的引人注目和创新的进展作简单化和不适当的解释。这些概念中最直接有关的是致突变性和致癌性之间的关系,以及确定的致癌过程本身的复杂性。

目前,可利用以往十年来获得的丰富资料对致突变性和致癌性之间的关系及其机制进行定性和定量地研究。过分简单地假设认为,终将证明所有化学致癌物在体外具有致突变性的设想,将不可能得到所希望的结果,并且还会损害这门学科的价值,而可能导致否定致突变性和致癌性之间某种有用的

相关性。

因此,委员会提出有必要在调查和实验两方面予以补充。首先要考虑如何最有效地鉴定哺乳类动物致突变物,以及考虑体内和体外所见到的作用之间的差别和体内的遗传毒性现象。但是,这还不能用来正确地描述为致突变事件。其次,重新评价遗传毒性资料与致癌过程中哪一阶段相关,并由此指出,更为精确地预测哺乳动物的致癌性,需要测定在某种组织中有关的生物学改变的补充试验。据此提出要考虑以下一些发展遗传毒理学的原则:

- 1 需考虑致突变性和致癌性之间的某种关系,为此,应当寻找一致的意见,即选择和进行最少的但不是足够数量的体外测试,以筛选对哺乳动物的体细胞或生殖细胞可能产生致突变作用的物质。虽然已确定对生殖细胞有致突变作用的化学物质的数量不多,但其中大多数可以用少数或只需两项体外预筛试验即可检出。哺乳动物体细胞致突变物也是如此,而且这种致突变物数量更多。当前,致突变性预筛普遍存在着体外测试过于烦琐,而且造成特异性降低。由于沙门氏菌测试方法一般都易理解而且实践上也容易做到,因此提出应将此测试作为一项主要的预筛方法。作为对此方法的补充,需要有一项哺乳动物细胞的测试。以一项体外诱发染色体畸变的测试,要比其他可选用的测试方法更具优点,因为它利用了某种特别相关的终点。其他已建立的体外测试方法在致突变性机制的研究中有其价值,但目前缺乏证据表明加用这些或用这些方法取代上面提到的方法会使预筛方法更为有效。判定致突变性资

料可否被接受的标准,应当是所用测试系统具有生物学上的可靠性和所用测试方案的完整性,所观察效应的重复性,以及研究中可以测定的遗传学指标的特异程度。

必须强调,新近由测定细胞的活化或突变和病毒癌基因研究所得的证据表明,在致肿瘤性的遗传改变中,与普遍应用的标准致突变性试验相比,更反映了DNA改变的广谱性。因此,对蛋白质的作用,基因扩增、插入突变、胞嘧啶残基的甲基化不足,以及某种程度的重组等,可能的今后致癌物检测中作为有效的预筛内容。但不应在缺乏有关资料时就予采用。

2 多数化学致突变物需经代谢才能转变成亲电子/基团。这可在一定程度上于体外试验系统的标记生物体内发生,但一般都需依靠外加的酶,通常是由经诱导的大鼠肝脏制备这种酶,并补充辅助因子(S_9 混合物)。代谢辅助因子(S_9 混合物)的不同,也许是化学物质在不同体外测试系统中得到不同致突变性结果的主要因素。这表明,若一开始就考虑到减少测试用细胞系的数量;使S—9混合液的制备标准化以及判定在同样的试验条件下(例如用同样的细胞系)不同的致突变情况,那么就比较容易解释几种不同的致突变测试方法的结果。根据这种标准化的数据资料,通过有计划地用不同的S—9组分或不同的S—9混合液应用条件,就可获得进一步的信息。当前,这些变量在不同的测试中是任意的,尤其是,只有排除了可能存在的不同竞争性代谢因素的作用之后,才能得出关于化学物质致突变作用的遗传特异性的结论。由于一般没有注意到这一点,因此造成了目前在设计一组致突变性测试方法时出现的混乱状况,即在设计时,只是从表面考虑了不同的遗传终点,但事实上应考虑的主要变异是受试化学物质在不同测试方法中所处的不同的代谢环境。

因此,集中少数测试,并增加不同代谢活化条件,也许更为有益。直接作用致突变物如在所有测试系统中有着一致的活性这一

事实支持了上述观点。用DNA损伤(其中包括DNA叠加物)的鉴定,定量和修复以研究与DNA相互作用程度的技术,有的已在应用,有的正在建立。而且,DNA重组技术不久将会用来在分子水平上检测突变。这些方法虽然费时耗资,但能够对不同的测试系统作出定量的比较,并有可能据此提出真正的和一致的确实具有致突变作用并确实具有遗传特异性的化学物质。

3 就哺乳类动物的致突变性来说,应着重于在整体哺乳类动物产生活性的那些致突变物,而不是那些只在体外表现有致突变性的化学物质,后一种现象的原因可能是体外致突变物不能进入体内,或能在体内被降解去毒。

与此同时,不断有证据表明,一种进一步的活性分类体系,即大约40种肯定的啮齿类动物生殖细胞致突变物也是啮齿类动物体细胞,尤其是骨髓细胞致突变物,这提示,如观察到一种体外致突变物对组织体细胞不具致突变性,也不大可能对生殖细胞产生致突变性危害。应当鼓励进一步研究以评价上述推断的普遍性,因为这对相应的危险性评价很有帮助。

4 确定化学物质致突变性的实验条件能影响其毒理学意义。因此,啮齿类体细胞和/或生殖细胞通过自然的接触途径接触非致死性剂量的具有致突变性化学物质,与只在体外的极端条件下(如过高的剂量,改变了测试媒质的渗透压/PH等)证明有致突变性的化学物质相比,必须视为对人有较大的潜在性危害。

5 事实证明,虽然体外致突变物并非都具有致癌性,啮齿类动物致癌物并不都是致突变物,但有证据证明二者有关联。因此,一般认为,评价某种因子是否有遗传毒性致癌作用,最有效方法是确定该因子是否为致突变物。如果非致突变性致癌物这一分类得到认可(见下面第八部分),就没有理由用这些遗传毒性体外补充试验检测非致突变性致癌物。不过,在危害评价研究中,测定体内

这些终点的改变可能有一定的意义。

6 当前所用的一些遗传毒性试验不尽合理,这是考虑到某项试验只有在不同实验室进行了相当一段时间后,才有可能评价其内在变异的来源,否则提出的实验标准是不可靠的,如果某项试验的方案尚未合理确定就予以应用,则各实验室的结果就不会一致,往往在测试方法的“验证”期间,仅使用了少数几种强致癌物/细菌致突变物。比如EMIC档案揭示,截止到1986年4月,已进行了2万多种化学物质的遗传毒性评价,其中1万多种化学物质只进行了一次性单项试验。相反,档案中的62500篇文章,有关EMS(乙基磺酸甲酯)毒性的有4094篇,有关MNNG(N—甲基—N'—硝基—N—亚硝基胍)的4076篇,B(a)P(苯并(a)芘)为2188篇,MMS(甲基磺酸甲酯)为1995篇,MNU(N—甲醛—N—亚硝基脲)为1757篇等等。而实际上,用上述化学物质不可能对某项试验的优缺点作出评价,其结果往往是用不成熟的方法来评价新的化学物质。

7 最近,美国得到的资料肯定,并非所有的体外致突变物对啮齿类动物都有致癌作用。因此,体外试验得到的致突变性资料仅能提示有潜在的致癌性,不能替代致癌性生物试验。有致突变性而非致癌物,这种情况很多,说明应寻求一种能评定体外致突变性资料的方法。药物动力/代谢等因素很可能是某些体外致突变物在体内不产生致突变作用的原因。这也可能是一些体外致突变物不诱发癌症的原因。如果确是如此,那么一个新的体外致突变物再观察其在体内有无致突变性,将大大增加证实其有致癌作用的可能性。当用体外致突变性资料预测遗传毒性致癌物时,体内遗传毒性资料可用来确证体外致突变性资料。因此,一种新的体外致突变物若在体内无遗传毒性,要证实其为遗传毒性致癌物的可能性要比体内有遗传毒性者小。考虑了在体内的有效剂量及剂量—反映关系,可使这一预测方法得以完善。因此,

建议在这类危害性评价研究中,至少应有啮齿类动物的两种组织得到的致突变性/遗传毒性资料。为区分致突变性和致癌性这两类各具各自的含义而又是互相关联的毒理学资料,应尽量避免使用“假阳性结果”这一用语。“假阳性结果”应限定用于在体外检测到的人为的致突变结果。在过去的十年里,那些用“假阳性”来简化致突变性与致癌性之间关系的意图,造成了不必要的混乱。如果一非致癌物的鼠伤寒沙门氏菌致突变阳性常被看作是错误的,而同一种断裂剂(clastogen)对啮齿类动物骨髓细胞染色体无损伤作用,则常归于体内致突变性试验方法很不敏感——这正说明复杂的生物学现象过分简单化的结果。

如果不能在某一组织直接检测突变,就需要用非特异遗传毒性试验,包括DNA结合研究或标记后测定。后一种技术在研究位点特异性的启动,尤其是这种启动与亲器官致癌反应有关时也很有用处。

8 虽然大部分至今已确定是啮齿类动物的致癌物,同时也是致突变物。但有些致癌物的化学结构不具有真正的或潜在的亲电中心,而且无致突变性。这表明某些化学致癌物不具有启动作用,但能改变某些啮齿类动物组织的环境从而使已启动的细胞发展成肿瘤。已启动细胞的产生,可由于接触了存在于环境中的启动因子。这种接触可能是没有觉察到的。也可能是由于未知作用方式的产物。采用促进因子(promoting agent),非遗传性(epigenetic)致癌物等名词描述这些致癌物;除了为这类了解甚少的现象起了名称之外,无多大意义。用标准的致突变试验不能提示需注意这类致癌物,而必须采用那些监测细胞的控制机制或细胞环境改变的试验。

在停止接触遗传毒性致癌物并经过一段潜伏期后,发生肿瘤的原因,以遗传毒性致癌物对细胞基因组的直接修饰作用来解释,值得考虑。与此相反,接触非致突变性致癌

物时,肿瘤的形成,则可能是由于长期接触该化学物质,保持了已改变的基因组的表达,最终形成肿瘤。NTP应用的终生接触致癌物的生物试验最适于后一种要求的研究。因此,缩短接触非致突变性致癌物的期限,其结果将检不出其致癌性。如果这样做,对今后人类危险性评价将会产生深远的影响。同样还应考虑非致突变性致癌物可能有阈剂量,低于该剂量,则没有致癌作用。但在缺乏有关支持这种考虑的资料时,还不能肯定这种推测。还有一点,尽管对一种非致突变性致癌物往往需要比较大的接触量,才能观察到其致癌性。那些不易生物降解的和/或易于体内积累的化合物,则可在极低的剂量时即可产生致癌等效应(如2,3,7,8-四氯二苯并二噁英,TCDD)。

最近 Ashby 和 Tennant 报道的一项研究结果,提出可能存在有两类化学致癌物,即遗传毒性致癌物和非遗传毒性致癌物,后者只是一种假定。这是在仔细分析了经 NTP 评价过的 222 种化学物质后提出的。这些化学物质都是用 $B_6C_3F_1$ 小鼠和 F_{344} 大鼠进行了充分的终身致癌性研究的,被认为是致癌物的化学物质有 115 种,其中有 70 种致癌物在多个部位和/或两种动物诱发肿瘤,其余 45 种致癌物只在一种动物一个部位诱发肿瘤。有 24 种化学物质的致癌性证据不明确,其余 83 种化学物质为非致癌物。依据致癌作用的亲电理论,对这 222 种化学物质的结构进行了分析,将其分析资料与这些化学物质的致癌性强弱及沙门氏菌致突变性进行比较,结果发现,全部化学物质根据结构预测的致癌性与沙门氏菌致突变性之间的符合率很高($\sim 90\%$)。这表明沙门氏菌试验能有效地检测化学物质结构中具有遗传毒性的部位。而且,一组对多种动物有多部位致癌的致癌物中,致突变物的比例(70%)大大超过单一种属/单一部位的致癌物(39%)。事实上,后一组致癌物中致突变物的比例与可疑致癌物和非致癌物中致突变物的比例相近($\sim 30\%$)。因此,这些资料为推论提供

了有力的证据,表明 45 种选择的单一种属/单一部位致癌物(占 NTP 认定的 115 种致癌物的 40% 左右),在受试动物引起肿瘤发生率增高的机制,不大可能需要或涉及到化学物质与 DNA 的原发共价结合作用。与此不同的是,如果认为 NTP 所确定的全部致癌物其作用机制都是相同,那么就可以说明 Tennant 等所报告的,沙门氏菌试验的灵敏度较低,只是 45% 相符的结论。

9 分子生物学技术正迅速扩展了我们对化学诱癌的认识,同时,分子生物学技术有可能在加以改进后用于危害性评价的研究。但将分子生物学技术发展为常规方法如作为体外标准试验的辅助手段可能是困难的。

概括地讲,分子生物学技术的应用,至少在最初阶段,可能受到所需专业知识以及费用的限制。但如果能认真地考虑和解决致癌物预测中存在的问题,将建立起有价值的和实用的体内实验方法。最近 Reynolds 等建议用 $B_6C_3F_1$ 小鼠肝肿瘤的癌基因突变(激活)模型来鉴别自发的和化学物质诱导的肿瘤,这意味着分子生物学技术有可能提供一种鉴别遗传毒性和非遗传毒性致癌物的方法。

近来有关癌分子生物学研究中,值得注意的是,在监测原癌基因的致突变激活情况时,使用了体外诱导的细胞转化试验,并以此代替直接观察致瘤表现。但大量证据支持,体外细胞转化试验用作常规筛选方法还不甚实用和不够可靠。因此,在致癌作用研究中,这些试验虽然可以继续提供有价值的技术,但还不适于用常规手段。

10 当前,在致突变和致癌研究领域最重要的问题,是在化学诱癌问题上停止寻找某种简单的解决办法。同时,应把致突变性资料本身视为一种主要的毒理学终点,并作为在遗传毒性致癌作用中的一个关键组成要素。此外,结合其它毒理学资料,致突变性资料是可以精确地估测某一化学物质的潜在致癌性的。

在突变细胞的克隆增殖形成肿瘤的过程

中, 化物质的非遗传生物学作用可能起着某种关键作用。致癌物的种属/性别/组织的特异活性可能与该因子的种属/性别/组织的特异性有关。因此, 如果某一化学物质在同一组织同时存在致突变性和“毒性”, 表明该化学物质在这一组织诱发肿瘤的可能性增大。这是基于这样一种假定, 在啮齿类动物的多种组织中, 某一致突变物是潜在的启动因子, 但发展成肿瘤可能只在那些该化学物质对其既具致突变性, 同时又具有非遗传活性的组织中。这种非遗传活性也许是很精细的。随着化学物质剂量—水平的变化, 各组织中的非遗传活性也可能不同, 这可以解释随着剂量—水平的变化, 致癌物的亲器官性也发生改变。这种在致癌作用中的多因素影响的主要性, 已在啮齿类动物肝脏和膀胱肿瘤研究中得到充分的证实。但这种影响通常在培养细胞中未能重现。因此, 通常也不能在体外预测。虽然啮齿类动物接触大剂量的化学物质后, 很可能出现非遗传性次生效应。而这种情况, 在人接触低剂量该化学物质时可能不会发生。因此, 啮齿类动物的致

癌性资料外推至人时, 要慎重考虑。

综上所述, 委员会提出下列意见: 1. 应用现有技术, 以及毒理学、遗传学发展和相应的设想, 可预测化学物质对人类体细胞或生殖细胞的潜在致突变性。2. 致突变物, 尤其是那些在哺乳动物体内产生活性的致突变物, 应视为潜在的遗传毒性致癌物。3. 在已突变的细胞发展成肿瘤的过程中, 在某些种属或品系的啮齿类动物长期慢性接触某种化学物质而出现选择性致癌效应的过程中, 化学物质的非遗传效应可能起着关键的作用。最后一点, 分子生物学技术在致突变和致癌研究领域是是很有前途的。以上讨论表明, 研究环境致突变物和致癌物的最佳途径是对化学物质进行全面和定量的毒理学评价。没有简单的办法。在过去十年里, 已取得显著进展, 现在应该对研究和概念作重新调整。

(国际环境致突变物和致癌物防护委员会 (IPEMC) 报告——IPEMC 出版物 No. 16- [Mutation Research 1988;205(1-4):3])

煎、煮、蒸广式食品的危险度分析 (译文)

金蓉培 天津市食品卫生监督检验所 (300011)

在东方式餐馆中加工的米饭是引起食物中毒的常见食品。有报导, 芙蓉蛋、炒杂碎、炒面、和一般的中式食品也是引起中毒的食品。本文在六个广东餐馆中做了各种食物加工过程的危险度分析, 测定了食品的水分活性, 检查了影响一般食源性致病菌存活及繁殖的条件。

1 材料与方法

1.1 产品和操作介绍 挑选座落在夏威夷和华盛顿州的餐馆六个, 编成 A——F,

其操作与配方各异。一般步骤是: 对虾、猪肉块、鸡片先沾上糊, 再过油。之后, 立即进餐, 或冷藏, 或室温下放置, 进食前再加热。

小块的猪肉、鸡、牛肉与各种蔬菜以及淀粉、酱油、味精在炒勺中炒熟, 可立即进食。

用猪肉、虾、蘑菇、芹菜及各种中国蔬菜, 加上酱油、芥末、葱、姜、五香面和淀粉混合好, 做成包子馅, 冷藏。然后包在面