

· 食品安全与食源性疾病 ·

微囊藻毒素与食品安全

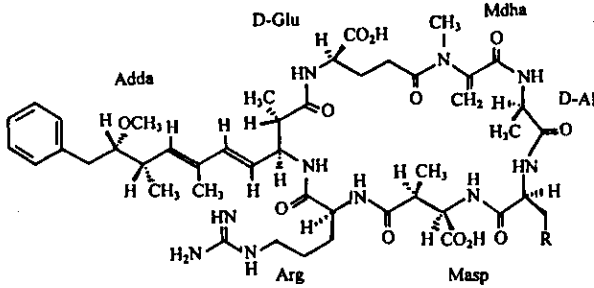
陈艳 刘秀梅

由于人类活动,如生活污水、工业废水的排放以及农田肥料的流失等因素的影响,内陆水体中蓝藻(Cyanobacteria)水华的发生日益严重。蓝藻在爆发生长过程中往往会产生内源性毒素,对动物和人群健康构成严重威胁。微囊藻毒素(microcystins, MC)即是由某些种属的淡水蓝藻,主要是铜绿微囊藻产生的一个结构相似的环七肽家族,已知有 60 余种异构体(图 1)^[1]。MC 广泛存在于富营养化的湖泊、水库、池塘和河流等缓流水体中(如太湖),具有强烈的肝毒性和肿瘤促进作用。日常生活饮水是人群的主要暴露途径,世界卫生组织(WHO)提出了饮用水中 MC 最常见异构体 MC-LR 的指导值(guideline value)^[2]。MC 还可能通过食物链的生物富集危害人类的健康。尽管迄今为止还没有 MC 经口暴露导致人群中中毒或死亡事件的记载,但是 MC 通过食物,特别是长期少量摄入引起的急性或慢性效应是一个十分值得关注的食品安全问题。

与功能的蛋白质过度磷酸化^[3,4]。高剂量 MC 急性暴露会严重破坏肝细胞骨架,导致肝细胞和窦状隙发生形态学改变,肝脏广泛出血,低血容量休克而造成动物死亡^[5]。低剂量 MC 长期暴露也可能危害健康,主要是肿瘤促进作用。以二乙基亚硝胺作为启动剂,给予低于急性毒性剂量的 MC-LR,大鼠肝脏谷胱苷肽-S-转移酶胎盘型阳性灶数量和面积与 MC-LR 呈剂量反应关系^[6]。即使没有启动剂,腹腔注射 MC-LR 也能诱导小鼠肝脏形成肿瘤病灶或结节^[7]。以氧化偶氮甲烷为诱导剂,通过饮水给 MC 能引起小鼠结肠癌前病变的发生,MC 与结肠异常隐窝灶面积呈显著的剂量反应关系^[8]。

Fawell 等^[9]对小鼠经口途径给以剂量分别为 0、40、200 和 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的 MC-LR,试验时间 13 周。试验结束时最低剂量 40 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 暴露组动物没有肝组织损伤表现,因此将该剂量作为 MC-LR 经口途径的无观察到有害作用剂量(no observed adverse effect level, NOAEL)。在更高剂量组观察到血液化学指标的改变,虽然不存在剂量反应关系,但是小鼠血液指标的变化显然与 MC-LR 暴露有关。由于猪是 MC 的敏感动物,并且与小鼠等啮齿类动物比较猪的特征与人类更接近,Falconer 等^[10]以其作为动物模型开展了一项亚慢性毒性试验。研究人员连续 44 天在猪的饮水中加入相当于 MC 含量为 184、522 和 860 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的铜绿微囊藻提取物,由于观察到 184 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 剂量组中 1 头猪出现肝组织损伤,因此将该暴露量当作最低观察到有害作用剂量(lowest observable adverse effect level, LOAEL);血浆指标分析显示, γ -谷胺酰转移酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素和血浆白蛋白水平随 MC 暴露呈剂量时间反应关系,前 3 个指标上升而血浆白蛋白水平随 MC 暴露明显下降。

2. MC 对人群的健康效应:Falconer 等^[11]开展的作为城市水源地的水库发生铜绿微囊藻水华与人群健康关系的回顾性流行病学调查显示,水华期间饮用污染的水库水和在水华后饮用硫酸铜处理水的人群



Microcystin LR R = CH(CH₃)₂
 Microcystin RR R = CH₂CH₂NHC(NH₂) = NH
 Microcystin YR R = C₆H_{4-p}-OH

图1 常见 MC 的化学结构式

1. MC 的动物毒理学研究:MC 摄入体内后经消化道主动吸收进入门脉循环,借助载体介导的转运系统迅速自血浆清除,并通过主动转运进入肝细胞。一旦进入肝细胞中,MC 与丝/苏蛋白磷酸酯酶 1 和 2A 紧密结合并抑制酶活性,导致维持细胞结构

作者单位:100050 北京,中国疾病预防控制中心营养与食品安全所

血清 GGT 水平明显高于对照组人群,水华停止后暴露组 GGT 水平下降,水华发生前和水华停止后暴露组 GGT 水平低于对照组人群。巴西 Caruaru 地区某血液透析中心因为使用微囊藻水华污染的水库水作为透析水导致 126 例患者出现亚急性肝脏毒性症状,造成约 50 例患者死亡,免疫分析表明患者的肝脏和血清中均存在高浓度的 MC^[12]。这是世界上首次报道的 MC 直接引起人群肝损伤并致死的报道。我国研究表明,饮用水长期低浓度 MC 暴露也可能与人群肝功能的损伤有关。江苏泰兴的研究显示,饮用含有 MC 的沟塘河浜水和浅井水的学生血清谷丙转氨酶(ALT)、GGT 阳性比例高于饮用自来水人群;ALP 活性分布具有组间差异,MC 暴露组高 ALP 活性的人群比例较高^[13]。在江苏溧阳,220 名小学生按照饮用水 MC 含量的高低分成 3 组,在校正年龄、身高和体重的混杂因素后,发现男生 ALT 和 GGT 分布具有组间差异,MC 暴露越严重则人群 ALT 阳性所占比例越高。进一步校正乙型肝炎病毒(HBV)感染的影响,结果显示 HBV 阴性男生 ALT 分布组间差异仍具有显著性^[14]。江苏无锡的研究显示,小学生血清 ALT、GGT 和 ALP 水平与饮用水 MC 暴露程度呈线性趋势,MC 暴露等级高的人群血清肝脏酶活性也较高^[15]。

研究提示长期饮用 MC 污染的水与我国原发性肝癌发病率的上升有关。江苏海门和广西扶绥的数次流行病学调查均一致表明饮水和肝癌有密切的关系。饮用沟塘水居民的肝癌死亡率在 100/10 万左右,显著高于饮用浅井水或深井水(20/10 万)的人群。在海门和扶绥进行的以人群为基础的病例对照研究表明,饮用沟塘水发生肝癌的相对危险度分别为 1.91(95% CI: 1.01 ~ 4.73) 和 2.93(95% CI: 2.59 ~ 3.27)。俞顺章等对上海南汇 8 万居民的定群研究结果显示,饮用沟塘水者发生肝癌的相对危险度为 1.163(95% CI: 1.024 ~ 1.321),饮用河水者为 1.246(95% CI: 1.087 ~ 1.429);水样分析显示沟塘水和河水 MC 含量显著高于井水^[16]。江苏无锡的研究表明,饮用水 MC 的含量与男性胃癌标化死亡率之间存在正相关($r = 0.648, P < 0.05$),由于该地区 1990 ~ 2000 年间胃癌死亡率呈上升趋势,推测饮水 MC 暴露与当地胃癌死亡率的上升相关^[17]。浙江海宁的研究表明,与饮用井水相比,饮用河浜水及池塘水人群大肠癌发病的相对危险度分别为 7.94 和 7.70;当地浅表水源 MC 的含量与大肠癌的发病率

呈明显的正相关关系($r = 0.881, P < 0.01$)^[18]。

3. 饮水和食品中 MC 的污染:MC 经口暴露的主要形式包括直接饮用 MC 污染的水、食用 MC 污染的食物以及服用以蓝藻为原料的保健食品。

澳大利亚某清澈湖水处理的自来水样品 MC 含量在 1 ~ 23 pg/ml 之间。加拿大 Alberta 地区某湖来源的自来水样品 MC-LR 含量在 100 ~ 1 000 pg/ml 之间^[19]。美国威斯康星州东北部水体的样品 MC 阳性率为 87%^[20]。中国海门的研究显示,324 份沟塘水样品 MC 平均浓度为 101 pg/ml(文中 MC 的平均浓度均为算术均数),199 份河水样品 MC 平均浓度为 199 pg/ml,浅井水未检出毒素^[16]。8 ~ 9 月间淀山湖周围的某些水厂的水源均能检出 MC,样品 MC 含量可高达 20 000 pg/ml;出厂水中也能检出毒素,浓度在 128 ~ 1 400 pg/ml 之间^[21]。无锡的研究表明,7 月和 11 月的太湖水源样品均可检出 MC,平均浓度分别为 9 773 和 143 pg/ml。自来水、浅井水和河塘水 MC 阳性率分别为 30%、23% 和 67%,平均浓度分别为 91、82 和 71 pg/ml,深井水样品未检出 MC。上述研究结果提示,MC 广泛存在于湖泊、池塘和河流中,而且在处理后的自来水中也能检出,甚至某些自来水 MC 含量超过 WHO 推荐的 1 $\mu\text{g/L}$ 的指导值。

食品中 MC 污染状况的报道较少。巴西的一个为期 3 年的研究表明,在天然湖泊中的罗非鱼肝脏、内脏和肌肉组织中检出 MC。蓝藻水华出现后不久即可在湖泊中的鱼体肝脏、肌肉和内脏组织中检测到 MC,鱼肉样品 MC 最高含量达 337.3 ng/g^[22]。在我国太湖 7 月份水华期间所取的 28 份鱼类样品中,鱼肝 MC 含量在 1.2 ~ 150.9 ng/g,平均浓度为 28.8 ng/g,鱼肉 MC 含量在 1.0 ~ 13.2 ng/g 之间,平均浓度为 4.0 ng/g。英国某商业园艺单位灌溉莴苣的水源水正在爆发蓝藻水华,随后的研究表明,水华样品的 MC 含量为 $(3.23 \pm 0.11) \mu\text{g/mg}$,莴苣叶不同部位的 MC 含量在 0.094 ~ 2.579 $\mu\text{g/g}$ 之间^[23]。Gilroy 等^[24]对 87 份以蓝藻为原料的保健食品样品中的 MC 污染情况进行分析,结果表明 85 份样品可以检出 MC,且其中 63 份(72%)样品 MC 含量 $> 1 \mu\text{g/g}$,样品 MC 的最高浓度达 16.4 $\mu\text{g/g}$ 。初步调查显示,我国市售螺旋藻保健品 MC 含量在 2.1 ~ 476.8 ng/g 之间。在动物性和植物性食品中均能检出 MC,提示人类可能因为摄入 MC 污染的食品暴露于蓝藻毒素。

4. 危险性分析:由于人体蓝藻毒素实际暴露量

及其产生的不利后果尚未定论,因此目前尚不能对暴露造成的健康危害进行定量评估。根据上述小鼠口服实验的血清酶水平和肝组织病理学提出 NOAEL 为 $40 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 不确定系数设定为 1 000, MC-LR 的每日耐受摄入量 (tolerable daily intake, TDI) 为 $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; 根据猪口服实验结果提出 LOAEL 为 $184 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 不确定系数设定为 1 500, MC-LR 的 TDI 为 $0.067 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 采用上述较小的 TDI, 假设某人体重 60 kg, 每天饮水 2 L, 若饮用水 MC 含量为 $1 \mu\text{g}/\text{L}$, 则个体 MC 摄入量低于 TDI。鉴于饮水是人群 MC 的主要暴露方式, WHO 采纳 $1 \mu\text{g}/\text{L}$ 作为饮用水中 MC 的暂定指导值, 该值仅适用于 MC-LR^[2,9,10]。

根据 WHO 推荐的 MC TDI 为 $0.04 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 假设某人体重 60 kg, 每天摄入鱼肉 300 g, 若鱼肉 MC 含量 $8 \text{ ng}/\text{g}$, 则个体 MC 摄入量已达 TDI^[22]。Gilroy 等^[24]认为对成年人来说, 蓝藻保健品 MC 的安全水平为 $1 \mu\text{g}/\text{g}$, 推算公式为: 安全水平 = TDI × 体重 ÷ 每日蓝藻保健品摄入量。式中 TDI 为 $0.04 \mu\text{g}/\text{kg}$; 体重按 60 kg 计; 每日蓝藻保健品摄入量为 2 g, 由此得出 $1.2 \mu\text{g}/\text{d}$ 修正为 $1.0 \mu\text{g}/\text{d}$ 。1997 年美国俄勒冈州农业局采纳 $1 \mu\text{g}/\text{g}$ 作为蓝藻保健品中 MC 的管理标准。

5. 结论: 当前蓝藻毒素与人类健康的关系受到了越来越多的关注。由于流行病学研究表明人群原发性肝癌发生率增高可能与池塘/沟塘水、河水和浅井水中的 MC 有关联, 但是在肝癌高发地区不同类型饮用水 MC 含量又均未超过 WHO 提出的 $1 \mu\text{g}/\text{L}$ 的标准, 因此 Ueno 等^[25]提出饮用水 MC 标准应修正为 $0.01 \mu\text{g}/\text{L}$ 。假设体重 60 kg 的成年人每日摄入 300 g 鱼肉, 巴西的研究显示 71.7% 的鱼肉样品 MC 含量接近或超过 WHO 推荐的 TDI, 我国的研究提示 10.7% 的太湖鱼肉样品 MC 含量超过推荐值。国外研究表明 72% 的蓝藻保健品 MC 含量超过当地制定的管理标准。这些数据表明食品中 MC 暴露造成的潜在健康威胁不容忽视。目前已有的关于 MC 的健康效应研究均是从饮用水的角度出发的, 未来应该获得多种食物中 MC 的污染数据, 从饮用水和食物等多个途径综合评价人体摄入蓝藻毒素后的急性和慢性健康效应, 收集详细的数据以建立危险性评估模型, 并评估各种降低 MC 危险性措施的效果, 期待能够最终消除蓝藻毒素对人类健康的威胁。

蓝藻水华是当前我国面临的一个非常严峻的公

共卫生问题。江苏太湖、安徽巢湖、武昌东湖和云南滇池等均是周边城市的重要饮用及娱乐水体, 同时也是水产品的重要供应基地。然而, 近年来上述湖泊在夏秋季节连年发生大规模的蓝藻水华, 研究表明其中 80% 的水华是有毒的。与国外研究比较, 我国虽然在蓝藻水华及其毒素研究方面开展了大量工作, 但是在相应政策的制定方面仍较为欠缺。如何控制蓝藻毒素对饮用水和食品的污染, 切实保护消费者的健康, 建立饮水和食品中蓝藻毒素的卫生标准是当前亟待解决的问题。

参 考 文 献

- 1 Sano T, Beattie KA, Codd GA, et al. Two (Z)-dehydrobutyryne-containing microcystins from a hepatotoxic bloom of *Oscillatoria agardhii* from Souleseat Loch, Scotland. *J Nat Prod*, 1998, 61: 851-853.
- 2 WHO. Report of the working group on chemical substances in drinking water. Geneva: World Health Organization, Section 5.2, Microcystin-LR, 1997.
- 3 Nishiwaki R, Ohta T, Sueoka E, et al. Two significant aspects of microcystin-LR: specific binding and liver specificity. *Cancer Lett*, 1994, 83: 283-289.
- 4 Runnegar M, Berndt N, Kong SM, et al. In vivo and in vitro binding of microcystin to protein phosphatases 1 and 2A. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 216: 162-169.
- 5 Carmichael WW. The toxins of cyanobacteria. *Sci Am*, 1994, 270: 78-86.
- 6 Sekijima M, Tsumi T, Yoshida T, et al. Enhancement of glutathione-S-transferase placental form positive liver cell foci development by microcystin-LR in aflatoxin B1-initiated rats. *Carcinogenesis*, 1999, 20: 161-165.
- 7 Ito E, Kondo F, Terao K, et al. Neoplastic nodular formation in mouse liver induced by repeated intraperitoneal injections of microcystin-LR. *Toxicol*, 1997, 35: 1453-1457.
- 8 Humpage AR, Hardy SJ, Moore EJ, et al. Microcystins (cyanobacterial toxins) in drinking water enhance the growth of aberrant crypt foci in the mouse colon. *J Toxicol Environ Health*, 2000, 61: 155-165.
- 9 Fawell J, James CP, James HA. Toxins from blue-green algae: toxicological assessment of microcystin-LR and a method for its determination in water. Foundation for Water Research. Marlow, Bucks, 1993.
- 10 Falconer IR, Burch MD, Steffensen AD, et al. Toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Microcystis aeruginosa* in drinking water to growing pigs, as an animal model for human injury and risk assessment. *Environ Toxicol Water Qual*, 1994, 9: 131-139.
- 11 Falconer IR, Beresford AM, Runnegar MTC. Evidence of liver damage by toxin from a bloom of the blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*. *Med J Aust*, 1983, 1: 511-514.
- 12 Pouria S, de Andrade A, Barbosa J, et al. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *Lancet*, 1998, 352: 21-26.
- 13 连民, 刘颖, 俞顺章, 等. 饮水中微囊藻毒素对人群健康影响的横断面研究. *中华流行病学杂志*, 2000, 21: 437-440.
- 14 穆丽娜, 俞顺章, 赵金扣, 等. 微囊藻毒素与小学校健康影响的流行病学研究. *中国公共卫生*, 2001, 17: 799-801.
- 15 陈艳, 俞顺章, 林玉娣, 等. 太湖地区饮用水微囊藻毒素与小学校

- 肝功能的关系. 复旦大学学报(医学版) 2002, 29:462-464.
- 16 陈刚, 俞顺章, 卫国荣, 等. 肝癌高发区不同饮用水类型中微囊藻毒素含量调查. 中华预防医学杂志, 1996, 30:6-9.
 - 17 陈艳, 俞顺章, 杨坚波, 等. 太湖地区城市饮用水微囊藻毒素与恶性肿瘤死亡率的关系. 中国癌症杂志, 2002, 12:485-488.
 - 18 周伦, 鱼达, 余海, 等. 饮用水源中的微囊藻毒素与大肠癌发病的关系. 中华预防医学杂志, 2000, 34:224-226.
 - 19 Duy TN, Lam PKS, Shaw GR. Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water. Rev Environ Contam Toxicol 2000, 163:113-186.
 - 20 McDermott CM, Feola R, Plude J. Detection of cyanobacterial toxins (microcystins) in waters of northeastern Wisconsin by a new immunoassay technique. Toxicon, 1995, 33:1433-1442.
 - 21 连民, 俞顺章, 陈传炜, 等. 淡水湖泊周围水厂源水及出厂水微囊藻毒素的季节性调查. 中国公共卫生 2001, 17:797-798.
 - 22 Magalhaes VF, Soares RM, Azevedo SM. Microcystin contamination in fish from the Jacarepagua Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. Toxicon, 2001, 39:1077-1085.
 - 23 Codd GA, Metcalf JS, Beattie KA. Retention of *Microcystis aeruginosa* and microcystin by salad lettuce (*Lactuca sativa*) after spray irrigation with water containing cyanobacteria. Toxicon, 1999, 37:1181-1185.
 - 24 Gilroy DJ, Kauffman KW, Hall RA, et al. Assessing potential health risks from microcystin toxins in blue-green algae dietary supplements. Environ Health Perspect, 2000, 108:435-439.
 - 25 Ueno Y, Nagata S, Tsutsumi T, et al. Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. Carcinogenesis, 1996, 17:1317-1321.

(收稿日期 2003-04-10)

(本文编辑:尹廉)

· 疾病控制 ·

襄樊市恶性肿瘤、肺结核、乙型肝炎、精神病和矽肺患者的弓形虫感染血清学调查

许正敏 刘国强 钱明术 郝世胜 何琦

弓形虫病是一种多途径感染多组织损伤,引起临床多症状表现的全球性人兽共患寄生虫病,为摸清我市弓形虫感染情况,现将 2002 年检查结果报道如下。

1. 材料与方法:被检血清分别取自确诊的乙型肝炎患者、恶性肿瘤患者、肺结核患者、矽肺患者、精神病患者,对照组血清来自市中心血站检测合格的健康献血者,抗弓形虫抗体(Tox-Ab),试剂盒由三门市蓝波生物技术研究所提供。采用胶体金标法(全国第四届弓形虫会议制定的检测方法之一)检测抗弓形虫抗体(IgG/IgM)。操作方法,严格按说明书进行,根据阳性对照、阴性对照、试剂失效对照板判断结果。

2. 结果:调查恶性肿瘤等 5 类疾病患者血清 560 份,阳性 101 份,阳性率为 18%(101/560),对照组血清 80 份,全部为阴性,两者之间差异有极显著性($\chi^2 = 19.33, P < 0.01$)。

恶性肿瘤患者、乙型肝炎患者、精神病患者的阳性率分别与对照组及肺结核病人比较差异均有非常显著性($\chi^2 = 10.67, P < 0.01$; $\chi^2 = 17.33, P < 0.01$; $\chi^2 = 10.67, P < 0.01$); 矽肺患者阳性率分别与对照组及肺结核患者相比,差

异亦有显著性($\chi^2 = 6.23, P < 0.05$)。

3. 讨论:恶性肿瘤等 5 类疾病患者与我省人体弓形虫感染,平均水平相比差异有非常显著性($u = 16.79, P < 0.01$),且与正常对照组健康献血者相比,差异亦有非常显著性,尤其是恶性肿瘤感染率最高。一般认为细胞免疫是抗肿瘤主力,故肿瘤患者主要是细胞免疫功能低下,加之一些肿瘤长期接受放射治疗及肿瘤进行性生长时,患者的免疫功能受抑制,这些可能是 5 类疾病中感染弓形虫最高的重要原因。结核杆菌为胞内感染,其免疫主要以 T 细胞为主的细胞免疫,致敏淋巴细胞产生 IL-2、IFN- γ ,且 IFN- γ 是抗弓形虫免疫中起主导作用的细胞因子,可对 CD8⁺ T 细胞分化成熟起促进作用,进而对被弓形虫速殖子感染的靶细胞产生较强的细胞毒杀作用,诱导增强巨噬细胞吞噬、杀灭虫体功能。这一免疫现象可能是肺结核患者弓形虫检出率全部阴性的重要原因之一,加之抗痨治疗药物亦可能对弓形虫有杀灭作用,也是一个不可忽略的因素。建议对伴发感染弓形虫疾病在治疗过程中,除常规治疗外,应考虑配伍抗弓形虫药物及应用提高细胞免疫力的生物制品 IFN- γ ,以使恶性肿瘤等疾病提高自身的免疫力,又可杀灭弓形虫,起到一药两用的作用,值得探究。

(收稿日期 2003-01-20)

(本文编辑:尹廉)

作者单位:441021 襄樊市职业技术学院免疫学与病原生物教研室(许正敏);襄樊市中心医院(刘国强);襄樊市结核病防治医院(钱明术);襄樊市安定医院(郝世胜);襄樊市职业病医院(何琦)