

转人 α -乳清白蛋白基因奶粉 亚慢性毒性试验



支媛 刘海波 耿桂英 汪会玲 杨华
冯晓莲 高芑 余强 冯永全 徐海滨¹

中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021

摘要:目的 研究转人 α -乳清白蛋白基因奶粉对 Wistar 大鼠的亚慢性毒性。方法 取初断乳 Wistar 大鼠 140 只,雌雄各半,按照体重随机分为 7 组。分别喂饲含有转人 α -乳清白蛋白比例为 15%、30% 和 60% 成分奶粉的配制饲料,添加比例为 15%、30% 和 60% 普通奶粉的配制饲料和基础饲料,喂饲 90 天。在实验中期(第 45 天)和实验结束时(第 90 天)采血检测血液学和血液生化指标。实验结束时处死实验动物,测定脏器绝对重量,计算脏器指数,并对主要脏器进行病理组织学观察。结果 转人 α -乳清白蛋白基因奶粉组与普通奶粉组和基础饲料组比较,未发现转人 α -乳清白蛋白基因奶粉对动物体重、食物利用率、血液学、血液生化、脏器系数和病理组织学观察有生物学意义的改变。结论 给予大鼠转人 α -乳清白蛋白基因奶粉 90 天未发现该奶粉对实验动物有毒性作用。

关键词:转基因奶粉 α -乳清白蛋白 亚慢性毒性

中图分类号: R155.51 TS201.6

文献标识码: A

Study on sub-chronic toxicity of powdered milk containing transgenic human α -lactalbumin

ZHI Yuan, LIU Haibo, GENG Guiying, WANG Huiling, YANG Hua,
FENG Xiaolian, GAO Peng, YU Qiang, FENG Yongquan, XU Haibin

Institute of Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100021, China

Abstract: Objective To investigate the potential toxic or adverse effect of transgenic human α -lactalbumin powdered milk on rats. **Methods** Weanling Wistar rats were randomly divided into seven groups according to the weight: three transgenic milk powder (T) groups, three non-transgenic milk powder (N) groups and the control (C) group. The diets of T groups contain 15%, 30% and 60% transgenic human α -lactalbumin milk powder. The diets of N groups contain 15%, 30% and 60% non-transgenic human α -lactalbumin milk powder for 90 days. The diet of C group contains only basic feed. Haematological and biochemical parameters were measured during the study (at 45th and 90th of the experiment). At the end of the 90th day, organ tissues analysis was performed. **Results** There were no transgenic human α -lactalbumin related adverse effects on the body weight, food intake, food consumption, hematology, serum biochemistry, as well as histopathology. **Conclusion** There were no signs of toxic and adverse effects for transgenic human α -lactalbumin powdered milk on rats.

Key words: transgenic milk powder, α -lactalbumin, sub-chronic toxicity

由于物种之间的差异,牛乳的品质与人乳具有较大的差异,其中,牛乳中 α -乳清白蛋白(α -lactalbumin, α -LA)的相对含量要显著低于人乳。 α -LA 几乎存在于所有的哺乳动物乳

汁中,氨基酸组成的 63% 为人体营养所必需的氨基酸,具有重要的生理功能。高含量的 α -LA 食品有利于调整睡眠规律,促进肌肉合成^[1]。人 α -LA 的折叠变异体还具有杀菌和诱导肿瘤细胞凋亡的功能,并取得了良好的临床疗效^[2]。改善牛乳品质,使之更接近于人乳,即进行“人乳化”牛奶改造,在牛乳腺中特异表达人 α -LA 可以提高 α -LA 的含量,改善牛乳的营养价值,使之更接近人乳的成分。动物转基因技术,特别是利用动物乳腺生物反应器表达外源蛋白,给我们提供了一条便捷的改善牛乳成分途径。

目前国际上还没有统一的转基因动物食用安全性评价程

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项 (No. 2008zx08007-001 2008zx08011-005)

作者简介: 支媛,女,主管技师,研究方向: 营养与食品卫生,
E-mail: yuanyuan2131@yahoo.com.cn

¹ 通讯作者: 徐海滨,男,研究员,研究方向: 营养与食品卫生,
E-mail: hbxu1231602@vip.sina.com

序和方法 2003年11月FAO/WHO联合专家委员会讨论提出,转基因动物食用安全性评价基本上可以参照转基因植物食用安全性评价程序。大鼠90天喂养实验是转基因全食品毒理学评价的主要内容,参照农业部行业标准《转基因植物及其产品食用安全检测大鼠90天喂养试验》,本研究给实验动物饲料添加了转人 α -乳清白蛋白基因的奶粉,以研究此奶粉的亚慢性毒性,为进行转基因奶粉的安全性评价提供科学数据。

1 材料与方法

1.1 受试物

转人 α -LA基因鲜奶是中国农业大学和北京济普霖生物技术有限公司开发的具有中国自主知识产权的转基因克隆牛生产的,经过冷冻干燥制成转人 α -LA基因奶粉。普通奶粉是同一奶牛饲养场普通奶牛生产的鲜奶经同一方法和工艺制成的奶粉。样品常温保存,供试验用。

1.2 实验动物和环境

选取中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供的SPF级健康初断乳Wistar大鼠140只,平均体重50~60g,用鼠维持饲料适应性喂养3天,按性别、体重随机分成7组,每组20只,雌雄各半。动物合格证号SCXK(军)2007-004。SPF环境条件下单笼喂养,自然采光,12h明暗交替,环境温度22~25℃,相对湿度45%~60%。动物房合格证号SYXK(军)2002-017。自由进食,连续13周。饮用纯净水,饮水符合GB5749标准。

1.3 剂量设计和分组

奶粉是老人和婴幼儿经常食用的食品,在考虑到动物饲料的营养平衡基础上,本研究以基础饲料中转人 α -LA基因奶粉最大掺入量(60%)作为高剂量组,在此剂量下再设2个剂量组。分别将含转人 α -LA基因奶粉和普通奶粉按照15%、30%和60%的比例添加到基础饲料中,空白对照组喂饲基础饲料。所有配制饲料加工成大鼠块状饲料,经⁶⁰Co照射灭菌,使饲料达到清洁级水平。配制后的转人 α -LA基因奶粉组和普通奶粉组饲料按照相应国家标准的要求对蛋白质、脂肪、碳水化合物、维生素和矿物质等营养素进行测定,经分析检测符合GB14924.3要求。

实验剂量设计分为7个组,分别为喂饲基础饲料的空白对照组、喂饲15%普通奶粉的低剂量组(N1)、喂饲30%普通奶粉的中剂量组(N2)、喂饲60%普通奶粉的高剂量组(N3)、喂饲15%转基因奶粉的低剂量组(T1)、喂饲30%转基因奶粉的中剂量组(T2)、喂饲60%转基因奶粉的高剂量组(T3)。

1.4 主要仪器与试剂

日本光电全自动血球计数仪(MEK-6318K),日本樱花全自动脱水机(VIP-E150F)、自动包埋机(TEK-CC/TEK-EC)及全自动封片机(SCA-5600),英国珊顿半自动石蜡切片仪(E0106),德国莱卡全自动染色机(ST5010),全自动生化分析仪(日立),低温冷冻离心机(Beckman coulter, AllegraTM X-22R centrifuge)。

1.5 检测指标

按照标准进行动物的临床症状观察、血液学检查、血液生化指标测定、脏器系数测定和病理组织学检查。

1.5.1 动物的临床症状观察

观察动物的活动、精神、皮肤

毛发、摄食和排尿、粪便情况,每周测定体重及进食量,计算食物利用率(每摄入100g饲料的体重增长克数)。

1.5.2 血液学及生化指标检查 试验中期(第45天)及试验结束(第90天)分别取血进行白细胞计数及分类(WBC)、红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)和血小板计数(PLT),谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、尿素氮(BUN)、肌酐(CRE)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(CHO)、血糖(GLU)、碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)检测。

1.5.3 脏器系数和组织病理学检查 于试验结束麻醉处死动物前称体重,取肝脏、脾脏、肾脏、睾丸、心脏、肾上腺、胸腺称重,计算相应的脏器系数(以百克体重计算)。实验结束时麻醉处死大鼠,大体解剖观察大鼠主要脏器的变化,腹腔和胸腔内无出血、血肿。取脑、心脏、肺脏、甲状腺、肝脏、肾脏、肾上腺、胸腺、脾脏、胃肠(十二指肠、空肠和回肠)、睾丸、附睾、前列腺、卵巢和子宫,用40%甲醛固定,HE染色,进行组织病理学检查。

1.6 数据统计

采用SPSS 15.0软件包进行统计学分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,统计指标均进行正态性及方差齐性检验,正态分布数据多组间比较采用One-Way ANOVA分析。

2 结果和分析

2.1 动物临床症状观察

试验期间各组动物活动自如,无其他行为异常,精神、皮肤毛发等一般情况良好,摄食和排尿、粪便情况正常,无死亡。雄性大鼠30%转基因组从第8周开始,15%转基因组从第10周开始至试验结束,动物体重高于对照组,差异有显著性($P < 0.05$),但与相应普通奶粉组比较,差异无显著性($P > 0.05$),认为转人 α -LA基因奶粉对大鼠体重无不良影响。

由表1可见,雌雄各剂量转基因组的总食物利用率高于对照组($P < 0.01$),但与相应普通奶粉组比较,差异无显著性($P > 0.05$),认为转人 α -LA基因奶粉对食物利用率无不良影响。

2.2 血液学指标

大鼠喂养45天时,各剂量转基因组雌雄大鼠的白细胞计数及分类、红细胞计数、血红蛋白和血小板计数与对照组比较,差异均无显著性($P > 0.05$);喂养大鼠90天至实验结束,大鼠麻醉腹主动脉取血,再次测定上述血液学指标,各剂量转基因组雌雄大鼠的白细胞计数及分类、红细胞计数、血红蛋白和血小板计数与对照组比较,差异均无显著性($P > 0.05$)。90天喂养实验末期血液学指标见表2。

2.3 血液生化指标

转人 α -LA基因奶粉和普通奶粉喂养大鼠90天,由表3可见,雌性各剂量组转人 α -LA基因奶粉组的总蛋白、雄性15%和30%转人 α -LA基因奶粉组的白蛋白高于对照组及相应的普通奶粉组,差异有显著性($P < 0.05$),但在本实验室的历史检测范围之内,且无剂量-反应关系,认为无生物学意义。其余转人 α -LA基因奶粉组的总蛋白、白蛋白以及各剂量转人 α -LA基因奶粉组的谷草转氨酶、谷丙转氨酶、尿素氮、肌酐、甘油三酯、总胆固醇、血糖、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶与对照组比较,差异均无显著性($P > 0.05$)。

表 1 转人 α -LA 基因奶粉对大鼠食物利用率的影响

性别	组别	第 1 周	第 7 周	第 13 周	总食物利用率
雄	空白对照组	47.0 \pm 2.9	9.9 \pm 4.9	3.4 \pm 12.4	17.6 \pm 1.4
	15% 普通奶粉	59.8 \pm 6.6	13.7 \pm 4.7	6.5 \pm 13.4	22.2 \pm 1.0
	30% 普通奶粉	50.7 \pm 12.6	9.0 \pm 4.0	1.3 \pm 7.1	21.3 \pm 1.1
	60% 普通奶粉	52.2 \pm 9.5	12.2 \pm 4.2	5.6 \pm 10.5	23.2 \pm 1.2
	15% 转基因奶粉	44.0 \pm 9.6	16.2 \pm 2.9	1.9 \pm 11.8	22.1 \pm 1.6 ⁽¹⁾
	30% 转基因奶粉	56.7 \pm 13.3	9.8 \pm 2.7	-0.4 \pm 5.3	21.7 \pm 1.5 ⁽¹⁾
	60% 转基因奶粉	51.1 \pm 5.7	13.8 \pm 5.1	5.1 \pm 5.2	22.9 \pm 1.5 ⁽¹⁾
雌	空白对照组	49.4 \pm 20.7	3.5 \pm 1.8	2.6 \pm 4.2	11.7 \pm 1.0
	15% 普通奶粉	46.6 \pm 5.2	7.2 \pm 2.8	1.2 \pm 19.9	16.1 \pm 2.1
	30% 普通奶粉	43.2 \pm 5.3	7.8 \pm 5.9	2.3 \pm 9.8	14.7 \pm 0.9
	60% 普通奶粉	44.2 \pm 6.6	8.7 \pm 4.3	0.6 \pm 5.6	15.6 \pm 1.0
	15% 转基因奶粉	38.1 \pm 4.6	7.7 \pm 3.5	4.7 \pm 8.2	14.5 \pm 1.2 ⁽¹⁾
	30% 转基因奶粉	42.2 \pm 4.8	7.2 \pm 4.5	2.0 \pm 5.3	15.5 \pm 1.1 ⁽¹⁾
	60% 转基因奶粉	45.5 \pm 6.1	6.7 \pm 1.8	1.4 \pm 4.8	14.6 \pm 1.0 ⁽¹⁾

注: (1) 与对照组比较, $P < 0.01$

表 2 转人 α -LA 基因奶粉 90 天喂养实验对大鼠末期血常规的影响

性别	组别	WBC ($\times 10^9/L$)	RBC ($\times 10^{12}/L$)	HGB (g/L)	PLT ($\times 10^9/L$)	LY (%)	MO (%)	GR (%)
雄	空白对照组	17.7 \pm 2.2	8.00 \pm 0.53	156 \pm 11	529 \pm 82	72.0 \pm 9.2	0.7 \pm 0.1	27.3 \pm 9.1
	15% 普通奶粉	15.9 \pm 1.8	8.29 \pm 0.23	162 \pm 5	563 \pm 51	68.7 \pm 6.5	0.7 \pm 0.1	30.6 \pm 6.4
	30% 普通奶粉	14.0 \pm 1.6	7.82 \pm 0.41	150 \pm 8	516 \pm 53	69.5 \pm 5.8	0.6 \pm 0.1	29.9 \pm 5.7
	60% 普通奶粉	15.3 \pm 1.4	7.85 \pm 0.41	153 \pm 9	525 \pm 60	64.0 \pm 8.2	0.7 \pm 0.1	35.3 \pm 8.2
	15% 转基因奶粉	15.8 \pm 2.8	7.77 \pm 0.51	152 \pm 9	539 \pm 52	73.1 \pm 5.2	0.7 \pm 0.2	26.2 \pm 5.2
	30% 转基因奶粉	15.5 \pm 2.6	8.04 \pm 0.55	158 \pm 9	585 \pm 72	70.1 \pm 4.2	0.8 \pm 0.1	29.1 \pm 4.2
	60% 转基因奶粉	15.7 \pm 2.7	7.90 \pm 0.45	155 \pm 9	572 \pm 44	70.2 \pm 4.4	0.7 \pm 0.1	29.1 \pm 4.3
雌	空白对照组	15.6 \pm 1.9	7.40 \pm 0.52	153 \pm 9	761 \pm 104	77.4 \pm 4.9	0.8 \pm 0.2	21.8 \pm 4.8
	15% 普通奶粉	13.8 \pm 1.9	7.17 \pm 0.48	153 \pm 14	799 \pm 104	76.4 \pm 5.6	0.8 \pm 0.1	22.9 \pm 5.5
	30% 普通奶粉	13.1 \pm 1.2	7.40 \pm 0.19	157 \pm 5	805 \pm 79	75.8 \pm 5.7	0.8 \pm 0.1	23.4 \pm 5.6
	60% 普通奶粉	14.6 \pm 2.8	6.99 \pm 0.47	152 \pm 12	783 \pm 124	74.7 \pm 4.1	0.8 \pm 0.1	24.5 \pm 4.1
	15% 转基因奶粉	15.3 \pm 2.3	7.20 \pm 0.34	154 \pm 8	813 \pm 110	80.4 \pm 7.3	0.7 \pm 0.1	18.9 \pm 7.2
	30% 转基因奶粉	13.3 \pm 1.3	6.97 \pm 0.60	156 \pm 5	891 \pm 70	78.5 \pm 3.7	0.8 \pm 0.1	20.7 \pm 3.7
	60% 转基因奶粉	15.0 \pm 1.8	7.22 \pm 0.31	154 \pm 7	807 \pm 60	80.0 \pm 5.7	0.8 \pm 0.1	19.2 \pm 5.6

2.4 大体及组织学病理检查

大体解剖观察大鼠实体脏器质软、颜色正常,未见肿瘤和结节,肠腔未见胀气。空白对照组大鼠出现肝灶状坏死 1 例、肝点状坏死 1 例、肾盂扩张 3 例、心肌细胞坏死 1 例、睾丸萎缩 1 例;60% 普通奶粉组大鼠出现肝灶状坏死 1 例;60% 转人 α -LA 基因奶粉组出现肝点状坏死 4 例。上述肝、肾、心、睾丸的病理学改变是在实验动物中普遍存在的自发现象,在空白对照组和普通奶粉组均有发生,发生动物个数属于散发,其发生率在本实验室多年试验的历史对照范围内,认为与转人 α -LA 基因奶粉无关。

2.5 脏器系数

脏器系数是整体动物实验比较常用的毒性指标,该指标的异常可以为研究者提供受试物毒性靶部位或器官的信息。一般有脏器体重比和脏器全脑比两种描述方式,本实验根据实际情况,选用脏器体重比作为观察指标。由表 4 可见,雄性 15%、30% 转人 α -LA 基因奶粉组的脾体比,雄性 15%、60% 转人 α -LA 基因奶粉组和雌性 30% 转人 α -LA 基因奶粉组的肾体比低于对照组,差异有显著性 ($P < 0.05$),但与相应普通

奶粉组比较,差异无显著性 ($P > 0.05$),出现差异的转人 α -LA 基因奶粉组的变化趋势不一致,不呈剂量-反应关系,且并在本实验室该指标的历史检测范围之内,认为与转人 α -LA 基因奶粉无关。其余转人 α -LA 基因奶粉组脾体比、肾体比和其他各项脏体比与空白对照组比较,差异均无显著性 ($P > 0.05$)。

3 讨论

随着转基因动物种类的不断增多,可作为转基因动物食品的原料也将更加丰富^[3]。转基因动物性食品的研究与开发的迅速发展,也从一个侧面反映出转基因动物性食品安全性评估的必要性和迫切性。牛奶是人类多种食物资源的提供者,与人乳相比,牛奶缺少一些对人的健康非常重要的物质,如 α -LA 等。利用动物乳腺反应器生产功能蛋白具有产量高、成本低、生物活性高、对环境污染少等优点^[4]。 α -LA 在乳腺上皮细胞内合成,分泌到所有的哺乳动物乳汁中。

目前,用转基因植物全食品直接喂养实验动物,以观察转

表 3 转人 α -LA 基因奶粉 90 天喂养实验对大鼠末期血液生化指标的影响
Table 3 Biochemical parameters at termination of treatment ($n = 10 \bar{x} \pm s$)

性别	组别	ALT (U/L)	AST (U/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	BUN (mmol/L)	CRE (μ mol/L)
雄	空白对照组	155 \pm 27	37 \pm 5	61.2 \pm 5.9	31.5 \pm 3.5	8.45 \pm 1.83	97.9 \pm 13.9
	15% 普通奶粉	164 \pm 13	37 \pm 9	60.8 \pm 6.5	30.7 \pm 3.0	8.25 \pm 2.11	99.7 \pm 15.7
	30% 普通奶粉	158 \pm 26	35 \pm 9	60.9 \pm 5.1	31.0 \pm 2.5	8.09 \pm 0.84	98.5 \pm 15.6
	60% 普通奶粉	156 \pm 30	38 \pm 5	61.6 \pm 3.3	31.9 \pm 1.2	8.02 \pm 1.29	98.4 \pm 11.2
	15% 转基因奶粉	154 \pm 27	37 \pm 6	71.1 \pm 10.3 ^(2,3)	35.8 \pm 4.2 ^(2 A)	8.32 \pm 1.53	98.3 \pm 13.0
	30% 转基因奶粉	157 \pm 23	39 \pm 5	72.0 \pm 5.6 ^(2 A)	35.5 \pm 2.2 ^(2 A)	8.31 \pm 1.37	99.4 \pm 10.5
	60% 转基因奶粉	145 \pm 18	35 \pm 5	70.5 \pm 7.4 ^(1 A)	34.4 \pm 3.2	8.19 \pm 1.67	98.5 \pm 13.3
雌	空白对照组	149 \pm 28	29 \pm 3	55.6 \pm 17.5	32.7 \pm 1.4	7.78 \pm 0.63	86.8 \pm 8.3
	15% 普通奶粉	143 \pm 23	28 \pm 8	61.2 \pm 4.9	32.8 \pm 2.9	7.20 \pm 1.03	84.8 \pm 8.8
	30% 普通奶粉	143 \pm 30	29 \pm 11	61.8 \pm 3.6	33.0 \pm 2.1	7.68 \pm 1.35	88.7 \pm 9.3
	60% 普通奶粉	150 \pm 30	29 \pm 6	61.8 \pm 6.9	32.9 \pm 2.7	7.30 \pm 1.96	88.1 \pm 7.8
	15% 转基因奶粉	140 \pm 24	26 \pm 4	62.3 \pm 5.2	33.3 \pm 2.2	7.71 \pm 1.51	88.7 \pm 5.4
	30% 转基因奶粉	150 \pm 44	28 \pm 10	61.6 \pm 6.5	33.1 \pm 3.0	7.72 \pm 0.93	88.9 \pm 10.8
	60% 转基因奶粉	137 \pm 37	29 \pm 6	63.6 \pm 5.8	33.5 \pm 3.0	8.09 \pm 1.01	88.6 \pm 8.5
性别	组别	TG (mmol/L)	CHO (mmol/L)	GLU (mmol/L)	ALP (U/L)	LDH (IU/L)	
雄	空白对照组	0.80 \pm 0.15	1.68 \pm 0.17	7.75 \pm 0.98	240 \pm 56	2158 \pm 808	
	15% 普通奶粉	0.71 \pm 0.23	1.67 \pm 0.28	7.30 \pm 1.81	245 \pm 41	2183 \pm 647	
	30% 普通奶粉	0.73 \pm 0.38	1.62 \pm 0.21	7.20 \pm 1.27	224 \pm 39	2011 \pm 551	
	60% 普通奶粉	0.96 \pm 0.25	1.69 \pm 0.20	7.22 \pm 0.93	251 \pm 51	2046 \pm 514	
	15% 转基因奶粉	0.70 \pm 0.15	1.69 \pm 0.28	7.94 \pm 1.03	235 \pm 39	2160 \pm 429	
	30% 转基因奶粉	0.77 \pm 0.29	1.71 \pm 0.29	7.94 \pm 0.90	229 \pm 34	2083 \pm 420	
	60% 转基因奶粉	0.87 \pm 0.13	1.66 \pm 0.21	7.97 \pm 1.19	247 \pm 34	2036 \pm 601	
雌	空白对照组	0.74 \pm 0.21	1.40 \pm 0.19	6.98 \pm 0.58	156 \pm 32	2143 \pm 268	
	15% 普通奶粉	0.70 \pm 0.30	1.28 \pm 0.19	6.22 \pm 1.02	165 \pm 33	2141 \pm 252	
	30% 普通奶粉	0.66 \pm 0.12	1.29 \pm 0.13	7.11 \pm 0.69	161 \pm 21	1975 \pm 313	
	60% 普通奶粉	0.76 \pm 0.20	1.40 \pm 0.16	6.87 \pm 0.40	151 \pm 30	2154 \pm 316	
	15% 转基因奶粉	0.62 \pm 0.15	1.31 \pm 0.14	7.08 \pm 1.07	158 \pm 28	2066 \pm 760	
	30% 转基因奶粉	0.78 \pm 0.23	1.37 \pm 0.35	6.90 \pm 0.95	158 \pm 34	2079 \pm 794	
	60% 转基因奶粉	0.77 \pm 0.15	1.42 \pm 0.18	7.20 \pm 1.10	154 \pm 33	1908 \pm 620	

注: 与对照组比较 (1) $P < 0.05$ (2) $P < 0.01$; 与相应剂量的普通奶粉组比较 (3) $P < 0.05$ (4) $P < 0.01$

表 4 转人 α -LA 基因奶粉 90 天喂养实验对大鼠脏器系数的影响
Table 4 Relative organ weight at termination of treatment (% body weight) ($n = 10 \bar{x} \pm s$)

性别	组别	肝/体	脾脏/体	肾脏/体	心脏/体	肾上腺/体	胸腺/体	睾丸/体
雄	空白对照组	2.78 \pm 0.25	0.21 \pm 0.02	0.61 \pm 0.03	0.31 \pm 0.04	0.02 \pm 0.01	0.10 \pm 0.03	0.72 \pm 0.05
	15% 普通奶粉	2.72 \pm 0.28	0.18 \pm 0.02	0.59 \pm 0.06	0.32 \pm 0.04	0.02 \pm 0.01	0.08 \pm 0.02	0.69 \pm 0.07
	30% 普通奶粉	2.65 \pm 0.25	0.17 \pm 0.01	0.59 \pm 0.04	0.30 \pm 0.02	0.02 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01	0.69 \pm 0.08
	60% 普通奶粉	2.81 \pm 0.38	0.17 \pm 0.01	0.53 \pm 0.05	0.29 \pm 0.03	0.02 \pm 0.00	0.09 \pm 0.03	0.65 \pm 0.08
	15% 转基因奶粉	2.59 \pm 0.11	0.18 \pm 0.02 ⁽¹⁾	0.56 \pm 0.04 ⁽¹⁾	0.31 \pm 0.03	0.02 \pm 0.01	0.09 \pm 0.03	0.69 \pm 0.06
	30% 转基因奶粉	3.05 \pm 0.77	0.19 \pm 0.02 ⁽¹⁾	0.61 \pm 0.04	0.31 \pm 0.04	0.02 \pm 0.00	0.07 \pm 0.02	0.73 \pm 0.04
	60% 转基因奶粉	2.75 \pm 0.14	0.20 \pm 0.02	0.54 \pm 0.02 ⁽²⁾	0.32 \pm 0.03	0.02 \pm 0.01	0.09 \pm 0.02	0.67 \pm 0.09
雌	空白对照组	2.83 \pm 0.05	0.25 \pm 0.01	0.70 \pm 0.04	0.37 \pm 0.03	0.04 \pm 0.01	0.13 \pm 0.02	
	15% 普通奶粉	2.79 \pm 0.10	0.24 \pm 0.03	0.63 \pm 0.04	0.36 \pm 0.03	0.04 \pm 0.01	0.14 \pm 0.04	
	30% 普通奶粉	2.83 \pm 0.38	0.23 \pm 0.02	0.64 \pm 0.06	0.36 \pm 0.03	0.04 \pm 0.01	0.12 \pm 0.02	
	60% 普通奶粉	2.77 \pm 0.21	0.23 \pm 0.02	0.61 \pm 0.04	0.34 \pm 0.03	0.04 \pm 0.01	0.12 \pm 0.02	
	15% 转基因奶粉	2.77 \pm 0.21	0.25 \pm 0.03	0.64 \pm 0.07	0.37 \pm 0.02	0.04 \pm 0.01	0.13 \pm 0.02	
	30% 转基因奶粉	2.87 \pm 0.45	0.23 \pm 0.02	0.62 \pm 0.04 ⁽¹⁾	0.34 \pm 0.03	0.04 \pm 0.01	0.13 \pm 0.03	
	60% 转基因奶粉	2.88 \pm 0.41	0.25 \pm 0.03	0.65 \pm 0.09	0.37 \pm 0.05	0.04 \pm 0.02	0.11 \pm 0.03	

注: 与对照组相比 (1) $P < 0.05$ (2) $P < 0.01$

基因植物/食品的食用安全性,已在许多实验室进行,由于实验设计依据不同,所以转基因饲料在整个饲料中所占比例差别很大,从5%到90%以上各不相同^[5]。转基因植物全食品的喂养实验对评价转基因食品的安全性结论较为一致,即尚未发现对实验动物的健康产生损伤作用。

国际食品法典委员会制定了《现代生物技术来源食品危险性分析指南》、《重组DNA植物来源食品的安全性评价指南》、《重组DNA微生物生产的食品的安全性评价指南》和《重组DNA动物生产的食品的安全性评价指南》等一系列技术文件指导转基因生物的食用安全性评价,但与转基因植物食品的食用安全风险评估相比,以转基因克隆动物作为生物反应器生产的奶粉的安全性评价在国际上还是一个崭新的领域。转基因动物和其产品的食用安全性研究相对较少,这也主要是受制于该类转基因产品太少的缘故。本课题组在完成转人 α -LA蛋白等同性分析的基础上,按照农业部《转基因植物及其产品食用安全检测-大鼠90天喂养试验》(NY/T 1102-2006)的要求进行了本研究。实验设不同剂量的对照组,一个为传统饲料对照组,一个为相应剂量的普通奶粉对照组。前者用来与普通正常饲料作对比,后者用来排除由于奶粉自身成分对实验造成的可能影响,实验从大鼠断乳后即开始用转基因奶粉对其进行了较长时间的喂养,并尽可能全面观察了与动物的生长发育等与健康密切相关的各个指标。研究结果显示转人 α -LA基因奶粉喂饲各组初断乳大鼠90天,均未发

现任何大鼠出现中毒症状,大鼠生长发育良好、无死亡。个别剂量组和个别指标出现的变化与普通奶粉对照无差异。研究结果显示,在较长期喂养的条件下未观察到转人 α -LA基因奶粉对大鼠产生不良作用。本次研究实验结果对转人 α -LA基因奶粉进行进一步的安全性评价具有重要的参考意义。

参考文献

- 1 MARKUS C R, JONKMAN L M, LAMMERS J H, et al. Evening intake of alpha-lactalbumin increases plasma tryptophan availability and improves morning alertness and brain measures of attention [J]. *Am J Clin Nutr* 2005, 81(5): 1026-1033.
- 2 MOSSBERG A K, HUN MOK K, MOROZOVA-ROCHE A, et al. Structure and function of human α -lactalbumin made lethal to tumor cells (HAMLET)-type complexes [J]. *FEBS J*, 2010, 277(22): 4614-4625.
- 3 王正鹏, 张树珍. 转基因动物食品的安全性 [J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(19): 5868-5869.
- 4 朱小甫, 渠敬峰, 吴旭锦, 等. 转基因动物乳腺生物反应器研究进展 [J]. *畜牧兽医杂志* 2007, 26(3): 50-52.
- 5 DONKIN S S, VELEZ J C, TOTTEN A K, et al. Effect of silage and gain from glyphosate-tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion, and milk production in dairy cattle [J]. *J Dairy Sci* 2003, 86: 1780-1788.

收稿日期: 2011-01-21

(上接第425页)

抗侵袭作用可能与ER- α 相关。另外有研究表明,S(-)雌马酚对ER- β 的亲合力较强,而对ER- α 的亲合力很弱;R-(+)雌马酚对ER- β 亲合力弱,但对ER- α 的亲合力及诱发ER- α 转录的能力均强于S(-)雌马酚^[3],这可能为R-(+)雌马酚作用更强的原因。

为验证上述假设,本实验进一步探讨了R-(+)雌马酚对PC3细胞雌激素受体转录活性的影响。实验结果表明,R-(+)雌马酚可显著加强ER- α mRNA的表达,对ER- β mRNA的表达无明显作用,说明R-(+)雌马酚对前列腺癌PC3细胞的抗侵袭作用可能由ER- α 介导。另一方面,R-(+)雌马酚与S(-)雌马酚高浓度组对ER- α 阴性的DU145细胞也表现出了显著的抗侵袭作用,说明雌马酚的抗肿瘤侵袭作用还存在其他机制,具体尚需进一步探讨。

参考文献

- 1 PARKIN D M, BRAY F, FERLAY J, et al. Global cancer statistics, 2002. [J]. *CA Cancer J Clin* 2005, 55(2): 74-108.
- 2 BUBENDORF L, SCHOPFER A, WAGNER U, et al. Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1589 patients [J]. *Hum Pathol* 2000, 31(5): 578-583.
- 3 MUTHYALA R S, JU Y H, SHENG S, et al. Equol, a natural estrogenic metabolite from soy isoflavones: convenient preparation and resolution of R- and S-equols and their differing binding and biological activity through estrogen receptors alpha and beta [J]. *Bioorg Med Chem* 2004, 12(6): 1559-1567.
- 4 MORTON M S, CHAN P S, CHENG C, et al. Lignans and isoflavonoids in plasma and prostatic fluid in men: samples from

Portugal, Hong Kong, and the United Kingdom [J]. *Prostate*, 1997, 32(2): 122-128.

- 5 MAGEE P J, RASCHKE M, STEINER C, et al. Equol: a comparison of the effects of the racemic compound with that of the purified S-enantiomer on the growth, invasion, and DNA integrity of breast and prostate cells in vitro [J]. *Nutr Cancer* 2006, 54(2): 232-242.
- 6 BROWN N M, BELLES C A, LINDLEY S L, et al. The chemopreventive action of equol enantiomers in a chemically induced animal model of breast cancer [J]. *Carcinogenesis* 2010, 31(5): 886-893.
- 7 WILSON T J, SINGH R K. Proteases as modulators of tumor-stromal interaction: primary tumors to bone metastases [J]. *Biochim Biophys Acta* 2008, 1785(2): 85-95.
- 8 CARREAU C, FLOURIOT G, BENNETAU-PELISSERO C, et al. Enterodiol and enterolactone, two major diet-derived polyphenol metabolites have different impact on ERalpha transcriptional activation in human breast cancer cells [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008, 110(1-2): 176-185.
- 9 KOUSIDOU O, BERDIKI A, KLETSAS D, et al. Estradiol-estrogen receptor: a key interplay of the expression of syndecan-2 and metalloproteinase-9 in breast cancer cells [J]. *Mol Oncol*, 2008, 2(3): 223-232.
- 10 HO S M. Estrogens and anti-estrogens: key mediators of prostate carcinogenesis and new therapeutic candidates [J]. *J Cell Biochem*, 2004, 91(3): 491-503.
- 11 SETCHELL K D, CLERICI C. Equol: pharmacokinetics and biological actions [J]. *J Nutr* 2010, 140(7): 1363S-1368S.

收稿日期: 2010-09-26