
* 专论与综述 *

腐马素的研究概况

章红 李勇 李季伦

(中国农业大学生物学院 北京 100094)

腐马素(Fumonisin)是一组结构相关的镰刀菌毒素,现已确定这组毒素共有6种组分,分别为FB₁、FB₂、FB₃、FB₄、FA₁和FA₂^[1,2]。其化学结构与动物的神经鞘氨醇很相似(图1)。FB₁是天然污染玉米样品或真菌培养物中的主要腐马素组分,其次是FB₂,其它4种含量较少。FA₁和FA₂没有毒性。

腐马素最初是由南非的 Gelderblom 等于1988年在研究马属动物霉玉米中毒症病因时,从串珠镰刀菌(*Fusarium moniliforme*)培养物中发现的^[3]。此菌在世界上普遍存在,是对玉米污染严重的一种真菌。腐马素对不同动物可引起不同的病理反应。目前已知,主要由串珠镰刀菌产生的腐马素能引起马属动物霉变玉米中毒,又称马脑白质软化症(Equine Leukoencephalomalacia, 简称ELEM)^[4],能诱发猪肺水肿(Porcine Pulmonary Edema, 简称PPE)^[5],羊的肾病变和狒

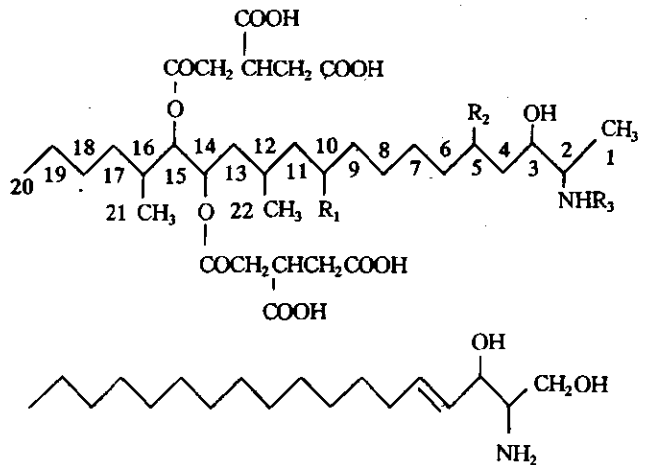
狒心脏血栓,还可引起实验大鼠肝中毒及肝癌^[6],抑制鸡的免疫系统的生理功能^[7]。特别是经调查发现,人类食管癌(Esophageal Cancer, 简称EC)高发率与串珠镰刀菌及其产生的腐马素有关^[8,9]。因此,对于腐马素及其可能的致癌作用的研究日益受到重视。

1 腐马素与人类食管癌的关系

我国河南省林县和南非的 Transkei 地区是世界上的食管癌高发区。南非 Transkei 西南部的 Butterworth 和 Kentani 每年食管癌的发病率大约为每10万人口中50例,有时甚至高达200例。而仅有175~200km之隔的东北部的 Bizana 和 Lusikisiki 却是食管癌低发区,每年食管癌的发病率大约为每10万人口中少于5例。我国的林县地处太行山山脉,每年食管癌的发病率大约是每10万人口100~150例。另外,伊朗的东北部食管癌的发病率也超过100例/

腐马素(fumonisin)

	R ₁	R ₂	R ₃
FA ₁	OH	OH	CH ₃ CO
FA ₂	H	OH	CH ₃ CO
FB ₁	OH	OH	H
FB ₂	H	OH	H
FB ₃	OH	H	H
FB ₄	H	H	H



神经鞘氨醇(sphingosine)

图1 腐马素和神经鞘氨醇的化学结构

该项目由联合国环境署(UNEP)资助
1995-11-27 收稿

10万人口；美国的查尔斯顿(Charleston S. C.)地区也是食管癌高发区，1950年至1969年间，男性白种人及女性白种人和非白种人的食管癌发生率低于8例/10万人口，而男性非白种人的发病率却高达27.2例/10万人口。很明显，这其中一定存在某种致癌因子。

目前对于这种局部地区食管癌的高发生率有许多理论来解释，其中包括微量元素、维生素和其它营养缺乏、膳食习惯、亚硝胺类中毒、饮酒和吸烟等诸多因素。值得注意的现象是在南非和我国食管癌高发率与玉米及玉米制品中串珠镰刀菌的污染率相关性很大^[10,11]。高发区居民的主食是本地自产玉米，这些玉米通常户外贮存，常有肉眼可见的霉变现象。用从南非 Transkei 食管癌高发区分离得到的串珠镰刀菌进行饲喂试验表明，不但可引起大鼠肝细胞癌，而且可引起大鼠食管基细胞增生^[12]。

腐马素是可能导致人类食管癌的致癌因子。分析南非 Transkei 的食管癌高发区 Butterworth 的玉米，发现 FB₁ 含量为 44 μg/g，而一般高品质商品玉米中 FB₁ 含量低于 10 μg/g，人工手选的无霉玉米粒中 FB₁ 含量也低于 10 μg/g，而在肉眼可见被镰刀菌污染的玉米粒中 FB₁ 含量高达 83 μg/g^[13]。Sydenham 等(1990)对来自 Transkei 食管癌高、低发区的发霉玉米和表观无霉变玉米样品进行优势真菌分析和包括腐马素在内的镰刀菌毒素含量分析，发现来自食管癌低发区的发霉玉米中，优势真菌为禾谷镰刀菌(*F. graminearum*)和串珠镰刀菌(发生率各为 35%)，而在高发区优势菌为串珠镰刀菌(发生率为 68%)。几种镰刀菌毒素包括串珠镰刀菌素(Moniliformin)、玉米赤霉烯酮(Zearalenone)、雪腐镰刀菌烯醇(Nivalenol, 简称 NIV)、脱氧雪腐镰刀菌烯醇(Deoxynivalenol, 简称 DON)的含量都是低发区高于高发区，而高发区 FB₁ 含量大约是低发区的 4 倍，即使是表观无污染的高发区玉米也含有 1 ~ 2 μg/g FB₁，而低发区玉米只含有 0.1 μg/g FB₁^[14]。对采自 1976 ~ 1989 年间相同地区的玉米样品分析腐马素的含量，也得到了相同结果。

腐马素为水溶性真菌毒素，对热很稳定，不易被蒸煮所破坏。用天然污染的玉米做基质进行酒精发酵，在回收的蒸馏废渣中仍含有较高含量的 FB₁，FB₁ 可进入人和动物的食物链，对健康构成一定的威胁。

朱繁生和李国英报道^[15]，他们对我国河北省磁县和河南省林县两个食管癌高发区 1991 年生产的 31 个玉米样品分析了其中 FB₁、黄曲霉毒素和单端孢烯族毒素的含量。在 16 个肉眼可见有霉变的玉米样品中，FB₁ 含量在 18 ~ 155 μg/g 范围内，平均 74 μg/g；在 15 个肉眼可见无霉变玉米样品中，FB₁ 含量在 20 ~ 60 μg/g 范围内，平均 35.3 μg/g。黄曲霉毒素含量很低。在一些霉玉米样品中还发现含有单端孢烯族毒素。这些数据表明，高水平的 FB₁ 和霉玉米样品中的其它真菌毒素可能对磁县和林县的食管癌发生起重要作用。

关于玉米制作的食品中腐马素含量的检测工作也刚刚开始。在来自埃及、秘鲁、加拿大、南非和美国五国的 61 个样品中，大约一半样品腐马素含量在 0 ~ 500 ng/g 范围内。玉米粉中腐马素含量最高，有些样品中 FB₁ 和 FB₂ 超过 3000 ng/g。另一报道，在采自美国的 18 份样品中，4 份样品 FB₁ 含量超过 1000 ng/g，FB₂ 200 ng/g^[16]。根据最新报道，国际癌研究机构不久将要吧 FB₁ 定为“2B”级致癌物。这意味着已有充分的实验证据表明，它对实验动物有致癌性，但还没有使人致癌的充分证据。

2 腐马素的作用机制

腐马素的生物作用与神经鞘氨醇密切相关，两者在结构上非常相似。神经鞘氨醇具有神经鞘脂类的骨架结构，对细胞膜的完整性和生理活性都有重要功能。神经鞘氨醇和神经鞘脂类在细胞代谢和生化途径的调节过程中也起着重要的作用。二氢神经鞘氨醇在 N-乙酰转移酶的催化下转换成神经酰胺，再转换成糖神经鞘脂类和神经鞘磷脂(图 2)。

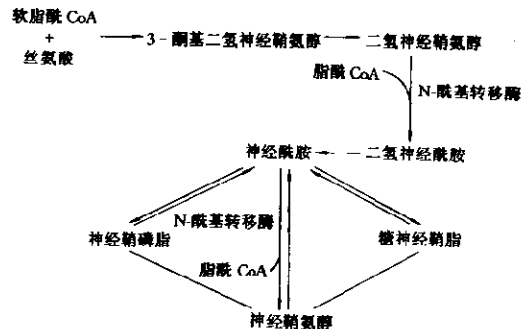


图 2 神经鞘脂类生物合成途径和神经鞘氨醇的转换过程

经过复杂的生化过程使神经鞘脂转换成神经鞘氨醇。尽管神经鞘氨醇在细胞内浓度很低,但它作为脂类第二信使,起着一些重要代谢途径的调节作用。用大鼠初生肝细胞证明,由于 FB_1 与神经鞘氨醇类在结构上相似, FB_1 特异性地作用于二个N-酰基转移酶,即二氢神经鞘氨醇-N-酰基转移酶和神经鞘氨醇-N-酰基转移酶,干扰神经鞘脂类的生物合成和神经鞘氨醇的转换^[17]。

体外试验表明, FB_1 对细胞中神经鞘脂类的作用发生在早期。这一特性可用作动物 FB_1 中毒后的早期检测指标。

3 腐马素的研究方法

由于腐马素本身不产生荧光,对紫外线也无特征吸收,因此不能直接检测,可用薄层层析法测定,用0.5%茴香醛喷雾显色。由于茴香醛与腐马素结构中的氨基起反应,使腐马素显蓝紫色斑点^[1]。该法主要用于定性分析。随着研究的深入,高效液相色谱法研究较深入。最初使用的衍生化试剂为马来酰,衍生产物在250nm处有特征吸收^[3]。此方法可用来测定高含量的腐马素样品,但对腐马素含量低的天然污染样品此方法的灵敏度不太理想,测定结果不很好。1990年Wilson等采用衍生试剂荧光胺方法使灵敏度大大提高^[18];同年Shephard等用苯二甲醛(O-phthalaldehyde,简称OPA)作为衍生化试剂,建立了较为理想的高效液相色谱测定方法^[19]。用OPA作为衍生化试剂的一大缺点是生成的产物很不稳定,反应完成后必须在1min内进行检测,否则结果不准。1992年报道采用萘二醛(naphthalene-2,3-dicarboxaldehyde,简称NDA)作为衍生试剂的高效液相色谱法。这两种方法迄今仍在国际上广泛采用,检测限在10~100ng/g范围,适合天然污染粮食样品的测定。

腐马素的定性及定量分析还可用气相色谱质谱联用法,即GC/MS^[20],此方法灵敏度高,特异性强,但需较贵重的仪器设备,很难普及应用。鉴于大规模及快速检测的目的以及免疫技术在微生物学领域中的交叉应用,用酶联免疫吸附法(ELISA法)检测腐马素已引起了各国学者的广泛重视。1992年Azcona-Olivera成功地获得了针对腐马素的多克隆抗体以及分别针对 FB_1 、 FB_2 、 FB_3 的单克隆抗体,建立了腐马素的ELISA检测法,其检测限能达到50ng/ml,可满足

天然污染粮食样品中腐马素含量的测定^[21]。由于该法具有灵敏度高,特异性强,检测方法简便、快速、定量重复性好、样品前处理较简便等优点,使快速检测玉米及饲料中腐马素含量成为可能。

4 腐马素的生物合成

从已知产毒菌株来看,从南非分离到的*F. moniliforme* MRC826菌株在玉米培养基上20℃培养13周, FB_1 产量可达到17g/kg培养物^[22]。尽管腐马素产量很高,但提取纯化步骤耗时费力,需要多步层析提取。

在腐马素被发现初期,对其生物合成途径研究较少;产毒培养一般是在固体培养基上进行,不利于腐马素生物合成机制的研究。1990年Jackson和Bennett用液体培养基培养*F. moniliforme* NRRL 13616菌株,成功地获得了74mg/L FB_1 的产量^[23]。这标志着对腐马素的研究进入了一个新阶段,可利用生物标记的方法对其生物合成途径做更进一步的研究。1992年Plattner和Shackelford在用液体培养法研究腐马素生物合成途径时发现,加入蛋氨酸,产生的 FB_1 量由2.7~4.1 μ g/l增加到50mg/l;用²H标记蛋氨酸的²H大量掺入到 FB_1 的 C_{12} 和 C_{16} 骨架中; FB_1 碳架的生物合成与神经鞘氨醇的生物合成过程极其相似;合成腐马素时是亚油酰CoA与丙氨酸发生聚合,而不是软脂酰CoA与丝氨酸聚合形成鞘氨醇。在腐马素的生物合成过程中,蛋氨酸、丝氨酸、谷氨酸和丙氨酸均可掺入到其骨架结构中作为腐马素的生物合成前体物质^[24]。

5 今后的工作方向

自1988年发现腐马素以来,各国学者做了大量工作,证明这类毒素可能对人和动物的健康带来严重威胁;由于腐马素分布广泛,使得黄曲霉毒素与之相比也黯然失色。目前,在美国所有真菌毒素中仅有黄曲霉毒素由食品和药物管理局检测控制。因此,首先有必要制订饲料和食品中腐马素的安全限量标准。

其次,已有实验表明, FB_1 可能是一完全致癌物,引发大鼠肝癌^[25]。然而 FB_1 的鼠伤寒沙门氏菌试验结果为阴性,提示该毒素无致突变性^[26]。此外它也不诱发大鼠肝细胞非程序DNA合成^[27]。由此可见, FB_1 至少对大鼠是强癌促剂,但还需要进一步以实验确证腐马素的致癌性,对特别是包括中国在内的食管

癌高发区还需做更进一步的流行病学研究,以及玉米中腐马素自然污染水平和人群中腐马素摄入量的调查,以确证该毒素对食管癌发生的作用。

此外,减少玉米及玉米制品中腐马素的污染水平,寻找有效的脱毒方法,以保证食物的安全性是当务之急。已知氨法对黄曲霉毒素非常有效,但实验证明对腐马素无效。由于腐马素在蒸馏过程中不被带入到酒精成品中,可以考虑将被腐马素污染的玉米用于酒精生产以免浪费。

由于不同串珠镰刀菌菌株之间产生腐马素的量差别较大,高的可达 $1786\mu\text{g/g}$,低的只有 $7.5\mu\text{g/g}$ ^[28]。因此,可考虑采用非产毒菌与产毒菌竞争的方法进行腐马素的生物防治。美国先锋公司已从玉米上分离到可以 FB_1 或 FB_2 为唯一碳源进行生长的微生物,这些微生物可部分或完全降解 FB_1 和 FB_2 。这一工作为今后从中提取分解腐马素的酶并进而采用基因工程的方法克隆出该酶基因并转入到玉米中降解腐马素打下基础。

参 考 文 献

- [1] Bezuidenhout S C, Gelderblom W C A, Gorst-Allman C P, et al. *J Chem Soc Chem Commun*, 1988, 743 ~ 745.
- [2] Plattner R D, Weisleder D, Shackelford D D, et al. *Mycopathologia*, 1992, 117: 23 ~ 28.
- [3] Gelderblom W C A, Jaskiewicz K, Marasas W F O, et al. *Appl Environ Microbiol*, 1988, 54: 1806 ~ 1811.
- [4] Kellerman T S, Marasas W F O, Thiel P G, et al. *Onderstepoort J Vet Res*, 1990, 57: 269 ~ 275.
- [5] Haschek W M, Motelin G, Ness D K, et al. *Mycopathologia*, 1992, 117: 83 ~ 96.
- [6] Gelderblom W C A, Kriek N P J, Marasas W F O, et al. *Carcinogenesis*, 1991, 12: 1247 ~ 1251.
- [7] Qureshi M A, Hagler W M. *Poultur Sci*, 1992, 71: 104 ~ 112.
- [8] Marasas W F O, Jaskiewicz K, Venter F S, et al. *S Afr Med J*, 1988, 74: 110 ~ 114.
- [9] 甄应中. *中华肿瘤杂志*, 1984, 6: 27 ~ 29.
- [10] Marasas W F O, Van Rensburg S J, Mirocha C J. *J Agric Food Chem*, 1979, 27: 1108 ~ 1112.
- [11] Cheng S J, Jiang Y Z, Li M H, et al. *Carcinogenesis*, 1985, 6: 903 ~ 905.
- [12] Marasas W F O, Kriek N P J, Fincham J E, et al. *Int J Cancer*, 1984, 34: 383 ~ 387.
- [13] Sydenham E W, Thiel P G, Marasas W F O, et al. *J Agric Food Chem*, 1990, 38: 1900 ~ 1903.
- [14] Sydenham E W, Gelderblom W C A, Thiel P G, et al. *J Agric Food Chem*, 1990, 38: 285 ~ 290.
- [15] Chu F S, Li G Y. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60(3): 847 ~ 852.
- [16] Sydenham E W, Shephard G S, Thiel P G, et al. *J Agric Food Chem*, 1991, 39: 2014 ~ 2018.
- [17] Wang E, Norred W P, Bacon C W, et al. *J Biol Chem*, 1991, 266: 14486 ~ 14490.
- [18] Wilson T M, Ross P F, Rice L G, et al. *J Vet Diagnost Invest*, 1990, 2: 213 ~ 216.
- [19] Shephard G S, Sydenham E W, Thiel P G, et al. *J Lig Chromatogr*, 1990, 13: 2077 ~ 2087.
- [20] Plattner R D, Norred W P, Bacon C W, et al. *Mycologia*, 1990, 82: 698 ~ 702.
- [21] Azcona-Olivera J I, Abouzied M M, Plattner R D, et al. *J Agric Food Chem*, 1992, 40: 531 ~ 534.
- [22] Alberts J F, Gelderblom W C A, Thiel P G, et al. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56: 1729 ~ 1733.
- [23] Jackson M A, Bennett G A. *Appl Environ Microbiol*, 1990, 56: 2296 ~ 2298.
- [24] Plattner R D, Shackelford D D. *Mycopathologia*, 1992, 117: 17 ~ 22.
- [25] Gelderblom W C A, Semple E, Marasas W F O, et al. *Carcinogenesis*, 1992, 13: 433 ~ 437.
- [26] Park D L, Rua S M, Mirocha C J, et al. *Mycopathologia*, 1992, 117: 105 ~ 108.
- [27] Norred W P, Plattner R D, Vesonder R F, et al. *Food Chem Toxicol*, 1992, 30: 233 ~ 237.
- [28] Leslie J F, Plattner R D, Desjardins A E, et al. *Phytopathology*, 1992, 82: 341 ~ 345.