

黄曲霉毒素B₁与肝癌研究进展

启东肝癌研究所 顾公望

黄曲霉毒素B₁(AFB₁)能诱发出所有实验动物的肝癌,是已知化学致癌物中最强的一种。为进一步探索AFB₁与肝癌的关系,近三年来国内、外学者进行了大量的研究。

流行病学

1. AFB₁污染与肝癌发病率地理分布一致: Hsieh分析表明,中国和某些非洲国家肝癌发病常与AFB₁关系似乎比乙型肝炎更密切。汪耀斌指出: (1)我国90%以上肝癌高发区位于东南沿海狭长地区,提示癌分布与所处的地理环境密切相关。(2)我国肝癌高发区具有温暖、潮湿的特点。(3)高湿、高温的气候环境为黄曲霉生长和产毒提供了极有利的条件。(4)根据玉米、花生AFB₁检测数据比例,绘制成全国黄曲霉污染分布图,与全国肝癌分布趋势基本相同。作者认为我国气候一纬变因素是形成肝癌分布地区差异的重要环境条件,AFB₁是主要致癌因素之一。李文广等对江、浙、沪地区15个县32个公社综合考察发现,粮食霉变,特别是霉玉米是当地肝癌发病的主要因素。张丽生综合广西扶绥县近15年来AFB₁与肝癌的关系表明,县内各公社、大队AFB₁污染与肝癌地理分布一致。

2. AFB₁摄入量与肝癌发病率呈正相关: 陆振宏等报告启东居民1973—1982年AFB₁的年人均可能摄入量为156.79—3240.64μg,按成人男子计算,每日每公斤体重为7.16—147.93ng,与肝癌高发区肯尼亚、泰国某些地区以及莫桑比克的印汉姆斑等居民每日每公斤AFB₁摄入量为同一水平。通过熟食检测更能反映居民AFB₁摄入量,启东肝癌低发区西亭乡每日每公斤体重0.3ng,而高发区和合乡为127.3ng,提示熟食中AFB₁含量与肝癌死亡率呈正相关。崇明县肝癌高低发区熟食中AFB₁调查结果,亦显示类似的结果。为了更精确测算AFB₁摄入量,郭少明等检测人24小时尿黄曲霉毒素M₁(AFM₁)含量表明,肝癌高发区启东居民尿中AFM₁排出水平显著偏高,一部分人群黄曲霉毒素(AFT)摄入积分水平比北京居民高出近两个数量

级。Pang等经组织学证实的印度尼西亚无肝硬化肝细胞癌42例,在他们的肝组织24小时尿标本中测到AFT。扶绥县连续3年对肝癌不同发病大队4万居民中调查发现,肝癌高、中发大队AFB₁摄入量分别为低发大队的9.4和1.9倍,而肝癌死亡率分别为9.3和2.2倍,呈剂量—效应关系。扶绥肝癌死亡率自1975年起显示下降趋势,其中吕平、渠黎两公社肝癌死亡率下降有显著意义($P < 0.05$),这两个公社大米占口粮比例从50年代的40%增加到70年代的75%。作者认为这种趋势是偶然巧合,还是揭示了AFB₁与肝癌的因果关系,值得深入研究。

3. AFB₁与乙型肝炎病毒(HBV)感染有协同致癌作用: 崇明县玉米是AFB₁污染最严重的主粮,污染是为小麦的3倍,稻米的5倍。HBV感染的人群中,一生未食玉米者肝癌发病率最低。随着玉米食粮的上升,肝癌发病率递增,每年食玉米1—2个月者肝癌发病率增加1.2倍,食5个月以上者增加2.2倍。莫志纯等前瞻性观察肝癌高发区扶绥县和肝癌中、低发其它几个地区。扶绥居民主粮中玉米占20—40%,AFT平均含量53.8—302.6ppb,而其它地区主粮几乎全部为大米,AFT都低于5ppb。结果扶绥居民HBsAg阳性者肝癌发病率高达644./10万,而其它地区为98.57/10万,相对危险性为9.85倍;在HBsAg阴性者中,扶绥肝癌发病率为8.57/10万,而其它地区未发现肝癌,提示在肝癌发生上,两种因素起协同作用。Daneshtmend在研究AFT、肝癌和血吸虫病关系中,指出,血吸虫病本身不含导致肝癌,但可增加HBV感染率,非洲和巴西血吸虫病患者中HBV感染同样是增加的,但巴西肝癌发病率很低,提示AFT可能是重要的辅助因素。但沈卓才等研究表明,启东居民饮宅沟水者肝癌发病率分别比饮浅井、深井水者高6倍和2倍,而胡卓汉指出启东不同饮水类型居民AFB₁的接触量和摄入量均无差异($P > 0.05$),提示AFB₁与启东肝癌无关。美国学者汉德森在香港没有发现吃了AFT污染的食物会增加肝癌的发病率。

动物实验

AFB₁是超剧毒物质,其致癌强度比奶油黄大

900倍,比二甲基亚硝胺大75倍。王能进等应用启东霉玉米对麻鸭进行了诱发肝癌实验,在75只麻鸭中r诱发率33.3%,其中肝细胞癌22只,胆管细胞癌2只,混合型1只。邵龙琪等用启东肝癌研究所提纯的AFB₁10—15μg喂饲Wistar大鼠63周,在94周后65.3%发生肝癌,其癌变过程分为三个阶段:

(1)肝细胞变性坏死。(2)肝细胞增生灶和结节形成。(3)肝癌。发生肝癌的细胞主要来源于增生的嗜碱性或嗜酸性细胞。陈志英等发现AFB₁诱发大鼠r—谷氨酰转肽酶(r—GT)灶呈剂量—效应关系,平均每cm²肝面r—GT灶数及平均每个灶的面积,均随AFB₁剂量递增而增加(P<0.0005)。

业已证明动物饲料中缺乏维生素A、蛋白质、去脂物质的大鼠,AFB₁诱发肝癌率增加。但有些食物能促进AFB₁致癌作用,Boyd等将雄性Fisher大鼠分为8组,分别给予含25%绿豆、甜菜或南瓜的饲料和基础饲料,加或不加1ppb AFB₁,结果给予三种蔬菜和AFB₁饲料的大鼠胆管增生和上GT阴性灶显著增加,这些动物肝脏r—GT活性水平高于喂基础饲料和AFB₁组,提示含有25%生绿豆、甜菜或南瓜的饲料都能促使大鼠对AFB₁诱发的癌前期反应。有人报告绿豆促进AFB₁致癌作用。

有些因素能抑制AFB₁的致癌作用。李文广等在一月龄Wister大鼠饲料中加入AFB₁,分为I组为对照、II组饮4ppm硒水、III组饮4ppm硒水、IV组前6个月饮4ppm硒水、V组后9个月饮4ppm硒水,结果肝癌发生率分别为64.7%、23.5%、31.25%、28.95%和52.0%,补硒各组肝癌发生率均比对照组为低,提示硒能阻断AFB₁诱发的肝癌。有些食物添加剂能抑制AFB₁致癌作用,Cabral单独给予AFB₁大鼠,出现了高发的瘤性小结和肝细胞癌,当含AFB₁饲料中加入乙氧三甲基喹啉后,完全抑制了肝癌的发生。严瑞琪等研究叔丁基对羟基茴香醚(BHA)抑制AFB₁致癌作用表明,BHA在饲料中浓度5000ppm以下时,对AFB₁诱发的r—GT灶有抑制作用,而且呈剂量—效应关系。有些食物能阻断AFB₁的致癌作用,陈志英等报告给予绿茶、红茶、猴头菌和香信的大鼠,平均每个r—GT灶的面积都比对照组小(P<0.05)。

致癌机制

AFB₁致癌机制尚未完全澄清,主要有二个方

面,影响正常肝细胞内的结构、功能和抑制机体免疫系统。

1. 影响肝细胞内的结构和功能:70年代已证明AFB₁对RNA聚合酶、DNA、RNA和蛋白质合成有抑制作用。AFB₁生成的环氧化物能与DNA、RNA结合。近3年来有了新的进展。

程宝庚等在AFB₁诱发大鼠肝癌过程中,电镜下发现诱癌早、中期增生肝细胞中出现丰富的粗面内质网,并有不同程度的扩张,但没有明显的核蛋白体从膜上脱落,到诱癌晚期肝癌细胞中存在不同程度内质网膜的退化和多形式的核糖体脱落。作者认为AFB₁主要作用在内质网膜上,而较少作用在核蛋白体上,分解膜脂蛋白,导致嗜饿的不饱和类脂化合物的释放,使核蛋白体从膜上脱落,蛋白合成受阻,由此产生一系列代谢变化,使正常细胞分化异常变成肿瘤细胞。

AFB₁与肝细胞内酶的关系进行了多方面的研究,Enwonwu在研究发展中国家AFT致癌作用中指出,蛋白质营养不良损伤肝微粒体多功能氧化酶(MFO),使AFB₁在肝中积聚。用高蛋白饮食可恢复MFO活性,并刺激肝细胞DNA复制。在这种情况下,高度活性的AFB₁代谢物与遗传大分子共价结合造成细胞恶变,提示贫困社会中营养不足AFB₁可刺激肝细胞增生,促进绿癌细胞迅速增殖。Cabral等给大鼠AFB₁后,肝微粒体蛋白和细胞色素P-450水平降低。严瑞琪等研究表明,食物添加剂BHA能抑制AFB₁诱发大鼠肝细胞癌前期病变,其原因是BHA能诱导肝脏P-450、谷胱甘肽S—环氧化物转移酶、环氧化物水解酶等,促进AFB₁解毒,减少活化产物的形成。于树玉等认为环鸟苷酸(cGMP)与癌变的关系日趋肯定,AFB通过激活环化酶使cGMP升高,引起细胞恶变。

AFB₁作用于染色体和DNA水平的研究亦有新的进展。徐雪方等三次实验证明,正常人淋巴细胞经AFB₁处理后,其姐妹染色单位互换值显著高于对照组,并显示在第5号染色体上比其它染色体交换率高。YW等在大鼠处死前注入AFB₁,其内源性RNA聚合酶I迅速受到抑制,内源性RNA聚合酶I只转录核仁rRNA染色质,提示AFB₁只有有效地与核仁染色体有生理活性区域相结合。瞿永华等报道AFB₁经化学活化后作用于Poly(dC—dG)改变了它的模板性质,在大肠杆菌DNA聚合酶I

和大鼠脾 DNA 聚合酶 a 参与下导致 DNA 合成错误。

2. AFB₁ 对免疫系统的抑制作用是多方面的, 包括抗体形成、补体、吞噬作用及细胞免疫, 并能引起火鸡胸腺退化。抑制豚鼠延迟型皮肤反应和使火鸡延缓产生干扰素等功能。

邵龙琪等使用 AFB₁ 诱发大鼠肝癌过程中, 发现 AFB₁ 组一年内自然死亡率高达 41.1%, 明显高于对照组 ($P < 0.01$)。自然死亡动物中除 2 例白血病外均死于肺炎, 提示 AFB₁ 可能降低机体抵抗力。陆培新等曾对二名一度暴露于 AFB₁ 环境中的工作人员进行活性花结 (Ea) 测定, 发现 Ea 值分别为 10% 和 17.5%, 明显低于正常对照组, 但三个月后复查, 又恢复到正常人水平, 分别为 28.5% 和 31.0%。这与刘玉欣等所做的体外实验结果相似, 即人淋巴细胞经 AFB₁ 短期处理后, 能明显抑制 Ea 的形成, 当去除 AFB₁ 后, 被抑制的 Ea 活性又得到恢复。徐震逸等实验表明, AFB₁ 对肝癌细胞和同种淋巴细胞刺激所引起的淋巴细胞增殖有较强的抑制作用。

王威廉等用 Wistar 大鼠分析 AFB₁ 组和对照组, 发现 AFB₁ 组鼠脾抗体形成细胞数、脾重量及脾淋巴细胞生发中心平均直径均明显低于对照组 ($P < 0.05$)。洪锦心等体外实验显示, AFB₁ 对人体 B 细胞的增殖反应及 IgG 的分泌都有明显的抑制作用。有 AFB₁ 对 B 细胞增殖反应的抑制看来与 T 细胞无关。

在机体抗肿瘤免疫防御机制中起主要作用的 NK 细胞, 它的功能受遗传控制, 且与主要组织相容性复合物 (MHC) 有关。汪承亚等测定 20 名健康成人淋转反应, 其中 HLA-A₃ 阳性 8 例, A₃ 阴性 12 例, 未加 AFB₁ 淋转无明显差异, 但加入 AFB₁ 后对 A₃ 阳性者淋转抑制率明显高于阴性者 ($P <$

0.05), 提示 AFB₁ 抑制 A₃ 阳性者淋巴细胞转化有较高的敏感性。林桃珍等研究表明, AFB₁ 均能抑制肝癌高发家族和对照组的淋巴细胞与 7402 肝癌细胞系联接, 但受抑制程度不如高发家属。

但也有相反的报道, 王威廉通过 AFB₁ 诱发大鼠肝脏癌前期病变血清蛋白测定结果, AFB₁ 主要影响由肝脏合成的白蛋白等蛋白质合成, 没有抑制以 IgG 为主的体液免疫, 相反, 对总蛋白、 α 球蛋白和 β 球蛋白显示了诱导增高作用。

结 语

流行病学资料表明, AFB₁ 与肝癌有关, 而且呈剂量与效应关系。随着 AFT 检测技术的进展, 已可能测定人体肝脏和尿中 AFT, 亦显示两者相关。AFB₁ 可诱发所有动物致癌, 包括灵长类动物。为了阻断 AFB₁ 的致癌作用, 近来动物实验集中于有关因素干扰 AFB₁ 致癌作用。AFB₁ 的致癌机制尚未取得一致的认识, 晚近有人提出 AFB₁ 主要作用在内质网膜上, 分解脂膜蛋白, 使核蛋白从膜上脱落, 蛋白质合成受阻, 导致细胞转化。许多学者研究表明 AFB₁ 与 HBV 有协同作用, Dennis P. H Hsieh 等认为 AFT 是起始因子和促进剂, 而 HBV 是肝癌多阶段发展中的促进剂。

但 AFB₁ 还不能完全解释肝癌的病因, AFB 与肝癌尚不能确立因果关系, 有待更长时间的前瞻性观察和实验流行病学的证据。努力寻找方便、经济、可行的防毒去毒措施, 有人提出保护内质网膜, 有可能阻断 AFB₁ 的致癌作用, 为我们开拓了预防肝癌新的前景。积极开发人体内检测 AFT 简易、敏感的方法和组织化学技术以及超微结构的研究等, 为澄清 AFB₁ 致癌机制做出贡献, 这些都需要我们认真探索。

(本文参考文献 33 篇从略)

(上接第 189 页)

染色体数量明显减少, 畸形率下降, (5) 出现基因产物血红蛋白的联苯胺阳性反应。这说明, 胞质因子对肿瘤细胞的恶性表达有调控作用。

综上所述, 肿瘤细胞恶性调控的机理是非常复杂的, 单纯抑制恶性表达的因素就在于三个不同的部位, (1) 正常三倍体细胞染色体上, (2) 恶性肿瘤细胞染色体上, (3) 正常细胞胞质中。

(本文参考文献 24 篇从略)