

利用 BN 大鼠动物模型评价 S86 转基因大米的致敏性

贾旭东 李 宁 王 伟 吴永宁 杨晓光

(中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100050)

摘要:为研究 S86 转基因大米的致敏性,用 BN 大鼠致敏动物模型进行研究。40 只 BN 大鼠随机分为 4 组,每组 10 只,分别为:阳性对照组,转基因大米组,非转基因大米组及阴性对照组。分别在第 0 和第 7 天,通过腹腔注射给予阳性对照组的大鼠 0.1 mg/ml 卵清蛋白(OVA) 1 ml,其它各组在相同时间腹腔注射相同剂量的生理盐水。以 AIN - 93G 为依据配制各组饲料,阳性对照组和阴性对照组大鼠饲以 AIN - 93G 饲料,转基因大米组饲以含转基因大米粉的饲料,非转基因大米组饲以含非转基因大米粉的饲料,时间为 6 周。在第 2 次腹腔注射 OVA 后,取血分离血浆进行组胺测定。分别在第 14、21、28、35、42 天取血分离血清,测定 IgG 及 IgE 水平;此外,分别在实验前和实验后测定各组大鼠的血压。血清学实验结果显示转基因大米全食品喂饲没有激发 IgG 及 IgE 反应,而 OVA(阳性对照组)激发了明显的 IgG 及 IgE 反应;转基因大米组的组胺水平与阴性对照组及亲本对照组相比差异没有显著性,而阳性对照组组胺水平升高。另外转基因大米没有引起大鼠血压升高。该研究结果表明通过全食品喂饲的方式给予 BN 大鼠 S86 转基因大米没有发现该转基因大米对 BN 大鼠具有致敏性。

关键词:植物,转基因;致敏性;动物;卵蛋白质类;稻(米)

Assessment of allergenicity of genetically modified rice S86 by BN rat model

JIA Xu-dong, LI Ning, WANG Wei, WU Yong-ning, YANG Xiao-guang

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: To assess the allergenicity of the genetically modified (GM) rice S86, 4 groups of BN rats (10 for each group) were fed with different experimental diets for six weeks. A positive control group and a negative control group were fed with standard AIN - 93G diet; the GM group was fed with AIN - 93G- based diet containing GM rice 78.3%; the non-GM group was fed with AIN - 93G- based diet containing non-GM rice 74.7%. On day 0 and day 7, rats in the positive control group were given Ovalbumin (OVA) 100µg (1ml) intraperitoneally and rats in the other 3 groups were given normal saline of the same volume. On day 7, immediately after the intraperitoneal injection, blood samples were obtained for determination of the plasma level of histamine. On days 14, 21, 28, 35, 42, blood samples were drawn and analyzed for the serum levels of IgG and IgE. Blood pressure of the rats was measured before and after the experimental period. The results showed that no IgG or IgE response was elicited in rats of the GM rice group, while strong IgG and IgE responses were observed in rats of the positive control group; and the rats of the positive control group had significantly higher plasma level of histamine than the other 3 groups with similar histamine level. An oral challenge with OVA caused a temporary drop of the systolic pressure in 2 rats of the positive control group, and no change in blood pressure was observed in rats fed with GM rice. It is concluded that GM rice S86 has no allergenic effect on BN rats.

Key word: Plants, Transgenic; Allergenicity; Animal; Egg Proteins; Rice

基金项目:国家高技术研究发展计划“863”(2001AA212291,2002AA212041);国家重点基础研究发展规划“973”(001CB109007)

作者简介:贾旭东 男 博士 副研究员

This work was supported by the Grants from National High-Tech Research Program (2001AA212291 and 2002AA212041) and National Basic Research Program of China (001CB109007)

转基因食品的潜在致敏性是转基因食品安全性评价的焦点之一。目前,转基因食品过敏性评价一般采取个例分析的方法,通过确定新食物是否含有与已知过敏原相同的蛋白成分,分析其是否具有潜在过敏性。最常用的食物过敏性分析方法是 FAO/WHO 2001 判定树法^[1]。其中利用动物模型对其致敏性进行评价是最直接的方法,各国科学家正在进行这方面的研究。本实验室选用棕色挪威(BN)大鼠,以卵清蛋白和牛血清白蛋白为致敏原,通过灌胃和腹腔注射的方式建立了较理想的动物模型^[2]。本研究选用中科院遗传所研制的 S86 转基因大米(该大米转入了抗虫基因 *CpII* 及选择标记基因 *HPT*),利用本实验室建立的 BN 大鼠动物模型来评价该转基因大米的致敏性。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 雄性 BN 大鼠,60~80 g,购自中国医学科学院动物繁育中心,在中国疾病预防控制中心二级动物房饲养。

1.1.2 主要试剂 卵清蛋白(OVA)购自 Sigma 公司;组胺试剂盒购自 IBL 公司;IgG 及 IgE 抗体购自中山公司。

1.1.3 大米 转基因大米,由中科院遗传所研制,转入抗虫基因 *CpII* 及选择标记基因 *HPT* 的恢复系明恢 86(品名为 S86);非转基因大米,为未进行任何转基因操作,与 S86 同时种植和收获的明恢 86(品名为 86)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理 40 只雄性 BN 大鼠,随机分为 4 组(10 只/组):阳性对照组、转基因大米组、非转基因大米组和阴性对照组。分别在第 0 和第 7 天,通过腹腔注射方式给予阳性对照组大鼠 0.1 mg/ml 卵清蛋白(OVA) 1 ml,其它各组在相同时间腹腔注射相同剂量的生理盐水。以 AIN-93G 为依据配制各组饲料,阳性对照组和阴性对照组大鼠饲以 AIN-93G 饲料,转基因大米组饲以含转基因大米粉的饲料,非转基因大米组饲以含非转基因大米粉的饲料,时间为 6 周。在第 2 次腹腔注射后,取血分离血浆进行组胺测定;每周取血分离血清,测定 IgG 及 IgE 水平;此外,分别在实验前和实验后测定各组大鼠的血压。

1.2.2 IgG 及 IgE 测定 分别在第 14、21、28、35、42 天取血分离血清,利用间接 ELISA 法测定血清中 IgG 及 IgE 水平。以抗体反应阳性数(抗体滴度 $> 2^5$)为检测指标。

1.2.3 组胺测定 在第 2 次腹腔注射后,取血分离血浆,用 IBL 公司的组胺测定试剂盒,分析各组血浆组胺水平。具体方法参见试剂盒说明。

1.2.4 血压测定 在给予 OVA 或转基因大米粉前 2 天各测 1 次基础血压,取平均值。而后,分别对阳性对照组、转基因大米组、非转基因大米组和阴性对照组的大鼠经口灌胃给予 2 ml 5 mg/ml OVA、转基因大米或非转基因大米和 2 ml 水,用 RBP-1 型大鼠血压计测 7 h 内血压变化,至少测 5 次。

1.3 统计学分析 采用方差分析和 *t* 检验比较各组血浆组胺水平。

2 结果

2.1 IgG 及 IgE 测定结果

IgG 及 IgE 测定结果如表 1 和表 2 所示。OVA 在不同时期激发了明显的 IgG 及 IgE 反应,而转基因大米没有激发 IgG 及 IgE 反应。

表 1 大鼠外周血中 IgG 抗体反应阳性例数

组别	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天	第 42 天
阳性对照	8	9	10	10	8
GM 大米	0	0	0	0	0
非 GM 大米	0	0	0	0	0
阴性对照	0	0	0	0	0

注:GM 为转基因大米。

表 2 大鼠外周血中 IgE 抗体反应阳性例数

组别	第 14 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天	第 42 天
阳性对照	7	8	9	9	7
GM 大米	0	0	0	0	0
非 GM 大米	0	0	0	0	0
阴性对照	0	0	0	0	0

注:GM 为转基因大米。

2.2 组胺测定结果

各组大鼠血浆组胺水平如表 3 所示。转基因大米组血浆组胺水平与阴性对照组及非 GM 大米组比较没有显著改变,而阳性对照组的血浆组胺水平升高,且与 GM 大米组比较差异有显著性($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠血浆组胺水平($\bar{x} \pm s$)

组别	组胺水平 (ng/ml)
阳性对照	64.4 \pm 12.5 ^a
GM 大米	29.2 \pm 10.8
非 GM 大米	27.5 \pm 10.4
阴性对照	30.2 \pm 1.5

注:a 与阴性对照组、GM 大米组或非 GM 大米组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 血压测定结果

GM 大米对 BN 大鼠的血压没有明显的影响,而阳性对照组有 2 只大鼠在给予 OVA 后收缩压暂时降低。图 1 显示了其中 1 只大鼠在 7 h 内血压变化情况。

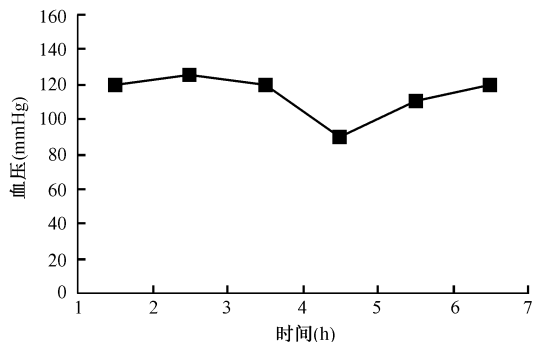


图1 大鼠血压变化情况

3 讨论

一般来说,食物过敏主要是 I 型过敏反应(速发性过敏反应),具体作用机制是肥大细胞膜特异性受体结合 IgE 抗体,经过抗原的交联作用,激活了肥大细胞,促使其脱颗粒,释放出多种类型的过敏介质如组胺,而产生食物过敏症状。其中,全身性反应(如血压下降导致的休克)是最严重的反应^[3]。BN 大鼠为食品过敏性研究中最常用的品系。我们实验室的研究结果表明,给予 BN 大鼠 OVA 产生了较高滴度的 OVA 特异性 IgE 抗体;血浆组胺水平测定结果表明 OVA 导致血浆组胺水平升高;此外还发现口服 OVA 后,少数大鼠的血压暂时降低,虽然发生率较低,然而与人类临床结果一致^[4],这说明 OVA 对血压有一定影响。Knippels 等的研究结果与我们类似^[5]。因此我们实验室建立的 BN 大鼠动物模型是一种较理想的动物模型,可用于转基因食品的过敏性检测^[2]。

本研究的结果表明,GM 大米没有激发任何 IgG 及 IgE 反应,也没有导致血浆组胺水平的升高,而且对大鼠血压没有任何影响。而 OVA 诱发了明显的血清学反应(IgG 及 IgE 反应),并导致血浆组胺水平(过敏介质)升高并诱发部分大鼠血压下降(全身性反应)。因此本试验利用 BN 大鼠动物模型,通过全食品喂饲的方式给予 BN 大鼠 GM 大米没有发现该转基因大米对 BN 大鼠具有致敏性。

参考文献

- [1] Ladics GS, Holsapple MP, Astwood JD, et al. Workshop overview: approaches to the assessment of the allergenic potential of food from genetically modified food[J]. Toxicol Sci, 2003, 73: 8-16.
- [2] 贾旭东, 李宁, 王伟, 等. 蛋白过敏性研究 - BN 大鼠动物模型[J]. 卫生研究, 2004, 63: 63-65.
- [3] Petersen LJ. Studies on mast cells and histamine release in psoriasis: the effect of ranitidine[J]. Acta Derm Venereol, 1998, 78: 190-193.
- [4] Penninks AH, Knippels LMJ. Determination of protein allergenicity: studies in rats[J]. Toxicol Lett, 2001, 120: 171-180.
- [5] Knippels LMJ, Penninks AH, Smit JJ, et al. Immune-mediated effects upon oral challenge of ovalbumin-sensitized Brown Norway rats: further characterization of a rat food allergy model[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 1996, 156: 161-169.

[收稿日期:2004-11-18]

中图分类号:R15;TS213.3;Q813 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2005)01-0007-03

卫生部文件

卫监督发〔2004〕454号

卫生部关于查处部分普通食品违法宣传改善脑功能等功效的通知

各省、自治区、直辖市卫生厅局,新疆生产建设兵团卫生局,卫生部卫生监督中心:

近期,广东省卫生厅根据有关部门的举报,对南昌川奇保健品有限公司生产的“川奇牌脑轻松口服液(标注卫生许可证号为:赣卫食准字(2000)第202号)”、江西圣康保健品有限公司生产的“鼎鼎康脑轻松口服液(标注卫生许可证号为:寻卫食许字(2002)第3003号)”、黄石市今阳保健品厂生产的“今阳牌脑轻松口服液(标注卫生许可证为:黄卫食准字(2000)第0517号)”等产品的夸大宣传进行立案查处。鉴于以上产品在各地均有销售,各地卫生行政部门应立即组织对上述食品的查处工作,并于2005年1月20日前将监督检查进展情况函报我部监督司。

卫生部
二 四年十二月十六日