

## 综述

## 基于系统文献检索的桔青霉素遗传毒性分析与识别

王柯新<sup>1,2</sup>, 谭剑斌<sup>1</sup>, 李庆<sup>1</sup>, 陈壁锋<sup>1</sup>, 赵敏<sup>1</sup>

(1. 广东省疾病预防控制中心, 广东 广州 511430; 2. 广东药科大学公共卫生学院, 广东 广州 510310)

**摘要:** 桔青霉素是由曲霉属、青霉属和红曲霉属等真菌产生的聚酮类真菌毒素, 常污染谷物及其制品。桔青霉素具有明确的肾脏毒性, 但其致癌性证据有限。考虑到遗传毒性试验可用于筛查化学物质潜在致癌性, 本文从基因突变、染色体畸变和 DNA 损伤 3 个遗传学终点的角度对桔青霉素的遗传毒性进行综述。桔青霉素是一种致染色体畸变的遗传毒性物质, 机制可能与其影响细胞有丝分裂期间微管蛋白聚合与纺锤体形成, 导致细胞周期阻滞有关。本文期望为桔青霉素风险评估工作提供基础数据结论。

**关键词:** 桔青霉素; 遗传毒性; 基因突变; 染色体畸变; DNA 损伤

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2023)08-1235-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2023.08.016

**Genotoxicity analysis and identification of citrinin based on a systematic literature search**WANG Kexin<sup>1,2</sup>, TAN Jianbin<sup>1</sup>, LI Qing<sup>1</sup>, CHEN Bifeng<sup>1</sup>, ZHAO Min<sup>1</sup>

(1. Guangdong Provincial Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Guangzhou 511430, China; 2. School of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangdong Guangzhou 510310, China)

**Abstract:** Citrinin (CIT) is a mycotoxin produced by several species of the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Monascus*, and it often contaminates grains and grain products. CIT shows clear nephrotoxicity, while its carcinogenicity evidence is insufficient. Considering the ability of genotoxicity tests to screen chemicals for potential carcinogenicity, the genotoxicity of CIT was reviewed from the perspective of three genetic endpoints, including genetic mutation, chromosomal aberrations, and DNA damage. CIT is a genotoxic substance that induces chromosomal aberrations. The mechanism may be related to its influence on tubulin polymerization and spindle formation during cellular mitosis, thereby causing cell cycle blocking. This study provides basic data for follow-up risk assessments of CIT.

**Key words:** Citrinin; genotoxicity; gene mutation; chromosome aberration; DNA damage

桔青霉素(Citrinin, CIT)又称桔霉素, CAS号 518-75-2, 分子式  $C_{13}H_{14}O_5$  (结构式见图 1), 分子量为 250.25, 是一种由曲霉属、青霉属和红曲霉属等真菌产生的聚酮类真菌毒素<sup>[1-2]</sup>, 通常与真菌毒素赭曲霉素 A 共存。CIT 主要存在于谷物中, 其他植物类制品如豆类、水果蔬菜及其制品、草药、香料, 动物类制品如变质的乳制品、鸡蛋、腌肉类, 红曲霉发酵产物如红曲米中也有存在<sup>[3-4]</sup>。CIT 最早在 *Penicillium citrinum* 的培养物中分离得到, 1995 年法国 BLANC 博士证实了红曲霉具有产生 CIT 的能

力<sup>[5]</sup>。目前 CIT 的毒性研究显示其具有明确的肾脏毒性<sup>[6-10]</sup>; 但在致癌性方面, 依据 1987 年国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)评估结果, CIT 在人类中致癌性证据有限, 因此被列为对人的致癌性尚无法分类的 III 类物质<sup>[11]</sup>。遗传毒性是评价化学物质潜在致癌性的基础<sup>[12-13]</sup>, CIT 的遗传毒性试验研究较多, 本文从基因突变、染色体畸变和 DNA 损伤 3 个遗传学终点, 对 CIT 的遗传毒性进行综述, 进而分析其作用机制, 为后续的风险评估提供基础数据结论。

本文采用系统综述的方法检索和筛选文献。应用中国知网、万方与 PubMed 等数据库, 搜集 CIT 遗传毒性相关文献, 其中中文数据库以“桔青霉素”与“遗传毒性”“致突变性”“回复突变”“微核”“染色体畸变”“致癌性”等词相关联进行文献检索; 英文数据库以“citrinin”与“genotoxicity”“mutagenicity”“reverse

收稿日期: 2022-05-22

基金项目: 广东省重点领域研发计划(2019B020210002)

作者简介: 王柯新 女 硕士研究生 研究方向为疾病预防与控制 E-mail: 2721016913@qq.com

通信作者: 赵敏 女 主任医师 研究方向为食品安全性评价和风险评估 E-mail: zhaomin900901@qq.com

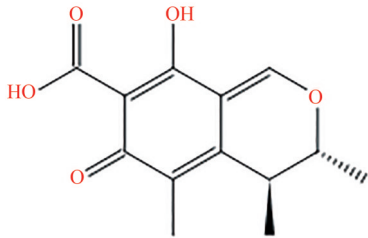


图1 桔青霉素化学结构

Figure 1 The chemical structure of CIT

mutation” “micronucleus” “chromosome aberration” “carcinogenicity”等词相关联进行文献检索,时间截至2021年6月3日。文献的纳入标准:体内或体外的CIT遗传毒性相关研究。排除标准:(1)研究内容与CIT遗传毒性无关;(2)综述类研究。共检

索到195篇文献,去除重复后剩余131篇,阅读题目和摘要排除无关文献102篇,剩余29篇文献阅读全文后排除无关文献5篇,将剩余的24篇文献纳入综述,包含了以基因突变、染色体损伤、DNA损伤与修复等遗传毒性终点。

## 1 基因突变研究

基因突变是由核苷酸的增加、缺失、替换等分子水平上的变化引起的基因功能改变<sup>[14]</sup>。目前开展的CIT基因突变试验主要有细菌回复突变试验(Ames试验)、转基因啮齿类动物体细胞基因突变试验、酿酒酵母有丝分裂试验、果蝇体细胞基因突变试验等。详见表1。

表1 CIT基因突变试验

Table 1 Experiments of CIT gene mutation

试验名称	受试生物	菌株	溶剂	剂量组	代谢活化系统	终点	结果	文献
Ames 试验	鼠伤寒沙门菌	TA97、TA98、TA100、TA102	DMSO	0.2、1、5、25 μg/皿	+/-S9(大鼠)	his+回复突变	-	[15]
Ames 试验	鼠伤寒沙门菌	TA97、TA98、TA100、TA1535、TA1538	DMSO	100、200、400、800 μg/皿	+/-S9(大鼠)	his+回复突变	-	[16]
Ames 试验	鼠伤寒沙门菌	TA102	乙醇	4、12、36、108.5、325.5 μg/皿	+/-S9(大鼠)	his+回复突变	-	[17]
Ames 试验	鼠伤寒沙门菌	TA98、TA100、TA1535、TA1537	DMSO	0.2、2、20、400 μg/皿	+/-S9(大鼠)	his+回复突变	-	[18]
Ames 试验	鼠伤寒沙门菌	TA1535、TA1537、TA1538	DMSO	0.1、1、10、100 μg/皿	+/-S9(大鼠)	his+回复突变	-	[19]
Ames 试验	鼠伤寒沙门菌	TA98、TA100	—	500 μg/皿	+/-S9(大鼠)	his+回复突变	-	[20]
Ames 试验	鼠伤寒沙门菌	TA98、TA100	DMSO	25、50、100、200 μg/皿	+S9(HepG2)	his+回复突变	-	[21]
Ames 试验	鼠伤寒沙门菌	TA98、TA100	DMSO	0.005、0.025、0.05、0.25、0.5、2.5、5、25、50 μg/皿	+/-大鼠原代肝细胞	his+回复突变	+	[16]
转基因啮齿动物体细胞基因突变试验	大鼠、雄鼠	F344/NSlc-Tg(gpt-delta)	5%碳酸氢钠	20、40 mg/(kg·BW)	—	体细胞基因突变	-	[22]
酿酒酵母有丝分裂试验	酿酒酵母菌	Diploid strain D-3 of <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	DMSO	50、100 μg/皿	+/-S9(大鼠)	有丝分裂交叉	-	[19]
果蝇体细胞基因突变试验	黑腹果蝇	—	DMSO	1.4×10 <sup>-4</sup> 、4×10 <sup>-4</sup> 、6×10 <sup>-3</sup> 、8×10 <sup>-2</sup> mol/L	—	体细胞基因突变	-	[23]

### 1.1 Ames 试验

杜新芳和陈运中<sup>[15]</sup>在有、无S9代谢活化系统的情况下,对组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门菌TA97、TA98、TA100、TA102在0.2~25 μg/皿的CIT剂量范围进行回复突变试验,结果呈阴性。SABATER-VILAR等<sup>[16]</sup>在有、无S9代谢活化系统的情况下,对TA97、TA98、TA100、TA1535、TA1538在100~800 μg/皿的CIT剂量范围进行回复突变试验,结果呈阴性。WÜGLER等<sup>[17]</sup>在有、无S9代谢活化系统的情况下,对TA102在4~325.5 μg/皿的CIT剂量范围进行回复突变试验,结果呈阴性。WEHNER等<sup>[18]</sup>在有、无S9代谢活化系统的情况下,对TA98、TA100、TA1535、TA1537在0.2~400 μg/皿的CIT剂量范围

进行回复突变试验,结果呈阴性。KUCZUK等<sup>[19]</sup>在有、无S9代谢活化系统的情况下,对TA1535、TA1537、TA1538在0.1~100 μg/皿的CIT剂量范围进行回复突变试验,结果呈阴性。UENO等<sup>[20]</sup>在有、无S9代谢活化系统的情况下,对TA98、TA100在500 μg/皿的CIT剂量下进行回复突变试验,结果呈阴性。KNASMULLER等<sup>[21]</sup>对TA98、TA100在25~200 μg/皿的CIT剂量范围进行回复突变试验,结果呈阴性。SABATER-VILAR等<sup>[16]</sup>以大鼠原代肝细胞作为代谢活化系统,在0.005~50 μg/皿CIT剂量下对TA98、TA100菌株进行回复突变试验,在50 μg/皿的剂量条件下,观察到阳性结果。阳性结果可能与采用大鼠原代肝细胞作为代谢活化系统有关。

1.2 转基因啮齿类动物体细胞基因突变试验

KURODA 等<sup>[22]</sup>以 5% 碳酸氢钠为溶剂,经口灌胃给予 F344/NSlc-Tg(gpt-delta) 转基因雄性大鼠 20、40 mg/(kg·BW) CIT 28 d,对肾皮质细胞进行基因突变试验,结果呈阴性。

1.3 其他基因突变试验

KUCZUK 等<sup>[19]</sup>在 50、100 μg/皿 CIT 剂量下,在有、无代谢活化系统的条件下对酿酒酵母菌 D-3 进行酿酒酵母有丝分裂试验,结果呈阴性。BELITSKY 等<sup>[23]</sup>在 1.4×10<sup>-4</sup>~8×10<sup>-2</sup> mol/L CIT 剂量下,以二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)为溶剂,进行果蝇体细胞基因突变试验,结果呈阴性。

综上所述,除 SABATER-VILAR 等<sup>[16]</sup>采用大鼠原代肝细胞作为代谢活化系统进行的 Ames 试验得到阳性结果外,其余 CIT 基因突变试验研究均为阴性结果,CIT 不会引起组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门菌移码突变和碱基置换突变。

2 染色体畸变研究

染色体畸变是指生物细胞在外界诱变因素作用下导致的染色体结构和数目的变化<sup>[14]</sup>,染色体结构和数目的改变都有可能是肿瘤形成的信号<sup>[24]</sup>。目前开展的 CIT 染色体畸变试验有微核试验、染色体畸变试验等,详见表 2。

表 2 CIT 染色体畸变试验  
Table 2 Experiments of CIT chromosome aberration

试验类型	受试对象	溶剂	剂量组	代谢活化系统	终点	结果 文献
体外微核试验	HepG2 细胞	DMSO	2.5、5、7.5、10、25 μg/mL	—	微核、非整倍体	+ [21]
体外微核试验	人外周血淋巴细胞	乙醇	10、20、40、60、80、100 μmol/L	—	微核	+ [25]
体外微核试验	中国仓鼠肺成纤维细胞	DMSO	10、20、30、50、75、100 μmol/L	—	微核频率	+ [26]
体外微核试验	中国仓鼠肺成纤维细胞	DMSO	30、40 μmol/L	—	微核	+ [27]
体外微核试验	猪肾 PK15 细胞	—	30、50 μmol/L	—	微核、核芽、核质桥	+ [29]
体内微核试验	雌性 Swiss 小鼠	橄榄油	2 mg/(kg·BW)	—	微核发生率	- [30]
体内微核试验	雄性 F344/NSlc-Tg(gpt-delta) 大鼠	5% 碳酸氢钠	20、40 mg/(kg·BW)	—	微核发生率	- [22]
体外染色体畸变试验	人外周血淋巴细胞	—	50、75、100 μmol/L	—	染色体数目畸变	+ [24]
体外染色体畸变试验	中国仓鼠 V79-e 细胞	DMSO	5×10 <sup>-5</sup> 、10 <sup>-4</sup> 、2.5×10 <sup>-4</sup> 、5×10 <sup>-4</sup> mol/L	大鼠肝、人肝肾微粒体	染色体复杂易位、致裂性	+ [31]
体内染色体畸变试验	白色 BALB/C 小鼠雄鼠	乙醇	0.9、1.8、3.6 mg/(kg·BW)	—	染色体间隙、断裂、环形染色体	+ [32]
体内染色体畸变试验	小鼠	—	5~20 mg/(kg·BW)	—	染色体结构、数目畸变	+ [33]

2.1 微核试验

2.1.1 体外微核试验

KNASMULLER 等<sup>[21]</sup>的微核试验中,在 2.5~25 μg/mL CIT 剂量下处理人源肝癌细胞(HepG2) 24 h,各组微核率与阴性对照组相比存在统计学差异,试验结果阳性。DÖNMEZ-ALTUNTAS 等<sup>[25]</sup>的微核试验中,在 10~100 μmol/L CIT 剂量下处理人外周血淋巴细胞 48 h,微核率在 40、60 μmol/L 剂量下显著高于阴性对照,试验结果阳性,同时随 CIT 剂量的升高,双核/单核比例呈下降趋势,提示 CIT 处理影响细胞有丝分裂,导致细胞周期阻滞。FÖLLMANN 等<sup>[26]</sup>在 10~100、1~500 μmol/L 剂量范围内,分别采用 CIT 及其次级代谢产物 Dihydrocitrinone(DH-CIT)对中国仓鼠肺成纤维细胞(V79 细胞)进行了微核试验,CIT 30 μmol/L 以上剂量微核率显著增加,结果呈阳性,DH-CIT 结果呈阴性;流式细胞术分析显示

CIT 在 50 μmol/L 剂量引起细胞 G<sub>2</sub>/M 周期阻滞。PFEIFFER 等<sup>[27]</sup>在 30、40 μmol/L 剂量下对 V79 细胞进行微核试验,结果呈阳性。在 2.5~100 μmol/L 剂量下通过荧光聚合分析法进行微管蛋白聚合试验,观察 CIT 对细胞有丝分裂的影响,CIT 以剂量依赖方式抑制微管聚合并导致中期细胞阻滞,40 μmol/L 剂量下的中期细胞阻滞是可逆的;CREST 染色表现为着丝粒阳性,表明该试验微核阳性是因染色体数目改变形成的<sup>[28]</sup>。KLARIĆ 等<sup>[29]</sup>在 30、50 μmol/L CIT 剂量范围内对猪肾上皮细胞 PK15 开展微核试验,50 μmol/L 剂量下试验结果阳性。

2.1.2 体内微核试验

DE OLIVEIRA 等<sup>[30]</sup>对 6~7 周龄的雌性 Swiss 小鼠使用二甲基苯蒽(7,12-dimethylbenzanthracene, DMBA)诱导形成乳腺癌小鼠模型后,以橄榄油为溶剂,经口灌胃给予 2 mg/(kg·BW) CIT 3 周,进行骨

髓细胞与肝细胞微核试验,结果呈阴性。KURODA等<sup>[22]</sup>以5%(w/V)碳酸氢钠为溶剂,经口灌胃给予雄性F344/NSlc-Tg(gpt-delta)大鼠20、40 mg/(kg·BW) CIT 2 d后,进行骨髓细胞微核试验,结果呈阴性。

## 2.2 染色体畸变试验

### 2.2.1 体外染色体畸变试验

CHANG等<sup>[24]</sup>在50~100 μmol/L CIT剂量下处理人外周血淋巴细胞72 h后,结果显示处理组细胞染色体结构畸变率显著增加,并伴有多倍体出现,试验结果阳性;50~100 μmol/L CIT剂量下处理人胚胎肾细胞(HEK293)24 h,试验发现细胞暴露于CIT可导致细胞周期G<sub>2</sub>/M阻滞,呈剂量依赖性增加。CIT提高p53和p21蛋白的表达水平,但减弱了磷酸化细胞分裂周期2(cdc2)的信号,增加了有丝分裂蛋白单克隆2(MPM-2)识别的细胞数量。THUST等<sup>[31]</sup>以DMSO为溶剂,使用大鼠肝、人肝肾微粒体酶体外代谢活化系统,在5×10<sup>-5</sup>~5×10<sup>-4</sup> mol/L CIT剂量下处理V79-e细胞,进行染色体畸变试验,5×10<sup>-4</sup> mol/L剂量出现染色体形态异常、染色体裂隙等,结果呈阳性。

### 2.2.2 体内染色体畸变试验

BOUSLIMI等<sup>[32]</sup>以乙醇为溶剂,对白色BALB/C

雄性小鼠单次注射给予0.9~3.6 mg/(kg·BW) CIT进行骨髓细胞染色体畸变试验,剂量组产生了染色体间隙、断裂、环形染色体,染色体畸变率呈剂量依存关系,结果呈阳性。JESWAL等<sup>[33]</sup>在5~20 mg/(kg·BW) CIT剂量下经口给予小鼠8周,进行体内染色体畸变试验,可引起骨髓细胞染色体结构和数目异常,包括染色体断裂、裂隙等结构畸变和亚倍体产生等数目畸变,试验结果呈阳性。

综上,CIT染色体畸变试验均为阳性结果,诱导了微核、非整倍体、染色体断裂等染色体形态与数目上的改变。

## 3 DNA损伤研究

DNA损伤包括由物理、化学等外界因素导致的损伤与自发性的DNA损伤,DNA损伤结局包括损伤的修复、突变与染色体畸变、细胞凋亡等<sup>[14]</sup>,已开展的CIT DNA损伤检测试验包括彗星试验、非程序性DNA合成试验、姐妹染色单体交换试验(SCE)等,详见表3。

### 3.1 彗星试验

#### 3.1.1 体外彗星试验

LIU等<sup>[34]</sup>在40、60 μmol/L CIT剂量下对人胚

表3 CIT DNA损伤试验

Table 3 Experiments of CIT DNA damage

体内/体外	试验类型	受试对象	溶剂	剂量	代谢活化系统	终点	结果	文献
体外	体外彗星试验	人胚胎肾细胞(HEK293)	乙醇	40、60 μmol/L	—	尾部DNA含量	-	[34]
体外	体外彗星试验	HepG2细胞	DMSO	2.5、5、7.5、10 μg/mL	—	尾部DNA含量	-	[21]
体外	体外彗星试验	HepG2细胞	DMSO	155 μmol/L	—	尾部DNA含量	+	[35]
体内	体内彗星试验	乳腺癌模型Swiss albino小鼠雌鼠	橄榄油	2 mg/(kg·BW)	—	尾部DNA含量	+	[30]
体内	体内彗星试验	雄性F344 gpt-delta大鼠	5%碳酸氢钠	20、40 mg/(kg·BW)	—	尾部DNA含量	-	[22]
体外	姐妹染色单体交换试验	中国仓鼠v79-e细胞	DMSO	5×10 <sup>-5</sup> 、10 <sup>-4</sup> 、2.5×10 <sup>-4</sup> 、5×10 <sup>-4</sup> mol/L	大鼠、人肝肾微粒体	SCE频率	-	[31]
体外	姐妹染色单体交换试验	Hep3B细胞	DMSO	10 <sup>-12</sup> 、10 <sup>-10</sup> 、10 <sup>-8</sup> 、10 <sup>-6</sup> mol/L	+/-S9	SCE率	+	[36]
体外	姐妹染色单体交换试验	中国仓鼠卵巢细胞、人外周血淋巴细胞	乙醇	5、10、15 μmol/L	—	SCE频率	-	[34]
体外	非程序性DNA合成试验	人胚胎肝细胞	丙酮	2×10 <sup>-4</sup> 、4×10 <sup>-4</sup> 、6×10 <sup>-4</sup> 、8×10 <sup>-4</sup> mol/L	大鼠原代肝细胞	DNA损伤修复	-	[23]
体外	SOS呈色试验	大肠杆菌E. coli PQ37	DMSO	0.1、0.5、1、2、8、24、40、80 μg/mL	+/-S9	SOS应答	-	[37]
体外	SOS呈色试验	大肠杆菌E. coli PQ37	—	0.1~4 mmol/L	—	SOS应答	-	[38]
体外	DNA损伤修复试验	大肠杆菌E. coli MRE600、D110	—	100、200、300、450 μg/mL	—	DNA损伤、修复	+	[39]
体外	DNA琼脂糖凝胶电泳	绿猴肾细胞Vero细胞	乙醇	1、6、12.5 μmol/L	—	DNA碎片	+	[32]
体外	DNA定量	绿猴肾细胞Vero细胞	乙醇	25、55、110、220、330 μmol/L	—	DNA碎片	+	[32]

胎肾细胞(HEK293)进行了体外彗星试验,试验结果呈阴性。40、60  $\mu\text{mol/L}$  的 CIT 处理使得 HEK293 中 HSP70 的 mRNA 水平升高,但是 hOGG1 和  $\beta$ -肌动蛋白 mRNA 水平无显著差异。KNASMULLER 等<sup>[21]</sup>在 2.5~10  $\mu\text{g/mL}$  CIT 剂量下处理人源肝癌细胞(HepG2)24 h 进行体外彗星试验,试验结果呈阴性。但 GAYATHRI 等<sup>[35]</sup>在 155  $\mu\text{mol/L}$  CIT 剂量下处理 HepG2 细胞 24 h 后进行体外彗星试验,结果呈阳性。

### 3.1.2 体内彗星试验

DE OLIVEIRA 等<sup>[30]</sup>经口灌胃给予雌性 Swiss albino 小鼠 2 mg/(kg·BW)剂量 CIT 3 周后对外周血、肝、肾、骨髓进行碱性彗星试验,试验结果阳性。KURODA 等<sup>[22]</sup>以 5% 碳酸氢钠为溶剂,经口灌胃给予雄性 F344 gpt-delta 转基因大鼠 20、40 mg/(kg·BW)剂量 CIT 2 d 后对肾脏进行彗星试验,该试验条件下,结果呈阴性。

### 3.2 姐妹染色单体交换试验

THUST 等<sup>[31]</sup>使用大鼠或人肝、肾微粒体代谢活化后在  $5\times 10^{-5}$ ~ $5\times 10^{-4}$  mol/L CIT 剂量下对 V79-e 细胞进行 SCE 试验,试验结果为阴性。ANNINO 等<sup>[36]</sup>在  $10^{-12}$ ~ $10^{-6}$  mol/L CIT 剂量下处理肝癌细胞(Hep3B)72 h 后进行 SCE 试验, $10^{-12}$ ~ $10^{-6}$  mol/L 剂量下 SCE 频率均显著高于阴性对照组,试验结果呈阳性。但是 LIU 等<sup>[34]</sup>在 5~15  $\mu\text{mol/L}$  CIT 剂量范围内处理中国仓鼠卵巢细胞(CHOK1)、人外周血淋巴细胞进行 SCE 试验,结果呈阴性。

### 3.3 非程序性 DNA 合成试验

BELITSKY 等<sup>[23]</sup>以人胚胎肝细胞为模型,进行非程序性 DNA 合成试验,对 CIT 的遗传毒性进行研究,以丙酮为溶剂,在  $2\times 10^{-4}$ ~ $8\times 10^{-4}$  mol/L CIT 剂量下,使用 Wistar 大鼠雄鼠原代肝细胞代谢活化 1~2 d 后的细胞培养液,处理 7~12 周人胚胎肝细胞 3~4 d 后,试验结果呈阴性。

### 3.4 其他 DNA 损伤试验

SAKAI 等<sup>[37]</sup>采用 *E. coli* PQ37 菌株,依据大肠杆菌 SOS 反应原理进行 SOS 呈色试验,在 0.1~80  $\mu\text{g/mL}$  CIT 范围内检测 CIT 的 DNA 损伤诱导能力,试验结果为阴性。MALAVEILLE 等<sup>[38]</sup>在 0.1~4 mmol/L CIT 剂量范围内进行 SOS 呈色试验,试验结果呈阴性。MARTIN 等<sup>[39]</sup>在 100~450  $\mu\text{g/mL}$  CIT 剂量下处理大肠杆菌可导致 DNA 断裂等阳性结果。BOUSLIMI 等<sup>[32]</sup>在 1~12.5  $\mu\text{mol/L}$  CIT 剂量下处理绿猴肾细胞 Vero 细胞后进行 DNA 琼脂糖凝胶电泳,结果显示 12.5  $\mu\text{mol/L}$  剂量下有 DNA 碎片形成;在 25~330  $\mu\text{mol/L}$  CIT 剂量下,通过二苯胺测定

法进行 DNA 定量分析,结果显示 DNA 碎片量呈剂量递增,CIT 具有 DNA 致裂性,且呈剂量依赖性。

综上,CIT 致 DNA 损伤作用尚未得到一致结论。

## 4 结论

CIT 是由多种真菌产生的具有明确肾脏毒性的真菌毒素,其致癌性目前证据有限。CIT 可污染各类食物,目前已开展的人体生物样本监测发现,CIT 的生物标记物在不同国家和地区的样本中均普遍存在<sup>[40]</sup>,可见人群通过食物暴露于 CIT 的风险较高。目前我国仅对部分红曲霉发酵产物中的 CIT 提出了限量要求,其他各类食品均未见 CIT 的限量标准。因此系统开展 CIT 的风险评估,制定健康指导值和安全标准,对保护人群健康意义重大。

本文从基因突变、染色体畸变和 DNA 损伤 3 个遗传学终点的角度对 CIT 的遗传毒性进行综述。基因突变试验,除 1 项采用非标准的以大鼠原代肝细胞作为体外代谢活化系统的 Ames 试验结果为阳性外,其他基因突变试验结果均为阴性。染色体畸变试验得到了染色体结构与数目畸变的阳性结果。在 CIT 致染色体畸变机制探索中发现,CIT 通过抑制细胞有丝分裂期间微管蛋白聚合,导致纺锤体形成受到抑制,染色体无法正确分离、引起细胞周期阻滞。现有研究表明,微管在细胞有丝分裂过程主要起提供结构骨架的作用,微管聚合受抑制导致纺锤体功能障碍,进而导致染色体错误分离,这是非整倍体、微核等染色体畸变的形成的原因之一。持续的染色体错误分离导致的染色体不稳定性,可能通过促进杂合子丢失、突变肿瘤抑制基因的表达、携带癌基因的染色体多体性来促进肿瘤的发生和发展<sup>[14,41-42]</sup>。CIT 致 DNA 损伤与修复研究,体内和外试验均未得到一致结论。

综上,CIT 是一种具有遗传毒性作用的化合物,其作用机制可能与引起染色体畸变和 DNA 损伤相关。后续在条件允许时可进一步开展致癌性研究,完善其毒理学基础数据,为 CIT 的风险评估提供依据。

## 参考文献

- [1] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 54680783, Citrinin[EB/OL]. (2011-12-26) [2022-04-09]. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54680783>.
- [2] KOVÁČ Š, NEMEC P, BETINA V, et al. Chemical structure of citrinin[J]. Nature, 1961, 190(4781): 1104-1105.
- [3] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM).

- Scientific Opinion on the risks for public and animal health related to the presence of citrinin in food and feed [J]. *EFSA Journal*, 2012, 10(3): 2605.
- [ 4 ] ABDELHAMID A M, DORRA T M. Study on effects of feeding laying hens on separate mycotoxins (aflatoxins, patulin, or citrinin) -contaminated diets on the egg quality and tissue constituents [J]. *Archiv Für Tierernaehrung*, 1990, 40 (4) : 305-316.
- [ 5 ] BLANC P J, LAUSSAC J P, BARS J L, et al. Characterization of monascidin A from *Monascus* as citrinin [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1995, 27(2-3): 201-213.
- [ 6 ] FRANK H K. Citrinin [J]. *Zeitschrift Für Ernährungswissenschaft*, 1992, 31(3): 164-177.
- [ 7 ] ARAI M, HIBINO T. Tumorigenicity of citrinin in male F344 rats [J]. *Cancer Letters*, 1983, 17(3): 281-287.
- [ 8 ] THACKER H L, CARLTON W W, SANSING G A. Citrinin mycotoxicosis in the Guinea-pig [J]. *Food and Cosmetics Toxicology*, 1977, 15(6): 553-561.
- [ 9 ] FRIIS P, HASSELAGER E, KROGH P. Isolation of citrinin and oxalic acid from *Penicillium viridicatum* Westling and their nephrotoxicity in rats and pigs [J]. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica*, 1969, 77(3): 559-560.
- [ 10 ] AMBROSE A M, DEEDS F. Some toxicological and pharmacological properties of citrinin [J]. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1946, 88 (2) : 173-186.
- [ 11 ] IARC. IARC monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans-Citrinin [B/OL]. 2022. <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>.
- [ 12 ] KINSELLA A. Long term and short term screening assays for carcinogens: A critical appraisal [J]. *British Journal of Cancer*, 1981, 44(2): 314.
- [ 13 ] HOLLSTEIN M, MCCANN J, ANGELOSANTO F A, et al. Short-term tests for carcinogens and mutagens [J]. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 1979, 65(3): 133-226.
- [ 14 ] 孙志伟. 毒理学基础 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017.
- SUN Z W. Toxicology preventive medicine [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2017.
- [ 15 ] 杜新芳, 陈运中. 红曲中桔霉素的 Ames 试验 [J]. *湖北农业科学*, 2012, 51(8): 1658-1660.
- DU X F, CHEN Y Z. Ames test of citrinin in *Monascus* [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2012, 51(8): 1658-1660.
- [ 16 ] SABATER-VILAR M, MAAS R F M, FINK-GREMMELS J. Mutagenicity of commercial *Monascus* fermentation products and the role of citrinin contamination [J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 1999, 444 (1) : 7-16.
- [ 17 ] WÜRGLER F E, FRIEDERICH U, SCHLATTER J. Lack of mutagenicity of ochratoxin A and B, citrinin, patulin and cnesoine in *Salmonella typhimurium* TA102 [J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 1991, 261(3): 209-216.
- [ 18 ] WEHNER F C, THIEL P G, VAN RENSBURG S J, et al. Mutagenicity to *Salmonella typhimurium* of some *Aspergillus* and *Penicillium* mycotoxins [J]. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 1978, 58(2-3): 193-203.
- [ 19 ] KUCZUK M H, BENSON P M, HEATH H, et al. Evaluation of the mutagenic potential of mycotoxins using *Salmonella typhimurium* and *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 1978, 53(1): 11-20.
- [ 20 ] UENO Y, KUBOTA K, ITO T, et al. Mutagenicity of carcinogenic mycotoxins in *Salmonella typhimurium* [J]. *Cancer Research*, 1978, 38(3): 536-542.
- [ 21 ] KNASMULLER S, CAVIN C, CHAKRABORTY A, et al. Structurally related mycotoxins ochratoxin A, ochratoxin B, and citrinin differ in their genotoxic activities and in their mode of action in human-derived liver (HepG2) cells: Implications for risk assessment [J]. *Nutrition and Cancer*, 2004, 50 (2) : 190-197.
- [ 22 ] KURODA K, ISHII Y, TAKASU S, et al. Cell cycle progression, but not genotoxic activity, mainly contributes to citrinin-induced renal carcinogenesis [J]. *Toxicology*, 2013, 311(3): 216-224.
- [ 23 ] BELITSKY G A, KHOVANOVA E M, BUDUNOVA I V, et al. Mycotoxin induction of somatic mosaicism in *Drosophila* and DNA repair in mammalian liver cell cultures [J]. *Cell Biology and Toxicology*, 1985, 1(3): 133-143.
- [ 24 ] CHANG C H, YU F Y, WU T S, et al. Mycotoxin citrinin induced cell cycle G2/M arrest and numerical chromosomal aberration associated with disruption of microtubule formation in human cells [J]. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 2011, 119(1): 84-92.
- [ 25 ] DÖNMEZ-ALTUNTAS H, DUMLUPINAR G, IMAMOGLU N, et al. Effects of the mycotoxin citrinin on micronucleus formation in a cytokinesis-block genotoxicity assay in cultured human lymphocytes [J]. *Journal of Applied Toxicology: JAT*, 2007, 27 (4): 337-341.
- [ 26 ] FÖLLMANN W, BEHM C, DEGEN G H. Toxicity of the mycotoxin citrinin and its metabolite dihydrocitrinone and of mixtures of citrinin and ochratoxin A *in vitro* [J]. *Archives of Toxicology*, 2014, 88(5): 1097-1107.
- [ 27 ] PFEIFFER E, GROSS K, METZLER M. Aneuploidogenic and clastogenic potential of the mycotoxins citrinin and patulin [J]. *Carcinogenesis*, 1998, 19(7): 1313-1318.
- [ 28 ] 汪旭, 刘素清, 合正基, 等. 抗着丝点抗体在鉴别微核起源上的应用 [J]. *癌变·畸变·突变*, 1994, 6(2): 60-63.
- WANG X, LIU S Q, HE Z J, et al. Antikinetochores antibody staining to discriminate between two micronucleus origins [J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis*, 1994, 6 (2) : 60-63.
- [ 29 ] KLARIĆ M Š, ŽELJEŽIĆ D, RUMORA L, et al. A potential role of calcium in apoptosis and aberrant chromatin forms in porcine kidney PK15 cells induced by individual and combined ochratoxin A and citrinin [J]. *Archives of Toxicology*, 2012, 86 (1): 97-107.
- [ 30 ] DE OLIVEIRA FILHO J W G, ANDRADE T, DE LIMA R M T, et al. Citrinin against breast cancer: A cytogenotoxicological study [J]. *Phytotherapy Research: PTR*, 2021, 35(1): 504-516.
- [ 31 ] THUST R, KNEIST S. Activity of citrinin metabolized by rat and human microsomal fractions in clastogenicity and SCE assays

- on Chinese hamster V79-E cells[J]. Mutation Research/Genetic Toxicology, 1979, 67(4): 321-330.
- [32] BOUSLIMI A, BOUAZIZ C, AYED-BOUSSEMA I, et al. Individual and combined effects of ochratoxin A and citrinin on viability and DNA fragmentation in cultured Vero cells and on chromosome aberrations in mice bone marrow cells[J]. Toxicology, 2008, 251(1-3): 1-7.
- [33] JESWAL P. Citrinin-induced chromosomal abnormalities in the bone marrow cells of *Mus musculus* [J]. Cytobios, 1996, 86(344): 29-33.
- [34] LIU B H, YU F Y, WU T S, et al. Evaluation of genotoxic risk and oxidative DNA damage in mammalian cells exposed to mycotoxins, patulin and citrinin [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2003, 191(3): 255-263.
- [35] GAYATHRI L, DHIVYA R, DHANASEKARAN D, et al. Hepatotoxic effect of ochratoxin A and citrinin, alone and in combination, and protective effect of vitamin E: *In vitro* study in HepG2 cell [J]. Food and Chemical Toxicology, 2015, 83: 151-163.
- [36] ANNINOU N, CHATZAKI E, PAPACHRISTOU F, et al. Mycotoxins' activity at toxic and sub-toxic concentrations: Differential cytotoxic and genotoxic effects of single and combined administration of sterigmatocystin, ochratoxin A and citrinin on the hepatocellular cancer cell line Hep3B [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2014, 11(2): 1855-1872.
- [37] SAKAI M, ABE K, OKUMURA H, et al. Genotoxicity of fungi evaluated by SOS microplate assay[J]. Natural Toxins, 1992, 1(1): 27-34.
- [38] MALAVEILLE C, BRUN G, BARTSCH H. Genotoxicity of ochratoxin A and structurally related compounds in *Escherichia coli* strains: Studies on their mode of action[J]. IARC Scientific Publications, 1991(115): 261-266.
- [39] MARTIN W, LORKOWSKI G, CREPPY E E, et al. Action of citrinin on bacterial chromosomal and plasmid DNA *in vivo* and *in vitro*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1986, 52(6): 1273-1279.
- [40] ALI N, DEGEN G H. Citrinin biomarkers: A review of recent data and application to human exposure assessment [J]. Archives of Toxicology, 2019, 93(11): 3057-3066.
- [41] KLAASEN S J, TRUONG M A, VAN JAARVELD R H, et al. Nuclear chromosome locations dictate segregation error frequencies [J]. Nature, 2022, 607(7919): 604-609.
- [42] PIHAN G A, DOXSEY S J. The mitotic machinery as a source of genetic instability in cancer [J]. Seminars in Cancer Biology, 1999, 9(4): 289-302.