

论著

转 *cry2A*^{*} 基因大米 T2A-1 慢性毒性试验研究唐晓荞¹, 王杨凤², 裴兰洁¹, 杨文祥¹, 樊军¹, 卓勤³, 杨晓光³, 刘家发¹, 樊柏林¹

(1. 湖北省疾病预防控制中心 应用毒理湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430079; 2. 重庆市涪陵区疾病预防控制中心, 重庆 408000; 3. 中国疾病预防控制中心营养与健康所, 北京 100050)

摘要:目的 通过掺入饲料的方式连续给予 SD 大鼠转 *cry2A*^{*} 基因大米 T2A-1 52 周, 为其食用安全性提供基础毒理学数据。方法 144 只无特定病原体 (SPF 级) SD 大鼠按体质量随机分为三个组, 每组雌雄各半。根据大米营养成分测定结果, 将 T2A-1 大米及其亲本明恢 63 大米均按最大比例掺入饲料中, 成长期和维持期分别为 60.75%、66.75%, 同时设置 AIN-93 配方饲料组作为营养对照。连续喂饲 52 周; 试验期间观察并记录一般状况、体质量、摄食量等, 并开展血液、血生化、尿液常规检测; 试验结束时处死动物进行病理学检查等。结果 转基因和亲本大米的主要营养成分含量相近。52 周试验周期中, 各组大鼠一般状况均良好, 死亡率和肿瘤发生率组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与非转基因组比较, 转基因组大鼠体质量、进食量、食物利用率差异无统计学意义 ($P>0.05$); 血液、血生化、尿液检测未发现有毒理学意义的改变; 各组组织病理学检查均未发现有意义的病理学改变。结论 在本试验条件下, 转 *cry2A*^{*} 基因大米连续喂饲 SD 大鼠 52 周, 未发现其对实验动物产生不良的影响。

关键词: 转基因水稻; 慢性毒性; 安全性评价

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2019)06-0510-07

DOI: 10.13590/j.cjfh.2019.06.002

Long-term toxicity study on transgenic rice T2A-1 with *cry2A*^{*} geneTANG Xiaoqiao¹, WANG Yangfeng², PEI Lanjie¹, YANG Wenxiang¹,
FAN Jun¹, ZHUO Qin³, YANG Xiaoguang³, LIU Jiafa¹, FAN Bolin¹

(1. Hubei Provincial Key Laboratory for Applied Toxicology Hubei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hubei Wuhan 430079, China; 2. Fuling District Center for Disease Control and Prevention, Chongqing 408000, China; 3. National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective In the present work, the chronic toxic effects of the transgenic rice T2A-1 carrying *cry2A*^{*} gene was evaluated on Sprague-Dwaley rats through a 52-week feeding study. **Methods** One hundred and forty-four rats were randomly divided into 3 groups according to body weight. Transgenic rice T2A-1 and parent rice were formulated into diets at high levels of 60.75% during the growth period and 66.75% during the maintenance period, respectively. AIN-93 diet was used as a nutritional control. Animals were fed with the corresponding feed for 52 weeks. Cage-side observation, animal body weight, food intake, food utilization, hematology, serum biochemistry and urine analysis were carried out routinely. At the end of the administration, all survived animals were anatomized and histopathological examination were conducted. **Results** The main nutrient contents of the transgenic rice were similar to the parent rice. Throughout the experimental period, the trends in body weight, food intake and food utilization rate were similar in all groups. Although statistical significance was observed in some indexes of hematology, serum biochemistry and urine analysis of the transgenic rice groups as compared with the parent rice group, they were not considered as treatment-related. Histopathological examination showed some spontaneous lesions in all groups with no significant difference among them. **Conclusion** The result of the current 52-weeks chronic toxicity study of transgenic rice T2A-1 exerted no unintended adverse effects on rats.

Key words: Transgenic rice; chronic toxicity; safety evaluation

收稿日期: 2019-11-01

基金项目: 农业部“转基因生物新品种培育”科技重大专项资助 (2016ZX08011005); 湖北省领军人才培养工程专项经费

作者简介: 唐晓荞 女 副主任医师 研究方向为卫生毒理 E-mail: 33803101@qq.com

通信作者: 樊柏林 男 主任医师 研究方向为食品毒理 E-mail: 963250015@qq.com

近年来,随着人口膨胀、耕地面积缩减和虫害的影响,中国农业生产特别是大米的生产面临着严峻的挑战^[1-2]。利用基因工程技术培育高效抗虫水稻新品系,在不改变水稻原有营养价值的前提下,增加其抗虫能力,既可以提高产量,也可以减少因施用农药带来的污染问题^[2-5]。*cry* 基因是从苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 中鉴定并克隆出来的一类晶体蛋白抗虫基因,在国内外已获得了多种遗传稳定的水稻品系,如转 *cry1Ac* 基因的籼稻“IR64”,转 *cry1A* 基因的粳稻“KMD1”和“KMD2”,转 *cry1Ab/cry1Ac* 基因的“华恢 1 号”和“Bt 汕优 63”,转 *cry1Ab/cry9Aa* 基因的粳稻“秀水 110”^[5-8]。转基因水稻 T2A-1 是一种以明恢 63 水稻为亲本,通过农杆菌介导转入一种新的 *cry2A** 基因后培育出来的转基因水稻纯合株系。

但是外源基因插入基因组后是否会产生不确定性,其表达产物引起的刺激效应及其基因随机插入引起的位置效应是否会产生有害成分,还未可知,因此目前在转基因作物的毒理学评价中仍采用个案原则,需要对每一种作物进行系列的毒理学评价^[3,7,9]。本研究所评价的转基因水稻 T2A-1 之前已进行了传统大鼠亚慢性毒理学试验,未发现有毒理学意义的改变^[10-11],本次慢性毒性试验将在原有试验基础上延长实验动物给予受试物时间至 12 个月,以进一步评价慢性毒性效应,从而完善转 *cry2A** 基因水稻 T2A-1 的毒理学基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

转 *cry2A** 基因水稻 T2A-1 及其亲本明恢 63 均由华中农业大学林拥军教授实验室提供,经脱壳后磨成大米粉供试验用。

1.1.2 实验动物及饲养条件

无特定病原体 (SPF 级) SD 大鼠 144 只,体质量为 110~130 g,雌雄各半,由湖北省实验动物研究中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(鄂)2015-0018,实验动物合格证号:No.42000600019789。动物饲养于湖北省疾病预防控制中心 SPF 级屏障设施内,动物饲养室温度为 20~26 ℃,湿度为 40%~70%,明暗交替时间为 12 h/12 h,实验动物使用许可证号:SYXK(鄂)2012-0065。实验动物的使用方法经过湖北省疾病预防控制中心“动物使用和管理委员会”的批准,批准号为:安评中心动(福)第 201702002 号。

1.1.3 主要仪器与试剂

XT-2000iV 型全自动血球计数仪、CA-510 自动

血液凝固测定仪均购自日本希森美康, AU680 型全自动生化分析仪(美国贝克曼), H-800 全自动尿分析仪(迪瑞医疗科技股份有限公司)。

血液检测试剂均购自 *sysmex*(无锡)科技有限公司,生化检测试剂均购自上海丰汇医学科技有限公司,电解质检测试剂均购自美国贝克曼库尔特。

1.2 方法

1.2.1 大米粉的营养成分分析及饲料配制

对试验用大米粉检测营养成分,测定指标包括蛋白质、脂肪、淀粉、粗纤维、灰分和水分。大米粉以掺入饲料的方式给予大鼠,成长期饲料和维持期饲料的大米粉掺入比分别为 60.75% 和 66.75%,均为不明显影响混合饲料营养均衡的最大掺入量。同时按照 AIN-93G、AIN-93M 配方配制普通饲料作为营养对照。饲料均由武汉万千佳兴生物科技有限公司加工,并抽样进行营养成分的检测。

1.2.2 分组

本试验参照 GB 15193.26—2015《食品安全国家标准 慢性毒性试验》^[12] 和经济合作与发展组织 (OECD) 慢性毒性指导原则^[13],将检疫合格的大鼠按体质量随机分为转基因组、非转基因组和营养对照组,每组雌雄各 24 只,分别喂饲转 *cry2A** 基因水稻 T2A-1、亲本水稻明恢 63 和 AIN-93 配方饲料 52 周,其中 1~13 周给予成长期饲料,14~52 周给予维持期饲料。

1.2.3 一般观察

每日进行笼边观察,主要为大鼠的存活状况和一般状况。试验前和试验结束时,进行眼部检查(角膜、晶状体、球结膜、虹膜)。

1.2.4 体质量和进食量测定

第 1~13 周每周一次,第 14~52 周每 4 周一次。计算 1~13 周的每周食物利用率和总食物利用率。

1.2.5 血液、血生化及尿液检查

试验第 13 周、第 26 周每组雌雄各取 10 只大鼠以及第 52 周取所有存活大鼠进行采血、采尿测定。血液检测指标包括白细胞计数 (WBC)、中性粒细胞 (N) 百分比、淋巴细胞 (L) 百分比、单核细胞 (M) 百分比、嗜酸性粒细胞 (E) 百分比、嗜碱性粒细胞 (B) 百分比、红细胞计数 (RBC)、血红蛋白浓度 (Hb)、红细胞压积 (HCT)、血小板计数 (PLT)。血生化指标包括丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、血糖 (Glu)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (ALB)、总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、总胆红素 (TBIL)。试验第 52 周进行凝血酶原时间 (PT) 和活化部分凝血活酶时间 (APTT) 测定。

1.2.6 病理学检查

试验结束时,处死所有大鼠,进行大体解剖,取脑、心脏、肝脏、肾脏、脾脏、肾上腺、睾丸、附睾、卵巢、子宫、胸腺等主要脏器,称重并计算脏体比。脏体比(%)=脏器湿重(g)/禁食后体重(g)×100%。取心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、小脑、大脑、脑干、脊髓(颈、胸、腰部)、垂体、甲状腺、甲状旁腺、胸腺、胃、十二指肠、胰脏、空肠、回肠、结肠、直肠、膀胱、淋巴结(肠系膜淋巴结)、肾上腺、前列腺、睾丸、附睾、卵巢、子宫、乳腺、皮肤、眼、肌肉、胸骨、眼球、坐骨神经、骨髓,供组织病理学分析。

1.3 统计学分析

试验数据用 Microsoft Excel 软件建立数据库,采用 SPSS 20.0 进行分析,计量资料采用 *t* 检验,计数资料采用卡方检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各种大米及其加工饲料的营养成分检测结果

转基因大米和非转基因大米各营养成分含量均接近,结果见表1。三组相应成长期和维持期饲料的营养成分含量基本均衡一致,详见表2。

2.2 临床观察

试验期间,各组存活大鼠毛色、精神状态、行为和粪便等均无异常,未观察到毒性相关的临床症状,眼科检查未见明显异常。仅在试验第51周,营养对照组1只雌性大鼠、转基因组1只雄性大鼠出现死亡,大鼠死亡前无明显不良症状,体质量增长

表1 转基因组和非转基因组大米的营养成分

指标	转基因组	非转基因组
蛋白质/(g/100 g)	9.79	9.34
脂肪/(g/100 g)	2.14	1.28
淀粉/(g/100 g)	75.40	76.20
粗纤维/%	1.16	0.689
灰分/(g/100 g)	0.904	0.800
水分/(g/100 g)	10.20	10.30

表2 成品饲料主要营养成分检测结果/(g/100 g)

项目	成长期			维持期		
	转基因组	非转基因组	营养对照组	转基因组	非转基因组	营养对照组
粗蛋白	22.3	21.2	22.5	22.5	22.1	22.1
粗脂肪	7.3	7.0	8.0	7.1	6.7	8.3
水分	9.9	9.9	9.8	9.5	9.6	9.6
粗灰分	4.4	4.3	4.8	4.1	3.9	4.3
碳水化合物	56.0	57.5	54.9	56.8	57.7	55.7
能量	1 603.0	1 599.0	1 610.0	1 611.0	1 604.0	1 630.0

正常,死亡后尸检未见明显异常,考虑与受试物给予无相关性。

2.3 体质量、进食量和食物利用率

转基因组和非转基因组大鼠的体质量在维持期增长速度均高于营养对照组,部分时间点差异有统计学意义(*P*<0.05)。转基因组大鼠体质量、进食量变化及试验前13周总食物利用率与非转基因组比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05),结果见图2~3。

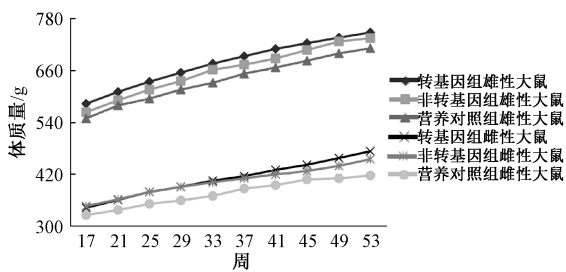
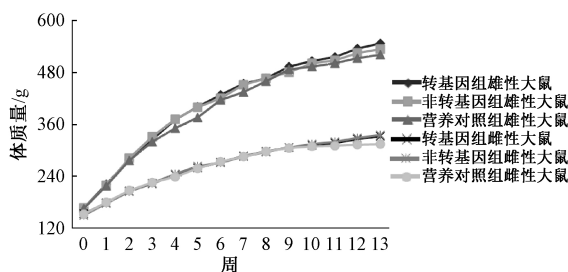


图2 大鼠1~13周(左)和17~52周(右)平均体质量变化

Figure 2 Mean weekly body weight of male and female rats in weeks 1-13 and 17-52

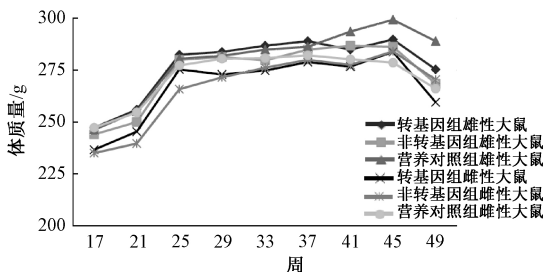
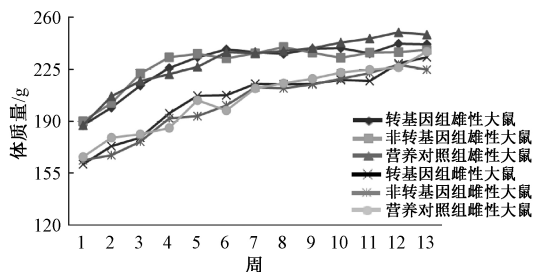


图3 大鼠1~13周(左)和17~52周(右)平均进食量变化

Figure 3 Mean weekly food consumption of male and female rats in weeks 1-13 and 17-52

2.4 血液检查结果

与非转基因组比较,转基因组雌性大鼠第 13 周 M 百分比偏低、第 26 周 PLT 和 M 百分比偏低,差异均有统计学意义 ($t = -2.313, P < 0.05; t = -2.640, P < 0.05; t = -3.144, P < 0.05$),但不具有规律性,与营养对照组

比较也未出现类似的变化。转基因组和非转基因组大鼠其他时间点各指标比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),结果见表 3。单纯 M 百分比降低并不具有明显的临床意义,而且降低的幅度不大,尚在本实验室的历史值范围内,故不认为具有毒理学意义。

表 3 大鼠血液检查结果 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Hematological parameters of male and female rats

类型	检测项目	第 13 周			第 26 周			第 52 周		
		转基因组 (n=10)	非转基因组 (n=10)	营养对照组 (n=10)	转基因组 (n=10)	非转基因组 (n=10)	营养对照组 (n=10)	转基因组 (n=24)	非转基因组 (n=24)	营养对照组 (n=23)
雌鼠	WBC/($10^9/L$)	14.3 ± 5.8	14.0 ± 5.5	14.8 ± 4.3	10.1 ± 2.6	10.5 ± 3.7	12.6 ± 5.6	9.1 ± 7.3	7.7 ± 2.7	8.8 ± 2.6
	RBC/($10^{12}/L$)	9.54 ± 1.19	8.96 ± 1.43	8.95 ± 0.62	7.66 ± 1.12	8.03 ± 0.41	7.42 ± 0.91	6.94 ± 1.37	6.94 ± 1.77	6.94 ± 1.31
	Hb/(g/L)	179.2 ± 19.1	169.0 ± 26.2	169.0 ± 9.6	147.3 ± 21.6	152.8 ± 8.2	141.6 ± 17.6	133.9 ± 26.1	134.2 ± 34.9	134.5 ± 24.7
	HCT/%	52.9 ± 6.2	50.4 ± 7.8	50.2 ± 3.2	43.6 ± 7.0	45.6 ± 2.3	43.1 ± 5.9	40.6 ± 7.5	40.0 ± 10.4	40.0 ± 7.3
	PLT/($10^9/L$)	1 260.4 ± 219.4	1 073.3 ± 372.7	1 076.4 ± 367.2	955.9 ± 262.9*	1 203.7 ± 137.8	1 025.0 ± 181.3	843.2 ± 288.8 [△]	972.3 ± 279.2	1 003.7 ± 249.2
	N/%	41.8 ± 13.6	39.4 ± 6.7	36.9 ± 9.7	32.5 ± 8.5	29.1 ± 4.2	29.4 ± 6.7	38.1 ± 9.5	39.9 ± 7.7	35.7 ± 5.7
	L/%	50.4 ± 14.0	49.3 ± 9.7	54.6 ± 11.4	62.75 ± 8.9	64.4 ± 4.9	65.4 ± 6.7	54.1 ± 10.3	52.1 ± 8.5	56.1 ± 5.4
	M/%	4.7 ± 1.7*	7.4 ± 3.2	5.3 ± 1.4	2.0 ± 0.7*	3.8 ± 1.7	2.6 ± 1.0	4.9 ± 2.2	5.1 ± 1.9	5.0 ± 1.5
	E/%	3.1 ± 0.8	3.9 ± 1.3	3.2 ± 1.3	2.69 ± 1.0	2.6 ± 0.9	2.6 ± 1.0	2.8 ± 1.1	2.9 ± 1.1	3.1 ± 1.7
	B/%	0.02 ± 0.06	0.02 ± 0.04	0.08 ± 0.09	0.03 ± 0.07	0.01 ± 0.03	0.04 ± 0.05	0.07 ± 0.19	0.03 ± 0.06	0.03 ± 0.06
Ret/%	1.8 ± 0.3	1.7 ± 0.3	1.6 ± 0.3	1.6 ± 0.4	1.5 ± 0.4	1.7 ± 0.3	2.4 ± 5.0	1.4 ± 0.4	1.2 ± 0.3	
APTT/s	—	—	—	—	—	—	9.6 ± 1.9 [△]	10.6 ± 1.5	11.0 ± 2.6	
PT/s	—	—	—	—	—	—	12.4 ± 1.1	13.0 ± 1.5	12.5 ± 1.0	
雄鼠	WBC/($10^9/L$)	14.3 ± 5.6	13.7 ± 2.3	15.6 ± 5.3	10.7 ± 2.0	11.6 ± 2.3	13.8 ± 4.1	13.0 ± 3.7	14.3 ± 4.4	12.0 ± 4.6
	RBC/($10^{12}/L$)	9.09 ± 3.21	9.65 ± 0.85	9.98 ± 0.68	7.94 ± 0.87	8.10 ± 0.50	8.51 ± 0.87	8.48 ± 0.76 [△]	8.49 ± 0.51	7.64 ± 1.3
	Hb/(g/L)	164.3 ± 58.0	174.8 ± 14.6	180.9 ± 11.9	140.4 ± 15.6	140.5 ± 11.1	148.9 ± 14.5	152.5 ± 12.8 [△]	152.5 ± 11.3	140.1 ± 21.6
	HCT/%	48.4 ± 17.1	51.3 ± 4.9	53.3 ± 3.8	43.5 ± 4.6	44.4 ± 3.3	46.8 ± 4.4	45.7 ± 3.9 [△]	46.5 ± 3.7	42.4 ± 6.4
	PLT/($10^9/L$)	1 046.3 ± 482.5	1 199.0 ± 351.9	1 263.7 ± 128.6	1 100.4 ± 128.7	993.7 ± 211.2	1 072.4 ± 154.3	1 280.8 ± 189.0 [△]	1 199.2 ± 246.7	1 116.5 ± 297.0
	N/%	41.1 ± 7.1	44.8 ± 5.8	48.4 ± 10.1	41.6 ± 8.9	41.2 ± 8.6	40.3 ± 12.5	40.7 ± 7.9	41.1 ± 7.2	40.2 ± 9.5
	L/%	53.3 ± 6.7 [△]	48.9 ± 5.9	44.9 ± 9.2	53.6 ± 9.3	54.0 ± 8.8	55.3 ± 12.3	49.9 ± 8.2	49.7 ± 8.4	51.2 ± 9.4
	M/%	3.6 ± 0.9	3.7 ± 0.8	3.9 ± 1.3	1.1 ± 0.6	0.9 ± 0.2	1.3 ± 0.6	5.6 ± 1.8	5.5 ± 2.2	5.4 ± 1.9
	E/%	2.1 ± 0.3	2.5 ± 0.9	2.8 ± 1.2	3.7 ± 0.8	3.9 ± 1.1	3.2 ± 1.3	3.8 ± 0.9 [△]	3.7 ± 1.3	3.1 ± 1.2
	B/%	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.04	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.05	0.01 ± 0.04	0.01 ± 0.03
Ret/%	1.7 ± 0.2	1.5 ± 0.2	1.7 ± 0.2	1.5 ± 0.3	1.8 ± 0.3*	1.5 ± 0.2	1.5 ± 0.3 [△]	1.4 ± 0.3	1.3 ± 0.3	
APTT/s	—	—	—	—	—	—	1 174 ± 1.3	11.8 ± 1.7	11.9 ± 4.9	
PT/s	—	—	—	—	—	—	14.2 ± 0.7	14.2 ± 0.8	14.0 ± 0.8	

注: * 表示与非转基因组比较, $P < 0.05$; [△] 表示与营养对照组比较, $P < 0.05$; — 表示未检测

2.5 血生化检查结果

与非转基因组比较,转基因组第 13 周雌性大鼠的 Glu 和 TG 偏低 ($t = -2.312, t = -1.984$)、雄性大鼠 Glu 和 BUN 偏低 ($t = -2.973, t = -2.228$),第 26 周雌性大鼠 Cr 偏高 ($t = 2.115$),第 52 周雌性大鼠 Glu 和 ALT 偏低 ($t = -2.099, t = -2.341$),差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。转基因组和非转基因组大鼠其他时间点各指标比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),结果见表 4。因大鼠体质量增长正常,Glu 和 TG 的降低不认为具有毒理学意义,可能是禁食的程度不同所致。ALT 的降低没有明显的临床意义,且 AST 和 ALP 在各检测时间点差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),故认为也不具有毒理学意义。

2.6 尿液常规检验

转基因组与非转基因组比较,雌、雄大鼠各时间点尿液指标差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.7 病理学检查

与非转基因组比较,转基因组雌性大鼠脑重偏轻、肾上腺偏重,差异均有统计学意义 ($t = -2.262, P < 0.05; t = 2.559, P < 0.05$),但脏器比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。转基因组与非转基因组其他脏器重量及脏器比差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),结果见表 5。组织病理学结果显示,各组均有不同数量的大鼠出现进行性心肌病、轻度肾小管透明管型、慢性进行性肾病、肾脏轻度肾钙盐沉积、肝脏轻度肝空泡样变性、肝脏肝内炎症细胞浸润、胸腺内腺管样结构,与非转基因组比较,转基因组病变的

表4 大鼠血生化检查统计结果($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Serum chemistry parameters of male and female rats

类型	检测项目	第13周			第26周			第52周		
		转基因组 (n=10)	非转基因组 (n=10)	营养对照组 (n=10)	转基因组 (n=10)	非转基因组 (n=10)	营养对照组 (n=10)	转基因组 (n=24)	非转基因组 (n=24)	营养对照组 (n=23)
雌鼠	Glu/(mmol/L)	4.4±0.6 [*] △	5.2±1.0	5.7±0.8	5.1±0.6	5.6±0.4	5.5±0.7	5.7±1.3 [*]	6.5±1.0	5.9±1.3
	BUN/(mmol/L)	3.2±0.6	3.0±0.5	3.3±0.7	2.7±0.3	3.1±0.5	3.0±0.6	3.2±1.0	3.2±1.3	3.3±0.7
	Cr/(μmol/L)	60.2±7.4	55.5±3.9	57.7±5.0	73.8±5.5 [*]	68.5±5.7	70.7±5.4	58.3±10.1	57.0±11.6	55.1±6.3
	TC/(mmol/L)	1.6±0.4	1.8±0.3	2.0±0.5	2.0±0.8	2.8±1.2	2.4±0.6	3.5±2.7	3.4±2.2	3.5±2.7
	TG/(mmol/L)	0.6±0.1 [*]	0.8±0.2	0.7±0.1	1.0±0.3	2.4±2.3	1.5±0.6	2.2±3.1	3.0±3.3	1.9±2.2
	ALT/(IU/L)	32.8±12.0	29.7±4.1	31.5±5.9	35.6±5.4	32.2±5.7	36.8±6.0	33.0±6.3 [*] △	37.8±7.9	41.7±9.6
	AST/(IU/L)	134.1±56.3	101.2±10.6	109.2±26.4	143.3±37.3	117.0±23.0	137.9±40.1	85.7±19.6	79.8±14.4	81.3±13.2
	TP/(g/L)	74.0±4.4	74.0±5.2	74.0±5.0	80.6±3.2	81.8±6.1	80.5±5.7	60.7±6.3	60.1±3.3	60.8±4.7
	ALB/(g/L)	41.7±3.5	40.4±2.9	40.1±2.9	48.3±3.1	46.4±4.6	45.8±3.3	31.1±4.2	31.8±4.7	31.0±4.1
	TBIL/(μmol/L)	2.0±0.5 [△]	1.9±0.4	1.5±0.5	1.7±0.5	1.8±0.7	1.4±0.5	1.2±0.5	1.0±0.5	0.9±0.4
ALP/(IU/L)	44.7±19.6	38.9±11.0	36.9±7.6	28.2±16.6	29.0±10.1	33.0±14.1	50.4±36.3	56.4±35.8	69.8±36.5	
类型	检测项目	第13周			第26周			第52周		
		转基因组 (n=10)	非转基因组 (n=10)	营养对照组 (n=10)	转基因组 (n=10)	非转基因组 (n=10)	营养对照组 (n=10)	转基因组 (n=23)	非转基因组 (n=24)	营养对照组 (n=24)
雄鼠	Glu/(mmol/L)	3.8±0.8 [*] △	5.0±1.0	5.7±0.9	4.7±0.8	5.1±0.8	5.4±1.1	5.4±1.6	6.1±2.5	6.8±3.2
	BUN/(mmol/L)	2.8±0.4 [*]	3.5±1.0	2.9±0.9	3.4±0.6	3.8±0.6	3.4±0.4	3.0±0.5	3.1±0.6	3.2±0.6
	Cr/(μmol/L)	54.7±9.2	58.4±8.7	52.7±5.6	70.0±6.7	70.4±5.7	66.0±2.1	53.5±4.7	55.6±6.7	55.9±8.2
	TC/(mmol/L)	1.7±0.5	1.8±0.5	1.9±0.3	1.9±0.6	2.1±1.0	2.1±0.5	3.1±1.6	2.9±1.4	3.4±1.2
	TG/(mmol/L)	0.9±0.3	1.0±0.4	0.9±0.3	2.0±1.2	2.9±1.3	2.0±1.3	1.2±1.1	1.3±0.7	1.6±1.3
	ALT/(IU/L)	51.5±9.8	52.9±14.5	57.2±11.6	40.8±11.3	43.8±13.4	39.3±7.3	35.4±8.9 [△]	38.6±11.5	46.3±11.8
	AST/(IU/L)	162.8±27.6	162.1±30.9	141.9±26.8	147.6±26.6	141.9±24.6	126.4±22.3	91.0±24.3	93.6±24.6	80.9±16.6
	TP/(g/L)	76.5±3.7	76.4±2.9	75.8±2.1	77.4±3.5	77.5±3.5	75.5±5.5	58.5±2.0	59.0±2.1	59.3±2.8
	ALB/(g/L)	38.9±1.5	38.3±1.1	38.6±1.0	41.1±1.9	40.6±1.5	40.9±2.0	29.0±2.2	29.5±1.8	29.1±2.1
	TBIL/(μmol/L)	1.3±0.3	1.5±0.6	1.3±0.3	1.6±0.3	1.6±0.4	1.4±0.4	1.2±0.4 [△]	1.0±0.4	0.9±0.4
ALP/(IU/L)	79.8±24.9	88.4±43.8	77.2±18.9	49.4±14.3	54.7±27.1	45.5±8.9	62.3±21.8	78.4±37.9	73.6±25.0	

注：^{*}表示与非转基因组比较， $P<0.05$ ；[△]表示与营养对照组比较， $P<0.05$

表5 第52周大鼠脏器重量和脏器比统计结果($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Absolute organ weights and relative organ weights of rats at 52 weeks

类型	检测项目	脏器重量/g			脏器比/%		
		转基因组(n=24)	非转基因组(n=24)	营养对照组(n=23)	转基因组(n=24)	非转基因组(n=24)	营养对照组(n=23)
雌鼠	脑	1.89±0.44 [*]	2.10±0.11	2.04±0.16	0.43±0.14 [△]	0.48±0.08	0.51±0.07
	心脏	1.31±0.22	1.33±0.17	1.24±0.15	0.29±0.03	0.31±0.07	0.31±0.04
	肝脏	11.85±2.90	12.20±2.80	11.94±2.24	2.56±0.37 [△]	2.78±0.71	2.93±0.41
	脾脏	1.09±1.02	0.84±0.17	0.76±0.12	0.24±0.20	0.19±0.04	0.19±0.03
	肾脏	2.73±0.87	2.77±0.84	2.51±0.33	0.59±0.15	0.64±0.25	0.62±0.06
	卵巢	0.164±0.048	0.165±0.042	0.162±0.054	0.037±0.013	0.038±0.011	0.040±0.013
	子宫	0.85±0.36	0.78±0.15	0.83±0.15	0.19±0.07	0.18±0.05	0.21±0.05
	胸腺	0.53±0.22 [△]	0.50±0.23	0.39±0.18	0.11±0.04	0.11±0.05	0.09±0.04
	肾上腺	0.102±0.025 [*]	0.081±0.032	0.094±0.032	0.023±0.007	0.019±0.008	0.023±0.008
	类型	检测项目	脏器重量/g			脏器比/%	
转基因组(n=23)			非转基因组(n=24)	营养对照组(n=24)	转基因组(n=23)	非转基因组(n=24)	营养对照组(n=24)
雄鼠	脑	2.15±0.14	2.22±0.14	2.20±0.14	0.30±0.05 [△]	0.31±0.05	0.32±0.03
	心脏	1.82±0.25	1.87±0.26 [△]	1.73±0.24	0.25±0.04	0.26±0.04	0.25±0.02
	肝脏	19.35±3.08 [△]	19.31±3.15 [△]	21.08±2.72	2.65±0.50 [△]	2.70±0.48 [△]	3.03±0.39
	脾脏	1.30±0.28	1.22±0.27	1.25±0.24	0.18±0.03	0.17±0.04	0.18±0.04
	肾脏	4.00±0.37	3.96±0.51	4.05±0.44	0.55±0.08	0.56±0.10	0.58±0.07
	睾丸	3.76±0.56	3.78±0.58	3.81±0.56	0.51±0.08	0.53±0.10	0.54±0.08
	附睾	1.69±0.26	1.65±0.25	1.63±0.26	0.23±0.05	0.23±0.06	0.23±0.04
	胸腺	0.61±0.29 [△]	0.54±0.18	0.44±0.18	0.09±0.05 [△]	0.08±0.03	0.06±0.02
	肾上腺	0.079±0.022	0.080±0.025	0.081±0.022	0.011±0.004	0.011±0.004	0.012±0.003

注：^{*}表示与非转基因组比较， $P<0.05$ ；[△]表示与营养对照组比较， $P<0.05$

性质和程度差异均无统计学意义($P>0.05$),结果见表6。各组肿瘤发病例数均较低,营养对照组发现甲状腺滤泡细胞腺瘤、肾小管上皮腺瘤和脂肪

瘤各1例,转基因组发现乳腺腺瘤1例,均为老龄SD大鼠常见自发性肿瘤^[14]。

表6 第52周大鼠非肿瘤性病变结果(例)
Table 6 Summary of non-neoplastic lesions of rats at 52 weeks

病变名称	转基因组		非转基因组		营养对照组	
	雌鼠 (n=24)	雄鼠 (n=23)	雌鼠 (n=24)	雄鼠 (n=24)	雌鼠 (n=23)	雄鼠 (n=24)
进行性心脏病	0	2	0	7	0	3
轻度心肌细胞坏死	0	2	0	1	0	0
心脏轻度心肌纤维化	0	1	0	0	1	0
心脏轻度心肌周炎细胞浸润	3	3	0	2	0	0
轻度肺内泡沫细胞聚集	1	1	2	0	1	2
轻度肾间质炎细胞浸润	0	2	0	2	3	1
轻度肾小管透明管型	12	4	11	5	8	9
肾脏轻度慢性进行性肾病	3	11	7	8	7	9
肾脏轻度肾钙盐沉积	3	0	5	1	4	0
肾脏轻度肾小管嗜碱性变	1	3	0	4	0	6
肾脏轻度肾盂粘膜炎症	1	0	0	1	0	0
肾脏重度慢性进行性肾病	1	3	1	3	0	1
肝脏轻度肝空泡样变性	3	7	1	6	6	11
肝脏肝内炎症细胞浸润	1	4	2	3	6	3
肝脏轻度肝细胞坏死	0	1	0	0	0	0
轻度胆管增生	4	0	1	0	0	0
胸腺内腺管样结构	5	0	4	1	4	0
胰腺轻度萎缩	1	0	0	0	0	1
睾丸萎缩	—	1	—	1	—	2
附睾精子缺失	—	1	—	0	—	1

注:—表示不适用

3 讨论

对于转 Bt 基因水稻安全性,人们还存在着诸多顾虑,其毒理学资料仍需要进一步完善。即便转基因食品的化学成分与传统食品具有实质等同性,也不能证明其食用的安全性,生物体内有太多的可变几率,不同阶段的毒理学试验仍然是评价转基因食品安全性的不可或缺的过程^[15]。国内外学者对转 Bt 基因作物的安全性进行了很多探讨,尚未发现有意义的毒性反应指标。目前普遍认为,Bt 基因表达的杀虫蛋白只能特异地与靶标昆虫中肠上皮细胞的受体结合,在哺乳动物组织中无此类特异性受体,因而不会对人和家禽家畜产生毒性^[3,8]。陈吴健等^[16]的体外试验研究发现转基因大米 Bt63 对人淋巴细胞无明显遗传毒性及细胞毒性作用。SCHRÖDER 等^[17]将 KMD1 转基因水稻与非转基因野生型秀水 11 进行比较,在 Wistar 大鼠 90 d 饲养试验中没有发现转基因水稻对大鼠有不良或有毒性影响。王忠华等^[18]进行了“KMD2”的试验,发现其对大鼠急性毒性为无毒级,90 d 喂养也未有明显的毒性反应。SONG 等^[19]对转 *cry1Ab* 基因水稻 MFB-MH86 进行 90 d 喂养试验,结果证明与非转基因水稻同样安全营养。ZHANG 等^[20]对转 *cry1Ac/sck* 基因水稻 MH86 进行了 78 周的喂养试验,没有发现该产品对大鼠产生不良影响。樊柏林等^[21]和 MAO 等^[22]分别采用啮齿类和灵长类动物进行了对转 *cry1Ab/1Ac* 华恢 1 号 (HH1) 的慢性毒性试验,大

鼠在长达 104 周的喂饲中未见慢性毒性和致癌性表现,食蟹猴在 52 周饲养中多项指标也未见有毒理学意义的改变。

本研究中,大鼠在 52 周试验周期中,一般状况良好,各组大鼠的死亡率和肿瘤发生率均没有规律可循。随着年龄的增长,大鼠会出现自然死亡^[23],所以不能认为受试的转基因水稻对大鼠的寿命有不良影响。

机体营养状态最简单、最直接的衡量指标是体质量,在维持期,转基因组和非转基因组大鼠的体质量增长速度一致,但均高于营养对照组。研究^[24-25]表明,动物饲料中淀粉的来源和不同的直/支链淀粉比会影响动物饲料的氨基酸消化率和能量代谢率,从而影响动物的生长状况。从三种饲料的配方看,营养对照组的碳水化合物主要是由玉米淀粉提供,而转基因组和非转基因组的碳水化合物是由大米淀粉提供,籼米淀粉含量和消化率要高于玉米淀粉^[26],这可能是引起这种差异的原因。

与非转基因组比较,转基因组大鼠临床血液、血生化和尿液检查结果部分指标出现差异,不过幅度均不大,在时间上没有延续性,组织病理学检查也无异常发现,故均为偶发现象,不认为与喂饲转基因饲料有关。

综上所述,认为在本研究条件下,转 *cry2A** 基因水稻 T2A-1 在生长期和维持期分别以 60.75%、66.75% 的比例掺入饲料喂养 SPF 级 SD 大鼠 52 周,

未见对 SPF 级 SD 大鼠产生不良的影响。

参考文献

- [1] GODFRAY H C, BEDDINGTON J R, CRUTE I R, et al. Food security: the challenge of feeding 9 billion people[J]. Science, 2010, 327(5967): 812-818.
- [2] KHUSH G S. What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030[J]. Plant Mol Biol, 2005, 59(1): 1-6.
- [3] 王二辉, 于洲, 徐海滨. 转 Bt 基因水稻及其食用安全性评价研究进展[J]. 卫生研究, 2012, 41(6): 1038-1044.
- [4] BRAVO A, GILL S S, SOBERON M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control[J]. Toxicon, 2007, 49(4): 423-435.
- [5] 沈平, 武玉花, 梁晋刚, 等. 转基因作物发展及应用概述[J]. 中国生物工程杂志, 2017, 37(1): 119-128.
- [6] CHEN H, TANG W, XU C G, et al. Transgenic indica rice plants harboring a synthetic cry2A* gene of *Bacillus thuringiensis* exhibit enhanced resistance against lepidopteran rice pests[J]. Theor Appl Genet, 2005, 111(7): 1330-1337.
- [7] 肖尊安. 浅谈转基因农作物的食品安全性研究[J]. 生物学通报, 2012, 47(7): 1-4.
- [8] 柳絮. 转 Bt 基因(cry2A* 和 cry1C*) 抗虫粳稻的培育[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [9] 陈友情, 何丽华, 王宏昆, 等. 水稻转基因及其安全性研究进展[J]. 现代农业科技, 2018(15): 15-17, 19.
- [10] CAO S S, XU W T, LUO Y B, et al. Metabonomics study of transgenic *Bacillus thuringiensis* rice (T2A-1) meal in a 90-day dietary toxicity study in rats[J]. Mol Biosyst, 2011, 7(7): 2304-2310.
- [11] YUANY F, XU W T, HE X Y, et al. Effects of genetically modified T2A-1 rice on the GI health of rats after 90-day supplement[J]. Scientific Reports, 2013, 3: 1962.
- [12] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 慢性毒性试验: GB 15193.26—2015 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- [13] Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). OECD guideline for the testing of chemicals No.452, chronic toxicity studies[S]. OECD, 2008.
- [14] 伍津, 宋向荣, 蔡婷峰, 等. 慢性毒性和致癌试验 SD 大鼠病理组织学数据现状分析[J]. 毒理学杂志, 2018, 32(5): 393-398.
- [15] 农业部. 转基因植物安全评价指南[Z]. 2017.
- [16] 陈吴健, 郑伟, 吕沁风, 等. 体外试验评价转基因大米 Bt63 的安全性[J]. 中国水稻科学, 2012, 26(5): 633-636.
- [17] SCHRÖDER M, POULSEN M, WILCKES A, et al. A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats [J]. Food Chem Toxicol, 2007, 45(3): 339-349.
- [18] 王忠华, 王茵, 崔海瑞, 等. Bt 水稻“克螟稻”稻米毒理性评价研究初报[J]. 中国农业科学, 2002, 35(12): 1487-1492.
- [19] SONG H, HE X Y, ZOU S Y, et al. A 90-day subchronic feeding study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein in Sprague-Dawley rats[J]. Transgenic Res, 2015, 24(2): 295-308.
- [20] ZHANG M, ZHUO Q, TIAN Y, et al. Long-term toxicity study on transgenic rice with Cry1Ac and sck genes[J]. Food Chem Toxicol, 2014, 63(10): 76-83.
- [21] 樊柏林, 唐晓芬, 田辉, 等. 华恢 1 号稻谷的大鼠慢性毒性试验研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2014, 44(9): 911-919.
- [22] MAO J, SUN X, CHENG J H, et al. A 52-week safety study in cyno-molgus macaques for genetically modified rice expressing Cry1Ab/1Ac protein[J]. Food Chem Toxicol, 2016, 95(6): 1-11.
- [23] 肖成荣, 谭洪玲, 马增春, 等. 长期饲养的 Wistar 大鼠自发性肿瘤、脏器变化与死亡原因分析[J]. 实验动物科学, 2013, 30(4): 39-42.
- [24] 黄伟, 杨秀娟, 曹志勇, 等. 日粮淀粉直支比对断奶仔猪养分消化率和生长性能的影响[J]. 中国饲料, 2017(14): 20-23.
- [25] 张珍珍, 尹富贵, 黄菊, 等. 杂粮淀粉在仔猪体内的消化率研究[J]. 食品科学, 2010, 31(3): 217-219.
- [26] 黄菊, 尹富贵, 柏美娟, 等. 半纯合日粮法评定谷物淀粉在生长猪体内的消化率[J]. 动物营养学报, 2009, 21(1): 8-12.

· 公告 ·

市场监管总局关于发布《食品中大黄酚和橙黄决明素的测定》 等 2 项食品补充检验方法的公告

2019 年第 46 号

按照《食品补充检验方法工作规定》有关要求,《食品中大黄酚和橙黄决明素的测定》和《食品中番泻苷 A、番泻苷 B 和大黄素甲醚的测定》2 项食品补充检验方法已经市场监管总局批准,现予发布。

特此公告。

附件:1. 食品中大黄酚和橙黄决明素的测定 (BJS 201916)

2. 食品中番泻苷 A、番泻苷 B 和大黄素甲醚的测定 (BJS 201917)

市场监管总局

二〇一九年十月十八日

(相关链接: http://gkml.samr.gov.cn/nsjg/spcjs/201910/t20191024_307861.html)