

α 玉米赤霉醇——一个值得重视的新的植物雌激素

戴顺龄¹, 段金虹¹, 陆媛¹, 徐海珊¹, 程锦轩¹, 邓文慧²,

吴宜勇², 王小明¹, 许雪梅¹, 韩玉珍³, 孟繁静³, 李季伦³

(1. 中国医学科学院基础医学研究所 中国协和医科大学基础医学院, 北京市 100005;

2. 北京医院妇产科, 北京市 100730; 3. 中国农业大学生物学院, 北京市 100094)

[关键词] 病理学与病理生理学; 动脉粥样硬化; 植物雌激素; α 玉米赤霉醇

[摘要] α 玉米赤霉醇是 α 玉米赤霉烯酮的代谢产物。 α 玉米赤霉烯酮于 1962 年被发现, 具雌激素样效应, 但科学家认识不一, 有的已将其用作动物促生长剂, 证实 α 玉米赤霉醇比 α 玉米赤霉烯酮更安全有效; 有的则视为“污染物”。1980 年起我国学者证实 α 玉米赤霉烯酮为冬小麦春化的关键物质, 为植物中普遍存在的内源激素, 并非“污染物”。1996 年我们首次进行 α 玉米赤霉醇防治动脉粥样硬化的实验研究, 证实 α 玉米赤霉醇有明显抗动脉粥样硬化作用而副作用比雌激素明显减少。我们呼吁医学界重视对其的研究, 尽快做出科学、准确的评价, 这可能是关系造福人类健康的大事。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

上世纪 90 年代初, 雌激素在防治人类动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As)、骨质疏松及老年性痴呆等疾病方面的作用, 日益受到重视, 但它易诱发乳腺癌、子宫内膜癌及静脉血栓等副作用亦是不可忽视的问题, 这就大大限制了它的临床推广。为克服副作用, 临床上将雌激素与孕酮按比例混合使用。孕酮的加入, 使子宫内膜癌的发病率下降, 但乳腺癌的发病率并未下降, 反而有所上升。而且, 孕酮在抗动脉粥样硬化、抗老年性痴呆方面与雌激素相互拮抗, 影响了雌激素防治作用。这是学术界有关雌激素替代疗法 (estrogen replacement therapy, ERT) 的利弊长期以来争论不休的原因所在。近几年美国有好几项有关 ERT 的大规模流行病学与临床调查结果, 对 ERT 防治心脑血管作用提出质疑与异议。因为接受 ERT 的患者, 除乳腺癌发病率升高以外, 心脑血管发病率也有所上升。美国国立卫生研究院心肺和血液研究所于 2002 年 7 月 9 日终止了一项对于更年期妇女进行的大规模 ERT 临床研究 (此项研究的观察对象为 16 608 名年龄在 50~79 岁之间的更年期妇女)。美国心脏学会 (American Heart Association, AHA) 提出了不要将雌激素用于预防与治疗冠心病的建议, 引起了学术界很大震动, 带来更大关注。目前, 争论与研究在继续中。但寻找更为有效与安全的药物无疑具有十分重要的意义。很自然, 人们将注意力投向植物体内含有的类雌激素样物质 (具有动物雌激素某种生理功能的生物活性物质)——植物雌激素。自二十世纪五十年代以来

至今已发现植物雌激素百余种, 最常见的两种是大豆异黄酮与木酚素, 已应用于保健和临床。在目前特定环境下, 必将加速对它们的研究与应用。然而, 我们认为有一种目前尚未被关注的植物雌激素 α 玉米赤霉醇 (α -Zearalanol, α -ZAL) 是值得引起重视的。

α 玉米赤霉醇 (α -ZAL) 是玉米赤霉烯酮 (Zearalenone, ZEN) 的还原产物。ZEN 是玉米赤霉菌 (*Gibberella Zeae*) [其无性世代为禾谷玫瑰镰刀菌 (*Fusarium roseum graminearum*)] 的一种代谢产物。1962 年 Stob 等^[1] 首先报道自玉米赤霉的培养基中分离出这种物质, 证明具有雌激素样效应, 可刺激小白鼠子宫增生, 并可促进肉用牛羊增重而无可察觉的副作用。1966 年 Urry 等^[2,3] 利用经典化学、核磁共振及质谱技术, 确定此物质的化学结构属于二羟基苯酸内酯类, 是自然界罕见的一类化合物。以后发现 ZEN 也能促进某些真菌形成子实体, 因此被认为是真菌的性激素。1975 年英国《世界作物》第 27 卷 6 期 283 页证实, ZEN 的还原产物 α -ZAL 的生物效应比 ZEN 高 3 倍, 而且更安全。还有报道证实低浓度的玉米赤霉醇可促进肉用牛羊的蛋白质合成因而增加瘦肉重量, 与动物雌激素相比, 作为动物生长促进剂, 二者所用剂量相似, 但 α -ZAL 较雌激素安全, 不发生组织增生等副作用^[4]。Sharp 和傅永福等报道^[5,6], α -ZAL 在体内代谢很快, 并不残留在各种食用组织 (如: 肌肉、心脏、肝脏、胰腺、肾脏和血液等) 中。1987 年, 英国兽医学会的学术会议上^[7] 专家报道大量实验证明 α -ZAL 是高效、安全的。目前, 美国、加拿大等国已作为动物生长促进剂用作动物饲料, 商品名为 Ralgro。

1980 年中国农业大学李季伦等^[8] 报道了在冬小麦越冬期间, 其茎尖内 (shoot apices) 出现类似 ZEN 的物质, 提出它可能是引起冬小麦春化的关键物质的设想。1988 年孟繁静等^[9] 确认冬小麦茎尖中就是 ZEN, 科学地解释了长期以来困惑学术界的冬小麦春化的机制。经采用多种植物分析发现它是植物中普遍存在的内源性生长激素, 并与植物发育有

[收稿日期] 2004-11-16

[修回日期] 2005-07-22

[作者简介] 戴顺龄, 教授, 研究员, 研究方向为心肺血管病理生理, 1996 年首次将 α -ZAL 作为植物雌激素引进医学领域, 并开始 α -ZAL 防治动脉粥样硬化的实验研究, 联系电话为 010-65296476, E-mail 为 daishunling@pumc.edu.cn。段金虹, 副主任技师, 2001-2003 年在美国 North Dakota 大学医学院进修。李季伦, 教授, 中国科学院院士, 1980 年首次提出 ZEN 是冬小麦春化的关键物质的假说, 后得到证实, 从而科学地解释了冬小麦春化的机制, 并提取了高度纯化的达国际标准的 α -ZAL。

关。已报告先后从十余不同科属的冬性植物如冬小麦、油菜、芹菜、菠菜、甜菜、小葱、萝卜、胡萝卜、苹果, 春性植物如春小麦、玉米、棉花中均提取了 ZEN, 而且在冬性植物的越冬茎尖与花菜内还发现 ZEN 的同系物, 其中就有 α -ZAL。为排除微生物的污染, 进一步采用组织培养法在无菌条件下检测了植物样品中的 ZEN, 而在培养基中加入 ZEN 的专一抑制剂马拉硫磷时, 就抑制了 ZEN 的生产。在冬小麦离体胚 28 天春化过程中用酶联免疫分析等方法测定 α -ZEN 含量的动态变化与自然越冬植物相似。无菌培养的二月兰、油菜幼苗也有同样结果。采用直接酶联免疫分析法, 追踪测定了冬小麦、棉花、烟草不同发育阶段的动态 ZEN 变化, 发现在春化阶段、光周阶段与开花期间均出现含量高峰, 有力说明是植物内源产生的而并非“污染”所致, 而且与植物性器官的诱导、启动、分化至成熟密切相关。当给予外源性 ZEN 时, 低浓度的 ZEN 能促进生长锥分化与开花, 促进营养体生长, 经低浓度处理的植株, 叶宽大, 叶色绿, 有防衰保绿作用。

由此可见, ZEN 具有类雌激素样效应, ZEN 与 α -ZAL 已被用作反刍动物家畜牛羊的生长刺激剂, 其他家畜中无此作用。尤其是中国学者证实 ZEN 是植物中普遍存在的内源性生长激素, 并与植物生长发育有关, 而这些植物是人们经常食用的, α -ZAL 是比 ZEN 更安全更有效的还原产物, α -ZAL 本身也存在於植物生长锥中, 提示它的安全性。这个重要发现启发了我们的思路。

1996 年中国协和医科大学戴顺龄将其作为植物雌激素引进医学领域, 并于同年开始了 α -ZAL 防治动脉粥样硬化的实验研究。用切除卵巢兔喂以高胆固醇饮食, 造成典型的动脉粥样硬化模型。然后给予 α -ZAL, 发现 α -ZAL 明显抑制主动脉粥样硬化斑块形成, 斑块面积从 $67\% \pm 23\%$ 降至 $10\% \pm 6\%$, 病理变化明显减轻, 血中 TC、甘油三酯、LDLC 和载脂蛋白 B 水平明显下降。陆媛等^[12]发现, α -ZAL 明显抑制主动脉由 α -LDL 所致平滑肌增殖与细胞内 $[Ca^{2+}]_i$ 增高, 明显抑制主动脉平滑肌细胞 $c-myc$ mRNA 及 MCP-1 mRNA 表达, 其作用与雌激素相似或略好。我们课题组也进行了一些关于 α -ZAL 对 As 过程中血管内皮损伤的保护及机制的研究, 徐海珊等^[13]发现, α -ZAL 能抑制内皮细胞释放内皮素 1 的病理性增高, 调节 NO 释放, 平衡内皮素 1/NO, 使趋向正常。提高由 α -LDL 所致 eNOS mRNA 表达的下降, 抑制内皮素 1 mRNA 表达增高。调节促凋亡因子与抑制因子的关系, 使趋于平衡, 参与内皮素 1 与 NOS 基因与蛋白表达的核因子 κB 及 AP-1 的调节。从整体实验病理观察也显示, α -ZAL 对血管内皮的保护作用十分明显, 作用与雌激素相似。还发现 α -ZAL 对子宫与乳腺的刺激明显小于雌激素, 比起同剂雌激素, 子宫增大仅为雌激素的 29% 左右, 雌激素受体结合率仅为雌激素的 10%, 子宫与乳腺病理也明显轻于雌激素。北京医院妇产科邓文慧等^[14]实验发现, 对于种植于裸鼠皮下的人的正常乳腺细胞, 雌激素有明显增殖作用, 而 α -ZAL 对正常细胞无影响, 不引起增殖, 却能使乳腺上皮增殖细胞核抗原 (PCNA) 表达明显下降, 增强肿瘤抑制蛋白 B1 表达, 提示 α -ZAL 对乳腺有潜在的保护作用。总之, 副作用明显减

轻。实验期间动物全部健康存活。为了实验结果可靠, 需具可重复性, 关于防治 As 的实验, 我们做了一次预试验, 二次正式实验, 结果一致。中国协和医科大学左萍萍等从行为学、生物化学、病理学等方面初步证实, α -ZAL 对于由切除卵巢及由 β 淀粉样蛋白所致神经细胞损伤, 对模拟阿尔茨海默氏病 (AD) 模型小鼠均有保护作用, 作用与雌二醇相似。并探讨了部分机理。综上所述, 实验结果是令人欣慰与鼓舞的, 初步证实了我们的设想, 展示了美好的研究与应用前景。我们认为可以将 α -ZAL 认作一种植物雌激素。

在将 α -ZAL 应用于反刍动物牛羊方面, 国外有二种不同意见。一方面, 最初期的研究发现玉米赤霉烯酮是动物吃了大量发霉玉米引起雌性化疾病的病因, 所以在种子和食品的检疫工作中, 也将其作为污染的指标。70 至 80 年代, 研究工作多着眼于“污染”而进行, 由于 *Fusarium* 可以侵染高等植物, 某些国家政府至今仍将 ZEN 看作是一种外源性物质, 作为植物污染的指标进行检测的。另一方面英美等国科学家已做了大量实验证明, 作为动物生长促进剂 ZEN, 尤其是其还原产物 α -ZAL, 安全无毒, 体内无积蓄, 不引起组织增生, 优于雌激素^[14], 至于是否影响少儿发育, 未见这方面报道。美国国际化学公司 International Minerals and Corporation (简称 IMC) 已大量生产应用于畜牧业。

我国科学家已用大量实验证明, 许多高等植物如大豆、小麦、棉花、玉米、芹菜、油菜、胡萝卜、甜菜、青苹果等都含有 ZEN 且随着生长发育的不同阶段而发生动态变化, 新鲜植物株与无菌组织培养结果一致。在分析芹菜生长锥的实验中, 发现 α -ZAL 也天然存在於植物生长锥的提取液中^[15-17]。这些都证明 ZEN 为植物本身产生的活性物质并非污染所致。

值得注意的是我国植物生理学家上述重要发现对于我们的思路很有启发, 然而至今尚未引起国际上普遍认可, 许多科学家不了解甚至不知晓此物质 (当时大量论文均在国内外发表)。在上述复杂背景下, 既给予我们提供创新的机遇又给工作带来障碍与难度。但我们相信一条: “实践是检验真理的唯一标准”, 在科学界更是“科学实验、实践是检验科学真理的唯一标准”。

对于国外先进科技, 要努力学习, 有不同学术观点是很正常的, 要认真听取, 独立思考, 勇于实践, 有取有舍, 尽量排除非学术因素的干扰, 不能盲目跟随。关于 ZEN 及 α -ZAL, 农大植物生理学家已研究了 18 年, 关于 α -ZAL 防治动脉粥样硬化方面, 我们也研究了 8 年。实验结果是令人欣慰、受到鼓舞的, 这都是在很艰难的条件下勤奋耕耘的结果。在珍惜这些初步成绩的基础上, 更重要的是执著地将工作继续深入下去, 越是有不同意见, 越应该搞清事物的真相和本质, 而不是知难而退、半途而废。

作为动物生长促进剂, 经常有 ZEN 对喂养动物各种器官、腺体的影响的探讨工作^[18-20]。近 10 年来环境激素受到学术界的关注, 尤其是环境激素能否有力地预防心血管疾病, 受到重视并开始探讨^[21]。作为环境激素之一, 一种内源性激素 ZEN 及其衍生物也开始受到一定程度的关注, 作为一种非类固醇雌激素 ZEN 可导致血液及生物化学参数的改

变^[22],发现ZEN高浓度时具有某些肝脏毒性^[23],有人认为ZEN可引起肝脏腺瘤^[24],但某些毒性通过反刍动物的胃内菌丛(ramen flora)得以降解与逆转^[18]等并强调在研究其副作用时研究植物化学的重要性^[25]。尤其需要注意的是近二年已可见到一些散在的研究文章报道。有报道ZEN可以明显减轻DMBA所诱发的乳腺肿瘤^[26],能减少有雌激素依赖性的癌症的发生率^[27]。2004年美国国立研究院学报报道某真菌提取物有望防治As^[28]等。这些信息提示我们国外学者也在开始注意ZAL类物质与医学的关系,我们如不抓紧,就可能落后、被动。虽然迄今为止,尚未见将ZEN及其衍生物系统地引进人类医学领域的研究文章。我们8年来较系统地进行了 α ZAL对人类重大疾病动脉粥样硬化的防治作用的实验研究并得到确切结果,但是我们障碍重重,步履维艰,却又有许多有价值有意义的工作急待开展。责任感趋使我们必需以只争朝夕的精神,将研究工作继续深入下去。当然,我们并非说没有一点风险,没有风险就没有科学的进步。目前我们尚不能百分之百保证 α -ZAL一定会进入临床应用。但就农大18年的研究与我们8年的研究来看,这个可能是确实存在的,而且可能性很大,进一步深入探讨具有可行性,必要性,更具有迫切性。

虽然植物雌激素大豆异黄酮已作为保健品与药物进入我国市场,但它毕竟是从国外引进的,价格较贵,而且它能否抑制由雌激素所致的乳腺癌等问题并未定论,报道不一。而 α ZAL,是由我国学者首次发现ZEN是冬小麦春化的关键物质,证实它在高等植物中普遍存在;首先将 α ZAL作为植物雌激素引进医学领域研究,证实其有明显抗AS作用;对雌激素所致的乳腺癌有抑制的可能,当然还需重复与深入研究。而且来源广泛,产品质优,成本低廉。 α ZAL自有其独特的优势与特点。

为此,我们呼吁医学界领导与同行重视 α ZAL研究,给予支持,帮助和指导,与我们一起加快速度,共同攻关。通过科学实践,对ZEN及其还原产物 α ZAL等的各种生物效应、作用机制、可能的副作用、安全性作深入系统的研究,并与动物雌激素作比较研究,与其他已应用于临床的植物雌激素如大豆异黄酮等作比较研究。对ZEN的各种衍生物作比较研究,从而科学地、客观地、准确地评价ZEN及ZAL等衍生物,以使学术界取得共识将是十分重要的。因为这不仅可能影响农业与畜牧业的发展,更可能关系到人类某些重大疾病尤其关于动脉粥样硬化、老年性痴呆、骨质疏松等老年病防治及延寿、美容等问题的重大事。

[参考文献]

- [1] Stob M, Baldwin RS, Tuite J, Andrews FN, Gilette KC. Isolation of an anabolic uterotrophic compound from corn infected with Gibberella Zeae. *Nature*, 1962, **196**: 1 318
- [2] Christense CM, Nelson GH, Mirocha CJ. Effect on the white rat uterus of a toxic substance from Fusarium. *Microbiol Appl*, 1966, **13**: 653-659
- [3] Urry WH, Wehmeister HL, Hodge EB, Hidy PH. The structure of Zearalenone. *Tetrahedron letter*, 1966, **27**: 3 109-114
- [4] Draughon FA, Churchville DC. Effect of pesticides on zearalenone production in

- culture and in complaints. *Phytopath*, 1985, **75**: 553-556
- [5] Sharp GD, Dyre IA. Zearalenol metabolism in steers. *J Anim Sci*, 1990, **70**: 645-653
- [6] 傅永福. 由牛体内玉米赤霉醇的残留量的检测. 北京农业大学学报, 1991, **910**: 117-118
- [7] Scientific working group report on anabolic agents in animal production (pre-release) British Veterinary Association Congress 9 Sept 1987. (Translation of Chinese)
- [8] 李季伦, 朱彤霞, 张 旒, 邓泽沛, 李永生, 孟繁静, 等. 玉米赤霉酮的研究. 北京农业大学学报, 1980, **1**: 13-27
- [9] 孟繁静, 阙月美, 郭玉珍, 黎洪霞, 王章存. 冬小麦越冬茎尖中的玉米赤霉酮. 中国科学, 1988, **12**: 1 261-266
- [10] Dai SL, Duan JH, Lu Y, Cheng JX, Ren J, Zhang YH, et al. A new phytoestrogen α Zearalenol markedly inhibit progression of atherosclerosis in ovariectomized cholesterol Fed rabbits. *J Mol Cell Cardiol*, 2002, **34** (7): A3
- [11] 戴顺龄, 段金虹, 陆 媛, 张艺华, 程锦轩, 赵小元, 等. 一个新的植物雌激素 α 玉米赤霉醇明显抑制实验性动脉粥样硬化发病进程. 中国动脉硬化杂志, 2003, **11** (5): 385-390
- [12] 陆 媛, 戴顺龄, 段金虹, 程锦轩, 张仪华, 吴云清, 等. 植物雌激素 α 玉米赤霉醇抑制(-) BayK8644 诱发的兔主动脉平滑肌细胞内游离钙离子浓度的升高. 中国医学科学院学报, 2005, **27** (1): 86
- [13] Xu HS, Duan J, Dai S, Wu Y, Sun R, Ren J. Phytoestrogen α -zearalenol antagonizes oxidized LDL-induced inhibition of nitric oxide production and stimulation of endothelin-1 release in human umbilical vein endothelial cells. *Endocrine*, 2004, **25** (3): 235-245
- [14] 邓文慧, 吴宜勇, 段金虹, 杨 丽, 王 抒, 戴顺龄. 植物雌激素 α 玉米赤霉醇对人正常乳腺的影响. 中国医学科学院学报, 2004, **26** (5): 566-570
- [15] 黎洪霞, 孟繁静. 芹菜中玉米赤霉酮的分离与鉴定. 植物生理报, 1989, **15** (2): 211-215
- [16] 阙月美, 梁振兴, 韩玉珍, 孟繁静. 冬小麦和棉花开花结实过程玉米赤霉酮含量的变化. 北京农业大学学报, 1990, **16** (2): 153-155
- [17] 赵得刚, 孟繁静. 冬小麦低温过程中茎尖细胞超微结构的变化与玉米赤霉酮的关系. 植物学报, 1997, **39** (6): 570-573
- [18] Cooper RA. Some aspect of the use of the growth promoter zearanol in ewe lambs retained for breeding I. Effect on liveweight gain and puberty. *Br Vet J*, 1981, **137**: 513-519
- [19] Cooper RA. Some aspect of the use of the growth promoter zearanol in ewe lambs retained for breeding. Effect on reproductive tract pituitary gland and gonadotrophin levels. *Br Vet J*, 1981, **137**: 621-625
- [20] Metzler M. Metabolism of some anabolic agents toxicological and analytical aspects. *J Chromatogr*, 1989, **489**: 11-21
- [21] Cassidy, A, and Griffin S. Phytoestrogen: a potential role in the prevention of CHD? *Pros Natr Soc*, 1999, **58**: 193-199
- [22] Maaroufi K, Chekir L, Creppy EE, Ellouz F, and Bacha H. Zearalenone induces modification of haematological and biochemical parameter in rats. *Toxicol*, 1996, **34**: 535-540
- [23] Ruh MF. Effect of environmental estrogens on IL-1 β promoter activity in a macrophage cell line. *Endocrine*, 1998, **9**: 207-211
- [24] Pfohl LA, Chekin GL, and Bacha H. Genotoxicity of zearalenone, an estrogenic mycotoxin: DNA adducts formation in female mouse tissue. *Carcinogenesis*, 1995, **16**: 2 315-320
- [25] Jefferson WN, Padilla Banks E, Clark G. Assessing estrogenic activity of phytochemicals using transcription activation and immature mouse uerotropic response. *J Chromatogr B Analyt technol Biomed Life Sci*, 2002, **25**: 777(1-2): 179-89
- [26] Hilakivi CL. Prepubertal exposure to zearalenone or genistein reduces mammary tumorigenesis. *Br J Cancer*, 1999, **80**: 1 682-688
- [27] Stahl S, Chum TY, and Gray WG. Phytoestrogens act as estrogen agonists in an exposure responsive pituitary cell line. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1998, **152**: 41-48
- [28] Khiji Namatame, Hiroshi Tomoda, Shun Ishibashi, Satoshi Omuza. Antithaerogenic activity of fungal beauveriolides inhibitors of lipid droplet accumulation in macrophages. *Proc Natl Acad Sci*, 2004, **101** (3): 737-742

(此文编辑 胡必利)