

草甘膦毒性的临床研究进展

王芳, 杨广学

摘要:

最新研究发现, 多类临床疾病的爆发式增长与草甘膦的广泛使用密切相关。草甘膦通过慢性低剂量暴露作用于人群, 引起综合性的肠道菌群失调、硫酸盐运输受阻以及细胞色素酶的功能受到抑制, 增加乳糜泻、自闭症谱系障碍、不孕不育症、肥胖症以及癌症等疾病的患病风险。本文对草甘膦毒性及其与各类临床疾病的关系进行综述, 以期引起相关研究者和机构的关注, 降低公众的健康风险。

关键词: 草甘膦; 毒性作用; 临床疾病; 乳糜泻; 自闭症谱系障碍; 不孕不育症; 肥胖症; 癌症

引用: 王芳, 杨广学. 草甘膦毒性的临床研究进展[J]. 环境与职业医学, 2018, 35(2): 175-179. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2018.17646

Advance on clinical study of glyphosate toxicity WANG Fang, YANG Guang-xue (Autism Research Institute, East China Normal University, Shanghai 200062, China). Address correspondence to YANG Guang-xue, E-mail: yanggx2789@163.com • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract:

Recent studies have found close correlations between the explosive growth of several clinical diseases and the widespread use of glyphosate. Glyphosate acts on populations through chronic low-dose exposure, which may cause comprehensive intestinal flora imbalance, obstruction of sulfate transport, and inhibition of cytochrome enzyme function, and possibly be associated with elevated risks of coeliac disease, autism spectrum disorder, infertility, obesity, and cancer. This article reviewed the toxicity of glyphosate and the relationships between glyphosate and various clinical diseases, aiming to rise concerns among relevant researchers and institutes to take actions to reduce public health risks.

Keywords: glyphosate; toxic effect; clinical disease; coeliac disease; autism spectrum disorder; infertility; obesity; cancer

Citation: WANG Fang, YANG Guang-xue. Advance on clinical study of glyphosate toxicity[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2018, 35(2): 175-179. DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2018.17646

草甘膦, 又名 N-(膦酸甲基)甘氨酸, 是除草剂农达®(Roundup®)的活性成分^[1], 它通过抑制植物体内组织和运输的渗透, 破坏植物代谢, 使蛋白质的合成受到干扰致使植物死亡, 广泛应用于农业、公园、园艺、林业和湿地管理^[2]。近年来, 草甘膦除了作为除草剂, 还作为干燥剂和催熟剂广泛应用于半成熟的作物中^[3], 在种子、食品、饲料、饮用水以及人类血液、母乳和尿液中均已检测到草甘膦残留物。人类大量使用草甘膦始于 20 世纪 90 年代, 根据美国农业部数据

统计中心的结果, 1991—2010 年草甘膦的使用量增加了 6 504%^[4]。同时, 伴随着转基因作物的引入, 农业中这些产品的使用量更是呈指数式增长。2016 年使用量已达 84 万 t, 且以每年约 20% 的速度递增^[5]。

近年越来越多来自动物试验、生态系统指标监测以及人类健康研究的证据表明, 草甘膦可对土壤、水体及生物等造成极大的污染, 并通过食物链的生物富集作用对人体产生潜在及长期的毒性^[6], 并与乳糜泻、自闭症谱系障碍 (autism spectrum disorder, ASD)、不孕不育症、肥胖症、癌症等临床疾病的发生相关。草甘膦主要通过慢性低剂量暴露于人群, 可引起综合性的肠道菌群失调, 硫酸盐运输受阻, 以及细胞色素 (CYP) 酶的功能受到抑制, 引发肠道炎症、免疫和代谢紊乱以及神经系统损伤^[7]。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

[作者简介] 王芳 (1991—), 女, 博士生; 研究方向: 特殊儿童医学康复与生态化干预; E-mail: wangfang18@foxmail.com

[通信作者] 杨广学, E-mail: yanggx2789@163.com

[作者单位] 华东师范大学自闭症研究中心, 上海 200062

2015年3月,经过来自11个国家的17位专家学者的评估,国际癌症研究机构修订了其对草甘膦致癌潜力的评估,重新评估为2A级:很可能对人类致癌^[8]。这引起研究者对于草甘膦毒性及其对人类健康风险的重新认识和高度关注。本文对草甘膦毒性及其与多种临床疾病关系的研究进展进行综述。

1 草甘膦与乳糜泻

乳糜泻,又称谷蛋白不耐受症,北美和欧洲人群患病率高达5%,其特征是小肠内的绒毛萎缩,干扰微量营养物质的吸收,症状表现为体重减轻、腹泻、过敏、贫血、营养不足、抑郁^[9]。草甘膦可从多方面引发或加重乳糜泻。

SENAPATI等^[10]研究发现,草甘膦暴露引起人的肠壁内黏膜和微绒毛结构紊乱,食道、胃和肠道中蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶的活性降低,以及消化道黏液分泌减少;这会进一步干扰复杂蛋白质的分解,分解不完全的大分子肽段引起自身免疫反应,导致小肠内壁的缺陷,引发整个消化系统的紊乱,出现腹泻、过敏以及吸收不良等乳糜泻症状。此外,乳糜泻还与消化道内肠球菌、双歧杆菌和乳杆菌水平的降低以及致病性革兰氏阴性菌的过度生长有关。SHEHATA等^[11]研究显示,草甘膦能够破坏肠道细菌的平衡,促进致病菌的生长,杀死有益菌。沙门氏菌、梭菌等致病性革兰氏阴性菌对草甘膦有很强的抗性,而肠球菌、双歧杆菌和乳酸菌等益生菌则容易被破坏,从而加重乳糜泻的严重程度。

除此之外,乳糜泻与草甘膦暴露引起的胆囊功能受损及胰腺分泌减少有关^[12]。胆囊胆汁酸产生受损和胆汁性肝硬化是一种炎症性肝病,其特征是胆管梗阻,与乳糜泻联合发生,患有乳糜泻的儿童表现出胆汁酸分泌异常^[13]。乳糜泻患者的肠促胰酶肽也表现出异常低的合成,胆囊对肠促胰酶肽的收缩刺激反应较弱^[14],胆囊排空和胆囊肽释放作为治疗乳糜泻的一种方法,可以逆转缺陷^[15]。这些病理可能与草甘膦诱导的CYP酶活性受损有关,CYP酶在胆汁酸的合成和胆固醇稳态中起着重要的作用^[16]。草甘膦能够降低肝脏中CYP酶和单氧酶以及肠道中芳香羟化酶的活性^[17]。草甘膦本身具有稳定剂的特性,破坏游离硫酸盐的输送,因此芳香族氨基酸被氧化为各种酚类化合物,作为对游离硫酸盐输送受损的弥补。一旦不能被硫酸化,酚类就变成有毒物质,通过单电子转移,

与磷脂和DNA发生破坏性反应^[18]。由芳香族氨基酸衍生的酚类化合物可以在肠道和肝脏之间来回循环,从食道到肝脏的过程中被硫酸盐化,从肝脏到肠道的过程中被葡萄糖醛酸化。最终,硫酸盐还原细菌代谢苯酚,使硫酸盐消耗,诱发肠道及其他多种器官的炎症。

2 草甘膦与ASD

ASD是一种具有临床多样性、病原学异质性并伴有多种其他病症的神经发育障碍^[19]。目前,美国ASD的发病率已经高达1/45^[20]。研究表明,9%~91%的ASD儿童同时伴有胃肠道疾病症状,包括小肠结肠炎、胃炎、食管炎、肠道通透性增加、双糖酶活性不足,另外约有50%伴有腹泻或便秘^[21]。有36.7%的ASD儿童肠道通透性增加,毒性物质易透过肠道进入血液系统,通过血脑屏障影响大脑发育^[22]。研究提示,在母亲怀孕的关键窗口期子宫内菌群环境受到草甘膦污染,或在幼儿肠道菌群定植期间接触草甘膦而引发肠道菌群紊乱或内毒素,都有可能通过微生物-肠道-大脑轴导致ASD的发生^[23]。

草甘膦助长肠道内的梭状芽孢杆菌、绿脓杆菌、萨特菌等致病菌。近期研究发现,由草甘膦污染的非有机大豆配方奶粉喂养的婴儿,其肠道内梭状芽孢杆菌大量繁殖,ASD的发病率明显高于母乳喂养的婴儿^[24]。梭状芽孢杆菌可能是一种ASD退行的潜在诱因。FINEGOLD等^[25]给予10名退行性ASD儿童6周口服万古霉素治疗后,有8名儿童的神经行为症状和胃肠道症状得到明显改善;万古霉素停用后,所有受试者的肠道和行为症状均逐渐复发。这种疾病的复发可以解释为,许多梭状芽孢菌转化为孢子形态,对抗生素具有高度的抵抗力,并恢复毒素的产生。此外,梭状芽孢杆菌在利用草甘膦生长的同时,产生对甲酚。对甲酚是氨基酸酪氨酸和苯丙氨酸的代谢物,是一种酚类化合物,毒性强,干扰机体的代谢,是ASD的一个诊断指标^[26]。除了梭状芽孢杆菌以外,体内有些致病菌,如绿脓杆菌,可分解草甘膦产生甲醛,使消化系统产生大量炎症,加重自闭症病情。FINEGOLD等^[27]发现,曾接触过草甘膦并有胃肠道功能障碍的ASD儿童中,超过50%的儿童肠道中存在萨特菌,而健康的对照儿童中几乎没有。萨特菌属于产碱菌科,它能抵抗胆碱,胆碱作为一种必须营养素,主要作用是帮助传递神经冲动,处理学习、记忆和睡眠过程,并帮助形成细胞间膜。ASD儿童的认知和睡

眠障碍可能与草甘膦助长的萨特菌有关。

此外,草甘膦还阻止镁、钴、锰、锌和铁等重要矿物质的吸收和利用,导致机体产生贫血、多动、能量缺乏和抑郁等,这也是ASD的常见共病。草甘膦通过螯合作用,消耗血清锰离子,导致个体锰元素不足,干扰锰过氧化物酶的功能,尤其会影响母亲脑垂体锰过氧化蛋白磷酸酶,导致产妇促甲状腺素的血清大量减少,进而引起皮质神经元功能混乱,影响到胎儿各个系统的生长发育,尤其神经系统,增加罹患自闭症的风险^[28]。

3 草甘膦与不孕不育症

西欧的出生率几十年来一直在下降,德国平均每个妇女生育1.36个孩子。2007年起美国的生育率也开始下降,平均每个妇女生育1.9个孩子^[29]。

研究表明,草甘膦主要通过氧化应激和破坏信号机制来扰乱雄性大鼠的生殖系统^[30],这也发生在经常接触草甘膦的农场工人身上^[31]。草甘膦对CYP蛋白活性的抑制会打断类固醇的生成,而类固醇在受孕中发挥着极其重要的作用。一项小鼠睾丸细胞间质瘤的体外研究实验发现,草甘膦会干扰类固醇激素合成急性调节蛋白(steroidogenic acute regulatory protein, StAR)的表达,从而干扰睾丸酮的合成^[32]。即使是非常低的草甘膦剂量,也会干扰睾丸酮的合成,而更高剂量的草甘膦则导致小鼠睾丸间质细胞的坏死和凋亡。对类固醇生成,除了StAR之外,侧链裂解酶(P450_{scc})也是必不可少的,农达能够同时抑制P450_{scc}和StAR的活性。通过定量测算,农达使StAR减少90%,使P450_{scc}的酶活性下降71%^[33]。

此外,草甘膦引发的母体炎症会导致活性氧自由基和活性氮自由基过度暴露的风险,损害细胞复制过程中的DNA,从而扰乱胚胎发育。ARBUCKLE等^[34]通过问卷对2110名农场妇女的生育史进行调查,发现草甘膦可以通过胎盘影响胎儿,怀孕前草甘膦暴露明显提高妊娠晚期自发流产的风险($OR=1.7$, $95\%CI: 1.0\sim2.9$)。

4 草甘膦与肥胖症

2014年,全球18岁及以上的成年人中逾19亿人超重,其中6亿多人患有肥胖症。

草甘膦能通过耗竭色氨酸的生物利用度而导致肥胖。血清色氨酸耗竭导致大脑中的5-羟色胺和褪

黑激素枯竭^[35],5-羟色胺是一种有效的食欲抑制剂,其缺乏会导致暴饮暴食和肥胖^[36]。草甘膦对色氨酸供应的破坏,既可以作用于基于植物的食物源,也可以通过破坏肠道细菌对色氨酸的合成来实现。

此外,草甘膦引发肠道炎症,色氨酸被炎症部位的淋巴组织转化为犬尿氨酸,并被巨噬细胞和嗜中性粒细胞贮存,导致血清色氨酸的耗竭,将进一步降低色氨酸的生物利用度。因此,低血清色氨酸水平转化为体重增加的倾向^[37]。

5 草甘膦与癌症

世界范围内,癌症是死亡的主要原因,2012年约有1400万新发癌症病例,预计今后20年新发病例数将增加70%^[38]。根据国际癌症研究机构的报告,有直接证据证明草甘膦的致癌性。

草甘膦能够直接损害敏感性细胞中的DNA,干扰甘氨酸内稳态,抑制琥珀酸脱氢酶,螯合锰,修改更多的致癌分子,如亚硝基草甘膦和乙醛酸。此外,慢性低剂量接触草甘膦会破坏肠道微生物之间的平衡,通过慢性炎症增加癌症风险。

例如,ROOS等^[39]对草甘膦职业接触者进行研究,发现该群体多发性髓质瘤的患病风险增加($RR=2.6$; $95\%CI: 0.7\sim9.4$)。骨髓瘤与引起DNA损伤的物质有关,而DNA损害又是长期炎性物质暴露的后果^[40]。这些炎性物质就是由草甘膦作用于肠道微生物群以及抑制CYP酶活性所产生的。作为聚腺苷二磷酸核糖底物(酶作用物)的贫化色氨酸也会导致DNA损伤。多发性骨髓瘤占美国每年淋巴造血组织癌病例的15%以及全部癌症死亡病例的2%^[41]。这些症候包括骨质坏死、高血钙症、贫血、肾损害以及越来越脆弱的炎症易感体质。

另一种与草甘膦暴露关系密切的癌症是乳腺癌。草甘膦会对CYP基因和硫酸盐生物利用度造成干扰和破坏。乳腺癌患病风险与CYP基因CYP1A2和硫酸基转移酶基因SULT1A1的多态性有关,多态性的紊乱会导致激素的异常表达^[42]。硫酸盐化能力的削弱会导致性激素代谢变缓,使乳腺密度提高,罹患乳腺癌的风险增加^[43]。

综上所述,草甘膦通过干扰肠道细菌,抑制CYP酶类,以及影响硫酸盐的运输活动,可增加乳糜泻、自闭症谱系障碍、不孕不育症、肥胖症以及癌症等临床疾病的患病风险。但目前国内外对其毒作用机制并

未完全明确,且研究多侧重于动物实验,而对人群的毒性研究较少,这需要引起研究者及相关部门的持续关注。

参考文献

- [1] SAMSEL A, SENEFF S. Glyphosate's suppression of cytochrome P450 enzymes and amino acid biosynthesis by the gut microbiome: pathways to modern diseases[J]. Entropy, 2013, 15(4): 1416-1463.
- [2] 俞慧,江城梅,赵文红.草甘膦毒性作用研究进展[J].蚌埠医学院学报,2012,37(6): 743-745.
- [3] 许仁杰,蔡春平,丁立平,等.草甘膦除草剂残留检测的研究进展[J].食品工业,2017,39(3): 197-202.
- [4] ISHII S, HASHIMOTO-TORII K. Impact of prenatal environmental stress on cortical development[J]. Front Cell Neurosci, 2015, 9: 207.
- [5] 杨光.环保趋严叠加补库需求 草甘膦景气度或超预期[J].农药市场信息,2017(2): 36.
- [6] 范甜甜,杨治峰,张振玲.除草剂草甘膦毒作用的研究进展[J].环境与健康杂志,2017,34(1): 91-94.
- [7] LITTMAN DR, PAMER E G. Role of the commensal microbiota in normal and pathogenic host immune responses[J]. Cell Host Microbe, 2011, 10(4): 311-323.
- [8] SHREINER AB, KAO JY, YOUNG VB. The gut microbiome in health and in disease[J]. Curr Opin Gastroenterol, 2015, 31(1): 69-75.
- [9] SAMSEL A, SENEFF S. Glyphosate, pathways to modern diseases II: Celiac sprue and gluten intolerance[J]. Interdiscip Toxicol, 2013, 6(4): 159-184.
- [10] SENAPATI T, MUKERJEE AK, GHOSH AR. Observations on the effect of glyphosate based herbicide on ultra structure (SEM) and enzymatic activity in different regions of alimentary canal and gill of *Channa punctatus* (Bloch)[J]. J Crop Weed, 2009, 5(1): 233-242.
- [11] SHEHATA AA, SCHRÖDL W, ALDIN AA, et al. The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota in vitro[J]. Curr Microbiol, 2013, 66(4): 350-358.
- [12] BENINI F, MORA A, TURINI D, et al. Slow gallbladder emptying reverts to normal but small intestinal transit of a physiological meal remains slow in celiac patients during gluten-free diet[J]. Neurogastroenterol Motil, 2012, 24(2): 100-e80.
- [13] DICKEY W, MCMILLAN SA, CALLENDER ME. High prevalence of celiac sprue among patients with primary biliary cirrhosis[J]. J Clin Gastroenterol, 1997, 25(1): 328-329.
- [14] DEPREZ P, SEMPOUX C, VAN BEERS BE, et al. Persistent decreased plasma cholecystokinin levels in celiac patients under gluten-free diet: respective roles of histological changes and nutrient hydrolysis[J]. Regul Pept, 2002, 110(1): 55-63.
- [15] MATON PN, SELDEN AC, FITZPATRICK ML, et al. Defective gallbladder emptying and cholecystokinin release in celiac disease. Reversal by gluten-free diet[J]. Gastroenterology, 1985, 88(2): 391-396.
- [16] LORBEK G, LEWINSKA M, ROZMAN D. Cytochrome P450s in the synthesis of cholesterol and bile acids-from mouse models to human diseases[J]. FEBS J, 2012, 279(9): 1516-1533.
- [17] HIETANEN E, LINNAINMAA K, VAINIO H. Effects of phenoxyherbicides and glyphosate on the hepatic and intestinal biotransformation activities in the rat[J]. Acta Pharmacol Toxicol (Copenh), 1983, 53(2): 103-112.
- [18] GOLDMAN R, CLAYCAMP GH, SWEETLAND MA, et al. Myeloperoxidase-catalyzed redox-cycling of phenol promotes lipid peroxidation and thiol oxidation in HL-60 cells[J]. Free Radic Biol Med, 1999, 27(9-10): 1050-1063.
- [19] AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5TM[M]. 5th ed. Arlington, VA: American Psychiatric Press, 2013.
- [20] CHRISTENSEN DL, BAIO J, VAN NAARDEN BRAUN K, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years-autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2012[J]. MMWR Surveill Summ, 2016, 65(3): 1-23.
- [21] 郭德华,聂云霞,杨广学.自闭症儿童肠胃问题及护理策略[J].中国妇幼保健,2013,28(2): 374-379.
- [22] DE MAGISTRIS L, FAMILIARI V, PASCOTTO A, et al. Alterations of the intestinal barrier in patients with autism spectrum disorders and in their first-degree relatives[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2010, 51(4): 418-424.
- [23] DAVID LA, MAURICE CF, CARMODY RN, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome[J]. Nature, 2014, 505(7484): 559-563.

- [24] AZAD MB, KONYA T, MAUGHAN H, et al. Gut microbiota of healthy Canadian infants: Profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months[J]. Can Med Assoc J, 2013, 185(5): 385-394.
- [25] FINEGOLD SM, DOWD SE, GONTCHAROVA V, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children[J]. Anaerobe, 2010, 16(4): 444-453.
- [26] NORIEGA DB, SAVELKOUL HF. Immune dysregulation in autism spectrum disorder[J]. Eur J Pediatr, 2014, 173(1): 33-43.
- [27] FINEGOLD SM, DOWNES J, SUMMANEN PH. Microbiology of regressive autism[J]. Anaerobe, 2012, 18(2): 260-262.
- [28] DING HT, TAUR Y, WALKUP JT. Gut microbiota and autism: Key concepts and findings[J]. J Autism Dev Disord, 2017, 47(2): 480-489.
- [29] MARTIN JA, HAMILTON BE, BENTURA SJ, et al. Births: Final data for 2010[J]. Natl Vital Stat Rep, 2012, 61(5): 1-18.
- [30] de LIZ OLIVEIRA CAVALLI VL, CATTANI D, RIEG CE, et al. Roundup disrupts male reproductive functions by triggering calcium-mediated cell death in rat testis and Sertoli cells[J]. Free Radic Biol Med, 2013, 65: 335-346.
- [31] 毛一扬, 孙兰芳, 蔡翔, 等. 草甘膦对工人血清生化指标的影响[J]. 中国工业医学杂志, 2015, 28(5): 362-364.
- [32] CLAIR É, MESNAGE R, TRAVERT C, et al. A glyphosate-based herbicide induces necrosis and apoptosis in mature rat testicular cells *in vitro*, and testosterone decrease at lower levels[J]. Toxicol in Vitro, 2012, 26(2): 269-279.
- [33] WALSH LP, MCCORMICK C, MARTIN C, et al. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression[J]. Environ Health Perspect, 2000, 108(8): 769-776.
- [34] ARBUCKLE TE, LIN Z, MERY LS. An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population[J]. Environ Health Perspect, 2001, 109(8): 851-857.
- [35] WHO. WHO Global Infobase[EB/OL]. (2013-02-18). <https://apps.who.int/infobase/Indicators.aspx/>.
- [36] ZIMMERMANN RC, MCDOUGLE CJ, SCHUMACHER M, et al. Effects of acute tryptophan depletion on nocturnal melatonin secretion in humans[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1993, 76(5): 1160-1164.
- [37] BREISCH ST, ZEMLAN FP, HOEBEL BG. Hyperphagia and obesity following serotonin depletion by intraventricular p-chlorophenylalanine[J]. Science, 1976, 192(4237): 382-385.
- [38] TORRE LA, BRAY F, SIEGEL RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. Ca Cancer J Clin, 2015, 65: 87-108.
- [39] de ROOS AJ, BLAIR A, RUSIECKI JA, et al. Cancer incidence among glyphosate-exposed pesticide applicators in the agricultural health study[J]. Environ Health Perspect, 2005, 113(1): 49-54.
- [40] FLOWER KB, HOPPIN JA, LYNCH CF, et al. Cancer risk and parental pesticide application in children of Agricultural Health Study participants[J]. Environ Health Perspect, 2004, 112(5): 631-635.
- [41] WALTERS DK, WU X, TSCHUMPER RC, et al. Evidence for ongoing DNA damage in multiple myeloma cells as revealed by constitutive phosphorylation of H2AX[J]. Leukemia, 2011, 25(8): 1344-1353.
- [42] YONG M, SCHWARTZ SM, ATKINSON C, et al. Associations between polymorphisms in glucuronidation and sulfation enzymes and mammographic breast density in premenopausal women in the United States[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010, 19(2): 537-546.
- [43] MCCORMACK VA, DOS SANTOS SILVA I. Breast density and parenchymal patterns as markers of breast cancer risk: A meta-analysis[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2006, 15(6): 1159-1169.
- (收稿日期: 2017-11-07; 录用日期: 2018-01-22)
- (英文编辑: 汪源; 编辑: 汪源; 校对: 王晓宇)