

鱼肉结合态 MCLR 的亚慢性毒性研究

杨帆^{1,2}, 肖邦定^{2*}, 陈晓国¹, 吴幸强², 刘旻²

(1. 武汉理工大学资源与环境工程学院, 武汉 430070; 2. 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 为了揭示含有微囊藻毒素水产品的食用安全性, 以雄性 BALB/C 小鼠为模式生物, 通过为期 13 周的灌胃染毒实验, 研究了鱼肉结合态 MCLR 对小鼠的亚慢性毒性作用, 并与水溶态 MCLR 的毒性进行了对比. 结果表明, 68.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (以单位体重计) 剂量水溶态 MCLR 可引起小鼠肝脏显著系数增加 ($p < 0.05$), ALT、AST 活性增强 ($p < 0.01$), 引起肝细胞出现有空泡状病变; 而肾脏酶学指标 BUN、Cr 及肾脏组织病理学观察均未发现明显异常; 与之相比, 同剂量鱼肉结合态 MCLR 对小鼠各项指标的影响并不明显, 仅在实验第 1 周出现小鼠肝脏肿大 ($p < 0.05$)、ALT 活性增强 ($p < 0.01$). 由此推断, 鱼肉结合态 MCLR 的毒性低于水溶态 MCLR.

关键词: 微囊藻毒素; 水产品; 亚慢性; 毒性

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)12-2811-05

Subchronic Toxic Effects of Fish Muscle-Bound MCLR

YANG Fan^{1,2}, XIAO Bang-ding², CHEN Xiao-guo¹, WU Xing-qiang², LIU Min²

(1. College of Resources and Environmental Engineering, Wuhan University of Technology, Wuhan 430070, China; 2. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

Abstract: Subchronic oral gavage toxicity of MCLR in water and in fish muscle was examined in male Balb/C mice for 13 weeks to assess the safety of aquatic products. The results showed that the liver coefficient ($p < 0.05$), the activities of ALT and AST ($p < 0.01$) increased significantly and distinct centrilobular to midzonal hepatocellular occurred after oral gavage of dissolved MCLR at a dose of 68.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (body weight), but neither influence on the activities of BUN and Cr nor histological changes on kidney were observed at any time point. In contrast, the administration of fish muscle-bound MCLR at the same dose resulted in no obvious subchronic toxicity in mice, except that the increase of liver coefficient ($p < 0.05$) and the activity of ALT ($p < 0.01$) can be observed only at the first week. It was concluded that the toxicity of fish muscle-bound MCLR was much lower than that of dissolved MCLR.

Key words: microcystin; aquatic products; subchronic; toxicity

微囊藻毒素 (microcystin, MC) 是一类由水华蓝藻产生的环状七肽化合物, 其不但具有较强的肝毒性, 还可能具有促癌作用^[1]. 在迄今发现的 70 多种 MC 变体中, MCLR 是毒性最强的一种. 近年来, 随着我国淡水水体富营养化的加剧, 水体的 MC 污染问题日益突出, MC 对人类健康的影响引起了人们的广泛关注. 正常情况下, 水体中的 MC 可以通过饮水和食用水产品 2 条途径进入人体, 并对健康产生影响. 由于水体中 MC 含量普遍较低, 经加氯消毒等处理后浓度仅有 0.09 ~ 0.6 $\mu\text{g}/\text{L}$ ^[2], 因此 MC 通过饮水进入人体而产生急性或亚慢性毒性影响的可能性较小^[3]. 但水体中的 MC 可以通过摄食进入水生生物体内, 并可在体内累积到较高浓度^[4~6], 还可能进一步通过水生食物链富集^[6]. 尽管水生生物体内的 MC 主要集中在肝脏等内脏器官中, 但是在肌肉中也可检测到较高浓度的 MC^[4~6], 因此, 人类仍有可能通过摄食含有 MC 的水产品而发生急性或亚慢性中毒. 而且, 由于水生生物对 MC 的毒性不如哺乳动物敏感^[7,8], 致使水生生物的 MC 中毒症状不容易察

觉, 这也增加了人类因误食含有 MC 的水产品而中毒的可能性.

关于 MC 对哺乳动物的毒性, 已经有较多报道, 但这些研究大多采用腹腔注射的形式染毒, 并且所用的 MC 几乎都是水溶态 MC^[9,10]. 考虑到 MC 与谷胱甘肽 (GSH) 反应后毒性会大为降低^[11~13], 所以不同形态的 MC 毒性可能会有很大区别. 另一方面, MC 进入生物体后, 可在 7 h 内转化为无法用甲醇等有机溶剂萃取的结合态 MC, 并且这种结合态 MC 往往占绝大多数^[14,15]. 本实验室的前期研究工作也表明, 新鲜鱼肉对 MCLR 具有一定的结合能力, 结合后的 MC 毒性如何, 目前尚不清楚. 研究鱼肉结合态 MC 对哺乳动物毒性的大小, 对于评价水产品的食品安全性具有重要意义.

收稿日期: 2007-01-19; 修订日期: 2007-03-28

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2002CB412300); 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2005AA60101005)

作者简介: 杨帆 (1981 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水体富营养化, E-mail: sail_neptune@hotmail.com

* 通讯联系人, E-mail: bdxiao@ihb.ac.cn

本试验以雄性 BALB/C 小鼠为模式生物,通过为期 13 周的灌胃染毒实验,分别研究了水溶态 MCLR 和鱼肉结合态 MCLR 对小鼠的亚慢性毒性作用,并据此对 MC 污染水产品的食品安全性进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 试剂

1.1.1 MCLR 样品

实验所用 MCLR 由室内培养的铜绿微囊藻提取分离,通过 HPLC 纯化获得(HPLC 检测纯度 $\geq 98\%$)。取一定量 MCLR 的甲醇溶液,减压浓缩蒸干,定容于蒸馏水中,配制成 $2.75 \mu\text{g/mL}$ 的 MCLR 水溶液。

1.1.2 鱼肉样品

取市售新鲜鳙鱼(经 HPLC 法和 ELISA 法检测不含 MCLR),参照文献[16]报道的方法制备鱼肉粉末:低温下取鱼肉,匀浆后冷冻干燥,然后研磨成粉,过 30 目筛,所得样品避光冷藏保存,以保持其活性。实验前,按照 1:5(质量比)的比例向鱼肉粉末中加入制备好的 MCLR 水溶液,搅拌 0.5 h 后,常温静置 4 h。

1.2 主要仪器

Waters 600E 型高效液相色谱仪,配有 2487 双波长紫外/可见检测器,分析柱 Hypersil C¹⁸ ($5 \mu\text{m}$, $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$), C¹⁸ 半制备柱 ($10 \mu\text{m}$, $19 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$); 冷冻干燥机 (ALPHA 1-2LD); 生物显微镜 (Motic B₁); 全自动生化分析仪 (UF2700)。

1.3 实验动物及染毒方式

湖北省防疫站提供的 SPF 级雄性 Balb/C 小鼠 54 只,体重 (20 ± 2) g,随机分成 3 组(2 个处理组和 1 个对照组),每组 18 只。经口灌胃染毒,处理组按照 $68.75 \mu\text{g/kg}$ (以单位体重计,下同)剂量,分别给予水溶态 MCLR、鱼肉结合态 MCLR,对照组给予等体积的蒸馏水。1 周内连续染毒 5 d,每天 1 次,染毒 13 周。

1.4 观察指标与方法

1.4.1 一般中毒症状和体征

染毒期间观察小鼠体重增长情况、饮食、活动状况及一般中毒表现。

1.4.2 脏器系数

于实验第 1、3、5、7、9、13 周,每组随机取 3 只小鼠,空腹称体重,摘除眼球取全血,准确称量小鼠肝脏、肾脏的重量,按照脏器系数 = 脏器重(mg)/体重(g)计算各脏器系数。

1.4.3 组织病理学观察

取新鲜小鼠肝脏、肾脏组织,分别固定于 10% 福尔马林溶液中,24 h 后石蜡包埋、切片、常规 HE 染色,在光镜下观察各组织结构变化。

1.4.4 血清酶学指标的测定

小鼠血液标本常温静置 2 h 后,离心取上清液,用全自动生化分析仪进行检测。检测指标有:天冬氨酸氨基转氨酶(AST)、丙氨酸氨基转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)。

1.5 统计处理

用 SPSS 13.0 软件包对所有实验数据进行 *t* 检验。

2 结果与分析

2.1 临床观察结果

实验期间,各组小鼠饮食无明显差异,死亡率均为零。实验前 6 周,各组小鼠体重增长基本一致;从第 6 周到实验结束,对照组小鼠体重增长最快 (21.92 g 增加到 26.02 g),水溶态 MCLR 染毒小鼠次之 (21.92 g 增加到 25.40 g),鱼肉结合态 MCLR 染毒小鼠最慢 (21.45 g 增加到 24.77 g)。但是各组间均无统计学差异 ($p > 0.05$)。

2.2 脏器系数

表 1 是不同形态 MCLR 对小鼠部分脏器系数的影响。由表 1 可见,经水溶态 MCLR 染毒的小鼠,在整个实验过程中肝脏系数均大于对照组,其中除了第 9 周以外,其他时间均与对照组有显著差异 ($p < 0.05$)。由于脏器系数的变化是脏器受到损伤的综合反映^[17],肝脏作为 MC 的主要靶器官,其脏器系数也会由于受 MC 的影响而增加^[18]。小鼠肝脏系数的增加,说明水溶态 MCLR 可能对小鼠的肝脏造成了损伤。与水溶态 MCLR 相比,鱼肉结合态 MCLR 对小鼠的肝脏系数影响不明显,染毒过程中肝脏系数仅在第 1 周显著高于对照组 ($p < 0.05$)。可见,灌胃染毒时,水溶态 MCLR 的毒性明显要大于鱼肉混合态 MCLR。

有研究表明,MCLR 对肾脏也具有一定的毒性^[19-20]。然而表 1 结果显示,经水溶态 MCLR 和鱼肉结合态 MCLR 染毒的小鼠,肾脏系数与对照组相比并没有显著的差异 ($p > 0.05$)。说明该染毒方式下 2 种形态 MCLR 对小鼠肾脏的影响并不明显。

2.3 酶学指标检测结果

表 2 为不同形态 MCLR 对小鼠血清酶学指标的影响。由表 2 可见,在整个实验期间,经水溶态

表 1 小鼠脏器系数的变化($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes of organ coefficients among treated and control group mice($\bar{x} \pm s$)

脏器	组别	第 1 周	第 3 周	第 5 周	第 7 周	第 9 周	第 13 周
肝/体	A ¹⁾	42.8±2.4	41.7±1.8	42.9±2.1	43.8±3.2	42.5±2.4	41.4±1.7
	B	51.0±3.1* ²⁾	46.0±0.8*	48.7±0.8*	45.7±1.2*	43.4±4.2	46.5±3.1*
	C	44.3±5.2*	43.1±3.6	43.9±5.2	42.6±0.9	44.4±3.5	40.4±2.6
肾/体	A	16.5±1.6	16.5±1.4	16.7±0.5	15.2±1.1	15.7±1.5	15.6±1.6
	B	15.4±0.8	15.7±1.0	15.8±0.6	15.2±1.0	15.4±0.8	15.7±1.0
	C	15.8±0.6	15.0±1.4	16.1±0.7	15.0±0.9	15.5±1.5	15.6±1.0

1)A 为对照组,B 为水溶态 MCLR 染毒组,C 为鱼肉结合态 MCLR 染毒组;2)与对照组相比,*表示 $p<0.05$

MCLR 染毒的小鼠 ALT 活性显著高于对照组($p<0.01$),并且 ALT 活性随着染毒次数的增加有明显的先升高后降低的趋势,这一变化规律类似于慢性肝炎的症状^[21].AST 的活性也有相同的变化规律,只是 AST 活性的增加没有 ALT 显著.而 ALP 活性在整个实验过程中与对照组没有明显的区别,基本维持在正常水平.

与水溶态 MCLR 相比,鱼肉结合态 MCLR 对小鼠的 3 种肝脏酶学指标的影响均很小,ALT 的活性仅在染毒的第 1 周有显著增加($p<0.05$),而 AST 和 ALP 活性在整个实验过程中与对照组相比没有明显差异.

ALT 和 AST 是肝脏的 2 种特异性酶,其活性的

增加通常是肝细胞受到损伤的表征,MC 的急性和慢性毒性实验均发现这 2 种酶活性的增加^[22,23].本研究结果显示,经灌胃染毒,水溶态 MCLR 可以使 ALT 和 AST 活性显著增加,而鱼肉结合态 MCLR 对 ALT 和 AST 的影响则不明显,说明鱼肉结合态 MCLR 对小鼠肝脏的影响明显小于水溶态 MCLR.

由实验各组小鼠肾脏酶学指标(BUN 和 Cr)的检测结果可以看出,与对照组相比,水溶态 MCLR 染毒小鼠的 BUN 略高,而鱼肉混合态 MCLR 染毒小鼠的 BUN 则略低,但是差异均不显著($p>0.05$).各处理组小鼠 Cr 与对照组基本一致,各组间无统计学差异($p>0.05$).

2.4 组织病理学观察结果

表 2 小鼠血清酶学指标的变化($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes of serum enzyme levels among treated and control group mice($\bar{x} \pm s$)

检测指标	组别	第 1 周	第 3 周	第 5 周	第 7 周	第 9 周	第 13 周
ALT/IU•L ⁻¹	A ¹⁾	69.1±13.7	58.9±6.8	56.8±13.1	63.3±8.3	54.7±11.1	54.5±3.0
	B	415.3±15.0** ²⁾	294.2±17.1**	207.8±17.3**	136.6±28.6**	127.7±21.8**	109.5±12.0**
	C	114.1±11.9**	63.0±10.8	53.5±7.4	54.6±5.8	59.9±1.5	60.2±5.0
AST/IU•L ⁻¹	A	209.0±13.7	199.4±6.8	195.6±13.1	170.7±8.3	179.5±11.1	159.7±4.2
	B	325.5±15.4**	263.9±16.6**	227.4±21.5	208.8±29.7	170.0±13.8	165.5±6.4
	C	204.0±16.3	208.2±19.9	198.2±16.8	172.9±9.4	161.4±13.9	155.0±17.6
ALP/IU•L ⁻¹	A	148.9±3.5	142.5±4.7	139.6±5.4	122.1±1.3	112.9±12.0	122.8±6.3
	B	154.8±2.7	131.3±8.3	133.7±9.9	118.5±4.9	111.1±13.9	111.1±11.4
	C	141.9±7.0	134.9±12.1	140.4±8.3	110.6±5.4	115.7±10.8	114.8±6.2
BUN/mg•dL ⁻¹	A	19.1±1.6	21.4±1.6	21.1±1.4	19.7±2.4	21.4±1.6	21.2±1.7
	B	19.2±1.4	22.1±1.4	21.7±1.3	20.3±1.6	22.4±2.7	23.1±3.8
	C	19.0±1.5	21.8±1.4	20.8±1.7	20.9±1.6	19.8±1.5	19.7±1.7
Cr/mg•dL ⁻¹	A	0.56±0.04	0.55±0.05	0.55±0.02	0.57±0.04	0.52±0.05	0.57±0.04
	B	0.57±0.05	0.59±0.03	0.58±0.03	0.57±0.05	0.58±0.09	0.55±0.02
	C	0.53±0.03	0.59±0.02	0.52±0.02	0.57±0.04	0.56±0.03	0.57±0.04

1)A 为对照组,B 为水溶态 MCLR 染毒组,C 为鱼肉结合态 MCLR 染毒组;2)与对照组相比,**表示 $p<0.01$

图 1~3 分别是对照组、水溶态 MCLR 染毒和鱼肉结合态 MCLR 染毒 13 周时小鼠肝脏结构光镜图.由图 1 可见,未经染毒的小鼠肝小叶结构清晰,肝细胞间紧密联系,核仁明显,胞质均匀.而经水溶态 MCLR 染毒 13 周的小鼠(见图 2)肝细胞和肝窦内皮

细胞肿胀,肝细胞呈空泡样变性,有淡红色颗粒出现,说明肝细胞受到了一定的损伤.尽管如此,小鼠的肝小叶结构仍然完整,且未发现片状坏死,因此肝脏损伤程度明显比腹腔注射染毒小^[9].鱼肉结合态 MCLR 染毒的小鼠肝脏(见图 3)没有发现明显的组

织病理学变化,肝小叶结构清晰,肝细胞排列规则,只是肝窦内皮细胞有轻微肿胀,中央静脉略有充血。由此可见,肝脏光镜检测结果进一步表明,鱼肉结合态 MCLR 对小鼠肝脏的毒性明显小于水溶态 MCLR 的毒性。

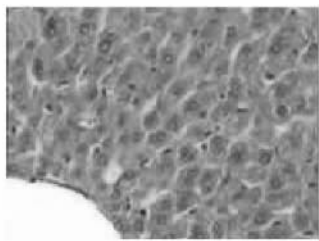


图 1 对照组小鼠肝脏组织病理改变($\times 400$)

Fig.1 Pathological change in liver from control mice

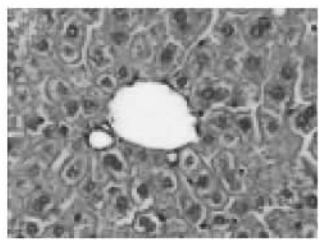


图 2 水溶态 MCLR 染毒 13 周小鼠肝脏组织病理改变($\times 400$)

Fig.2 Pathological change in liver from mice orally administrated with dissolved MCLR for 13 weeks

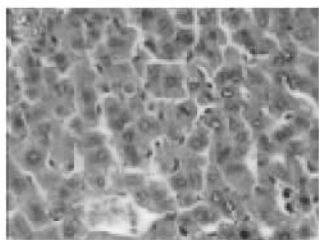


图 3 鱼肉结合态 MCLR 染毒 13 周小鼠肝脏组织病理改变($\times 400$)

Fig.3 Pathological change in liver from mice orally administrated with fish muscle-bound MCLR for 13 weeks

虽然有研究结果表明,腹腔注射染毒 MC 会对小鼠肾脏结构产生影响,出现肾小球内红细胞减少,周围红细胞增多,近端小管上皮坏死等症状^[20]。但是本实验结果表明,经过 13 周的灌胃染毒,2 种形态 MCLR 均未引起小鼠肾脏出现明显的组织病理学变化(数据未列出)。

3 讨论

淡水鱼类等水产品作为一种重要的食物蛋白质

来源,在我国饮食结构中占有重要地位。然而,近年来陆续出现水产品中检测到 MC 的报道^[24,25],使得水产品的食品安全性受到了人们的广泛关注。对含有 MC 的水产品进行食品安全性评价,已经成为迫切需要解决的问题。

本研究结果表明,即使灌胃染毒水溶态 MCLR 高达 $68.75 \mu\text{g/kg BW}$ 的情况下,小鼠的急性中毒症状仍不明显,而累计染毒 13 周后,尽管小鼠的部分酶学指标有显著增加,肝脏组织也出现病理变化,但小鼠仍然没有出现死亡的现象。而腹腔注射 $60 \mu\text{g/kg}$ 剂量的 MC 却会使小鼠肝细胞超微结构有显著变化,并出现小鼠死亡现象^[26]。由此可见,灌胃染毒 MC 的毒性远小于腹腔注射染毒的毒性,这说明用腹腔注射获得的毒理学数据不适合用来推断水产品的食品安全性。

考虑到水生生物体内的 MC 既可能与 GSH 等活性物质结合,直接生成毒性较低的产物^[11~13],也可能通过影响肠道对 MC 的吸收而改变 MC 对哺乳动物的毒性,因此,水生生物体内的 MC 对哺乳动物的毒性可能与水溶态 MC 有很大区别。因此,用水溶态 MC 的毒理学数据来评估水产品中 MC 的安全性,可能会与实际情况有较大出入。为了正确认识 MC 污染水产品的食用安全性,本实验通过灌胃染毒的方法研究了鱼肉结合态 MCLR 对小鼠的毒性效应,并与水溶态 MCLR 的毒性进行了比较。酶学指标和组织病理学观察结果均表明,鱼肉结合态 MCLR 的毒性明显小于水溶态 MCLR。按照 $68.75 \mu\text{g/kg}$ 剂量灌胃染毒鱼肉结合态 MCLR 13 周后,小鼠的酶学指标没有明显变化,肝脏只有轻微充血肿胀,说明该剂量对小鼠没有明显的急性和亚慢性毒性。

如果从小鼠外推到人的安全系数取 100,那么这一实验结果外推到人的剂量为 $0.68 \mu\text{g/kg}$ 。这一数值是 WHO 建议的日最大容许摄入量(TDI)的 10 倍($0.067 \mu\text{g/kg}$)^[27]。按照本实验的结果推理,假设体重为 60 kg 的成人每人每天摄入 300 g 鱼肉,那么,只要鱼肉中 MCLR 的含量低于 137.5 ng/g 就不会对人产生明显的急性和亚慢性毒性作用。然而,考虑到长期低剂量暴露情况下,MC 可能会有促癌作用^[28],因此,有必要对长期食用 MC 污染水产品的慢性毒性效应做进一步研究。

4 结论

(1)灌胃水溶态 MCLR 13 周后,小鼠的肝脏系数显著高于控制组,肝细胞呈空泡样变性,肝细胞受

到一定损伤, 同时 ALT、AST 活性显著增强, 但染毒小鼠的肾脏系数和酶学指标与控制组无明显差异, 组织病理学观察也无异常表现。

(2) 灌胃染毒鱼肉结合态 MCLR, 小鼠的肝脏系数变化不明显, 肝细胞组织、ALT、AST 活性与控制组无明显差异 (仅第 1 周出现肝脏肿大、ALT 活性增强)。染毒小鼠的肾脏系数、酶学指标及病理学观察与控制组无明显差异。表明鱼肉结合态 MCLR 对小鼠的毒性明显低于水溶态 MCLR。

参考文献:

- [1] 张维昊, 徐小清, 丘昌强. 水环境中微囊藻毒素研究进展[J]. 环境科学研究, 2001, **14**(2): 57 ~ 61.
- [2] Sano T, Beattie K A, Codd G A, *et al.* Two(Z)-dehydrobutyryne-containing microcystins from a hepatotoxic bloom of *oscillatoria agardhii* from souleat loch scotland [J]. Journal of Natural Products, 1998, **61**(6): 851 ~ 853.
- [3] Ueno Y, Makita Y, Nagata S, *et al.* No chronic oral toxicity of a low dose of microcystin-LR, a cyanobacterial hepatotoxin, in female Balb/c mice [J]. Environmental Toxicology, 1999, **14**(1): 45 ~ 55.
- [4] Mohamed Z A, Carmichael W W, Hussein A A. Estimation of microcystins in the freshwater fish *Oreochromis niloticus* in an Egyptian fish farm containing a microcystis bloom [J]. Environmental Toxicology, 2003, **18**(2): 137 ~ 141.
- [5] Yokoyama A, Park H D. Mechanism and prediction for contamination of freshwater bivalves (Unionidae) with the cyanobacterial toxin microcystin in hypereutrophic Lake Suwa [J]. Environmental Toxicology, 2002, **17**(5): 424 ~ 433.
- [6] Xie L Q, Xie P, Guo L G, *et al.* Organ distribution and bioaccumulation of microcystins in freshwater fish at different trophic levels from the eutrophic lake Chaohu, China [J]. Environmental Toxicology, 2005, **20**(3): 293 ~ 300.
- [7] Andersen R J, Luu H A, Chen D Z X, *et al.* Chemical and biological evidence links microcystins to salmon net-pen liver disease [J]. Toxicon, 1993, **31**(10): 1315 ~ 1323.
- [8] Tencalla F, Dietrich D. Biochemical characterization of microcystin toxicity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Toxicon, 1997, **35**(4): 583 ~ 595.
- [9] Guzman R E, Solter P F. Characterization of sublethal microcystin-LR exposure in mice [J]. Veterinary Pathobiology, 2002, **39**(1): 17 ~ 26.
- [10] Yoshida T, Makita Y, Tsutsumi T, *et al.* Immunohistochemical localization of microcystin-LR in the liver of mice: a study on the pathogenesis of microcystin-LR-induced hepatotoxicity [J]. Toxicol Pathol, 1998, **26**(3): 411 ~ 418.
- [11] Gehring M M, Shephard E G, Downing T G. An investigation into the detoxification of microcystin-LR by the glutathione pathway in Balb/c mice [J]. International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2004, **36**(5): 931 ~ 941.
- [12] Takenaka S. Covalent glutathione conjugation to cyanobacterial hepatotoxin microcystin LR by F344 rat cytosolic and microsomal glutathione S-transferases [J]. Environmental Toxicology, 2001, **9**(4): 135 ~ 139.
- [13] Kondo F, Ikai Y, Oka H, *et al.* Formation, characterization, and toxicity of the glutathione and cysteine conjugates of toxic heptapeptide microcystins [J]. Chemical Research in Toxicology, 1992, **5**(5): 591 ~ 596.
- [14] Williams D E, Craig M, Dawe S C, *et al.* ¹⁴C-labeled microcystin-LR administered to Atlantic salmon via intraperitoneal injection provides in vivo evidence for covalent binding of microcystin-LR in salmon livers [J]. Toxicon, 1997, **35**(6): 985 ~ 989.
- [15] Williams D E, Craig M, Dawe S C, *et al.* Evidence for a covalently bound form of microcystin-LR in salmon liver and Dungeness crab larvae [J]. Chemical Research in Toxicology, 1997, **10**(4): 463 ~ 469.
- [16] 全国中等卫生学校《药剂学》编写组. 药剂学 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1981. 289 ~ 298.
- [17] 黄雅卿, 张文昌, 李煌元, 等. 镉对雌性大鼠生殖细胞的影响 [J]. 职业与健康, 2003, **19**(7): 7 ~ 9.
- [18] 雷腊梅, 宋立荣. 微囊藻毒素对小鼠的急性毒性研究 [J]. 第一军医大学学报, 2005, **25**(5): 565 ~ 567.
- [19] Nobre A C, Jorge M C, Menezes D B, *et al.* Effects of microcystin-LR in isolated perfused rat kidney [J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 1999, **32**(8): 985 ~ 988.
- [20] Falconer I R, Stephen J H, Andrw R H, *et al.* Hepatic and renal toxicity of the blue-green alga (*Cyanobacterium*) cylindrospermopsis raciborskii in male Swiss Albino mice [J]. Environmental Toxicology, 1999, **14**(1): 143 ~ 150.
- [21] 覃小敏, 张江国, 苏凯, 等. 慢性病毒肝炎小鼠动物模型的建立及其特征分析 [J]. 中国病毒学, 2006, **21**(6): 417 ~ 420.
- [22] Rao P V L, Bhattacharga R, Oant S C, *et al.* Toxicity evaluation of in vitro cultures of freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*: I. Hepatic and histopathological effects in rats [J]. Biomedical and Environmental Sciences, 1995, **8**(3): 254 ~ 264.
- [23] Nishiwaki-Matsushima R, Ohta T, Nishiwaki S, *et al.* Liver tumor promotion by the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR [J]. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 1992, **118**(3): 420 ~ 427.
- [24] Magalhães V F, Soares R M, Azevedo S M, *et al.* Microcystin contamination in fish from the Jacarepagua Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk [J]. Toxicon, 2001, **39**(7): 1077 ~ 1085.
- [25] Chen J, Xie P. Seasonal dynamics of the hepatotoxic microcystins in various organs of four freshwater bivalves from the large eutrophic Lake Taihu of the subtropical China and the risk to human consumption [J]. Environmental Toxicology, 2005, **20**(6): 572 ~ 584.
- [26] 罗民波, 沈新强, 杨良, 等. 微囊藻毒素对小白鼠肝脏的毒理效应 [J]. 海洋水产研究, 2005, **26**(3): 55 ~ 60.
- [27] Falconer I R, Burch M D, Steffensen D A, *et al.* Toxicity of the blue-green alga (*Cyanobacterium*) microcystis aeruginosa in drinking water to growing pigs, as an animal mode for human injury and risk assessment [J]. Environmental Toxicology and Water Quality, 1994, **9**(2): 131 ~ 139.
- [28] Ueno Y, Nagata S, Tsutsumi T, *et al.* Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic area of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay [J]. Carcinogenesis, 1996, **17**(6): 1317 ~ 1321.