

基因改造產品的毒性與過敏性之安全評估

蔡三福 張敬宜 黃振聲 王順成

前 言

由於生物技術的蓬勃發展，愈來愈多的基因改造(genetically modified, GM)作物產品融入我們的生活，使人們開始重視 GM 產品的安全性。世界上第一種基因改造作物番茄於 1994 年在美國獲准上市(FDA/CFSAN, 2002; Taylor, 1997)，此番茄具有可抑制促進熟軟酵素的 polygalacturonase (PG)基因，可減少因採收、運輸、加工處理過程中碰傷變質之問題。至 2003 年栽種基改作物的國家已增加到 18 個(ISAAA, 2003)，以作物種類區分，栽種面積大部份為黃豆(61%)、玉米(23%)、棉花(11%)和油菜(5%)。以基因特性論，抗除草劑作物佔絕大部分(73%)，其次為抗蟲作物(18%)、再次為抗蟲兼抗除草劑作物(8%)。抗蟲作物主要為將蘇力菌(*Bacillus thuringiensis*) CryIAb、CryIAc、CryIIIa、Cry1F...等結晶蛋白基因，轉殖到玉米、棉花或馬鈴薯等植物體。目前美國已核准登記 90 多項 GM 作物的商業化生產(FDA, 2005)，生產的農產品中約有 1/3 的玉米、1/2 的大豆及 1/2 的棉花是 GM 作物。

現今國內市面上核准的基改食品均由國外輸入(行政院衛生署藥物食品檢驗局, 2003)，特別是以美國為主，國內目前亦有多種基改植物的開發，其中基改木瓜現已申請登記並審核中，此種木瓜與一般的木瓜外觀上並無明顯的不同，因此，其食用安全性備受各界關注。國際間對 GM 產品安全性爭議多來自兩個層面：生物安全性和生態環境安全。環保人士憂心，當成千上萬種經基改的新細菌、新病毒、新植物和新動物進入生態系統，會不會破壞原有的生態平衡？是否會干擾生物自然演化過程？雖然生物安全性和生態環境之影響，可能需要更多的時間來證明，但各國為安全上的考量，已先後訂定基改食品之管理制度，並且正致力於建立一套較一致的規範來解決安全性爭議。另外，部分國家在國際食品標準委員會第 27 次大會上(AGBIOS, 2004)，建議應優先分別討論非刻意摻雜基改成份之風險評估原則、混合型基改產品之風險評估原則、及改變營養成分之基改食品安全與營養評估方法。

基改產品之食品安全評估顯示出三大重要課題，一是轉殖的 DNA 基因其外源表現物質是否對人體造成影響；二是轉殖的篩選基因 DNA 的安全性；三是母本組成份特性是否受影響而改變。在外源表現物質(通常為蛋白質)是否對少數人產生過敏反應的問題讓部份學者感到憂慮(Athercon, 2002; AGBIOS, 2004a)，加上飼料用星連(StarLink[®])基改玉米(Aventis 公司)在墨西哥不慎被食用，導致多人產生過敏反應的事件，促使 Aventis 公司全面的回收，更凸顯了 GM 產品管理上的缺失。在 GM 作物研發時常為了方便篩選，同時轉入抗生素抗性基因以利轉植株之篩選，因此這些 GM 食品在食入消化道後，這些抗生素抗性基因是否會與消化道內的微生物產生基因置換並產生抗藥性菌株，亦另人擔憂(AGBIOS, 2004)。在母本組成份特性上，聯合國糧農組織/世界衛生組織(Food and Agriculture Organization/World Health Organization, FAO/WHO)及經濟合作暨開發組織 (Organization for Economic Cooperation and Development)三大組織，皆以「實質等同」(substantially equivalent)觀念做為安全評估過程的一部份，即認為對人類消耗性食品的安全性考量是根據在預期狀況下使用不會造成傷害原則。如果一種新的食品與一種傳統的食品「實質等同」(即它們的分子、成份與營養等數據，經過比對而認為是實質相等)，則該種食品或成分即可視為與傳統食品同樣安全(Atherton, 2002)。只有當基改食品因其成分顯著不同於傳統者，則須進行如同其他非傳統食品來源之食品的安全評估流程。

本文將介紹 GM 作物作為食品的安全評估，並且針對 GM 產品對生物的安全評估測試進行探討，包括實質等同、營養性、毒性、過敏性及基改作物之安全觀點等，以期對基改作物在動物毒性與過敏性之探討有更深一層的認識。

基改產品的安全評估

一、實質等同

GM 食品的安全評估是根據「實質等同」的觀念，將生長在相同氣候及地理條件下的 GM 作物與非 GM 作物，比較其生化、農藝學和顯型特性。當 GM 食品的特性和組成與具有安全消費歷史之傳統食品相同時，可推論此新食品在與傳統食品相似消費模式和加工情形下是較安全(Atherton, 2002)。另外，評定實質等同的過程中，有三個考慮準則(FAO/WHO, 1996)。第一，產品實質等同於傳統相似物，藉此可考慮產品是與相似物一樣安全。第二，產品除了清楚的差異之外，其餘可確定實質等同時，其安全評估可集中在已確認的差異上，可利用 *in vitro*(體外)

及 *in vivo*(體內)方法評估，以減少評估的範圍。第三，產品無法以實質等同比較時，並不是指新產品本質上的不安全，而是新產品必須透過多方面安全評估方法，以個案(case by case)方式評估其安全性，甚至進行動物餵食試驗(animal feeding test)，特別是在取代飲食中某些重要的成分時。

二、營養性

所有植物的育種法，無論是傳統或現代方法，皆可能改變其營養價值或導致毒素或抗營養因子濃度的改變，因此安全評估應考量營養組成上任何可能的改變，特別是飲食中重要營養素的生物可利用率改變。一般傳統分析評估方法，是針對食品的醣類、總蛋白、脂肪、灰份(ash)、纖維和微量營養素的比例和成分，甚至是某些毒素或抗營養因子(如 *trypsin inhibitor*)，進而推估是否造成營養缺乏症(AGBIOS, 2004b)。另外，在營養上可能有很大的改變，以及互相反應甚至造成不良的影響，因此可利用動物餵食試驗，以了解營養素的變化和可利用率，例如許多研究學者相繼以 GM 作物取代動物飼料中非基改作物，並分析營養素的組成、動物的體重增加情形、取食量、飼料轉換率(表 1.)，甚至進一步針對動物種類作個別的測試項目，如對乳牛，特別著重在牛奶產量及牛奶成份分析。

表1. 基改作物飼料與傳統飼料對牲畜餵食之研究

動物	基改作物	分析項目	參考文獻
雞	抗蟲基改玉米	營養素組成、體重增加情形、取食量、飼料轉換率、蛋白質或熱量消耗量、雞胸肉重。	Aulrich <i>et al.</i> , 1998 Brake and Vlachos, 1998 Halle <i>et al.</i> , 1998 Mireles <i>et al.</i> , 2000
	耐嘉磷塞基改黃豆		Pageette <i>et al.</i> , 1995 Hammond <i>et al.</i> , 1996
乳牛	抗蟲基改玉米	取食量、牛奶產量、牛奶組成(蛋白質、乳糖、脂肪百分比)、乳腺健康及瘤胃發酵情形。	Faust and miller, 1997 Folmer <i>et al.</i> , 2000b
	耐嘉磷塞基改玉米		Donkin <i>et al.</i> , 2000
肉牛	抗蟲基改玉米	體重增加情形、取食量、飼料轉換率。	Russell and Peterson, 1999 Russell <i>et al.</i> , 2000 Folmer <i>et al.</i> , 2000a Russell <i>et al.</i> , 2001
	耐嘉磷塞基改玉米		Petty <i>et al.</i> , 2001
豬	抗蟲基改玉米	體重增加情形、取食量、飼料轉換率、屠體特性(重量、硬度....)。	Weber <i>et al.</i> , 2000
上述分析項目顯示基改與非基改組間無顯著性差異。			

Modified from MacKenzie and McLean, 2002.

三、毒性

利用傳統毒理學來研究食品的安全性，並無法獲得全面的實用資料，例如利用動物試驗以評估輻射食品的安全性。許多化合物主要使用動物作為安全評估的研究，例如殺蟲劑、醫藥品、工業化學品及食品添加物，由於大部分測試物本身具有的理化特性、已知的純度、無個別營養價值及少量的人類暴露等性質(Atherton, 2002)，因此，化合物以不同劑量餵食動物時，為了確認任何可能對人體不利的健康影響，其中一些處理劑量會比人類預期的暴露量高，以建立安全上限值。相對之下，食品如果是組成和營養價值差異大的複雜混合物，通常只能以人類飲食中的低劑量來餵食動物。另外，試驗上尚需考慮的關鍵因素為營養價值與食物的均衡，以避免產生與物質本身無相關性的不利影響。因此，偵測任何可能的影響及找出其食品個別特性之間的關連顯得非常地困難。例如：評估基改番茄時，因番茄不是嚙齒動物飲食的一部份，可能對動物產生營養毒性，需要以非基改番茄當對照組，以避免不必要的差異(AGBIOS, 2004c)，因此進行基改植物生物安全評估時，材料是以蛋白質本身或食用部份，則需加以注意(表2.)。

在進行動物毒性研究時，一般先進行口服急毒性試驗，再進行至少90天的亞慢毒性測試(Atherton, 2002)，以確保長期給予GM產品下，不影響動物或人類的健康，甚至進行基因毒性、生殖毒性等之試驗。然而這些試驗資料對GM作物而言，並非提供最適當的風險評估，而是提供可利用的資料。

表2. 基改作物之生物安全性評估項目及材料

主要評估項目	純化物質/蛋白	基改作物
	(pure material)	(whole)
	基改作物、載體大量表現(如 <i>E. coli</i>)或原供應者(donor)萃取純化	材料(食用部分)冷凍研磨(需要一處理組為非基改作物之對等材料)
序列同源性比對 (Sequence homology)	√	
胃/腸消化液穩定性 (Stability to digestion)	√	
口服急毒性 (Acute oral toxicity)	√	(√)
28 天亞慢毒性 (Subchronic toxicity)		√
慢毒性 (Chronic toxicity)		√
營養代謝 (Nutrient metabolism)		√

主要評估項目	純化物質/蛋白 (pure material)	基改作物 (whole)
		基改作物、載體大量表現(如 <i>E. coli</i>)或原供應者(donor)萃取純化
過敏性	動物試驗 (Animal model)	(√) ^b
	人體試驗 體外-免疫分析 (Immunoassay)	√ ^a
	人體試驗 體內-皮膚穿刺 (Skin prick test)	√

√：評估項目(因表現物質/蛋白的不同，部分項目可視情況而定)。

^a：腹腔或口服途徑模式；^b：口服途徑模式。

(Astwood *et al.*, 1996; Atherton, 2002; Chen *et al.*, 2003; Dearman *et al.*, 2002; Fu *et al.*, 2002; Kimber *et al.*, 2003)

四、過敏性

整體上GM產品的食用安全評估以過敏性測試最為重要，主要是探討轉殖的DNA基因其外源表現物質(蛋白質)是否對人體造成影響，以下就分項加以探討。

(一)過敏症

過敏反應可能是由花粉、孢子、動物毛屑、昆蟲毒液和其他環境刺激物所引起，在開發國家過敏症約佔人口的10-25%，而食物過敏症約佔2.5%(AGBIOS, 2004a)，其中成人約佔1-2%，小孩約佔6-8%(Ladics *et al.*, 2003)。大部分食物過敏症是由抗原特異性的IgE抗體所引發，是屬於Type-1的反應(圖1.)，產生立即性的高敏感性反應，幾乎在食物消化後2分鐘至幾小時發生。食物過敏反應通常是發生在具有遺傳性過敏和先前具過敏原敏感的個體，反應上會引發一種或多種的系統性症狀，在胃腸道為反胃、嘔吐及腹瀉，在皮膚為蕁麻疹、皮膚炎、血管及神經性水腫，在呼吸道為鼻炎、氣喘及支氣管痙攣。每年在十萬人中大約會有3人引發嚴重的過敏性反應(anaphylaxis) (Ladics *et al.*, 2003)。

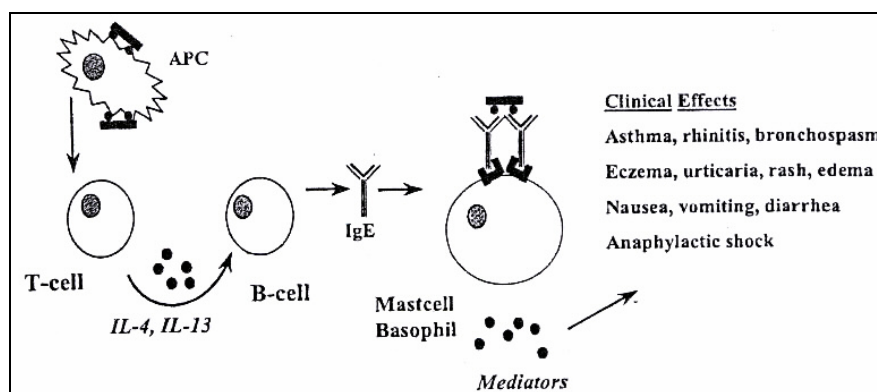


圖1. Type-1之過敏反應(Source from Ladics *et al.*, 2003)。

大約90%食物過敏症主要由8種過敏原所引起，包括花生、堅果、牛奶、雞蛋、魚、甲殼類(小蝦)、小麥和黃豆(Metcalf *et al.*, 1996)。在數千種食品蛋白質中，大約有200種蛋白質發現於140種的食物或食物群中，而且已被確定是食物過敏原(Day, 1996; Hefle *et al.*, 1996)。剩下10%的食物過敏原是由少見的過敏蛋白或少量過敏原所引起(Hefle *et al.*, 1996)。無論是傳統或透過生物技術開發的食品，皆是過敏原的可能來源，但是大眾、政府和產業所關心的是，食物過敏原可能在食品間轉移，或無消費歷史的蛋白質藉由生物技術直接轉入食品中(Ladics *et al.*, 2003)。因此，對基因改造食品的過敏性問題就顯得非常重要。

(二)過敏性評估相關因子

目前沒有單一種*in vitro*或*in vivo*模式，能有效完成可能食物過敏原的鑑定和特性描述，而是需要一連串的測試來證明其影響，雖僅有少數人會對某些過敏原產生過敏，然而作物或食品在廣泛被推廣之前，如有任何疑慮，預先的安全評估仍然是必要的。因此，需針對GM產品設計出評估過敏反應的流程圖(圖2.)，再發展出過敏性*in vitro*評估方法，包括：(1)利用生物資訊工具如FASTA與已知過敏原序列比對；(2)影響蛋白質暴露的因子消化穩定性測試(Ladics *et al.*, 2003)。另外，進一步發展*in vivo*方法，先利用動物模式評估免疫反應，最後整合觀察是否需要人體試驗。

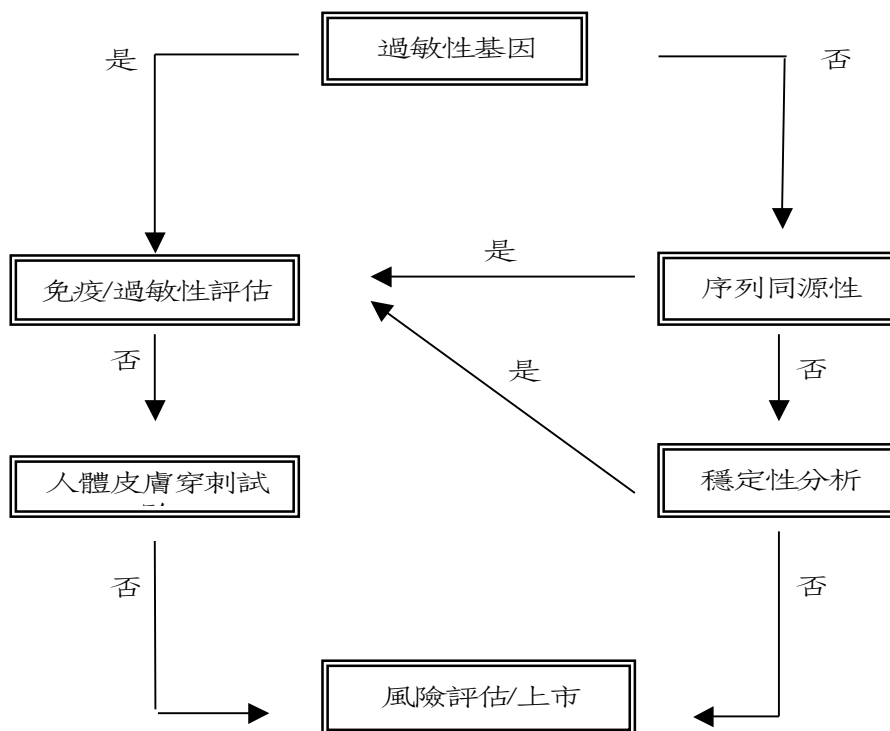


圖2. GM產品之過敏安全性評估流程圖(modified from Kimber and Dearman, 2001; Metcalfe *et al.*, 1996)。

1. 序列比對：

序列比對的原理是兩個蛋白質間可分享足夠的線性序列相似度 (linear sequence similarity)，其亦將共享3級結構 (three-dimensional structure)，以及具有同源的功能性，換言之，同源性蛋白質可共享2級結構和普通的3級摺疊 (three-dimensional folds) (Pearson, 2000)。因此，藉由序列與結構的相似度，同源性蛋白較非同源性蛋白，更能共享過敏性的交叉反應構形 (allergenic cross-reactive conformational) 及線性表位 (linear epitopes)。不過因同源性之間的相似度廣泛地不同，所得的數據需要小心地評估，以推測潛在的交叉反應 (cross-reactivity) (Hileman *et al.*, 2002)。同源性蛋白可能在200個胺基酸 (AA) 序列中只有25%的AA序列相同 (Pearson, 2000)，這通常又不足以誘導IgE調節的交叉反應 (Aalberse *et al.*, 2001)，因此，誘發過敏性交叉反應很少只有50%的AA序列相同，而是需要>70%的AA序列相同 (Aalberse, 2000)。不過，FAO/WHO(2001)經過多次的評估討論，最後以AA序列相似度 $\geq 35\%$ 為基準，AA序列相似度大於或等於35%時，判定可能為一潛在的過敏原 (Ladics *et al.*, 2003)。

此外，與過敏原不相似的蛋白，仍然可能包含較短並且能誘發免疫的表位 (epitopes) 之結合區域，進而引發敏感個體的過敏症狀，因此第二種比較方法是依據其線性表位的結構 (Astwood, 1996; Metcalfe *et al.*, 1996)，當有短的共同區存在，即顯示未知序列與已知過敏原間，可能有著相同的IgE結合表位 (Hileman *et al.*, 2002)。雖然某些線性IgE表位可能就像只有5個AA (Beezhold *et al.*, 1999; Banerjee *et al.*, 1999)，但大部份有意義的IgE表位皆是含有連續8個或更多的AA (Chatchatee *et al.*, 2001)，才能使抗體有較強的親和性結合，進而引發過敏反應 (Banerjee *et al.*, 1999; Rabjohn *et al.*, 1999)。因此，藉由實際和理論的推演，建議以搜尋連續8個或更多相同的AA (Metcalfe *et al.*, 1996) 為基準，以推測是否為一潛在的過敏原。不過，FAO/WHO(2001)建議只要連續6個AA相同，即可視為具有序列同源性 (Ladics *et al.*, 2003)。

2. 消化穩定性：

具有致敏性 (sensitize) 和誘發 (elicit) 過敏症能力的過敏原食物，有著一些相同的生化特性，包括可促進IgE產生和引發IgE所調控的臨床症狀之能力 (Aalberse, 1997)。以人工消化液進行 *in vitro* 研究，已廣泛地作為模擬在動物體內的消化模式，常用以探討植物蛋白、動物蛋白和食品添加物的消化穩定性 (AGBIOS, 2004a)。食物過敏原能到達及進入小腸黏膜，進而進入循環系統的能力，可能是引發過敏性反應的先決條件，因此，當蛋白質能在消化道的水解酵素存在下和酸性環境下保持穩定狀態，即能增加到達腸黏膜的可能性，而且證據顯示完整的蛋白和完整的肽片

大於3.5 kDa時，可能為一潛在過敏原蛋白(AGBIOS, 2004a)。換言之，當吃下易消化的蛋白質，對健康較不會產生不良的影響(如過敏)，這與文獻上許多過敏原具有蛋白水解酵素的穩定性(Taylor, 1992; Metcalfe, 1985)相呼應。

Astwood 等人(1996)分析比較食物過敏原和非過敏原的消化穩定性，發現過敏原的**胜肽**片段至少可穩定8分鐘，部份食物過敏原可穩定至60分鐘，少部份則在30秒內被降解。另外，非過敏原(酵素)的穩定性試驗，發現可在15秒內降解，並且無法形成任何穩定的**胜肽**片段。作者認為過敏原較非過敏原穩定，可利用消化穩定性來區分過敏原與非過敏原。然而已知某些種類的蛋白質(如儲存蛋白或結構蛋白)對細胞環境的蛋白質水解能力是較其他類型蛋白質(如酵素)穩定的，同時Astwood等人並未觀察到不同種類的食物過敏原間是否有不同的穩定性。於是Fu等人(2002)進一步利用具有相似細胞功能的過敏原與非過敏原進行比較其消化穩定性，結果發現食物過敏原並不完全較非過敏原穩定，而且發現胃液的濃度會影響所觀察的結果。因此，消化液體外試驗並無法完全可以精確地模擬蛋白質在體內的消化結果，唯仍可利用此方式評估蛋白質對消化液的敏感度與穩定度，進而提供資料並與其他的試驗證據，作為推測飲食中的蛋白質是否可能為一潛在的食物過敏原。

3.動物模式：

近年來，世界衛生組織(WHO, 2001)亦部份修改預測蛋白質的過敏性評估方式，甚至將動物模式列入評估要項。然而，截至目前為止，仍無一完全有效的研究食品蛋白質過敏性的動物模式。現今多種動物評估模式正在研究建立中，主要分為嚙齒類動物與非嚙齒類動物。

嚙齒類動物方面，目前被認為較合適的品種有兩種：Balb/c小鼠與Brown Norway (BN)大鼠，而其他品種在試驗過程中較不適用，例如以天竺鼠作為動物過敏的模式時，過敏原以口服給予一段時期後，再以靜脈進行攻擊注射後，測量其過敏反應，結果發現並不誘發過敏抗體IgE，只誘發一般抗體IgG (Pahud *et al.*, 1988)。由於使用動物模式主要是用以區別蛋白質是否只產生免疫性反應，如果試驗只產生免疫性反應，則只是誘導IgG 的反應，而真正的過敏反應，要能誘發IgE的產生。因此，過敏反應主要是測定血清中的抗體IgG和IgE，甚至測定細胞素IL-4、IFN- γ 和其他的細胞素(IL-5、IL-10、IL-13)，因為IL-4是由T輔助細胞-2產生以幫助IgE的生成，而IFN- γ 是由T輔助細胞-1分泌以對抗IgE的反應(Ladics *et al.*, 2003)。

非嚙齒類動物主要是利用具遺傳特性的過敏症狗(Ermel *et al.*, 1997)和對花生過敏的豬(Helm *et al.*, 2002)，作為測試新蛋白潛在的過敏性，並

可進一步利用此動物模式，了解IgE調控的機制。非嚙齒類動物的解剖學、生理學和營養需求與人類相似，加上腸胃和免疫系統的成熟以及腸道可吸收抗體(enteric absorption of antibody)等特性，皆是此動物探討腸胃食物過敏的優勢。因此，藉由具有天生的食物過敏症和腸胃生理/免疫成熟的動物模式，可模擬和推斷人類可能的臨床食物過敏症(Ladics *et al.*, 2003)，以研究過敏的機制、免疫致病學、探討治療的策略和預測蛋白質潛在的過敏性。

動物模式開發過程中，需考慮的因素有品種的選擇、給予的途徑、誘導時間和次數、是否使用佐劑等。像Balb/c小鼠經由一連串的研究過程中(Dearman *et al.*, 2001; 2002)，發現主要以腹腔注射投予兩次(間隔7天)後所得的結果較佳。另外，大鼠模式研發中，Atkinson等人(1996)使用BN大鼠模式，以口服卵蛋白(ovalbumin)和腹腔注射佐劑(adjuvant)的方式，可產生特異性IgE，之後Knippels等人(1999)發展不添加佐劑的模式，已成功的在BN大鼠胃管餵食卵蛋白後，可誘發特異性的IgE和IgG產生。由於佐劑可能加強IgE的反應，導致無法區分較強過敏原和較弱過敏原的反應或誘導蛋白質IgE的生成。以上這兩種適合的品種在誘發過敏的過程中，皆可在不添加佐劑的情況下誘發IgE的產生，只是途徑不同，使用大鼠的優點之一是可連續抽血，但是大鼠模式則是需要較大量的測試蛋白(Ladics *et al.*, 2003)。因此，動物模式的設計可依實驗的需求作選擇。動物模式中以不同的途徑給予蛋白質，所得的結果可能會不相同，換言之，選擇一種途徑不代表所有其他的誘敏途徑，動物模式雖然可提供新蛋白潛在過敏性的額外資訊，但並不能完全反映人類所有受IgE調控的食物過敏反應。因此，建議考慮同一品系動物或不同品系動物進行兩種給予途徑試驗研究，最後作綜合的過敏性評估。

部份基改產品可能是安全的觀點

現今有許多的蛋白，表現在GM作物中，包括油菜、玉米、黃豆、棉花種子和馬鈴薯等，其功能主要是單一或結合性的表現在抗蟲、耐除草劑或抗病毒性狀或馬鈴薯的抗病毒感染等。部份研究學者基於基改蛋白的特性、基改蛋白毒性試驗、動物之消化性防禦、低風險的劑量及膳食蛋白的代謝結果等觀點，彰顯部份基改作物的安全性。

一、基改蛋白的特性觀點

(一)蘇力菌蛋白

多種蘇力菌蛋白基因，已表現在許多種的基改作物中，以對抗多種害蟲(European corn borer或Colorado potato beetle)，且這些蛋白早在1961年

已登記作為微生物殺蟲劑使用(Frankenhuyzen, 1993)。這些蛋白包括Cry1Ab、Cry1Ac、Cry9C或Cry1F已表現在抗蟲的玉米品種中，可與害蟲的特殊受器選擇性結合，並形成孔洞以瓦解害蟲之腸離子平衡並引起腸麻痺，最後因細菌性敗血症死亡。因此，這些蛋白作用之特殊性是直接歸因於目標害蟲上之特殊結合區(Hofmann *et al.*, 1988)。而哺乳動物的腸細胞表面並沒有蘇力菌蛋白的結合區，以致這些蛋白不會對牲畜和人類造成影響。美國環保署(EPA)在1971年免除蘇力菌生物農藥田間施用的殘留量需求，這意味著不需限制人類或動物對蘇力菌的消費安全容許量，加上歷史背景、管理機構的認可，可支持此類GM作物安全性之重要證據。

(二)抗除草劑蛋白

EPSPS (Enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase)合成酵素在植物生化反應路徑上扮演重要角色，能合成多種胺基酸(phenylalanine、tyrosine和tryptophan)，然而，此酵素在動物和人類中是不存在(Levin and Sprinson, 1964; Steinrucken and Amrhein, 1980)。1970年代早期，發現簡單的胺基酸類似物嘉磷塞(glyphosate)，能選擇性抑制EPSPS酵素的活性，進而阻斷芳香族胺基酸的合成，導致植物快速死亡(Kishore and Shah, 1988)。由土壤微生物*Agrobacterium tumefaciens* strain CP4菌株中得到抗glyphosate的EPSPS酵素基因並導入作物中，以表現抗除草劑glyphosate。土壤微生物CP4 EPSPS的胺基酸序列顯示與食品中內生性的EPSPS及不同食品來源的EPSPS蛋白均相同，彰顯此蛋白的安全性。

(三)抗病毒蛋白

目前已有抗作物病毒的基改馬鈴薯品種生產，是藉由插入病毒鞘蛋白(CP)的DNA序列或病毒複製(replicase)以抵抗馬鈴薯病毒。另外，在非基改的馬鈴薯中，亦可能會有病毒的CP存在，這是由於常發生病毒自然感染，而且作物的病毒蛋白從未與人類的毒性或過敏反應具關聯性，加上人類和動物消費蛋白的安全歷史亦可參考。另外，基改作物表現的病毒蛋白與直接由病毒感染所得的蛋白亦並無差異(MacKenzie and McLean, 2002)。

二、基改蛋白毒性試驗觀點

除了顯示安全的使用歷史或與自然存在有關的食品蛋白外，基改作物產品需和非基改作物產品進行組成的比較、及餵食試驗或實驗動物的急毒性研究。許多已知蛋白毒素的作用方式，已足夠評估新蛋白可能的毒性，可透過急性機制作用(Hammond and Fuchs, 1998)，以及口服給予純的高劑量細菌或植物來源之基改蛋白進行評估。

純的CP4 EPSPS酵素(Harrison *et al.*, 1996)或蘇力菌Cry3A蛋白之口服急毒性研究中，分別以超過預期取食量的1,000或1,000,000(百萬)倍濃度給

予，結果並未發現任何有害的影響，如抗馬鈴薯甲蟲之基改作物安全評估，是以高劑量純化的蘇力菌Cry3A蛋白給予實驗小鼠，其中劑量的決定是根據人類馬鈴薯的平均消耗量和Cry3A蛋白在基改塊莖的表現量，並將劑量換算之安全因子訂為2,500,000倍，結果實驗並未發現不良的影響，對食物取食量、體重增加或病理上並無任何影響(Lavrik *et al.*, 1995)。

三、動物之消化性防禦觀點

目前已有相關研究利用抗蟲玉米或抗殺草劑黃豆當飼料餵食動物，以比較餵食基改和非基改作物營養組成差異對動物健康方面之影響，包括乳牛、鷄、豬和肉牛，結果顯示營養組成和動物效用均無顯著性差異(表1)。事實上，除了對餵食含有基改作物飼料的牲畜動物可能的任何直接影響外，亦要研究其間接的影響，如插入的DNA或修飾基因或其蛋白質產物，能否轉移和累積在餵食基改作物的動物產品中，如牛奶、肉和蛋，及是否因人類食用此類動物產品而導致不良的健康影響。這些疑慮目前可藉由已存在所有食物中的DNA和蛋白質之正常消化結果，表現在基改作物中的新蛋白之人工消化液穩定性試驗，以及探討轉殖的DNA和蛋白是否存在餵食動物的產品中，而加以評估確認(MacKenzie and McLean, 2002)。

四、低風險的劑量觀點

所有食品和飼料均含有DNA，加上動物和人類總是攝食不同來源的DNA，包括植物、動物、真菌、細菌、寄生蟲、病毒等，因此，FAO、WHO、美國食品及藥物管理局(USFDA)和美國環保署(USEPA)等組織，曾各自聲明攝食不同來源的DNA，包括基改作物等均屬安全(MacKenzie and McLean, 2002)。雖然很難提供DNA攝食的實際估計量，不過已估計大部份食品的DNA含量小於0.02%，其中一些作物的含量為0.005%(Watson and Thompson, 1988)。在乳牛的試驗中，以一隻600公斤動物可能每天攝食608 mg的DNA，而且基改玉米的基因含有4000 bs(base pairs)轉殖基因插入，換算可知飲食中的基改作物的DNA量是總DNA攝取量的0.00042%(Beever and Kemp, 2000)，以此基礎，顯示攝食轉殖的DNA量與非轉殖的DNA正常攝取量相比較，是微不足道的。

DNA的正常代謝結果，是被酵素和酸催化水解成小分子量片段，及最後還原成組成DNA的元件-核苷酸。反芻動物消化的植物蛋白在進入十二指腸前，估計已將85%以上植物的DNA還原成核苷酸(McAllan, 1982)。無庸置疑的，轉殖DNA亦會遭受相似的代謝結果。最近Rasche(1998)研究顯示，抗glufosinate殺草劑的轉殖DNA對豬、鷄和牛的消化液穩定性，該DNA在37°C，pH 1.5下1小時內會完全降解成核苷酸。另外餵食含有抗殺草劑黃豆或抗蟲玉米的牛(Klotz and Einspanier, 1998)、鷄(Einspanier *et*

al., 2001)或豬(Weber and Richert, 2001)的類似研究中，是以靈敏的PCR放大技術偵測動物的相關產物，結果並未發現含有任何CP4 EPSPS 酵素或蘇力菌Cry1Ab 蛋白之轉殖基因片段。

五、膳食蛋白的代謝結果觀點

一般攝入性蛋白需經哺乳動物消化道的酸性和水解酵素作用，逐漸地降解成小片段而被腸道吸收，因此，除了牛奶中提供新生兒被動免疫球蛋白(IgA)被直接吸收，及較小的蛋白質或較大的多**胜肽**被腸道中的單核白血球吸收外，完整的蛋白質是不能透過腸道壁所吸收(MacKenzie and McLean, 2002)。換言之，膳食蛋白在營養學上不是無法消化而直接排出，就是以小**胜肽**和胺基酸的形式被吸收。

導入基改作物的新蛋白，可藉由分析純化的蛋白在人工胃液和腸液之體外消化穩定性試驗，以及測試此蛋白是否能存於牲畜動物的產品中，以評估被消化之情形，結果發現除了蘇力菌的Cry9C 蛋白可在胃蛋白酶(pH 2.0)作用下穩定4小時外，其餘所有表現在基改作物之新蛋白，均可在體外的人工胃液中快速降解(MacKenzie and McLean, 2002)。另外已有研究顯示，飼料中之轉殖蛋白不能在動物產品中發現，牛隻餵食含有抗glutofosinate 殺草劑和抗蟲的玉米，並未發現任何不良影響，且牛奶的產量和組成均與餵食對照組的相同(Faust and Miller, 1997)；另外，牛奶中亦未發現含有蘇力菌Cry1Ab 或殺草蛋白(phosphinothricin-N-acetyltransferase, PAT)。同樣地，在餵食抗glyphosate 基改黃豆的蛋鷄上進行類似的研究，分析CP4 EPSPS 蛋白是否存於全蛋、蛋白、肝和排泄物中，結果利用酵素免疫分析方法(ELISA)並未發現任何樣品中含有該轉殖蛋白(Ash *et al.*, 2000)。日本以 StarLink[®] 玉米餵飼鷄隻，並未發現其肌肉、肝或血液中含有蘇力菌Cry9C 蛋白(Japan MaFF, 2001)。另外，Weber和Richert (2001)研究豬隻在餵食抗蟲玉米的試驗中，豬隻的肌肉組織中並未發現完整的蘇力菌Cry1Ab 蛋白或具有免疫功能的片段。

結 論

目前各國相繼發表基改產品安全評估方法，唯尚未有較一致的規範，不過綜合目前的研究顯示，在發展基改產品安全測試規範上已有很大的改進，特別是過敏性評估中，加入動物模式項目，使得基改作物的安全評估更趨於完善。雖然食品和飼料中的蛋白質和DNA，無論是由基改作物還是非基改作物中獲得，一般均會經正常的消化過程降解；商品化基改作物作為牲畜飼料成分的試驗中，未發現明顯的營養組成改變、產生有害影響的物質或動物產品中含有轉殖DNA 或蛋白質之蹤跡；加上

基轉蛋白(如蘇力菌蛋白)在農業上使用的歷史，或基轉蛋白與已存在成分的相似性，可對基改作物提供一部份實質可信的安全性。然而，基改產品實際應用時間尚短，其外源表現物質、篩選基因及母本組成份特性改變等，是否對人體造成風險，仍需進行相關的風險評估，及進一步的嘗試發展更具敏感度、專一性和再現性的基改產品安全評估方法，甚至利用基因體(genomics)或蛋白質體(proteomics)的研究，以強化基改產品之安全性及消弭消費者的疑慮。