

# Ricin – terapeutisk agens og biologisk våpen

## Sammendrag

I den senere tid er det gjort flere suspekte funn av planteproteinet ricin, blant annet i det amerikanske senatet i februar 2004. Stoffet er gitt stor oppmerksomhet i mediene, av frykt for at det kan brukes i forbindelse med bioterrorisme og biologisk krigføring. Vi ønsker derfor i denne artikkelen å gi en oversikt over ricins egenskaper og bruksmuligheter.

Ricin er et meget toksisk planteprotein som dreper celler ved å inaktivere ribosomer. Det er dødelig i små doser og har potensial for bruk både i medisinsk behandling og i forbindelse med bioterrorisme.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på [www.tidsskriftet.no](http://www.tidsskriftet.no)

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

## Gudrun Høiseth

[gugu@fhi.no](mailto:gugu@fhi.no)

Divisjon for retts toksikologi og rusmiddelforskning  
Nasjonalt folkehelseinstitutt  
Postboks 4404 Nydalen  
0403 Oslo

## Sjur Olsnes

Avdeling for biokjemi  
Institutt for kreftforskning  
Rikshospitalet-Radiumhospitalet

Etter funnet av ricin i det amerikanske senatet i februar 2004 har stoffet vært omtalt i mediene som et mulig våpen for terroristorganisasjoner. Dette planteproteinet har imidlertid også et terapeutisk potensial. Vi vil med denne oversiktsartikkelen gi en fremstilling av ricins virkningsmekanisme, kliniske effekter og mulige bruksområder.

Ricin er et planteprotein som finnes i kastorbønnene fra planten kristpalme (*Ricinus communis*) (1). Planten er utbredt i deler av Afrika, middelhavslandene og andre subtropiske områder, og den benyttes som prydpilant i Norden. Kastorbønnene inneholder

1–5 vektprosent ricin (2) og brukes til fremstilling av olje. Denne oljen (som er renset for toksin) brukes mest som smørelje i industrien, men også noe som avføringsmiddel med navnet lakserolje (3). Toksinet ricin kan fremstilles fra avfallsstoffene etter denne prosessen, og tatt i betraktning den store mengden kastorolje som produseres på verdensbasis, er tilgangen på ricin rikelig (4) (fig 1).

## Virkningsmekanisme

Ricin er et protein bestående av to deler som er knyttet sammen med en disulfidbro. A-kjeden er et ribosominaktiverende protein, og B-kjeden er et lectin som binder seg til sukkerholdige reseptorer på målcellens overflate (5, 6) (fig 2).

Planteriket inneholder rikelig med både ribosominaktiverende proteiner og lectiner. Det er først når disse kombineres, at de oppnår toksisitet, siden det ribosominaktiverende proteinet er avhengig av et molekyl for å binde til målcellen (3). Noen bakterietoksiner, som shiga, kolera og antraktoksinet, har en liknende oppbygging av en toksisk A-del og en reseptorbindende B-del, og tilhører således samme familie som ricin (7).

Ricin produseres i plantens endoplasmatiske retikulum. Det fraktes derfra videre til golgiapparatet, der en endopeptidase spalter det i A-kjeden og B-kjeden, før det fraktes ut i vesikler. Ricin er ikke biologisk aktivt før spaltingen er gjennomført. Slik beskytter plantecellen seg selv mot giften, da ricinmolekyler som skal degraderes, fraktes direkte fra endoplasmatiske retikulum og ut i cytosol (7).

Når ricin skal utøve sin toksiske virkning, binder B-kjeden seg til glykoproteiner og glykolipider på overflaten av målcellen, hvor det tas opp ved endocytose. Det transporteres så via golginettverket til endoplasmatiske retikulum hvor A-kjeden translokteres ut i cytosol (8, 9). Her utøver A-kjeden den cytotoxiske effekten som består i at en adeningruppe fjernes fra målcellens 28s-rRNA (10). Ribosomer med slike depurinerte rRNA-molekyler er ikke lenger i stand til å gjennomføre proteinsyntese. Dermed dør cellen.

A-kjeden er et meget effektivt enzym og depurineringen av rRNA går så fort at cellen ikke rekker å regenereres, teoretisk kan derfor ett ricinmolekyl drepe en celle (7). Det er derimot kun en liten del av ricinmolekylene som kan utøve den toksiske effekten, da en stor andel av ricinmolekylene vil transporteres tilbake til celleoverflaten eller inn i lysosomer for degradering (5) (fig 3).



**Figur 1a** Kristpalme (*Ricinus communis*).  
Foto Corbis/SCANPIX

## Effekter

Symptomer ved ricinforgiftning vil avhenge av administrasjonsform. Skade på endotelceller i kar, lunge og tarm vil føre til væske- og proteinlekkasje (2). Forgiftning med ricin gir også leverskade med forhøyede verdier av leverenzymene (2, 11–13). Etter injeksjon av ricin i mus vil 50 % av injisert dose finnes igjen i lever (14). Noe av denne hepatotoksiske effekten er antatt å være sekundær til skade på karendotel og nedsatt blodforsyning til levercellene, med etterfølgende skade på kupfferceller og nedsatt forsvar mot endogene toksiner (2, 12, 15, 16).

Peroral forgiftning med ricin er beskrevet etter inntak av kastorbønner og er ikke uvanlig i land der disse dyrkes. Det er rapportert om hele 700 forgiftninger etter inntak av

## Hovedbudskap

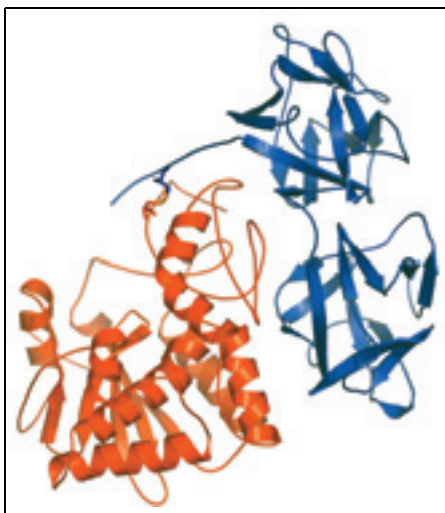
- Ricin er et toksisk planteprotein som finnes i planten kristpalme
- Virkningsmekanismen for den toksiske effekten er inaktivering av ribosomer
- Ricin er et potensielt terapeutisk agens mot blant annet cancersykdom, men er også blitt brukt i forbindelse med bioterrorisme



**Figur 1b** Kastorbønner. Foto Marianne Loraas

kastorbønner (17, 18), men kun noen få dødsfall er omtalt i artikler (4). Det er gjengitt symptomer i form av blodig oppkast og diaré, og døden inntraff etter 6–14 dager som følge av dehydrering, hypovolemi og sirkulatorisk kollaps (4, 19). Mye av ricin-proteinet destrueres i mage-tarm-kanalen, og ricin er derfor 100 ganger mer toksisk ved parenteral administrasjon (3, 20). Fatal dose ved peroralt inntak av ricin hos menneske er estimert til å være 1 mg/kg (2) eller fem til ti kastorbønner (3, 18).

I litteraturen finnes det ett dødsfall etter injeksjon av ricin hos menneske. I 1978 ble Georgi Markov, en bulgarsk antikommunist, drept i London. Han døde etter at hemmelige agenter, trolig fra KGB, stakk ham med spissen på en paraply som inneholdt en liten kule



**Figur 2** Struktur av ricin. Figuren viser A-kjeden (rødt) og B-kjeden (blått) som bindes sammen av en disulfidbro (oransje). Strukturen er produsert av forfatterne ved hjelp av dataprogrammet Pymol

med det som ble antatt å være ricin. Markov utviklet høy feber, glandelsvulst, blodig oppkast og leukocytose i løpet av ett døgn. Tre dager senere hadde han nyresvikt og døde. Det kliniske bildet liknet blodforgiftning med multiorgansvikt, men blodkulturene var negative. Ved obduksjon ble en liten kule funnet i leggmuskulaturen. Obduksjonen viste også hemoragiske nekroser i tarmvegg, hjertemuskulatur og lymfeknuter. Ved injisering av ricin i gris oppstod de samme kliniske symptomer og patologiske funn som hos Markov (21, 22).

Det er i ettertid antatt at denne paraplyteknikken ble brukt i ytterligere seks tilfeller og i minst ett tilfelle ble ricin faktisk påvist (3).

Inhalasjon av ricin hos menneske er ikke beskrevet i litteraturen, men er studert i dyreforsøk. Inhalasjon er trolig den mest toksiske administrasjonsformen med estimert dødelig dose hos menneske 10 µg/kg (2, 23). Ricin fører til inflammasjon i bronkier og alveoler samt lungeødem som følge av endotelskade (2, 4, 24, 25). Symptomer vil være uttalte i løpet av åtte timer, og respirasjonssvikt kommer etter 36–72 timer (24).

### Bruk

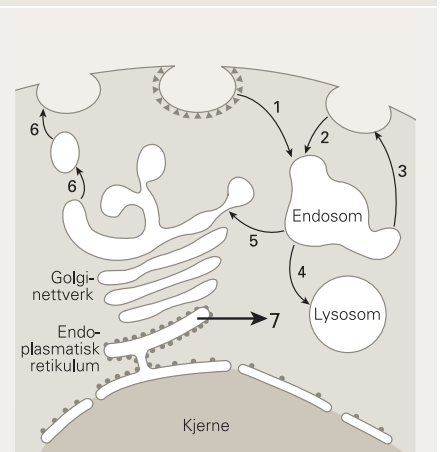
Ricin har potensial både som terapeutisk agens og som biologisk våpen (26, 27). Siden ricinmolekylet består av to deler, er det forsøkt å bytte ut den reseptorbindende delen med et molekyl som binder seg spesifikt til én celletype, for eksempel en cancer-celle (3, 7). Dette gav lovende resultater i dyreforsøk, og fase I- og II-studier ble igangsatt. Pasienter med blant annet lymfom, nyrekreft og sarkom fikk behandling med ricin, og selv om det så ut til at behandlingen hadde effekt, viste disse studiene bivirkninger som ikke var sett i dyrestudiene. Pasientene opplevde forkjølelsesliknende symptomer og myalgier, samt oppkast og

diaré (4, 27–30). Ved høyere doser ble det også sett lekkasje av væske og protein fra kar og ut i interstitiet (vascular leak syndrome), som følge av økt karpermeabilitet (28, 31). Dette gir i sin mildeste form hypoalbuminemi, men kan også føre til alvorlige kliniske symptomer i form av ødemer, nedsett mikrosirkulasjon, lungestuvning og nyresvikt (32, 33). Videre studier ble derfor avlyst (3).

Mediene har omtalt ricin som biologisk våpen, og spredning av aerosoler eller forgiftning av mat/drikkevann kan tenkes å skade et stort antall mennesker (24). Ricin er et stabilt molekyl som tåler så vel høye som lave temperaturer, men ødelegges ved koking (34). Det har lyktes å fremstille vaksiner som beskytter mot ricinforgiftning (5, 23, 35, 36), og man vil også oppnå en viss beskyttelse med antiserum hvis dette blir gitt innen kort tid etter ricinforgiftning (37). For øvrig finnes det ingen effektiv behandling (24). Ricin kan nå påvises i serum og andre kroppsvæsker, blant annet med ELISA-teknikk (4, 24, 38). Det har vært vanskelig å påvise ricin i kroppsvæsker ved hjelp av kromatografiske metoder, men molekylet ricinin, som også finnes i kastorbønner og indikerer eksponering for ricin, kan påvises i urin med gass- eller væskrokromatografi/massespektrometri (39, 40).

Det har vært en rekke hendelser med ricin omtalt i mediene i den senere tid. I januar 2003 ble seks menn arrestert i London for besittelse av ricin. Fire av disse var tilknyttet Al Quaida-nettverket. I februar 2004 ble stoffet funnet i det amerikanske senatet.

**Figur 3**



*Internalisering av ricin i målcellen: 1 + 2. Endocytose. 3. Mange ricinmolekyler returneres til celleoverflaten ved eksocytose, eller de blir 4. degradert i lysosomer. 5. Ricinmolekylene overføres til golginettverk og endoplasmatisk retikulum, men også mange av disse molekylerne 6. transporteres ut av cellen ved eksocytose. 7. Frigjøring av A-kjeden til cytosol for å utføre den cytotoxiske effekten*

Ingen av dem som oppholdt seg i den aktuelle etasjen utviklet symptomer på ricinforgiftning, og det ble heller ikke påvist ricin i serum hos noen av disse (41).

Dersom ricin skal drepe et stort antall mennesker, må svært store mengder av stoffet brukes, og dette kan være logistisk vanskelig. Toksisiteten av ricin er lavere enn for eksempel av botulinumtoksin (42). Derfor anses faren for at ricin skal bli brukt mot store folkemengder som relativt liten. Vi kan allikevel komme til å høre om ricin i fremtiden. Det vil kunne skje i forbindelse med terroristgrupper, som ved å vise at de har tilgang på et stoff man vanskelig kan beskytte seg mot, sprer stor frykt i befolkningen, men forhåpentligvis også ved at ricins egenskaper utvikles slik at det kan utnyttes terapeutisk.

*Manuskriptet ble godkjent 23.6. 2005.*

#### Litteratur

- Olsnes S, Refsnes K, Pihl A. Mechanism of action of the toxic lectins abrin and ricin. *Nature* 1974; 249: 627–31.
- Bradberry SM, Dickens KJ, Rice P et al. Ricin poisoning. *Toxicol Rev* 2003; 22: 65–70.
- Olsnes S. The history of ricin, abrin and related toxins. *Toxicon* 2004; 44: 361–70.
- Doan LG. Ricin: mechanism of toxicity, clinical manifestations, and vaccine development. A review. *J Toxicol Clin Toxicol* 2004; 42: 201–8.
- Marsden CJ, Knight S, Smith DC et al. Insertional mutagenesis of ricin A chain: a novel route to an anti-ricin vaccine. *Vaccine* 2004; 22: 2800–5.
- Olsnes S, Fernandez-Puentes C, Carrasco L et al. Ribosome inactivation by the toxic lectins abrin and ricin. Kinetics of the enzymic activity of the toxin A-chains. *Eur J Biochem* 1975; 60: 281–8.
- Olsnes S, Kozlov JV. Ricin. *Toxicon* 2001; 39: 1723–8.
- Spooner RA, Watson PD, Marsden CJ et al. Protein disulphide-isomerase reduces ricin to its A and B chains in the endoplasmic reticulum. *Biochem J* 2004; 383: 285–93.
- Lord MJ, Jolliffe NA, Marsden CJ et al. Ricin. Mechanisms of cytotoxicity. *Toxicol Rev* 2003; 22: 53–64.
- Endo Y, Mitsui K, Motizuki M et al. The mechanism of action of ricin and related toxic lectins on eukaryotic ribosomes. The site and the characteristics of the modification in 28 S ribosomal RNA caused by the toxins. *J Biol Chem* 1987; 262: 5908–12.
- Balint GA. Ultrastructural study of liver cell damage induced by ricin. *Exp Toxicol Pathol* 2000; 52: 413–7.
- Bingen A, Creppy EE, Gut JP et al. The Kupffer cell is the first target in ricin-induced hepatitis. *J Submicrosc Cytol* 1987; 19: 247–56.
- Palatnick W, Tenenbein M. Hepatotoxicity from castor bean ingestion in a child. *J Toxicol Clin Toxicol* 2000; 38: 67–9.
- Fodstad O, Olsnes S, Pihl A. Toxicity, distribution and elimination of the cancerostatic lectins abrin and ricin after parenteral injection into mice. *Br J Cancer* 1976; 34: 418–25.
- Kumar O, Sugendran K, Vijayaraghavan R. Oxidative stress associated hepatic and renal toxicity induced by ricin in mice. *Toxicon* 2003; 41: 333–8.
- Derenzini M, Bonetti E, Marionozzi V et al. Toxic effects of ricin: studies on the pathogenesis of liver lesions. *Virchows Arch B Cell Pathol* 1976; 20: 15–28.
- Balint GA. Ricin: the toxic protein of castor oil seeds. *Toxicology* 1974; 2: 77–102.
- Wedin GP, Neal JS, Everson GW et al. Castor bean poisoning. *Am J Emerg Med* 1986; 4: 259–61.
- Rauber A, Heard J. Castor bean toxicity re-examined: a new perspective. *Vet Hum Toxicol* 1985; 27: 498–502.
- Ishiguro M, Matori Y, Tanabe S et al. Biochemical studies on oral toxicity of ricin. V. The role of lectin activity in the intestinal absorption of ricin. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1992; 40: 1216–20.
- Knight B. Ricin – a potent homicidal poison. *BMJ* 1979; 1: 350–1.
- Crompton R, Gall D. Georgi Markov – death in a pellet. *Med Leg J* 1980; 48: 51–62.
- Smallshaw JE, Firan A, Fulmer JR et al. A novel recombinant vaccine which protects mice against ricin intoxication. *Vaccine* 2002; 20: 3422–7.
- Rosenbloom M, Leikin JB, Vogel SN et al. Biological and chemical agents: a brief synopsis. *Am J Ther* 2002; 9: 5–14.
- DaSilva L, Cote D, Roy C et al. Pulmonary gene expression profiling of inhaled ricin. *Toxicon* 2003; 41: 813–22.
- Weissmann-Brenner A, Brenner B, Kats L et al. [Ricin – from a Bulgarian umbrella to an optional treatment of cancer.] *Harefuah* 2002; 141: 153–6, 222.
- Fodstad O, Kvalheim G, Godal A et al. Phase I study of the plant protein ricin. *Cancer Res* 1984; 44: 862–5.
- Sausville EA, Headlee D, Stetler-Stevenson M et al. Continuous infusion of the anti-CD22 immunotoxin IgG-RFB4-SMPT-dgA in patients with B-cell lymphoma: a phase I study. *Blood* 1995; 85: 3457–65.
- Kung AH, Cavagnaro JA, Makin A et al. Toxicologic evaluations of an immunotoxin, H65-RTA. *Fundam Appl Toxicol* 1995; 26: 75–84.
- Schnell R, Borchmann P, Staak JO et al. Clinical evaluation of ricin A-chain immunotoxins in patients with Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol* 2003; 14: 729–36.
- Baluna R, Vitetta ES. An in vivo model to study immunotoxin-induced vascular leak in human tissue. *J Immunother* 1999; 22: 41–7.
- Fishel RS, Are C, Barbul A. Vessel injury and capillary leak. *Crit Care Med* 2003; 31 (8 suppl): 502–11.
- Smallshaw JE, Ghetie V, Rizo J et al. Genetic engineering of an immunotoxin to eliminate pulmonary vascular leak in mice. *Nat Biotechnol* 2003; 21: 387–91.
- Olsnes S, Refsnes K, Christensen TB et al. Studies on the structure and properties of the lectins from *Abrus precatorius* and *Ricinus communis*. *Biochim Biophys Acta* 1975; 405: 1–10.
- Lemley PV, Thalley BS, Stafford DC. Prophylactic and therapeutic efficacy of an avian antitoxin in ricin intoxication. *Ther Immunol* 1995; 2: 59–66.
- Olson MA, Carra JH, Roxas-Duncan V et al. Finding a new vaccine in the ricin protein fold. *Protein Eng Des Sel* 2004; 17: 391–7.
- Ehrlich P. Experimentelle Untersuchungen über Immunität. *Dtsch Med Wochenschr* 1891; 17: 976–9.
- Poli MA, Rivera VR, Hewetson JF et al. Detection of ricin by colorimetric and chemiluminescence ELISA. *Toxicon* 1994; 32: 1371–7.
- Johnson RC, Lemire SW, Woolfitt AR et al. Quantification of ricinine in rat and human urine: a biomarker for ricin exposure. *J Anal Toxicol* 2005; 29: 149–55.
- Darby SM, Miller ML, Allen RO. Forensic determination of ricin and the alkaloid marker ricinine from castor bean extracts. *J Forensic Sci* 2001; 46: 1033–42.
- CNS WMD Terrorism Research Project. Chronology of incidents involving ricin. [http://cns.miis.edu/pubs/reports/ricin\\_chron.htm](http://cns.miis.edu/pubs/reports/ricin_chron.htm) (15.3.2005).
- Luvisetto S, Rossetto O, Montecucco C et al. Toxicity of botulinum neurotoxins in central nervous system of mice. *Toxicon* 2003; 41: 475–81.