

[別紙 2]

## 論文審査の結果の要旨

ポアポラテップ・アムナー ト  
申請者氏名 POAPOLATHEP・Amnart

ニバレノール (nivalenol, NIV)はフサリウム属真菌によって産生されるトリコテセンマイコトキシシン (TMT) である。世界各地で NIV による穀物の汚染が報告され、大きな問題となっている。TMT はリンパ造血系組織などの細胞分裂活性の高い組織を傷害することが知られているが、NIV によるリンパ系組織傷害の性状および NIV の生体内動態は不明な点が多い。本研究ではこれらの点を明らかにする目的で、マウスを用いた実験的検索を実施した。得られた結果は下記の通りである。

### 1. リンパ系組織における NIV 誘発アポトーシスとアポトーシス関連遺伝子の発現

5 週齢の ICR:CD1 雄マウスに NIV を経口投与し、経時的にリンパ系組織のアポトーシスの推移を検索した。ついで、NIV 投与マウスの胸腺でのアポトーシスとアポトーシス関連遺伝子の mRNA の発現を経時的に検索した。

その結果、リンパ系組織におけるアポトーシス細胞は胸腺およびパイエル板で脾臓よりも早期に発現し、用量依存性に増加、その程度は胸腺およびパイエル板で脾臓よりも高度であった。これらの所見はリンパ組織間で NIV 感受性のリンパ球ポピュレーションが異なることを示している。アポトーシスリンパ球は核濃縮あるいは核崩壊を呈し、これらの核は TUNEL 法で強陽性であった。一方、こうしたアポトーシスの発現に先立ち、*c-fos* および *c-jun* mRNA 発現が増加し始め、1HAI でピークに達した。*Fas*、*p53*、*bcl-2* および *c-myc* mRNA の発現量に変化は見られなかった。

上記の結果から、NIV がリンパ系組織にアポトーシスを誘発すること、および *c-fos* と *c-jun* が NIV 誘発リンパ球アポトーシスに重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

### 2. リンパ系組織および胸腺細胞初代培養系における NIV 誘発アポトーシスとリンパ球サブセットの変動

5 週齢 BALB/c 雌マウスに NIV を経口投与し、胸腺、パイエル板、腸間膜リンパ節および脾臓について FACSscan を用いてアポトーシス細胞およびリンパ球サブセットの変動を解析した。ついで、BALB/c 雄マウスの胸腺から胸腺細胞を分離して作出した初代培養系に NIV を添加し、リンパ球アポトーシスおよびリンパ球サブセットの変動を検索した。

その結果、NIV はパイエル板を最初に傷害し、また、胸腺を最も強く障害した。胸腺では、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>細胞の選択的な傷害が観察された。CD4<sup>+</sup>細胞はパイエル板、腸間膜リンパ節、脾臓で、それぞれ明瞭に減少した。CD8<sup>+</sup>細胞は腸間膜リンパ節と脾臓で、それぞれ有意に減少した。B 細胞サブセットは、腸間膜リンパ節では、全ての B 細胞サブセットが有意に減少し、脾臓では IgM<sup>+</sup>細胞が有意に減少した。パイエル板では pan-T および pan-B 細胞が有為に減少したのに続き、全ての B 細胞サブセット、特に IgA<sup>+</sup>細胞が有意に増加した。胸腺細胞初代培養系を用いた実験では、アポトーシス細胞数は NIV 添加群で用量および時間依存性により増加した。CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>細胞数は時間依存性に明瞭に減少したが、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>および CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>細胞数は明瞭な低下を示さなかった。

以上のことから、NIV は胸腺細胞、とくに CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>細胞を直接傷害し、アポトーシスを惹起することが明かとなった。

### 3. NIV の生体内動態

4 週齢 ICR:CD-1 雌マウスに<sup>3</sup>H-NIV 経口投与した後、代謝ケージを用いて糞便と尿を分離採取し、その放射能を測定した。さらに<sup>3</sup>H-NIV 投与後、経時的に胆汁および各臓器を採取し、含有放射能を測定した。

その結果、投与した放射能の大部分は投与後 24HAI 以内に主に糞便中に排泄され、約 1/4 が尿中に排泄された。血漿中放射能レベルは投与後直ちに上昇し、1HAI に最高値を示してから、10HAI まで急激に減少した。<sup>3</sup>H-NIV の分布半減期および生物学的半減期はそれぞれ 2.53 時間および 12.34 時間であること、また、60HAI 以内に 97%の<sup>3</sup>H-NIV が排泄されることが示された。各組織中の放射能レベルは消化管を除き、血漿レベルの変化にほぼ一致した。胆汁中放射能レベルは尿中のそれよりも顕著に低かった。HPLC 分析の結果、NIV の大部分が代謝変換されずに排泄されることが示された。また、妊娠および哺乳母マウスに<sup>3</sup>H-NIV を経口投与したところ、胎盤および母乳を介して乳児に移行することが示された。

以上の結果から、経口投与された NIV はほとんどが糞に排泄されるが、ごく一部が消化管より吸収され全組織に速やかに分布してから未変化のまま排泄されることが明らかとなった。

本研究の結果、マウスにおける NIV の毒性学的特徴が明らかにされた。本研究の成果は家畜や人における NIV 中毒の毒性学的性状を理解する上で非常に有用である。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位を授与するに値するものと認めた。