

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

せはた しんや
申請者氏名 瀬 畑 信 哉

T-2 toxin は *Fusarium* 属の真菌により産生されるマイコトキシンである。T-2 toxin による汚染は食物、飼料、農産物に認められ、その発生は世界中で報告されており、今日でも依然として重要な問題となっている。T-2 toxin は、リンパ系臓器をはじめ種々の組織にアポトーシスが生じることが知られている。また、T-2 toxin は遺伝毒性に加え胎児毒性も有していることが報告されている。しかし、妊娠動物における毒性については報告が少なく、毒性発現のメカニズムについては未だ不明である。そこで、本研究では、T-2 toxin を妊娠ラットに投与して、肝臓、胎盤、胎児肝臓および胎児脳を対象に、病理組織学的変化と遺伝子発現の変化を検索し、妊娠ラットにおける T-2 toxin の毒性発現のメカニズムの解明を試みた。

まず初めに、器官形成期にあたる妊娠 13 日齢の Wistar ラットに T-2 toxin (2 mg/kg) を単回経口投与し、投与 24 および 48 時間後に解剖し、病理学的検査を実施した。その結果、胸腺、肝臓、小腸陰窩上皮等に単細胞壊死の増数が認められた。胎盤では栄養膜細胞に単細胞壊死の増数が認められた。胎児では、肝臓の肝細胞および造血細胞、神経上皮細胞等に単細胞壊死の増数が認められた。これらの結果から、T-2 toxin を妊娠ラットに投与すると、親組織、胎盤および胎児組織で同様な性状の変化、すなわち単細胞壊死が誘導されることが明らかになった。これら認められた単細胞壊死は、TUNEL 染色結果から、アポトーシスであると考えられた。

次に、T-2 toxin のより詳細な毒性発現メカニズムを検索するため、経時的な形態学的変化とその際の遺伝子発現プロファイルの解析を実施した。すなわち、妊娠ラットに T-2 toxin (2 mg/kg) を単回経口投与し、投与 24 時間まで経時的に解剖し、肝臓、胎盤および胎児肝臓を採材した。病理組織学的検査では、肝臓、胎盤および胎児肝臓で投与により TUNEL 陽性アポトーシス細胞数が増加した。この結果を基に、3 ポイントを選択してマイクロアレイ解析を実施した。チップは Affymetrix Rat Genome U34A チップを用いた。その結果、酸化ストレス関連遺伝子、アポトーシス関連遺伝子、脂質代謝および薬物代謝関連遺伝子の発現の変化が、これら 3 つの組織に共通して認められた。また、アポトーシス関連遺伝子としては、*p53*, *p21*, *Bax-alpha*, *c-jun*, *MEKK1* 等の発現の増加が認められた。これらのなかでは、特に *c-jun* の発現の増加が、肝臓、胎盤および胎児肝臓に共通して検出された。このため、MAPK 経路の活性化を経て、*c-jun* 遺伝子の発現増加によりアポトーシスが生じることが推察された。以上の結果から、T-2 toxin は酸化ストレスを誘導し、脂質代謝をはじめとする代謝の変化等により細胞内環境が変化し、MAPK, *c-jun* 経路が活性化してこれらの組織にアポトーシスが誘導されたものと推察された。

T-2 toxin は神経系にも作用することが知られている。前述したように、ラット胎児では、T-2 toxin 投与により終脳の神経上皮細胞を中心にアポトーシスが誘導された。しか

し、その発現メカニズムについては解明されていない。そこで、ラット胎児脳における毒性発現のメカニズムを解明する目的で実験を行った。上記実験と同様に、妊娠ラットに、T-2 toxin (2 mg/kg)を単回経口投与し、投与 24 時間後まで経時的に解剖した。TUNEL 染色の結果、終脳の神経上皮細胞のアポトーシスが、投与直後から増加した。そこで、遺伝子発現プロファイルを検索するため、3 ポイントを選択し、マイクロアレイ解析を実施した。その結果、アポトーシス細胞数がピークを示した投与 12 時間後では、酸化ストレス関連遺伝子の強い発現が認められた。アポトーシス関連遺伝子については、MAPK 経路のひとつである *MEKK1* および *c-jun* の発現の増加が認められた。以上の結果から、ラット胎児脳においては、T-2 toxin 投与により、酸化ストレスが誘導され、その結果、MAPK 経路の活性化が生じて、アポトーシスが誘導されるものと推察された。

本研究の結果、T-2 toxin 投与により、親肝臓、胎盤、胎児肝臓および胎児脳に共通した変化として、酸化ストレスおよびアポトーシスの誘導が認められ、妊娠ラットにおける T-2 toxin の毒性発現のメカニズムとして、T-2 toxin 投与による酸化ストレスの発生と、その結果生じる MAPK, *c-jun* 経路の活性化によるアポトーシスの誘導が重要であることが示唆された。これらはマイコトキシンの毒性発現機構の解析に極めて重要な知見をもたらすものである。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。