



Deoxynivalenol에 의한 생체독성 스크리닝 및 중독증 진단지표 확립

김은주 · 정상희 · 구현옥 · 강환구 · 조준형
국립수의과학검역원 독성화학과 독성평가연구실

Clinical and Toxicopathological Parameters for Deoxynivalenol Intoxication in B6C3F1 Mice

Eun-Joo Kim, Sang-Hee Jeong, Hyun-Ok Ku, Hwan-Goo Kang and Joon-Hyoung Cho

Toxicological Lab, Toxicological & Chemistry Division,
National Veterinary Research & Quarantine Service, 480, Anyang 430-824, Korea

Received December 7, 2007; Accepted December 14, 2007

Deoxynivalenol (DON) is a common foodborne mycotoxin and occurs predominantly in grains such as wheat, barley, oats, etc. DON induces systemic health problems such as loss of appetite, emesis and diarrhea in both human and farm animals. Reliable diagnostic parameters for DON intoxication are needed to prevent deep health impact. In order to establish useful diagnostic parameters, we investigated clinical signs, hematological values, serum biochemical values, gross-, histo- and toxico-pathological findings in B6C3F1 male mice after oral administration of DON (0.83, 2.5 and 7.5 mg/kg) for 8 days. Body weight gain was significantly decreased at the highest dose of DON. Anorexia, ataxia, fur crudness and lack of vigor were observed at the highest dose DON group. In hematological values, the numbers of WBC and platelets and hemoglobin content were reduced with decreased neutrophil and monocytes by 7.5 mg/kg DON. Prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (aPTT) were prolonged in a dose-dependent manner and the content of fibrinogen was elevated at high dose of DON. Of serum biochemical values, total protein, globulin, BUN, cholesterol and testosterone were reduced but total bilirubin and albumin/globulin ratio increased. The enzyme activity of alkaline phosphatase was decreased while that of alanine aminotransferase was elevated. Relative organ weights of thymus, seminal vesicle/prostate and testes were dose-dependently reduced but those of liver and left adrenal gland increased with dose dependency. As for pathological findings, atrophy of thymus, seminal vesicle/prostate and testes and submucosal edema and ulceration in stomach and depletion of lymphocytes in thymus cortex were observed. In conclusion, these clinical, hematological, blood biochemical and pathological parameters obtained in the present studies can be used for diagnosis of DON-mycotoxicosis, especially, low WBC, platelets, protein, BUN and testosterone and delayed prothrombin time can be available as for reliable diagnostic parameters.

Key words: Mycotoxins, Deoxynivalenol, Toxicosis, Diagnostic parameters.

서 론

곰팡이 독소(Deoxynivalenol, DON)는 자연적으로 발생하는 환경오염물질로서 트리코세신(trichothece) 그룹에 속하는 푸사리움(Fusarium) 속의 곰팡이에 의해 생

산되며 전세계적으로 옥수수, 밀, 보리 및 기타 곡물 등을 오염시켜 가축에서 사료섭취 거부 또는 감소, 구토, 증체량 감소, 면역기능 저하 등의 중독증을 유발하며 오염된 식품 섭취로 사람에게서 소화기계 및 면역기계 장애를 초래한다(Rotter *et al.*, 1996; WHO, 1990). DON은 저장 및 가공단계의 높은 온도에서 쉽게 파괴되지 않고 안정하기 때문에 식품을 통하여 노출되기 쉽고 기후 상 한국, 유럽 등 북반구 지역에서 다발한다(Creppy, 2002).

2001년 CODEX 식품첨가물오염물질 분과위원회(CCFAC)

Correspondence to: Sang-Hee Jeong, Toxicological Lab, Toxicological & Chemistry Division, National Veterinary Research & Quarantine Service, 480, Anyang 430-824, Korea
E-mail: jeongsh@nvrs.go.kr

및 FAO/WHO 합동 식품첨가물 전문가 위원회(JECFA)에서 DON의 위해성 평가와 잔류허용기준에 대한 검토가 있었으며, 일본에서는 2001년부터 사람과 가축에서의 안전성 확보 대책의 일환으로 DON에 대한 실태조사가 이루어지고 있으며, 2002년도에 맥류에서의 잔류허용기준을 1.1 ppm으로 설정하여 운용하고 있다(MHLW, 2006).

DON은 면역기계에 특이적으로 영향을 미치는 물질로서 림프조직의 세포괴사, 위축을 유발하고 리보솜(ribosome)과 결합하여 활발히 분열하고 있는 골수, 비장, 흉선 및 림프 세포 등 면역계 장기의 단백질 합성을 저해하여 면역기능을 저하시킨다(Betina, 1989; Thompson and Wannemacher, 1986). 아울러 DON은 구토독소로서 소화기능도 현저히 저하시키고 심한 경우 장출혈까지 유발한다. 가축에서는 특히 돼지가 민감하며 중독 시 사료 섭취량 감소, 구토, 증체량 감소, 면역기능 저하 등을 유발하여 가축의 생산성 저하를 초래한다(Meky et al., 2003).

일반적으로 DON 중독증의 진단은 임상증상, 병리조직학적 및 혈액학적 검사, 가검물 중의 독소검출 등에 의하나 DON은 체내에서 바로 대사되어 원인물질 검출이 어렵고 체계적인 생체 독성 지표에 대한 정보가 부족하여 DON 중독증의 진단에 어려움이 있다(Rotter et al., 1996; Kinser, 2004). 최근에는 림프조직 등으로부터의 단백질 발현양상 또는 기타 독성병리학적 지표들을 곰팡이 독소 중독증의 진단에 활용하는 연구가 진행되고 있다(Rotter et al., 1996). 따라서 DON 중독증의 진단을 위한 임상학적, 병리조직학적, 혈액학적, 혈액 화학적 및 독성병리학적 지표에 대한 체계적인 확립 및 적용에 의한 DON 중독증에 대한 진단효율의 향상이 요구되고 있다.

본 연구에서는 곰팡이 독소 중독증의 진단을 위한 생체 지표를 확립하기 위하여 B6C3F1 수컷 마우스에 DON을 투여하여 임상학적·혈액학적·혈액 화학적 병리조직학적 독성병리학적 변화를 관찰하여 DON 중독증의 진단을 위한 독성임상병리학적 지표를 확립하여 활용코자 하였다.

재료 및 방법

시험물질. 시험에 사용한 DON은 Sigma Chemicals (MO, USA)에서 구입하였고 각 투여군의 농도에 따라 평균 증류수에 녹여 사용하였다.

실험동물. 실험동물은 8주령 B6C3F1 수컷 마우스를 Charls River(일본)로부터 분양받아 SPF(Specific Pathogen Free) 실험동물실에서 1주일의 순화기간을 거친 다음 4개군으로 나누어 각 군당 8마리씩 8일간 투여 시험하였다. 순화 및 시험기간 동안 동물은 실내온도 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$,

상대습도 40~60%, 광주기 12시간, 정압 5.0~7.0의 SPF 환경에서 사육하였다. 동물은 실험동물용 마우스 케이지를 사용하여 케이지당 4마리씩 넣어 시험하였고, 사료는 실험동물용 사료(감마선 조사 사료, 퓨리나(주), 한국)를 자유로이 섭취시켰고, 물은 멸균, 소독하여 자유로 섭취시켰다.

투여량. DON 투여량은 0 mg/kg bw(용매, DW), 0.83 mg/kg bw, 2.5 mg/kg bw, 7.5 mg/kg bw으로 설정하였다.

투여방법 및 투여기간. 시험물질은 강제 경구투여 하였으며 마우스 경구투여용 존대를 사용하여 체중 kg당 10 ml씩 1일 1회 8일 동안 투여하였다. 대조군은 용매인 멸균 증류수만을 투여하였다.

일반증상 및 사망동물의 관찰. 순화기간을 포함하여 시험기간 중 모든 동물에 대하여 매일 2회 일정한 시간에 일반증상의 변화, 운동성, 외관 및 사망동물의 유무를 관찰하였다.

체중 측정. 시험기간 중 모든 동물의 체중은 투여 개시 전과 후에 매일 부검 전까지 측정하였다.

사료 및 음수 섭취량 측정. 실험 개시 후 매일 일정량의 사료와 음수를 같은 시각에 공급하고 같은 시각에 잔량을 측정하여 기록하였다.

부검 및 장기중량 측정. 부검 전날 밤부터 모든 동물은 절식시켰다. 에테르로 마취시킨 다음, 복대정맥으로부터 혈액을 채취하고 잔혈을 방혈시킨 후 모든 장기의 육안변화를 관찰하였다. 이후 전 실험동물에 대하여 뇌, 시상하부, 흉선, 폐, 심장, 간, 췌장, 비장, 신장, 부신, 고환, 부고환, 전립선을 채취하여 중량을 측정하였고 10% 포르말린 용액에 고정하였다.

혈액학적 검사. 혈액학적 검사를 위해 부검 시 복대정맥으로부터 채혈하여 EDTA(Ethylene diaminetetraacetic acid)로 항응고 처리하고 HemaVet(Drew, USA) 자동 혈구 계산기를 이용하여 백혈구 수(White Blood Cell, WBC) 및 백혈구 조성(호중구(Neutrophil, NE), 임파구(Lymphocyte, LY), 단핵구(Monocyte, MO), 호산구(Eosinophil, EO) 및 호염구(Basophil, BA)), 적혈구 수(Red Blood Cell, RBC), 혈색소량(Hemoglobin, Hb), 헤마토크리트(HCT), 평균적 혈구 용적(Mean Corpuscular Volume, MCV),

평균 적혈구 혈색소(Mean Corpuscular Hemoglobin, MCH), 평균 적혈구 혈색소농도(Mean Corpuscular Hemo globin Concentrtation, MCHC), 적혈구분포면적 (Red Cell Distribution, RDW), 혈소판(Platelet, PLT), 평균적혈구혈색소량(Mean Plasma Volume, MPV)을 측정하였고 혈액 응고인자인 프로트롬빈 시간(prothrombin time), 피브리노겐(fibrinogen), 트롬보플라스틴 시간(aPTT)을 혈액분석기(ACL 300 Plus 자동분석기)를 이용하여 측정하였다.

혈액 생화학적 검사. 부검 시 복대정맥으로부터 채취한 혈액의 일부를 30분간 4°C 냉장 보관하여 응고시킨 후 원심분리(3000 g, 15분)하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 Express 550(Ciba-Corning) 자동 생화학 분석기를 이용하여 총 단백질(Total protein, TP), 알부민(Albumin, Alb), Glb, A/G(Albumin/Glogulin), 알카라인 포스파타제(Alkaline phosphatase, ALP), 알라닌 트랜스아미나제(Alanine Transaminase, ALT), 아스파르테이트 트랜스아미나제(Aspartate Tansanimase. AST), 총 빌리루빈(Total billilubin, TB), 혈중 요소질소(Blood urea nitrogen, BUN), Ca, 콜레스테롤(Cholesterol, Chol) 함량을 측정하였다.

조직 병리학적 검사. 투여한 모든 동물의 육안적 병변을 관찰하고 조직 병리학적 검사를 위하여 분리된 림프절, 비장, 간, 신장을 고정 시킨 후 일반적인 조직 처리 과정을 거쳐 파라핀 포매, 박절하였다. Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색을 실시하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

혈청 중 테스토스테론 함량 조사. 혈청 중 테스토스테론 함량을 측정하기 위해 부검 시 복대정맥으로부터 채취한 혈액의 일부를 30분간 4°C 냉장 보관하여 응고시킨 후 원심 분리(3000 g, 15분)하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청을 테스토스테론 엘라이자 키트(DELFLIA, Finland)를 이용하여 테스토스테론 함량을 측정하였다.

혈청 중 면역글로불린 함량 조사. 혈청 중 면역글로불린 함량을 측정하기 위해 혈청을 면역글로불린 엘라이자 키트(Immunology Consultants Laboratory, Inc., USA)를 이용하여 IgG, IgA, IgM 및 IgE의 함량을 측정하였다.

통계처리. 모든 실험결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었으며 일원 배치 분산분석(one-way ANOVA analysis)을 하였으며, 분석 결과 군간 차이가 인정되면 Duncan's t test 비교법으로 p < 0.05, p < 0.01 수준에서 통계학적 유의성을 검정하였다.

결 과

임상증상. 시험기간 동안 사망개체는 없었으며 7.5 mg/kg bw 투여군에서 피부소양감, 피모조강, 체표냉감, 원기부족, 운동성저하 등이 관찰되었다.

체중 변화. 0.83 mg/kg bw, 2.5 mg/kg bw 투여군에서 지속적인 증가 추세를 보였으나 7.5 mg/kg bw 투여군에서는 투여 개시 후 2일 재부터 시험 종료 시까지 체중 및 증체량이 통계학적으로 유의하게 감소하였다(Fig. 1).

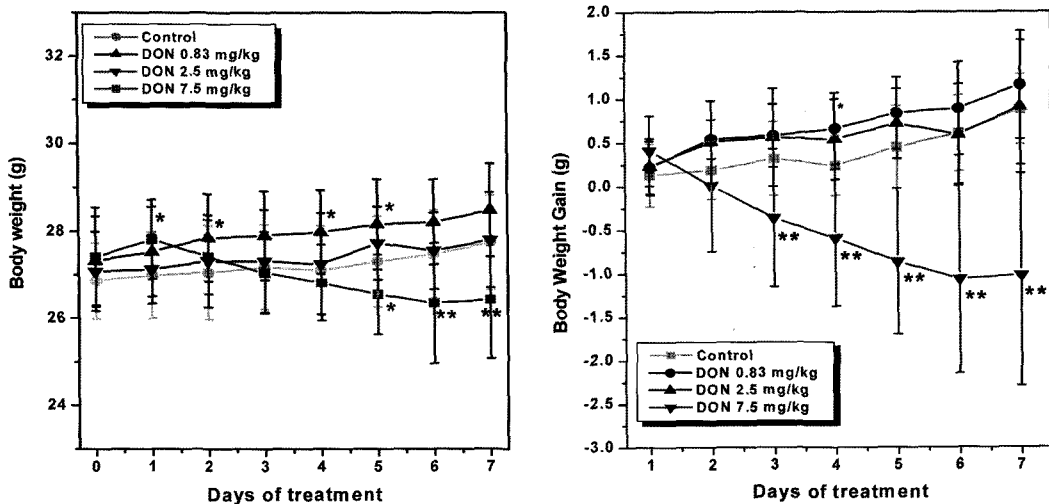


Fig. 1. Changes of body weight by the treatment of DON in B6C3F1 male mice. Mice were administered with each dose of DON by gavage once per day for 8 days. Values are mean±SD of 8 replica. *, **: statistically significant at p < 0.05 and p < 0.01, respectively.

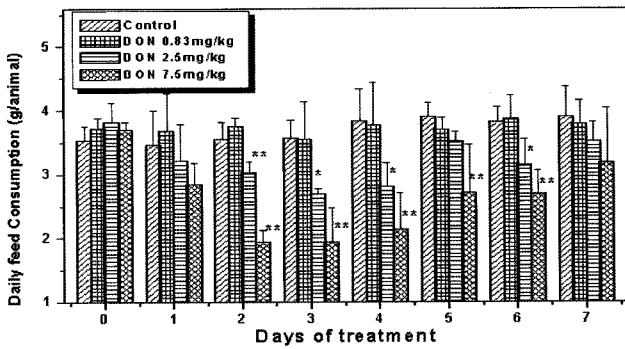


Fig. 2. Changes of daily feed consumption by the treatment of DON in B6C3F1 male mice. Mice were administered with each dose of DON by gavage once per day for 8 days. Values are mean \pm SD of 8 replica. *, **: statistically significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

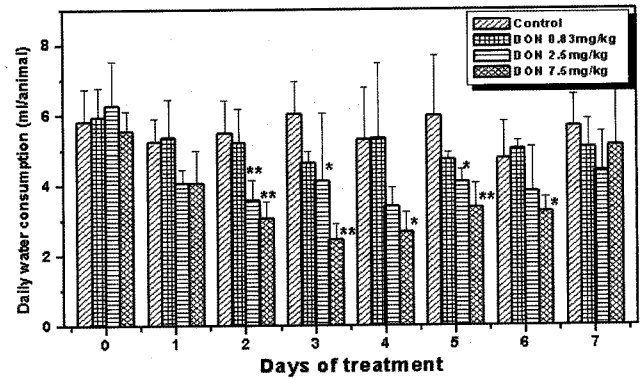


Fig. 3. Changes of daily water consumption by the treatment of DON in B6C3F1 male mice. Mice were administered with each dose of DON by gavage once per day for 8 days. Values are mean \pm SD of 8 replica. *, **: statistically significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

사료 및 음수 섭취량 변화. 2.5 mg/kg, 7.5 mg/kg 투여군에서 사료 섭취량 및 음수량이 감소하였다(Fig. 2, 3).

육안적 소견. 부검 시 육안소견으로서 흉선 및 전립선 위축이 2.5 mg 및 7.5 mg/kg bw 투여군에서 관찰되었으며, 7.5 mg/kg bw 투여군에서는 위대만부의 팽배, 궤양 및 유백색 변성, 위점막의 경변 및 비후, 간장의 창백, 유약, 변연부 둔화 및 종대, 췌장의 유백색 변성, 비장, 장관막 림프절, 전립선정낭선, 부고환 및 고환의 위축 등이 관찰되었다(Table 1, Fig. 4).

장기 무게 변화. 흉선 및 전립선의 절대 장기중량은 감소하였으나, 간장은 용량 의존적으로 증가하였다(Table 2). 체중대비 상대 장기중량은 흉선, 정낭선, 전립선(용량

의존적) 및 고환은 감소하였으나, 간장 및 좌측 부신은 용량 의존적으로 증가하였다(Fig. 5). 뇌 무게 대비 상대 장기중량은 흉선, 정낭선 및 전립선(용량 의존적) 및 고환은 감소하였으나, 간장(용량 의존적) 및 좌측 부신은 증가하였다(Fig. 6).

혈액학적 변화. 7.5 mg/kg bw 투여군에서 백혈구 수, 호중구수(비율) 및 단핵구수가 감소하였고, 임프구 비율은 증가하였으며, 헤모글로빈 및 혈소판 수는 감소하였고, 평균적혈구 혈색소량은 증가하였다(Table 3). 혈액응고인자로서 프로트롬빈시간이 용량 의존적으로 지연되었으며, 피브리노겐 함량이 증가하였고(7.5 mg/kg bw), 트롬보플라스틴 시간이 지연되었다(Fig. 7).

Table 1. Gross and histopathological findings by administration of DON in B6C3F1 male mice

Treatment	Gross findings	Histopathological findings
Control	NSL	NSL
DON 0.83 mg/kg	NSL	NSL
DON 2.5 mg/kg	• Thymus: Atrophy	• Thymus: Thymocytes depletion • Lymph node: Lympholysis • Liver: Vacuolation
DON 7.5 mg/kg	• Thymus: Atrophy • Liver: Paleness, pliableness, marginal thickness • Stomach: Enlargement of great curvature, ulcer lesion, milky degeneration • Pancreas: Milky degeneration • Spleen: Atrophy • Mesenteric Lymph node: Atrophy • Prostate, seminal vesicle, epididymis, testes: Atrophy	• Thymus: Thymocytes depletion • Liver: Vacuolation • Stomach: Mucosal ulceration, submucosal edema • Spleen: White pulp lympholysis • Lymph node: Lympholysis • Kidney: Tubular necrosis • Bone marrow: Hypocellulity

NSL: No significant lesion.

Mice were administered with 0.83, 2.5, 7.5 mg/kg bw of DON by gavage once per day for 8 days.

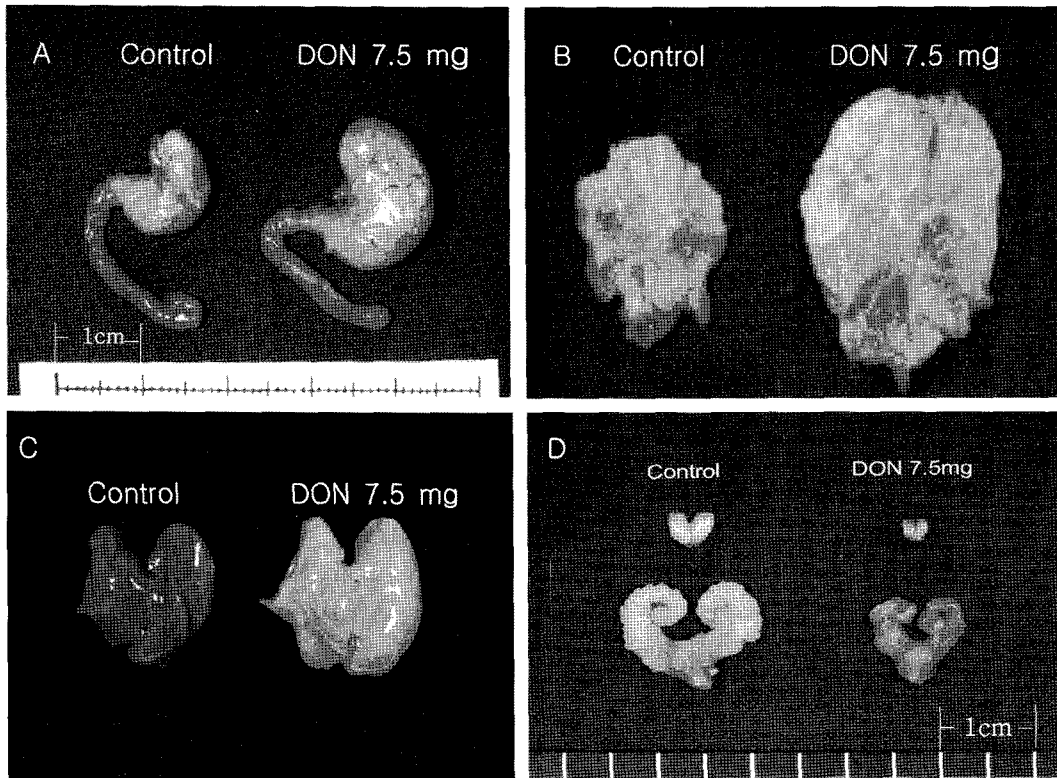


Fig. 4. Gross findings in stomach (A and B), liver (C), thymus (D-upper), seminal vesicle and prostate gland (D-lower) in B6C3F1 male mice treated with 7.5 mg/kg bw of DON. Dilatation and mucosal ulceration of stomach, hepatic discolorization and enlargement and atrophy of thymus, seminal vesicle and prostate gland were significantly observed in DON 7.5 mg/kg treated mice.

Table 2. Changes of organ weight by the administration of DON in B6C3F1 male mice (g)

Organs	Treatments (mg/kg bw)				
	Control	DON 0.83	DON 2.5	DON 7.5	
BW	25.26 ± 0.28	26.61 ± 1.07	26.21 ± 1.23	24.51 ± 1.53	
Brain	0.4796 ± 0.0182	0.4860 ± 0.0145	0.4843 ± 0.0070	0.4746 ± 0.0144	
Hypophysis	0.0018 ± 0.0003	0.0018 ± 0.0002	0.0017 ± 0.0002	0.0017 ± 0.0007	
Thymus	0.0344 ± 0.0031	0.0302 ± 0.0053**	0.0207 ± 0.0053**	0.0083 ± 0.0024*	
Lung	0.1322 ± 0.0071	0.1336 ± 0.0072	0.1349 ± 0.0106	0.1404 ± 0.0107*	
Heart	0.1233 ± 0.0090	0.1247 ± 0.0068	0.1179 ± 0.0117	0.1201 ± 0.0166	
Liver	0.9852 ± 0.0798	1.0438 ± 0.0864	1.0851 ± 0.1399*	1.1507 ± 0.1149**	
Pancreas	0.1053 ± 0.0491	0.1238 ± 0.0533	0.1771 ± 0.0474**	0.1372 ± 0.0411	
Spleen	0.0602 ± 0.0091	0.0668 ± 0.0118	0.0633 ± 0.0082	0.0636 ± 0.0190	
Kidney	Left	0.1620 ± 0.0100	0.1704 ± 0.0108*	0.1708 ± 0.0096*	0.1703 ± 0.0124*
	Right	0.1786 ± 0.0138	0.1861 ± 0.0131	0.1854 ± 0.0109	0.1827 ± 0.0125
Adrenal gland	Left	0.0022 ± 0.0007	0.0024 ± 0.0005	0.0030 ± 0.0012*	0.0031 ± 0.0005**
	Right	0.0024 ± 0.0008	0.0023 ± 0.0005	0.0028 ± 0.0011	0.0028 ± 0.0004
Testis	Left	0.0868 ± 0.0075	0.0823 ± 0.0090	0.0829 ± 0.0115	0.0729 ± 0.0097**
	Right	0.0883 ± 0.0080	0.0844 ± 0.0097	0.0837 ± 0.0103	0.0739 ± 0.0117**
Epididymis	Left	0.0286 ± 0.0025	0.0281 ± 0.0021	0.0269 ± 0.0026	0.0244 ± 0.0019**
	Right	0.0278 ± 0.0023	0.0284 ± 0.0025	0.0269 ± 0.0016	0.0241 ± 0.0028**
Seminal vesicle, prostate	0.2071 ± 0.0336	0.2047 ± 0.0266	0.1778 ± 0.0196**	0.1261 ± 0.0237**	

Mice were administered with each dose of DON by gavage once per day for 8 days. Values are mean ± SD of 16 replica.

*, **: statistically significant at p < 0.05 and p < 0.01, respectively.

혈액 화학치 변화. 글로불린, BUN, 콜레스테롤(용량 의존적) 및 총 단백질 함량은 감소하였으나, 총 빌리루빈

함량 및 A/G(Albumin/globulin)비율은 증가하였다. 혈청 중 알카라인 포스파타제의 활성은 감소하였으나, 알라닌

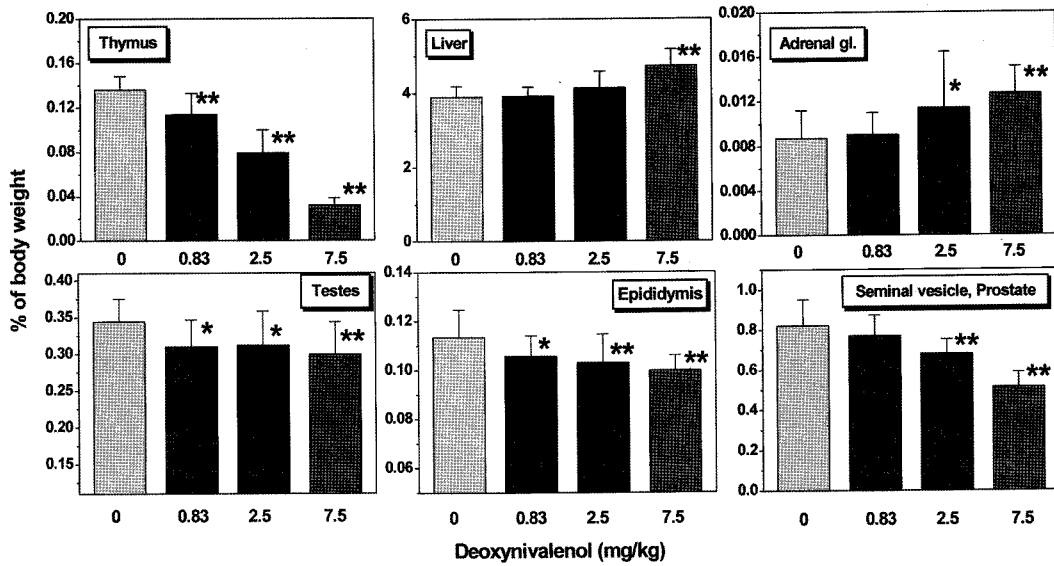


Fig. 5. Changes of relative organ weights vs body weight by administration of DON in B6C3F1 male mice. Relative organ weights are organ weight/body weight \times 100. Values are mean \pm SD of 8 replica. *, **: statistically significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

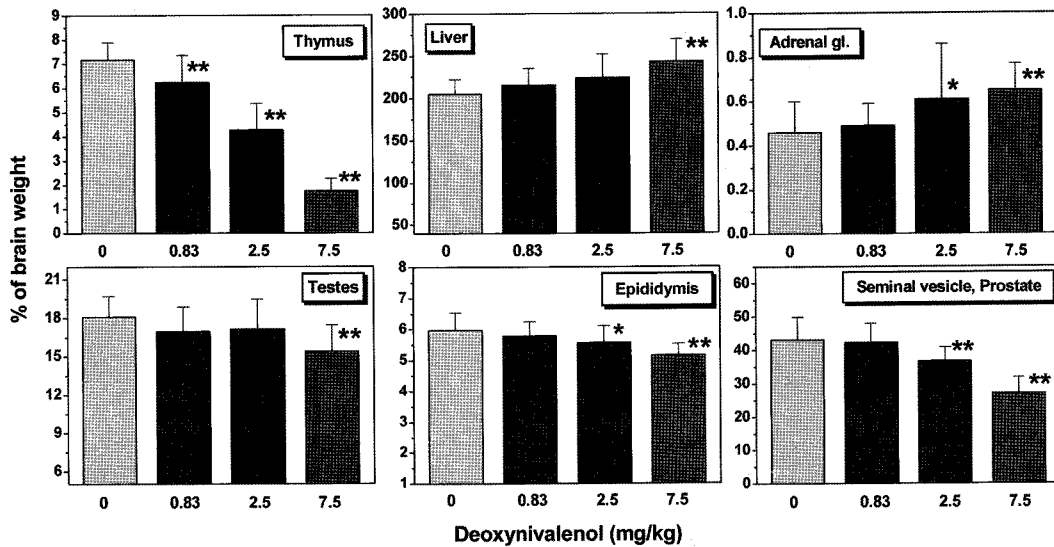


Fig. 6. Changes of relative organ weights vs brain weight by the administration of DON in B6C3F1 male mice. Relative organ weights are organ weight/brain weight \times 100. Values are mean \pm SD of 8 replica. *, **: statistically significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

아미노트랜스퍼라제의 활성은 증가하였다(Table 4).

혈청 중 테스토스테론 함량 변화. 0.83 mg/kg bw, 2.5 mg/kg bw 투여군에서는 특이적인 변화가 없었으나 7.5 mg/kg bw 투여군에서 혈청 중 테스토스테론 함량이 크게 감소하였다(Fig. 8).

조직병리학적 소견. 조직학적 소견으로서 2.5 mg 및

7.5 mg/kg bw 투여군에서 흉선, 림프절 및 비장에서의 림프구 소실이 관찰되었으며 7.5 mg/kg bw 투여군에서는 위저부 점막하직의 부종 및 점막 궤양, 간장의 공포화, 신장 근위극 세뇨관의 괴사가 관찰되었다(Fig. 9).

혈청 중 면역글로불린 함량 변화. 혈청 면역글로불린 중 IgG는 모든 처리군에서 용량 의존적으로 감소하였고, IgA는 7.5 mg/kg bw 투여군에서 감소하였다. IgM(2.5

Table 3. Changes of hematological values by the administration of DON in B6C3F1 male mice

Parameters	Treatments (mg/kg bw)			
	Control	DON 0.83	DON 2.5	DON 7.5
WBC (K/ μ l)	2.31 \pm 0.71	2.42 \pm 1.09	1.92 \pm 0.56	1.03 \pm 0.57*
NE (K/ μ l)	0.46 \pm 0.14	0.43 \pm 0.16	0.46 \pm 0.17	0.07 \pm 0.04**
LY (K/ μ l)	1.63 \pm 0.63	1.67 \pm 0.89	1.68 \pm 0.98	1.25 \pm 1.09
MO (K/ μ l)	0.20 \pm 0.11	0.19 \pm 0.06	0.16 \pm 0.04	0.08 \pm 0.06*
EO (K/ μ l)	0.06 \pm 0.09	0.07 \pm 0.09	0.04 \pm 0.05	0.00 \pm 0.01
BA (K/ μ l)	0.00 \pm 0.00	0.01 \pm 0.01	0.00 \pm 0.01	0.00 \pm 0.00
NE (%)	18.76 \pm 6.15	19.63 \pm 9.03	18.64 \pm 7.71	6.42 \pm 3.93**
LY (%)	69.49 \pm 11.47	67.69 \pm 9.35	70.55 \pm 8.34	86.97 \pm 5.51*
MO (%)	9.05 \pm 4.09	9.95 \pm 3.16	9.47 \pm 2.71	5.99 \pm 2.60
EO (%)	2.57 \pm 3.27	2.51 \pm 2.71	1.15 \pm 0.67	0.47 \pm 0.46
BA (%)	0.13 \pm 0.12	0.14 \pm 0.14	0.13 \pm 0.13	0.16 \pm 0.16
RBC (M/ μ l)	8.33 \pm 0.63	8.85 \pm 0.65	8.42 \pm 0.43	8.06 \pm 0.77
Hb (g/dl)	13.6 \pm 0.7	13.8 \pm 0.6	13.3 \pm 0.7	12.3 \pm 0.6**
HCT (%)	43.2 \pm 2.7	44.7 \pm 3.2	42.7 \pm 2.4	40.5 \pm 4.3
MCV (fl)	52.0 \pm 2.4	50.6 \pm 1.2	50.7 \pm 1.5	50.2 \pm 2.2
MCH (pg)	16.4 \pm 1.0	15.7 \pm 1.4	15.8 \pm 0.8	15.5 \pm 1.5
MCHC (g/dl)	31.7 \pm 2.1	31.1 \pm 2.9	31.3 \pm 2.4	30.9 \pm 3.5
RDW (%)	17.1 \pm 0.4	17.9 \pm 1.0	17.7 \pm 1.3	16.5 \pm 0.4
PLT (K/ μ l)	1040 \pm 74	879 \pm 157	966 \pm 185	503 \pm 159**
MPV (fl)	6.8 \pm 0.1	5.9 \pm 2.1	6.6 \pm 0.6	10.9 \pm 2.8**

Mice were administered with each dose of DON by gavage once per day for 8 days. Values are mean \pm SD of 8 replica. K/ μ l: $10^3/\mu$ l. M/ μ l; $10^6/\mu$ l fl; 10^{-15} l.

*, **: statistically significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

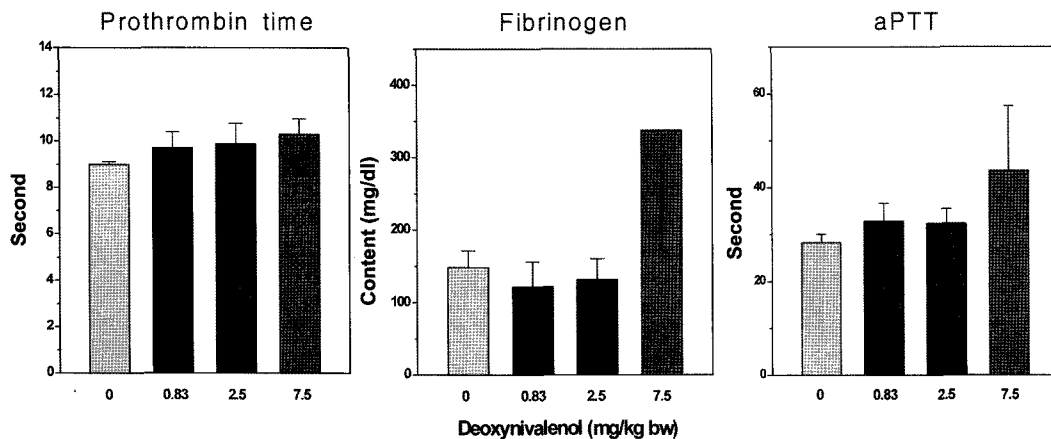


Fig. 7. Changes of blood coagulation factors by the administration of DON in B6C3F1 male mice. Values are mean \pm SD of 8 replica. *, **: statistically significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

및 7.5 mg/kg bw) 및 IgE(7.5 mg/kg bw)도 감소하였다 (Fig. 10).

고 찰

본 연구를 통하여 DON은 면역계 및 생식기계 등에 특이적으로 영향을 미치는 물질로서 DON 중독증 특이 진단표로서 혈중 IgG 및 IgA 감소, 흉선 및 음성생식기계 위축과 테스토스테론의 감소, 프로트롬빈 시간의 지연 등

이 활용될 수 있는 것으로 사료된다.

곰팡이 독소(DON)는 면역기능이상, 위장장애 등의 건강상의 문제를 일으켜 각종 질병에 대한 저항력을 떨어뜨리고 가축에서는 사료섭취 거부 또는 감소, 구토, 증체량 감소, 면역기능 저하 등의 증독증을 유발하여 가축의 생산성 저하를 초래하고 있다(Goyarts *et al.*, 2006; Pestka and Smolinski, 2005). 마우스에서 DON의 반수 치사량(LD₅₀)은 78 mg/kg bw으로 보고되었으며 돼지에서 독성 유발 단회경구투여량(minimum single oral dose)은

Table 4. Changes of blood biochemical values by the administration of DON in B6C3F1 male mice

Parameters	Treatments (mg/kg bw)			
	Control	DON 0.83	DON 2.5	DON 7.5
TP (mg/dl)	4.96 ± 0.17	4.70 ± 0.16	4.70 ± 0.37	4.34 ± 0.17**
Alb (mg/dl)	3.30 ± 0.29	3.14 ± 0.17	3.20 ± 0.25	3.10 ± 0.21
Glb (mg/dl)	1.66 ± 0.05	1.56 ± 0.15	1.50 ± 0.12	1.24 ± 0.15**
A/G	1.99 ± 0.16	2.03 ± 0.28	2.13 ± 0.08	2.54 ± 0.46*
ALP (U/l)	114.2 ± 6.9	117.6 ± 9.8	102.8 ± 6.8	84.6 ± 13.8**
ALT (U/l)	22.4 ± 2.6	25.1 ± 4.7	25.1 ± 2.7	31.5 ± 10.6*
AST (U/l)	47.6 ± 3.3	51.9 ± 6.0	57.7 ± 21.7	53.5 ± 7.7
TB (mg/dl)	0.28 ± 0.04	0.30 ± 0.00	0.36 ± 0.05**	0.38 ± 0.05**
BUN (mg/dl)	28.6 ± 3.1	24.9 ± 2.0*	19.0 ± 2.1**	15.2 ± 2.8**
Ca (mg/dl)	10.1 ± 0.4	9.5 ± 0.1	10.2 ± 0.9	10.2 ± 0.5
Chol (mg/dl)	185.8 ± 26.9	155.0 ± 16.7*	151.8 ± 10.9*	144.0 ± 22.9**
CK (U/l)	110.8 ± 25.6	98.0 ± 13.2	218.6 ± 142.0	151.8 ± 51.4
CRE (mg/dl)	0.32 ± 0.08	0.30 ± 0.07	0.34 ± 0.11	0.34 ± 0.05
Glu (mg/dl)	141.4 ± 31.8	147.4 ± 41.8	129.4 ± 27.9	126.2 ± 5.7
IP (mg/dl)	10.7 ± 0.9	9.3 ± 1.0	11.1 ± 2.5	9.5 ± 1.5
LDH (U/l)	289.8 ± 72.8	336.8 ± 99.8	332.0 ± 87.3	269.0 ± 65.4
TG (mg/dl)	143.8 ± 44.0	107.4 ± 59.9	99.6 ± 29.3	107.8 ± 19.1

Mice were administered with each dose of DON by gavage once per day for 8 days.

Values are mean ± SD of 5 replica. U/l; Unit/l.

*, **: statistically significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

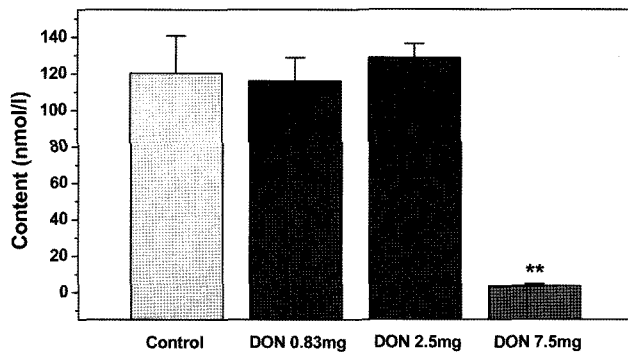


Fig. 8. Changes of testosterone content in serum by the administration of DON in B6C3F1 male mice. Values are mean ± SD of 3 replica. **: statistically significant at $p < 0.01$.

0.075 mg/kg bw로 알려져 있다(Forsell *et al.*, 1986; Forsyth *et al.*, 1977). JECFA에서는 면역, 발달 및 생식에 영향을 주지 않는 무독성량(No Observed Effect Level, NOEL)값을 0.1 mg/kg bw으로 설정하였으며 PMTDI (Provisional Maximum Tolerable Daily Intake)를 1 µg/kg bw로 설정하였다(WHO, 2001). 본 연구에서는 마우스에서 최저투여량인 0.83 mg/ml bw에서도 흉선 장기중량 감소, 고환 및 부고환 장기 중량 감소, IgG의 감소가 관찰되어 DON에 의해 면역계 및 음성 생식기계가 민감하게 영향을 받음을 알 수 있었다.

곰팡이 독소 중독증의 진단은 빈혈, 백혈구 감소, 혈소판 수 감소 확인과 직접적으로 조직이나 뇨 중의 DON량을 검출하는 방법이 있다(Kubena *et al.*, 1989; Osweiler

et al., 1995). 그러나 DON이 빠르게 대사되어 디에폭시드(diepoxide) 대사물질이나 DON 복합체의 형태로 담즙이나 뇨 중으로 배출되기 때문에 원인물질을 화학적으로 분석함에 어려움이 있었다(Osweiler, 2000). 따라서 곰팡이 독소 중독증 진단지표의 확립이 미흡하며, 특히 DON 중독증 지표에 대한 연구는 미흡한 실정으로서 DON 중독증의 진단에 어려움이 있다. 최근에는 림프조직 등으로부터의 단백질 발현양상 또는 기타 독성 병리학적 지표들을 DON 중독증의 진단에 활용하는 연구가 진행되고 있다. 그리고 화학물질 중독증에 대한 진단효율 향상을 위해서는 임상적, 병리조직학적, 혈액학적, 혈액 화학적 및 독성 병리학적 지표들이 총망라되어 종합적인 평가가 있어야만 중독증 진단효율의 향상을 기대할 수 있다.

본 연구에서는 DON 중독증의 진단을 위한 지표를 확립하기 위하여 B6C3F1 수컷 마우스에 DON을 체중 kg 당 0, 0.83, 2.5 및 7.5 mg을 매일 1회씩 8일간 투여하여 임상적 혈액학적 혈액 화학적 병리 조직학적 독성 병리학적 변화를 관찰하였다. 이때 투여용량 중 가장 고용량인 7.5 mg/kg bw는 10% 치사량(LD₁₀)에 근거하여 설정한 것이며 투여기간은 8일로 하였는데 이는 일반적으로 농장에서 가축에 사료를 급여 시 약 7~8일 단위로 급여하고 있는 집과 오염된 곡물 또는 사료를 통하여 노출될 시 뚜렷한 임상증상이 발생되는데 소요되는 최소한의 기간으로서 8일을 추정하여 선택한 것이다.

본 연구결과 DON에 의하여 마우스에서 체중(중체량)이 감소하였고, 사료 섭취량 및 음수량이 감소하였으며, 피부

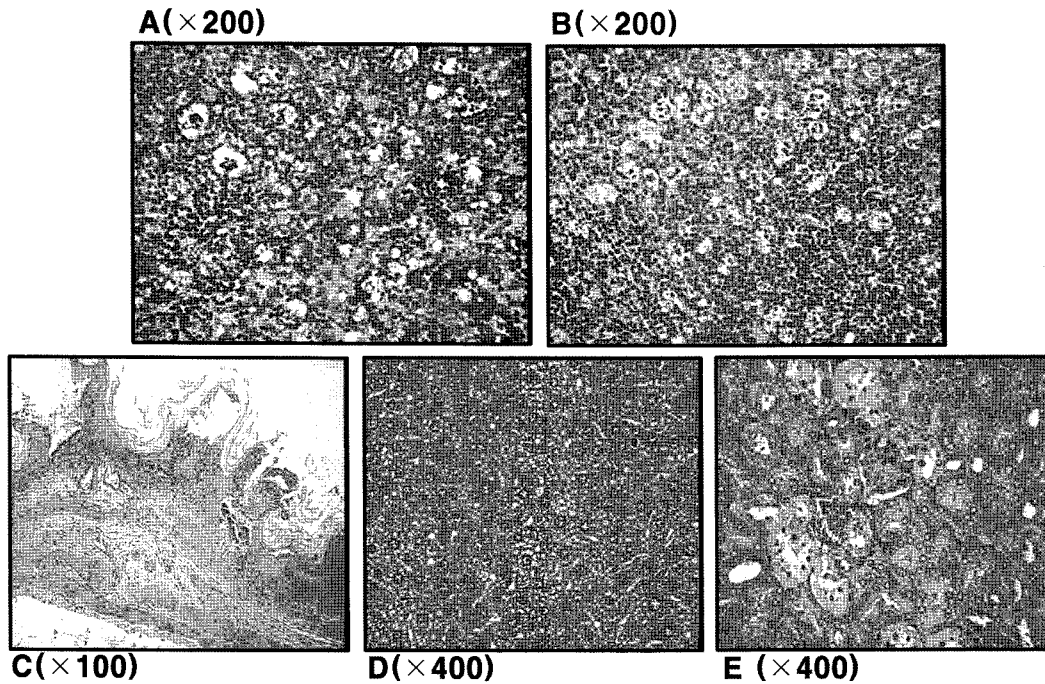


Fig. 9. Histopathological findings in organs of B6C3F1 male mice treated with DON 7.5 mg/kg. lympholysis in Lymphoid follicle of lymph node (A) and in white pulp of spleen (B), mucosal ulceration and submucosal edema of forestomach (C), vacuolation in hepatic parenchyma (D) and tubular necrosis in kidney cortex (E) were observed.

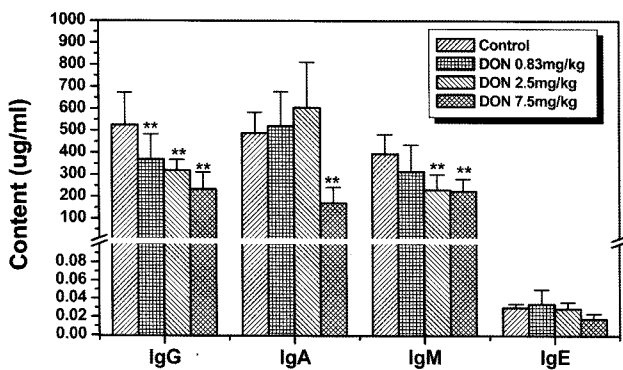


Fig. 10. Changes of immunoglobulin content in serum by the administration of DON in B6C3F1 male mice. Values are mean \pm SD of 5 replica. **: statistically significant at $p < 0.01$.

소양감, 피모조강, 체표냉감, 원기부족, 운동성저하 등이 관찰되었는데 이러한 증상들은 지금까지의 여러 연구자들의 보고와 일치한다. DON에 의하여 백혈구 수, 호중구 수(비율) 및 단핵구 수의 감소, 림프구 비율의 증가, 헤모글로빈 및 혈소판 수의 감소 및 평균 적혈구 혈색소량의 증가 등, 혈액학적 변화가 관찰되었는데 이는 실험동물, 사료, 투여용량, 투여기간 및 투여경로 등에 따라 그 변화가 달라질 수는 있지만 DON은 기본적으로 백혈구 수 감소를 유발하고 면역기능 저하를 일으킨다는 것을 알 수

있다. 그리고 혈액 응고인자로서 프로트롬빈 시간이 용량 의존적으로 지연되었으며, 피브리노겐 함량이 증가하였고 (7.5 mg/kg), 트롬보플라스틴 시간이 지연되어 DON은 혈액응고 체계에도 크게 영향을 미침을 알 수 있다. 또한 글로불린, 혈중 요소질소, 콜레스테롤(용량 의존적) 및 총 단백질 함량의 감소, 총 빌리루빈 함량 및 A/G비율의 증가, 혈청 중 알카라인 포스파타제 활성의 감소 및 알라닌 아미노트랜스퍼라제 활성의 증가 등의 혈액화학적 변화와 혈청 중 테스토스테론 함량의 감소가 관찰되어 생체활성에도 크게 영향을 미침을 알 수 있었다. 특히 테스토스테론의 감소는 웅성 생식기계 장기의 위축과 함께 관찰되어 DON이 웅성 생식능에 영향을 미칠 수 있음을 추측할 수 있다.

병리조직학적 특이 병변으로서 육안 소견으로서 흉선 및 전립선 위축, 위 대만부의 팽배, 궤양 및 유백색 변성, 위점막의 경변 및 비후, 간장의 창백, 유약, 변연부 둔화 및 종대, 췌장의 유백색 변성, 비장, 장간막 림프절, 전립선정낭선, 부고환 및 고환의 위축 등이 관찰되었다. 흉선 및 전립선의 절대 장기중량은 감소하였으나, 간장은 증가하였는데(용량 의존적), 췌장대비 상대 장기중량은 흉선, 정낭선, 전립선(용량 의존적) 및 고환은 감소하였으나, 간장 및 좌부신은 용량 의존적으로 증가하였고, 뇌 무계대비 상대 장기중량은 흉선, 정낭선 및 전립선(용량 의존적)

및 고환은 감소하였으나, 간장(용량 의존적) 및 좌부신은 증가하였다. 그리고 조직학적 소견으로서 흉선, 림프절 및 비장에서 림프구 소실이 관찰되었으며, 위저부 점막 조직의 부종 및 점막 궤양, 간장의 공포화, 신장 근위극세뇨관의 괴사가 관찰되었다. 이러한 결과들을 종합해 볼 때 실험동물, 사료, 투여용량, 투여기간 및 투여경로 등에 따라 다소 독성학적 영향은 달라질 수 있으나 흉선, 림프절, 비장 등 면역계 장기의 위축 및 병리 조직학적 손상은 DON이 면역계 장기에 크게 영향을 미침을 보여준다.

또한 혈청 면역글로불린 중 IgG는 모든 처리군에서 용량 의존적으로 감소하였고, IgA는 7.5 mg/kg 투여군에서 감소하였으며, IgM(2.5 및 7.5 mg/kg) 및 IgE(7.5 mg/kg)도 감소하였다. 이러한 결과들은 DON이 면역기능저하 및 다른 주요 전염성 질병에 대한 저항력 저하에 미치는 영향에 관한 기초 자료로 활용될 수 있으리라 생각된다. 상기 결과를 종합하면 DON은 면역계 및 생식기계 등에 특이적으로 영향을 미치는 물질로서 DON 중독증 특이 진단지표로서 혈중 IgG 및 IgA 감소, 흉선 위축, 생식기계 위축 및 테스토스테론 감소, 프로트롬빈 시간의 지연 등이 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- Betina, V. (1989). Structure-activity relationships among mycotoxins. *Chem. Biol. Interact.*, **71**, 105-146.
- Creppy, E.E. (2002). Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol. Lett.*, **127**, 19-28.
- Forsell, J.H., Witt, M.F., Tai, J.H., Jensen, R. and Pestka, J.J. (1986). Effects of 8-week exposure of the B6C3F1 mouse to dietary deoxynivalenol (vomitoxin) and zearalenone. *Fd. Chem. Toxic.*, **24**, 213-219.
- Forsyth, D.M., Yoshizawa, T., Morooka, N. and Tuite, J. (1977). Emetic and refusal activity of deoxynivalenol to swine. *Appl. Envir. Microbiol.*, **34**, 547.
- Goyarts, T., Grove, N. and Dänicke, S. (2006). Effect of the Fusarium toxin deoxynivalenol wheat given subchronically or as one single dose on the *in vivo* protein synthesis of peripheral blood lymphocytes and plasma protein in the pig. *Fd. Chem. Toxicol.*, **44**, 1953-1965.
- Kinser, S., Jia, Q., Li, M., Laughter, A., Cornwell, P.D., Christopher Corton, J. and Pestka, J.J. (2004). Gene expression profiling in spleens of deoxynivalenol-exposed mice: immediate early genes as primary targets. *J. Toxicol. Environ. Health*, **67**, 1423-1441.
- Kubena, L.F., Huff, W.E., Harvey, R.B., Corrier, D.E., Philips, T.D. and Rottinghaus, G.E. (1989). Individual and combined toxicity of deoxynivalenol and T-2 toxin in broiler chicks. *Poult. Sci.*, **68**, 622-626.
- Meky, F.A., Turner, P.C., Ashcroft, A.E., Miller, J.D., Qiao, Y.L., Roth, M.J. and Wild, C.P. (2003). Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol. *Fd. Chem. Toxicol.*, **41**, 265-273.
- MHLW (Ministry of Health, Labour and Welfare) (2006). The Nineteenth seminar for visiting food hygiene experts.
- Oswailer, G.D., Carr, T.F., Sanderson, T.P., Carson, T.L. and Kinker, J.A. (1995). Water deprivation-sodium ion toxicosis in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **7**, 583-585.
- Oswailer, G.D. (2000). Mycotoxins. Contemporary issue of food animal health and productivity. *Vet. Clin. North Am. Fd. Anim. Pract.*, **16**, 511-530.
- Pestka, J.J. and Smolinski, A.T. (2005). Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *J. Toxicol. Environ. Health*, **8**, 39-69.
- Rotter, B.A. (1996). Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health*, **48**, 1-34.
- Thomson, W.L. and Wannemacher, R.W. Jr. (1986). Structure-function relationships of 12,13-epoxytricothecene mycotoxins in cell culture: comparison to whole animal lethality. *Toxicol.*, **24**, 985-994.
- WHO (1990). Selected mycotoxins: Ochratoxin, tricothecenes, ergot. *Environ. Health, Crit. No.* 105.
- WHO (2001). Biomarkers in risk assessment: Validity and Validation. *Environ. Health, Crit. No.* 222.