

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

微生物産生毒素のハイリスクグループへの慢性的な健康影響に関する研究

平成20年度 総括研究報告書

研究代表者 井上 薫

平成21(2009)年 3月

目 次

I. 総括研究報告

微生物産生毒素のハイリスクグループへの慢性的な健康影響に関する研究 ----- 1

井上 薫

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 16

微生物産生毒素のハイリスクグループへの慢性的な健康影響に関する研究

研究代表者 井上 薫 国立医薬品食品衛生研究所・病理部 研究員

研究要旨：真菌産生毒素（マイコトキシン）は、日常的に摂取する穀類やベビーフード等の食品を汚染し、乳幼児期からの慢性的な摂取は、長時間経過した後に毒性や腫瘍など健康被害の原因となることが考えられる。しかしながら、マイコトキシンに対する耐容一日摂取量など国内外での基準値の設定は不十分であり、特に乳幼児を対象とした基準値の設定のための科学的データは乏しいため、評価系の確立が必要である。そこで、本研究は、幼児および小児腎疾患患者等のハイリスクグループへのマイコトキシン（特に基準値が未設定であるニバレノール）の健康被害を評価する系を構築することを目的とし、ヒトのネフローゼ症候群のモデルとなるICGNマウスと、その遺伝的ベースとなっているICRマウスをハイリスクグループのモデルとして用い、生後3週目の離乳直後から腎毒性（糸球体メサンギウム領域の拡大、同領域へのIgA沈着）を惹起することが報告されているニバレノールの腎臓への影響を評価した。3週齢の雄性ICGNマウスと3週齢または8週齢の雄性ICRマウスに各々0（対照群）、6、12、24 ppmの用量で4週間ニバレノールを混餌投与した。検索項目として、体重、腎臓重量、尿中蛋白質量、血清生化学的検査（総蛋白、アルブミン、総コレステロール、クレアチニン、尿素窒素）、ELISA法による血清中IgA濃度、腎臓の病理組織学的・免疫組織化学的（IgA、PCNA、alpha-smooth muscle actin: α -SMAなど）検索について実施した。その結果、ICGNマウスでは、24 ppmニバレノール投与により腎糸球体メサンギウム領域の拡大や α -SMA陽性活性化メサンギウム細胞を認める糸球体数の有意な増加や、血清中IgA濃度の増加が認められた。一方、ICRマウスでは、24 ppmニバレノール投与により、3週齢群には血清中IgA濃度の増加しか認められず、8週齢群では腎臓においてメサンギウム領域の拡大を認めた糸球体数の増加が認められた。以上より、幼若ICGNマウスはハイリスクグループの小児モデルとして糸球体傷害の検出に感度の良いモデルである可能性が示唆された。また、幼若ICRマウスは、必ずしもニバレノールに対し高感受性ではないことが示唆された。

A. 研究目的

微生物産生毒素のうち、真菌産生毒素（マイコトキシン）は、日常的に摂取する穀類やベビーフード等の食品を汚染している。マイコトキシンの乳幼児期からの慢性的な摂取は、長時間経過した後に毒性や腫瘍など健康被害の原因となることが考えられる。しかしながら、マイコトキシンに対する耐容一日摂取量など国内外での基準値の設定は不十分であり、特に乳幼児を対象とした基準値の設定のための科学的データは乏しいため、評価系の確立が必要である。幼小児期からのマイコトキシンに対するハイリスクグループと健常者との感受性の差を検出可能とする評価系の構

築は、ハイリスクグループを対象とした基準値策定のための科学的根拠となるデータを提供できる。

ニバレノールはフザリウム属真菌から産生されるマイコトキシンであり、ヒトが日常的に食する穀類等にみられる赤かび病の原因として知られる。ニバレノールの成熟マウスへの短期間混餌投与によりヒト IgA 腎症と同様の変化が認められることが報告されている（Hinoshita et al. 1997）。しかし、ニバレノールの幼若期暴露による毒性影響については報告がなく、幼児を対象とした耐容一日摂取量を策定する上でもニバレノールの幼若期暴露による腎毒性の検索は重要である。

そこで、本研究は、ニバレノールについて、糸球体腎炎など基礎疾患を有する小児腎疾患患者を想定した遺伝性腎疾患動物 (ICGN マウス) や健康幼小児を想定した正常幼若マウス (ICR マウス) を用いて、腎臓への影響を中心に検討し、評価系の確立を目指した。

B. 研究方法

ニバレノールは国立医薬品食品衛生研究所・衛生微生物部にて精製されたものを使用した。

混餌飼料はニバレノールを少量のエタノールに溶解した後、粉末基礎飼料 (CRF-1; オリエンタル酵母) に混じて用意した。

はじめに、用量設定のためニバレノールを 0.75~12 ppm の 5 用量で 3 週齢 (離乳直後) の雄性 ICGN マウス (国立医薬品食品衛生研究所内で自家繁殖) に 2 週間投与した。その結果、最終体重、腎重量、腎臓の病理形態学的変化、腎糸球体内における IgA の沈着について群間に差は認められず、用量と投与期間の問題と考え、次にニバレノールを 6, 12, 24 ppm の用量で、3 週齢の雄性 ICGN マウスと 3 週齢、8 週齢の雄性 ICR マウス (日本 SLC 社) に 4 週間混餌投与した。しかしながら、前回と同様、各検索項目に投与の影響として期待された摂餌量や体重の減少、腎糸球体の病理組織学的変化等が全く認められなかったため、投与物質のニバレノールの品質を疑い、入手していたニバレノールを検査した。その結果、投与物質中のニバレノールがほとんど減衰していたことが判明した。

最終的に、安定性が保証されたニバレノール (純度 90% 以上) を限定量入手し、3 週齢の雄性 ICGN マウス 24 匹 (1 群 6 匹) と 3 週齢または 8 週齢の雄性 ICR マウス (1 群 10 匹) に各々 0 (対照群) , 6, 12, 24 ppm の用量で 4 週間反復混餌投与した (Fig. 1)。

動物実験で投与したニバレノール混餌飼料は 2 週間ごとに作製し、4℃で保存した。また、飼料中のニバレノールの安定性を確認するために、作製直後のものと、室温または 4℃で 2 週間保存したものを用意して各用量の飼料サンプル中のニ

バレノール濃度を測定した。具体的には、ニバレノール混餌飼料または基礎飼料を 5 g ずつ 50ml 容の遠心管に取り、アセトニトリル:水 (85:15, v/v) 20 ml を加え、振とう機で 30 分間浸とう抽出した。抽出後、3,000 rpm, 5 分間室温にて遠心分離を行い、その上清を Autoprep MF-T カラム (昭和電工株式会社) で濾過し、2 ml の濾液を遠心エバポレーターで一晩濃縮乾燥させた。得られたサンプルを 10 mM 酢酸アンモニウム:メタノール (90:10, v/v) の移動相で溶解し、LC/MS による分析に供した。

動物実験は、ニバレノール投与 4 週目に腹大動脈からの血液と腎臓を採取し終了した。検索項目として、摂餌量、体重、腎臓重量、尿検査紙 (ウロペーパー III 栄研) による尿中蛋白質の検出とポイント化 (±, 0.5 点; +, 1 点; ++, 2 点; +++, 3 点として評価) による半定量、血清生化学的検査 (総蛋白、アルブミン、総コレステロール、クレアチニン、尿素窒素; 日本 SRL 社)、Mouse IgA ELISA Quantitation Kit (BETHYL Laboratories, Inc.) を用いた ELISA 法による血清中 IgA 濃度の測定、腎臓の病理組織学的・免疫組織化学的 (IgA, proliferating cell nuclear antigen; PCNA, alpha-smooth muscle actin; α -SMA) 検索を実施した。

病理組織学的検索は、解剖時に左右の腎臓を採取後、腎盂が入るように短軸方向で切出し、両側腎の切り出した組織を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定した。ホルマリン固定後、常法に従い厚さ 3 μ m のパラフィン切片を作製し、HE 染色後、病理組織学的検索を行った。免疫染色は、同様に用意したホルマリン固定パラフィン切片を用いて行い、一次抗体として α -SMA についてはマウス・モノクローナル抗体 (Dako, clone 1A4, x100)、PCNA についてはマウス・モノクローナル抗体 (Dako, clone PC10, x100) を用い、4℃一晩反応させた。二次抗体以降のステップは α -SMA には Peroxidase-labeled amino acid polymer 法 (Histofine Simple Stain Rat MAX-PO, ニチレイ社製) を、PCNA には VECTASTAIN® Elite ABC KIT (Vector Laboratories) を用いた ABC 法にて実施し、3,3'-diaminobenzidine で可視化、ヘマトキシリン

で核染した。糸球体に認められた変化(メサンギウム領域の拡大, α -SMA 陽性メサンギウム細胞)については、片側の1切面に認められた糸球体数を計測し、各変化が認められた糸球体数の割合を算出して各群の平均値を比較した。IgAの蛍光抗体法による検索は、腎臓採取時に、ホルマリン固定した腎組織の残りを液体窒素で新鮮凍結し、使用するまで -80°C で保存した。凍結切片作製時に、O.C.T.コンパウンド(Sakura Finetechnical co. Ltd.)を用いて凍結腎組織を包埋し、クリオスタットで厚さ $5\mu\text{m}$ の切片を用意した。凍結切片は冷アセトンで10分間固定後風乾し、染色するまで -30°C で保存した。一次抗体はAnti-Mouse IgA(a-chain) produced in Goat, affinity isolated antibody(SIGMA, x100), FITC標識二次抗体はPolyclonal Antibody Anti-Goat IgG Heavy and Light cross absorbed [FITC](NOVUS Biologicals, x1000)を用い、各々室温で1時間インキュベートした。二次抗体を反応させた後、切片をVECTASHIELD H-1200(VECTOR Laboratories, Inc.)を用いて封入し、落射蛍光顕微鏡(Olympus BX-51)下で糸球体におけるIgAの沈着部位とその程度を観察した。

(倫理面への配慮)

投与実験は混餌による経口投与が主体であり、また、動物はすべてエーテル深麻酔下で大動脈からの脱血により屠殺し、動物に与える苦痛を最小限に留めた。また、動物飼育、管理に当たっては、研究所の利用規程に従った。

C. 研究結果

(1) 飼料中ニバレノールの安定性

ICGN, ICR 両マウスを用いた動物実験を実施中に、ニバレノール混合飼料を合計3回作製した。各回とも作製した各用量の混合飼料と基礎飼料を保存し、飼料中ニバレノールの減退率を測定した。その結果、各回の作製直後、 4°C または室温で2週間保存という3条件での各用量のサンプルにおけるニバレノール減退率は、平均31%であった。

(2) ICGN マウスにおける検討

最終体重、腎臓重量をTable1に示す。最終体重、腎臓重量は24 ppm投与群でやや減少傾向を認めたが、対照群との有意な差は認められなかった。一日平均摂餌量とニバレノール摂取量をTable2に示す。一日平均摂餌量は12 ppm以上の群でやや減少傾向が認められ、それに伴い一日平均ニバレノール摂取量、総ニバレノール摂取量が公比に従わずやや減少していた。尿検査紙による尿蛋白量の検索結果をFig. 2に示す。尿蛋白のレベルは、対照群を含む全群とも同週齢の正常ICRマウスに比し高値を示したが、各投与群とも対照群との間に有意差は認められなかった。血清生化学検査の結果をTable 3に示す。ネフローゼ症候関連、腎機能関連の項目について検索したが、いずれの項目もニバレノール投与によるネフローゼ症候や腎機能の悪化を示す所見は得られなかった。血清中IgA濃度についてFig. 3に示す。血清中IgA濃度はニバレノール投与群で用量相関性はないものの対照群に比し増加傾向を示していた。腎臓における病理組織学的検索の結果をTable4に示す。対照群を含む全群の腎糸球体において、ほぼ全ての糸球体に糸球体基底膜の肥厚(Fig. 4a)が認められ、糸球体メサンギウム領域については、基質の増加による拡大(Fig. 4b)がみられる糸球体数がニバレノール投与群で増加していた。全群においてごく一部の糸球体に微小血管瘤がみられた。また、尿円柱を認めた動物数の割合は、対照群に比しニバレノール投与群で増加傾向がみられた。糸球体では病理組織学的にメサンギウム細胞の増加が疑われたが、同領域ではPCNA陽性メサンギウム細胞を認めなかった(Fig. 4c)。また、メサンギウム細胞の筋線維芽細胞様細胞への形質転換・活性化を示す α -SMAは、対照群を含む全群のメサンギウム領域の拡大が見られる糸球体内に陽性像を認め(Fig. 4d)、 α -SMA陽性メサンギウム細胞が認められた糸球

体数の割合は、24 ppm ニバレノール群で増加傾向を認めた (Table 5)。蛍光抗体法による糸球体内 IgA 沈着の局在や程度の変化を検索した結果、対照群を含む全群の糸球体において、一部のメサンギウム領域と糸球体基底膜に沿って顆粒状の IgA の沈着を認めたが、ニバレノール投与による沈着部位や程度の変化は明らかではなかった (Fig. 5)。

(3) ICR マウスにおける検討

最終体重、腎臓重量について Table 6 に示す。3週齢群の24 ppm投与群で有意な最終体重の減少を認めたが、3週齢群の腎重量や8週齢群の最終体重、腎重量には対照群との有意な差は認められなかった。

血清生化学的検査の結果を Table 7 に示す。3週齢の24 ppm投与群で Cre 値の有意な低下が、8週齢群の12 ppm投与群で Cre 値の有意な低下、24 ppm投与群で Alb 値の有意な増加が認められたが、3週齢群、8週齢群ともニバレノール投与による腎機能の悪化やネフローゼ症候の発生を示す所見は認められなかった。また、血清中 IgA 濃度は、3週齢群の24 ppm投与群で有意に増加していたが、8週齢群では対照群との差は見られなかった (Table 8)。

病理組織学的に、3週齢群において各群とも糸球体を含む腎臓各部に著変は認められなかった (Fig. 6a, b)。8週齢群においては、24 ppmニバレノール投与群にメサンギウム領域の軽度拡大を示す糸球体が有意差はないものの増加する傾向が認められ、24 ppm群の1例の一部の糸球体に、高度な同病変を認めた (Fig. 6c-e)。

蛍光抗体法による糸球体内 IgA 沈着の局在や程度について検索した結果、3週齢群、8週齢群の対照群を含む全群に、一部の糸球体のメサンギウム領域や糸球体係蹄壁に軽度な顆粒状の IgA の沈着を認めたが、対照群と投与群との間に明瞭な差は認められなかった (Fig. 7)。

D. 考察

本研究は、国内で基準値の策定がなされていないニバレノールについて、幼小児や小児腎疾患患者などハイリスクグループを想定した動物モデルを用いて、腎臓における毒性影響を初めて評価した。ニバレノールの幼若期からの短期間投与により、ICGNマウスにおいては、腎糸球体メサンギウム領域の拡大や α -SMA陽性メサンギウム細胞を認めた糸球体数の増加と血清中 IgA 濃度の増加が、ICRマウスにおいては血清中 IgA 濃度の増加のみが認められた。以上のことから、ICGNマウスはハイリスクグループの小児モデルとして糸球体傷害の検出に感度の良いモデルである可能性が示唆された。また、幼若ICRマウスは、必ずしもニバレノールに対し高感受性ではないことが示唆された。

ニバレノールの腎臓に対する影響に関する従来の報告 (Hinoshita, et al., 1997) によると、ニバレノールを6-8週齢の C3H/HeN, C3H/HeJ, BALB/c マウスに最高12 ppmの用量で4週または8週間混餌投与した実験で、ニバレノールを12 ppmで8週間投与した場合に軽度なメサンギウム領域の拡大や同領域における IgA の沈着、電子密度の高い沈着物や血清中 IgA の増加などの明らかな変化が認められている。今回の研究では4週間の投与実験しかできなかったが、ニバレノールを8週間以上投与すれば、腎糸球体や IgA を含む血清生化学検査値により明確な影響が認められることが考えられる。

本研究では、両系統のマウスの腎糸球体メサンギウムにニバレノール投与による影響を認めたが、その他の変化は乏しかった。これは、投与期間が短いことや、飼料中のニバレノールの安定性が各用量とも約30%の減衰が認められたことが影響したためと考える。しかし、前述の通り、投与期間を増やすことにより、より顕著な腎臓への影響を検出できる可能性が考えられた。

本研究は、計画当初は ICGN マウスについ

ては3-20週齢まで、ICRマウスについては最長6か月間ニバレノールを混餌投与する予定だった。しかし、入手していたニバレノールの安定性が得られなかったため、本実験の開始が遅延し、また最終的に入手できたニバレノール量が限定されていたため、最長4週間の投与実験しかできなかった。このため、本研究では慢性影響について具体的に検討できなかった。しかしながら、幼若期のマウスにニバレノールを投与した研究は他になく、本研究で得られた成果がニバレノールの慢性影響を予測する基礎データとなりうると考えている。

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

E. 結論

本研究により、幼若ICGNマウスはハイリスクグループの小児モデルとして糸球体傷害の検出に感度の良いモデルである可能性が示唆された。また、幼若ICRマウスは、必ずしもニバレノールに対し高感受性ではないことが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

今後、本研究に関する論文を発表予定

2. 学会発表

井上 薫、吉田 緑、高橋美和、小西良子、西川秋佳：ニバレノール短期間投与による遺伝性ネフローゼモデルマウスの腎病変に及ぼす影響。第25回日本毒性病理学会学術集会、浜松市、第25回本学会講演要旨集 p79 (P-24), 2009年1月

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

Table 1. Final body and kidney weights of ICGN mice treated with nivalenol for 4 weeks

Group	Final BW (g)	Kidneys	
		Absolute (g)	Relative (g/100 g BW)
Control	21.4 ± 0.8	0.33 ± 0.12	1.54 ± 0.12
6 ppm NIV	21.3 ± 2.7	0.32 ± 0.16	1.47 ± 0.16
12 ppm NIV	20.5 ± 2.3	0.30 ± 0.19	1.46 ± 0.19
24 ppm NIV	19.3 ± 2.3	0.28 ± 0.11	1.45 ± 0.11

Abbreviations: NIV; nivalenol, BW; body weight

Table 2. Mean food consumption and intake of NIV in ICGN mice treated with nivalenol for four weeks.

Group	Mean food consumption (g/kg BW/day) ^a	Mean daily intake of NIV (mg/kg BW/day) ^b	Total intake of NIV (mg/kg bw) ^c
Control	135.6	0	0
6ppm NIV	134.1	0.56	15.6
12ppm NIV	126.0	1.04	29.2
24ppm NIV	130.7	2.09	58.5

^a: Mean daily food consumption of each week

^b: Mean daily NIV intake of each week concerning the mean decrease rate of NIV (31%).

^c: Total NIV intake for 4 weeks calculated by daily NIV intake of each week

Abbreviations: NIV; nivalenol, BW; body weight

Table 3. Serum biochemical data of ICGN mice treated with nivalenol for 4 weeks

Group	Control	6 ppm NIV	12 ppm NIV	24 ppm NIV	Normal ICR mice ^b
No. of animals examined	6	5 or 6 ^a	6	6	9
Total protein (g/dl)	4.6 ± 0.55	4.6 ± 0.32	4.6 ± 0.31	4.5 ± 0.29	4.7 ± 0.19
Albumin (g/dl)	2.7 ± 0.37	2.9 ± 0.36	2.8 ± 0.34	2.8 ± 0.41	2.8 ± 0.13
Total cholesterol (mg/dl)	138.8 ± 9.8	113.8 ± 17.4	128.7 ± 25.1	133.0 ± 29.7	151.1 ± 24.3
Blood urea nitrogen (mg/dl)	21.2 ± 3.9	17.7 ± 1.9	16.9 ± 3.3	15.7 ± 2.7*	25.5 ± 3.3
Creatinine (mg/dl)	0.08 ± 0.032	0.08 ± 0.007	0.08 ± 0.016	0.07 ± 0.006	0.09 ± 0.012

^a: One animal could not be examined due to lack of serum volume.

^b: Data of normal ICR mice at the same age.

*: p<0.05 vs. controls

Abbreviation: NIV; nivalenol

Table 4. Histopathological findings in the kidneys of ICGN mice treated with nivalenol for 4 weeks

Group	Control	6 ppm NIV	12 ppm NIV	24 ppm NIV
No. of animals examined	6	6	6	6
Mesangial expansion	22.1 ± 17.7 ^a	41.9 ± 18.7	42.4 ± 6.4	45.0 ± 13.3
Microaneurysm	0.89 ± 0.84 ^a	1.00 ± 0.90	1.80 ± 1.15	1.69 ± 0.86
Urinary casts	33 ^b	50	83	83

^a: Percentages of glomeruli affected by each lesion in one section of the kidney

^b: Incidence (%)

Abbreviation: NIV, nivalenol

Table 5. Percentage of glomeruli with α-SMA-positive mesangial cells in ICGN mice treated with nivalenol for 4 weeks

Group	Control	6 ppm NIV	12 ppm NIV	24 ppm NIV
No. of animals examined	6	6	6	6
Percentage of glomeruli with α-SMA-positive mesangial cells	33.2 ± 12.4	32.3 ± 14.2	28.8 ± 11.9	41.1 ± 21.4

Abbreviation: NIV, nivalenol

Table 6. Final body and kidneys weights of ICR mice treated with NIV for 4 weeks.

3w	Control	6 ppm NIV	12 ppm NIV	24 ppm NIV
	10	10	10	10
Final BW (g)	39.5 ± 3.0	38.7 ± 2.6	38.0 ± 3.0	35.8 ± 2.0*
Kidneys				
Absolute (g)	0.55 ± 0.06	0.54 ± 0.09	0.55 ± 0.07	0.53 ± 0.05
Relative (g/100 g BW)	1.41 ± 0.13	1.38 ± 0.20	1.46 ± 0.22	1.48 ± 0.11
8w	Control	6 ppm NIV	12 ppm NIV	24 ppm NIV
	10	10	10	10
Final BW (g)	46.3 ± 3.3	44.2 ± 4.4	46.2 ± 2.6	45.7 ± 1.7
Kidneys				
Absolute (g)	0.68 ± 0.05	0.68 ± 0.07	0.69 ± 0.08	0.63 ± 0.04
Relative (g/100 g BW)	1.47 ± 0.15	1.56 ± 0.23	1.49 ± 0.16	1.39 ± 0.09

*: Significantly different from controls at p<0.05.

Abbreviations: BW, body weight; NIV, nivalenol

Table 7. Serum biochemistry of ICR mice treated with NIV for 4 weeks.

3w	Control	6 ppm NIV	12 ppm NIV	24 ppm NIV
(n=)	10	10	10	10
TP (g/dl)	4.76 ± 0.2	4.73 ± 0.11	4.77 ± 0.24	4.62 ± 0.34
Alb (g/dl)	2.82 ± 0.14	2.86 ± 0.11	2.90 ± 0.12	2.90 ± 0.20
T-Chol (mg/dl)	152.0 ± 23.0	145.3 ± 21.7	143.3 ± 14.6	137.5 ± 13.4
BUN (mg/dl)	24.6 ± 4.2	25.1 ± 3.4	22.7 ± 2.1	22.8 ± 2.9
Cre (mg/dl)	0.085 ± 0.012	0.084 ± 0.005	0.076 ± 0.011	0.066 ± 0.014**
8w	Control	6 ppm NIV	12 ppm NIV	24 ppm NIV
(n=)	10	10	10	10
TP (g/dl)	5.04 ± 0.36	4.85 ± 0.20	4.98 ± 0.20	5.00 ± 0.27
Alb (g/dl)	2.83 ± 0.20	2.81 ± 0.14	2.87 ± 0.16	3.06 ± 0.13**
T-Chol (mg/dl)	140.6 ± 33.4	127.9 ± 24.3	158.5 ± 30.1	146.2 ± 22.3
BUN (mg/dl)	23.1 ± 2.8	25.4 ± 4.1	24.0 ± 2.1	24.2 ± 2.7
Cre (mg/dl)	0.085 ± 0.014	0.08 ± 0.011	0.071 ± 0.012*	0.075 ± 0.008

*, **: Significantly different from controls at p<0.05 and p<0.01, respectively.

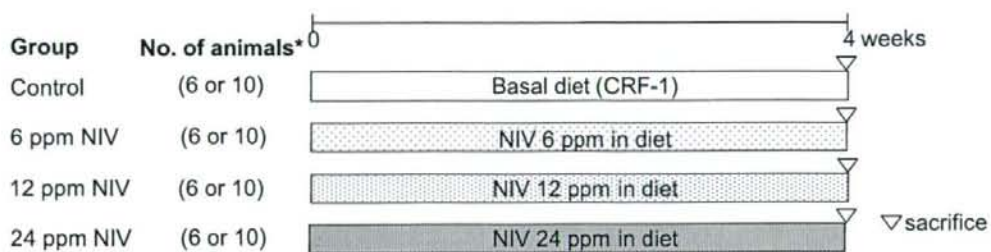
Abbreviations: NIV, nivalenol; TP, total protein; Alb, albumin; T-Chol, total cholesterol; BUN, blood urea nitrogen; Cre, creatinine

Table 8. Serum IgA concentration (mg/ml) in ICR mice treated with NIV for 4 weeks

Age at experiment start	Control	6 ppm NIV	12 ppm NIV	24 ppm NIV
	10	10	10	10
3w	325.0 ± 63.8	367.1 ± 94.0	356.2 ± 58.1	441.0 ± 106.0*
8w	774.5 ± 171.5	734.0 ± 183.9	721.9 ± 346.2	681.2 ± 163.3

*: Significantly different from controls at $p < 0.05$.

Abbreviation: NIV, nivalenol.



□ Animals: 3-week-old ICGN mice (n=6/group)
 3- and 8-week old ICR mice (n=10/group)

Fig. 1 Experimental design of the present study.

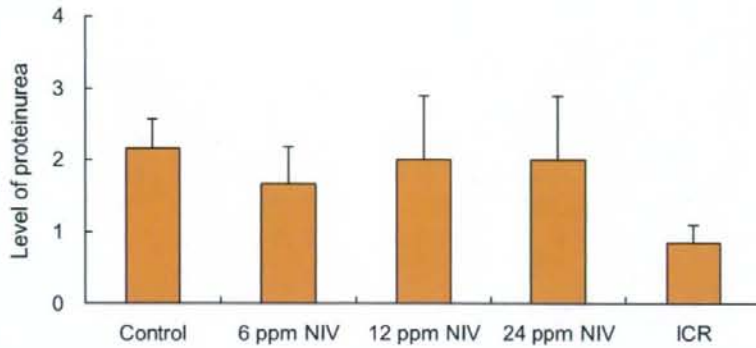


Fig. 2 Level of proteinuria of ICGN mice treated with NIV for 4 weeks.

^a Data of normal ICR mice at the same age.
Abbreviation: NIV; nivalenol

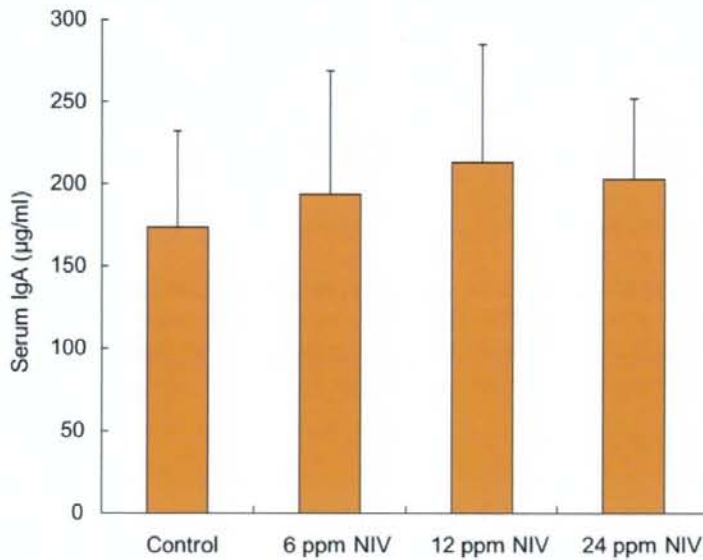


Fig. 3 IgA concentration in the serum of ICGN mice treated with nivalenol for 4 weeks

Abbreviation: NIV, nivalenol

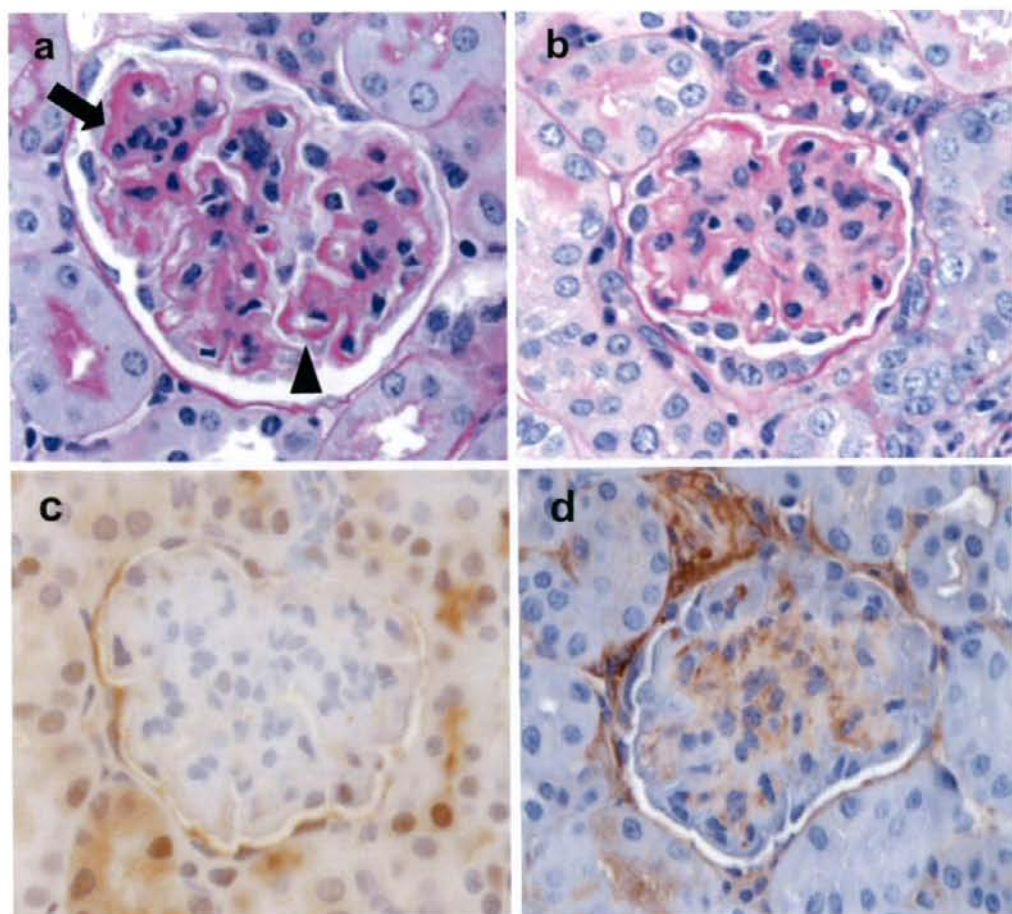


Fig. 4 Histopathological and immunohistochemical findings in the glomerulus of ICGN mice treated with nivalenol for 4 weeks.

(a) Diffuse thickened glomerular basement membrane (arrowhead) and segmental mesangial expansion (arrow). PAS. (b) Diffuse mesangial expansion. PAS. (c) Mesangial cells in the expanded mesangial area were negative for PCNA. (d) α -SMA-positive mesangial cells in the expanded mesangial area.

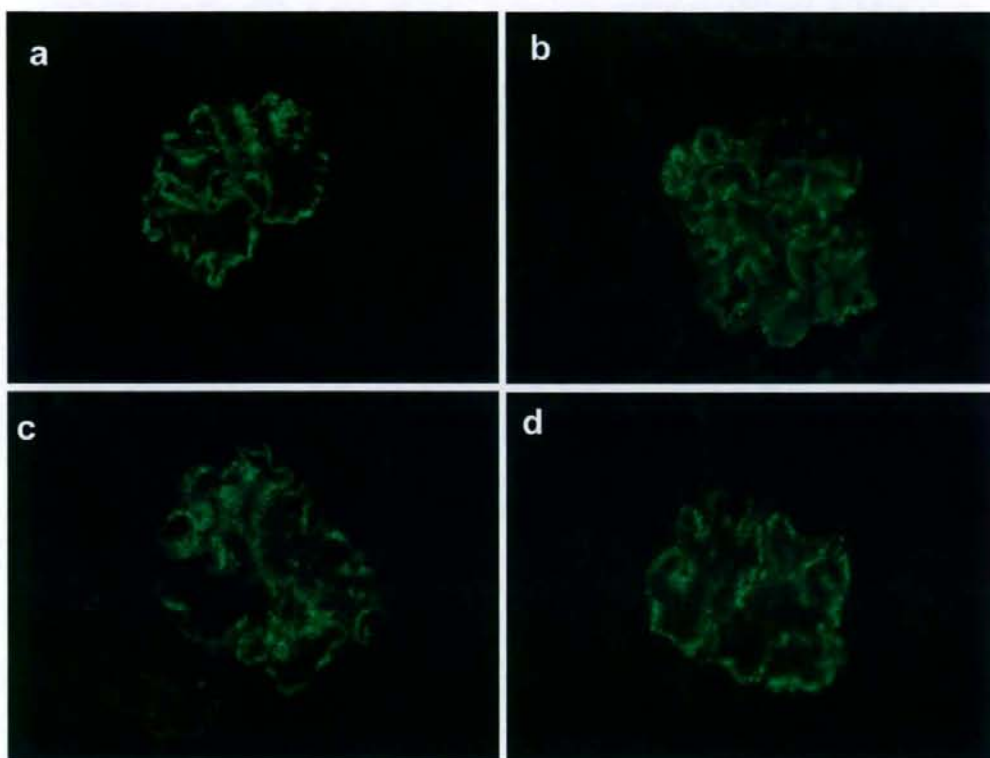


Fig. 5 Representative findings of IgA deposition in the glomerulus of ICGN mice treated with nivalenol for 4 weeks. (a) Control, (b) 6 ppm NIV, (c) 12 ppm NIV, (d) 24 ppm NIV groups. Abbreviation: NIV, nivalenol.

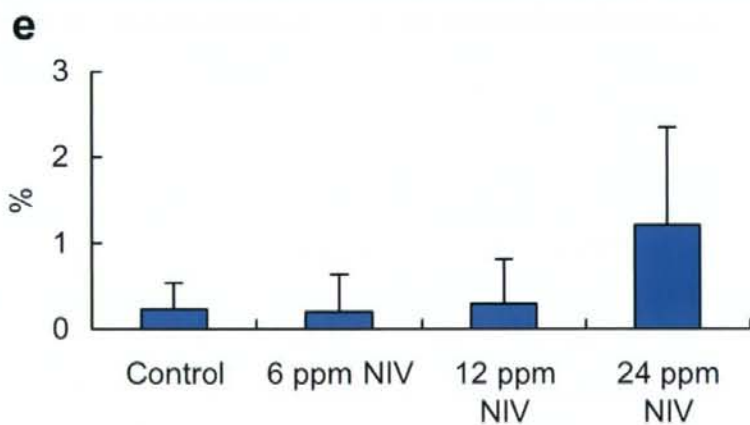
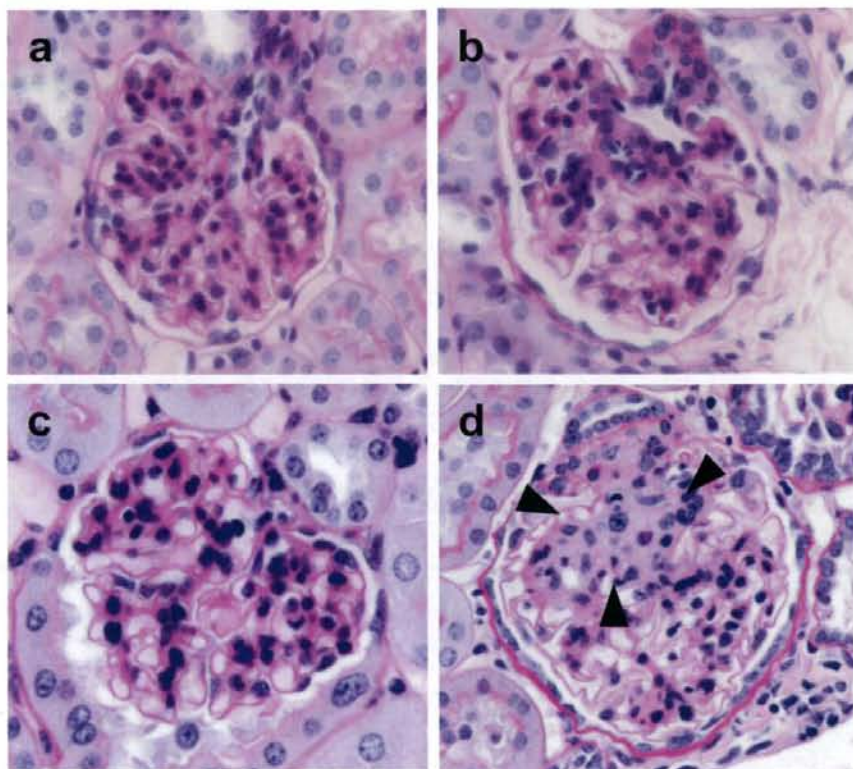


Fig. 6 Representative histopathological findings in the glomerulus of ICR mice treated with nivalenol for 4 weeks. (a) Control, 3-week-old group, (b) 24 ppm NIV, 3-week-old group, (c) control, 8-week-old group, (d) 24 ppm NIV, 8-week-old group. In the 24 ppm NIV of 8-week-old group, percentage of glomeruli with mesangial expansion was increased, compared with controls.

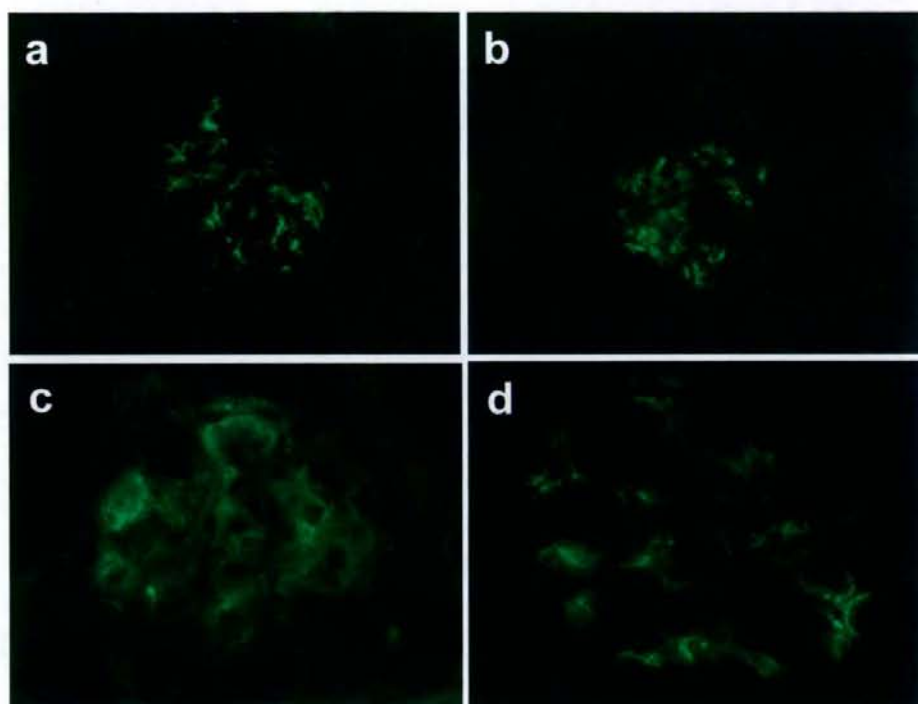


Fig. 7 Representative findings of IgA deposition in the glomerulus of ICR mice treated with nivalenol for 4 weeks. (a) Control, 3-week old group, (b) 24 ppm NIV, 3-week-old group, (c) Control, 8-week-old group, (d) 24 ppm NIV, 8-week-old group. Abbreviation: NIV, nivalenol.

別紙4

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍 2009年3月現在 なし

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌 2009年3月現在 なし

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年