

## Mouse 臟器의 形態에 미치는 T-2 Toxin의 影響

송재영 · 정덕화  
경상대학교 식품공학과

## The Effects of T-2 Toxin on the Morphology of Mouse Organ

Jae-Young Song and Duck-Hwa Chung

Department of Food Science & Tech., Gyeongsang National University, Chinju, 660-701

### ABSTRACT

To study the immunotoxicity of mouse injected with fungal mycotoxin, T-2 toxin (*Fusarium* mycotoxin) was treated to 6 week-old female C3H/He mouse and the body, organ weight and morphological change were investigated. The weights of body, liver and kidney of mouse injected the 2 mg/kg of toxin was decreased to 17, 20 and 3%, respectively, compared to control animal and the consumption of feed was also decreased with lapsing the time. The fat dropleting phenomenon and destruction of Golgi apparatus in liver and histopathological changes of tissue and mitochondria in small intestine were found by scanning electron microscopic observation.

**Keywords :** T-2 toxin, immunotoxicity, C3H/He mouse

### I. 서 론

Trichothecene은 구토, 설사, 피부독성, 장과 폐 등의 조직용혈을 나타내며 면역기능을 손상시키며 생화학적으로는 동물세포 내에서 DNA합성과 단백질 합성에 대한 억제효과<sup>1)</sup>를 나타내고, T-2 toxin이 실험동물에 미치는 영향은 사료의 섭취량 감소,<sup>2)</sup> 성장을 저해,<sup>3)</sup> 피부괴사,<sup>4)</sup> 구토,<sup>5)</sup> 설사, 신경장애,<sup>6)</sup> 면역기능의 억제,<sup>7)</sup> 생식기관의 기능억제,<sup>8)</sup> 조혈기관의 장애<sup>9)</sup> 등으로 대별된다. 특히 T-2 toxin에 의한 장애는 급성 혈관 손상, 강력한 피부 점막 손상을 비롯하여 소장점막, 생식장기와 같은 증식성 세포의 핵붕괴와 세포괴사, 그리고 입과절, 비장, 흉선 등의 면역조직에서 입과구 핵의 농축 및 감소로 인한 질병방어능력의 저하 등 방사선 장애효과와 같은 증상이 특징적이다.<sup>10,11)</sup> 인체에 여러가지 형태로 위해를 주는 mycotoxin 중 trichothecene은 *Fusarium sporotrichioides*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. sambucinum*, *F. graminearum*, *F. equiseti*, *F. moniliforme* 등<sup>2,12,13)</sup>이 주요 독소의 생성균으로 보고되었다. *Fusarium* 독소가 크게 발생하여 인체에 중독을 초래한 역사적 사건은 미국, 러시아, 일본 등 세계 여러

나라에서 찾아볼 수 있으며 주로 온대지방에서 발생한다.<sup>14)</sup> 실제 우리나라에서도 1963년 남부지방에서 맥류의 붉은 곰팡이병으로 맥류가 40~80% 수확이 감소되었고,<sup>15)</sup> 이 병에 감염된 맥류를 식품과 사료로 사용하여 인축에 심한 중독증을 초래하여 그 당시에 큰 사회적인 문제가 된 일이 있다.<sup>16)</sup> 이러한 곰팡이독은 미량으로 존재하기 때문에 기기 분석을 위해서는 많은 양의 시료가 필요하고 분석 전의 전처리 조작들이 복잡하며, 다량의 유기용매를 사용하므로 실험자의 안전성이 문제시되었다.<sup>17)</sup> 이와 같은 문제점을 해결하기 위해 특정 mycotoxin에 대해 감도 높은 항체를 동물의 체내에서 생성하여 이를 직접 오염된 mycotoxin을 분석하기 위한 방법으로 enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)법이 응용되어서 종래의 분석법에서 나타났던 단점들을 극복하게 되었다.<sup>18,21)</sup> T-2 toxin은 일년 내내 우리의 음식물에 오염될 수 있고, 이 독소를 지속적으로 우리가 섭취하고 있는 음식물을 통하여 인체에 오염될 가능성이 높다. 따라서 본 연구에서는, 곰팡이 독소인 T-2 toxin의 mouse에 대한 독성을 실험하기 위한 연구의 일환으로 T-2 toxin을 생후 6주된 C3H/He 계통의 mouse에 주

입하여 mouse의 몸무게와 장기의 무게에 미치는 영향과 전자현미경 검경에 의한 형태학적인 변화를 관찰하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. T-2 toxin의 생산 및 정제

실험에 필요한 많은 양의 T-2 toxin을 실험실 내에서 생산하기 위하여 Ueno교수(일본동경이과대학)로부터 T-2 toxin 생산균주인 *F. sporotrichioides* M-1-1을 분양받아 T-2 toxin을 생산하였다. 이때 toxin의 생산 및 정제는 정 등의 방법<sup>22)</sup>으로 실험하였다.

### 2. 실험동물 및 실험개요

동물체내에서 T-2 toxin이 미치는 영향을 실험하기 위하여 C3H/He 계통의 Mouse를 실험동물로 이용하였다. Mouse는 생후 6주된 것으로 평균무게 25g 암컷을 이용하였다. 사육실은 25°C를 유지하도록 하였고 명암주기는 12시간(08:00~20:00)으로 유지시켜, 물과 사료는 자유롭게 섭취토록하였다. 실험군은 3군으로 나누어 실험하였다. 즉, 대조군인 A군의 경우 옥수수 기름만 투여했고, B군의 경우 T-2 toxin을 옥수수 기름에 녹여서 1mg/kg을 사용하였고, C군의 경우에 2mg/kg을 주당 3회씩 경구투여하였다. 사료 섭취량과 몸무게를 주 3회 이상 측정하였으며 mouse를 2, 4, 6주째 되는 시기에 희생시켜 혈액을 받고 간과 소장의 기관을 적출하여 전자현미경 관찰을 위하여 일정한 크기로 자른 다음 고정용액(2.5% glutaraldehyde solution)에 고정시켰다.

### 3. 전자현미경 관찰

적출한 조직을 Hayat<sup>23)</sup>의 방법을 참고하여 전자현미경 관찰을 수행하였다. 적출한 조직을 1~2mm의 크기로 잘라 2.5% glutaraldehyde로 1일 동안 전고정하고 0.1M 인산염 완충수로 세척한 다음 다시 1% osmium tetroxide로 4°C에서 2시간 동안 후고정하였으며, 증류수로 같은 시간 세척하였다. 알콜 농도 상승순(60~100%)에 담가 탈수하고 Epon 812 수지에 포매하였다. 포매된 조직은 60°C 건조기(Sakura NEM-200, Japan)에서 24시간 중합시킨 후 Ultratome(LKB, Nova. Co.)을 이용하여 초박절편(70nm)을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 전자현미경하(75Kv)에서 관찰하고 사진촬영을 하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. T-2 toxin의 생산 및 정제

T-2 toxin이 mouse의 면역체계에 미치는 영향을 알아보기 위하여 다량의 독소 생산은 공시균주인 *F. sporotrichioides* M-1-1을 고체배지에 배양하여 자체적으로 실험에 사용할 다량의 독소를 생산하였다. 이때 PDA 평판배지에서 *F. sporotrichioides* M-1-1의 colony의 모양은 Fig. 1과 같았으며 균사체는 모상(downy or floccose)으로 처음에는 백색을 나타내다가 후에 붉은 색으로 되고 뒷면도 붉은 색을 띠었다. Fig. 2와 같이 CMC배지에서 conidia를 생성한 후 쌀배지에 곰팡이 균의 conidia( $10^6$  conidia/ml)를 접종하여 25°C에서 2주 동안 배양하고 다시 15°C에서 2주간 배양하였다. 배양 후 T-2 toxin의 추출 및 정제는 전보<sup>22)</sup>와 같은 실험방법으로 T-2 toxin을 얻어 실험에 사용하였다.

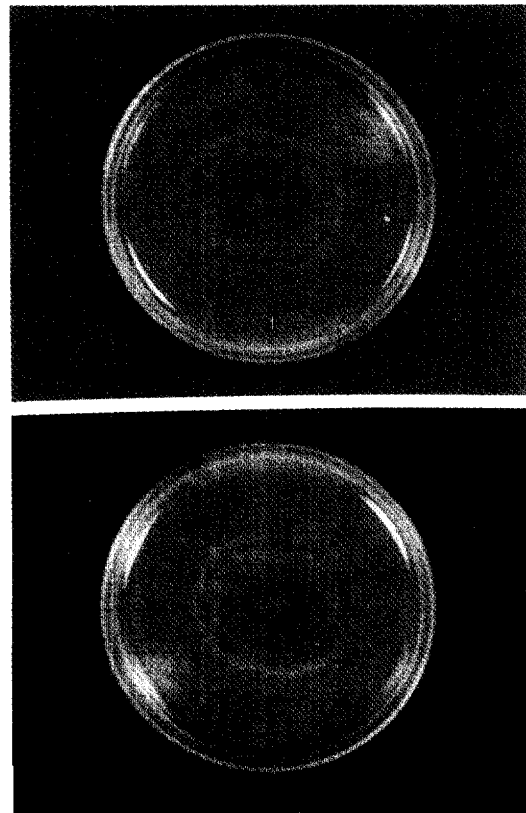


Fig. 1. Photograph of colony of *F. sporotrichioides* M-1-1 on PDA medium agr.  
A: Front view of colony, B: Rear view of colony.

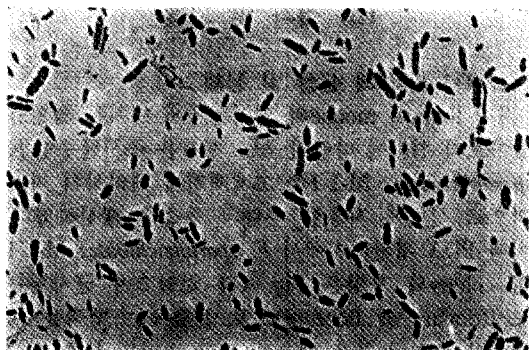


Fig. 2. Photogram of *Fusarium sporotrichioides* M-1-1 conidia. ( $\times 400$ ).

## 2. 체중 및 장기 무게에 미치는 영향

생성된 T-2 toxin의 투여가 mouse의 체중과 장기의 무게에 어떠한 영향을 미치는가를 알아보기 위하여, T-2 toxin의 농도에 따른 mouse의 체중, 간 및 신장의 장기무게 변화를 측정하였다. 그 결과, Table 1에서 보는 바와 같이 몸체중은 2 mg/kg의 T-2 toxin을 투여한 실험군에서는 6주 후  $23.32 \pm 1.12$  g으로서 대조군의  $28.12 \pm 1.51$  g보다 17%의 체중감소가 일어났으며 동일하게 처리한 mouse의 장기중 간과 신장의 무게는 각각  $12.24 \pm 0.216$  g 및

$0.313 \pm 0.034$  g으로서 대조군에 비하여 20% 및 3%의 장기 무게가 감소하여 mouse 장기 중 T-2 toxin은 신장보다는 간에 더 많은 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 한편 투여 toxin량이 많을수록 시간의 경과에 따른 mouse의 체중과 장기의 무게가 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 Smalley 등<sup>24)</sup>은 T-2 toxin이 성장을 저해했다는 보고와 Wyatt,<sup>25)</sup> Doerr<sup>26)</sup>와 Chi 등<sup>27)</sup>의 닭에서의 실험과도 일치하는 경향을 나타내었다.

## 3. 사료섭취의 변화

실험기간동안 사료 섭취량의 변화를 측정된 결과, 실험 mouse에 대하여 T-2 toxin을 1 mg/kg 주입시 2, 4, 6주 후에 각각  $3.312 \pm 0.256$ ,  $3.130 \pm 0.134$  및  $3.034 \pm 0.261$ 을 나타낸 반면, T-2 toxin을 투여하지 않은 대조군에서는 시간이 지남에 따라서 사료섭취량이 증가하였다(Table 2). 사료섭취량은 투여 독소량이 많을수록, 시간이 경과함에 따라서 감소하는 경향으로 mouse의 체중 및 장기무게의 변화와 비슷한 양상으로 이러한 결과는 Kosuri,<sup>28)</sup> Tookey 등<sup>29)</sup>이 소에서 실험한 결과보고와 Smally 등<sup>30)</sup>의 쥐에서의 실험 결과와 비슷하였다.

## 4. 전자현미경 관찰

T-2 toxin을 경구투여한 mouse의 간과 소장에서

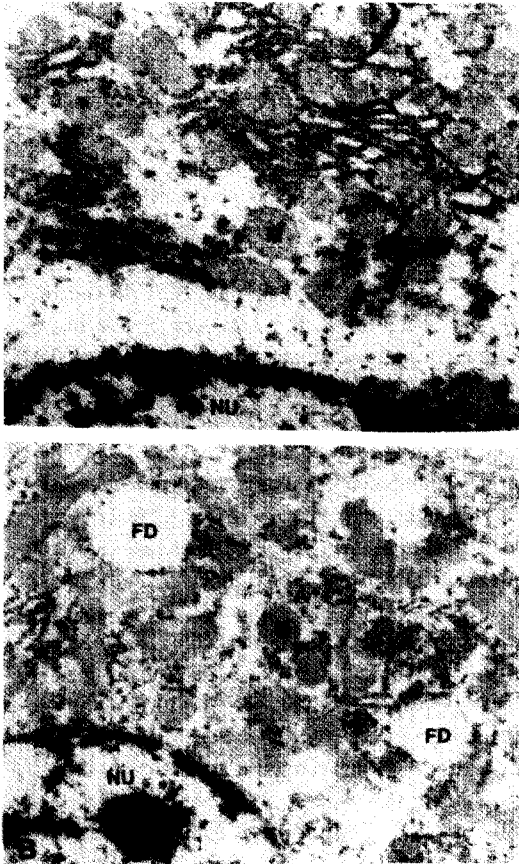
Table 1. Sequential changes in body and organ weight of mouse treated with T-2 toxin

Item	Treatment (toxin/body weight)	Weeks after treatment		
		2	4	6
Body weight (g)	Control	$26.55 \pm 2.80$	$27.65 \pm 1.32$	$28.12 \pm 1.51$
	1 mg/kg	$26.22 \pm 0.98$	$27.27 \pm 1.24$	$26.10 \pm 1.02$
	2 mg/kg	$25.34 \pm 1.22$	$24.13 \pm 0.89$	$23.32 \pm 1.12$
Liver weight (g)	Control	$1.473 \pm 0.116$	$1.497 \pm 0.189$	$1.530 \pm 0.058$
	1 mg/kg	$1.579 \pm 0.097$	$1.249 \pm 0.181$	$1.251 \pm 0.151$
	2 mg/kg	$1.581 \pm 0.158$	$1.290 \pm 0.142$	$1.224 \pm 0.126$
Kidney weight (g)	Control	$0.309 \pm 0.043$	$0.336 \pm 0.043$	$0.321 \pm 0.019$
	1 mg/kg	$0.334 \pm 0.018$	$0.330 \pm 0.042$	$0.299 \pm 0.026$
	2 mg/kg	$0.328 \pm 0.017$	$0.332 \pm 0.043$	$0.313 \pm 0.034$

Table 2. Sequential changes for food consumption of mouse treated with T-2 toxin

Treatment toxin/body weight	No. of serum donor mouse	Weeks after treatment		
		2	4*	6**
Control	5	$3.339 \pm 0.324$	$3.590 \pm 0.212$	$3.971 \pm 0.348$
1 mg/kg	5	$3.312 \pm 0.256$	$3.130 \pm 0.134$	$3.034 \pm 0.261$
2 mg/kg	5	$2.725 \pm 0.137$	$2.508 \pm 0.235$	$2.424 \pm 0.332$

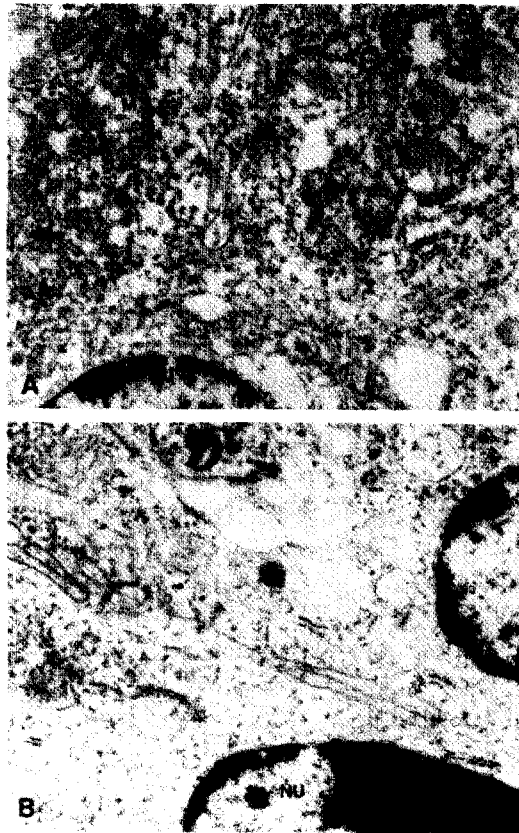
\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ .



**Fig. 3.** Electron micrographs of ultrastructural features of the liver of mouse. Damaged Golgi apparatus and fat droplets were observed. A: Control, B: T-2 toxin treated group ( $\times 12,000$ ), NU: Nucleus, FD: Fat droplets, M: Mitochondria.

그 독성으로 인하여 어떠한 형태학적 변화를 초래하는지 전자현미경 관찰을 통하여 실험하였다. 그 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 간에서는 지방과립이 발달하는 모양이 보였고, Golgi apparatus가 영성한 모양을 보였으며 핵주위를 더욱 확대해 보았을 때 지방과립의 발달과 Golgi apparatus의 파손을 확실히 본 수 있었다. 또한 소장의 경우에는 지방과립의 발달은 볼 수 없었으나 mitochondria속의 크리스테가 약간의 영성한 모양을 보였으며 핵막이 붕괴되는 모양을 관찰할 수 있었다.(Fig. 4)

일반적으로, 간 손상을 유발하는 많은 물질 등은 간 세포내에 지방, 특히 triglyceride를 비정상적으로 많이 축적시키는 것으로 알려져 있다. 휘취에 carbon



**Fig. 4.** Electron micrographs of ultrastructural features of the intestine of mouse. Mitochondrial damages and nuclear membrane damages were observed. A: Control, B: T-2 toxin treated group ( $\times 12,000$ ), M: Mitochondria.

tetrachloride, ethionine, phosphorus, puromycin 또는 tetracycline을 투여하면 간장에 지방이 축적되는데 이러한 주요한 원인을 Dianzani,<sup>28)</sup> Hoyumpa<sup>29)</sup> 그리고 Lobladi<sup>30)</sup> 등은 간세포에서 합성된 triglyceride가 혈액으로 방출되는데 방해를 받기 때문이라고 보고하였다. 따라서 간세포에 지방이 축적되면 혈액으로 방출되는데 방해를 받기 때문이라고 보고하였다. 따라서 간세포에 지방이 축적되면 혈중지질과 lipoprotein 농도의 감소가 유발된다고 알려져 있는데, 본 실험에서도 세포질에 산재하는 지방이 들어 있는 크고 작은 소포가 다량으로 관찰되었다. 따라서 T-2 toxin은 mouse의 간조직에서의 손상정도가 뚜렷하여 생체 내에서의 면역조직뿐만 아니라 면역체계에도 영향을 미치는 것으로

유추하였다. 위와 같은 연구 결과로 미루어 보아 T-2 toxin이 곡류를 비롯한 사료, 토양 등에서 *Fusarium*속 곰팡이가 분포되며, 사료에서도 T-2 toxin이 검출되는 사례가 많으므로 T-2 toxin이 오염되는 것을 예방하는데 주의를 기울여야 할 것이라고 생각된다.

#### IV. 결 론

곰팡이 독소인 T-2 toxin이 mouse에 대한 독성을 시험하기 위한 연구의 일환으로 T-2 toxin을 생후 6주된 C3H/He 계통의 mouse에 체중 및 장기의 무게에 미치는 영향과 형태학적 관찰을 실시하였다. 그 결과, 2 mg/ml의 T-2 toxin을 투여한 실험군에서는 6주 후 체중이 대조군에 비하여 17%가 감소되었으며 장기중 간과 신장은 각각 20% 및 3%의 감소가 있었고 사료섭취량도 T-2 toxin을 1 mg/kg을 투여함으로 기간의 경과에 따라 감소되었다. 아울러 장기의 형태학적인 영향은 간에서의 지방소적 현상과 골지체의 파손이 관찰되었으며, 소장에서는 핵막이 붕괴되었고 다소의 미토콘드리아가 영향을 받는 것으로 나타났다.

#### 참고문헌

- 1) Ueno, Y. : Trichothecenes-Chemical, Biological, and Toxicological Aspects, Elsevier Science Publisher, Amsterdam, **135**, 1983.
- 2) Chi, M. S., Mirocha, C. J., Kurtz, H. J., Weaver, G., Bates, F., Shimoda, W. and Burmeister, H. R. : Acute toxicity of T-2 toxin in broiler chicks and laying hens, *Poultry Science*, **56**, 103-106, 1977.
- 3) Chi, M. S., Mirocha, C. J., Kurtz, H. J., Weaver, G., Bates, F. and Shimoda, W. : Subacute toxicity of T-2 toxin in broiler chicks, *Poultry Science*, **56**, 306-313, 1977.
- 4) Ueno, Y., Ishikawa, K., Amakai, M., Nakajima, M., Saito, M., Enomoto, M. and Ohtsubo, K. : Comparative study on skin-necrotizing effect of scripenol metabolites of *Fusaria*, *Japan J. Exp. Med.*, **40**, 33-38, 1970.
- 5) Ellison, R. A. and F. N. Kotsonis : T-2 toxin as an emetic factor in mouldy corn, *Appl. Microbiol.*, **26**, 540-543, 1973.
- 6) Wyatt, R. D., Colwell, W. M., Hamilton, P. B. and Burmeister, H. R. : Neural disturbances in chickens caused by dietary T-2 toxin, *Appl. Microbiol.*, **26**, 757-761, 1973.
- 7) Boonchuvit, B., P. B. Hamilton, and H. R. Burmeister : Interaction of T-2 toxin with *Salmonella* infections of chickens, *Poultry Science*, **54**, 1693-1696, 1975.
- 8) Pier, A. C. : An overview of the mycotoxicosis of domestic animals, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **163**, 1259-1261, 1973.
- 9) Doerr, J. A., Huff, W. E., Tung, H. T., Wyatt, R. D. and Hamilton, P. B. : A survey of T-2 toxin, ochratoxin, and aflatoxin for their effect of the coagulation of blood in young broiler chickens, *Poultry Science*, **53**, 1728-1734, 1974.
- 10) Cundliffe, E., M. Canon and J. Davies : Mechanism of inhibition of eukaryotic protein synthesis by trichothecene fungal toxins (H-HeLa cell/yeast/polyribosomes/peptidyl transferase activity/initiation), *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **71**, 30-34, 1974.
- 11) Saito, N., Ueno, Y. and Enomoto, M. : Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria*. Acute and subacute toxicities of T-2 toxin in cats, *Japan J. pharmacol.*, **25**, 263-270, 1975.
- 12) Bamburg, J. R., N. V. Riggs, and F. M. Strong : Structure of toxins from two strains of *Fusarium tricinctum*, *Tetrahedron*, **24**, 3329-3336, 1968.
- 13) Ellison, R. A. and Kotsoni, F. N. : *In vitro* metabolism of T-2 toxin, *Appl. Microbiol.*, **27**, 423-424, 1974.
- 14) Bhat, R. V., Beedu, S. R., Ramakrishna, Y. and Munshi, K. L. : Outbreak of trichothecene mycotoxicosis associated with consumption of mould-damaged wheat products in Kashmir valley, *India. Lancet*, 35-38, 1989.
- 15) Kim, Jong-Su : Experimental trichothecene(T-2) toxicosis in guinea pigs, Ph. D. Theses, Seoul National University, 1985.
- 16) Chelkowski, J., Kwasna, H., Zajkowski, P., Visconti, A. and Bottalico, A. : *Fusarium sporotrichioides* s. str. and trichothecenes associated with *Fusarium* ear rot of corn before harvest. *Mycotoxin Research*, **3**, 111-113, 1987.
- 17) Kuroda, H., Mori, T., Nishioka, C. Okasaki, H. Takaki, M. : Studies on gas chromatographic determination of trichothecene mycotoxins in food, *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **20**, 137-142, 1979.
- 18) Chu, F. S., Grossman, S., Ru. D. W. and Mirocha, C. J. : Production of antibody against T-2 toxin,

- Appl. Environ. Microbiol.*, **37**, 104-108, 1979.
- 19) Pestka, J. J., Lee, S. S., Lau, H. P. and Chu, F. S. : Enzyme-linked immunosorbent assay for T-2 toxin, *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **58**, 940-944, 1981.
  - 20) Hunter, K. W., Brinfield, A. A., Miller, M., Frinkelman, F. D. and Chu, F. S. : Preparation and characterization of monoclonal antibodies to the trichothecene mycotoxin T-2, *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**, 168-172, 1995.
  - 21) Gendloff, E. H., Pestka, J. J., Dixon, D.E. and Hart, L. O. : Production of a monoclonal antibody to T-2 toxin with strong cross-reactivity to T-2 metabolites, *Phytopathology*, **77**, 57-59, 1987.
  - 22) 송지영, 정덕화 : ELISA법에 의한 mouse의 혈청 및 조직 중의 T-2 toxin의 검색, 한국환경위생학회지, 투고중, 1996.
  - 23) Hayat, M. A., J. E. C. Bellamy, and H. B. Schiefer : Subacute toxicity of dietary T-2 toxin in mice: Morphological and Hematological effects, *Can. J. Comp. Med.*, **44**, 219-228, 1980.
  - 24) Smalley, E. B. : T-2 toxin, *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **163**, 1278-1281, 1973.
  - 25) Wyatt, R. D., P. B. Hamilton and H. R. Burmeister : The effects of T-2 toxin in broiler chickens, *Poult. Sci.*, **52**, 1853-1859, 1973.
  - 26) Kosuri, N. R., et. al. : Response of cattle to mycotoxins of *Fusarium tricinctum* isolated from corn and fescue, *J. Am. Vet. Res.*, **157**, 938-940, 1970.
  - 27) Tookey, H. L., Yates, S. G., Ellis, J. J., Grove, M. D. and Nicholls, R. E. : Toxic effects of a butenolide mycotoxin and of *Fusarium tricinctum* cultures in cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **160**, 1522-1526, 1972.
  - 28) Dianzani, M. V. : Toxiv injury in liver, New York: Marcel Dekker, Inc., 281-331, 1979.
  - 29) Hoyumpa, E. B., Smalley, E. B., Strong, F. M. and Riblin, W. E. : Identification of T-2 toxin in moldy corn associated with a lethal toxicosis in dairy cattle, *Appl. Microbiol.*, **24**, 684-690, 1972.
  - 30) Lobaridi, B. : Considerations on the pathogenesis of fatty liver, *Lab. Invest.*, **15**, 1-20, 1966.