

國立臺灣大學生物資源暨農學院動物科學技術學系

碩士論文

Department of Animal Science and Technology

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

嘔吐毒素對臺灣土雞性能之影響

The Impact of Deoxynivalenol on the Performance of
Taiwan Country Chickens

陳雪羚

Stephanie Chen

指導教授：林美峰 博士

Advisor: Mei-Fong Lin, Ph.D.

中華民國 105 年 2 月

February 2016



謝 誌



本論文得以告成，首先要感謝敬愛的指導老師—林美峰老師，由於學海無涯，尋找問題並不比解決問題來得容易，過程中老師除了在我迷惘時牽引我往正確的方向航行，亦包容我嘗試錯誤以培養我獨立思考的能力。自大學以來於研究室經歷的五年或許並不嫌長，於我而言卻是彌足珍貴，謹在此對老師獻上最高的敬意。

誠摯地感謝口試委員林美峰老師、魏恒巍老師、王淑音老師及劉嘉睿老師，給予精闢入理的建議，使這本論文的邏輯脈絡得以更加條理分明。感謝魏老師及家禽營養研究室的成員，提供我進行動物試驗的場地並共同維護畜舍環境。感謝指導我統計的姜延年老師及林恩仲老師，始終以過人的耐心，指引我釐清棘手的問題。還有如同親人的楊國泰老師及許炯偉老師，雖然相處時間短暫，對老師的感激之情溢於言表，很榮幸能向蘊含學識涵養的兩位老師學習。感謝宜蘭大學的鄭永祥老師、生技所的李永華學長、切片室的曾阿姨及陳小姐，在付出專業技術與意見諮詢方面投入莫大的助力。也感謝廖奕雯學姊、游位育學長及所有系辦人員，日日辛勞地替我們打理校園日常、處理繁雜事務，我會很懷念學長笑罵一句的同時，亦不忘多問候兩句關心的情景。

學習固然過程艱困，但收穫更為豐盛，在此感謝實驗室夥伴給予我心靈上的歸屬。誠摯地感謝李一泓學長的親手提攜，讓菜鳥如我逐漸蛻變成有歷練的研究生。謝謝阿干、智淞、李盼、志偉和珮璇，不論是茶餘飯後的閒聊或是切磋學問、挑燈夜戰，與你們渡過的歡笑聲讓我感受不到孤單。感謝鈺登、小波、佳凝、靜瑜、信甫、其芬和佳琪，與你們並肩學習的路上讓我感受不到距離。

不論是在路上偶然相遇，或是在課堂中相聚，學涯中相逢的每個人都曾為我的學思歷程帶來啟發。直到接近離開校園的此時此刻，但願能將所有與老師及同學們相處過的畫面，刻印在永不褪色的相片上。最後，感謝無私包容我的家人還有偉禎，因為你們一路上的陪伴、支持與鼓勵，才能成就今天及未來的我。本文獻給所有給予我協助和關懷的人們。

摘要



本研究旨在探討嘔吐毒素 (deoxynivalenol, DON) 對於臺灣土雞性能之影響。試驗使用 208 隻 5 日齡黑羽臺灣土雞, 採公母混養並逢機分配至四個餵飼處理組, 分別給飼含 0、2、5 及 10 ppm 嘔吐毒素濃度之飼糧。餵飼試驗為期 16 週並劃分成三期, 分別為 5-21 日齡、22-70 日齡及 71-112 日齡, 於各期結束時進行採樣及犧牲。研究結果顯示, 雖於第二期期間, 5 及 10 ppm 組之公和母雞體增重差距擴大, 然試驗全期之生長表現並無顯著差異。血液生化值如血清天冬胺酸轉胺酶 (aspartate transaminase, AST)、丙胺酸轉胺酶 (alanine transaminase, ALT)、尿酸 (uric acid, UA) 及免疫球蛋白 A (immunoglobulin, IgA) 濃度並未受嘔吐毒素濃度影響, 嘔吐毒素對於心臟及肝臟之相對重量亦無顯著影響, 然於試驗結束時, 餵飼 5 ppm 組雞隻之脾臟相對重量顯著較對照組增加 ($P < 0.05$), 而 10 ppm 組除母雞脾臟組織之增生細胞 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 數目顯著減少, 而公雞被促進增生外, 其脾臟組織之細胞凋亡增加 (TUNEL 分析) 及 DNA 損傷加劇 (γ -H2AX) ($P < 0.05$)。在腸道方面, 除 5 ppm 組有部分公雞之迴腸顯現絨毛異常短小的現象外, 絨毛型態上各組間並沒有顯著差異。而在攸關腸道障壁之空腸緊密連接蛋白 claudin-5 的表現量上, 2 及 5 ppm 組之母雞呈顯著增加, 然而公雞表現量則顯著被抑制 ($P < 0.05$)。綜述論之, 10 ppm 以下嘔吐毒素污染之飼糧對臺灣土雞生長性狀無顯著影響, 然而本研究結果顯示, 長期暴露於高濃度嘔吐毒素危害下, 雞隻之免疫系統會被刺激, 進而可能造成免疫器官的損傷, 嘔吐毒素藉由調控緊密連接蛋白表現量以改變腸道障壁功能, 而腸道障壁的毀損可能助長病原的入侵, 進而提高雞隻對傳染性疾病之感受性。關於嘔吐毒素對家禽長期性的影響, 仍需未來進行多方研究以更深入探討。

關鍵字：嘔吐毒素、臺灣土雞、生長性能、組織型態、長期性影響

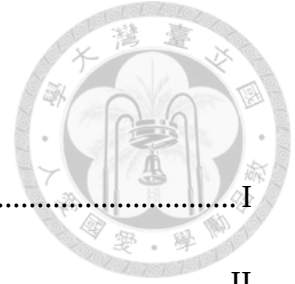
ABSTRACT



The objective of this study was to investigate the impact of deoxynivalenol (DON) on the growth performance of Taiwan country chickens. Two hundred and eight 5-d-old black-feathered Taiwan country chickens were randomly assigned to 4 treatments, 0, 2, 5 and 10 ppm DON. The experiment lasted for 16 weeks and was divided into three intervals, 5-21 d, 22-70 d, and 71-112 d. Results indicated that although the difference of body weight gain between male and female birds widened during the second phase in treatments fed diets containing high levels of DON, the overall growth performance was not significantly different. None of the blood biochemistry (serum ALT, AST, UA and IgA) responded to increased DON levels in the diet. DON had no adverse effects on relative organ weights except that relative weights of spleen in birds fed 5 ppm DON diet increased compared with that of controls ($P < 0.05$). Increasing proliferation (proliferating cell nuclear antigen, PCNA), higher levels of apoptosis (TUNEL assay), and DNA damage (γ -H2AX) were observed in immunohistochemistry of the spleen sections in 10 ppm DON treatment ($P < 0.05$), except that female birds had decreased proliferation index. There were no significant differences in intestinal morphology, whereas the length of villus in ileum tended to be shorter among birds fed diets containing low levels of DON. The expression of tight junction protein, claudin-5, increased in some female birds fed 2 and 5 ppm DON, while in male birds, it appeared to have decreased expression levels ($P < 0.05$). In conclusion, Taiwan country chickens seemed to possess high tolerance to DON contaminated diets. Nevertheless, our results show that DON may cause disturbance to the immune system and impair the barrier function of the intestine, leading to higher susceptibility to infectious disease. Further investigation on the long-term effect of DON is required to confirm these findings.

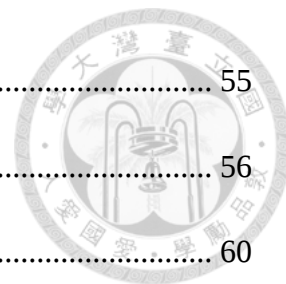
Keywords: deoxynivalenol, Taiwan country chicken, growth performance, tissue morphology, long-term effect

目 錄



謝 誌	I
摘 要	II
ABSTRACT	III
目 錄	IV
圖 次	VII
表 次	VIII
緒 言	1
壹、文獻回顧	2
一、嘔吐毒素之生成及汙染概況	2
(一) 黴菌及黴菌毒素	3
(二) 嘔吐毒素之普遍性	5
二、嘔吐毒素之毒性	8
(一) 作用標的、病徵及機制	8
(二) 代謝途徑及衍生物	17
三、家禽對嘔吐毒素之感受性	22
(一) 家禽可能的代謝方式	23
(二) 嘔吐毒素對家禽的影響	25
四、各國規範嘔吐毒素之限量標準	31
五、臺灣土雞簡介及產銷概況	33

貳、材料與方法	36
一、試驗設計	36
(一) 試驗飼糧	36
(二) 試驗動物	38
(三) 犧牲及採樣	38
二、測定項目及分析方法	39
(一) 飼料營養分析	39
(二) 嘔吐毒素檢驗	40
(三) 生長表現	41
(四) 血液生化值	41
(五) 內臟相對重量	41
(六) 脾臟石蠟切片	41
(七) 腸道冷凍切片	45
(八) 緊密連接蛋白表現量之測定	45
三、統計分析	48
參、結果	49
一、飼糧嘔吐毒素濃度	49
二、動物試驗	50
(一) 生長表現	50
(二) 血液生化值	52
(三) 內臟相對重量	53



(四) 脾臟組織切片	55
(五) 免疫組織化學染色	56
(六) 腸道型態	60
(七) 腸道緊密連接蛋白表現量	61
(八) 嘔吐毒素於內部臟器之殘留量	63
肆、討論	64
一、嘔吐毒素對臺灣土雞之生長表現的影響	64
二、嘔吐毒素對臺灣土雞之血液生化值的影響	66
三、嘔吐毒素對臺灣土雞之免疫器官的影響	66
(一) 內臟相對重量	66
(二) 病理切片	67
(三) 組織的增生、凋亡及 DNA 損傷	67
四、嘔吐毒素對臺灣土雞之腸道完整性的影響	71
(一) 腸道型態	71
(二) 腸道障壁	72
五、評估嘔吐毒素於臺灣土雞內部臟器之殘留	73
六、綜合討論	74
伍、結論	76
參考文獻	77
附 錄	91
小 傳	92

圖 次



圖 1	新月毒素群之化學結構式.....	4
圖 2	嘔吐毒素環氧結構與蛋白質及核酸之可能交互作用.....	9
圖 3	嘔吐毒素之細胞效應.....	10
圖 4	新月毒素群誘發氧化緊迫之可能影響途徑.....	11
圖 5	嘔吐毒素於豬及牛之代謝途徑.....	19
圖 6	嘔吐毒素於人及動物體內之可能代謝衍生物.....	19
圖 7	比較人及反芻動物、家禽之消化道各部位 pH 及對應微生物質量.....	23
圖 8	腸道上皮細胞之緊密連接蛋白組成.....	29
圖 9	臺灣黑羽土雞之品種外觀.....	33
圖 10	嘔吐毒素對臺灣土雞於 16 週齡之體增重的影響.....	52
圖 11	嘔吐毒素對臺灣土雞於 10 週齡之體重及體增重的影響.....	52
圖 12	嘔吐毒素對臺灣土雞於 16 週齡之脾臟相對重量的影響.....	54
圖 13	16 週齡臺灣土雞脾臟組織之蘇木紫及伊紅染色切片圖.....	55
圖 14	嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞脾臟組織之細胞增生的影響.....	57
圖 15	嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞脾臟組織之細胞凋亡的影響.....	58
圖 16	嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞脾臟組織之細胞 DNA 損傷的影響.....	59
圖 17	PCNA、TUNEL 分析及 γ -H2AX 免疫組織化學染色之負控制組.....	60
圖 18	16 週齡臺灣土雞迴腸絨毛冷凍切片圖.....	61
圖 19	16 週齡臺灣土雞以西方點墨法測定空腸組織中緊密連接蛋白表現量.....	62
圖 20	餵飼臺灣土雞 10 ppm 嘔吐毒素於 10 及 16 週齡肝臟之 HPLC 層析圖.....	63

表 次



表 1	美洲、歐洲及亞洲各地區飼料及原料之嘔吐毒素發生率 (2009-2011)	7
表 2	嘔吐毒素及其代謝物於豬隻各食用部位之轉移率	21
表 3	嘔吐毒素汙染飼料原料之衍生風險評估	22
表 4	嘔吐毒素影響家禽臟器相對重量之文獻彙整	27
表 5	美國食品與飼料之嘔吐毒素建議量	31
表 6	歐盟飼料嘔吐毒素建議值	32
表 7	日本及中國飼料嘔吐毒素限量標準	32
表 8	臺灣土雞及白肉雞於 2010-2014 年底在養量及屠宰量	34
表 9	臺灣土雞及白肉雞於 2010-2014 年之畜產價格	34
表 10	試驗飼糧配方	37
表 11	飼糧嘔吐毒素濃度	49
表 12	嘔吐毒素對臺灣土雞之生長表現的影響	51
表 13	嘔吐毒素對臺灣土雞之血液生化值的影響	53
表 14	嘔吐毒素對臺灣土雞之內臟相對重量的影響	54
表 15	嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞之脾臟的增生、凋亡及 DNA 損傷之影響 ..	57
表 16	嘔吐毒素對臺灣土雞腸道絨毛型態之影響	60
表 17	嘔吐毒素對臺灣土雞之緊密連接蛋白表現量的影響	62
表 18	嘔吐毒素對臺灣土雞體增重及總體重的影響	65
表 19	嘔吐毒素對臺灣土雞之影響彙整	75

緒 言



據估計，全球每年約有 25-50% 的作物受到黴菌毒素之危害，造成數十億美元的經濟損失。嘔吐毒素（deoxynivalenol, DON）為受黴菌污染穀物中，普遍檢測得到的黴菌毒素之一，其黴害主要好發於溫帶國家。其穩定性高及耐高溫之特性，使得配合飼料遭受其污染的風險仍然很高，對於誤食污染飼糧之經濟動物的生長表現，則會造成嚴重衝擊。臺灣飼料用玉米幾乎全數仰賴進口，玉米進口以美國為大宗，由於嘔吐毒素為其玉米之主要污染物，故進口國勢必要提高警覺。

國外與嘔吐毒素相關的研究，多數以白肉雞為實驗對象，而白肉雞飼養期短，有關嘔吐毒素對家禽長期性影響的資料並不多見。黑羽土雞（black-feathered country chicken）為臺灣兩大商用土雞品系之一，其較白肉雞飼養期長，遂適合作為嘔吐毒素毒性長期評估之研究對象。近年來臺灣有畜禽業者質疑飼料遭受黴菌毒素污染，可能導致畜禽生長、繁殖及疾病管理等問題發生，然目前除黃麴毒素外，並未訂出飼料中其他毒素之限量標準，以供參照。另因臺灣地處亞熱帶地區，動物飼養環境與歐美有所不同，為確保飼料衛生安全，日後政府在制定飼料之嘔吐毒素限量標準時，除參考國外相關資料外，有必要進行在地之資料收集，以映證之。

本研究旨在評估不同濃度之嘔吐毒素，長期對於臺灣黑羽土雞之生長表現、免疫器官及腸道完整性的影響。另外亦評估雞隻於長期餵飼下，嘔吐毒素殘留於內臟的可能性。期能取得科學實驗之實證以供專家學者研究，及政府制定畜禽飼料嘔吐毒素相關規範之參考。

壹、文獻回顧



一、嘔吐毒素之生成及汙染概況

黴菌毒素 (mycotoxin) 為真菌所產生的次級代謝物，主要侵害農作物及食物。於農作物收穫前後、加工製程、運輸或倉儲期間，若溫度及濕度適當即容易發生黴菌汙染。黴菌透過形成菌絲，侵入並破壞植株結構，增殖的同時生成黴菌毒素。一種黴菌可能產生多種黴菌毒素，而少數情形下，一種黴菌毒素可能由不同種類黴菌所生成 (Robbins et al., 2000)。全球估計每年約有 25-50% 的農作物遭受黴菌毒素的汙染 (Ricciardi et al., 2013)，不僅引發全球各地關注黴菌毒素對動物與人類之致病問題，其導致的經濟損失亦不容忽視，每年估計造成數十億美元的經濟損失 (Bhat et al., 2010)，嚴重衝擊到穀物市場及食品安全。

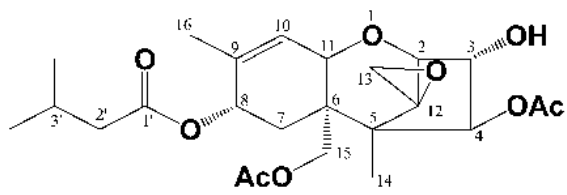
嘔吐毒素為農作物中被檢出頻率最高的黴菌毒素之一，是在 1970 年發生於日本南部地區之鐮孢真菌嚴重汙染小麥及大麥的案例中，首度從受感染的穀物中被分離而出 (Morooka et al., 1972)。迄今嘔吐毒素被發現的相關衍生物已有 10 餘種，近年亦不乏研究針對其衍生物毒性進行評估 (Yoshizawa, 2013)。

(一) 黴菌及黴菌毒素

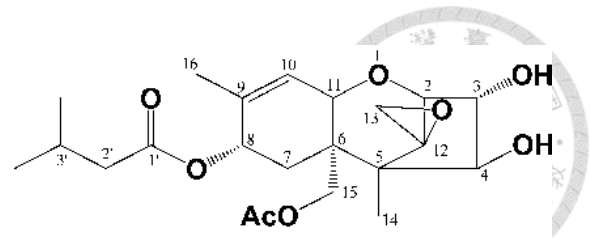
在飼料生產過程中，較受重視的黴菌毒素有黃麴毒素 (aflatoxins)、伏馬鐮孢菌毒素 (fumonisins)、赭麴毒素 (ochratoxin)、玉米烯酮 (zearalenone) 及新月毒素群 (trichothecenes)，而嘔吐毒素隸屬於新月毒素群。迄今已被定義的新月毒素群超過 200 餘種，分子量介於 200-500 Da，依化學結構式不同而分成 A、B、C、D 四型，其共同特徵為位於 C9-C10 之雙鍵及 C12-C13 之環氧結構 (圖 1)，其中毒性較強且較常見者為 A 型之 T-2 毒素、HT-2 毒素及 B 型之嘔吐毒素，產毒菌種皆為鐮孢菌屬 (*Fusarium* spp.)。

嘔吐毒素污染的作物以小麥、大麥及玉米等穀物為主，主要由 *F. culmorum* 及 *F. graminearum* 所產生，前者最適產毒溫度為 21°C、相對濕度 87%，而後者最適產毒溫度為 25°C、相對濕度 88% (JECFA, 2001)。其產毒黴菌除透過產生毒素影響作物價值外，亦會於田野間引發小麥赤黴病及玉米穗腐病等作物病變，造成作物直接的損失。

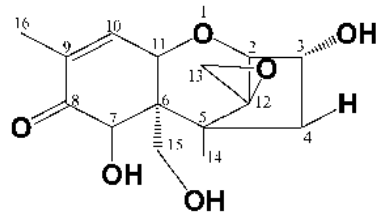
一般而言，依照霉變好發的階段可將黴菌毒素區分成田間黴菌 (field molds) 及儲存黴菌 (storage molds)。田間黴菌偏好於採收前侵害含水量 20-25% 之作物，而儲存黴菌則於採收後之倉儲期間，在水分含量達 13-18% 的條件時增生。另外，兩者亦常同時出現於飼料中 (Bryden, 2012)。在已開發國家，穀物於收穫、脫粒後大多經乾燥使其水分含量降至 13% 以下，以避免黴菌孳生。鐮孢菌屬被歸類為田間黴菌，故影響嘔吐毒素生成量的關鍵因素為收穫前的氣候條件。其產毒黴菌偏好於低溫、潮濕的環境中生長 (Pestka and Smolinski, 2005)，尤其好發於北美洲農作開花的期間、正值降雨的季節。



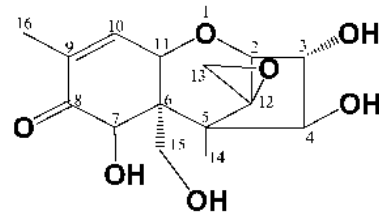
Type A: T-2 toxin



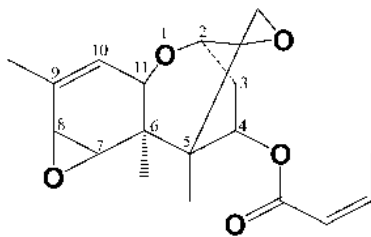
Type A: HT-2 toxin



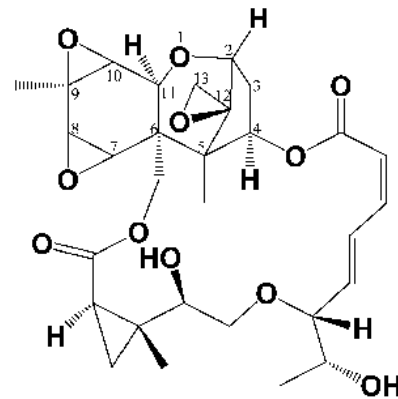
Type B: Deoxynivalenol



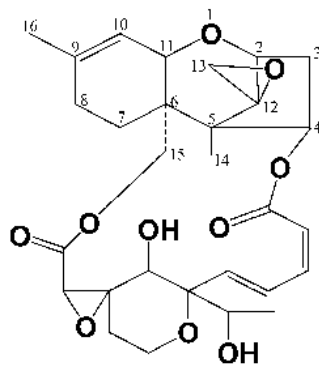
Type B: Nivalenol



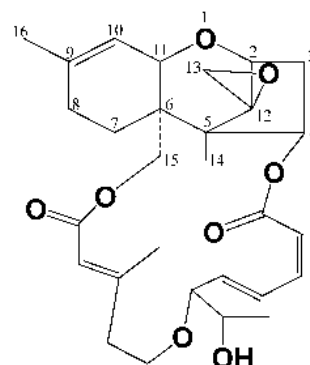
Type C: Crotocin



Type C: Baccharin



Type D: Satratoxin



Type D: Roridin

圖 1 新月毒素群之化學結構式

Figure 1 Structures of trichothecenes (types A, B, C, and D).

(Li et al., 2011)

(二) 嘔吐毒素之普遍性

飼料原料如小麥、大麥、玉米等穀物及其副產品皆有遭受嘔吐毒素汙染的風險。嘔吐毒素之穩定性高、耐高溫（高達 350°C），即便經過加工製程或烹煮，仍可持久存在於飼料及食品生產鏈中（Pestka and Smolinski, 2005; Sugita-Konishi et al., 2006; Kushiro, 2008）。

前人彙整 2009 至 2011 年間，源自美洲、歐洲及亞洲各飼料廠或畜牧場的玉米、大豆粕、小麥等原料及飼料樣本之各種黴菌毒素汙染概況，其結果如表 1 所示，檢測樣本共計 7,049 件，其中嘔吐毒素部分有 5,819 件（Rodrigues and Naehrer, 2012）。結果顯示嘔吐毒素於飼料及原料的檢出率為 59%，檢出樣本之平均濃度為 1,104 ppb，最高檢出值 49,307 ppb，其中取自中歐、東南亞及澳洲的小麥/麩皮樣本之最高檢出值皆大於 40 ppm。源自北美洲及中歐的玉米樣本約有 72-79% 遭受嘔吐毒素汙染，是為主要汙染的黴菌毒素。配合飼料樣本（包含豬、家禽及乳牛者）之汙染概況則與所使用的大宗原料有相同趨勢，例如北美洲所採集的配合飼料樣本以玉米為大宗原料，亦有嘔吐毒素高檢出的情形（檢出率 65%，檢出樣本之平均濃度 1,718 ppb）。依其資料顯示，配合飼料遭受黴菌毒素汙染的風險仍然很高，尤其是亞洲地區，特別是含括中國、日本、韓國及臺灣之北亞地區應提高注意。該地區之飼料的嘔吐毒素檢出率高達 89%，最高檢出值為 19,141 ppb，皆遠高於所有檢出樣本之平均值。其與 Wei et al. (2012) 收集 2008 至 2011 年間中國生產之玉米原料和玉米加工產品，嘔吐毒素檢出率均達 50% 以上，檢出濃度 0.3-4,374 ppb 的結果相似。



以臺灣的情形而言，飼料用玉米幾乎全數需仰賴進口供應，每年進口約 450 萬公噸，主要進口國為美國、巴西、印度、阿根廷及南非等國家（財政部關務署，2015）。林等（2015）於 2011 年採集自不同國家進口之玉米總計 96 件樣本，進行玉米黴菌毒素濃度檢測，發現嘔吐毒素總檢出率高達 94.8%，檢出值涵蓋 113 至 907 ppb，尤以北美洲及非洲之樣本檢出濃度較其他進口國為高（平均濃度分別為 408.7 及 484.2 ppb）。

為因應全球穀物價格高漲，原先臺灣重度依賴美國進口玉米，自 2007 年後逐漸轉向巴西、印度、阿根廷及南非等國家進口玉米。隨著進口多元化，加上環境氣候異常、倉儲條件不佳等可能因素，近年來臺灣有畜禽業者質疑飼料遭受黴菌毒素汙染，可能導致畜禽生長、繁殖及疾病管理等問題發生。由於臺灣目前尚無飼料及食品之嘔吐毒素限量標準，將來因應原料來源之多樣化，以及確保食糧之衛生安全，相關標準之制定或有其必要性。

表 1 美洲、歐洲及亞洲各地區飼料及原料之嘔吐毒素發生率（2009-2011）

Table 1 Deoxynivalenol occurrence in feedstuffs and feed samples surveyed in Americas, Europe and Asia between 2009 and 2011.

	<i>All Samples</i>	<i>Corn</i>							
		North America	South America	Central Europe	Southern Europe	North Asia	South-East Asia	South Asia	Oceania
Number of tested samples	5,819	390	322	535	59	477	218	106	11
Positive (%)	59	79	17	72	47	92	45	22	27
Average of positive (ppb)	1,104	1,085	214	1,421	985	1,154	307	278	182
Maximum (ppb)	49,307 ¹	24,900	939	26,121	3,851	15,073	4,805	1,150	249
<i>Soybean meal</i>									
	North America	South America	Central Europe	Southern Europe	North Asia	South-East Asia	South Asia	Oceania	
Number of tested samples	45	55	43	25	37	105	16	3	
Positive (%)	18	29	21	24	38	18	31	33	
Average of positive (ppb)	1,007	208	470	419	149	201	186	150	
Maximum (ppb)	5,500	428	741	908	314	973	259	150	
<i>Wheat / wheat bran</i>									
	North America	South America	Northern Europe	Central Europe	Southern Europe	North Asia	South-East Asia	Oceania	
Number of tested samples	25	17	71	436	24	75	40	109	
Positive (%)	76	53	55	55	38	87	65	48	
Average of positive (ppb)	1,029	947	1,058	1,534	1,204	922	2,251	5,046	
Maximum (ppb)	7,000	2,520	7,341	49,000	3,505	5,331	41,439	49,307	
<i>Finished feed</i>									
	North America	South America	Northern Europe	Central Europe	Southern Europe	North Asia	South-East Asia	South Asia	Oceania
Number of tested samples	55	130	27	579	104	671	447	111	86
Positive (%)	65	13	74	67	37	89	35	22	34
Average of positive (ppb)	1,718	250	641	792	431	829	287	156	296
Maximum (ppb)	6,100	808	1,889	25,759	1,252	19,141	2,683	634	709

¹ One of the wheat samples from Australia.

(Data compiled from Rodrigues and Naehrer, 2012)



二、嘔吐毒素之毒性

(一) 作用標的、病徵及機制

嘔吐毒素若經攝食後，極可能會對人及動物之腸道、免疫及神經內分泌系統造成影響。短期攝取高劑量之嘔吐毒素，其急性病徵有下痢、嘔吐、白血球增多、出血甚至死亡。長期攝取低劑量則會引發厭食、體重減輕、營養吸收不良、神經內分泌及免疫紊亂等慢性病徵 (Pinton et al., 2009)。

1. 作用機制

致使嘔吐毒素危害重大的要因乃其能跨越生理障壁 (包含腸道及血腦障壁)，並能影響構成障壁的細胞之功能性。研究證實嘔吐毒素能與細胞內之核糖體結合，且於某些情況下嘔吐毒素能為胞內酵素所降解，顯示其確實能進入細胞。然針對嘔吐毒素如何進入細胞的詳細機制仍不清楚，有鑒於嘔吐毒素為極性分子，故可能的假說為 (1) 嘔吐毒素藉由膜上仍未被定義之通道蛋白擴散入細胞內，以及 (2) 仰賴胞吞作用 (Větvicka and Fornůsek, 1987; Dobson et al., 2009)。

嘔吐毒素於細胞層級發揮其毒性的可能假說為，嘔吐毒素仰賴其環氧結構 (epoxide group)，與真核生物之 60S 次單位核糖體 (ribosomal RNA, rRNA) 行交互作用，致使蛋白質之轉譯階段受到阻撓。不僅抑制蛋白質的合成，更伴隨著核毒緊迫效應 (ribotoxic stress effect) 誘導生成，進而導致諸多蛋白激酶 (protein kinase) 的活化、基因表現的調控及細胞毒性 (Pestka et al., 2004; 2008; 2010a, b)。

嘔吐毒素結合 rRNA 的確切反應原理迄今仍不清楚，然嘔吐毒素的環氧結構很可能與 RNA 核苷酸鏈上之胺基形成鍵結(Swenberg et al., 2010)。此外，蛋白質之胺基、羧基、硫氫基及羥基均有可能會與嘔吐毒素之環氧結構形成反應(圖 2)。因此，嘔吐毒素亦可能藉由與 rRNA 相關之蛋白質行交互作用而影響，然而目前並無證據指出嘔吐毒素會與去氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)、信息核糖核酸(messenger RNA, mRNA)及其他蛋白質結合的實例。關於嘔吐毒素為何會針對 rRNA 及其相關蛋白質之原因不明，僅能推測 rRNA 之核苷酸鏈或蛋白質或許擁有正確的幾何位向及化學結構，使得嘔吐毒素能夠選擇性地與之作用(Maresca, 2013)。

嘔吐毒素與 rRNA 結合的後續效應為誘發絲裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)之激活，受影響的激酶種類取決於嘔吐毒素的濃度劑量(圖 3)，進一步影響先天性免疫或細胞凋亡之相關蛋白質表現(Pestka, 2008; Pestka, 2010a, b; He et al., 2012a, b)。

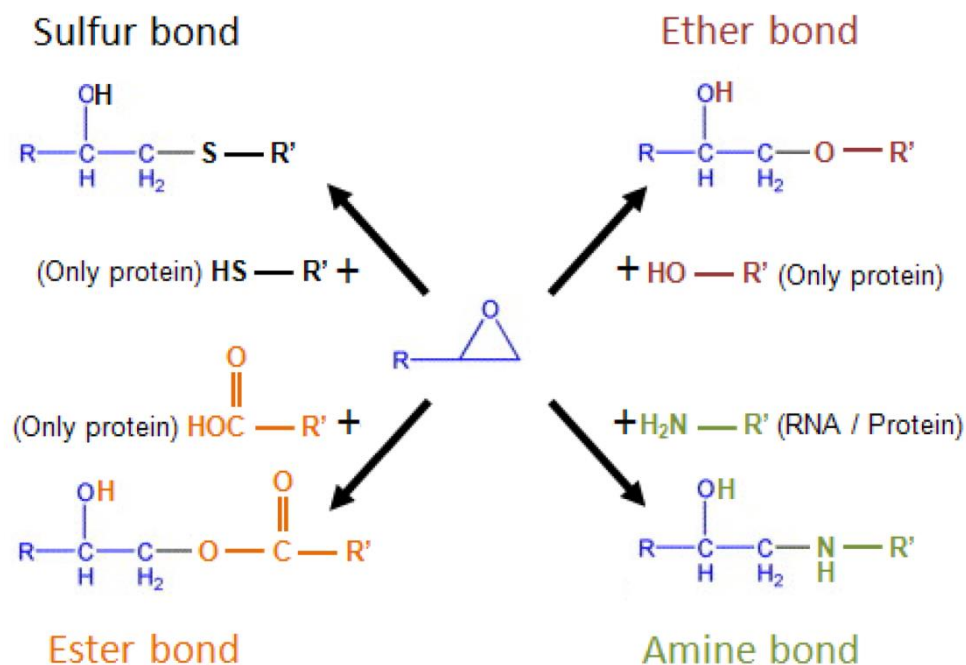


圖 2 嘔吐毒素環氧結構與蛋白質及核酸之可能交互作用

Figure 2 Chemical reactivity of the epoxide moiety.

(Maresca, 2013)

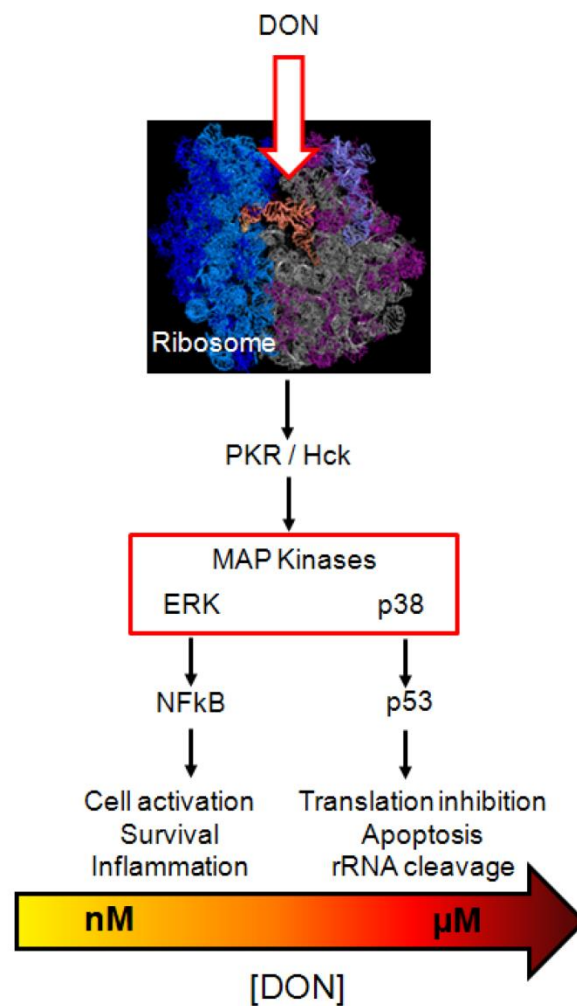


圖 3 嘔吐毒素之細胞效應

Figure 3 Cell effects of deoxynivalenol (DON). Top image shows the organization of eukaryotic ribosome. The small subunit (40S) on the left contains an RNA molecule (cyan) and 20 proteins (dark blue); the large subunit (60S) on the right contains two RNA molecules (grey and slate) and more than 30 proteins (magenta). The image also shows a transfer RNA (orange) bound to the active site of the ribosome.

(Maresca, 2013)

除了誘導 MAPKs 活化之途徑，諸多研究亦指出嘔吐毒素具有提升氧化緊迫（oxidative stress）的潛能，是另一致毒性的可能機制（Wu et al., 2014）（圖 4）。嘔吐毒素顯著提高胞內之活性氧物種（reactive oxygen species, ROS），同時減少胞內抗氧化酵素如過氧化氫酶（catalase, CAT）及超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）之含量。由於活性氧物種及其自由基（free radicals）與細胞之氧化損傷關聯密切，而帶有雙鍵結構的不飽和脂質、蛋白質或 DNA 極易成為自由基攻擊的標的。許多體內及體外試驗顯示嘔吐毒素促使氧化緊迫之生成，亦間接導致脂質過氧化、DNA 單鏈或雙鏈的斷裂（Mishra et al., 2014）。

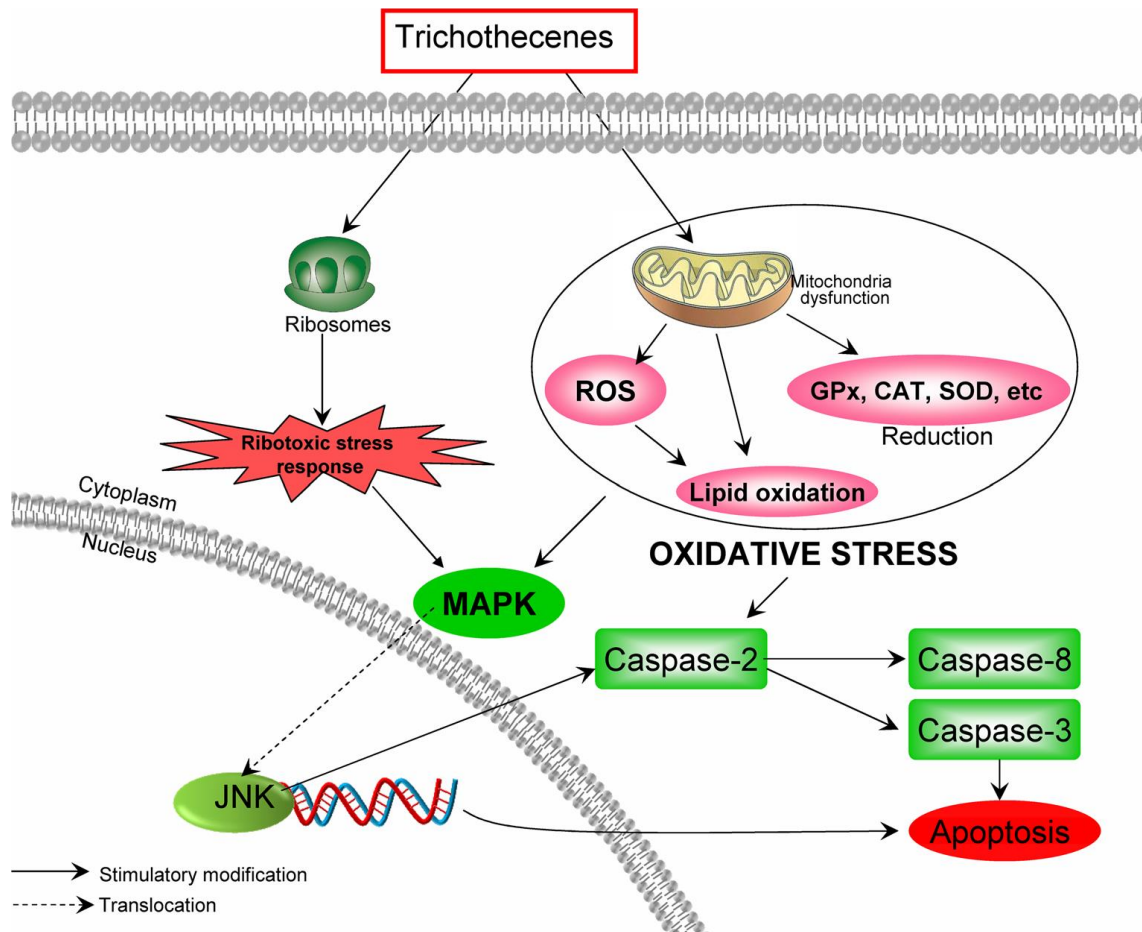


圖 4 新月毒素群誘發氧化緊迫之可能影響途徑

Figure 4 Speculated mechanism of oxidative stress-mediated toxicity of trichothecene in animals.

(Wu et al., 2014)



2. 腸道生理之影響

由於嘔吐毒素會影響細胞的存亡，對於細胞更新頻繁的腸道組織而言，勢必造成衝擊。腸道上皮由單層細胞所構成，扮演篩選物質、營養分流入細胞的媒介，同時抵擋外界有害物質如外來抗原、微生物及其分泌毒素進入動物體（Groschwitz and Hogan, 2009）。相鄰的腸道上皮細胞乃藉由獨特的連接方式以形成交互作用，包含封閉細胞間隙之緊密連接（tight junction）、影響細胞間黏著性之黏著連接（adhesion junction）及細胞間溝通的間隙連接（gap junction），上皮細胞間彼此聯繫協調以使細胞保持穩定性及完整性，或達成細胞間訊息傳遞的作用（Pitman and Blumberg, 2000）。腸道為免疫調節之重鎮，透過各種機制調控免疫，以保護動物體免於病原刺激，並維持組織之持恆（homeostasis）。

動物攝入含有嘔吐毒素污染的飼糧後，首當其衝的為腸道上皮細胞。體內及體外試驗均證實，嘔吐毒素會影響腸道上皮細胞之增生，及其對葡萄糖和胺基酸等養分之吸收（Pinton and Oswald, 2014）。長期暴露於嘔吐毒素污染飼糧危害下的動物，除消化率異常、採食量下降之外，伴隨較差生長表現之顯著病徵為腸道型態的病變，尤對豬隻之影響最劇。許多動物餵飼試驗顯示，動物之腸道上皮絨毛有縮短、併合或頂端毀損的情形。詳細機制仍待更深入的研究，探討嘔吐毒素是否對特定細胞（包含腺窩之幹細胞及絨毛之分化細胞）的效應有別，進而了解嘔吐毒素在調控細胞增生、分化及凋亡中所扮演的角色。



體外試驗 (*in vitro*) 顯示，嘔吐毒素會抑制許多營養分轉運通道之正常功能，尤以鈉-葡萄糖轉運通道 (sodium-glucose transporter, SGLT) 最為敏感 (Maresca et al., 2002)，其為體內吸收及回收葡萄糖主要路徑之一，體內試驗 (*in vivo*) 同樣指出腸道之葡萄糖吸收能力遭受嘔吐毒素之抑制。此外，該通道於消化道水分吸收亦有舉足輕重的影響力 (每日約 5 升)，或許能部分解釋嘔吐毒素致使下痢的原因。至於嘔吐毒素如何造成鈉-葡萄糖轉運通道及其他轉運通道功能異常之詳細機轉仍不明確，或許是直接抑制其蛋白質合成，或透過 MAPKs 活化之途徑以傳遞發炎訊息，使其正常功能受到間接抑制 (Amador et al., 2007, 2008)。嘔吐毒素衝擊到動物體對營養分的吸收，可能是毒素對動物生長抑制之部分原因。

除了阻礙養分吸收，嘔吐毒素亦影響腸道上皮細胞之通透性，進而損害其障壁功能 (Pinton et al., 2009)。於豬隻腸道上皮細胞株之體外試驗及動物餵飼試驗均顯示，嘔吐毒素會抑制腸道上皮細胞間之緊密連接蛋白 (tight junction proteins) 的表現量 (尤其是跨膜之 claudin)，同時使跨膜電阻值 (transepithelial electrical resistance, TEER) 顯著下降，該值是用來判斷細胞單層膜完整性的有效指標 (Harhaj and Antonetti, 2004)。於細菌移位 (bacterial translocation) 的試驗顯示，腸道通透性的提高亦使病原菌如大腸桿菌及沙門氏菌更易於跨越腸道上皮之間隙 (Vandenbroucke et al., 2011)，因而可能提高動物對病原菌之感受性。上述證據支持前人研究，相較於短期接觸而言，長期暴露於嘔吐毒素危害下的豬隻，對毒素之生物利用度 (bioavailability) 有所提高 (Goyarts and Dänicke, 2006)，可能原因為腸道障壁功能的減弱，使嘔吐毒素滲入動物循環系統之情形加劇。



嘔吐毒素對腸道造成的影響亦包含藉由活化 MAPKs 途徑促成腸道發炎反應。就細胞層級而言，低劑量（1-20 μM ）的嘔吐毒素會影響與腸道先天性免疫相關之蛋白質表現（如 COX-2 及 β -defensins），而於調控免疫之細胞激素分泌量上則往往會觀察到雙向效應（biphasic effect），低劑量（1-25 μM ）具促進分泌介白素-8（interleukin-8, IL-8）的作用，而高劑量（50-100 μM ）則抑制其分泌（Maresca et al., 2008）。IL-8 被認為會間接影響中樞神經系統，故與動物攝食嘔吐毒素後的厭食及嘔吐症狀或許有所關聯。嘔吐毒素之雙向效應亦解釋其於低劑量被視為是腸道促發炎反應物質，而在高劑量則扮演腸道免疫抑制劑之不同角色。

3. 免疫系統之影響

嘔吐毒素跨越腸道上皮障壁之後，面臨其危害衝擊的即為免疫系統，不論是體液免疫或細胞免疫皆能深受影響。嘔吐毒素對動物體之促進免疫或抑制免疫兩種效應，取決於毒素的劑量、接觸毒素的時間長短及時機。體內或體外試驗均證實，免疫細胞（諸如巨噬細胞、B 細胞、T 細胞）對於嘔吐毒素的毒性相當敏感（Maresca, 2013）。

在體液免疫方面，過去的研究往往出現不一致的結果，部分作者觀察到動物血清中之 IgA 濃度於餵飼嘔吐毒素後有所上升（Pestka et al., 1989; Swamy et al., 2002; Drochner et al., 2004; Goyarts et al., 2006b），然而其他研究卻未觀察到餵飼嘔吐毒素後動物血清免疫球蛋白 A（immunoglobulin, IgA）濃度有所變化（Swamy et al., 2003; Dänicke et al., 2004a）。Tiemann and Dänicke (2007) 歸納造成差異的原因可能為各研究的實驗操作條件略有不同所致，包含毒素給予的形式、飼糧的配製以及上述的影響因素等。



嘔吐毒素於細胞免疫方面，與影響免疫細胞之增生能力關聯密切。前人透過抽取動物之淋巴細胞，於體外進行絲裂原誘導增生（mitogen-induced proliferation）的試驗，以評估嘔吐毒素之免疫毒性。Malovrh and Jakovac-Strajn (2010) 發現取自以 5.08 ppm 嘔吐毒素餵飼 54 天豬隻之淋巴細胞，受到有絲分裂原（mitogen）及嘔吐毒素的雙重刺激下，細胞被促進增生的程度顯著高過對照組。另一相似的研究亦發現餵飼豬隻 4.7 ppm 嘔吐毒素 9 週後，其淋巴細胞受到有絲分裂原刺激之增生反應亦高過對照組（Øvernes et al., 1997）。

然亦有研究顯示，於口服急性劑量下（單次口服 5.7 ppm）其淋巴細胞於體外試驗的增生表現顯著受抑制，推測與嘔吐毒素抑制蛋白質合成的作用有關（Goyarts et al., 2006b）。但比對以相同濃度的嘔吐毒素餵飼豬隻 4 週之試驗，並無明顯影響淋巴細胞之增生（Goyarts et al., 2006a），此與其他豬隻餵飼試驗的結果相似（Tiemann et al., 2006; Döll et al., 2007）。上述各研究結果之不一致是否可能與其餵飼時間之長短有關，相較於 54 天或 9 週，4 週的餵飼期顯然不足於造成影響。另有作者指出，嘔吐毒素對淋巴細胞之增生具有雙向效應，Pinton et al. (2008) 餵飼豬隻 2.2-2.5 ppm 嘔吐毒素 9 週，試驗初期豬隻經卵白蛋白（ovalbumin）抗原誘導免疫反應後，抽取其淋巴細胞，於體外測定在卵白蛋白抗原刺激下（antigenic stimulation）之增生能力，發現於餵飼第 3 週促進淋巴細胞增生，然至第 5 週及其後則反受抑制，反映餵飼時間長短是嘔吐毒素影響免疫反應之重要因素。



相較於其他種類細胞，作為先天性及後天性免疫的中間橋梁之巨噬細胞對嘔吐毒素極為敏感（10 至 100 倍之差異）。低劑量（nM 濃度）之嘔吐毒素即會對其胞吞作用、抗原呈遞、分泌細胞激素以調節 B 及 T 細胞等功能造成影響，於低劑量下巨噬細胞之功能受到活化，進而導致發炎相關之細胞激素的大量分泌（Pestka, 2010a, b）。相對地，高劑量（ μ M 濃度）之嘔吐毒素會抑制巨噬細胞活性，並促使其凋亡（Döll et al., 2009; Sugiyama et al., 2010）。由於巨噬細胞可藉由抗原呈遞以活化 B 細胞及 T 細胞，同時調節後天性免疫，故綜而言之，嘔吐毒素對巨噬細胞之負面影響極易擴散，使得暴露於毒素危害下之動物對病原的感受性增強。

先前研究指出，即便動物未表現出明顯病徵，與免疫系統相關之器官如脾臟及肝臟亦可能遭受病變。Tiemann et al. (2006; 2008a, b) 的多篇研究報告指出，經餵飼含高濃度嘔吐毒素之飼糧（9.6 ppm）長達 5 週之女豬或懷孕母豬的脾臟細胞增生能力受抑制。另外，亦發現肝臟及脾臟組織切片有明顯的血鐵質沉著（hemosiderosis），即血鐵質（hemosiderin）於臟器中沉積，反映了老化之紅血球被巨噬細胞吞噬的情形加劇。作者推測很可能是嘔吐毒素刺激過量的細胞激素生成，進而影響紅血球的更新所致（Birgegård et al., 2005）。此外，鐵離子的大量沉積亦會對周遭細胞帶來負面影響，因過量的鐵質很可能促使氧化緊迫的上升，進而造成細胞損傷。

綜觀上述，動物在攝食嘔吐毒素後，對腸道及免疫系統均可能造成衝擊。諸多體內或體外試驗顯示，腸道之絨毛型態、養分吸收、障壁功能受損，同時可能伴隨不同程度之免疫反應，因劑量不同而有促進或抑制效果。腸道及免疫系統彼此透過發炎介質、病原的轉移、內泌素調節失衡而相互影響，進而導致動物體對病原的抵抗力下降、生長表現變差。是故即便飼糧中為低濃度的嘔吐毒素，長期的後續效應仍不容忽視。



(二) 代謝途徑及衍生物

1. 代謝途徑及產物

一般而言，嘔吐毒素的「代謝」係指將原有毒素轉化為它種衍生物的過程，包含於消化道內，透過微生物分泌的酵素加以轉化，以及動物體本身經由腸黏膜、肝臟或腎臟等重要代謝器官進行的轉化。嘔吐毒素經動物攝入後代謝所產生之衍生物，主要有微生物進行去環氧化（de-epoxidation）所形成的 de-epoxy-DON，或稱 DOM-1（DON metabolite-1），以及動物體內源酵素作用下所形成的各種嘔吐毒素共軛（conjugated）型式（圖 5、圖 6）。

微生物進行之去環氧化於反芻動物相當重要，先前以餵飼泌乳牛嘔吐毒素，並檢測其十二指腸前端所回收到的嘔吐毒素及 DOM-1 含量的研究，發現離開牛胃的嘔吐毒素有很高的比例（81-99%）為 DOM-1 型式（Dänicke et al., 2005b; Seeling et al., 2006），而 DOM-1 經證實不具有細胞毒性（McCormick, 2013），可見嘔吐毒素之環氧結構經降解後能有效地削弱其毒性。雖然具有高程度的轉化，然離開牛胃抵達腸道之總量，佔嘔吐毒素攝入量之 12-77%。嘔吐毒素於十二指腸回收率的減少，顯示嘔吐毒素很可能於牛胃壁被大量吸收。豬隻腸腔內微生物亦有轉化嘔吐毒素的能力，然其轉化顯然發生於後腸（Dänicke and Brezina, 2013）。以嘔吐毒素及其衍生物加總量來看，糞便排除的 DOM-1 佔比高達 64%，僅 36% 仍維持原有的嘔吐毒素型式，然此途徑排除的僅佔原始攝取量的 0.1% 以下，大多數（82-97%）的嘔吐毒素被吸收至血液循環中，並由尿液排除。上述資料顯示，腸腔內微生物之轉化能力對豬隻嘔吐毒素毒性之削弱上，貢獻不大。

毒素與葡萄糖醛酸行共軛作用（glucuronidation）及與硫酸進行的磺化作用（sulfonation）被視為是降解毒性之重要途徑，乃因兩者皆能增加毒素的水溶性，以加速代謝物經由尿液或膽汁的排除（Ritter, 2000; Gamage et al., 2006），另外，所產生的衍生物亦不具有細胞毒性（Wu et al., 2007）。

位於嘔吐毒素 3、7 及 15 號碳上的羥基，可在尿苷二磷酸葡萄糖醛酸轉移酶（uridine diphosphate glucuronosyltransferase, UGT）的作用下接合葡萄糖醛酸。Maul et al. (2012) 以體外試驗將各種動物肝臟中之微粒體（microsome）抽離出來，並與嘔吐毒素進行共培養，用於分析微粒體轉化嘔吐毒素之酵素活性。相較其他物種，研究發現牛肝臟微粒體能產製相當大量的葡萄糖醛酸結合態之嘔吐毒素，反觀豬則產率不佳。此點亦印證前人研究，攝食嘔吐毒素的泌乳牛，血液中測得將近 100% 的 DOM-1 為結合態，且檢測不到原有的嘔吐毒素，證明牛隻不僅仰賴瘤胃微生物轉化嘔吐毒素，體內酵素亦有極強的效力進行轉化。相對地，於豬隻血液中測得的嘔吐毒素仍有 65% 維持原有型式，僅有 35% 為結合態，在尿液中結合態的嘔吐毒素比例提升至一半，至於膽汁中則高達 92%，很可能是因這種代謝物會不斷經由肝膽循環而逐漸累加（Dänicke and Brezina, 2013）。目前還未能確定動物體具有轉化能力的內源酵素之確切結構，以及主掌轉化作用的確切部位，僅合理推測腸黏膜及肝臟同時具備轉化嘔吐毒素的功用。

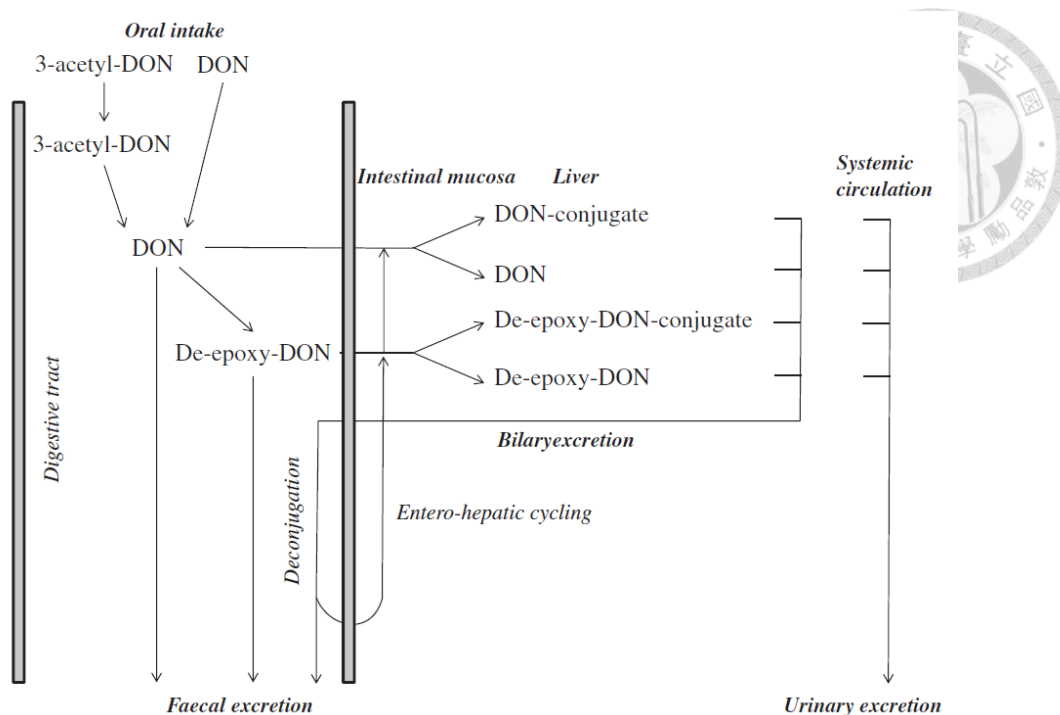


圖 5 嘔吐毒素於豬及牛之代謝途徑

Figure 5 Metabolism of deoxynivalenol (DON) in pig and cattle.

(Dänicke and Brezina, 2013)

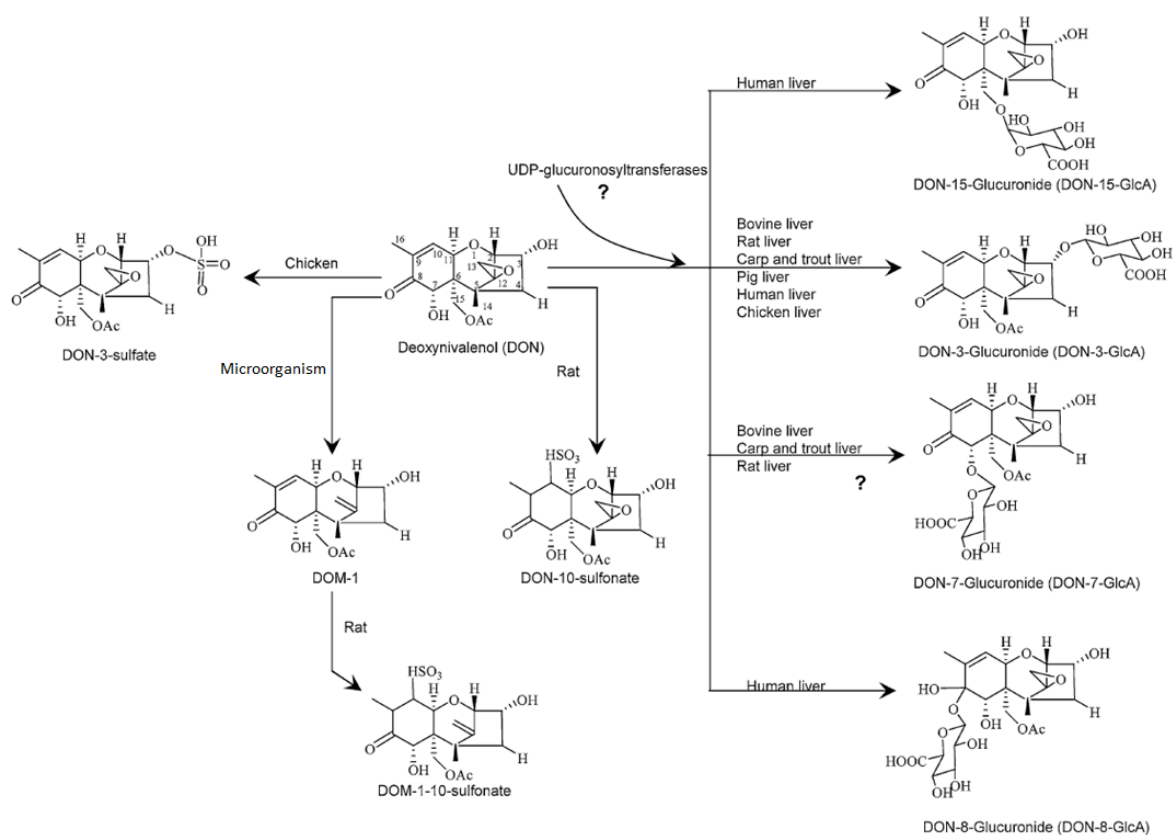


圖 6 嘔吐毒素於人及動物體內之可能代謝衍生物

Figure 6 Proposed phase II biotransformation of deoxynivalenol in animals and humans.

(Modified from Wu et al., 2014)



2. 畜產品轉移率

經濟動物攝入含有嘔吐毒素的飼料，毒素是否會殘留於畜產品當中，便是食品衛生安全之重要議題。Dänicke and Brezina (2013) 發表的回顧文獻中，提及嘔吐毒素於畜產品的轉移率 (carry-over)。諸多證據指出豬隻對嘔吐毒素的敏感性高，作者彙整前人研究，列舉諸多嘔吐毒素餵飼試驗之豬隻，毒素於其各體組成的轉移情形 (表 2)。此外，作者列出在不同經濟動物之餵飼試驗中，各畜產品所殘留的嘔吐毒素濃度 (表 3)，並進行風險評估。

嘔吐毒素轉移至畜產品各個部位，風險由高至低依序為腎臟、肝臟、肌肉、脂肪，而乳製品及蛋品的轉移幾乎是微乎其微。雖作者未列出禽肉，由過去資料顯示，家禽於餵飼嘔吐毒素後，不論在血液、臟器或禽肉中極少有殘留情形 (Dänicke et al., 2004b; 2007a, b)。Dänicke and Brezina (2013) 評估嘔吐毒素污染飼料原料之衍生風險，估計每人每日食物攝取量，換算其攝取到的嘔吐毒素總量，列於表 3。以一名體重 70 公斤的成年人為例，其嘔吐毒素之每日耐受量 (tolerable daily intake, TDI) 為 $1 \mu\text{g}/\text{kg body weight}/\text{day}$ (SCF, 2002)，就轉移風險最高之豬肉而言，每天採食 300 g 為計，此人攝取的嘔吐毒素量僅約為 $6.2 \mu\text{g}$ ，不及每日耐受量的 9%。

然以上是在最不樂觀的情形下 (worst case scenario) 來進行評估，以此例中嘔吐毒素含量較多的畜產品來說，餵飼經濟動物的飼糧需有 6.68 ppm 以上的嘔吐毒素污染才會得出此結果。而歐洲共同體委員會 (Commission of the European Communities, CEC) 對豬飼糧檢出之嘔吐毒素濃度的規範為不得超過 0.9 ppm (CEC, 2006)。是故一般情況下無所疑慮，即便出現超過規範之飼糧，在濃度低於 6.68 ppm 的情形下，仍在每人每日耐受量的限制範圍內。因此餵飼嘔吐毒素污染飼糧的經濟動物，其畜產品在食品安全方面的危害極為輕微。

表 2 嘔吐毒素及其代謝物於豬隻各食用部位之轉移率

Table 2 Carry over of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) and its metabolite de-epoxy-DON (DOM-1) into edible tissues of pigs.

Sample	Category (kg of body weight)	Exposure		Toxin (ppb)		Carry over factor for DON + DOM-1	Reference
		Duration	Diet (ppm)	DON	DOM-1		
Muscle	Rearing piglets (8-16)	4 wks	2.31	2.1-7.3	0	0.001-0.003	Dänicke et al. (2010)
	Fattening pigs (26-100)	12 wks	6.68	7.3-20.5	0-1.7	0.0011-0.0031	Goyarts et al. (2007a)
	Fattening pig (27-111)	11 wks	0.56	0-2.2	0	0-0.0039	Döll et al. (2008)
			1.18	0-5.2	0	0-0.0043	
Liver	Rearing piglets (8-16)	4 wks	2.31	0.6-9.8	0	0-0.004	Dänicke et al. (2010)
	Fattening pigs (26-100)	12 wks	6.68	13.7-36.3	0-3.9	0.0023-0.0059	Goyarts et al. (2007a)
	Fattening pig (27-111)	11 wks	0.56	0-3.6	0	0-0.0064	Döll et al. (2008)
			1.18	1.0-4.8	0	0.0009-0.0043	
	Gilts (121)	35 days	3.07	0-11.0	0-3.1	0-0.0046	Dänicke et al. (2005a)
			6.1	2.7-10.5	1.5-3.4	0.0008-0.0023	
	Gilts (117)	35 days	9.57	4.1-12.4	1.4-4.4	0.0007-0.0016	
	Sows (199)	35 days (GD ² 75-110)	9.57	0-7	0	0-0.001	Dänicke et al. (2007c)
	Sows (192)	35 days (GD ² 35-70)	4.42	4.3-8.7	0	0.001-0.003	Goyarts et al. (2007b)
	-Fetuses ¹ (0.293)	(GD ² 35-70)		2.6-7.0	0	0.001-0.002	
Kidney	Rearing piglets (8-16)	4 wks	2.31	7.5-29.9	1.0-3.4	0.004-0.014	Dänicke et al. (2010)
	Fattening pigs (26-100)	12 wks	6.68	46.7-122.3	1.8-12.3	0.0074-0.0193	Goyarts et al. (2007a)
	Fattening pig (27-111)	11 wks	0.56	4.0-17.5	0-1.1	0.007-0.0319	Döll et al. (2008)
			1.18	0-19.3	0-2.4	0-0.0156	
	Sows (192)	35 days (GD ² 35-70)	4.42	16.2-27.7	0-3.2	0.004-0.007	Goyarts et al. (2007b)
	-Fetuses ¹ (0.293)	(GD ² 35-70)		3.0-5.4	0	0.0007-0.0012	
Back fat	Fattening pigs (26-100)	12 wks	6.68	0-8	0	0-0.0012	Goyarts et al. (2007a)
Spleen	Sows (192)	35 days (GD ² 35-70)	4.42	4.7-8.7	0-4.4	0.001-0.003	Goyarts et al. (2007b)

¹ Pooled per sow.

² GD: gestation day.

(Data compiled from Dänicke and Brezina, 2013)

表 3 嘔吐毒素污染飼料原料之衍生風險評估¹

Table 3 Risk evaluation arising from deoxynivalenol (DON) contaminated foodstuffs.¹

DON (ppm of feed)	Tissue	DON (ppb)	Daily food basket (g/d)	Daily DON intake (µg/person)	% of TDI	Reference
6.68	Muscle (pig)	20.5 ²	300	6.2	8.8	Goyarts et al. (2007a)
6.68	Liver (pig)	36.3 ²	100	3.6	5.2	Goyarts et al. (2007a)
6.68	Kidneys (pig)	122.3 ²	50	6.1	8.7	Goyarts et al. (2007a)
6.68	Fat (pig)	8.0 ²	50	0.4	0.6	Goyarts et al. (2007a)
7.5	Egg (laying hen)	0.79 ³	100	0.08	0.11	Sypecka et al. (2004)
3.4	Milk (dairy cow)	0.14 ³	1,500	0.21	0.30	Seeling et al. (2006)

¹ Worst case scenario: maximum reported DON residue concentrations of various foodstuffs were multiplied by their assumed daily intake (average daily food basket) (FAO/WHO, 1989) and related to the tolerable daily intake (TDI) of 1 µg/kg body weight per day (SCF, 2002) of a 70 kg weighing person.

² Free plus conjugated DON.

³ Free DON.

(Data compiled from Dänicke and Brezina, 2013)

三、家禽對嘔吐毒素之感受性

彙整前人文獻，針對不同物種之嘔吐毒素的感受性(susceptibility)，如下所示：

豬 > 小鼠 > 大鼠 > 家禽 = 反芻動物 (Prelusky et al., 1994; Rotter, 1996)。豬隻被公認對嘔吐毒素是最敏感的物種，而家禽相形下十分不敏感。當飼糧中含有 2 ppm 以下濃度的嘔吐毒素，即會對豬隻生長表現造成影響，然而許多文獻指出，家禽在攝食含有非常高濃度嘔吐毒素的飼糧後，仍不會顯現臨床病徵 (Awad et al., 2011b)，甚至有部份研究顯示至少需 16 ppm 才能對雞隻的生長及生產表現致使影響 (Eriksen and Pettersson, 2004)。

(一) 家禽可能的代謝方式

嘔吐毒素耐受性的種別差異，據推測與反芻動物及家禽之消化道結構有關。如前文所述，部分的嘔吐毒素會經由微生物轉化為去環氧化之 DOM-1 型式，而反芻動物瘤胃中微生物具備極佳的轉化能力。相較於豬隻消化道前端，家禽嗉囊中具有較多的微生物質量（圖 7）。Yu et al. (2010) 為篩選出雞隻消化道內的嘔吐毒素轉化菌，將其消化道內容物與嘔吐毒素進行共培養，發現嗉囊、小腸及大腸內容物皆能有效降解嘔吐毒素。而自大腸篩選之微生物經定序後，具嘔吐毒素轉化能力之微生物確認分屬於以下四大菌群：Clostridiales 目、*Anaerofilum* 屬、*Collinsella* 屬及 *Bacillus* 屬。因此，部分的嘔吐毒素確實能為家禽體內共生的微生物所降解，至於嘔吐毒素於家禽體內的代謝途徑亦值得作延伸探討。

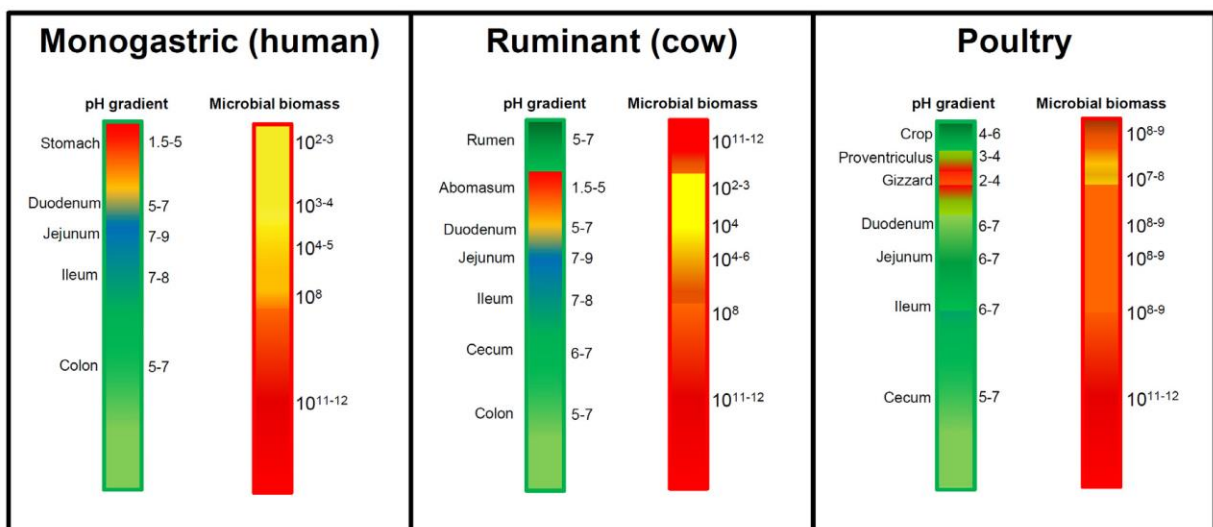


圖 7 比較人及反芻動物、家禽之消化道各部位 pH 及對應微生物質量

Figure 7 Regional pH and bacterial densities in the digestive tract. pH and bacterial density (per mL of intestinal fluid content) of the different segments of the digestive tract of humans, ruminants and poultry are indicated in the figure.

(Maresca, 2013)

由一次性口服嘔吐毒素之毒物動力學試驗，Osselaere et al. (2013a) 得知雞隻對嘔吐毒素的生物利用度為 19.3%，血漿清除率為 0.12 L/min kg，而豬隻則分別為 54% 及 0.00381 L/min kg (Goyarts and Dänicke, 2006)，反映出雞隻對嘔吐毒素具有較佳的清除效率。

雞隻攝食之嘔吐毒素於循環系統中被迅速清除，能佐證早期 Lun et al. (1989) 的研究。作者以放射性氫原子標定的嘔吐毒素，灌食裝設人工肛門的蛋雞，並偵測毒素於 48 小時內的流向。試驗期結束前，血液、各屠體部位（不包含消化道及其內容物）所回收到的嘔吐毒素均不高過原始劑量的 2.3%，顯示嘔吐毒素鮮少於禽肉中累積殘留。試驗結束時，攝入之嘔吐毒素已有將近 69% 經由尿液排除，而僅有 7% 係隨著糞便被排除，證實雞隻主要是藉由尿液將嘔吐毒素排除體外。此外，對照先前於雞隻排泄物獲得極低的嘔吐毒素回收率 (Lun et al., 1988)，推測嘔吐毒素很可能被代謝為其他衍生物。

近期 Wan et al. (2014) 以放射性嘔吐毒素餵飼雞隻後，收集其排泄物並以高效液相層析質譜儀 (high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS) 分析代謝產物的結構，以進行雞隻可能的代謝產物的研究，判定 DON-3 α -sulfate 為雞隻最主要的嘔吐毒素代謝產物（佔原始劑量的 88.6%），其增加的水溶性可促進於尿液中的排泄（圖 6）。隔年，另一個研究團隊亦發表相關研究，自雞隻排泄物中回收到的 DON-3 α -sulfate 為原攝取嘔吐毒素之 76.1%，且經體外試驗證實此代謝物並不具有細胞毒性 (Schwartz-Zimmermann et al., 2015)。



(二) 嘔吐毒素對家禽的影響

1. 對生長及生產表現的影響

前人研究顯示，嘔吐毒素對家禽生長及生產表現鮮少造成負面影響，飼糧濃度 15 ppm 以下的嘔吐毒素，對家禽的生長表現不會造成影響(Eriksen and Pettersson, 2004)。部分研究顯示，在中等劑量下(4.6 ppm)甚至有促進生長的作用(Hamilton et al., 1985a)。飼糧之嘔吐毒素濃度高達 16-20 ppm 才會有拒食、體重減輕、免疫力降低、血液生化值及性狀改變等現象。因此，針對家禽很難以建立嘔吐毒素濃度與生長反應之間的關聯性。

在生產表現方面，餵飼蛋雞高達 83 ppm 濃度的飼糧對其產蛋率仍不會造成影響，而孵化率、受精率則不受餵飼 18 ppm 濃度的飼糧所影響(Lun et al., 1986; Kubena et al., 1987; Bergsjo et al., 1993)，而其他研究顯示種母雞餵飼 0-4.9 ppm 濃度的飼糧，亦未觀察到任何雞胚畸形的現象(Hamilton et al., 1985b)，上述研究顯示嘔吐毒素對於生產表現鮮少造成影響。

前人研究對生長表現難有一致的結果，可能起因於所使用之嘔吐毒素的來源不同所致，使用自然污染的原料中可能存在不同種類的黴菌毒素，不同毒素間可能有協同作用，而部份研究則使用人工產製的嘔吐毒素混入飼糧中，毒害相對較弱(Awad et al., 2012)，對動物的影響也相對較為輕微。



2. 對臟器的影響

由於嘔吐毒素具有抑制蛋白質合成的作用，對於蛋白質更新頻繁的臟器，如免疫器官、肝臟及小腸等均有可能造成影響。部份研究指出，白肉雞攝食嘔吐毒素後，其筋胃、心臟、肝臟及華氏囊的相對重量增加 (Kubena et al., 1997; Dänicke et al., 2003; Li et al., 2012; Yunus et al., 2012a; Awad et al., 2014)。反之，在蛋雞的研究顯示，攝食嘔吐毒素造成生長中的雛雞之肝臟重量減輕 (Kubena et al., 1985)。而餵飼 83 ppm 高濃度的嘔吐毒素，導致產蛋雞之筋胃重量增加及黏膜部分糜爛 (Lun et al., 1986)。

然而前人研究之結果往往有所出入，心臟、肝臟、脾臟、華氏囊等臟器相對重量於諸多家禽相關研究中的反應並不一致 (表 4)。多數作者歸結研究結果分歧，乃因餵飼時間的長短、毒素的濃度、家禽的品系及性別皆為需考量的影響因素，故不同操作條件下難有一致性的反應。

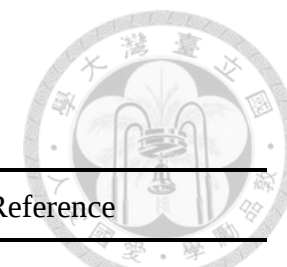


表 4 嘔吐毒素影響家禽臟器相對重量之文獻彙整¹

Table 4 Effects of deoxynivalenol (DON) on relative organ weights of poultry reported in literatures.¹

Poultry line, Gender	DON conc.	Duration	Timing	Heart	Spleen	Liver	Bursa	Reference
Arbor Acres ♀ ♂	2 ppm	0-6 wk	3 wk 6 wk		↓ —	↑ ↑	↑ ↑	Li et al. (2012)
Broiler breeder ♂	6.4 ppm	26-38 wk (12 wk)	4, 8, 12 wk		—	—		Yegani et al. (2006)
Ross 308 ♂	5.9 & 9.5 ppm	0-8 wk	8 wk		—	—	—	Swamy et al. (2004)
Ross 308 ♂	10 ppm	0-5 wk	5 wk	—	—	—	—	Awad et al. (2014)
Ross 308 ♂	10 ppm	3-5 wk (2 wk)	5 wk	—	—	—	—	Frankič et al. (2006)
Ross 308 ♂	1.68 ppm	0-5 wk	2 wk	—	↑	↑	—	Yunus et al. (2012a)
			4 wk	—	↑	—	—	
			5 wk	—	—	—	—	
	12.21 ppm	0-5 wk	2 wk	—	↑	—	—	
			4 wk	—	—	—	—	
			5 wk	—	—	—	—	
Broiler breeder ♀	12.6 ppm	26-38 wk (12 wk)	4, 8, 12 wk		—	—		Yegani et al. (2006)
Lohmann broilers ♂	7 ppm	0-5 wk	5 wk	↓	↓	—	—	Dänicke et al. (2003)
	14 ppm	0-5 wk	5 wk	↑	↓	—	—	
Hubbard broilers ♂	16 ppm	0-3 wk	3 wk		—	—		Harvey et al. (1997)
Hubbard broilers ♂	15-16 ppm	0-3 wk	3 wk				↑	Kubena et al. (1997)
Leghorn chicks ♂	9 & 18 ppm	0-5 wk	4, 5 wk	—	—	↓	—	Kubena et al. (1985)
Leghorn chicks ♂	18 ppm	0-12 wk	4, 8, 12 wk	—	—	—	—	Kubena et al. (1988)

¹ Symbol ↑/↓ means increased/decreased relative weights, — means no difference compared to control, ♀ means female, ♂ means male.



3. 對腸道功能的影響

雖然嘔吐毒素對家禽的外表性狀之影響輕微，然被視為是抵禦外源毒素之重要障壁的腸道而言，於中低濃度下（1-5 ppm）家禽亦有所反應。Awad et al. (2006a, b; 2011a, b) 進行過諸多餵飼家禽嘔吐毒素的相關研究，發現白肉雞的腸道絨毛有腫大情形及絨毛腺窩產生病變。此外，許多研究亦顯示，十二指腸及空腸絨毛出現高度縮短及寬度變窄的現象 (Awad et al., 2011a)，這些結果顯示嘔吐毒素透過改變腸道絨毛型態，很可能會間接影響腸道消化吸收的功能。另一方面，與其他物種有相似情形，家禽腸道上皮之鈉-葡萄糖轉運通道亦對嘔吐毒素致為敏感，其 mRNA 表現量及活性皆受到嘔吐毒素劇烈的影響 (Awad et al., 2011a)，顯示家禽腸道對葡萄糖的吸收有所抑制。

正常情況下，營養分的吸收主要在十二指腸及空腸前端進行，而腸道中後端僅提供輔助吸收的功能。針對嘔吐毒素會顯著影響家禽腸道的養分吸收，卻未見其影響家禽的生長表現。部分作者推測其原因很可能是，當動物攝食嘔吐毒素，導致養分如葡萄糖及胺基酸於前腸的吸收減少，使養分的攝取便換置於腸道的中後端進行，加上家禽腸道後端對於葡萄糖及胺基酸仍有極佳的吸收效率，故家禽可藉由代償作用以減緩嘔吐毒素對生長表現的衝擊 (Awad et al., 2012)。

腸道上皮細胞的障壁功能對於維持腸黏膜之完整性極為重要，跨膜電阻值 (TEER) 常用以評估上皮細胞的完整性。餵飼雞隻低於 5 ppm 濃度飼糧的研究，測定其腸黏膜跨膜電阻值有下降的現象 (Antonissen et al., 2013)，顯示腸黏膜的通透性有所提升。

腸道上皮細胞之緊密連接蛋白為維護障壁功能的重要蛋白質，其中 claudin-1 (CLDN1) 及 claudin-5 (CLDN5) 皆已於雞隻腸道中被定義 (圖 8)，且與跨膜通透性的關聯密切 (Amasheh et al., 2005; Markov et al., 2010; Ozden et al., 2010; Collins et al., 2013)。Osselaere et al. (2013b) 餵飼白肉雞 7.5 ppm 濃度飼糧的研究，觀察到空腸組織中 CLDN5 之 mRNA 表現量顯著提高，然無法確定 CLDN5 表現量上升對於腸道障壁是否有正面幫助。而餵飼三週期間，雞隻生長表現並未受到影響，是故關於緊密連接蛋白表現量的變化，仍需更深入的研究探討。

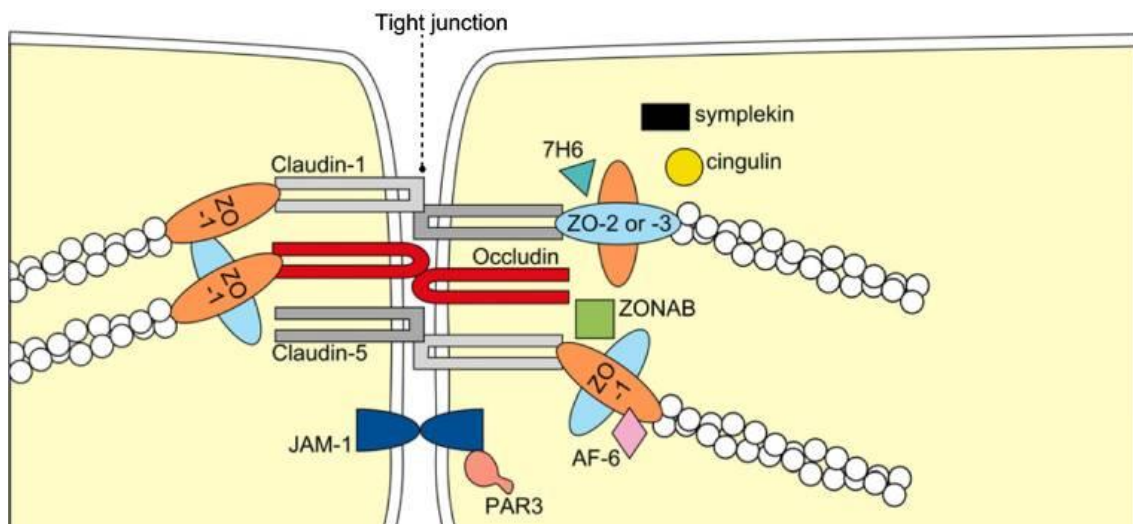


圖 8 腸道上皮細胞之緊密連接蛋白組成

Figure 8 Molecular composition of tight junctions.

(Modified from Förster, 2008)

4. 對免疫系統的影響

針對嘔吐毒素造成的免疫毒性，多數研究聚焦在以小鼠作為實驗動物模型，而家禽的相關研究則相當匱乏。以家禽而言，血清中對付常見病毒的抗體力價可以作為評估嘔吐毒素對體液免疫衝擊的有效指標 (Dänicke et al., 2003)。



前人研究顯示，攝食嘔吐毒素之白肉雞，接種傳染性支氣管炎（infectious bronchitis virus, IBV）及新城雞瘟（Newcastle disease virus, NDV）疫苗後的免疫反應顯著受抑制（Ghareeb et al., 2012; Yunus et al., 2012a）。此外，餵飼包含嘔吐毒素及多種黴菌毒素的飼糧予白肉雞，會顯著減少血液中 IgA 濃度、脾臟相對重量減輕、降低發炎相關細胞激素 mRNA 表現量及減弱新城雞瘟之抗體力價（Li et al., 2012）。在細胞免疫方面，家禽對嘔吐毒素的反應與其他物種的模式相似，高劑量的嘔吐毒素往往會導致白血球的凋亡，進而造成免疫抑制的作用。攝食含嘔吐毒素飼糧的蛋雞及白肉雞，其血液中白血球及總淋巴細胞數目顯著地減少（Chowdhury and Smith, 2005），此外，免疫細胞數量的銳減很可能與動物體內的氧化緊迫有所關聯。

過去有研究探討，家禽體內因嘔吐毒素誘發氧化緊迫而遭受損傷的可能。Awad et al. (2014) 餵飼白肉雞含 10 ppm 嘔吐毒素之飼糧，透過彗星檢測（comet assay）得知家禽脾臟中之白血球 DNA 斷裂情形與對照組相形更劇，而測定血漿、心臟、腎臟、十二指腸、空腸等部位之脂質過氧化指標如硫代巴比妥酸反應物（thiobarbituric acid reactive substance, TBARS）時，發現空腸組織之 TBARS 顯著地增加。另一方面，Osselaere et al. (2013b) 餵飼白肉雞 7.5 ppm 濃度之飼糧，檢測與氧化緊迫相關的幾種酵素及轉錄因子之 mRNA 表現量，發現嘔吐毒素餵飼下，雞隻空腸及迴腸之黃嘌呤氧化還原酶（xanthine oxidoreductase, XOR）基因表現量有顯著提高，反映氧化緊迫的上升。此外，將嘔吐毒素與自家禽脾臟抽出之淋巴細胞進行體外培養，發現嘔吐毒素亦顯著地提高胞內之活性氧物種（Ren et al., 2015），且觀察到胞內 DNA 斷裂情形加劇，顯示免疫細胞確實對氧化緊迫極為敏感。

然而，部分研究顯示脂質過氧化並非是偵測嘔吐毒素毒性的敏感指標，相對地，DNA 之斷裂受損現象往往較為顯著 (Frankič et al., 2006)，顯示嘔吐毒素誘導生成之自由基，很可能是直接去攻擊 DNA，而不一定會反映於脂質過氧化。

綜觀上述，嘔吐毒素對於家禽腸道功能及免疫系統的影響，很可能是提升動物對傳染病原感受性的關鍵因素，現今研究需致力於長期性的評估。

四、各國規範嘔吐毒素之限量標準

目前臺灣並未針對嘔吐毒素制定限量標準，而各國針對食品制定標準者，多於對飼糧的規範。過於嚴苛之規範，可能形成貿易障礙，同時恐導致開發中國家糧食更為缺乏及物價飆漲。由於嘔吐毒素的污染情形普遍且難以防範，如何管理並兼顧糧食供應安全，是十分重要的課題。以下列出嘔吐毒素於各國飼糧及原料中規範的限量標準，以茲參考。

表 5 美國食品與飼料之嘔吐毒素建議量

Table 5 U.S. advisory levels for deoxynivalenol (DON) in finished wheat products for human consumption and grains and grains by-products used for animal feed.

Class of Animal	Feed Ingredients & Portion of Diet	DON Levels in Grains & Grains By-products (Finished Feed)
Ruminating beef and feedlot cattle older than 4 months	Grain and grain by-products not to exceed 50% of the diet	10 ppm (5 ppm)
Chickens	Grain and grain by-products not to exceed 50% of the diet	10 ppm (5 ppm)
Swine	Grain and grain by-products not to exceed 20% of the diet	5 ppm (1 ppm)
All other animals	Grain and grain by-products not to exceed 40% of the diet	5 ppm (2 ppm)
Human Food		
Finished wheat products for human consumption		1 ppm

(U.S. FDA, 2010)

表 6 歐盟飼料嘔吐毒素建議值

Table 6 E.U. guidance values on the presence of deoxynivalenol in products intended for animal feeding (relative to a feedingstuff with a moisture content of 12%).

Mycotoxin	Products intended for animal feed	Guidance value in ppm
Deoxynivalenol	Feed materials ¹	
	-Cereals and cereal products ² with the exception of maize by-products	8
	-Maize by-products	12
	Complementary and complete feedstuffs with the exception of:	5
	-Complementary and complete feedingstuffs for pigs	0.9
	-Complementary and complete feedingstuffs for calves (< 4 months), lambs and kids	2

¹ Particular attention has to be paid to cereals and cereal products fed directly to the animals that their use in a daily ration should not lead to the animal being exposed to a higher level of these mycotoxins than the corresponding levels of exposure where only the complete feedingstuffs are used in a daily ration.

² The term ‘cereals and cereal products’ includes not only the feed materials listed under heading 1 ‘Cereal grains, their products and by-products’ of the non-exclusive list of main feed materials referred to in part B of the Annex to Council Directive 96/25/EC of 29 April 1996 on the circulation and use of feed materials (OJ L 125, 23.5.1996, p.35) but also other feed materials derived from cereals in particular cereal forages and roughages.

(CEC, 2006)

表 7 日本及中國飼料嘔吐毒素限量標準

Table 7 Japan and China regulation values of deoxynivalenol (DON) in feeds.

Country	Feeds	DON regulation value (ppm)
Japan	Feeds for livestock (except cattle aged older than 3 months)	1
	Feeds for cattle aged older than 3 months	4
China	Maize	≤ 1
	Feeds for pigs, young cow and dairy animals	≤ 1
	Feeds for cow and poultry	≤ 5

(Food and Agricultural Materials Inspection Center, 2010)

(Standardization Administration of the People's Republic of China, 2007)

五、臺灣土雞簡介及產銷概況

臺灣養雞產業發達，而商用土雞的種類多元，其特色與白肉雞市場形成區隔，根據行政院農委會(2014)統計，以肉雞市場而言，臺灣土雞市場佔有率約為 43%，白肉雞則為 57% (表 8)。根據李 (2005) 與胡 (2007) 的報告，土雞肉質較白肉雞佳，普遍受消費者喜愛，且於飼養過程中，土雞較白肉雞更能適應環境變化，具有優秀的抗病力。臺灣的商用土雞以紅羽土雞 (red-feathered country chicken) 及黑羽土雞為主，此二品種供應土雞肉近 91.4%，主要生產地依序為雲林縣、屏東縣及彰化縣。臺灣農民透過近親雜交的方式以選拔生長與屠體性狀較佳之商用土雞，由於民間飼養業者及種雞業者均自行雜交選育，故業間缺乏整體有系統之育種制度 (行政院農委會，2010)。土雞飼養並無產期限制，全年均可飼養及出售，其每公斤都市零售價格約為 NT\$186-236 (表 9)，與白肉雞相比單價較高，於全台每年創造市值超過 NT\$500 億，可見臺灣土雞對畜牧產業的重要性。

以土雞肉的消費而言，黑羽土雞之市場佔有率推估為 37.4%，為南部消費市場較主流的雞種。其特色為具有大而直立的紅色單冠，羽毛為黑色，公雞有部分白色羽毛分布於頭、頸及背部，尾羽長而翹立，母雞多半為全身黑羽，腳脛成鉛色或黑色。黑羽土雞上市週齡約為 15-16 週，公雞體重可達 4.0-5.0 台斤 (2.4-3.0 公斤)，母雞體重達 3.5-4.0 台斤 (2.1-2.4 公斤)。公雞於 11 週齡性成熟後喜愛打鬥，影響屠體賣相 (中華民國養雞協會，2016)。



圖 9 臺灣黑羽土雞之品種外觀

Figure 9 Appearance of Taiwan black-feathered country chickens (left: male, right: female).



表 8 臺灣土雞及白肉雞於 2010-2014 年底在養量及屠宰量

Table 8 The poultry production of Taiwan country chickens and broilers in Taiwan during 2010-2014.

年次及地區別 Year, District	年底在養數 Number on Farms at the End of the Year		屠宰 Head Slaughtered			
	土雞 Native Chicken	白肉雞 Broiler	土雞 Native Chicken		白肉雞 Broiler	
			隻數 Head	屠體重量 Carcass Weight	隻數 Head	屠體重量 Carcass Weight
	千隻 1,000 head	千隻 1,000 head	千隻 1,000 head	公噸 m.t.	千隻 1,000 head	公噸 m.t.
2010 年	34,522	24,198	123,849	254,165	191,993	284,738
2011 年	35,502	20,977	130,838	266,161	200,707	304,354
2012 年	29,399	21,746	118,759	241,407	186,994	283,776
2013 年	28,647	21,486	102,974	209,356	185,650	281,571
2014 年	29,688	22,757	109,010	222,794	198,449	301,151
雲林縣	6,085	2,517	25,334	51,854	23,586	36,050
屏東縣	5,777	2,159	20,952	41,956	21,892	32,907
彰化縣	3,038	5,086	10,800	22,246	37,398	56,424
嘉義縣	2,823	1,958	10,816	22,072	18,810	28,862
南投縣	1,681	1,559	5,145	10,704	14,639	22,134

(行政院農業委員會，2014)

表 9 臺灣土雞及白肉雞於 2010-2014 年之畜產價格

Table 9 Prices of Taiwan country chickens and broilers in Taiwan during 2010-2014.

年次 Year	產地農場價格 Farm Prices of Production Areas		都市零售價格 Retail Prices of Cities	
	紅羽土雞 Red Feathered Native Chicken	白肉雞 Broiler	土雞 Native Chicken	白肉雞 Broiler
	元/公斤 N.T.\$/kg	元/公斤 N.T.\$/kg	元/公斤 N.T.\$/kg	元/公斤 N.T.\$/kg
2010 年	61.81	41.85	185.93	128.42
2011 年	68.19	44.04	192.16	129.22
2012 年	65.14	42.99	186.56	124.24
2013 年	72.06	44.70	207.56	128.92
2014 年	80.36	47.80	236.34	144.79

(行政院農業委員會，2014)



由於國外家禽嘔吐毒素之探討多著重在白肉雞之相關研究，嘔吐毒素對家禽長期性的影響資料欠缺，臺灣土雞較白肉雞飼養期長，遂適合作為毒性長期性評估之研究對象。又臺灣土雞對於臺灣肉雞產業具有十足的重要性，應更加重視關乎其生長表現及健康之相關研究。再者，臺灣目前缺乏嘔吐毒素於飼糧或原料之限量標準，期能透過科學實驗之資料佐證，提供政府制定嘔吐毒素相關規範之參考。因此，有鑒於不同毒素劑量之動物餵飼試驗有其實行之必要，本篇研究旨在評估嘔吐毒素對於臺灣黑羽土雞之生長表現、免疫器官及腸道完整性的影響。

貳、材料與方法



一、試驗設計

(一) 試驗飼糧

1. 嘔吐毒素粗製品之製備

嘔吐毒素粗製品係委託國立宜蘭大學鄭永祥教授代為製備，製程簡述如下。將嘔吐毒素之產毒菌種 *F. graminearum* 活化後接種於滅菌糙米，避光固態發酵 35 日，製備成試驗所需之嘔吐毒素汙染糙米。在取得粗製品後，先參考衛福部食藥署公告之檢驗程序（2013）以高效液相層析儀（high performance liquid chromatography, HPLC）測定濃度後，再行試驗飼糧之配製。

2. 試驗飼糧之調製

飼糧配方參考家禽營養分需要量手冊（王等, 1999）推薦之土雞飼糧營養需要量，自行調製基礎飼糧，依土雞生長期分為三種料：土雞前期料（0-3 週齡）、土雞中期料（4-10 週齡）和土雞後期料（11-16 週齡），飼糧配方和營養成分計算值及分析值如表 10 所示。不同嘔吐毒素濃度之試驗飼糧，則分別以不同量之嘔吐毒素汙染糙米取代基礎飼糧中之糙米用量加以調整，以達預定之嘔吐毒素濃度。

表 10 試驗飼糧配方

Table 10 The composition of basal diets.

Ingredient (% as fed basis)	Diet		
	I (5-21 d)	II (22-70 d)	III (71-112 d)
Corn	51	57	60
Soybean meal	36	32	31
Fish meal	2.5	1.5	-
Soybean oil	5.5	4.5	3.9
Brown rice	1.5	1.5	1.5
Monocalcium phosphate	1.5	1.1	1.1
Limestone	1.1	1.5	1.5
Iodized salt	0.3	0.4	0.4
DL-Methionine	0.2	0.2	0.2
Vitamin Premix¹	0.1	0.1	0.1
Mineral Premix²	0.1	0.1	0.1
Choline chloride, 50%	0.1	0.1	0.1
Total	100	100	100
Calculated value			
Metabolizable Energy (kcal/kg)	3,159	3,150	3,146
Crude Protein (%)	22.01	20.01	18.69
Analyzed value			
Dry Matter (%)	88.71	88.47	88.61
Crude Protein (%)	22.46	20.77	19.12
Ether Extract (% of DM³)	9.06	8.12	7.01
Crude Fiber (% of DM³)	3.49	3.02	3.31

¹ Supplied per kg diet: Vit A 12,000 IU; Vit D₃ 3,000 IU; Vit E 38 IU; Vit K 3 mg; Thiamin 2.2 mg; Riboflavin 7.2 mg; Pyridoxine 4.5 mg; Vit B₁₂ 0.018 mg; Niacin 50.0 mg; Ca-Pantothenate 14.0 mg; Folic acid 1 mg; Biotin 0.22 mg.

² Supplied per kg diet: Mn 65.9 ppm; Zn 58.9 ppm; Cu 16.3 ppm; Fe 59.3 ppm; Se 0.22 ppm; Co 0.27 ppm.

³ DM: dry matter.

(二) 試驗動物

本試驗使用 250 隻剛孵化之商用黑羽土雞，給予雞隻適應期至 5 日齡，秤重淘汰過大或過小雞隻後，逢機分配至四個處理組，每處理組四重複（四欄位），每重複 13 隻（公母混養），分別餵飼含 0（對照組）、2、5 及 10 ppm 嘔吐毒素濃度之飼糧。餵飼試驗為期 16 週，分成三期，分別為 5-21 日齡、22-70 日齡及 71-112 日齡。飼養於密閉式禽舍，溫度及照明等日常管理依土雞品種之需求執行，飼料及飲水採任食方式供應。飼養至 3 週齡、10 週齡時，各組犧牲 8 隻，至 16 週齡時結束飼養，對照組犧牲 12 隻，其餘嘔吐毒素餵飼組犧牲 8 隻。飼養期間為 2013 年 4 月 27 日至 8 月 13 日。

(三) 犧牲及採樣

試驗期間每日觀察動物健康狀況並予以記錄。雞隻犧牲前先禁食 2 小時，採樣時秤重、觀察外觀以評判性別，每欄中逢機取 2 隻進行後續樣本收集（試驗結束時對照組每欄取 3 隻），並盡可能使公母隻數平均。欲犧牲之雞隻經採集血液樣本後，再以 110 V 電擊 30 秒致死，確認死亡後立即解剖以進行組織樣本及資料收集，收集之樣本經預處理後儲存，供日後分析之用。



二、測定項目及分析方法

(一) 飼料營養分析

營養成分分析參照吳(2001)之方法。飼料樣本以 Wiley mill 磨成粉末並通過 20 mesh 篩網，樣本置採樣袋密封，於-20℃冰箱保存，待後續進行近似分析。

1. 水分

精秤 2 g 樣本於洗淨、烘乾之秤量皿，置於 105℃烘箱中烘乾 2 小時，移入乾燥器待其回復室溫後秤重，秤重後再將樣品放入 105℃烘箱烘乾 30 分鐘，取出重複上述步驟，直至樣本達到恆重（前後秤重之重量差距小於試樣重的千分之一），或重量增加，則採計烘乾後重量最輕者計算樣本之乾基百分比。

2. 粗脂肪

將已測過水分之樣品以濾紙包裹秤重，置入脂肪萃取管內，已秤重之脂肪萃取杯中加入約 30 mL 乙醚，以 Goldfish 脂肪抽除裝置（goldfish fat extraction apparatus, Labconco Corporation, USA）進行脂肪萃取，利用乙醚之蒸氣穩定循環加熱、冷凝，萃取 3-4 小時後，回收乙醚並使脂溶性物質留於脂肪杯，脂肪杯抽散乙醚後，烘乾、冷卻後秤重，求得飼料乾基中粗脂肪量。

3. 粗纖維

已烘乾秤重之粗纖維濾袋（fiberbag, Gerhardt, Germany），加入經乙醚脫脂後之樣本並秤重，再將玻璃間隔架套上濾袋，置於無緣燒杯內，加入約 360 mL 硫酸（1.25%），待其加熱至沸騰後持續循環加熱 30 分鐘，而後取出濾袋以熱水沖洗數次，再移入 360 mL 氫氧化鈉（1.25%）溶液內循環加熱 30 分鐘，經熱水沖洗後以 105℃乾燥 4 小時，放涼並秤重，將濾袋放入預灰之坩鍋內，再置灰化爐以 600℃灰化至少 4 小時。其後放涼並秤重，計算濾袋殘餘物扣除灰分後所求得粗纖維含量。



4. 粗蛋白質

飼料樣本 0.3 g 於催化劑 (Kjedahl tablets, Merck, Germany) 作用下與濃硫酸進行反應，以消化裝置 (Speed Digester K-439, BÜCHI, Switzerland) 於 $> 480^{\circ}\text{C}$ 消化 1 小時，過程中含氮化合物被轉為硫酸銨。消化完成冷卻後，使用凱氏氮蒸餾裝置 (Distillation Unit K-355, BÜCHI) 以過量之 40% NaOH 蒸餾出游離氮，同時以硼酸 (4%, pH 7.0) 接收其游離氮。接續以確定力價之 H_2SO_4 滴定，計算總氮量，並乘以蛋白質係數 (飼料為 6.25) 即可得飼料中粗蛋白質含量。

(二) 嘔吐毒素檢驗

檢驗方法係參考衛福部食藥署公告之檢驗程序 (2013)，25 g 飼料樣品經 5 g 聚乙二醇及 100 mL 水萃取均質 1 分鐘，以濾紙過濾，濾液續以玻璃纖維濾紙過濾。取濾液 1 mL (相當於 1/100 之檢體量) 以每秒 1 滴之流速，通過具嘔吐毒素專一性之免疫親和管柱 (DONtest HPLCTM column, VICAM)，再取 5 mL 水以相同流速流洗之。管柱內水排淨後，以 1 mL 甲醇以相同流速沖提，收集沖提液並以氮氣吹乾。將殘留物以 0.3 mL 流動相溶液 (acetonitrile : water = 10 : 90) 回溶，以針筒過濾器過濾，其濾液供作檢液。

溶於甲醇之嘔吐毒素標準品 (Sigma) 事先製備成 0-5 ppm 之檢體當量，與樣品經相同程序製成標準檢液。另取 10 及 16 週齡之 10 ppm 組土雞的肝臟樣品，每份肝臟合併樣品摻入等量水，並補足量之聚乙二醇 (肝臟估算水分含量為 80%，聚乙二醇：水 = 1 g : 20 mL)，接續均質萃取如同上述操作。

精確量取樣品檢液及標準檢液各 70 μL ，分別注入高效液相層析儀 (Hitachi, Japan) 中，使用層析管為 reverse phase C18 [內徑 250 x 4.6 mm (Phenomenex)]，流速 1.2 mL/min，於紫外光波長 220 nm 照射下檢測吸光度，就樣品與標準檢液所得波峰之滯留時間進行比較鑑別，並就波峰面積與對應之標準品檢量線求取飼料樣品中嘔吐毒素濃度。



(三) 生長表現

所有雞隻於 3 週齡、10 週齡及 16 週齡時，經禁食 2 小時後進行秤重，並記錄各欄之採食量，藉以計算每欄飼料利用效率。各試驗期間雞隻之體重及體增重以個體作為試驗單位，採食量、飼料利用效率以欄為試驗單位進行測定，採食量的估算結果以平均雞隻採食量 (g/bird) 為計。

(四) 血液生化值

每處理組欲犧牲之雞隻，由翅靜脈採血 2 mL，離心 (1,160 g, 15 分鐘, 4°C) 後，取出上層血清，以血液自動生化分析儀 (AKARA, SP-4410, USA) 及專用分析試紙檢測血清中天冬胺酸轉胺酶 (aspartate transaminase, AST)、丙胺酸轉胺酶 (alanine transaminase, ALT) 及尿酸 (uric acid, UA) 之濃度。部分血清保存於 -20°C，待 IgA 濃度之測定。血清中 IgA 濃度以酵素結合免疫吸附分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)，利用 chicken IgA ELISA quantitation set (Bethyl Laboratories Inc., USA) 進行測定。

(五) 內臟相對重量

犧牲解剖之雞隻，取其心臟、肝臟、脾臟秤重，並計算佔體重之百分比，以依據雞隻體型大小的不同，對內臟重量進行校正。

(六) 脾臟石蠟切片

本試驗採集 16 週齡雞隻之脾臟組織進行切片，以觀察病理現象，石蠟切片製作、染色參考劉等 (1996) 之實驗方法，並作些許修改。另以免疫組織化學染色法檢測細胞中的增殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 及 γ -H2AX 兩種蛋白質標記，以分別評估脾臟組織的增生及 DNA 損傷情形，而透過 TUNEL 分析 (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling assay, TUNEL assay) 以標定組織中凋亡的細胞。



1. 石蠟切片製備

犧牲雞隻取其部分脾臟組織，浸泡於 4% 多聚甲醛 (paraformaldehyde) 中固定保存。組織於進行石蠟包埋時，先將其裁切成適當大小置於包埋盒，以自來水流洗隔夜，再接續以濃度遞增之酒精序列脫水 (30-100%)，續以二甲苯替代物 (non-xylene, Muto pure chemicals Co., Japan) 置換組織內酒精，爾後將組織於滲透蠟中浸泡 (paraplast plus, Leica)，待其完全滲透後再以包埋蠟 (paraplast, Leica) 進行組織包埋，成型之蠟塊保存於乾燥器中，委託國立臺灣大學獸醫系切片室製成 4 μ m 厚度之切片。

2. 蘇木紫及伊紅染色 (hematoxylin and eosin staining, H&E staining)

石蠟切片染色前需先以二甲苯替代物作脫蠟，再依序將樣本移入自濃度 100% 遞減至 50% 酒精進行復水，經去離子水潤洗數秒，接著以蘇木紫 (GM hematoxylin, Muto) 染細胞核 2 分半後立即以流水沖洗，利用 Scott's tap water 稍加潤洗以加深呈色，續以流動水流洗後，經 95% 酒精浸潤數秒再以稀釋 3 倍之伊紅 (pure eosin, Muto) 染色 1 分半，接著依續以濃度遞增之酒精及二甲苯替代物進行脫水，以封片膠 (malinol, Muto) 封片，保存於乾燥器中，待於光學顯微鏡下 (Nikon, Japan) 觀察並攝影。

家禽脾臟經組織染色後，可見其主要構造分作白脾髓 (white pulp) 及紅脾髓 (red pulp) 兩種區塊，前者主要由淋巴細胞構成，集中於動脈周邊呈現藍紫色區塊；而後者主要含有靜脈竇、紅血球及夾雜部份免疫細胞，伊紅染色下使紅血球構成鮮紅色區塊，是為脾臟之實質 (Schat et al., 2014)。由於動脈周邊偶有出現圓形輪廓之發生中心 (germinal center)，是被抗原活化的 B 細胞進行增生和分化的場所，有可能受嘔吐毒素所刺激生成。故本試驗將進行觀察並比較發生中心於各處理組脾臟切片之散佈情形，以了解嘔吐毒素對脾臟組織之影響。



3. 免疫組織化學染色 (immunohistochemistry, IHC)

本試驗採用 VECTASTAIN[®] ABC-AP System (Vector Laboratories) 之操作程序。將石蠟切片先浸入二甲苯替代物中脫蠟，經過浸泡遞減濃度酒精之復水程序，再以流動水和磷酸鹽緩衝溶液 (phosphate buffered saline, PBS) 潤洗之。由於脾臟樣本經長期貯放於多聚甲醛中，故需進行抗原修復 (antigen retrieval)，操作條件參考 Shi et al. (1997) 之方法並作些許改良。切片置於 80℃ 檸檬酸鹽緩衝液中 (sodium citrate buffer; 100 mM sodium citrate, 0.05% Tween-20, pH 6.0) 50 分鐘，再以清水冷卻，並以去離子水及磷酸鹽緩衝溶液稍加潤洗。

使用抗生物素蛋白/生物素阻斷試劑套組 (Avidin/Biotin blocking kit, Vector SP-2001) 屏蔽掉組織上既有之生物素 (biotin) 以及抗生物素蛋白結合位 (avidin binding site)，以磷酸鹽緩衝溶液潤洗後，於玻片上滴加阻斷液 (blocking solution; 1.5% normal horse serum, 0.2% Triton X-100 溶於磷酸鹽緩衝溶液) 置於室溫下 1 小時。接續再滴加以阻斷液稀釋之一抗 [mouse anti-PCNA monoclonal antibody (1:500), Santa Cruz; rabbit anti- γ -H2AX polyclonal antibody (1:1,000), Abcam]，於室溫下反應 1 小時。再以含有 0.1% Tween-20 之磷酸鹽緩衝溶液 (PBST) 潤洗數次，接著滴加以阻斷液稀釋之二抗 [biotinylated anti-mouse or anti-rabbit IgG (H+L) made in horse, Vector]，於室溫下反應 1 小時，再以 PBST 充分潤洗。

接續滴加 ABC-AP 反應試劑 (Vector AK-5000)，並於室溫下反應 45 分鐘，以磷酸鹽緩衝溶液潤洗數次後，再滴加 AP 受質試劑 (Vector SK-5105) 待其呈色 20-30 分鐘，遂以磷酸鹽緩衝溶液潤洗後再以蘇木紫染核、流水沖洗玻片，再經過濃度遞增之酒精及二甲苯替代物進行脫水後，使用封片膠封片，並於顯微鏡 400X 放大倍率下觀察呈色結果。

每雞隻樣本組織切片隨機挑選兩個不同視野進行攝影，並以計量軟體 ImageJ (National Institutes of Health, USA) 進行細胞計數，計算視野中所有帶桃紅色之 PCNA 或 γ -H2AX 陽性 (+) 細胞及藍紫色陰性 (-) 細胞數目，求取陽性細胞佔細胞總和之比例。

4. 細胞凋亡分析 (TUNEL assay)

本試驗參考 Darzynkiewicz and Zhao (2011) 之方法，並稍作修改。步驟與前述免疫組織化學染色法幾近相同，部分差異敘述如下。進行相同前置作業後，於抗原修復時，切片置於 80°C 檸檬酸鹽緩衝液中 30 分鐘，經降溫及潤洗後再續以蛋白酶試劑 [proteinase K solution; 20 μ g/mL proteinase K (Sigma) 溶於 50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0] 於 37°C 恆溫下反應 10 分鐘。

玻片經室溫冷卻後接續與免疫染色相同之 Avidin/Biotin 阻斷步驟，再滴加不同成分之阻斷液 [blocking solution; 3% 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA, UniRegion Bio-Tech, Taiwan) 溶於磷酸鹽緩衝溶液] 室溫反應 30 分鐘。經磷酸鹽緩衝溶液潤洗數次後，與反應試劑 (reaction buffer; 25 mM Tris-HCl, 0.2 M sodium cacodylate, 0.25 mg/mL BSA, 1 mM cobalt chloride) 室溫培養 20 分鐘，接著於切片上滴加 50-100 μ L 之 DNA 標記試劑 [DNA labeling solution; 0.38 U/ μ L TdT enzyme (Sigma), 0.32 mM Br-dUTP (Sigma) 溶於 reaction buffer]，玻片以石蠟膜小心覆蓋，於 37°C 恆溫下避光反應 2 小時，並於玻片平放容器下方盛裝足量水，以維持濕度。

反應完以磷酸鹽緩衝溶液潤洗數次，再度與阻斷液反應 30 分鐘，接續滴加以阻斷液稀釋之抗體 [mouse anti-BrdU monoclonal antibody (1:50), Molecular Probes] 於室溫下反應 1 小時，後續進行相同步驟之 ABC-AP 反應及呈色，凋亡細胞之細胞核染有桃紅色，而非凋亡細胞則呈藍紫色。呈色結果於顯微鏡下觀察並攝影，如同前述之細胞計數予以量化。



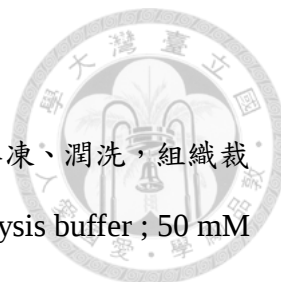
(七) 腸道冷凍切片

實驗操作參考 Ozden et al. (2010) 之方法，並作些許修改以衡量腸道型態。犧牲雞隻取其空腸與迴腸中段，裁開腸道片段後以磷酸鹽緩衝溶液清洗腸內容物，釘置於固定板，浸泡於 4% 多聚甲醛中 24 小時以上，將樣品轉換至 30% 蔗糖溶液中，置於 4°C 冰箱貯存留待後續切片、染色。

自蔗糖溶液中取出之樣品，截取一小段後稍加瀝乾，置入包埋盒中，以冷凍切片包埋劑 (Tissue-Tek[®] O.C.T. compound, Sakura Finetek, USA) 於液態氮氣相層完成腸道包埋，保存於 -80°C 冰箱。使用冷凍切片機 (Leica CM1950, Germany) 將包埋磚以 8 μm 厚度進行切片，每切面相距 250 μm 並收集至少 5 個組織切面。組織切片經蘇木紫染色 (hematoxylin, Sigma)，於顯微鏡下觀察並攝影，再以計量軟體 Image-Pro AMS 6.0 (Media Cybernetics Inc., USA) 測量腸道絨毛高度，每雞隻樣本取 20 根完整絨毛以計算平均值。

(八) 緊密連接蛋白表現量之測定

試驗採樣時，取雞隻空腸中段組織約 0.5 g，經磷酸鹽緩衝溶液清洗後置於液態氮中迅速結凍，撈起後保存於 -80°C。Claudin-5 蛋白質表現量測定參考 González-Mariscal et al. (2011) 的方法並略作修改。



1. 組織萃取

自-80°C取出之組織以冰冷之 0.5 mL 磷酸鹽緩衝溶液解凍、潤洗，組織裁切 150-200 mg 後移入 0.5 mL 新鮮配置之細胞裂解液[RIPA lysis buffer ; 50 mM Tris-HCl pH 7.4, 150 mM NaCl, 0.25% deoxycholic acid, 1% NP-40, 1 mM EDTA, 1 mM PMSF, 1 mM Na₃VO₄, 1 mM NaF, 25 mM β-glycerophosphate, 0.5% protease inhibitor cocktail (Merck)]，於離心管中以研磨杵搗碎使樣品均質，離心 (200 g，5 分鐘，4°C)，取上層液體注入 1 mL 針筒並通過 26 G 針頭，續以超音波震盪器 (Compact Lab Homogenizer UP50H, Hielscher) 震破細胞，再度離心 (17,000 g，15 分鐘，4°C)，取上清液作為蛋白質萃取原液。

2. 蛋白質變性

採用 Bradford (Bio-Rad) 蛋白質定量方法，以牛血清白蛋白作為標準品，蛋白質萃取原液經去離子水稀釋後加入染劑 (dye reagent, Bio-Rad)，並以分光光度計 (VICTOR² Multilabel Counter, Perkin Elmer, USA) 測定波長 595 nm 下之吸光度。經計算得蛋白質萃取原液之濃度，取部分原液加入適量裂解液及變性劑 [sample buffer ; 50 mM Tris-HCl pH 6.8, 10% (v/v) glycerol, 5% (v/v) β-mercaptoethanol, 2% (w/v) SDS, 0.1% (w/v) bromophenol blue] 並充分混合，使最終蛋白質濃度為 1 μg/μL，接著移入 95-98°C 熱水浴槽內加熱變性 10 分鐘，置冰上冷卻後，再進行分裝並保存於-80°C。

3. 蛋白質膠體電泳

使用 Mini-PROTEAN[®] Tetra Cell (Bio-Rad) 系統，將變性之蛋白質樣本以 15% 分離膠體 (separation gel) 及 5% 濃縮膠體 (stacking gel) 進行蛋白質分離。膠體樣本槽 (well) 中加入 10 μL 樣本，以 120 V 進行電泳約 80 分鐘，待標的蛋白質 (target protein) 條帶跑至分離膠體中間 (對應 claudin-5 約為 17 kDa 分子量)，便可停止電泳。

4. 西方點墨法

採用 Wet/Tank Blotting system (Bio-Rad) 系統，完成電泳之膠體與聚偏二氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride membrane, PVDF; Immobilon-P Membrane, Merck) 浸泡於轉漬液 (transfer buffer; 25 mM Tris-Base, 192 mM glycine, 20% methanol, pH 8.3) 中進行轉漬，維持 4°C 下以 0.2 A 轉漬 2 小時。轉漬完成後之 PVDF 膜以 TBST 緩衝液 (Tris-buffered saline with Tween-20; 1 M NaCl, 100 mM Tris-HCl pH 7.5, 0.1% Tween-20) 清洗數次，並沿條帶線裁切 PVDF 膜成分別帶有 β -肌動蛋白 (β -actin) 及 claudin-5 之兩片膜，接續浸於阻斷液 (5% 脫脂奶粉溶於 TBST) 於室溫下反應 1 小時。

其後，分別將 PVDF 膜與經阻斷液稀釋之一抗 [mouse anti- β -actin monoclonal antibody, ThermoFisher (1 : 1,000); rabbit anti-claudin-5 polyclonal antibody, Sigma (1 : 1,000)] 於 4°C 隔夜培養。經 TBST 清洗數次後，再續於室溫下與二抗 [anti-mouse or anti-rabbit horseradish peroxidase (HRP) -conjugated secondary antibody (1 : 5,000), ThermoFisher] 培養 1 小時，以 TBST 清洗後再以 ECL 呈色劑 (Immobilon™ Western Chemiluminescent HRP Substrate, Merck) 作用下顯影，並使用計量軟體 ImageJ 分析 β -actin 及 claudin-5 蛋白質條帶密度，以 β -actin 作為內部控制組 (internal control) 計算出 claudin-5 之相對表現量。

三、統計分析

試驗以嘔吐毒素濃度（0、2、5 和 10 ppm）及雞隻性別（公和母）之複因子模式進行統計分析，數據使用 SAS (Statistical Analysis System, ver. 9.3) 統計軟體，採用一般線性模式程序（general linear model procedure, GLM）進行變方分析（analysis of variance, ANOVA），檢定模式中各主效應與交感作用的顯著性。若變方分析達顯著，再以最小平方平均值法（least square means, LSMEANS）計算平均值，並以 Tukey-Kramer 公正顯著性差異法（Tukey-Kramer's honestly significant difference）比較平均值間之差異。

有鑑於過去研究指出，家禽雛鳥體重與未來生長表現及器官發育具顯著關聯性（Morris et al., 1968; Proudfoot and Hulan, 1981; Proudfoot et al., 1982; Whiting and Pesti, 1984; Wyatt et al., 1985; Pinchasov, 1991; Sklan et al., 2003; Egbeyale et al., 2011），故對體重、體增重及內臟相對重量之數據另進行共變數分析（analysis of covariance, ANCOVA），並以試驗 5 日齡之初始體重作為共變數（covariate），若共變數經檢定達顯著水準（ $P < 0.2$ ）則納入模型中，以對觀測值進行校正。而由於雞隻至 10 週齡時，公雞與母雞外觀性狀仍不易分辨，故於 10 週齡犧牲採樣之雞隻，發生公、母性別極度不均的情形，遂無法進行統計分析。

參、結果



一、飼糧嘔吐毒素濃度

經 HPLC 檢測，汙染糙米粗製品含有 930.79 ppm 之嘔吐毒素，以不同取代量混合製備之試驗飼料的嘔吐毒素分析值，如表 11 所示，結果顯示各處理組飼料之嘔吐毒素濃度符合預設之濃度。

表 11 飼糧嘔吐毒素濃度

Table 11 The analyzed concentrations of deoxynivalenol (DON) in diets.

Treatment	Diet		
	I (5-21 d)	II (22-70 d)	III (71-112 d)
	Deoxynivalenol (ppm)		
Basal diet	ND ¹	ND ¹	ND ¹
2 ppm	2.39	2.21	2.07
5 ppm	5.17	5.27	5.31
10 ppm	10.88	10.01	10.92

¹ ND: not detectable.



二、動物試驗

(一) 生長表現

嘔吐毒素對臺灣土雞之生長表現的影響，如表 12 所示。10 週齡雞隻體重之嘔吐毒素與性別因子間產生顯著交感作用 ($P < 0.05$)。除 4-10 週齡期間雞隻體增重之嘔吐毒素與性別具顯著交感作用 ($P < 0.05$) 外，其他試驗階段和全期之體增重亦不受嘔吐毒素之影響，惟 11-16 週齡之 2 及 10 ppm 組雞隻體增重有減少的趨勢 ($P < 0.1$)，如圖 10 所示。

觀察公、母雞之 10 週齡體重及 4-10 週齡期間體增重分佈走勢 (圖 11)，可發現公雞體 (增) 重於 5 及 10 ppm 濃度飼糧有增加的情形，而母雞則有下降的趨勢，因而造成二處理組之公和母雞體 (增) 重差距有擴大的現象 ($P < 0.0001$)，然於 2 ppm 濃度下則此差距被拉近 ($P > 0.01$)，此結果造成性別與嘔吐毒素處理間有顯著之交感效應。各組之飼料採食量、飼料利用效率於各期間並無顯著差異。

表 12 嘔吐毒素對臺灣土雞之生長表現的影響¹

Table 12 The impact of deoxynivalenol (DON) on growth performance of Taiwan country chickens.¹

Weeks of age	Treatment (DON, ppm)								<i>P</i> -value ²		
	0		2		5		10		DON	SEX	D × S
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂			
Body weight (g)											
Initial (5 d)	49.3 ± 5.2 (<i>n</i> = 24)	49.4 ± 4.8 (<i>n</i> = 28)	48.8 ± 5.0 (<i>n</i> = 20)	49.5 ± 4.8 (<i>n</i> = 30)	50.9 ± 3.9 (<i>n</i> = 20)	48.1 ± 5.0 (<i>n</i> = 32)	48.9 ± 5.2 (<i>n</i> = 19)	49.4 ± 4.3 (<i>n</i> = 31)	0.999	0.629	0.247
3 wk	348 ± 41 (<i>n</i> = 22)	383 ± 33 (<i>n</i> = 27)	356 ± 37 (<i>n</i> = 19)	387 ± 43 (<i>n</i> = 29)	354 ± 32 (<i>n</i> = 18)	384 ± 40 (<i>n</i> = 30)	350 ± 31 (<i>n</i> = 17)	388 ± 38 (<i>n</i> = 29)	0.832	< 0.0001	0.845
10 wk	1509 ± 96 (<i>n</i> = 21)	1702 ± 164 (<i>n</i> = 22)	1503 ± 129 (<i>n</i> = 17)	1654 ± 162 (<i>n</i> = 26)	1480 ± 151 (<i>n</i> = 16)	1724 ± 148 (<i>n</i> = 25)	1435 ± 114 (<i>n</i> = 13)	1731 ± 151 (<i>n</i> = 29)	0.854	< 0.0001	0.030
16 wk	2399 ± 203 (<i>n</i> = 15)	2526 ± 311 (<i>n</i> = 18)	2313 ± 200 (<i>n</i> = 13)	2386 ± 302 (<i>n</i> = 22)	2332 ± 178 (<i>n</i> = 15)	2569 ± 181 (<i>n</i> = 19)	2218 ± 174 (<i>n</i> = 12)	2490 ± 316 (<i>n</i> = 23)	0.135	< 0.0001	0.176
Body weight gain (g)											
5 d - 3 wk	298 ± 39 (<i>n</i> = 22)	334 ± 32 (<i>n</i> = 27)	307 ± 34 (<i>n</i> = 19)	338 ± 41 (<i>n</i> = 29)	298 ± 36 (<i>n</i> = 19)	336 ± 37 (<i>n</i> = 30)	296 ± 36 (<i>n</i> = 18)	338 ± 36 (<i>n</i> = 29)	0.858	< 0.0001	0.667
4 - 10 wk	1163 ± 65 (<i>n</i> = 21)	1307 ± 106 (<i>n</i> = 21)	1175 ± 87 (<i>n</i> = 16)	1287 ± 123 (<i>n</i> = 25)	1134 ± 135 (<i>n</i> = 16)	1366 ± 104 (<i>n</i> = 24)	1099 ± 90 (<i>n</i> = 13)	1359 ± 131 (<i>n</i> = 29)	0.887	< 0.0001	0.002
11 - 16 wk	867 ± 113 (<i>n</i> = 15)	812 ± 209 (<i>n</i> = 18)	800 ± 144 (<i>n</i> = 13)	696 ± 171 (<i>n</i> = 21)	833 ± 92 (<i>n</i> = 14)	786 ± 142 (<i>n</i> = 18)	791 ± 120 (<i>n</i> = 12)	715 ± 219 (<i>n</i> = 23)	0.052	0.016	0.902
5 d - 16 wk	2351 ± 201 (<i>n</i> = 15)	2477 ± 311 (<i>n</i> = 18)	2255 ± 184 (<i>n</i> = 11)	2336 ± 301 (<i>n</i> = 22)	2280 ± 177 (<i>n</i> = 15)	2520 ± 178 (<i>n</i> = 19)	2169 ± 172 (<i>n</i> = 12)	2449 ± 328 (<i>n</i> = 21)	0.130	0.000	0.210
Feed intake (g/bird)											
5 d - 3 wk	519 ± 18 (<i>n</i> = 4)		526 ± 19 (<i>n</i> = 4)		520 ± 18 (<i>n</i> = 4)		538 ± 27 (<i>n</i> = 4)		0.579	-	-
4 - 10 wk	3209 ± 174 (<i>n</i> = 4)		3151 ± 215 (<i>n</i> = 4)		3198 ± 176 (<i>n</i> = 4)		3184 ± 43 (<i>n</i> = 4)		0.963	-	-
11 - 16 wk	4754 ± 386 (<i>n</i> = 4)		4312 ± 232 (<i>n</i> = 4)		4677 ± 214 (<i>n</i> = 4)		4487 ± 235 (<i>n</i> = 4)		0.158	-	-
5 d - 16 wk	8483 ± 458 (<i>n</i> = 4)		7989 ± 397 (<i>n</i> = 4)		8394 ± 336 (<i>n</i> = 4)		8210 ± 278 (<i>n</i> = 4)		0.299	-	-
Feed efficiency											
5 d - 3 wk	0.61 ± 0.03 (<i>n</i> = 4)		0.61 ± 0.02 (<i>n</i> = 4)		0.60 ± 0.02 (<i>n</i> = 4)		0.59 ± 0.02 (<i>n</i> = 4)		0.664	-	-
4 - 10 wk	0.39 ± 0.00 (<i>n</i> = 4)		0.39 ± 0.02 (<i>n</i> = 4)		0.40 ± 0.00 (<i>n</i> = 4)		0.41 ± 0.01 (<i>n</i> = 4)		0.143	-	-
11 - 16 wk	0.17 ± 0.01 (<i>n</i> = 4)		0.17 ± 0.02 (<i>n</i> = 4)		0.17 ± 0.01 (<i>n</i> = 4)		0.17 ± 0.02 (<i>n</i> = 4)		0.823	-	-
5 d - 16 wk	0.28 ± 0.01 (<i>n</i> = 4)		0.29 ± 0.02 (<i>n</i> = 4)		0.29 ± 0.01 (<i>n</i> = 4)		0.29 ± 0.01 (<i>n</i> = 4)		0.958	-	-

¹ Mean ± SD.

² The calculated *P*-values using deoxynivalenol and sex as the main effects in factorial model. D × S = DON × SEX interaction effect.

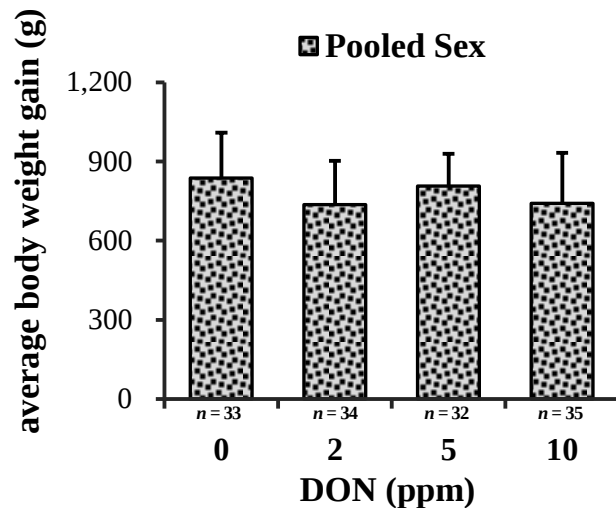


圖 10 嘔吐毒素對臺灣土雞於 16 週齡之體增重的影響

Figure 10 The impact of deoxynivalenol (DON) on the 11-16 wk body weight gain of Taiwan country chickens. Bars are presented as mean $\pm$ SD.

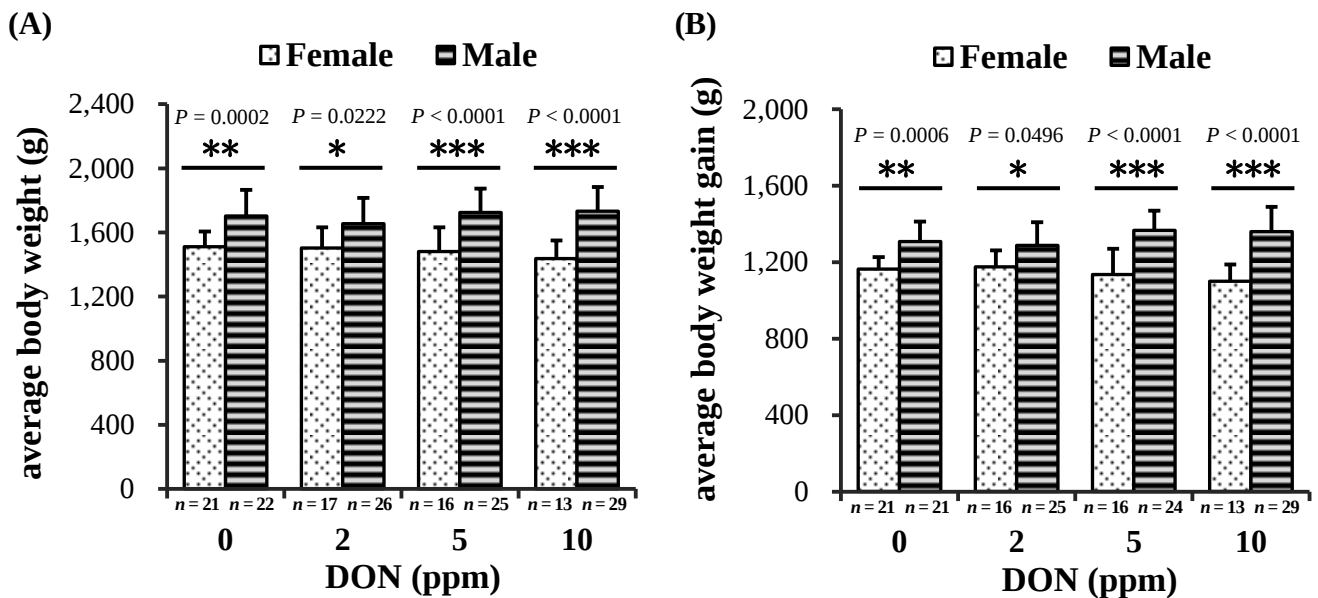


圖 11 嘔吐毒素對臺灣土雞於 10 週齡之體重及體增重的影響

Figure 11 The impact of deoxynivalenol (DON) on the 10 wk body weight (A) and 4-10 wk body weight gain (B) of Taiwan country chickens. Bars are presented as mean $\pm$ SD. *** P < 0.0001 < ** P < 0.01 < * P < 0.05.

(二) 血液生化值

試驗期間臺灣土雞血清中之 AST、ALT、UA 及 IgA 濃度，列於表 13。

所有血液生化值指標於各組間並無顯著差異，然於 16 週齡時，AST 濃度於餵飼嘔吐毒素處理組有下降的趨勢 (P < 0.1)。

表 13 嘔吐毒素對臺灣土雞之血液生化值的影響¹

Table 13 The impact of deoxynivalenol (DON) on blood biochemistry of Taiwan country chickens.¹

Weeks of age	Treatment (DON, ppm)								P-value ²		
	0		2		5		10		DON	SEX	D × S
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂			
Serum AST (IU/L)											
3 wk	156 ± 18 (n = 2)	145 ± 24 (n = 6)	151 ± 8 (n = 5)	149 ± 27 (n = 3)	161 ± 28 (n = 3)	148 ± 21 (n = 5)	152 ± 18 (n = 5)	149 ± 17 (n = 3)	0.968	0.401	0.929
10 wk	183 ± 17 (n = 4)	166 ± 12 (n = 4)	196 ± 8 (n = 3)	164 ± 15 (n = 5)	151 (n = 1)	177 ± 17 (n = 7)	167 (n = 1)	175 ± 23 (n = 7)	-	-	-
16 wk	207 ± 75 (n = 6)	215 ± 42 (n = 6)	137 ± 9 (n = 5)	196 ± 27 (n = 3)	163 ± 28 (n = 4)	178 ± 28 (n = 4)	161 ± 33 (n = 4)	199 ± 11 (n = 4)	0.059	0.060	0.566
Serum ALT (IU/L)											
3 wk	11.5 ± 4.9 (n = 2)	11.7 ± 5.5 (n = 6)	7.8 ± 3.8 (n = 5)	13.5 ± 5.3 (n = 3)	7.7 ± 1.5 (n = 3)	9.6 ± 3.9 (n = 5)	11.4 ± 4.2 (n = 5)	8.7 ± 1.5 (n = 3)	0.667	0.411	0.298
10 wk	7.8 ± 1.5 (n = 4)	5.3 ± 3.3 (n = 4)	12.3 ± 1.2 (n = 3)	8.8 ± 4.1 (n = 5)	9.0 (n = 1)	6.4 ± 3.9 (n = 7)	4.0 (n = 1)	11.5 ± 6.2 (n = 7)	-	-	-
16 wk	12.2 ± 8.3 (n = 6)	14.4 ± 6.8 (n = 6)	13.0 ± 6.3 (n = 5)	14.5 ± 5.3 (n = 3)	14.6 ± 12.4 (n = 4)	16.8 ± 8.1 (n = 4)	13.3 ± 9.3 (n = 4)	22.5 ± 8.3 (n = 4)	0.652	0.200	0.754
Serum UA (mg/dL)											
3 wk	3.1 ± 1.6 (n = 2)	3.6 ± 1.6 (n = 6)	2.4 ± 0.4 (n = 5)	4.9 ± 2.0 (n = 3)	2.7 ± 0.2 (n = 3)	3.6 ± 1.8 (n = 5)	3.1 ± 1.3 (n = 5)	3.4 ± 1.0 (n = 3)	0.951	0.048	0.438
10 wk	5.0 ± 1.5 (n = 4)	2.7 ± 0.3 (n = 4)	5.2 ± 1.4 (n = 3)	3.1 ± 0.9 (n = 5)	2.6 (n = 1)	3.8 ± 1.5 (n = 7)	3.4 (n = 1)	4.7 ± 2.9 (n = 7)	-	-	-
16 wk	3.8 ± 0.6 (n = 5)	7.1 ± 2.7 (n = 6)	4.7 ± 0.6 (n = 5)	7.1 ± 2.9 (n = 3)	4.7 ± 2.1 (n = 4)	7.6 ± 2.6 (n = 4)	4.5 ± 1.9 (n = 4)	8.9 ± 1.9 (n = 4)	0.669	< 0.0001	0.797
Serum IgA (µg/mL)											
3 wk	669 ± 2 (n = 2)	537 ± 313 (n = 6)	596 ± 282 (n = 5)	706 ± 262 (n = 3)	652 ± 103 (n = 3)	620 ± 640 (n = 5)	302 ± 161 (n = 5)	695 ± 109 (n = 3)	0.687	0.455	0.504
10 wk	539 ± 278 (n = 4)	427 ± 37 (n = 4)	539 ± 445 (n = 3)	435 ± 210 (n = 5)	639 (n = 1)	449 ± 238 (n = 7)	923 (n = 1)	429 ± 30 (n = 6)	-	-	-
16 wk	222 ± 123 (n = 5)	193 ± 95 (n = 6)	459 ± 113 (n = 5)	242 ± 127 (n = 3)	354 ± 259 (n = 4)	236 ± 79 (n = 4)	415 ± 214 (n = 4)	196 ± 39 (n = 4)	0.183	0.010	0.435

¹ Mean ± SD.

² The calculated P-values using deoxynivalenol and sex as the main effects in factorial model.

D × S = DON × SEX interaction effect.

(三) 內臟相對重量

3、10 及 16 週齡臺灣土雞之心臟、肝臟和脾臟的相對重量(體重百分比)，

列於表 14。各處理組之心臟及肝臟相對重量並無顯著差異，嘔吐毒素於 16 週

齡雞隻之脾臟相對重量有顯著的影響 ($P < 0.05$)，5 ppm 濃度組較對照組顯著

增加(圖 12)。

表 14 嘔吐毒素對臺灣土雞之內臟相對重量的影響¹

Table 14 The impact of deoxynivalenol (DON) on relative weights (% body weight) of liver, heart and spleen of Taiwan country chickens.¹

Weeks of age	Treatment (DON, ppm)								<i>P</i> -value ²		
	0		2		5		10		DON	SEX	D × S
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂			
Weight of heart (% of body weight)											
3 wk	0.79 ± 0.12 (<i>n</i> = 2)	0.79 ± 0.07 (<i>n</i> = 6)	0.78 ± 0.11 (<i>n</i> = 5)	0.82 ± 0.03 (<i>n</i> = 3)	0.64 ± 0.12 (<i>n</i> = 3)	0.85 ± 0.13 (<i>n</i> = 5)	0.81 ± 0.10 (<i>n</i> = 5)	0.88 ± 0.22 (<i>n</i> = 3)	0.471	0.079	0.392
10 wk	0.45 ± 0.09 (<i>n</i> = 4)	0.50 ± 0.06 (<i>n</i> = 4)	0.53 ± 0.08 (<i>n</i> = 3)	0.55 ± 0.06 (<i>n</i> = 5)	0.47 (<i>n</i> = 1)	0.55 ± 0.09 (<i>n</i> = 7)	0.47 (<i>n</i> = 1)	0.54 ± 0.04 (<i>n</i> = 7)	-	-	-
16 wk	0.40 ± 0.07 (<i>n</i> = 6)	0.53 ± 0.09 (<i>n</i> = 6)	0.48 ± 0.11 (<i>n</i> = 5)	0.49 ± 0.06 (<i>n</i> = 3)	0.35 ± 0.04 (<i>n</i> = 4)	0.51 ± 0.03 (<i>n</i> = 4)	0.43 ± 0.07 (<i>n</i> = 4)	0.53 ± 0.07 (<i>n</i> = 4)	0.361	0.000	0.216
Weight of liver (% of body weight)											
3 wk	2.71 ± 0.31 (<i>n</i> = 2)	2.61 ± 0.32 (<i>n</i> = 6)	2.43 ± 0.14 (<i>n</i> = 5)	2.54 ± 0.07 (<i>n</i> = 3)	3.00 ± 0.66 (<i>n</i> = 3)	2.67 ± 0.38 (<i>n</i> = 5)	2.65 ± 0.23 (<i>n</i> = 5)	2.57 ± 0.41 (<i>n</i> = 3)	0.265	0.431	0.636
10 wk	2.03 ± 0.14 (<i>n</i> = 4)	1.74 ± 0.23 (<i>n</i> = 4)	2.09 ± 0.36 (<i>n</i> = 3)	1.72 ± 0.34 (<i>n</i> = 5)	2.76 (<i>n</i> = 1)	1.76 ± 0.25 (<i>n</i> = 7)	2.03 (<i>n</i> = 1)	1.72 ± 0.16 (<i>n</i> = 7)	-	-	-
16 wk	2.32 ± 0.39 (<i>n</i> = 6)	1.40 ± 0.26 (<i>n</i> = 6)	2.21 ± 0.33 (<i>n</i> = 5)	1.34 ± 0.19 (<i>n</i> = 3)	2.33 ± 0.49 (<i>n</i> = 4)	1.39 ± 0.17 (<i>n</i> = 4)	1.97 ± 0.19 (<i>n</i> = 4)	1.33 ± 0.24 (<i>n</i> = 4)	0.470	< 0.0001	0.761
Weight of spleen (% of body weight)											
3 wk	0.13 ± 0.03 (<i>n</i> = 2)	0.22 ± 0.06 (<i>n</i> = 6)	0.20 ± 0.05 (<i>n</i> = 5)	0.20 ± 0.09 (<i>n</i> = 3)	0.38 ± 0.30 (<i>n</i> = 3)	0.17 ± 0.08 (<i>n</i> = 5)	0.23 ± 0.08 (<i>n</i> = 5)	0.15 ± 0.03 (<i>n</i> = 3)	0.602	0.176	0.095
10 wk	0.21 ± 0.02 (<i>n</i> = 4)	0.16 ± 0.05 (<i>n</i> = 4)	0.29 ± 0.11 (<i>n</i> = 3)	0.21 ± 0.04 (<i>n</i> = 5)	0.35 (<i>n</i> = 1)	0.18 ± 0.05 (<i>n</i> = 7)	0.13 (<i>n</i> = 1)	0.17 ± 0.02 (<i>n</i> = 7)	-	-	-
16 wk	0.09 ± 0.02 (<i>n</i> = 6)	0.10 ± 0.02 (<i>n</i> = 6)	0.08 ± 0.03 (<i>n</i> = 5)	0.16 ± 0.01 (<i>n</i> = 3)	0.13 ± 0.07 (<i>n</i> = 4)	0.18 ± 0.10 (<i>n</i> = 4)	0.09 ± 0.06 (<i>n</i> = 4)	0.14 ± 0.01 (<i>n</i> = 4)	0.038	0.018	0.616

¹ Mean ± SD.

² The calculated *P*-values using deoxynivalenol and sex as the main effects in factorial model.

D × S = DON × SEX interaction effect.

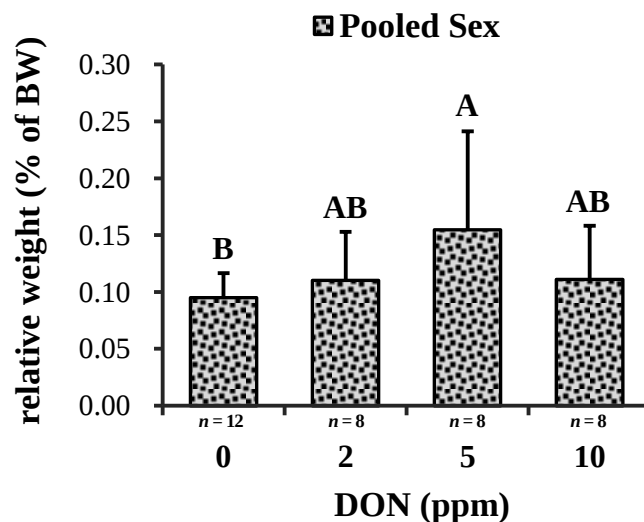


圖 12 嘔吐毒素對臺灣土雞於 16 週齡之脾臟相對重量的影響

Figure 12 The impact of deoxynivalenol (DON) on relative weights (% body weight) of spleen of Taiwan country chickens at 16 wk. Bars are presented as mean ± SD with different letters differ at *P* < 0.05.

(四) 脾臟組織切片

以蘇木紫-伊紅染色之脾臟組織切片，如圖 13 所示，其中 0 及 2 ppm 處理組之發生中心的數目較少，而 5 及 10 ppm 處理組則有明顯增多的情形。

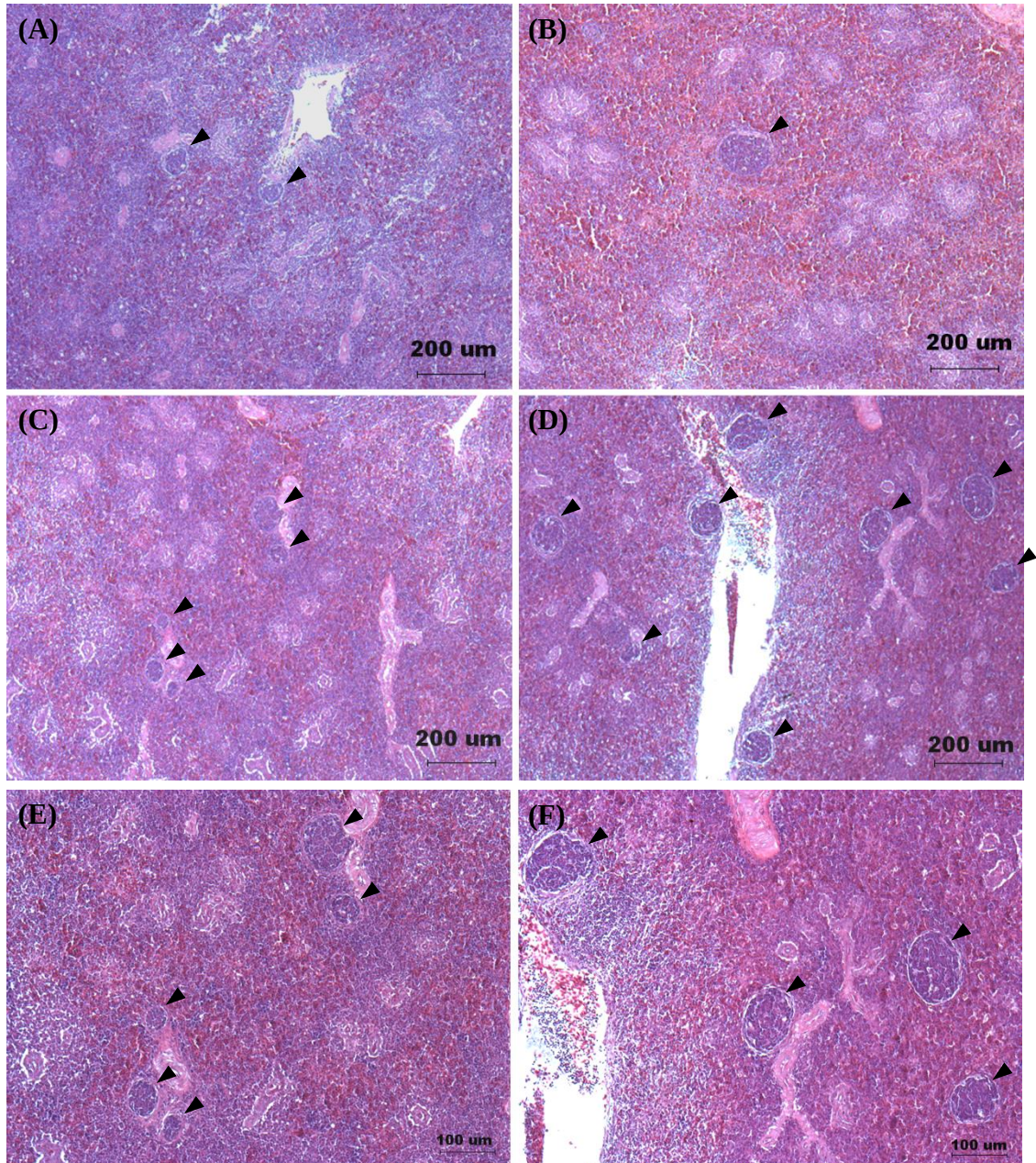


圖 13 16 週齡臺灣土雞脾臟組織之蘇木紫及伊紅染色切片圖

Figure 13 Effects of deoxynivalenol (DON) on spleen histopathology in Taiwan country chickens at 16 wk. Hematoxylin-eosin staining of spleen sections in chickens fed with basal diet (A), 2 ppm DON diet (B), 5 ppm DON diet (C, E) and 10 ppm DON diet (D, F). Magnification, 40X (A-D) and 100X (E, F). Germinal centers are indicated by arrowheads.

(五) 免疫組織化學染色

16 週齡臺灣土雞之脾臟組織切片，透過免疫組織化學染色，計算帶陽性訊號之細胞（桃紅色）與總細胞數目（桃紅色＋藍紫色）之比例。嘔吐毒素對三種包括增生、凋亡及 DNA 損傷指標的影響，如表 15 所示。

測定 PCNA 之結果呈現嘔吐毒素與性別之顯著交互效應 ($P < 0.05$) (附圖 1)，5 及 10 ppm 處理組公雞的 PCNA (+) 細胞數目顯著較 0 及 10 ppm 處理組母雞的為多，而 2 及 5 ppm 組之母雞則顯著多於 10 ppm 組之母雞，整體而言，除 10 ppm 組母雞之外，PCNA (+) 細胞數目於嘔吐毒素處理組之公和母雞皆有上升趨勢 (圖 14)，而以 10 ppm 組公雞數目為最多。TUNEL 分析測定凋亡細胞之結果，發現不同濃度處理組具顯著差異 ($P < 0.05$)，凋亡細胞數目隨嘔吐毒素濃度有遞增的現象 (圖 15)。測定 γ -H2AX 之結果亦顯示不同濃度處理組具顯著差異 ($P < 0.05$)，其中 10 ppm 組之 γ -H2AX (+) 細胞數目顯著多於對照組 (圖 16)。三種指標之負控制組 (negative control) 如圖 17 所示。

表 15 嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞之脾臟組織的增生、凋亡及 DNA 損傷之影響¹

Table 15 Detection of cell proliferation marker PCNA, apoptosis signals by TUNEL assay and examination of DNA damage related marker γ -H2AX in spleen sections of Taiwan country chickens exposed to deoxynivalenol (DON) at 16 wk.¹

Item	Treatment (DON, ppm)								<i>P</i> -value ²		
	0		2		5		10				
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	DON	SEX	D × S
Positive cells (% of total cells)											
PCNA	7.5 ± 1.2 ^{bc} (<i>n</i> = 4)	10.5 ± 1.2 ^{ab} (<i>n</i> = 4)	9.1 ± 1.0 ^{ab} (<i>n</i> = 3)	10.7 ± 1.6 ^{ab} (<i>n</i> = 3)	9.5 ± 1.7 ^{ab} (<i>n</i> = 3)	12.0 ± 2.9 ^a (<i>n</i> = 3)	4.0 ± 1.4 ^c (<i>n</i> = 3)	12.7 ± 1.4 ^a (<i>n</i> = 3)	0.080	< 0.0001	0.004
TUNEL	2.5 ± 0.5 (<i>n</i> = 4)	4.0 ± 1.6 (<i>n</i> = 4)	3.3 ± 0.7 (<i>n</i> = 3)	5.8 ± 1.8 (<i>n</i> = 3)	5.5 ± 1.1 (<i>n</i> = 3)	5.4 ± 2.9 (<i>n</i> = 3)	5.0 ± 1.8 (<i>n</i> = 3)	5.9 ± 0.8 (<i>n</i> = 3)	0.043	0.060	0.544
γ-H2AX	6.6 ± 1.9 (<i>n</i> = 4)	8.3 ± 1.8 (<i>n</i> = 4)	10.1 ± 2.6 (<i>n</i> = 3)	6.4 ± 1.6 (<i>n</i> = 3)	8.4 ± 1.9 (<i>n</i> = 3)	8.4 ± 0.3 (<i>n</i> = 3)	11.8 ± 2.6 (<i>n</i> = 3)	9.8 ± 2.8 (<i>n</i> = 3)	0.048	0.351	0.120

¹ Mean $\pm$ SD.

² The calculated *P*-values using deoxynivalenol and sex as the main effects in factorial model.

D $\times$ S = DON $\times$ SEX interaction effect.

^{a,b,c} Means within a row without a common superscript differ significantly (*P* < 0.05).

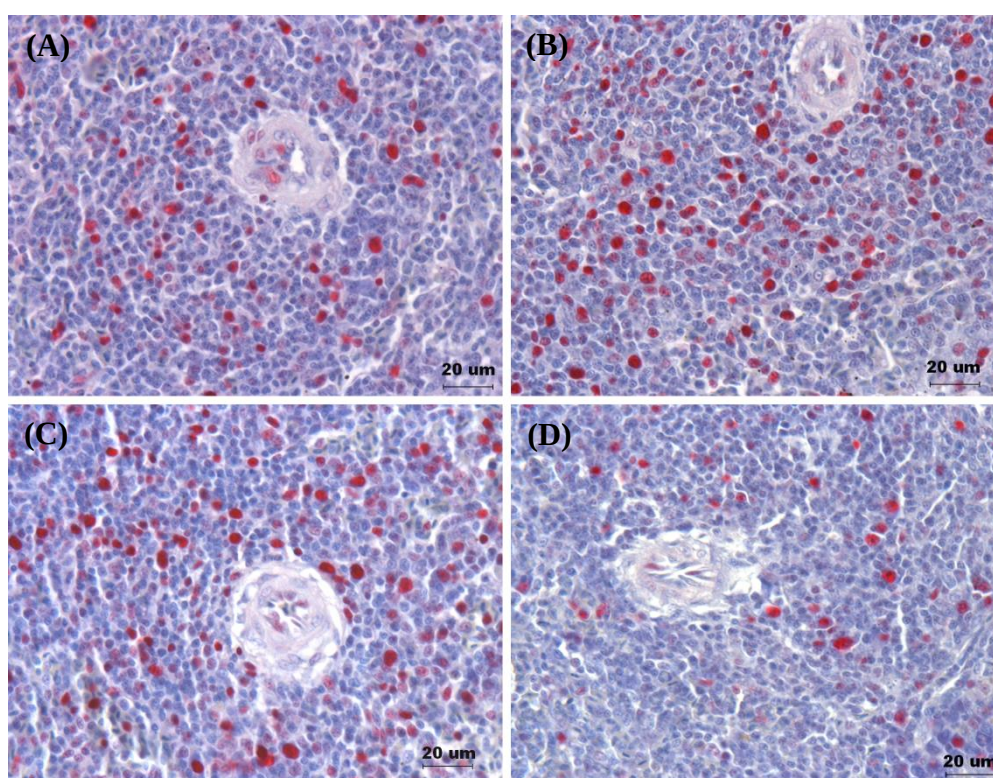


圖 14 嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞脾臟組織之細胞增生的影響

Figure 14 Effects of deoxynivalenol (DON) on spleen proliferation in Taiwan country chickens at 16 wk. Immunohistochemistry of PCNA was performed on spleen sections in chickens fed with basal diet (A), 2 ppm DON diet (B), 5 ppm DON diet (C) and 10 ppm DON diet (D). PCNA positive cells are colored in magenta. Sections were counterstained by hematoxylin.

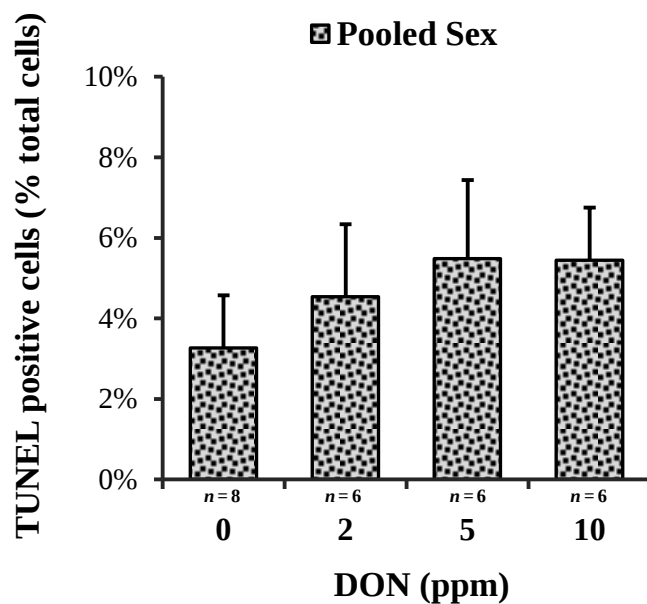
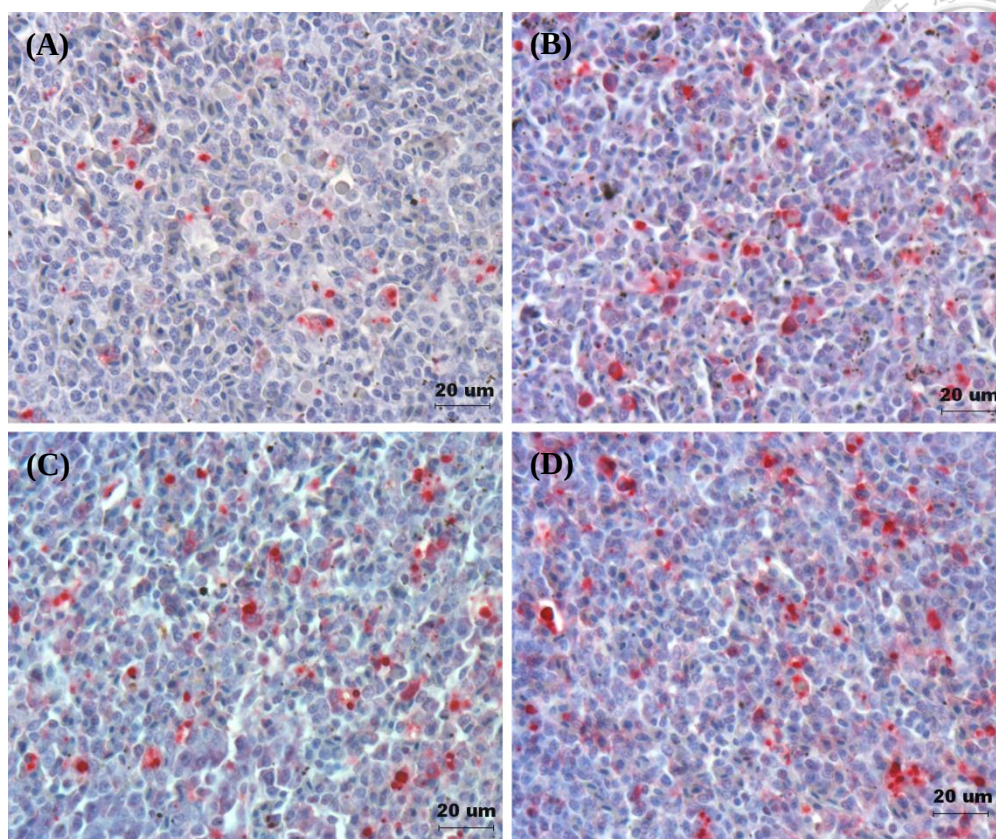


圖 15 嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞脾臟組織之細胞凋亡的影響

Figure 15 Effects of deoxynivalenol (DON) on spleen apoptosis in Taiwan country chickens at 16 wk. TUNEL assay was performed on spleen sections in chickens fed with basal diet (A), 2 ppm DON diet (B), 5 ppm DON diet (C) and 10 ppm DON diet (D). Apoptotic cells are colored in magenta. Sections were counterstained by hematoxylin. Bars are presented as mean $\pm$ SD.

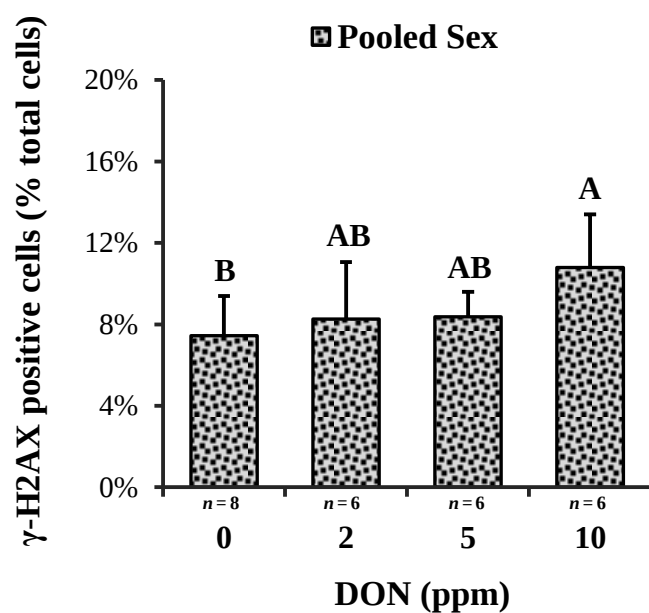
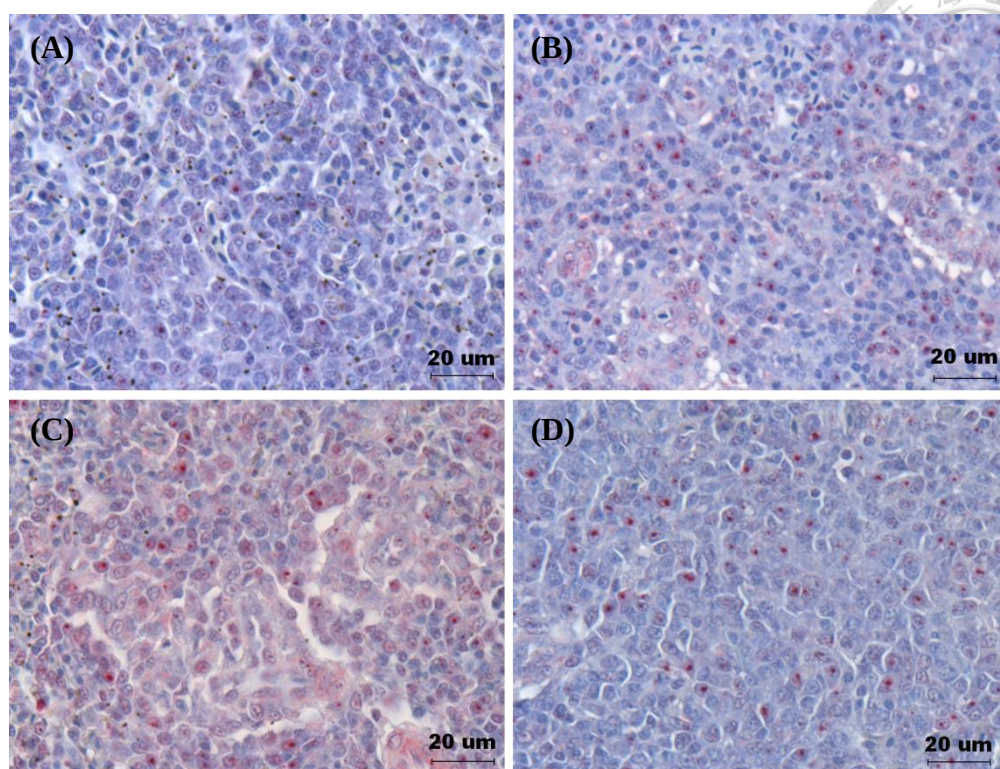


圖 16 嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞脾臟組織之細胞 DNA 損傷的影響

Figure 16 Effects of deoxynivalenol (DON) on spleen DNA damage in Taiwan country chickens at 16 wk. Immunohistochemistry of γ -H2AX was performed on spleen sections in chickens fed with basal diet (A), 2 ppm DON diet (B), 5 ppm DON diet (C) and 10 ppm DON diet (D). γ -H2AX positive signals are indicated by magenta color. Sections were counterstained by hematoxylin. Bars are presented as mean $\pm$ SD with different letters differ at $P < 0.05$.

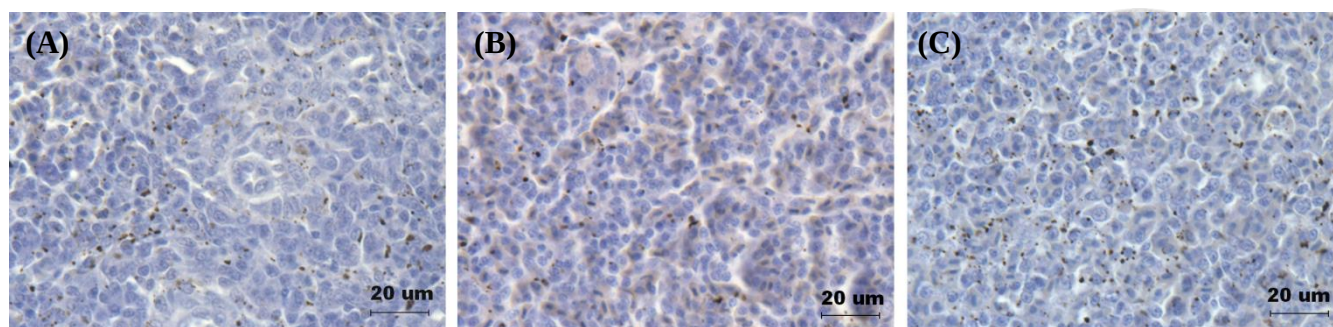


圖 17 PCNA、TUNEL 分析及 γ -H2AX 免疫組織化學染色之負控制組

Figure 17 Negative controls of immunohistochemistry performed on spleen sections in Taiwan country chickens of PCNA (A), TUNEL assay (B) and γ -H2AX (C) counterstained by hematoxylin.

(六) 腸道型態

嘔吐毒素對臺灣土雞之空腸及迴腸絨毛高度之影響結果，列於表 16。結果顯示各組間並無顯著差異，然於 16 週齡之迴腸絨毛，嘔吐毒素及性別間具有趨勢性的交互作用 ($P < 0.1$)。腸絨毛冷凍切片的結果顯示，部份 5 ppm 組別之公雞有異常短的迴腸絨毛 (圖 18)。

表 16 嘔吐毒素對臺灣土雞腸道絨毛型態之影響¹

Table 16 The impact of deoxynivalenol (DON) on villus morphology of the small intestine of Taiwan country chickens.¹

Weeks of age	Treatment (DON, ppm)								<i>P</i> -value ²		
	0		2		5		10				
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	DON	SEX	D × S
Villus height of jejunum (μm)											
3 wk	869 ± 39 (<i>n</i> = 2)	1034 ± 76 (<i>n</i> = 6)	997 ± 88 (<i>n</i> = 5)	1018 ± 78 (<i>n</i> = 3)	989 ± 86 (<i>n</i> = 3)	1037 ± 83 (<i>n</i> = 5)	954 ± 86 (<i>n</i> = 5)	1062 ± 82 (<i>n</i> = 3)	0.748	0.014	0.392
10 wk	1243 ± 34 (<i>n</i> = 3)	1437 ± 134 (<i>n</i> = 3)	1237 ± 62 (<i>n</i> = 3)	1340 ± 153 (<i>n</i> = 3)	1562 (<i>n</i> = 1)	1379 ± 71 (<i>n</i> = 5)	1362 (<i>n</i> = 1)	1466 ± 223 (<i>n</i> = 5)	-	-	-
16 wk	1101 ± 225 (<i>n</i> = 6)	1041 ± 114 (<i>n</i> = 6)	1064 ± 155 (<i>n</i> = 5)	1212 ± 82 (<i>n</i> = 3)	1022 ± 321 (<i>n</i> = 4)	1021 ± 207 (<i>n</i> = 4)	1083 ± 228 (<i>n</i> = 4)	1064 ± 183 (<i>n</i> = 4)	0.808	0.920	0.730
Villus height of ileum (μm)											
3 wk	596 ± 69 (<i>n</i> = 2)	746 ± 177 (<i>n</i> = 6)	672 ± 108 (<i>n</i> = 5)	606 ± 86 (<i>n</i> = 3)	693 ± 116 (<i>n</i> = 3)	745 ± 38 (<i>n</i> = 5)	688 ± 105 (<i>n</i> = 5)	641 ± 110 (<i>n</i> = 3)	0.622	0.723	0.325
10 wk	907 ± 192 (<i>n</i> = 3)	906 ± 153 (<i>n</i> = 3)	843 ± 116 (<i>n</i> = 2)	1039 ± 94 (<i>n</i> = 4)	-	814 ± 56 (<i>n</i> = 6)	864 (<i>n</i> = 1)	845 ± 199 (<i>n</i> = 5)	-	-	-
16 wk	797 ± 223 (<i>n</i> = 6)	654 ± 195 (<i>n</i> = 6)	619 ± 179 (<i>n</i> = 5)	621 ± 48 (<i>n</i> = 3)	848 ± 140 (<i>n</i> = 4)	398 ± 108 (<i>n</i> = 4)	769 ± 187 (<i>n</i> = 4)	552 ± 70 (<i>n</i> = 4)	0.351	0.002	0.079

¹ Mean ± SD.

² The calculated *P*-values using deoxynivalenol and sex as the main effects in factorial model.

D × S = DON × SEX interaction effect.

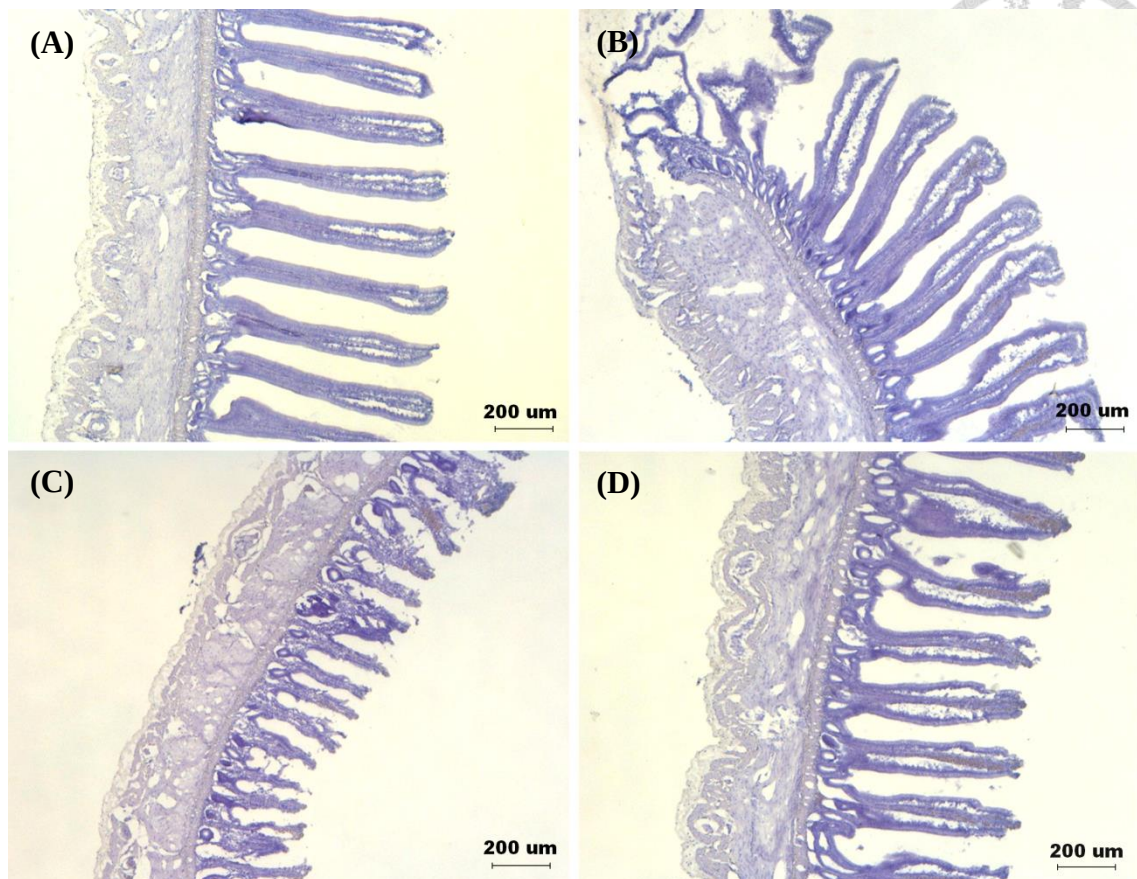


圖 18 16 週齡臺灣土雞迴腸絨毛冷凍切片圖

Figure 18 Effects of deoxynivalenol (DON) on the intestinal morphology in Taiwan country chickens at 16 wk. Frozen sections of ileum in chickens fed with basal diet (A), 2 ppm DON diet (B), 5 ppm DON diet (C) and 10 ppm DON diet (D). Marked difference was noticed in (C) as appeared by shortened villi.

(七) 腸道緊密連接蛋白表現量

臺灣土雞空腸組織之 CLDN5 蛋白質表現量之試驗結果，列於表 17。結果顯示 16 週齡時，嘔吐毒素與性別間呈現顯著的交互作用 ($P < 0.05$) (附圖 2)，而於 2 ppm 組母雞之 CLDN5 表現量顯著地較 2 及 5 ppm 組之公雞的為高，2 及 5 ppm 組之部份母雞具有大量的蛋白質表現 (圖 19)，而二組之公雞蛋白質表現量顯著較少。



表 17 嘔吐毒素對臺灣土雞之緊密連接蛋白表現量的影響¹

Table 17 The impact of deoxynivalenol (DON) on the expression of tight junction protein of jejunum in Taiwan country chickens.¹

Weeks of age	Treatment (DON, ppm)								<i>P</i> -value ²		
	0		2		5		10				
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	DON	SEX	D × S
Normalized claudin-5 protein expression											
3 wk	1.00 ± 0.04 (<i>n</i> = 2)	1.00 ± 0.57 (<i>n</i> = 6)	0.99 ± 0.28 (<i>n</i> = 5)	1.03 ± 0.31 (<i>n</i> = 3)	0.91 ± 0.35 (<i>n</i> = 3)	1.52 ± 0.42 (<i>n</i> = 5)	1.26 ± 0.53 (<i>n</i> = 5)	0.83 ± 0.11 (<i>n</i> = 3)	0.483	0.705	0.148
10 wk	1.00 ± 0.33 (<i>n</i> = 4)	1.00 ± 0.32 (<i>n</i> = 4)	0.67 ± 0.20 (<i>n</i> = 3)	0.87 ± 0.35 (<i>n</i> = 5)	2.01 (<i>n</i> = 1)	0.97 ± 0.19 (<i>n</i> = 7)	0.35 (<i>n</i> = 1)	1.15 ± 0.34 (<i>n</i> = 7)	-	-	-
16 wk	1.00 ± 0.27 ^{ab} (<i>n</i> = 6)	1.00 ± 0.23 ^{ab} (<i>n</i> = 6)	1.60 ± 0.43 ^a (<i>n</i> = 5)	0.60 ± 0.27 ^b (<i>n</i> = 3)	1.21 ± 0.63 ^{ab} (<i>n</i> = 4)	0.74 ± 0.40 ^b (<i>n</i> = 4)	1.11 ± 0.23 ^{ab} (<i>n</i> = 4)	0.93 ± 0.37 ^{ab} (<i>n</i> = 4)	0.911	0.003	0.043

¹ Mean ± SD.

² The calculated *P*-values using deoxynivalenol and sex as the main effects in factorial model.

D × S = DON × SEX interaction effect.

^{a,b} Means within a row without a common superscript differ significantly (*P* < 0.05).

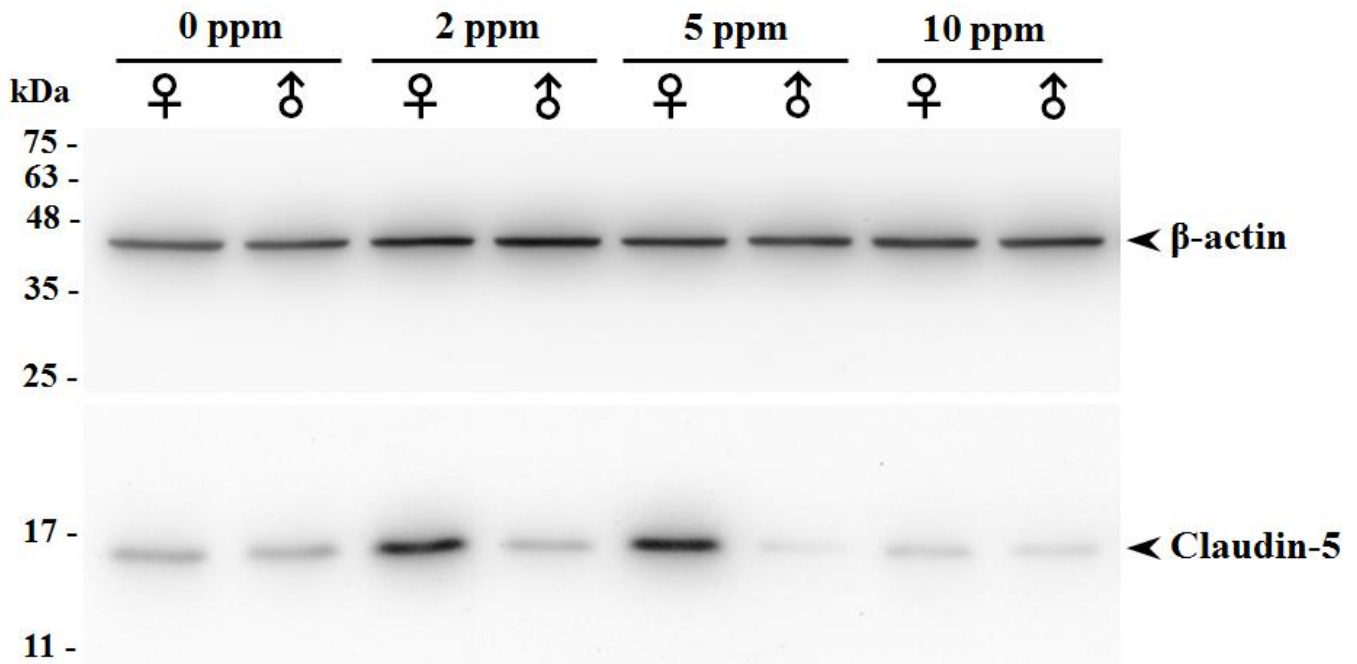


圖 19 16 週齡臺灣土雞以西方點墨法測定空腸組織中緊密連接蛋白表現量

Figure 19 Western blot analysis of claudin-5 protein expression in jejunum of Taiwan country chickens fed different levels of deoxynivalenol (DON) contaminated diets after 16 wks. Ten micrograms of protein from intestinal homogenates were loaded in each lane. The expression of the proteins was estimated by densitometry after normalization with β -actin signal.

(八) 嘔吐毒素於內部臟器之殘留量

本試驗採集 10 及 16 週齡 10 ppm 組雞隻之肝臟，以測定嘔吐毒素的殘留量，HPLC 層析圖如圖 20 所示，對應嘔吐毒素滯留時間（7.6-7.8 秒）並無出現波峰，顯示肝臟並無嘔吐毒素殘留。

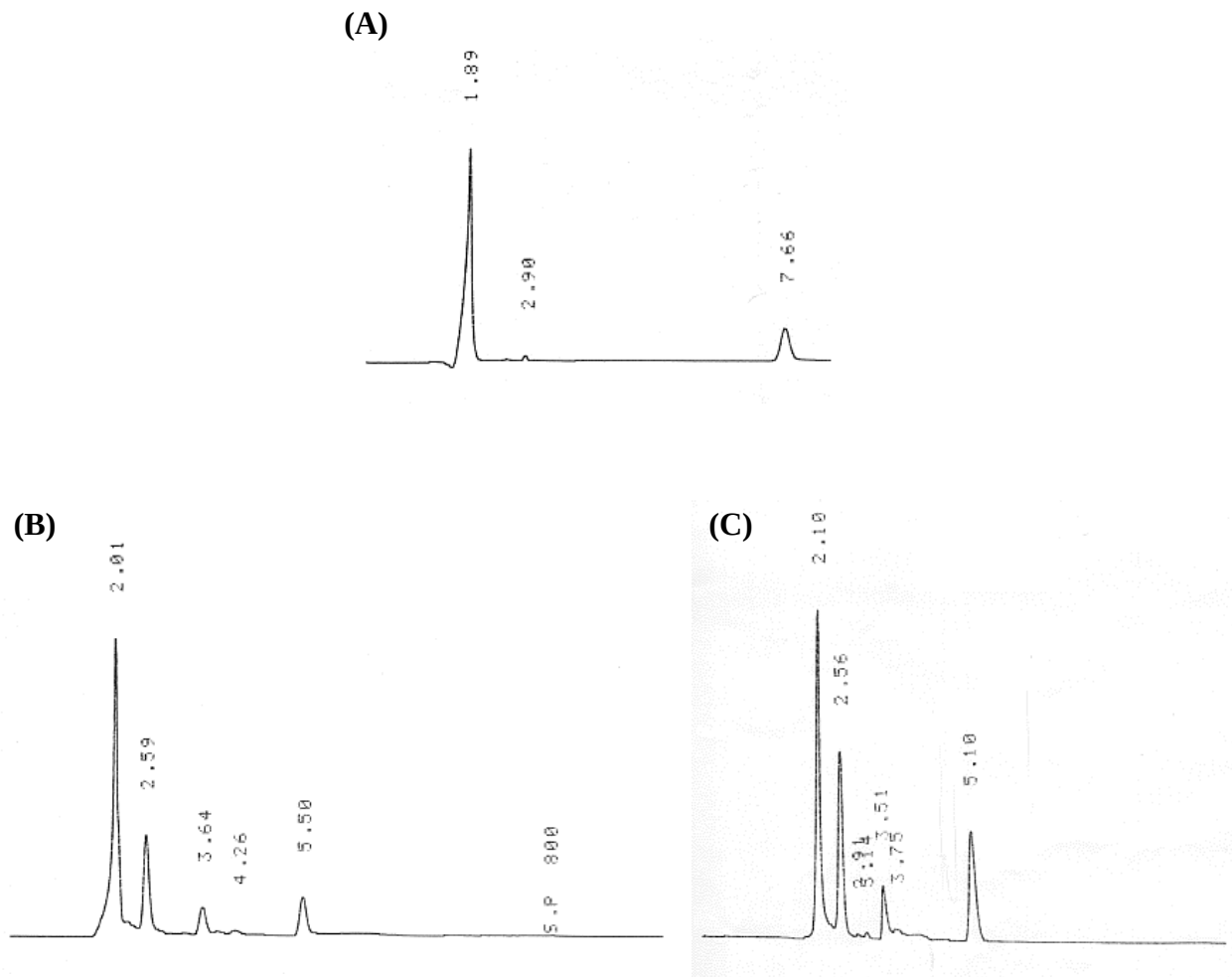


圖 20 餵飼臺灣土雞 10 ppm 嘔吐毒素於 10 及 16 週齡肝臟之 HPLC 層析圖

Figure 20 HPLC chromatographs of 4 ppm deoxynivalenol (DON) standard (A), compared with liver tissue of Taiwan country chickens fed 10 ppm DON contaminated diets for 10 wks (B) and 16 wks (C).

肆、討論



一、嘔吐毒素對臺灣土雞之生長表現的影響

於本試驗中，臺灣土雞經長期餵飼 0-10 ppm 濃度之嘔吐毒素後，發現 10 週齡雞隻體重呈現顯著的交感效應 ($P < 0.05$)，此現象亦出現於雞隻 4-10 週齡間之體增重上，表示嘔吐毒素於雞隻不同性別展現差異性的影響。而於 11-16 週齡間雞隻體增重有受到嘔吐毒素影響的趨勢 ($P = 0.052$)。

彙整土雞於二期 (4-10 週齡) 和三期 (11-16 週齡) 的體增重變化，以及對最終 16 週齡體重的影響 (表 18)。可發現對公雞而言，5 和 10 ppm 濃度的嘔吐毒素於前期有促進生長的作用，然暴露毒素之時間延長至後期則有抑制作用，且於高劑量的 10 ppm 下則抑制現象更為明顯。嘔吐毒素對家禽的生長表現，於過去研究中多無顯著影響或有負面影響 (Eriksen and Pettersson, 2004)，然 Hamilton et al. (1985a) 餵飼生長中的蛋雞 4.6 ppm 嘔吐毒素四週 (7-35 日齡) 後，發現其日增重顯著增加，與本研究觀察到嘔吐毒素於前期促進生長的結果相似。至於本研究中 2 ppm 組的公雞，很可能因濃度未達嘔吐毒素促進生長作用的門檻，因此全期受到嘔吐毒素的負面影響。相對於母雞，促進生長的作用則顯現於 2 ppm，同樣至後期出現抑制，而在更高濃度則生長全期皆受抑制。

綜合上述，於前期生長較快速的雞隻 (5、10 ppm 之公雞及 2 ppm 之母雞)，至後期則增重減緩，兩期間在效應互補下，導致最終 16 週齡體重與對照組並無太大差異。另一方面，餵飼 2 及 10 ppm 濃度組之體增重均有減緩之趨勢，然並未使 16 週齡總體重達顯著不同，可能是雞隻個體差異所致，由於臺灣土雞缺乏系統性之選育，遺傳歧異度大，故生長表現反映的個體差異在所難免。

雖然最終體重並無顯著受影響，但觀察體增重於各期間的變化，可推估雞隻之生長模式有改變的跡象，且於不同性別雞隻的反應有別。嘔吐毒素造成雞隻生長模式改變的原因目前仍不清楚，建議後續研究可探討家禽於生長期間，生長或性腺內泌素的合成及分泌是否受到嘔吐毒素之影響。飼料採食量及飼料利用效率於各組間並無顯著差異，綜合體重的結果，顯示經過 16 週的飼養，於 10 ppm 濃度下之嘔吐毒素並不會對臺灣土雞之生長表現造成顯著的負面影響，與先前於白肉雞及蛋雞之研究結果一致 (Eriksen and Pettersson, 2004)。

表 18 嘔吐毒素對臺灣土雞體增重及總體重的影響¹

Table 18 The extent of deoxynivalenol (DON) impact on growth performance.¹

Treatments (DON, ppm)	Male ♂			Female ♀		
	2	5	10	2	5	10
4-10 wk BWG ²	--	++	+	+	-	--
11-16 wk BWG ²	--	-	--	--	-	--
16 wk BW ³	--	+	-	-	-	--

¹ Symbol +/- means positive/negative differences compared to control.
The extent of impact is indicated by the number of symbols.

² BWG: body weight gain.

³ BW: body weight.



二、嘔吐毒素對臺灣土雞之血液生化值的影響

本試驗中檢測之血液生化值，除血清中 AST 濃度於餵飼嘔吐毒素 16 週的處理組有下降的趨勢 ($P = 0.059$) 外，其餘檢測值於各處理組間並無顯著差異。

AST 及 ALT 為評估肝臟損傷的指標，雖然本試驗之嘔吐毒素餵飼組別之 AST 偏低，但其值仍合乎家禽血液生化值之正常範圍 (Hochleithner, 1994; Sabater and Forbes, 2015)，且對應肝臟器官重量並無顯著改變，故推測嘔吐毒素並未對肝臟造成明顯損傷。而家禽肝臟中合成之尿酸，是為胺基酸的代謝產物，並於腎臟中被清除，本試驗並未觀察到血清中尿酸濃度的異常，顯示肝臟及腎臟功能應未受到嘔吐毒素損害。血清 IgA 濃度於過去研究結果多有分歧，而於本試驗各處理組亦無顯著差異，然 IgA 濃度於不同個體差異極大，反映其值易受其他因素影響，或許非為具代表性的指標。

三、嘔吐毒素對臺灣土雞之免疫器官的影響

(一) 內臟相對重量

心臟和肝臟之相對重量並未受嘔吐毒素影響，而於 16 週齡時，餵飼 5 ppm 濃度嘔吐毒素之雞隻，其脾臟相對重量較對照組顯著增加 ($P = 0.029$)，由於脾臟為免疫系統之重鎮，其重量的增加表示免疫系統遭受毒素刺激下有腫大的可能。此與 Yunus et al. (2012a) 餵飼白肉雞低濃度 (2 ppm) 嘔吐毒素時，2 和 4 週齡之脾臟重量增加的結果相似。但與 Li et al. (2012) 餵飼白肉雞同濃度之嘔吐毒素，於 3 週齡觀察到脾臟重量減輕的結果明顯有差異。由於過去各研究測量家禽臟器重量的結果常有不一致，顯示臟器重量與嘔吐毒素濃度的對應關聯較為薄弱。為有助於了解本試驗中脾臟重量增加的可能原因，透過組織切片可進一步於顯微層次查看臟器之變化。

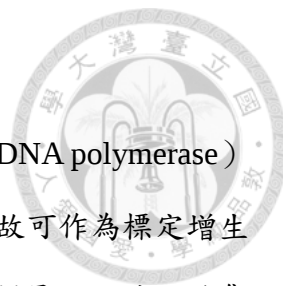
(二) 病理切片

本試驗發現以嘔吐毒素餵飼雞隻 16 週之後，觀看其脾臟組織切片，可發現 5 和 10 ppm 之處理組雞隻脾臟有較多的發生中心生成，目前已知發生中心是為 B 細胞成熟及分化的區域。根據 Schat et al. (2014) 於「家禽免疫學 (Avian Immunology)」一書中的敘述，未成熟的 B 細胞於家禽華氏囊中誕生後，經液遞入脾臟，在脾臟中未成熟 B 細胞被抗原活化後，便會移動至發生中心啟動後續的發育和成熟過程。因此，發生中心的數目及大小可用以評估動物體是否遭受病原的刺激。而本研究中發現 5 和 10 ppm 之處理組雞隻脾臟有較多的發生中心生成，亦可能意味著受到嘔吐毒素刺激的影響。

關於嘔吐毒素對家禽免疫系統的影響，前人的研究甚少。Girish et al. (2010) 曾以 3.9 ppm 濃度的嘔吐毒素餵飼雛火雞至 21 日齡，發現火雞脾臟中的發生中心數目顯著增加，同時迴腸腺窩之增生細胞則顯著減少，作者推測可能是腸道發生損傷，加劇感染性物質的侵入，進而刺激免疫反應。該研究結果可映證本試驗的發現，而發生中心數目的增加間接顯示 B 細胞的增生、分化作用旺盛，故推測增多的發生中心或許是導致脾臟重量增加的可能因素。

(三) 組織的增生、凋亡及 DNA 損傷

由於本試驗中 5 ppm 試驗組之 16 週齡雞隻的脾臟相對重量較對照組顯著增加，故進而以免疫組織化學分析，檢測細胞中用以分別評估脾臟組織增生及 DNA 損傷情形的 PCNA 及 γ -H2AX 兩種蛋白質標記，以及標定組織中凋亡細胞之 TUNEL 分析，來進一步探究嘔吐毒素於細胞及蛋白質層次的影響。



1. 嘔吐毒素對脾臟組織增生之影響

細胞進行複製的過程中，PCNA 扮演協助 DNA 聚合酶 (DNA polymerase) 的 DNA 夾具 (DNA clamp)，是為細胞複製的重要因子，故可作為標定增生細胞合適的蛋白質指標。本試驗結果中發現隨著嘔吐毒素劑量的上升，雞隻脾臟組織中表現 PCNA 之細胞數目的比例亦有上升的趨勢，此與前人對豬隻經餵飼嘔吐毒素後並抽取淋巴細胞，進行有絲分裂原刺激試驗之體外研究結果相似 (Øvernes et al., 1997; Malovrh and Jakovac-Strajn, 2010)。然而亦有多篇研究與本研究所得結果不同，經由嘔吐毒素餵飼試驗後的豬隻，其淋巴細胞於體外試驗的增生表現並無明顯改變 (Tiemann et al., 2006; Döll et al., 2007)，甚至顯著受抑制 (Goyarts et al., 2006b)。

以往針對嘔吐毒素於脾臟增生影響的相關研究，多以豬隻為主，有關家禽的研究甚少。Ren et al. (2015) 抽取雞隻脾臟中的淋巴細胞，發現預先經嘔吐毒素的前置處理後，其增生活性亦顯著受抑制，然而並無家禽的餵飼試驗可從旁佐證之。嘔吐毒素抑制免疫細胞的增生，推測與其抑制蛋白質合成的作用有關，或許能部分解釋於本試驗中，觀察到 10 ppm 母雞增生細胞數目驟降的現象。

前人進行動物餵飼試驗的結果出現分歧，可能與各研究進行的體內及體外試驗的操作條件差異有關，故難以歸納嘔吐毒素劑量與免疫細胞反應之對應關聯。以本試驗的情形而言，於 2 和 5 ppm 處理下似乎能促進雞隻脾臟細胞的增生，而 10 ppm 高劑量下恐造成母雞脾臟細胞之增生受抑制，此亦符合嘔吐毒素於低劑量下有促進效果，而於高劑量下為抑制效果的雙向效應 (Pestka et al., 2004; Malovrh and Jakovac-Strajn, 2010; Awad et al., 2013)。



2. 嘔吐毒素對脾臟組織凋亡之影響

凋亡細胞的明顯特徵為，其 DNA 遭受細胞核酸酶 (nuclease) 作用下截切成為數眾多的片段，而這些碎片帶有 3'-羥基末端 (3'-hydroxyl ends)，這些末端可藉由溴化脫氧尿苷三磷酸 (bromolabeled dUTP) 於酵素催化下加以標定，以便研究者觀測凋亡細胞。本試驗透過 TUNEL 分析評估脾臟中細胞凋亡的情形，發現隨著嘔吐毒素的濃度增高，細胞凋亡的情形更為嚴重 ($P < 0.05$)。

前人於體外試驗中，觀察到嘔吐毒素處理下促進雞隻脾臟淋巴細胞之凋亡，並提升凋亡相關基因 (Bax、Bak-1、p53、Caspase-3) 之表現 (Ren et al., 2015)，此與本研究之結果一致。嘔吐毒素之細胞毒性已於諸多體內及體外試驗中被證實，並與嘔吐毒素誘發 MAPKs 之激活以調控下游細胞凋亡相關基因的表現有關 (Maresca, 2013)。

3. 嘔吐毒素對脾臟細胞 DNA 損傷的影響

嘔吐毒素除了透過造成核毒效應 (ribotoxic effect) 之途徑以調控細胞之存亡，亦可能經由提升氧化緊迫而導致細胞 DNA 的損傷。本試驗中發現餵飼 10 ppm 嘔吐毒素的雞隻，其脾臟中表現 γ -H2AX 的細胞數目顯著高過對照組 ($P = 0.034$)。H2AX 為包裹 DNA 之組蛋白 (histone) 的重要成員之一，與 DNA 的構形及核小體 (nucleosome) 的組成關聯密切。當 DNA 單股或雙股發生斷裂，H2AX 便會被磷酸化，稱之為 γ -H2AX。數以千計的 γ -H2AX 會於 DNA 斷裂點周邊聚集，並且拉攏 DNA 修復相關的蛋白質以助其修復，而大量的 γ -H2AX 於免疫染色下形成可觀的病灶 (focus)。一般而言，一個病灶對應一個斷裂點，故細胞內的病灶數目可用以評估 DNA 受損的情形。



本試驗中觀察到 10 ppm 處理的脾臟切片當中，形成病灶的細胞數目顯著增多，反映 DNA 受損情形加劇。由於帶有雙鍵之 DNA 極易成為自由基攻擊之標的，故 DNA 的斷裂很可能與活性氧物種的生成有關。先前的研究顯示，自雞隻脾臟分離的淋巴細胞進行體外試驗，發現嘔吐毒素顯著促進細胞中活性氧物種之生成，同時有 DNA 加劇斷裂的情形發生 (Ren et al., 2015)。故推測嘔吐毒素能夠促成氧化緊迫的提升，進而損傷細胞之 DNA，本研究所進行的動物體內試驗，亦能為前人提供佐證，然目前對於嘔吐毒素如何提高胞內之活性氧物種的確切機制不明。

先前研究指出免疫細胞對嘔吐毒素相當敏感，且體外試驗多以免疫細胞為檢測對象，然技術上於本研究有所限制，組織切片中難以藉由型態區分不同種類的細胞，故本研究無法推斷導致上述的反應，是否歸屬於免疫細胞或非免疫細胞，甚至兩者。綜合上述三種測定指標，嘔吐毒素對於家禽免疫器官似乎能同時有促進增生及觸發凋亡的雙重作用。而於中低劑量下促進細胞的增生，及高劑量下的增生抑制、加劇 DNA 損傷及細胞凋亡之模式，亦能佐證前人於不同嘔吐毒素劑量下，觀察到免疫促進或免疫抑制的雙向效應。

中低劑量下的促進增生作用，能與脾臟重量的增加相對應，而高劑量的嘔吐毒素之負面影響或許解釋脾臟正處於過渡階段 (transitional stage)。Swamy et al. (2004) 針對前人臟器重量的反應作整合觀察，提出依照暴露於嘔吐毒素影響的時間長短，臟器會先有腫脹、而後萎縮的可能假設。因此，10 ppm 處理之脾臟重量雖與對照組無顯著差異，然其隱含處於過渡期的可能。此結果能對應 Yunus et al. (2012a) 的研究，餵飼白肉雞高濃度 (12 ppm) 嘔吐毒素於 5 週齡時雞隻之脾臟重量並無改變。然 Dänicke et al. (2003) 餵飼 14 ppm 嘔吐毒素，則得到試驗於 5 週齡時脾臟減輕的結果。而本試驗根據免疫組織化學分析的結果得以預期，10 ppm 組之脾臟很可能邁向萎縮。



四、嘔吐毒素對臺灣土雞之腸道完整性的影響

(一) 腸道型態

本試驗計量雞隻空腸及迴腸之腸絨毛高度，雖各組間並無顯著差異，然區別公、母於 16 週齡所進行的統計分析，顯現嘔吐毒素與性別間呈現交感效應的趨勢 ($P = 0.079$)。本試驗觀察到 5 ppm 處理組中，部分公雞出現迴腸絨毛大幅縮短的情形，其高度約莫不到對照組絨毛高度之 1/2，顯示很可能有部分雞隻遭受嘔吐毒素之刺激。

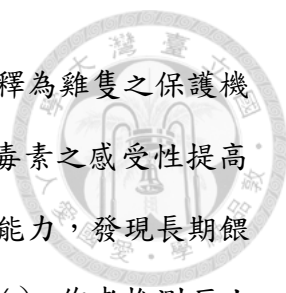
關於腸道絨毛縮短的現象，於家禽相關的研究報告中，多數觀察到腸道前端因嘔吐毒素的刺激而顯著變短，尤其是十二指腸，此點與本試驗反應於迴腸的結果有顯著的不同。前人研究指出，蛋雞經餵飼 10 ppm 濃度之嘔吐毒素兩週後，其大腸中微生物降解嘔吐毒素成 DOM-1 代謝物之能力顯著高於未經餵飼的組別 (Yu et al., 2010)。顯示攝入之嘔吐毒素需抵達該部位，並透過長時間馴化，以造成腸道菌相組成或能力的改變。因此，高劑量的嘔吐毒素仍可能對消化道後端造成影響。此外，Yunus et al. (2012b) 餵飼白肉雞低劑量 (1.68 ppm) 及高劑量 (12.21 ppm) 之嘔吐毒素為期五週，觀察到二週齡時僅十二指腸絨毛高度縮短，但至四週齡則空腸絨毛亦有縮短現象，顯示嘔吐毒素影響的範圍很可能隨著時間，依序自腸道前端向後端推衍。而本試驗中出現於 16 週齡公雞之迴腸絨毛縮短現象，與上述論述有相同之趨勢，至於影響時間出現較晚，可能與品種及雞隻採食較少飼料有關。然而空腸絨毛高度於各組間並無顯著差異，目前無法排除土雞空腸與迴腸對嘔吐毒素展現不同敏感性的可能。

由於部分作者提出雞隻絨毛型態的改變，是藉由縮短的絨毛減少的吸收表面積，以減緩對嘔吐毒素之吸收 (Dänicke and Brezina, 2013)。而 Yunus et al. (2012b) 發現長期餵飼嘔吐毒素之雞隻腸道總長度增加，或許能藉此克服單位吸收養分的不足的問題，同時有利於腸道中微生物對嘔吐毒素的充分降解，而使雞隻生長表現未受影響，此代償作用或許能部分解釋家禽與豬隻感受性差異的原因。本實驗中觀察到腸絨毛縮短的現象，究竟能否有效減少嘔吐毒素之吸收，仍待未來透過毒物動力學試驗或分析排泄物以深入了解。

(二) 腸道障壁

本試驗檢測雞隻空腸組織 CLDN5 之蛋白質表現量，其為緊密連接蛋白的成員之一，透過西方點墨法所得到的 CLDN5 訊號，亦符合以往的研究記載，對應條帶約位於 17 kDa 分子量 (Ozden et al., 2010)。試比較 CLDN5 之相對表現量，於 16 週齡顯現嘔吐毒素與性別間之顯著交感效應 ($P < 0.05$)。其原因為 2 和 5 ppm 組別母雞之 CLDN5 表現量顯著提升，而此二組公雞之 CLDN5 表現量顯著下降，經事後兩兩比較，2 ppm 之公雞與母雞蛋白質表現量差異顯著 ($P = 0.017$)。

過去研究指出，嘔吐毒素可藉由攔截核糖體以抑制蛋白質之合成，故探討嘔吐毒素影響之於轉譯的層次更顯重要。Osselaere et al. (2013b) 餵飼白肉雞 7.5 ppm 濃度飼糧的研究，曾觀察到空腸 CLDN5 之 mRNA 表現量顯著提高，其結果可與本試驗 2 和 5 ppm 之母雞相對應，然造成此現象的確切機制不明。而過往豬隻研究多半觀察到 claudin 表現量受嘔吐毒素抑制，此與本試驗中 2 和 5 ppm 處理組之公雞結果相似，可能涉及嘔吐毒素抑制蛋白質合成之作用。



另一方面，嘔吐毒素導致 CLDN5 表現量增加的可能解釋為雞隻之保護機制，長期暴露於嘔吐毒素危害下的豬隻，相較短期接觸對毒素之感受性提高 (Goyarts and Dänicke, 2006)。檢測血液中清除嘔吐毒素之能力，發現長期餵飼之豬隻對嘔吐毒素的生物利用度增加 (由 54% 上升至 89%)。作者推測嘔吐毒素長時間的影響下，可能傷及豬隻肝臟，並使肝臟清除毒素之功能衰退，同時嘔吐毒素對腸道屏蔽功能的破壞，亦可能增加腸壁對毒素之通透性。相對而言，與短期接觸毒素的情況相較，家禽於長期餵飼下循環系統吸收嘔吐毒素的量似乎較少 (Osselaere et al., 2012; Yunus et al., 2012b)。因此，雞隻很可能因長期適應並衍生出保護機制，透過緊密連接蛋白表現量的增加，以加強屏蔽相鄰細胞間之縫隙、維護腸道之完整性，避免嘔吐毒素進一步的傷害。

五、評估嘔吐毒素於臺灣土雞內部臟器之殘留

不論在 10 週齡或 16 週齡犧牲的雞隻，採集屠體肝臟以測定嘔吐毒素的殘留量，結果並未檢測到嘔吐毒素的存在，顯示臺灣土雞於長期餵飼下，並不會造成毒素於肝臟中累積。此與 Lun et al. (1989) 之研究，蛋雞經灌食被放射性標定的嘔吐毒素後，於 48 小時內自屠體獲得嘔吐毒素極低回收量之結果相似，且能對應 Dänicke et al. (2004b; 2007a, b) 的研究，以嘔吐毒素餵飼家禽後，毒素於循環系統中會被迅速清除，不論在血液、臟器或禽肉中極少有殘留情形。由此可映證即使高達 10 ppm 之飼糧嘔吐毒素的汙染，對臺灣土雞屠肉之食品安全性的影響，微乎其微。



六、綜合討論

飼料序列濃度之嘔吐毒素對臺灣土雞的影響，彙整如表 19。嘔吐毒素於特定門檻濃度（於公雞為 5 ppm，母雞則為 2 ppm）雖對土雞前期生長表現具促進作用，然對後期之增重多有抑制之趨勢，總體而言，嘔吐毒素對土雞最終的生長表現並沒有顯著的負面影響，而關乎肝、腎功能及體液免疫之血液生化值亦未顯現異常。

然而中低濃度的嘔吐毒素（2 和 5 ppm）會改變公雞腸道的障壁功能，也許會提高動物對傳染性疾病的感受性，間接造成免疫刺激，反映於公雞脾臟相對重量的增加（5 ppm）。而長期暴露於高濃度嘔吐毒素（10 ppm）的危害下，檢視脾臟組織的病理情形及免疫組織化學染色的結果，透露出雞隻免疫器官會受到負面影響，尤其母雞脾臟增生之抑制，恐使脾臟邁向萎縮。免疫系統受刺激下所啟動的反應機制，對動物生長可能形成拮抗作用，此結果或許能部分解釋，高濃度嘔吐毒素對於土雞後期之增重抑制作用更為顯著的原因。

公、母雞之反應差異主要呈現在嘔吐毒素對前期生長促進之濃度門檻，而母雞相較公雞，對中高濃度之嘔吐毒素似乎更為敏感，反映於生長增重的減少及脾臟增生的抑制。此外，不同性別之腸道型態及屏蔽功能對嘔吐毒素的反應迥異，雖公雞腸道似乎所受負面影響較劇，然對應於不同性別雞隻免疫器官或生長表現之影響，並未有相同程度的反應，顯示或有其它間接影響因素存在，目前仍無法確知造成性別反應差異之詳細原因。

本研究雖未觀察到土雞最終生長表現受抑制的情形，然免疫器官所受刺激，於長程或傳染性疾病衝擊下是否會影響生長表現，仍有待後續研究深入探討。至於在母雞觀察到緊密連接蛋白表現量的增加，以及部份公雞較短之腸絨毛，對後續的效應仍需更深入的了解，以釐清動物是否曾經長期刺激而發展出應變策略。

表 19 嘔吐毒素對臺灣土雞之影響彙整¹

Table 19 The summarized effects of deoxynivalenol (DON) on Taiwan country chickens.¹

Parameter Investigated (wks of age)	Treatments (DON, ppm)					
	Male ♂			Female ♀		
	2	5	10	2	5	10
Performance						
Body weight gain (4-10 wk)	↓↓	↑↑	↑	↑	↓	↓↓
Body weight gain (11-16 wk)	(↓↓)	(↓)	(↓↓)	(↓↓)	(↓)	(↓↓)
Body weight (16 wk)	(↓)	(↑)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓)
Blood Biochemistry						
AST (16 wk)	(↓)	(↓)	(↓)	(↓↓)	(↓)	(↓)
ALT, UA, IgA (16 wk)	→	→	→	→	→	→
Immune Organ						
Spleen relative weight (16 wk)	↑	↑↑	↑	→	↑	→
- Proliferation (16 wk)	↑	↑↑	↑↑	↑	↑↑	↓
- Apoptosis (16 wk)	↑	↑	↑	↑	↑	↑
- DNA damage (16 wk)	→	↑	↑↑	↑	↑	↑↑
Intestine						
Villus height (16 wk)	→	(↓ ²)	→	→	→	→
Tight junction - CLDN5 (16 wk)	↓	↓	→	↑	↑	→

¹ Symbol ↑/↓ means positive/negative differences compared to control. The extent of impact is indicated by the number of symbols. Symbol → and in brackets means not significantly different from control.

² Only in ileum.

伍、結論

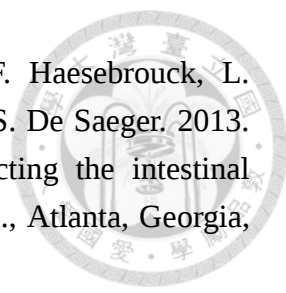
總體而言，嘔吐毒素對於臺灣土雞之生長表現並無顯著性地影響，亦不會經長期攝食而蓄積於肝臟中，造成屠體安全性之疑慮。然而中低濃度（2 和 5 ppm）之嘔吐毒素改變公雞腸道之障壁功能，可能提升動物對於傳染性疾病之感受性，進而使免疫器官遭受刺激。此外，脾臟組織之增生抑制、凋亡增加及 DNA 損傷加劇之跡象，透露長期暴露於高濃度（10 ppm）之嘔吐毒素危害下對雞隻免疫器官有負面影響。嘔吐毒素之雙向效應，反映在暴露於毒素時間的長短（前期促進生長，後期抑制）或濃度高低（中低濃度刺激免疫，高濃度抑制）等影響因素。而母雞身上觀察到緊密連接蛋白表現量的增加，及部份公雞較短之腸絨毛對於後續的影響仍有待評估。後續研究應致力於探討不同性別臺灣土雞於餵飼嘔吐毒素下之反應差異，以便對嘔吐毒素長期影響之理解更為全面。

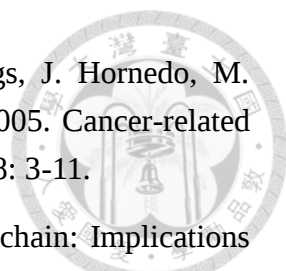
根據本研究結果，可提供黑羽土雞飼養者於飼糧選購時及動物健康管理評估之參考。於不影響生長表現的條件下，可容許飼糧中含 10 ppm 濃度之嘔吐毒素，且嘔吐毒素並不會轉移至土雞屠體內臟，而提高終端消費者食品安全的風險。然若考量土雞飼養環境防疫措施之水平，為避免嘔吐毒素因長期刺激、致使免疫力低下，毒素恐與病原發生協同作用，故在防疫非嚴格控管的情形下，建議飼糧中不超過 2 ppm 濃度之嘔吐毒素。

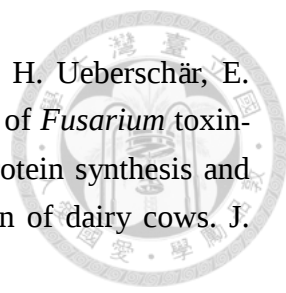
參考文獻

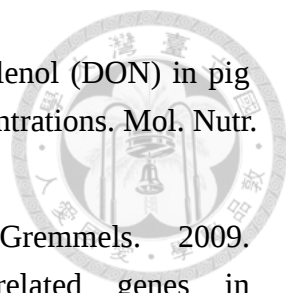


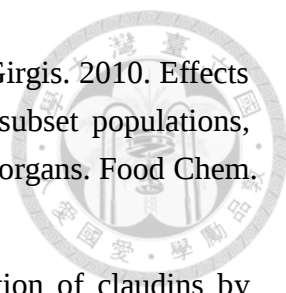
- 中華民國養雞協會。2016。 <http://www.poultry.org.tw>。
- 王勝德、李免蓮、林正鏞、施柏齡、徐阿里、潘金木。1999。家禽營養分需要量手冊—土雞、鴨、鵝。行政院農業委員會畜產試驗所專輯。
- 行政院農業委員會。2010 年。土雞產業之輔導成果及展望。農政與農情月刊。 <http://www.coa.gov.tw/view.php?catid=22223>。
- 行政院農業委員會。2014 年。農業統計年報，第 122-125、160-161 頁。行政院農業委員會，臺北市。
- 李淵百。2005。臺灣土雞的育種改良與產業趨勢。農業生技產業季刊 2：5-11。
- 吳春利。2001。畜牧學實習（飼料分析）。合記圖書出版社，臺北市。
- 林瑞蓬、魏恒巍、金悅祖、林美峰。2015。進口飼料玉米來源及儲存對其營養素及黴菌毒素含量之影響。中畜會誌 44(3)：182-201。
- 胡家寧。2007。臺灣地區土雞生產性能分析。碩士論文。國立臺灣大學動物科學技術學研究所，臺北市。
- 財政部關務署。2015。統計資料庫查詢系統。 <https://portal.sw.nat.gov.tw/APGA/GA01>。
- 劉振軒、柯逸僊、張文發、祝治平、王綉真。1996。組織病理染色技術與圖譜。田和資訊科技股份有限公司，臺北市。
- 衛生福利部食品藥物管理署。2013。食品中黴菌毒素檢驗方法—脫氧雪腐鐮刀菌烯醇之檢驗。署授食字第 0951800007 號公告。
- Amador, P., J. García-Herrera, M. Marca, J. de La Osada, S. Acín, M. Navarro, M. Salvador, M. Lostao, and M. Rodríguez-Yoldi. 2007. Inhibitory effect of TNF- α on the intestinal absorption of galactose. J. Cell. Biochem. 101: 99-111.
- Amador, P., M. C. Marca, J. García-Herrera, M. P. Lostao, N. Guillén, J. de la Osada, and M. Rodríguez-Yoldi. 2008. Lipopolysaccharide induces inhibition of galactose intestinal transport in rabbits *in vitro*. Cell. Physiol. Biochem. 22: 715-724.
- Amasheh, S., T. Schmidt, M. Mahn, P. Florian, J. Mankertz, S. Tavalali, A. H. Gitter, J. D. Schulzke, and M. Fromm. 2005. Contribution of claudin-5 to barrier properties in tight junctions of epithelial cells. Cell Tissue Res. 321: 89-96.

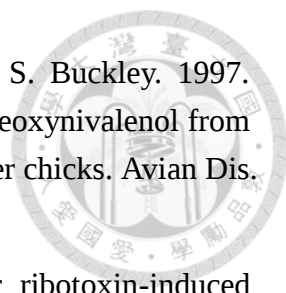
- 
- Antonissen, G., F. Van Immerseel, F. Pasmans, R. Ducatelle, F. Haesebrouck, L. Timbermont, M. Verlinden, G. Janssens, M. Eeckhout, and S. De Saeger. 2013. Deoxynivalenol predisposes for necrotic enteritis by affecting the intestinal barrier in broilers. Pages 9-10 in Proc. Int. Poult. Sci Forum., Atlanta, Georgia, USA.
- Awad, W. A., J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli, and J. Zentek. 2006a. Effects of feeding deoxynivalenol contaminated wheat on growth performance, organ weights and histological parameters of the intestine of broiler chickens. *J. Anim. Physiol. An. N.* 90: 32-37.
- Awad, W. A., J. Böhm, E. Razzazi-Fazeli, K. Ghareeb, and J. Zentek. 2006b. Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. *Poultry Sci.* 85: 974-979.
- Awad, W. A., W. Vahjen, J. R. Aschenbach, and J. Zentek. 2011a. A diet naturally contaminated with the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol (DON) downregulates gene expression of glucose transporters in the intestine of broiler chickens. *Livest. Sci.* 140: 72-79.
- Awad, W. A., M. Hess, M. Twaruzek, J. Grajewski, R. Kosicki, J. Böhm, and J. Zentek. 2011b. The impact of the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol on the health and performance of broiler chickens. *Int. J. Mol. Sci.* 12: 7996-8012.
- Awad, W. A., K. Ghareeb, and J. Böhm. 2012. The toxicity of *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol in poultry feeding. *World. Poultry Sci. J.* 68: 651-667.
- Awad, W. A., K. Ghareeb, J. Böhm, and J. Zentek. 2013. The toxicological impacts of the *Fusarium* mycotoxin, deoxynivalenol, in poultry flocks with special reference to immunotoxicity. *Toxins* 5: 912-925.
- Awad, W. A., K. Ghareeb, A. Dadak, M. Hess, and J. Böhm. 2014. Single and combined effects of deoxynivalenol mycotoxin and a microbial feed additive on lymphocyte DNA damage and oxidative stress in broiler chickens. *PLoS One* 9: e88028.
- Bergsjö, B., O. Herstad, and I. Nafstad. 1993. Effects of feeding deoxynivalenol-contaminated oats on reproduction performance in white Leghorn hens. *Br. Poult. Sci.* 34: 147-159.
- Bhat, R., R. V. Rai, and A. Karim. 2010. Mycotoxins in food and feed: Present status and future concerns. *Compr. Rev. Food Sci. F.* 9: 57-81.

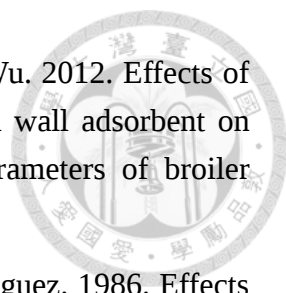
- 
- Birgegård, G., M. S. Aapro, C. Bokemeyer, M. Dicato, P. Drings, J. Hornedo, M. Krzakowski, H. Ludwig, S. Pecorelli, and H. J. Schmoll. 2005. Cancer-related anemia: Pathogenesis, prevalence and treatment. *Oncology* 68: 3-11.
- Bryden, W. L. 2012. Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. *Anim. Feed Sci. Tech.* 173: 134-158.
- CEC. 2006. Commission recommendation of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. *Off. J. Eur. Union* 229: 7-9.
- Chowdhury, S. R., and T. K. Smith. 2005. Effects of feeding grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on hepatic fractional protein synthesis rates of laying hens and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. *Poultry Sci.* 84: 1671-1674.
- Collins, M. M., A. I. Baumholtz, and A. K. Ryan. 2013. Claudin family members exhibit unique temporal and spatial expression boundaries in the chick embryo. *Tissue barriers* 1: e24517.
- Dänicke, S., S. Matthes, I. Halle, K. H. Ueberschär, S. Döll, and H. Valenta. 2003. Effects of graded levels of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and of a detoxifying agent in broiler diets on performance, nutrient digestibility and blood chemical parameters. *Br. Poult. Sci.* 44: 113-126.
- Dänicke, S., H. Valenta, T. Goyarts, E. Razzazi-Fazeli, and J. Böhm. 2004a. On the effects of increasing deoxynivalenol (DON) concentrations in pig feed on growth performance and utilization of nutrients and on DON metabolism. *J. Anim. Feed Sci.* 13: 539-556.
- Dänicke, S., K. H. Ueberschär, H. Valenta, S. Matthes, K. Matthäus, and I. Halle. 2004b. Effects of graded levels of *Fusarium* toxin-contaminated wheat in Pekin duck diets on performance, health and metabolism of deoxynivalenol and zearalenone. *Br. Poult. Sci.* 45: 264-272.
- Dänicke, S., K. P. Brüssow, H. Valenta, K. H. Ueberschär, U. Tiemann, and M. Schollenberger. 2005a. On the effects of graded levels of *Fusarium* toxin contaminated wheat in diets for gilts on feed intake, growth performance and metabolism of deoxynivalenol and zearalenone. *Mol. Nutr. Food Res.* 49: 932-943.

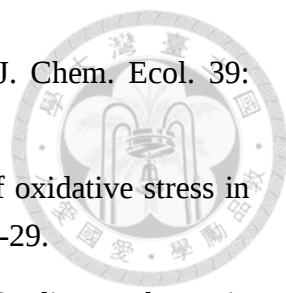
- 
- Dänicke, S., K. Matthäus, P. Lebzien, H. Valenta, K. Stemme, K. H. Ueberschär, E. Razzazi-Fazeli, J. Böhm, and G. Flachowsky. 2005b. Effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat grain on nutrient turnover, microbial protein synthesis and metabolism of deoxynivalenol and zearalenone in the rumen of dairy cows. *J. Anim. Physiol. An. N.* 89: 303-315.
- Dänicke, S., H. Valenta, and S. Matthes. 2007a. On the interactions between *Fusarium* toxin-contaminated wheat and nonstarch polysaccharide hydrolyzing enzymes in diets of broilers on performance, intestinal viscosity, and carry-over of deoxynivalenol. *Poultry Sci.* 86: 291-298.
- Dänicke, S., H. Valenta, K. H. Ueberschär, and S. Matthes. 2007b. On the interactions between *Fusarium* toxin-contaminated wheat and nonstarch polysaccharide hydrolyzing enzymes in turkey diets on performance, health and carry-over of deoxynivalenol and zearalenone. *Br. Poult. Sci.* 48: 39-48.
- Dänicke, S., K. P. Brüssow, T. Goyarts, H. Valenta, K. H. Ueberschär, and U. Tiemann. 2007c. On the transfer of the *Fusarium* toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) from the sow to the full-term piglet during the last third of gestation. *Food Chem. Toxicol.* 45: 1565-1574.
- Dänicke, S., M. Beyer, G. Breves, H. Valenta, and H. U. Humpf. 2010. Effects of oral exposure of pigs to deoxynivalenol (DON) sulfonate (DONS) as the non-toxic derivative of DON on tissue residues of DON and de-epoxy-DON and on DONS blood levels. *Food Addit. Contam.* 27: 1558-1565.
- Dänicke, S., and U. Brezina. 2013. Kinetics and metabolism of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol in farm animals: Consequences for diagnosis of exposure and intoxication and carry over. *Food Chem. Toxicol.* 60: 58-75.
- Darzynkiewicz, Z., and H. Zhao. 2011. Detection of DNA strand breaks in apoptotic cells by flow-and image-cytometry. *Methods Mol. Biol.* 682: 91-101.
- Dobson, P. D., K. Lanthaler, S. G. Oliver, and D. B. Kell. 2009. Implications of the dominant role of transporters in drug uptake by cells (supplementary material). *Curr. Top. Med. Chem.* 9: 163-181.
- Döll, S., T. Goyarts, U. Tiemann, and S. Dänicke. 2007. Practically relevant concentrations of deoxynivalenol in diets for growing-finishing pigs offered as mash or pellets. *Arch. Anim. Nutr.* 61: 247-265.

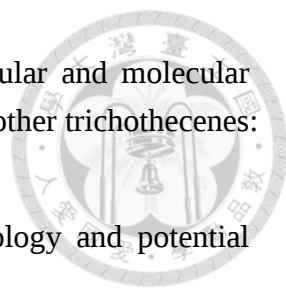
- 
- Döll, S., S. Dänicke, and H. Valenta. 2008. Residues of deoxynivalenol (DON) in pig tissue after feeding mash or pellet diets containing low concentrations. *Mol. Nutr. Food Res.* 52: 727-734.
- Döll, S., J. A. Schrickx, S. Dänicke, and J. Fink-Gremmels. 2009. Deoxynivalenol-induced cytotoxicity, cytokines and related genes in unstimulated or lipopolysaccharide stimulated primary porcine macrophages. *Toxicol. Lett.* 184: 97-106.
- Drochner, W., M. Schollenberger, H. P. Piepho, S. Götz, U. Lauber, M. Tafaj, F. Klobasa, U. Weiler, R. Claus, and M. Steffl. 2004. Serum IgA-promoting effects induced by feed loads containing isolated deoxynivalenol (DON) in growing piglets. *J. Toxicol. Env. Heal. A* 67: 1051-1067.
- Egbeyale, L., S. Abiola, O. Sogunle, and M. Ozoje. 2011. Effect of egg size and strain on growth performance of cockerel. *Agric. Biol. J. N. Am.* 2: 1445-1453.
- Eriksen, G. S., and H. Pettersson. 2004. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Anim. Feed Sci. Tech.* 114: 205-239.
- FAO/WHO, 1989. Evaluation of certain veterinary drug residues in food (Thirty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). World Health Organization (WHO) Technical Report Series, Geneva, p. 788.
- Food and Agricultural Materials Inspection Center. 2010. Regulation value of pesticides, heavy metals and mycotoxins (administrative guideline).
http://www.famic.go.jp/ffis/feed/r_safety/r_feeds_safety22.html#mycotoxins
- Förster, C. 2008. Tight junctions and the modulation of barrier function in disease. *Histochem. Cell Biol.* 130: 55-70.
- Frankič, T., T. Pajk, V. Rezar, A. Levart, and J. Salobir. 2006. The role of dietary nucleotides in reduction of DNA damage induced by T-2 toxin and deoxynivalenol in chicken leukocytes. *Food Chem. Toxicol.* 44: 1838-1844.
- Gamage, N., A. Barnett, N. Hempel, R. G. Duggleby, K. F. Windmill, J. L. Martin, and M. E. McManus. 2006. Human sulfotransferases and their role in chemical metabolism. *Toxicol. Sci.* 90: 5-22.
- Ghareeb, K., W. A. Awad, and J. Böhm. 2012. Ameliorative effect of a microbial feed additive on infectious bronchitis virus antibody titer and stress index in broiler chicks fed deoxynivalenol. *Poultry Sci.* 91: 800-807.

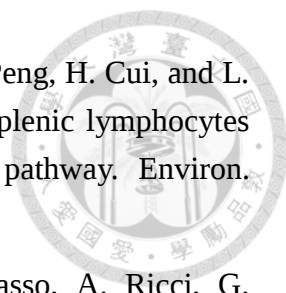
- 
- Girish, C. K., T. K. Smith, H. J. Boermans, P. A. Kumar, and G. N. Girgis. 2010. Effects of dietary *Fusarium* mycotoxins on intestinal lymphocyte subset populations, cell proliferation and histological changes in avian lymphoid organs. *Food Chem. Toxicol.* 48: 3000-3007.
- González-Mariscal, L., E. Garay, and M. Quirós. 2011. Identification of claudins by western blot and immunofluorescence in different cell lines and tissues. *Methods Mol. Biol.* 762: 213-231.
- Goyarts, T., and S. Dänicke. 2006. Bioavailability of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) from naturally contaminated wheat for the pig. *Toxicol. Lett.* 163: 171-182.
- Goyarts, T., N. Grove, and S. Dänicke. 2006a. Effects of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) on protein synthesis, immunological parameters and DON-kinetics in the pig. *Food Chem. Toxicol.* 44: 1953-1965.
- Goyarts, T., S. Dänicke, U. Tiemann, and H. J. Rothkötter. 2006b. Effect of the *Fusarium* toxin deoxynivalenol (DON) on IgA, IgM and IgG concentrations and proliferation of porcine blood lymphocytes. *Toxicol. in Vitro* 20: 858-867.
- Goyarts, T., S. Dänicke, H. Valenta, and K. H. Ueberschär. 2007a. Carry-over of *Fusarium* toxins (deoxynivalenol and zearalenone) from naturally contaminated wheat to pigs. *Food Addit. Contam.* 24: 369-380.
- Goyarts, T., S. Dänicke, K. P. Brüssow, H. Valenta, K. H. Ueberschär, and U. Tiemann. 2007b. On the transfer of the *Fusarium* toxins deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) from sows to their fetuses during days 35–70 of gestation. *Toxicol. Lett.* 171: 38-49.
- Groschwitz, K. R., and S. P. Hogan. 2009. Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. *J. Allergy Clin. Immun.* 124: 3-20.
- Hamilton, R., B. Thompson, H. Trenholm, P. Fiser, and R. Greenhalgh. 1985a. Effects of feeding white Leghorn hens diets that contain deoxynivalenol (vomitoxin)-contaminated wheat. *Poultry Sci.* 64: 1840-1852.
- Hamilton, R., H. Trenholm, B. K. Thompson, and R. Greenhalgh. 1985b. The tolerance of white Leghorn and broiler chicks, and turkey poults to diets that contained deoxynivalenol (vomitoxin)-contaminated wheat. *Poultry Sci.* 64: 273-286.
- Harhaj, N. S., and D. A. Antonetti. 2004. Regulation of tight junctions and loss of barrier function in pathophysiology. *Int. J. Biochem. Cell B.* 36: 1206-1237.

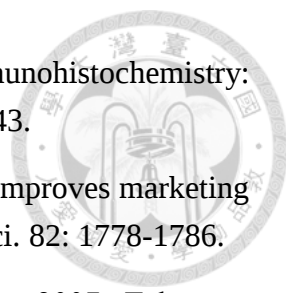
- 
- Harvey, R., L. Kubena, G. Rottinghaus, J. Turk, H. Casper, and S. Buckley. 1997. Moniliformin from *Fusarium fujikuroi* culture material and deoxynivalenol from naturally contaminated wheat incorporated into diets of broiler chicks. *Avian Dis.* 41: 957-963.
- He, K., H. R. Zhou, and J. J. Pestka. 2012a. Mechanisms for ribotoxin-induced ribosomal RNA cleavage. *Toxicol. Appl. Pharm.* 265: 10-18.
- He, K., H. R. Zhou, and J. J. Pestka. 2012b. Targets and intracellular signaling mechanisms for deoxynivalenol-induced ribosomal RNA cleavage. *Toxicol. Sci.* 127: 382-390.
- Hochleithner, M. 1994. Biochemistries. Page 223 in *Avian medicine: Principles and application*. B. W. Ritchie, G. J. Harrison, and L. R. Harrison, ed. Wingers, Lake Worth, FL.
- JECFA. 2001. Safety evaluation of certain mycotoxin in food. World Health Organization/FAO. Geneva.
- Kubena, L., S. Swanson, R. Harvey, O. Fletcher, L. Rowe, and T. Phillips. 1985. Effects of feeding deoxynivalenol (vomitoxin)-contaminated wheat to growing chicks. *Poultry Sci.* 64: 1649-1655.
- Kubena, L., R. Harvey, T. Phillips, G. Holman, and C. Creger. 1987. Effects of feeding mature white Leghorn hens diets that contain deoxynivalenol (vomitoxin). *Poultry Sci.* 66: 55-58.
- Kubena, L., and R. Harvey. 1988. Research note: Response of growing Leghorn chicks to deoxynivalenol-contaminated wheat. *Poultry Sci.* 67: 1778-1780.
- Kubena, L., T. Edrington, R. Harvey, S. Buckley, T. Phillips, G. Rottinghaus, and H. Casper. 1997. Individual and combined effects of fumonisin B₁ present in *Fusarium moniliforme* culture material and T-2 toxin or deoxynivalenol in broiler chicks. *Poultry Sci.* 76: 1239-1247.
- Kushiro, M. 2008. Effects of milling and cooking processes on the deoxynivalenol content in wheat. *Int. J. Mol. Sci.* 9: 2127-2145.
- Li, Y., Z. Wang, R. C. Beier, J. Shen, D. D. Smet, S. De Saeger, and S. Zhang. 2011. T-2 toxin, a trichothecene mycotoxin: Review of toxicity, metabolism, and analytical methods. *J. Agr. Food Chem.* 59: 3441-3453.

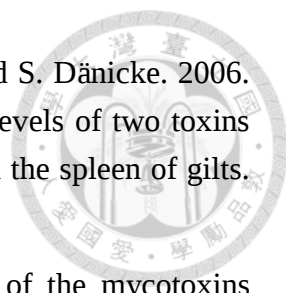
- 
- Li, Z., Z. B. Yang, W. R. Yang, S. J. Wang, S. Z. Jiang, and Y. B. Wu. 2012. Effects of feed-borne *Fusarium* mycotoxins with or without yeast cell wall adsorbent on organ weight, serum biochemistry, and immunological parameters of broiler chickens. *Poultry Sci.* 91: 2487-2495.
- Lun, A. K., L. G. Young, E. T. Moran, D. B. Hunter, and J. P. Rodriguez. 1986. Effects of feeding hens a high level of vomitoxin-contaminated corn on performance and tissue residues. *Poultry Sci.* 65: 1095-1099.
- Lun, A. K., E. T. Moran, L. G. Young, and E. G. McMillan. 1988. Disappearance of deoxynivalenol from digesta progressing along the chickens gastrointestinal-tract after intubation with feed containing contaminated corn. *B. Environ. Contam. Tox.* 40: 317-324.
- Lun, A. K., E. T. Moran, L. G. Young, and E. G. McMillan. 1989. Absorption and elimination of an oral dose of ³H-deoxynivalenol in colostomized and intact chickens. *B. Environ. Contam. Tox.* 42: 919-925.
- Malovrh, T., and B. Jakovac-Strajn. 2010. Feed contaminated with *Fusarium* toxins alter lymphocyte proliferation and apoptosis in primiparous sows during the perinatal period. *Food Chem. Toxicol.* 48: 2907-2912.
- Maresca, M., R. Mahfoud, N. Garmy, and J. Fantini. 2002. The mycotoxin deoxynivalenol affects nutrient absorption in human intestinal epithelial cells. *J. Nutr.* 132: 2723-2731.
- Maresca, M., N. Yahi, L. Younès-Sakr, M. Boyron, B. Caporiccio, and J. Fantini. 2008. Both direct and indirect effects account for the pro-inflammatory activity of enteropathogenic mycotoxins on the human intestinal epithelium: Stimulation of interleukin-8 secretion, potentiation of interleukin-1 β effect and increase in the transepithelial passage of commensal bacteria. *Toxicol. Appl. Pharm.* 228: 84-92.
- Maresca, M. 2013. From the gut to the brain: Journey and pathophysiological effects of the food-associated trichothecene mycotoxin deoxynivalenol. *Toxins* 5: 784-820.
- Markov, A. G., A. Veshnyakova, M. Fromm, M. Amasheh, and S. Amasheh. 2010. Segmental expression of claudin proteins correlates with tight junction barrier properties in rat intestine. *J. Comp. Physiol. B* 180: 591-598.
- Maul, R., B. Warth, J. S. Kant, N. H. Schebb, R. Krska, M. Koch, and M. Sulyok. 2012. Investigation of the hepatic glucuronidation pattern of the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol in various species. *Chem. Res. Toxicol.* 25: 2715-2717.

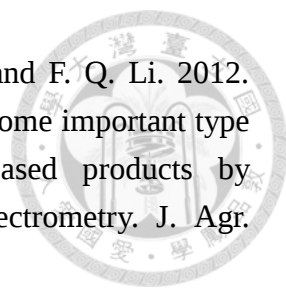
- 
- McCormick, S. P. 2013. Microbial detoxification of mycotoxins. *J. Chem. Ecol.* 39: 907-918.
- Mishra, S., P. D. Dwivedi, H. P. Pandey, and M. Das. 2014. Role of oxidative stress in deoxynivalenol induced toxicity. *Food Chem. Toxicol.* 72: 20-29.
- Morooka, N., N. Uratsuji, T. Yoshizawa, and H. Yamamoto. 1972. Studies on the toxic substances in barley infected with *Fusarium* spp. *J. Food Hyg. Soc. Jpn.* 13: 368-375.
- Morris, R., D. Hessels, and R. Bishop. 1968. The relationship between hatching egg weight and subsequent performance of broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 9: 305-315.
- Osselaere, A., M. Devreese, A. Watteyn, V. Vandenbroucke, J. Goossens, V. Hautekiet, M. Eeckhout, S. De Saeger, S. De Baere, and P. De Backer. 2012. Efficacy and safety testing of mycotoxin-detoxifying agents in broilers following the European Food Safety Authority guidelines. *Poultry Sci.* 91: 2046-2054.
- Osselaere, A., M. Devreese, J. Goossens, V. Vandenbroucke, S. De Baere, P. De Backer, and S. Croubels. 2013a. Toxicokinetic study and absolute oral bioavailability of deoxynivalenol, T-2 toxin and zearalenone in broiler chickens. *Food Chem. Toxicol.* 51: 350-355.
- Osselaere, A., R. Santos, V. Hautekiet, P. De Backer, K. Chiers, R. Ducatelle, and S. Croubels. 2013b. Deoxynivalenol impairs hepatic and intestinal gene expression of selected oxidative stress, tight junction and inflammation proteins in broiler chickens, but addition of an adsorbing agent shifts the effects to the distal parts of the small intestine. *PLoS One* 8: e69014.
- Øvernes, G., T. Matre, T. Sivertsen, H. Larsen, W. Langseth, L. Reitan, and J. Jansen. 1997. Effects of diets with graded levels of naturally deoxynivalenol - contaminated oats on immune response in growing pigs. *J. Vet. Med. A* 44: 539-550.
- Ozden, O., B. L. Black, C. M. Ashwell, C. K. Tipsmark, R. J. Borski, and B. J. Grubb. 2010. Developmental profile of claudin-3, -5, and -16 proteins in the epithelium of chick intestine. *Anat. Rec.* 293: 1175-1183.
- Pestka, J. J., M. A. Moorman, and R. L. Warner. 1989. Dysregulation of IgA production and IgA nephropathy induced by the trichothecene vomitoxin. *Food Chem. Toxicol.* 27: 361-368.

- 
- Pestka, J. J., H. R. Zhou, Y. Moon, and Y. J. Chung. 2004. Cellular and molecular mechanisms for immune modulation by deoxynivalenol and other trichothecenes: Unraveling a paradox. *Toxicol. Lett.* 153: 61-73.
- Pestka, J. J., and A. T. Smolinski. 2005. Deoxynivalenol: Toxicology and potential effects on humans. *J. Toxicol. Env. Heal. B* 8: 39-69.
- Pestka, J. J. 2008. Mechanisms of deoxynivalenol-induced gene expression and apoptosis. *Food Addit. Contam.* 25: 1128-1140.
- Pestka, J. J. 2010a. Deoxynivalenol-induced proinflammatory gene expression: Mechanisms and pathological sequelae. *Toxins* 2: 1300-1317.
- Pestka, J. J. 2010b. Deoxynivalenol: Mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Arch. Toxicol.* 84: 663-679.
- Pinchasov, Y. 1991. Relationship between the weight of hatching eggs and subsequent early performance of broiler chicks. *Br. Poult. Sci.* 32: 109-115.
- Pinton, P., F. Accensi, E. Beauchamp, A. M. Cossalter, P. Callu, F. Grosjean, and I. P. Oswald. 2008. Ingestion of deoxynivalenol (DON) contaminated feed alters the pig vaccinal immune responses. *Toxicol. Lett.* 177: 215-222.
- Pinton, P., J. P. Nougayrede, J. C. Del Rio, C. Moreno, D. E. Marin, L. Ferrier, A. P. Bracarense, M. Kolf-Clauw, and I. P. Oswald. 2009. The food contaminant deoxynivalenol, decreases intestinal barrier permeability and reduces claudin expression. *Toxicol. Appl. Pharm.* 237: 41-48.
- Pinton, P., and I. P. Oswald. 2014. Effect of deoxynivalenol and other type B trichothecenes on the intestine: A review. *Toxins* 6: 1615-1643.
- Pitman, R. S., and R. S. Blumberg. 2000. First line of defense: The role of the intestinal epithelium as an active component of the mucosal immune system. *J. Gastroenterol.* 35: 805-814.
- Prelusky, D. B., R. G. Gerdes, K. L. Underhill, B. A. Rotter, P. Y. Jui, and H. L. Trenholm. 1994. Effects of low-level dietary deoxynivalenol on haematological and clinical parameters of the pig. *Nat. Toxins* 2: 97-104.
- Proudfoot, F., and H. Hulan. 1981. The influence of hatching egg size on the subsequent performance of broiler chickens. *Poultry Sci.* 60: 2167-2170.
- Proudfoot, F., H. Hulan, and K. McRae. 1982. Effect of hatching egg size from semi-dwarf and normal maternal meat parent genotypes on the performance of broiler chickens. *Poultry Sci.* 61: 655-660.

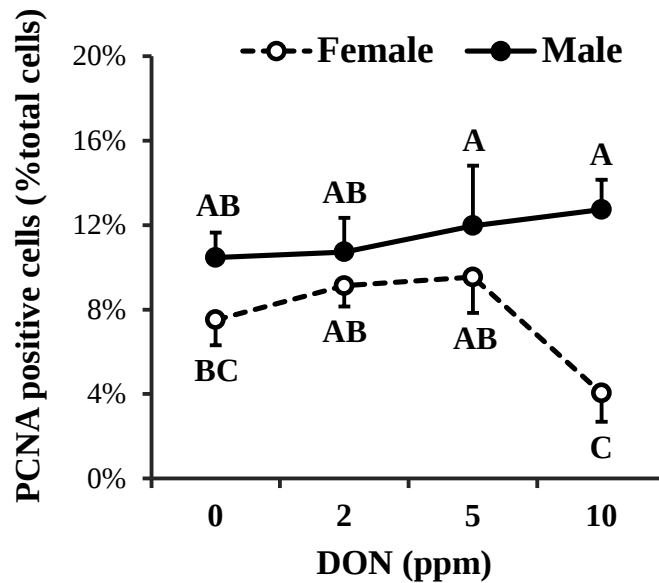
- 
- Ren, Z., Y. Wang, H. Deng, Y. Deng, J. Deng, Z. Zuo, Y. Wang, X. Peng, H. Cui, and L. Shen. 2015. Deoxynivalenol induces apoptosis in chicken splenic lymphocytes via the reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway. *Environ. Toxicol. Phar.* 39: 339-346.
- Ricciardi, C., R. Castagna, I. Ferrante, F. Frascella, S. L. Marasso, A. Ricci, G. Canavese, A. Lorè, A. Prella, and M. L. Gullino. 2013. Development of a microcantilever-based immunosensing method for mycotoxin detection. *Biosens. Bioelectron.* 40: 233-239.
- Ritter, J. K. 2000. Roles of glucuronidation and UDP-glucuronosyltransferases in xenobiotic bioactivation reactions. *Chemi-Biol. Interact.* 129: 171-193.
- Robbins, C. A., L. J. Swenson, M. L. Nealley, B. J. Kelman, and R. E. Gots. 2000. Health effects of mycotoxins in indoor air: A critical review. *Appl. Occup. Environ. Hyg.* 15: 773-784.
- Rodrigues, I., and K. Naehrer. 2012. A three-year survey on the worldwide occurrence of mycotoxins in feedstuffs and feed. *Toxins* 4: 663-675.
- Rotter, B. A. 1996. Invited review: Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Env. Heal. A* 48: 1-34.
- Sabater, M., and N. Forbes. 2015. Avian haematology and biochemistry 2. *Biochemistry. In Practice* 37: 139-142.
- SCF. 2002. Opinion of the scientific committee on food on *Fusarium* toxins. Part 6: group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf
- Schat, K. A., B. Kaspers, and P. Kaiser. 2014. *Avian Immunology*. 2nd ed. Academic Press, San Diego, CA.
- Schwartz-Zimmermann, H. E., P. Fruhmann, S. Dänicke, G. Wiesenberger, S. Caha, J. Weber, and F. Berthiller. 2015. Metabolism of deoxynivalenol and deepoxy-deoxynivalenol in broiler chickens, pullets, roosters and turkeys. *Toxins* 7: 4706-4729.
- Seeling, K., S. Dänicke, H. Valenta, H. Van Egmond, R. Schothorst, A. Jekel, P. Lebzien, M. Schollenberger, E. Razzazi-Fazeli, and G. Flachowsky. 2006. Effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and feed intake level on the biotransformation and carry-over of deoxynivalenol in dairy cows. *Food Addit. Contam.* 23: 1008-1020.

- 
- Shi, S. R., R. J. Cote, and C. R. Taylor. 1997. Antigen retrieval immunohistochemistry: Past, present, and future. *J. Histochem. Cytochem.* 45: 327-343.
- Sklan, D., S. Heifetz, and O. Halevy. 2003. Heavier chicks at hatch improves marketing body weight by enhancing skeletal muscle growth. *Poultry Sci.* 82: 1778-1786.
- Standardization Administration of the People's Republic of China. 2007. Tolerance limits for deoxynivalenol in formula feed. GB13078.3-2007.
- Sugita-Konishi, Y., B. J. Park, K. Kobayashi-Hattori, T. Tanaka, T. Chonan, K. Yoshikawa, and S. Kumagai. 2006. Effect of cooking process on the deoxynivalenol content and its subsequent cytotoxicity in wheat products. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70: 1764-1768.
- Sugiyama, K., M. Muroi, K. Tanamoto, M. Nishijima, and Y. Sugita-Konishi. 2010. Deoxynivalenol and nivalenol inhibit lipopolysaccharide-induced nitric oxide production by mouse macrophage cells. *Toxicol. Lett.* 192: 150-154.
- Swamy, H., T. Smith, E. MacDonald, H. Boermans, and E. Squires. 2002. Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with mycotoxins on swine performance, brain regional neurochemistry, and serum chemistry and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. *J. Anim. Sci.* 80: 3257-3267.
- Swamy, H., T. Smith, E. MacDonald, N. Karrow, B. Woodward, and H. Boermans. 2003. Effects of feeding a blend of grains naturally contaminated with mycotoxins on growth and immunological measurements of starter pigs, and the efficacy of a polymeric glucomannan mycotoxin adsorbent. *J. Anim. Sci.* 81: 2792-2803.
- Swamy, H., T. Smith, N. Karrow, and H. Boermans. 2004. Effects of feeding blends of grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on growth and immunological parameters of broiler chickens. *Poultry Sci.* 83: 533-543.
- Swenberg, J. A., K. Lu, B. C. Moeller, L. Gao, P. B. Upton, J. Nakamura, and T. B. Starr. 2010. Endogenous versus exogenous DNA adducts: Their role in carcinogenesis, epidemiology and risk assessment. *Toxicol. Sci.* 120 Suppl. 1: S 130-145.
- Sypecka, Z., M. Kelly, and P. Brereton. 2004. Deoxynivalenol and zearalenone residues in eggs of laying hens fed with a naturally contaminated diet: Effects on egg production and estimation of transmission rates from feed to eggs. *J. Agr. Food Chem.* 52: 5463-5471.

- 
- Tiemann, U., K. P. Brüssow, L. Jonas, R. Pöhland, F. Schneider, and S. Dänicke. 2006. Effects of diets with cereal grains contaminated by graded levels of two toxins on selected immunological and histological measurements in the spleen of gilts. *J. Anim. Sci.* 84: 236-245.
- Tiemann, U., and S. Dänicke. 2007. *In vivo* and *in vitro* effects of the mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol on different non-reproductive and reproductive organs in female pigs: A review. *Food Addit. Contam.* 24: 306-314.
- Tiemann, U., K. P. Brüssow, D. Dannenberger, L. Jonas, R. Pöhland, K. Jager, S. Dänicke, and E. Hagemann. 2008a. The effect of feeding a diet naturally contaminated with deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) on the spleen and liver of sow and fetus from day 35 to 70 of gestation. *Toxicol. Lett.* 179: 113-117.
- Tiemann, U., K. P. Brüssow, U. Muchenmeister, L. Jonas, R. Pöhland, A. Reischauer, K. Jager, and S. Dänicke. 2008b. Changes in the spleen and liver of pregnant sows and full-term piglets after feeding diets naturally contaminated with deoxynivalenol and zearalenone. *Vet. J.* 176: 188-196.
- U.S. FDA. 2010. U.S. Advisory levels for deoxynivalenol (DON) in finished wheat products for human consumption and grains and grains by-products used for animal feed.
<http://www.fda.gov/food/guidanceregulation/guidancedocumentsregulatoryinformation/chemicalcontaminantmetalsnaturaltoxinspesticides/ucm120184.htm>
- Vandenbroucke, V., S. Croubels, A. Martel, E. Verbrugghe, J. Goossens, K. Van Deun, F. Boyen, A. Thompson, N. Shearer, and P. De Backer. 2011. The mycotoxin deoxynivalenol potentiates intestinal inflammation by *Salmonella* Typhimurium in porcine ileal loops. *PLoS One* 6: e23871.
- Větvicka, V., and L. Fornůšek. 1987. Limitations of transmembrane transport in drug delivery. *Crit. Rev. Ther. Drug* 5: 141-170.
- Wan, D., L. L. Huang, Y. H. Pan, Q. H. Wu, D. M. Chen, Y. F. Tao, X. Wang, Z. L. Liu, J. Li, L. Y. Wang, and Z. H. Yuan. 2014. Metabolism, distribution, and excretion of deoxynivalenol with combined techniques of radiotracing, high-performance liquid chromatography ion trap time-of-flight mass spectrometry, and online radiometric detection. *J. Agr. Food Chem.* 62: 288-296.

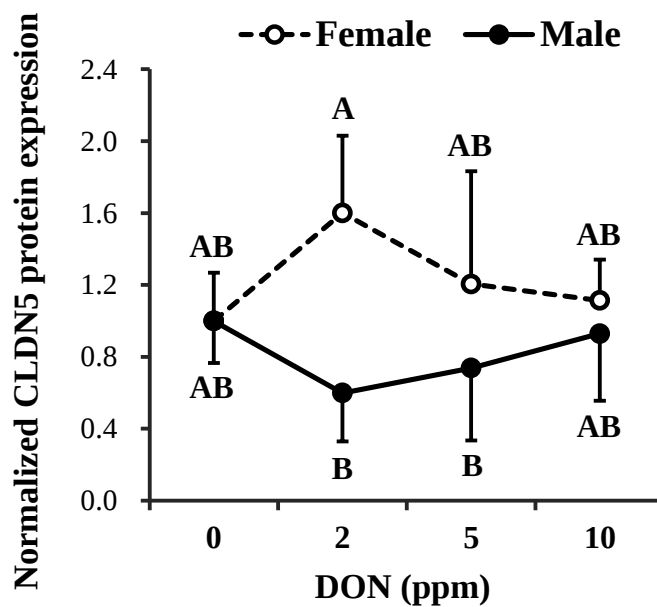
- 
- Wang, W., J. J. Ma, C. C. Yu, X. H. Lin, H. R. Jiang, B. Shao, and F. Q. Li. 2012. Simultaneous determination of masked deoxynivalenol and some important type B trichothecenes in Chinese corn kernels and corn-based products by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agr. Food Chem.* 60: 11638-11646.
- Whiting, T., and G. Pesti. 1984. Broiler performance and hatching egg weight to marketing weight relationships of progeny from standard and dwarf broiler dams. *Poultry Sci.* 63: 425-429.
- Wu, X., P. Murphy, J. Cunnick, and S. Hendrich. 2007. Synthesis and characterization of deoxynivalenol glucuronide: Its comparative immunotoxicity with deoxynivalenol. *Food Chem. Toxicol.* 45: 1846-1855.
- Wu, Q. H., X. Wang, W. Yang, A. Nussler, L. Y. Xiong, K. Kuca, V. Dohnal, X. J. Zhang, and Z. H. Yuan. 2014. Oxidative stress-mediated cytotoxicity and metabolism of T-2 toxin and deoxynivalenol in animals and humans: An update. *Arch. Toxicol.* 88: 1309-1326.
- Wyatt, C., W. Weaver, and W. Beane. 1985. Influence of egg size, eggshell quality, and posthatch holding time on broiler performance. *Poultry Sci.* 64: 2049-2055.
- Yegani, M., T. Smith, S. Leeson, and H. Boermans. 2006. Effects of feeding grains naturally contaminated with *Fusarium* mycotoxins on performance and metabolism of broiler breeders. *Poultry Sci.* 85: 1541-1549.
- Yoshizawa, T. 2013. Thirty-five years of research on deoxynivalenol, a trichothecene mycotoxin: with special reference to its discovery and co-occurrence with nivalenol in Japan. *Food Safety* 1: 12-31.
- Yu, H., T. Zhou, J. Gong, C. Young, X. Su, X. Z. Li, H. Zhu, R. Tsao, and R. Yang. 2010. Isolation of deoxynivalenol-transforming bacteria from the chicken intestines using the approach of PCR-DGGE guided microbial selection. *BMC Microbiol.* 10: 182.
- Yunus, A. W., K. Ghareeb, M. Twaruzek, J. Grajewski, and J. Böhm. 2012a. Deoxynivalenol as a contaminant of broiler feed: Effects on bird performance and response to common vaccines. *Poultry Sci.* 91: 844-851.
- Yunus, A. W., A. Blajet-Kosicka, R. Kosicki, M. Z. Khan, H. Rehman, and J. Böhm. 2012b. Deoxynivalenol as a contaminant of broiler feed: Intestinal development, absorptive functionality, and metabolism of the mycotoxin. *Poultry Sci.* 91: 852-861.

附 錄



附圖 1 嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞脾臟組織之細胞增生的影響

Figure 1 Effects of deoxynivalenol (DON) on spleen proliferation in Taiwan country chickens at 16 wk. Immunohistochemistry of PCNA positive cells are expressed as percentage of total cells and presented as mean $\pm$ SD with different letters differ at $P < 0.05$.



附圖 2 嘔吐毒素對 16 週齡臺灣土雞之緊密連接蛋白表現量的影響

Figure 2 Effects of deoxynivalenol (DON) on the expression of tight junction protein of jejunum in Taiwan country chickens at 16 wk. Expression of claudin-5 (CLDN5) was measured by western blotting and normalized by β -actin. Results are presented as mean $\pm$ SD with different letters differ at $P < 0.05$.

小 傳



本文作者陳雪羚，民國 79 年 1 月 22 日生於美國紐約，於四歲時與家人搬遷回臺灣，於臺北市定居。先後畢業於臺北市立公館國小、臺北市立民族國中以及中山女子高級中學，於民國 97 年進入國立臺灣大學經濟學系就讀，並於在學期間完成經濟學系及動物科學技術學系雙主修學位，民國 102 年錄取國立臺灣大學動物科學技術學系研究所。在學期間，承蒙恩師林美峰博士之悉心指導，於民國 105 年完成此論文。