



生百興業有限公司  
Life Rainbow Biotech Co., Ltd  
宜蘭市中山路五段 222 巷 39 弄 12 號  
Tel: 03-9286168 Fax: 03-9288158  
<http://www.liferainbow.com.tw>



## 新月型毒素對豬粒性細胞固醇生成之影響

### 摘要

新月型毒素 (*Fusarium* mycotoxins) 如新月毒素 (trichothecenes) 與玉米赤黴烯酮 (zearalenone) 為常見於穀物及糧食的污染物。其中像是嘔吐毒素 (deoxynivalenol, DON) 會對母豬造成無法成功妊娠之負面影響, 但是關於嘔吐毒素、玉米赤黴烯酮及其主要代謝產物玉米赤黴烯醇 ( $\alpha$ -zearalenol, ZEA) 是否會直接影響卵巢的證據仍不足。為評估兩種黴菌毒素——DON 及 ZEA——對豬之粒性細胞 (granulosa cell, GC) 的增殖、固醇合成 (steroidogenesis) 及基因表現之影響, 作者將直徑 1~5 mm 之濾泡中的粒性細胞以含有 5% 胎牛血清與 5% 豬血清之培養基培養 2 天, 之後再以無血清 (serum-free) 之培養基分成對照組 (無添加黴菌毒素) 及黴菌毒素處理組 (含不同之毒素組成及劑量) 培養 2 天。研究顯示 DON 和 ZEA 具有雙向調節由類胰島素生長因子第一型 (insulin like growth factor-I, IGF-I) 誘導產生雌素二醇 (estradiol) 之作用, 在添加較小劑量之狀況下, 發現可以增進雌素二醇的生成, 反之則有抑制之效果。ZEA 添加濃度為 3000 ng/ml (9.37  $\mu$ M) 時, 發現會增加由 IGF-I 所誘導之助孕固酮 (progesterone) 的產生, 但在劑量濃度為 30 ng/ml (0.0937  $\mu$ M) 與 300 ng/ml (0.937  $\mu$ M) 的情況下則沒有影響, 但會透過激濾泡素 (follicle stimulating hormone, FSH) 的誘導路徑產生助孕固酮。而在 3000 ng/ml 的濃度下, 也發現 ZEA 會抑制 FSH 加上 IGF-I 所誘導之 *CYP19A1* 與 *CYP11A1* 的 mRNA 含量。當 DON 在劑量 100 ng/ml (0.337  $\mu$ M) 及 1000 ng/ml (3.37  $\mu$ M) 的濃度下, 發現可以抑制助孕固酮之生成, 但在 10 ng/ml (0.0337  $\mu$ M) 時則沒有作用。在 FSH 加 IGF-I 所誘導之 mRNA *CYP19A1* 與 *CYP11A1* 方面, 發現 DON 在 1000 ng/ml 之濃度下可以完全抑制其基因表現, 同樣地, 在 10 ng/ml 的情況下則無影響。隨之而來相較於 DON, ZEA 之處理不具有劑量效應 (dose response) 的影響。DON 在 10 與 100 ng/ml 的濃度下, 可以增加 IGF-I 誘導所產生的粒性細胞細胞數, 然而劑量為 1000 ng/ml 時則有數量減少的現象, 反觀 ZEA 處理下對其細胞增殖則沒有影響。只有在聯合 DON 與 ZEA 之作用下, 可增進由血清誘導所產生的細胞增殖現象。總而言之, 黴菌毒素對粒性細胞的增殖、固醇合成及基因表現具有直接地劑量依賴性 (dose-dependent) 影響。這些直接性的卵巢作用, 可能是造成因攝食新月型毒素污染飼糧之母豬繁殖障礙機制之一。

### 前言

黴菌毒素為黴菌所產生之二次代謝產物 (secondary metabolites) 且對全世界相當多的穀物及糧食造成了污染 (Diekmann and Green, 1992; Park *et al.*, 1996; D'Mello *et al.*, 1999; Schollenberger *et al.*, 2007)。然而北半球的穀物最常被一群會產生毒素的黴菌——



生百興業有限公司  
Life Rainbow Biotech Co., Ltd  
宜蘭市中山路五段 222 巷 39 弄 12 號  
Tel: 03-9286168 Fax: 03-9288158  
<http://www.liferainbow.com.tw>



新月形菌種 (Fusarium species) —— 所污染。新月形毒素 (Trichothecenes) 像是嘔吐毒素 (deoxynivalenol, DON)、玉米赤黴烯酮 (zearalenone) 以及伏馬鏟孢毒素 (fumonisin) 為新月形真菌所產生的主要黴菌毒素 (D'Mello *et al.*, 1999; Larsen *et al.*, 2004), 且對豬具有生長與繁殖性能會造成惡劣的影響 (Glávits *et al.*, 1983; Alm *et al.*, 2002; Drochner *et al.*, 2006)。其中玉米赤黴烯酮的主要代謝產物  $\alpha$ -玉米赤黴烯醇 ( $\alpha$ -zearalenol, ZEA) 更顯露出會增加對豬的毒性作用 (Minervini *et al.*, 2001; Alm *et al.*, 2002)。所以現今普遍也認同造成哺乳動物內分泌失調是由於這些黴菌毒素的作用。舉例來說, ZEA 會干擾如豬 (Tiemann *et al.*, 2003)、牛 (Minervini *et al.*, 2001)、人類 (Whitehead and Lacey, 2003) 及貓 (Skorska-Wyszynska *et al.*, 2004) 之粒性細胞 (granulosa cell(s), 以下簡稱 GC) 於體外 (*in vitro*) 培養後固醇的合成 (steroidogenesis) 且在 Young *et al.* (1990) 所發表的報告中也提到母豬採食含有 10 ppm 之 ZEA 污染之日糧會使斷乳至發情 (weaning-to-estrus) 的間隔增加, 且未性成熟之女豬在餵食含有玉米赤黴烯酮之飼糧後, 會在動情周期呈現非站立發情 (standing reflex) 的臨床症狀如陰戶的變紅與腫脹 (Zwierzchowski *et al.*, 2006)。另一主要的新月形毒素, DON, 則會抑制卵母細胞 (oocyte) 之成熟作用而造成母豬無法懷孕的現象 (Alm *et al.*, 2002, 2006)。因此, 浸曝於黴菌毒素, 可能就是使 GC 之固醇類內分泌素生成發生紊亂, 並導致卵母細胞發育 (Minervini *et al.*, 2001; Alm *et al.*, 2002)、排卵 (ovulation) (Kumagai and Shimizu, 1982) 產生阻礙及生殖器官功能喪失與無法懷孕的主因 (Long *et al.*, 1982; D'Mello *et al.*, 1999; Alm *et al.*, 2002)。而不同於 ZEA (由玉米赤黴烯酮所代謝生成), DON 是直接被胃所完全吸收至體內的 (Danicke *et al.*, 2004)。在體外 (*in vitro*) 及體內 (*in vivo*) 的試驗中也發現, DON 及瓜姜鏟菌醇 (nivalenol) 彼此會產生拮抗作用 (antagonism) (Larsen *et al.*, 2004)。然而據我們所知, 目前並沒有研究來評估 DON 或其聯合 ZEA 對 GC 功能的影響。且利用組織或細胞培養來評估具感興趣之毒理危害化學成分已日趨增加 (Alm *et al.*, 2002; Tiemann *et al.*, 2003)。當今也很少資料能闡明黴菌毒素對卵巢 (ovary) 的相互作用, 特別是在 GC 之增殖 (proliferation) 與膽固醇合成方面。所以本篇之研究目的即為探討 ZEA 及 DON 是否會透過對 GC 的增殖、固醇合成及基因表現之影響來降低豬繁殖功能, 以及評估聯合這些毒素是否會比單一使用而產生對 GC 功能具有更大之影響效果。

## 結果

### 試驗 1：以 IGF-I 處理 1 天和 2 天對固醇類生成之影響

試驗 1 為比較 GC 以 IGF-I 處理 1 天和 2 天對 FSH 誘導固醇類生成之影響(圖 1)。不論是有無添加 IGF-I, FSH 所誘導之助孕固醇生成量皆會在 2 天內有降低的現象 ( $P < 0.05$ ) (圖 1A)。而在添加 IGF-I 的處理下, FSH 所誘導之雌素二醇會在 2 天內有兩倍的增加量 ( $P < 0.05$ ), 且在 FSH 添加 IGF-I 濃度 30 ng/ml 的狀況下, 相較



生百興業有限公司  
Life Rainbow Biotech Co., Ltd  
宜蘭市中山路五段222巷39弄12號  
Tel: 03-9286168 Fax: 03-9288158  
<http://www.liferainbow.com.tw>



於無添加之組別，雌素二醇增加量有高出 4.7 倍（第 1 天）與 9.2 倍之多（第 2 天）（ $P < 0.01$ ）（圖 1B）。再另一實驗中，單純添加 FSH 30 ng/ml 可增加助孕固酮與雌素二醇於 2 天後的基礎產率，分別是 35% 及 53%（未顯示數據）。以 IGF-I 處理在第 1 天與第 2 天皆有增加細胞的數量，且增加的趨勢為介於兩天之間（表 1）。

### 試驗 2：IGF-I 對固醇類生成之劑量效應影響

在含有 FSH 30 ng/ml 並添加 IGF-I 劑量為 3~30 ng/ml 可顯著增加（ $P < 0.05$ ）助孕固酮與雌素二醇的生成（圖 2A 及 2B）。在 IGF-I 濃度 3 與 10 ng/ml 的處理下，固醇的產量沒有差異，反之在添加 30 ng/ml 之 IGF-I 處理，不論是助孕固酮還是雌素二醇相比於 10 ng/ml 之處理皆有顯著提升的效果（圖 2）。且在 30 ng/ml 的劑量下，IGF-I 所增加的 GC 細胞數有 1.6 倍之多（表 1）。

### 試驗 3：有無添加 IGF-I 且聯合 ZEA 對 FSH 誘導固醇類生成劑量效應之影響

在無 IGF-I 的狀況下，30 ng/ml（0.0937  $\mu$ M）及 300 ng/ml（0.937  $\mu$ M）的 ZEA 添加會使助孕固酮的生成量增加（ $P < 0.05$ ），然而當劑量為 3000 ng/ml（9.369  $\mu$ M），ZEA 的添加反會降低助孕固酮的生成（ $P < 0.05$ ）（圖 3A）。但在有添加 IGF-I 的情況，ZEA 對助孕固酮的生成有著不一致的結果：其中 3000 ng/ml 可增加其生成，但在 30 ng/ml 則沒有影響（圖 3A），但在另一項試驗中卻發現可以增加助孕固酮的生成（圖 4A）。而 ZEA 對 IGF-I 添加使 FSH 誘導雌素二醇之生成也呈現了兩相的（biphasic）劑量效應，像是在 30 ng/ml 的濃度下可增加（ $P < 0.05$ ），但在 3000 ng/ml 時則下降（ $P < 0.01$ ）（圖 3B）。若無 IGF-I 的添加，ZEA 30 及 300 ng/ml 的劑量會使雌素二醇之生成有向上調節的現象（圖 3B 及 4B）。但 ZEA 對 GC 基礎或 IGF-I 誘導之生長則沒有任何影響（表 1）。

### 試驗 4：在 DON 聯合 ZEA 之有無對添加 IGF-I 之 FSH 誘導固醇類生成劑量效應之影響

DON 在濃度為 100 ng/ml（0.337  $\mu$ M）及 1000 ng/ml（3.37  $\mu$ M）的狀況下，會抑制由添加 IGF-I 之 FSH 誘導的助孕固酮生成（ $P < 0.05$ ），但 ZEA 聯合的作用並不會影響此作用（圖 4A）。而 DON 對 IGF-I 添加使 FSH 誘導雌素二醇之生成呈現了兩相的劑量效應：10 ng/ml（0.0337  $\mu$ M）的劑量下可增加雌素二醇的生成（ $P < 0.05$ ），但在 100 與 1000 ng/ml 時則有抑制的現象（ $P < 0.01$ ），然而 ZEA 之聯合在此反應中僅有些微的影響（圖 4B）。DON 對細胞的生長也具有兩相的影響，其中 10 與 100 ng/ml 具增加細胞數量的作用，而在 1000 ng/ml 則有抑制的現象（表 1）。0 與 10 ng/ml 的 DON 聯合 ZEA（30 ng/ml）具有向上調節助孕固酮及雌素二醇的作用，但在 DON 劑量為 100 和 1000 ng/ml 時，則不具此影響結果（圖 4）。



生百興業有限公司  
Life Rainbow Biotech Co., Ltd  
宜蘭市中山路五段222巷39弄12號  
Tel: 03-9286168 Fax: 03-9288158  
<http://www.liferainbow.com.tw>



### 黴菌毒素對 GC 之 *CYP19A1* 與 *CYP11A1* mRNA 的影響

以少量 (10 ng/ml) 的 DON 處理, 發現對於由 FSH 及 IGF-I 所誘導 GC 的 mRNA *CYP19A1* 或 *CYP11A1* 皆沒有影響 ( $P > 0.10$ ), 但在高劑量 (1000 ng/ml) 的處理下, 則會完全地阻斷其 IGF-I 所誘導 mRNA 之生成量 ( $P < 0.01$ ) (圖 5)。而在少量 (30 ng/ml) 的 ZEA 處理方面, 發現會降低 FSH 及 IGF-I 所誘導之 GC mRNA *CYP19A1* 的生成量達 17% ( $P < 0.05$ ), 但對於 *CYP19A1* 則沒有影響 (圖 5)。相反的, 以高劑量 (3000 ng/ml) ZEA 處理, 會使 mRNA *CYP19A1* 與 *CYP11A1* 皆有顯著減少的趨勢 (分別為 31% 及 33%) ( $P < 0.05$ )。

### 試驗 6: 黴菌毒素與血清誘導 GC 增生的交互作用

若單獨以 DON (30 ng/ml) 或 ZEA (30 ng/ml) 的添加, 發現對由 5% FCS 加 5% PS 之培養基所誘導的 GC 增生沒有明顯影響 ( $P > 0.10$ ) (圖 6)。然而, 若聯合 DON 與 ZEA, 對於 GC 的增生則有顯著向上調節的現象 ( $P < 0.05$ )。

### 討論

本研究顯示之結果如下: (1) DON 與 ZEA 對於豬 GC 在 FSH 加 IGF-I 所誘導之雌素二醇具有雙相調節的作用; (2) DON 對 IGF-I 誘導助孕固酮之生成具有抑制的作用, 反之 ZEA 則為促進生成的主因; (3) 相較於 DON, ZEA 之處理不具有劑量效應的影響; (4) 高劑量的 ZEA 與 DON 皆會抑制由 FSH 和 IGF-I 所誘導 *CYP19A1* 及 *CYP11A1* 基因的表現; (5) ZEA 對細胞增生不具有任何影響, 然而在 DON 劑量 10 與 100 ng/ml 的情況下可增進其生長, 1000 ng/ml 時則反之; (6) ZEA 或 DON 單獨在血清誘導細胞生長之作用下, 不具有影響的效果, 但聯合時則有提升細胞增生的現象發生。儘管 DON 或 ZEA 劑量在本研究中皆有提到具生理相關之活性, 但由於 DON 與 ZEA 在飼料的污染濃度及入口後的體內循環濃度皆會影響其變化, 所以仍須做進一步的研究。基於餵飼 20 mg 的 ZEA 或 DON 即可使達到血清中含有 10~20 ng/ml 的血漿水平 (Olsen *et al.*, 1985; Zwierzchowski *et al.*, 2005; Goyarts and Danicke, 2006), 本研究所使用的更小劑量是可以作為比較的。

過去僅有微弱的證據來顯示黴菌毒素與 FSH 和 IGF-I 對豬 GC 之固醇生成具有關鍵性的作用。而本研究中, GC 之 aromatase 活性在 DON 作用下, 相比於 ZEA 是較敏感的, 且 FSH 與 IGF-I 的協同作用也是誘導豬 GC 之固醇生長的關鍵。在 Skorska-Wyszynska *et al.* (2004) 發現  $\leq 50$  ng/ml 之 ZEA 即可有效的干擾共培養之貓 (feline) GC 及濾泡膜細胞 (theca cells) 的固醇生成作用, 但在 DON 的影響方面, 各物種仍未有相關報告的提出。然而 FSH 與 IGF-I 對於豬 GC 之助孕固酮分泌早在前人的研究中所證實 (Veldhuis and Demers, 1985; Veldhuis and Rodgers, 1987; Maitra *et al.*, 1995; LaVoie *et al.*, 1999), 且除了提高固醇的代謝外, IGF-I 可誘導 FSH 受體向上調節的作用也在齧齒動物實驗上被報告出 (Zhou *et al.*, 1997; Minegishi *et al.*, 2000)。然而, 在 IGF-I 與 FSH 協同誘導豬



生百興業有限公司  
Life Rainbow Biotech Co., Ltd  
宜蘭市中山路五段 222 巷 39 弄 12 號  
Tel: 03-9286168 Fax: 03-9288158  
<http://www.liferainbow.com.tw>



GC 雌素二醇之生成並沒有廣泛地被研究，雖然有些研究證實了豬 GC 具有雌素二醇生成的激素敏感性 (Chan and Tan, 1988; Yasuda *et al.*, 1990; Keel *et al.*, 1993; Picton *et al.*, 1999)。最重要的是本研究建立了豬 GC 的培養系統，且保持了其 aromatase 活性及基因表現的激素反應。也明白了 DON 和 ZEA 可小劑量地誘導 aromatase 活性的機制，且基於本研究也開啟了高劑量毒素可抑制雌素二醇生成的大門，DON 與 ZEA 的高劑量處理同時也具有抑制 FSH 加 IGF-I 所誘導 *CYP19A1* 及 *CYP11A1* mRNA 的生成量。在其他的細胞培養系統，ZEA 被發現可結合雌激素 (estrogen) 的受體 (Fitzpatrick *et al.*, 1989; Miksicek, 1994; Collins *et al.*, 1997; Minervini *et al.*, 2005)，因此 ZEA 可能有其興奮雌激素的作用或為受體的拮抗劑。且在培養大鼠 GC 的實驗報告中也提到：雌激素亦可直接提高助孕素合成酶 (progesterin synthesizing enzymes) 如  $3\beta$ -HSD (Fanjul *et al.*, 1984) 以及 aromatase (Adashi and Hsueh, 1982) 的活性，一來也可以解釋為何少量的 ZEA 即可促進雌素二醇的生成而不必透過影響 *CYP19A1* mRNA 的合成路徑。

在與培養人類 GC-黃體細胞的試驗也顯示出了玉米赤黴烯酮同樣具有抑制 aromatase 的活性 (由雄烯二酮與孕固酮所生成之雌素二醇)，但對  $17\beta$ -HSD 第一型的活性則無影響 (由雌素酮轉變成雌素二醇和雄烯二酮轉變成孕固酮) (Whitehead and Lacey, 2003)。後者的結果也與其他在純化  $17\beta$ -HSD 第一型的報告一致 (Makela *et al.*, 1995)。相當有趣的是 Krazeisen *et al.* (2001) 發現三種最有效果之抑制降低  $17\beta$ -HSD 第五型活性的植物性雌激素 (phytoestrogens) 為玉米赤黴烯酮、香豆雌酚 (coumestrol) 及槲皮素 (quercetin)，其  $IC_{50}$  之值分別是 4、5 及  $9\ \mu\text{M}$ 。並且有一篇體外 (*in vitro*) 試驗的研究報告也顯示了玉米赤黴烯酮會降低豬 GC 之 mRNA *CYP11A1* ( $P450_{\text{SCC}}$ ) 和  $3\beta$ -HSD 進而影響助孕固酮的合成 (Tiemann *et al.*, 2003)。本篇報告中 ZEA 與 DON 對 *CYP19A1* mRNA 的合成量在在提供了一項關於黴菌毒素對豬粒性細胞功能影響之新穎的訊息。相對於體外試驗，在餵飼 DON 及玉米赤黴烯酮之女豬體內試驗中，發現黴菌毒素並不會影響 GC 的固醇酵素如  $P450_{\text{SCC}}$  和  $3\beta$ -HSD 的蛋白質或 mRNA 層次 (Alm *et al.*, 2006)。由體外細胞培養的結果來比較黴菌毒素影響是相當困難的，即便是餵食豬隻新月型毒素污染飼糧的體內試驗，也會因為個體的代謝毒素能力的不同而產生差異 (Malekinejad *et al.*, 2006)。但是細胞培養仍然是為評估化學成分之特定毒害作用所被普遍採用的，且本研究建立了豬 GC 之培養和具有 aromatase 活性及基因表現之激素反應的系統，都是具實用價值與符合細胞培養目標的。

本研究發現當 DON 在劑量  $\leq 30\ \text{ng/ml}$  時具有刺激 GC 增生的作用 (透過計數其增加的細胞數)。另一方面，IGF-I 增加細胞數的現象也與前人報告所提到的——IGF-I 處理可增進  $^3\text{H}$ -thymidine 的摻合 (incorporation) 與豬 GC 細胞數——擁有一致的結果。單 ZEA 是不具對細胞數量造成影響的，且在 DON 刺激細胞增生的作用亦是未顯著受到 ZEA 影響的。然而，在血清作用的生長加速期，發現僅有在 DON 和 ZEA 的聯合下才具向上調節細胞增生的作用，而本研究也顯示出這兩種黴菌毒素在低劑量的使用具有其加



生百興業有限公司  
Life Rainbow Biotech Co., Ltd  
宜蘭市中山路五段 222 巷 39 弄 12 號  
Tel: 03-9286168 Fax: 03-9288158  
<http://www.liferainbow.com.tw>



乘的效果。本研究所使用 DON 的最大劑量（即 1000 ng/ml）具有顯著的減少 GC 數量的效果，然而 ZEA 使用量即使達 3000 ng/ml 也不具此現象。類似的研究也顯示了利用高劑量之 DON 對非卵巢細胞也同樣具有抑制 DNA 合成的作用（Charoenpornsook *et al.*, 1998; Minervini *et al.*, 2004; Sundstol Eriksen *et al.*, 2004）。進一步的研究則為確立 DON 或 ZEA 是否具有影響豬 GC 細胞凋亡（apoptosis）的作用。所有研究成果也開了——DON 與 ZEA 除了會影響固醇之生成外，還可能會對卵巢濾泡 GC 細胞層數的生長造成影響——之先河。

## 5. 結論

總而言之，本研究的結果顯示黴菌毒素對 GC 固醇之生成及細胞增生具有直接地劑量依賴性（dose-dependent）影響，也是評估 DON 和 ZEA 具有影響 GC 之 mRNA *CYP19A1* 及 *CYP11A1* 交互作用之首發。這些作用與直接性的卵巢影響，可能是造成因攝食新月型毒素污染飼糧之母豬繁殖障礙機制之一。

## 參考文獻

Ranzenigo, G., F. Caloni, F. Cremonesi, P.Y. Aad, and L.J. Spicer. 2008. Effects of *Fusarium* mycotoxins on steroid production by porcine granulosa cells. *Anim. Reprod. Sci.* 107(1-2):115-130.

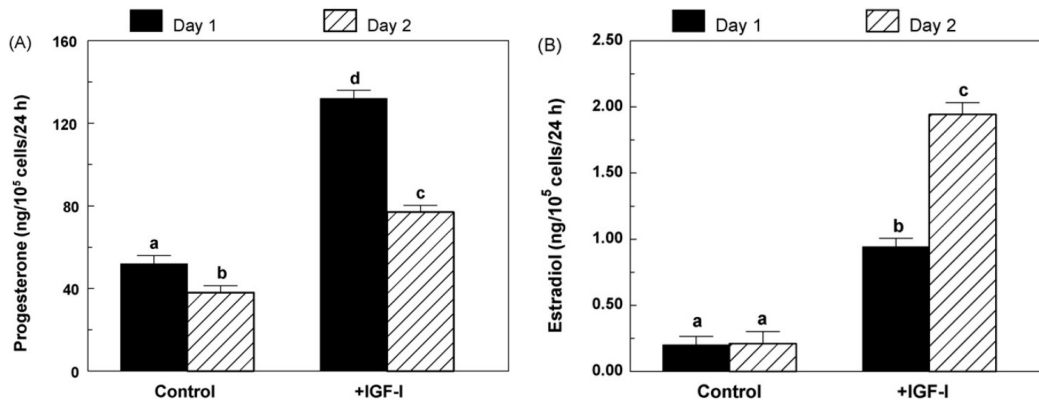


圖 1、以 IGF-I 處理對 FSH 誘導豬濾泡中之粒性細胞（GC）生成助孕固酮（A）及雌素二醇（B）之影響（試驗 1）。GC 將依 Section 2 所述培養 3 或 4 天。在培養之最後 1 或 2 天將細胞移至配方為含有 0 或 30 ng/ml 之 IGF-I 及 30 ng/ml FSH 之無血清培養液中繼續培養。數據為三次實驗的平均結果，且彼此之顯著差異以  $P < 0.05$  的基準來標示 a 至 d 的字樣。



生百興業有限公司  
Life Rainbow Biotech Co., Ltd  
宜蘭市山路五段 222 巷 39 弄 12 號  
Tel: 03-9286168 Fax: 03-9288158  
<http://www.liferainbow.com.tw>



表 1

以黴菌毒素及是否添加胰島素生長因子第一型 (IGF-I) 對豬濾泡中之 GC 培養 1 或 2 天之影響。

Experiment	Treatment duration (days)	Dose of ZEA (ng/mL)	Dose of DON (ng/mL)	Dose of FSH (ng/mL)	Dose of IGF-I (ng/mL)	Cell number ( $\times 10^5$ per well)
1	1	0	0	30	0	0.22 <sup>a</sup>
	1	0	0	30	30	0.43 <sup>b</sup>
	2	0	0	30	0	0.52 <sup>b</sup>
	2	0	0	30	30	0.82 <sup>c</sup>
			S.E.M.			0.03
2	2	0	0	30	0	0.59 <sup>a</sup>
	2	0	0	30	3	0.61 <sup>a</sup>
	2	0	0	30	10	0.63 <sup>a</sup>
	2	0	0	30	30	0.96 <sup>b</sup>
			S.E.M.			0.07
3	2	0	0	30	0	0.59 <sup>a</sup>
	2	30	0	30	0	0.64 <sup>a</sup>
	2	300	0	30	0	0.61 <sup>a</sup>
	2	3000	0	30	0	0.71 <sup>a</sup>
	2	0	0	30	30	1.53 <sup>b</sup>
	2	30	0	30	30	1.48 <sup>b</sup>
	2	300	0	30	30	1.53 <sup>b</sup>
	2	3000	0	30	30	1.41 <sup>b</sup>
		S.E.M.			0.09	
4	2	0	0	30	30	0.75 <sup>b</sup>
	2	0	10	30	30	1.09 <sup>c</sup>
	2	0	100	30	30	1.15 <sup>d</sup>
	2	0	1000	30	30	0.11 <sup>a</sup>
	2	30	0	30	30	0.95 <sup>c</sup>
	2	30	10	30	30	0.86 <sup>bc</sup>
	2	30	100	30	30	0.96 <sup>c</sup>
	2	30	1000	30	30	0.19 <sup>a</sup>
		S.E.M.			0.06	

Within an experiment, means without a common superscript letter (a-c) differ ( $P < 0.05$ ).

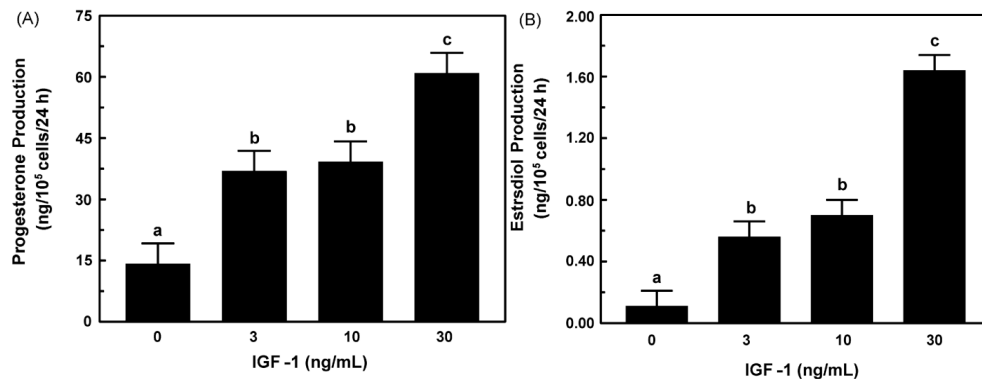


圖 2、IGF-I 處理對豬濾泡中之 GC 生成助孕固酮 (A) 及雌素二醇 (B) 之劑量效應 (試驗 2)。GC 將依 Section 2 所述培養 4 天。在培養的最後 2 天將細胞移至配方為添加不同劑量 (包括 0) 之 IGF-I 及 30 ng/ml FSH 之無血清培養液中繼續培養。數據為三次實驗的平均結果，且彼此之顯著差異以  $P < 0.05$  的基準來標示 a 至 c 的字樣。



生百興業有限公司  
Life Rainbow Biotech Co., Ltd  
宜蘭市中山路五段222巷39弄12號  
Tel: 03-9286168 Fax: 03-9288158  
<http://www.liferainbow.com.tw>

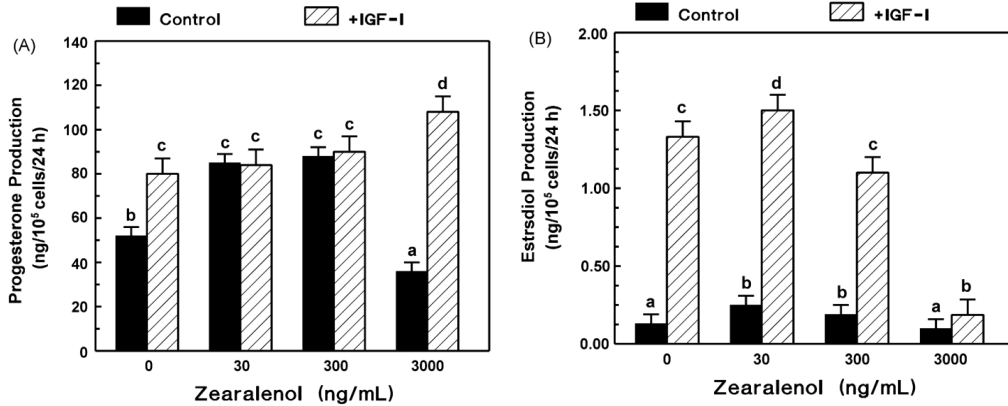


圖 3、以  $\alpha$ -zearalenol 處理對 IGF-I 加 FSH 誘導豬濾泡中之 GC 生成助孕固酮 (A) 及雌素二醇 (B) 之影響 (試驗 3)。GC 將依 Section 2 所述培養 4 天。在培養的最後 2 天將細胞移至配方為添加不同劑量(包括 0)之  $\alpha$ -zearalenol 並含有 0 或 30 ng/ml 之 IGF-I 及 30 ng/ml FSH 之無血清培養液中繼續培養。數據為三次實驗的平均結果，且彼此之顯著差異以  $P < 0.05$  的基準來標示 a 至 d 的字樣。

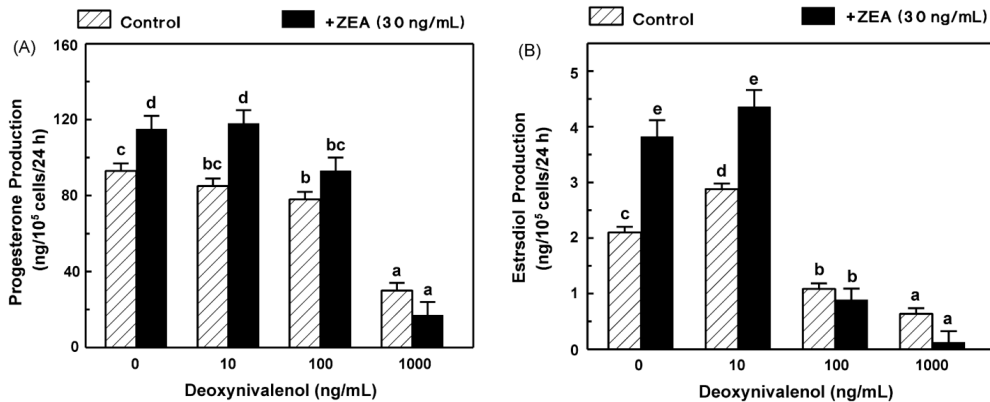


圖 4、以 deoxynivalenol 及  $\alpha$ -zearalenol (ZEA) 處理對 FSH 加 IGF-I 誘導豬濾泡中之 GC 生成助孕固酮 (A) 及雌素二醇 (B) 之影響 (試驗 4)。GC 將依 Section 2 所述培養 4 天。在培養的最後 2 天將細胞移至配方為添加不同劑量 (0 或 30 ng/ml) 之 deoxynivalenol 和 ZEA 並含有各 30 ng/ml 之 IGF-I 及 FSH 之無血清培養液中繼續培養。數據為三次實驗的平均結果，且彼此之顯著差異以  $P < 0.05$  的基準來標示 a 至 e 的字樣。





生百興業有限公司  
Life Rainbow Biotech Co., Ltd  
宜蘭市中山路五段 222 巷 39 弄 12 號  
Tel: 03-9286168 Fax: 03-9288158  
<http://www.liferainbow.com.tw>

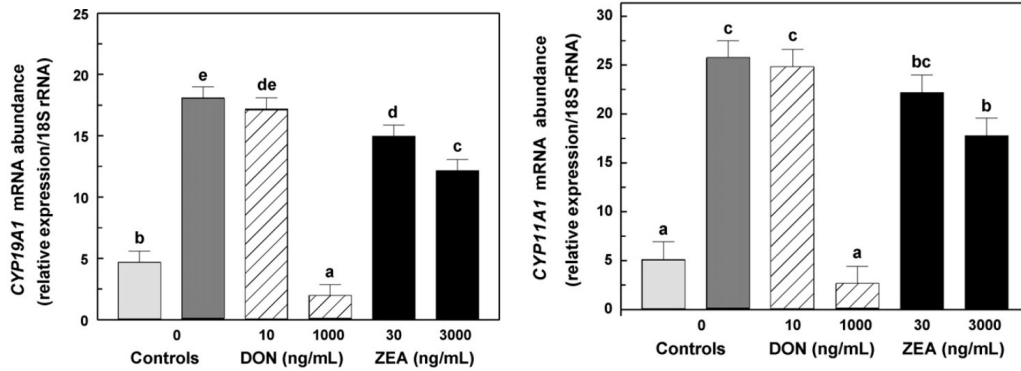


圖 5、以 deoxynivalenol (DON) 及  $\alpha$ -zearalenol (ZEA) 處理對 FSH 加 IGF-I 誘導豬濾泡中之 GC 生成 mRNA *CYP19A1* (A) 及 *CYP11A1* (B) 之影響 (試驗 5)。GC 將依 Section 2 所述培養 4 天。在培養的最後 2 天將細胞移至配方為完全無添加 IGF-I 及 FSH (Controls, white bar)；或添加各 30 ng/ml 之 IGF-I 及 FSH (Controls, grey bar)；及添加不同劑量 DON (hatched bars) and ZEA (black bars) 並含有 30 ng/ml 之 IGF-I 及 30 ng/ml FSH 之無血清培養液中繼續培養。數據為三次實驗的平均結果，且彼此之顯著差異以  $P < 0.05$  的基準來標示 a、b 的字樣。

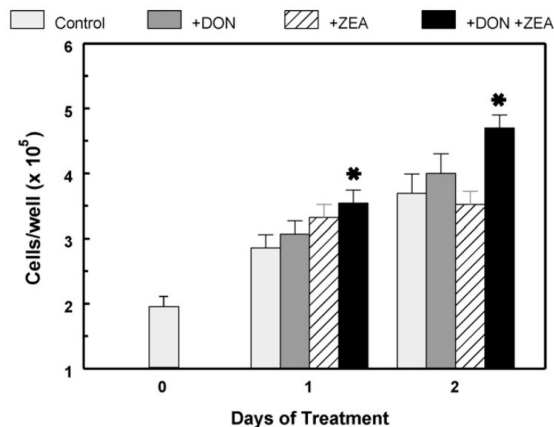


圖 6、 $\alpha$ -zearalenol (ZEA) 及 deoxynivalenol (DON) 與血清誘導 GC 增生之交互作用 (試驗 6)。GC 將依 Section 2 所述培養 4 天。在培養的最後 2 天將細胞移至含有 5% FCS 加 5% PS 之培養液並分成無添加、30 ng/ml 的 DON、30 ng/ml 的 ZEA 或兩者都有，在其不同天數的處理後，將相較於 Control 之平均值具顯著差異者 ( $P < 0.05$ ) 標以一顆星號 (\*)。數據為三次實驗的平均結果。