

韓國 食品中の 有毒性 眞菌에 關한 研究(第 7 報)

Penicillium 屬의 有毒性에 대하여

高春明 · 金聖光 · 趙世勳 · 金世鐘 · 崔泰周 · 柳 駿
延世大校學 醫科大學 微生物學教室

Studies on the Population of Toxigenic Fungi in Foodstuffs(VII)

Toxicological approaches to the *Penicillium* sp. metabolites isolated from foodstuffs

Choon-Myung Koh, Sung-Kwang Kim, Seh-Hoon Cho, Se-Jong Kim,
Tae-Joo Choi, and Joon Lew

Department of Microbiology, Yonsei University College of Medicine
(Received December 27, 1973)

Abstract

Thirty one culture filtrates of *Penicillium* spp. isolated from foodstuffs were submitted for toxicity by use of HeLa cell and ICR-mice.

Nine strains among the 31 of *Penicillia* were cytotoxic to the HeLa cell cultures.

Seven strains among the 31 of *Penicillia* were toxic to the ICR-mice and the pathological findings were the liver injury featured by parenchymal cell necrosis and degeneration.

As a mass screening, cytotoxicity test using HeLa cells is feasible method to detect the mycotoxin-producing fungi.

緒 論

眞菌의 代謝物質中 數種이 實驗의 으로나 實際로 動物들에 대하여 癌을 유발시키다는 報告가 發表된 以來, 여러 學者들에 의하여 많은 種類의 Mycotoxin 들이 研究 發表되었으며, 現在도 研究되고 있는 實情이다(Uraguchi 등⁴⁶⁾, Howard 및 Raisrick¹⁹⁾, Kobayashi 등^{22, 23)}, Miyake 등^{30, 31)}, Salmon 및 Newberne³⁷⁾, Carnaghan¹⁰⁾, Albright 등¹⁾, Townsend 등¹⁴⁾, 그리고 Allcroft 및 Carnaghan²⁾

1961年 Sargeant 등에 의하여 英國 칠던즈 X-disease 의 原因은 *aspergillus flavus* 에 의한 질병이라 주장하고 Asat 등³⁾과 Austwick 및 Ayerst⁵⁾는 이를 위한 追試한바 있다.

Miyake 등^{29, 30)}, Kobayashi 등²²⁾과 Uraguchi⁴⁶⁾ 등 hepatotoxin 의 일종인 luteoskyrin, cyclochlorotone 등은 *Penicillium islandicum* 의 대사물질이며 이는 mouse 나 rat 에 hepatoma 를 일으키다고 報告한 바 있다.

이 이외에도 Merwe 등²⁸⁾에 의한 Ochratoxin, Christensen 등¹¹⁾, Stob 등³⁹⁾ 그리고 Kone 및 Smith⁷⁾ 등에 의한 Zearalenon(F-2, oestrogenic factor), Burnside 등⁹⁾에 의한 rubratoxin, Tsunoda 등⁴³⁾에 의한 Fursarenon-X 등 많은 種類가 있다고 알려져 있다.

또한, 이들의 實驗動物들에 대한 研究 역시 多樣하여 Asplin 및 Carnaghan⁴⁾은 duckling, Lancaster 등²⁵⁾, Dickens¹³⁾, Newberne³²⁾, Barnes 및

Butler⁶⁾, 과기치⁴⁸⁾ 그리고 金⁴⁹⁾은 rar, Chu 및 Chang¹²⁾, Asplin 및 Carnaghan⁴⁾은 Chicken, Dipaolo¹⁵⁾은 hamster, Jackson 등²⁰⁾은 rainbow-trout, Peters 및 Smith³³⁾, Sroboda 등⁴⁰⁾은 monkey, Wilsen 및 Wilsen⁴⁴⁾, Saito 등³⁶⁾은 mice, 그리고 Lewis 등²⁷⁾은 Sheep 등 많은 實驗動物을 利用하여 여러 種類의 mycotoxin에 대하여 研究 報告하였다.

한편, mycotoxin에 대한 bioassay方法中 實驗動物을 利用하는 方法이나 組織培養細胞를 利用하는 方法等이 많이 發達하였다. Kobayashi 등²²⁾, Utaguchi 등⁴⁶⁾, Saito 등³⁶⁾, Carnahan¹⁰⁾, Salmon 및 Newberne³⁷⁾ Forgace 등¹⁶⁾은 mouse, rat, cattle等을 使用하여 實驗하였으며, Gabliks 등¹⁷⁾는 數種의 組織培養 細胞株를 Legator 및 Withron²⁶⁾는 人體 肺細胞를, Zuckerman 등⁴⁷⁾은 人體 肝細胞를, Dilimpio 등¹⁴⁾은 人體 白血球를, Shibko³⁸⁾은 Chick embryo를, Harley 등¹⁸⁾, Saito 등³⁶⁾ 그리고 趙等⁵⁰⁾은 HeLa 細胞株를 利用하여 真菌의 대사물질에 대한 毒性 有無를 檢査한 바 있다.

이에 著者들은 本 教室에서 各種 食品으로 부터 分離 培養하여 *Penicillium*屬으로 同定된 各種 *Penicillium* spp.를 使用하여 이들의 有毒性 有無를 細胞株를 利用한 *invitro* test와 mice를 利用한 *invitro* test를 통하여 규명하였던 바, 그 結果를 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

A. 材 料

1. 使用된 菌株

菌株는 各種 食品中에서 分離하여 本 教室에서 繼代하여 오는 *Penicillium* spp. 中 總 31株를 使用하였으며, 標準菌株로서는 *Aspergillus flavus* AT-CC 15517, *Aspergillus parasiticus* RIB 1037, *Penicillium islandicum* IFO 5235, *Penicillium tardum* IFO 5787, *Penicillium citrinum* SWU 238, *Penicillium brunneum* SWU 275 및 *Aspergillus toxicarium* RIB 4002 등 7株이었다.

2. 使用된 HeLa cell 및 mouse

細胞毒性 有無를 관찰하기 위한 HeLa 細胞株는 國立保健研究院에서 분양받아 本 教室에서 保存하고있는 細胞株이며, mouse는 日本 國立癩病研究所로부터 분양받아 역시 本 教室에서 繼代하고 있는 ICR-mouse株를 使用하였다.

3. 培地 및 試藥

培地의 大部分은 英國 Difco 會社製品과 그 以外

의 試藥은 市販 一級 및 特級品을 使用하였다.

B. 方 法

1. 真菌의 培養方法

菌의 培養을 위하여서는 toxin生培地* 200ml을 500ml 후라스크에 分注하여 殺菌시키 후, 各種 實驗菌株를 接種 27°C 培養器에서 2週間 靜置培養하였다.

2. Crude-toxin의 추출方法

Crude-toxin의 추출방법으로서는 上記 培養方法에 의하여 培養된 菌株들의 여액을 filter paper로 여과한 후 그 여액量의 1/3에 해당되는 量의 chloroform을 加하여 3時間 진탕하고 이를 separatory funnel에 옮겨 chloroform層만을 分離한 다음 이 chloroform溶液을 65°C 水槽上에서 농축하였으며, 남은 여액도 이와 같은 方法으로 3회 반복하여 보다 많은 量의 Crude-toxin을 추출하였다 (그림 1).

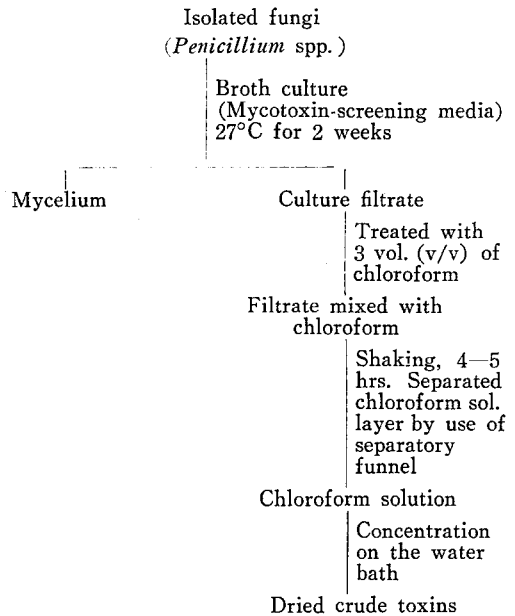


Fig. 1. Crude Toxin Preparation Procedures of Culture Filtrate of *Penicillium* spp.

3. Thin-layer Chromatography (TLC)에 의한 toxin樣 物質의 同定方法

上記 方法에 準하여 여액을 추출하였을 경우 주로 aflatoxin樣物質이 추출되었을 것으로 사료되어 이 toxin의 同定方法으로서는 TLC方法을 使用하였으며, 먼저 20×20cm 크기의 Chromato-plate上에 250 μ m 두께의 silica gel G(merck 製品)을 도포

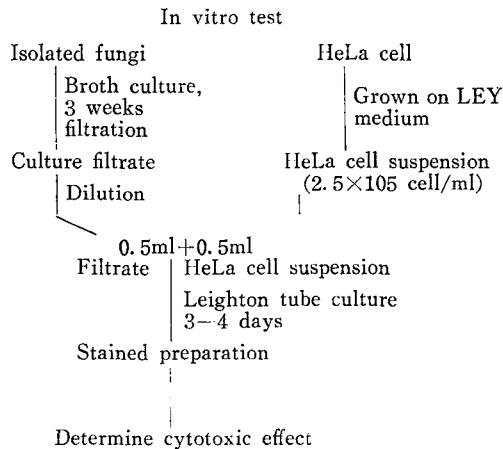
한 후 110°C에서 1시간 활성화시킨 다음 基線으로 부터 上記 추출된 物質을 各各 0.5 μ l씩 spotting 하였다.

展開用 溶媒는 Chloroform : acetone, 9 : 1(V/V) 이 되게 混合하여 使用하였다. 展開가 끝난후 이 는 螢光物質 檢出用 紫外線燈(Prod. Inc, 製品) long-wave(波長 3.65m μ)用을 使用하여 標準菌株의 Rf 値와 螢光性을 比較 同定하였다.

C. HeLa 細胞株와 mouse 를 使用한 毒性 檢査 方法

1. HeLa-細胞株를 使用한 細胞毒性 實方驗法

HeLa-細胞株를 LEY-media 에서 細胞를 培養한 다음 배양 여액을 10%로 희석시킨후 이의 一定量과 細胞 一定한 比率로서 混合시킨 다음 Leighton tube 에 注入하여 37°C, 5% CO₂ 培養器에서 3日



間 培養시킨후 Hematoxylin eosin 染色을 實施하여 毒性의 程度를 Toplin⁴²⁾法에 依하여 決定하였다.

2. ICR-mouse 를 使用한 毒性 檢査 方法

mouse 를 使用한 毒性 檢査方法으로서는 本 教室에서 번식시킨 ICR-mouse 株를 使用하여 體重 20g 内外의 것을 利用하였으며 雌雄의 구별은 두지 않았다.

每 20g 麥 1.0ml 를 基準으로 하여 1.0~1.5ml 의 배양 여액을 腹腔內에 주사하고 주사하기 전과 주사후 도살하기전 各各 體重을 測定하여 體重의 變化를 觀察하였다.

注射 一週後 도살하여 肝臟, 腎臟 및 脾臟을 적출하여 病理組織 標本을 作成 病變의 有無를 관찰 함과 同時에 病變의 程度 差異를 觀察하였다(그림 2).

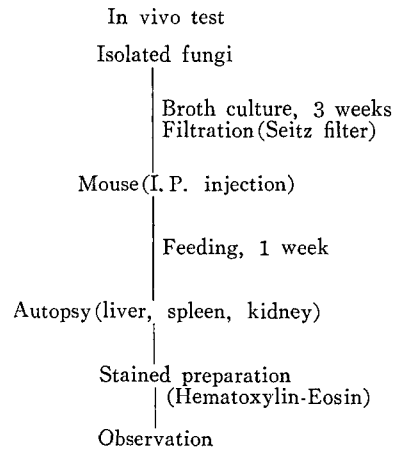


Fig. 2. Cytotoxic and histopathologic test *in vitro* and *in vivo*

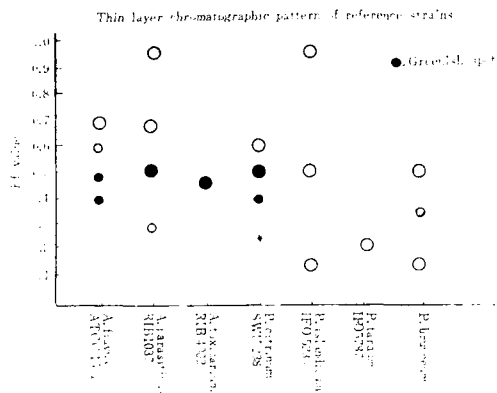
結 果

A. Thin-layer Chromatography(TLC)에 의한 結果

1. 標準菌株에 대한 結果

標準菌株에 대한 TLC 의 성적을 보면, 標準菌株中 *Aspergillus parasiticus* RIB 1037은 4 個의 Spot, *Penicillium isandicum* IFO 5235, *Aspergillus flavus* ATCC 15517, *Penicillium citrinum* SWU 238 및 *Penicillium brunneum* 은 3 個의 spot 그리고 *Penicillium tardum* IFO 5787, 및 *Aspergillus toxicarium* RIB 4002는 各各 1 個의 spot 를 나타내었으며, 이 중 *Aspergillus flavus* ATCC 15517, *Aspergillus parasiticus* RIB 1037 및 *Penicillium citrinum* SWU 238의 3 個 spot 는 aflatoxin 의 Rf 値와 螢光性이 同하게 나타났다. 또한 *Penicill-*

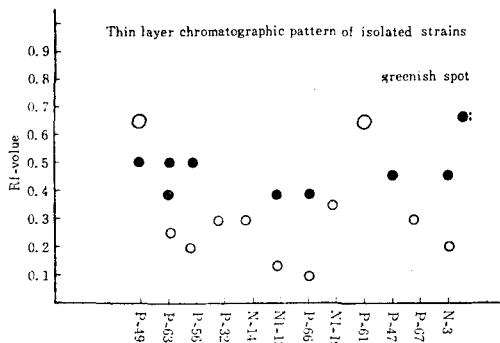
ium islandicum IFO 2535는 Rf 値가 0.14, 0.50 및 0.96이었으며 *Aspergillus toxicarium* RIB 4002 는 Rf 値가 0.48이었다(그림 3).



2. 實驗菌株에 대한 結果

實驗菌株 31株中 12株(P-49, P-63, P-56, P-32, N-14, N12, P-66, N-19, P-61, P-47, P-67 및 N-3)이었으며 이중 對照群의 菌株과 Rf 值 및 螢光성이 一致하는 菌株은 7株(P-49, P-63, P-56, N₁-12, P-66, P-47 및 N-3)에있으며 나머지 4株는 差異點이 있었다.

對照菌株의 Rf 值와 螢光성이 一致하는 菌株라 할지라도 4個의 spot 를 나타내는 菌株은 發見할 수 없었으며 大部分이 1~2個의 spot 만이 一致하는 감을 나타내었다. 또한 對照菌株와 一致하는 spot 를 나타내는 菌株라 할지라도 他 spot 는 一致하지 않음을 發見할 수 있었다(그림 4).



B. 實驗動物에 대한 體重變化

1. 標準菌株에 대한 結果

各 標準菌株에 대한 體重의 變化를 보면, 모든 動物의 體重 增加現象을 나타내기는 하였으나 正常 對照群에 比하여는 體重 增加率이 낮았다.

2. 實驗菌株에 대한 結果

實驗菌株로 處理된 實驗群의 例에서도 體重增加現象을 나타내었으나 특히 實驗菌株 31株中 13株로 處理된 mouse 는 오히려 體重의 減少現象을 나타내었고 이들의 大部分은 TLC 上에서의 有意있는 spot 를 나타낸 例들이 包含되어 있었다(P-11, P-32, P-33, P-50, P-56, P-67, N₂-1, N₁-2 N₁-14 N₁-11 RC-9 및 RC-18)

C. HeLa 細胞株에 대한 結果

1. 標準菌株에 대한 結果

實驗에 使用된 標準菌株 7株에 對한 細胞毒性에 대한 結果를 보면, aflatoxin 을 分泌한다고 알려진 *A. flavus* ATCC 15517 *A. parasiticus* RIB 1037 및 *P. citrinum* SWU 238 과 *A. toxicarium* RIB 4002 그리고 *P. islandicum* IFO 5235 등의 培養 여액으로 處理된 群에서는 10% 배양 여액에서 Cytotoxicity grade 3~2의 細胞毒性을 나타내었다.

며, 그 이외의 標準菌株로 使用한 *P. tardum* IFO 5787 은 cytotoxicity grade 1 그리고 *P. brunneum* 은 別다른 細胞毒性을 나타내지 않았으며, 배양여액을 使用한 對照群 역시 正常 對照群의 結果와 同一하게 變化를 發見할수 없었다(表 1).

Table 1. Result of toxicity test on HeLa cells to the reference strains

Generic Name	Grade of toxicity on Mela cell(10% F*)
<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 15517	3
<i>Aspergillus parasiticus</i> RIB 1037	3
<i>Aspergillus toxicarium</i> RIB 4002	2
<i>Penicillium citrinum</i> SWU 238	3
<i>Penicillium islandicum</i> IFO 5235	2
<i>Penicillium tardum</i> IFO 5787	1
<i>Penicillium brunneum</i>	0
Test contro	0
Control	0

* F : Culture filtrate

2. 實驗菌株에 對한 結果

實驗菌株에 對한 結果를 보면, 實驗菌株 31株中 9株가 HeLa 細胞株에 대하여 10% 배양 여액으로 處理하였을 경우 cytotoxicity grade 3+~1+의 細胞毒性을 招來하였으며(p-32, P-47, P-56, P-63, P-66 P-67, N₁-3 N₁-12 및 RC-8), 이중 특히 실험군주 P-63은 cytotoxicity grade 3+, 實驗菌株 P-47은 cytotoxicity grade 2+를 나타내어 제일 심한 細胞毒性을 나타내었다(表 2).

D. ICR-mouse 株에 대한 結果

1. 標準菌株에 대한 結果

本 實驗에 使用된 標準菌株들에 대한 結果를 보면, 標準菌株中 *A. flavus* ATCC 15517, *A. parasiticus* RIB 1037, *P. islandicum* IFO 5235 *P. citrinum* SWU 238 및 *A. toxicarium* RIB 4002는 輕度の 病變을 야기시키어 肝細胞에 대하여 部分的인 肝實質細胞의 炎症 내지 괴사현상을 일으켰으며, 脂肪質과 glycogen 의 증가현상을 볼 수 있었고 아울러 腎臟細胞의 congestion 과 아울러 炎症現象을 볼 수 있었다.

아울러, 培地自體로서 處理된 例에서는 別다른 變化가 없었다(表 3),

Table 2. Result of toxicity test on Mela cells to the isolated strains

Generic name	Grade of cytotoxicity on HeLa cells(10% F*)
<i>Penicillium</i> spp	
P-11	0
P-31	0
P-32	1
P-33	0
P-35	0
P-36	0
P-39	0
P-44	0
P-47	2
P-49	0
P-50	0
P-54	0
P-56	1
P-61	0
P-63	3
P-66	1
P-67	1
N ₂ -1	0
N ₁ -3	1
N ₁ -9	0
N ₁ -10	0
N ₁ -11	0
N ₁ -12	1
N ₁ -14	0
N-19	0
RC-8	1
RC-10	0
RC-11	0
RC-18	0
N ₁ -2	0
Control	0

2. 實驗菌株에 대한 結果

實驗菌株인 *Penicillium* spp. 總 31株에 대한 ICR-mouse 株에 대한 結果를 보면, 總 實驗菌株中 7株(P-32, P-63, P-66, P-67, N₂-1 N₁-2 및 RC-8)가 肝臟 및 腎臟細胞에 대하여 病變을 招來하여 部分的인 炎症 및 괴사현상을 나타내었으며 그 이외의 他臟器에서는 별다른 病理學的 所見을 發見히 못하였으며 그 以外の 實驗菌株에서는 正常 組織細胞와 同一하였다(表 4).

考 察

眞菌들의 汚染으로 因하여 이들 菌株들이 分泌

Table 3. Result of toxicity test on ICR-mice the reference strains

Generic name	Grade of toxicity on ICR-mice
<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 15517	2
<i>Aspergillus parasiticus</i> RIB 1037	3
<i>Aspergillus toxicarium</i> RIB 4002	1
<i>Penicillium citrinum</i> SWU 238	1
<i>Penicillium islandicum</i> IFO 5235	1
<i>Penicillium tardum</i> IFO 5787	0
<i>Penicillium brunneum</i>	0
Test control	0
Control	0

하는 toxin으로 癌이 發生한다는 報告가 있는 以來, 이에 대한 많은 研究가 實施되었으며, 現在도 進行되고 있는 形편이다.

또한 여기에 使用되는 實驗動物도 여러 學者들에 따라서 여러 種類가 使用되었으며, Butle 등은 rat 및 mouse Wogan 및 Pong은 rat, duck, trout 및 ferret 등, Kurata 및 Ichinoe²⁴⁾, Saito 등²⁶⁾, 趙等⁵⁰⁾, Plantnow³⁴⁾ 등은 mice, Newbeme 및 Bulter³²⁾은 數種 實驗動物, Uruguchi 등⁴⁶⁾, Miyake 등³¹⁾, Salmon 및 Newbeme³⁷⁾, Asae 등, Christensen 등¹¹⁾ 그리고 金⁴⁹⁾은 rat, Asplin 및 Carnaghan⁴⁾은 duck 와 chicken, Burnside 등⁹⁾, Allright¹³⁾ 등은 cattle 등 많은 種類를 使用한 例를 볼수 있으나 이에 대한 結果는 實驗 使用 動物에 따라 感受性的의 差異를 나타낸다고 主張하였다.

한편, 各種 組織이나 培養細胞를 利用하여 毒性 與否 및 變化를 觀察한 例 역시 여러 研究 結果가 發表되었다. 卽 Sobovoda 등⁴⁰⁾은 원숭이의 肝臟細胞를, Legator²⁶⁾, Saito 등³⁶⁾, Natori 등 그리고 趙等⁵⁰⁾은 Hela 細胞株를, Zuckerman 등⁴⁷⁾은 human embryo liuer cell을 Dilimpio¹⁴⁾ 및 Promchainant³⁵⁾은 human leukocyte culture 등을 利用한 實驗에서 그 結果는 protein 合成의 저해, 有絲分裂의 抑制, 巨大細胞의 出現, RNA 및 DNA의 合成저해, 染色體의 breakage 및 轉位現象 등을 招來하며 形態學的인 變化도 아울러 유발하므로서 mycotoxin 檢察에 使用이 可能하다고 主張하였다.

本 實驗結果에서도 他 研究者들의 研究結果와 같이 總 實驗菌株 *Penicillium* 屬 31株中 9株(P-

Table 4. Result of Toxicity Test on ICR-Mice to the isolated Strains

Generic name	Grade of toxicity on the ICR-mice
<i>Penicillium</i> spp.	
P-11	0
P-31	0
P-32	3
P-33	0
P-35	0
P-36	0
P-39	0
P-44	0
P-47	0
P-49	0
P-50	0
P-54	0
P-56	0
P-61	0
P-63	3
P-66	1
P-67	1
N ₂ -1	1
N ₁ -2	1
N ₁ -3	0
N ₁ -9	0
N ₁ -10	0
N ₁ -11	0
N ₁ -12	0
N ₁ -14	0
N-19	0
RC-8	1
RC-10	0
RC-11	0
RC-18	0

32, P-63, P-66, P-67 P-56, P-47, N₁-3, N₁-12 및 RC-8)가 Hela 세포株를 利用한 細胞毒性實驗 結果 細胞毒性을 나타내었으며 7株(P-32, P-63, P-66, P-67, N₂-1 N₁-2 및 RC-8)가 mouse에 대하여 病理組織學的 면에서 變化를 나타내었다는 點등은 日本에서의 食品中에 分離한 真菌들의 mouse에 대한 結果(Uraguchi等⁴⁶⁾, Ueno等, Natori等)나 趙等⁴⁹⁾의 發表와 一致하는 點들이라 하겠으며 또한 세포독성 실험 結果도 Saito等³⁰⁾의 133株의 實驗菌株中 15株가 Hela cell에 對하여 毒性을 야기시키고 이들이 mouse에 대하여서도 같은 形態의 結果를 招來하였다는 報告等과 比較하여 볼 때, 本 實驗 結果는 31株中에서 9株가 나타난 것

으로 보아 出現頻度가 다소 높은 감이 있다고 하겠으나 一致되는 結果라 하겠다.

以上 實驗結果를 綜合하여 볼 때, 各種 有毒性 真菌의 判별을 Screening 하는 方法으로서 Hela cell을 利用하는 方法은 可能한 方法中의 하나라고 생각되나 조각상의 난점이나 최대한 조직배양 실험 실을 가춘 연구실이 必要하다는 點等을 고려하여 볼때 좀 더 간편한 方法이 모색되어야 할 것으로 생각된다.

또한 우리나라 各種 食品中에는 적어도 有毒性 真菌의 汚染 可能을 內包하고 있다고 생각되며 이는 하루 속히 해결되어야 할 問題들이며 이를 위하여는 各種 食品의 저장, 운반, 제조등의 개선하여야 할 點들이 있다고 思慮된다.

要 約

食品中에서 分離한 *Penicillium*屬에 대하여 Hela cell과 ICR-mouse를 利用한 毒性 여부를 관찰하였던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 總 實驗菌株 *Penicillium*屬 31株 가운데 Hela cell에 對하여 毒性을 나타내는 菌株는 9株(P-32, P-47, P-56, P-63, P-66, P-67, N₁-3, N₁-12 및 RC-8)이었다.

2. 實驗菌株中 ICR-mouse에 대하여 毒性 및 病變을 유발한 것은 31주 중에서 7株(P-32, P-63, P-66, P-67, N₂-1 N₁-2 및 RC-8)이었다.

3. Hela cell을 利用하여 真菌의 有毒性 여부를 screening 하는것은 可能한 方法이라고 생각된다.

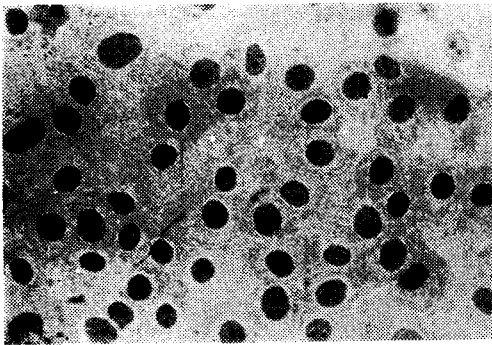
(本 論文을 完成함에 病理學的 判讀을 도와주신 本大學 病理學敎室의 최홍열선생님께 감사를 드립니다.)

Reference

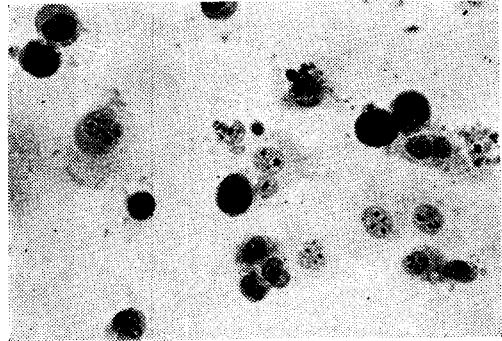
- 1) Albright, J. L., Aust, S. D., Byers, J. H., Frits, T. E., Brodie, B. O., Olsen, R. E., Link, R. P., Simon, J., Rhoades, H. E. and Brewer, R. L. *JAVMA*, 144: 1013(1964)
- 2) Allcroft, R. and Carnaghan, R. B. A.: *vet Record*, 74: 863(1962)
- 3) Asao, T., Buchi, G., Abdel-Kader, M. M., Chang, B. S., Wick, E. L. and Wogan, G. N.: *J. Am. Chem. Soc.*, 87: 882(1965)
- 4) Asplin, F. D. and Carnaghan, R. B. A.: *vet. Record*, 73: 1215(1961)
- 5) Austwick, P. K. C. and Ayerst, G.: *Chem.*

- Ind(London), 55(1963)
- 6) Barnes, J.M. and Butler, W.H.: *Nature*, **202**: 1016(1964)
 - 7) Butler, W.H. and Clifford, J.I.: *Nature*, **206**: 1045(1965)
 - 8) Butler, W.H., Greenblatt, M. and Lijinsky, W.: *Cancer Res.*, **29**: 2206(1969)
 - 9) Burnside, J.E., Sippel, W.L., *Am. J. Vet. Res.*, **18**: 817(1957)
 - 10) Carnaghan, R.B.A.: *Nature*, **208**: 308(1965)
 - 11) Christensen, C.M., Nelson, G.H. and Mir-ocha, C.J.: *Appl. Microbiol.*, **13**: 653(1965)
 - 12) Chu, F.S. and Chang, C.C.: *Jour. AOAC* **54**: 1032(1971)
 - 13) Dickens, F.: *Brit. J. Cancer*, **17**: 691(1963)
 - 14) Dilimpio, D.A., Legator, M. and Jacobson, C.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **127**: 559 (1968)
 - 15) Dipaolo, J.A., Elis, J. and Erwin, H.: *Nature*, **215**: 638(1967)
 - 16) Forgaces, J., Koch, H., Carll, W.T. and White-Stevens, R.H.: *Am J. vet. Res.*, **19**: 744(1958)
 - 17) Gabliks, J., Schaeffer, W., Friedman, L. and Wogan, G.N.: *I. Bact.*, **90**: 720(1965)
 - 18) Harley, E.H., Rees, K.R. and Cohen, A.: *Biochem. J.*, **114**: 289(1969)
 - 19) Howard, B.H. and Raisbrick, H.: *Biochem. J.*, **44**: 227(1949)
 - 20) Jackson, F.W., Wolf, H. and Sinnhuber, R.O.: *Cancer Res.*, **28**: 987(1968)
 - 21) Kobayashi, Y., Uruguchi, K., Sakai, F., Tatsuno, T., Tsukioka, M., Sakai, Y., Sato, T., Miyake, M., Saito, M., Enomoto, M., Shikata, T. and Ishiko, T.: *Proc. Jap. Acad.*, **34**: 139(1958)
 - 22) Kobayashi, Y., Uruguchi, K., Tatsuno, T., Sakai, F., Tsukioka, M., Sakai, Y., Yonemitsu, O., Sato, T., Miyake, M., Saito, M., Enomoto, M., Shikata, T. and Ishiko, T.: *Proc. Jap. Acad.*, **35**: 501(1959)
 - 23) Kobayashi, Y., Uruguchi, K., Sakai, F., Tatsuno, T., Tsukioka, M., Sakai, Y., Sato, T., Miyake, M., Saito, M., Enomoto, M., Shikata, T. and Isniko, T.: *Proc. Jap. Acad.*, **34**: 736(1959)
 - 24) Kurata, H. and Ichinoe, M.: *J. Fed. Hyg. Soc. Jap.*, **8**: 237(1967)
 - 25) Lancaster, M.C., Jenkins, F.P. and Philp, J.M.: *Nature*, **192**: 1095(1961)
 - 26) Legator, M.S. and Withrow, A.: *Jour. A-OAG*, **47**: 1007(1964)
 - 27) Lewis, G., Markson, L.M. and Allcroft, R.: *vet. Record*, **80**: 312(1967)
 - 28) Merwe, K.J., Steyne, P.S., Fourie, L., Scott, B. and Theron, J.J.: *Nature*, **205**: 1112(1965)
 - 29) Miyake, M., Saito, M., Enomoto, M., Shibata, T., Ishiko, T., Uruguchi, K., Sakai, F., Tatsuno, T., Tsukioka, M. and Noguchi, Y.: *Gann*, **50**: 117(1959)
 - 30) Miyake, M., Ushiki, M., Uruguchi, K., Tsukioka, M. and Ikeda, Y.: *Acta Path. Jap.*, **5**: 208(1955)
 - 31) Miyake, M., Saito, M., Enomoto, M., Shikata, T., Ishiko, T., Ishiko, T., U Uruguchi, K., Sakai, F., Tatsuo, T., Tsukioka, M., Sakai, Y. and Sato, T.: *Acta Path. Jap.*, **10**: 95(1960)
 - 32) Newberne, P.M.: *Mycotoxins in Foodstuffs*, M.I.T. Press Cambridge, Mass., 187(1965)
 - 33) Peters, J.A. and Smith, L.M.: *Biochem. J.*, **92**: 379(1964)
 - 34) Plantonow, N.: *vet. Record*, **76**: 589(1964)
 - 35) Promchainant, C., Baimai, V. and Nondasuta, A.: *Mutation Res.*, **16**: 373(1972)
 - 36) Saito, M., Ohtsubo, K., Umeda, M., Enomoto, M., Kurata, H., Udagawa, S., Kakade, F. and Ichinoe, M.: *Jap Exp. Med.*, **41**: 1(1971)
 - 37) Salmon, W.D. and Newberne, D.M.: *Cancer Res.*, **23**: 571(1963)
 - 38) Shibko, S.I.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **127**: 835(1968)
 - 39) Stob, M., Baldwin, R.S., Tuite, J., Andrews, F.N. and Gillette, K.G.: *Nature*, **196**: 1318 (1962)
 - 40) Svoboda, D., Grady, H. and Higgeinson, J.: *Am. J. Path.*, **49**: 1023(1966)
 - 41) Townosend, R.J., Moss, M.O. and Peck,

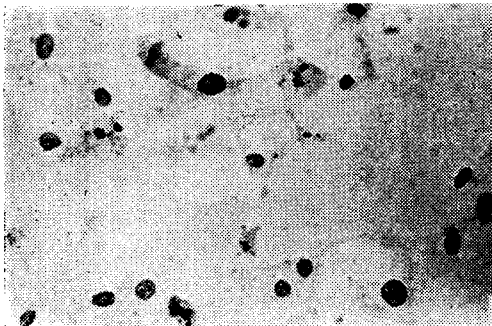
- H. M. : *J. Pharm. Pharmaceut.*, **18**: 471 (1966)
- 42) Toplin, I. : *Cancer Res.*, **19**: 959(1959)
- 43) Tsunoda, H., Toyazaki, S., Nakano, N., Yoshiyama, H., Okubo, K. and Isoda, M. : *Proc. Food Res. Inst.*, **23**: 89(1968)
- 44) Wilson, B.J. and Willson, C.H. : *Science*, **144**: 177(1964)
- 45) Wogan, G.N. and Pong, R.S. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **174**: 623(1970)
- 46) Uraguchi, K., Sakai, F., Sukioka, M., Noguchi, Y., Tatsuno, T., Saito, M., Ishiko, T., Enomoto, M., Shikata, T. and Miyake, M. : *Jap. J. Exp. Med.*, **31**: 435 (1961)
- 47) Zuckerman, A. J., Rees, K.R., Inman, D.R. and Robb, I.A. : *Brit. J. Exp. Path.*, **49**: 33(1968)
- 48) 과학기술처 : MOST-R-7084, (1970)
- 49) 김정숙 : 연세의대논문집, **4**: 184(1971)
- 50) 조세훈, 고춘명, 최태주, 유준 : 대한미생물학회지, **8**: 43(1973)



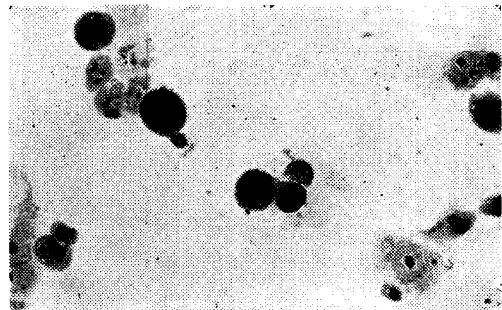
정상 HeLa 細胞株의 H-E 염색(강확대 430×)
Normal HeLa Cells(H-E stain 430×)



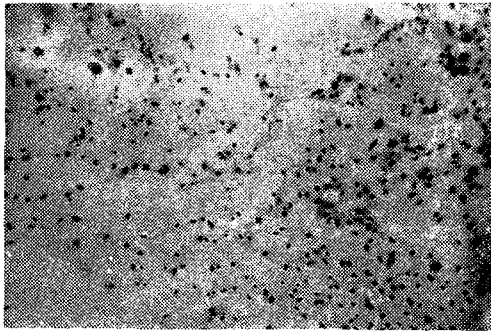
細胞毒性 "3"의 H-E 染色(강확대 430×)
A. flavus ATCC 15517
Cytotoxicity Grade 3 on HeLa Cells(H-E stain 430×) *A. flavus* ATCC 15517



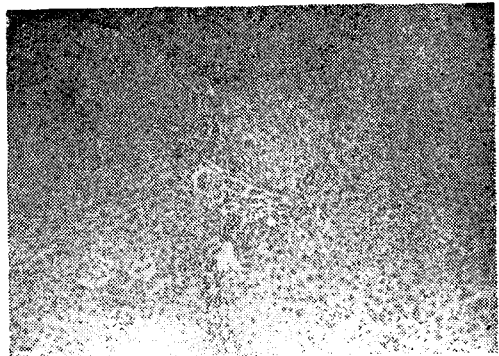
細胞毒性 "2"의 H-E 염색(강확대 430×)
A. toxicarium RIB 4002
Cytotoxicity Grade 2 on the HeLa Cells (H-E stain 430×)



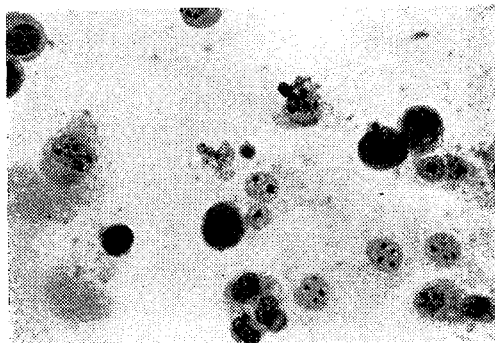
細胞毒性 "3"의 H-E 染色(강확대 430×)
P. citrinum SWU 238
Cytotoxicity Grade 3 on HeLa Cells (HeLa cells (H-E stain 430×) *P. citrinum* SWU 238



實驗菌株 P-31의 細胞毒性 "0"의 H-E 染色
(약확대 100×)
Cytotoxicity Grade "0" on HeLa Cells(H-E
stain 100×) Exp strain No. P-31



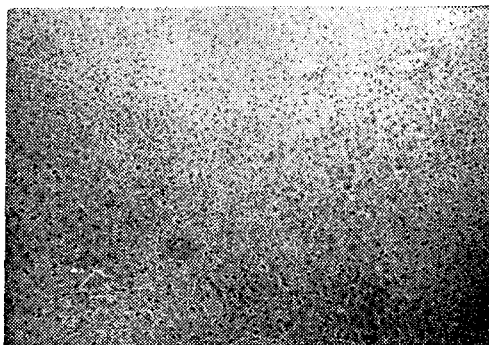
培養濾過液으로 處理된 마우스의 肝臟細胞 部分的
인 炎症現象을 볼 수 있다(H-E 染色, 100×)
(實驗菌株 RC-8)
Focal Inflammatory changes of Liver Treated
With RC-8 strain(H-E stain, 100×)



實驗菌株 P-63의 細胞毒性 "3"의 H-E 染色
(강확대 430×)
Cytotoxicity Grade 3 on HeLa Cells(H-E stain
430×) Exp. strain No. P-63



培養 濾過液으로 處理된 마우스 肝臟細胞의 部分的
인 炎症現象을 볼 수 있다(H-E 染色 100×)
(실험균주 p-32)
Acute inflammatory changes of mouse liver cells
treated with culture filtrate of p-32 strain



正常마우스의 肝臟細胞 染色(H-E 相染, 100×)
Normal Mouse Liver Cells(H-E stain, 100×)



培養 濾過液으로 處理된 마우스 肝臟細胞의 壞疽
現象을 볼 수 있다(H-E 染色 100×)
(實驗菌株 p-63)
Focal Necrosis of Mouse Liver cells treated with
culture filtrate of p-63