

腫瘍細胞의 染色體에 대한 오크라톡신 A의 毒성에 관한 研究

尹 和 重·盧 旻 燾*·金 岡 練**

建國大學校獸醫學科·智山看護保健專門大學*

高神大學醫學部解剖學教室**

(1989. 1. 23 접수)

Studies on toxicity of ochratoxin A to chromosomes of tumor cell-line

Wha-jung Yoon, Min-hee Roh*, Kang-ryun Kim**

Department of Veterinary Medicine, Kon Kuk University, Jisan Junior College,*

*Department of Anatomy, Kosin Medical College***

(Received Jan 23, 1989)

Abstract: This study was performed to investigate the toxicity of ochratoxin A (OA) to the chromosomes of K₅₆₂ tumor cell-line in vitro.

The results of this experiment were as follows:

1) Chromosomes of K₅₆₂ tumor cell-line resulted in pseudotriploidy on the control group. Chromosomes of K₅₆₂ tumor cell-line treated with OA resulted in heteroploidy compared with the control group.

The mean number of chromosomes in the karyotype of the control group (60) were 7 in the A group, 5 in the B group, 20 in the C+X group, 7 in the D group, 9 in the E group, 6 in the F group, and 6 in the G+Y group respectively.

The number of chromosomes were increased as follows:

Treating with 0.7 μ M OA, the number of chromosomes were increased one in E and F group, two in G+Y group compared with control group. In treated with 1.5 μ M OA, the increasing number of chromosome was one in E and F group. In treated with 3 μ M OA, E and F group was increased one and G+Y group were increased two chromosomes compared with control group. But in treated with 6 μ M OA, the number of chromosome in G+Y group was decreased one.

2) K₅₆₂ tumor cell line treated with OA showed Philadelphia-Chromosome in the long arm of the G group karyotype chromosome. The rate of chromosome aberration in K₅₆₂ tumor cell-line treated with OA was 77% in 0.7 μ M OA group, 71% in 1.5 μ M OA group, 82% in 3 μ M OA group and 94% in 6 μ M OA group respectively. The rate of chromosome aberration of K₅₆₂ tumor cell-line treated with OA was high in the high dose level of OA, and chromosome aberration of K₅₆₂ tumor cell-line treated with OA showed deletion, minute, dicentric-chromosome and translocation in the long arm of the C-group karyotype.

As a result of this study, the toxicity of OA showed deletion, minute, dicentric-chromosome and translocation in the long arm of the C-group karyotype, and then, the toxicity of OA

resulted in the damage to RNA and protein synthesis in K₅₆₂ tumor cell-line, and the C-group karyotype of K₅₆₂ tumor cell-line was target of the toxicity of OA.

Key words: ochratoxin A, K₅₆₂ tumor cell-line, chromosome karyotype, chromosome aberration, philadelphia-chromosome.

緒 論

Ochratoxin A(OA)는 *Aspergillus ochraceus*와 *Penicillium viridicatum*에 오염된 옥수수 및 밀 등의 곡류에서 생성된다고 Van der Merwe¹와 Van Walbeek²이 보고한 이래 많은 학자들에 의해 계속 연구되어 있다.³⁻⁴

OA는 주로 肝에 毒性이 있는 것으로 연구되어 왔으나, 최근에는 Huff⁵의 腎臟尿管에 대한 毒性, Doerr⁶등의 血液凝固遲延, Creppy⁷의 DNA 손상과 유전자에 대한 毒性, Allison⁸등의 發癌, 그리고 Umeda⁹등의 aflatoxin에 의한 돌연변이와 染色體異常의 研究報告가 있다. 최근에는 주로 OA가 오염된 곡류, 육류 및 식품에 관한 研究가 활발하게 진행되고 있다. 또한 곰팡이와 그 毒素의 오염은 국민보건과 수의 공중위생에 중요한 研究課題가 되고 있다.¹⁰

동물에 대한 OA 毒性은 오리¹¹, 닭¹², 개¹³, 메추리¹⁴ 칠면조¹⁵ 등이 가장 예민하게 반응하고, 실험동물인 설치류¹⁶, 소¹⁷, 양¹⁸이 내성이 크며, 돼지¹⁹, 산양²⁰, 생쥐¹⁶, quinea-pig²¹ 및 beagle 種犬²²에도 감수성이 있다고 보고되었으며, 한국에서도 오골계에 대한 OA 毒性의 研究報告가 있었다.²²

OA에 의한 染色體異常에 대한 研究는 거의 없으며, Miyake,²³ Uruguchi²⁴ 및 Umeda^{25,26}은 肝에서 發癌에 대한 研究를 하였고, Umeda⁹은 發癌과 DNA損傷 및 돌연변이에 대한 研究를 하였다. Bendle⁸에 의하면, IARC(international agency for research on cancer)에서 OA를 致癌物質이라고 結論 내렸다. 즉 mycotoxin인 aflatoxin 등을 利用하여 發癌과 DNA損傷, 그리고 染色體異常을 일으키는 돌연변이의 효율과 發癌性을 中心으로 포유동물의 細胞을 標的細胞로 한 研究報告는 있으나 OA에 의한 研究報告는 아직 없다.

本 研究에서는 초기단계에 머무르고 있는 OA 毒性이 動物 만아니라 人間에게도 급만성으로 피해를주고 있는 障礙와 發癌, 그리고 遺傳的인 영향을 주는 染色體異常 등에 어떤 영향을 주는지 細胞의 生物學的 活性을 糾明코자 하였다.

OA농도별 染色體異常을 檢査하고자 自然殺害細胞의 檢鏡에 利用되는 K₅₆₂ 細胞를 Moorhead²⁷의 조직배

양법, Rothfel²⁸의 공기 건조법과 Drets²⁹⁻³²의 染色體 區分法을 利用하여 OA 毒性을 糾明코자 本 研究을 試圖하였다.

材料 및 方法

腫瘍細胞: Human leukemia cell-line(K₅₆₂ 細胞)는 美國 Sloan Kettering Cancer Research Institute의 細胞 研究室에서 분양받아 培養하여 供試材料로 使用하였다.

곰팡이 毒素: Ochratoxin A는 미국 Sigma 會社에서 제조된 것을 구입하여 그 순도를 thin layer-chromatograph(TLC)에 의해 확인한 후, 溶媒劑로 PBS(phosphate buffer saline, pH 7.3) 10ml에 5mg의 OA를 溶解하여 毒素試料로 使用하였다.

細胞의 培養液: K₅₆₂ 細胞의 培養液은 RPMI-1640 medium (Gibco, U.S.A.)에 不活化시킨 송아지 血清 (Gibco, U.S.A.) 10%를 첨가하였고, 여기에 항생제로 penicillin (100unit/ml)과 streptomycin (100μg/ml) 및 2mM-L-glutamine과 2-mercaptoethanol(5×5⁻¹⁰M)를 첨가하였다.

腫瘍細胞의 培養: 試驗管內에서 染色體異常을 檢査하기 위하여 K₅₆₂ 細胞를 RPMI-1640 培地에 계대배양시 교환되는 배양액에 浮遊되는 細胞와 培養液을 프라스크에 넣고, 10% 송아지 血清과 항생제를 첨가하여 전체가 10ml 되도록 하였다. 이것을 5% CO₂배양기에서 37°C로 배양한 후 OA에 의한 毒性實驗을 하였다.⁷

K₅₆₂細胞의 染色體에 대한 毒性實驗: 培養된 K₅₆₂ 細胞를 ml당 3×10⁵ 개씩 96 well microplate에 분주한 다음 OA를 ml당 6μM, 3μM, 1.5μM 및 0.7μM 되게 細胞에 作用시켜, 5% CO₂ 배양기에서 37°C로 48시간 배양후 細胞를 수확하기 전 colchicine (Difco, U.S.A.; 10⁻⁵gr/ml) 0.4cc를 培養液에 첨가하여 細胞分裂을 억제시키고 90~120분 후 培養液을 10ml 프라스틱 원심 분리관에 옮겨 Rothfels²⁸의 空氣乾燥法에 따라 染色體 標本을 slide에 作成하여 분열상이 좋은 slides를 10매씩 선택하여 Drets²⁹의 染色體 區分法을 利用, 分裂 中期에 있는 染色體를 實驗群別로 100개의 細胞를 관찰하였다.

結 果

染色體의 數的 變化: OA에 의한 K₅₆₂細胞의 中期分裂像에서 관찰된 染色體의 數的 變化는 Table 1과 같다.

染色體數를 계산하는 데 오차를 줄이기 위하여 染色體數를 3개씩 한 군으로 하고, 平均值를 그 數로 정하여 群별로 분류하였다. 일반적으로 染色體數는 43개로부터 75개까지 넓은 범위로 관찰 되었다. 細胞의 증식 시간과 배양 시간과의 관계에서는 큰 차이가 없었고, 대조군과의 수적 변화도 큰 차이가 없었다. 즉 pseudotriploidy로 나타났으며, 대조군의 染色體數는 60개이었고 OA로 처리된 실험군인 0.7 μ M 군에서는 64개, 1.5 μ M 군에서는 62개, 3 μ M 군에서는 64개, 그리고 6 μ M 군에서는 59개로 나타났다. 각 實驗群의 核型分類는 形態의 腕內의 차이, 중심동원체의 위치와 染色體의 크기에 따라 分類하여 染色體의 變과 그 順位를 정하였다.

대조군의 染色體數는 60개이었는데 A군은 7개, B군, C+X군, D군, E군, F군 및 G+Y군에 있어서 각각 5개, 20개, 7개, 9개, 6개 및 6개로 나타났다. 0.7 μ M의 OA로 처리한 군에서 染色體數는 64개이었고 E와 F군에.있어서는 대조군보다 각각 1개씩, 그리고 G군에서는 2개가 증가하였고, 1.5 μ M의 OA로 처리한 군에서 染色體數는 62개이었고, E군과 F군에서는 각각 1개씩 증가하였다. 3 μ M/ml의 OA로 처리한 군에서 染色體數는 64개이었고, E군과 F군에서는 1개씩, 그리고 G군에서는 2개가 증가하였으며, 6 μ M의 OA로

처리한 군에서 染色體數는 59개로 대조군 비하여 G군에 1개가 감소되었다(Table 1 참조).

대조군에 대하여 OA처리군들의 染色體數는 heteroploidy로 나타났다.

染色體의 構造的 變化: K₅₆₂細胞에 OA로 作用시켰을 때 染色體의 構造的인 변화는 Table 2와 같다.

染色體의 構造的인 변화는 Fig 1에서 보는 바와 같이 G군의 長腕이 缺損된 것은 K₅₆₂細胞가 慢性骨髓性白血病 患者에게서 얻은 것이기 때문이다. Nowell등³²에 의하면 慢性骨髓性 白血病에 특이한 變異로 Philadelphia-chromosome이 나타난다고 하였다.

OA처리군에서 染色體異常은 전 실험군에 缺損과 染色體斷片이 두드러지게 나타났으며, 대부분 染色體의 長腕에 缺損이 현저하였다(Fig 2, 3, 4, 5). Table 2에서 보는 바와 같이 OA로 처리한 군인 0.7 μ M군과 1.5 μ M군의 染色體異常率은 각각 77%와 71%로 나타났고, 3 μ M군과 6 μ M군의 染色體異常率은 각각 82%와 94%로 나타났다. OA로 처리한 0.7 μ M과 1.5 μ M군에서 染色體 核型의 B군과 C군에서는 長腕의 缺損 및 染色體斷片이 나타났다(Fig 2, 3). 3 μ M로 처리한 染色體 核型의 C군에서는 長腕에 dicentric-chromosome과 缺損 및 染色體斷片이 나타났으며(Fig 4), 6 μ M 군에서는 C군의 長腕에 缺損과 轉座 등의 異常이 나타났다(Fig. 5).

K₅₆₂ 細胞에 대한 OA毒性은 농도가 높을수록 染色體異常이 심하게 나타났으며, K₅₆₂ 細胞의 染色體 C군의 核型에 缺損과 染色體斷片 등이 나타난 것으로 보아 C核型군이 OA의 標的部位라고 分析할 수 있다.

Table 1. The karyotype chromosomes in K₅₆₂ cell-line treated with OA

OA(μ M)	Group/chrom.	A	B	C+X	D	E	F	G+Y	Chromosomes count
	Control	7	5	20	7	9	6	6	60
	0.7	7	5	20	7	10	7	8	64
	1.5	7	5	20	7	10	7	6	62
	3	7	5	20	7	10	7	8	64
	6	7	5	20	7	9	6	5	59

Table 2. The rate of chromosome aberration in K₅₆₂ cell-line treated with OA

OA(μ M)	No/Aberration	Break 1	Break 2	Break 3	Break 4	Break 5	Total break	Not break	Total cell count
		%	%	%	%	%	%	%	
	0.7	49	28	0	0	0	77	23	100
	1.5	52	19	0	0	0	71	29	100
	3	44	32	3	0	2	82	18	100
	6	46	39	9	0	0	94	6	100

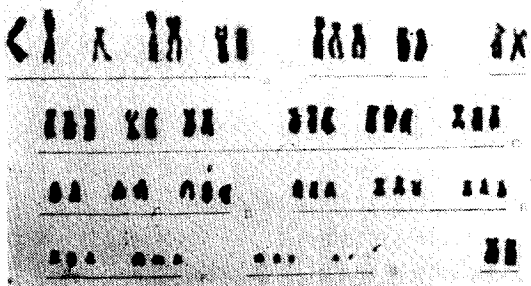


Fig 1. The karyotype of K₅₆₂ cell-line chromosome (control).

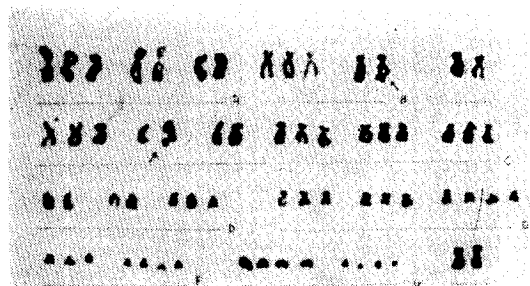


Fig 2. The karyotype of K₅₆₂ cell-line chromosome treated with OA (0.7 μ M).

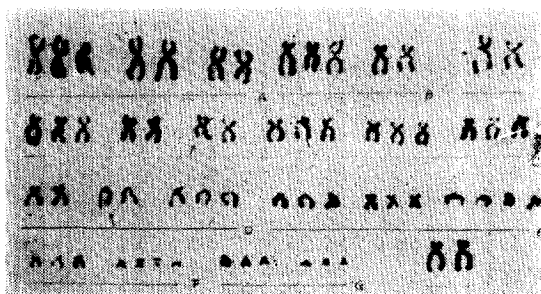


Fig 3. The karyotype of K₅₆₂ cell-line chromosome treated with OA (1.5 μ M).



Fig 4. The karyotype of K₅₆₂ cell-line chromosome treated with OA (3 μ M).



Fig 5. The karyotype of K₅₆₂ cell-line chromosome treated with OA (6 μ M).

考 察

K₅₆₂ 細胞의 染色體異常에 대한 OA의 毒性實驗結果를 다음과 같이 考察한다.

OA에 의한 K₅₆₂ 細胞의 中期分裂像에서 관찰된 染色體異常은 배양조건 때문에 細胞增殖 期間과 數的 變化는 別로 없었으나, 대조군과 OA처리군 모두가 pseudotriploidy로 나타났다.

대조군의 染色體數가 60개인데, 0.7 μ M의 OA로 처리한 實驗群이 64개, 1.5 μ M의 OA로 처리한 군이 62개, 3 μ M의 OA로 처리한 군이 64개, 그리고 6 μ M의

OA로 처리한 군에서는 59개로 모두가 heteroploidy를 나타냈다. 染色體 核型分類의 染色體 數的 變化에서 대조군의 60개 중에서 A군은 7개 B군이 5개, C+X군이 20개, D군이 7개, E군이 9개, F군이 6개, 그리고 G+Y군이 6개로 구성되었다.

0.7~3 μ M의 OA로 처리한 군에서는 대조군보다 E군과 F군의 染色體가 각각 1개씩 더 나타났고, G+Y군의 染色體 2개가 더 나타났다. 그러나 6 μ M의 OA로 처리한 군에서는 대조군에서 보다 G+Y군의 核型에 1개의 수적 감소를 나타냈다.

1914년 theoder Boveri³⁸는 정상 체세포가 종양세포로 전환되는 것은 돌연변이 때문이라고 보고하였으며, 실제로 대부분의 腫瘍細胞는 비정상적인 細胞分裂로 인한 다양성에 기인한다고 하였다.

Umeda⁹은 mycotoxin에 의한 染色體異常에 관한 論文에서, 고농도의 mycotoxin과 돌연변이와는 깊은 상관관계가 있으며, DNA 損傷과 돌연변이와는 상관관계가 없다고 했다. 그래서 돌연변이의 活力과 관련된 여러가지 化學物質의 영향이 어떤 배양세포를 利用하여 染色體를 分析할 수 있으며 細胞의 종류에 따라 감수성이 다르기 때문에 세포의 한정된 수가 돌연변이의 研究에 利用될 수 있고 染色體 分析도 가능하므로

중요시 되고 있다. 本 實驗에서는 體細胞에 OA로 처리하고 中期에 관찰하였으므로 큰 數의 변화가 없었다. Kim³⁴이 관찰한 核型 染色體數는 pseudotriploidy인 60개로 나타났다. Takegawa 등³⁵과 Ravazzola 등³⁶은 각각 aneuploid와 triploid에 가까운 66개였으므로 本 實驗과 數의 差 많은 차이를 나타냈다.

이상과 같이 染色體의 數의 변화는 實驗方法이나 細胞培養條件, 또는 細胞株의 계속되는 세대과정에서 야기된 것으로 사료된다. 本 實驗에서 K₅₆₂ 細胞의 染色體 核型의 數의 변화는 주로 E, F 및 G+Y군에 심한 장애를 받은 것으로 分析되었으며, 특히 細胞分裂 期間의 染色體의 數의 변화는 腫瘍細胞의 異常과 그 多樣性을 암시하고 있다고 사료된다.

OA에 의한 染色體의 構造의 변화는 대조군의 染色體가 G+Y군의 長腕缺損은 Nowell 등³²이 보고한 것과 같이 만성골수성 백혈병에 Philadelphia-chromosome이 나타난 것이 특징이다. Ravazzolo 등³⁶은 染色體에서 Philadelphia-chromosome을 관찰하지 못하였으나, Kim³⁴과 Takegawa 등³⁵은 染色體에서 Philadelphia-chromosome을 관찰하였던 바와 같이 本 實驗에서도 Philadelphia-chromosome을 관찰하였다.

試管에서 染色體의 변화는 生體內에서도 染色體異常이 나타난다고 하였으며, 腫瘍의 형성 및 증식기능에 중요한 遺傳物質로 double-minute를 보고하였으며, 특정한 染色體에 存在한다고 보고하였다.¹⁹ 本 實驗에서 染色體의 構造的 異常은 實驗群에 缺損과 染色體斷片이 두드러지게 長腕에 나타났다.

OA 투여군인 0.7 μ M군, 1.5 μ M군, 3 μ M 및 6 μ M군의 染色體의 構造的 異常率은 각각 77%, 71%, 82% 및 94%로 OA 농도가 높을수록 강하게 독성작용이 나타났으며, 核型分類에 따른 장애는 주로 B군과 C군에 缺損과 染色體斷片이 나타났다.

Aflatoxin B와 sterigmatocystin으로 처리한 FM3A 癌細胞에서 染色體異常이 나타났다고 Umeda 등⁹이 보고하였는데, OA로 처리한 本 實驗에서도 48시간에 가장 심한 染色體異常을 나타냈다. OA농도에 따라 染色體에 缺損과 染色體斷片, 그리고 2중중심동원 染色體 등이 주로 C核型群에 나타나, K₅₆₂ 細胞에 대한 OA毒性은 농도가 높을수록 異常率은 높았으며 C核型群이 OA毒性의 標的部位라고 分析되었다. Buckton 등³⁷은 染色體와 異常에 따라 2중중심동원체와 다중중심동원체, 혹은 ring-chromosome 등으로 區分하고 이러한 형태의 異常을 Cu細胞라 하였고 inversion이나 轉座등에 의하여 생긴 異常을 Cs細胞라 하였다.

대부분의 白血球는 生體內에서 分裂하지 않고 存在

하므로 ring-chromosome이나 dicentric-chromosome과 같은 染色體의 異常을 가진 Cu細胞가 오래 生存할 수 있으나 骨髓細胞는 生體內에서 계속 分裂하므로 dicentric-chromosome과 같은 異常의 染色體를 發見할 수 없다고 하였다. 그러나 本 實驗에서는 Cu細胞나 Cs細胞가 나타난 것은 OA毒性作用 때문이라고 사료된다. 自然狀態에서 種의 進化를 核型으로 분류해 볼 때 telocentric-chromosome들이 중심동원체 분열에 의해 meta 혹은 submetacentric chromosome이 된다고 알려져 있다.^{38,39}

骨髓細胞의 染色體異常이 生體內에 어떤 영향을 미치게 되는가는 확실하게 밝혀지지 않았지만 遺傳病을 가진 사람에게 높은 빈도로 異常이 일어난다고 하였다 이 遺傳病 患者에게서 발생빈도가 정상집단보다 높은 유전적 결합이 癌發生에 중요한 요인임을 알 수 있다.^{41,42} 人間의 경우에도 老化하는데 연령이 비례하여 이상빈도가 높으며, 깊은 상관관계가 있다고 하였으며,^{43,44} 細胞의 培養條件과 生體內에서 染色體異常, 즉 核型의 損傷은 그 腫瘍性과 상관관계가 있다고 하였다.⁴⁵⁻⁴⁷ 이런 관점에서 遺傳的인 결합이 癌發生의 重要한 要因임을 알 수 있는데, OA毒性에 의한 染色體異常이 癌發生과 관계가 있다고 생각된다.

OA에 의한 發癌과 돌연변이 및 DNA 損傷에 관한 研究는 1977년 Tsutsui Umeda 등⁴⁶에 의하여 보고되었다. Ames 등⁴⁷은 1975년에 미생물은 利用한 發癌과 돌연변이를 보고하였고, Tsutsui 등⁴⁶은 1977년에 포유동물 세포의 돌연변이를 보고하였으며, 그리고 Miyake 등²³은 돌연변이의 活力比較를 하였다.

이상으로 고찰한 결과, 本 實驗에서 G군의 標識된 染色體(Phi-chromosome)와 OA투여군의 C核型群에 長腕의 缺損, 染色體斷片, dicentric-chromosome 및 translocation 등의 損傷은 發癌과 돌연변이의 原因과 관계가 있다고 생각되며, OA는 染色體異常을 일으키는 毒性物質이라고 생각된다. 앞으로 核型中心으로 研究가 더 계속되어야 할 것으로 사료된다.

結 論

本 實驗은 自然殺害細胞 檢定の 標的細胞로 利用되는 Human leukemia cell-line (K₅₆₂ 細胞)의 染色體에 OA가 어떤 異常을 초래하는지 檢査하였으며 그 結果는 다음과 같다.

1. 染色體의 數의 변화는 큰 차이는 없었으나 대조군은 pseudotriploidy로 나타났으며, 대조군에 비하여 OA 처리군들은 heteroploidy를 나타냈다. 染色體數와 核型에서 대조군은 60개 중 A核型群이 7개, B核型群이 5

개. C+X核型群이 20개, D核型群이 7개, E核型群이 9개, F核型群이 6개 그리고 G+Y核型群이 6개로 나타났으며 0.7 μ M의 OA로 처리된군의 64개 중 E와 F군이 각각 1개씩, 그리고 G+Y核型群이 2개가 더 나타났다. 1.5 μ M의 OA로 처리된 군의 62개 중 E와 F군이 각각 1개씩 더 나타났으며, 3 μ M의 OA로 처리한 군의 64개 중, E와 F군이 각각 1개씩, 그리고 G+Y군이 2개가 더 나타났다. 그러나 6 μ M의 OA처리군의 59개 중, G+Y은 오히려 1개가 감소되었다.

2. K₅₆₂ 細胞의 染色體의 특징인 Philadelphia-chromosome이 나타났다. OA처리군의 染色體異常率은 0.7 μ M 군은 77%, 1.5 μ M군은 71%, 3 μ M군은 82% 그리고 6 μ M군은 94%로 각각 나타났다.

K₅₆₂ 細胞의 染色體에 대한 OA毒性은 농도가 높을수록 異常率이 높았으며, 특히 C核型群에서는 長腕의 缺損, 染色體斷片, 二重中心動原染色體 및 轉座 등의 이상이 나타났다.

이상과 같은 實驗結果에서 OA毒性은 細胞의 染色體異常으로 C核型群 缺損, 染色體斷片, 二重中心動原體 및 轉座 등의 構造의 變化를 주어 RNA 및 단백질 합성에 심한 장애를 주는 것으로 생각되며, C核型群이 OA毒性의 標的部位라고 생각된다.

參 考 文 獻

1. Van der Merwe KJ, Steyn PS, Fourie L. The Constitution of ochratoxins A, B and C. metabolites of aspergillus ochraceus Wilh. *J Chem Soc* 1965b; Part V:7083~7088.
2. Walbeek W, Scott PM, Harwig J, et al. Penicillium viridicatum westling: A new source of ochratoxin A. *Can J Microbiol* 1969; 15:1281~1285.
3. Ciegler A. Bioproduction of ochratoxin A and penicillic acid by members. *Can J Microbiol* 1972; 18:632~636.
4. Hesseltine CW, Bandegraff EE, Fennel DI, et al. Aspergillus ochratoxin producers. *Mycologia* 1972; 64:539~550.
5. Huff WE, Wyatt RD, Hamilton PB. Nephrotoxicity of dietary ochratoxin A in broiler chickens. *Appl Microbiol* 1975a; 30:48~51.
6. Doerr JA, Huff WE, Tung HT, et al. A survey of T-2 toxin, ochratoxin and aflatoxin for their effects on the coagulation of blood in young broiler chickens. *Poult Sci* 1974; 53:1728~1734.
7. Creppy EE, Knae A, Dirheimer G, et al. Genotoxicity of ochratoxin A in mice: DNA single-strand break evaluation in spleen, liver and kidney. *Toxicology Letter* 1985; 28:29~35.
8. Alison MB, Carlton WW, Krogh P, et al. Ochratoxin A carcinogenesis in the (57BL/6*C3H)₁ mouse. *JncI* 1985; 75:4.
9. Umeda M, Tsutsui T, Sarro M. Mutagenicity and inducibility of DNA single-strand breaks and chromosome aberrations by various mycotoxins. *Gann* 1977; 68:691~625.
10. Prior MC. Mycotoxin determinations on animal foodstuffs and tissues in Wertern Canada. *Canad J Comp Med* 1976; 40:75~79.
11. Theron JJ, Vander Merwe KJ, Lieberberg N, et al. Acute liver injury in ducklings and rats as result of ochratoxin poisoning. *J Path Bath* 1966; 91:521~528.
12. Huff WE, Wyatt RD, Tucker TL, et al. Ochratoxicosis in the broiler chicken. *Poult Sci* 1974; 53:1585~1591.
13. Szczech GM, Carlton WW, Tuite J. Ochratoxicosis in Beagle dogs. I. Clinical and clinicopathological features. *Vet Path* 1973b; 10:219~293.
14. Doster RC, Arscott CH, Sinnhuber RO. Comparative toxicity of ochratoxin and crude Aspergillus ochraceus culture extract in Japanese quail (Coturnix coturnix japonica). *Poult Sci* 1973; 52:2348~2351.
15. Chang CF, Doer JA, Hamilton PB. Experimental ochratoxicosis in turkey. *Poult Sci* 1981; 60:114~119.
16. Zimmermann JL, Carlton WW, Tuite J, et al. Mycotoxic diseases produced in mice by species of Aspergillus ochraceus group. *Fd Cosmet Toxicol* 1977; 15:411~418.
17. Ribelin WE, Fukushima K, Still Pe. The toxicity of ochratoxin A to ruminants. *Can J Comp Med* 1978; 42:127~136.
18. Munro IC, Scott PM, Moodie CA, et al. Ochratoxin A occurrence and toxicity. *JAVMA* 1973; 163:1269~1273.
19. Krogh P, Elling F, Hald B, et al. Time-dependent disappearance of ochratoxin A residues in tiss-

- ues of bacon pigs. *Toxicology* 1976; 6:235~242.
20. Nip WK, Chu FS. Fate of ochratoxin A in goats. *J Environ Sci Health(B)* 1979; 14:319~333.
 21. Carlton WW, Tuite J. Mycotoxicosis induced in guinea pigs and rats by corn cultures of *Penicillium viridicatum*. *Toxicol Pharmacol* 1970a; 16:345~361.
 22. Won SD. Studies on toxicity of ochratoxin A to Korean Native Ogolgyes(Black bone Chicken). *D thesis of the Veterinary Med Graduate School of Kon-Kuk University*. 1985.
 23. Miyake M, Saito M, Enonoto M, et al. *Acta Pathol Jpn* 1960; 10:75~123.
 24. Uruguchi K, Tatsuno T, Sakai F, et al. *Jpn J Exp Res* 1961; 31:12~46.
 25. Umeda M, Saito M. *Mutat Res* 1975; 30:249~254.
 26. Umeda M, Tsubui T, Enaka K. *Gam* 1975; 66:159~166.
 27. Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, et al. Chromosome preparation of leucocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960; 20:613~616.
 28. Rothfels KH, Siminovitch L. An air drying technique for flattening chromosomes in mammalian cells grown in vitro. *Stain Tec* 1985; 33(2):73~77.
 29. Drets ME, Shaw MW. Specific banding patterns of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci (wash)* 1971; 68:2073~2077.
 20. Dutrillaux B, Sejeune J. Cytogenetique en evidence de la structure fine des chromosomes humains par digestion enzymatique (Pronase en particulier). *C R Acad Sei Paris* 1971; 273: 587~588.
 31. Sebright M. A rapidbanding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971(2); 917.
 32. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132:1497.
 33. Wolf U. Theodor Boveri and his book on the problem of the origin of malignant tumors in chromosome and cancer (Editor German J). New York: John Wiley & Sons 1974; 3-20.
 34. Kim KR. A study on Chromosome of K₅₆₂ cells for the use of target cells in human natural killer cell assay. *J of Kosin Med College* 1986; vol. 2, No. 1, March.
 35. Takegawa S, Shinabara T, Miwa S. Hemin-Induced conversion of pyruvatekinase isozymes in K₅₆₂ cells. *Blood* 1984; 64(3):754-757.
 36. Roberto Ravazzolo, Mario Sessarego, et al. Demonstration of phosphoglucomutase in a subclone of the K₅₆₂ cell line. *Cancer Res* 1985; 45: 1296~1299.
 37. Buckton KE, Jacobs PA, Court Brown MM, et al. A study of the chromosome damage persisting after X-ray therapy for ankylosing spondylitis. *Lancet* 1962(2):676~682.
 38. Morescalchi A. Amphibia in cytotoxonomy and vertebrate edited by Chiarelli AB, Capanna E. New York: Academic Press, 1973; 233~248.
 39. German J. Bloom's syndrome. I. Genetical and clinical observation in first-twenty-seven patients. *Amer J Hum Genet* 1969; 21:196~227.
 40. Schroeder TM, Anschutz F, Kuopp A. Spontane chromosomen atterationen bei familiarer panmyelopathio. *Humangenetik* 1964; 10:194~196.
 41. Schroedder TM, Kurth R. Spontaneous chromosomal breakage and high incidence of leukemia inherited disease. *Blood* 1971; 37:96~112.
 42. Bochov MP, Kuleshov MP. Age sensitivity of human chromosomes to alkylating agents. *Mutation Res* 1972; 14:345~353.
 43. Curtis HJ. Biological mechanisms underlying the aging process. *Science* 1963; 141:686~694.
 44. Hauschka TS. The chromosome in ontogeny and oncogeny. *Cancer Res* 1961; 21:957~974.
 45. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* (Washington D.C.) 1976; 194:23~28.
 46. Tsutsui T, Umeda M, Maizumi M, et al. *Cam* 1977; 68:609-617.
 47. Ames NN, Lee FD, Durston WE. *Natl Acad Sci USA* 1973; 70:782~786.
 48. Uruguchi K, Saito M. Chromic toxicity and carcinogenicity in mice of the purified mycotoxins, luteoskyrin and cyclochrothin. *Food Cosmet Tosicol* 1972; 10:193~207.