

## 韓國 食品中の 有毒性 眞菌에 關한 研究

### VI. HeLa Cell 및 마우스를 利用한 Mycotoxin 分泌菌株 檢索

延世大學校 醫科大學 微生物學教室

趙世勳·高春明·崔泰周·柳 駿

=Abstract=

#### Studies on the Population of Toxigenic Fungi in Foodstuffs

##### VI. Screening Tests Using HeLa Cells and Mice for Detection of Mycotoxin-Producing Fungi

Seh-Hoon Cho, Choon-Myung Koh, Tae-Joo Choi and Joon Lew

*Department of Microbiology, Yonsei University College of Medicine*

Twenty culture filtrates among the various isolated strains from foodstuffs were submitted for toxicity screening using HeLa cells and mice.

Fourteen strains (70%) were toxic to both HeLa cells and mice, 17 strains (85%) to HeLa cell alone and 14 strains (70%) to mice alone.

As a mass screening this method employed is feasible to detect mycotoxin-producing fungi.

In most instances, the results obtained by HeLa cells were in good parallelism with those obtained by mice.

### I. 緒 論

우리들의 日常 食品中에서 發癌物質을 發見하고 특히 이들 物質이 眞菌類中의 代謝物質의 一種이라는 點은 geographic-pathology 와 疫學的인 面 그리고 이와 人體의 癌과의 關係를 究明하는데 重要한 點중의 하나라고 생각된다.

1961年 Sargeant 等에 依하여 Turkey X- disease 의 原因이 動物사료에 汚染된 眞菌의 一種인 *Aspergillus flavus* 의 毒素에 依한다고 하고, 이가 aflatoxin 이라고 究明된 以來, 이에 對한 研究는 많은 學者들에 의하여 行하여졌고, 이들 眞菌에서 分泌되어 疾病을 야기한다고 하는 mycotoxicosis 에 對한 問題가 대두되기

시작하였다. 우리나라에서도 1969年 Seel 박사의 韓國人의 胃癌發生頻度가 比較的 높은 것은 우리나라 醱酵食品中에 汚染되어 있는 眞菌들에 依한 aflatoxin 에 依한다고 報告된 以來, 이에 연구가 進行되어 aflatoxin 分泌可能菌株들을 食品에서 分離할 수 있었다고 報告된 바 있기는 하나 아직 aflatoxin 을 食品中에서 分離 報告 例는 볼 수 없다.

Clifford 및 Rees(1966), Dickens 및 Jones(1961), Madhavan 및 Gopalani(1965), Newberne 等(1966), Barnes 및 Butler(1964), Butler 및 Clifford(1965), 그리고 Ueno 等(1971)은 rat 에 毒素을 주사 혹은 섭취 시킴으로써 이들 각종 기관의 病變 및 腫瘍 發生에 對한 效果를 연구하고, Newberne 等(1964)은 duckling, Jackson 等(1968)은 rainbow-trout, DiPavlo 等(1967)은

hamster, Tulpule 등(1964), Svoboda 등(1966)은 monkey, 그리고 Lewis 등(1967)은 sheep 이의 여러 實驗動物들 을 사용하여 이의 研究를 進行한 바 있다.

한편, 組織培養細胞를 利用한 aflatoxin 의 效果 역 시 Juhasz 및 Greezi(1964)는 calf kidney cell, Legator 및 Withrow(1964)는 human lung cell, Zuckerman 등 (1967)은 human kidney cell, Dilimpo(1968) 그리고 Promchainant 등(1972)은 human leukocyte, Shibko (1968), Bassier 및 Adekunla(1970)는 chick embryo cell, Harley 등(1969) 그리고 Saito 등(1971)은 HeLa cell 등을 利用하여 mycotoxin 의 組織培養細胞에 對한 특-신의 效果를 研究하였다. 이 以外 몇 學者에 依하여서는 動物, 組織培養細胞를 使用 mycotoxin 의 bioassay 方法을 發展시키려고 試圖한 바 있다.

이에 著者들은 各種 食品에서 分離된 眞菌中 mycotoxin 을 分泌할 可能性이 있다고 생각되는 *Aspergillus* spp. *Penicillium* spp. 및 *Alternaria* spp. 등을 使用하여 Saito 등(1971)과 Umeda(1970) 등이 利用한 方法을 變化시켜 HeLa 細胞株와 마우스를 使用, 分離 菌株들의 mycotoxin 生産에 의한 HeLa cell 의 形態學的 變化 및 마우스의 各種 臟器의 病變을 調査하였던 바 그 結果를 얻을 수 있었기에 여기 報告하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### A. 實驗材料

#### 1. 實驗에 使用된 菌株 :

實驗에 使用된 各種 菌株는 各種 食品에서 分離하여 屬名을 同定하고 教室에서 繼代中인 菌株 *Aspergillus* pp. 9株, *Penicillium* spp. 9株 및 *Alternaria* spp. 2株와 對照群으로서 *A. flavus* ATCC 15517, *A. parasiticus* RIB 1037, *A. versicolor* IFO 4105 및 *A. fumigatus* NRRL 163을 使用하였다.

#### 2. 實驗에 使用된 細胞株 및 實驗動物 :

實驗에 使用된 組織培養 細胞株인 HeLa 細胞株는 國立保健研究院에서 분양받아 本 教室에서 現在까지 繼代培養하고 있는 細胞株이었으며, 實驗動物인 마우스는 日本 國立癩病研究所(National Institute for Leprosy Research, Japan)로부터 분양받은 ICR株를 使用하였다.

#### 3. 實驗에 使用된 培養 및 試藥 :

實驗에 使用된 培地로서는 眞菌培養 및 組織培養 細胞의 培養을 위한 一切의 培地는 Difco 會社製品の 商

品을 使用하였으며, 기타 所要된 試藥들은 市販 一級 試藥을 使用하였다.

### B. 實驗方法

#### 1. Screening test 를 위한 試料 準備 方法 :

實驗코저하는 菌株를 modified Czapek-dox medium\* 에 接種 25°C에서 3週間 靜置 培養하였다. 各各 靜置 培養한 菌 培養液(各 160 ml)을 여과지를 통하여 여과 하고, 다시 Seitz filter apparatus 로 여과하여 이 여과액 을 1% 및 10%溶液으로 희석하여 실험에 使用하였다.

#### 2. HeLa cell 에 對한 細胞毒性 實驗 方法 :

HeLa cell 을 LEY-media 에 10% 牛血清 및 抗生劑 를 加하여 培養한 다음 이를 trypsin 으로서 37°C에서 20分間 處理하여 HeLa cell 을 培養器로부터 採取하고, 이를 1 ml 당  $2.5 \times 10^6$  cell 이 되게 다시 培地로서 희석 한 후 이의 0.5 ml 와 各各 1% 및 10%로 희석된 배양 여과액을 混合하여 Leighton tube 에 注入하여 37°C incubator 에서 3~4日間 培養한 다음 H-E 染色을 實施 하여 Toplin(1959)法에 의하여 細胞毒性 程度를 測定 하였다(第 1 表).

이를 圖示하여 보면 아래와 같다.

#### 3. ICR-마우스株를 使用한 毒性檢査 方法 :

生後 4週 程度의 ICR-마우스를 使用하여 배양여과액 을 30% polyethylene glycol 6,000 溶液으로서 농축시

Table 1. The main criteria for cytotoxic rating system

Grade	Definition
0	Cells firmly adhering to the plastic with clear detains, and forming a sheet-like monolayer.
1	Cell growth inhibited, but majority of cells adhering to the plastic, some granulation and rounding up of cells.
2	Cells suspended and generally clumped with pronounced granularity and loss of cell detail, increasing cellular debris.
3	Mainly single, suspended, shrunken cells with irregular membranes; some disintegrating cell clusters and considerable cellular debris.
4	Complete cytolysis; all debris.

Toplin (1959) : Cancer Research, 19 : 959

Components of culture media for fungus cultures.

\* Modified Czapek-dox media

NaNO <sub>3</sub>	2.0 gm	ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.01 gm
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 gm	CuSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.005 gm
KCl	0.5 gm	glucose	50.0 gm
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.5 gm	malt extract	0.5 gm
FeSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.01 gm	yeast extract	0.2 gm
		Dist. water	1000 ml

III. 實驗成績

A. HeLa cell에 對한 細胞毒性 成績 :

1. 標準菌株에 對한 成績

實驗에 使用된 標準菌株에 對한 細胞毒性的 成績을 보면, aflatoxin을 주로 分泌한다고 알려진 *Aspergillus flavus* ATCC 15517 및 *Aspergillus parasiticus* RIB 1037는 1% filtrate에서 cytotoxicity grade 1, 10% filtrate에서는 grade 2를 나타내었으며, *Aspergillus versicolor* IFO 4105는 1% filtrate에서 grade 2, 10% filtrate에서는 grade 3이었고, *Aspergillus fumigatus* NRRL 163은 10% filtrate에서만 cytotoxicity grade 1을 나타내었다(第2表).

Table 2. Result of toxicity test on HeLa cells to the reference strains

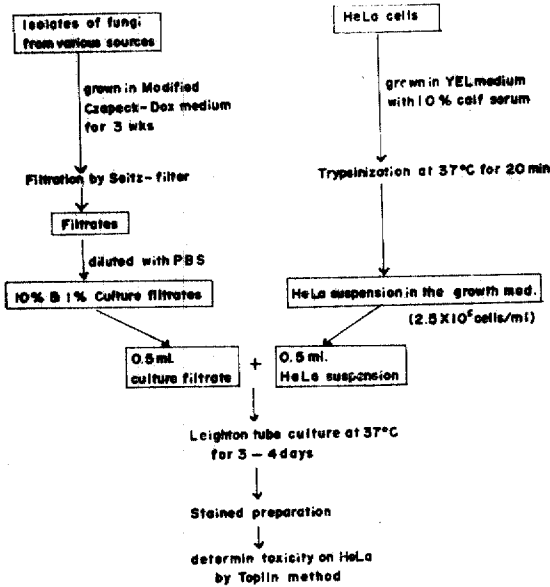
Name of Strains	Grade of toxicity on HeLa cells	
	10% F*	1% F*
<i>Asp. flavus</i> ATCC 15517	2	1
<i>Asp. parasiticus</i> RIB 1037	2	1
<i>Asp. versicolor</i> IFO 4105	3	2
<i>Asp. fumigatus</i> NRRL 163	1	0
Control	0	0
Test Control	0	0

\*: Culture filtrate.

2. 實驗菌株에 對한 成績 :

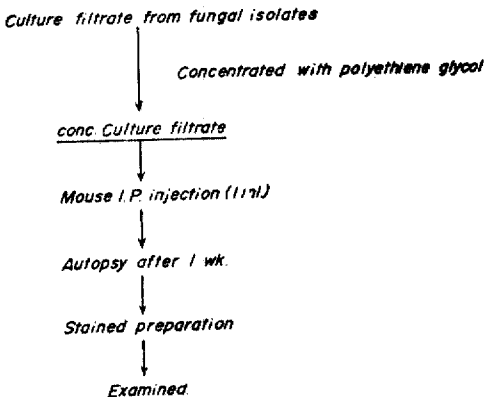
各種 食品中에서 分離한 菌株에 對한 成績을 보면, *Asp. A-8*, *Asp. A-35*, *Asp. A-66*, *Asp. N<sub>1</sub>-7* 및 *Alternaria sp. N<sub>1</sub>-11*等 菌株는 10% filtrate에서 grade 2 및 1% filtrate에서는 grade 1이었으며, *Asp. N-25-2*, *Alternaria sp. C-10* 및 *Pen. RC-8*은 10% filtrate와 1% filtrate에서 共히 grade 1을 나타내고 있었고, *Pen. P-67* 및 *Asp. N<sub>1</sub>-2*는 共히 10% filtrate에서 grade 1을 나타내었다. 그리고 *asp. N<sub>1</sub>-25-5*, *Asp. N-25-1* 및 *Pen. P-39*는 아무 檢査結果 毒性을

Experimental Design



킨 후 이 농축액의 1 ml (20 gm 당 1.0 ml을 기준으로 함)~1.5 ml을 마우스의 腹腔內에 주사하고 1週日후에 도살하여 肺, 肝, 心臟, 胃, 腎臟 및 卵과절을 檢査, 一般的인 病理組織學의 方法에 의하여 標本을 作成, 各種 장기로부터의 病理組織學的 變化를 觀察하고 이로서 毒性 效果를 결정하였으며, 이 方法을 도시(圖示)하여 보면 다음과 같다.

in vivo test



나타내지 않았으나 Asp. A-49 및 Pen. P-63은 10% filtrate에서 grade 3 및 1% filtrate에서 grade 2로서 가장 毒性이 強하였다(第3表).

### B. ICR-마우스株에 對한 實驗成績

#### 1. 標準菌株에 對한 成績 :

標準菌株에 對한 實驗成績을 보면, aflatoxin을 分泌한다고 알려진 *Aspergillus flavus* ATCC 15517와 *Aspergillus parasiticus* RIB 1037는 肝細胞에 對하여 심한 病變을 야기시켜 degenerative change of parenchymal cell 내지 necrosis를 일으켰으며, *Aspergillus versicolor* IFO 4105 역시 肝細胞에 對하여 degenerative change 現象을 야기하였으나, *Aspergillus fumigatus*

Table 3. Result of toxicity test on HeLa cells to the isolated strains

Name of Strains	Grade of toxicity on HeLa cells		
	10% F*	1% F*	
<i>Aspergillus</i> sp.	A-8	2	1
	A-35	2	1
	A-49	3	2
	A-66	2	1
	N <sub>1</sub> -25-5	0	0
	N <sub>1</sub> -2	1	0
	N <sub>1</sub> -7	2	1
	N-25-1	0	0
<i>Penicillium</i> sp.	N-25-2	1	1
	P-32	1	0
	P-39	0	0
	P-63	3	2
	P-66	1	0
	P-67	1	0
	P-68	1	0
	P-71	1	0
	P-75	1	0
	RC-8	1	1
<i>Alternaria</i> sp.	N <sub>1</sub> -11	2	1
	C-10	1	1

\*: Culture filtrate

NRRL 163은 별 다른 病理學的 所見을 볼 수 없었다(第4表).

#### 2. 實驗菌株에 對한 成績 :

分離菌株中 實驗에 使用된 菌株 20株에 對한 實驗成

Table 4. Result of toxicity test on ICR mice to the reference strains

Name of Strains	Grade of toxicity on ICR mice
<i>Asp. flavus</i> ATCC 15517	卅
<i>Asp. parasiticus</i> RIB 1037	卅
<i>Asp. versicolor</i> IFO 4105	卅
<i>Asp. fumigatus</i> NRRL 163	—
Control	—

績을 보면, 이중 6株는 病理學的인 病變을 各種 장에서부터 發見할 수 없었으나(Asp. N<sub>1</sub>-25-5, Asp. N<sub>1</sub>-2, Asp. N-25-1, Pen. P-32, Pen. P-63, 및 Pen. P-71) 그 이외의 菌株들은 大部分이 肝細胞에 病理學的 變化를 觀察할 수 있었다.

그중, Asp. A-49 및 Pen. P-63은 가장 變化가 심하여 肝細胞의 괴저현상이 현저하였으며 Asp. A-66과 Asp. A-8는 degenerative change of liver parenchymal cells 를 초래하였으며, 나머지 各 菌株(Asp. A-35, Asp.

Table 5. Result of toxicity test on the ICR mice to the isolated strains

Name of Strains	Grade of toxicity on the ICR mice	
<i>Aspergillus</i> sp.	A-8	卅
	A-35	+
	A-49	卅
	A-66	卅
	N <sub>1</sub> -25-5	—
	N <sub>1</sub> -2	—
	N <sub>1</sub> -7	+
	N <sub>1</sub> -25-1	—
	N-25-2	+
	<i>Penicillium</i> sp.	P-32
P-39		—
P-63		卅
P-66		+
P-67		+
P-68		+
P-71		—
P-75		+
RC-8		+
<i>Alternaria</i> sp.		N <sub>1</sub> -11
	C-10	+

N<sub>1</sub>-7, Asp. N-25-2, *Alternaria* sp. N<sub>1</sub>-11, *Alternaria* sp. C-10, Pen. RC-8, Pen. P-66, Pen. p-67, Pen. P-68 및 Peni. P-75)는 肝細胞의 proliferating cell damage 現象을 招來함을 볼 수 있었다(第5表).

### C. HeLa cell에 대한 細胞毒性和 實驗動物에 대한 毒性과의 相互關係 成績

HeLa cell의 細胞毒성에 대한 成績과 實驗動物에 대한 相互關係를 보면, HeLa cell에 대한 細胞毒性이 심하게 나타난 菌株일수록 實驗動物에 대한 毒性 역시 심하게 나타남을 관찰할 수 있었으나(Asp. A-49, Peni. P-63, Asp. A-8, Asp. A-66) 기타 Peni. P-32, Peni. P-71 및 Asp. N<sub>1</sub>-2와 같이 HeLa cell에 대하여는 細胞毒성을 나타내나 動物에 대하여는 毒성을 나타내지 않은 菌株들도 觀察할 수 있었다. 그러나 全般的으로 보아 HeLa cell에 대한 細胞毒性 成績과 마우스에 대한 動物接種 實驗成績은 一致하는 경향을 나타내었다(第6表).

Table 6. Relationship of the result of toxicity test on HeLa cells and that of ICR mice

Mice	HeLa cells					Total
	Grade of toxicity					
	-	+	++	+++	++++	
-	3	0	0	0	0	3
+	3	7	0	0	0	10
++	0	3	2	0	0	5
+++	0	0	0	2	0	2
++++	0	0	0	0	0	0
Total	6	10	2	2	0	20

## IV. 考 索

우리들의 常食 음식물중에 汚染된 眞菌들이 發癌성을 內包하고 있다고 報告된 以來, 여러 學者들에 의하여 이에 대한 많은 研究가 進行되었으며, 各種 實驗動物들 사이의 癌유발 報告 등은 이미 發表된 바 있다.

우리나라에서도 1969年 Seel 박사에 의하여 韓國人들에게서의 胃癌患者의 發生頻度가 높은 것은 이에 依한다고 報告한 바 있다.

Butler 등(1969)은 rat에서 순수한 aflatoxin을 섭취시켜 30마리중 19마리에서 癌이 유발됨을 볼 수 있었다고 주장하고, Clifford 및 Rees(1967)는 aflatoxin 單回 注入으로 腹腔內괴저(peritoneal necrosis) 및 RNA

의 生産을 저지시킨다고 主張하였으며, 역시 Clifford 및 Rees(1966)는 aflatoxin의 作用 部位는 DNA와 이 toxin이 結合, RNA polymerase를 저해시킨다고 主張하였다.

Svoboda 등(1966)은 원숭이의 肝臟細胞에서 역시上記 研究者들과의 비슷한 結果를 볼 수 있었다고 發表하고, 이의 急性 毒性은 人體에 있어서 viral hepatitis 現象과 비슷하게 나타난다고 主張하였다. Wogan 및 Pong(1970)은 rat, duck, trout 및 ferret에서도 0.035 p.p.m.을 주입하였을 경우, duck에서 14個月 후 肝癆 現象을 볼 수 있었다고 하고 이의 trout에서는 20 p.p.m.을 주입할 경우 20個月 후 hepatoma를 유발시킬 수 있었다고 하였으며, Newberne 및 Butler(1969)은 Turkey에서 toxin 注入후 23週부터, duckling에서는 48時間 후부터 肝細胞에 hemorrhagic periportal necrosis 및 parenchymal cell necrosis가, chicken의 경우 lymphoid hyperplasia 및 regeneration of parenchymal cell, cattle에서는 increase in connective tissue, degenerative of hepatic cell의 現象들이 일어나 mouse 및 sheep에서는 比較的 抵抗성을 나타내어 多量의 toxin을 주입시킨 경우 liver tumor의 發生을 볼 수 있다고 하였다. 한편, Saito 등(1971) 역시 HeLa cell과 마우스를 使用 toxin 生成菌株를 檢索하는 實驗에서 마우스의 경우 肝細胞에 장애를 가져온다고 하고, Kurata 및 Ichinoe(1967)은 日本 粉狀食品에서 分離한 菌株들에서 얻은 toxin을 마우스에 注入하여 심한 毒성을 나타내는 菌株의 發見이 可能하다고 主張한 바 있기도 하다.

이 이의 食品에서 分離한 *Pen. islandicum*, *Fusarium* sp. *Asp. ochraceus* 등을 使用하여 Uruguchi 등(1961), Ueno 등(1971, 1972), 그리고 Natori 등(1970)은 cytotoxicity test를 實施上記와 同一한 結果를 얻을 수 있었다고 發表하였는데, 本 實驗結果에서도 總 實驗菌數 20株中 4株(Asp. A-8, Asp. A-49, Asp. A-66 및 Pen. P-63)가 中等度 以上の 病變을 마우스에 招來하였다는 點 등은 他 研究者들의 發表와 一致하는 點이라 하겠다.

한편, HeLa cell에 대한 배양 여과액에 대한 細胞毒性 實驗도 또한, Legator(1966)은 aflatoxin에 노출된 후 48時間 後부터 變化를 나타내어 non-dividing cell의 增加, 巨大細胞의 出現, DNA 合成의 저해, 有絲分裂의 억제 등을 가져옴과 同時に carcinogenic effect를 나타낸다고 하였으며, Zuckerman 등(1968)은 human embryo liver cell의 組織培養에서 hepatocyte의 DNA 및 RNA 合成을 저해함을 볼 수 있었다고 하고, 이는 나아가서 protein 合成의 방해를 일으킴을 볼 수 있었다고 주장

하였다. Dolimpio(1968) 그리고 Promchainant 등(1972)은 human leukocyte culture에서 染色體의 breakage 및 translocation에 의하여 有絲分裂의 저해를 가져오며, 특히 染色體 番號 1番과 2番에 심한 영향을 준다고 하였다. Harley 등(1969)은 aflatoxin B와 actinomycin D와의 HeLa cell 상에서의 毒性 實驗에서 aflatoxin은 ribosome과 heterodisperase RNA의 合成을 저해한다고 하고, 역시 protein synthesis를 억제하며 이의 정도는 actinomycin D보다 強力하다고 發表하였다. 한편, Natori 등(1970)은 Aspergillus ochraceus로서 cytotoxicity test를 實施하고 이 菌株에서 分泌되는 ochratoxin 및 penicillic acid는 HeLa cell에 對하여 심한 毒性을 일으킨다고 하고, Saito 등(1971) 역시 食品中에서 分離한 菌株을 사용한 HeLa cell에 對한 細胞毒性 實驗結果 133株中 15株가 毒性을 나타낸다고 하였는데, 본 實驗에서도 총 實驗菌株 20株中 中等度 以上の 毒性을 나타내는 菌株을 7株나 發見할 수 있었고, 이들 菌株에 對한 마우스의 毒性 實驗 結果 兩者가 一致하는 點等은 他 研究者들의 實驗 結果와 同一한 點이라 하겠다.

以上の 實驗結果를 綜合하여 볼 때, 食品中에서 分離된 眞菌들의 有毒性 여부를 判定하는데 HeLa cell을 利用하는 方法과 動物을 使用하는 것 등은 優秀한 方法中的 하나라고 생각되나, 이를 實施하는데는 조작상의 많은 難點과 最少限度의 組織培養 system이 있는 研究室을 가지고 있어야 한다는 點등 어려운 點이 있는 것으로 생각되며, 이러한 여러 問題點들을 解決 좀더 손쉬운 方法으로 精確하고 빠르게 判定하는 方法이 모색되어야 할 것이라고 思慮된다.

## V. 結 論

食品中에서 分離한 眞菌中 一部の 菌株들에 對하여 HeLa cell과 ICR-마우스를 利用하여 毒性生成菌株의 여부를 檢索하여 보았던 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 總 實驗菌株 20株中 HeLa cell에 對하여 中等度 以上の 毒性을 나타내는 菌株은 7株(Asp. A-8, Asp. A-35, Asp. A-49, Asp. A-66, Asp. N<sub>1</sub>-7, Pen. P-63, 및 Alternaria sp. N<sub>1</sub>-11)이었다.
2. 分離菌株中 ICR-마우스株에 대한 毒性 實驗結果를 보면, 20株中 4株(Asp. A-8, Asp. A-49, Asp. A-66 및 Pen. P-63)가 毒性을 나타내었다.
3. HeLa cell에 對한 毒性和 ICR-마우스에 對한 毒性에 對한 相互關係를 보면 서로 一致하는 點을 볼 수

있었다.

(本 論文을 完成함에 있어 病理學的인 判讀을 도와 주신 本 醫科大學 病理學敎室의 한운섭 선생께 감사를 드립니다.)

## REFERENCES

- Barnes, J.M. and Butler, W.H.: *Carcinogenic activity of aflatoxin to rat. Nature*, 202, 1016, 1964.
- Butler, W.H., Greenblatt, M. and Lijinsky, W.: *Carcinogenesis in rats by aflatoxin B<sub>1</sub>, G<sub>1</sub> and B<sub>2</sub>. Cancer Res.*, 29, 2206, 1969.
- Butler, W.H. and Clifford J.I.: *The extraction of aflatoxin from rat liver. Nature*, 206, 1045, 1965.
- Clifford, J.I. and Rees, K.R.: *The action of aflatoxin B<sub>1</sub> on the rat liver. Biochem. J.*, 102, 65, 1967.
- Clifford, J.I. and Rees, K.R.: *Aflatoxin: a site of action in the rat liver cell. Nature*, 209, 312, 1966.
- Dickens, F. and Jones, H.E.H.: *Carcinogenic activity of a series of reactive lactones and related substances. Brit. J. Cancer*, 15, 85, 1961.
- Dilimpio, D.A.: *Effect of aflatoxin on human leukocytes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 127, 559, 1968.
- DiPavlo, J.A., Elis, J. and Erwin, H.: *Teratogenic response by hamsters, rats and mice to aflatoxin B<sub>1</sub>. Nature*, 215, 638, 1967.
- Harley, E.H., Rees, K.R. and Cohen, A.: *A comparative study of the effect of aflatoxin B and actinomycin D on HeLa cells. Biochem. J.*, 114, 289, 1969.
- Jackson, E.W.: *The relationship of hepatoma in rainbow trout to aflatoxin contamination and cottonseed meal. Cancer Res.*, 28, 987, 1968.
- Juhasz, S. and Greczi, E.: *Extracts of mould-infected groundnut samples in tissue cultured. Nature*, 203, 861, 1964.
- Kurata, H. and Ichinoe, M.: *Studies on the population of toxigenic fungi in foodstuffs. J. Fed. Hyg. Soc. Jap.*, 8, 237, 1967.
- Legator, M.: *Biological effects of aflatoxin in cell*

- culture. *Bact. Rev.*, 30, 471, 1966.
- Legator, M.S. and Withrow, A.: *Aflatoxin: Effect on mitotic division in cultured embryonic lung cells.* *J. AOAC*, 47, 1007, 1964.
- Lewis, G., Markson, L.M. and Alleroft, R.: *The effect of feeding toxic groundnut meal to sheep over a period of five years.* *Vet. Record*, 80, 312, 1967.
- Madhavan, T.V. and Gopalan, C.: *Effect of dietary protein on aflatoxin liver injury in weanling rats.* *Arch. Pathol.*, 80, 123, 1965.
- Natori, S., Sasaki, S., Kurata, S., Udagawa, S., Ichinoe, M., Saito, M. and Umeda, M.: *Chemical and cytotoxicity survey on the production of ochratoxins and penicillic acid by Aspergillus ochraceus Wilhelm.* *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 18, 2259, 1970.
- Newberne, P.M. and Butler, W.H.: *Acute and chronic effects of aflatoxin on the liver of domestic and laboratory animals: A review.* *Cancer Res*, 29, 236, 1969.
- Newberne, P.M., Harrington, D.H. and Wogan, G. N.: *Effects of cirrhosis and other liver insults on induction of liver tumor by aflatoxin in rats.* *Lab. Invest.*, 15, 962, 1966.
- Newberne, P.M., Carlton, W.W. and Wogan, G.N.: *Hepatomas in rats and hepatorenal injury in duckling fed peanut meal or Aspergillus flavus extract.* *Pathol. Vet.*, 1, 105, 1964.
- Promchainant, C., Baimai, V. and Nondasuta, A.: *The cytogenetic effects of aflatoxin and gamma-rays on human leukocytes in vitro.* *Mutation Res.*, 16, 373, 1972.
- Saito, M., Ohtsubo, K., Umeda, M., Enomoto, M., Kurata, H., Udagawa, S., Sakabe, F. and Ichinoe, M.: *Screening tests using HeLa cells and mice for detection of mycotoxin producing fungi isolated from foodstuffs.* *Jap. Exp. Med.*, 41, 1, 1971.
- Shibko, S.I.: *Studies on the effect of aflatoxin B<sub>1</sub> on the development of the chick embryo.* *Proc. Soc. Exp. Med.*, 127, 835, 1968.
- Svoboda, D., Grady, H.J. and Higginson, J.: *Aflatoxin B<sub>1</sub> injury in rat and monkey liver.* *Am. J. Pathol.*, 49, 1023, 1966.
- Toplin, I.: *A tissue culture cytotoxicity test for large-scale cancer chemotherapy screening.* *Cancer Res.*, 19, 959, 1959.
- Tulpule, P.G., Madhavan, T.V. and Gopalan, C.: *Effect of feeding aflatoxin in young monkeys.* *Lancet*, 7430, 962, 1964.
- Ueno, Y., Ueno, I., Iitoi, Y., Tsunoda, H., Enomoto, M. and Ohtsubo, K.: *Toxicological approaches to the metabolites of Fusaria.* *Jap. J. Exp. Med.*, 41, 521, 1971.
- Ueno, Y., Sato, N., Ishii, K. and Enomoto, M.: *Toxicological approaches to the metabolites of Fusaria.* *Jap. J. Exp. Med.*, 42, 461, 1972.
- Umeda, M., Saito, A. and Saito, A.: *Cytotoxic effects of toxic culture filtrate of Pen. purpurogenum and its toxic metabolite, Rubratoxin on HeLa cells.* *Jap. J. Exp. Med.*, 40, 409, 1970.
- Uraguchi, K., Sakai, F., Sukioka, M., Noguchi, Y., Tatsuno, T., Saito, M., Ishiko, T., Enomoto, M., Shikata, T. and Miyake, M.: *Acute and chronic toxicity in mice and rats of the fungus mat of P. islandicum added to the diet.* *Jap. J. Exp. Med.*, 31, 435, 1961.
- Wogan, G.N. and Pong, R.S.: *Aflatoxins.* *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 174:623, 1970.
- Zuckerman, A.J., Rees, K.R., Inman, D.R. and Robb, I.A.: *The effects of aflatoxins in human embryo liver cells in culture.* *Brit. J. Exp. Pathol.*, 49, 33, 1968.





사진 1. 정상 대조군 HeLa 세포. H-E 염색, 100×

사진 2. 동 장 확대. H-E 염색, ×430

사진 3. 실험군주 Pen. P-63의 10% 배양 여과액으로 처리하여 얻은 독성 "3"의 HeLa 세포. H-E 염색, 100×.

사진 4. 동 장 확대. H-E 염색, 430×

사진 5. 표준군주 Asp. parasiticus 의 10% 배양 여과액으로 처리하여 얻은 독성 "3"의 HeLa 세포. H-E 염색, 430×.

사진 6. 실험군주 Pen. P-39의 10% 배양 여과액으로 처리하여 얻은 독성 "O"의 HeLa 세포. H-E 염색, 430×.

사진 7. 표준균주 *Asp. parasiticus* 의 간신했에 국소적  
인 피사와 염증을 볼 수 있다. H-E 염색, 100×.

사진 8. 실험균주 *Pen. P-63* 의 간세포의 국소적 피사  
와 염증현상을 볼 수 있다. H-E 염색, 100×.

사진 9. 실험균주 *Asp. A-49* 의 간세포의 간신했에 국  
소적인 피사 및 심한 염증을 볼 수 있다. H-E  
염색, 430×.

사진 10. 실험균주 *Asp. A-66* 의 간세포의 피사 및  
염증현상을 볼 수 있다. H-E 염색, 430×.