食用油脂を投与した有精鶏卵による Aflatoxin B₁ の毒性及び代謝研究^{*1}

(昭和 57 年 8 月 12 日受理)

三浦利之^{*2} 土田雅子^{*2} 栗飯原景昭^{*2}

Studies on Toxicity and Metabolism of Aflatoxin B₁ in Fertile Eggs Preinjected with Edible Fats

(Basic Studies on Toxicity Tests Using Chicken Embryo. III)

Toshiyuki MIURA, Masako TSUCHIDA and Kageaki AIBARA

(Department of Biomedical Research on Food, National Institute of Health:
10-35, Kamiosaki 2-chome, Shinagawa-ku, Tokyo, Japan)

In order to clarify the effect of dietary fats on the acute toxicity and metabolism of aflatoxin B₁ in animals, we have attempted to use fertile eggs because of technical ease in the experimental procedure.

Four-day-old fertile eggs (White Leghorn) were injected into the yolk sac with 0.4 ml of soybean oil, beef tallow or saline and after 2 weeks the pretreated embryos were sacrificed to prepare the hepatic soluble microsomal fraction (S-9). When aflatoxin B₁ was treated with these S-9's *in vitro*, the amounts metabolized in 10 minutes were in the order of soybean oil-injected group (77%), saline-injected group (62%) and beef tallow-injected group (42%). The amounts of aflatoxin B₁ metabolized by the S-9's were well correlated with the abilities of the S-9's to detoxify aflatoxin B₁, determined from the survival rates of chick embryos injected into the air cells with S-9-treated aflatoxin B₁. Estimation of the activities of the mixed function oxygenases in the S-9 and of cytoplasmic aflatoxin B₁ reductase showed that the levels of *p*-nitroanisole demethylase, aryl hydrocarbon hydroxylase and cytoplasmic aflatoxin B₁ reductase were increased in the soybean oil-injected group and decreased in the beef tallow-injected group. This suggests that soybean oil injected into the yolk sac of chick embryo might induce these hepatic enzymes and stimulate the metabolism of aflatoxin B₁, resulting in detoxification in terms of acute toxicity. These results are very similar to those previously obtained with rats.

The chick embryo was concluded to be a very useful tool for this type of study.

(Received August 12, 1982)

Key words: アフラトキシン B₁ aflatoxin B₁; 鶏胚 chick embryo; 混合機能オキシゲナーゼ mixed function oxygenase; サイトプラズミックレダクターゼ cytoplasmic reductase; 大豆油 soybean oil; 牛脂 beef tallow

1. 緒 言

ヒトや動物の栄養状態が自然発生ガンあるいは毒性物質に対する反応に影響を与えること、又、肝における内

因的もしくは外因的な化学物質の代謝にも関与することが指摘されている^{1)~3)}。特に食餌中の脂肪による膜の脂肪酸組成の変化は膜機能に影響を与えることが明らかにされている⁴⁾。

Newberne ら⁵⁾はラットを用いて、飼料中の脂肪がアフラトキシン B₁ (AFB₁) の急性毒性にどのような影響

^{*1} 鶏胚の致死を指標とした毒力検定法に関する基礎的研究 (第3報)

^{*2} 国立予防衛生研究所: 東京都品川区上大崎 2-10-35

を与えるかについて検討し、牛脂投与群が脂肪肝の発生率及び死亡率ともにトウモロコシ油投与群より高い事実を認めている。

著者らは鶏胚を用い同様に油脂が AFB₁ の急性毒性(死亡率を指標とした)あるいはその代謝 (*in vitro*) に与える影響を検討した。

鶏胚の使用は、その発育過程における栄養素の補給を主として卵黄成分に依存しているため、種々の栄養物質(ここでは脂肪)を卵黄嚢内に投与して人工的に卵黄成分を変えることにより容易に鶏胚の栄養条件を変えることの可能性があること、更に鶏胚肝の *mixed function oxygenase* (MFO), (AFB₁ の代謝に関与) はほ乳類の胎児と異なり、ふ化 4~5 日前にすでに成鶏と同程度の活性があること^{8)~9)} などにより、この方面の研究に有用であろうと考えたからである。

投与油脂は、必須脂肪酸に富む大豆油と飽和脂肪酸含量の高い牛脂を選び、これらの油脂が肝ミクロソームリン脂質の脂肪酸組成、肝ミクロソーム可溶性画分における AFB₁ の分解能、MFO 及び *cytoplasmic reductase* (CR) 活性などに与える影響についても検討し、併せて Newberne ら⁹⁾ のラットによる成績と比較し、鶏胚使用の有効性を考察した。

2. 実験方法

2.1 供試油脂

実験に用いた油脂は和光純薬工業(株)製の牛脂(試薬用)及びダイズ油(試薬1級)でこれらの脂肪酸組成は Table 1 に示した。

2.2 AFB₁ 試料液の調製

AFB₁ (Moravék Biochemicals 社製) は少量のジメチルスルホキシドに溶解後、水で希釈して 10 µg/ml の試料液を調製し実験に供した。なおジメチルスルホキ

ド最終濃度は 10% 以下とした。

2.3 供試鶏卵

4 日齢の採卵用白色レグホン種の受精卵を 1 実験群につき 20 個を用い行った。

2.4 受精卵への油脂の投与法

4 日齢の受精卵の卵黄嚢内に牛脂(使用時加温)あるいは大豆油を 0.4 ml/egg 投与し(対照には生理食塩水)、38°, 相対湿度 60% で 14 日間(18 日齢)ふ卵を継続した。18 日齢に至り割卵し、鶏胚より肝を摘出、各脂質成分あるいは酵素活性の測定に用いた。油脂の投与量は予備試験の結果、鶏胚の死亡率に影響を与えない無作用量である。

2.5 肝脂質の抽出及び分析

肝の脂質は Folch の方法¹¹⁾ によって抽出、総脂質量は Frings らの方法¹²⁾、総コレステロール量は Zak-Henly の変法¹³⁾、リン脂質は Raheja の方法¹⁴⁾ により測定した。リン脂質は Merck 社製、TLC plates silica gel 60 を用い、*n*-ヘキサン-エーテル-酢酸(75:25:1)の溶媒系により展開、ヨウ素蒸気でリン脂質画分を検出確認し、かき取ってクロロホルム-メタノール、2:1, 1:1, 1:9 各混合液にて順次抽出、分離した。リン脂質の脂肪酸組成は分離したリン脂質をナトリウムメトキシドにてメチル化後¹⁵⁾、ガスクロマトグラフィー(島津 GC, 6A)によって分離し、各ピークの面積比(島津クロマトパック-E1A)により求めた。ガスクロマトグラフィーの条件はカラム充てん剤: 10% EGSS-X Chromosorb W 60/80 AW-DMCS, カラム管: 2 m×3φ ガラス製, カラム温度: 190°, キャリヤガス: 窒素 40 ml/min, 検出器: FID であった。

2.6 肝ミクロソーム可溶性画分(S-9)、ミクロソーム及びその上清画分の調製¹⁶⁾

10 個の肝臓を用い、その 3 倍量の 0.15 M 塩化カリウムを加えホモジナイズした後、9,000×g, 10 分間遠心を行い上清画分 S-9 を、又、さらに S-9 を 105,000×g, 60 分間遠心しミクロソーム画分(沈殿)、上清画分を得た。なお各画分は使用時まで -80° に保存した。

2.7 各 S-9 処理した AFB₁ の毒性試験とその定量

対照及び各油脂投与群より調製した肝 S-9 をそれぞれ 1.3 容に対して AFB₁ (10 µg/ml) 0.5 容の割合で混合、37° でインキュベートして経時的に試料を採取した。それぞれ Folch 法により抽出し、その一部は毒性試験に、一部は未変化の AFB₁ の定量に用いた。毒性試験では、鶏胚の死亡率を毒性指標とし、AFB₁ に対して感度の高い 4 日齢の受精卵(1 回 10 個, 10 回測定)を用い、試料を 2.2 に従って 10% ジメチルスルホキシド水溶液として気室内あるいは卵黄嚢内に投与し、4 日間の死亡率を求めた。投与量は処理前の AFB₁ として約 2.5 µg/egg に相当する。

未変化の AFB₁ 定量は Jacobson らの方法¹⁷⁾ に準じ

Table 1. Fatty Acid Composition of Fats Used in This Experiment

Fatty acid content (%)		
Soybean oil	C _{16:0}	17.2
	C _{18:0}	4.1
	C _{18:1}	24.0
	C _{18:2}	52.6
	C _{18:3}	6.7
Beef tallow	C _{16:0}	24.4
	C _{18:0}	19.2
	C _{18:1}	45.1
	C _{18:2}	3.2
	C _{18:3}	1.2

The fats were esterified by the method of Morrison *et al.*⁹⁾ after saponification with KOH¹⁰⁾ and the fatty acids composition were determined with the GLC method shown in the text.

Table 2. Hepatic Lipids of Chick Embryo Inoculated with Fats into Yolk Sacs

Treatment	Total lipid (mg/g liver)	Total cholesterol (mg/g liver)	Phospholipid (mg/g liver)	C _{18:2} in phospholipid (%)	C _{20:4} in phospholipid (%)	C _{22:6} in phospholipid (%)
Saline (0.4 ml/egg)	33.2±0.7	24.3±1.1	12.5±1.7	13.1±0.9	20.0±0.5	14.3±1.5
Soybean oil (0.4 ml/egg)	35.8±1.2**	22.7±2.5	14.6±1.9	13.8±1.3	21.8±1.9*	15.5±2.6
Beef tallow (0.4 ml/egg)	34.9±1.7	25.0±1.4	11.7±2.3	12.4±1.0	21.3±1.6	13.8±2.2

The values are mean (±S.D.) of five determinations.

* Significantly different from saline ($p<0.05$).

** Significantly different from saline ($p<0.01$).

て TLC で分離後、日立 MPF-4 型分光蛍光光度計付属の薄層デンストメーターを用いて測定した。

2.8 肝の各酵素活性の測定

p-Nitroanisole demethylase (PNA)¹⁸⁾, 7-ethoxycoumarin deethylase (ECD)¹⁹⁾, aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH)²⁰⁾ の MFO 活性は S-9 画分を用いて、cytochrome P-450²¹⁾ はミクロソーム画分で測定した。また、cytoplasmic AFB₁ reductase (CB₁R)²²⁾ 活性は、その上清について行った。

なお各グループ間における有意差検定は Student's *t* test により行った ($p<0.05$)。但し Table 4 の斃死率については χ^2 -検定によった。

3. 結果及び考察

3.1 油脂投与による肝脂質成分への影響

有精鶏卵の卵黄嚢内へ不飽和度の異なる 2 種の油脂を投与した場合、鶏胚の肝脂質成分にどのような影響を与えるかについて検討した。Table 2 に各肝ホモジネートの脂質成分を示した。大豆油投与群が対照群に比べて総脂質量及びリン脂質中の C_{20:4} 量のわずかであるが有意な上昇が認められた。その他の脂質や脂肪酸では各群の間に有意な差は認められず油脂投与による影響を受けなかった。

3.2 肝ミクロソームのリン脂質の脂肪酸組成

油脂投与によって肝ホモジネートの脂肪酸組成はほとんど影響を受けなかったが、AFB₁ が主に MFO によって代謝されるので、更にミクロソームのリン脂質画分の脂肪酸組成への影響を検討した (Table 3)。

その結果、大豆油投与群では対照群との間にいづれも有意な差は認められなかったが、牛脂投与群では対照及び大豆油投与群に比べてオレイン酸、リノール酸の低下とアラキドン酸の上昇が認められた。これより牛脂がミクロソームリン脂質の脂肪酸代謝 (主として ω -6) を修飾する事実を確認した。

3.3 各 S-9 処理による AFB₁ の致死毒性及びその代謝 (*in vitro*) への影響

投与油脂の種類により肝ミクロソームのリン脂質の脂

Table 3. Fatty Acid Composition of Liver Microsomal Lipids of Chick Embryo Inoculated with Fats into Yolk Sacs

Fatty acid	Saline (%)	Soybean oil (%)	Beef tallow (%)
C _{16:0}	17.9±1.9	17.4±1.5	17.7±2.1
C _{18:0}	23.6±2.4	24.2±2.1	24.7±2.3
C _{18:1}	7.7±0.6	7.5±0.7 ⁺	6.7±0.3*
C _{18:2}	13.4±0.9	13.8±1.2 ⁺⁺⁺	10.1±0.4 ^{***}
C _{20:4}	18.7±0.3	18.9±0.1 ⁺⁺⁺	21.6±0.9 ^{***}
C _{22:6}	16.0±1.2	15.8±0.9	15.7±1.3

The values are mean (±S.D.) of five determinations.

* Significantly different from saline ($p<0.05$).

*** Significantly different from saline ($p<0.001$).

⁺ Significantly different from beef tallow ($p<0.05$).

+++ Significantly different from beef tallow ($p<0.001$).

肪酸組成がわずかながら変化する事実を認めたので、AFB₁ の代謝あるいは毒性に影響があるのではないかと考えた。そこで *in vitro* で各 S-9 と AFB₁ を一定時間反応させ、あらためて 4 日齢の鶏胚に投与し、その致死毒性への影響ならびに反応液の一部を用いて TLC により未変化の AFB₁ を測定し、S-9 の代謝速度への影響を見た (Table 4)。その結果、斃死率は反応直後、気室内投与では対照群に対して大豆油投与群で低下、牛脂投与群で上昇が認められた。また、卵黄嚢内投与では牛脂投与群のみに有意な上昇が認められた。反応 10 分以後は対照、大豆油投与群ともに致死例は全く認められなかったが、牛脂投与群では 20 分まで致死例が認められた。これらの事実から大豆油投与 S-9 は AFB₁ の解毒方向への代謝を促進あるいは AFB₁ の活性化を抑制することにより AFB₁ の致死毒性を低下させ、一方、牛脂投与 S-9 では逆に AFB₁ の解毒方向への代謝抑制あるいは活性化を促進することにより、毒性を強める可能

Table 4. Changes in Aflatoxin B₁ Toxicity in Chick Embryo by Treatment with Various S-9s^a

Group	Pretreatment	Method of AFB ₁ inoculation ^b	Mortality %				
			Reaction time (min) ^c				
			(0)	(10)	(20)	(30)	(40)
1	Saline	Air cell	90	0	0	0	0
		Yolk sac	80	0	0	0	0
2	Soybean oil	Air cell	80*	0	0	0	0
		Yolk sac	80	0	0	0	0
3	Beef tallow	Air cell	100**, +	80	30	0	0
		Yolk sac	100***, +	40	20	0	0

^a S-9 was obtained from ten chick embryonic livers pretreated with fat.
^b AFB₁ treated with each S-9 was inoculated into fertile egg.
^c The reaction between AFB₁ and S-9 was carried out at 37°C and stopped keeping at 100°C for 5 min.
Each mortality was determined using 100 eggs.
* Significantly different from saline ($p < 0.05$).
** Significantly different from saline ($p < 0.001$).
*** Significantly different from saline ($p < 0.001$).
+++ Significantly different from soybean oil ($P < 0.001$).

Fig. 1. Metabolism of aflatoxin B₁ by various S-9s

The reaction between AFB₁ and S-9 was carried out at 37°C and stopped keeping at 100°C for 5 min. The reaction mixture was extracted with 5 ml chloroform. The AFB₁ in the extracts was separated by silica-gel thin-layer chromatography and the amount of AFB₁ on the plate was estimated with a recording densitometer. The values are mean ($\pm$ S.D.) of five determinations.

- , saline; ○-----○, soybean oil; ●----●, beef tallow
- * Significantly different from saline ($p < 0.05$).
- + Significantly different from soybean oil ($p < 0.05$).
- ++ Significantly different from soybean oil ($p < 0.01$).
- +++ Significantly different from soybean oil ($p < 0.001$).

Table 5. Mixed Function Oxygenase and Cytoplasmic Reductase Activities of Liver from Chick Embryos* Pretreated with Fat

Pretreatment	PNA	AHH	ECD	Cytochrome P-450	Cytoplasmic reductase
	(nmole/g liver/hr)			(nmole/mg microsomal protein)	(% of AFB ₁ converted to aflatoxicol)
Saline	440±106 (3)	543±152 (3)	3578±678 (3)	0.196±0.013 (3)	23.4±4.67 (2)
Soybean oil	598±112 (3) **	975±168 (3) ***	3631±545 (3)	0.248±0.008 (3) ***	34.6±1.69 (2)
Beef tallow	414± 90 (3) +++	421±116 (3) *,+++	3756±576 (3)	0.248±0.004 (3) ***	18.0±2.40 (2) +

* Ten 4-day-old chick embryos were injected with fat into their yolk sac and used at 18-day-old. The number in parentheses represent the number of determinations. The values are mean±S.D. PNA, AHH, ECD and cytoplasmic reductase activities were each determined in triplicate.

* Significantly different from saline ($p<0.05$).

** Significantly different from saline ($p<0.01$).

*** Significantly different from saline ($p<0.001$).

+ Significantly different from soybean oil ($p<0.05$).

+++ Significantly different from soybean oil ($p<0.001$).

性が示唆された。

一方、反応液中の未変化の AFB₁ の測定結果は Fig. 1 に示したように各試料とも反応の時間経過にともなう AFB₁ 量の減少がみられた。

その減少速度は対照群に比べ、大豆油投与群では促進、牛脂投与群では抑制を示し、いずれも統計的に有意であった。これらの成績から S-9 による AFB₁ の代謝が大豆油によって促進され、牛脂によって抑制されることが確認された。また、経時的にみた各 S-9 と AFB₁ の反応液の致死毒性の強さと、未変化の AFB₁ 量の間には相関関係のあることがわかった。

3.4 肝 MFO 活性及び CB₁R 活性

In vitro で投与油脂の異なる鶏胚肝の S-9 と AFB₁ を反応させると、AFB₁ の致死毒性あるいはその代謝速度に差異を生ずることが認められたので、肝の薬物代謝系酵素の活性及び CB₁R 活性との関連について検討を試みた。すなわち各油脂投与 2 週間後、AFB₁ の代謝に関与すると推定される肝 S-9 の PNA, AHH, ミクロソーム画分の cytochrome P-450 ならびに上清画分の CB₁R の活性を測定した (Table 5)。

その結果 cytochrome P-450 の活性は、いずれの油脂投与によっても誘導される傾向が認められ、その油脂の種類による差はなかった。

しかし PNA, AHH 及び CB₁R の活性においては有意差が認められた。すなわち PNA の活性は大豆油投与群で最高値を示し、対照群、牛脂投与群の約 1.4 倍であった。

また同様に AHH の活性も大豆油投与群で最高値を示し牛脂投与群の約 2.4 倍、対照群の約 1.8 倍であった。CB₁R の活性は大豆油投与群が反応 20 分間で medium に添加した AFB₁ の約 35% を aflatoxicol

(AFL) に転換したのに対して、対照群では約 23%、牛脂投与群では約 18% であった。これらの結果から大豆油投与では PNA, AHH ならびに CB₁R の活性が上昇すること、逆に牛脂では低下することが確認された。

肝の MFO には AFB₁ を、その活性形である AFB_{8,9}-epoxy-AFB₁ (最も反応性に富む) へ代謝する活性化作用と、AFQ, AFP₁, AFM₁ (急性毒性は AFB₁ に近いが、発ガン作用は低い) などの水溶性代謝物へと代謝する解毒作用があり、これらの代謝経路は互に複雑にからみ合っている。

従って本実験で大豆油が MFO の 1 つである AHH 活性を上昇させることがわかったが、AHH が AFB₁ のどの代謝経路に対応するかは、この成績から判断することはできない。また、同様に AFP₁ への代謝に関与すると推定されている PNA の活性も大豆油によって上昇されることを認めた。

一方、肝 cytoplasmic reductase により AFB₁ は AFL へ代謝されることが知られている。AFL はミクロソームにより、元の AFB₁ に戻ることが明らかにされており、この可逆性によって AFL が AFB₁ の貯蔵形のような役割を演じ、その毒性を増強する可能性が指摘されている²³⁾。更に動物で CR 活性の高い種は AFB₁ に対し感受性が高いといわれている。

本成績では大豆油は PNA, AHH 同様にこの reductase 活性を明らかに上昇させ、しかも毒性の低下を認めている。この事実は Hsieh²³⁾ らの成績と相反するものであるが、AFL の可逆性について *in vivo* では疑問視する向きもある。また AFB₁ に比べて AFL の毒性 (1 日齢アヒルヒナの胆管増生) は 1/18 ともいわれている²⁴⁾。何はともあれ、大豆油による PNA, AHH, CB₁R の活性の上昇; AFB₁ の代謝促進; 毒性低下とい

った諸成績より, AFB₁ の代謝促進にこれら酵素が関与していることが強く示唆され, かつ代謝が少くとも急性毒性に関しては解毒方向に進行しているように思われる.

一方, 牛脂ではこれら酵素活性の低下により代謝 (解毒) が抑制された結果, 毒性が高まったものと推定された. 食餌性因子 (油脂) が AFB₁ の急性毒性に与える影響を知るモデルとして鶏胚を用いて, 食餌として与える代りに卵黄嚢内へ油脂を投与するという極めて単純な方法を試みた結果, AFB₁ の急性毒性と投与油脂の関係は Newberne ら⁵⁾ のラットによるものと全く一致した. かつ油脂が AHH 活性に与える影響はラットに比べてより大きくあらわれた. 肝の MFO 活性はほ乳動物では胎仔はもち論, 生後 5 週まで全く認められないか, あるいは非常に低い. しかし鶏胚では 16~17 日齢で成鶏とほぼ等しい活性を示し, その上雌雄差がないといわれている²⁵⁾. 更に動物に比べ扱いが簡易であるなどの長所があり, 今後同種の研究目的に鶏胚は有効なモデルではないかと考える.

文 献

- 1) Rogers, A. E.: *Cancer Res.* **35**, 2469~2474 (1975).
- 2) Rogers, A. E., Sanchez, O., Feinsod, F. M., Newberne, P. M.: *ibid.* **34**, 96~99 (1974).
- 3) Rogers, A. E., Lenhart, G., Morrison, G.: *ibid.* **40**, 2802~2807 (1980).
- 4) Century, B.: *J. Pharmac. Exp. Ther.* **185**, 185~193 (1973).
- 5) Newberne, P. M., Weigert, J., Kula, N.: *Cancer Res.* **39**, 3986~3991 (1979).
- 6) Poland, A., Glover, E.: *Molec. Pharmac.* **9**, 736~747 (1973).
- 7) Rifkind, A. B., Gillette, P. M., Song, C. S., Kappas, A.: *J. Pharmac. Exp. Ther.* **185**, 214~225 (1973).
- 8) Maines, M. D., Sinclair, P.: *J. Biol. Chem.* **252**, 219~223 (1977).
- 9) Morrison, W. R., Smith, L. M.: *J. Lipid Res.* **5**, 600~608 (1964).
- 10) Graveland, V.: *J. Am. Oil Chemist's Soc.* **45**, 834~840 (1968).
- 11) Folch, J., Lees, A. M., Meath, J. A.: *J. Biol. Chem.* **191**, 883~841 (1951).
- 12) Frings, C. S., Dunn, R. T.: *Amer. J. Clin. Pathol.* **53**, 89~91 (1970).
- 13) 柴田 進, 北村元佐編: "日常臨床生化学定量法" p. 137~147 (1963) 中山書店.
- 14) Raheja, R. K., Kaur, C., Singh, A., Bhatia, I. S.: *J. Lipid Res.* **14**, 695~697 (1973).
- 15) Luddy, F. E., Barford, R. A., Riemenschneider, R. W.: *J. Am. Oil Chemist's Soc.* **37**, 447~451 (1960).
- 16) Rumbaugh, R. C., Colby, H. D.: *Endocrinol.* **107**, 719~724 (1980).
- 17) Jacobson, W. C., Harmeyer, W. C., Wiseman, H. G.: *J. Dairy Sci.* **52**, 881 (1969).
- 18) Kinoshita, F. K., Frawley, J. P., DuBois, K. P.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **9**, 505~513 (1966).
- 19) Greenlee, W. F., Poland, A.: *J. Pharmac. Exp. Ther.* **205**, 596~605 (1978).
- 20) Nebert, D. W., Bausserman, L. L.: *J. Biol. Chem.* **245**, 6373~6382 (1970).
- 21) Omura, T., Sato, R.: *ibid.* **239**, 2370~2378 (1964).
- 22) Patterson, D. S. P., Roberts, B. A.: *Fd. Cosmet. Toxicol.* **10**, 501~512 (1972).
- 23) Hsieh, D. P. H., Wong, Z. A., Wong, J. J., Michas, C., Ruebner, B. H.: *Comparative metabolism of aflatoxin. In Mycotoxins in Human and Animal Health* (J. V. Rodricks, C. W. Hesseltine and M. A. Mehlman, eds.), p. 37~50. Phathotox, Park Forest South, Ill. (1977).
- 24) Detroy, R. W., Hesseltine, C. W.: *Nature* **219**, 967 (1968).
- 25) Rifkind, A. B., Troeger, M., Petschke, T.: *Biochem. Pharmac.* **28**, 1681~1683 (1979).