冬虫夏草並びに *Cordyceps* 属及び *Isaria* 属培養菌糸体抽出物中の生理活性物質

生本 武,^a 佐々木重夫,^a 難波久子,^a 遠山良介,^a
守時英喜,^b 毛利威徳^c

台糖株式会社研究所,^a 徳島大学薬学部,^b 東洋食品工業短期大学^c

Physiologically Active Compounds in the Extracts from Tōchūkasō and Cultured Mycelia of *Cordyceps* and *Isaria*

Takeshi IKUMOTO,^a Shigeo SASAKI,^a Hisako NAMBA,^a
Ryosuke TOYAMA,^a Hideki MORITOKI,^b
and Takenori MOURI^c

Research Laboratory, Taito Co., Ltd.,^a 1-26, Higashishirūkeshinmachi, Nagata-ku,
Kobe, 653, Japan, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tokushima
University,^b 1-78-1, Syomachi, Tokushima, 770, Japan and Toyo
Junior College of Food Technology,^c 4-23-2, Minamihanayashiki,
Kawanishi, 666, Japan

(Received February 21, 1991)

Tōchūkasō is a Chinese traditional medicine composed of a fruit body of *Cordyceps sinensis* and its parasitic host larva.

Tōchūkasō (*C. sinensis*) and the cultured mycelia of five species of *Cordyceps* and four species of *Isaria* were each extracted with hot water and examined for the inotropic effect on guinea-pig right atrium *in vitro* system. The extracts from *C. militaris* and *I. felina* showed a negative inotropic effect to approximately the same extent as that from Tōchūkasō. These three extracts also showed inhibitory action on twitch response of guinea-pig ileum and aggregation of human blood platelet. It is suggested that these activities are ascribed to the combination of adenosine, 5'-adenosine monophosphate and several other nucleic acid-related compounds, all of which have been shown to be present in the extracts.

Keywords—Tōchūkasō; *Cordyceps sinensis*; *Cordyceps militaris*; *Isaria felina*; negative inotropic response; twitch response; platelet aggregation

冬虫夏草とは清の呉儀洛著「本草從新」(1757 年)に初めて記載された漢薬の一種である。このものは子囊菌類、バクキン科の *Cordyceps sinensis* が鱗翅目及び鞘翅目昆虫類の幼虫、特にコウモリガの幼虫に寄生して形成した子実体と寄主である幼虫の死体との複合体である。その乾燥物は中国四川省を主産地として生産され、強壯、強精、不老長寿の方剤として、多くの場合は肉類と共に煮込んだものが服用されている。¹⁾ しかしながらその生理作用についての報告は少なく、これまでに知られているものはモルモットの摘出気管支に対する拡張作用、ウサギの摘出腸管、モルモットの摘出子宮などの平滑筋弛緩作用、²⁾ モルモット摘出心臓に対する負の変力作用及び Ca^{2+} 拮抗作用、³⁾ マウスの毛再生作用⁴⁾などが主なものである。

近年冬虫夏草のほかにも種々の昆虫に寄生し、子実体を形成する菌類が知られるようになった。⁵⁾ これらの菌はいずれも冬虫夏草の場合と同属の *Cordyceps* 属のほか不完全菌の *Isaria* 属に属するものであり、それらの生理活性代謝産物としては *C. militaris* の抗菌物質 cordycepin (3'-deoxyadenosine),⁶⁾ *C. ophioglossoides* の抗菌物質 ophiocordin⁷⁾ がよく知られているが、近年古谷らは数種の *Cordyceps* 属及び *Isaria* 属の培養菌糸体抽出物が、モルモットの摘出心臓に対する負の変力作用及び Ca^{2+} 拮抗作用を示し、その主要活性物質は新たに見出した N^6 -(2-hydroxyethyl)adenosine (HEA) であることを明らかにすると共に、adenosine も活性に関与している可能性を示唆している。⁸⁾

我々は上記の両属の菌糸体や冬虫夏草中の生理活性物質に関して新たな知見を得るため、まず冬虫夏草並びに

Cordyceps 属の 5 種及び *Isaria* 属の 4 種の培養菌糸体から得た温水抽出物について、古谷らの法に準じてモルモット心筋に対する負の変力作用を指標として検索したところ、*C. militaris* 及び *I. felina* の 2 種の抽出物が冬虫夏草の抽出物と同様の強い活性を示すことを認めた。これら 3 者の抽出物は、上記の活性のほかにモルモット摘出回腸の電気刺激による収縮反応を抑制し、また新たにヒト血小板の凝集を抑制することを見出した。そこでこれらの活性を示す要因となる物質を検索した結果、すでに示唆されている adenosine のほかに、複数の核酸関連化合物が活性要因となることを見出したので以下に報告する。

実験材料及び方法

1. 材料 中国産冬虫夏草 (*C. sinensis*) は市販品 (中国土産畜産進出口公司, 青海省土産分公司, 加工選製) を神戸市中央区の漢方薬店で購入した。

Cordyceps 属の 5 種及び *Isaria* 属の 4 種の菌株は Institute for Fermentation, Osaka 及び American type culture collection に寄託されているものを入手し、それぞれポテトデキストロース寒天培地 (Difco Laboratories, U.S.A.) スラント上に育成させ、その菌糸体を小麦胚芽 (日清製粉社製) 15 g, グルコース 60 g, 水 1 l より成る培地に接種し、温度 26—28°C で暗所にて 7 日間振とう培養を行った。培養物を 15000×g で 10 分間遠心分離し、得られた菌糸体を抽出材料とした。

核酸関連化合物の同定、定量及び生理活性試験のための標準化合物はいずれも市販の特級品 (和光純薬工業) を用いた。

2. 予備抽出 冬虫夏草は粉碎したもの 5 g を 250 ml の温水 (60°C) 中で 1 時間攪拌抽出した。また 9 種の培養菌糸体については、湿菌糸体 50 g を 250 ml の温水 (60°C) 中で 1 時間攪拌抽出した。各抽出液を汙過後汙液を減圧下で濃縮したものを凍結乾燥し、スクリーニング用の生理活性試験の際はこれを水に溶解して被験試料液とした。

3. 生理活性試験方法 1) モルモット心筋に対する負の変力作用⁸⁾—Krebs 液 (NaCl 119, KCl 4.8, CaCl₂ 2.5, NaHCO₃ 25.0, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄·7H₂O 1.2, glucose 11.2 単位; mm) 10 ml を入れたオーガンバスを 34°C に保温し、95% 酸素-5% 二酸化炭素混合ガスを通気した。ハートレー系モルモット (体重 300—400 g) より摘出したペースメーカーを有する右心房に 0.5—1.0 g の静止張力を与えてオーガンバスに懸垂した。約 1 時間の安定後被験試料を適用して Force-displacement transducer (日本光電 SB-1T) にて右心房の収縮反応を等尺的に測定し、recticorder (日本光電 RZG-3004) に記録した。

負の変力作用は被験試料適用直前の収縮を基準とし、それと試料適用後の収縮との差を百分率で算出した。Dipyridamole (10⁻⁷ M) 及び theophylline (10⁻⁵ M) は被験試料適用 20 分前に添加した。

2) モルモット回腸の電気刺激収縮に対する抑制作用⁹⁾—Tyrode 液 (NaCl 136.9, KCl 2.7, CaCl₂ 1.8, MgCl₂ 1.8, NaH₂PO₄ 0.42, NaHCO₃ 11.9, glucose 5.6, 単位; mm) を入れたオーガンバスを 34°C に保温し、95% 酸素-5% 二酸化炭素混合ガスを通気した。モルモットより摘出した回腸 (3×30 mm) に 0.5—1.0 g の静止張力を与えてオーガンバスに懸垂後、電気刺激装置 (日本光電 SEN 3201) を用い、frequency 0.1 Hz, duration 0.5 ms の矩形波で副交感神経の刺激を行い、回腸の収縮反応が一定となった後被験試料を適用した。回腸の収縮反応は Isotonic transducer (日本光電 TD-112S) により等張的に測定した。

収縮抑制率は被験試料適用直前の収縮を基準とし、それと試料適用後の収縮との差を百分率で算出した。

3) 血小板凝集能測定法—血小板凝集能は Born,¹⁰⁾ O'Brien¹¹⁾ による比濁法を用いて測定した。健康なヒトの全血と 3.8% (w/v) クエン酸ナトリウム溶液を 9:1 (v/v) の割合で混合し 160×g で 10 分間遠心分離した上清を多血小板血漿 (platelet rich plasma, PRP) とする。血小板凝集能は PRP 250 µl と試料溶液 25 µl を混合し 37°C で 5 分間攪拌後、惹起剤としてアデノシン二リン酸 (ADP) (最終濃度 5 µM) を 25 µl 加え、650 nm の透過度をアグリコーダー PA-3210 (京都第一科学) で 10 分間測定し、その最小値をもって最大凝集とした。

血小板凝集の抑制率は、生理食塩水を添加した場合の最大凝集を基準とし、それと被験試料を添加した場合の最大凝集との差を百分率で算出した。惹起剤の ADP はアグリパック (京都第一科学) を用いた。

4. 核酸関連物質画分の分離 冬虫夏草については、粉碎したもの 25 g を 1250 ml の温水 (60°C) 中で 1 時間攪拌した後汙過し、抽出液を得た。核酸関連物質の分離法¹²⁾に従い、この抽出液に過塩素酸 (終濃度 4%) を加えて室温で数分間攪拌後、5 N 水酸化カリウムで中和し、生じたタンパク、高分子核酸などの沈殿をセライト汙過で除いた後、汙液中の核酸関連物質をクロマトグラフ用活性炭素 (和光純薬, 50—150 メッシュ) (10 g) にバッチ法で吸着させ、2.5% アンモニア含有 50% エタノール溶液 (約 3 l) で溶出した。活性炭はあらかじめ 2 N 塩酸、水、2 N 水酸化ナトリウム、水、1 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)、水、2.5% アンモニア含有エ

タノールで順次洗浄後風乾したもの¹²⁾を用いた。溶出液は減圧下に濃縮し、アンモニア及びエタノールを除去後、溶液の一部を計り取り凍結乾燥して抽出固形分の重量を求めると共に、核酸関連化合物の同定、定量及び生理活性試験の試料とした。残りの溶液はアンモニアで pH 9.4 に調整し、後に記すイオン交換クロマトグラフィーによる分画操作を行った。

C. militaris については培養湿菌体 210 g (乾燥固形分 23.9 g 相当) を、また *I. felina* については培養湿菌体 221 g (乾燥固形分 41.7 g 相当) をそれぞれ 1200 ml の温水 (60°C) で 1 時間抽出し、以後の操作は前記の冬虫夏草の場合と同様の処理を行った。

ここで得られた核酸関連物質の収量は、冬虫夏草乾燥物 1 g 当たり 54 mg, *C. militaris* 菌糸体乾燥物 1 g 当たり 53 mg, *I. ferina* 菌糸体乾燥物 1 g 当たり 35 mg であった。

5. 核酸関連化合物の同定と定量 同定と定量は各試料及び標準化合物の高速液体クロマトグラフィー (HPLC), イオン交換クロマトグラフィー及び薄層クロマトグラフィー (TLC) の結果を総合して行った。

1) HPLC—装置は島津 LC-6A を使用した。得られたクロマトグラムを *C. militaris* の場合について Fig. 1 に例示し、カラム、溶離液などの実験条件を図の説明中に示した。同定は標準化合物の溶出位置と比較することによって行い、また定量は濃度既知の標準化合物のピーク面積と比較することによって行った。

2) イオン交換クロマトグラフィー—HPLC による同定を更に確実なものにするため、活性炭から溶出した既述の核酸関連物質画分をイオン交換クロマトグラフィーで分画した。分画操作は中島の方法¹³⁾に準じ、イオン交換樹脂は Dowex 1×8 (formate 型, 200—400 メッシュ) を用い、水、ギ酸溶液及びギ酸-ギ酸ナトリウム混合溶液で合計 9 段階の分別溶出を行った。溶出液は 18 ml ずつ分取して 260 nm の吸光度を測定し、クロマトグラムを作成した。水及び 0.005 N ギ酸で溶出された画分は核酸塩基及びヌクレオシドの混合画分であったので、さらに Dowex 50 W×4 (H⁺ 型, 200—400 メッシュ) を用いて水-3 N 塩酸の連続的濃度勾配法で溶出した。溶出液は 18 ml ずつ分取して 260 nm の吸光度を測定し、クロマトグラムを作成した。いずれのカラムの場合も各画分を HPLC 及び下記の TLC 分析により同定を行った。

3) TLC—セルロース F プレート (Merck 製) を用い、a) 1-ブタノール-酢酸-水 (4:1:2, v/v), b) 飽和硫酸アンモニウム-1 M 酢酸ナトリウム-2-プロパノール (40:10:1, v/v) の展開溶媒で上昇法により展開し、紫外線下 (254 nm) で検出した。またシリカゲル 60F₂₅₄ プレート (Merck 製) 上でクロロホルム-メタノール (3:1, v/v) の溶媒を用いて展開し、アニスアルデヒド試薬の噴霧によってリボースの有無を確認した。

Fig. 1. HPLC of Nucleic Acid-Related Compounds Obtained from *C. militaris* Mycelia

Column: Shodex OH pak B-804 (8 mm×50 cm) (Showa Denko Co., Ltd.); eluent: linear gradient of 1×10^{-2} M citric acid (A) and 3×10^{-2} M ammonium phosphate buffer (B) (initial A→final B/A=1 after 60 min); detector: UV (260 nm). Peaks: 1, inosine 5'-monophosphate (5'-IMP), uridine 5'-monophosphate (5'-UMP); 2, guanosine 5'-monophosphate (5'-GMP); 3, adenosine 5'-monophosphate (5'-AMP), cytidine 5'-monophosphate (5'-CMP); 4, uridine; 5, inosine; 6, uracil; 7, hypoxanthine; 8, guanosine; 9, cytidine; 10, adenosine; 11, adenine, guanine.

結 果 と 考 察

入手した *Cordyceps* 属 5 種及び *Isaria* 属 4 種の中から生理活性の強い菌種をスクリーニングするため、まずそれぞれの培養菌糸体の温水抽出物について、古谷らの法に準じ、モルモット摘出心臓に対する負の変力作用を測定した。その結果 Table I に示したように、*C. militaris* 及び *I. felina* の抽出物が、基準として用いた冬虫夏草の抽出物と同等の強い活性を有することが分かった。これら 3 者の活性は、いずれも adenosine の増強剤である dipyridamole (adenosine 取り込み阻害剤) をあらかじめ摘出心臓懸垂液に添加しておく活性が増強され、次に adenosine の拮抗剤である theophylline を添加すると活性が抑制されることが観察された。古谷らは、負の変力作用の主要な活性物質は HEA であるとしたが、我々はその標準化合物について調べた結果 HEA は dipyridamole による活性の増強及び theophylline による活性の抑制は共に受けないことを確認した。したがって前記 3 者の活性は HEA に由来するものではないと考えた。このことと冬虫夏草並びに *Cordyceps* 属、*Isaria* 属の培養菌糸体には adenosine が存在するとの報告³⁾が既にあることから、今回の 3 種の活性抽出物中には adenosine 又はそれと同様の活性を示す類縁化合物が存在すると想定される。これを証明するため、抽出物から核酸関連物質の分離を試みた。

3 種の温水抽出物から、活性炭による吸着及び溶出法を用いて、核酸関連物質画分を分離し、このものについて再びモルモット摘出心臓に対する負の変力作用を測定した。またモルモット摘出回腸の電気刺激収縮に対する抑制作用を測定した。さらに、もし adenosine が存在するとすればヒト血小板凝集抑制作用を示すことが予想されるので、これについても測定を行った。これらの結果はまとめて Table II に示した。3 者の核酸関連物質画分はいずれも上記の活性を示した。

血小板凝集反応は血栓形成の過程に重要な役割を果たすためその抑制物質は注目され、有効物質としては adenosine 及びその誘導体^{10,11,14,15)} 各種食品中の核酸関連物質混合物¹⁶⁾ 生薬及び薬用植物中の timosaponin A-III 及び markogenin-glycoside¹⁷⁾ などが報告されている。しかし冬虫夏草並びに *Cordyceps* 属及び *Isaria* 属菌糸体についての報告は今回が初めてである。そこで次に核酸関連物質画分中の個々の化合物の同定・定量を行うこととした。

さきに得た核酸関連物質画分を HPLC で同定及

TABLE I. Negative Inotropic Effect of Extracts of Tōchūkasō and Mycelia of *Cordyceps* and *Isaria* on Guinea-pig Right Atria

Species (strain No.)			Negative inotropic effect ^{a)}
<i>Cordyceps militaris</i>	IFO	30377	++
<i>C. ophioglossoides</i>	IFO	8992	—
<i>C. memorabilis</i>	ATCC	36744	—
<i>C. sp.</i>	ATCC	36337	—
<i>C. japonica</i>	IFO	9467	—
<i>Isaria japonica</i>	IFO	31161	—
<i>I. felina</i>	ATCC	26680	++
<i>I. sinclairii</i>	ATCC	24400	—
<i>I. sulfurea</i>	ATCC	22280	—
Tōchūkasō			++

a) Measured as the inhibition ratio and expressed symbolically as follows: —, 0—10%; ±, 10—20%; +, 20—40%; ++, 40—70%; +++, 70—100%. Final concentration of applied sample: 1 mg/ml.

TABLE II. Physiological Activities of Nucleic Acid-Related Compounds Obtained from Tōchūkasō and Mycelia of *C. militaris* and *I. felina*

	Tōchūkasō	<i>C. militaris</i>	<i>I. felina</i>
Negative inotropic effect on guinea-pig right atria	++	++	++
Potentiation by dipyridamole	○	○	○
Antagonism by theophylline	○	○	○
Inhibition of twitch response of guinea-pig ileum	++	++	++
Inhibition of ADP-induced platelet aggregation	++	++	+

Activities were measured as the inhibition ratio and expressed symbolically as follows: —, 0—10%; ±, 10—20%; +, 20—40%; ++, 40—70%; +++, 70—100%; ○, observed. Final concentration of applied sample, 0.1 mg/ml; dipyridamole, 10^{-7} M; theophylline, 10^{-5} M.

TABLE III. Nucleic Acid-Related Compounds Obtained from Tōchūkasō and Mycelia of *C. militaris* and *I. felina*

Identified compounds	Tōchūkasō (mg/1 g)	<i>C. militaris</i> (mg/1 g dry mycelia)	<i>I. felina</i> (mg/1 g dry mycelia)
5'-AMP, 5'-CMP	0.64	0.51	0.74
5'-GMP	0.28	0.60	0.95
5'-UMP, 5'-IMP	1.04	0.68	1.05
Adenine	0.18	0.32	0.40
Adenosine	0.63	2.26	1.48
Cytidine	0.72	trace	0.37
Guanine	0.25	0.20	0.19
Guanosine	0.67	2.77	1.04
Inosine	0.49	0.60	0.15
Hypoxanthine	0.58	0.20	trace
Uracil	0.11	0.42	0.10
Uridine	2.01	3.00	0.89

び定量を行い、さらにその同定を裏付けるため、核酸関連物質画分を2種のカラムを用いてイオン交換クロマトグラフィーで分画し、各画分中に含まれる化合物をTLCで同定した。その結果、HPLCで同定されていた化合物が確認されたほかに、HPLCでは明確でなかった少量のcytidine及びhypoxanthineの存在が確認された。これらの結果を総合してTable IIIにまとめた。古谷ら³⁾が*C. militaris*に見出した抗菌物質cordycepinや、負の変力作用の主要活性物質としたHEAは3種の温水抽出物のいずれにも検出されなかった。しかしさきに予想した通りadenosineをはじめとして多数の核酸関連化合物が同定された。冬虫夏草や*Cordyceps*属及び*Isaria*属の抽出物にadenosineが存在することは既に報告³⁾されていたが、それ以外にこのような一連の核酸関連化合物が同定されたのは今回が初めてである。

ここで問題は、これらの化合物がさきの生理活性を示すかどうかであるが、このことを検討するため、それぞれの標準化合物を用いて生理活性試験を行った。ただし、モルモットの摘出心臓に対する負の変力作用と摘出回腸の電気刺激による収縮の抑制作用とは同等の意味をもつので、ここでは後者のみの試験とした。その結果Table IVに示すように、adenosineは既に報告されている通り活性を示したが、5'-AMPもそれと同程度に活性が強いこと、またその他の化合物にも多少とも活性があることが明らかとなった。

今回試験した冬虫夏草及び*C. militaris*, *I. felina*の抽出物中には、上記の通り種々の強さの活性を示す核酸関連化合物が種々の割合で混在しており、3者の抽出物の活性は、これらの活性物質の混合物が示した複合的活性であると考えられる。抽出物中の個々の活性成分の活性の強さ及び存在割合から抽出物全体の活性を定量的に論じるためには、個々の活性成分の活性のみならずそれらの混合物の複合的活性をさらに定量的に測定しなければ正しく論ずることはできないと考えられる。本報は活性物質の同定を主題としたものであり、活性の定量的な議論は別の機会に行うこととしたい。

TABLE IV. Physiological Activities of Nucleic Acid-Related Compounds

	Inhibition of twitch response of guinea- pig ileum (final conc. 0.01 mg/ml)	Inhibition of ADP-induced platelet aggregation (final conc. 0.3 mg/ml)
5'-AMP	+++	+++
5'-CMP	+	+
5'-GMP	+	+
5'-IMP	+	—
5'-UMP	+	—
Adenine	+	+
Adenosine	+++	++
Cytidine	+	±
Guanine	+	±
Guanosine	+	+
Inosine	+	—
Hypoxanthine	—	—
Uridine	+	—

Activities were measured as the inhibition ratio and expressed symbolically as follows: —, 0—10%; ±, 10—20%; +, 20—40%; ++, 40—70%; +++, 70—100%.

以上の結果から、冬虫夏草並びに *Cordyceps* 属及び *Isaria* 属のモルモット心房に対する負の変力作用、モルモット摘出回腸に対する収縮抑制作用やヒト血小板凝集抑制作用は、既に表示唆されていた adenosine による作用のほかに、5'-AMP をはじめとして数種の核酸関連化合物もその要因になっていることが明らかとなった。

謝辞 本研究を行うにあたり、ご指導をいただきました京都大学薬学部教授 藤多哲朗先生に深謝いたします。

引用文献

- 1) 陳 存仁, “図説漢方医薬大辞典,” 講談社, 1982, pp. 172—173; 難波恒雄, “原色和漢薬図鑑 (下),” 保育社, 1980, pp. 233—234.
- 2) 張 士善, 張 伯石, 薬学学報 (中国), **6**, 142 (1958).
- 3) T. Furuya, M. Hirotani, M. Matsuzawa, *Phytochemistry*, **22**, 2509 (1983).
- 4) 小倉享一, 諏訪芳秀, 田中隆治, 吉栖 肇, 小川秀興, 日皮会誌, **96**, 195 (1986).
- 5) 小林義雄, 清水大典, “冬虫夏草菌図譜,” 保育社, 1984, pp. 137—140; 清水大典, “冬虫夏草,” ニューサイエンス社, 1979, pp. 4—10.
- 6) K. G. Cunningham, S. A. Hutchinson, W. Manson, F. S. Spring, *J. Chem. Soc.*, **1951**, 2299; H. R. Bentley, K. G. Cunningham, F. S. Spring, *J. Chem. Soc.*, **1951**, 2301; S. Frederiksen, H. Malling, H. Klenow, *Biochem. Biophys. Acta*, **95**, 189 (1965).
- 7) H. Kneifel, W. A. König, W. Loeffler, R. Müller, *Arch. Microbiol.*, **113**, 121 (1977).
- 8) J. V. Levy, “Methods in Pharmacology,” Vol. 1, ed. by A. Schwartz, Appleton-Century-Crofts, New York, 1971, pp. 77—104.
- 9) D. M. Paton, “Methods in Pharmacology,” Vol. 3, ed. by E. E. Daniel, D. M. Paton, Plenum Press, New York, 1975, pp. 313—320.
- 10) G. V. R. Born, *Nature (London)*, **194**, 927 (1962).
- 11) J. R. O'Brien, *J. Clin. Pathol.*, **15**, 556 (1962).
- 12) 中島宣郎, 調理科学, **5**, 145 (1972).
- 13) 中島宣郎, 調理科学, **5**, 202 (1972).
- 14) G. V. R. Born, R. J. Haslam, M. Goldman, R. D. Lowe, *Nature (London)*, **205**, 678 (1965).
- 15) 沓名 裕, 藤井誠史郎, 北村謙始, 小松一男, 中野幹清, 薬誌, **108**, 1101 (1988).
- 16) 毛利威徳, 今倉京子, 太田隆男, 大久保雅啓, 綱島 勇, 田中達郎, 奥村重雄, 微量栄養素研究, **3**, 49 (1986).
- 17) 丹羽 章, 武田 理, 石丸雅子, 中本泰子, 山崎和男, 神田博史, 西尾広昭, 瀬川富朗, 藤村欣吾, 藤本 淳, 薬誌, **108**, 555 (1988).