*J. Fd Hyg. Safety, 13(2), 121 - 128(1998)*

# Ochratoxin A의 신장독성감소 방법에 대한 연구

서경원† · 김준규 · 김태완 · 정세영* · 김효정
*식품의약품안전청 국립독성연구소 독성부, *경희대학교 약학대학*

# Study of Antidotes on the Nephrotoxicity of Ochratoxin A

**Kyung Won Seo†, Jun Gyou Kim, Tae Wan Kim, Se Young Choung* and Hyo Jung Kim**
*Korea Food and Drug Administration, National Institute of Toxicological Research, Toxicology Department 5 Nokbun-dong, Eunpyung-gu, Seoul 122-020, Korea*
**College of Pharmacy, Kyunghee University, 1 Hoegi-dong, Dongdaemoon-gu, Seoul 130-701, Korea*

**ABSTRACT**— Ochratoxin A (OA) is a mycotoxin produced by *Aspergillus ochraceus* as well as other molds. It is a natural contaminant of mouldy food and feed. OA has a number of toxic effects, the most prominant being nephrotoxicity. Futhermore, OA is immunosuppressive, genotoxic, teratogenic and carcinogenic. OA inhibits protein synthesis by competition with phenylalanine in the phenylalanine-tRNA aminoacylation reaction. Recently, lipid peroxidation induced by OA has been reported, indicating that the lesion induced by this mycotoxin could be also related to oxidative pathway. Since it seems impossible to avoid contamination of foodstuffs by toxigenic fungi, detoxification and detoxication of OA are needed. In this study we investigated the protective effects of aspartame (Asp), phenylalanine (Phe), polyphenol 70S (PP) and aloe extract (AE) on the nephrotoxicity induced by subacute exposure to the OA. Asp and Phe are structural analogues of OA. PP, an ingredient of Green Tea and AE have been known as antioxidant and radical scavenger. Phe (40 mg/kg, *i.p.*) and Asp (25 mg/kg, *p.o.*) were administered to Sprague-Dawley rats simultaneously with OA (2.0 mg/kg, *p.o.*) for 2 weeks. PP (200 mg/kg, *p.o.*) and AE (50 mg/kg, *i.v.*) were pretreated before administration of OA, for 2 weeks and 3 days, respectively. Using enzymuria, BUN level, creatinemia and histophathologic examination as indices of renal damage, we observed that all of four compounds prevented the nephrotoxic effects induced by OA. It seems that structural analogues of OA such as Asp and Phe have better protective effect on the nephrotoxicity of OA than antioxidants. These results indicate that 1) formation of free radical and lipid peroxidation are likely to be involved in the nephrotoxicity of OA *in vivo*, 2) Asp, PP and AE might be used for prevention of renal lesions in cases of ochratoxicosis.

**Key words** □ Ochratoxin A, Nephrotoxicity, Antidote

Ochratoxin A(OA)는 *Aspergillus*와 *Penicillium*속의 곰팡이에서 생성되는 mycotoxin이다(Fig. 1).[1] OA의 대표적인 독성은 신장독성이며 여러 동물실험에서 보고되고 있고,[2-4] 그외 발암성,[5,6] 최기형성,[7,8] 면역독성[9-12] 및 유전독성[13,14]이 보고되어 있다. OA는 주로 밀과 같은 곡류에 오염되어 있으며, 최근에는 콩, 커피, 견과류 및 코코아등의 식품도 오염되어 있음이 보고되고 있다. 또한 OA는 동물의 혈액과 조직 뿐 아니라 사람의 혈액, 뇨 및 모유에서도 검출되고 있으며, 발칸 지역의 사람들이 다른 지역에 비하여 만성 간질성 신염과 비뇨기계 종양을 가지고 있는데, 이들이 섭취하는 식품에서 1~35 μg/kg, 이들의 혈액중에는 2~40 ng/*ml*의 농도로 OA가 검출되었다는 보고가 있다.[15-20] OA가 공중보건에 있어 중요하게 부각된 것은 발칸 반도 지역의 풍토성신염(Balkan endemic nephropathy)에 OA의 오염이 관련되어 있다는 보고와 독일등 서유럽, 일본 및 캐나다 등지에서도 식품과 사람의 혈액으로부터 OA가 계속 검출되고 있기 때문이다.[21-26] 또한 아프리카나 이집트 등지에서 다수의 신염 환자의 혈액중 OA가 검출되고 있어 현재 OA의

†Author to whom correspondence should be addressed.

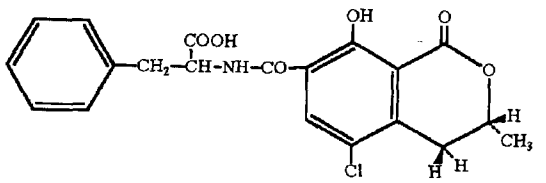


**Fig. 1. Structure of Ochratoxin A.**

오염은 전세계적인 문제가 되고 있다.[27,28] 최근 우리나라에서도 된장, 간장 등의 발효식품에서 OA의 검출례가 보고된 바 있어 OA에 대한 전반적인 위해성 평가가 필요하리라 사료된다.[29,30] 실제적으로 식품으로부터 OA의 오염을 완벽하게 차단한다는 것은 불가능하므로 OA의 독성을 감소시킬 수 있는 방법의 제시가 중요하다. 따라서 본 연구에서는 OA의 대표적인 독성이 신장독성이므로 이에 초점을 맞추어 OA의 독성감소물질을 검색하고자 하였다.

OA는 체내에서 혈장 단백과 강하게 결합하고 hydroxylated compounds로 대사되는데, 이중 (4R)-4-hydroxyochratoxin A는 *in vivo*와 *in vitro*에서의 세포독성과 면역억제작용이 OA 만큼 강하다고 한다.[10,31] OA는 phenylalanine(Phe)과 ochratoxin α(OTα)로 분해되는데, OTα는 독성은 없다고 알려져 있었으나 최근 유전독성이 보고되었다.[32] OA에 의한 급성과 만성독성은 phenylalanyl-tRNA에 의해 매개되는 반응에서 Phe과 경쟁함으로써 단백합성을 저해하는 작용과 직 · 간접적으로 관련되어 있다.[33-36] OA는 또한 Phe과 구조적으로 유사하기 때문에 Phe hydroxylase가 매개하는 반응과 같이 Phe이 관여하는 모든 반응을 억제한다.[37] 이외에도 OA의 독성으로는 oxidative processes, 세포내 calcium 항상성 파괴,[38] 미토콘드리아의 ATP 생성 억제[39,40] 등이 보고되어 있으나 이러한 독성도 모두 단백합성 저해로부터 초래된다고 볼 수 있다.

OA의 기본적인 독성유발기전이 Phe과의 경쟁작용에 의한 단백합성 저해이므로 독성감소물질로써 Phe에 대하여 많은 연구가 있었다. 보고에 따르면 Phe의 병용투여를 통하여 OA에 의한 급성독성과 단백합성 억제작용이 효과적으로 차단되며, OA의 독물동태학에도 영향을 미친다고 한다.[2,10,41-45] 본 연구에서는 OA의 신장독성감소물질로써 인공감미료인 아스파탐(Asp)을 선택하여 기존의 Phe과 그 효과를 비교하였다. Asp은 aspartyl Phe의 methyl ester로써 구조내 Phe을 가지고 있으며, 체내에서 수시간내에 aspartate, Phe과 methanol로 분해된다고 한다.

최근 Rahimtula 등은 OA의 독성이 NADPH와 chelated $Fe^{3+}$의 존재하에 유발되는 lipid peroxidation과 관련되어 있다고 보고하였다.[46] Lipid peroxidation은 일반적으로 비타민 E, 비타민 A나 superoxide dismutase(SOD)와 같은 항산화제 및 radical scavenger 등에 의해 억제된다고 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 독성감소물질로써 antioxidant와 free radical 소거작용이 보고된 녹차중 polyphenol 성분과 aloe 추출물을 선택하여 OA에 의한 신장독성 감소 효과를 살펴보았다.

## 실험재료 및 방법

### 시 약

OA, 아스파탐 및 phenylalanine은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Polyphenol 70S는 일본의 Mitsui Norin사의 Yukihiko Hara 박사로부터 제공받았으며, aloe 추출물은 경희대 정세영 교수로부터 받았다. 그 외의 시약들은 시약급으로 사용하였다.

### 동물처리

실험동물은 6주령의 Sprague-Dawley계 웅성 랫드(220~280 g)를 사용하였으며, 23±2°C, 55±10%에서 12시간 주기로 명암을 바꾸어 주고 신촌사료와 멸균수를 충분량 공급하였다. OA는 0.1 M $NaHCO_3$에 용해하여 2.0 mg/kg 용량으로 2주간 경구투여하였다. Phenylalanine(40 mg/kg, *i.p.*)과 아스파탐(25 mg/kg, *p.o.*)은 OA와 병용투여하였고, polyphenol 70S(200 mg/kg, *p.o.*)는 2주간 전처치 후 OA와 병용투여하였다. Aloe 추출물은 50 mg/kg의 용량으로 OA 투여전 3일간 정맥투여 후 OA와 병용투여하였다.

### 독성지표의 검색

시험물질 투여 후 실험동물을 대사케이지로 이동시켜 24시간 동안 뇨를 채취하였다. 채취한 뇨는 Whatman filter paper(Whatman International Ltd., Maidstone, U.K.)로 여과 후 2.5 m*l*의 상층액을 Column PD-10(Pharmacia Fine Chemicals Co.)을 이용하여 용출액으로 3.5 m*l*의 PBS로 gel filtration한 후 분석용 시료로 사용하였다. 채뇨 후 채혈하여 혈액은 상온에서 30분간 방치 후 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청중 BUN과 creatinine치와 뇨중 γ-glutamyltranspeptidase(GGT) 활성은 자동혈액생화학분석기(Technicon RA-XT)를 사용하여 측정하였다. 뇨중 *N*-acetyl-β-D-glucosaminidase(AGS) 활성은 0.2 m*l*의 완충액(pH 3.6, 0.1 mol/*l* citrate)-기질(10 mmol/*l* 4-nitrophenyl-*N*-acetyl-β-D-glucosaminide) 용액을 37°C로 가온한 다음 0.2 m*l*의 뇨를 첨가하여 혼합하고 37°C의 항온조에서 15분간 incubation하였다. 반응 중단을 위하여 0.2 m*l*의 2-amino-2-methylpropan-1-ol/HCl 완충액을 가하여 반응 후 생성된 4-nitrophenol을 30분내에 405 nm에서 측정하였다.

### 조직처리

적출한 신장의 무게를 측정하고 4% paraformaldehyde에 1주일간 고정한 후 삭정하고, 삭정한 조직은 파라핀에 포매한 후 두께 4 μm 정도로 박절하였다. 그 후 hematoxylin & eosin 염색과정을 거쳐 광학현미경으로 관찰하였다.

### 통계학적인 분석

본 시험에서 얻어진 자료에 대한 통계학적인 분석은 통계처리 프로그램인 SPSS를 사용하였으며 Bartlett's test로 분산 검정을 실시하여 등분산일 경우 one way analysis of variance(ANOVA) 검정을 실시하였다. ANOVA 검정에서 유의한 경우에 군당 동물수가 동일할 경우는 LSD 법으로, 군당 동물수가 상이할 경우는 Scheffe 법으로 대조군과 각 투여군간에 다중비교를 실시하였다.

## 결 과

체중측정 결과, OA 투여군에 비하여 Phe, Asp, polyphenol 70S 및 aloe 추출물 병용투여군에서 체중증가율이 증가하였으며, aloe 추출물 병용투여군에서는 투여후반기에 뚜렷한 체중증가율 증가가 관찰되었다(Fig. 2).

신장의 절대중량 및 상대중량은 OA 투여에 의하여 유의성있는 변화가 없었으며, Phe, Asp, polyphenol 70S 및 aloe 추출물의 투여에 의해서도 대조군 또는 OA 투여군과 차이가 관찰되지 않았다(Table 1). OA 투여군은 대조군과

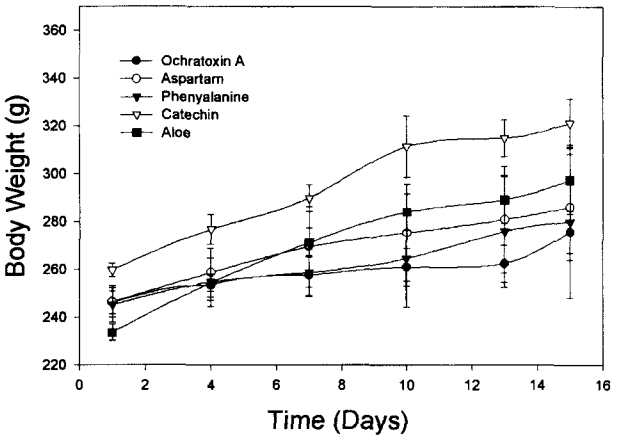


**Fig. 2. The body weight gain. Phe (40 mg/kg, *i.p.*) and Asp (25 mg/kg, *p.o*) were administered to rats simultaneously with OA (2.0 mg/kg, *p.o*) for 2 weeks. PP (200 mg/kg, *p.o.*) and AE (50 mg/kg, *i.v.*) were pretreated for 2 weeks and 3 days, respectively, before administration of OA. Values are expressed as mean±S.D. of four rats.**

**Table 1. Relative kidney weights[a]**

| Treatment | Left Kidney | Right Kidney | Total Kidney |
|---|---|---|---|
| Control | 0.40±0.04 | 0.39±0.04 | 0.79±0.07 |
| OA | 0.43±0.06 | 0.44±0.07 | 0.87±0.13 |
| Phenylalanine | 0.41±0.06 | 0.41±0.06 | 0.83±0.13 |
| Aspartame | 0.45±0.05 | 0.45±0.04 | 0.90±0.09 |
| Polyphenol 70S | 0.41±0.03 | 0.40±0.04 | 0.81±0.07 |
| Aloe extract | 0.42±0.02 | 0.41±0.02 | 0.83±0.02 |

Values are expressed as mean±S.D. of four rats.
[a] Relative weights were expressed as the percentage of organ weights to body weights.

비교하여 혈청 중 creatinine 치와 뇨중 AGS 치에는 현저한 변화가 없었으나 BUN 치는 유의성있는 증가를 나타냈으며, 뇨중 GGT의 활성은 약 10배 정도로 증가하여 신장독성이 유발되었음을 확인하였다(Table 2, 3). 이러한 OA에 의한 신장독성 지표들의 변화는 Phe, Asp, polyphenol 70S 및 aloe 추출물의 병용투여 및 전처리에 의하여 대조군 수준으로 감소하였다(Table 2, 3).

조직병리 검사결과 OA의 2주간 투여에 의하여 신장 근위세뇨관에 변성이 유발되었으며, 이러한 조직학적 변화는 Phe, Asp, polyphenol 70S 및 aloe 추출물을 병용투여한 군에서는 관찰되지 않았다(Fig. 3).

**Table 2. Serum BUN and creatinine values**

| Treatment | BUN (mg/dl) | Creatinine (mg/dl) |
|---|---|---|
| Control | 15.1±3.2 | 0.76±0.20 |
| OA | 40.5±2.4* | 0.75±0.06 |
| Phenylalanine | 18.3±1.5† | 0.83±0.05 |
| Aspartame | 19.0±2.3† | 0.78±0.19 |
| Polyphenol 70S | 17.5±2.5† | 0.85±0.06 |
| Aloe extract | 17.0±3.3† | 0.83±0.05 |

Values are expressed as mean±S.D. of four rats.
*Significantly different from control group at $p<0.05$
†Significantly different from OA group at $p<0.05$

**Table 3. Urinary enzyme activities[a]**

| Treatment | GGT[a] | AGS[a] |
|---|---|---|
| Control | 21.6±17.3 | 0.13±0.043 |
| OA | 102.8±31.0* | 0.27±0.034 |
| Phenylalanine | 20.2±4.7† | 0.26±0.021 |
| Aspartame | 21.2±6.4† | 0.26±0.041 |
| Polyphenol 70S | 31.9±7.2† | 0.17±0.055 |
| Aloe extract | 25.7±4.7† | 0.23±0.031 |

Values are expressed as mean±S.D. of four rats.
[a] Unit: U/kg body weight · 24 hrs
*Significantly different from control group at $p<0.05$
† Significantly different from OA group at $p<0.05$

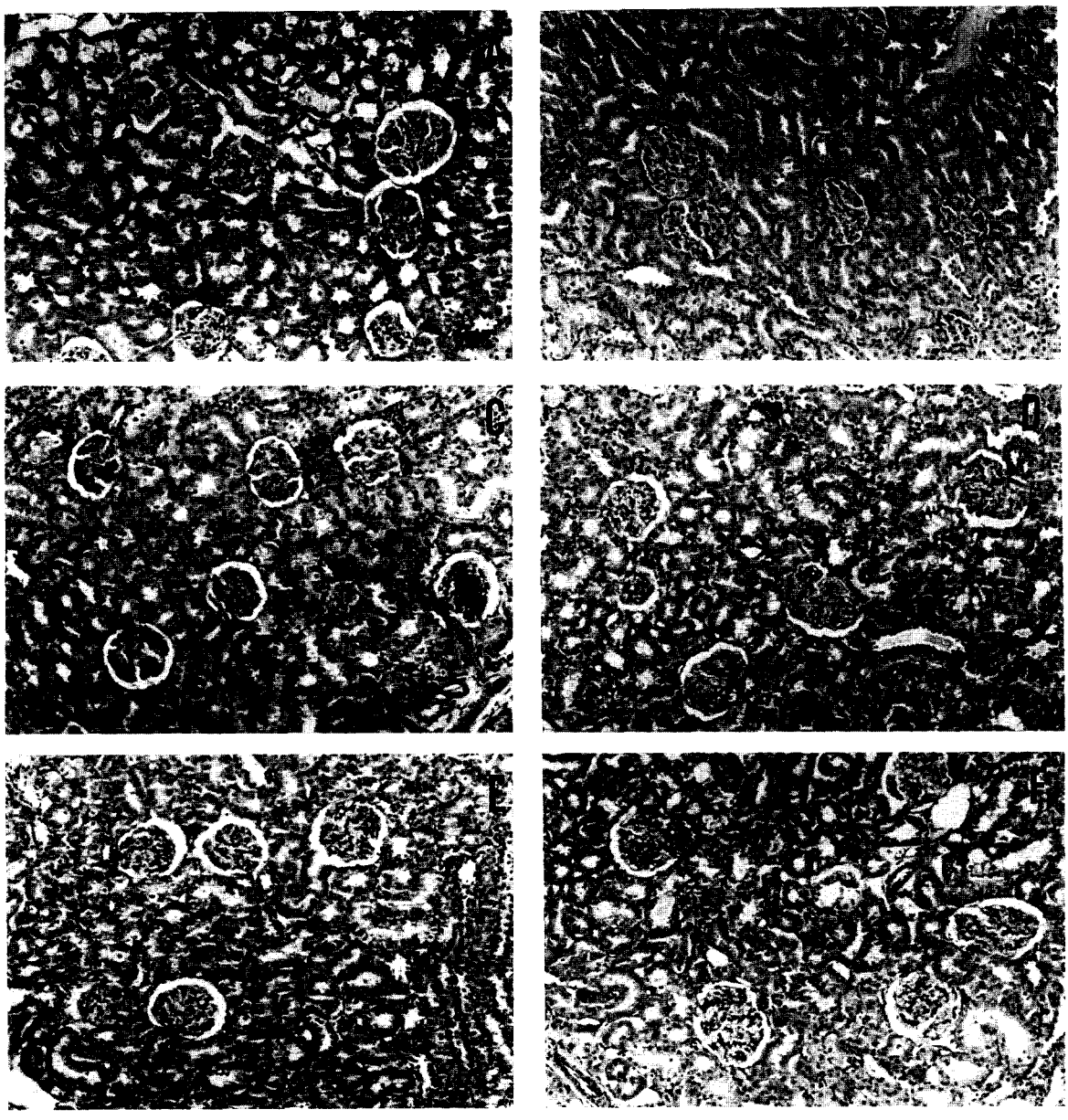

**Fig. 3. Photomicrographs of kidney. A; control, B; OA treatment, C; Phe+OA treatment, D; Asp+OA treatment, E; PP+OA treatment, F; AE+OA treatment.**

## 고 찰

본 실험에서는 OA의 독성감소물질로써 OA의 구조유사체인 Phe과 Asp, antioxidant 및 radical scavenger로 작용하는 PP와 AE 등 크게 두 군의 화합물을 사용하였다. 실험결과 4가지 화합물 모두 OA에 의한 신장독성을 효과적으로 감소시켰다. Phe는 OA의 구조유사체로써 OA에 의한 여러 독성을 억제한다는 많은 보고가 있었다. Asp도 구조내에 Phe이 있기 때문에 OA에 의한 단백합성 저해작용을 차단할 수 있으며, OA에 의한 독성을 감소시킬 수 있다. Asp는 용량의 10~12%가 변환되지 않은 형태로 혈액으로부터 위와 소장으로 흡수되어 주로 aspartate와 Phe로 분해된다고 한다.[47] 이러한 분해과정은 시간에 따라 진행되므로 식품으로부터 섭취하는 경우보다는 체내에서 천천히 소실되어 Phe pool이 증가할 수 있다. Asp은 OA가 혈장단백과 결합하는 것을 차단함으로써 OA의 배설을 증가시키고 독성 및 유전독성이 없는 물질로의 대사를 증가시킨다는 보고도 있다.[47] 본 연구에서 사용한 Asp의 용량은 인체 사용량의 2.5배 정

도였으므로 Asp을 OA의 독성감소제로 사용하는 것은 실제 응용이 가능하리라 보인다.

OA의 독성유발기전으로 단백합성 저해작용외에 최근 lipid peroxidation도 관여되고 있음이 보고되고 있다. Omar 등은 OA가 $Fe^{3+}$ ion을 환원시켜 chelating함으로써 lipid peroxidation을 유발하며, 이러한 OA-$Fe^{3+}$ complex는 $O_2$와 반응하여 superoxide anion을 생성하고 cytochrome P450이 OA에 의한 lipid peroxidation을 촉진한다고 발표하였다.[48] 최근 Baudrimont 등은 활성산소를 제거하는 작용이 있는 SOD와 catalase를 병용투여하여 OA에 의한 독성이 억제되었음을 보고하여,[49] OA의 독성유발에 free radical이 관여되며 항산화제가 OA에 의한 독성을 감소시킬 수 있음을 입증하였다. 본 실험에서 사용한 polyphenol 70S는 녹차중 성분으로써 항산화작용을 가지고 있으며 각종 질병의 예방효과가 있다고 알려져 있다.[50,51] 녹차중 PP 성분은 화학적 발암물질로 유발한 피부암과 폐암의 initiation과 promotion 단계에서 종양발생을 억제하였다는 보고가 있다.[52,53] PP의 항암작용에 대한 생화학적인 기전에 대하여는 명확하게 밝혀져 있지 않으나 initiation 단계에서는 유전자 변이를 유발하는 활성산소와 결합하여 발암원의 활성을 저해함으로써 DNA 손상을 억제할 수 있으며, promotion 단계에서는 tumor promotor가 세포막을 자극하여 세포내 신호전달 체계에 미치는 영향을 억제하는 기능이 있다고 한다.[54-59] 본 실험에서 PP를 2주간 전처리하고 그 후 2주간 OA와 병용투여한 결과, OA에 의한 enzymuria와 혈청중 BUN 치의 상승을 유의성있게 감소시켰다. 이러한 독성감소효과에는 PP의 항산화제로서의 역할과 함께 전처리를 통하여 활성산소 제거에 수반되는 여러 효소의 활성 증가도 부분적으로 관여되었으리라 생각된다. OA에 의한 신장독성 감소 효과에 있어서는 4개의 화합물중 PP보다는 Phe과 Asp 등 구조유사체의 효과가 더 좋은 것으로 판단되었다.

Aloe 추출물은 최근 2년간의 랫드에 대한 장기투여 실험에서 수명연장의 효과가 있었으며, 특히 신장 질환의 발생빈도를 유의성있게 낮추었다고 보고되었다. 본 실험에서 aloe 추출물을 선택한 이유도 이 화합물이 신장독성 감소에 효과가 있으리라 생각하여 선택하였으며, 실험결과 OA에 의한 신장독성을 뚜렷하게 감소시켰다. Aloe 추출물이 OA에 의해 유발된 신장독성을 억제하는 기전은 명확하게 알 수는 없으나 항산화효과와 함께 추출물중 함유되었을 가능성이 있는 Phe도 관여되었을 가능성이 있다. Aloe 추출물의 임상에의 사용 가능성과 명확한 기전 규명을 위하여는 동 화합물에 대한 성분분석 및 약효등에 대한 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다. 본 연구결과, 1) Phenylalanine, 아스파탐, polyphenol 70S 및 aloe 추출물은 OA에 의해 유발된 신장독성을 효과적으로 감소시켰으며, 2) OA에 의한 신장독성은 phenylalanine에 대한 경쟁작용 및 free radical 생성이 관여되어 있음을 확인하였다.

## 국문요약

곰팡이 독소인 ochratoxin A(OA)는 신장독성, 최기형성, 발암성 및 면역독성을 나타내며, 식품, 곡류 및 정육 등에 잔류한다고 알려져 있다. 최근 우리나라의 된장, 간장등 발효식품에서도 OA가 검출되었다는 보고가 있어 OA에 대한 관심이 높아지고 있다. 본 연구에서는 OA의 전반적인 위해성 평가의 일환으로 OA의 독성 표적장기인 신장에 초점을 맞추어 신장독성 감소방법을 제시하고자 한다. 신장독성을 감소시키기 위한 대상물질로는 1) 기존에 독성감소 물질로 알려진 phenylalanine(Phe), 2) phenylalanine과 aspartic acid로 구성된 감미료인 아스파탐(Asp), 3) 녹차의 성분이며 free radical scavenger 및 antioxidant 작용이 있는 polyphenol(PP), 4) 최근 수명연장 효과가 있고 특히 신장질환에 대한 예방효과가 있다고 알려진 aloe 추출물(AE)을 선택하였다. 신장독성을 유발시키기 위하여 OA를 2.0 mg/kg의 용량으로 2주간 연속 경구투여하였다. Phe(40 mg/kg, *i.p.*)과 Asp(25 mg/kg, *p.o.*)은 OA(2.0 mg/kg, *p.o.*)와 병용투여하였으며, PP(200 mg/kg, *p.o.*)는 OA 투여 2주전부터, AE(50 mg/kg, *i.v.*)은 3일전부터 전처리하여 OA(2.0 mg/kg, *p.o.*)와 2주간 병용투여하였다. 신장독성의 확인은 혈청중 BUN, creatinine치 및 뇨중 γ-glutamyltranspeptidase와 *N*-acetyl-β-D-glucosaminidase의 활성을 측정하였고, 신장에 대한 조직병리 검사를 실시하였다. 실험결과, OA를 2주간 2.0 mg/kg 용량으로 투여한 결과 신장독성이 유발되었으며, 독성 감소물질로 사용한 4개의 화합물 모두 혈액 및 뇨중 신장독성 지표를 유의성있게 감소시켰다. 조직병리 검사결과 OA에 의하여 신장의 근위세뇨관에 변성이 유발되었으며, 4개의 화합물 처리군에서는 변성이 관찰되지 않았다. 이러한 결과로부터 Phe, Asp, PP 및 AE는 모두 OA에 의한 신장독성을 감소시킬 수 있으며, OA에 의한 신장독성 유발에는 Phe에 대한 경쟁작용 및 free radical 생성이 관여되어 있음을 확인할 수 있었다.

## 참고문헌


1. Van der Merwe, K.J., Steyn, P.S., Fourie, L., Scott, D.B. and Theron, J.J.: Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus*. *Nature*, **205**, 1112-1113 (1965).
2. Kane, A., Creppy, E.E., Roschenthaler, R. and Dirheimer, G.: Changes in urinary and renal tubular enzymes caused by subchronic administration of ochratoxin A in rats. *Toxicology*, **42**, 233-243 (1986).
3. Krogh, P., Axelsen, N.H., Elling, F., Gyard-Hansen, N., Hald, B., Hyldgaard-Jensen, J., Larsen, A.E., Madsen, A., Mortensen, H.P., Moller, T., Petersen, O.K., Ravnskov, U., Rostgaard, M. and Aalund, O.: Experimental porcine nephropathy changes of renal function and structure induced by ochratoxin A-contaminated feed. *Acta Pathol. Microbiol. Scand, Section A, Suppl.*, **246**, 1-21 (1974).
4. Petkova-Bocharova, T., Chernozemsky, I.N. and Castegnaro, M.: Ochratoxin A in human blood in relation to Balkan endemic nephropathy and urinary system tumours in Bulgaria. *Food Addit. Contam.*, **5**, 299-301 (1988).
5. Kanisawa, M. and Suzuki, S.: Induction of renal and hepatic tumors in mice by ochratoxin A, a mycotoxin. *Gann.*, **69**, 599-600 (1978).
6. NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Ochratoxin A. (CAS No. 303-47-9) in F344/N rats(gavage studies). In *National Institute of Health Publication* (Boorman, G. ed), No. 89-2813, US Department of Health and Human Resources, Research Triangle Park, NC, US (1989).
7. Arora, R.G. and Frolen, H.: Interference of mycotoxins with prenatal development of the mouse. II. Ochratoxin A induced teratogenic effects in relation to the dose and stage of gestation. *Acta Vet. Scand.*, **22**, 535-552 (1981).
8. Mayura, K., Parker, R., Berndt, W.O. and Philips, T.D.: Ochratoxin A-induced teratogenesis in rats; partial protection by phenylalanine. *Appl. Environ. Microbiol.*, **48**, 1186-1188 (1984).
9. Haubeck, H.D., Lorkowski, G., Kolsch, E. and R schenthaler, R.: Immunosuppression by ochratoxin A and its prevention by phenylalanine. *Appl. Environ. Microbiol.*, **41**, 1040-1042 (1981).
10. Creppy, E.E., Stormer, E.C., Roschenthater, R. and Dirheimer, G.: Effects of two metabolites of ochratoxin A, [4R]-4-hydroxyochratoxin A and ochratoxin alpha on the immune response in mice. *Infect Immunol.*, **39**, 1015-1018 (1983).
11. Dwivedi, P. and Burns, R.B.: Immunosuppressive effect of ochratoxin A in young turkeys. *Avian Pathol.*, **14**, 213-225 (1995).
12. Lea, T., Steien, K. and Stormer, F.C.: Mechanism of ochratoxin A-induced immunosuppression. *Mycopathologia*, **107**, 153-159 (1985).
13. Creppy, E.E., Kane, A., Dirheimer, G., Lafarge-Frayssinet C., Mousset, S. and Frayssinet C.: Genotoxicity of ochratioxin A in mice; DNA single-strand break evaluation in spleen, liver and kidney. *Toxicol. Lett.*, **28**, 29-35 (1985).
14. Pfohl-Leszkowicz, A., Chakor, K., Creppy, E.E. and Dirheimer, G.: DNA-adduct formation in mice treated with ochratoxin A. In *Mycotoxin, endemic nephropathy and urinary tract tumors* (Castegnaro, M., Plestina, R., Dirheimer, G., Chernosemsky, I.N. and Bartsch, H. Eds). IARC Scientific Publications No. 115, Lyon, pp. 245-253 (1991).
15. Krogh, P.: Ochratoxins. In *Mycotoxins in Human and Animal Health* (Rodricks, J.V., Hesseltine, C.W. and Mehlman, M.A Eds.). Pathotox, Forest Park South, Ill, pp. 489-498 (1977).
16. Krogh, P.: Ochratoxin A in food. In *Mycotoxins in Food* (Krogh, P Ed.). Academic Press. London. pp. 97-121 (1987).
17. Micco, C., Grossi, M,. Miraglia, M. and Brera, C.: A study of the contamination by ochratoxin A of green and roasted coffee beans. *Food Addit. Contam.*, **6**, 333-339 (1989).
18. Micco, C. Ambruzzi, M.A., Miraglia, M., Brera, C., Onori, R. and Benelli, L.: Contamination of human milk with ochratoxin A. In *Mycotoxins, Endemic Nephropathy and Urinary Tracts Tumours* (Castegnaro, M., Plestina, R., Dirheimer, G., Chernozemsky, I.N. and Bartsch, H. Eds.). IARC Scientific Publications. No. 115, Lyon, pp. 105-108 (1991).
19. Miraglia, M., Brera, C., Corneli, S. and De Dominicis, R.: Ochratoxin A in Italy; status of knowledge and perspectives. In Human Ochratoxicosis and its Pathologies (Creppy, E.E., Castenaro, M. and Dirheimer, G. Eds.). Hogn Libbeyy Eurotext INSERM. Vol. 231, pp. 129-139 (1993).
20. Kuiper-Goodman, T. and Scott, P.M.: Risk assesment of the mycotoxin ochratoxin A. *Biomed. Environ. Sci.*, **2**, 179-248 (1989).
21. Bauer, J. and Gareis, M.: Ochratoxin A in der Nahrungsmittelkette. *Z Veterinarmed. B.*, **34**, 613-627 (1987).
22. Breitholtz, A., Olsen, M., Dahlback, A. and Hult, K.: Plasma ochratoxin A levels in three Swedish populations surveyed using an ion-pair technique. *Food Addit. Contam.*, **6**, 183-192 (1991).
23. Creppy, E.E., Betbeder, A.M., Gharbi, A., Counord, J., Castegnaro, M., Bartsch, H., Monteharmont, P., Fouillet, B., Chambon, P. and Dirheimer, G.: Human ochratoxicosis in France. In *Mycotoxins. Endemic Nephropathy*

*and Urinary Tract Tumours*, IARC Scientific Publications No. 115, Lyon, pp. 145-151 (1991).

24. Creppy, E.E., Castegnaro, M., Grosse, Y., Meriaux, J., Manier, C., Montcharmont, P., Waller, C. et al.: Etude de ochratoxicose humaine dans trois regions de France: Alsace, Aquitaine et region Rhone Alpes. In *Human Ochratoxicosis and its Pathologies* (Creppy, E.E., Castegnaro, M. and Dirheimer, G. Eds.). John Libbey Eurotext INSERM, Vol. 231, pp. 147-158 (1993).
25. Kuiper-Goodman, T., Ominski, K., Marquardt, R.R., Malcolm, S., McMullen, E., Lombacrt, G.A. and Morton, T.: Estimating human exposure to ochratoxin A in Canada. In *Human Ochratoxicosis and its Pathologies* (Creppy, E. E., Castegnaro, M. and Dirbeimer, G. Eds.). John Libbey Eurotext INSERM. Vol. 231. pp. 167-174 (1993).
26. Kawamura, O., Maki, S., Sato, S. and Ueno, Y.: Ochratoxin A in livestock and hyman sera in Japan quantified by a sensitive ELISA. In *Human Ochratoxicosis and its Pathologies* (Creppy, E.E., Castegnaro, M. and Dirheimer, G. Eds.). John Libbey Eurotext INSERM, Vol. 231, pp. 159-165 (1993).
27. Achour, A., El-May, M., Bacha, H., Hammami, M., Maaroufi, K. and Creppy. E.E.: Nephropathies interstitielles chroniques. Approches chniques etiologiques: ochratoxin A. In *Human Ochratoxicosis and its Pathologies* (Creppy, E.E., Castegnaro, M. and Dirheimer, G. Eds.). J. Libbey Eurotext Ltd. INSERM. Vol. 231. pp. 227-234 (1993).
28. Bacha, H., Maaroufi, K., Achour, A., Hammami, M., Ellouz, F. and Creppy, E.E.: Ochratoxines et ochratoxicoses humaines en Tunisie. In *Human Ochratoxicosis and its Pathologies* (Creppy, E.E., Castegnaro, M. and Dirheimer, G. Eds.). J. Libbey Eurotext Ltd. INSERM. Vol. 231. pp. 111-121 (1993).
29. Kang, S.C., Shin, H.K., Kim, J.B., Kim, C.H. and Lee, S. S.: Characteristics of the ochratoxin A producing fungi in traditionally fermented Korean soybean foodstuffs. *Korea J. Food Sci. Technol.*, **23**, 572-577 (1991).
30. Kang, S.C., Lee, S.S., Shin, H.K. and Kim, J.B.: Measurement of ochratoxin A and isolation of the fungi producing ochratoxin A from Korean traditional fermented soybean foodstuffs. *Kor. J. Mycol.*, **19**, 148-155 (1991).
31. Creppy, E.E., Kern, D., Steyn, P.S., Vlegaar, R., Roschenthaler, R. and Dirheimer, G.: Comparatibe study of the effect of ochratoxin analogues on yeast animoacyl-tRNA synthetases and on the growth and protein synthesis of hepatoma cells. *Toxicol. Lett.*, **19**, 217-224 (1983).
32. Follmann, W., Hillebrand, I.E., Creppy, E.E. and Bolt, H. M.: Sister chromatid exchange frequency in culture isolated porcine urinary bladder epithelial cells treated with ochratoxin A and alpha. *Arch. Toxicol.*, **69**, 280-286 (1995).
33. Heller, K. and Roschenthaler, R.: Inhibition of protein synthesis in *Streptococcus faccalis* by ochratoxin A. *Can. J. Microbiol.*, **24**, 466-472 (1977).
34. Bunge, I., Dirheimer, G. and Roschenthaler, R.: *In vitro* and *in vivo* inhibition of protein synthesis in *Bacillus stearothermophilus* by ochratoxin A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **83**, 398-405 (1978).
35. Creppy, E.E., Lugnier, A.A.J., Fasiolo, F., Heller, K., Roschenthaler, R. and Dirheimer, G.: In vitro inhibition of yeast phenylalanyl-tRNA synthetase by ochratoxin A. *Chem. Biol.Interact.*, **24**, 257-262 (1979).
36. Creppy, E.E., Lugnier, A.A.J., Beck, G., Roschenthaler, R. and Dirheimer, G.: Action of ochratoxin A on cultured hepatoma cells- reversion of inhibition by phenylalanine. *FEBS Lett.*, **104**, 287-290 (1979).
37. Creppy, E.E., Chakor, K., Fisher, M.J. and Dirheimer, G.: The mycotoxin ochratoxin A is a substrate for phenylalanine hydroxylase in isolated rat hepatocytes and *in vivo*. *Arch. Toxicol.*, **64**, 279-284 (1990).
38. Khan, S., Martin, M., Bartsch, H. and Rahimtula, A.D.: Perturbation of liver microsomal calcium homeostasis by ochratoxin A, *Biochem. Pharmacol.*, **38**, 67-72 (1989).
39. Meisner, H. and Chang, S.: Ochratoxin A, an inhibitor of mitochondrial transport system, *Biochemistry*, **13**, 2795-2800 (1974).
40. Wei, Y.H., Lu, C.Y., Lin, T.N. and Wei, R.D.: Effect of ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Toxicology*, **86**, 119-130 (1985).
41. Creppy, E.E., Stormer, F.C., Kern, D., Roschenthaler, R. and Dirheimer, G.: Effects of ochratoxin A metabolites on yeast phenylalanyl-tRNA sythetase and *in vitro* protein synthesis of hepatoma cells. *Chem. Biol. Interact.*, **47**, 239-247 (1983).
42. Creppy, E.E., Roschenthaler, R. and Dirheimer, G.: Inhibition of protein synthesis in mice by ochratoxin A and its prevention by phenylalanine. *Food Chem. Toxicol.*, **22**, 883-886 (1984).
43. Creppy, E.E., Schlegel, M., Roschenthaler, R. and Dirheimer, G.: Phenylalanine prevents acute poisoning by ochratoxin A in mice. *Toxicol. Lett.*, **6**, 77-80 (1980).
44. Kane, A.: Intoxication subchronique par Lochratoxine A.. mycotoxine contaminan les aliments: effects nephrotoxiques et genotoxiaues. These de doctorat de Universite Louis Pasteur. Strashourg (1986).
45. Kane, A., Creppy, E.E., Roth, A., Roschenthaler, R. and Dirheimer, G.: Distribution of the [$^3$H]-label from low doses of radioactive ochratoxin A ingested by rats, and evidence for DNA single-strand breaks caused in liver

and kidneys. *Arch. Toxicol.*, **58**, 219-224 (1986).
46. Rahimtula, A.D., Berezial, J.C., Bussacchini-Griot, V. and Bartsch, H.: Lipid peroxidation as a possible cause of ochratoxin A toxicity. *Biochem. Pharmacol.*, **37**, 4469-4477 (1988).
47. Creppy, E.E., Baudrimont, I. and Betbeder, A.-M.: Prevention of nephrotoxicity of ochratoxin A, a food contaminant. *Toxicol. Lett.*, **82/83**, 869-877 (1995).
48. Omar, R.F., Hasinoff, B.B., Mejilla, F. and Rahimtula, A. D.: Mechanism of ochratoxin A stimulated lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.*, **40**, 1183-1191 (1990).
49. Baudrimont, I., Betbeder, A.-M., Gharbi, A., Pfohl-Leszkowicz, A., Dirheimer, G. and Creppy, E.E.: Effect of superoxide dismutase and catalase on the nephrotoxicity induced by subchronical administration of ochratoxin A in rats. *Toxicology*, **89**, 101-111 (1994).
50. Yang, C.S. and Wang, Z.Y.: Tea and cancer, *J. Natl. Cancer Inst.*, **85**(13), 1038-1049 (1993).
51. Weisburger, J.H.: Beneficial effects of tea in chronic disease prevention, *The 3rd International Symposium on Green Tea*, Abstracts, pp. 1-11 (1995).
52. Huang, M.T., Ho, C.T., Wang, Z.Y., Ferraro, T., Tara, F. O., Lou, Y.R., Mitchell, J.M., Laskin, J.D., Newmark, H., Yang, C.S. and Conney, A.H.: Inhibitory effect of topical application of a green tea polyphenol fraction on tumor initiation and promotion in mouse skin. *Carcinogenesis*, **13**, 947-954 (1992).
53. Wang, Z.Y., Hong, J.Y., Huang, M.T., Reuhl, K.R., Conney, A.H. and Yang, C.S.: Inhibition of N-nitrosodiethylamine and 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone induced tumorigenesis in A/J mice by green tea and black tea. *Cancer Res.*, **52**(4), 1943-1947 (1992).
54. Nishida, H., Omori, M., Fukutomi, Y., Ninomiya, M., Nishiwaki, S., Suganuma, M., Moriwaki, H. and Muto, Y.: Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin gallate on spontaneous hepatoma in $C_3H$/HeNCrj mice and human hepatoma-derived PLC/PRF/5 cells. *Jpn. J. Cancer Res.*, **85**(3), 221-225 (1994).
55. Mukhtar, H., Katiyar, S.K. and Agarwal, R.: Green tea and skin; Anticarcinogenic effects. *J. Invest. Dermatol.*, **102**, 3-7 (1994).
56. Stich, H.F.: Tea and tea components as inhibitors of carcinogen formation in model systems and man. *Pre. Med.*, **21**, 377-384 (1992).
57. Hayatsu, H., Inada, N., Kakutani, T., Arimoto, S., Negishi, T., Mori, K., Okuda, T. and Sakata, I.: Suppression of genotoxicity of carcinogens by (-)-epigallocatechin gallate. *Pre. Med.*, **21**, 370-376 (1992).
58. Das, M., Khan, W.A., Asokan, P., Brickers, D.R. and Mukhtar, H.: Inhibition of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adduct formation in epidemis and lung of SENCAR mice by naturally occurring plant phenols. *Cancer Res.*, **47**(2), 767-773 (1987).
59. Ruch, R.I., Cheng, S.J. and Klaunig, J.E.: Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. *Carcinogenesis*, **10**(6), 1003-1008 (1989).