

# ニトロフラン誘導体 Potassium-1-methyl-1, 4-dihydro-7-[2-(5-nitro-2-furyl)-vinyl]-4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylate の経口投与による ICR マウスにおける腫瘍の発生

相 磯 嘉 孝\*

(昭和47年10月21日受付)

## 要 旨

抗菌性を有するニトロフラン誘導体 Potassium-1-methyl-1, 4-dihydro-7-[2-(5-nitro-2-furyl)-vinyl]-4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylate (NFN) の経口投与による ICR マウスにおける腫瘍の発生について検討した。

生後6週令の ICR-JCL マウスの雄雌各々30匹を NFN 添加飼料で飼育した。投与期間は初め0.02% 添加飼料で8週間、その後5週間は NFN の投与を中止し、ついで、添加量を0.01% に半減した飼料で7週間投与したのち、NFN 無添加飼料で飼育し総計36週飼育した。また同時に雄雌合計36匹のマウスを対照動物として同じ期間飼育した。この間薬剤投与総量は雄、平均116 mg、雌、平均125 mg であった。その結果、実験群のマウスは8週から15週までの間に毒性のため雄は20匹、雌は18匹死亡した。

剖検の結果、胃の出血が主なる死因で全例、腺胃粘膜の強いびらんおよび潰瘍の形成を認めた。しかし腫瘍は認められなかった。15週以上36週まで生存した22匹のマウスについて発癌性の検索が行なわれた。前胃には全例乳頭腫様増殖、乳頭腫が見られ、22例中6例に扁平上皮癌が認められた。肺にはほぼ全例(10/10)に多発性の腺腫が認められ、なかには悪性化の傾向をもつものも見られた。胸腺腫大、脾腫、リンパ節腫大を伴うリンパ球性白血病が22例中2例に認められ、胸腺の腫大はないが脾腫、リンパ節腫大のあるものが22例中4例見られた。そのほか皮下の線維腫1例、子宮筋肉腫1例を認めた。

対照群の36匹のマウスでは死亡例なく、剖検の結果雄18例には異常所見なく、雌18例中1例に胸腺腫大、脾腫の見られたもの、また1例に肺の腺腫を、それぞれ認めたのみであった。

これらの所見から NFN は ICR-JCL マウスにおいて高率に腫瘍の発生を促がす活性を示し、その主な target cell は前胃の扁平上皮細胞、肺胞上皮細胞およびリンパ球であった。

**Keywords:** ニトロフラン誘導体 NFN 物質、発癌性、ICR-JCL マウス

**略語一覧:** NFN; Potassium-1-methyl-1, 4-dihydro-7-[2-(5-nitro-2-furyl)-vinyl]-4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylate, H. E. 染色; Hematoxylin eosin 染色

## 緒 言

抗菌性を有するニトロフラン誘導体については、千葉

大学腐敗研究所において相磯和嘉<sup>1)2)</sup>らによって1950年  
以来その抗菌作用、食品防霉効果および毒性について系  
統的な研究が行なわれてきた。最近になってニトロフラ

\* 千葉大学腐敗研究所 (主任: 藤原喜久夫教授)

YOSHITAKA AISO: Production of Neoplasms in ICR Mice by Feeding Potassium-1-methyl-1, 4-dihydro-7-[2-(nitro-2-furyl)-vinyl]-4-oxo-1, 8-naphthyridine-3-carboxylate.

Institute of Food Microbiology, Chiba University, Narashino.

Received for publication, October 21, 1972.

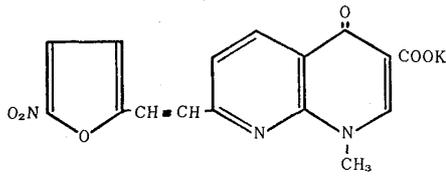


Fig. 1 Structure of NFN, potassium-1-methyl-1,4-dihydro-7-[2-(5-nitro-furyl)-vinyl]-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylate

ン誘導体のなかにマウス, ラットに発癌性を示す化合物があることが Morris,<sup>3)</sup> Cohen<sup>4)5)</sup> らによって報告された。

NFN は西垣, 堂森<sup>6)7)</sup> らによって 1969 年合成された Fig. 1 のような構造をもった抗菌性ニトロフランであるが, 坂田<sup>8)</sup> は本物質をラットに経口的に 3 ヶ月投与して, 腺胃粘膜にびらんおよび潰瘍性病変をもたらすことを記載している。著者は加藤, 蟹沢, 相磯和嘉らとともにマウスを用いて NFN の発癌性について研究してきたが, ここでは著者の分担である ICR マウスに 0.02%~0.01% に本物質を添加した飼料を経口的に 36 週投与した実験の成績を報告する。

### 実験材料および実験方法

生後 6 週令の ICR-JCL マウス (日本クレア) の雄雌各々 30 匹を NFN 添加飼料で飼育した。NFN の純末を 0.02% および 0.01% の割合に基礎飼料 (日本クレア製 CE-2) に添加して作製した固型飼料を用いた。なお, 飼料および水は自由に与えた。

投与期間は初め 0.02% NFN 添加飼料で 8 週間飼育したところ体重の減少が著明に現われたので, その後 5 週間, 添加飼料の投与を中止し, ついで添加量を半減した 0.01% 飼料で 7 週間投与したのち, NFN 無添加飼料で飼育をつづけ総計 36 週で実験を終了した。

对照動物として雄 18, 雌 18, 合計 36 匹のマウスを薬剤無添加の飼料 CE-2 で同じ期間飼育した。

動物の体重測定は週 1 回とし, 薬剤の摂取量は食餌摂取量から算出した。飼育経過中に死亡した動物および飼育完了後, と殺した動物は全例, 剖検して肉眼的に精査し, 胃, 肝臓, 腎臓, 腸管, 脾臓, 肺臓, 胸腺, 骨髄など所見の認められた臓器は組織標本作製し, H. E. 染色そのほかを施行, 顕微鏡的検査を行なった。

## 実験成績

### 1. 飼育中の経過

動物は NFN 添加飼料をよく摂取した。薬剤摂取量は飼料摂取量から算出すると, 雄では平均総量 116mg, 雌では 125 mg であった。Fig. 2 の黒マルに示したように, 雄では 9 週ころから体重の減少とともに死亡し始め, 15 週までに 20 匹が死亡し, 15 週以上生存した 10 匹の体重曲線は Fig. 3 のようであった。雌においても Fig. 4 のように, 第 15 週までに 18 匹が死亡し, 15 週以上生存したものは 12 例であった。

15 週以内に死亡した動物は, 後述するように, 胃粘膜よりの出血と栄養障害による急性毒性のためであった。したがって, 発癌性の検索は 15 週以上生存した 22 匹のマウスについて行なわれた。雄の 10 匹中 2 匹は Fig. 2 に示したように第 20 週に死亡したが, ほかの 8 匹は 29 週以後にと殺 (Fig. 2 中白マル) した。雌では Fig. 4 のように第 21 週に 3 匹, 第 23 週に 1 匹死亡したが, ほかの 8 例は 36 週までにそれぞれと殺した。

### 2 剖検所見

15 週以内に死亡した 38 例は全例, 腺胃粘膜に多数の出血斑を認め, 中には黒い泥状の血液が胃および腸管内に充満し急性出血死の様相を呈するものがあつた。粘膜はびらんが強く出血巣は深く, 多発性の潰瘍を形成しているものが多数例にみられた。しかし前胃粘膜, 肝臓, 脾臓, 肺臓, リンパ節, 胸腺そのほかの臓器には肉眼的に腫瘍そのほかの病変はいまだ認められなかった。

15 週以上生存し 20~23 週の間死亡した 6 例 (雄 2, 雌 4) はいずれも腺胃粘膜の出血性びらんを認め, これ

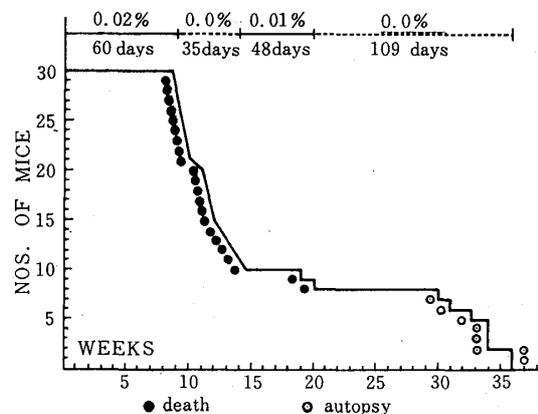


Fig. 2 Survival curve, dose and duration of NFN feeding (male)

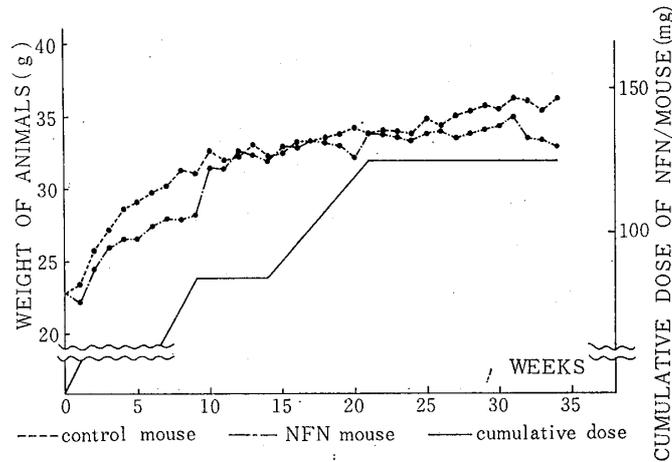


Fig. 3 Growth curves of test and control mice, and cumulative dose of NFN

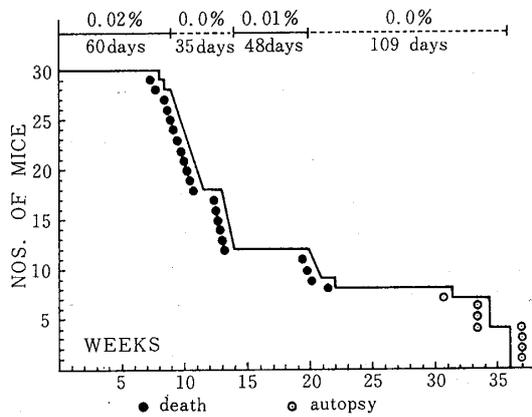


Fig. 4 Survival curve, dose and duration of NFN feeding (female)

よりの出血が死因と思われた。また前胃粘膜には6例とも乳頭腫様増殖が数個または多数認められた。肺臓には数個の腺腫が認められた。雌の1例(Y-60)では著しい胸腺の腫大、脾腫、片方の卵巣部の小指頭大の腫瘍を認め、さらに腋下、そけい部、腸管膜そのほかの部位のリンパ節の腫大などが認められた。その後29週より36週までの間にと殺、剖検した16匹のうち、雄の8例においては全例に前胃粘膜に乳頭腫様増殖が多発し、なかにはポリープとして突出しているもの、乳頭状増殖が全面におよんでカリフラワー状を呈するものもあった。

肺臓においては全例に腺腫が多発性に認められ粟粒大から米粒大、あづき大のものまでであった。

脾腫は8例中3例にみられ、そのうち1例(A-31)では著しい胸腺肥大を伴っていた。なお、同じ動物において母指頭大の皮下腫瘍が認められた。

雌の8例においては全例に前胃の乳頭腫大の増殖、または乳頭腫が認められ、そのうち2例では粘膜深部から

漿膜面にも腫瘍が浸潤している症例を認めた。

肺臓には全例に多発性の腺腫を認めた。脾腫が8例中2例に見られ、そのほか1例(Y-70)には子宮壁に浸潤性に増殖した肉腫が認められた。

一方、対照群の36匹のマウスにおいては36週まで1例の死亡例もなく全例と殺剖検した。そのうち雄18例は全例、腺胃粘膜の中毒性病変はなく前胃、肺臓、脾臓、胸腺、リンパ節そのほかの部位には腫瘍の発生を思わせるような所見はみられなかった。雌は18例中1例に胸腺腫大、脾腫が認められ、ほかの1例に肺臓の腺腫を認めた。ほかの16例では全く所見がなかった。

### 3 組織学的所見

15週以内に死亡したマウスの腺胃では例外なく粘膜の壊死巣を伴う多発性のびらん、および出血を伴う潰瘍形成(Fig. 5)を認めた。ある例では(Fig. 6)粘膜筋板に達するU/I IIの潰瘍形成があり、粘膜下層には炎症性細胞の浸潤がみられた。また(A-32)では粘膜筋板は部分的に消失し、潰瘍形成は粘膜下層におよぶU/I IIの潰瘍形成があり、潰瘍の辺縁は堤防状に挙上し、その粘膜上皮は増殖を認めた。しかし異型性の増殖はなかった。

15週以上生存した動物の前胃の組織像は一般的に上皮細胞の強い角化を伴った乳頭状の増殖が著明であった。ある例では粘膜筋板の挙上を伴った明らかな乳頭腫を形成しているもの(Y-79, Fig. 7, Fig. 8)、乳頭状増殖の一部は筋固有層に浸潤を伴う扁平上皮癌を認めるもの(Y-74, Fig. 9)、さらに癌腫が筋固有層を破壊して漿膜にまで達しているものがあった(Y-64, Fig. 10)。

このように前胃の扁平上皮癌と診断されるものは合計

Table 1. Incidence of tumors and pretumorous changes in ICR mice FED NFN, that died or autopsied from 15th to 36th week in the experiment.

Animal	Week	Forestomach	Lung	Thymus	Spleen	Others
A-25	20	papillom. gr.	adenoma			
A-39	21	papillom. gr.	n. e.			
A-31	29	papillom. gr.	adenoma	thymoma	splenomegaly	subcut. fibroma
A-18	31	papillom. gr.	n. e.		splenomegaly	
A-35	32	squamous carcinoma	adenoma			
A-16	34	papillom. gr.	adenoma			
A-26	34	papillom. gr.	adenoma			
A-27	34	papillom. gr.	adenoma			
A-10	36	papillom. gr.	adenoma			
A-19	36	papillom. gr.	adenoma		splenomegaly	
Y-58	21	papillom. gr.	adenoma			
Y-60	21	papillom. gr.	n. e.	thymoma*	splenomegaly	
Y-65	21	papillom. gr.	adenoma			
Y-71	23	papillom. gr.	—			
Y-70	32	papillom. gr.	adenoma			uterine** myosarcoma
Y-64	34	squamous carcinoma	adenoma		splenomegaly	
Y-74	34	squamous carcinoma	adenoma			
Y-79	34	papilloma	adenoma			
Y-57	36	squamous carcinoma	adenoma			
Y-69	36	papillom. gr. atyp. gr.	adenoma		splenomegaly	
Y-78	36	squamous carcinoma	adenoma			
Y-55	36	squamous carcinoma	adenoma			

\* metastasized to ovary, kidney and lymph nodes. \*\* metastasized to liver and lymph nodes.

A-male, Y-female, papillom. gr.-papillomatous growth. n.e.-not examined.

6例に達した。強拡大では中央部に癌真珠の形成が認められた (Fig. 11, 12)。

肺臓に多発した腫瘍は腺腫で (Fig. 13) 弾力線維染色で肺胞壁の崩壊はほとんどなく、異型性は軽度に認められるに過ぎないが、一部の症例では異型性の強い細胞と肺胞壁の弾力線維の崩壊のある所から癌腫と考えられるものもあった。

胸腺に腫大のみられた2例 (A-31, Y-60, Fig. 14, 15, 16) においては組織学的にもリンパ球系異型細胞の腫瘍性増殖で、卵巣および全身のリンパ節への腫瘍転移を示し、腎および骨髄への腫瘍細胞浸潤がみられた。これらの例では末梢血においても異型リンパ球が出現しており胸腺原発のリンパ性白血病と考えられる。そのほか顕著な胸腺腫大を伴わないう脾腫を有するものが4例あり、これらは将来白血病に進行する過程にあるか否かは明らかにすることはできなかった。

そのほか、皮下に腫瘍を形成した1例 (A-31) は良性の線維腫であり、双角子宮の中央部に発生した腫瘍の1

例 (Y-70) は組織学的には筋肉腫で紡錘形の腫瘍細胞の原形質内には PTAH 染色で筋原線維を認め、肝臓、リンパ節に転移の形成が認められた。

以上の腫瘍発生の状況を一括表示すると Table 1 のようになる。

## 考 察

Morris, J. E.<sup>3)</sup> らは1969年に5-ニトロフラン誘導体のうち Acetone[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]-hydrazone および Formic acid-2-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]-hydrazide (FNT と略) がホルツマン・ラットの雌に発癌性を示すことを報告した。ついで Cohen, S. M. らは、1970年に FNT<sup>4)</sup> および N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] acetamide<sup>5)</sup> (NFNT と略) の2物質がスイス・マウスの前胃、肺臓に癌腫を含む腫瘍およびリンパ球性の白血病を多発させることを報告した。

Cohen らの2つの 5-nitrofurane はスイス・マウスのほか、RF, BALB/c, C3H などのマウスにおいて同様の発癌性を示すことも明らかにされた。

著者が実験に用いた 5-nitrofurane である NFN は、Morris, Cohen らの 5-nitrofurane と thiazole ring の結合した誘導体ではなく、5-nitrofurane ring と methyl naphthyridine との結合した誘導体である。このような構造をもつニトロフラン誘導体のマウスにおける発癌性の研究報告はない。NFN は、実験成績の項で述べたように、ICR-JCL マウスにおいては、FNT および NFTA のスイス・マウスの場合と類似した発癌のパターンを示し、その主な target organ は前胃、肺臓およびリンパ組織系であった。すなわち、胃においては薬剤投与 15 週以後、前胃の扁平上皮細胞は乳頭腫様増殖を示し、乳頭腫となり、さらに悪性化して扁平上皮癌に発展する。癌腫の発生率は  $6/22$  であったが蟹沢、加藤らの一連の実験では 36 週以上飼育観察した時には悪性化の率はさらに高まっている。これら乳頭腫は乳頭腫上皮細胞の異型性の強いものから癌症例への組織学的移行像を観察し得るので癌の前段階と判断してもよい。

腺胃においては 15 週以前に薬剤の強い毒性の現われとして粘膜のびらんや潰瘍を形成して出血死するが、これに耐えて生き残った動物においては潰瘍は再生上皮によって修復され癒着性の発癌現象は認められなかった。

肺臓においては多発性の腺腫の発生率は、Cohen の場合よりも高くほとんど 100% にみられ、悪性化の傾向も強い。

胸腺腫大、脾腫、リンパ節腫大を伴うリンパ球性白血病の発生頻度は Cohen の場合より低く、典型的なものは  $2/22$  であったが、胸腺腫大を伴わない脾腫、リンパ節腫大を含めると  $6/22$  となる。一般的に雄よりも雌の動物に腫瘍の進行度は強いような傾向が認められた。また本物質は毒性が強いために、投与濃度は FNT および NFTA の実験より  $1/5$  以上低いことが、発癌頻度の点で、Cohen らの成績との相違に影響しているものと推定される。

ICR マウスはこれまで自然発生腫瘍の頻度は低い<sup>9)</sup>ものとされている。とくに前胃、肺臓における発生症例は報告されていない。白血病については 1 年以上飼育した動物における発生が報告<sup>10)</sup>されているが、1 年以内にもときに発生症例のあることが著者の例で判明した。

5-nitrofurane 誘導体は抗菌性物質の開発研究の過程において数多く合成され、実用化（化学療法剤、家畜飼料添加剤、食品添加物など）されているものも少なくない。これらのうち発癌性物質として判明しているものは

上述の FNT, NFTA, NFN の 3 物質であり、Nitrofurazone は高濃度では Morris<sup>9)</sup> らによりラットの乳腺に良性腫瘍の発生が、低濃度 (0.02% 以下) では相磯<sup>11)12)</sup>らにより腫瘍発生のないことが報告されている。Furyl-furamide については宮地<sup>10)</sup>、蟹沢<sup>12)</sup>らは発癌性を示さないことを記載している。Furazolidon, Panazone, Z-furan などについても、今までのところ、動物における発癌は知られていない。したがって、5-nitrofurane の発癌性の有無はその誘導体の構造と関連の深いことが推定される。

5-nitrofurane の生体内代謝についての研究<sup>15)16)</sup>は多くはないので、今後発癌機構の解明のためには、生体内代謝について追求することが重要である。

稿を終るに臨み、ご校閲を賜った藤原喜久夫教授、終始ご指導を賜った腐敗研究所、蟹沢成好助教授、加藤博助教授に深く謝意を表します。さらに常に適切なるご助言を賜った千葉大学病理学教室、長尾孝一博士、奥村康氏に深く感謝致します。

(本論文の要旨は昭和47年度第1回大学院研究生研究発表会において発表した。) 本論文は審査学位論文である。

#### SUMMARY

Potassium-1-methyl-1,4-dihydro-7-[2-(5-nitro-2-furyl)-vinyl]-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylate (NFN) was fed to 60 (male and female), 6-week-old ICR-JCL mice at the dose of 0.02-0.01% by weight of diet for a total of 36 weeks, with the cumulative dose 116 mg (male)-125 mg (female) per mouse.

Because of the sudden bleeding from the glandular stomach ulcer lesions as a result of drug toxicity, only 22 of 60 mice survived to the end of feeding and were evaluated for tumorigenesis.

NFN induced multiple squamous papillomatous growth and papillomas (22/22) of the forestomach including carcinomas (6/22), multiple adenoma (18/19) of the lung.

This compound also produced typical or atypical lymphocytic leukemia (6/22), single malignant myosarkoma of the uterus and benign subcutaneous fibroma. In the control group of 36 animals, no forestomach tumores were de-

tected, while 1 lung adenoma and 1 spontaneous leukemia were observed.

### 文 献

- 1) 相磯和嘉: ニトロフラゾーンを応用せる日常食品の腐敗防止に関する研究, 腐敗研報, 3, 1-48, 1950.
- 2) 相磯和嘉: 食品添加物の安全性, J. Food Hyg. Soc. Japan, 12, 282-286, 1971.
- 3) Morris, J. E., Rice, J. M., Lalich, J. J. and Stein, R. J.: The carcinogenic activity of some 5-nitrofurans derivatives in the rat., Cancer Res, 29, 2145-2156, 1969.
- 4) Cohen, S. M., Ertürk, E. and Bryan, G. T.: Carcinogenicity of formic acid 2-[4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]-hydrazide in swiss mice., Cancer Res, 30, 906-912, 1970.
- 5) Cohen, S. M., Ertürk, E. and Bryan, G. T.: Production of leukemia and stomach neoplasms in swiss, RF, BALB/c, and C3H female mice by feeding N-[4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] acetamide., Cancer Res., 30, 2320-2325, 1970.
- 6) Nishigaki, S., Yoneda, F., Ogiwara, S., Tanaka, Y. and Takamura, I.: Synthesis of 1-substituted 1, 4-dihydro-7-[2-(5-nitro-2-furyl)-vinyl]-4-oxo-1, 8-naphthyridine derivatives. I., Chem. Pharm. Bull., 17, 1827-1831, 1969.
- 7) Domori, R., Kadoya, S., Tanaka, Y., Takamura, I. and Naito, T.: Synthesis of 1-substituted 1, 4-dihydro-7-[2-(5-nitro-2-furyl) vinyl]-4-oxo-1, 8-naphthyridine derivatives. II., Chem. Pharm. Bull., 17, 1832-1838, 1969.
- 8) 坂田晃康: 抗プロイドモナス性を有するニトロフラン誘導体の研究, 千葉医学会誌, 46, 181-187, 1970.
- 9) 相磯和嘉ら: 食品衛生事典, 291 (自然発生癌), 医歯薬出版, 1972.
- 10) Miyaji, T.: Acute and chronic toxicity of furylfuramide in rats and mice, tohoku J. exp. Med., 103, 331-369, 1971.
- 11) 相磯和嘉, 蟹沢成好, 山岡 宏, 辰巳和世, 相川直子: ニトロフラン誘導体の毒性に関する系統的研究, 第1報, 食品衛生誌, 3, 365-373, 1962.
- 12) 相磯和嘉, 蟹沢成好, 岡本達也, 相川直子: ニトロフラン誘導体の毒性に関する系統的研究, 第2報, 食衛誌, 5, 120-129, 1964.
- 13) 相磯和嘉, 蟹沢成好, 山岡 宏, 辰巳和世, 相川直子, 井出源四郎: ニトロフラン誘導体の毒性に関する系統的研究, 第3報, 腐研報, 15, 21-33, 1963.
- 14) 斎藤 亨: 各種フラン誘導体特に Panazone の毒性に関する研究, 千葉医学会誌, 29, 238-246, 1953.
- 15) Paul, H. E., Ellis, V. R., Kopko, F. and Bender, R. C.: Metabolic degradation of the nitrofurans, J. Med. Pharm. Chem., 2, 563, 1960.
- 16) Akao, M., Kuroda, K. and Miyaki, K.: Metabolic degradations of nitrofurans by rat liver homogenate, Biochemical Pharmacology, 20, 3091-3096, 1971.

## 図 説 明

- Fig. 5 腺胃の潰瘍、粘膜上皮は壊死つよく一部では粘膜筋板の崩壊もある。U/II の急性潰瘍である。H. E. 染色×100。
- Fig. 6 腺胃の急性潰瘍 (U/II) Fig. 5 の潰瘍より進行したもので、潰瘍底に壊死におちいった組織の附着と、粘膜下層の炎症性細胞浸潤が著明である。染色×40。
- Fig. 7 前胃には白色混濁のつよい多発性乳頭腫をみとめる。
- Fig. 8 前胃の乳頭腫、上皮表面に角化を伴ない一部の基底細胞層には異型性を認める。H. E. 染色×100。
- Fig. 9 前胃に発生した乳頭状の癌腫
- Fig. 10 前胃に発生した扁平上皮癌、粘膜表面には潰瘍形成を伴ない、癌腫は漿膜にまで浸潤している。染色×100。
- Fig. 11 前胃に発生した角化扁平上皮癌で粘膜下層への浸潤をみとめる。H. E. 染色×100。
- Fig. 12 Fig. 11 の強拡大で、癌巣内には角化を認める。H. E. 染色×200。
- Fig. 13 肺臓に発生した腺腫で、膨脹性増殖を呈している。H. E. 染色×100。
- Fig. 14 胸腺に発生したリンパ性白血病で著明に胸腺は腫大している。
- Fig. 15 胸腺に発生したリンパ性白血病で、白血病細胞が卵巣に浸潤している。写真左側には卵胞をみとめる。
- Fig. 16 胸腺原発のリンパ性白血病で骨髓に白血病細胞が浸潤し、正常の骨髓細胞はほとんどみられない。H. E. 染色×400。

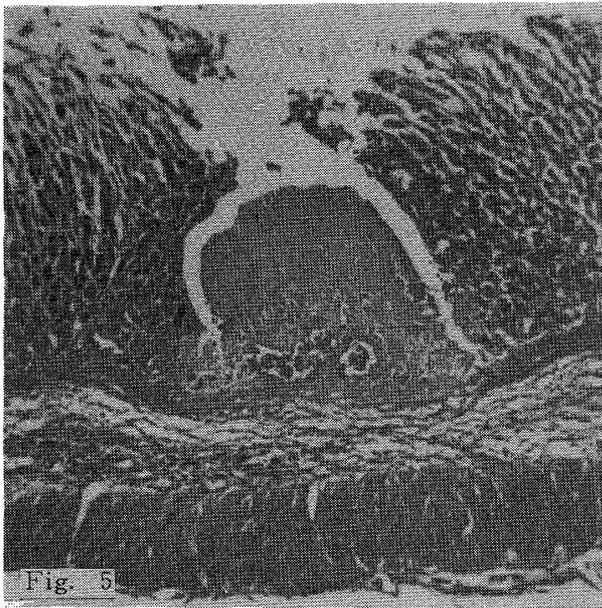


Fig. 5

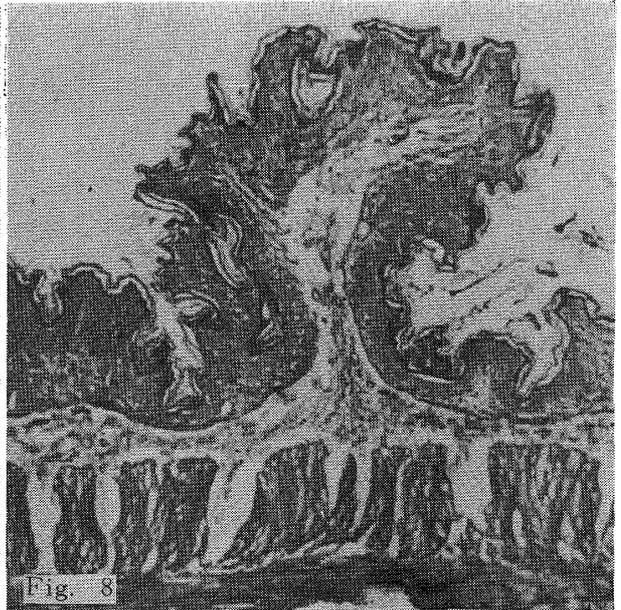


Fig. 8

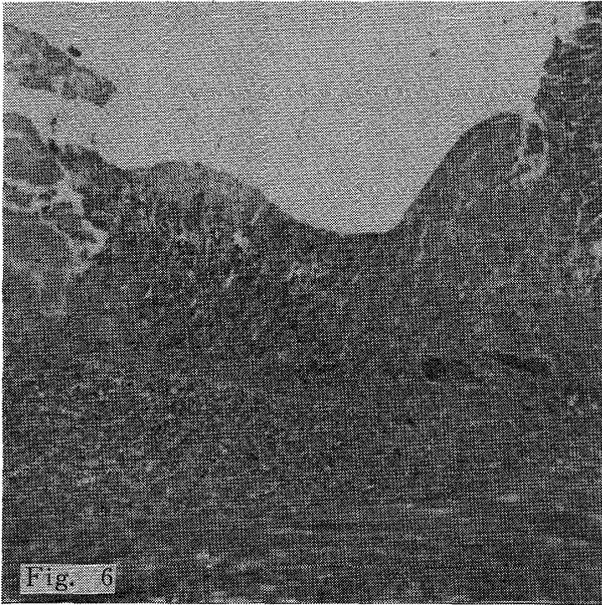


Fig. 6

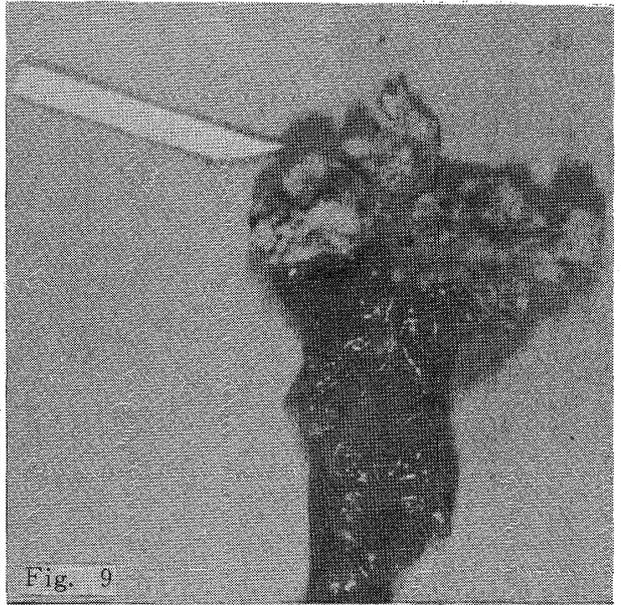


Fig. 9

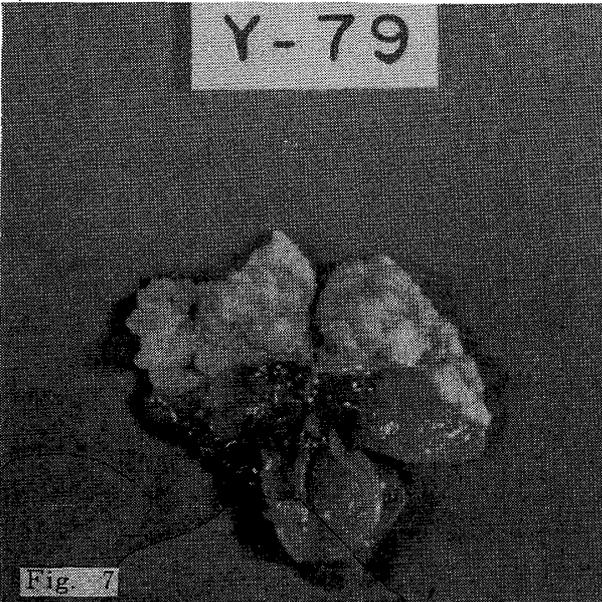


Fig. 7

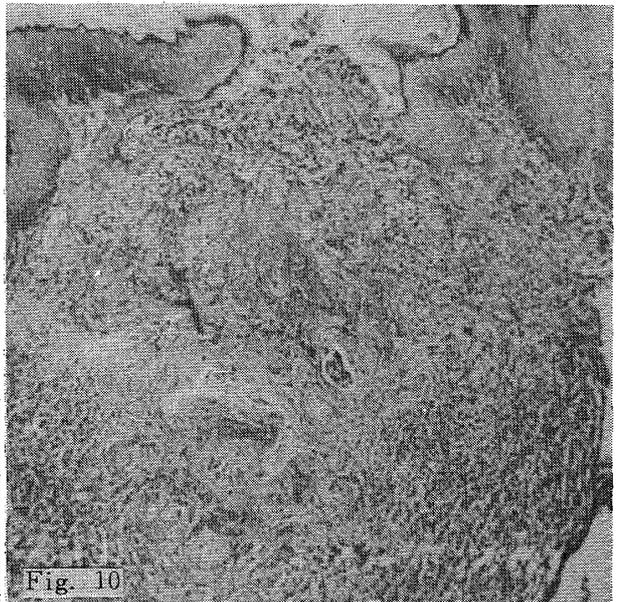


Fig. 10

