

L-バンド電子スピン共鳴装置を使用した，マウス肺のニトロキシラジカル還元能と放射線照射法の関連の検討

その他の言語のタイトル	A study on relation between nitroxyl radical reduction potency and X-ray irradiation on mouse lung using L-band electron spin resonance
著者	種池 真, 邵 啓全, 森田 陸司
雑誌名	滋賀医科大学雑誌
巻	14
ページ	1-8
発行年	1999-02
URL	http://hdl.handle.net/10422/95

Lバンド電子スピン共鳴装置を使用した，マウス肺の ニトロキシラジカル還元能と放射線照射法の関連の検討

種池 真，邵 啓全，森田 陸司

滋賀医科大学放射線医学教室

A study on relation between nitroxyl radical reduction potency and X-ray irradiation on mouse lung using L-band Electron Spin Resonance.

Makoto TANEIKE, Keizen SHO, Rikushi MORITA

Department of Radiology, Shiga University of Medical Science

Abstract: Changes in nitroxyl radical reduction potency ("reduction potency"), caused by different doses and different number of fractions of X-ray irradiation were studied using a L-band electron spin resonance system on mouse lungs into which 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl (hydroxy-TEMPO) was introduced through the trachea.

The "reduction potency" lineally decreased as the irradiation dose increased from 1.0 to 5.0Gy, but no further decrease was observed at higher doses of 7.5 and 10Gy.

The "reduction potency" dropped at 20 min after each irradiation, but it recovered to the control levels after 1 week in all 3 groups of single dose of 10Gy, 3 fractions and 5 fractions in a similar manner. Although the levels of the "reduction potency" were kept high in the groups of fractionated irradiation through 1-4 weeks after irradiation, the levels dropped again in the single dose group at 1 week and the levels were kept significantly low until 4 weeks after irradiation, suggesting that the fractionation of X-ray irradiation would also be effective to prevent the deterioration of the "reduction potency".

Pre-treatment with sufficient ascorbic acid inhibited the lowering effects of radiation on the "reduction potency" in a dose dependent manner. Furthermore the levels of the "reduction potency" ever elevated higher than those of controls with the large amount of ascorbic acid of 750mg/kg or more, suggesting that the large amounts of ascorbic acid could prevent the adverse effects associated with radiation therapy for the lung malignancy.

Key words: L-band, Electron Spin Resonance, radical scavenger, fractionated radiation, ascorbic acid

Received September 25, 1998: Accepted after revision November 4, 1998

Correspondence : 滋賀医科大学放射線医学教室 種池 真 〒520 2192 大津市瀬田月輪町

はじめに

近年、生体内に発生したフリーラジカルが、さまざまな病態の原因および、その促進要因になっていることが知られている。肺はフリーラジカルによる障害が注目されてきている臓器であり、これ迄に吸入性有害物質や薬剤による障害、肺気腫、様々な肺線維症などの病因の一つとして、フリーラジカルによるDNA損傷^{4,24)}や細胞構成成分たる脂質過酸化¹³⁾また酵素蛋白の変性¹⁶⁾などの作用が検討されている。放射線性肺障害に関しても、生体への放射線照射により、水分子から生ずるヒドロキシラジカルやスーパーオキシドアニオンなどのラジカルが^{2,4)}、放射線障害の発症要因の一つとして、極めて重要と考えられている。放射線照射による障害は、いずれの臓器にも生ずるが、中でも肺は比較的低線量によって臨床に重篤な副作用を生ずるため、その発生機序の解明は放射線治療において副作用の予防および治療法の確立に重要な課題である。

生体内におけるフリーラジカルに対する抗酸化的防御機構としては、スーパーオキシドアニオンを消去するスーパーオキシドディスマユターゼ (SOD)¹⁾、過酸化水素を消去するカタラーゼ (CAT)⁶⁾、他にグルタチオン系^{3,9)}やホスホリパーゼさらに非酵素的なものとしてアスコルビン酸¹⁷⁾やビタミンEなどが知られ、放射線照射で発生したフリーラジカルの生成抑制や消去、障害部位の修復^{9,13,24)}などに役立っていると考えられている。

フリーラジカルの測定装置には電子スピン共鳴 (ESR) 装置が、これまで物理、化学分野において広く定性分析に用いられていたが、近年、周波数1.2 GHz付近のマイクロ波を用いたLバンドESRが開発されたことにより、小動物の体内に存在するフリーラジカルの体外計測が可能⁷⁾となった。ただし体内に発生したフリーラジカルを直接とらえるには感度が十分ではなく、現状では体外より大量に投与したニトロキシラジカルの測定のみが可能^{20,21)}である。

マウス肺に関して、これまでのLバンドESRを用いた検討で、マウス肺内にニトロキシラジカル還元能が存在すること²²⁾、それがin vitroでホモジナイズすると失活すること^{20,21,22)}、さらにそれが放射

線照射により減弱する¹⁹⁾ことが知られている。

我々は放射線照射によるニトロキシラジカル還元能の減弱が、放射線肺障害の重要な機序の一つと考えており、放射線治療における肺障害の軽減の可能性をさぐるため、マウス肺とLバンドESR装置を用いて、放射線照射線量とマウス肺内のニトロキシラジカル還元能減弱度との関係、放射線治療の副作用軽減に有用とされている分割照射²⁵⁾のニトロキシラジカル還元能の経時的変化に及ぼす効果、さらにラジカルスカベンジャーとして有用性の確認されているアスコルビン酸^{17,19)}の、ニトロキシラジカル還元能への影響について検討した。

対象及び方法

(1) 実験材料,装置

実験動物：マウスはICR雌9週齢を使用し、飼育用ゲージにて5匹までで飼育した。

使用装置：照射装置は、日立メディコ(株)製X線照射装置MBR-1520Rを使用し、焦点動物間距離50cm、管電圧150kV、管電流20mA、線量率90cGy/minで照射した。

LバンドESR装置は、日本電子(株)製JES-TE300(LバンドESRユニットES-LB2Aを装備)共振器として水平型ループ・ギャップ共振器(内径33mm、長さ24mm)を使用し、測定条件はマイクロ波周波数1.1GHz、出力1mW、磁場変調100kHz、変調幅0.2mTとした。

使用薬品：ニトロキシラジカル化合物として、4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl(以下hydroxy-TEMPO, Sigma社)の5mMの等張リン酸緩衝液(0.6パーセント塩化ナトリウムを含む50mMリン酸ナトリウム緩衝液, pH7.4)を、ニトロキシラジカル溶液として用いた。

アスコルビン酸(第一製薬製)は注射用蒸留水に溶解し使用した。

(2) 実験方法

放射線照射法：ネプタール0.02mlを腹腔内投与し沈静化させた後、マウスの頭部及び腹部を鉛板にて遮蔽し、胸部にのみに照射をおこなった。

ESR測定法：頸椎脱臼にて屠殺したマウスを

テフロン板に仰向けに固定し、気管露出後、気管内に20ゲージ径ポリエチレンチューブを挿入固定し、胸部を圧迫して肺内の空気を排出したあと、ニトロキシラジカル溶液を0.9ml注入して、液がもれないよう直ちに気管を結さつし、そのままLバンドESR装置をもちい胸部のESRスペクトルを測定した。

実験に使用したマウス数：各群5匹から7匹。

コントロール群：非照射の9週齢マウス7匹について、ESRによるニトロキシラジカル消失速度定数の測定を行った。

実験1 放射線照射線量とラジカル還元能

1回放射線照射線量とマウス肺のラジカル還元能との関係を見るため、放射線照射量を1Gy、2Gy、3Gy、5Gy、7.5Gy、10Gyと六段階にて、それぞれ放射線照射を行い、直後（実験の手順上、照射後約20分、以下同）よりESR測定を行った。

実験2 分割照射法とラジカル還元能

分割照射法とマウス肺のラジカル還元能との関係を見るため放射線照射法を2Gy/1日×5日間、3.3Gy/1日×3日間、10Gy/1日×1日間とし、それぞれの最後の照射より直後・1時間後・1日後・1週間後・2週間後・4週間後にESR測定を行った。

実験3 ラジカルスキャベンジャーの投与量による効果の差異

ラジカルスキャベンジャー（アスコルビン酸）のマウスへの投与量とマウス肺のラジカル還元能との関係を見るため蒸留水のみ0.02ml投与の基準群と、アスコルビン酸投与量が10mg/kg、50mg/kg、250mg/kg、750mg/kg、1250mg/kgとなるようアスコルビン酸を蒸留水にて希釈し液量0.02mlになるよう調整した溶液を投与する群をつくり、それぞれマウスの尾静脈より静注し、その15分後に5Gyの放射線照射をおこない、更にその直後よりESR測定を行った。

これらの実験の統計処理にはt検定を用いた。

結 果

マウスの肺内に投与したhydroxy-TEMPOのス

ペクトルは、LバンドESR装置にてニトロキシラジカルに特有な3本のピークをもつスペクトルとして捕らえられた。この3本のピークはいずれも同高で、それぞれ同様に経時的に減少し、線幅に変化はなく、新たなシグナルの出現もなかった。すなわちこのピーク高の減少が投与されたニトロキシラジカル量の相対的な減少を表している。この3本のピーク高は同高であるため、低磁場側のピークのみを利用することとし、相対的ピーク値として経時的に測定した。このニトロキシラジカル量の減少は、一次の指数関数として低下するため、それぞれの測定結果より各一次反応消失速度定数を求め、この値がニトロキシラジカル還元能を示すものとした。なおコントロール群の1次反応消失速度定数は $0.110 \pm 0.006/\text{min}$ ($n=7$)であった。

実験1 放射線照射線量とラジカル還元能

一次反応消失速度定数は、照射線量が1Gyから5Gyまでは、放射線照射線量の増加とともに有意 ($p < 0.05$) な減少を示したが、5Gyで速度定数 $0.064 \pm 0.009/\text{min}$ ($n=7$)の値に達したあと、7.5Gyと10Gyではそれ以上の減少は認められなかった。(Fig. 1)

実験2 分割照射法とラジカル還元能

一次反応消失速度定数は、2Gy/日×5日間照射群は直後を底値とし、経時的に回復し、一日後には有意差 ($p < 0.05$) はあるものの $0.095 \pm 0.013/\text{min}$ とコントロール群に近い値に上昇し、更に四週間後にその値は $0.107 \pm 0.007/\text{min}$ ($n=5$)とコントロール群と有意差 ($p < 0.05$) はなくなる迄に回復した。3.3Gy/日×3日間照射群は直後を底値とし、やはり一日後には有意 ($p < 0.05$) 差はあるものの $0.098 \pm 0.009/\text{min}$ とコントロール群に近い値となり、二週間後に一旦低下するが四週間後には $0.101 \pm 0.014/\text{min}$ ($n=6$)とコントロール群と有意差 ($p < 0.05$) はなくなる迄に回復した。10Gy/日×1日間照射群は直後を底値とし、一旦は底値と有意差をもち ($p < 0.05$) 一時的に回復するもの一週間後を頂点として再び低下し、四週間後には $0.066 \pm 0.005/\text{min}$ ($n=5$)と、コントロール群および2Gy/日×5日間照射群、および3.3Gy/日×3日間照射群に対して有意 ($p < 0.01$) に低下していた。なお四週間後の2Gy/日×5日照射群と3.3Gy/日×3

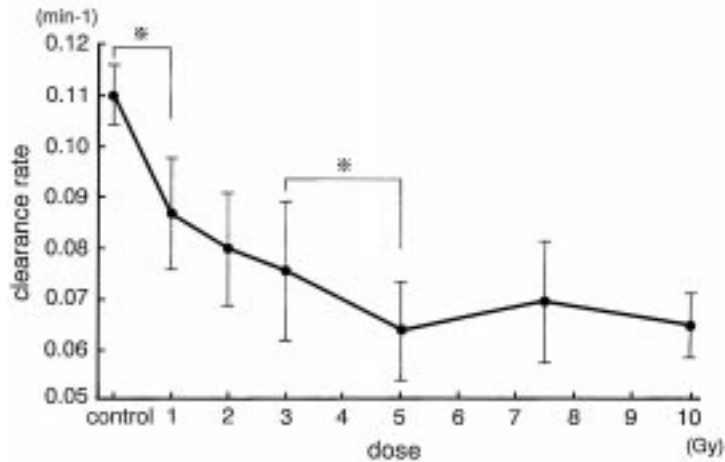


Fig. 1

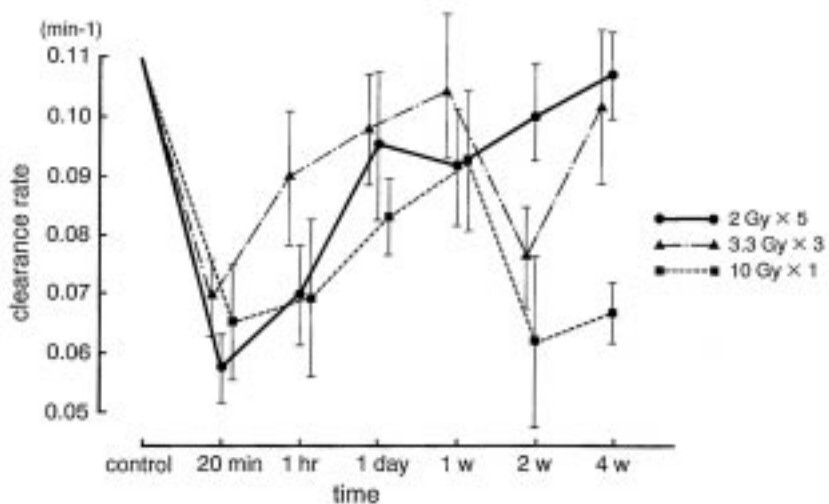


Fig. 2

日照射群の間には有意差 ($p < 0.05$) はなかった。
(Fig. 2)

実験 3 ラジカルスカベンジャーの投与量による効果の差異

一次反応消失速度定数は、アスコルビン酸非投与で 5 Gy 放射線照射した基準群は $0.054 \pm 0.008/\text{min}$ となり、アスコルビン酸 10mg/kg および 50 mg/kg 投与群との間に有意差はなかった。しかし、さらにアスコルビン酸前投与の増量につれ反

応速度定数は直線的に増加し、基準群を有意 ($p < 0.05$) に上回った。さらに 750mg/kg 投与群以上ではコントロール群をも有意 ($p < 0.01$) に上回り、1250mg/kg 投与群は $0.151 \pm 0.016/\text{min}$ の高値を示した。(Fig. 3)

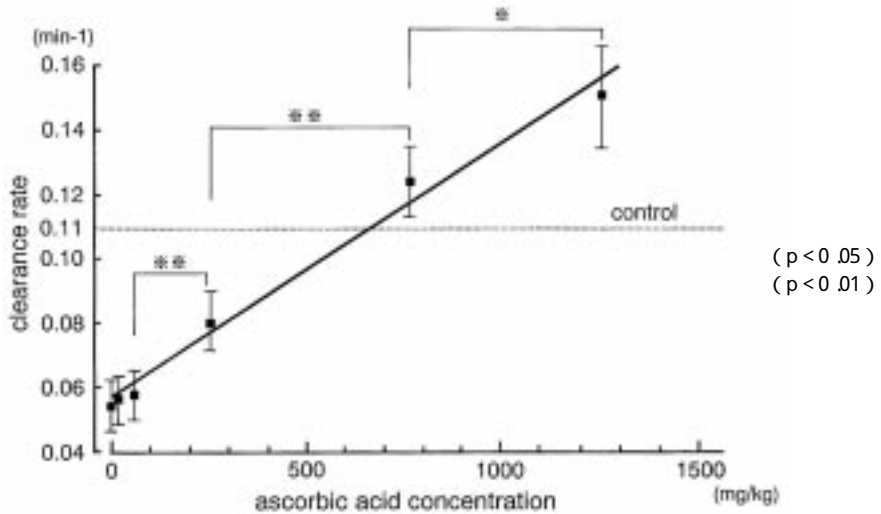


Fig. 3

考 察

ニトロキシラジカルは、細胞内および細胞周囲液層のアスコルビン酸¹⁷⁾、ミトコンドリアやミクロソームの電子伝達系^{15,18)}、SH化合物³⁾などの抗酸化防御機構にて還元を受け、その常磁性を消失することが知られており、その還元能の検討は生体内の酸化還元反応を評価する優れた手段といえる。屠殺直後に経気管的にマウス肺内に注入された、hydroxy-TEMPOのESRによる信号強度は、一次反応に従い減衰した。このことは、hydroxy-TEMPOが一電子還元によりその常磁性を失い、ESRの信号が消失することによる²²⁾。屠殺後のこの実験では、肺の血流は途絶されており、投与されたhydroxy-TEMPOの肺外への流出はないため²⁰⁾、hydroxy-TEMPOの消失は、肺胞上皮細胞表面、及び細胞内と組織間水層に存在する抗酸化防御機構²²⁾によってなされていると考えられる。

放射線照射により肺内に・OHやO₂などのフリーラジカルが生じることが知られている⁴⁾。これらにより、肺内の抗酸化防御機構は様々な影響を受けることが予想される。アスコルビン酸やグルタチオンまたビタミンEなどのような細胞内外の抗酸化物質が消費される機序¹⁷⁾、またSOD (superoxide dismutase) やカタラーゼまたグルタチオンペルオ

キシターゼなど抗酸化酵素系のアミノ酸の酸化的修飾による酵素不活化が生ずる機序^{9,16)}、さらにミトコンドリアなどの細胞内小器官の生体膜の障害²⁷⁾に基づくラジカル還元能の低下機序などがそれぞれである。放射線照射による抗酸化防御機構の能力低下の程度は、関与する抗酸化防御機構の機序の種類により異なるものとみられる。つまり放射線照射後直ちに能力低下をおこすものとそうでないものである。これらの存在が、放射線照射直後のラジカル還元能の測定において、1 Gyから用量反応的に減少するものの、5 Gy以上の線量ではニトロキシラジカル還元能の低下に差が生じなかった理由と考えられる。つまり放射線照射により発生したフリーラジカルを直ちに消去するために消費される細胞内外に存在する抗酸化物質の消費、またその抗酸化能が放射線量に比例し短時間に障害をうける機序の障害が、放射線照射量が1 Gyから5 Gyまでの、直線的なニトロキシラジカル還元能の低下の原因となり、これらの機序がその能力を失う5 Gy以上では、小放射線量では抗酸化能に障害を受けないか、障害発現までに比較的長時間を必要とする機序のみによりニトロキシラジカル還元がおこなわれていると考えられる。前者としては、発生したフリーラジカルと反応し速やかに不活化するアスコルビン酸やグルタチオンなどの低分子物質が、相当すると考えられる。後者としては、少量の放射線照射を受けるとかえっ

て活性化する SOD^{1,10}などの酵素系や、少量の放射線照射では活性低下が起こりにくい酵素系¹⁶などの機構が考えられる。

放射線照射後の肺組織の病理学的変化については、これまでに実験動物および人体について、光学顕微鏡や電子顕微鏡を用い詳細に検討されている^{5,8,12,14,23}。放射線性肺障害は早期の放射線肺臓炎と呼ばれる炎症反応が主体である時期と、繊維化が主体となる晩期の放射線性肺繊維症の時期がある。放射線照射後早期に惹起される主な変化は、血管内皮細胞の障害と血管透過性亢進による滲出性変化とされている。つまり血管内皮細胞の腫大、空胞形成、基底膜からの剥離が生じ、露出した基底膜に血小板が凝集して血栓が形成され、また血管透過性の亢進による浮腫、フィブリン沈着が生じ、いわゆる放射線肺臓炎^{14,23}の像を呈する。さらに時間経過と共に、肺胞上皮細胞、とくにⅡ型細胞の腫大変性や、アレルギー機序などが加わり放射線性肺繊維症へ移行するものと考えられている^{14,23}。放射線性肺繊維症は三ヶ月後から六ヶ月後にかけて惹起される^{14,23}とされている。フリーラジカルにより、血管透過性の亢進や、酵素などの蛋白変性^{9,16}さらに脂質過酸化による生体膜障害¹³が惹起されるため、フリーラジカルは放射線性肺臓炎の発生に、主要な役割を演じているものと思われる。

放射線分割照射と肺のニトロキシラジカル還元能との関係についての実験結果では、総量10Gyの一回照射、分割照射のいずれも、照射直後にニトロキシラジカル消失反応速度定数は一旦最も低値を示し、一週間後にはすべての照射法にて基準値近くまで回復する。しかし四週間後には、分割照射では回復が持続するに対して、一回照射では、一週間後より再び低下し、四週間後には基準値より有意に低い値になる三相性の変化を示す。直後を最低値として速やかに回復する理由としては、他の部位からのラジカルスカベンジャーの動員⁶や照射部位の放射線損傷からの回復⁹が考えられる。

放射線分割照射と肺組織の病理学的変化についてのこれまでの報告では、総計が10Gyの1回照射も分割照射も、放射線照射後一ヶ月の時点では、病理学的には共に放射線性肺臓炎の変化であり、両者に異なる所見は認められていない^{8,12}。これに対して放射線照射後三ヶ月以降の病理学的変化は、分割

照射にては、繊維化をまぬがれる¹⁴)といわれている。このことは、この実験結果に認められた放射線照射後一ヶ月時点での一回照射と分割照射でのニトロキシラジカル還元能の差異が、形態学的にはとらえられない肺障害の違いを先行してとらえている可能性があることを示す。この還元能の差異は、DNAの障害などによる抗酸化酵素の生成不良、脂質過酸化による細胞膜やミトコンドリアの生体膜障害による生理活性物質の移動障害や、膜内に存在する酵素の活性障害、抗酸化能を有する低分子物質の生成障害などといった、照射後比較的長期間効果を持続する生化学的機序によるものと考えられる。今後の課題としてこれら遅発性効果と繊維化の機序との関連の解明が必要である。

放射線照射により発生するフリーラジカルによる肺障害の対策として、ラジカルスカベンジャーの利用は合理的である。今回、生理的なラジカルスカベンジャーとして知られ、体外から容易に投与でき副作用も少なく、かつ多彩なフリーラジカルを処理する低分子物質である、アスコルビン酸^{17,19}の効能を検討した。その結果、ニトロキシラジカル消失反応速度定数は、アスコルビン酸投与量依存性にほぼ直線的に増加し、しかも750mg/kgと1250mg/kg投与群では、放射線非照射のコントロール群さえも上回る値を示した。このことは肺内のアスコルビン酸の組織内濃度は投与量に比例し増加し、かつアスコルビン酸の代謝及び排泄がおこる前に、つまり放射線照射直前に、アスコルビン酸を大量投与すれば、放射線照射による肺の抗酸化能の低下を阻止し、放射線治療に伴う肺障害を防止軽減し得ることを示唆するものである。

結 論

マウス肺のニトロキシラジカル還元能と放射線照射法との関係について検討した。

- (1) 放射線照射直後のニトロキシラジカル還元能は1 Gy から5 Gy までは用量反的に低下するが、5 Gy から10Gy にかけては有意な変化はなかった。このことから、マウス肺の抗酸化能には放射線照射の影響をうけるものと、うけないもの少なくとも二系統あると考えられた。

- (2) 計10Gy を 1 回 , 3 回 , 5 回にそれぞれ分割して放射線照射をおこなった . ニトロキシラジカル還元能は照射直後を最小として回復するものの , 1 回照射群のみは , 照射後一週間より再び低下した . マウス肺のニトロキシラジカル還元能は , 分割照射を用いることにより放射線照射後も保たれた .
- (3) 放射線照射直前にアスコルビン酸をマウスに投与すると , その投与量に依存してマウス肺のニトロキシラジカル還元能は増加した . 750mg/kg 以上では放射線非照射のコントロール群を上回った . アスコルビン酸投与は放射線照射によるニトロキシラジカル還元能の低下を阻止することが示唆された .

文 献

- 1) Epperly M, Bray J: Prevention of late effects of irradiation lung damage by manganese superoxide dismutase gene therapy. *Gene Ther.* 5 (2): 196 208, 1998
- 2) Gilles NE: Effects of radiation on cells. *Br. Med. J* 295: 1390 1391, 1987
- 3) Giotta GJ, Wang HH: Reduction of nitroxide free radicals by biological materials. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 46: 1576 1580, 1972
- 4) Hall EJ: *Radiobiology for Radiologist* (4th ed). pp2 27 Philadelphia, Lippincott, 1994
- 5) 橋村孝久 , 河野通雄 , 今城吉成 : 放射線肺臓炎の発生機序並びに予防に関する実験的研究 - とくに脂質過酸化反応を中心として - *日本医放会誌*49 : 335 343 , 1989
- 6) Inaba K, Nakashima T, Shima T, Mitsuyoshi H, Sakamoto Y, Okanou T, Hashiba M, Nishikawa H, Watari H: Hepatic damage influences the decay of nitroxide radicals in mice - An in vivo ESR study *Free Rad. Res.* 27: 37 43, 1997
- 7) Ishida.H, Kumashiro S, Tsuchihashi N, Ogata T, Ono M, Kamada H, Yoshida E: In vivo analysis of nitroxide radicals injected into small animals by L-band ESR technique. *Phys. Med. Biol.* 34: 1317 1323, 1989
- 8) Jennings FL, Arden A: Development of radiation pneumonitis. *Arch. Path.* 74: 351 360, 1962
- 9) Johansen I, Flanders PH: Macromolecular repair and free radical scavenging in the protection of bacteria against X-rays. *Radiat. Res.* 24: 184 200, 1965
- 10) 松木修 , 野村崇治 , 小島周二 , 久保寺昭子 , 山岡聖典 : 小線量 γ 線のマウス生体内抗酸化系酵素活性に対する作用 *Radioisotopes* 47 : 291 299 , 1998
- 11) McCord JM, Fridovich I: Superoxide Dismutase. *J. Biol. Chem.* 244: 6049 6055, 1969
- 12) Penney DP, Rubin P: Specific early fine structural changes in the lung following irradiation. *Radiat. Onc. Biol. Phys.* 2: 1123 1132, 1977
- 13) Petkau A, Chelack WS: Radioprotective effect of superoxide dismutase on model phospholipid membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* 433: 445 456, 1976
- 14) Phillips TL: An ultrastructural study of the development of radiation injury in the lung. *Radiology* 87: 49 54, 1966
- 15) Quintanira AT, Packer L: Surface location of sites of reduction nitroxide spin-labeled molecules in mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74: 570 574, 1977
- 16) Quintiliani M: The oxygen effect in radiation inactivation of DNA and enzymes. *Int. J. Radiat. Biol.* 50: 573 594, 1986
- 17) Rose RC: Ascorbic acid metabolism in protection against free radicals: a radiation model. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 169: 430 436, 1990
- 18) Rosen GM, Rauckman EJ: Formation and reduction nitroxide radical by liver microsomes. *Biochem. Pharmacol.* 26: 675 678, 1967
- 19) 邵啓全 , 伏木雅人 , 米原英典 , 森田陸司 : 放射線照射後のマウス肺内におけるニトロキシラジカル還元の動態解析 *滋賀医大誌*12 : 17 24 , 1997
- 20) Takeshita k, Utsumi H, Hamada A: ESR measurement of radical clearance in lung of whole

- mouse. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 177: 874-880, 1991
- 21) Takeshita K, Utsumi H, Hamada A: Whole mouse measurement of paramagnetism-loss of nitroxide free radical in lung with a L-band ESR spectrometer. *Biochem. Molec. Biol. Int.* 29: 17-24, 1993
- 22) 竹下啓蔵, 内海英雄, 濱田昭: マウス肺内におけるニトロキシラジカル還元解析 磁気共鳴と医学 5 : 144-147, 1994
- 23) Travis EL, Harley RA, Fenn JO, Klobukowski CJ, Hargrove HB: Pathologic changes in the lung following single and multi-fraction irradiation. *Radiat. Onc. Biol. Phys.* 2: 475-490, 1977
- 24) Ward JF, Blakely WF, Jones EI: Mammalian cells are not killed by DNA single-strand breaks caused by radicals from hydrogen peroxide. *Radiat. Res.* 103: 383-392, 1985
- 25) Withers HR: Biologic basis for altered fractionation schemes. *Cancer.* 55: 2086-2095, 1985
- 26) Yoshikawa T, Kokura S, Tainaka K, Naito Y, Kondo M: A novel cancer therapy on oxygen radicals. *Cancer Res.* 55: 1617-1620, 1995
- 27) 吉川敏一: フリーラジカルの医学(初版) pp 7-13, pp35-38 東京 診断と治療社 1997