

慢性有機燐中毒ラットによる老化の促進に関する実験的研究

奥脇賢一

北里大学医学部眼科学教室

要約

有機燐剤と老化との関係を知る目的で、fenthionの微量皮下投与(6mg/kg/day)を最長12週ラットに投与した。全身への影響を知るために諸組織、臓器における蛍光性脂質過酸化生成物(FLPP)、superoxide dismutase(SOD)活性の測定、および水晶体の病理組織学的観察を行なった。FLPPは網膜・脈絡膜、水晶体、腎臓、心臓で有機燐剤投与群が対照群に比べ週齢が増すにしたがって増加傾向にあり、水晶体($p < 0.01$)と腎臓($p < 0.05$)は統計学的にも有意な増加を認めた。SOD活性は網膜・脈絡膜、視神経、肝臓、心臓で投与開始後4週目あるいは8週目に一時的に投与群で増加傾向を示したが、有意差はなく、12週目には対照群の値へ近づく傾向を示した。水晶体の顕微鏡結果は12週投与群では対照群と比べ、弓状部構築の乱れ、赤道部線維細胞の核が後囊側へ偏位している所見が認められた。FLPPは脂質の過酸化に起因し生成される蛍光物質であり、加齢にともなって増加する。FLPPが投与群で増加傾向を示したこと、また水晶体の顕微鏡所見も加齢現象の促進を示唆するものであった。SOD活性については加齢現象促進のために誘導の低下がおきているものと思われる。以上より有機燐剤が加齢現象を促進する可能性のあることが示された。(日眼会誌 94:723-730,1990)

キーワード：慢性有機燐中毒, 老化, 蛍光性脂質過酸化生成物(FLPP), 水晶体, Superoxide dismutase(SOD)

Chronic Organophosphorus Intoxication and Aging in Rats

Kenichi Okuwaki

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kitasato University

Abstract

Possible acceleration of aging due to the administration of organophosphorus pesticide (OP) was studied. Fenthion (6mg/kg/day) was subcutaneously administered dorsally to rats over a period of 12 weeks. The amounts of fluorescent lipid peroxidation products (FLPP) and superoxide dismutase (SOD) activity were measured in various tissues. Microscopic examination was added only in the lens. The amount of FLPP in the retina-choroid, lens, kidney and heart of the rats was found to be increased (lens; $p < 0.01$, kidney; $p < 0.05$). The activity of SOD in the retina-choroid, optic nerve, liver and heart increased temporarily, but eventually returned to control levels. The lens preparations at the end of the 12-week administration period showed irregular bow configuration and epithelial nuclear dislocation in the bow area. FLPP are fluorescent products produced by peroxidized lipids and their amounts increase with aging. Increase in the amounts of these products and microscopic findings for the lens were indications of the progress of aging. There is thus the possibility that the inducement of SOD production may decrease with aging. It was concluded that the organophosphorus pesticide may accelerate the aging of rats. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 723-730, 1990)

別刷請求先：228 神奈川県相模原市北里1-15-1 北里大学医学部眼科学教室 奥脇 賢一
(平成元年11月10日受付, 平成2年1月17日改訂受理)

Reprint requests to: Kenichi Okuwaki, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Kitasato Univ.
1-15-1 Kitasato, Sagami-hara 228, Japan

(Received November 10, 1989 and accepted in revised form January 17, 1990)

Key words: Chronic organophosphorus intoxication, Aging, Fluorescent lipid peroxidation products (FLPP), Lens, Superoxide dismutase (SOD)

I 緒 言

近年、殺虫剤等の農薬における環境汚染が問題になっている。有機燐中毒における臨床報告^{1)~5)}は多数みられるが、しかし、そのほとんどが農薬散布者や大量散布地域での濃厚暴露が主流である。しかし、現在の状況は家庭内での殺虫剤等の増加やゴルフ場等での農薬の使用による周辺地域および河川の水質汚染などにより、特定地域のみならず多くの地域、人々への汚染における慢性的な微量摂取の可能性が考えられる。また、ある種の農薬、殺虫剤、抗癌剤などの化学物質は、植物、動物の体内で、活性酸素、過酸化脂質を産生し組織の障害などをもたらすことが知られている⁶⁾。さらに、活性酸素による脂質の過酸化は組織の老化の促進を考えると非常に重要である。しかし、今までの有機燐中毒実験では組織の著しい変性に関する報告はあるが、老化に注目した報告は存在しない。そこで今回は、低毒性有機燐剤(fenthion)の微量投与による慢性中毒ラットにおける老化の促進との因果関係について、老化の指標となる蛍光性脂質過酸化生成物(fluorescent lipid peroxidation products, FLPP)、脂質の過酸化に関与する活性酸素の除去酵素であるsuperoxide dismutase (SOD)の測定を行ない、さらに水晶体の病理組織学的検査において興味ある結果が得られたのでここに報告する。

II 実験方法

1. 実験動物、投与薬剤および投与方法

実験動物は、体重330g前後(投与開始時12週齢)の雄ウイスター系ラットを用いた。投与群32匹、対照群42匹で合計74匹を使用した。体重測定は、投与前(Pre)より投与開始後12週目まで、2週ごとに行なった。投与有機燐剤は、西尾工業製 fenthion (dimethyl 4-methylthion-m-tolyl phosphorothioate: Baycid[®])を用いた。分子式は $C_{10}H_{15}O_3PS_2$ 、分子量は279.33である。投与方法は、ラット背部皮下にマイクロシリンジを用いて、1日あたり6mg/kgを月曜日から金曜日までの週5日間連日投与、土、日曜日は休薬し、最高60日間(12週投与群)投与した。1日の投与量はラットにおけるLD50(経皮330~500mg/kg)⁷⁾の約60~80分

の1相当であった。動物飼育条件は、室温 $23 \pm 3^\circ C$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ および明暗周期12時間(点灯時間午前7時より午後7時、照度400~500Lux)に維持された空調動物室内で、金属ケージに個別に収容し、飼料には固形型普通食(CE-2, 日本クレア)を使用し、水とともに自由に摂食させ特に栄養学的に過不足な状態にならないよう配慮し飼育した。

測定組織は、網膜・脈絡膜、虹彩・毛様体、視神経、水晶体、肝臓、腎臓、肺臓、小脳、心臓の9種類を用いた。測定時期は、投与前(Pre)、投与後4週目、8週目および12週目として、それぞれ5匹ずつについて測定した。組織採取はネブタール腹腔内投与麻酔下で放血致死後に行なった。

2. 蛍光性脂質過酸化生成物の測定

Fletcherらの方法⁸⁾により、蛍光性脂質過酸化生成物(fluorescent lipid peroxidation products: FLPP)を測定した。網膜・脈絡膜、虹彩・毛様体および視神経は2眼を、水晶体は1眼を1検体とした。その他の臓器は、0.2gを1検体とした。クロロホルム-メタノール(2:1)混液を網膜・脈絡膜、虹彩・毛様体、視神経には2ml、その他の組織には4mlを加えテフロンホモジナイザーにてホモジナイズした。ホモジナイズ後10分間放置し、等量の蒸留水を加え、3,000回転で2分間遠心分離を行なった。クロロホルム層から1mlを取りメタノール0.1mlと混合したのちセルに移し、その蛍光スペクトルを測定した。spectrophotofluorometerは日立PF245を使用した。なお標準化合物として硫酸キニーネの0.1N希硫酸溶液(1 μ g/ml)を用い、蛍光強度を60~90単位になるようにセットした。excitation wave lengthは365nm, emission wave lengthは450nmとした。

3. Superoxide Dismutase (SOD)の活性測定

McCordとFridovichのチトクロームC法⁹⁾によってSODの活性を測定した。網膜・脈絡膜、虹彩・毛様体、視神経、水晶体はFLPP測定と同様に、その他の組織は100mgを1検体とした。125mM 燐酸緩衝液(pH 7.8)を網膜・脈絡膜、虹彩・毛様体、視神経には1ml、その他の組織には2mlを注入し、テフロンホモジナイザーにてホモジナイズした。その後水中にて1~2時間放置した。このサンプル1mlに対して、クロロ

ホルム—エタノール(3:5)混液を0.35ml 加え攪拌し, 10,000rpm(約7,000g)10分間, 冷却遠心し, 上清0.3ml をサンプルとした。測定する検体数の2倍の試験管を用意し, 各試験管に50mM EDTA 50 μ l, Hypoxanthine(Sigma 13.5mg/50ml 生食)100 μ l, 1mM KCN 23 μ l, 125mM 燐酸緩衝液1.7ml (コントロール用に2ml)を入れた。この混合液に調整したサンプルを加えた。コントロール溶液に0.12U/ml の Xanthine Oxidase 100 μ l およびチトクローム C (type III Sigma 12.5mg/1.5ml 生食) 50 μ l を同時に加え直ちに攪拌しセルに移した。1分後のO.D.値を測定しさらにその1分後のO.D. 値を測定した。550nmの吸光度の上昇が1分間に0.025 \pm 0.002上昇するように Xanthine Oxidase 濃度を調整した。各サンプルも同様に測定した。各サンプルの Blank は Xanthine Oxidase の代わりに生食100 μ l を加え同様に測定し, 最初と最後にコントロールも数回測定した。spectrophotometer は日立124を使用した。各サンプルのタンパク定量は, Bradfordの方法¹⁰⁾による Coomassie brilliant blue G-250を用いた色素結合法によって行なった。活性値は計算式 $\{C-(A-B)\}/(C/2)$ units にて算出し, この値をタンパク量で割り units/mg protein で表した。(A: サンプルのO.D. 値, B: blank のO.D. 値, C: コントロールの平均O.D. 値)

4. 病理組織学的検査

12週投与群と同時期の対照群において水晶体を病理組織学的に検索した。眼球摘出後, 4%グルタルアルデヒド-0.075M 燐酸緩衝液に入れ3日間前固定した。固定後0.075%燐酸緩衝液で軽く洗浄のち1%四酸化オスミウムにて後固定を行なった。アルコール脱水, エゾン樹脂包埋, トリジンブルー染色後水晶体を光顕にて観察した。

III 結 果

有機燐剤(fenthion)総投与量は, 投与開始後4週目で120mg/kg, 8週目で240mg/kg, 12週目で360mg/kgであった。12週目での総投与量は急性中毒ラットに対するLD50にほぼ相当する量である。しかし今回の場合, 投与期間中食事の摂取力は正常であり, 体のふるえ, 下痢等の諸症状を示した例はなく, また死亡した例もなかった。以下それぞれの測定値の有意差は Welch の T 検定にて判定した。

1. 体重曲線

投与開始前と投与開始後2週間おきに体重測定を行

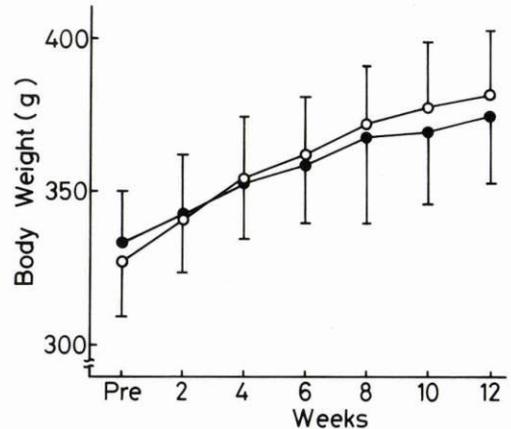


図1 体重曲線。●: 投与群, ○: 対照群。両群の間に有意差は認められなかった。

ない対照群と比較した。図1で示すように投与群(●)は対照群(○)に比べ体重増加量がやや低下しているが, 12週目まででは有意差は認められなかった。

2. FLPP 測定結果

虹彩・毛様体, 肝臓, 肺臓は測定結果のバラツキが非常に大きかったので今回は結果より除外し, その他の検体について検討した。●は投与群, ○は対照群である。結果は図2に示す。水晶体(b)および腎臓(e)は週齢とともに投与群が対照群に比べ増加傾向を示し, 8週, 12週目では有意差(水晶体: $p < 0.01$, 腎臓: $p < 0.05$)が認められた。網膜・脈絡膜(a), 心臓(f)は有意差は認められなかったものの投与群が対照群に比べ増加傾向を示した。視神経(c)および小脳(d)に変化は認められなかった。

3. SOD 活性測定結果

結果は図3に示す。対照群は週齢による変化はほとんど認められなかった。投与群では, 網膜・脈絡膜(a)は4, 8週目には増加傾向を示したが12週目では対照群の値へ近づいて行く傾向を示した。しかしいずれの週も有意差は認められなかった。視神経(c), 肝臓(e)も8週目で, また心臓(i)は4週目でやや増加傾向をしめしたが, 12週目には対照群の値へ近づき傾向を示した。小脳(h)は8週, 12週目と徐々に対照群よりも増加していく傾向を示しているが, 12週目まででは有意差は認められなかった。その他の測定臓器も特に対照群との差は認められなかった。

4. 病理組織学的観察結果

FLPP 測定結果において統計的に有意差のあった水晶体のみについて光顕にて観察した。光顕所見は図

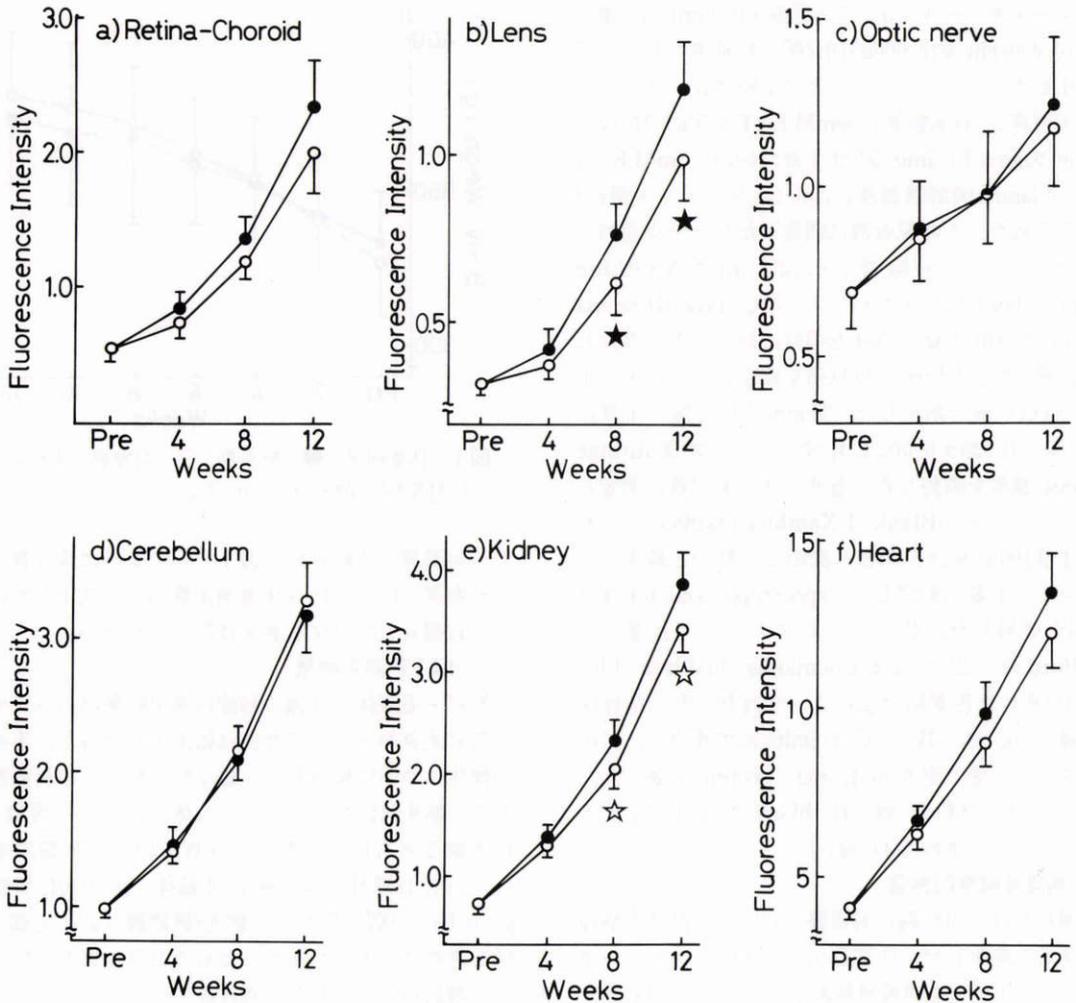


図2 Fluorescent Lipid Peroxidation Products (FLPP) の測定結果。●：投与群，○：対照群。網膜・脈絡膜 (a)，水晶体 (b)，腎臓 (e)，心臓 (f) は週齢とともに投与群が対照群に比べ増加傾向を示した。統計学的に有意差が認められたのは水晶体 (★： $p < 0.01$) および腎臓 (☆： $p < 0.05$) であった。

4に示す。12週投与群水晶体と対照群のそれを比較すると、上皮細胞、皮質、水晶体核のいずれの部位にも特記すべき所見は見られなかったが、赤道部の上皮細胞と幼若線維細胞の核が連なって形成される弓状部構築に顕著な違いが認められた。すなわち、対照群に比べ投与群では、弓状部構築が乱れ、いくつかの赤道部線維細胞の核は後囊側へ著しく偏位していた。

IV 考 按

有機燐の生体内での作用¹¹⁾は大きく分けて三つに分けられる。第1はアシル化(アシル基-CO-CHを結

合させる)作用による生体の障害で、臨床症状は主として真コリンエステラーゼ(アセチルコリンエステラーゼ)の阻害による。第2はアルキル化(アルキル基-C-Hを結合させる)作用による生体の障害である。第3はコリンエステラーゼ以外のいろいろな酵素、例えばキモトリプシン、トリプシン、肝エステラーゼ、カルボキシルラーゼなどを抑制する。しかしそれらの作用機序にはいまだ不明な点が多い。本邦における有機燐中毒例は、当初急性中毒がほとんどであったが、1969年に石川ら¹¹⁾の佐久地方での慢性例が報告されて以来慢性中毒に対する関心が強まり、その後現在まで多

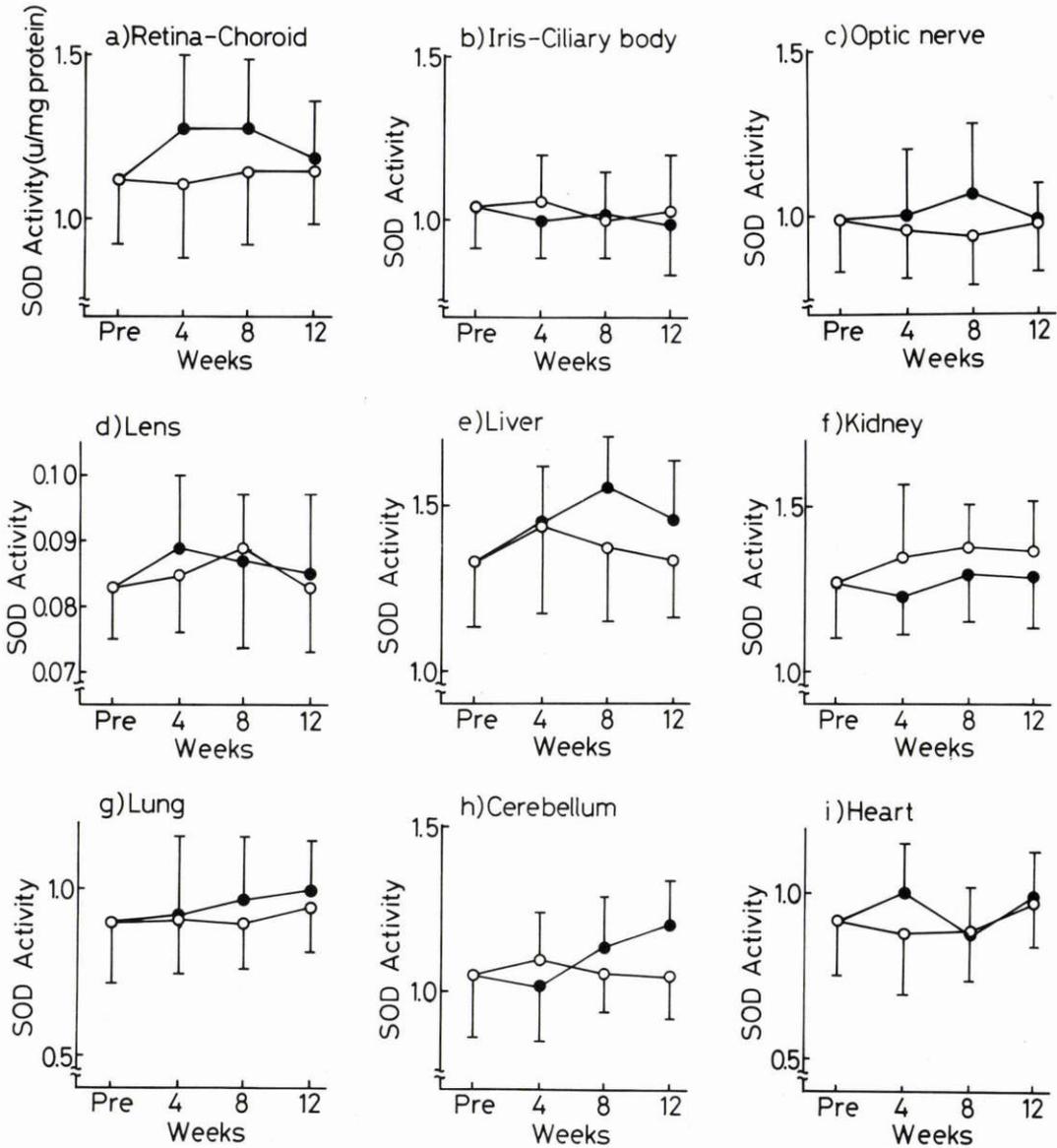


図3 Superoxide Dismutase (SOD) 活性の測定結果。●：投与群，○：対照群。対照群は週齢による変化は認められなかった。投与群は増加傾向を示している組織もあるが統計学的有意差は認められなかった。

数の報告^{2)~5)}がなされるようになった。これらの報告による中毒患者の症状は眼を含む全身に異常を示すが眼では、視神経障害、眼球運動障害、網膜の異常、屈折・調節の異常、眼孔の異常、全身では内分泌、循環器、中枢・末梢・自律神経系などである。過去の有機燐剤中毒実験は主にコリンエステラーゼ活性に注目し、この活性値の変動と臨床症状との因果関係、あるいは諸臓器の変化と対比したものがほとんどであ

た^{12)~15)}。また比較的大量に長期間投与された実験では、犬で視神経等¹⁶⁾に、ラットで網膜¹⁷⁾の変性が報告されている。しかし前述したように有機燐の作用はコリンエステラーゼ以外は未だに不明な点が多く残されている。一方、慢性有機燐中毒での組織の退行変性は全身的に見出されることが報告¹⁸⁾され、そして臨床的には剖検例でも動脈硬化、心臓の異常などむしろ老化の促進を示唆する所見が報告¹⁹⁾されている。そこで今回

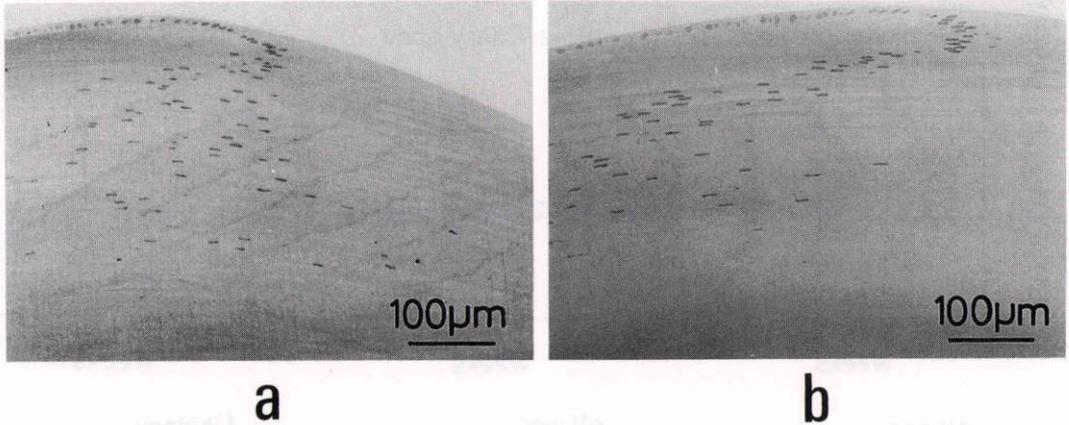


図4 水晶体光顕所見(×110)。a: 投与群, b: 対照群。12週投与群では対照群に比べ弓状部構築が乱れ, 赤道部線維細胞の核が後嚢側へ著しく偏位している。

は, 低毒性有機燐剤の微量投与による慢性中毒と考えられるラットにおいて加齢にともなう組織の変性つまり老化の促進について実験が行なわれた。

FLPPの実験結果は, 水晶体, 網膜, 腎臓, 心臓において投与群と対照群で投与期間が増加するにしたがって, 両群の差が増大する結果を示した。両群とも同一の週齢であるにもかかわらず, 投与群の方がFLPPの増加量において, 特に水晶体, 腎臓では有意な増加を示した。しかし視神経, 小脳の神経組織でのFLPPの増大は認められなかった。FLPPは脂質過酸化に起因し生成される蛍光物質であり, 加齢現象により増加するものであると言われている。Tappelら²⁰⁾はマウス睾丸内においてFLPPが加齢にともなって増加していることを示し, Hiraiら²¹⁾もモルモット脳内で加齢により増加することを明らかにしている。これらのことより今回の実験結果は, 有機燐剤が神経組織以外では加齢現象を促進していることを示唆しているものと思われる。

FLPPの差が明瞭に認められた水晶体については, それを他覚的所見として捉えるために病理組織学的検索を加えた。水晶体の光顕結果では, 対照群に比べ投与群においては弓状部構築が乱れ, 赤道部線維細胞の核が後嚢側へ著しく偏位している所見が認められている。正常マウス水晶体の加齢変化についての報告²²⁾では, 月齢12カ月以後に, 後極側へ偏在する核が増加する加齢性変化がみられるとし, このことは上皮増殖帯の分裂能減衰が加齢によって起きていると推察している。今回の結果で投与群と対照群を比較すると同週齢(24週齢)のラットであるにもかかわらず前記変化が出

現したことは一連の加齢変化の過程で投与群においてより一層の加齢変化が進行していることを強く推察させる結果である。有機燐剤が比較的大量で長期に投与された犬の実験¹⁶⁾では, 視神経および末梢知覚神経に病理組織学的に変性が認められているし, また同様に長期間に投与されたロングエバン斯拉ットにおける実験¹⁷⁾では網膜に重篤な変性が出現することが報告されている。これらの実験結果より有機燐の暴露量が長期でしかも多いと病理組織学的に明らかな変性を神経系にも引き起こすことがわかる。しかしサル長期微量投与実験²³⁾では肝臓の慢性的な鬱血と肝細胞の腫大のみがみられたとしている報告もあるがこの点はさらに詳しい観察を必要とする。今回の実験も比較的微量投与でしかも12週間であるため著しい組織の変性には至らずとも, わずかな組織の変化を引き起こしているか, またはその前段階にあることが考えられる。一般的に加齢性変化を老化といい, 今回の有機燐剤における水晶体の弓状部構築の乱れ, 赤道部線維細胞の偏位等は水晶体の老化と同様の変化といえる。

このような加齢現象の促進の機序に直接関与する因子として近年, フリーラジカル, 特に活性酸素が注目されている。しかし, 活性酸素自体の実質組織内の定量はなお問題が多く, そのため今回はその除去酵素であるSODがどのように働くかに注目した。SODは活性酸素のうち O_2 を不均化する酵素であり, 活性酸素は脂質の過酸化の過程で重要な役割を演じている。今回の実験では網膜・脈絡膜, 視神経, 肝臓, 心臓が投与期間中一時的に対照群よりもその活性の増大している傾向が認められたことは, 有機燐剤投与に直接的に,

あるいは有機燐剤により増加したFLPPに反応してSOD誘導が増加したものと思われる。しかし、最終的には対照群のレベルへ近づいていく傾向を示した。また、小脳は8、12週と増加傾向の増大を示した。一般的に生体の各組織、臓器でのSOD活性値の強弱はおおむねその組織、臓器中に存在する過酸化脂質の高低に比例すると言われている²⁴⁾。しかし今回の実験結果ではFLPPが対照群よりも投与群の方で増加している臓器(網膜・脈絡膜、水晶体、腎臓、心臓)であっても、最初はSOD活性の増加傾向を示したにもかかわらず、最終的には対照群の値へともどる傾向を示した。SODと老化に対する最近の報告では、Michelsonら²⁵⁾や丹羽ら²⁶⁾によると平常時には、加齢によるSOD活性の低下はみられないとされている。また、丹羽らの別の報告²⁷⁾では火傷患者、火傷モルモットの老若2グループにおいて、老齢のヒト、モルモットでは若年のそれに比してSODの誘導が有意に低いことが証明されている。SODと有機燐との関係についての報告は未だになく、その機序はなお不明である。今回の実験結果は投与初期にSOD誘導の増加傾向が認められるが、最終的にはFLPPが増加しているにもかかわらずSOD誘導が増加していない。このことは有機燐剤自身がSOD誘導を阻害しているとは考えにくく、投与群において加齢現象の促進のためにSOD誘導がむしろ低下したのではなからうかと考えるのが妥当と思われた。

しかし重要なことは本実験より、今まで明らかにされていなかった有機燐と老化との関係について、長期的な微量投与が加齢性変化を促進する可能性のあることが示された。以上の点より、職業的に慢性被曝している農民などに対しても今後老化の観点からFLPPやSODの測定を行ない、さらに老化の問題で長期の詳細な観察が必要であると思われた。また眼では水晶体の混濁の加速性もさらに追求する必要があると思われた。

稿を終るにあたり、石川 哲主任教授の御指導、御校閲、ならびに宮田幹夫教授、宇賀茂三助教授の御指導、御協力に深謝いたします。

文 献

- 1) 石川 哲, 大戸 建: 視力障害を主徴とする「佐久の眼病」について。日本医事新報 2425: 8-15, 1970.
- 2) 一井幸子, 宮城礼子: 大阪北河内地区にみられた小児の視神経炎。医学のあゆみ 76: 196-197, 1971.
- 3) 瀬川昌也: 数地区に多発した視力障害例の臨床神経学的研究。日本医事新報 2453: 43-47, 1971.
- 4) 大野新治, 今井弘子, 石川 哲: 興味ある慢性有機燐中毒の2例。臨眼 27: 731-736, 1973.
- 5) 内海 隆, 宮田幹夫: 慢性有機燐中毒におけると思われる網膜色素変性症例の生化学的考察。眼臨 71: 550-555, 1977.
- 6) 丹羽靱負: 生体の酸素障害とその防御機構。モダンメディア 34: 133-157, 1988.
- 7) 富沢長次郎, 上路雅子: 最新農業データブック。東京, ソフトサイエンス社, 112, 1982.
- 8) Fletcher BL, Dillard CJ, Tappel AL: Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological systems and tissues. *Annal Biochem* 52: 1-9, 1973.
- 9) McCord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase. *J Biol Chem* 244: 6049-6055, 1969.
- 10) Bradford MM: A rapid and sensitive method for the quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254, 1976.
- 11) 石川 哲: 中毒性視神経症。松崎 浩編。眼科Mook, 30, 視神経とその疾患, 東京, 金原出版, 181-196, 1986.
- 12) 所 敬, 鈴木弘一, 中野秀樹, 他: 実験的慢性有機燐中毒犬の屈折及び眼圧の推移。日眼会誌 77: 1237-1245, 1973.
- 13) 疋田春夫, 宮田幹夫, 石川 哲: 実験的慢性有機燐中毒犬におけるコリンエステラーゼの生化学的研究。日眼会誌 77: 1254-1265, 1973.
- 14) 今井広子: 有機燐剤の眼毒性に関する研究。日眼会誌 78: 163-172, 1974.
- 15) 早川重夫, 平本 大, 関谷治久: 有機燐剤中毒の縮瞳に関する実験的研究。日眼会誌 93: 167-173, 1989.
- 16) 向野和雄, 石川 哲, 宇賀茂三: 慢性有機燐中毒一その視神経, 末梢神経障害について。眼臨 69: 969-971, 1975.
- 17) Imai H, Miyata M, Uga S, et al: Retinal degeneration in rats exposed to an organophosphate pesticide (fenthion). *Environmental Reseach* 30: 453-465, 1983.
- 18) Bojkova NV, Zarafiants GN, Krabtsova GB, et al: Histenzymologic and metabolic change in some internal organs in case of poisoning with organophosphorous toxic substances. *Sudebno-Meditsinskaia Ekspertiza* 27: 29-31, 1984.
- 19) Ishikawa S, Miyata M, Sako H: Retinal Degeneration Possibly due to Environmental Exposure to Organophosphorus Pesticides. The Seventh Annual International Symposium on

- Man and His Environment in Health and Disease: 32, Dallas, 1989.
- 20) **Tappel AL, Fletcher B, Deamer D**: Effect of antioxidants and nutrients on lipid peroxidation fluorescent products and aging parameters in the mouse. *J Gerontol* 28: 415-424, 1973.
 - 21) **Hirai S, Okamoto K, Morimatsu M**: Lipid peroxide in the aging process, In Yagi K (ed). *Lipid Peroxides in Biology and Medicine*, New York, Academic Press, 305-315, 1982.
 - 22) **Uga S, Kohara M, Ishikawa S**: Morphological study of age-related changes in mouse lens. *Jpn J Ophthalmol* 27: 157-165, 1983.
 - 23) **阿部栄四郎, 黒沢和雄, 佐々木喜一郎, 他**: スミチオンの微量投与による慢性毒性試験. *日農医誌* 30: 42-51, 1981.
 - 24) **丹羽毅負**: 活性酸素とスカベンジャー5)SOD (superoxide dismutase). *治療学* 19: 730-734, 1987.
 - 25) **Michelson AM, Puget K, Durosay P, et al**: Superoxide and superoxide dismutase, In Michelson AM, McCord JM, Fridovich I (ed). London, Academic Press, 467-499, 1977.
 - 26) **Niwa Y, Ishimoto K, Kanoh T**: Induction of superoxide dismutase in leukocytes by paraquat: Correlation with age and possible predictor of longevity. *Blood*, 1990, in press.
 - 27) **Niwa, Y, Kasama T, Kawai S, et al**: The effect of aging on cutaneous lipid peroxide levels and superoxide dismutase activity in guinea pigs and patients with burns. *Life Sci* 42: 351-356, 1988.
-