



Title	γ線照射によるヘモグロビンの損傷について
Author(s)	野崎, 公敏
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1963, 23(2), p. 181-188
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/15457
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

γ線照射によるヘモグロビンの損傷について

大阪大学医学部放射線医学教室（主任 立入弘教授）

野崎 公敏

（昭和38年2月25日受付）

Free Radicals in Irradiated Bovine Haemoglobin

By

Tadaharu Nosaki

Department of Radiology, Osaka University School of Medicine
(Director: Prof. H. Tachiiri)

The purpose of this study is to reveal the radiation damage to bovine haemoglobin molecule from the physico-chemical stand of view.

The experiments were carried out about the microwave spectroscopy of electron spin resonance and the amperometric titration of SH-groups in the gamma-irradiated bovine haemoglobin.

The results are as follows:

1. Free radicals in haemoglobin powder increase corresponding to radiation dose (10 Kr ~ 700 Kr) in both aerobic and anaerobic states. After irradiation the free radicals of the samples in aerobic decrease gradually. On the other hand, the free radicals of the samples in anaerobic initially increase post irradiation, and then decrease slowly. The difference between aerobic and anaerobic means the oxygen effect.

Some quantities of free radicals are found in the irradiated aquos solution of haemoglobin.

2. Amperometric titration discloses disappearance of SH-groups in the irradiated haemoglobin of both aerobic and anaerobic states. Also in this case oxygen effect is found considerably.

3. The proportionality between free radical formation and disappearance of SH-groups is noted. It is concluded that there is the formation of S· at an early stage of the radiation damage to haemoglobin. With regard to the formation of S·, another proof is revealed in the irradiated cysteine.

生体に対する電離放射線の作用を明らかにすることは、放射線の利用が盛んになるに従つて、これに必然的に伴うと考えられる障害を避けるために重要な意義を有するものである。この方向の試みの一つとして、生体を構成する高分子、特に蛋白をはじめとする各種の物質に対する放射線の作

用機構を生物物理化学的に追求して、その基礎過程を解明しようとする研究を挙げることができる。この場合、放射線エネルギーの吸収によつて誘起される分子の電離および励起と、それに続く遊離基過程が問題となる。

この方面でわれわれのとり得る研究手段は若干

あるが、特に電子スピン共鳴吸収の観測は注目すべき方法であり、これによつて遊離基の生成と消滅を放射線の作用の初期の段階でとらえることが可能である。しかし、電子スピン共鳴吸収で見出される遊離基の生成、消滅だけでは物理化学的変化の詳細を明らかにすることはできない。従つて異つた観点から行つた実験による裏付けを必要とする。

著者は生体物質としてヘモグロビンを選び、 ^{137}Cs - γ 線照射を行つて遊離基とSHとにどのような変化が起るか注目し、これに対して主として電子スピン共鳴吸収法と電流滴定法とを用いることによつて解明しようとした。その結果、照射による特異な変化を見出したので、これを報告する。

I. 実験 I 電子スピン共鳴

実験方法

電子スピン共鳴装置は、Varian 製 Model V-4500を使用した。スペクトロメーターには 9000 Mc/sec のマイクロ波を用い、共鳴吸収度をあげるために磁場は 100Kc/sec で変調されている。

実測されるスペクトルは真の吸収波形の一次微分を表わしており、遊離基量は実測の吸収曲線の二重積分より求めた。

測定用の試料容器としては、固体試料の場合は外径約 3mm、内径約 2mm のガラス管を、液体試料の場合は装置附属の石英製容器を用いた。これらの容器に存在する共鳴吸収は対照実験を行つて補正した。

照射源として ^{137}Cs - γ 線を用い、500r/min の線量率で、10Kr から 700Kr までの線量を試料に与えた。

試料とした牛ヘモグロビンは Merck 製で、pH 7.4 の磷酸緩衝液に溶解し、ハイドロサルファイトで還元のうえ、超遠沈によつて不溶性残渣を除き、透析、乾燥後の粉末を使用した。

環境条件として、空気中と、ガラス器に 10^{-2} mmHg 程度の真空中に封入したもの(以下真空中といふ)とを考慮し、そのおのおのについて実験を行つた。後者の場合試料を約 15cm の長さの測定用ガラス管に封入後、一端に集めて照射し、測定にあたつては非照射端に移して照射されたガラス

に生ずる共鳴の影響を避けた。

実験はすべて室温で行つた。

実験結果

1. 空気中および真空中で得た被照射ヘモグロビン粉末の共鳴吸収波形は、すべて単一のGauss型に近いもので、超微細構造は認められない。基準とする DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) と比較して得られた g-値は 2.00 で、 ΔH は約 11 ガウスであつた。(Fig. 1), (Fig. 4)

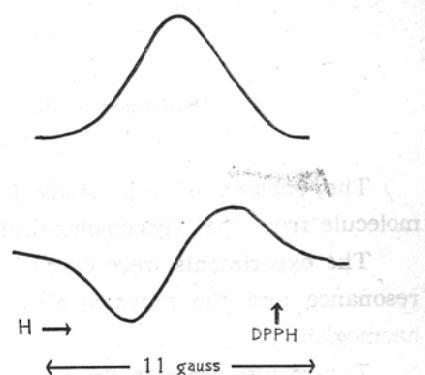


Fig. 1 Paramagnetic Absorption Curve of Irradiated Haemoglobin Powder

2. 遊離基は非照射試料にも僅かに存在していた。照射線量と生成された遊離基量との関係をみると、空気中では 100Kr まで急な増加を示すが、それ以上の線量に対しては著しい増加が認められない。真空中では遊離基量は線量とともに指数的に増加し、同一線量を与えると空気中の場合に比べて多く生成された。(Fig. 2) 測定時点は照射終了後 10 分ないし 20 分である。

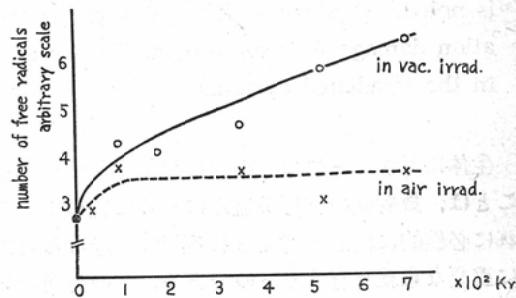


Fig. 2 Free Radical Number of Haemoglobin Powder soon after Irradiation

3. 照射終了後、試料を乾燥器内に保存し、経時的に共鳴吸収の観測を行つた。遊離基量は空气中では指數的に減少し、照射線量によつて異なるが3~24時間で平衡に達する。この際の遊離基量は照射前試料の値にはゞ等しい。真空中では照射後3時間まで増加を示し、以後は減少し、48時間以後は緩慢に減じた。(Fig. 3)

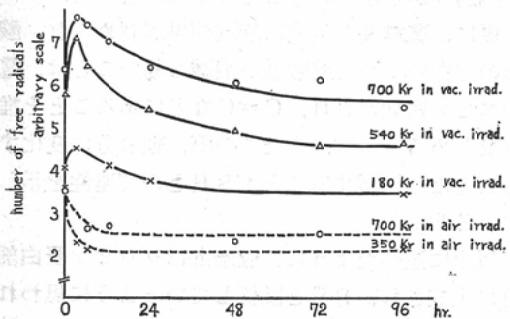


Fig. 3 Free Radical Number of Haemoglobin Powder as a Function of Time after Irradiation

吸収波形の変化をみると、空气中では時間的に差異が認められないのに対し、真空中では照射終了後1~2時間までと3時間以後とで波形が異なる。(Fig. 4)

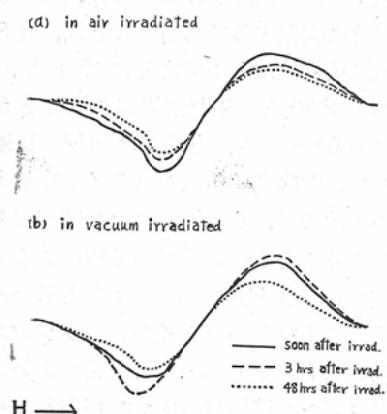


Fig. 4 Paramagnetic Absorption Curve of Irradiated Haemoglobin Powder

真空中で照射し、空气中に保存したものの経時的変化は、空气中照射の場合と同様であつた。

4. ヘモグロビンの $10^{-3}M$ 水溶液(pH 7.4磷酸緩衝液に溶解)に 700Kr を照射し、共鳴吸収を

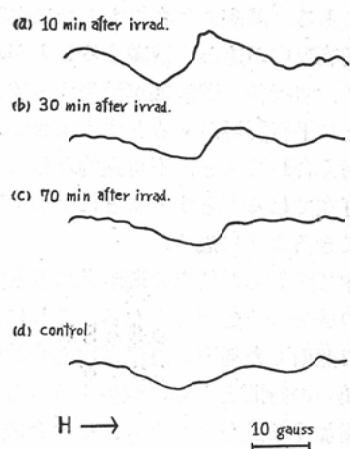


Fig. 5 Paramagnetic Absorption Curve of in Air Irradiated Haemoglobin Solution

観測した。結果はFig. 5に実測の吸収曲線で示されている。照射終了後10分の吸収曲線は非照射のそれに比較して明らかに遊離基の生成を表わす。時間の経過とともに吸収曲線は非照射試料の吸収曲線に近づき、2時間後には両者の差異をほとんど認め得なくなつた。

考察と小括

人ヘモグロビンの電子スピン共鳴については、Gordy らの報告がある。すなわち、真空中で照射すると g -値2.00, ΔH 20ガウスの doublet が観測され、空气中で照射すると singlet が得られ ΔH はやゝ小である¹⁷⁾。しかし、真空中照射を行つても胎児ヘモグロビンのように singlet しか得られぬ場合もある¹⁸⁾。著者の観測した牛ヘモグロビン粉末の共鳴吸収は、ほゞこれに一致するものである。

生体物質を照射して観察される照射線量と生成遊離基量との間の非直線性は、Zimmer によって研究されている⁴⁰⁾。著者の実験で線量効果関係が直線性を失つてゐることは、線量率が 500r/min で照射にかなり長時間を要するため、生成した遊離基のうち短命のものが照射終了までに消滅することも考えねばならないが、高線量になるに従つて再結合が重要な役割を演じていると假定する方が妥当であろう³¹⁾。特に空气中の場合に直線的関係からのずれが著しく、照射後の遊離基の消滅

は速かである。酸素の存在のもとでは各種の生体物質の共鳴吸収が速かに消滅することが認められており¹⁰⁾、照射後に遊離基が消失する速さと損傷の強さとに平行関係があるとする Conger らの結論⁹⁾を考え合わせると、不可逆的な新しい結合が酸素の存在で起る³⁸⁾とすることによって酸素効果を説明できるように思う。

空気中で照射した粉末の遊離基は照射後減少する一つの成分のみと考えられる。これに反して、真空中で照射した粉末の遊離基は経時的变化からみて、第一の時間とともに減少する成分と第二の照射後増加する成分よりなり、その合成と考えざるを得ない。この第一の成分と第二の成分が異質のものであることは、吸収波形にみられた変化から消滅速度の異つた遊離基が混在しているという考え方¹⁸⁾で説明される。空気中で第二の成分に相当するものが認められないのは、主として酸素の存在によって消滅したものと推論される。

このように照射後に遊離基量が増加する現象は、Henriksen がホモシスチンなどの SH 化合物を真空中で照射したもので観察している¹⁸⁾。SH 化合物のすべてに認められているのではないので、両者に直接の関連があると結論することはできないが、SH 化合物に特異な現象であるとはいひ得よう。Norman らは SH からの electron transfer が放射線による蛋白変性に意味をもつているとしており²⁵⁾、この現象の一面を説明するようと思われる。

次に観測された遊離基が何に由来するものかを考察したい。

ヘモグロビンの場合にはその成分である鉄イオンが paramagnetism を有しており、当然共鳴吸収を示すことが予想される。この点については、ヘモグロビン結晶は鋭い吸収を示すが粉末では巾広い吸収しか得られない⁸⁾ことが知られており、特に室温ではほとんど観測し難い¹⁷⁾。また著者は硫酸第一鉄と硫酸第二鉄の共鳴吸収を結晶と溶液について検討したが、g-値 2.00 の附近において認むべき吸収を観測し得なかつた。これらの事実によつて鉄イオンに基くものを考える必要はないと思われる。

ヘモグロビン粉末にみられた共鳴吸収は g-値 2.00 であつて、实际上では不対電子の遊離基と考えてよく⁴⁰⁾、これは一般に被照射蛋白にみられるところである¹⁷⁾⁴⁰⁾。この点、Gordy らが述べているようにグロビン蛋白の不対電子スピニ密度に起因する共鳴であろう¹⁷⁾。

真空中で照射後遊離基が増加する点から SH との関連性が暗示されることはすでに述べた。

更に、遊離基の生成に酸素効果が認められ、酸素の存在によって遊離基が消滅し易いことは、電子スピニ密度が SH, C=C などにあることを推定せしめる¹³⁾²⁰⁾⁴⁰⁾。またこの際、他成分に変化することなく消滅することも SH との関連性を示している¹⁶⁾。

以上に述べたように、遊離基はグロビン蛋白部分に生成され、SH と関係しているように思われる。従来、シスチンをはじめとする低級 SH 化合物では、照射により S ラジカルが生成されることが実験的にも理論的にもすでに明らかにされている²²⁾³⁵⁾。これに対して蛋白に含まれる SH が S ラジカルを生成するかどうかという点についてはまだ決定的な証拠はないが¹³⁾、多くの蛋白でシスチンに似た吸収波形が観測されていること¹⁴⁾¹⁶⁾⁴⁰⁾は注目に値する。また照射によって蛋白に含まれる SH が容易に変化するであろうことは、含 SH 酵素の活性が放射線によつて容易に低下し、その低下と -SH の消失とに平行関係があることからも明らかである⁶⁾²³⁾²⁴⁾²⁹⁾。吉井らは ³H₂O に溶解したグリシンの共鳴吸収が、システインを加えることによつて消失し、新たにシスチン特有の共鳴吸収が出現することを報告している³⁹⁾。アミノ酸の混合溶液での現象を直ちにペプチドあるいは蛋白に適用することは危険であるが、S ラジカルが生成され易いことを示していると考えてよい。

ヘモグロビン水溶液に 700Kr 照射した場合には、空気中で粉末に同線量を与えた場合と同程度の遊離基量が観測された。吸収波形が異なるため直接比較することができないが、溶液でも相当量の遊離基が生成されると考えられる。

1. ヘモグロビンの粉末に γ 線を照射し、遊離基が生成されることを電子スピニ共鳴吸収によつ

て確認した。

2. 遊離基の生成あるいは消滅には酸素効果が関与することが認められる。

3. 遊離基量は、空気中では照射後には指數的減少を示すのに対し、真空中では一旦増加したのち減少する。

4. 遊離基は SH と関連があるものと考えられる。

5. ヘモグロビン水溶液にも、 γ 線照射により相当量の遊離基が生成される。

II. 実験 II SH 電流滴定

実験方法

電流滴定には、回転白金電極と寒天橋で連結した半電池および 10^{-7} A 電流計よりなる通常の装置を用いた。

照射源、その他の実験条件は実験 I と同様である。

実験 I の方法によつて調製したヘモグロビン粉末 0.0670gr を含む水溶液を試料とし、下記の緩衝液およびその他を加えて、 $1 \sim 2 \times 10^{-3}$ M 硝酸銀水溶液で total SH 量、SH 量、native SH 量を滴定した^{7,38)}。SH 量とは試料中の-SH を、total SH 量とは-SH と-S-S- の和を、また native SH 量は未変性状態の試料で反応性をもつ-SH を表わしている。SS 量は

$$(\text{total SH 量}) - (\text{SH 量}) = \text{SS 量}$$

の関係によつて求めた。

なおこれ以後は、便宜的に非照射試料の total SH 量を 100% として図示してある。

1) total SH 量の滴定法

試料	3.9cc
10^{-2} M EDTA	0.1cc
10%Na ₂ SO ₃	1.0cc
無水アルコール	4.0cc
pH 9.5 アンモニア緩衝液	1.0cc

2) SH 量の滴定法

試料	4.9cc
10^{-2} M EDTA	0.1cc
無水アルコール	4.0cc
pH 9.5 アンモニア緩衝液	1.0cc

3) native SH 量の滴定法

試料	10.0cc
1M Tris	4.0cc
1M KCl	0.3cc
1M HNO ₃	3.4cc

可溶性 SH の測定には、試料溶液に 20% スルフオサリチル酸を加えて除蛋白したもの用いた。

なお、1), 2) には沃化水銀一水銀電池を、3) には水銀一酸化水銀一飽和水酸化バリウム電池を用いている。

実験結果

非照射試料の total SH 量、SH 量、SS 量、native SH 量の比は、8 : 4 : 4 : 1 であり、可溶性 SH は非照射、照射いずれの試料でも測定不能であった。native SH 量の照射による変化は、溶液試料で若干の減少がみられたほかはほとんど認められなかつた。従つて、以下ではアンモニア緩衝液を用いて測定した total SH 量、SH 量、SS 量の変化についてのみ述べる。

1. 空気中のヘモグロビン粉末の照射では、100Kr までは total SH 量、SS 量の指數的減少がみられ、それ以上の線量の増加に対してはほとんど増減がなかつた。SH 量は照射線量に関係なくほぼ一定であつた。(Fig. 6 (a))

真空中で照射したものでは、SH 量、SS 量とともに与えた線量に応じて指數的に減少し、その減少の程度は空気中の場合に比べて大きい。(Fig. 6 (b))

約 1% のヘモグロビン水溶液では、線量と相関して SS 量が増加し、SH 量が減少した。(Fig. 6 (c))

2. 照射を終えたのち、経時的に測定を行い SH の推移をみた。図は 180Kr 照射の場合を選んで示してある。

空気中の粉末では、照射後 6 ~ 8 時間で total SH 量、SS 量ともに非照射試料の水準に戻つた。(Fig. 7 (a))

真空中では、SS 量は 2 ~ 3 時間、SH 量は 6 ~ 8 時間で非照射試料の値に戻つた。(Fig. 7 (b)) 真空中で照射し空気中に放置した粉末では、SH 量の急激な増加がみられ 30 分 ~ 1 時間で平衡に達した。

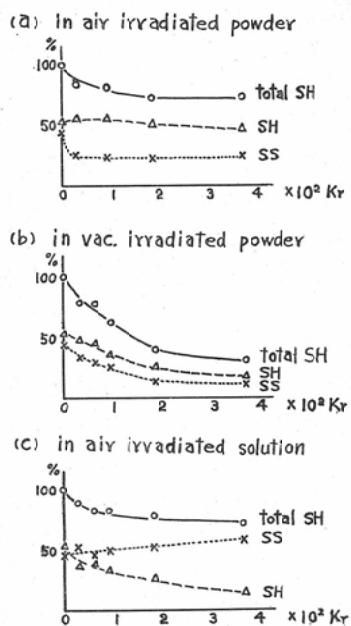


Fig. 6 SH Titer of Haemoglobin soon after Irradiation

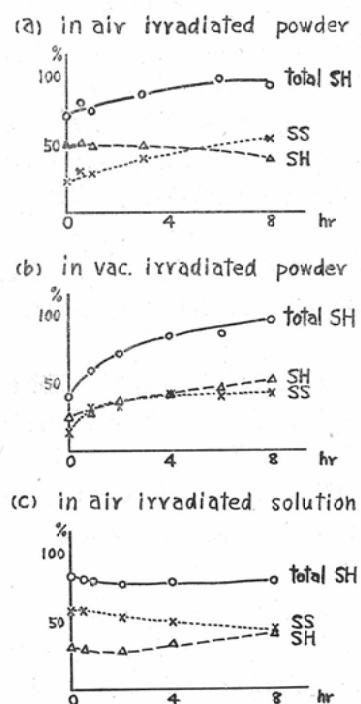


Fig. 7 SH Titer of Haemoglobin as a Function of Time after Irradiation

水溶液では照射後の変化は少なく、SS量が減少し、SH量が増加するが、total SH量はほぼ一定で、特に($\text{SH量}) + 2 \times (\text{SS量})$ で示されるSの量には変化がなかった。(Fig. 7 (c))

考察と小括

-SHあるいは-S-S-が放射線に対してとる態度については、いまだ一定の見解がないようと思われる。一方で-S-S-の切断を起すという考え方がある³⁾¹⁰⁾¹⁹⁾³²⁾³⁷⁾のに対し、逆に-S-S-が生成されるという説もある¹⁾¹¹⁾³⁴⁾。この相違は試料として選んだ物質、照射線量、酸素の有無などによって生じた不一致と考えられ、これらの条件を考慮しながら考察しなければならないが、結論を見出すのは容易なことではない。著者の実験でも、粉末試料を照射した場合に空気の有無によって、SH量の変化の様相に明らかな差がみられる。真空中では空気中に比べてtotal SH量、SS量の減少の程度が大きいことはすでに述べたが、空气中でSH量がほとんど変化しないことは今後の検討を要する問題と思われる。

照射後、非照射試料の水準に戻ることは、照射によってSHに起つた変化が可逆的である可能性を示していると考えられる。少くともスルファン酸などへの酸化は起らず³⁴⁾、結合状態に究局的な変化は起つていないといえる。従つて解離や遊離基の生成を想定するのが妥当と思われる。

この実験の場合にも照射に比較的長時間を要するので、照射によってSHに生じた変化の一部は照射終了時にはすでに異つたものとなつている可能性があることは、線量効果関係から推して想像に難くない。このような二次的の変化の主体が再結合であり、その程度は生じた一次的変化の程度に関連するものであると考えられるのは遊離基の場合と同様である。この意味において線量との関係を考察することが可能となるが、より明確には短時間に大線量を照射し得る線源を確保し得たうえで解決される問題である。

水溶液の場合は



として説明できる。

1. γ 線を照射したヘモグロビン粉末のSH電

流滴定を行ない、-SH, -S-S-の変化を観察した。照射により total SH 量と S-S 量、また真空中では同時に SH 量の減少が認められた。

2. 酸素効果が認められた。
3. 照射による SH の変化は解離、遊離基の生成とその後の再結合の過程であると推論する。
4. 水溶液の場合は、-SH が酸化され -S-S- に変化したものとして説明ができると考える。

III. 考察と総括

以上述べた結果にもとづき、遊離基量の変化と SH の変化とを対照とすることによって、放射線のこの領域への作用の一端に関して何らかの知見を得ることができるとと思われる。

まず線量効果関係であるが、空気中および真空中のヘモグロビン粉末での遊離基生成量と total SH 量の減少とが鏡像をなしていることに注目したい。すなわち、空気中では 100Kr までの照射には指数的変化を生じ、それ以上の線量に対しては平衡状態にある。真空中では線量の増加に対して指数的な変化を示す。このことから生成した遊離基と SH とが直接関連しており、SH が S ラジカルになるものと考えてよいであろう。

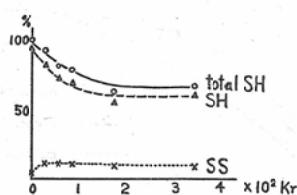
この際に問題となるのは、S ラジカルが電流滴定に対してとる態度であるが、システインを照射してその SH を定量すると、SH 量の減少がみられ、やがて徐々に回復に向かう。空気中の場合を示すと、Fig. 8 のとおりである。システインを照射した場合に S ラジカルを生成することは明らかなるところであり、従つてこゝに示す変化は S ラジカルが電流滴定には反応し難いことを示していると解釈される。

つぎに、真空中の試料で認められた照射後に遊離基量が増加する点についてであるが、これに対応する SH の変化は明らかでない。すなわち、遊離基が増加する成分と S ラジカルとは直接の関係がないように思われる。

以上によつて、ヘモグロビン粉末を照射した時に、初期の物理化学的变化の一つとして S ラジカルの生成があると考えられる。

障害防護剤として SH 化合物は重要な位置を占めており、また照射前に投与しなければ有効でな

(a) SH titer soon after irradiation



(b) SH titer as a function of time after irradiation

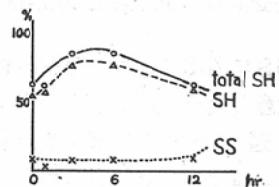


Fig. 8 SH Titer of in Air Irradiated Cysteine

いことも明らかにされている⁴⁾⁵⁾²⁷⁾²⁸⁾。この点、照射に伴い蛋白 SH に起る変化が照射中ないし照射後比較的早い時期のものであるとすれば矛盾することなく説明できる。これに関連して、Gordy らは SH を含む防護剤と蛋白の固溶体を作つて照射し、電子スピン共鳴吸収が蛋白のみを照射した場合とは異なることをみており¹⁵⁾、防護剤の効果発現の機作を遊離基過程に求めるこことはあながち無理な推論ではないと思われる。

最近、井上は人血清アルブミンを照射し、生ずる遊離基が -SH, -S-S- にもとづくものであると述べて、著者と同一の考え方を支持しており²¹⁾、ヘモグロビンのみならず蛋白一般に通じるものと想像される。

溶液の場合にも S ラジカルを生成し、-S-S- を作ると考えられるが¹¹⁾、証明できる段階ではない。

蛋白を問題とする場合、当然その二次構造の変化をとりあげねばならない。細菌プロテアーゼを用いる奥貫らの方法²⁶⁾によつて照射されたヘモグロビンの変性をみると、Fig. 9 に示すように非照射試料に比べて蛋白分解が速かに起り、照射によつて変性を起していると考えられる。また、ヘモグロビン水溶液の超遠心沈降分析の結果が、非照

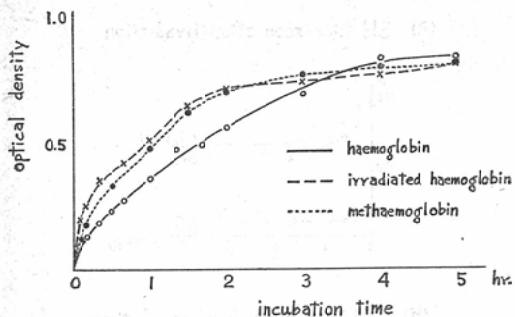


Fig. 9 Denaturation of Haemoglobin following Irradiation: Bacterial Proteinase Method

射試料3.95Sに対し700Kr照射試料4.63Sであることも注意しなければならない点である。

しかし、還元へモグロビンを照射するとメトヘモグロビンになることは古くからいわれております¹²⁾、照射されたヘモグロビンの光電分光分析は還元へモグロビンとメトヘモグロビンの混合型ともいべき吸収に変することを示す。他方、還元へモグロビンからメトヘモグロビンへの酸化に伴つてグロビン蛋白の二次構造が変化するという示唆もあつて³³⁾、さきに述べた変性が照射による直接的なものか、メトヘモグロビンへの酸化を介する間接的なものかは明らかでない。

あるいはまた、放射線によつて生じたイオンの電場のため巨大分子内に分極を生じ、水素結合の切断がイオンの周辺に生じ、二次構造が変化するという考え方もある³⁰⁾。

従つて、照射によつて-S-S-が容易に切断され、二次構造の変化を来たすとする考え方が従来からいわれているのであるが²⁾³⁷⁾、ヘモグロビンの場合どのような関連があるか、また遊離基が直接関与するかどうか、現在の段階では明らかにし難い。

1. ヘモグロビンに¹³⁷Cs-γ線を照射し、線量、照射後の時間、空気の有無を考慮して、電子スピン共鳴吸収による遊離基と電流滴定によるSHの消長を観測した。

2. ヘモグロビン粉末を照射して起る初期の変化として、Sラジカルの生成が考えられる。

3. ヘモグロビン水溶液を照射すると相当量の遊離基が生成する。-SHの一部は-S-S-に変化する。

稿をおえるにあたり、終始御指導と御校閲を賜つた立入教授、吉井講師に心から感謝の意を表する。また、本学第一生理学教室久保教授、志賀博士ならびに第二生化学教室萩原教授には好意ある助言を頂いた。誌して謝意を表する次第である。

文献

- Alexander, P. et al.: Rad. Res. 12 : 510, 1960.
- Augenstine, L.: Information Theory in Biology, p. 119, Univ. of Illinois Press, 1953.
- Augenstine, L. et al.: Rad. Res. Suppl., 2 : 19, 1960.
- Bacq, Z.M. et al.: Science, 117 : 633, 1953.
- Bacq, Z.M.: Acta radiol., 41 : 47, 1954.
- Barron, E.S.G.: Rad. Res., 1 : 109, 1954.
- Benesch, R.E. et al.: J. Biol. Chem., 216 : 663, 1955.
- Bennett, J.E. et al.: Proc. Roy. Soc. (London), A 240 : 67, 1957.
- Conger, A.D., Randolph, M.L.: Rad. Res. 11 : 54, 1959.
- Cox, R.A. et al.: Nature, 176 : 919, 1955.
- Dickens, E.A., Shapiro, B.: Rad. Res., 14 : 308, 1961.
- Fricke, H.: Symp. quant. Biol., 2 : 241, 1934.
- Gordy, W.: Rad. Res. Suppl., 1 : 491, 1959.
- Gordy, W. et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 41 : 983, 1955.
- Gordy, W., Miyagawa, I.: Rad. Res., 12 : 211, 1960.
- Gordy, W., Shields, H.: Rad. Res., 9 : 611, 1958.
- Gordy, W., Rexroad, H.N.: Free Radicals in Biological Systems, p. 263, Academic Press, 1961.
- Henriksen, T.: Free Radicals in Biological Systems, p. 279, Academic Press, 1961.
- Hutchinson, F.: Rad. Res. Suppl., 2 : 49, 1960.
- Hutchinson, F.: Rad. Res., 14 : 721, 1961.
- 井上章：私信。
- Kurita, Y., Gordy, W.: J. Chem. Phys., 34 : 282, 1961.
- Lange, R., Pihl, A.: Intern. J. Rad. Biol., 2 : 301, 1960.
- Lange, R. et al.: Intern. J. Rad. Biol., 1 : 73, 1959.
- Norman, A., Ginoza, W.: Rad. Res., 9 : 77, 1958.
- Okunuki, K. et al.: J. Biochem., 43 : 453, 1956.
- Patt, H.M. et al.: Science, 110 : 213, 1949.
- Patt, H.M. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73 : 18, 1950.
- Pihl, A. et al.: Nature, 182 : 1732, 1958.
- Platzman, R., Frank, J.: Symposium on Information Theory in Biology, p. 262, Pergamon Press, 1958.
- Randolph, M.L.: Free Radicals in Biological Systems, p. 249, Academic Press, 1961.
- Romani, R.J., Tappel, A.L.: Rad. Res., 12 : 526, 1960.
- Ross, W.F., Turner, R.B.: J. Biol. Chem., 139 : 603, 1941.
- Shapiro, B., Eljdarn, L.: Rad. Res., 3 : 255, 1955.
- Shields, H., Gordy, W.: J. Phys. Chem., 62 : 789, 1958.
- Shields, H., Gordy, W.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 45 : 269, 1959.
- Swallow, A.J.: J. Chem. Sci., 243 : 1334, 1952.
- 山下永策：大阪大学医学雑誌, 11 : 4069, 1959.
- 吉井義一ほか：放射線影響学会講演, 1962.
- Zimmer, K.G. et al.: Strahlenther., 103 : 1, 1957.