



| | |
|--------------|---|
| Title | 造影剤の血管内皮細胞刺激による補体活性化とサイトカイン産生に関する基礎的研究 |
| Author(s) | 業天, 真之 |
| Citation | 日本医学放射線学会雑誌. 1998, 58(14), p. 811-815 |
| Version Type | VoR |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/18122 |
| rights | |
| Note | |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

造影剤の血管内皮細胞刺激による補体活性化と サイトカイン産生に関する基礎的研究

業天 真之

川崎医科大学放射線診断学教室

Activation of the Complement System and Cytokine Production by Radiographic Contrast Media in Vascular Endothelial Cells *in Vitro*

Masayuki Gyoten

The direct effect of four different radiographic contrast media (RCM) on the release of C3a and C5a and the production of IL-1 α and TNF- α from vascular endothelial cells was examined *in vitro*. The test RCM were as follows: diatrizoate (ionic monomer), iopamidol (nonionic monomer), ioxaglate (ionic dimer), and iotrolan (nonionic dimer). These were added to serum-free medium and adjusted to a final concentration of 1% (2.8mg Iodine/ml). Human microvascular endothelial cells were stimulated by serum-free medium containing the test RCM for eight hours. After incubation, the media were aspirated and assayed for the concentrations of C3a, C5a, IL-1 α and TNF- α . Finally, the cells were harvested by trypsin, and their viability was determined by the dye-exclusion method. Diatrizoate and iotrolan had higher C3a release than the control ($p < 0.05$). No increase in C5a, IL-1 α or TNF- α levels was observed with any of the tested RCM, and there was no significant difference in cell viability with any of the tested RCM.

The results of this study suggest that diatrizoate and iotrolan activated the complement system through the alternative pathway by directly stimulating vascular endothelial cells. These observations suggest that a direct effect of RCM on vascular endothelium might play a role in the pathogenesis of local drug eruptions due to RCM.

Research Code No. : 502

Key words : Contrast media, Endothelium, Cytokine

Received Apr. 31, 1998; revision accepted Oct. 6, 1998

Department of Diagnostic Radiology, Kawasaki Medical School

はじめに

近年、非イオン性ヨード造影剤の使用頻度の増加に伴い、造影剤投与後1時間以上経つから起こる遅発性副作用が注目されている。その中でも遅発性発疹は、全副作用中比較的高頻度に見られ、それらは体幹、あるいは四肢に見られることが多いが、中には島状の紅斑として出現するものもあるため、全身性の反応に加え、局所での反応の可能性もあると考えられている。一方、血管内皮細胞はサイトカインや補体成分など生物学的な活性を有する物質を数多く産生、放出することが知られており、様々な病態への関与が示唆されている。今回われわれは遅発性副作用のなかで最も頻繁に見られる遅発性の皮膚症状に注目し、造影剤の投与により、局所の血管内皮細胞レベルでのサイトカイン産生や補体活性化が起こっているかどうかを明らかにするために、培養ヒト皮膚微小血管内皮細胞を各種造影剤にて刺激することにより、炎症性サイトカインであるIL-1 α (interleukin-1 α)、TNF- α (tumor necrosis factor- α)と補体の分解産物で強力なアナフィラキシー誘発物質であるC3a、C5aの遊離の有無について検討した。

材料と方法

血管内皮細胞：正常ヒト成人微小血管内皮細胞(human microvascular endothelial cell: HMVEC(AD)) (Kurabo, Japan)を、ウシ胎児血清、ヒト組換え型上皮成長因子、ハイドロコーチゾン、ゲンタマイシン、アンフォテリシンB、ヒト組換え型塩基性線維芽細胞増殖因子、ヘパリンを含む同社製の血管内皮細胞基礎培地にて、5次まで継代培養し、12wellのマルチプレートの各wellに、 25×10^3 個/mlの濃度で播き込み、5%CO₂、37°Cでconfluentになるまで培養した。造影剤での刺激の前に、培養液中に含まれている血清の影響を避けるために、一旦培地を除去し、細胞をPBSにて2回洗浄した後、無血清培地を用いて実験を行なった。

造影剤：ヨード造影剤はタイプの異なる次の4種類、イオン性モノマー型 diatrizoate (Urograffin60%, Schering Japan)、非イオン性モノマー型 iopamidol (Iopamiron300,

Table 1 Chemical structure and physical properties of contrast media

| | ionic monomer | nonionic monomer | ionic dimer | nonionic dimer |
|--|-------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Official name | diatrizoate | iopamidol | ioxaglate | iotrolan |
| Trade name | Urographin 60% | lopamiron 300 | Hexabrix 320 | Isovist 280 |
| Chemical Structure | <chem>C11Na3N2O4</chem> | <chem>C17H22I3N2O8</chem> | <chem>C24H21I6N5O8</chem> | <chem>C37H49I6O18</chem> |
| Salt | meglumine sodium | | meglumine sodium | |
| Molecular weight | 614 | 777 | 1269 | 1626 |
| I content (mg/ml) | 292 | 300 | 320 | 280 |
| Osmolarity (mOsm/kg · H ₂ O) | 1480 | 616 | 600 | 290 |
| Partition coefficient ³²⁾ | 0.044 | 0.089 | 0.086 | 0.005 |
| Protein binding (% mean ± SD) ³²⁾ | 8.77 ± 1.3 | -0.52 ± 2.5 | 13.95 ± 3.7 | 1.81 ± 1.3 |
| Viscosity (cps. 37°C) | 3.83~4.17 | 4.4 | 7.5 | 6.9 |
| pH | 6.0~7.0 | 6.5~7.5 | 6.0~7.7 | 6.5~8.0 |

Schering Japan), イオン性ダイマー型ioxaglate (Hexabrix320, Eiken-Tanabe Japan), 非イオン性ダイマー型iotrolan (Isovist, Schering Japan)を使用した。これら各種造影剤の化学的特性をTable 1に示す。これらの造影剤を実験に応じて濃度、あるいはヨード含有量を調整して使用した。

実験1：造影剤濃度と刺激時間によるサイトカイン産生能およびアナフィラトキシン遊離能の変化

イオン性モノマー型造影剤であるdiatrizoateを用いて内皮細胞を刺激し、サイトカイン産生および、内皮細胞が産生放出したC3, C5に由来するアナフィラトキシン遊離の濃度依存性、時間依存性の変化について評価した。HMVEC (AD)を12穴のマルチプレート内でconfluentになるまで培養し、培地を除去し、PBSにて2回洗浄した後、diatrizoateを血清無添加の培養液内にそれぞれ、0.1, 1, 2, 5%の濃度になるように調整したものを1mlずつ加えインキュベートした。刺激時間はそれぞれ2, 4, 8, 16時間とした。その後、培地を吸引し、2,000回転で15分間遠心した後上清を吸引し、上清中のIL-1 α , TNF- α , C3a, C5aを、高感度ヒトサイトカインELISAシステム(Amersham), ヒト補体RIAシステム(Amersham)を用いて測定した。実験終了後に細胞をトリプシン処理にて採取した後、トリパンブルー染色下で細胞数をカウントし、細胞のviabilityを算出した(dye exclusion法)。

実験2：各種造影剤によるIL-1 α , TNF- α , C3a, C5a産生能の相違

実験1で得られた至適造影剤濃度、至適刺激時間に従つて、タイプの異なる4種類の造影剤によって内皮細胞を刺激し、IL-1 α , TNF- α , C3a, C5a産生能に各種造影剤間で相違があるかを検討した。HMVEC(AD)を12穴のマルチプレート内でconfluentになるまで培養した。造影剤は4種類の造影剤のIodine含有量を280mgI/mlに一定化するために、造影剤ごとに一定量の血清無添加培地を加えて調整した後、さらに血清無添加培地を加えて100倍に希釀した(最終造影剤濃度1%)。造影剤での刺激前に、一旦培地を除去し、

PBSにて2回洗浄した後、上記の方法で調整した造影剤を各well内に注入し、8時間インキュベートした。上清を採取した後に実験1と同様に遠心処理を施し、上清中のIL-1 α , TNF- α , C3aを、同システムのkitを用いて測定した。実験終了後に、dye exclusion法にて細胞のviabilityを測定した。

結 果

実験1

造影剤濃度を0.1, 1, 2%に調整した系で、8時間まで時間依存性にC3a値の増加が認められ、いずれも4時間値で著明な増加を示していた(Fig.1)。C5a, IL-1 α , TNF- α はいずれも測定範囲外であった。実験終了後の細胞のviabilityは16時間後で、control, 0.1% diatrizoate, 1% diatrizoateではほぼ変わりはなかったが(control: 79 ± 4%, 0.1%: 70 ± 8%, 1%: 73 ± 10%), 2%から細胞毒性が認められ、2% dia-trizoateでは62 ± 6%, 5% diatrizoateでは45 ± 11%と、濃度の上昇につれ低下していく傾向が見られ、これに伴ってC3aの放出も減少した。

実験2

実験1の結果より、造影剤濃度1%, 刺激時間8時間が、細胞の障害が少なく、かつ十分な刺激を与えているものと思われたため、同条件で実験を行なった。C3a濃度はdiatrizoateとiotrolanを添加した群がcontrolに比して有意に高かった(Fig.2)。C5a, IL-1 α , TNF- α の産生はいずれの造影剤刺激でも認められなかった。また、実験終了後の細胞のviabilityに各造影剤間で差は認められなかった。

考 察

近年、造影剤投与後1時間から7日の間に起こる、いわゆる遅発性副作用が注目されている。そのほとんどは頭痛、皮膚発疹などの軽症のものであるが、中にはshock等の

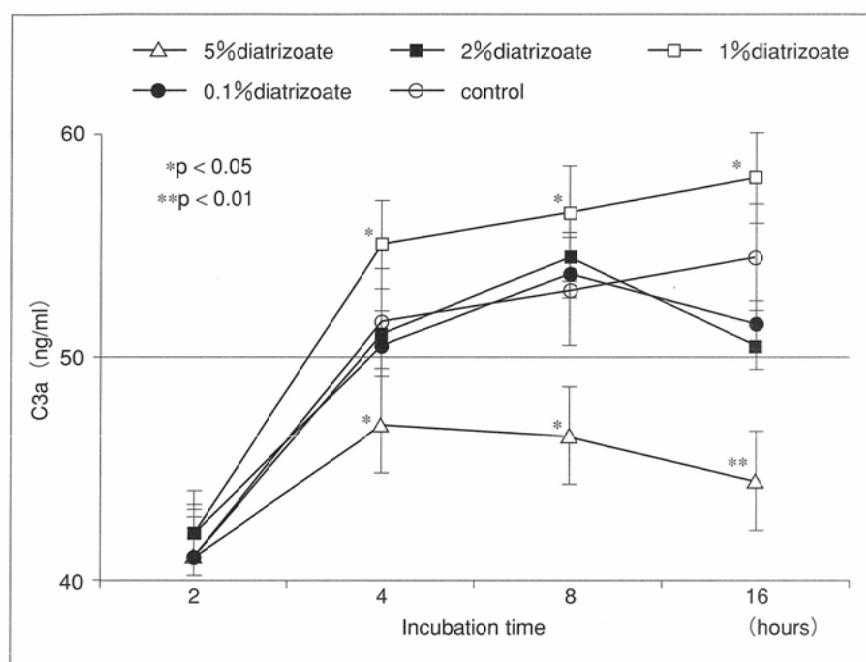


Fig.1 Diatrizoate-induced C3a release. An increase in C3a release was observed in the cells treated with 1% Diatrizoate. Data are expressed as the mean \pm SD of eight experiments. Statistical significance was analyzed using the t-test, and $p < 0.05$ was considered significant.

重篤なものも存在する。発生機序や危険因子については不明な点が多いが、アレルギーの既往のある人に多く発生することから、免疫機能がなんらかの形で関与している可能性はあると思われる。遅発性副作用の発生頻度や内訳については報告は様々であるが、94年から95年にかけて行なわれた山口¹¹を代表とした大規模な国内調査では造影剤を投与された患者の約9%に何らかの遅発性副作用が見られ、そのうち発疹の頻度は2.9%、皮膚搔痒感が5.3%（発疹との重複あり）と皮膚症状が高頻度に認められた。遅発性発疹のはほとんどは投与後3日以内に起こり^{11,2)}、体幹や四肢近位を中心として多発癒合性に見られることが多い。しかし中には限局性に島状に出現するものや、固定性薬疹のごとく同一部位に現れるものもあるため^{3,4)}、全身性の反応というよりむしろ局所での反応の可能性も示唆されている。

一方、サイトカインは体内の種々の細胞が産生する生理活性物質で免疫、炎症、造血反応を制御する重要な役割を持っている。血管内皮細胞からも種々のサイトカインが産生されることが報告されており^{5,6)}、近年多くの病態形成への関与が示唆されている。その中でもIL-1、IL-6、IL-8、TNFなどは炎症性サイトカインと呼ばれ、組織の炎症の発生に深くかかわっている^{5,6)}。体内各所で産生された炎症性サイトカインは近傍の細小血管に作用し、細胞表面にICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1)、ECAM-1 (endothelial leukocyte adhesion molecule-1)、VCAM-1 (vascular adhesion molecule-1) といった接着分子を発現させる⁷⁻⁹⁾。血管内の単球、リンパ球、好中球はそれらを介し内皮細胞に接着し、炎症部位に向かって遊走、集積し炎症を助

長する。これらの接着分子はいずれもIL-1、TNFによって強く誘導される^{10,11)}。中でもICAM-1の発現は48時間以上持続し、遅発性発疹の発現と何らかの関係があるとも考えられる。近年、これらの炎症性サイトカインは薬疹等の皮膚疾患者や¹²⁾、実験的に動脈損傷をおこしたモデルにおいても増加することが報告されており¹³⁾、造影剤による血管内皮細胞損傷、あるいは内皮細胞刺激により局所の最小血管レベルでの炎症性サイトカインの産生が亢進し、その結果として発疹が発現している可能性が考えられる。しかし、今回の実験では各種造影剤とも、IL-1 α 、TNF- α の産生は認められなかった。

一方、造影剤による補体活性化については多くの報告があり¹⁴⁻²⁰⁾、副作用発現の大きな要素の一つとして考えられている。補体活性化の経路には古典的経路(classical pathway)と第二経路(alternative pathway)が知られている(Fig.3)。古典的経路は抗体を必要とし、その活性化は抗原抗体複合物とC1q結合に始まる。一方の第二経路ではC1、C4、C2を消費せずC3活性化から始まる。補体の活性化によって生じるC3aおよびC5aは、アナフィラクチンと呼ばれる生理的に活性のペプチドであり、補体活性の反応経路の途中で遊離され、白血球走化作用、肥満細胞、好塩基球からのヒスタミン遊離、毛細血管浸透性の増強など炎症に関する種々の反応をもたらす。

Arroyabe¹⁵⁾らは、造影剤注入後にC3a、C5aの生成を認め、第二経路が活性化した結果としている。Till¹⁹⁾らは造影剤による補体活性は、1：造影剤が補体を直接活性化させる、2：造影剤がplasminやtrypsinなどの酵素を活性化させ、その

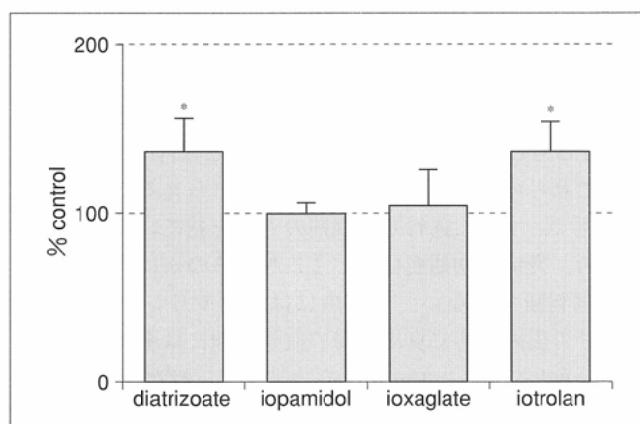


Fig.2 Comparison of C3a release induced by several contrast media. Data are expressed as the mean \pm SD of eight experiments. Statistical analysis was performed using the t-test, and $p < 0.05$ was considered significant.

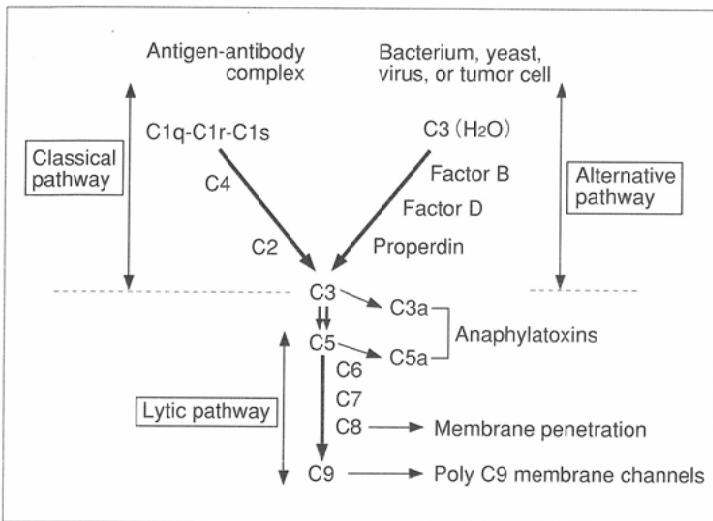


Fig.3 Complement pathway

後古典的経路や第二経路を活性化させる。3：造影剤が補体の活性化インヒビターを阻止するため補体の活性化がおこる。の3つの可能性があるとしている。Lasser²¹⁾は造影剤による補体の活性化は二次的なもので、造影剤の血管内皮損傷に続く第XII因子の活性化によるキニン形成系の活性化が主な作用と考えている。今回のC3a遊離は、造影剤の抗体が証明されていないこと、造影剤が抗原あるいは不完全抗原として作用することが証明されていないことなどから、古典的経路の結果起こったとは考えにくい。一方の第二経路ではC3が重要な役割を担っている。生体でのC3の主な産生部位は肝臓であるが²²⁾、血管内皮細胞もC3を産生することが報告されている²³⁾。つまり今回のC3a遊離は、造影剤の刺激により内皮細胞由来のC3が直接活性化された、第二経路活性化の結果である可能性が高い。また、実験1では高濃度、長時間刺激になるほどC3a値が低下していく傾向にあつたが、細胞のviabilityも同様に低下していることから、造影剤のものつ化学毒性により細胞が傷害され死滅したためと考えられ、細胞数の減少に伴うC3産生量の低下を反映しているものと思われる。また、C3a遊離があったにもかかわらず、C5活性化産物であるC5aが検出されなかった原因については、もともと産生される内皮細胞由来のC5が少なかったことが考えられる。

造影剤による薬疹の炎症の主座は表皮^{3),24)}や真皮²⁵⁾だけに限局するものから、真皮表皮混在型²⁶⁾など報告は様々であるが、これらの病変部の早期の病理像をとらえることは非常に困難で、すでに進行した病期のものを見ている場合もあるため、炎症の初期変化がどこに起こるのかは病理所見のみでは判断できない。真皮内には血管やリンパ管が走行し、その周囲、特に真皮上層の血管周囲には肥満細胞が数多く分布している。Täuber²⁷⁾らは非イオン性造影剤Iotrolanが、静注後24時間後に皮膚にも少量であるが、他臓器に比して有意に残存することを報告しており、真皮内の微小血管を還流した、あるいは間質に残留している造影剤の刺激により、血管内皮細胞由来のC3が活性化した結果C3a遊離が

起こり、局所での炎症反応を惹起している可能性が示唆された。今回の実験ではC3aはイオン性モノマー型のdiatrizoateと、非イオン性ダイマー型のiotrolanの2種類で、controlに比して有意に増加していた。臨床での両者の遲発性皮膚反応の出現率については差はないとする意見が多いが、イオン性で低いとする報告²⁸⁾もある。しかし、日本においては、既に従来のイオン性造影剤を使用する施設はほとんどなくなり、遅発性副作用の調査を両者で比較することは不可能になっているといってよい²⁹⁾。

各種造影剤の化学的特性を補体活性化の面から見た場合、水酸基の数が多いほど親水性が高く、タンパク結合能や細胞表面の透過性を低下させる結果、補体活性を含む生物学的活性が低くなるといわれている³⁰⁾。また、脂溶性を表す尺度としては分配係数が用いられるが、必ずしもタンパク結合能とは相関せず、水素結合やその他の要因も関係していると考えられている³¹⁾。しかし、Krause³²⁾らの報告によるとdiatrizoateとiotrolanはタンパク結合能と分配係数の両者においてかけはなれた値を示している。また、Eaton¹⁷⁾らは造影剤のタイプの違いにおいて、非イオン性はイオン性に比べ補体への影響が少ないと述べている。また彼は補体活性化能は浸透圧とも相関し、高浸透圧なものほどC3a遊離が多いと報告している。Vik¹⁸⁾らは電荷の影響について、電荷には補体活性を抑制する作用があり、電荷を有する造影剤は補体への影響が少ないと報告しているが、これらのいずれについてもdiatrizoateとiotrolanの両者に共通する点は見られない。今までこれらの造影剤による補体活性化能を報告したものはほとんど、in vivoあるいは血漿を用いた実験であり、血漿内の様々な成分の影響を受けている可能性がある。今回の実験において造影剤の化学的性質とC3a遊離について明らかな相関は認められなかったが、in vitroの系にて、無血清培地を用いており、血管内皮細胞由来のC3が造影剤の作用によって第二経路を介して活性化され、C3aが遊離したことを示唆する点で意義ある結果と思われる。今後もさらに検討を加えたい。

結語

- 1) 正常ヒト成人微小血管内皮細胞の造影剤直接刺激による炎症性サイトカイン産生(IL-1 α , TNF- α)、およびアナフィラトキシン遊離(C3a, C5a)の有無を検討した。
- 2) diatrizoateとiotrolanによる刺激にてC3a遊離を認めたが、その他の造影剤を含め、C5a遊離およびIL-1 α , TNF- α の産生は認められなかった。
- 3) 真皮内の微小血管を還流した、あるいは間質に残留している造影剤の刺激により、血管内皮細胞由来のC3が第二経路を介して活性化した結果C3a遊離が起こり、遅発性副作用でよく見られる皮膚局所での炎症反応を惹起している可能性が示唆された。

稿を終えるに当り、御指導、御校閲をいただきました川崎医科大学放射線診断学教室、梶原康正教授、免疫、培養面において御指導くださいました同校衛生学教室、植木絢子教授に深謝いたします。

本論文の一部は第56回日本医学放射線学会総会(横浜、1997年4月)、European Congress of Radiology '97(Vienna, 1997年3月)において発表した。

文 献

- 1) 山口昂一(研究代表者)：ヨード造影剤の遅発性副作用の発現とリスク因子に関する研究。平成6年度～平成8年度文部省科学研究費補助金(基盤研究(B))研究成果報告書
- 2) 澤田 敏、谷川 昇：ヨード造影剤の遅発性副作用。医薬ジャーナル 27: 1433-1435, 1991
- 3) Yamauchi R, Morita A, Tsuji T: Fixed Drug Eruption Caused by Iopamidol, A Contrast Medium. *J Dermatol* 24: 243-245, 1997
- 4) Benson PM, Gibrin WJ, Douglas DM: Transient, Nonpigmenting fixed drug eruption caused by radiopaque contrast media. *J Am Acad Dermatol* 23: 379-381, 1990
- 5) 中川雅夫、澤田昌平：血管内皮細胞とサイトカイン。医学のあゆみ 174: 1169-1175, 1995
- 6) 益山純一：血管内皮細胞の一般的知識 サイトカインと血管内皮細胞。*Clin Neurosci* 10: 758-759, 1992
- 7) Marlin SD, Springer TA: Purified intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function associated antigen-1(LFA-1). *Cell* 51: 813-819, 1987
- 8) Walz G, Aruffo A, Kolanus W, et al: Recognition by ELAM-1 of the sialyl-Lex determinant on myeloid and tumor cells. *Science* 250: 1132-1135, 1990
- 9) Elices MJ, Osborn L, Takada Y, et al: VCAM-1 on activated endothelium interacts with leukocyte integrin VLA-4 at a site distinct from the VLA-4/fibronectin binding site. *Cell* 60: 577-584, 1990
- 10) Giimbrone MAJ, Kume N, Cybulsky MI: Vascular endothelial dysfunction and the pathogenesis of atherosclerosis. Waber PC, Leaf A ed: Atherosclerosis Reviews Vol. 25. 1-9, 1993, Raven Press, New York
- 11) Butcher EC: Leukocyte Endothelial Cell Recognition: Three (or More) Steps to Specificity and Diversity. *Cell* 67: 1033-1036, 1991
- 12) Griffiths CEM, Voorhees JJ, Nickoloff BJ: Characterization of intercellular adhesion molecule-1 and HLA-DR expression in normal and inflamed skin: Modulation by recombinant gamma interferon and tumor necrosis factor. *J Am Acad Dermatol* 20: 617-629, 1989
- 13) 田中啓之、砂盛 誠、鈴木章夫, 他: Acute vascular injury後の内皮細胞および平滑筋細胞の活性化とTNF-alphaの発現。日心臓血管外会誌 25 Suppl: 192, 1995
- 14) Lasser EC, Lang JH, Hamblin AH, et al: Activation system in contrast idiosyncrasy. *Invest Radiol* 15: S1-S5, 1980
- 15) Arroyabe CM, Bhat KN, Crown R: Activation of the alternative pathway of the complement system by radiographic contrast media. *J Immunol* 117: 1866-1869, 1976
- 16) Gonsette RE, Delmotte P: In vivo activation of serum complement by contrast media: a clinical study. *Invest Radiol* 15: 26-28, 1980
- 17) Eaton S, Tsay HM, Yost F, et al: Assays for plasma complement activation by X-ray contrast media. *Invest Radiol* 25: 789-792, 1990
- 18) Vik H, Frøysa A, Sønstevold A, et al: Complement activation and histamine release following administration of roentgen contrast media. *Acta Radiol* 36: 83-89, 1995
- 19) Till G, Rother U, Gemsa D: Activation of complement by radiographic contrast media; Generation of chemotactic and anaphylatoxin activities. *Int Archs Allerg appl Immun* 56: 543-550, 1978
- 20) 富田 貴、片山 仁、田中卓雄, 他: ヨード造影剤投与による副作用発現機序の基礎的研究—ヨード造影剤投与時の血中cyclic AMPとヒスタミン及び補体の変動—。日本医学会誌 43: 1114-1130, 1983
- 21) Lasser EC: Pretreatment with corticosteroids to prevent reactions to i.v. contrast material: overview and implications. *AJR* 150: 257-259, 1988
- 22) Aiper CA, Johnson AM, Birtch AG, et al: Human C3: evidence for the liver as the primary site of synthesis. *Science* 163: 286-288, 1969
- 23) Ueki A, Sai T, Oka H, et al: Biosynthesis and secretion of the third component of complement by human endothelial cells *in vitro*. *Immunology* 61: 11-14, 1987
- 24) 山内律子、森田明理、辻 卓雄: 非イオン性ヨード造影剤イオトロランによる遅発性発疹の一例。臨皮 50: 27-30, 1996
- 25) 浅野さとえ、市川栄子、大江麻理子, 他: イオヘキソール(オムニパーク®)による薬疹。皮膚臨床 32: 1073-1078, 1990
- 26) 永田茂樹、飯島正文、秋山正基, 他: 非イオン性ヨード造影剤Iopamidolによる薬疹の1例。臨皮 47: 177-180, 1993
- 27) Täuber U, Mutzel W, Schulze PE: Whole body autoradiographic distribution studies on nonionic X-ray contrast agents in pregnant rats. Traenzer V, Wende S ed: Recent Development in Nonionic Contrast Media. 215-219, 1989, Thieme Medical Publishers Inc, Stuttgart · New York
- 28) McCullough M, Davis P, Richardson R, et al: A large trial of Conray 325 and Niopan 300 to assess immediate and delayed reactions. *Brit J Radiol* 62: 260-265, 1989
- 29) 山口昂一: 遅発性副作用は非イオン性造影剤に特有か? 日本医学会誌 54(10)付録12-16, 1994
- 30) Almen T: The etiology of contrast medium reactions. *Invest Radiol* 29(Suppl. 1), 37-45, 1994
- 31) 久保田 恒: 造影剤の副作用とは何か—その機序と対策 遅発性副作用を含めて、テストと考え方—。Innervision 11: 39-43, 1996
- 32) Krause W, Niehues D: Biochemical Characterization of X-ray Contrast Media. *Invest Radiol* 31: 30-42, 1996