

Title	Superoxide dismutase (SOD)の放射線防護効果
Author(s)	西台, 武弘; 小野, 公二; 李, 成吉 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1980, 40(10), p. 983-990
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/18438
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

Superoxide dismutase (SOD) の放射線防護効果

京都大学医学部放射線医学教室

西台 武弘 小野 公二 李 成吉
平岡 真寛 高橋 正治 阿部 光幸

(昭和55年4月14日受付)

(昭和55年5月19日最終原稿受付)

Radioprotective effects of superoxide dismutase (SOD) on murine tissues

Takehiro Nishidai, Koji Ono, Nariyoshi Ri, Masahiro Hiraoka,
Masaji Takahashi and Mitsuyuki Abe

Department of Radiology, Faculty of Medicine, Kyoto University

Research Code No.: 408

Key Words: Superoxide dismutase, Radioprotection, SLc; ddy mouse

Radioprotective effects of Cu,Zn-superoxide dismutase (Cu,Zn-SOD) using SLc; ddy mice were studied.

1. The dose required to kill 50% of the SOD-treated mice within 30 days ($LD_{50/30}$) was 7.85 Gy as compared to 7.54 Gy for the control group of mice. The difference between these two groups was statistically significant.

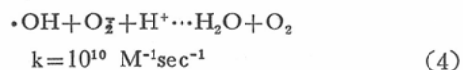
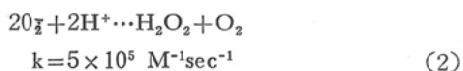
2. Protective effects of SOD on radiation induced skin reactions of mice were examined as a function of the drug concentration and the administration modes. The anti-inflammatory effects of SOD were most prominent when 1 mg/mouse of SOD was given i.p. 1 hr before and 1 hr after irradiation, and thereafter 0.5 mg/mouse daily.

3. Protective effects of SOD as a function of radiation dose were examined using deforming scores for the mouse leg as a measure of response. Protective effects of the drug were observed in the range of 50—70 Gy, while no effect was obtained in the dose level less than 50 Gy.

1. 緒 言

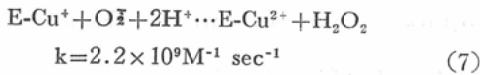
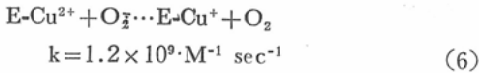
1969年, superoxide dismutase (SOD) の発見¹⁾を契機として, 好気性生物における酸素毒性とその保護機構について多くの興味ある報告がなされている²⁾³⁾. 一般に酸素毒性をもたらす活性酸素 (O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$, 1O_2) は種々の生体反応および外的要因で生成される. これらのうち, superoxide (O_2^-) は極めて強力な酸化, 還元剤で, 酸素毒性をもたらす重要な分子種として注目

されている. O_2^- は生体内でつぎの種々の反応を起こす²⁾.



$$k=5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1} \quad (5)$$

一方、SOD は (1), (5) および他の生体反応により生成された O_2^- を酸化、還元反応によって極めて瞬時に消去する。SOD には Cu, Zn-SOD, Mn-SOD および Fe-SOD の3種類があることがわかっているが、今回実験に用いた Cu, Zn-SOD は O_2^- の不均化反応 (2) を触媒してつぎの反応を起こす²⁾。



つまり、生体内に存在する SOD は組織内に産生した O_2^- 量を調節し、 O_2^- の酸素毒性に対する保護作用をおこなっていると考えられる。しかし、その生体内における役割については今なお不明な点が多い。

一方、放射線照射によっても多量の O_2^- が生じる。放射線照射という生体にとって異常な現象によって生じる O_2^- 量を全て消去するには、生体内に存在する SOD の絶対量では不十分であろう。また、SOD は本来細胞外よりも細胞内により多く存在していること⁴⁾、および SOD はその高分子構造のために細胞膜を通過しにくいこと⁵⁾ を考慮すると、放射線照射によって細胞外に生じた O_2^- に対しては、細胞内 SOD の寄与はほとんどないと考えられる。しかし、生体外部から人為的に投与した SOD は放射線照射によって生じた細胞外 O_2^- を消去することが期待される。Petkau, A., et al.⁶⁾⁷⁾ は Swiss white mice を用い、SOD を照射前及び後各1時間目に静注することにより、 $\text{LD}_{50(30)}$ が有意に増加することを報告している。

一方、SOD は抗炎症剤としても注目されている⁸⁾。炎症反応における白血球 phagocytosis 時に O_2^- が産生され、その一部は白血球細胞内での殺菌作用に消費されるが、一部は細胞外にも放出される⁹⁾。この細胞外に放出された O_2^- は炎症サイクルの誘発物質として作用する¹⁰⁾ と考えられている。従って、炎症時に SOD を生体外部から投与

すれば細胞外 O_2^- を消失してこの炎症サイクルを断ち切り、その結果として抗炎症作用が生じると考えられる。ところで、放射線治療による正常組織の炎症により治療を中断しなければならなかったり、あるいは十分な線量を照射しえない場合がある。それ故、もし SOD 投与により放射線炎症が軽減されれば、放射線治療にとって極めて有利である。

以上の考察により、今回我々は放射線照射によるマウス正常組織の障害に対する SOD の防護効果を検索した。

2. 実験材料および装置

使用した SOD はウシ肝臓由来の Cu, Zn-SOD で、0.1N 生理食塩水に溶解し、マウス腹腔内に注入した。

実験動物は静岡実験動物農業協同組合で繁殖した6~7週齢雌 Slc; ddy マウスである。その平均体重は28g であった。

放射線照射装置は島津製 RT-2000 ^{60}Co 照射装置、Philips RT-100 X線表在治療装置、および島津製 32MeV 医療用ベータロンであり、使用した放射線はそれぞれ ^{60}Co γ 線 (1.07Gy/min)、管電圧30kV、管電流10mA、濾過板0.3mmAl, HVL 0.2mmAl の X線 (9.65Gy/min) および 32MeV 電子線 (15Gy/min) である。 ^{60}Co γ 線および32MeV 電子線の線量測定にはリファレンス線量計 (Ionex, 0.6cc chamber, $N_c=1.00$) を用いた。この場合のラド変換係数として $C_{\lambda}=0.95^{11)}$, $C_E=0.784^{12)13)}$ を用いた。特に電子線の線量測定には0.1N硫酸第1鉄線量計 (G 値 $=15.3^{12)}$ を用いても行い、Ionex 0.6cc chamber による測定結果と良い一致が得られている¹³⁾。30kV X線の線量測定には英国 N.P.L. で較正された Ionex soft X-ray type 2532/3A chamber を用いた。30kV X線のラド変換係数には $f=0.91\text{rad/R}^{14)}$ を用いた。

3. 実験方法

1) 全身照射後30日目の致死率に対する SOD の防護効果
Slc; ddy マウスに ^{60}Co γ 線を6.0Gy から10.0 Gy 全身照射して、照射後30日目の致死率を調べ

た。マウスは SOD 投与群, 非投与群の 2 群に分け, 各実験点に50匹, 計700匹のマウスを使用した。SOD の投与量は Petkau, A., et al.⁵⁾⁷⁾ の報告を考慮して, 照射 1 時間前および 1 時間後にそれぞれマウス 1 匹あたり, 1.0mg SOD/1.0ml 生理食塩水, すなわち, 計2.0mg SOD/mouse を腹腔内に注射した。マウスの観察は照射後毎日行ない, ケージ効果が起らないように注意した。

2) 急性皮膚障害に対する SOD の防護効果

Slc; ddy マウスの背部に30kV X線を照射して急性皮膚障害に対する SOD の防護効果を調べた。急性皮膚反応の観測を容易にするため, 照射 1 日前にネブタール麻酔下で背部の毛を手で抜去した¹⁵⁾, 各照射法, および SOD 投与法, 投与量に対して各々10匹のマウスを実験に供した。照射はネブタール麻酔下¹⁶⁾でマウスを腹臥位に固定し, 1.5cmφ の照射野でおこなった。照射後の急性皮膚反応は, Fowler, J.F., et al. の Score¹⁷⁾ に準じて 8 段階に分けて判定した。Score の判定基準を Table 1 に示す。皮膚反応を X 線照射後 1 ~ 2 日間隔で観察した。

Table 1 System for scoring skin reaction.

Score	Observations
0.0	Normal
0.5	Slight reddening
1.0	Severe reddening and/or dry scaly appearance
1.5	Scaly appearance with moist breakdown of one small area
2.0	Breakdown of large area
2.5	Breakdown of about 50% of skin
3.0	Breakdown of most of skin
3.5	Breakdown of entire skin of irradiated area with severe moist exudation

3) 正常組織の晩期障害に対する SOD の防護効果

Slc; ddy マウスの大腿部に 32MeV 電子線を30 Gy から70Gy 照射して, 3 カ月後の大腿部の変形の程度を調べた。マウスを SOD 投与群および SOD 非投与群の 2 群に分け, 各実験点に 10 匹, 計100匹のマウスを使用した。マウスは麻酔せず

に scotch® pressure sensitive tape で固定し, 2×2cm² の照射野で 1 回照射した。SOD は照射 1 時間前および 1 時間後にそれぞれ1.0mg SOD/0.1 ml 生理食塩水を腹腔内に注射した。3 カ月後の大腿部の変形を Field, S.B., et al. の方法¹⁸⁾に準じて 7 段階に分けて score をつけた。その score の判定基準を Table 2 に示す。

Table 2 Deforming scores for the feet of mice.

Score	Observations
0	Normal
1	50/50 doubtful if abnormal
2	Slight change of shape, No hair on foot
3	Definite change in shape
4	Considerable change in shape, Severe edema
5	Almost shapeless foot
6	No foot

4. 実験結果

1) 全身照射後30日目の致死率における SOD の防護効果

Table 3 および Fig. 1 に実験結果を示す。SODを投与することにより, 明らかにその致死率が減少し, 放射線防護効果を認めることができた。特に8.0Gy 照射の場合の SOD 非投与群の致

Table 3 Lethality data for Slc; ddy mice exposed to graded doses of ⁶⁰Co gamma rays. 1.0mg/mouse of SOD was given i.p. 1 hr before and 1 hr after irradiation.

⁶⁰ Co gamma rays (1.07 Gy/min), Dose	30-day lethality			
	Injections of 1mg (35μg/g body weight) SOD 1 hour before and 1 hour after irradiation		No injection of SOD	
(Gy)		(%)		(%)
6.0	0/50	0	0/50	0
7.0	4/50	8	6/50	12
7.5	20/50	40	25/50	50
8.0	26/50	52	44/50	88
8.5	43/50	86	47/50	94
9.0	47/50	94	49/50	98
10.0	50/50	100	50/50	100

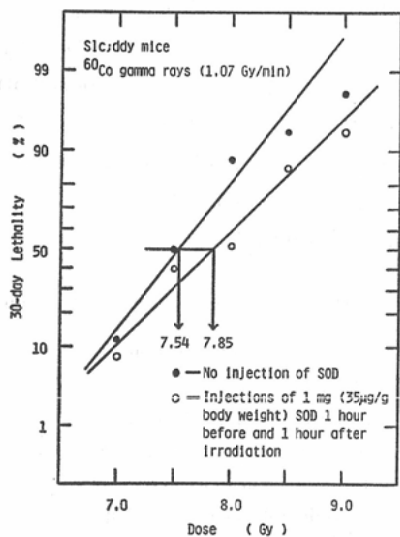


Fig. 1 Percent lethality (probit scale) versus ⁶⁰Co γ-ray dose (Gy) for Slc; ddy mice. Lines were drawn by logistic analysis¹⁹⁾.

- : 1.0mg/mouse of SOD i.p. 1hr before and 1hr after irradiation.
- : Control. (Without SOD)

死率88%に対して、SOD 投与群のそれは52%であった。この差は χ^2 検定で $p < 0.0001$ で有意であった。しかし、8.0Gy 照射以外の線量域では有意ではなかった。一方、Fig. 1 に示すように logistic analysis¹⁹⁾ で各実験点を正規分布に当てはめることによって求めた半数致死線量 $LD_{50}^{(30)}$ における線量減効率 (DRF) は $1.04 (7.85 \pm 0.67/$

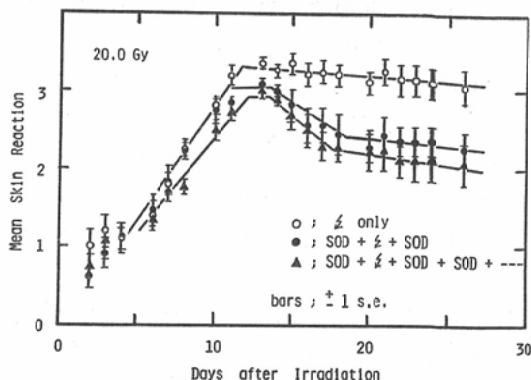


Fig. 2 Mean skin reaction of mice after irradiation with 20Gy.

- : 1.0mg/mouse of SOD i.p. 1hr before and 1hr after irradiation.
- ▲ : 1.0mg/mouse of SOD i.p. 1hr before and 1hr after irradiation, followed by 0.5mg/mouse daily.
- : Control. (Without SOD)

7.54 ± 0.52) となった。この値は χ^2 検定では $p = 0.01$ の差であった。

2) 急性皮膚障害における SOD の防護効果

Fig. 2 に 30kV 線を20.0Gy 1回照射した時の急性皮膚反応を示す。横軸は照射後の日数、縦軸はマウス10匹の平均皮膚反応である。○印はコントロール群、●印は30kV X線照射の1時間前および1時間後に、それぞれマウス1匹あたり1.0mg SOD/0.1ml 生理食塩水、すなわち計2mg

Table 4 Averaged score of radiation-induced skin reaction according to the modes and amounts of SOD administration.

Injection schedule and amounts of SOD in relation to X-irradiation	Average scores of skin reaction for postirradiation days		
	1st-14th days	8th-21th days	15th-28th days
No injection of SOD	2.13±0.28	3.10±0.09	3.18±0.02
2mg SOD, 1 hour before	2.00±0.29	3.04±0.10	3.10±0.03
2mg SOD, 1 hour after	2.11±0.27	3.05±0.08	3.11±0.03
1mg SOD, 1 hour before and 1 hour after	1.98±0.27	2.63±0.07	2.44±0.04
1mg SOD, 1 hour before and 1 hour after, and 0.5mg SOD/day	1.89±0.24	2.45±0.10	2.25±0.05
1 hour before and 1 hour after 0.05mg SOD	2.31±0.25	2.99±0.07	2.89±0.04
0.1 mg SOD	2.52±0.19	3.00±0.07	2.82±0.06
0.5 mg SOD	2.09±0.30	3.11±0.12	3.19±0.02
5.0 mg SOD	2.24±0.22	2.88±0.09	2.85±0.02

SOD/mouse を投与した群の平均皮膚反応値である。▲印は 30kV X線照射1時間前および1時間後にマウス1匹あたりそれぞれ1.0mg SOD/0.1 ml 生理食塩水を投与し、その後毎日1回マウス1匹あたり0.5mg SOD/0.05ml 生理食塩水を追加投与しつづけた群の平均皮膚反応値を示す。明らかに照射1時間前、後の SOD 投与により皮膚障害の防護効果が認められた。また、SOD を照射後毎日追加投与すると、皮膚障害の程度は更に軽減した。

Table 4 および Fig. 3, 4 は 30kV X線を20.0 Gy 1回照射した場合における SOD の投与方法、投与量と皮膚反応の関係を示したものである。ここで皮膚反応の平均 score とは、照射後の各測定日における10匹の平均皮膚反応値をある観察期間にわたって平均した値である。観察期間はX線照射後、1日目から14日目、8日目から21日目、および15日目から28日目までのそれぞれ14日間である。ここで、20.0Gy 1回照射時の14日目は Fig. 2 より明らかなる如く皮膚反応がほぼ最大になる時期である。1～14日目までの平均 score は

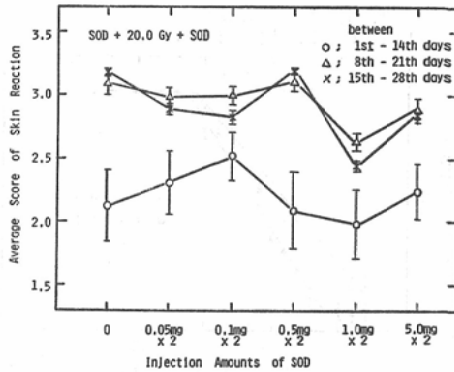


Fig. 4 Average score of radiation-induced skin reaction according to the amounts of SOD.

- : Skin reaction averaged over the period 1-14 days after irradiation.
- △ : Skin reaction averaged over the period 8-21 days after irradiation.
- × : Skin reaction averaged over the period 15-28 days after irradiation.

照射後の急性皮膚障害が進行していく時期における平均皮膚反応値を、8～21日目までの平均 score は最高皮膚反応値を、15～28日目までの平均 score は皮膚障害の回復時期における平均皮膚反応値を示している。Fig. 3, 4 の横軸はそれぞれ SOD の投与方法と投与量、縦軸は皮膚反応の平均 score である。Fig. 3, 4 における○印はマウス10匹の照射後1～14日目までの平均 score △印は照射後8～21日目までの平均 score, ×印は照射後15～28日目までの平均 score である。これから明らかなる如く、SOD を照射前後に投与し、更に照射後毎日投与した場合が最も防護効果が高かった。つぎに投与量に関しては、1.0mg SOD を照射1時間前および後に投与した場合が最も高い防護効果が得られた。注目すべきことは急性皮膚反応期において SOD が投与量によってはかえって皮膚反応を増強することがあることである。すなわち、0.1mg SOD を照射前後に投与した場合の急性皮膚反応期における平均 score は非投与群のそれより高い (Fig. 4)。

Fig. 5, 6 は分割照射によって生じた急性皮膚障害に対する SOD の防護効果を示したものであ

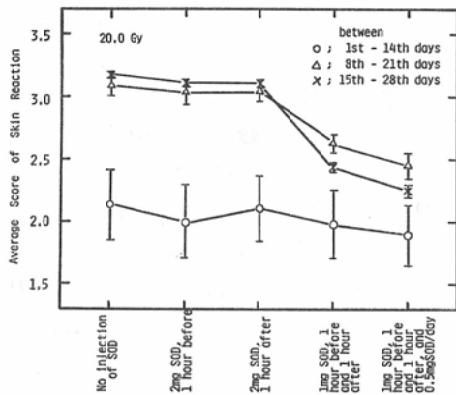


Fig. 3 Average score of irradiation-induced skin reaction according to the modes of SOD administration.

- : Skin reaction averaged over the period 1-14 days after irradiation.
- △ : Skin reaction averaged over the period 8-21 days after irradiation.
- × : Skin reaction averaged over the period 15-28 days after irradiation.

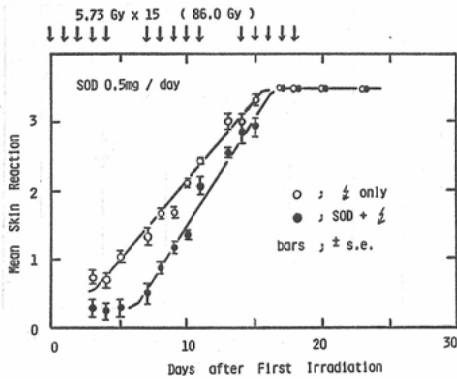


Fig. 5 Mean skin reaction of mice irradiated with 86 Gy in 15 equal fractions.

● : 0.5mg/mouse of SOD i.p. 1hr before each irradiation.
○ : Control. (Without SOD)
Vertical lines represent standard error.

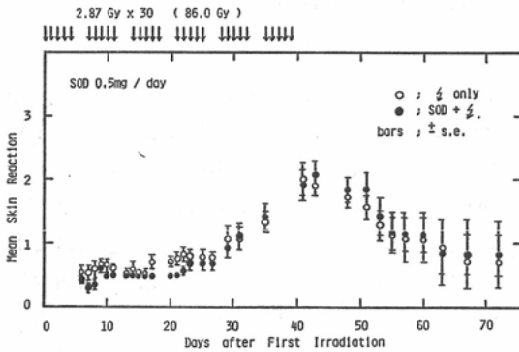


Fig. 6 Mean skin reaction of mice irradiated with 86 Gy in 30 equal fractions.

● : 0.5mg/mouse of SOD i.p. 1hr before each irradiation.
○ : Control. (Without SOD)

る。横軸は1回目の照射からの日数であり、縦軸はマウス10匹の平均皮膚反応値である。○印はSOD非投与群、●印は投与群である。SODは照射1時間前に0.5mg SOD/0.05ml生理食塩水を投与した。Fig. 5は30kV X線を5.73Gy/day、週5回、計15回均等分割照射した場合、Fig. 6は2.87Gy/day、週5回、計30回均等分割照射した場合であり、ともに積算線量は86.0Gyである。マウスは各群10匹、計40匹を用いた。Fig. 5に示すように、1回線量が大きく、2.0以上の皮膚反応

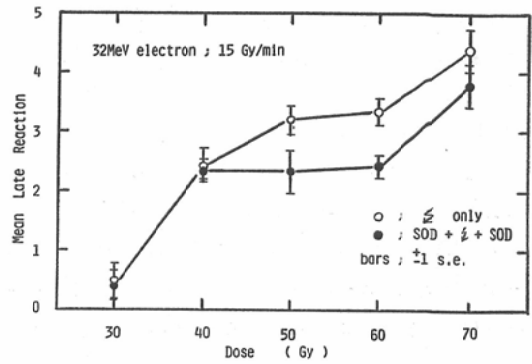


Fig. 7 Protection effects of SOD on radiation-induced mouse foot deformations as a function of radiation dose.

● : 1.0mg/mouse of SOD i.p. 1hr before and 1hr after irradiation.
○ : Control. (Without SOD)
Vertical lines represent standard error.

が生じるような分割照射では、明らかに防護効果が得られた。しかし、Fig. 6に示すように1回線量が小さい場合にはその投与効果は現われなかった。

3) 正常組織の晩期障害に対するSODの防護効果

実験結果をFig. 7に示す。横軸は32MeV電子線の線量、縦軸はマウス10匹の平均晩期障害度である。○印は32MeV電子線照射のみでSOD非投与群の平均反応値、●印はSOD投与群の平均反応値である。50Gyから70Gyの線量域においてSODの晩期障害に対する防護効果を認めた。

5. 考案

我々の実験でマウスの骨髄死に対してSODに軽度の防護効果が認められたが、その線量減効率(DRF)は1.04でPetkau, A., et al.⁶⁷⁾の報告値1.35ほど大きくはなかった。この原因として、第1に本実験に用いたSlc; ddyマウスの全身照射によるLD₅₀₍₃₀₎は7.54Gyであり、Petkau, A., et al. が用いたswiss white miceのLD₅₀₍₃₀₎、6.44Gyと比較して大きいこと、第2に我々の実験ではSOD生理食塩水を腹腔内に注射したが、Petkau, A., et al. は静注していることが考えられる。

SOD の放射線防護効果はその投与方法、投与量に依存することが実験で明らかになった。すなわち、放射線の急性皮膚反応に対する SOD の防護効果は SOD を照射前あるいは後に 1 回投与するより、照射前、後の 2 回投与した方が高く、その最適量としては 1.0mg SOD×2 回であった。一方、0.5mg SOD を照射 1 時間前、後に 2 回投与した場合、その平均皮膚反応値は SOD 非投与の場合とほとんど同じであった。しかし、照射後毎日 SOD を 0.5mg ずつ追加投与した場合、および分割照射の 1 時間前に毎回 0.5mg SOD を投与した場合は明らかにその防護効果を認めた。このことは SOD の血中濃度推移時間および組織内分布についての報告²⁰⁾²¹⁾を考慮すると、照射時に SOD が存在する場合と、照射後の炎症時に SOD が存在する場合、つまり SOD は O_2^- を消去するが、その O_2^- は照射によって生じると同時に、照射後に炎症によっても生じるためであると考えられる。

SOD はその高分子構造のために細胞膜を通してにくく、生体外部から投与した SOD はその細胞死の主要原因と考えられている DNA の放射線損傷に対して寄与しないと考えられる。一方、SOD は本来生体中に存在していることを考慮すると、SOD は生体にとっては特に異物ではなく、毒性の少ない、きわめて安全な防護剤であるといえる²⁰⁾²²⁾。

6. 結 論

Cu, Zn-superoxide dismutase (Cu, Zn-SOD) を Slc; ddy マウス腹腔内に投与することにより、その放射線防護効果を調べた。

1) 1.0mg SOD を投与した時の $LD_{50(30)}$ における DRF は 1.04 ($7.85 \pm 0.67 / 7.54 \pm 0.52$) であった。この差は χ^2 検定で $p = 0.01$ の差であった。

2) 背部皮膚照射後の急性皮膚障害における放射線防護効果は SOD の投与方法および投与量に依存した。1 回照射における防護効果は照射 1 時間前および 1 時間後に 1.0mg SOD を投与し、さらに照射後 0.5mg SOD を追加投与した場合も

っとも高くなった。SOD の投与量によっては初期炎症反応を促進する場合もあった。分割照射においても防護効果を認めた。

3) 照射 3 カ月後の大腿部局所の変形において、50Gy から 70Gy の線量域で SOD の防護効果を認めた。

4) SOD は毒性の少ない安全な防護剤であり、その抗炎症効果をも考慮すると、放射線治療において多に期待できる薬剤である。

本研究を行うにあたり、多大の御協力を戴きました京大病院放射線部、湯川豊氏、並びに京大医学部附属動物実験施設、鈴鹿守氏に感謝します。本研究の一部は文部省科学研究補助金 (研究課題番号, 401543)、厚生省がん研究助成金 (研究課題番号, 55-5)、京都対癌協会助成金により行なわれた。また、本研究に使用した SOD は東洋醸造株式会社より提供された。

文 献

- 1) McCord, J.M. and Fridovich, I.: Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, 244: 6049—6055, 1969
- 2) 浅田浩二: 酸素毒性. *生化学*, 48: 226—257, 1976
- 3) Hayaishi, O., K. Asada, ed: *Biochemical and Medical Aspects of Active Oxygen*, 1977, University of Tokyo Press, Tokyo
- 4) Huber, W., et al.: Studies on the clinical and laboratory pharmacology of drug formulations of bovine Cu, Zn-superoxide dismutases (Orgotein): Perspectives in Inflammation. 527—540, 1977, Univ. Park Press, Baltimore
- 5) Steinman, H.M., et al.: Bovine erythrocyte superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.*, 249: 7326—7333, 1974
- 6) Petkau, A., et al.: Radioprotection of mice by superoxide dismutase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 65: 886—893, 1975
- 7) Petkau, A., et al.: Protection of post-irradiated mice by superoxide dismutase. *Int. J. Radiat. Biol.*, 29: 297—299, 1976
- 8) Huber, K.B.M. and Huber, W.: Orgotein, The drug version of bovine Cu-Zn superoxide dismutase. (In) A.M. Michelson, J.M. McCord, I. Fridovich, ed: *Superoxide and Superoxide Dismutases*. 537—549, 1977, Academic press, London
- 9) Babior, B.M., et al.: Biological defense mechanisms, The production by leukocytes of superoxide, A potential bactericidal agent. *J.*

- Clin. Invest., 52: 741—744, 1973
- 10) de Dure, C., et al.: Tissue fractionation studies, 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem. J.*, 60: 604—617, 1955
 - 11) Recommendation of the International Commission on Radiological Units and Measurements: Physical Aspects of Irradiation, ICRU Report 10b, 1962
 - 12) Recommendation of the International Commission on Radiological Units and Measurements: Radiation Dosimetry, Electrons with Initial Energies between 1 and 50MeV, ICRU Report 21, 1972
 - 13) 西台武弘, 陶山純夫, 阿部光幸: 放射線治療における電子線線量測定. *日医放学会誌*, 35: 171—179, 1975
 - 14) Recommendation of the International Commission on Radiological Units and Measurements: Radiation Dosimetry, X Rays Generated at Potentials of 5 to 150 kV, ICRU Report 17, 1970
 - 15) Withers, H.R.: The dose-survival relationship for irradiation of epithelial cells of mouse skin. *Br. J. Radiol.*, 40: 187—194, 1967
 - 16) Denekamp, J. and Fowler, J.F.: Further investigations of the response of irradiated mouse skin. *Int. J. Radiat. Biol.*, 10: 435—441, 1966
 - 17) Fowler, J.F., et al.: Skin reactions in mice after multifraction x-irradiation. *Int. J. Radiat. Biol.*, 25: 213—223, 1974
 - 18) Hall, E.J.: *Radiobiology for the radiologist*, second edition, p. 70, 1978, Harper & Row Publishers, Hagerstown
 - 19) Berkson, J.: A statistically precise and relatively simple method of estimating the bias with guadal response, based on the logistic function. *Journal of American Statistical Association*, 48: 565—599, 1953
 - 20) Huber, W. and Saifer, M.G.P.: Orgotein, The drug version of bovine Cu-Zn superoxide dismutase. (In) A.M. Michelson, J.M. McCord, I. Fridovich, ed: *Superoxide and Superoxide Dismutases*. 517—536, 1977, Academic press, London
 - 21) Petkau, A., et al.: Tissue distribution of bovine ¹²⁵I-superoxide dismutase in mice. *Res. Comm. Chem. Paths. Pham.*, 15: 641—654, 1976
 - 22) Carson, S., et al.: Safety tests of orgotein. An antiinflammatory protein. *Toxicol. & Appl. Pharmacol.*, 26: 184—202, 1973