

Title	ニカラベンの放射線防護剤としての有用性の検討-フリーラジカル消去能, 細胞成長阻害抑制について-
Author(s)	森, 泰胤; 高島, 均; 瀬尾, 裕之 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1993, 53(6), p. 704-712
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19307
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

ニカラベンの放射線防護剤としての有用性の検討 —フリーラジカル消去能, 細胞成長阻害抑制について—

- 1) 香川医科大学放射線医学教室
- 2) 岡山大学医療技術短期大学部
- 3) 岡山大学医学部分子細胞医学研究施設神経情報学部門

森 泰胤¹⁾ 高島 均¹⁾ 瀬尾 裕之¹⁾ 山本 剛禧²⁾
劉 健康³⁾ 大川 元臣¹⁾ 田邊 正忠¹⁾

(平成 4 年 12 月 3 日受付特別掲載)

(平成 5 年 4 月 22 日最終原稿受付)

Experimental Studies on Nicaraven as Radioprotector —Free radical scavenging effect and the inhibition of the cellular injury—

Yasutane Mori¹⁾, Hitoshi Takashima¹⁾, Hiroyuki Seo¹⁾,
Goki Yamamoto²⁾, Jiankang Liu³⁾, Motoomi Ohkawa¹⁾
and Masatada Tanabe¹⁾

- 1) Department of Radiology, Kagawa Medical School
- 2) Department of Radiation Technology, School of Health Sciences, Okayama University
- 3) Department of Neuroscience, Institute of Molecular and Cellular Medicine, Okayama University Medical School

Research Code No. : 408

Key words : Radioprotector, Nicaraven, Radical scavenger,
Hydroxyl radical, Superoxide radical

In the present study, firstly the antioxidant effect of Nicaraven was observed by examining the direct free radical scavenging effect with ESR. Dose dependent effects were shown in scavenging both of superoxide and hydroxyl radicals. In the study to check whether Nicaraven inhibits hydroxyl radical formation or degrades the spin adduct of DMPO with hydroxyl radical, the effect of Nicaraven was suggested that it inhibited hydroxyl radical formation itself. Secondly, it was recognized fluorophotometrically that the inhibiting effect of the agent on the superoxide and hydroxyl radicals promoted damage to benzoate, deoxyribose and some amino acids. The inhibiting effect was nearly the same as that of mannitol. Furthermore, the inhibition of the cellular injury induced by ferrous sulphate was investigated in NIH3T3 cells. The addition of Nicaraven to the cells after 6 hours of reaction with FeSO₄, the inhibition of the cellular injury was significant ($p \leq 0.01$). The effect of Nicaraven was recognized as a radioprotector in vitro. The agent suggested to be able to produce recovery from the damage induced by irradiation at the cellular level.

はじめに

ニカラベン (Nicaraven) は脳血管攣縮改善作用, 虚血性脳浮腫改善作用, 脳血流改善作用を有するラジカルスカベンジャーで, 現在, 第3相治験段階である. われわれはニカラベンの放射線防護剤としての有用性をマウスを用いて, 生存率, 内因性脾コロニー法, 末梢血液像, 肝ミトコンドリア脂質過酸化反応にて検討し報告した¹⁾. また放射線障害は一連のラジカル反応による細胞のDNA障害によるものと言われており²⁾, 脂質過酸化反応等を用いて放射線障害の研究が行われてきた^{3),4)}. 最近, 電子スピン共鳴装置 (ESR, electron spin resonance または EPR, electron paramagnetic resonance) およびスピントラップ法の進歩によりフリーラジカルを安定なラジカルに変換して測定することが比較的容易に行われるようになった⁵⁾. 本報ではニカラベンのラジカルスカベンジャーとしての可能性を ESR を用いて, 生化学的に検討し, さらに NIH 3 T 3 細胞を用いてフリーラジカル反応を有する2価鉄による細胞成長阻害に対するニカラベンの影響を併せて検討したので報告する.

実験方法 1

ESR によるニカラベンのフリーラジカル消去能の測定

1. 試薬

ニカラベン (N, N-propylenedinitiamide, 中外製薬より供与) を適宜 0.86% NaCl にて希釈し実験に用いた.

2. フリーラジカルの分析

フリーラジカル分析装置として ESR スペクトロメータ (JES-FE 1 XG, JEOL) を用い, 測定は室温で行った. スーパーオキシドラジカル, ヒドロキシルラジカルの分析は平松^{6),7)}の方法にしたがって行った.

3. スーパーオキシドラジカルの測定

2 mM のヒポキサンチン (HPX, シグマ社) 50 μ l および 10.98 mM のジエチレントリアミンペンタ酢酸 (DATAPAC, 和光純薬) にニカラベンを 50 μ l 加えた後, 5, 5-ジメチル-1-ピロリン-1-オキシド (DMPO, 第一化学薬品) を 15

μ l および 0.326 unit/ml のキサンチンオキシダーゼ (XOD, ベーリンガー・インゲルハイム社) を 50 μ l 加え, 試料をセルにとり, ESR スペクトロメーターにより, 以下の条件で測定した.

ESR settings: microwave power, 8 mW; modulation frequency, 100 kHz; modulation width, 0.08 mT; scan time, 2 min/360 mm; response, 0.1 sec; and magnetic field intensity, 335 \pm 5 mT.

4. ヒドロキシルラジカルの測定

1 mM の過酸化水素 (和光純薬) 75 μ l に FeSO₄-DATAPAC (FeSO₄: 和光純薬) の 1 mM 溶液を 75 μ l, ニカラベンを 50 μ l および 0.092 mM の DMPO を 20 μ l 加えた後, 試料をセルにとり, ESR スペクトロメーターにより, 以下の条件で測定した.

ESR settings: microwave power, 8 mW; modulation frequency, 100 kHz; modulation width, 0.1 mT; scan time, 30 sec/360 mm; response, 0.03 sec; and magnetic field intensity, 335 \pm 5 mT.

5. 2価鉄存在下ヒドロキシルラジカルによる安息香酸, DNA, アミノ酸の損傷に対するニカラベンの防護作用の検討 (マンニトールとの比較)

Halliwell ら⁸⁾ および Gutteridge⁹⁾ の方法に準じて行った. すなわち, リン酸カリウムバッファー (pH 7.4, 14 mM), NaCl (44 mM), 過酸化水素 (0.29 mM), 検出物質 (1.43 mM) (安息香酸, DNA, グルタミン酸, α -アミノ酪酸 (ABA), メチオニンのいずれか) に各種濃度のニカラベンあるいはマンニトールを加えた. 硫酸鉄 (0.28 mM) を加え, 反応を開始し, 37°C で 60 分インキュベートした.

6. 3価鉄存在下スーパーオキシドラジカルによる安息香酸, DNA, アミノ酸の損傷に対するニカラベンの防護作用の検討 (スーパーオキシドジスムターゼ (SOD), マンニトールとの比較)

Halliwell ら¹⁰⁾ の方法に準じて行った. すなわち, リン酸カリウムバッファー (pH 7.4, 14 mM), NaCl (44 mM), HPX (0.14 mM), XOD (0.326 U/ml), 検出物質 (1.43 mM)

(安息香酸, DNA, グルタミン酸, α -アミノ酪酸 (ABA), メチオニンのいずれか) に各種濃度のニカラベン, SOD, あるいはマンニトールを加えた。硫酸アンモニウム鉄 (0.28 mM) を加え, 反応を開始し, 37°C で 60 分インキュベートした。

7. チオバルビツール酸反応物質 (TBARS) の測定

試料を 37°C で 60 分インキュベートした後, 1% TBA 0.2 ml, 2.8% トリクロル酢酸 0.2 ml を加え, 100°C で 10 分加熱し, 加熱後冷却し TBA 値を求めた。TBARS 値は吸光度 (OD, 532-553 nm) で示し, TBARS の標準物質としてはマロンアルデヒド・ビス (ジメチルアセタール) (東京化成) を用いた。

実験方法 2

NIH 3 T 3 細胞における Fe²⁺ 脂質過酸化誘導のニカラベンによる抑制効果の検討

マウス線維芽細胞由来の NIH 3 T 3 細胞を用い, 黒田ら¹¹⁾の方法に準じて行った。すなわち, 培養液として Dulbecco's modified Eagle medium (日水製薬) に 10% 非働化仔牛血清 (Hyclone Lab.), 100 μ g/ml streptomycin (明治製薬) および 100 unit/ml penicillin (明治製薬) を加えたものを培地として用いた。10⁵ 個の細胞を含んだ 5 ml の培養液をシャーレ (60 mm \times 15 mm) に入れ, CO₂ インキュベーター (Sanyo Electric Co.) 中におき 5% CO₂, 37°C の状態で培養を行った。2 日目の細胞を採取し, 100 個の細胞を移植した。インキュベーターにて 24 時間培養後, 以下の群に分け, 各群 3 皿で実験を行った。Fe は 2 価鉄 (硫酸第一鉄アンモニウム) で, Fe およびニカラベンの培養液中の最終濃度は 0.25 mM, 50 μ g/ml で行った。

- a) Fe, ニカラベンを含まない 5 ml の培養液に入れ替えただけの無処置群 (control 群)
- b) Fe を加えて 1 時間処理後ニカラベンを含まない 5 ml の培養液に入れ替えた群 (Felh 群)
- c) Fe を加えて 1 時間処理後ニカラベンを含む 5 ml の培養液に入れ替えた群 (Felh+Nic 群)
- d) Fe を加えて 3 時間処理後ニカラベンを含ま

ない 5 ml の培養液に入れ替えた群 (Fe 3 h 群)

e) Fe を加えて 3 時間処理後ニカラベンを含む 5 ml の培養液に入れ替えた群 (Fe 3 h+Nic 群)

f) Fe を加えて 6 時間処理後ニカラベンを含まない 5 ml の培養液に入れ替えた群 (Fe 6 h 群)

g) Fe を加えて 6 時間処理後ニカラベンを含む 5 ml の培養液に入れ替えた群 (Fe 6 h+Nic 群)

上記処理後, 8 日間インキュベーターの中で培養した。その後 10% ホルムアルデヒド液にて固定, 10% ギムザ染色液にて染色し, コロニー直径およびコロニー数の control 群との比を求めた。

結 果

1. スーパーオキシドラジカル消去への効果

スーパーオキシドラジカルの DMPO スピニアダクトの ESR スペクトルを Fig. 1 (A) に示す。ESR スペクトルは 2, 4, 4, 2 の 12 本のシグナルから構成され, その分離幅は 1.44 mT (A_N), 1.18 mT (A^H β), 0.12 mT (A^H γ) であった。反応前にニカラベン 12.5 mM (Fig. 1 (B)), あるいは 125 mM (Fig. 1 (C)) を加えると, スーパーオキシドラジカルを示すシグナルはニカラベン濃度に依存して減少した。

2. ヒドロキシルラジカル消去への効果

ヒドロキシルラジカルの DMPO スピニアダクトの ESR スペクトルを Fig. 2 (A) に示す。ESR スペクトルは強度化 1:2:2:1 である 4 本のシグナルから構成され, その分離幅は 1.44 mT (A_N), 1.44 mT (A^H β) であった。反応前にニカラベンを加えると, ヒドロキシルラジカルを示す ESR シグナルはニカラベン濃度に依存して減少した (Fig. 2 (B) 0.125 mM, (C) 1.25 mM, (D) 12.5 mM, (E) 125 mM)。

ニカラベンの濃度とスーパーオキシドラジカル (○) およびヒドロキシルラジカル (●) 生成量の関係を Fig. 3 に示す。ニカラベン 0 mM の ESR シグナルの最高値と最低値の差を 100% として表示し, ニカラベンによる消去率を % で測定した。

3. ヒドロキシルラジカル消去の検討

ニカラベンによる DMPO スピニアダクト生成量の低下が認められたため, ヒドロキシルラジカ

ルの消去がラジカル形成の抑制に寄与しているのか、あるいはDMPOスピニアダクト形成後の消去であるかをニカラベン¹²⁾の投与時期によりIwa-

hashiら¹²⁾の方法に準じて検討した。結果はFig. 4に示す。Fenton反応によりヒドロキシルラジカルが発生し、その発生量は約6分後に最高値に

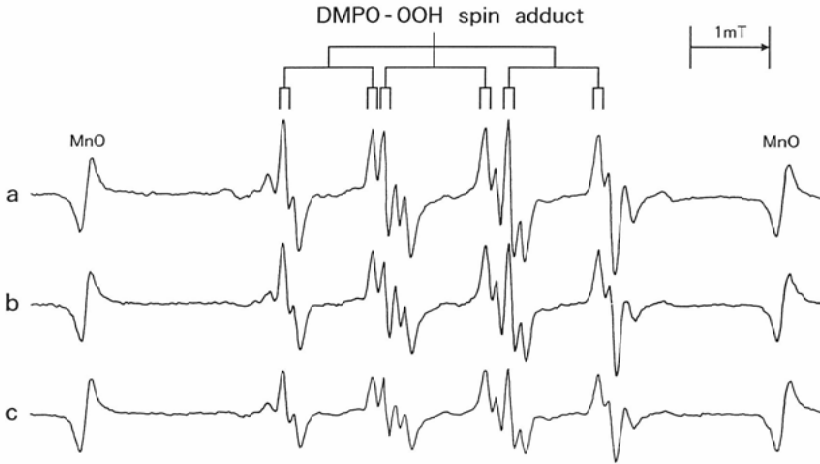


Fig. 1 ESR spectra of superoxide radicals (generated by the HPX-XOD system as adducts of DMPO) obtained in the reaction with various concentration of Nicoraven ((A) ; 0 mM (control), (B) ; 12.5 mM, (C) ; 125 mM)
ESR settings : microwave power, 8 mW ; modulation frequency, 100 kHz ; modulation width, 0.08 mT ; scan time, 2 min/360 mm ; response, 0.1 sec ; and magnetic field intensity, 335±5 mT

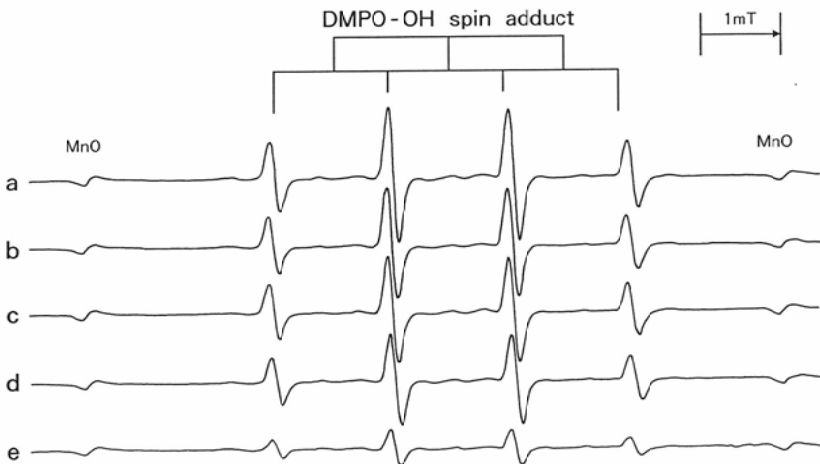


Fig. 2 ESR spectra obtained from the reaction mixture of the hydroxyl radical generating system with various concentration of Nicoraven ((A) ; 0 mM (control), (B) ; 0.125 mM, (C) ; 1.25 mM, (D) ; 12.5 mM, (E) ; 125 mM),
ESR settings : microwave power, 8 mW ; modulation frequency, 100 kHz ; modulation width, 0.1 mT ; scan time, 30 sec/360 mm ; response, 0.03 sec ; and magnetic field intensity, 335±5 mT

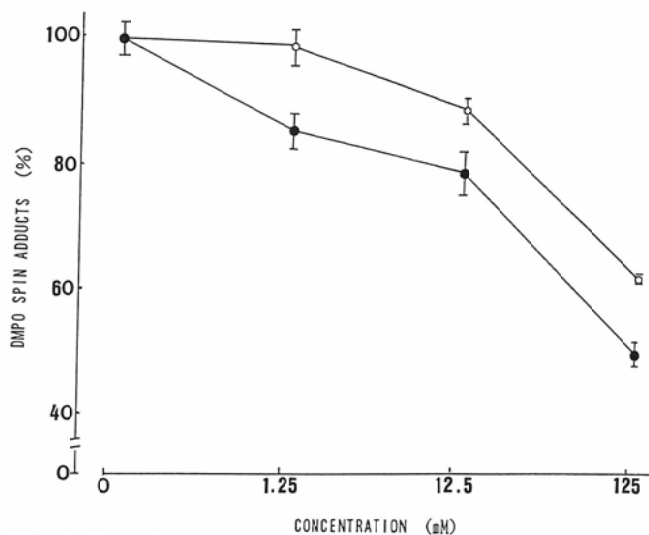


Fig. 3 Dose dependent effects of Nicaraven on superoxide radical (○) and hydroxyl radical (●). Each point represents the mean of 3-5 experiments.

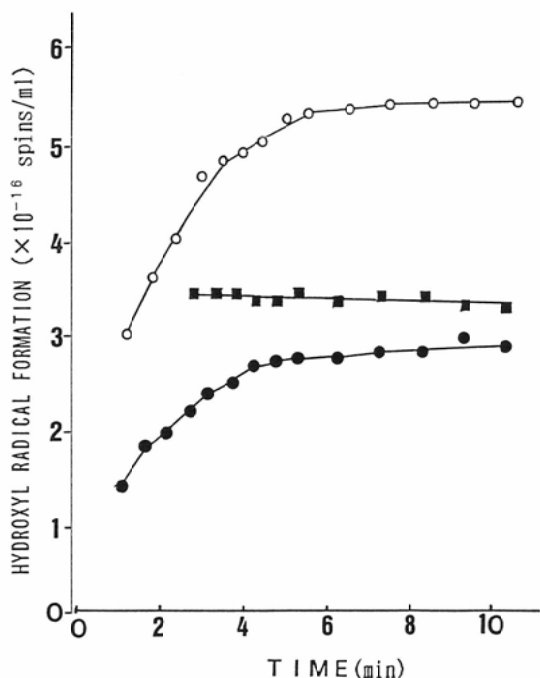


Fig. 4 Inhibition of the hydroxyl radical formation by Nicaraven. Nicaraven (125 mM) was added to the standard reaction mixture (200 μl) at 0 min or 1.5 min. No addition (○), addition at 0 min (●), addition at 1.5 min (■)

達した (○). Fenton 反応開始直前 (0 min) にニカラベン 125 mM を加えると、ヒドロキシルラジカル発生は約 50% 程度に抑えられた (●). 反応開始 90 秒後のニカラベン投与では投与以降のヒドロキシルラジカルのスピニアダクトの形成増加は認められず、スピニアダクトの減少も認められなかった (■). 以上のことからニカラベンはヒドロキシルラジカルの形成の部分的抑制に働くことがわかった.

4. ヒドロキシルラジカルによる安息香酸, DNA, アミノ酸への損傷に対する防護能の検討 (マンニトールとの比較)

Table 1 The 50% inhibiting concentrations (IC₅₀) of Nicaraven on the iron(II)-dependent damages to detector molecules. Values of TBARS are mean of 3 experiments. IC₅₀ were calculated from the dose dependent curves in Fig. 5 (Student-t-test, mean ± SE)

Detector molecule	50% TBARS (nM)	IC ₅₀ (mM)	
		Nicaraven	Mannitol
Benzoate	0.29 ± 0.008	4.3	6.4
Deoxyribose	0.49 ± 0.007	4.4	6.2
Glutamic acid	0.26 ± 0.002	1.4	1.6
αABA	0.17 ± 0.003	2.4	2.3
Methionine	0.30 ± 0.002	5.0	8.6

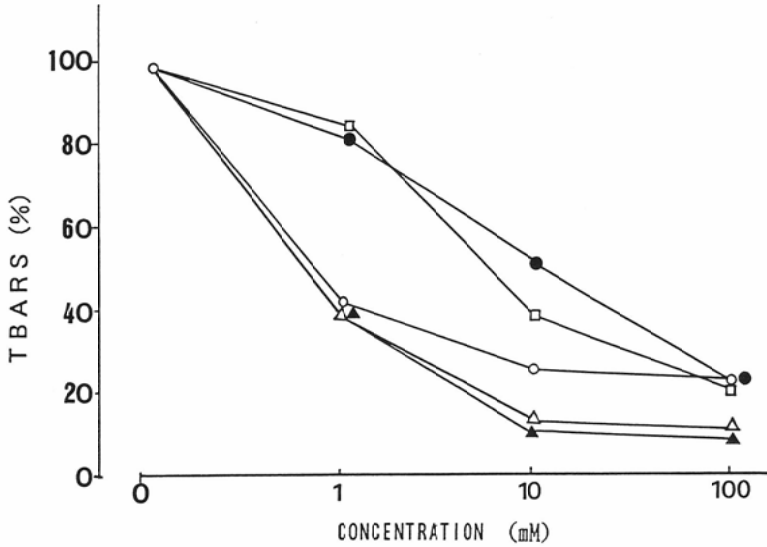


Fig. 5 Dose dependent inhibiting effects of Nicaraven on ferrous ion and hydrogen peroxide promoted degradation to benzoate (○), deoxyribose (●), glutamic acid (△), α-ABA (▲) and methionine (□) with the release of TBARS. Point represents mean of 3 experiments.

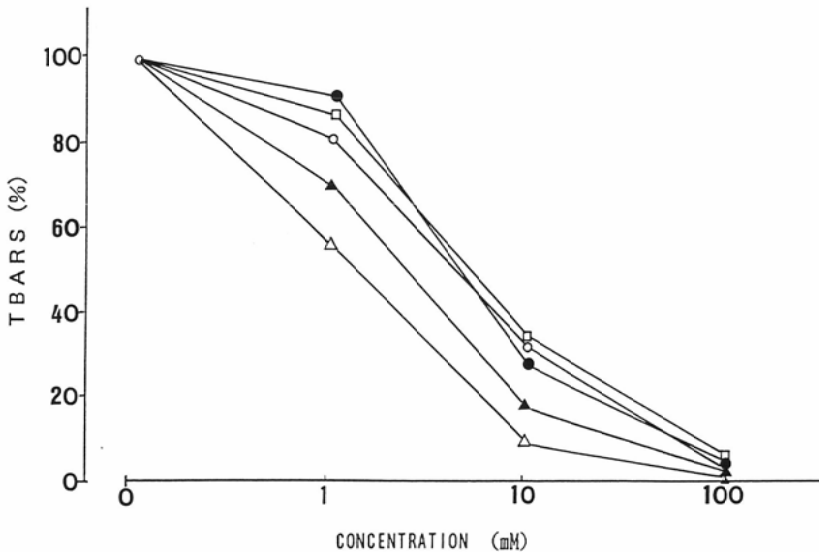


Fig. 6 Dose dependent inhibiting effects of Nicaraven on the damage to benzoate (○), deoxyribose (●), glutamic acid (△), α-ABA (▲) and methionine (□) in the presence of a superoxide-generating system and ferric salts. Points are mean of 3 experiments.

結果を Fig. 5 に示す。ニカラベンはヒドロキシルラジカルにより安息香酸、DNA、アミノ酸に対する損傷に対して、マンニトールと同程度の濃度依存防護効果を示した。Fig. 5 より求めた 50%防護濃度 (Inhibiting concentration 50, IC 50) を Table 1 に示す。

5. スーパーオキシドラジカルによる安息香酸、DNA、アミノ酸への損傷に対する防護能の検討 (SOD, マンニトールとの比較)

結果を Fig. 6 に示す。ニカラベンはスーパーオキシドラジカルにより安息香酸、DNA、アミノ酸に対する損傷に対して、濃度依存的防護効果

Table 2 The inhibiting effect of 10 mM Nicaraven, compared with those of 10 mM mannitol and 100 $\mu\text{g/ml}$ SOD in the presence of a superoxide-generating system and ferric salts. Values of TBARS are mean of 6 experiments. (Student-t-test, mean \pm SE)

Detector molecule	TBARS (nM)	Inhibition of degradation		
		Nicaraven (10 mM)	Mannitol (10 mM)	SOD (10 $\mu\text{g/ml}$)
Benzoate	0.034 \pm 0.007	75	59	98
Deoxyribose	0.234 \pm 0.008	49	58	63
Glutamic acid	0.088 \pm 0.003	87	89	93
α ABA	0.077 \pm 0.001	88	81	93
Methionine	0.080 \pm 0.002	62	38	82

Table 3 The effect of recovery from cellular injury induced by ferrous salts. (Nic.= Nicaraven) (Student-t-test, mean \pm SD)

	Diameter of colony (mm)	Colony ratio
Control	2.75 \pm 0.711	1.000
Fe 1 h	2.67 \pm 0.527	0.975
Fe 1 h+Nic	2.58 \pm 0.495	0.941
Fe 3 h	2.43 \pm 0.560 *	0.915
Fe 3 h+Nic	2.52 \pm 0.521	0.992
Fe 6 h	2.32 \pm 0.562 *	0.882
Fe 6 h+Nic	2.52 \pm 0.519 **	0.950

* : $p \leq 0.01$ (compared with Control)

** : $p \leq 0.01$ (compared with Fe 6 h)

を示した。ニカラベン (10 mM) の示す防護効果のマンニトール (10 mM), SOD (10 $\mu\text{g/ml}$) との比較を Table 2 に示す。ニカラベンはスーパーオキシドラジカルに対してマンニトールと同程度の防護効果を示した。

6. NIH 3 T 3 細胞における Fe^{2+} による増殖阻害の抑制効果の検討

結果を Table 3 に示す。Fe 3 時間および 6 時間処理によりコロニーの直径に成長阻害がみられた ($p \leq 0.01$)。Fe 処理後にニカラベンを加えて培養すると、3 時間処理群では径平均値に増加傾向が認められたものの有意差は得られなかったが、6 時間処理群では成長阻害を有意に改善した ($p \leq 0.01$)。

考 察

フリーラジカルとは不対電子を持つ分子や原子

の総称で、フリーラジカルによる障害の生体内標的分子としては脂質、核酸、酵素、タンパク質が重要である¹³⁾。また、フリーラジカルが関与していると考えられている病態や疾患は数多くあり、脳神経疾患、循環器疾患、呼吸器疾患、消化器疾患、発癌、放射線障害など多臓器、多疾患に亘る。放射線照射や化学物質によって誘起される DNA の損傷は、細胞死、増殖能の消失、突然変異、細胞の形質転換といった種々の生物学的変化をもたらす。放射線照射による DNA の損傷はフリーラジカルによっても生じるが、間接的に DNA 損傷が誘起される条件下で、ヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドラジカル、パーオキシラジカルなどのいずれの分子種が関与しているかが研究されている¹⁴⁾。放射線防護剤としてラジカルスカベンジャーが用いられた例も多く、アスコルビン酸¹⁵⁾、 α -トコフェロール¹⁶⁾、カフェイン¹⁷⁾、ブチルアルコール¹⁷⁾、ジメチルスルフォキシド (DMSO)¹⁸⁾ などについて報告されている。われわれは実験動物に対して全身 X 線照射した実験より、ニカラベンの放射線防護剤としての可能性を示唆する結果を得た¹⁾。今回は ESR を用いて in vitro の系において、DMPO ラジカル、ヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドラジカルを直接測定して検討を行い、ニカラベンのヒドロキシルラジカルに対する直接消去作用を認めた。この結果は紫外線によるヒドロキシルラジカル発生を行い、 -100°C にてラジカル消去能測定を行った藤田ら¹⁹⁾の結果と一致するものであ

た。本実験におけるニカラベンのヒドロキシルラジカルに対する IC 50 は 112 mM でマンニトール (IC 50=120 mM) と同程度であった。またスーパーオキシドラジカルに対しても直接消去作用を認め、ニカラベン 125 mM のスーパーオキシドラジカルに対する効果は SOD 0.8 unit/ml に匹敵した。また、ラジカル発生後のニカラベン投与ではスピリアグクト量は投与以降増加しなかった。これは放射線照射後のニカラベン投与が生存率および脾コロニー生成率の改善とともに有効であったという *in vivo* における結果¹⁾ を支持すると考えられる。しかし、*in vitro* の系においてはニカラベンの投与はラジカル反応開始後、1.5 分後であり、*in vivo* では放射線照射後早くとも 5 分は経過しており Fig. 4 によるとほぼ反応が終結してしまった後であると考えられる。このことはラジカル消去反応以外の系による効果があるのではないかと考えられ、ニカラベンに放射線障害からの回復促進作用があると推察された。Srinivasan ら¹⁶⁾ はラジカルスカベンジャーである α -トコフェロールを用いてマウスの生存率で放射線防護剤としての有用性を検討し、照射後投与による効果を認めており、われわれの結果も同様の効果が発現したものと考えられる。

また、生体内においてはラジカルの標的として脂質、核酸、酵素、タンパク質等が考えられている。Gutteridge⁹⁾ は 25 種類のアミノ酸、8 種類の糖質を用いて、2 価鉄による損傷の強さを TBA 反応により比較検討し、アミノ酸においては、ラジカルによる損傷の程度で最も強いグルタミン酸と最も弱いアラニン、システインとでは TBA 値で 13.6 倍の差があり、さらに DNA ではグルタミン酸の 4.2 倍損傷の程度が強いと報告している。そこで、われわれは比較的損傷の程度の強いとされる DNA、グルタミン酸、ABA、メチオニン、さらには有機酸として安息香酸を用い、ニカラベンによるヒドロキシルラジカル消去作用を検討したところ、各種分子の損傷が防護されていた。さらにマンニトールと比較検討すると安息香酸、DNA、メチオニンに対して、若干強いラジカル消去作用を認め、グルタミン酸、ABA 対

しては、ほぼ同程度の消去作用を認めた。また、スーパーオキシドラジカル消去作用を検討したところ、各種分子の損傷が防護されていた。さらにマンニトールと比較検討すると安息香酸、メチオニンに対して、若干強いラジカル消去作用を認め、グルタミン酸、ABA に対しては、ほぼ同程度のラジカル消去作用を認めた。しかし、DNA に対するラジカル消去作用は若干弱く認められた。以上のことより *in vitro* の実験系においても、ニカラベンのラジカルに対する防護作用が濃度依存的であり、さらには生体内分子に対してもマンニトールと同程度の消去作用のあることが明らかになった。

また、NIH 3 T 3 細胞における鉄処理による分裂成長阻害に対するニカラベンの回復効果が認められており、2 価鉄による細胞障害のニカラベンによる改善が認められた。細胞レベルにおいても放射線障害が DNA と関係しており、ラジカルスカベンジャーを併用すると、障害の改善がみられると言われている²⁰⁾。一般に放射線防護剤の作用機序はまだ十分には解明されていないが、一つには細胞膜のレセプターを介するとする説がある²¹⁾。鉄誘導の膜における脂質過酸化反応障害からの改善にニカラベンは関与している可能性もある。

ESR を用いラジカル発生後のニカラベン投与実験ではラジカル反応の抑制を認めなかった。しかし、鉄処理後の、ニカラベン処理により細胞障害からの回復を認めており、また放射線照射によるラジカル測定は照射と測定の時期も問題となっており²²⁾、これら 2 つの実験のみから結論を導くのは難しいが、ニカラベンにはラジカルスカベンジャーとしての作用以外に放射線障害からの回復を促進する効果があり、これが照射後投与に有効であったと考えられる。

ま と め

1. ニカラベンの放射線防護剤としての有効性を基礎的に検討した。

2. ニカラベンはヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドラジカルに対して濃度依存的消去を認め、安息香酸、DNA、アミノ酸をラジカル障

害から防護した。その防護能はヒドロキシルラジカル、スーパーオキシドラジカルともにマンニトールとはほぼ同程度であった。

3. ニカラベンは細胞の2価鉄による障害からの回復に有効であった。

4. ニカラベンはラジカスカベンジャーとしての作用以外にも放射線障害からの回復効果を持つ可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、本薬剤を提供下さいました中外製薬株式会社に感謝いたします。なお、本論文の要旨は、第52回日本医学放射線学会総会（横浜）において発表した。

文 献

- 1) 森泰胤, 高島均, 瀬尾裕之, 他: ニカラベンの放射線防護剤としての有用性の検討 (第1報) 抄録. 日本医放会誌, 52: 1472, 1992
- 2) Antoku S: Chemical protection of bacteria and cultured mammalian cells by sulfur-containing compounds. *J Radiat Res* 16: 28-36, 1975
- 3) 若林弘: X線全身照射のラット肝ミトコンドリアにおける脂質過酸化反応に関する研究. 第1編 X線全身照射にともなうラット肝ミトコンドリアの Fe^{++} 誘導脂質過酸化反応の変動について. 岡山医誌 88: 185-196, 1976
- 4) 森本節夫: 二価鉄誘導脂質過酸化反応に関する研究. 第1編・全身照射のラット肝ミトコンドリアの二価鉄誘導脂質過酸化反応における誘導時間の解析. 岡山医誌 97: 201-209, 1985
- 5) 二木鋭雄: フリーラジカルの測定. *Pharma medica*, 8(4): 15-20, 1990
- 6) 平松緑, 枝松礼, 角脇大, 他: dipyridamoleのフリーラジカル消去作用. 磁気共鳴と医学 3: 129-133, 1992
- 7) Santiago LA, Osato JA, Hiramatsu M, et al: Free radical scavenging action of bio-catalyzer $\alpha\rho$ no. 11 (bio-normalyzer) and its by-product. *Free Radical Biol Med* 11: 379-383, 1991
- 8) Halliwell B, Gutteridge JMC, Aruoma OI: The deoxyribose method: A simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Anal Biochem* 165: 215-219, 1987
- 9) Gutteridge JMC: Thiobarbituric acid-reactivity following iron-dependent free-radical damage to amino acids and carbohydrates. *FEBS Lett* 128(2): 343-346, 1981
- 10) Halliwell B, Gutteridge JMC: Formation of a thiobarbituric-acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts. *FEBS Lett* 128(2): 347-352, 1981
- 11) 黒田昌宏, 平木祥夫, 川崎祥二: NIH 3 T 3細胞の温熱耐性に対するケルセチンの作用第1編・細胞の生存率からみたケルセチンの作用. 岡山医誌, 103: 973-981, 1991
- 12) Iwahashi H, Ishii T, Sugata R, Kido R: The effect of caffeic acid and its related catechols hydroxyl radical formation by 3-hydroxyanthranilic acid, ferric chloride, and hydrogen peroxide. *Arch Biochem Biophys*. 276(1): 242-247, 1990
- 13) 吉川敏一, 近藤元治: フリーラジカルと生体. *Pharma medica*, 8(4): 11-14, 1990
- 14) Sies H: 活性酸素と疾患 分子論的背景と生物の防衛戦略 (井上正康監訳): 43-72, 1987, 学会出版センター, 東京
- 15) Koch CJ, Stobbe CC, Hettiaratchi P: Combined radiation-protective and radiation-sensitizing agents IV: Measurement of intracellular protector concentrations. *Int J Radiation Oncology Biol Phys*. 16: 1025-1027, 1989
- 16) Srinivasan V, Weiss JF: Radioprotection by vitamin E: injectable vitamin E administered alone or with WR-3689 enhances survival of irradiated mice. *Int J Radiation Oncology Biol Phys*. 23: 841-845, 1992
- 17) Singh SP, Kasavan PC: Barley seed radio sensitivity following post-hydration in oxygen-, nitrogen- and nitrous oxide-saturated water. I. Influence of caffeine and t-butyl alcohol. *J Radiat Res*. 31: 162-173, 1990
- 18) Miller GG, Raleigh JA: Action of some hydroxyl radical scavengers on radiation-induced haemolysis. *Int J Radiat Biol*. 43(4): 411-419, 1983
- 19) 藤田雄三, 河野雅弘: 活性酸素種の消去効果 (低温ESRによる消去剤の分析). 第11回磁気共鳴医学会講演集, 1989
- 20) Billen D: DNA polymerase I is crucial for the repair of potentially lethal damage caused by the indirects of X irradiation in *Escherichia coli*. *Radiat Res*. 103: 163-169, 1985
- 21) Weiss JF, Kumar KS, Walden TL, et al: Advances in radioprotection through the use of combined agent regimens. *Int J Radiat Biol*. 57(4): 709-722, 1990
- 22) Michael BD: Free radical injury to irradiated cells: Evidence from rapid irradiation studies. *Br J Cancer*. 55(8): 158-162, 1987