

窒素酸化物の人体への影響に関する基礎的研究

Fundamental studies on the polluting actions of NO_x for human blood and tissue

- 代表研究者 東北大学非水溶液化学研究所教授 旗野 昌弘
Prof., Chemical Res. Inst. of Non-aqueous Solutions, Tohoku Univ.
Masahiro HATANO
- 協同研究者 東北大学非水溶液化学研究所教授 岩泉 正基
Prof., Chemical Res. Inst. of Non-aqueous Solutions, Tohoku Univ.
Masamoto IWAIZUMI
- 東北大学医学部教授 小暮 久也
Prof., Dept. of Neurology, School of Medicine, Tohoku Univ.
Kyuya KOGURE
- 東北大学非水溶液化学研究所助教授 野沢 庸則
Assoc. Prof., Chemical Res. Inst. of Non-aqueous Solutions, Tohoku Univ.
Tsunenori NOZAWA
- 東北大学非水溶液化学研究所助手 清水 透
Res. Assoc., Chemical Res. Inst. of Non-aqueous Solutions, Tohoku Univ.
Toru SHIMIZU
- 東北大学大学院理学研究科 外川 英男
Graduate Student, Divi. of Sci., Graduate Schools, Tohoku Univ.
Hideo SOTOKAWA
- 東北大学医学部附属脳疾患研究施設研究員 大友 仁
Res. Resident, Dept. of Neurology, School of Medicine, Tohoku Univ.
Hitoshi OTOMO
- 東北大学医学部附属脳疾患研究施設研究員 泉山 昌洋
Res. Resident, Dept. of Neurology, School of Medicine, Tohoku Univ.
Masahiro IZUMIYAMA

It is well known that nitrogen dioxide (NO_2) gas heavily injures lung tissues, blood membranes, lung lipids, and some enzymatic functions. Most of studies on NO_2 exposure to living animals were done under relatively diluted NO_2 gas (less than 10 ppm) conditions for long terms such as several days or weeks. However, there has no report which describes liver, kidney etc. functions to be damaged by NO_2 exposure. No systematic short-term biochemical examinations for rats exposed to high concentrated NO_2 (50 ppm) have been done to know acute effects of the NO_2 gas exposure. We describe here acute effects of 50 ppm NO_2 exposure on physiological functions of rats. Since liver microsomal cytochrome P-450 is known to contribute to drug metabolism and activation or hydroxylation of cata-condensed aromatic carcinogens and shows peculiar optical spectral properties, we checked the specific content of P-450 as well. It was found in this study that liver functions are acutely injured even after 3 hr of 50 ppm NO_2 exposure in terms of various biochemical examinations of rat serum. Firstly, the effects of the high concentration of NO_2 (50 ppm) on various physiological functions of rats were surveyed by using routine biochemical examinations. The following biochemical examinations were chosen as indicators for changes in the physiological functions. Total proteins,

protein fractionations, total bilirubin, total cholesterol, cholesterol esters, β -lipoprotein, total lipids, phospholipids, triglycerides, free fatty acids, nitrogen of urea acid, Na^+ , K^+ , creatine phosphokinase, γ -GTP, choline esterase, GOT, GPT, LDH, ALP, total iron, unsaturated iron, serum iron in serum and cytochrome P-450 in liver were measured. When we compare these biochemical examination for the NO_2 exposed rats with those of the controlled rats, we noticed appreciable differences of some values between the exposed and controlled rats. Following values of controlled rats were changed by exposure of 50 ppm NO_2 gas: 1) ratio of albumin to total globulin, 2) total cholesterol, 3) cholesterol esters, 4) total lipids, 5) triglycerides, 6) nitrogen of urea, 7) uric acid, 8) GOT, 9) GPT, 10) LDH, 11) ALP, and 12) P-450. From these findings, it was suggested that functions of liver are injured after exposure for 58 hr to 50 ppm NO_2 atmosphere. And then, more short-term (3-36 hr) effects of 50 ppm NO_2 exposure on the above mentioned twelve biochemical levels. The ratios of albumin to total globulin were not changed markedly. Changes of total cholesterol and cholesterol esters upon 50 ppm NO_2 exposure were very similar to each other. Namely, these values once increased at 3 hr but decreased at 6 and 12 hr of NO_2 exposure. At 24 and 36 hr, they increased to values more than those of controlled samples. The values of total lipids once increased at 6 hr after the NO_2 exposure and then gradually decreased for 30 hr. Contents of triglycerides of the exposed rats were less than those of the controlled rats at 3 hr and 36 hr, but were more than those of the controlled rats at 6 and 12 hr. Nitrogen of urea once increased upon the NO_2 exposure to a value more than those of controlled values, but later decreased below the controlled ones. Uric acid content in serum once increased at 3, 6 and 12 hr, but at 24 hr of NO_2 gas exposure this value was less than that of the controlled one. The GOT value once decreased at 3 hr after the NO_2 exposure, but this value was later more than that of the controlled sample. GPT values of the exposed rats were more than those of the controlled rats for most of the exposure times except the value at 22 hr. Similarly, LDH contents of the exposed rats were more than those of the controlled values for most of the exposure times except the value at 22 hr. ALP contents were less than the controlled value at 3 hr of the NO_2 exposure, but later this value gradually increased. Specific contents of the liver microsome P-450 of the exposed rats were less than those of controlled values except at 12 hr of the NO_2 exposure. The biochemical examinations showed that various biochemical functions are heavily influenced even in a very short-term exposure of 50 ppm NO_2 gas. Most of the biochemical values which are influenced by the NO_2 gas exposure were not monotonously changed. The similar complex change of various biochemical values were observed for long-term exposure to relatively low-concentrated (less than 10 ppm) NO_2 gas. For example, a content lysophosphatidylethanolamine of red cell membranes of rats firstly decreased, but later increased upon 4 and 10 ppm NO_2 exposure. A content of hexose of red cell membranes of rats firstly increased, and then decreased upon 4 ppm NO_2 exposure. In the similar way, the contents of NADPH-cytochrome *c* reductase, cytochrome *b*₅ and cytochrome P-450 of rat liver microsomes decreased firstly, and then increased later upon 0.4-4 ppm NO_2 exposure. In this work, it was suggested various biochemical functions in addition to membrane structure and components are fairly affected by the 50 ppm NO_2 gas exposure. Since the values of GOT, GPT, LDH, ALP in serum and the contents of cytochrome P-450 in liver microsomes are indicative of injuries of liver functions, our data suggest that especially liver functions are injured by the 50 ppm NO_2 exposure. Although values of uric acid and nitrogen of urea are indicative of both liver and kidney functions, further study will be needed to confirm the kidney damage by the exposure of 50 ppm NO_2 . This 50 ppm NO_2 exposure may often encounter at the crossroads or junctions where traffic is heavy, although the concentrations of NO_2 is rather higher than the expected ones under their ordinary conditions. We believe that our biochemical data would serve as a useful working hypothesis for further pursuits of the biochemical effects of the NO_2 exposure.

This work was supported by Nissan Science Foundation. We gratefully acknowledge.

序

陸地大気中の NO_2 および NO の濃度はそれぞれ 0.002~0.005 ppm, 0~0.006 ppm であるとされている。しかし、交通量の多い都市の大気中の NO_2 濃度は上記の自然のバックグラウンドよりはるかに高く、1時間値の最高が 0.5 ppm に達したという例もある。また、最近注目されているのが家庭用暖房器具から発生する NO_2 である。換気状態の部屋で、石油ストーブを用いた場合に、 NO_2 の濃度は 0.2~1.0 ppm に達する。もし、締切った部屋で石油ストーブを長時間使用している場合には、 NO_2 の濃度は数十 ppm に達することもありえよう。特に、最近しばしば多用されている温風ファン・ヒータ型の石油ストーブは NO_2 の発生量が多いといわれている。たばこの煙も NO および NO_2 の発生源である。シガレット 1 本より 500 μg 程度の NO_2 が発生する。締切った部屋で多人数がたばこを吸うと数十 ppm の NO_2 濃度に達することが予想される。

窒素酸化物（ここでは NO_x と記す）が大気汚染の重要な有害物質であることはよく知られている^{1),2)}。 NO_x のヒトへの影響として重要なものは肺への影響で、肺気腫、気管支炎に伴う呼吸機能障害が大気中の NO_x によって引き起こされる。

国立公害研究所の三浦 卓氏は NO_2 の細胞膜への影響を詳細に研究している⁷⁻¹⁰⁾。生体膜は比較的 low 濃度の NO_2 に対して鋭敏に反応し、この反応は肺胞上皮細胞の代謝亢進、増殖や赤血球の新生促進などの変化として現れる。このほか、ミクロソーム電子伝達系成分や赤血球 Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase の量の変化としても現れる。三浦 卓氏の研究では 0.4~4 ppm の NO_2 暴露実験が行なわれた。また、この NO_2 暴露実験は 30 日間という長期間にわたっている。

我々は種々の検討を加え、また多方面からの助言をえて、高濃度の NO_2 による動物への急性毒性反応の追跡に焦点をしばり、以下の研究を行なった。

研究方法

Wister 系の生後 8 週目の雄ラット (体重 250 g) を 50 ppm の NO_2 ガスを含んだチェンバー内で

飼育した。この際に、酸素濃度は 15% 以上になるように調節した。まず、第 1 段階の研究では、50 ppm の NO_2 に暴露する時間を 20, 34, 50 時間とし、所定時間後、ラットをエーテルで麻酔し、採血し、各ラットの血清成分の生化学的分析を行なった。ラット 1 匹の血清より生化学的分析を行なうことは困難であるので、ラット 2 匹分の血清を 1 検体として生化学的分析を行なった。この第 1 段階の研究成果をふまえ、検査項目を 25 種から 12 種にしぼり、 NO_2 暴露時間を細かくとり 3, 6, 12, 24 (または 22), 36 時間とし、第 1 段階の研究と同様の生化学的分析を試みた。

また、チトクロム P-450 の定量は従来の我々の定量方法^{11),12)}に準じ、次の方法によって行なった。 NO_2 ガス中に暴露したラットの肝臓を採取し、直ちに 50 mM のリン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4) (20% のグリセリンを含む) を用いて、テフロン・ガラス製のホモジナイザー中で微小粒化し、この微小粒系を 6000 rpm で、20 分間遠心分離し、得られた上清を、さらに 40000 rpm で、60 分間遠心して、沈殿を得る。この沈殿を再び上記の緩衝液中に微小粒として分散させ、まずタンパク質をビュレット反応で定量し、次に差スペクトル法によって還元 CO 錯体としたチトクロム P-450 を定量した。

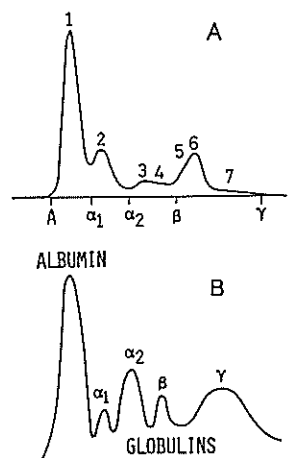


図 1 ラット (A) およびヒト (B) の電気泳動法による血清タンパク分画図。

表 1 50 ppm NO₂ ガス暴露によるネズミ血清成分の変動*。

	暴 露 な し	暴 露 な し	暴 露 な し	暴 露 20 時 間 後	暴 露 34 時 間 後	暴 露 34 時 間 後	暴 露 58 時 間 後	暴 露 58 時 間 後	単 位	
総タンパク質	6.5	7.0	6.6	6.7	6.9	6.1	6.3	6.3	g/dl	
タンパク分画	(1)	58.5	59.3	60.9	57.8	53.9	55.1	54.0	56.5	%
	(2)	10.2	9.3	9.1	11.4	16.0	16.1	13.5	14.8	%
	(3)	6.8	7.4	7.3	5.3	5.0	5.1	6.3	4.8	%
	(4)	4.2	5.1	3.6	5.3	6.7	4.2	6.3	4.9	%
	(5)	6.8	6.0	7.3	7.9	6.7	5.1	7.1	6.0	%
	(6)	10.2	10.2	9.1	10.5	9.2	11.0	10.3	10.3	%
	(7)	3.3	2.7	2.7	1.8	2.5	3.4	2.4	2.6	%
総ビリルビン	0.5	0.5	0.4	0.9	0.7	0.4	0.6	0.5	mg/dl	
総コレステロール	57	79	65	48	52	48	72	69	mg/dl	
エステルコレステロール	46	63	52	39	38	39	54	51	mg/dl	
β-リポタンパク質	—	—	—	—	—	—	—	—	mg/dl	
総脂質	302	444	293	327	384	347	484	466	mg/dl	
リン脂質	133	164	136	117	134	119	169	154	mg/dl	
トリグリセリド	130	192	117	184	191	187	248	240	mg/dl	
遊離脂肪酸	0.27	0.66	0.24	0.15	0.37	0.20	0.31	0.20	mEQ/l	
尿素窒素	22.0	21.7	19.3	24.7	25.8	26.6	26.0	23.1	mg/dl	
尿酸	2.2	2.1	1.6	3.2	3.4	2.5	2.8	4.0	mg/dl	
Na ⁺	139	139	137	131	133	134	135	128	mEQ/l	
K ⁺	6.6	6.8	5.7	6.0	7.1	5.8	6.4	5.8	mEQ/l	
CPK	3459	3612	1532	3550	5430	1153	3760	2700	mU/ml	
γ-GTP	0	0	0	0	0	0	0	0	mU/ml	
コリンステラーゼ	4	3	0	2	11	0	3	9	mU/ml/37°C	
GOT	164	173	135	199	331	185	212	175	U	
GPT	40	42	45	59	120	115	77	58	U	
LDH	1227	1278	824	1796	2810	948	1738	1360	U	
ALP	505	600	605	684	788	561	503	605	mU/ml	
総鉄結合能	450	451	446	471	452	450	506		μg/dl	
不飽和鉄結合能	280	289	292	362	289	280	408		μg/dl	
血清鉄	222	219	178	151	229	212	163		μg/dl	

* 各検体はラット2匹分の平均値である。
略号は末尾に示した。

研究結果と考察

まず、第1段階の研究結果を記す。ヒトの血清タンパク質は電気泳動法により図1Bのように5成分に分かれる。ラットの血清タンパク質は図1Aのように7成分に電気泳動法によって分画される。表1に示すようにこれら7成分の分率を%表示で示した。タンパク分画中の(1)、(2)、(3)および(4)の成分はNO₂暴露により明らかにそれらの存在比を変化させる。血清中の成分がラットとヒトで異なることも考えられるので、明確な推論はできないが、アルブミンと全グロブリン比

を求めた。暴露なしではアルブミン/全グロブリン比は1.41~1.55であるが、暴露20時間、34時間、58時間でそれぞれ1.37、1.17~1.23、1.17~1.29と減少している。このアルブミン/全グロブリン比はヒトの肝臓障害を判断する目安となっており、このアルブミン/全グロブリン比の変動はNO₂暴露によって肝臓障害が起きたことを示している。

一方、尿素窒素および尿酸の血清中の含量を知ることが腎臓機能に関する重要な情報を与える。ラットはNO₂に暴露されることによって軽微で

表 2 ラット肝臓重量, 肝臓チトクロム P-450 の比含量と 50 ppm NO₂ 暴露時間との関係*.

	暴露なし	NO ₂ 50 ppm 暴露時間			
		34 時間	34 時間	58 時間	58 時間
肝臓 (2 四分) の重量	26.7 g	19.2 g	18.8 g	17.0 g	15.7 g
	24.9 g	19.3 g	19.3 g	17.8 g	16.5 g
チトクロム P-450 の比含量 (mmol/mg of Protein)	0.75	0.67	0.50	0.51	0.66

* 各検体はラット 2 匹分である.

はあるが腎臓障害を引き起こしているものと考えられる。

GOT (略号を末尾に示した) や GPT は臓器の組織の強度の破壊により血清中に溶出する。心筋梗塞のような心臓疾患でも急激な増加を示す。しかし、心臓障害の場合には GPT の増加は GOT の増加ほどには著しくない。肝臓障害の場合には両者が同様に増加する。このラットに対する NO₂ 暴露の実験では、GOT と GPT とがほぼ同様に増加しており、肝臓障害が強く示唆される。LDH レベルは心筋梗塞において上昇するが、急性肝炎でも同様に LDH レベルは上昇するから、NO₂ 暴露によって肝炎が引き起こされていると考えて矛盾はない。ALP の上昇は種々の病状によって引き起こされる。肝臓障害による鬱血性心不全によっても ALP 値は上昇するので肝臓障害が起きていることが証明された。

上記の生化学的分析において採血したラットの肝臓をそれぞれとり出し、その重量および肝臓中に含まれるチトクロム P-450 の全タンパク質に対する存在量を比含量として求め、その結果を表 2 に示した。肝臓の重量は明らかに減少しており、チトクロム P-450 の比含量も低下している。この結果も肝臓の障害を示すものである。

以上の第 1 段階の研究をふまえ、血清中の 11 種の成分および肝臓チトクロム P-450 含量の測定を第 2 段階の研究として行なった。また、第 1 段階ではラット 2 匹から検体を採取したが、第 2 段階では実験精度の向上を考慮し、各暴露時間ごとにラット 4 匹から検体を採取した。その結果を図 2~4 に示す。

総脂質量とトリグリセリド量との時間的变化に

ついては相互に類似性が認められる。この変化は細胞膜、赤血球膜および肺胞の脂質が NO₂, NO

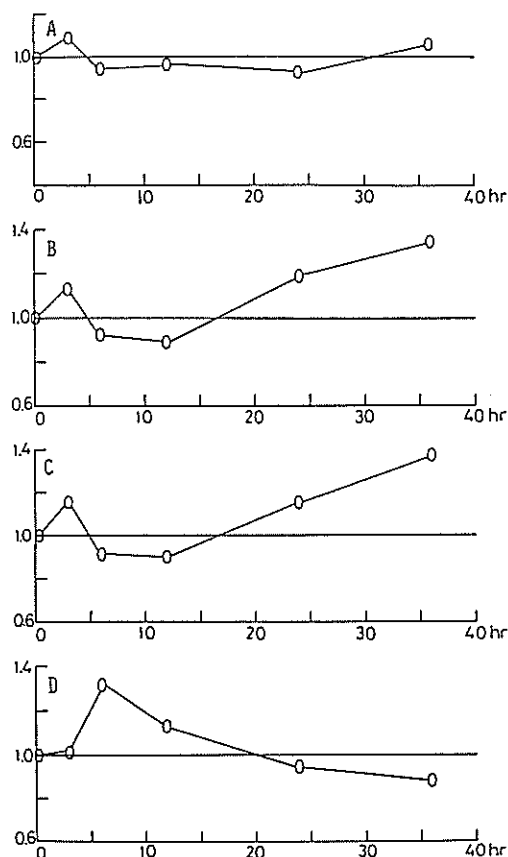


図 2 50 ppm NO₂ 暴露時間によるラット血清中の各成分の変化 (その 1).

- A: アルブミン/グロブリン比
- B: 総コレステロール量
- C: コレステロール・エステル量
- D: 総脂質量

ただし、測定値を NO₂ 中に暴露していないラットの各測定値に対する相対値に換算し、図示した。

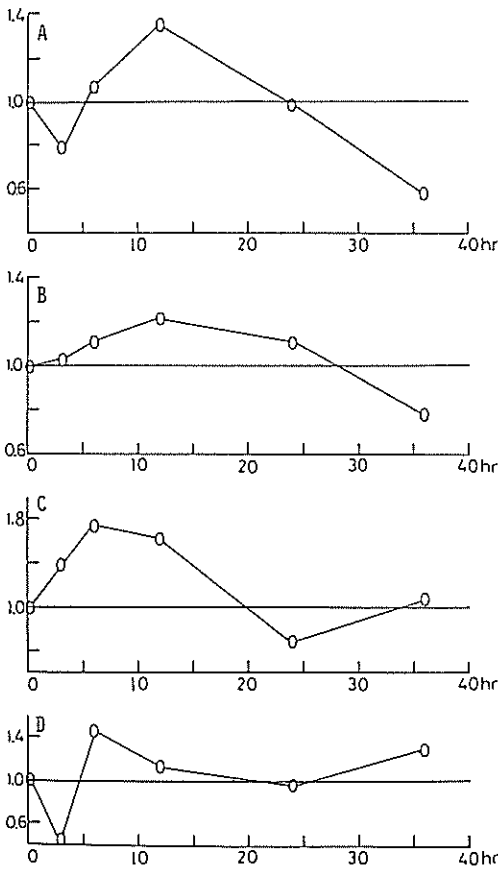


図 3 50 ppm NO₂ 暴露時間によるラット血清中の各成分の変化 (その 2).

- A: トリグリセリド量
- B: 尿素窒素量
- C: 尿酸量
- D: GOT 量

ただし、測定値を NO₂ 中に暴露していないラットの各測定値に対する相対値に換算し、図示した。

ガスの影響によって変化するという報告^{7)~10)}とも関連し、極めて興味深い。NO₂, NO の吸入により、まず生体内の膜構成成分が酸化され、おそらく過酸化脂質が生成しているものと考えられ、今後これら膜構成成分の化学分析を進める必要がある。また、脳内の代謝阻害も誘起されているものと考えられ、positron emission tomography¹³⁾, 核磁気共鳴 computer tomography¹⁴⁾, 化学発光¹⁵⁾ による詳細な検討を試みることに、生体内における NO₂, NO の化学反応機構がより明確になる。

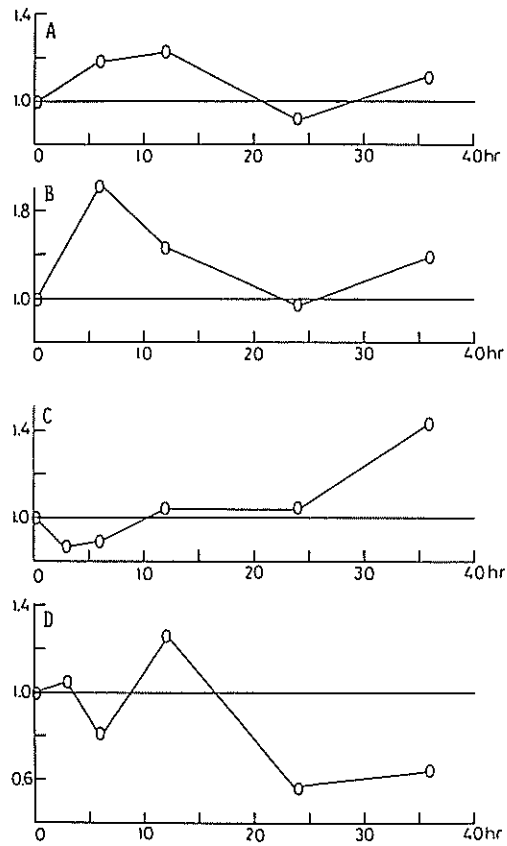


図 4 50 ppm NO₂ 暴露時間によるラット血清中の各成分および肝臓チトクロム P-450 の変化 (その 3).

- A: GPT 量
- B: LDH 量
- C: ALP 量
- D: チトクロム P-450 量

ただし、測定値を NO₂ 中に暴露していないラットの各測定値に対する相対値に換算し、図示した。

NO₂ ガスは水と反応して容易に HNO₃, HNO₂ を 1:1 のモル比で生成し、生体内での反応も HNO₃, HNO₂ を経由して進行するものと考えられる。NO は血流中に入り、赤血球内へヘモグロビンと結合し血液毒として作用する。ENDOR^{16), 17)} 法によるさらに詳細な研究が期待される。

尿素窒素、尿酸、GOT、GPT、LDH のそれぞれの値は互いに同様の傾向で変動し、いずれも NO₂ 暴露時間が長くなるとともに増加の傾向を示している。特に、NO₂ 暴露の初期 (10 時間程度) のそれぞれの値の急増に着目したい。これら

の変化は NO₂ 暴露のごく初期に肝臓の障害が引き起こされていることを示していると結論してよいであろう。この障害は NO₂ から生ずる NO₃⁻、NO₂⁻ イオンによるものと考えられる。

一方、肝臓ミクロゾームチトクロム P-450 量は NO₂ 暴露の初期で急増し、さらに NO₂ 暴露を継続するとともにチトクロム P-450 量は漸次減少している。初期の増加はチトクロム P-450 の誘導生成と考えられ、後期の漸減はチトクロム P-450 の NO₃⁻ などによる分解と考えられる。これは主としてチトクロム P-450 中のへム単位の分解とみなされよう。チトクロム P-450 の核磁気共鳴スペクトル¹⁸⁾,¹⁹⁾, 磁気円偏光二色性スペクトル¹⁹⁾による解析が確立し、また遺伝子操作によるチトクロム P-450 の酵母による生産に成功した²⁰⁾ので、今後、チトクロム P-450 と NO₂、NO₃⁻ との反応、反応生成物の研究を深めることが可能となった。

むすび

この3年間にこの研究と直接、間接に関連し、旗野研究室より49編、小暮研究室より4編、岩泉研究室より13編の研究が論文として発表された(資料添付)。3年間を回顧し、ここに日産科学振興財団に対し深謝申し上げる。また、未発表データをご提供いただいた国立公害研究所三浦卓博士、日産自動車(株)研究所の各位に厚くお礼申し上げます。NO₂ の有害性、特に高濃度の NO₂ による肝臓の障害は大きく、密室中における石油ファンヒーター型ストーブの使用、喫煙が極めて危険であることを強調しておきたい。

本報告で用いた略号:

CPK: creatine phosphokinase, γ -GTP: γ -glutamyltranspeptidase, GOT: oxaloacetic transaminase, GPT: glutamic-pyruvic transaminase, LDH: lactate dehydrogenase, ALP: alkaline phosphatase, ENDOR: electron nuclear double resonance spectroscopy.

文 献

- 1) 中馬一郎, 江上信雄, 武部 啓編: “環境と人体 III, 窒素酸化物”, 東京大学出版会 (1884),
- 2) National Research Council Ed.: “Nitrogen Oxides in Medical and Biologic Effects of Environmental Pollutants”, Vol. 9, National

- Academy of Sciences, Washington, D. C., 1977.
- 3) M. G. Mustafa and D. F. Tierney: “Biochemical and Metabolic Changes in the Lung with Oxygen, Ozone and Nitrogen Dioxide Toxicity”, *Amer. Rev. Respir. Dis.*, 118, 1061-1090 (1978).
- 4) T. Ichinose and M. Sagai: “Studies on Biochemical Effects of Nitrogen Dioxide. (III) Changes of the Antioxidative Protective Systems in Rat Lungs and of Lipid Peroxidation by Chronic Exposure”, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 66, 1-8 (1982).
- 5) M. Sagai, T. Ichinose, H. Oda, and K. Kubota: “Studies on Biochemical Effects of Nitrogen Dioxide. (II) Changes of the Protective Systems in Rat Lung and of Lipid Peroxidation by Acute Exposure”, *J. Toxicol. Environ. Health*, 9, 153-164 (1982).
- 6) T. Kobayashi: “The Reaction of Nitrogen Dioxide with Lung Surface Components: The Reaction with cis-9-Octadecanoic Acid”. *Chemosphere*, 12, 1317-1325 (1983).
- 7) K. Koga and T. Miura: “Effects of Nitrogen Dioxide on Fatty Acid Composition of Red Cell Membranes, Rera, and Livers in Rats”, *J. Environ. Res.*, 27, 24-35 (1982).
- 8) K. Kaya, T. Miura, and K. Kubota: “Effects of Nitrogen Dioxide on Red Blood Cells of Rats: Changes in Components of Red Cell Membranes during *in Vivo* Exposure to NO₂”, *Environ. Res.*, 23, 297-409 (1980).
- 9) K. Kaya and T. Miura: “Selective Changes in Fatty Acid Composition of Phosphatidylserine in Rat Erythrocyte Membrane Induced by Nitrate”, *Biochim. Biophys. Acta*, 688, 305-315 (1982).
- 10) K. Mochitate, K. Kaya, T. Miura, and K. Kubota: “*In Vivo* Effects of Nitrogen Dioxide on Membrane Constituents in Lung and Liver of Rats”. *Environ. Res.*, 33, 17-28 (1984).
- 11) T. Shimizu, T. Nozawa, Y. Imai, and R. Sato: “Magnetic Circular Dichroism Studies of Hepatic Microsomal Cytochrome P-450”, *Biochemistry*, 14, 4172-4178 (1975).
- 12) T. Shimizu, T. Nozawa, M. Hatano, H. Satake, Y. Imai, and R. Sato: “Circular Dichroism Spectra of Purified Cytochrome P-450 from Rabbit Liver Microsomes”, *Biochim. Biophys. Acta*, 579, 122-133 (1979).
- 13) 大友 仁, 小暮久也: “Positron Emission Tomography (PET) と脳代謝”, 新内科学大系, 年刊版 1985-B, 75-91, 中山書店 (1985).
- 14) H. Kato, K. Kogure, H. Ohtomo, M. Tobita, S. Matsui, E. Yamamoto, and H. Kohno: “Correlations between Proton Nuclear Magnetic

- Resonance Imaging and Retrospective Histochemical Images in Experimental Cerebral Infarction", *J. Cerebral Blood Flow and Metabolism*, **5**, 267-274 (1985).
- 15) 荒井啓行, 小暮久也: "実験的脳梗塞巣からの化学発光の検出と化学発光生成機序に関する研究", *脳神経*, **37**, 67-72 (1985).
- 16) Y. Ohba, Y. Yokoyama, and M. Iwaizumi: "ENDOR Studies of Nitrosyl Complexes of Iron Porphyrins", *Inorg. Chim. Acta*, **78**, L57-L59 (1983).
- 17) M. Iwaizumi, T. Kudo, and S. Kita: "Correlation between the Hf Coupling Constants of Donor Nitrogens and Structures of the 1st Coordination Sphere in Copper Complexes as Studied by ^{14}N ENDOR", *Inorg. Chem.*, in press.
- 18) H. Sotokawa, T. Shimizu, and M. Hatano: "Interaction of Naphthalene- d_8 with Cytochrome P-450: A ^2H Nuclear Magnetic Resonance Study", *Inorg. Chim. Acta*, **108**, 67-70 (1985).
- 19) T. Shimizu, H. Sotokawa, and M. Hatano: " ^1H Nuclear Magnetic Resonance and Magnetic Circular Dichroism Studies of Ferric Low-Spin Cytochrome P-450_{sec}", *Inorg. Chim. Acta*, **108**, 195-199 (1985).
- 20) 清水 透, 十川和博, 藤井義明, 笹野昌弘: "ラット肝臓チトクロム P-450_a の酵母菌での発現", 東北大学非水研発表会要旨, p. 11 (1985, Nov.).