

一酸化窒素の生体内における挙動*

吉村 哲彦**・渡辺 弘**

1. はじめに

大気中のNO等の窒素酸化物は、(1)燃焼過程、(2)工業生産過程、(3)生物活動に由来する自然発生源から発生する¹⁻⁴⁾。全地球的には、(3)の寄与が最も大きいといわれているが、都市部や自動車交通量の多い幹線道路付近等では、(1)と(2)の寄与による局地的に高い窒素酸化物濃度が記録されている¹⁻⁴⁾。

NOの生体影響に関する研究は、NO₂のものに比して少ない。1977年までの研究報告については、いくつかの成書、総説で解説されており¹⁻⁴⁾、「呼吸器系に対する影響」が中心テーマであったが、その後の種々の研究の蓄積の中で、「NOの生体内挙動」を重視すべきであるという考え方が定着しつつある^{5,6)}。また、NOの変化形態としてのNO₂⁻、NO₃⁻の生体影響についても新たに関心が払われている。本総説では、主として「NO、NO₂⁻、NO₃⁻の生体内挙動」「NOの変異原性」について最近の研究報告を中心にして紹介する。(なお、本稿で使用した略号を表1に示す。)

2. NOの呼吸器系に対する作用

—動物暴露実験の結果—

NOの動物暴露実験の結果を評価する際には、動物の種属差、暴露NO濃度・暴露期間等の暴露条件、暴露NOガス中に混在するNO₂濃度等の要素を考慮すべき

である。

NOのNO₂への酸化速度はNO濃度の二乗に比例するため⁷⁾、暴露NOガス中には常にNO₂が存在している。NO₂0.04ppmをラットに長期暴露(27カ月まで)した場合、肺胞壁厚が対照に比べて有意に増加するという所見は⁸⁾、NO暴露の際に混在する微量のNO₂の効果を評価する必要性を示すものと考えられる。

Fluryは1930年に、硝気(窒素酸化物を含むガス)による中毒症状を、次のような四つの型に分類し、その中でNOが血液と相互作用することを示唆している⁹⁾。(1)刺激型(咳、肺水腫等)(2)不可逆的反応型(呼吸困難、チアノーゼ、metHb増加等)(3)ショック型(窒息、痙れん等)(4)複合型((1)と(2)の混合症状)。Pflesterは1935年に、マウスに対するNOとNO₂の高濃度暴露実験を行い、NOの暴露により血中にmetHbを生成すること、NOの方がNO₂よりも4倍有毒であることを報告している¹⁰⁾。Grayはラットに対するNO₂暴露実験結果と、Pflesterのマウスに対するNO暴露実験結果との比較から、NO₂の方がNOよりも4~5倍有毒であると主張した¹¹⁾。Grayが実験条件の異なる二つの結果を比較していることに対して、織田らは強く批判している¹²⁾。

高濃度暴露実験は、Pflesterの研究以後、NOの致死

表1 使用した略号の一覧

| 略号 | | 略号 | |
|--------|---------------------------|--------|-----------------|
| Hb | ヘモグロビン | NDMA | N-ニトロソジメチルアミン |
| metHb | メトヘモグロビン | ESR | 電子スピン共鳴法 |
| GC | グアニル酸シクラーゼ | MS | 質量分析法 |
| cyt | チトクロム | GC-MS | ガスクロマトグラム-質量分析法 |
| P-450 | チトクロム P-450 | VIS | 可視部吸収スペクトル法 |
| ATPase | アデノシントリホスファターゼ | UV-VIS | 紫外-可視部吸収スペクトル法 |
| NADPH | ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸の還元型 | IR | 赤外線吸収スペクトル法 |
| IHP | イノシトール六リン酸 | | |

* Interaction of Inhaled Nitric Oxide with Biological Systems

** Tetsuhiko YOSHIMURA, Hiromu WATANABE (兵庫県公害研究所) The Environmental Science Institute of Hyogo Prefecture

的効果に関する毒性研究という労働衛生面から、主として臨床的に研究された¹³⁻¹⁵⁾。これらの研究の結果、種々の形態学的変化、血液学的変化が見出された。しかし、これらの所見は、より低濃度のNO₂暴露によっても見出されるものである。したがって、混在NO₂の影響を考慮する必要があると考えられる。

その後のNOの動物およびヒトに対する暴露実験は、ほとんどが大気汚染物質としてのNOの生体影響の解

明を前提としたものであり、表2、3にそれらの結果を年代順にまとめて示した。

表2、3にみられるように暴露NO濃度は、都市大気中に存在しているNO濃度(0.03 ppm程度)²³⁾に比して高く、また、混在しているNO₂の濃度も相対的に高い。

表2の中では、Odaらのマウスの生涯にわたる低濃度暴露実験は注目すべきものであり、呼吸器系に対する影響は認められないこと、NOの主要な影響が血液成分

表2 NOの呼吸器に対する作用(動物暴露)

| 暴露動物 | NO濃度(ppm) | 混在NO ₂ 濃度(ppm) | 暴露期間 | 影 響 | 文 献 |
|-------|-----------|---------------------------|------------------|---|-------------------------------|
| モルモット | 16, 50 | | 4時間 | 呼吸数・1回換気量共に変化なし。 | Murphyら(1964) ¹⁶⁾ |
| ビーグル犬 | 1.5—2.0 | 0.2 | 18カ月 | 気道抵抗, 肺コンプライアンス等の呼吸機能に変化なし。 | Vaughanら(1969) ¹⁷⁾ |
| ビーグル犬 | 1.5—2.0 | 0.2 | 5年 | 心電図・ベクトル心電図・心音図等の心血管系機能に異常なし。 | Blochら(1972) ¹⁸⁾ |
| ビーグル犬 | 1.5—2.0 | 0.2 | 5年 | 肺の残気量増加(NO ₂ 暴露では認められず)。 | Lewisら(1974) ¹⁹⁾ |
| モルモット | 50, 100 | | | 線毛機能半減期: 50 ppm, 14分; 100 ppm, 5分。 | 大道, 北(1974) ²⁰⁾ |
| マウス | 12—21 | | 7日, 30日 | 過酸化代謝系に対する顕著な影響なし。 | 深瀬ら(1976) ²¹⁾ |
| マウス | 10 | 1.0—1.5 | 2週—6.5カ月 | 肺・脾臓重量増加。気管支粘膜の変性・壊死・剝離・増生。肺腔中隔の肥厚。溶血亢進。ハインツ小体生成。 | 織田ら(1976) ²²⁾ |
| モルモット | 5.02 | 0.25—0.30 | 30分/日, 7日/週, 7週間 | 異種アルブミン暴露により実験喘息が促進された。気道過敏性上昇。 | 北島(1976) ²³⁾ |
| マウス | 10 | | 2時間/日 ≤30週 | 免疫機能(血中の抗体価, 移植片対宿主反応等)は短期暴露で上昇, 長期暴露で抑制。肺腔中隔損傷。肺気腫(paraseptal type)。 | Holtら(1979) ²⁴⁾ |
| ウサギ | 5 | <0.1 | 14日 | 血管内皮の空胞変性。肺胞上皮・血管内皮間基底膜の浮腫性肥厚の出現。 | Hugod(1979) ²⁵⁾ |
| マウス | 2.4 | 0.01—0.04 | 30カ月 | 呼吸器に対する影響認められず。赤血球膜浸透圧抵抗性変化。ハプトグロビン低下。溶血亢進。 | Odaら(1979) ²⁶⁾ |
| マウス | 2 | | 4週 | パストレラ菌に対する感染抵抗性: 雌マウス, 減少; 雄マウス, 異常なし。 | Azoulayら(1981) ²⁷⁾ |

表3 NOの呼吸器に対する作用(人に対する暴露)

| 対 象 | NO濃度(ppm) | 混在NO ₂ 濃度(ppm) | 暴露期間 | 影 響 | 文 献 |
|--------------------|------------------------|-----------------------------------|-------------------|--|---|
| 健康男子 | <15 15≤NO<20 >20 | <0.15—0.3 0.15—0.4 >0.2—0.4 | 15分 15分 15分 | 動脈血酸素分圧に異常なし。 動脈血酸素分圧低下。 気道抵抗増大。 | Nieding, Wagner(1975) ²⁸⁾ |
| 東京都小学生 | 0.01—0.07 (環境濃度) | | 6カ月(調査期間) | NO濃度と最大呼気流量は逆相関。 | Kagawa, Toyama(1975) ²⁹⁾ |
| 八王寺市の医療機関に通院中の喘息患者 | 0.01—0.06 (環境濃度) | | 5カ月(調査期間) | 喘息発作に多い9月に、発作とNOとの間に相関あり。NOの日内変動と喘息発作の時間帯一致。NOはアトピー型喘息発作を助長する。 | 吉田ら(1976) ³⁰⁾ (1977) ³¹⁾ |
| 健康男子 | 1.0 | 0.02—0.05 | 2時間 | 気道コンダクタンスと最大呼気流量, 共に減少。 | Kagawa(1982) ³²⁾ |

の変化に表れていることを示している²⁶⁾。

これまでに得られている知見からは、NOの呼吸器に対する作用は、NO₂に比べて小さいといわざるを得ないが、このような作用の相異にはNOとNO₂の物理化学的性質の相異が反映していると考えられる⁶⁾。

3. NOの血液および生体構成成分に対する作用

NOがCOよりもヘム鉄に対して強く結合すること³⁴⁾、NOのHbに対する親和性が異常に大きいこと³⁵⁾から、COの生体影響の主要な症状(血中でのCOHb生成による酸欠状態に起因する中枢神経障害)と同様な症状が、NO暴露によって現れることが当初予測された。また、このようなNOの性質から、in vivo, in vitroの実験において、NO濃度が低くても血中では高濃度のNOHbが生成すると期待された。

表4, 5には、NOと血液またはHb, さらには生体構成成分との相互作用に関する主要な研究例を、in vivoとin vitroの実験に区分して示した。ただし、NOとHbとの結合・解離については、動物の種属差による影響を考慮すべきである^{12,35,39,58)}。

表4にみられるように、Odaらの研究によって、予測に反して、in vivoでのNO暴露によるNOHb生成量は極めて少ないことが明らかにされた³⁷⁾。また、暴露により生じた血中のNOHbは動物を清浄空气中に移すと急速に減少することも示された。NOHbの検出量が予測値よりも極めて少ないことから、血中に侵入したNOの行方について、吉田らの¹⁵N暴露実験^{44,47)}、志賀ら^{48,50,57)}・Caseら⁴³⁾の反応解析をはじめとした多くの研究が行われた。その結果、NOの代謝経路は、現状では次のように考えられている。

表4 NOの血液および生体構成成分に対する作用 (in vivo)

| 暴露対象 | NO濃度(ppm) (暴露期間) | 測定項目 測定手段等 | 結 果 | 文 献 |
|---------------|---------------------|--|--|-----------------------------------|
| ラット | 10 (1, 9日) | ESR | NOHb 検出されず。 | Sancierら (1962) ³⁶⁾ |
| マウス, ラット | 11 (1時間) | ESR | NOHb 検出 (総Hb量の0.13%)。約20分で平衡値に達し、清浄空気へ戻すとNOHb急減。 | Odaら (1975) ³⁷⁾ |
| マウス, ラット, ウサギ | 6.6 (1時間) | ESR | マウス・ラットでNOHb 検出。ウサギで検出されず。 | 織田ら (1975) ¹²⁾ |
| マウス | 9.5, 66 (3, 1.5時間) | ESR等 | 9.5 ppm→NOHb 0.15%, 66 ppm→NOHb 1.58%。NOHb, metHb生成量にCO混合暴露の影響なし。 | Odaら (1976) ³⁸⁾ |
| ヒト | 10 (1時間) | ESR | NOHb 検出せず。 | 野上ら (1976) ³⁹⁾ |
| マウス | 10 (6.5カ月) | ESR等 | NOHb 0.13%。metHb 検出。P ₅₀ 値上昇。Hill係数低下。ハイント小体生成。溶血亢進。 | 織田ら (1976) ²²⁾ |
| ラット | 2 (2週) | | 血液学的所見(赤血球数等)に影響なし。 | Bertiniら (1976) ⁴⁰⁾ |
| ラット | 2 (13週) | | 血液に対する作用検出されず。 | Azoulayら (1977) ⁴¹⁾ |
| ヒト, サル, ラット | 0.02—0.2 | ¹⁵ N同位体希釈法, MS | NOHb量: ヒト0.24%; サル0.21%, ラット0.05% (検出NOHbは内因性か外因性か不明) | Freemanら (1978) ⁴²⁾ |
| マウス | 1—30 | ESR | NOHb生成。血中のmetHb・カタラーゼ量増加, トランスフェリン量減少。 | Caseら (1979) ⁴²⁾ |
| ラット | 138—880 (60—96分) | ¹⁵ N血液・組織の ¹⁵ N量, MS | 血液・血清・尿中の ¹⁵ N含量 ≫ 肺・気管・肝・腎・筋肉中の ¹⁵ N含量。 | 吉田ら (1979) ⁴⁴⁾ |
| マウス | 2.4 (30カ月) | ESR等 | NOHb量0.01%。赤血球膜浸透圧抵抗性変化。ハプトグロビン低下。溶血亢進。 | Odaら (1979) ²⁶⁾ |
| マウス | ≤80 (1時間) | ESR | NOHb生成量のNO濃度依存性は直線的。metHb生成量のNO濃度依存性は指数関数的。 | Odaら (1980) ⁴⁵⁾ |
| マウス | 40 (1時間) | ESR | 20—30分でNOHb, metHb量は平衡値に達す(NOHb<metHb)。暴露後、双方共に急激。 | Odaら (1980) ⁴⁵⁾ |
| ラット | 5—40 (1時間) | 血中・尿中のNO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ 濃度 | 血中NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ はNO濃度と共に直線的に増加。血中NO ₂ ⁻ は30分の暴露で平衡値に、NO ₃ ⁻ は継続して増加。暴露後24時間以内にNO ₃ ⁻ としてほとんど尿中に排泄。尿中にNO ₂ ⁻ 検出されず。 | 織田ら (1981) ⁴⁶⁾ |
| ラット | 145 (123分) | ¹⁵ N尿中回収量, GC-MS | 48時間内に55%が尿中に排泄。尿中の ¹⁵ Nの形態はNO ₃ ⁻ (75%), 尿素 (24%)。 | 吉田ら (1982) ⁴⁷⁾ |
| ラット | 100, 200 (3時間) | ESR | 100 ppm→NOHb 0.4%。生成metHb量は還元酵素の作用より一定値以下にとどまる。 | 前田ら (1984) ⁴⁸⁾ |

表5 NOの血液および生体構成成分に対する作用 (in vitro)

| 暴露対象 | NO濃度(ppm) (暴露時間) | 測定項目 測定手段等 | 結 果 | 文 献 |
|--------------------|---------------------|--------------------------|---|------------------------------------|
| マウス大脳皮質 | | GC 活性 | NO 暴露により GC 活性上昇。 | Miki ら (1977) ⁴⁹⁾ |
| ヒトの赤血球 | | 酸素電極, VIS 等 | Hb のサブユニットの一部に NO 結合→Hb の酸素親和性増加。NOHb+O ₂ →metHb。 | Kon ら (1977) ⁵⁰⁾ |
| ヒト・マウスの Hb・赤血球の浮遊液 | 0.44—9.1 (2時間) | VIS (N ₂ 雰囲気) | NOHb のみ検出。NO 暴露後、空気を導入すると metHb 生成。 | 野上ら (1977) ⁵¹⁾ |
| ヒト・ラットの血液 | 10—250 (0.5—2時間) | UV-VIS (空气中) | metHb 生成。血液の酸素結合能力低下。 | Azoulay ら (1978) ⁵²⁾ |
| ヒト・マウス・ウサギの全血 | 1—30 | ESR (N ₂ 雰囲気) | NOHb のみ生成。NO 暴露後、空気を導入すると metHb 生成 (高スピン>低スピン)。deoxy Hb 溶液は NO との反応後、pH 上昇。 | Case ら (1979) ⁴³⁾ |
| ヒト Hb | | 酸素電極, VIS, ESR | NOHb と O ₂ との反応スキーム提案。NOHb+O ₂ →metHb + NO ₂ ⁻ + NO ₃ ⁻ 。O ₂ との反応後の残存 NOHb の ESR 変化。 | 昆ら (1980) ⁵³⁾ |
| ヒト Hb | | 亜硝酸電極, VIS | O ₂ Hb と NO との反応により過酸化亜硝酸イオンの生成を示唆。 | Doyle ら (1981) ⁵⁴⁾ |
| ラット肝・牛肺の GC | | GC 活性 | NO による活性上昇には、ヘムが必要。精製酵素はヘムを含有。 | Craven ら (1983) ⁵⁵⁾ |
| マウス肝の GC | 0.03 | GC 活性 | NO 暴露により GC 活性上昇。 | 三木 (1984) ⁵⁶⁾ |
| ヒト赤血球 | | 血液レオロジー | NO 化赤血球の酸素化→血液粘度上昇、血球の有棘化、赤血球膜構造タンパクの重合化 | 志賀 (1984) ⁵⁷⁾ |

表6 NO₂⁻, NO₃⁻の生体構成成分との相互作用 (in vivo)

| 課 題 等 | 測 定 項 目 測 定 手 段 等 | 結 果 | 文 献 |
|---|---|--|---------------------------------------|
| ラットに対する NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ 静注の効果 | 血中・尿中の NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ 量 | NO ₂ ⁻ 注入後、血中に NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ (NO ₃ ⁻ >NO ₂ ⁻) 検出。NO ₃ ⁻ 注入後、血中に NO ₃ ⁻ のみ検出。尿中には NO ₃ ⁻ のみ検出。 | 織田ら (1981) ⁴⁶⁾ |
| マウスに対する NO ₂ ⁻ 経口投与 | 心電図 | 心電図に異常あり。 | 木下ら (1981, 1983) ⁶⁸⁾ |
| ラットに対する NO ₂ ⁻ の静注 | 血中 NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ 量, 心電図 | 心電図に異常なし。 | Tsubone ら (1982) ⁶⁹⁾ |
| ラットに対する ¹⁵ NO ₂ ⁻ , ¹⁵ NO ₃ ⁻ 腹腔内注射 | 尿・糞便・呼出ガス中の ¹⁵ N 量, GC-MS | 尿中 ¹⁵ N 量: ¹⁵ NO ₂ ⁻ 注射量の 53%; ¹⁵ NO ₃ ⁻ 注射量の 78%。尿中尿素量: NO ₂ ⁻ 注射>NO ₃ ⁻ 注射。 ¹⁵ NO ₂ ⁻ 注射後48時間までの ¹⁵ N 量: 尿60.7; 糞便7.8; 呼出ガス0.3; whole body 1.6; 未回収29.6%。未同定物質の一部は N ₂ 。 ¹⁵ NO ₂ ⁻ 投与後の臓器分布と化学的形態を図示。 | 吉田ら (1982, 1984) ^{47,70)} |
| ラットに対する NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ の頸静注 | 赤血球膜成分と肝ミクロソーム成分の変化 | 赤血球膜の Ca ²⁺ , Mg ²⁺ -ATPase と Na ⁺ , K ⁺ -ATPase 活性低下。NO ₃ ⁻ 注射→肝 P-450, NADPH-cyt 還元酵素活性低下。NO ₂ ⁻ 注射→肝 P-450 活性低下。 | 国本ら (1983) ⁷¹⁾ |
| マウスに対する NaNO ₂ , NaNO ₃ エロゾルの暴露 | 病理・酵素組織化学, 肺生化学, 血液化学検査 | 2 種エロゾル暴露による酵素組織化学的所見は NO ₂ 暴露によるものと同様。病理組織学的変化は検出されず。NaNO ₂ 暴露では、肺の還元型グルタチオン量増加、赤血球膜抵抗性変化。 | 渡辺ら (1983) ⁷²⁾ |
| NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ の影響 metHb 血症 (総説) | | 幼児の metHb 血症。食物・飲料水からの NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ 摂取の問題点指摘。 | Lee (1970) ⁷³⁾ |
| NO ₃ ⁻ の影響 (総説) | | 窒素サイクルについて。動物に対する生理学的効果。硝酸塩生成の源等。 | Ridder ら (1974) ⁷⁴⁾ |
| 環境変異原としての亜硝酸塩 (総説) | | 変異原性について。食品中の亜硝酸塩。生体内での挙動。亜硝酸塩の反応性。 | 石館ら (1980) ⁷⁵⁾ |

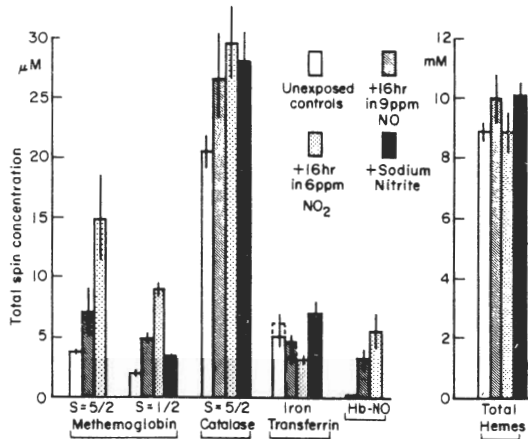


図1 NO, NO₂, NO₂⁻をマウスに暴露した場合の血液中の金属タンパク質濃度の変化⁴³⁾ (S=5/2, Fe(III)高スピン状態; S=1/2, Fe(III)低スピン状態)

血中に侵入したNOは第1次的にHbと結合するが、酸素等との反応によって、NO₂⁻, NO₃⁻へと

酸化され、侵入したNOの大部分はNO₃⁻の形態で尿中に排泄される。

したがって、血液中にNOHbとして検出される量は微量ではあるが、NOの代謝においてHbの果す役割は極めて重要である。

また、NO₂とHbとの反応によっても、NOHbとmetHbを生成することが知られており⁵⁹⁾, NO₂を動物に暴露した場合のNOHbおよびmetHbの生成についても研究が行われている^{42,45)}。Caseらは、血中にmetHbを生成するという点では、NOとNO₂とはほとんど同等の効果をもっていると指摘している⁴²⁾。NO, NO₂, およびそれらの反応生成物と、Hbとの反応式を以下に示す⁴³⁾。

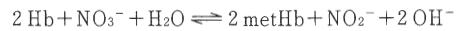
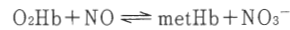
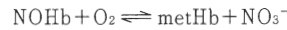
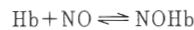
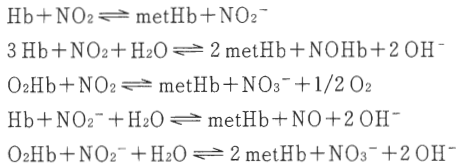


表7 NO₂⁻, NO₃⁻の生体構成成分との相互作用 (in vitro)

| 課 題 等 | 測 定 項 目 測 定 手 段 等 | 結 果 | 文 献 |
|---|---|--|---|
| metMb と NO ₂ ⁻ との反応 | IR, 蛍光光度計 | NO ₂ ⁻ ・NOmetHb と NOMb を生成。ヘム部分変性。食肉の発色剤としてのNO ₂ ⁻ の問題点指摘。 | Fox ら (1964) ⁷⁶⁾ |
| ブタ筋肉・骨格筋と NaNO ₂ との反応 | MS, IS, VIS, 蛍光光度計 | NOMb, metMb, NO-Fe(III)cyt c 生成。 | Walters ら (1964, 1965) ^{77,78)} |
| metHb と NO ₂ ⁻ との反応 | UV-VIS, NO ₂ ⁻ 濃度依存性 | NO ₂ ⁻ ・NOmetHb 生成。NO ₂ ⁻ はグロビンまたはポルフィリンとも反応。 | Uchida ら (1970) ⁷⁹⁾ |
| Hb の NO ₂ ⁻ による酸化 | VIS, 時間変化 | 酸化反応を IHP が阻害。 | Tomoda ら (1977) ⁸⁰⁾ |
| Hb の NO ₂ ⁻ による酸化 | VIS, 時間変化 | β-93 Cys は、ヘム鉄の酸化を保護。 | Mansouri ら (1979) ⁸¹⁾ |
| GC 活性に対する NO ₂ ⁻ の効果 | ラット肝・心臓冠動脈の GC | NO ₂ ⁻ により GC 活性上昇。還元剤・還元酵素により NO ₂ ⁻ が NO に還元され GC に作用。 | Craven ら (1978) ⁸²⁾ Ignarro ら (1980) ⁸³⁾ |
| 血液中の金属タンパク質と NO ₂ ⁻ との反応 | ESR | metHb・カタラーゼ・トランスフェリン量増加。 | Case ら (1979) ⁴³⁾ |
| O ₂ Hb と NaNO ₂ との反応 (metHb 生成機構) | metHb・NO ₃ ⁻ ・O ₂ 生成量, NO ₂ ⁻ 消費量, pH 依存性, ESR | O ₂ Hb + 4H ⁺ + 4NO ₂ ⁻ + 2H ₂ O → metHb + 4NO ₃ ⁻ + O ₂ 。中間生成物としてラジカルを検出。 | Kosaka ら (1979, 1982) ^{84,85)} |
| Hb の NO ₂ ⁻ による酸化機構 | 電気泳動, VIS | 酸化過程に O ₂ ⁻ が関与。 | Tomoda ら (1981) ⁸⁶⁾ |
| deoxyHb の NO ₂ ⁻ による酸化 | UV-VIS, pH 依存性 | 亜硝酸生成。metHb と共に NOHb 生成。 | Doyle ら (1981) ⁸⁷⁾ |
| Hb の NO ₂ ⁻ による酸化 | UV-VIS, 時間変化 | 酸化過程に O ₂ ⁻ , O ₂ ²⁻ が関与。NO ₂ 生成。 | Doyle ら (1982) ⁸⁸⁾ |
| NO ₃ ⁻ によるラット赤血球膜脂肪酸組成の変化 | ラット赤血球と NaNO ₃ をインキュベート | 赤血球膜ホスファチジルセリンのアラキドン酸は NaNO ₃ 濃度に依存して増加。NO ₃ ⁻ (カオトロピックイオンの一種) はカルシウムの赤血球内への流入を促進。 | Kaya ら (1982) ⁸⁹⁾ |



Hb の NO, NO₂ との反応において, NOHb は中間生成物であり, metHb が最終生成物であることが, これらの式に示されている。また, 式には表われないが, 反応の過程では, Hb の変性や^{22,53)} 赤血球の内側からの血球膜に対する傷害⁵⁷⁾が, 同時に進行しており, NO の影響の側面として関心をもたれている⁶⁾。

マウスに NO, NO₂ を暴露および NaNO₂ 溶液を注射した場合の血中の metHb, カタラーゼ, トランスフェリン, NOHb 量の変化を図 1 に示したが⁴³⁾, このように NO は Hb 以外の金属タンパク質とも相互作用する。NO は, チトクロム類, ペルオキシダーゼ類, オキシゲナーゼ類等のヘムタンパク質に強く結合することが知られており⁶⁰⁾, それらのヘムタンパク質と肺組織およびその他の組織において結合し, 障害を与える可能性があり注目されている⁶⁾。なかでも, 肺上皮細胞, 肝臓等の小胞体中に局在している P-450 との相互作用は, 生体外から侵入する異物に対する化学的防御機構を障害すると考えられる。また, GC は環状 GMP を合成する酵素で, 動物の諸組織に広く分布しており^{61,62)}, その酵素活性が NO により亢進されることから, 多くの研究者の関心を集めている^{6,63)} (表 5 には初期および最近の代表的研究例のみを示した)。環状 GMP の生理作用が解明

されるに伴い, GC に対する NO の作用はさらに注目されると考えられる。このような諸種の酵素活性に対する NO の効果は, 緩やかに進行している可能性があり, 新たな観点からの研究が望まれる。

4. NO₂⁻, NO₃⁻ イオンの生体内挙動および生体構成成分との相互作用

NO の呼吸器および血液に対する作用には, NO₂⁻, NO₃⁻ の形態での作用も含まれていることは, 既に記した通りである。血液中で生成した NO₂⁻, NO₃⁻ は, 血球内外にあって血液の循環に伴い体内の諸器官, 種々の構成成分と相互作用すると考えられる。NO₂ も, NO₂⁻, NO₃⁻ の形態で血中に侵入することから^{43,46,64-67)}, NO の場合とは生成過程および定量的側面に相異があるものの, NO₂⁻, NO₃⁻ 生成という点では, NO と NO₂ を区別して考えることはできない。NO₂⁻, NO₃⁻ の生体構成成分との相互作用に関する, 主として最近の研究報告を in vivo と in vitro に区分して表 6, 7 に示した。

NO₂ と O₂Hb との反応は, 実験的に metHb を調製する方法の一つとして古くから用いられてきた^{90,91)}。NO₂⁻ による O₂Hb の metHb への酸化速度は, 各動物種で特異的であり, それは metHb 還元酵素の活性の相異によっているのではないかと考えられている^{39,92)}。Hb が NO₂⁻ によって metHb へと酸化される反応は, lag phase に続いて, autocatalytic phase へと進むのが特徴となっている⁹³⁾, その反応機構については不明の点が数多く残されている。前節でも記したように, NO,

表 8 NO 等による変異原性

| 暴露対象 | 研究方法 | 結 果 | 文 献 |
|--|--|--|----------------------------------|
| Chinese Hamster Don 細胞 (CHO-K1) | 8-アザグアニンに対する耐性細胞の出現頻度を指標 | 2-20 ppm, 10分の暴露で NO, O ₃ には変異原性が認められたが, NO ₂ , SO ₂ , CO には認められず。 | 磯村ら (1976) ⁹⁶⁾ |
| サルモネラ菌 TA98, 100, 1535, 1538 | Ames テスト, NO, NO ₂ 暴露 (40分) | TA 100 に対して, NO ≤ 18 ppm で変異原性認められず, NO ≥ 24 ppm で認められたが, 混在 NO ₂ のものと区別不可。NO ₂ の変異原性: TA 100, 1535 で認められ, TA 98, 1538 で認められず。 | 寺西ら (1977) ⁹⁷⁾ |
| マウス | NO ₂ 暴露 (1, 2週) 後の心臓血液をテスト | 染色体または染色体型異常の増加認められず。 | Gooch ら (1977) ⁹⁸⁾ |
| ヒスチジン要求性枯草菌 | NO ₂ 暴露 (500 ppm, 3時間), 自動車排ガス (1時間) | NO ₂ に明瞭な変異原性あり。自動車排ガスの変異原性のほとんどは NO ₂ による。 | Sasaki ら (1980) ⁹⁹⁾ |
| Chinese Hamster V79-H3細胞 | NO ₂ 暴露 (0-100 ppm, 10分) | NO ₂ 濃度の増加と共に染色体異常, 姉妹染色分体交換が増加。 | Tsuda ら (1981) ¹⁰⁰⁾ |
| ラット肺細胞 | ウアバイン耐性テスト, 3時間暴露 | NO の突然変異出現率: 高濃度 (27 ppm) でのみ顕著。NO ₂ の突然変異出現率: 濃度増加 (15→27 ppm) と共に増加。NO ₂ は染色体異常を示した。 | Isomura ら (1984) ¹⁰¹⁾ |
| umu-lac 融合遺伝子をもつプラスミドを導入したサルモネラ菌 TA 1535, 1538 | NO ₂ 暴露 (0-90 ppm, 30分), NO 暴露 (0-900 ppm, 30分) | NO ₂ 濃度と共に変異原性 (DNA 傷害) が認められた。NO では混在 NO ₂ のものと区別できず。 | 中島ら (1984) ¹⁰²⁾ |

表9 NO, NO₂ 暴露による *N*-ニトロサミンの生成

| 暴 露 対 象 | 研 究 方 法 | 結 果 | 文 献 |
|-------------|---|---|------------------------------------|
| ラット | NO ₂ (5—250 ppm) 暴露 | 肺組織に <i>N</i> -ニトロサミン検出されず。 | Kaut (1970) ¹⁰⁴⁾ |
| マウス | NO ₂ 暴露 (0.2—50 ppm, 4 時間) 後, モルホリン投与 | 凍結マウスの粉末から <i>N</i> -ニトロソモルホリン検出。 | Iqbal ら (1980) ¹⁰⁸⁾ |
| ラット | アミノピリン投与後, NO ₂ 暴露 (0—200 ppm, 1—2 時間) | NDMA を血液・肺・肝で検出。NDMA 濃度は NO ₂ 濃度に依存。 | Kusumoto ら (1980) ¹⁰⁶⁾ |
| モルモット, ラット | ジメチルアミン投与後, NO ₂ 暴露 | NDMA 検出されず。 | Chaudhari ら (1981) ¹⁰⁷⁾ |
| マウス | ジメチルアミン投与後, NO ₂ 暴露 (0.04—44.5 ppm; 0.5—4 時間) | 凍結マウス粉末から NDMA 検出。NDMA 濃度は NO ₂ 濃度と暴露時間依存性を示した。アスコルビン酸ナトリウムの投与は NDMA 生成を阻害。 | Iqbal ら (1981) ¹⁰⁸⁾ |
| キイロショウジョウバエ | メチルウレア・エチルウレアと NO ₂ (150—280 ppm, 3 時間) とを同時投与 | 突然変異率が顕著に増加。この変異原性は、ニトロソアルキルウレアの生体内生成に基づくと推察。 | Inoue ら (1981) ¹⁰⁹⁾ |
| ラット, ウサギ | アミノピリン投与後, NO, NO ₂ 暴露 | NDMA を血液・肺・肝で検出。NDMA 濃度は NO ₂ 暴露時間に依存。ラットに NO 暴露 (0—100 ppm) した場合, NDMA 検出されず。 | Uozumi ら (1982) ¹¹⁰⁾ |
| キイロショウジョウバエ | 試薬投与後, NO ₂ 暴露 (180 ppm, 6—8 時間) | ビペリン投与: 変異原性検出。アミノピリン, モルホリン, ソルビン酸投与: 変異原性検出されず。 | 吉川ら (1984) ¹¹¹⁾ |

NO₂ による Hb の酸化機構に関する最近の知見は、NO の影響という面から興味深い。

metHb と NO₂⁻ との反応では、NO₂⁻ はヘム鉄と反応するだけでなく、グロビン部分またはポルフィリン環とも不可逆的に反応すると可視部吸収スペクトルの測定結果から推察されている⁷⁹⁾。グロビンを有しないモデル化合物 (NO—ヘム) の空気酸化過程でも同様なスペクトルが得られるので⁹⁴⁾、NO₂⁻ は主としてポルフィリン環と反応すると考えられる。

NO₂⁻、NO₃⁻ を動物に注射した場合、尿中にそのほとんどが NO₃⁻ の形で排泄されること^{46,47,70)}、¹⁵NO₂⁻、¹⁵NO₃⁻ を注射した場合には、¹⁵N の臓器分布が NO₂⁻ と NO₃⁻ とで異なることは興味深い^{47,70)}。

NO₃⁻ の作用についての報告は少ないが、カオトロピックイオンとして、赤血球内へのカルシウムの流入を促進し、赤血球膜ホスファチジルセリンの脂肪酸代謝に変化を与え、結果的に赤血球膜構造を乱している可能性が指摘されている⁸⁹⁾。

5. NO の変異原性等

大気汚染物質の変異原性および発がん性は、最近注目され種々検討が加えられている⁹⁵⁾。しかし、ガス状大気汚染物質の中でも窒素酸化物に関する遺伝的効果を検討した研究例は極めて少ない。表 8 に現在までに得られて

いる NO 等による変異性テストの結果を示した。NO₂ は比較的明瞭な変異原性を示すのに対して、NO の場合、相対的にその効果は低いと考えられる。しかし、NO、NO₂ の作用形態等については不明であり、さらに多くの多様な研究の積み重ねが必要である。

NO、NO₂ は生体内で NO₂⁻ に変化した場合、生体内に存在するアミンとの反応により、強力な発がん物質である *N*-ニトロサミンを生成する可能性がある^{95,103)}。このような観点からの研究を表 9 にまとめて示した。*N*-ニトロサミンの生成は、モルホリン、アミノピリン、ビペリン等のニトロソ化されやすい物質を投与後に NO₂ を暴露した場合に肯定的結果が得られている。

また、Lee らは温度と湿度の気象要因による影響を補正した場合、大気中の細菌濃度と、NO、NO₂、炭化水素、浮遊粉塵量との間に正の相関が得られ、SO₂、オキシダント、CO との間に負の相関が得られることを報告している¹¹²⁾。実験室的研究によって裏付けられてはいないが、細菌の生育度を指標として大気汚染物質を評価する新しい試みとして興味深い。

6. おわりに

NO の影響に関する研究は、「二酸化窒素に係る判定条件等についての中央公害対策審議会専門委員会報告」(1978年) 以後も、NO₂ の影響に関する研究に比して

少ない¹¹³⁾。しかし、多岐にわたった研究が行われており、次第に内容が深まりつつある印象を受ける。とくに、肺組織および血液を介しての生体内諸組織に存在する酵素の活性に対するNOの特異的効果、NOの二次的生成物(NO₂, NO₃)と生体構成成分との相互作用等の研究は、life spanにわたるNO暴露の影響の重要性を示唆するものと考えられる。

本総説では、これらの研究成果を要約して示したが、血液を介しての影響については、別報⁶⁾でやや詳しく論じているので参照されたい。

一引用文献一

- 1) 日本化学会編：「窒素酸化物」，丸善，1977.
- 2) 中央公害対策審議会大気部会：「窒素酸化物等に係る環境基準についての専門委員会報告（および資料）」，大気汚染研究，7，33，1972.
- 3) 中央公害対策審議会大気部会：「二酸化窒素に係る判定条件等についての中央公害対策審議会専門委員会報告」，大気汚染学会誌，13，111，1978.
- 4) National Research Council 編：「窒素酸化物」（和田攻ら訳），東京化学同人，1979.
- 5) 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，1984.
- 6) 吉村哲彦，渡辺 弘：大気汚染学会誌，19，359，1984.
- 7) J. H. Smith：J. Am. Chem. Soc.，65，74，1943.
- 8) 竹中参二，河合清之，清水不二雄，山田靖子，堀内博人，今井 透，原田隆彦，京野洋子，久保田憲太郎：第21回大気汚染学会講演要旨集，443，1980.
- 9) F. Flury：Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.，157，104，1930.
- 10) G. Pflesser：ibid.，179，545，1935.
- 11) E. L. Gray：Arch. Ind. Health，19，474，1959.
- 12) 織田 肇，楠本繁子，中島泰知：大気汚染研究，9，714，1975.
- 13) R. Greenbaum，J. Bay，M. D. Hargreaves，M. L. Kain，G. R. Kelman，J. F. Nunn，C. Prys-Roberts，K. Siebold：Brit. J. Anaesth.，39，393，1967
- 14) F. O. M. Shiel：ibid.，39，413，1967
- 15) C. Toothil：ibid.，39，405，1967
- 16) S. D. Murphy，C. E. Ulrich，S. H. Frankowitz，C. Xintaras：Am. Ind. Hyg. Assoc. J.，25，246，1964.
- 17) T. R. Vaughan，L. F. Jennelle，T. R. Lewis：Arch. Environ. Health，19，45，1969.
- 18) W. N. Bloch，T. R. Lewis，K. A. Busch，J. G. Orthoefer，J. V. Stara：ibid.，24，342，1972.
- 19) T. R. Lewis，W. J. Moorman，Y-y. Yang，J. F. Stara：ibid.，29，102，1974.
- 20) 大道貞男，北 博正：大気汚染研究，9，333，1974.
- 21) 深瀬 治，磯村公雄，渡辺 弘：同上，11，65，1976.
- 22) 織田 肇，野上浩志，楠本繁子，中島泰和，倉田明彦，今井清博：同上，11，150，1976.
- 23) 北島正義：同上，10，718，1976.
- 24) P. G. Holt，L. M. Finlay-Jones，D. Keast，J. M. Paradimitrou：Environ. Res.，19，154，1979.
- 25) C. Hugod：Arch. Environ. Health，34，12，1979.
- 26) H. Oda，H. Nogami，S. Kusumoto，T. Nakajima，A. Kurata：Environ. Res.，22，254，1980.
- 27) E. Azoulay，G. Bouley，M. C. Blayo：J. Toxicol. Environ. Health，7，873，1981.
- 28) G. von Niding，H. M. Wagner：Staub.，35，175，1975.
- 29) J. Kagawa，T. Toyama：Environ. Health，30，117，1975.
- 30) 吉田敏久，川上保雄：アレルギー，25，290，1976.
- 31) 吉田敏久，藤井幸雄，原嶋宏昌，川上保雄：日本医師会雑誌，77，507，1977.
- 32) J. Kagawa：Environ. Res.，27，485，1982.
- 33) 環境庁大気保全局大気規制課：「昭和57年度一般環境大気測定局測定結果報告」，1983.
- 34) E. Antonini，M. Brunori：“Hemoglobin and Myoglobin in Their Reactions with Ligands”，North-Holland，Amsterdam，1971
- 35) Q. H. Gibson，F. J. W. Roughton：J. Physiol.，136，507，1957
- 36) K. M. Sancier G. Freeman，J. S. Mills：Science，137，752，1962.
- 37) H. Oda，S. Kusumoto，T. Nakajima：Arch. Environ. Health，30，453，1975.
- 38) H. Oda，H. Nogami，S. Kusumoto，T. Nakajima：Bull. Environ. Contamin. Toxicol.，16，582，1976.
- 39) 野上浩志，織田 肇，楠本繁子，中島泰和：大気汚染研究，11，214，1976.
- 40) M. Bertini，M. Sommer，G. Moffiolo，G. Mancel，J. Dubois，M-C. Blayo，E. Azoulay：Proc. 4th. Internat. Clean Air Cong.，66，1977
- 41) E. Azoulay，L. Lachia，M-C. Blayo：Pollut. Atmos.，19，259，1977
- 42) G. Freeman，R. L. Dyer，L. T. Juhos，G. A. St. John，M. Anbar：Arch. Environ. Health，33，19，1978.
- 43) G. D. Case，J. S. Dixon，J. C. Schooley：Environ. Res.，20，43，1979.
- 44) 吉田克己，笠間一男，北島正義，今井正之：大気汚染学会誌，14，375，1979.
- 45) H. Oda，H. Nogami，T. Nakajima：J. Toxicol. Environ. Health，6，673，1980.
- 46) 織田 肇，永澤節子，局 博一，鈴木 明：国立公研報告，No. 31，45，1981.
- 47) 吉田克己，笠間一男，北島正義，今井正之：大気汚染学会誌，17，10，1982.
- 48) 前田信治，昆 和典，今泉和彦，志賀 健：同上，19，239，1984.
- 49) N. Miki，Y. Kawabe，K. Kuriyama：Biochim. Biophys. Res. Commun.，75，851，1977
- 50) H. Kon，N. Maeda，T. Suda，T. Shiga：J. Toxicol. Environ. Health，2，1109，1977
- 51) 野上浩志，織田 肇，中島泰和：第18回大気汚染協議会要旨集，216，1979.
- 52) E. Azoulay，L. Lachia，M-C. Blayo，J-J. Porcivaldo：Toxicol. Eur. Res.，1，7，1978.
- 53) 昆 和典，前田信治，須田武雄，志賀 健：大気汚染学会誌，15，401，1980.
- 54) M. P. Doyle，J. W. Hoekstra：J. Inorg. Biochem.，14，351，1981
- 55) P. A. Craven，F. R. DeRubertis：Biochim. Biophys. Acta，745，310，1983.
- 56) 三木直正：環境科学研究報告，B216-R21-3，79，1984.
- 57) 志賀 健：同上，大気汚染学会誌，19，283，1984.
- 58) 中馬一郎：大気汚染研究，12，407，1977.
- 59) J. R. Rowlands，E. M. Gause：Arch. Intern. Med.，128，94，1971.
- 60) 吉村哲彦：「金属イオンの生物活性（化学増刊95）」，（喜

- 谷喜徳ら編), 化学同人, 39, 1982.
- 1) 日本生化学会編: 「生化学データブック I」, 東京化学同人, 1369, 1979.
 - 2) 出口武夫: 生化学, **56**, 19, 1984.
 - 3) 三木直正: 文献 5, 88, 1984.
 - 4) S. Svorcova, V. Kaut: *Cesk. Hyg.*, **16**, 71, 1971.
 - 5) E. Goldstein, N. F. Peek, N. J. Parks, H. H. Hines, E. P. Steffey, B. Tarkington: *Amer. Rev. Respir. Dis.*, **115**, 403, 1977
 - 6) H. Oda, H. Tsubone, A. Suzuki, T. Ichinose, K. Kubota: *Environ. Res.* **25**, 294, 1981.
 - 7) 太田庸起子, 脇坂一郎: 産業医学, **21**, 707, 1979; **22**, 623, 1980.
 - 8) 木下修三, 桓平博臣, 宮澤寿一郎, 藤波襄二: 日衛誌, **36**, 248, 1981, **38**, 295, 1983.
 - 9) H. Tsubone, H. Oda, A. K. Suzuki, K. Kubota: *Toxicol. Lett.*, **12**, 125, 1982.
 - 70) 吉田克己, 笠間一男: 環境科学研究報告, **B216-R21-3**, 23, 1984.
 - 71) 国本 学, 局 博一, 三浦 卓, 彼谷邦光, 持立克身: 国立公研報告, **No.40**, 69, 1983.
 - 72) 渡辺 弘, 村山ヒサ子, 深瀬 治, 荒木万嘉, 山本匡利: 大気汚染学会誌, **18**, 308, 1983.
 - 73) D. H. K. Lee: *Environ. Res.*, **3**, 484, 1970.
 - 74) W. E. Ridder, F. W. Oehme: *Clin. Toxicol.*, **7**, 145, 1974.
 - 75) 石館守三ほか: 変異原と毒性, 第11集, 1980.
 - 76) J. B. Fox, J. S. Thomson: *Biochemistry*, **3**, 1323, 1964.
 - 77) C. L. Walters, A. McM. Taylor: *Biochim. Biophys. Acta*, **86**, 448, 1964.
 - 78) C. L. Walters, A. McM. Taylor: *ibid.*, **96**, 522, 1965.
 - 79) H. Uchida, M. H. Klapper: *Biochim. Biophys. Acta*, **221**, 640, 1970.
 - 80) A. Tomoda, S. Matsukawa, M. Takeshita, Y. Yoneyama: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **74**, 1469, 1977
 - 81) A. Mansouri: *ibid.*, **89**, 441, 1979.
 - 82) P. A. Craven, F. R. DeRubertis: *J. Biol. Chem.*, **253**, 8433, 1978.
 - 83) L. J. Ignarro, C. A. Gruetter: *Biochim. Biophys. Acta*, **631**, 221, 1980.
 - 84) H. Kosaka, K. Imaizumi, K. Imai, I. Tyuma: *ibid.*, **581**, 184, 1979.
 - 85) H. Kosaka, K. Imaizumi, I. Tyuma: *ibid.*, **702**, 237, 1982.
 - 86) A. Tomoda, A. Tsuji, Y. Yonemama: *Biochem. J.*, **193**, 169, 1981.
 - 87) M. P. Doyle, R. A. Pickering, T. M. DeWeert, J. W. Hoekstra, D. Pater: *J. Biol. Chem.*, **256**, 12393, 1981
 - 88) M. P. Doyle, R. A. Pickering, R. L. Dykstra, C. L. Nelson, R. F. Boyer: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **105**, 127, 1982.
 - 89) K. Kaya, T. Miura: *Biochim. Biophys. Acta*, **688**, 305, 1982.
 - 90) R. Lemberg, J. W. Legge: "Hematin Compounds and Bile Pigments," Interscience, New York, 1949.
 - 91) 上代皓三, 中尾喜久編: 「血色素の生理と臨床」, 医学書院, 東京, 1958.
 - 92) J. E. Smith, E. Beuter: *Am. J. Physiol.*, **210**, 347, 1966.
 - 93) F. Jung, H. Remmer: *Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, **206**, 459, 1949.
 - 94) T. Yoshimura, T. Ozaki: *Arch. Biochem. Biophys.*, **229**, 126, 1984.
 - 95) 石館守三編: 「生活環境と発がん」, 朝倉書店, 1979.
 - 96) 磯村公郎, 深瀬 治, 渡辺 弘: 大気汚染研究, **11**, 59, 1976.
 - 97) 寺西 清, 深瀬 治, 浜田耕吉, 武田信幸, 渡辺 弘: 第18回大気汚染研究全国協議会講演要旨集, 228, 1977.
 - 98) P. C. Gooch, H. E. Luipold, D. A. Creasia, J. G. Brewen: *Mutation Res.*, **48**, 117, 1977
 - 99) Y. Sasaki, R. Endo, Y. Koido: *ibid.*, **79**, 181, 1980.
 - 100) H. Tsuda, A. Kushi, D. Yoshida, F. Goto: *ibid.*, **89**, 303, 1981.
 - 101) K. Isomura, M. Chikahira, K. Teranishi, K. Hamada: *ibid.*, **136**, 119, 1984.
 - 102) 中島泰治, 魚住光郎: 環境科学研究報告, **B216-R21-3**, 89, 1984.
 - 103) 中村好志: 変異原と毒性, 第11集, 30, 1980.
 - 104) V. Kaut: *Cesk. Hyg.*, **15**, 213, 1970.
 - 105) Z. M. Iqbal, K. Dahl, S. S. Epstein: *Science*, **207**, 1475, 1980.
 - 106) S. Kusumoto, T. Kimura, T. Nakajima, A. Nakamura: Proc. 8th. Int. Conf. Occup. Health Chem. Industry, **48**, 1980.
 - 107) A. Chaudhari, S. Dutta: *J. Toxicol. Environ. Health*, **7**, 753, 1981.
 - 108) Z. M. Iqbal, K. Dahl, S. S. Epstein: *J. Natl. Cancer Inst.*, **67**, 137, 1981.
 - 109) H. Inoue, A. Fukunaga, S. Okubo: *Mutation Res.*, **88**, 281, 1981.
 - 110) M. Uozumi, T. Kusumoto, T. Kimura, A. Nakamura, T. Nakajima: IARC Sci. Pub., **No. 41**, 425, 1982.
 - 111) 吉川 勲, 綾木歳一, 大嶋加代子: 環境科学研究広報, **No. 28**, **R21-6**, 172, 1984.
 - 112) R. E. Lee, K. Harris, G. Akland: *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, **34**, 164, 1973.
 - 113) 環境庁環境保健部: 「窒素酸化物の健康影響に関する文献調査」, 1983.