

The Effects of Microwave Exposure on the Occurrence of Cell Injury

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8318

マイクロ波暴露の細胞障害性に関する研究

金沢大学医学部公衆衛生学講座 (主任: 岡田 晃教授)

富 松 淳 子

(平成4年2月3日受付)

マイクロ波照射による細胞障害性を評価するために、周波数 2450MHz のマイクロ波を、環境温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ の条件下で 275~280g のウイスター系雄ラットに全身照射し、以下の事項につき検討した。

まず、実験条件吟味のため、マイクロ波照射の肝酵素に及ぼす影響を観察した。小動物実験用マイクロ波発生装置にて照射強度 5, 10, 15mW/cm² を 1 時間さらに照射強度 10mW/cm² については 2, 3 時間にてマイクロ波を全身照射し、照射前および直後に直腸温を測定し、また採血後肝右葉にて肝臓の温度測定を行なった。マイクロ波照射終了直後の直腸温は対照群に比し、有意に、しかも照射強度が増加するにつれて上昇した。また、照射終了直後の肝臓内組織温度 (肝温) についても同様の結果であった。更に、照射終了直後の直腸温と肝温の平均値の差は、照射強度の増加に伴い減少の傾向を示した。照射終了直後または 24 時間後に採血を行ない、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ (glutamic oxaloacetic transaminase, GOT), グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (glutamic pyruvic transaminase, GPT), 乳酸脱水素酵素 (lactate dehydrogenase, LDH), コリンエステラーゼ (cholinesterase, ChE), アルカリフォスファターゼ (alkaline phosphatase, ALP), カリウム (K), カルシウム (Ca) を測定した。1 時間照射直後では、GOT, GPT, LDH, ChE, ALP, K, Ca のいずれにおいても各群と対照群との間に有意差は認めなかった。照射 24 時間後では、対照群に対し、15mW/cm² 群においてのみ GOT, GPT, LDH で有意な上昇 ($P < 0.05$) を認め、ChE で有意な減少 ($P < 0.05$) を認めた。各強度に於ける照射直後と 24 時間後の比較では 15mW/cm² 群においてのみ後者に、GOT, GPT にて有意な上昇 ($P < 0.05$) を、ChE にて有意な減少 ($P < 0.01$) を認めた。また、10mW/cm², 1, 2, 3 時間照射 24 時間後での直腸温, GOT, GPT, ALP, LDH を比較したところ、直腸温についてのみ、いずれの群も対照群に比し有意な上昇 ($P < 0.01 \sim 0.05$) を認め、むしろ 1 時間照射群の方が 2, 3 時間照射群に比し直腸温の平均値は高かった。

次に肝組織の形態学的変化を検討するために、照射強度 15mW/cm² のマイクロ波、1 時間照射終了 24 時間後に肝臓のヘマトキシリン-エオジン染色、パス染色、鍍銀染色を行ない、光学および電子顕微鏡にて観察した。GOT および GPT が共に 100U 前後の中等度肝酵素上昇を認めた肝組織では、肝細胞の膨化や空胞変性が多発し、中心静脈や小葉中心部類洞の拡張とうっ血、小葉中心部肝細胞のグリコーゲン顆粒の減少、肝細胞間の膠原線維の網目状構造の乱れを認めた。GOT および GPT が共に 400U 前後の高度肝酵素上昇を認めた群では、肝細胞索の破壊、炎症細胞の出現や凝固壊死像の出現、ほぼ全域のグリコーゲン顆粒の著明な減少、膠原線維の断裂を認めた。超微構造的には肝細胞内小器官の膜構造の破壊、組織球や炎症細胞の出現、核クロマチンの崩壊、肝細胞内ミトコンドリアの大きさの不均一化やクリステの破壊を認めた。

マイクロ波全身照射の血中および肝組織中プリンヌクレオチド代謝に及ぼす影響を観察するために、照射強度 15mW/cm² のマイクロ波 1 時間全身照射直後に採血を行い、また同時に肝組織の一部を切除して凍結乾燥試料とし、高速液体クロマトグラフィーにて、血中および肝組織中ヒポキサンチン、キサンチン、尿酸の測定を行なった。肝乾燥試料については、さらに乾燥重量 1g に占める ATP, ADP, AMP 含量を算定した。15mW/cm² 1 時間照射終了直後では対照群と比較して、血中については、ヒポキサンチン、キサンチン、尿酸共に有意な上昇 ($P < 0.01$) を認めた。肝組織中では、ヒポキサンチンと尿酸は、有意な増加 ($P < 0.01$) を認めたが、キサンチンは、有意な変化を認めなかった。同様に、肝組織中 ATP は有意な減少 ($P < 0.01$) を、AMP は有意な増加 ($P < 0.05$) を認めた。ADP は有意な変化を認めなかった。肝組織中総アデニンヌクレオチドおよびエネルギー充足率は、共に有意な減少 ($P < 0.01$) を認めた。以上の結果より、マイクロ波照射による血中尿酸の上昇は一種のストレス反応ではなく、肝臓の ATP から ADP, AMP を経てヒポキサンチン、キサンチン、尿酸にいたる反応が進行し、それが血中尿酸の上昇に寄与している事が判明した。また、組織学的所見より肝臓の循環障害が観察され、アデニンヌクレオチド代謝の亢進さらには、キサンチンオキシダーゼ系の活性酸素の産生がマイクロ波照射時の肝細胞障害に関与している事が示唆された。

Key words microwave, cell injury, xanthine oxidase, rat

Abbreviations: ACGIH, American Conference Governmental Industrial Hygienists; ALP, alkaline phosphatase; ChE, cholinesterase; GOT, glutamic oxaloacetic transaminase; GPT, glutamic pyruvic transaminase; HE, hematoxylin eosin; HPLC, high performance liquid chromatography; LDH, lactate dehydrogenase; TCA, trichloric acid; 肝温, 肝臓内組織温度

マイクロ波は、赤外線と無線用超短波との中間の波長の電磁波で、レーダーやテレビジョンなどの通信、種々の工業、家庭用電子レンジや医学分野では癌の局所温熱療法などに広く応用され、職場だけでなく日常生活においても重要な環境因子となっている。各方面での誤った大量暴露による障害が報告されているが¹⁾、マイクロ波が非常に身近な存在になって来ている現在、マイクロ波が生体にどのような影響をもたらすのかを明らかにする事も重要な課題である。しかしマイクロ波の影響を検討するためには、動物に一定レベルのマイクロ波を照射しうる装置が必要である。そこで当教室では1977年に電子レンジや温熱療法に利用されている周波数である2450MHzのマグネトロンを組み込み、マイクロ波照射強度を連続的に可変できる装置を開発し²⁾、以後種々の組織や臓器を対象に検討を行なってきた。

これまで、拘束ストレスおよびマイクロ波照射後血中尿酸を測定した結果、有意に上昇した事が特記されている³⁾。また、暑熱暴露によっても血中尿酸の上昇が報告されているが、これは組織の低酸素状態によるプリン体の分解亢進の関与によると考えられている⁴⁾。一方尿酸は主に肝臓にて生産、代謝されるが、マイクロ波照射の際の血中尿酸の上昇が、果たして一種のストレス反応なのか、それとも肝細胞障害による尿酸代謝の変化によるものかは、マイクロ波の生体への影響を理解するためにも関心が持たれるところである。

近年、活性酸素は炎症、老化や癌化に深く関わるとされ注目されているが^{5,6)}、尿酸はその消去系のひとつとして、強力な抗酸化作用やラジカル捕獲作用を有すると考えられている⁷⁻⁹⁾。しかし、一方、肝臓内でヒポキサンチンからキサンチンへ、キサンチンから尿酸へ変換される反応では共に活性酸素を生じ、それがマイクロ波照射における肝細胞障害に関与している可能性があるかどうかを明らかにする事は、極めて意義のあることと考えられる。

今回、マイクロ波の細胞障害性を検討する目的で、種々の照射強度において、肝臓に関する血液学的並びに組織学的変化の比較検討を行った。そのうち、肝機能障害を起こしうる照射強度にて、血液中並びに肝臓組織中の尿酸やその前駆物質であるキサンチンおよびヒポキサンチンの測定を行い、血液中の変化

と肝臓組織中の変化との関係を検討した。さらに、肝臓組織内のATP、ADP、AMPを測定し、マイクロ波照射時の尿酸の変化に、アデニンヌクレオチド代謝過程がどのように関与しているのかについても検討した。以上より、マイクロ波照射による細胞障害を、プリンヌクレオチド代謝の主たる臓器である肝臓を中心に、血液生化学的および組織学的に検討し考察を加えたので報告する。

対象および方法

I. 実験動物

275-280gのWistar系雄ラット106匹を、温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、暗環境12時間30分、明環境11時間30分、自由摂食、自由飲水にて実験に供与した。

II. 方法

1. マイクロ波全身照射による血液学的および形態学的変化

1) マイクロ波全身照射の肝酵素に及ぼす影響

i. 照射条件

温度 23°C 、湿度50-60%の実験室において、アクリル製のホルダーに固定した状態で、対照群はラットを実験室内の小箱に置き、照射群はアプリケーション内で2450MHzのマイクロ波を小動物実験用マイクロ波発生装置(図1)にて照射した。マイクロ波の照射強度と照射時間の違いが肝酵素に及ぼす影響を検討するために、照射強度5, 10, 15mW/cm²で、照射時間各1時間にて全身照射し、また10mW/cm²においてはさらに2時間および3時間全身照射した。

ii. 観察方法および項目

照射前および照射直後にポータブルマルチモードディジタルサーモメーター(DIGIMULTI MODEL D611, TAKARA THERMISTER INSTRUMENT CO. LTD, YOKOHAMA)にて、直腸温を測定した。照射終了直後または24時間後にネブタール麻酔下、腹部大動脈より21ゲージ注射針にてヘパリン採血を行なった。血液を遠心分離後、血漿分離し、グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(glutamic oxaloacetic transaminase, GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(glutamic pyruvic transaminase, GPT)、乳酸脱水素酵素(lactate dehydrogenase, LDH)をUV法、アルカリフォスファ

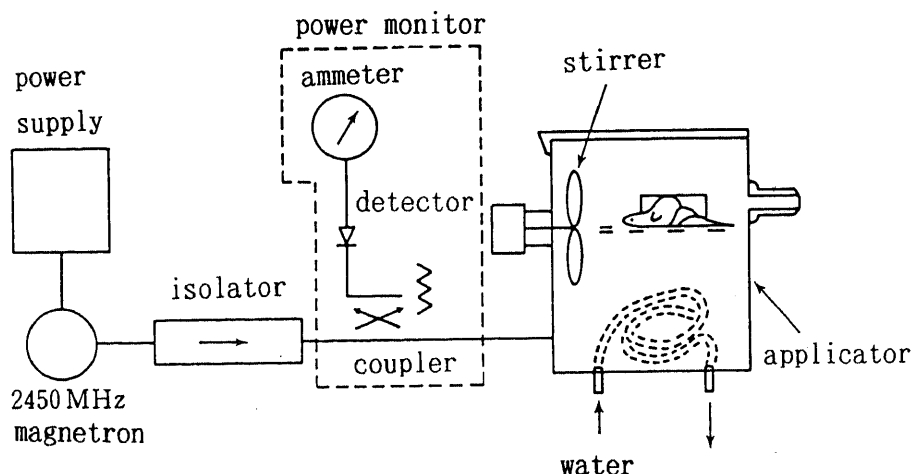


Fig.1. Block diagram of microwave device. This device is composed of magnetron of 2450 MHz, isolator, coupler and applicator. Magnetron supplies microwave energy, isolator prevents the instability of power, coupler measures the energy amount and applicator is the box on which the shelf a rat in a holder is put.

ターゼ (alkaline phosphatase, ALP) を比色法, カリウム (K) を電極法, カルシウム (Ca), コリンエステラーゼ (cholinesterase, ChE) を比色法にて測定した。又, 採血後肝右葉にポータブルマルチモードディジタルサーモメーターを挿入し, 肝臓の温度を測定した。

2) マイクロ波全身照射による肝組織の形態学的変化

1) と同一条件において 2450MHz のマイクロ波を, 照射強度 $15\text{mW}/\text{cm}^2$, 1時間, 小動物実験用マイクロ波発生装置にて全身照射した。照射終了24時間後にネンプタル麻酔下, 直ちに, 肝臓を光学顕微鏡観察用と電子顕微鏡観察用の組織標本作製の試料として摘出した。光学顕微鏡観察用試料は, 10%ホルマリンにて固定後, ヘマトキシリン-エオジン染色 (hematoxylin-eosin stain, HE 染色), 過沃素酸シッフ法によるバス染色, 渡辺法による鍍銀染色を行なった。電子顕微鏡観察用試料は, 2.5%グルタルアルデヒド (0.1%カコジル酸ソーダ緩衝液 pH 7.4) と2%オスミウム酸 (同緩衝液 pH 7.4) で4℃でそれぞれ30, 60分間固定し, エタノール系列脱水, エポン 812で包埋した。試料は, 電子顕微鏡で直接倍率1500-20000倍で撮影した。

2. マイクロ波全身照射の血中および肝組織内プリンヌクレオチド代謝に及ぼす影響

照射強度 $15\text{mW}/\text{cm}^2$ のマイクロ波 1時間全身照射直後に, 断頭後ヘパリンでコーティングしたチューブにて採血を行い, 血液を遠心し血漿分離後, 除蛋白を行なう為に0.2M過塩素酸を加えて, 3000g 10分間遠心分離し, 上清を $0.45\mu\text{m}$ フィルター (Steradisc 25, Kurabo, 東京) に通し, 高速液体クロマトグラ

フィー (high performance liquid chromatography, HPLC) の試料とした。また, 採血後直ちに開腹し, 肝組織の一部を切除し, 乳鉢にて搗把, 液体窒素にて瞬間凍結した。凍結試料は24時間凍結乾燥を施し, 乾燥試料とした。乾燥試料を手動的に粉碎し, 粉末化した肝組織に0.2M過塩素酸を加え, よく攪拌し3000g にて10分間遠心分離後, 上清を $0.45\mu\text{m}$ フィルターに通し, HPLC を用いたヒポキサンチン, キサンチン, 尿酸測定の試料とした。ヒポキサンチン, キサンチン, 尿酸の分析には, ポンプ, カラム, ディテクターに, それぞれ, LC-5A (島津, 京都), EICOPAK MA-50DS (エイコム, 京都), esaMODEL 5100A (ESA 社, 東京) を表1に示す条件により使用した。入山ら⁹⁾の方法に準じ, ヒポキサンチン, キサンチンは吸光度250nm で, 尿酸は吸光度290nm で測定した。チャート上のピーク面積より各々乾燥重量1gに占めるヒポキサンチン, キサンチン, 尿酸含量を算定した。前述の乾燥肝組織試料の重量を測定し, 冷却した5%トリクロロ酢酸 (trichloric acid, TCA) (和光, 大阪) を加え, 直ちに攪拌した。これを4℃で30分間抽出したのち15600g にて, 5分間冷却遠心し, その上清に0.5Mのトリノ-オクチルアミン (和光) を含む1, 1, 2-トリクロロトリフルオロエタン (和光) を冷却した状態で加え攪拌し, 再び15600g にて, 5分間冷却遠心し, その上清を HPLC を用いたアデニンヌクレオチド測定の試料とした。

TCA 抽出液中のアデニンヌクレオチドの分析には, ポンプ, カラム, ディテクターに, それぞれ, HLC-803D (東洋ソーダ, 東京), Partisil5 SAX (Whatman 社, Maidstone, 英国), UV-8model 2 (東洋ソーダ) を表2に示す条件により使用した。

Table 1. Assay condition of HPLC to measure hypoxanthine (HYP), xanthine (XAN) and uric acid (UA) in plasma and liver

Flow pump	LC-5A (Shimadzu)
Column	EICOMPAK MA-50DS column size $4.6\text{mm} \times 150\text{mm}$ (Acom)
Column temperature	$25 \pm 1^\circ\text{C}$ (Ambient)
Ultraviolet absorption detector	esa: MODEL 5100A (ESA)
Detector condition	HYP, XAN; 250nm, UA: 290nm
Mobile phase	0.2M $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$, pH2.0
Flow rate	HYP, XAN, UA: 1.0ml/min

Table 2. Assay condition of HPLC to measure adeninenucleotides in the liver

Flow pump	HLC-803D (Toyo soda)
Column	Partisil5 SAX $4.5\text{mm} \times 150\text{mm}$ (Whatman)
Column temperature	$25 \pm 1^\circ\text{C}$ (Ambient)
Ultraviolet absorption detector	UV-8model II (Toyo soda)
Detector condition	270nm
Mobile phase	0min 0.01M $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$, pH4.0 linear gradient 25min } 40min } 0.4M $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$, 60min } 0.4M H_3PO_4 , pH3.25
Flow rate	1.0ml/min

チャート上のピーク面積より各々乾燥重量1gに占める ATP, ADP, AMP 含量を算定した。ATP, ADP, AMP の総和を総アデニンヌクレオチドとし、細胞のエネルギー状態の指標であるエネルギー充足率は、

$$\frac{(ATP+0.5(ADP))}{(ATP)+(ADP)+(AMP)} \text{ の式により算定した。}$$

3. 統計処理

測定値は何れも平均値±標準偏差で示した。平均値の有意差検定は t-検定を用い、危険率 5% 以下で有意差ありと判定した。

成 績

I. マイクロ波全身照射による直腸温と肝臓内組織温度の変化

マイクロ波照射終了直後の直腸温は対照群では 37.17 ± 0.23 °C であったが、 $5\text{mW}/\text{cm}^2$ 照射群では 39.12 ± 0.43 °C、 $10\text{mW}/\text{cm}^2$

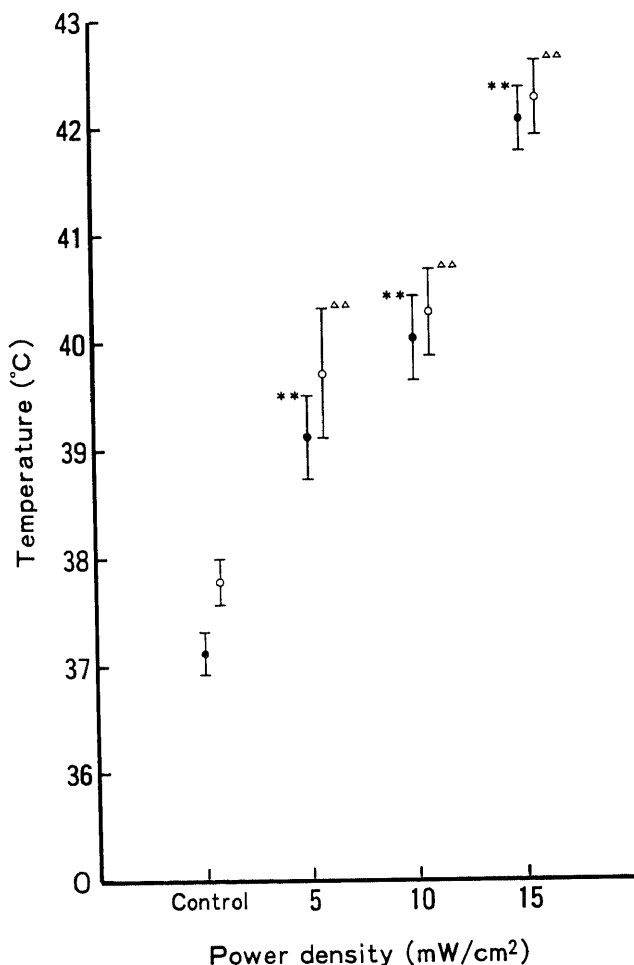


Fig. 2. Changes in rat rectal temperature and rat liver temperature after whole-body microwave exposure for 1 hr. The ambient temperature is 23 ± 2 °C. Rats are weighing 275–280 g. Each value represents the mean $\pm$ S.D.. Control rats were restricted in their motion without any other treatments. ●, rat rectal temperature (each group is composed of 20 rats); ○, rat liver temperature (each group is composed of 10 rats). ** $P < 0.01$ vs. control, ^^^ $P < 0.01$ vs. control

cm^2 では 40.00 ± 0.39 °C、 $15\text{mW}/\text{cm}^2$ では 42.10 ± 0.38 °C と各照射強度群とも、対照群に比し有意に上昇した。また、マイクロ波照射終了直後の肝臓内組織温度 (肝温) は対照群では 37.80 ± 0.21 °C であったが、 $5\text{mW}/\text{cm}^2$ 照射群では 39.73 ± 0.62 °C、 $10\text{mW}/\text{cm}^2$ では 40.30 ± 0.43 °C、 $15\text{mW}/\text{cm}^2$ では 42.28 ± 0.36 °C と各照射強度群共、対照群に比し有意に上昇した。また、マイクロ波照射終了直後の直腸温の平均値と肝温の平均値の差は、対照群で 0.63 °C であったが、 $5\text{mW}/\text{cm}^2$ 照射群では 0.61 °C、 $10\text{mW}/\text{cm}^2$ では 0.26 °C、 $15\text{mW}/\text{cm}^2$ では 0.18 °C と減少の傾向を示した (図 2)。

II. マイクロ波全身照射による血液学および形態学的変化

1. マイクロ波の照射強度と肝酵素への影響との関係

血漿 GOT は、マイクロ波 1 時間照射直後では、対照群で $79.5 \pm 3.8\text{U}$ で、 $5\text{mW}/\text{cm}^2$ 照射群で $71.6 \pm 8.4\text{U}$ 、 $10\text{mW}/\text{cm}^2$ で $74.7 \pm 4.2\text{U}$ 、 $15\text{mW}/\text{cm}^2$ で $86.3 \pm 9.3\text{U}$ と、各群と対照群との間に有意差は認めなかった。しかし 1 時間照射 24 時間後の GOT は、対照群 $77.0 \pm 5.4\text{U}$ に対し、 $5\text{mW}/\text{cm}^2$ 照射群で $70.7 \pm 4.1\text{U}$ 、 $10\text{mW}/\text{cm}^2$ で $73.8 \pm 5.5\text{U}$ 、 $15\text{mW}/\text{cm}^2$ で $268.8 \pm 80.2\text{U}$ と $15\text{mW}/\text{cm}^2$ 照射群においてのみ有意な上昇を認めた。また、各強度における照射直後と 24 時間後の比較では $15\text{mW}/\text{cm}^2$ 照射群においてのみ有意差を認めた (図 3)。

血漿 GPT は、マイクロ波 1 時間照射直後では、対照群で

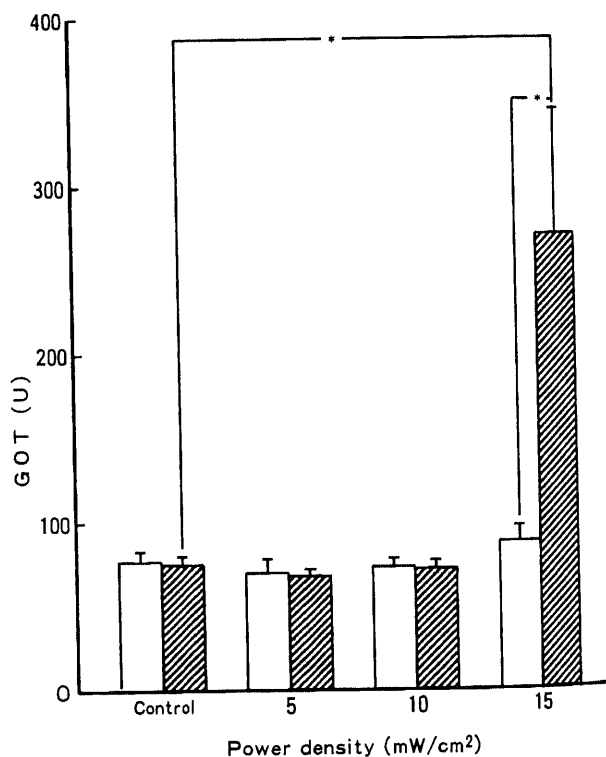


Fig. 3. Plasma level of glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) of rats weighing 275–280 g after whole-body microwave exposure for 1 hr at 23 ± 2 °C. Each value represents the mean $\pm$ S.D.. Control rats were restricted in their motion without any other treatments. □, soon after 1-hr microwave exposure (each group is composed of 10 rats); ▨, 24 hr after 1-hr's microwave exposure (each group is composed of 10 rats). * $P < 0.05$, significance of difference between 2 groups.

28.9±1.3U, 5mW/cm² 照射群では 22.3±3.1U, 10mW/cm² で 29.2±2.8U, 15mW/cm² で 29.0±5.5U といずれも対照群と有意差を認めなかった. 照射24時間後群では, 対照群で 26.8±1.6U, 5mW/cm² 照射群で 26.3±2.7U, 10mW/cm² で 28.9±3.1U, 15mW/cm² で 267.3±66.2U と 15mW/cm² 照射群においてのみ有意な上昇を認めた. また, 各強度における照射直後と24時間後の比較では 15mW/cm² 照射群においてのみ有意差を認めた(図4).

血漿 ALP は, マイクロ波 1 時間照射直後では, 対照群で 575.3±19.1U/l, 5mW/cm² 照射群で 577.1±45.8U/l, 10mW/cm² で 593.0±34.2U/l, 15mW/cm² で 620.8±49.2U/l といずれの群においても有意な上昇は認めなかった. 照射24時間後群では, 対照群で 567.3±10.3U/l, 5mW/cm² 照射群で 588.9±51.1U/l, 10mW/cm² で 596.6±37.6U/l, 15mW/cm² で 612.8±50.4U/l といずれの群においても有意な上昇は認めなかった.

血漿 LDH は, マイクロ波 1 時間照射直後では, 対照群で 275.4±16.5U, 5mW/cm² 照射群で 280.8±32.9U, 10mW/cm² で 289.4±25.8U, 15mW/cm² で 321.3±80.9U と何れも有意な上昇は認めなかった. 照射24時間後群では, 対照群で 282.1±16.7U, 5mW/cm² 照射群では 279.0±20.7U, 10mW/cm² では 294.4±21.3U, 15mW/cm² では 462.5±53.9U と, 15mW/cm² 照射群においてのみ有意な上昇を認めた. しかし

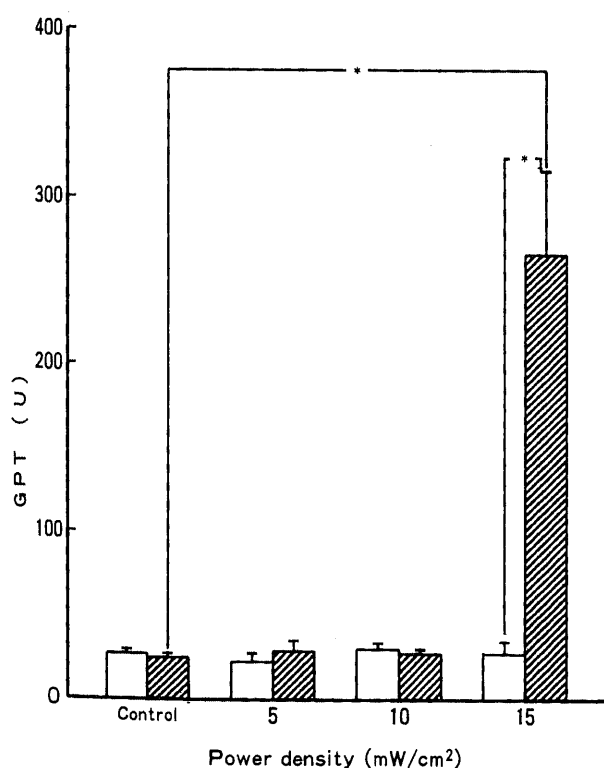


Fig. 4. Plasma level of glutamic pyruvic transaminase (GPT) of rats weighing 275–280 g after whole-body microwave exposure for 1 hr at 23±2°C. Each value represents the mean±S.D.. Control rats were restricted in their motion without any other treatments. □, soon after 1-hr microwave exposure (each group is composed of 10 rats); ▨, 24 hr after 1hr's microwave exposure (each group is composed of 10 rats). *P<0.05, significance of the difference between 2 groups.

照射直後群と24時間後群との間に有意差は認めなかった(図5).

血漿 ChE は, マイクロ波 1 時間照射直後では, 対照群で 72.0±4.9U/l, 5mW/cm² 照射群で 71.4±7.4U/l, 10mW/cm² で 68.9±8.0U/l, 15mW/cm² で 65.2±8.0U/l といずれも

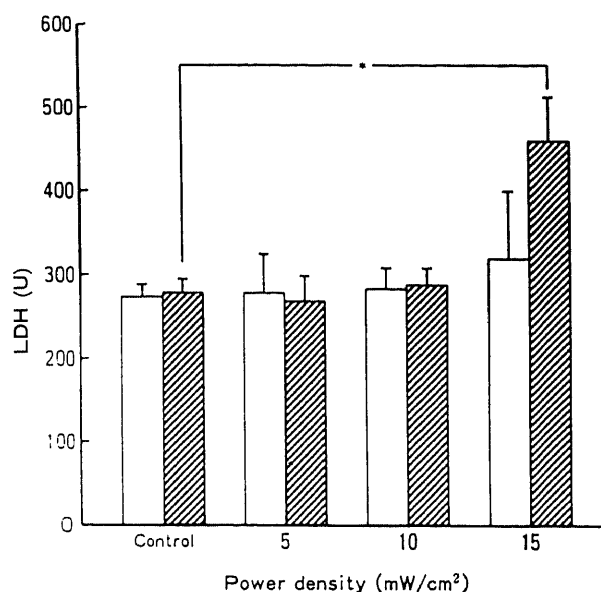


Fig. 5. Plasma level of lactate dehydrogenase (LDH) of rats weighing 275–280 g after whole-body microwave exposure for 1 hr at 23±2°C. Each value represents the mean±S.D.. Control group means rats restricted motion without any other treatments. □, soon after 1-hr microwave exposure (each group is composed of 10 rats); ▨, 24 hr after 1hr's microwave exposure (each group is composed of 10 rats). *P<0.05, significance of the difference between 2 groups.

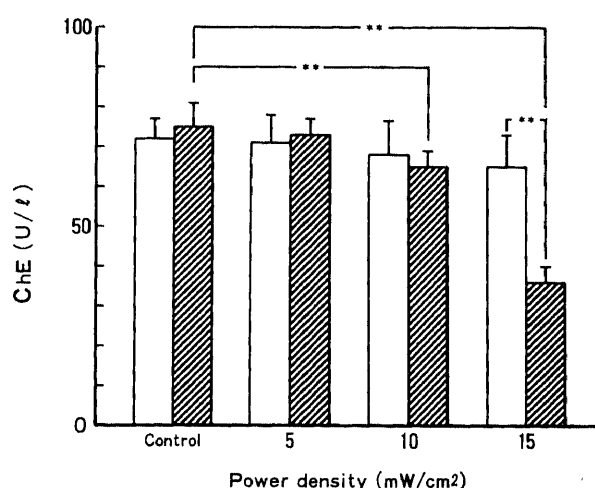


Fig. 6. Plasma level of cholinesterase (ChE) of rats weighing 275–280 g after whole-body microwave exposure for 1 hr at 23±2°C. Each value represents the mean±S.D.. Control rats were restricted in their motion without any other treatments. □, soon after 1-hr microwave exposure (each group is composed of 10 rats); ▨, 24 hr after 1hr's microwave exposure (each group is composed of 10 rats). **P<0.01, significance of the difference between 2 groups.

有意な変化は認められなかった。照射24時間後群では、対照群で $75.0 \pm 6.18 \text{ U/l}$, 5 mW/cm^2 照射群で $73.1 \pm 3.9 \text{ U/l}$, 10 mW/cm^2 で $64.9 \pm 5.2 \text{ U/l}$, 15 mW/cm^2 で $35.9 \pm 4.6 \text{ U/l}$ と 10 mW/cm^2 照射群と 15 mW/cm^2 照射群において有意な減少を認めた。又、照射直後群と照射24時間後群とは 15 mW/cm^2 照射群においてのみ有意な減少を認めた (図6)。血漿 Ca は、マイクロ波1時間照射直後では、対照群で $4.58 \pm 0.07 \text{ mEq/l}$, 5 mW/cm^2 照射群で $4.51 \pm 0.07 \text{ mEq/l}$, 10 mW/cm^2 で $4.41 \pm 0.21 \text{ mEq/l}$, 15 mW/cm^2 で $4.45 \pm 0.20 \text{ mEq/l}$ といずれの群においても有意な変化は認められなかった。照射24時間後群においても、対照群で $4.61 \pm 0.13 \text{ mEq/l}$, 5 mW/cm^2 照射群で $4.59 \pm 0.16 \text{ mEq/l}$, 10 mW/cm^2 で $4.55 \pm 0.10 \text{ mEq/l}$, 15 mW/cm^2 で $4.57 \pm 0.10 \text{ mEq/l}$ といずれも有意な変化は認めなかった。

血漿 K は、マイクロ波1時間照射直後では、対照群で $3.67 \pm 0.08 \text{ mEq/l}$, 5 mW/cm^2 照射群で $3.71 \pm 0.06 \text{ mEq/l}$, 10 mW/cm^2 で $3.59 \pm 0.18 \text{ mEq/l}$, 15 mW/cm^2 で $3.62 \pm 0.08 \text{ mEq/l}$ といずれの群においても有意な変化は認めなかった。照射24時間後群においても、対照群で $3.73 \pm 0.08 \text{ mEq/l}$, 5 mW/cm^2 照射群で $3.86 \pm 0.13 \text{ mEq/l}$, 10 mW/cm^2 で $3.68 \pm 0.09 \text{ mEq/l}$, 15 mW/cm^2 で $3.67 \pm 0.06 \text{ mEq/l}$ といずれも有意な変化は認めなかった。

2. マイクロ波の照射時間と肝酵素への影響

10 mW/cm^2 の強度において、直腸温では、いずれの照射時間においても対照群に比し有意に上昇したが、1時間照射群の平均値は3時間照射群の平均値より大きかった。血漿 GOT, GPT, ALP, LDH では、いずれも各照射時間群と対照群との間に有意な変化は認めなかった (表3)。

3. 15 mW/cm^2 マイクロ波1時間照射終了24時間後の肝組織の形態学的変化

血漿 GOT, GPT が 100 U 前後と中等度の上昇を認めたラット肝組織の HE 染色では、中心静脈及び小葉中心部類洞の拡張とうっ血、中心静脈周囲の肝細胞の膨化や空胞変性を認めた (図7)。血漿 GOT, GPT が 400 U 前後と高度の上昇を認めたラット肝組織の HE 染色では、さらに肝細胞索の破壊、肝細胞間の類洞の著明な拡張、炎症細胞の出現や凝固壊死像を認めた (図8)。PAS 染色においては、対照群では、PAS 陽性顆粒を有した肝細胞が整然と配列しているのに対し、中等度に血漿肝酵素が上昇したラットでは、小葉中心部から中間帯にかけての肝細胞で PAS 陽性顆粒の著しい減少を認めた (図9)。高度に血漿肝酵素が上昇したラットの PAS 染色では、ほぼ全域の肝細胞において PAS 陽性顆粒の著明な減少を認め、グリソン鞘周辺においてのみ孤立性に PAS 陽性顆粒を有する細胞が観察された。鍍

Table 3. Changes of rectal temperature, glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) 24 hr after 10 mW/cm^2 microwave exposure for 1, 2 and 3 hr

	Control	1 hr	2 hr	3 hr
Rectal temperature ($^{\circ}\text{C}$)	37.2 ± 0.23	$40.0 \pm 0.39^{**}$	$39.6 \pm 0.93^{*}$	$39.8 \pm 0.59^{**}$
GOT (U)	77.0 ± 5.4	73.8 ± 5.5	56.0 ± 4.6	80.0 ± 6.6
GPT (U)	26.8 ± 1.6	28.9 ± 3.1	24.7 ± 4.5	25.5 ± 2.6
ALP (U/l)	567.3 ± 10.3	596.6 ± 37.6	456.3 ± 114	594.5 ± 106
LDH (U)	282.1 ± 16.7	294.4 ± 21.3	277.0 ± 10.6	273.8 ± 20.7

Each value represents the mean $\pm$ S.D.. The ambient temperature is $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ and rats are weighing 275–280 g. Control and 1 hr's groups are composed of 10 rats each other. 2 and 3 hr's groups are composed of 5 rats respectively. * $P < 0.05$ vs. control, ** $P < 0.01$ vs. control

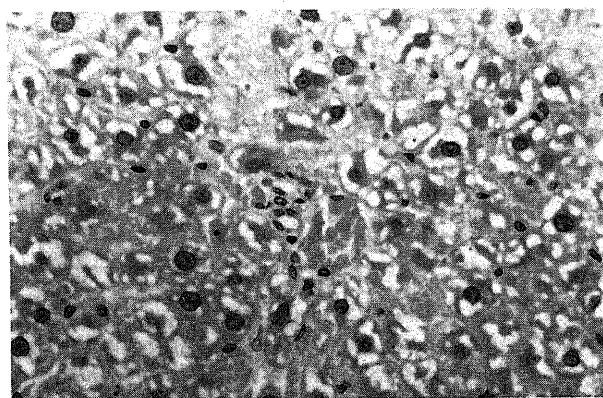


Fig. 7. The histological findings of the liver of microwave-exposed rat of mild elevation of hepatic enzymes. Dilatation and congestion of central vein were observed. Central sinusoids were also dilated with erythrocytes. Hepatocytes increased in size and vacuolar degeneration of them was observed. (Hematoxylin-Eosin stain $\times 40$)

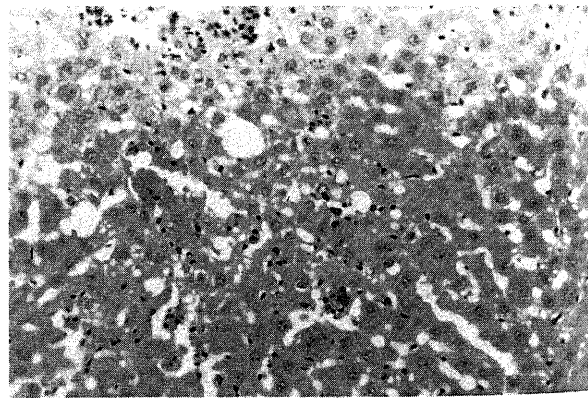


Fig. 8. The histological findings of the liver of microwave-exposed rat of marked elevation of hepatic enzymes. Remarkable dilatation of sinusoids was observed. Coagulation necrosis of hepatocytes with inflammatory cell infiltration was observed especially a round central veins. (Hematoxylin-Eosin stain $\times 20$)

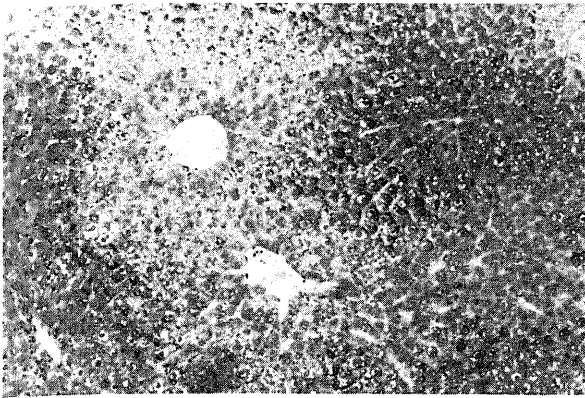


Fig. 9. The histological findings of the liver of microwave-exposed rat of mild elevation of hepatic enzymes. Centrilobular hepatocytes lost PAS positive granules. (PAS stain $\times 10$)

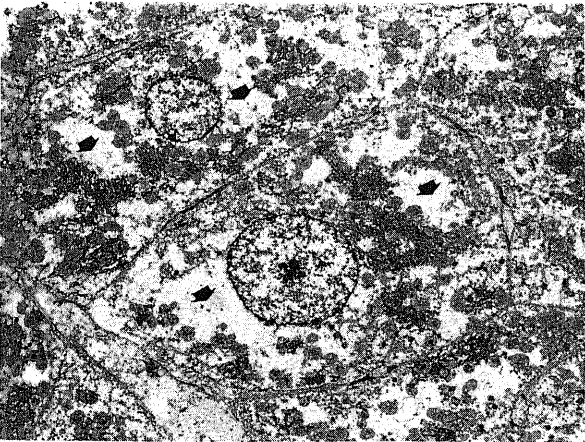


Fig. 10. An electron micrograph of hepatocytes demonstrating large electron dense free areas (arrows) in the cytoplasm, where glycogen droplets were supposed to be off. $\times 1800$

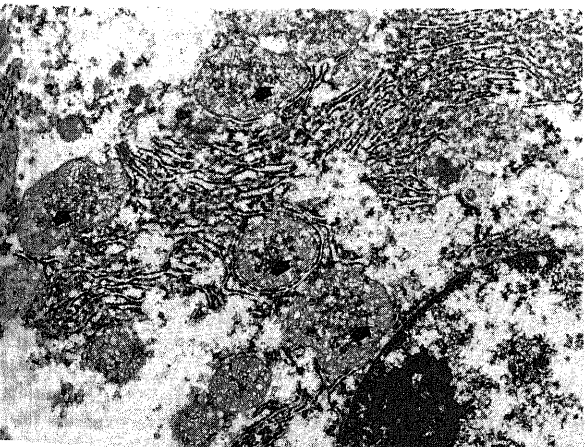


Fig. 11. An electron micrograph of hepatocytes demonstrating large and small mitochondria. The crista of mitochondria was destroyed and the granules of high electron density (arrows) were observed in mitochondria. $\times 9000$

銀染色では、中等度の肝障害ラットでは、肝細胞間の膠原線維の網目状構造の乱れを認めた。高度の肝障害ラットの鍍銀染色では、膠原線維の断裂、線維量の減少を認めた。電子顕微鏡所見では、中等度に血漿肝酵素が上昇したラットではグリコーゲン顆粒の消失、肝細胞の膨化、静脈の拡張やうっ血を認め、高度に血漿肝酵素が上昇したラットでは肝細胞内小器官の膜構造の破壊、肝細胞自体の破壊と組織球や炎症細胞の出現、核クロマチンの崩壊、肝細胞内ミトコンドリアの大きさの不均一化やクリステの破壊を認めた (図10, 11)。

Ⅲ. マイクロ波全身照射によるプリンヌクレオチド代謝の変化

1. $15\text{mW}/\text{cm}^2$ のマイクロ波1時間照射終了直後の血中、肝組織中プリン代謝について

血中ヒポキサンチンは、対照群で $0.38 \pm 0.10\text{mg}/\text{dl}$ に対し、照射群では $1.58 \pm 0.52\text{mg}/\text{dl}$ と有意な上昇を認めた。血中キサンチンは、対照群で $1.15 \pm 0.59\text{mg}/\text{dl}$ に対し、照射群では $6.13 \pm 2.35\text{mg}/\text{dl}$ と有意な上昇を認めた。血中尿酸は、対照群で $0.98 \pm 0.31\text{mg}/\text{dl}$ に対し、照射群では $9.65 \pm 1.41\text{mg}/\text{dl}$ と有意な上昇を認めた (図12)。

肝組織中ヒポキサンチンは、対照群で $0.0028 \pm 0.0017\mu\text{mol}/\text{g dry weight}$ に対し、照射群では $0.0055 \pm 0.0019\mu\text{mol}/\text{g dry weight}$ と有意な上昇を認めた。肝組織中キサンチンは、対照群で $0.013 \pm 0.0034\mu\text{mol}/\text{g dry weight}$ に対し、照射群で $0.028 \pm 0.020\mu\text{mol}/\text{g dry weight}$ と有意な変化は認めなかった。肝組織中尿酸は、対照群で $0.10 \pm 0.029\mu\text{mol}/\text{g dry weight}$ に対

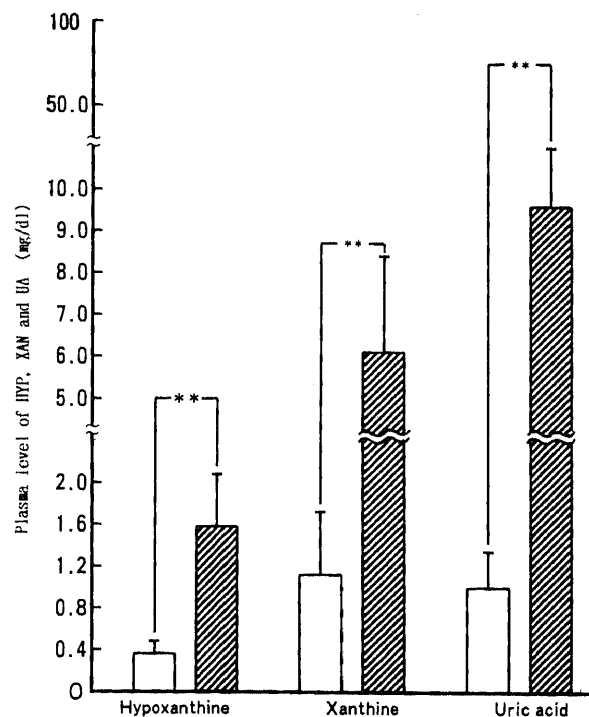


Fig. 12. Plasma level of hypoxanthine (HYP), xanthine (XAN) and uric acid (UA) of rats weighing 275-280 g. Each value represents the mean $\pm$ S.D.. $\square$, soon after 15 mW/cm^2 microwave exposure for 1 hr on the entire body at $23 \pm 2^\circ\text{C}$. (each group is composed of 15 rats); $\blacksquare$, soon after 1 hr's restriction of motion without treatment (namely control group, each group is composed of 10 rats). $**P < 0.01$ vs. control

し、照射群で $0.19 \pm 0.048 \mu\text{mol/g dry weight}$ と有意な上昇を認めた (図13)。

2. 15mW/cm^2 マイクロ波を1時間照射終了直後の肝組織内アデニンスクレオチド代謝について

肝組織中 ATP は、対照群の $1.87 \pm 0.17 \mu\text{mol/g dry weight}$ に対し、照射群では $0.48 \pm 0.13 \mu\text{mol/g dry weight}$ と有意な減少を認めた。肝組織中 ADP は、対照群の $0.57 \pm 0.17 \mu\text{mol/g dry weight}$ に対し、照射群では $0.59 \pm 0.19 \mu\text{mol/g dry weight}$ と有意な変化は認めなかった。肝組織中 AMP は、対照群の $0.50 \pm 0.13 \mu\text{mol/g dry weight}$ に対し、照射群では $0.66 \pm 0.21 \mu\text{mol/g dry weight}$ と有意な上昇を認めた。肝組織中総アデニンスクレオチドは、対照群の $2.94 \pm 0.30 \mu\text{mol/g dry weight}$ に対し、照射群では $1.73 \pm 0.39 \mu\text{mol/g dry weight}$ と有意な減少を認めた (図14)。肝組織中エネルギー充足率は、対照群の 0.73 ± 0.04 に対し、照射群では 0.45 ± 0.03 と有意な減少を認めた (図15)。

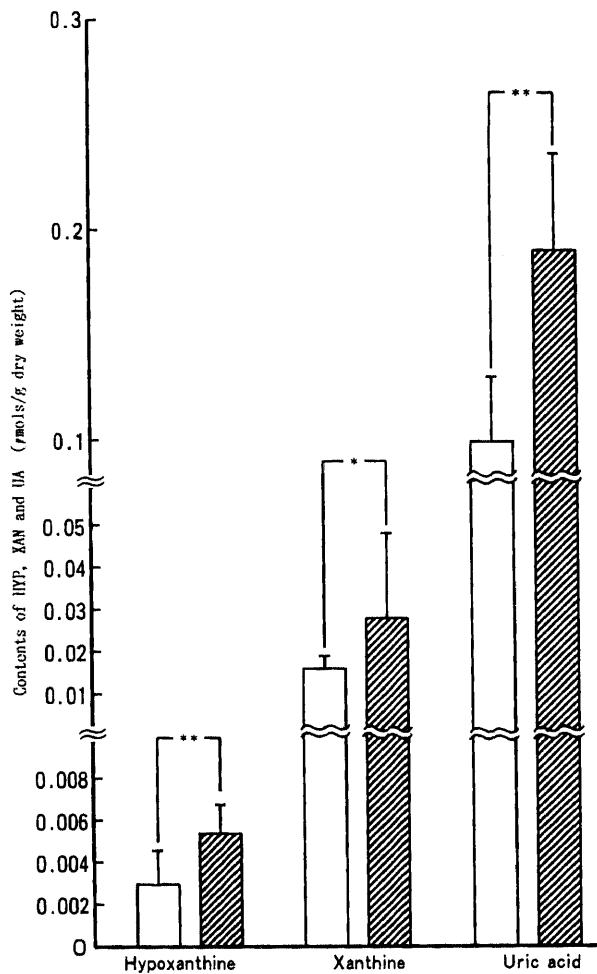


Fig.13. Contents of hypoxanthine (HYP), xanthine (XAN) and uric acid (UA) in the liver of rats weighing 275-280 g. Each value represents the mean $\pm$ S.D. $\square$, soon after 15 mW/cm² microwave exposure for 1 hr on the entire body at $23 \pm 2^\circ\text{C}$. (each group is composed of 15 rats); $\square$, soon after 1 hr's restriction of motion without treatment (namely control group, each group is composed of 10 rats). * $P < 0.05$ vs. control, ** $P < 0.01$ vs. control

考 察

生体の体温は、ある範囲内に一定に調節されており、 42°C 以上になることは極めて稀である¹¹⁾。人に見られる悪性高熱症や熱射病の場合、 42°C を越える高体温となることがあるが、前者の死亡率は約80%で予後不良と報告されている。高体温が生体に対して悪影響を与えることが強調されてきたが、最近ではこれが治療に応用されている。その一つが癌治療に於ける温熱療法¹²⁾である。温熱療法の歴史は古いが、有効な加温方法が見いだされないままであった。しかし癌細胞が高温度に弱いことや癌組織が血管に乏しいことを治療に応用し、医療技術の進歩と共に1960年代前半に研究が盛んになり、癌治療として全身温熱療法が盛んに施行されるようになったのは、約20年前からである¹³⁾。現在、局所温熱療法では、電磁波と超音波による加温があるが、電磁波の中ではマイクロ波が最も重要な手段となっている¹⁴⁾。

マイクロ波は¹⁵⁾¹⁶⁾、波長 1mm~1m、周波数 300~30000MHzの電磁波であり、第二次世界大戦中のレーダーの大量使用を一つの契機に、人体への影響が注目されるようになった。近年、マイクロ波は、軍事・警察用レーダー以外にも航空監視装置、遠距離通信、衛生通信、温熱療法、食品、木材、紙、ガラス繊維などの乾燥および殺菌など利用範囲も広がっている。また、家庭用電子レンジの普及の結果、一般家庭でも身近なものになってきており、日常生活や職場環境における環境因子の一つとして重要である。その許容基準は各国で意見の一致を見

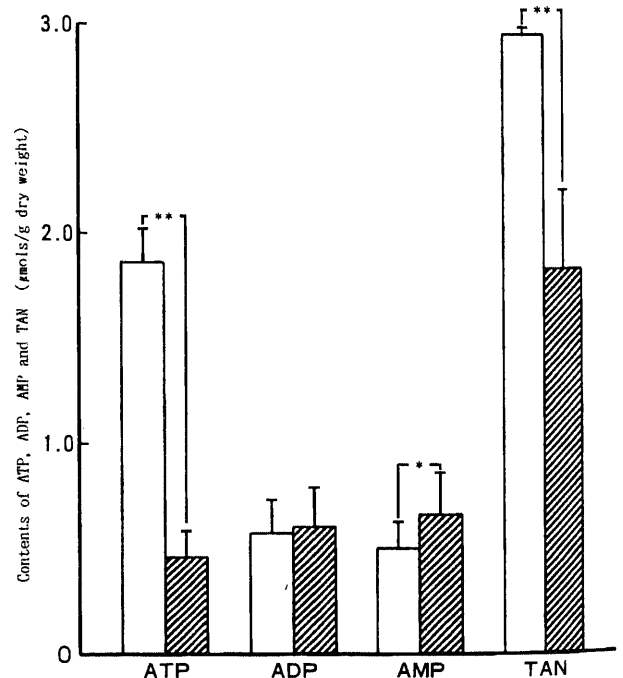


Fig.14. Contents of adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate (ADP), adenosine monophosphate (AMP), total adenine nucleotides (TAN) in the liver of rats weighing 275-280 g. Each value represents the mean $\pm$ S.D. $\square$, soon after 15 mW/cm² microwave exposure for 1 hr on the entire body at $23 \pm 2^\circ\text{C}$. (each group is composed of 15 rats); $\square$, soon after 1 hr's restriction of motion without treatment (namely control group, each group is composed of 10 rats). * $P < 0.05$ vs. control, ** $P < 0.01$ vs. control

ず、我が国では米国の基準に準じている。米国政府労働衛生学者会議 (American Conference Governmental Industrial Hygienists, ACGIH) の許容基準では、 $10\text{mW}/\text{cm}^2$ を越えない平均パワー密度にあっては全被爆時間は一日 8 時間まで、 $10\sim 25\text{mW}/\text{cm}^2$ では、全被爆時間は 8 時間労働中 60 分の労働時間につき 10 分を越えてはならず、 $25\text{mW}/\text{cm}^2$ を越える場合、被爆は許されなくなっている。人体への障害が問題になるのは、 300MHz から 3GHz の周波数領域のマイクロ波であるが、 300MHz 以下でも白血球・コリンエステラーゼ活性・消化機能・膵臓・生殖腺への影響が指摘されている。人体への障害が明確に認められるのは、大量照射の場合だけではないかと考えられているが、基準値以下の少量照射による影響については、なお議論が続いている^{[16][17]}。その原因の一つとしては、マイクロ波の生体影響を検討するための、エネルギー量が一定の条件で、マイクロ波を実験動物に照射する装置がなかった事が挙げられる。岡田ら³⁾は、マイクロ波照射強度の連続的可変が可能な装置を開発したが、今回はこの装置を用いてマイクロ波の影響を検討した。その発生装置は、均一なマイクロ波電磁界の場を与え、検体に複数方向からマイクロ波エネルギーを照射することができる実験室的規模の装置である。マイクロ波エネルギー源には周波数 2450MHz のマグネトロン ZM53 (東芝、東京) が組みこまれ、マグネトロンからのマイクロ波エネルギー

はアプリケーションタへ送られ、アプリケーションタ内へ置かれた検体に照射される。検体はアプリケーションタ内の中間位置に設けたマイクロ波透過性のプラスチック製棚の上にさらにプラスチック製の小動物固定用ホルダーに入れて置く。また、アプリケーションタには照射される電磁界が均一となるように金属製のスタラーが設けられている。本装置では発振装置の出力可変用スライダックを調節して、 $1\sim 100\text{mW}/\text{cm}^2$ のマイクロ波エネルギー密度を連続的に設定できる。なお、 2450MHz のマグネトロンを使用したのは、広く使われている電子レンジにおいてこの周波数が用いられているからであり、また、現在日本でのマイクロ波による頭頸部癌や乳癌などの局所温熱療法にこの周波数が用いられているからである^{[18][19]}。このマイクロ波発生装置を使用して、ラットに照射を行なうに際し、その照射強度を決定するために、各マイクロ波強度と生存時間についての報告を参考にした。安齊²⁰⁾は、 $20\text{mW}/\text{cm}^2$ 以上の強度では死亡率が急速に増大すると報告しているため、今回は照射強度を $5\text{mW}/\text{cm}^2$ から始め、ACGIH の勧告値である $10\text{mW}/\text{cm}^2$ 、そして $15\text{mW}/\text{cm}^2$ の三段階とした。また、安齊²⁰⁾は、環境温の低下やラット体重の増加に伴い生存時間が延長するとしており、実験に際して、環境温並びにラット体重を一定にする事が重要であり、今回は環境温を $23\pm 2^\circ\text{C}$ 、体重を $275\sim 280\text{g}$ とした。Galvin ら²¹⁾は、直腸温の上昇を来さない照射強度のマイクロ波急性暴露では、血液、生化学的变化を認めず、直腸温をマイクロ波による影響の有無の指標としている。照射直後の直腸温並びに肝温は照射強度の増加と共に上昇し、今回生存したラットの最高直腸温は、 $15\text{mW}/\text{cm}^2$ 、1 時間照射の場合の 42.8°C であった。一方、いずれの照射強度においても死亡時の直腸温は 43°C 以上であったという報告があり²⁰⁾、 $15\text{mW}/\text{cm}^2$ 、1 時間照射は、死亡直前の状態を作り得ると考えられた。また、肝温はいずれの照射強度においても直腸温より高く、対照群ではその差は 0.63°C であったが、照射強度が強くなり、直腸温が高くなるに従いその差は縮まっている。Fletcher ら²²⁾は、肝温の測定方法は異なるが、ラットを加温可能な部屋に入れ加温後の直腸温と肝温の関係を検討しているが、直腸温は当初肝温より 0.8°C 低く、直腸温が 41.5°C に近づくとその差は 0.3°C まで減少しており今回の結果に一致している。

細胞障害の初期の指標としてプリンスクレオチド代謝の変化が報告されており²³⁾、その中でも、主な生成臓器を肝臓とする尿酸は一般臨床的に測定されている。今回、マイクロ波による細胞障害を検討するために肝臓を中心として取りあげたのは、マイクロ波照射時、上昇すると報告されている尿酸²⁴⁾に、その主な代謝臓器である肝臓が関与しているのか、関与しているとしたらどの様に、またどの程度関わっているのかを検討する事は、マイクロ波による細胞障害の一つのメカニズムを知る上で重要であると考えたからである。また、肝臓にマイクロ波による局所温熱療法を行い、その肝腫瘍および遠隔転移巣に対する有効性が多く報告され²⁵⁾、肝腫瘍の治療として全身温熱療法のみならず、マイクロ波局所療法が近い将来広く行なわれると考えられ、肝臓への影響を詳細に検討する必要があると思われる。

人体では、マイクロ波以外による高体温状態のモデルとして、古くから熱射病と肝酵素の関係が研究され、Michael ら²⁶⁾によれば、熱射病の際には血中の GOT, GPT, LDH の上昇を来し、これらは熱による直接作用と低酸素の両者の関与が示唆さ

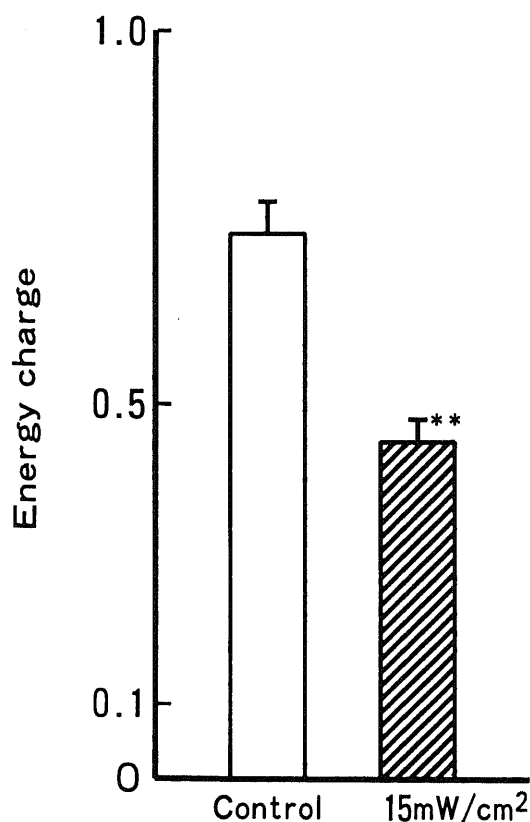


Fig.15. Changes of energy charge (EC) in the liver of rats weighing 275-280 g. Each value represents the mean $\pm$ S.D. (■, soon after $15\text{mW}/\text{cm}^2$ microwave exposure for 1 hr on the entire body at $23\pm 2^\circ\text{C}$. (group is composed of 15 rats); □, soon after 1 hr's restriction of motion without treatment (namely control group, group is composed of 10 rats). ** $P<0.01$ vs. control

れたとしている。また、最近では肝臓を灌流しその灌流液の温度を上昇させる事による肝臓局所温熱療法では、灌流液中の乳酸、糖、尿酸、ALP、GOT、LDHの一過性の上昇を見た報告されている²⁷⁾²⁸⁾。動物実験では、Boddie ら²⁹⁾や Reed ら³⁰⁾によれば、犬の肝臓を灌流することにより選択的に肝臓を温め、43℃においては高度肝障害を示唆する GOT、ALP、LDH の著明な上昇を認めたとしている。マイクロ波と肝酵素の変化を報告した Lu ら³¹⁾は、マイクロ波照射により、GOT、GPT は有意に上昇したが、ALP、LDH は不変で、GOT、GPT に関しても照射直後よりも照射24時間後の方が変化が大きかったとしており、これは Hubbard ら³²⁾による熱射病モデルラットにおいて、熱暴露の24時間後に GOT、GPT のピークを認めたとする結果に一致するものである。今回、照射強度 15mW/cm² に於いてのみ GOT、GPT、LDH の上昇を認め、GOT、GPT では照射直後に比し24時間後に有意に上昇した事は上記の報告に一致し、ALP、K、Ca では変化を認めなかった。また ACGIH の許容閾値として勧告している 10mW/cm² に於いて、1時間のみならず、照射時間を3時間に延長しても諸変化を認めなかったのは、Kitsovskaya³³⁾の 3000MHz のマイクロ波において、10mW/cm²、一時間連続216日間照射後血清学的変化を認めなかった結果に一致する。直腸温に関して、10mW/cm² の強度においては、1時間照射群の方が2時間、3時間照射群に比し平均値が高かったのは照射時間の延長と共に発汗が増加し、蒸発熱の放散による体温の調節が行なわれ得たためと考えることができる。しかしエネルギー量は異なるが、7.5GHz のマイクロ波 0.6mW/cm²、3時間、連続60日照射では³⁴⁾、血液学的変化については検討していないが、餌および水分摂取の減少、体重増加率の減少、腎臓、脳、卵巣、脾臓の重量の減少ならびに精巣重量の増加を認め、熱効果が持続しないと考えられる低レベルの照射における非熱効果の関与が報告されている。

GOT、GPT は、両者の組み合わせにより、肝細胞変性および壊死の指標として用いられている。従って今回の両者の上昇は、肝細胞障害を意味するものであるが、さらに肝臓の酵素合成能を反映する ChE の減少が、肝実質機能(タンパク合成能)量の低下を意味している。LDH、ALP に関しては各々肝細胞障害、および胆汁流出障害を反映し、LDH の 15mW/cm² における有意な上昇と ALP の有意ではないが上昇した結果より、マイクロ波が肝細胞障害のみならず、胆汁うっ滞を生じさせる可能性があると考えられる。しかし特に LDH は臓器特異性が低く詳細はアイソザイムを測定し検討する必要がある。

高体温における肝臓の組織学的変化は、熱射病や温熱療法を例に以前より検討されている。人体の熱射病では、小葉中心部の肝細胞壊死、類洞や中心静脈の拡張²⁶⁾³⁵⁾³⁶⁾、肝細胞の空胞化、肝細胞マイクロビリの脱落そして類洞内皮細胞の消失³⁷⁾が報告され、超微構造上は、肝細胞膜の破壊、類洞内皮細胞の剝離そして肝細胞マイクロビリの膨化や平坦化が報告されている³⁸⁾。ラットにおける温熱療法では³⁹⁾、類洞の拡大やうっ血そして肝細胞の空胞化が報告され、人体では⁴⁰⁾肝細胞の膨化、自己消化空胞の多数出現、ゴルジ装置や小胞体の拡張、大きな細胞質内空胞そして胆汁うっ滞が報告されている。マイクロ波に関しては、培養肝細胞への照射のみ報告されており⁴¹⁾、その主な所見は小胞体の変性、糸粒体の変化、自己消化空胞の出現そして核クロマチンの濃染などである。今回認めた光学顕微鏡的な所見のうち、小葉中心部の壊死は、肝炎⁴²⁾、循環障害⁴³⁾、四塩化炭素

中毒⁴⁴⁾の際にしばしば認められ、中毒の場合はその理由は十分に説明されていないが、肝炎の場合は腫大した肝細胞による類洞狭窄や類洞栓塞などによる類洞血流障害が重要な一因と考えられている。循環障害では右心不全の結果としての下大静脈圧の上昇、類洞血流の緩徐化、血流減少、中心帯類洞の酸素分圧の低下を来し、これら諸要因が複合して小葉中心部の肝細胞の壊死を起こすと考えられている。壊死の最初の形態学的変化は空胞変性といわれているが、この空胞変性も今回認められた特徴的な所見の一つである。この空胞変性は以前は、低酸素性変性であると考えられていたが、現在は類洞圧上昇によると考えられている⁴⁵⁾。また、小葉中心部類洞の拡張や赤血球の充満を認めたが、これは血液のうっ滞を示し、類洞血流が遅くなり血中酸素が小葉周辺部の肝細胞により多く摂取され、小葉中心部の肝細胞はますますひどい低酸素状態に陥る事になる。バス染色で認めた小葉中心部のグリコーゲン顆粒の消失は、何らかの原因でグリコーゲンを消費せざるをえない状態になったと考えられる。Brauer ら⁴⁶⁾は、高体温状態の肝臓では急速にグリコーゲンが消耗していく事を明らかにしており、一般的には肝細胞が低〜無酸素状態になると糸粒体内で営まれている好気的呼吸が不可能になり、嫌気解糖が始まり貯蔵グリコーゲンが減少すると説明されている。高体温では組織の低酸素状態が起こる事が報告されており⁴⁷⁾⁴⁸⁾、さらにマイクロ波照射は肝臓のみならず、多臓器のうっ血をもたらし、二次的な低酸素状態を引き起こすため、特に小葉中心部のグリコーゲン顆粒の消失を来したと説明できる。高体温の条件下では、酸素消費量および熱の消散を促す為に皮膚血流が増加し、肝臓への血流は減少すると報告されている^{49)~51)}。今回認めた超微構造上的特徴的な所見としては糸粒体の変化で、これは低酸素状態を示唆するものである。

尿酸については拘束ストレスにより、血中尿酸値の上昇や肝組織中尿酸含量の増加が報告されている³⁾。また、マイクロ波照射によっても血中尿酸値が上昇すると言われており²⁴⁾、その成因について単なるストレス反応の一つであるのか、それとも細胞障害が関与しているのかは興味深い所であり、肝組織のアデニンヌクレオチド代謝の変化を調べることで今回検討した。尿酸はプリン代謝の最終産物として全組織で生成されるが、その経路はリボース-5-リン酸が ATP の存在下にフォスホリボシルピロフォスフェイト合成酵素の触媒を受け、ホスホリボシラミンからイノシン-1-リン酸が合成され、イノシン-1-リン酸からイノシン、ヒポキサンチン、キサンチンを経て尿酸となる。尿酸の主な製造臓器は肝臓であり、プリン代謝の最終段階をつかさどる酵素で、ヒポキサンチンをキサンチンに、キサンチンを尿酸に変換するキサンチンオキシダーゼは、哺乳類では特に小腸・肝臓・肺の順に多く⁴⁸⁾⁵²⁾⁵³⁾、肝臓は二番目にキサンチンオキシダーゼが豊富な臓器という事になる。また、肝臓は骨髓、白血球、赤血球などプリンを自ら合成することが出来ない組織に対し、プリンの供給を行なっていると考えられている⁵⁴⁾⁵⁵⁾。尿酸は動物の進化と共にそのレベルは著しく上昇し、強力な抗酸化作用やラジカル捕獲作用などの重要な役割を持つと考えられており、注目されている^{56)~59)}。血中の尿酸は種々の因子の影響を受け、また尿酸の合成は全組織で行なわれているため、特定の疾患は別として血中尿酸の増減は体のどこかに異常が起こっているという一般的な指標としてしか使えない。尿酸の持つ性質・特徴をさらに探求するには、組織中の

尿酸の測定が必要である^{10,56)}。

細胞障害の初期の指標となるプリンヌクレオチドの変化²⁰⁾をマイクロ波照射直後に測定し、その後変化する肝酵素および肝組織の変化は照射24時間後に検討した。今回、血中ならびに肝組織中のヒポキサンチン、キサンチン、尿酸が共に有意に上昇を示した事により、肝組織中のヒポキサンチン、キサンチン、尿酸の合成の増加が血中の変化に大きく寄与していると考えられる。マイクロ波照射により、肝組織中の ATP は著明に減少し AMP は増加した。この事は ATP から ADP を経て AMP に変換される反応が促進された事を示しているが、ADP が対照群と照射群とで有意差を認めなかったことは、ADP から AMP へ変換されるのが早く ADP が蓄積されなかったものと考えられる。そして ATP の減少分が AMP 以降、ヒポキサンチン、キサンチン、尿酸の増加に移行したと考えられる。総アデニンヌクレオチド (TAN) の有意な減少はアデニンヌクレオチドの分解系が促進されたことを意味し、エネルギー充足率の有意な減少は ATP の減少を示す⁵⁷⁾ こととなる。

さて一般的に高尿酸血症は局所の低酸素状態によって ATP の分解が促進される為に発現する場合が多いと言われている⁹⁾ が、マイクロ波照射時に肝組織の ATP が減少し尿酸の増加を来した事より、血中尿酸値の上昇に肝組織の低酸素状態が関与しているものと考えられる。Wynants ら⁵⁸⁾ は虚血状態の肝臓では、HPLC にて測定した肝組織中の AMP は増加し、ADP は無変化、ATP は著明に減少し、尿酸は増加したとしており、今回の結果はこれと一致している。

尿酸は強力な酸化作用を有すると考えられているが、ヒポキサンチンからキサンチンへ、キサンチンから尿酸へ変換される反応では共に活性酸素を生じる。酸素が生体にとって不可欠である反面、障害作用を有すると注目される様になったのは比較的最近のことである⁹⁾。酸素の還元分子種 (O_2^- , H_2O_2 , $HO\cdot$) や励起酸素分子 (1O_2) である活性酸素は膜脂質の過酸化、老化、炎症や発ガンなどに関わるとされているが⁵⁹⁾、正常な細胞においても好氣的条件下で常に生成されている。しかし細胞は同時に活性酸素の消去系を持ち、出来るだけ活性酸素の濃度を低くするように働くため、生理的条件下では活性酸素による障害は認められない。消去系の機能の低下や活性酸素生成量の増加などが起こり得る条件下では細胞成分が無差別に酸化され細胞障害をもたらすことになる。生体ではこの様に、活性酸素を生じる所にはその消去系が存在し、また活性酸素の寿命が短いため、活性酸素量の測定は非常に困難である⁵⁾。そこで今回、活性酸素を生じ得る過程での代謝産物量つまり、尿酸の増加量で活性酸素量を推測した。さてヒポキサンチン、キサンチン、尿酸へと代謝される反応をつかさどるものには、活性酸素を産生しないキサンチンデヒドロゲナーゼと活性酸素を産生するキサンチンオキシダーゼの両者がある。組織において嫌気的環境になると、キサンチンデヒドロゲナーゼはキサンチンオキシダーゼに転換するとされており⁵³⁾、Roy ら⁵⁸⁾ は虚血前には 8~9 倍の活性を持っていたキサンチンデヒドロゲナーゼは虚血後 1 分で完全にキサンチンオキシダーゼに変換されると報告している。今回うっ血から低酸素状態と、嫌気的条件下でのアデニンヌクレオチドの分解の促進はキサンチンオキシダーゼによるものと考えられ、活性酸素を発生したと考えられる。活性酸素は虚血などの低酸素状態で産生されるが、酸素がないと産生されず、

マイクロ波により、二次的な低酸素状態にあったとしても、酸素の供給がないと活性酸素は作られないのである。

肝組織像においては障害を認めない領域もあり、従ってそういう領域から再灌流があったのか、あるいは低酸素後の残った少ない酸素を利用したのか、さらにはマイクロ波による熱効果も関係しているものと考えられる。熱効果に関して言えば、マイクロ波により、肝臓および全身の温度が上昇し血中ヘモグロビンの解離曲線が右方へ移動し、ヘモグロビンの酸素飽和度は同じ酸素分圧に対して低下し、ヘモグロビンは酸素をより容易に放出し、低酸素状態にありながら組織への酸素の供給が増える状況となり、活性酸素の原料である酸素が増え、肝細胞の障害に関与したと想像できる。

上述のように本研究結果では、活性酸素の発生が想定されたが、これは肝臓でのプリンヌクレオチド代謝の亢進つまりは肝臓の低酸素状態を示唆し、マイクロ波全身照射における肝細胞の形態学的および機能的障害は、肝組織の循環障害からの低酸素状態さらにはそれに基づく活性酸素の発生が関与しているものと考察できる。

結 論

マイクロ波全身照射による細胞障害性を検討するために体重 275-280g のラットに環境温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ のもとで、周波数 2450MHz のマイクロ波を各照射強度および照射時間にて全身照射し以下の結果が得られた。

1. 直腸温ならびに肝温は照射強度の増加に伴い有意に上昇した。

2. マイクロ波照射直後では 5, 10, 15mW/cm² のいずれの照射強度においても、血漿 GOT, GPT, LDH, ChE, ALP, K, Ca は有意な変化を示さなかった。マイクロ波照射24時間後では 15mW/cm² においてのみ対照群に比し、血漿 GOT, GPT にて有意な上昇を、ChE にて有意な減少を認めた。

3. 照射強度 10mW/cm² にて照射時間 1, 2, 3 時間照射24時間後での直腸温はいずれも対照群に比し有意な上昇を認めた。血漿 GOT, GPT, LDH, ALP はいずれの照射時間においても、有意な変化は認めなかった。

4. 肝酵素の上昇が最も著しい照射強度の 15mW/cm² における 1 時間照射24時間後の肝組織像は、中心静脈および小葉中心部類洞の拡張とうっ血、肝細胞の膨化と空胞変性、肝細胞の凝固壊死、小葉中心部肝細胞のグリコーゲン顆粒の減少、肝細胞内小器官の破壊、糸粒体の大きさの不均一化とクリスタの破壊を認めた。

5. 照射強度 15mW/cm² にて 1 時間照射直後の血中ヒポキサンチン、キサンチン、尿酸はいずれも対照群に比し有意に上昇した。

6. 照射強度 15mW/cm² にて 1 時間照射直後の肝組織中ヒポキサンチンおよび尿酸は対照群に比し有意に上昇したが、キサンチンは有意な変化を認めなかった。肝組織中の ATP は対照群に比し有意な減少を、AMP は有意な増加を認めたが、ADP は有意な変化を認めなかった。また、総アデニンヌクレオチドや総エネルギー充足率は対照群に比し有意な減少を認めた。

以上より、マイクロ波照射により肝組織の ATP から ADP, AMP を経てヒポキサンチン、キサンチン、尿酸に至る反応が進行し、血中尿酸の上昇に寄与している事が示唆された。ま

た、組織学的所見より肝組織の低酸素状態が示唆され、アデニンヌクレオチド代謝の亢進さらにはキサンチンオキシダーゼ系の活性酸素の産生がマイクロ波照射時の細胞障害さらには組織障害に関与していることが推定できた。

謝 辞

稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師岡田晃教授に深甚なる謝意を表します。さらに終始御指導を賜りました野原聖一助教授、岐阜大学医学部衛生学教室井奈波良一助教授、および御教示御助言を頂きました福井医科大学附属実験実習機器センター松川茂助教授、本学第二病理学教室齋藤彦博士に深く感謝の意を表します。

なお、本論文の要旨の一部は第34回日本産業衛生学会北陸甲信越地方会(1991, 新潟)において発表した。

文 献

- 1) McLaughlin, J. T.: Tissue destruction and death from microwave radiation (Radar), *Calif. Med.*, **86**, 336-339 (1957).
- 2) 岡田 晃, 小森谷豊, 安斉 勲, 入江 哲, 樋口亮一, 諸治隆嗣, 新井 栄, 小倉浩一: 小動物実験用マイクロ波発生装置の開発. *医科器械学*, **47**, 8-11 (1976).
- 3) 井奈波良一: 拘束ラットによるラット血漿尿酸値の動態. *日衛誌*, **38**, 748-757 (1983).
- 4) Kampa, I. S. & Frascella, D. W.: Blood uric acid level during hyperthermic stress. *Life Sci.*, **20**, 1373-1376 (1977).
- 5) Freeman, B. A. & Crapo, J. D.: Biology of disease; free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, **47**, 412-426 (1982).
- 6) Halliwell, B. & Gutteridge J. M. C.: Free radicals in biology and medicine. Oxford Univ. Press, 1985.
- 7) Ames, B. N., Cathcart, R., Schwiers, E. & Hochstein, P.: Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 6858-6862 (1981).
- 8) Nanji, A. A. & French, S. W.: Correlations between deviations from expected cirrhosis mortality and serum uric acid and dietary protein intake. *J. Stud. Alcohol*, **47**, 253-255 (1986).
- 9) 入山啓治, 吉浦昌彦, 岩本武夫: HPLC-ECD 法による血清尿酸値の測定の再検討. *尿酸*, **12**, 9-15 (1988).
- 10) 入山啓治, 吉浦昌彦, 岩本武夫: 組織中尿酸の測定の大切さを示す幾つかの証拠. *尿酸*, **9**, 69-77 (1985).
- 11) 本田夏生: 高体温とその限界. *日臨麻会誌*, **6**, 35-43 (1986).
- 12) Hahn, G. M.: *Hyperthermia and Cancer*, 1st ed. p101-115, Plenum Press, New York, 1982.
- 13) Herman, T. S., Zukoski, C. F., Anderson, R. M., Hutter, J. J., Brit, C. D., Malone, J. M., Larson, D. F., Dean, J. C. & Roth, H. B.: Whole-body hyperthermia and chemotherapy for treatment of patients with advanced, refractory malignancies. *Cancer Treat. Rep.*, **66**, 259-265 (1982).
- 14) Guy, A. W. & Chou, C. K.: Physical aspects of localized heating by radiowaves and microwaves. In F. K. Storm & G. K. Hall (eds.), *Hyperthermia in Cancer Therapy*, 1st ed. p72-85 Medical publishers, Boston, 1983.
- 15) Foster, K. R. & Guy, A. W.: The microwave problem. *Sci. Am.*, **255**, 28-38 (1986).
- 16) 山県 登, 渥美和彦, 飯田博美, 浦久保五郎, 長田泰公, 加納亨一, 小泉 明, 三島清一: マイクロ波およびレーザ線とその人体影響. *公衛院研報*, **21**, 163-190 (1972).
- 17) Ortner, M. J., Galvin, M. J. & McRee, D. I.: Studies on acute in vivo exposure of rats to 2450-MHz microwave radiation I. Mast cells and basophils. *Radiat. Res.*, **86**, 580-588 (1981).
- 18) Raymond, U., Noell, K. T., Worde, B. T., Fishburn, R. I. & Miller, T. S.: Microwave-induced local hyperthermia in combination with radiotherapy of human malignant tumor. *Cancer*, **45**, 638-646 (1980).
- 19) Luk, K. H., Purser, P. R., Castro, J. R., Meyer, T. S. & Phillips, T. L.: Clinical experiences with local microwave hyperthermia. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, **7**, 615-619 (1981).
- 20) 安斉 勲: マイクロ波の強度-生存時間関係に関する研究. *日衛誌*, **42**, 640-647 (1987).
- 21) Galvin, M. J., Optner, M. J. & McRee, D. I.: Studies on acute in vivo exposure of rats to 2450-MHz microwave radiation III. Biochemical and hematologic effects. *Radiat. Res.*, **90**, 558-563 (1982).
- 22) Fletcher, A. M., Cetas, T. C., Dewhirst, M. W. & Wilson, S. E.: Liver temperatures in rats subjected to whole-body hyperthermia: evidence for congestion and lymphocyte damage. *Natl. Cancer Inst. Monogr.*, **61**, 231-233 (1982).
- 23) Nishida, T., Koseki, M., Kamiike, W., Nakahara, M., Nakao, K., Kawashima, Y., Hashimoto, T. & Tagawa, K.: Levels of purine compounds in a perfusate as a biochemical marker of ischemic injury of cold-preserved liver. *Transplantation*, **44**, 16-21 (1987).
- 24) 井奈波良一, 渡辺信哉, 岡田 晃, 諸治隆嗣: マイクロ波全身暴露のラット血漿コルチコステロン, ブドウ糖, 尿酸およびアライントインへおよびその影響. *日衛誌*, **45**, 904-908 (1990).
- 25) Hafstrom, L. O., Hugander, A., Jonsson, P. E., Bolmsjo, M., Persson, B. & Stenram, U.: Effects of Local Microwave Hyperthermia on Liver Tumors: An Experimental Study in Rats. *Biomedical Thermology*, 1st ed. p97-102, Alan R. Liss Inc., New York, 97-102, 1982.
- 26) Michael, K., Harold, S. & Geoffrey, K.: Liver damage in heatstroke. *Am. J. Med.*, **49**, 192-202 (1970).
- 27) Skibba, J. L. & Collins, F. G.: Effect of temperature on biochemical functions in the isolated perfused rat liver. *J. Surg. Res.*, **24**, 435-441 (1978).
- 28) Skibba, J. L., Quebbeman, E. J., Kalbfleisch, J. H., Sonsalla, J. C. & Petroff, R. J.: Alterations in biochemical functions during hyperthermic isolation-perfusion of the human liver. *J. Surg. Res.*, **41**, 432-438 (1986).
- 29) Boddie, A. W., Booker, L., Mullins, J. D., Buckley,

- C. J. & McBride, C. M.: Hepatic hyperthermia by total isolation and regional perfusion in vivo. *J. Surg. Res.*, **26**, 447-457 (1979).
- 30) Reed, W. A., Manning, R. T. & Hopkins, L. T.: Effects of hypoxia and hyperthermia on hepatic tissue of the dog. *Am. J. Physiol.*, **206**, 1304-1308 (1964).
- 31) Lu, S. T., Michaelson, S. M. & Pettit, S.: Increased serum enzyme activity in microwave-exposed rats. *Radiat. Res.*, **96**, 152-159 (1983).
- 32) Hubbard, R. W., Criss, R. E. L., Elliott, L. P., Kelly, C., Matthew, W. T., Bowers, W. D., Leav, I. & Mager, M.: Diagnostic significance of selected serum enzyme in a rat heatstroke model. *J. Appl. Physiol.: Respirat. Environ. Exercise physiol.*, **46**, 334-339 (1979).
- 33) Kitsovskaya, I. A.: The effect of centimeters waves of different intensities on the blood and hemopoietic organs of white rats. *Gig. Tr. Prof. Zabol.*, **8**, 14-18 (1964).
- 34) Ray, S. & Behari, J.: Physiological changes in rats after exposure to low levels of microwaves. *Radiat. Res.*, **123**, 199-202 (1990).
- 35) Bianchi, L., Ohacker, H. & Zimmerli-Ning, M.: Liver damage in heatstroke and its regression. *Hum. Pathol.*, **3**, 237-248 (1972).
- 36) Vesica, F. G. & Peck, O. C.: Liver disease from heat stroke. *Gastroenterology*, **43**, 340-343 (1962).
- 37) Shapiro, Y. & Cristal, N.: Hyperthermia and heat stroke effects on acid-base balance blood electrolytes and hepatorenal function. In J. R. S. Hales & D. A. B. Richards (eds.), *Heat Stress: Physical Exertion and Environment*, 1st ed. p289-296, Elsevier Science Publishers B. V. (Biomedical Division), London, 1987.
- 38) Kew, M. C., Minick, O. T., Bahu, R. M., Stein, R. J. & Kent, G.: Ultrastructural changes in the liver in heatstroke. *Am. J. Pathol.*, **90**, 609-618 (1978).
- 39) Collins, F. G., Mitros, F. A. & Skibba, J. L.: Effect of palmitate on hepatic biosynthetic functions at hyperthermic temperature. *Metabolism*, **29**, 524-531 (1980).
- 40) Wills, E. J., Findlay, J. M. & Mcmanus, J. P. S.: Effects of hyperthermia therapy on the liver. *J. Clin. Pathol.*, **29**, 1-10 (1976).
- 41) Dwivedi, R. S., Dwivedi, U. & Chiang, B.: Low intensity microwave radiation effects on the ultrastructure of Chang liver cells. *Exp. Cell Res.*, **180**, 253-265 (1989).
- 42) Mori, W., Aoki, N. & Shiga, J.: Acute hepatic cell necrosis experimentally produced by viral agents in rabbits. *Am. J. Pathol.*, **103**, 31-38 (1981).
- 43) 中田勝次, 芝山雄老, 黒川彰夫: 肝臓の微小循環-循環生理学と病理形態学との関連. *肝臓学の進歩*, **6**, 1, 1980.
- 44) Slater, T. F.: The role of lipid peroxidation in liver injury. D. Keppler (ed.), *Pathogenesis and Mechanism of Liver Cell Necrosis*, 1st ed. p209, Univ. Park Press, Baltimore, 1975.
- 45) 高野 明: 肝細胞の空胞変性の形態発生について. *肝臓*, **22**, 1645-1653 (1981).
- 46) Brauer, R. W., Balam, R. W., Bond, H. E., Carroll, H. W., Grisham, J. W. & Pessotti, R. L.: Reversible and irreversible changes in liver at temperature approaching critical upper level. *Feb. Proc.*, **22**, 724-728 (1963).
- 47) Frankel, H. M., Ellis, J. P. & Cain, S. M.: Development of tissue hypoxia during progressive hyperthermia in dogs. *Am. J. Physiol.*, **205**, 733-737 (1963).
- 48) Frascella, D. & Frankel, H. M.: Liver pyridine nucleotides, lactate, and pyruvate in hyperthermic rats. *Am. J. Physiol.*, **217**, 207-209 (1963).
- 49) Wike-Hooley, J. L., Faithfull, N. S., Zee, J. & Berg, A. P.: Liver damage and extraction of indocyanine green under whole body hyperthermia. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **51**, 269-279 (1983).
- 50) Lees, D. E., Kim, Y. D., Dubois, M., BuLL, J. M., Smith, R., Schuette, W. H. & Macnamara, T. E.: Internal organ hypoxia during hyperthermic cancer therapy in humans. *Natl. Cancer Inst. Monoger.*, **61**, 399-400 (1982).
- 51) Burger, F. J. & Fuhrman, F. A.: Evidence of injury to tissues after hyperthermia. *Am. J. Physiol.*, **206**, 1062-1064 (1964).
- 52) Waeg, G., Burman, P., Groth, T., Loof, L., Niklasson, F. & Verdier, C. H.: Models of purine metabolism as a means to assess liver function. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **44** (suppl. 171), 211-223 (1984).
- 53) Parks, D. A. & Granger, D. N.: Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiol. Scand. [Suppl.]*, **548**, 87-99 (1986).
- 54) Pritchard, J. B., Chavez-Peon, F. & Berlin, R. D.: Purines: supply by liver to tissues. *Am. J. Physiol.*, **219**, 1263-1268 (1970).
- 55) Hernandez-Munoz, R., Glender, W., Diaz-Munoz, M., Suarez, J., Lozano, J. & Sanchez, V. C.: Alterations of ATP levels and of energy parameters in the blood of alcoholic and nonalcoholic patients with liver damage. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **15**, 500-503 (1991).
- 56) Iriyama, K., Iwamoto, T., Yoshiura, M., Nitta, K. & Ueda, N.: Liquid chromatographic determination of uric acid in hepatoma. *Jikeikai Med. J.*, **32**, 673-679 (1985).
- 57) Atkinson, D. E.: The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. *Biochemistry*, **7**, 4030-4034 (1968).
- 58) Wynants, J. & Belle, H. V.: Single-run high-performance liquid chromatography of nucleotides, nucleosides, and major purine bases and its application to different tissue extracts. *Anal. Biochem.*, **144**, 258-266 (1985).
- 59) Roy, R. S. & McCord, J. M.: Superoxide and ischemia: conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. In R. A. Greenwald & G. Cohen (eds.), *Oxy Radicals and Their Scavenger System, Volume II: Cellular and Molecular Aspects*, 1st ed. p145-153, Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York, 1983.

The Effects of Microwave Exposure on the Occurrence of Cell Injury Junko Tomimatsu, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 — J. Juzen Med Soc., 101, 291 — 304 (1992)

Key words microwave, cell injury, xanthine oxidase, rat

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the effects of whole-body microwave exposure on cell injury. Rats were exposed to microwaves with a frequency of 2450 MHz at power densities of 5 and 15 mW/cm² for 1 hour and 10 mW/cm² for 1, 2 and 3 hours. Rectal and liver temperature after each microwave exposure significantly increased as microwave intensity increased. At a power density of 10 mW/cm², rectal temperature significantly increased as the duration of the exposure extended. 24 hours after microwave exposure, glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT) and lactate dehydrogenase (LDH) increased and cholinesterase (ChE) decreased significantly. But soon after exposure there were no differences. A significant difference was observed in GOT, GPT and ChE levels between the group measured soon after and that measured 24 hours after microwave exposure, but only at the power density of 15 mW/cm². The histological changes in the liver 24 hours after microwave exposure for 1 hour at a power density of 15 mW/cm² were vacuolar degeneration of hepatocytes, along with dilatation and congestion of the central veins and central sinusoids, destruction of the collagen fiber network and a decrease in glycogen granules of hepatocytes in the central lobular region in the group with a mild increase of hepatic enzymes. In the group with a marked increase of hepatic enzymes, destruction of hepatic cord, inflammatory cells, coagulation necrosis, rupture and decrease in collagen fiber, and a substantial decrease in glycogen granules in all areas were observed. Electron microscopic examination revealed destruction of membranes of intracellular organelles, histiocytes and inflammatory cells, destruction of nuclear chromatin, non-uniform size of mitochondria and destruction of cristae. Soon after microwave exposure for 1 hour at the power density of 15 mW/cm², plasma levels of hypoxanthine (HYP), xanthine (XAN) and uric acid (UA) and tissue levels of HYP and UA increased significantly. The tissue level of adenosine triphosphate (ATP) decreased significantly and that of adenosine monophosphate (AMP) increased significantly. Results showed that the increase in UA after microwave exposure is not a type of stress response but is due to the progressive response from ATP to ADP, AMP, HYP, XAN and UA. The histological changes suggest circulatory failure of the liver, inducing a decline in ATP synthesis and activation of the xanthine oxidase system, which result in the production of superoxide anion. It seems likely that the latter is associated with cell injury of hepatocytes after microwave exposure.