

結論として、第3群(オゾン水)の動物では、第1群(蒸留水)、第2群(イソジンガーグル)の動物と比較して創傷の治癒が促進されていることが病理組織学的に認められた。また、組織形態計測学的においても創傷部の面積および炎症性細胞浸潤の数の減少がみられた。この結果から、オゾンの口腔粘膜上皮に対する為害作用がほとんど無く、さらに口腔内の殺菌感染を抑制する効果が著しいことを示唆していると演者らは考えているが、さらにオゾンの創傷治癒時に現れる細胞に対する影響に関する研究が望まれるとしている。

質問、討議は大変活潑であった。要約すると、治癒のメカニズム、4ppmオゾン水による気道へのオゾンガスの影響(オゾン化油が良いのではないかの意見)、口腔外科手術への適応(止血効果)等々があった。一番の問題点はいかに大学の倫理委員会をパスするかである。少なくとも実際のヒトへの治療研究は大学では出来ず、開業医の協力でのみヒトの治療にあたっているという状況下にある。演者らは動物実験を重ねて、この倫理委員会を通る努力をしており、今後を期待する。(筑波物質情報研究所 神力就子)

文献抄録

オゾンの生物学的影響に関する研究 第8報 体内全抗酸化状態とインターロイキン8産生における効果

Studies on the Biological Effects of Ozone: 8.

Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production.

V. Bocci, G. Valacchi, F. Corradeschi and G. Fanetti*

Mediators of Inflammation, 7, 313-317 (1998)

Institute of General Physiology, University of Siena, Siena

*Blood Bank-Azienda Ospedaliera Senese, Siena, Italy

摂南大学薬学部 中室 克彦、坂崎 文俊

要旨 オゾンは強力な酸化活性によって気管支に障害をもたらすが、一方では治療法として40年間にわたって用いられてきた。オゾンの消毒作用についてはよく知られているが、ヒトの血液におけるオゾンの生物学的効果についてはよく分かっていない。血漿や細胞は強力な抗酸化機構を有するため、かなり広範囲のオゾン濃度(血液1gあたりオゾン濃度40~80 μ g/m使用)が効果的で、かつ無害であることが分かっている。血液のオゾン処理後、生体内の全ての抗酸化状態(total antioxidant status: TAS)と血漿中のタンパク質チオール基(protein thiol groups: PTG)がそれぞれ20%および25%減少した。一方、過酸化脂質の量を表すチオバルビツール酸反応基質(thio-barbituric acid reactive substance: TBARS)は5倍にまで増加した。溶血の増大は無視できる程度で、赤血球は抗酸化機構によって守られていることが示唆された。オゾン量とIL-8産生量の間には明確な相関が認められた。これはオゾンが分解するときの副産物である過酸化水素がサイトカイン産生を誘導すると考えられる。

キーワード: オゾン、血漿の酸化、抗酸化物、タンパク質チオール基、インターロイキン-8

背景 自家血液オゾン療法は1954年にWehrliとSteinbartによって初めて記述された相補的医療であり、様々な病態の何万人もの患者に適用され、効果を上げている。使い捨ての自家輸血用ガラス瓶に血液をとり、オゾン濃度4%ほどのオゾン/酸素混合ガスに曝露し、オゾンの無い状態にして体内に戻すものである。自家血液オゾン療法の有効性を向上させ、毒性を低減化するため、オゾンの治療上の適用法を正確に定義することが必要である。

オゾンは非常に反応性に富んだ物質であるため、仮に血漿中に抗酸化能力がなければオゾンによって細胞が障害を受けるだろう。動物の血漿中には可溶性物質やタンパク質チオール基および3種の重要な酵素などが抗酸化機構を構成し、酸化性物質から細胞を守っていることがよく知られている。この論文では血液がオゾンに曝露されたときに生じる変化について把握するために、重要な生化学的指標であるTAS、PTG、TBARSを測定した。これまでの報告ではオゾンがIFN- γ とTNF- α を誘導することをすでに示しているが、今回はオゾンによるIL-8の誘導産生について検討した。

実験方法

血液：血液はシエナ大学血液銀行にて22～63歳の健康な男性から採取し、抗凝固剤には30 U/mL カルシヘパリン (Calciheparin) を用い、1時間以内に実験に共した。血液を約5 mLづつ4つに分取し、一つは無処理、残りは医療用酸素、オゾン濃度40 µg/mLおよび80 µg/mLのオゾン/酸素混合気体の曝露に用いられた。血液と同じ容量の試料気体を注射筒に入れ、縦方向に毎分80回転の速さで回転させることにより、泡を立てずに効率よく混合した。1分後、血液を取り出し、以下の測定用試料とした。

生化学的検査：TAS、PTG、TBARS、溶血の測定は、いずれも既存の論文に従って操作した。

サイトカインの定量：試料にグルコース溶液を加えてグルコースの最終濃度を8～9 mMに調節した後、5% CO₂条件下で8時間培養した。培養後遠心分離し、得られた血漿を-70℃で保存した。サイトカインの測定には市販のキット (Cytoscreen immunoassay kits (Biosource Intern.)) を用いた。

結果

オゾン/酸素混合気体曝露後、1分以内に全抗酸化状態(TAS)の減少は最小限に抑えられた。全血液中のTASは速やかに回復したが、血漿中のTASは回復しなかった。これはオゾンの作用によって血漿では過酸化水素が生成するためであり、また、全血液中においてはほとんど生成しなかったという過去の結果と一致する。

TASとタンパク質チオール基 (PTG)はオゾンの曝露により減少したが、最高用量 (血液1 gあたり80 µg O₃/mL)においても、それぞれ20%および25%の減少を認めるにすぎなかった。逆に、血漿中過酸化脂質の指標であるTBARSおよびヘモグロビンは増大した。しかし、ヘモグロビンはわずかであった。オゾン化した血液を培養するとIL-8の産生が誘導された。これに対し、IFN- γ とIL-4はほとんど産生されなかった。

考察

オゾン療法においては、処離に使用するオゾン濃度を正確に把握しなければならない。これは最新のオゾン発生器であれば可能である。オゾンは少なすぎると効果が無く、多すぎると毒性が発現するため、血液中TASやTPGをモニターすることがよい。これまでの結果ではヒトの血液に対するオゾンの処理の許容濃度範囲は、血液1gあたり30～80 µg O₃/mLであった。

オゾンの一過性の曝露によってIL-8の産生が誘導された。おそらく細胞内外において過酸化水素が生成し、これが細胞内NF- κ Bが酸化的に活性化されることによってIL-8が誘導産生されることが考えられる。IL-8は白血球を循環系から組織へ誘導する重要なサイトカインとして知られている。オゾンがヒトの気管支で作用すれば、IL-8により炎症性細胞が気道内腔に誘導されて有害となり、一方、オゾン化した血液を患者に再注入することは慢性ウイルス患者にとって有効な免疫賦活剤となる。オゾンが体内においてもIL-8の産生を誘導するかは現在のところ不明である。自家血液オゾン療法は副作用を起こしていない。また、今回の実験で、溶血が無視できるほどしか起こらなかったことは重要である。

オゾン療法は経験的な相補療法であり、今回の実験によって、オゾン療法が信頼に足る効果的な処置となり得ることを示した。

用語解説 IL-8：感染や組織損傷によって誘導されるサイトカインの一種。血管内の白血球を病巣に呼び寄せ、活性化させる。炎症が慢性化してIL-8が無制限に生産されれば、白血球が大量に集合して周辺組織が破壊される。

文献抄録

オゾンの生物学的影響に関する研究：第11報

ヒト内皮細胞からの因子の放出

Studies on the Biological Effects of Ozone: 11.

Release of factors from human endothelial cells

Giuseppe Valacchi and Velio Bocci

Mediators of Inflammation, 9 (6), 271-276 (2000)

Institute of General Physiology, University of Siena, Italy

相模女子大学 伊藤順子