

および血管の外壁を通じてオゾンが拡散した後、血管外壁に作用したオゾンが何らかの二次生成物を介して血管壁中のNO産生を促進する結果^{3,4)}、血管拡張を起こし血流が良くなったことから、頭部体表面温度の上昇に寄与したことが考えられた。

5. 引用文献

- 1) 日本医療・環境オゾン研究会；ヨーロッパにおける最新のオゾン療法. 医療・環境オゾン研究, 増刊2号, 2002.
Viebahn-Haensler, R. : THE USE OF OZONE IN MEDICINE, 3rd English edition, 1999.
- 2) Vocci, V. : Ozone as a bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozonotherapy today, J. Biol. Regul. Homeost. Agents, 10, 31-53 (1996).
- 3) Ballejo, G., Barbosa, T. A., Coelho, E.B., Antoniali, C. and Salgado, M. C. O. : Pregnancy-associated increase in rat systemic arteries endothelial nitric oxide production diminishes vasoconstrictor but does not enhance vasodilator responses. Life Sciences, 70, 3131-3142 (2002).
- 4) 下川宏明：内皮由来弛緩因子としてのNOと過酸化水素の重要性. 第122年会日本薬学会講演要旨集, 1, p 152 (2002).

文献抄録

オゾンの生物学的影響に関する研究 第10報 オゾン化したヒト血小板からの各種因子の放出

G. Valacchi and V. Bocci

Studies on the Biological Effects of Ozone : 10.

Release of factors from ozonated human platelets.

Mediators of Inflammation, 8, 205-209 (1999)

Institute of General Physiology, University of Siena, Siena, Italy

摂南大学薬学部 中室 克彦、坂崎 文俊

要旨 著者らは、すでにヘパリンを用いて抗凝血処理をするとオゾンの存在下で血小板の凝集が起こるが、クエン酸を用いてカルシウムをキレート化すると血小板の凝集はほとんど起こらないことを示した。これらの結果より、血小板の凝集が、血小板内容物の放出を促進しているのではないかと考え本研究を行った。著者らはオゾン処理した血小板試料から、血小板由来成長因子(PDGF)、形質転換成長因子(TGF- β 1)、およびインターロイキン8(IL-8)が有意に放出されていることを示した。この事実は、慢性下肢虚血患者に自家血液オゾン療法を適用した場合、遅鈍性潰瘍の治癒が促進されることを説明しうることを示した。

キーワード：ヒト血小板、成長因子、ヘパリン、クエン酸、凝血

1. はじめに

オゾンは血小板の凝集を引き起こす。これは特に抗凝血剤としてヘパリンを用いたときに顕著である。これまでの結果において、活性酸素が血小板を活性化することを考えれば不思議ではない。これに対して、カルシウムをクエン酸でキレート化すると血小板の凝集は顕著に抑制された。最適な抗凝血剤を選定することが自家血液オゾン療法を行う上で重要である。血小板はPDGF、TGF- β 1、エイコサノイド、IL-8などの成長因子を分泌することが知られている。PDGFやTGF- β 1は創傷の治癒を促進する。もし自家血液オゾン療法において再注入される血小板が、これらの放出を増加しているとすれば、慢性の下肢虚血における遅鈍性潰瘍の治癒が促進される機構を説明できることが考えられる。以上の仮説を証明する目的で、著者らはヘパリンとクエン酸を血液に添加した場合における血小板の各種成長因子の放出の相違を検討した。

2. 方法

23～27歳の、健康で、過去2週間以内に血小板を活性化する薬品を使用していない、さらに喫煙していない

ボランティアを対象とした。12時間絶食の後、60 mL採血した。200×gで20分、遠心分離し、上清をさらに6000×gで15分間、遠心分離することにより、血小板を含む沈殿画分と血小板を含まない血漿とに分離した。既知量のオゾン/酸素混合ガスを注射筒にとり、等容の試料を入れた別の注射筒にY字型コネクターを介して注入し、穏やかに30秒間混合した。オゾンが消失した血漿を試験溶液とした。

3. 結果

血小板試料と反応させるオゾン濃度が高くなるにつれてタンパク質のチオール基は減少し、チオバルビツール酸反応物 (TBARS) は増加した。特にタンパク質のチオール基の減少はヘパリン処理した試料の方がクエン酸処理した試料よりも著しいことを示した。そのため、活性酸素種の働きには、生理的な濃度のカルシウムの存在が良いことが示唆された。PDGF、TGF- β 1およびIL-8はオゾン曝露によって血小板からの放出が促進され、特にヘパリン処理した場合は、クエン酸処理した場合に比較して有意に高いことを示した。IL-8の放出はオゾン曝露後4時間後にはのみ増大が見られた。また、トロンボキサンB2 (TXB2)に関しては、ヘパリンとクエン酸の差はなく、オゾン処理後、両者が同様に増加することが認められた。

4. 考察

ヘパリンあるいはクエン酸のいずれかが抗凝血剤として適しているかという問題は、最も重要なことであるにもかかわらず今まで明らかにされていなかった。前報の第9報で示したごとく、ヘパリンを使用するとオゾン曝露の際に血小板が凝集し、クエン酸を使用すると血小板は凝集しないことをすでに報告している。著者らはヘパリン処理の場合に起こる血小板凝集によって、血小板からの内容物が放出され、治療上有効に働いているのではないかと考えた。

著者らは、ヘパリン処理した血小板試料をオゾンに曝露したときに、治療上重要な二つの物質、PDGFおよびTGF- β 1が顕著に増加することを示した。この現象が生体内においても同様に起こるならば、オゾンを曝露した血液をヒトへ再注入することによって、壊死した潰瘍を治療することに有効であることが考えられた。しかし、この条件では血小板が凝集するので、注意が必要であることが判明した。しかし、オゾン濃度が40 μ g/mLのときは、この血液の凝集も抑えられ、重要な成長因子の放出も起こることを認めた。そのため、このオゾン濃度40 μ g/mLが最適な濃度であることが考えられた。

IL-8の放出がPDGFおよびTGF- β 1よりわずかに遅れるのは、合成に時間を要するためであることが考えられる。オゾンによるIL-8の誘導は、細胞内で一過的に過酸化水素が上昇することによって起こり、これは活性酸素種スクャベンジャーによって阻害される。IL-8は白血球を循環系から組織に移動するので、遅鈍性潰瘍における壊死組織の食作用に付加的な作用をしているかもしれない。

トロンボキサンB2の放出はあまり良くない現象であるが、血管拡張作用や抗凝血作用を有するプロスタグランジンE2やプロスタサイクリン、一酸化窒素を調べる必要がある (註 日本医療・環境オゾン研究会会報 Vol.9, No.2で紹介)。これらの結果より、抗凝血剤としてはヘパリンが、クエン酸よりも適切であり、オゾン濃度は40 μ g/mLが効果的であることが考えられた。

語句解説

PDGF: Platelet Derived Growth Factor (血小板由来増殖因子); 組織の損傷や修復の際に広く発現し、細胞の増殖を亢進し創傷治癒を促進することが知られている。胚形成、炎症性の反応、結合組織の沈着を伴う疾患の際にも発現される。

グリア細胞、線維芽細胞、平滑筋細胞などの増殖を促進すると考えられている。

TGF- β : Transforming Growth Factor- β (形質転換増殖因子); コラーゲン、オステオポンチン、フィブロネクチンなどの細胞外マトリックスの産生を有意に増加させ、組織再生に促進的に働くものと考えられている。

トロンボキサンB2: Thromboxane B2; トロンボキサンはアラキドン酸のようなエイコサポリエン酸から動物組織で合成される生理活性物質の1つ。トロンボキサンA2は血小板凝集、動脈収縮、気管支収縮という強力な生物活性を有するが、トロンボキサンB2は著明な生理活性は見いだされていない。トロンボキサンA2は不安定で容易にトロンボキサンB2に分解される。

プロスタグランジンE2: Prostaglandin E2; アラキドン酸のようなエイコサポリエン酸から動物組織で合成される一群の生理活性物質。プロスタグランジンE2には血圧降下、血管拡張、胃液分泌抑制、腸管運動亢進、子宮収縮、利尿、気管支拡張などの生物活性がある。

プロスタサイクリン: Prostacyclin; プロスタグランジンI2を指す。血管を拡張し、血圧を下げる。血小板の凝集を起こす。また、胃液分泌抑制などの生物活性を有する。