

## 文献抄録

## Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship

## ヒトの血液に作用するオゾンのホルミシス的な用量反応関係 (その5)

Velio A Bocci, Iacopo Zanardi and Valter Travagli

Journal of Translational Medicine 2011, 9:66

<http://www.translational-medicine.com/content/9/1/66>

大阪大谷大学薬学部 坂崎文俊、摂南大学理工学部 中室克彦

一般にオゾンは酸化ストレスを誘起する物質として知られているが、近年オゾン療法の作用機構として、低用量のオゾンが酸化ストレスに対する防御系を活性化して酸化ストレスを低減するという仮説が提案されている。この様な仮説についてまとめた総説が出版されたので、数回にわたって紹介する。

## 1. 酸化ストレス関連疾患におけるオゾン療法

メタボリックシンドロームは西洋諸国の最も深刻な疾患の1つであり、さまざまな代謝の変質によって2型糖尿病、高コレステロール血症、アテローム性動脈硬化症、腎機能不全のような様々な疾患を生じるが、これらの疾患に共通するのは慢性的酸化ストレスが憎悪因子になっていることである。糖尿病患者、特に下肢潰瘍のある患者の場合は深刻で、今日、彼らは悲観的な気持ちになっている。なぜなら、さまざまな治療を行って末梢虚血、神経障害、感染性皮膚障害を克服する必要があるからである。

15  $\mu\text{g}/\text{mL}$  から 35~50  $\mu\text{g O}_3/\text{mL}$  血液のオゾン濃度を用いるオゾン自家血液療法は、血液の抗酸化力 (TAS) が低値の患者に対しても安全であり、特に末梢動脈疾患 (PAD) に有効である<sup>49,80~85</sup>。異なる病院で実施された幾つかの臨床研究からは、オゾンは PAD に対して逆 U 字の用量反応関係で作用しているように考えられる。ただし、生体の複雑性に加えて、有効性の評価がしばしば特異的であったり、相対的評価であったりするため、用量反応関係に関する研究から有益な作用を示すオゾン用量を決めるのは難しい。このため、自家血液オゾン療法を実施するには幾つかの注意すべき点がある。これは、Leriche-Fontaine 分類による末梢動脈疾患の第 II、III、IV ステージの患者に対して自家血液オゾン療法を行うときは特に当てはまる<sup>86</sup>。第一は、それぞれの臨床医が使用しているオゾン量の信頼性である。そして第二は、オゾンが患者に対して示す活性を、培養細胞を用いる実験での一つの物質 (例えばヒ素<sup>76</sup>) とホモシステイン<sup>77</sup>) の変動などからは比較・評価できないことである。なぜなら、すでに明らかになっているように、オゾンの作用を担うメッセンジャー分子は活性酸素である  $\text{H}_2\text{O}_2$  や脂質過酸化物のさまざまなアルデヒド類であり、これらの寿命や作用する細胞は異なっているからである。さらに、アルデヒド類は本質的に有毒であるので副作用の原因にもなる。加えて、各々の患者はそれぞれに既往症が有り、心理的および身体的反応性が異なるので、培養細胞を用いる実験からは患者に対するオゾンの活性を評価できないのである。それゆえ、オゾン投与量が 0.42~0.84  $\mu\text{mol}/\text{mL}$  の場合は、0.84~1.68  $\mu\text{mol}/\text{mL}$  の場合よりもアルデヒド生成量は少ないので、副作用が現れる可能性は低い。一方、抗酸化力の低い患者はオゾンに対する感受性が高いため、オゾン療法後に深い倦怠感のような副作用を生じやすいことに注意しなければならない。また、整形外科疾患あるいは自己免疫疾患などの疾患の違いに応じて達成すべき薬理的反応が異なることにも注意する必要がある。自己免疫疾患に対しては、どの程度のオゾン投与量が T 細胞をその調節レベルまで増加させたり、活性化するかはまだ分かっていない。したがって、現段階でオゾンの用量反応関係に関する逆 U 字曲線が適用できるのは PAD だけであり、心筋梗塞や慢性心臓病に対するオゾンの用量反応関係は今後の臨床試験で明らかにしなければならない。ただし、Martinez-Sanchez らは U 形理論曲線がオゾン治療の結果<sup>87</sup>) に合致すると報告した。

血液のオゾン化は、たとえ治療的な濃度が 2、3 分間持続するだけでも、常に計算された量の急性の酸化ストレスとして働くことができる。患者に決して害を与えずに、炎症や退行性疾患に関与する慢性的酸化ストレスに対する適応力をオゾン療法によって適切に誘導するためには、「start low-go slow (低用量で始め、ゆっくり進める)」戦略が鉄則である。<sup>88</sup> この黄金則に従えば、オゾン量を段階的に増加させることによって、最終的には治療効果の得られるオゾン量を知ることができる。

一方、医学グレードの酸素・オゾン混合ガスで血液をオゾン化した場合、血液という液性組織は、他の組織と比べようもないほど多くの抗酸化成分を含有しているため、オゾンの酸化力を制御し、オゾンと血液成分が反応して生じる二次生成物も制御することができる。したがって、末梢動脈疾患に対して確立された濃度範囲（自家血液 1 mL あたり 0.42~1.68  $\mu\text{mol/mL}$ ）でオゾンが適切に使用されるならば、プロスタサイクリン類似物質による現在の治療法よりも、高い治療効果が得られるであろう。

さらに、PAD に付随する下肢潰瘍などの問題に関しては、オゾン水やさまざまなオゾン化植物油のようなオゾン派生物を使用して完全に治癒できる<sup>89, 90)</sup>。心筋梗塞、心不全および末梢動脈疾患が死因および障害の原因の多くを占めているので、先進国の公立病院でオゾン療法を行うことが可能になれば、オゾン療法が広範囲に利用される治療法となることが可能になる。さらに、感染性および自己免疫性の糸球体腎炎および血液透析が必要となる腎不全の最終ステージでは、程度の差はあれ、酸化ストレスと抗酸化機構とのバランスの崩れが関係していることに疑いが無いので、<sup>91)</sup> オゾン療法の効果が期待できる。

またさらに、腎臓は肝臓と違って再生能力が無いことが「腎障害は、特異的な治療法が無いため、容赦なく進行し、最終ステージに至る」<sup>92)</sup> 原因の 1 つになっている。重要なもう 1 つの原因は、今日に至るまで腎臓疾患に対して酸化ストレスを減少させる有効な戦略が利用できないということである。オゾン治療は、慢性的な酸化ストレスを緩和するのみならず、ある種の治療効果を示す未知の仕組みをも刺激するかもしれない<sup>9, 93)</sup>。したがって、従来の治療法と緩和な自家血液オゾン療法を組み合わせることにより、初期の腎障害が慢性疾患に進行するリスクを防ぐと考えるのは、合理的といえよう。

キューバ、ロシアおよびウクライナなどとともに幾つかの国では、オゾンによる処置がすでに現実に行われている。しかし、使用方法は異なっている。たとえば、オゾン化食塩水やオゾンの直腸注入が安価で、しかも毎日何千人もの患者に適用できる方法として行われている<sup>94)</sup>。酸化ストレス関連疾患の患者に適切なオゾン関連療法が、あらゆる公立病院で実行されるようになることが望まれる。

## 2. まとめ

過去 20 年間にオゾンの相反する挙動が明らかになってきた。オゾンの慢性的吸入は呼吸器系に非常に有毒である。その理由は、十分な抗酸化物質で保護されていない広い肺胞表面が累積的にオゾンに曝露され、慢性炎症を引き起こすからである。酸素<sup>95)</sup>、グルコース、尿酸ですら濃度が変動すると有害であることを考えれば、これは驚くべきことではない。

一方、オゾン療法は心血管疾患に対して安全で、経済的で、効果的な治療法である。その作用機構は以下のような生物学的反応に基づく<sup>26)</sup>。

- NO、CO および赤血球内 2,3-DPG 濃度を増加させ、虚血組織への血液循環と酸素の運搬を改善する。
- 酸素運搬の改善により、一般的な代謝を促進する。
- 細胞の抗酸化酵素を増加させ、HO-1 (hemoxygenase-1) と HSP-70 (heart shock protein-70) を誘導する。
- 免疫系を穏やかに活性化し、血小板からの成長因子の放出も促進する。
- 大部分の患者で驚くべき健康をもたらすが、これはおそらくオゾンが神経内分泌系を刺激するからである。

ただし、オゾン用量は患者の血漿の抗酸化能力に応じて調整する必要がある。そうでなければ、「start low-go slow (低用量で始め、ゆっくり進める)」戦略を用い、処置ごとに患者の主観的な気分を確認しなければならない。オゾン化血液に存在する、ある種のメッセンジャー分子が患者の骨髄に存在するスーパー赤血球 (23-DPG と抗酸化酵素を多く含む) の放出を刺激できるかどうかはまだ明らかになっていないものの、PAD に関して行われた臨床試験結果を評価すると、治療開始の極く初期には患者血液中の抗酸化成分の作用によって効果は現れないが、その後に見える PAD に対する効果には、オゾンの用量反応関係として、逆 U 字型ホルミシスモデルを想定することができるようになってきた。また、オゾンによって体外血液に誘起される穏やかな一過性の酸化ストレスは、熱ストレスや寒冷ストレス、一過性の虚血、その他の化学的刺激や運動などの穏やかなストレスと同様に、一種の「事前調整応答 (preconditioning response)」として作用し、しばしば「過補償刺激ホルミシス」の範囲内で細胞の修復力と防御能力の増強をもたらす。この新しい効果は、NO、CO、H<sub>2</sub>S、N<sub>2</sub>O および H<sub>2</sub> のようなガスを注意深く使用することによって、これらを医薬品として利用できる<sup>68)</sup> ということが最近になって広く認識されるようになってきた。このような新しい効果を示すオゾンも、間もな

く、これらの医療用ガスのカテゴリーに含まれることになるだろう。

オゾンが血漿に溶解した後に生じる基本的な機能の一つは、陽子と電子の交換を加速することであり、簡単に言えば、体全体の代謝を再活性化することである。このようにして、異常をきたした生物学的機能をオゾンが回復させるので、オゾンは生物学的応答の修飾因子でもあり、抗酸化誘導剤でもあるということが出来る。

この論文によって臨床科学者が心血管障害、腎障害、糖尿病に対するオゾン療法の効果に興味を持ち、実験研究成果が臨床に活かされることが期待される。

### 3. 引用文献

- 9) Demirbag S, Uysal B, Guven A, Cayci T, Ozler M, Ozcan A, Kaldirim U, Surer I, Korkmaz A (2010) Effects of medical ozone therapy on acetaminophen induce nephrotoxicity in rats. *Ren Fail*, 32(4):493-497.
- 17) Calabrese EJ, Baldwin LA: Defining hormesis. (2002) *Hum Exp Toxicol*, 21(2):91-97.
- 26) Bocci V (2011) *Ozone. A new medical drug* Dordrecht, The Netherlands: Springer.
- 43) Rokitanski O, Rokitanski A, Steiner J, Trubel W, Viebahn R, Washüttl J (1981) Di ozontherapie bei peripheren, arteriellen Durchblutungs-strörungen; klinik biochemische und blutgasanalytische untersuchungen. Wasser IOA Ozon Weltkongress: Berlin, 53-75.
- 68) Nakao A, Sugimoto R, Billiar TR (2009) McCurry KR: Therapeutic antioxidant medical gas. *J Clin Biochem Nutr*, 44(1):1-13.
- 76) Meng Z (1993) Effects of arsenic on DNA synthesis in human lymphocytes. *Arch Environ Contam Toxicol*, 25(4):525-528.
- 77) Tang L, Mamotte CD, Van Bockxmeer FM, Taylor RR (1998) The effect o homocysteine on DNA synthesis in cultured human vascular smooth muscle. *Atherosclerosis*, 136(1):169-173.
- 80) Matassi R, D'Angelo F, Bisetti P, Colombo R, Vaghi M: Terapia con ozon per via parenterale nelle arteriopatie obliteranti periferiche: Meccanism biochimico e risultati clinici. *Il Giornale di Chirurgia* 1987, VIII:109-111.
- 81) Hernández F, Menéndez S, Wong R (1995) Decrease of blood cholesterol an stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. *Free Radic Biol Med*, 19(1):115-119.
- 82) Di Paolo N, Bocci V, Garosi G, Borrelli E, Bravi A, Bruci A, Aldinucci C, Capotondo L (2000) Extracorporeal blood oxygenation and ozonation (EBOO in man. Preliminary report. *Int J Artif Organs*, 23(2):131-41.
- 83) Biedunkiewicz B, Tylicki L, Nieweglowski T, Burakowski S, Rutkowski B (2004) Clinical efficacy of ozonated autohemotherapy in hemodialyzed patient with intermittent claudication: An oxygen-controlled study. *Int J Arti Organs*, 27(1):29-34.
- 84) De Monte A, van der Zee H, Bocci V (2005) Major ozonated autohemotherapy i chronic limb ischemia with ulcerations. *J Altern Complement Med*, 11(2):363-367.
85. Di Paolo N, Bocci V, Salvo DP, Palasciano G, Biagioli M, Meini S, Galli F, Ciari I, Maccari F, Cappelletti F, Di Paolo M, Gaggiotti E (2005) Extracorporea blood oxygenation and ozonation (EBOO): a controlled trial in patient with peripheral artery disease. *Int J Artif Organs*, 28(10):1039-1050.
- 86) Bocci V, Zanardi I, Travagli V: Ozone (2011) A New Therapeutic Agent i Vascular Diseases. *Am J Cardiovasc Drugs*, 11(2):73-82.
- 87) Martínez-Sánchez G, Pérez-Davison G, Re L, Giuliani A (2011) Ozone as U-shape dose responses molecules (Hormetins). *Dose Response*, 9(1):32-49.
- 88) Bocci V, Zanardi I, Huijberts MSP, Travagli V (2011) Diabetes and chronic oxidative stress. A perspective based on the possible usefulness of ozone therapy. *Diab Met Syndr: Clin Res Rev*, 5(1):45-49.
- 89) Travagli V, Zanardi I, Valacchi G, Bocci V (2010) Ozone and ozonated oils in ski diseases: a review. *Mediators Inflamm*, 2010:610418.

- 90) Valacchi G, Lim Y, Belmonte G, Miracco C, Zanardi I, Bocci V, Travagli V (2011) Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair Regen*, 19(1):107-115.
- 91) Galli F (2007) Protein damage and inflammation in uraemia and dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 22(suppl 5):v20-36.
- 92) Ruggenti P, Schieppati A, Remuzzi G (2001) Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet*, 357(9268):1601-1608.
- 93) Calunga JL, Trujillo Y, Menéndez S, Zamora Z, Alonso Y, Merino N, Montero T (2009) Ozone oxidative post-conditioning in acute renal failure. *Pharm Pharmacol*, 61(2):221-227.
- 94) Bocci V, Zanardi I, Michaeli D, Travagli V (2009) Mechanisms of action and chemical-biological interactions between ozone and body compartments: a critical appraisal of the different administration routes. *Curr Drug Ther*, 4(3):159-173.
- 95) Grocott MP, Martin DS, Levett DZ, McMorrow R, Windsor J, Montgomery HE (2009) Caudwell Xtreme Everest Research Group: Arterial blood gases and oxygen content in climbers on Mount Everest. *N Engl J Med*, 360(2):140-149.

## 日本医療・環境オゾン学会会報に収載された研究報告、総説、解説のリスト

1994年10月に日本医療オゾン研究会会報 No1 が出版されてから20年が経過し、本号で通巻75号を数えるようになった。この機会に日本医療・環境オゾン学会会報(2012年1月改名)の現在に至る期間に掲載された研究報告、総説、解説についてまとめたのでオゾン利用の検索に有効に使用いただければ幸甚である。

今回は、合本1～合本3(Vol.1, No.1(通巻1号)からVol.11, No.4(通巻41))までのものを記載する。

### 合本1号(通巻No.1～No.20)

#### 研究報告

- 1) 小阪教由(1995) オゾン燻蒸殺菌装置による殺菌消毒、日本医療オゾン研究会会報、Vol.1, No.3, 3-4.
- 2) 村上 弘(1995) オゾンを利用した義歯洗浄器の開発、日本医療オゾン研究会会報、Vol.1, No.5, 2-3.
- 3) 大平美智男(1996) 紫外線・オゾンの併用による微生物管理の実例—病院環境、日本医療オゾン研究会会報、Vol.3, No.1, 3-4.
- 4) 緒方篤哉(1996) 牛の急性乳房炎に対するオゾン療法の応用と効果、日本医療オゾン研究会会報、Vol.3, No.2, 2-4.
- 5) 松野一彦、三浦敏明、神力就子(1996) オゾンの血小板凝集におよぼす影響、日本医療オゾン研究会会報、Vol.3, No.4, 1-3.
- 6) 松本みどり(1997) 医療衛生分野におけるオゾン水手洗い機の有効性、日本医療オゾン研究会会報、Vol.4, No.1, 2-3.
- 7) 福永健治(1997) オゾンの魚類に対する急性毒性の発現機構、日本医療オゾン研究会会報、Vol.4, No.2, 1-3.
- 8) 大泉 誠、鈴木哲也、古屋純一、岡本雄吾、石鍋 聡、内田光春(1997) 効率的な義歯洗浄法の開発、日本医療オゾン研究会会報、Vol.4, No.3, 1-3.
- 9) 山本克治、福永 栄(1997) オゾン水滅菌バリデーション、日本医療オゾン研究会会報、Vol.4, No.3, 4-6.
- 10) 小阪教由(1998) トラック荷室内の抗菌・脱臭の現状及びオゾンによる脱臭試験結果、日本医療オゾン研究会会報、Vol.5, No.2, 2-4.
- 11) 中室克彦(1998) 生体成分のオゾン処理と変異原性、日本医療オゾン研究会会報、Vol.5, No.3, 1-5.
- 12) 寺崎信広、福田茂夫、大塚浩通、田村啓二、吉野知男、小岩井照、緒方篤哉(1998) ウシにおけるオゾン化自家血液投与による免疫機能に対する効果、日本医療オゾン研究会会報、Vol.5, No.3, 6-10.
- 13) 上村元子(1998) 医療福祉施設における着用寝具の微生物汚染、日本医療オゾン研究会会報、Vol.5, No.4, 1-3.
- 14) 草刈眞一(1999) 農業におけるオゾンの利用(1)—オゾン殺菌効果とオゾンによる水稻種子などの殺菌—、日本医療オゾン研究会会報、Vol.6, No.1, 2-6.
- 15) 草刈眞一(1999) 農業におけるオゾンの利用(2)—オゾン水によるカイワレダイコン種子の殺菌—、日本医