

これはフミン質の酸化により微生物に代謝されやすい栄養分が生成するためである。オゾンを利用する現実の浄水場では、生物活性炭や緩速ろ過が後段に付けられ、各種の有害物質の酸化分解とそれに伴い副成する酸化生成物を微生物学的に取り除くシステムとなっている。

最近、紫外線殺菌、オゾン殺菌を組み込んだ24時間入浴可能な風呂が開発され、生活も大変便利になっている。しかし、特別老人施設の浴場で、レジオネラ菌が増殖し、呼吸器系に入った多数の方が感染し死亡者を出したこと、一般家庭でも鳥型結核菌が複数の幼児の皮膚に感染し、発疹を起こしていたとの新聞記事があった。紫外線やオゾンの殺菌部分で確実な殺菌が行われても、殺菌力が持続されないため、他の部分では細菌が増殖することになる。身体の汚れなどが湯とともに殺菌装置部に入り酸化され、微生物の利用できる栄養分に変化する。長期間

にわたって湯の交換を行わず循環利用すると、栄養分を生成する殺菌装置部と風呂の細菌増殖部が組み合わされた状態となって、培養液のように特定の細菌数が多くなっていったものと思われる。

酸化力の強いオゾンは、確かに食品工場などでの工程の殺菌、医療現場での局所的な殺菌などに十分利用することができる。しかし、最適注入量の設定、発生量の維持管理が必要である。また、食品の殺菌などでは、オゾンがガスとして均一に広がり表面全体に殺菌効果を示すものの、残留性がないため、殺菌包装後も、運搬、保存などでの注意が必要である。

現在、各種のオゾン発生器が生産販売されているが、間違えると大変な技術になってしまう。これら基礎的なオゾンの知識を生かし、人体への影響、安全性に配慮した正しい使い方で、我々の暮らしに役立たせて頂きたい。

## 文献抄録

### オゾンの生物学的影響に関する研究 第3報 サイトカイン誘導の最適条件決定の試み

Studies on Biological Effects of Ozone: 3. An Attempt to Define Conditions for Optimal Induction of Cytokines

Velio Bocci, \*Enrico Luzzi, \*Fausto Corradeschi, †Luana Paulesu, † and Anna di Stefano ‡

Lymphokine and Cytokine Research, 12, 121-126 (1993)

(Institute of General Physiology, \*Faculty of Pharmacy and Faculty of Biological Sciences, † and Department of Molecular Biology, ‡ University of Siena, 53100 Siena, Italy)

摂南大学薬学部 中室克彦、坂崎文俊

**要旨** オゾン自家血液療法において抗血液凝固剤として用いられるクエン酸-リン酸-デキストロース(CPD)は、Ca<sup>2+</sup>をキレート化し、単核球活性化とサイトカイン類分泌の抑制を起こすため、CPDの代替としてヘパリンを用いた場合のサイトカイン類の分泌に対する影響を検討した。

**キーワード:** オゾン、自家血液療法、ヘパリン、サイトカイン類

**背景:** オゾン自家血液療法は真菌性・ウイルス性疾患や腫瘍の治療法として行われており、その作用機構にはオゾンによる免疫活性化作用が提唱されている。ヒト血液を微量のオゾンに曝露すると単核球(リンパ球および単球)が活性化し、再び患者に戻された後も循環器系や組織、脾臓、リンパ節、骨髄、肝臓、肺といった臓器においてサイトカイン類の放出が持続すると考えられる。著者らは既に、オゾン処理した末梢血液単核球(PBMC)からサイトカイン類の1種であるインターフェロン(IFN)- $\gamma$ および腫瘍壊死因子(TNF)- $\alpha$ が分泌されることを報告した。サイトカインが誘導される際には、細胞外のCa<sup>2+</sup>が細胞膜を通過して単核球内に流入する現象が必須である。しかし、オゾン自家血液療法においては抗血液凝固剤としてクエン酸-リン酸-デキストロース(CPD)を用いて、Ca<sup>2+</sup>をキレート化する処理が行われるため、細胞外のCa<sup>2+</sup>が除かれ、単核球の活性化とサイトカイン類の分泌は抑制されることが予想される。そこで本研究ではCPDの代替としてヘパリンの使用を検討し、さらにCa<sup>2+</sup>添加時のサイトカイン類の分泌に対する影響を検討した。

**実験方法：**ボランティア（24～63歳の健康人）から静脈血を最大130 ml採取し、1 mlあたり0.14 mlのCPDあるいは20 Uのヘパリン（カルシウム塩）を添加した。任意量の $O_2/O_3$ 混合気体を5 ml注射筒に採り、このガスをディスプレイ3方コックを通して、他の注射筒に入れた任意量の血液に導入した。オゾン量は血液1 mlあたり2～88  $\mu g$ の範囲になるようにした。また、これに、 $Ca^{2+}$ の最終濃度が5～50 mMとなるように10%  $CaCl_2$ 溶液を加えた。検体の0.5 mlをとって48穴マイクロプレートに入れ、37℃で8時間培養後、2回遠心分離して上清を-80℃にて凍結保存し、これをサイトカイン定量に供した。

**結果：**オゾン処理によるインターロイキン(IL)-6、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ の分泌誘導については、ヘパリン処理を行った血液は、CPD処理を行った検体に比べて顕著に大きかった。やはりCPD処理では単核球の応答が抑制され、 $Ca^{2+}$ をキレート化しないヘパリン処理の方が有効であることが分かった。しかし $Ca^{2+}$ を添加して同様の実験を行ったところ、5 mM（生理レベルのおよそ5倍）以上添加した血液においては溶血が促進され、3種のサイトカインの分泌量は増加せず、 $Ca^{2+}$ を過剰に添加することは好ましくないことが判明した。5 mMの $Ca^{2+}$ 存在下において、3種のサイトカインの分泌量はオゾン濃度75  $\mu g/ml$ まで用量依存的に増加した。他にもIL-1 $\beta$ 、IL-2、顆粒球・マクロファージ・コロニー刺激因子(GM-CSF)、IFN- $\beta$ の分泌および抗細菌作用の増加が認められた。さらに操作の遅れによる一時的な低酸素状態の影響を調べるため、血液を室温で1～3時間置いたのちに操作を行った。その結果サイトカインの生産量はほぼ変わらず、3時間後の検体はIFN- $\gamma$ とIL-6の分泌量が増加していた。5人のボランティアにヘパリン-5 mM  $Ca^{2+}$ 処理によるオゾン自家血液療法を血液250～300 mlを用いて行ったところ、副作用は観察されず、24～72時間後には被験者は快適な気分になったと報告した。臨床的に生物学的有効な投与量を決定するため、ガン末期の患者への適用が行われているところである。この研究により、さらに有効なオゾン自家血液療法が行われると考えられる。

#### 用語の説明

**IL-1（インターロイキン-1）：**おもに抗原提示能を示す際の活性化単球・マクロファージから産生されるモノカインである。IL-1の産生はインターフェロン- $\alpha, \gamma$ 、ホルボールエステル、カルシウムイムノホアなどにより促進される。IL-1は炎症反応に伴う急性期タンパク質の産生を誘導し、免疫反応における様々な役割をもつ。

**IL-2（インターロイキン-2）：**T細胞増殖因子(TCGF)ともいう。抗原もしくはレクチンなどの刺激により活性化されたT細胞(Tリンパ球)より産生されるリンホカイン(正常なリンパ球のマイトジェン刺激で、リンパ球から放出される種々の生物学的活性をもつ可溶性因子の総称)の一種。

**IL-6（インターロイキン-6）：**B細胞刺激因子IIともいう。免疫応答、造血幹細胞の増殖分化、および急性期反応を制御しているサイトカインの一種で、マクロファージ、Tリンパ球、Bリンパ球、繊維芽細胞など種々の細胞で産生される。

**IFN（インターフェロン）：**ウイルス感染に際して、ほとんど全ての動物細胞が生産・分泌する糖タンパク質。その他、細胞(特に腫瘍細胞)の増殖因子や、ナチュラルキラー活性の増強をはじめ多様な免疫エフェクター作用がある。産生細胞の種類により $\alpha$ 型(白血球)、 $\beta$ 型(繊維芽細胞)、 $\gamma$ 型(活性化リンパ球)の3種に大別される。

**TNF（細胞壊死因子）：**マウスその他の動物にBCG、ザイモサン、プラスモジウムなどを投与し、数日後に細菌内毒素、poly(I)poly(C)などによって再び刺激すると、その血清内に腫瘍細胞に対して障害活性をもつ因子が出現する。これが細胞壊死因子である。

## Conference on Ozone in Medicine and Environment & Health

### 「医学」「環境と健康」に関するオゾン会議

国際オゾン協会(IOA)主催の第15回オゾン世界会議が来年9月、ロンドンにおいて開催されます。

その中で、標記オゾン会議も同場所において行われます。発表者以外の方の参加も歓迎しております。

ところ： Imperial College of Science, Technology and Medicine, London

とき： 2001年9月14日(金)、15日(土)