

群、廃用群にかかわらず低下する傾向が認められた。血清CPK活性の低下速度はGOT活性のそれに比べて速やかであり、CPK活性の上昇の停止あるいは下降は筋壊死の拡大が停止したことを意味している [3]。したがって、両群においてCPK活性が速やかに低下したことは、AHTが骨格筋変性や壊死を急速に改善させる効果を有することを示唆していると考えられた。廃用群において、CPK活性が低下したにもかかわらずGOT活性が低下しなかったことは、骨格筋の損傷が広範かつ重度であって、その変性や壊死が停止しても運動機能を回復できなかったものと考えられた。また、廃用群においてAHT実施後3日にみられたCPK活性の再上昇傾向は、最終的に脱臼等を継発して廃用となったことから、鎮痛による起立行動の回復過程で滑走や開脚などが生じてしまったことを推察させた。したがって、敷料管理などの看護に気を配ることにより、より高い治療効果が期待できるものと考えられる。

オゾン療法の効果を説明するものとして、オゾンが赤血球の酸素代謝(解糖系)を活性化し、組織への酸素放出を促進するという有力な仮説がある[12]。本研究の結果と総合すると、AHTが牛の症例に有効であった理由として、オゾン感作血液が虚血性障害の部位への酸素供給を促進した可能性、その結果として炎症局所の循環障害が改善され炎症の修復が促進された可能性、また、鎮痛による運動障害の解除によって症状が改善された可能性、などが考えられた。

以上のことから、オゾン療法は難治性を示すこれらの疾患に対して十分な効果が期待でき、獣医師がオゾンを正しく理解し取り扱うならば、獣医療における安全で新しい治療方法となり得るものと考えられた。

引用文献

- [1] Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, et al : Biotherapy, 7, 83-90 (1994)
- [2] Crisp LM, Bland CE: Journal of Invertebrate Pathology, 55, 380-386 (1990)
- [3] Kaneko JJ : 家畜臨床生化学, 第3版, 久保周一郎, 他監訳, 622-628, 近代出版, 東京 (1983)
- [4] 小岩政昭 : 日本医療オゾン研究会会報, 13, 4-6 (1997)
- [5] 近藤元治 : フリーラジカルってなんだ?, 第1版, 1-136, 日本医学館, 東京 (1991)
- [6] 松野一彦, 三浦敏明, 神力就子 : 日本医療オゾン研究会会報, 9, 1-3 (1996)
- [7] Mehlman MA, Borek C: Environ Res, 42, 36-53 (1987)
- [8] 日本医療オゾン研究会 : 医療とオゾン, 日本医療オゾン研究会, 4-71, 札幌 (1996)
- [9] Sato H, Watanabe Y, Miyata H: Exp Anim, 39, 223-229 (1990)
- [10] 宗宮功, 岡崎幸子, 難波敬典, 他 : オゾン利用の新技术, 第1版, 3-27, サンユー書房, 東京 (1986)
- [11] 上野郁子 : 日本医療オゾン研究会会報, 13, 1-4 (1997)
- [12] Viebahn R: The Use of Ozone in Medicine, 2nd revised ed, 13-85, Karl F. Haug Publishers, Heidelberg (1994)
- [13] Whistler PE, Sheldon BW: Poultry Science, 68, 1345-1350 (1989)

文献抄録

オゾンの生物学的影響に関する研究 第4報

サイトカイン生産とヒト赤血球中のグルタチオン濃度

Studies on the Biological Effects of Ozone: 4.

Cytokine production and glutathione levels in human erythrocytes.

V. Bocci¹, E. Luzzi¹, F. Corradeschi², L. Paulesu², R. Rossi³, E. Cardaioli³, P. Di Simplicio³

Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents, Vol. 7 no. 4, pp. 133-138 (1993)

(Institute of General Physiology, ¹Faculty of Pharmacy, ²Faculty of Biological Sciences, ³Department of Environmental Biology, of the University of Siena, Siena, Italy)

摂南大学薬学部 中室 克彦、坂崎 文俊

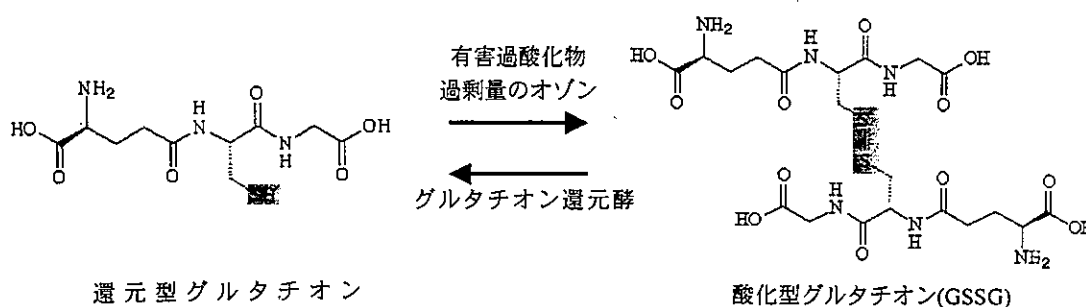
要旨 オゾン自家血液療法を行う際、オゾンの有する強力な酸化作用が細胞に害を及ぼすことは避けなければならない。オゾンによる免疫活性化作用が現れ、かつオゾンの毒性が現れないオゾン濃度を検討するため、細胞内に存在する抗酸化物質であるグルタチオンの濃度を測定した。78 μ g/mlのオゾンを含

む空気に等容量の血液を30秒間暴露した時、還元型グルタチオンの減少や溶血はわずかであり、免疫機能の指標となるサイトカイン類の生産量も減少しなかった。対照的にオゾンガスを30秒間連続通気したり、108 µg/mlの高濃度オゾンに暴露したりすると、還元型グルタチオンとサイトカイン類の減少が顕著であることを判明した。

キーワード：オゾン、自家血液療法、グルタチオン、サイトカイン

背景：これまでにBocciらはヒトの血液をオゾンで処理するとリンパ球および単球からのサイトカイン類の分泌が活性化されることを報告した。オゾン自家血液療法の目的は体外で血液をオゾン処理することによって単球とリンパ球を穏やかに活性化し、その血液を患者に再注入し、これらの細胞がサイトカイン類を放出することによって免疫系の他の細胞を活性化することである。ここでオゾンによる赤血球や白血球への傷害を最小限にすることが重要となる。

細胞内に存在するグルタチオンは、酸化作用を有する有害な化学物質と反応してこれら进行处理する。グルタチオンはグルタミン酸・システイン・グリシンの3つのアミノ酸から構成され、システイン部分のチオール基を介して2分子のグルタチオンが会合する反応によって還元型(GSH)と酸化型(GSSG)の間を相互に行き来する。この反応によって有害過酸化物質やフリーラジカルの分解を含め種々の酸化還元反応に作用する。



また赤血球は血液中に存在する細胞の大部分を占め、オゾン酸化の主要な対象と考えられる。これらのことから、赤血球中のグルタチオン濃度を測定すればオゾン酸化による障害の指標として有用であると考えられる。そのためBocciらは、オゾン暴露における溶血および赤血球内グルタチオン濃度と、これに対するサイトカイン生産量の関連を検討した。

方法：24～63歳のボランティアから最大130 ml採血した。抗凝固剤として25 U/mlヘパリンカルシウムを用いた。医用酸素を0.2 µm ミリポアフィルターを通してオゾン発生器に導入した。血液のオゾン処理は2つの方法で行った。1つは、血液中にオゾンガスを30秒間、一定の流量で吹き込んだ。2つ目は、3方コックを付けた注射筒に5 mlの混合ガスを採取し、あらかじめ5 mlの血液を満たしておいた別の注射筒に直ちに導入した。血液を30秒間よく混合した後、試験管に移した。いずれの血液にもカルシウム濃度が5 mMとなるように10% CaCl₂溶液を加え、0.5 mlを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℃にて保存し、グルタチオンやサイトカイン類の定量に供した。

結果と考察：細胞内の生化学的機構がグルタチオン還元酵素を活性化することにより、GSH濃度は速やかに回復することができる。しかしながら過剰のオゾンを通気すると、この回復過程はある程度まで阻害されることが明らかとなった。オゾンを連続的に15ないし30秒間通気した実験では30～60分後でも赤血球のGSSG量は有意に増大していた。おそらく過剰量のオゾンが血漿中の抗酸化物質や細胞内の酵素的機構を破壊してしまったものと考えられる。一方、オゾン自家血液療法で用いられるのと同様に注射筒を用いた気密装置内にて穏やかにオゾン化を行ったところ、オゾン濃度78 µg/mlでさえ赤血球のGSH濃度は統計的に有意な減少が認められず、GSSG濃度も増大しなかった。これはGSHがグルタチオン還元酵素の活性化によって速やかに再合成されるためと考えられる。一方、サイトカイン類 (TNF-α、IFN-γなど) の生産は8時間の培養中に時間依存的に増加し、検討を行ったオゾン濃度42、59、78 µg/mlのうち、78 µg/mlにおいて最も多かった。用量反応関係は正常な個人の間でも明らかに差があり、ある試料では78 µg/mlで最高としてそれ以上ではかえって低下するが、他の試料では96や108 µg/mlでピークとなる。サイトカイン類の生産は、各個人の血漿中に存在する様々な抗酸化剤の量に影響されていると考えられる。抗酸化能力は日々変動し容易に定量できないため、Bocciらはオゾン濃度78 µg/mlで血液を処理している。これによってサイトカイン類の生産量が維持され、赤血球のGSH含量はわずかしこ低下せず、溶血の程度は許容範囲内となる。