

- Bokova, E.M.Benko, K.V.Kastrin, A.N.Pryakhin, V.V.Lunin (III-227)
- 処理困難な染料工場排水のリサイクルにおける化学酸化過程の動力学的制御 Kinetic modeling of a chemical oxidation process for the recycling of recalcitrant dyehouse effluents : R.Krull, T.Jung (III-241)
 - 篩板を用いた静的攪拌における数学的制御とオゾン処理過程のシミュレーション Mathematical modelling and simulation of ozonation processes in a downstream static mixer with sieve plates : R.Munter (III-250)
 - オゾン処理と吸着に基づく反応システムの数的モデル Mathematical modelling of a two in-series reactors system, based on simultaneous ozonation and adsorption, to detoxify organic contaminants : C.A. Zaror, M.A. Mondaca, C.Muñoz, P.Vidal, V.Carrasco (III-264)
 - インジェクターと攪拌ノズルを持つ逆流バブルカラム接触装置の改良 Retrofit of counter current bubble column contactor with injectors and mixing nozzles : J.R.Jackson, A.Mazzei, M.Meyer, P.K.Overbeck (III-279)
 - オゾン処理過程の農薬とその副生成物のモニタリングのためのモデル反応器の設計 Model reactor design for pesticides and by-products monitoring during ozonation processes : P. Niang, N.Karple Vel Leitner, B.Legube (III-292)
 - クラフトパルプ工場排水におけるバブルカラムの規模と設計の相違による処理効果の比較 Comparing different designs and scales of bubble columns for their effectiveness in treating kraft pulp mill effluents : M.G.El-Din, D.W.Smith (III-304)
 - バブルカラム中の汚染物質とのオゾン反応とオゾン分解の効果に関するオゾンマストランスファー Ozone mass transfer with combined effects of ozone decomposition and reaction with pollutants in a bubble column : W.H.Huang, C.Y.Chang, C.Y.Chiu, Y.H.Chen, Y.H.Yu, Y.Ku, J.N.Chen (III-305)
- (中室克彦)

文献抄録

オゾンの生物学的影響に関する研究 第7報 オゾンに曝露したヒト血液における活性酸素種(ROS)の産生

Studies on the biological effects of ozone: 7.

Generation of reactive oxygen species (ROS) after exposure of human blood to ozone
V. Bocchi, G. Valacchi, E. Corradeschi, C. Aldinucci, S. Silvestri, E. Paccagnif, R. Gerlf
J. Biol. Regul. Homeost. Agents, 12 (3) 67-75 (1998)
Institute of General Physiology and Department of Biomedical Sciences,
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、オゾンを血漿、血清、生理食塩水に溶解させると活性酸素種が生成し、そのうち過酸化水素が検出されることを示した。血漿中に存在する脂質はオゾン用量に比例して過酸化反応を受ける。過酸化水素の生成は生化学的および免疫学的反応を活性化するのに極めて重要であることを示した。血液にオゾンを100 $\mu\text{g O}_3/\text{ml}$ 以下で曝露したとき、サイトカインであるTNF- α 、IFN- γ とIL-2がわずかな増大を示した。一方、培養液中の単離した末梢血単核球は血液中の末梢血単核球に比べてオゾン感受性が高くなるに高く、オゾン濃度の増大によって増殖能が低下した。オゾンの毒性の大部分が血液中の強力な抗酸化システムによって中和されていた。35-100 $\mu\text{g O}_3/\text{ml}$ のオゾン濃度において溶血はほとんど起こらないが、ヘパリン処理した血液はオゾン濃度40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ においても凝固する傾向がみられた。

キーワード：オゾン、活性酸素、ヒト血液、サイトカイン

背景：自家血液オゾン療法はヒトの血液をオゾン/酸素混合ガスに曝露し、患者の体内に戻すもので、近年、代替療法の一つとして中央ヨーロッパで行われている。オゾンが体液に溶解すると、分解して種々の活性酸素種を生成する。これらの活性酸素種は極めて寿命が短い、活性酸素種によってさまざまな生物学的応答が引き起こされ、最終産物である脂質過酸化物や過酸化水素が血漿中に残留する。血漿中に

は様々な形態の抗酸化システムがあるため、オゾンの用量が少なすぎると効果が無い。一方、オゾンが過剰であれば酸化ストレスや細胞死の原因となる。著者らはこれまでにオゾンをも梢血単核球に一時的に曝露し、サイトカインが生成することを示した。本研究では自家血液オゾン療法の信頼性と効果を確認するため、サイトカイン類の生成のために活性酸素種の生成が必要か否かを検討した。また、血球の形態的变化も観察した。

方法：

1)オゾンの生成と定量： 電気放電によってオゾンを生産する最新式のオゾン発生器を用い、253.7 nmで光学的にオゾン濃度を測定した。あらかじめ定量した容積のオゾン/酸素混合ガスをガラス注射筒に採取し、直ちに同じ容積の試料を入れた2本目のガラス注射筒に導入し、試料と気体を穏やかに混合した後、試験管に移して様々な分析に供した。コントロールには同じ容積の酸素を用いた。

2)ヒト血液試料の採集と末梢血単核球の分離： 24歳から67歳の健康なボランティアから静脈血を採取し、30 U/mlヘパリンカルシウムまたはクエン酸リン酸デキストロース 0.14 mlを血液 1 mlに加え抗凝固処理を行った。処理した血液から密度勾配遠心法によって末梢血単核球を分離し、RPMI-1640 培地で2回洗浄を行った後、低速で軽く遠心分離して血小板を取り除き、さらに培地で洗浄を行った。最終細胞濃度が 1×10^6 個/mlとなるように調製した。

3)末梢血単核球の増殖： 末梢血単核球の懸濁液 0.1 mlを96穴マイクロプレートに入れ、5 μ g/ml PHA刺激下で培養した。細胞の増殖はBrdU(プロモデオキシウリジン) 取り込み法によって測定した。

4)活性酸素の測定： ルミノールが活性酸素と反応すると、窒素と励起状態のアミノフタル酸イオンを生産する。アミノフタル酸イオンが基底状態に戻る際に発光するので、この発光をルミノメーターで測定した。 H_2O_2 の測定には酵素法を用いた。過酸化脂質はチオバルビツール酸反応物質 (TBARS) として検出した。

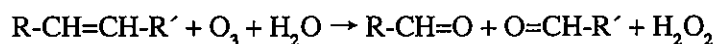
結果および考察：オゾンによって化学発光が増加し、過酸化水素の生成することが示された。血漿においては化学発光の時間変化と過酸化水素の時間変化との間に密接な相関があった。血漿においては化学発光と過酸化水素は一過性に上昇してすぐに消失し、カタラーゼやグルタチオンペルオキシダーゼなどの抗酸化酵素が働いていることを示唆している。生理食塩水においては化学発光が持続し、過酸化水素は蓄積した。ウシ胎仔血清では抗酸化物質が少なく過酸化水素が蓄積したが、カタラーゼを添加することにより過酸化水素の蓄積は70-80%抑制された。

脂質過酸化物はオゾン濃度に比例して上昇し、70 μ g O_3 /mlでプラトーに達した。オゾン処置後の血液を培養すると、脂質過酸化物はわずかに減少した。これは内因性捕捉剤によるものと考えられる。オゾン処置した血液を体内に戻した場合には、脂質過酸化物は拡散や細胞への取り込みによって急速に消失するものと考えられる。溶血は無視できる程度であった。

サイトカイン類のTNF- α 、IFN- γ 、IL-2生産量はわずかながら増大した。この増大はオゾン濃度に依存しており、過酸化水素の生成と関連していると考えられる。サイトカインの生成は個人差が大きいが、総じて末梢血単核球は全血よりも感受性が高く、血液中には酸化に対する緩衝能があることを伺わせた。極低濃度のオゾンに曝露した場合のみ、増殖能がわずかに上昇した。一方、高濃度のオゾンでは増殖能は低下した。

一般にヘパリン処理した血液に70-80 μ g O_3 /mlオゾンに曝露することによって、血液は凝固する傾向が認められた。血小板における影響を調べるのが今後重要になると考えられる。一方、リンパ球および単球を顕微鏡で観察したところ、形態的な変化は認められなかった。

血漿のオゾン化反応によって過酸化水素が生成する際には、既報の論文にあるように次式の反応が起こっていると考えられる。



過酸化水素の生成は、オゾンによる生化学的および免疫学的活性化を説明する上で極めて重要である。細胞内における過酸化水素の機能に関する研究より、効果的なオゾン濃度は30-80 μ g/mlであると考えられる。