

微量オゾンの薬理学的作用メカニズム

三浦 敏明

北海道大学名誉教授

2016.3.21 受理

1. はじめに

オゾンは殺菌や消毒などに多用されているが、いろいろな病気の治療にも利用され、効果を挙げているのを知っている人は少ないと思う。しかし、ドイツを中心にヨーロッパでは100年ほど前から感染症などの予防と治療にオゾンが利用されてきた。これはオゾン療法とよばれ、現在はキューバ、ロシア、エジプト、韓国、中国などへも広がり、ウイルス性疾患、循環障害、リウマチなどの様々な疾患の治療に利用されている^{1,2)}。わが国でも戦前にはオゾンガスの皮下注射が行われていたが、1994年に「日本医療オゾン研究会（現・日本医療・環境オゾン学会）」が設立されて以来、オゾン療法の調査研究と普及が本格的に展開されてきた。一方、オゾン療法の効果を科学的に裏付ける作用メカニズムの研究は立ち遅れていたものの、この間、オゾンの毒性研究や酸化ストレス研究が大きく進展したことから、微量オゾンが治療効果を示す仕組みも次第に説明できるようになってきた^{2,3)}。

2. 微量オゾンの多彩な適用法と適応症

オゾンは強力な酸化剤で、多種類の有機物を酸化分解し、強い殺菌作用も示す。ウイルスもオゾンによって死滅する。このため、オゾンは殺菌や消毒、漂白、脱臭などに多用されているが、吸入毒性が強く、オゾンを利用

する作業環境では厳しい濃度規制が求められ、大気中濃度にも基準が設けられている。このような毒性を十分に認識した上で、オゾン療法では厳しく濃度管理した「オゾン-酸素混合ガス」が使用されている。オゾン療法には、表1に示すように、オゾンの多彩な適用法がある^{1,2)}。

代表的な方法は、患者の肘静脈から採取した約100 mLの血液に微量のオゾンを混合後、点滴で患者の体内に戻す大量自家血液療法（Major autohemotherapy; MAH）であり、患者の病状に応じて週に2回から月1回の頻度で実施される。また、血液をオゾン処理して筋肉などに注射する少量自家血液療法や、オゾンガスを皮内に注射するオゾン皮下注射法、採血の難しい老人や小児には、直腸を経てオゾンガスを注入するオゾン注腸法などもある。これらに加え、オリーブ油にオゾンを反応させて得られる白色ワセリン状のオゾン化オリーブ油が創傷、痔瘻、褥瘡などの外表疾患の治療に、オゾン水は火傷や褥瘡、皮膚感染症の治療に用いられている。オゾン水は歯科における口腔内消毒や歯周病治療などにも効果を上げている。

表1にはオゾン療法の適応症も記載しているが、オゾン療法が効果を発揮するのは、微量のオゾンが、①免疫系のマイルドな活性化、②細胞の抗酸化能の強化、③抗炎症作用、④血液循環の改善などの生物学的作用を示すからである^{1,3)}。

表1. オゾン療法における微量オゾンの多彩な適用法と適応症

全身療法	<ul style="list-style-type: none"> 大量自家血液療法（循環不全、感染症、免疫不全、炎症性疾患など） 患者の肘静脈から採取した約100 mLの血液に微量のオゾン（血液1 mL当たり20~40 µgのO₃）を混合し、点滴で患者に戻す。 少量自家血液療法（アレルギー、難治性皮膚疾患など） 3~5 mLの血液をオゾン処理してから筋肉などに注射。 オゾンガスの直腸注入法（大腸・直腸・前立腺疾患、小児疾患など）
局所療法	<ul style="list-style-type: none"> オゾンガスの皮下注射（腰痛、肩こりなど） 陰圧オゾンガス浴（糖尿病性壊疽、褥創、瘻孔など） 経皮オゾンガス浴（静脈性潰瘍、火傷、湿疹、真菌感染症など） 関節腔内オゾンガス注射（リウマチ等の関節腔の疼痛性疾患など） オゾン水（火傷、褥瘡、皮膚感染症、口腔内消毒など） オゾン化オリーブ油（創傷、痔瘻、褥瘡などの外表疾患）

3. 酸化ストレスとホルミシス作用 —微量オゾンへの作用についての基本的な考え方—

活性酸素などの酸化ストレスはタンパク質や核酸、脂質などの生体機能分子を酸化分解して細胞機能を障害するため、その過剰産生は種々の疾病や老化の原因になるとされてきた。しかし近年、活性酸素は細胞の生理的な応答を担う情報伝達分子としても機能していることが明らかになり、その作用の二面性に注目した研究が活発に展開されている^{6,7)}。たとえば、細胞は過度の酸化ストレスを受けると、その機能が障害され、ついには細胞死に至るが、細胞が適応可能な適度の酸化ストレスは逆に細胞の適応力（抗酸化能）を高め、その後強いストレスが加わっても適応できるようになる。これはホルミシス作用あるいは適応反応とよばれている。適応反応として有名なのは「酵素誘導」であり、異物に晒された生体が肝臓などでの解毒酵素を増やす現象である。オゾンも活性酸素の一種であり、オゾン療法でも酵素誘導が認められている。たとえば、MAHの繰り返しでは、グルタチオンペルオキシダーゼ、グルタチオン還元酵素、スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）、グルタチオン転移酵素などの抗酸化酵素や解毒酵素が誘導され⁸⁻¹⁰⁾、繰り返しオゾンガスを直腸注入されたラットでは抗酸化能が強化される結果として種々の加齢性変化が抑制される¹¹⁾。このような酵素誘導も含め、オゾン療法の効果は微量のオゾンの

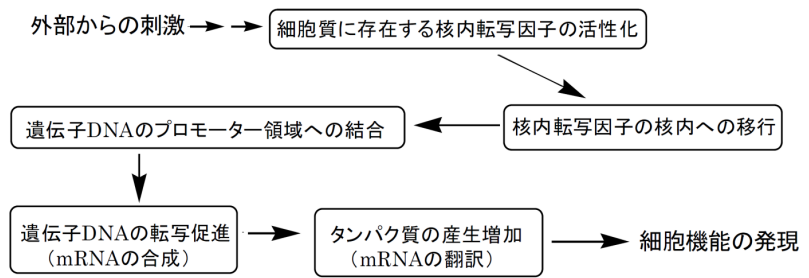


図1. 外部刺激に対する細胞の応答と核内転写因子

ホルミシス作用で説明されるようになってきた^{3,12)}。

4. 酸化ストレス感受性核内転写因子 —NFκB と Nrf2—

ホルミシス作用に基づいて細胞が防御能を強化するには、ストレスを受容して防御能強化に必要な遺伝子の発現を促す仕組みが作動しなければならない。その役割を担っているのが核内転写因子とよばれるタンパク質であり、通常は細胞質に存在するが、細胞が外部から刺激を受けると活性化されて核内に移行し、特定の遺伝子のプロモーター領域に結合する。その結果、対応する遺伝子の転写が促進され、ストレスに応答するタンパク質が合成される（図1）。

酸化ストレスを受けて働く核内転写因子も多数知られているが¹³⁾、オゾン療法では特に **NFκB**（Nuclear Factor kappa B）と **Nrf2**（Nuclear Factor-erythroid 2-Related factor 2）が重要な働きをしていることが分かってきた。NFκBは免疫や炎症応答において中心的な役割を担っている転写因子であり、Nrf2は抗酸化酵素や薬物代謝第2相酵素を誘

表2. NFκB および Nrf2 の活性化によって産生誘導されるタンパク質

核内転写因子	産生誘導される遺伝子
NFκB	<u>サイトカインとケモカイン</u> インターロイキン-1α、-1β、-2、-4、-6、-8、-9、-10、-11、-12、-15 TNF-α、-β、CINC、MIP、インターフェロン-α、-β、-γ、 <u>細胞接着分子</u> ELAM-1、ICAM-1、P-selectin、VCAM-1 <u>成長因子</u> G-CSF、GM-CSF、PDGF、TGF-β1、VEGF <u>ストレス応答遺伝子</u> Angiotensin II、COX-2、5-Lipoxygenase、Mn-SOD、 Inducible NO synthase、Phospholipase A2 <u>酵素</u> Xanthine oxidase、Collagenase 1、Lysozyme、Transglutaminase、etc
Nrf2	<u>抗酸化酵素とその関連因子</u> Superoxide dismutase、Glutathione peroxidase、Glutathione reductase、Catalase、Thioredoxin reductase、Thioredoxin、Peroxiredoxin、Heme oxygenase-1、Aldo-keto reductase、γ-Glutamylcysteine ligase regulatory subunit、γ-Glutamylcysteine ligase catalytic subunit、Cysteine transporter xCT、etc <u>解毒酵素とその関連因子</u> NADPH-quinone oxidoreductase、Glutathione S-transferase、Ferritin、UDP-glucuronosyl transferase、Sulfotransferase、Microsomal epoxide hydrolase、Glucose 6-phosphate dehydrogenase、Malic enzyme、Multidrug resistance related proteins、etc

導する転写因子である。この両者を簡単に機能分類すると、NFκB が炎症系の転写因子、Nrf2 が抗炎症系の転写因子であり、そのバランスが生体の恒常性維持に重要である。

NFκB と Nrf2 の活性化機構は、この 10 年間でほぼ解明され^{14, 15)}、種々の疾病の発症や治癒との関係もだんだん分かってきた。これらの活性化機構は紙面の都合で省略するが、この二つの核内転写因子が活性化されると実に多くの遺伝子が動き出す(表 2)。たとえば、NFκB の活性化によってインターロイキンやインターフェロン類、腫瘍壊死因子 (TNF-α)、組織修復に働く成長因子類、NO 合成酵素、プロスタグランジン類の合成に関与するシクロオキシゲナーゼ-2 (COX-2) などが産生誘導される。

一方、NFκB を活性化する外部刺激には TNFα やインターロイキン-1β、細菌毒素のリポポリサッカリド (LPS)、ウイルス、活性酸素、医薬品、重金属、γ線などがあるが、オゾンや過酸化水素も NFκB を活性化する¹⁶⁾。

表 2 には Nrf2 の活性化によって産生誘導される抗酸化酵素と薬物代謝第 2 相酵素も示している。グルタチオン (GSH) の再生や生合成に関わる酵素、NADPH の合成に関与する解糖系酵素も Nrf2 により誘導される^{17, 18)}。

ところで、Nrf2 はどのような物質で活性化されるであろうか? 非刺激時に生合成される Nrf2 は細胞質内で Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) というタンパク質に捕捉されプロテアソームで分解されるが、外部刺激によって Keap1 のシステイン残基の SH 基が化学変化を受けると、その立体構造が大きく変化して Nrf2 を補足できなくなる。その結果、Nrf2 は核内に移行できるようになる。したがって、SH 基と反応性の高い酸化剤や親電子性物質、重金属などは Nrf2 を活性化する。後述するように、血液とオゾンの反応で生成する 4-ヒドロキシノネナール (4-HNE) は代表的な親電子性物質であり、Nrf2 を活性化することができる¹⁹⁾。

5. 大量自家血液療法 (MAH) の作用メカニズム

オゾンは酸素の同素体であるが、両者の物理化学的性質には多くの違いがある。酸素は比較的疎水性の高い分子であるが、図 2 に示すように、オゾンは双極子構造をしているため極性が高く、水に対する溶解度 (0℃では

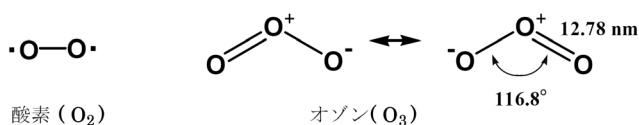


図 2. オゾンと酸素の構造比較

0.022 mol/L) は酸素の 10 倍以上である。しかし、オゾンの最大の特徴は酸化力が極めて強いことで、その酸化還元電位 ($E^0 = 2.08 \text{ V}$) は塩素 (Cl_2 : 1.36 V)、次亜塩素酸 (HClO : 1.49 V)、過酸化水素 (H_2O_2 : 1.77 V) より高く、フッ素 (F_2 : 3.06 V)、過硫酸イオン ($-\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$: 2.87V)、水酸ラジカル ($\cdot\text{OH}$: 2.80 V) に次ぐ¹⁴⁾。そのため、オゾンはほとんどの有機化合物を酸化することができる。血液成分の中では、種々の抗酸化成分と数種のアミノ酸がオゾンと速やかに反応するが、不飽和脂肪酸もオゾンと高い反応性を示す。この不飽和脂肪酸との反応がオゾンの吸入毒性にも、オゾン療法の治療効果に密接に関係していることが分かってきた。

5-1. ヒト血液のオゾン化では何が起っているか?

MAH では、患者から採取した血液をオゾン化するが、このオゾン化では何が起っているであろうか。オゾンは極めて反応性が高く、血液と混合すると直ちに血液成分と反応して消失する。また、その極性構造ゆえに細胞膜を通過できない。したがって、MAH で治療効果を発揮しているのはオゾン自体ではなく、ある種の血液成分とオゾンとの反応で生成し、寿命もオゾンよりは長く、細胞膜を通過できる化学種であると考えられてきた。オゾン療法の研究者は、これをセカンドメッセンジャーとよんでいる。

血液成分の中でオゾンとの反応性が高いのはシステインやトリプトファンなどのアミノ酸、グルタチオンやアスコルビン酸、尿酸などの抗酸化成分および不飽和脂肪酸などであるが、血液のオゾン化 (20~40 μg/mL blood) では血漿中濃度が高いアスコルビン酸と尿酸およびアルブミンのシステイン残基が主に酸化される^{20, 21)}。このため、血液細胞は血漿中の抗酸化成分によってオゾンの攻撃から守られているが、抗酸化成分との反応を免れた一部のオゾンだけがセカンドメッセンジャーを生成する。それが、不飽和脂肪酸とオゾンの反応で生成する脂質酸化物 (Lipid oxidation product: LOP) である。不飽和脂肪酸とオゾンの反応は図 3 のように進行する。

非極性溶媒中ではオゾニド (Criegee ozonide) が生成するが、水が存在するとヒドロキシヒドロペルオキシド (HHP) も生じ、その分解によって LOP の 1 種であるアルデヒドと H_2O_2 が生成する²²⁾。さらに、血液とオゾンの反応ではラジカル種が検出され²³⁾、血漿脂質の過酸化の進行を示すチオバルビツール酸反応陽性物質も生成するので²⁰⁾、脂質過酸化物の分解物である 4-HNE も生じる。Bocci らは、血液や血清のオゾン化 (20~80 μg/mL blood) では H_2O_2 と 4-HNE がオゾン濃度に比例して生成するこ

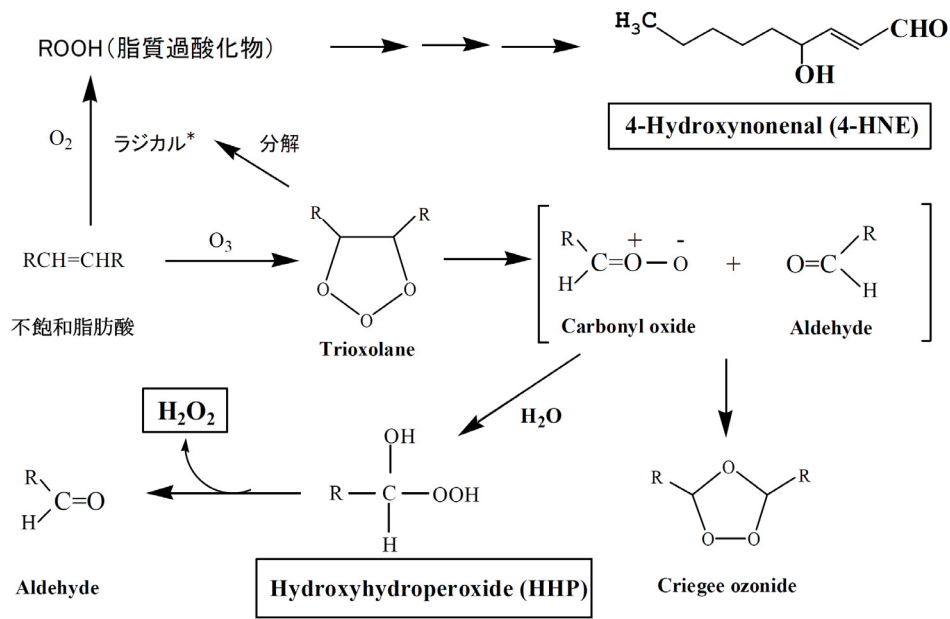


図3. オゾンと不飽和脂肪酸との反応で生成するセカンドメッセンジャー

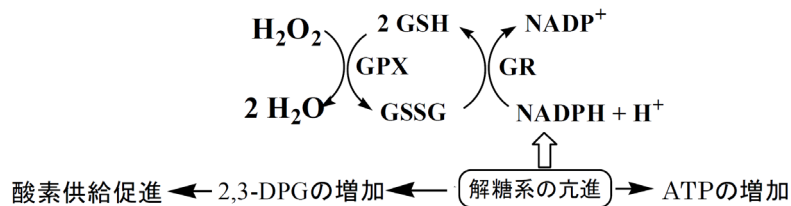


図4. 赤血球のグルタチオンの酸化と再生系

GPX: グルタチオンペルオキシダーゼ、
 GR: グルタチオンレダクターゼ、
 GSH: 還元型グルタチオン、GSSG: 酸化型グルタチオン、
 2,3-DPG: 2,3-ジホスホグリセリン酸

とを明らかにし²⁴⁾、この両者を MAH におけるセカンドメッセンジャーと考えている。ただし、H₂O₂は血液中の寿命が短いため、オゾン化血液を患者に戻した時点ではすでに消失していると考えられる。一方、4-HNE は血中タンパク質との付加体で存在するため、オゾン化血液を患者に戻してからも全身を循環することができる。したがって、H₂O₂はオゾン化血液中で赤血球や白血球、血小板などの血液細胞に働く短寿命のセカンドメッセンジャーであり、4-HNE はさらに全身の組織に刺激を与える長寿命のセカンドメッセンジャーに位置づけられている。

前述したように、血液をオゾン化しても赤血球は抗酸化成分で守られているため、その機能性成分はほとんど変化しないが、唯一の例外は GSH の酸化であった²⁰⁾。これは、セカンドメッセンジャーの H₂O₂が赤血球膜を通過して GSH を酸化したためと考えられる。しかし、こうし

て減少した GSH も 20 分後には元のレベルに戻ることを Bocci らが報告している²¹⁾。したがって、オゾン化血液では図 4 のような GSH 再生系が働いていることになる。GSH の再生系は解糖系 (グルコースの代謝) と連動しているため、赤血球の代謝もオゾン処理によって亢進されることになる。事実、解糖系が亢進すると生成する 2,3-ジホスホグリセリン酸 (2,3-DPG) や ATP が、血液のオゾン処理によって増加する¹⁾。2,3-DPG にはヘモグロビンからの酸素の解離を促す作用があるので、血液のオゾン化は、結果として組織への酸素供給の改善に寄与すると考えられている¹⁾。

H₂O₂はまた白血球や血小板の NFκB を活性化する。Bocci らは、ヒト末梢血をオゾン処理すると、一連のサイトカイン類 (表 3) が生成することを見出した²⁾。その中には、炎症性サイトカインのみならず、血小板が遊離し、

創傷治癒に関与する成長因子なども含まれており、血液のオゾン化がH₂O₂の生成を介して白血球や血小板も活性化し、免疫応答や炎症の収束にかかわる因子の放出を促していることが明らかになってきた。

表3. ヒト血液のオゾン化で産生誘導されるサイトカイン類

インターフェロン- α , - β , - γ , インターロイキン-2, -4, -6, -8, -10, 腫瘍壊死因子 (TNF- α) 顆粒球-マクロファージコロニー、 刺激因子 (GM-CSF)、血小板由来成長因子 (PDGF)、 トランスフォーミング成長因子- β 1 (TGF- β 1)

5-2. オゾン化血液を患者に戻した時には何が起っているか？

オゾン化血液には、H₂O₂によって活性化された赤血球や白血球、血小板が含まれている。さらに、これらの血液細胞が産生したサイトカイン類や 2,3-DPG、ATP に加え、長寿命のセカンドメッセンジャーである 4-HNE などの LOP も含まれている。したがって、オゾン化血液を患者に戻した時には、活性化された血液細胞や 4-HNE などが全身循環し、オゾン療法で認められている抗炎症作用、抗酸化能の強化、血液循環の改善等に寄与すると考えられるが、中でも、4-HNE の役割が明らかになってきた。

抗炎症作用

NF κ B の活性化は炎症応答や免疫系の活性化には必要な過程ではあるが、過度の活性化は炎症反応を慢性化させる。多くの慢性炎症性疾患には酸化ストレスが関与しており、酸化ストレスはNF κ Bを活性化する。NF κ Bが活性化されると炎症性サイトカインやプロスタグランジンなどの炎症性メディエーターが産生され、再びNF κ Bの活性化が繰り返されて炎症像は憎悪する。それゆえ、NF κ Bの活性化を阻害する物質は抗炎症作用を示す。いくつかのLOPにもNF κ B活性化阻害作用のあることが知られているが、血液のオゾン化で生成する4-HNEにもNF κ B活性化阻害作用のあることが明らかになっている²⁵⁾。したがって、オゾン化血液を患者に戻した場合、4-HNEが全身を循環し、炎症部位の細胞においてNF κ Bの活性化を阻害して抗炎症作用を発揮する。

抗酸化酵素の誘導

4-HNEにはNrf2活性化作用があることから¹⁹⁾、4-HNEを含むオゾン化血液にもNrf2活性化作用が期待できる。

Bocciらは、ヒト血清や血液を同容積のオゾン-酸素ガス(0~80 μ g O₃ /mL 血清)と混合して、H₂O₂と4-HNEの生成を確認した後、このオゾン化血清と血管内皮細胞をインキュベートした。その結果、オゾン化血清中の4-HNEが内皮細胞に取り込まれるとともに、内皮細胞の核内Nrf2レベルが上昇した。さらに、Nrf2の標的タンパク質であるヘムオキシゲナーゼ-1(HO-1)とNADPH-キノン還元酵素-1(NQO-1)の産生量もオゾン用量に依存して増加した⁴⁾。この結果は、オゾン化血液が他の細胞に作用してNrf2を活性化し、その抗酸化能を強化することを示している。

上記の結果は、オゾン化血液が*in vitro*でNrf2を活性化することを証明したものであるが、最近になってReらは、MAHによって実際にNrf2が活性化することを明らかにした⁵⁾。すなわち、健康人にMAHを3回実施し、MAH前後の循環血の単核球を調べた。その結果、MAHによって核内のNrf2レベルが約2倍に上昇したことを確認するとともに、血漿の脂質過酸化度やROOH値の低下と抗酸化酵素活性の上昇を認めた。これは*in vivo*でもオゾン化血液がNrf2を活性化することを証明したものである。

さて、オゾン化血液によって誘導されるHO-1は有害な遊離のヘムをビリベルジンと一酸化炭素および2価鉄に分解する。ビリベルジンは、その還元酵素によってビリルビンになるが(図5)、ビリベルジンとビリルビンは強力な疎水性抗酸化剤として作用する。また、COはNOと同様にグアニル酸シクラーゼを活性化してcGMPレベルを上昇させ、血管拡張、血小板凝集抑制、抗炎症などの多彩な作用を示す²⁶⁾。したがって、HO-1はこれらの作用を通じて血管内皮細胞を保護し、血管の恒常性維持に重要な役割を担っている。

オゾン化血液が誘導する、もう一つの酵素である

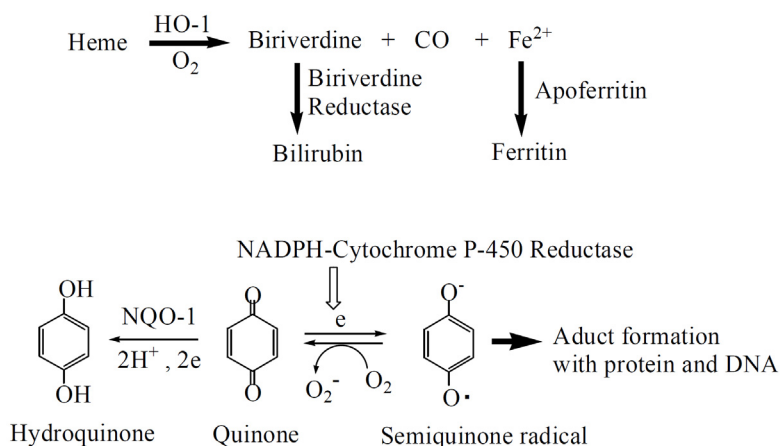


図5. ヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) と NADPH-キノン還元酵素-1 (NQO-1) が触媒する反応

NQO-1 は、NADPH によるキノン類や芳香族ニトロ化合物の還元を触媒するが（図 5）、酸化ストレス防御系としても働く²⁷⁾。たとえば、キノン類が NADPH-P-450 還元酵素で 1 電子還元されると O₂⁻が生成するため、その生成部位の組織は酸化的に障害される。しかし、NQO-1 はキノン類を 2 電子還元することによって、O₂⁻生成サイクルを停止し、結果として組織を酸化障害から保護する（図 5）。また、NQO-1 の誘導は、虚血/再灌流による腎機能障害に対して予防作用があるが、これは、NQO-1 が、O₂⁻生成酵素である NADPH オキシダーゼと競争して NADPH を利用することによって O₂⁻の生成を抑制するためとされている²⁸⁾。さらに、NQO-1 は抗酸化成分であるビタミン E やコエンザイム 10 の再生にも関与している²⁷⁾。

オゾン化血液の細胞に対する影響についての研究はまだ少ないが、Nrf2 は多彩な抗酸化酵素や薬物代謝第 2 相酵素の産生を促すことから（表 2）、4-HNE を含むオゾン化血液は血管内皮細胞や単球以外の組織にも作用し、HO-1 や NQO-1 以外の抗酸化酵素や薬物代謝酵素も誘導する可能性が高い。今後の研究の進展が期待される。

血流改善作用

MAH は血液循環も改善する^{1, 2)}。血流改善効果を示す臨床例は多い。たとえば、腰椎脊柱管狭窄症患者では MAH により体温上昇（サーモグラフィ）と血流量増加（14.9→24.6 mL/min/100g、レーザードップラー）が認められており、脳動脈硬化症の高齢女性へのオゾン皮下注射で頭部体表面温度の上昇（サーモグラフィ）が確認されている。末梢閉塞性動脈障害の患者に対するオゾン療法の効果も報告されている。また、MAH の繰り返しで、血液の粘度および血漿フィブリノーゲンと脂質過酸化度が有意に低下し、赤血球の変形能が上昇することなども確認されている²⁹⁾。

血流改善に寄与すると考えられる因子としては、血管拡張作用・血液凝集阻止作用のある NO と CO およびヘモグロビンからの酸素の解離を促す 2,3-DPG が挙げられる。オゾン化血液は内皮細胞に作用して、NO 産生能を増大させるとともに²⁴⁾、HO-1 の誘導を介して CO も産生する⁴⁾。また、血液をオゾン化すると赤血球の解糖系が亢進

して 2,3-DPG が増加する³⁾。さらに、HO-1 による酸化ストレスの抑制は内皮細胞の NO 分泌機能の維持・回復に働くと考えられ、これらが、患者に戻されたオゾン化血液の血流改善効果と説明されている⁸⁾。

6. 機能水としてのオゾン水

機能水としてのオゾン水も基本的にはオゾンガスと同様な作用を示すと考えられるが、水に対する溶解限度と不安定性により実際に適用される用量は低く、作用はマイルドである。良く知られている作用は抗微生物作用であるが、オゾン水にも表 4 に示す多彩な作用があり、皮膚、眼、口腔内などの局所に適用され、殺菌・除菌、消炎、鎮痛、創傷治癒促進などの効果を発揮する。

最近になって、オゾン水の作用メカニズムに関する研究も始まった。たとえば、口内炎に対するオゾン水の抗炎症作用を、唾液中アミノ酸とオゾンの反応生成物の NFκB 活性化阻害作用によって説明している報告³⁰⁾、細菌毒素 LPS による炎症誘発（マウス血清 TNFα の上昇）がオゾン水の腹腔内前投与（Nrf2 の活性化？）で抑えられるとの報告³¹⁾がある。また、創傷治癒のモデルとして尾びれを切断したゼブラフィッシュを用い、0.1 ppm のオゾン水中で治癒の経過を調べると、最初に TNFα の増加、好中球の増加などの炎症反応が起き、その後は炎症反応が鎮静化する。オゾン水は、最初の炎症反応誘発とその後の炎症の鎮静化の両方に、TNFα レベルの調節を通じて作用しており、この TNFα の調節には IL-10 や転写因子 STAT3 が関与していると説明されている³²⁾。

7. おわりに

オゾン療法の作用機序についてはまだ不明な点も多いが、細胞の防御能が強化される仕組みなど、主な作用は説明できつつある。膨大に蓄積されてきた臨床成績が「オゾン療法はいろいろな疾患に効果がある」ことを示しているが、どんな病気にも効くというのが逆に「オゾン療法は怪しげな療法である」という誤解を与える一因になっているようである。しかし、酸化ストレスや親電子性代謝物が多くて疾患に共通する発症因子や増悪因子として関与していることが明らかになり、それらに対する細胞の防御能をオゾン療法が強化するということになる、いろいろな疾患の治療にオゾン療法が効果を上げることも理解できるであろう。オゾン療法の作用メカニズムに関する研究は始まったばかりで、今後も治療効果を科学的に裏付ける研究の進展が期待されている。

表 4. オゾン水の薬理的な作用

1) 殺菌作用、抗ウイルス作用	オゾンの直接作用、免疫系の活性化
2) 抗炎症作用、疼痛軽減作用	NFκB の活性化阻害
3) 抗酸化酵素の誘導	Nrf2 の活性化
4) 創傷治癒促進作用	炎症応答と炎症反応鎮静化
5) 免疫系のマイルドな活性化	NFκB の活性化阻害

文献

- 1) R Viebahn-Hänsler, The use of ozone in medicine. *ODREI-Publishers*, 5th English edition, 2007; 日本語訳書として、日本オゾン療法研究所: 新版オゾン療法. *オゾン療法研究第2号*, 2012.
- 2) V Bocci: Oxygen-ozone therapy: A critical evaluation. Kluwer Academic Publishers, 2002.
- 3) V Bocci, I Zanardi and V Travagli: Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship. *J. Transl. Med.*, **9**, 66, 2011.
- 4) A Pecorellia, V Bocci, G Valacchi *et al.*: NRF2 activation is involved in ozonated human serum upregulation of HO-1 in endothelial cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **267**, 30-40, 2013.
- 5) L Re, G Martínez-Sánchez, A Rojas *et al.*: Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway *in vivo*? A preliminary result. *Eur. J. Pharmacol.*, **742**, 158-162, 2014.
- 6) E Niki: Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radic. Biol. Med.*, **47**, 469-484 2009.
- 7) S Pizzimenti, C Toaldo, G Barrera *et al.*: The “Two-faced” effects of reactive oxygen species and the lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal in the hallmarks of cancer. *Cancer*, **2**, 338-363, 2010.
- 8) V Bocci, E Borrelli, I Zanardi *et al.*: The Ozone Paradox: Ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med. Res. Rev.*, **29**, 646-682, 2009.
- 9) F Hernández, S Menéndez and R Wong: Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidant response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. *Free Radic. Biol. Med.*, **19**, 115-119, 1995.
- 10) FA Hernández Rosales, JL Calunga Fernández, AM Perdomo *et al.*: Ozone therapy effects on biomarkers and lung function in asthma. *Arch. Med. Res.*, **36**, 549-554, 2005.
- 11) MM El-Sawalli, HA Darwish, AA Shaheen *et al.*: Modulation of age-related changes in oxidative stress markers and energy status in the rat heart and hippocampus: a significant role for ozone therapy. *Cell Biochem. Funct.*, **31**, 518-525, 2013.
- 12) G Martínez-Sánchez and G Pérez-Davison: Ozone as U-shaped dose responses molecules (Hormetins). *Dose Response*, **9**, 32-49, 2011.
- 13) 赤池孝章 監修: 特集「活性酸素シグナル制御とレッドックスホメオスタシス」. *細胞工学*, **31(2)**, 134-195, 2012.
- 14) AS Baldwin: The NFκB and IκB proteins: New discoveries and insights. *Annu. Rev. Immunol.*, **14**, 649-681, 1996.
- 15) K Itoh, KI Tong and M Yamamoto: Molecular mechanism activating Nrf2-Keap1 pathway in regulation of adaptive response to electrophiles. *Free Radic. Biol. Med.*, **36**, 1208-1213, 2004.
- 16) HL Pahl: Activators and target genes of Rel/NFκB transcription factors. *Oncogene*, **18**, 6853- 6866, 1999.
- 17) A Banning, S Deubel, R Brigelius-Flohe *et al.*: The GIGPx gene is a target for Nrf2. *Mol. Cell Biol.*, **25**, 4914-4923, 2005.
- 18) J Li, JM Lee and JA Johnson: Microarray analysis reveals an antioxidant responsive element-driven gene set involved in conferring protection from an oxidative stress-induced apoptosis in IMR-32 cells. *J. Biol. Chem.*, **277**, 388-394, 2002.
- 19) H Zhang and HJ Forman: Signaling pathways involved in phase II gene induction by α, β-unsaturated aldehydes. *Toxicol. Ind. Health*, **25**, 269-278, 2009.
- 20) N Shinriki, T Suzuki, T Miura *et al.*: Susceptibilities of plasma antioxidants and erythrocyte constituents to low levels of ozone. *Haematologia*. **29**, 229-239, 1998.
- 21) V Bocci and C Aldinucci: Biochemical modifications induced in human blood by oxygenation -ozonation. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, **20**, 133-138, 2006.
- 22) WA Pryor, B Das and DF Church: The ozonation of unsaturated fatty acids: aldehydes and hydrogen peroxide as products and possible mediators of ozone toxicity. *Chem. Res. Toxicol.*, **4**, 341-348, 1991.
- 23) I Ueno, M Hoshino, N Shinriki *et al.*: Ozone exposure generates free radicals in the blood samples *in vitro*. Detection by the ESR spin-trapping technique. *Free Radic Res.* **29**, 127-135, 1998.
- 24) V Bocci, C Aldinucci, G Valacchi *et al.*: Ozonation of human blood induces a remarkable upregulation of heme oxygenase-1 and heat stress protein-70. *Mediators Inflamm.* 2007, Article ID 26785, 6 pages. [Diol:10.1155/2007/26785](https://doi.org/10.1155/2007/26785)
- 25) S Page, C Fischer, K Brand *et al.*: 4-Hydroxynonenal prevents NF-κB activation and tumor necrosis factor expression by inhibiting IκB phosphorylation and subsequent proteolysis. *J. Biol. Chem.*, **274**, 11611-11618,

- 1999.
- 26) Y Kim, H Pae, H Chung *et al.*: Heme oxygenase in the regulation of vascular biology: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, **14**, 137-167, 2011.
- 27) AT Dinkova-Kostova and P Talalay: Persuasive evidence that quinone reductase type 1 (DT diaphorase) protects cells against the toxicity of electrophiles and reactive forms of oxygen. *Free Radic. Biol. Med.*, **29**, 231-240, 2000.
- 28) G Gang, JH Hwang, C Lee *et al.*: Protection of NAD(P)H:Quinone oxidoreductase 1 against renal ischemia/reperfusion injury in mice. *Free Radic. Biol. Med.*, **67**, 139-149, 2014.
- 29) R Giunta, A Coppola, L Coppola *et al.*: Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease. *Ann. Hematol.*, **80**, 745-748, 2001.
- 30) KC Huth, B Saugel, K Brand *et al.*: Effect of Aqueous ozone on the NF- κ B system. *J. Dent. Res.*, **86**, 451-456, 2007.
- 31) K Azuma, T Mori, Y Okamoto *et al.*: Anti-inflammatory effects of ozonated water in an experimental mouse model. *Biomedical Reports*, **2**, 671-674, 2014.
- 32) K Hao, Y Li, X He *et al.*: Ozone promotes regeneration by regulating the inflammatory response in zebrafish. *Int. Immunopharmacol.*, **28**, 369-375, 2015.

Pharmacological action mechanism of low dose of ozone

Toshiaki MIURA

Emeritus Professor of Hokkaido University

The low-dose ozone acts as mild oxidative stress and induces both inflammatory and anti-inflammatory responses which are mainly regulated by two nuclear transcriptional factors, NF κ B and Nrf2. NF κ B is involved in the expressions of cyclooxygenase-2 and various inflammatory cytokines whereas Nrf2 is involved in the up-regulations of numerous antioxidant enzymes and cytoprotective proteins. In major autohemotherapy, the most used application form in ozone therapy, ozone in contact with blood instantaneously reacts with unsaturated fatty acids generating H₂O₂ and 4-hydroxynonenal which are responsible for activations of NF κ B and Nrf2, respectively. Thus, upon infusing the ozonized blood into the donor patient, it induces antioxidant enzymes and cytoprotective proteins by activating Nrf2 in cells all over the body.