

■原 著

大量自家血液オゾン療法の有効性 —末梢循環, 酸化ストレス, 炎症反応, 血管内皮機能および安静時代謝率—

大田 和弘¹⁾, 大田 祐子^{1,2)}

要 旨

大量自家血液オゾン療法 (MAH) は, ヨーロッパにおいて難治性疾患に対し行われてきた. 今回当院にて MAH を導入した 158 例 (平均年齢 47 ± 15 歳) に対し治療前後の末梢循環および酸化ストレスの評価を行った. 末梢循環は, 直後に改善し, 酸化ストレスは低下した. また 2~4 週間の間隔で 6 カ月間継続治療を行った 24 例に酸化ストレス, 炎症反応や血管内皮機能, 安静時代謝率を測定し, 慢性効果の評価も行った. 6 カ月後も酸化ストレスの低下は持続し, 炎症反応はさらに低下した. また血管内皮機能や安静時代謝率は, 導入前に比し有意に増加した. MAH にて末梢血流の増加, 酸化ストレスや炎症反応の低下, 血管内皮機能の改善, 基礎代謝の向上がみられたことより, 継続的に MAH を行うことにより心血管病の発症抑制や健康リスクの低下をもたらす可能性が示唆された.

Key words 大量自家血液オゾン療法, 有効性, 末梢循環, 酸化ストレス, 炎症反応, 安静時代謝率

■ ORIGINAL ARTICLE

The effects of Major Ozonated Autohemotherapy on Peripheral circulation, Oxidative stress, Inflammation, Vascular Endothelial function, and Resting Metabolic rate

Kazuhiro Ota¹⁾ and Yuko Ohta^{1,2)}

Abstract

Major ozonated autohemotherapy (MAH) has been used in the treatment of intractable diseases in Europe. The purpose of the present study was to investigate the effects of MAH in Japanese patients.

Subjects included 158 patients, with a mean age 47 ± 15 years, who were introduced MAH at our clinic. Peripheral circulation and oxidative stress parameters were assessed at baseline and immediately after MAH. Peripheral circulation increased and oxidative stress decreased immediately after MAH compared to baseline. In addition, not only oxidative stress parameters and inflammation, but also vascular endothelial function and resting metabolic rate were assessed after 6 months in twenty four patients with continuing MAH every 2-4 weeks for 6 months.

After 6 months treatment, the effect of oxidative stress parameters persisted, inflammation finding further decreased, and vascular endothelial function and resting metabolic rate improved.

Continued MAH seems exert more favorable effects on oxidative stress, inflammation, vascular endothelial function, and resting metabolic rate.

(WAARM Journal, 2020; 3: 31-39)

¹⁾ 医療法人ほうゆう おおた内科消化器科クリニック 福岡市南区高宮 3 丁目 2-18 e-mail ota-clinic@jcom.home.ne.jp
Internal Medicine & Gastroenterology, Ota clinic 2-18, 3-chome Takamiya, Minami-ku, Fukuoka, 815-0083

²⁾ 九州歯科大学内科
Division of Internal Medicine, Kyushu Dental University

はじめに

ドイツをはじめとするヨーロッパでは、150年以上前からウイルス性疾患、循環障害、リウマチなどの難治性疾患にオゾン治療が用いられ、膨大な治療実績が積み重ねられてきた^{1,7)}。現在、このオゾン治療はヨーロッパだけでなく、ロシア、カナダ、キューバなどの諸国まで広がり、難治性疾患の治療に役立っている。オゾン療法は Bio-oxidative therapy で、その中でも大量自家血液オゾン療法 (Major ozonated Autohemotherapy: MAH) は、低リスクでオゾン全身投与できる最も有効な治療方法の一つとされている^{2,3,4,6)}。わが国では自己血オゾン療法や血液クレンジング療法という名称で広く普及しているが、未だ MAH の有効性に関しての詳細な治療データは十分であるとは言えない。

そこで今回、MAH の末梢循環、酸化ストレス、炎症反応への急性効果、および MAH を長期間繰り返し行うことによる酸化ストレス、炎症反応および血管内皮機能、安静時代謝率への慢性効果について検討した。

対象と方法

対象は、当院で MAH を初回導入し、導入前と導入直後の急性効果の評価を行い、インフォームド・

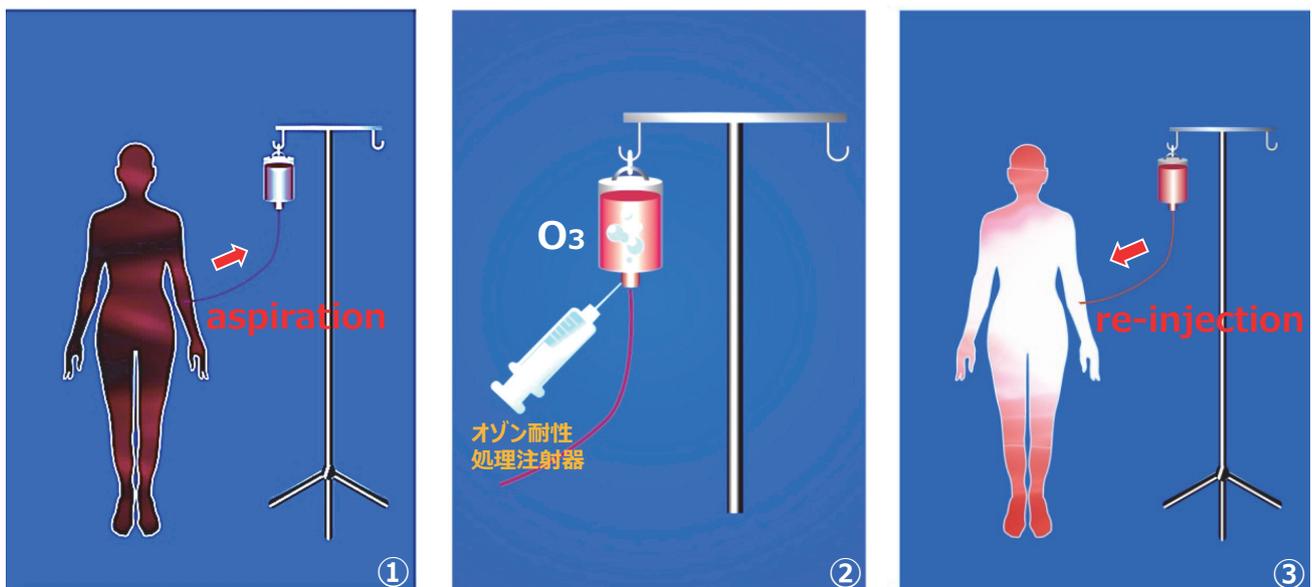
表 1-a 対象の罹患疾患（急性効果の評価）

症例数 (例)	158
性別 (男性/女性)	64 / 94
年齢 (歳)	47 ± 15
高血圧 (%)	17.1
糖尿病 (%)	15.2
脂質異常症 (%)	40.5
脳血管障害 (%)	3.2
虚血性心疾患 (%)	1.3
がん (%)	3.2
婦人科疾患 (%)	2.5

(平均±標準偏差)

コンセントが得られた 158 例（男性 64 例 / 女性 94 例、平均年齢 47 ± 15 歳 : 17~85 歳）で、その患者背景を表 1a に示した。G6PD 欠損症や甲状腺機能亢進症、妊娠している者および内服薬やサプリメントの服用者を除外した。また癌、婦人科疾患の既往者は治療後 5 年間再発がみられず、現在治療が行われていない者とした。

MAH は、密閉、減圧下システムで行い、採取する血液は 100ml で、オゾン総投与量は 4000 μg とした (図 1)。導入前、直後に NEC Avio 社製 Thermo Shot F30 を用いたサーモグラフィーで表面温度を測定し、末梢循環の評価を行った。酸化ストレスは、Arkray 社製の SPOTCHEM IM を用いてヒドロペル



① MAH は、密閉、減圧下システムで行う。患者静脈から 100ml の血液を採取する。

② 輸血用減圧ボトル内にオゾンガス (総投与量は 4000 μg) を細菌除去フィルター付きオゾン注入チューブを通して注入する。

③ オゾン注入チューブから空気を入れて、常圧にした後、滴下速度 60~100 滴/分にセツトし、血液を患者に輸血する。

図 1 大量自家血液オゾン療法 (MAH) の方法

オキシドの濃度を呈色反応により比色法で計測し、またテクノメディカ社製 ICR-001 を用いて尿中 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG, 47 例で評価) を測定した (ヒドロペルオキシドの参考基準値: < 24mg/dL, 尿中 8-OHdG の参考基準値: < 11ng/mg CRE)^{8,9)}。なお, MAH 直後の尿中 8-OHdG は, MAH 直後に一度排尿し, その後の第 2 尿で測定した。抗酸化力は SPOTCHEM IM で試薬中の Fe(III) が血清により Fe(II) に還元された分子数を呈色反応により計測したもので評価した (参考基準値: 2550 μ mol/L <)⁸⁾。ラテックスネフェロメトリー法で高感度 CRP (high sensitive C-reactive protein: hs-CRP) を用いて炎症反応を評価した¹⁰⁾。

MAH は 2~4 週間程, 血液流動性の改善が持続することが報告されているため¹¹⁾, 2~4 週間毎に繰り返し行った。2~4 週の間隔で定期的に MAH を行い, 6 カ月後に酸化ストレスと抗酸化力, hs-CRP および安静時代謝率の評価が出来た 24 例 (男性 15 例 / 女性 9 例, 平均年齢 49 \pm 12 歳) の患者背景を表 1b に示した。なお, ヒドロペルオキシド, 尿中 8OHdG, 抗酸化力, 高感度 CRP は同一検体を用いて 3 回ずつ測定し, その平均値を用いた。12 例に血管内皮機能の評価 (FMD) はユネクス社製イーエフ UNEXEF18VG を用いて評価した (FMD の参考基準値: 7% 以上)¹²⁾。安静時エネルギー消費量 (Resting energy expenditure; REE) は, 間接量計であるイタリア COSMED 社製呼気ガス分析装置 FIT-2100 シリーズ フィットメイトを用いて評価した^{13,14)}。安静時エネルギー消費量は以下の式で算出した。安静時エネルギー消費量 (kcal/日) = 6.96 \times 酸素消費量 (mL/min)。この測定は, 開始 10 分から 15 分後の 5 分間の平均値を用いた。安静時エネルギー消費量を体重で除したものを安静時代謝率 (Resting metabolic rate; RMR) とした¹⁵⁾。

表 1-b 対象の罹患疾患 (急性効果の評価)

症例数 (例)	24
性別 (男性/女性)	15 / 9
年齢 (歳)	49 \pm 12
高血圧 (%)	33.3
糖尿病 (%)	29.2
脂質異常症 (%)	41.7
脳血管障害 (%)	12.5
虚血性心疾患 (%)	4.2
がん (%)	8.3
婦人科疾患 (%)	8.3

(平均 \pm 標準偏差)

サーモグラフィーや安静時代謝率の測定は室温, 体温, 食事, 運動を始めとする身体活動, 月経等によって影響を受けることが報告されている^{13,14)}。本検討では食事誘発性熱産生の影響などを考慮し, 早朝空腹時 (8 時間以上絶食後) に一定した室温, 湿度下で, 排尿後少なくとも 30 分の安静を確保し, 血圧, 心拍数, 呼吸回数が安定した状態で行った。また外気温が変化するため治療継続 6 カ月後のサーモグラフィー測定は行わなかった。

成績はすべて平均値 \pm 標準偏差で表した。統計学的処理は 2 群間の差の検定は対応のある t 検定と χ^2 検定を用い, $p < 0.05$ をもって有意差ありとした。

結果

MAH 導入後, 全例に有害事象は見られなかった。また導入前と直後の間接ビリルビン値 (直後; 0.4 \pm 0.3 vs 前; 0.5 \pm 0.3 mg/dL, NS), 血清 LDH 値 (直後; 186.0 \pm 28.6 vs 前; 182.6 \pm 29.6 U/L, NS), 血清カリウム値 (直後; 4.0 \pm 0.2 vs 前; 3.9 \pm 0.3 mEq/L, NS) に有意な変化はなく, 溶血反応は見られなかった。

1. MAH の急性効果

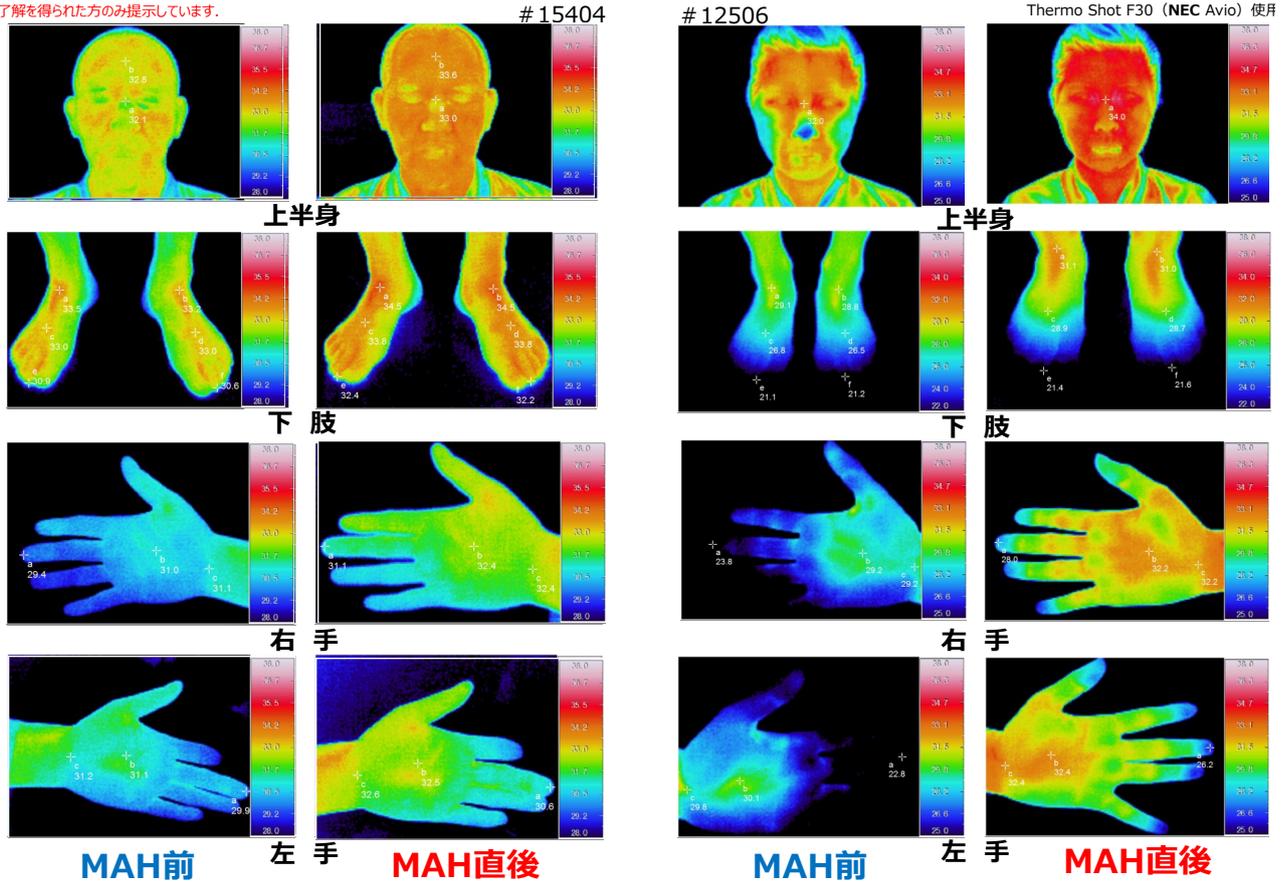
1) 末梢循環

MAH 導入直後のサーモグラフィーでの変化では, 全例で導入前に比べ 2~3°C 上半身, 下肢, 両手の表面温度の上昇がみられ (図 2), 冷えの改善が 2 週間程度持続した。

2) 酸化ストレス

尿中 8-OHdG を測定した 47 例は, MAH 導入直後に全例低下していたが (8-OHdG: 直後; 12.0 \pm 15.4 vs 前; 26.1 \pm 20.8 ng/mg CRE, $p < 0.01$, 図 3), ヒドロペルオキシドは 158 例中 150 例で低下し, 8 例が不変あるいは軽度上昇していた (ヒドロペルオキシド: 直後; 12.0 \pm 11.8 vs 前; 27.0 \pm 7.2 mg/dL, $p < 0.01$, 図 4)。ヒドロペルオキシドが 15 mg/dL 以上低下した群は, 15 mg/dL 未満低下した群に比し, 有意に高齢であったが, 性別, 高血圧, 糖尿病, 脂質異常症, 癌, 婦人科疾患, 脳卒中, 虚血性心臓病の合併症頻度に差異を認めなかった。また, 前値より 50% 以上低下した群と 50% 未満低下した群でも, 年齢, 性別, 合併症頻度に差異を認めなかった。尿中 8-OHdG を測定した 47 例のヒドロペルオキシドは, 図 5 に示すように MAH 直後に全例低下していた (ヒドロペルオキシド: 直後; 8.1 \pm 8.8 vs 前;

※了解を得られた方のみ提示しています。



MAH前後での検査および治療に使用する部屋の温度、湿度は一定になるように設定した。

63歳男性 M 高血圧、糖尿病。
室温26.5℃、湿度62%。

32歳女性 脂質異常症。
室温22.0℃、湿度32%。

図2 MAH 前、直後のサーモグラフィーの変化

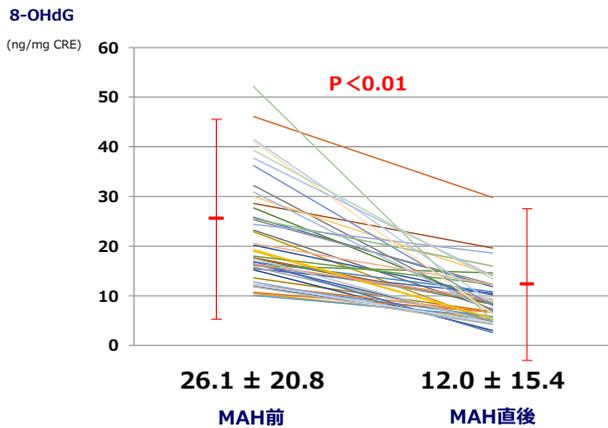


図3 治療前、直後の尿中 8-OHdG の変化 (47 例)

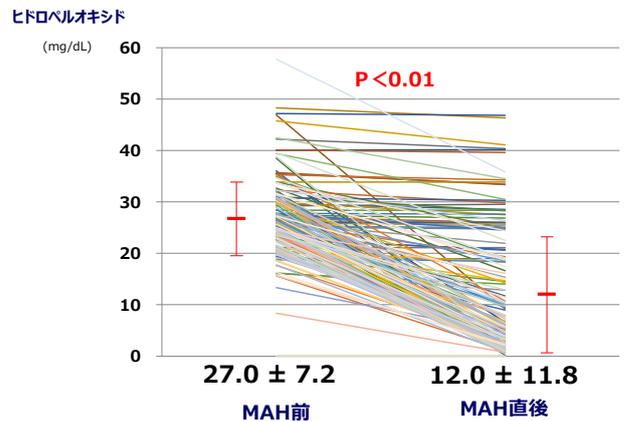


図4 治療前、直後のヒドロペルオキシドの変化 (158 例)

25.9 ± 7.9 mg/dL, p<0.01).

3) 抗酸化力

MAH 導入直後の抗酸化力は、導入前に比し、有意に増加した (直後; 3274.4 ± 420.5 vs 前; 2549.6 ± 272.8 μmol/L, p<0.01, 図 6).

2. MAH の慢性効果

慢性効果の評価は、最終 MAH から少なくとも 2 週間以上経過してから行い、導入後からの平均日数は 192.0 ± 53.3 日で、施行した MAH の平均回数は 7.2 ± 2.3 回であった。

1) 酸化ストレス

ヒドロペルオキシドは、MAH 直後に有意に低下し、

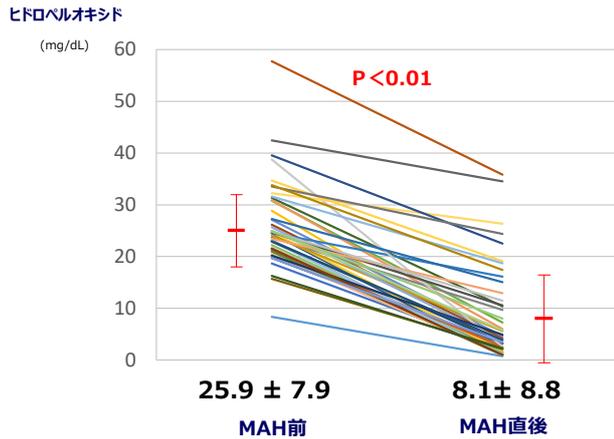


図5 尿中 8-OHdG を測定した 47 例の治療前、直後のヒドロペルオキシドの変化

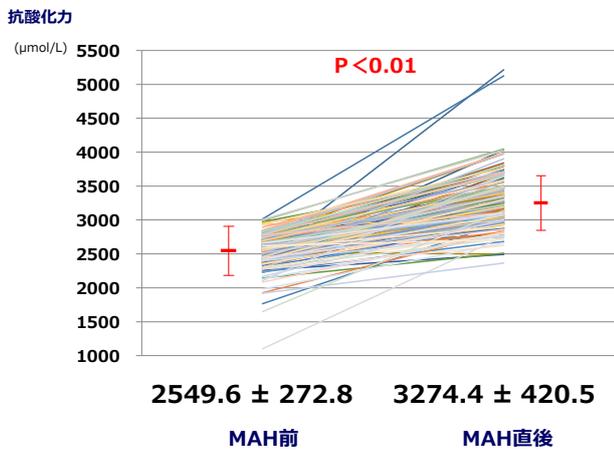


図6 治療前、直後の抗酸化力の変化 (158 例)

治療継続にてその低下は持続した (直後; 6.0 ± 7.1 , 治療 6 カ月後; 4.7 ± 5.4 vs 前; 24.2 ± 5.9 mg/dL, 各々 $p < 0.01$, 治療 6 カ月後 vs 直後, NS. 図 7). 治療 6 カ月後にヒドロペルオキシドが増加した 4 例は, いずれも高血圧あるいは糖尿病あるいは脂質異常症を合併していたが, 治療 6 カ月後に低下し続けた群と年齢, 性別, 合併症頻度, MAH 導入後からの日

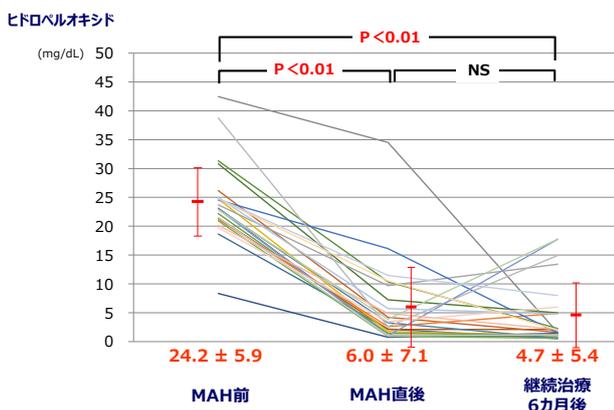


図7 継続治療によるヒドロペルオキシドの変化 (24 例)

数や施行回数に差異を認めなかった. 尿中 8-OHdG は MAH 直後に有意に低下し, 治療継続で尿中 8-OHdG の低下は持続した (直後; 9.0 ± 5.3 , 治療 6 カ月後; 8.8 ± 4.5 vs 前; 20.0 ± 7.8 ng/mg CRE, 各々 $p < 0.01$, 治療 6 カ月後 vs 直後, NS. 図 8) した. 治療 6 カ月後に尿中 8-OHdG が正常化しなかった 5 例は, 治療 6 カ月後に正常化した群に比し, 導入前の尿中 8-OHdG が有意に高値であったが (24.9 ± 6.2 vs 16.8 ± 4.7 , $p < 0.01$), 年齢, 性別, 合併症頻度, MAH 導入後からの日数や施行回数に差異を認めなかった.

2) 抗酸化力

抗酸化力は MAH 直後に有意に増加し, 治療 6 カ月後も増加を持続した (直後; 3369.7 ± 408.7 , 治療 6 カ月後; 3335.5 ± 433.2 vs 前; 2518.2 ± 365.7 $\mu\text{mol/L}$, 各々 $p < 0.01$. 治療 6 カ月後 vs 直後, NS. 図 9). 治療 6 カ月後に抗酸化力が低下した 6 例は, 治療 6 カ月後に低下しなかった群と年齢, 性別, 合併症頻度, MAH 導入後からの日数や施行回数に差異を認めなかった.

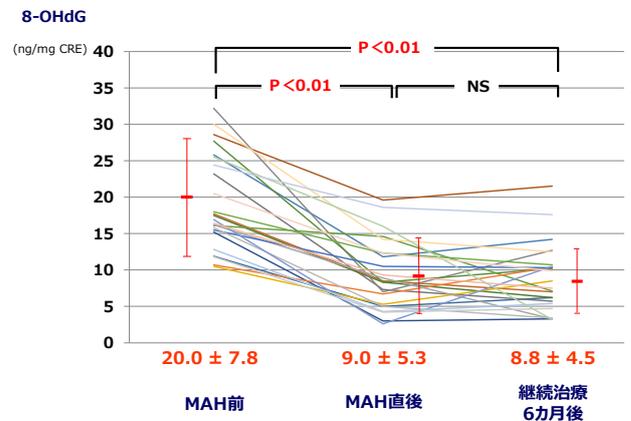


図8 継続治療による尿中 8-OHdG の変化 (24 例)

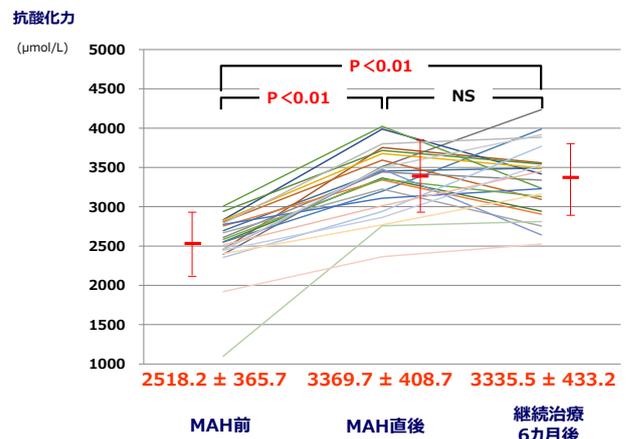


図9 継続治療による抗酸化力の変化 (24 例)

3) 炎症反応

hs-CRPはMAH直後に低下し、治療継続により、さらに有意に低下した(直後; 0.067 ± 0.116 , 治療6カ月後; 0.029 ± 0.033 vs 前, 0.085 ± 0.129 mg/dl, $p < 0.05$, $p < 0.01$. 治療6カ月後 vs 直後, $p < 0.05$. 図10)した. 導入前にhs-CRPが高値であった4例は、脳梗塞既往2例、頸動脈狭窄症1例、子宮頸癌既往1例であった. この4症例を除外してもMAH直後と6カ月後のhs-CRPは、MAH導入前に比し、有意な低下を認めた.

4) 血管内皮機能

治療継続6カ月後のFMDは、導入前に比し有意に上昇した(治療6カ月後; 7.00 ± 3.97 vs 前; 6.57 ± 3.42 %, $p < 0.01$. 図11).

5) 安静時代謝率

安静時代謝率は、直後には有意な変化は見られなかったが、治療継続6カ月後に有意に増加した(直後; 23.4 ± 3.1 , 治療6カ月後; 25.7 ± 3.3 vs 前; 23.4

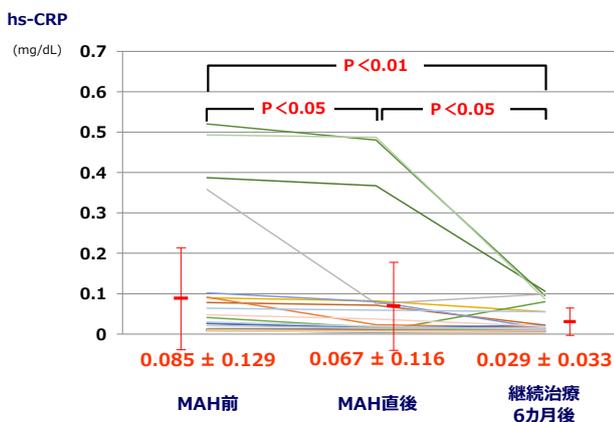


図10 継続治療による炎症反応の変化 (24例)

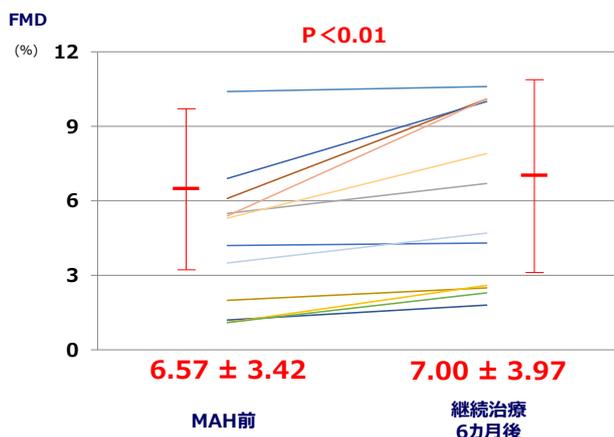


図11 継続治療による血管内皮機能の変化 (12例)

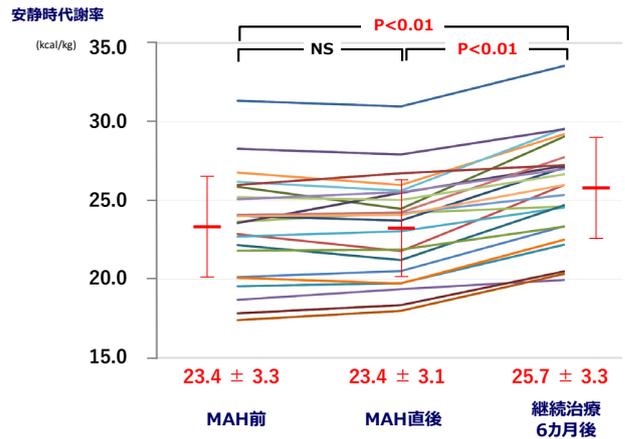


図12 継続治療による安静時代謝率の変化 (24例)

± 3.3 kcal/kg, NS, $p < 0.01$. 治療6カ月後 vs 直後, $p < 0.01$. 図12).

考 察

Bio-oxidative therapy であるオゾン療法の中でも、低リスクでオゾンを全身投与できる最も有効な治療方法の一つであるMAHは、体外で血液にオゾンガスを反応させることで少量の酸化ストレスを発生させる。その前期反応として活性酸素種が、後期反応として過酸化脂質代謝物が発生し、前期反応で発生する活性酸素種の大部分である過酸化水素と後期反応で発生した過酸化脂質代謝物の2つが、MAHの主な作用機序とされている^{16,17)}。前期反応で発生した過酸化水素は、赤血球、白血球、血小板に作用し、赤血球の2,3-DPGを上昇させるため酸素運搬能が改善し、末梢の虚血部に酸素を供給する。またインターフェロン- γ やサイトカイン系を活性化し、オートクイドと成長因子の放出や血小板凝集抑制反応などを引き出す^{16,17)}。後期反応の過酸化脂質代謝物は、血管内皮細胞で一酸化窒素(NO)放出を増加させるため血管を拡張させ、骨髄に対しては、2,3-DPGの活性が高い赤血球を生産させることから、MAHを繰り返すことで、酸素運搬能の高い赤血球が増加することが報告されている^{16,17)}。

活性酸素種は瞬時に消失し、ホルミシス効果により、1. 体内の酸素化、2. 末梢血流の増加、3. 免疫機能の向上、4. 細胞の活性化、5. 抗酸化力の向上、6. 基礎代謝の向上を来すことが報告され¹⁶⁻²⁰⁾、ドイツ、スイス、ギリシャ、キューバを始め数か国では補完療法として治療の全額または一部を保険適用されている²¹⁾。

酸化ストレスは身体にとって必ずしも有害な状態にあるわけではなく、時に有益に働くこともある^{22,23)}。

しかし、酸化ストレスの高い状態が持続すると、酸化された生体内の分子は癌、糖尿病、高血圧といった生活習慣病を始めとする数多くの疾病の発症に関連することが報告されており²²⁻²⁸⁾、抗加齢医学的には酸化ストレス状態を低減させることは、疾病予防や老化制御に役立つと思われる²³⁾。またDNA酸化創傷マーカーの一つである尿中8-OHdGは生体内で代謝や分解されることなく、尿中に速やかに排泄されることから活性酸素による生体損傷を鋭敏に反映する優れたバイオマーカーであると報告されている^{23, 24, 29, 30)}。本検討では、MAH直後にヒドロペルオキシドおよび尿中8-OHdGは低下し、抗酸化力は増加し、治療継続後もその効果は持続していることから、MAHは抗酸化治療の一つであると考えられた。また本検討では、活性酸素種の中でも主にヒドロキシラジカルを反映している尿中8-OHdGが導入直後、全例に低下が見られたが、ヒドロペルオキシドの変動は症例によって差が見られた。対象者の違いはあるが、ヒドロペルオキシドは様々な活性酸素種の影響により生成することから、体内の活性酸素種のバランスは人により異なっており、ヒドロペルオキシドの低下が見られた症例では、活性酸素種の中でもヒドロキシラジカルの比率が高かった可能性がある。MAHには抗酸化系を活性化し、過度な酸化ストレスを抑制する一方、免疫系を賦活化する作用があることも知られている^{31, 32)}。ヒドロペルオキシドが有意な低下がみられなかった症例では、ヒドロキシラジカルは抑制されたものの、免疫系の賦活化により他の活性酸素種の生成がある程度維持されており、ヒドロペルオキシドの低下に繋がらなかったことも考えられる。また、ヒドロペルオキシドは、細胞外液（血清や血漿）中の酸化反応を受けた有機物（脂質、アミノ酸、タンパク質など）を測定している³³⁾。一方、尿中8-OHdGは、細胞内DNAの第8位のグアニン基とヒドロキシラジカルが結合した代謝物を測定している³⁴⁾。MAHは主に細胞に対する有用性も報告されており¹⁹⁾、そのために細胞内の酸化ストレスマーカーである尿中8-OHdGが有意に低下し、細胞外液中のヒドロペルオキシドには変化を及ぼさなかった可能性も示唆される。本検討では尿中8-OHdGの測定は、治療中に膀胱内に貯留された尿の影響を避けるため、MAH直後に一度排尿し、2回目の尿を用いて測定している。ヒドロペルオキシドの測定は、MAH直後に行っており、ヒドロペルオキシドと尿中8-OHdG測定までの時間差が関与した可能性もある。

また、加齢が進むことによって慢性炎症が生じやすくなるが³⁵⁾、この慢性炎症が生活習慣病や癌を含む加齢関連疾患の発症や進展に寄与していることも報告されている³⁶⁾。本検討においてhs-CRPは、MAH直後だけでなく、継続治療にてさらに低下しており、MAHは加齢に伴う慢性炎症の誘導と拡大も制御している可能性が示唆された。

FMDは心血管イベント発症や予後の指標としての有用性が報告されている³⁷⁻³⁹⁾。血管内皮は、血管収縮因子としてエンドセリン、アンジオテンシンII、トロンボキサンA2などを分泌する一方で、血管拡張因子であるNO、プロスタグランジンIa、内皮由来血管過分極因子、C型ナトリウム利尿ペプチドなどを分泌することも報告されており^{39, 40)}、その中でもFMDに最も影響する物質は内皮細胞から分泌されるNOであることが知られている⁴¹⁾。MAHによるFMD増加の機序としては、後期反応で発生する過酸化脂質代謝物が、血管内皮細胞でNO放出を増加させ、血管を拡張させたと考えられる。またMAHにより酸化ストレスマーカーやhs-CRPが低下したことから酸化ストレスや慢性炎症の改善なども血管内皮機能を改善させた一因であると考えられた。FMDの増加が、冠動脈拡張反応を惹起し、冠動脈の血流を増加させ、虚血性心疾患発症の抑制をもたらす可能性も考えられ、MAHを長期的に継続することの意義は大きいと考えられる。

安静時代謝率は加齢等で低下し、中年期以降では、さまざまな体の不調や活力の低下、冷えなどによる血流低下や脂肪や糖の代謝機能低下から来る肥満やメタボリックシンドロームをもたらすことが報告されており⁴²⁻⁴⁴⁾、安静時代謝率を向上させることは、過栄養や運動不足を通じたエネルギー過剰による肥満の抑制にも繋がり、内臓脂肪蓄積を基盤としたメタボリックシンドロームの発症・進展を妨げ、インスリン抵抗性や血管内皮機能の改善にも寄与すると考えられるため、今回MAHが酸化ストレスだけでなく代謝系の改善ももたらすか否かを含めて検討した。今回MAHを継続的に行うことにより、安静時代謝率の改善がみられたことから心血管病の発症抑制や健康リスクの低下をもたらす可能性が示唆された。末梢循環や安静時代謝率の改善の機序は不明であるが、MAHにより血液流動性が増加することが報告されており¹¹⁾、本検討でもFMDの増加がみられたことより血管拡張による血流の増加の関与が示唆された。

結 語

MAHの急性効果として末梢循環は改善し、酸化ストレスや炎症反は低下した。また長期継続することにより酸化ストレスの低下は持続し、炎症反応はさらに低下し、血管内皮機能や安静時代謝率は増加した。継続的なMAHは高酸化ストレス状態や生活習慣病を始めとする動脈硬化性疾患の発症予防や健康リスクの低下をもたらす可能性が示唆された。

文 献

- Barone A, Otero-Losada M, Grangeat AM, et al. Ozonotherapy protects from in-stent coronary neointimal proliferation. Role of redoxins. *Int J Cardiol.* 2016; 223: 258-61.
- Hernandez RF, Calunga FJ, Turrent FJ, et al. Ozone Therapy Effects on Biomarkers and Lung Function in Asthma. *Arch Med Res.* 2005; 36: 549-554.
- Xiaona W, Zhensheng L, Xiaoyan L, et al. Major ozonated autohemotherapy promotes the recovery of upper limb motor function in patients with acute cerebral infarction. *Neural Regen Res.* 2013; 8: 461-468.
- Emma B, Angelica D, Alessandro Z, et al. Effects of major ozonated autohemotherapy in the treatment of dry age related macular degeneration: a randomized controlled clinical study. *Int J Ophthalmol.* 2012; 5: 708-713.
- Zaky S, Kamel SE, Hassan MS, et al. Preliminary results of ozone therapy as a possible treatment for patients with chronic hepatitis C. *J Altern Complement Med.* 2011; 17: 259-263.
- Molinari F, Rimini D, Liboni W, et al. Cerebrovascular pattern improved by ozone autohemotherapy: an entropy-based study on multiple sclerosis patients. *Med Biol Eng Comput.* 2017; 55: 1163-1175.
- Omar S, Noel LS, Inefta R, et al. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders. *Med Gas Res.* 2018; 8: 103-110.
- Sato K, Yagi M, Yonei Y. A new method for measuring oxidative stress using blood samples. *Glycative Stress Research.* 2015; 2: 15-21.
- Kaneko K, Kimata T, Tsuji S, et al. Measurement of urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine in a novel point-of-care testing device to assess oxidative in children. *Clinica Chimica.* 2012; 413: 1822-1826.
- Paul MR. High-sensitivity C-reactive protein. Potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation.* 2001; 103: 1813-1818.
- 渡井健男. 血液クレンジング療法. 現代書林: 2001; 109-111.
- Maruhashi T, Kajikawa M, Kishimoto S, et al. Diagnostic criteria of flow-mediated vasodilation for normal endothelial function and nitroglycerin-induced vasodilation for normal vascular smooth muscle function of the brachial artery. *J Am Heart Assoc.* 2020; 9: e013915.
- 谷口可純, 岡田巳紀, 長縄幸枝, 他. 日常運動が生活習慣病患者の安静時エネルギー消費量に及ぼす影響. 名古屋学芸大学健康・栄養研究所年報. 2016; 8: 1-5.
- 佐々木雅也, 丈達知子, 栗原美香, 他. 総論 間接熱量計によるエネルギー消費量と基質代謝の測定. 静脈経腸栄養. 2009; 24: 1021-1025.
- David CN, Austin MD, Benezra L, et al. Validation of cosmed's Fitmate™ in measuring oxygen consumption and estimating resting metabolic rate. *Research in sports Medicine.* 2006; 14: 1-8.
- Borrelli E, Bocci V. The use of ozone in medicine. *Ann Med Health Sci Res.* 2018; 8: 117-119.
- Bocci V, Zanardi I, Travagli V. Oxygen/ ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. *Medical Gas Res.* 2001; 1: 6.
- Smith NL, Wilson AL, Gandhi J, et al. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. *Med Gas Res.* 2017; 7: 212-219.
- Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. *J Nat Sci Bio Med.* 2011; 2: 66-70.
- Hansler RV, Fernandez OS, Fahmy Z. Ozone in medicine: Clinical evaluation and evidence classification of the systemic ozone applications, major autohemotherapy and rectal insufflation, according to the requirements for evidence-based medicine. *J International Ozone assoc.* 2016; 38: 322-345.
- Quintero R, Schwartz A. Ozone therapy and legislation – Analysis for its regularization. *Ozone therapy and Growth Factors.* 2017; 16-51.
- Griendling KK, Touyz RM, Zweier JL, et al. Measurement of reactive oxygen species, reactive nitrogen species, and redox-dependent signaling in the cardiovascular system: A scientific statement from the american heart association. *Circ Res.* 2016; 119: e39-e75.
- Guo C, Li X, Wang R, et al. Association between oxidative DNA damage and risk of colorectal cancer: Sensitive determination of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine by UPLC-MS/MS analysis. *Sci Rep.* 2016; 6: 32581.
- Cui X, Ohtsu M, Mise N, et al. Heavy metal exposure, in combination with physical activity and aging, is related with oxidative stress in Japanese women from a rural agricultural community. *Springerplus.* 2016; 5: 885.
- Yagisita Y, Uruno A, Fukutomi T, et al. Nrf2 improves leptin and insulin resistance provoked by hypothalamic oxidative stress. *Cell reports.* 2017; 18: 2030-2044.
- Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vascular. Molecular and cellular mechanisms. *Hypertension.* 2003; 42: 1075-1081.
- Guzik TJ, Touyz RM. Oxidative stress, inflammation, and vascular aging in hypertension. *Hypertension.* 2017; 70: 660-667.

28. Liguori I, Russo G, Curcio F, et al. Oxidative stress, aging, and disease. *Clinical Interventions in Aging*. 2018; 13: 757-772.
29. 蔵重 淳. DNA 酸化損傷バイオマーカー8-OHdG の測定. 臨床検査. 2001; 45: 271-280.
30. Shan Y, Song MF, Kasai H, et al. 8-Hydroxyguanine in urine and serum as an oxidative stress marker: Effects of diabetes and aging. *J UOEH*. 2013; 35: 119-127.
31. Sagai M, Bocci V. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is healing induced via a mild oxidative stress? *Medical Gas Research*. 2011; 1: 1-18.
32. Larini A, Aldinucci C, Bocci V. Ozone as a modulator of the immune system. Proceedings of the 15th ozone world congress. 2001; 1-9.
33. 五島史行, 井手里香, 矢部はる奈, 他. 酸化ストレスとメニエール病, 良性発作性頭位めまい症との関連. *Equilibrium Res*. 2009; 68: 9-13.
34. 葛西 宏. 酸化ストレスマーカー 8-OHdG の測定. *Foods Food Ingredients J Jpn*. 2001; 194: 10-16.
35. Shaw AC, Goldstein DR, Montgomery RR. Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nat Rev Immunol*. 2013; 13: 875-887.
36. 真鍋一郎. 慢性炎症と加齢関連疾患. 日老医誌. 2017; 54: 105-113.
37. Tomiyama H, Ishizu T, Kohro T, et al. : Longitudinal association among endothelial function, arterial stiffness and subclinical organ damage in hypertension. *Int J Cardiol*. 2017; 253: 161-166.
38. Maruhashi T, Soga J, Fujimura N, et al. : Endothelial dysfunction, increased arterial stiffness, and cardiovascular risk prediction in patients with coronary artery disease: FMD-J (flow-mediated dilation Japan) study A. *J Am Heart Assoc*. 2018; 7: e008588.
39. Vanhoutte PM : Endothelium and control of vascular function. *Hypertension*. 1989; 13: 658-667.
40. Lucher TF: Imbalance of endothelium-derived relaxing and contracting factors. *Am J Hypertens*. 1990; 3: 317-330.
41. Mullen MJ, Kharbanda RK, Cross J, et al. Heterogenous nature of flow-mediated dilatation in human conduit arteries in vivo: relevance to endothelial dysfunction in hypercholesterolemia. *Circ Res*. 2001; 88: 145-151.
42. 及川 眞一. 加齢とメタボリックシンドローム. 日老医誌. 2007; 44: 168-170.
43. 横野浩一. 加齢に伴う糖代謝変化ーインスリン分泌とインスリン作用を中心にー糖尿病. 2008; 51: 291-293.
44. 上垣佐登子. 「高齢者における代謝栄養管理」. 高齢者の代謝特性. 外科と代謝. 2018; 52: 1-3.