

## 水素ガスと水素水による新しい概念の抗酸化治療法と予防医学

太田 成男

**要 約** 酸化ストレスは、老化や痛を始めとする多くの一般的な疾患、とくに生活習慣病の一要因と考えられている。さらに、虚血再灌流や炎症によって誘導される急性の酸化ストレスは組織に重篤な損傷を引き起こす。本研究では、水素分子 ( $H_2$ ) が有効な抗酸化剤として治療および予防に使用可能であることを示唆した。特に  $H_2$  は、細胞傷害性の極めて高い活性酸素種 (ROS) であるヒドロキシルラジカルを選択的に還元して細胞を有効に保護し、一方、シグナルとして働くなど生理学的に重要な役割をもつ他の ROS とは反応しないことを明らかにした。この結果は、 $H_2$  の副作用が極めて小さいことを示唆する。また、局所的虚血と再灌流によって脳内で誘導される急性酸化ストレスラットモデルを使用し、実際に水素ガス吸引による抗酸化治療が可能であることを示した。さらには、肝臓の虚血再灌流モデル、心筋梗塞モデル動物に水素ガスを吸入させ、酸化ストレスの作用が弱められることで組織の損傷が顕著に抑制されることを示した。したがって  $H_2$  は、効果的な抗酸化療法として多様な目的に対して使用することが可能であることが示唆された。これは  $H_2$  が速い拡散によって細胞膜を通過可能なために、細胞傷害性の ROS と接触して反応することで効果的に酸化的損傷を防ぐためであると考えられる。さらに、水素を水溶液に高濃度に溶解して経口投与による水素の有効性が多方面で追求され、確立しつつある。ここでは、動脈硬化モデルにおける動脈効果の予防、身体的拘束による認知機能低下の予防効果に言及する。水素は老化の進行をも抑制するかもしれない。

**Key words** : 活性酸素種, 酸化ストレス, 水素, 虚血再灌流, 予防医学

(日老医誌 2008 : 45 : 355-362)

## はじめに

酸化ストレスは活性酸素種 (Reactive oxygen species = ROS) の増加によってもたらされる過度の酸化状態による一種のストレスで、老化の進行を促進するや生活習慣病の一因であることが提唱されている。酸化ストレスを軽減させる抗酸化物質によって、老化の進行を抑制し、生活習慣病の予防ができるのではないかと考えられ、そのために多くの抗酸化物質が探索されてきた。筆者らは、水素分子 ( $H_2$ ) が細胞内で活性酸素種を選択的に還元することを見だし、酸化ストレスによって生じる虚血再灌流障害を軽減することを見いだした<sup>1)</sup>。さらに、モデル動物に水素を高濃度に溶解した水を自然摂取させることで、生活習慣病などの予防に水素が応用できる可能性を示唆した<sup>2)</sup>。ここでは、その原理と応用の可能性を述べる。

## 活性酸素種の生成と消去

ミトコンドリアでは、電子伝達系 (あるいは呼吸鎖ともいう) により内膜間に電気化学的ポテンシャルを生じさせ、この電気化学的エネルギーを ATP の化学エネルギーに変換する。ミトコンドリア内膜は優れた絶縁体であり、この膜間電気エネルギーは 1 cm の厚さの絶縁体に 21 万ボルトの電圧をかけるに等しい。しかし、いくら優れた絶縁体であっても、この電圧下では、ある頻度で電子が漏れ出てしまう (図 1)。この漏れ出た電子はミトコンドリア内の酸素と反応してスーパーオキシド陰イオンラジカル (superoxide anion free radical =  $O_2^-$ ) となる。あるいは、ミトコンドリア内の反応系であるクエン酸回路においても、 $\alpha$ -ケトグルタル酸脱水素酵素によって、ある頻度で  $O_2^-$  が生成する。したがって、 $O_2^-$  はミトコンドリアにおいてエネルギー代謝の必然的な副産物であると言える<sup>3)4)</sup>。 $O_2^-$  はミトコンドリア以外にも発生源があり、NADPH オキシダーゼやキサンチンオキシダーゼなどの代謝に必要な酸化酵素によっても生じる<sup>5)6)</sup>。

活性酸素種は酸化力が強く、他の生体物質を酸化して

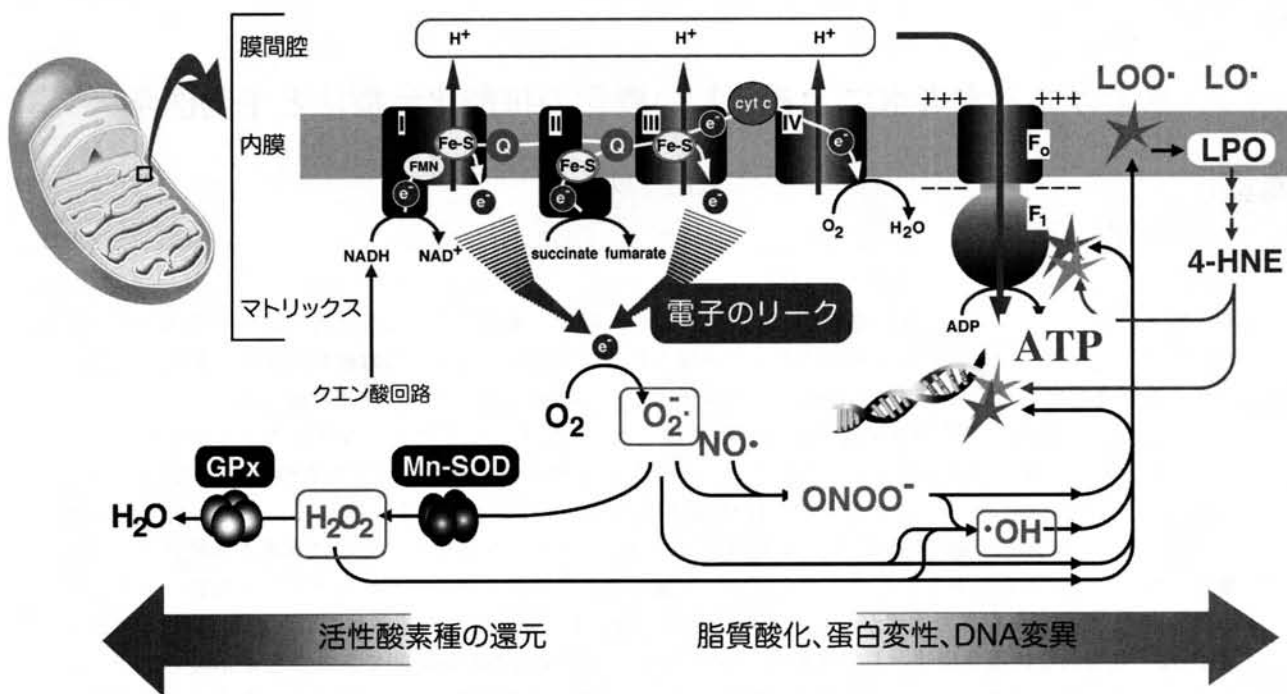


図1 ミトコンドリアにおける活性酸素種の生成と消去の概略

ミトコンドリアの内膜の電子伝達系から遊離した電子 ( $e^-$ ) は  $O_2$  に吸収され、 $\dot{O}_2^-$  が生じる。 $\dot{O}_2^-$  は、MnSODによって  $H_2O_2$  に変換され、GPxによって水になり解毒される。NOと $\dot{O}_2^-$  が反応すると  $ONOO^-$  となる。 $\dot{O}H$  は、 $ONOO^-$  の分解によって、 $H_2O_2$  からFenton反応によって、あるいは、 $H_2O_2$  と $\dot{O}_2^-$  からHaber-Weiss反応によって生じる。

しまうので、生体内ではこの危険な活性酸素の消去系がよく発達している。 $\dot{O}_2^-$  は、Mn-SOD (Mn依存性スーパーオキシドジスムターゼ) によって、過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) に変換され、 $H_2O_2$  はグルタチオンペルオキシダーゼあるいはカタラーゼにより水へ変換され解毒される。この時、 $\dot{O}_2^-$  は  $Fe^{3+}$  や  $Cu^{2+}$  などの遷移金属イオンを還元し ( $\dot{O}_2^- + Cu^{2+} \rightarrow O_2 + Cu^+$ )、これらの還元型金属イオン ( $Fe^{2+}$  や  $Cu^+$ ) は  $H_2O_2$  に作用し、ヒドロキシルラジカル ( $\dot{O}H$ ) を生じさせる (Fenton反応、 $H_2O_2 + Cu^+ \rightarrow \dot{O}H + OH^- + Cu^{2+}$ )。あるいは遷移金属を触媒として $\dot{O}_2^-$  と  $H_2O_2$  が反応して、 $\dot{O}H$  が生成される (Haber-Weiss反応、 $\dot{O}_2^- + H_2O_2 \rightarrow \dot{O}H + OH^- + O_2$ )<sup>7)</sup>。 $\dot{O}H$  は最も強力な酸化力をもつフリーラジカルであり、無差別的に核酸や脂質、タンパク質と反応する。この $\dot{O}H$  を解毒する機構は生体内には存在することが知られておらず、 $\dot{O}H$  を除去することは生体内の抗酸化作用にとって最も重要である。

### 活性酸素種の害と必要性

強い酸化力をもつ活性酸素種やフリーラジカルが過剰に生じることにより細胞内に酸化ストレスが生じる。持続的な酸化ストレスは、癌と多くの生活習慣病の一因と

考えられている。酸化ストレスにより遺伝子も酸化されるので、老化の進行に酸化ストレスが関わっていると考えられる。そのため、活性酸素を消去する抗酸化物質が健康の増進や老化の抑制に効果的であることが推測されていた。

さらに、虚血再灌流や炎症によって誘導される急性の酸化ストレスは組織に重篤な損傷を引き起こす。酸化力を比べると、 $\dot{O}H$  は  $\dot{O}_2^-$  の100倍の酸化力がある<sup>8)</sup>。実際、 $\dot{O}H$  はDNAを酸化するが、 $\dot{O}_2^-$  や  $H_2O_2$  はDNAを直接酸化するほどの酸化力はない。したがって、酸化力によって生体に障害を与えて問題となるのは $\dot{O}H$  である。

$\dot{O}_2^-$  や  $H_2O_2$  は、高濃度では細胞毒性効果がある一方、低濃度においては重要な生理的役割を担っている<sup>9)</sup>。すなわち、多くのシグナル伝達カスケードで制御シグナル分子として機能して、アポトーシスや細胞増殖、分化といった生物によって重要なプロセスを制御している<sup>10,11)</sup>。また別の活性酸素種である一酸化窒素 (NO) は神経伝達物質として機能し、血管の拡張にも必須である<sup>12)</sup>。

したがって、 $\dot{O}_2^-$ 、 $H_2O_2$  や NOなどの活性酸素種をすべて除去してしまうと、何らかの生体内機能が損ねられ、いわば副作用が生じることが予測される。高濃度の  $H_2O_2$

はミエロペルオキシダーゼにより次亜塩素酸に変換され細菌の侵襲から防御する<sup>13)</sup>。実際、ミエロペルオキシダーゼ欠損動物では、細菌の侵襲から防御することができない。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>から前述のような無酵素的反応によって生じるOHの寿命は短いため、距離が離れている侵入してきた細菌を排撃するよりもむしろ、近くの自らの細胞に障害を与えてしまう。OHの消去は、細菌の侵襲を阻害することはなく、むしろ、OHによって生じる炎症の障害を抑える事が期待される。

### 安全で効果的な抗酸化物質の条件

従来、健康に効果的な抗酸化物質として還元力が強い物質が探求されてきた。しかし、細胞内の実際の役割を分子レベルで研究されることは少なかった。還元力が強い物質を外から導入すると生体内での反応系を攪乱する可能性があり、前にも述べたような生体内に必要なシグナルを正常に機能させなくなる可能性もある。また、ビタミンCなどの還元力の強い物質は還元反応後に酸化力の強い物質を作り出し、DNAに損傷を与える<sup>14)15)</sup>。実際、大規模疫学調査で抗酸化サプリメントを摂取している人はむしろ短命であった<sup>16)</sup>。したがって、OHなどの細胞に有害なフリーラジカルを無毒化しようとする時は、生理的に有益な活性酸素種の生物活性を損なわないようにしなければならないはずである。

安全で効果的な抗酸化物質の条件を考えると、繰り返しになるが、安全性に関しては、還元力が強すぎて生体内反応を攪乱することはなく、さらに必要な活性酸素種を除去せずに有害な活性酸素種のみを選択的に消去することである。効果的な抗酸化物質としての性質は、細胞内に入り込み、遺伝子の保管庫である核や活性酸素種の発生源であるミトコンドリアへ速やかに到達できることである。実際、ミトコンドリアへ到達できる抗酸化物質の開発が進められている<sup>17)</sup>。多くの物質は疎水性か親水性である。疎水性物質は脂質で構成される膜に留まり、親水性物質は膜を通過できない。抗酸化物質が生体内で効果的かどうかを決めるのは、還元力の強さではなく、必要な場所へ到達できるかどうかである。

### 水素分子の性質

水素は酸素と反応して水になることはよく知られている。水素に火をつけると燃えるし、適当な水素ガスと酸素ガスの混合ガスは爆発もする。この場合は570℃以上の高温に限られる。また、水素の還元力を用いて発電することも可能であり、燃料電池の原料として用いられる。すなわち、水素を電子供給体とし、空気中の酸素を電子

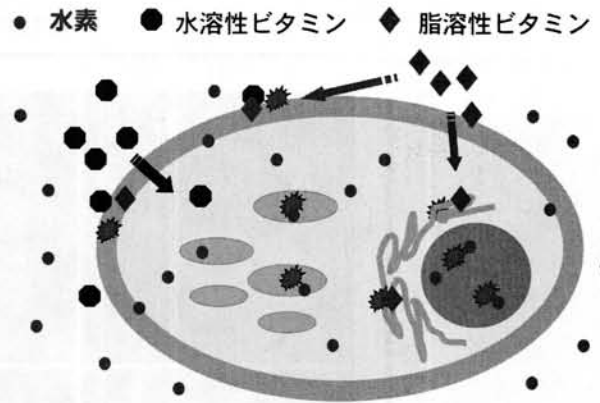


図2 水素の拡散による抗酸化剤としての有効性を示す図。水溶性ビタミンは疎水性の膜を通過できず、脂溶性ビタミンは膜に留まる。水素は水にも油にも溶けるので、細胞内のどこへでも速やかに到達できる。活性酸素の発生源であるミトコンドリアや遺伝子を保管する核内にも水素は入り込むので、抗酸化作用が有効である。

受容体として反応させれば、電流として電子をとりだすことができる。しかし、この場合は触媒が必要である。水素には、ある程度の還元力があるにしても、体温で触媒なしでは、水素は酸素と反応しないことを強調しておく。

また、水素分子は電子受容体がない限り水中で解離することはなく、水素イオン（プロトン=H<sup>+</sup>）になることはない。ミトコンドリアの内膜間には水素イオン濃度勾配が生じて、電気エネルギーポテンシャルが生じるが、本稿で述べる水素分子とは異なることも注意したい。

H<sub>2</sub>は水に不溶と信じている人が少なくないが、モル濃度では酸素と比べて遜色ない程度水に溶解する。水に溶ける水素分子は1気圧で0.8 mM程度である。大気中で1%の水素ガスを吸引すると実際血液中の水素濃度は8 μMになる。

H<sub>2</sub>は、分子内電子の分布の偏りがなく（極性がない）、分子量が小さいので脂溶性であり水溶性である。また、拡散速度は他の物質に比べてはるかに速い。すなわち、H<sub>2</sub>は細胞膜を通過して細胞内の核やミトコンドリアに到達できるはずであり、筆者らは実際にH<sub>2</sub>がミトコンドリア機能を低下させないこと、核遺伝子を保護することを証明している（図2）。

筆者らは、H<sub>2</sub>の還元力（抗酸化力）をまず無細胞系で調べた<sup>1)</sup>。O<sub>2</sub><sup>-</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、NO、OH、ONOO<sup>-</sup>（ペルオキシナイトライト）をそれぞれ特異的な反応系によって生じさせ、蛍光色素などによって検出した。その時、反応液にH<sub>2</sub>を溶解させ、直接H<sub>2</sub>がそれぞれの活性酸素（あるいは活性窒素）を還元するかどうかを調べた。すると、

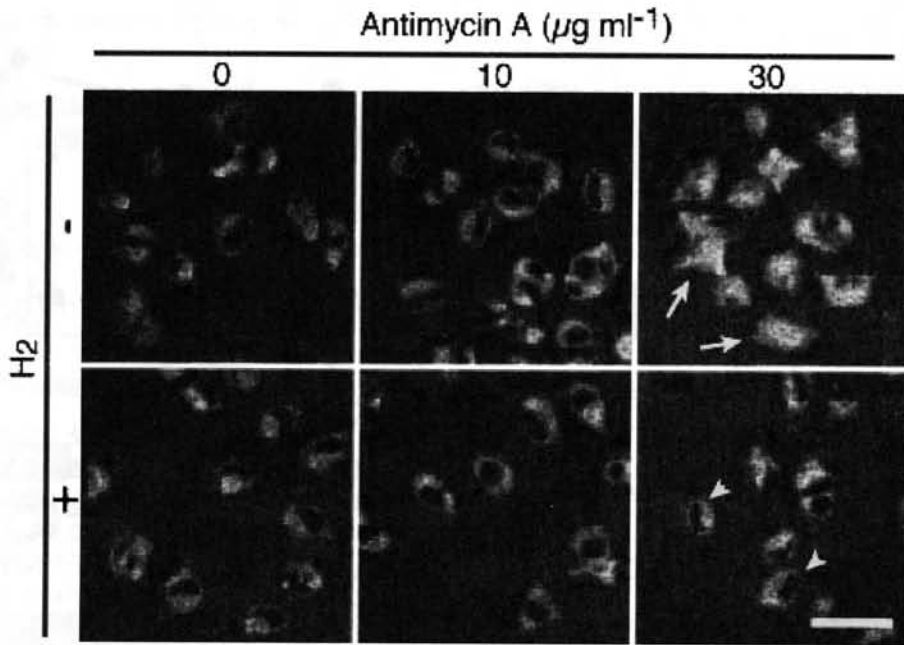


図3 水素分子による細胞内ヒドロキシルラジカルの消去の証明

培養細胞 PC12 に電子伝達系の阻害剤である antimycinA によって  $\dot{O}_2^-$  を強制的に発生させ、 $\dot{O}_2^-$  から  $H_2O_2$  と  $\dot{O}H$  を生じさせた。HPF は  $\dot{O}H$  と反応して蛍光を発する試薬であり、水素が 0.6 mM 培養液に存在する場合、HPF の蛍光強度が低くなる事から水素は  $\dot{O}H$  を消去することが示された。(文献1より改変)

$H_2$  は  $\dot{O}_2^-$ 、 $H_2O_2$ 、 $N\dot{O}$  を還元せず、 $\dot{O}H$ 、 $ONOO^-$  を還元した。 $\dot{O}H$ 、 $ONOO^-$  は  $\dot{O}_2^-$ 、 $H_2O_2$ 、 $N\dot{O}$  に比べると酸化力が強く、水素は  $\dot{O}H$  のような酸化力の強い活性酸素種を選択的に還元することがわかった。上述のように  $\dot{O}_2^-$ 、 $H_2O_2$ 、 $N\dot{O}$  は生体内でシグナルとしての機能があるので、 $H_2$  は必要な活性酸素種は除去しないということになる。

ここで、水素分子が何故選択的に  $\dot{O}H$  のような酸化力の強い活性酸素種のみを選択的に還元できるかを考えてみる。酸化還元反応は電子のやりとりの反応である。電子を与えるのが還元剤(抗酸化剤)、電子を受け取るのが酸化剤である。電子を「奪う力」が大きければ、電子を「おしつける力」が弱くても、電子を奪うことになる。すなわち、 $\dot{O}H$  のような電子を奪う力が強ければ、 $H_2$  のように電子を与える適度な力があれば、酸化還元反応は進行する。

すなわち、酸化力が強大な酸化剤を還元するには還元力がそれほど大きくなくてもよい。 $\dot{O}H$  を還元するには還元力の強い物質を追い求める必要はなかったのである。

#### 培養細胞における水素による $\dot{O}H$ の消去

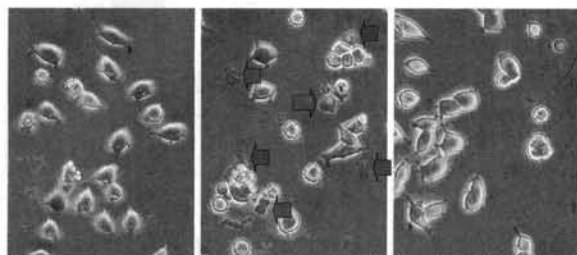
無細胞系の実験結果が細胞中でも同じ結果を示すとはかぎらない。従来、抗酸化物質の研究は、無細胞実験系

で抗酸化力を調べて、その後、動物に食べさせるか飲ませるかによってその効果を判定する研究が多かった。

実際の作用を分子レベルで確認するには培養細胞における抗酸化物質の作用を明らかにする事が必須である。最近、活性酸素の種類ごとに特異的に反応する蛍光試薬が開発されてきた。そこで、活性酸素の種類ごとに可視可することが可能になってきた。そこで、蛍光試薬を指標に、 $H_2$  が培養細胞における  $\dot{O}H$  を選択的に消去できるか調べた。自然自発的な  $\dot{O}H$  の発生では細胞毒性を示す量には至らないので呼吸鎖阻害剤を用いてミトコンドリアから強制的に  $\dot{O}H$  を発生させた。最初に、 $H_2$  及び  $O_2$  でそれぞれ飽和した培地を用意し、水素電極および酸素電極でモニターしながらそれぞれの濃度が適量となるように混合し、培養液として用いた。さらに容器を  $H_2$  及び  $O_2$  が適量濃度になるように調製した気体で満たされし、溶存気体濃度が変化しないようにした。PC12 細胞ではミトコンドリア呼吸鎖阻害剤であるアンチマイシン A を添加することでミトコンドリアで  $\dot{O}_2^-$  を発生させ、細胞内反応により  $\dot{O}H$  を増加させた。 $\dot{O}H$  は蛍光色素 HPF (Hydroxyphenyl Fluorescein) によって検出した<sup>8)</sup>。 $H_2$  で処理すると細胞内  $\dot{O}H$  だけが減少し(図3)、PC12 細胞の細胞死は容量依存的に抑制された(図4)。 $H_2$  はミトコンドリアを保護したこと、核の  $\dot{O}H$  を減少させ、

アンチマイシン A ( $\mu\text{g/ml}$ )

	0	10	10
$\text{H}_2$	-	-	+



死細胞

図4 水素分子による細胞内酸化ストレスによる細胞死の抑制

培養細胞 PC12 に電子伝達系の阻害剤である anti-mycin A によって  $\dot{\text{O}}_2^-$  を強制的に発生させ、 $\dot{\text{O}}_2^-$  から  $\text{H}_2\text{O}_2$  と  $\dot{\text{O}}\text{H}$  を生じさせた。一日後の顕微鏡写真。矢印が死細胞で、水素を含む培養液では細胞死を抑制している。(文献1より改変)

核 DNA を酸化から保護したことから、 $\text{H}_2$  はミトコンドリア膜と核膜を透過し、ミトコンドリアと核への到達したことが示された。また、水素分子が過酸化脂質の最終産物である 4-ヒドロキシ-2-ノネナール (HNE) の蓄積を抑制したことは、脂質の過酸化も抑制していることを示した。

さらに、 $\text{H}_2$  が  $\dot{\text{O}}\text{H}$  を消去していることを示すために、Fenton 反応によって直接  $\dot{\text{O}}\text{H}$  を発生させ、 $\text{H}_2$  の効果を調べた。Cu $^{2+}$  で前処理してビタミン C を加えるとビタミン C の還元力によって Cu $^{2+}$  が還元され、Cu $^{+}$  となる。ミトコンドリアで自然発生的に生成した  $\text{H}_2\text{O}_2$  と Cu $^{+}$  によって  $\dot{\text{O}}\text{H}$  が細胞内で生成する。この  $\text{H}_2$  による  $\dot{\text{O}}\text{H}$  の減少はスピントラップ法によって証明させ、 $\dot{\text{O}}\text{H}$  による細胞の致死率も改善された。

### 脳梗塞モデル動物に対する水素ガスの吸引効果

抗酸化物質としての水素分子を医療へ応用できるか調べるためにラットの虚血再灌流モデルを用いた。大脳虚血においては多様なメカニズムで活性酸素種が発生し、虚血再灌流後に  $\cdot\text{OH}$  が発生する。我々はラットを軽度大脳動脈閉塞によって 90 分間局所的に虚血し、次いで 30 分間再灌流した。その際水素ガスを全 120 分間吸引させた。1 日後に脳をスライスし、ミトコンドリアにおける呼吸過程で基質である 2,3,5-トリフェニルテトラゾリウム塩 (TTC) で染色し、梗塞体積が水素濃度依存的に減少することを確かめた (図 5)。軽度大脳動脈閉

 $\text{H}_2$ 

0 %

2 %

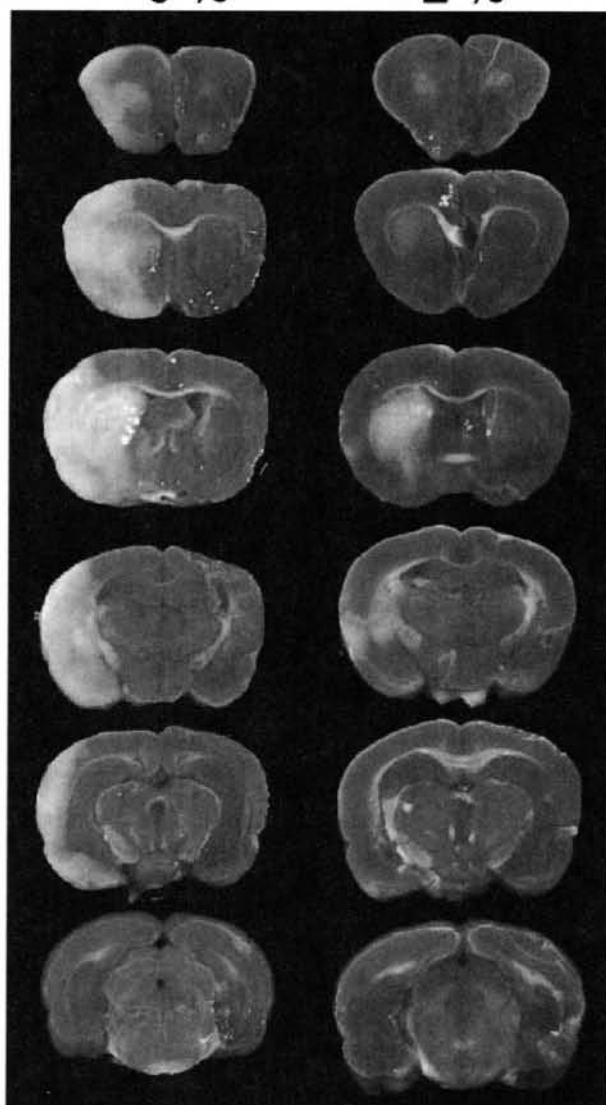


図5 ラット中大動脈脳梗塞モデルへの水素ガス(2%)の吸引効果

ラットの脳中大動脈を閉塞し、再灌流させた。一日後、脳の連続切片を作製し、TTC 染色した。梗塞時と再灌流時に 2% の水素ガスを吸引させると梗塞巣(白い部分)が著しく減少した(左図)。(文献1より改変)

塞 1 週間後、水素処置群と未処置群での梗塞体積の違いはより顕著になった。

水素処置ラットは体重および体温でも未処置に比して改善が見られた。このように水素分子は初期の脳障害を改善したのみならず障害の進行も抑制した。閉塞 1 週間後の脳を用いて、水素分子による保護効果により生じた分子レベルでの変化を核酸の酸化を表す抗 8-OH-G 抗体

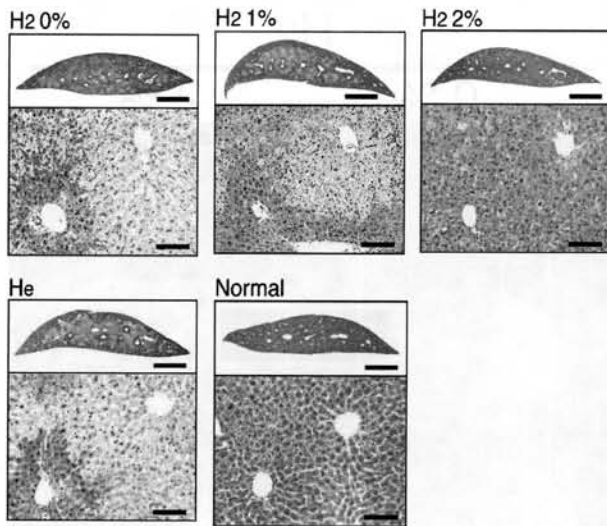


図6 肝臓虚血再灌流に対する水素吸引効果. マウスの肝臓の血流を90分間停止し, 再灌流を180分行った. その間, 水素ガス0% (A), 水素ガス2% (B), ヘリウムガス4% (C)を吸わせた. Dは虚血を行わなかった肝臓のH&E染色. 下が拡大図で, 白く抜けている領域は死細胞領域である. (文献19より改変)

と脂質の過酸化を示す抗HNE抗体で脳スライスを染色して調べた. 水素処置ラットではどちらの酸化マーカーの染色についても有意に減少していた. 脳の同一領域をミクログリア特異的抗Iba-1抗体で染色したところ, 抗Iba-1抗体による染色は水素処置によって顕著に減少していた. ミクログリアの集積は脳障害の指標であり, こうした結果は水素分子が酸化ストレスと, さらに脳障害を顕著に抑制することを強く示唆している<sup>1)</sup>. また, 最近, 上海のグループからも脳梗塞にたいする水素ガスの吸引効果が示され, さらにアポトーシスの抑制効果も示された<sup>18)</sup>.

さらに, 虚血再灌流障害の抑制効果の一般的な可能性を探るために, 肝臓の虚血再灌流障害に対する水素ガスの効果を調べた. ここでは, ヘリウムガスは効果がないことを明確にした<sup>19)</sup>(図6). つまり, H<sub>2</sub>分子が小さいために生じる効果ではなく, H<sub>2</sub>の還元力が虚血再灌流に対して防御効果を発揮するのである.

さらに, 心筋梗塞モデルラットに対しても, 水素ガスを吸引させることで著明な効果を示した<sup>20)</sup>. 以上のことから, 水素ガスの吸引効果は, 脳, 心臓, 肝臓で, 3つのグループにより確認されたことになり, 一般化できることが確立したものと言える. 効果を発揮する水素ガス濃度はいずれも1~2%であった. 1~2%の水素ガスは決して燃えることはなく, 爆発することもない. 水素ガ

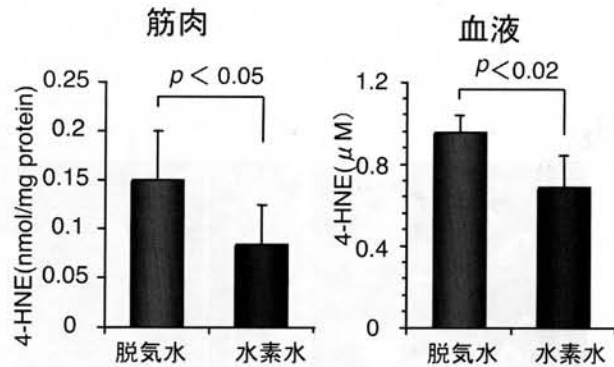


図7 水素水の自然摂取による酸化ストレスの低下. 酸化ストレス亢進マウス (DAL マウス) に飽和水素水を自然摂取させた. 対照としては脱気水を飲ませた. 4週間後, 酸化ストレスマーカーの4HNEを定量した. 筋肉, 血液双方とも水素水の摂取により, 4HNEが低下した.

スは空気よりも軽い, 2%の水素ガスが2%以上に濃縮されることはない. 例えば, 濃度の異なる砂糖水を重層することはできるが, 一度攪拌してしまうと, 砂糖の濃度勾配が自然には, できないのと同じである.

### 水素分子の有効性と医学的利用の将来性

水素ガスを部屋に満たして生活することも将来は可能になるかもしれない. しかし, 日常的に水素ガスを吸引することは難しいかもしれない. 水素を体内に取り入れて, 抗酸化作用を発揮するには, H<sub>2</sub>を飽和状態まで溶かした水 (水素水) を飲むことも有効かもしれない. そこで, 生活習慣病の予防のために, H<sub>2</sub>を飽和状態まで溶かした水 (水素水) を飲むことが有効かどうかを調べた. 水素水をラットの胃に強制的に送り込むと血液中にH<sub>2</sub>を検出することができた. すなわち, H<sub>2</sub>は胃から直接体内に入り込むようである. 水素水を飲んだ場合, H<sub>2</sub>は水とは別に挙動するので, 水と一緒に吸収されるわけではない.

まず, 最初に水素水をマウスに自由摂取で飲ませ, 体内の酸化ストレスマーカーを調べると4週間で酸化ストレスマーカーの4HNEが減少することが明らかとなった (図7).

動脈硬化は, LDLが酸化されそれをマクロファージが取り込むことにより生じる. ApoE欠損マウス (apoE<sup>-/-</sup>) では6カ月ほどで動脈硬化がみられるようになる. その間, 水素水を飲ませ続けると, 心臓に近い大動脈では水素水の摂取により動脈硬化巣が著しく小さくなった (図8).

肉体的あるいは心理的ストレスにより酸化ストレスが

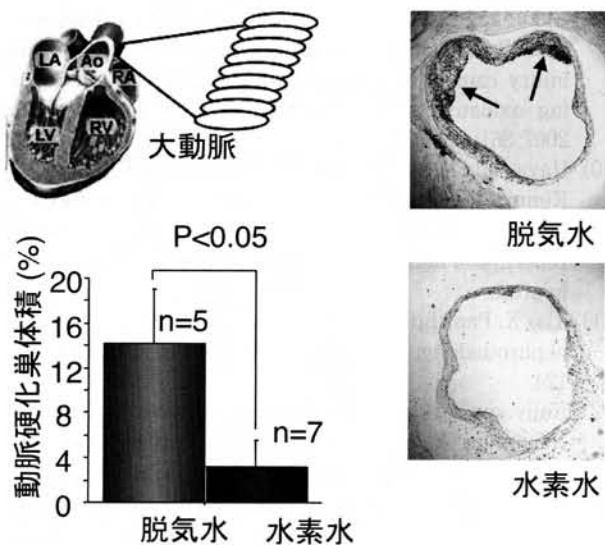


図8 水素水の自然摂取による動脈硬化の予防  
動脈硬化モデルマウスである apoE ノックアウトマウスに水素水を自然摂取させた。10週齢のマウスに4カ月水素水を飲ませ、6.4カ月に冠動脈口の動脈硬化を調べた。水素水の摂取により動脈硬化集積が減少した。

亢進することが明らかにされている。そして、長期にわたってマウスを拘束すると記憶力が損なわれる。身体的拘束ストレスを与えながらマウスに水素水を飲ませると脳の酸化ストレスが軽減された。記憶力低下が抑制された<sup>2)</sup>。また、抗癌剤(シスプラチン)の腎臓に酸化ストレスを亢進させる<sup>21)</sup>。その副作用(腎障害)を水素ガスの吸引、水素水の飲用によって抑制できた(Nakashima-Kamimura 投稿中)。

最近、水素水の飲用による臨床試験の結果が報告された<sup>22)</sup>。毎日900 mLを糖尿病患者にのみせ、酸化ストレスマーカーが減少する事が示された。また、軽度糖尿病の改善が見られた。この結果は、単に動物実験の結果にとどまらず、人にも水素水の飲用が効果的であることを示している。詳細な動物実験と臨床試験のさらなる結果が期待される。

### 今後の課題と将来性

炎症、激しい運動、心筋梗塞、血流の停止や臓器移植などの様々な状況により、急性の酸化ストレスが引き起こされる。H<sub>2</sub>がOHを除去することで、強い酸化ストレスから細胞と組織を防御することが示唆された。しかしながら、生細胞内においてH<sub>2</sub>がOH以外の強い酸化力をもつ物質を直接的にあるいは間接的に還元することで酸化ストレスから細胞を防御している可能性も否定でき

ない。ラジカルは連鎖反応によって減少するので、H<sub>2</sub>とOHが反応しても、OH<sub>2</sub>というラジカルが生じてしまうからである。別の考えとしては、H<sub>2</sub>が細胞保護因子を誘導するかもしれないし、H<sub>2</sub>の効果はすべてOHの消去だけで説明できるかもしれない。現在は、H<sub>2</sub>が多岐にわたる生体に及ぼす効果のメカニズムを分子レベルで研究を進めている。今後の研究により、H<sub>2</sub>がどのような機構で酸化ストレスから細胞と組織を防御しているのかがより明確になるであろう。興味深いことには最近CO(一酸化炭素)やH<sub>2</sub>S(硫化水素)のような毒性の強いガスが抗酸化物質として注目されている<sup>23)24)</sup>。このような毒ガスは微量でしか使えないので、微量でもその効果を発揮する分子機構の解明が注目される。H<sub>2</sub>の効果と共通する機構があるのかもしれない。

現在、筆者たちは、急性の酸化ストレスに対して水素ガスを吸引させる治療法を確立したいと研究を進めている。また、生活習慣病や老年病に対してはモデル動物を用いて水素水の飲用による予防効果について検討している。そのためには、老化促進モデルが必要である。最近、筆者らは老化促進モデルマウスを作製した<sup>25)</sup>。このマウスに水素水を飲ませてどのような効果が発揮されるか研究を進めている。

水素ガスは4.7%以上の濃度にならないと火もつかない。水素には気泡になりにくい性質があるので、水素ガスの吸引は既に深海へのダイバーの潜水病予防に利用されており、高い安全性が示されている<sup>26)27)28)</sup>。

水素分子が新しい概念の抗酸化物質として治療や予防に実際に応用されることを期待したい。

最後に、「電解還元水」、「活性水素水」、「飲む水素」、「マイナス水素イオン」などの健康飲料あるいは健康サプリメントと称する類とは、本研究ならびに本稿は、全くの無関係であることを明記する。

### 文 献

- 1) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, et al: Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med* 2007; 13: 688-694.
- 2) Nagata K, Nakashima-Kamimura N, Mikami T, Ohsawa I, Ohta S: Consumption of molecular hydrogen prevents the stress-induced impairments in hippocampus-dependent learning tasks during chronic physical restraint in mice. *Neuropsychopharmacol* 2008; in press.
- 3) Turrens JF: Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 2003; 552: 335-344.
- 4) Balaban RS, Nemtop S, Finkel T: Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell* 2005; 120: 483-495.
- 5) Wallace DC: A mitochondrial paradigm of metabolic and

degenerative diseases, ageing, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet* 2005; 39: 359-407.

- 6) Bedard K, Krause KH: The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 2007; 87: 245-313.
- 7) Halliwell B, Gutteridge JMC: Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation. An update. *FEBS Lett* 1992; 307: 108-112.
- 8) Setsukinai K, Urano Y, Kakinuma K, Majima HJ, Nagano T: Development of novel fluorescence probes that can reliably detect reactive oxygen species and distinguish specific species. *J Biol Chem* 2003; 278: 3170-3175.
- 9) Giorgio M, Trinei M, Migliaccio E, Pelicci PG: Hydrogen peroxide: a metabolic by-product or a common mediator of ageing signals? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 722-728.
- 10) Sauer H, Wartenberg M, Hescheler J: Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation. *Cell Physiol Biochem* 2001; 11: 173-186.
- 11) Liu H, Colavitti R, Rovira II, Finkel T: Redox-dependent transcriptional regulation. *Circ Res* 2005; 97: 967-974.
- 12) Murad F: Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. *Biosci Rep* 2004; 24: 452-474.
- 13) Winterbourn CC: Biological reactivity and biomarkers of the neutrophil oxidant, hypochlorous acid. *Toxicol* 2002; 181: 223-227.
- 14) Podmore ID, Griffiths HR, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Lunec J: Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature* 1998; 392: 559.
- 15) Naidu KA: Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutr J* 2003; 2: 7.
- 16) Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C: Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2007; 297: 842-857.
- 17) Sheu SS, Nauduri D, Anders MW: Targeting antioxidants to mitochondria: a new therapeutic direction. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1762: 256-265.
- 18) Cai J, Kang Z, Liu WW, Qiang S, Zhang JH, Ohta S, et al.: Hydrogen therapy reduces apoptosis in neonatal hypoxia-ischemia rat model. *Neurosci Lett* 2008; in press.
- 19) Fukuda K, Asoh S, Ishikawa M, Yamamoto Y, Ohsawa I, Ohta S: Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 361: 670-674.
- 20) Hayashida K, Sano M, Ohsawa I, Shinmura K, Tamaki K, Kimura K, et al.: Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; in press.
- 21) Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K: Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci* 2007; 334: 115-124.
- 22) Kajiyama S, Hasegawa G, Asano M, Hosoda H, Fukui M, Nakamura N, et al.: Supplementaion of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Nutr Res* 2008; 28: 137-142.
- 23) Elrod JW, Calvert JW, Morrison J, Doeller JE, Kraus DW, Tao L, et al.: Hydrogen sulfide attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by preservation of mitochondrial function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 15560-15565.
- 24) Foresti R, Bani-Hani MG, Motterlini R: Use of carbon monoxide as a therapeutic agent: promises and challenges. *Intensive Care Med* 2008; 34: 649-658.
- 25) Ohsawa I, Nishimaki K, Murakami Y, Suzuki Y, Ishikawa M, Ohta S: Age-dependent neurodegeneration accompanying memory loss in transgenic mice defective in mitochondrial ALDH2 activity. *J Neurosci* 2008; 28: 6239-6249.
- 26) Fontanari P, Badier M, Guillot C, Tomei C, Burnet H, Gardette B, et al.: Changes in maximal performance of inspiratory and skeletal muscles during and after the 7.1-MPa Hydra 10 record human dive. *Eur J Appl Physiol* 2000; 81: 325-328.
- 27) Lillo RS, Parker EC: Mixed-gas model for predicting decompression sickness in rats. *J Appl Physiol* 2000; 89: 2107-2116.
- 28) Lillo RS, Parker EC, Porter WR: Decompression comparison of helium and hydrogen in rats. *J Appl Physiol* 1997; 82: 892-901.