

原 著

水素/炭酸ガス含有飲用水の
各種生体計測値への影響と安全性の検討池田安宏¹⁾, 室谷里見¹⁾, 佐藤和孝^{1, 2)}, 井上吾一³⁾, 小池国彦³⁾, 前川剛志^{1, 2)}山口県立総合医療センター¹⁾ 防府市大崎11077 (〒745-8511)山口県立大学²⁾ 山口市桜島3丁目2-1 (〒753-8502)岩谷産業(株)中央研究所³⁾ 尼崎市次屋3丁目3-16 (〒661-0965)

Key words : 分子状水素, 水素炭酸飲用水, 生理学的検査, 血液検査, 有効性

和文抄録

近年, 分子状水素には強い抗酸化作用のあることが多数報告され, 蘇生後脳症や急性心筋梗塞の虚血後再灌流では過酸化物質が発生して組織障害を起こす. 分子状水素はこの新しい治療法として注目されている. 一方, 健常人への水素ガス投与効果については, まだ詳しく検証されていない.

本研究では健常者ボランティアを対象に1000mL/日の炭酸ガス含有飲用水 (CO₂摂取期間), または水素/炭酸ガス含有飲用水 (H₂/CO₂摂取期間) を各々31日間の飲用のうち26日間以上摂取できた者と比較し, P<0.05を目安に統計的有意性を判定した.

生理学的諸量の摂取期間前後比較では, CO₂摂取期間で飲用後にSPO₂が平均0.43%有意に増加した. H₂/CO₂摂取期間では飲用後に収縮期血圧, 拡張期血圧がそれぞれ5.2, 2.8mmHg有意に減少し, 終末呼気水素濃度は平均2.4ppm上昇したが有意ではなかった.

生化学検査および血球検査の飲用前後比較では, CO₂摂取期間で飲用後に総ビリルビン, コリンエステラーゼ, γ GTP, CK-MB, Ca, 赤血球, 血小板等が統計学的に有意に減少した. しかし, 既知の個体内変動係数 (CV_I) から許容変化幅 (RCV) を求めて対比判定すると, 何れの変化もRCV内であっ

た. また, H₂/CO₂摂取期間では飲用後に γ GTP, CK-MB等が有意に減少したが, 同じくその変化量はRCV内であった.

一方, CO₂摂取後の変化量とH₂/CO₂摂取後の変化量を比較すると, 後者で脈拍数と総ビリルビンが有意差 (p<0.05) に増加したがその変化量はRCV内であり, 変化は生理的な変動範囲内であった.

結論として, 生理学的検査ではH₂/CO₂含有飲用水を一ヵ月摂取後に, 収縮期血圧, 拡張期血圧が統計学的に有意に低下し, CO₂含有飲用水ではSPO₂が軽度有意に増加した. 一方, 臨床検査値は各飲用水摂取後に有意な変化を示す項目は多かったが, 何れもRCVとの対比では許容変化内の軽微なものであり, H₂/CO₂含有飲用水の人体への安全性に問題はないと判断された. 今後, 高濃度水素炭酸水や飲用期間を延長した条件で検討する必要がある.

はじめに

水素ガスは潜水士の潜水病予防目的に研究されてきた歴史があり^{1, 2)}, ヒトに使用しても安全性は高いとされている. 近年, 分子状水素にはスーパーオキシドアニオンラジカル (O₂⁻), パーオキシナイトライト (ONOO⁻) の消去作用があり³⁾, 動物実験で分子状水素の脳保護作用が実証されてNature Medicineに論文が掲載されたこともあり⁴⁾, 多くの動物実験によりその作用機序が解明されつつある.

一方、我々はラットの前脳虚血再灌流モデルで、10分間の虚血再灌流により内径静脈還流血中の O_2^- が長時間（100分以上）上昇することを報告している^{5, 6)}。また、ラットの出血性ショックモデルで水素ガス（2.0%）吸入や水素含有（1.6ppm）リンゲル液の静脈内投与で検討し、対照群（リンゲル液）に比べて炎症マーカーの有意な減少、および肺/肝組織傷害スコアの有意な減少を確認している⁷⁾。最近、心肺蘇生患者において水素ガス吸入による脳保護作用が検討され、山口県立総合医療センターや山口大学医学部附属病院先進救急医療センターもこの臨床治験に参加している^{8, 9)}。

一方、水素含有飲用水や炭酸飲用水は多く市販されているが、水素含有炭酸飲用水は市販されておらず、その安全性と有効性は分かっていない。また、市販の水素飲用水はアルミパウチ封入のもの以外は水素濃度が減衰するので使用できない。しかし、我々は基礎実験において、水素は炭酸ガス含有下でより多く水に含有されることを非公開であるが実証している。そこで本研究では、炭酸ガス含有飲用水を対照に、水素/炭酸ガス含有飲用水の生理機能検査や臨床検査値への影響について、健常成人を対象にクロスオーバーデザインで比較試験をおこなった。

I. 目的

ヒトにおける水素/炭酸ガス含有飲用水の安全性と各種生体計測値への影響を検討することを目的とした。

II. 対象および方法

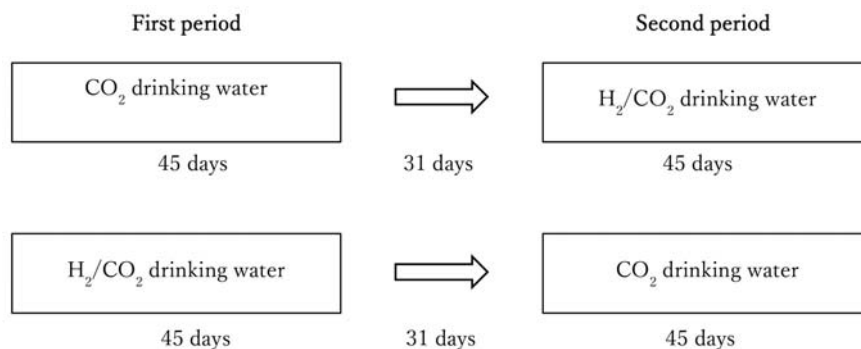
本臨床研究は山口県立総合医療センターの臨床治験・倫理審査委員会承認され（承認番号：2015-008）、ヒトを対象とする研究の倫理規定（世界医師会の倫理規定：ヘルシンキ宣言，1964年，1975年改正，2013年修正）に準拠して実施した。

1. 対象

同病院に勤務する健康生活者のボランティアで、書面による同意を取得できた者を対象とした。職員番号を用いて連結可能な匿名化を行い、年齢20歳以上、70歳未満の被験者で、10歳ごとの各年齢層の男性5名/女性5名の合計50名を対象とした。

2. 方法

炭酸ガス含有飲用水と水素/炭酸ガス含有飲用水はオンサイトのサーバー（岩谷産業中央研究所製作）で製造し、被験者に対しては両飲用水の区別をブラインド化した。被験者を炭酸ガス含有飲用水摂取者（ CO_2 摂取期間，サーバー内濃度：炭酸ガス：1,000ppm）と水素/炭酸ガス含有飲用水摂取者（ H_2/CO_2 摂取期間，サーバー内濃度：水素：2.0ppm，炭酸ガス：1,000ppm，飲用マグカップ内濃度：水素約0.5ppm）に同数割付けした。各摂取期間とも飲用可能な45日間で31日間、1,000mL/日を飲用摂取することとした。次いで31日以上の間隔をあけて、クロスオーバー法で飲用者を入れ替えて同様に摂取した（図1）。調査・測定項目は年齢、



We analyzed the data of subjects, who could take both types of water more than 26 days among 31 due days in both study periods. Consequently, data of 39 subjects were analyzed.

図1 How to Take Drinking Water by Cross Over Method

身長、体重、既往歴、常用薬剤、一般生理検査（血圧、脈拍、経皮的酸素飽和度：SPO₂）、終末呼気水素濃度、血液生化学、電解質、および血球検査であり、各摂取期間で飲用前、飲用終了前3日以内に実施した。終末呼気は被験者にその取り方を教え、飲用開始前、飲用終了3日以内で飲用水摂取後の可及的早期にアルミニウムバッグ（AA-3008-26102、ジーエルサイエンス株式会社、新宿、東京）に採取し、24時間以内にガスクロマトグラム（ポータブルガス分析装置・水素分析用、XG-100HPA、新コスモス電機、大阪市）で測定した。

Ⅲ. 統計処理

統計量の計算と検定処理には、StatFlex ver. 6.0 software (Artech. Co. Ltd., Osaka, Japan) を使用した。本臨床研究では看護師の勤務体制等により31日間摂取予定のうち、前半・後半共に26日間（83%）以上摂取できた39人のデータを解析対象とした。また、変化量が変化量平均から3SD（標準偏差）以上外れた値は除外した（各項目で0～2名以内）。

各飲用水摂取期間における飲用前後の生理学的諸量や臨床検査値の差、および2種の飲用水についての、摂取後の変化量の差は、一標本Wilcoxon検定を用いて、 $P < 0.05$ を目安に統計的有意性を判定した。また、臨床検査値の変化量に対しては、さらに既知の個体内変動係数（CV_I）から許容変化幅（reference change value：RCV）を次式で求め、その90%信頼区間（90%RCV）内かどうかで、変化が生理的変動の範囲内とみなせるかを判断した。

$$RCV = \frac{CV_I}{100} \times M \times \sqrt{2}$$

すなわち、CV_Iに摂取前の平均値（M）を適用して求めた個体内SDの $\sqrt{2}$ 倍がRCVであり、その90%信頼区間（90%RCV）はRCVの1.654倍として求めた。既知のCV_Iには、日本人データに基づくMatsubaraの報告値を用いたが¹⁰⁾、AST、CKなどの酵素活性値については臨床検査分野で広く認められたWestgardの公開値（<https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>）を用いて計算した。

Ⅳ. 結果

1. 摂取期間の前後における比較

CO₂摂取期間では飲用後に生理学的諸量のSPO₂が平均0.43%有意に上昇した（ $P=0.027$ ）が、終末呼気水素濃度など他の計測値には飲用前後に有意な変動はなかった。一方、H₂/CO₂摂取期間では飲用後に収縮期血圧、拡張期血圧がそれぞれ平均5.2、2.8mmHg有意に減少した（各 $P < 0.01$ ）。また終末呼気水素濃度は飲用後に上昇する傾向を認めたが有意ではなかった（ $P=0.065$ ）（表1-A、表1-B）。

血液生化学検査では、CO₂摂取期間の飲用後に総ビリルビン（TBil）、 γ -GTP、コリンエステラーゼ（ChE）、CK-MB、Ca、赤血球数（RBC）、血小板数（PLT）が $P < 0.01$ で有意に低下した。しかし、平均変化量は臨床的にみて軽度であり、生理的な許容変化幅である90%RCVに照らしても、無視しうるものと判断された。

一方、H₂/CO₂摂取期間の飲用後には γ -GTP、CK-MBが $P < 0.01$ で有意な変化を認めたが、いずれも、90%RCVの範囲内の変化であった（表2-A、表2-B、表3-A、表3-B）。

2. H₂/CO₂飲用後の変化量とCO₂飲用後の変化量の比較

生理的諸量では、収縮期と拡張期血圧がH₂/CO₂飲用後において、CO₂飲用後よりも共に低下する傾向を認めたが有意ではなく、心拍数が増加した（ $P=0.049$ ）。また、終末呼気水素濃度はH₂/CO₂飲用後のほうがやや高い傾向を認めたが有意でなかった。一方、血液生化学検査ではTBilにおいて、H₂/CO₂飲用水摂取前後の変化量がCO₂飲用水摂取前後の変化量より有意（ $P < 0.029$ ）に高かったが、90%RCVの範囲内の変化であった（表4）。

Ⅴ. 考察

終末呼気採取は難しく、呼気終末CO₂をモニターしながら採取しても水素濃度はばらつきやすい。しかし予備検討の結果、水素/炭酸ガス含有飲用水摂取後に終末呼気水素濃度が上昇するという結果を得ていたため、終末呼気の採取には特に細心の注意を払った。本研究における終末呼気水素濃度はCO₂摂

取期間では飲用前後に有意差はなかった。しかし、H₂/CO₂摂取期間では飲用後に平均2.4ppm (33.8%)上昇したが、個体間差が大きく統計的には有意でなかった (P=0.065) (表1-B)。今後、より精緻な終末呼気採取法の検討や飲用水の水素濃度を上げた検討が必要である。なお、H₂/CO₂飲用水摂取により、表1~3に示す結果からも特別な有害事象が見られなかったことにより、水素/炭酸ガス含有飲用水の安全性が示された。

各種生体計測値への影響については摂取期間の飲用前後比較において、生理学的諸量ではCO₂摂取期間で飲用後にSPO₂が平均0.43%有意に上昇し、CO₂が末梢血管を拡張したことが推測できる¹⁾。また

H₂/CO₂摂取期間で飲用後に収縮期および拡張期血圧がそれぞれ5.2, 2.8mmHg有意に減少したことは、炭酸水への分子状水素の付加が血管拡張効果をもたらした可能性を示唆する (表1-A, 表1-B)。

血液生化学検査、電解質検査、および血球検査の各摂取期間前後比較では、多くの検査で生理的な許容範囲内の変化であったが、CO₂摂取期間で総蛋白、Ca、赤血球、血小板が有意に減少したことは負の効果、T-Bil, γ -GTP, ChE, CK-MB, クレアチニン、尿酸が有意に減少したことは正の効果と考えられる。またH₂/CO₂摂取期間では、飲用後に赤血球が有意に減少したことは負の効果、AST, γ -GTP, ChE, CK-MB, 尿酸が有意に減少したことは正の

表1-A Changes in physiological parameters after CO₂-water regimen

		CO ₂ -water regimen (n=39)			
		Pre-value (Mean)	Mean of (post-pre) difference (Δ)	Rate of difference (Δ /Mean)	P-value By Wilcoxon test
Hight	(cm)	164.6	-0.04	-0.0%	0.6875
Weight	(kg)	62.6	-0.003	0.0%	0.4633
BPs	(mmHg)	123.3	-1.3	-1.0%	0.2054
BPd	(mmHg)	78.0	-1.6	-2.1%	0.1444
Heart Rate	(bpm)	75.9	-2.3	-3.0%	0.0712
SPO ₂	(%)	97.7	0.43	0.4%	0.0273
End-tidal H ₂	(ppm)	5.7	-0.1	-2.4%	0.2706

Pre and Post values were compared by Wilcoxon test.

Bold value indicates statistical significance at P=0.05.

BPs: systolic blood pressure, BPd: diastolic blood pressure, SPO₂: percutaneous oxygen saturation..

表1-B Changes in physiological parameters after H₂/CO₂-water regimen

		H ₂ /CO ₂ -water regimen(n=39)			
		Pre-value (Mean)	Mean of (post-pre) difference (Δ)	Rate of difference (Δ /Mean)	P-value By Wilcoxon test
Hight	(cm)	164.7	-0.06	-0.0%	0.5957
Body weight	(kg)	62.6	-0.02	-0.0%	0.3764
BPs	(mmHg)	127.3	-5.2	-4.1%	0.0083
BPd	(mmHg)	79.9	-2.8	-3.5%	0.0066
Heart Rate	(bpm)	73.2	1.0	1.4%	0.4124
SPO ₂	(%)	98.1	0.26	0.3%	0.1407
End-tidal H ₂	(ppm)	7.1	2.4	33.8%	0.0647

Pre and Post values were compared by Wilcoxon test.

Bold value indicates statistical significance at P=0.05.

BPs: systolic blood pressure, BPd: diastolic blood pressure, SPO₂: percutaneous oxygen saturation..

効果である（表2-A, 表2-B, 表3-A, 表3-B）。これらの検査結果において、CO₂摂取期間で飲用後に負の結果を示した項目では、H₂が付加されたH₂/CO₂摂取期間で有意差が無くなり正常域に戻るか、良い効果を示すことが多かった。

H₂/CO₂飲用後の変化量とCO₂飲用後の変化量の

比較ではCO₂摂取期間に比較してH₂/CO₂摂取期間で心拍数 (P<0.0499) と、総ビリルビン (P<0.0286) が増加したが、いずれの増加もわずかで、後者は生理的な許容範囲内の変化であった（表4）。

以上のことより、分子状水素の抗酸化作用による効果は軽微ではあるが認められ、負の効果はほとんど

表2-A Changes in clinical chemistry parameters after CO₂-water regimen

	CO ₂ -water regimen (n=39)					
	Pre-value (Mean)	Mean of (post-pre) difference (Δ)	Rate of difference (Δ/Mean)	90%RCV (R)	RCV ratio Δ/R	P-value by Wilcoxon test
T. Protein (g/dL)	7.3	-0.11	-1.5%	0.44	-0.26	0.0113
AST (U/L)	23.7	-0.9	-3.9%	5.25	-0.17	0.0928
T-Bil (mg/dL)	0.74	-0.09	-12.4%	0.36	-0.25	0.0080
γ-GTP (U/L)	32.6	-3.8	-11.7%	11.0	-0.35	0.0035
ChE (U/L)	357.2	-12.1	-3.4%	50.7	-0.24	0.0007
CK (U/L)	124.3	-1.2	-1.0%	41.9	-0.03	0.3160
CK-MB (U/L)	3.6	-0.79	-21.7%	1.66	-0.47	0.0003
Amylase (U/L)	71.2	1.6	2.3%	14.4	0.11	0.2980
UN (mg/dL)	13.1	0.2	1.4%	4.29	0.04	0.4004
CRE (mg/dL)	0.75	-0.02	-2.7%	0.08	-0.26	0.0149
UA (mg/dL)	5.2	-0.16	-3.1%	0.58	-0.28	0.0111
CRP (mg/dL)	0.045	0.0	35.3%	0.05	0.31	0.2200

90%RCV (reference change value) represents physiologically allowable level of changes in test results, which was calculated from within-individual coefficient of variation (CV) reported [10] (see main text). Observed difference (Δ) was compared with 90%RCV as RCV ratio to interpret physiological implication of the changes in test results.

Bold fonts indicate values that were statistically significant.

表2-B Changes in clinical chemistry parameters after H₂/CO₂-water regimen

	H ₂ /CO ₂ -water regimen(n=39)					
	Pre-value (Mean)	Mean of (post-pre) difference (Δ)	Rate of difference (Δ/Mean)	90%RCV (R)	RCV ratio Δ/R	P-value by Wilcoxon test
T. Protein (g/dL)	7.2	-0.06	-0.8%	0.44	-0.13	0.0921
AST (U/L)	23.1	-1.5	-6.6%	5.11	-0.30	0.0218
T-Bil (mg/dL)	0.72	0.03	3.7%	0.35	0.08	0.3523
γ-GTP (U/L)	33.3	-3.7	-11.1%	11.2	-0.33	0.0015
ChE (U/L)	354.3	-6.1	-1.7%	50.3	-0.12	0.0272
CK (U/L)	117.7	1.9	1.7%	39.7	0.05	0.3977
CK-MB (U/L)	3.6	-0.59	-16.7%	1.63	-0.37	0.0007
Amylase (U/L)	72.8	-2.0	-2.8%	14.7	-0.14	0.1091
UN (mg/dL)	13.7	-0.5	-3.8%	4.51	-0.12	0.0642
CRE (mg/dL)	0.74	0.00	0.5%	0.08	0.05	0.3951
UA (mg/dL)	5.2	-0.20	-3.9%	0.58	-0.35	0.0351
CRP (mg/dL)	0.047	0.0	14.5%	0.05	0.13	0.1675

90%RCV (reference change value) represents physiologically allowable level of changes in test results, which was calculated from within-individual coefficient of variation (CV) reported [10] (see main text). Observed difference (Δ) was compared with 90%RCV as RCV ratio to interpret physiological implication of the changes in test results.

Bold fonts indicate values that were statistically significant.

ど認められず、いずれの効果も正常範囲内のものであり、日常診療上問題になるものではなかった。

我々はスーパーオキシドアニオンラジカル ($O_2^{\cdot-}$) に関連する研究を多数手掛けてきた。即ちラットの前脳虚血/再灌流モデルで、再灌流により内頸静脈還流血液中の $O_2^{\cdot-}$ が顕著に長時間 (100分以上) 増加することを明らかにし、軽度低体温を含む治療方法を報告してきた^{5, 6, 12-15}。また、ラットの熱中症モデルでも同様の検討を行い、顕著に増加した $O_2^{\cdot-}$ が軽度低体温により抑制されることを報告している¹⁶。一方、臨床でも分子状水素の臨床応用が盛んに検討されている¹⁷。心肺蘇生患者では全身の虚血再灌流・大量ラジカル産生が想定され、水

素ガス吸入による脳保護作用を期待した臨床治験が始まり、山口県立総合医療センターの救命救急センターや山口大学医学部附属病院先進救急医療センターも参加している⁹⁾。また、地球温暖化による熱中症増加が懸念される中、その病態として大量 $O_2^{\cdot-}$ 産生も想定されるので、これらの病態解決には $O_2^{\cdot-}$ やパーオキシナイトライト ($ONOO^-$) の消去方法を確立しておく必要がある。

$O_2^{\cdot-}$ 産生は軽度 ($32.0^{\circ}C \sim 34.0^{\circ}C$) 低体温で軽減できるので^{13, 15}、冷却した水素/炭酸ガス含有飲用水による胃洗浄は体温のコントロール、および消化管から吸収された水素の全身への分布により、脳のみならず、全臓器の保護効果が期待できる。今後そ

表3-A Changes in electrolytes and blood cell counts after CO₂-water regimen

	CO ₂ -water regimen (n=39)					
	Pre-value (Mean)	Mean of (post-pre) difference (Δ)	Rate of difference (Δ/Mean)	90%RCV (R)	RCV ratio Δ/R	P-value by Wilcoxon test
Na (mmol/L)	140.3	-0.1	-0.1%	1.73	-0.07	0.2059
K (mmol/L)	4.2	0.0	-0.5%	0.38	-0.06	0.2767
Ca (mg/dL)	9.5	-0.2	-1.9%	0.40	-0.45	0.0003
RBC ($\times 10^4/\mu l$)	474.6	-12.2	-2.6%	33.1	-0.37	0.0003
WBC ($\times 10^2/\mu l$)	56.8	0.0	0.0%	19.8	0.00	0.2913
PLT ($\times 10^4/\mu l$)	23.8	-1.4	-6.0%	4.2	-0.34	0.0005

90%RCV (reference change value) represents physiologically allowable level of changes in test results, which was calculated from within-individual coefficient of variation (CV) reported [10] (see main text). Observed difference (Δ) was compared with 90%RCV as RCV ratio to interpret physiological implication of the changes in test results.

Bold fonts indicate values that were statistically significant.

表3-B Changes in electrolytes and blood cell counts after H₂/CO₂-water regimen

	H ₂ /CO ₂ -water regimen(n=39)					
	Pre-value (Mean)	Mean of (post-pre) difference (Δ)	Rate of difference (Δ/Mean)	90%RCV (R)	RCV ratio Δ/R	P-value by Wilcoxon test
Na (mmol/L)	140.5	-0.5	-0.3%	1.73	-0.27	0.0657
K (mmol/L)	4.3	-0.1	-1.5%	0.39	-0.16	0.0318
Ca (mg/dL)	9.5	-0.1	-1.1%	0.40	-0.25	0.0313
RBC ($\times 10^4/\mu l$)	474.4	-5.4	-1.1%	33.1	-0.16	0.0251
WBC ($\times 10^2/\mu l$)	52.7	2.2	4.1%	18.4	0.12	0.3808
PLT ($\times 10^4/\mu l$)	23.9	-0.7	-2.8%	4.2	-0.16	0.1024

90%RCV (reference change value) represents physiologically allowable level of changes in test results, which was calculated from within-individual coefficient of variation (CV) reported [10] (see main text). Observed difference (Δ) was compared with 90%RCV as RCV ratio to interpret physiological implication of the changes in test results.

Bold fonts indicate values that were statistically significant.

の効果を検証するために、冷却した水素/炭酸ガス含有飲用水による胃洗浄や水素/炭酸ガス含有輸液剤の投与、水素ガス吸入による臨床研究が望まれる。

本研究では水素/炭酸ガス含有飲用水の摂取により、幾つかの生理学的検査や血液生化学検査に変化を認めたが、何れも生理的な許容変化の範囲内のもので安全性に問題はなかった。また、血圧やSPO₂値の改善などその有用性を示唆する結果も認められた。本研究の限界として使用した飲用水の水素濃度が約0.5ppmと低いので、明確な効果を判定するには水素濃度を上げた水素/炭酸ガス含有飲用水を用いた検討やより長期間の検討が必要である。

結 語

水素/炭酸ガス含有飲用水の安全性、有効性を健

常生活者で検討した。安全性は確保され、有意な変化は何れも軽微で正常範囲内にあり、CO₂摂取期間で軽微な悪化を示した項目もH₂/CO₂摂取期間で正常化した項目があった。

利益相反の開示

本研究は山口県の平成26年度やまぐち産業戦略研究開発等補助金の採択事業である「医療・健康分野における水素応用技術開発」により行われ、著者および共著者の開示すべき利益相反はない。

学 会 発 表

本研究結果は第7回日本分子状水素医学生物学会大会（名古屋2017）で発表した。

表4 Between-regimen differences of post-pre changes in major parameters

	Pre-value by H ₂ /CO ₂ regimen (Mean)	Between regimen difference in Δ [Δ by H ₂ /CO ₂ -Δ by CO ₂] (δ)	Rate of difference (δ/Mean)	90%RCV (R)	RCV ratio (δ/R)	P-value by Wilcoxon test
Hight (cm)	164.7	-0.02	0.00%			0.9515
Weight (kg)	62.6	-0.02	0.00%			0.2536
BPs (mmHg)	127.3	-4.1	-3.20%			0.1086
BSd (mmHg)	79.9	-1.5	-1.90%			0.1627
Heart Rate (bpm)	73.2	3.4	4.60%			0.0499
SPO ₂ (%)	98.1	-0.27	-0.30%			0.1963
End Tidal H ₂ (ppm)	7.1	2.5	35.40%			0.1417
T. Protein (g/dL)	7.2	0.06	0.80%	0.44	0.13	0.2502
AST (U/L)	23.1	-0.3	-1.40%	5.11	-0.06	0.2935
T-Bil (mg/dL)	0.72	0.13	18.00%	0.35	0.37	0.0286
r-GTP (U/L)	33.3	1.9	5.60%	11.2	0.17	0.3298
ChE (U/L)	354.3	6.4	1.80%	50.3	0.13	0.1444
CK (U/L)	117.7	2.3	2.00%	39.7	0.06	0.2238
CK-MB (U/L)	3.6	0.22	6.10%	1.63	0.13	0.2171
UN (mg/dL)	13.7	-0.7	-5.10%	4.51	-0.16	0.1022
Creatinine (mg/dL)	0.74	0.02	2.90%	0.08	0.28	0.0607
Uric Acid (mg/dL)	5.2	-0.03	-0.70%	0.58	-0.06	0.4829
CRP (mg/dL)	0.047	0	-11.90%	0.05	-0.1	0.4185
Na ⁺ (mmol/L)	140.5	-0.3	-0.20%	1.73	-0.2	0.2414
K ⁺ (mmol/L)	4.3	0	-0.50%	0.39	-0.06	0.4284
Ca (mg/dL)	9.5	0.1	0.90%	0.4	0.21	0.1852
RBC (×10 ⁴ /μl)	474.4	6.8	1.40%	33.1	0.21	0.0657
WBC (×10 ³ /μl)	52.7	1.9	3.50%	18.4	0.1	0.2833
PLT (×10 ⁴ /μl)	23.9	0.8	3.40%	4.2	0.19	0.0540

90%RCV (reference change value) represents physiologically allowable level of changes in test results, which was calculated from within-individual coefficient of variation (CV) reported [10] (see main text). Observed difference (Δ) was compared with 90%RCV as RCV ratio to interpret physiological implication of the changes in test results.

Bold fonts indicate values that were statistically significant.

謝 辞

本稿を終えるにあたり、研究の趣旨をご理解されて参加いただきました山口県立総合医療センター職員ボランティアの方々に衷心より御礼申し上げます。研究に当たりご協力頂きました中央検査部の方々、治験支援室の方々、事務を担当して頂いた吉野恵美子秘書に感謝申し上げます。また、統計処理においては山口大学医学部保健学科の市原清志名誉教授に丁寧なご指導をいただき、感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Abraini, J.H., Gardette-Chauffour, M.C., Martinez, E., et al. Psychophysiological reactions in humans during an open sea dive to 500 m with a hydrogen-helium-oxygen mixture. *J Appl Physiol* 1994 ; **76** : 1113-1118.
- 2) Fontanari, P., Badier, M., Guillot, C., 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.
- 3) Ichihara M, Sobue S, Ito M, et al. Beneficial biological effects and underlying mechanisms of molecular hydrogen, comprehensive review of 321 original articles. *Med Gas Res* 2015 ; **5** : 12.
- 4) Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med* 2007 ; **13** : 688-694.
- 5) Fujita M, Tsuruta R, Kasaoka S, Fujimoto K, Tanaka R, Oda Y, Nanba M, Igarashi M, Yuasa M, Yoshikawa T, Maekawa T. In vivo real-time measurement of superoxide anion radical with a novel electrochemical sensor. *Free Radic Biol Med* 2009 ; **47** (7) : 1039-48.
- 6) Aki HS, Fujita M, Yamashita S, Fujimoto K, Kumagai K, Tsuruta R, Kasaoka S, Aoki T, Nanba M, Murata H, Yuasa M, Maruyama I, Maekawa T. Elevation of jugular venous superoxide anion radical is associated with early inflammation, oxidative stress, and endothelial injury in forebrain ischemia-reperfusion rats. *Brain Res* 2009 ; **1292** : 180-90.
- 7) 小田泰崇, 藤田 基, 鶴田良介, 他. ラット出血性ショックモデルを用いた分子状水素の効果の検討. 第8回日本分子状水素医学生物学会大会抄録集 2018 ; 58-59.
- 8) Tamura T, Hayashida K, Sano M, et al. Feasibility and safety of hydrogen gas inhalation for post-cardiac arrest syndrome. First-in-human pilot study. *Circ J* 2016 ; **80** : 1870-73.
- 9) Tamura T, Hayashida K, Sano M, et al. Efficacy of inhaled hydrogen on neurological outcome following brain ischemia during post-cardiac arrest care (HYBRID II trial) : study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2017 ; **18** : 488.
- 10) Matsubara A, Ichihara K, Fukutani S. Determination of reference intervals for 26 commonly measured biochemical analyses with consideration of long-term within-individual variation. *Clin Chem Lab Med*. 2008 ; **46** : 691-8.
- 11) Németh B, Kiss I, Ajtay B, et al. Transcutaneous carbon dioxide treatment is capable of reducing peripheral vascular resistance in hypertensive patients. *In Vivo* 2018 ; **32** (6) : 1555-1559.
- 12) Tsuruta R, Fujita M, Ono T, Koda Y, Koga Y, Yamamoto T, Nanba M, Shitara M, Kasaoka S, Maruyama I, Yuasa M, Maekawa T. Hyperglycemia enhances excessive superoxide anion radical generation, oxidative stress, early inflammation, and endothelial injury in forebrain ischemia/reperfusion rats. *Brain Res* 2010 ; **1309** : 155-63.
- 13) Koga Y, Fujita M, Tsuruta R, Koda Y, Nakahara T, Yagi T, Aoki T, Kobayashi C, Izumi T, Kasaoka S, Yuasa M, Maekawa T. Urinary trypsin inhibitor suppresses excessive superoxide anion radical generation in blood,

- oxidative stress, early inflammation, and endothelial injury in forebrain ischemia/reperfusion rats. *Neurol Res* 2010 ; 32 (9) : 925-32.
- 14) Koda Y, Tsuruta R, Fujita M, Miyauchi T, Kaneda K, Todani M, Aoki T, Shitara M, Izumi T, Kasaoka S, Yuasa M, Maekawa T. Moderate hypothermia suppresses jugular venous superoxide anion radical, oxidative stress, early inflammation, and endothelial injury in forebrain ischemia/reperfusion rats. *Brain Res* 2010 ; 1311 : 197-205.
- 15) Fujita M, Tsuruta R, Kaneko T, Otsuka Y, Kutsuna S, Izumi T, Aoki T, Shitara M, Kasaoka S, Maruyama I, Yuasa M, Maekawa T. Hyperoxia suppresses excessive superoxide anion radical generation in blood, oxidative stress, early inflammation, and endothelial injury in forebrain ischemia/reperfusion rats : laboratory study. *Shock* 2010 ; 34 (3) : 299-305.
- 16) Todani M, Fujita M, Tsuruta R, Nakahara T, Yagi T, Oshima C, Igarashi M, Takahashi K, Kasaoka S, Yuasa M, Maekawa T. Moderate hypothermia suppressed excessive generation of superoxide anion radical and inflammatory reactions in blood and liver in heatstroke : laboratory study in rats. *Free Radic Res* 2010 ; 44 (4) : 462-72.
- 17) Dohi K, Satoh K, Miyamoto K, et al. Molecular hydrogen in the treatment of acute and chronic neurological conditions : mechanisms of protection and routes of administration. *J Clin Biochem Nutr* 2017 ; 61 : 1-5.

Safety and Influence of Molecular Hydrogen/Carbon Dioxide Contained Drinking Water on Common Anthropometric and Laboratory Parameters.

Yasuhiro IKEDA¹⁾, Satomi MUROYA¹⁾, Kazutaka SATOU^{1, 2)}, Goichi INOUE³⁾, Kunihiko KOIKE³⁾ and Tsuyoshi MAEKAWA^{1, 2)}

1) Cardiovascular Center, Yamaguchi Prefectural Grand Medical Center, 10077 Osaki, Hofu, Yamaguchi 745-8511, Japan 2) Yamaguchi Prefectural University, 3-2-1 Sakurabatake, Yamaguchi, Yamaguchi 753-8502, Japan 3) Iwatani Corporation R&D Center, 3-3-16 Tugiya, Amagasaki, Hyogo 661-0965, Japan

SUMMARY

Background : Recently, it has been shown that hydrogen gas has a strong antioxidant effect. Therefore, molecular hydrogen is drawing attention as a new therapeutic strategy against tissue damage caused by peroxides in post-ischemic reperfusion injury.

Methods : In the present study, we investigated the effect of consuming 1000 ml/day of either carbonated water (CO₂-water) or hydrogen-molecule-added carbonated water (H₂/CO₂-water) for 26 days on physiological and laboratory parameters. Thirty-nine healthy volunteers were recruited and put on either of the water regimens using a cross-over design with 31-day washout period.

Results : Among physiological parameters, SPO₂ significantly increased by 0.43% after drinking CO₂-water, whereas after drinking H₂/CO₂-water, systolic and diastolic blood pressure decreased significantly by 5.2 and 2.8 mmHg, respectively, and H₂ concentrations in end-expiratory air increased by 38% although statistically not significant. As for the biochemical and blood cell parameters, by the CO₂-water regimen, total

bilirubin, γ -GTP, cholinesterase, CK-MB, Ca, erythrocyte and platelet counts significantly decreased ($P < 0.01$). However, the differences were all found small when compared to the allowable limit of within-individual variation of each parameter, called reference change value (RCV). Whereas by the H₂/CO₂-water regimen, γ -GTP and CK-MB significantly decreased ($P < 0.01$), but the differences were again within the RCV, and thus regarded as not clinically significant. Comparison of differences between the two regimens showed that only heart rate and total bilirubin were significantly higher by the H₂/CO₂ regimen, but of minor degree.

Conclusion : Reduction of blood pressures observed in the H₂/CO₂-water regimen may represent an antioxidant effect of hydrogen molecule in water, although an additional trial by increasing H₂ concentration and/or longer drinking period is required to fortify the finding. As for the influences on other physiological and laboratory parameters, statistical differences were observed in several parameters by either of the regimens. However, in comparison to the RCV, the changes were within physiological ranges, and thus there was no safety concern in drinking either of the water preparations.