

· 中青年学者论坛 ·



**孙学军** 海军军医大学(第二军医大学)海军医学系海军航空医学教研室教授,博士生导师,中国医疗保健国际交流促进会常务理事、中国医疗保健国际交流促进会氢分子生物医学分会主任委员。长期从事气体生物学效应研究,在国内率先开展了氢气生物学效应研究,并受到国际同行的高度关注。在国际上首先制备了含氢气注射液,经过系统研究发现,该氢气注射液能治疗包括脑缺血、心肌缺血和肝脏缺血等缺血性疾病,并能有效抑制炎症反应,在多种动物疾病模型中均被证明是一种非常有潜力的抗氧化损伤的治疗手段。担任 *Medical Gas Research* 和 *Frontiers in Pharmacology* 杂志副主编,《中华航海医学与高压医学》和 *Journal of Trauma & Treatment* 杂志编委。发表SCI收录论文145篇,其中氢气医学相关论文85篇,论文总被引用次数达4000余次。主编全国高等医学院校教材《潜水医学》,以及《氢分子生物学》、*Hydrogen Molecular Biology and Medicine* 等专著。获军队卫生“十一五”科技攻关项目和全军医学科研“十二五”重点课题各1项,国家自然科学基金3项,上海市课题2项,总课题经费550余万元。曾获山东省科技进步奖二等奖1项、军队科技进步奖二等奖1项、军队科技进步奖三等奖3项。

DOI:10.16781/j.0258-879x.2018.11.1181

## 氢气医学研究的进展、争议和挑战

卢宏涛, 孙学军\*

海军军医大学(第二军医大学)海军医学系海军航空医学教研室, 上海 200433

**[摘要]** 氢气是一种无色、无味、具有生物活性的还原性小分子气体,可与机体内的活性氧发生反应。目前认为氢气具有抗氧化、抗炎、抗凋亡等生物学作用,且氢气具有极高生物安全性。近年来氢气相关研究的范围不断扩大,氢气应用的模型从急性病到慢性病、从良性疾病到恶性病都有所涉及。此外,氢气应用的手段也在逐渐丰富,包括氢气吸入、氦水饮用、含氢溶液静脉注射或局部使用以及含氢透析液透析等。与此同时逐渐增多的临床研究也进一步证明,氢气在疾病治疗方面的重要作用 and 独特优势。然而,氢气生物学效应的分子机制目前仍未阐明,许多学者和普通大众对氢气生物学效应的研究进展缺乏了解,这限制了氢气医学的发展及相关产品的研发,氢气医学的研究和普及依然任重道远。

**[关键词]** 氢; 抗氧化剂; 作用机制; 临床研究

**[中图分类号]** R 348 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2018)11-1181-07

### Hydrogen medicine: research advance, controversy and challenges

LU Hong-tao, SUN Xue-jun\*

Department of Naval Aeromedicine, Faculty of Naval Medicine, Navy Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

**[Abstract]** Hydrogen is colorless and odorless small molecule gas with biological activity, and it can react with reactive oxygen species. It is believed that hydrogen has biological effects such as anti-oxidation, anti-inflammation and anti-apoptosis, and has extremely high biosafety. Recently, hydrogen application has been involved in various acute and chronic diseases, and benign and malignant diseases. In addition, means of hydrogen utilization is also enriched, including hydrogen inhalation, hydrogen-rich water drinking, intravenous injection or partial use of hydrogen-rich saline and dialysis of hydrogen-rich

**[收稿日期]** 2018-06-06 **[接受日期]** 2018-10-29

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81371316). Supported by National Natural Science Foundation of China (81371316).

**[作者简介]** 卢宏涛, 硕士生. E-mail: hongtao\_lu1990@163.com

\*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81871143, E-mail: sunxjk@hotmail.com

dialysate. More importantly, the increasing hydrogen-related clinical studies have further demonstrated that hydrogen is effective and safe for diseases. However, the molecular mechanism of hydrogen biological effects is not very clear, and many scholars and the general public lack an understanding of hydrogen development status, which limits the development of hydrogen medicine and the related products. The research and popularization of hydrogen medicine is still a work in progress.

**[Key words]** hydrogen; antioxidants; mechanism; clinical research

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2018, 39(11): 1181-1187]

氢是自然界最简单、分布最广泛的元素，也是人体中含量最为丰富的元素之一。随着氢气医学的不断发展，人们对于氢气与人类健康的认识也在不断加深。氢气是自然界中最小的分子，具有穿透力强、扩散速度快的特点，可以进入机体的任何部位，这是氢气能够发挥广泛生物学效应的物理性质基础；氢气作为一种无色、无味、具有还原性的小分子气体，能够与机体内的氧化性物质发生反应，这是氢气治疗疾病的化学特质<sup>[1]</sup>。自2007年日本科学家发现氢气可以通过选择性抗氧化作用治疗脑缺血再灌注损伤<sup>[2]</sup>以来，氢气在多种疾病模型中均被证明具有良好的治疗效果。氢气最大的优势在于其具有极高的生物安全性，目前各种氢气治疗的手段尚未发现有明确的不良反应。到目前为止已有千余篇关于氢气治疗的报道，其作用机制得到广泛研究，除了抗氧化以外，又发现了抗炎、抗凋亡等机制；氢气应用的手段也在逐渐丰富，包括氢气吸入、氢气水饮用、含氢溶液静脉注射或局部使用以及含氢透析液透析等，涉及的器官和疾病达数十种。但目前氢气的分子机制尚不完全清楚，其应用和相关产品的研发也存在不少争议，氢气医学的研究依然面临各方面的挑战。

## 1 氢气的潜在作用机制

自2007年提出“氢气的作用基础是能选择性中和羟基自由基”的假说<sup>[2]</sup>以来，至今选择性抗氧化作用仍然被公认为氢气效应最合理的解释。但也有学者对氢气选择性抗氧化作用提出质疑：作为一种还原剂，氢气的活性远低于细胞内谷胱甘肽等多种还原性物质，导致氢气难以对抗强毒性活性氧，使其选择性抗氧化不具有化学合理性<sup>[3]</sup>。推测氢气相对分子质量小、没有极性且扩散能力强的特点可能是氢气比其他还原性物质如谷胱甘肽和还原性维生素更易接触到活性氧、从而发挥抗氧化作用的原因。此外，目前关于氢气效应的基础也有各种不同说法，例如有学者提出氢气是一种新的气体信号分子<sup>[4]</sup>，也有观点认为氢气是一种酶活性调节剂<sup>[5]</sup>。氢

气除具有抗氧化效应外，近年其抗炎、抗凋亡等机制也在大量实验中得到验证，这些机制也与其抗氧化活性相关。

**1.1 氢气的选择性抗氧化作用** 自由基是含有未成对电子的原子、原子团或分子，正常情况下这些自由基是维持正常生命活动所必需的，是能量代谢的基础，部分自由基还是细胞内重要的信号分子，但是异常增多的自由基会导致机体细胞的损伤<sup>[6]</sup>。在正常生理状态下，体内自由基的产生和清除是一个动态平衡的过程。当氧化反应增强或抗氧化能力受损时，动态平衡被打破而向着氧化损伤的方向发展，即产生氧化应激。机体缺血再灌注损伤的一个重要因素就是大量氧自由基的产生，而氢气可以选择性中和具有强氧化性的 $\cdot\text{OH}$ 、 $\text{ONOO}^-$ ，从而有效缓解缺血再灌注损伤<sup>[2]</sup>。因此氢气能够改善脏器缺血再灌注损伤，降低机体的氧化应激水平<sup>[7-10]</sup>。除此之外，在神经退行性病模型中也发现氢气可以通过抑制氧化应激损伤来保护多巴胺神经元<sup>[11]</sup>。氢气除了直接与自由基发生中和反应外，还可以间接地作用于抗氧化系统，保护机体免遭氧化应激带来的损伤，如通过增加抗氧化酶的活性发挥抗氧化作用<sup>[12]</sup>。氢气通过直接或间接的作用发挥其选择性抗氧化作用，清除体内有害的自由基减轻机体损伤，这是目前公认的氢气发挥作用的最主要形式。

**1.2 氢气的抗炎作用** 炎症是多种疾病的共同病理过程，炎症造成机体损伤的机制包括促进免疫系统的过度激活以及炎症因子的释放等。氢分子作为一种无毒且高效的抗氧化剂，可以减少炎症因子的生成并增加抗炎因子的释放<sup>[13]</sup>。研究发现，氢气的抗炎作用除体现在抑制炎症细胞活性、减少炎症细胞外，还可以通过降低炎症反应中的重要因子 $\text{ONOO}^-$ 而减轻炎症反应<sup>[14]</sup>。在发生典型炎症反应的脓毒症模型中，氢气可以有效改善盲肠结扎和穿孔、酵母多糖和脂多糖诱导的脓毒症小鼠和大鼠的存活及器官损伤<sup>[15]</sup>。在大鼠肝移植缺血再灌注损伤模型中，吸入2%氢气1h可激活核因子 $\kappa\text{B}$  (nuclear factor  $\kappa\text{B}$ , NF- $\kappa\text{B}$ )通路，显著降低白细胞

介素 6、肿瘤坏死因子  $\alpha$  等炎症细胞因子水平, 保护大鼠免受缺血再灌注损伤<sup>[16]</sup>。

**1.3 氢气的抗凋亡作用** 细胞凋亡的发生有 2 条途径, 一是通过线粒体信号通路引起内源性刺激而发生凋亡, 二是通过外源性刺激细胞膜表面的死亡受体而发生凋亡。氢分子能够穿过细胞膜进入细胞, 保护 DNA、蛋白质不被自由基破坏, 维持正常的线粒体功能, 从而阻止细胞凋亡。研究发现, 氢气可以通过抗凋亡作用促进轴突再生和神经功能恢复<sup>[17]</sup>, 改善脊髓损伤大鼠的运动功能<sup>[18]</sup>。氢气还能够体内和体外对抗肾小管细胞凋亡, 保护肾功能<sup>[19-20]</sup>。使用富氢细胞培养液培养施万细胞可以有效减少高糖诱导的氧化应激损伤和细胞凋亡<sup>[21]</sup>。

**1.4 氢气的其他作用** 氢气是一种有效、安全的辐射防护剂, 可显著抑制电离辐射诱导的细胞凋亡, 增加内源性抗氧化剂<sup>[22]</sup>, 缓解辐射引起的白细胞和血小板的耗竭<sup>[23]</sup>。氢气在治疗肿瘤疾病方面的潜力也引起了医学界的关注, 研究显示富氢水可抑制肿瘤的生长和侵袭<sup>[24]</sup>。氢气的抗辐射与抗肿瘤作用本质上也可以认为是其抗氧化作用的结果。

**1.5 氢气的信号通路调节功能** 氢气可以调节多种细胞信号通路, 目前最主要的包括核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶 1 (heme oxygenase 1, HO-1) 通路<sup>[15,25]</sup>、NF- $\kappa$ B 通路<sup>[16,26]</sup>、Rho 通路<sup>[27-28]</sup>、4, 5-二磷酸磷脂酰肌醇 3 激酶 (phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate 3-kinase; PI3K)-丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (serine/threonine kinase, Akt) 通路<sup>[29-30]</sup>、丝裂原激活的蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路<sup>[31-32]</sup>等。氢气对非编码 RNA 如微 RNA (microRNA, miRNA) 的作用与影响也逐渐被研究者所关注, 研究发现氢气可以下调 miRNA-21、miRNA-9、miRNA-200、miRNA-210 的表达, 上调 miRNA-199 的表达<sup>[33-35]</sup>。同时氢分子作为气体分子, 有可能成为类似于硫化氢、一氧化碳和一氧化氮等信号分子在机体内发挥信号转导作用<sup>[36]</sup>。在蛋白水平, 氢气可通过调控信号转导分子的磷酸化或其他蛋白修饰来发挥其生物学作用<sup>[5,37]</sup>。

虽然目前氢气的机制研究非常广泛, 但是缺乏真正深入透彻的研究来准确阐明氢气的作用机制。主观上来说, 氢气医学发展较晚, 其受关注程度相对缺乏。客观上, 由于氢气分子结构简单, 目前缺乏有效的技术、方法观察和研究其与体内生物分子的相互作用关系。此外, 因为研究者无法给出氢

气发挥作用的直接证据, 使氢气医学不能被普遍接受。但目前并没有证据否定氢气在大量研究中的显著效应, 事实证明氢气是有效而且安全的。氢气作为生命起源过程中原始大气的主要成分一直被认为是生命演化的关键分子, 许多细菌和某些低等动物含有氢化酶体, 可消耗氢气提供能量, 且人肠道内也存在着大量产氢细菌。这些现象和证据表明氢气在机体内是可以发挥生物学作用的。

## 2 氢气在疾病治疗中的应用

近 10 年来, 氢气医学得到很大的发展, 氢气的治疗效果在数十种疾病模型中得到验证, 更具有意义的是目前已有超过 40 篇氢气相关的临床研究发表。这些研究除了证明氢气对疾病的疗效外, 更重要的一点是肯定了氢气的生物安全性, 目前没有临床研究表明氢气对机体存在不良作用。这也为之后的临床研究提供了重要的参考和理论依据。

**2.1 氢气吸入** 氢气作为小分子气体, 其最直接的治疗手段是经呼吸道吸入, 通过肺泡的换气作用氢气可迅速经血液循环到达机体各个部位。因此吸入氢气作为一种疾病的治疗手段较早出现在氢气医学研究领域。氢气最本质的作用是选择性抗氧化, 而缺血再灌注损伤很重要的一个病因就是氧自由基的产生, 研究发现吸入低浓度氢气能够改善脑<sup>[2,38]</sup>、心脏<sup>[8]</sup>、肝脏<sup>[7,16]</sup>、肺<sup>[39]</sup>以及肠道<sup>[13]</sup>等脏器的缺血再灌注损伤。氢气吸入对急性脑梗死患者的脑保护作用以及吸入氢气的安全性得到相关临床研究的支持<sup>[40]</sup>。Katsumata 等<sup>[41]</sup>的前瞻性研究表明, 吸入氢气对心肌梗死后远期的心室重构同样有效。顺铂作为临床的重要化学治疗药物, 其在杀伤肿瘤细胞的同时也会引起机体氧化应激, 吸入低浓度氢气能够通过抑制氧化损伤保护毛细胞, 缓解化学治疗期间顺铂引起的听力损失<sup>[42]</sup>。此外, 吸入低浓度氢气对大鼠脑死亡供体移植肺的功能以及大鼠急性损伤后的肾功能也有明显的保护作用<sup>[43-44]</sup>。临床上呼吸机的使用会引起机械通气肺损伤, 在通气中给予低浓度的氢气可以有效减少这种损伤并且能够改善气体交换<sup>[45]</sup>。基于氢气具有极高的生物安全性, 从研究的角度, 有必要探讨高浓度氢气的治疗效果。高浓度氢气的应用研究较少, 目前有研究显示高浓度氢气可以改善结晶诱导的小鼠肾损伤<sup>[46]</sup>和吸烟诱导的大鼠慢性阻塞性肺疾病<sup>[47]</sup>。

**2.2 氢水饮用** 氢水饮用作为最便捷的给氢方式有其独特的优势, 可以在多种疾病模型中应用。目前在有关氢气的临床研究中, 代谢性疾病占据着重要

地位。研究发现,饮用富氢水可以改善糖尿病患者的糖耐量异常<sup>[48]</sup>。在调节血脂方面,氢水可以降低总胆固醇和血清载脂蛋白水平,增高高密度脂蛋白水平<sup>[49-50]</sup>。此外,还有研究发现,饮用富氢水可提高小鼠的运动能力<sup>[51]</sup>,减少血乳酸的增加,减轻肌肉疲劳<sup>[52]</sup>。饮用富氢水还可调节自身免疫功能,一项临床研究显示类风湿性关节炎患者饮用富氢水后关节炎症状缓解<sup>[53]</sup>。氢水饮用的优势在于患者依从性好,人体每天至少需要饮用1~2 L水,将普通水换成氢水不会增加患者的任何负担。未来随着商品化富氢水价格的下降以及氢水杯、氢水机的研发与普及,氢水饮用有望成为疾病预防和治疗的有效手段。

**2.3 含氢溶液静脉与局部应用** 通过静脉或者局部使用富氢溶液是完全可行与安全的。氢生理盐水静脉注射的方式已经在多种疾病模型中得到应用,包括急性胰腺炎模型<sup>[54-55]</sup>、失血性休克模型<sup>[56-57]</sup>、急性听力损失模型<sup>[58]</sup>等,且都显示出明显的治疗效果。研究发现,通过腹腔注射的方式给予富氢生理盐水可以提高心脏骤停后家兔的存活率,改善心肺复苏的预后<sup>[59]</sup>。同样通过腹腔注射的方式,富氢水可以促进再生障碍性贫血小鼠造血功能和免疫功能的恢复<sup>[60]</sup>。研究证实,含氢滴眼液可通过减轻视网膜缺血再灌注损伤引起的脂质过氧化和DNA氧化损伤,抑制炎症细胞的激活,减轻急性视网膜损伤<sup>[10]</sup>。在传统的移植心脏储存液中加入氢气可有效改善冷缺血再灌注心肌损伤,延长离体心脏的储存时间<sup>[61]</sup>,为临床保存移植器官提供了一个很好的策略。

**2.4 含氢透析液的使用** 含氢透析液是目前氢气相关的临床研究中应用最多的一种含氢液体。血液透析和腹膜透析是目前临床两大肾脏替代疗法,其特点就是透析过程中会使用大量透析液。近年来国外特别是日本对于含氢透析液的研究也越来越重视。氢气能够在透析领域率先应用有其独特的优势,一是透析过程中数升透析液的进出保证了能有足够的氢气进入体内并且安全稳定;二是无论是血液透析还是腹膜透析其原理都是与机体内的液体进行物质交换,氢气恰好能够以自由扩散的形式进入血液与机体内,并且这种交换是一个不断平衡的动态过程。基于这两点氢气透析液相较于其他含氢液体能够发挥更大的作用。

含氢血液透析液使用的前提是不会增加不良事件发生的风险<sup>[62]</sup>。在血液透析过程中,机体的氧化应激水平与透析患者的心血管事件密切相关。研究

发现富氢溶液可以有效降低血液透析过程中的氧化应激水平,并且能够改善患者的营养状况、增加患者的白蛋白水平<sup>[63-64]</sup>。因此富氢血液透析相比常规血液透析可以降低患者终点事件的发生,改善血液透析患者的预后<sup>[65-66]</sup>。

含氢腹膜透析液被用于预防和治疗腹膜透析引起的腹膜损伤。在实验性腹膜透析大鼠模型中发现,含氢腹膜透析液可以有效预防腹膜透析相关腹膜纤维化<sup>[67]</sup>。有病例报告表明临床使用氢饱和透析液可以治疗长期腹膜透析引起的包裹性腹膜硬化症,这给长期腹膜透析患者提供了一种新的策略<sup>[68]</sup>。

### 3 氢气使用的安全性

对于氢气使用安全性的顾虑可以归结为两点:一是氢气作为易燃、易爆气体,在使用的过程中有爆炸风险;二是氢气作为一种生理惰性气体进入机体内会形成气栓。对于前者,首先氢气浓度在4.1%~74.2%之间遇明火的情况下才会爆炸;其次氢气是一种极易扩散的气体,低浓度的氢气在通风良好的环境中不会积聚到危险浓度。对于后者,由于氢气的溶解度很低,在常压条件下氢气没有形成气栓的基础和条件,是绝对安全的。因此,对于多种疾病来说,吸入氢气是一种有效并且安全的治疗手段。

### 4 小结与展望

氢气作为一种疾病治疗手段,其独特的优势在于其有效性、安全性、便利性和充足性。大量的基础研究结果表明,氢气可以通过抗氧化、减少细胞凋亡、抑制炎症反应等发挥对各种疾病和损伤的治疗作用。氢气医学发展于近10年,从基础到临床,从研究到应用,都取得了十分显著的成果。但这些研究本质上都属于效应研究,并没有从分子水平上阐明氢气的生物学机制。由于氢气在医学上没有可以借鉴的领域,作为一种治疗性气体,目前最有效的方式是饮用氢气饱和水,临床应用可以吸入氢气氧气混合气体或注射氢气饱和溶液。

目前氢气医学主要面临三方面的挑战:(1)关于氢气生物学效应的分子机制尚未阐明,这成为限制氢气医学发展的一块短板;(2)国内学者和普通大众对氢气生物学效应的研究进展普遍缺乏了解,存在颇多争议和顾虑;(3)相关产品的研发面临许多困难。氢气是一种天然物质,没有结构复杂性

和制备难度, 无法申请相关专利, 也就难以获得高额的商业价值。这导致大型医药公司敬而远之, 不愿意进行临床应用研究的投入, 因此需要国家和政府加大投入来推动这一领域的发展。

虽然氢气医学存在诸多问题, 但氢气在多种疾病模型中的有效性和安全性为临床研究提供了光明的前景。氢气的生物安全性最明确的证据来自潜水医学领域, 人类半个世纪前就使用氢气作为一种潜水呼吸气体, 其前提就是氢气对人体不能产生任何毒性。近年来氢气的生物学效应逐渐明确, 2007 年后关于氢气生物学效应的研究论文超过千篇, 尤其重要的是, 10 年后的今天就已经有 40 余篇临床医学研究论文相继发表, 说明氢气医学受到越来越多的关注。因为氢气对人体几乎没有任何毒性, 再加上氢气非常容易获取, 这意味着氢气医学具有十分巨大的应用潜力, 这也让我们对氢气医学的明天充满信心。

#### [参考文献]

- [1] 张威, 蔡建美, 康志敏, 孙学军. 氢分子医学研究进展[J]. 第二军医大学学报, 2009, 30: 1203-1205.
- [2] 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[J]. Nat Med, 2007, 13: 688-694.
- [3] WOOD K C, GLADWIN M T. The hydrogen highway to reperfusion therapy[J]. Nat Med, 2007, 13: 673-674.
- [4] SHI P, SUN W, SHI P. A hypothesis on chemical mechanism of the effect of hydrogen[J/OL]. Med Gas Res, 2012, 2: 17. doi: 10.1186/2045-9912-2-17.
- [5] ITOH T, FUJITA Y, ITO M, MASUDA A, OHNO K, ICHIHARA M, et al. Molecular hydrogen suppresses FcεpsilonRI-mediated signal transduction and prevents degranulation of mast cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 389: 651-656.
- [6] CHAN P H. Role of oxidants in ischemic brain damage[J]. Stroke, 1996, 27: 1124-1129.
- [7] 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[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 361: 670-674.
- [8] 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[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2008, 373: 30-35.
- [9] ZHENG X, MAO Y, CAI J, LI Y, LIU W, SUN P, et al. Hydrogen-rich saline protects against intestinal ischemia/reperfusion injury in rats[J]. Free Radic Res, 2009, 43: 478-484.
- [10] OHARAZAWA H, IGARASHI T, YOKOTA T, FUJII H, SUZUKI H, MACHIDE M, et al. Protection of the retina by rapid diffusion of hydrogen: administration of hydrogen-loaded eye drops in retinal ischemia-reperfusion injury[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51: 487-492.
- [11] FU Y, ITO M, FUJITA Y, ITO M, ICHIHARA M, MASUDA A, et al. Molecular hydrogen is protective against 6-hydroxydopamine-induced nigrostriatal degeneration in a rat model of Parkinson's disease[J]. Neurosci Lett, 2009, 453: 81-85.
- [12] IUUCHI K, IMOTO A, KAMIMURA N, NISHIMAKI K, ICHIMIYA H, YOKOTA T, et al. Molecular hydrogen regulates gene expression by modifying the free radical chain reaction-dependent generation of oxidized phospholipid mediators[J/OL]. Sci Rep, 2016, 6: 18971. doi: 10.1038/srep18971.
- [13] BUCHHOLZ B M, KACZOROWSKI D J, SUGIMOTO R, YANG R, WANG Y, BILLIAR T R, et al. Hydrogen inhalation ameliorates oxidative stress in transplantation induced intestinal graft injury[J]. Am J Transplant, 2008, 8: 2015-2024.
- [14] ZHANG Y, SUN Q, HE B, XIAO J, WANG Z, SUN X. Anti-inflammatory effect of hydrogen-rich saline in a rat model of regional myocardial ischemia and reperfusion[J]. Int J Cardiol, 2011, 148: 91-95.
- [15] XIE K, LIU L, YU Y, WANG G. Hydrogen gas presents a promising therapeutic strategy for sepsis[J/OL]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 807635. doi: 10.1155/2014/807635.
- [16] ZHANG C B, TANG Y C, XU X J, GUO S X, WANG H Z. Hydrogen gas inhalation protects against liver ischemia/reperfusion injury by activating the NF-κB signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2015, 9: 2114-2120.
- [17] ZHANG Y G, SHENG Q S, WANG Z J, LV L I, ZHAO W, CHEN J M, et al. Hydrogen-rich saline promotes motor functional recovery following peripheral nerve autografting in rats[J]. Exp Ther Med, 2015, 10: 727-732.
- [18] CHEN C, CHEN Q, MAO Y, XU S, XIA C, SHI X, et al. Hydrogen-rich saline protects against spinal cord injury in rats[J]. Neurochem Res, 2010, 35: 1111-1118.
- [19] LI J, HONG Z, LIU H, ZHOU J, CUI L, YUAN S, et al. Hydrogen-rich saline promotes the recovery of renal function after ischemia/reperfusion injury in rats via anti-apoptosis and anti-inflammation[J/OL]. Front Pharmacol, 2016, 7: 106. doi: 10.3389/fphar.2016.00106.
- [20] 任恒昌. 富氢 HC-A 肾保存液对大鼠肾脏冷缺血再灌注损伤的保护作用[D]. 天津: 天津医科大学, 2013.
- [21] YU Y, MA X, YANG T, LI B, XIE K, LIU D, et al. Protective effect of hydrogen-rich medium against high glucose-induced apoptosis of Schwann cells *in vitro*[J]. Mol Med Rep, 2015, 12: 3986-3992.
- [22] QIAN L, LI B, CAO F, HUANG Y, LIU S, CAI J M, et al. Hydrogen-rich PBS protects cultured human cells from

- ionizing radiation-induced cellular damage[J]. *Nucl Technol Radiat*, 2010, 25: 23-29.
- [23] YANG Y, LI B, LIU C, CHUAI Y, LEI J, GAO F, et al. Hydrogen-rich saline protects immunocytes from radiation-induced apoptosis[J]. *Med Sci Monit*, 2012, 18: BR144-BR148.
- [24] SAITOH Y, OKAYASU H, XIAO L, HARATA Y, MIWA N. Neutral pH hydrogen-enriched electrolyzed water achieves tumor-preferential clonal growth inhibition over normal cells and tumor invasion inhibition concurrently with intracellular oxidant repression[J]. *Oncol Res*, 2008, 17: 247-255.
- [25] TAMAKI N, ORIHUELA-CAMPOS R C, FUKUI M, ITO H O. Hydrogen-rich water intake accelerates oral palatal wound healing via activation of the Nrf2/antioxidant defense pathways in a rat model[J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 5679040. doi: 10.1155/2016/5679040.
- [26] SHI Y, WANG G, LI J, YU W. Hydrogen gas attenuates sevoflurane neurotoxicity through inhibiting nuclear factor  $\kappa$ -light-chain-enhancer of activated B cells signaling and proinflammatory cytokine release in neonatal rats[J]. *Neuroreport*, 2017, 28: 1170-1175.
- [27] YANG T, WANG L, SUN R, CHEN H, ZHANG H, YU Y, et al. Hydrogen-rich medium ameliorates lipopolysaccharide-induced barrier dysfunction via RHOA-MDIA1 signaling in Caco-2 cells[J]. *Shock*, 2016, 45: 228-237.
- [28] XIE K, WANG W, CHEN H, HAN H, LIU D, WANG G, et al. Hydrogen-rich medium attenuated lipopolysaccharide-induced monocyte-endothelial cell adhesion and vascular endothelial permeability via Rho-associated coiled-coil protein kinase[J]. *Shock*, 2015, 44: 58-64.
- [29] LI H, CHEN O, YE Z, ZHANG R, HU H, ZHANG N, et al. Inhalation of high concentrations of hydrogen ameliorates liver ischemia/reperfusion injury through A2A receptor mediated PI3K-Akt pathway[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 130: 83-92.
- [30] WU D, LIANG M, DANG H, FANG F, XU F, LIU C. Hydrogen protects against hyperoxia-induced apoptosis in type II alveolar epithelial cells via activation of PI3K/Akt/Foxo3a signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495: 1620-1627.
- [31] SHI Q, CHEN C, DENG W H, WANG P, ZUO T, ZHAO L, et al. Hydrogen-rich saline attenuates acute hepatic injury in acute necrotizing pancreatitis by inhibiting inflammation and apoptosis, involving JNK and p38 mitogen-activated protein kinase-dependent reactive oxygen species[J]. *Pancreas*, 2016, 45: 1424-1431.
- [32] BU H Q, CAI K, SHEN F, BAO X D, XU Y, YU F, et al. Induction of apoptosis by capsaicin in hepatocellular cancer cell line SMMC-7721 is mediated through ROS generation and activation of JNK and p38 MAPK pathways[J]. *Neoplasia*, 2015, 62: 582-591.
- [33] WEI R, ZHANG R, XIE Y, SHEN L, CHEN F. Hydrogen suppresses hypoxia/reoxygenation-induced cell death in hippocampal neurons through reducing oxidative stress[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36: 585-598.
- [34] LIU G D, ZHANG H, WANG L, HAN Q, ZHOU S F, LIU P. Molecular hydrogen regulates the expression of miR-9, miR-21 and miR-199 in LPS-activated retinal microglia cells[J]. *Int J Ophthalmol*, 2013, 6: 280-285.
- [35] LI Q, YU P, ZENG Q, LUO B, CAI S, HUI K, et al. Neuroprotective effect of hydrogen-rich saline in global cerebral ischemia/reperfusion rats: up-regulated Tregs and down-regulated miR-21, miR-210 and NF- $\kappa$ B expression[J]. *Neurochem Res*, 2016, 41: 2655-2665.
- [36] GEORGE J F, AGARWAL A. Hydrogen: another gas with therapeutic potential[J]. *Kidney Int*, 2010, 77: 85-87.
- [37] KAMIMURA N, NISHIMAKI K, OHSAWA I, OHTA S. Molecular hydrogen improves obesity and diabetes by inducing hepatic FGF21 and stimulating energy metabolism in db/db mice[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2011, 19: 1396-1403.
- [38] NAGATANI K, WADA K, TAKEUCHI S, KOBAYASHI H, UOZUMI Y, OTANI N, et al. Effect of hydrogen gas on the survival rate of mice following global cerebral ischemia[J]. *Shock*, 2012, 37: 645-652.
- [39] KAWAMURA T, HUANG C S, TOCHIGI N, LEE S, SHIGEMURA N, BILLIAR T R, et al. Inhaled hydrogen gas therapy for prevention of lung transplant-induced ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Transplantation*, 2010, 90: 1344-1351.
- [40] ONO H, NISHIJIMA Y, OHTA S, SAKAMOTO M, KINONE K, HORIKOSI T, et al. Hydrogen gas inhalation treatment in acute cerebral infarction: a randomized controlled clinical study on safety and neuroprotection[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26: 2587-2594.
- [41] KATSUMATA Y, SANO F, ABE T, TAMURA T, FUJISAWA T, SHIRAISHI Y, et al. The effects of hydrogen gas inhalation on adverse left ventricular remodeling after percutaneous coronary intervention for ST-elevated myocardial infarction—first pilot study in humans[J]. *Circ J*, 2017, 81: 940-947.
- [42] QU J, LI X, WANG J, MI W, XIE K, QIU J. Inhalation of hydrogen gas attenuates cisplatin-induced ototoxicity via reducing oxidative stress[J]. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2012, 76: 111-115.
- [43] ZHOU H, FU Z, WEI Y, LIU J, CUI X, YANG W, et al. Hydrogen inhalation decreases lung graft injury in brain-dead donor rats[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2013, 32: 251-258.
- [44] HOMMA K, YOSHIDA T, YAMASHITA M, HAYASHIDA K, HAYASHI M, HORI S. Inhalation of hydrogen gas is beneficial for preventing contrast-induced acute kidney injury in rats[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2015, 128: 785-791.
- [45] HUANG C S, KAWAMURA T, PENG X, TOCHIGI N, SHIGEMURA N, BILLIAR T R, et al. Hydrogen inhalation reduced epithelial apoptosis in ventilator-induced lung injury via a mechanism involving nuclear factor-kappa B activation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 408: 253-258.
- [46] PENG Z, CHEN W, WANG L, YE Z, GAO S, SUN X, et al. Inhalation of hydrogen gas ameliorates glyoxylate-induced calcium oxalate deposition and renal oxidative stress in mice[J].

- Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8: 2680-2689.
- [47] 耿文叶, 范敏, 管瑞娟, 赵晓梅, 张景熙. 吸入高浓度氢气对大鼠慢性阻塞性肺病的保护作用[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15: 3401-3405.
- [48] KAJIYAMA S, HASEGAWA G, ASANO M, HOSODA H, FUKUI M, NAKAMURA N, et al. Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance[J]. Nutr Res, 2008, 28: 137-143.
- [49] NAKAO A, TOYODA Y, SHARMA P, EVANS M, GUTHRIE N. Effectiveness of hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome—an open label pilot study[J]. J Clin Biochem Nutr, 2010, 46: 140-149.
- [50] SONG G, LI M, SANG H, ZHANG L, LI X, YAO S, et al. Hydrogen-rich water decreases serum LDL-cholesterol levels and improves HDL function in patients with potential metabolic syndrome[J]. J Lipid Res, 2013, 54: 1884-1893.
- [51] HASEGAWA S, ITO M, FUKAMI M, HASHIMOTO M, HIRAYAMA M, OHNO K. Molecular hydrogen alleviates motor deficits and muscle degeneration in mdx mice[J]. Redox Rep, 2017, 22: 26-34.
- [52] OSTOJIC S M, STOJANOVIC M D. Hydrogen-rich water affected blood alkalinity in physically active men[J]. Res Sports Med, 2014, 22: 49-60.
- [53] ISHIBASHI T, SATO B, RIKITAKE M, SEO T, KUROKAWA R, HARA Y, et al. Consumption of water containing a high concentration of molecular hydrogen reduces oxidative stress and disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an open-label pilot study[J/OL]. Med Gas Res, 2012, 2: 27. doi: 10.1186/2045-9912-2-27.
- [54] CHEN H, SUN Y P, LI Y, LIU W W, XIANG H G, FAN L Y, et al. Hydrogen-rich saline ameliorates the severity of L-arginine-induced acute pancreatitis in rats[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 393: 308-313.
- [55] ZHANG D Q, FENG H, CHEN W C. Effects of hydrogen-rich saline on taurocholate-induced acute pancreatitis in rat[J/OL]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 731932. doi: 10.1155/2013/731932.
- [56] DU Z, JIA H, LIU J, ZHAO X, WANG Y, SUN X. Protective effects of hydrogen-rich saline in uncontrolled hemorrhagic shock[J]. Exp Ther Med, 2014, 7: 1253-1258.
- [57] DU Z, JIA H, LIU J, ZHAO X, XU W. Effects of three hydrogen-rich liquids on hemorrhagic shock in rats[J]. J Surg Res, 2015, 193: 377-382.
- [58] OGAWA H, OKADA M, SHUDOU M, GYO K, HATO N. Prevention of ischemia-induced hearing loss by intravenous administration of hydrogen-rich saline in gerbil[J]. Neurosci Lett, 2018, 665: 195-199.
- [59] HUANG G, ZHOU J, ZHAN W, XIONG Y, HU C, LI X, et al. The neuroprotective effects of intraperitoneal injection of hydrogen in rabbits with cardiac arrest[J]. Resuscitation, 2013, 84: 690-695.
- [60] ZHAO S, MEI K, QIAN L, YANG Y, LIU W, HUANG Y, et al. Therapeutic effects of hydrogen-rich solution on aplastic anemia *in vivo*[J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 32: 549-560.
- [61] NODA K, SHIGEMURA N, TANAKA Y, KAWAMURA T, HYUN LIM S, KOKUBO K, et al. A novel method of preserving cardiac grafts using a hydrogen-rich water bath[J]. J Heart Lung Transplant, 2013, 32: 241-250.
- [62] NAKAYAMA M, KABAYAMA S, NAKANO H, ZHU W J, TERAWAKI H, NAKAYAMA K, et al. Biological effects of electrolyzed water in hemodialysis[J]. Nephron Clin Pract, 2009, 112: c9-c15.
- [63] TERAWAKI H, ZHU W J, MATSUYAMA Y, TERADA T, TAKAHASHI Y, SAKURAI K, et al. Effect of a hydrogen (H<sub>2</sub>)-enriched solution on the albumin redox of hemodialysis patients[J]. Hemodial Int, 2014, 18: 459-466.
- [64] MAEDA K, YOSHIZAKI S, IIDA T, TERADA T, ERA S, SAKASHITA K, et al. Improvement of the fraction of human mercaptalbumin on hemodialysis treatment using hydrogen-dissolved hemodialysis fluid: a prospective observational study[J]. Ren Replace Ther, 2016, 2: 42. doi: 10.1186/s41100-016-0054-y.
- [65] NAKAYAMA M, ITAMI N, SUZUKI H, HAMADA H, OSAKA N, YAMAMOTO R, et al. Possible clinical effects of molecular hydrogen (H<sub>2</sub>) delivery during hemodialysis in chronic dialysis patients: interim analysis in a 12 month observation[J/OL]. PLoS One, 2017, 12: e0184535. doi: 10.1371/journal.pone.0184535.
- [66] NAKAYAMA M, ITAMI N, SUZUKI H, HAMADA H, YAMAMOTO R, TSUNODA K, et al. Novel haemodialysis (HD) treatment employing molecular hydrogen (H<sub>2</sub>)-enriched dialysis solution improves prognosis of chronic dialysis patients: a prospective observational study[J/OL]. Sci Rep, 2018, 8: 254. doi: 10.1038/s41598-017-18537-x.
- [67] NAKAYAMA M, ZHU W J, WATANABE K, GIBO A, SHERIF A M, KABAYAMA S, et al. Dissolved molecular hydrogen (H<sub>2</sub>) in Peritoneal Dialysis (PD) solutions preserves mesothelial cells and peritoneal membrane integrity[J/OL]. BMC Nephrol, 2017, 18: 327. doi: 10.1186/s12882-017-0741-0.
- [68] TERAWAKI H, NAKANO H, ZHU W J, NAKAYAMA M. Successful treatment of encapsulating peritoneal sclerosis by hemodialysis and peritoneal lavage using dialysate containing dissolved hydrogen[J]. Perit Dial Int, 2015, 35: 107-112.