

|         |  |     |      |
|---------|--|-----|------|
| 引用元 URL | https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40469704/  |     |      |
| 学術雑誌    | Cytojournal  | 掲載年 | 2025 |
| 研究施設    | 南京大学医学部附属金陵病院  | 研究国 | 中国   |
| 題名      | <b>Hydrogen gas therapy: A promising approach for sepsis management post-burn injury by modulating inflammation, oxidative stress, and wound healing</b> |     |      |

### 1分で読める研究のポイント

## 水素吸入治療による重度やけど治療促進効果

- ➡ 重度のやけどは、壊死部位だけでなく全身に炎症や酸化ストレスを引き起こし、感染リスクや敗血症の発症率、死亡率を大きく高める深刻な外傷である。
- ➡ 重度熱傷敗血症モデルラットに水素吸入治療（2%水素ガス、1日1時間、20日間）を行い、創傷収縮率・再上皮化の進行・コラーゲン沈着の状態、血漿と皮膚の炎症・酸化ストレス指標を測定した。
- ➡ 水素吸入により、創傷の治癒が著しく促進し（創傷収縮率が大幅上昇、再上皮化の加速）、傷がよりきれいに治り（規則的かつ密なコラーゲン沈着）、炎症・酸化ストレス指標も有意に低下した。

### Abstract（原文と翻訳）

**Objective:** Burns refers to a severe form of trauma that often leads to localized and systemic inflammatory responses, oxidative stress, and immune dysfunction. Patients with severe burns are highly susceptible to the development of postburn sepsis, a condition influenced by multiple factors, such as bacterial infection of the burn wound, alterations in immune status, and excessive release of inflammatory mediators. This study aimed to investigate the mechanisms by which hydrogen gas treatment exerts its effects on postburn sepsis, with a focus on its influence on inflammatory responses, oxidative stress, and wound healing.

【目的】熱傷は、局所と全身の炎症反応、酸化ストレス、免疫機能障害を引き起こす重篤な外傷の一形態である。重度熱傷患者は、熱傷創部の細菌感染、免疫状態の変化、炎症性メディエーターの過剰放出など、複数の要因によって引き起こされる熱傷後敗血症を発症しやすい。本研究の目的は、水素ガス治療が熱傷後敗血症に及ぼす影響のメカニズムを、炎症反応、酸化ストレス、および創傷治癒への作用に焦点を当てて検討することである。

**Material and methods:** This work employed in vitro assays with Sprague-Dawley (SD) rat skin fibroblasts (RSFs) to assess the effects of burn serum and hydrogen gas on cell proliferation through methylthiazolyldiphenyltetrazolium bromide assays and on apoptosis through flow cytometry with Annexin V-fluorescein isothiocyanate/propidium iodide staining. In addition, an enzyme-linked immunosorbent assay was performed to quantify inflammatory cytokines and oxidative stress markers in fibroblasts treated with burn serum. Western blotting (WB) analysis was conducted to investigate signaling pathway modulation. The severe burn sepsis models of SD rats were segregated into three experimental groups: a healthy normal control group, a burn sepsis control group, and a burn sepsis + hydrogen gas (2%) treatment group. Wound healing was monitored, with wound contraction rates recorded and histological assessments conducted using hematoxylin and eosin and Masson's trichrome staining to evaluate tissue repair and collagen deposition.

【方法】本研究では、SDラット由来の皮膚線維芽細胞（RSF）を用いた in vitro アッセイにより、熱傷血清と水素ガスが細胞増殖に及ぼす影響を、MTTアッセイによって評価した。また、Annexin V-FITC/プロピジウムヨウ化物染色によるフローサイトメトリーによりアポトーシスを測定した。加えて、ELISAにより、熱傷血清処理を施した線維芽細胞中の炎症性サイトカインと酸化ストレスマーカーを定量化した。さらに、Western blot 解析を用いてシグナル伝達経路の調節を検討した。重度熱傷敗血症モデルラットは、健康な正常対照群、熱傷敗血症対照群、水素ガス（2%）治療群の3群に分けた。創傷治癒は、創傷収縮率の記録および HE 染色と Masson トリクローム染色による組織修復とコラーゲン沈着の組織学的評価によりモニタリングした。

**Results:** In vitro assays showed that burn serum reduced fibroblast proliferation and increased apoptosis ( $P < 0.01$ ), which hydrogen gas mitigated by rescuing cell viability and reducing apoptosis ( $P < 0.01$ ). Enzyme-linked immunosorbent assay revealed burn serum-induced increases in the levels of inflammatory cytokines and oxidative stress markers, with decreases in antioxidant enzymes ( $P < 0.01$ ), which hydrogen gas reversed ( $P < 0.05$ ). WB analysis suggested hydrogen gas's anti-inflammatory and proliferative effects by modulating signaling pathways ( $P < 0.01$ ). In vivo, hydrogen gas treatment considerably improved wound healing, with accelerated contraction and enhanced collagen deposition. Plasma and skin tissue analyses indicated systemic and local anti-inflammatory and antioxidant effects from hydrogen gas.

【結果】in vitro アッセイでは、熱傷血清が線維芽細胞の増殖を抑制し、アポトーシスを促進したことが示された ( $P < 0.01$ )。これに対し、水素ガスは細胞生存率を回復させ、アポトーシスを減少させた ( $P < 0.01$ )。ELISAの結果、熱傷血清は炎症性サイトカインと酸化ストレスマーカーのレベルを上昇させ、抗酸化酵素のレベルを低下させた ( $P < 0.01$ ) が、水素ガス処理によってこれらの変化は逆転した ( $P < 0.05$ )。WB 解析では、水素ガスがシグナル伝達経路を調節することにより抗炎症作用と細胞増殖促進効果を示すことが示唆された ( $P < 0.01$ )。in vivo では、水素ガス治療により創傷治癒が大幅に改善され、収縮の加速とコラーゲン沈着の増加が認められた。血漿と皮膚組織の分析では、水素ガスの全身および局所における抗炎症作用・抗酸化作用が示された。

**Conclusion:** Hydrogen gas treatment demonstrates potential therapeutic efficacy in the management of postburn sepsis by modulating inflammatory responses, reducing oxidative stress, and promoting wound healing. These findings provide scientific evidence supporting hydrogen gas as an adjunctive treatment strategy for postburn sepsis.

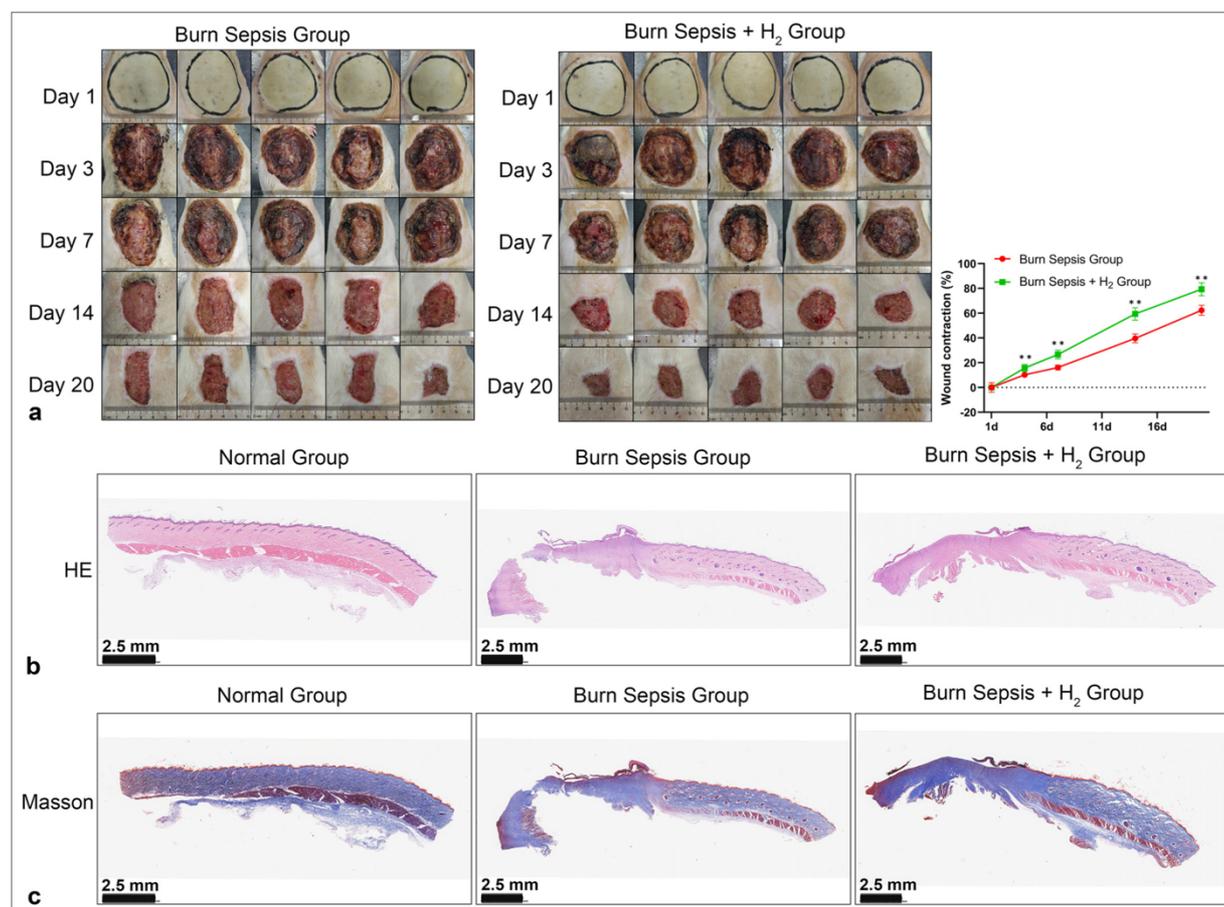
【結論】水素ガス治療は、炎症反応の調節、酸化ストレスの軽減、創傷治癒の促進を通じて、熱傷後敗血症の管理において治療的有効性の可能性を示す。本研究の知見は、水素ガスを熱傷後敗血症の補助治療戦略として支持する科学的根拠を提供するものである。

**Conflict of interest statement:** The authors declare no conflict of interest. 【利益相反】なし

| 英語   | 日本語                   | 説明  |
|--|-----------------------|---|
| Burns  | 熱傷                    | 皮膚が高温などで損傷し、炎症・組織壊死が起こる外傷。  |
| Burn sepsis  | 熱傷後敗血症                | 熱傷後に細菌感染などをきっかけに全身の炎症反応が過剰に起こる状態。多臓器不全のリスクが高い。                                  |
| inflammatory mediators   | 炎症性メディエーター            | 炎症を引き起こす物質。TNF- $\alpha$ や IL-1 $\beta$ 、IL-6 など。                               |
| skin fibroblasts   | 皮膚線維芽細胞               | 皮膚構造を維持し、コラーゲンなどを作る細胞。熱傷治癒過程に深く関与。  |
| collagen deposition  | コラーゲン沈着               | 傷の治癒過程で新しく生成されたコラーゲンが組織に蓄積されること。Masson 染色で観察。                                   |
| inflammatory responses   | 炎症反応                  | 病気や外傷に対する免疫系の反応。過剰だと組織破壊を引き起こす。   |
| oxidative stress   | 酸化ストレス                | 活性酸素が過剰に存在し、細胞に損傷を与える状態。MDA $\uparrow$ 、SOD $\downarrow$ 、GSH $\downarrow$ で評価。 |
| apoptosis  | アポトーシス                | 細胞の計画的な死。熱傷後に線維芽細胞のアポトーシスが増加し、水素ガスで抑制された。                                       |
| methylthiazolyldiphenyltetrazolium bromide assays              | MTT アッセイ              | 細胞の生存率や増殖を測定する方法。線維芽細胞の活性度を評価。  |
| flow cytometry   | フローサイトメトリー            | 細胞の性質（サイズ・アポトーシスなど）を解析する装置。アポトーシス率の測定に使用。                                       |
| Annexin V-fluorescein isothiocyanate/propidium iodide staining | Annexin V-FITC/PI 染色  | アポトーシス初期と後期の細胞を識別する染色法。フローサイトメトリーと組み合わせて使用。                                     |
| enzyme-linked immunosorbent assay                              | ELISA                 | 特定のタンパク質（例：炎症性サイトカイン）を定量的に測定する方法。   |
| Western blotting (WB) analysis                                 | ウェスタンブロット法            | 特定のタンパク質の発現量やリン酸化状態を検出する実験手法。シグナル伝達経路の活性解析に使用。                                  |
| signaling pathway modulation                                   | シグナル伝達経路の調節           | 細胞内で情報を伝える経路（例：MAPK や NF- $\kappa$ B）の活性を変化させること。                               |
| hematoxylin and eosin and Masson's trichrome staining          | HE 染色・Masson トリクローム染色 | 組織の構造やコラーゲンの状態を観察する染色法。創傷治癒の度合いを評価するのに用いた。                                      |

### 水素処理による熱傷性敗血症創傷の治癒効果

(a) H<sub>2</sub>処理後の熱傷性敗血症ラット創傷治癒率、(b) 熱傷創の HE 染色（倍率 40 倍）、(c) 熱傷創の Masson トリクローム染色（倍率 40 倍）。\*：熱傷敗血症群との比較、\*\*：P<0.01（有意差あり）、n=5 匹、H<sub>2</sub>：水素ガス、HE：ヘマトキシリン・エオシン染色。



## ELISA による血漿および皮膚組織中の炎症・酸化ストレスマーカーの測定

(a-g) 血漿中の各因子の変動：TNF- $\alpha$  (腫瘍壊死因子  $\alpha$ )、IL-1 $\beta$  (インターロイキン 1 $\beta$ )、IL-6 (インターロイキン 6)、HMGB1 (高移動度群ボックス 1 タンパク質)、MDA (マロンジアルデヒド)、SOD (スーパーオキシドディスムターゼ)、GSH (グルタチオン)

(h-l) 皮膚組織中の各因子の変動：TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、MDA、SOD、GSH

\* : 正常群との比較、\*\* :  $P < 0.01$  (非常に有意)、# : 熱傷性敗血症対照群との比較、#:  $P < 0.05$  (有意)、## :  $P < 0.01$  (非常に有意)、 $n=5$  匹。

