

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07906

研究課題名(和文) 13C-ブドウ糖呼気試験による臓器別糖酸化処理能評価法開発と糖代謝異常病態の検討

研究課題名(英文) Development of evaluation method for glucose oxidation capacity of different organs by 13C-glucose breath test and investigation of pathogenesis of abnormal glucose metabolism

研究代表者

澤田 正二郎 (Sawada, Shojiro)

東北医科薬科大学・医学部・准教授

研究者番号：60509420

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：経口摂取されたブドウ糖は小腸で吸収後に肝臓に流入し、一部が肝グリコーゲンとして貯蔵され、それ以外は肝臓をすり抜け骨格筋で消費される。肝臓のグリコーゲン蓄積と骨格筋のブドウ糖取込はインスリン作用が必要である。糖尿病発症前には食後高血糖が先んじるとの報告がある。今回の研究では、健康人を対象として安定同位体で標識されたブドウ糖を経口負荷し、個体で代謝され生成された二酸化炭素中の安定同位体存在比率を測定することにより、個体におけるブドウ糖酸化を定量した(ブドウ糖呼気試験)。肝臓でのグリコーゲン蓄積が多い予想される場合には、負荷後早期のブドウ糖酸化(標識二酸化炭素の呼気排泄)の程度は低いことが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病発症前にハイリスク集団を同定し介入することは予防医学の観点からも重要である。糖尿病に先立ち、肝臓では食後のブドウ糖取込みが低下するため“食後高血糖”を呈する。肝臓ではインスリン作用により経口摂取されたブドウ糖をグリコーゲンとして肝に貯蔵するが、このようなプロセスを簡便な臨床検査で測定できれば、糖尿病発症前のハイリスク集団の同定につながる可能性がある。今回の研究では、肝臓でのグリコーゲン蓄積が多いと予想される場合に、ブドウ糖呼気試験で標識された二酸化炭素の排泄量が低値をきたすことを見出した。生体サンプルとして採血が不要な検査であり、呼気だけで測定できることは臨床応用に向け社会的意義は高い。

研究成果の概要(英文)：After absorption in the small intestine, orally ingested glucose enters the liver, where some is stored as hepatic glycogen and the rest skips through the liver to be consumed in skeletal muscle. Hepatic glycogen storage and skeletal muscle glucose uptake require insulin action. It has been reported that postprandial hyperglycemia precedes the onset of diabetes. In the present study, glucose labeled with stable isotopes was orally administered to healthy subjects, and the ratio of stable isotopes in carbon dioxide metabolized and produced by the individual was measured as an indicator of glucose oxidation in the individual (glucose breath test). The glucose breath test showed that the excretion of labeled carbon dioxide was low when glycogen accumulation in the liver was expected to be high.

研究分野：糖尿病

キーワード：ブドウ糖呼気試験 糖代謝異常の早期診断法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食事などにより摂取された炭水化物由来のブドウ糖は小腸で吸収後、門脈を介して肝臓に流入し 20~30%が肝細胞でグリコーゲンに合成され蓄積される。絶食時にはグリコーゲン分解および肝糖新生によるブドウ糖放出で血糖値を維持する。このような肝臓における糖代謝調節機構は、絶食中の血糖維持だけでなく、食後の高血糖抑制にも重要な役割を果たしている。そして、膵臓から分泌されるインスリンは肝臓のグリコーゲン合成や肝糖新生の抑制のはたらきを有し、糖代謝の恒常性維持に重要な役割を持っている。絶食時に分泌されるインスリンを“基礎インスリン”、食後に分泌されるインスリンを“追加インスリン”と呼び、門脈を介して最初に肝臓で作用する。肝細胞表面に発現するインスリン受容体に結合し、インスリンシグナル伝達により細胞内にインスリン作用が発揮される。受容体に結合したインスリンの多くはエンドサイトーシスにより肝細胞内で分解される。このインスリンの分解を“肝インスリンクリアランス”といい、その程度は絶食時で約 50%、食後で約 20%である。肝臓でクリアランスを逃れ末梢へ届いたインスリンが骨格筋などに対してインスリン作用を発揮する。この肝インスリンクリアランスの低下はインスリン抵抗性の状態である患者でしばしば認められ、糖尿病発症に先立つ減少であるとの報告がある。そこで、肝インスリンクリアランスを簡便に検出できる方法を見出すことができれば、糖尿病を発症する前に発症リスクの高い集団を検出でき、早期介入により高い予防効果を得ることができる。

ブドウ糖呼吸試験は自然界に 1.115%しか存在しない ^{13}C ブドウ糖を単回投与して、全身で利用・代謝されたブドウ糖のうち、ブドウ糖酸化により CO_2 となって呼吸排出された量を定量することにより個体のブドウ糖酸化能を評価する臨床検査である。負荷されたブドウ糖のうち肝細胞でグリコーゲンとして蓄積するだけでは CO_2 が発生しない。骨格筋などでブドウ糖酸化を受けたときに CO_2 は発生する。つまり、ブドウ糖呼吸試験を利用することによってブドウ糖がどの臓器でどのように利用されるのかについて理解できる可能性を考えた。

膵細胞からは C-ペプチドとインスリンが等モル比で門脈中に分泌され、上述のようにインスリンは肝臓で一部がクリアランスされる一方、C-ペプチドは肝臓でのクリアランスはなく全て末梢に流れることから、末梢血での C-ペプチド濃度とインスリン濃度の比率が肝インスリンクリアランスの指標として使用できる。そこで、ブドウ糖呼吸試験と肝インスリンクリアランスなどの臨床指標を組み合わせることで、ブドウ糖利用の肝臓または骨格筋での寄与度や、負荷後血糖上昇を抑制する因子解析などを行いたいと考えた。

2. 研究の目的

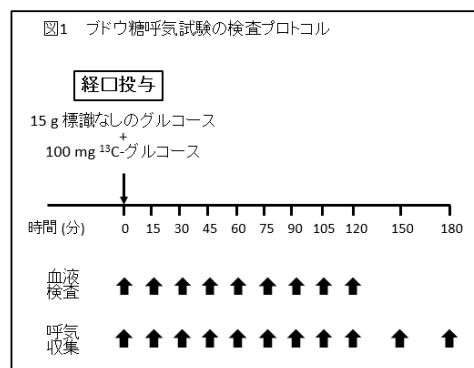
健常者における、ブドウ糖負荷後の肝臓のグリコーゲン合成と骨格筋のブドウ糖酸化のブドウ糖利用バランスを ^{13}C -グルコース呼吸試験を用いて明らかにする。

3. 研究の方法

対象：16名の非肥満・健常者男性を研究対象とした。登録前のスクリーニング採血で空腹時血糖 $<100\text{mg/dL}$ かつ $\text{HbA1c}<6.0\%$ 、問診から過去に糖尿病または境界型糖尿病と診断されたことがない、糖代謝に影響を与える可能性がある薬剤を内服していない人を対象とした。本研究は東北大学医学部倫理委員会での審査を受け承認され(No.2017-1-486)、ヘルシンキ宣言を遵守してこの研究を施行した。全ての被験者から文書によるインフォームドコンセントを得た。

研究プロトコル(図1): 早朝空腹時に肘静脈にプラスチックカテーテルを留置した。ベースラインの採血を行うとともに、ベースラインの呼吸サンプルを呼吸収集バッグに採取した。ベースラインの採血と呼吸収集後に、 100mg の ^{13}C グルコースと 15g の標識なしのグルコース溶液を、被験者に経口投与した。投与開始時刻を 0 分として、採血と呼吸収集を 15 分毎に 120 分まで継続的に施行した。呼吸収集はさらに 150 分と 180 分も追加した。被験者は検査中安静が指示された。

ブドウ糖呼吸試験：採取された呼吸中の $^{13}\text{CO}_2$ は、 $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 存在比として赤外分光分析装置で測定した。測定された $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ 存在比は成人における推定総 CO_2 排泄量をもとにして $^{13}\text{CO}_2$ 排泄量に換算した。

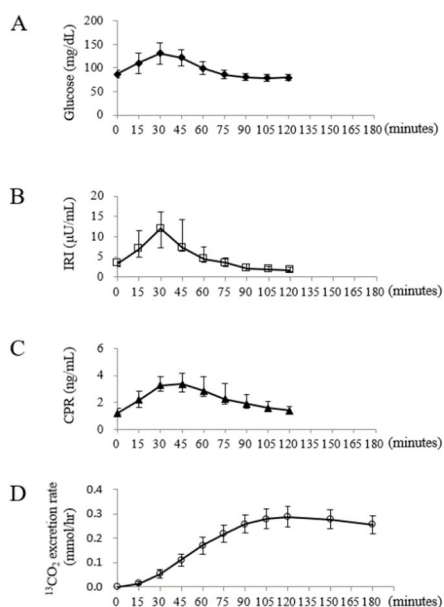


代謝指標：血漿グルコース値、血清インスリン値 (immunoreactive insulin :以下 IRI) および血清Cペプチド値 (C-peptide immunoreactivity :以下 CPR) を0分、15分、30分、45分、60分、75分、90分、105分、120分で測定した。肝インスリンクリアランス指標であるCPR/IRI比はモル換算し算出した。

4. 研究成果

ブドウ糖投与 30分後に血中グルコース値はピーク値となった。インスリンは30分後、Cペプチドは45分後、呼気¹³CO₂は120分後にピーク値となった。肝インスリンクリアランス増加は、投与早期(15分および30分)の血糖値増加と負の相関を認めた。さらに、肝インスリンクリアランス増加は、呼気¹³CO₂排泄量と負の相関を認めた。これらの結果は、ブドウ糖投与早期に肝臓にインスリン作用が強くはたらけば(肝グリコーゲン蓄積)、生体におけるブドウ糖酸化は相対的に減少することが推測された。糖尿病前状態における肝臓のインスリン作用不足は、ブドウ糖が肝臓でクリアランスされず結果として末梢(骨格筋など)にブドウ糖が供給されることとなりブドウ糖負荷後の高血糖の原因となりうる。したがって、ブドウ糖呼気試験は糖尿病前状態で見られる肝臓でインスリン作用の低下(肝インスリン感受性の低下)を捉えることができ、早期の糖代謝異常を検出する可能性がある。

図2 ブドウ糖負荷後の各指標の推移



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sawada S, Kodama S, Tsuchiya S, Kurosawa S, Endo A, Sugawara H, Hosaka S, Kawana Y, Asai Y, Yamamoto J, Munakata Y, Izumi T, Takahashi K, Kaneko K, Imai J, Imoto H, Tanaka N, Naitoh T, Ishigaki Y, Katagiri H.	4. 巻 10
2. 論文標題 Continuous glucose monitoring in patients with remission of type 2 diabetes after laparoscopic sleeve gastrectomy without or with duodenojejunal bypass	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin Obes.	6. 最初と最後の頁 e12409
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cob.12409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高橋 圭 (Takahashi Kei) (00644808)	東北大学・医学系研究科・助教 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------