

第5章 正常者ならびに糖尿病患者の血中ケトン体

A: 目的

空腹時血糖値ならびにglycosylated hemoglobinは現在、糖尿病のコントロールの指標として用いられている。しかしながら糖尿病は糖代謝のみならず、脂質代謝、蛋白質代謝異常が生じている。ケトーシスの有無はインスリン依存性糖尿病 (IDDM)とインスリン非依存性糖尿病(NIDDM)との鑑別の対象になる。またケトン体の測定は糖尿病のコントロールの指標に役立つ可能性が強い。しかし従来よりケトン体の臨床検査は、主に尿でのニトロプルシド反応が用いられている。しかしこの方法ではアセト酢酸(AcAc)のみ反応し、糖尿病患者にて主として増加する3-ヒドロキシ酪酸(3-OHB)には反応しない欠点がある。3-OHBの血中定量は今まで酵素法²¹⁾が用いられていたが、手技が煩雑であり、臨床検査としては一般的でなかった。しかし最近、ジアゾニウム塩法²²⁾による血中ケトン体の分別定量が比較的簡単に行われるようになり、臨床応用も可能となった。そこで糖尿病入院患者及び正常者について空腹時血中ケトン体を測定した。また特に食事による血中ケトン体の変化についての報告は少なく、一定とした結論は得られていない。そこで絶食時間、運動、食事量の変化、ストレスなどの変動因子をできるだけ除外するために正常者ならびに NIDDM糖尿病入院患者について混合食(400Kcal)摂食後の血中ケトン体及びその関連物質であるFFA, carnitineを測定して糖尿病コントロールの指標としての有用性について検討した。

B: 対象及び方法

正常者10名、糖尿病治療目的で入院中の肝腎障害を有しない患者で、入院後5日以内のIDDM患者10名、及びNIDDM患者32名(食事療法群、Sulfonylurea(SU)剤内服治療群、インスリン治療群、各々8名)を対象とした。採血にあたっては、前日の夕食後から絶食としAM 8時に採血した。また正常者及びNIDDM患者を対象とし400Kcal混合食(炭水化物:蛋白:脂肪=5:3:2)を摂食させ、食後2時間、4時間に採血した。採血の間は安静を保つように指示した。またNIDDMの入院患者の中で、血糖

のコントロールが良好となった者(FBS<110mg/dl、食後2時間値<140mg/dl)に対して同様な試験を施行し、この群をコントロール良好群とした。患者の内訳は、食事療法群、SU剤内服治療群、インスリン治療群、各々3名ずつであった。血中ケトン体(総ケトン体、AcAc、3-OHB)及びFFAは-20°Cに凍結保存した血清を3日以内に前述したジアゾニウム塩法²²⁾、酵素法にてそれぞれ測定した。血糖はGlucose oxidase法、血中インスリンは特異抗体を用いたRIAで測定した。インスリン治療中の患者の血中インスリンはポリエチレングリコール処理⁴⁹⁾により遊離インスリンとしてRIAで測定した。carnitine(free, acyl)濃度は 前述した McGarryら²³⁾による Radioisotopic methodにより測定した。

C: 成績

1) 正常者及び糖尿病患者の空腹時血中ケトン体値 (Table 4)

Table 4に対象者の検査値を示した。正常者の空腹時血中総ケトン体(AcAc+3-OHB)濃度は、 $61.4 \pm 5.9 \mu\text{M}$ であった。IDDM患者の総ケトン体濃度は、正常者の約6倍と有意($p < 0.01$)に高値で3-OHBが優位であった。NIDDM患者の総ケトン体濃度は、正常者の約2.5倍と有意($p < 0.01$)に高値で、やはり3-OHB優位であった。

2) 混合食摂食後の血糖、遊離脂肪酸、インスリン濃度の変化 (Fig.17)

Fig.17に正常者、NIDDM患者(食事療法、SU剤内服治療、インスリン治療)各群の空腹時、食後2時間、4時間の血糖値、FFA、インスリン濃度の経時的変化を示した。血糖値は正常群では食後も有意な変化を示さなかった。しかし糖尿病患者においては、正常に比し空腹時血糖値が有意に高値で、各々食後2時間で有意な高値を示した。なかでもSU剤内服治療群は最も血糖値が高値で食後4時間後も上昇した。食事、インスリン治療群では食後4時間で血糖値は低下した。FFA濃度は正常者では食後2時間で有意に低下し、食後4時間で前値に復した。糖尿病患者ではFFA濃度は各々正常に比し有意に高値(439 ± 34 vs. $296 \pm 34 \mu\text{Eq/l}$)で、やはり食後2時間で有意に低下した。また食後4時間後も低下したままであった。空腹時インスリン濃度は、正常者に比し糖尿病患者では食事療法群を除いて有意に低下していた。また正常者、糖尿病患者とも血中インスリン濃度は食後2時間で有意に上昇し、4時間で低下した。インスリン治療群のインスリン濃度の増加は食事、SU剤内服治療群のそれに比し軽度であった($p < 0.05$)。

3) 混合食摂食後の血中ケトン体濃度の変化 (Fig.18)

Fig.18に血中ケトン体濃度の混合食摂食前後の変化を示したが、正常者では空腹時血中ケトン体濃度はAcAc $40.2 \pm 2.9 \mu\text{M}$ 、3-OHB $21.3 \pm 4.0 \mu\text{M}$ とAcAc優位であった。食後は有意な変化はみられなかったが、3-OHBが食後2時間で低下する傾向を示した。これに対してNIDDM患者では空腹時血中ケトン体濃度(AcAc,3-OHB)は正常者に比し有意に高値であった。($57.9 \pm 3.5 \mu\text{M}$ vs. $40.2 \pm 2.9 \mu\text{M}$, $p < 0.05$,

$97.9 \pm 14.7 \mu\text{M}$ vs. $21.3 \pm 4.0 \mu\text{M}$, $p < 0.01$) 治療群別にみるとインスリン、食事、SU剤内服治療群の順に高値であり、いずれも3-OHB優位であった。またSU剤内服治療群においては総ケトン体、3-OHB濃度は他群より有意に低値であった。食後2時間でいずれの治療群でも総ケトン体濃度は有意に低下がみられ、それは主とし

Table 4 正常者および糖尿病患者の空腹時血中ケトン体 (mean±SEM)

	N	年齢	%理想体重	血中ケトン体 (μM)			空腹時血糖値 (mg/dl)
				AcAc	3-OH8	Total	
正常者	10	44±5	106±4	40.2±2.9	21.3±4.0	61.4±5.9	94±2
IDDM	10	33±4	93±4	106.0±10.7	266.7±21.3	372.8±61.5	243±31
NIDDM	24	52±3	116±4	57.9±3.5	97.9±14.7	156.3±17.2	148±10
食事	8	52±17	118±10	57.6±2.4	92.3±11.6	149.0±13.4	160±21
SU剤	8	52±17	114±9	52.2±0.7	57.9±7.9	110.1±8.7	219±28
インスリン	8	52±12	102±5	63.5±2.8	101.7±2.8	165.2±14.8	139±17

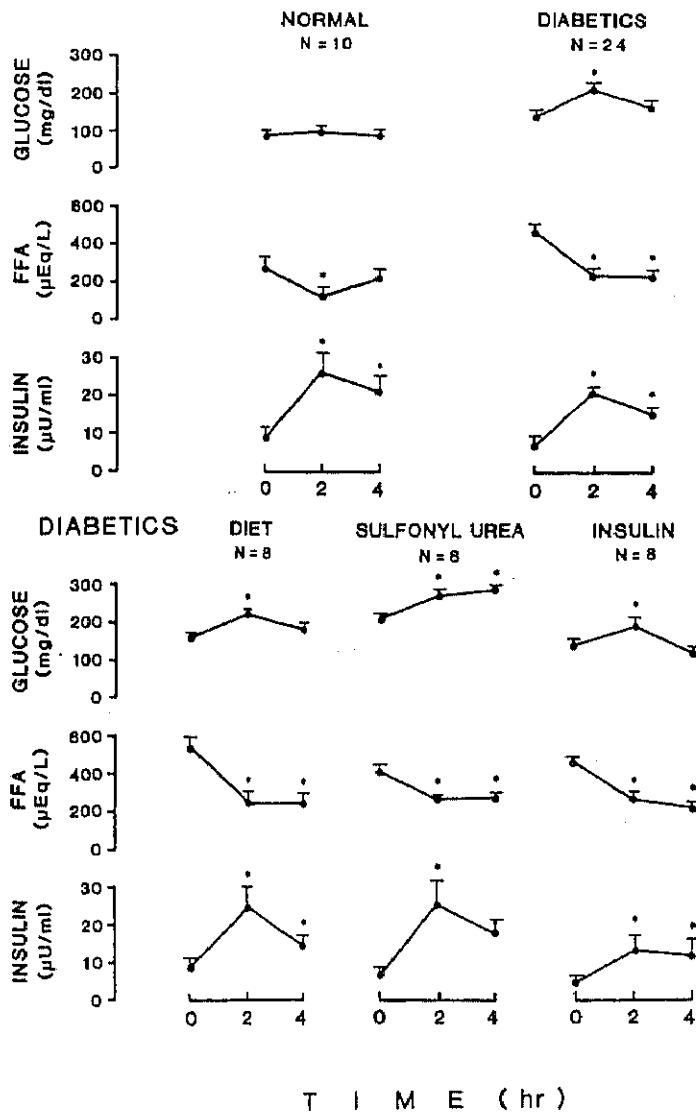


Fig. 17 Changes in plasma glucose, free fatty acids, and insulin levels in normal and diabetic subjects after the ingestion of a mixed meal. Diabetics refer to the mean of the three groups immediately below. mean \pm SEM. * $p < 0.05$ vs. each basal level.

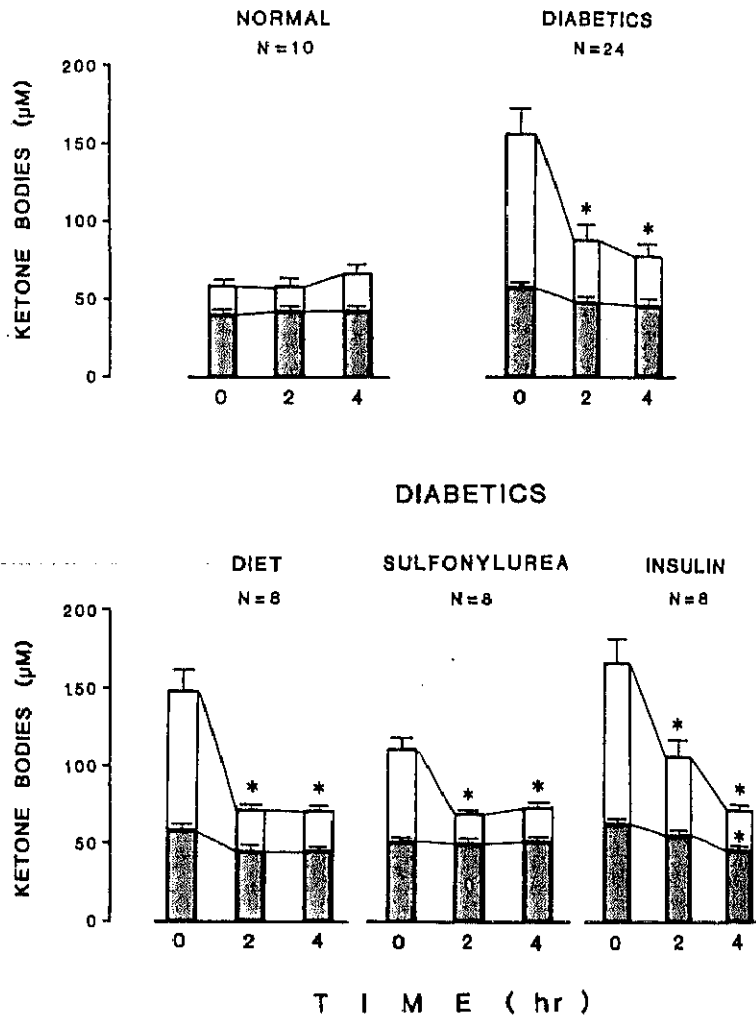


Fig. 18 Changes in plasma ketone body level in normal and diabetic subjects after the ingestion of a mixed meal. Diabetics refer to the mean of the three groups immediately below. mean±SEM, Open areas and solid areas represent 3-OHB and AcAc, respectively. * p<0.05 vs. each basal level.

て3-OHB濃度の有意な低下によった。また食後4時間でほぼ正常者と同じ濃度にまで低下した。

4) 混合食摂食後のcarnitine濃度の変化 (Fig.19)

Fig.19 に血中carnitine濃度を示した。空腹時の総carnitine濃度は、正常者 $48.2 \pm 5.6 \mu\text{M}$ 、NIDDM患者 $47.0 \pm 3.2 \mu\text{M}$ と有意差は認めなかった。正常者においては、acyl/free比は、 0.34 ± 0.12 であったが、NIDDM患者では 0.57 ± 0.19 であった。 $(p < 0.05)$ SU剤内服治療群のacyl/free比を除く他の群の総carnitine濃度及びacyl/free比は食後有意な変化を示さなかった。SU剤内服治療群の空腹時acyl-carnitine濃度 ($14.5 \pm 2.5 \mu\text{M}$) はインスリン治療群 ($19.3 \pm 2.0 \mu\text{M}$) より有意に低値であった ($p < 0.05$)。しかし食後は他群と同じレベルに達した。

5) コントロール良好群の混合食摂食後の血中ケトン体濃度の変化 (Fig.20)

これらのNIDDM入院患者で入院中正常な血糖値のコントロール (FBS $< 110 \text{ mg/dl}$ 、食後2時間値 $< 140 \text{ mg/dl}$) に達した者に同様な検査を施行した。Fig.20 にその結果を示したが、空腹時FFA濃度は入院時に比し減少していたが、正常者に比し有意に高値であった。血中ケトン体濃度もコントロール改善前に比し $88.7 \pm 8.3 \mu\text{M}$ と低値であるが、正常者に比し有意に高値であった。そして食後、特に3-OHB濃度は正常者のレベルまで低下した。

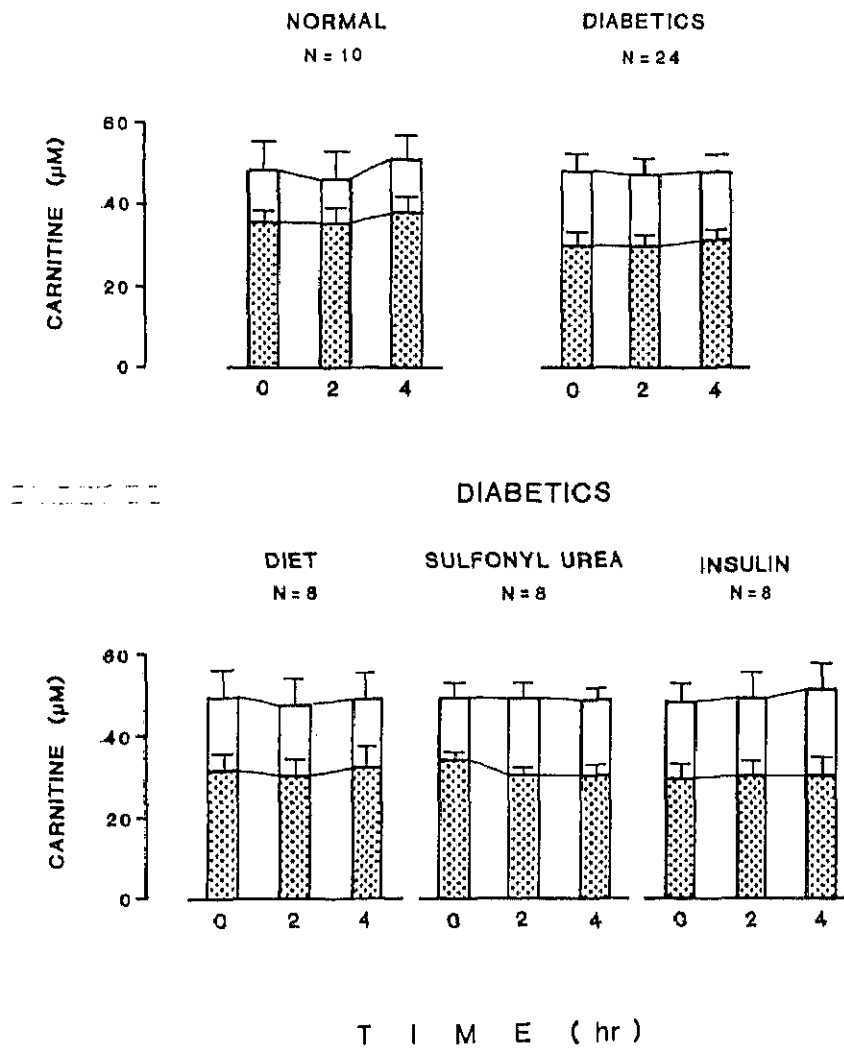


Fig. 19 Changes in plasma carnitine level of normal and diabetic subjects after the ingestion of a mixed meal. mean \pm SEM, Open areas and hatched areas represent acylcarnitine and free carnitine, respectively.

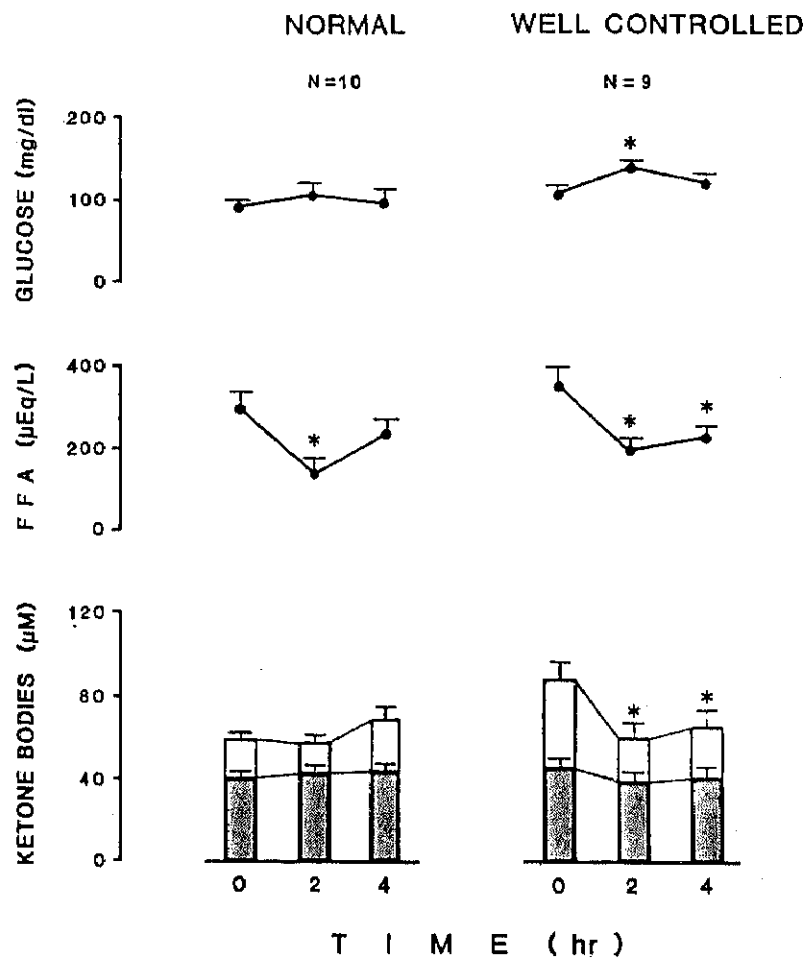


Fig. 20 Comparison of plasma glucose, free fatty acids and ketone body levels after the ingestion of a mixed meal between normal and well controlled diabetics. mean \pm SEM, Open areas and solid areas represent 3-OHB and AcAc, respectively.

* $p < 0.05$, significantly different from each basal level.

D: 考察

正常者と糖尿病患者において空腹時血中ケトン体を測定したが、糖尿病患者では正常に比し有意に高値で3-OHB優位であった。従来ルーチンの検査では尿中でのみケトン体が測定されていたが、尿検査で用いるニトロプルシド反応ではAcAcしか反応しないので血中ケトン体を測定する意義は大きいと考えられる。今回の研究で対象となったIDDM患者はコントロール目的で入院した患者であるが、血中ケトン体濃度は正常に比し約6倍の高値を示した。NIDDM患者と比較しても有意に高値であった。原納ら⁵⁰⁾によるとNIDDM患者でもコントロールが不良時、2mM以上に上昇するのは稀であり、IDDMとNIDDMを鑑別するのに血中ケトン体は良い指標となることが報告されている。

混合食を用いた検査で、NIDDM患者の血中ケトン体、とりわけ3-OHB濃度は、FFAの濃度と平行して、食後4時間で有意に低下することが示された。これは原納ら⁵⁰⁾の食後にケトン体が低下するという報告と同じであった。一方、正常者においてFFAは食後2時間で有意に低下したが、血中ケトン体濃度は有意な変化を示さなかった。近年、ケトン体の肝での生成には、インスリン、グルカゴン及び基質であるFFAなどにより調節されていることが報告されている。Fig.20は食後の有意なインスリン濃度の増加を示している。それゆえNIDDM患者においてインスリン分泌の増加により血中ケトン体濃度の食後の低下が生じたと考えられる。即ち、糖尿病患者におけるインスリン作用の低下をFFA、血中ケトン体、特に3-OHB濃度は反映しているといえる。しかしながらFig.20に示すように、3-OHBの変化はFFAの変化よりもより鋭敏といえる。血糖がコントロールされた糖尿病患者のFFA濃度は正常者と同程度であったが、3-OHB濃度は正常者の2倍であり、その食後の変化も正常者と異なることが示された。Scheenら⁵¹⁾の報告でも、インスリン皮下持続注入療法(CSII)にて治療中のIDDMの患者にてインスリンの注入を中止した場合、血糖値は4時間で有意に上昇したのに対して、3-OHB濃度は中止後3時間で有意に上昇していることより3-OHBの方が血糖値より鋭敏であると述べている。また治療群別にみた場合、SU剤内服治療群では血糖値は他の治療群に比し高値であったが、血中ケトン体、特に3-OHB濃度は食事、インスリン治療群に比し低値であった。原納ら²²⁾もSU剤内服治療群では他の治療群に比しケトン体濃度が低値であると報告している。これらの結果はSU剤の腓外作用によるものと考えられる。このことに関して、坂

本ら⁵²⁾は、正常及びアロキサン糖尿病ラットの肝灌流にて Tolbutamideがケトン体産生を25%抑制していると報告している。またBoshellら⁵³⁾もhepatocyteを用いて Tolbutamideのケトン体産生抑制を報告している。

carnitineは脂肪酸の酸化に関与し重要である。即ち脂肪酸の酸化はMt内で行われるが、脂肪酸はそのままの形では Mtを通過出来ず、carnitineと結合して acylcarnitineの形で、 Mt内で再び acyl CoAとなり酸化される⁵⁴⁾。そして脂肪酸の酸化の増加と肝での acylcarnitine濃度とは相関することが報告されている⁵⁵⁾。更にGenuthら⁵⁶⁾は血中 carnitineとケトン体濃度について、IDDMでは Total carnitine濃度と3-OHB濃度が有意に相関していると報告している($r=0.15$, $p<0.01$)。今回の研究では正常者の acylcarnitine/free carnitine比は糖尿病患者のそれに比し有意に低下していた。このことは正常者と糖尿病患者ではFFAの濃度に差があるためと考えられる。またSU剤内服治療群での acylcarnitineはインスリン治療群に比し有意に低下していた。そのことよりSU剤はacylcarnitineを低下させる作用があり、それがケトン体を低下させる可能性が考えられる。

以上より、この研究にて血中ケトン体の変化は血糖の変化と異なっていることを示し、インスリン作用不足を鋭敏に反映することが判明した。それゆえ血中ケトン体の測定は糖尿病のコントロールに極めて有用であることが示された。

E: 小括

血中ケトン体の分別定量がジアゾニウム塩法²²⁾により比較的簡単に行えるようになり臨床応用も可能となったので正常者および糖尿病患者で血中ケトン体およびその関連物質を測定し臨床での有用性につき検討した。

1) 正常者の血中ケトン体濃度は、空腹時 AcAc 40.2 ± 2.9 , 3-OHB $21.3 \pm 4.0 \mu\text{M}$ であった。carnitine濃度は総carnitine $48.2 \pm 5.6 \mu\text{M}$, acyl/free 0.34 ± 0.12 であった。

2) IDDM患者では、空腹時総ケトン体濃度は $372.8 \pm 61.5 \mu\text{M}$ と正常の約6倍と有意に高値で3-OHB優位であった。

3) NIDDM患者では空腹時総ケトン体濃度は $156.3 \pm 17.2 \mu\text{M}$ と正常の約2.5倍であり3-OHB優位であった。

4) 正常者では混合食400Kcal摂食後、血中ケトン体、carnitine濃度は有意な変化を示さなかった。

5) NIDDM患者では、混合食摂食後、血中ケトン体、特に3-OHB濃度の有意な低下がみられ、ほぼ正常者のレベルまで低下した。このことは食事によるインスリンの増加によりもたらされることが示唆された。また空腹時の総carnitine濃度

$47.0 \pm 3.2 \mu\text{M}$, acyl/free比は 0.57 ± 0.19 と正常に比し有意な差を認めなかった。SU剤内服治療群の空腹時のケトン体レベル、特に3-OHB濃度は他群に比し有意に低値であった。このことはSU剤の腓外作用として肝でのケトン体産生抑制作用ならびに末梢での利用を促進する可能性が示唆された。

6) これらのNIDDM患者で血糖値がよくコントロールされている者(FBS <110 , 2hr <140 mg/dl)に同様の混合食負荷検査を施行したところ空腹時血中ケトン体はコントロール改善前に比し $88.7 \pm 8.3 \mu\text{M}$ と低値であったが、食後に特に3-OHBが低下する傾向は消失しなかった。

以上より血中ケトン体濃度の変化は血糖値の変化と異なっていることを示し、インスリン作用不足を鋭敏に反映することが判明した。それゆえ血中ケトン体の測定(特に3-OHB)は糖尿病のコントロールの指標として極めて有用であることが示された。