Studies on the Oxidative Metabolism of Carbohydrate in Diabetics

I. Metabolism of α -keto acids in Patients with Diabetes Mellitus

By

Yukio SHIGETA

From the 1st Department of Internal Medicine, Osaka University, Medical School

(Director : Prof. Dr. T. Yoshida)

It is well known that the endocrine imbalance in diabetes mellitus causes metabolic disturbances not only of carbohydrate, but also of protein and lipids. However, in the treatment of diabetic patients, the importance of hyperglycemia and glycosuria as therapeutic guide has been too much emphasized, so that other metabolic abnormalities have often been neglected.

In order to control these patients more satisfactorily, the metabolism of α -keto acids and the activity to acetylate para-aminobenzoic acid (PABA) were studied in patients with diabetes mellitus before, during and after various types of treatment. These results were also compared with those in alloxanized animals.

The therapeutic significance of these metabolic abnormalities were also discussed.

Metabolism of α -keto acids in patients with diabetes mellitus.

- 1) The ratio of the increase of urinary pyruvate and α -ketoglutarate in the 1st resp. 2nd hour following fructose administration to that in the fasting state was significantly higher in diabetics than in normals.
- 2) These abnormalities were more marked in cases complicated with hypertension or arteriosclerosis than in those without these complications.
- 3) Positive correlation was found between fasting blood sugar level and the ratio of urinary α -keto acids in the 2nd hour following fructose administration.

Studies on the Oxidative Metabolism of Carbohydrate in Diabetics

2. Acetylating Activity of Diabetics

By

Yukio SHIGETA

From the 1st Department of Internal Medicine, Osaka University, Medical School

(Director : Prof. Dr. T. Yoshida)

- 1) The average acetylating activity of 62 cases with diabetes mellitus was $74.6 \pm 10.3\%$ in contrast to $89.6 \pm 2.8\%$ in normal adults.
- 2) Negative correlation was found between the acetylating activity and fasting blood sugar level.
- 3) The acetylation was found markedly decreased in juvenile patients and those with abnormal body weight.
- 4) Marked decrease of acetylation was found in cases complicated with hypertension or arteriosclerosis.

糖尿病の糖質酸化機転に関する研究

1. 糖尿病患者の α ケト酸代謝

大阪大学医学部吉田内科 (主任 吉田常雄教授)

繁 田 幸 男

I. 緒 言

糖尿病が体内インシュリンの絶対的乃至相対的欠乏を中心とする内分泌平衡失調に起因することは周知の事実であるが、インシュリンの作用機転について最近ブドウ糖利用乃至脂肪酸合成の促進と並んで TCA サイクルの作用が重要視されてきた¹⁾ように、糖尿病にみられる持続的な高血糖や糖尿はその代謝異常の一面を現わすもので、従つて本症治療に際し代謝調節の良否を判定するにも単に糖代謝様相のみならず、脂質、蛋白質、鈣質などの動向や共通代謝経路の様相などをも把握する必要がある。

しかるに糖尿病患者についてかかる共通代謝系路の有機酸に関する系統的な報告は未だ少い。私は果糖静注後の尿中に排泄される焦性ブドウ酸 (PyA) 及び α ケトグルタル酸 (KGA) の動向について種々検索すると共に本症の病状、合併症との関係などについても比較検討した。

II. 実 験 方 法

1. 被 験 者

健常人として糖尿をみず血糖値正常でかつ肝機能検査その他に異常を認めない成人10名を選んだ。糖尿病患者は当内科の入院及び外来患者36名で、全例に尿糖量、空腹時血糖値の他糖二重負荷試験 (Exton-Rose Test) を行なうと共に、既に食餌療法または諸薬剤により治療中の患者はこれを被験者より除外した。尚肝障害による干渉と腎障害による排泄異常の問題を考慮して明かに肝疾患及び重篤な腎機能障害を合併せるものは被験者に加えなかつた。

また患者の分類について、40才以上を老年性とし以下を若年性としたが、体型別は Broca 指数に基づき110以上を肥満型、90以下を痩せ型、その中間を中等型とした。尚合併症として高血圧は常に血圧が最高150mmHg以上、最低90mmHg以上を示す場合で、動脈硬化は眼底所見、X線所見、橈骨動脈触知などより判定し、また多発性神経炎は神経痛、腱反射などより診断した。

2. 測 定 法

早朝空腹時に1時間尿を採取した後20%果糖20ccを1分間かけて静注し、その後2時間にわたり1時間毎に尿を2回採取した。各々の尿について PyA 及び KGA 排泄量を測定し、前1時間尿のそれを1として果糖静注後1時間及び2時間目の尿中 PyA, KGA 排泄量上昇比を計算した。尚 PyA, KGA は共に島蘭、清水法²⁾、またブドウ糖負荷試験は Exton-Rose 法³⁾により行い、血糖は Somogyi⁴⁾法、尿糖は飯塚法で測定した。

III. 実 験 成 績

1. 健常人及び糖尿病患者の α ケト酸代謝

早朝空腹時1時間尿の PyA 及び KGA 排泄量は健常人10例平均各々 0.81 ± 0.23 mg, 1.89 ± 0.50 mgに対し、糖尿病患者では36例平均各々 1.16 ± 0.48 mg, 2.00 ± 0.82 mgでやや高いがこの差は PyA, KGA 共統計

学的に有意とはいえない。

20%果糖静注後尿中 PyA 排泄量上昇比は健常人平均1時間値 1.47 ± 0.21 、2時間値 0.88 ± 0.08 であるに
対し、糖尿病患者平均1時間値 2.43 ± 0.78 、2時間値 1.48 ± 0.42 でいずれも患者に高値を示しこの差は有意
であつた ($P < 0.001$) また尿中 KGA 排泄量上昇比も健常人平均1時間値 1.26 ± 0.15 、2時間値 $0.89 \pm$
 0.12 、糖尿病患者平均1時間値 1.80 ± 0.63 、2時間値 1.49 ± 0.43 、各々有意の差を示した。(第1表)(第1
図)

第1図 糖尿病患者の α ケト酸代謝

第1表 健常人及び糖尿病患者の α ケト酸代謝 (その1)
(20%果糖20cc静注後尿中 α ケト酸排泄量上昇比)

	例数	焦性ブドウ酸			α ケトグルタル酸		
		前1時間 排泄量 (mg)	静注後排泄上昇比		前1時間 排泄量 (mg)	静注後排泄上昇比	
			1時間	2時間		1時間	2時間
健常人	10	0.81 ± 0.23	1.47 ± 0.21	0.88 ± 0.08	1.89 ± 0.50	1.26 ± 0.15	0.89 ± 0.12
糖尿病患者	36	1.16 ± 0.48	2.43 ± 0.78	1.48 ± 0.42	2.00 ± 0.82	1.80 ± 0.63	1.49 ± 0.43

第2表 健常人及び糖尿病患者の α ケト酸代謝 (その2)
(20%果糖20cc静注後2時間目尿中 α ケト酸排泄量上昇比)

	総例数	焦性ブドウ酸				α ケトグルタル酸			
		1.0以下 (例数)	1.0~1.5	1.5~2.0	2.0以上	1.0以下 (例数)	1.0~1.5	1.5~2.0	2.0以上
健常人	10	9	1	0	0	8	2	0	0
糖尿病患者	36	0	22	8	6	3	17	11	5

尚2時間値を1.0以下、1.0~1.5、1.5~2.0、2.0以上に分けてその症例数をみると PyA, KGA 共に健常

人では10例中大多数1.0以下の中に含まれるのに比し 糖尿病患者では36例中1.0以上を示す例が大部分で1.5以上のものが約半数あつた。(第2表)

2. 糖尿病患者の年齢別体型別と α ケト酸代謝

本症患者を年齢別に分けて α ケト酸代謝様相を計算したが老年性29例、若年性7例の平均は第3表の如くで果糖静注後2時間目の尿中 KGA 排泄量上昇比は若年性の方に幾分高値を示すようであるが統計学的に有

第3表 年齢別と α ケト酸代謝

年 令 別	例数	20%果糖20cc静注後2時間目尿中 α ケト酸排泄量上昇比		Exton-Rose Test			平 均 尿糖量 (g)
		焦性ブドウ酸	α ケトグルタル酸	前(mg/dl)	30分	60分	
若 年 性	7	1.60 $\pm$ 0.46	1.57 $\pm$ 0.38	214 $\pm$ 86	303 $\pm$ 104	393 $\pm$ 114	70
老 年 性	29	1.45 $\pm$ 0.40	1.47 $\pm$ 0.44	160 $\pm$ 48	252 $\pm$ 43	330 $\pm$ 52	45

第4表 体型別と α ケト酸代謝

体 型 別	例数	20%果糖20cc静注後2時間目尿中 α ケト酸排泄量上昇比		Exton-Rose Test			平 均 尿糖量 (g)
		焦性ブドウ酸	α ケトグルタル酸	前(mg/dl)	30分	60分	
肥 満 型	14	1.53 $\pm$ 0.53	1.41 $\pm$ 0.49	150 $\pm$ 35	239 $\pm$ 41	312 $\pm$ 56	29
中 等 型	6	1.53 $\pm$ 0.39	1.52 $\pm$ 0.42	160 $\pm$ 41	230 $\pm$ 54	364 $\pm$ 51	59
るいそう型	16	1.43 $\pm$ 0.33	1.57 $\pm$ 0.36	185 $\pm$ 63	275 $\pm$ 89	360 $\pm$ 97	70

意な差は見出し得なかつた。また体型別では肥満型14例、中等型6例、るいそう型16例の平均値は第4表の如くで、KGA においてるいそう型>中等型>肥満型の順に高値であつたが有意の差とは断定し得ない。

3. 合併症と α ケト酸代謝

糖尿病患者の合併症と α ケト酸代謝様相の関連をみると先づ高血圧を合併するもの11例、合併しないもの25例の平均は第5表の如くで果糖静注後2時間目の尿中 PyA, KGA 排泄量上昇比は共に前者に高値を示し、

第5表 合併症と α ケト酸代謝

合 併 症	有 無	例数	20%果糖20cc静注後2時間目尿中 α ケト酸排泄量上昇比		Exton-Rose Test			平 均 尿糖量 (g)
			焦性ブドウ酸	α ケトグルタル酸	前(mg/dl)	30分	60分	
高血圧	有	11	1.65 $\pm$ 0.46	1.58 $\pm$ 0.44	163 $\pm$ 46	254 $\pm$ 52	339 $\pm$ 52	50
	無	25	1.41 $\pm$ 0.39	1.46 $\pm$ 0.41	165 $\pm$ 49	260 $\pm$ 47	343 $\pm$ 58	49
動脈硬化	有	15	1.53 $\pm$ 0.45	1.70 $\pm$ 0.51	171 $\pm$ 54	260 $\pm$ 55	351 $\pm$ 62	49
	無	21	1.44 $\pm$ 0.40	1.35 $\pm$ 0.36	159 $\pm$ 43	257 $\pm$ 46	331 $\pm$ 53	50
多発性神経炎	有	16	1.49 $\pm$ 0.42	1.48 $\pm$ 0.41	170 $\pm$ 51	269 $\pm$ 56	344 $\pm$ 57	51
	無	20	1.49 $\pm$ 0.41	1.50 $\pm$ 0.44	160 $\pm$ 44	249 $\pm$ 41	341 $\pm$ 56	48

動脈硬化についても合併者15例、非合併者21例の平均値は PyA, KGA 共に合併者に高く、特に高血圧合併症の PyA, 動脈硬化症の KGA 値は統計学的に有意の高値を示した(共に $Pr < 0.001$)。しかし多発性神経炎は合併者16例と非合併者20例の間に平均値の上では何等の差も認められなかつた。

4. α ケト酸代謝と空腹時血糖値 Exton-Rose Test 1 時間血糖値との相関

果糖静注後2時間目の尿中 PyA 排泄量上昇比と空腹時血糖値との間の相関をみると第2図に示す如く血

第2図 空腹時血糖値と焦性ブドウ酸代謝との相関

第3図 Exton-Rose Test (1時間値) と焦性ブドウ酸代謝との関係

第4図 空腹時血糖値と α ケトグルタル酸代謝との相関 第5図 Exton-Rose Test (1時間値) と α ケトグルタル酸代謝との相関

糖値の高いもの程 PyA 上昇比は高度で順相関があり ($r = +0.42$, $Pr < 0.01$), また PyA 上昇比と Exton-Rose Test 1 時間血糖値との間も $r = +0.58$, ($Pr < 0.01$) であった。(第3図) KGA 上昇比も PyA と同様空腹時血糖値との間に $r = +0.68$, Exton-Rose Test 1 時間血糖値との間に $r = +0.55$ の相関があり ($Pr < 0.01$) 有意の相関を認めた。(第4, 5図)

IV. 総括並びに考按

糖尿病患者の血中 PyA 及び KGA 濃度は Smith⁹⁾によれば殆ど正常域内にあり, Markees⁶⁾は糖尿病昏睡の場合に始めて著明に上昇すると述べているが, この際血中 PyA 濃度を左右する二つの因子が考えられる。一つは Cori⁷⁾等の主張する如くブドウ糖→ブドウ糖-6-リン酸反応を触媒するグルコキナーゼ活性低下によるブドウ糖活性化障害のための PyA 生成減少で, 他の一つは PyA 酸化障害による PyA 蓄積増大である。糖尿病でこの両者が比較的平衡を保っている場合組織 PyA 量は略々一定しており, 昏睡の如く酸化障害が高度となると PyA 量の増大をみるものと考えられる。事実 Klein⁸⁾, Amatozuo⁹⁾, Shriver¹⁰⁾等多数の研究者によつて糖尿病患者にブドウ糖を経口的乃至静注負荷した際, 健常人に比し血中 PyA 濃度上昇が遅れて現われ, 解糖の障害あることが明かにされている。

そこで私はブドウ糖の代りに果糖を用いて糖尿病患者の PyA, KGA 酸化の動向を検索した。沢田¹¹⁾, 榎¹²⁾, 向山¹³⁾等は20%ブドウ糖 20cc を健常成人に静注すると血液や尿中の乳酸, PyA, KGA の増加は少く, 20%果糖20cc静注ではこれら酸の著増するを認めたが, 糖尿病においてグルコキナーゼ活性の著しい障害に對し果糖の利用には著変ないとするもの多く, 例えば Chernick, Chaikoff¹⁴⁾はアロキサン糖尿病ネズミの肝切片にC¹⁴ブドウ糖を投与した時は脂肪酸への転換は抑制されるがC¹⁴果糖を与えると著しく改善されることを指摘している。また Root¹⁵⁾, Miller¹⁶⁾等は糖尿病患者にブドウ糖及び果糖を点滴静注し, ブドウ糖では血中 PyA は変化しないが果糖負荷の場合は血中 PyA が初期より著明に上昇することを報告した。これらの成績は糖尿病においてαケト酸量の動向をみるにはブドウ糖よりも果糖負荷の方が適することを示すものである。

健常人に20%果糖20cc静注後2時間目の尿中 PyA, KGA 排泄量は静注前1時間の排泄量より低値となることは沢田, 宮地¹⁷⁾が報告した所であるが, 私の成績も同様でその上昇比は PyA, KGA 共に1.0以下となつた。これは宮地¹⁸⁾の述べた如く静注された果糖が燃焼した結果 ATP が生成され酸化機転を一時的に促進するものと思われる。

糖尿病患者に20%果糖20cc静注した場合は負荷後1時間及び2時間目の尿中 PyA 及び KGA 排泄量上昇比の著明な増大を来したが, これは明かに本症における PyA 並びに KGA に酸化障害に基づくものと考えられる。

糖尿病病態生理については古来肝臓での糖生成過剰説¹⁹⁾と末梢利用障害説²⁰⁾が対立してきたが, 近時放射性同位元素の使用により主としてアロキサン糖尿病動物の代謝異常が解明されるに及び, 糖尿病においては組織の糖利用能乃至酸化障害の存在を説明する成績が相次いで現われ, 糖利用障害説が益々積極的に支持されるようになってきた。

1949年 Villee と Hastings²¹⁾はC¹⁴ブドウ糖を用い, ブドウ糖, リンゲル液中に放置したアロキサン糖尿病ネズミ横隔膜の糖原及びCO₂を追跡し, 対照に比しいずれも著明に減少することを認め, Glock²²⁾, Bloom²³⁾, Milstein²⁴⁾等も肝切片においても同様の事実を報告した。更に Villee²⁵⁾等は C¹⁴-PyA の利用を横隔膜について in vitro で検討し, 糖尿病群でCO₂への酸化が減少しているという結果を得た。また Navazio, Siliprandi²⁶⁾はアロキサン糖尿病ネズミの肝乳剤に PyA を基質として添加し, Warburg 検圧計で振盪後検索し, 健常群に比し PyA の減少は軽度でかつクエン酸生成が強く阻害されていることを明かにした。以上の事実は糖尿病に PyA の利用乃至酸化障害の存することを in vitro で証明したものであるが, in vivo でも既に

Flock²⁷⁾は糖尿病犬に PyA 負荷を行つた際、血中 PyA 及び乳酸の対照に比し高値を持続するを報告しており PyA 耐性の低下がうかがえる。

しかし本症ではブドウ糖の利用障害があるため患者において α ケト酸代謝異常を検索した成績は少なく、僅かに糖負荷時血中 PyA 濃度に関する報告をみるにすぎない。かくの如き血中 PyA の動向は数回連続測定するのでなければ α ケト酸代謝様相を明かにし得ないうらみがある。私の方法では比較的簡単に α ケト酸代謝障害を明かにし得るもので殊に負荷後2時間目排泄量上昇比は本症において健常人のそれより著明に高い。また患者の空腹時血糖値並びに Exton-Rose Test 1時間血糖値と上記 α ケト酸代謝との間に一定の相関があり、重症なものの程糖質酸化機転障害が著明であつたが必ずしも平行しないものもあり、従つて本症の病状、治療効果判定には従来の血糖値、尿糖量、尿アセトン体の他にかかる果糖負荷試験を行ない体内糖利用能乃至酸化機転をもうかがう必要があると思われる。

V. 結 論

健常人10例及び糖尿病患者36例に20%果糖20cc静注後尿中 PyA 並びに KGA 排泄量上昇比を検索し、次の如き結論を得た。

(1) 糖尿病患者においては健常人に比し果糖静注後1時間及び2時間目の尿中 PyA, KGA 排泄量上昇比はいずれも著しく増大し、PyA 及び KGA の酸化障害と考えられる成績を得た。

(2) 果糖静注後2時間目尿中 PyA, KGA 排泄量上昇比は空腹時血糖値並びに Exton-Rose Test 1時間血糖値と概ね平行し重症なものの程高値を示した。

(3) 年齢別、体型別では特に有意な差を認めなかつた。

(4) 合併症については高血圧及び動脈硬化を合併せるものに α ケト酸排泄量上昇比は高値を示したが、多発性神経炎合併者にはかかる事実を認めなかつた。

(5) 上記果糖負荷試験は血糖、尿糖、尿アセトン体等と並んで本症の病状、治療効果判定に用いることが望ましい。

稿を終るにあたり御指導を賜つた恩師吉田教授ならびに王子助教授に厚くお礼申し上げます。また終始御鞭撻下さつた和田講師に深謝すると共に御協力戴いた海野学士等の諸氏に感謝致します。

主 要 文 献

- 1) Stadie, W.C. : Amer. J. Med. 19, 257 (1955).
- 2) 島蘭, 清水 : 医学と生物学, 17, 102 (1950).
- 3) Exton, W.G. : Amer. J. Clin. Path. 4, 381 (1934).
- 4) Samogyi, M. : J. Biol. Chem. 160, 69 (1945).
- 5) Smith, M.J.H. : Lancet. 1, 268 (1955).
- 6) Markees, S. : Schweiz. Med. Wschr. 81, 1145 (1951).
- 7) Cori, C.F. : Harvey dect. 41, 253 (1945).
- 8) Klein, D. : J. Biol. Chem. 145, 35 (1943).
- 9) Amatuzio, D.S. : J. Clin. Invest. 31, 751 (1953).
- 10) Shrifter, N. : Arch. Int. Med. 98, 28 (1956).
- 11) 沢田 : 福岡医学雑誌, 42, 367 (1951).
- 12) 榎 : 日新医学, 40, 108 (1953).
- 13) 向山 : 日新医学, 40, 345 (1953).
- 14) Chernick, S.S. : J. Biol. Chem. 188, 389 (1951).
- 15) Root, H.F. : Amer. J. Med. Soc. 211, 189 (1946).
- 16) Miller, M.J. : J. Clin. Invest. 31, 115 (1952).
- 17) 沢田, 宮地 : 最新医学, 8, 83 (1953).
- 18) 沢田, 宮地 : ビタミン, 10, 253 (1956).
- 19) Noorden, C. : Die Zuckerkrankheit. Berlin. Springer (1928).
- 20) Naunyn, B. : Der Diabetes Mellitus. Wien. Hölder (1899).
- 21) Vilee, C.A. : J. Biol. Chem. 179, 673 (1949).
- 22) Glock, G.E. : Biochem. J. 63, 520 (1956).
- 23) Bloom, B. : J. Biol. Chem. 215, 467 (1955).
- 24) Milstein, S.W. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 92, 632 (1956).
- 25) Vilee, C.A. : J. Biol. Chem. 195, 287 (1952).
- 26) Navazio, F. : Enzymologia 17, 225 (1955).
- 27) Flock : J. Biol. Chem. 134, 282 (1940).