総　説

安定同位体利用技術

^{13}C 呼気ガス診断の臨床応用
—その現状と展望—

中田浩二，川崎成郎，仲吉朋子，羽生信義，柏木秀幸，
矢永勝彦

Reprinted from
RADIOISOTOPES, Vol.56, No.10
October 2007

Japan Radioisotope Association
http : //www.jrias.or.jp/

RADIOISOTOPES, **56**, 629-636 (2007)

総　説

安定同位体利用技術

^{13}C 呼気ガス診断の臨床応用—その現状と展望—†

中田浩二*,**，川崎成郎**，仲吉朋子**，羽生信義**，柏木秀幸**，矢永勝彦**

*東京慈恵会医科大学附属柏病院外科
277-8567　千葉県柏市柏下 163-1
**東京慈恵会医科大学外科学
105-8461　東京都港区西新橋 3-25-8

Key Words：^{13}C-breath test, gastric emptying study, absorptive function test, standardization, clinical application

1. はじめに

呼気ガス診断は，呼気を採取しガス分析を行うことにより疾病や手術にともなう生体機能の障害を調べる方法である。^{13}C 標識化合物でラベルした種々の基質の合成が可能になったことで，その応用範囲は飛躍的に広がってきている。特に臨床の場では，^{13}C–尿素呼気試験がピロリ菌の感染診断法として確立し保険収載されて広く普及してきたことにより，呼気中$^{13}CO_2/^{12}CO_2$存在比を測定する機器への需要が高まり安価に供給されるようになったことで，測定機器を設置した病医院が増えたことも追い風になって，^{13}C 呼気ガス診断を用いた種々の機能検査が行われるようになってきた（表 1)。本稿では，^{13}C 呼気ガス診断を用いた消化管機能検査の現状と今後の展望について述べる。

2. 臨床的消化管機能検査

2･1 消化管機能検査に対する臨床的ニーズの増大

消化管疾患には，がん，潰瘍，高度な炎症など内視鏡検査や血液生化学検査で異常が認められる「器質的疾患」と，これらの諸検査で異常を認めない「機能性疾患」がある。器質的疾患はときに生命を脅かすことから，医学は主にこの器質的疾患の診断と治療を中心に発展してきた。そのため医療分野における形態・画像的診断技術の進歩向上はまさに日進月歩であり目を見張るものがある。一方で，生命予後には影響を及ぼさないものの，慢性，反復性の腹部症状のために患者の QOL 低下をきたす機能性消化管疾患への注目度も増してきている。外科の分野でも，消化器癌術後の長期生存例が増えるにつれ，根治性だけでなく術後の QOL 向上に寄与する術式の開発や術後障害の病態解明への取り組みが求められるようになってきた。このような背景のもとで形態・画像診断では評価することが難しい「目に見えない」消化管機能を調べ病態の解明や治療効果を客観的に判定するた

† "Applications of Stable Isotopes in Life Sciences". Clinical Application of ^{13}C-breath Test ; The Present and Perspective.
Koji NAKADA*,**, Naruo KAWASAKI**, Tomoko NAKAYOSHI**, Nobuyoshi HANYU**, Hideyuki KASHIWAGI** and Katsuhiko YANAGA** : *Jikei University, Kashiwa Hospital, Department of Surgery, 163-1, Kashiwashita, Kashiwa-shi, Chiba Pref. 277-8567, Japan, **Jikei University School of Medicine, Department of Surgery, 3-25-8, Nishishinbashi, Minato-ku, Tokyo, 105-8461, Japan.

表1　^{13}C 呼気試験の臨床応用

- ピロリ菌の感染診断
- 胃排出能検査
- 吸収能検査
- 膵外分泌能検査
- 代謝能検査
- 小腸通過時間測定
- 腸内環境（細菌増殖，発酵）評価

めのツールとして臨床応用可能な消化管機能検査が注目され，そのニーズが増してきたといえる。

2･2　消化管機能検査の位置づけと臨床応用

消化管機能検査は，疾病や消化器外科手術にともなう病態をより詳細に解明するために臨床研究を目的に行われるものと，個々の患者の病態を把握し，また治療効果を確認するために日常診療目的に行われるものとに分けられる。臨床研究目的の検査では，定量的で信頼性の高い検査法が選択され，必ずしも簡便性や非侵襲性は選択基準にはならないが，日常診療目的の場合には，忙しい臨床の合間に多くの患者に対して行う必要があるため，簡便で短時間に行え患者に負担が少なく安価な方法が求められる。このような日常的な診断ツールとしての消化管機能検査の開発は，昨今提唱されている個々の患者の病態に合わせた「医療の個別化（テーラーメイド医療）」にもつながると考えられる。

^{13}C 呼気ガス診断を用いた消化管機能検査は，このような臨床的ニーズに適合した検査法として注目され，さまざまな生体機能の解明に用いられるようになってきた。

3.　^{13}C 法の特徴

3･1　^{13}C 法の原理

^{13}C は炭素（^{12}C）の安定同位体であり，人体内の安定同位元素の中でもっとも多い（体重

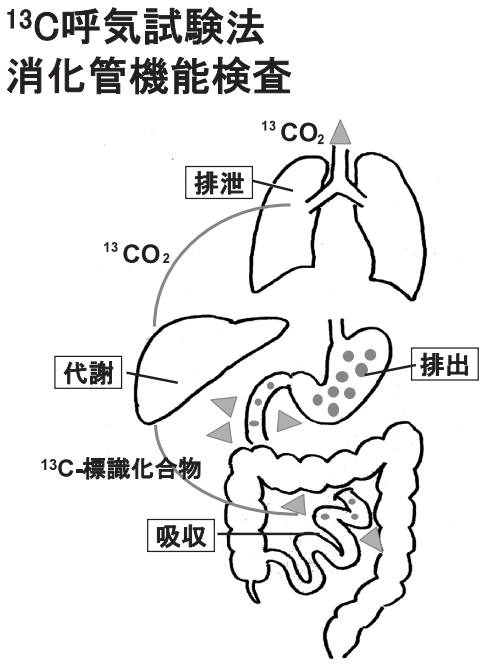

図1　^{13}C 呼気試験法消化管機能検査のシェーマ
間接法の^{13}C 呼気試験法消化管機能検査では胃から排出された^{13}C 標識化合物が小腸から吸収され，肝で代謝されて呼気中に$^{13}CO_2$ として排泄されたものを測定することにより胃排出速度や吸収能を調べる

50 kg の成人で約 137 g）ことが知られている。^{13}C の自然存在率が約 1.1% と少ないことから，^{13}C 標識化合物を投与することにより胃からの排出，小腸からの吸収，肝における代謝という過程を経て呼気中に現れ，呼気中$^{13}CO_2$/$^{12}CO_2$ 比が増加することを利用した検査法である（図1）。異なる^{13}C 標識化合物を用いることで胃排出能，小腸粘膜からの吸収能，膵酵素による消化能，肝における代謝能，などさまざまな生体機能を調べることが可能である。^{13}C 法では各ポイントにおける測定値が，胃排出，吸収，代謝，排泄のすべての過程に影響されるため，このことを念頭においた適切な評価指標を設定することが重要である（図2）。

3･2　^{13}C 法の利点

^{13}C 法は，① 特殊な設備を必要とせずベッド

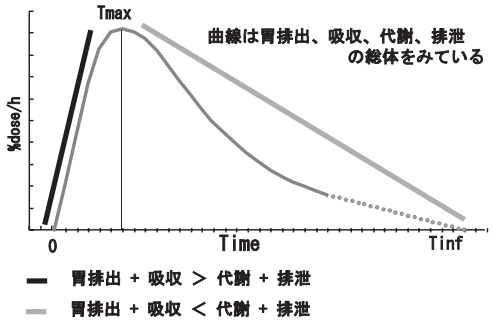

図 2　呼気中$^{13}CO_2$ 存在率曲線の意味するもの
呼気中$^{13}CO_2$ 存在率曲線は，試験食とともに摂取した^{13}C 標識化合物の胃からの排出，小腸における吸収，肝での代謝，呼気からの排泄の過程の総体を表している。この曲線のどの部分に注目し，何を評価指標として用いればもっとも知りたい消化管機能を抽出できるか十分に吟味する必要がある

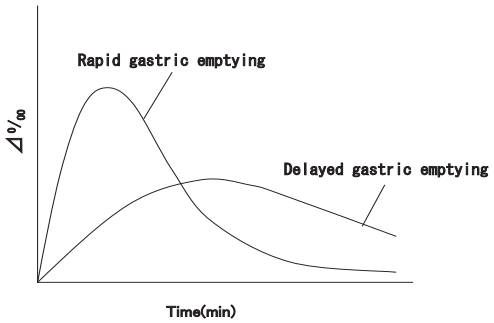

図 3　^{13}C 法における$^{13}CO_2$ 存在率曲線の形状と胃排出速度の関係
胃排出亢進患者では，$^{13}CO_2$ 存在率曲線の立ち上がり勾配は急峻でピーク値は高値となり食後早期に現れる。胃排出遅延患者では$^{13}CO_2$ 存在率曲線の立ち上がり勾配は緩徐でピーク値は低値となり食後後期に現れる

サイドや外来でも行うことが可能，② ^{13}C が安定同位体であるため放射線被ばくをともなわず，取り扱いが容易，③ 通常は^{13}C で標識した脂肪酸，中性脂肪，アミノ酸，糖，ペプチドなどを用いるため薬剤を試薬として用いる検査のように副作用の心配がなく安全，④ 検体が呼気であるため採血（静脈穿刺）を必要とせず非侵襲的，⑤ ピロリ菌の感染診断に用いられている$^{13}CO_2$/$^{12}CO_2$ 比の測定機器があれば，外注せずに自施設で測定することが可能，⑥ 比較的安価，などの点で従来法と比べ優れている。^{13}C 法は手技的に簡便で患者への負担も少ないことから，今後日常診療的な機能検査法として普及することが予想される。

4.　^{13}C 法の胃排出能検査への応用

4･1　胃排出速度と呼気中$^{13}CO_2$ 存在比曲線との関係

内科的疾病や胃切除後にみられる胃排出異常の病態解明を目的として，しばしば臨床の場において胃排出能検査が行われる。^{13}C 呼気ガス診断を応用した胃排出能検査（^{13}C 法）は，本邦でも比較的早い時期から瓜田ら[1]により導入され，多くの施設で行われるようになった。^{13}C 法では，主に固形試験食用として^{13}C-octanoic acid（–^{13}COOH）[2)-4)]が，液状試験食用として^{13}C-acetate（–^{13}COOH）[5),6)]が^{13}C 標識化合物として用いられる。これらの^{13}C 標識化合物を混和した試験食を摂取させると，^{13}C 標識化合物は胃からは吸収されず，胃から排出されると十二指腸以下の小腸粘膜から速やかに吸収されて呼気中に出現することが知られており，呼気中の$^{13}CO_2$ 存在比の経時的な変化を調べることで胃排出速度を調べることが可能である。胃排出が亢進すると単位時間あたりに小腸から吸収される^{13}C 標識化合物の量も増加して，^{13}C 排出率（^{13}C % dose-excess）を表す曲線の立ち上がりの勾配は急峻となりピーク値も高値となる（図 3）。逆に胃排出が遅延すると単位時間あたりの^{13}C 標識化合物の吸収量も減少し，^{13}C 排出率を表す曲線の立ち上がりの勾配は緩徐となりピーク値も低値となる（図 3）。このように^{13}C 排出率を表す曲線の形状は，胃排出速度の影響を大きく受けることになる。

4･2　液状食を用いた^{13}C 法胃排出能検査（^{13}C 法「標準法」）（表 2）[6)]

^{13}C 法においてはいくつかの試験食や評価指標が用いられているが，ここでは臨床の場で簡

表2　液状食を用いた^{13}C法胃排出能検査

第44回日本平滑筋学会ワークショップ「標準法」（文献[6]　より引用））

［試験食］

・液状試験食　200 kcal / 200 mL

［^{13}C標識化合物］

・^{13}C-acetate Na塩　100mg

［測定方法］

・呼気採取

摂取前，摂取後 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150, 165, 180, 210, 240分

・各測定ポイントの呼気中$^{13}CO_2$存在率を測定し，前値との差（Δ値）を求める．

［評価指標］（下記の指標については押さえておくことを推奨）

・　呼気中$^{13}CO_2$存在率がピークとなるまでの時間　…Tmax
（実測値および算出値；Tmax-calc）

・　呼気中に$^{13}CO_2$として排泄される^{13}C-acetateの総排泄量の2分の1が排泄されるまでの時間　…T1/2

※　簡便法である「標準法 – 90分法」では，呼気採取は摂取後90分まで，評価指標はTmax（実測値）を用いる。

便に胃排出異常を評価することを目的に約1年間かけた多施設共同検討を経て第44回日本平滑筋学会ワークショップ（2002年）で示された「標準法」を紹介する（表2）[2]。現在では多くの施設でこの「標準法」が導入されており，各学会や研究会などで「同じ目線」で議論ができる環境が整いつつある。

標準案ではどこでも容易に入手しうる液状試験食（共同検討ではラコール〔大塚製薬〕が用いられたが，原則的にどの製品でも200 kcal/200 mLであれば可能）を用いることで，調理の必要もなく衛生的に行うことができる。^{13}C標識化合物として^{13}C-acetate（–^{13}COOH；Na塩）100 mgを混和し摂取させる。呼気の採取（約5秒間の息堪えをして採取；図4–a）は試験食の摂取前と摂取後90分まで合計11ポイント（「4時間法」では摂取後4時間まで合計19ポイント）行い，赤外分光分析装置を用いる場合には摂取後の各測定値から前値を引いたΔ値を用いる。オートサンプラーAS10を装着し機器の設定変更を行うと，摂取前の大きな呼気バッグに採取した検体と摂取後の10検体との呼気中存在比の差を連続して測定することが可能となるため（図4–b）便利である。評価指標として採択されたTmax（実測値）は，信頼性（＝RI法との相関性）も高く[7]，特別な解析プログラムを用いず測定値から容易に判断できる点ですぐれている。被験者から得られたTmaxを簡易判別グラフ（図5）にplotすることにより胃排出異常の有無と程度を容易に調べることが可能である。

また得られたデータに薬理学の理論を導入し解析と評価を行うことで^{13}C法の信頼性を増すことが可能である。Wagner-Nelson解析を行うと，吸収された後すぐには呼気中に排泄されず体内を循環する$^{13}CO_2$プールの分が補正され，

図 4-a　呼気採取の実際
約 5 秒間の息堪えを行い呼気採取バッグに息を吹き込む

図 4-b　呼気中$^{13}CO_2$存在率の測定（赤外分光分析装置 UBiT IR-300）
オートサンプラーを装着しプログラム変更をすることにより，10 検体を連続測定することが可能である

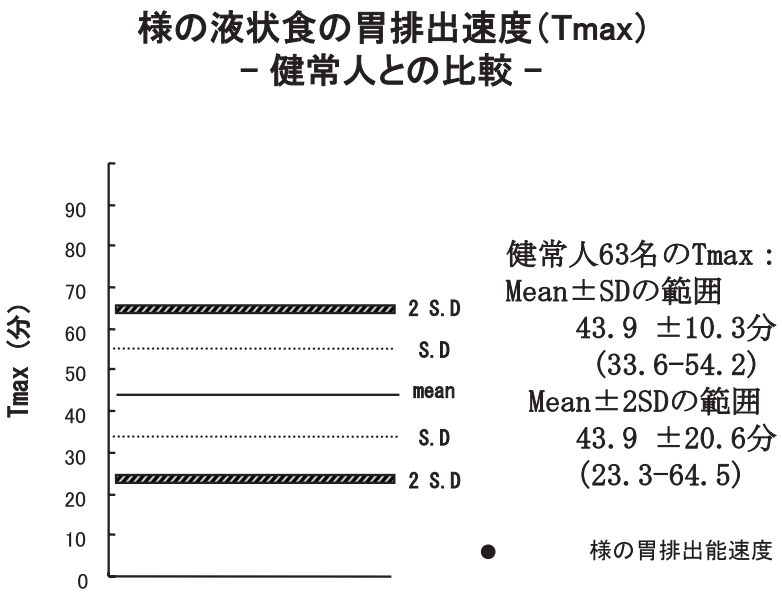

図 5　胃排出異常の簡易判別グラフ（文献[6]より引用）
^{13}C 法「標準法」を用いて測定した Tmax（実測値）をこの簡易判別グラフに plot することにより，胃排出異常の有無を判別することが可能である（第 44 回日本平滑筋学会ワークショップ参加施設で集積したオープンデータ［n＝63］より作成）

間接法である呼気試験法で問題とされてきた分布・代謝・排泄の影響を減らすことができる。^{13}C 法で得られたデータに Wagner-Nelson 解析を行って胃排出曲線を描くと，RI 法（ラジオアイソトープを用いた定量的・直接的な胃排出能検査法で gold standard とされる）の胃排出曲線とほぼ重なるカーブを描き，呼気試験法においても定量的な評価を行うことが可能となる。

5. ^{13}C 法の吸収能検査への応用

5･1 臨床的に行われている吸収能検査

腸管は言うまでもなく生体を維持するのに欠かせない栄養素を体内に取り込む重要な器官であり，疾病や手術によりその機能が損なわれることは生体にとって大きなダメージとなる。したがってその機能を調べるための吸収能検査は長い間希求されてきた。従来，吸収能検査としては糖吸収能検査として D–キシロース吸収能検査，脂肪便を呈する膵外分泌機能不全患者には便中脂肪定量などが行われてきた。RI 法という gold standard が存在する胃排出能検査と比べて，消化吸収障害の病態は多様であり gold standard と呼べる検査法は存在していないのが現状である。膵外分泌機能不全患者に対する便中脂肪定量検査では，3 日間の食事制限と蓄便を必要とし，被験者にとっても検査を行う医療者にとっても繁雑であり時間と労力を強いるため，日常診療の場で行うことは稀であった。このため，より簡便な検査法として^{13}C 法吸収能検査が注目され，現在複数の施設で行われるようになってきた。従来法との相関性もすぐれており[8]，臨床診断に用いるツールとしての有用性が認められつつある。

5･2 ^{13}C 法吸収能検査について

1977 年に Watkins ら[9]により^{13}C-trioctanoin（–^{13}COOH）を用いた脂肪吸収試験が報告されて以来，多くの研究者により^{13}C 標識中性脂肪や脂肪酸を用いた吸収試験の臨床応用が試みられてきた[8),10)–13)]。^{13}C 法吸収能検査には，小腸粘膜からの吸収能を調べる吸収能検査と膵液胆汁による消化作用を調べる消化吸収能検査がある。^{13}C 法吸収能検査では主に消化作用を必要とせずに小腸から速やかに吸収される短～中鎖脂肪酸が用いられ，固形食用に^{13}C-octanoic acid（–^{13}COOH），液状食用に^{13}C-acetate（–^{13}COOH）が用いられる。^{13}C 法消化吸収能検査では中～長鎖中性脂肪が用いられ，中鎖中性脂肪としては^{13}C-trioctanoin（–^{13}COOH）が，長鎖中性脂肪としては^{13}C標識混合長鎖中性脂肪（クロレラ産生）などが用いられる。

^{13}C 法吸収能検査に対する臨床的なニーズは，消化能や消化吸収能の評価から膵外分泌不全患者のスクリーニングや治療モニタリングにまで及び多様であり，実際にさまざまな方法で行われている。今後，調べたい病態に合わせた適切な方法（試験食，^{13}C 標識化合物，測定ポイント，評価指標など）について検討を行い，それぞれについて標準化を進め，検査法を棲み分けていくことが^{13}C 法吸収能検査の信頼性を高め，その確立と普及に役立つと考えられる。現在，標準化を目指した自発的な多施設共同の^{13}C 法吸収能検査ワーキンググループが発足し検討が行われている。

6. 広がる^{13}C 呼気テストの臨床応用

^{13}C 呼気ガス診断は消化器疾患領域では，胃排出異常が病態に関与すると考えられる種々の疾病や術後患者の胃排出能検査として，また腸管の吸収機能や，膵外分泌機能も含めた消化吸収能検査として，主に研究目的としてしばしば行われるようになってきた。また肝代謝能の評価や小腸通過時間の測定，小腸内細菌増殖や腸内発酵などの腸内環境を調べるためにも用いられている。調べたい機能や病態を調べるのに適した^{13}C 標識化合物の合成が可能になれば今後ますます広い臨床分野にその応用が広がることが期待される。

日常診療における検査法として多くの利点を

持つ^{13}C 呼気ガス診断が臨床の場に広く取り入れられ普及するためには，ピロリ菌の感染診断に用いられる^{13}C–尿素呼気試験のように検査法を統一する「標準化」が不可欠である。今後^{13}C 呼気テストと従来法との比較や，臨床病態との関連性の検証などを行い検査法の信頼性についてのエビデンスを築いていく必要がある。

7.　^{13}C 呼気ガス診断の基礎医学分野への応用

^{13}C 呼気テストをイヌやウマなどの大動物，あるいはマウスやラットなどの小動物に対して用い，消化器機能を調べた報告がいくつかなされている。今まで小動物における生理的条件下の安定した実験系は確立していなかったが，最近，そのような実験系が確立され，小動物に薬物投与を行い胃排出速度の変化を調べることが可能であったとの報告がなされた[14]。これにより，今後は小動物を用いたさまざまな研究（生体生理機能，疾病モデルを用いた病態の解明，術後の消化器機能，薬剤の治療効果判定，創薬など）が可能になるものと思われる。

また 3 次元の細胞培養装置に^{13}C ラベルした基質を加えた培養液を還流し，回路内のガスを採取して$^{13}CO_2$ 存在比を測定することで in vitro における細胞機能の測定が可能となったことが報告された[15]。この実験系を発展させ，さまざまな組織の種々の培養細胞を用いることで，今後は薬剤毒性や安全性試験，悪性腫瘍に対する抗がん剤感受性試験などその応用範囲がますます広がることが予見される。

8.　今後の展望

新世紀の医療には，高度先進医療のますますの進歩発展とともに，目前の患者の QOL を重視した「患者にやさしい医療」が求められる。このような状況下にあって生活に密接にかかわる「病態と機能」を安全かつ簡便に調べることができる検査法の確立は重要かつ急務であると考える。^{13}C 呼気ガス診断を用いた機能検査はエビデンスに基づいた標準医療の確立や医療の個別化（テーラーメイド化）にも有用であろう。今後の検討により信頼性の高い呼気ガス診断の標準化と普及が望まれる。

文　献

1）瓜田純久，成木行彦，小山　博，他，^{13}C-acetate を用いた呼気試験による胃排出能評価の試み，^{13}C 医学応用研究会論文集，**6**, 30-31（1996）

2）Ghoos, Y. F., Maes, B. D., Geypens, B. J. et al., Measurement of gastric emptying rate of solids by means of a Carbon-labeled octanoic acid breath test, *Gastroenterology*, **104**, 1640-1647（1993）

3）Choi, M-G., Camilleri, M., Burton, D. D. et al., [^{13}C] Octanoic acid breath test for gastric emptying of solids : Accuracy, reproducibility, and comparison with scintigraphy, *Gastroenterology*, **112**, 1155-1162（1997）

4）中田浩二，^{13}C–呼気試験法による胃排出能検査，^{13}C 医学応用研究会編，^{13}C-呼気試験の実際：基礎と実践的応用，46-55（2002）

5）Braden, B., Adamus, S., Duan, L. et al., The [^{13}C] acetate breath test accurately reflects gastric emptying of liquids in both liquid and semisolid test meals, *Gastroenterology*, **108**, 1048-1055（1995）

6）中田浩二，青山伸郎，中川　学，他，^{13}C 呼気試験法胃排出能検査の現状と未来　標準化に向けて，*J. Smooth Muscle Res.*, **6**, J75-J91（2002）

7）梁井真一郎，中田浩二，羽生信義，他，^{3}C-octanoic acid 呼気試験法による定量的な胃排出能評価―アイソトープ法との比較検討，消化器科，**30**, 652-656（2000）

8）楠美尚子，中村光男，梶　麻子，他，呼気消化吸収試験及び近赤外分光法による膵外分泌機能不全の診断と治療，消化器科，**30**, 746-754（2000）

9）Watkins, J. B., Klein, P. D., Schoeller, D. A. et al., Diagnosis and differentiation of fat malabsorption in children using ^{13}C-labeled lipids : trioctanoin, triolein, and palmitic acid breath test, *Gastroenterology*, **82**, 911-917（1982）

10）坂本昭雄，臼井貞仁，松田浩二，他，膵頭十二指腸切除術における術後消化吸収試験よりみた再建術式の検討，日外会誌，**92**, 52-56（1990）

11）中田浩二，羽生信義，川崎成郎，他，^{13}C 呼気試験法脂肪吸収試験と D-xylose 糖吸収試験による

消化器外科術後吸収能の評価，消化と吸収，**24**, 41-45(2001)

12) 堀口明彦，古澤浩一，花井恒一，^{13}C-trioctanoin Breath Testによる膵頭切除後の脂肪消化吸収能の検討，消化と吸収，**24**, 46-49(2001)

13) 成木行彦，小山　博，大塚幸雄，他，^{13}C 標識脂肪及び脂肪酸を用いた消化吸収呼気試験の有用性について，消化と吸収，**19**, 42-45(1996)

14) Uchida, M., Endo, N. and Shimizu, K., Simple and noninvasive breath test using ^{13}C-acetic acid to evaluate gastric emptying in conscious rats and its validation by metoclopramide., *J Pharmacol Sci*., **98**, 388-395(2001)

15) 丸島秀樹，松浦知和，大川　清，^{13}C−呼気試験を用いたin vitro細胞毒性試験の開発，日本平滑筋学会雑誌，**10**, J-10(2006)