

運動および食事による呼気中アセトンの変動とその統計学的処理の検討

- 1) 名古屋大学大学院情報学研究科複雑系科学専攻.
- 2) 名古屋大学大学院情報科学研究科複雑系科学専攻

永峰康一郎¹⁾, 峯田大暉²⁾

【緒言】

肥満は糖尿病や高脂血症など生活習慣病との関連から、世界的な健康問題になっている。肥満に対しては、食事療法や運動療法など数多くの方法が提案されてきているが、どのような方法であっても、減量に挑戦する人の多くが目標に到達する前に挫折している。この原因のひとつとして、体内の脂肪が現在どのくらい代謝しているか知ることが困難であることが挙げられる。もし体内の脂肪代謝をリアルタイムで把握することができれば、減量プログラムへのモチベーションを維持することができ、目標達成に寄与できると考えられる。

呼気中アセトンに大きな影響を及ぼす要因として運動と食事が知られている¹⁾。そこで本研究では、対象者を用いて日常的な中等度の運動実施とその後の様々な食事摂取を組み合わせた運動負荷実験を行った。そして実験中の呼気中アセトン濃度の測定によって、呼気中アセトンの運動による変動を明らかにし、その後の様々な食事による変動を比較することとした。また安静時の呼気中アセトン濃度は個人差が大きいことが知られており²⁾³⁾、運動や食事による影響を適切に検出するための統計学的処理についても検討を行った。

【対象と方法】

1) 対象者

若年男性7名を対象とした。本研究はあらかじめ名古屋大学環境医学研究所倫理委員会の承認を得た(承認番号323-2)。また、対象者には

本研究の主旨、実験方法について事前に説明を行い、文書による同意を得た上で実施した。対象者は事前の説明時に、健診で異常を指摘されていない健常者であることを確認した。

2) 運動負荷実験

本研究では自転車エルゴメーターを用いた運動負荷実験を行った。対象者は最低2日の間隔を空けて、実験のため6回名古屋大学に来訪した。1回目は対象者に与える運動負荷の強度を定量的に決定するため、運動負荷実験に先立って各対象者の最高酸素摂取量($\dot{V}O_{2peak}$)の測定を総合保健体育科学センターで行った。2~6回目は著者らの研究室で、昼食として与える食事内容を変化させて運動負荷実験を実施した。実験プロトコルを図1に示す。上述のように呼気中アセトンは食事により大きな影響を受けるので、対象者には次のように、実験前日の夜から食事制限を実施して食事条件を統一した。実験前日23時以降絶食とし、当日8時に朝食としてバランス栄養食を与えた。9時30分から実験を開始し、まず30分間安静を維持した。そして10時から運動を開始した。これまでの先行研究で、脂肪代謝を最大にする運動強度として40% $\dot{V}O_{2peak}$ の報告がある⁴⁾⁵⁾。そこでこの運動負荷実験の運動強度は40% $\dot{V}O_{2peak}$ とし、運動時間は間に15分間の休憩を挟んで45分間2セットの計90分間とした。その後運動終了から実験終了まで4時間安静を維持した。その途中の運動終了60分後に対象者に昼食を与えた。昼食は糖

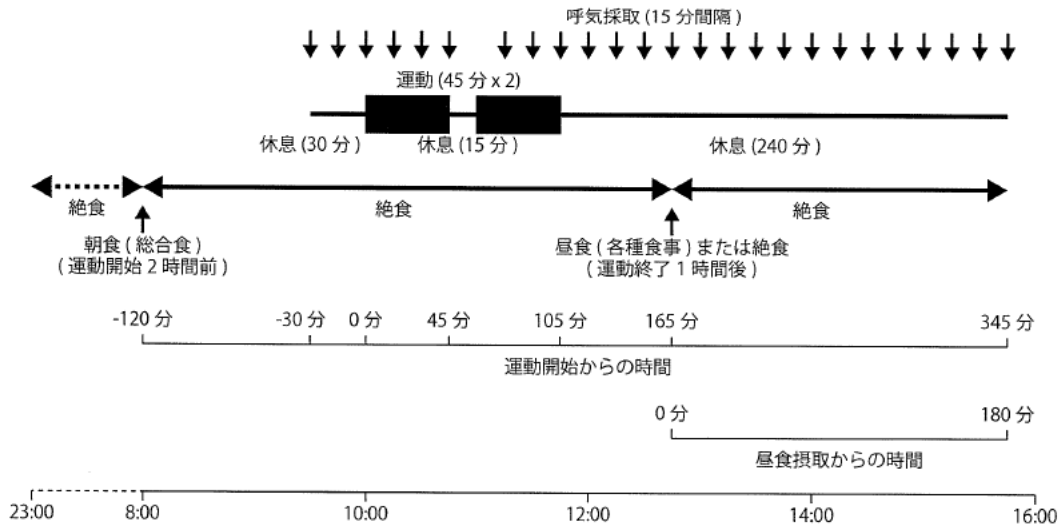


図1 運動負荷実験のプロトコル

質食・バランス栄養食・蛋白質食・脂質食のいずれか1種類の摂取または対照群として昼食を与えず絶食状態の維持をランダムに選んで、絶食を含む全ての種類を5回で実施した。朝食および昼食の栄養成分を表1に示す。

3) 呼気中アセトンの測定

本研究ではコレクションバッグを用いて、対象者の呼気の採取を行い、FID 検出器を備えたガスクロマトグラフを用いて呼気に含まれるアセトンを測定した。呼気採取後に室温に放置したコレクションバッグ内に凝縮した水滴にアセトンが吸着する影響を除くため、測定注入試料計量前にコレクションバッグを一定時間 65℃で温浴により加温した。呼気の採取は実験開始の9時30分から実験終了の15時45分まで15分間隔で行った。ただし2セット目の運動開始時の11時のみ、以前の実験との測定回数の整合

性のため測定を行わなかった。

4) 測定結果の解析

本研究では対象者の数が多くないこと (n=7) から、外れ値の影響を少なくするために、呼気中アセトンの実験結果の表示には平均±標準誤差を用いず、中央値±四分位偏差を用いた。また呼気中アセトンの増減の判定、または各種食事条件と絶食条件との間の多重比較において、あらかじめ各データの正規性についてシャピロ・ウィルク検定を用いて、等分散性についてバートレット検定を用いてそれぞれ検定を行った。その結果、正規性または等分散性が認められない場合があったので、増減の判定や多重比較については、分布の正規性や等分散性を仮定しないノンパラメトリックな検定法を用いた。これらの統計解析には R (バージョン 4.2.1) を用いた。

表1 各種食事の栄養成分表示

商品名	朝食				
	バランス栄養食	糖質食	バランス栄養食	蛋白質食	脂質食
メーカー	カロリーメイト	inゼリー	カロリーメイト	ホエイプロテイン	日清MCIパウダー
メーカー	大塚製薬	森永製薬	大塚製薬	ファイン・ラボ	日清オイリオ
摂取量 (g)	60.0	180.0	40.0	20.0	13.0
熱量 (kcal)*	300.0	180.0	200.0	72.8	100.0
炭水化物 (g)*	30.0	45.0	20.0	0.7	3.1
脂質 (g)*	16.8	0.0	11.2	0.2	9.7
蛋白質 (g)*	6.6	0.0	4.4	17.4	0.0

*:一食あたり

【成績】

対象者 7 名の特性 (平均±標準偏差) を表 2 に示す. 年齢は 21.6 ± 1.9 歳, BMI は $20.6 \pm 2.7 \text{kg/m}^2$, 生体インピーダンス法によって測定した体脂肪率は $13.4 \pm 5.1\%$ であった. 本研究では 7 名の対象者 (A~G) がそれぞれ 5 回運動直前の安静時の呼気中アセトン濃度の 5 回の分布を図 2 に示す. 各対象者の横棒は中央値を示す. どの対象者も中央値は $0.5 \sim 1 \text{ppm}$ の範囲にあるが, A・D・E のように比較的 5 回のばらつきの小さい対象者もいれば, G のように実験日によって安静時の呼気中アセトン濃度が 0.5ppm 近くから 4ppm 近くまで大きくばらついた対象者もいた.

このように対象者間, あるいは同一対象者でも実験日によって安静時の呼気中アセトン濃度がばらつく場合があるので, 呼気中アセトンの変動を濃度の絶対値で示すことは, 運動や食事の影響を検討する上で適当ではない. そこで呼気中アセトン濃度を補正して示す必要があるが,

表 2 対象者の特性 (n=7)

	平均 ± 標準偏差
年齢 (歳)	21.6 ± 1.9
身長 (cm)	168.2 ± 4.7
体重 (kg)	58.4 ± 8.4
BMI (kg/m^2)	20.6 ± 2.7
体脂肪率 (%)	13.4 ± 5.1

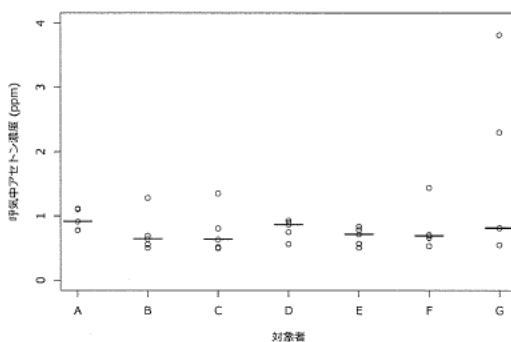


図 2 安静時の各対象者の呼気中アセトン濃度の分布 (各 5 回)

横棒は各対象者の中央値を示す.

先行研究では主に 2 つの方法が用いられてきた. いずれも基準点 (例えば安静時) を設け, 1 つは基準点の濃度との差に注目する方法⁶⁾, もう 1 つは基準点の濃度との比に注目する方法⁷⁾である. そこで本研究でもこれら 2 つの方法を比較してみた. 前者の補正方法では, 以下のように各測定点で, 基準点での濃度との差を取った呼気中アセトン増加量を定義した.

$$[\text{呼気中アセトン増加量 (ppm)}] = [\text{各測定点での呼気中アセトン濃度 (ppm)}] - [\text{基準点での呼気中アセトン濃度 (ppm)}]$$

また後者の補正方法では, 以下のように各測定点で, 基準点での濃度との比を取った呼気中アセトン濃度比を定義した.

$$[\text{呼気中アセトン濃度比}] = [\text{各測定点での呼気中アセトン濃度 (ppm)}] / [\text{基準点での呼気中アセトン濃度 (ppm)}]$$

基準点については, 本研究では 2 箇所設定することとした. 1 箇所目は, 実験全体の呼気中アセトンの変動を見るために, 安静時である運動直前 (10 時) とし, 2 箇所目は, 昼食摂取による呼気中アセトンの変動を見るために, 昼食摂取直前 (12 時 45 分) とした.

まず基準点を運動直前に取った場合について, 運動開始から実験終了までの呼気中アセトン増加量の変動を図 3, 呼気中アセトン濃度比の変動を図 4 にそれぞれ示す. そして図 3 および図 4 のそれぞれの結果について, 基準点と比較して有意に増加あるいは減少したか検討を行った. この検討には, 対応のある 2 群の大小を比較するためのノンパラメトリック検定法であるウィルコクソンの符号付順位和検定⁸⁾を用いた. 図 3 および図 4 には, 基準点と比較して有意差 ($p < 0.05$) が認められたものについて, 各測定点に△印を付して示した. 図 3 および図 4 の△印の有無から, 呼気中アセトンは運動中にはほとんど増加せず, 運動終了後から増加し始めたことが分かる. また絶食の場合は, 実験終了までほぼその増加が続くが, 昼食に糖質食を摂取した場合は摂取後に減少に転じ, 実験終了直前

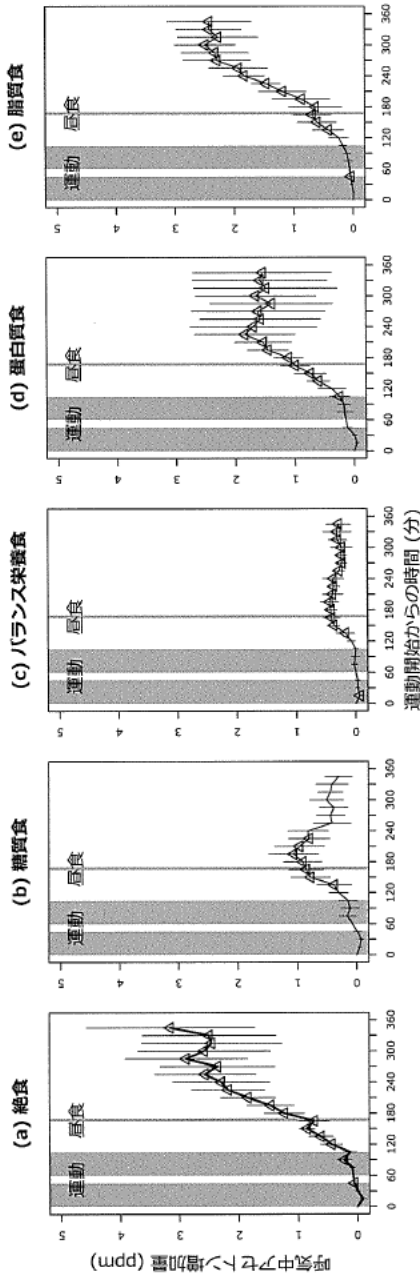


図3 呼気中アセトン増加量の変動(運動開始～実験終了)
各測定点上の△は運動開始直前と比較して有意差 ($p < 0.05$) ありを示す。

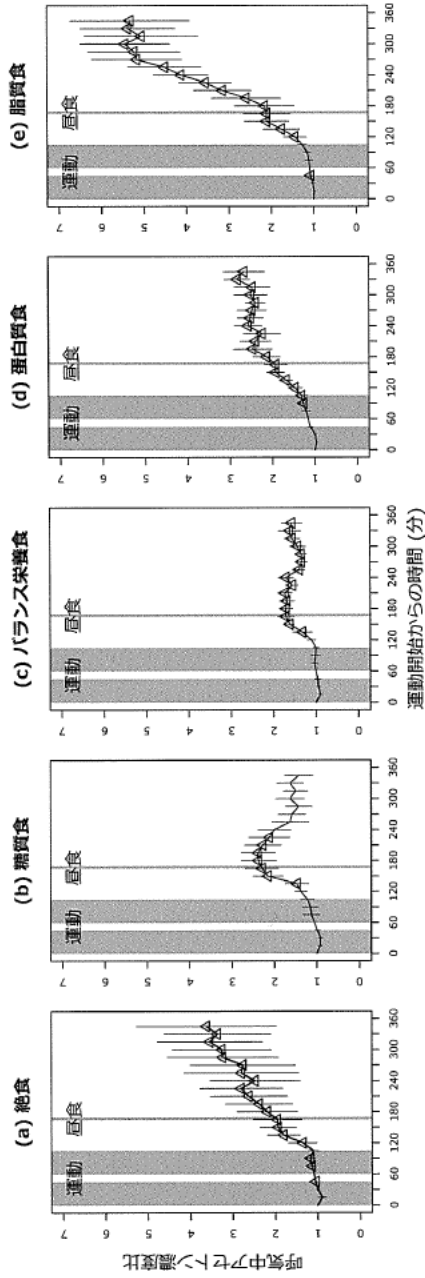


図4 呼気中アセトン濃度比の変動(運動開始～実験終了)
各測定点上の△は運動開始直前と比較して有意差 ($p < 0.05$) ありを示す。

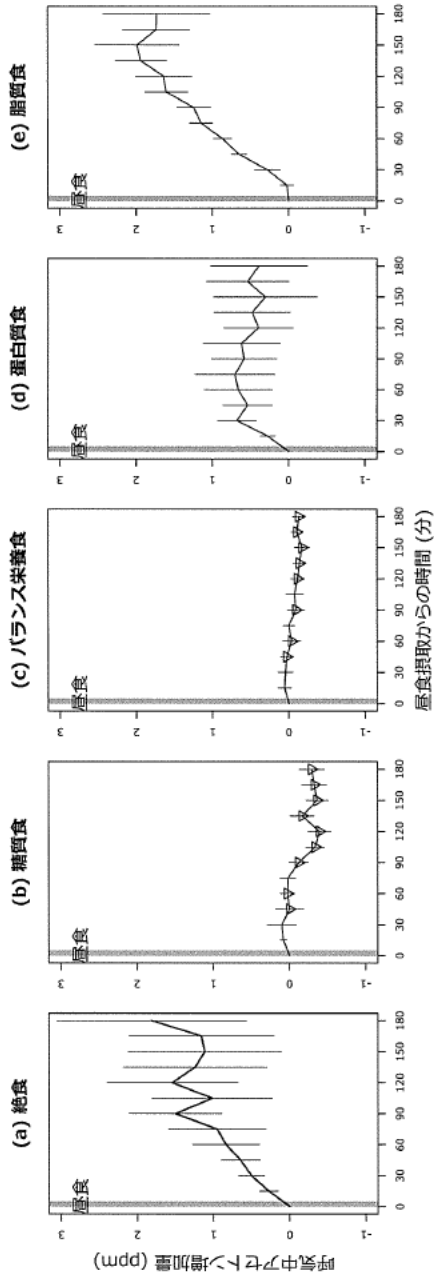


図5 呼気中アセトン増加量の変動(昼食摂取～実験終了)
各測定点上の△は絶食の場合と比較して有意差 ($p < 0.05$) ありを示す。

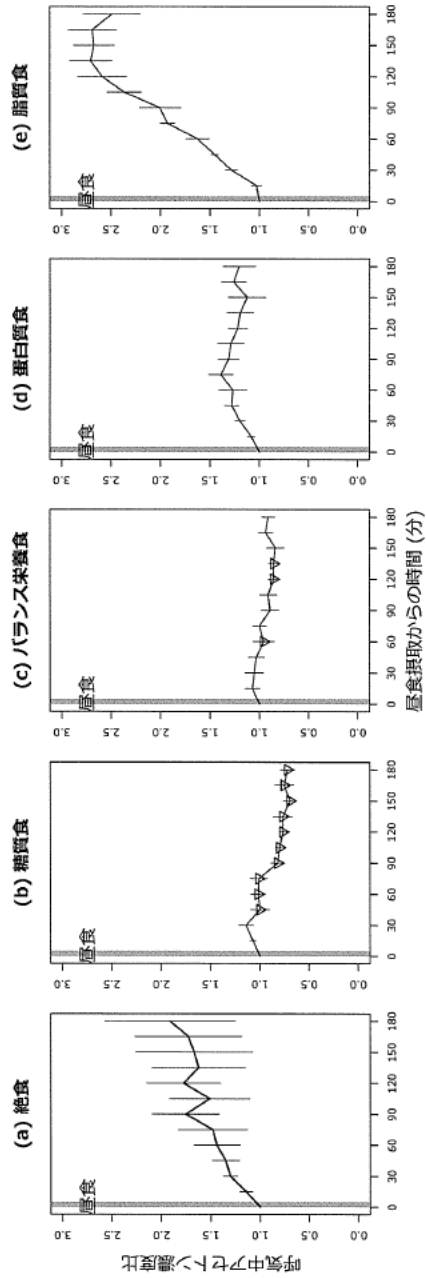


図6 呼気中アセトン濃度比の変動(昼食摂取～実験終了)
各測定点上の△は絶食の場合と比較して有意差 ($p < 0.05$) ありを示す。

には運動直前（安静時）と有意差が認められなくなるまで減少した（糖質食について、呼気中アセトン増加量（図3(b)) および呼気中アセトン濃度比（図4(b)) いずれも240~345分は△印が消失している）。

次に基準点を昼食直前に取った場合について、昼食摂取から実験終了までの呼気中アセトン増加量の変動を図5、呼気中アセトン濃度比の変動を図6にそれぞれ示す。図5および図6では呼気中アセトンに食事摂取の影響が現れていると考えられるので、食事の種類による影響を比較するために、絶食の場合を対照群として、各食事摂取の場合と有意差があるかどうか測定時間毎に検定を行った。この有意差の検定には、ノンパラメトリックに対照群との多重比較を行うスティール検定⁹⁾を用いた。図5および図6には絶食の場合に対して有意差 ($p<0.05$) が認められたものについて、▽印を付して示した。糖質食またはバランス栄養食を摂取した場合、絶食の場合に対して呼気中アセトン増加量または呼気中アセトン濃度比に有意差 ($p<0.05$) が一部認められた。

最後に食事摂取による呼気中アセトンへの影響を総合的に評価するために、図5および図6に示した範囲について、呼気中アセトン増加量および呼気中アセトン濃度比それぞれ対象者毎にAUC（曲線下面積）を算出して、食事種類による比較を行った。結果を図7に示す。これらのAUCについても、スティール検定を用いて絶食の場合と比べて有意差があるかどうか検定したところ、呼気中アセトン増加量および呼気中アセトン濃度比いずれについても、絶食の場合と糖質食およびバランス栄養食との間にそれぞれ有意差 ($p<0.05$) が認められた。

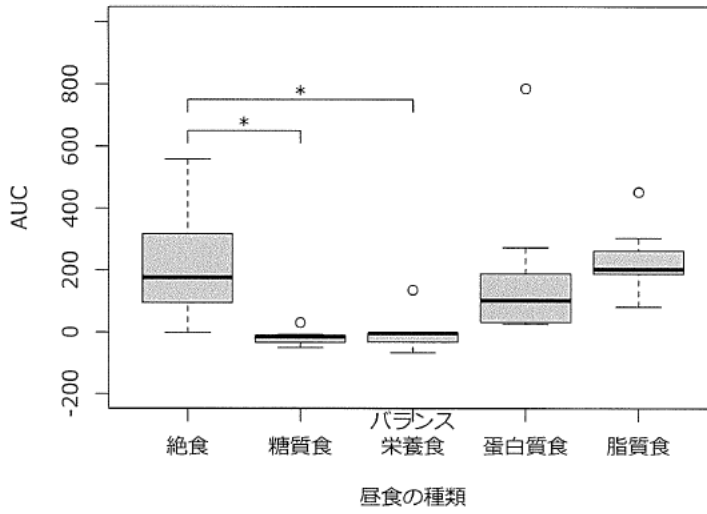
【考按】

アセトンはアセト酢酸、 β -ヒドロキシ酪酸とともにケトン体の1つである。体内でケトン体が生成される一般的な機序は次の通りである¹⁰⁾。過剰の栄養は体脂肪として蓄えられ、必要に応

じて脂肪酸とグリセロールに分解される。グリセロールは肝臓でエネルギー源となり、脂肪酸はミトコンドリアのマトリックスで β 酸化と呼ばれる経路でアセチル CoA を産生する。このアセチル CoA は通常クエン酸回路で酸化されるが、飢餓によりブドウ糖が不足した場合や、糖尿病でインスリンが欠乏し、ブドウ糖が利用できないような条件下では肝臓のミトコンドリアでケトン体となる。本研究では健常者を対象としているので、ケトン体生成の主な要因は食事制限や運動によるブドウ糖の不足であると考えられる。このケトン体であるアセト酢酸と β -ヒドロキシ酪酸は血中に入り全身に運ばれ、肝臓以外の組織のエネルギー源となる。そして血中に入ったアセト酢酸から非酵素的にアセトンが生成される。アセト酢酸からできたアセトンの5~25%は呼気へ排泄される。ケトン体の産生とアセトンの呼気への排泄は関連しており、運動による場合¹¹⁾、糖尿病による場合¹²⁾、いずれも血中の β -ヒドロキシ酪酸と呼気中のアセトンが平行に変化することが報告されている。したがって、体内で生成されるケトン体を非侵襲的に呼気で評価することは、侵襲的な血液に比べて、対象者の負担が軽減され意義深いものである。

呼気中アセトンの運動による変動については、運動中には増加せず、運動後に増加するというタイムラグが認められた（図3および図4）。このようなタイムラグは、先行研究^{7) 13)}でも報告されている。アセトンはケトン体の1つであり、尿中や血液中のケトン体が運動中ではなく運動後に増加する、いわゆる「運動後ケトosis」が20世紀前半から認識されていた^{14) 15) 16)}。アセトンや β -ヒドロキシ酪酸は、上記のように脂肪酸からアセチル CoA、アセト酢酸を経て生成されるが、この過程は本研究で実施した中等度の運動では速やかに進行しない。血中の脂肪酸は運動中に増加し、これに対して血中のアセトンと β -ヒドロキシ酪酸は運動後に増加したという報告がある¹³⁾。本研究では血中ケトン体の

(a) 呼気中アセトン増加量



(b) 呼気中アセトン濃度比

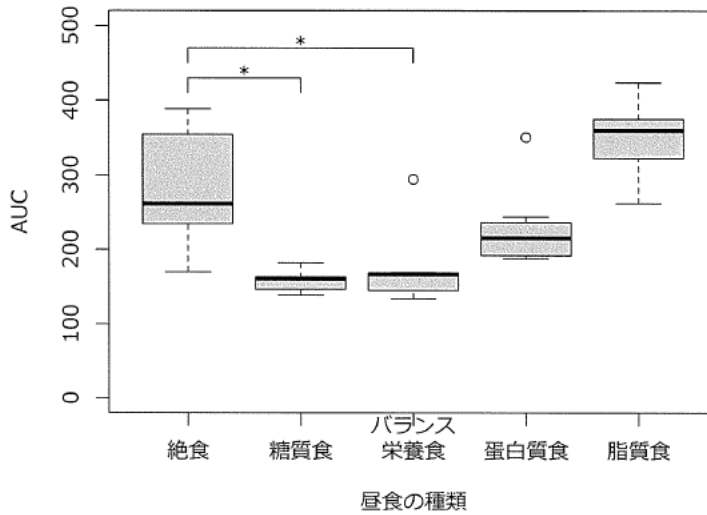


図7 食事摂取後の食事種類別のプロットのAUC(曲線下面積)の分布
(a)呼気中アセトン増加量(図5), (b)呼気中アセトン濃度比(図6).
*は有意差(p<0.05)ありを示す.

測定は行っていないが、運動と呼気中アセトンの増加との間にタイムラグがあったことは、これらの先行研究結果と一致する。

またタイムラグの原因として他に換気量変動も考えられる。一般的に運動中に換気量は増加し、運動後に減少する¹⁷⁾。運動によって対象者の換気量が増加した場合、アセトンが呼気で希釈され、相対的に濃度が減少する可能性がある。一方、運動後に換気量が減少すれば、アセトン濃度は相対的に増加する。したがって、運動中の脂肪代謝の指標として呼気中アセトンをを用いる場合には、このような影響について補正を行う必要がある。運動中の換気量の変動による呼気中アセトンの希釈の影響は、呼気中アセトン濃度を単独測定した場合に顕著に現れる。この希釈の影響を補正する1つの方法として、運動中の換気量を測定する方法がある。もう1つの方法は、呼気に含まれる脂肪代謝とは無関係な別の内因性成分を測定する方法である。例えば、内因性メタンは脂肪代謝とは無関係であり、肺胞メタン濃度は換気量に反比例して変動するという報告¹⁸⁾があることから、メタンはこの候補となるかもしれない。運動による換気量の変動の影響は、アセトンと内因性成分の両方に等しく現れると考えられるので、両成分の比率を計算することにより、呼気中アセトン濃度のみを測定する場合と比較して、希釈の影響が打ち消され、脂肪代謝の呼気中アセトンへの影響が明確に現れるようになるかもしれない。

運動後に摂取した食事により、運動により増加した呼気中アセトンへの影響を食事の種類により比較したところ、糖質食またはバランス栄養食の場合に、絶食の場合に対して有意に減少するという結果が得られた(図5～図7)。これは糖質食またはバランス栄養食に含まれる糖質に原因があると考えられる。呼気中アセトンの元となるケトン体は、一般的に絶食などによる飢餓状態の場合に、肝臓で糖質(炭水化物)の代替物質として生成され、糖質の補給により飢餓状態が軽減された場合にはケトン体の生成が

減少することが知られている¹⁹⁾。したがって上記の結果は、このプロセスに合致するものと考えられる。一方、蛋白質食または脂質食の場合は、絶食の場合に対して有意差が認められなかった。この要因の1つに、食事の種類によって熱量に差があった可能性が考えられる。表1から、糖質食(180kcal)およびバランス栄養食(200kcal)に比較して、蛋白質食(72.8kcal)および脂質食(100kcal)の熱量は半分程度であった。また実験で対象者に与えた朝食(300kcal)および昼食(72.8～200kcal)は、本邦の健常者の1日の食事摂取量(約2560kcal)²⁰⁾に比較して、熱量ベースで5分の1以下であった。したがって普段の生活で普通に食事を摂っていれば、食事摂取による呼気中アセトンへの影響は本研究の実験結果よりも大きくなる可能性がある。

最後に、本研究では個人間や個人内で濃度のばらつきの大い呼吸中アセトンについて、運動や食事による呼気中アセトンの変動を検討する場合の補正方法として、安静時などの基準点を設けてその時点との差(増加量)や比(濃度比)について比較を行ったが、運動後にバランス栄養食を摂取した場合に、絶食の場合との有意差($p<0.05$)が認められた測定の個数が若干異なった程度(図5(c)および図6(c))で、有意差の検定の観点からは両者に大差は見られなかった。

【結論】

本研究では対象者を用いた運動負荷実験を実施し、運動により増加した呼気中アセトンがその後の食事の種類よりどのように変動するか検討を行った。呼気中アセトンは運動により増加したが、運動時間中には増加せず、運動時間直後からその後の安静の長時間に増加が継続した。このような運動と呼気中アセトン増加との間のタイムラグは、脂質代謝におけるケトン体生成の遅れや、換気量変動が原因と考えられる。一方食事の種類による呼気中アセトンへの影響は、食事に含まれる糖質により呼気中アセトンが有

意に減少する変動が認められた。これは絶食や運動による飢餓状態により増加した呼気中アセトンが、糖質の補給により絶食状態が軽減されたため結果的に減少したものと考えられる。またこれらの運動や食事種類による呼気中アセトンの変動の検討において、基準点からの差(増加量)と比(濃度比)に着目する方法を比較したが、有意差の検定の観点からは大差は見られなかった。

以上のことから、呼気中アセトンを体内の脂肪代謝の指標として用いる場合には、食事や運動による影響を考慮しなければいけないことが本研究で改めて認識された。

【謝辞】

最高酸素摂取量 ($\dot{V}O_{2peak}$) については名古屋大学総合保健体育科学センターの石田浩司博士および片山敬章博士に測定いただいた。また本研究については第12回日本安定同位体・生体ガス医学応用学会大会で発表を行い、その際に中村学園大学の田辺賢一博士から AUC について有益な助言をいただいた。さらに匿名の査読者から原稿について有益な修正意見をいただいた。これらの方々に深甚なる謝意を申し上げる。本研究の実施にあたっては日本学術振興会による科学研究費補助金(25350812)の助成を受けた。

参考文献

- 1) Anderson J C: Measuring breath acetone for monitoring fat loss: Review. *Obesity*, 23: 2327-2334, 2015.
- 2) Diskin A M, Španěl P and Smith D: Time variation of ammonia, acetone, isoprene and ethanol in breath: a quantitative SIFT-MS study over 30 days. *Physiol Meas*, 24: 107-119, 2003.
- 3) Smith D, Turner C and Španěl P: Volatile metabolites in the exhaled breath of healthy volunteers: their levels and distributions. *J Breath Res*, 1: 014004, 2007.
- 4) Brooks G A: Importance of the “crossover” concept in exercise metabolism. *Clin Experim Pharmacol Physiol*, 24: 889-895, 1997.
- 5) Sasaki H, Ishikawa S, Ueda H, et al: Response of acetone in expired air during graded and prolonged exercise. *Adv Exerc Sports Physiol*, 16: 97-100, 2011.
- 6) Bovey F, Cros J, Tuzson B, et al: Breath acetone as a marker of energy balance: an exploratory study in healthy humans. *Nutr Diabetes*, 8: 50-53, 2018.
- 7) Königstein K, Abegg S, Schorn A N, et al: Breath acetone change during aerobic exercise is moderated by cardiorespiratory fitness. *J Breath Res*, 15: 016006, 2021.
- 8) 中澤 港: Rによる統計解析の基礎. ピアソン・エデュケーション, 東京, 2003.
- 9) 永田 靖, 吉田道弘: 統計的多重比較法の基礎. サイエンティスト社, 東京, 1997.
- 10) 近藤孝晴: 糖尿病患者における呼気アセトン測定の意義. 非侵襲的検体検査の最前線—唾液検査・呼気検査を中心に—. シーエムシー出版, 東京, 2015.
- 11) Güntner A T, Sievi N A, Theodore S J, et al: Noninvasive body fat burn monitoring from exhaled acetone with Si-doped WO_3 -sensing nanoparticles. *Anal Chem*, 89: 10578-10584, 2017.
- 12) Güntner A T, Weber I C, Schon S, et al: Monitoring rapid metabolic changes in health and type-1 diabetes with breath acetone sensors. *Sensors Actuators: B. Chemical*, 367: 132182, 2022.
- 13) Kim M J, Hong S H, Cho W, et al: Breath acetone measurement-based prediction of exercise-induced energy and substrate expenditure. *Sensors*, 20: 6878-

- 6888, 2020.
- 14) Courtice F C and Douglas C G: The effect of prolonged muscular exercise on the metabolism. *Proc R Soc B*, 119: 381-439, 1936.
 - 15) Johnson R H, Walton J L, Krebs H A, et al: Post-exercise ketosis. *Lancet*, 2: 1383-1385, 1969.
 - 16) Koeslag J H, Noakes T D and Sloan A W: Post-exercise ketosis. *J Physiol*, 301: 79-90, 1980.
 - 17) McArdle W D, Katch F I and Katch V L: *Exercise Physiology* 6th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 2007.
 - 18) Szabó A, Ruzsanyi V, Unterkofler K, et al: Exhaled methane concentration profiles during exercise on an ergometer. *J Breath Res*, 9: 016009, 2015.
 - 19) Houston M E: 運動生化学ハンドブック. ナップ, 東京, 2004.
 - 20) Nakamura T, Arai Y, Terada A, et al: Dietary analysis of Japanese patients with chronic pancreatitis in stable conditions. *J Gastroenterol*, 29: 756-762, 1994.

別刷請求先

〒464-8601 名古屋市千種区不老町
Tel: 052-789-4255
E-mail: nagamine@nagoya-u.jp
名古屋大学大学院情報学研究科
永峰康一郎

Variation in breath acetone affected by exercise and food ingestion and its statistical analysis

Koichiro Nagamine¹⁾, Daiki Mineta²⁾

Graduate School of Informatics, Nagoya University¹⁾,
Graduate School of Information Science, Nagoya University²⁾

We conducted exercise experiments to examine the variation in breath acetone caused by exercise and the type of food ingested afterward. Breath acetone increased by exercise; not during the exercise period, but after the exercise period. This time lag between exercise and the increase in breath acetone might be due to delayed ketone production in lipid metabolism or changes in ventilation rate. On the other hand, the effect of meal type on breath acetone showed that carbohydrates contained in the food significantly decreased breath acetone. This might be due to the fact that the increase in breath acetone caused by fasting starvation was reduced by supplementation of carbohydrates. In examining these variations in breath acetone due to exercise and food, we compared methods that focus on the difference from the reference point (amount of increase) and the ratio (concentration ratio), but there was not much difference between these methods in terms of testing for significant differences.