

Grifola gargal 投与が高フルクトース食誘発 インスリン抵抗性ラットに及ぼす影響

Influences of the *Grifola Gargal* Extracts on Insulin Resistance Induced by High-fructose Diet in Rats

北越 香織, 島 康久¹⁾, 堀江 緑²⁾, 齋藤 由貴³⁾, 見取 祐子⁴⁾
Kaori KITAKOSHI, Midori HORIE, Yuki SAITO, Yuko MITORI

Summary: The purpose of the present study was to evaluate the effects of *Grifola gargal* (mushroom) extracts on insulin resistance induced by high-fructose diet. 12 Male rats of Wistar strain aged 7 weeks were divided into 3 groups. That is 1) high-fructose diet group (Fructose 60% content; FRU), 2) high-fructose + *Grifola gargal* group (FG) and 3) normal diet group (Control). The rats in 3 groups were bred for 4 weeks. Then, after fasting for 16 hours, a sequential euglycemic clamp experiment with two different insulin infusion rates of 6.0 (L-clamp) and 30.0 mU/kgBW/min (H-clamp) was performed. The serum glucose concentration in each rat was maintained at the level of basal blood glucose concentrations in the experiment. The glucose infusion rate (GIR) was assumed to be an index of the action of insulin for 60-90 and 150-180 minutes. As a result, the FRU group and FG group markedly reduced GIRs in L-clamp experiment compared with Control group. However, a significant difference was not able to be confirmed between FG and FRU groups. Consequently, the effects of *Grifola gargal* extracts were not shown. While, in H-clamp, GIR in FG group were increased by *Grifola gargal* extracts compared with FRU group, and reached the almost same levels as in Control group. Therefore, it was suggested that the administration of *Grifola gargal* extracts affect insulin sensitivity, and insulin responsiveness.

Key words: insulin resistance, *Grifola gargal*, euglycemic clamp method

肥満などにおいて認められるインスリン抵抗性は2型糖尿病, 高血圧, 脂質異常症といった生活習慣病を引き起こす原因となりうるがよく知られている¹⁾. 中でも高フルクトース食誘発インスリン抵抗性ラットはそのモデル動物としてよく用いられている²⁾⁻⁴⁾が, その発症機構がはっきりと解明されている

わけではない. したがって, 生活習慣病の予防・治療を行う上でインスリン抵抗性の発症機構の解明は非常に重要であると考えられる.

キノコは繊維, ミネラル, ビタミンが豊富で脂質が少ない事が知られている⁵⁾⁶⁾. キノコのインスリン抵抗性改善につながる成分などについては多くの研究報

¹⁾独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター ²⁾高根県教育委員会 ³⁾西尾市教育委員会 ⁴⁾西川歯科医院

告がある⁷⁾⁸⁾。しかし、その多くはマイタケ (*Grifola frondosa*) などの一般的に食用とされているキノコについての報告であり、*Grifola gargal* の薬理効果についてはほとんどない。*Grifola gargal* はマイタケ属の木材腐朽菌の一種で、南米チリ、アルゼンチンの南緯40度以南に広がるパタゴニア地方に自生するキノコである。このキノコはチリの先住民族であるマプチェによって以前から食されており、チリ料理エンパナーダなどに利用されているが、発生場所が限定されているため世界的にまだあまり知られていない。しかし岩出菌学研究所において *Grifola gargal* の水溶性抽出物は血漿グルコースと中性脂肪の値を減少させる可能性が示唆された。また著者らは先の研究⁹⁾において、*Grifola gargal* 抽出物を食餌に混入し3週間飼育したラットに2段階 euglycemic clamp 法を実施し、このキノコがインスリン抵抗性を改善する可能性を示唆した。しかしそのメカニズムは未だ十分には解明されていない。

そこで本研究では、インスリン注入率および飼育期間を変更し、*Grifola gargal* 投与が高フルクトース誘発インスリン抵抗性ラットに及ぼす影響についてさらに検討を加えた。

方法

実験対象は6週齢のWistar系雄性ラット(体重170~180g)であり、1週間の予備飼育後、以下の3群に分けた。すなわち、1)高フルクトース食(AIN-93Mより調製されたフルクトース62%含有粉末飼料;FRU)群、2)高フルクトース+*Grifola gargal*(水溶性画分の乾燥粉末1.5%含有;FG)群、3)普通食(AIN-93M;Control)群である。ラットは室温20~22°C、約12時間の明暗サイクル環境下で、各食餌およ

び水を自由摂取させた。4週間後、16時間絶食させたラットに、麻酔下で左頸静脈および右頸動脈にカテーテルを挿入した。左頸静脈に挿入したカテーテルはインスリンおよび20%グルコース溶液注入用に、右頸動脈のカテーテルは血糖値測定用に用いた。インスリン注入率6.0(L-clamp)および30.0(H-clamp)mU/kgBW/minの2段階 euglycemic clamp 法を、それぞれ各実験群に行った。右頸動脈より10分ごとに採血して血糖値を測定し、ラットの血糖値がインスリン投与前の空腹時レベルを維持するようにグルコース溶液の注入速度を調節した⁹⁾。血糖値が安定した各 clamp の後半30分間のグルコース注入率(glucose infusion rate:GIR)を算出し、インスリン作用の指標とした。

データは平均値±標準誤差で示し、統計処理はFisher's PLSDで行った。

結果

1. 体重および血糖値 (Table 1)

体重は、Control群に比べFRU群、FG群が有意に低値を示した。FRU群とFG群の間には有意差を認めなかった。また空腹時の血糖値は、3群ともに75mg/dL前後で有意差はなく、L-clampおよびH-clamp中もそのレベルに維持した。

2. GIR (Fig 1, 2)

L-clampにおいて、FRU群はControl群に比べて有意に低値であった。FG群はControl群に比べ有意に低値を示した。しかしFG群とFRU群との間に有意差は認められなかった。H-clampにおいては、各群を比較しても有意差は認められなかった。しかしFRU群はControl群に比較して低値を、またFG群はControl群と同レベルまで改善する傾向がみられた。

Table 1. Body weight and blood glucose concentrations during the clamp experiment

Group	BW (g)	Blood glucose (mg/dl)		
		Basal	6.0	30.0
Control	359±7	76±1	73±3	77±4
FRU	323±3*	75±1	70±3	74±3
FG	325±5*	74±3	74±3	80±3

Values are means±S.E. *: p<0.05 vs. control

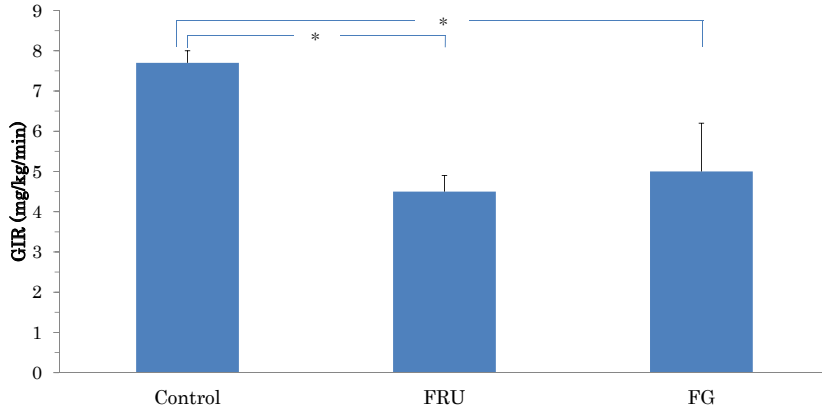


Fig.1 Glucose infusion rate (GIR) for the last 30 min during the sequential euglycemic clamp procedure (insulin infusion rate: 6.0mU/kg BW/min). * P<0.05

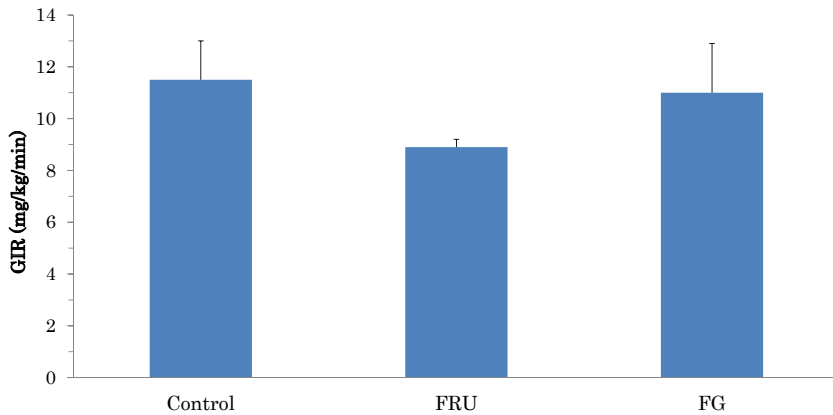


Fig.2 Glucose infusion rate (GIR) for the last 30 min during the sequential euglycemic clamp procedure (insulin infusion rate: 30.0mU/kg BW/min)

考察

インスリン抵抗性は肥満、高血圧、2型糖尿病などでみられる病態である。高フルクトース食摂取はインスリン抵抗性を引き起こす要因の一つとして知られている²⁾が、その詳細な機構は明らかになっていない。しかし高フルクトース食は高中性脂肪血症を招き、遊離脂肪酸 (FFA) のβ酸化を亢進させ、その結果、glucose-FFA cycleによりグルコース利用が低下するとされている¹⁰⁾。

今回の実験において、L-clampではGrifola gargal投与による高フルクトース食誘発インスリン抵抗性の改善をみなかったものの、H-clampでは改善傾向がみられた。L-clamp (インスリン注入率6.0mU/kgBW/min) は低濃度のインスリンにおいてグルコース取り込みの

程度を調べることによりインスリン感受性の指標となり、H-clamp (インスリン注入率30.0mU/kgBW/min) は非生理的な高濃度のインスリンにより肝臓での糖新生が強く抑制されるため、骨格筋でのインスリン反応性の指標となる¹¹⁾。すなわちGrifola gargalはインスリン感受性ではなく、骨格筋でのインスリン反応性に関与している可能性がある。またインスリン受容体そのものではなく、受容体以降のシグナル伝達に何らかの作用を及ぼしていることが示唆される。しかし有意差が認められないことから、Grifola gargalからの成分抽出法や投与する画分、投与量および投与期間についてさらなる検討が必要である。

著者らの先の研究⁹⁾および本研究より、高フルクトース食がインスリン抵抗性を招くことは明らかであ

る。よって今後食生活によってもたらされる種々の生活習慣病のモデルとして利用する価値は高い。またフルクトース摂取が若年肥満や2型糖尿病の発症リスクを増加させるという報告もされており¹²⁾、高フルクトース食誘発インスリン抵抗性発症機構解明は今後さらに重要な課題となる。

謝辞

本研究にあたりましては、岩出菌学研究所原田栄津子様にご情報、*Grifola gargar* のご提供ならびに種々のご助言を賜りました。ここに深甚なる謝意を表します。また原稿の内容に関するご指摘、ご指南をいただきました平林義章教授に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin Resistance: A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerosis. *Neth J Med*, 50, 191-197 (1997).
- 2) Zavaroni I, Sander S, Scott S, Reaven GM. Effect of fructose feeding on insulin secretion and insulin action in the rat. *Metabolism*, 29, 970-973 (1980).
- 3) Perret P, Slimani L, Briat A, Villemain D, Halimi S, Demongeot J, Fagret D, Ghezzi C. Assessment of insulin resistance in fructose-fed rats with 125I-6-deoxy-6-iodo-D-glucose, a new tracer of glucose transport. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 34, 734-744 (2007).
- 4) Oron-Herman M, Kamari Y, Grussman E, Yeger G, Peleg E, Shabtay Z, Shamiss A, Sharabi Y. Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models. *Am J Hypertens*, 21, 1018-1022 (2008).
- 5) Kurtzman RH. Mushrooms: sources for modern western medicine. *Micologia Aplicada International*, 17, 21-33 (2005).
- 6) Sadler M. Nutritional properties of edible fungi. *Nutrition Bulletin*, 28, 305-308 (2003).
- 7) Lee JS, Park SY, Thapa D, Choi MK, Chung IM, Park YJ, Yong CS, Choi HG, Kim JA. *Grifola frondosa* water extract alleviates intestinal inflammation by suppressing TNF- α production and its signaling. *Exp Mol Med*, 42(2), 143-154 (2010).
- 8) Preuss HG, Echaerd B, Bagchi D, Perricone NV. Maitake mushroom extracts ameliorate progressive hypertension and other chronic metabolic perturbations in aging female rats. *Int Med Sci*, 7(4), 169-180 (2010).
- 9) Kitakoshi K, Ogawa H, Ohtsuka T, Ushida S, Kondo A, Horie M. Influence of the *Grifola gargar* extract on insulin resistance induced by high fructose diet in rats. *名古屋文理大学紀要*, 11, 113-117 (2011).
- 10) Thorburn AW, Stolien LH, Jenkins AB, Khouri S, Kraegen EW. Fructose-induced in vivo insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. *Am J Clin Nutr*, 49, 1155-1163 (1989).
- 11) 姜海英, 小池晃彦, 王忠華, 木蘭, 陳塔娜, 夏目有紀枝, 押田芳治. 高果糖食ラットでのスーパーハイブリッドガス充填水によるインスリン抵抗性改善効果. *総合保健体育科学*, 34(1), 1-4 (2011).
- 12) Johnson RJ, Perez-Pozo SE, Sautin YY, Manitius J, Sanchez-Lozada LG, Feig DI, Shafiq M, Sagal M, Glassock RJ, Shimada M, Roncal C, Nakagawa T. Hypothesis: could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? *Endocr Rev*, 30(1), 96-116 (2009).