

Grifola gargal の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

湯高 奈美¹⁾, 佐藤 由希²⁾, 柳澤 良佳³⁾, 山本 聖⁴⁾,
澤田 仁美⁵⁾, 長柄 唯⁶⁾, 北越 香織

Nami YUTAKA, Yuki SATO, Yoshika YANAGISAWA, Kiyoshi YAMAMOTO,
Hitomi SAWADA, Yui NAGARA, Kaori KITAKOSHI

Abstract

The purpose of the present study was to evaluate the effects of *Grifola gargal* (mushroom) extracts on insulin resistance induced by high-fructose diet in rats.

Methods: 12 Male rats of Wistar strain aged 7 weeks were divided into 3 groups. There are 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 under the three conditions described above. 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 (H-clamp) mU/kgBW/min was performed.

Results: 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, in L-clamp and 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.

Conclusion: It was suggested that the administration of *Grifola gargal* extracts affect insulin sensitivity, and insulin responsiveness.

Key words : insulin resistance, high-fructose diet, *Grifola gargal*, euglycemic clamp method

¹⁾株式会社クリエイトSDホールディングス ²⁾富士産業株式会社 ³⁾東海医療専門学校 ⁴⁾株式会社ユニマツトそよ風

⁵⁾社会福祉法人共愛会 ⁶⁾CFSコーポレーション

序論

高脂肪食や高フルクトース食によって引き起こされるインスリン抵抗性は、肝臓や末梢組織での糖代謝・脂質代謝異常の原因の1つとなっている^{1)~3)}。しかしその発症機構はいまだはっきりと解明されたわけではない。また最近の研究では、肥満が癌の発症に関係している可能性が示唆されており⁴⁾、肥満とも深くかかわるインスリン抵抗性の改善に関する研究は社会的にも重要であると考えられる。

一方、多くの国々で食用とされているキノコには様々な種類があるが、その中には肥満の解消に関する作用があることが報告されている^{5)~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 gargar* の薬理効果についてはほとんどない。*Grifola gargar* 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 gargar* 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。また我々は先の研究⁹⁾¹⁰⁾において、*Grifola gargar* 抽出物を食餌に混入し3週間および4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もつことを示した。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、先の研究の *Grifola gargar* 投与量を変更し、*Grifola gargar* 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。

実験対象および方法

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)高フルクトース食+*Grifola gargar*(水溶性画分の乾燥粉末2%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。投与開始から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、それぞれ各実験群のラットに行った。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95mg/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 (Table 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FRU群に比べて有意に高値を示し、Control群と同レベルに至った。H-clampにおいては、L-clampと同様の傾向を示し、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された。

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肥満を誘発し、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¹¹⁾¹²⁾が、その詳細な機構は明らかになっていない。WHOの報告によると、2030年には全世界の糖尿病患者数は3億4600万人に達するとみられている。そのためインスリン抵抗性に発症や改善に関する研究は非常に重要である。

本研究において、体重は高フルクトース食を投与した群(FRU群およびFG群)はControl群に比較して有意に高値を示したが、FRU群とFG群の間に有意

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

| Group | BW (g) | Blood glucose (mg/dl) | | |
|---------|---------------------|-----------------------|-------|------|
| | | Basal | Clamp | |
| | | | 6.0 | 30.0 |
| Control | 318±4 ^a | 93±6 | 91±11 | 88±3 |
| FRU | 373±13 ^b | 99±3 | 85±2 | 94±5 |
| FG | 362±2 ^b | 100±6 | 101±5 | 92±7 |

Values with different letters are significantly different (P<0.05)
Means±S.E.

Table 2. Glucose infusion rate (GIR) during the euglycemic clamp experiment (insulin infusion rate 6.0 and 30.0 mU/kg body weight/min)

| Group | GIR (mg/kg/min) | |
|---------|-------------------------|-------------------------|
| | L-clamp (6.0 mU/kg/min) | H-clamp (30.0mU/kg/min) |
| Control | 10.7±0.4 ^a | 13.0±1.5 ^a |
| FRU | 3.2±0.4 ^b | 9.6±0.6 ^b |
| FG | 13.6±1.9 ^b | 13.9±0.6 ^a |

Values with different letters are significantly different (P<0.05)
Means±S.E.

差はなかった。これは高フルクトース食が肥満を引き起こし、Grifola gargal には体重を減少させる効果がないことを示している。2段階 euglycemic clamp 法を実施している間の血糖値は各群とも有意差はなく、空腹時レベルに維持された。また L-clamp および H-clamp において 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¹³⁾。すなわち Grifola gargal はインスリン感受性および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。すでにマイタケではインスリ

ン抵抗性を改善する報告があり¹⁴⁾、それ以外でもキノコの糖代謝への効果や脂質代謝への効果も発表されている¹⁵⁾⁻¹⁸⁾。今後は Grifola gargal からの成分抽出法や投与する画分、純度についてさらなる検討を加え、改善機構に関する研究も必要となる。

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情報、Grifola gargal 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。

参考文献

- 1) Amin KA, Nagy MA, Effect of carnitine and herbal mixture extract on obesity induced by high fat diet in rats. Diabetol Metab Syndr 17, 1-14 (2009)
- 2) Lonardo A, Lombardini S, Ricchi M, Scaglioni F, Loria P Hepatic steatosis and insulin resistance. Aliment Pharmacol Ther 22, 64-70 (2005)

- 3) Roden M, Mechanisms of Disease: hepatic steatosis in type 2 diabetes pathogenesis and clinical relevance. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2, 335–348 (2006)
- 4) Huang XF, Chen JZ, Obesity, The PI3K/Akt signal pathway and colon cancer. *Obesity Reviews*, 10(6), 610–616 (2009)
- 5) Cheung PCK, Plasma and hepatic cholesterol levels and fecal neutral sterol excretion are altered in hamsters fed straw mushroom diets. *J Nutr*, 128(9), 1512–1516 (1998)
- 6) Fukushima M, Nakano M, Morii Y, Ohashi T, Fujiwara Y, Sonoyama K, Hepatic LDL receptor mRNA in rats is increased by dietary mushroom (*Agaricus bisporus*) fiber and sugar beet fiber. *J Nutr*, 130(9), 2151–2156 (2000)
- 7) Fukushima M, Ohashi T, Fujiwara Y, Sonoyama K, Nakano M, Cholesterol-lowering effects of maitake (*Grifola frondosa*) fiber, shiitake (*Lentinus edodes*) fiber, and enokitake (*Flammulina velutipes*) fiber in rats. *Experimental Biology and Medicine*, 226(8), 758–765 (2001)
- 8) Jeong SC, Jeong YT, Yang BK, Islam R, Koyyalamudi SR, Pang G, Cho KY, Song CH, White button mushroom (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterolemic rats. *Nutrition Research*, 30(1), 49–56 (2010)
- 9) Kitakoshi K, Ogawa H, Ohtsuka T, Ushida S, Kondo A, Horie M. Influence of the *Grifola gargar* exerts on insulin resistance induced by high fructose diet in rats. *名古屋文理大学紀要*, 11, 113–117 (2011).
- 10) *Grifola gargar* 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 北越 香織, 島康久, 堀江 緑, 齋藤 由貴, 見取 祐子, 名古屋文理大学紀要, 12, 143–146 (2012)
- 11) Montonen J, Järvinen R, Knekt P, Heliövaara M, Reunanen A, Consumption of sweetened beverages and intakes of fructose and glucose predict type 2 diabetes occurrence. *J Nutr*, 137(6), 1447–54 (2007)
- 12) *Trends Endocrinol Metab*, 11(9), 351–6 (2000) 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)
- 14) Nagao K, Inoue N, Inafuku M, Shirouchi B, Morooka T, Nomura S, Nagamori N, Yanagita T, Mukitake mushroom (*Panellus serotinus*) alleviates nonalcoholic fatty liver disease through the suppression of monocyte chemoattractant protein 1 production in db/db mice. *J Nutr Biochem* 21(5), 418–23 (2010)
- 15) Thyagarajan-Sahu A, Lane B, Sliva D, ReishiMax, mushroom based dietary supplement, inhibits adipocyte differentiation, stimulates glucose uptake and activates AMPK. *BMC Complement Altern Med*, 11:74 (2011)
- 16) Inafuku M, Nagao K, Nomura S, Shirouchi B, Inoue N, Nagamori N, Nakayama H, Toda T, Yanagita T, Protective effects of fractional extracts from *Panellus serotinus* on non-alcoholic fatty liver disease in obese, diabetic db/db mice. *Br J Nutr*. 107(5), 639–46 (2012)
- 17) Chen JT, Tominaga K, Sato Y, Anzai H, Matsuoka R, Maitake mushroom (*Grifola frondosa*) extract induces ovulation in patients with polycystic ovary syndrome: a possible monotherapy and a combination therapy after failure with first-line clomiphene citrate. *J Altern Complement Med*. 16(12), 1295–9 (2010)
- 18) Lee BR, Lee YP, Kim DW, Song HY, Yoo KY, Won MH, Kang TC, Lee KJ, Kim KH, Joo JH, Ham HJ, Hur JH, Cho SW, Han KH, Lee KS, Park J, Eum WS, Choi SY, Amelioration of streptozotocin-induced diabetes by *Agrocybe chaxingu* polysaccharide. *Mol Cells*. 29(4), 349–54 (2010)