

# Grifolagargal 投与量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 GrifolaGargal Extracts dosage on Insulin Resistance Induced by High-fructose Diet in Rats

岡田 香奈<sup>1)</sup>, 鈴木 小織<sup>2)</sup>, 本橋 卓也<sup>3)</sup>, 池田 逸生<sup>4)</sup>,  
高阪 政仁<sup>5)</sup>, 清水 麻央<sup>6)</sup>, 児玉 亜衣<sup>7)</sup>, 北越 香織

Kana OKADA, Saori SUZUKI, Takuya MOTOHASHI, Ikki IKEDA,  
Masahito KOSAKA, MaoSHIMIZU, Ai KODAMA, Kaori KITAKOSHI

### Summary:

The purpose of the present study was to evaluate the effects of Grifolagargal (mushroom) extracts on insulin resistance induced by high-fructose diet. Male rats of Wistar strain aged 7 weeks were divided into 3 groups. Those are 1) high-fructose diet group (Fructose 60% content;Fru) (Experiment 1), 2) Fru + Grifolagargal group (Grifolagargal1.5% (Experiment 1 and 2) or 2.0% (Experiment 3);FG) and 3) normal diet group (Control). The rats in 3 groups were bred for 3 (Experiment 1 and 2) or 4 weeks (Experiment 3). Then, after fasting for 16 hours, a sequential euglycemic clamp experiment with two different insulin infusion rates of 3.0 (Experiment 1 and 3) or 6.0 (Experiment 2) (L-clamp) and 30.0 mU/kgBW/min (H-clamp) was performed. 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, in the all Experiment, the Fru group markedly reduced GIRs in L-clamp compared with Control group. And in the Experiment 2, a significant difference was not able to be confirmed between FG and Fru groups. However, in the Experiment 3, GIRs in FG group were higher than Fru. Consequently, the effects of Grifolagargalextractwith GIRs inL-clamp were shown in the case of dosage 2.0% . While, in H-clamp, GIR in FG group were increased by Grifolagargal extracts compared with Fru group, and reached the almost same levels as in Control group. And the effects with GIRs in H-clamp had no relation to dosage and insulin infusion rate. Therefore, it was suggested that the administration of Grifolagargal extracts affect insulin sensitivity, and insulin responsiveness. And dosage would influence the amelioration of insulin sensitivity.

Key words : insulin resistance, Grifolagargal, euglycemic clamp method

<sup>1)</sup> 独立行政法人国立病院機構金沢医療センター (National Hospital Organization Kanazawa Medical Center)

<sup>2)</sup> 医療法人社団恵成会豊田えいせい病院 (Toyoda Eisei Hospital Group)

<sup>3)</sup> 独立行政法人国立病院機構東尾張病院 (National Hospital Organization Higashiowari Hospital)

<sup>4)</sup> JA 長野厚生連篠ノ井総合病院 (JA Nagano Kouseiren Sinonoi General Hospital)

<sup>5)</sup> JA 愛知厚生連海南病院 (JA Aichi Kouseiren Kainan Hospital)

<sup>6)</sup> 株式会社フィールコーポレーション (FEEL Corporation)

<sup>7)</sup> 日本ゼネラルフード株式会社 (Corporation Nippon General Food)

## 序論

肥満などにおいて認められるインスリン抵抗性が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の1つとなることはよく知られている<sup>1)</sup>。高フルクトース食誘発インスリン抵抗性ラットはモデル動物としてよく用いられている<sup>2)-4)</sup>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・改善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る。

一方食品としてなじみ深いキノコは食物繊維、ミネラル、ビタミン等が豊富でかつ脂質が少ないことがよく知られている<sup>5)6)</sup>。キノコのインスリン抵抗性改善につながる成分やその品種については多くの研究報告がある<sup>7)8)</sup>。しかし、その多くはマイタケ (*Grifolafriendosa*) 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、*Grifolagargal* の薬理効果に関する報告はほとんどない。*Grifolagargal* 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、生育場所が限定されているため世界的にまだ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 *Grifolagargal* の水溶性抽出物が血漿グルコースと中性脂肪の値を減少させる可能性を示唆した。また著者らは先の研究<sup>9)</sup>において、*Grifolagargal* 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 法を実施したところ、このキノコがインスリン抵抗性を改善する可能性がある所見を得た。

そこで本研究では、euglycemic clamp 法のインスリン注入率、飼育期間および *Grifolagargal* 投与量の差異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検討した。

## 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60%含有粉末飼料投与; Fru)、2)高フルクトース+*Grifolagargal* (Fru群の粉末飼料に*Grifolagargal*の水溶性画分乾燥粉末1.5%および2.0%含有; FG)、3)普通食(AIN-93M;

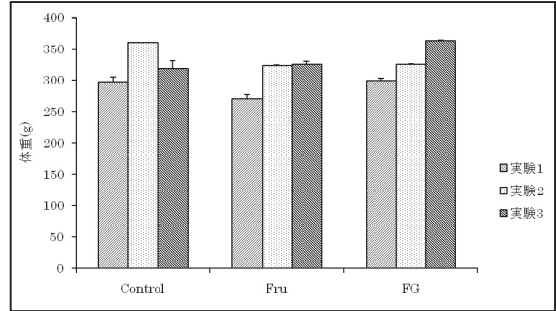


図1 体重の変化

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。3週間または4週間飼育後、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。手術完了後インスリン注入率3.0または6.0 (L-clamp) および30.0 (H-clamp) mU/kgBW/min の2段階 euglycemic clamp 法を行った。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<sup>9)</sup>。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。実験1は飼育期間3週間および *Grifolagargal* 含有量1.5%、インスリン注入率3.0mU/kg/min、実験2は飼育期間3週間および *Grifolagargal* 含有量1.5%、インスリン注入率6.0mU/kg/min、実験3は飼育期間4週間および *Grifolagargal* 含有量2.0%、インスリン注入率3.0mU/kg/min でそれぞれ行った。データは平均値±標準誤差で示し、統計処理は Fisher's PLSD を行った。

## 結果

### 1. 体重 (図1)

飼育期間3週間および *Grifolagargal* 1.5%の実験1、2と飼育期間4週間で *Grifolagargal* 2.0%の実験3とを比較すると、Control群および Fru群では飼育期間の長さ、*Grifolagargal* 投与量と体重増加との間に比例関係は認められなかった。しかし FG群では飼育期間が長いほうが、また *Grifolagargal* の投与量が多いほうが体重増加量は多い傾向があった。

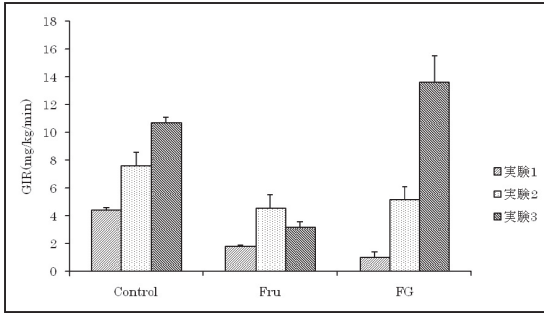


図2 GIR (L)

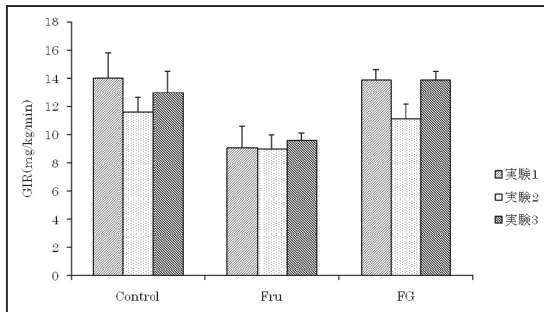


図3 GIR (H)

## 2. GIR (L) (図2)

飼育期間3週間で Grifola gargal1.5%, インスリン注入率3.0mU/kg/minの実験1および6.0mU/kg/minの実験2と飼育期間4週間および Grifola gargal2.0%, インスリン注入率3.0mU/kg/minの実験3とを比較すると, Fru群はインスリン注入率を高くしなければ GIRは高値を示さないが, Control群およびFG群はインスリン注入率が高いほうが, また飼育期間および Grifolagargal 投与量が多いほうが高値を示した。

## 3. GIR (H) (図3)

Fru群は飼育期間3週間で Grifola gargal1.5%の実験1, 2と飼育期間4週間で Grifola gargal2.0%の実験3では大きな差は認められなかったが, Control群およびFG群では実験2では若干低値を示すものの Grifolagargal 投与量の差による影響は認められなかった。またFG群はControl群と同レベルまで回復する傾向が認められた。

## 考察

インスリン抵抗性は生活習慣病である肥満, 高血圧, 2型糖尿病などでみられる病態である。同抵抗性はイ

ンスリンは分泌しているがその感受性が低くなっている状態である。また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1つとして知られているが, その詳細な機構は明らかになっていない。インスリン抵抗性の予防や改善のためにその機構の研究は非常に重要である。

L-clamp (インスリン注入率3.0および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 (インスリン受容体レベルを反映) 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 (インスリン受容体以降のレベルを反映) の指標となる。著者らは, Grifolagargal1の摂取により, FG群のインスリン抵抗性は改善されると予想していた。しかし, 実験1を行った結果, L-clampではGrifolagargal1投与によるインスリン抵抗性による改善はみられなかった。そのため, 実験2ではL-clampのインスリン注入率を6.0mU/kg/minに濃度を上げて実験を行った。結果は, L-clampではGrifolagargal投与による高フルクトース食誘発インスリン抵抗性改善は見られなかったもののH-clampでは改善傾向がみられた。そのためGrifolagargal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と考えられる。さらにGrifolagargal投与によるインスリン感受性およびインスリン反応性への影響を明確にするため, 実験3ではGrifolagargalの投与量を1.5%から2.0%に増やし実験を行った。結果はL-clampおよびH-clampにおいてGrifolagargal投与による高フルクトース食誘発インスリン抵抗性に改善がみられた。そのため, Grifolagargal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。これまでの実験において, FG群におけるL-clampでのGIRを比較すると, 実験3では実験1・2に比べ高値を示し, Control群と同レベルまで改善した。つまり, Grifolagargal投与を増やすことで, インスリン抵抗性の改善がみられた。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, 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。しかし, 実験3の飼育期間は4週間であり飼育期間を長くすることで改善がみられたのか, Grifolagargal投与を増やすことによりインスリン抵抗性の改善がみられたかは定かではないが, 摂取

量を増やすことによりインスリン抵抗性の改善作用は強まる傾向にあると考えられる。今後は Grifolagargal からの成分抽出法や投与する画分、純度、投与量と投与期間についてさらなる検討を加えていく必要がある。

## 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、Grifolagargal 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) 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, Grifolafrondosa water extract alleviates intestinal inflammation by suppressing TNF-alpha 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 Grifolagargal exerts on insulin resistance induced by high fructose diet in rats. *名古屋文理大学紀要*, 11, 113-117 (2011).