

## 高脂肪食投与のメタボリックシンドロームモデルマウス (C57BL/6J) の血糖値と脂質代謝に及ぼす食用キノコの影響

高山 侑樹・寺西 博美・錦見 盛光・古市 幸生

### Effects of Some Edible Mushrooms on Blood Glucose Levels and Lipid Metabolism in C57BL/6J Mice Fed High-Fat Diets.

Yuki TAKAYAMA, Hiromi TERANISHI, Morimitsu NISHIKIMI, and Yukio FURUICHI

#### 緒 言

近年、日本人の食生活は大きく変化し、日本特有の食事内容の欧米化により、脂質摂取量が増加してきている。平成18年度の国民健康・栄養調査によれば、エネルギー摂取量の平均値は、男女共に漸減傾向であるが、脂肪からのエネルギー摂取比率が30%以上の者の割合が、成人男性で約2割、女性で約3割で<sup>1)</sup>、脂質の過剰摂取が伺える。脂質の過剰摂取は、肥満や脂質異常症を引き起こす要因と考えられている。

一方、わが国において急速に進んでいる高齢社会とライフスタイルの欧米化により、糖尿病の罹患率は急激に増加している。厚生労働省「平成19年国民健康・栄養調査結果の概要」によると、糖尿病が強く疑われる人は約890万人、糖尿病の可能性が否定できない人は約1,320万人、合わせて約2,210万人と推定された。したがって、その病態の解明と的確な治療法の開発が社会的にもニーズの高い課題になっている<sup>2)</sup>。

近年、キノコの機能性に関する研究が進み、各種のキノコが示す生理活性、たとえば、血清コレステロール濃度低下、肝障害抑制、抗腫瘍、老人性認知症改善などの多岐にわたる有益な作用が証明されつつある<sup>3)</sup>。

ところで、キノコの脂質代謝改善作用に関しては多くの研究が行われ、有益な機能を有するという成果が数多く報告されている。Kaneda and Tokudaは、食用キノコの脂質代謝に及ぼす影響について、草分け的な研究を行い、シイタケに強い血清コレステロール濃度低下作用があることを明らかにした<sup>4)</sup>。杉山らも11種類のキノコに血漿コレステロール濃度の低下作用を認め、その中でも特にシイタケとニンギョウタケに強い低下作用があり、シイタケの活性本体はエリタデニン (eritadenine) であり、ニンギョウタケのそれはグリフォリンとネオグリフォリンであることを明らかにした<sup>5)</sup>。また、エリタデニンは、体内でコレステロールの代謝を促進し、VLDLおよびLDL-コレステロールを低下させ、HDL-コレステロールを上昇させることを示した<sup>5)</sup>。著者らのグループは、ブナシメジには強い肝臓TG蓄積抑制作用があることを報告してきた<sup>6, 7, 8)</sup>。なお、ブナシメジの機能性に関する研究は比較的少ないが、抗酸化作用や抗腫瘍作用などの報告が見られる<sup>9, 10)</sup>。

本研究でとりあげたハナビラタケ *Sparassis crispa*<sup>11)</sup> は、ハナビラタケ科ハナビラタケ属に属し、自然には関東から北海道の山岳地帯に自生している。10年程前にNKポット方式による人工栽培法が確立され、育種や機能性に関する研究が行われるようになった。ハナビラタケは

比較的多量の $\beta$ -1,3グルカンを含み、抗腫瘍作用、NK細胞賦活作用などを有しており、各種疾病の予防・治療に有用であると考えられている。柴田らは<sup>12,13)</sup>、動物実験（Wistar系ラット）でのOGTT実験により、ハナビラタケによる血糖上昇抑制およびインスリンの分泌促進を報告している。しかし、ハナビラタケ以外のキノコについての抗糖尿病作用に関する研究は少ない。

本研究では、メタボリックシンドロームの予防に資する食材として、最近注目されているハナビラタケを含む3種類のキノコについて、それらを配合した高脂肪食をメタボリックシンドロームのモデルとして汎用されている実験動物であるC57BL/6Jマウスに与え、血糖値および脂質代謝に及ぼす影響について検討した。

## 実験方法

### 1) 実験材料

ハナビラタケは、乾燥した子実体の微粉末（平均粒径 $10\mu\text{m}$ ）で、株式会社かつらぎ産業（和歌山県橋本市）より提供された。原木シイタケとブナシメジについては、子実体を $60^{\circ}\text{C}$ で通風乾燥した後、家庭用ミルにて粉末としたもので、三重県工業技術センター林業研究部より提供されたものを実験に供した。

### 2) 実験動物および飼育方法

6週齢のC57BL/6J雄性マウス（日本エスエルシー株式会社、浜松市）を用いた。飼育には個別金属ケージを使用し、室温 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、明暗調節下（明期：7:00～19:00）の動物飼育室で行った。飲料水には水道水を用いた。

なお、実験動物の飼育・管理は、「名古屋女子大学動物実験規定」と「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準（平成18年4月28日、環境省告示第88号）」に従って実施した。

表1 実験飼料組成表（Wt%）

配合原料	対照群	脂肪普通食群	キノコ粉末群（シイタケ、ハナビラタケ、ブナシメジ）
カゼイン	19.05	19.05	19.05
DL-メチオニン	0.29	0.29	0.29
ラード	28.57	4.76	28.57
大豆油	4.76	4.76	4.76
ビタミン混合物 （AIN-93G）	0.95	0.95	0.95
ミネラル混合物 （AIN-93G）	3.33	3.33	3.33
重酒石酸コリン	0.24	0.24	0.24
セルロース粉末	9.52	9.52	4.76
キノコ粉末	—	—	9.52
粉末ショ糖	33.29	57.1	28.52

### 3) 実験飼料、実験群および分析試料の採取法

設定した5群の実験動物群に投与した飼料の組成を表1に示した。対照群（高脂肪食）にはキノコ粉末の代わりに粉末セルロースを添加した。脂質源としてはラードを用いた。さらに、高脂肪食の効果を確認するために、ラードを4.76%添加した脂肪普通食群も設定した。なお、必須脂肪酸供給への配慮から大豆油も添加した。

実験動物は、導入後1週間の予備飼育を行い、実験飼料で6週間飼育した。1群当たり6匹の動物を使用した。飼育期間中は隔日に体重を測定し、飼料摂取量は残餌量を前回の投与量より差し引いて算出した。

実験期間終了後、絶食期間は設けず摂食条件下の午前中に、エーテル麻酔下で開腹し、腹部大静脈より採血した後、肝臓、腎周囲脂肪、小腸周囲脂肪（採取小腸重量から脂肪組織を除いた組織重量を差し引き算出した。本研究では、これを内臓脂肪とする）を摘出して重量を測定し、-30℃の冷凍庫中に保存した。

### 4) 血清および肝臓脂質の生化学分析法

血清は、遠心分離により得た上清を-20℃で保存し、分析に供した。

血清脂質濃度は、総コレステロール（TC）とトリグリセリド（TG）は市販臨床分析キット（それぞれコレステロールテストワコーおよびトリグリセリドテストワコー、和光純薬工業製）を用いて測定した。

血糖値は、メディセーフミニGR-102（テルモ製）を用いて、採血後直ちに測定した。

肝臓脂質は、Folch法<sup>14)</sup>で総脂質を抽出した後、上記市販臨床キットでは測定時に濁りが生じて用いることができなかったため、TCはフタルアルデヒド-硫酸法<sup>15)</sup>、TGはアセチルアセトン法<sup>16)</sup>により測定した。

### 5) 血清アディポネクチン濃度の測定法

マウス/ラットアディポネクチンELISAキット（大塚製薬株）を用いて測定した。

### 6) 統計処理

データは平均値±標準誤差で示し、群間での有意差の検定は、統計ソフト（NCSS, Windows SP）によるANOVA検定後、TurkeyのHSDテストにより行った。

## 結果と考察

### 1) 飼料摂取量と体重の変化

飼育期間中の飼料摂取量を表2、体重変化を表3に示した。

1日平均飼料摂取量は、5群間で有意差は認められなかったが、シイタケ群とブナシメジ群、特にブナシメジ群は低値を示した。

飼育期間中の動物の成長については、飼料摂取量を反映して、シイタケ群とブナシメジ群で終体重が低値を示し、ブナシメジ群では僅かではあるが、開始時体重からの減少が認められた。

以上のように、有意差は認められなかったがブナシメジ群の飼料摂取量は少なく、体重増加も認められなかった。このような摂取量が少ない理由については、ブナシメジに摂食抑制物質

表2 飼料摂取量 (g/日)

対照群	5.3±1.0
普通食群	4.2±0.8
シイタケ群	3.8±0.9
ハナビラタケ群	4.7±1.0
ブナシメジ群	3.2±0.7
平均値±標準誤差 (n=6)	

表3 マウスの体重変化 (g)

	初体重	終体重
対照群	22.8±0.9	32.3±1.4a
普通食群	21.7±1.0	26.7±0.6b
シイタケ群	22.3±1.1	24.0±0.9bc
ハナビラタケ群	19.9±0.5	26.6±0.8ab
ブナシメジ群	22.9±0.8	22.2±0.4c

平均値±標準誤差 (n=6)

a,b,c; 異なるアルファベット間に有意差あり(p&lt;0.05)

が含まれている可能性があり、今後の検討が必要である。これと関連して、Kawagishiら<sup>17)</sup>は、ヒラタケに摂食抑制物質が含まれていることを示し、その本体がレクチンであることを明らかにしている。なお、大槻らも、ラットを用いた動物実験で、ブナシメジ群の飼料摂取量が少なかったことを報告している<sup>7)</sup>。

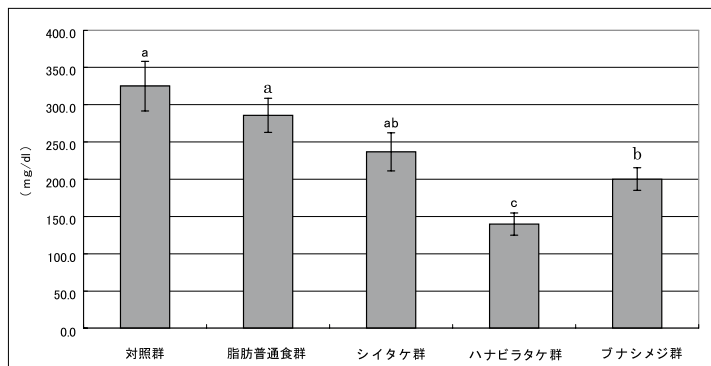
## 2) 血糖値に及ぼす影響

実験期間終了時における血糖値を図1に示した。

対照群と比較して3群のキノコ食で有意に低い値であり、特にハナビラタケ群では、飼料摂取量や成長に問題点がみられなかったにもかかわらず、対照群のほぼ50%に近い値であり、ハナビラタケは優れた血糖上昇抑制作用を有することが示唆された。

緒言でも述べたように、柴田らは、本研究のようなハナビラタケの長期間の投与ではなく、OGTT試験により、ハナビラタケの血糖値上昇抑制作用を示し、さらに血清インスリン濃度を測定して、ハナビラタケはインスリン分泌を促進することによって血糖値上昇を抑制する作用を有することを考察している<sup>12, 13)</sup>。本研究では、血清量との関係でインスリンの測定を行っていないため、インスリン分泌と血糖値の関係は今後の研究課題としたい。なお、一般にキノコには水溶性の食物繊維が比較的多く含まれ、その作用も考えられるが、ハナビラタケの血糖上昇抑制能は顕著であり、他の機能性成分が含まれる可能性は大きいと考えられる。今後子実体成分の分離を行い、機能性成分を特定する必要がある。

以上より、ハナビラタケは優れた血糖上昇抑制作用を有することを明らかにし、それに対する機能性成分として水溶性食物繊維以外の物質が関与している可能性が示唆された。



平均値±標準誤差 (n=6)

図1 血糖値 (mg/dl)

abc; 異なるアルファベット間に有意差あり (p&lt;0.05)

## 3) 肝臓重量および脂肪組織重量に及ぼす影響

体重100 g当たりの肝臓重量および腎臓周囲脂肪重量と内臓脂肪重量は図2に示す通りで

あった。

高脂肪食の対照群と普通脂肪食群の肝臓重量に差は認められなかったが、内臓脂肪重量と腎臓周囲脂肪重量の値は、脂肪普通食群より対照群で高く、特に腎臓周囲脂肪重量で有意に高く、体脂肪蓄積について高脂肪食の効果が確認された。

肝臓重量は、普通脂肪食群とシイタケ群が高値を示し、ハナヒラタケ群は有意に低い値であった。

内臓脂肪重量では、5群間で有意差はみられなかったが、ブナシメジ群が低い値を示し、これには飼料摂取量が少なかったことを反映していることも考えられる。

腎臓周囲脂肪重量では、対照群に比較し、他の4群全てにおいて有意に低い値を示したが、ハナヒラタケの腎臓周囲脂肪蓄積低減作用（体脂肪蓄積抑制作用に相当する）は小さいことが示唆された。なお、ブナシメジ群は他の4群に比較して有意に低い値を示したが、これについても飼料摂取量が少なかったことを反映している可能性がある。

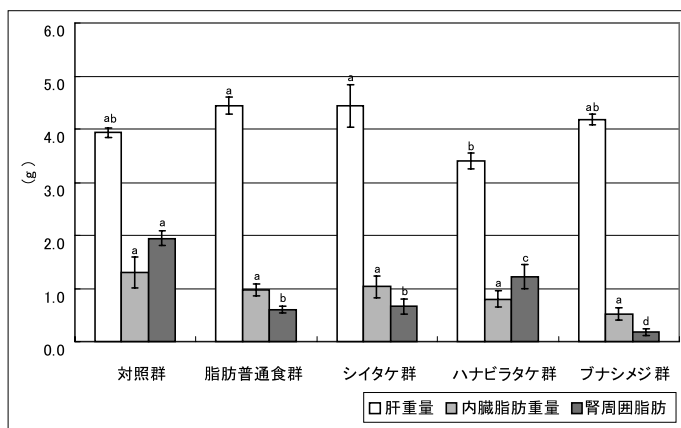
以上より、3種類のキノコには、高脂肪食投与と条件でのメタボリックシンドローム病態モデルマウスにおいては、体脂肪低減作用があることが示唆された。なお、C57BL/6Jマウスを用いたキノコの体脂肪軽減作用に関する報告は少なく、大槻等の報告<sup>8)</sup>がみられるのみである。

#### 4) 血清脂質濃度に及ぼす影響

血清脂質濃度を図3に示した。

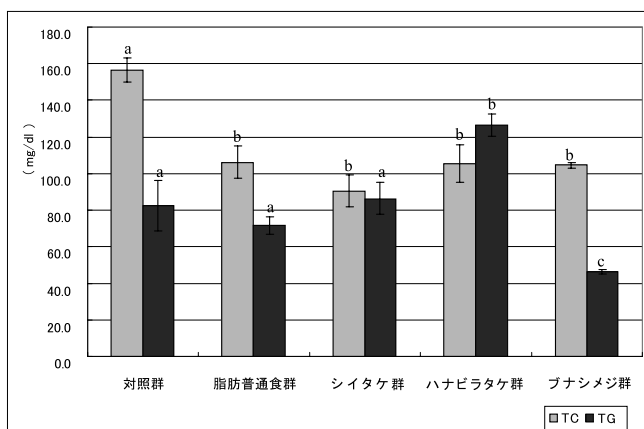
脂肪普通食に比べて高脂肪食である対照群のTCは有意に高く、高脂肪食の効果が確認された。しかし、TGについては普通脂肪食と対照群の間で差は認められなかった。これについては、高脂肪食で肥満するC57BL/6Jマウスでは、TG上昇へ及ぼす高脂肪食の影響が比較的小さいものであることが考えられた。

TCは対照群と比較してキノコの全ての群で有意に低く、これらキノコの血清コレステロール上昇抑制作用が示された。水溶



平均値±標準誤差 (n=6)

図2 肝臓および脂肪組織の重量 (g/100g体重)  
abcd; 異なるアルファベット間に有意差あり (P<0.05)



平均値±標準誤差 (n=6)

図3 血清脂質濃度 (mg/dL)  
abcd; 異なるアルファベット間に有意差あり (P<0.05)

性食物繊維は血清コレステロール上昇抑制作用を有することが認められており、本研究の結果もそれによると考えられるが、シイタケ群については最も低い値であり、これについてはエリタデニンの作用<sup>4, 5)</sup>が大きいものと考えられる。なお、大槻は、ブナシメジの血清T-cho濃度低下のメカニズムを、水溶性食物繊維による胆汁酸の腸管吸収（腸管循環）の阻害、すなわち水溶性食物繊維がその粘性により小腸内腔での胆汁酸の拡散の抑制、あるいは吸着して胆汁酸の糞中排泄を促進することで、連動してコレステロールからの胆汁酸合成が促進し、血清TC濃度が低下するものと考えしている<sup>18)</sup>。

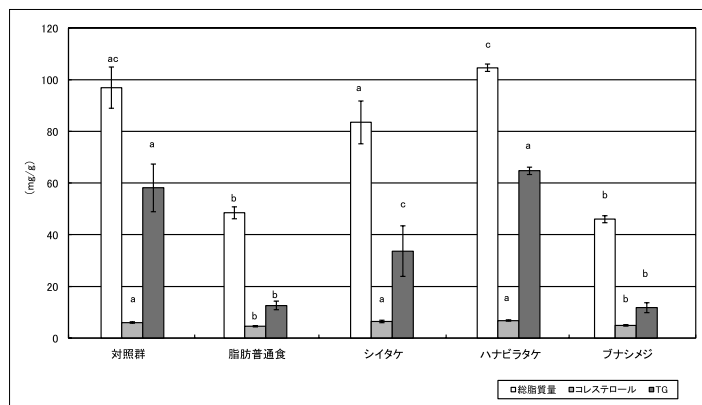
TGについては、ハナビラタケ群が対照群よりも高いことが注目され、次項5)で述べるが、肝臓TG含量も高く、ハナビラタケはTG代謝（肝臓でのTG生成と肝臓からのVLDLとしてのTGの搬出）に影響を及ぼすことが考えられる。なお、ブナシメジ群のTGは対照群より有意に低値であるが、大槻ら<sup>6, 7)</sup>はブナシメジの肝臓TG蓄積抑制作用を示し、血清TGの低下は認めていない。したがって、本研究でのブナシメジの血清TG上昇抑制は、C57/BL6Jに限定してみられるものなのかどうかについて今後の研究が必要である。

以上のように、脂肪普通食と比較して高脂肪食の影響は血清TC濃度の上昇に反映され、3種のキノコによる血清TC濃度の上昇抑制作用が示された。また、ハナビラタケはTG代謝の面で他のキノコとは異なる作用を有することが示唆された。

## 5) 肝臓脂質含量に及ぼす影響

肝臓脂質含量を図4に示した。

普通脂肪食群に対して高脂肪食群である対照群で、総脂質含量の顕著な上昇が示され、高脂肪食の効果が確認された。しかし、TCについては、コレステロールを負荷していない無コレステロール食であることもあり、5群全てについて低い値ではあるが、ブナシメジ群を除く4群間で差は認められず、対照群に対する高脂肪食の影響は認められなかった。



平均値±標準誤差 (n=6)

図4 肝臓脂質含量 (mg/g肝臓)

abcd: 異なるアルファベット間に有意差あり (P<0.05)

総脂質量では、シイタケ群、ハナビラタケ群の両方で対照群と差はなく、ハナビラタケ群では対照群よりも高い傾向であった。これについては、ハナビラタケは肝臓でのTG代謝（TG生成と肝臓のVLDL分泌能）に影響するのかどうか、またこの結果がC57BL/6Jマウスという病態モデルに限るものであるかについても今後の検討が必要である。

TCについては、上述のように、ブナシメジ群を除く4群間で殆ど差は認められなかった。これについては、飼料にコレステロールを負荷した実験を行い、検討する必要がある。

TGについては、前項4)でも触れたように、ハナビラタケの肝臓TG蓄積抑制作用は弱いということが示唆された。これについて、C57BL/6Jマウスという病態モデルに限るものである

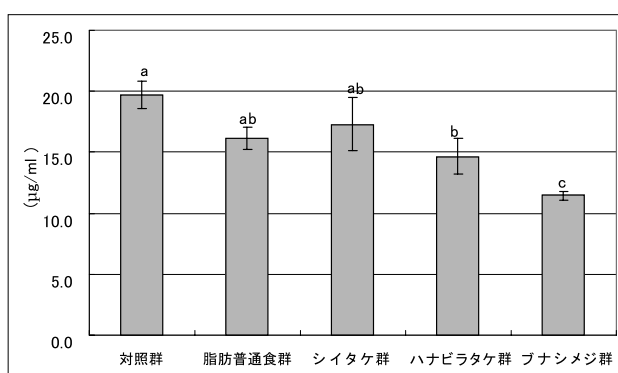
かについて今後の検討が必要である。シイタケについては、大槻ら<sup>6,7)</sup>、杉山ら<sup>5)</sup>は、肝臓TG含量は通常実験動物で顕著に上昇したと報告しているが、本研究では、有意な低値が示された。これについても、C57BL/6Jマウスで観察されるものであるのかどうかについて検討する必要がある。一方、ブナシメジについては、TG蓄積抑制作用が示された。大槻らは<sup>6,7)</sup>、健常ラットを用いた研究で、ブナシメジの肝臓TG蓄積抑制作用を示した。本研究では、大槻ら<sup>8)</sup>と同様に、C57BL/6J病態モデルにおいても、健常実験動物の場合と同様の作用があることが示された。

以上のように、C57BL/6J病態モデルマウスにおいて、ハナビラタケは肝臓TG蓄積作用を有していることが明らかにされ、一方ブナシメジは肝臓TG蓄積抑制作用を有することが確認された。

## 6) 血清アディポネクチン濃度に及ぼす影響

血清アディポネクチン濃度を図5に示した。

対照群が高値を示し、ハナビラタケ群とブナシメジ群は有意な低値を示した。血清アディポネクチン濃度は血清脂質濃度や血糖値との間に逆相関の関係があることが論じられているが、本研究の結果では、そのような傾向は認められなかった。これについても、C57BL/6Jマウスという病態モデルに限定されるものであるのかにつき、健常動物との比較検討が必要である。



平均値±標準誤差 (n=6)

図5 血清アディポネクチン濃度 (μg/ml)  
abcd; 異なるアルファベット間に有意差あり (P<0.05)

## 要 約

メタボリックシンドロームの病態モデル動物の一つであるC57BL/6Jマウスにシイタケ、ハナビラタケ、ブナシメジの3種類のキノコの子実体粉末を配合した高脂肪食を継続投与し、血糖値と脂質代謝に及ぼす影響について比較・検討した。得られた結果は以下に示す通りである。

(1) ブナシメジ群の飼料摂取量は少なく、体重増加は認められなかった。これについては摂食抑制物質が含まれている可能性が示唆された。(2) ハナビラタケは優れた血糖上昇抑制作用を有することが示された。(3) 3種のキノコは体脂肪低減作用を有することが示された。(4) 3種のキノコに共通して、血清TC上昇抑制作用が認められた。(5) ブナシメジとは異なり、ハナビラタケには肝臓TG蓄積作用が認められた。(6) 血清アディポネクチン濃度と血清生化学分析値の間に説明可能な関係は認められなかった。

## 参考文献

- 1) <http://www.mhlw.go.jp/shingi/2009/05/dl/s0501-4c.pdf> 厚生労働省 平成19年国民健康・栄養調査結果の概要（2009）
- 2) 川井弘光：分子糖尿病学の進歩 基礎から臨床まで、金原出版株式会社、序（2001）
- 3) 河岸洋和：キノコの機能性研究の最先端、食の科学、296号、4-12（2002）
- 4) Kaneda T. and Tokuda S：Effects of various mushroom preparations on cholesterol levels in rats, *J. Nutr.*, 90, 371-376（1966）
- 5) 杉山公男、佐伯 茂、田中明雄、吉田知史、坂本秀樹、石黒幸雄：ニンギョウタケ（*Polyporus Confluens*）の血漿コレステロール低下作用、日本栄養・食糧学会誌、45、265-270（1992）
- 6) 大槻 誠、梅下和彦、苔庵泰志、西井孝文、坂倉 元、柳田晃良、古市幸生：ラット脂質代謝に及ぼす食用キノコの作用、日本食品科学工学会誌、53、612-618（2006）
- 7) 大槻 誠、梅下和彦、苔庵泰志、西井孝文、坂倉 元、柳田晃良、久松 眞、古市幸生：ラット脂質代謝に及ぼすブナシメジ（*Hypsizigus marmoreus*）の影響、日本きのこ学会誌、15、69-74（2007）
- 8) 大槻 誠、梅下和彦、苔庵泰志、西井孝文、坂倉 元、柳田晃良、久松 眞、古市幸生：C57BL/6Jマウス脂質代謝に及ぼすブナシメジの作用、日本食品科学工学会誌、54、167-172（2007）
- 9) 松澤恒友、佐野満昭、富田 勲：ブナシメジの抗酸化作用に関する研究（第1報）ブナシメジ摂取マウス血漿の抗酸化活性、薬学雑誌、117、623-628（1997）
- 10) 松澤恒友、斎藤英晴、佐野満昭、富田 勲、大川勝徳、池川哲郎：ブナシメジの抗酸化作用に関する研究（第2報）ブナシメジ摂取担癌マウス血漿の抗酸化活性、薬学雑誌、118、476-481（1998）
- 11) 中村肇男：食の科学、(株)光琳 No.296、36-38（2002）
- 12) 柴田 勝、山本 肇、林征雄、羽根沙緒里、久保正秀、久保貴弘、鈴木郁功、長谷川正俊、高 明：ハナビラタケ（*Sparassis crispa* Wulf.Fr）微粉末の血糖とインスリン濃度に及ぼす影響、東方医学、22、第4号別冊：33-43（2006）
- 13) 宇野智子、柴田勝、佐藤祐造：ハナビラタケの耐糖能に及ぼす影響（第1報）、日本体質医学会雑誌別冊刷、70、12-14（2008）
- 14) Folch, J., Lees, M., and Sloane-Stanley, G. H. A.：A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues., *J. Biol. Chem.*, 226, 497-509（1957）
- 15)  $\alpha$ -フタルアルデヒド法：*Anal. Biochem.*, 29, 143（1969）
- 16) Fletcher, M. J.：A colorimetric method for estimating serum triglycerides. *Clin. Chem. Acta*, 22, 393-397（1968）
- 17) Kawagishi H., Suzuki H., Watanabe H., Nakamura H., Sekiguchi T., Murata T., Usui T., Sugiyama K., Sukanuma H., Inakuma T., Ito K., Hashimoto Y., Ohnishi-Kameyama M., and Nagata T.：A lectin from an edible mushroom *Pleurotus ostreatus* as a food intake-suppressing substance. *Biochim. Biophys. Acta*, 1474, 299-308（2000）
- 18) 大槻 誠：ブナシメジの脂肪肝予防作用、*FOOD STYLE* 21、11、57-59（2007）

## 謝 辞

本研究を行うに当たり、ブナシメジ粉末と原木シイタケ粉末を提供して頂いた三重県工業技術センター林業研究部（三重県津市白山町）の西井孝文氏、ハナピラタケ微粉末を提供して頂いた(株)かつらぎ産業（和歌山県橋本市）に感謝します。なお、本研究は平成19・20年度（古市幸生）および平成21・22年度越原学園名古屋女子大学特別研究助成（錦見盛光・代古市幸生）により実施されたものであり、記して感謝の意を表します。また、本研究における動物実験、

生化学分析などを鋭意手伝っていただきました平成22年3月卒業生の市川紗織、伊藤千穂、伊藤ゆりえ、奥村直美、鈴木智絵、田島寛子、中垣有紀子、福井友子、藤本菜奈生、森屋真未の皆さんにお礼を申し上げます。

