

2型糖尿病マウスにおける靈芝菌糸体培養培地抽出物の糖負荷後の  
血糖上昇抑制効果と食後過血糖改善薬との併用効果  
Inhibitory Effects of a Water-Soluble Extract from Culture Medium of  
*Ganoderma lucidum* (Rei-shi) Mycelia on Postprandial Blood Glucose  
5 Elevation in Type 2 Diabetic Mice and Additional Effect with  $\alpha$ -Glucosidase  
Inhibitors

川原由紀子<sup>a</sup>, 神内伸也<sup>a</sup>, 岡崎真理<sup>a</sup>, 岩田直洋<sup>a</sup>, 臼井達洋<sup>a</sup>, 玄 美  
燕<sup>a</sup>, 鈴木史子<sup>b</sup>, 飯塚 博<sup>b</sup>, 日比野康英<sup>a,\*</sup>  
10 Yukiko KAWAHARA<sup>a</sup>, Shinya KAMIUCHI<sup>a</sup>, Mari OKAZAKI<sup>a</sup>, Naohiro  
IWATA<sup>a</sup>, Tatsuhiro USUI<sup>a</sup>, Meian XUAN<sup>a</sup>, Fumiko SUZUKI<sup>b</sup>, Hiroshi  
IIZUKA<sup>b</sup>, Yasuhide HIBINO<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> 城西大学薬学部医療栄養学科生体防御学講座  
15 (350-0295 埼玉県坂戸市けやき台 1-1)

<sup>b</sup> 野田食菌工業株式会社  
(278-0051 千葉県野田市七光台 295)

<sup>a</sup>Laboratory of Immunobiochemistry, Department of Clinical Dietetics &  
Human Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University,  
20 Saitama 350-0295, Japan

<sup>b</sup>Noda Shokukinkogyo Co. Ltd., 295 Nanakohdai Noda, Chiba 278-0051, Japan

\*Corresponding author

350-0295 埼玉県坂戸市けやき台 1-1

Tel: 049-271-7285

25 Fax: 049-271-7284

E-mail:seitaib@josai.ac.jp

キーワード：靈芝菌糸体培養培地抽出物（WER）、糖質分解酵素、KK-A<sup>y</sup>  
マウス、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤、食品医薬品相互作用

Key words: water-soluble extract of *Ganoderma lucidum* mycelia (WER);  
saccharidase; KK-A<sup>y</sup> mouse;  $\alpha$ -glucosidase inhibitor; food-drug interaction

## はじめに

糖尿病は、生体において最も重要なエネルギー源であるグルコースの代謝異常を生じる疾患であり、病態の進行に伴い網膜症や腎症などの合併症を誘発し、また動脈硬化病変の促進による冠動脈疾患、脳梗塞、末梢血管の狭窄などのリスクを増大させる。我が国をはじめとした先進国において深刻な問題となっている2型糖尿病は、インスリン分泌異常とインスリン感受性の低下を示し、発症には遺伝的要因とともに生活習慣が深く関わっている。2型糖尿病の初期では、空腹時血糖値が正常もしくは軽度の上昇にとどまっている一方で、食後の過血糖が生じることが知られている。この食後過血糖の改善を目的に、現在アカルボースやボグリボース等の $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤が広く使われている。 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤は、食物中の糖質を分解する時に分泌される $\alpha$ -グルコシダーゼの作用を抑制する働きがあり、食前に服用すると消化管での糖質の分解・吸収を遅延し、食後の血糖値の急激な上昇を抑制する。

靈芝菌糸体培養培地抽出物（WER）は、サルノコシカケ科に属するマンネンタケ (*Ganoderma lucidum*) の菌糸体を固形培地に接種し、一定期間培養後、子実体発生直前に培地と共に熱水抽出・乾燥したもので、滋養強壮を目的とした健康食品として用いられている。マンネンタケあるいはその成分は、非常に広範な生理学的活性を示し、免疫調節作用<sup>6)-8)</sup> や抗悪性腫瘍作用<sup>9)-11)</sup>、抗ウィルス作用<sup>12)</sup>、コレステロール低下作用<sup>13)</sup>、抗酸化作用<sup>14)</sup>などが実験的にも証明されている。また、血糖降下作用についてもいくつかの報告がある<sup>15)16)</sup>。これまで靈芝を用いた研究の多くが、マンネンタケの子実体を材料として用いられている一方で、子実体よりも短期間で培養可能な菌糸体成分を由来とするWERの生物学的活性に関する検証は十分ではない。WERは、マンネンタケの菌糸体成分以外にも水溶性リグニンをはじめとした菌糸細胞による固形培地の分解物や菌糸体の自己消化成分等を含有しており、これらの多様な成分がWERの生物学的活性を修飾していると考えられる。我々はこれまでに、WERが $\alpha$ -グルコシダーゼ活性阻害作用を有し、正常血糖マウスにおいてマルトースおよびデンプンの負荷による血糖上昇を抑制することを明らかに

している<sup>3)</sup>。この結果は、WER が食後過血糖改善作用を示す機能性食品としての可能性を示唆している。そこで、本実験では、軽度糖尿病患者による WER の利用を想定し、2 型糖尿病モデル動物である KK-A<sup>y</sup> マウスを用いて WER の血糖上昇抑制作用を調査した。さらに、軽度糖尿病患者に対して処方頻度の高い食後過血糖改善薬との同時服用による相互作用の有無を見極めるため、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬であるボグリボースまたはアカルボースと WER の併用効果について *in vitro* および *in vivo* の両実験系を用いて検討した。

10

## 材 料・方 法

### 1. 実験材料

本研究に用いた WER は、野田食菌工業（株）において製造された「MAK」を使用した。その調製法は、次に示すとおりである。バガス（砂糖キビ搾汁残渣）と脱脂した米糠の混合固形培地（バガス：米糠 = 9 : 1, w/w）に靈芝菌糸体を接種し、約 3.5 ヶ月間培養後、子実体発生直前に菌糸の蔓延した培地ごと破碎し、60°C の温水で懸濁、熱水抽出した。得られた抽出物を珪藻土上で濾過した後、メンブランフィルター（0.45 μm）にて濾過滅菌し、濾液の噴霧乾燥品を WER とした。

20 2. 実験動物

すべての実験動物は、環境省の「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」および「城西大学動物実験規定」に従って行った。雌性 KK-A<sup>y</sup> マウス（5 週齢、日本エスエルシー、浜松）を温度 23±2°C、湿度 55±10%、照度サイクル 12 時間（明期 7:00～19:00）の環境下、固形飼料（CE-2、日本クレア、東京）および水を自由に摂取させた。1 週間の予備飼育の間に経口投与に馴化させ、摂食時血糖値が 200 mg/dL 前後に上昇するまで飼育し実験に用いた。

### 3. 経口糖負荷試験

30 KK-A<sup>y</sup> マウス（摂食時血糖値が 195～230 mg/dL の範囲内の値を示すマウス）を対照群と WER 投与群（各 n = 10）に無作為に分けて実験に

用いた。実験日前日から 17 時間絶食させ、翌日 a.m. 10 時に WER (1 g/kg, 蒸留水に溶解) を胃ゾンデにて経口投与した。対照群には同様に蒸留水を投与した。WER の投与から 30 分後に蒸留水またはグルコースあるいはマルトース、スクロース、可溶性デンプン (各 2 g/kg) の糖負荷を行った。WER 投与直前 (-30 分)、糖負荷後 0、30、60、90 および 120 分に尾静脈から採血し血糖値を測定した。WER の単独投与実験では、WER 投与 30 分前、WER 投与直後 (0 分)、投与 30、60、90、120 分において測定した。血糖値の測定には、簡易型血糖値測定器 (デキスターZII、バイエル薬品、大阪) を用いた。

WER と食後過血糖改善薬の併用効果の判定のために、経口糖尿病薬として国内で使用されている $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤のアカルボース (グルコバイ<sup>®</sup>錠 50、バイエル薬品、大阪) およびボグリボース (ベイスン<sup>®</sup>錠 0.2, 武田薬品工業、大阪) を用いた。錠剤を破碎し粉末状にしたもの蒸留水に溶解、遠心分離 (3000 rpm, 10 min) した上清を濾過 (DISMIC<sup>®</sup>; メンブレンフィルターユニット 0.45 μm, アドバンテック東洋、東京) した。ボグリボース (0.1 mg/kg) またはアカルボース (16 mg/kg) を単独あるいはWER (1 g/kg) と混合して、または事前にWER を投与した後、上記と同様に経口投与して血糖値を測定した。また、血糖値曲線下面積 (area under the curve: AUC) を算出した。

20

#### 4. マルターゼ阻害活性の測定

##### 4.1 マルターゼ溶液の調製方法

ラット腸管アセトン粉末 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) を56 mM マレイン酸緩衝液 (pH 6.0) に加え10倍に希釀したものを氷中でポリトロンホモジナイザーにより均質化した後、遠心分離 (1100×g, 10 min, 4°C) し、その上清をマルターゼ溶液とした。また、この酵素溶液を沸騰水中で 20 分間加熱したものを不活性化酵素溶液とした。

##### 4.2. マルターゼ阻害活性の測定

WER 溶液 20 μL(0-100 mg/mL) と 2% マルトース溶液 20 μL を混和し、37°C で 5 分間プレインキュベーションした後、酵素溶液 20 μL を加え

37°Cで30分間反応させた。すべて56 mM マレイン酸緩衝液 (pH 6.0) に溶解し調製した。反応後、沸騰水中で10分間加熱し酵素を失活させ反応を停止させた。反応液を遠心分離 (1100×g, 10 min, 4°C) し、上清中のグルコース量をグルコース CII - テストワコー (和光純薬工業, 大阪) を用いて測定した。また、ボグリボースおよびアカルボースによるマターゼ阻害活性の測定も同様に行った。

不活性化酵素溶液を加えたものをブランク、また WER 溶液の代わりに緩衝液を加えたものを対照とした。対照におけるグルコース生成量を 100%として酵素阻害活性 (%) を算出した。

10

## 5. 統計計算

データの数値は全て平均値±標準偏差で表した。対照群と処置群間の有意差は一元配置分散分析および多重比較、あるいは Student's *t*-test により検定した。*p* 値 0.05 を有意差の判定基準とした。

15

## 結 果

### 1. KK-A<sup>y</sup>マウスにおける糖負荷後の血糖値上昇に対する WER の抑制作用

まず、KK-A<sup>y</sup>マウスの空腹時血糖に対する WER (1 g/kg) の影響を検討した。WER を投与した群では、対照群である蒸留水を投与した群と同様に WER 投与 30 分前から測定終了時点まで血糖値の推移にほとんど差が認められなかったことから、WER は空腹時血糖に影響しないことが確認された (図 1)。

次に、グルコース、マルトース、スクロース、および可溶性デンプン (各 2 g/kg) 負荷後の血糖値上昇に対する WER の作用を検討した。グルコースの負荷を行った場合、WER 投与群の血糖値の上昇は対照群と比較して差は認められなかった (図 2)。マルトース負荷では、負荷前 108.5±26.4 mg/dL であった血糖値が負荷後 30 分に 351.3±23.4 mg/dL にまで急激に上昇し、マルトース負荷後 60、90 分後にそれぞれ 329.0±19.4、

223.8±20.7 mg/dL と推移した。一方、WER (1 g/kg) 投与群では、マルトース負荷後 30 分、60 分、90 分において、それぞれ 302±10.4、230.5±21.2 および 173.0±28.3 mg/dL を示し、対照群と比較して有意な血糖値上昇抑制効果が認められた ( $p<0.01$ ) (図 3)。マルトース負荷における WER 投与群の血糖値曲線下面積 (AUC) は、対照群に比べ 18 %の有意な減少が認められた ( $p<0.01$ ) (図 4)。一方、血糖値の推移に関するデータは示さないが、スクロースおよび可溶性デンプンを負荷した場合では WER による血糖値上昇抑制効果は認められず、AUC に関しても対照群との間に差はなかった。

10

## 2. *In vitro* での WER および食後過血糖改善薬のマルターゼ活性阻害作用

15 *In vitro* 実験系において、マルターゼ活性阻害作用について検討を行った。その結果、WER は濃度依存的にマルターゼ活性を阻害し、その 50 %阻害濃度 ( $IC_{50}$ ) は、58.6 mg/mL であった。一方、食後過血糖改善薬であるボグリボースとアカルボースのマルターゼ阻害作用 ( $IC_{50}$ ) は、それぞれ 0.09  $\mu$ g /mL および 0.67  $\mu$ g /mL であり、WER と比べて極めて低用量でマルターゼ活性をほぼ完全に阻害した (図 5)。

## 20 3. *In vitro* での糖質分解酵素阻害作用における WER と食後過血糖改善薬の併用効果

ボグリボースまたはアカルボースと WER の混合液についてマルターゼ活性阻害作用を検討した (図 6A および 6B)。単独で約 30%阻害率を示すボグリボース 0.035  $\mu$ g/mL と WER (0-100 mg/mL) を混合すると、WER の濃度に依存して阻害率が上昇し、WER の濃度が 100 mg/mL のとき、約 65%の阻害率を示した。また、単独で阻害率が約 60%である 0.1  $\mu$ g/mL ボグリボースと 100 mg/mL WER の混合液は約 75%の阻害作用を示した。しかし、約 90%の阻害率を示すボグリボース 1.0  $\mu$ g/mL においては、WER の混合による増強は認められなかった。一方、アカルボース

と WER の混合液のマルターゼ活性に対する阻害作用では、単独で約 20% 阻害率を示すアカルボース 0.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  と WER (0-100 mg/mL) を混合すると、WER の濃度に依存して阻害率が顕著に上昇し、WER の濃度が 100 mg/mL のとき、約 65% 阻害率を示した。また、単独で阻害率が約 5 50% である 0.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  アカルボースと 100 mg/mL WER の混合液では、約 80% の阻害作用を示した。しかし、約 80% の阻害率を示すアカルボース 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  においては、WER による阻害作用の増強は認められなかった。

#### 4. KK-A<sup>y</sup>マウスにおける糖負荷後の血糖上昇に対するWERと食後過血 10 糖改善薬の併用効果

KK-A<sup>y</sup>マウスにおいて、マルトース負荷後の血糖上昇に対するボグリボース (0.1 mg/kg) 単独およびボグリボースと WER (1 g/kg) との併用による効果の検討を行った(図7)。マルトース (2 g/kg) 負荷時に  $93.0 \pm 20.0$  mg/dL であった対照群の血糖値は、マルトース負荷後30分には  $382.6 \pm 30.6$  mg/dL 15 まで急激に上昇し、60、90、120分ではそれぞれ  $389.4 \pm 59.0$ 、 $326.4 \pm 61.6$ 、 $231.8 \pm 41.9$  mg/dL であった。これに対して、マルトース負荷直前にボグリボースを投与した群の30～120分の血糖値は  $235.0 \pm 26.9$ 、 $240.5 \pm 39.3$ 、 $209.8 \pm 78.5$ 、 $150.0 \pm 36.4$  mg/dL であり、マルトース負荷後30、60分において有意に血糖値の上昇が抑制され、90、120分においても抑制傾向が認められた(図7A)。また、ボグリボースを単独投与した場合のAUCは対照群と比較して 36 % 有意に減少した(図7B)。一方、WERとボグリボースを同時に経口投与した群のマルトース負荷後30～120分の血糖値は、 $100.0 \pm 12.8$ 、  
20  $395.8 \pm 32.6$ 、 $397.8 \pm 34.4$ 、 $294.2 \pm 34.4$ 、 $194.2 \pm 51.0$  mg/dL であり、ボグリボース単独投与群で見られた血糖降下作用は消失し(図7A)、AUCにおいても対照群との間に差は認められなかった(図7B)。しかし、WERをボグリボース投与30分前に経口投与した場合、マルトース負荷後30～120分の血糖値は、 $334 \pm 40.5$ 、 $334.2 \pm 38.9$ 、 $224.2 \pm 38.0$ 、 $201.2 \pm 39.2$  mg/dL と低下傾向を示すようになり、さらに60分前投与ではほぼボグリボース単独の作用に相当する有意な血糖降下作用を示した(図7A)。また、AUCも経時的に減少し60分前投与で対照群と比較して 26% 有意に減少した(図7B)。

続いて、マルトース負荷に対するアカルボース (16 mg/kg) 単独およ

びアカルボースと WER (1 g/kg) との併用効果の検討を行った (図 8)。マルトース負荷直後、対照群の血糖値は  $99.8 \pm 8.0$  mg/dL であったが、マルトース負荷 30 分後には、 $380.2 \pm 54.0$  mg/dL まで急激に上昇し、60、90 分後にそれぞれ  $318.6 \pm 72.3$ 、 $226.0 \pm 66.3$  mg/dL となった。一方、マルト 5 プース負荷直前にアカルボースの投与を行った群の糖負荷後 30 分の血糖 値は  $213.6 \pm 28.0$  mg/dL であり、対照群と比較し有意に血糖値の上昇が抑 制された (図 8A)。また、WER とアカルボースの混合液を経口投与した 群におけるマルトース負荷後 30 分の血糖値は  $210.2 \pm 34.2$  mg/dL であり、 対照群と比較して有意な血糖上昇抑制を示し、その抑制効果はアカルボ 10 プース単独投与群と同程度であった (図 8A)。アカルボース単独投与群の AUC は対照群と比較して 15 %、また、アカルボースと WER との併用群 においては 25 %の有意な減少が見られたものの、アカルボース単独群と アカルボースと WER の併用群の間に有意差は認められなかった (図 8B)。

## 15

## 考 察

経口摂取された糖質は、小腸粘膜上皮において最終的な消化を受け、 刷子縁から吸収される。刷子縁上には、マルターゼやスクラーゼなどの  $\alpha$ -グルコシダーゼ (二糖類加水分解酵素) が存在し、二糖類を单糖類に 分解する。 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤は、酵素の活性部位に結合し、二糖 20 類の結合を拮抗的に阻害することにより、糖質の消化・吸収を遅延させ、 食後過血糖を改善する薬剤である。この薬剤は、食後以外の血糖値には 影響せず低血糖を誘発しないため、空腹時血糖が良好であるが食後血糖 が高値を示す 2 型糖尿病患者に第一選択薬として多く用いられている。

一方、靈芝はさまざまな生理活性を示すことがこれまでの実験で証明 25 されている。本研究で用いた靈芝菌糸体を接種した培養培地から抽出さ れた WER は、民間療法の使用例から血糖降下作用についても報告がな されており、我々はこれまでに WER が  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を 有すること、また正常血糖マウスにおけるマルトース負荷後の血糖上昇 30 に対して WER が比較的マイルドな抑制作用を示すことを明らかにして いる<sup>3)</sup>。本研究では、このような WER の食品機能を実際に利用する場 合を想定し、軽度糖尿病態での WER の作用を明らかにすることを目的

とし、2型糖尿病モデルである KK-A<sup>y</sup>マウスを用いて、単回糖負荷による血糖上昇に対する WER の抑制作用について検討を行った。

今回の実験結果は、WER が KK-A<sup>y</sup>マウスの空腹時血糖値に影響を与えることなくマルトース負荷による血糖値の上昇を抑制し、対照群と比較し AUC を有意に減少させることを示した。また、グルコース負荷時には WER 投与群と対照群の血糖値の推移に差は認められなかつたことから、WER はグルコースの吸収過程には影響しないことが示唆された。

今回用いた KK-A<sup>y</sup>マウスの血糖値は、空腹時（17 時間絶食後）では 100～130 mg/dL 前後であったが、糖負荷後 30 分には約 400 mg/dL まで急激に上昇し、顕著な食後過血糖が生じていると考えられた。WER は、このような病態モデルにおいてもマルトース負荷による血糖値の上昇に対して抑制作用を示した。我々のこれまでの研究結果を統合すると、WER は正常血糖マウスだけでなく、糖尿病モデルマウスにおいても空腹時血糖に影響することなく、マルトース負荷後の血糖値上昇を抑制することが明らかになった。

今回の *in vivo* および *in vitro* の実験結果から、WER のマルトース負荷時の血糖上昇抑制作用は、腸管におけるマルターゼ阻害作用によるものであることが推測される。これまでにもマンネンタケ成分の血糖降下作用については、種々の報告がなされている。Hikino ら<sup>17) 18)</sup> は、マンネンタケ子実体に含まれる分子量約 3,000 の多糖類であるガノデラン A および B が、マウスの血糖降下作用を示すことを明らかにしている。また、特異的かつ強力な  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を示す成分（SKG-3）の単離も試みられている<sup>19)</sup>。WER には、多糖体、プロテオグリカン、テルペノイドなどのマンネンタケ菌糸体由来成分に加え、菌糸体による固体培地の分解物である水溶性リグニンや菌糸体の自己消化成分などの水溶性生理活性成分が含まれていることが明らかになっている。

WER 中の血糖上昇抑制作用を示す物質が  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤と類似した作用機序を示すと考えられることから、食品と医薬品の相互作用の観点から、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤と WER の同時服用による相互作用について検討するため、アカルボースあるいはボグリボースと WER との併用効果を調査した。*In vitro* の実験系において、アカルボースと

WER の混合液のマルターゼ活性への影響について検討したところ、単独で約 20 %または約 50 %の阻害作用を示す比較的低濃度のアカルボースに WER を混合した場合は、WER の濃度に依存した阻害率の上昇が認められた。一方、約 80 %の阻害作用を示す高濃度のアカルボースに WER を混合した場合では、阻害率の上昇は認められず、WER はアカルボースの作用に影響しなかった。ボグリボースにおいても、その濃度上昇に伴い、WER の濃度に依存した阻害率の上昇は認められなくなった。以上の結果から、*in vitro* の実験条件では、低濃度の  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤と WER を併用すると、WER の濃度に依存してマルターゼ阻害作用が増強されるものの、効果量の  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤に WER が共存しても作用は増強されないことが明らかになった。

続いて、KK-A<sup>y</sup>マウスを用いて  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤と WER の併用効果について検討を行った。これまでに我々は、正常血糖の ICR マウスを用いた実験において、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤と WER を併用した場合、アカルボースおよびボグリボース単独による血糖上昇抑制効果と同程度か、もしくは若干減弱するがほとんど影響がないことを明らかにしている<sup>3)</sup>。一方、今回の KK-A<sup>y</sup>マウスを用いた実験では、アカルボースと WER を併用した場合には、アカルボース単独の場合と同程度の血糖値上昇抑制作用を示したが、ボグリボースと WER の同時投与の場合には、血糖値上昇抑制作用が完全に消失した。しかし、WER の投与時期をボグリボース投与 30 分前、60 分前と間隔時間を長くするに従って血糖降下作用が徐々に回復することが明らかになった。従って、ボグリボースの効果を損なわないとには、WER はボグリボース服用の 60 分前まで投与する必要があると考えられる。正常血糖マウスではこのような相互作用が認められなかつたことから、この現象は KK-A<sup>y</sup>マウスにおける 2 型糖尿病状態時にボグリボースと WER に含まれる何らかの物質との相互作用によるものと考えられるが、現時点でのメカニズムの詳細については明らかではない。一方、効果量のアカルボースと WER を併用しても、アカルボース単独群と比較して有意な血糖降下作用は認められないことから、WER とアカルボースの同時服用については安全性を確認することができた。

出口ら<sup>20)</sup>は、正常血糖マウスを用いてボグリボースおよびアカルボースの効果量に食後血糖上昇抑制作用を示すグアバ葉抽出物を併用しても薬剤の作用に影響を及ぼさないことを報告している。しかし、本研究結果から、このような健康食品と医薬品の相互作用に関する安全性の評価  
5 には、病態モデル動物を用いた実験も併せて行う必要があることが示唆された。

以上の結果から、WER は  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害活性を有し、2 型糖尿病状においても比較的緩やかな食後過血糖改善作用を示す有効な健康食品であることが明らかになった。 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤は、副作用  
10 である腹部膨満、鼓腸、便秘、下痢などが現れた場合や血糖コントロールが不十分な場合は、使用量を減量あるいは增量する必要がある。このような場合において WER と薬剤を適切に併用できれば、副作用を回避して血糖値を効果的にコントロールできる可能性が考えられる。また、動物実験において効果量の  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤に WER を併用しても低血糖など際立った影響を与えないことから、薬物との相互作用の観点において WER の安全性を確認することが出来た。一方、ボグリボースで認められたように、薬物によっては、モデル動物に依存して WER  
15 の同時服用が薬剤の効果に大きく影響する可能性が示唆された。

今後もこのような動物実験レベルでの取り組みによって、健康食品を  
20 安全かつ効果的に利用するための基礎データが提供できるものと考える。

## 結論

WER は、2 型糖尿病モデルマウスに対して  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用による食後過血糖改善効果を示す有用な機能性食品であることが示唆された。さらに、正常血糖マウスにおいてはボグリボースあるいはアカルボースと WER の併用による血糖上昇抑制作用の増強や減弱は認められなかったのに対して、2 型糖尿病マウスでは、WER の同時服用によってボグリボースの血糖上昇抑制効果がほぼ完全に消失した。これらの結果より、WER を同時服用した場合、薬物によっては食後過血糖改善作用  
30 に影響を与える可能性が示唆されたことから、今後機能性食品の使用時には、医薬品との相互作用の有無にも注意を喚起する必要がある。

## 参考文献

- 1) 出口ヨリ子, 長田邦子, 内田和美ら. グアバ葉熱水抽出物の db/db マウスにおける抗糖尿病効果およびヒト飲用試験による食後血糖値上昇抑制効果. 日本農芸化学雑誌. 1998; 72: 923-931.
- 5 2) 寺本哲子, 沖直子, 草野崇一. マテ (*Ilex paraguariensis*) 葉抽出物の糖類阻害作用およびラットにおける糖負荷後の血糖上昇抑制作用. 日本栄養・食糧学会雑誌. 2005; 58: 17-21.
- 10 3) 白井達洋, 岡崎真理, 神内伸也ら. 霊芝菌糸体培養培地抽出物の糖負荷後の血糖上昇抑制効果と食後過血糖改善薬との併用効果. 日本栄養・食糧学会誌. 2007; 60(5): 249-255.
- 4) 岡崎真理, 田中愛子, 八田侑子ら. 霊芝菌糸体培養培地抽出物の抗酸化活性とストレプトゾトシン糖尿病マウスにおける改善効果. 日本補完代替医療学会誌. 2008; 5(3): 209-218.
- 15 5) 神内伸也, 八田侑子, 宮里朱音ら. 2型糖尿病マウスにおける靈芝菌糸体培養培地抽出物の血糖上昇抑制効果. 日本補完代替医療学会誌. 2010; 7(1): 35-42.
- 6) 中川育也, 日比野康英, 大橋康宏ら. マンネンタケ (靈芝) 菌糸体培養基より得られるヘテロ多糖・蛋白質画分 (MTP2) によるマウス脾細胞の傷害活性の増強. Biotherapy 1999; 13: 513-515.
- 20 7) Kohguchi M, Kunikata T, Watanabe H, et al. Immuno-potentiating effects of the antler-shaped fruiting body of *Ganoderma lucidum* (Rokkaku-Reishi). Biosci Biotechnol Biochem 2004; 68: 881-887.
- 8) Zhu XL, Lin ZB. Effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on proliferation and cytotoxicity of cytokine-induced killer cells. Acta Pharmacol Sin 2005; 26(9): 1130-1137.
- 25 9) Lu H, Kyo E, Uesaka T, et al. A water-soluble extract from cultured medium of *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia suppresses azoxymethane-induction of colon cancers in male F344 rats. Oncol Rep 2003; 10: 375-379.
- 30 10) Kubo N, Myojin Y, Shimamoto F, et al. Protective effects of a

- water-soluble extract from cultured medium *Ganoderma lucidum* (Rei-shi) mycelia and *Agaricus blazei* murill against X-irradiation in B6C3F1 mice:increased small intestinal crypt survival and prolongation of average time to animal death. Int J Mol Med 2005; 15: 401-406.
- 5 11) Gao Y, Gao H, Chan E, et al. Antitumor activity and underlying mechanisms of ganopoly, the refined polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*, in mice. Immunol Invest 2005; 34(2): 171-198.
- 10 12) Liu J, Yang F, Ye LB, et al. Possible mode of action of antiherpetic activities of a proteoglycan isolated from the mycelia of *Ganoderma lucidum* in vitro. J Ethnopharmacol 2004; 95(2-3): 265-272.
- 13) Hajjaj H, Macé C, Roberts M, et al. Effect of 26-oxygenosterols from *Ganoderma lucidum* and their activity as cholesterol synthesis inhibitors. Appl Environ Microbiol 2005; 71(7): 3653-3658.
- 14) Wong KL, Chao HH, Chan P, et al. Antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* in acute ethanol-induced heart toxicity. Phytother Res 2004; 15 18(12): 1024-1026.
- 15) Zhang HN, Lin ZB. Hypoglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides. Acta Pharmacol 2004; 25(2): 191-195.
- 20 16) Kimura Y, Okuda H, Arichi S. Effects of the extracts of *Ganoderma lucidum* on blood glucose level in rats. Planta Med 1988; 54(4): 290-294.
- 17) Hikino H, Konno C, Mirin Y, et al. Isolation and hypoglycemic activity of ganoderans A and B, glycans of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. Planta Med 1985; 51(4): 339-340.
- 25 18) Hikino H, Ishiyama M, Suzuki Y, et al. Mechanisms of hypoglycemic activity of ganoderan B: a glycan of *Ganoderma lucidum* fruit bodies. Planta Med 1989; 55: 423-428.
- 19) Kim SD, Nho HJ. Isolation and characterization of alpha-glucosidase inhibitor from the fungus *Ganoderma lucidum*. J Microbiol 2004; 42(3): 223-227.
- 30 20) 出口ヨリ子, 長田邦子, 綿貫雅章. グアバ葉抽出液と経口糖尿病薬アルボースあるいはボグリボースの併用による正常マウスの血糖値

上昇抑制への作用. 日本栄養・食糧学会誌. 2003; 56: 207-212.

## 【要　旨】

【目的】2型糖尿病モデルマウス (KK-A<sup>y</sup>) を用い、靈芝菌糸体培養培地抽出物 (WER) の食後過血糖改善作用を検討した。さらに、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤との併用効果についても検証した。

5 【方法】KK-A<sup>y</sup>に WER を単独、またはボグリボース、アカルボースと同時に経口投与した後、糖負荷試験を行った。

【結果・考察】WER は、*in vitro*において  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用を示した。また、KK-A<sup>y</sup>においてマルトース負荷後の血糖上昇を抑制した。正常血糖マウスにおいては、WER とボグリボースまたはアカルボースとの間に相互作用は認められなかったのに対して、KK-A<sup>y</sup>ではボグリボースとの同時服用で血糖上昇抑制効果が消失した。しかし、投与間隔を 1 時間とすることでその効果は回復した。以上の結果より、WER は  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害作用により食後過血糖改善作用を示すものの、WER と  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤を同時服用した場合、薬物によっては効果が減弱する可能性が示唆された。(396 字/400 字以内)

【キーワード】靈芝菌糸体培養培地抽出物 (WER)、糖質分解酵素、KK-A<sup>y</sup> マウス、 $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤、食品医薬品相互作用

20

25

30

## 図 説

### 図 1

KK-A<sup>y</sup>マウスにおける空腹時血糖に対する WER の作用

WER (1 g/kg) (●) を単回経口投与した。対照群 (○) には、同容量の蒸留水を投与した。WER 投与時を -30 分とし、その後、経時的に尾静脈より採血して血糖値を測定した。すべての値は平均値 ± 標準偏差 (n= 10) で示した。

### 図 2

KK-A<sup>y</sup>マウスにおけるグルコース負荷後の血糖値上昇に対する WER の作用

WER (1 g/kg) (●) を経口投与し、30 分後にグルコース (2 g/kg) を経口投与した。対照群 (○) には、同容量の蒸留水を投与した。WER 投与時を -30 分、糖負荷時を 0 分とし、その後 30 分ごとに 120 分まで血糖値測定を行った。すべての値は平均値 ± 標準偏差 (n= 10) で示した。

### 図 3

KK-A<sup>y</sup>マウスにおけるマルトース負荷後の血糖値上昇に対する WER の作用

WER (1 g/kg) (●) を経口投与し、30 分後にマルトース (2 g/kg) を経口投与した。対照群 (○) には、同容量の蒸留水を投与した。WER 投与時を -30 分、糖負荷時を 0 分とし、その後 30 分ごとに 120 分まで血糖値測定を行った。すべての値は平均値 ± 標準偏差 (n= 10) で示した。平均値の有意差検定は実験項目に記した。(\*\*p < 0.01)

### 図 4

KK-A<sup>y</sup>マウスにおける各種糖負荷後の血糖値上昇に対する WER の作用 : 血糖値曲線下面積 (AUC)

WER (1 g/kg) (■) を単回経口投与した後、グルコース、スクロー

ス、デンプン、またはマルトースを負荷した経口糖負荷試験から、血糖値曲線下面積（AUC）を算出した。対照群（□）には同容量の蒸留水を投与した。平均値の有意差検定は実験項目に記した。（\*\* $p < 0.01$ ）

5

#### 図 5

ボグリボース、アカルボースおよびWERのマルターゼ活性に対する阻害作用

マルターゼによるグルコースの生成量を100%として、ボグリボース（●）、アカルボース（○）およびWER（▲）の阻害率（%）を示した。すべての値は平均値±標準偏差（n=5）で示した。

#### 図 6

マルターゼ活性に対する $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害薬とWERの併用効果

##### A. ボグリボースとWERの併用効果

マルターゼによるグルコースの生成量を100%として、ボグリボースとWER混合時の阻害率（%）を示した。

##### B. アカルボースとWERの併用効果

マルターゼによるグルコースの生成量を100%として、アカルボースとWER混合時の阻害率（%）を示した。

すべての値は平均値±標準偏差（n=5）で示した。

#### 図 7

KK-A<sup>y</sup>マウスにおける糖負荷後の血糖上昇に対するボグリボースとWERの併用効果

A. 蒸留水（○）、ボグリボース溶液（0.1 mg/kg, ●, Vog）あるいはボグリボース（0.1 mg/kg）とWERの（1 g/kg）混合溶液（■, Vog+WER）を経口投与後、ただちにマルトース（2 g/kg）負荷を行った。また、ボグリボース投与前30分（■, Vog+WER-30）あるいは60分前（□, Vog+WER-60）にWER（1 g/kg）を経口投与後、ボグリボース（0.1

mg/kg) を投与した後、ただちにマルトース (2 g/kg) 負荷を行った。

B. 蒸留水、ボグリボース単独、ボグリボースと WER 投与時の血糖値曲線下面積を示した。(\*\* $p < 0.01$ )

5 図 8

KK-A<sup>y</sup>マウスにおける糖負荷後の血糖上昇に対するアカルボースと WER の併用効果

A. 蒸留水 (○)、アカルボース溶液 (16 mg/kg, ●, Acar) あるいはアカルボース (16 mg/kg) と WER (1 g/kg) の混合溶液 (■, Acar+WER)

10 を経口投与後、ただちにマルトース (2 g/kg) 負荷を行った。

B. 蒸留水、アカルボース単独、アカルボースと WER 併用時の血糖値曲線下面積を示した。(\*\* $p < 0.01$ )

Inhibitory Effects of a Water-Soluble Extract from Culture Medium of  
*Ganoderma lucidum* (Rei-shi) Mycelia on Postprandial Blood Glucose  
Elevation in Type 2 Diabetic Mice and Additional Effect with  $\alpha$ -Glucosidase  
Inhibitors

5

Yukiko KAWAHARA<sup>a</sup>, Shinya KAMIUCHI<sup>a</sup>, Mari OKAZAKI<sup>a</sup>, Naohiro  
IWATA<sup>a</sup>, Tatsuhiro USUI<sup>a</sup>, Meiyang XUAN<sup>a</sup>, Fumiko SUZUKI<sup>b</sup>, Hiroshi  
IIZUKA<sup>b</sup>, Yasuhide HIBINO<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Laboratory of Immunobiochemistry, Department of Clinical Dietetics &  
10 Human Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University

<sup>b</sup>Noda Shokukinkogyo Co., Ltd.

### Abstract

**Objective:** The water-soluble extract of *Ganoderma lucidum* mycelia (WER)  
15 is prepared from a solid medium composed of bagasse and rice bran  
overgrown with *Ganoderma lucidum* mycelia. Recently, we reported that WER  
shows a blood glucose-lowering effect in maltose-loaded non-diabetic mice.  
Here, we investigated the efficacy of WER in type 2 diabetic state using  
20 KK-A<sup>y</sup> mice. Moreover, the food-drug interactions of WER with  $\alpha$ -glucosidase  
inhibitors, voglibose or acarbose were examined using both *in vitro* and *in vivo*  
experiments.

**Methods:** The glucose-lowering effects of oral administration *in vivo* of WER  
alone, or concomitant administration of WER with voglibose/acarbose on the  
elevation of blood glucose levels by sugar-tolerance tests were examined in  
25 KK-A<sup>y</sup> mice. The inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase *in vitro* were also  
evaluated.

**Results:** Oral administration of WER (1 g/kg), which did not affect fasting  
blood glucose, significantly suppressed the hyperglycemia after loading of  
maltose (21% of decrease in AUC) compared to the water-administrated

control mice. *In vitro* study showed that WER inhibited maltase in concentration-dependent manner. The inhibitory effects of lower concentrations of voglibose or acarbose on  $\alpha$ -glucosidase activity were additively enhanced by the presence of WER, but those of higher 5 concentrations were not affected. The glucose-lowering effect of voglibose (0.1 mg/kg) disappeared in maltose-loaded KK-A<sup>y</sup> mice when the drug was concomitantly administrated with WER (1 g/kg), whereas acarbose (16 mg/kg) with WER showed no significant change in its effect.

10 **Conclusion:** These results demonstrated that WER shows the glucose-lowering effect in maltose-loaded KK-A<sup>y</sup>, which may be based on inhibition of the  $\alpha$ -glucosidase activity. The present study suggests that concomitant intake of WER with voglibose may override the therapeutic effect of voglibose on postprandial hyperglycemia by food-drug interaction in diabetic state.

15 (282/280)

Key words: water-soluble extract of *Ganoderma lucidum* mycelia (WER); saccharidase; type 2 diabetes; KK-A<sup>y</sup> mouse;  $\alpha$ -glucosidase inhibitor; food-drug interaction

20

図 1

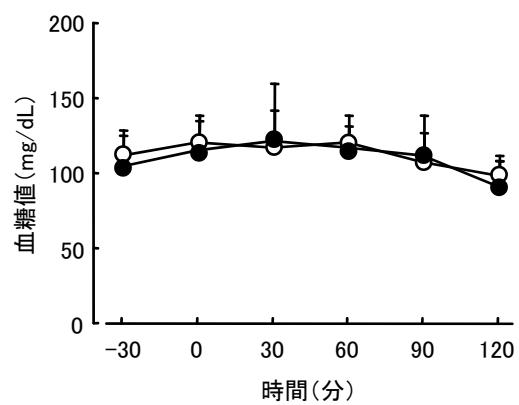


図2

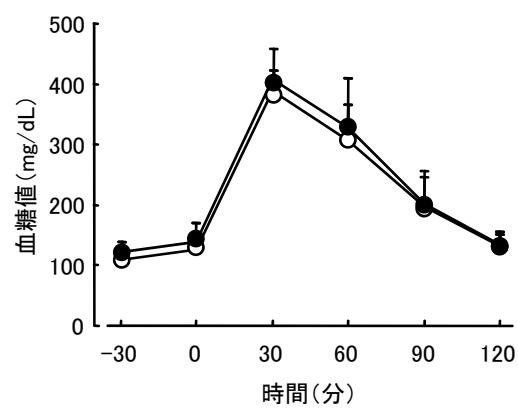


図3

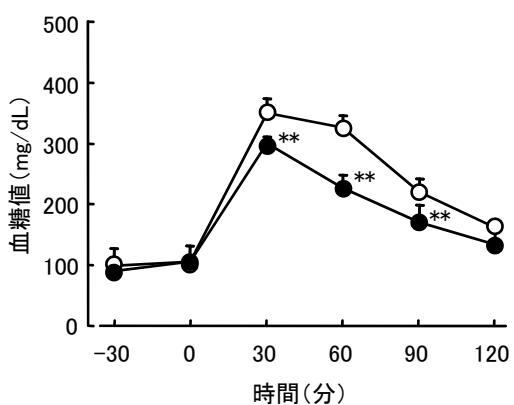


図4

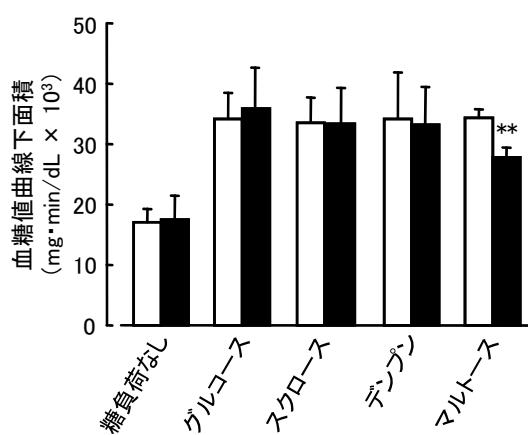


図5

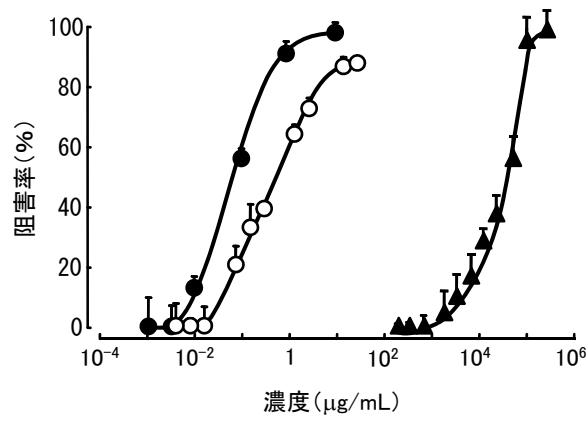
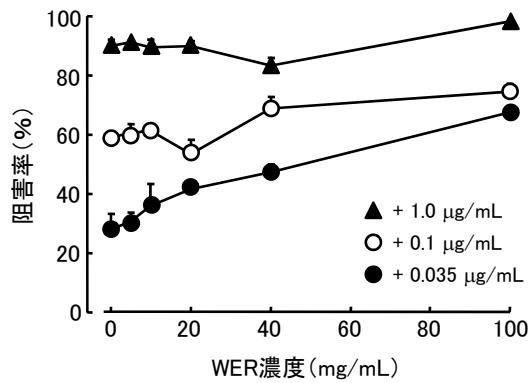


図6

A



B

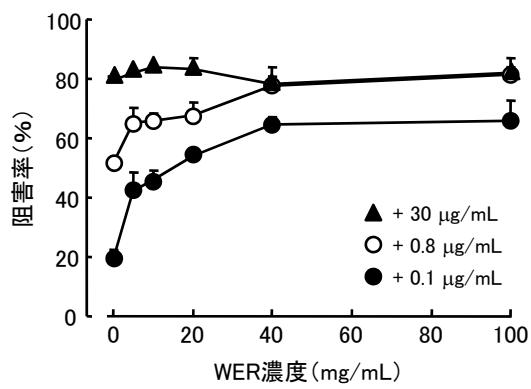


図7

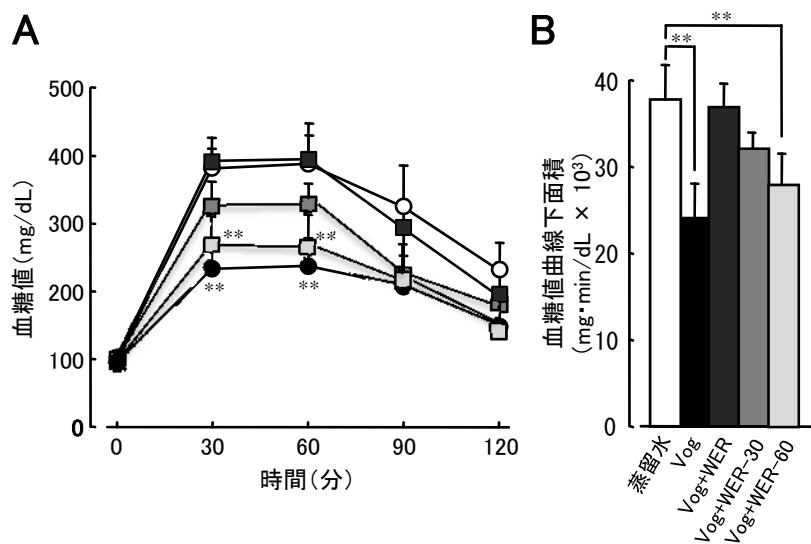


図8

