

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

Effect of water filled with super-hybrid gas on insulin action in rats fed high-fructose diets.

姜 海 英* 小 池 晃 彦** 王 忠 華*
木 蘭* 陳 塔 娜* 夏 目 有 紀 枝*
押 田 芳 治**

Haiying JIANG* Teruhiko KOIKE** ZHonghua WANG*
Lan MU* Tana CHEN* Yukie NATSUME*
Yoshiharu OSHIDA**

Objective: To investigate whether water filled with super-hybrid gas (SGW) can improve insulin sensitivity of rats fed high-fructose diets. Methods: Male Wistar rats fed high-fructose diets were randomly and blindly assigned to take SGW or pure water without super-hybrid gas filling (Control) for 4wks. Insulin action was assessed with the oral glucose tolerance test (OGTT) and the euglycemic clamp (insulin infusion rate: 3.0 and 30.0mU/kg/min). Results: The OGTT 30-minutes blood glucose level was significantly lower in the SGW group. The euglycemic clamp study also showed the improvement of glucose infusion rate (GIR) in rats of the SGW group compared with the control group. Conclusion: SGW may improve insulin action in high-fructose induced insulin resistant rats.

はじめに

体組成の60% (成人) から80% (新生児) が水であることや、人が毎日1L から2L の水分摂取が必須であることに言及するまでもなく、水は人の健康さらには生命維持にとって、重大な影響を及ぼす。本研究に用いたスーパーハイブリッドガス充填水 (SGW) は、逆浸透膜でろ過した純水にスーパーハイブリッドガスを充填した水である。この水はすでに市販されているが、その効果とメカニズムについては、明らかになっていない。本研究では、この水が、高果糖食ラットに生じるインスリン抵抗性にどのような影響を及ぼすかを検討した。高果糖食げっ歯類モデルは、高インスリン血症、高脂血症、高血圧症などの生活習慣病を呈し、メタボリック症候群のモデルとしても使われる¹⁻³⁾。実際、高果糖コーンシロップ (high fructose corn syrup: HFCS) は、ソフトドリ

ンクなどで使われており、その過剰摂取が青少年肥満症^{4, 5)}、若者の2型糖尿病の発症リスクを増加させている⁶⁾として、欧米を中心に近年社会問題となっている⁷⁾。本研究では、正常血糖クランプ法を用い、末梢組織におけるインスリン感受性を定量的に評価した。

最近、ミネラルウォーターなどで、そのミネラル成分が糖尿病に対して有効であるとして、販売されている。本調査に用いた水は純水でありミネラル成分などは含まないが、スーパーハイブリッドガス充填によりその酸化還元電位が他の水と異なっている。

対象および方法

スーパーハイブリッドガス充填水は、アクア・トリコ (名古屋市) より、提供された。製造時の酸化還元電位は -250mV となっている。コントロールとして用いた逆浸

* 名古屋大学大学院医学系研究科健康スポーツ医学分野博士課程
** 名古屋大学総合保健体育科学センター
* Department of Sports Medicine, Graduate School of Medicine, Nagoya University
** Research Center of Health, Physical Fitness and Sports, Nagoya University

透膜フィルター処理後の純水も同社より提供を受けた。

対象は7週齢の Wistar 系雄性ラットであり、室温20–22℃、明暗サイクルが12時間毎の環境下で餌および水を自由摂取させ、個別にケージで飼育した。1週間の予備飼育後、無作為で普通食群と高果糖食群に分けた。高果糖食群はさらに2群に分け、盲検法（実験者および解析者に対して）でスーパーハイブリッドガス充填水（SGW 群）とコントロール水（Control 群）を自由に飲ませた。飲水量は、毎日 AM10:00 に測り、新しい水に交換した。体重は週1回測定した。

3週間飼育後、経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）を行った。14時間絶食させたラットに50% D-glucose 溶液（2g/kg BW）を経口投与し、投与前および投与15、30、60、120分後に尻尾より採血し、バイオセンサ BF-5 血糖測定機（王子計測機器株式会社、兵庫）で血糖値を測定した。血漿インスリン濃度は ELISA キット（シバヤギ、群馬）を用いて測定した。

OGTT3日後に、ラットをペントバルビタール（sodium pentobarbital）（40mg/kg i.p.）で麻酔し、右頸静脈および左頸動脈にカテーテルを挿入した。右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であり、左頸動脈のカテーテルは採血に用いた。インスリン注入率が3.0（低濃度注入）および30.0（高濃度注入）mU/kg BW/min の2段階のインスリン正常血糖クランプ法を各々90分間ずつ連続的に実施した。左頸動脈より10分ごとに血糖値を測定し、空腹時レベルに維持されるようにグルコース溶液の注入速度を調節した。血糖値が安定した各クランプの後半30分間の平均グルコース注入率（glucose infusion rate: GIR）を算出し、インスリン感受性の指標とした³⁾。

データは平均値±標準誤差で示し、統計処理は対応のない t 検定（unpaired Student's t-test）で行った。

結果

1. 高果糖食インスリン抵抗性モデル

表1に示したように、餌による体重および空腹時の血糖値の変化はなかった。一方、空腹時血漿インスリン濃度は高果糖食群が普通食群に比して有意に高値だった（ $p < 0.05$ ）。低インスリン注入正常血糖クランプの GIR 値は高果糖食群で顕著に低下した（ $p < 0.05$, 図1）。

2. スーパーハイブリッドガス充填水のインスリン感受性に対する効果

2-1. 体重、飲水量、血糖値および血漿インスリン濃度

表2に示したように、SGW 群と Control 群、両群における体重および毎日の飲水量に有意差はなかった。空腹時血糖値は各群とも54mg/dl 前後であり、各クランプ

中もそのレベルに維持した。また、空腹時血漿インスリン濃度では SGW 群は $0.95 \pm 0.17 \text{ ng/ml}$ で、Control 群は $0.97 \pm 0.11 \text{ ng/ml}$ であり、両群に有意差は認められなかった。

2-2. OGTT

経口ブドウ糖負荷試験では SGW 群で耐糖能の改善効果が見られた。各時間の血糖値は Control 群に比して SGW 群で低値を示し、30分の血糖値には統計的な有意差が見られた（図2）。

2-3. GIR

低濃度インスリン注入正常血糖クランプ法において、SGW 群の GIR は $6.6 \pm 0.7 \text{ mg/kg BW/min}$ であり、Control 群の $4.2 \pm 0.3 \text{ mg/kg BW/min}$ に比べ有意に高値だった（ $P < 0.05$, 図3）。高濃度インスリン注入正常血糖クランプ法においても、SGW 群の GIR 値は、Control 群より高値ではあったが（SGW 群： 34.2 ± 2.0 vs. Control 群： $28.9 \pm$

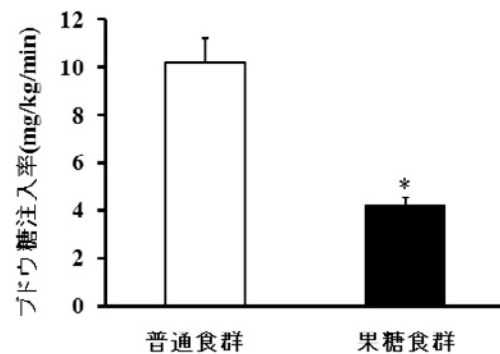


図1. 低インスリン濃度の正常血糖クランプ法におけるブドウ糖注入率。果糖食群（n=7）では、普通食群（n=5）より有意にブドウ糖注入率が低下した（* $p < 0.05$ ）。値は、平均値±標準誤差。

表1. 基本特性

	普通食群 (n=6)	果糖食群 (n=6)
開始時体重 (g)	196.0±6.6	188.0±9.4
最終時体重 (g)	312.5±7.8	316.8±10.8
空腹時血漿ブドウ糖値 (mg/dl)	53.1±0.6	53.9±1.0
空腹時血漿インスリン値 (ng/ml)	0.61±0.03	0.97±0.11*

値は平均±標準誤差

* $p < 0.05$ vs. 普通食群

表2. 対照水（Control 群）とスーパーハイブリッドガス充填水（SGW 群）投与果糖食摂取ラットの基本特性

	SGW 群 (n=6)	Control 群 (n=6)
飲水量 (ml/day)	29.3±2.8	25.9±4.5
開始時体重 (g)	200.2±8.6	188.0±9.4
最終時体重 (g)	320.0±9.5	316.8±10.8
空腹時血漿ブドウ糖値 (mg/dl)	54.7±1.2	53.9±1.0
空腹時血漿インスリン値 (ng/ml)	0.95±0.17	0.97±0.11

値は平均±標準誤差

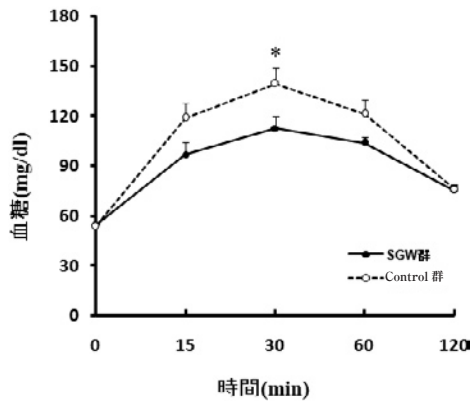


図2. 経口ブドウ糖負荷試験。Control群 (n=12) は対照水を、SGW群 (n=13) はスーパーハイブリッドガス充填水を投与した。*p<0.05 vs SGW群。値は、平均値±標準誤差。

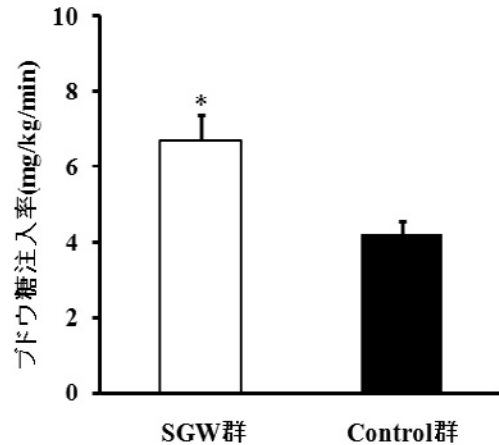


図3. 低インスリン濃度の正常血糖クランプ法におけるブドウ糖注入率。Control群 (n=7) は対照水、SGW群 (n=7) はスーパーハイブリッドガス充填水を投与した。SGW群では、Control群よりブドウ糖注入率が有意に増加した (*p<0.05)。値は、平均値±標準誤差。

2.9mg/kg BW/min)、統計的な有意差は認められなかった(図4)。

考察

インスリン正常血糖クランプ法では、インスリンの持続静注下で、空腹時の血糖値を維持するようグルコースを注入する。インスリン抵抗性が低い(つまりインスリンが効きやすい)場合には、血糖値を維持するために、より多くのグルコースの注入が必要になる。したがって、GIRが高いことは、インスリン抵抗性の改善を示す。インスリンを高濃度(30.0mU/kg BW/min)で注入する場合には、非生理的な高濃度のインスリン下で、肝臓での糖新生は強く抑制されるため、骨格筋でのインスリン反応性評価の指標になる。また、高濃度下では、インスリンによる糖取り込みの最大反応(responsiveness)を評価する。一方、低濃度インスリン(3.0mU/kg BW/min)の注入ではインスリン作用の感受性を評価しており、生理的なインスリン濃度での一定レベルのグルコース取り込みが、より低濃度のインスリンで可能になることを意味する⁸⁾。本研究では、両インスリン濃度での正常血糖クランプ法を連続的に行なった。インスリン作用の改善は、低インスリン濃度での条件において、有意差をもってGIRを改善し、インスリン抵抗性を改善した。OGTTにおいても血糖値の有意な改善がみられたことは、生理的な条件下におけるインスリン作用の改善を示す。一方、高濃度インスリン作用下では、SGW群でのインスリン抵抗性の改善は統計的な有意差を認めなかった。糖取り込みの最大反応を改善するかは、さらなる検討が必要である。

近年、ソフトドリンクなどで使われる高果糖コーンシ

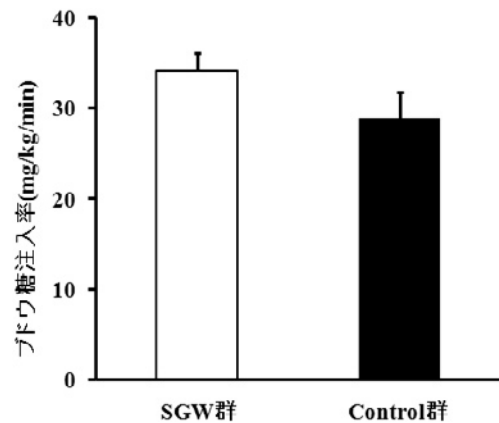


図4. 高インスリン濃度の正常血糖クランプ法におけるブドウ糖注入率。Control群は対照水を、SGW群はスーパーハイブリッドガス充填水を投与した。値は平均値±標準誤差、各群はn=6である。

ロップの過剰摂取が、青少年肥満症^{4, 5)}、若者の2型糖尿病の発症リスクを増加させている⁶⁾と報告されている。メタボリック症候群のモデルとして使われる高果糖食べっ菌類モデルはインスリン抵抗性を引き起こす。高果糖食モデルでは、最初肝臓でのインスリン抵抗性がおき、それから骨格筋での抵抗性がおきてくると考えられている⁹⁾。今回の条件では、肝臓でのインスリン抵抗性は生じているが、骨格筋での抵抗性の低下は不十分であった可能性があり、果糖食をより長期に摂取させることも、今後の検討課題であろう。

インスリン抵抗性は、炎症、脂質代謝異常、インスリンシグナルの異常、骨格筋の血流異常などのメカニ

ムを介して引き起こされる。したがって、これらの改善は、最終的にはインスリンシグナル伝達系に影響を及ぼし、糖取り込みを改善する。例えば、身体トレーニングは、ブドウ糖輸送担体 (Glut-4) の増加を起すすが、その場合は、インスリンの感受性、反応性ともに増加させるものと推察される。今回の検討では、スーパーハイブリッドガス充填水は、高果糖食摂取ラットのインスリン抵抗性を改善したが、そのメカニズムについて明らかではない。今後、さらなる検討が必要と思われる。また、本実験で用いた対照群は、純粋摂取群であり、他の水(硬水、ミネラルを含有する水など)との比較も必要だと考えられる。

引用文献

1. Nakagawa T, Hu H, Zharikov S, Tuttle KR, Short RA, Glushakova O, Ouyang X, Feig DI, Block ER, Herrera-Acosta J, Patel JM, Johnson RJ. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol*, 290: F625-631, 2006.
2. Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Jiménez A, Bautista P, Cristóbal M, Nepomuceno T, Soto V, Ávila-Casado C, Nakagawa T, Johnson RJ, Herrera-Acosta J, Franco M. Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol*, 292: F423-429, 2007.
3. Koshinaka K, Oshida Y, Han YQ, Ohsawa I, Sato Y. The effect of nitric oxide synthase inhibitor on improved insulin action by pioglitazone in high-fructose-fed rats. *Metabolism*, 53(1): 22-27, 2004.
4. Ludwig DS, Peterson KE, Gortmaker SL. Relation between consumption of sugar-sweetened drinks and childhood obesity: a prospective, observational analysis. *Lancet*, 357: 505-508, 2001.
5. Dennison BA, Rockwell HL, Baker SL. Excess fruit juice consumption by preschool aged children is associated with short stature and obesity. *Pediatrics*, 99(1): 15-22, 1997.
6. Schulze MB, Manson JE, Ludwig DS, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Hu FB. Sugar-sweetened beverages, weight gain, and incidence of type 2 diabetes in young and middle-aged women. *JAMA*, 292(8): 927-934, 2004.
7. Johnson RJ, Perez-Pozo SE, Sautin YY, Manitius J, Sanchez-Lozada LG, Feig DI, Shafiu M, Segal M, Glasscock 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.
8. Kirwan JP, Solomon TP, Wojta DM, Staten MA, Holloszy JO. Effects of 7 days of exercise training on insulin sensitivity and responsiveness in type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297(1): 151-156, 2009.
9. Tappy L, Lê KA, Tran C, Paquot N. Fructose and metabolic diseases: new findings, new questions. *Nutrition*, 26 (11-12): 1044-1049, 2010.