

## 自然発症糖尿病ラット (GK ラット) に対する桑葉の抗糖尿病作用

飯塚 幸澄,\* 櫻井 栄一, 田中 頼久  
東北薬科大学第一薬剤学教室

## Antidiabetic Effect of Folium Mori in GK Rats

Yukisumi IIZUKA,\* Eiichi SAKURAI, and Yori-hisa TANAKA  
Department of Pharmaceutics I, Tohoku Pharmaceutical University, 4-4-1,  
Komatsushima, Aoba-Ku, Sendai 981-8558, Japan

(Received December 21, 2000; Accepted February 20, 2001)

The antidiabetic effect of hot water extracts from Folium Mori was investigated in GK rat, one of the animal models of non-insulin dependent diabetic mellitus types. Folium Mori extracts (150 mg/kg) significantly reduced the blood glucose of GK rat from  $203.8 \pm 29.8$  to  $138.5 \pm 21.2$  mg/dl at 14 days after oral administration. However, in normal rats, blood glucose and insulin levels were not changed by treatment with Folium Mori. The Folium Mori also decreased blood glucose and improved glucose tolerance at 14 days after repeated administration in GK rats. The Folium Mori treatment significantly increased glucose metabolism in the glucose clamp test for GK rats. These results suggest that Folium Mori has quite unique properties such as raising insulin sensitivity and improving insulin resistance.

**Key words**—non-insulin dependent diabetic mellitus; Folium Mori; insulin resistance

## 緒 言

糖尿病における病態の悪化の抑制には、血糖のコントロールが不可欠とされている。したがって、その調節が不十分であると血糖の変動をきたし、糖尿病性合併症の進展につながる。<sup>1)</sup> これらの問題を解決するため、糖質の消化や吸収さらには血糖の上昇を抑制する物質の天然物からの単離や化学合成の研究が盛んに行われている。一方、漢方薬の原料である桑の根皮部分の桑白皮には血糖降下作用があると報告されている。<sup>2)</sup> また、桑の葉の部分は、糖尿病患者の治療と予防を目的として用いられている甘露消渴茶の主な構成生薬となっており、<sup>3)</sup> その作用機序の1つとして骨格筋におけるグルコース取り込み促進の可能性が報告されている。<sup>4)</sup> 前報において、著者らは、ラットを用い桑葉の二糖類分解酵素活性の阻害効果の変化について報告した。<sup>5)</sup> 本研究では、耐糖能とグルコース刺激性インスリン分泌反応の障害が認められる非肥満型のインスリン非依存性糖尿病 (NIDDM) モデルである GK ラットを用い桑葉のインスリン非依存型糖尿病のインスリン抵抗性に対する改善効果について検討を行った。

## 実 験 の 部

**1. 使用動物** 実験には、東北大学大学院医学研究科分子代謝病態学分野より供与された生後約15週齢の雄性 GK ラット (体重:  $315.4 \pm 7.9$  g) を使用した。対照には、同週齢の Wistar 系の雄性ラット (日本 SLC) を用いた。ラットは個別ケージで飼育し、水及び飼料 (日本クレア社製固形飼料 CE-2) は実験前日まで自由に摂取させた。実験にあたっては、ラットを約20時間絶食させたが、水は自由に与えた。実験期間を通じて室温  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度  $55 \pm 8\%$ 、照明時間 (8—12 時) の部屋で飼育した。

**2. 桑葉熱水抽出物の調製** 合同酒精株式会社中央研究所より供与された乾燥桑葉 60 g に精製水 3 l を加え、攪拌下  $100^\circ\text{C}$ 、30 分間抽出し、ろ過後エバポレーターにて 500 ml まで濃縮した。濃縮終了後遠心分離し、その上清を凍結乾燥し試料 (収率 55%) とした。

**3. 血糖降下作用及び経口的グルコース負荷試験** ラットを対照群、対照+桑葉投与群、GK 群、GK+桑葉投与群の4群に分けた。実験には、1群6匹のラットを用いた。桑葉投与群は、前報に従って桑

葉抽出物を生理食塩液に溶解（桑葉溶液）し、150 mg/kg/day をゾンデを用いて14日間連続経口投与し、最終投与から20時間後に血糖値及び血中インスリン値を測定した。対照群及びGK群は、同量の生理食塩液のみを経口投与した。グルコース負荷試験は、桑葉溶液あるいは生理食塩液の最終投与後20時間絶食させたラットを用い検討した。これら各群のラットに、生食に溶解したグルコース（2 g/kg）を経口投与して経時的に尾静脈より採血し、血糖値及び血中インスリン値を測定した。

**4. グルコースクランプ法** 対照群、対照+桑葉投与群、GK群及びGK+桑葉投与群の4群に桑葉溶液及びその溶媒を14日間経口投与したラットを用いて検討を行った。DeFronzoら<sup>6)</sup>の方法に従い120分間施行した。ラットを20時間絶食後に麻酔下で、頸静脈に採血用、大腿静脈に注入用のシリコンカテーテルをそれぞれ留置した。インスリン（塩野義製薬社製）を26.4 mU/kg/minの初期投与に続き4.4 mU/kg/minで持続投与を行った。10%グルコース液を持続投与し、血糖値を120 mg/dlに維持するようにグルコース溶液の注入量を調節した。グルコースクランプ開始60分より120分までの総グルコース注入量から同じく60分間の膀胱内尿糖量を減じ、1分間、体重1 kg当たりのグルコース注入量をグルコース代謝量（mg/kg/min）とした。

**5. 血糖値及びインスリン値の測定** 血糖値の測定はグルコースオキシダーゼ法（酵素法）による測定キット（グルコーステストBワコー、和光純薬工業製）に従って測定した。血中インスリン値は、ワンステップ酵素免疫測定法（グラザイムイン

スリンEIAテスト、和光純薬工業製）により測定した。

**6. 統計処理** 得られた測定値は、平均値±標準誤差で表した。対照群と処置群との間の有意差は一元配置分散分析（one-way ANOVA）をした後、多重比較法（Tukey multiple-comparison test）を用い検定し、 $p < 0.05$ を有意差とみなした。

## 実験結果

**1. GKラットに対する桑葉熱水抽出物の影響** GKラットの血糖値（ $203 \pm 29.8$  mg/dl）は、対照群（ $115.5 \pm 17.3$  mg/dl）と比較して有意に高い値を示したが、桑葉熱水抽出物150 mg/kgを14日間連続経口投与することによって対照の値近く（ $138.5 \pm 21.2$  mg/dl）まで回復した。しかしながら、対照に桑葉熱水抽出物を投与した群（対照+桑葉投与群）の血糖値（ $101.2 \pm 18.4$  mg/dl）は、対照群と比較して変化はみられなかった。また、GKラットの血中インスリン値（ $46.4 \pm 5.1$   $\mu$ U/ml）は、対照群（ $22.5 \pm 3.5$   $\mu$ U/ml）と比較して有意に高い値を示したが、桑葉熱水抽出物の150 mg/kgを14日間連続経口投与することによって対照の値近く（ $30.2 \pm 4.5$   $\mu$ U/ml）まで低下した。しかしながら、対照+桑葉投与群のインスリン値（ $23.5 \pm 2.8$   $\mu$ U/ml）は、対照群と比較し変化はみられなかった（Fig. 1）。

**2. グルコース負荷試験におけるグルコース及びインスリン値の変化** 対照群及び対照+桑葉投与群の両群にグルコース負荷試験を行ったが、両群の血糖値及び血中インスリン値に大きな変化は認められなかった。一方、GKラットでグルコース負荷試

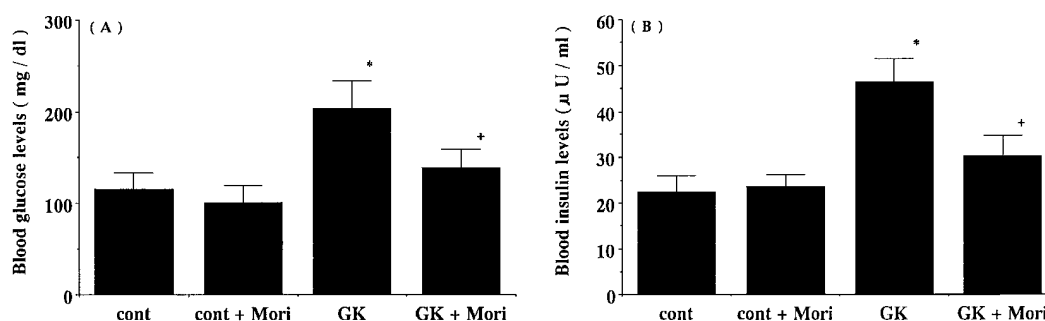


Fig. 1. Effect of Folium Mori on Blood Glucose (A) and Insulin (B) Levels in GK Rats

Each result represents the mean  $\pm$  S.E.M. for 6 rats. cont: control, cont + Mori: control + folium mori, GK: Goto and Kakizaki rat, GK + Mori: GK + folium mori. \* $p < 0.05$ . Significant differences from the control group. + $p < 0.05$ . Significant differences between the GK and GK + Mori group.

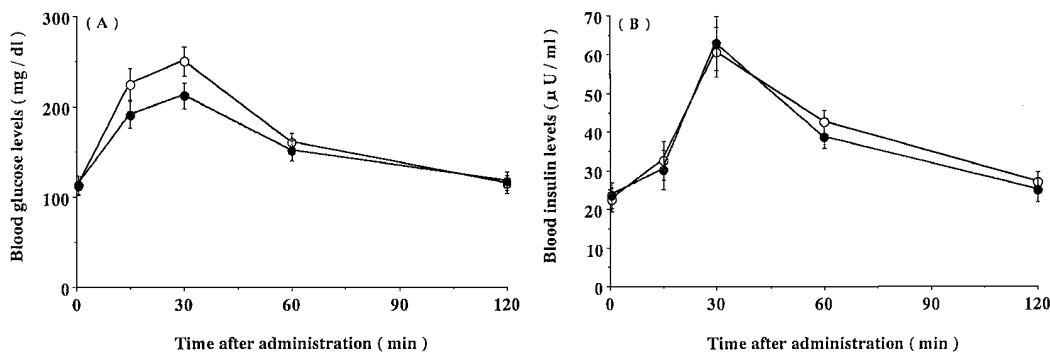


Fig. 2. Effect of Folium Mori on Blood Glucose (A) and Insulin (B) Levels in (2 g/kg) Oral Glucose Tolerance Test in Rats  
 ○: control, ●: control + folium mori. Each result represents the mean ± S.E.M. for 6 rats.

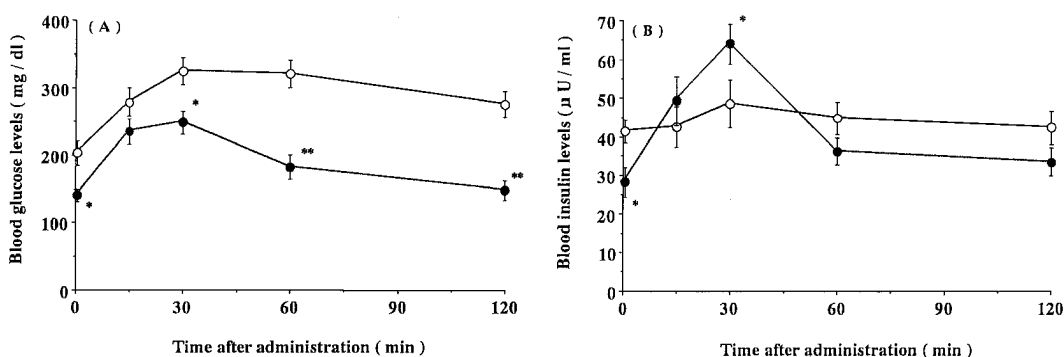


Fig. 3. Effect of Folium Mori on Blood Glucose (A) and Insulin (B) Levels in (2 g/kg) Oral Glucose Tolerance Test in GK Rats  
 ○: GK rat, ●: GK + folium mori. Each result represents the mean ± S.E.M. for 6 rats. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ . Significant differences between GK and GK + Mori group.

験を行った結果 GK + 桑葉投与群の血糖値の上昇は GK 群と比較し有意に抑制された。また、GK + 桑葉投与群の血中インスリン値は、グルコースの負荷後 30 分に GK 群と比較して有意に上昇することが示された。しかし、GK 群では、グルコースの負荷によってもインスリン値の上昇は認められなかった。さらに、GK + 桑葉投与群のグルコース負荷前の血糖値及び血中インスリン値は、GK 群と比較しいずれも有意な低下が認められた (Figs. 2, 3)。

3. グルコースクランプ法によるグルコース代謝量の変化  
 グルコースクランプ法による GK 群のグルコース代謝量は、対照群に比べ有意に低下した。しかしながら、グルコース代謝量は、GK 群に桑葉熱水抽出物を投与することによって有意に改善された ( $p < 0.05$ )。また、対照群に桑葉熱水抽出物を投与した群のグルコース代謝量は、対照群と比較して有意な変化を示さなかった (Fig. 4)。

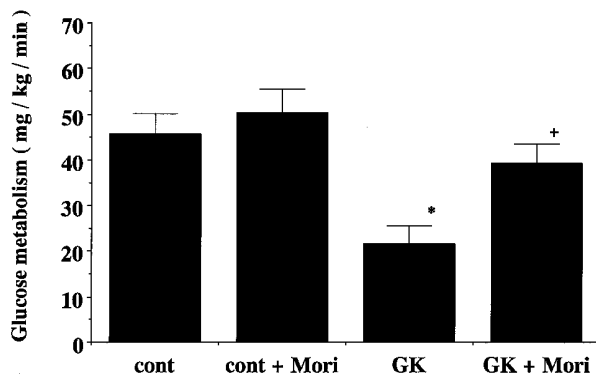


Fig. 4. Effect of Folium Mori on Glucose Clamp Test in GK Rats  
 Each result represents the mean ± S.E.M. for 6 rats. cont: control, cont + Mori: control + folium mori, GK: Goto and Kakizaki rat, GK + Mori: GK + folium mori. \* $p < 0.05$ . Significant differences from the control group. + $p < 0.05$ . Significant differences between the GK and GK + Mori group.

### 考 察

インスリン非依存型糖尿病は、糖尿病全体の 95% 以上を占めるが、その原因はインスリンそのも

の不足と組織でのインスリンの感受性の低下である。<sup>7)</sup>インスリン抵抗性は、インスリン非依存型糖尿病の特有な特徴であり、糖尿病の高血糖状態の本質的な成立原因である。<sup>8)</sup>したがって、インスリン抵抗性を阻止する治療薬が利用できれば、グルコースの恒常性の改善を考えるうえで重要である。一方、GK ラットは後藤と柿崎によって市販の Wistar ラットから耐糖能低下を指標として選択交配を重ねることによって確立された自然発症糖尿病ラットである。<sup>9)</sup>この GK ラットは、膵インスリン分泌異常のみならずインスリン抵抗性をも同時に持ち合わせている特異なインスリン非依存型糖尿病モデルである。<sup>9)</sup>今回、著者らは、インスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) モデルである GK ラットを用い糖尿病のインスリン抵抗性に対する桑葉熱水抽出物の改善効果について検討を行った。

GK ラットに桑葉熱水抽出物を 14 日間経口投与すると血中インスリン値の有意な低下とともに血糖値の有意な低下も認められた。しかし、対照ラットに桑葉熱水抽出物を 14 日間経口投与してもインスリン値及び血糖値には変化が見られなかった。一般に、血糖を降下させる作用機構として膵島  $\beta$  細胞からのインスリン放出促進や末梢組織における糖代謝及びグリコーゲンの取り込み促進があげられる。<sup>10)</sup>本実験において、対照群に桑葉熱水抽出物を投与してもインスリンの分泌促進がみられなかった。したがって、正常動物において桑葉は、インスリン分泌の促進に対して何ら作用を及ぼさない可能性が示唆された。一方、桑葉熱水抽出物の投与によって GK ラットにみられる血中高インスリン値が有意に低下したことから、桑葉熱水抽出物が膵  $\beta$  細胞のインスリン分泌異常を改善させる作用を有することが強く示唆された。このように、本実験で用いた桑葉の熱水抽出物には、インスリン非依存型糖尿病ラットにおける血糖値の降下作用と膵  $\beta$  細胞の異常を改善させる両作用があるものと推察された。

そこで、桑葉熱水抽出物を 14 日間経口投与した GK ラット (GK+桑葉投与群) にグルコース負荷試験を行った結果、桑葉熱水抽出物を投与していない GK 群と比較してグルコース負荷 30 分以降の血糖の上昇が有意に抑制されることが明らかになった。さらに、GK+桑葉投与群の血中インスリン値は、グルコースの負荷後 30 分に GK 群と比較して

有意に上昇し対照群と類似のプロフィールが示された。しかしながら、GK 群では、グルコースの負荷によってもインスリン値の上昇は認められなかった。一方、対照群及び対照+桑葉投与群の両群にグルコース負荷試験を行っても、血糖及び血中インスリン値には大きな変化は認められなかった。これらのことから、桑葉熱水抽出物は、GK ラットのグルコース刺激性インスリン分泌反応の障害を改善させたものと思われた。

そこで、インスリン抵抗性改善作用<sup>11,12)</sup>を検討するため、これら 4 群のラットを用いグルコースクランプ法を行った。グルコースクランプ法によるグルコース代謝量は、対照群に比べ GK 群では有意に低下した。しかしながら、GK 群に桑葉熱水抽出物を投与することによってグルコース代謝量は有意な増加を示し、インスリン抵抗性の改善が認められた。また、対照群に桑葉熱水抽出物を投与するとグルコース代謝量は、対照群と比較してわずかに増加するものの有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、桑葉熱水抽出物の抗糖尿病効果は、GK ラットの耐糖能やインスリン抵抗性を改善し、グルコース刺激性インスリン分泌反応を正常に働かせた結果によるものと推察された。また、今回データには示していないが、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット (インスリン依存性糖尿病ラット) に桑葉熱水抽出物を投与しても血糖降下作用を示さなかった。したがって、桑葉熱水抽出物の抗糖尿病作用は、インスリン非依存型糖尿病に対して有効なものと思われた。今後、インスリン抵抗性の改善作用及び血糖降下作用の機構についてさらに検討する必要がある。

## REFERENCES

- 1) Hofman C. A., Colca J. R., *Diabetes Care*, **15**, 1075-1078 (1992).
- 2) Hikino H., Mizuno T., Osima Y., Konno C., *Plant Med.*, **2**, 159-163 (1985).
- 3) Chen F., Ro G., Chou K., *Wakan Iyaku Kaishi*, **11**, 194-198 (1994).
- 4) Chen F., Nakashima N., Kimura I., Kimura M., *Yakugaku Zasshi*, **115**, 476-482 (1995).
- 5) Iizuka Y., Sakurai E., Hikichi N., Sawada M., Ishiie S., *J. New Remedies and Clinics*, **147**, 39-42 (1998).

- 
- 6) DeFronzo R. A., Tobin J. D., Andres R., *Am. J. Physiol.*, **327**, 214–223 (1979).
  - 7) Taylor S. I., Accili D., Imai Y., *Diabetes*, **43**, 735–740 (1994).
  - 8) DeFronzo R. A., *Diabetologia*, **35**, 389–397 (1992).
  - 9) Goto Y., Kakizaki M., Masaki N., *Tohoku J. Exp. Med.*, **119**, 85–90 (1976).
  - 10) Eriksson K. F., Lindgrade F., *Diabetologia*, **34**, 891–898 (1991).
  - 11) Cushman S. W., Wardzala L. J., *J. Biol. Chem.*, **255**, 4758–4762 (1980).
  - 12) Suzuki K., Kono T., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **77**, 2542–2545 (1980).