

Original article

Anti-obesity effect of Echigoshirayukidake (*Basidiomycetes-X*) in rats

Shinji Sato¹⁾, Misato Sakurai¹⁾, Tetsuya Konishi¹⁾, Koji Nishikawa²⁾, Yoshiaki Tsuno²⁾

1) Faculty of Applied Life Sciences, Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences, Niigata, Japan

2) Mycology Techno Co., Ltd, Niigata, Japan

Glycative Stress Research 2019; 6 (4): 198-211

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

ラットにおける越後白雪茸 (*Basidiomycetes-X*) 抽出物の抗肥満効果

佐藤真治¹⁾、櫻井美仁¹⁾、小西徹也¹⁾、西川浩司²⁾、津野芳彰²⁾

1) 新潟薬科大学 応用生命科学部 食品分析学研究室

2) マイコロジーテクノ (株)

抄録

【目的】 新種の食用キノコ“越後白雪茸 (*Basidiomycetes-X*: BX)”はβ-グルカンを多く含み、その抽出物には抗酸化作用、免疫賦活作用が知られている。今回は、BXを混餌した高脂肪高蔗糖 (high fat high sugar: HFHS) 飼料を摂取させたラットを用いてメタボリックシンドローム発症予防効果を検討した。

【方法】 Wistar系雄性ラットを用い、実験1では対照群(標準飼料にて飼育)、HFHS群、HFHS+BX群(HFHS食に5% BX乾燥粉末添加)の3群に、実験2では対照群、HFHS群、HFHS+BX-T群(5% BX乾燥粉末添加)、HFHS+BX-E群(5% BX抽出物乾燥粉末添加)、HFHS+BX-R群(5% BX抽出残渣乾燥粉末)の5群に分けた(各群n=9~10)。15週間飼育後に内臓脂肪、肝臓組織、血液生化学検査、一部ラットに対して糖負荷試験 (glucose tolerance test; GTT) を施行した。

【結果】 HFHS群ラットでは体重増加、内臓脂肪の貯留、血中AST・ALT・LDH上昇、組織学的に脂肪肝の所見を認めた。HFHS+BX群では、体重増加・内臓脂肪貯留は抑制され、血中AST・ALT・LDH・TC・LDL-Cが低下し、組織学的には脂肪肝が軽度であった。GTTにて食後15~20分の血糖低下を認めた。BX-T、BX-E、BX-Rの内臓脂肪改善効果を比較した結果、BX-Eの作用が最も顕著であった。

【結論】 BX-E抽出物摂取はHFHS食起因性内臓脂肪貯留(メタボリックシンドローム)および脂肪肝に対し予防効果を有し、今後、機能性食品として利用できる可能性が示唆された。

連絡先：佐藤真治

新潟薬科大学 応用生命科学部 食品分析学研究室

〒956-8603 新潟市秋葉区東島265-1

TEL : 0250-25-5000 FAX : 0250-25-5127

E-mail : sato@nupals.ac.jp

共著者：櫻井美仁 sakurai@nupals.ac.jp、小西徹也 t.konishi@bg.wakwak.com、

西川浩司 nishikawa@mycologytechno.com、津野芳彰 tsuno@mycologytechno.com

KEY WORDS: 越後白雪茸 (*Basidiomycetes-X*)、メタボリックシンドローム、脂肪肝、内臓脂肪、インスリン抵抗性

はじめに

メタボリックシンドロームは、増大したインスリン抵抗性によって食後高血糖を惹起し、脳心血管イベントリスクを高める病態として位置づけられる。その罹患率は近年、増大する傾向にあり、様々な機能性食品が注目されている。キノコ類としては、シイタケ (Shiitake mushroom: *Lentinula edodes*) にはエリタデニンと呼ばれる機能性成分が含まれており、コレステロール低下作用を有している。カワリハラタケ (agaricus: *Agaricus subrufescens*) は γ -アミノ酪酸 (GABA) を豊富に含有し、GABA は高血圧症を改善すると言われている。越後白雪茸 (*Basidiomycetes-X*: BX) は新潟県の魚沼で発見された新種の食用キノコであり、一般的なキノコの形を作らないという特徴を有する^{1,2)}。BX は他のキノコと同様に糖質、蛋白質、食物繊維の含有量は他のキノコと同程度であるが、 β -グルカン含有量が多いのが特徴である。その機能性として、高いヒドロキシラジカル消去活性を特徴とする抗酸化作用、アトピー性皮膚炎患者の皮膚状態改善作用、免疫賦

活作用が知られている^{1,2)}。今回は、BX を混餌した高脂肪高蔗糖 (high fat high sugar; HFHS) 飼料を摂取させたラットを用いて、メタボリックシンドローム発症予防効果について検討を行った。

方法

実験 1

対象動物として Wistar 系雄性ラット (4 週齢) を用い、以下に 3 群に分けた。

- 対照 (Control) 群 (n = 10) : 標準飼料摂餌群。標準飼料として AIN-93M 飼料にて飼育した。
- HFHS 群 (n = 10) : HFHS 飼料摂餌群。
- HFHS+BX 群 (n = 9) : HFHS 食 + 5% BX 乾燥粉末飼料摂餌群。

実験 1 の流れを Fig. 1 に示した。ラットは 2 週間の馴化の後、群ごとの食餌を与え、100 日間にわたり、摂餌量測定を毎日、体重測定を週 1 回行った。対照群および

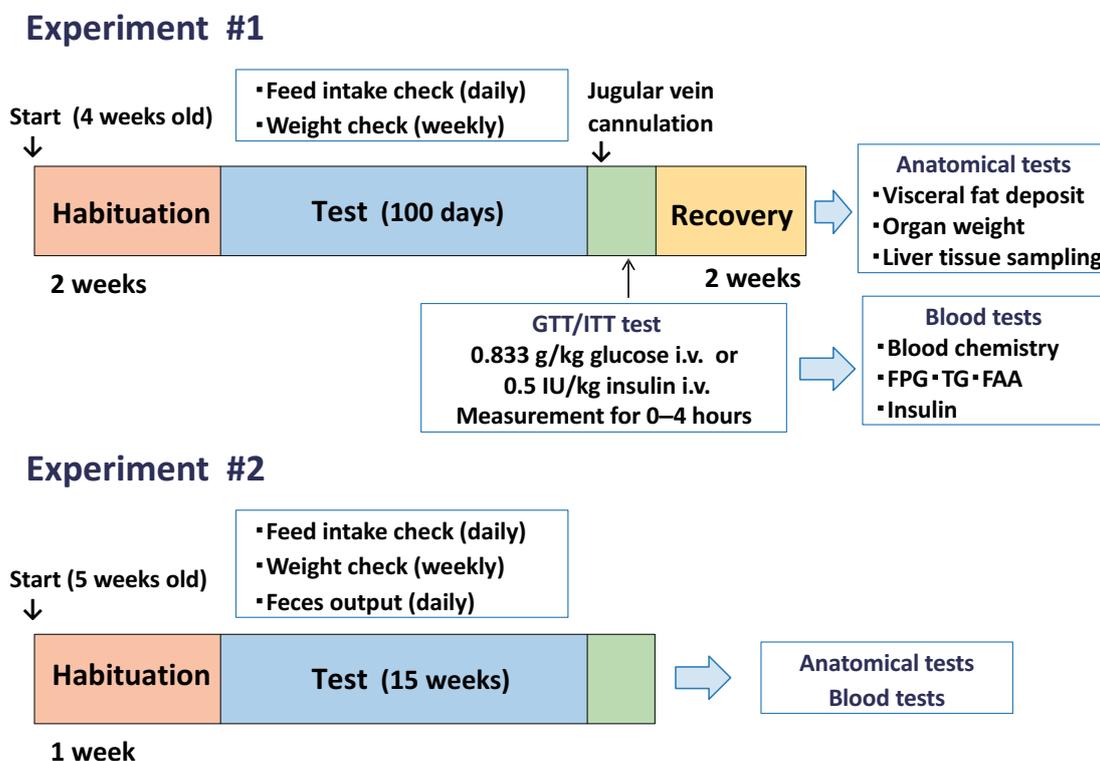


Fig. 1. Experimental design for Experiment 1 and 2.

GTT, glucose tolerance test; ITT, insulin tolerance test; FPG, fasting plasma glucose; TG, triglyceride; FAA, free fatty acid; i.v., intravenous.

HFHS+BX 群の摂取カロリーは HFHS 群と同等となるよう調整した。その後、BX のインスリン抵抗性への影響について検証するために、グルコース負荷試験 (glucose tolerance test; GTT) 及びインスリン負荷試験 (insulin tolerance test; ITT) を施行した (Fig. 2)。ラット経静脈にカテーテルを留置し、GTT では 0.833 g/kg グルコースを静脈内に投与、ITT では 0.5 IU/kg インスリンを静脈内に投与し、4 時間にわたり採血を行い、血漿中グルコース、遊離脂肪酸 (free fatty acid; FFA)、中性脂肪 (triglyceride; TG) を測定した。2 週間の回復期間の後、ラットの屠殺、解剖を行い、内臓脂肪 (腸間膜・腎周囲・精巣上体周囲) の重量測定、肝臓標本を用いた重量測定・組織学的検査・脂肪含有量測定、血液検査を行った。肝の脂肪含有量は、組織をホモジェナイズした後、TG および総コレステロール (total cholesterol; TC) 量を測定した。血液検査では、血漿検体を用いて、空腹時グルコース (fasting plasma glucose; FPG)、インスリン、FFA、TG、TC、低比重リポ蛋白コレステロール (low-density lipoprotein-cholesterol; LDL-C)、高比重リポ蛋白コレステロール (high-density lipoprotein-cholesterol; HDL-C) を測定した。

実験 2

次に BX の機能性成分がどの画分に含まれているか、また、画分による効果に差の有無について検討する目的で実験 2 を施行した (Fig. 1)。実験動物として Wistar 系雄性ラット (5 週齢) を用い、1 週間馴化させた。馴化期間中にラットを以下の 5 群に分けた。

- ・対照 (Control) 群: 標準飼料 (改変 AIN93-M) にて飼育。

- ・ HFHS 群 (n = 10): HFHS 飼料にて飼育。
- ・ HFHS+BX-T 群 (n = 10): BX 乾燥粉末 (BX-T) を加えた HFHS 飼料にて飼育。
- ・ HFHS+BX-E 群 (n = 10): BX 水抽出物乾燥粉末 (BX-E) を加えた HFHS 飼料にて飼育。
- ・ HFHS+BX-R 群 (n = 10): BX 水抽出残渣乾燥粉末 (BX-R) を加えた HFHS 飼料にて飼育。

BX-T、BX-E、BX-R の成分分析結果を Table 1 に示す。いずれも飼料全体に対して 5% となるように添加した。馴化後 15 週間、各飼料を摂餌させ、この期間に摂餌量測定を毎日、体重測定を週 1 回、糞中脂質排泄量測定を 1 回行った。糞中脂質排泄量測定は、ラットごとに 1 日の糞をすべて回収し乾燥させた後、乾燥重量を計測、糞中 TC、TG 含有量を測定した、15 週間飼育後、ラットの屠殺、解剖を行い、実験 1 と同様に内臓脂肪重量測定、肝臓組織学的検査、肝臓脂肪含有量測定、血液生化学検査を行った。

結果

実験 1

摂餌量の推移と累積摂餌量の推移を見ると、通常餌の対照群に比べて、HFHS を接した群 (HFHS 群および HFHS+BX 群) では摂餌量は少なかった (Fig. 3)。体重増加の推移をみると、対照群に比べ HFHS 群の方が高かった (Fig. 4)。HFHS 群と HFHS+BX 群を比較すると、摂餌量は同程度であったにもかかわらず、体重増加量は HFHS+BX 群の方が有意に低かった ($p < 0.01$)。

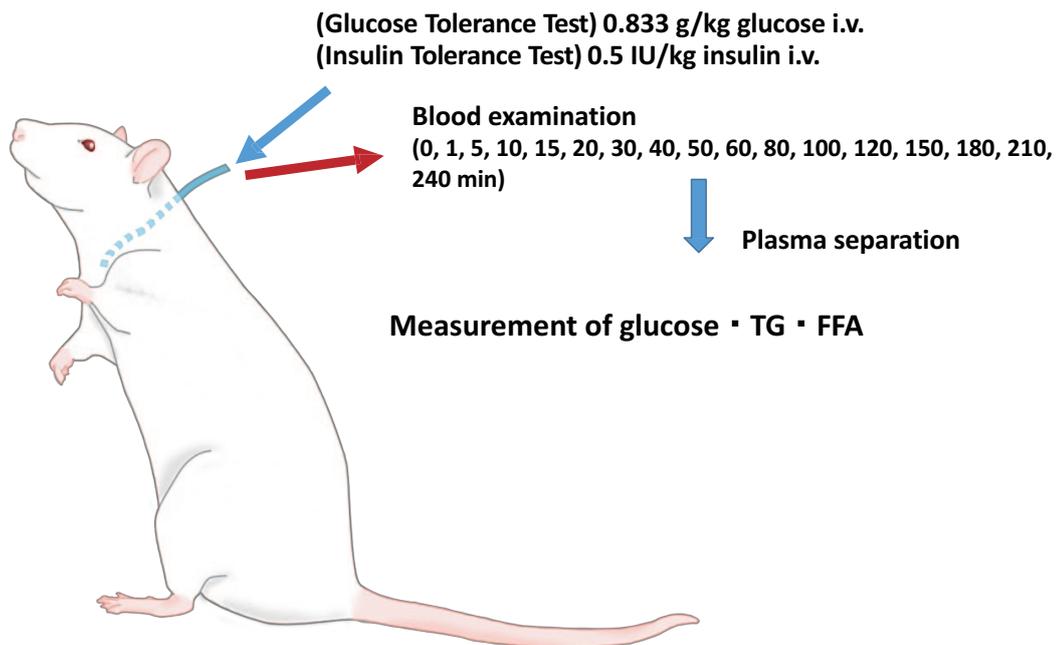


Fig. 2. Experimental design for GTT and ITT.

GTT, glucose tolerance test; ITT, insulin tolerance test; TG, triglyceride; FFA, free fatty acid; i.v., intravenous.

Table 1. Nutritional composition of the high-fat high-sugar feed containing BX.

Component (per 100 g)	BX-T	BX-E	BX-R
Energy (kcal)	179	372	311
Water (g)	8.2	0.8	0.4
Protein (g)	16.0	4.7	21.0
Fat (g)	1.9	0.2	1.9
Carbohydrate (g)	36.7	86.5	30.9
Dietary fiber (g)	32.7	2.9	43.3
Ash (g)	4.5	4.9	2.5
Na (mg)	10.1	12.0	4.0

BX-T, 5% BX dry powder; BX-E, 5% BX water extract; BX-R, 5% BX extract residue; BX, *Basidiomycetes-X*.

内臓脂肪量の変化を比較すると、腎周囲、精巣上部周囲、内臓脂肪のいずれも、対照群より HFHS 群で有意に増加した。HFHS 群と HFHS+BX 群を比較すると、HFHS+BX 群の方が脂肪蓄積は有意に少なかった (Fig. 5)。

肝重量と肝脂質量について HFHS 群と HFHS+BX 群を比較すると、肝組織中の総脂質、TG、TC のいずれも HFHS+BX 群の方が有意に少なかった (Fig. 6)。

血液生化学分析 (Fig. 7) では、血清中 aspartate transaminase (AST)、alanine aminotransferase (ALT)、lactate dehydrogenase (LDH) のいずれも、対照群に比べ HFHS 群で有意に上昇したが、HFHS+BX 群では HFHS 群に比べ有意に低く、ほぼ対照群のレベルまで改善していた。糖脂質代謝系では、FPG、インスリン、FFA、TG には 3 群間で有意差はなかったが、HFHS 群と HFHS+BX 群を比較すると、TC と LDL-C が HFHS+BX 群で有意に改善していた。HDL-C には有意差はなかった。

次に GTT・ITT による血糖、TG 及び FFA の変動を示す (Fig. 8-10)。GTT の血糖 15～20 分値が HFHS+BX 群では他の群に比べ有意に低下していた。TG、FFA については 3 群間に有意差はなかった。ITT 後血糖、TG、FFA には 3 群間に有意差はなかった。

実験 2

摂餌量の推移をみると、対照群の比べ HFHS 食を摂取した 4 群では摂餌量が約 15% 少なかった (Fig. 11)。総摂取カロリーは全群とも 1 匹当たり 8,000 kcal で、5 群間で有意差はなかった。

体重については、BX を摂取した群 (HFHS+BX-T 群、HFHS+BX-E 群、HFHS+BX-R 群) では、HFHS 群に比べ低く推移し、その中でも HFHS+BX-E 群では有意に低かった (Fig. 12)。

HFHS 食によって増加した内臓脂肪重量は BX 投与により低下傾向を示し、その中でも HFHS+BX-E 群では腎周囲脂肪重量は有意に低かった (Fig. 13)。

糞中脂質排泄量の結果を Fig. 14 に示す。糞排泄量、糞中脂質排泄量については 5 群間で有意差はなかった。糞中 TG 排泄量は HFHS 群に比べて HFHS+BX-R 群で有意に高かった。糞中 TC 排泄量は HFHS 群に比べて HFHS+BX-T 群及び HFHS+BX-R 群で有意に少なかった。

肝臓の組織像を Fig. 15 に示す対照群では肝臓組織は正常な肝細胞から成り、肝細胞索および類洞の構築も明瞭であるが、HFHS 群では肝細胞に脂肪的の蓄積が顕著にみられ、肝細胞索の構築も不明瞭で、脂肪肝の所見を呈していた。これに対し HFHS+BX-T 群、HFHS+BX-R 群では肝細胞内の脂肪滴の蓄積は中等度で、肝細胞索の構造の乱れも軽度であった。HFHS+BX-E 群では肝細胞内の脂肪滴蓄積が顕著で、肝細胞索の構築もほぼ正常近くに保たれていた。

肝組織中の脂質量を Fig. 16 に示す。肝組織中の総脂質量、TG、TC 量のいずれも HFHS 群に比べて HFHS+BX-E 群では有意に低かった。

血液生化学分析 (Fig. 17) では、FPG、TG、FFA については 5 群間で有意差はなかった。AST、SLT については HFHS 群と BX 摂取群 (HFHS+BX-T 群、HFHS+BX-E 群、HFHS+BX-R 群) との間に有意差はなかった。

考察

実験 1 の成績を総括すると、HFHS 食を負荷したラットでは体重増加、内臓脂肪の貯留、肝組織中の脂肪量増加、AST・ALT・LDH 上昇、組織学的に脂肪肝の所見を認め、糞中 TC 排泄量の増加を認めた。HFHS 群に比較して BX 抽出物を付加した群では、体重増加・内臓脂肪貯留は抑制され、肝組織中の脂肪量増加は緩和され、血中 AST・ALT・LDH・TC・LDL-C が低下、GTT においても食後 15～20 分の血糖値の低下を認め、組織学的にも脂肪肝が

改善していた。以上の結果から BX には HFHS 起因性のメタボリックシンドローム及び脂肪肝に対し発症予防効果があることが示唆された。

BX-T、BX-E、BX-R の作用を比較した実験 2 では、BX-E により体重増加抑制作用、腎周囲脂肪蓄積の抑制、肝組織中の脂肪量（総脂質・TC・TG）の低下を認め、組織学的にも脂肪肝の所見がごく軽度であることから、越後白雪茸抽出物乾燥粉末である BX-E がもっとも有効であることが示された。BX-E の作用は抽出残渣乾燥粉末である BX-R では全く認められなかったことから、BX の機能成分は抽出物中に存在すると推測される。

BX 中の機能成分については現在のところ不明であるが、本試験より推定される作用機序について述べる。

① 動物性脂肪依存性に対する作用

近年、高脂肪食により視床下部メタボ報酬系神経細胞に小胞体ストレスが付加され、動物性脂肪依存性が形成され、脂肪摂取に対する嗜好が高まり、運動と疎遠になり、脂肪貯留が増すことが示されている^{3,4}。小胞体ストレスを緩和し動物性脂肪依存性を断ち切る機能性成分として胚芽成分である γ -オリザノールが知られている^{3,5}。本試験では、食事摂取量が HFHS 群に比べ HFHS+BX 群ではやや減る傾向がみられたが (Fig. 3-a)、食欲が制御されたかどうかの判断は困難であった。BX 抽出物が動物性脂肪依存性を緩和する作用があるか否かについては、今後の検証が必要である。

② インスリン抵抗性改善作用

HFHS 群に比べ HFHS+BX 群では GTT にて食後 15 ~ 20 分の血糖値の低下を認めたことから (Fig. 8-a)、インスリン作用が改善された可能性が考えられる。インスリン血中濃度および FPG には有意な変化はないこと、食後初期に効果がみられることから、食後血糖上昇に対する膵 β 細胞からのインスリン分泌能が改善されたと推測される。インスリン分泌能に影響する因子として①インクレチンの関与 (GLP-1 や GIP 分泌増加)⁶⁻⁸、②膵 β 細胞のドーパミン 2 型受容体の関与^{9,10}、③膵 β 細胞の小胞体ストレスの緩和が挙げられる^{9,10}、④短鎖脂肪酸受容体 (GPR41・GPR43) の関与¹¹⁻¹³ がある。BX 抽出物の膵 β 細胞インスリン分泌能への作用については今後の検討課題である。

③ 腸内細菌叢に対する作用

高脂肪食は腸内細菌叢にも影響を及ぼし¹⁴⁻¹⁶、ラットでは *Lactobacillus* 属乳酸菌の増加、*Clostridium coccooides* 属 (2008 年以降は *Blautia coccooides* と命名) の増加、*Bacteroides* 属の増加、*Prevotella* 属の減少、*Clostridium leptum* 属の増加がみられ¹⁷、結果として腸管内における短鎖脂肪酸産生は減るものと予想される。これらの変化はアスタキサンチンの摂取により緩和される。アスタキサンチンは吸収率の低い抗酸化物質であることが知られ、95% 以上は腸管内に留まり抗酸化機能を発揮し、腸内細

菌叢にも好影響をもたらすと考えられる。ヒト 2 型糖尿病患者においても、腸内細菌の総菌数は同程度であったのに対し、*Firmicutes* 門に属する *Clostridium coccooides* 属、*Clostridium leptum* 属、*Lactobacillus* 属などの有意な増加と *Prevotella* 属の有意な減少、さらには糞便中における短鎖脂肪酸濃度の低下がみられる¹⁸。短鎖脂肪酸はリガンドとして膵 β 細胞の GPR41・GPR43 に結合するとインスリン分泌能を助ける作用がある。その他にも短鎖脂肪酸受容体を介して体温上昇、心拍数上昇、基礎代謝上昇といった作用があることが知られ、体重増加の予防、メタボリックシンドロームの予防に協調的に作用する。BX 抽出物の腸内細菌叢への影響については今後の検討課題である。

④ 褐色脂肪への作用

褐色脂肪細胞とベージュ脂肪細胞の 2 種類の熱産生脂肪細胞は、全身のエネルギー代謝制御の重要な役割を担っている。寒冷に恒温動物が曝されると、交感神経が活性化し、褐色脂肪細胞とよばれる熱産生を行う脂肪細胞が急速な熱産生を誘導する。同時に、脂肪燃焼・熱産生に関わる遺伝子の発現を急速に誘導し、熱産生の能力を最大限に引き出す。その結果、インスリン分泌を改善すること無く、2 型糖尿病などの代謝異常を改善する¹⁹⁻²²。

近年、寒冷環境などの要因によってベージュ脂肪細胞が誘導されてくる。この現象は白色脂肪組織の“ベージュ化”ともよばれ、慢性的な寒冷環境に適応する重要な仕組みである²¹。ベージュ脂肪細胞を誘導することにより、肥満の抑制、全身の糖・脂質代謝の改善が期待できる²²。転写調節因子である PRDM16 や、ヒストン修飾因子である EHMT1 は褐色脂肪細胞およびベージュ脂肪細胞の発生に大きくかかわっている。褐色脂肪およびベージュ脂肪細胞は、熱産生能を介した影響のみならず、インスリン抵抗性に直接関与していると考えられている²³。

本実験においても BX 抽出物の投与により内臓脂肪 (白色脂肪) が著明に減少しており、BX 中の機能性成分が脂肪細胞の白色化や褐色化になんらかの作用を及ぼす可能性は十分考えられる。BX 抽出物が褐色細胞やベージュ脂肪細胞を増加させるか否かについては今後の課題である。

⑤ 糞中への脂質排泄

実験 2 では糞中への脂質排泄について検討を行ったが、HFHS 群と HFHS+BX 群を比較しても糞排泄量、糞中 TG・TC・総脂質のいずれも有意差はなかった (Fig. 14)。従って、BX 抽出物には糞中への脂質排泄増強作用はないと考えられる。しかし、HFHS 群に比べ HFHS+BX-R 群では糞中 TG 排泄量が有意に高かったこと (Fig. 14-c)、HFHS 群に比べ HFHS+BX-T 群と HFHS+BX-R 群では糞中 TC 排泄量が有意に低かったこと (Fig. 14-d) に関しては、解釈不能であった。BX-R には BX 抽出物が含まれないことから、本所見については BX 抽出物の機能性成分の関与はないものと推測される。

結論

越後白雪茸抽出物乾燥粉末 (BX-E) 摂取はHFHS食起因性内臓脂肪貯留 (メタボリックシンドローム) および脂肪肝に対し予防効果を有することが動物実験にて示された。BXは食材として食経験が十分蓄積され食品としての安全性が担保されていることから、今後、メタボリックシンドローム並びに脂肪肝の予防のための機能性食品として利用できる可能性が示唆された。

利益相反申告

本研究を施行するにあたりマイコロジーテクノ株式会社 (新潟市東区) より支援を受けた。

謝辞

本研究の一部は越後白雪茸研究会 (2016年、東京) にて発表した。

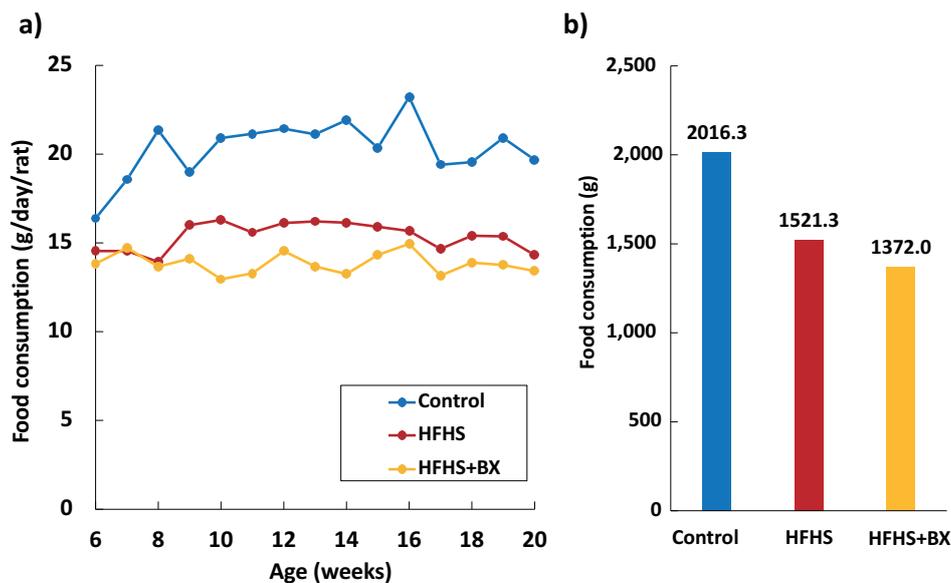


Fig. 3. Food consumption.

a) Daily food consumption and b) total food consumption throughout the experiment. Control, n = 10; HFHS, high-fat high-sugar, n = 10; HFHS+BX, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 9; BX, *Basidiomyces-X*.

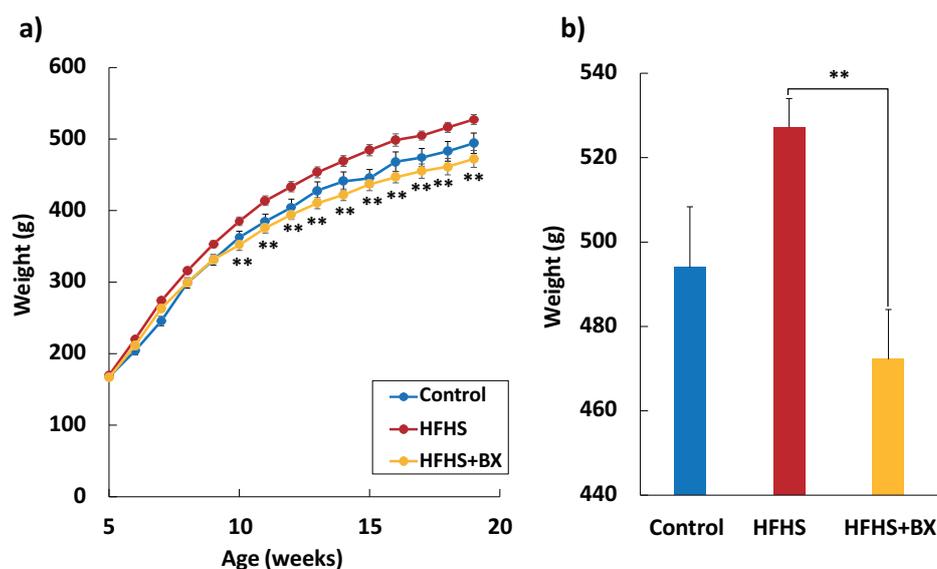


Fig. 4. Body weight.

a) Change in body weight. Results are expressed as mean \pm SEM. b) Body weight at the end of the experiment. Results are expressed as mean \pm SD; **p < 0.01 by the Tukey-Kramer test. Control, n = 10; HFHS, high-fat high-sugar, n = 10; HFHS+BX, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 9; BX, *Basidiomyces-X*; SD, standard deviation; SEM, standard error mean.

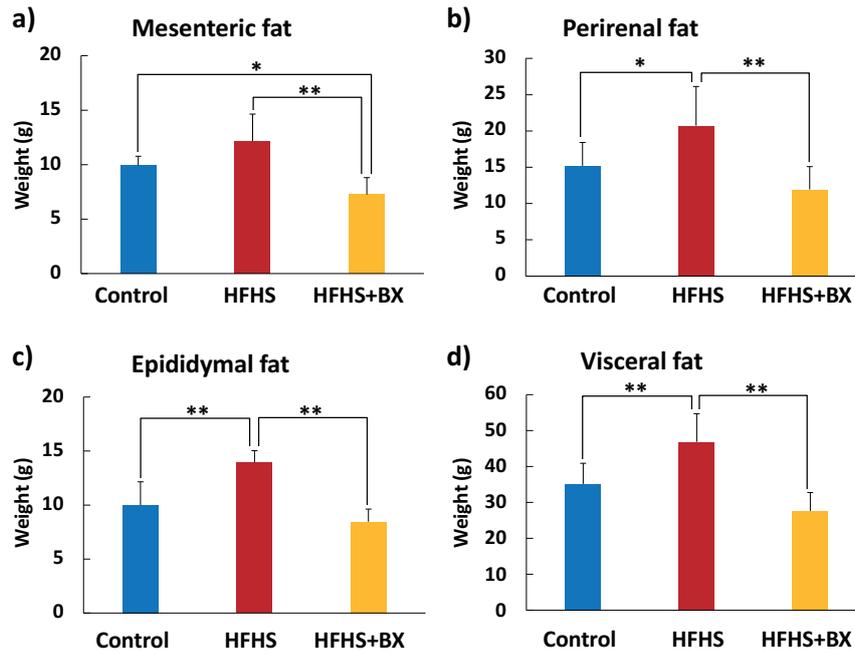


Fig. 5. Visceral fat.

Weight of **a)** mesenteric fat, **b)** perirenal fat, **c)** epididymal fat, and **d)** visceral fat. Visceral fat refers to total fat comprising mesenteric, perirenal and epididymal fat. Results are expressed as mean \pm SD; *p < 0.05, **p < 0.01 by the Tukey-Kramer test. Control, n = 8; HFHS, high-fat high-sugar, n = 9; HFHS+BX, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 6; BX, *Basidiomycetes-X*; SD, standard deviation.

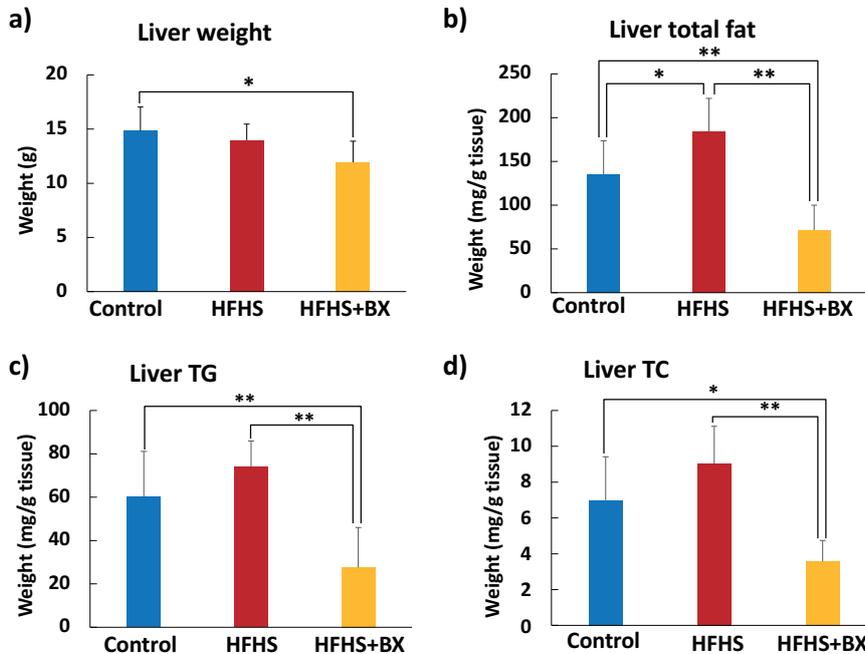


Fig. 6. Fat in liver tissue.

a) Liver weight, **b)** total fat, **c)** TG and **d)** TC levels. Total fat refers to the sum of TG and TC. Results are expressed as mean \pm SD; *p < 0.05, **p < 0.01 by the Tukey-Kramer test. Control, n = 8; HFHS, high-fat high-sugar, n = 9; HFHS+BX, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 6; TG, triglyceride; TC, total cholesterol; BX, *Basidiomycetes-X*; SD, standard deviation.

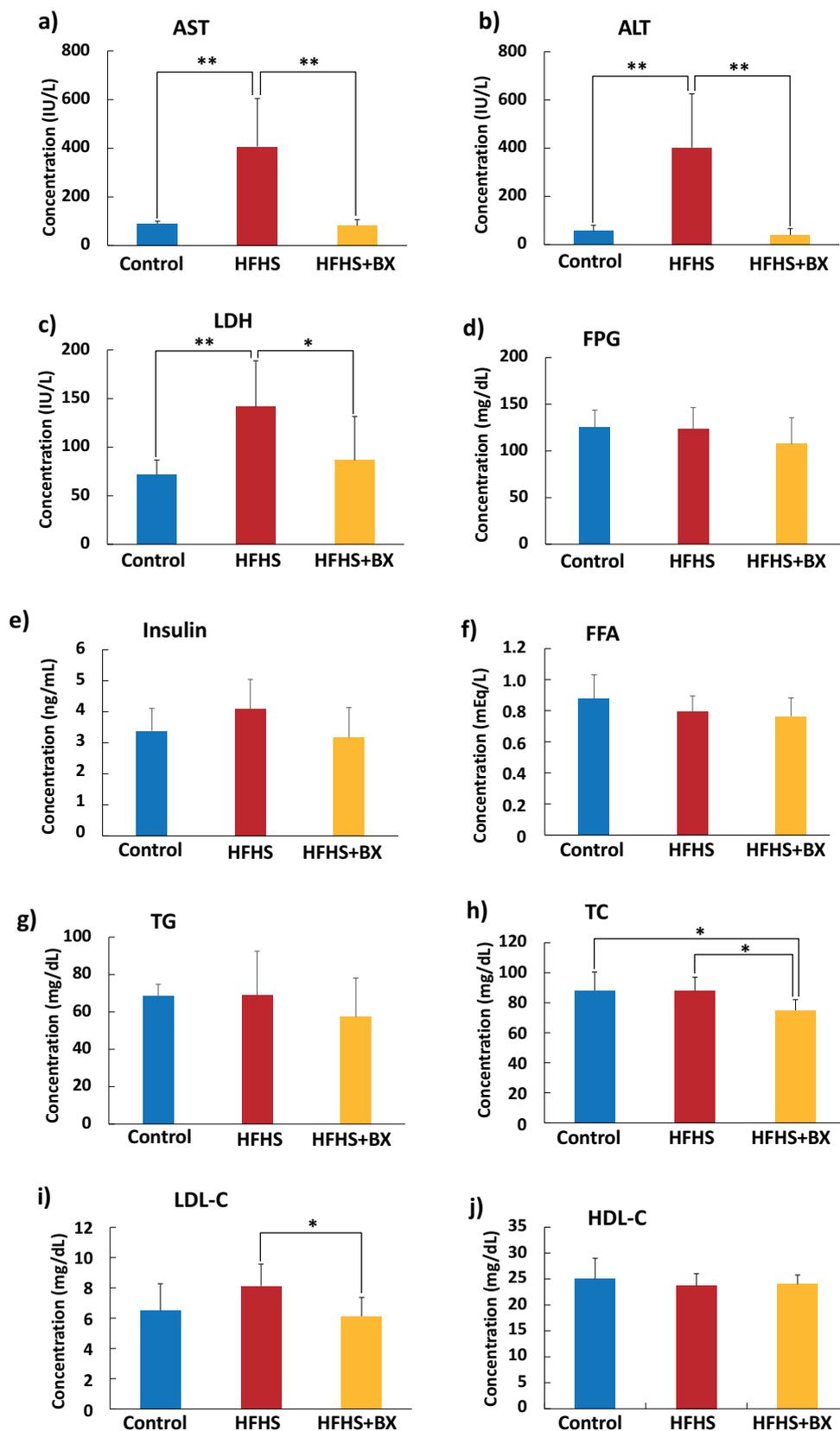


Fig. 7. Blood chemistry.

Levels of a) AST, b) ALT, c) LDH, d) FPG, e) insulin, f) FFA, g) TG, h) TC, i) LDL-C, and j) HDL-C. Results are expressed as mean \pm SD; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ by the Tukey-Kramer test. Control, $n = 8$; HFHS, high-fat high-sugar, $n = 9$; HFHS+BX, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, $n = 6$; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; FPG, fasting plasma glucose; FFA, free fatty acid; TG, triglyceride; TC, total cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein-cholesterol; BX, *Basidiomycetes-X*; SD, standard deviation.

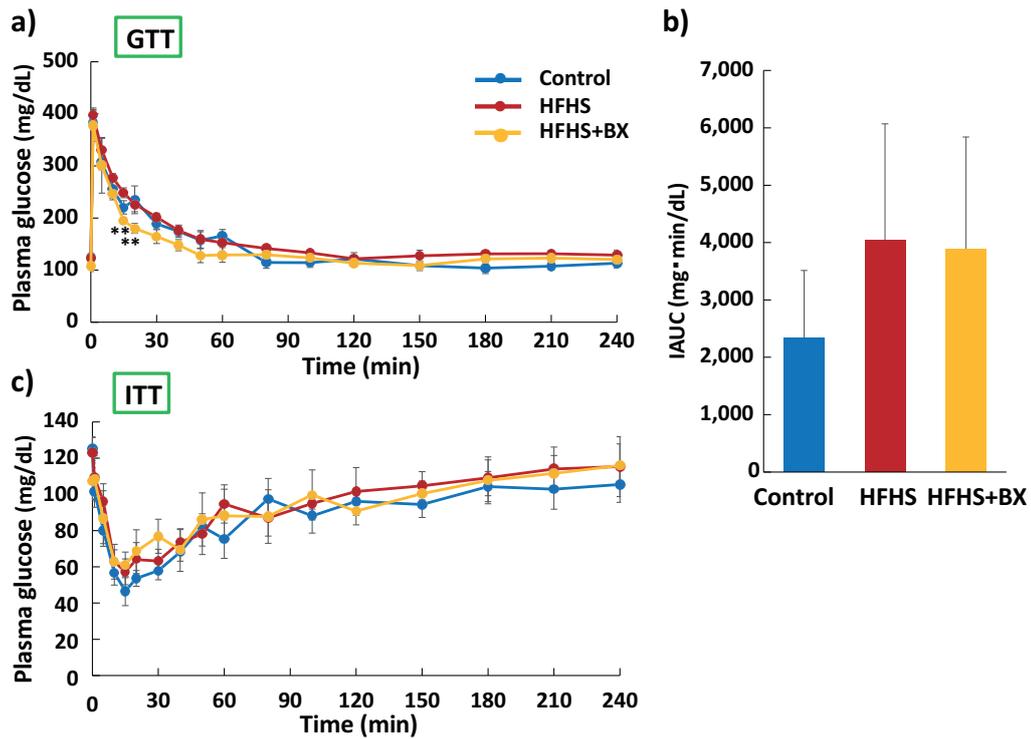


Fig. 8. Glucose in GTT and ITT.

a) Change in plasma glucose in GTT, b) the iAUC, and c) change in plasma glucose in ITT. Results are expressed as mean \pm SEM; ** $p < 0.01$ by Student's t test vs HFHS. Control, $n = 4$; HFHS, high-fat high-sugar, $n = 4$; HFHS+BX, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, $n = 4$; GTT, glucose tolerance test; ITT, insulin tolerance test; iAUC, incremental area under the curve; BX, *Basidiomycetes-X*; SEM, standard error mean.

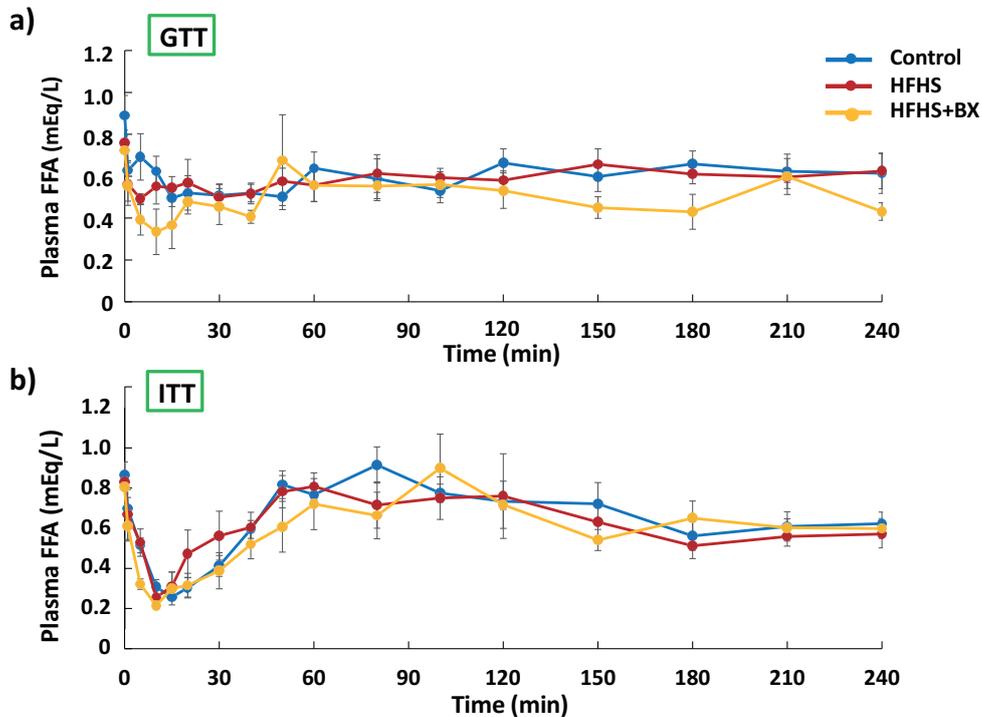


Fig. 9. FFA in GTT and ITT.

Changes in plasma FFA in a) GTT and b) ITT. Results are expressed as mean \pm SEM. Control, $n = 4$; HFHS, high-fat high-sugar, $n = 4$; HFHS+BX, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, $n = 4$; GTT, glucose tolerance test; ITT, insulin tolerance test; BX, *Basidiomycetes-X*; SEM, standard error mean.

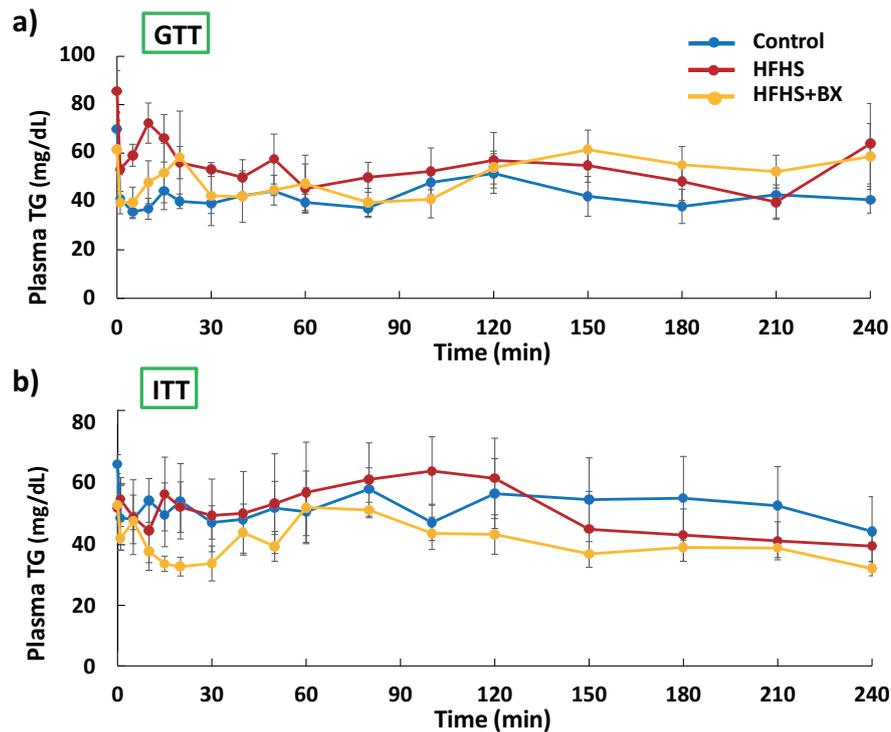


Fig. 10. TG in GTT and ITT.

Changes in plasma TG in **a)** GTT and **b)** ITT. Results are expressed as mean \pm SEM. Control, n = 4; HFHS, high-fat high-sugar, n = 4; HFHS+BX, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 4; GTT, glucose tolerance test; ITT, insulin tolerance test; BX, *Basidiomyces-X*; SEM, standard error mean.

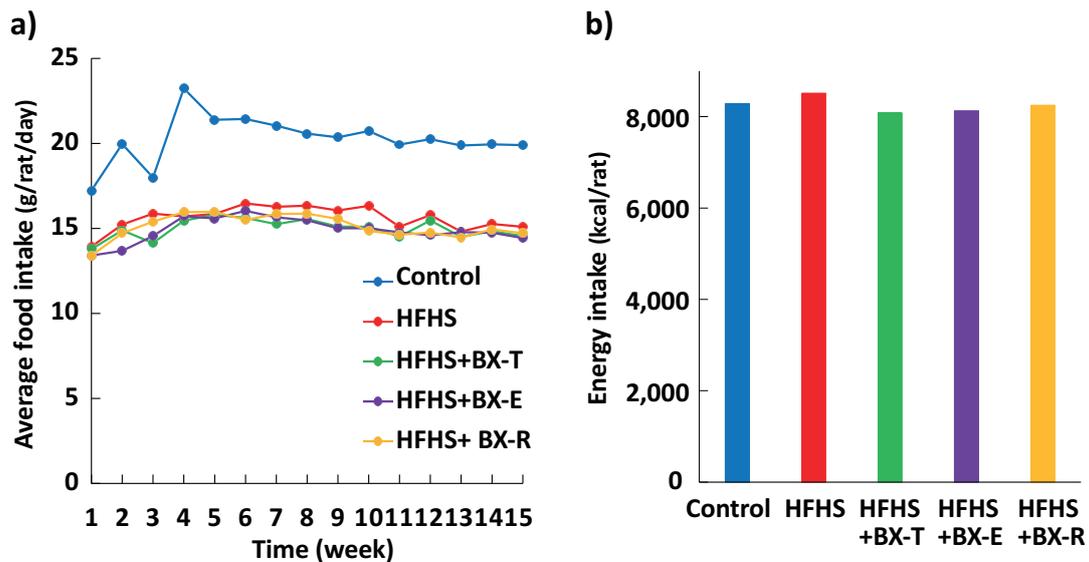


Fig. 11. Food and energy intake.

a) Food intake and **b)** energy intake during the experiment. Control, n = 10; HFHS, high-fat high-sugar, n = 10; HFHS+BX-T, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 10; HFHS+BX-E, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX water extract, n = 10; HFHS+BX-R, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX extract residue, n = 8.

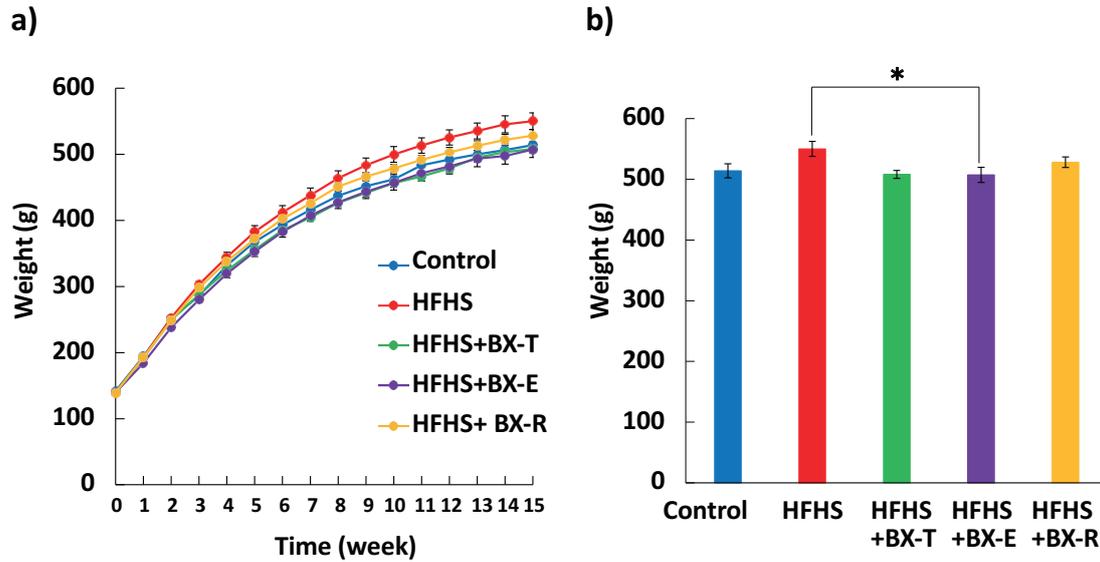


Fig. 12. Body weight.

a) Change in body weight and b) body weight at the end of the experiment. Control, n = 10; HFHS, high-fat high-sugar, n = 10; HFHS+BX-T, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 10; HFHS+BX-E, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX water extract, n = 10; HFHS+BX-R, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX extract residue, n = 8. Results are expressed as mean \pm SEM; *p < 0.05 by the Tukey-Kramer test. SEM, standard error mean.

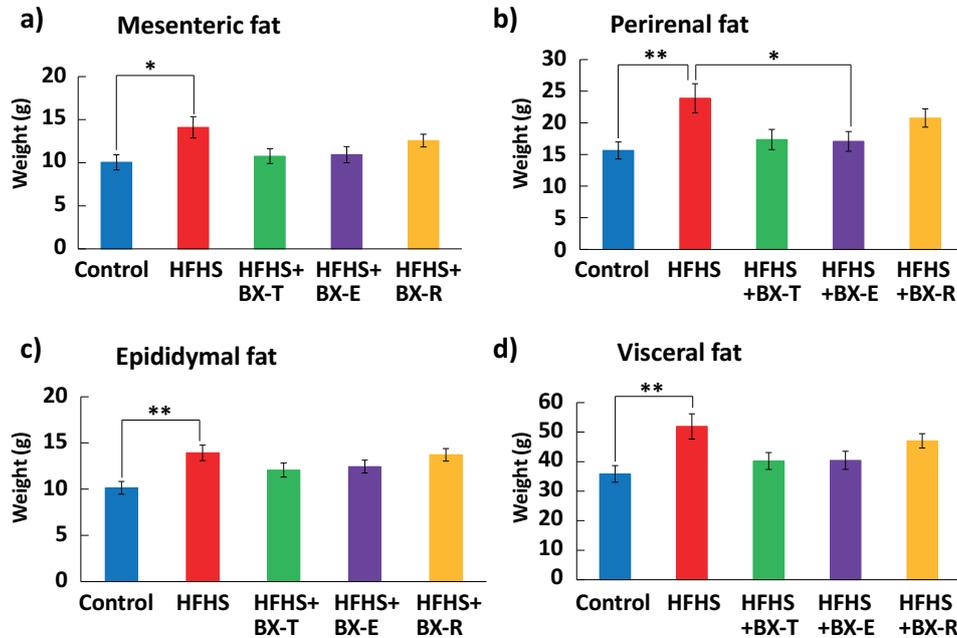


Fig. 13. Visceral fat.

Weight of a) mesenteric fat, b) perirenal fat, c) epididymal fat and d) visceral fat. Visceral fat refers to total fat comprising mesenteric, perirenal and epididymal fat. Control, n = 10; HFHS, high-fat high-sugar, n = 10; HFHS+BX-T, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 10; HFHS+BX-E, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX water extract, n = 10; HFHS+BX-R, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX extract residue, n = 8. Results are expressed as mean \pm SEM; *p < 0.05, **p < 0.01 by the Tukey-Kramer test. SEM, standard error mean.

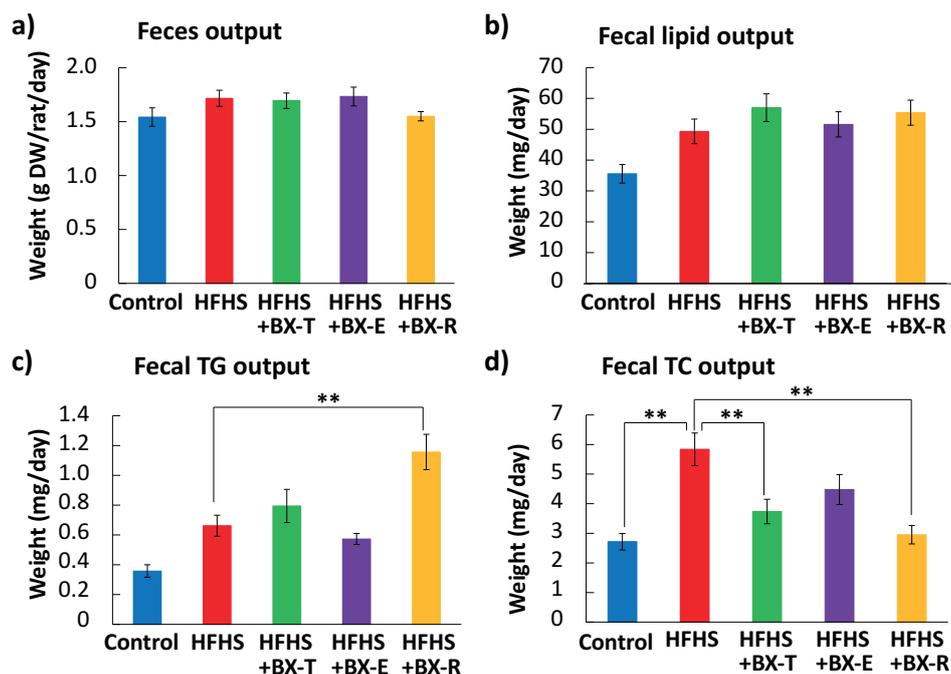


Fig.14. Feces lipid output.

a) Feces output, b) fecal lipid output, c) fecal TG output, and d) fecal TC output. Control, n = 10; HFHS, high-fat high-sugar, n = 10; HFHS+BX-T, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 10; HFHS+BX-E, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX water extract, n = 10; HFHS+BX-R, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX extract residue, n = 8. Results are expressed as mean \pm SEM; **p < 0.01 by the Tukey-Kramer test. TG, triglyceride; TC, total cholesterol; SEM, standard error mean.

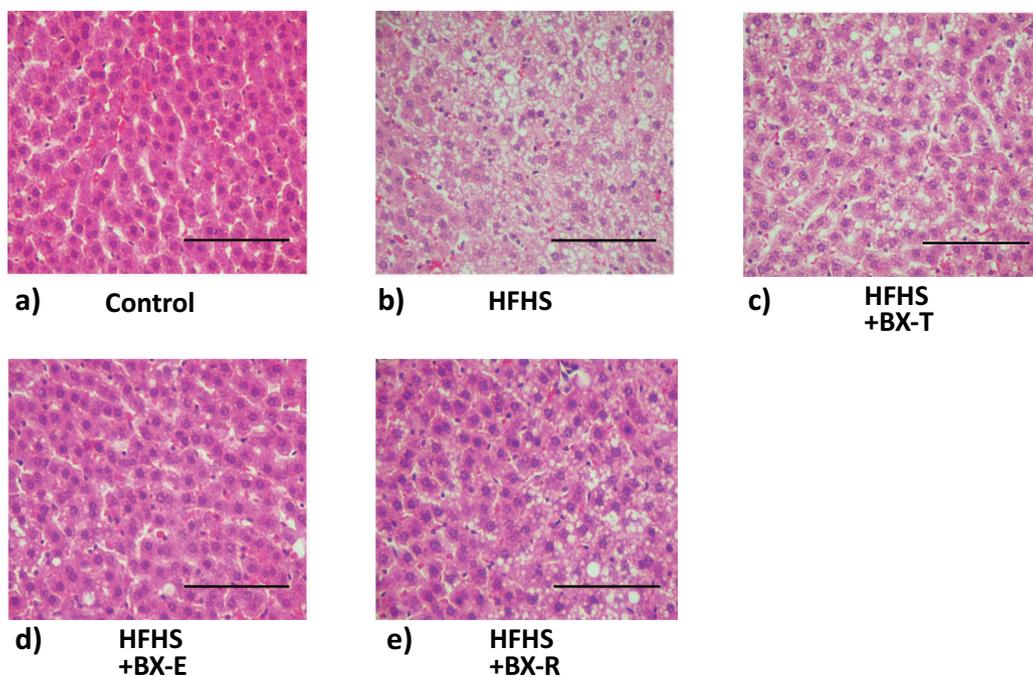


Fig.15. Liver histology.

a) Control, b) HFHS, c) HFHS+BX-T, d) HFHS+BX-E, and e) HFHS+BX-R. Scale bars indicate 100 μ m. Hematoxylin and eosin stain. HFHS, high-fat high-sugar; HFHS+BX-T, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder; HFHS+BX-E, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX water extract; HFHS+BX-R, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX extract residue.

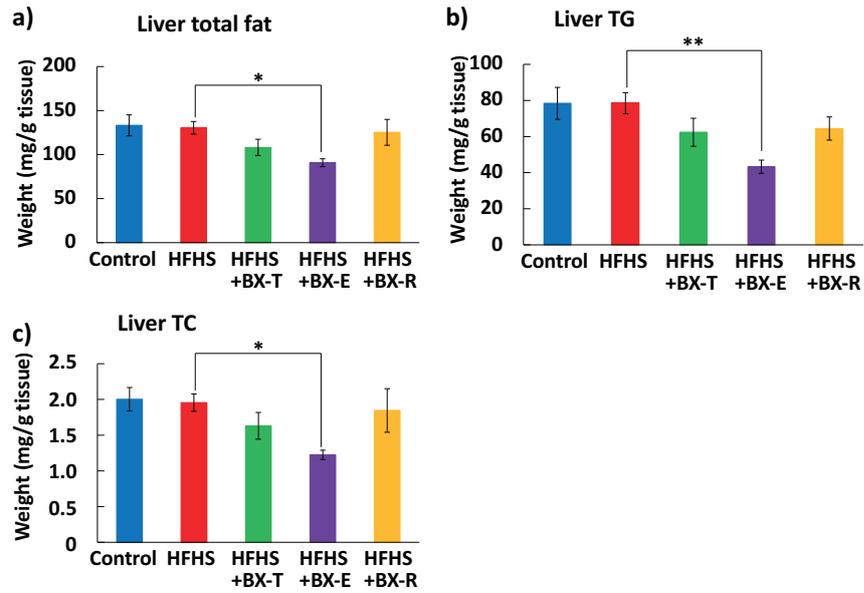


Fig.16. Fat in liver tissue.

a) Total fat, b) TG, and c) TC levels. Total fat refers to the sum of TG and TC. Control, n = 10; HFHS, high-fat high-sugar, n = 10; HFHS+BX-T, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 10; HFHS+BX-E, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX water extract, n = 10; HFHS+BX-R, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX extract residue, n = 8. Results are expressed as mean \pm SEM; *p < 0.05, **p < 0.01 by the Tukey-Kramer test vs HFHS. SEM, standard error mean.

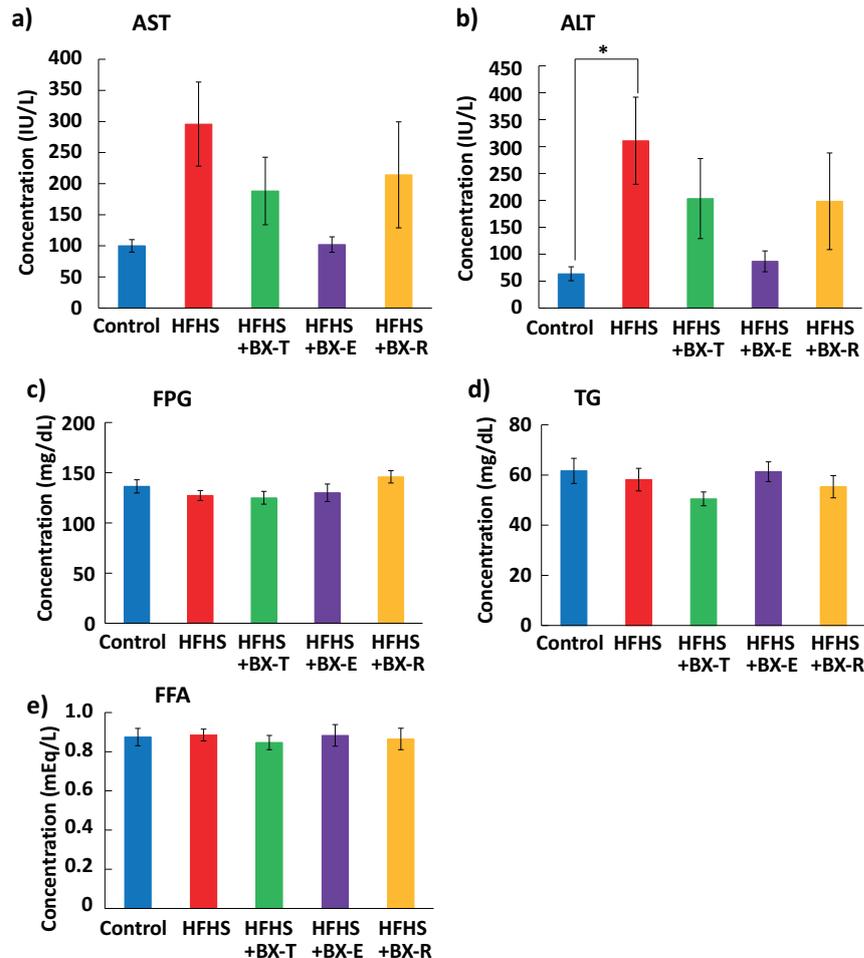


Fig.17. Blood chemistry.

a) AST, b) ALT, c) FPG, d) TG, and e) FFA. Control, n = 10; HFHS, high-fat high-sugar, n = 10; HFHS+BX-T, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX dry powder, n = 10; HFHS+BX-E, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX water extract, n = 10; HFHS+BX-R, high-fat high-sugar feed supplemented with 5% BX extract residue, n = 8. Results are expressed as mean \pm SEM; *p < 0.05, **p < 0.01 by the Tukey-Kramer test vs HFHS. AST, aspartate transaminase; ALT, alanine aminotransferase; FPG, fasting plasma glucose; TG, triglyceride; FFA, free fatty acid; SEM, standard error mean.

参考文献

- 1) Mycology Techno Co., Ltd., Nomoto K, Watanabe T. Composition against atopic disease. Patent No. WO2008129996. 2008-10-30.
- 2) Watanabe T, Nakajima Y, Konishi T. In vitro and *in vivo* antioxidant activity of hot water extract of basidiomycetes-X, newly identified edible fungus. *Biol Pharm Bull.* 2008; 31: 111-117.
- 3) Kozuka C, Yabiku K, Sunagawa S, et al. Brown rice and its components, γ -oryzanol, attenuate the preference for high fat diet by decreasing hypothalamic endoplasmic reticulum stress in mice. *Diabetes.* 2012; 61:3084-3093.
- 4) Masuzaki H, Kozuka C, Yamamine M, et al. Brown rice-specific γ -oryzanol-based novel approach toward lifestyle-related dysfunction of brain and impaired glucose metabolism. *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 58-66.
- 5) Kozuka C, Shimizu-Okabe C, Takayama C, et al. Marked augmentation of PLGA nanoparticle-induced metabolically beneficial impact of γ -oryzanol on fuel dyshomeostasis in genetically obese-diabetic ob/ob mice. *Drug Deliv.* 2017; 24: 558-568.
- 6) Nakamura A, Terauchi Y. Factors associated with the glucose-lowering effect of vildagliptin identified from the results of the oral glucose tolerance test in Japanese patients with type 2 diabetes. *Endocr J.* 2013; 60: 45-49.
- 7) Suzuki D, Toyoda M, Kimura M, et al. Effects of liraglutide, a human glucagon-like peptide-1 analogue, on body weight, body fat area and body fat-related markers in patients with type 2 diabetes mellitus. *Intern Med.* 2013; 52: 1029-1034.
- 8) Yabe D, Seino Y, Fukushima M, et al. β cell dysfunction versus insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes in East Asians. *Curr Diab Rep.* 2015; 15: 602.
- 9) Kozuka C, Sunagawa S, Ueda R, et al. γ -Oryzanol protects pancreatic β -cells against endoplasmic reticulum stress in male mice. *Endocrinology.* 2015; 156:1242-1250.
- 10) Kozuka C, Sunagawa S, Ueda R, et al. A novel insulinotropic mechanism of whole grain-derived γ -oryzanol via the suppression of local dopamine D2 receptor signaling in mouse islet. *Br J Pharmacol.* 2015; 172: 4519-4534.
- 11) Tolhurst G, Heffron H, Lam YS, et al. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes.* 2012; 61: 364-371.
- 12) Tang C, Ahmed K, Gille A, et al. Loss of FFA2 and FFA3 increases insulin secretion and improves glucose tolerance in type 2 diabetes. *Nat Med.* 2015; 21: 173-177.
- 13) McNelis JC, Lee YS, Mayoral R, et al. GPR43 potentiates β -cell function in obesity. *Diabetes.* 2015; 64: 3203-3217.
- 14) DiBaise JK, Zhang H, Crowell MD, et al. Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clin Proc.* 2008; 83: 460-469.
- 15) Sefcáková Z, Kmet V, Bujnáková D, et al. Development of gut microflora in obese and lean rats. *Folia Microbiol (Praha).* 2010; 55: 373-375.
- 16) Kim KA, Gu W, Lee IA, et al. High fat diet-induced gut microbiota exacerbates inflammation and obesity in mice via the TLR4 signaling pathway. *PLoS One.* 2012; 7: e47713.
- 17) Yonei Y, Yagi M, Nakamura M, et al. Effects of astaxanthin on intestinal microflora in mice fed a high-fat diet. *Anti-Aging Med.* 2013; 10: 77-91.
- 18) Sato J, Kanazawa A, Ikeda F, et al. Gut dysbiosis and detection of "live gut bacteria" in blood of Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2014; 37: 2343-2350.
- 19) Oishi Y, Manabe I. Adipose stem cell system. *Clin Calcium.* 2017; 27: 795-801. (in Japanese)
- 20) Minokoshi Y. Central regulation of appetite and energy metabolism. *Clin Calcium.* 2018; 28: 45-55. (in Japanese)
- 21) 酒井寿郎. 肥満・生活習慣病におけるエピゲノム研究. *医学のあゆみ.* 2019; 268: 359-364.
- 22) 池田賢司, 梶村真吾. 肥満症の病態: 肥満症と褐色脂肪細胞/ベージュ脂肪細胞. *最新医学.* 2019; 74: 60-66.
- 23) 大野晴也. インスリン抵抗性はなぜ起きるのか?: インスリン感受性に影響を与える褐色脂肪細胞の分化・機能. *実験医学.* 2017; 35: 217-224.