

# Lactobacillus rhamnosus

## GG摂取がラット食後血糖値に及ぼす影響

誌名	ミルクサイエンス = Milk science
ISSN	13430289
著者名	田淵,三保子 森田,裕嗣 何,方 細田,正孝 山田,則子 石田,哲夫
発行元	日本酪農科学会
巻/号	54巻1号
掲載ページ	p. 17-21
発行年月	2005年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## 原 報

*Lactobacillus rhamnosus* GG 摂取がラット食後血糖値に及ぼす影響田淵三保子<sup>1</sup>・森田裕嗣<sup>2</sup>・何方<sup>2</sup>・細田正孝<sup>2</sup>・山田則子<sup>1</sup>・石田哲夫<sup>1\*</sup><sup>1</sup>山形県立米沢女子短期大学健康栄養学科<sup>2</sup>タカナシ乳業株式会社商品研究所Effect of Administration of *Lactobacillus rhamnosus* GG on Postprandial Blood Glucose Levels in RatsMihoko Tabuchi,<sup>1</sup> Hirotugu Morita,<sup>2</sup> Fang He,<sup>2</sup> Masataka Hosoda,<sup>2</sup>Noriko Yamada,<sup>1</sup> and Tetsuo Ishida<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Yonezawa Women's College of Yamagata Prefecture, Department of Health and Nutrition, Yonezawa, Yamagata 992-0025, Japan<sup>2</sup>Takanashi Milk Products Co., Ltd., Technical Research Laboratory, Yokohama, Kanagawa 241-0023, Japan)

## Abstract

Effect of administration of *Lactobacillus rhamnosus* GG on the postprandial blood glucose elevation was investigated by sugar tolerance tests in rats. Wistar male rats (8-weeks-old) were fed diets supplemented with lyophilized cells of *L. rhamnosus* GG for 14 days. After oral administration of maltose or glucose, the elevation of blood glucose level was significantly suppressed by the intake of *L. rhamnosus* GG. In *in vitro* study, *L. rhamnosus* GG showed glucose-decreasing action and the action of viable cells was higher than that of heat-sterilized cells. These results suggested that *L. rhamnosus* GG suppressed the postprandial hyperglycemia by inhibiting glucose absorption, and the inhibition might be due to binding and assimilation of the glucose.

## 緒 言

近年、わが国の糖尿病患者数は増加の一途をたどり、厚生労働省の調査（2002）によると糖尿病が強く疑われる人が740万人、糖尿病の可能性を否定できない人まで含めると1620万人に達するといわれている<sup>1)</sup>。糖尿病はその成因から1型と2型に大別されているが、頻度的には後者が圧倒的に多く、わが国の糖尿病の90%以上を占めている。2型糖尿病は過食、肥満、運動不足などがインスリンの作用不足を招き、血糖値が上昇するといわれており、初期段階として食後の血糖上昇が観察され、慢性的な食後高血糖の過程を経て空腹時血糖値の上昇へ増悪すると考えられている<sup>2)</sup>。さらに、高血糖の持続は網膜症、腎症、神経症などの合併症を引き起こすことが知られており、2型糖尿病の予防や症状の進展防止には食後の血糖上昇を抑制することが有効であると考えられている。このような背景から、食後の血糖上昇を抑制する食品やその成分に関心が高まり、最近では難消化デキストリン<sup>3)</sup>やポリフェノール<sup>4-6)</sup>が食後の血糖上昇

を穏やかにすると話題をよんでいる。

腸内フローラは宿主の健康にも疾病にも深く関与し、腸内有益菌を優勢に保つことがヒトの健康にとって望ましいと考えられている<sup>7)</sup>。Fuller<sup>8)</sup>は「腸内フローラのバランスを改善することにより、宿主の健康に有益な作用をもたらす生きた微生物」をプロバイオティクスと定義しており、*Lactobacillus rhamnosus* GG、*L. casei* Shirota、*L. johnsonii* La1などのプロバイオティクス乳酸菌<sup>9)</sup>が見出されている。これまでにプロバイオティクス乳酸菌の摂取が高血圧<sup>10)</sup>、高脂血症<sup>11)</sup>、ガン<sup>12)</sup>に対して有効であることが報告されているが、糖尿病に関しては十分な検討がなされていない。

そこで、プロバイオティクス乳酸菌の一つである *L. rhamnosus* GG に着目し、*L. rhamnosus* GG による糖尿病軽減作用を検討している。*L. rhamnosus* GG は Goldin と Gorbach によって健康なヒトの腸内から分離され、ヒト腸管定着性<sup>13)</sup>、ヒト腸内フローラ改善作用<sup>14)</sup>、下痢症軽減作用<sup>15)</sup>、抗腫瘍作用<sup>16)</sup>などが明らかにされている。また最近、*L. rhamnosus* GG のアレルギー軽減作用が報告され<sup>17)</sup>、臨床的にも広く研究されている。著者らは新生仔におけるストレプトゾトシン誘導2型糖尿病ラットに *L. rhamnosus* GG を摂取させた

\* 連絡者 (fax : 0238-22-7324, e-mail : ishida@yone.ac.jp)

結果、食後高血糖の進展が抑制されることを見出した<sup>18)</sup>。糖尿病改善効果が報告されている食品成分の多くは食後血糖上昇抑制作用が示されており<sup>3~6)</sup>、*L. rhamnosus* GG も食後血糖上昇抑制作用を示す可能性が考えられる。本研究は、*L. rhamnosus* GG が食後の血糖上昇を抑制する可能性を検証することを目的として、*L. rhamnosus* GG 摂取がラット糖質負荷後の血糖上昇に及ぼす影響について検討した。

## 実験材料と方法

### 1. *L. rhamnosus* GG 凍結乾燥菌体の調製

*L. rhamnosus* GG はタカナシ乳業㈱より譲り受けたものを使用した。MRS 液体培地 (Oxoid) に *L. rhamnosus* GG 前培養液を接種し、37°C で18時間培養した。培養後、遠心分離 (2000×g, 15分) によって菌体を回収した。菌体は滅菌蒸留水で2回洗浄後、凍結乾燥を行った。凍結乾燥菌体は-80°C で保存し、以下の実験に用いた。また、*in vitro* の実験では菌体をオートクレーブ処理 (121°C, 15分) した加熱処理菌体を用いた。

### 2. 実験動物および飼育条件

動物実験は総理府告示の実験動物の飼養および保管等に関する基準に従い、実験動物に対し十分に配慮した上で行った。7週齢のwistar系雄性ラット (日本クレア) を市販の粉末飼料 (CE-2, 日本クレア) で7日間予備飼育を行い、1群6匹として対照群とGG群の2群に分けた。対照群にはCE-2粉末飼料を、GG群にはCE-2粉末飼料に*L. rhamnosus* GG凍結乾燥菌体を2%の割合で添加した飼料をそれぞれ14日間摂取させた。ラットはケージに個別に入れ、室温22±2°C、湿度55±5%の12時間明暗サイクルの環境下で飼育を行った。実験飼料および水は毎日交換したものを自由摂取させた。

### 3. 糖質負荷試験

実験12日目にマルトース負荷試験を、実験14日目にグルコース負荷試験を以下の方法で行った。ラットを18時間絶食させた後、マルトースまたはグルコース (1g/kg・体重) を経口投与した。投与前および投与15, 30, 60分後に尾静脈より採血を行い、血糖値を測定した。血糖値の測定は、小型血糖測定器グルテストセンサー (三和化学研究所) を用いて行った。また、投与前および投与15分後に採取した血液は、遠心分離を行い、得られた血清のインスリン濃度をインスリン測定キット (森永生科学研究所) を用いて測定した。

### 4. *in vitro* におけるグルコース低減性試験

*L. rhamnosus* GG の生菌体または加熱処理菌体 1~10

mg を0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) で溶解させたグルコース溶液 (0.5 mg/mL) 1 mL と混合し、37°C で30分間静置した。遠心分離 (2000×g, 15分, 4°C) によって菌体を除去後、上清中のグルコース量をソモジー-ネルソン法<sup>19)</sup>により測定した。すなわち、上清にソモジー銅試薬を加え、10分間100°C で加熱した。冷却後、ネルソン試薬を加えて660 nm の波長で吸光度を測定した。グルコース濃度は予め作成した検量線から求め、グルコース減少率は減少率 (%) = (1 - 菌体添加時のグルコース量/菌体無添加時のグルコース量) × 100の式により算出した。*L. rhamnosus* GG 生菌体または加熱処理菌体10 mg のグルコース低減作用について反応時間を変化させた場合 (0~60分) も同様に検討した。

### 5. 統計処理

データは平均値±標準誤差で表示した。各群間の有意差検定は Student の *t*-検定を用い、有意差は *p* < 0.05 を統計学的に有意と判定した。

## 結果および考察

### 1. *L. rhamnosus* GG が糖質負荷後の血糖上昇に及ぼす影響

*L. rhamnosus* GG を摂取させたラットにマルトース負荷試験を行った結果を Fig. 1 に、グルコース負荷試験を行った結果を Fig. 2 に示した。GG 群のマルトース負荷15分後の血糖上昇値および血清インスリン上昇値は対照群に比べて有意に低い値を示した (Fig. 1)。2型糖尿病はインスリンの分泌低下、あるいはインスリンの感受性低下 (抵抗性) によって食後高血糖を招き、慢性高血糖へ進展すると考えられている。食後の急激な血糖上昇に対して急激なインスリン分泌を繰り返すことで膵臓β細胞の機能が消耗し、インスリン分泌が低下すると考えられる。また、食後の過剰なインスリン分泌は内臓脂肪蓄積を促し、その結果インスリン抵抗性を増大させることが知られている<sup>20)</sup>。従って、*L. rhamnosus* GG は、食後の急激な血糖上昇を抑制し、インスリンの分泌も抑制することで糖尿病の発症や進展を軽減できる可能性が示唆された。さらに、GG 群ではグルコース負荷後の血糖上昇値および血清インスリン上昇値も対照群に比べて有意に低い値を示したことから (Fig. 2)、*L. rhamnosus* GG によるグルコース吸収抑制作用が示された。実験終了時にGG群のラット腸内細菌数を測定した結果、小腸の上部および下部から4.89±0.07, 7.16±0.28 (log cfu/g) の*L. rhamnosus* GG が検出された。著者らは*L. rhamnosus* GG 摂取によりコレステロールおよび胆汁酸の吸収が低下することを見出しており<sup>21)</sup>、*L. rhamnosus* GG が糖質の吸収部位である小腸に定着し、

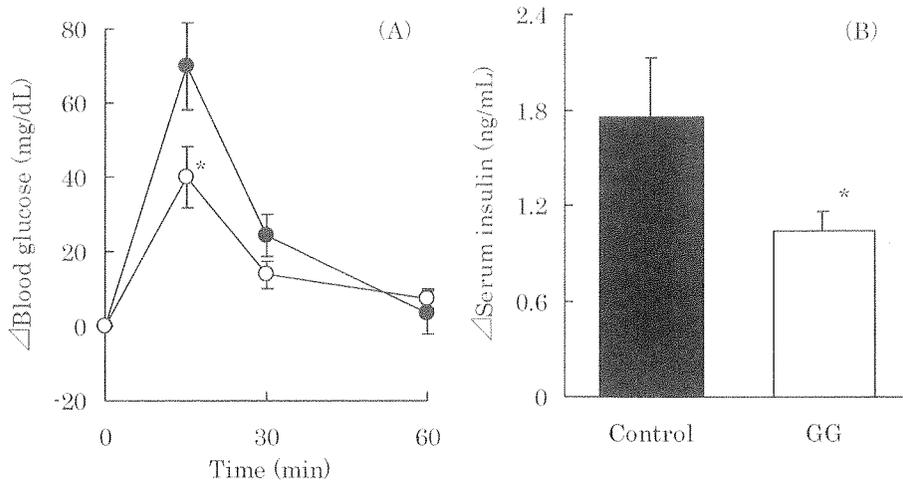


Fig. 1 Effect of *L. rhamnosus* GG on elevation of blood glucose (A) and serum insulin (B) in maltose-loaded rats. Maltose (1 g/kg B.W.) was given by oral administration to rats fed on diet containing of *L. rhamnosus* GG cells for 12 days. Blood samples were taken at 0, 15, 30, 60 min, and serum samples were taken at 0, 15 min, after the loading. Mean  $\pm$  SE (n=6). ●, control; ○, GG. \* $p < 0.05$  vs. control group.

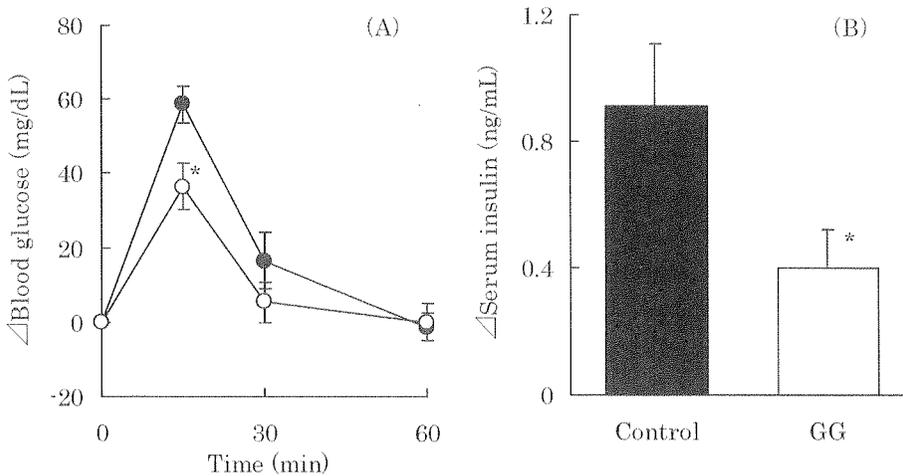


Fig. 2 Effect of *L. rhamnosus* GG on elevation of blood glucose (A) and serum insulin (B) in glucose-loaded rats. Glucose (1 g/kg B.W.) was given by oral administration to rats fed on diet containing of *L. rhamnosus* GG cells for 14 days. Blood samples were taken at 0, 15, 30, 60 min, and serum samples were taken at 0, 15 min, after the loading. Mean  $\pm$  SE (n=6). ●, control; ○, GG. \* $p < 0.05$  vs. control group.

グルコース吸収に影響を及ぼした可能性が示唆された。一方、マルトースはマルターゼによってグルコースに加水分解され、小腸から吸収される。ポリフェノールはマルターゼ阻害作用を介してマルトース負荷後の血糖上昇を抑制すると報告されており<sup>4-6)</sup>、*L. rhamnosus* GGもマルターゼ活性に影響を及ぼした可能性が考えられた。しかし、データは示さないが*L. rhamnosus* GG加熱処理菌は糖質消化酵素阻害作用を示さなかった。また、*L. rhamnosus* GG摂取ラットへのマルトース負荷後の血糖上昇値はグルコース負荷後とほぼ同様の値であった。これらの結果は、*L. rhamnosus* GGが物理的に糖質消化酵素を阻害する可能性が低いことを示唆しており、*L. rhamnosus* GGによる食後血糖上昇抑制作用はグルコー

ス吸収阻害の関与が大きいと考えられる。

## 2. *in vitro*におけるグルコース低減作用

食物繊維はグルコースの吸収を物理的に阻害し、食後の血糖上昇を抑制することが明らかにされている<sup>22)</sup>。また、ある種の乳酸菌は*in vitro*において変異原性物質やコレステロールに対する吸着作用が報告されている<sup>23,24)</sup>。そこで、*in vitro*において*L. rhamnosus* GGのグルコース低減性試験を行い、Fig. 3に用量依存性をFig. 4に反応時間応答性を検討した結果を示した。*L. rhamnosus* GGは生菌、加熱処理菌ともに菌体量依存的なグルコース低減作用が認められ、生菌のグルコース減少率は加熱処理菌に比べて高い値を示した (Fig. 3)。

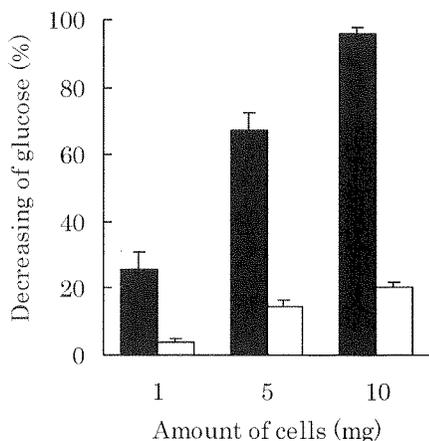


Fig. 3 Dose-response of the decreasing of glucose with viable cell and heat-sterilized cell of *L. rhamnosus* GG.

One milliliter of glucose solution (0.5 mg/mL) was incubated with various amount of *L. rhamnosus* GG cell at 37°C for 30 min. ■, viable cells; □, heat-sterilized cells.

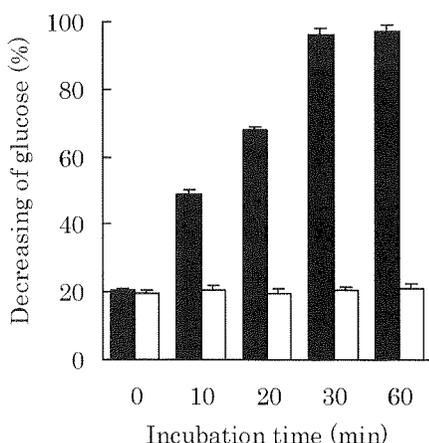


Fig. 4 Effect of incubation time on the decreasing of glucose with viable cell and heat-sterilized cell of *L. rhamnosus* GG.

One milliliter of glucose solution (0.5 mg/mL) was incubated with *L. rhamnosus* GG cell (10 mg) at 37°C for various times. ■, viable cells; □, heat-sterilized cells.

Fig. 4 に示したとおり、*L. rhamnosus* GG 加熱処理菌のグルコース低減作用は反応直後に瞬間的に起こり、その後増大しないことから、その作用は吸着作用に由来したと考えられる。一方、*L. rhamnosus* GG 生菌のグルコース減少率は反応直後は加熱処理菌と同等であったが、反応時間によって増加し、反応30分では100%と高い値を示した。一般的に乳酸菌生菌はグルコース資化性を有していることから、*L. rhamnosus* GG 生菌は反応直後にグルコースに対して吸着した後、資化作用によってグルコースを低減させたと考えられる。これらの結果は *in vitro* で確認されたものであるが、*L. rhamnosus*

GG は胃酸および胆汁酸に耐性を示し、生きたまま腸管に到着して腸管粘膜に付着することが報告されている<sup>13)</sup>。従って、摂取した *L. rhamnosus* GG が腸管内においてもグルコースに対する吸着作用および資化作用を示し、グルコースの吸収を低減させる可能性が十分に考えられる。

以上の結果より、*L. rhamnosus* GG 摂取による食後血糖上昇抑制作用が認められ、その作用はグルコースの吸収抑制作用に由来することが示唆された。さらに *L. rhamnosus* GG は *in vitro* においてグルコースの吸着作用および資化作用を示した。その作用は *in vitro* で確認されたものであるが、腸管に定着した *L. rhamnosus* GG がグルコースを吸着または資化することによって、グルコース吸収を低減させた可能性が考えられた。これまでプロバイオティクス乳酸菌による食後血糖上昇抑制作用については十分な検討がなされておらず、本研究の結果はプロバイオティクス乳酸菌の新たな機能を示唆するものとする。しかし、グルコース資化作用は乳酸菌を含む腸内細菌が有しており、*L. rhamnosus* GG 摂取による腸内環境の変化がグルコースの吸収に影響を及ぼした可能性も考えられる。今後は *L. rhamnosus* GG 以外の乳酸菌について抗糖尿病作用および食後血糖上昇抑制作用を検討したいと考えている。

#### 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、御指導を賜りました信州大学名誉教授（現財団法人日本乳業技術協会常務理事）の細野明義先生に厚く御礼申し上げます。

#### 文 献

- 1) 厚生労働省健康局生活習慣病対策室：平成14年度糖尿病実態調査（速報）. 臨床栄養, **103**, 607-612 (2004)
- 2) 門脇 孝・野田光彦：「変貌する生活習慣病」, メディカルレビュー社, 東京, pp. 117-128 (2000)
- 3) 田代 操・加藤みずほ：コーンスターチより調整された難消化性デキストリン投与がストレプトゾトシン糖尿病ラットの耐糖能に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌, **52**, 21-29 (1999)
- 4) 出口ヨリコ・長田邦子・内田和美・木村広子・芳川雅樹・工藤辰幸・保井久子・綿貫雅章：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. 日本農芸化学会誌, **72**, 923-931 (1998)
- 5) 鈴木裕子・林 和彦・坂根 巖・角田隆己：バナバ (*Lagerstroemia speciosa* L.) 葉抽出物のラットに

- における食後血糖上昇抑制作用およびその作用様式. 日本栄養・食糧学会誌, **54**, 131-137 (2001)
- 6) 藍谷教夫・木村弘之・阿比留康弘・曾山裕子・村上裕子・張 慧利・杉下朋子・小西洋太郎: 月見草エキスの血糖値上昇抑制作用とその関与成分. 日本食品科学工学会誌, **50** 180-187 (2003)
  - 7) 光岡知足: 「腸内フローラと生活習慣病」, 学会出版センター, 東京, pp. 1-40 (2001)
  - 8) Fuller, R.: Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, **66**, 365-378 (1989)
  - 9) 細野明義: 「プロバイオティクスとプレバイオティクス」, 学会出版センター関西, 大阪, pp. 43-69 (2003)
  - 10) Agerholm-Larsen, L., Raben, A., Haulrik, N., Hansen, A. S., Manders, M., and Astrup, A.: Effect of 8 week intake of probiotic milk products on risk factor for cardiovascular diseases. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **54**, 288-297 (2000)
  - 11) Pereira, D. I., and Gibson, G. R.: Effect of consumption of probiotics and prebiotics on serum lipid levels in humans. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, **37**, 259-281 (2000)
  - 12) Saikali, J., Picard, C., Freitas, M., and Holt, P.: Fermented milks, probiotic cultures, and colon cancer. *Nutr. Cancer*, **49**, 14-24 (2004)
  - 13) Goldin, B. L., Gorbach, S. L., Saxelin, M., Barakat, S., Gualtieri, L., and Salminen, S.: Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. *Dig. Dis. Sci.*, **37**, 121-128 (1992)
  - 14) 細田正孝, 何 方, 平松 優, 橋本英夫, 辨野義己: *Lactobacillus* GG 株のヒト糞便内菌叢および便性改善に及ぼす影響. *ビフィズス*, **8**, 21-28 (1994)
  - 15) Hilton, E., Kolakowski, P., Singer, C., and Smith, M.: Efficacy of *Lactobacillus* GG as a diarrheal preventative in travelers. *J. Travel Med.*, **4**, 41-43 (1997)
  - 16) Goldin, B.R., Gualtieri, L.J., and Moore, P.: The effect of *Lactobacillus* GG on initiation and promotion of DMH-induced intestinal tumors in the rat. *Nutr. Cancer*, **25**, 197-204 (1996)
  - 17) Kalliomaki, M., Salminen, S., Arvilommi, H., Kero, P., Koskinen, P., and Isolauri, E.: Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, **357**, 1076-1079 (2001)
  - 18) Tabuchi, M., Ozaki, M., Tamura, A., Yamada, N., Ishida, T., Hosoda, M., and Hosono, A.: Antidiabetic effect of *Lactobacillus* GG in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **67**, 1421-1424 (2003)
  - 19) 谷口巳佐子, 奥田義博: 「生化学実験」, 講談社サイエンティフィク, 東京, pp. 82-83 (1993)
  - 20) 松岡健平: 「変貌する生活習慣病」, メディカルレビュー社, 東京, pp. 149-157 (2000)
  - 21) Tabuchi, M., Tamura, A., Yamada, N., Ishida, T., Hosoda, M., and Hosono, A.: Hypocholesterolemic effect of *Lactobacillus* GG in hypercholesterolemic rat. *Milchwissenschaft*, **58**, 246-249 (2003)
  - 22) 奥 恒行: 「食物繊維」, 第一出版株式会社, 東京, pp. 188-195 (1995)
  - 23) Hosono, A., Wardojo, R., and Otani, H.: Binding of amino acid pyrolyzates by lactic acid bacteria isolated from "dadih". *Lebensmit. Wiss. U. Technol.*, **23**, 149-153 (1990)
  - 24) Hosono, A., and Tono-oka, T.: Binding of cholesterol with lactic acid bacteria cells. *Milchwissenschaft*, **50**, 556-560 (1995)