

研究ノート

発酵バガスを含む培地で栽培したアラゲキクラゲの マウスに対する血糖上昇抑制作用

山内正仁¹, 永井 武², 是枝清上³, 渡 慶彦⁴, 八木史郎⁵, 山口昭弘^{6*}

¹ 鹿児島工業高等専門学校 都市環境デザイン工学科

² 一般財団法人 日本食品分析センター 多摩研究所

³ 東洋ツール工業株式会社

⁴ 株式会社 奄美大島開運酒造

⁵ 鹿児島大学 名誉教授

⁶ 酪農学園大学 農食環境学群 食と健康学類

Inhibitory Effects of *Auricularia polytricha* (Cloud Ear Mushroom) Cultivated on Elaborate Media Including Fermented Bagasse on Postprandial Blood Glucose Elevation in Mice

Masahito Yamauchi¹, Takeshi Nagai², Seijo Koreeda³, Yoshihiko Watari⁴,
Fumio Yagi⁵ and Akihiro Yamaguchi^{6*}

¹ Department of Civil and Environmental Engineering, National Institute of Technology,
Kagoshima College, Mataka 1460-1, Hayatomachi, Kirishima-shi, Kagoshima 899-5193

² Tama Laboratory, Japan Food Research Laboratories, Nagayama 6-11-10, Tama-shi, Tokyo 206-0025

³ Toyo Tool Co., Ltd., Kamikita 1-22-17, Hhirano-ku, Osaka-shi, Osaka 547-0001

⁴ Amami Oshima Kaiun Syuzo Co., Ltd., Yuwan 2924-2, Ukenson, Oshiuma-gun, Kagoshima 894-3301

⁵ Professor emeritus, Kagoshima University, Korimoto 1-21-24, Kagoshima-shi, Kagoshima 890-8580

⁶ Department of Food Science and Human Wellness, Rakuno Gakuen University,
Midorimachi 582, Bunkyo-dai, Ebetsu-shi, Hokkaido 069-8501

This paper describes modification of the inhibitory effects of fruiting bodies of *Auricularia polytricha* (cloud ear mushroom) on postprandial blood glucose elevation in mice when cultivated on different media. A significant suppression of blood glucose level was identified for fruiting bodies cultivated on medium containing 75% bagasse and 20% rice bran. It was thus clarified that the medium composition can influence the level of suppression of blood glucose elevation through oral intake of the mushroom. (Received May 5, 2016; Accepted Jun. 27, 2016)

Keywords : mushroom cultivation, medium composition, food residue, food function, blood glucose suppression

キーワード : キノコ栽培, 培地組成, 食品残渣, 食品機能性, 血糖上昇抑制

アラゲキクラゲ (*Auricularia polytricha*) は、キクラゲ科キクラゲ属のキノコであり、中華料理のキクラゲとして知られる独特の食味・風味を持つ身近な食材である¹⁾。その消費量のほとんどを中国からの輸入に頼っているため、近年では食の安全性の観点から国産栽培品の増産への期待が高まっている²⁾。今日、資源再利用あるいは未利用副産物の有効利用を目的としたキノコ栽培が注目されるなか³⁾、我々は、これまで焼酎粕やでん粉粕などの食品製造残渣を、

エリンギ⁶⁾、ヤマブシタケ⁷⁾やヒラタケ⁹⁾などのキノコ栽培用の培地基材および栄養剤として有効利用する研究を進めてきた。最近、アラゲキクラゲについても、発酵バガスや黒糖焼酎粕を培地に加えることにより、従来培地に比べ高い収量で子実体が得られることを見出した¹¹⁾。

一方、食による生活習慣病予防への関心の高まりを受け、キノコは機能性食材としても注目を集めている¹²⁾。アラゲキクラゲについても、抗酸化性・脂肪蓄積抑制作用¹³⁾、抗腫

¹ 〒899-5193 鹿児島県霧島市隼人町真孝 1460-1, ² 〒206-0025 東京都多摩市永山 6 丁目 11-10

³ 〒547-0001 大阪府大阪市平野区加美北 1-22-17, ⁴ 〒894-3301 鹿児島県大島郡宇検村湯湾 2924-2

⁵ 〒890-8580 鹿児島県鹿児島市郡元 1-21-24, ⁶ 〒069-8501 北海道江別市文京台緑町 582

*連絡先 (Corresponding author), yama-aki@rakuno.ac.jp

表 1 アラゲキクラゲ栽培用培地の組成

子実体	培地組成 (乾物重量 %)					
	発酵バガス ^a	広葉樹おが屑 ^a	黒糖焼酎粕 ^b	甘藷焼酎粕 ^b	米糠 ^b	貝化石 ^c
A1 アラゲキクラゲ	75	—	—	—	20	5
A2 アラゲキクラゲ	—	75	—	—	20	5
A3 アラゲキクラゲ	75	—	—	20	—	5
A4 アラゲキクラゲ	—	75	—	20	—	5
A5 アラゲキクラゲ	85	—	10	—	—	5

a: 培地基材

b: 培地栄養材

c: pH 調整剤

瘍作用¹⁴⁾ や免疫調節作用¹⁵⁾ などの機能性が報告されている。さらに未利用資源を含む培地で栽培したキノコにおいて特定の機能性が向上する場合があることも知られており、リングなどの剪定材を含む培地で栽培した鹿角霊芝の脂質代謝調節作用¹⁶⁾ や機能性多糖体¹⁷⁾ についての研究がある。霊芝については子実体ではなく菌糸体培養物ではあるが、2 型糖尿病マウスに対する血糖上昇抑制作用¹⁸⁾¹⁹⁾ が認められている。これまで我々は焼酎粕や発酵バガスなどの食品製造残渣をヤマブシタケやアラゲキクラゲの栽培培地に利用することにより、子実体のマクロファージに対する抗炎症作用の促進⁸⁾ や機能性成分の β -グルカン含量が増大¹¹⁾ することを報告してきた。

本研究では、発酵バガスや焼酎粕を含む培地で栽培したアラゲキクラゲ子実体をマウスに経口投与し、マウスの血糖値上昇に及ぼす影響を調べた。

1. 実験方法

(1) 試料

既報^{7)~11)} にしたがって、アラゲキクラゲ (アラゲキクラゲ 89 号, 森産業(株)) の菌糸を、子実体形成に適した培地配合条件を基本に、発酵バガス・黒糖焼酎粕などの基材・栄養剤および pH 調整剤を含む培地 (表 1) に接種し、恒温湿度条件で 160 日間¹¹⁾ 栽培した子実体を用いた。得られた子実体は温風乾燥機 (50~60℃) を用いて乾燥後、粉碎し粉末試料とした。

(2) マウス血糖上昇抑制作用の測定

各試料をでんぷんと共にマウスに投与し、投与後の血糖値を経時的に測定した。

i) 試験動物: 6 週齢の ICR 系雄マウス (日本エスエルシー(株)) を 1 週間予備飼育し、でんぷんのみ 2000 mg/kg の用量で投与する対照群と各試料およびでんぷんをそれぞれ 2000 mg/kg の用量で投与する試験群を設定した。各群の動物数は 6 匹とした。なお、本研究は一般財団法人日本食品分析センター多摩研究所動物実験倫理規定に基づき、動物実験倫理委員会の承認を得て実施された。

ii) 試験液の調製: 各粉末試料に注射水を加え、100 mg/mL の懸濁液を調製した。でんぷんを注射水で懸濁し

た後、加熱して 200 mg/mL の溶液を調製し、試料懸濁液と 1:2 の割合で混合し、それぞれ 66.7 mg/mL を含む試験液を調製した。

iii) 群分けおよび投与: マウスを 20 時間絶食させた後、血糖値を測定し、群間でばらつきが生じないように群分けを行った。胃ゾンデを用いて 30 mL/kg の投与容量で各試験液を単回経口投与した (試料およびでんぷん投与量として、それぞれ 2000 mg/kg)。

iv) 血糖値の測定: 投与時を 0 分とし、30 分、60 分、90 分および 120 分に尾採血し血糖値をアキュチェックアビバ (ロッシュ・ダイアグノスティクス(株)) を用いて測定した。投与時の血糖値を通る時間軸に平行な直線と血糖値曲線に囲まれた面積を示す曲線下面積 (AUC) を算出した。統計処理には StatLight (ユックムス株式会社) を用い、Tukey-Kramer 法による各群の多重比較を行った。

2. 実験結果

(1) マウス血糖上昇抑制作用の測定結果

i) 血糖値

いずれの試験群においても投与後 30 分に血糖値は上昇し、対照群およびアラゲキクラゲ A1 群では 60 分以降、その他の群では 90 分以降徐々に低下する傾向が認められた (図 1 上)。各投与後経過時間における統計検定の結果、投与後 30 分の時点でのみ血糖値は対照群と比較して、アラゲキクラゲ A1 群 ($p < 0.05$)、A3 群 ($p < 0.05$) および A4 群 ($p < 0.01$) で有意な低値を示した。

ii) AUC

アラゲキクラゲ子実体 A2 群を除き、AUC は対照群に対して低下傾向を示したなかで、A1 群の AUC は、対照群および A2 群に対して有意に低い値 ($p < 0.05$) であった (図 1 下)。

3. 考察

本研究は、食品製造における副産物の発酵バガスや焼酎粕をキノコ栽培の培地に用いることにより、資源の有効利用とともにキノコ子実体の機能性の向上をはかるものである。ここで用いた発酵バガスは、サトウキビ搾汁残渣を屋内で 2ヶ月間発酵させたもので、(1,4)- β -D-グルカンのセ

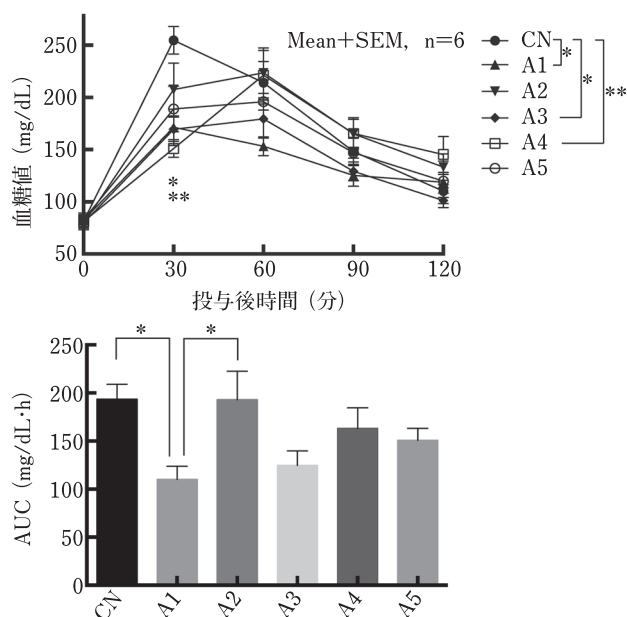


図1 アラゲキクラゲ栽培における培地条件と血糖上昇抑制作用

絶食マウスに、試料およびでんぷんを2000mg/kg投与し、尾採血の血糖を測定。

上段は投与後の経時変化、下段は曲面下面積(AUC)。

CN: でんぷんのみ、子実体A1~A5の培地条件は表1参照。

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ (Tukey-Kramer検定)

ルコースや高分子フェノール性化合物のリグニンなどの繊維素や木質素とも言われる複雑な高分子化合物がある程度分解を受けた状態にある⁹⁾。一方、焼酎粕は、甘藷や麦などのでんぷん原料が麹および酵母による発酵を経て、アルコール留去後のクエン酸をはじめとした有機酸や各種アミノ酸およびミネラルなどを豊富に含む優れた栄養材料である⁹⁾。

マウスに対する血糖上昇抑制作用は、AUCの値で比較したとき、発酵バガスを含む培地で栽培したアラゲキクラゲA1, A3およびA5はすべて低下傾向を示したのに対して、発酵バガスを含まない培地で栽培したA2とA4にはほとんど効果が認められていない(図1下)。しかし、発酵バガス75%と米糠20%を含む培地で栽培したA1は対照に比して有意に血糖上昇抑制作用が認められたのに対し、米糠を含まないA4とA5には有意差が認められなかったことから、発酵バガス、米糠由来の両成分が関与している可能性が考えられた。

キノコの血糖上昇抑制作用に関する研究は限られているなか、霊芝の菌糸体培養物の作用として、*in vitro*において α -グルコシダーゼ活性を阻害するとの報告¹⁸⁾がある。キノコ子実体の熱水抽出液について*in vitro*での α -グルコシダーゼ活性に対する阻害作用をスクリーニングした報告²²⁾によると、アラゲキクラゲは含まれていないが、いくつかのキノコに作用成分の一つとしてノジリマイシン類縁体の

関与が示唆されている。今回のアラゲキクラゲ子実体試料に関しては、50%エタノール抽出液ではあるが、 α -グルコシダーゼ活性に対する阻害作用はまったく認められていない((一財)日本食品分析センターに測定を依頼した結果でデータは示さず)。アラゲキクラゲの血糖上昇抑制作用については、熱水抽出液に含まれる高粘性の食物繊維が、グルコースを物理的に束縛する作用を示唆した*in vitro*の研究²³⁾があるのみである。

キノコによる血糖上昇抑制作用の機序に関する*in vivo*での研究としては、霊芝菌糸体が¹⁹⁾、肝臓での糖輸送に係わるグルコーストランスポーターや解糖系酵素の活性上昇および糖新生系酵素の活性抑制を招いた報告がある。子実体については、ハナビラタケのインスリン分泌促進作用²⁴⁾、タモギタケの低分子量成分²⁵⁾やキクラゲの水溶性多糖体²⁶⁾に関する研究がある。今回の検討結果は、でんぷん負荷によるアラゲキクラゲの血糖上昇抑制作用についての現象を示した段階であり、従来報告されているこれらの作用機序や作用成分によるのか、あるいはまったく別の作用によるものなのかは不明である。

以上、腸管におけるグルコースの物理的拘束、インスリン分泌、糖輸送や糖代謝への作用を含めて、本研究で見出されたアラゲキクラゲの血糖上昇抑制作用の機序に関する検証を進めるとともに、作用成分についても今後、同定を試みる予定である。一方、発酵バガスや米糠を培地に加えることによる血糖抑制作用が、アラゲキクラゲに特徴的なものなのかどうかについても他のキノコ種を用いて検討する必要がある。

4. 要約

培地組成を変えて栽培した*Auricularia polytricha*(アラゲキクラゲ)子実体を、でんぷんと同時にマウスに経口投与したところ、血糖上昇を抑制する作用に違いが見られた。特に発酵バガス75%および米糠20%を含む培地で栽培した子実体の投与により、有意の血糖上昇抑制作用を認めた。作用機序および関与成分について今後の検討を要するが、アラゲキクラゲの培地組成が、その子実体が示す血糖上昇抑制作用に影響を及ぼすことが明らかとなった。

本研究の一部は、平成26, 27年度科学研究費補助金(課題番号26281058)および東洋ツール工業株式会社、株式会社奄美大島開運酒造の共同研究費で実施した。

文 献

- 1) 青木孝幸, アラゲキクラゲ, 「日本のきのこ」, 増補改訂新版, 今関六也, 大谷吉雄, 本郷次雄, 保坂健太郎, 細矢 剛, 長澤栄史編, (山と溪谷社, 東京), pp. 527-538 (2011).
- 2) 大賀祥治, 宮本亮平, 車 柱栄, 徐 健植, アラゲキクラゲ(*Auricularia polytricha*)培地の炭水化物含有量と子実体発生量の相関, 木材学会誌, **57**, 8-13 (2011).
- 3) 西井孝文, アラゲキクラゲ(*Auricularia polytricha*)の菌床

- 栽培法, 三重県林業研究所研究報告, **25**, 21-26 (2013).
- 4) 中谷 誠, 未利用副産物を活用したきのこ栽培技術の開発, 北海道立林産試験場だより, 11-13 (2003).
 - 5) 山内正仁, 小村洋美, 山田真義, 大六野洋, 長野京子, 内田一平, キノコ生産を核とした焼酎粕乾燥固形物の循環システムの構築, 廃棄物資源循環学会論文誌, **21**, 155-164 (2010).
 - 6) 山内正仁, 今屋竜一, 山田真義, 増田純雄, 木原正人, 米山兼二郎, 原田秀樹, 甘藷焼酎蒸留粕を利用した高付加価値きのこ(エリンギ)の実用化に関する研究, 環境工学研究論文集, **44**, 481-490 (2007).
 - 7) 山内正仁, 山田真義, 八木史郎, 増田純雄, 山口隆司, 食品廃棄物(焼酎粕・でん粉粕)を用いたヤマブシタケの栽培条件の確立とその成分特性, 環境工学研究論文集, **46**, 117-127 (2009).
 - 8) 山内正仁, 八木史郎, 山田真義, 山口昭弘, 増田純雄, 山口隆司, 食品廃棄物を培地材料に利用することによるきのこ(ヤマブシタケ)の機能性向上効果, 環境工学研究論文集, **47**, 603-608 (2010).
 - 9) 山内正仁, 大六野洋, 山田真義, 八木史郎, 原田直人, 増田純雄, 山口隆司, 各種食用きのこへの食品廃棄物(焼酎粕, でん粉粕)の適用と廃培地の飼料利用, 環境工学研究論文集, **67**, 449-459 (2011).
 - 10) 山内正仁, 山田真義, 草原大貴, 八木史郎, 是枝清上, 三谷絃明, 山口隆司, 麦焼酎粕乾燥固形物を用いたヒラタケ子実体の成分特性と廃培地の再利用に関する研究, 土木学会論文集 G (環境), **69**, III_151-III_157 (2013).
 - 11) 山内正仁, 池田匠児, 山田真義, 八木史郎, 渡 慶彦, 山口昭弘, 山口隆司, 発酵バガス・黒糖焼酎粕培地を用いたアラゲキクラゲ栽培技術の開発, 環境工学研究論文集, 土木学会論文集 G (環境), **71**, III_229-III_237 (2015).
 - 12) Feeney, M.J., Dwyer, J., Hasler-Lewis, C.M., Milner, J.A., Noakes, M., Rowe, S., Wach, M., Beelman, R.B., Caldwell, J., Cantorna, M.T., Castlebury, L.A., Chang, S.T., Cheskin, L.J., Clemens, R., Drescher, G., Fulgoni, V.L., 3rd, Haytowitz, D.B., Hubbard, V.S., Law, D., Myrdal M.A., Minor, B., Percival, S.S., Riscuta, G., Schneeman, B., Thornsby, S., Toner, C.D., Woteki, C.E. and Wu, D., Mushrooms and health summit proceedings. *J. Nutr.*, **144**, 1128s-1136s (2014).
 - 13) Chiu, W.C., Yang, H.H., Chiang, S.C., Chou, Y.X. and Yang, H. T., *Auricularia polytricha* aqueous extract supplementation decreases hepatic lipid accumulation and improves antioxidative status in animal model of nonalcoholic fatty liver. *Biomedicine (Taipei)*, **4**, 29-38 (2014).
 - 14) Yu, J., Sun, R., Zhao, Z. and Wang, Y., *Auricularia polytricha* polysaccharides induce cell cycle arrest and apoptosis in human lung cancer A549 cells. *Int. J. Biol. Macromol.*, **68**, 67-71 (2014).
 - 15) Sheu, F., Chien, P.J., Chien, A.L., Chen, Y.F. and Chin, K.L., Isolation and characterization of an immunomodulatory protein (APP) from the Jew's Ear mushroom *Auricularia polytricha*. *Food Chem.*, **87**, 593-600 (2004).
 - 16) 齋藤三季, 井澤弘美, 戸羽隆宏, 柴田浩夫, 長田恭一, りんご枝おが屑を利用した鹿角霊芝の脂質代謝調節作用, 日本食品科学工学会誌, **56**, 79-84 (2009).
 - 17) 奈良一寛, 鳥潟 諭, 長内宏之, 河野武平, 加藤陽治, 異なる剪定材を用いて栽培した鹿角霊芝子実体の水溶性多糖類, 日本食品科学工学会誌, **58**, 216-221 (2011).
 - 18) 川原由紀子, 神内伸也, 岡崎真理, 岩田直洋, 白井達洋, 玄美燕, 鈴木史子, 飯塚 博, 日比野康英, 2型糖尿病マウスにおける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, 日本補完代替医療学会誌, **8**, 1-9 (2011).
 - 19) 神内伸也, 新藤由梨, 内海有香, 岩田直洋, 岡崎真理, 鈴木史子, 飯塚 博, 浅野 哲, 松崎広和, 日比野康英, 2型糖尿病マウスの肝臓における霊芝菌糸体培養培地抽出物(WER)の糖質代謝に与える影響, 日本補完代替医療学会誌, **11**, 57-66 (2014).
 - 20) 菅原諒太, 山田さゆみ, 涂 志豪, 菅原明子, 干場敏博, 山内正仁, 山口昭弘, 道央圏に自生するキノコの同定と機能性成分の含有量, 日本食品科学工学会誌, **62**, 445-453 (2015).
 - 21) 宝寄山裕直, 野田 遊, マクロファーージ系培養細胞を用いた鶏卵由来成分の免疫賦活機能評価法, 北海道立畜産試験場研究報告, **25**, 16-23 (2003).
 - 22) 大内和美, 青柳康夫, α -アミラーゼおよび α -グルコシダーゼに対するキノコ抽出物の阻害活性, 日本食品科学工学会誌, **57**, 532-538 (2010).
 - 23) Wu, N.J., Chiou, F.J., Weng, Y.M., Yu, Z.R. and Wang, B.J., *In vitro* hypoglycemic effects of hot water extract from *Auricularia polytricha* (wood ear mushroom). *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **65**, 502-506 (2014).
 - 24) 高山侑樹, 寺西博美, 錦見盛光, 古市幸生, 高脂肪食投与のメタボリックシンドロームモデルマウス(C57BL/6J)の血糖値と脂質代謝に及ぼす食用キノコの影響, 名古屋女子大学紀要, **57**, 35-43 (2011).
 - 25) 藤野正行, 何 普明, タモギタケ熱水抽出物によるII型糖尿病モデルマウスの血糖値抑制, 日本食品科学工学会誌, **45**, 618-623 (1998).
 - 26) Yuan, Z., He, P., Cui, J. and Takeuchi, H., Hypoglycemic effect of water-soluble polysaccharide from *Auricularia auricularia-judae* Quel. On Genetically Diabetic KK-A^y Mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **62**, 1898-1903 (1998).
- (平成 28 年 5 月 5 日受付, 平成 28 年 6 月 27 日受理)