

# 糖尿病に対するハチミツの影響：糖尿病マウスを通して

平成 27 年 5 月 12 日受付

白井 悠 佑<sup>1)</sup> ,  
佐々木 大 樹<sup>2)</sup>  
田 中 美 子<sup>3)</sup>  
松 本 耕 三<sup>1,2,3)</sup>

<sup>1)</sup> 京都産業大学総合生命科学部動物生命医科学科

<sup>2)</sup> 京都産業大学生物工学研究科

<sup>3)</sup> 京都産業大学ミツバチ産業科学研究センター

## 要 旨

2 型糖尿病へのハチミツの影響を調べた研究はいくつか報告されているが、その真偽やメカニズムについてはよくわかっていない。そこで、本研究は肥満性 2 型糖尿病マウスを用いてハチミツが糖尿病に及ぼす影響やそのメカニズムの一端を見いだすことを目的に研究した。肥満性糖尿病マウスとして KK-Ay マウスを使用。各グループ 6～7 匹になるように 5 つのグループ (PBS、グルコース、スクロース、ハチミツ (クリの花)) にわけた。それ以降、グループ毎に体重を測定し、血糖値等を各グループ間で比較した。特に糖分として日常利用する佐藤との比較に重点をおいた。

KK-Ay マウスへの各種糖の投与により、ハチミツ群と比較してスクロース群は有意に高い体重を示した。また、各種糖類投与前に行った糖負荷試験 (oral sugar tolerance test: OSTT) ではスクロース群とハチミツ群の間に有意な違いはなく、むしろ 30 分以降ハチミツ群はスクロース群よりも高い血糖値を示していた。しかし、投与 8 週間後に行った OSTT ではスクロース群はどの時点においてもハチミツ群の血糖値よりも高い値を示した。一方、血中脂肪関連物質に関しては、遊離脂肪酸、コレステロール、中性脂肪について有意差はない結果となった。各種糖投与前と投与後 15 分、30 分の血中インスリン濃度測定では、各群ともに有意差は認められなかったが、ハチミツ群は 15 分血で高いインスリン値を示した。これに対し、スクロース群は有意差はないが最も低い傾向が見られた。肝臓および脂肪組織での遺伝子発現量の比較では、肝臓ではハチミツとスクロースで PBS と比較して有意な増加を示した。しかし、それ以外では各グループ間で違いは確認されなかった。

従って本研究において、KK-Ay 糖尿病マウスへのハチミツ投与の影響は、スクロースの投与と比較して体重や血糖値の上昇を抑える作用のあることが確認された。即ち、糖尿病状態において、糖分として継続的砂糖投与は血糖値上昇を招くが、継続的ハチミツ投与ほとんど血糖値

上昇が認められず、そのことはハチミツは砂糖に比べて、格段により糖分であると云える。即ち、ハチミツは糖尿病に優しい糖分と云える。

キーワード：ハチミツ、糖尿病、血糖値、体重、KK-Ay マウス

## 序 論

2型糖尿病患者は厚生労働省の統計で我が国だけでも推定 950 万人に達している。また、2型糖尿病患者は、過去 20 年にわたり急速に増大している [1,2]。そして、これは生活習慣の変化（運動不足、高カロリー食）によるものと考えられている。即ち、運動量が減少しているにも関わらず食べる量が変わらない、あるいは高カロリー食を摂取しているため肥満を誘導し、その結果、インスリン抵抗性を引き起こし、2型糖尿病を引き起こすと考えられている。糖尿病の基本的な治療法は投薬、食事療法と運動療法からなるが、特に糖分の摂取は大きく制限されている。もちろん一般に糖分の塊と考えられがちなハチミツも敬遠されている。

ミツバチの唾液に含まれるインベルターゼの作用により蜜の中のスクロースがフルクトースとグルコースに分解され、ハチミツとなる。従って、ハチミツを構成している主な糖は、フルクトースとグルコースであり、その点ではスクロースと似ている。しかし、ハチミツはその他に微量のビタミンやミネラルを含んでいる。フルクトースは消化管からグルコースよりもゆっくりと吸収されるため、フルクトース摂取後の血糖値はあまりあがらない [3]。そのため、糖尿病患者に適した糖であるようにみえるが、フルクトースは体重増加やインスリン抵抗性を誘導するという報告もある [4]。一方、ハチミツはあまり血糖値を上昇させないという報告 [3] や、砂糖とハチミツの長期投与後の体重比較で、ハチミツの方が有意に体重が低くなるという報告がある [5]。しかし、体重増加への生理学的メカニズムやホルモンなどについてはまだほとんど研究されていない。

すでに、約 30 年前の論文ではアカシアハチミツは血糖値をあまり上昇させないという報告がある [3]。しかし、そのメカニズムについては全く不明のままである。本研究は、肥満性 2型糖尿病動物を用い、ハチミツが糖尿病にどのような影響を及ぼしているかを調べ、そのメカニズムの一端を見いだすことを目的とする。この課題を調べる為に今回、肥満に伴いインスリン抵抗性や高血糖を示し、2型糖尿病を発症する KK-Ay マウスへのハチミツ投与と各種糖投与との影響を比較検討した。

## 方 法

### 1. マウス系統

実験には8週齢の肥満性糖尿病マウスであるKK-Ay（日本クレア）を購入して用いた。なお実験には全て雌マウスが使われた。全てのマウスはSPF（Specific Pathogen Free）環境下で温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 10\%$ 、12時間昼夜サイクル（7時点灯、19時消灯）にて飼育し、 $\gamma$ 線滅菌飼料および飲料水は自由摂取とした。マウスは投与する糖（Glucose, Sucrose, Fructose, Honey）ごとにそれぞれ6～7匹の4グループを作った。さらに、コントロールとしてKK-Ayマウスに水を投与する群の合計5グループを作った。また、週に1度体重の測定をした。本実験は京都産業大学動物実験委員会のガイドラインに従って動物実験を実施した。

### 2. 各種糖（Glucose, Sucrose, Fructose, Honey（クリの花））の投与

ハチミツはクリの花のハチミツ（岩手産）を用いた。ハチミツは水で25%ハチミツ溶液を作り、 $0.45 \mu\text{m}$ のフィルター（ミリポア）で除菌濾過した。グルコースやスクロースも同様に水を用いて25%溶液を作り、 $0.45 \mu\text{m}$ のフィルター（ミリポア）で除菌濾過した。この溶液を1日1回（5日/週）経口ゾンデを用いて強制経口投与した。投与量は2 g/kgになるように調整した。ハチミツのみ2 g/kgに調整してさらにその1.2倍量を経口投与した。また、コントロールマウスに水を経口投与した。投与は8週間行った。

### 3. 経口各種糖負荷試験（Oral Sugar Tolerance Test: OSTT）

各種糖の投与前と投与開始から1、4、8週間後に無麻酔下にてOSTTを行った。ただし水を投与しているマウス群についてはOSTTは行わなかった。それ以外の個体については一晩の絶食後、経口的に各種糖を2 g/Kg投与した。ただし、ハチミツ投与群においては2 g/Kgの1.2倍量を経口的に投与した。

なお、各種糖投与の空腹時血液をマウス尾部より採血してグルテスト Neo センサー（三和科学）により空腹時血糖を測定した。これを0分値として各種糖の経口投与後、30分おきに120分まで尾部より採血し血糖値を測定した。また、0分～120分までの総血糖値（Area under the glucose curve: AUC）は所定の台形式より計算した。

### 4. 血清および臓器の採取

KK-Ayマウスへの各種糖の投与8週目に、1晩絶食させ、血清および臓器の採取を行った。最初に各種糖を2 g/Kg経口投与した。ただし、ハチミツ投与群のみ最初の糖の投与量は1.2倍量投与した。水投与群にはグルコースを投与した。

なお、各種糖の投与前にマウスの尾部より採血してグルテスト Neo センサー（三和科学）

により空腹時血糖を測定した。さらに、ヘマトクリット管 1 本分尾部より採血した。また、120 分後も同様に麻酔をかける前に血糖値の測定とヘマトクリット管 1 本分の採血をした。

投与後 120 分で 10 倍希釈したソムノペンチルを 65 mg/Kg 腹腔投与して、麻酔後、後大静脈より全採血し安楽死させた。麻酔の効きが悪い場合はイソフルランを吸わせ追加麻酔した。

マウスの後大静脈より採取した血液は、60 分程静置後、12000 rpm 5 分 24℃ で遠心し、採れた血清を -80℃ で保存した。その後、肝臓、副睾丸脂肪、後腹膜脂肪、腸間膜脂肪、骨格筋を採取し、各脂肪についてはそれぞれの重量を測定した。また、肝臓、副睾丸脂肪、骨格筋から約 0.5 g を採取し、ジルコニアビーズ 0.5φ (TOMY: ZB-50) 入りの Isogen II (日本ゼン社) 溶液 1.0 ml に入れ、Bead Smash12 細胞破碎機 (和研薬) にて 4000 rpm、10 秒ホモジナイズ後、-80℃ で保存した。ただし、骨格筋のみ 40 秒間ホモジナイズした。

また、タンパク実験用として肝臓と骨格筋は 1.5 ml エッペンドルフチューブに採取した分の臓器を入れ、そのまま -80℃ で保存した。

## 5. 血清の生化学的検査

血中の遊離脂肪酸 (NEFA)、総コレステロール、中性脂肪 (TG) は、比色法を用いて、NEFA-C テスト (和光)、コレステロール E テスト (和光)、トリグリセライド E テスト (和光) を用いて測定した。遊離脂肪酸は、試料と 2 種類の発色試薬を順番に混同し、各 37℃ で 10 分間インキュベートした後、分光光度計を用いて吸光度 (550 nm) を測定した。総コレステロール、中性脂肪は、試料と発色試薬を混合し、37℃ で 5 分間インキュベート後、分光光度計で吸光度 (600 nm) を測定した。それぞれ標準液と吸光度の値から検量線を作製し、サンプル濃度を算出した。

## 6. インスリン測定

血中インスリン濃度は ELISA キット (SIBAYAGI) を用いて測定した。ELISA 用のウェルプレート、試薬類を十分に室温 (20 ~ 25℃) に戻した (2 時間程度)。その後、濃縮洗浄液の希釈として室温化した蒸留水で 10 倍希釈した。次に、標準溶液の希釈を室温化した緩衝液で 2 倍の段階希釈をした。これは、8 連チューブを用い、1 本目に緩衝液 190 μl、残りの 7 本には 100 μl ずつ入れ、標準溶液を 1 本目に 10 μl 入れ、よくピペティングしてそこから 100 μl とり、次のチューブに移すことを繰り返して行った。ただし、最後のチューブには標準溶液は入れず、緩衝液のみとした。

次に、室温化した緩衝液でビオチン結合インスリン抗体を 4000 倍希釈した。なお、4000 倍希釈の際、2 段階希釈を行ったため、1 段階目で 40 倍希釈し、2 段階目でそれをさらに 100 倍希釈し、4000 倍希釈液を作製した。そして、凍結しておいた血清を氷上で融解し、全量 30 μl 以上のものはそのままの濃度で、30 μl 以下のものは緩衝液で 2 倍希釈し、サンプルを

調整した。測定はデュプリケートで行った。その後、抗体固相化 96 ウェルプレート在先ほどの希釈した洗浄液で 5～6 回洗浄した。洗浄後、100  $\mu\text{l}$  のビオチン結合抗インスリン抗体を抗体固相化 96 ウェルプレートに撒いた。次に、標準インスリン溶液と調整しておいたサンプルを 10  $\mu\text{l}$  ずつ入れて、攪拌後、室温 (20～25 $^{\circ}\text{C}$ )、2 時間静置して反応させた。

2 時間の反応の終わる 30 分程前に、室温化した緩衝液でペルオキシダーゼ・アビジン結合物を 2000 倍希釈した。なお、2000 倍希釈の際、1 段階目で 20 倍希釈し、2 段階目でそれをさらに 100 倍希釈し、2000 倍希釈液を作製した。

2 時間の反応後、抗体固相化 96 ウェルプレートを 5～6 回洗浄し、希釈しておいたペルオキシダーゼ・アビジン結合物を 100  $\mu\text{l}$  ずつ撒き、攪拌後、室温 (20～25 $^{\circ}\text{C}$ )、30 分間静置して反応させた。30 分後、抗体固相化 96 ウェルプレートを 5～6 回洗浄し、発色液 (TMB) を 100  $\mu\text{l}$  ずつ撒き、攪拌後、室温 (20～25 $^{\circ}\text{C}$ )、30 分間静置して反応させた。30 分後、洗浄せずに反応停止液 (1 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) を 100  $\mu\text{l}$  を加え、攪拌した。その後、吸光度測定 (主波長 450 nm、副波長 600～650 nm) を行った。

## 7. Total RNA 抽出と濃度測定

Isogen II 溶液内の各凍結臓器 (肝臓・副睾丸脂肪・骨格筋) を 37 $^{\circ}\text{C}$  で溶かし、そこに 0.4 ml の滅菌蒸留水を入れた後、15 秒間激しく振り、室温で 15 分間静置した。その後、15 分、12000 rpm、4 $^{\circ}\text{C}$  で遠心した。遠心後、上清を 1.0 ml とり、5  $\mu\text{l}$  の P-Bromoanisole を入れ、15 秒間振り、室温で 5 分間静置した。その後、10 分、12000 rpm、4 $^{\circ}\text{C}$  で遠心した。遠心後、上清を 900  $\mu\text{l}$  とり、75% エタノールを 0.4 ml 入れ、転倒混和した後、室温で 10 分間静置した。その後、8 分、12000 rpm、4 $^{\circ}\text{C}$  で遠心した。遠心後、サンプルをデカントし、75% エタノールを 0.5 ml 入れ、3 分、8000 rpm、4 $^{\circ}\text{C}$  で遠心した。遠心後、再びサンプルをデカントし、75% エタノールを 0.5 ml 入れ、3 分、8000 rpm、4 $^{\circ}\text{C}$  で遠心した。その後、デカントし、沈殿を約 15 分間風乾させた。その後、EDTA を 100  $\mu\text{l}$  ずつ入れ、10 分間静置した。10 分後、それぞれの RNA 濃度を測定した。

## 8. ホルムアルデヒド変性ゲル電気泳動

抽出した Total RNA がインタクトであることを確認するために、変性ゲルを用いた電気泳動を行った。100 ml のビーカーに蒸留水 36 ml とアガロース S (日本ジーン社) を 0.75 g 入れ、攪拌した (2 枚分)。その後、電子レンジ 200 W で加熱し溶解させ、65 $^{\circ}\text{C}$  まで冷ました。温度が下がったら、ドラフト内で 10  $\times$  MOPS バッファーを 5.0 ml とホルムアルデヒド 9.0 ml を攪拌しながら加えた。その後、ゲルトレイに流し込み、30 分から 40 分間静置しゲルを作製した。ゲルができたら、ゲルと 1  $\times$  MOPS を泳動層にいれ 50 V で 15 分間のプレ泳動を行った。

RNA サンプル調整液の作製として RNA 1 サンプルにつき、 $10 \times$  MOPS 2.0  $\mu$ l、ホルムアルデヒド 4.0  $\mu$ l、ホルムアミド 10.0  $\mu$ l、0.2 mg/ml エチジウムブロマイド（50 倍希釈）1.0  $\mu$ l の計 17  $\mu$ l の試薬調整を行った。作製した RNA 調整液に、濃度が 600 から 1000 ng/ $\mu$ l になるように RNA を入れ、65°C で 15 分間熱変性させた。変性後、サンプルに BPB 1.0  $\mu$ l とローディングバッファー 2.0  $\mu$ l をそれぞれ入れ、プレ泳動後のゲルに 10  $\mu$ l ずつ入れた。そして、50 V で 60 分間泳動し、60 分後 UV トランスイルミネーターを用いて、バンドパターンを確認した。

### 9. cDNA の作製

抽出した Total RNA を cDNA とするため、PrimeScript RT reagent Kit [Perfect Real Time] (TAKARA BIO 社) を用いて逆転写 PCR を行った。試料と 4 種類の試料をプロトコールに従い順番に混ぜ、PCR (37°C 15 分、85°C 5 秒) を行った。なお逆転写の際の使用 RNA は 500 ng/ $\mu$ l になるように調整した。

### 10. RT-PCR

KK-A<sup>y</sup> マウスの各組織での遺伝子発現量をみるために、定量 PCR である Real Time PCR を行った。蛍光色素として SYBR green を使用し、SYBR Premix Ex Taq II (TAKARA BIO 社) を用いた。Real Time PCR には、Step One Plus (Applied Biosystems 社) を使い、反応条件は 95°C 30 秒 1 cycle、95°C 5 秒、60°C 30 秒 40 cycle で検量線法にて行った。相対比較の為にハウスキーピング遺伝子は Gapdh (TAKARA BIO 社) を使用し、プライマー毎の PCR 産物の増幅速度から得られる値を Gapdh の値で割ることによって標準化し、相対的な鋳型 mRNA 量を計算した。

### 11. 膵島採取

膵管還流を行って採ってきたコーニングチューブに入った膵臓を 37°C のウォーターバスで 15 分インキュベートした。

(以降 培養室にて) 37°C でインキュベートした膵臓の入ったチューブに 25 ml の Solution I (CaCl<sub>2</sub> 1 mM into 1  $\times$  HBSS) を入れ 290 G、1 min で遠心を行った。遠心後、デカントし、20 ml の Solution I を入れ、再び 290 G、1 min で遠心を行った。遠心後、デカントし、① 15 ml の Solution I を入れた。次に Solution I で濡らした Strainer ( ) で①をフィルトレイトした。再び①に 20 ml の Solution I を入れて再び Strainer でフィルトレイトし、Strainer に残った膵島をシャーレに 15 ml の Solution III (L-グルタミン 20 mM、ペニシリン 100 U/ml、ストレプトマイシン 100  $\mu$ g/ml、FBS 10% into RPMI 1640 medium) と共に移した。その後、実体顕微鏡で膵島のみを Solution III が入った新しいシャーレに取り分

け、カウントした。カウント後、3 mM のグルコースまたは 20 mM のグルコースでグルコース応答させ、それぞれ反応させた臍島を 15 ml チューブに移し、290 G、1 min、4°C で遠心した。※遠心後、デカントし、Hanks ( ) を 5 ml 入れ転倒混和し、再び 290 G、1 min、4°C で遠心した (※を 2 回行った)。その後、デカントし、Isogen I を 1 ml 入れ、ここから 1 ml 取りシェイクマン用チューブおよびビーズを用いてシェイクマンで 3 秒間振った。これを -20°C に保存した。

## 12. データ解析

全ての結果の比較は平均値 ± SE で示した。2 郡の比較は Student-t テストを、3 郡以上の比較には ANOVA を用い、Fisher の PLSD 法で検定した。

## 結 果

### 1. 国産ハチミツの収集と血糖値による 1 次スクリーニング

海外ではマヌカハニーやジャングルハニーが病気や免疫機能向上に良い効果のあることが知られている。我が国は南北に長いことから、いろいろな単花ハチミツが知られており、どこかに病気によく効くハチミツのある可能性は否定出来ない。そこで、各種ハチミツを養蜂家の皆様のご協力を得て収集したのを図 1 に一覧してある。それらのハチミツ全てについてどのハチミツが最も血糖値が低い値を示すかの 1 次スクリーニングを行った。全ての結果を上げるのは控えるが、典型的な例を代表として挙げてある (図 2 参照)。トチヤモチは 1 次スクリーニングでは砂糖よりも高い血糖値を示した。クリや京産大の百花蜜は砂糖とほぼ同じ程度の血糖値を示した。これらに対し、アカシアハチミツや箕面の百花蜜は砂糖より少し低い血糖値を 1 次スクリーニングで示した。これらの結果から、ほぼ砂糖と同じ程度の血糖値を示したクリ単花蜜を長期投与実験のハチミツとして選定した。

### 2. ハチミツの体重への影響

KK-AY マウスへの各種糖の投与による体重の推移を図 3 に示した。特徴的なことは砂糖投与群は一貫して相対的に高い体重を示し、他方、ハチミツ群は一貫して低い体重を示した。さらに、これら砂糖群とハチミツ群との体重差は投与後 2 週以降、一貫して有意差が認められた。即ち、ハチミツ投与群は明らかに砂糖投与群より低い体重を示したのである。この点は注目すべきハチミツの影響であろう。砂糖摂取は体重増加につながるが、ハチミツはコントロールと同じか、それよりも低い値を示しており、ハチミツ摂取による体重増加は認められていないのである。

### 3. OSTT によるハチミツの血糖値に及ぼす影響

図 4a に各種糖による血糖値を示した。血糖値はグルコース、ハチミツ、砂糖、フルクトースの順で高い値を示したが、各群間に有意差は認められなかった。少なくとも、ハチミツは有意差は無いが、OSTT 30 分、60 分値は砂糖よりもかなり高い血糖値であった。この時点から毎日（5 日/週）、8 週間、それらの糖を投与したところ、図 4b に示した様に、グルコースと砂糖投与群は極めて高い血糖値を示した。これは、KK-Ay マウスが週齢の進行に伴い、糖尿病状態が悪化しており、そのためグルコースや砂糖に対する応答性で、耐糖能がさらに悪化したためと考えられる。ところが、ハチミツを見てみると、驚いたことに、血糖値は初期値とほぼ同じ値を示した。即ち、グルコースや砂糖のようにさらに血糖値を上昇させることは無かったのである。特に、OSTT 90 分、120 分値では砂糖とハチミツ投与群で明瞭な有意差をもって、ハチミツの方が低い血糖値であった。

図 5 は投与前、投与後 3 週後、8 週後における各種糖の AUC（Area Under the Curve）を求めてグラフ化したものである。非常に興味深いことにグルコースと砂糖は投与前と投与後 8 週間では有意に血糖値が高くなっている。これは図 4 における OSTT の結果と同じで、KK-Ay マウスが 8 週間の間に糖尿病症状を悪化させ、耐糖の以上の強くなったことを物語っている。しかし、ハチミツと果糖は投与前と投与後 8 週では有意差は無く、特にハチミツは投与 8 週間後においても初期値（0 週）とあまり変わらない AUC を示している。このことは、確かにハチミツ投与により砂糖並に血糖値を上昇させるが、その後の連続投与にも関わらず、言いかえると、KK-Ay マウスの糖尿病症状の悪化に伴う耐糖能異常亢進にも関わらず、ハチミツ投与群は血糖値を初期値以上は上昇させず、一定に保っていることを示している。

### 4. 血中インスリン濃度

図 6 は各種糖投与後 8 週の OSTT を実行した際の血中インスリン値である。傾向としてはハチミツ投与群がインスリン感受性の高い結果であるが、有意差は無い。ここでも砂糖投与群は感受性の鈍い結果となっており、有意差は無いものの、血糖値の結果を反映しているものと考えられた。

### 5. 血清成分の解析

各種糖を投与 8 週後の各血中脂肪関連物質（遊離脂肪酸、中性脂肪、総コレステロール）の濃度の比較を図 7 に示した。遊離脂肪酸、中性脂肪、総コレステロールともに各群での有意差は認められなかった。しかし、中性脂肪はコントロールや砂糖と比較してやや低い傾向にあった。



## 6. 遺伝子発現の比較

ハチミツ投与により高血糖状態が緩和した要因として、体重の低い傾向を示すことが影響していると考えられたので、各種糖投与群 8 週後の腹腔脂肪組織におけるレプチン (Leptin) の遺伝子発現量を比較検討した (図 8)。ハチミツ投与群は他の糖投与群に比較して相対的に低いレプチン量を示した。通常、肥満に伴いレプチン抵抗性となり、レプチン量は増大する。従って、本結果はおそらく肥満傾向を抑えるようなハチミツの効果により、レプチン量は低い値、即ち、感受性のある状態に保たれていると推定される。

## 考 察

KK-Ay マウス野体重増加への各種糖の影響において、スクロースが最も体重を増加させた。同じような実験はラットでも行われており、やはり砂糖と比較し、ハチミツの体重増加率は低い結果が報告されている [5]。また、今回の我々の実験結果から、その体重に関しては腹腔脂肪が関与していることが推定された。摘出した後腹膜脂肪と全体の脂肪重量において、スクロース投与群が最も重くなったのである (data not shown)。このことから、スクロースは脂肪重量を増やし、それに伴いインスリン抵抗性や高血糖を誘導すると考えられる。しかし、スクロースと糖の組成がほぼ同じであるハチミツについては、スクロースほど脂肪量を増加させないという結果になった。実は糖尿病患者へのハチミツ投与により、8 週間後には体重が有意に下がった報告がある [6]。今回の我々の結果と一致している。このことから、ハチミツに含まれるグルコースとフルクトース以外のミネラルやビタミンなどの微量の栄養素に弱いながらも体重増加の抑制作用があるのかもしれない。

各種糖の投与前に行った OSTT ではスクロースとハチミツの血糖値に差はなく、むしろハチミツの方が高くなっていたが、8 週間の連続投与の後ではハチミツはスクロース群の血糖値よりも有意に低い血糖値を示した。これらの結果から、ハチミツの投与ではスクロースと比較して耐糖能障害を起こしにくいということが云える。その理由について、やはりハチミツの構成成分が関係していると考えられる。

一方、インスリン分泌量の測定ではハチミツ投与群は他群とは有意差は無いものの、感受性の高い傾向を示した。このことから、ハチミツ投与群ではインスリン感受性が一部保たれており、他の群でインスリン感受性が障害されているように考えることが可能かもしれない。あるいは、血糖値のハチミツ群と砂糖群との有意差はインスリンを経由しない、別経路で生じたのかもしれない。

まとめると、今回の実験でハチミツはスクロースとの比較において体重増加の抑制、血糖値上昇の抑制作用があると考えられる結果を得た。その原因として、ハチミツに含まれる微量栄養素の働きが考えられる。今後、ハチミツに含まれる微量栄養素を特定し、糖尿病モデル動物へ

の効果調べることにより、糖尿病へのハチミツの影響をより詳しく理解できるかもしれない。

#### 参考文献

- [1] Zimmet P, Alberti KG, Shaw J (2001) Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414: 782–787.
- [2] Kopelman PG (2000) Obesity as a medical problem. *Nature* 404: 635–643.
- [3] Ionescu-Tirgoviste C, Popa E, Sintu E, Mihalache N, Cheta D, Mincu I (1983) Blood glucose and plasma insulin responses to various carbohydrates in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 24: 80–84.
- [4] Barroso E, Rodriguez-Rodriguez R, Chacon MR, et al. (2015) PPARbeta/delta ameliorates fructose-induced insulin resistance in adipocytes by preventing Nrf2 activation. *Biochim Biophys Acta* 1852: 1049–1058.
- [5] Nemoseck TM, Carmody EG, Furchner-Evanson A, et al. (2011) Honey promotes lower weight gain, adiposity, and triglycerides than sucrose in rats. *Nutr Res* 31: 55–60.
- [6] Bahrami M, Ataie-Jafari A, Hosseini S, Foruzanfar MH, Rahmani M, Pajouhi M (2009) Effects of natural honey consumption in diabetic patients: an 8-week randomized clinical trial. *Int J Food Sci Nutr* 60: 618–626.



図1 日本国産ハチミツの収集と産地一覧。ほぼ、全国に渡って収集された。

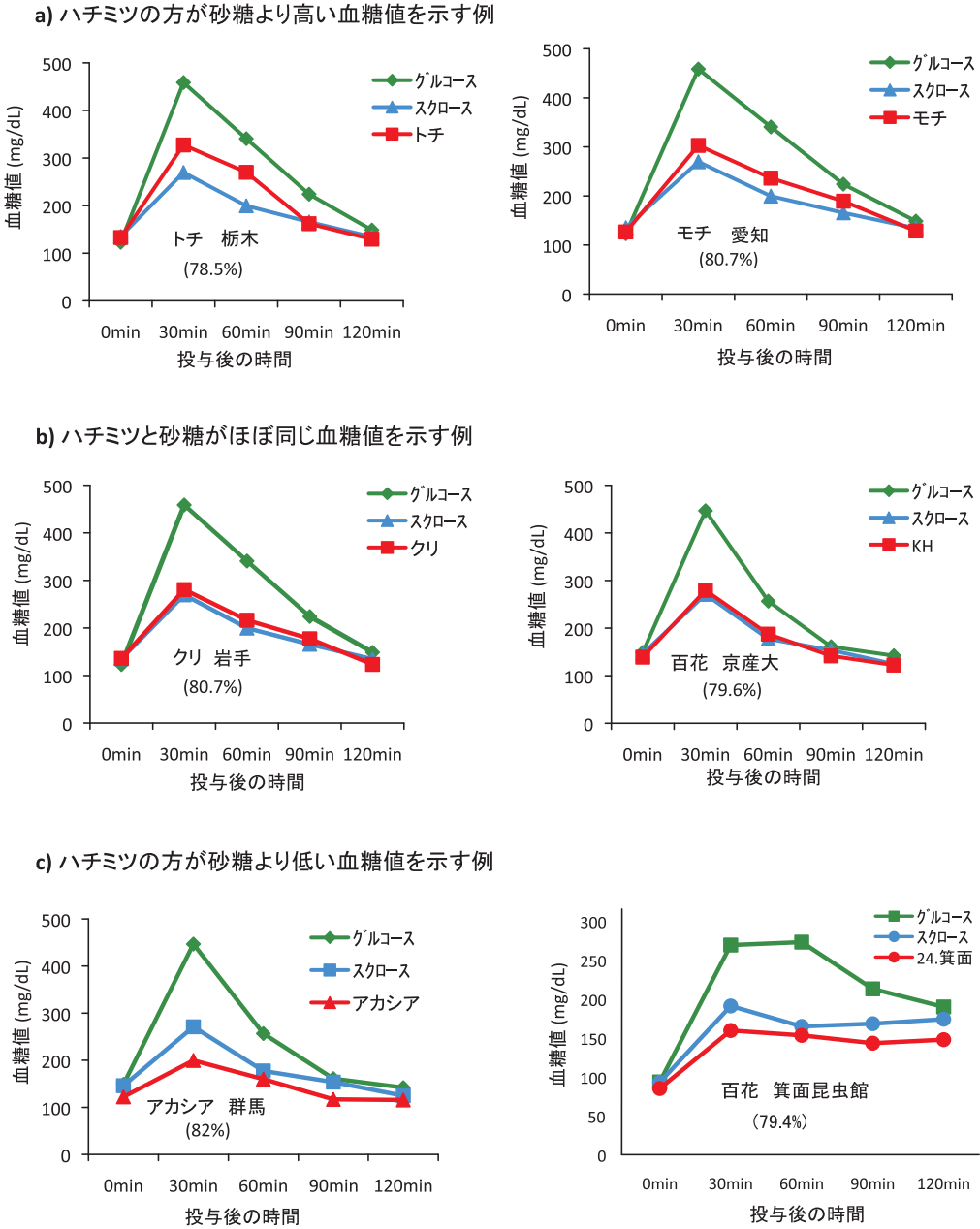


図2 糖負荷試験によるハチミツの1次スクリーニング。

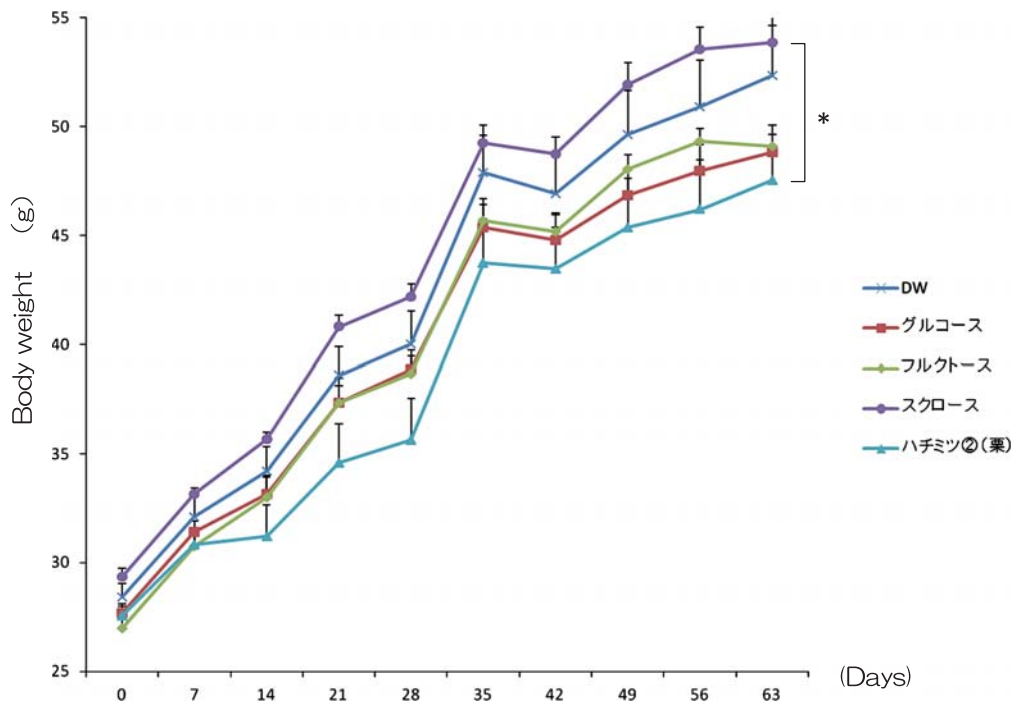


図3 KK-Ay マウスにおける投与 0～63 日（0～8 週）の体重の推移。ハチミツ投与群が最も低い体重で、砂糖投与群との比較で優位さが認められた。

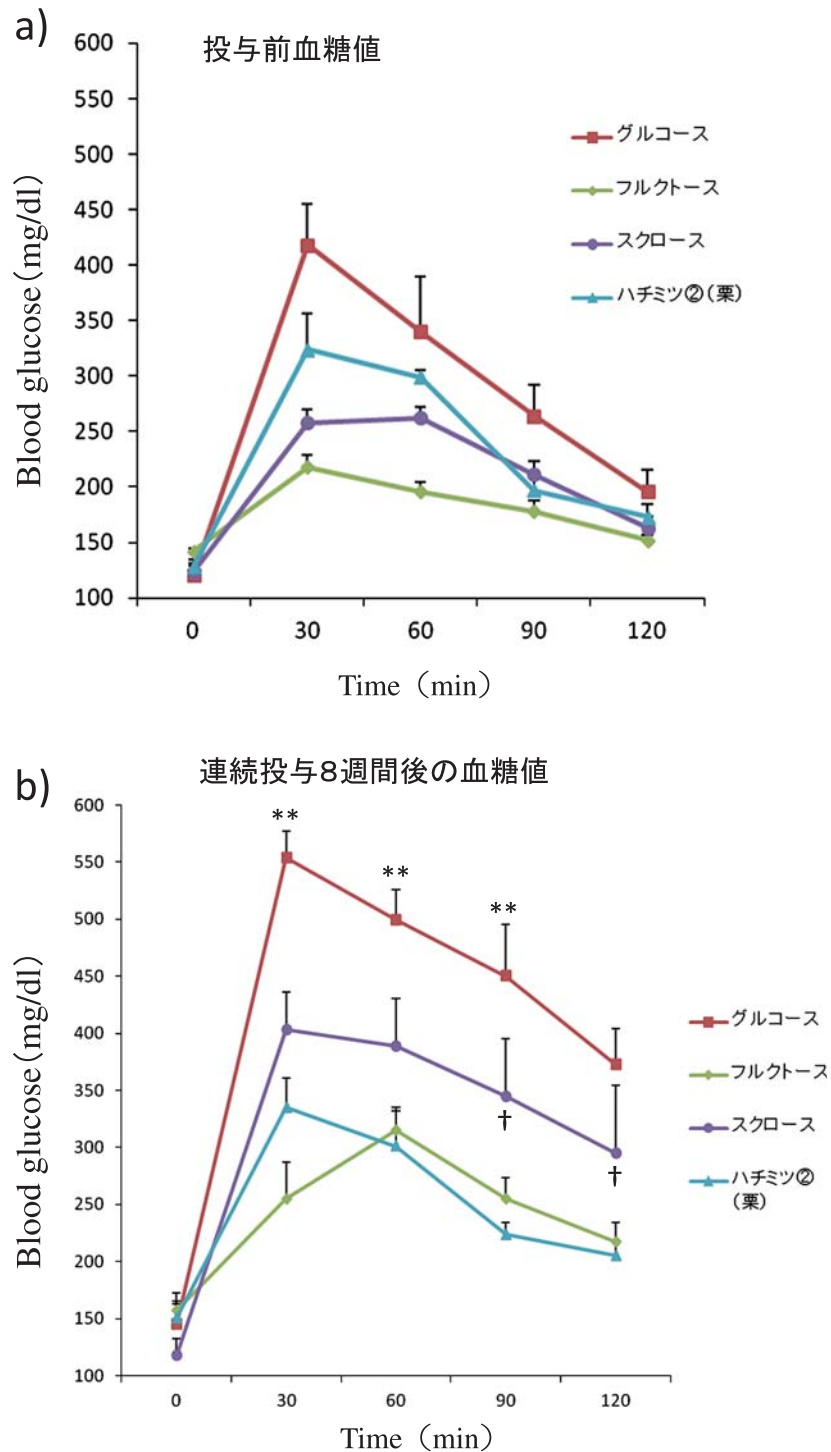


図4 ハチミツ並びに各種糖の連続投与8週間後の血糖値の推移。

\*\* $p < 0.01$  vs honey, †  $p < 0.05$  vs honey

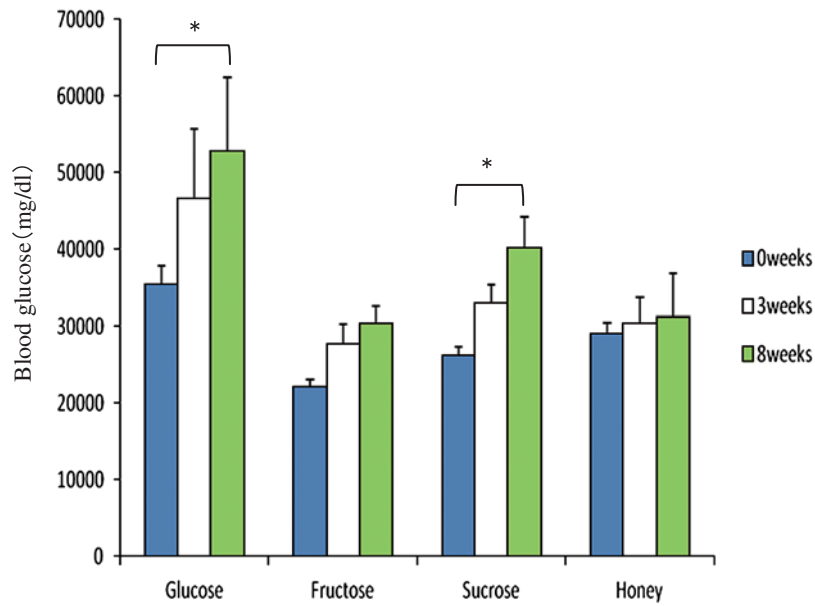


図5 各種糖による血糖値の投与期間によるAUC (Area Under the Curve) の比較である。グルコースと砂糖は投与期間の長くなるにつれ、有意に血糖値が上昇している。これに対し、ハチミツ投与群と果糖投与群ではあまり変動がない。

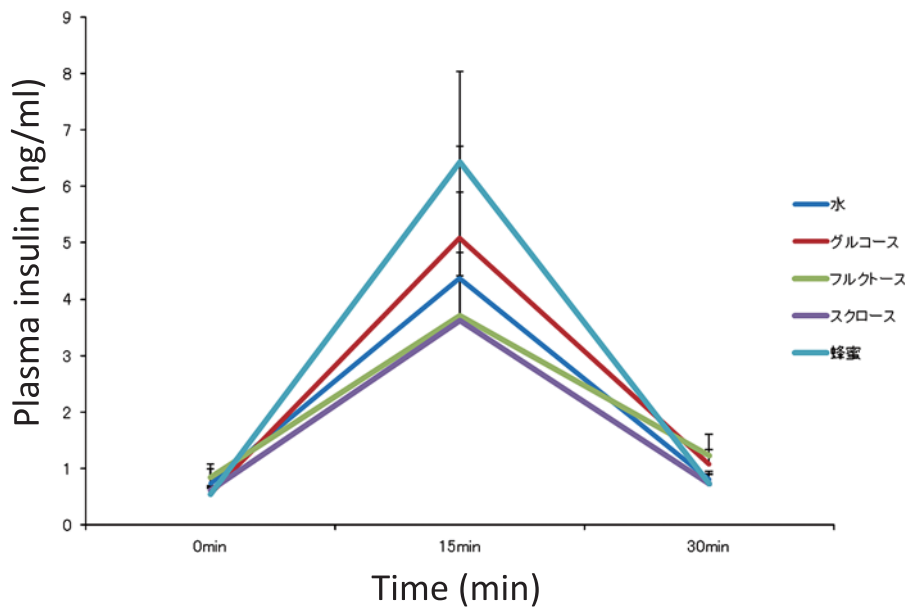


図6 KK-Ay マウス (14 週齢) の OSTT 後の各グループの血中インスリン濃度の 0 ~ 30 分値。

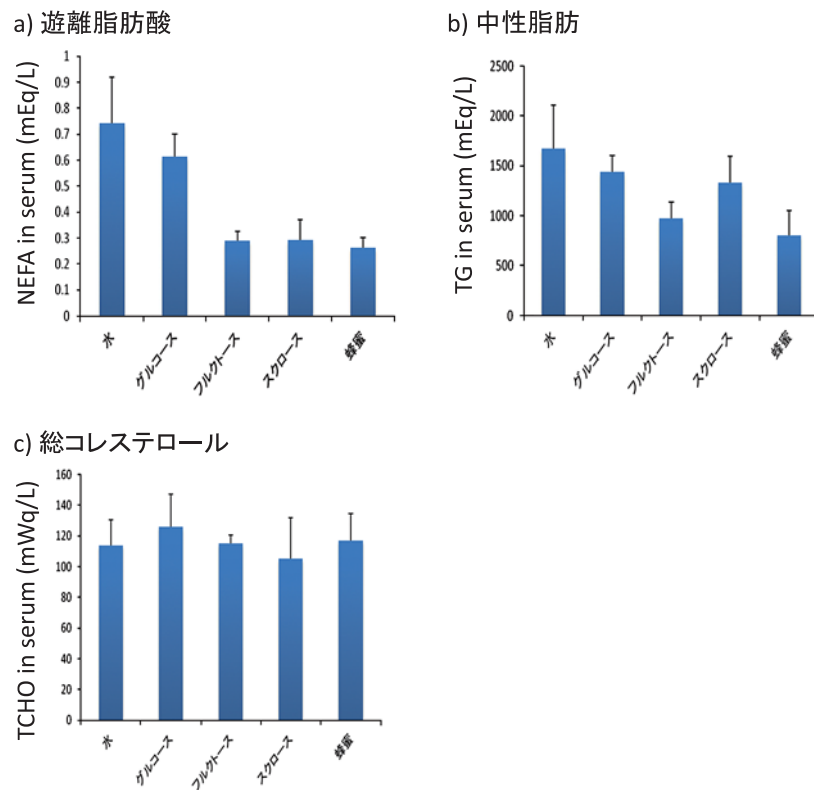


図7 KK-Ay マウスへの各種糖投与 8週間後の血中脂肪関連物質。

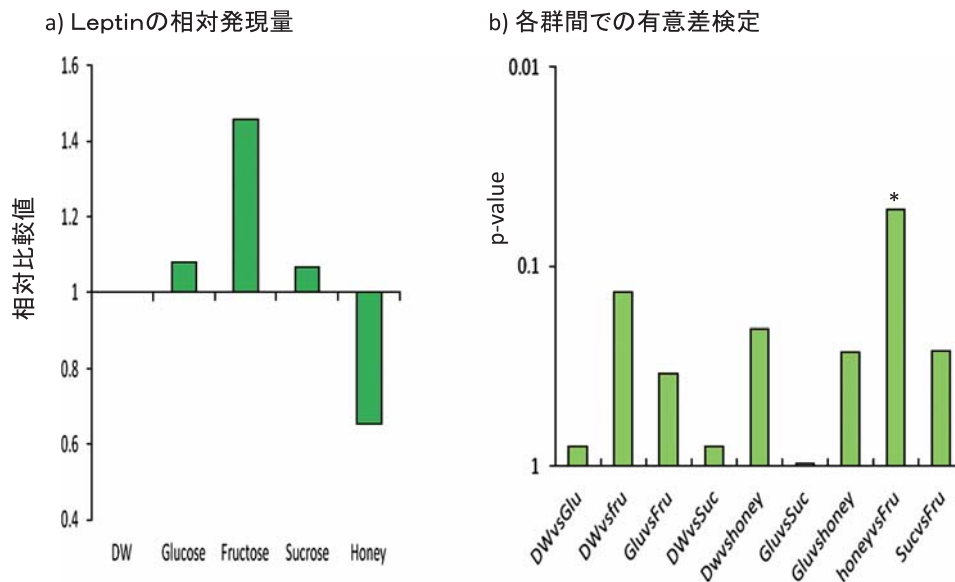


図8 KK-Ay マウスへの各種糖投与 8週間後の腹腔脂肪における Leptin 遺伝子の発現比較。\*p < 0.05 honey vs fructose



## Effects of Japanese natural honey administration in KK-Ay diabetic mice

Yuusuke SHIRAI

Daiki SASAKI

Yoshiko TANAKA

Kozo MATSUMOTO

### Abstract

**Objective** We investigated the effect of Japanese natural honey on body weight and plasma glucose levels in KK-Ay obese diabetic mice.

**Methods** We used female 8-week-old KK-Ay mice. Mice were divided into five groups according to honey and sugars. The oral sugar tolerance test (OSTT) was performed in overnight fasting on day 0, 3 weeks, and 8 weeks after first administration of honey and sugars. One week later after the end of OSTT, tissues were dissected for extraction of RNA.

**Results** To examine the effects of honey in diabetic or hyperglycemic condition, we administered honey orally to female mice for 8 weeks. We found that both the body weight and the blood glucose levels of the honey treated mice were significantly lower than those of sucrose treated mice.

**Conclusion** In summary, these data suggest that honey has good effects through the reduction of body weight and high plasma glucose under diabetogenic condition.

**Keywords:** Japanese honey, diabetes, blood glucose, body weight, KK-Ay mice