

美和學校財團法人美和科技大學

104 年度教師產學合作計畫

結案報告書

計畫名稱：探討預發芽糙米控制糖尿病患血糖之功效及其作用機制

計畫編號：103-FI-DFN-IAC-R-001

計畫期間：2014/03/01~ 2015/02/28

計畫主持人：林慧麗

共同主持人：沈國屏、郝繼隆

研究助理：葉柏村

經費總額：300000 元

經費來源：屏基醫療財團法人屏東基督教醫院

目 錄

一、計劃中文摘要.....	- 3 -
二、計劃英文摘要.....	- 4 -
三、研究計劃執行結果之本文.....	- 5 -
(一)背景與現況.....	- 5 -
(二)研究目的.....	- 6 -
(三)材料與方法.....	- 6 -
(四)結果.....	- 12 -
(五)討論.....	- 13 -
(六)參考文獻.....	- 19 -
四、圖與表.....	- 22 -
五、期末經費使用狀況.....	- 29 -

頁 碼

一、計劃中文摘要：

中文摘要(內容應包括研究目的、研究方法、主要發現、結論及建議事項，並填寫中英文關鍵詞三至五個)。字數以不超過一千五百字為原則。

關鍵詞：發芽糙米、高血糖、胰島素、葡萄糖代謝

發芽糙米 (Pre-germinated brown rice, PGBR) 已被證實有益於改善糖尿病，這項研究的目的是證實 PGBR 預防 C57BL/6J 小鼠高血糖機制。

本研究將 6 週大之 C57BL/6J 小鼠隨機分為三組。第 1 組餵食標準正常飲食，第 2 組餵食高脂肪的飲食 (high fat diet, HFD)，第 3 組老鼠餵食高脂飲食加 PGBR 飲食 (HFD&PGBR)，為期 15 週。

結果呈現第 1 組和第 2 比較，第 2 組有較高的血壓、心跳率、較高的血糖及糖化血色素濃度和較低血清胰島素。在第 2 的高脂肪組其骨骼肌中胰島素受體、胰島素受體基質-2 (insulin receptor substrate-2, IRS-2)、葡萄糖運輸體蛋白 1 (glucose transporter-1, Glut-1)、葡萄糖運輸體蛋白 4 (Glut-4) 和葡萄糖激酶 glucokinase (GCKR) 皆有意義的比餵食 HFD&PGBR 組降低。在肝臟方面，HFD 組的胰島素受體、胰島素受體-2、AMP 激活的蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 及過氧化物酶體增殖物激活受體 γ 的表現則明顯低於 HFD&PGBR 組;而肝糖合成酶激酶 (glycogen synthase kinase, GSK) 表現則比 HFD&PGBR 組增強。發芽糙米可以改善因高脂飼料所誘導的血糖、胰島素、血壓及心跳異常現象。發芽糙米還加強了胰島素分泌、胰島素受體、胰島素受體基質及葡萄糖轉運蛋白的表現，並改善 AMP 激活的蛋白激酶及過氧化物酶體增殖物激活受體 γ 及肝糖合成酶激酶表現。

因此我們推測發芽糙米有預防高脂飲食誘導的高血糖，是經由提高胰島素濃度及改善胰島素受體、葡萄糖運輸體而影響葡萄糖代謝以達降血糖效能。

二、計劃英文摘要：

英文摘要(內容應包括研究目的、研究方法、主要發現、結論及建議事項，並填寫英文關鍵詞三至五個)。字數以不超過一千五百字為原則。

Keywords : Pre-germinated brown rice 、hyperglycemia 、insulin 、glucose metabolism

Pre-germinated brown rice (PGBR) was proved had benefits to ameliorate diabetes mellitus. The aim of the study was to clarify the mechanisms of PGBR in preventing the hyperglycemia in C57BL/6J mice.

This study was separated two parts. The first part was preventive and the second part was therapeutic study. In the first part we used normal six-week-old C57BL/6J mice which were randomly divided into three groups. Group 1 was fed standard diet, group 2 was fed high fat diet (HFD) group 3 was fed HFD and PGBR for 15 weeks.

The data were compared with group 1 and 2, the group 2 had higher blood pressure and heart rate, and higher concentrations of blood glucose, HbA1c, and lower serum insulin levels. The proteins expressions of insulin receptor (IR), insulin receptor substrate-2 (IRS-2), glucose transporter-1 (Glut-1), Glut-4 and glucokinase (GCKR) were decreased in skeletal muscle of group 2. In liver, the expressions of IR, IRS-2, AMP-activated protein kinase (AMPK), and peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) were reduced, and glucagon synthase kinase (GSK) was enhanced in group 2. The PGBR could reverse the disorders of blood pressure, heart rate, blood glucose and insulin induced by HFD. The PGBR also increased the insulin receptor, IRS-2, Glut-1 and Glut-4 proteins, and ameliorated the proteins expressions of AMPK, GSK, GCKR and PPAR γ .

We suggested that PGBR had the effects of preventing HFD-induced hyperglycemia through improving insulin levels, insulin receptor, glucose transporters and glucose metabolism.

三、研究計劃執行結果之本文

包括研究問題之背景與現況、研究目的、材料與方法、結果、討論、參考文獻。

(一)背景與現況

糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 在 21 世紀是威脅人類健康的主要疾病之一。全球在過去的二十年來被診斷出糖尿病的人暴增 (Amos et al. 1997, King et al. 1998)。主要的原因是因為人類的生活環境有顯著的改變，尤其是人類的行為與生活型態，導致肥胖與糖尿病逐漸的上升 (WHO, 1999)。有 90% 的病患是為第二型糖尿病。第二型糖尿病的特徵為胰島素抗性 (insulin resistance) 及胰島素分泌不正常 (abnormal insulin secretion)。所謂的胰島素抗性則是指標的器官對於胰島素的反應失效，也就是指在一定濃度的胰島素，其生理作用比其應有的水準還低。胰島素抗性會造成無法完全抑制肝臟中葡萄糖釋放至血液，也會破壞骨骼肌、脂肪組織經由 insulin-mediated glucose uptake，導致胰島素的需要增加，當胰島素的濃度上升，但無法符合胰島素的需要時，就會導致高血糖的發生 (Reaven 1988)。患第二型糖尿病的患者須飲食、藥物、運動來控制，除非飲食的控制或口服降血糖藥物的給予無法控制血糖，才會給予胰島素的注射。在正常的情況下，攝食含醣食物後，所分泌的胰島素會與細胞上的胰島素接受體結合，而此訊息會使得葡萄糖運輸體 (glucose transporter isoform 4; GLUT4 從細胞內移至細胞膜表面，增加葡萄糖分子的攝入 (James et al. 1989)。當胰島素抗性發生時，胰島素濃度過高，生物體會以 down regulation 的方式降低胰島素接受體數目，並降低了 GLUT4 的表現，使葡萄糖進入細胞的量降低，導致血糖上升 (Maianu et al. 2001; Ryder et al. 2000)。有研究指出第二型糖尿病在骨骼肌 (Dohm et al. 1988; Kelley et al. 1996; Zierath et al. 1996; Garvey et al. 1998) 與脂肪組織 (Ciaraldi et al. 1982; Garvey et al. 1991 and 1988; Sinha et al. 1988) 其葡萄糖運輸系統是有缺陷的。目前第二型糖尿病在孩童與青春期的少年也逐漸的增加中 (Fagot-Gampagna et al. 2000, 2001)。也正因未來糖尿病人口數不斷的增加，所以已有許多的研究者與臨床醫生正努力的研究此疾病的預防與治療。

研究指出餐後的高血糖與高胰島素會增加糖尿病與心血管疾病的發生 (Salmeron et al. 1997, Leeds 2002)。並有研究指出第二型糖尿病患者早餐後一小時，發生高的血糖與心肌梗塞發生率有關 (Hanefeld et al. 1996)，高血糖與心血管疾病的發生有強烈的關聯 (Amano et al. 2004)。而 DECODE (Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis of Diabetic criteria in Europe) 利用葡萄糖耐受試驗 (oral glucose tolerance test, OGTT) 研究 25000 位受試者，發現高血糖會增加大血管疾病的死亡率 (DECODE 1999)，這個結果在推測高血糖為糖尿病發生與其併發症的危險因子，並指出**富含碳水化合物的主食若能使餐後血糖濃度不會快速上升是很重要的。**

另有研究證實第一型與第二型糖尿病患攝取低脂高膳食纖維飲食後，可對血糖有良好的控制，並減少總膽固醇與低密度脂蛋白膽固醇 (Low Density Lipoprotein; LDL) (Simpson et al., 1981)；也有研究報告指出增加糖尿病患者飲食中膳食纖維的含量 (每日攝取 50 克)，經過了六周的飲食介入後能夠降低高血糖、高胰島素之濃度 (Manisha et al., 2000)，因為膳食纖維可以抑制葡萄糖的吸收且使血糖平穩地上升 (Shiyi et al., 2001)；也有研究指出富含膳食纖維之飲食可以降低食物的消化與吸收作用，進而改善糖尿病患者血糖之控制，並降低血中總膽固醇及 LDL 數值 (Indu 1992)，整體來說目前已有許多的文獻都證實了膳食纖維有利於血糖與血脂肪的控制。

全球目前以米為主食的人口約有三十億人口，也就是有 55% 的人類以米為主要碳水化合物及重要的能量來源，然而白米是屬於高昇糖指數的食物。而亞洲與非洲地區人口是大都以白米為主食，亞洲地區就佔了全球糖尿病人口約 60% (Whiting et al., 2011)，有趣的是這些地區在未來也是被預測為糖尿病發生率最高的地區。可知白米對於人類的健康似乎有一定的意義。因此若能改變碳水化合物的米食型態來改善血糖，對於亞洲人口的健康將會有莫大的助益。

所謂的發芽糙米 (Pre-germinated brown rice, PGBR) 是保留了米糠和胚芽的糙米，將其浸泡於水中，使其輕微發芽 (Saikusa et al., 1994)，即是日本人所謂的「玄米」。發芽糙米在發芽的過程中，使其內部的酵素活化，進而提高其營養成分 (Ito et al., 2004)，其營養成分不論是維生素或礦物質皆比白米高，特別是 γ -胺基丁酸 (γ -Aminobutyric Acid; GABA) 及膳食纖維皆比白米高出很多。目前已有動物實驗指出發芽糙米可以改善由 Streptozotocin 所誘發之糖尿病老鼠的血糖 (Hagiwara et al., 2004; Seki et al., 2005)。也有研究指出發芽糙米對於健康人在單餐飲食之飯後的血糖控制比白米好，但並非是因為增加胰島素的分泌 (Ito et al., 2005)，反而是因為發芽糙米中有較多的不溶性纖維 (Insoluble fiber) (Seki et al., 2005)。另一研究指出給予空腹血糖異常與第二型糖尿病患者，每日三餐，每餐給予 180 克的白米或發芽糙米 6 週，發芽糙米組則明顯的降低了空腹血糖、果糖胺、血清總膽固醇與三酸甘油酯 (Hsu et al., 2008)。

(二) 研究目的

截止目前為止，PGBR 對血糖、血脂的研究雖有幾篇研究被發表，但對於 PGBR 如何調控血糖、血脂的機轉並不清楚。根據我們實驗室目前的結果，我們可以證實預發芽糙米具有改善高血糖的效果。預發芽糙米深具研究的價值，懇請貴單位能核准本計劃之經費讓我們完成接下來的實驗。若研究成果將來能應用在人體，相信除了可以增進國人吃的健康外，亦能對台灣精緻農業發展有所幫助。我們目前想釐清 PGBR 是如何降低飯後血糖的變化?我們也想進一步了解 PGBR 對於胰島素的影響如何?或者是否增加胰島素的敏感性?是否與胰島素接受器的表現有關?是否可影響 GLUT4 的表現?是否與 leptin 及 adiponectin 的調控有關?而在長期食用 PGBR 對於血脂的控制是否有幫助?所以本研究的主題在於**預發芽糙米對高血糖與高血脂之調控**。

(三) 材料與方法

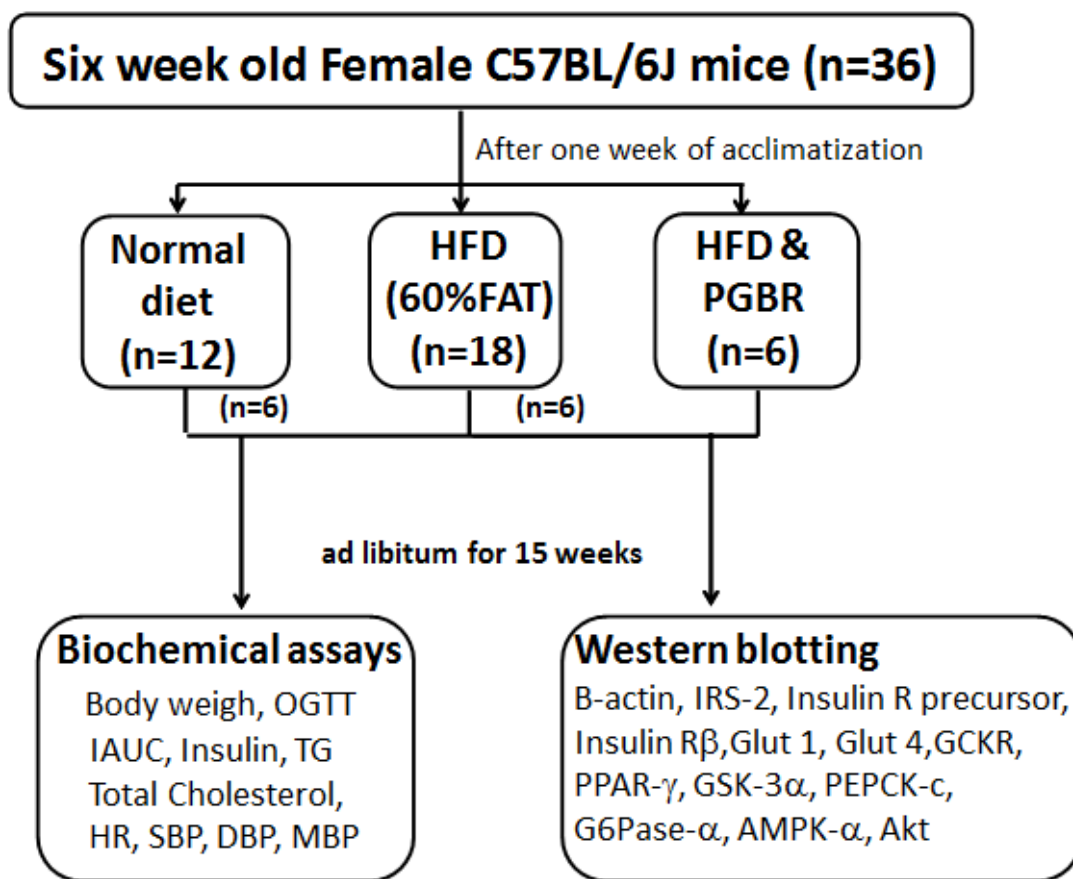
1. 實驗設計

將六週大的 C57/6J 雌性小鼠給予各 12 個小時的明、暗環境，室溫維持在 $25\pm 1^\circ\text{C}$ ，溼度保持在 $55\pm 5\%$ 。先以正常的飼料 (regular diet) 餵養 1 週。本研究分為兩大組，一為預防組，另一組為治療組。

預防組隨機分為三組，分別為控制組 (Normal diet)、高脂飼料組 (high fat diet, HFD, 含 60% 脂肪)、高脂發芽糙米組 (high fat diet & pre-germinated brown rice, HFD&PGBR, 含 60% 脂肪)，每組 6 隻。每週測量體重，飼養 15 週後，偵測口服葡萄糖耐量試驗 (Oral Glucose Tolerance Test, OGTT)、

血壓。犧牲前天空腹 12 小時，將犧牲老鼠取血液，偵測血液生化值胰島素(insulin)、三酸甘油脂 (Triglycerides, TG)、總膽固醇(Total Cholesterol, TC)。取骨骼肌與肝臟，以西方點墨法 (western blotting) 偵測蛋白質表現包括(β -actin、IRS-2、Insulin R β precursor、Insulin R β 、 Glut 1、Glut 4、GCKR, PPAR-r、GSK-3 α 、PEPCK-c、G6Pase- α 、AMPK- α 、AKT)。

2. 實驗架構流程圖



3.動物來源與飼料成分

本動物實驗之 C57/6J 雌性小鼠購自樂斯科生物科技股份有限公司。飼料來源購自樂斯科生物科技股份有限公司，飼料名稱 MF-18 為控制組飲食。表一是我們自己調配飼料的配方，三大營養素我們所調配的比例為，醣類 30 %、油脂 60 %、蛋白質 10 %。

Table 1 為飼料配方:HFD 組飲食以每份 100 公克配方，MF-18 飼料 68.10 公克、大豆油 2.93 公克、清香油 28.97、膽固醇 0.5 公克。

HFD&PGBR 飲食以每份 100 公克配方，發芽糙米 55.40 公克、三多奶蛋白 10.80 公克、大豆油 3.00 公克、清香油 30.80、膽固醇 0.5 公克。

	HFD				HFD w PGBR			
	Ingredient	CHO	Fat	Protein	Ingredient	CHO	Fat	Protein
Normal feed (g)	68.10	36.60	3.40	16.30	0	0	0	0
PBGR (g)	0	0	0	0	55.40	36.70	1.38	3.48
Sentosa super protein(g)	0	0	0	0	10.80	0.92	0.33	8.77
Soybean oil (g)	2.93	-	2.69	-	3.00	-	2.76	-
lard(g)	28.97	-	26.50	-	30.80	-	28.20	-
Cholesterol(g)	0.50	0	0.50	0	0.50	0	0.50	0
Total weigh(g)	100	36.60	33.09	16.30	100	37.62	32.67	12.25
% of energy		29.00	58.10	12.90		30.50	59.60	9.90

HFD: High fat diet
HFD W PGBR: High fat diet with pre-germinated brown rice.
CHO: Carbohydrates

4.研究方法

(1)體重測量

各組老鼠以每週固定時間，以磅秤量取體重，並且記錄，磅秤型號 BJ 100M。

(2)口服葡萄糖耐量試驗(Oral Glucose Tolerance Test ， OGTT)及 IAUC(The incremental area under the curve for g)計算

老鼠空腹 12 小時，於實驗前灌食 40 mg/kg 的葡萄糖，以 0、30、60、90 及 120 分鐘時，以剪尾方式收集血液測量其血糖值。老鼠在採集尾巴血液前後，均有使用碘酒消毒，本實驗血糖值之測量是使用羅氏股份有限公司所生產之血糖機。IAUC 計算，為 0、30、60、90 及 120 分鐘之各點血糖乘上時間之表面積。

(3) 血壓偵測 (Blood pressure detection , BPD)

本實驗血壓機，使用樂斯科生物科技股份有限公司所提供，血壓計型號-BP-98A，偵測老鼠尾巴血壓、心跳 (Heartbeat, HR)、收縮壓(Systolic blood pressure, SBP)、舒張壓 (Diastolic blood pressure, DBP)、平均血壓 (Mean blood pressure, MBP)。

(4) 血液生化值 (Blood biochemical values , BBV)

老鼠犧牲後採集血液，委託優品醫學檢驗中心與立人醫事檢驗所，檢測血糖、胰島素、三酸甘油脂、總膽固醇。

(5) 胰島素測定 (Insulin ELISA)

本實驗是購買 ALPCO 的 Mouse Insulin ELISA 來測定老鼠血清中胰島素含量。

標準品和樣品各吸取 10 uL 至 96 微孔盤，各放入 75 uL Conjugate，以封口膜密封微孔盤，放置室溫以震盪器 700-900 rpm 震盪 2 小時，以 Wash Buffer 清洗 6 次，加入 100 uL TMB Substrate，以封口膜密封微孔盤，放置室溫以震盪器 700-900 rpm 震盪 15 分鐘，加入 100 uL Stop Solution，以 450 nm 測定吸光值。

(6) 西方點墨法 (western blotting) 分析 GSK-3 α ，PEPCK-c，G6Pase- α ，AMPK- α ，IRS-2、insulin receptor，GLUT1，GLUT4，GCK，PPAE- γ ，Akt

6-1 細胞質蛋白的製備：

取骨骼肌及肝臟，分別均質絞碎，加入 400 μ L 之 Buffer A (10 mmol/ L HEPES, pH 7.9, 10 mmol/ L KCl, 0.1 mmol/ L EDTA, 0.1 mmol/L EGTA, 1 mmol/ L DTT, 0.5 mmol/ LPMSF) 於冰上作用 15 分鐘。隨後，將細胞加入 25 μ L 之 10% NP-40 且劇烈振盪約 10 秒，再以最高速離心 30 秒，上清液則得到 cytosolic 蛋白，將細胞質萃取物作蛋白質定量以備用。

6-2 定量蛋白質含量：

以 PIERCE 的 BCA Protein Assay Reagent Kit 來定量，以 BSA (bovine serum albumin) 作標準品，波長 562 nm，於分光光度計畫出標準曲線，即可換算出檢體的蛋白質濃度。將定量好的檢體繼而進行 SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfae-polyacryamide gel eletrophoresis)。

6-3 SDS-PAGE：

依蛋白質分子量大小配製 12% separating gel 和 4 % stacking gel，並將先前製備好的檢體連同 molecular weight marker 置於 37 $^{\circ}$ C 水浴中加熱 15 分鐘，後 loading 入 gel 中，依蛋白質分子量

大小調整電壓強度，開始進行電泳，直到我們所要的蛋白質已跑到可與其它蛋白質分開來的程度即可停止。

6-4 Western blotting analysis :

蛋白質在跑完 SDS-PAGE 電泳後，接著進行轉漬 (Blotting)，利用轉漬器 (Mimi trans-blot electrophoretic transfer cell) 和 blotting buffer 通電 100V 1 小時，將蛋白質 transfer 於 NC (nitrocellulose paper) paper, 取下 NC paper，以 TBS-T buffer 清洗 NC paper 10 分鐘，再以含 5% skim milk 的 TBS-T buffer 進行 blocking 4°C overnight。加入初級 GSK-3 α ，PEPCK-c，G6Pase- α ，AMPK- α ，IRS-2、insulin receptor、GLUT1、GLUT4、GCK、PPAE- γ 、Akt 抗體。抗體於含 5% skim milk 的 TBS-T buffer 中，室溫下作用 1 小時，以 TBS-T buffer 清洗 NC paper 數次，繼續加入二級抗體於含 5% skim milk 的 TBS-T buffer 中，室溫下作用 1 小時，以 TBS-T buffer 清洗 NC paper 數次，最後在暗房加入 ECL (enhanced chemiluminescence reagents, ECL detection reagent I and ECL detection reagent II, 1:1)，作用 1 分鐘，置於軟片上於室溫下曝光，待適當時間後，軟片放入顯影劑中，待呈相後，再放入定影劑，軟片定影後即可取出。

(四)結果

1.體型、體重素變化

由圖一中 HFD&PGBR 組和 HFD 組飲食含有 60%脂肪，雖然 HFD&PGBR 組體型比 Normal diet 組較肥胖，但是 HFD&PGBR 組體型並沒有 HFD 組來的肥胖。

由 Table 2 及 Fig. 1 中，0 到 15 週的體重變化，在 0 週各組體重是沒有明顯差異的，第 4 和 8 週 HFD&PGBR 組已有明顯體重低於 HFD 組 ($p<0.05$)，跟 Normal diet 組沒有明顯的差異，雖然第 12 和 15 週 HFD&PGBR 組跟 Normal diet 組有明顯差異 ($p<0.05$)，但是 HFD&PGBR 組體重還是明顯低於 HFD 組 ($p<0.05$)。第 15 週體重上升百分比統計，Normal diet 組體重上升 50.37%，HFD 組上升 116.76%，HFD&PGBR 組上升 68.18%，HFD&PGBR 組體重明顯低於 HFD 組 ($p<0.05$)。

2.血糖及血壓變化

由 Table 3 中，15 週老鼠餐後血糖變化(OGTT)，0 分鐘為空腹血糖，HFD&PGBR 組明顯低於 HFD 組 ($p<0.05$)，到 120 分鐘時 HFD&PGBR 組血糖已降到比控制組低，HFD&PGBR 組明顯低於 HFD 組 ($p<0.05$)，在餐後血糖變化表面積(IAUC)，HFD&PGBR 組明顯低於 HFD 組 ($p<0.05$)。血清胰島素(insulin)含量，HFD&PGBR 組明顯高於 Normal diet 組和 HFD 組 ($p<0.05$)。血壓變化，HFD&PGBR 組心跳是接近 Normal diet 組的，HFD 組比較高但沒有明顯差異在 SBP、DBP、MBP、HFD&PGBR 組明顯低於 HFD 組 ($p<0.05$)。

3.血液生化值

由 Table 3 中，糖化血色素、三酸甘油脂、總膽固醇在 HFD&PGBR 組明顯低於 HFD 組 ($p<0.05$)，而 HFD 組明顯的高於 Normal diet 組 ($p<0.05$)。

4.西方點墨法(western blotting) 蛋白表現分析

(1)肌肉蛋白質表現分析

由 Fig. 2 中，本實驗在骨骼肌的 GSK-3 α ，PEPCK-c，G6Pase- α ，AMPK- α ，在 Normal diet 組、HFD 組及 HFD&PGBR 組表現並沒有沒明顯差異。

由 Fig. 3 中，Insulin receptor precursor 蛋白表現中 HFD&PGBR 組和 Normal diet 組沒有差異，而 HFD 組明顯低於 HFD&PGBR 組和 Normal diet 組 ($p<0.05$)。而 HFD&PGBR 組的 Insulin R β 蛋白表現量有明顯的高於 Normal diet 組和 HFD 組 ($p<0.05$)，而 HFD 組明顯低於 HFD&PGBR 組和 Normal diet 組 ($p<0.05$)。IRS-2 蛋白表現中 HFD&PGBR 組和 Normal diet 組沒有差異，而 HFD 組明顯低於 HFD&PGBR 組和 Normal diet 組 ($p<0.05$)。Glut 1 蛋白表現中 HFD&PGBR 組明顯高於 Normal diet

組和 HFD 組 ($p < 0.05$)，而 Normal diet 組和 HFD 組沒有表現差異。Glut 4 蛋白表現中 HFD&PGBR 組明顯高於 HFD 組 ($p < 0.05$)，與 Normal diet 組沒有表現差異。GCKR 蛋白表現中 HFD&PGBR 組明顯高於 HFD 組 ($p < 0.05$)，與 Normal diet 組沒有表現差異。PPAR- γ 蛋白表現中 HFD&PGBR 組明顯高於 Normal diet 組和 HFD 組 ($p < 0.05$)。Akt 蛋白表現中 HFD&PGBR 組明顯高於 Normal diet 組和 HFD 組 ($p < 0.05$)。

(2) 肝臟蛋白質表現分析

由 Fig. 4 中，insulin R β 蛋白表現在 HFD&PGBR 組明顯的高於 Normal diet 組和 HFD 組 ($p < 0.05$)，而 HFD 組明顯的低於 Normal diet 組 ($p < 0.05$)。IRS-2 蛋白表現在 HFD&PGBR 組有明顯的高於 Normal diet 組和 HFD 組 ($p < 0.05$)，但 HFD 組有顯著的高於 Normal diet 組 ($p < 0.05$)。PPAR- γ 蛋白表現在 HFD&PGBR 組有明顯的高於 Normal diet 組和 HFD 組 ($p < 0.05$)。Akt 蛋白表現 HFD&PGBR 組明顯高於 HFD 組 ($p < 0.05$)，而 HFD 組明顯低於 Normal diet 組 ($p < 0.05$)。GCKR 蛋白表現在 Normal diet 組明顯的高於 HFD 組與 HFD&PGBR 組 ($p < 0.05$)。AMPK- α 蛋白表現在 HFD&PGBR 組有明顯的高於 HFD 組 ($p < 0.05$)，而 HFD 組明顯的低於 Normal diet 組 ($p < 0.05$)。HFD&PGBR 組的 GSK-3 α 蛋白表現明顯的低於 Normal diet 組和 HFD 組 ($p < 0.05$)。

(五) 討論

1. 發芽糙米對於實驗動物體重控制

由我們的實驗結果觀察在 15 週時 HFD 組體型明顯比控制組與 HFD&PGBR 組大，體重自 4 至 15 週在 HFD&PGBR 組則有明顯的比 HFD 組輕 ($p < 0.05$)，且脂肪激素的分泌在 HFD&PGBR 組則有明顯的比 HFD 組分泌的多 ($p < 0.05$)。有研究指出以 PGBR 飼養第二型糖尿病老鼠，其脂肪組織細胞明顯比以白米飼養之第二型糖尿病老鼠有意義的小 (Torimitsu et al., 2010)。而另有研究指出第二型糖尿病常會伴隨肥胖與白色脂肪細胞變大，脂肪激素是由脂肪組織所分泌，會影響脂肪組織的成熟與體積 (Vettor et al., 2005; Okamoto et al., 2006)。脂肪激素 leptin 其功能在調整食慾、消耗熱量、進而調節體重 (Zhang et al. 1994, Jequier 2002)。在老鼠實驗上，使其分泌脂肪激素 leptin 的基因突變，降低脂肪激素 leptin 分泌能力，老鼠會出現攝食過度、肥胖及糖尿病 (Zhang et al. 1994)。在脂肪激素 leptin 有缺陷的老鼠投予脂肪激素 leptin 時，可以降低其高血脂與高血糖的狀態 (Pellemounter et al. 1995)，可能是脂肪激素 leptin 可以改善週邊組織的胰島素敏感性 (Minokoshi et al. 2002)。而脂肪激素 adiponectin 雖然只由脂肪組織分泌，但在肥胖的人其濃度是比瘦的人低的 (Arita et al.

1999)。在我們的研究中，HFD&PGBR 組的體型與體重都比較小，可能原因是 PGBR 會促進脂肪激素的分泌，進而降低血糖，至於是何種脂肪激素則必須進一步研究。

2.發芽糙米對於血糖之影響

在我們的研究結果中，在 HFD&PGBR 組之血糖控制明顯低於 HFD 組 ($p<0.05$)，且在餐後血糖 IAUC 也明顯低於 HFD 組 ($p<0.05$)，血清胰島素分泌量，HFD&PGBR 組明顯高於 Normal diet 組和 HFD 組 ($p<0.05$)，及糖化血色素之濃度有顯著的下降 ($p<0.05$) 這個結果與我們實驗室過去所進行的人體試驗是相符合的。我們將發芽糙米，可以調降血糖分為以下三部分進行討論。

2-1 發芽糙米所含膳食性纖維的影響

這個機制可能是發芽糙米所含的膳食纖維較高，在前述的文獻中也指出膳食纖維可以降低食物的消化與吸收作用，還可使食物停留在胃部時間增長，減緩食物在胃排空的時間，且膳食纖維可以降低餐後血糖的機制主要是因為以下的三個因素，(1) 膳食纖維可以增加小腸的黏著性而抑制葡萄糖的擴散；(2) 膳食纖維可與葡萄糖相結合進而降低制葡萄糖的可獲率；(3) 膳食纖維可以延遲澱粉酶的作用，以上這些原因是膳食纖維減緩餐後血糖的主因。因此有研究報告指出膳食纖維可減緩餐後血糖濃度，並降低第二型糖尿病與心血管疾病的風險 (Panahi et al., 2007)。另有研究提及增加糖尿病患者飲食中膳食纖維的含量 (每日攝取 50 克)，經過了六周的飲食介入後能夠降低高血糖、高胰島素之濃度 (Manisha et al., 2000)。而發芽糙米其對血糖的控制，目前的研究認定在於其所含有豐富的膳食性纖維，而其所含的膳食性纖維是屬於非水溶性的纖維 (insoluble fiber)，研究指出將發芽糙米的外麩皮纖維萃出之後，再回添與白米相同量的碳水化合物給糖尿病的老鼠，其對血糖的控制與食用發芽糙米組有相同的良好效果 (Seki et al., 2005)。這些研究資料顯示，發芽糙米對於血糖的良好改善，是因其含豐富的膳食性纖維。

2-2 發芽糙米所含之 GABA 的影響

我們所使用的發芽糙米在糙米輕微發芽後可使米產生 GABA，發芽糙米中的 GABA 比白米或糙米都來的豐富，並且被認為是可以預防或改善新陳代謝疾病的營養素 (Saikusa et al., 1994)。有關發芽糙米在改善新陳代謝或相關疾病上已有研究指出，如動物實驗研究證實具有改善高血糖 (Hagiwara et al., 2004)、憂鬱 (Mamiya et al., 2007)、認知缺損 (Mamiya et al., 2004)、高膽固醇的效果 (Miura et al., 2006)。在臨床研究中，也證實健康的受試者在食用發芽糙米之後，具有降低餐後血糖的良好效果 (Ito et al., 2005)。另一研究報告顯示，餵食由 Streptozotocin 所誘發糖尿病的老鼠發芽糙米，可以改善血糖濃度和減少與神經病變有關的周邊神經受損 (Usuki et al., 2007)。

雖然有研究認為 GABA 並不影響正常老鼠胰島素的分泌 (Gilon et al., 1991)，在

Adeghate 及 Ponery 發現 GABA 對於正常老鼠是會增加胰島素的分泌，但對糖尿病老鼠則沒有影響 (Adeghate and Ponery., 2002)。另研究指出 GABA 可以有意義的增加男性血漿胰島素的濃度 (Cavagnini et al., 1982)。近年的研究也證實 GABA 對於正常老鼠胰臟分泌胰島素是個強的促進劑 (Adeghate and Ponery., 2002)，並且可抑制 α 細胞分泌升糖素 (glucagon) (Wendt et al., 2004)。而我們的結果顯示發芽糙米含有豐富的 GABA，而在 HFD&PGBR 組胰島素的血中濃度也得確明顯高過正常組與 HFD 組。所以發芽糙米在血糖控方面 GABA 對於促進 HFD&PGBR 組分泌胰島素的可能性是存在的。

2-3 發芽糙米對於控制血糖的機轉

我們先前的研究，我們認為發芽糙米對於血糖的調控，似乎並不單純只是含有非水溶性的膳食纖維，因為膳食性纖維是影響了腸道的血糖吸收速率，但我們先前的研究發現胰島素接受器表現似乎會增加。如果是如此，一般具有血糖問題的患者只要多食用含高纖維飲食皆可得到良好的控制，然而的確有不少的血糖異常患者其血糖在食用高纖維飲食後還是無法獲得良好的控制。而本次的動物實驗中，在 HFD&PGBR 組其膳食纖維之量並沒有高出 HFD 組很多。因此我們可能除了 HFD&PGBR 組含有比較多的 GABA 外，可能還有其他的物質影響血糖。

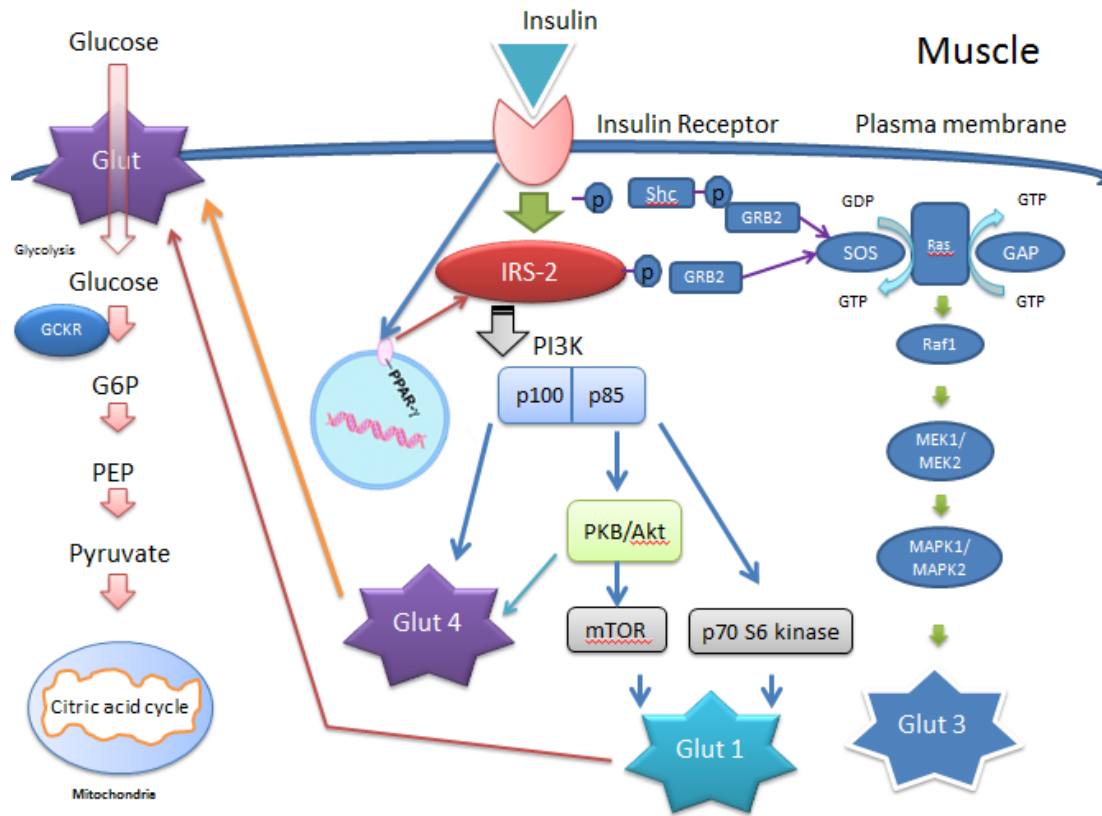
在 2008 年有研究指出發芽糙米含有一些未知的生物活性脂質 (unknown bioactive lipids)，這些 unknown bioactive lipids 可活化與糖尿病相關的酵素如：Na⁺/K⁺ATPase、homocysteine thiolactonase (HTase) (Seigo et al., 2008)。而從發芽糙米中所萃取出來的 unknown bioactive lipids 即為 acylated sterol glucosides (ASGs)。ASGs 是在糙米發芽過程中所產生的，具有活化特殊酵素的機能，如 Na⁺/K⁺ATPase、homocysteine thiolactonase，這個功能目前的研究發現只存在於發芽糙米的 ASGs 中，其他物種中所含的 ASGs 是不具有活性 (如：黃豆中的 ASGs 不具活性) (Seigo et al., 2008)。最近更有研究指出發芽糙米在發芽過程產生之 γ -oryzanol 是原來糙米的 2 倍，是白米的 4 到 21 倍 (Ridley et al., 2011)。雖然大部有關 γ -oryzanol 的研究都在抗氧化與降血脂，但已有研究指出 γ -oryzanol 除了可以改善第二型老鼠之高血脂，並可以改善胰島素抗性 (Cheng et al., 2010)。

雖然發芽糙米對於血糖控制的研究已有不少篇，然截止目前為止對於發芽糙米如何控制血糖的機轉，只有一篇提到發芽糙米可以增加類胰島素生長因子 1 (insulin-like growth factor-1) 以改善血糖 (Usuki et al., 2011)。而我們的研究結果發現不管是預防組或是治療組，骨骼肌的 GSK-3 α 、PEPCK-c、G6Pase- α 、AMPK- α ，Normal diet 組、HFD 組及 HFD&PGBR 組表現並沒有明顯差異。這可能的原因是以上這些是屬於控制糖質新生的蛋白，而糖質新生發生場所主要在肝臟，所以我們偵測的這些蛋白在骨骼肌方面並沒有明顯差異。

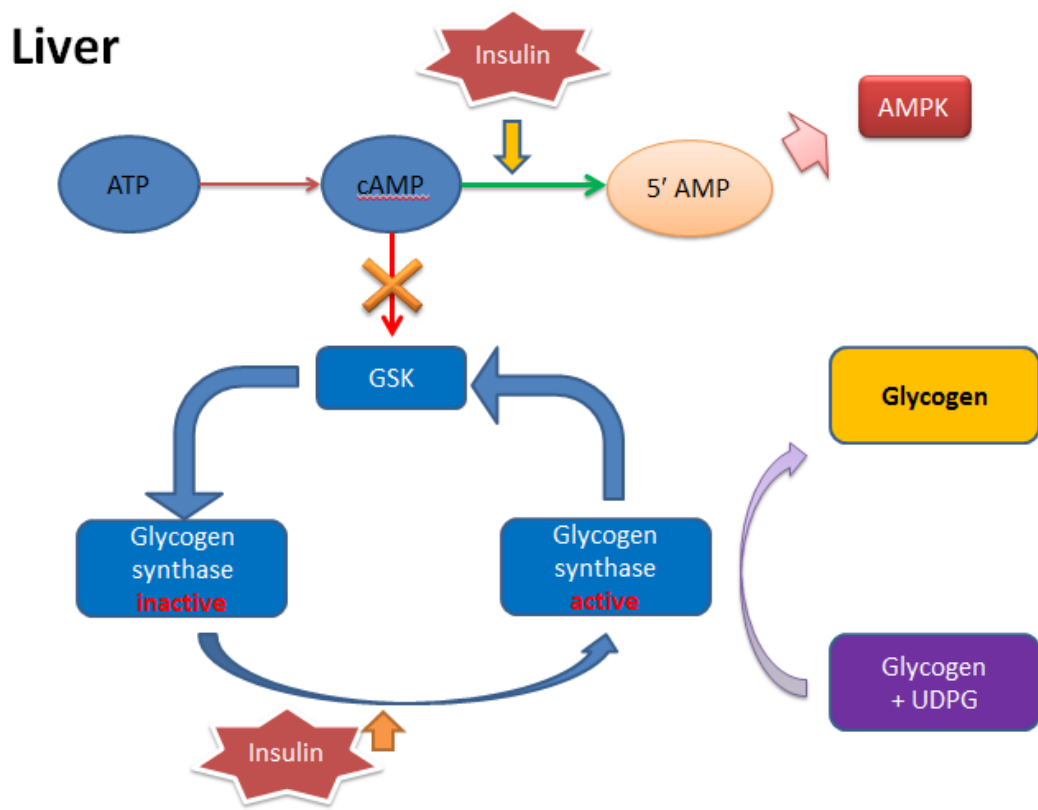
而我們的研究結果發現 Insulin R β 、Insulin R precursor、PPAR- γ 、IRS-2、Glut 1、Glut 4、GCKR 蛋白表現在 HFD&PGBR 組都明顯的高於 HFD 組 ($p < 0.05$)。對於血糖的控制，不管是肝臟或肌肉及脂肪細胞，皆受到胰島素的控制。根據文獻指出胰島素控制血糖的機轉，我們將結果呈現於圖二，我們的研究結果顯示發芽糙米會增加胰島

素的分泌並加強胰島素接受器的表現，因此可使胰島素與細胞膜上的胰島素接受器 (Insulin R β 、Insulin R precursor) 結合，並同時會誘發 PPAR- γ 的表現。繼而調升 IRS-2，再由 IRS-2 調升 Akt。有研究指出將 IRS-1、IRS-2 及 Akt 等基因刪去，會造成老鼠產生胰島素抗性 (insulin resistance)，因此認為胰島素會藉由 IRS 及 Akt 路徑而調節血糖恆定 (Vidal-Puig and O' Rahilly., 2001; Scott et al., 1998; Hanson and Reshef., 1997; Kahn et al., 1989)。再經由 Akt 調升 GLUT1 與 GLUT4 的表現，使之由細胞質轉移至細胞膜以吸收葡萄糖，進而增加葡萄糖進入細胞進行糖解作用，所以也測到糖解作用的關鍵酵素 glucokinase 的表現增加。有研究指出肝臟細胞 Akt 的活化會增加 glucokinase 基因表現 (Chu et al., 2009)。而在第二型糖尿病患的肌肉組織切片中發現 Akt 的活性下降 (Datta et al., 1999)。肝臟合成肝糖路徑結果呈現於圖三，ATP 經酵素催化呈 cAMP，cAMP 的存在會誘發 glycogen synthase kinase (GSK)，而 GSK-3 α 會使得活化型的 glycogen synthase 轉變成非活化型的 glycogen synthase，因此會降低肝糖合成，增加肝糖分解。我們的結果則，發現預防組發芽糙米增加胰島素分泌，cAMP 經由胰島素作用形成 5'AMP 使得 AMPK 蛋白表現上升，導致 cAMP 的降低繼而使得活化型的 glycogen synthase 可以合成肝糖，以達到肝臟因合成肝糖而降低血糖的效用。而 HFD 組因胰島素分泌明顯低於 HFD&PGBR 組 (P<0.05)，所以可以觀察到在 insulin 分泌不足條件下 cAMP 會去誘發 GSK-3 α 的表現，使得活化型的 glycogen synthase 轉變成非活化型的 glycogen synthase，可能因此造成肝糖合成能力較低而使血糖上升。然而肝臟調控蛋白的表現在治療組卻不明顯，我們推測因治療組 HFD&PGBR 組此時體重雖沒 HFD 組高，但卻也明顯高出正常組許多，另外我們觀察到在治療組的 HFD&PGBR 組的脂肪肝狀況與 HFD 組類似。由此我們認為發芽糙米在肝臟的影響是預防勝於治療。

對於發芽糙米的血糖控制，我們的結果是目前首次清楚的呈現發芽糙米對於調控骨骼肌與肝臟組織細胞之有關血糖控制分子機轉。



圖二 The mechanisms of control blood glucose and metabolism in PGBR on animal study.



圖三 The mechanisms of control glycogen and metabolism in PGBR on animal study

(六) 參考文獻

- Adeghate E, Ponery AS (2002) GABA in the endocrine pancreas: cellular localization and function in normal and diabetic rats. *Tissue Cell* 34 : 1-6.
- Amano Y, Kawakubo K, Lee JS, Tang AC, Sugiyama M, Mori K.: Correlation between dietary glycemic index and cardiovascular disease risk factors among Japanese women. *Eur J Clin Nutr.* Nov;58(11):1472-8 (2004)
- Amos, A., McCarty, D. & Zimmet, P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabetic Med.* 14, S1–S85 (1997).
- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. : Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* Apr 2;257(1):79-83 (1999)
- Cavagnini F, Pinto M, Dubini A, Invitti C, Cappelletti G, Polli EE. Effects of gamma aminobutyric acid (GABA) and muscimol on endocrine pancreatic function in man. *Metabolism.* 1982 Jan;31(1):73-7.
- Cheng HH, Ma CY, Chou TW, Chen YY, Lai MH. Gamma-oryzanol ameliorates insulin resistance and hyperlipidemia in rats with streptozotocin/nicotinamide-induced type 2 diabetes. *Int J Vitam Nutr Res.* 2010 Jan;80(1):45-53. doi: 10.1024/0300-9831/a000005.
- Chu L, Hao H, Luo M, Huang Y, Chen Z, Lu T, Zhao X, Verfaillie CM, Zweier JL, Liu Z. Ox-LDL modifies the behavior of bone marrow stem cells and impairs their endothelial differentiation via inhibition of Akt phosphorylation. *J Cell Mol Med* (October 23, 2009). doi:10.1111/ j.1582-4934.2009.00948.x.
- Ciaraldi TP, Kolterman OG, Scarlett JA, Kao M, Olefsky JM.: Role of the glucose transport system in the postreceptor defect of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 31:1016–1022 (1982)
- Datta SR, Brunet A, Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Akts. *Genes Dev* 13: 2905–2927, 1999.
- DECODE study group : Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria. The DECODE study group. European Diabetes Epidemiology Group. *Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe.* : *Lancet.* Aug 21;354(9179):617-21 (1999)
- Dohm GL, Tapscott EB, Pories WJ, Dabbs DJ, Flickinger EG, Meelheim D, Fushiki T, Atkinson SM, Elton CW, Caro JF.: An in vitro human muscle preparation suitable for metabolic studies: decreased insulin stimulation of glucose transport in muscle from morbidly obese and diabetic subjects. *J Clin Invest* 82:486–494 (1988)
- Fagot-Campagna, A. & Narayan, K. Type 2 diabetes in children. *Br. Med. J.* 322, 377–387 (2001).
- Garvey WT, Maianu L, Huecksteadt TP, Birnbaum MJ, Molina JM, Ciaraldi TP.: Pretranslational suppression of a glucose transporter protein causes cellular insulin resistance in non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity. *J Clin Invest* 87:1072–1081 (1991)

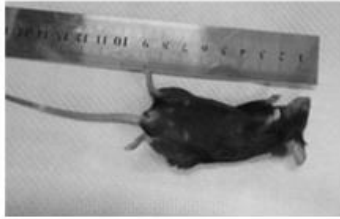
- Garvey WT, Maianu L, Zhu J-H, Brechtel-Hook G, Wallace P, Baron AD.: Evidence for defects in the trafficking and translocation of GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle as a cause of human insulin resistance. *J Clin Invest* 101:2377–2386 (1998)
- Gilon P, Bertrand G, Loubatières-Mariani MM, Remacle C, Henquin JC (1991) The influence of γ -aminobutyric acid on hormone release by the mouse and rat endocrine pancreas. *Endocrinology* 129: 2521-2529
- Hagiwara H · Seki T · Ariga T : The effect of pre-germinated brown rice intake on blood glucose and PAI-1 levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 68 : 444-447 (2004)
- Hanefeld M, Fischer S, Julius U, Schulze J, Schwanebeck U, Schmechel H, Ziegler HJ, Lindner J.: Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM: the Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia*. Dec;39(12):1577-83. (1996)
- Hanson RW, Reshef L: Regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) gene expression. *Annu Rev Biochem* 66:581– 611, 1997
- Ito Y · Mizukuchi A · Kise M · Aoto H · Yamamoto S · Yoshihara R · Yokoyama J : Postprandial blood glucose and insulin responses to pre-germinated brown rice in healthy subjects. *The Journal of Medical Investigation* 52 : 159-164. (2005)
- James DE, Strube M, and Mueckler M. Molecular cloning and characterization of an insulin-regulatable glucose transporter. *Nature* 338: 83–87. (1989)
- Jéquier E.: Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Ann N Y Acad Sci*. Jun;967:379-88 (2002)
- Kahn BB, Charron MJ, Lodish HF, Cushman SW, Flier JS. Differential regulation of two glucose transporters in adipose cells from diabetic and insulin-treated diabetic rats. *J Clin Invest*. 1989 Aug;84(2):404-11.
- Kahn CR, Lauris V, Koch S, Crettaz M, Graner DK: Acute and chronic regulation of phosphoenolpyruvate carboxykinase mRNA by insulin and glucose. *Mol Endocrinol* 3:840–845, 1989
- Kelley DE, Minton MA, Watkins SC, Simoneau J-A, Jadali F, Fredrickson A, Beattie J, Theriault R.: The effect of non-insulin-dependent diabetes mellitus and obesity on glucose transport and phosphorylation in skeletal muscle. *J Clin Invest* 97:2705–2713 (1996)
- Leeds AR.: Glycemic index and heart disease. *Am J Clin Nutr*. Jul;76(1):286S-9S. (2002)
- Maianu L, Keller SR, and Garvey WT. Adipocytes exhibit abnormal subcellular distribution and translocation of vesicles containing glucose transporter 4 and insulin regulated aminopeptidase in type 2 diabetes mellitus: implications regarding defects in vesicle trafficking. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 5450–5456 (2001)
- Mamiya T, Asanuma T, Kise M, Ito Y, Mizukuchi A, Aoto H, M Ukai (2004) Effects of pre-germinated brown rice on beta-amyloid protein-induced learning and memory deficits in mice. *Biol Pharm Bull* 27: 1041-1045
- Mamiya T, Kise M, Morikawa K, Aoto H, Ukai M, Noda Y (2007) Effects of pre-germinated brown rice on depression-like behavior in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 86: 62-67
- Manisha Chandalia MD, Abhimanyu Garg MD, Dieter Lutjohann PhD, Klaus von Bergmann MD, Scott M, Grundy MD, Linda J, Brinkley RD (2000) Beneficial Effects of High Dietary Fiber Intake in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *The New England Journal of Medicine* 342: 1392-1398
- Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, Fryer LG, Müller C, Carling D, Kahn BB.: Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature*. Jan 17;415(6869):339-43 (2002)
- Miura D, Ito Y, Mizukuchi A, Kise M, Aoto H, Yagasaki K (2006) Hypocholesterolemic action of pre-germinated brown rice in in hepatoma-bearing rats. *Life Sci*. 2006 Jun 13;79(3):259-64.
- Okamoto Y, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Libby P. Adiponectin: a key adipocytokine in metabolic syndrome. *Clin Sci (Lond)*. 2006 Mar;110(3):267-78.
- Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F.: Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*. Jul 28;269(5223):540-3 (1995)
- Reaven GM, banting lecture: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988 37: 1595-1607(1988)
- Ridley WP, Harrigan GG, Breeze ML, Nemeth MA, Sidhu RS, Glenn KC. Evaluation of compositional equivalence for multitrait biotechnology crops. *J Agric Food Chem*. 2011 Jun 8;59(11):5865-76. doi: 10.1021/jf103874t. Epub 2011 Jan 31.
- Ryder JW, Yang J, Galuska D, Rincon J, Bjornholm M, Krook A, Lund S, Pederson O, Wallberg-Henriksson H, Zierath JR, and Holman GD. Use of a novel impermeable biotinylated photolabeling reagent to assess insulin- and hypoxia-stimulated cell surface GLUT4 content in skeletal muscle from type 2 diabetic patients. *Diabetes* 49: 647–654, 2000.
- Saikusa T, Horino T, Mori Y: Distribution of free amino acids in the rice kernel and kernel fractions and the effect of water soaking on the distribution. *J Agric Food Chem* 42: 1122-1125 (1994)
- Salmerón J, Ascherio A, Rimm EB, Colditz GA, Spiegelman D, Jenkins DJ, Stampfer MJ, Wing AL, Willett

- WC.: Dietary fiber, glycemic load, and risk of NIDDM in men. *Diabetes Care*. Apr;20(4):545-50. (1997)
- Scott DK, O'Doherty RM, Stafford JM, Newgard CB, Granner DK: The repression of hormone-activated PEPCCK gene expression by glucose is insulin-independent but requires glucose metabolism. *J Biol Chem* 273:24145–24151, 1998
- Seigo U, Toshio A, Somsankar D, Takeshi K, Keiko M, Shota N, Yasuhide O, Mitsuo K, Robert KY (2008) Structural Analysis of Novel Bioactive Acylated Steryl Glucosides (ASGs) in Pre-germinated Brown Rice Bran. *J Lipid Res*: 1-34
- Seki T, Nagase R., Torimitsu M., Yanagi M., Ito Y., Kise M., Mizukuchi A., Fujmura N., Hayamizu K. And Ariga T.: Insoluble fiber is a major constituent responsible for lowering the post-prandial blood glucose concentration in the pre-germinated brown rice. *Biol. Pharm. Bull.* 28 (8): 1539-1541 (2005)
- Sinha MK, Raineri-Maldonado C, Buchanan C, Pories WJ, Carter-Su C, Pilch PF, Caro JF.: Adipose tissue glucose transporters in NIDDM: decreased levels of muscle/fat isoform. *Diabetes* 40:472–477 (1991)
- Torimitsu M, Nagase R, Yanagi M, Homma M, Sasai Y, Ito Y, Hayamizu K, Nonaka S, Hosono T, Kise M, Seki T, Ariga T. Replacing white rice with pre-germinated brown rice mildly ameliorates hyperglycemia and imbalance of adipocytokine levels in type 2 diabetes model rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2010;56(5):287-92
- Usuki S, Ito Y, Morikawa K, Kise M, Ariga T, Rivner M (2007) Effect of pre-germinated brown rice intake on diabetic neuropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutr Metab* 4: 25-35
- Usuki S, Tsai YY, Morikawa K, Nonaka S, Okuhara Y, Kise M, Yu RK. IGF-1 induction by acylated steryl β -glucosides found in a pre-germinated brown rice diet reduces oxidative stress in streptozotocin-induced diabetes. *PLoS One*. 2011;6(12):e28693. doi: 10.1371/journal.pone.0028693. Epub 2011 Dec 14.
- Vettor R, Milan G, Rossato M, Federspil. 2005. Review article: adipocytokines and insulin resistance. *Aliment Pharmacol Ther* 22:3-10.
- Vidal-Puig A, O'Rahilly S: Metabolism: controlling the glucose factory. *Nature* 413:125–126, 2001
- Wendt A, Birnir B, Buschard K, Gromada J, Salehi A, Sewing S, Rorsman P, Braun M. Glucose inhibition of glucagon secretion from rat alpha-cells is mediated by GABA released from neighboring beta-cells. *Diabetes*. 2004 Apr;53(4):1038-45.
- Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011 Dec;94(3):311-21. doi: 10.1016/j.diabres.2011.10.029. Epub 2011 Nov 12.
- World Health Organization. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (Department of Noncommunicable Disease Surveillance, Geneva, 1999).
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM.: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. Dec 1;372(6505):425-32 (1994)
- Zierath JR, He L, Guma A, Wahlstrom EO, Klip A, Walberg-Henriksson H.: Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Diabetologia* 39:1180–1189 (1996)

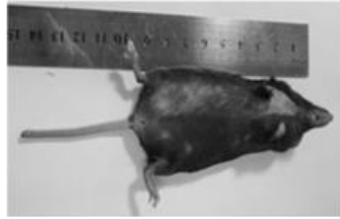
四、圖與表

圖一 預防組老鼠體型比較

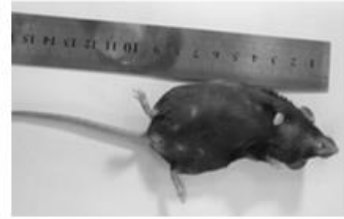
15 weeks



Normal diet group



HFD group



HFD & PGBR group

Table 2 Effects of experimental diets on body weight in mice during 15 weeks.

Feed time (weeks)	Body weight (g)		
	Normal diet (n=6)	HFD (n=6)	HFD w PGBR (n=6)
0	16.26±0.66	17.90±0.53	17.22±0.30
4	21.43±1.14	24.79±0.92 ^a	21.44±0.84 ^b
8	22.10±1.26	29.77±1.91 ^a	23.78±1.17 ^b
12	24.70±1.28	34.68±1.73 ^a	28.52±2.04 ^{ab}
15	24.45±1.00	38.80±1.68 ^a	28.96±3.80 ^{ab}

a: P < 0.05 vs Normal diet; b: P < 0.05 vs HFD.

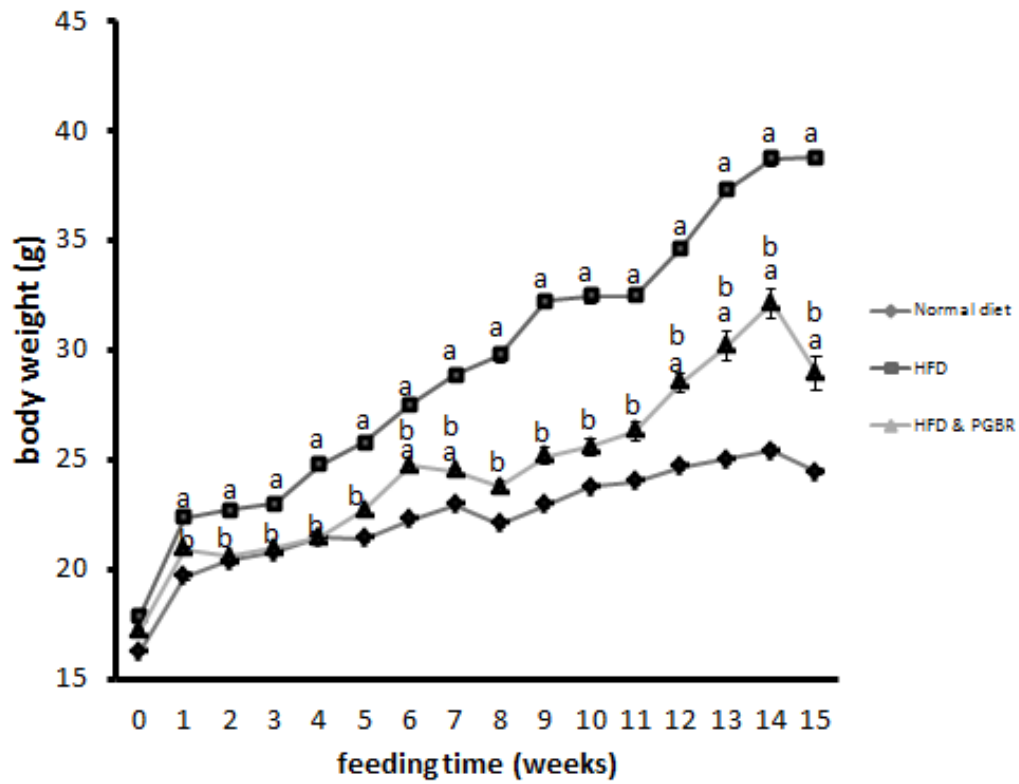


Figure 1 Effects of experimental diets on body weight changes in mice. The mice were fed with normal diet, a high-fat diet (HFD) or a HFD with PGBR for 15 weeks. Each value represents the mean \pm SE (n = 6). a, $P < 0.05$ vs normal diet; b, $P < 0.05$ vs HFD.

Table 3 The blood glucose, lipid levels, and blood pressure effects of experimental mice fed for 15 weeks.

Measurement	Normal diet (n=6)	HFD (n=6)	HFD w PGBR (n=6)
OGTT			
0(min)	86±11.19	197.33±46.91 ^a	108±5.28 ^{ab}
30(min)	389±47.01	442.33±92.42	403±96.92
60(min)	301±42.92	334.50±46.11	334±77.57
120(min)	197±28.46	281±32.98 ^a	171±29.00 ^{ab}
IAUC (mg*min/dl)	32427±1922	39713±3339 ^a	32820±4212 ^b
Insulin (ng/ml)	0.043±0.005	0.056±0.002	0.115±0.03 ^{ab}
HbA1c (%)	3.97±0.23	4.46±0.09 ^a	4.19±0.13 ^b
TG(mg/dl)	71.10±9.42	119.01±9.47 ^a	66.67±33.10 ^b
Total Cholesterol(mg/dl)	54.10±4.98	94.01±9.08 ^a	70.50±2.89 ^b
HR	576.08±68.65	632.32±34.77	587.14±58.88
SBP(mmHg)	102.41±8.62	114.12±3.76 ^a	90.34±13.49 ^{ab}
DBP(mmHg)	70.16±9.47	83.82±12.09 ^a	62.94±12.89 ^b
MBP(mmHg)	80.83±8.47	93.83±8.48 ^a	72.00±12.98 ^b

a: P < 0.05 vs Normal diet; b: P < 0.05 vs HFD.

IACU: The incremental area under the curve for g

HR: Heartbeat

SBP: Systolic blood pressure

DBP: Diastolic blood pressure

MBP: Mean blood pressure

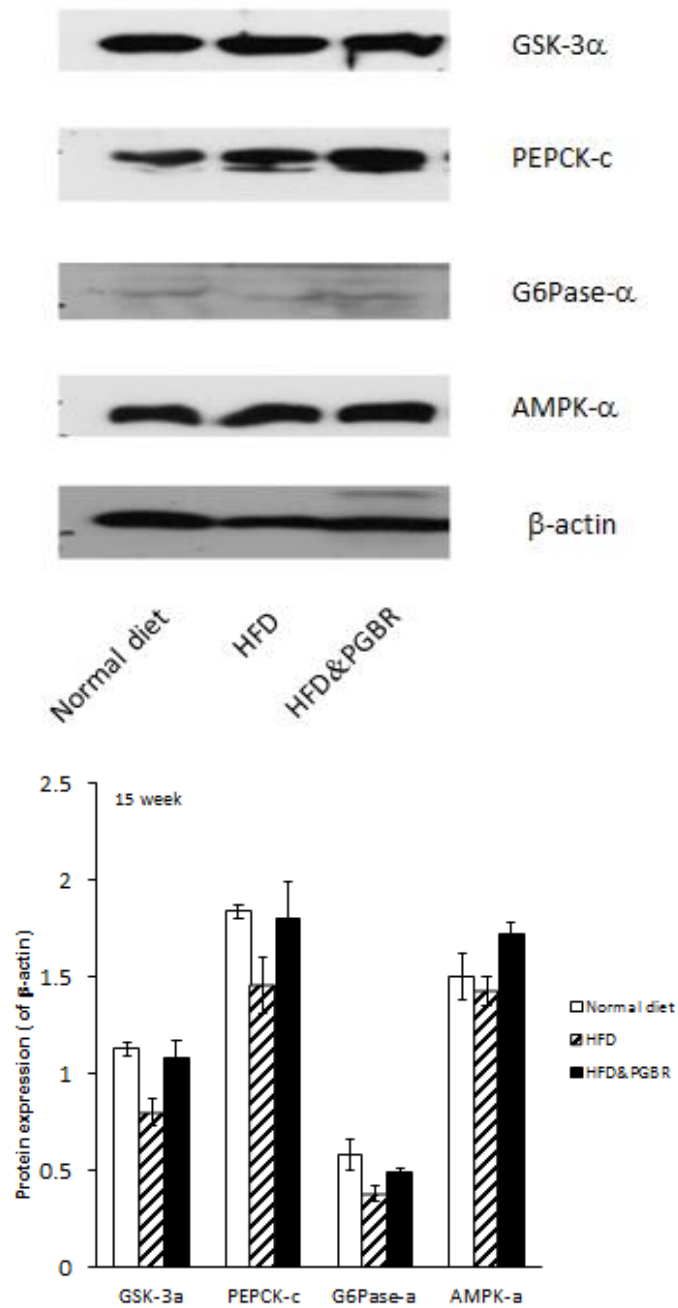


Figure 2 Effects of PGBR on gluconeogenesis pathway protein expression of muscle in mice fed experimental diets. Mice were fed a normal diet, a HFD, or a HFD with PGBR for 15 weeks. Each value represents the mean \pm SE (n = 6).

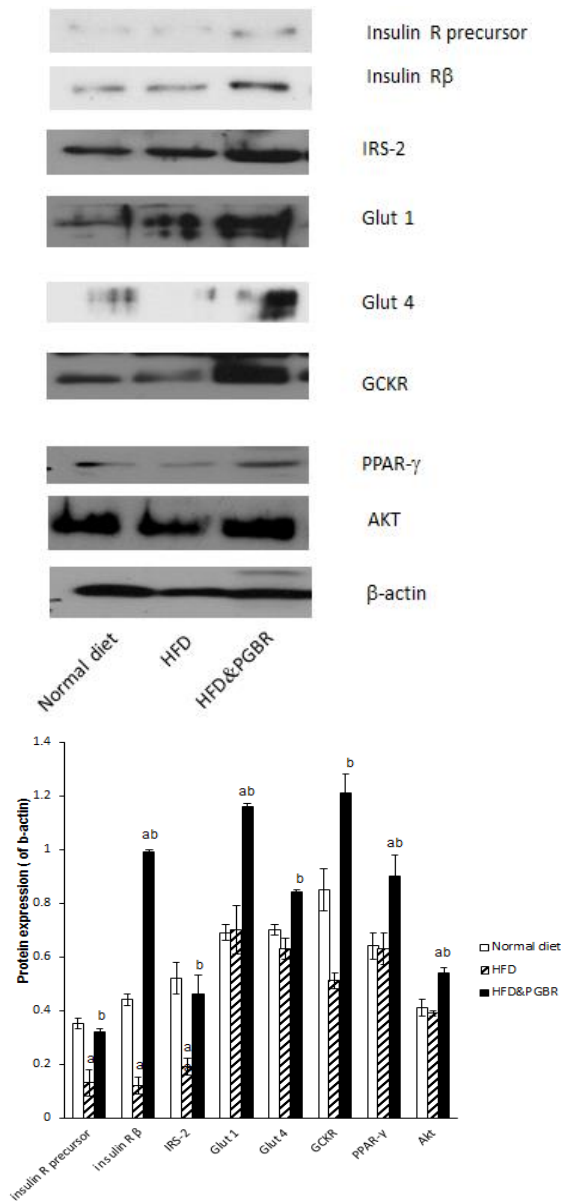


Figure 3 Effects of PGBR on glucose metabolism pathway protein expression of muscle in mice fed experimental diets. Mice were fed a normal diet, a HFD, or a HFD with pre-germinated brown rice for 15 weeks. Each value represents the mean \pm SE (n = 6). a, P < 0.05 vs normal diet; b, P < 0.05 vs HFD.

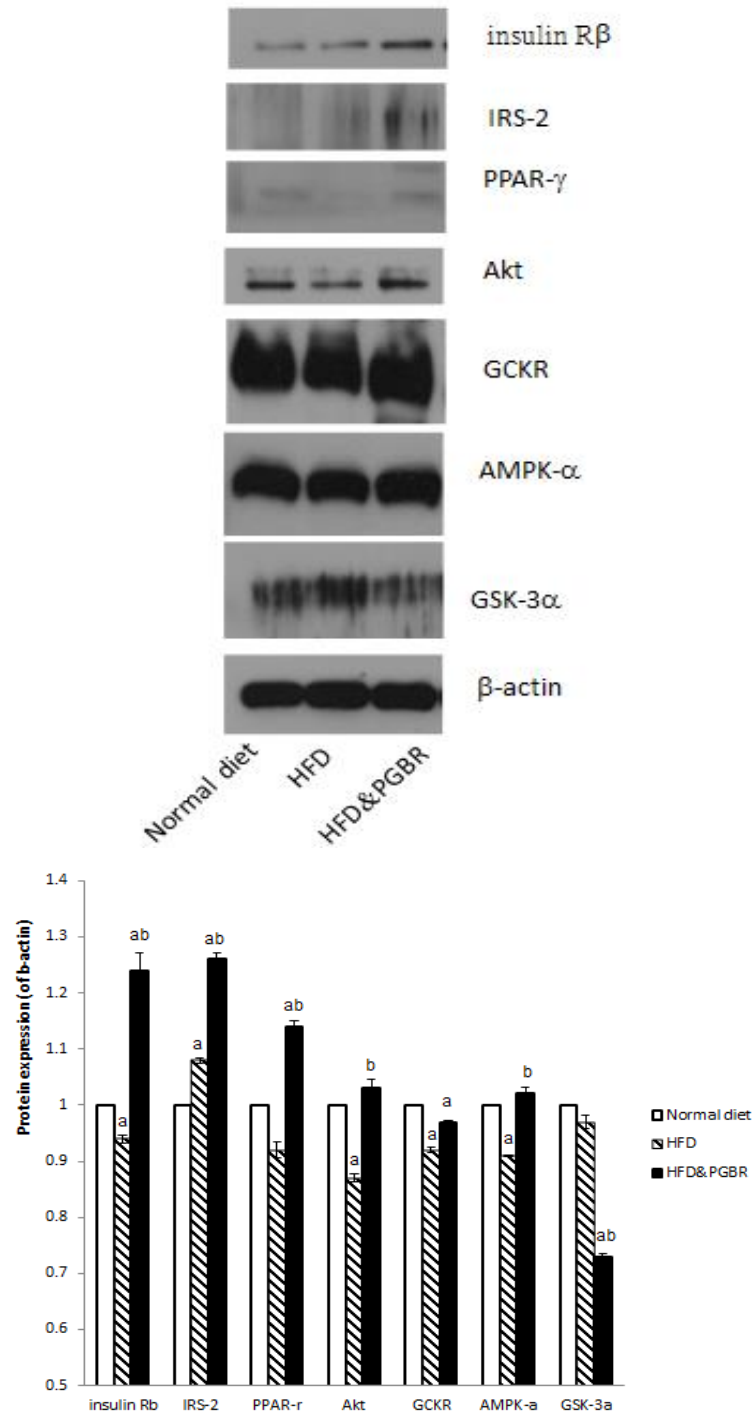


Figure 4 Effects of PBGR on gluconeogenesis pathway protein expression in liver of mice fed experimental diets. Mice were fed a normal diet, a HFD, or a HFD with PGBR for 15 weeks. Each value represents the mean \pm SE (n = 6).

五、期末經費使用狀況

經費使用狀況		
項 目	本年度核定金額	消 耗 狀 況
1.業務費	19 萬元	已消耗 100%
2.雜費	4 萬元	已消耗 100%
3.人事費	6 萬元	已消耗 100%
4.研究設備		
5.其他	1 萬元	已消耗 100%