

小豆エタノール抽出物添加飼料によるラットの 血清コレステロール上昇抑制

小嶋道之[§], 西 繁典, 山下慎司, 齋藤優介, 前田龍一郎*

帯広畜産大学食料生産科学

* 帯広畜産大学基礎獣医学

Smaller Increase in Serum Cholesterol Level in Rats Fed an Ethanol Extract of Adzuki Bean Seeds

Michiyuki Kojima[§], Sigenori Nishi, Sinji Yamashita, Yusuke Saito and Ryuichiro Maeda*

Food Production Science, Obihiro University, 11, nishi-2-sen, Inada-cho, Obihiro 080-8555

* Basic Veterinary Science, Obihiro University, 11, nishi-2-sen, Inada-cho, Obihiro 080-8555

The increase in serum cholesterol level in a group of rats fed a high-cholesterol diet containing an ethanol extract of Adzuki bean seeds was significantly lower than that in a group of rats fed a control diet that did not contain the extract. Feces weight and cholesterol excretion were significantly higher in the Adzuki bean group. An *in vitro* micellization study showed that the solubility of cholesterol micellized by addition of an ethanol extract of Adzuki bean seeds at concentrations of 1.10 mg/ml~5.56 mg/ml decreased in a concentration dependent manner. In addition, liver HMG-CoA reductase activity in rats fed the Adzuki bean seed extract was significantly lower than in the control. However, there was no significant difference in the level of HMG-CoA reductase mRNA expression. Furthermore, there were no significant differences in the levels of mRNA expression of genes associated with cholesterol metabolism, cholesterol 7 α -hydroxylase, LDL receptor, LCAT, ACAT, hepatic cholesterol esterase, and SREBP2. These findings suggest that an ethanol extract of Adzuki bean seeds may inhibit increases in serum cholesterol by two mechanisms: inhibition of micellization of cholesterol in the gastrointestinal tract, leading to reduced absorption of cholesterol and its excretion in feces; and a reduction in the activity of cholesterol synthase in the liver. It is also possible that the fatty acid metabolism system was affected, because the expression of SREBP₁ was significantly lower.

(Received Jan. 25, 2006; Accepted Apr. 13, 2006)

近年、食の欧米化など食習慣の変化により、心臓や脳血管疾患などの生活習慣病患者やその予備軍の増加が社会問題になっている。習慣的に肉類の摂取が多くなると、コレステロール摂取量の過剰による血中コレステロールの上昇をまねき、心臓疾患や脳血管疾患のリスクが高くなるので、生活習慣病患者やその予備軍の人にはコレステロールを多く含む食材の摂取量を減らす栄養指導が行われている。また、食事療法でコレステロール値が下がらない高コレステロール血症患者に対しては、スタチン系の医薬品による体内コレステロール合成を阻害することで血中コレステロール量の上昇を抑制する医療が行われている¹⁾²⁾。しかし、スタチン系薬剤には、個人差はあるものの、いろいろな副作用の報告があり³⁾⁴⁾、副作用の低い薬剤の探索や天然

物由来の血清コレステロール低下作用の化合物探索が進められている。

小豆は赤飯や和菓子に利用される日本の伝統食材の一つであり、北海道の特産品である。小豆には、一般の栄養成分に加え、食物繊維、サポニンおよびポリフェノールなど特徴的な成分^{5)~8)}が含まれている。大豆サポニンや植物ステロールには、血清コレステロール濃度を低下させる作用のあること⁹⁾¹⁰⁾やそれら以外の植物成分にも血中コレステロール低下作用のあることが報告されている¹¹⁾¹²⁾。これは、食餌性コレステロールの吸収・代謝の抑制、肝臓におけるコレステロールや胆汁酸合成の抑制、もしくはその両者が関与する場合のあることが報告されている¹³⁾。

先に、小豆餡およびその消化酵素処理物をラットに与えると、血清コレステロールが低下することを報告した¹⁴⁾¹⁵⁾。本研究は、小豆の80%エタノール抽出物を高コレステロール食餌に添加して与えたラットの血清コレステロール

〒080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11番地

* 〒080-8555 北海道帯広市稲田町西2線11番地

§ 連絡先 (Corresponding author), kojima@obihiro.ac.jp

上昇抑制効果について解析を行った。

実験方法

1. 実験動物と実験食の調製

購入した7週齢の雄ラット (Fisher系; F344/DuCrj, 日本クレア) は、一週間の室内環境への馴化を行った後に実験食投与を開始した。小豆80%エタノール抽出物は、破碎した小豆 (*Vigna angularis* Ohwi et H. Ohashi.) を80%エタノールで室温抽出して、濃縮後に等容量のイオン交換樹脂 DAIAION SP-850 (三菱化学) で糖やタンパク質を水洗除去し、80%エタノールで溶出して調製した。コレステロールを含む飼料成分組成は、Table 1に示した。飼料は酸化を防止するために真空包装して-30°Cで保存し、飼料と水は毎朝新しいものを与えた。ラットは個別に飼育し、7:00から明期、19:00から暗期の12時間周期、室温は23±1°C、湿度は60±5%とした。取り扱いにはGuide for the Care and Use of Laboratory Animals¹⁶⁾に従った。

2. 血清、肝臓および糞中のコレステロール・胆汁酸の分析

血清中の総コレステロールおよびHDLコレステロールは、TDXアナライザー (Abbott) を用いた酵素法で測定した。VLDL+IDL+LDLコレステロール濃度は、総コレステロール濃度とHDLコレステロール濃度の差から算出した。また、動脈硬化指標 (AI) は、VLDL+IDL+LDLコレステロール量とHDLコレステロール量の商として求めた。糞や肝臓に含まれるコレステロールは、コレステロールE-テストワコー (和光純薬) を用いた酵素法で、糞中の胆汁酸量は極東胆汁酸試薬 (極東製薬工業) を用いた酵素法で測定し、コール酸相当量として算出した。

3. 盲腸内のpH測定

盲腸内容物は、滅菌蒸留水で10mlに定容後、超音波発生装置で15分間攪拌・抽出して、水溶液のpHを測定した。

4. コレステロールのミセル化阻害の測定¹⁷⁾

ミセル化溶液は、4.8mmol/l レシチン、0.5mmol/l コレステロールおよび13.2mmol/l タウロコール酸を含む15mmol/l リン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH 7.4) 溶液10mlを超音波処理後、37°Cで24時間インキュベートして調製した。0から5.56mg/mlの濃度範囲でPBSに溶解した小豆エタノール抽出物250μlと等容量のミセル化溶液とを混和後、37°Cで1時間インキュベートした。1000g、10分間遠心分離して得られた遠心上清は、0.22μmのMILLEX-GP フィルタ (Millipore) を通し、ろ液中に含まれるコレステロール濃度をコレステロールE-テストワコーにより測定し、ミセル化したコレステロール濃度を算出した。

5. 肝臓マイクロソームの3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) レダクターゼ (EC 1.1.1.34) 活性の測定

HMG-CoA レダクターゼの活性測定は、Lippe らの変法

Table 1 Composition of the experimental diet

	Adzuki EE	Control
	(wt%)	
Casein	25	25
Corn starch	15	15
Corn oil	5	5
Cellulose powder	5	5
Mineral mixture (AIN76)	3.5	3.5
Vitamin mixture (AIN76)	1	1
Choline chloride	0.2	0.2
Sodium cholate	0.125	0.125
Cholesterol	0.5	0.5
Adzuki ethanol extract	1.2	—
Sucrose	to 100	to 100

を使用した¹⁸⁾。250mmol/l 塩化ナトリウム、10mmol/l エチレンジアミン四酢酸二ナトリウムおよび10mmol/l ジチオスレイトールを含む50mmol/l リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.2) に溶解した肝臓マイクロソーム溶液 (タンパク量7.5mg/ml相当) 0.2mlは、25μlの300mmol/l グルコース-6-リン酸および25μlの30mmol/l ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸、1μlのグルコース-6-リン酸脱水素酵素 (1ユニット) および10μlの0.14mmol/l [3-¹⁴C]-HMG-CoA (Amersham) とを混合して、37°Cで30分間インキュベートした。20μlの濃塩酸を加えて反応停止後、10μlの500mmol/l メバロラクトンをキャリアーとして添加して、再び37°Cで30分間インキュベートしてメバロン酸をラクトン化した。この反応液に200μlの50% チオ硫酸ナトリウムおよび800μlの冷ベンゼンを加えて、3000g、10分間遠心分離 (4°C) を行い、得られた上清500μlに3mlのピコアクアカクテル (Packard) を加えて放射活性を測定した。また、沸騰浴中でマイクロソームを10分間加熱変性させ、同様に測定した値をブランクとした。

6. 肝臓のコレステロール代謝遺伝子発現量の測定

コントロール食餌と小豆エタノール抽出物を添加した (Adzuki EE) 食餌を与えたラット肝臓から酸グアニジンフェノール-クロロホルム法を用いて、総RNAを抽出¹⁹⁾し、精製後にcDNAを調製した。Sterol regulatory element-binding protein 1, 2 (SREBP₁, SREBP₂), HMG-CoA レダクターゼ、コレステロール7α-ヒドロキシラーゼ、低密度リポ蛋白質 (LDL) レセプター、レシチン-コレステロールアシルトランスフェラーゼ (LCAT), アシル CoA: コレステロールアシルトランスフェラーゼ (ACAT), 肝性コレステロールエステラーゼのmRNA発現量は、RT-PCR-サザンハイブリダイゼーション法により、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (GAPDH, コントロール) 発現量の値に対する相対値として算出した¹⁴⁾¹⁵⁾。使用したプライマーおよびプローブはTable 2に示した。また、事前に正常ラット肝臓を用いた各PCRプライマー

Table 2 Base sequence of primer and probe¹

SREBP ₁ (AF286470)		
Sense	5'-CCCAGGTGACCCGACTATTCT-3'	(2297-2317)
Antisense	5'-GCTGCATGGCCTTGCAAT-3'	(2697-2679)
Probe	5'-CTCTACCAGTGGGTATAAGCGTTTCAGCTGCCTCCTCATCCCGCCTCAGCCAGTG-3'	(2601-2548)
SREBP ₂ (BC101902)		
Sense	5'-CTTGGTCCCGATGTCGTCT-3'	(2545-2563)
Antisense	5'-CTCCCGCCATTAGTCGAAC-3'	(3076-3058)
Probe	5'-TGCCGCTGACATTGAGACTGCTCCACAGGTGACCACTGGCCCTCTCACAATGAC-3'	(2824-277)
HMG-CoA reductase (X55289)		
Sense	5'-GCGTGCAAAGACAATCCTGGAG-3'	(544-565)
Antisense	5'-GTTAGACCTTGAGAACCAATG-3'	(788-767)
Probe	5'-GATCTGTTGTGAACCATGTGACTTCTGACAAGATGTCTGCTGCCAATGCTGCC-3'	(683-630)
Cholesterol 7 α -hydroxylase (J05509)		
Sense	5'-GCCGTCCAAGAAATCAAGCAGT-3'	(1394-1415)
Antisense	5'-TGTGGGCAGAGAGAACAAAGT-3'	(1699-1679)
Probe	5'-CCCGAAGGCCTGTTTAAGTGATGACTCTCAGCCGCCAAGTGACATCATCCAGTG-3'	(1633-1580)
LDL receptor (X13722)		
Sense	5'-CTGTGTCACTGAAGCGCAAGG-3'	(2360-2380)
Antisense	5'-CAGGGCGGGGAGGTGTGAGAA-3'	(2875-2855)
Probe	5'-GTGAAGTGGGTGAGTGGGCACTGATCTGAGGGGCAGGCAGGCAC-3'	(2237-2193)
LCAT (X54096)		
Sense	5'-TGGGTATGTGCGGGATGAGAC-3'	(486-506)
Antisense	5'-TGGCGGTTGGGGACTTAGGAG-3'	(1318-1298)
Probe	5'-ATCTGTCCCATTCATGCGGAGCAAGTGTACACCCTGTGACTGGCGGCCCTGC-3'	(1221-1170)
ACAT (D86373)		
Sense	5'-TACATCTTTGAGAGACTCTGTG-3'	(1091-1112)
Antisense	5'-ACACGTAACGACAAGTCCAGGT-3'	(1724-1703)
Probe	5'-ATGAAGTTAAAAGCCATTCCAAAGAACATGAAGAGCACGAAGAGCACTGGGTAG-3'	(1542-1489)
Hepatic cholesterol esterase (L46791)		
Sense	5'-CAGAAAACAGCCAAATCCCTC-3'	(1147-1167)
Antisense	5'-ACTTCTTTGTCCTTCAGCCTC-3'	(1655-1635)
Probe	5'-CAAATACTGAGAAGAGTTTCATCACCATGGTCTCCGATCACTGTCTTGGGCCTCA-3'	(1453-1400)
GAPDH (U10983)		
Sense	5'-ATCATCTCCGCACCTTCTG-3'	(322-340)
Antisense	5'-TAGCCGAATTCATTGTCATACC-3'	(923-902)
Probe	5'-GGCAGCTTCTCCAGGCGACATGTGAGATCCACGACGGACAGTTGGGGGTAGG-3'	(723-670)

¹These probes are labeled with DIG

の最適サイクル数を決め、各々サンプル条件に従って測定した。発現量は、アルカリホスファターゼ-抗DIG抗体(ロッシュ)を用い、X線フィルムの露光により算出した。

7. 統計処理

それぞれのデータは平均±標準偏差で表した。データ間の有意差検定はT-testにて行い、 $p < 0.05$ を有意とした。

実験結果および考察

1. ラット血清、肝臓および糞中のコレステロールと胆汁酸量

コントロール食餌およびAdzuki EE食餌を3週間与えたラットの体重増加量および摂食量に有意差は認められなかった。3週間の全食餌摂取量に対する体重増加量の商で示す食餌効率は0.17で、両食餌群において同じであった。

また、Adzuki EE食餌を与えたラットのGOT(グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ)やGPT(グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)は、コントロール食餌のそれとほぼ同様であり、餌による肝臓への影響は認められなかった。

Adzuki EE食餌を3週間与えたラットの血清中の全コレステロール量は、コントロール食餌のそれに比べて有意に上昇が抑制されていた(Table 3)。これは、VLDL+IDL+LDLコレステロール量がコントロール食餌に比べて有意に上昇抑制されたことに起因していた(Table 3)。また、Adzuki EE食餌を与えたラット血清の3週目のAIは、コントロール食餌を与えたラットに比べて有意に低かった(Table 3)。

コントロール食餌とAdzuki EE食餌を与えたラットの

Table 3 Serum cholesterol concentrations in rats fed Adzuki EE or control diet for 3 weeks¹

(mg/dl)	Adzuki EE	Control
Total cholesterol		
0 week	63.4 ± 3.9	68.8 ± 4.9
1 week	148.2 ± 47.8	223.6 ± 47.8*
2 weeks	159.6 ± 27.5	206.8 ± 27.5*
3 weeks	141.0 ± 31.0	201.4 ± 20.9*
HDL cholesterol		
0 week	40.4 ± 1.8	42.2 ± 2.2
1 week	22.2 ± 1.9	27.0 ± 1.4*
2 weeks	30.0 ± 2.5	30.0 ± 2.1
3 weeks	31.6 ± 4.6	31.4 ± 2.1
VLDL+IDL+LDL cholesterol ²		
0 week	23.0 ± 2.7	26.6 ± 3.1
1 week	126.0 ± 47.1	196.6 ± 47.3*
2 weeks	129.6 ± 28.6	176.8 ± 28.5*
3 weeks	109.4 ± 30.9	170.0 ± 19.4*
Atherosclerotic index ³		
0 week	0.57 ± 0.06	0.63 ± 0.06
1 week	5.81 ± 2.24	6.70 ± 1.15
2 weeks	4.37 ± 1.15	5.69 ± 1.30
3 weeks	3.52 ± 1.08	5.37 ± 0.52*

¹ Values are means ± standard deviations for 12 rats.

² VLDL+IDL+LDL cholesterol; (Total cholesterol) - (HDL cholesterol)

³ Atherosclerotic index; (Total cholesterol - HDL cholesterol) / HDL cholesterol

*p < 0.05

肝臓重量や肝臓中のコレステロール量に有意差は認められなかったが、後者の食餌を与えたラットの糞重量は有意に増加していた (Table 4)。しかし、1日当たりの胆汁酸排泄量に有意差は認められなかった。これらの結果より、Adzuki EE 食餌群ラットの糞量は、コントロール食餌群に比べて有意に高いが、胆汁酸量は影響を受けないことが示された。

2. 盲腸内の pH

コントロール食餌と Adzuki EE 食餌を与えたラットの盲腸内 pH を測定したところ、前者のそれは 7.71 ± 0.14、後者のそれは 6.99 ± 0.12 を示し、両食餌群で有意に異なっていた。Adzuki EE 食餌群の盲腸内 pH が低下していたことから、ラット盲腸発酵の促進や盲腸の運動刺激による排泄促進作用²⁰⁾ が起きている可能性が推察される。

3. コレステロールミセルに対する小豆エタノール抽出物の影響

コレステロールの吸収実験として、コレステロールミセルの安定化に及ぼす小豆エタノール抽出物の影響を検討した。コレステロールミセルに小豆エタノール抽出物を 1.1 mg/ml 以上添加するとコレステロールが濃度依存的に減少した (Fig. 1)。コレステロールのミセル化阻害は、緑茶

Table 4 Weight of liver and feces in rats fed Adzuki EE or control diet for 3 weeks¹

	Adzuki EE	Control
Liver		
Weight (g)	9.53 ± 0.39	9.47 ± 0.30
Total lipid (mg/g wet liver)	94.9 ± 12.9	92.0 ± 13.0
Cholesterol (mg/g wet liver)	11.0 ± 1.7	10.4 ± 1.4
Feces		
Weight (g/d)	1.79 ± 0.25*	1.52 ± 0.20
Cholesterol (mg/d)	12.9 ± 1.7*	10.8 ± 0.6
Bile acid (mg/d)	8.98 ± 3.0	8.9 ± 4.3

¹ Values are means ± standard deviations for 12 rats.

*p < 0.05

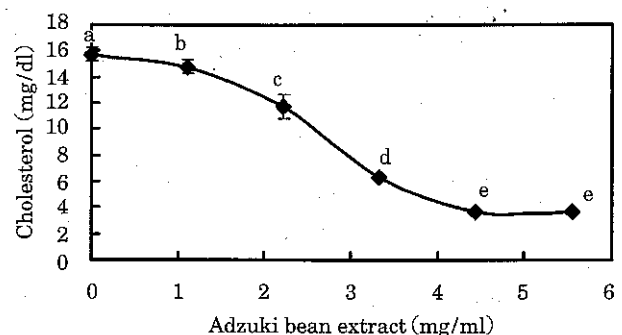


Fig. 1 Effect of Adzuki ethanol extract (Adzuki EE) on the micellar solubility of cholesterol *in vitro*

Adzuki EE was added to taurocholate/lecithin/cholesterol mixed micelles. Means within the same rows bearing different superscripts are significantly different (p < 0.05).

のエピガロカテキンガレートでも報告されている¹³⁾¹⁵⁾が、小豆エタノール抽出物にも、コレステロールのミセル化を阻害する性質があることから、小豆ポリフェノールの作用による可能性が考えられる。小豆エタノール抽出物 1.1 mg/ml に含まれる小豆ポリフェノール量は、カテキン相当量として 200 μM であった。

4. ラット肝臓ホモジネートの HMG-CoA レダクターゼ活性

Adzuki EE 食餌群のラット肝臓における HMG-CoA レダクターゼ活性は、7.65 ± 1.55 Bq · mg protein⁻¹ であり、コントロール食餌群のそれ (9.95 ± 1.65 Bq · mg protein⁻¹) に比べて有意に低い値を示した。HMG-CoA レダクターゼは、肝臓におけるコレステロール合成の律速酵素であることから、Adzuki EE 食餌群のラット肝臓におけるコレステロール合成が抑制されていることが推察された。また、柑橘類由来のポリフェノールに、肝臓ミクロソームの HMG-CoA レダクターゼ活性を有意に低下させる作用のあることが報告されている²¹⁾ ことから、小豆エタノール抽出物に含まれるポリフェノール類が、この酵素の活性抑制

Table 5 mRNA concentrations in rats fed Adzuki EE or control diet for 3 weeks¹

mRNA	Arbitrary unit	
	Adzuki EE	Control
SREBP ₁	0.42±0.10*	1.00±0.18
SREBP ₂	1.03±0.36	1.00±0.57
HMG-CoA reductase	1.07±0.17	1.00±0.10
Cholesterol 7 α -hydroxylase	1.05±0.17	1.00±0.13
LDL receptor	1.00±0.10	1.00±0.15
LCAT	0.98±0.11	1.00±0.26
ACAT	1.25±0.40	1.00±0.20
Hepatic cholesterol esterase	1.03±0.19	1.00±0.13

¹ Values are means±standard deviations for 12 rats. The values of each mRNA are expressed relative to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA in all groups.

*p<0.05

に関係している可能性が考えられる。酵素活性抑制物質の詳細については、小豆エタノール抽出物をさらに分画・精製して、活性物質の構造解析が必要である。

5. ラット肝臓の脂質代謝に関わる遺伝子発現

Adzuki EE 食餌群のラット肝臓におけるコレステロール関連遺伝子の mRNA 発現量は、コントロール食餌群との違いはほとんど認められなかった (Table 5)。また、脂肪酸代謝を調節する転写因子である SREBP₁ は、Adzuki EE 食餌群ラットで発現量が有意に低下していたことから、コレステロールと脂肪酸の両者に関連する 3 種類の酵素の mRNA 発現量を検討したが、発現量に有意な影響は認められなかった (Table 5)。緑茶ポリフェノール添加による HepG2 細胞の LDL レセプターや SREBP₂ の mRNA 発現量増加が報告されている²²⁾ が、Adzuki EE 食餌群ラットの肝臓に含まれるそれらの遺伝子発現量には有意差が認められなかった。

これらの結果から、Adzuki EE 食餌群ラットの血清コレステロールの上昇抑制作用は、摂取したコレステロールの体外への排泄促進及び肝臓ミクロソーム中の HMG-CoA レダクターゼ活性低下に起因したコレステロール合成抑制によると判断した。また、肝臓のコレステロール代謝系遺伝子の発現量には影響がみられなかった。SREBP₁ は、インスリンにより影響を受ける転写因子でもあることから、小豆エタノール抽出物はインスリンの作用や脂肪酸代謝酵素群に影響を与えている可能性が示唆された。

要 約

小豆エタノール抽出物を添加した高コレステロール食餌 (Adzuki EE 食餌) を与えたラット群の血清コレステロール量は、コントロール食餌ラット群に比べ、有意なコレステロール上昇抑制が認められた。また、Adzuki EE 食餌群

ラットでは糞量およびコレステロール排泄量は有意に増加していた。in vitro ミセル化実験により、1.10 mg/ml~5.56 mg/ml の小豆エタノール抽出物添加によりミセル化したコレステロールの溶解度が、添加量依存的に減少することを明らかにした。また、Adzuki EE 食餌群ラットの肝臓 HMG-CoA レダクターゼ活性は、コントロールのそれよりも有意に低下していた。しかし、HMG-CoA レダクターゼの mRNA 発現量に有意差はみられなかった。また、コレステロール代謝に関係する遺伝子であるコレステロール 7 α -ヒドロキシラーゼ、LDL レセプター、LCAT、ACAT、肝臓コレステロールエステラーゼ、SREBP₂ の mRNA 発現量に有意差はみられなかった。これらの結果は、小豆エタノール抽出物投与により、消化管においてコレステロールのミセル化が阻害され、コレステロールの吸収が抑制され、また肝臓において HMG-CoA レダクターゼ活性が抑制されたことにより、血清コレステロール上昇抑制が起きている可能性を示唆している。また、SREBP₁ の発現量が有意に低かったことから、脂肪酸の代謝系にも影響を与えている可能性が考えられる。

小豆エタノール抽出物を調製していただいた北海道農業試験場の加藤淳専門員および相馬ちひろ研究員、ラットの飼育およびアドバイスをいただいた帯広畜産大学の福島道広氏および韓 圭鎬氏に感謝します。

この研究は日本豆類基金協会の資金援助を受け、帯広畜産大学 21 世紀 COE プログラム研究の一環として行った。

文 献

- Williams, J.K., Sukhova, G.K., Herrington, D.M. and Libby, P., Pravastatin has cholesterol-lowering independent effects on the artery wall of atherosclerotic monkeys. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 31, 684-691 (1998).
- Koga, T., Shimada, Y., Kuroda, M., Tsujita, Y., Hasegawa, K. and Yamazaki, M., Tissue-selective inhibition of cholesterol synthesis in vivo by pravastatin sodium, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor. *Biochim Biophys Acta.*, 1045, 115-120 (1990).
- Gaist, D., Jeppesen, U., Andersen, M., Garcia, R.L.A., Hallas, J. and Sindrup, S.H., Statins and risk of polyneuropathy: a case-control study. *Neurology*, 58, 1333-1337 (2002).
- Helmut, S., Roswitha, W. and Bernhard A.P., Muscular Side Effects of Statins. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 40, 163-171 (2002).
- Kojima, M., Ohnishi, M., Ito, S. and Fujino, Y., Characterization of acylmono-, mono-, di-, tri- and tetraglycosyl-sterol and saponin in Adzuki bean (*vigna angularis*) seeds. *Lipids*, 24, 849-853 (1989).
- 小嶋道之, 鈴木信行, 大西正男, 伊藤精亮, アズキ発芽過程におけるトコフェロール量及び抗酸化活性の変動, *日食工誌*, 44, 144-148 (1997).
- Kojima, M., Shimizu, H. and Ohba, K., Dietary fiber quantity and particle morphology of an (bean paste) prepared from starchy pulses. *J. Appl. Glycosci.*, 53, 85-

- 89 (2006).
- 8) 小嶋道之, アズキなどの雑豆類の健康機能性に関する研究の現状, 「大地からの健康学—地域特産と生活習慣病予防—」, (農林統計協会, 東京), pp. 155-165 (2001).
 - 9) Lee, S.O., Simons, A.L., Murphy, P.A. and Hendrich, S., Soyasaponins lowered plasma cholesterol and increased fecal bile acids in female golden Syrian hamsters. *Exp. Biol. Med.*, **230**, 472-478 (2005).
 - 10) Ishizaka, T., Hara, Y. and Yamada, K., A Comparison of plant sterol extract from soy-bean germ oil and soy sterol on the cholesterol lowering effects in rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*, **58**, 11-16 (2005).
 - 11) Kim, H.K., Jeong, T.S., Lee, M.K., Park, Y.B. and Choi, M. S., Lipid-lowering efficacy of hesperetin metabolites in high-cholesterol fed rats. *Clin. Chim. Acta.*, **327**, 129-137 (2003).
 - 12) Yang, T.T. and Koo, M.W., Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal lipid excretion. *Life Sci.*, **66**, 411-423 (2000).
 - 13) Ikeda, I., Imasato, Y., Sasaki, E., Nakayama, M., Nagao, H., Takeo, T., Yayabe, F. and Sugano, M., Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. *Biochem. Biophys. Acta*, **1127**, 141-146 (1992).
 - 14) Han, K.H., Fukushima, M., Shimizu, K., Kojima, M., Ohba, K., Tanaka, A., Shimada, K., Sekikawa, M. and Nakano, M., Resistant starches of beans reduce the serum cholesterol concentration in rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **49**, 281-286 (2003).
 - 15) Han, K.H., Fukushima, M., Kato, T., Kojima, M., Ohba, K., Shimada, K., Sekikawa, M. and Nakano, M., Enzyme-resistant fractions of beans lowered serum cholesterol and increased sterol excretions and hepatic mRNA levels in rats. *Lipids*, **38**, 919-924 (2003).
 - 16) Institute of laboratory animal resources commission on life sciences, guide for the care and use of laboratory animals. National Academy Press. (Washington, D.C., 1996).
 - 17) Raederstorff, D.G., Schlachter, M.F., Elste, V. and Weber, P., Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. *J. Nutr. Biochem.*, **14**, 326-332 (2003).
 - 18) Lippe, G., Deana, R., Cavallini, L. and Galzigna, L., Inhibition of rat liver hydroxymethylglutaryl-CoA reductase by sulfhydryl reagents, coenzyme A esters and synthetic compounds. *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 3293-7 (1985).
 - 19) Chomczynski, P. and Sacchi, N., Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.*, **162**, 156-159 (1987).
 - 20) 田代 操, 加藤みずほ, コーンスターチより調製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, 栄食誌, **52**, 21-29 (1999).
 - 21) Bok, S.H., Lee, S.H., Park, Y.B., Bae, K.H., Son, K.H., Jeong, T.S. and Choi, M.S., Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase and acyl CoA:cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. *J. Nutr.*, **129**, 1182-1185 (1999).
 - 22) Kuhn, D.J., Burns, A.C., Kazi, A. and Dou, Q.P., Direct inhibition of the ubiquitin-proteasome pathway by ester bond-containing green tea polyphenols is associated with increased expression of sterol regulatory element-binding protein 2 and LDL receptor. *Biochem. Biophys. Acta*, **1682**, 1-10 (2004).

(平成 18 年 1 月 25 日受付, 平成 18 年 4 月 13 日受理)