

# シーベリー葉ポリフェノールによる高脂肪食投与雄マウスの抗肥満効果

西 繁典<sup>\*,\*\*</sup>, 齋藤優介<sup>\*,\*\*</sup>, 小疇 浩<sup>\*\*</sup>, 弘中和憲<sup>\*\*</sup>, 小嶋道之<sup>\*\*,§</sup>

\*岩手大学大学院連合農学研究科

\*\*帯広畜産大学畜産学部畜産科学科食料生産科学講座

## Anti-obesity Effects of Seaberry (*Hippophae rhamnoides*) Leaf Polyphenols (SBLPP) in Male Mice Fed a High-fat Diet

Shigenori Nishi<sup>\*,\*\*</sup>, Yusuke Saito<sup>\*,\*\*</sup>, Hiroshi Koaze<sup>\*\*</sup>,  
Kazunori Hironaka<sup>\*\*</sup> and Michiyuki Kojima<sup>\*\*,§</sup>

\*The United Graduate School of Agricultural Science, Iwate University, 3-18-8 Ueda Morioka 020-8550

\*\*Department of Food Production Science, Obihiro University,  
11 Nishi-2-sen, Inada-cho, Obihiro 080-8555

The mean body weight of male mice fed a high-fat diet and seaberry leaf polyphenols (SBLPP) juice for eight weeks was significantly lower than that of controls, with the weights of abdominal adipose tissue and liver being particularly low. Additionally, blood GTP activity in experimental mice was significantly lower than in controls, demonstrating the inhibitory effects of SBLPP juice on development of fatty liver, which may otherwise be induced by a high-fat diet. Furthermore, expression of acyl-CoA oxidase (ACO), medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD), and fatty acid beta-oxidation enzymes significantly increased in experimental mice. *In vitro* experiments showed that SBLPP juice suppressed pancreatic lipase activity in a concentration-dependent manner, with IC<sub>50</sub> being 4.5 ppm. It was therefore suggested that, in mice fed a high-fat and SBLPP juice diet, gene expression of fatty acid beta-oxidation enzymes in the liver was enhanced, which increased the lipid metabolism and inhibited the pancreatic lipase activity, thus reducing lipid transportation to the body and increasing fecal lipid excretion. As a result, body fat deposition was inhibited.

(Received Jun. 11, 2007 ; Accepted Aug. 7, 2007)

**Keywords :** Seaberry leaf polyphenols (SBLPP), Acyl-CoA oxidase (ACO), Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD), Gene expression, Lipase

**キーワード :** シーベリー葉ポリフェノール, アシル CoA オキシダーゼ, 中鎖アシル CoA デヒドロゲナーゼ, 遺伝子発現, リパーゼ阻害

消費エネルギー以上に過剰な食事を摂取すると、余剰エネルギーの大部分は皮下や内臓脂肪として体内に蓄積されて、いわゆる肥満になる。肥満の人が、高脂血症、高血糖および高血圧などと合併症を起こすと、動脈硬化症や血管疾患発症の危険率が非常に高くなる<sup>1)</sup>ので、メタボリックシンドローム予防医療が展開されつつある。また、マルチプルリスクファクターである肥満予防策として、脂肪の少ない適度な食事や食べ方の改善指導、運動などによるエネルギー消費体質への転換等を行うとともに、脂肪の蓄積抑制効果を示す食材の利用が考案されている<sup>2)~4)</sup>。

シーベリー (*Hippophae rhamnoides* L.) はグミ科の植物で、ユーラシア大陸の広い範囲に分布している<sup>5)</sup>。小雪

寒冷地や高山地帯、乾燥地帯など厳しい自然環境においても生育できる植物で、黄~橙色の果実にはビタミンCやビタミンE、カロチノイド、フラボノイド、油脂類などを豊富に含んでいる。カナダ、フィンランド、中国などでは、シーベリー果実を用いたジュース、シードオイル、ハンドクリームなどが販売されている。また最近、北海道士幌町産(移植後5-6年目)のシーベリー果汁を使ったヨーグルトやホワイトプリンが商品化されている。果実の抽出液には、抗酸化作用<sup>7)8)</sup>、抗菌作用<sup>9)</sup>、抗腫瘍作用<sup>10)</sup>、擦過傷治療効果<sup>11)</sup>、DNA保護作用<sup>12)</sup>のあることが報告されている。またシーベリー葉は、飲用茶や伝統薬として利用されており<sup>6)</sup>、その抽出液に抗炎症作用<sup>13)</sup>のあることが報告されている。

シーベリーは地下茎で増殖し、ひこばえが毎年芽を出し、伸びる枝は剪定しなければならない。また、雌雄異株

\* 〒020-8550 盛岡市上田3丁目18-8

\*\* 〒080-8555 帯広市稲田町西2線11番地

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

なので開花後の雄株の枝葉の有効利用が求められている。我々は、北海道産シーベリーの有効活用を探る一環として、果実や葉抽出液の生理調節作用に関する基盤データの作成を目指しており、今回はシーベリー葉ポリフェノールの体脂肪蓄積抑制について明らかにしたので報告する。

## 実験方法

### 1. 実験動物の餌および飲料の調製

室内環境に1週間順化させた8週齢の雄マウス (ddY系) を用いて、高脂肪食餌およびシーベリー葉ポリフェノール (SBLPP) 飲料の投与実験を行った。市販の高脂肪食餌 (クイックファット, 日本クレア) は、真空包装して4°Cで保存したものを与えた。また、飲料として用いたSBLPPは以下のようにして調製した。すなわち、乾燥した粉末のシーベリー葉100gに3Lの蒸留水を加え、12時間浸漬後に遠心上清を得た。この操作を4回繰り返して得られた上清は、等容量の合成吸着剤 (DAIAION HP-20, 三菱化学) に通し、6倍量の蒸留水で水洗して糖やタンパク質を除去した。続いて6Lのエタノールでポリフェノールを溶出した。溶出液を濃縮乾固後に蒸留水に再溶解させ、SBLPP飲料 (カテキン相当量として1mg/ml) とした。ポリフェノール量はFolin-Ciocalteu法<sup>14)</sup>で測定し、カテキン相当量として表した。また、実験動物の取り扱い Guide for the Care and Use of Laboratory Animals<sup>15)</sup>に従った。

### 2. 臓器重量の測定と血清成分の分析

高脂肪食餌およびSBLPP飲料を8週間投与後に一晩絶食して、エーテル麻酔下で解剖を行い、各種の臓器および腎周囲および副睪丸周囲の脂肪組織を採取して、重量を測定した。また採血後、直ちに血清を調製し、TDXアナライザー (Abbot) を用いた酵素法により、総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪、遊離脂肪酸およびリン脂質量などを測定した<sup>16)</sup>。Non-HDLコレステロールは、総コレステロールとHDLコレステロールの濃度差より算出した<sup>17)</sup>。

### 3. 肝臓および糞に含まれる脂肪含量の測定

肝臓および糞は凍結乾燥後、約5倍量のクロロホルム-メタノール溶液 (2:1, v/v) を加え室温で20分間、超音波発生装置により抽出した。抽出液を遠心分離 (1000×g) して上清を回収し、同様の抽出操作を3回繰り返して抽出液を集めた。溶媒を除去後、恒量値を求めて肝臓および糞に含まれる脂肪含量とした<sup>16)17)</sup>。

### 4. 肝臓の脂肪酸β酸化関連遺伝子発現量の測定

高脂肪食およびSBLPP飲料を与えたマウス群とコントロールマウス群の肝臓から酸グアニジン-フェノール-クロロホルム法により、全RNAを抽出後、mRNAを精製してcDNAを作製した<sup>18)</sup>。肝臓における脂肪酸β酸化に重要な2つの酵素; acyl-CoA oxidase (ACO) および medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) の遺伝子発現

量は、RT-PCR サザンハイブリダイゼーション法で測定した。各値は、ハウスキーピング遺伝子のβ-アクチン発現量に対する相対値として表した<sup>19)</sup>。ACO遺伝子 (NT 165773) のプライマーは、センス側: 5'-ACGCCTATGCCTTCC-ACTTT-3' (1089-1110)、アンチセンス側: 5'-CACGCCACTTCTTGCTCTTC-3' (1587-1607) およびプローブ: 5'-CCCGGCCTGCACCTTCGAGGGGGAGAACAACACTGTATGATGCTGCAGACGGCCAG-3' (1325-1379) を用いた。MCAD遺伝子 (NM 007382) のプライマーは、センス側: 5'-GAGTACCCGTTCCCTCTCATC-3' (221-242)、アンチセンス側: 5'-GGCCCATGTTTAGTTCCCTT-3' (695-713) およびプローブ: 5'-CTCTGATGTGGCGCCATTAAGACCAAAGCAGAGAAGAAGGGTGACGAGTATGT-3' (505-559) を用いた。また、β-アクチン遺伝子の (NM 007393) プライマーは、センス側: 5'-GAGGCCAGAGCAAGAGAGGT-3' (249-270)、アンチセンス側: 5'-AGTGGCCATCTCCTGCTCGAA-3' (727-747) およびプローブ: 5'-GACCTGGCTGGCCGGACCTGACAGACTACCTCATGAAGATCCTGACCGAGCGT-3' (615-669) を用いた。各々のPCRプライマーを用いたときの最適サイクル数の条件は、正常マウス肝臓のcDNAを用いて決定した。また、アルカリフォスファターゼ-抗DIG (ロシュ) を用いてX線フィルムに露光後、現像したX線フィルムをスキャナーで取り込み、Scion Imageによるデンシトリー法により、発現量を発光の強さとして表した。

### 5. 膵リパーゼ活性の測定

膵リパーゼ活性は、20μlの基質溶液、30μlの豚由来膵リパーゼ (3mg/ml, EC 3.1.1.3, Sigma), 20μlの既知濃度のSBLPP溶液をよく混和後、37°C, 30分間反応させ、遊離したオレイン酸量をNEFA-Cテストワコー (和光純薬) を用いて測定した<sup>20)</sup>。膵リパーゼ活性に対する阻害率は、コントロールとの比較から算出した。

### 6. 統計処理

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

## 実験結果および考察

8週齢の雄マウスに8週間、高脂肪食餌と同時にSBLPP飲料を与えたところ、投与2週間の体重変動はほとんど認められなかったが、3週目以降の体重増加は、一部を除き、コントロール群のそれに比べて有意に抑制された (Fig. 1)。実験期間を通して両群の1日の摂食量は7.2~7.6g、飲水量は6.4~7.9mlであり、有意差は認められなかった。すなわち、高脂肪食餌およびSBLPP飲料を与えたマウス群の体重は、コントロールのそれに比べて上昇抑制が顕著であった。

SBLPP飲料を与えたマウス群の血清成分は、コントロール群に比べ遊離脂肪酸含量は有意な低下、中性脂質、

総コレステロールおよび HDL コレステロール含量は低下傾向を示した (Table 1). また, 高脂肪食餌および SBLPP 飲料を与えて 8 週間飼育した雄マウスは, 肝臓障害の指標となる血中の各種酵素活性値<sup>14)</sup> がコントロール群に比べ, 全体的に低い傾向にあった. 特に血清 GPT は有意に低い値を示した (Table 1). また, 盲腸重量に顕著な差は認められなかったが, 肝臓重量と腎周囲および副睪丸周囲の脂肪重量には, 有意な低下が認められた. また, 肝臓に含まれる脂肪含量はコントロール群に比べ低い傾向が認められた (Table 2). 本実験では腎周囲および副睪丸周囲の脂肪重量についてのみ検討を行ったが, 皮下脂肪等その他の脂肪組織の減少も起こっていたことを観察している (データは省略). 血清 GPT 値および肝臓重量の有意な上昇抑制は, 高脂肪食餌を与えたマウスの肝臓への脂質の蓄積を SBLPP 飲料が抑制したことが関係していると推定した. また, シーベリー葉ポリフェノール (SBLPP) 飲料を 8 週間与えた雄マウスの体重は, コントロール群マウスのそれ

よりも有意に低く, 脂肪の蓄積抑制が体重増加抑制の主な原因であると推察した.

解剖前 3 日間の糞重量には, 有意差は認められなかった (Table 2). また, SBLPP 飲料を与えたマウス群の糞に含まれる脂肪量は, コントロール群に比べ増加傾向を示した. すなわち, SBLPP 飲料を与えたマウス群の糞中への脂肪排泄は, コントロール群のそれよりも多い傾向にあることが示された. また, 高脂肪食餌を与えたマウスにショウガ水抽出液を与えた場合にも, 同様の結果が報告されている<sup>20)</sup>.

SBLPP 飲料を与えたマウス群の肝臓に含まれる ACO 遺伝子および MCAD 遺伝子の発現量は,  $\beta$ -アクトン発現量に対する相対値で比較したところ, コントロール群の値よりも有意に高い値を示した (Fig. 2). 肝臓の脂肪酸  $\beta$  酸化は脂質代謝の中心的役割をしている. 今回検討した ACO はペルオキシソームにおける脂肪酸  $\beta$  酸化の律速酵素であり, また MCAD はミトコンドリアにおける脂肪酸  $\beta$  酸化の律速酵素である. SBLPP 飲料を与えたマウス群の肝臓に含まれる脂肪酸  $\beta$  酸化酵素活性を測定してはいないが, 脂肪酸  $\beta$  酸化に重要な酵素の遺伝子発現量の上昇が, マウス肝臓脂肪や腎周囲および副睪丸周囲の脂肪の蓄積抑制および体重上昇抑制に関与していると推定している. これまでに, 緑茶カテキン類をマウスに投与すると, 肝臓の ACO 遺伝子や MCAD 遺伝子の発現量および脂肪酸  $\beta$  酸化活性が増加して, 脂肪代謝が盛んとなり, 内臓脂肪が減少したと報告されている<sup>21)22)</sup>. 長期間の SBLPP 飲料投与においても両遺伝子の発現量の増加が認められ, 肝臓の脂質含量が減少する傾向にあることが示唆されたことから, 体内脂肪の代謝活性が促進されていると推定してい

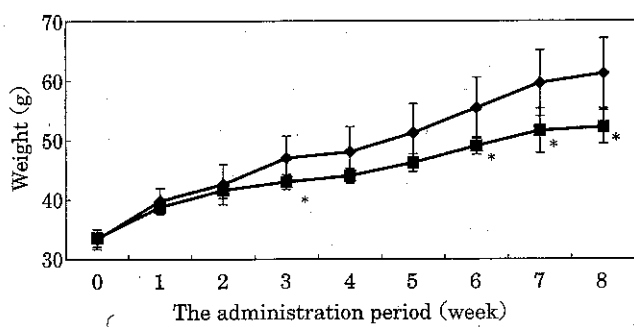


Fig. 1 Changing body weight for 8 weeks in mice  
Each point (◆: control, ■: SBLPP) represents the mean for 5 mice  $\pm$  S.D., \* $P < 0.05$ .

Table 1 Serum components after 8 weeks of dietary treatment in mice<sup>1</sup>

Components	SBLPP	Control
Free fatty acid (MEQ/L)	3.51 $\pm$ 0.44*	4.14 $\pm$ 0.46
Neutral Lipids (mg/dl)	51.2 $\pm$ 27.5	66.0 $\pm$ 36.4
Total cholesterol (mg/dl)	179.0 $\pm$ 50.0	212.0 $\pm$ 34.4
HDL cholesterol (mg/dl)	119.4 $\pm$ 26.9	126.8 $\pm$ 14.1
Non HDL cholesterol <sup>2</sup> (mg/dl)	59.6 $\pm$ 24.2	85.2 $\pm$ 25.4
Total protein (g/dl)	5.36 $\pm$ 0.10	5.60 $\pm$ 0.10
GPT (IU/l)	22.4 $\pm$ 3.4*	35.2 $\pm$ 9.4
GOT (IU/l)	81.0 $\pm$ 10.1	139.2 $\pm$ 60.3
ALP (IU/l)	381.2 $\pm$ 203.6	551.8 $\pm$ 210.1
LDH (IU/l)	663.0 $\pm$ 96.1	847.2 $\pm$ 160.4
CHE (IU/l)	2428.6 $\pm$ 415.3	2500.2 $\pm$ 127.7

<sup>1</sup> Values are means  $\pm$  standard deviations (S.D.) for 5 mice.

<sup>2</sup> Non HDL cholesterol is total cholesterol - HDL cholesterol.

\* $P < 0.05$ .

Abbreviation; SBLPP: Seaberry leaves polyphenols, GPT: Glutamic pyruvic transaminase, GOT: Glutamic oxaloacetic transaminase, ALP: Alkaline phosphatase, LDH: Lactate dehydrogenase, CHE: Cholinesterase

Table 2 Weight of internal organs and feces after 8 weeks of dietary treatment in mice<sup>1</sup>

Organs and feces	SBLPP	Control
Liver (g)	2.10±0.32*	2.47±0.36
Lipids in liver (mg/g F.W.)	82.7±17.5	97.5±18.8
Cecum (g)	0.38±0.06	0.36±0.06
Adipose tissue (g)	3.07±0.62*	5.64±1.17
Feces (g/day)	1.35±0.27	1.36±0.27
Lipids in feces (mg/g dry)	84.4±13.4	72.7±10.5

<sup>1</sup> Values are means±S.D. for 5 mice.

\* $P<0.05$ .

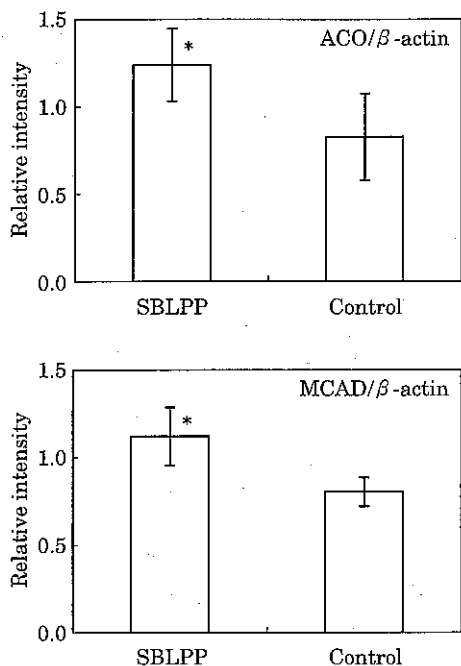


Fig. 2 Effects of SBLPP on ACO and MCAD mRNA levels in the liver

Mice were fed high fat diet for 8 weeks. cDNA made from liver subjected to Southern blotting. Values are means±S.D. for 5 mice. Abbreviation; ACO: acyl-CoA oxidase, MCAD: medium-chain acyl-CoA dehydrogenase, \* $P<0.05$ .

る。しかし、カテキン類はSBLPPのごく微量成分である<sup>23)</sup>ので、影響を与える主要成分の分離・同定が今後の重要な課題である。

添加したSBLPP濃度(0~10 ppm)に依存して腓リパーゼ活性が抑制された(Fig. 3)。腓リパーゼ活性の抑制に及ぼすSBLPP濃度を求めたところ、 $IC_{50}$ が4.5 ppmであった。茶抽出物や茶サポニンなどは、腓リパーゼ活性を濃度依存的に阻害することが報告されている<sup>3)4)24)25)</sup>。SBLPPの阻害活性は、茶抽出物や茶サポニンなどよりも強いことが示された。また、茶カテキン類は、脂肪代謝が盛んとなり脂肪の消費促進や熱としての放散などが原因で

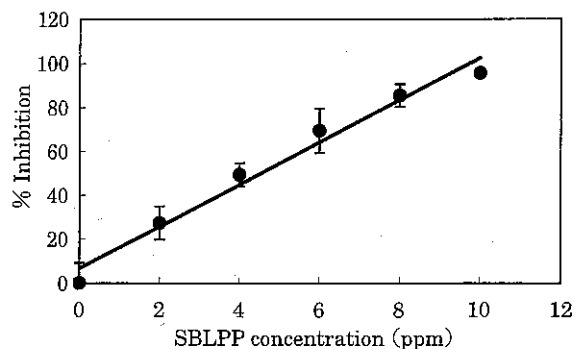


Fig. 3 Effect of SBLPP on pancreatic lipase activity from porcine pancreas

The percent inhibition of assay is plotted against concentration of phenol assay. Each point represents the mean±S.D.,  $R^2=0.9789$ .

あると報告されている。長期間のSBLPP飲料投与においても、体内脂肪の代謝活性が促進されるのかもしれない。

以上の結果より、高脂肪食餌を与えた雄マウスの体重増加抑制は、主に腎周囲および副睪丸周囲の脂肪重量の蓄積抑制と関係している、SBLPPによる腓リパーゼの活性抑制作用により、食餌性脂肪の消化・吸収が抑制され、体内への脂肪輸送が低下し、糞中への脂肪排泄が増加したと推定している。また、肝臓における脂肪酸 $\beta$ 酸化酵素の遺伝子発現が促進され、脂質代謝が促進されていると推定している。

## 要 約

高脂肪食餌と同時にシーベリー葉ポリフェノール(SBLPP)飲料を8週間与えた雄マウスの体重は、コントロールよりも有意に低く、特に腹部の脂肪重量および肝臓重量は顕著に低かった。また、SBLPP飲料を与えた雄マウスの血中GPT活性はコントロールよりも有意に低く、高脂肪食摂取による肝臓への脂肪蓄積の抑制が示された。また、8週間SBLPP飲料を与えた雄マウスの脂肪酸 $\beta$ 酸化酵素であるacyl-CoA oxidase (ACO)およびmedium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD)の遺伝子発現量は有意に増加していた。*in vitro*実験により、SBLPPが腓リパーゼ活性を濃度依存的に抑制することが示され、その $IC_{50}$ は4.5 ppmを示した。これらの結果より、長期間、高脂肪食餌と同時にSBLPP飲料を雄マウスに与えると、肝臓における脂肪酸 $\beta$ 酸化酵素の遺伝子発現が促進されて脂質代謝促進が起こると共に、腓リパーゼ活性を抑制することにより、体内への脂肪輸送が低下して、糞中に脂肪が排泄され、体脂肪蓄積が抑制されたと推定した。

シーベリー葉の採集等に便宜を図っていただきました北海道士幌町食品加工研修センター長の三澤 治氏および北

海道士幌高校の川添雅文氏、シーベリー葉の総合アドバイスをいただきました北海道農業研究センターの石井現相氏に感謝します。この研究は帯広畜産大学 21 世紀 COE プログラム研究の一環として行った。

### 文 献

- 1) Fujioka, S., Matsuzawa, Y., Tokunaga, K. and Tarui, S., Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity. *Metabolism*, **36**, 54-59 (1987).
- 2) Okuda, H. and Han, L.K., Medicinal plant and its related metabolic modulators. *Folia Pharmacol. Jpn.*, **118**, 347-351 (2001).
- 3) Han, L.K., Takaku, T., Li, J., Kimura, Y. and Okuda, H., Anti-obesity action of oolong tea. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, **23**, 98-105 (1999).
- 4) Han, L.K., Kimura, Y., Kawashima, M., Takaku, T., Taniyama, T., Hayashi, T., Zheng, Y.N. and Okuda H., Anti-obesity effects in rodents of dietary teasaponin, a lipase inhibitor. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, **25**, 1459-1464 (2001).
- 5) 石井現相, 新しい小果樹ヒッコリア栽培マニュアル, 北海道農業研究センター研究資料, **62**, 1-32 (2003).
- 6) Guliyev, V.B., Gul, M. and Yildirim, A., *Hippophae rhamnoides* L.: chromatographic methods to determine chemical composition, use in traditional medicine and pharmacological effects. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, **812**, 291-307 (2004).
- 7) Swaroop, A., Sinha, A.K., Chawla, R., Arora, R., Sharma, R.K. and Kumar, J.K., Isolation and characterization of 1,3-Dicapryloyl-2-linoleoylglycerol a novel triglyceride from berries of *Hippophae rhamnoides*. *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 1021-1024 (2005).
- 8) Yang, Z.G., Li, H.R., Wang, L.Y., Li, Y.H., Lu, S.G., Wen, X. F., Wang, J., Daikonya, A. and Kitanaka, S., Triterpenoids from *Hippophae rhamnoides* L. and their nitric oxide production-inhibitory and DPPH radical-scavenging activities. *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 15-18 (2007).
- 9) Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Hartmann-Schmidlin, S., Kahkanen, M., Heinonen, M., Maatta-Riihinen, K. and Oksman-Caldentey, K.-M., Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *J. Appl. Microbiol.*, **98**, 991-1000 (2005).
- 10) Teng, B.S., Lu, Y.H., Wang, Z.T., Tao, X.Y. and Wei, D.Z., In vitro anti-tumor activity of isorhamnetin isolated from *Hippophae rhamnoides* L. against BEL-7402 cells. *Pharmacol. Res.*, **54**, 186-194 (2006).
- 11) Gupta, A., Kumar, R., Pal, K., Singh, V., Banerjee, P.K. and Sawhney, R.C., Influence of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) flavone on dermal wound healing in rats. *Mol. Cell. Biochem.*, **290**, 193-198 (2006).
- 12) Nersesyan, A. and Muradyan, R., Sea-buckthorn juice protects mice against genotoxic action of cisplatin. *Exp. Oncol.*, **26**, 153-5 (2004).
- 13) Ganju, L., Padwad, Y., Singh, R., Karan, D., Chanda, S., Mohinder, K.C., Bhatnagar, P., Kashyap, R. and Ramesh, C.S., Anti-inflammatory activity of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves. *Int. Immunopharmacol.*, **5**, 1675-1684 (2005).
- 14) 小嶋道之, 山下慎司, 西 繁典, 齋藤優介, 前田龍一郎, 小豆ポリフェノールの生体内抗酸化活性と肝臓保護作用, 食科工, **53**, 386-392 (2006).
- 15) 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).
- 16) 小嶋道之, 西 繁典, 山下慎司, 齋藤優介, 前田龍一郎, 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, 食科工, **53**, 380-385 (2006).
- 17) 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).
- 18) Chomczynski, P. and Sacchi, N., Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.*, **162**, 156-159 (1987).
- 19) 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).
- 20) 韓 立坤, Gong, X.J., 河野志穂, 齋藤雅人, 木村善行, 奥田拓道, ショウガの抗肥満作用について, 薬誌, **125**, 213-217 (2005).
- 21) Murase, T., Nagasawa, A., Hase, T., Tokimitsu, I., Shimasaki, H. and Itakura, H., Dietary tea catechins reduce development of obesity accompanied with gene expression of lipid-metabolizing enzymes in mice. *J. Oleo Sci.*, **50**, 711-715 (2001).
- 22) Osaki, N., Harada, U., Watanabe, H., Onizawa, K., Yamaguchi, T., Tokimitsu, I., Shimasaki, H. and Itakura, H., Effect of tea catechins on energy metabolism in rats. *J. Oleo Sci.*, **50**, 677-682 (2001).
- 23) Zu, Y., Li, C., Fu, Y. and Zhao, C., Simultaneous determination of catechin, rutin, quercetin kaempferol and isorhamnetin in the extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves by RP-HPLC with DAD. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **41**, 714-719. (2006).
- 24) Zhao, H.L., Sim, J.S., Shim, S.H., Ha, Y.W., Kang, S.S. and Kim Y.S., Antiobese and hypolipidemic effects of platycodin saponins in diet-induced obese rats: evidences for lipase inhibition and calorie intake restriction. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, **29**, 983-990 (2005).
- 25) Xu, B.J., Han, L.K., Zheng, Y.N., Lee, J. H. and Sung, C.K., In vitro inhibitory effect of triterpenoidal saponins from *Platycodi Radix* on pancreatic lipase. *Arch. Pharm. Res.*, **28**, 180-185 (2005).

(平成 19 年 6 月 11 日受付, 平成 19 年 8 月 7 日受理)