

博士論文 平成 29 年度 (2017)

食品の機能性成分が  
カイロミクロン apoB48 の分泌に与える影響の解析  
—家兔反転腸管系および動物個体を用いた検討—

実践女子大学大学院

生活科学研究科 食物栄養学専攻

富 重 慶 子

(内容抄録)

近年、食生活の変化と高齢化に伴い心血管障害が増加し、危険因子として食後高脂血症が注目されている。食後高脂血症の研究においては、食事由来の腸管リポ蛋白であるカイロミクロン (CM) の分泌・代謝の分析が重要である。本研究では組織レベルでの CM の分泌を検討することを目的として、これまでリポ蛋白代謝が検討されてこなかった反転腸管系を用い、分泌されるアポリポ蛋白 B48 (apoB48) およびトリグリセライド (TG) 等の成分測定を試みた。さらに、動脈硬化の抑制に資する食品成分の探索を目的として、脂質代謝への影響が報告されている数種のポリフェノールについて、CM の分泌に与える影響を、反転腸管系での実験と動物個体への投与実験において検討を行った。家兎の小腸切片から反転腸管囊 (sac) を作製し、脂質ミセル溶液に浸漬した後に sac 内に分泌される apoB48 等の測定を行った。動物個体による検討では、成分投与後の apoB48 分泌の経時的変化と長期投与による測定を行った。食品成分としては細胞実験で効果がみられた resveratrol (Res)、genistein (Gen)、curcumin (Cur) を用いた。測定系の確立のための基礎研究において apoB48 分泌は胃に近い小腸切片の sac において高く、大腸側へ向かって減少した。この結果により以降の反転腸管実験は幽門より 20 cm 下方から採取した小腸切片を使用し、各条件に対して部位を振り分けることにより部位間の差を排除した。浸漬時間は、検討の結果 60 分とした。Res、Gen、Cur の添加によりいずれも対照群に比べ apoB48 減少の傾向がみられ、Res、Cur では濃度依存的な減少がみられた。TG 分泌では 3 成分とも対照群に比べ大きな変化はみられなかった。遺伝子発現調節の検討では、Res、Gen 添加において *apob* 遺伝子発現に対照群に比べ減少の傾向がみられ、Cur は *apob*、*apobec1*、*a1cf* 遺伝子発現に濃度依存的な有意な減少がみられた。動物個体に食品成分を投与した検討では、apoB48、TG 分泌の経時的変化、長期投与した場合の apoB48、TG 等分泌において対照群に比べ有意な差はなかった。

本研究において、反転腸管を CM の分泌を定量的に観察する実験系として確立することができた。この系において Res、Gen、Cur について CM レムナント粒子数の減少とサイズの増大が示唆された。また、これらの成分はカイロミクロン apoB48 の合成・分泌を、遺伝子転写と mRNA 編集のレベルで抑制することが明らかとなり、脂質改善、動脈硬化の抑制に関与しうる可能性が示唆された。また、動物個体の検討では、血中脂質濃度に対照群との違いは確認できなかったが、食品成分を長期投与した家兎の大動脈に対照群でみられた動脈硬化病変が抑制されており、これら 3 成分が動脈硬化予防を通じて健康寿命延長の一助になるのではないかと考えられる。

(内容抄録)

目次

略語一覧

第 I 章 序論

第 1 節 背景

1. リポたんぱく質と種差 . . . . 1
2. 脂質代謝に影響を与える食品成分・栄養素 . . . . 4
3. ヒト大腸癌由来培養腸管細胞株 Caco2 を用いた resveratrol、genistein、  
curcumin がカイロミクロン分泌に与える影響の検討 . . . . 8

第 2 節 目的 . . . . 12

第 II 章 実験研究

研究 1

脂質代謝実験のための反転腸管系の確立 . . . . 14

研究 2

家兔反転腸管系によるカイロミクロン apoB48 の合成・分泌に食品成分等が  
与える影響の検討 . . . . 20

研究 3

家兔への食品成分の投与による血漿カイロミクロン apoB48 濃度等への経時  
的影響の検討 . . . . 31

研究 4-1

家兔への食品成分の長期投与による血漿カイロミクロン apoB48 濃度等への  
影響の検討 . . . . 48

研究 4-2

食品成分の長期投与後の家兔の小腸を利用した反転腸管系での検討 . . . . 63

第 III 章 考察 . . . . 66

第 IV 章 総括 . . . . 74

第 V 章 謝辞 . . . . 75

第 VI 章 引用文献 . . . . 76

付表 . . . . 90

## 略語一覧

ACAT : acyl coenzyme A:cholesterol acyltransferase

(アシル CoA コレステロールアシル基転移酵素)

A1CF : APOBEC1 complementation factor (APOBEC1 相補因子)

APOBEC-1 : apolipoproteinB mRNA editing enzyme, catalytic component 1

(アポ蛋白 B mRNA 編集酵素)

CE : cholesterol ester(コレステロールエステル)

CETP : cholesterol ester transfer protein

(コレステロールエステル転送蛋白)

CM : chylomicrons (カイロミクロン)

DG : diacylglycerol (ジアシルグリセロール)

DGAT : diacylglycerol acyltransferase

(ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ)

ER : endoplasmic reticulum (滑面小胞体)

FAT : fatty acid translocase (脂肪酸輸送体)

FABP : fatty acid-binding protein (脂肪酸結合蛋白質)

FC : free cholesterol (遊離コレステロール)

FFA : free fatty acid (遊離脂肪酸)

HDL : high density lipoprotein (高比重リポ蛋白)

HTGL : hepatic triglyceride lipase (肝性リパーゼ)

IDL : intermediate density lipoprotein 中間比重リポ蛋白

LCAT : lecithin:cholesterol acyltransferase

(レシチン・コレステロールアシルトランスフェラーゼ)

LDL : low density lipoprotein (低比重リポ蛋白)

LPL : lipoprotein lipase (リポ蛋白リパーゼ)

LRP : LDL receptor-related protein (LDL 受容体関連蛋白)

MTP : microsomal triglyceride transfer protein

(ミクロゾームトリグリセライド転送蛋白)

NPC1L1 : Niemann-pick C1 Like 1 Protein

TG : triglyceride (トリグリセライド)

VLDL : very low density lipoprotein (超低比重リポ蛋白)

# 第 I 章 序論

## 第 1 節 背景

### 1. リポたんぱく質と種差

食餌から吸収される脂肪、また肝臓や脂肪組織で合成される脂質は循環血中を運搬され、全身の組織で利用される。しかし、脂質は水に溶けないため、リポたんぱく質という水に親和性をもつ形態で輸送される。疎水性の強いコレステロールエステル（以下 CE）、トリグリセライド（以下 TG）を核として、その表面をより極性のあるリン脂質（以下 PL）、遊離コレステロール（以下 FC）が取り囲み、そこにアポたんぱく質が結合した粒子状の構造をしたものがリポたんぱく質である。

リポたんぱく質は、その構成因子や大きさ、比重の違いにより、大きく 4 つに分けられる。(1) 小腸から吸収された TG やその他の脂質に由来するカイロミクロン cyclomicron（以下 CM） (2) TG を他の組織に送り出すための肝臓由来の超低密度リポたんぱく質 very low density lipoprotein（以下 VLDL） (3) VLDL が異化された最後の段階を表している低密度リポたんぱく質 low density lipoprotein（以下 LDL） (4) コレステロールの輸送と、VLDL と CM の代謝にも関与している高密度リポたんぱく質 high-density lipoprotein（以下 HDL）である。これらのリポたんぱく質を特徴づけている構成成分にアポたんぱく質がある。その機能は 2 つあり、(1) 水の多い環境で粒子を安定化させ、構造を維持すること、(2) リポたんぱく質に特異性を与え、そのリポたんぱく質の代謝経路などを決定するための役割である。主として HDL を構成しているものが apoA-I、CM は apoB48、VLDL、LDL は apoB100 である。

小腸で吸収された脂質は小腸壁細胞内で apoB48 に粒子統合され CM となりリンパ管に分泌される。さらに胸管を経て鎖骨下静脈に入り、心臓、肺を経由して全身に運搬され血管内皮細胞表面にあるリポ蛋白リパーゼ (LPL) の作用により主要成分の TG が分解され、遊離脂肪酸 (FFA) は標的細胞内に取り込まれる。これにより CM は粒子径の小さな CM レムナントとなり肝臓に取り込まれ、内部の TG とコレステロールが肝細胞内で利用される。apoB48 は小腸で作られ、apoB100 は肝臓で作られる。apoB48 は apoB 遺伝子の転写時に mRNA が編集酵素 APOBEC1 (apolipoprotein B mRNA

editing enzyme catalytic component I) と APOBEC1 相補因子 A1CF (APOBEC1 complementation factor) の複合体により編集されてできたものである。APOBEC-1 は単独では editing 活性をもたない。APOBEC-1 によるアポ BmRNA 編集とは、アポ BmRNA の 6,666 番目の核酸塩基シチジンが脱アミノ化反応によりウラシルへ変換され、その結果 2,153 番目のコドン CAA (glutamine) が終止コドン UAA と編集され、アポ B100 の N 末端側 2,152 個のアミノ酸からなる短い apoB48 がつくられる<sup>1) 2)</sup>。ヒトを含めてすべての哺乳類では小腸で apoB mRNA editing がみられるが、肝臓は動物により異なり、ヒトでは editing 活性がないが、マウスなどは肝臓で editing 活性が認められる。リポたんぱく質の種差については、後述したい。

肝細胞内で合成された TG とコレステロールは VLDL として肝臓で合成・分泌され他組織に脂質を供給する。肝臓は VLDL を生成、分泌し、他組織に脂質を供給する。VLDL を構成する脂質は、CM レムナントから供給された脂質、LDL, HDL、中間比重リポ蛋白 intermediate density lipoprotein (以下 IDL) などから取り込んだ脂質、FFA から合成された TG などである。VLDL 分泌には apoB100 が必要となる。ApoB100 は肝細胞で生成され、apoB100 とミクロゾームトリグリセライド転送蛋白 microsomal triglyceride transfer protein (以下 MTP) の働きによって脂質を統合し VLDL 粒子が生成される。肝臓から分泌された VLDL は LDL の作用を受けてサイズが小さくなる。VLDL と HDL との間ではコレステロールエステル転送蛋白 (CETP) によって脂質の交換反応がみられる。HDL のコレステロールエステルが VLDL に、VLDL の TG が HDL に転送される。IDL は HTGL によってさらに TG が分解されて粒子サイズの小さい LDL となる。LDL は 1 粒子当たり 1 分子の apoB100 を保有しており、全身組織に発現している LDL 受容体のリガンドとして働き LDL が取り込まれる。

HDL は主に肝臓と小腸で合成され、抹消組織の細胞膜表面から遊離コレステロールを引抜き肝臓に転送する。これが、コレステロール逆転送系であり、抗動脈硬化的に作用するものと考えられる。HDL を構成する apoA-I は主として肝臓と小腸でつくられる。

ここまでヒトの脂質代謝についてあったが、本研究では他の哺乳類の組織や個体を使用しているので実験動物についてもみていきたい。

ウサギ血中のリポ蛋白の組成および代謝がヒトに類似している<sup>3)</sup> が、動物実験によく使用されるマウス、ラットでは脂質代謝、血中におけるリポたんぱく質の構成がヒトと大きく異なる<sup>4)</sup> (Table. 1)。

①ヒトやウサギでは APOBEC1 が肝臓で発現していないが、マウスやラットでは肝臓で発現している<sup>5)</sup> ため内因性リポたんぱく (VLDL、LDL) の構成たんぱくとして apoB48 および apoB100 両方を有する<sup>6)</sup>。ヒトやウサギでは VLDL、LDL の構成たんぱくは apoB100 である。ヒトやウサギでは apoB48 は外因性リポたんぱく (食事由来の脂質を運搬するリポたんぱく) の主要構成たんぱくである。apoB48 を有するリポたんぱくは代謝が極めて速く、両者の血中のリポたんぱく構成が異なっている一因となっている。②マウスやラットでは、肝性リパーゼ (HTGL) が血中に遊離しているため、TG の分解と遊離脂肪酸 (FFA) の組織への受け渡しが異なってくる。③また、マウス、ラットはコレステロールエステル転送蛋白 (CETP) が発現していないため、HDL が抹消組織から回収したコレステロールが LDL 等に渡されず血中の HDL の比率が増大する。さらに高脂血症下で、ウサギの粥状プラークは容易に形成される。

以上のことから、ヒトにおける動脈硬化について研究にあたりウサギの動物モデルはラットやマウスよりも適しているといえる。また、ハムスターもヒトと同じように、肝臓で apoB100 を合成して、apoB48 は合成しないことから VLDL の代謝の研究に使われている<sup>7)</sup>。

	マウス・ラット	ヒト	WHHLMI (ウサギ)
主要リポたんぱく	HDL、VLDL CM レムナント	LDL	LDL
VLDL の構成たんぱく (apoB)	apoB48、apoB100	apoB100	apoB100
APOBEC1 (apoB 編集酵素)	小腸、肝臓	小腸	小腸
肝性リパーゼ	細胞膜から遊離	細胞膜に結合	細胞膜に結合
血中 CETP 活性	無	有	有
食事由来脂質の影響	抵抗性	感受性	自然発症の高脂血症
動脈硬化	抵抗性 Lipid-rich Collagen-poor	感受性 様々な病変	自然発症 様々な病変

Table. 1 脂質代謝と動脈硬化における種差

引用文献<sup>4)</sup>より改変

## 2. 脂質代謝に影響を与える食品成分・栄養素

食品成分、特に食品の機能性成分の効用については様々の研究が行われてきた。1960年以降の日本は高度経済成長期に入り、食物や食品は、生命の維持のためだけでなく、味や香りを楽しむとともに、美味しさが追求されるようになった。その結果、食の嗜好性が重要視されることとなり、様々な食品が市場に出回った。その後、日本は飽食の時代を迎え、食事の摂り過ぎと運動不足による生活習慣病の発症が問題となるようになった。このような状況の中、高齢化社会の到来と食品研究の進歩により、1980年代には、肥満、糖尿病、高血圧、高脂血症といった生活習慣病を予防する食品成分が注目されるようになった。欧米ではこれらの食品をひとつの群として扱う見方はされていなかったが、東京大学農学部の荒井綜一博士らは、疾病のリスクを軽減する食品を「機能性食品」と名付け、1984年に立ち上げられた文部省重点領域機能性食品研究班では、からだに対する食品の機能を次の3つに位置づけた。栄養面でののはたらきを1次機能、嗜好面でののはたらきを2次機能、そして生活習慣病等の疾病の予防面でののはたらきを3次機能とし、この概念を「食品機能論」とした<sup>8)</sup>。食品成分の持つ機能性に関して、特定保健用食品では整腸作用、血糖値の上昇抑制など種々の機能が挙げられている。これらの食品とその機能性の関係は培養細胞を用いた試験、動物実験、ヒト臨床試験などにより確認され、そのメカニズムについての研究も数多くあり解明が進んでいる。また、特定保健用食品に限らず食品に含まれる成分の機能性に関しても非常に多くの報告があり、動脈硬化の予防を目的にも様々な食品成分について血清コレステロール低下作用等の実験・研究が行われてきた。それらについていくつかみていきたい。

主に脂肪・コレステロール吸収に影響しその結果血漿コレステロール濃度が低下させる食品成分としても、まず食物繊維<sup>9) 10) 11) 12) 13) 14) 15)</sup>があげられる。その機序には、胆汁酸の結合およびそれらの腸肝循環への干渉、ミセル形成への干渉、および肝臓コレステロール合成の減少が含まれるが、異なる食物繊維源により機序も異なる可能性を示唆している<sup>11)</sup>。高繊維食と低繊維食とを与え、同時に高低両レベルのコレステロール食を食べさせたヒトでのクロスオーバー実験では、高繊維食では高低両レベルのコレステロール食で血中コレステロールの低下を認めている<sup>10)</sup>。しかし、メタ分析により種々の水溶性食物繊維は総コレステロールおよびLDLコレステロールを減少させるが、実際の摂取量の範囲ではその効果は小さいとしている



ものもある<sup>13)</sup>。動物性のカニやエビの殻の成分であるキチンから調整されるキトサンは、グルコサミンポリマーである食物繊維に分類される。キトサンは通常の食物繊維よりも強い胆汁酸結合能力をもつので、胆汁酸ミセル形成は強く阻害され血漿コレステロール濃度低下作用を発揮する<sup>14) 15)</sup>。高コレステロール血症の治療に使用される製剤コレステラミンと同等のオレイン酸、コレステロール吸収阻害の効果<sup>14)</sup>、また高脂肪食によって増加した肝臓コレステロールを通常食餌摂取時のレベルに低下させる効果<sup>15)</sup>が報告されている。

大豆蛋白質の摂取では動物性蛋白質であるカゼインに比べ、血清コレステロール低下が観察されているとの報告がある<sup>16) 17)</sup>。蛋白質は胃や小腸でペプシンやトリプシンなどによって消化されるが、大豆蛋白質ではこの消化に抵抗するペプチドが小腸内腔に生成し、胆汁酸を吸着する能力をもつ。これにより食物繊維の場合と同様に血漿コレステロール濃度低下作用を引き起こす。また、結合したリン脂質を有する大豆タンパク質の加水分解物は、ラットおよび caco-2 細胞におけるミセル溶解性およびコレステロール吸収を減少させるとの報告がある<sup>18)</sup>。

茶に含まれるカテキン類（エピカテキン、エピガロカテキン、エピカテキンガレートおよびエピガロカテキンガレート）は抗酸化物質として知られ、抗癌作用、高血圧抑制作用など多くの生理作用を発揮する。血漿コレステロール濃度低下作用<sup>19) 20) 21) 22)</sup>もあり、ラットに茶カテキン類を摂取させると小腸でのコレステロール吸収が阻害され糞便中への排泄が増加する<sup>21)</sup>。この作用はエピガロカテキンガレートがもっとも強い。エピガロカテキンガレートは消化管におけるコレステロールのミセル可溶化を妨害し、コレステロール吸収を減少させることを示唆している<sup>22)</sup>。また、ジャスミン緑茶から単離された緑茶エピカテキンの用量依存的な血中脂質低下作用の報告がある<sup>21)</sup>。

ゴマに含まれるセサミンやエピセサミンなどのリグナン類は、血漿コレステロール濃度低下作用<sup>23) 24)</sup>、抗癌作用、抗炎症作用およびアルコール分解促進作用など多彩な生理作用を発揮する。セサミンの作用はカテキンと類似しており、胆汁酸ミセルに溶解したコレステロールを沈殿させることによりコレステロール吸収を妨害する。脳卒中易発症系高血圧自然発症ラットでの検討で、セサミンとエピセサミンの両方が血清総コレステロールの濃度を有意に上昇させているが、これは HDL の増加によるもので、VLDL は効果的に減少させている<sup>25)</sup>。さらに、セサミンは肝臓におけるコレステロールの蓄積を防止し、エピセサミンは apoA-I の増加および、apoB

の減少を伴う血清リポ蛋白代謝を改善しており血清および肝臓におけるコレステロール代謝の調節に有効であるとしている<sup>25)</sup>。

1,3-ジアシルグリセロール (DAG) は血清脂質濃度を低下させ、また体脂肪を減少させる素材として特定保健用食品に認定されている。ラットにおいて DAG は血清中性脂肪濃度を低下させる<sup>26)</sup>。ヒトを用いた試験でも DAG が血清中性脂肪あるいはコレステロール濃度低下を引き起こすこと、さらに抗肥満効果を発揮することが示されている<sup>27) 28)</sup>。その他、中鎖脂肪酸とリノール酸あるいは n-3 脂肪酸を含む構造脂質またココナツ油から合成された n-6 脂肪酸を含む構造脂質が動物実験において血清脂質濃度低下作用を示す。

ある種のオリゴ糖は動物実験で血清脂質濃度を低下させる。フラクトオリゴ糖がラットにおいて血清脂質濃度を低下させる<sup>29)</sup>。その機能発現機構として血清インスリン濃度低下と肝臓の脂肪酸合成低下が報告されている<sup>29)</sup>。その他、動物実験で血清脂質濃度低下作用を示すオリゴ糖として、キトサンオリゴ糖、アルギン酸オリゴ糖、セロオリゴ糖などがある。

2016 年、L-55 乳酸菌が脂質代謝に与える影響について検討し報告した<sup>30)</sup>。L-55 の添加により生菌、死菌の添加ともに apoB48 の合成と分泌の減少がみられた。一方、生菌と死菌の間では、添加における apoB48 分泌の減少に有意な差はみられなかった。さらに乳酸菌とともに添加したフラクトオリゴ糖の有無による比較では差はみられなかった。乳酸菌においては 1974 年 Mann と Spoerry らがマサイ族を対象にした試験において初めて発酵乳の血清コレステロール低下作用を報告<sup>31)</sup> した後、多くの研究が行われている。発酵乳は血清コレステロールの低下作用があるという報告<sup>32) 33) 34) 35) 36)</sup> と、作用が認められないという報告<sup>37) 38)</sup> がある。これについては血清コレステロール低下作用におよぼす影響は菌株の違いに依存するものであったとの報告<sup>39) 40)</sup> もあり、特定の菌株についての血清コレステロール低下作用を検討した報告<sup>41) 42) 43) 44)</sup> がある。コレステロール低下作用の機序については、乳酸菌にコレステロールや胆汁酸吸着能があるとの報告<sup>39) 45)</sup> や、胆汁酸脱抱合作用による胆汁酸の腸管吸収阻害<sup>46) 47)</sup> や、糞便中にコレステロールや胆汁酸の排泄量が増加するなどの報告<sup>48) 49)</sup> がある。また、Ley らは乳酸菌が腸においてコレステロールをコプロスタノールに変換することでコレステロールを低下させるとの報告<sup>50)</sup> をしている。

種々のフラボノイドが血清脂質低下作用<sup>51)</sup> を示す。その中で、大豆イソフラボ

ンが脂質代謝調節機能を有することが数多く報告されている<sup>52) 53) 54) 55) 56) 57)</sup>。本研究では大豆イソフラボンの成分であるゲニステインについても様々な検討を行ったので、これらの報告については考察で述べることとする。ケルセチンの生理作用に関して、培養腸管細胞モデルでの apoB 分泌抑制<sup>58)</sup>、動物実験での血清コレステロール低下作用<sup>51) 59)</sup>、血清 TG 低下作用<sup>60)</sup>がある。

以上一部の紹介ではあるが、種々の成分について様々な研究がなされてきた。これらの成分について Caco2 細胞株を用いて CM 分泌の網羅的な検討を行ったのち、ポリフェノール構造をもつ 3 成分に絞りさらなる検討を行った。詳細については、背景の 3 にて述べることとする。

### 3. ヒト大腸癌由来培養腸管細胞株 Caco2を用いた resveratrol、genistein、curcumin がカイロミクロン分泌に与える影響の検討<sup>61)</sup>

先行研究において、CM 分泌抑制を通じて動脈硬化予防に効果がある食品成分の探索を目的として、極性培養において吸収上皮様性質を示すヒト大腸癌由来の腸管細胞株 Caco-2 を用いて食品成分が腸管細胞における脂質代謝にどのような影響を与えるか検討した。まず、血清脂質低下作用等の脂質代謝に影響がある示唆されている食品成分や栄養素について Caco2 細胞を用いて網羅的検索を行い、apoB48 分泌が対照に比べ顕著に減少した以下の 3 成分、ワインポリフェノールの resveratrol (以下 Res)、大豆イソフラボンの genistein (以下 Gen)、うこん (ターメリック) の成分である curcumin (以下 Cur) についてさらなる検討を行った。

多孔膜メンブレンをもつ二重底培養ディッシュを用いヒト大腸癌由来の腸管細胞株 Caco2 を極性培養し、胆汁酸を加えて超音波処理した脂質ミセルと食品成分を上部槽に添加し腸管細胞に吸収させ、その結果下部槽に分泌される CM の ApoB-48 の定量を行った。Res、Gen、Cur の 3 成分について終濃度 20、80、140、200  $\mu\text{M}$  で apoB48 分泌への濃度依存性を検討した。ApoB48 は共通の遺伝子からなる apoB100 の部分ペプチドで CM の構成たんぱくの一部である。ApoB48 の測定には C 末端部分の合成ペプチドを用いて松島らが樹立した apoB48 特異的モノクローナル抗体の ELISA 法で行った。併せて、apoB100、ApoA I、トリグリセライド (以下 TG) の定量を行った。また、Caco2 細胞の *apob*、*apob* の editing に関与する *apobec1*、*apobec1* 相補因子 *alc*f、その他 CM 分泌に関連した蛋白遺伝子 (*mttp*、*fabp1*、*npc111*) 転写発現についても検討した。

ApoB48 の測定の結果、Res、Gen、Cur3 成分とも濃度依存的に ApoB-48 の分泌が減少した (図. 1)。TG 分泌では micelle のみに比べ Cur の 140  $\mu\text{M}$ 、200  $\mu\text{M}$  添加でのみ顕著な減少がみられた (図. 2)。TG と apoB48 の比では Res と Gen の添加で濃度依存的に増加した (図. 3) (ヒト血漿 TG/ApoB-48 比 : 0.65~1300 mg/ $\mu\text{g}$ )。

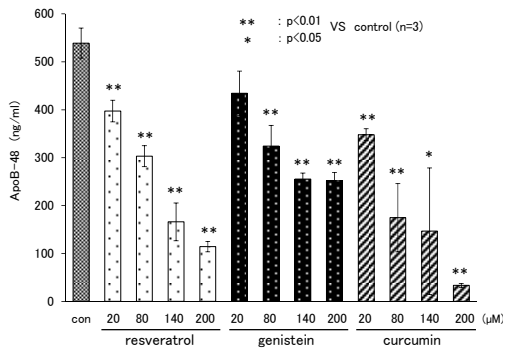


図 1 resveratrol, genistein, curcumin が ApoB48 分泌に与える濃度依存性

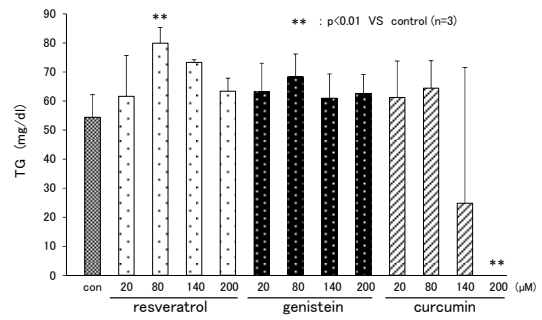


図 2 resveratrol, genistein, curcumin が TG 分泌に与える濃度依存性

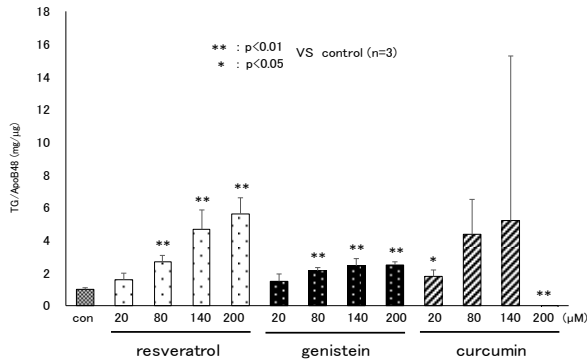


図 3 resveratrol, genistein, curcumin が TG/ApoB48 の比に与える濃度依存性

3成分のいずれの添加においても apoB100 の分泌は見られなかった。ApoA-I の分泌においては Res と Gen の添加で若干の濃度依存的な減少がみられ、Cur の添加では顕著な濃度依存的な減少が見られた (図 4)。

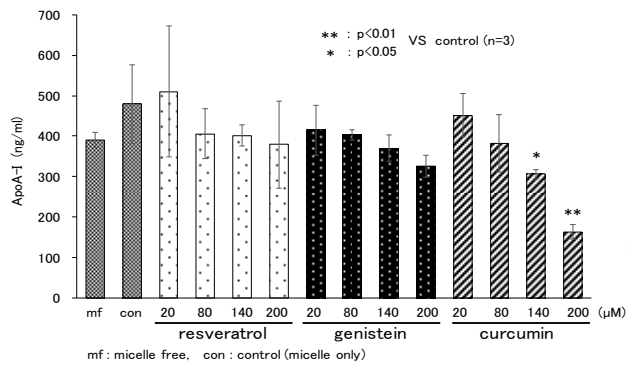


図 4 resveratrol, genistein, curcumin が ApoA-I 分泌に与える影響

遺伝子の測定では *apob* (アポ蛋白 B)、*apobec1* (シチジンデアミナーゼ)、*a1cf* (APOBEC1 相補因子) の発現において 3 成分ともコントロールに比べ減少が見られた (図 5, 6, 7)。そのうち、*apob* の Cur と *apobec1* の Res、Gen、*a1cf* の 3 成分添加で濃度依存的減少が見られた。

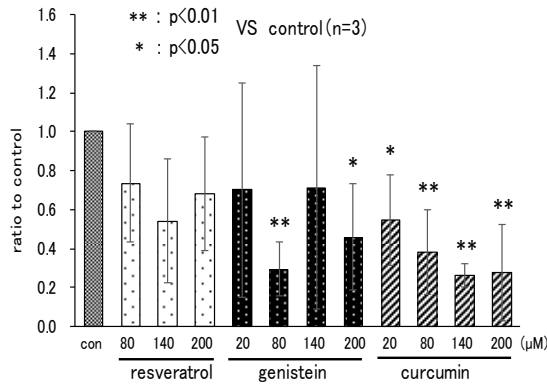


図 5 resveratrol, genistein, curcumin が *apob* (アポ蛋白 B) 発現に与える影響

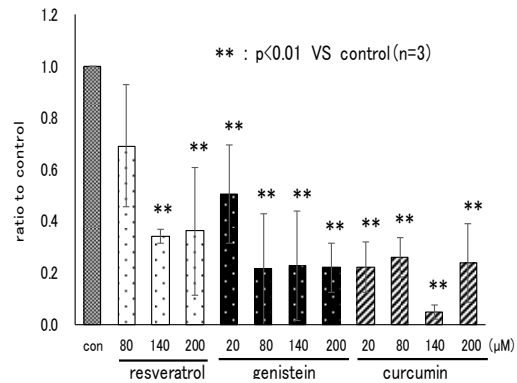


図 6 resveratrol, genistein, curcumin が *apobec1* (シチジンデアミナーゼ) 発現に与える影響

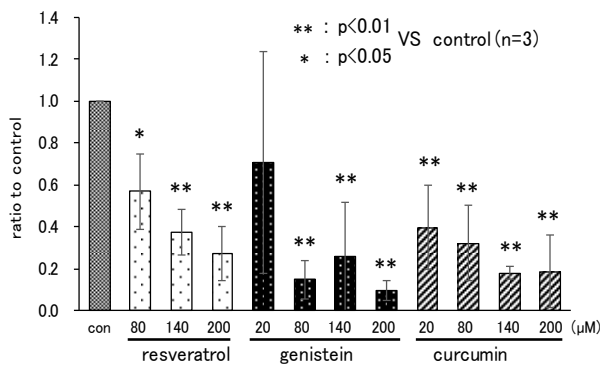


図 7 resveratrol, genistein, curcumin が *a1cf* (APOBEC1 相補因子) 発現に与える影響

Res、Gen、Cur 添加により ApoB-48 の合成と分泌の減少がみられたが、apoB48 は CM 1 粒子に対して 1 分子存在しているため、apoB48 の減少は分泌された CM の粒子数の減少を反映していると考えられた。Res と Gen 添加で TG の分泌量に変化がないことから、両者の添加により分泌される CM は、粒子数が減少する一方でサイズが大型化していると考えられた。CM は 1 粒子当たりのサイズが大型化しても、体内では、リポ蛋白リパーゼの活性が正常であれば、CM トリグリセライドの水解は、非飽和的に進行すると考えられるので、水解の後には、サイズが正常の、少数の CM レムナント粒子が産生されると考えられる。CM レムナントは粒子状のアポ蛋白 E を介して肝臓

のレムナント受容体に結合し、通常、速やかに代謝されるが、代謝が遅滞して粒子数が増えると、動脈内膜のマクロファージのスカベンジャー受容体に結合し、コレステロール蓄積の要因となることが知られている。一方 apoA-I 分泌では Cur の添加において濃度依存的減少が見られた（図 4）が、コレステロールの逆転送の役割を持つ HDL の構成アポ蛋白である apoA-I の減少は臨床的にはあまり好ましいことではない可能性もある。

ApoB48 分泌の減少については遺伝子の解析より Res、Gen、Cur の添加による遺伝子 *apob* の減少とさらに *apob* を B48mRNA に編集する転換酵素 *apobec1* の減少によるものと考えられたが、apoB48 の濃度依存的減少を説明するには十分ではなかった。APOBEC1 は単独では十分な apoB48mRNA 編集活性をもたず、効率的な編集には APOBEC1 相補因子 AICF の結合を必要とする。*a1cf* の発現には濃度依存的な減少がみられ（図 7）、apoB48 の分泌の濃度依存的減少は *a1cf* の発現の濃度依存的減少を反映するものと考えられた。

以上のとおり、これらの食品成分は、Caco2 を用いた検討において CM レムナント粒子数の減少を介し動脈硬化抑制的に働く可能性が示唆された。また、遺伝子 *apob*、*apobec1*、*a1cf* の転写発現についてはコントロールに比べ、3 成分ともすべての濃度において有意な減少、または減少の傾向がみられた。このことから Res、Gen、Cur はカイロミクロン apoB48 の合成・分泌を、遺伝子転写と mRNA 編集のレベルで抑制することが明らかとなり、脂質改善、動脈硬化の抑制に関与しうる可能性が示唆された。

## 第2節 目的

近年、食生活の変化と高齢化に伴い心血管障害が増加し、その原因としてのメタボリックシンドロームや動脈硬化への対策が必要とされている。これらの発症リスクとしては肥満、内臓脂肪、LDL コレステロール、インスリン抵抗性などが挙げられているが、いずれも食事性脂質の関与が大きく、特に食後高脂血症の影響が注目されている。食後高脂血症の研究において、食事由来の腸管リポ蛋白であるカイロミクロン（以下 CM）の分泌・代謝の分析が重要になってきている。食事由来の腸管リポ蛋白であるカイロミクロン（以下 CM）はリポ蛋白リパーゼ（以下 LPL）によって水解されることにより CM レムナントとなり、肝臓においてレムナント受容体に結合して取り込まれる。CM レムナントは以前から言われているように動脈硬化の発症リスクとなる<sup>62) 63) 64) 65) 66)</sup>が、本研究では CM レムナントの前駆体である CM に着目し研究を進めた。CM の分析には CM 1 粒子当たり 1 分子存在している CM 粒子を統合するアポ蛋白 B48（以下 apoB48）<sup>67)</sup>の測定が必要であるが、apoB48 は apoB100 の部分蛋白であるため単独では測定できなかった。2005 年 Matsushima らは apoB48 の C 末端の合成ペプチドを用いて apoB48 特異的モノクローナル抗体を樹立して ELISA 系を開発し、apoB48 の定量測定を可能とした<sup>68)</sup>。

これまで脂質代謝の研究においては、培養細胞系<sup>61) 69)</sup>やヒトや実験動物を使つての報告<sup>70) 71)</sup>はみられるが、腸管組織レベルにおいて脂質の代謝を観察した報告は乏しく、さらに CM 分泌を直接的に分析した検討はみられない。本研究では家兎の小腸の反転腸管系を用いて、組織での CM 分泌を観察する方法を検討した。

反転腸管系は、1954 年に Wilson & Wiseman がラットとハムスターの腸管を用いてブドウ糖吸収の研究を報告<sup>72)</sup>して以降、ビタミン<sup>73)</sup>、薬剤<sup>74) 75)</sup>、ミネラル<sup>76)</sup>、ホルモン<sup>77)</sup>、リン酸の取り込み<sup>78)</sup>等について検討されている。脂質の代謝についてもハムスター、ラット、ウシの反転腸管を用いた報告<sup>79) 80) 81) 82)</sup>があるが、その分泌量を定量的に検討している研究はない。また、動物個体を用いた研究においても血漿 apoB48 濃度を定量的に検討している報告はない。

本研究では、動脈硬化の抑制に資する食品成分を探索するために、①反転腸管を用いた CM 測定系を確立する。② 確立した反転腸管の測定系を用いて、食品成分が脂質代謝に与える影響を観察することとし、2015 年に培養細胞を用いて検討した<sup>61)</sup>脂質代謝に影響を与えるとされる Res、Gen、Cur を複数の濃度で添加して、CM の分



泌に与える影響を検討する。③ 動物個体を用いた検討として Res、Gen、Cur を投与して血漿 CM 濃度に与える経時的変化と、家兔に食品成分を長期投与し血漿 CM 濃度に与える影響を検討することを目的とする。

## 第Ⅱ章 実験研究

### 研究 1 脂質代謝実験のための反転腸管系の確立

#### 【目的】

脂質代謝を検討する反転腸管を用いた測定系の確立すること、さらに実験条件についての検討を行う。

#### 【方法】

##### 1. 実験材料(実験動物・試薬)

実験動物は New Zealand White rabbit 雄 8 週齢～ (体重 2.0～3.0 kg) を用いた。試薬は medetomidine (ドミツール、日本全薬工業)、midazolam (ドルミカム、アステラス製薬)、butorphanol tartrate (ベトルファール、明治製菓ファルマ)、aprotinin (アプロチニン溶液、和光純薬)、resveratrol (東京化成) (以下 Res)、genistein (東京化成) (以下 Gen)、curcumin (和光純薬) (以下 Cur) を用いた。腸管の反転に用いた経口ゾンデは、ディスポーザブルフィーディングニードル (エグゼック) を用いた。

尚、本研究は実践女子大学生生活科学部動物実験委員会の審査、承認を受けて実施した。

##### 2. 漿膜側 serosal side の培地の調製

反転腸管囊 (以下 sac) の内腔に分注する漿膜側の培地は、DMEM 培地「ニッスイ」(日本製薬株式会社) に 10%ウシ胎児血清 (FBS) (GIBCO)、10%  $\text{NaHCO}_3$  を加えて作製し、アプロチニンを 145 KIU/ml で添加した。

##### 3. 粘膜側 mucosal side 脂質ミセルの調製

脂質ミセルは培養実験に用いたもの<sup>83)</sup> に準じ培地 1 ml あたり 100 mM oleic acid (シグマ) (以下 OA) 6  $\mu\text{l}$ 、25 mM cholesterol (シグマ) (以下 Chol) 2  $\mu\text{l}$ 、100 mM 2-monooleoylglycerol (シグマ) (以下 2-MO) 2  $\mu\text{l}$ 、100 mM phosphatidylcholine (シグマ) (以下 PC) 2  $\mu\text{l}$ 、100 mM lysophosphatidylcholine (シグマ) (以下 LPC) 2  $\mu\text{l}$  を試験管内で混合し窒素下で乾燥した。DMEM (FBS- に溶解した胆汁酸 (24 mM sodium

taurocholate (SIGMA) (以下 Tau) を培地 15 ml (1 本) あたり 1240  $\mu$ l 分注し超音波槽 (ULTRASONIC300, J. M. NEY COMPANY) で 10 分間処理した。さらに 1 本 15 ml になるように DMEM (FBS-) を加えて、1 分間超音波処理し脂質ミセルを作成した。培地中の最終濃度は以下の通りである。OA : 600  $\mu$ M、 Chol : 50  $\mu$ M、 2-MO : 200  $\mu$ M、 PC : 200  $\mu$ M、 LPC : 200  $\mu$ M、 Tau : 2 mM

#### 4. 脂質ミセルに添加する食品成分の調製

食品成分 Res、 Gen、 Cur は DMSO に 200 mM に溶解して用いた。

#### 5. 反転腸管の作製<sup>72) 84)</sup>

家兔は 3 種混合麻酔薬 (medetomidine 0.5 mg/ml、 midazolam 2.0 mg/ml、 butorphanol tartrate 0.5 mg/ml)<sup>21)</sup> を 1.0~3.0 ml/kg 体重の麻酔下に正中切開にて開腹した。小腸は胃から 20 cm を残し上部 (胃側) より順次 6.5 cm ずつ約 30 個の切片を作成した。経口ゾンデを切片内腔に挿入し、先端を結紮して引き抜くことにより反転し、もう一方の片端を結紮し反転腸管囊 (sac) を作製した (Fig. 1-1)。漿膜側 (内部) に 2. で作製した培地を sac 1 本あたり 300~400  $\mu$ l 分注した。

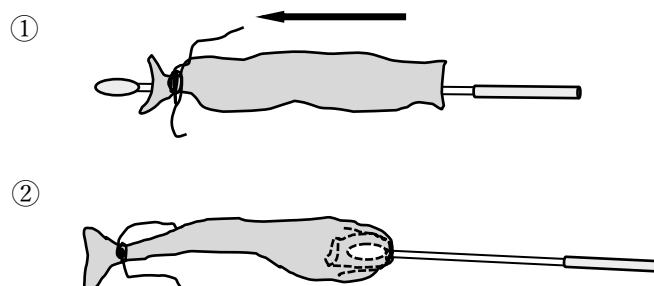


Fig.1-1 反転腸管囊の作製方法

- ① 経口ゾンデに小腸を挿入し、先端側を結紮する。  
腸を引き抜きながら反転させる。
- ② もう片側を結紮する。

#### 6. 反転腸管の実験

脂質ミセル溶液を分注したコンカルチューブを 37°C に孵置し、酸素注入下で 15~300 分間 sac を浸漬した。Sac 内の培地を回収し、-20°C にて保存した。

## 7. 実験条件と粘膜側の条件による実験デザイン

### 1) 用いた腸管切片の部位による検討

腸管切片は胃側から大腸側にむかって順に位置をラベルして識別し、sac を作成した。Sac を脂質ミセル溶液に 60 分間浸漬した後、漿膜側の培地を回収した。

### 2) 浸漬時間の検討

Sac を脂質ミセル溶液に 15 分、30 分、60 分、180 分、300 分間浸漬し、漿膜側の培地を回収した。切片は 1) の結果より幽門より下方から採取し、小腸上方から下方にかけ均等になるように振り分けた。

### 3) 添加する脂質溶液の種類による影響の検討

Sac を、脂質ミセル 10.5 ml、脂質ミセル 5.25 ml+牛乳 5.25 ml、牛乳 5.25 ml +DMEM 5.25 ml に浸漬し、60 分後に漿膜側の培地を回収した。

## 8. ApoB48 およびトリグリセライド（以下 TG）の測定

Sac 内の培地中の apoB48 は、試料を 5 倍希釈し ELISA 法により測定した。測定には Rabbit ApoB-48 ELISA KIT（Shibayagi, Japan）を用いた。TG は glycerol-3-phosphate oxidase を用いた酵素法「トリグリセライド E-テストワコー」（GPO・DAOS 法）で測定した。いずれも測定操作については製造者のプロトコールに従って行った。

## 9. 統計処理

統計処理は、分散分析ののち Tukey 法にて多重比較を行った。p < 0.05 を有意差有りとした。

## 【結果】

### 1. 用いた腸管切片の部位による検討

ApoB48 の分泌は胃側から順番に作製した sac で 4-6sac 目まで増加して最大となり、以降、大腸側へ向かい徐々に減少した。TG の分泌では 7-9sac 目まで増加して最大となり、以降、徐々に減少した。TG/ apoB48 比は小腸の上部から中部に向けて比が大きくなり、下部に向かって徐々に小さくなった。(Fig.1-2) (Table. 2)

この結果から、以降の反転腸管実験は幽門より 20 cm より下方から採取した小腸切片を使用した。

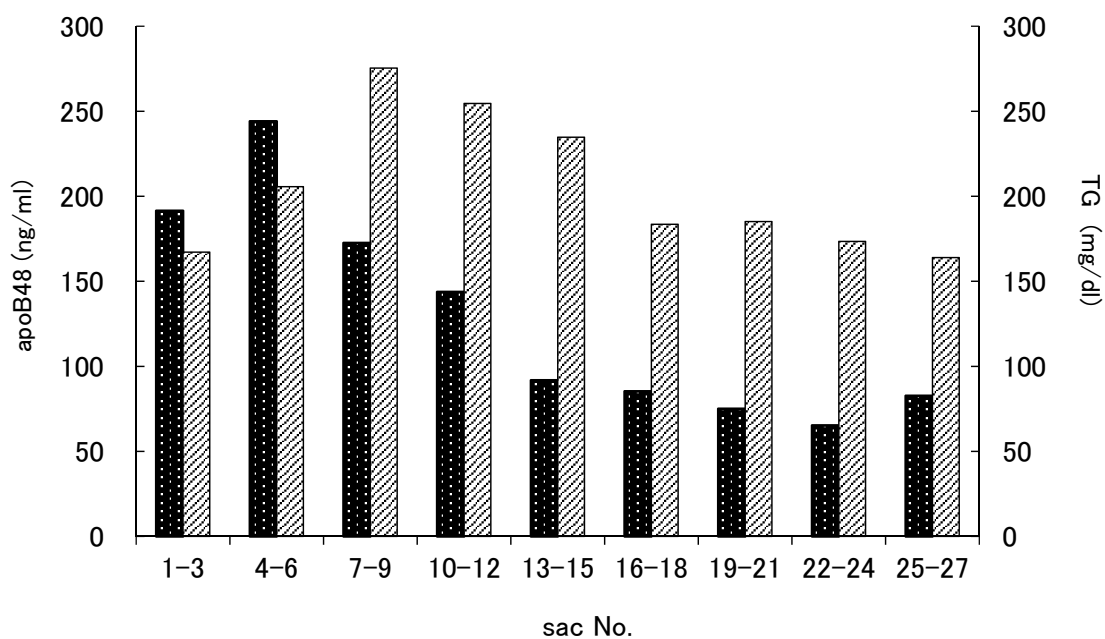


Fig.1-2 転腸管囊の作成に用いた腸管切片の部位による apoB48 および TG 分泌の検討

胃の幽門直下から採取した Rabbi 小腸切片 6.5 cm を反転して作製した sac(中に培地を分注)を脂質ミセルに 1 時間浸漬した後、sac 内の培地の ApoB48 と TG 濃度を測定した。反転腸管囊は胃側から大腸側に向けて No.1-27 とした。

■ apoB48    ▨ TG

## 2. 浸漬時間の検討

脂質ミセルに浸漬して行った検討の結果、apoB48 分泌は浸漬時間に伴って増加したが、30分と60分の浸漬時間では顕著な変化はなかった。TG 分泌は浸漬時間の増加に伴って有意に増加した。TG/apoB48 比は、60分後まで増加し、180分以降は大きな変化はなかった。(Fig. 1-3) (Table. 3)

この結果から、以降の反転腸管実験は浸漬時間 60分とすることにした。

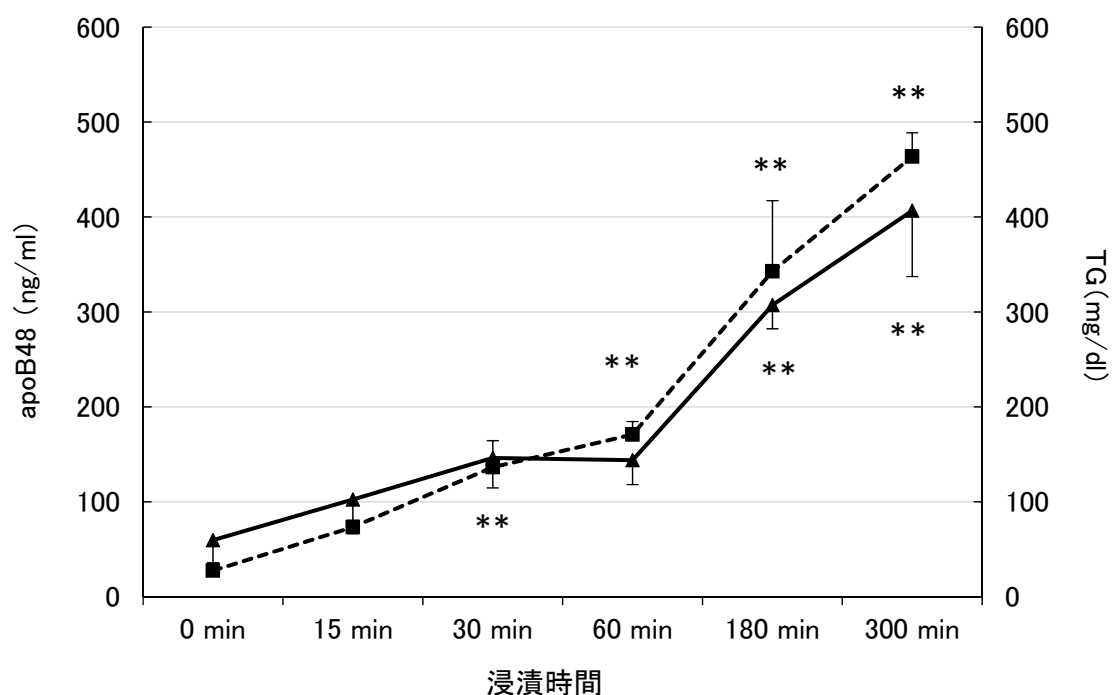


Fig.1-3 反転腸管囊の脂質ミセル浸漬時間による apoB48 および TG 分泌の検討

胃の幽門より 20cm 下方から採取した Rabbit 小腸切片 6.5 cm を反転して作製した sac (中に培地を分注) を脂質ミセルに浸漬した後、sac 内の培地の ApoB48 と TG 濃度を測定した。脂質ミセルへの浸漬時間は 0 分、15 分間、30 分間、60 分間、180 分間、300 分間とした。

—▲— apoB48    - -■- - TG

\*\* :  $p < 0.01$  VS 0 分 (n=4)

### 3. 添加する脂質の種類による影響の検討

ApoB48 分泌は、脂質ミセルのみの溶液への浸漬に比べ、ミセル+牛乳、牛乳を加えた溶液への浸漬において低値であった。TG 分泌ではミセルのみの溶液へ浸漬に比べ、ミセル+牛乳において高値、牛乳を加えた溶液への浸漬において有意に高値であった。(Fig. 1-4) (Table. 4)

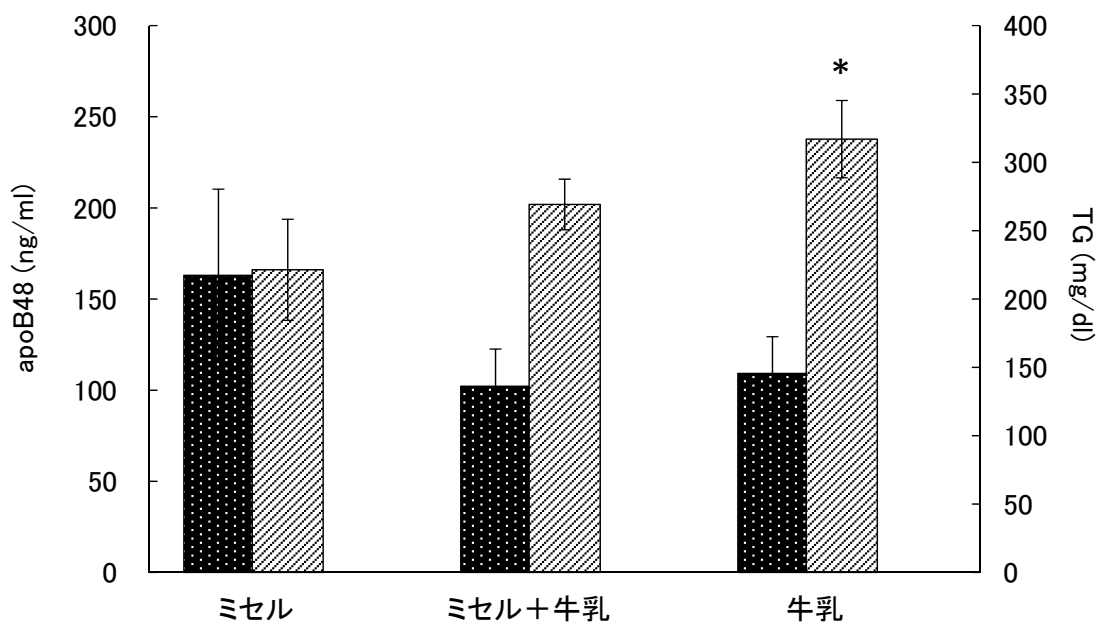


Fig.1-4 脂質溶液の種類による apoB48 および TG 分泌の検討

Rabbit 小腸を用いて作製した sac を脂質ミセル、脂質ミセル+牛乳、牛乳に各々浸漬した後、sac 内培地を回収し apoB48 と TG を測定した。

■ apoB48    ▨ TG                      \* : p < 0.05 vs 脂質ミセル (n=3)

## 研究 2 家兔反転腸管系によるカイロミクロン apoB48 の合成・分泌に食品成分等が与える影響の検討

### 【目的】

家兔反転腸管系を用いて、食品成分がカイロミクロンの代謝に与える影響の濃度依存性を観察する目的で検討を行った。

### 【方法】

#### 1. 実験材料(実験動物・試薬)

実験動物は New Zealand White rabbit 雄 11 週齢 (体重 2.0~2.3 kg) を用いた。試薬は medetomidine (ドミツール、日本全薬工業)、midazolam (ドルミカム、アステラス製薬)、butorphanol tartrate (ベトルファール、明治製菓ファルマ)、aprotinin (アプロチニン溶液、和光純薬)、resveratrol (東京化成) (以下 Res)、genistein (東京化成) (以下 Gen)、curcumin (和光純薬) (以下 Cur) を用いた。腸管の反転に用いた経ロゾンデは、ディスポーザブルフィーディングニードル (エグゼック) を用いた。

#### 2. 漿膜側 serosal side の培地の調製

研究 1 と同じ方法で行った。

#### 3. 粘膜側 mucosal side 脂質ミセルの調製

研究 1 と同じ方法で行った。

#### 4. 脂質ミセルに添加する食品成分の調製

食品成分 Res、Gen、Cur は DMSO に濃度 200 mM、400 mM (添加終濃度の 1000 倍濃度) に溶解して用いた。

#### 5. 反転腸管の作製<sup>72) 84)</sup>

研究 1 と同じ方法で行ったが、sac 中に分注した培地は 400  $\mu$ l とした。

#### 6. 粘膜側溶液への食品成分の添加による影響の検討



4で調製した食品成分溶液を最終濃度100、200、400 μMになるように脂質ミセル溶液に添加した。Sacを食品成分が添加された脂質ミセル溶液に小腸上方から下方にかけ均等になるように振り分け、各々5 sac 浸漬した。脂質ミセル溶液を分注したコニカルチューブを37°Cに孵置し、酸素注入下で60分間 sac を浸漬した。Sac内の培地を回収し、-20°Cにて保存した。組織は採取し、RNAlater®Solution (Ambion、USA)に浸漬して-20°Cにて保存した。

## 7. ApoB48の測定

ApoB48は研究1と同じ方法で測定した。測定操作については製造者のプロトコールに従って行った。

## 8. TG、総コレステロール(TC)、low-density lipoprotein(LDL)、high-density lipoprotein(HDL)の測定

Sac内の培地中のTG、TC、LDL、HDLは各々LabAssay™ Triglyceride (GPO・DAOS method) (Wako, Japan)、LabAssay™ Cholesterol (Cholesterol Oxidase・DAOS method) (Wako, Japan)、Lタイプワコー LDL-C・M (選択消去法) (Wako, Japan)、HDL-コレステロールE-テストワコー(リンタンングステン酸・マグネシウム塩沈殿法) (Wako, Japan)で測定した。測定操作については製造者のプロトコールに従って行った。LDL測定における検量用試料はマルチキャリブレーター リッピド (Wako, Japan)を使用した。

## 9. 遺伝子発現調節の測定

(1) total RNAの抽出、cDNAの合成、cDNA・プローブの分注

採取した小腸組織はtotal RNAをRNeasy Plus Mini Kit (50) (キアゲン) および QIAshredder™ (50) (キアゲン) を用いて抽出した。cDNAはHigh Capacity RNA-to-cDNA Kit (Applied Biosystems) を用いて調製した。Apolipoprotein B, 編集酵素 APOBEC1, APOBEC1 相補因子 A1CF、18s, actinβ、ApoA1、コレステロール輸送体 NPC1L1、核内受容体 PPARγ の遺伝子発現を測定した。

各遺伝子に対するプライマー・プローブの Assay ID

(Applied Biosystems Inc)

18s : Hs99999901

*β-actin* : 0c03824857  
*apob* : 0c04096494  
*apobec1* : 0c03398100  
*alcf* : Hs00205840  
*apoA1* : 0c03399269  
*npc111* : 0c03397596  
*ppar γ* : 0c03397329

各プライマー・プローブ 1 μl と調製した cDNA 1.9 μl を TaqMan Fast Advanced Master Mix (Applied Biosystems) 10 μl と混合し、TaqMan array96-well plate に分注した。

(2) real-time PCR (polymerase chain reaction:ポリメラーゼ連鎖反応) による遺伝子測定

ABI PRISM® 7000 Sequence Detection System (Applied Biosystems) を用い、50°C で 2 分間の Hold、95°C で 3 秒の変性、60°C で 30 秒のアニーリングと伸長反応を 40 サイクル行い、cDNA を増幅した。

(3) 比較定量法

β-アクチンを内在コントロールとして用い、control の発現を 1 とし各々の遺伝子発現量を比較した。この  $\Delta\Delta Ct$  法は 1 サイクルの検出の違いで 2 倍量の差であるという理論に基づいて算出する方法で、検量線作成が不要のため多サンプルの処理が可能である。 $\Delta\Delta Ct$  法の成立条件は①ターゲット遺伝子と内在性コントロールの PCR 効率がほぼ等しい希釈によって  $\Delta Ct$  値が変動しない = 検量線の傾きが等しい。②PCR 効率が 1 に近い。ということである。

算出方法

- 1)  $\Delta Ct$  値 = [標的遺伝子の Ct 値] - [内在性コントロール遺伝子の Ct 値]
- 2)  $\Delta\Delta Ct$  値 = [各サンプル遺伝子の  $\Delta Ct$  値] - [対照群遺伝子の  $\Delta Ct$  値]
- 3) 対照群遺伝子に対する相対比 =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$

## 10. 統計処理

統計処理は、分散分析ののち Tukey 法にて多重比較を行った。p < 0.05 を有意差有りとした。

## 【結果】

### 1. ApoB48 の測定結果

ApoB48 分泌では、3 成分とも対照群に比べて減少の傾向が見られた。Res、Cur 添加では、濃度依存的な減少がみられ、Res400  $\mu\text{M}$  や Cur200  $\mu\text{M}$  では各々 28.5%、38.9% 減であった。(Fig. 2-1) (Table. 5)

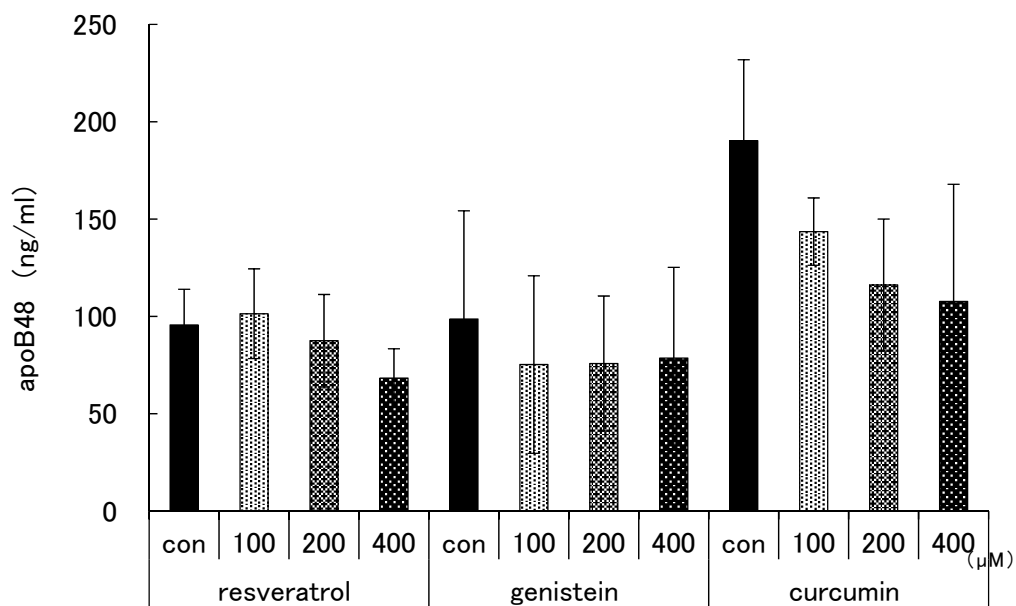


Fig.2-1 食品成分がapoB48 分泌に与える影響(反転腸管系を用いた検討)  
食品成分 resveratrol、genistein、curcumin を各々終濃度 100  $\mu\text{M}$ 、200  $\mu\text{M}$ 、400  $\mu\text{M}$  になるように添加した脂質ミセルに家兔小腸の sac を浸漬した後、sac 内の培地の apoB48 を測定した。(n=5)

## 2. TG の測定結果

TG 分泌は 3 成分とも対照群に比べ、大きな変化はなかった (Fig. 2-2) (Table. 6)。ApoB48、TG 測定の結果より、TG/apoB48 比は、3 成分とも対照群に比べ増加した (Fig. 2-1、2-2)。

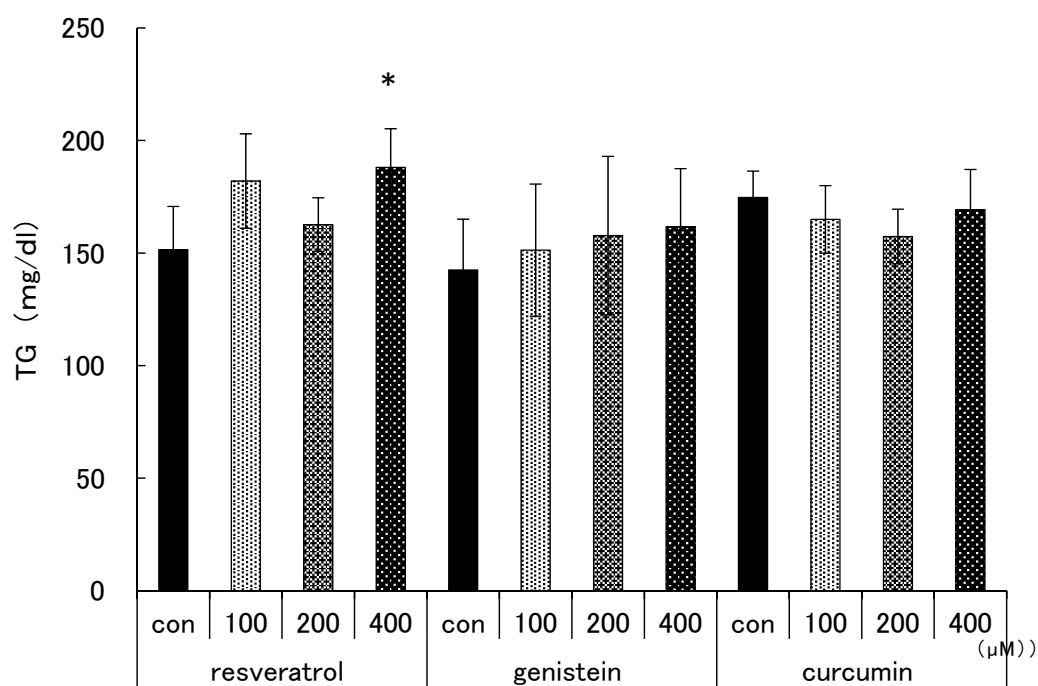


Fig.2-2 食品成分が TG 分泌に与える影響の検討 (反転腸管系を用いた検討)  
食品成分 resveratrol、genistein、curcumin を各々終濃度 100 μM、200 μM、400 μM になるように添加した脂質ミセルに家兔小腸の sac を浸漬した後、sac 内培地の TG を測定した。 \* : p < 0.05 vs control (n=5)

### 3. TC、LDL、HDL の測定結果

Res 添加で、TC では 100  $\mu\text{M}$  添加において 7.0%増加し有意な増加がみられたが、その他の濃度、では対照群に比べ大きな変化はなかった。LDL では、すべての濃度において有意な増加がみられ、各々26.3%、13.6%、12.6%増加した。HDL では、いずれの添加濃度でも対照群に比べ大きな変化はみられなかった(Fig. 2-3) (Table. 7)。

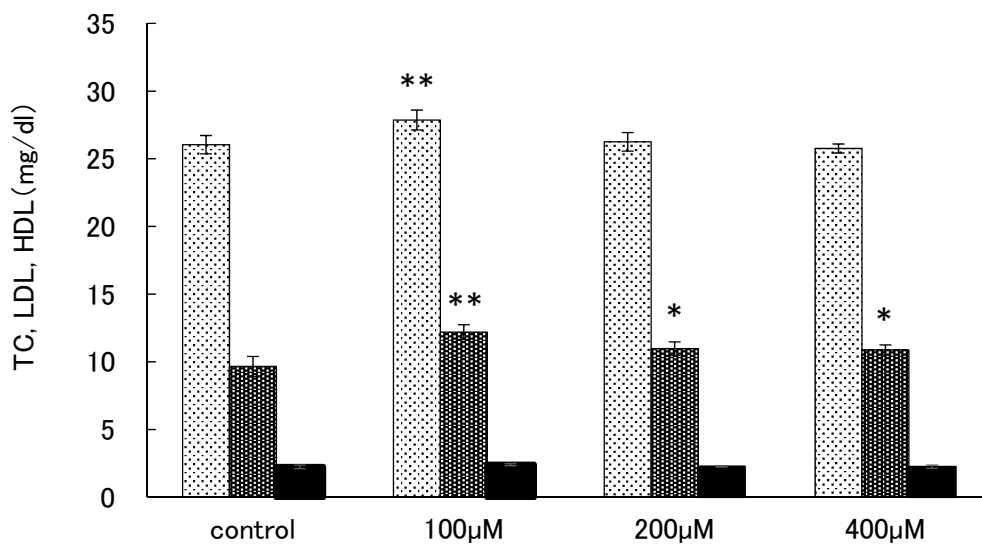


Fig.2-3 resveratrol が TC、HDL、LDL 分泌に与える影響

食品成分 resveratrol を終濃度 100  $\mu\text{M}$ 、200  $\mu\text{M}$ 、400  $\mu\text{M}$  に添加した脂質ミセルに家兔小腸の sac を各々浸漬した後、sac 内培地の TC、LDL、HDL を測定した。

□ TC    ■ LDL    ■ HDL

\*\* :  $p < 0.01$  vs control    \* :  $p < 0.05$  vs control (n=5)

Gen 添加では、TC、LDL、HDL 分泌でいずれの添加濃度でも対照群に比べ大きな変化はみられなかった (Fig. 2-4) (Table. 8)。

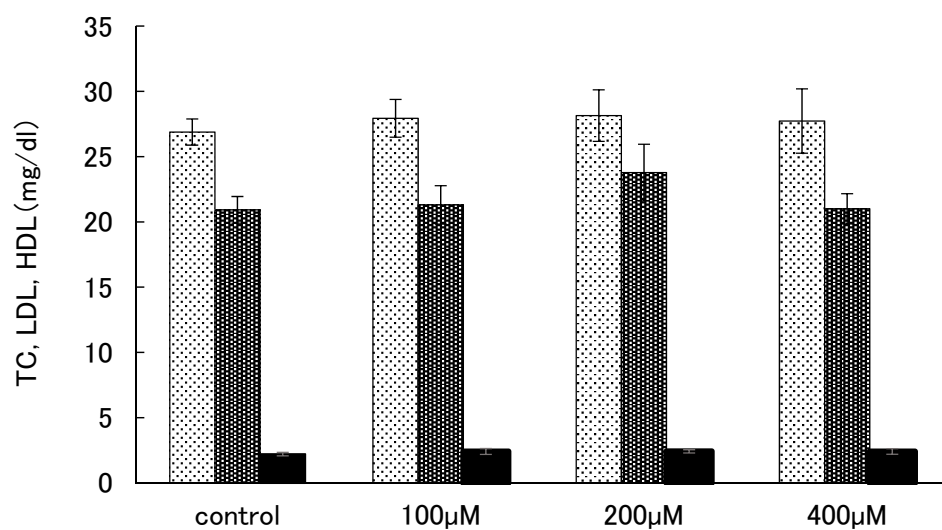


Fig.2-4 genistein が TC、HDL、LDL 分泌に与える影響

食品成分 genistein を終濃度 100 µM、200 µM、400 µM に添加した脂質ミセルに家兎小腸の sac を各々浸漬した後、sac 内培地の TC、LDL、HDL を測定した。

■ TC ■ LDL ■ HDL

Cur 添加では、TC、LDL、HDL 分泌でいずれの添加濃度でも対照群に比べ大きな変化はみられなかった (Fig. 2-5) (Table. 9)。

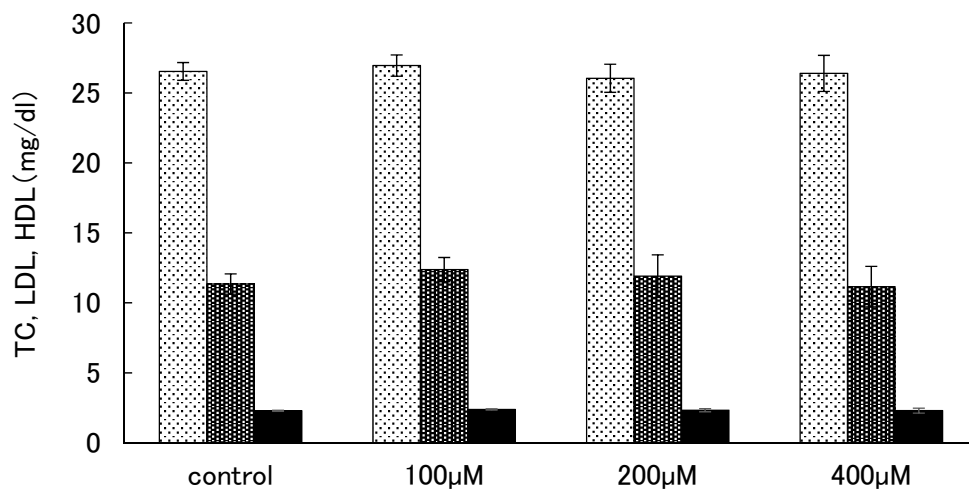


Fig.2-5 curcumin が TC、HDL、LDL 分泌に与える影響

食品成分 curcumin が終濃度 100 µM、200 µM、400 µM に添加した脂質ミセルに家兎小腸の sac を各々浸漬した後、sac 内培地の TC、LDL、HDL を測定した。

TC LDL HDL

#### 4. 遺伝子発現調節の結果

Res 添加の小腸組織では、*apob* の発現が対照群に比べ濃度依存的な減少の傾向がみられた。*apobec1* と *a1cf* は対照群に比べ、発現に増加がみられた (Fig. 2-6 A)。*apoa1* 発現に対照群に比べ、すべての濃度で減少の傾向がみられた。*ppar γ* 発現では、対照群に比べ濃度依存的な増加の傾向がみられた (Fig. 2-6 B)。(Table. 10)

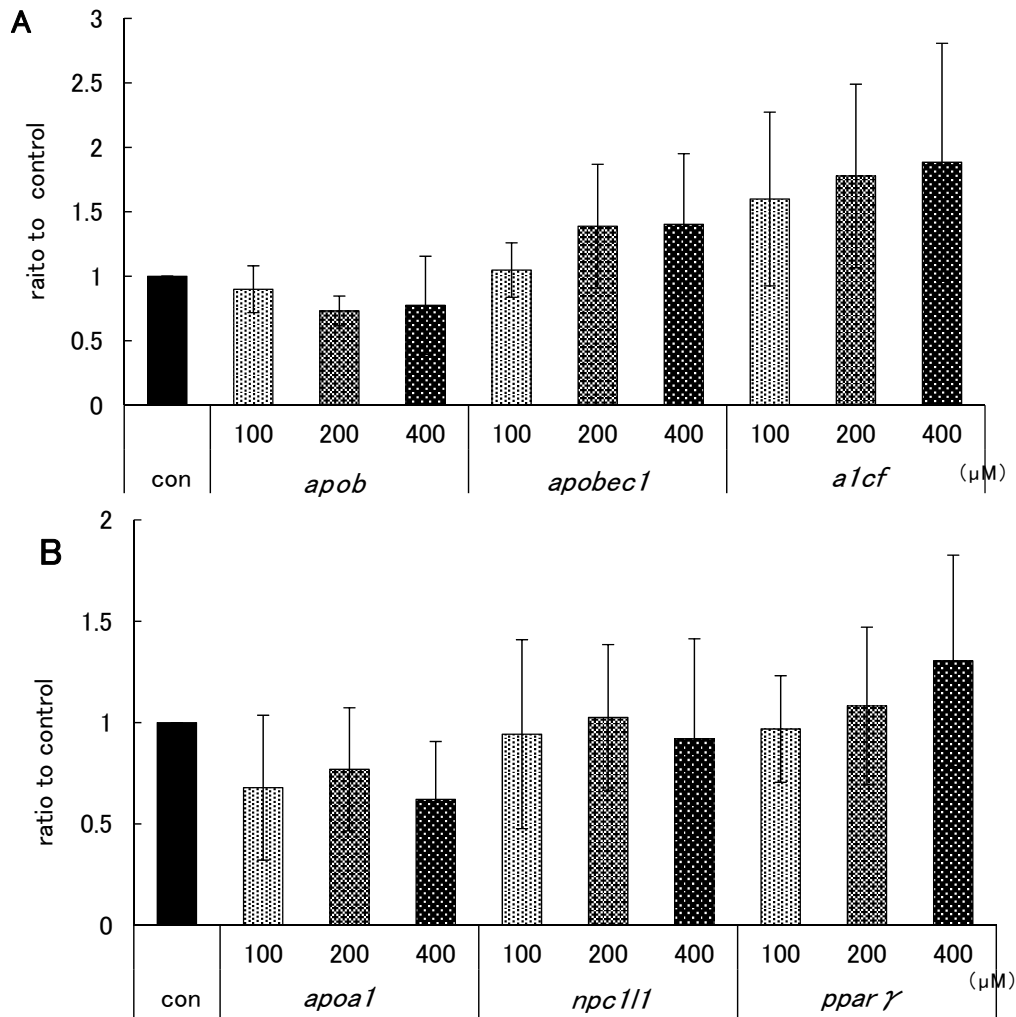


Fig.2-6 resveratrol が反転腸管における小腸組織の遺伝子の発現調節に与える影響

Resveratrol 終濃度 100 μM、200 μM、400 μM 添加の脂質ミセルに 1 時間浸漬後の家兎小腸組織について、以下の遺伝子発現を測定した。(n=5)

**A** : Apolipoprotein B、編集酵素 APOBEC1、APOBEC1 相補因子 A1CF

**B** : ApoA1、コレステロール輸送体 NPC1L1、核内受容体 PPARγ



Gen 添加の小腸組織では *apob* の発現が対照群に比べ濃度依存的な減少の傾向がみられた。*apobec1* と *a1cf* の発現では 100  $\mu\text{M}$  添加で対照群に比べ各々 58.1%、82.6% の有意な増加がみられた (Fig. 2-7 A)。*apoa1* の 100  $\mu\text{M}$  では 86.1% の有意な増加がみられ、*npc111*、*ppar  $\gamma$*  発現では、増加の傾向がみられた (Fig. 2-7 B)。(Table. 11)

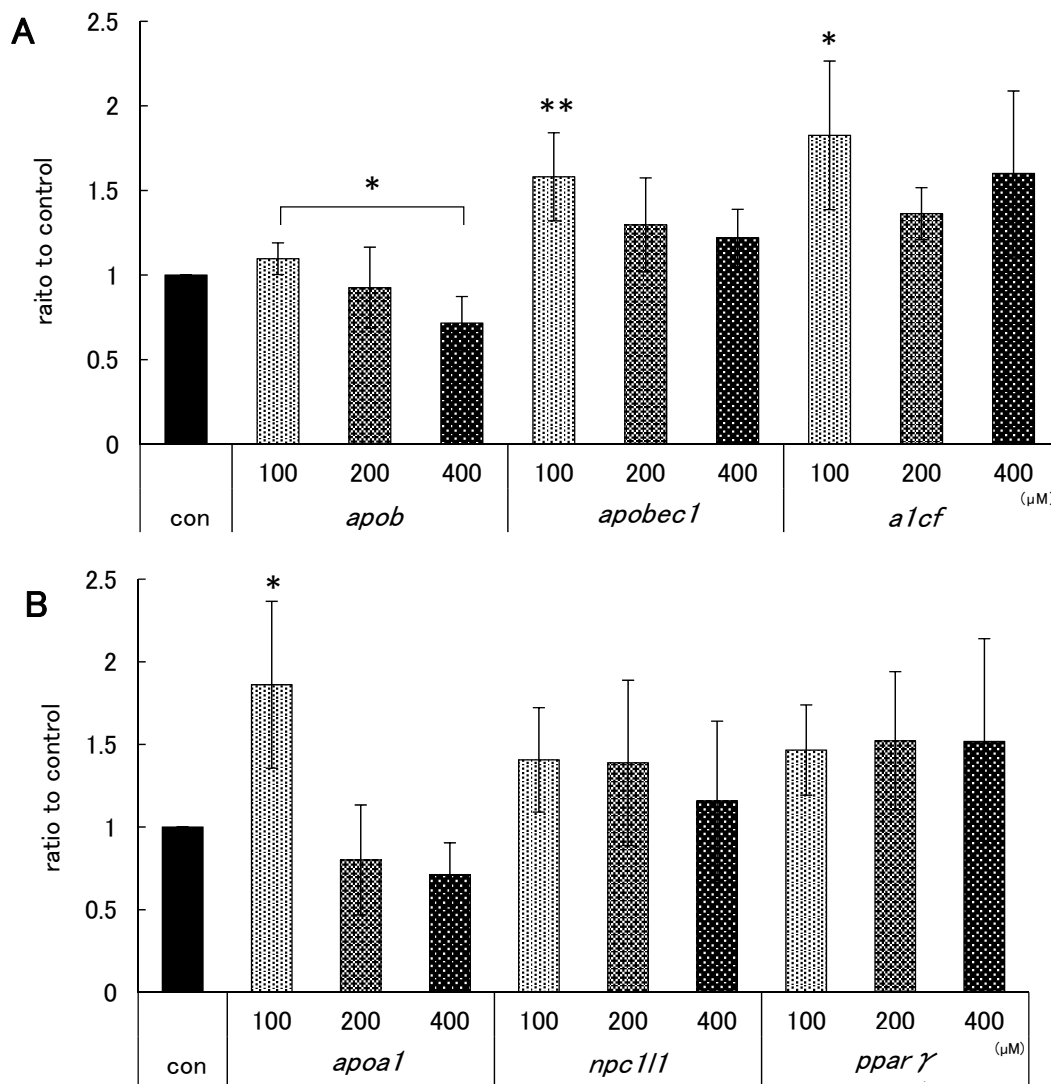


Fig.2-7 genistein が反転腸管における小腸組織の遺伝子の発現調節に与える影響

Genistein 終濃度 100  $\mu\text{M}$ 、200  $\mu\text{M}$ 、400  $\mu\text{M}$  添加の脂質ミセルに 1 時間浸漬後の家兔小腸組織について、以下の遺伝子発現を測定した。

A : Apolipoprotein B、編集酵素 APOBEC1、APOBEC1 相補因子 A1CF

B : ApoA1、コレステロール輸送体 NPC1L1、核内受容体 PPAR  $\gamma$

\*\* :  $p < 0.01$  vs control (n=4)、\* :  $p < 0.05$  vs control (n=4)

Cur 添加の小腸組織では、*apob*、*apobec1*、*a1cf*、*apoa1*、*npc111* の発現において対照群に比べ濃度依存的な有意な減少が見られ、対照群に比べ *apob* の 400  $\mu\text{M}$  で 40.1%、*apobec1* の 100、200、400  $\mu\text{M}$  で各々 36.6%、55.8%、64.8%、*a1cf* の 200、400  $\mu\text{M}$  で各々 61.1%、69.9% の減少であった。(Fig.2-8 A、B) (Table.12)

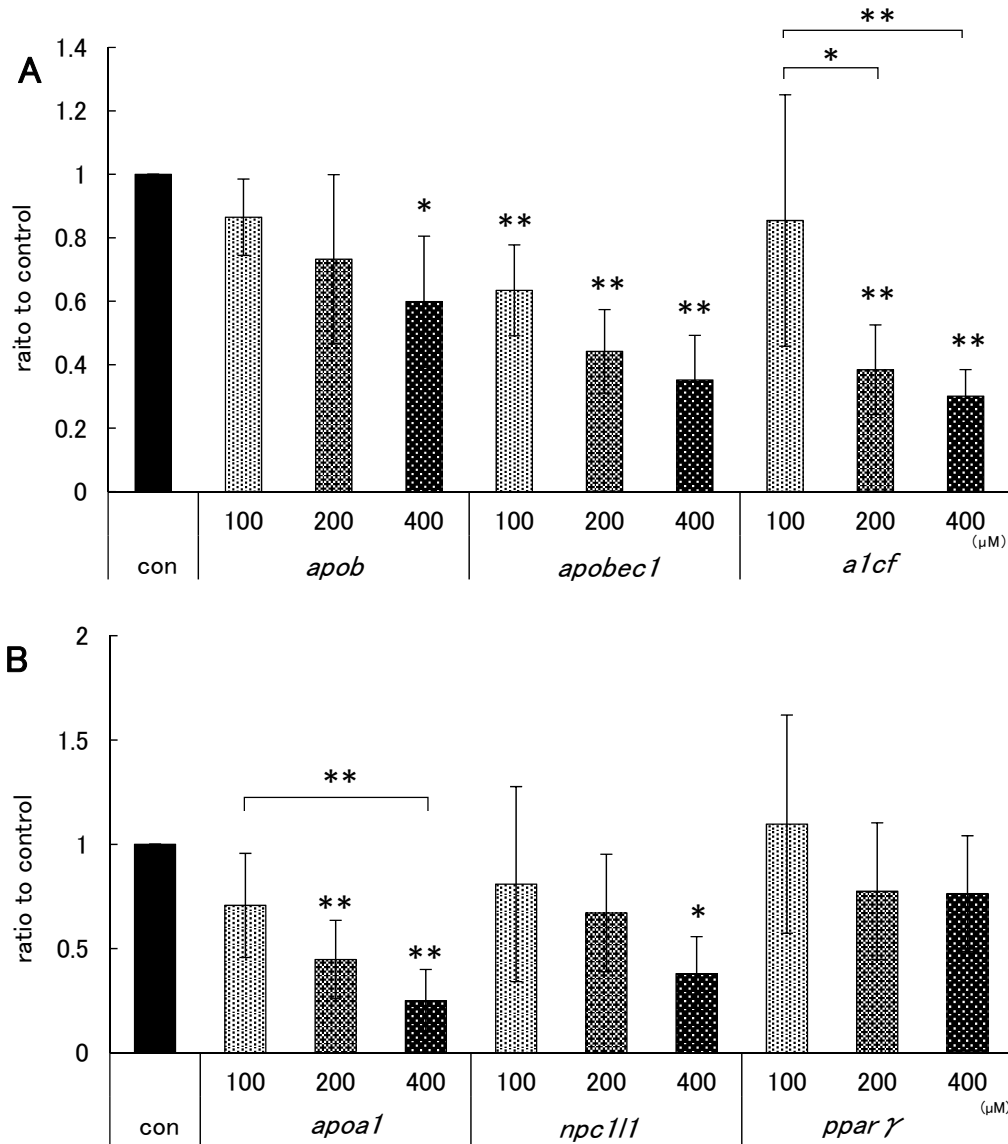


Fig.2-8 curcumin が反転腸管における小腸組織の遺伝子の発現調節に与える影響

Curcumin 100  $\mu\text{M}$ 、200  $\mu\text{M}$ 、400  $\mu\text{M}$  添加の脂質ミセルに 1 時間浸漬後の家兔小腸組織について、以下の遺伝子発現を測定した。

A : Apolipoprotein B、編集酵素 APOBEC1、APOBEC1 相補因子 A1CF

B : ApoA1、コレステロール輸送体 NPC1L1、核内受容体 PPAR  $\gamma$

\*\* :  $p < 0.01$  vs control、\* :  $p < 0.05$  vs control (n=5)

## 研究 3 家兎への食品成分の投与による血漿カイロミクロン apoB48 濃度等への経時的影響の検討

### 【目的】

家兎に高脂肪飼料と食品成分を摂取させ、摂取後のカイロミクロン分泌の経時的変化を観察する。

### 【方法】

#### 1. 実験材料(実験動物・試薬)

実験動物は New Zealand White rabbit 雄 8 週齢～ (体重 1.7～3.0 kg) (東京実験動物株式会社) を用いた。投与した食品成分試薬は resveratrol (東京化成) (以下 Res)、genistein (LC Laboratories) (以下 Gen)、curcumin (和光純薬) (以下 Cur) を用いた。

#### 2. 食品成分の投与と採血

家兎 4 羽 (食品 1 成分毎) に 1 週間高脂肪飼料 (1% コレステロール、6% ピーナッツオイル含有に調製した LRC-4、オリエンタル酵母工業 (株))<sup>86)</sup> を摂取させた後、21 時間絶食させた。8 日目 (絶食後) 高脂肪飼料と合わせて食品成分を各々 0、200、400、800  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重 1 時間摂取させた。1 日目高脂肪食摂取前、8 日目絶食後、摂取開始 1、3、6、9 時間後と 6 回耳の静脈より採血し、遠心分離後血清を  $-20^{\circ}\text{C}$  にて保存した。

食品 1 成分について、家兎を 4 羽ずつ使用し、それぞれの個体において用量依存性を検討するため 4 サイクルの実験を行った。2 サイクル目以降は絶食前の高脂肪食摂取は 3 日間とし、1 日目採血のデータは初回サイクル時のみの検体を使用した。

#### 3. ApoB48 の測定

2. で採取した血清の apoB48 は、70 倍に希釈し ELISA 法により測定した。測定には Rabbit ApoB-48 ELISA KIT (Shibayagi, Japan) を用いた。測定操作については製造者のプロトコールに従って行った。測定後、補正を行った。

#### 4. TG、TC、LDL、HDL の測定

2. で採取した血清の TG、TC、LDL、HDL は各々 LabAssay™ Triglyceride (GPO・DAOS method) (Wako, Japan)、LabAssay™ Cholesterol (Cholesterol Oxidase・DAOS method) (Wako, Japan)、L タイプワコー LDL-C・M(選択消去法) (Wako, Japan)、HDL-コレステロール E-テストワコー(リンタンゲステン酸・マグネシウム塩沈殿法) (Wako, Japan) で測定する予定である。測定操作については製造者のプロトコールに従って行った。LDL 測定における検量用試料はマルチキャリブレーターリッピド (Wako, Japan) を使用した。

測定にあたっての検体の希釈倍率は予備実験による検討の結果、TG、TC、LDL、HDL 各々 2 倍、10 倍、5 倍、等倍とした。結果は測定後各々補正した。

## 5. 統計処理

統計処理は、分散分析ののち Tukey 法にて多重比較を行った。p < 0.05 を有意差有りとした。

## 【結果】

### 1. ApoB48 測定結果

Res 投与では対照群を含めてすべての投与量負荷において、時間の経過とともに apoB48 濃度は減少の傾向がみられた。Res 投与において、その変化に有意な差はみられず、また対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-1) (Table. 13)

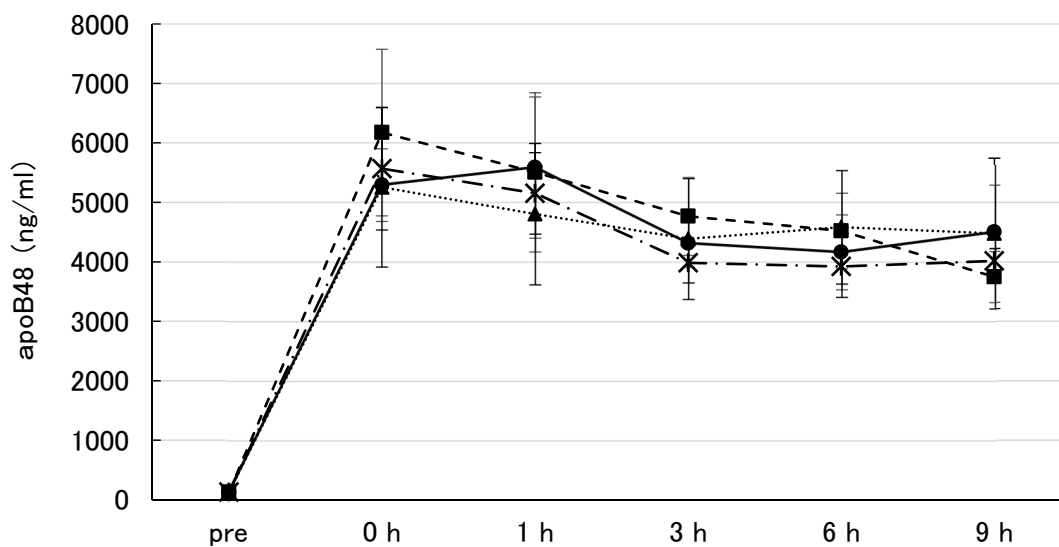


Fig.3-1 resveratrol 投与による血漿 apoB48 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Res 200、400、800 μmol を 1 時間摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -✱- 800 μmol/kg

800 μmol/kg : 0 h vs 3 h    p < 0.05

0 h vs 6 h    p < 0.05

Gen 投与では対照群を含めてすべての投与量負荷において、時間の経過とともに apoB48 濃度は減少の傾向がみられた。しかし、変化に有意な差はみられず、また対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-2) (Table. 14)

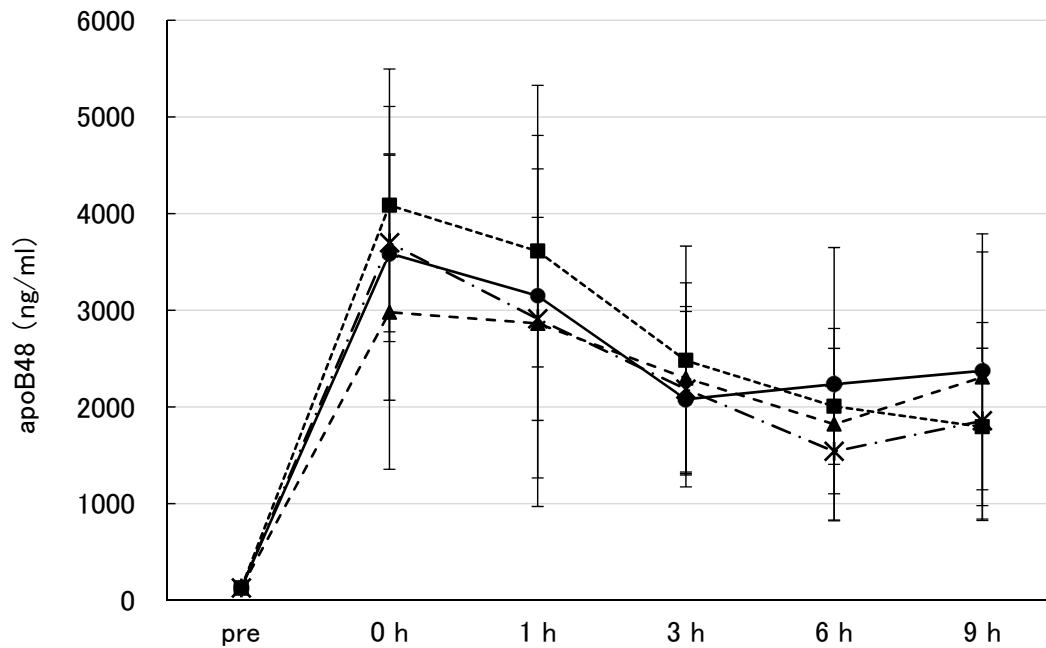


Fig.3-2 genistein 投与による血漿 apoB48 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Gen 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    - - ■ - - 200 μmol/kg    - - ▲ - - 400 μmol/kg    - \* - 800 μmol/kg

Cur 投与では apoB48 濃度に経時的变化はみられなかった。また、対照群と投与群  
 の变化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-3) (Table. 15)

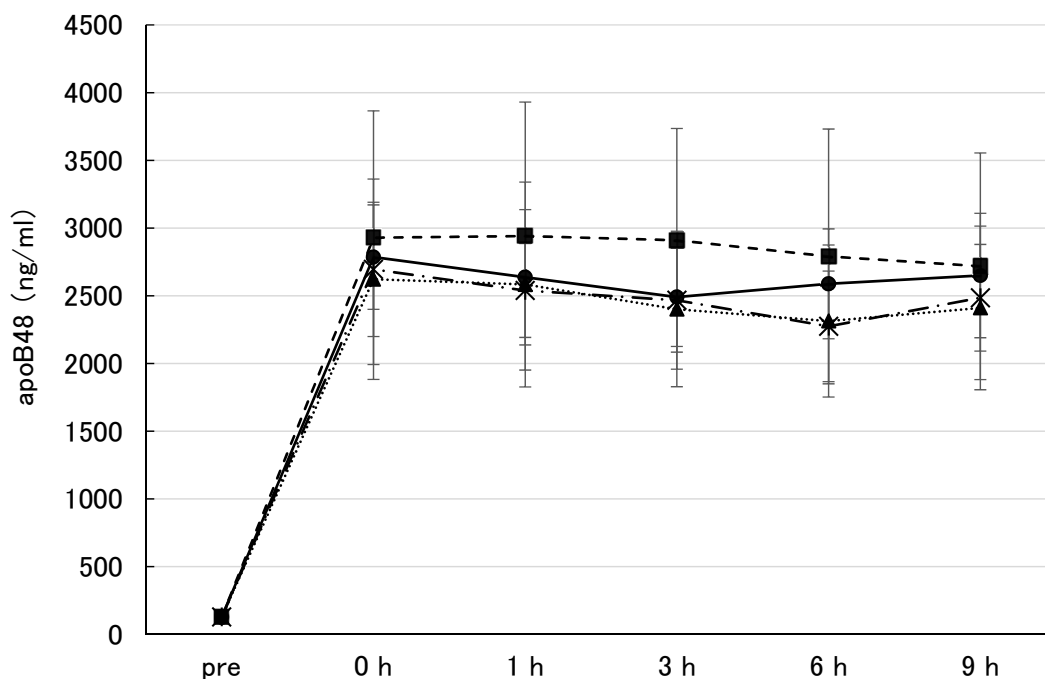


Fig.3-3 curcumin 投与による血漿 apoB48 濃度の経時的变化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Cur 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -✱- 800 μmol/kg

## 2. TG 測定の結果

Res では対照群を含めてすべての投与量負荷において、時間の経過とともに TG 濃度に減少の傾向がみられた。しかし、その変化に有意な差はみられず、また対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-4) (Table. 16)

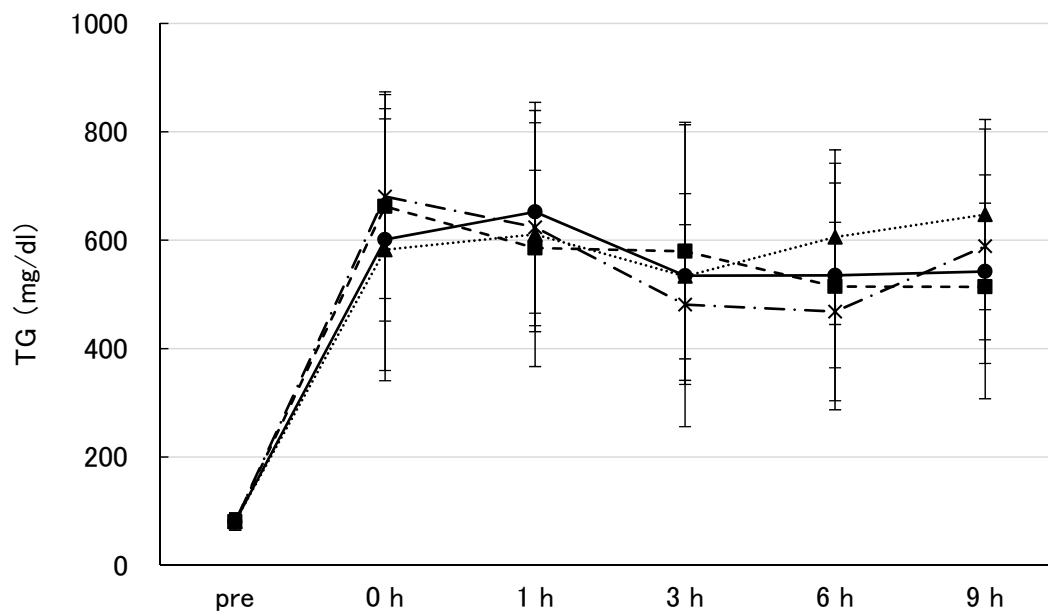


Fig.3-4 resveratrol 投与による血漿 TG 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Res 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -\*- 800 μmol/kg



Gen 投与では対照群を含めてすべての投与量負荷において、時間の経過とともに TG 濃度に減少の傾向がみられた。しかし、その変化に有意な差はみられず、また対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-5) (Table. 17)

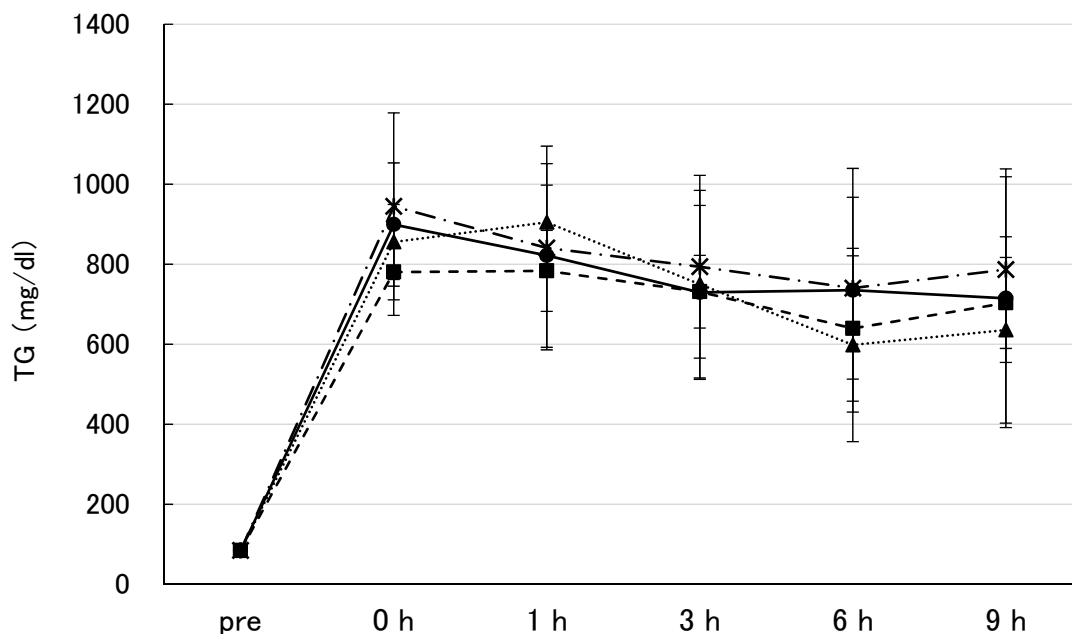


Fig.3-5 genistein 投与による血漿 TG 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兎に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Gen 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -✱- 800 μmol/kg

Cur 投与では TG 濃度に経時的变化はみられなかった。また、対照群と投与群の变化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-6) (Table. 18)

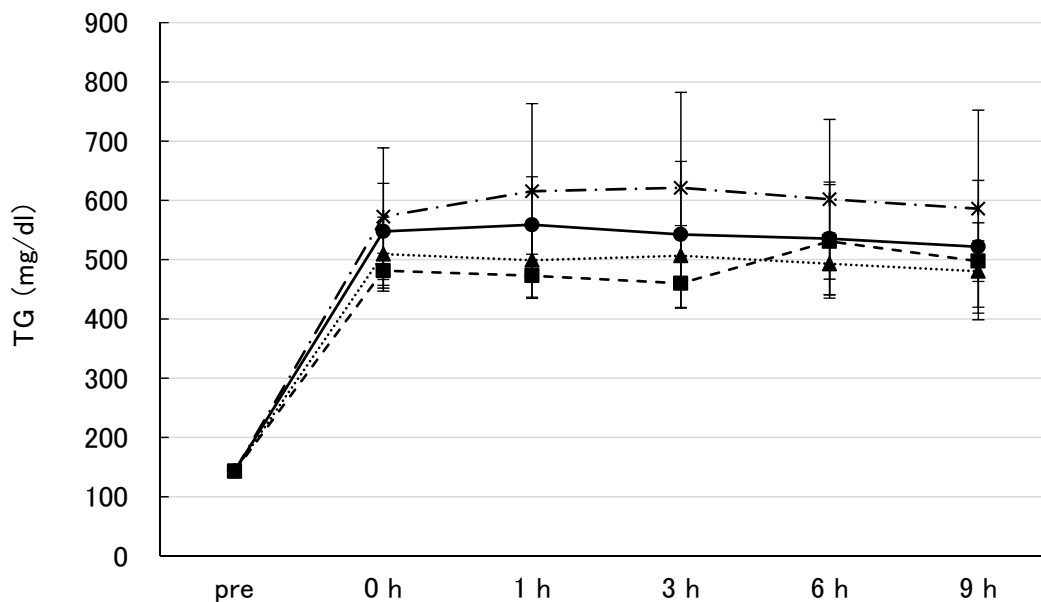


Fig.3-6 curcumin 投与による血漿 TG 濃度の経時的变化

21時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Cur 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -\*- 800 μmol/kg

### 3. TC 測定の結果

Res の 400、800  $\mu\text{M}$  投与では TC 濃度に経時的変化はほとんどみられなかった。また対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。200  $\mu\text{M}$  投与では、6 h まで 400、800  $\mu\text{M}$  投与と同様の変化の傾向がみられていたが、6 h から 9 h へ 44.0% 減少した。(Fig. 3-7) (Table. 19)

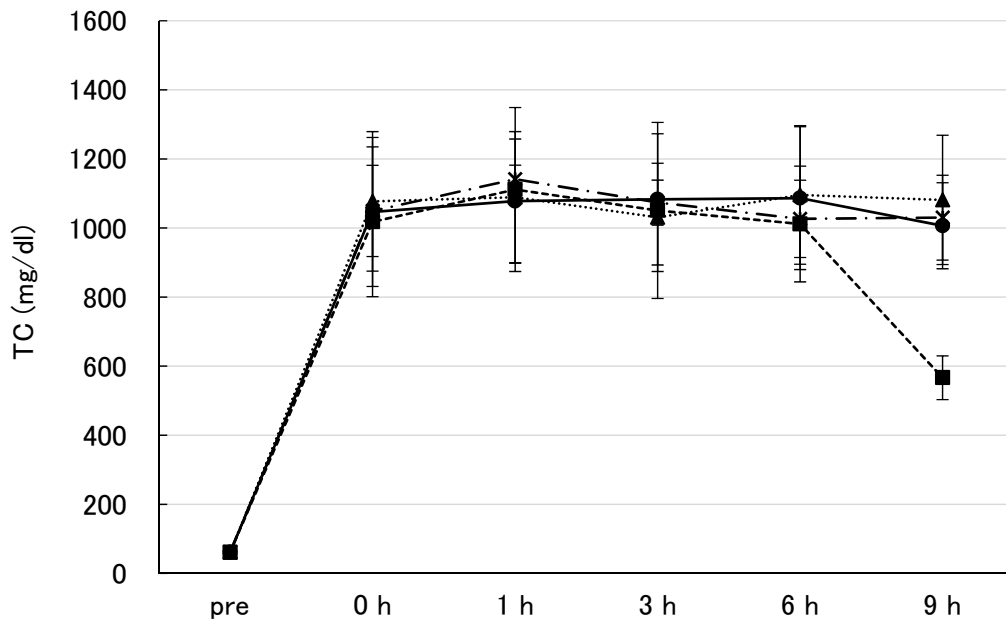


Fig.3-7 resveratrol 投与による血漿 TC 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Res 200、400、800  $\mu\text{mol}$  を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200  $\mu\text{mol/kg}$     .....▲..... 400  $\mu\text{mol/kg}$     -\*- 800  $\mu\text{mol/kg}$

200  $\mu\text{mol/kg}$  : 1 h vs 9 h    p < 0.01

3 h vs 9 h    p < 0.01

Gen の 400、800  $\mu\text{M}$  投与では TC 濃度に経時的な大きな変化はみられず、対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。200  $\mu\text{M}$  投与では、6 h まで 400、800  $\mu\text{M}$  投与と同様の変化の傾向がみられていたが、6 h から 9 h へ 45.0%減少した。  
(Fig. 3-8) (Table. 20)

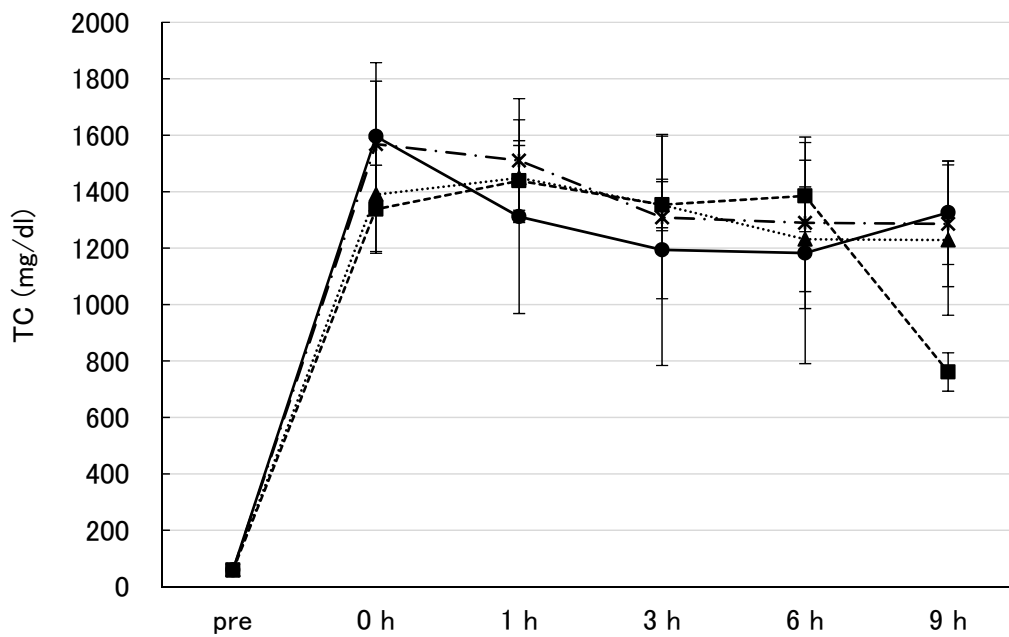


Fig.3-8 genistein 投与による血漿 TC 濃度の経時変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Gen 200、400、800  $\mu\text{mol}$  を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200  $\mu\text{mol/kg}$     .....▲..... 400  $\mu\text{mol/kg}$     -\*- 800  $\mu\text{mol/kg}$

200  $\mu\text{mol/kg}$  : 0 h vs 9 h    p < 0.01  
                   1 h vs 9 h    p < 0.01  
                   3 h vs 9 h    p < 0.01  
                   6 h vs 9 h    p < 0.01

Cur の 400、800  $\mu\text{M}$  投与では TC 濃度に経時的な大きな変化はみられず、対照群と投与群の変化傾向にも大きな違いはみられなかった。200  $\mu\text{M}$  投与では、6 h まで 400、800  $\mu\text{M}$  投与と同様の変化の傾向がみられていたが、6 h から 9 h へ 45.7%減少した。(Fig. 3-9) (Table. 21)

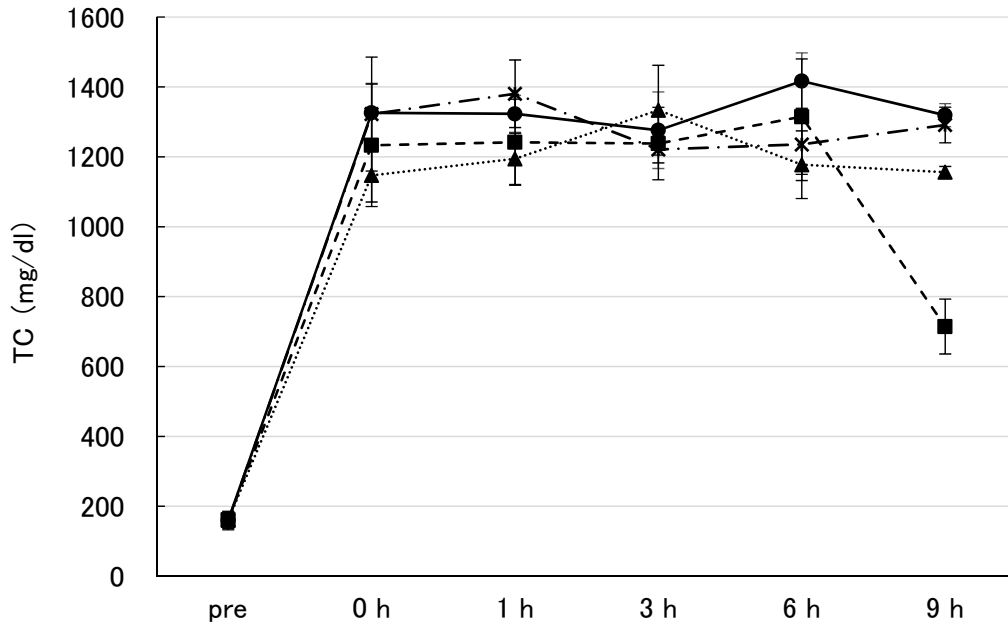


Fig.3-9 curcumin 投与による血漿 TC 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Cur 200、400、800  $\mu\text{mol}$  を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200  $\mu\text{mol/kg}$     .....▲..... 400  $\mu\text{mol/kg}$     -✱- 800  $\mu\text{mol/kg}$

200  $\mu\text{mol/kg}$  : 0 h vs 9 h    p < 0.01

1 h vs 9 h    p < 0.01

3 h vs 9 h    p < 0.01

6 h vs 9 h    p < 0.01

#### 4. LDL 測定の結果

Res 投与では、LDL 濃度に経時的な大きな変化はみられず、対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-10) (Table. 22)

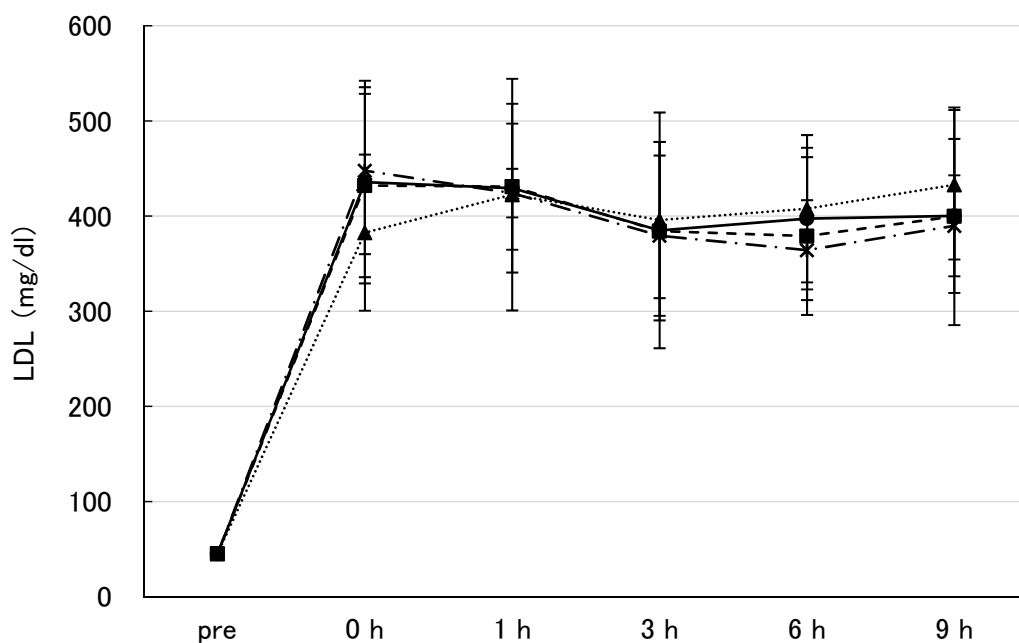


Fig.3-10 resveratrol 投与による血漿 LDL 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Res 200、400、800  $\mu\text{mol}$  を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200  $\mu\text{mol}/\text{kg}$     .....▲..... 400  $\mu\text{mol}/\text{kg}$     -\*- 800  $\mu\text{mol}/\text{kg}$

Gen 投与では、LDL 濃度に経時的な大きな変化はみられず、対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-11) (Table. 23)

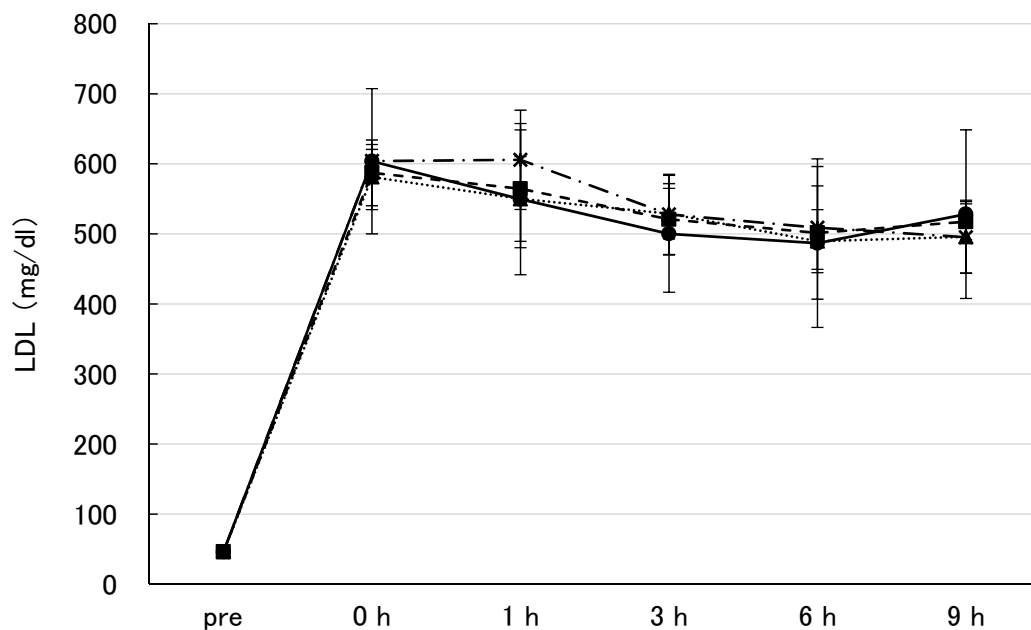


Fig.3-11 genistein 投与による血漿 LDL 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Gen 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -✱- 800 μmol/kg

Cur 投与では、LDL 濃度に経時的な大きな変化はみられず、対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-12) (Table. 24)

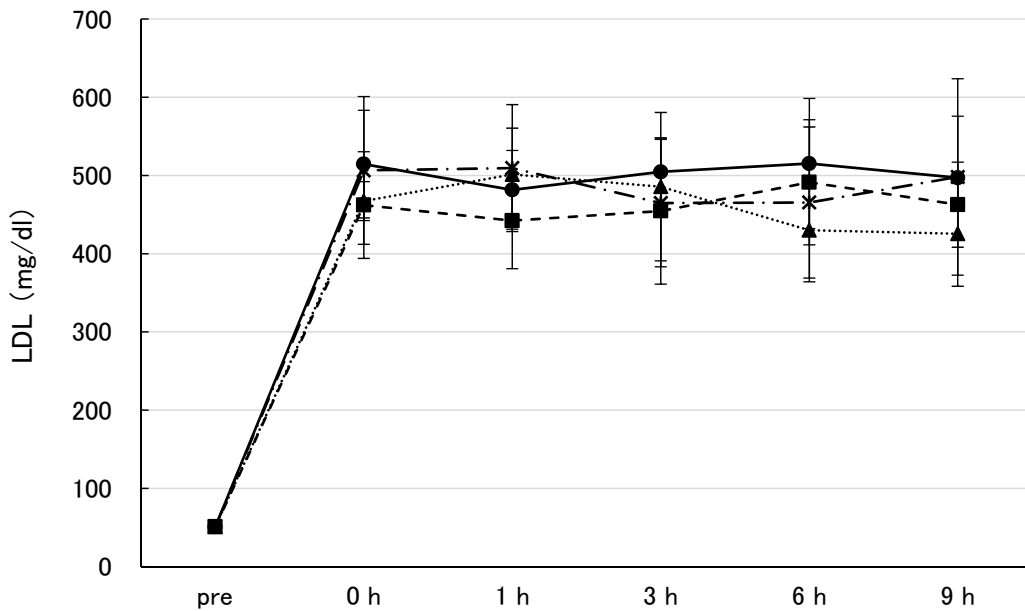


Fig.3-12 curcumin 投与による血漿 LDL 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兎に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Cur 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -\*- 800 μmol/kg



## 5. HDL 測定の結果

Res 投与では、高脂肪飼料の摂取前を含めて HDL 濃度に経時的な大きな変化はみられず、対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-13) (Table. 25)

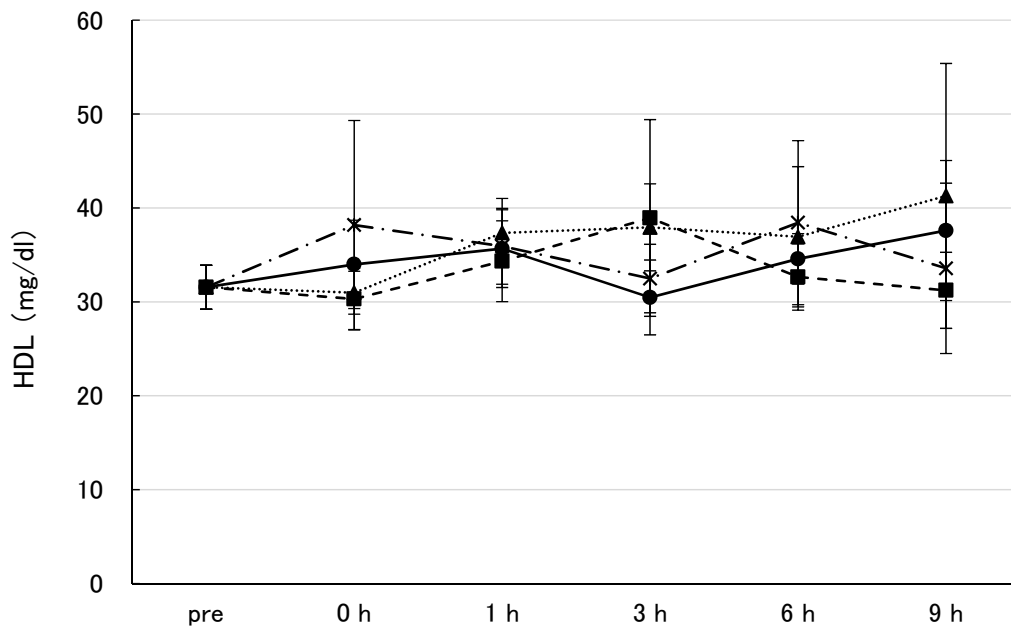


Fig.3-13 resveratrol 投与による血漿 HDL 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Res 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -✱- 800 μmol/kg

Gen 投与では、高脂肪飼料の摂取前を含めて HDL 濃度に経時的な大きな変化はみられず、対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-14) (Table. 26)

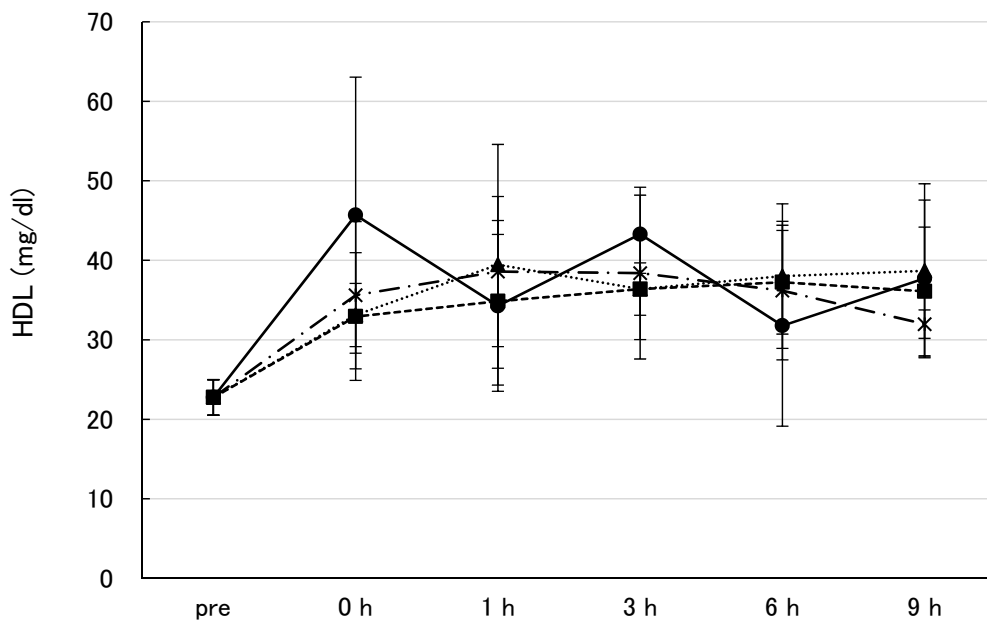


Fig.3-14 genistein 投与による血漿 HDL 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Gen 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング：高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取前 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -✱- 800 μmol/kg

Cur 投与では、高脂肪飼料の摂取前を含めて HDL 濃度に経時的な大きな変化はみられず、対照群と投与群の変化傾向に大きな違いはみられなかった。(Fig. 3-15) (Table. 27)

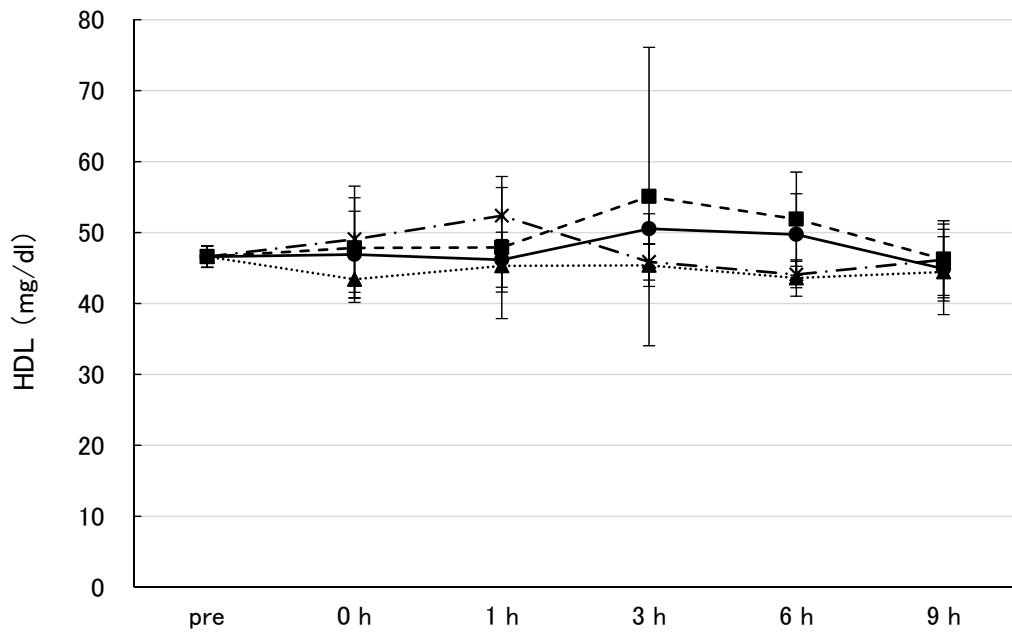


Fig.3-15 curcumin 投与による血漿 HDL 濃度の経時的変化

21 時間絶食後の家兔に高脂肪飼料と体重 1 kg あたり Cur 200、400、800 μmol を摂取させ、摂取開始 9 時間後まで経時的に採血した。

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (pre)、絶食後摂取後 (0 h)、1 時間摂取後 (1 h)、摂取開始 3、6、9 時間後 (3 h、6 h、9 h) (n = 3)

—●— control    -■- 200 μmol/kg    .....▲..... 400 μmol/kg    -✱- 800 μmol/kg

## 研究 4-1 家兎への食品成分の長期投与による血漿カイロミクロン apoB48 濃度等への影響の検討

### 【目的】

家兎に食品成分 resveratrol、genistein、curcumin を長期間投与し、血漿カイロミクロン apoB48 濃度等に与える影響を観察する。

### 【方法】

#### 1. 実験材料(実験動物・試薬)

実験動物は New Zealand White rabbit 雄 10 週齢 (体重 1.8~2.1 kg) (東京実験動物株式会社) を用いた。投与した食品成分試薬は resveratrol (東京化成) (以下 Res)、genistein (LC Laboratories) (以下 Gen)、curcumin (和光純薬) (以下 Cur) を用いた。Sudan IV (C<sub>24</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O、東京化成)

#### 2. 食品成分の投与と採血

12 羽の家兎を 4 グループに分け、すべてのグループに 1 日目から 7 日間高脂肪飼料 (1%コレステロール、6%ピーナツオイル含有に調製した LRC-4、オリエンタル酵母工業 (株)) を与えた。8 日目から 2 週間グループ 1 はコントロールとして引き続き高脂肪飼料のみを与えた。残りの 3 グループは高脂肪飼料と共にグループ 2 は Res を 1500 μmol/kg 体重/day<sup>87)</sup>、グループ 3 は Gen を 20 μmol/kg 体重/day<sup>88)</sup>、グループ 4 は Cur を 600 μmol/kg 体重/day<sup>89)</sup> 与えた。1、8、15、22 日目に耳の静脈より採血し、遠心分離後血清を -20℃にて保存した。

#### 3. 体重測定

以下のタイミングで Rabbit の体重を測定した。  
高脂肪食摂取前 (Day1)、食品成分投与開始前 (Day8)、高脂肪食摂取から 15 日目 (Day15)、食品成分投与終了後 (Day22)

#### 4. 組織(小腸、肝臓、大動脈)採取

長期投与後、家兎は 3 種混合麻酔薬 (medetomidine 0.5 mg/ml、midazolam 2.0 mg/ml、butorphanol tartrate 0.5 mg/ml)<sup>85)</sup> を 1.0~3.0 ml/kg 体重の麻酔下に正中切

開にて開腹した。小腸は胃から約 25 cm、70 cm、115 cm から各々1 cm の切片を 5 片採取し、小腸上部、中部、下部の検体とした。肝臓は左葉、右葉各々5 片採取した。小腸、肝臓ともに採取後、十分量の RNAlater®Solution (Ambion、USA) に浸漬して-20℃にて保存した。各グループの 1 羽から大動脈を採取し縦に切開して写真を撮った後、Formaldehyde Solution (HCHO, Methanol 5~10%, Wako) に漬け保存した。

#### 5. ApoB48 の測定

研究 3 の 3 と同じ方法で測定した。

#### 6. TG、TC、LDL、HDL の測定

研究 3 の 4 と同じ方法で測定した。

#### 7. 遺伝子発現調節の測定

採取した組織を研究 3 の 9 と同じ方法で測定した。

#### 8. 大動脈の染色<sup>90)91)</sup>

保存してあった大動脈を 70% ethanol で簡単に洗浄し、0.5% Sudan IV 溶液 (溶媒 : 70% ethanol と acetone (1:1)) に 20 分間浸漬した後、1 時間流水中で洗浄した。

#### 9. 統計処理

統計処理は、分散分析ののち Tukey 法にて多重比較を行った。p < 0.05 を有意差有りとした。

## 【結果】

### 1. 食品成分の長期投与期間中の体重変化

Day 1 に比べ Day 22 で、対照群、Res 投与群、Gen 投与群、Cur 投与群と各々22.4%、22.7%、33.6%、18.9%の体重増加がみられた。(Fig. 4-1-1) (Table. 28)

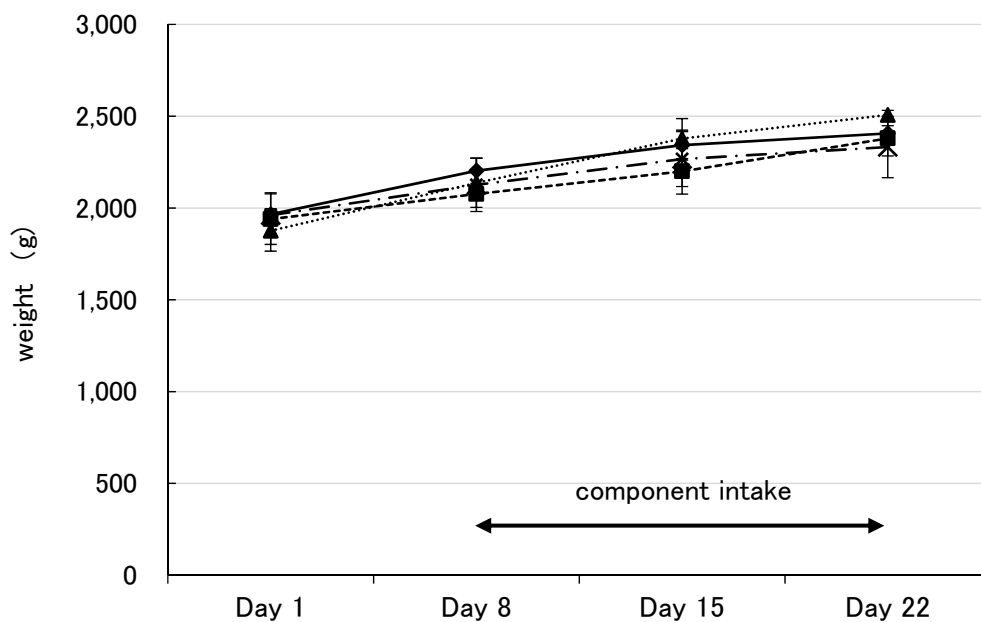


Fig.4-1-1 食品成分の長期投与期間中の家兎の体重変化

高脂肪飼料摂取前(Day1)、食品成分投与開始前(Day 8)、高脂肪飼料摂取から15日目(Day 15)、食品成分投与終了後(Day 22)に実験動物家兎の体重測定を行った。  
(n = 3)

—◆— control    -■- resveratrol    .....▲..... genistein    -×- curcumin

## 2. ApoB48 測定の結果

血漿中の apoB48 濃度は Day 8 と比べ Day 22 において対照群、Res 群、Gen 群、Cur 群、各々 35.4%、21.1%、31.1%、17.7%の減少がみられた。Day 22 の apoB48 濃度では、各投与群とも対照群に比べ有意な差はなかった。(Fig. 4-1-2) (Table. 29)

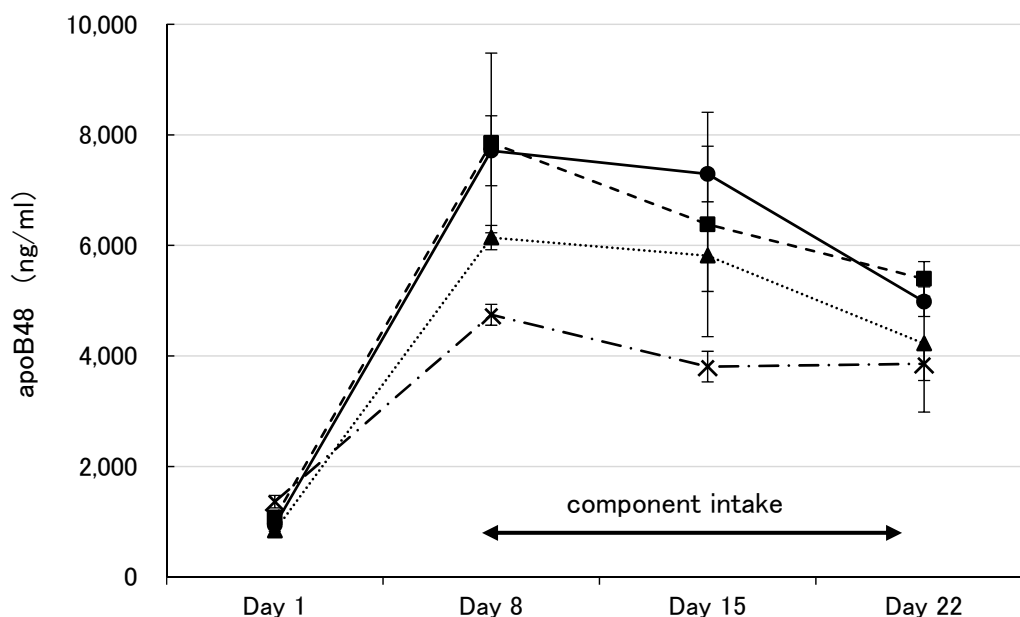


Fig.4-1-2 食品成分の長期投与による血漿 apoB48 濃度に与える影響

1 週間高脂肪飼料摂取させたのち、2 週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる。  
食品成分の投与量: Res 1500  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、Gen 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、  
Cur 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day

採血のタイミング: 高脂肪飼料摂取前 (Day 1)、食品成分投与開始前 (Day 8)、高  
脂肪飼料摂取から 15 日目 (Day 15)、食品成分投与終了後 (Day 22) (n = 3)

—●— control    -■- resveratrol    .....▲..... genistein    -×- curcumin

control : Day8 vs Day22      p < 0.01

curcumin : Day8 vs Day15      p < 0.01

Day8 vs Day22      p < 0.05

### 3. TG 測定の結果

血漿中の TG 濃度は Day 8 と比べ Day 22 において対照群、Res 群、Gen 群、Cur 群、各々74.3%、89.0%、44.3%、48.7%の増加がみられた。対照群に比べ Gen 投与群、Cur 投与群では増加率が低かった。(Fig. 4-1-3) (Table. 30)

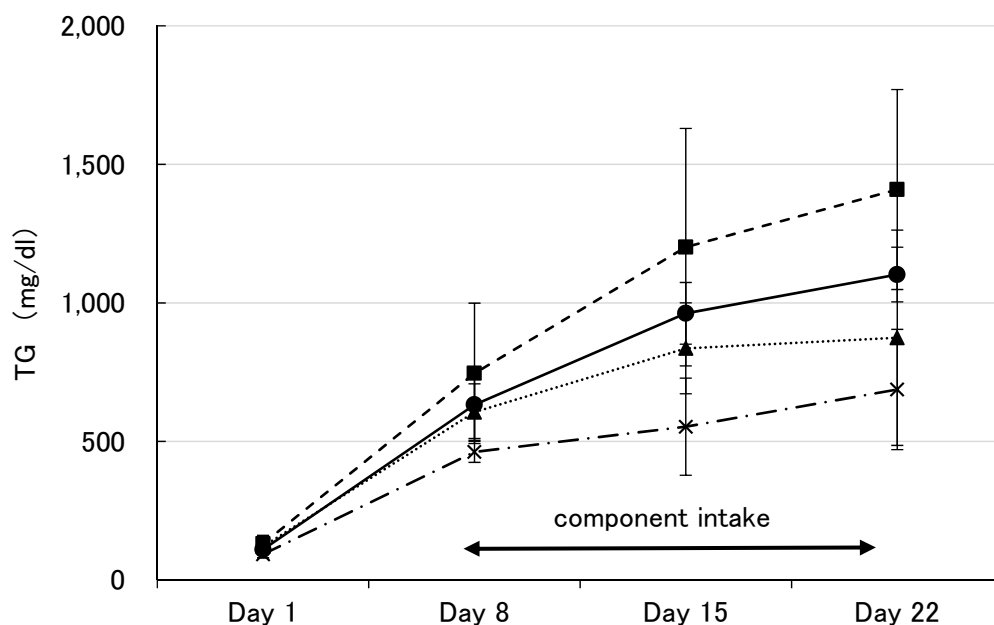


Fig.4-1-3 食品成分の長期投与による血漿 TG 濃度に与える影響

1 週間高脂肪飼料摂取させたのち、2 週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる。  
食品成分の投与量: Res 1500  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、Gen 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、  
Cur 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day

採血のタイミング: 高脂肪食摂取前 (Day 1)、食品成分投与開始前 (Day 8)、高脂肪食摂取から 15 日目 (Day 15)、食品成分投与終了後 (Day 22) (n = 3)

—●— control    -■- resveratrol    .....▲..... genistein    -×- curcumin

control : Day8 vs Day15    p < 0.05

Day8 vs Day22    p < 0.01



#### 4. TC 測定の結果

血漿中の TC 濃度は Day 8 と比べ Day 22 において対照群、Res 群、Gen 群、Cur 群、各々 65.3%、64.4%、50.1%、25.8% の増加がみられた。対照群に比べ Cur 投与群の増加率が 1/2 以下であった。(Fig. 4-1-4) (Table. 31)

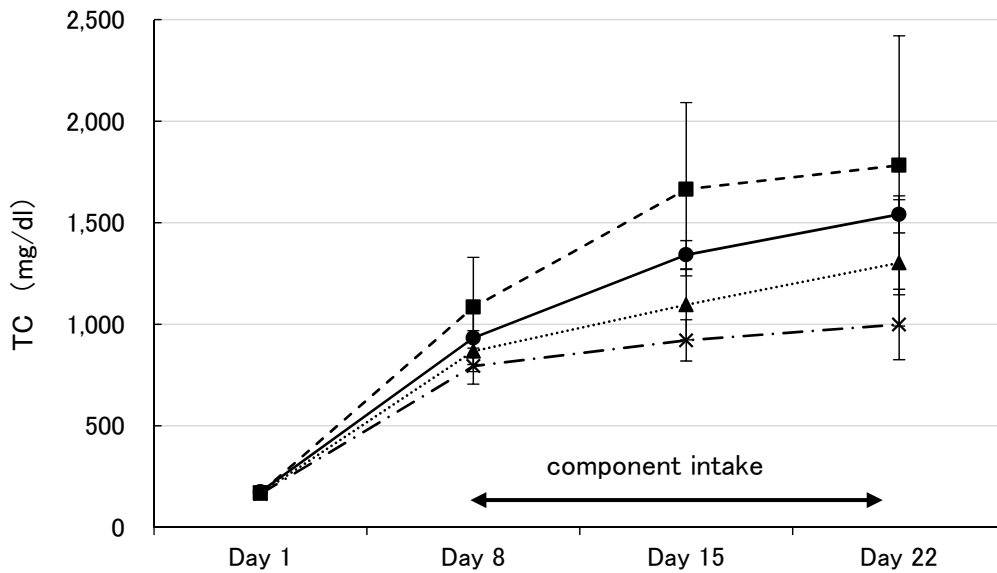


Fig.4-1-4 食品成分の長期投与による血漿 TC 濃度を与える影響

1 週間高脂肪飼料摂取させたのち、2 週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる。  
食品成分の投与量: Res 1500  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、Gen 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、  
Cur 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day

採血のタイミング: 高脂肪食摂取前 (Day 1)、食品成分投与開始前 (Day 8)、高脂肪食摂取から 15 日目 (Day 15)、食品成分投与終了後 (Day 22) (n = 3)

—●— control    -■- resveratrol    .....▲..... genistein    -×- curcumin

control : Day8 vs Day15    p < 0.01  
          Day8 vs Day22    p < 0.01

## 5. LDL 測定の結果

血漿中の LDL 濃度は Day 8 と比べ Day 22 において対照群、Res 群、Gen 群、Cur 群、各々 63.9%、63.3%、23.7%、38.5%の増加がみられた。しかし、Gen 投与群は Day15 に一旦 29.4%増加した後 Day 22 で Day 8 から 19.4%減少している。(Fig. 4-1-5) (Table. 32)

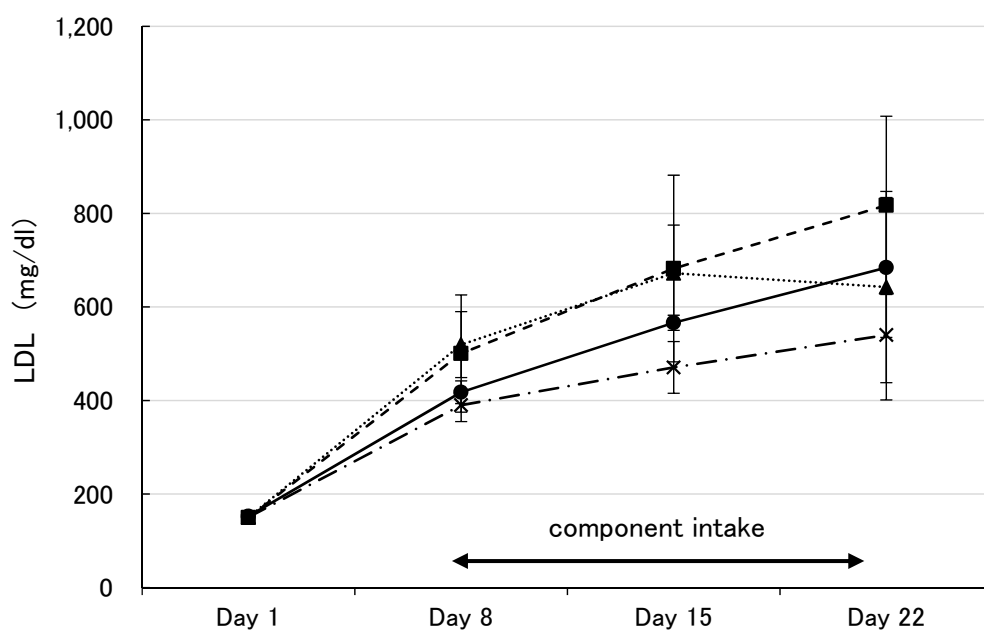


Fig.4-1-5 食品成分の長期投与による血漿 TC 濃度に与える影響

1 週間高脂肪飼料摂取させたのち、2 週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる。  
食品成分の投与量: Res 1500  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、Gen 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、  
Cur 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day

採血のタイミング: 高脂肪食摂取前 (Day 1)、食品成分投与開始前 (Day 8)、高脂肪食摂取から 15 日目 (Day 15)、食品成分投与終了後 (Day 22) (n = 3)

—●— control    -■- resveratrol    .....▲..... genistein    -×- curcumin

control : Day8 vs Day22     $p < 0.05$

## 6. HDL 測定の結果

血漿中の HDL 濃度は Day 8 と比べ Day 22 において対照群、Res 群、Gen 群、Cur 群、各々 38.7%、5.0%、34.5%、13.7%の増加がみられた。しかし、Cur 投与群は Day 15 に一旦 24.7%増加した後 Day 22 で Day 15 から 8.8%減少した。(Fig. 4-1-5) (Table. 33)

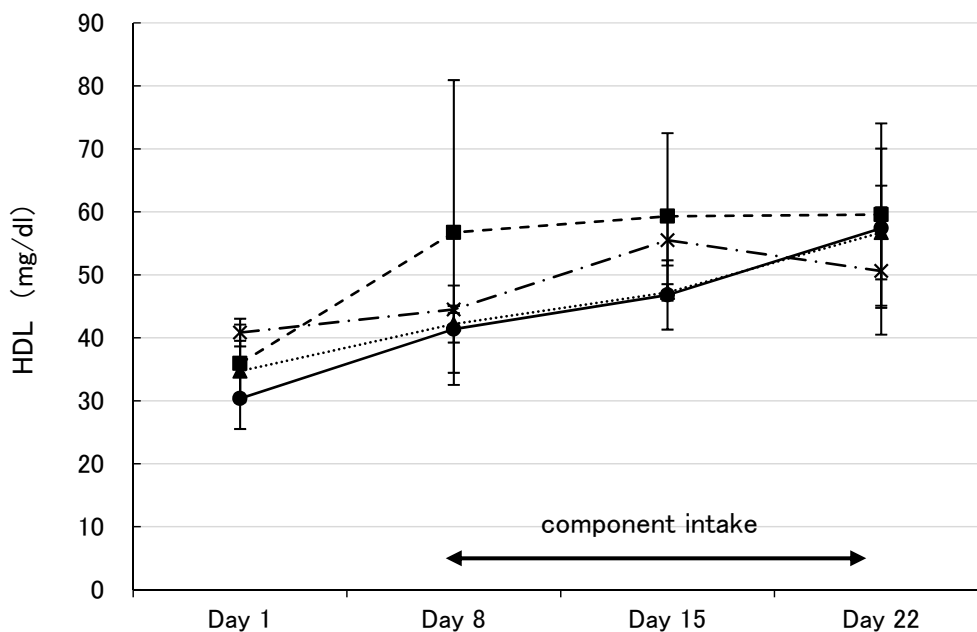


Fig.4-1-6 食品成分の長期投与による血漿 HDL 濃度に与える影響

1 週間高脂肪飼料摂取させたのち、2 週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる。  
食品成分の投与量: Res 1500  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、Gen 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day、  
Cur 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  体重/day

採血のタイミング: 高脂肪食摂取前 (Day 1)、食品成分投与開始前 (Day 8)、高脂肪食摂取から 15 日目 (Day 15)、食品成分投与終了後 (Day 22) (n = 3)

—●— control    -■- resveratrol    .....▲..... genistein    -×- curcumin

genistein : Day 8 vs Day 22    p < 0.05

## 7. 遺伝子発現調節測定の結果

### (1) 小腸組織の遺伝子発現調節-1

Res、Cur 投与の *a1cf* の発現において減少の傾向はみられたが、*apob*、*apobec1*、*a1cf* の発現で対照群に比べ3成分とも大きな変化はみられなかった。(Fig. 4-1-7) (Table. 34)

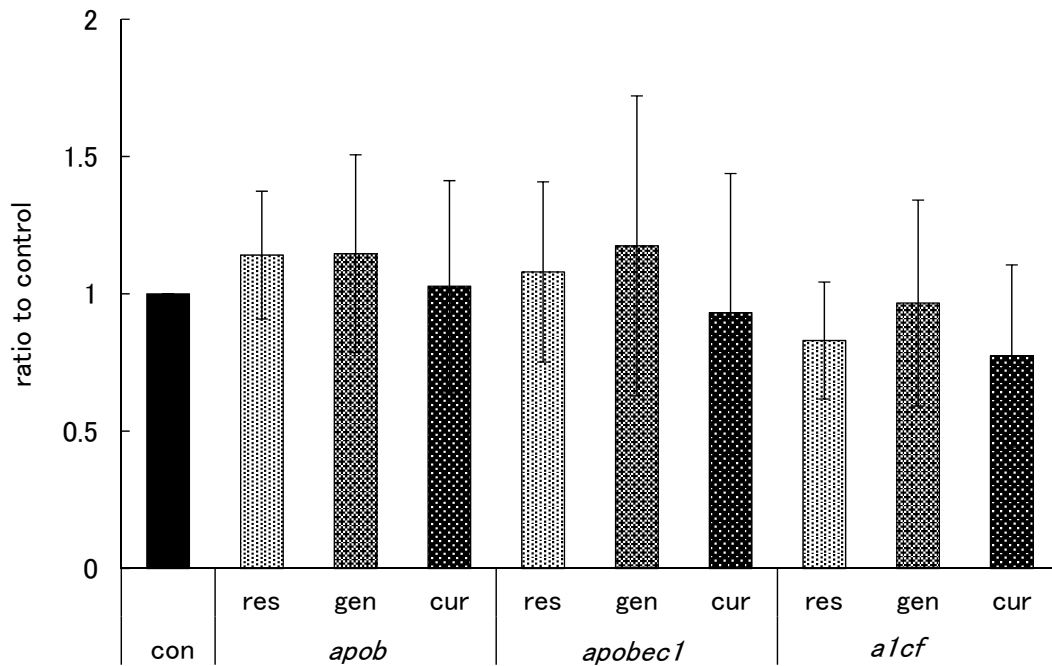


Fig.4-1-7 食品成分長期投与家兔小腸組織の遺伝子発現調節-1

1週間高脂肪飼料摂取させたのち、2週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる実験の後に採取した家兔小腸組織について、以下の遺伝子発現を測定した。Apolipoprotein B, 編集酵素 APOBEC1, APOBEC1 相補因子 A1CF  
con : control、res : resveratrol、gen : genistein、cur : curcumin

(n = 3)

(1) 小腸組織の遺伝子発現調節-2

Gen 投与の *apoa1*、*npc111* 発現で対照群に比べて減少の傾向がみられ、各々31.4%、30.8%減少であった。Res、Cur 投与の *apoa1*、*npc111* 発現と3成分投与の *ppar γ* 発現はほとんど変化がみられなかった。(Fig. 4-1-8) (Table. 34)

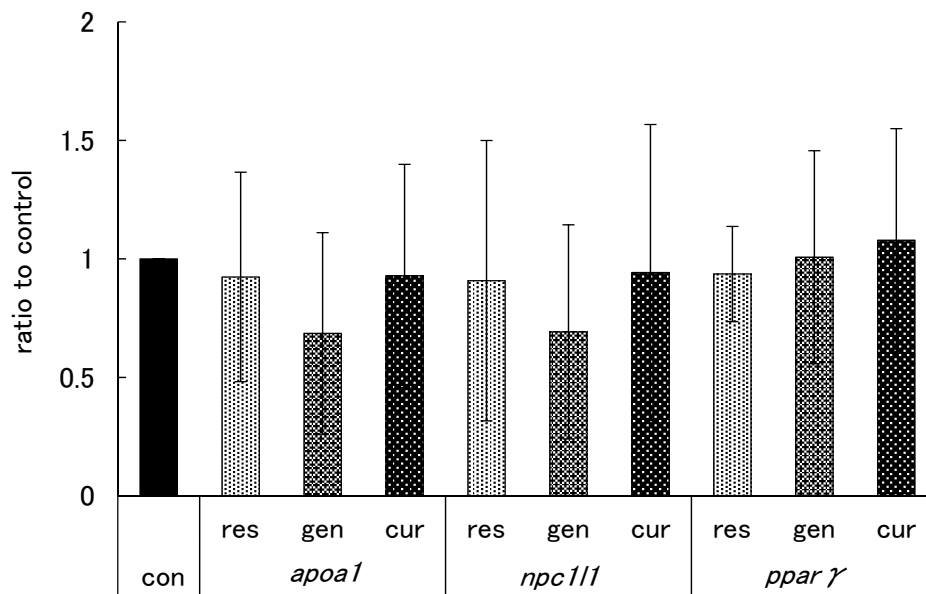


Fig.4-1-8 食品成分長期投与家兔小腸組織の遺伝子発現調節-2

1 週間高脂肪飼料摂取させたのち、2 週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる実験の後に採取した家兔小腸組織について、以下の遺伝子発現を測定した。ApoA1、コレステロール輸送体 NPC1L1、核内受容体 PPAR  $\gamma$   
con : control、res : resveratrol、gen : genistein、cur : curcumin

(n = 3)

(2) 肝臓組織の遺伝子発現調節-1

3成分とも *apob*、*apobec1*は発現において増加の傾向がみられた。Res投与では、*a1cf*発現にも増加の傾向がみられた。*apob*発現の Res、Gen、Curで各々40.7%、34.7%、20.6%増、*apobec1*は発現の Res、Gen、Curで各々59.6%、84.4%、31.8%増、*a1cf*発現の Res投与で22.5%増であった。(Fig. 4-1-9) (Table. 35)

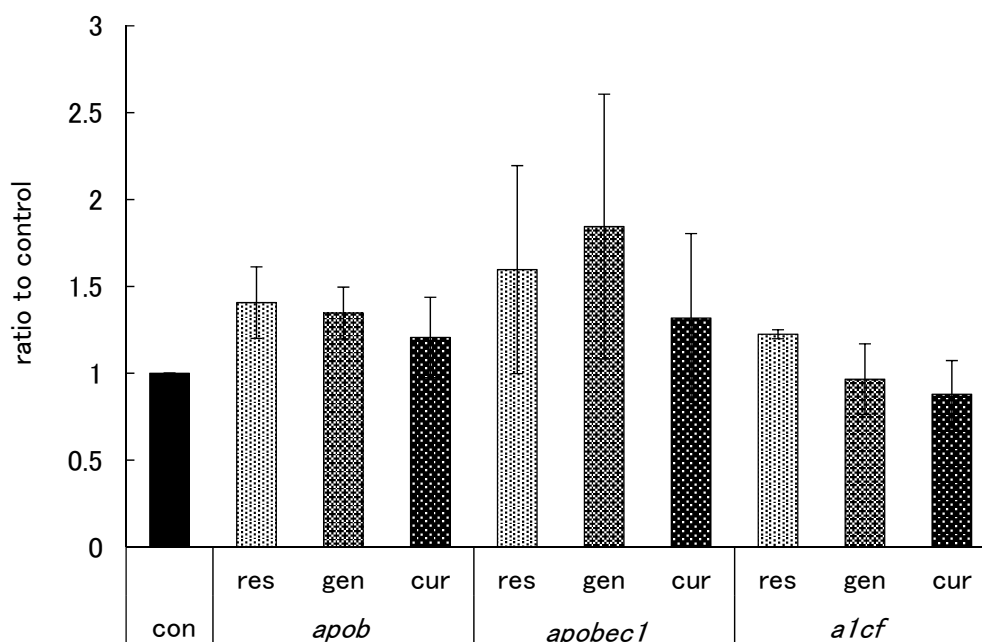


Fig.4-1-9 食品成分長期投与家兔肝臓組織の遺伝子発現調節-1

1週間高脂肪飼料摂取させたのち、2週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる実験の後に採取した家兔肝臓組織について、以下の遺伝子発現を測定した。Apolipoprotein B、編集酵素 APOBEC1、APOBEC1 相補因子 A1CF  
con : control、res : resveratrol、gen : genistein、cur : curcumin

(n = 3)

(2) 肝臓組織の遺伝子発現調節-2

Gen、Cur 投与の *apoa1* 発現と Gen 投与の *ppar γ* 発現に増加の傾向がみられ、各々32.3%、57.3%、27.6%増加した。*npc111* 発現では対照群に比べて3成分とも減少の傾向がみられ、Res、Gen、Cur 投与で各々38.8%、34.6%、19.1%減少した。(Fig. 4-1-10) (Table. 35)

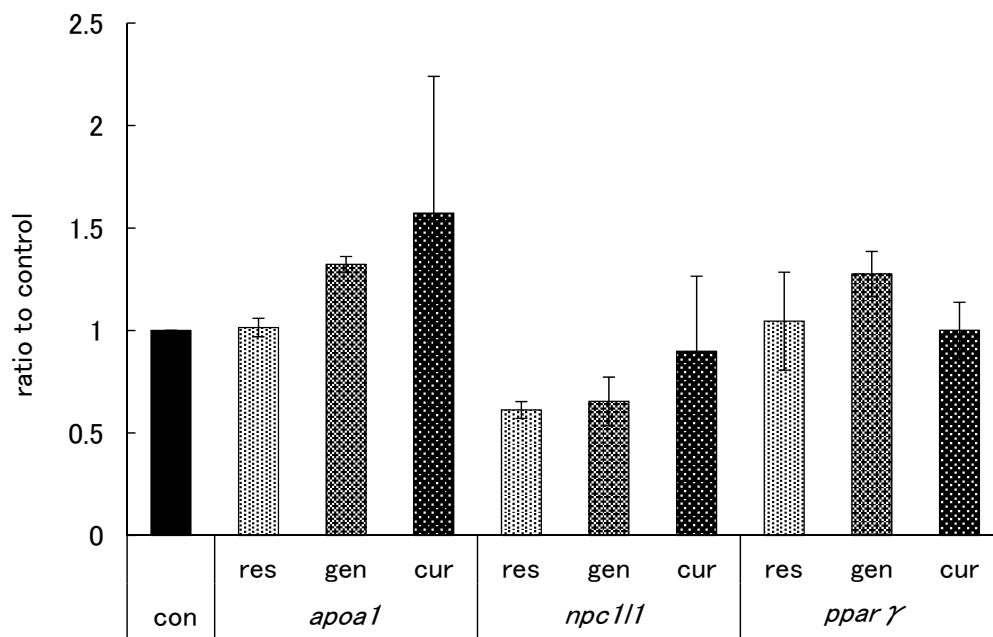


Fig.4-1-10 食品成分長期投与家兔肝臓組織の遺伝子発現調節-2

1 週間高脂肪飼料摂取させたのち、2 週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる実験の後に採取した家兔肝臓組織について、以下の遺伝子発現を測定した。ApoA1、コレステロール輸送体 NPC1L1、核内受容体 PPAR  $\gamma$   
con : control、res : resveratrol、gen : genistein、cur : curcumin

(n = 3)

#### 8. 食品成分の長期投与後の家兎大動脈観察の結果 —染色前、染色後—

対照群の個体 1、個体 2 の大動脈において、動脈硬化初期病変の脂肪線条 (fatty streak) が認められた。Res 投与群においても若干は認められたが、対照群に比べ少なかった。(Fig. 4-1-11、Fig. 4-1-12)



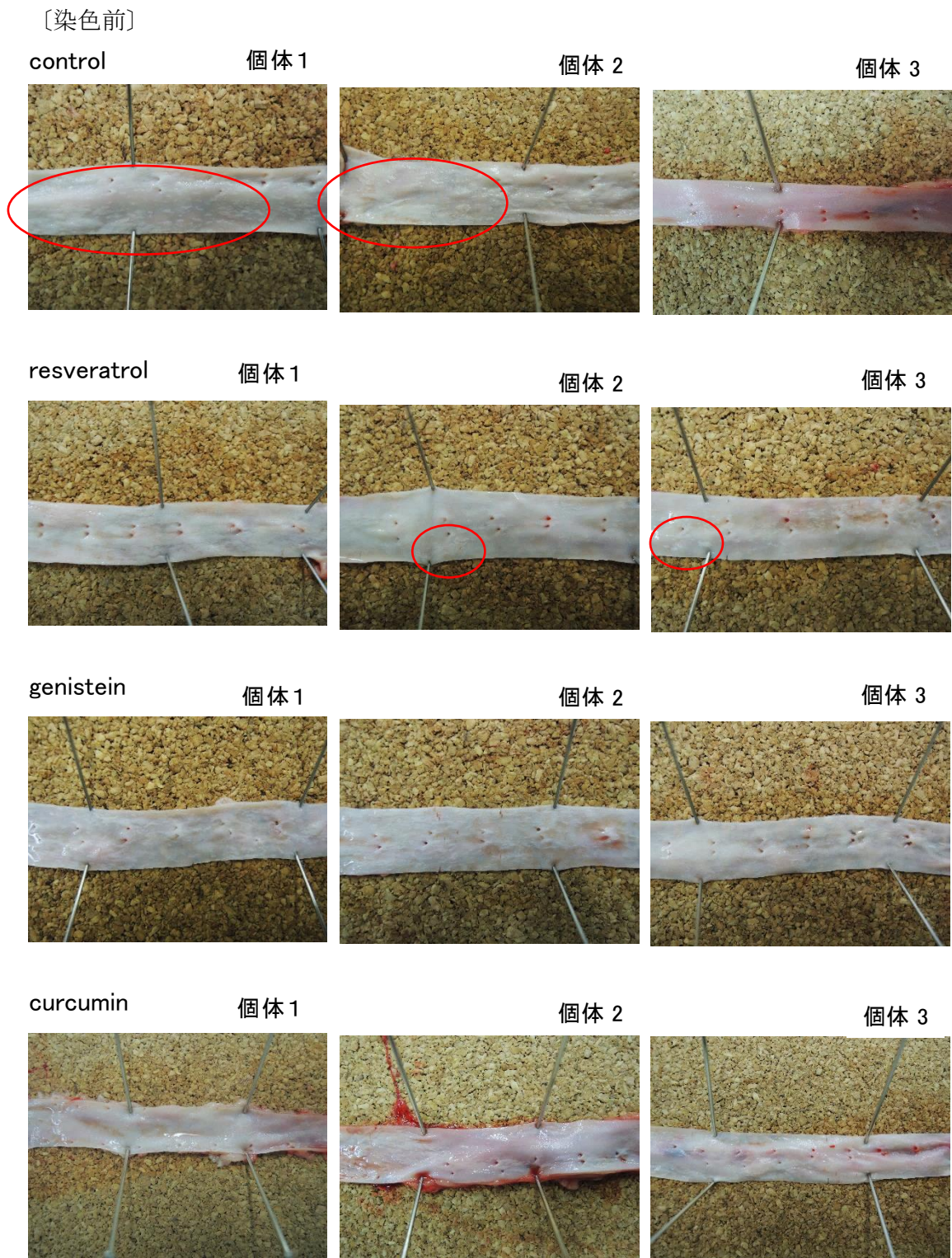


Fig.4-1-11 食品成分の長期投与後の家兔の染色前の大動脈

高脂肪飼料を 1 週間、食品成分を付加した高脂肪飼料を 2 週間投与した家兔の大動脈を採取した。

[染色後]

control

個体 1

個体 2

個体 3



resveratrol

個体 1

個体 2

個体 3



genistein

個体 1

個体 2

個体 3



curcumin

個体 1

個体 2

個体 3



Fig.4-1-12 食品成分の長期投与後の家兎の染色後の大動脈

高脂肪飼料を 1 週間、食品成分を付加した高脂肪飼料を 2 週間投与した家兎の大動脈を Formaldehyde Solution に保存した後、0.5% Sudan IV 溶液（溶媒：70% ethanol : acetone ( 1 : 1 ) ) に 20 分間浸漬、染色し、流水で洗浄した。

## 研究 4-2 食品成分の長期投与後の家兎の小腸を利用した反転腸管での検討

### 【目的】

食品成分の長期投与によって家兎の小腸にどのような影響（変化）があったか、反転腸管系を用いてカイロミクロン分泌を観察することにより検討する。

### 【方法】

#### 1. 実験材料(実験動物・試薬)

実験動物は New Zealand White rabbit 雄 11 週齢 (体重 2.0~2.3kg) を用いた。試薬は medetomidine (ドミツール、日本全薬工業)、midazolam (ドルミカム、アステラス製薬)、butorphanol tartrate (ベトルフェール、明治製菓ファルマ)、aprotinin (アプロチニン溶液、和光純薬)、resveratrol (東京化成) (以下 Res)、genistein (東京化成) (以下 Gen)、curcumin (和光純薬) (以下 Cur) を用いた。腸管の反転に用いた経ロゾンデは、ディスポーザブルフィーディングニードル (エグゼック) を用いた。

#### 2. 漿膜側 serosal side の培地の調製

研究 1 と同じ方法で行った。

#### 3. 粘膜側 mucosal side 脂質ミセルの調製

研究 1 と同じ方法で行った。

#### 4. 反転腸管の作製<sup>72) 84)</sup>

研究 1 と同じ方法で行った。

#### 5. 反転腸管の実験

脂質ミセル溶液を分注したコニカルチューブを 37℃ に孵置し、酸素注入下で 15-300 分間 sac を浸漬した。Sac 内の培地を回収し、-20℃ にて保存した。

#### 6. ApoB48、TG の測定

ApoB48、TG は研究 1 と同じ方法で測定した。測定操作については製造者のプロトコールに従って行った。

## 7. 統計処理

統計処理は、分散分析ののち Tukey 法にて多重比較を行った。  $p < 0.05$  を有意差有りとした。

## 【結果】

ApoB48 分泌では、Res と Gen を投与した小腸使用の反転腸管で対照群に比べて増加の傾向がみられ、各々16.1%、27.4%増加していた。Cur 投与小腸では、7.9%減少した。(Fig. 4-2 A) TG 分泌では、Res 投与小腸に対照群に比べ減少の傾向がみられ、Gen、Cur 投与小腸では有意な減少がみられた。各成分各々、9.5%、27.3%、20.7%減少した。(Fig. 4-2 B) (Table. 37)

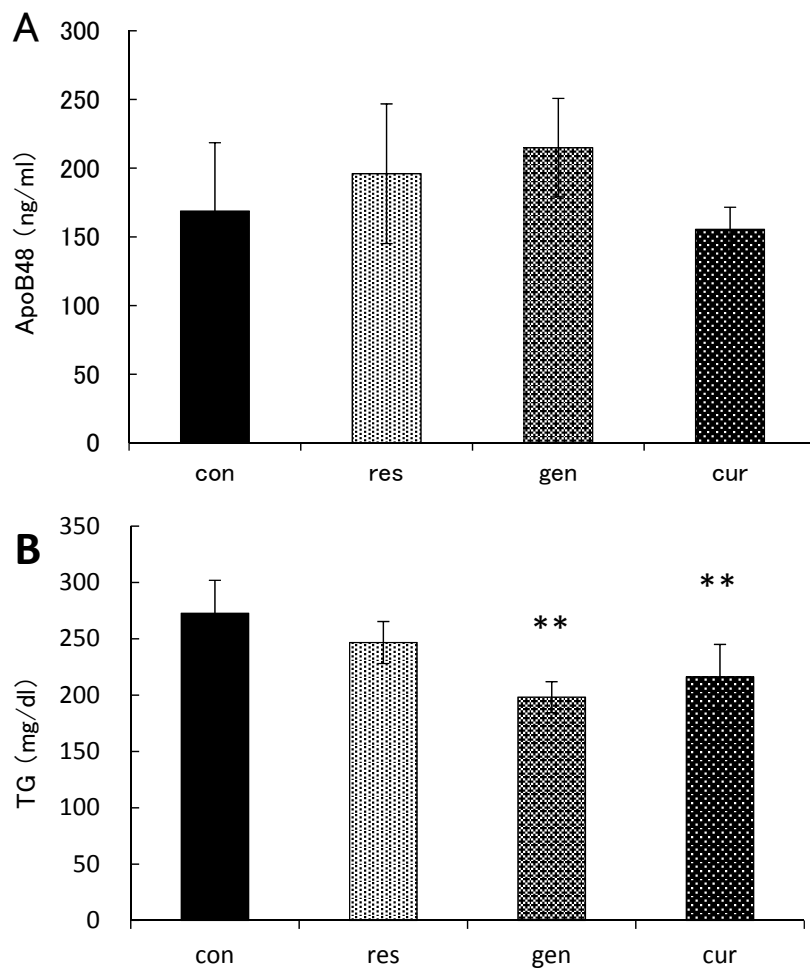


Fig.4-2 食品成分長期投与小腸による反転腸管実験 apoB48、TG 分泌への影響

1 週間高脂肪飼料摂取させたのち、2 週間食品成分+高脂肪飼料を摂取させる実験した家兎の小腸を使用して反転腸管実験を行った。浸漬した溶液は脂質ミセルのみとした。 A : apoB48 測定の結果、 B : TG 測定の結果 (n = 15)

con : control、 res : resveratrol、 gen : genistein、 cur : curcumin

\*\* : p < 0.01 vs control

### 第三章 考察

食後高脂血症の研究では様々な細胞系や個体系の研究が行われてきているが、細胞レベルと個体レベルを結ぶ腸管組織を使用した研究は乏しく実験手段として確立されていない。動物個体を用いて *in situ* で腸間膜リンパ管に挿管する方法もあるが、1 個体 1 条件となりサンプル数がとれず、また腸内環境を一定にすることが難しいため実験条件が揃えられない。また腸管を採取して断片嚢で吸収・分泌を観察する方法も考えられるが、浸漬液に分泌されることとなり薄まった分泌液を回収することになる。そのうえ内腔に食品成分等を分注すると量が限られるため、実験途中で成分が吸収されて薄くなり正確な実験が行えなくなる。そこで、組織を用いた吸収実験に用いられるものの一つである反転腸管 sac 法に着目した。この方法は、小腸切片を反転させて粘膜側を外側にし、両端を結紮して sac 状にして外液に浸漬する方法で、外液を選択することにより腸管での様々な代謝を検討することが可能となる。結紮して漿膜側を閉ざすことにより、外液から吸収された成分が代謝され sac 内側の漿膜側にした代謝物やその濃度を観察することが可能となる。漿膜側を内側にして閉ざして少量の培地に分泌させることで、分泌物を濃密な状態で回収することができる。この反転腸管系は 1954 年に Wilson & Wiseman がラットとハムスターの反転腸管を使用するブドウ糖吸収の研究を報告<sup>72)</sup>して以降、糖代謝<sup>92)</sup><sup>93)</sup><sup>94)</sup><sup>95)</sup><sup>96)</sup><sup>97)</sup><sup>98)</sup> の他、脂質の代謝<sup>74)</sup><sup>79)</sup><sup>80)</sup><sup>81)</sup><sup>82)</sup><sup>99)</sup><sup>100)</sup><sup>101)</sup><sup>102)</sup><sup>103)</sup><sup>104)</sup><sup>105)</sup>、ビタミンの代謝<sup>73)</sup>、薬剤の代謝<sup>74)</sup><sup>75)</sup> 他ミネラルの取り込み<sup>76)</sup>、ホルモンの吸収<sup>77)</sup>、リン酸の取り込み<sup>106)</sup> 等、様々な研究において反転腸管を用いた検討が報告されている。脂質の代謝についても前述のとおり複数報告はあるが、その分泌量を定量的に検討している研究はない。また、反転腸管系を用いての脂質に関する研究については、種々の条件下でのタウロコール酸の取り込み・蓄積をみた報告<sup>82)</sup><sup>103)</sup><sup>104)</sup> やりんご未熟果実由来ポリフェノールの脂肪の吸収阻害作用の報告<sup>105)</sup>、脂質吸収におけるカルシウム、マグネシウムイオンの影響をみた報告<sup>80)</sup>、リノール酸やオレイン酸の取り込みを観察した報告<sup>81)</sup><sup>100)</sup> がある。反転腸管系での脂質の吸収・分泌を検討した研究において、電子顕微鏡で細胞質内への脂質小滴の蓄積および細胞外への出現<sup>79)</sup>、CM 様粒子を形態的に観察した報告<sup>80)</sup> があるが、CM の分泌を定量的に検討した報告はない。本研究では、反転腸管を用いて CM 分泌を定量的に測定しうる実験系として確立した<sup>107)</sup>。

反転腸管囊の作製は Wilson ら<sup>72)</sup> や Hamilton らの報告<sup>84)</sup> を参考にしたが、本研究では、小腸を反転させる補助器具として小動物用の経口ゾンデを使用した。Hamilton らはガラス棒に窪みを付けマウスの小腸を挿入、結紮して押し込んで反転させる方法を報告している。次に反転した小腸の両端を結紮して sac を作製し、Sac 内への溶液の分注は最後の結紮をするときに注射器を使用して分注している。この方法以外でも、腸を結紮してステンレス製等の棒で押し込んで反転させている。今回の実験系の確立にあたり、腸を反転する方法は経口ゾンデに挿入、結紮後に引き抜くことにより行った。この方法は、Hamilton らの方法より容易に、さらに小腸へのダメージが少なかった。また、経口ゾンデの使用により、sac の識別表示、sac 内への培地の分注が容易となった。

粘膜側に添加する脂質については、前述の先行研究では粘膜側の脂質をオレイン酸やリノレン酸、リノール酸をそのまま添加<sup>80) 81) 100)</sup> またはミセル化して添加<sup>79) 105)</sup> している。本研究では培養細胞系での脂質代謝の検討<sup>61)</sup> に用いた脂質ミセル<sup>83)</sup> を調製した後、反転腸管に吸収させて漿膜側に分泌された apoB48 と TG を測定し CM 分泌を定量的に観察した。

まず、反転腸管系で脂質代謝を検討するために小腸の部位による分泌の違いを観察した。apoB48 分泌は胃側から約 25 cm で最も多くなり TG 分泌は apoB48 分泌より少し下部の約 50 cm で最大となった。すなわち、脂肪の吸収能、apoB48 の合成・分泌能が胃側の sac において大腸側より高いことが示唆された。この CM 分泌の結果を受けて、反転腸管実験は幽門より 20 cm 下方からの小腸切片を使用することが適切であると考えた。また、検討研究においては、切片部位を小腸上～下部を各条件に均等に振り分けて用いることにより部位による違いの影響を排除した。

次に浸漬時間による apoB48 と TG 分泌について検討した。どちらの分泌においても浸漬時間が延びるに従い、分泌量は増加した。この結果により、いずれも長時間にわたり安定して分泌していることが明らかになった。脂質関係を検討した他の研究<sup>74) 80) 81) 82) 104)</sup> では 30 分から 4 時間の浸漬時間であったが、apoB48 分泌では 30 分から 60 分までの増加が多くなく増加率もどちらの分泌も時間が経つに従って減少してきたので、浸漬時間は 60 分が適切であると考えた。

浸漬する脂質溶液をミセルと牛乳で比べた検討の結果では、牛乳の量の増加により apoB48 分泌は減少し、TG 分泌は増加した。TG/apoB48 比は、牛乳の比率が多くなるにしたがって大きくなった。TG 分泌が多いことは牛乳溶液の脂肪濃度 (18 mg/ml)

がミセル溶液 (0.5 mg/ml) に比し著しく高く、高率に吸収したことによると考えられるが、この実験より反転腸管には消化の能力があることが明らかになった。さらに、高濃度な乳脂肪を消化していることから、十分な消化能力があると考えられる。一方 apoB48 は、通常は細胞内で過剰合成されており、TG の増加にしたがって分泌が増加するはずであるがむしろ減少がみられている。飽和脂肪酸が多い乳脂肪は CM 粒子サイズを減少させる<sup>108)</sup> すなわち相対的に apoB48 を増加させることが知られているので、ここではホエイのタンパク成分などが apoB48 の減少に関与した可能性がある。ホエイや乳製品において報告されている抗動脈硬化作用<sup>109) 110)</sup> は apoB48 を介するところがあるかもしれない。

さらに本研究では、2015 年に培養細胞株 Caco2 を用いて脂質代謝に影響を与える可能性が報告されている食品成分の網羅的検索の後に、その結果からさらなる検討を行った以下のポリフェノール 3 成分について反転腸管系を用いて検討した。ワインポリフェノールの成分である resveratrol (以下 Res)<sup>87) 111) 112)</sup> 大豆イソフラボンの成分である genistein (以下 Gen)<sup>88) 113) 114)</sup>、ウコンの成分である curcumin (以下 Cur)<sup>61) 115) 116)</sup> の 3 食品成分を反転腸管囊を浸漬する脂質ミセル溶液に添加し、sac 内への CM 分泌について検討した。

これまで Res の脂質代謝への影響については、血中脂質低下作用<sup>87) 117) 118)</sup>、抗動脈硬化作用<sup>119) 120) 121)</sup>、血中脂質に大きな変化は見られなかったが抗動脈硬化作用は見られたとの報告<sup>121)</sup>、酸化 LDL と apoB が減少したとの報告<sup>122)</sup> 等がある。また、電気泳動による apoB48 分泌の検討<sup>111)</sup> や apoB48、apoB100 の分化異化率を検討している報告<sup>112)</sup> はあるが、apoB48 を直接定量して CM 分泌を検討した報告はない。また、大豆イソフラボンおよび主要成分である Gen の脂質代謝への影響では、血中脂質低下作用<sup>52) 53) 54) 55) 56)</sup>、抗動脈硬化作用<sup>88) 113)</sup> が報告されている。Gen の影響の検討において肝臓細胞を用いての apoB 分泌減少の報告<sup>57)</sup> はあるが、CM や apoB48 の分泌を検討した報告はない。Cur の脂質代謝への影響については、血中脂質低下作用<sup>115) 116) 123) 124)</sup>、抗動脈硬化作用<sup>124) 125)</sup>、NPC1L1 の発現減少<sup>126)</sup> も報告されている。また、アテローム性動脈硬化症のウサギでの検討で高用量投与より低用量投与で LDL 酸化感受性、LDL 中のコレステロール、リン脂質、トリグリセライドが低下したとの報告もある<sup>127)</sup>。また、2015 年の培養腸管細胞 Caco2 を用いた検討において、apoB48 の分泌が遺伝子転写と mRNA 編集のレベルで抑制されることにより動脈硬化抑制に働く可能性を報告した<sup>61)</sup>。



今回の反転腸管系の研究の結果では、apoB48 分泌はコントロールに比べ 3 成分の添加において減少がみられた。Res、Cur の添加においては濃度依存的な有意な減少がみられた。apoB48 は CM 1 粒子当たり 1 分子存在しているので<sup>67)</sup>、apoB48 の減少は分泌された CM 粒子数が減少していることを意味する。一方、TG 分泌においてはわずかな増減がみられたが、コントロールに比べ大きな変化はなかった。そのため、TG/apoB48 比では 3 成分ともコントロールに比べて増加がみられ、特に Res と Gen 添加で有意な増加がみられた。これらのことは 3 食品成分の添加により TG 分泌量に大きな変化がないにもかかわらず、CM の粒子数が減少したことにより CM の粒子サイズが増大していることを示している。この結果は我々が先に腸管細胞 Caco2 極性培養系で検討した結果<sup>61)</sup>と同じである。CM 粒子は血中で LPL により代謝されることにより同数の CM レムナント粒子となるので CM 粒子数の減少は動脈硬化巣の形成に働く CM レムナント<sup>62) 63)</sup>の粒子数減少をもたらすことになる。今回用いた 3 種類の食品成分 Res、Gen、Cur は apoB48 分泌減少を通して CM レムナント粒子数を減少させる効果があると考えられ、動脈硬化抑制的に働く可能性が示唆された。脂質関連タンパク質の遺伝子転写解析の結果、Res と Gen は *apob* 遺伝子が、Cur では *apob*、*apobec1*、*alcf* がコントロールに比べ濃度依存的な減少をみせており、3 成分が遺伝子転写レベルで apoB48 分泌を抑制していることが観察された。

反転腸管系の検討によるその他の脂質の測定において、肝臓から分泌される LDL が測定された。培養細胞を用いた検討<sup>61)</sup>で apoB100 が検出されなかったので、組織からの分泌ではなく別の原因がある可能性が高いと考える。反転腸管作製時に腸間膜の除去を行うが、その処理が不十分で血液が混入してしまったか、また除去としてはある程度十分であっても血液が付着していた可能性も考えられる。今後反転腸管実験を行うにあたり、採取した腸管の洗浄等十分な注意が必要と考える。

動物個体を用いた検討では、高脂肪飼料に食品成分を付加して投与した後の血漿 apoB48、TG 等濃度の経時的変化を観察した検討と、高脂肪飼料に食品成分を付加して長期間投与し食品成分の血漿 apoB48、TG 等濃度への影響の検討を行ったが、いずれの成分・濃度においても対照群に比べ有意な差はなく、大きな変化もみられなかった。しかし、長期投与実験後に採取した大動脈を観察したところ、対照群の大動脈において動脈硬化の初期病変の脂肪線条 (fatty streak) 的な変化が認められたが、投与群においてはわずかなものか、または認められなかった。今回、大動脈を観察するにあたり脂肪の SudanIV による染色を行ったが、大動脈の脂肪を染色する

ことができなかつた。この観察は染色による色ではなく、血管内皮を目視で観察したものである。この染色に関しては、参考した文献<sup>90)91)</sup>では Formaldehyde Solution への浸漬時間が 1 時間であったのに対し、様々な理由により長期間（月単位）浸漬してしまつたためと考えられる。

血中脂質の経時的な変化を観察した検討では、高脂肪飼料投与後 1、3 時間後と上昇し、3 時間後をピークに血漿 apoB48、TG 濃度が減少している報告<sup>86)</sup>があり、今回の結果とは大きく異なつた。実験方法、流れは同様に行つたが、家兎の絶食後の摂取では予想に反して勢いがみられず、血中 CM 濃度を観察するには摂取量が十分でなつた等の原因も考えられる。これが原因であれば、絶食時間を延長することで改善できるかもしれない。

食品成分の長期投与での検討についても、前述の Res の先行研究でヒトあるいは動物への投与実験研究において、血中脂質低下作用<sup>87) 117) 118)</sup>を報告しており今回の結果とは異なつている。ただし、いずれも実験期間が 8 週間であり、血中脂質の影響が表面化するには今回の投与期間が短かつた可能性は十分考えられる。しかし、実験期間が 8 週間でも血中脂質に大きな変化は見らなかつたが、抗動脈硬化作用は見られたとの報告<sup>121)</sup>もあり、今回の結果は抗動脈硬化作用を含めてこの報告と同じであつた。

Gen の脂質代謝への影響を観察し血中脂質低下作用が報告<sup>52) 53) 54) 55)</sup>されている投与研究でも、ラット、家兎で 10~16 週間、対象がヒトの場合 24 週間の報告<sup>55)</sup>がある。また、大豆イソフラボンの検討ではあるが、核内受容体 PPAR $\alpha$ 、 $\gamma$ を検討した報告がある。この報告では、イソフラボン含有の大豆抽出物は PPAR $\alpha$ 、 $\gamma$ 発現を増加させ、脂質代謝を改善し抗糖尿病効果をもたらす PPAR 受容体を活性化することを示唆しており、PPAR 経路を介して抗糖尿病および脂質低下作用を発揮するとしている。今回の検討においても、Gen 添加の反転腸管の小腸と Gen 投与の長期投与 Rabbit 肝臓での ppar $\gamma$ 発現が増加しており、先の報告を追認することとなつた。ただし、長期投与において血中脂質に変化はなかつたので、その点に関しては異なつている。

Cur 投与による血中脂質低下作用の報告<sup>115) 116) 123) 124)</sup>では、ラットで 7 日間検討した報告<sup>123)</sup>もあるが、家兎、ラットを使用して 7~8 週間で検討を行っている。Cur 投与では、アテローム性動脈硬化症のウサギでの検討で高用量投与より低用量投与で LDL 酸化感受性、LDL 中のコレステロール、リン脂質、トリグリセライ

ドが低下したとの報告もある<sup>127)</sup>。本研究においても、血中脂質の経時的変化の検討で Gen、Cur の TG 分泌や 3 成分の TC 分泌において高用量 (800  $\mu\text{mol}/\text{kg}$ ) より低用量 (200、400  $\mu\text{mol}/\text{kg}$ ) の方が有意な差もなく若干ではあるが抑制の傾向がみられた。抗動脈硬化作用の報告については、Cur 投与<sup>124) 125)</sup>のみならず、Res<sup>119) 120)</sup>、Gen<sup>88) 113)</sup> 投与においても報告されており、今回の検討でも同じ結果が確認できた。

Cur について、培養細胞株 Caco2 を使用した研究で、*npc111* の発現減少によりこれステロール取り込みを抑制しているとの報告<sup>126)</sup>がある。*npc111* の発現減少に関しては、著者の Caco2 細胞での検討でも Cur 添加で濃度依存的な減少が観察されており、今回の反転腸管系を用いた検討でも同じく *npc111* 発現に濃度依存的な減少が確認できた。しかし、長期投与実験での遺伝子発現調節の検討では、*npc111* 発現について小腸組織では Gen 投与、肝臓組織では 3 成分に対照群に比べ減少の傾向がみられたのみであった。2014 年 Tian は Cur15  $\mu\text{M}$  添加でラットの肝細胞中の *apobec1* 発現が増加し、*apob* 編集レベルを上げることにより apoB-100 を減少させていることを示唆しているとの報告<sup>128)</sup>している。この報告では、25  $\mu\text{M}$  添加で *apobec1* 発現減少しているが、*apob* の mRNA 編集レベルに影響していないとしている。今回の肝臓組織の遺伝子発現調節の検討でも、3 成分とも対照群に比べ *apobec1* 発現に増加がみられ、Gen 投与群において 3 成分中最も増加している。先の報告<sup>128)</sup>は肝細胞に Cur を添加した検討であったが、本研究においては Gen 投与で *apobec1* 発現増加と合わせて、Day22 の LDL 分泌に対照群・他の成分投与群に比べて抑制がみられた。Nakamuta らによるとヒトやウサギでは APOBEC1 は肝臓では発現していないとある<sup>5)</sup>が、今回の検討では発現がみられた。しかし、絶対量は検討していないため、apoB48 を合成するほどの発現量があるかわからない。

今回の長期投与実験において検討したポリフェノールの抗動脈硬化抑制の傾向が観察できたにもかかわらず血中脂質の変化が観察されなかったことについて実験期間について前述したが、投与量についても検討が必要と考える。今回の投与量は検討した食品成分を投与している先行研究のうち、検索を行ったなかで最も高用量なものを採用した。これは影響が表れやすいと仮定してのことであったが、Cur 投与の研究で高用量投与より低用量投与の方が血中脂質の低下がみられたとの報告<sup>127)</sup>があったように適切な仮定とはいえなかった。また今回投与期間の後半になるほど、個体にはよるが家兎の摂取状況が悪くなるのが観察された。用量が

より少なければ、このような状況が避けられた可能性は捨てきれない。また、もし低用量でより効果がみられた場合、ヒトが摂取するときにより有効であると考えられる。Res、Gen、Curのそれぞれ食品中での含有量は、Resでは赤ワイン 1 本 (750 ml) あたり 0.88~25  $\mu\text{M}$ 、レーズン 100 g (160~170 粒) あたり 4.4  $\mu\text{mol}$ 、Genでは、納豆 1 パック (40 g) 3.2  $\mu\text{mol}$ 、豆腐 100 g (約 1/2 丁) あたり 5.5  $\mu\text{mol}$ 、Curでは、カレーライス 1 皿あたり 13~40  $\mu\text{mol}$  これは使用する香辛料ターメリックの量によるが、研究に使用される量に比べると非常に微量であるといえる。さらに飲食、消化液により希釈されるため小腸においてそのままの濃度にはならないことを考えると、食品から検討した用量を摂取することは非常に困難であると考えられる。とはいえ、より少ない用量で血中脂質低下作用が表れるとすると、摂取することによる効果にも期待がもてるかもしれない。

長期投与実験において血中脂質の変化が観察されなかったことについては、長期投与後の家兎小腸を用いた反転腸管実験で対照群に比べ投与群の小腸で apoB48 分泌が増加した結果から、食品成分を小腸内腔から添加した場合と摂取して小腸壁内に成分が取り込まれた場合とでは CM 分泌または apoB48 分泌への影響に違いがある可能性が考えられる。

本研究は、食品の機能性成分の apoB48 分泌に与える影響について細胞生物学的な検討に続き、組織さらには動物個体を用いて検討したものである。組織での検討のための反転腸管系で脂質代謝を検討する系を確立<sup>107)</sup>し、培養細胞株での Res、Gen、Cur の影響の検討に続き、組織での検討においても CM レムナント粒子数の減少を介し動脈硬化抑制的に働く可能性が示唆された。また、遺伝子発現調節の結果より、Res、Gen、Cur はカイロミクロン apoB48 の合成・分泌を、遺伝子転写と mRNA 編集のレベルで抑制することが明らかとなり、脂質改善、動脈硬化の抑制に関与しうる可能性が示唆された。食品成分投与の研究での血中脂質の抑制作用は観察できなかったが、動脈硬化抑制については確認できたと考える。動物個体を用いた食品成分の投与研究には種々の課題が残っているが、動脈硬化予防を通じて健康寿命延長の一助になるのではないかと考える。今後のこれら 3 機能性成分の動脈硬化効果について改善した動物を用いた検討、ヒトに対する実効についてなどさらなる検討が期待される。

尚、本研究は以下のとおり発表した。

【発表論文】

- 「ウサギ反転腸管系を用いた脂質吸収とカイロミクロンの分泌の測定」

日本臨床栄養学会誌、39 (4) :230-236 (2017)

〔副論〕

- 「培養腸管細胞からのカイロミクロン ApoB-48 の合成、分泌に対し curcumin が与える影響」

日本臨床栄養学会誌、37 (2) : 122-129 (2015) [2015 年度優秀論文賞受賞]

- 「乳酸菌が脂質代謝に与える影響についての培養腸管細胞 Caco2 を用いた検討」  
「実践女子大学紀要」、53 : 7-12 (2016)

【学会発表】

1. 「家兎の反転腸管を用いた回路ミクロンの分泌・に食品成分等が与える影響の検討」

2017 年（平成 29 年）1 月 15 日、第 51 回 日本成人病（生活習慣病）学会学術集会

演題番号：51、都市センターホテル

2. 「Analysis of chylomicron apoB48 secretion using everted intestinal sac system; Effects of food ingredients.」

2017 年 9 月 10-14 日、42nd FEBS CONGRESS, Jerusalem, Israel

P.5、演題 4-019

3. 「カイロミクロン ApoB-48 の分泌に栄養素、食品成分等が与える影響～反転腸管系を用いた検討～」

2017 年（平成 29 年）10 月 13 日、第 39 回日本臨床栄養学会総会、幕張メッセ

page. 203、演題 0-024

## 第IV章 総括

本研究は動脈硬化の抑制に資する食品の機能性成分を探索することを目的として、機能性成分が腸管での脂質代謝に与える影響について研究を行った。研究においては先の培養腸管細胞を用いた resveratrol (以下 Res)、genistein (以下 Gen)、curucumin (以下 Cur) の3成分が脂質代謝に与える影響の検討に続き、反転腸管系を用いた検討と動物個体を用いた検討を行った。反転腸管系の検討を行うにあたり脂質代謝を検討するための測定系がなかったため、まず反転腸管を用いたカイロミクロン分泌の定量的な観察系を確立した。これにより反転腸管系を用いて食品成分が脂質代謝に与える影響を観察することができるようになり、培養腸管細胞で検討した Res、Gen、Cur について反転腸管系を用いて脂質代謝に与える影響の検討を行った。apoB48 分泌は3成分とも対照群に比べ減少の傾向がみられ、一方トリグリセライド (以下 TG) 分泌は対照群に比べて大きな変化はみられなかった。このことは培養腸管細胞で得られた結果と同じであり、apoB48 はカイロミクロン (以下 CM) 1 粒子あたり 1 分子存在することから、分泌される CM は粒子数が減少する一方でサイズが大型化していると考えられる。さらに遺伝子への影響を検討において、Res、Gen 添加では、*apob* 遺伝子の発現に対照群に比べ減少の傾向がみられた。Cur 添加では、*apob* 遺伝子、編集酵素 *apobec1* 遺伝子、APOBEC1 相補因子 *a1cf* 遺伝子発現に対照群に比べ濃度依存的な有意な減少みられた。動物個体を用いた検討では、血漿 apoB48、TG、総コレステロール (TC)、低比重リポ蛋白 (LDL)、高比重リポ蛋白 (HDL) 濃度には対照群に比べ有意な差はなく大きな変化はみられなかったが、食品成分投与群において対照群に比べて大動脈の動脈硬化初期病変の脂肪線条 (fatty streak) の発生抑制が確認できた。

本研究は、食品の機能性成分の apoB48 分泌に与える影響について細胞生物学的な検討に続き、組織さらには動物個体を用いて検討したものである。組織での検討のための反転腸管系で脂質代謝を観察する系を確立<sup>107)</sup>し、培養細胞株での Res、Gen、Cur の影響の解析に続き、組織での解析においても CM レムナント粒子数の減少を介し動脈硬化抑制的に働く可能性が示唆された。Res、Gen、Cur は CM apoB48 の合成・分泌を遺伝子転写と mRNA 編集のレベルで抑制することが明らかとなり、脂質改善、動脈硬化の抑制に関与しうる可能性が示唆されたことは、動脈硬化予防を通じて健康寿命延長の一助になるのではないかと考える。

## 第V章 謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始一貫懇切なるご指導・ご助言を賜りました本学大学院教授 松島照彦博士に心から感謝申し上げます。また、3年間あたたかく支えてくださいました本研究室助手 一色侖花様に心より御礼申し上げます。

また、学位論文審査におきまして貴重なご指導・ご助言を頂きました本学大学院教授 細川 優博士、中川靖枝博士、ならびに実験手法におきましてご助言頂きました株式会社シバヤギの小島正章様に厚く御礼申し上げます。

## 第VI章 引用文献

- 1) Chester A, Scott J, Anant S, Navaratnam N. : RNA editing: cytidine to uridine conversion in apolipoprotein B mRNA. *Biochim Biophys Acta.*, 1494 (1-2) : 1-13, (2000)
- 2) Mehta A, Kinter MT, Sherman NE, Driscoll DM. : Molecular cloning of apobec-1 complementation factor, a novel RNA-binding protein involved in the editing of apolipoprotein B mRNA. *Mol Cell Biol.*, 20 (5) : 1846-1854 (2000)
- 3) Goldstein JL, Kita T, Brown MS. : Defective lipoprotein receptors and atherosclerosis. Lessons from an animal counterpart of familial hypercholesterolemia., *N Engl J Med.*, 309 (5) : 288-296 (1983)
- 4) 塩見 雅志: トランスレーショナルリサーチにおける WHHL/WHHLMI ウサギの役割. *Kansai Journal of Laboratory Animals*, 30: 1-12 (2008)
- 5) Nakamuta M, Oka K, Krushkal J, Kobayashi K, Yamamoto M, Li WH, Chan L. : Alternative mRNA splicing and differential promoter utilization determine tissue-specific expression of the apolipoprotein B mRNA-editing protein (Apobec1) gene in mice. Structure and evolution of Apobec1 and related nucleoside/nucleotide deaminases. *J Biol Chem.*, 270 (22) : 13042-13056 (1995)
- 6) Cartwright IJ, Hebbachi AM, Higgins JA. : Transit and sorting of apolipoprotein B within the endoplasmic reticulum and Golgi compartments of isolated hepatocytes from normal and orotic acid-fed rats. *J Biol Chem.*, 268 (28) : 20937-20952 (1993)
- 7) Arbeeny CM, Meyers DS, Bergquist KE, Gregg RE. : Inhibition of fatty acid synthesis decreases very low density lipoprotein secretion in the hamster. *J Lipid Res.*, 33 (6) : 843-851 (1992)
- 8) Arai, S. : Perspective functional food science. *J. Sci. Food Agric.*, 85: 1603-1605 (2005)
- 9) 辻 啓介, 堀江 祥允, 辻 悦子, 鈴木 慎次郎: 白ネズミの体内コレステロール代謝に及ぼすコンニャク精粉の影響. *栄養と食糧*, 27 (8) : 405-411 (1974)
- 10) Stasse-Wolthuis M, Hautvast JG, Hermus RJ, Katan MB, Bausch JE, Rietberg-Brussaard JH, Velema JP, Zondervan JH, Eastwood MA, Brydon WG. :



- The effect of a natural high-fiber diet on serum lipids, fecal lipids, and colonic function. *Am J Clin Nutr.*, 32 (9) : 1881-8 (1979)
- 11) Tapan K. BASU, Buncha OORAIKUL: Lipid-Lowering Effects of Dietary Fiber. *J. Clin. Biochem.*, 18: 1-9 (1995)
  - 12) Vahouny GV, Satchithanandam S, Chen I, Tepper SA, Kritchevsky D, Lightfoot FG, Cassidy MM.: Dietary fiber and intestinal adaptation: effects on lipid absorption and lymphatic transport in the rat. *Am J Clin Nutr.*, 47 (2) : 201-6 (1988)
  - 13) Lisa Brown, Bernard Rosner, Walter W Willett, Frank M Sacks: Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr*, 69: 30-42 (1999)
  - 14) Vahouny GV, Satchithanandam S, Cassidy MM, Lightfoot FB, Furda I.: Comparative effects of chitosan and cholestyramine on lymphatic absorption of lipids in the rat. *Am J Clin Nutr.*, 38 (2) : 278-84 (1983)
  - 15) Jennings CD, Boleyn K, Bridges SR, Wood PJ, Anderson JW.: A comparison of the lipid-lowering and intestinal morphological effects of cholestyramine, chitosan, and oat gum in rats. *Proc Soc Exp Biol Med.*, 189 (1) : 13-20 (1988)
  - 16) KK., Carroll: The role of dietary protein in hypercholesterolemia and atherosclerosis. *Lipids.*, 13 (5) : 360-5 (1978)
  - 17) Kim DN, Lee KT, Reiner JM, Thomas WA.: Effects of a soy protein product on serum and tissue cholesterol concentrations in swine fed high-fat, high-cholesterol diets. *Exp Mol Pathol.*, 29 (3) : 385-99 (1978)
  - 18) Nagaoka S, Miwa K, Eto M, Kuzuya Y, Hori G, Yamamoto K.: Soy protein peptic hydrolysate with bound phospholipids decreases micellar solubility and cholesterol absorption in rats and caco-2 cells. *J Nutr.*, 129 (9) : 1725-30 (1999)
  - 19) Muramatsu K, Fukuyo M, Hara Y.: Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol*, 32 (6) : 613-622 (1986)
  - 20) 福与 真弓, 原 征彦, 村松 敬一郎: 茶葉カテキンの構成成分である (-) エ

- ピガロカテキンガレートの血中コレステロール低下作用. 日本栄養・食糧学会誌, 39 (6) : 495-500 (1986)
- 21) Chan PT, Fong WP, Cheung YL, Huang Y, Ho WK, Chen ZY. : Jasmine green tea epicatechins are hypolipidemic in hamsters (*Mesocricetus auratus*) fed a high fat diet. *J Nutr.*, 129 (6) : 1094-1101 (1999)
- 22) Raederstorff DG, Schlachter MF, Elste V, Weber P. : Effect of EGCG on lipid absorption and plasma lipid levels in rats. *J Nutr Biochem.*, 14 (6) : 326-332 (2003)
- 23) Hirose N, Inoue T, Nishihara K, Sugano M, Akimoto K, Shimizu S, Yamada H. : Inhibition of cholesterol absorption and synthesis in rats by sesamin. *J Lipid Res.*, 32 (4) : 629-638 (1991)
- 24) Hirata F, Fujita K, Ishikura Y, Hosoda K, Ishikawa T, Nakamura H. : Hypocholesterolemic effect of sesame lignan in humans. *Atherosclerosis.*, 122 (1) : 135-136 (1996)
- 25) Ogawa H, Sasagawa S, Murakami T, Yoshizumi H. : Sesame lignans modulate cholesterol metabolism in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl.*, 22 (1) , S310-312 (1995)
- 26) Murata M, Ide T, Hara K. : Reciprocal responses to dietary diacylglycerol of hepatic enzymes of fatty acid synthesis and oxidation in the rat. *Br J Nutr.*, 77 (1) : 107-121 (1997)
- 27) Tomonori Nagao, Hiroyuki Watanabe, Naohiro Goto, Kouji Onizawa, Hiroyuki Taguchi, Noboru Matsuo, Takuji Yasukawa, Rikio Tsushima, Hiroyuki Shimasaki, and Hiroshige Itakura: Dietary Diacylglycerol Suppresses Accumulation of Body Fat Compared to Triacylglycerol in Men in a Double-Blind Controlled Trial. *The Journal of Nutrition.*, 130 (4) : 792-797 (2000)
- 28) Taguchi H, Watanabe H, Onizawa K, Nagao T, Gotoh N, Yasukawa T, Tsushima R, Shimasaki H, Itakura H. : Taguchi H, Watanabe H, Onizawa K, Nagao T, Gotoh N, Yasukawa T, Tsushima R, Shimasaki H, Itakura H. Double-blind controlled study on the effects of dietary diacylglycerol on postprandial serum and chylomicron triacylglycerol responses in healthy humans. *J Am Coll Nutr.* , 19 (6) : 789-796 (2000)

- 29) Kok N, Roberfroid M, Robert A, Delzenne N. : Involvement of lipogenesis in the lower VLDL secretion induced by oligofructose in rats. *Br J Nutr.*, 76 (6) : 881-890 (1996)
- 30) 富重慶子, 松島照彦: 乳酸菌が脂質代謝に与える影響についての培養腸管細胞 Caco2 を用いた検討. *実践女子大学紀要*, 53: 7-12 (2016)
- 31) GV., Mann: Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. *Am J Clin Nutr.*, 27 (5) : 464-9 (1974)
- 32) Akalin AS, Gönç S, Düzel S. : Influence of yogurt and acidophilus yogurt on serum cholesterol levels in mice. *J Dairy Sci.*, 80 (11) : 2721-5 (1997)
- 33) K, GRUNEWALD K: Serum cholesterol levels in rats fed skim milk fermented by *Lactobacillus acidophilus*. *J Food Sci.*, 47 (6) : 2078-2079 (1982)
- 34) Hepner G, Fried R, St Jeor S, Fusetti L, Morin R. : Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk. *Am J Clin Nutr.*, 32 (1) : 19-24 (1979)
- 35) Jaspers D.A. Massey L.K. Luedecke L.O. : Effect of consuming yoghurts prepared with three culture strains on human serum lipoproteins. *J Food Sci.*, 49 : 1178-1181 (1984)
- 36) Agerholm-Larsen L, Bell ML, Grunwald GK, Astrup A. : The effect of a probiotic milk product on plasma cholesterol: a meta-analysis of short-term intervention studies. *Eur J Clin Nutr.*, 54 (11) : 856-60 (2000)
- 37) LK., Massey: Effect of changing milk and yogurt consumption on human nutrient intake and serum lipoproteins. *J Dairy Sci.* 67 (2) : 255-62 (1984)
- 38) Thompson LU, Jenkins DJ, Amer MA, Reichert R, Jenkins A, Kamulsky J. : The effect of fermented and unfermented milks on serum cholesterol. *Am J Clin Nutr.*, 36 (6) : 1106-11 (1982)
- 39) 鈴木 豊、海津 浩美、山内 吉彦: 高コレステロール飼料を摂取させたラットの血清中コレステロール濃度に及ぼす発酵乳の影響. *日畜会報*, 62 (6) : 565-571 (1991)
- 40) Kimoto H1, Ohmomo S, Okamoto T. : Cholesterol removal from media by lactococci. *Dairy Sci.*, 85 (12) : 3182-8 (2002)
- 41) Watanabe S, Katsube T, Hattori H, Sato H, Ishijima T, Nakai Y, Abe K, Sonomoto K. : Effect of *Lactobacillus brevis* 119-2 isolated from Tsuda kabu

- red turnips on cholesterol levels in cholesterol-administered rats. *J Biosci Bioeng.*, 116 (1) : 45-51 (2013)
- 42) Huang WC, Chen YM, Kan NW, Ho CS, Wei L, Chan CH, Huang HY, Huang CC. : Hypolipidemic effects and safety of *Lactobacillus reuteri* 263 in a hamster model of hyperlipidemia. *Nutrients.*, 7 (5) : 3767-82 (2015)
- 43) 梶本 修身, 平田 澤, 青江 誠一郎, 高橋 丈生, 鈴木 豊, 田中 博: 境界域及び軽度高コレステロール血症に対し *Lactobacillus gasseri* (ガゼリ菌 SP 株) を含有する発酵乳は血清コレステロール値を低下させる. *日本乳酸菌学会誌*, 13 (2) : 114-124 (2002)
- 44) Manabu KAWASE, Hideo HASHIMOTO, Masataka HOSODA, Hirotsugu MORITA, Akiyoshi HOSONO: Serum Cholesterol-lowering Effect of Fermented Milk with *Streptococcus thermophilus* TMC 1543. *Anim. Sci. J.*, 72 (1) : 54-62 (2001)
- 45) Usman1, Hosono A. : Bile tolerance, taurocholate deconjugation, and binding of cholesterol by *Lactobacillus gasseri* strains. *J Dairy Sci.*, 82 (2) : 243-8 (1999)
- 46) Klaver FA1, van der Meer R. : The assumed assimilation of cholesterol by *Lactobacilli* and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity. *Appl Environ Microbiol.*, 59 (4) : 1120-4 (1993)
- 47) De Rodas BZ, Gilliland SE, Maxwell CV. : Hypocholesterolemic action of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 and calcium in swine with hypercholesterolemia induced by diet. *J Dairy Sci.*, 79 (12) : 2121-8 (1996)
- 48) Gilliland SE, Nelson CR, Maxwell C. : Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus.*, *Appl Environ Microbiol.* *Appl Environ Microbiol.*, 49 (2) : 377-81 (1985)
- 49) Fukushima M1, Nakano M. : Effects of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on cholesterol metabolism in rats fed on a fat- and cholesterol-enriched diet. *Br J Nutr.*, 76 (6) : 857-67 (1996)
- 50) Lye HS, Rusul G, Liong MT. : Removal of cholesterol by lactobacilli via incorporation and conversion to coprostanol. *J Dairy Sci.*, 93 (4) : 1383-92 (2010)
- 51) Arai Y, Watanabe S, Kimira M, Shimoi K, Mochizuki R, Kinae N. : Dietary

- intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. *J Nutr.*, 130 (9) : 2243-2250 (2000)
- 52) Elizabeth A. Kirk<sup>3</sup>, Phuong Sutherland, Shari A. Wang, Alan Chait, and Renee C. LeBoeuf: Dietary Isoflavones Reduce Plasma Cholesterol and Atherosclerosis in C57BL/6 Mice but not LDL Receptor-Deficient Mice. *J. Nutr.* 128 (6) : 954-959 (1998)
- 53) 神田 知、天野真佐理、高松美和、相良未木、家森幸男: 積極的な大豆食摂取が中高齢者の循環器疾患リスクファクター軽減に及ぼす影響. *大豆たん白質研究* 5: 138-143 (2002)
- 54) Mezei O, Banz WJ, Steger RW, Peluso MR, Winters TA, Shay N. : Soy isoflavones exert antidiabetic and hypolipidemic effects through the PPAR pathways in obese Zucker rats and murine RAW 264.7 cells. *J Nutr.* 133 (5) : 1238-43 (2003)
- 55) Rios DR, Rodrigues ET, Cardoso AP, Montes MB, Franceschini SA, Tolo MR. : Lack of effects of isoflavones on the lipid profile of Brazilian postmenopausal women. *Nutrition.*, 24 (11-12) : 1153-8 (2008)
- 56) Uesugi T, Toda T, Tsuji K, Ishida H. : Comparative study on reduction of bone loss and lipid metabolism abnormality in ovariectomized rats by soy isoflavones, daidzin, genistin, and glycitin. *Biol Pharm Bull.*, 24 (4) : 368-72 (2001)
- 57) Nica M Borradaile, Linda E de Dreu, Lisa J Wilcox, Jane Y Edwards, and Murray W Huff: Soy phytoestrogens, genistein and daidzein, decrease apolipoprotein B secretion from HepG2 cells through multiple mechanisms. *Biochem J.* 366 (2) : 531-539 (2002)
- 58) Adele Casaschi, Qi Wang, Ka'ohimanu Dang, Alison Richards, Andre Theriault: Intestinal apolipoprotein B secretion is inhibited by the flavonoid quercetin: Potential role of microsomal triglyceride transfer protein and diacylglycerol acyltransferase. *Lipids*, 37 (7) : 647-652 (2002)
- 59) Bok SH, Park SY, Park YB, Lee MK, Jeon SM, Jeong TS, Choi MS. : Quercetin dihydrate and gallate supplements lower plasma and hepatic lipids and change

- activities of hepatic antioxidant enzymes in high cholesterol-fed rats. *Int J Vitam Nutr Res.*, 72 (3) : 161-169 (2002)
- 60) Kaku S, Yunoki S, Mori M, Ohkura K, Nonaka M, Sugano M, Yamada K. : Effect of dietary antioxidants on serum lipid contents and immunoglobulin productivity of lymphocytes in Sprague-Dawley rats. *Biosci Biotechnol Biochem.*, 63 (3) : 575-576 (1999)
- 61) 富重慶子、細川優、中川靖枝、松島照彦：培養腸管細胞からのカイロミクロン ApoB-48 の合成、分泌に対し curcumin が与える影響。日本臨床栄養学会雑誌、37 (2) : 122-129 (2015)
- 62) Florén CH, Albers JJ, Kudchodkar BJ, Bierman EL. : Receptor-dependent uptake of human chylomicron remnants by cultured skin fibroblasts. *J Biol Chem.*, 256 (1) : 425-33 (1981)
- 63) Simons LA, Dwyer T, Simons J, Bernstein L, Mock P, Poonia NS, Balasubramaniam S, Baron D, Branson J, Morgan J, et al. : Chylomicrons and chylomicron remnants in coronary artery disease: a case-control study. *Atherosclerosis.*, 65 (1-2) :181-9 (1987)
- 64) Proctor SD, Mamo JC. : Intimal retention of cholesterol derived from apolipoprotein B100- and apolipoprotein B48-containing lipoproteins in carotid arteries of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* ,23 (9) : 1595-600 (2003)
- 65) Nakano T, Nakajima K, Niimi M, Fujita MQ, Nakajima Y, Takeichi S, Kinoshita M, Matsushima T, Teramoto T, Tanaka A. : Detection of apolipoproteins B-48 and B-100 carrying particles in lipoprotein fractions extracted from human aortic atherosclerotic plaques in sudden cardiac death cases. *Clin Chim Acta.*, 390 (1-2) :38-43 (2008)
- 66) Varela LM, Ortega-Gomez A, Lopez S, Abia R, Muriana FJ, Bermudez B. : The effects of dietary fatty acids on the postprandial triglyceride-rich lipoprotein/apoB48 receptor axis in human monocyte/macrophage cells. *J Nutr Biochem.*, 24 (12) :2031-9 (2013)
- 67) Phillips ML, Pullinger C, Kroes I, Kroes J, Hardman DA, Chen G, Curtiss LK, Gutierrez MM, Kane JP, Schumaker VN. : A single copy of apolipoprotein

- B-48 is present on the human chylomicron remnant. *J Lipid Res.*, 38 (6) : 1170-7 (1997)
- 68) Kinoshita M, Kojima M, Matsushima T, Teramoto T: Determination of apolipoprotein B-48 in serum by a sandwich ELISA. *Clin Chim Acta*, 351 (1-2) : 115-120 (2005)
- 69) DANIELLE CHATEAU, THOMAS PAUQUAI, FRANCOIS DELERS, MONIQUE ROUSSET, JEAN CHAMBAZ, AND SYLVIE DEMIGNOT: Lipid Micelles Stimulate the Secretion of Triglyceride-Enriched Apolipoprotein B48-Containing Lipoprotein by Caco-2 Cells. *J Cell Physiol* 202 (3) : 767-776 (2005)
- 70) Hepner G, Fried R, St Jeor S, Fusetti L, Morin R.: Hypocholesterolemic effect of yogurt and milk. *Am J Clin Nutr.* 32 (1) : 19-24 (1979)
- 71) Ikeda I, Imasato Y, Sasaki E, Nakayama M, Nagao H, Takeo T, Yayabe F, Sugano M.: Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. *Biochim Biophys Acta.* 1127 (2) :141-6 (1992)
- 72) Wilson TH, Wiseman G.: The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface. *J Physiol.* 123 (1) : 116-125 (1954)
- 73) 秋山 俊夫: ビタミン B1 の腸管吸収 -ラット空腸による実験. *消化と吸収* 10: 97-99 (1987)
- 74) Patel JP, Korashy HM, El-Kadi AO, Brocks DR.: Effect of bile and lipids on the stereoselective metabolism of halofantrine by rat everted-intestinal sacs. *Chirality.* 22 (2) : 275-283 (2010)
- 75) Ishikawa A, Yamashita H, Hiemori M, Inagaki E, Kimoto M, Okamoto M, Tsuji H, Memon AN, Mohammadio A, Natori Y.: Characterization of inhibitors of postprandial hyperglycemia from the leaves of *Nerium indicum*. *J Nutr Sci Vitaminol* 53 (2) : 166-173 (2007)
- 76) 小林悦子, 青木康展, 鈴木和夫: 年令による腸管からのカルシウムとストロンチウムの識別的取り込みの変化. 十二指腸粘膜上皮細胞膜のりん脂質組成の変化との関連. *衛生化学*, 38 (2) : 149-155 (1992)
- 77) 田中 浩一郎, 山本 善彦, 村上 正裕, 山本 昌, 村西 昌三: in vitro 反転腸管法を用いた Lauroyl-TRH の消化管吸収機構に関する検討. *Drug Delivery*

- System 8 (3) : 205-208 (1993)
- 78) Mary PL, Rao JP. : Phenol red inhibits uptake of phosphate by the everted gut sacs of mice. *Kobe J Med Sci.* 48 (1-2) : 59-62 (2002)
- 79) Stmuss, Elliott W. : Electron microscopic study of intestinal fat absorption in vitro from mixed micelles containing linolenic acid, monoolein, and bile salt linolenic acid, monoolein, and bile salt.
- 80) Strauss EW. : Effects of calcium and magnesium ions upon fat absorption by sacs of everted hamster intestine. *Gastroenterology.* 73 (2) : 421-424 (1977)
- 81) Bitman J, Wrenn TR, Weyant JR, Wood DL. : Effect of dietary fat and cholesterol on uptake of oleic acid and triolein by everted sacs of bovine small intestine. *J Dairy Sci.* 65 (7) : 1148-1154 (1982)
- 82) Masaru KITAGAWA, Kimikazu IWAMI, Fumio IBUKI: Na<sup>+</sup>-Dependent Transport System for Taurocholate in Rat Small Intestine; Its Localization in the Terminal Ileum and Variation by Fasting. *Agric Biol Chem.* 54 (3) : 685-689 (1990)
- 83) Chateau D, Pauquai T, Delers F, Rousset M, Chambaz J, Demignot S: Lipid micelles stimulate the secretion of triglyceride-enriched apolipoprotein B48-containing lipoproteins by Caco-2 cells. *J Cell Physiol,* 202 (3) : 767-776 (2005)
- 84) Hamilton KL, Butt AG. : Glucose transport into everted sacs of the small intestine of mice. *Adv Physiol Educ.* 37 (4) , 415-426 (2013)
- 85) 今野和則, 堀内伸二, 磯江孝治, 松田浩典, 藤原広和, 古谷真美, 高島宏昌: ラットおよびウサギにおける 3 種混合麻酔薬の検討. *秦野研究所年報,* 35: 53-59 (2012)
- 86) Kinoshita M, Matsushima T, Mashimo Y, Kojima M, Kigure M, Teramoto T. : Determination of immuno-reactive rabbit apolipoprotein B-48 in serum by ELISA. *Exp Anim.,* 59 (4) : 459-67 (2010)
- 87) Tanko Y, Jimoh A, Ahmed A, Mohammed A, Ayo JO. : Resveratrol Protects Rabbits Against Cholesterol Diet-Induced Hyperlipidaemia. *Niger J Physiol Sci.,* 31 (1) : 71-75 (2016)



- 88) Zhao H, Li C, Cao JG, Xiang HL, Yang HZ, You JL, Li CL, Fu XH.: 7-Difluoromethyl-5,4'-dimethoxygenistein, a novel genistein derivative, has therapeutic effects on atherosclerosis in a rabbit model. *J Cardiovasc Pharmacol.*, 54 (5) : 412-20 (2009)
- 89) Naito M, Wu X, Nomura H, Kodama M, Kato Y, Kato Y, Osawa T.: The protective effects of tetrahydrocurcumin on oxidative stress in cholesterol-fed rabbits. *J Atheroscler Thromb.*, 9 (5) : 243-50 (2002)
- 90) Um MY, Hwang KH, Choi WH, Ahn J, Jung CH, Ha TY.: Curcumin attenuates adhesion molecules and matrix metalloproteinase expression in hypercholesterolemic rabbits. *Nutr Res.*, 34 (10) : 886-93 (2014)
- 91) K., Prasad: Dietary flax seed in prevention of hypercholesterolemic atherosclerosis. *Atherosclerosis.*, 132 (1) :69-76 (1997)
- 92) 土屋 正彦, 井上 修二, 平林 良樹, 高邑 裕太郎: ラット反転小腸のブドウ糖吸収に関する研究 —経時的観察法の開発—. *日本消化器病学会雑誌*, 80 (5) : 1138-1143 (1983)
- 93) Yoshimitsu TSUJI, Kazuhiko YAMADA, Norimasa HOSOYA, Sachiko MORIUCHI: Changes of Sugar-Evoked Transmural Potential Differences in Intestine of Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 31: 317-326 (1985)
- 94) Tsuji Y, Yamada K, Hosoya N, Moriuchi S.: Digestion and absorption of sugars and sugar substitutes in rat small intestine. *J Nutr Sci Vitaminol* 32 (1) : 93-100 (1986)
- 95) 篠原 久枝, 辻 義光, 山田 和彦, 細谷 憲政: ラット小腸粘膜における二糖類の水解ならびに吸収に及ぼす食餌中の糖質比率の影響. *日本栄養・食糧学会誌*, 39 (1) : 35-41 (1986)
- 96) 長野正信, 藤井暁, 青山美子, 栗田源彦, 藤井信: くろずもろみ末および黒酢濃縮液の糖代謝への影響. *薬理と治療*, 34 (2) : 199-206 (2006)
- 97) 伊賀悠祐, 松尾達博: ラット反転腸管を用いたフルクトース吸収抑制作用の検討. *香川大学農学部学術報告*, 62: 67-69 (2010)
- 98) Kirk L. Hamilton and A., Grant Butt: Glucose transport into everted sacs of the small intestine of mice. *Adv Physiol Educ.* 37 (4) : 415-426 (2013)

- 99) Stmuss, Elliott W.: Electron microscopic study of intestinal fat absorption in vitro from mixed micelles containing linolenic acid, monoolein, and bile salt linolenic acid, monoolein, and bile salt. *J Lipid Res.*, 7: 307-323 (1966)
- 100) Chow SL, Hollander D.: A dual, concentration-dependent absorption mechanism of linoleic acid by rat jejunum in vitro. *J Lipid Res.*, 20 (3) : 349-356 (1979)
- 101) Chu SH, Geyer RP.: Myo-inositol action on gerbil intestine: reversal of a diet-induced lipodystrophy and change in microsomal lipase activity. *Biochim Biophys Acta.*, 664 (1) : 89-97 (1981)
- 102) Masaru KITAGAWA, Kimikazu IWAMI, Fumio IBUKI: Na<sup>+</sup>-Dependent Transport System for Taurocholate in Rat Small Intestine; Its Localization in the Terminal Ileum and Variation by Fasting. *Agric Biol Chem.*, 54 (3) , 685-689 (1990)
- 103) Masaru KITAGAWA, Kimikazu IWAMI, Fumio IBUKI: Taurocholate Transport by Everted Heal Sacs from Rats with Differing Protein Nutrition. *Agric. Biol. Chem.* 55 (6) : 1647-1648 (1991)
- 104) Stark A, Madar Z. : The effect of an ethanol extract derived from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) on bile acid absorption and cholesterol levels in rats. *Br J Nutr.*, 69: 277-287 (1993)
- 105) 東 知宏, 長田 恭一, 相倉 悦子, 今坂 浩, 半田 正之: りんご未熟果実由来ポリフェノール摂取による肥満予防作用. *日本食品科学工学会誌*, 60 (4) : 184-192 (2013)
- 106) Mary PL, Rao JP.: Phenol red inhibits uptake of phosphate by the everted gut sacs of mice. *Kobe J Med Sci.* 48 (1-2) : 59-62 (2002)
- 107) 富重慶子、細川優、中川靖枝、松島照彦: ウサギ反転腸管系を用いた脂質吸収とカイロミクロンの分泌の測定. *日本臨床栄養学会誌*, 39 (4) : 32-38 (2017)
- 108) Kalogeris TJ, Story JA.: Lymph chylomicron size is modified by fat saturation in rats. *J Nutr.*, 122 (8) : 1634-42 (1992)
- 109) Nabi XH, Ma CY, Manaer T, Heizati M, Wulazibieke B, Aierken L.: Anti-atherosclerotic effect of traditional fermented cheese whey in

- atherosclerotic rabbits and identification of probiotics. *BMC Complement Altern Med.*, 16 (309) : 1-13 (2016)
- 110) Chrysant SG, Chrysant GS. : An update on the cardiovascular pleiotropic effects of milk and milk products. *J Clin Hypertens*, 15 (7) : 503-10 (2013)
- 111) Pal S, Ho SS, Takechi R. : Red wine polyphenolics suppress the secretion of ApoB48 from human intestinal CaCo-2 cells. *J Agric Food Chem.*, 53 (7) : 2767-2772 (2005)
- 112) Dash S, Xiao C, Morgantini C, Szeto L, Lewis GF. : High-dose resveratrol treatment for 2 weeks inhibits intestinal and hepatic lipoprotein production in overweight/obese men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 33 (12) : 2895-2901 (2013)
- 113) Lee CS, Kwon SJ, Na SY, Lim SP, Lee JH. : Genistein supplementation inhibits atherosclerosis with stabilization of the lesions in hypercholesterolemic rabbits. *J Korean Med Sci.*, 19 (5) : 656-61 (2004)
- 114) Takashi Kojima, Takehiko Uesugi, Toshiya Toda, Yutaka Miura, Kazumi Yagasaki: Hypolipidemic action of the soybean isoflavones genistein and genistin in glomerulonephritic rats. *Lipids*, 37 (3) : 261-265 (2002)
- 115) Shin SK, Ha TY, McGregor RA, Choi MS. : Long-term curcumin administration protects against atherosclerosis via hepatic regulation of lipoprotein cholesterol metabolism. *Mol Nutr Food Res.*, 55 (12) : 1829-40 (2011)
- 116) Patil TN, Srinivasan M. : Hypocholesteremic effect of curcumin in induced hypercholesteremic rats. *Indian J Exp Biol.*, 9 (2) : 167-9 (1971)
- 117) Cho IJ, Ahn JY, Kim S, Choi MS, Ha TY. : Resveratrol attenuates the expression of HMG-CoA reductase mRNA in hamsters. *Biochem Biophys Res Commun.*, 367 (1) : 190-194 (2008)
- 118) Marines de Castro, Angela P. M. Veiga, Maria R. Pacheco: Plasma lipid profile of experimentally induced hyperlipidemic New Zealand white rabbits is not affected by resveratrol. *J Appl Res.*, 9 (1) : 18-22 (2009)
- 119) Wong RH, Howe PR, Buckley JD, Coates AM, Kunz I, Berry NM. : Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure. *Nutr*

- Metab Cardiovasc Dis., 21 (11) : 851-6 (2011)
- 120) M. Castro, M. M. R. Pacheco M. D, M. R. F. Machado M. D. : Morphology of aortic arch in rabbit with atherosclerosis treated with resveratrol. Intern J Appl Res Vet Med., 7 (4) : 190-195 (2009)
- 121) Matos RS, Baroncini LA, Précoma LB, Winter G, Lambach PH, Caron EY, Kaiber F, Précoma DB. : Resveratrol causes antiatherogenic effects in an animal model of atherosclerosis. Arq Bras Cardiol., 98 (2) : 136-42 (2012)
- 122) Tomé-Carneiro J, González M, Larrosa M, García-Almagro FJ, Avilés-Plaza F, Parra S, Yáñez-Gascón MJ, Ruiz-Ros JA, García-Conesa MT, Tomás-Barberán FA, Espín JC. : Consumption of a grape extract supplement containing resveratrol decreases oxidized LDL and ApoB in patients undergoing primary prevention of cardiovascular disease: a triple-blind, 6-month follow-up, placebo-controlled, randomized trial. Mol Nutr Food Res., 56 (5) : 810-821 (2012)
- 123) HM., Arafa: Curcumin attenuates diet-induced hypercholesterolemia in rats. Med Sci Monit., 11 (7) : 228-234 (2005)
- 124) Um MY, Hwang KH, Choi WH, Ahn J, Jung CH, Ha TY. : Curcumin attenuates adhesion molecules and matrix metalloproteinase expression in hypercholesterolemic rabbits. Nutr Res., 34 (10) : 886-93 (2014)
- 125) Quiles JL, Mesa MD, Ramírez-Tortosa CL, Aguilera CM, Battino M, Gil A, Ramírez-Tortosa MC. : Curcuma longa extract supplementation reduces oxidative stress and attenuates aortic fatty streak development in rabbits. Arterioscler Thromb Vasc Biol., 22 (7) : 1225-31 (2002)
- 126) Feng D, Ohlsson L, Duan RD. : Curcumin inhibits cholesterol uptake in Caco-2 cells by down-regulation of NPC1L1 expression. Lipids Health Dis., 9 (40) : 1-5 (2010)
- 127) MC, Ramirez-Tortosa: MD, Mesa; MC, Aguilera; JL, Quiles; L, Baro; CL, Ramirez-Tortosa; E, Martinez-Victoria; A, Gil: Oral administration of a turmeric extract inhibits LDL oxidation and has hypocholesterolemic effects in rabbits with experimental atherosclerosis. Atherosclerosis, 147 (2) : 371-8 (1999)

128) Tian N, Li X, Luo Y, Han Z, Li Z, Fan C. : Curcumin regulates the metabolism of low density lipoproteins by improving the C-to-U RNA editing efficiency of apolipoprotein B in primary rat hepatocytes. *Mol Med Rep.*, 9 (1) : 132-6 (2014)

# 付 表

〔研究1〕

Table 2. 反転腸管系における腸管切片の部位による apoB48 および triglyceride(TG)の分泌の検討

sac No.	ApoB48 (ng/ml)	TG (mg/dl)	sac No.	ApoB48 (ng/ml)	TG (mg/dl)
1-3	191.5	167.2	1	158.4	126.4
			2	163.6	202.2
			3	252.4	172.8
4-6	244.1	205.7	4	308.0	200.3
			5	278.3	174.7
			6	145.9	242.0
7-9	172.6	275.4	7	176.0	257.1
			8	192.8	302.6
			9	148.9	266.6
10-12	143.7	254.6	10	120.1	291.2
			11	173.1	252.4
			12	137.8	220.2
13-15	91.8	234.7	13	134.9	245.8
			14	72.5	230.6
			15	67.9	227.8
16-18	85.2	183.6	16	112.7	188.9
			17	112.7	185.2
			18	30.3	176.6
19-21	75.0	185.2	19	40.2	203.1
			20	67.1	205.0
			21	117.8	147.3
22-24	65.2	173.5	22	52.2	161.5
			23	71.0	179.5
			24	72.5	179.5
25-27	82.6	164.0	25	78.4	166.2
			26	54.4	164.3
			27	114.9	161.5

Table 3. 反転腸管系における反転腸管囊の脂質ミセル浸漬時間による apoB48 および triglyceride(TG)の分泌の検討

		A	B	C	D	平均
apoB48 (ng/ml)	0 min	90.3	64.5	55.2	28.2	59.5
	15 min	138.7	131.5	80.0	59.3	102.4
	30 min	127.4	169.5	179.7	107.8	146.1
	60 min	111.9	179.7	140.7	142.8	143.8
	180 min	319.9	304.5	333.2	270.8	307.1
	300 min	506.1	422.4	354.7	343.4	406.7
TG (mg/dl)	0 min	39.4	22.4	29.2	19.0	27.5
	15 min	72.2	81.3	76.8	63.2	73.4
	30 min	166.2	157.1	119.8	102.8	136.5
	60 min	168.5	188.8	173.0	152.6	170.7
	180 min	399.7	402.8	338.2	230.7	342.8
	300 min	491.1	466.2	426.5	470.7	463.6

Table 4. 反転腸管系における脂質溶液の種類による apoB48 および triglyceride(TG)の分泌の検討

		脂質溶液	A	B	C	平均
apoB48 (ng/ml)	脂質ミセル		194.6	192.4	101.9	163.0
	ミセル+牛乳		93.9	84.6	128.0	102.2
	牛乳		95.4	135.2	96.8	109.2
TG (mg/dl)	脂質ミセル		269.1	197.5	197.5	221.4
	ミセル+牛乳		281.1	281.1	245.3	269.2
	牛乳		328.9	340.8	281.1	316.9



[研究 2]

Table 5. 食品成分が apoB48 分泌に与える影響 -反転腸管系を用いた検討-

		A	B	C	D	E	平均
resveratrol	con	95.4	118.8	96.5	62.9	104.3	95.6
	100 $\mu$ M	123.2	128.8	65.2	98.8	90.9	101.4
	200 $\mu$ M	69.6	128.8	99.9	70.8	68.5	87.5
	400 $\mu$ M	46.0	93.2	69.6	68.5	64.0	68.3
genistein	con	181.8	106.6	129.9	40.3	34.7	98.7
	100 $\mu$ M	85.3	149.8	86.5	24.5	30.2	75.3
	200 $\mu$ M	106.6	126.6	61.8	41.5	42.5	75.8
	400 $\mu$ M	154.3	92.1	68.5	68.5	9.7	78.6
curcumin	con	218.0	238.3	195.7	183.0	116.0	190.2
	100 $\mu$ M	151.5	170.4	142.1	118.1	135.8	143.6
	200 $\mu$ M	162.0	148.4	100.4	99.4	70.5	116.1
	400 $\mu$ M	158.8	170.4	136.8	52.0	20.4	107.7

(ng/ml)

Table 6. 食品成分が triglyceride(TG)分泌に与える影響 -反転腸管系を用いた検討-

		A	B	C	D	E	平均
resveratrol	con	135.0	133.9	180.7	164.3	143.7	151.5
	100 $\mu$ M	161.1	211.1	199.2	175.2	163.3	182.0
	200 $\mu$ M	143.7	156.7	176.3	168.7	167.6	162.6
	400 $\mu$ M	158.9	206.8	185.0	191.5	198.1	188.1
genistein	con	140.5	160.9	168.1	135.7	107.0	142.4
	100 $\mu$ M	128.5	205.2	141.7	148.9	132.1	151.3
	200 $\mu$ M	169.2	199.2	180.0	134.5	105.8	157.8
	400 $\mu$ M	196.8	164.5	168.1	120.2	158.5	161.6
curcumin	con	191.2	169.5	179.3	176.0	157.6	174.7
	100 $\mu$ M	177.1	184.7	161.9	155.4	145.6	164.9
	200 $\mu$ M	143.5	169.5	171.7	155.4	146.7	157.4
	400 $\mu$ M	192.3	171.7	178.2	163.0	141.3	169.3

(mg/dl)

Table 7. resveratrol が total cholesterol (TC)、low-density lipoprotein (LDL)、high-density lipoprotein (HDL) 分泌に与える影響 -反転腸管系を用いた検討-

resveratrol		A	B	C	D	E	平均
TC	con	26.1	25.4	25.4	27.2	26.1	26.0
	100 $\mu$ M	26.8	28.2	27.5	27.9	28.9	27.9
	200 $\mu$ M	26.1	26.1	25.8	27.5	25.8	26.3
	400 $\mu$ M	25.4	26.1	25.8	26.1	25.4	25.8
LDL	con	9.8	8.9	8.9	9.8	10.8	9.6
	100 $\mu$ M	12.2	12.2	11.3	12.7	12.7	12.2
	200 $\mu$ M	11.3	10.8	10.8	11.7	10.3	11.0
	400 $\mu$ M	10.3	11.3	10.8	10.8	11.3	10.9
HDL	con	2.4	2.1	2.0	2.4	2.3	2.2
	100 $\mu$ M	2.3	2.4	2.5	2.4	2.5	2.4
	200 $\mu$ M	2.2	2.2	2.2	2.4	2.2	2.2
	400 $\mu$ M	2.0	2.4	2.2	2.2	2.4	2.2

(mg/dl)

Table 8. genistein が total cholesterol (TC)、low-density lipoprotein (LDL)、high-density lipoprotein (HDL) 分泌に与える影響 -反転腸管系を用いた検討-

genistein		A	B	C	D	E	平均
TC	con	27.5	25.4	28.2	26.5	26.8	26.9
	100 $\mu$ M	27.5	30.3	28.2	27.5	26.1	27.9
	200 $\mu$ M	30.0	30.0	28.9	26.5	25.4	28.2
	400 $\mu$ M	31.0	26.8	29.6	26.8	24.4	27.7
LDL	con	21.4	20.3	22.6	20.3	19.9	20.9
	100 $\mu$ M	19.9	23.3	19.6	22.2	21.4	21.3
	200 $\mu$ M	22.9	24.1	27.1	24.1	20.7	23.8
	400 $\mu$ M	22.6	21.1	21.4	20.7	19.2	21.0
HDL	con	2.1	2.0	2.3	2.1	2.4	2.2
	100 $\mu$ M	2.2	2.8	2.3	2.5	2.2	2.4
	200 $\mu$ M	2.4	2.5	2.5	2.5	2.2	2.4
	400 $\mu$ M	2.8	2.4	2.4	2.2	2.3	2.4

(mg/dl)

Table 9. curcumin が total cholesterol (TC)、low-density lipoprotein (LDL)、high-density lipoprotein (HDL) 分泌に与える影響 -反転腸管系を用いた検討-

curcumin		A	B	C	D	E	平均
TC	con	26.8	25.4	26.8	27.2	26.5	26.5
	100 $\mu$ M	26.1	27.9	27.5	27.2	26.1	27.0
	200 $\mu$ M	26.1	27.5	26.5	24.7	25.4	26.0
	400 $\mu$ M	27.2	28.2	26.5	25.1	25.1	26.4
LDL	con	12.2	10.3	10.9	11.7	11.7	11.4
	100 $\mu$ M	11.7	12.7	13.6	12.7	11.3	12.4
	200 $\mu$ M	10.3	14.1	12.7	10.3	12.2	11.9
	400 $\mu$ M	11.7	13.1	11.3	8.9	10.8	11.2
HDL	con	2.4	2.2	2.3	2.2	2.3	2.3
	100 $\mu$ M	2.3	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
	200 $\mu$ M	2.5	2.5	2.3	2.2	2.2	2.3
	400 $\mu$ M	2.3	2.6	2.4	2.1	2.1	2.3

(mg/dl)

Table 10. resveratrol が反転腸管における小腸組織の遺伝子発現調節に与える影響

resveratrol		A	B	C	D	E	平均
<i>apob</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	1.13	0.63	1.07	0.82	0.84	0.90
	200 $\mu$ M	0.66	0.70	0.96	0.65	0.69	0.73
	400 $\mu$ M	0.30	0.46	1.36	0.74	1.02	0.78
<i>apobec1</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.82	1.00	0.90	1.42	1.10	1.05
	200 $\mu$ M	0.99	1.45	1.09	1.10	2.30	1.39
	400 $\mu$ M	0.55	1.13	1.42	1.75	2.16	1.40
<i>a1cf</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.78	2.41	0.94	1.55	2.31	1.60
	200 $\mu$ M	0.91	2.85	1.24	2.33	1.56	1.78
	400 $\mu$ M	0.40	2.60	1.38	3.01	2.03	1.88
<i>apoa1</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.30	1.35	0.53	0.69	0.53	0.68
	200 $\mu$ M	1.28	0.64	0.35	0.74	0.84	0.77
	400 $\mu$ M	0.15	0.97	0.47	0.80	0.72	0.62
<i>npc111</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.36	1.61	0.58	0.82	1.34	0.94
	200 $\mu$ M	0.88	1.56	0.49	1.25	0.95	1.03
	400 $\mu$ M	0.18	1.16	0.54	1.20	1.54	0.92
<i>ppar <math>\gamma</math></i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.63	0.76	0.98	1.09	1.39	0.97
	200 $\mu$ M	0.50	0.90	1.06	1.30	1.66	1.08
	400 $\mu$ M	0.35	1.13	1.75	1.64	1.65	1.30

(vs control)

Table 11. genistein が反転腸管における小腸組織の遺伝子発現調節に与える影響

genistein		A	B	C	D	平均
<i>apob</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	1.15	1.02	0.99	1.22	1.10
	200 $\mu$ M	1.33	0.81	0.70	0.86	0.93
	400 $\mu$ M	0.64	0.78	0.51	0.93	0.72
<i>apobec1</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	1.58	1.10	1.88	1.62	1.55
	200 $\mu$ M	1.55	0.89	1.66	1.15	1.31
	400 $\mu$ M	1.21	1.12	1.05	1.49	1.22
<i>a1cf</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	1.36	2.50	1.66	1.44	1.74
	200 $\mu$ M	1.25	1.58	1.18	1.51	1.38
	400 $\mu$ M	1.05	1.91	2.27	1.03	1.56
<i>apoa1</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	2.55	1.19	1.64	2.07	1.86
	200 $\mu$ M	1.32	0.85	0.44	0.60	0.80
	400 $\mu$ M	0.68	0.80	0.42	0.95	0.71
<i>npc1l1</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	1.05	1.26	1.91	1.41	1.41
	200 $\mu$ M	1.21	1.03	1.64	0.83	1.18
	400 $\mu$ M	0.86	0.73	2.03	0.84	1.11
<i>ppar <math>\gamma</math></i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	1.41	1.19	1.93	1.21	1.44
	200 $\mu$ M	1.62	1.38	2.22	0.93	1.54
	400 $\mu$ M	1.29	1.01	2.58	0.89	1.44

(ratio to control)

Table 12. curcumin が反転腸管における小腸組織の遺伝子発現調節に与える影響

curcumin		A	B	C	D	E	平均
<i>apob</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.95	0.68	1.04	0.83	0.84	0.86
	200 $\mu$ M	0.46	1.06	1.01	0.42	0.71	0.73
	400 $\mu$ M	0.55	0.99	0.51	0.58	0.37	0.60
<i>apobec1</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.70	0.56	0.45	0.83	-	0.63
	200 $\mu$ M	0.28	0.59	0.34	0.60	0.40	0.44
	400 $\mu$ M	0.41	0.53	0.15	0.23	0.44	0.35
<i>a1cf</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.41	1.15	0.42	1.41	0.88	0.85
	200 $\mu$ M	0.30	0.59	0.18	0.36	0.49	0.38
	400 $\mu$ M	0.37	0.36	0.16	0.37	0.24	0.30
<i>apoa1</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.57	0.28	0.91	0.81	0.95	0.71
	200 $\mu$ M	0.11	0.68	0.50	0.46	0.49	0.45
	400 $\mu$ M	0.07	0.52	0.19	0.22	0.26	0.25
<i>npc111</i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.82	0.61	0.48	1.71	0.44	0.81
	200 $\mu$ M	0.25	0.66	0.52	0.84	1.09	0.67
	400 $\mu$ M	0.28	0.59	0.14	0.31	0.58	0.38
<i>ppar <math>\gamma</math></i>	con	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	100 $\mu$ M	0.77	1.05	0.57	2.08	1.01	1.10
	200 $\mu$ M	0.47	0.99	0.47	1.31	0.64	0.77
	400 $\mu$ M	0.66	0.85	0.30	0.86	1.14	0.76

(ratio to control)

〔研究 3〕

Table 13. resveratrol 投与による血漿 apoB48 濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	4960.0	5967.9	5773.6	4462.2	5290.9
	1 h	4989.8	7611.0	5143.3	4602.9	5586.8
	3 h	3743.6	4607.3	4758.4	4143.3	4313.2
	6 h	3660.8	4945.8	4602.9	3443.2	4163.2
	9 h	4325.7	5727.7	4425.2	3532.9	4502.9
200 $\mu$ mol/kg	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	6190.5	5165.7	8448.2	4891.7	6174.0
	1 h	4714.0	4643.8	7815.8	4847.2	5505.2
	3 h	5054.5	3870.6	5633.1	4506.7	4766.2
	6 h	4617.8	3675.6	5443.6	4343.6	4520.2
	9 h	3188.2	3502.3	4288.9	4009.7	3747.3
400 $\mu$ mol/kg	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	7168.2	5076.7	3395.9	5377.8	5254.7
	1 h	4847.2	5010.1	3015.0	6345.6	4804.5
	3 h	4714.0	4202.7	2907.4	5720.5	4386.2
	6 h	5885.1	3867.8	3501.9	5077.9	4583.2
	9 h	6205.4	3868.4	2822.7	5019.3	4479.0
800 $\mu$ mol/kg	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	6309.3	6624.9	3979.9	5355.7	5567.5
	1 h	6302.0	4625.1	4647.4	5034.0	5152.1
	3 h	3848.7	4061.6	3555.3	4466.6	3983.1
	6 h	4318.7	4039.4	3052.9	4274.0	3921.3
	9 h	4274.1	4098.8	3697.1	3990.3	4015.1

(ng/ml)

Table 14. genistein 投与による血漿 apoB48 濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	5048.4	3567	4613.5	1128.8	3589.4
	1 h	5885.9	1464.3	4634.5	611.2	3149.0
	3 h	1836.7	2302.2	3353.3	830.1	2080.6
	6 h	1818.5	1473.4	4634.2	1019.3	2236.4
	9 h	2283.6	2082.7	4279.9	850	2374.1
200 $\mu\text{mol/kg}$	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	2149.1	5885.9	4844.4	3465.7	4086.3
	1 h	1888.4	4748.9	4711.2	3098.6	3611.8
	3 h	1497.9	4471.6	2265.3	1687.8	2480.7
	6 h	1128.8	1927.8	2165.1	2804.2	2006.5
	9 h	869.9	2411.7	1120.2	2773.9	1793.9
400 $\mu\text{mol/kg}$	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	2662.9	939.6	5483.4	2834.6	2980.1
	1 h	3794.2	601.3	4825.1	2237.9	2864.6
	3 h	3568.0	810.2	2274.4	2540.1	2298.2
	6 h	3241.0	481.9	2018.9	1546.0	1822.0
	9 h	3445.7	452.1	4045.5	1292.1	2308.9
800 $\mu\text{mol/kg}$	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	4519.2	3763.0	2179.0	4329.2	3697.6
	1 h	4595.5	2946.1	1838.1	2265.5	2911.3
	3 h	3464.9	2390.3	1178.7	1700.3	2183.6
	6 h	1129.2	1248.5	1528.0	2256.3	1540.5
	9 h	894.2	2299.6	919.7	3315.8	1857.3

(ng/ml)



Table 15. curcumin 投与による血漿 apoB48 濃度の経時的変化の影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	3214.8	3100.1	2545.4	2281.2	2785.4
	1 h	3314.9	2906.0	2248.6	2075.3	2636.2
	3 h	3006.7	2638.8	2253.7	2059.4	2489.7
	6 h	2646.1	3192.9	2442.8	2070	2588.0
	9 h	2740.1	3300.6	2539.6	2017.1	2649.4
200 $\mu\text{mol/kg}$	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	1665.3	3400.7	4154.2	2493.8	2928.5
	1 h	1670.1	3856.3	3955.6	2281.2	2940.8
	3 h	1635.6	3379.2	3842.1	2781.6	2909.6
	6 h	1684.7	3536.2	3891.8	2048.8	2790.4
	9 h	1699.7	3150.3	3849.2	2171.9	2717.8
400 $\mu\text{mol/kg}$	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	1724.9	2134.4	3621.5	3006.7	2621.9
	1 h	1822.3	2101.9	3799.5	2608.5	2583.1
	3 h	1664.9	2054.6	3121.6	2761.8	2400.7
	6 h	1510.5	2155.6	2537.3	3049.8	2313.3
	9 h	1625.7	2022.3	3064.2	2927.6	2410.0
800 $\mu\text{mol/kg}$	pre	60.6	70.6	149.5	228.2	127.2
	0 h	3400.7	2209.8	2248.1	2920.4	2694.8
	1 h	2978.0	2107.6	2308.9	2761.7	2539.1
	3 h	3321.9	1985.5	2232.9	2326.1	2466.6
	6 h	2927.6	1851.2	2027.6	2289.6	2274.0
	9 h	2942.0	2193.6	2006.7	2797.9	2485.1

(ng/ml)

Table 16. resveratrol 投与による血漿 triglyceride(TG)濃度の経時的変化の影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	72.8	63.9	79.5	106.1	80.6
	0 h	447.8	410.0	534.5	1012.3	601.2
	1 h	494.5	525.6	623.4	965.6	652.3
	3 h	467.8	161.1	567.8	941.2	534.5
	6 h	401.2	338.9	647.8	752.3	535.1
	9 h	387.8	545.6	498.9	736.7	542.3
200 $\mu$ mol/kg	pre	63.9	79.5	106.1	72.8	80.6
	0 h	376.7	541.2	859.0	872.3	662.3
	1 h	407.8	496.7	778.9	658.9	585.6
	3 h	330.0	370.0	721.2	896.7	579.5
	6 h	281.2	374.5	523.4	879.0	514.5
	9 h	203.4	458.9	743.4	650.1	514.0
400 $\mu$ mol/kg	pre	79.5	106.1	72.8	63.9	80.6
	0 h	352.3	418.9	583.4	974.5	582.3
	1 h	398.9	658.9	394.5	990.1	610.6
	3 h	396.7	574.5	396.7	765.6	533.4
	6 h	401.2	496.7	738.9	785.6	605.6
	9 h	367.8	627.8	803.4	790.1	647.3
800 $\mu$ mol/kg	pre	106.1	72.8	63.9	79.5	80.6
	0 h	383.4	654.5	832.3	852.3	680.6
	1 h	405.6	716.7	481.2	892.3	624.0
	3 h	310.0	485.6	416.7	712.3	481.2
	6 h	225.6	532.3	436.7	678.9	468.4
	9 h	403.4	774.5	345.6	832.3	589.0

(mg/dl)

Table 17. genistein 投与による血漿 triglyceride(TG)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	81	62.3	83.8	110.1	84.3
	0 h	790.5	739.8	1137.5	929.3	899.3
	1 h	814.8	531.6	1173.1	768.0	821.9
	3 h	524.1	552.2	1066.2	775.5	729.5
	6 h	454.7	501.6	1221.9	762.3	735.1
	9 h	359.0	565.4	1233.2	702.3	715.0
200 $\mu$ mol/kg	pre	62.3	83.8	110.1	81.0	84.3
	0 h	777.3	612.3	822.4	910.5	780.6
	1 h	621.6	895.5	784.8	831.7	783.4
	3 h	683.5	644.1	715.4	882.4	731.4
	6 h	334.6	683.5	730.4	809.2	639.4
	9 h	542.8	651.6	788.6	829.9	703.2
400 $\mu$ mol/kg	pre	83.8	110.1	81.0	62.3	84.3
	0 h	816.7	792.3	796.1	1017.4	855.6
	1 h	1038.1	784.8	933.0	863.6	904.9
	3 h	490.3	614.1	1115.0	781.1	750.1
	6 h	312.1	441.5	940.5	698.5	598.2
	9 h	405.9	432.2	972.4	732.3	635.7
800 $\mu$ mol/kg	pre	110.1	81.0	62.3	83.8	84.3
	0 h	694.8	820.5	944.3	1319.5	944.8
	1 h	460.3	843.0	882.4	1176.9	840.7
	3 h	454.7	758.6	874.9	1086.9	793.8
	6 h	516.6	552.2	811.1	1081.2	740.3
	9 h	683.5	456.6	972.4	1034.3	786.7

(mg/dl)

Table 18. curcumin 投与による血漿 triglyceride(TG)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	145.3	138.8	144.9	143.5	143.1
	0 h	441.2	513.2	661.8	574.9	547.8
	1 h	430.9	561.8	652.4	590.7	559.0
	3 h	454.3	417.8	734.7	563.6	542.6
	6 h	441.2	451.5	672.1	577.7	535.6
	9 h	412.2	453.3	704.8	516.9	521.8
200 $\mu$ mol/kg	pre	138.8008	144.9	143.5	145.3	143.1
	0 h	473.9	455.2	530.9	465.5	481.4
	1 h	427.2	515.0	501.0	448.7	473.0
	3 h	454.3	511.3	478.6	396.3	460.1
	6 h	439.3	691.7	500.1	492.6	530.9
	9 h	476.7	547.7	508.5	457.1	497.5
400 $\mu$ mol/kg	pre	144.9	143.5	145.3	138.8	143.1
	0 h	529.0	426.2	485.1	597.3	509.4
	1 h	553.4	470.2	407.5	565.5	499.2
	3 h	451.5	496.3	488.9	589.8	506.6
	6 h	444.0	526.2	441.2	560.8	493.1
	9 h	396.3	458.0	451.5	616.0	480.5
800 $\mu$ mol/kg	pre	143.5	145.3	138.8	144.9	143.1
	0 h	531.9	453.3	541.2	764.6	572.8
	1 h	494.5	545.9	553.4	868.4	615.6
	3 h	449.6	603.8	548.7	883.3	621.4
	6 h	463.6	613.2	515.0	816.0	602.0
	9 h	419.7	509.4	553.4	861.8	586.1

(mg/dl)

Table 19. resveratrol 投与による血漿 total cholesterol (TC)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	56.8	61.6	61.9	64.2	61.1
	0 h	853.1	964.4	955.9	1412.5	1046.5
	1 h	873.1	1050.0	1021.5	1366.9	1077.9
	3 h	810.3	1030.1	1161.4	1329.8	1082.9
	6 h	873.1	955.9	1101.4	1415.4	1086.5
	9 h	887.4	918.8	1012.9	1207.0	1006.5
200 $\mu$ mol/kg	pre	61.6	61.9	64.2	56.8	61.1
	0 h	798.9	910.2	987.3	1375.4	1018.0
	1 h	798.9	964.4	1355.4	1326.9	1111.4
	3 h	767.5	827.4	1278.4	1329.8	1050.8
	6 h	833.1	964.4	961.6	1286.9	1011.5
	9 h	492.5	539.3	568.4	665.4	566.4
400 $\mu$ mol/kg	pre	61.9	64.2	56.8	61.6	61.1
	0 h	744.7	1101.4	1184.2	1278.4	1077.2
	1 h	790.3	1192.8	1075.7	1298.4	1089.3
	3 h	796.0	1221.3	998.7	1107.1	1030.8
	6 h	793.2	1178.5	1067.2	1344.0	1095.7
	9 h	787.5	1201.3	1058.6	1278.4	1081.5
800 $\mu$ mol/kg	pre	64.2	56.8	61.6	61.9	61.1
	0 h	927.3	915.9	1224.1	1130.0	1049.3
	1 h	1072.9	1161.4	1152.8	1178.5	1141.4
	3 h	1018.6	1007.2	1101.4	1167.1	1073.6
	6 h	864.5	984.4	1104.3	1152.8	1026.5
	9 h	887.4	955.9	1064.3	1212.7	1030.1

(mg/dl)

Table 20. genistein 投与による血漿 total cholesterol (TC)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	57.8	56.3	59.7	62.7	59.1
	0 h	1519.6	1316.1	2024.4	1523.3	1595.9
	1 h	879.1	1214.4	1836.0	1316.1	1311.4
	3 h	577.7	1165.4	1719.2	1312.4	1193.7
	6 h	656.8	1029.8	1726.8	1316.1	1182.4
	9 h	1105.1	1270.9	1613.8	1312.4	1325.6
200 $\mu$ mol/kg	pre	56.3	59.7	62.7	57.8	59.1
	0 h	1071.2	1421.6	1466.8	1391.5	1337.8
	1 h	1263.4	1640.1	1357.6	1493.2	1438.6
	3 h	1417.8	1218.2	1361.3	1417.8	1353.8
	6 h	1176.7	1417.8	1425.4	1519.6	1384.9
	9 h	679.7	709.8	812.3	842.4	761.1
400 $\mu$ mol/kg	pre	59.7	62.7	57.8	56.3	59.1
	0 h	1093.8	1357.6	1655.2	1451.8	1389.6
	1 h	1353.8	1380.2	1643.9	1417.8	1448.9
	3 h	1357.6	1319.9	1493.2	1240.8	1352.9
	6 h	977.0	1259.6	1497.0	1191.8	1231.4
	9 h	788.7	1289.8	1504.5	1331.2	1228.6
800 $\mu$ mol/kg	pre	62.7	57.8	56.3	59.7	59.1
	0 h	1195.6	1662.7	1628.8	1787.1	1568.6
	1 h	1142.8	1632.6	1553.5	1711.7	1510.2
	3 h	833.9	1432.9	1361.3	1606.2	1308.6
	6 h	867.8	1297.3	1267.1	1726.8	1289.8
	9 h	935.6	1297.3	1361.3	1549.7	1286.0

(mg/dl)

Table 21. curcumin 投与による血漿 total cholesterol (TC)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	175.7	177.9	131.7	156.9	160.6
	0 h	1186.9	1386.8	1331.8	1399.3	1326.2
	1 h	1326.8	1351.8	1376.8	1236.9	1323.1
	3 h	1329.3	1249.3	1411.8	1114.4	1276.2
	6 h	1414.3	1356.8	1549.2	1346.8	1416.8
	9 h	1304.3	1366.8	1329.3	1276.8	1319.3
200 $\mu\text{mol/kg}$	pre	177.9	168.7	156.9	142.7	161.6
	0 h	1174.4	1436.8	1344.3	977.0	1233.1
	1 h	1209.4	1284.3	1406.8	1066.9	1241.9
	3 h	1329.3	1274.3	1286.8	1061.9	1238.1
	6 h	1399.3	1404.3	1426.8	1029.4	1315.0
	9 h	678.1	810.6	763.1	605.7	714.4
400 $\mu\text{mol/kg}$	pre	168.7	194.2	142.7	134.9	160.1
	0 h	1049.4	1251.8	1106.9	1179.4	1146.9
	1 h	1166.9	1301.8	1209.4	1099.4	1194.4
	3 h	1526.7	1371.8	1231.9	1204.4	1333.7
	6 h	1054.4	1321.8	1191.9	1141.9	1177.5
	9 h	1154.4	1181.9	1151.9	1136.9	1156.3
800 $\mu\text{mol/kg}$	pre	194.2	175.7	134.9	131.7	159.1
	0 h	1339.3	1094.4	1301.8	1554.2	1322.4
	1 h	1494.2	1451.8	1254.3	1321.8	1380.5
	3 h	1269.3	1231.9	1161.9]	1221.9	1241.0
	6 h	1109.4	1251.8	1189.4	1391.8	1235.6
	9 h	1366.8	1269.3	1301.8	1226.9	1291.2

(mg/dl)

Table 22. resveratrol 投与による血漿 low-density lipoprotein (LDL)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	44.3	45.6	43.4	47.5	45.2
	0 h	347.8	370.2	408.5	616.3	435.7
	1 h	314.3	405.3	435.7	562.0	429.3
	3 h	288.7	242.3	464.5	544.4	385.0
	6 h	325.4	330.2	429.3	504.4	397.3
	9 h	306.3	370.2	395.8	528.4	400.2
200 $\mu$ mol/kg	pre	45.6	43.4	47.5	44.3	45.2
	0 h	307.9	368.6	523.6	528.4	432.1
	1 h	346.2	386.2	498.0	493.2	430.9
	3 h	277.5	304.7	467.7	486.9	384.2
	6 h	291.9	357.4	351.0	515.6	379.0
	9 h	240.7	341.4	510.8	506.0	399.7
400 $\mu$ mol/kg	pre	43.4	47.5	44.3	45.6	45.2
	0 h	291.9	386.2	339.8	512.4	382.6
	1 h	267.9	464.5	362.2	595.5	422.5
	3 h	296.7	451.7	336.6	498.0	395.8
	6 h	290.3	395.8	443.7	501.2	407.8
	9 h	303.1	453.3	514.0	461.3	432.9
800 $\mu$ mol/kg	pre	47.5	44.3	45.6	43.4	45.2
	0 h	357.4	392.6	587.5	453.3	447.7
	1 h	384.6	422.9	434.1	454.9	424.1
	3 h	304.7	336.6	354.2	522.0	379.4
	6 h	279.1	386.2	370.2	421.3	364.2
	9 h	344.6	432.5	330.2	451.7	389.8

(mg/dl)



Table 23. genistein 投与による血漿 low-density lipoprotein (LDL)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	42.8	46.2	44.2	51.8	46.3
	0 h	508.8	591.7	775.6	538.3	603.6
	1 h	535.5	480.8	729.3	452.7	549.6
	3 h	427.4	493.4	638.0	441.4	500.1
	6 h	383.9	458.3	690.0	414.8	486.8
	9 h	473.7	486.4	732.1	420.4	528.2
200 $\mu$ mol/kg	pre	46.2	44.2	51.8	42.8	46.3
	0 h	604.3	656.3	542.5	545.3	587.1
	1 h	573.4	695.6	517.3	470.9	564.3
	3 h	594.5	539.7	462.5	486.4	520.8
	6 h	371.2	638.0	508.8	487.8	501.5
	9 h	497.6	556.6	522.9	492.0	517.3
400 $\mu$ mol/kg	pre	44.2	51.8	42.8	46.2	46.3
	0 h	657.7	562.2	572.0	532.7	581.2
	1 h	626.8	556.6	559.4	456.9	549.9
	3 h	548.2	556.6	543.9	466.7	528.9
	6 h	524.3	489.2	528.5	416.2	489.6
	9 h	543.9	461.1	549.6	428.8	495.9
800 $\mu$ mol/kg	pre	51.8	42.8	46.2	44.2	46.3
	0 h	583.3	614.2	593.1	625.4	604.0
	1 h	521.5	692.8	552.4	656.3	605.8
	3 h	452.7	581.9	492.0	584.7	527.8
	6 h	451.3	520.1	462.5	601.5	508.9
	9 h	517.3	407.7	520.1	535.5	495.2

(mg/dl)

Table 24. curcumin 投与による血漿 low-density lipoprotein (LDL)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	51.4	49.1	50.8	53.0	51.1
	0 h	434.9	474.3	617.9	530.9	514.5
	1 h	426.8	505.6	552.2	441.9	481.6
	3 h	466.2	475.3	576.4	500.6	504.6
	6 h	491.5	469.2	656.3	444.0	515.3
	9 h	472.3	470.3	628.0	417.7	497.1
200 $\mu\text{mol/kg}$	pre	49.1	50.8	53.0	51.4	51.1
	0 h	512.7	528.9	452.0	355.0	462.2
	1 h	483.4	511.7	421.7	351.9	442.2
	3 h	486.4	586.6	411.6	333.7	454.6
	6 h	521.8	589.6	484.4	369.1	491.2
	9 h	441.9	556.2	426.8	425.8	462.7
400 $\mu\text{mol/kg}$	pre	50.8	53.0	51.4	49.1	51.1
	0 h	485.4	467.2	426.8	489.5	467.2
	1 h	580.5	491.5	415.6	517.8	501.4
	3 h	633.1	480.4	369.1	460.1	485.7
	6 h	432.8	442.9	329.7	514.7	430.0
	9 h	516.8	385.3	341.8	458.1	425.5
800 $\mu\text{mol/kg}$	pre	53.0	51.4	49.1	50.8	51.1
	0 h	447.0	445.0	464.2	669.5	506.4
	1 h	482.4	469.2	438.9	647.2	509.4
	3 h	427.8	460.1	375.2	595.7	464.7
	6 h	392.4	442.9	397.4	629.0	465.4
	9 h	419.7	466.2	395.4	710.9	498.1

(mg/dl)

Table 25. resveratrol 投与による血漿 high-density lipoprotein (HDL)濃度の経時的変化の影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	27.8	31.8	34.2	32.5	31.6
	0 h	28.8	31.8	33.8	41.5	34.0
	1 h	28.8	36.8	37.2	39.9	35.7
	3 h	25.4	28.5	36.2	31.8	30.5
	6 h	31.1	35.2	33.5	38.5	34.6
	9 h	29.5	38.5	33.1	49.2	37.6
200 $\mu$ mol/kg	pre	31.8	34.2	32.5	27.8	31.6
	0 h	25.4	29.1	33.5	33.1	30.3
	1 h	27.8	33.1	37.8	38.5	34.3
	3 h	26.8	55.6	37.8	35.5	38.9
	6 h	28.1	30.8	34.2	37.5	32.7
	9 h	25.1	31.5	36.5	31.8	31.2
400 $\mu$ mol/kg	pre	34.2	32.5	27.8	31.8	31.6
	0 h	27.5	32.8	30.5	33.1	31.0
	1 h	42.2	34.5	33.1	39.5	37.3
	3 h	32.1	44.2	40.2	35.2	37.9
	6 h	29.1	35.2	49.2	34.2	36.9
	9 h	29.1	28.8	43.9	63.3	41.3
800 $\mu$ mol/kg	pre	32.5	27.8	31.8	34.2	31.6
	0 h	27.5	28.5	54.6	42.2	38.2
	1 h	42.5	33.8	35.5	31.8	35.9
	3 h	31.8	35.5	35.8	26.8	32.5
	6 h	30.1	45.2	48.9	29.5	38.4
	9 h	27.5	25.4	48.6	32.8	33.6

(mg/dl)

Table 26. genistein 投与による血漿 high-density lipoprotein (HDL)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	19.2	23.4	23.0	25.3	22.7
	0 h	23.4	43.0	44.1	72.2	45.7
	1 h	23.0	24.2	43.0	46.8	34.3
	3 h	38.8	38.0	48.8	47.6	43.3
	6 h	31.5	13.5	49.1	33.0	31.8
	9 h	28.4	52.6	29.2	40.7	37.7
200 $\mu$ mol/kg	pre	23.4	23.0	25.3	19.2	22.7
	0 h	25.3	30.0	30.0	46.4	32.9
	1 h	25.7	34.6	48.4	30.7	34.9
	3 h	31.1	33.8	47.2	33.4	36.4
	6 h	26.9	37.2	44.5	40.3	37.2
	9 h	25.7	36.1	48.4	34.2	36.1
400 $\mu$ mol/kg	pre	23.0	25.3	19.2	23.4	22.7
	0 h	27.6	32.3	33.8	38.8	33.1
	1 h	26.9	64.9	29.2	36.9	39.5
	3 h	41.5	32.6	36.9	34.6	36.4
	6 h	28.0	48.4	30.0	45.7	38.0
	9 h	26.5	35.3	56.4	36.5	38.7
800 $\mu$ mol/kg	pre	25.3	19.2	23.4	23.0	22.7
	0 h	37.2	49.5	31.5	24.2	35.6
	1 h	39.2	26.1	36.5	52.6	38.6
	3 h	31.5	25.0	52.6	44.5	38.4
	6 h	36.1	49.1	34.9	24.6	36.2
	9 h	29.6	31.5	32.3	34.6	32.0

(mg/dl)

Table 27. curcumin 投与による血漿 high-density lipoprotein (HDL)濃度の経時的変化への影響

濃度	時間	A	B	C	D	平均
control	pre	44.3	47.9	47.9	46.2	46.6
	0 h	52.6	53.4	40.3	41.3	46.9
	1 h	44.5	52.6	45.2	42.3	46.2
	3 h	47.0	52.1	52.1	50.9	50.5
	6 h	55.1	52.6	51.1	40.1	49.7
	9 h	41.8	46.2	51.6	39.8	44.9
200 $\mu$ mol/kg	pre	47.9	47.9	46.2	44.3	46.6
	0 h	47.0	47.2	58.5	38.6	47.8
	1 h	62.7	51.4	39.8	37.6	47.9
	3 h	90.4	51.4	40.3	38.1	55.1
	6 h	53.6	54.6	40.8	58.5	51.9
	9 h	51.9	51.4	41.6	40.1	46.3
400 $\mu$ mol/kg	pre	47.9	46.2	44.0	47.9	46.5
	0 h	47.0	41.1	39.4	46.2	43.4
	1 h	50.4	42.3	41.3	47.2	45.3
	3 h	43.8	42.8	50.4	44.5	45.4
	6 h	47.2	42.3	40.3	44.5	43.6
	9 h	40.6	54.8	40.6	41.8	44.5
800 $\mu$ mol/kg	pre	46.2	44.3	47.9	47.9	46.6
	0 h	48.7	45.0	61.2	41.3	49.1
	1 h	50.2	50.4	49.7	59.3	52.4
	3 h	45.2	42.3	46.5	49.4	45.9
	6 h	44.8	43.8	46.5	41.3	44.1
	9 h	46.2	41.6	54.3	42.5	46.2

(mg/dl)

〔研究 4-1〕

Table 28. 食品成分長期投与期間中の家兔の体重変化

		A	B	C	平均
control	Day1	1998	1975	1924	1966
	Day8	2144	2165	2300	2203
	Day15	2248	2333	2447	2343
	Day22	2382	2372	2465	2406
resveratrol	Day1	1847	2134	1837	1939
	Day8	2080	2083	2066	2076
	Day15	2299	2025	2275	2200
	Day22	2491	2257	2390	2379
genistein	Day1	1779	1818	2031	1876
	Day8	2005	2086	2320	2137
	Day15	2275	2330	2529	2378
	Day22	2485	2494	2542	2507
curcumin	Day1	1975	2103	1804	1961
	Day8	2179	2271	1928	2126
	Day15	2244	2460	2096	2267
	Day22	2291	2554	2151	2332

(g)

Table 29. 食品成分の長期投与が血漿 apoB48 濃度に与える影響

		A	B	C	平均
control	Day1	855.5	880.4	1083.6	939.8
	Day8	7549.5	8486.5	7101.6	7712.5
	Day15	7343.3	7826.2	6705.5	7291.6
	Day22	5324.6	4844.3	4777.3	4982.1
resveratrol	Day1	1075.3	1127.6	1022.5	1075.1
	Day8	7462.8	6263.4	9836.7	7854.3
	Day15	6984.6	3868.3	8285.4	6379.4
	Day22	5131.3	5261.5	5790.6	5394.5
genistein	Day1	780.6	811.9	928.5	840.4
	Day8	6374.7	5885.0	6164.2	6141.3
	Day15	5853.1	6515.4	5072.5	5813.7
	Day22	5639.7	4163.2	2870.6	4224.5
curcumin	Day1	1494.4	1242.3	1356.3	1364.4
	Day8	4797.2	4925.2	4513.5	4745.3
	Day15	3493.1	3818.3	4111.8	3807.7
	Day22	3983.3	4116.1	3476.2	3858.6

(ng/ml)

Table 30. 食品成分の長期投与が血漿 triglyceride (TG)濃度に与える影響

		A	B	C	平均
control	Day1	106.8	115.5	106.8	109.7
	Day8	494.5	635.2	767.3	632.4
	Day15	836.6	1085.7	964.4	962.3
	Day22	994.7	1096.5	1215.6	1102.3
resveratrol	Day1	150.2	130.7	111.2	130.7
	Day8	901.6	418.7	916.8	745.7
	Day15	1568.6	659.1	1375.9	1201.2
	Day22	1728.9	955.8	1542.6	1409.1
genistein	Day1	102.5	171.8	87.4	120.6
	Day8	496.6	596.3	724.0	605.7
	Day15	763.0	1044.5	700.2	835.9
	Day22	1100.9	1148.5	373.2	874.2
curcumin	Day1	87.4	109.0	80.9	92.4
	Day8	414.4	494.5	477.2	462.0
	Day15	327.7	685.1	646.1	553.0
	Day22	451.2	936.3	674.2	687.2

(mg/dl)



Table 31. 食品成分の長期投与が血漿 total cholesterol (TC)濃度に与える影響

		A	B	C	平均
control	Day1	172.2	181.0	172.2	175.1
	Day8	804.3	1091.5	901.5	932.4
	Day15	1352.3	1414.2	1259.5	1342.0
	Day22	1498.2	1467.2	1657.3	1540.9
resveratrol	Day1	185.5	150.1	172.2	169.3
	Day8	1268.3	768.9	1215.3	1084.2
	Day15	1935.8	1113.6	1944.6	1664.7
	Day22	2090.5	967.8	2289.4	1782.5
genistein	Day1	181.0	163.4	158.9	167.8
	Day8	866.1	981.1	755.6	867.6
	Day15	1263.9	1140.2	883.8	1096.0
	Day22	1480.5	1524.7	901.5	1302.2
curcumin	Day1	163.4	167.8	163.4	164.8
	Day8	707.0	901.5	773.3	793.9
	Day15	799.8	1025.2	936.9	920.6
	Day22	857.3	1219.7	919.2	998.7

(mg/dl)

Table 32. 食品成分の長期投与が血漿 low-density lipoprotein (LDL)濃度に与える影響

		A	B	C	平均
control	Day1	156.5	152.3	148.1	152.3
	Day8	394.2	411.2	447.2	417.5
	Day15	549.1	585.2	564.0	566.1
	Day22	557.6	621.2	873.8	684.2
resveratrol	Day1	154.4	148.1	145.9	149.5
	Day8	638.2	358.1	504.5	500.3
	Day15	835.6	426.0	784.6	682.1
	Day22	916.2	572.4	962.9	817.2
genistein	Day1	154.4	150.2	145.9	150.2
	Day8	445.1	602.1	510.9	519.4
	Day15	659.4	793.1	564.0	672.2
	Day22	727.3	816.5	383.6	642.5
curcumin	Day1	150.2	152.3	148.1	150.2
	Day8	349.6	392.1	428.2	390.0
	Day15	402.7	523.6	485.4	470.6
	Day22	411.2	712.5	496.1	539.9

(mg/dl)

Table 33. 食品成分の長期投与が血漿 high-density lipoprotein (HDL)濃度に与える影響

HDL		A	B	C	平均
control	Day1	24.4	31.7	35.0	30.4
	Day8	41.1	33.8	49.2	41.4
	Day15	41.1	46.0	53.3	46.8
	Day22	48.4	50.1	73.7	57.4
resveratrol	Day1	34.2	30.1	43.5	35.9
	Day8	40.7	41.5	88.0	56.7
	Day15	47.2	54.9	75.7	59.3
	Day22	41.9	63.1	73.7	59.6
genistein	Day1	35.8	28.9	39.5	34.7
	Day8	45.2	38.6	42.7	42.2
	Day15	46.8	48.8	46.0	47.2
	Day22	58.6	47.6	63.9	56.7
curcumin	Day1	38.2	41.1	43.1	40.8
	Day8	45.2	44.4	43.9	44.5
	Day15	53.3	52.5	60.7	55.5
	Day22	41.1	47.6	63.1	50.6

(mg/dl)

Table 34. 食品成分を長期投与した家兎の小腸組織の遺伝子発現調節

gene		A	B	C	平均
<i>apob</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	1.14	1.20	1.08	1.14
	genistein	1.20	1.41	0.84	1.15
	curcumin	0.75	1.25	1.04	1.01
<i>apobec1</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	0.98	1.04	1.20	1.07
	genistein	1.04	1.25	1.22	1.17
	curcumin	0.78	0.98	1.01	0.92
<i>a1cf</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	0.84	0.86	0.79	0.83
	genistein	0.95	1.19	0.75	0.97
	curcumin	0.67	0.88	0.75	0.77
<i>apoa1</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	1.04	1.26	0.49	0.93
	genistein	0.74	1.14	0.34	0.74
	curcumin	0.58	1.36	0.79	0.91
<i>npc111</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	0.88	1.39	0.45	0.91
	genistein	0.71	1.12	0.40	0.74
	curcumin	0.62	1.41	0.74	0.92
<i>ppar <math>\gamma</math></i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	0.93	1.00	0.87	0.94
	genistein	0.92	1.49	0.59	1.00
	curcumin	0.57	1.35	1.23	1.05

(vs control)

Table 35. 食品成分を長期投与した家兎の肝臓組織の遺伝子発現調節

gene		A	B	C	平均
<i>apob</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	1.15	1.42	1.65	1.41
	genistein	1.19	1.30	1.55	1.35
	curcumin	1.44	0.89	1.29	1.21
<i>apobec1</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	2.44	1.26	1.09	1.60
	genistein	2.92	1.39	1.23	1.84
	curcumin	2.00	0.89	1.06	1.32
<i>a1cf</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	1.19	1.24	1.24	1.22
	genistein	1.19	0.70	1.01	0.97
	curcumin	0.99	0.61	1.04	0.88
<i>apoa1</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	0.95	1.04	1.06	1.01
	genistein	1.28	1.37	1.32	1.32
	curcumin	2.02	0.63	2.06	1.57
<i>npc111</i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	0.67	0.58	0.58	0.61
	genistein	0.82	0.57	0.57	0.65
	curcumin	0.96	0.42	1.31	0.90
<i>ppar <math>\gamma</math></i>	control	1.00	1.00	1.00	1.00
	resveratrol	0.85	0.91	1.38	1.05
	genistein	1.17	1.43	1.22	1.28
	curcumin	1.10	0.81	1.10	1.00

(vs control)

〔研究 4-2〕

Table 36. 食品成分を長期投与した家兔の小腸による反転腸管実験の apoB48 分泌への影響

sac No.	control	resveratrol	genistein	curucumin
1	250.8	294.4	324.0	138.2
2	222.2	276.9	262.5	115.6
3	253.6	276.9	261.0	162.3
4	233.1	257.0	257.9	174.0
5	190.3	179.5	200.4	161.5
6	160.7	149.2	166.2	124.2
7	150.6	129.2	215.1	145.2
8	187.6	176.1	223.7	182.5
9	147.2	142.5	173.2	137.4
10	129.2	125.8	169.3	114.0
11	125.8	119.1	208.1	164.6
12	178.8	195.7	227.6	163.9
13	121.8	228.3	208.9	186.4
14	79.9	188.3	139.0	148.3
15	99.8	200.4	187.2	214.4
平均	168.8	196.0	214.9	155.5

(ng/ml)

Table 37. 食品成分を長期投与した家兔の小腸による反転腸管実験の triglyceride (TG)分泌への影響

sac No.	control	resveratrol	genistein	curucumin
1	228.5	194.9	168.3	221.6
2	205.4	291.0	157.9	229.6
3	259.7	260.9	153.3	206.5
4	260.9	244.7	206.5	288.6
5	316.4	284.0	220.4	248.2
6	319.9	243.5	207.7	243.5
7	348.8	255.1	215.8	249.3
8	321.0	296.7	230.8	247.0
9	286.3	250.5	205.4	232.0
10	275.9	264.3	197.3	179.9
11	206.5	222.7	194.9	190.3
12	300.2	197.3	200.7	173.0
13	233.1	244.7	221.6	174.1
14	220.4	230.8	204.2	155.6
15	306.0	219.2	188.0	203.0
平均	272.6	246.7	198.2	216.2

(mg/dl)