内臓脂肪型肥満OLETFラットの耐糖能ならびに 脂質代謝に及ぼす鰹節タンパク質麴分解物摂取の効果

古庄 律^{*1}・田中将行^{*2}・池田博明^{*2}
片岡二郎^{*3}・安原 義^{*1}

Intake of Dried Bonito (*Katsuo-Bushi*) Protein Koji Hydrolysate Improves Glucose Tolerance and Lipid Metabolism in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rats

FURUSHO Tadasu^{*1}, TANAKA Masayuki^{*2}, IKEDA Hiroaki^{*2},
KATAOKA Jiro^{*3} and YASUHARA Tadashi^{*1}

This study was performed to examine the effects of dietary dried bonito protein hydrolysate (KH) on the glucose tolerance and lipid metabolism of Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats as a type 2 diabetes model. 11-week-old male OLETF and Long-Evans Tokushima Otsuka (LETO) rats as the negative control were given either 5 % KH diet or AIN76 standard diet (as control diet) for 22 weeks. The amount of food intake of the OLETF group increased compared with that of the LETO group, but the body weight gain of the OLETF-KH group was suppressed significantly ($p < 0.05$) compared with that of the OLETF-C group (as positive control). The retroperitoneal fat weight of the OLETF group showed a markedly larger amount increase much more than that of the LETO group, but that of the OLETF-KH group showed a smaller amount of increase than that of the OLETF-C group. The serum glucose, insulin, triglyceride, total cholesterol, LDL cholesterol levels of the OLETF-KH group were significantly lower ($p < 0.05$) than those of the OLETF-C group. Further more, in the oral glucose tolerance test, the postprandial blood glucose level of the OLETF-KH group was suppressed significantly ($p < 0.05$) compared with that of the OLETF-C group. These results suggest that KH is the functional food source that can suppress body fat level and improve the glucose tolerance of animals.

(Received Feb. 5, 2007 ; Accepted Apr. 16, 2007)

鰹節は、日本独特の伝統的食材であり、天然調味料として有史以来重要な家庭の調味料として定着している。しかし近年は、さらに加工食品や簡便性を求めた調味料として、工場で鰹節からだしを抽出し、醤油等と混合して「つゆ」とした製品が急速に増加している。この鰹節からだしを抽出した後に多量の鰹節抽出残渣 (*Katsuobushi Extract Residue* : 以下KER) が発生し、産業廃棄物として処理に苦慮している。このKERは、タンパク質含量 (無水物換算値) が約80%と高く、そのプロテアーゼ分解物中ペプチドの抗高血圧作用¹⁾が認められている。また、麹菌の複数酵素を用いて分解した分解物においても抗高血圧作用²⁾、さらには脂質代謝改善効

果³⁾を有することが認められ、この分解物には機能性を有するペプチドの存在が示唆されている。生活習慣病は、ライフサイクルの変化に伴い運動量の低下や生活環境の変化によるストレスあるいは遺伝的要因などを起因として増加の一途を辿っている。その中でも肥満に起因すると考えられるⅡ型糖尿病は大きな割合を占める疾病であり、その予防に役立つ食品素材の探索が必須である。これまでに、食品素材による血糖調節作用や脂質調節作用についてグアバ茶⁴⁾や大豆⁵⁾など植物由来物質の報告がなされている。しかし、動物タンパク質 (ペプチド) 由来の報告は清水ら⁶⁾以外はみられない。

そこで本研究では、鰹節タンパク質のさらなる食品機

* 1 東京農業大学短期大学部栄養学科 (〒156-8502 東京都世田谷区桜丘 1-1-1)

E-mail: 古庄 律; tfurusho@nodai.ac.jp, 安原 義; yasuhara@nodai.ac.jp

* 2 ヤマキ(株) (〒799-3194 愛媛県伊予市米湊1698-6)

E-mail: 田中将行; matanaka@yamaki.co.jp, 池田博明; hikeda@yamaki

* 3 片岡二郎・技術士事務所 (〒223-0056 神奈川県横浜市港北区新吉田東 6-29-7)

E-mail: Jiroukataoka@nifty.ne.jp

能検索を目的として、Ⅱ型糖尿病を発症し内臓脂肪型肥満のモデル動物であるOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rat (OLETFラット)^{7),8)}を用いて、KER麹菌由来酵素分解物投与による耐糖能および脂質代謝に及ぼす影響について検討した。

実験方法

1. KER麹菌由来酵素分解物の調製

KERの調製は、前報³⁾に準じて粉末化した鯉節を沸騰水中で熱水抽出処理し、チョッパーで微細処理したものに回転式通気無菌固体培養装置で作成した無菌固体麹により3日間無塩条件下で分解を行った。分解により得られた上清を熱風乾燥したものをKER麹分解物（以後KHと略す）とした。

2. 飼料調製法

実験用飼料の配合はTable 1に示すように、AIN76標準飼料組成を基準に正常食（Control食）を調製した。5%KER麹分解物添加食（KH食）は、添加するカゼイン（20%）のうち1/4をKHに置き換え飼料中にKHが5%となるように調製した。

3. 実験動物および飼育条件

実験動物として大塚製薬㈱より提供された正常Long-Evans Tokushima Otsuka Rat (LETOラット) およびⅡ型糖尿病を伴う内臓脂肪型肥満のモデル動物であるOLETFラットのいずれも雄性生後4週齢を用いた。LETOラットおよびOLETFラットを市販固形飼料（MF：オリエンタル酵母工業㈱）で10週間予備飼育した後、それぞれ2群（n=6）ずつに分けControl食を給餌するLETO-C群、OLETF-C群、KH食を給餌するLETO-KH群、OLETF-KH群とした。室温22±2℃、12時間毎の明暗サイクル（AM8:00～PM8:00）の環境下で個別ケージを用い、各飼料および吸水は自由摂取とした。試験飼育期間中は、毎日一定時刻に体重を測定すると共に残食量を測定して採食量を計算した。試験開始より112日目（32週齢）にネブタール麻酔下で心臓採血

法により採血した後、解剖して肝臓、腎周囲脂肪組織を摘出した。また、採血した血液は血清分離管（セパレーションチューブ 積水化学）を用いて2,500rpmで15分間遠心分離して血清を調製した。

なお、動物実験は、総理府の「実験動物の飼育および保管等に関する基準」および東京農業大学「動物実験に関するガイドライン」に従って行った。

4. 血清中トリグリセライド、総コレステロール、HDL-コレステロールの測定方法

血清中トリグリセライド（TG）濃度は、GPO・DAOS法⁹⁾による測定キット（トリグリセライドE-テストワコー、和光純薬工業製）を用いて測定した。また、血清中総コレステロール（T-Chol）濃度は、コレステロールオキシダーゼ・p-クロロフェノール法¹⁰⁾による測定キット（コレステロールCⅡテストワコー、和光純薬工業製）、血清中HDL-コレステロール（HDL-Chol）濃度は、ヘパリン・マンガン結合沈殿法¹¹⁾による測定キット（HDL-コレステロールテストワコー、和光純薬工業製）を用いて測定した。血清中LDL-コレステロール（LDL-Chol）濃度は、T-Chol-HDL-Chol-(TG/5)で与えられた計算式により求めた。

5. 経口グルコース負荷試験

試験飼育開始より105日目（31週齢）にLETO-C群、LETO-KH群、OLETF-C群およびOLETF-KH群に対して経口グルコース負荷試験（OGTT）を行った。すべてのラットを12時間絶食させた後、無麻酔下でゾンデを用いて2.0g/kgB.W.のグルコースを強制経口投与した。グルコース投与前および投与後15, 30, 60, 120分の血液を尾静脈より採血し、小型血糖測定器メディセーフリーダーGR-101（テルモ社製）を用いて血糖値の測定を行った。

6. 統計処理

統計処理は、市販統計処理ソフト（STATCEL2）を用いて行った。各データは平均値±標準誤差で示し、データ処理は一元配置分散分析を行った後、Tukey法¹²⁾により多重比較検定を行った。なお、危険率は5%未満をもって有意とした。

実験結果

1. 採食量の比較

試験飼育開始から終了時までの各群の動物の採食量合計をTable 2に示した。LETO-CおよびLETO-KHには多少の差があるものの有意差は認められず、1日平均に換算すると15～16gの採食量であった。これに対してOLETF-CおよびOLETF-KHでは、両群間に有意差はないが正常対照に比べ有意な（p<0.05）採食量の増加が認められ、1日平均に換算すると約19gであった。

2. 体重増加量の比較

各群の体重増加量はTable 2に示すように、LETO-C群、LETO-KH群では有意差は認められないが、LETO-

Table 1 Compositions of Experimental Diets (%)

	Control	KH
Casein	20.0	15.0
KH	0.0	5.0
Corn starch	65.0	65.0
Oil (Soybean)	5.0	5.0
Cellulose	5.0	5.0
Vitamin Mix*	1.0	1.0
Mineral Mix*	3.5	3.5
Choline chloride	0.2	0.2
DL-Methionine	0.3	0.3
Total	100.0	100.0

* Vitamin Mix and Mineral Mix were obtained from Oriental Yeast Co., Ltd (Tokyo, Japan)

Table 2 Amount of Food Intake, Body Weights and Retroperitoneal Fat Weights of All Experimental Diet Groups

	LETO-C	LETO-KH	OLETF-C	OLETF-KH
Amount of Food Intake (g)	1723 ± 26 ^a	1825 ± 27 ^a	2163 ± 39 ^b	2149 ± 32 ^b
Initial Body Weight (g)	330.1 ± 4.1 ^a	329.5 ± 4.2 ^a	333.1 ± 5.7 ^a	341.0 ± 5.6 ^a
Final Body Weight (g)	452.2 ± 3.9 ^a	427.2 ± 10.1 ^a	489.6 ± 12.6 ^b	458.6 ± 7.6 ^{ab}
Body Weight Gain (g)	122.1 ± 3.9 ^a	96.0 ± 6.5 ^a	156.5 ± 12.2 ^b	119.3 ± 12.4 ^{ab}
Retroperitoneal Fat (g)	7.2 ± 0.3 ^a	7.6 ± 0.5 ^a	21.0 ± 0.9 ^b	15.7 ± 2.7 ^c
Retroperitoneal Fat /Final Body Weight (%)	1.60 ± 0.06 ^a	1.82 ± 0.11 ^a	4.30 ± 0.15 ^b	3.40 ± 0.53 ^b

Values represent means ± SEMs, n=6. Values with different superscripts are significantly different (p<0.05).

KH群のほうがやや体重増加の抑制が認められた。OLETF-C群は正常群に対して有意な (p<0.05) 体重増加が認められた。また、OLETF-KH群は有意な差ではないが、OLETF-C群よりも体重増加が平均30gほど抑制され、増加量はLETO-C群とほぼ同程度であった。OLETFの2群間の採食量には有意差がなく、ほぼ同量の採食量であったにもかかわらずOLETF-KH群での体重増加が抑制されたのは、明らかにKHを5%添加した影響によるものと推測された。

3. 腎周囲脂肪重量の比較

腎周囲脂肪重量についての結果をTable 2に示した。脂肪重量の比較では、LETO-C群とLETO-KH群で差は認められなかった。これに対して、OLETF-C群とOLETF-KH群は有意に (p<0.05) 腎周囲脂肪の増加が認められた。しかし、OLETF-KH群はOLETF-C群に比べ約6gの腎周囲脂肪の増加が抑制され、2群間に有意差 (p<0.05) が認められた。終体重当たりの脂肪重量比で表すと、LETO群に比べOLETFは有意な (p<0.05) 重量比の上昇がみられた。また、OLETF-C群に対してOLETF-KH群は低値を示しており、重量で比較した結果をよく反映した。

4. 血清中グルコース、インスリン、TG、T-Chol、HDL-Chol、LDL-Chol濃度の比較

Table 3に各群の血清中グルコース、インスリン、TG、T-Chol、HDL-Chol、LDL-Chol濃度を示した。

血清中グルコース濃度は、LETO-C群がもっとも低値を示し、次いでOLETF-KH群、LETO-KH群、OLETF-C群の順に高値であった。

血清中インスリン濃度は、LETO-Cがもっとも高く、

次いでLETO-KH群、OLETF-C群、OLETF-KH群の順に低値を示した。この中で、OLETF-KH群は他の3群に対して有意に (p<0.05) 低値を示した。

血清中TG濃度は、LETO-C群、LETO-KH群、OLETF-C群の間には有意な差は認められなかったが、OLETF-KH群は他の3群に比べ有意に (p<0.05) 低値を示した。

血清中コレステロール濃度に関しては、T-Chol、HDL-Chol、LDL-Cholのいずれの値もLETOの2群に対してOLETF-C群、OLETF-KH群は共に有意な (p<0.05) 上昇が認められた。しかし、T-CholおよびLDL-Cholについては、OLETF-KH群はOLETF-C群に対して有意に (p<0.05) 低値であった。

5. 経口グルコース負荷試験 (OGTT) における血糖値の推移に及ぼすKH添加食摂取の影響

31週齢LETO-C群、LETO-KH群、OLETF-C群およびOLETF-K群に対する2g/kgのOGTTによる血糖値の推移をFig. 1に示した。投与前の各群の血糖値は80~116mg/dl前後で群間に差は認められなかった。LETO-C群とLETO-KH群は投与後に140~150mg/dlで60分まで推移した。しかし、OLETF-C群は投与15分後207mg/dl、30分後256mg/dl、60分後230mg/dlと投与15分以降の血糖値の平均値が200mg/dl以上で推移し、いずれもLETO-C群の同時時間の血糖値に比べ有意に (p<0.05) に上昇していた。これに対して、OLETF-KH群は投与15分172mg/dl、30分後218mg/dl、60分後183mg/dlで30分値のみが200mg/dlを超える値でLETO-C群に比べ有意な (p<0.05) 血糖値の上昇が認められたが、15分および60分値には有意差はなかった。また、30分値についてはOLETF-C群

Table 3 Glucose, Insulin, Triglyceride, Total, HDL, and LDL Cholesterol Levels in Serum of All Experimental Diet Groups

	LETO-C	LETO-KH	OLETF-C	OLETF-KH
Glucose (mM)	8.54 ± 0.21 ^a	9.94 ± 0.18 ^{bc}	10.62 ± 0.24 ^b	9.38 ± 0.12 ^c
Insulin (μU/ml)	42.9 ± 3.7 ^a	38.4 ± 2.4 ^a	35.4 ± 2.7 ^a	23.7 ± 3.7 ^b
TG (mg/dl)	75.5 ± 2.7 ^a	79.9 ± 1.1 ^a	76.5 ± 4.5 ^a	55.4 ± 7.1 ^b
T-Chol (mg/dl)	136.1 ± 3.4 ^a	122.8 ± 2.4 ^a	206.3 ± 5.3 ^b	173.3 ± 10.3 ^c
HDL-Chol (mg/dl)	77.2 ± 3.1 ^a	74.7 ± 2.9 ^a	104.8 ± 1.5 ^b	96.9 ± 4.3 ^b
LDL-Chol (mg/dl)	43.9 ± 3.7 ^a	35.2 ± 4.8 ^a	102.4 ± 6.5 ^b	74.4 ± 8.7 ^c

Values represents means ± SEMs, n=6. Values with different superscripts are significantly different (p<0.05).

Fig. 1 Postprandial blood glucose responses after oral glucose administration (2 g/kg · body weight) in LETO-C, LETO-KH, OLETF-C and OLETF-KH rats. Values are plotted as means $\pm$ SEMs, $n = 6$. Different letters at specified times are significantly different ($p < 0.05$)

に対して有意に ($p < 0.05$) 低値であった。120分値については、すべての群でほぼ投与前の血糖値まで低下していた。

考 察

筆者らは、鰹タンパク質抽出残麹分解物 (KH) を内臓脂肪型肥満OLETFラットに長期摂取させ、脂質代謝と糖尿病の病態を観察し、KHの摂取効果について検討した。

OLETFラットは生後4～6週間頃から過食になり、体重増加と共に顕著な肥満を呈することが報告されている^{5)~8)}。本実験においてもネガティブコントロールであるLETO-C, LETO-KHの2群に対してOLETF-C, OLETF-KHの2群は顕著に採食量の増加が認められOLETFラット群に過食が発生していたと判断された。その結果として、内臓脂肪型肥満に伴い糖尿病が発症することが知られているが、OLETF-KH群では採食量に差がなかったにもかかわらず平均30 g程度の体重抑制が観察され、KH摂取がOLETFラットの体重増加を抑制する一因であることが示唆された。OLETFラットの体重増加の要因は内臓脂肪の増加によるものであることから、腎周囲脂肪を摘出して重量および体重当たりの重量比を求めたところ、重量ではOLETF-C群に対して有意に低下、また重量比においては平均値で低下する傾向が認められた。このことは、KHの摂取による体重増加抑制は過剰なエネルギー摂取による脂肪蓄積を抑制することにより生じるものと示唆された。森ら⁵⁾は、大豆タンパク質を長期摂取させたOLETFラットの体脂肪分布について、腹部皮下脂肪や副睾丸周囲脂肪では重量の低下が有意であったが、腎周囲や腸間膜脂肪では差が認められなかったと報告している。また、脂肪重量の低下の理由として、熱産生に参与する褐色脂肪細胞 (BAT) 重量が増加したことにより熱エネルギーとして消費されたことも抑制の

一因子であると結論している。しかしながら、本実験において、KHは腎周囲脂肪の重量も低下させることで体重増加を抑制することから、KHは大豆タンパク質の作用機序とは異なることも考えられる。次に、血清成分について検討したところ、OLETF-KH群では血清中グルコースおよびインスリン濃度がOLETF-C群に対して低下していた。OLETFラットは、25週齢以上で経口グルコース負荷試験を行うと、ほぼ全例が糖尿病と診断される⁷⁾が、30週齢前後でもグルコース投与前の血糖値はいずれの報告^{5), 6)}も200mg/dl (11.1mM) を超える高血糖を示すことはなく、筆者らが用いたOLETF群も血清中グルコース濃度から判断して同程度の糖尿病発症段階であると考えられた。OLETFラットは生後8週齢頃からインスリン濃度はコントロール値と同程度となる。その後、若週齢からの高TG血症によってすい臓ランゲルハンス島細胞へのTG蓄積がグルコキナーゼ活性に影響を与え、インスリン分泌異常を引き起こし、60週齢頃からインスリン濃度は低値を示す⁷⁾。このことから高TG血症はOLETFラットの糖尿病発症の危険因子の1つであると考えられている。本実験では、OLETF-KH群で血清中TG濃度がOLETF-C群に対して有意に低下することから、KHの摂取によるインスリン分泌異常は生じず、逆に腎周囲脂肪組織などの内臓脂肪の増加が抑制された。その結果、組織でのインスリン感受性がOLETF-C群に比べ上昇し、血清中グルコース濃度の上昇が抑制され、インスリン分泌の節約効果が生じたものと考えられた。

実験結果にも述べたように、本実験ではKHの摂取はOLETFラットのTGあるいはT-Chol値も有意に改善させる効果をもつことが示された。OLETFラットでは、血清中の中性脂肪やコレステロール値も上昇することが報告⁶⁾されている。本実験は先に筆者ら³⁾が報告した高脂肪食摂取ラットへのKH投与が脂質代謝を亢進させ脂肪の蓄積を抑制するという知見をもとに実施したものであるが、発症メカニズムの異なるOLETFラットについても同様の結果を得ることとなった。清水ら⁹⁾は、OLETFラットに豚肝臓酵素分解物 (PLH) をカゼインの代替として摂取させ、体重増加抑制や血清中TG, T-Cholの減少とともにグルコース濃度の低下がみられたことを報告しており、筆者らの結果ともよく一致する点が多い。彼らは、肝臓におけるG6PDHや脂肪酸合成酵素の活性がPLH摂取により低下した結果として内臓脂肪の蓄積が抑制されたとしている。筆者らは、これらの酵素活性については測定を行っていないが、高脂肪食摂取ラットを用いた実験では、KH摂取により β -酸化の律速酵素であるアシルCoAオキシダーゼ活性が上昇することを見いだしている³⁾。材料の差異はあるにせよ、動物タンパク質の加水分解物中には肝臓における脂質代謝を変化させ、血清中TGを低下させるとともに内臓脂肪の蓄積を抑制する因子を含んでいるものと考えられる。YOSHIKAWAら¹⁾は、鰹節プロテアーゼ分解物中のジペプチドである

Ile-Tyr (IY), トリペプチドであるIle-Lys-Pro (IKP) などの分子量の小さなペプチドは経口投与することでACE活性阻害能をもつ生理活性ペプチドであると報告している。また, Ile-Trp-His-His-Thr (IWHHT) やIle-Lys-Pro-Leu-Asn-Tyr (IKPLNY) などのオリゴペプチドは体内で真の阻害物質に変換されて生理活性を示すとしている。筆者らが用いた鰹節タンパク質麩分解物については, 先に報告³⁾した脂質代謝改善効果において1 Kd以下の画分が強く効果を表したことから, 比較的低分子のペプチドが脂質代謝に影響している可能性があると考えられる。今後の課題として脂質代謝に関与するペプチドの検索と同定が必要である。

経口グルコース負荷試験では, OLETF-KH群のグルコース負荷後の血糖値の上昇がOLETF-C群に比べ抑制された。これは, KH摂取により内臓脂肪の蓄積が抑制されたことで肥満が軽減され, 糖尿病の病態の進行が緩和された結果であることが体重, 腎周囲脂肪重量, 血清中脂質成分などの本実験データから推測された。

今回の筆者らの実験結果から, 鰹節タンパク質麩分解物は5%程度の摂取であっても肥満を抑制するだけでなく, 内臓脂肪型肥満に起因するⅡ型糖尿病の病態を軽減することのできる機能的食品素材である可能性が示唆された。

要 約

鰹節タンパク質麩分解物 (KH) を5%添加した飼料を内臓脂肪型肥満OLETFラットに11週齢から32週齢までの22週間摂取させ, Ⅱ型糖尿病の病態と脂質代謝について調べた。その結果, 採食量には差がないにもかかわらず, KHを添加したOLETF-KH群ではOLETF-C群に比べ体重増加の抑制, 腎周囲脂肪重量の減少が観察された。また, 血清成分については, グルコース, インスリン, TG, T-CholおよびLDL-Chol濃度の有意な低下 ($p < 0.05$) が認められた。31週齢に2 g/kg経口グルコース負荷試験を実施したところ, 正常なLETOラットに比べると高値であったが, OLETF-C群に比べグルコース負荷後の血糖値の有意な上昇抑制が観察された。

これらの結果より, KHはOLETFラットの肥満を抑制し, Ⅱ型糖尿病の病態を改善する機能的食品素材となることが示唆された。

文 献

- 1) YOKOYAMA, K., CHIBA, H. and YOSHIKAWA, M.: Peptide Inhibitors for Angiotensin I-Converting Enzyme from Thermolysin Digest of Dried Bonito., *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 1541~1545 (1992)
- 2) 田中将行・池田博明・大松佳也・井上英彦・古庄 律・片岡二郎・片岡榮子: 醤油麹菌を用いた鰹節抽出残渣 (KER) の分解について (第2報) —無塩下での分解条件検討とその分解液の生理機能—, 醬研, **31**, 135~139 (2005)
- 3) 田中将行・上甲隆志・池田博明・片岡二郎・安原 義・古庄 律: 高脂肪食摂取ラットにおける脂質代謝に及ぼす鰹節タンパク質麩分解物投与の影響, 日食保蔵誌, **32**, 135~140 (2006)
- 4) 出口ヨリ子・長田邦子・内田和美・木村広子・芳川 雅樹・工藤辰幸・保井久子・綿貫雅章: グァバ葉熱水抽出物のdb/dbマウスにおける抗糖尿病効果およびヒト飲用試験による食後血糖値上昇抑制効果, 日本農芸化学会誌, **72**, 923~931 (1998)
- 5) 森 豊・畑 章一・村川祐一・加藤秀一・池田義雄: 内臓脂肪型肥満OLETFラットの体脂肪分布並びに耐糖能に及ぼす大豆たん白質の効果, 大豆たん白質研究会会誌, **17**, 108~113 (1996)
- 6) SHIMIZU, M., TANABE, S., MORIMATSU, F., NAGAO, N., YAGITA, T., KATO, N. and NISHIMURA, T.: Consumption of pork-liver protein hydrolysate reduces body fat in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rats by suppressing hepatic lipogenesis, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 112~118 (2006)
- 7) KAEANO, K., HIRASHIMA, T., MORI, S., SAITOH, Y., KUROSUMI, M. and NATORI, T.: Spontaneous long-term hyperglycemic rat with diabetic complications. Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) strain, *Diabetes*, **41**, 1422~1428 (1992)
- 8) NARA, Y., GAO, M., IKEDA, K., SATO, T., SAWAMURA, M., KAWANO, K. and YAMORI, Y.: Genetic analysis of non-insulin-dependent diabetes mellitus in the Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty Rat, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **241**, 200~204 (1997)
- 9) 福井 巖・高野圭以・久城英人: 生化学的検査トリグリセライドとその分画, 日本臨床, **43**, 臨増, 340~346 (1985)
- 10) LIE, R.F., SCHMITZ, J.M., PIERRE, K.J. and GOCHMAN, N.: Cholesterol oxidase-based determination by continuous-flow analysis of total and free cholesterol in serum, *Clin. Chem.*, **22**, 1627~1630 (1976)
- 11) GIDEZ, L.I., MILLER, G.J., BURSTEIN, M., SLAGLE, S. and EDER, H.A.: Separation and quantitation of subclasses of human plasma high density lipoproteins by a simple precipitation procedure, *J. Lipid. Res.*, **23**, 1206~1223 (1982)
- 12) 柳井久江: 4 Stepsエクセル統計 第2版 (オーエムエス出版, 東京), p. 148 (2004)
(平成19年2月5日受付, 平成19年4月16日受理)