ラットの血液、肝臓成分に及ぼす飼料中 大豆リン脂質添加レベルの影響

小 畠 義 樹*, 黒 田 圭 一**, 山 口 迪 夫*

* 国立栄養研究所食品科学部

** 帝京短期大学家政科

Influences of Dietary Soybean Phospholipids Levels on Hemostatic and Hepatic Components in Young Rats

Yoshiki KOBATAKE,* Keiichi KURODA** and Michio YAMAGUCHI*

* Division of Food Science, The National Institute of Nutrition, Shinjuku-ku, Tokyo 162

** Department of Home Economics, Teikyo Junior College, Shibuya-ku, Tokyo 151

Nippon Eiyō Shokuryō Gakkaishi (*J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.*) 41, 23~28 (1988)

In order to clarify the effects of dietary soybean phospholipid (SP) on hematological parameters, the concentrations of various lipids and proteins, and the activities of enzymes in serum and liver, a 20% casein diet containing 10% olive oil (OL) as a control, 2.5% SP+7.5% OL, 5% SP+5% OL, 7.5% SP+2.5% OL, or 5% soybean oil+5% OL was fed to male Sprague-Dawley rats for 4 weeks. Weight gain and food intake in these dietary groups showed no significant differences, except for a slight suppression of weight gain in the 7.5% phospholipid group. Erythrocyte and leucocyte counts were similar among all groups, while platelet counts tended to increase with elevation of dietary phospholipid supplement. The concentrations of total lipid, total cholesterol, triglyceride, phospholipid and alpha-tocopherol in serum of rats from the 5% and 7.5% phospholipid groups were lower than those in the other groups. However, liver total cholesterol concentrations in all the phospholipid groups were significantly lower than those in the other groups. Activities of serum GOT, GPT and LDH tended to be elevated slightly by the phospholipid supplement. Concentrations of total protein, creatinine and A/G ratios in serum showed no significant differences in all groups. It was suggested from these findings that 5% or more dietary soybean phospholipid produced a specific physiological effect which might not be attributable to polyunsaturated fatty acids such as linoleate combining with the phospholipid.

(Received June 29, 1987)

脂質を多く含む食品中にはかなり多量のリン脂質を含むものもある。たとえば、大豆、落花生、肝臓、卵黄などには 100 g 中に数 100 mg 以上のリン脂質が存在している。これらの食品を摂取している日常の食生活においてはリン脂質もかなり摂取することになるが、今泉らの調査によると 1 日約 1.6~4.4 g の摂取になるので¹⁾、それほど多くはないと考えられる。しかし、最近いわゆる健康食品としての精製リン脂質の摂取もあると思われるので、場合によってはやや多いリン脂質の摂取も考えられる。従来リン脂質の摂取量が血液成分等の変化にどのように関係するか検討した報告は多く²⁾⁻⁸⁾、とくに血

清、肝臓中の脂質、およびリポタンパク質に対する影響の研究に集中しており、その摂取レベルを変化した条件での生理作用についての研究は少ない。本研究では大豆リン脂質を低レベルおよび高レベルで飼料に添加し、ラットを約 1 カ月飼育したとき、成長、血液や肝臓の成分にどのような影響が現れるか検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 実験動物

3 週齢の Sprague-Dawley 系の雄ラットを日本クレア(株)より購入し、1 週間予備飼料 {カゼイン 20%, DL-メチオニン 0.3% ビタミン混合 (AIN-76) 1%, 重石石酸コリン 0.2%, ミネラル混合 (AIN-76) 3.5%, セル

* 〒162 東京都新宿区戸山 1-23-1

** 〒151 東京都渋谷区本町 6-31-1

ロス・パウダー 5%, シュクロース 45%, オリーブ油 10%, α -デンプン 15%} により飼育した。飼育室の温度は 21~25°C, 湿度は 50% 前後に調節し, 明暗は 12 時間サイクル (明 7:00~19:00) とした。実験群はいずれも 1 群 5~6 匹とし, 1 匹ずつアパートメント式飼育ケージに入れた。飼料と水は自由摂取とした。

2. 実験飼料

実験飼料は予備飼料中の 10% オリーブ油の区分を試験油脂 (test lipid) としてオリーブ油または大豆リン脂質とオリーブ油の混合物などの各種試験脂質に置き替えることにより調製した。すなわち, 1) 10% オリーブ油, 2) 7.5% 大豆リン脂質+2.5% オリーブ油, 3) 5% 大豆リン脂質+5% オリーブ油, 4) 2.5% 大豆リン脂質+7.5% オリーブ油, 5) 5% 大豆油+5% オリーブ油のそれぞれを試験油脂とし, 5 種類の実験飼料を調製した。リン脂質を飼料と混合するときにはそれをあらかじめオリーブ油とよく混合した後, 飼料と混合したが, 原則として毎日新たに調製した。ラットの実験群は 5 群とし, それぞれの実験飼料を 4 週間投与した。

3. 試薬, 飼料材料および試験脂質

実験に用いた試薬はいずれも特級品であった。カゼイン, α -デンプン, セルロース・パウダーはオリエンタル酵母工業(株)製; オリーブ油は和光純薬(株)製; 大豆リン脂質は豊年製油(株)製であった (Table 1)。

4. 動物処理法

ラットは 4 週間の実験期間の最終日の早朝 7 時から 7 時間絶食し, ネンプタル麻酔下で心臓から採血することにより屠殺し, ただちに肝臓等の臓器を摘出, 秤量した。肝臓は 0.9% 食塩水を門脈から圧入することにより, 十分脱血した。血液は約 1 時間氷水中に静置後, 3,500rpm, 15 分の条件で遠心分離を行い, 血清を分離した。

5. 測定項目および測定法

実験飼料投与期間の体重増加量, 飼料摂取量を測定するとともに, 血清および肝臓の成分を測定した。

赤血球, 白血球の数およびヘモグロビン濃度の測定は実験飼料投与最終日の前日尾静脈から採血して, 自動血球計数装置 (Toa 社製, CC-108) により測定した。また, 血小板数はその時同時に全血血小板計数装置 (エルマ光学社, PC-601) を用いて測定した。ヘマトクリット値は同様に尾静脈から毛細管にとった血液を専用遠心機で処理し, 測定した⁹⁾。

血清総コレステロール (ステロザイム 545, 富士レビオ(株)), HDL-コレステロール (HDL-ステロザイム, 富士レビオ(株)), 中性脂肪 (クリンテック TG-S, イヤトロン(株)), リン脂質, β -リポタンパク質, 遊離脂肪酸 (いずれも和光キット) の測定はいずれも酵素法のキットによって行った。総脂質はスルホホスホバニリン法¹⁰⁾, A/G 比は BCG 法¹⁰⁾, 総タンパクはビューレット

Table 1. Composition of phospholipids and main fatty acids in soybean oil, olive oil and soybean phospholipid concentrate.

	Olive oil	Soybean oil	Soybean phospholipid concentrate
Phospholipid content ($P \times 25$), % in concentrate			78.4
			(% in phospholipid)
Phosphatidyl-choline			33.0
Phosphatidyl-ethanolamine			12.2
Phosphatidyl-inositol+phosphatidyl-serine			34.2
Lyso-phosphatidyl-choline			6.7
Lyso-phosphatidyl-ethanolamine			9.9
		(%, fatty acid)	
14:0	tr.**	nd.*	0.1
16:0	11.6	10.8	23.1
18:0	2.9	3.1	tr.**
18:1	77.0	21.1	7.6
18:2	6.6	55.8	58.5
18:3	0.8	8.6	7.3

* nd., non-detected. ** tr., trace.

ト法¹⁰⁾, クレアチニンはヤッフエ法によった¹⁰⁾。また, GOT, GPT, LDH はいずれも NADH の減少速度を測定する方法¹¹⁾, choline esterase はブチリルチオコリン基質法¹²⁾によって測定した。血清および肝臓のリン脂質はクロロホルム-メタノール混液 (2:1, 以下 C-M 混液) で抽出後, リンを Fiske-Subbarow 法¹³⁾によって測定算出した。血清 α -トコフェロールは五十嵐らの方法¹⁴⁾による内部標準 2, 2, 5, 7, 8-pentamethyl-hydroxy-chroman を用いて測定した。血清および肝臓の過酸化脂質は大川らの方法¹⁵⁾によった。肝臓総コレステロールは肝臓を C-M 混液で抽出後, ジギトニン沈澱¹⁶⁾を酸発色法¹⁷⁾により測定した。

実験データの統計処理は Student's *T*-test によって行った。

実験結果および考察

本実験では大豆リン脂質を通常の 20% カゼインを含む基礎飼料へ 3 段階の濃度で添加し, 30 日間にわたって投与を続けた後の体重増加量や血液性状, 血清脂質等におよぼす影響を以下のように検討した。

1. 体重増加量および飼料摂取量 (Table 2)

4 週間飼料投与後の体重増加量は各群間で統計的に有意差は見られなかったが, 7.5% 大豆リン脂質添加群 (群 2) の体重増加量はその他の群に比べやや低かった。また, 飼料摂取量もこの群で低い傾向が見られた。この結果は大豆リン脂質を 5% 程度まで飼料に添加してもラットの成長等にはほとんど影響が見られないとしても, 7.5% 程度の多量の添加においてはなんらかの悪影響がある可能性のあることが示唆される。

2. 血液性状等 (Table 3)

赤血球数は対照群 (群 1) に比べ, その他の群でいずれも高まる傾向を示した。とくに 7.5% 添加群と大豆油添加群で高くなる傾向をみたが, この原因は明らかでない。白血球数も対照群に比べ, 他の群で増加傾向が見られた。血小板数はばらつきが大きいため, 有意差は得られなかったが, 大豆リン脂質を 7.5% 添加した群が最も高値を示し, 対照群の約 2 倍の数値を示した。5% 大豆リン脂質添加群でも対照群の約 1.4 倍の高値を示した。しかし, 2.5% リン脂質添加群ではむしろその数は低下傾向を示した。これらの結果から, 高リン脂質飼料摂取では一般に血球数が高まる傾向があり, とくに血小板で

Table 2. Weight gain and food intake of rats fed the experimental diets for 4 weeks.

Test lipid	Weight gain	Food intake
	(g/4 weeks)	
1) 10% olive oil	197 $\pm$ 8*	491 $\pm$ 13
2) 7.5% soybean phospholipid + 2.5% olive oil	166 $\pm$ 22	480 $\pm$ 23
3) 5% soybean phospholipid + 5% olive oil	188 $\pm$ 12	485 $\pm$ 19
4) 2.5% soybean phospholipid + 7.5% olive oil	204 $\pm$ 19	514 $\pm$ 36
5) 5% soybean oil + 5% olive oil	188 $\pm$ 7	513 $\pm$ 14

* Mean $\pm$ SEM ($n=5$).

Table 3. Hematological data of rats fed the experimental diets for 4 weeks.

Test lipid	1)10% olive oil	2)7.5% S-PL ¹⁾ 2.5% olive oil	3)5% S-PL 5% olive oil	4)2.5% S-PL 7.5% olive oil	5)5% soybean oil 5% olive oil
Red blood cell counts ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	765 $\pm$ 29 ^{2)a}	897 $\pm$ 50 ^{a,b}	813 $\pm$ 35 ^{a,b}	842 $\pm$ 31 ^{a,b}	866 $\pm$ 16 ^b
White blood cell counts ($\times 10^2/\text{mm}^3$)	162 $\pm$ 11 ^a	175 $\pm$ 21 ^{a,b}	187 $\pm$ 22 ^{a,b}	196 $\pm$ 6 ^b	214 $\pm$ 24 ^{a,b}
Platelet counts ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	97 $\pm$ 7 ^a	238 $\pm$ 75 ^a	148 $\pm$ 69 ^{a,b}	55 $\pm$ 7 ^b	87 $\pm$ 12 ^{a,b}
Hemoglobin concentration (mg/100 ml)	13.8 $\pm$ 0.6 ^a	15.6 $\pm$ 0.8 ^{a,b}	15.8 $\pm$ 0.5 ^{a,b}	15.8 $\pm$ 0.4 ^b	15.2 $\pm$ 0.5 ^{a,b}
Hematocrit (%)	54.7 $\pm$ 1.7 ^a	60.6 $\pm$ 2.5 ^{a,b}	57.5 $\pm$ 2.5 ^{a,b}	60.2 $\pm$ 2.0 ^{a,b}	59.9 $\pm$ 0.6 ^b

¹⁾ S-PL=soybean phospholipid. ²⁾ Mean $\pm$ SEM ($n=5$). Means in the same horizontal line not sharing a common superscript letter are significantly different ($p<0.05$).

その傾向が強いのではないかと考えられた。Galli ら¹⁸⁾ はリン脂質を負荷した場合、血小板それ自身の脂質成分の変化が起こることを見ているが、血小板数の変化については認めていない。この点についてはさらに検討を要するものと考えられる。血液ヘモグロビン濃度は対照に比べリン脂質と大豆油群で高い傾向が見られ、またヘマクリット値もそれと似た傾向が見られた。

3. 各種血清脂質濃度 (Table 4)

総コレステロール値はいずれも対照群に比べその他の群は全体に低値を示したが、とくに5%大豆油群と5%リン脂質群では差が見られなかった。またリン脂質添加量増加による影響も認められなかった。総コレステロールに対するHDL-コレステロールの割合はリン脂質添加群と5%大豆油群でやや高い傾向を示したが、有意差は見られなかった。これらの結果は大豆リン脂質を摂取すると血清コレステロール濃度が低下傾向を示す可能性のあることを示唆していたが、大豆油添加群でもリン脂質添加群と似た効果を示していることから、それらに含まれる多価不飽和脂肪酸と関係していることも考えられる。しかし、肝臓の総コレステロール濃度はリン脂質を2.5%以上添加したとき、いずれも対照群や大豆油群よ

り著しく低値を示していた。この関係を5%大豆油群と5%リン脂質群について比較しても、明らかに5%リン脂質群で低値を示すことから、肝臓総コレステロール濃度に対して、リン脂質はそれに含まれる多価不飽和脂肪酸の効果でなく、リン脂質の構造に關係する作用と考えられる。

血清総脂質濃度は対照群に比べ7.5%リン脂質添加群で強い低下が見られた。これと同じ傾向は血清リン脂質、トリグリセリドの濃度でも見られ、対照群の1/2まで低下した。しかし、大豆油添加群でも強い低下傾向を示し、これに対応する5%リン脂質群でも血清総脂質、リン脂質濃度は同様に低下していた。このことから、共通成分としての多価不飽和脂肪酸の作用は否定できない。一方、5%リン脂質群と5%大豆油群の血清トリグリセリド濃度の比較ではリン脂質群で低下が見られないので、リン脂質が5%程度まで飼料に存在する条件ではそれに含まれる多価不飽和脂肪酸の作用はあらわれにくいものと考えられる。血清遊離脂肪酸濃度は各群間に差は見られなかった。血清と肝臓の過酸化脂質濃度は大豆リン脂質添加に応じて高まる傾向が見られ、血清 α -tocopherol濃度はそれと逆の傾向が見られた。しかし、こ

Table 4. Concentrations of various lipids in serum and liver of rats fed the experimental diets for 4 weeks.

Test lipid	1)10% olive oil	2)7.5% S-PL ¹⁾ +2.5% olive oil	3)5% S-PL +5% olive oil	4)2.5% S-PL +7.5% olive oil	5)5% soybean oil + 5% olive oil
Total lipid concentration (mg/100 ml)	710 $\pm$ 35 ^{2)ac}	386 $\pm$ 15 ^b	452 $\pm$ 29 ^b	539 $\pm$ 78 ^c	401 $\pm$ 22 ^b
Serum total cholesterol (mg/100 ml)	111.6 $\pm$ 6.7 ^a	80.2 $\pm$ 5.9 ^b	81.8 $\pm$ 6.1 ^b	88.3 $\pm$ 3.2 ^b	85.3 $\pm$ 7.5 ^b
Serum HDL-cholesterol (mg/100 ml)	75.7 $\pm$ 8.7 ^a	62.3 $\pm$ 3.6 ^a	64.3 $\pm$ 5.0 ^a	64.6 $\pm$ 3.2 ^a	64.1 $\pm$ 7.0 ^a
(HDL-cho/T-cho) $\times$ 100 (%)	67.4 $\pm$ 5.4 ^a	78.1 $\pm$ 1.7 ^a	78.7 $\pm$ 1.4 ^a	72.7 $\pm$ 2.3 ^a	77.5 $\pm$ 2.9 ^a
Serum triglyceride (mg/100 ml)	187 $\pm$ 6 ^a	87 $\pm$ 20 ^b	140 $\pm$ 25 ^{ab}	171 $\pm$ 59 ^{ab}	87 $\pm$ 9 ^b
Serum phospholipid (mg/100 ml)	207 $\pm$ 11 ^{ac}	149 $\pm$ 6 ^b	103 $\pm$ 8 ^b	173 $\pm$ 11 ^c	148 $\pm$ 10 ^b
Serum non-esterified fatty acid (mEq/l)	0.55 $\pm$ 0.08 ^a	0.47 $\pm$ 0.03 ^a	0.44 $\pm$ 0.05 ^a	0.43 $\pm$ 0.07 ^a	0.48 $\pm$ 0.01 ^a
Serum lipid peroxide (nmol. MDA/100 ml)	6.75 $\pm$ 0.78 ^{ab}	7.51 $\pm$ 0.96 ^a	7.38 $\pm$ 0.72 ^a	6.73 $\pm$ 0.60 ^a	5.04 $\pm$ 0.28 ^b
Serum α -tocopherol(mg/ml)	6.30 $\pm$ 0.33 ^a	4.41 $\pm$ 0.35 ^b	4.93 $\pm$ 0.30 ^b	6.18 $\pm$ 0.45 ^a	5.19 $\pm$ 0.36 ^{ab}
Liver total cholesterol (mg/g)	3.79 $\pm$ 0.51 ^a	1.06 $\pm$ 0.16 ^b	0.94 $\pm$ 0.05 ^b	1.45 $\pm$ 0.09 ^c	3.50 $\pm$ 0.43 ^a
Liver phospholipid (mg/g)	12.5 $\pm$ 0.9 ^a	14.4 $\pm$ 1.6 ^{ab}	15.6 $\pm$ 0.5 ^{bc}	13.5 $\pm$ 1.0 ^{ab}	17.2 $\pm$ 0.6 ^c
Liver lipid peroxide (μ mol. MDA/g)	14.1 $\pm$ 1.0 ^a	18.5 $\pm$ 3.2 ^a	15.7 $\pm$ 1.1 ^a	12.7 $\pm$ 1.4 ^a	16.2 $\pm$ 1.9 ^a

¹⁾ S-PL=soybean phospholipid. ²⁾ Mean $\pm$ SEM ($n=5$). Means in the same horizontal line not sharing a common superscript letter are significantly different ($p<0.05$).

Table 5. Activities of various enzymes and protein concentrations in serum of rats fed the experimental diets for 4 weeks.

Test lipid	1) 10% olive oil	2) 7.5% S-PL ¹⁾ + 2.5% olive oil	3) 5% S-PL + 5% olive oil	4) 2.5% S-PL + 7.5% olive oil	5) 5% soybean oil + 5% olive oil
GOT (mU/ml)	95 ± 12 ^{2)a}	117 ± 14 ^{a,b}	133 ± 9 ^b	104 ± 14 ^{a,b}	112 ± 7 ^{a,b}
GPT (mU/ml)	26.6 ± 1.2 ^a	24.0 ± 2.0 ^{a,b}	24.4 ± 1.1 ^b	27.2 ± 3.5 ^{a,b}	22.2 ± 1.8 ^{a,b}
LDH (U/ml)	430 ± 16 ^a	622 ± 78 ^{a,b}	633 ± 43 ^b	623 ± 14 ^{a,b}	763 ± 126 ^{a,b}
Choline esterase (mU/ml)	92.0 ± 11.5	75.0 ± 11.4	109.0 ± 16.7	104.2 ± 7.5	99.4 ± 6.3
Total protein (g/100 ml)	5.80 ± 0.09	5.82 ± 0.09	5.94 ± 0.11	6.08 ± 0.03	5.92 ± 0.05
A/G ratio	1.00 ± 0.01	0.97 ± 0.03	0.98 ± 0.01	0.95 ± 0.03	0.98 ± 0.02
β-Lipoprotein (mg/100 ml)	292 ± 30	225 ± 22	217 ± 15	229 ± 12	197 ± 14
Serum creatinine (mg/100 ml)	0.52 ± 0.02 ^a	0.52 ± 0.02 ^a	0.44 ± 0.02 ^b	0.52 ± 0.02 ^a	0.50 ± 0.00 ^a

¹⁾ S-PL=soybean phospholipid. ²⁾ Mean ± SEM (n=5). Means in the same horizontal line not sharing a common superscript letter are significantly different (p<0.05).

これらの関係において統計的有意差はみられなかった。実験に使用した油脂の POV はオリーブ油で 1.23, 大豆油で 1.75, 大豆リン脂質で 2.32 であった。この程度の POV では体内過酸化脂質濃度に油脂酸化物は直接影響しないと考えられるので, リン脂質摂取がなんらか体内過酸化脂質に作用を及ぼす可能性があると考えられた。

4. 血清中の酵素活性, その他の成分 (Table 5)

GOT 活性は対照群に比べその他の群ではやや高値の傾向を示した。また, LDH 活性もこれと似た傾向を示していた。しかし, GOT, choline esterase 活性は各群間で差がなかった。このリン脂質投与による肝臓酵素の血清中への軽度の漏出は肝臓に多少負担がかかっている可能性を示唆している。血清総タンパク質濃度, A/G 比, クレアチニン濃度のいずれも各群間にほとんど差は見られなかった。また β-リポタンパク質へのリン脂質の影響は見られなかった。Russeneu ら⁵⁾ によっても VLDL がやや低下傾向にあることを見ているが, リポタンパク質に対してはとくに強い影響を与えないと考えられた。

要 約

生体内でのリン脂質の利用と生理効果を検討するために 10% オリーブ油を含む 20% カゼイン基礎飼料の 10% オリーブ油区分と大豆から抽出された精製リン脂質を入れ換えて 2.5, 5, 7.5% の割合で大豆リン脂質を添加した 3 種の飼料群を設けた。また別に 5% 大豆油を添加した群と対照の 10% オリーブ油群を設けた。4 週間飼育後各群間の血清, 肝臓中の成分について比較した。

これら 5 群間の体重増加量と飼料摂取量には有意差はなかったが, 7.5% リン脂質群ではそれらはやや抑制さ

れる傾向が見られた。赤血球, 白血球数およびヘモグロビン濃度は変化がなかった。血小板数はばらつきが大きかったので有意差はなかったが, リン脂質添加量に応じて増加する傾向が見られた。血清の総脂質, 総コレステロール, 中性脂肪, リン脂質, α-トコフェロール等は 5% 以上のリン脂質添加または大豆油添加群で対照群より低値を示した。しかし肝臓中の総コレステロールはリン脂質添加のみにより著しい低値を示し, 大豆油群では低値を示さなかった。血清中の GOT, GPT, LDH, 等の濃度は各群間に大きな差は見られなかったが, LDH は 5% リン脂質添加群と大豆油群で上昇が見られた。総タンパク質, A/G 比, クレアチニン濃度等は各群間に差はなかった。

これらの結果から, 大豆リン脂質を飼料中に数%以上の多量を添加した場合その脂肪酸の影響も大きい, リン脂質特有の生理効果が現れると考えられた。

大豆リン脂質を提供していただきました豊年製油株式会社また動物試験用 α-tocopherol 粉末を提供していただきました河合製薬株式会社に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) 今泉勝巳, 村田昌一, 大江政子, 菅野道廣: 日本栄養・食糧学会誌, 37, 185 (1984)
- 2) Samochowiec, L., Kadlubowsky, D., Rozewicka, L., Kuzna, W. and Szyszka, K.: *Atherosclerosis*, 23, 319 (1976)
- 3) Wong, E.K., Nocolosi, J.R., Low, P.A., Herd, J.A. and Hayes, K.C.: *Lipids*, 15, 428 (1980)
- 4) Berl, F.U. and Grandy, S.M.: *J. Lipid Res.*, 21, 525 (1980)
- 5) Rosseneu, M., Declercq, B., Vandamme, D., Vercaemst, R., Soetewey, F., Peeters, H. and Blanton, V.: *Atherosclerosis*, 32, 141 (1979)

- 6) Childs, M.T., Bowlin, J.A. and Ogilvie, J.T. : *Atherosclerosis*, **38**, 217 (1981)
- 7) Clark, S.B., Clark, V.E. and Small, D.M. : *Am. J. Physiol.*, **241**, G. 422 (1981)
- 8) Murata, M., Imaizumi, K. and Sugano, M. : *J. Nutr.*, **112**, 1805 (1982)
- 9) 寺田秀夫 : 血液検査の基礎知識 (第2版) (1982), 医歯薬出版 (東京)
- 10) 金井 泉, 金井正光 : 臨床検査法提要 (第28版) (1987), 金原出版 (東京)
- 11) Bergmeyer, H.U. (ed.) : *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. 2, 574 (1974) Academic Press (New York & London)
- 12) Colowick, S.P. and Kaplan, N.O. (eds.) : *Methods in Enzymology*, Vol. 1, 642 (1955) Academic Press (New York)
- 13) Fiske, C.H. and Subbarow, Y. : *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925)
- 14) 五十嵐脩, 福場博保 : 食品中特殊成分分析方法研究に関する総合研究, **33** (1973), 科学技術庁
- 15) Ohkawa, H., Ohnishi, N. and Yagi, K. : *Anal. Biochem.*, **95**, 351 (1979)
- 16) Sperry, W.M. and Webb, M. : *J. Biol. Chem.*, **187**, 97 (1950)
- 17) Sobel, C. and Fernandez, A. : *Clin. Chem.*, **12**, 739 (1966)
- 18) Galli, C., Tremoli, E., Giani, E., Maderna, P., Gianfranceschi, G. and Sirtori, C.R. : *Lipids*, **20**, 561 (1985)

(1987年6月29日受理)