カボス果汁粕がコレステロール添加食飼育脳卒中 易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) の 脂質代謝に及ぼす影響

小 川 博*, 望 月 聡**, 目 黒 忠 道*

*近畿大学医学部衛生学教室

**大分大学教育学部

Effect of Kabosu Juice Precipitate on Lipid Metabolism in Stroke-prone
Spontaneously Hypertensive Rats (SHRSP) Fed a Cholesterol Diet

Hiroshi OGAWA,* Satoshi MOCHIZUKI** and Tadamichi MEGURO*

* *Department of Hygiene, Kinki University School of Medicine, Osaka-Sayama 589-8511*

** *Faculty of Education, Oita University, Oita 870-1192*

J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci., **51**, 273~278 (1998)

To elucidate the hypocholesterolemic mechanism of Kabosu juice residue (an ethanol-precipitated fraction of Kabosu juice : KJR), we investigated the effects of KJR on lipid metabolism in the serum and liver using male stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) as an animal model. Six rats, 7 weeks of age, were fed on a high-cholesterol diet containing KJR for 2 weeks. The increase in serum total cholesterol was markedly suppressed in comparison with the control group ($N=6$), due to suppression of increases in the very-low-density lipoprotein and low-density lipoprotein fractions. The concentration of serum apolipoprotein (apo) A-I was significantly decreased and that of serum apoA-IV was significantly increased, while no change was observed in the lipid content of the high-density lipoprotein (HDL) fraction, suggesting an alteration of HDL composition. In the liver, increases in the contents of cholesterol and triglyceride were markedly suppressed. In addition, the activities of cholesterol 7 α -hydroxylase [EC 1.14.13.17] and acyl-CoA : cholesterol acyltransferase [EC 2.3.1.26] were significantly low.

Key words Kabosu, SHRSP, lipoprotein, lipid metabolism, hypocholesterolemic effect.

(Received April 27, 1998)

最近の日本では悪性新生物や脳・心臓血管疾患による死因別死亡率が高値となっている¹⁾。これらの疾患(いわゆる成人病)は、若齢期から注意を促す必要があること、また生活習慣と密接に関連していることから生活習慣病とも呼称されるに至っている。われわれは日常の食生活による生活習慣病予防の観点から、アテローム性動脈硬化を基礎疾患とする脳・心臓血管疾患の食(食の生体調節機能)による予防について脂質代謝を中心として研究を進めている。その一環として、今回は柑橘類の一種であるカボスに着目した。

カボスの脂質代謝への影響としては、高コレステロール食投与による血清コレステロール値上昇に対する抑制

作用が知られている²⁾³⁾。この上昇抑制作用は、カボスを压榨した果汁にエタノールを加えて得られた沈澱画分(カボス果汁粕)に強く認められ、その作用機構として小腸でのコレステロール吸収抑制や胆汁酸の再吸収阻害が考えられているが詳細は不明な点が多い。今回われわれは、カボス果汁粕のコレステロール上昇抑制作用機構について詳細を明らかにすることを目的とした。すなわち、高コレステロール食を投与し、食餌性高コレステロール血症を誘導した脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) をモデル動物として用い、カボス果汁粕投与が血清ならびに肝臓コレステロール代謝に及ぼす影響について検討を行った。

* 〒589-8511 大阪府大阪狭山市大野東 377-2

** 〒870-1192 大分県大分市野原 700

Table 1. Composition of the experimental diet (KJRF diet). (Weight %)

Ingredients	Control	KJRF diet
KJR (Kabosu Juice Residue)	—	10.0
Casein (Milk)	20.0	17.5
α -Corn starch	38.95	35.95
Corn oil	10.0	8.9
Sucrose	20.0	20.0
Cellulose	5.0	1.6
AIN-76 Mineral mix.	3.5	3.5
AIN-76 Vitamin mix.	1.0	1.0
DL-Methionine	0.3	0.3
Cholesterol	1.0	1.0
Sodium cholate	0.25	0.25

Protein content of the KJRF diet was adjusted to 20% by weight. Lipid content of the KJRF diet was adjusted to 10% by weight.

実験方法

1. 実験材料および飼料の調製

カボス果汁粕はこれまでの報告³⁾と同様にして調製した。用いたカボス果汁粕の一般成分は水分 4.6%, 粗タンパク質 24.0%, 粗脂肪 11.4%, 粗灰分 2.8%, 炭水化物 57.2%であった。また, AOAC 法⁴⁾にて定量した食物繊維含量は 34.0%であった。

対照飼料は, タンパク源としてカゼインを 20%含有する半精製飼料にコレステロールを 1%, コール酸ナトリウムを 0.25%添加した飼料を使用した。実験飼料 (KJRF diet) は, 対照飼料とタンパク質, 脂質, 食物繊維, コレステロール, コール酸ナトリウム等の含量が同一となるよう最終的に α -コーンスターチにて調整した。飼料の組成を Table 1 に示した。

2. 動物および飼育方法

実験動物として 7 週齢の雄性 SHRSP を使用した。コレステロールならびにコール酸ナトリウム無添加の, タンパク源としてカゼインを 20%含有する半精製飼料で 3 日間予備飼育後, 1 群 6 匹ずつとし, 同胞を対照群と実験群とに分けた。飼育は $22.0 \pm 2.0^\circ\text{C}$, 湿度 $55.0 \pm 5.0\%$, 12 時間ごとの明暗 (明期: 8~20 時) 切り替えて行った。飼料は水道水とともに 2 週間自由摂取させ, 1 日おきに体重, 飼料摂取量を測定した。

3. 血圧測定

血圧の測定は, 飼育 12 日目の午前中に 45°C に設定した加温器中であらかじめラットを 5 分ほど加温した後, ホルダーに固定し, Tail-pulse pickup 法 (Softron BP-98A, ソフトロン株式会社) にて無麻酔下非観血的に行った。

4. 採血

実験開始 2 週間後, 絶食せずにエーテル麻酔下で腹部

大動脈より採血 (午前 10 時より開始, 約 2 時間) を行い, 遠心 (3,000 rpm, 4°C , 10 min) して血清を分離した。

5. 血清各リポタンパクの分画法

血清よりの各リポタンパク分画 [超低比重リポタンパク (VLDL) 分画: $d < 1.006$, 低比重リポタンパク (LDL) 分画: d ; 1.006~1.063, 高比重リポタンパク (HDL) 分画: d ; 1.063~1.210, 非リポタンパク (Free) 分画: $d > 1.210$] は, Hatch & Lee⁵⁾ の方法に準拠した段階的密度勾配超遠心法 (TL-100, Beckman, USA) によりアングロローター (TLA-100・2, Beckman, USA) を用いて分画した。ラットの場合, LDL 分画から HDL 分画にわたって HDL の亜分画, すなわち HDL₁ (高コレステロール食の場合は HDL_c) が混在する⁶⁾。したがって, 今回用いた段階的密度勾配超遠心法においては本来の LDL のみの分離は不可能であり, LDL 分画は LDL と混在する HDL_c との和となっている。また再超遠心によりリポタンパクよりアポタンパクが離脱することが知られていることから⁷⁾, 再超遠心による各リポタンパク分画の精製は行っていない。

6. 血清ならびに各リポタンパク分画中の各種脂質およびアポタンパク含量の測定

血清ならびに各リポタンパク分画中の各種脂質の測定は, 市販の酵素法によるキット (コレステロール E-テストワコー, トリグリセライド E-テストワコー, リン脂質 C-テストワコー; 和光純薬工業株式会社) にて行った。各種アポタンパク含量 (apoA-I, apoA-IV, apoB, apoE) は, Ogawa *et al.* が一部改良を加えた Laurell 法⁸⁾ に準拠した Rocket 免疫電気泳動法にて測定した⁹⁾。なお抗体は, ラット血清より分離・精製した各種アポタンパクを抗原とし, ウサギにて作成した特異抗体を使用した。

7. 肝臓脂質の抽出および脂質含量の測定

全血採血時に摘出した肝臓よりの脂質の抽出は Folch *et al.* の方法¹⁰⁾ に準拠して行った。そして, N₂ 気流下にて溶媒を留去した後, 肝臓脂質含量測定用の試料とした。肝臓中の脂質含量は, 市販の酵素法によるキット (コレステロール E-テストワコー, トリグリセライド E-テストワコー, リン脂質 C-テストワコー; 和光純薬工業株式会社) を用いて測定した。

8. Cholesterol 7 α -hydroxylase 活性の測定

常法により肝臓ミクロソーム画分を得, ミクロソーム画分中に存在するコレステロールを基質として, cholesterol 7 α -hydroxylase [EC 1.14.13.17] 活性を Ogishima & Okuda の方法¹¹⁾ に準拠した高速液体クロマトグラフィ (HPLC) 法により測定した。活性値はミクロソーム画分のタンパク含量 1mg 当たり 1 分間に生じた 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-one (HCO) 量 (pmol/min mg protein⁻¹) より算出した。

Table 2. Effects of KJR (Kabosu juice residue) on final body weight, average food intake, systolic blood pressure (blood pressure), and serum concentrations of total cholesterol, phospholipid and triglyceride in the hypercholesterolemic SHRSP.

	Control	KJRF
Final body weight (g)	221±3	218±3
Food intake (g/rat/d)	15.5±0.3	15.2±0.2
Blood pressure (mmHg)	157±3	153±3
Cholesterol (mg/dL)	158±11	115±5**
Phospholipid (mg/dL)	162±6	162±9
Triglyceride (mg/dL)	223±32	257±15

Values were expressed as Mean±SEM (N=6 in each group). *Significant difference from the control group (** $p < 0.01$ by Student's *t*-test).

9. Acyl-CoA : cholesterol acyltransferase (ACAT) 活性の測定

Einarsson *et al.*¹²⁾ の方法に準拠して, Oleoyl CoA と肝臓ミクロソーム画分中に存在するコレステロールとを基質とし, 酵素反応により生成したコレステロールエステル (cholesteryl oleate) の量を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で定量した。ACAT [EC 2.3.1.26] 活性は, ミクロソーム画分のタンパク含量 1 mg 当り 1 分間に生じた cholesteryl oleate 量 (pmol/min mg protein⁻¹) で示した。

10. 統計処理

実験値はすべて平均値±標準誤差で表した。有意差検定は, Excel 統計解析プログラム (Ver. 5.0, Microsoft) を用い分散の検定後, Cochran あるいは Student の *t*-検定を行った。そして危険率 5% 以下を有意とした。

実験結果

1. 体重, 飼料摂取量の経時的変動

実験期間中, 体重, 飼料摂取量ともに実験群と対照群との間に差はほとんどみられなかった。

2. 血圧への影響

投与 10 日目の血圧 (最高血圧) は実験群と対照群との間にほとんど差は認められなかった (Table 2)。

3. 血清脂質ならびに血清各種アポタンパク含量への影響

最終体重, 平均飼料摂取量, 最高血圧, および血清中のコレステロール, リン脂質, トリグリセライド含量の動態を Table 2 に, 各種アポタンパク (apoA-I, A-IV, B, E) 含量, そして apoB/apoA-I の動態を Table 3 に示した。

血清コレステロール値の上昇は実験群において有意に

Table 3. Effects of KJR (Kabosu juice residue) on serum concentrations of apolipoproteins (apoA-I, A-IV, B and E) and apoB/apoA-I ratio in the hypercholesterolemic SHRSP.

	Control	KJRF
ApoA-I (mg/dL)	63.5±4.7	49.4±1.0*
ApoA-IV (mg/dL)	20.9±0.7	23.4±0.1*
ApoB (mg/dL)	15.4±0.9	13.0±0.6*
ApoE (mg/dL)	24.1±0.4	25.7±1.0
ApoB/apoA-I (×100)	25.2±3.4	26.3±0.7

Values were expressed as Mean±SEM (N=6 in each group). *Significant difference from the control group (* $p < 0.05$ by Student's *t*-test).

抑制された。トリグリセライド含量は実験群において若干高値傾向を示したが, 対照群との間に有意な差は認められなかった。

次に, 血清各種アポタンパク含量の動態をみてみると, apoA-I 含量は実験群で有意な低値を示したが, apoA-IV 含量は有意な高値を示した。また, apoB 含量は実験群において上昇が抑制され有意な低値を示した。ApoE 含量ならびに動脈硬化指数の一つと考えられる apoB/apoA-I は, 両群間に有意な差は認められなかった。

4. 血清各リポタンパク分画における脂質含量ならびにアポタンパク含量の動態

血清各リポタンパク分画におけるコレステロール, リン脂質, トリグリセライド含量の測定結果を Fig. 1 (a~c) に示した。血清各リポタンパク分画中におけるコレステロール含量 (Fig. 1-a) は, 実験群の VLDL, LDL 両分画において有意な上昇抑制が認められた。しかし, HDL 分画では両群間に有意な差は認められなかった。リン脂質含量 (Fig. 1-b) は, 実験群の LDL 分画において有意な上昇抑制が観察されたが, その他の分画では実験群と対照群間に有意な差はみられなかった。トリグリセライド含量 (Fig. 1-c) は, VLDL 分画において, 実験群は高値傾向を示したが有意な差は認められなかった。また HDL 分画において, 実験群は有意な低値が認められた。

各リポタンパク分画における apoE 含量の動態を Fig. 1-d に示した。ApoE は VLDL と, HDL の亜分画の一つである HDLc (apoE HDL) の構成タンパクであることから, VLDL 分画以外に存在する apoE は apoE HDL 分画に含まれるものとした。両分画とも実験群と対照群との間に有意な差はみられなかった。

5. 肝臓重量および肝臓脂質含量の動態

体重 100 g 当りの肝臓重量および肝臓中のコレステ

Fig. 1. Effects of KJR (Kabosu juice residue) on the distributions of serum cholesterol, phospholipid, triglyceride and apoE in the hypercholesterolemic SHRSP.

The vertical bars indicate the standard error of the mean ($N=6$ in each group). Significant difference from the control group (* $p<0.05$, ** $p<0.01$ by Student's t -test). □: Control, ■: KJRF.

Table 4. Effects of KJR (Kabosu juice residue) on liver weight, liver contents of cholesterol, phospholipid and triglyceride, and activities of cholesterol 7α -hydroxylase (7α -hydroxylase) and A CAT in the hypercholesterolemic SHRSP.

	Control	KJRF
Liver weight		
(g/100 g of body weight)	5.56 $\pm$ 0.04	5.39 $\pm$ 0.07*
Cholesterol (mg/wet g)	96.5 $\pm$ 4.5	52.3 $\pm$ 1.4**
Phospholipid (mg/wet g)	33.8 $\pm$ 1.5	35.9 $\pm$ 1.7
Triglyceride (mg/wet g)	113 $\pm$ 7.9	86.1 $\pm$ 4.6**
7α -hydroxylase		
(pmol/min mg protein ⁻¹)	64.0 $\pm$ 4.3	40.3 $\pm$ 4.8**
ACAT		
(pmol/min mg protein ⁻¹)	339 $\pm$ 25	205 $\pm$ 18**

Values were expressed as Mean $\pm$ SEM ($N=6$ in each group). *Significant difference from the control group (* $p<0.05$, ** $p<0.01$ by Student's t -test).

ロール、リン脂質、トリグリセライド含量の動態を Table 4 に示した。単位体重当りの肝臓重量は、実験群において有意な低値を示し、肝臓肥大の抑制が認められた。さらに肝臓コレステロールならびにトリグリセライド含量も実験群において上昇が有意に抑制され、肝臓脂質蓄積抑制作用が認められた。リン脂質含量は、実験群と対照

群との間に差はみられなかった。

6. 肝臓ミクロソーム画分 cholesterol 7α -hydroxylase ならびに ACAT 活性の動態

肝臓ミクロソーム画分中の cholesterol 7α -hydroxylase ならびに ACAT 活性を Table 4 に示した。cholesterol 7α -hydroxylase 活性および ACAT 活性とも、実験群において有意な低値が認められた。

考 察

カボスの果汁粕画分には強い血清コレステロール上昇抑制作用があることが報告されている²⁾³⁾。通常、果物(果実)のコレステロール上昇抑制作用はその搾汁粕中に含まれる食物繊維に基づくものが多く報告されているが、カボスの場合のように果汁沈澱物のコレステロール上昇抑制作用についての報告は少ない。したがって、その作用機構は興味深い点が多い。カボス果汁粕のコレステロール上昇抑制作用機構に関して、望月ら³⁾は外因性コレステロール吸収抑制や胆汁酸の再吸収阻害を示唆しているが詳細は明らかとなっていない。

今回は Table 1 に示したように飼料中のタンパク質、脂質ならびに食物繊維含量が対照食と同一となるように実験食を調製し、カボス果汁粕投与が SHRSP の血清ならびに肝臓コレステロール代謝に及ぼす影響について検討を進めた。そして、実験食の 2 週間投与においては、対照群との間に差は認められず順調な成育を示した。また血圧に関しても両群間に差は認められなかった。SHRSP の高血圧発症は高脂質食投与により抑制される

ことが知られている¹³⁾。今回の場合も、コレステロール無添加食の場合と比較し両群とも血圧が低値となっており、カボス果汁粕投与による血圧への影響は明確に判断することができなかった。

血清脂質への影響としては有意なコレステロール上昇抑制作用が観察され、これまでの報告²⁾³⁾を裏付ける結果となった。また血清アポタンパク含量への影響をみると、実験群ではapoA-IとapoB含量の有意な低値とapoA-IV含量の有意な高値が観察された。apoA-IはHDLの主要構成タンパクであるが、Fig. 1-a, bに示したようにHDL分画のコレステロール、リン脂質含量が両群間で差がみられないことから、カボス果汁粕投与によりHDLの組成が変化したことにより低値となったものと考えられる。すなわち、ラットの場合、HDLにはapoA-Iを主構成タンパクとする亜分画(apoA-I HDL)、apoEを主構成タンパクとする亜分画(apoE HDL)¹⁴⁾、そしてapoA-IVを主構成タンパクとする亜分画(apoA-IV HDL)¹⁵⁾が存在するが、この場合はapoA-I HDLの減少と、これを補ったapoA-IV HDLの増加が考えられる。このapoA-I HDLの減少は代謝亢進による可能性が高いが詳細は不明である。またapoE HDLに関しては両群間に差は認められず影響は少ないと考えられる。

次に血清apoBの有意な上昇抑制は、apoBを主構成タンパクとするVLDL(β -VLDL¹⁶⁾)ならびにLDLの上昇抑制を示唆している。これはFig. 1-aにおける、実験群のVLDL, LDL両分画におけるコレステロール上昇抑制からも支持される。しかし、VLDL分画におけるリン脂質、トリグリセライド含量は両群間にほとんど差がないことから、VLDL(β -VLDL)の組成がコレステロール含量の低い型で肝臓から分泌されている可能性が高い。また、望月ら³⁾の報告にみられる肝臓からのVLDLの分泌速度の低下を考えると、VLDL(β -VLDL)の分泌速度と組成がVLDL(β -VLDL)、LDLの上昇抑制に深く関連していると考えられる。

次に肝臓脂質への影響をみると、まず、実験群では単位体重当りの肝臓重量の有意な上昇抑制が認められた。この際同時に肝臓コレステロールならびにトリグリセライド含量の顕著な上昇抑制が認められていることから、カボス果汁粕投与により肝臓脂質の蓄積が抑制されるとともに肝臓肥大(脂肪肝)の抑制が発現することが明らかとなった。これは、上記のように血中VLDL(β -VLDL)、LDLの顕著な上昇抑制による肝臓への脂質取り込み減少に基づくものと考えられる。また、肝臓コレステロールの胆汁酸への異化酵素であるcholesterol 7 α -hydroxylase¹⁷⁾活性は実験群で有意な低値を示した。これは、対照群と比較し、肝臓コレステロールプールが少ないため二次的に活性が低値となったと考えられ

る。したがって、cholesterol 7 α -hydroxylase活性の結果からは、カボス果汁粕の胆汁酸への異化亢進作用は明らかではなかった。さらに、肝臓コレステロールを蓄積型のコレステロールエステルに変換するACAT¹⁸⁾活性も実験群で有意な低値を示した。これも肝臓コレステロールプール低値に基づく二次的な影響の可能性が高いが、カボス果汁粕中にACAT活性阻害物質が存在する可能性も考えられる。今回、腸管ミクロソーム画分のACAT活性を測定していないが、カボス果汁粕にACAT活性阻害物質が存在すれば、腸管におけるコレステロール吸収抑制作用による血中VLDL(β -VLDL)上昇抑制、ひいては肝臓脂質蓄積抑制につながるものと考えられる。これに関してはカボス果汁粕中の有効成分特定をも含めて今後更に検討を進める必要があると考える。

以上、高コレステロール食投与におけるカボス果汁粕の血清コレステロール上昇抑制作用は、肝臓より分泌されるVLDL(β -VLDL)の組成の違いと、その分泌速度の低下に基づくと考えられた。一方、HDL全体としては差は認められないが、その亜分画に違いが認められた。このHDLの動態が血清コレステロール上昇抑制作用にいかに関係しているかは今後の検討課題と考える。さらに、肝臓コレステロール、トリグリセライド蓄積抑制作用と肝臓肥大(脂肪肝)抑制が認められたが、これは主に血清コレステロール上昇抑制に基づく肝臓でのコレステロール取り込み減少に基づくものと考えられた。

要 約

高コレステロール食投与SHRSPを使用し、カボス果汁にエタノールを加えることにより得られた沈澱画分(カボス果汁粕)が血清ならびに肝臓脂質に及ぼす影響についてコレステロール代謝を中心として検討し、以下の結果が得られた。

1) 有意な血清コレステロール上昇抑制作用が認められた。これはVLDL, LDL両分画における上昇抑制に基づいていた。

2) 血清コレステロール上昇抑制作用機構として肝臓よりコレステロール含量が低いVLDL(β -VLDL)が分泌されることが示唆された。

3) HDL全体としての影響はほとんど認められなかったが、構成アポタンパク(apoA-I, A-IV)の変動が認められたことから、HDLの組成へ影響を及ぼすことが示唆された。

4) 肝臓コレステロールならびにトリグリセライドの蓄積が有意に抑制され肝臓肥大(脂肪肝)抑制が認められた。同時にcholesterol 7 α -hydroxylase, ACAT両活性の有意な低下が認められた。

本研究を遂行するに当り、カボス果汁粕をご供与いただきました八鹿酒造(株)専務取締役の善光則之氏に深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生統計協会(編)(1997) 国民衛生の動向。厚生 の指標・臨時増刊, Vol 44, p. 48-61. 厚生統計協会, 東京.
- 2) 望月 聡, 山元亜弥子, 高橋美香 (1996) カボスがラットの血清および肝臓コレステロールレベルに及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌 **49**, 331-6.
- 3) 望月 聡, 山元亜弥子, 高橋美香 (1996) カボス果汁の沈澱画分がラットのコレステロール代謝に及ぼす影響. 日本栄養・食糧学会誌 **49**, 337-41.
- 4) Prosky L, Asp NG, Furda I, DeVries JW, Schweizer TF, Harland BF (1984) Determination of total dietary fiber in foods, food products, and total diets—Interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem* **67**: 1044-52.
- 5) Hatch FT, Lee RS (1968) Practical methods for plasma lipoprotein analysis. *Adv Lipid Res* **6**: 1-68.
- 6) Lusk LT, Walker LF, Dubien LH, Getz GS (1979) Isolation and partial characterization of high-density lipoprotein HDL₁ from rat plasma by gradient centrifugation. *Biochem J* **183**: 83-90.
- 7) Mahley RW, Holcombe KS (1977) Alterations of the plasma lipoproteins and apoproteins following cholesterol feeding in the rat. *J Lipid Res* **18**: 314-24.
- 8) Laurell CB (1966) Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose-gel containing antibodies. *Anal Biochem* **15**: 45-52.
- 9) Ogawa H, Shiota C, Nishikawa T, Fukushima S, Sasagawa S (1986) Age-related changes in serum concentrations of apolipoproteins A-I, E and A-IV in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* **4** (Suppl. 3): s429-31.
- 10) Folch J, Lee M, Stanley GHS (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* **226**: 497-509.
- 11) Ogishima T, Okuda K (1986) An improved method for assay of cholesterol 7 α -hydroxylase activity. *Anal Biochem* **158**: 228-32.
- 12) Einarsson K, Benthin L, Ewerth S, Hellers G, Stahlberg D, Angelin B (1989) Studies on acyl-coenzyme A: cholesterol acyltransferase activity in human liver microsomes. *J Lipid Res* **30**: 739-46.
- 13) Yamori Y, Horie R, Ohtaka M, Nara Y, Fukase M (1976) Effect of hypercholesterolemic diet on the incidence of cerebrovascular and myocardial lesions in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **3** (Suppl.): 205-8.
- 14) Quarfordt SH, Jain RS, Jakoi L, Robinson S, Shelburne F (1978) The heterogeneity of rat high density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun* **83**: 786-93.
- 15) Dallinga-Thie GM, Groot PHE, Von Tol A (1985) Distribution of apolipoprotein A-IV among lipoprotein subclasses in rat serum. *J Lipid Res* **26**: 970-6.
- 16) Lasser NL, Roheim PS, Edelstein D, Eder HA (1973) Serum lipoproteins of normal and cholesterol-fed rats. *J Lipid Res* **14**: 1-18.
- 17) Myant NB, Mitropoulos KA (1977) Cholesterol 7 α -hydroxylase. *J Lipid Res* **18**: 135-53.
- 18) Goodman DS, Deykin D, Shiratori T (1964) The formation of cholesterol esters with rat liver enzymes. *J Biol Chem* **239**: 1335-45.

(1998年4月27日受理)