

ラットの脂質代謝に及ぼすハトムギ精白粉給餌の影響

細見 亮太・稲吉 良亮・西山 利正
吉田 宗弘・福永 健治

Ryota HOSOMI, Ryouusuke INAYOSHI, Toshimasa NISHIYAMA, Munehiro YOSHIDA, Kenji FUKUNAGA :
Dietary Effects of Refined Job's Tears Flour on Lipid Metabolism in Rats

鳥取短期大学研究紀要 第65号 抜刷

2012年6月

ラットの脂質代謝に及ぼすハトムギ精白粉給餌の影響

細見 亮太・稲吉 良亮¹・西山 利正²
吉田 宗弘¹・福永 健治¹

Ryota Hosomi, Ryouyusuke Inayoshi, Toshimasa Nishiyama, Munehiro Yoshida, Kenji Fukunaga :
Dietary Effects of Refined Job's Tears Flour on Lipid Metabolism in Rats

ラットの脂質代謝に及ぼすハトムギ精白粉摂取の影響を検討した。5週齢のWistar系雄ラットに基本餌料であるAIN93G餌料で2週間の予備飼育後、AIN93G餌料(対照群)、ハトムギ精白粉混合(30% w/w)餌料(ハトムギ群)を6週間自由摂取させた。その結果、ハトムギ給餌によって血清高密度リポタンパク質コレステロール濃度の上昇傾向や肝臓トリグリセライド含量の低下が確認された。糞重量の増大とともに、コレステロールと胆汁酸の糞への排泄量増大が確認されたことからハトムギに含まれる非消化成分が影響していると考えられる。

キーワード：ハトムギ 脂質代謝 トリグリセライド コレステロール ラット

1. 緒言

ハトムギ(学名：*Cox lacryma-jobi* var. *mayuen*)は、イネ科、キビ亜科、ジュズダマ属の一年生作物で、わが国には中国から享保年間(西暦1716年から1735年の間)に伝えられたとされる。ハトムギ精白粒は雑穀米、混ぜご飯、シリアル、粥などに、精白粉はパンやお菓子、お茶などに用いられている。その他には医薬品、化粧品等にも用いられ、その利用範囲は広い。わが国のハトムギ栽培面積・生産量は、米政策改革の実施などの影響を受けて、平成22年度に国内で約1,100 t生産され、今後も生産量が上昇することが予測される¹⁾。鳥取県でも県東部を中心に作付けが拡大し、平成20年には約7.2 ha、平成22年は約25 haであり、今後遊休農地の再生に取り組むなどして40~50 haに拡大する方針である²⁾。

ハトムギは江戸時代から漢方薬として使われており、種皮を除いて乾燥させたものを「ヨクイニン」という。肌荒れ、いぼ、リウマチ、神経痛の薬として用いられてきた背景もあることから、健康機能に関する研究は多く、抗酸化効果³⁾、ラジカル消去活性⁴⁾、抗炎症効果⁵⁾、抗アレルギー効果⁶⁾などが報告されている。近年、生活習慣病罹患者の増大により、その原因の一つと考えられている脂質代謝改善効果を有する食品成分、生理活性物質に関する研究が活発に行われている。そこで本研究では、ハトムギ精白粉摂取による脂質代謝の改善効果についてラットを用いて検討した。

2. 実験方法

(1) ハトムギ精白粉の一般組成分析

ハトムギ精白粉(品種：はとひかり)は、株式会社ゼンヤクノー(鳥取県)から供与されたものを用いた。たんぱく質はケルダール窒素法、脂質はソックスレー法、灰分は550℃燃焼法、水分は105℃恒量法で測定した。たんぱく質、水分、灰分、脂質

¹ 関西大学 化学生命工学部 食品工学研究室

² 関西医科大学 公衆衛生学講座

表1 ハトムギ精白粉の一般成分組成

| | 含有量 (g/100g) |
|-------|--------------|
| 水分 | 1.4 |
| たんぱく質 | 16.0 |
| 脂質 | 3.4 |
| 灰分 | 0.8 |
| 糖質 | 78.2 |
| 食物繊維 | 0.9 |

以外の成分は糖質とみなした。食物繊維の測定は財団法人日本食品分析センターに委託した。表1にハトムギ精白粉の一般成分組成を示した。

(2) 実験動物および餌料組成

本実験は関西医科大学実験動物倫理委員会の承認を受けて実施した。実験動物は5週齢雄性 Wistar ラット（清水実験材料株式会社）を14匹用いた。基本餌料である AIN93G⁷⁾ 餌料給餌による2週間の予備飼育後、対照群及びハトムギ群に、体重が均一になるようにそれぞれ1群7匹ずつ2群に群分けした。表2に実験餌料組成を示した。対照群は AIN93G 餌料を給餌し、ハトムギ群はハトムギ精白粉が1kg中に300gになるように、コーンスターチ、カゼイン、大豆油量を調整し、糖質、たんぱく質、脂質含量が同様になるようにした。なお、飼育環境は室温 22 ± 1 °C、湿度 50 ± 5 %、12時間明暗サイクル（8:00-20:00）、水は自由摂取とし、樹脂製ゲージで6週間飼育した。飼育終了前1週間にわたってゲージ内の糞を群ごとに回収し、重量を測定した。

飼育期間終了後、ペントバルビタール麻酔下で腹部大動脈から採血後、肝臓、後腹壁脂肪、副睾丸周辺脂肪、腎臓周囲脂肪、腸間膜脂肪組織を摘出し、重量を測定した。血液は3,000 rpm、15分間遠心分離し、血清を得た。採取した組織および血清は分析まで-70 °Cで凍結保存した。

(3) 血清生化学検査および脂質分析

血清生化学検査（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェ

表2 実験餌料組成

| | 対照 | ハトムギ |
|-------------------|---------|---------|
| | g/kg | |
| <i>a</i> -コーンスターチ | 132 | 132 |
| コーンスターチ | 397.486 | 155.686 |
| カゼイン | 200 | 152 |
| ハトムギ精白粉 | - | 300 |
| スクロース | 100 | 100 |
| セルロース | 50 | 50 |
| AIN-93G ミネラル混合 | 35 | 35 |
| AIN-93 ビタミン混合 | 10 | 10 |
| L-シスチン | 3 | 3 |
| 重酒石酸コリン | 2.5 | 2.5 |
| 第三ブチルヒドロキノン | 0.014 | 0.014 |
| 大豆油 | 70 | 59.8 |

ラーゼ（ALT）、尿素窒素、総脂質、リン脂質、総コレステロール、高密度リポタンパク質（HDL）-コレステロール、低密度リポタンパク質（LDL）-コレステロール）は、日本医学株式会社に委託した。

肝臓の総脂質は Bligh&Dyer法⁸⁾により抽出し、溶媒を留去させ、恒量を測定した。総コレステロールは5 α -コレスタンを用いて内部標準とし、ガスクロマトグラフ（GC-14B：株式会社島津製作所）を用いて定量した。リン脂質は、脂質を湿式灰化後、リンをモリブデン酸アンモニウムにより発色し、吸光度計を用いて測定した。トリグリセライドはトリグリセライド E-テストワコー（和光純薬工業株式会社）を用いて測定した。

糞はミルにて凍結粉碎後、105 °C 恒量法で水分含量を測定し、糞乾燥重量を求めた。糞の総コレステロール濃度および総胆汁酸濃度は、90 °C エタノールによりステロイドを抽出し、コレステロール E-テストワコーおよび総胆汁酸テストワコー（ともに和光純薬工業株式会社）を用いて測定した。窒素量はケルダール法により求めた。

(4) 脂肪酸代謝関連酵素活性分析

肝臓の脂肪酸代謝関連酵素であるアセチル CoA カルボキシラーゼ（ACC）⁹⁾、脂肪酸合成酵素（FAS）¹⁰⁾、グルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼ

(G6PDH)¹¹⁾, リンゴ酸酵素 (ME)¹²⁾, カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II (CPT II)¹³⁾, アシル CoA オキシターゼ (ACOX)¹⁴⁾ 活性は, 吸光度法により測定した. たんぱく質濃度は Lowry法¹⁵⁾により求めた.

(5) 統計処理

すべての測定結果は平均値±標準誤差で示した. 2群間で Student's *t*-test を行い, 有意水準が $p < 0.05$ および $p < 0.01$ のときに統計学的に有意とした. 統計解析には, StatView 5.0 (株式会社ヒューリンクス) を用いて行った.

3. 結果および考察

表3にラットの成長結果および解剖時臓器重量を示した. 飼育期間中の体重増加, エネルギー摂取量, 餌料効率に有意差はなく, また解剖時の体重 100 g あたりの肝臓重量, 白色脂肪組織重量にも変化はみられなかった.

表4にラットの血清生化学検査の結果を示した. ハトムギ給餌により, 肝機能指標である AST 活性の有意な低下および ALT 活性 ($p = 0.071$) の低下傾向が確認された. 血清 AST と ALT は肝細胞からの逸脱酵素であるため, 一般にこの両酵素の活性の上昇は肝細胞の損傷を意味しているが, 本実験は, 健常ラットを用いていること, 実験餌料についても

表3 ラットの成長結果と解剖時臓器重量

| | 対照 | ハトムギ |
|------------------------------------|---------------|---------------|
| 成長結果 | | |
| 初体重 (g) | 279 ± 5 | 277 ± 5 |
| 終体重 (g) | 421 ± 14 | 421 ± 12 |
| 体重増加 (g/日) | 3.73 ± 0.28 | 3.77 ± 0.24 |
| エネルギー摂取 (kcal/日) | 75.0 ± 1.9 | 72.0 ± 4.3 |
| 餌料効率 (g/kcal) | 0.050 ± 0.004 | 0.052 ± 0.003 |
| 臓器重量 | | |
| 肝臓重量 (g/100 g 体重) | 3.23 ± 0.08 | 3.14 ± 0.11 |
| 白色脂肪組織重量 (g/100 g 体重) [†] | 4.59 ± 0.36 | 4.53 ± 0.44 |

平均値±標準誤差

[†]後腹壁脂肪, 副睪丸周辺脂肪, 腎臓周囲脂肪, 腸間膜脂肪組織重量の合計.

表4 ラットの血清生化学検査結果

| | 対照 | ハトムギ |
|---------------------|------------|-------------|
| AST (IU/L) | 97.6 ± 4.0 | 86.9 ± 3.2* |
| ALT (IU/L) | 54.4 ± 3.4 | 47.4 ± 1.1 |
| 尿素窒素 (mg/dL) | 17.1 ± 0.7 | 15.9 ± 0.6 |
| 総脂質 (mg/dL) | 272 ± 8 | 295 ± 11 |
| リン脂質 (mg/dL) | 142 ± 4 | 155 ± 6 |
| 総コレステロール (mg/dL) | 83.3 ± 3.3 | 93.9 ± 4.8 |
| トリグリセライド (mg/dL) | 42.3 ± 2.1 | 42.4 ± 4.6 |
| HDL-コレステロール (mg/dL) | 51.1 ± 2.3 | 59.7 ± 3.9 |
| LDL-コレステロール (mg/dL) | 7.5 ± 0.3 | 8.2 ± 0.3 |

平均値±標準誤差 * $p < 0.05$ で有意差有り.

AST: アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ, ALT: アラニンアミノトランスフェラーゼ, HDL: 高密度リポタンパク質, LDL: 低密度リポタンパク質.

基本餌料 (AIN93G 餌料) を用いていることから肝障害が顕在化しているとは考えにくい。ハトムギ摂取による血清 AST および ALT 活性の低下は、正常値範囲内で、より肝機能が亢進して低値を示したと考えるのが妥当であろう。また、これらの両酵素はいずれもビタミン B₆ を補酵素としており、ビタミン B₆ が不足した時には活性の低下が起きることが報告されている¹⁶⁾。食物や薬物の中にはビタミン B₆ の吸収抑制、排泄促進、または生体内での有効性を低下させる成分が存在している¹⁷⁾。ハトムギ精白粉の中にビタミン B₆ の利用を抑制させるような成分が含まれていることが考えられるが、飼育期間中の成長結果に影響がないことから、肝細胞質内の両酵素活性の低下は重大な問題ではないだろう。

ハトムギ給餌により、血清総脂質濃度の上昇傾向 ($p = 0.097$) がみられた。総脂質濃度上昇の原因は、リン脂質と総コレステロール濃度の上昇により引き起こされていることがわかる。血清リン脂質は、リポタンパク質の構成成分として存在しており、特に HDL に高い割合で含まれている¹⁸⁾。そしてレシチンコレステロールアシルトランスフェラーゼの基質となりコレステロールエステルの生成に関与する。そのため血清コレステロール濃度とほぼ同様の変動を示すことが知られている¹⁸⁾。ハトムギ摂取による総コレステロール濃度の上昇は、LDL-コレステロールが原因ではなく、HDL-コレステロール濃度の上昇によって起きている。HDL はリン脂質を多く含むリポタンパク質であることから、ハトムギ摂取により血中の HDL 粒子の上昇により、総コレステロールとリン脂質濃度が上昇したと考えられる。

表 5 にラットの肝臓脂質組成の結果を示した。ハ

表 5 ラットの肝臓脂質組成

| | 対照 | | ハトムギ | |
|----------|-------------|--------------|------|--|
| | mg/g 肝臓 | | | |
| 総脂質 | 46.7 ± 1.7 | 38.2 ± 0.8** | | |
| リン脂質 | 23.4 ± 1.1 | 23.7 ± 0.7 | | |
| コレステロール | 2.36 ± 0.15 | 2.11 ± 0.06 | | |
| トリグリセライド | 20.9 ± 1.4 | 12.7 ± 0.8** | | |

平均値 ± 標準誤差 ** $p < 0.01$ で有意差有り。

トムギ摂取により、総脂質濃度の有意な低下がみられ、その原因はトリグリセライド濃度の低下によることが確認された。またハトムギ摂取による肝臓リン脂質とコレステロール濃度に影響はなかった。

ハトムギ摂取による血清 HDL-コレステロール濃度上昇や肝臓トリグリセライド濃度低下の作用機序を解明するために、肝臓の脂肪酸代謝関連酵素活性と糞へ排泄されたコレステロールおよびその代謝物である胆汁酸量を測定した。表 6 に肝臓脂肪酸代謝関連酵素活性の測定結果、表 7 に糞乾燥重量と排泄された総コレステロールと総胆汁酸量、窒素量の測定結果を示した。肝臓で脂肪酸の生合成に関わる ACC と FAS, NADPH の生合成に関わる G6PDH と ME, ミトコンドリアとペルオキシソームでの脂肪酸分解に関わる CPT II と ACOX, いずれの酵素もハトムギ摂取による変化はみられなかった。大豆たんぱく質や魚油を摂取することで、肝臓の脂肪酸合成酵素活性の抑制または脂肪酸分解酵素活性の促進によってトリグリセライド濃度を低下させることが知られているが、ハトムギ摂取によるトリグリセライド濃度の低下は肝臓の脂肪酸代謝関連酵素が原因ではないと考えられる^{19,20)}。

飼育期間終了 1 週間前に 1 日毎に回収した糞重量、乾燥重量ともに、ハトムギ摂取により有意に上昇した。また糞へ排泄された総コレステロールと総胆汁酸量についても、ハトムギ摂取により有意に上昇した。糞への両成分の排泄量上昇は、小腸でのコレステロール吸収と胆汁酸再吸収を抑制していることが予測される。またトリグリセライドの吸収についても同様に、糞重量が上昇していたことから、消化管内容物が上昇し、小腸上皮細胞膜と接触する機会が減少し、吸収を阻害し、このために肝臓トリグリセライド濃度の低下を起こしたと推測される。

これまでに、食物繊維や植物性たんぱく質摂取で、糞へのコレステロールと胆汁酸排泄量が増大することで血清や肝臓のコレステロール濃度が減少することが報告されている^{19,21)}。しかし本研究では、ハトムギ摂取により糞へのコレステロールと胆汁酸排泄

表6 ラットの肝臓脂肪酸代謝関連酵素活性

| | 対照 | ハトムギ |
|-------------------------|---------------------|-------------|
| | mmol/min/mg protein | |
| アセチル CoA カルボキシラーゼ | 257 ± 20 | 261 ± 20 |
| 脂肪酸合成酵素 | 1.80 ± 0.17 | 1.93 ± 0.33 |
| グルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼ | 141 ± 14 | 144 ± 10 |
| リンゴ酸酵素 | 9.27 ± 0.86 | 8.51 ± 0.39 |
| カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ II | 4.88 ± 0.52 | 4.98 ± 0.51 |
| アシル CoA オキシターゼ | 3.68 ± 0.20 | 3.19 ± 0.49 |

平均値 ± 標準誤差

表7 ラットの糞乾燥重量、脂質及び窒素排泄量

| | 対照 | ハトムギ |
|-----------------|------------|---------------|
| 糞重量 (g/日) | 25.8 ± 1.1 | 38.1 ± 2.0 ** |
| 糞乾燥重量 (g/日) | 17.3 ± 0.7 | 23.8 ± 1.4 ** |
| 総コレステロール (mg/日) | 75.5 ± 3.7 | 96.6 ± 5.4 ** |
| 総胆汁酸 (μmol/日) | 70.1 ± 4.2 | 103 ± 5.9 ** |
| 窒素 (mg/日) | 201 ± 3 | 235 ± 10 ** |

平均値 ± 標準誤差 ** $p < 0.01$ で有意差有り.

量が上昇しているにもかかわらず、血清総コレステロール濃度の上昇がみられる。この機序として、小腸でのコレステロールやその異化代謝物である胆汁酸の吸収が抑制されることによる、肝臓でのコレステロール合成の促進が考えられる。これにより合成されたコレステロールは、HDL に組み込まれ血液中に排出され、血清 HDL-コレステロール濃度の上昇が起きたと解釈することができる。

岡本ら²²⁾は、Sprague-Dawley ラットにハトムギ精白粉を給餌させ経時的に HDL-コレステロール濃度を測定したところ、給餌開始 2、6 週目では上昇がみられるが、18 週間の給餌で上昇がみられなくなる結果を報告している。今後肝臓でのコレステロール合成や排出に関わる酵素への影響を検討し、血清 HDL-コレステロール濃度の変動に関して詳細な機序を解明することが必要であろう。

本研究で確認されたハトムギ精白粉の脂質代謝改善効果を有する成分として、含有量の多さからまず糖質が考えられる。糖質で脂質代謝に影響を与えることがよく知られている成分は食物繊維であるが、ハトムギ精白粉には 0.9% しか含まれておらず、機能を発現するに十分な量ではないだろう。しかしハ

トムギ摂取は、食物繊維を摂取した際と比較的近い生理作用が発現していることから、考えられる糖質成分として食物繊維と類似の生理作用を示すレジスタントスターチがあげられる²³⁾。レジスタントスターチとは、「健常人の小腸管腔内において消化吸収されないでんぷんおよびでんぷんの部分水解物の総称」であり、食物繊維には含まれない。また、ハトムギ精白粉は他の穀類とは異なり比較的多量のたんぱく質を含んでいる。本研究において、ハトムギ摂取群で糞への高い窒素排泄量がみられることから、ハトムギ精白粉たんぱく質はカゼインより消化性が低いことが分かる。一般的に植物性たんぱく質は消化性が低いことが知られており、最近では非消化たんぱく質が食物繊維と似た働きをするレジスタントプロテインと呼ばれる画分の存在が報告されている²⁴⁾。以上のように、ハトムギ精白粉の脂質代謝の変動を起こしている成分は、非消化物であるレジスタントスターチおよびレジスタントプロテインの可能性があると推測される。また本研究で得られた生理効果は、動物試験の結果であるため、今後ヒトにおいても同様の効果が得られるか詳細に検討していく必要がある。

4. 結論

ハトムギ精白粉の健康機能性を検討する目的で、ラットに給餌させ、血液及び肝臓脂質成分を測定した。ラットにハトムギ精白粉を摂取させると、血清HDL-コレステロール濃度の上昇傾向と肝臓トリグリセライド濃度の低下がみられた。以上より、ハトムギ精白粉の摂取は、血清や肝臓脂質の改善という好ましい健康効果を起こす可能性があることが示唆された。

ハトムギ精白粉を提供頂いた株式会社ゼンヤクノーに御礼申し上げます。また実験動物の飼育および脂質分析に御協力頂いた関西大学化学生命工学部食品工学研究室の大学院生および学部生の皆様に感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 手塚隆久, 田尻俊郎「日本のハトムギ栽培」, 『特産種苗』, 日本特産農作物種苗協会, No. 3 (2009), pp. 6-12.
- 2) 高木瑞記磨, 「鳥取県におけるハトムギ栽培の現状と今後の動向について」, 『特産種苗』, 日本特産農作物種苗協会, No. 3 (2009), pp. 35-38.
- 3) Kuo, C. C., Chiang, W., Liu, G. P., Chien, Y. L., Chang, J. Y., Lee, C. K., Lo, J. M., Huang, S. L., Shih, M. C. and Kuo, Y. H., "2, 20-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical-scavenging active components from adlay (Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen Stapf) hulls", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 50, No. 21, 2002, pp. 5850-5855.
- 4) Huang, D. W., Kuo, Y. H., Lin, F. Y., Lin, Y. L. and Chiang, W., "Effect of adlay (Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen Stapf) testa and its phenolic components on Cu²⁺-treated low-density lipoprotein (LDL) oxidation and lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation in RAW 264.7 macrophages", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 57, No. 6, 2009, pp. 2259-2266.
- 5) Otsuka, H., Hirai, Y., Nagao, T. and Yamasaki, K., "Anti-inflammatory activity of benzoxazinoids from roots of Coix lachryma-jobi var. ma-yuen", *Journal of Natural Products*. Vol. 51, No. 1, 1988, pp. 74-79.
- 6) Chen, H. J., Shih, C. K., Hsu, H. Y. and Chiang, W., "Mast cell-dependent allergic responses are inhibited by ethanolic extract of adlay (Coix lachryma-jobi L. var. ma-yuen Stapf) testa", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 58, No. 4, 2010, pp. 2596-2601.
- 7) Reeves, P.G., Nielsen, F. H. and Fahey, G. C. Jr., "AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76 A rodent diet", *Journal of Nutrition*. Vol. 123, No. 11, 1993, pp. 1939-1951.
- 8) Bligh, E. G. and Dyer, W. J., 1959. "A rapid method of total lipid extraction and purification", *Canadian journal of biochemistry and physiology*. Vol. 37, No. 8, 1959, pp. 911-917.
- 9) Tanabe, T., Nakanishi, S., Hashimoto, T., Ogiwara, H., Nikawa, J. and Numa, S., *Methods of Enzymology* (New York: Academic Press, 1981), Vol. 71, pp. 5-16.
- 10) Kelley, D. S., Nelson, G. J. and Hunt, J. E., "Effect of prior nutritional status on the activity of lipogenic enzymes in primary monolayer cultures of rat hepatocytes", *Biochemical Journal*. Vol. 235, No. 1, 1986, pp. 87-90.
- 11) Kelley, D. S. and Kletzien, R. F., "Ethanol modulation of the hormonal and nutritional regulation of glucose 6-phosphate dehydrogenase activity in primary cultures of rat

- hepatocytes”, *Biochemical Journal*. Vol. 217, No. 2, 1984, pp. 543-549.
- 12) Hsu, R. Y. and Lardy, H. A., *Methods of Enzymology* (New York: Academic Press, 1969), Vol. 13, pp. 230-235.
- 13) Markwell, M. A., McGroarty, E. J., Bieber, L. L. and Tolbert, N. E., “The subcellular distribution of carnitine acyltransferases in mammalian liver and kidney. A new peroxisomal enzyme”, *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 248, No. 10, 1973, pp. 3426-3432.
- 14) Ide, T., Hong, D. D., Ranasinghe, P., Takahashi, Y., Kushiro, M. and Sugano, M., “Interaction of dietary fat types and sesamin on hepatic fatty acid oxidation in rats”, *Biochimica et Biophysica Acta*. Vol. 1682, No. 1-3, 2004, pp. 80-91.
- 15) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., “Protein measurement with the Folin phenol reagent”, *The Journal of Biological Chemistry*. Vol. 193, No. 1, 1951, pp. 265-275.
- 16) Okada, M., Goda, H., Kondo, Y., Murakami, Y. and Shibuya, M., “Effect of exercise on the metabolism of vitamin B6 and some PLP-dependent enzymes in young rats fed a restricted vitamin B6 diet”, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. Vol. 47, No. 2, 2001, pp. 116-121.
- 17) Klosterman, H. J., *Methods of Enzymology* (New York: Academic Press, 1979), Vol. 62, pp. 483-495.
- 18) 林典夫, 廣野治子, 『シンプル生化学』, 南江堂, 2005年, pp. 154.
- 19) Sugano, M., Goto, S., Yamada, Y., Yoshida, K., Hashimoto, Y., Matsuo, T., Kimoto, M., “Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats”, *Journal of Nutrition*. Vol. 120, No. 9, 1990, pp. 977-985.
- 20) Takahashi, Y., “Soy protein and fish oil independently decrease serum lipid concentrations but interactively reduce hepatic enzymatic activity and gene expression involved in fatty acid synthesis in rats”, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. Vol. 57, No. 1, 2011, pp. 56-64.
- 21) Yang, J. L., Kim, Y. H., Lee, H. S., Lee, M. S. and Moon, Y. K., “Barley beta-glucan lowers serum cholesterol based on the up-regulation of cholesterol 7alpha-hydroxylase activity and mRNA abundance in cholesterol-fed rats”, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. Vol. 49, No. 6, 2003, pp. 381-387.
- 22) 岡本基, 白井真一, 岡崎三代, 「はとむぎ, はとむぎテンペのラットコレステロール代謝改善作用に関する研究」『岡山大学医学部保健学科紀要』15巻1号(2004). pp. 9-14.
- 23) Higgins, J. A., Jackman, M. R., Brown, I. L., Johnson, G. C., Steig, A., Wyatt, H. R., Hill, J. O. and Maclean, P. S., “Resistant starch and exercise independently attenuate weight regain on a high fat diet in a rat model of obesity”, *Nutrition & Metabolism*. Vol. 8, 2011, pp. 49.
- 24) Matsumoto, J., Erami, K., Ogawa, H., Doi, M., Kishida, T. and Ebihara, K., “Hypocholesterolemic effects of microbial protease-resistant fraction of Katsuobushi in ovariectomized rats depend on the both oil and undigested protein”, *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. Vol. 53, No. 6, 2007, pp. 508-514.