

ナンノクロロプシス添加食が高コレステロール食給餌ラットの 血漿コレステロール濃度に及ぼす影響†

Effects of *Nannochloropsis* diet on the plasma cholesterol concentration of high-cholesterol diet-fed rats

後藤知子*¹

川島英里子*²

佐々木 洋*²

Tomoko GOTO Eriko KAWASHIMA Hiroshi SASAKI

Marine phytoplankton, *Nannochloropsis* spp. contains a high level of eicosapentaenoic acid (EPA), and has attracted attention not only as a feed for marine fish farming, but also as a dietary supplement for maintaining and improving human health. n-3 polyunsaturated fatty acids such as EPA and docosahexaenoic acid (DHA) are known to improve dyslipidemia and arteriosclerosis. Therefore, we investigate the effects of the *Nannochloropsis*-added diet on the plasma cholesterol level of rats after feeding a high-cholesterol diet. As a result, the concentrations of total plasma cholesterol, plasma free cholesterol, plasma LDL cholesterol, and plasma Non-HDL cholesterol of rats supplemented with *Nannochloropsis* were found to be significantly reduced compared with the control rats that were not supplemented with *Nannochloropsis*. On the contrary, the plasma HDL cholesterol concentration of rats supplemented with *Nannochloropsis* was significantly increased. From the above results, it was concluded that *Nannochloropsis* can be expected to improve dyslipidemia.

Keywords: *Nannochloropsis*, cholesterol, rat

ナンノクロロプシス、コレステロール、ラット

1. 緒言

ナンノクロロプシス *Nannochloropsis* は、海洋性の植物プランクトン（微細藻類）であり、海産クロレラとも呼ばれている¹⁾。植物プランクトンは、海産魚養殖の餌料やバイオ燃料として有用であることが知られている。中でもナンノクロロプシスは、他の植物プランクトンと比べて増殖速度が比較的速く、脂質生産速度も高く細胞内に脂質を蓄積し、特にエイコサペンタエン酸（EPA）の含量が高い²⁾ことから、栄養強化を目的とした二次培養餌料としても期待され、大量培養も試みられてきた³⁻⁴⁾。ナンノクロロプシスは長径 2~6 μm（ほぼ球形）で、増殖に最適な水温は 25℃ 付近だが 10~30℃ の広温域で増殖が可能である³⁻⁴⁾。そこでナンノクロロプシスは、海産魚養殖の餌料としてのみならず、健康維持・増進に向けた日常的摂取が注目されてきた。

EPA やドコサヘキサエン酸（DHA）などの n-3 系高度不飽和脂肪酸（HUFA）は、特に青魚に多く含まれ、脂質異常症や動脈硬化の改善作用を示すこと⁵⁾が知られている。しかし、水産庁の「水産物消費の状況」によると、我が国では近年、魚介類の 1 人あたりの消費量は減少が続いており、より積極的な摂取が必要となる。そうした

中で、EPA 含量が高いナンノクロロプシスは、健康維持・増進を期待した日常的摂取も注目される。

血液中の脂質の値が基準値から外れた状態を脂質異常症と言う。脂質異常症のスクリーニングのための診断基準（空腹時採血）（動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2017 年版）⁶⁾ は、高 LDL コレステロール血症で血漿 LDL コレステロール濃度 140 mg/dL 以上、低 HDL コレステロール血症で血漿 HDL コレステロール濃度 40 mg/dL 未満、高トリグリセライド血症で血漿トリグリセライド濃度 150 mg/dL 以上、高 Non-HDL コレステロール血症で血漿 Non-HDL コレステロール（総コレステロール濃度 - HDL コレステロール濃度）170 mg/dL 以上としている。スクリーニングされた脂質異常症の患者には、副作用を伴わない食事療法が指導される。遊離コレステロールは、体内の組織から HDL (high-density lipoprotein) コレステロールによって取り除かれることから、血漿中の遊離コレステロールや LDL (low-density lipoprotein) コレステロールを低減させ、HDL コレステロールを上昇させる効果を有する食品成分の探索が求められてきた。動脈硬化性疾患の予防・改善には脂質異常症、特に高 LDL コレステロール血症の改善が効果的であると報告されてき

*¹宮城学院女子大学食品栄養学科

*²石巻専修大学理工学部生物科学科

†2021 年 1 月 5 日受付, 2021 年 2 月 9 日受理

た⁷⁻⁹⁾。

モデル動物を用いた脂質異常・動脈硬化の研究では今日でも、個体の大きさ・ライフサイクルの短さや実験食制御などの観点から、ラット・マウスが用いられる。しかし、脂質異常・動脈硬化の研究において、ヒトとラット・マウスとの脂質（リポタンパク質）代謝の違いに注意する必要がある。ヒトでは、余剰コレステロールの末梢組織から肝臓への輸送（reverse cholesterol transport: RCT）において、HDL中コレステロールエステルはコレステロールエステル転送タンパク質（cholesterylester transfer protein: CETP）によりVLDLやLDLに移行し、主にLDL受容体により肝臓に取り込まれる¹⁰⁾。一方ラット・マウス（齧歯類）では、CETPを欠損しているため、肝臓へのHDLの直接的な取り込みがRCTの大部分を担っている¹⁰⁾。したがって、通常の飼育条件下におけるラット・マウスでは、血漿コレステロールの大部分はHDLコレステロールであり、動脈硬化巢形成において中心的な役割を担うnon-HDLコレステロール（LDLコレステロールを含む）の血中濃度は低い¹⁰⁾。こうした違いを考慮し、コレステロールとコール酸を添加した食餌をラット・マウスに給餌して脂質異常を誘発することが多い。そこで本研究では、コレステロールとコール酸を添加した高コレステロール食をラットに給餌して検討することとした。

食物繊維、オーツ麦（エンバク）は血清（血漿）コレステロール改善作用を有することが明らかにされ、メタアナリシス（メタ解析）も報告されてきた¹¹⁻¹²⁾。大豆タンパク質も多くの研究がなされ、高コレステロール血症患者の血漿総コレステロール濃度を低下させることも報告された¹³⁻¹⁴⁾。淡水性のクロレラも研究が多くなされ¹⁵⁻¹⁷⁾、長年にわたり多く食されてきた。クロレラ（*Chlorella*）を給餌した高コレステロール食給餌ラット¹⁸⁻²⁰⁾、高脂肪食給餌ラット・ハムスター²¹⁾・ウサギ²²⁾において、血漿コレステロール濃度の低下が報告されてきた。また、DHA富化クロレラ・ブルガリス（*Chlorella vulgaris*）投与により高コレステロール摂餌ラットの血清脂質上昇抑制作用が示された²³⁾。しかし、海産クロレラとも呼ばれる海洋性の植物プランクトンで、増殖速度が比較的速く、EPA含量が高いナンノクロロプシスにおいて、高コレステロール食給餌ラットの血漿コレステロール濃度に及ぼす影響を検討した報告は少ない²⁴⁾。そこで本研究では、ナンノクロロプシス添加食がラットの血漿コレステロール濃度に及ぼす影響を探ることを目的とし、高コレステロール食給餌により高コレステロール症モデルラットを作出して検討することとした。健常状態であるSD（Sprague Dawley）系ラットに、高脂肪・高コレステロール、コール酸添加食を給餌することで、高コレステロール・高脂血症を誘導し、ナンノクロロプシス添加食が高コレステロール食給餌ラットの血漿コレス

テロール濃度に及ぼす影響を検討することとした。

II. 研究方法

本研究は、「動物愛護及び管理に関する法律」「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針（文部科学省）」、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（環境省）、宮城学院女子大学動物実験委員会の規則に則り、審査承認（2018年12月14日）を得て実施した。

1. 実験動物

SD系雄ラット（6週齢）（日本SLC）を購入（熊谷重安商店）後、速やかに個別ケージに移し、市販固型飼料（F-2；船橋農場）にて4日間馴化させた。実験食飼育開始時に、開始時体重が同程度となるよう各群5匹ずつ2郡に群分けした。室温23±2℃、湿度50±10%、午前8時点灯、午後8時消灯の明暗サイクルに設定された動物実験飼育室にて自由摂食、自由摂水させた。

2. 実験食および実験群

市販固型飼料（F-2；船橋農場）を粉碎した粉末を主成分とし、コレステロール（和光純薬）を添加した各実験食を調製した（表1）。コール酸非含有の高コレステロール食給餌ラットでは、高コレステロール血症を呈さないことから、コール酸ナトリウム（和光純薬）も同時添加した。ナンノクロロプシス凍結乾燥粉末³⁾を5%混餌したナンノクロロプシス添加食、または、同量のコーンスターチを混餌したコントロール食とした。実験群は、各実験食および水を自由摂取させたコントロール食群（n=5）、および、ナンノクロロプシス群（n=5）の2群とした。ナンノクロロプシスは、培養された濃縮試料を脱塩し凍結乾燥させた凍結乾燥粉末を調製³⁾して用いた。

3. 方法

各実験食で13日間飼育後、6時間絶食にてジエチルエーテル麻酔下で開腹し、ヘパリン（抗血液凝固剤）処理を施した注射筒で腹部大動脈より採血し、直ちに遠心分離（3000 rpm、4℃、15分間）して血漿を得た。肝臓、

表1. 実験食組成

	コントロール食 (g)	ナンノクロロプシス添加食 (g)
コール酸ナトリウム	1.25	1.25
コレステロール	5	5
コーンスターチ	25	0
凍結乾燥ナンノクロロプシス	0	25
牛脂	50	50
市販粉末飼料 (F2)	418.75	418.75
	500	500

腹腔内脂肪を採取し重量を測定した。得られた血漿および組織は、 -80°C にて保存し測定に供した。

血漿中のトリグリセリド（トリグリセライド、トリアシルグリセロール）、総コレステロール、HDLコレステロールの濃度を測定した。血漿トリグリセリド濃度はトリグリセライド E-テストワコー（富士フィルム和光純薬）を、血漿総コレステロール濃度はコレステロール E-テストワコー（富士フィルム和光純薬）を、血漿 HDL コレステロール濃度は HDL-コレステロール E-テストワコー（富士フィルム和光純薬）を用いて測定した。

トリグリセライド E-テストワコーの原理は以下の通りである。試料中のトリグリセリドをリポプロテインリパーゼの作用によりグリセリンと脂肪酸に分解し、生成したグリセリンは ATP の存在下でグリセロールキナーゼの作用によりグリセロール-3-リン酸となり、さらにグリセロール-3-リン酸オキシダーゼの作用を受けて酸化される。その際同時に生じた過酸化水素はペルオキシダーゼの作用により 3,5-ジメトキシ-N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-アニリンナトリウム (DAOS) と 4-アミノアンチピリンとを定量的に酸化縮合させ青色の色素を生成させ、この青色の吸光度を測定 (600 nm) することにより試料中のトリグリセリド濃度を求めるものである。

コレステロール E-テストワコーは、試料中のコレステロールエステル類をコレステロールエステラーゼの作用により遊離のコレステロールと脂肪酸に分解させ、生成したコレステロールを既存の遊離型コレステロールとともにコレステロールオキシダーゼの作用により酸化させ、これにより同時に生じる過酸化水素をペルオキシダーゼの作用により DAOS と 4-アミノアンチピリンとを定量的に酸化縮合させ青色の色素を生成させ、この青色の吸光度 (600 nm) を測定することにより試料中の総コレステロール濃度を求めるものである。

HDL-コレステロール E-テストワコーは試料にリンタンゲステン酸とマグネシウム塩を含む沈殿試薬を加えることで HDL 以外のリポ蛋白を選択的に沈殿させ、この沈殿を除いた上清に発色試薬を作用させることでコレステロール E-テストワコーと同様の原理により HDL コレステロール濃度を測定するものである。

血漿総コレステロール濃度、血漿 HDL コレステロール濃度、血漿トリグリセリド濃度の測定結果を用い、血漿 LDL コレステロール濃度を Friedewald らの式にて算出した²⁵⁾。血漿中に存在するコレステロールが、VLDL、LDL および HDL コレステロールのいずれかに含まれていると仮定し、LDL コレステロール濃度をトリグリセリド濃度で近似して求める方程式で、以下のように報告されている²⁵⁾。この Friedewald らの式は、食後や、血漿トリグリセリド濃度が 400 mg/dL 以上と極端に高い場合は適用できない。本検討では 6 時間絶食下の採血とした。

$$\begin{aligned} \text{血漿 LDL コレステロール濃度} \\ &= \text{血漿総コレステロール濃度} \\ &\quad - \text{血漿 HDL コレステロール濃度} \\ &\quad - \text{血漿トリグリセリド濃度}/5 \end{aligned}$$

血漿 Non-HDL コレステロール濃度は以下の式より算出した。

$$\begin{aligned} \text{Non-HDL コレステロール濃度} \\ &= \text{総コレステロール濃度} \\ &\quad - \text{HDL コレステロール濃度} \end{aligned}$$

4. 統計解析

結果は平均値±標準誤差で記載した。2 群間の平均値の差は、対応のない t-検定 (Student's t-test) で解析した。統計解析ソフトは StatView5.0 を用いた。

III. 結果および考察

実験食飼育期間における摂食量は、ナンノクロロプシス添加食群およびコントロール食群で同程度であった (図 1)。ナンノクロロプシス添加食群の摂食量は、飼育期間を通して常に一定であった。コントロール食群の摂食量は、実験食飼育 3 日目において低値を示したが、飼育 4 日目には回復したことから、一過性のものと考えられた。飼育 1~2 日、4~13 日目の摂食量は、群間で有意な差も認められなかった (図 1)。

実験食飼育期間における体重も、ナンノクロロプシス

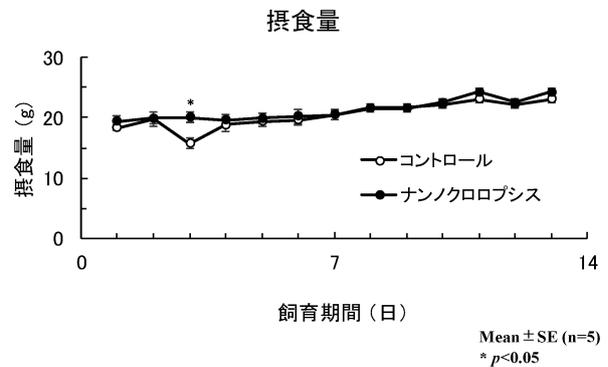


図 1. 摂食量の経日変化

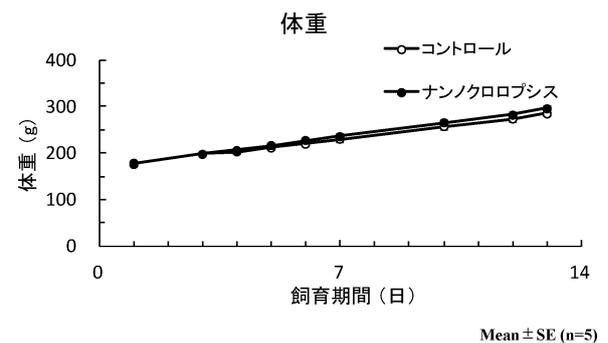


図 2. 体重の経日変化

添加食群およびコントロール食群で同程度に増加しており、群間で有意な差も認められなかった (図2)。体重100gあたりの肝臓重量および腹腔内脂肪重量も、ナンノクロロプシス添加食群およびコントロール食群で同程度であり、群間で有意な差も認められなかった (図3)。血漿トリグリセリド濃度 (図4) も群間で有意な差は認められなかった。一方、ナンノクロロプシス添加食群ではコントロール食群に比べて、血漿総コレステロール濃度 (図5)、血漿遊離コレステロール濃度 (図6) が有意に低下した。血漿総コレステロール濃度はコントロール食群で 223.80 ± 11.17 (mg/dL)、ナンノクロロプシス添加食群で 130.32 ± 22.93 (mg/dL) ($p < 0.05$)、血漿遊離コレステロール濃度はコントロール食群で 45.53 ± 2.91 (mg/dL)、ナンノクロロプシス添加食群で 26.77 ± 2.85

(mg/dL) ($p < 0.05$) であった。また、ナンノクロロプシス添加食群ではコントロール食群に比べて、血漿HDLコレステロール濃度は有意に上昇した (図7)。血漿HDLコレステロール濃度はコントロール食群で 22.53 ± 2.36 (mg/dL)、ナンノクロロプシス添加食群で 33.47 ± 2.97 (mg/dL) ($p < 0.05$) であった。遊離コレステロールは、組織からHDLコレステロールによって取り除かれ、肝臓に転送される。したがって、ナンノクロロプシス添加食により高コレステロール食給餌ラットの血漿HDLコレステロール濃度が上昇し、遊離コレステロール濃度は低下したものと考えられた。コレステロールを組織へ輸送するLDLコレステロールの血漿中濃度は、コ

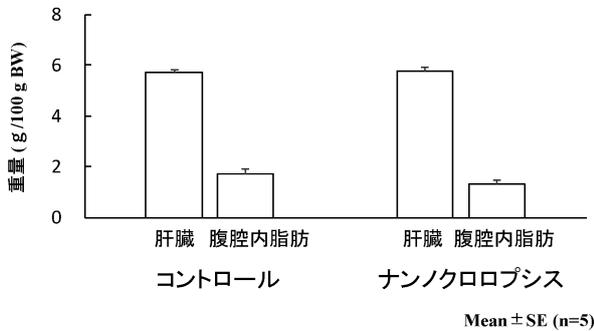


図3. 肝臓重量および腹腔内脂肪重量

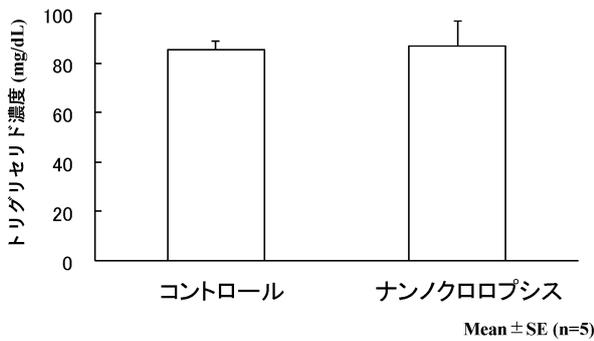


図4. 血漿トリグリセリド濃度

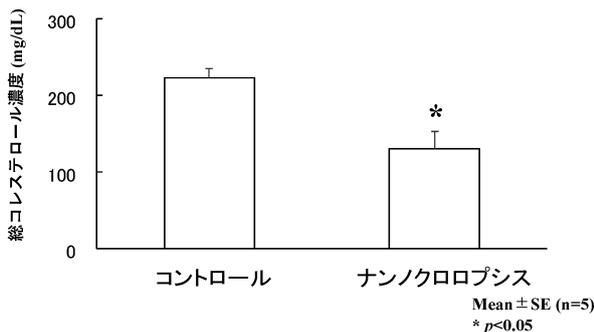


図5. 血漿総コレステロール濃度

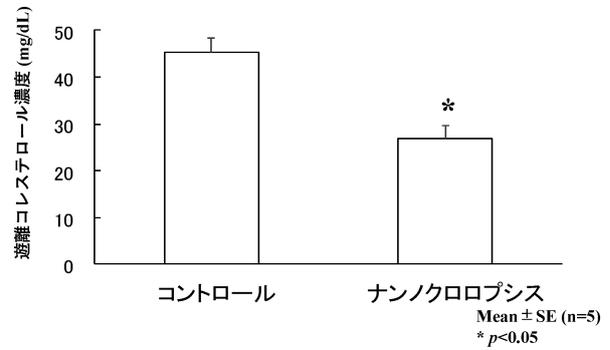


図6. 血漿遊離コレステロール濃度

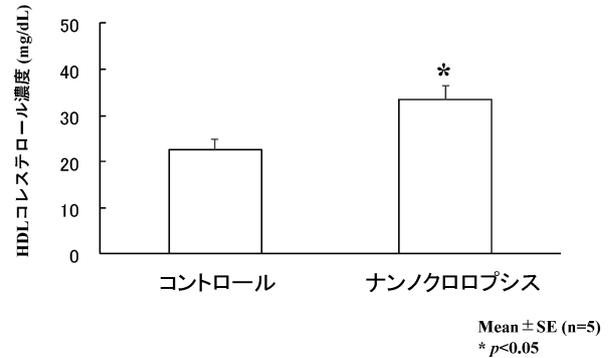


図7. 血漿HDLコレステロール濃度

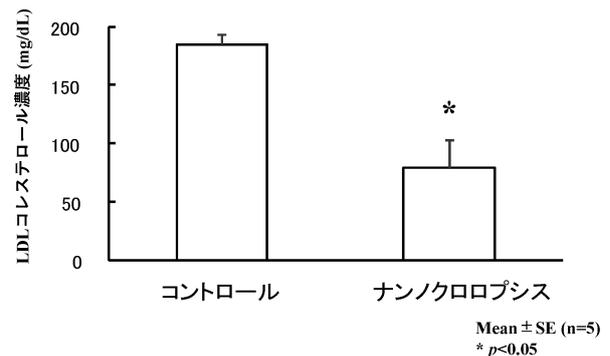


図8. 血漿LDLコレステロール濃度

ントロール食群に比べてナンノクロロプシス添加食群は有意に低値を示し、血漿 LDL コレステロール濃度が低下したと考えられた（図 8）。血漿 LDL コレステロール濃度はコントロール食群で 184.25 ± 9.05 (mg/dL)、ナンノクロロプシス添加食群で 79.45 ± 23.24 (mg/dL) ($p < 0.05$) であった。さらに、血漿 Non-HDL コレステロール濃度（総コレステロール濃度 - HDL コレステロール濃度）も、コントロール食群に比べてナンノクロロプシス添加食群は有意に低値を示した（図 9）。血漿 Non-HDL コレステロール濃度はコントロール食群で 201.28 ± 9.03 (mg/dL)、ナンノクロロプシス添加食群で 96.85 ± 23.40 (mg/dL) ($p < 0.05$) であった。以上の結果より、ナンノクロロプシス添加により、血漿 HDL コレステロール濃度が上昇した一方で、血漿 LDL コレステロールの増加は抑えられたことが示された。高 LDL コレステロール血症は、動脈硬化、心筋梗塞、脳梗塞などの原因となるため、その予防効果をナンノクロロプシスが持ちうる可能性が考えられた。ただし、ヒトとラットとの脂質代謝（リポタンパク質代謝）の違いには注意が必要であり、今後より慎重な検討が必要である。またラットにおいて脂質異常を惹起するため本研究では、コレステロールとコール酸を添加した高コレステロール食を給餌して検討した。この条件についてもヒトと異なるため、ナンノクロロプシスのラットに対する効果を、ヒトでも同様に考えることは難しいと考えられる。

動物実験¹⁵⁻²³ および臨床試験²⁶⁻²⁸にて、クロレラは血漿総コレステロールや LDL コレステロール低下を示すことが報告されてきたが、実験動物へ給餌したクロレラ混餌割合は 10% 程度であった^{17,18,20}。高コレステロール食給餌マウスを用いた検討（各群 4 匹）では、10% クロレラ粉末添加食給餌マウスは、クロレラ粉末非添加食給餌マウスで認められた血清コレステロール値の上昇を示さず、クロレラがマウスの血清コレステロール値を低下させることが明らかにされた¹⁷。しかし本研究ではナンノクロロプシス凍結乾燥粉末を 5% 混餌して検討しており、より少ない添加量で効果を示した。

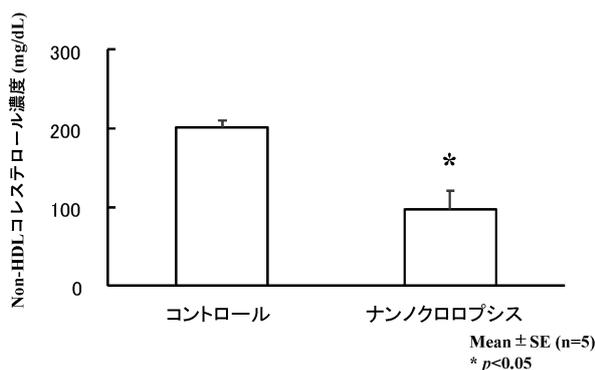


図 9. 血漿 Non-HDL コレステロール濃度

クロレラが血漿総コレステロールや LDL コレステロールを低下させる作用機構として佐野らは、クロレラ中のクロロフィルや繊維による腸管でのコレステロールや胆汁酸の吸収障害と、クロレラ複合脂質によるコレステロール異化排泄促進作用によると結論づけている²⁹。クロレラにはクロレラステロールが存在することを示した報告³⁰もあり、植物ステロールがコレステロールの吸収を阻害すること³¹も報告されている。これらの報告をふまえて小西らは、クロレラ中のクロロフィルや繊維やクロレラステロールなどが複合的に働き、コレステロール吸収阻害や排泄促進作用を示したものと推察している²³。さらに小西らは、コレステロール負荷食に DHA 富化クロレラを添加してラットに与えた場合、クロレラあるいは精製 DHA 油のみを添加した飼料を与えるよりも強い高脂血症予防効果を見出し、クロレラに組み込まれた DHA による作用であると考察している²³。

本研究ではナンノクロロプシス添加食が、高コレステロール給餌ラットの血漿 HDL コレステロールを、コントロールラットに比べて有意に上昇させた。クロレラによる血漿 HDL コレステロール上昇作用を示す報告はない。したがってナンノクロロプシスは、クロレラとは異なる機序で脂質異常を改善する可能性も考えられる。ナンノクロロプシスで認められた脂質異常改善作用の機序は不明であるが、ナンノクロロプシスは特に EPA を多く含むこと²、EPA や DHA などの HUFA は、脂質異常症や動脈硬化の改善作用を示すこと⁵ が関与している可能性が考えられる。脂質異常症は、高 LDL コレステロール血症のみならず、低 HDL 血症の改善も必要であることから、ナンノクロロプシスには脂質異常症の改善効果が期待できるものと考えられた。Werman ら²⁴ は高コレステロール食給餌ラットを用いてナンノクロロプシスが血漿コレステロール濃度と肝臓総コレステロール濃度を低下させることを報告したが、測定項目は血漿総コレステロールのみであった。ナンノクロロプシスをヒトで検討した研究も報告されていない。DHA や EPA などの HUFA は不飽和度が高いことから酸化を受けやすく、過酸化脂質やフリーラジカルを生成しやすいとされており、DHA 油あるいは魚油には抗酸化剤としてビタミン E を添加することも多い。ナンノクロロプシス過剰摂取に対する副作用についても慎重な検討が必要となる。動物実験では精製飼料を用いて検討することが多いが、ヒト試験で食事を制御することは難しい。ラットの血漿コレステロール濃度に及ぼすナンノクロロプシスの影響をヒトに外挿することは難しく、より詳細かつ慎重な検討が必要であると考えられる。

IV. 結論

ナンノクロロプシス添加食は、高コレステロール食給餌ラットの血漿総コレステロール濃度・遊離コレステ

ロール濃度・LDL コレステロール濃度・Non-HDL コレステロール濃度を有意に低下させ、血漿 HDL コレステロール濃度を有意に上昇させることが示された。したがって、ナンノクロロプシスには、ラットにおける脂質異常の改善効果が期待できるものと考えられた。

V. 参考文献

- 1) Maruyama I: Identification of the alga known as 'marine Chlorella' as a member of the Eustigmatophyceae. *Jap J Phycol* **34**, 319-325 (1986)
- 2) 斎藤安弘: 素材レポート 微細藻ナンノクロロプシスの特徴と食品等への利用. *食品と開発* **48**(10), 86-88 (2013)
- 3) 佐々木洋, 平岡正明, 太田尚志, 真壁竜介, 臼井利典: 有用海産微細藻 *Nannochloropsis* の大量培養法に関する基礎研究 II—野外培養の試み—. 石巻専修大学 研究紀要 **25**, 11-17 (2014)
- 4) 真壁竜介, 臼井利典, 竹谷聡, 野坂裕一, 太田尚志, 佐々木洋: 有用海産微細藻 *Nannochloropsis* の大量培養法に関する基礎研究 III: 突然変異誘導法による低温および高温耐性株作製の試み. 石巻専修大学 研究紀要 **26**, 161-167 (2015)
- 5) Simopoulos AP: Essential fatty acids in health and chronic disease. *Am J Clin Nutr* **70** (suppl), 560S-569S (1999)
- 6) 日本動脈硬化学会: 動脈硬化性疾患予防ガイドライン 2017 年版
- 7) Gould AL, Rossouw JE, Santanello NC, Heyse JF, Furberg CD: Cholesterol reduction yields clinical benefit, A new look at old data. *Circulation* **91**(8), 2274-2282 (1995)
- 8) LaRosa JC: Cholesterol lowering, low cholesterol, and mortality. *Am J Cardiol* **72**(11), 776-786 (1993)
- 9) 武田三昭, 道下一朗, 宇野欣秀, 稲津明広, 藤田一, 梶波康二, 伊藤英章, 嘉門信雄, 小泉順二, 清水賢巳, 馬淵宏, 元田憲, 竹田亮祐, 竹越忠美, 若杉隆伸, 上田幸生, 宮元進, 渡辺彰, 太田正之: 家族性高コレステロール血症患者の冠動脈硬化に対する LDL アフェレーシス治療の効果. *動脈硬化* **17**(5), 717-724 (1987)
- 10) 浅井 明: 高血糖と動脈硬化~マウスを用いた動物実験の成績から~. *日医大医学会誌* **13**(4), 194-198 (2017)
- 11) Ripsin CM, Keenan JM, Jacobs DR, Elmer PJ, Welch RR, Horn LV, Liu K, Turnbull WH, Thye FW, Kestin M, Hegsted M, Davidson DM, Davidson MH, Dugan LD, Demark-Wahnefried W, Beling S: Oat products and lipid lowering a Meta-analysis. *JAMA*, **267**(24), 3317-3325 (1992)
- 12) Brown L, Rosner B, Willett WW, Sacks FM: Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* **69**(1), 30-42 (1999)
- 13) 山本孝史, 井上五郎: ヒト血漿コレステロール濃度に及ぼす大豆タンパク質の効果. *栄養・食糧学会誌* **44**(3), 155-162 (1991)
- 14) Descovich GC, Gaddi A, Mannino G, Cattin L, Senin U, Caruzzo C, Fragiaco C, Sirtori M, Ceredi C, Benassi MS, Colombo L, Fontana G, Mannarino E, Bertelli E, Noseda G, Sirtori CR: Multicentre study of soybean protein diet for outpatient hypercholesterolaemic patients. *Lancet* **316**(8197), 709-712 (1980)
- 15) Hashimoto S, Setoyama T, Yokokura T, Mutai M: Effects of soybean phospholipid, Chlorella phospholipid, and clofibrate on collagen and elastin synthesis in the aorta and on the serum and liver lipid contents in rats. *Exp Mol Pathol* **36**(1), 99-106 (1982)
- 16) Hashimoto S, Setoyama T, Yokokura T, Mutai M: Effects of Chlorella phospholipid on the aortic collagen and elastin metabolism and on the serum lipid contents in rats with experimental arteriosclerosis. *Exp Mol Pathol* **37**(2), 150-155 (1982)
- 17) 奥田正男, 長谷川節, 園田真人, 岡部富子, 田中幸男: 血清及び肝コレステロール値に及ぼすクロレラの影響. *栄養学雑誌* **33**(1), 3-8 (1975)
- 18) Shibata S, Oda K, Onodera-Masuoka N, Matsubara S, Kikuchi-Hayakawa H, Ishikawa F, Iwabuchi A, Sansawa H: Hypocholesterolemic effect of indigestible fraction of *Chlorella regularis* in cholesterol-fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* **47**(6), 373-377 (2001)
- 19) 佐野利彦, 隈本能光, 長谷川節, 奥田正男, 田中幸男: ラットの食餌性高コレステロール血症に及ぼすクロレラ抽出物の影響. *動脈硬化* **10**(3), 375-379 (1982)
- 20) 佐野利彦, 田中幸男, 渡辺剛志, 田中邦明, 奥田正男: ラットの食餌性高コレステロール血症に及ぼすクロレラの影響. *動脈硬化* **6**(2), 195-200 (1978)
- 21) Cherng J-Y, Shih M-F: Preventing dyslipidemia by *Chlorella pyrenoidosa* in rats and hamsters after chronic high fat diet treatment. *Life Sci* **76**(26), 3001-3013 (2005)
- 22) Sano T, Tanaka Y: Effect of dried, powdered *Chlorella vulgaris* on experimental atherosclerosis and alimentary hypercholesterolemia in cholesterol-fed rabbits. *Artery* **14**(2), 76-84 (1987)
- 23) 小西史子, 田中邦明, 丸山功, 雪野継代, 熊谷多妙子, 羽田尚彦, 林雅弘: ドコサヘキサエン酸を富化したクロレラ・ブルガリス (*Chlorella vulgaris*)

- CK22 株の投与による高コレステロール摂餌ラット血清脂質上昇抑制作用. 日本栄養・食糧学会誌 **55** (4), 215-222 (2002)
- 24) Werman MJ, Sukenik A, Mokady S: Effects of the marine unicellular alga *Nannochloropsis* sp. to reduce the plasma and liver cholesterol levels in male rats fed on diets with cholesterol. *Biosci Biotechnol Biochem* **67** (10), 2266-2268 (2003)
- 25) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS: Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* **18** (6), 499-502 (1972)
- 26) 藤原洋子, 平川敬二, 新保國弘: 高脂血症患者に及ぼすクロレラ長期投与の影響. 日本栄養・食料学会誌 **43** (3), 167-173 (1990)
- 27) 林雅弘: 藻類を活用する食品素材開発. 生物工学会誌 **91** (11), 621-624 (2013)
- 28) 三沢宏, 井上清, 白井徹朗: 軽症高脂血症患者に及ぼすクロレラ錠剤摂取の影響. 日本食品科学工学会誌 **49** (6), 395-400 (2002)
- 29) 佐野利彦: ラットの食餌性高脂血症に及ぼすクロレラの効果—クロレラ中の有効成分とその作用機序について. 久留米医学会誌 **45** (11), 1130-1153 (1982)
- 30) Yasukawa K, Akihisa T, Kanno H, Kaminaga T, Izumida M, Sakoh T, Tamura T, Takido M: Inhibitory effects of sterols isolated from *Chlorella vulgaris* on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced inflammation and tumor promotion in mouse skin. *Biol Pharm Bull* **19** (4), 573-576 (1996)
- 31) Normén L, Dutta P, Lia A, Andersson H: Soy sterol esters and beta-sitosterol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel. *Am J Clin Nutr* **71** (4), 908-913 (2000)