

高脂肪食摂取ラットに対するカキ果皮由来抽出物投与の効果

井土 良一¹, 中井 雄治²

Effect of Persimmon Peel Extract Administration in Rats Fed a High-fat Diet

Ryoichi Izuchi¹ and Yuji Nakai²

Firstly, high-fat diet mixed persimmon peel extract (PPE) (37.4 mg/kg) was fed to Wistar rats for 12 weeks to investigate an effect of PPE on lipid metabolisms. After 9 weeks, plasma HDL-cholesterol level of high-fat diet (HD) group rats decreased and after 12 weeks, plasma total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol levels of HD group and PPE-mixed high-fat diet (HP) group rats decreased, compared to those of normal diet (ND) group rats. Secondly, high-fat diet added more PPE (488 mg/kg) than first experiment was fed to other Wistar rats for 4 weeks. Plasma total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol levels of HD group rats were significantly lower than those of ND group rats. However, plasma cholesterol level of HP group rats was not different from those of ND group and HD group rats and was intermediate value between these two groups. These results suggest that PPE alleviates a change of blood cholesterol level caused by high-fat diet. Additionally, it was newly found that PPE contains 12 fatty acids (mostly *cis*-vaccenic acid and α -linolenic acid), ursolic acid and α -tocopherol, besides carotenoids and polyphenols.

Key words: persimmon peel, cholesterol, high-fat diet, lipid metabolism, Wistar rat

カキ (*Diospyros kaki*) は日本でなじみ深い果実の一つである。カキには多くの機能性成分が含まれており、摂取効果が期待できる。例えば、カキタンニンの一つであるプロアントシアニジンは、糖尿病モデルマウスに投与すると、血中のトリグリセリドや脂肪酸を減少させ、血糖値を低下させる事が報告されている¹⁾。カキに多く含まれているカロテノイドの一つである β -クリプトキサンチンには抗糖尿病効果が報告されている²⁻⁵⁾。また、カキ果皮にはカロテノイド、ポリフェノール、ビタミン類などが果肉よりも豊富に含まれている⁶⁾。しかし、カキ果皮は固くて食べにくいことから、ほとんど利用されていない。干し柿加工時に発生する果皮もほぼ全量が廃棄されている。

カキ果皮の有効利用を検討する為に、カキ果皮のエタノール抽出物からエーテル可溶画分を取り出した脂溶性の果皮由来抽出物 (persimmon peel extract: PPE) を調製し⁷⁾、インスリン抵抗性の高い非肥満2型糖尿病モデル Goto-Kakizaki (GK) ラットに経口投与した。PPE 投与群の肝臓において insulin signaling pathway に関連する遺伝子、具体的には、糖新生関連遺伝子と β -酸化関連遺伝子が発現減少し、解糖関連遺伝子と脂肪酸合成関連遺伝子が発現増加した⁸⁾。さらにはチロシンリン酸化したインスリン受容体が増加することを見出した。これらの結果は、PPE 摂取がインスリン感受性を改善する可能性を示している。加えて、脂肪酸合成・代謝関連遺伝子の発現が変動したことから、脂質代謝に影響し、糖尿病の予防又は改

善の可能性も考えられた。そこで、高脂肪食を投与した健常ラットにおいて生じる生化学的な変化に対して、PPE が及ぼす影響を調査し、脂質代謝への作用や糖尿病予防効果を評価した。

実験方法

1. 動物実験

(1) 実験 1

8週齢のオス Slc:Wistar ラット (日本 SLC) を用いた。飼育は五連の金網ケージを用い、12時間の明暗サイクル、室温 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 2\%$ の環境下で行った。飼料は通常食 D0705100B と、高脂肪食 D12451 (リサーチダイエツト) を使用した。PPE は既報⁷⁾ に従って調製した。通常食で1週間順化した後、平均体重を揃えて、通常食 (normal diet: ND) 群 (n=7)、高脂肪食 (high-fat diet: HD) 群 (n=9) 及び PPE を飼料 1 kg あたり 37.4 mg 添加した高脂肪食 (HPi) 群 (n=9) の3群に分け投与試験を行った (Table 1)。餌と水は自由摂取として12週間飼育し、体重と摂餌量を2日毎に測定した。

投与9週目に、生理食塩水で希釈した 5 mg/mL ペントバルビタールナトリウムを体重 1 kg あたり 50 mg となるように腹腔内注射して麻酔後、ヘパリンを 5 μL 加えた注射器を用いて頸静脈から約 900 μL 採血した。12週目に3時間絶食後、ペントバルビタール麻酔下で頸動脈から採血

¹ 食品資源研究室

² 東京大学大学院農学生命科学研究科 (現弘前大学食料科学研究所)

Table 1 Composition of experimental diets

Nutritive components	Normal diet ^a		High-fat diet ^a	
	wt%	Kcal%	wt%	Kcal%
Protein	19	20	24	20
Carbohydrate	67	70	41	35
Fat	4	10	24	45
Total	90	100	89	100

Ingredients	Quantity(g)	Energy(Kcal)	Quantity(g)	Energy(Kcal)
Casein, 80 mesh	200.00	800	200.00	800
L-Cystine	3.00	12	3.00	12
Corn starch	492.20	1969	72.80	291
Maltodextrin 10	35.00	140	100.00	400
Sucrose	172.80	691	172.80	691
Cellulose	50.00	0	50.00	0
Soybean oil	25.00	225	25.00	225
Lard	20.00	180	177.50	1598
Mineral mix S10026	10.00	0	10.00	0
Dicalcium phosphate	13.00	0	13.00	0
Calcium carbonate	5.50	0	5.50	0
Potassium citrate monohydrate	16.50	0	16.50	0
Vitamin mix V10001	10.00	40	10.00	40
Choline bitartrate	2.00	0	2.00	0
FD&C Red Dye #40	0.00	0	0.05	0
FD&C Blue Dye #1	0.05	0	0.00	0
Total	1055.05	4057	858.15	4057

^a Normal diet (D0705100B) and high-fat diet (D12451) were purchased from Research Diets Inc. and each diet contains 18 mg and 196.5 mg cholesterol per 1 kg diet. Experiment 1 diet mixed with 37.4 mg PPE and experiment 2 diet mixed with 488 mg PPE per 1 kg high-fat diet.

した。

(2) 実験 2

4 週齢のオス Slc:Wistar ラット (日本 SLC) を 1 週間順化後, ND 群 (n=5), HD 群 (n=7), PPE を飼料 1 kg あたり 488 mg 添加した高脂肪食 (HP₂) 群 (n=7) の 3 群に分けて, 実験 1 と同様の飼育条件で, 4 週間投与試験を行った。飼育終了時は 21 時間絶食させた後, ペントバルビタール麻酔下で頸動脈から採血した。

ラットの飼育ならびに処置は東京大学動物実験実施マニュアルに従って実施した。

2. 血漿の生化学検査

ヘパリン処理した全血を, 800 × g で遠心分離して得られた血漿のグルコース濃度, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性, アラニンアミノトランスフェラーゼ活性, アルカリフォスファターゼ活性, 総コレステロール濃度, LDL-コレステロール濃度, HDL-コレステロール濃度, トリアシルグリセロール濃度, 遊離脂肪酸濃度, リン脂質濃度, 総ケトン体濃度は, 7180 型生化学自動分析装置 (日立ハイテック) で測定した。アディポネクチン濃度は大塚製薬の, インスリン濃度, レプチン濃度は森永生化学研究所の ELISA キットを用いて測定した。

3. 脂肪酸組成の分析方法

PPE にメタノール 1.0 mL とメチルエステル化剤と

して三フッ化ホウ素メタノール錯体のメタノール溶液 1.0 mL を加えて窒素ガス封入して密栓し, 100℃ で 7 分間反応させた。ヘキサン 3.0 mL を加えて 1 分間激しく振った後, 飽和食塩水 5 mL を加えて攪拌し, ヘキサン層をメンブレンフィルターを過して GC-TOF MS で分析した。ガスクロマトグラフは 7890A GC システム (Agilent Technologies), 飛行時間型質量分析計は JMS-T100GCV AccuTOF GC (日本電子) を使用し, 以下の条件で測定した。カラム: SP-2380 (長さ 100 m × 内径 0.25 mm, フィルム厚 0.2 μm, SUPELCO), イオン源: EI, 注入口温度: 250℃, 注入量: 1 μL, スプリット比: 20:1, キャリアガス: ヘリウム, 1 mL/min, 昇温条件: 試料注入後 1 分間 50℃ 保持, その後 20℃ / 分で 50℃ から 140℃ まで昇温, 4℃ / 分で 140℃ から 240℃ まで昇温, 50 分まで 240℃ 保持。定量には 37 種脂肪酸メチル混合試薬 (SUPELCO) と *cis*-パクセン酸メチル標品 (AccuStandard) を用いて, 内部標準としたヘプタデカン酸メチルのトータルイオンクロマトグラム (TIC) 面積値と他の脂肪酸メチルの TIC 面積値の比から試料中の濃度を算出した。

4. ウルソール酸の定量方法

PPE をエタノールに溶解して, メンブレンフィルターで濾過し, HPLC 分析には SPD-20V UV 検出器を接続した LC-20A システム (島津製作所) を使用した。HPLC 分析条件は X-Bridge C18 カラム (150 mm × 3 mm, 粒径 3.5 μm, Waters), カラム温度 37℃, 流速 0.6 mL/min,

移動相 0.1% 酢酸添加 80% アセトニトリル, 検出波長 200 nm とした. ウルソール酸標品 (和光純薬工業) から作成した検量線で定量した.

5. α -トコフェロールの定量方法

PPE をアセトニトリルに溶解して, メンブレンフィルターで濾過し, HPLC 分析には SPD-10AF 蛍光検出器を接続した LC-20A システム (島津製作所) を使用した. カラムは X-Bridge C18 (150 mm $\times$ 3 mm, 粒径 3.5 μ m), カラム温度は 37°C, 移動相はアセトニトリル, 流速 1.0 mL/min とし, 励起波長 298 nm, 蛍光波長 325 nm で検出した. α -トコフェロール標品 (和光純薬工業) から作成した検量線で定量した.

6. 統計処理

体重, 摂餌量, 摂取カロリー, 血漿中の生化学指標における各測定値は平均値 $\pm$ 標準誤差で表した. 3 群間の比較は Tukey-Kramer 法で検定した (有意水準 $p < 0.05$).

実験結果および考察

1. 実験 1

最終的な平均体重は ND 群に比べて HD 群, HP₁ 群は 20 g 以上重くなったが, 個体差が大きく, 3 群間に有意差は現れなかった (Fig. 1A). 総摂餌量は, ND 群が HD 群と HP₁ 群よりも有意に多くなった (Fig. 1B) が, 総摂取カロリーでは 3 群間に差はなかった (Fig. 1C).

投与 9 週目の血漿の生化学指標では, ND 群に比べて, アルカリフォスファターゼ活性値は HD 群, HP₁ 群の両方で有意に高く, HDL- コレステロール濃度は HD 群で低く, 遊離脂肪酸濃度は HP₁ 群で高かった (Table 2). また, ND 群と比べて HD 群と HP₁ 群の両方で, アディポネクチン濃度は低く, レプチン濃度は有意に高かった.

投与 12 週目では, ND 群と比べて HD 群と HP₁ 群の両方で, 総ケトン体濃度, アルカリフォスファターゼ活性値

が有意に高い値となり, 総コレステロール濃度, HDL- コレステロール濃度, リン脂質濃度は有意に低い値となった (Table 2). また, ND 群に比べてアディポネクチン濃度は HD 群で有意に低く, レプチン濃度は HD 群, HP₁ 群の両方で有意に高かった.

2. 実験 2

実験 1 では, PPE 投与は血漿コレステロールや脂肪酸の濃度を変化させたが, 12 週間の高脂肪食投与によって, HD 群と HP₁ 群の間には差がみられなくなった. そこで, PPE 投与が脂質代謝に及ぼす影響を明確にするために, PPE 添加量を 37.4 mg/kg から 488 mg/kg に増量して短期間投与した. さらに, 採血前の絶食時間も延長した.

4 週間投与後の 3 群間の体重には実験 1 と同様に有意差はなく (Fig. 2A), 総摂餌量は ND 群が他の 2 群よりも多かった (Fig. 2B) が, 総摂取カロリーに差はなかった (Fig. 2C). 血漿の生化学指標では, ND 群に比べて, 総ケトン体濃度は HD 群で有意に高く, アラニンアミノトランスフェラーゼ活性値は HP₂ 群で高かった (Table 3). また, ND 群に比べて, HD 群のみ総コレステロール濃度, HDL- コレステロール濃度, LDL- コレステロール濃度, リン脂質濃度は有意に低く, レプチン濃度は HD 群と HP₂ 群の両方で高かった.

3. 高脂肪食負荷ラットに対する PPE 投与効果

高脂肪食投与によって健常ラットの血漿中総コレステロール, HDL- コレステロール, LDL- コレステロールは低下していた. これは, 脂質恒常性による調節が, 通常よりも多くコレステロールを摂取しても上昇ではなく, 低下する方向に動いた結果かもしれない⁹⁾. また, 血漿リン脂質濃度も低下していた. リン脂質は脂質の輸送に関わるリポタンパク質の構成要素であるため¹⁰⁾, その血中濃度の低下はコレステロール等脂質の輸送量の減少に関与すると考えられる. さらに, リン脂質から成るリポタンパク質は主に肝臓で作られるので¹¹⁾, 血漿中リン脂質の低下からは肝

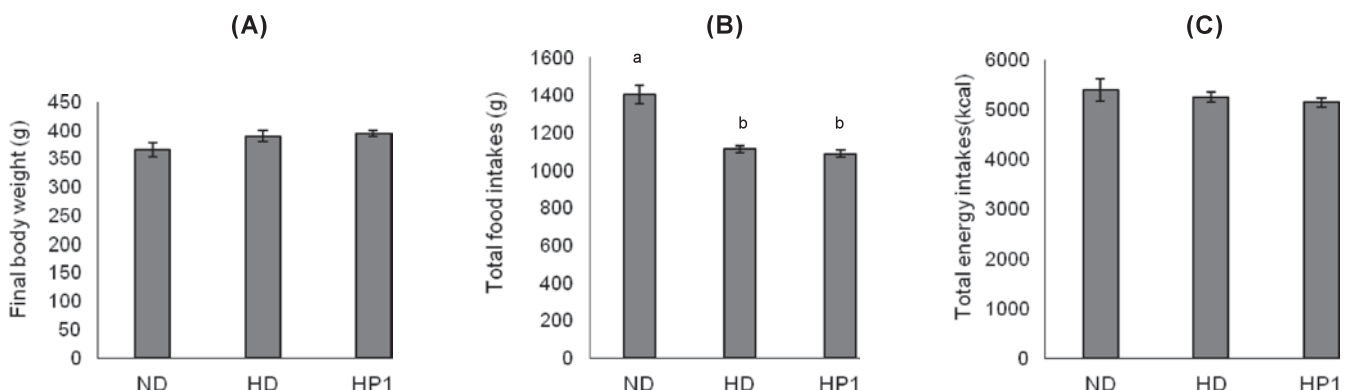


Fig. 1 Final body weight (A), total food intakes (B) and total energy intakes (C) on experiment 1

a, b Values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$, using Tukey-Kramer method.

Table 2 Plasma biochemical parameters of rats administered PPE for 9 and 12 weeks on experiment 1

	ND	HD	HP ₁
9 weeks			
Glucose (mg/dL)	188.5 ±10.4	182.2 ±3.3	190.5 ±4.0
Aspartate aminotransferase (IU/L)	109.7 ±28.4	90.3 ±13.2	90.0 ±7.5
Alanine aminotransferase (IU/L)	50.8 ±9.0	46.1 ±4.1	50.6 ±4.3
Alkaline phosphatase (IU/L)	558.7 ±23.0 ^b	970.2 ±28.7 ^a	1072.4 ±61.5 ^a
Total cholesterol (mg/dL)	102.8 ±2.8	91.8 ±3.2	94.5 ±3.0
HDL-cholesterol (mg/dL)	34.3 ±0.9 ^a	30.0 ±0.7 ^b	32.0 ±1.1 ^{ab}
LDL-cholesterol (mg/dL)	3.8 ±0.3	4.4 ±0.2	4.8 ±0.3
Nonesterified fatty acid (μEq/L)	196.3 ±44.3 ^b	305.6 ±26.5 ^{ab}	363.0 ±34.5 ^a
Triacylglycerol (mg/dL)	248.0 ±10.8	317.6 ±28.8	289.5 ±36.9
Adiponectin (μg/mL)	4.1 ±0.3 ^a	3.3 ±0.2 ^b	3.3 ±0.1 ^b
Insulin (ng/L)	6.5 ±1.0	5.9 ±0.5	6.9 ±0.5
Leptin (ng/mL)	15.3 ±1.1 ^b	21.1 ±1.6 ^a	21.8 ±1.1 ^a
12 weeks			
Glucose (mg/dL)	213.6 ±8.8	222.9 ±2.8	228.3 ±6.1
Total ketone bodies (μmol/L)	211.3 ±9.5 ^b	252.3 ±9.9 ^a	258.6 ±13.5 ^a
Aspartate aminotransferase (IU/L)	60.0 ±2.1	63.8 ±4.1	66.3 ±2.7
Alanine aminotransferase (IU/L)	35.4 ±2.3	49.7 ±9.0	46.1 ±3.3
Alkaline phosphatase (IU/L)	483.3 ±13.4 ^b	781.7 ±33.7 ^a	851.1 ±43.4 ^a
Total cholesterol (mg/dL)	106.0 ±4.1 ^a	86.7 ±2.5 ^b	89.1 ±1.8 ^b
HDL-cholesterol (mg/dL)	35.4 ±1.4 ^a	29.8 ±1.0 ^b	30.5 ±0.5 ^b
LDL-cholesterol (mg/dL)	4.9 ±0.6	4.3 ±0.2	4.3 ±0.2
Nonesterified fatty acid (μEq/L)	260.0 ±27.6	244.1 ±13.5	254.4 ±9.3
Triacylglycerol (mg/dL)	199.1 ±12.6	171.2 ±11.0	171.6 ±19.9
Phospholipid (mg/dL)	201.4 ±6.2 ^a	176.7 ±4.4 ^b	178.3 ±5.3 ^b
Adiponectin (μg/mL)	3.3 ±0.2 ^a	2.7 ±0.1 ^b	2.8 ±0.1 ^{ab}
Insulin (ng/mL)	5.4 ±0.8	7.3 ±1.3	7.9 ±1.1
Leptin (ng/mL)	17.6 ±1.8 ^b	23.6 ±1.7 ^a	23.9 ±1.4 ^a

^{a, b} Values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$, using Tukey-Kramer method.

機能の低下が推定される。コレステロールを多く含む高脂肪食を摂取し続けると、最終的に血中コレステロール濃度は上昇するが、今回の投与試験では、高脂肪食によって肝臓が影響を受けていたものの、コレステロール濃度を正常に維持する機能の低下には至っていなかったと考えられる。

一方で、実験2の結果からPPE添加した高脂肪食投与ラットの血漿総コレステロール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、リン脂質の濃度は高脂肪食投与ラットほど低下せず、通常食投与ラットとの有意差はなかった。このことから、PPE投与は高脂肪食摂取による肝機能低下、特にコレステロール代謝への影響を小さくする可能性がある。コレステロールは免疫機能との関係や^{12, 13)}、動脈硬化等の疾患との関係が報告されているので^{14, 15)}、健康維持のためのコレステロール制御は重要な要

素だと考えられる。

また、血漿総ケトン体は高脂肪食群で通常食群よりも増加しており、PPE投与では上昇が緩やかなことが示された。ケトン体はインスリン分泌の減少や糖尿病の発症によって高くなるため^{16, 17)}、ケトン体の上昇抑制は糖尿病予防に繋がるかもしれない。

PPE投与は体重、摂餌量には影響しなかった。ラットの忌避行動もなく、毒性を示さない量の投与でもPPEは十分に変化を及ぼすものであり、食品として利用できる可能性が示された。PPE投与による血中コレステロール値と免疫機能の状態や動脈硬化発症リスク、糖尿病発症リスクとの関係解明が今後の課題である。

4. カキ果皮抽出物の成分の高脂肪食負荷ラットへの影響
次に、関与成分を推定するために、PPEの成分を分析

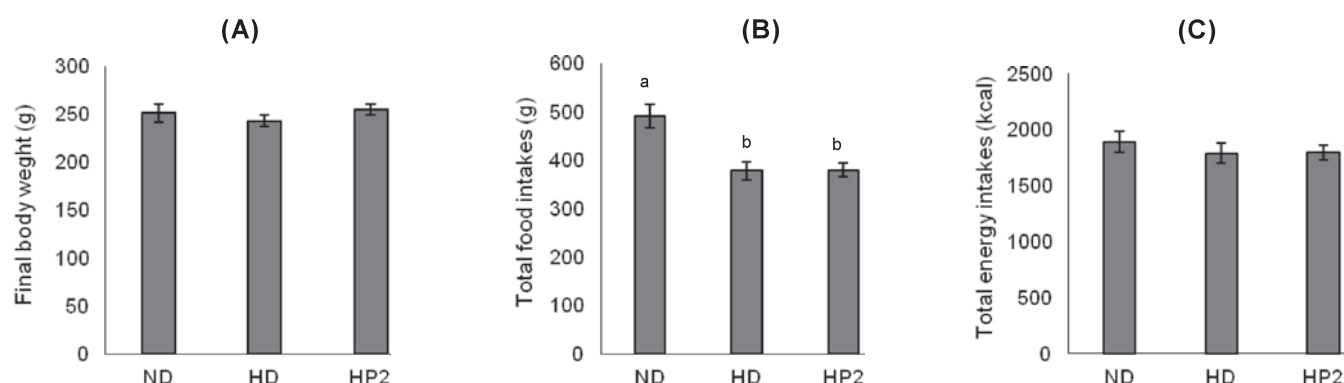


Fig. 2 Final body weight (A), total food intakes (B) and total energy intakes (C) on experiment 2

^{a, b} Values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$, using Tukey–Kramer method.

Table 3 Plasma biochemical parameters of rats administered PPE for 4 weeks on experiment 2

	ND	HD	HP ₂
Glucose (mg/dL)	163.8 ±3.6	161.1 ±6.2	164.6 ±6.6
Total ketone bodies (μmol/L)	852.4 ±129.7 ^b	1362.3 ±125.1 ^a	1106.4 ±130.2 ^{ab}
Aspartate aminotransferase (IU/L)	65.0 ±1.8	67.3 ±1.0	68.0 ±1.2
Alanine aminotransferase (IU/L)	31.0 ±1.9 ^b	37.3 ±1.8 ^{ab}	42.1 ±1.8 ^a
Alkaline phosphatase (IU/L)	827.4 ±45.3	788.3 ±26.0	794.9 ±12.1
Total cholesterol (mg/dL)	50.8 ±4.6 ^a	34.7 ±2.2 ^b	41.4 ±3.7 ^{ab}
LDL-cholesterol (mg/dL)	2.6 ±0.2 ^a	1.7 ±0.2 ^b	2.3 ±0.2 ^{ab}
HDL-cholesterol (mg/dL)	17.2 ±1.2 ^a	12.3 ±0.6 ^b	14.0 ±1.0 ^{ab}
Triacylglycerol (mg/dL)	60.0 ±10.3	36.9 ±4.9	43.0 ±5.8
Nonesterified fatty acid (μEq/L)	305.2 ±31.8	362.3 ±24.4	337.9 ±29.4
Phospholipid (mg/dL)	100.6 ±6.2 ^a	73.3 ±3.2 ^b	83.4 ±4.6 ^{ab}
Adiponectin (μg/mL)	2.4 ±0.2	3.0 ±0.3	2.3 ±0.2
Insulin (ng/mL)	1.3 ±0.4	3.5 ±0.9	2.0 ±0.8
Leptin (ng/mL)	2.6 ±0.2 ^b	4.7 ±0.5 ^a	4.6 ±0.5 ^a

^{a, b} Values with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$, using Tukey–Kramer method.

した。脂肪酸組成では、12種類の脂肪酸が検出された (Table 4)。中でも *cis*-バクセン酸 (79.0 mg/g) と α -リノレン酸 (77.3 mg/g) が多かった。トリテルペノイド類のウルソール酸含量は 112.1 mg/g で、今回測定した成分中で最も多かった。ビタミン類は α -トコフェロールが 14.9 mg/g であった。カロテノイド類とポリフェノール類については既報⁷⁾にて、カロテノイド類は6種類で β -クリプトキサンチン (13.4 mg/g) が最も多く、ポリフェノール類はアグリコン型として6種類でケルセチン (2.6 mg/g) が最も多いことを報告している。

脂肪酸のうち、*cis*-バクセン酸の生体内での機能研究は進んでおらず、脂質代謝との関係は不明である。 α -リノレン酸含量比の高い高脂肪食を与えたラットでは含量比の低い高脂肪食よりも血清総コレステロールと HDL- コレス

テロール値が低いことが報告されている¹⁸⁾。 α -トコフェロールを添加した高脂肪食もラットの血清 HDL- コレステロール値の上昇を抑えることが報告されている¹⁹⁾。さらに、ウルソール酸を添加した高脂肪食を与えられたラットでは血清 LDL- コレステロール値が通常食投与ラットと同程度まで低くなることや²⁰⁾、 β -クリプトキサンチンを添加した高脂肪食を投与されたマウスでは、肝臓のコレステロール量が高脂肪食のみよりも低く、通常食時の値に近づくこと²¹⁾、高脂肪食投与のみと比べてケルセチンを併せて与えると血清総コレステロール値が低くなることも報告されている²²⁾。このように、PPEに含まれている成分には、高脂肪食摂取によるコレステロール代謝への影響を小さくすることが期待できる。一方、PPE由来の脂肪酸量は飼料中の大豆油由来脂肪酸量の 1/100 未満なので、影響はほ

とんど無かったものと考えられる。また, PPE 添加によって飼料中のビタミン E 効力は 1.2 倍程度の増加なので α -トコフェロールの効果はわずかだったかもしれない。しかし, 先に示したように PPE には様々な生理活性物質が含まれているので, 血漿コレステロール値への影響は総合的な効果として現れた可能性が考えられる。

α -トコフェロール, β -クリプトキサンチン, ケルセチンには糖尿病に対する予防効果も期待されている^{2-5, 23, 24)}。血漿ケトン体濃度との関係は不明であるが, 以前に行った GK ラットへの PPE 投与試験⁸⁾と同様, PPE には糖尿病を予防する効果があるのかもしれない。

5. 結論

カキ果皮に含まれる脂溶性成分は高脂肪食による血中コレステロール値の変動を緩和する効果を有しており, カキ果皮あるいはカキ果皮由来製品を積極的に摂取することで, 生活習慣に起因する脂質代謝異常の発生と糖尿病発症のリスクを低減できる可能性が示された。

謝辞

本研究に際して, 動物実験に関わる多くの作業に快くご協力いただいた東京大学農学生命科学研究科機能性ゲノミクス講座の学生の皆様に感謝いたします。

参考文献

- 1) Y. A. Lee, E. J. Cho and T. Yokozawa, Effects of proanthocyanidin preparations on hyperlipidemia and other biomarkers in mouse model of type 2 diabetes, *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 7781-7789 (2008)
- 2) M. Sugiura, M. Nakamura, Y. Ikoma, M. Yano, K. Ogawa, H. Matsumoto, M. Kato, M. Ohshima and A. Nagao, The homeostasis model assessment-insulin resistance index is inversely associated with serum carotenoids in non-diabetic subjects, *J. Epidemiol.*, **16**, 71-78 (2006)
- 3) M. Sugiura, K. Ogawa and M. Yano, Effect of chronic administration of fruit extract (*Citrus unshiu* Marc.) on glucose tolerance in GK rats, a model of type 2 diabetes, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 293-295 (2006)
- 4) J. Montonen, P. Knekt, R. Jarvinen and A. Reunanen, Dietary antioxidant intake and risk of type 2 diabetes, *Diabetes Care*, **27**, 362-366 (2004)
- 5) S. Uchiyama and M. Yamaguchi, Oral administration of beta-cryptoxanthin prevents bone loss in streptozotocin-diabetic rats *in vivo*, *Biol. Pharm. Bull.*, **28**, 1766-1769 (2005)
- 6) S. Gorinstein, Z. Zachwieja, M. Foltá, H. Barton, J. Piotrowicz, M. Zemser, M. Weisz, S. Trakhtenberg

Table 4 Compounds contained in PPE

Compounds	Content in PPE (mg/g)
Fatty acids	
Myristic acid (14:0)	13.4
Palmitic acid (16:0)	49.6
Palmitoleic acid (16:1)	21.6
Stearic acid (18:0)	4.6
Oleic acid (18:1 n-9)	2.6
cis-Vaccenic acid (18:1 n-7)	79.0
Linoleic acid (18:2 n-6)	7.6
α -Linolenic acid (18:3 n-3)	77.3
γ -Linolenic acid (18:3 n-6)	0.3
Arachidic acid (20:0)	1.9
Heneicosanoic acid (21:0)	1.2
Behenic acid (22:0)	4.0
Triterpenoid	
Ursolic acid	112.1
Vitamin	
α -Tocopherol	14.9
Carotenoids^a	
β -Cryptoxanthin	13.4
Zeaxanthin	4.0
Lutein	3.5
β -Carotene	1.4
Violaxanthin	0.2
α -Carotene	0.2
Polyphenol aglycons^a	
Quercetin	2.6
Kaempferol	0.5
Gallic acid	0.4
p-Hydroxybenzoic acid	0.1
Ellagic acid	0.1
Myricetin	0.1

^a These values cited our previously published datum⁷⁾.

- and O. Martin-Belloso, Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples, *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 952-957 (2001)
- 7) R. Izuchi, H. Takahashi and Y. Inada, Preparing a carotenoid polyphenol-enriched extract from the peel of persimmon, *Diospyros kaki* L.f, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **73**, 2793-2795 (2009)
 - 8) R. Izuchi, Y. Nakai, H. Takahashi, S. Ushijima, S. Okada, T. Misaka and K. Abe, Hepatic gene expression of the insulin signaling pathway is altered by administration of persimmon peel extract: a DNA

- microarray study using type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats, *J. Agric. Food Chem.*, **59**, 3320–3329 (2011)
- 9) M. S. Brown and J. L. Goldstein, Cholesterol feedback: from Schoenheimer's bottle to Scap's MELADL, *J. Lipid Res.*, 50 Suppl, S15–27 (2009)
 - 10) B. W. Shen, A. M. Scanu and F. J. Kezdy, Structure of human serum lipoproteins inferred from compositional analysis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **74**, 837–841 (1977)
 - 11) D. E. Cohen and E. A. Fisher, Lipoprotein metabolism, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease, *Semin. Liver Dis.*, **33**, 380–388 (2013)
 - 12) A. Reboldi, E. V. Dang, J. G. McDonald, G. Liang, D. W. Russell and J. G. Cyster, 25-Hydroxycholesterol suppresses interleukin-1-driven inflammation downstream of type I interferon, *Science*, **345**, 679–684 (2014)
 - 13) P. J. Clark, A. J. Thompson, D. M. Vock, L. E. Kratz, A. A. Tolun, A. J. Muir, J. G. McHutchison, M. Subramanian, D. M. Millington, R. I. Kelley and K. Patel, Hepatitis C virus selectively perturbs the distal cholesterol synthesis pathway in a genotype-specific manner, *Hepatology*, **56**, 49–56 (2012)
 - 14) M. C. Corti, J. M. Guralnik, M. E. Salive, T. Harris, L. Ferrucci, R. J. Glynn and R. J. Havlik, Clarifying the direct relation between total cholesterol levels and death from coronary heart disease in older persons, *Ann. Intern. Med.*, **126**, 753–760 (1997)
 - 15) R. Benfante and D. Reed, Is elevated serum cholesterol level a risk factor for coronary heart disease in the elderly?, *JAMA*, **263**, 393–396 (1990)
 - 16) A. Avogaro, C. Crepaldi, M. Miola, A. Maran, V. Pengo, A. Tiengo and S. Del Prato, High blood ketone body concentration in type 2 non-insulin dependent diabetic patients, *J. Endocrinol. Invest.*, **19**, 99–105 (1996)
 - 17) Y. Mahendran, J. Vangipurapu, H. Cederberg, A. Stancakova, J. Pihlajamaki, P. Soininen, A. J. Kangas, J. Paananen, M. Civelek, N. K. Saleem, P. Pajukanta, A. J. Lusis, L. L. Bonnycastle, M. A. Morken, F. S. Collins, K. L. Mohlke, M. Boehnke, M. Ala-Korpela, J. Kuusisto and M. Laakso, Association of ketone body levels with hyperglycemia and type 2 diabetes in 9,398 Finnish men, *Diabetes*, **62**, 3618–3626 (2013)
 - 18) T. Zhang, S. Zhao, W. Li, L. Ma, M. Ding, R. Li and Y. Liu, High-fat diet from perilla oil induces insulin resistance despite lower serum lipids and increases hepatic fatty acid oxidation in rats, *Lipids Health Dis.*, **13**, 15 (2014)
 - 19) Y. Kim do, J. Kim, H. J. Ham and R. Choue, Effects of d-alpha-tocopherol supplements on lipid metabolism in a high-fat diet-fed animal model, *Nutr. Res. Pract.*, **7**, 481–487 (2013)
 - 20) S. Li, X. Liao, F. Meng, Y. Wang, Z. Sun, F. Guo, X. Li, M. Meng, Y. Li and C. Sun, Therapeutic role of ursolic acid on ameliorating hepatic steatosis and improving metabolic disorders in high-fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease rats, *PLoS One*, **9**, e86724 (2014)
 - 21) M. Kobori, Y. Ni, Y. Takahashi, N. Watanabe, M. Sugiura, K. Ogawa, M. Nagashimada, S. Kaneko, S. Naito and T. Ota, beta-Cryptoxanthin alleviates diet-induced nonalcoholic steatohepatitis by suppressing inflammatory gene expression in mice, *PLoS One*, **9**, e98294 (2014)
 - 22) E. F. Hoek-van den Hil, E. M. van Schothorst, I. van der Stelt, H. J. Swarts, D. Venema, M. Sailer, J. J. Vervoort, P. C. Hollman, I. M. Rietjens and J. Keijer, Quercetin decreases high-fat diet induced body weight gain and accumulation of hepatic and circulating lipids in mice, *Genes Nutr.*, **9**, 418 (2014)
 - 23) Z. Rafighi, A. Shiva, S. Arab and R. Mohd Yousof, Association of dietary vitamin C and E intake and antioxidant enzymes in type 2 diabetes mellitus patients, *Glob. J. Health Sci.*, **5**, 183–187 (2013)
 - 24) P. Knekt, J. Kumpulainen, R. Jarvinen, H. Rissanen, M. Heliovaara, A. Reunanen, T. Hakulinen and A. Aromaa, Flavonoid intake and risk of chronic diseases, *Am. J. Clin. Nutr.*, **76**, 560–568 (2002)