

ブルーベリー果実の継続的摂取と自発運動による ラットの動脈硬化リスク軽減効果

濱 渦 康 範^{*1}, 野 坂 俊 弥²
石 塚 義 生¹, 杉 本 光 公³

(2004年4月30日受付; 2005年7月12日受理)

要旨: 日常的なブルーベリー摂取と自発運動が動脈硬化症の危険因子に及ぼす影響について、ラットを用いた試験により検討した。普通配合飼料に加えて毎日ブルーベリーを投与した群は、11週間後の血漿中HDL-コレステロール濃度が対照群より高かった。高脂肪飼料の場合はブルーベリー投与による血漿脂質改善効果は認められなかったものの、動脈壁エラスチンへのカルシウムの沈着が少なかった。一方、自発運動群は血漿コレステロールとトリグリセライド濃度が対照群より低く、エラスチンカルシウム含量も低かった。ブルーベリー摂取と自発運動はともに動脈硬化リスクの低減に有効と推定されたが、リスクの各要因に対する効果の程度はそれぞれ異なった。

キーワード: ブルーベリー, 運動, 動脈硬化リスク, ラット

現代日本においてはがん, 脳梗塞および心筋梗塞が大きな死亡要因であり, 脳梗塞と心筋梗塞は動脈硬化症との関係が深いことが知られている。動脈硬化症の促進要因は多数存在するが, 血中コレステロール値の増加および性状悪化 (LDL/HDL 比の増加), さらには活性酸素やフリーラジカルによる LDL の酸化がアテローム性動脈硬化症の初発要因であるとされている¹⁾²⁾。また, 動脈血管壁のエラスチンにカルシウムが沈着するとエラスチンの石灰化を引き起こし, やはり動脈硬化症を引き起こす原因となるが, このカルシウム沈着についても酸化ストレスの関連が示唆されている³⁾⁴⁾。

このような, 動脈硬化発症因子の増加や減少には, 日常摂取する食物が大きく影響する。このことから, 動脈硬化発症リスクを低減させ得る食物や食品因子の研究が盛んになっている。水溶性ペクチン⁵⁾, グアーガム⁶⁾, サイリウム⁷⁾などの食物繊維, さらに大豆タンパク質⁸⁾などの食品成分には血清コレステロール低下作用が認められ, ニンニク⁹⁾, タマネギ¹⁰⁾, キャベツ¹¹⁾, ブロッコリー¹²⁾などの野菜類やカキ果肉¹³⁾にも動物実験でコレステロール低下作用が報告されている。また, 果実と野菜は活性酸素を除去する抗酸化物質を多く含み, これらを摂取すると血漿の抗酸化力が向上することも知られている¹⁴⁾。すなわち, 抗酸化物質に富む果実の摂取により, LDL の酸化や動脈壁へのエラスチン沈着の阻害が期待

される。ブルーベリーは抗酸化成分を多く含む果実であり¹⁵⁾¹⁶⁾, その効果が期待される。しかし, ブルーベリー摂取によるコレステロール性状改善等の効能に関する報告は過去にない。

一方, コレステロールの低下や性状改善に関しては, 日常的に適度な運動を行うことも非常に効果的であることが知られており¹⁷⁻¹⁹⁾, 心臓病に対する有効な予防策とされている²⁰⁾²¹⁾。また, 適度な運動によるトレーニングは生体に備わっている抗酸化酵素を活性化させる²²⁾ことによって抗酸化性が向上することも知られ, やはり動脈硬化の初発因子を減少させ得ると考えられる。

このように, 果実と野菜の摂取あるいは運動の効能については, それぞれの分野において心臓病や動脈硬化症の発症リスクの軽減に効果的であるとする知見が得られている²³⁻²⁵⁾ものの, これらの両者の効果を同じ基準で比較検討した研究は少ない。本研究においては, 動脈硬化リスクの軽減に対する果実摂取と自発運動の効果について, 実験動物を用いて比較検討した。

実 験 方 法

1. 植物材料

信州大学農学部附属アルプス圏フィールド科学教育研究センター構内において栽培されたハイブッシュブルーベリー 'ノースランド' の果実を収穫適期に採取し, 液

* 連絡者・別刷請求先 (E-mail: hamauzu@shinshu-u.ac.jp)

¹ 信州大学大学院農学研究科 (399-4598 長野県上伊那郡南箕輪村 8304)

² 長野県看護大学体育学講座 (399-4117 長野県駒ヶ根市赤穂 1694)

³ 信州大学農学部 (399-4598 長野県上伊那郡南箕輪村 8304)

表1 実験Iと実験IIで使用した固形飼料の栄養素

成分	普通飼料 (CE-2*, 実験I, II)	高脂肪飼料 (Quick Fat**, 実験II)
可溶性無窒素物	49.2	47.0
リン	0.99	0.61
カルシウム	1.04	0.99
粗灰分	6.7	5.1
粗繊維	3.9	2.0
粗脂肪	4.8	13.7
粗タンパク質	24.6	24.4
水分	8.8	6.2

数値は飼料中の重量%。*, ** 日本クレアより購入。

体窒素で凍結し、投与実験まで -20°C で保存した。

2. 実験動物および飼育方法

動物実験は信州大学農学部動物実験管理委員会の承認を得て、実験動物の飼養及び保管等に関する基準(昭和55年3月、総理府告示第6号)を遵守し、実施した。

2.1 普通配合飼料を用いた実験(実験I) Wistar系ラット(9週齢, 雄性, 平均体重267.8g, 日本クレア(株))を1群6匹として4群に分け、ブルーベリー投与群(B), 運動群(EX), 投与対照群(BC), および対照群(C)とした。運動群のみ回転輪にて自由に運動できるケージ(居室部:高さ15.0, 幅13.5, 奥行39.5cm, 回転部:直径37.0cm)を使用し, 他の群は通常のケージ(高さ15.0, 幅24.0, 奥行30.0cm)とし, 室温 $20\pm 5^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55\pm 10\%$ RH, 12時間の明暗周期(明期6:00-18:00)の条件で11週間飼育した。各群ともに普通配合飼料(CE-2, 日本クレア(株))と水を自由摂取とした上で, ブルーベリー投与群には1日朝夕2回, ブルーベリー(‘ノースランド’)を乳鉢で磨砕し, ガーゼで濾したペースト(濾出液部分に相当)1mLを胃ゾンデで経口投与した。投与対照群にはブルーベリー果実の糖度と滴定酸度を参考に調製した糖・有機酸水溶液(グルコース12.7%・クエン酸0.33%含有)1mLを同様に胃ゾンデで朝夕2回経口投与した。

2.2 高脂肪飼料を用いた実験(実験II) ラットを普通食対照群(NC), 高脂肪食対照群(FC), 高脂肪食運動群(FE), および高脂肪食ブルーベリー投与群(FB)に分け, 1群6匹とし, 実験Iと同様の環境で飼育した。高脂肪飼料(粗脂肪13.7%含有)はQuick Fat(日本クレア)を使用した。高脂肪食ブルーベリー投与群には毎日16:00~17:00の間に1回, ブルーベリーペースト2mL(体重増加に合わせ4mLまで漸増)を経口投与した。

なお, 実験Iと実験IIで使用した飼料の成分を表1に示した。ブルーベリー果実の糖度, 滴定酸度, ポリフェノール含量, ペクチン質含量を表2に示した。

3. 測定項目および実験方法

3.1 実験Iおよび実験IIにおける測定項目 実験Iにおいては, ラットの飼育期間中は, 毎週体重を記録し,

表2 投与したブルーベリー果実ペーストの糖度, 滴定酸含量, ポリフェノール含量およびペクチン質含量

糖度(Brix, %)	12.7
滴定酸含量(クエン酸当量, %)	0.33
ポリフェノール含量(mg/100g FW)	
総ポリフェノール ¹	557.5
アントシアニン ²	271.2
クロロゲン酸 ³	147.2
ペクチン質含量(mg/100g FW) ⁴	
水溶性ペクチン	115.1
CDTA ⁵ 可溶性ペクチン	51.1
Na ₂ CO ₃ 可溶性ペクチン	77.0

¹ フォリン-チオカルト法(没食子酸当量), ² pH示差法, ³ HPLC法, ⁴ ジメチルフェノール法, ⁵ シクロヘキサントランス-1,2-ジアミン四酢酸。FW, 新鮮重。

運動群については回転車のメータにより運動量を記録した。実験Iにおいては血漿脂質として総コレステロール濃度とHDL-コレステロール濃度を測定した。

実験IIにおいては, 週毎に各群の体重, 飼料摂取量, および高脂肪食運動群の運動量を測定し, 飼育終了時に血漿総コレステロール, HDL-コレステロールおよびトリグリセライドを測定した。また, 動脈壁エラスチンの石灰化を示す指標としてエラスチンカルシウム含量を測定した。

3.2 血漿脂質の測定方法 飼育期間終了時にラットをペントバルビタールナトリウムによる麻酔下において開腹し, 心臓から全血を採取して失血死させた。採取した血液を 4°C , 3,000 rpmで10分間遠心分離して血漿を得た。血漿脂質の測定は, 以下の市販キットを用いて行った。総コレステロールはコレステロールE-テストワコー, HDL-コレステロールはHDL-コレステロールE-テストワコー, トリグリセライドはトリグリセライドE-テストワコー(いずれも和光純薬工業(株))により測定した。

3.3 エラスチンカルシウムの測定 エラスチンカルシウム測定用試料を調製するために, 解剖時に大動脈を起始部から横隔膜位にわたって摘出した。摘出した大動脈は生理食塩水で洗浄した後, 分岐や外膜を除去した。大動脈起始部位と同水準の下行部位を幅約2mmの2枚歯メスを用いて切断し, 弓部大動脈と胸部下行大動脈の試料を作成した。

調製した試料より, Lansing *et al.*²⁶⁾のhot-alkali抽出法に従ってエラスチンを単離した。弓部大動脈と胸部下行大動脈をドライブロックバス(MG-2100, 東京理科機械)を用いて0.1N NaOHと50分間 100°C で煮て遠心分離(4,000 rpm, 10分)を行い, 残渣をアルカリ不溶性のエラスチン画分として単離して, 生理食塩水で洗浄した後, 乾燥重量をアルカリ不溶性のエラスチンとして測定した。弓部大動脈から単離したエラスチン画分を磁

器製るつぼに入れ、電気マッフル炉 ((株)いすゞ製作所) 中で 16 時間、 $625 \pm 25^\circ\text{C}$ で完全に灰化した。灰化した組織に 12 N HCl 0.2 mL を加えよく溶解させた後、さらに 0.1% の LaCl_3 5 mL で希釈し、カルシウム濃度を原子吸光分析装置 (AA-6700F, (株)島津製作所) で測定した。エラスチンカルシウム含量は、エラスチン 1 mg 中のカルシウム量 (μg) として示した。

4. 統計処理

実験データは平均値 \pm 標準誤差 (SE) で表した。統計解析は、Excel のアドインソフト Statcel ((有)オーエムエス) を使用し、一元配置分散分析による群間の差を確認後、Scheffé の多重比較検定により行った。 $p < 0.05$ を有意であるとした。

実験結果

1. 普通食ラットにおけるブルーベリー投与と自発運動の影響 (実験 I)

ラットの体重増加は各群により差がみられた。ブルーベリー投与群 (B) と運動群 (EX) は、投与対照群 (BC) と対照群 (C) に比べ体重の増加が緩やかであった (図 1)。解剖日においては、ブルーベリー投与群と運動群の体重は対照群の体重より有意に低かった ($p < 0.01$) が、投与対照群と対照群の間に有意差はなかった。

血漿コレステロール濃度の分析において、対照群の総コレステロール濃度と HDL-コレステロール濃度はそれぞれ $83.1 \pm 2.6 \text{ mg/dL}$ と $39.8 \pm 2.0 \text{ mg/dL}$ であった。投与対照群ではそれぞれ $80.9 \pm 2.3 \text{ mg/dL}$ と $42.9 \pm 3.3 \text{ mg/dL}$ であり、対照群と投与対照群の間に有意差はなかった (図 2)。

ブルーベリー投与群の総コレステロール濃度と HDL-コレステロール濃度はそれぞれ $81.7 \pm 8.1 \text{ mg/dL}$ と $55.0 \pm 3.8 \text{ mg/dL}$ であり、運動群ではそれぞれ $68.7 \pm 3.0 \text{ mg/dL}$ と $53.9 \pm 2.7 \text{ mg/dL}$ であった。ブルーベリー投与群の HDL-コレステロール濃度は対照群の値よ

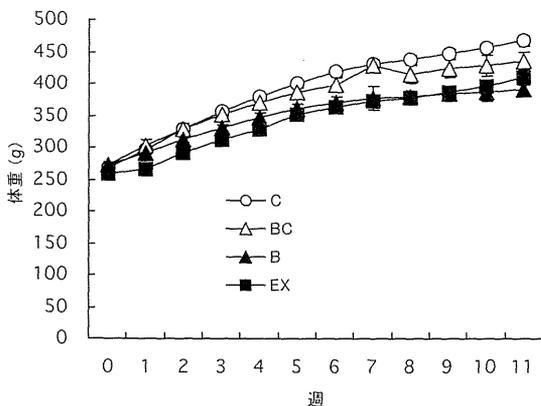


図 1 普通配合飼料 (日本クレア, CE-2) で飼育されたラット各群の体重の推移 (実験 I) C, 対照群; BC, 投与対照群; B, ブルーベリー投与群; EX, 運動群。垂線は標準誤差 ($n=6$)。

り有意に高く ($p < 0.05$)、投与対照群と比べても高かった。運動群では、投与対照群と対照群に比べて総コレステロール濃度が低かったものの有意差は認められず、一方 HDL-コレステロール濃度は対照群より有意に高かった ($p < 0.05$)。

2. 高脂肪食ラットにおけるブルーベリー投与と自発運動の影響 (実験 II)

ラットの体重増加において、高脂肪食ラットの各群の体重増加は互いに同様の変化を示し、解剖日の体重に差はなかった (図 3)。しかし、普通食対照群は体重の増加がゆるやかであり、高脂肪食ブルーベリー投与群との間に有意差が生じた (最終日, $p < 0.05$)。飼育中の飼料摂取量は、1 週間の平均摂取量が 1 匹につき高脂肪食ブルーベリー投与群で 112 g, 高脂肪食対照群で 119 g と同程度であり、普通食対照群と高脂肪食運動群の飼料摂取量はそれらより多かった (それぞれ 145 g と 152 g)。

血漿コレステロール濃度は、普通食対照群の総コレステロール濃度と HDL-コレステロール濃度がそれぞれ $71.7 \pm 2.5 \text{ mg/dL}$ と $67.0 \pm 3.2 \text{ mg/dL}$ であったのに対し、高脂肪食対照群ではそれぞれ $86.4 \pm 3.5 \text{ mg/dL}$ と $63.4 \pm 2.1 \text{ mg/dL}$ であり、高脂肪食の影響が認められた (図 4)。

高脂肪食ブルーベリー投与群の血漿総コレステロール

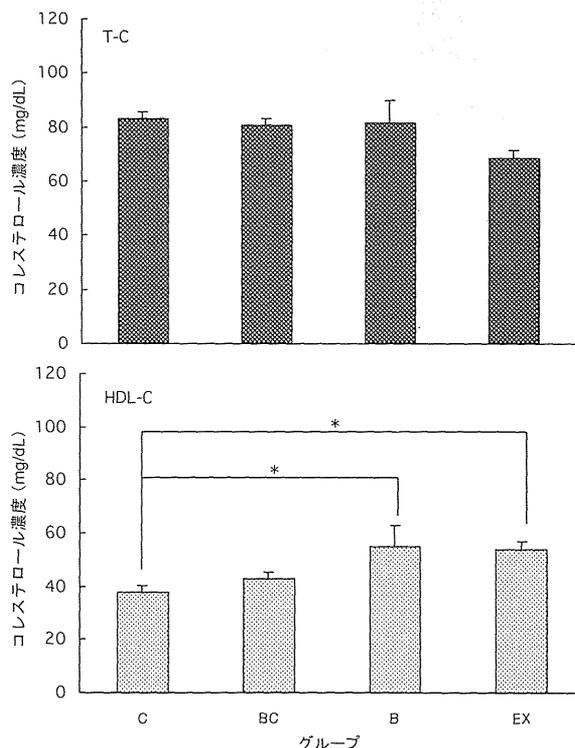


図 2 普通配合飼料 (日本クレア, CE-2) で 11 週間飼育されたラット各群における血漿総コレステロール (T-C) 濃度および HDL-コレステロール (HDL-C) 濃度 (実験 I) C, 対照群; BC, 投与対照群; B, ブルーベリー投与群; EX, 運動群。* $p < 0.05$ 。垂線は標準誤差 ($n=6$)。

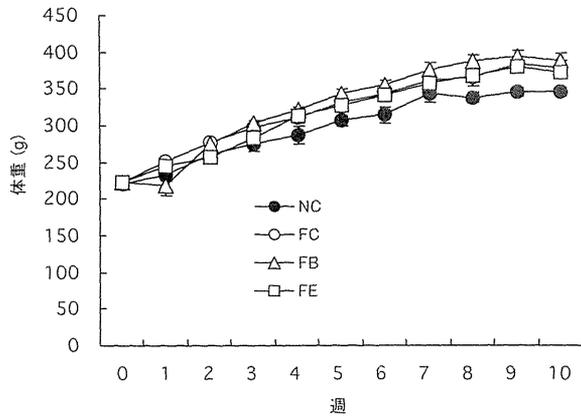


図3 高脂肪飼料(日本クレア, Quick Fat)で飼育されたラット各群の体重の推移(実験II)
NC, 普通食対照群; FC, 高脂肪食対照群; FB, 高脂肪食ブルーベリー投与群; FE, 高脂肪食運動群。
垂線は標準誤差 (n=6)。

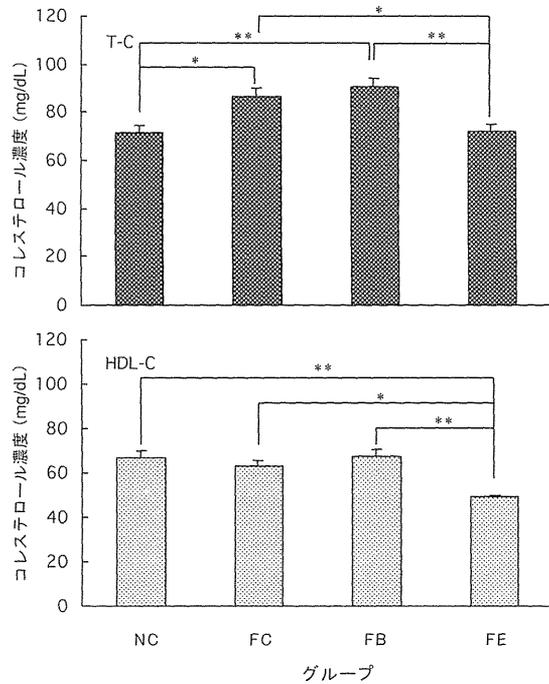


図4 高脂肪飼料(日本クレア, Quick Fat)で飼育されたラット各群における血漿総コレステロール(T-C)濃度およびHDL-コレステロール(HDL-C)濃度(実験II)
NC, 普通食対照群; FC, 高脂肪食対照群; FB, 高脂肪食ブルーベリー投与群; FE, 高脂肪食運動群。
*p<0.05, **p<0.01。垂線は標準誤差 (n=6)。

濃度およびHDL-コレステロール濃度はそれぞれ 90.7 ± 3.0 mg/dL および 67.5 ± 2.9 mg/dL であり、ブルーベリー投与による総コレステロール濃度の低下またはHDL-コレステロール濃度の上昇はみられなかった。高脂肪食運動群の総コレステロール濃度は 72.3 ± 2.5 mg/dL, HDL-コレステロール濃度は 49.1 ± 1.0 mg/dL

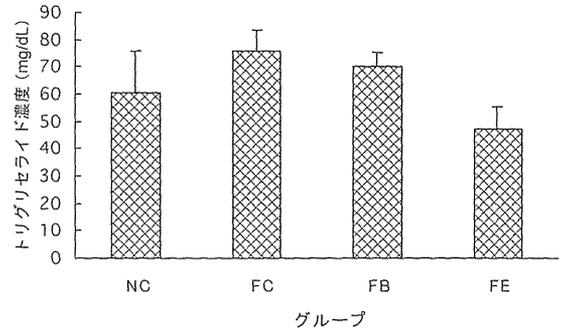


図5 高脂肪飼料(日本クレア, Quick Fat)で飼育されたラット各群における血漿トリグリセライド濃度(実験II)
NC, 普通食対照群; FC, 高脂肪食対照群; FB, 高脂肪食ブルーベリー投与群; FE, 高脂肪食運動群。
*p<0.05。垂線は標準誤差 (n=6)。

であり、高脂肪食運動群の総コレステロール濃度は高脂肪食対照群および高脂肪食ブルーベリー投与群より有意に低かった(それぞれ $p < 0.05$ および $p < 0.01$) が、HDL-コレステロール濃度もまた有意に低かった ($p < 0.01$)。

トリグリセライド濃度については、普通食対照群は 60.6 ± 15.0 mg/dL, 高脂肪食対照群は 75.8 ± 7.7 mg/dL, 高脂肪食ブルーベリー投与群は 70.4 ± 5.0 mg/dL, 高脂肪食運動群は 47.1 ± 8.4 mg/dL であり、高脂肪食運動群の値が最も低かったものの、有意差はなかった(図5)。

エラスチンカルシウム含量については、普通食対照群は 2.56 ± 0.43 μ g/エラスチンmg, 高脂肪食対照群は 3.77 ± 0.16 μ g/エラスチンmg, 高脂肪食ブルーベリー投与群は 2.00 ± 0.48 μ g/エラスチンmg, 高脂肪食運動群は 2.67 ± 0.45 μ g/エラスチンmg であった。高脂肪食ブルーベリー投与群のエラスチンカルシウム含量は高脂肪食対照群と比べ有意 ($p < 0.01$) に低く、普通食対照群を含めた各群間で最も低い値を示した(図6)。また、高脂肪食運動群は高脂肪食ブルーベリー投与群よりエラスチンカルシウム含量が高かったが、高脂肪食対照群より低い値であった。

考 察

普通配合飼料を用いた実験(実験I)においては、ラットの体重増加に明瞭な差が認められ、ブルーベリーを投与したラットは運動群と同程度に体重の増加が抑制された。糖・有機酸溶液を投与したラット(投与対照群)においても無処理のラット(対照群)より体重増加が若干抑えられたことから、経口投与がある種のストレスとなって体重増加に影響を及ぼした可能性も推測された。しかし、ブルーベリー投与群は投与対照群より有意に体重増加が抑えられたことから、ブルーベリーに含まれる成分がラットの体重増加に影響を及ぼした可能性が考えられた。食品に含まれる食物繊維は、食品エネルギー

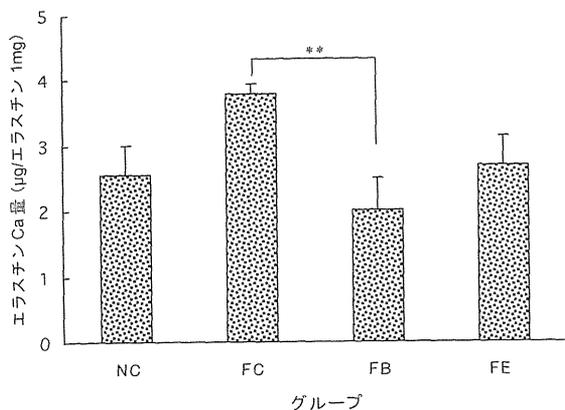


図6 高脂肪飼料(日本クレア, Quick Fat)で飼育されたラット各群における動脈壁エラスチンカルシウム含量(実験II)

NC, 普通食対照群; FC, 高脂肪食対照群; FB, 高脂肪食ブルーベリー投与群; FE, 高脂肪食運動群。** $p < 0.01$ 。垂線は標準誤差 ($n=6$)。

の利用効率を下げることや、ペクチンには糖質の吸収を抑制する作用があることが報告されており²⁷⁾、肥満防止につながると考えられている。ブルーベリー果実はペクチンを含む食物繊維を多く含有しており、これらの成分の作用により体重の増加が抑えられた可能性が示唆された。しかし、本実験ではラットの飼料摂取量の調査を行わなかったため、経口投与の影響により飼料摂取量が減少した可能性も考えられた。

ブルーベリー果実の摂取がラットの血漿コレステロール性状に及ぼす影響としては、ブルーベリー果実の摂取により、総コレステロール濃度の低下は認められなかったが、HDL-コレステロール濃度は上昇した。総コレステロールからHDL-コレステロールを差し引いたものは、動脈硬化発症に関係するLDLおよびVLDLに含まれるコレステロールであると考えられる。よって、ブルーベリー果実の摂取によりLDLおよびVLDLに含まれるコレステロール濃度が低下したと考えられた。一般に、食物繊維のコレステロール性状改善作用としては、HDL-コレステロール濃度を低下させず総コレステロール濃度を低下させる作用が多く報告されている¹²⁾。しかし本実験では、ブルーベリー果実の投与は総コレステロール濃度には影響を与えず、HDL-コレステロールの増加をもたらしたことが示唆された。

果実や野菜におけるHDL-コレステロールの上昇作用に関する報告は少ないが、Kurowska *et al.*²⁸⁾はオレンジジュースの摂取が高コレステロール血症のヒトのHDL-コレステロールを上昇させたことを報告し、オレンジに含まれるフラボノイドが肝臓におけるリポタンパク質の代謝に関与することでHDL-コレステロールの上昇に影響する可能性を示唆している。オレンジなどのカンキツ類に含まれるフラボノイドとブルーベリー果実に含まれるアントシアニンをはじめとするフラボノイドと

はその構造が異なるため単純な比較はできないが、コレステロール性状の改善作用においてはペクチンなどの食物繊維だけでなくアントシアニンなどのポリフェノール成分の寄与も検討する必要がある。Tsuda *et al.*²⁹⁾はシアニジン-3-グルコシドを摂取したラットにおいて血漿の総コレステロールおよび遊離コレステロール濃度が低下したことを報告している。しかし、アントシアニンおよびベリー類濃縮物は血漿脂質に何ら影響を及ぼさないとする報告もあり³⁰⁾、この点に関してはさらに詳細な調査が必要と思われる。

一方、自発走により適度な運動を日常的に行ったラットにおいては総コレステロール濃度が対照群に比べて低く、かつHDL-コレステロール濃度が有意に高かったことから、コレステロール性状の改善作用としては、自発走運動は本投与レベルにおけるブルーベリー摂取の効果よりも優っていたと考えられた。動脈硬化リスクに対する果物あるいは運動の影響を検討したコホート研究の例として、Lloyd *et al.*³¹⁾の報告がある。この研究では青年女子86人に対して果実摂取量、体力および心血管の健康に関わる因子を調査した結果、果実摂取量の増加と有酸素運動の増加はそれぞれ独立して血中脂質性状の改善に関係していることを結論付けている。

実験Iではブルーベリー投与によりHDL-コレステロールの上昇が認められたが、実験IIにおいてはブルーベリー投与によるHDL-コレステロール濃度の上昇は認められず、また投与実験Iと同様総コレステロール濃度も低下しなかった。トリグリセライド濃度においても有意な低下は示さなかった。一方、高脂肪食運動群は総コレステロール濃度が有意に低かったが、HDL-コレステロールも有意に低く、実験Iの結果とは異なっていた。結果の違いについては、まず高脂肪食の影響がブルーベリー投与による改善効果よりも強かった可能性が考えられた。また、実験IIでは、ラット飼育中において1日1回ブルーベリーペースト2mLを経口投与したのに対し、実験Iでは1日2回ブルーベリーペースト1mLの投与であり、1回の投与量と投与頻度の違いが影響した可能性も考えられた。

また別な角度からの動脈硬化要因として、エラスチンへのカルシウム沈着がある。カルシウム沈着はエラスチンの架橋成分を低下させ、動脈固有の弾性は低下し、石灰化して硬化することにより、動脈硬化が進行すると考えられている⁴⁾³²⁾³³⁾。実験IIでは、エラスチンの石灰化を表す指標としてエラスチンのカルシウム含量を測定し、高脂肪食ブルーベリー投与群はエラスチンカルシウム含量が最も低い結果を得た。すなわち、ブルーベリーの摂取は、エラスチンの石灰化を抑制する作用により、動脈硬化の予防に効果をもたらす可能性が示唆された。

エラスチンの石灰化のメカニズムにおいては、エラスチンのアミノ酸配列に Ca^{2+} が結合するとエラスチンの構造が変化し、弾性を発現する構造から石灰化を誘起す

- after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr* 68 : 1081-7.
- 15) Laplaud PM, Lelubre A, Chapman MJ (1997) Antioxidant action of *Vaccinium myrtillus* extract on human low density lipoproteins *in vitro*: initial observations. *Fundam Clin Pharmacol* 11 : 35-40.
 - 16) Heinonen M, Meyer AS, Frankel EN (1998) Antioxidant capacity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J Agric Food Chem* 46 : 4107-12.
 - 17) Centers for Disease Control (1993) Physical activity and the prevention of coronary heart disease. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 42 : 669-72.
 - 18) Alam S, Stolinski M, Pentecost C, Boroujerdi MA, Jones RH, Sonksen PH, Umpleby AM (2004) The effect of a six-month exercise program on very low-density lipoprotein apolipoprotein B secretion in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 89 : 688-94.
 - 19) Thompson PD, Tsongalis GJ, Seip RL, Bilbie C, Miles M, Zoeller R, Visich P, Gordon P, Angelopoulos TJ, Pescatello L, Bausserman L, Moyna N (2004) Apolipoprotein E genotype and changes in serum lipids and maximal oxygen uptake with exercise training. *Metabolism* 53 : 193-202.
 - 20) Blair SN, Kohl HW, Paffenbarger RS, Clark DG, Cooper KH, Gibbons LW (1989) Physical fitness and all-cause mortality: a prospective study of healthy men and women. *JAMA* 262 : 2395-401.
 - 21) Berlin JA, Colditz GA (1990) A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 132 : 612-28.
 - 22) 中野長久 (1996) 酸素と運動. スポーツと栄養と食品, (伏木 亨, 柴田克己, 吉田宗弘, 下村吉治, 中谷 昭, 河田照雄, 井上和生, 横越英彦, 中野長久編), p. 116-32. 朝倉書店, 東京.
 - 23) Hu FB (2003) Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *Am J Clin Nutr* 78 : 544-51.
 - 24) Paulev PE (1984) Exercise and risk factors for arteriosclerosis in 42 married couples followed over four years. *J Chronic Dis* 37 : 545-53.
 - 25) Kawamoto A, Shimada K, Matsubayashi K, Kuzume O, Chikamori T, Kimura S, Saito N, Ozawa T (1991) Relationship between exercise endurance capacity and cardiovascular risk factors in seventh decade subjects. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 28 : 13-7.
 - 26) Lansing AI, Rosenthal TB, Alex M, Dempsey EW (1952) The structure and chemical characterization of elastin fibers as revealed by elastase and electron microscopy. *Anat Rec* 114 : 555-75.
 - 27) Hazan A, Madar Z (1993) Preparation of a dietary fiber mixture derived from different sources and its metabolic effects in rats. *J Am Coll Nutr* 12 : 661-8.
 - 28) Kurowska ME, Spence JD, Jordan J, Wetmore S, Freeman DJ, Piché LA, Serratore P (2000) HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 72 : 1095-100.
 - 29) Tsuda T, Horio F, Osawa T (1998) Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside increases *ex vivo* oxidation resistance of serum in rats. *Lipids* 33 : 583-8.
 - 30) Frank J, Kamal-Eldin A, Lundh T, Määttä K, Törrönen R, Vessby B (2002) Effects of dietary anthocyanins on tocopherols and lipids in rats. *J Agric Food Chem* 50 : 7226-30.
 - 31) Lloyd T, Chinchilli VM, Rollings N, Kieselhorst K, Tregea DF, Henderson NA, Sinoway LI (1998) Fruit consumption, fitness, and cardiovascular health in female adolescents: the Penn State Young Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 67 : 624-30.
 - 32) London GM, Drüeke TB (1997) Atherosclerosis and arteriosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 51 : 1678-95.
 - 33) Goodman WG, Salusky IB (2001) Non-invasive assessments of cardiovascular disease in patients with renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 10 : 365-9.
 - 34) Urry DW (1971) Neutral sites for calcium ion binding to elastin and collagen: a charge neutralization theory for calcification and its relationship to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 68 : 810-14.
 - 35) Gonthier M-P, Verny M-A, Besson C, Rémésy C, Scalbert A (2003) Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats. *J Nutr* 133 : 1853-9.
 - 36) Miyazawa T, Nakagawa K, Kudo M, Muraishi K, Someya K (1999) Direct intestinal absorption of red fruit anthocyanins, cyanidin-3-glucoside and cyanidin-3,5-diglucoside, into rats and humans. *J Agric Food Chem* 47 : 1083-91.
 - 37) 竹原良記, 岡田昌平, 阿部一男, 吉岡 保, 内海耕髓 (1998) ブルーベリー抽出エキス (ビルベロン) と血管収縮弛緩. *食品工業* 41, 46-52.
 - 38) 竹原良記, 吉岡 保, 内海耕髓 (2002) ブルーベリー抽出エキスおよびアントシアニンによるラット動脈血管の内皮依存性弛緩と活性酸素消去能. *岡山学院大学・岡山短期大学紀要* 25, 61-6.
 - 39) Maughan RJ, Donnelly AE, Gleeson M, Whiting PH, Walker KA, Clough PJ (1989) Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. *Muscle Nerve* 12 : 332-6.
 - 40) Asami S, Hirano T, Yamaguchi R, Tsurudome Y, Ito H, Kasai H (1998) Effects of forced and spontaneous exercise on 8-hydroxydeoxyguanosine levels in rat organs. *Biochem Biophys Res Commun* 243 : 678-82.

J Jpn Soc Nutr Food Sci 58 : 259-266 (2005)

Original Paper

Effects of Daily Blueberry Intake and Spontaneous Exercise
on Risk Factors for Arteriosclerosis in Rats

Yasunori Hamauzu,^{*1} Toshiya Nosaka,² Yoshio Ishizuka,¹
and Mitsukimi Sugimoto³

(Received April 30, 2004 ; Accepted July 12, 2005)

Summary : In terms of reduction of risk factors for arteriosclerosis, we compared the effects of daily intake of blueberries with those of spontaneous exercise using male Wistar rats. In experiment I, in which the rats were maintained for 11 weeks on a normal diet, the serum HDL-cholesterol level in rats that were supplied with additional blueberry paste every day was higher than that in the control rats. In experiment II, in which the rats were maintained on a high-fat diet, the calcium/elastin level (an index of arterial calcification) was lowest in rats that were supplied with blueberries daily, although there was no improvement in the serum cholesterol level. The serum cholesterol level and the triglyceride level were both decreased in the rats allowed spontaneous exercise, and their calcium/elastin level was also lower than that in the control rats. These results suggest that daily intake of blueberries and spontaneous exercise are both effective for decreasing of risk of arteriosclerosis, although the degree of the effect of each factor seems to be different.

Key words : blueberry, exercise, risk factors for arteriosclerosis, rat

* Corresponding author (E-mail: hamauzu@shinshu-u.ac.jp)

¹ Graduate School of Agriculture, Shinshu University, 8304 Minamiminowa, Kamiina-gun, Nagano 399-4598, Japan

² Department of Physical Education, Nagano College of Nursing, 1694 Akaho, Komagane, Nagano 399-4117, Japan

³ Faculty of Agriculture, Shinshu University, 8304 Minamiminowa, Kamiina-gun, Nagano 399-4598, Japan