

# 琉球大学学術リポジトリ

## マウスの行動と血液成分に対するアキノワスレグサの影響

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学教育学部 公開日: 2007-09-15 キーワード (Ja): キーワード (En): sleep, mice, Hemerocallis, water-maze, step-down type 作成者: 上江洲, 榮子, 崎浜, 美智子 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/1879">http://hdl.handle.net/20.500.12000/1879</a>

# マウスの行動と血液成分に対するアキノワスレグサの影響

上江洲榮子<sup>1)</sup>、崎浜美智子<sup>2)</sup>

Effects of *Hemerocallis* on Behavior and Blood Components in ddY mice.

Eiko Uezu, Michiko Sakihama

It has been reported that mice slept longer when fed *Hemerocallis* flower. Many studies have shown that adequate sleep is important for memory processing. But while improved quality of sleep may enhance learning and memory, sedation or too strong a sleep action (deep sleep or too much sleep), may inhibit learning and memory processing. In the present study, the effects of *Hemerocallis* flower on behavior and blood components in 12-month-old female ddY mice were studied. Mice in the experimental group were fed CE2 powdered food (CLEA Japan INC., Tokyo) containing 10% (wet weight) *Hemerocallis* for 7-9 weeks, while mice in the control group were fed CE2 only. The experimental mice consumed 15g/kg b. w. of fresh *Hemerocallis*. For the behavioral study, a step-down passive avoidance task and a Morris-type water-maze task were used. Although the results of the passive avoidance task were good in the experiment group, the results of the water-maze task were poor. The dosage of the *Hemerocallis* caused sedation and strong sleep action, and worsened performance of the water maze task.

In the experimental group, HDL-cholesterol decreased slightly, while the blood sugar level, total cholesterol, and neutral fat increased slightly. From the results of the water-maze task and the change in the level of blood components, it can be concluded that the dosage of *Hemerocallis* was detrimental.

Key words: sleep, mice, *Hemerocallis*, water-maze, step-down type

## はじめに

アキノワスレグサを投与したマウスの学習や睡眠についての報告がなされてきた<sup>1-5)</sup>。また、学習の習得や記憶の保持には、睡眠が不可欠の役割を担っていると従来から示唆されてきた<sup>6-8)</sup>。睡眠を改善すれば、学習や記憶が促進されると考えられるが、一方では、睡眠作用が強すぎた場合、逆に学習や記憶が阻害されるとも考えられる。今回は摂取量の上限值を推定するために、新鮮なアキノワスレグサ花を実験食の10%の割合でマウスに摂取させ、ステップダウン型装置と水迷路型装置において行動の変化を検討した。さらに身体的影響について同時に検討するため、体重変化と血液成分値を測定した。

## 実験方法

実験動物として24週齢のddY系雌マウスを日本SLC(静岡)より購入し、6ヶ月間予備飼育した後、実験食を投与した。

基準食として、市販粉末飼料(日本クレアCE-2)を対照群に与えた。実験食として、沖縄県久米島町内において栽培された、アキノワスレグサ花を湿重量10%で基準食と混合し、60℃にて12時間乾燥し、投与した。7週間から9週間にわたり実験食を投与し、ステップダウン型回避学習テストとMorris型水迷路学習テストを行なった。実験食投与開始より7週間経過後にステップダウン型装置にて訓練し、1週間後に記憶テストを行い、3日間の休息の後に同じマウスに対して、水迷路の訓練とテストを行った。この2種類の実験およ

<sup>1)</sup> 琉球大学教育学部生涯健康教育コース健康栄養学講座

<sup>2)</sup> 沖縄県立浦添商業高等学校(非常勤)

び休息期間中、実験食の投与は継続され、体重、摂取した飼料および飲水量が測定された。

ステップダウン型回避学習テストの装置と方法は既報<sup>9)</sup>に準じた。まず、マウスを実験箱の中にある小さな台の上のせ台の上から床に降るまでの時間を測定する。その後、台の下に降りたら直ちに45Vの電気ショックを与え、台の上に乗るのを確認した後取り出す。この操作を何度か繰り返すことによって台の下に降りると電気ショックが起こることを学習する。そして台の上で180秒間とどまると、学習が完了したとみなした。電気刺激回数、1匹当たり4回ずつ与えた。長期記憶テストは、1週間後に1度だけ行った。実験箱の中にある台の上に180秒間静止したマウスを記憶しているものとみなした。床に降りても電気ショックは与えなかった。

ステップダウン型回避学習テストに使われた実験装置でたまたま台の上から降りなかったマウスや動きが遅いマウスの場合、学習成績がよくなることも考えられる。そこで、Morris型水迷路学習を用い、マウス自体が泳いでプラットホームを見つける方法で測定した。環境設定は、水温26℃とし、直径57cm、深さ20cmの円形プールを使用した。プラットホームは、直径4.5cm、高さ9cmの円柱のガラスコップを、円形プールのなかに伏せて設置し、さらにスキムミルクを溶かし白色に見えない状態にした。マウスは水から逃れるために隠れたプラットホームまでの距離と周囲の状況を空間的に認知し学習することができる。隠れたプラットホームを120秒以内に見つけることができた場合、発見するまでに要した時間を測定し実験値とした。その後マウスをプラットホームに30秒間とどまらせる。120秒間でプラットホームを見つけられなかった場合、120秒後に実験者らが意図的にマウスをプラットホームに30秒間とどまらせる。各群において、1日1回試行を5日間行った。

学習実験終了後、実験食を中止し基準食にもどし1週間飼育した後、ネンブタール深麻酔下(0.1~0.4ml/マウス、腹腔内投与)に開胸し、右心室より採血し、血液成分(総コレステロール、HDL-コレステロール、血糖値、中性脂肪)を測定した。測定試薬は、和光純薬株式会社のキット類を使用した。

統計処理は、等分散の検定を行った後、等分散が仮定できる場合は、Studentの*t*検定を用い、仮定できない場合は Welch の *t* 検定を行った。

## 結果

体重変化と飼料摂取量、飲水量を表1に示した。

期間中に実験食投与のマウスは体重が増加し、対照群はわずかに減少した。摂取した飼料1g当たりの体重増加の平均値は対照群-2.0mg、実験食群6.9mgであった。ステップダウン型回避学習テストの結果を表2に示した。対照群と比較して実験群において電気刺激回数1回目と2回目において、有意に潜時が延長した( $p < 0.05$ )。1週間後に行った記憶テストにおいては、差が認められなかった。水迷路学習テストの結果を表3に示した。対照群と比較して実験群において2日目と4日目に有意( $p < 0.05$ )に潜時が延長した。血液成分値の結果を表4に示した。総コレステロール値および血糖値、中性脂肪は高値を示し、HDL-コレステロールが低値を示した。

## 考察

アキノワスレグサ投与群のマウスは、じっとしていることによって電気刺激をさけることができるので床に降りるまでの潜時が長い方が成績良好と判断されるステップダウン型回避学習テストの結果が良く(表2)、一見知的能力に対して好影響を与えているかに見える。しかし、自ら行動してプラットホームを探し出し、到達するまでの潜時が短い場合に成績良好と判断される水迷路学習は阻害された(表3)。このことから、ステップダウン型回避学習テストで得られた好成績は、試料の鎮静作用あるいは睡眠作用によって活動力が低下したためであるとも解釈できる。Morris型水迷路学習は本来、空間や位置に関する学習・記憶能力を研究するために開発された<sup>10)</sup>。したがって、試料投与によって、空間や位置に関する学習能力も阻害されたと考えることもできる。

また、血液成分に関しては、有意差は認められなかったものの、いわゆる善玉コレステロールとされるHDL-コレステロール値が低下し、血糖値、総コレステロール値および中性脂肪値は上昇した。以上の結果は、本実験の用量のアキノワス

表1. マウスの体重増加量及び飼料・飲水摂取量

	対照群(n=10)	アキノワスレグサ群(n=10)
体重増加量(g)		
開始時	36.64±1.51	38.22±1.90
終了時	35.98±4.73	40.68±2.81
増加量	-0.66±4.40	2.45±2.14
飼料摂取量(g/day)	5.15±0.75	5.95±0.87
飼料総量(g)	309	357
飲水量(ml/day)	5.69±1.11	6.1±0.74
飲水総量(ml)	342	366
生鮮試料摂取量(g/kg体重/day)	0	15.25

表2. ステップダウン型回避学習テストにおける回避時間と学習達成率

	対照群(n=10)	アキノワスレグサ群(n=10)
電気刺激回数0回目		
回避時間(秒)	10±12	7.5±3.9*
学習達成率%	0%	0%
電気刺激回数1回目		
回避時間(秒)	74±71	103±64*
学習達成率%	20%	30%
電気刺激回数2回目		
回避時間(秒)	146±48	165±44*
学習達成率%	60%	90%
電気刺激回数3回目		
回避時間(秒)	180±0	168±38
学習達成率%	100%	90%
電気刺激回数4回目		
回避時間(秒)	180±0	180±0
学習達成率%	100%	100%
長期記憶テスト		
回避時間(秒)	164±51	176±13
記憶率(%)	90%	90%

回避時間は〔平均値±標準偏差 (\*p<0.05, t検定)〕 達成率は10匹のうち基準に達したマウスの%で示した。記憶率は1週間後に同じ装置で同様の操作を行い回避時間が基準に達したマウスの数が調べられた。

表3. 水迷路学習テストにおける潜時の変化

	対照群(n=10)	アキノワスレグサ群(n=10)
1日目	57.7±41	54.8±56
2日目	38.8±37	58.8±45*
3日目	44.3±42	34.3±29
4日目	25.4±28	32.8±30*
5日目	23.2±23	17.3±13

平均値±標準偏差 (\*p<0.05)

表4. 血液成分値

	対照群(n=10)	アキノワスレグサ群(n=10)
総コレステロール(mg/dl)	90.2±21	100±15
HDL-コレステロール(mg/dl)	52.7±23	42±26
中性脂肪(mg/dl)	42.5±18	56±12
血糖値(mg/dl)	245±46	269±24

レグサは神経系に対しては過度の鎮静作用を示し、身体に対しては生活習慣病関連の血液成分を上昇させることを示している。表1に示したように、アキノワスレグサ投与群において体重は実験期間中に増加した。対照群においてわずかに体重が減少した。これらのことは、同一のマウスに対して2種類の学習実験を行った今回の操作は、学習実験開始時点で12ヶ月齢を超えていたマウスにとってストレスとなって体重を減少させ、アキノワスレグサ投与群は試料の抗ストレス作用によって順調に体重が増加したと推定できる。アキノワスレグサの抗ストレス作用については今後検討する価値がある。両群間の血中脂質や血糖値の差は、単に体重の差(表1)の反映である可能性もあり、

そうなると抗ストレス作用や食欲増進作用の研究は益々重要となってくる。実験食投与3週間目の体重を基準にして、生鮮アキノワスレグサ花の1日当たりの平均摂取量を算出すると、15.2g/kgであった。乾燥重量0.6g/kg(生鮮重量に換算すると6g/kg)の経口投与によって、回避学習実験、水迷路実験、8方向放射状迷路実験のいずれにおいても阻害作用を示すことなく<sup>1, 3-5)</sup>、有意に睡眠量を増加させることができた<sup>2)</sup>。動物実験の結果の値をそのままヒトに適用することはできないが、ヒトにおける有効量と安全な摂取量を推定する場合、今回の用量は摂取上限値の参考となり得る。

文献

- 1) 上江洲榮子、萱草の効用について、琉球大学教育学部紀要、第一部・第二部、1997；(第51集)：231-238.
- 2) Uezu E. Effects of Hemerocallis on sleep in mice. *Psychiatry Clin Neurosci.* 1998 Apr;52 (2):136-137.
- 3) Uezu E. et al. Effects of Flower of Hemerocallis on Sleep and Memory in ddY mice. Abstracts, 8th Asian Congress of Nutrition, Seoul, Korea, 1999:p. 225.
- 4) Uezu E. et al. Effects of Flower of Hemerocallis on Sleep in ddY Mice. Program and Abstracts, International Forum on Traditional Medicine, Toyama, Japan, 1999 : p. 156.
- 5) Uezu E. et al. Effects of hemerocallis on sleep in food restricted mice. Program and Abstracts of 10th biennial meeting of the international society for free radical research Okinawa sateraito symposium " Aging-and natural antioxidants (Okinawa). 2000 : p. 26.
- 6) Danguir J, Nicolaidis S. Impairments of learned aversion acquisition following paradoxical sleep deprivation in the rat. *Physiol Behav.* 1976 Sep ; 17 (3) : 489-492.
- 7) Fishbein WN, Gutwein B. Paradoxical sleep and memory storage processes. *Behav Biol.* 1977 Apr ; 19 (4) : 425-64.
- 8) Loewenstein RJ, et al. Disturbances of sleep and cognitive functioning in patients with dementia. *Neurobiol Aging* 1982 ; 3 (4) : 371-377.
- 9) Uezu E, et al. Passive avoidance behavior and sleep pattern of SAMP8 mice. In *The SAM Model of Senescence.* Toshio Takeda, editor, Elsevier Science B. V. Amsterdam, 1994 ; pp. 397-400.
- 10) Morris R, Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods.* 1984 May ; 11 (1) : 47-60.