

自発行動と血清脂質の加齢変化を修飾する食飼たん白質と 脂質の相互作用

—老化促進モデルマウス(SAM)を用いた研究—

細川昌則^{*1}・梅澤眞樹子²・バシユデブ チャクロボルティ¹・樋口京一¹

¹京都大学胸部疾患研究所 ²甲子園大学栄養学部

Dietary Lipids and Proteins Influence Learning and Memory in the SAMP8 Strain of Mice

Masanori HOSOKAWA¹, Makiko UMEZAWA², Bashudeb
CHAKROBORTY¹ and Keiichi HIGUCHI¹

¹Chest Disease Research Institute, Kyoto University, Kyoto 606-01

²Department of Nutrition, Koshien University, Takarazuka 665

ABSTRACT

The SAMP8 mouse is a model of age-related deficit in learning and memory ability. A semipurified diet supplemented with soy protein isolate (SPI) and either with safflower oil or with perilla oil was fed to SAMP8 mouse dams and their pups. The offspring (males) at 28 weeks of age were used for behavioral test and measurement of serum lipids. The learning and memory abilities of the two dietary groups were tested with the Sidman active avoidance task. The group given perilla oil showed much greater improvement in learning than did the group fed safflower oil. Observations of the diurnal rhythm of spontaneous motor activity (SMA) indicated that the mice in the safflower oil group tended to be more active than those in the perilla oil group in both light and dark periods. Serum cholesterol level in perilla oil group was half of that in safflower oil group. In experiment B, a semipurified diet supplemented with perilla oil and either with SPI or casein was fed to SAMP8 males of 10 months of age for 4 weeks. Two dietary groups were tested the degree of senescence and serum lipid contents. The degree of senescence of the SPI group was significantly lower than in the casein group. Although exploration behavior was not different between both groups, escaping behavior was stronger in the SPI group than in the casein group. Serum lipid contents were not different between both groups. These results indicate that in the SAMP8 mouse, the dietary lipids and proteins influence learning and memory abilities. *Rep. Soy Protein Res. Com., Jpn.* **17**, 89-93, 1996.

*〒601-01 京都市左京区聖護院川原町 53

Key words: Senescence-Accelerated Mouse, dietary oil, dietary protein, Sidman active avoidance, spontaneous motor activity, serum lipids

老化促進モデルマウスの1系統、SAMP8系マウスは、ステップスルー型などの装置を用いた受動的回避反応、シドマン型などの能動的回避反応などからみた学習・記憶障害、高架式プラス迷路反応などにみられる情動障害、自発活動能からみた日周リズムの障害を加齢にともない示す様になり^{1,2)}、老年期脳機能障害のモデル動物として、発症機序解明のため、多くの行動薬理学的、神経化学的、病理組織学的研究がなされている²⁾。SAMP8系マウスは病態の解析、発症機序の検索のみならず、漢方薬などの薬物を用いた、老年期脳機能障害の防止に関する研究にも広く用いられている²⁾。しかし、老年期脳機能障害の発症を制御する栄養学的なアプローチはこれまでほとんど行われていないため、我々は食飼中の脂質およびたん白質がSAMP8系マウスの老年期脳機能障害に及ぼす効果について研究を進めている。

方 法

1. 実験A

実験動物

加齢と共に脳機能障害を示すSAMP8系マウス雌雄を用いた。

飼料

25% soy protein isolate (SPI, フジプロ-R)をたん白質源とし、脂質源としてn-3系不飽和脂肪酸の α -リノレン酸に富む、エゴマ油(perilla oil)、もしくはn-6系不飽和脂肪酸のリノール酸に富む、ペニバナ油(safflower oil)を9%含む合成飼料を作製した(Table 1)。

実験方法

6週齢よりマウスに2種類の飼料を自由摂取させ、10週齢より交配させた。得られた雄マウスを授乳中(mother)から7カ月齢まで同じ飼料で飼育し、以下の行動実験および血清中総コレステロール、HDL-コレステロール値の測定(和光純薬工業)を行った。

シドマン型能動的回避反応: スキナー箱を用い、0.3秒間、0.5 mAの電気ショックを5秒間隔で与え、レバーを押すと、25秒間ショックが回避される条件を用いた。毎日1回、30分間の学習を10日間(10セッション)行い、各セッションでの反応数、ショック数を計測した。

日周リズム: Animex Auto(室町機械)を用い、30分毎の自発活動(SMA)数を3日間モニターした。飼育室内は午前7時に点灯し午後7時に消灯した。

2. 実験B

実験動物

10カ月齢のSAMP8系マウス、雄4~5匹(脱落マウスを除いた最終匹数)を用いた。

飼料

9%エゴマ油を脂質源とし、たん白質源に25%カゼイン(バイエルミルクインダストリー)もしくは25%SPI(フジプロ-R)を用いた合成飼料を作製した(Table 2)。

実験方法

合成飼料を4週間自由摂取させ、体重、老化度評点^{3,4)}、血清中脂質(リン脂質、トリグリセライド、

Table 1. Diet composition (Experiment A)

Component	Amount(%)	
	Safflower(n-6)	Perilla(n-3)
Soy protein isolate	25.0	25.0
Safflower oil	9.0	—
Perilla oil	—	9.0
DL-Methionine	0.3	0.3
Cornstarch	32.7	32.7
Sucrose	25.0	25.0
Cellulose powder	2.0	2.0
Mineral mix.	5.0	5.0
Vitamin mix.	1.0	1.0

Table 2. Diet composition (Experiment B)

Component	Amount(%)	
	SPI	Casein
Soy protein isolate	25.0	—
Casein	—	25.0
Perilla oil	9.0	9.0
DL-Methionine	0.3	0.3
Cornstarch	34.3	34.3
Sucrose	23.4	23.4
Cellulose powder	2.0	2.0
Mineral mix.	5.0	5.0
Vitamin mix.	1.0	1.0

総コレステロール, HDL-コレステロール, 遊離脂肪酸) 濃度を測定した。

結 果 と 考 察

実験 A

シドマン型能動回避学習は両群でセッションを経るにつれ, レバー押し反応は増加し, こうむるショック

Table 3. Effect of protein source on the behavior of SAMP8

		SPI (n=5)	Casein (n=4)
Body weight(g)	Start	29.9±2.8	31.5±1.2
	After feeding	29.9±3.1	29.4±1.7
Grading score (behaviors)	Exploration	1.4±0.9	1.8±0.5
	Escaping	0.8±0.4 *	1.8±0.5

* $P < 0.05$

数も減少したが, エゴマ油群ではより著しい学習効果が認められ, 4セッション以降有意にベニバナ油群より反応数が多く, ショック数が減少した。自発活動は両群とも明期に少なく, 暗期前半に急激に増加する典型的な日周リズムを示した。ベニバナ油群は明期前半以外は有意に活動数がエゴマ油群よりも多かった。しかもエゴマ油群では, 明期前半と後半の間には活動数の変化がなかったが, ベニバナ油群では明期後半の活動数が増加し, 日周リズムの乱れを認めた。血清中総コレステロール値, HDL-コレステロール値は, エゴマ油群では共に, ベニバナ油群の約半分であった。

実験 B

体重は SPI 群, カゼイン群共に実験期間中若干の減少傾向を示したが, 両群の間には差は認められなかった (Table 3)。老化度総評点はカゼイン群 9.75 ± 0.5 に対して, SPI 群 6.6 ± 1.7 と有意に低かった ($P < 0.01$)。行動性に対する評点は, 探索行動の低下が SPI 群では軽い傾向を示すことを示唆したが, 両群に有意な差は見られなかった。Pinching からの

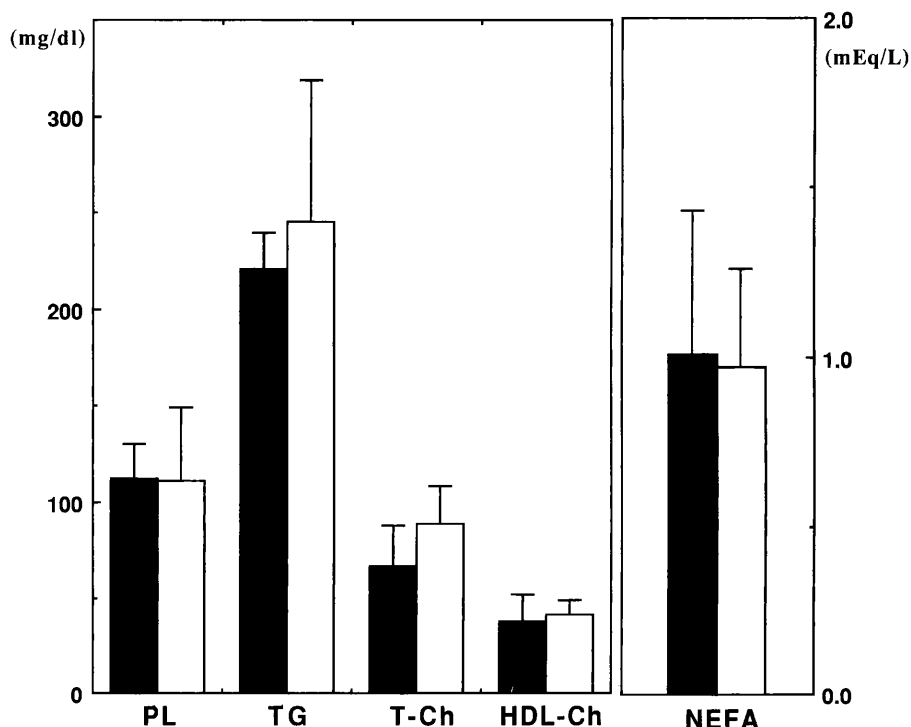


Fig. 1. Influence of dietary protein on serum lipid contents. Each bar represents mean $\pm$ SD. Closed bar represents the group fed casein (n=4) and open bar represents the group fed SPI (n=5). PL, phospholipid; TG, triglyceride; T-Ch, total cholesterol; HDL-Ch, HDL-cholesterol; NEFA, nonesterified fatty acids.

逃避行動の低下は、SPI群で有意に軽度であった (Table 3)。血清中脂質濃度は測定した5つのパラメーターにおいて、両群間で差を認めなかった (Fig. 1)。

これらの結果より、食飼中の脂質の種類が学習・記憶能、日周リズム、血清コレステロール値に影響を与えることが示された。これまでラット、マウスにおいて、食飼中の α -リノレン酸(n-3)・リノール酸(n-6)比が行動に影響を及ぼすことが知られており⁵⁻⁷⁾、また脳内不飽和脂肪酸組成が出生前後の食飼組成に影響を受けることが知られている^{5,8)}。SAMP8マウスにおいても、食飼中の α -リノレン酸・リノール酸のバランスが、脳内のリン脂質のn-3/n-6比に影響を与え、そのことが、学習・記憶能や日周リズムに影響を与え

たのかもしれない。老齢期マウスに短期間カゼインもしくはSPIをたん白質源とする合成飼料を与えた実験では、カゼインたん白質摂取マウスにおいて、老化度の増加、探索行動や逃避行動などの活動性の減退が認められた。SAMP1系マウス、SAMR1系マウスを6週齢から、カゼインもしくはSPIをたん白質源とする合成飼料を自由摂取させたとき、SPIは老化の進行を抑制した⁹⁾。老齢期のしかも短期間のSPI摂取によっても、老化の進行を抑制するのに効果が認められた。しかし食飼中のたん白質の種類は老齢マウスの体重、血清中脂質濃度には影響を与えず、今後さらにその機序の検討が求められる。

要 約

老齢期脳機能障害のモデル動物 SAMP8系マウスを用いて、食飼中の脂質、たん白質の種類が、学習・記憶能、活動性、血清脂質濃度に及ぼす影響を検索した。n-3系不飽和脂肪酸にとむエゴマ油は、SAMP8系マウスの能動的回避学習能、日周リズムの変化を改善した。また血清中コレステロール値にも影響を与えた。SAMP8マウスにおいて、老齢期に摂取させたSPI (分離大豆たん白質) は体重や血清中脂質濃度には影響を与えなかったが、老化の進行、活動性の低下を抑制した。

文 献

- 1) 宮本政臣 (1994): 抗痴呆薬開発のための実験手技 (8) - 老化促進モデルマウス: 行動薬理学的観点より. 日本神経薬理学雑誌, **14**, 323-335.
- 2) Takeda T (1994): *The SAM Model of Senescence*. Excerpta Medica, Amsterdam, London, New York, Tokyo.
- 3) Takeda T, Hosokawa M, Takeshita S, Irino M, Higuchi K, Matsushita T, Tomita Y, Yasuhira K, Hamamoto H, Shimizu K, Ishii M and Yamamuro T (1981): A new murine model of accelerated senescence. *Mech Ageing Dev*, **17**, 183-194.
- 4) Hosokawa M, Kasai R, Higuchi K, Takeshita S, Shimizu K, Hamamoto H, Honma A, Irino M, Toda K, Matsumura A, Matsushita M and Takeda T (1984): Grading score system: A method for evaluation of the degree of senescence in Senescence Accelerated Mouse (SAM). *Mech Ageing Dev*, **26**, 91-102.
- 5) Nakashima Y, Yuasa S, Hukamizu Y, Okuyama H, Ohhara T, Kameyama T and Nabeshima T (1993): Effect of a high linoleate and a high α -linolenate diet on general behavior and drug sensitivity in mice. *J Lipid Res*, **34**, 239-247.
- 6) Yamamoto N, Saitoh M, Moriuchi A, Nomura M and Okuyama H (1987): Effect of dietary α -linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. *J Lipid Res*, **28**, 144-151.
- 7) Yamamoto N, Okaniwa Y, Mori S, Nomura M and Okuyama H (1991): Effect of a high-linoleate and a high α -linolenate diet on the learning ability of aged rats. Evidence against an autoxidation-related lipid peroxide theory of aging. *J Gerontol*, **46**, B17-22.
- 8) Wainwright PE, Huang Y-S, Bulman-Fleming B, Mills DE, Redden P and McCutcheon D

- (1991) : The role of n-3 essential fatty acids in brain and behavioral development : a cross-fostering study in the mouse. *Lipids*, **26**, 37-45.
- 9) Umezawa M, Hosokawa M, Kohno A, Ishikawa

S, Kitagawa K and Takeda T (1993) : Dietary soybean protein compared with casein retards senescence in the Senescence Accelerated Mouse. *J Nutr*, **123**, 1905-1912.