

クロロゲン酸と n-3, n-6, n-9 系脂肪酸との相互作用が ラットの情動行動に及ぼす影響

坂井 恵子, 青崎 桜子, 有馬 妃彩, 小濱 千佳, 七村 凜佳

要 旨

【目的】 コーヒーの green beans に含まれるポリフェノール類のクロロゲン酸は、不安感やうつ症状を緩和させると報告されている。しかしながら、クロロゲン酸と脂質の質との相互作用の詳細については未だ明らかではない。本研究では、クロロゲン酸と n-9, n-6, n-3 系脂肪酸の相互作用が、ラットの攻撃性と不安感、更に運動との影響について比較検討を行った。

【方法】 Sprague-Dawley 系ラットの 4 週齢を無作為に、コントロール(クロロゲン酸無添加)群、クロロゲン酸添加群、運動負荷(クロロゲン酸添加)群に分けた。さらに、それぞれの群を n-3 系、n-6 系、n-9 系脂肪酸群に分けて行った。実験飼料は、脂質以外の成分は全ての食餌群で同じにして調製し、投与カロリー量は毎日各群とも同じにして 13 週間飼育を行った。クロロゲン酸は 1mg/g 実験飼料で行った。運動はラット用トレッドミルを使用して週 2 回、一匹 5 分間で行った。行動実験：実験飼料で飼育開始後 3 週目より開始した。攻撃行動はラットの胴体の大きさと等しい筒の中で対戦させ、筒から先に押し出された方を「負け」とした。不安行動は、高架式十字迷路試験を用いて、5 分間の滞在時間の行動観察を行った。

尚、本研究における動物実験は鹿児島純心大学動物実験指針に従って行われた。

【結果】 攻撃行動：クロロゲン酸摂取の影響は、n-9 系オリーブ油群・n-6 系サフラワー油群・n-3 系エゴマ油群において、攻撃性はコントロールに比べて低下した。クロロゲン酸摂取に対する運動の効果：運動によってサフラワー油群とエゴマ油群では、クロロゲン酸だけより有意に攻撃性が高くなった。一方、オリーブ油群では、運動により攻撃性は低下傾向であった。不安行動：オリーブ油では、クロロゲン酸や運動によって不安感は減少傾向を示した。サフラワー油では、クロロゲン酸により不安感はコントロールより有意な低下がみられた。運動負荷でも不安感はコントロールより減少したが、クロロゲン酸単独の方が顕著であった。エゴマ油：クロロゲン酸によりコントロールより不安感の低下が認められた。運動負荷による不安感はコントロールと同じ傾向であり、影響はなかった。

【考察】 クロロゲン酸と n-9, n-6, n-3 系脂肪酸との相互作用による攻撃行動や不安行動への効果はそれぞれ異なり、脂質の質の違いの影響が示唆された。

【結論】 攻撃性は、クロロゲン酸摂取によりコントロールに比べて n-9, n-6, n-3 系脂肪酸において低下した。運動とクロロゲン酸の相互作用は、n-6 系紅花油とエゴマ油では、クロロゲン酸だけに比べて攻撃性は上昇した。不安感において、クロロゲン酸は紅花油とエゴマ油で低下したが、オリーブ油での影響は認められなかった。

キーワード：クロロゲン酸, 攻撃行動, 不安行動, n-3, n-6, n-9 系脂肪酸, 運動

緒 言

クロロゲン酸は PTSD (Post-traumatic stress disorder) でみられる不安症やうつ症状を改善する効果があると報告された^{1,2)}。更に、クロロゲン酸には抗酸化作用³⁾、抗炎症作用⁴⁾、認知機能やうつ症状の改善⁵⁾が報告されている。一方、脳機能の保持には n-3 系脂

肪酸が関与していることは知られている⁶⁾。そこで、本研究では、クロロゲン酸と n-9/n-6/n-3 系脂肪酸との相互関係がラットの攻撃性と不安感に及ぼす影響の比較検討を行った。

方 法

実験動物： Sprague-Dawley 系ラットの 4 週齢を無作為に、コントロール(クロロゲン酸無添加)群、クロ

ロゲン酸添加群, 運動負荷(クロロゲン酸添加)群に分けた(Fig. 1)。

さらにそれぞれのグループをn-3系, n-6系, n-9系脂肪酸群に分けて行った。

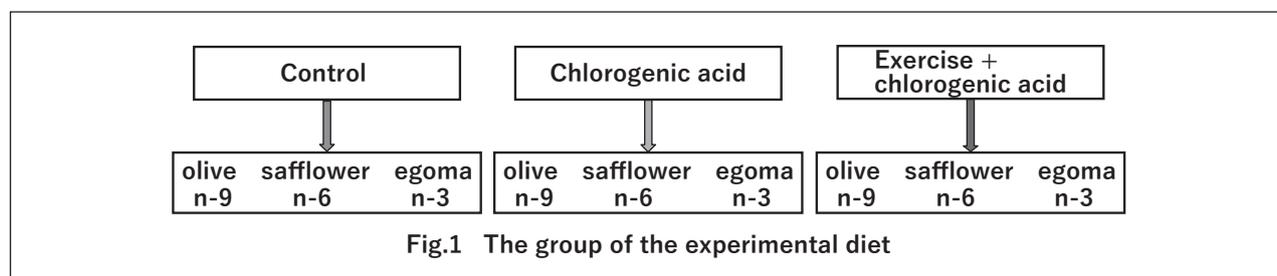
実験飼料: 脂質としてn-9系オリーブ油(和光純薬), n-6系紅花油(和光純薬), n-3系エゴマ油(朝日ST)を使用した。脂質以外の成分は全ての食餌群で同じにして調製した。コーンスターチ(日本澱粉株), スクロース(和光純薬), セルロース(ナカライ株), ビタミンミックス(SLC株), ミネラルミックス(オリエンタル酵母株), コリン(和光純薬)を使用した。全ての食餌群で糖質57%, たんぱく質19%, 脂質24%であった。投与カロリーは毎日各群とも同じにして13週間飼育を行った。クロロゲン酸(純度

98%)は1mg/g実験飼料で行った。

行動実験: 攻撃行動はラットの胴体のサイズと同じ筒の中にラットを両側から同時に放して対戦させた。先に押し出されるか,あるいは自らの退却で筒外に先に出たら「負け」として行った。対戦時間は3分間とした。不安行動は,高架式十字迷路試験で,一匹5分間で行った。床から60cmの高さで両側に壁のないopen arm領域における末端と末端に近いA領域の滞在時間,立ち上がる回数,毛繕いの回数,髭の動きを観察・記録した。

運動はラット用トレッドミルを使用して週2回,1匹5分間で行った。

尚,動物実験は鹿児島純心大学動物実験指針に従って行った。



結 果

体重変動: 実験飼料により13週間のラットの餌摂取量は各食餌群間に有意な差は認められなかった。また,ラットの体重増加量についても,各食餌群間に有意な差は認められなかった(Fig. 2)。

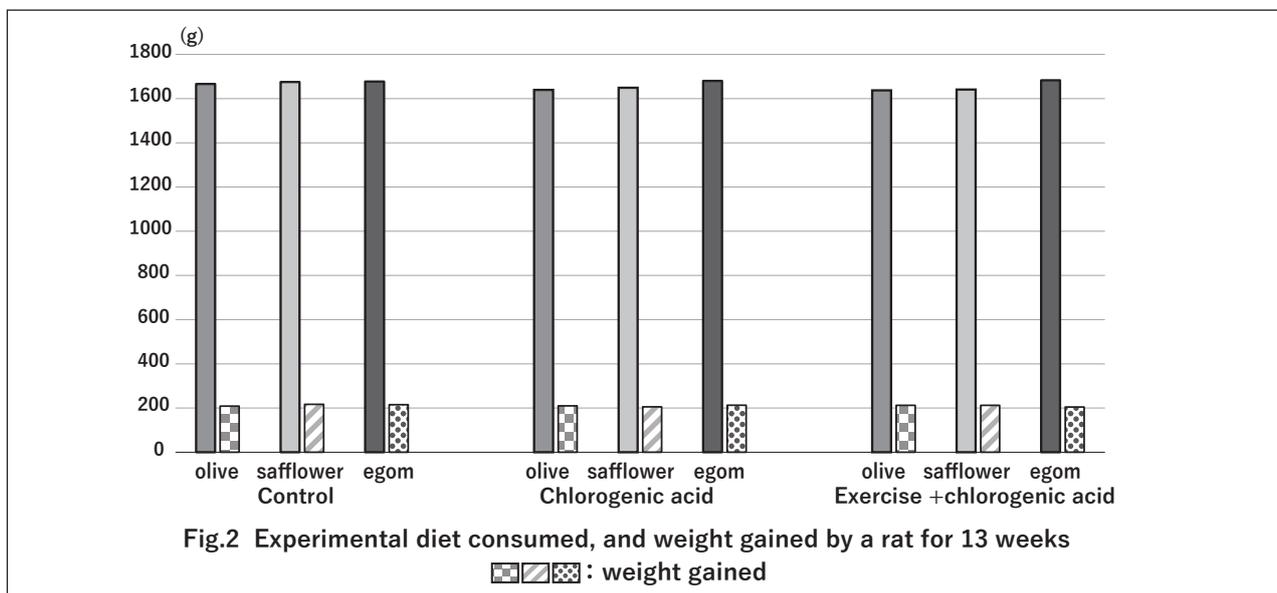
攻撃行動: クロロゲン酸摂取とコントロール(クロロゲン酸無し)との比較:

コントロールの攻撃性はオリーブ油が紅花油とエゴマ油より高い傾向を示した(Fig. 3)。

クロロゲン酸摂取はコントロールに比べて攻撃性は顕著に低いのが明らかとなった。オリーブ油は紅花油とエゴマ油より高い傾向を示した。

運動(クロロゲン酸添加)とクロロゲン酸摂取との比較:

運動した紅花油とエゴマ油では,クロロゲン酸添加より攻撃性は有意に上昇し,オリーブ油より高くなり,運動に影響された(Fig. 4)。一方,オリーブ油ではクロロゲン酸添加の方が,運動した群より攻撃性は上昇傾向を示し運動の影響は示されなかった。



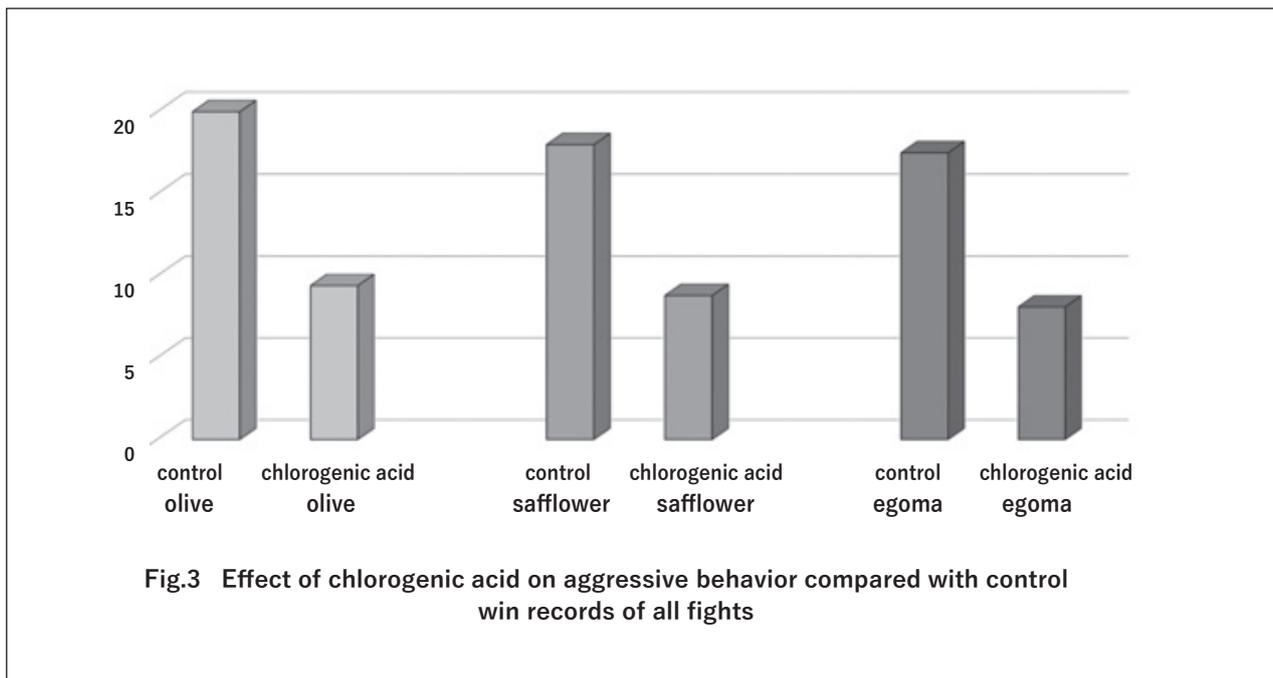


Fig.3 Effect of chlorogenic acid on aggressive behavior compared with control win records of all fights

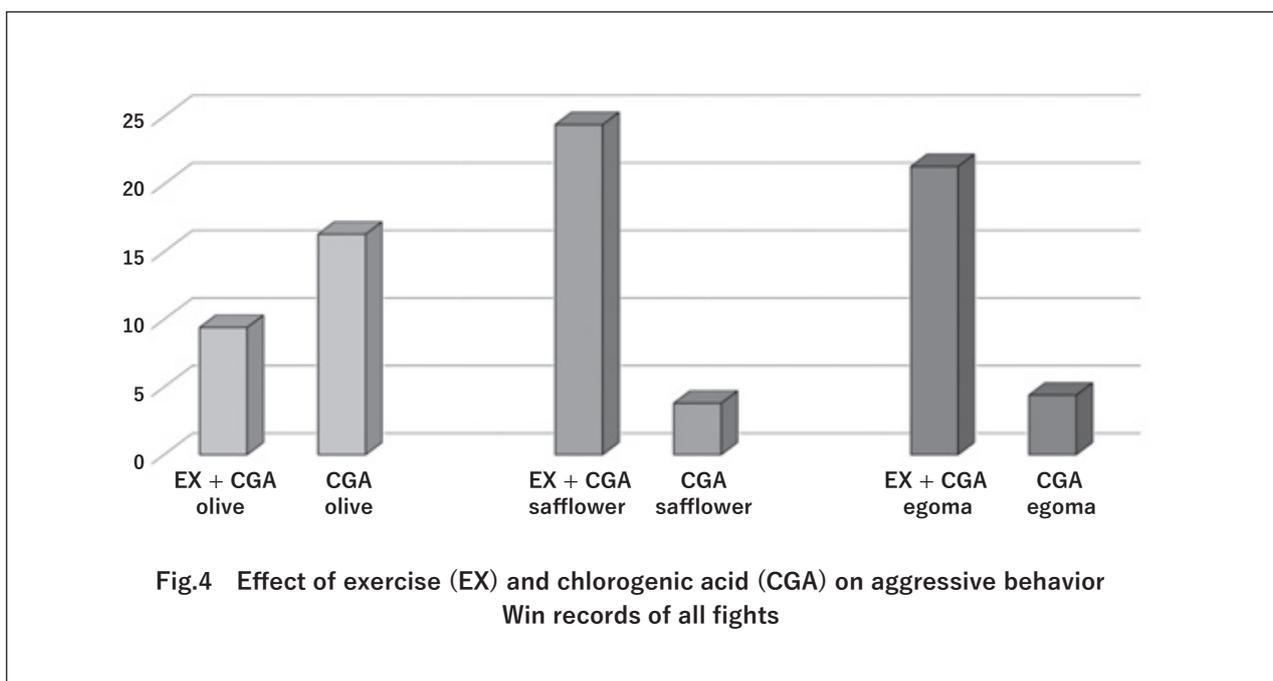


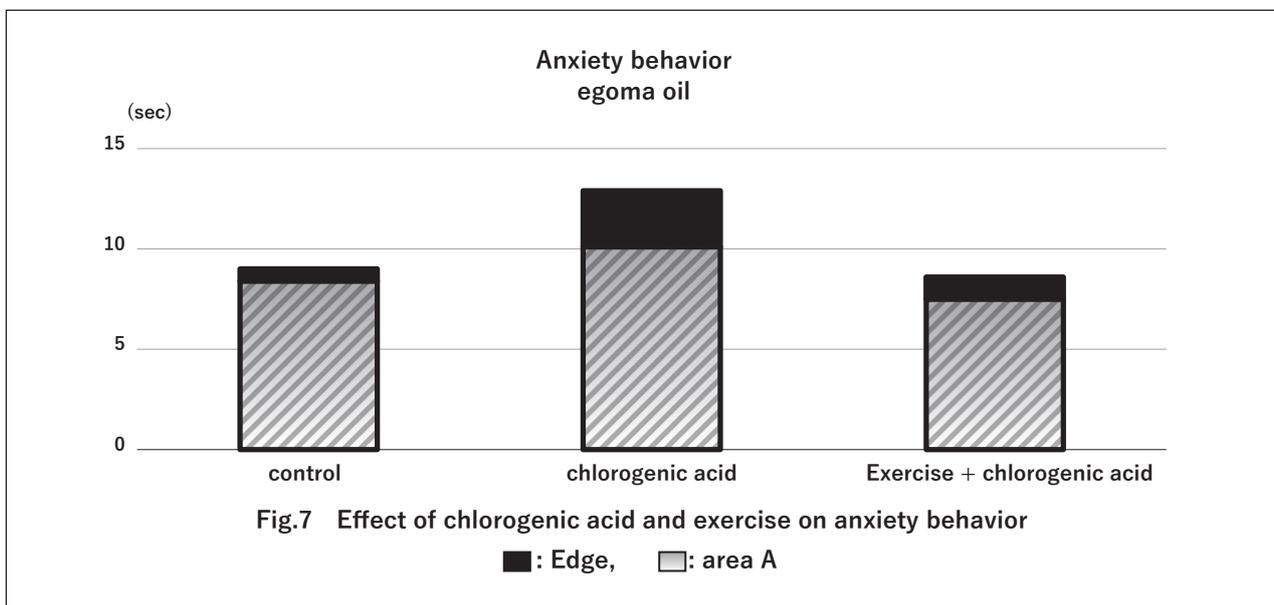
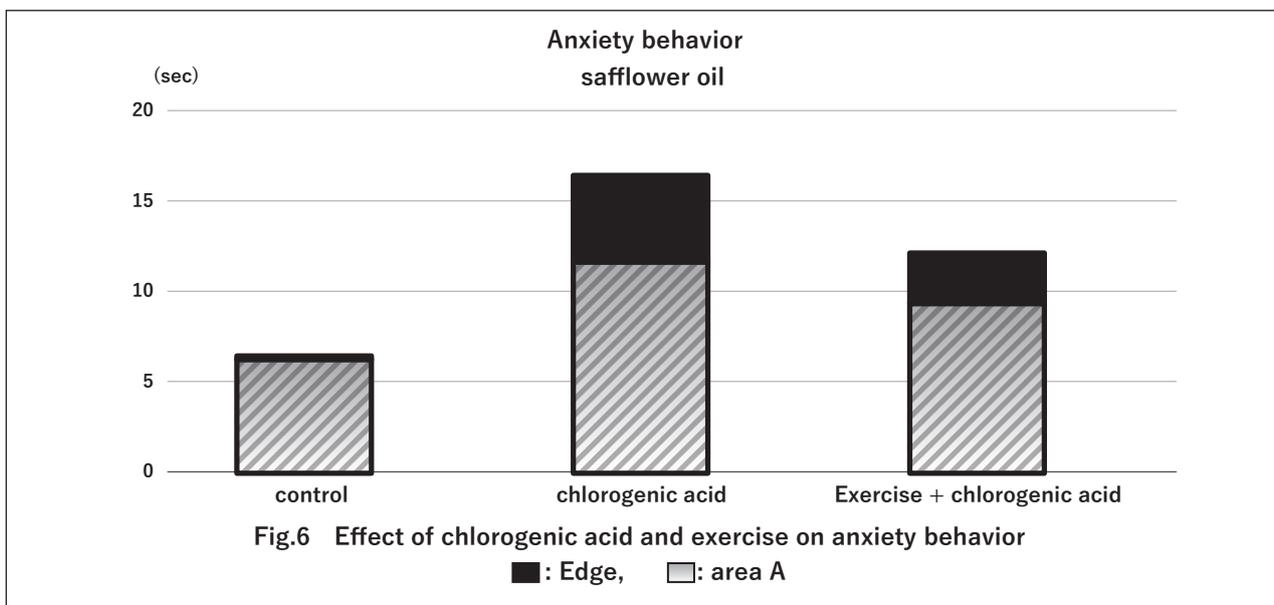
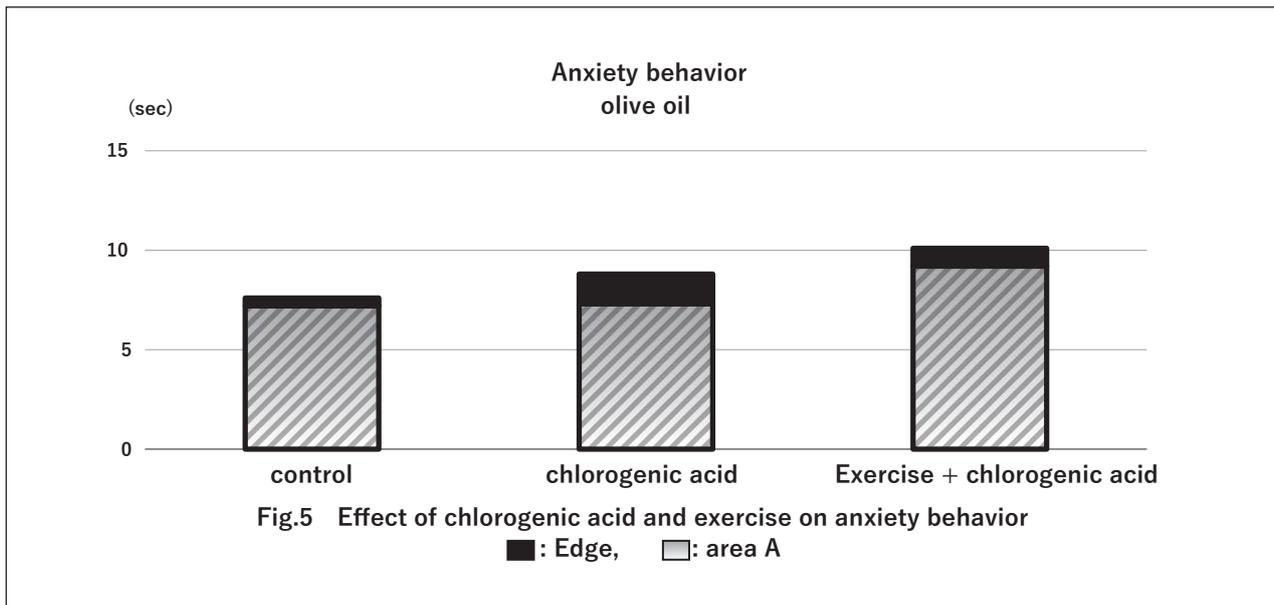
Fig.4 Effect of exercise (EX) and chlorogenic acid (CGA) on aggressive behavior Win records of all fights

不安行動：クロロゲン酸が不安行動に及ぼす影響
～脂肪酸同士の比較～

棒グラフの黒い部分はラットが床から 60 cm のオープンアームの末端に滞在した時間を表し、不安感が非常に低いことを示している (Fig. 5, 6, 7)。棒グラフの斜線部は末端より内側の A 領域に滞在した時間を表し、やや不安感を抱いている状態を示す。

コントロールではエゴマ油・オリーブ油・紅花油の不安感は同じ傾向を示した (Fig. 5, 6, 7)。クロロゲ

ン酸添加により、紅花油とエゴマ油の不安感はおリーブ油よりも顕著な減少を示した (Fig. 6, 7)。運動(クロロゲン酸添加)により不安感はおコントロールより減少したが、クロロゲン酸添加よりは小さい傾向であった (Fig. 5, 6)。以上の結果より不安感に対してクロロゲン酸は、オリーブ油では影響が殆ど見られなかった。対照的に、紅花油とエゴマ油とでは、不安感を減少させる効果が明らかとなった (Fig. 6, 7)。運動の効果は低かった。



考 察

本研究で使用したクロロゲン酸は純粋なもので、それ以外の成分は殆ど含まれていなかったが、攻撃行動つまり本実験では積極性とみなされる行動を活性化することが明らかとなった。クロロゲン酸摂取によりコントロールより攻撃性が低下したことは、感情的な行動が治まる可能性を示唆している。しかし、運動をすると、クロロゲン酸の効果は、n-6系紅花油やn-3系エゴマ油の効果は消去され、運動そのものの効果になると考えられる。運動した場合、n-9系オリーブ油では影響が少ないと示唆された。

不安感の改善にはn-6系やn-3系脂肪酸の方がn-9系オリーブ油より効果があることが示唆された。尚、クロロゲン酸の効果的な投与の詳細に関しては更なる検討が残されている。

結 論

1. 攻撃性は、クロロゲン酸摂取では脂肪酸の質に関わらずコントロールより低下した。
2. 運動とクロロゲン酸の相互作用は、n-6系紅花油とn-3系エゴマ油ではクロロゲン酸だけに比べて攻撃性は有意に上昇した。
3. 不安感は、クロロゲン酸摂取により紅花油とエゴマ油で低下したが、オリーブ油では影響なかった。
4. クロロゲン酸は攻撃性や不安感に対しての影響は、脂肪酸の質により異なることが明らかとなった。

引用文献

- 1) Miyazaki S., Fujita Y., et al., Combination of syringaresinol-di-O- β -D-glucoside and chlorogenic acid shows behavioral pharmacological anxiolytic activity and activation of hippocampal BD-NF-TrkB signaling. *Sci Rep.*, 10:18177, 2020
- 2) Tenore G.C., Daglia M., et al., Coffee and Depression: A short review of literature. *Curr Pharm Des.*, 21: 5034-5040, 2015
- 3) Miao M., Xiang L., Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid. *Adv.Pharmacol.*, 87:71-88, 2020
- 4) Bisht A., Dickens M., et al., Chlorogenic acid potentiates the anti-inflammatory activity of curcumin in LPS-stimulated THP-1 cells. *Nutrients*, 12(9), E2706, 2020
- 5) Lim D.W., Yoo G., Lee C., Dried loquat fruit extract containing chlorogenic acid prevents depressive-like behaviors induced by repeated corticosteroid injections in mice. *Molecules*, 28:5612, 2023
- 6) Yamamoto N., Saitoh M., Moriuchi A., Nomura M. and Okuyama H., Effect of dietary α -linolenate/linoleate balance on brain lipid composition and learning ability of rats. *J.Lipid Res.*, 28:144-151, 1987

Effect of chlorogenic acid and n-3, n-6, n-9 series polyunsaturated fatty acids on aggressive and anxiety behaviors of rats

Keiko Sakai, Sakurako Aozaki, Hiroyuki Arima, Rinka Nanamura, Chika Obama

Department of Nutrition, Faculty of Nursing and Nutrition,
Kagoshima Immaculate Heart University

Keywords: chlorogenic acid, aggressive behavior, anxiety behavior, n-3, n-6, n-9 polyunsaturated fatty acid, exercise

Abstract

Purpose : Chlorogenic acid from green beans of coffee provides antidepressant effects and reducing anxiety behavior. However, it is still unknown the effect of the combination of chlorogenic acid and polyunsaturated fatty acids (PUFAs) on aggressive behavior and anxiety behavior. Therefore, the aim of this study, we researched the effects of chlorogenic acid with n-9, n-6, n-3 PUFAs on the aggressive and the anxiety behaviors of rats.

Method : Sprague-Dawley rats were randomly divided into control/chlorogenic acid/Exercise with chlorogenic acid groups. Then, each group were divided into n-9, n-6, n-3 PUFAs groups. Experimental diet : rats of each group were fed same nutrients except lipid and chlorogenic acid. Further, rats fed same amount of calories a day for thirteen weeks.

Result : In aggressive behavior, the diets of all chlorogenic acid groups reduced better than control groups (without chlorogenic acid). The exercise with chlorogenic acid affected n-6 series safflower oil group and n-3 series egoma oil group significantly higher than n-9 series olive oil group. In anxiety behavior, chlorogenic acid showed reducing anxiety much better than exercise group in safflower oil and egoma oil groups and not olive oil group.

Conclusion : The effect of chlorogenic acid showed different in aggressive behavior and anxiety behavior among n-9, n-6, n-3 PUFA groups.
