

## 脂質過剰食のラットの自発運動と不安行動における 動物性たんぱく質と植物性たんぱく質の比較

坂井 恵子, 福重 琴子

### 要 約

【目的】脂質過剰食（HFD）における動物性と植物性たんぱく質がラットの自発的な輪回し行動と不安行動に及ぼす影響について、脂質の質との関連性を検討した。

【方法】4週齢の Sprague-Dawley 系雌ラットを各食餌群に無作為に分けて実験飼料で12週間飼育した。実験飼料は動物性たんぱく質としてカゼイン、植物性たんぱく質として大豆たんぱく、脂質はそれぞれのたんぱく質群を n-9 系オレイン酸を主成分とするオリーブ油と n-3 系  $\alpha$ -リノレン酸を主成分とするエゴマ油を使用し、その他の成分はすべて同じで行った。行動実験は回転式運動測定装置および高架式十字迷路試験を用いてそれぞれ自発運動と不安行動を観察した。

【結果】各食餌群間の摂取カロリー量を同一にした時、輪回し行動による自発運動では、カゼインと大豆たんぱくともエゴマ油との組み合わせにおいて HFD の方が標準食よりも多い傾向がみられ、特に大豆たんぱく質で顕著であった。HFD における不安行動では、カゼインと大豆たんぱく質の影響よりも、食べ合わせの脂質の質によって変動することが認められた。HFD を標準食と同じカロリー量で摂取すると、カゼインと大豆たんぱく質ともにエゴマ油の方がオリーブ油よりオープン末端領域の滞在時間が長かったのと、髭の動きから不安感が少ない行動であった。

【考察】動物性たんぱく質や植物性たんぱく質は同時に摂取する脂質の質によって自発運動や不安行動が異なることが明らかとなった。特に不安行動ではたんぱく質よりも脂質の質の影響が大きいことが認められた。

キーワード：脂質過剰食／High Fat Diet, 自発運動, 輪回し運動, 不安行動

### 緒 言

先行研究において著者等は脂質の質の違いにより不安行動が異なることを明らかにした<sup>1,2,3)</sup>。しかしながら、同時摂取のたんぱく質と脂質との相互作用が行動に及ぼす影響については未だ明らかではない。食物由来のたんぱく質には小麦のグルテン、ミルクのカゼインや大豆のイソフラボンなどオピオイド受容体のリガンドとなるペプチドが含まれていることが明らかにされてきた<sup>4,5)</sup>。それらのたんぱく質は統合失調症や自閉症などの情動行動<sup>6,7)</sup>、さらに攻撃行動・社会的行動・学習理解等に影響があると報告されている<sup>8,9,10)</sup>。一方、肥満を誘導する食餌は不安行動や学習理解に関与していることが示唆されている<sup>11-14)</sup>。本研究では、動物性と植物性たんぱく質が脂質の質の違いとの相互関係により自発的運動や不安行動に及ぼす影響について検討を行った。

### 方 法

動物実験：4週齢の Sprague-Dawley (SD) 系雌ラット (SLC, 静岡) を 8 群に分け (Fig.1), 実験飼料で12週間飼育した。飼育は室温 25℃, 12 時間明暗周期で行った。

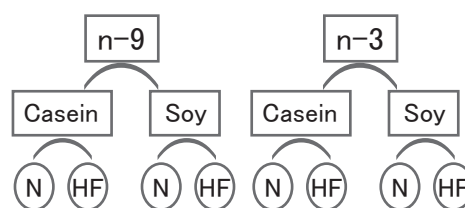


Fig.1 Groups of experiment.

n-9: olive oil, n-3: egoma oil,  
N: normal diet, HF: high fat diet

Table 1 Experimental Diets (g)

group	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
protein	casein	casein	soy	soy	casein	casein	soy	soy
lipid	Olive N	Olive HFD	Olive N	Olive HFD	Egoma N	Egoma HFD	Egoma N	Egoma HFD
Cornstarch	257	88	257	88	257	88	257	88
casein	100	154	0	0	100	154	0	0
soybean	0	0	100	154	0	0	100	154
Olive oil	55	106	55	106	0	0	0	0
Egoma oil	0	0	0	0	55	106	55	106

実験飼料：動物性たんぱく質としてカゼイン (wako), 植物性たんぱく質として大豆たんぱく質 (wako) を使用し, それぞれのたんぱく質群を n-9 系オレイン酸含有オリーブ油 (wako) と n-3 系の  $\alpha$ -リノレン酸含有エゴマ油 (朝日 ST) に分け, 更に各脂質群を標準食 (normal と脂質過剰食 (HFD) とに分けて行った (Table 1)。その他の飼料の成分はコーンスターチ (日本澱粉株), シュクロース (wako), セルロース (ナカライ株), ミネラルミックス (オリエンタル酵母株), ビタミンミックス (SLC 株), コリン (wako) であった。糖質・たんぱく質・脂質のエネルギー % は標準食が 58%・19%・23% とし, HFD は 26%・29%・45% とで行った。実験飼料は各群ともカロリー量を同じにして投与し, 翌日残量を測定して摂取量を記録した。水は自由摂取で行った。

行動実験：自発運動はラット用回転式運動測定装置 (輪回し空間: 直径 38 cm, 幅 9.5 cm) (Fig.2) を使用して, 5 分間の自発運動における回転輪内の滞在時間, 回転数および回転輪と前室間の移動回数, 毛づくろい時

間などの記録を行った (Fig.2)。不安行動は高架式十字迷路試験を既報<sup>2)</sup>と同様に行った。

尚, 動物実験は鹿児島純心女子大学動物実験指針に従って行われた。

## 結果

自発運動：輪回し行動の回転数は, カゼインと大豆たんぱく質とも, エゴマ油との組み合わせからは HFD の方が標準食よりも多い傾向がみられ, 特に大豆たんぱく質で顕著であった (Fig.3A.)。一方, オリー

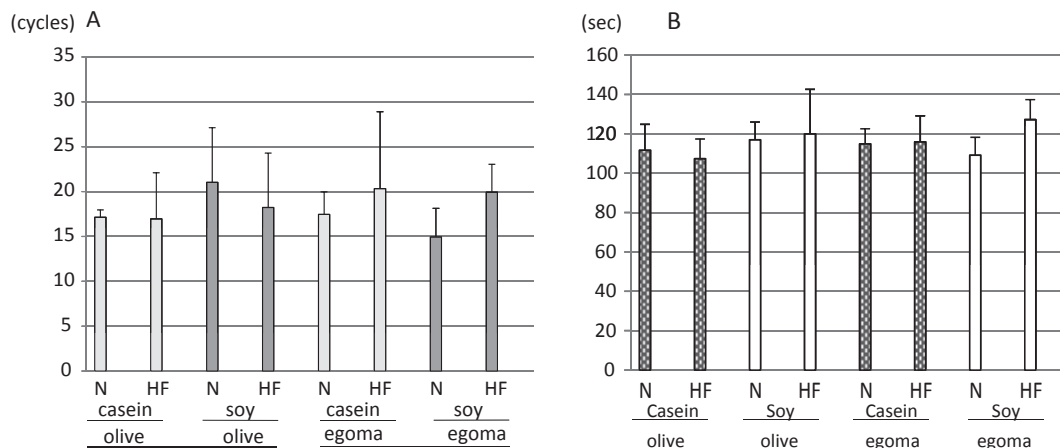
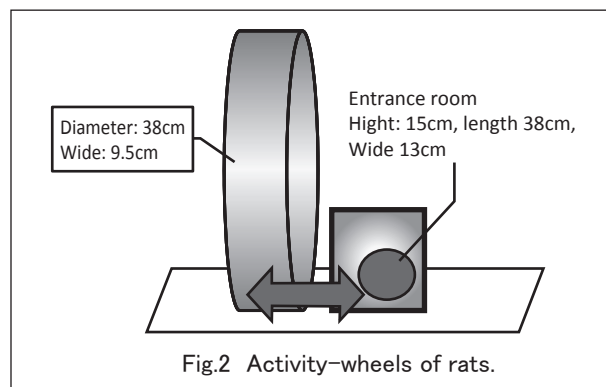


Fig.3 A: Spontaneous activity on wheel running in rats fed each experimental diet.  
B: The staying time of rats at the wheel place.

ブ油との組み合わせではカゼインと大豆たんぱくとも標準食とHFDは同じ傾向で差は認められなかった。また、回転輪の滞在時間は、各食餌群間に差は認められなかった (Fig.3B)。

不安行動：高架式十字迷路試験でのオープンアームの末端 (Edge) と末端に近い領域 (A 領域) について滞在時間、末端から下を覗いた回数、末端での髭の動きを観察し、不安様行動の測定・観察を行った (Fig.4)。オープンアームの末端の滞在時間は、カゼインの場合 HFD のオリーブ油は標準食 (Normal : N) より長く、逆にエゴマ油は N より低い傾向であった (Fig.4 I, II)。大豆たんぱく質の場合は、オリーブ油とエゴマ油ともに HFD の方が N より高い傾向をしめした。オープンアームの A 領域の滞在時間は、カ

ゼインの場合 HFD のオリーブ油は Edge と同じく標準食 (Normal : N) より高い傾向を示した (Fig.4 III)。一方、エゴマ油とでは HFD と N は同じレベルを示した (Fig.4 IV)。大豆たんぱく質の場合は HFD のオリーブ油とエゴマ油は Edge と同じく N より高い傾向を示した。また、Edge と A 領域の滞在時間は、カゼインと大豆たんぱく質のそれぞれにおいてエゴマ油の方がオリーブ油よりも高い傾向を示した。

次に床から 60 cm の高さにあるオープンアームの末端から下を覗き込む行動において、大豆たんぱく質ではオリーブ油とエゴマ油ともに HFD の方が N より多い傾向を示した (Fig.5)。カゼインではエゴマ油の方が HFD や N とともにオリーブ油よりも高い傾向を示した。

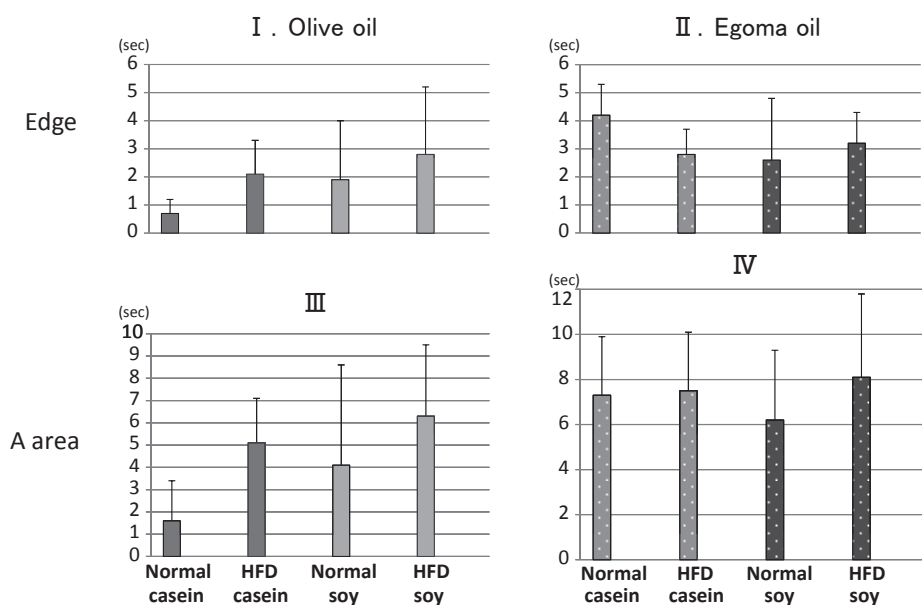


Fig.4 Anxiety behavior of rats fed either casein or soy protein at Edge ( I , II ) and A area ( III , IV ) by Elevated plus maze test.

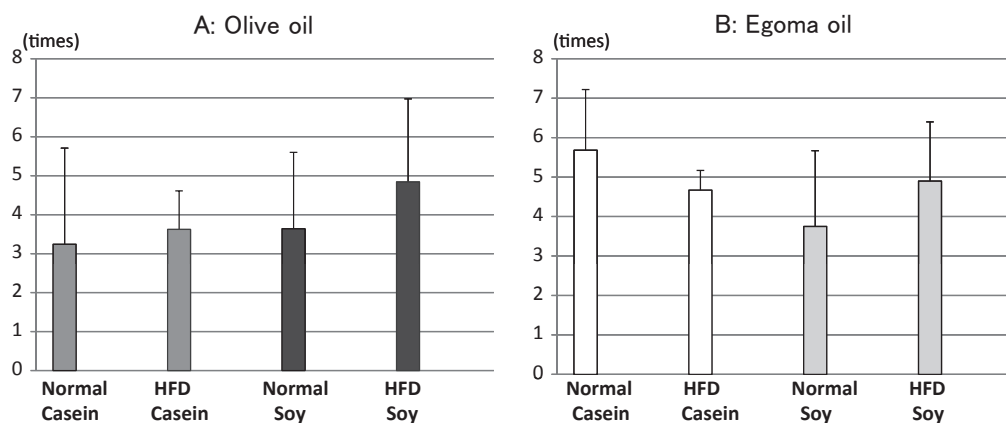
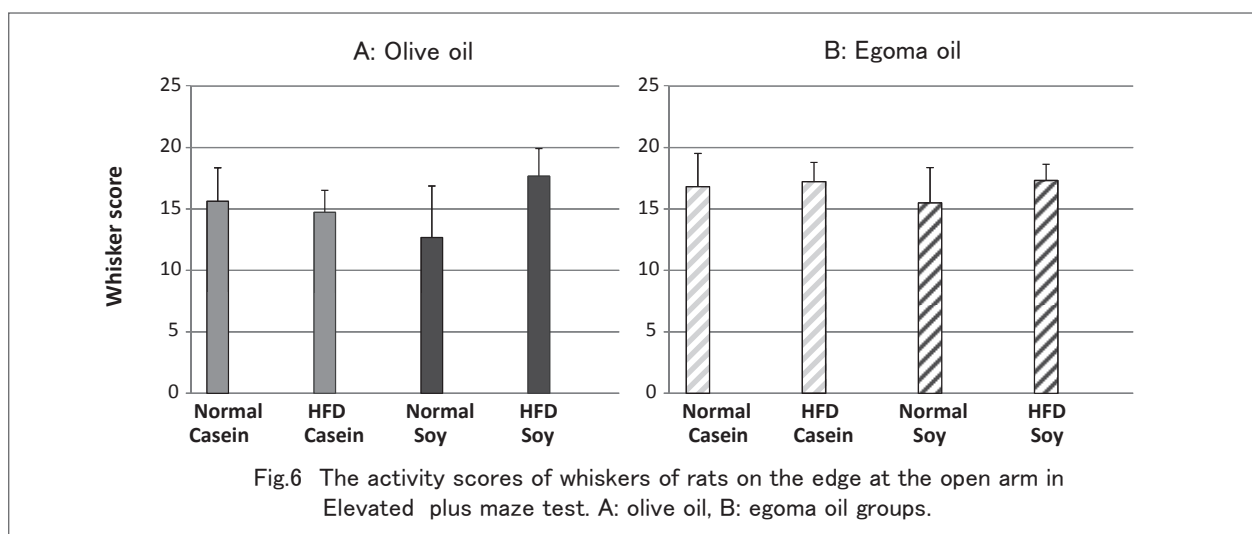


Fig.5 Frequency of looking down from the edge of the open arm at Elevated plus maze test. A: olive oil groups, B: egoma oil groups.

オープンアームの末端でのラットの髭の動きをみると、大豆たんぱく質とオリーブ油の場合、Nは髭の動きが他の群に比べて少なかった (Fig.6)。カゼイン

と大豆たんぱく質はエゴマ油の方がHFDとNともにオリーブ油より髭が良く動く傾向を示した。



## 考 察

たんぱく質の動物性と植物性の違いがラットの自発運動や不安行動に及ぼす影響について、脂質過剰食と標準食をそれぞれ同カロリー／日投与で検討を行った。

輪回し行動は概日リズムの行動やメタボリック症候群の改善などで研究されているが<sup>15-17)</sup>、本研究では不安行動との関連性について検討を行った。輪回し行動の結果からみた自発的行動ではたんぱく質や脂質の質の違いに関わらず影響は少なかった。著者らは先行研究で不安行動をオリーブ油とエゴマ油で比較した時には両者の油の質の違いで行動に影響がみられた<sup>1-3)</sup>のに比べて、自発行動は不安行動とは異なるメカニズムの関与があると示唆された。

不安行動においては、たんぱく質の違いより脂質の質の影響が大きいことが明らかとなった。HFDのマウスでは、不安行動がコントロールマウスより低かったとの報告<sup>14)</sup>があるが、本研究のラットでもオリーブ油群では、HFDの方が標準食よりオープン領域に出る行動が多い傾向であった (Fig.4)。エゴマ油群では、HFDと標準食はともにオリーブ油群よりオープン末端やA領域へ多く出る傾向であった。オープン末端から下を覗き込む回数が顕著なのはカゼインとエゴマ油の組合せの標準食とHFDであった (Fig.5)。更に、オープン末端でのラットの髭の動きからエゴマ油の方がカゼインや大豆とともに良く動く傾向であったので不安感は少なかったと考えられる。本研究での実際のエゴマ油摂取のラットの末端での行動は不安よりも興味をそそのめるのか、あるいは危険

の感覚が鈍いのか、いずれにしろ不安感情というよりリラックスしている気配がみられた。エゴマ油がオリーブ油より不安感情が低いのは、魚油が不安症状を示さなかった既報<sup>18)</sup>と似ていたことから不安感情にはたんぱく質より脂質の質の影響が大きいことが示唆された。

## 結 論

不安行動

1. 脂質過剰食における動物性たんぱく質と植物性たんぱく質がラットの不安行動に及ぼす影響は、食べ合わせの脂質の質によって変動することが明らかとなった。
2. 脂質過剰食が標準食と同じカロリーを摂取した場合、n-3系のエゴマ油の方がn-9系のオリーブ油よりカゼインと大豆たんぱく質において不安行動は低く、落ち着いていたのが観察された。

## 参考文献

- 1) 坂井恵子, 末田 渚 他, 脂質過剰食の過剰摂取はラットの攻撃行動を抑制した. 鹿児島純心女子大学看護栄養学部紀要, 19: 14-19, 2015
- 2) 坂井恵子, 久野知美 他, 脂質過剰食と糖質過剰食がダイエットの体重・身長変動と攻撃・不安行動に及ぼす影響. 鹿児島純心女子大学看護栄養学部紀要, 18: 19-25, 2014
- 3) 坂井恵子, 中尾礼奈 他, 大豆たんぱく質とオリーブオイルおよびエゴマ油がストレス負荷ラットの攻撃性に及ぼす影響. 鹿児島純心女子大学看護栄

- 養学部紀要, 16 : 7-12, 2012
- 4) Teschemacher H, Opioid receptor ligands derived from food proteins. *Curr Pharm Des.* 9 : 1331-1344, 2003
  - 5) Yoshikawa M, Takahashi M, Yang S, Delta opioid peptides derived from plant proteins. *Curr Pharm Des*, 9 : 1325-1330, 2003
  - 6) Lister J, Fletcher PJ, et al : Behavioral effects of food-derived opioid-like peptides in rodents. *Pharmacol Biochem Behav.*, 134 : 70-78, 2015
  - 7) Trivedi MS, Shah JS, et al : Food-derived opioid peptides inhibit cysteine uptake with redox and epigenetic consequences. *J Nutr Biochem*, 25 : 1011-1018, 2014
  - 8) Simon NG, Kaplan JR, et al : Increased aggressive behavior and decreased affiliative behavior in adult male monkeys after long-term consumption of diets rich in soy protein and isoflavones. *Horm Behav*, 45 : 278-284, 2004
  - 9) Lephart ED, West TW, et al : Neurobehavioral effects of dietary soy phytoestrogens. *Neurotoxicol Teratol*, 24 : 5-16, 2002
  - 10) Heather J Leidy, Chelsie B Todd, et al : Consuming high-protein soy snacks affects appetite control, satiety, and diet quality in young people and influences select aspects of mood and cognition. *J Nutr*, 145 : 1614-1622, 2015
  - 11) Andre C, Dinel AL, et al : Diet-induced obesity progressively alters cognition, anxiety-like behavior and lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior. *Brain Behav Immun*, 41 : 10-21, 2014
  - 12) Ohland CL, Pankiv E, et al : Western diet-induced anxiolytic effects in mice are associated with alterations in tryptophan metabolism. *Nutr Neurosci*, Jun 18.Epub. 2015
  - 13) Mugnusson KR, Hauck L, et al : Relationships between diet-related changes in the gut microbiome and cognitive flexibility. *Neuroscience*, 300 : 128-140, 2015
  - 14) Pyndt Jorgensen B, Hansen JT, : A possible link between food and mood. *PLoS One.* 9 : e103398, 2014
  - 15) De Matteis R, Lucertini F, et al., Exercise as a new physiological stimulus for brown adipose tissue activity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 23:582-590, 2013
  - 16) Vojtech Skop, Hana Malinska, et al., Positive effects of voluntary running on metabolic syndrome-related disorders in non-obese hereditary hypertriacylglycerolemic rats. *Plos One*, 10:e0122768, 2015
  - 17) 吉田和典, Tsukuba 情動系ラットの概日リズムの特徴: 輪回し行動による検討. 仁愛大学研究紀要, 8: 53-59, 2009
  - 18) Kuhn FT, Roversi K, et al : Influence of trans fat and omega-3 on the preference of psychostimulant drugs in the first generation of young rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 110 : 58-65, 2013

## The comparison of animal protein and plant protein on spontaneous wheel running and anxious behavior of rats fed high fat diet.

Keiko Sakai, Kotomi Fukushige

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

Key words : high fat diet, spontaneous wheel running, anxious behavior,  
soy protein/soybean protein, fatty acid

### Abstract

Purpose: the aim of this study was to investigate the difference between casein and soy protein with either olive oil (n-9 series fatty acid) or egoma oil (n-3 series fatty acid) on spontaneous exercise and anxious behavior of rats fed high fat diet.

Method: Sprague-Dawley rats fed either casein or soy protein with olive oil or egoma oil for twelve weeks. Further, each diet group had both high fat diet (HFD) and Normal diet. Behavior experiment was conducted by Spontaneous Wheel Running and Elevated Plus Maze test. Animal experiment was approved by institutional committee.

Result: In this study, rats of each diet group was fed same amount of calories. The spontaneous activity was higher in HFD of egoma oil with casein and soy protein than Normal diet, especially soy protein with egoma oil. Anxious behavior of HFD was influenced by quality of fatty acids rather than quality of protein. Egoma oil with casein and soy protein showed longer staying time at edge of open area on elevated plus maze than olive oil. However, the high activity of whiskers of egoma oil at the edge area seems to be curiosity rather than anxiety.

Conclusion: Spontaneous exercise and anxious behavior were influenced by both protein and fatty acid. Anxious behavior was depend on quality of fatty acid rather than protein.

---