

乳酸菌摂取と脂質および自発運動が ラットの攻撃行動に及ぼす影響

坂井 恵子, 吉田 有希, 古河 里菜

要 約

目的：乳酸菌摂取の効果は、腸内環境を良好に保ち健康維持に寄与すると報告されているが、乳酸菌摂取と情動機能との関係については未だ明らかでない。本研究では、情動機能の一つである攻撃行動における、脂質の質の違いと自発運動が乳酸菌摂取の効果に与える影響について比較検討を行った。

方法：Sprague-dawley 系雌ラットの4週齢を実験飼料で12週間飼育を行った。実験飼料は標準食と乳酸菌含有食（乳酸菌食）に分け、各々を脂質としてオリーブ油、エゴマ油、コーン油を使用した食餌群に分けた。糖質、たんぱく質、脂質のエネルギー%は、標準食および乳酸菌食ともに57.3%, 19.1%, 23.6%であった。更に、各食餌群の中に自発運動の有り・無しของกลุ่มを設定して行った。**行動実験**：実験飼料で飼育後3週目より最終週まで既報¹⁾の方法で行った。対戦時間は3分間とし、先に筒から出た方を負けとして行った。尚、本研究の動物実験は鹿兒島純心女子大学動物実験指針に従って行った。

結果：乳酸菌摂取における脂肪酸と自発運動がラットの攻撃行動に及ぼす影響をみると、オリーブ油とエゴマ油は同じ傾向を示し、自発運動の有りの場合の乳酸菌食の攻撃性は標準食より低くなり、特にエゴマ油では有意に低下したのが認められた。一方、コーン油では、自発運動の有りの場合の乳酸菌食の攻撃性は標準食より高い傾向を示し、自発運動の無い場合の乳酸菌食より有意に上昇した。乳酸菌食の影響は自発運動の有無に関わらずエゴマ油群で顕著であった。また、自発運動の効果については、コーン油の攻撃パターンはエゴマ油やオリーブ油とは異なっていた。

結論：乳酸菌摂取の効果は同時摂取による脂質の質および自発運動を行うことによって変動したので、ヒトでも同様のことが生じる可能性が示唆された。

1) 坂井恵子他, 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. 鹿兒島純心女子大学看護栄養学部紀要, 18: 19-25, 2014

キーワード：乳酸菌, 脂肪酸の質, 自発運動, 攻撃行動

緒 言

人体には100兆個もの腸内細菌が棲みつき、宿主の健康維持・増進に関与していることが数多く報告されている¹⁻³⁾。その腸内細菌の中でも善玉菌としての乳酸菌については整腸作用以外に腸管免疫機能や抗アレルギー作用、がん抑制機能などのヒトにとって有効な効果が報告されている⁴⁻⁶⁾。そして、日常私たちが摂取する乳酸菌としては、生きているものだけでなく死んだ乳酸菌であっても効果があるとされる⁷⁾。乳酸菌の働きとして健康維持だけでなく行動にも影響していると考えられるが、未だに明らかになっていない。本研究では、乳酸菌摂取が情動機能の一つである攻撃行動に及ぼす影響について、脂肪

酸の質との関係および自発運動との関係の比較検討を行った。

方 法

実験動物：Sprague-Dawley 系雌ラット (SLC, 静岡) の4週齢を実験飼料で12週間飼育を行った。飼育は、24℃, 12時間明暗周期であった。実験飼料は標準食 (control) と乳酸菌含有食 (lact, lactic diet) に分け、それぞれの食餌群を脂質としてオリーブ油 (和光純薬), エゴマ油 (朝日 ST), コーン油 (和光純薬) を使用する群に分けて行った (Table 1)。

糖質, たんぱく質, 脂質のエネルギー%は、標準食および乳酸食ともに57.3%, 19.1%, 23.6%であった。餌は、全群ともに同じカロリー量として毎日投与し、翌日残量を計り、摂取量を記録した。水は自由摂取

であった。体重は週に1回測定をおこなった。

攻撃行動：実験飼料で飼育後3週目より11週目まで既報⁸⁾の方法で行った。自発運動：各食餌群は自発運動の有り・無しของกลุ่มに分け、「有り」のグループのラットは、ラット用回転式運動測定装置を用いて週2回3分間の自発運動の機会を設けた。

結果

体重変動：実験飼料の実験全期間中の摂取量には、各食餌群間に有意な差は認められなかった (data not shown)。実験飼料で12週間飼育後のラットの体重増加量は、自発運動をしない群において、オリーブ油とエゴマ油では乳酸菌食の方が標準食よりも有意な体重の増加がみられた。それはコーン油の乳酸菌食よりも有意に高かった (Fig. 1)。一方、自発運動を行った群では、各食餌群間の体重増加量に有意な差はなかった。

攻撃行動における脂質の質の違いの影響：標準食 (control) では各オイル群間における攻撃行動では、自発

運動の有無に関わらず有意な差は認められなかった (Fig. 2A)。乳酸菌食の攻撃行動は、自発運動無しの各オイル群間に差はなかったが、自発運動有りでは、コーン油群がエゴマ油群より有意に高くなったのが、認められた (Fig. 2B)。

攻撃行動における自発運動の影響：標準食では、自発運動有りの方が無しに比べて高くなる傾向がオリーブ油、エゴマ油、コーン油でみられた (Fig. 3A)。一方、乳酸菌食では、コーン油群において自発運動有りの方が無しに比べて有意に攻撃行動は高くなった (Fig.3B)。対照的にオリーブ油群とエゴマ油群では、自発運動有りでは無しに比べて低くなり、エゴマ油では有意に低かった。

乳酸菌と自発運動と脂肪酸が攻撃行動に及ぼす影響：乳酸菌の有無、自発運動の有無さらに脂肪酸の違いが攻撃行動に及ぼす影響をみると、オリーブ油群とエゴマ油群はよく似たパターンを示した (Fig. 4)。対照的に、コーン油群は自発運動の有無において、オリーブ油群やエゴマ油群と逆のパターンを示した。

Table 1 Composition of experimental diet. (g)

	I control olive	II control egoma	III control corn	IV Lact olive	V Lact egoma	VI Lact corn
Corn starch	250	250	250	242	242	242
sucrose	50	50	50	50	50	50
casein	100	100	100	95	95	95
cellulose	21.25	21.25	21.25	21.25	21.25	21.25
Mineral mix	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5
Vitamin mix	5	5	5	5	5	5
choline	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
lipid	55	55	55	49	49	49
yogurt	0	0	0	200*	200*	200*

*Cremoris FC, Acetobacter orientalis FA

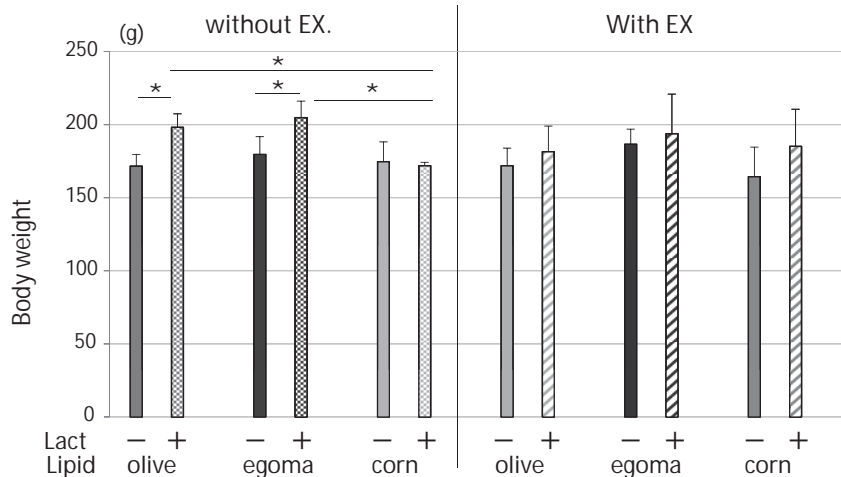


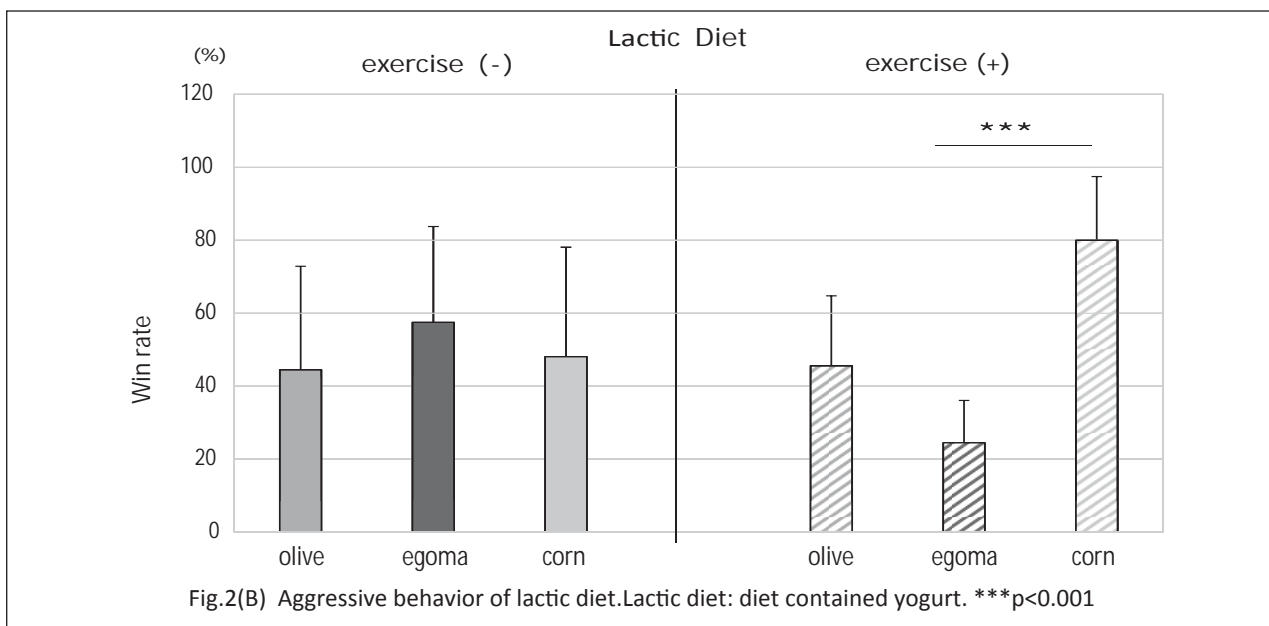
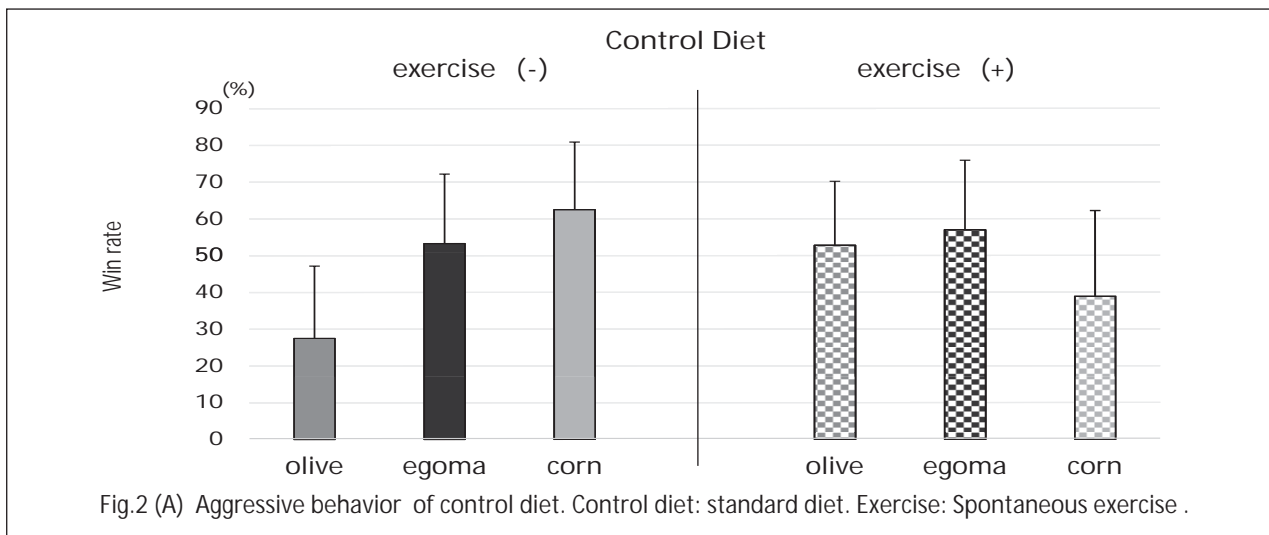
Fig.1 Weight gain of rats fed experimental diets for 12 weeks. EX: spontaneous exercise. Lact: diet contained yogurt (line pattern). n=3 to 5. Significance for multiple comparisons. t test: *p<0.05. Data presented as mean ±SD.

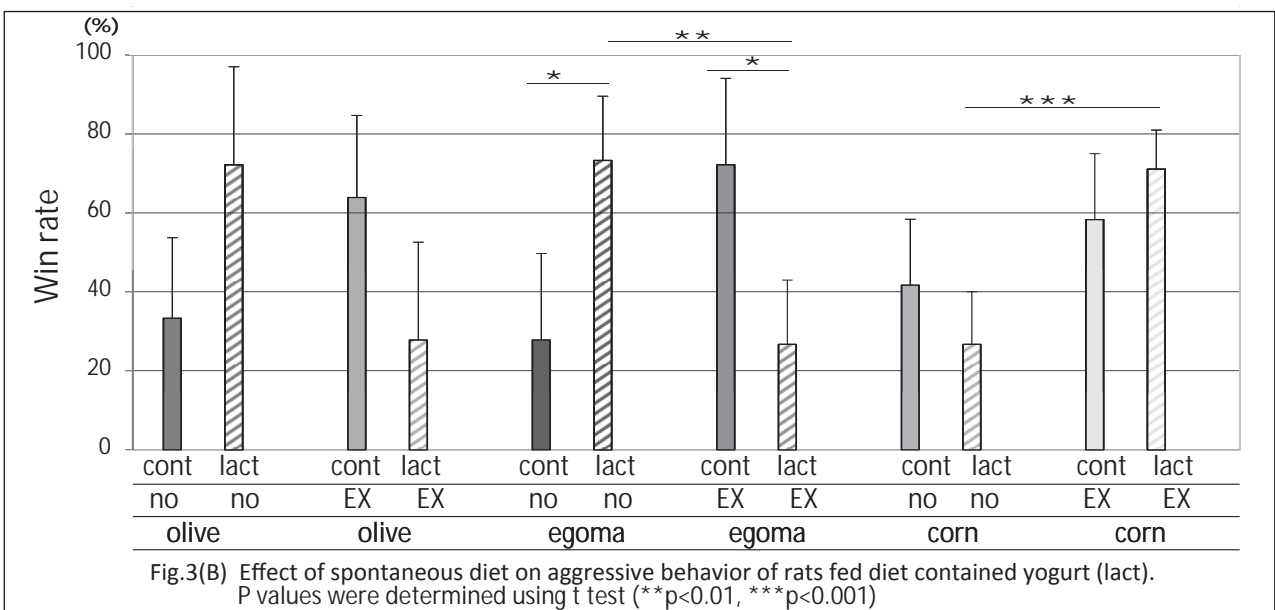
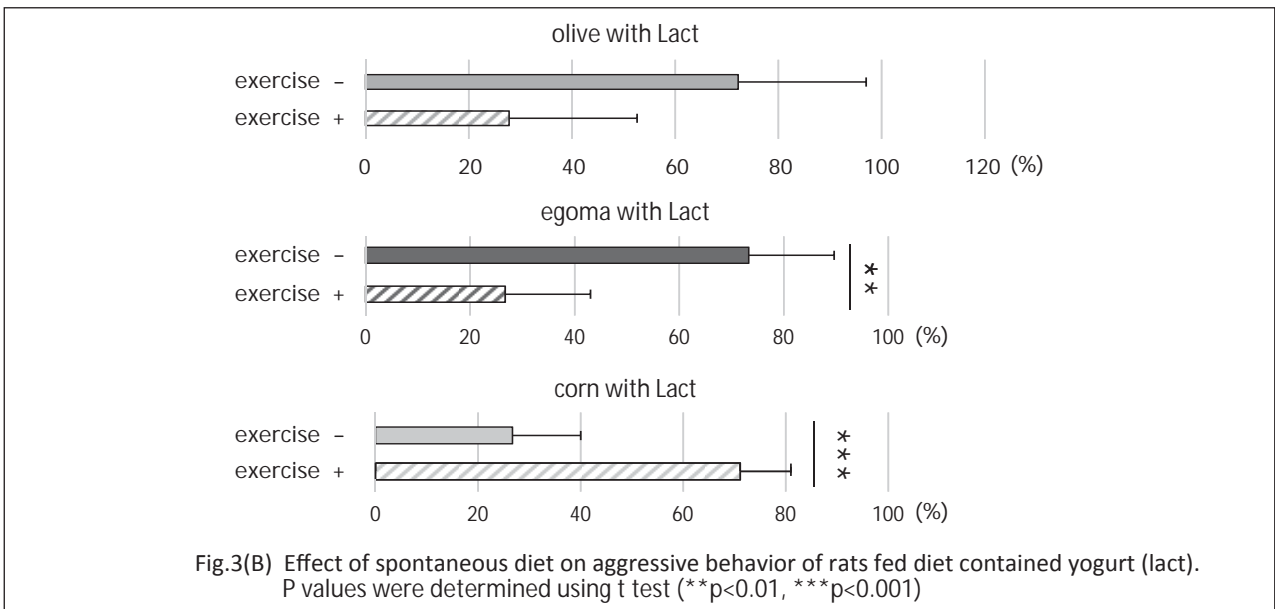
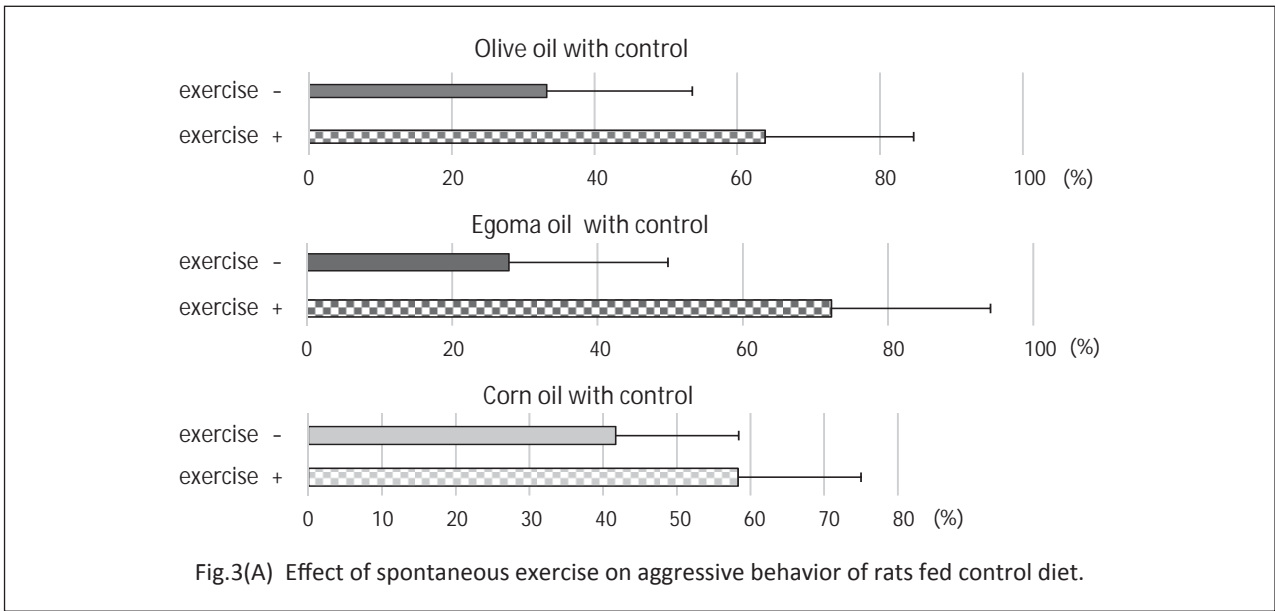
更に、乳酸菌食の有無についてもオリーブ油群やエゴマ油群と逆のパターンであった。

考 察

本研究では、乳酸菌摂取における脂質の質の影響と自発運動の影響についてラットの攻撃行動実験による検討を行った。攻撃行動実験では、攻撃性の測定方法によって“襲撃性”的な行動の評価と、一方では単なる“積極性”的な行動の評価となる場合がある⁹⁾。本研究で使用した攻撃行動の測定による評価は、“積極性”と捉えている。攻撃行動において、勝負に勝ったラットは鬣の動きが活発であることやごく自然な動きで相手を撤退させる行動だったからである。攻撃行動では、n-3系脂肪酸であるエイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) が攻撃性を低下させたとの報告がある¹⁰⁻¹³⁾。本研究での乳酸菌摂取と脂肪酸の組み合わせが攻撃性に及

ぼす影響の結果をみると、乳酸菌摂取の効果は同時に摂取する脂質の質により変化することが明らかとなった (Fig. 4)。また、自発運動に使用した回転ケージはエネルギー消費や肥満など身体活動量の測定に使用されているが、別に脳機能の測定として、ストレス反応、ムードや報酬などの情動反応の表現化としても利用されている^{14, 15)}。本研究で使用した回転ケージでの自発運動は非常に短時間であったが、それでも僅かな環境の変化によって攻撃行動に変化が生じたことは (Fig. 4)、ヒトでも同様のことが生じる可能性が示唆された。行動の変化は体内の組織の変化以前にすでに脳機能によって起きるので、日常の脂質の質の選択摂取や乳酸菌摂取、そして、外部との接触などは、体内の情報伝達系に関わっていることが考えられ、そのメカニズムについては今後の課題である。





謝 辞

今回の研究を進めるにあたり、解剖等にご協力いただいた中尾礼奈先生に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) Karlsson F, Tremaroli V, et al., Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes*. 62:3341-3349,2013
- 2) Schnorr SL, Bachner HA, Integrative therapies in anxiety treatment with special emphasis on the gut microbiome. *89:397-422,2016*
- 3) Damodharan K, Palaniyandi SA, et al., Functional probiotic characterization and in vivo cholesterol-lowering activity of *Lactobacillus helveticus* isolated from fermented cow milk. *J Microbiol Biotechnol*. Jul 19, 2016
- 4) Sonnenburg ED, Smits SA, et al., Diet-induced extinction in the gut microbiota compounds over generations. *Nature*, 529:212-215,2016
- 5) Kawahara M, Nemoto M, et al., Anti-inflammatory properties of fermented soy milk with *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* S-SU2 in murine macrophage RAW264.7 cells and DSS-induced IBD model mice. *Int immunopharmacol*. 26:295-303,2015
- 6) Nishitani Y, Tanoue T, et al., *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FC alleviates symptoms of colitis induced by dextran sulfate sodium in mice. *Int Immunopharmacol*. 9:1444-1451,2009
- 7) 光岡知足, 腸を鍛える. 祥伝社新書, 90 - 91,2015
- 8) 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
- 9) Gajos JM, Beaver KM, The effect of omega-3 fatty acids on aggression. *Neurosci Biobehav Rev*. 69: 147-158, 2016
- 10) Hibbeln JR, Gow RV, The potential for military diets to reduce depression, suicide, and impulsive aggression: a review of current evidence for omega-3 and omega-6 fatty acids. *Mil Med.*, 179:117-128, 2014
- 11) Bozzatello P, Brignolo E, et al., Supplementation with omega-3 fatty acids in psychiatric disorders. *J Clin Med*. 5(8), 2016
- 12) Cooper RE, Tye C, et al., The effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on emotional dysregulation, oppositional behavior and conduct problems in ADHD. *J Affect Disord*. 190: 474-482, 2016
- 13) Beier AM, Lauritzen L, et al., Low plasma eicosapentaenoic acid levels are associated with elevated trait aggression and impulsivity in major depressive disorder with a history of comorbid substance use disorder. *J Psychiatr Res*. 57:133-40,2014
- 14) Novak CM, Burghardt PR, et al., The use of a running wheel to measure activity in rodents: relationship to energy balance, general activity, and reward. *Neurosci Biobehav Rev*. 36:1001-1014,2012
- 15) Lapmanee S, Charoenphandhu J, Beneficial effects of fluoxetine, reboxetine, venlafaxine, and voluntary running exercise in stressed male rats with anxiety-and depression-like behaviors. *Behav Brain Res*. 250:316-325, 2013

The effect of fatty acid and spontaneous exercise on aggressive behavior of rats fed yogurt.

Keiko Sakai , Yuuki Yoshida , Rina Furukawa

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

Key words : aggressive behavior, probiotic diet, dietary fat, spontaneous activity, yogurt

ABSTRACT

A lot of microbes in gut play beneficial effects of human for keep healthy. However, the effect of the interaction of probiotic diet and fatty acids on aggressive behavior is remained unclear. The aim of this study was to clarify the effects of yogurt with n-3, n-6 and n-9 fatty acids on aggressive behavior of rats. Further, we compared the effects of spontaneous exercise (EX) in rats fed each experimental diet.

Method: Sprague-Dawley rats fed either with (lact) or without (control) yogurt for 12 weeks. Further, each diet group had three kinds of fatty acid group: egoma oil (n-3), corn oil (n-6), olive oil (n-9). The rats fed same amount of calories per day during the experiment.

Result: the aggressive behavior showed that EX+ of lact showed lower than EX- of lact in egoma and olive group. In contrast, the aggressive behavior of corn showed that Ex+ of lact was higher than EX- and lact.

Conclusion: The effect of probiotic diet was varied from different qualities of fatty acids, and also short spontaneous exercise in rats. In addition, this result also suggested it may be occurred in human.
