

## 高オレイン酸植物油と乳酸菌摂取の相互作用がラットの不安行動に及ぼす影響

坂井 恵子, 山下 千晴, 石走 愛

### 要 旨

【目的】本研究では、高オレイン酸紅花油 (n-9 系) とオリーブ油 (n-9 系), 高リノール酸紅花油 (n-6 系) と高 $\alpha$ -リノレン酸エゴマ油 (n-3 系) について、乳酸菌との同時摂取がラットの不安行動に及ぼす影響について比較検討を行った。

【方法】動物実験: 4 週齢の Sprague-Dawley 系ラットを無作為に標準飼料と乳酸菌含有飼料とに分け、さらに両群を脂質として n-9 系オリーブ油の pure と virgin, 高オレイン酸 紅花油 (n-9 系), n-6 系紅花油, n-3 系エゴマ油を使用した群に分け、13 週間飼育を行った。

実験飼料: 乳酸菌は *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* FC, *Acetobacter orientalis* FA を牛乳でヨーグルトにしたものを使用した。その他の成分は全て同じにして行った。餌は全食餌群のカロリー量を同一にして、毎日与え翌日残量を測定して摂取量を算定した。

行動実験: 不安行動は高架式十字迷路試験と高所テーブル滞在実験にて、実験飼料で飼育後 3 週目より最終週まで行った。

尚、本研究における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われた。

【結果】本研究では各食餌群間の摂取カロリー量に有意差は認められなかった。また、実験飼料摂取期間のラットの体重増加量に関しても各食餌群間に有意差はなかった。

紅花油の n-9 系は n-6 系に比べて不安感が高かったが、乳酸菌摂取により不安感の減少が認められた。オリーブ油の pure と virgin, n-9 系紅花油は、乳酸菌摂取の有無に関わらず不安感の高い傾向を示した。n-6 系紅花油は n-3 系エゴマ油に比べて不安感が低かった。n-3 系エゴマ油の不安行動は乳酸菌摂取の有無に影響されなかった。

【考察】乳酸菌摂取と脳の情動機能との関係は、菌種・投与量やタイミングなどが影響する可能性があるため、さらなる検討が必要であると示唆された。

【結論】n-9 系脂肪酸の不安行動では、オリーブ油の不安感が紅花油に比べて高かった。n-9 系紅花油は n-6 系紅花油より不安感が高い傾向であったが、乳酸菌摂取の影響は小さかった。

キーワード: オレイン酸, 乳酸菌, 不安行動, 高オレイン酸

### 緒 言

ヒトでは腸内細菌が体内の様々な機能に関わっており、特に脳機能ではうつ病・不安・自閉症・記憶機能やストレスなどを改善するといわれている<sup>1,2)</sup>。一方、n-3 系脂肪酸の DHA や EPA が脳機能の向上に寄与していることは知られている<sup>3)</sup>。ところで、オレイン酸が脳機能の改善を示唆されているが<sup>4)</sup>、詳細については未だあきらかではない。

著者等は、先行研究で乳酸菌摂取における動物性/植物性たんぱく質と脂質の質 (n-9 系と n-3 系脂肪酸) との相互作用について不安行動実験を行ったが、乳酸菌よりもたんぱく質と脂質の質の組合せにより不安行動は異なることが明らかとなった<sup>5)</sup>。

本研究では、高オレイン酸紅花油とオリーブ油, 高リノール酸紅花油, 高 $\alpha$ -リノレン酸と同時に乳酸菌摂取がラットの不安行動に及ぼす影響について比較検討することを目的とした。

### 方 法

動物実験は 4 週齢の Sprague-Dawley 系ラットを無作為に 10 群に分け、実験飼料で 13 週間飼育を行った (Table 1)。実験飼料は標準食 (control) と乳酸菌食 (lact) とに分け、脂質として、n-9 系のオリーブ油の pure (和光純薬) と virgin (味の素), n-9 系の紅花油 (日清) と n-6 系の紅花油 (和光純薬), n-3 系のエゴマ油 (朝日 ST) を使用した。乳酸菌は *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* FC, *Acetobacter orientalis* FA (フジッコ株) を使用し、餌調製時毎に粉末を牛乳 (明治)

でヨーグルトに調製したものを使用した。その他の成分は各食餌群とも全て同じにした。エネルギー%は糖質 57%, たんぱく質 19%, 脂質 24% で行った。乳酸菌食と標準食ともに全食餌群のカロリー量を同一にして、毎日投与し、翌日残量を測定して摂取量を算定した。

行動実験：不安行動は高架式十字迷路試験と高所テーブル滞在実験を行い、実験飼料で飼育後 3 週目より最終週まで行った。

尚、本研究における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。

Table 1. Group of experimental diets.

control	control	control	control	control	lact	lact	lact	lact	lact
Olive pure n-9	Olive virgin n-9	Safflower n-9	Safflower n-6	Egoma n-3	Olive pure n-9	Olive virgin n-9	Safflower n-9	Safflower n-6	Egoma n-3
-	-	-	-	-	yogurt	yogurt	yogurt	yogurt	yogurt

結 果

本研究での各食餌群間の餌の摂取量に有意な差は認められなかった (data not shown)。また、実験食摂取期間の体重増加量に各食餌群間に有意な差は認められなかった (Fig.1)。

乳酸菌食が不安行動に及ぼす影響：A. 高架式十字迷路試験

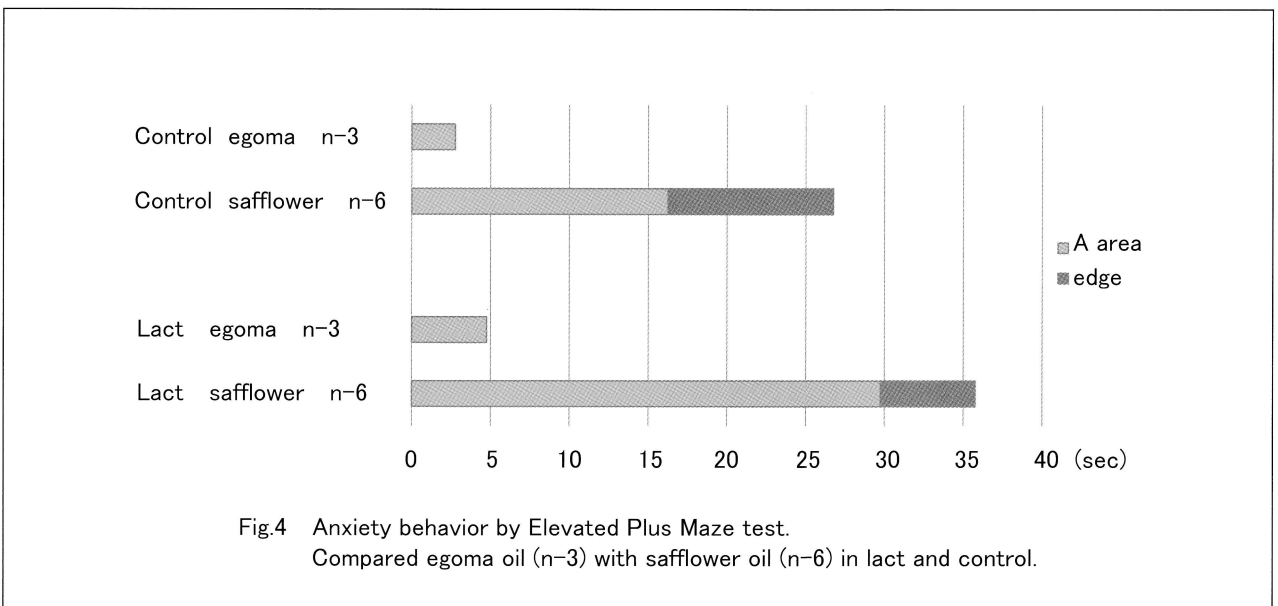
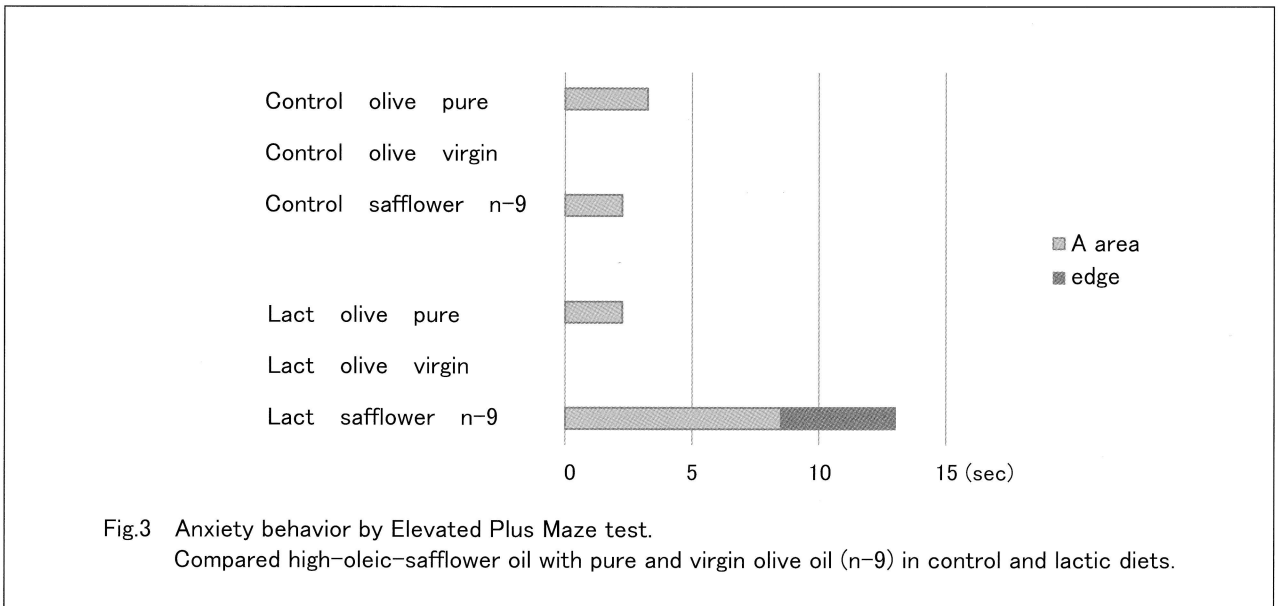
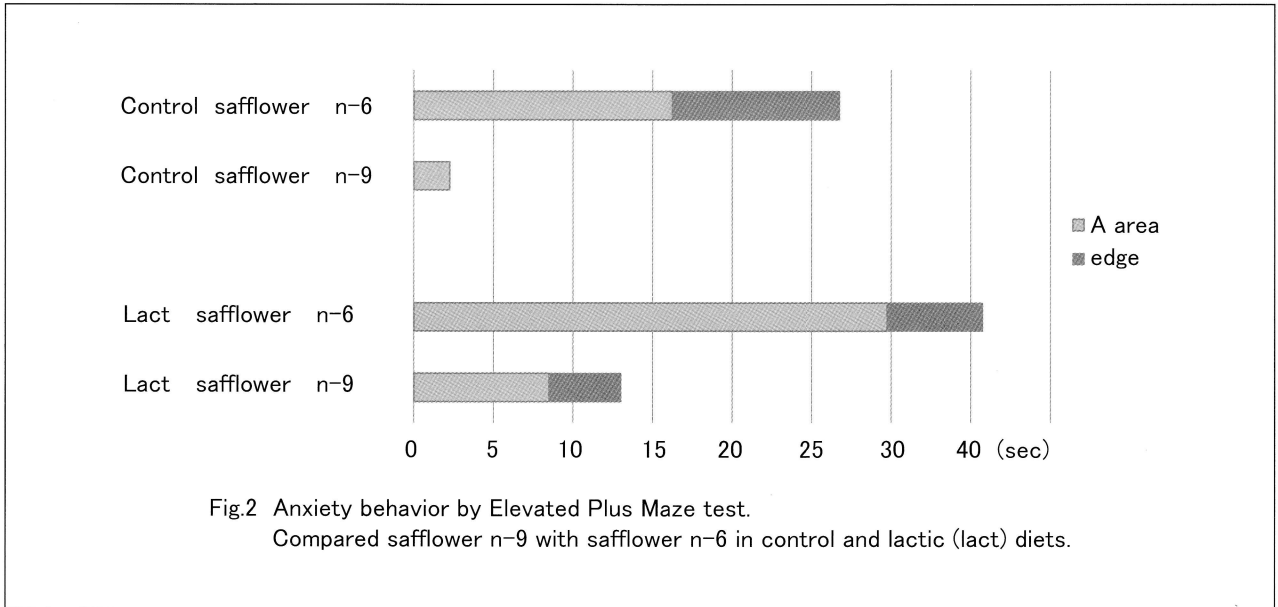
(1) 紅花油の n-9 系と n-6 系の比較：高架式十字迷路試験では、5 分間の制限時間内にオープン領域の末端に近い部分 (A area) と末端 (Edge) に滞在した時間をみると、n-6 系紅花油の方が高オレイン酸紅花油 (n-9 系) よりも不安感が少ないのが顕著であった (Fig.2)。乳酸菌摂取においても同様

であった。

(2) オリーブ油の pure と virgin (n-9 系) と紅花油 (n-9 系) の比較：高架式十字迷路試験では、乳酸菌食の n-9 系紅花油の不安感はおリーブ油に比べて非常に低いのが認められた (Fig.3)。対照的にオリーブ油の virgin は不安感が非常に高いのが明らかとなった。オリーブ油の pure と virgin に乳酸菌の影響はみられなかった。

(3) n-6 系紅花油と n-3 系エゴマ油の比較：高架式十字迷路試験での n-6 系紅花油は n-3 系エゴマ油よりも不安感が低いのが顕著に認められた (Fig.4)。これは、乳酸菌の有無に影響されなかった。





乳酸菌食が不安行動に及ぼす影響：B. 高所テーブル滞在行動

- (4) n-9 系紅花油と n-6 系紅花油の比較：n-9 系紅花油と n-6 系紅花油のラットが高所テーブルから飛び降りようとする行動 (jump try) と飛び降りた行動 (jump down) の比較をしたところ、n-6 系紅花油の乳酸菌摂取の方が n-9 系紅花油摂取よりも不安感が低いのが認められた (Fig.5)。
- (5) オリーブ油の pure と virgin (n-9 系) と n-9 系紅花油の比較：高所テーブルでの jump try において、

- オリーブ油の pure と virgin は乳酸菌食 (lact) の方が通常食 (control) に比べて不安感が強くなる傾向であった (Fig.6)。一方、n-9 系紅花油は jump try, jump down とともにオリーブ油と不安感に有意な差はなかったが、乳酸菌の影響はみられなかった。
- (6) n-6 系紅花油と n-3 系エゴマ油の比較：高所テーブルでの jump try, jump down において、乳酸菌食摂取の n-6 系紅花油は n-3 系エゴマ油よりも不安感の低下が顕著に認められた (Fig.7)。

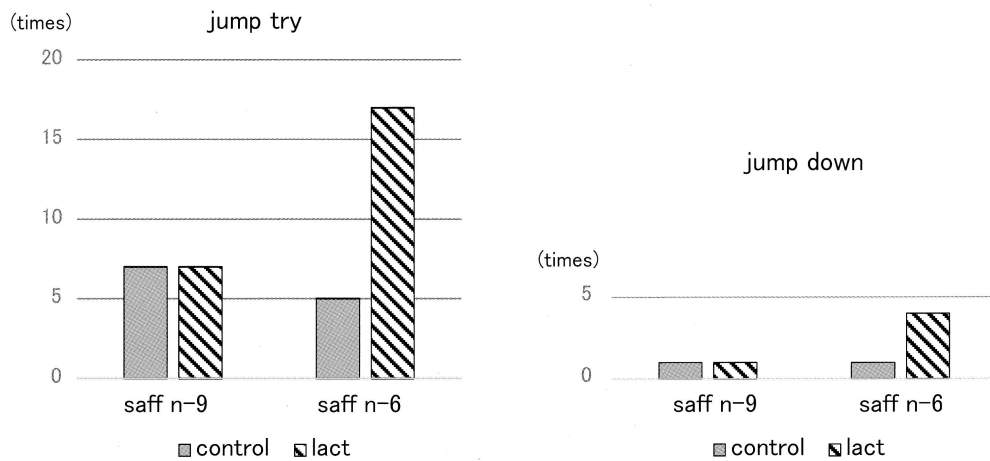


Fig.5 Anxiety behavior by High Table Stay test. Compared safflower oil (n-9) with safflower oil (n-6). paint: control, slash(white and black): lact.

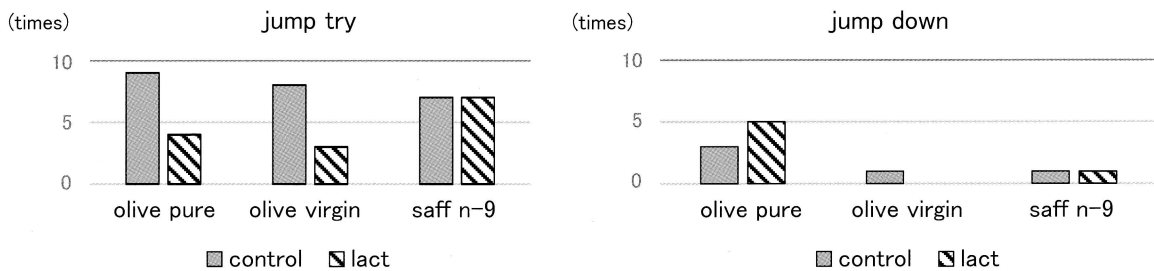


Fig.6 Anxiety behavior by High Table Stay test. Compared olive oil (n-9) with safflower oil (n-9).

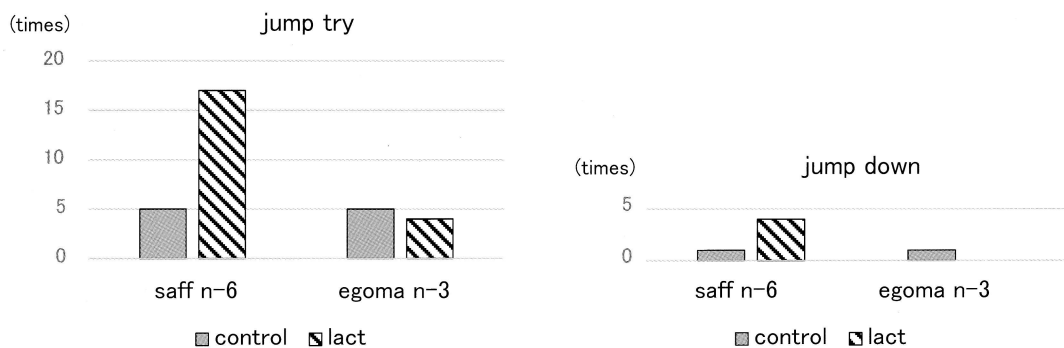


Fig.7 Anxiety behavior by High Table Stay test. Compared safflower oil (n-6) with egoma oil (n-3) in control and lactic diet.



## 考 察

脳機能と腸内細菌叢との関連について、うつ病では腸内細菌叢形成の低下が起こった報告がある<sup>6)</sup>。また、うつ病では、血漿中のn-3系脂肪酸レベルの低下が報告された<sup>7)</sup>。

著者等の先行研究では、乳酸菌食摂取におけるたんぱく質と脂質の質の違いで不安行動への影響が異なることが明らかとなり、またそれは、運動の有無によっても変化することが認められた<sup>5)</sup>。本研究では、n-6系脂肪酸であるリノール酸が高オレイン酸に変換したn-9系紅花油とオリーブ油のpureとvirgin(n-9系)がラットの不安行動に及ぼす影響について検討を行った。その結果、n-6系紅花油はn-9系紅花油より不安感が低かった。また、n-9系紅花油はオリーブ油のpureやvirginよりも不安感が低いのが認められた。オリーブ油のpureとvirgin、紅花油のn-6系とn-9系の不安行動に違いがみられたメカニズムについて、さらに別の高オレイン酸植物油、菌種、菌の投与量などでの検討が示唆された。

## 結 論

1. n-9系脂肪酸の不安行動では、オリーブ油の不安感が紅花油より高かった。
2. n-9系紅花油はn-6系紅花油より不安感が高い傾向であった。
3. 不安行動における乳酸菌摂取の影響は本研究の条件では低かった。

## 参考文献

- 1) Slyepchenko A, Maes M, et al. : Gut Microbiota, Bacterial Translocation, and Interactions with Deit: Pathophysiological links between major depressive disorder and non-communicable medical comorbidities. *Psychother Psychosom.* 86:31-46,2017
- 2) Kunugi H : Depressive Disorder and Gut-brain Interaction. *Brain Nerve.* 68:641-646,2016
- 3) Taylor AM, Holscher HD, : A review of dietary and microbial connections to depression, anxiety, and stress. 9:1-14,2018
- 4) Pitozzi V, Jacomelli M, et al., Effects of dietary extra-virgin olive oil on behavior and brain biochemical parameters in ageing rats. *Br J Nutr.* 103:1674-1683, 2010
- 5) 坂井恵子, 昇マリア, 他, 乳酸菌摂取における動物性・植物性たんぱく質の相互作用がラットの不安行動と攻撃行動に及ぼす影響. 鹿児島純心女子大学看護栄養学部紀要, 22 : 13-20, 2018
- 6) Kelly JR, Borre Y, et al., Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *J Psychiatr Res.* 82:109-118, 2016
- 7) Thesing CS, Bot M, et al., Omega-3 and omega-6 fatty acid levels in depressive and anxiety disorders. *Psychoneuroendocrinology.* 87:53-62, 2018

## Compared the effect of high-oleic-safflower oil to olive oil with yogurt on anxiety behavior of rats

Keiko Sakai, Chiharu Yamashita, Ai Ishibashiri

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

**Key words** : high-oleic acid, probiotic yogurt, anxiety behavior, olive oil, safflower oil

### Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of high-oleic safflower oil (n-9 series) with yogurt on anxiety behavior of rats, and to compare with pure and virgin olive oil (n-9). In addition, to compare safflower oil n-9 with safflower oil n-6.

**Method:** The Sprague-Dawley rats were randomly divided control diet and lactic diet (contained yogurt). Then, each group were separated by lipid as pure olive oil, virgin olive oil, safflower oil(n-9) and (n-6), and egoma oil (n-3). The rats of each group fed experimental diets for thirteen weeks as an equal amount of calories a day.

Behavior experiment was conducted by Elevated Plus Maze test and High Table Stay test. Animal experiment was followed the rules of Institutional.

**Result:** In this study, the calories of intake and weight gain of rats among each group showed no difference. Anxiety behavior of safflower oil (n-9) showed higher than n-6 safflower oil in contro, but reduced anxiety by yogurt. In addition, anxiety behavior of pure and virgin olive oil also showed higher as similar as safflower oil (n-9) in control. However, olive oil did no change anxiety behavior with or without yogurt as egoma oil.

**Conclusion:** Olive oil (pure and virgin) with or without yogurt showed anxiety behavior higher than safflower(n-9) and (n-6) behaviors.

---