

紫芋投与が若齢マウスの記憶に及ぼす影響

上江洲 香代子

Effects of purple sweet potato on memory in mice

Kayoko Uezu

Abstract

Purple sweet potato is rich in anthocyanins. It is well known that anthocyanins have a variety of biological activities including anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-tumor. In this study, the effects of purple sweet potato powder (PSPP) on memory in juvenile mice were examined. When mice were fed a large quantity (25.5% of diet) of PSPP, they showed impaired memory. But the mice fed a small quantity (5% of diet) of PSPP showed enhanced memory. These results suggest that excessive amount of anti-oxidant may affect the development of nervous system and impair memory, but adequate amount of anti-oxidant improve memory in juvenile mice.

1. 緒言

紫芋はアントシアニンを豊富に含んでおり、アントシアニンは抗酸化作用や抗炎症作用、抗変異原性、血圧上昇抑制作用、目の健康維持、肝機能の向上作用など多くの機能をもつことが知られている^{1,2)}。一方、加齢や脳の老化には酸化ストレスが深く関与していることが知られており、高齢動物の脳機能と抗酸化作用の研究は多くなされているが³⁻⁶⁾、発育時期にある若齢動物での研究は少ない。今回は、幼若動物に紫芋（アヤマラサキ）の乾燥粉末を餌として投与した場合、脳機能にどのような影響を及ぼすかについて調べる目的で紫芋粉の含有量を変えて2回の実験を行った。

2. 実験方法と結果

実験1：紫芋大量投与の影響

1) 動物と飼料

動物は3週齢雄の ddY/std マウス（日本 SLC，静岡）を使用し、コントロール群（9匹）と紫芋群（8匹）の2群を設定した。餌は（表1）， α -澱粉の半分を紫芋粉（25.5%）に置き換えて調製し、毎日新しく投与した。飼育環境は室温 25 ± 1 ℃，12時間明暗周期（8:00-20:00）に保ち、餌と水は自由摂取とした。摂食量を毎日、体重を週2回測定した。紫芋粉は沖縄全薬株式会社製を用いた。動物実験は動物の福祉に配慮して行われた。

表1. 食餌組成

	コントロール群	紫芋群
	(g/100g)	
カゼイン	10.0	10.0
α-澱粉	51.0	25.5
紫芋粉	—	25.5
スクロース	26.0	26.0
セルロース	2.0	2.0
ビタミン混合 (AIN93)	1.0	1.0
ミネラル混合 (AIN93G)	5.0	5.0
大豆油	5.0	5.0

2) 行動試験

餌投与開始後6週目に、脳機能検索の行動学的指標として、一般活動性を調べるオープンフィールド試験⁷⁾と学習記憶試験のひとつの一試行型受動的罰回避試験⁸⁾を行った。

マウスを全く経験したことのない新しい環境（オープンフィールド）に置いたときのさまざまな運動は、マウスの運動活動性、探索行動および種々の情動反応を反映するものといわれている。

オープンフィールド試験は、種々の薬物の行動への影響を見るうえで最も基本的な指標として応用されている。実験装置（図1：左）は、44×44×33cm（縦×横×高さ）のダンボール箱の床面に5.5×5.5cm（縦×横）の区画を25個引いたものを使用した。観察時間は、マウスをホームケージから取り出し、箱の中に入れて3分間で、観察項目として①区画から区画へ移動したときの通過区画の累計(=歩行数とする)、②立ち上がった回数、③脱糞の数、④尿の有無について測定した。①と②の数が多いほど探索行動が多いことを示す。③④は強いストレスなどの極端に情動の不安定な状態で増加する。

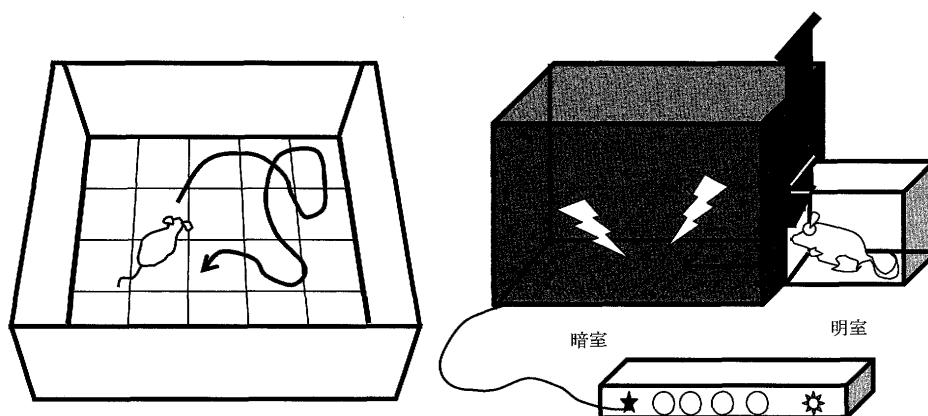


図1. 行動試験装置の模式図：(左) オープンフィールド試験, (右) 一試行型受動的罰回避試験

一試行型受動的罰回避試験は、マウスの〈暗い場所を好む〉という行動特性を、電気ショックによって抑制することを利用する簡便な学習記憶実験である。装置（図1：右）は、ステップスルー型の白色光で照明した明室（10×10×10cm）と床にグリッドを取り付けた暗室（15×15×15cm）からなる（山下技研（徳島）製）。二室の間は可動式の上下開閉ドアで仕切られている。実験を行う

に先立ち、装置内にマウスを入れ、ドアを開け明室と暗室を出入りできるようにして装置に慣れさせた。その後、ドアを閉めマウスを明室に入れて10秒後にドアを開けた。今回の実験ではマウスが暗室に移動し、四肢を完全に暗室に移動したところでドアを閉め0.2mA、0.5秒間の電気ショックを付加した。この時点で回避反応の習得が完成すれば、以後暗室内に入ることはないが、記憶が弱まれば暗室に入っていくという考えのもとに行う。マウスが明室に入れられ暗室へ移動するまでの時間を反応潜時として測定し、180秒を最高反応潜時とした。同一のマウスについて24時間後と1週間後に再生試行を行い、記憶試験とした。反応潜時が長い程、記憶が保たれていると判断できる。

3) 統計処理

データは平均値±標準誤差で表した。有意差検定はMicrosoft Excell 2003を用い、スチューデントのt検定により行った。

4) 結果

体重の変化(図2)は、1週目から紫芋群はコントロール群に比較して有意に体重増加が抑制された。摂食量は、群間で差は見られなかった。実験前半に紫芋群で極端に餌を食べ散らかすなどの異常行動が数匹のマウスに見られ、正確な摂食量の測定が困難な点があったが、実験後半には改善された。

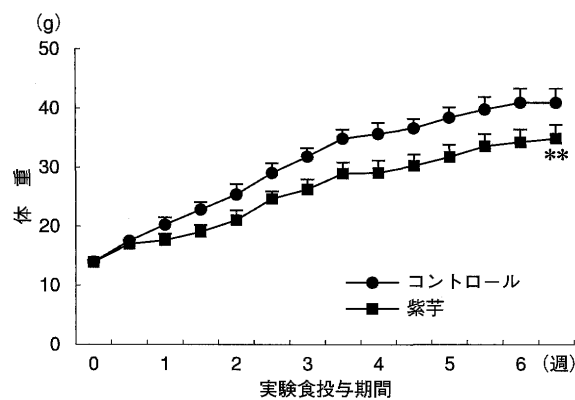


図2. 体重変化(紫芋大量投与) **: $p < 0.01$

オープンフィールド試験では、紫芋群はコントロール群より歩行数が減少傾向を示した(図3)。脱糞数や尿の有無には差は見られなかった。

学習記憶試験(図4)では、24時間後のコントロール群において、全てのマウスで反応潜時が制限時間の180秒を達成した。紫芋群はコントロール群に比較して24時間後、1週間ともに反応潜時が短い傾向にあった。

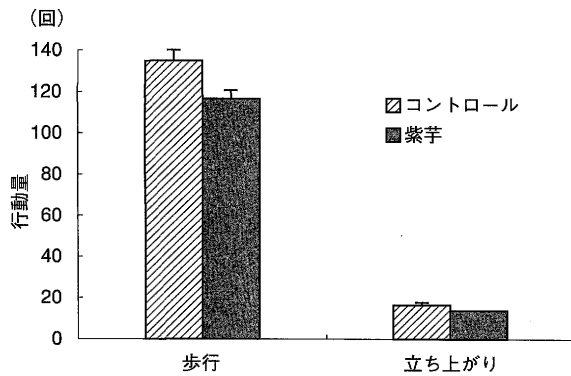


図3. オープンフィールド試験 (紫芋大量投与)

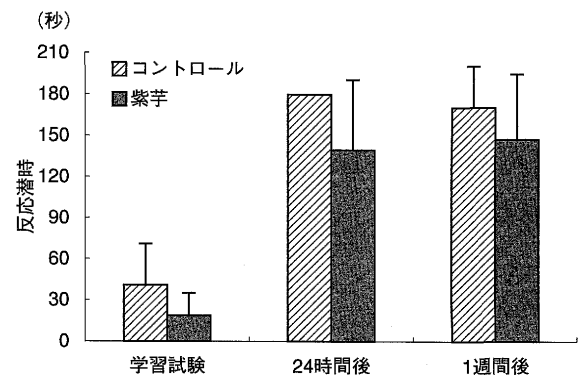


図4. 学習記憶試験 (紫芋大量投与)

実験2：紫芋少量投与の影響

1) 動物と飼料

動物は実験1と同様に、3週齢雄の ddY/std マウス (日本 SLC, 静岡) を使用し、コントロール群 (7匹) と紫芋群 (6匹) の2群を設定した。実験2では、餌組成は (表2) 紫芋の割合を全体の5%とし、 α -澱粉の一部を紫芋粉に置き換えて調製した。飼育環境と測定項目は、実験1と同様とした。

表2. 食餌組成

	コントロール群	紫芋群
	(g/100g)	
カゼイン	10.0	10.0
α -澱粉	51.0	46.0
紫芋粉	—	5.0
スクロース	26.0	26.0
セルロース	2.0	2.0
ビタミン混合 (AIN93)	1.0	1.0
ミネラル混合 (AIN93G)	5.0	5.0
大豆油	5.0	5.0

2) 行動試験

実験装置、実験手順、観察項目、制限時間などは、実験1と同様とした。但し、実験1ではコントロール群がほぼ完璧な記憶保持を示したので、紫芋群がたとえ記憶改善作用を有していたとしても、コントロール群を上回る成績を示すことは無いと考えられる。そこで実験2では、コントロール群での記憶保持が低下したところを、紫芋少量投与によって改善する可能性があるかどうかを調べる目的で、電気ショックの電流の強さを0.1mAに減弱して学習記憶試験を行った。

3) 結果

紫芋の含有量を5%にした場合、飼育中の観察で異常行動は認められなかった。また、体重の変化 (図5) は、2群間で大差は見られず、摂食量も差は見られなかった。

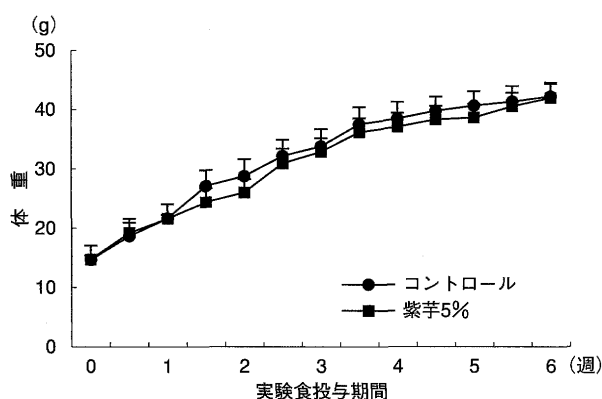


図5. 体重変化 (紫芋少量投与)

オープンフィールド試験 (図6) では、紫芋群の歩行数が少ない傾向にあり、少量投与でも探索行動は抑制される可能性が見られた。脱糞数や尿の有無には差がなかった。

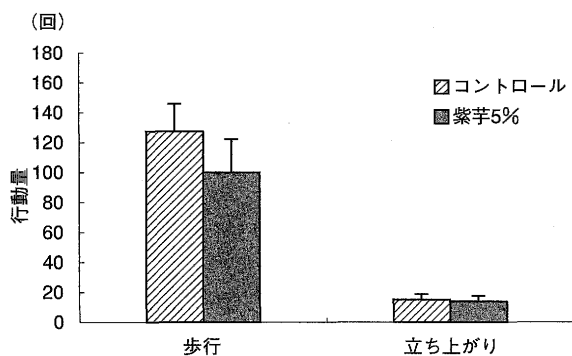


図6. オープンフィールド試験 (紫芋少量投与)

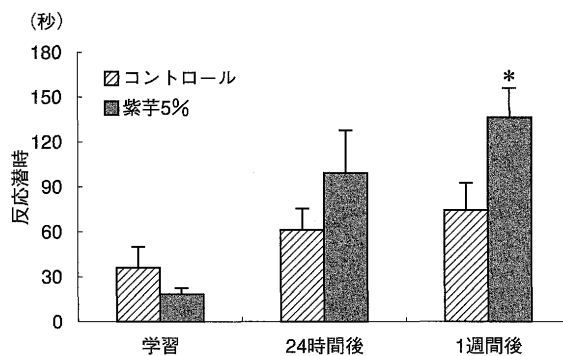


図7. 学習記憶試験 (紫芋少量投与)

*: $p < 0.05$

学習記憶試験 (図7) では、紫芋群ではコントロール群と比較して、24時間後、1週間後共に、反応潜時が長くなるという傾向が見られた。

3. 考 察

紫芋はアントシアニンを含み、強力な抗酸化作用を持つことが報告されている¹⁾。また、紫芋から抽出したアントシアニンはビタミンCなどよりも強い抗酸化作用を示し、アントシアニンを投与したラットやヒトの尿は強いDPPH消去能を示すことが報告されている²⁾。

加齢による神経変性や認知機能の低下には酸化ストレスが関わっていることはよく知られており、様々な果物や野菜またはビタミンEなどの抗酸化物の投与により、これら認知症などの脳障害や老化の予防に効果があることが示唆されている^{3,4)}。また幼若動物の実験では、d-ガラクトース処置のマウスはシナプスタンパク質が減少し学習記憶が障害されるが、このマウスに紫芋アントシアニンを投与すると症状が改善されるという報告がある⁹⁾。紫芋アントシアニン投与によりマウス脳の過酸化脂質生成が阻害され、記憶が増強したという報告もある¹⁰⁾。

今回の実験結果から、紫芋の大量投与によりマウスの成長が阻害され、記憶も障害されるが、少量投与はマウスの記憶能力を高める可能性が示唆された。これは、紫芋の抗酸化作用の影響による

ものだと推測される。脳においては逆行性神経伝達物質の一酸化窒素などの必要性も知られており、過剰の抗酸化物は、悪影響を及ぼす可能性が考えられる。一方、今回は脳の発育段階にある¹¹⁾と考えられる3週齢のマウスを使用した。抗酸化物質は脳の老化予防のみならず、成長過程にある若齢動物の脳機能も改善する可能性があることが示された。しかし紫芋の脳機能に及ぼす有効性を確認し、これらの最適摂取量を決定するためには、今後さらなる種々の実験を重ね、多方面から検討する必要があると考えられる。

【参考文献】

- 1) アントシアニン, 大庭理一郎, 五十嵐善治, 他編著 建帛社, 2000年(東京)
- 2) M. Kano, T. Takayanagi, et al., Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69(5), 979-988, 2005
- 3) J. A. Joseph, B. Shukitt-Hale, et al., Long-term dietary strawberry, spinach, or vitamin E supplementation retards the onset of age-related neuronal signal-transduction and cognitive behavioral deficits, *J. Neurosci.*, 18(19), 8047-8055, 1998
- 4) J. A. Joseph, B. Shukitt-Hale, et al., Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds, *Am. J. Clin. Nutr.*, 81(suppl), 313s-316s, 2005
- 5) B. Shukitt-Hale, A. Carey, et al., Effects of concord grape juice on cognitive and motor deficits in aging, *Nutrition*, 2(3), 295-302, 2006
- 6) C. Andres-Lacueria, B. Shukitt-Hale, et al., Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory, *Nutr. Neurosci.*, 8(2), 111-120, 2005
- 7) 山田勝士, 生体の科学, 45(5), 426-427, 1994
- 8) 岩崎克典, 生体の科学, 45(5), 496-497, 1994
- 9) D.-M. Wu, J. Lu, et al., Purple sweet potato color repairs d-galactose-induced spatial learning and memory impairment by regulating the expression of synaptic proteins, *Neurobiol. Learn. Mem.*, 2008
- 10) J. Cho, J.-S. Kang, et al., Antioxidant and memory enhancing effects of purple sweet potato anthocyanin and cordyceps mushroom extract, *Arch. Pharm. Res.*, 26(10), 821-825, 2003
- 11) 比較実験動物学概論 実験動物からヒトへの外挿, 松岡 理 編著, 1980年(東京)

(2008年1月31日受理)