

強制運動負荷ラットの睡眠覚醒におよぼす酵素処理高麗人参の影響

清水和正^{*,a,b}, 岡野泰久^a, 井上昌次郎^a^a 東京医科歯科大学医用器材研究所^b 株式会社ロッテ中央研究所Anti-Fatigue Effect of an Enzyme-Treated Panax Ginseng Extract
on Recovery Sleep after Forced Locomotion in RatsKATSUMASA SHIMIZU,^{*,a,b} YASUHISA OKANO^a and SHOJIRO INOUÉ^a^a Division of Biocybernetics, Institute for Medical and Dental Engineering, Tokyo Medical and Dental University, Kanda-Surugadai 2-3-10, Chiyoda-ku, Tokyo 101, Japan^b Lotte Central Laboratory Co., Ltd., Numakage 3-1-1, Urawa, Saitama 336, Japan

(Received December 12, 1991)

Cyclomaltodextrin glucanotransferase-treated Panax Ginseng extract (CG-PGE), which has no bitter taste, was examined for its anti-fatigue effect on exercise-loaded sleep-deprived male rats. Forced locomotion by treadmill for 3 h prior to the dark period resulted in a significant increase in the slow wave sleep (SWS) at the expense of wakefulness (W) during the subsequent 12-h dark period. Oral administrations of 40 mg CG-PGE shortly before and after the exercise prevented the fatigue-derived enhancement of SWS and significantly recovered the amount of nocturnal W. However, latencies to the first episode of SWS and paradoxical sleep were scarcely affected. Similar but insignificant changes were observed after administrations of 20 mg CG-PGE. Thus, it was concluded that CG-PGE exerts an anti-fatigue activity in the presence of stress.

Keywords—fatigue; forced locomotion; *Panax ginseng*; rat; sleep deprivation; stress

古くから、東洋医学で用いられてきた高麗人参には、多くの作用が知られている。たとえば高麗人参を含む漢方処方方には、虚弱体質、病後の滋養や疲労の回復などの強壯作用、強心および血行改善などの循環系への作用などのさまざまな薬効があり、そのほかにも不安神経症、不眠などの向精神作用に適用されてきている^{1, 2)}。

疲労およびストレスに関する高麗人参の作用に対して行われた基礎実験については以下の報告がある。Saito *et al.*³⁾は、高麗人参の分画物ジンセノサイド Rg1 および親油性画分に抗疲労性があることを検出した。坂田と衛藤⁴⁾は、紅参およびサポニン類がストレス誘発性過食に対する拮抗作用をもつことを示した。Lee *et al.*⁵⁾は、絶食による睡眠の乱れが高麗人参を飲んで生育したラットでは少ないと報告した。Hiai *et al.*^{6, 7)}や有地と小谷⁸⁾は、高麗人参にはストレス関連ホルモンの ACTH やグルココルチコイドの一種コルチコステロンを分泌させる作用があると報告した。以上の事実から、高麗人参は生体におこるさまざまなストレスに拮抗するのではないかと考えられよう。

高麗人参には独特の苦みがあるが、この苦みは高麗人参エキスを酵素処理することによって感じなくなる。われわれ^{9, 10)}は酵素処理高麗人参エキスおよび非処理エキスをラットに急性投与し、両者ともに徐波睡眠 (SWS) および逆説睡眠 (PS) を増加させることを明らかにした。また、酵素処理高麗人参エキスおよび非処理エキスを、慢性的にラットに投与すると、両者ともに自発運動量を増加させる傾向がみられた。それゆえ、酵素処理によっても両者の作用の間には大きな違いはみられないことがわかった。

いっぽう、Matsumoto *et al.*¹¹⁾によると、強制遊泳により運動負荷を与えたラットの睡眠状態は変化し、PS 潜時の有意な延長、深睡眠量の有意な増加、PS 量の有意な減少がみられた。

そこでこれらの事実をふまえたうえで、酵素処理高麗人参エキスの抗疲労効果について調べるため、トレッドミル

を使った強制運動負荷の睡眠への影響と、強制運動負荷からの身体的疲労の軽減化の確認に睡眠状態の変化を経時的に解析したので報告する。

実験材料と方法

試料に用いた酵素処理人参エキス (CG-PGE) は、以下のように調製した。凍結乾燥人参エキス 5g とマルトデキストリン (DE8) 25g を 1 mM CaCl_2 水溶液 25 ml に溶解したのち、1 N NaOH により pH 6.0 に調製した。これに好熱性シクロデキストリン生成酵素 (EC 2.4.1.19) 75 mg を加え pH 6.0, 70 °C に維持しながら反応を行った。反応液は 36 時間反応させたのち、95 °C で 30 分間保ち酵素を失活させた。この反応液を凍結乾燥により粉末化したものを試料とした。

被験動物には本研究室で繁殖・飼育した 60~70 日齢、体重 300~350 g の Sprague-Dawley 系雄ラットを用いた。実験室の環境条件は、LD 12:12 (暗期が 20:00-08:00) で、温度は 25 ± 1 °C、湿度 60 ± 6 % とした。水と餌は自由にとれるようにした。

ラットをペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg) 麻酔下 (i. p.) で脳定位固定装置に固定し、つぎのように電極等の装着を行った¹²⁾。大脳皮質表面脳波 (EEG) 記録用には金メッキしたスクリュウ電極をラットの頭蓋骨に装着した。また筋電図 (EMG) 記録用には、後頸筋にステンレススチール製のフック電極を装着した。手術後、直径 30 cm、高さ 50 cm の透明塩化ビニル製の円筒型睡眠記録用ケージに入れ、1 週間の手術回復期ののち、期間として少なくとも 1 週間にわたりトレッドミル (シナノ製作所 SN-460, 東京) による強制運動 (30 分間、走行速度 20 m/min) およびゾンデによる経口投与への順応を行い、そののちの 2 種類の実験を開始した。

第一の実験では、強制運動の睡眠への影響を調べた。まず、上の順応処理を終了したのち、強制運動および経口投与なしで、無拘束条件で 20:00 から 12 時間の暗期の睡眠量を測定した。この翌日に同じラットを 3 時間 (16:45~19:45) の間トレッドミルにより強制運動 (走行速度 15 m/min) をさせ、強制運動期間の直前直後 (16:45, 19:45) にゾンデによる蒸留水の経口投与をした。そして 20:00 まで断眠させたのち、無拘束条件で 20:00 から 12 時間の睡眠量を測定した。そして両日での睡眠量の比較を行った。

第二の実験では、強制運動負荷ラットへの CG-PGE の影響を調べた。実験日にラットを 3 時間 (16:45~19:45) の間トレッドミルにより強制運動 (走行速度 15 m/min) をさせ、強制運動期間の直前直後 (16:45, 19:45) にゾンデによる蒸留水の経口投与をした。そして 20:00 まで断眠させたのち、無拘束条件で 20:00 から 12 時間の睡眠量、睡眠潜時、飲水量を測定した。その 1 週間後、蒸留水の投与を CG-PGE 溶液に変え、同じラットに同様の処理を行い同様に測定を行った。蒸留水投与時のデータを対照値とし、試料溶液投与時のデータを実験値とした。試料溶液は、CG-PGE の 20 mg または 40 mg を 1.0 ml の蒸留水に溶かして調製し、その 0.5 ml を投与した。

各種データは以下のように測定または処理をした。EEG および EMG の連続ポリグラフ記録から、覚醒 (W)、徐波睡眠 (SWS)、逆説睡眠 (PS) の 3 状態を視察判定し、これらのエピソードの経時変化を睡眠分析用コンピュータ・システムに集積し、記録した 12 時間における各状態の総量、エピソードの平均発現回数 および エピソードの平均持

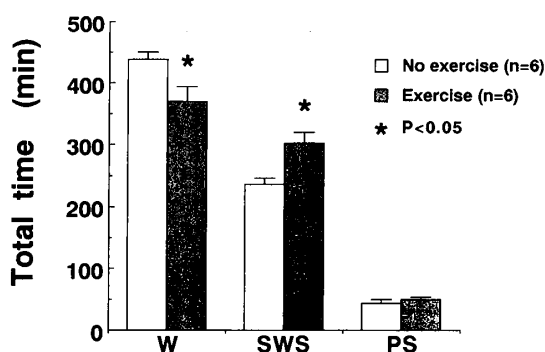


Fig. 1. Effect of 3-h Forced Exercise on the Amount of Nocturnal Wakefulness (W), Slow Wave Sleep (SWS) and Paradoxical Sleep (PS) in Rats

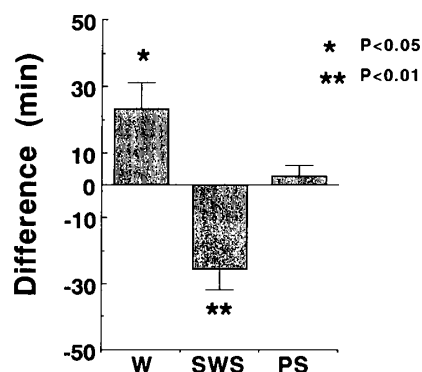


Fig. 2. Differences of the Amount of Nocturnal Wakefulness (W), Slow Wave Sleep (SWS) and Paradoxical Sleep (PS) between CG-PGE-treated, 3-h Exercise-loaded Rats and Non-treated, 3-h Exercise-loaded Controls (=0)

TABLE I. Effect of 3-h Forced Exercise on Episodes of Wakefulness and Sleep during the Subsequent 12-h Dark Period in Rats (Mean \pm SEM)

	No exercise (N=6)	Exercise (N=6)
Wakefulness		
F	138.8 \pm 11.2	128.8 \pm 9.4
D	3.3 \pm 0.4	3.0 \pm 0.4
Slow wave sleep		
F	138.8 \pm 11.3	128.2 \pm 9.3
D	1.8 \pm 0.1	2.4 \pm 0.1**
Paradoxical sleep		
F	38.8 \pm 5.0	37.5 \pm 4.3
D	1.2 \pm 0.1	1.3 \pm 0.0

F: Frequency, D: Duration (min).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.TABLE II. Effect of CG-PGE^D on Nocturnal Sleep-waking Parameters in Rats (Mean \pm SEM)

	Control	Experiment
20 mg (N=11)		
Wakefulness		
T	379.1 \pm 15.9	388.7 \pm 12.0
F	130.5 \pm 6.7	134.9 \pm 7.8
D	3.0 \pm 0.3	3.0 \pm 0.3
Slow wave sleep		
T	294.1 \pm 14.2	285.0 \pm 9.5
F	129.9 \pm 6.7	134.5 \pm 7.9
D	2.3 \pm 0.1	2.2 \pm 0.1
Paradoxical sleep		
T	46.8 \pm 3.4	46.3 \pm 4.6
F	34.7 \pm 3.2	35.2 \pm 4.6
D	1.4 \pm 0.1	1.4 \pm 0.1
40 mg (N=12)		
Wakefulness		
T	387.4 \pm 13.9	410.4 \pm 11.0*
F	122.3 \pm 6.2	128.8 \pm 4.7
D	3.3 \pm 0.2	3.3 \pm 0.2
Slow wave sleep		
T	288.1 \pm 12.4	262.4 \pm 9.2**
F	122.0 \pm 6.2	128.1 \pm 4.7
D	2.4 \pm 0.1	2.1 \pm 0.1*
Paradoxical sleep		
T	44.5 \pm 4.6	47.2 \pm 3.0
F	28.2 \pm 2.4	30.5 \pm 1.5
D	1.6 \pm 0.1	1.6 \pm 0.1

T: Total time (min), F: Episode frequency, D: Episode duration (min).

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

1) Cyclomalto-dextrin Glucanotransferase-treated Panax Ginseng Extract.

TABLE III. Effect of CG-PGE^a on Sleep Latency (min) in Rats (Mean ± SEM)

	Control	Experiment
20 mg (N=11)		
Slow wave sleep	20.6 ± 5.1	19.1 ± 4.0
Paradoxical sleep	170.7 ± 31.0	152.7 ± 25.0
40 mg (N=12)		
Slow wave sleep	14.1 ± 3.0	14.2 ± 2.7
Paradoxical sleep	89.6 ± 19.5	78.0 ± 10.2

^a For abbreviation, see TABLE II.

統時間を統計的に処理した¹²⁾. 強制運動および経口投与時におけるハンドリングによる影響を受けたのち、最初に2分以上持続する SWS が発現するまでの時間を SWS 潜時とし、最初に1分以上持続する PS が発現するまでの時間を PS 潜時とした. 飲水量は、投与を行ったのち暗期12時間の飲料水消費をドリノコメータを使って自動計測し、パソコンにより集計した. 各測定項目結果の統計処理には paired *t*-test を用いて有意差判定を行った.

結 果

強制運動負荷の睡眠への影響を調べた第一の実験では、ラットに強制運動を行う前後での暗期の睡眠および覚醒量について比較した結果を Fig. 1 に示す. 強制運動によって W 量は、強制運動を行わなかったときの 438.9 分から 369.6 分へと有意に減少し、それにともない SWS 量は、236.5 分から 301.2 分へと有意に増加した. これは TABLE I に示すように、エピソードの持続時間 (D) が有意に増加 (33.1%) したことによるものである.

強制運動負荷ラットへの睡眠-覚醒におよぼす CG-PGE の影響を調べた第二の実験の結果を TABLE II に示す. CG-PGE 40 mg 投与群では、対照値と比較して W 量が 387.4 分から 410.4 分へと有意に増加し、SWS 量が 288.1 分から 262.4 分へと有意に減少した. これらの変化量を Fig. 2 に示す. SWS 量の減少にとまって、SWS のエピソードの持続時間も有意に減少した (-13.0%). CG-PGE 20 mg 投与群では、対照値と比較して W 量が 379.1 分から 388.7 分へと増加し、SWS 量が 294.1 分から 285.0 分へと減少したが PS 量には変化がなかった (TABLE II).

TABLE III に示すように、SWS 潜時は、CG-PGE 20 mg および 40 mg 投与によってとくに変化しなかった. PS 潜時は有意ではないが多少の減少がみられた (20 mg で 18.0 分, -10.5%; 40 mg で 11.6 分, -12.9%).

暗期の飲水量は、CG-PGE 20 mg 投与群で 35.3 ± 6.8 ml (対照値は 35.7 ± 5.8 ml), 40 mg 投与群で 32.3 ± 2.2 ml (対照値は 33.3 ± 2.4 ml) であり有意な変化はみられなかった.

考察および結論

高麗人参はストレスに対して拮抗作用をもつことが知られている¹⁾. しかしながら強制運動負荷状態での睡眠に対する高麗人参の効果について今回のわれわれの実験が最初である. 休息期 (明期) のラットに強制運動負荷を3時間与えると、その後の活動期 (暗期) の覚醒は減少し、それに相当する量の睡眠とくに SWS が増加した. これは強制運動によってラットに疲労と断眠の状態が生じたためと考えられる. このようなラットに CG-PGE を投与すると、暗期の W 量は増加し、SWS 量が減少した. そして以前われわれが行った実験では、強制運動を施さないラットに無拘束下で CG-PGE を投与したところ、投与後の睡眠状態において W 量が減少し SWS 量が増加する結果を得ている^{9,10)}. このようにラットに強制運動負荷がかかっていない場合である安静状態では CG-PGE は鎮静的に作用を発現するが、強制運動により身体に負荷がかかっている場合では逆に覚醒を増加させている. しかしながらこれらのことは、強制運動負荷によって生じた疲労状態、すなわち W 量の減少を CG-PGE が回復させたと考えられよう.

いっぽう、ラットに強制運動を負荷すると PS 潜時が延長すると報告されている¹¹⁾. 今回の実験では CG-PGE 投与によって PS 潜時が有意ではないものの減少する傾向が認められた. このことも CG-PGE が PS 出現を遅らせる効果を打ち消すように働いたと解釈できるものである. この事実も上の結果を裏付けるものといえるだろう.

以上のことから、酵素処理によって苦味を低減した高麗人参には強制運動ならびに断眠によって生じた身体的ならびに精神的ストレスに由来する睡眠および覚醒の乱れに対して拮抗性の効果があることがわかった. このような高麗人参の作用はよく知られているように、疲労およびストレス状態から生体の恒常性を回復させることであると考えられる.

引用文献および注

- 1) “中薬大辞典”，小学館，東京，1985，p.2017-2026.
- 2) S. Y. Hu, *Am. J. Chinese Med.*, **5**, 1 (1977).
- 3) H. Saito, Y. Yoshida, K. Takagi, *Jpn. J. Pharmacol.*, **24**, 129 (1974).
- 4) 坂田利家，衛藤 宏；“薬用人参 ’89”，山村雄一，熊谷 朗，大浦彦吉，森沢成司（編），共立出版，東京，1989，p. 20.
- 5) S. P. Lee, K. Honda, S. Inoué, *Neurosci. Lett.*, **111**, 217 (1990).
- 6) S. Hiai, H. Yokoyama, H. Oura, *Endocrinol. Jpn.*, **26**, 661 (1979).
- 7) S. Hiai, H. Yokoyama, H. Oura, *Endocrinol. Jpn.*, **26**, 737 (1979).
- 8) 有地 滋，小谷 功，“薬用人参 ’85”，熊谷 朗，大浦彦吉，奥田拓道（編），共立出版，東京，1985，p.108.
- 9) 第14回神経科学学術集会（京都，1990年12月）および日本睡眠学会第16回定期学術集会（東京，1991年6月）で発表.
- 10) K. Shimizu, Y. Okano, S. Inoué, *Neurosci. Res.*, suppl. **14**, S156 (1991).
- 11) K. Matsumoto, T. Matsui, M. Kawamori, *Jpn. J. Hyg.*, **37**, 505 (1982).
- 12) 本多和樹，井上昌次郎，医器材研報，**15**, 115 (1981).