

ラットの早期離乳による成熟後の不安傾向の増大： n-3 不飽和脂肪酸濃度に及ぼす影響

野瀬 出¹⁾・松本浩毅²⁾・柿沼美紀¹⁾

¹⁾ 日本獣医生命科学大学・比較発達心理学教室

²⁾ 日本獣医生命科学大学・獣医内科学教室

要約 早期離乳により成熟後のラットの不安傾向が増加することが知られている。本研究では、早期離乳に関わる様々な要因の中でも栄養的側面に着目し、早期離乳に伴い n-3 不飽和脂肪酸が低下するのか、さらに n-3 不飽和脂肪酸を補うことで不安傾向が軽減されるのかについて検討した。対象は 63 頭の Wistar-Imamichi ラットであり、通常離乳群 (CT 群)、早期離乳群 (EW 群)、サプリメント群 (SP 群) の 3 群から成る。CT 群のラットは 21 日齢、EW 群と SP 群のラットは 15 日齢で離乳、さらに SP 群のラットには離乳後の 5 日間に n-3 不飽和脂肪酸を主成分とするサプリメントを餌に混ぜて与えた。3 群ともに 10 週齢に達した時点で驚愕反応を指標として用い不安傾向を測定し、同時にロータロッド・テストにより協調運動機能について検討した。血中脂肪酸濃度は 3 週齢、5 週齢、10 週齢の時点で測定した。実験の結果、EW 群、SP 群のラットは、CT 群のラットよりも不安傾向が増大し、EW 群のオスにおいては協調運動機能の低下が確認された。また、血中脂肪酸の解析結果からは、早期離乳したラットの n-3 不飽和脂肪酸が成熟後に至るまで低下することが明らかになった。一方、EW 群と SP 群との間に、不安傾向の顕著な差は認められなかった。今後は n-3 不飽和脂肪酸の投与量や投与期間を増加させて検討を重ねる必要がある。

キーワード：早期離乳，不安傾向，n-3 不飽和脂肪酸，低栄養

日獣生大研報 **61**, 42-50, 2012.

緒 言

ラットやマウスを対象とした実験から、通常よりも早い時期に離乳をすると、成熟した後の不安傾向が増大することが知られている¹⁻⁶⁾。しかし、早期離乳を行うことで栄養の不足、水分量や体温の低下、グルーミングなどによる皮膚への刺激の減少など様々な要因が同時に変化するため、どの要因が不安傾向の増大に関与しているかについては不明な部分が多い。本研究では、早期離乳に伴うこれらの要因の中でも栄養的側面、特に n-3 不飽和脂肪酸 (EPA, DHA など) に着目して検討を行った。早期離乳による不安傾向の増加は近年まで母親親奪による情緒不安が原因と考えられてきており、栄養不足による精神的影響についてはほとんど検討されてこなかった。

最近の実験動物およびヒトを対象とした研究から、n-3 不飽和脂肪酸の不足により不安傾向が高まり、また n-3 不飽和脂肪酸を補充することで不安傾向が減少することが明らかになってきている^{7,8)}。早期離乳を実施したラットに関しても、n-3 不飽和脂肪酸の不足により不安傾向が増大している可能性が考えられる。そこで本研究では、(1) 早

期離乳に伴い実際に n-3 不飽和脂肪酸が低下しているのか、さらに (2) 早期離乳したラットに n-3 不飽和脂肪酸を投与することで成熟後の不安傾向が軽減されるかについて調べることを目的とした。

不安傾向の程度を測定するために、驚愕反応を指標として用いた。驚愕反応は、橋網様体尾側部によって制御されているが⁹⁾、この領域は扁桃体からの投射を受けている¹⁰⁾。そのため情動と密接に関連しており、その大きさは不快状態で増大し、快状態で低減することが知られている¹¹⁻¹³⁾。本研究では、驚愕反応の大きさを主観的に評定するとともに、驚愕刺激呈示中の行動観察を実施した。驚愕反応は驚愕刺激が呈示された際の行動により影響を受けており¹⁴⁾、また情動だけでなく注意によっても変容することが知られている¹⁵⁾。驚愕刺激呈示中の行動観察を同時に実施することにより、驚愕反応と不安傾向との関連性について詳細な検討を行った。

さらに、本研究ではロータロッド・テストを実施した。不安傾向の高いラットは静止状態となる傾向があるが、それが運動の困難さに起因している可能性が考えられる。ロータロッド・テストを用いることで、早期離乳に伴う協

調運動機能への影響についても併せて検討を行った。

方 法

1. 対象および飼育方法

対象は Wistar-Imamichi ラットであり、妊娠したラットを動物繁殖研究所（茨城）より入手した。出産後3日目に母ラット1頭につき仔ラットが10頭（雌雄半々）になるように調整を行った。その後、通常離乳群（♂11頭、♀12頭、以下CT群）は21日齢、早期離乳群（♂13頭、♀6頭、以下EW群）とサプリメント群（♂10頭、♀11頭、以下SP群）は15日齢に達した時点で離乳した。早期離乳にあたっては獣医師が状態のモニタリング（脱水症状、食欲不振、体温低下など）を細めに実施し、体調管理に配慮した。離乳後は1ケージに5頭ずつ仔ラットを入れて飼育した。早期離乳したラットへは固形飼料（ラボMR-A1、日本農産工業）を細かく砕き水に浸した状態で与えた。早期離乳後の3日間は実験者がラットの口腔内に餌を含ませ、その後は通常の給餌方法を用いた。さらに、SP群のラットには早期離乳後の5日間にn-3不飽和脂肪酸(EPA, DHA)を主成分とするサプリメント（メイベツトDC、明治製菓）を餌に混ぜて与えた（10%の割合で配合）。5週齢以降は1ケージに2~3頭ずつ雌雄別に飼育した。餌、水は自由給餌とした。

本研究は、日本獣医生命科学大学動物実験委員会の承認（承認番号09-7）を得て、日本獣医生命科学大学動物実験指針に基づき実施している。

2. 行動指標の測定

不安傾向の評価指標として驚愕反応を測定した。驚愕刺激は10kHzのサイン波であり、音圧は約111.3dB SPL (C)であった。ラットを透明プラスチックケージ（幅20cm×奥行10cm×高さ15cm）に入れ、ケージ上部に設置した高音用スピーカー（FOSTEX T90A）により驚愕刺激を30秒間隔で20回呈示した。最初の2回は反応が安定しないため解析の対象から除外した。また、残りの18回を9回ずつ2ブロック（前半・後半）に分け、驚愕刺激の繰り返し呈示に伴う慣れの影響について検討した。実験中の様子はケージ正面からビデオカメラにより撮影し、後日記録された映像をもとに1名の評定者が驚愕反応の大きさを4段階（0：反応なし、1：部分的反応、2：弱い全身反応、3：強い全身反応）で評定した。全63頭中9頭（14.29%、各群3頭を無作為抽出）の驚愕反応については2名の評定者による評定を行った。両者の評定の一致度について検討するために算出した重みづけしたκ係数は0.95であり、評定の信頼性が十分に高いことが確認された。また、記録された映像から驚愕刺激呈示中のラットの行動解析を実施した。行動解析には行動コーディングシステム（DKH PTS-113）を用い、“毛づくろい”、“探索行動”、“静止状態”の3つの行動カテゴリーの総記録時間に対する発生率を算出した。

協調運動機能の評価指標としてロータロッド・テスト

（シナノ製作所）を実施した。回転軸（直径90mm、回転速度10回転/分）上にラットを置き、落下するまでの時間をストップウォッチにより計測した。1個体に対して5回の試行を実施した（試行間間隔30分）。

両行動指標の測定は、3群ともに10週齢に達した時点でロータロッド・テスト、驚愕反応測定の順で実施した。行動実験の実施時間は午後2時から7時の間であった。

3. 血中脂肪酸濃度および体重の測定

3週齢、5週齢および10週齢における血中脂肪酸濃度と体重の測定を実施した。10週齢については行動実験終了後に測定し、3週齢と5週齢については行動実験を行った個体とは別の個体を用いて測定した。血液はエーテル麻酔したラットの心臓より採取し、遠心分離により血清を抽出した後に凍結保存した。後日、検査会社（SRL、東京）に、ガスクロマトグラフィーを用いたFolch法¹⁶⁾による脂肪酸濃度の測定を依頼した。

4. 統計解析

統計解析には分散分析を用い、群ごとの平均測定値を比較した。下位検定に関しては、交互作用が有意である場合は単純主効果の検定を行い、多重比較にはShaffer法を用いた。驚愕反応の大きさと驚愕刺激呈示中の行動発生率との関係については、Pearsonの積率相関係数により検討した。

結 果

1. 体重の変化

週齢による体重の変化を図1に示す。週齢（3週、5週、10週）×群（CT・EW・SP）×性別（♂・♀）の3要因の分散分析を実施したところ、週齢（ $F(2, 223)=2692.28, p<.001$ ）、群（ $F(2, 223)=6.23, p<.01$ ）、性別（ $F(1, 223)=234.59, p<.001$ ）の主効果、および群と性別の交互作用（ $F(2, 223)=169.50, p<.001$ ）が有意であった。下位検定（Shaffer法、 $p<.05$ ）の結果、週齢、性別に関係なく、CT群の体重がEW群・SP群よりも重くなっていた。また、体重は3週、5週、10週の順に重くなっていった。3週齢では性差はなかったが、5週齢、10週齢の時点ではメスよりもオスにおいて体重が重かった。

2. 驚愕反応

驚愕反応の大きさの平均評定値を図2に示す。平均評定値について群（CT・EW・SP）×性別（♂・♀）×ブロック（前半・後半）の3要因の分散分析を実施したところ、群の主効果（ $F(2, 57)=7.00, p<.01$ ）およびブロックの主効果（ $F(1, 57)=37.33, p<.001$ ）が有意であった。下位検定の結果、驚愕反応は前半よりも後半において小さく、CT群よりもEW群・SP群において大きくなっていた（ $p<.05$ ）。

次に、驚愕刺激呈示中における各行動の発生率を図3に示す。3要因（群×性別×ブロック）の分散分析を実施した結果、毛づくろいについてはブロックの主効果のみが有意であった（ $F(1, 57)=14.68, p<.001$ ）。探索行動につい

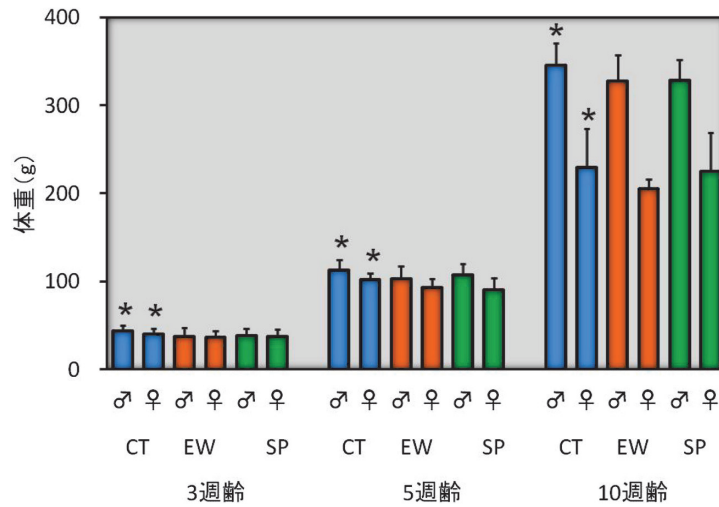


図 1. 週齢による体重の変化

*: CT 群の体重が EW 群, SP 群よりも有意に増加している ($p < .05$)。

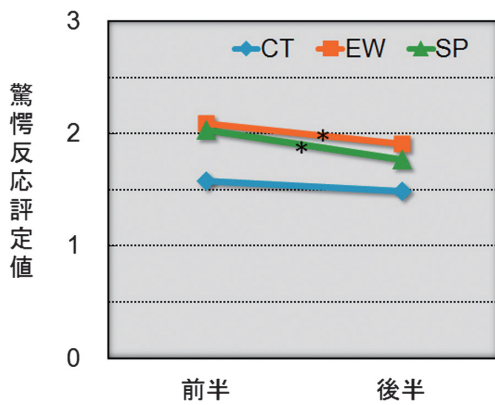


図 2. 驚愕反応の大きさの平均評定値

*: EW 群, SP 群の驚愕反応は CT 群よりも大きい ($p < .05$)。

ては, 群の主効果 ($F(2, 57) = 13.56, p < .001$) および群とブロックの交互作用 ($F(2, 57) = 3.39, p < .05$) が有意であった。静止状態については, 群の主効果 ($F(2, 57) = 13.67, p < .001$) およびブロックの主効果 ($F(1, 57) = 41.19, p < .001$) が有意であった。下位検定の結果, EW 群・SP 群では CT 群よりも静止状態が多く, 探索行動が少なくなっていた ($p < .05$)。また, 3 群ともに前半よりも後半において静止状態が減り, 毛づくろいが増えた ($p < .001$)。SP 群においてのみ前半よりも後半の探索行動が増加していたが, 毛づくろいは CT 群よりも少なくなっていた ($p < .05$)。

驚愕反応の大きさ (全 18 回の平均評定値) と各行動の発生率との関係を図 4 に示す。Pearson の積率相関係数を求めたところ, 毛づくろいと驚愕反応の大きさでは $r = -0.45$ ($p < .01$), 探索行動を驚愕反応の大きさでは $r = -0.49$ ($p < .01$), 静止状態と驚愕反応の大きさでは $r = 0.56$

($p < .01$) であった。驚愕反応の大きさと各行動の発生率とは関連しており, 驚愕反応は毛づくろいや探索行動が増えると小さくなり, 静止状態が増えると大きくなっていった。

3. ロータロッド・テスト

ロータロッド・テストにおいて, 回転軸上の平均滞在時間について 2 要因 (群×性別) の分散分析を実施した結果, 条件間で違いは見られなかった (群: $F(2, 46) = 0.457, n.s.$, 性別: $F(1, 57) = 1.26, n.s.$)。一方, 滞在時間 10 秒以下を失敗試行として平均失敗試行数 (図 5) について分散分析を実施したところ, 群と性別の交互作用が有意であった ($F(2, 33) = 4.08, p < .05$)。下位検定の結果, オスでは EW 群が CT 群よりも失敗試行数が多かった ($p < .05$)。また, EW 群・SP 群ではメスよりオスのほうが多く失敗していた ($p < .05$)。早期離乳の協調運動機能への影響に性差が認められた。

4. 血中脂肪酸濃度

本研究においては 24 種類の血中脂肪酸濃度について解析を行ったが, ここでは一部の脂肪酸についてのみ報告する。図 6 には n-3 不飽和脂肪酸であるエイコサペンタエン酸 (EPA, 20:5), ドコサペンタエン酸 (DPA, 22:5), ドコサヘキサエン酸 (DHA, 22:6), 図 7 には n-6 不飽和脂肪酸であるアラキドン酸 (AA, 20:4), ドコサテトラエン酸 (DTA, 22:4) の結果を示している。上記の脂肪酸濃度について, 3 要因 (週齢×群×性別) の分散分析を実施した。

EPA の血中濃度について分散分析を実施した結果, 週齢 ($F(2, 223) = 69.70, p < .001$), 群 ($F(2, 223) = 21.74, p < .001$) の主効果, および週齢と群の交互作用 ($F(4, 223) = 10.20, p < .001$) が有意であった。下位検定の結果, 3 週齢において SP 群, CT 群, EW 群の順に血中濃度が高くなっていった ($p < .05$)。SP 群において最も血中濃度が高

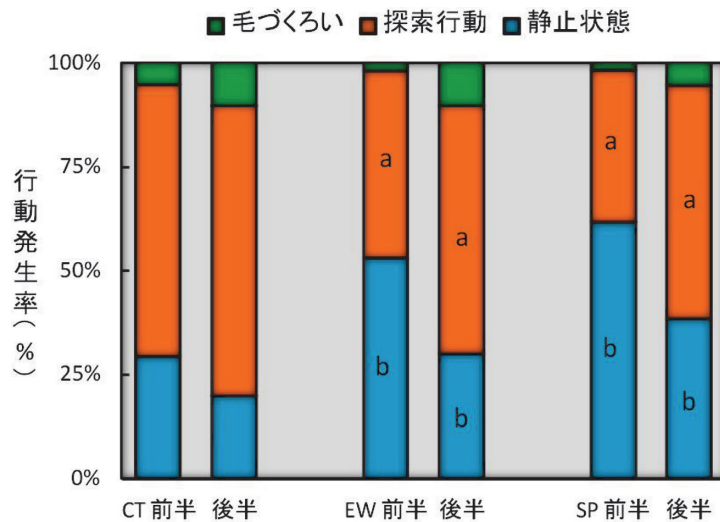


図 3. 驚愕刺激呈示中の行動傾向
a: CT 群よりも減少, b: CT 群よりも増加 (p<.05)。

かったことから、3 週齢におけるサプリメントの影響が確認された。

DPA の血中濃度について分散分析を実施した結果、週齢 (F(2, 223) = 52.50, p < .001), 群 (F(2, 223) = 25.61, p < .001), 性別 (F(1, 223) = 22.61, p < .001) の主効果、週齢と群の交互作用 (F(4, 223) = 2.91, p < .05), および週齢と性別の交互作用 (F(4, 223) = 10.07, p < .001) が有意であった。下位検定の結果、3 週齢においては CT 群が SP 群・EW 群より、5 週齢・10 週齢においては CT 群が EW 群よりも血中濃度が高くなっていた (p < .05)。また、10 週齢においては、オスのほうがメスよりも血中濃度が高かった (p < .05)。

DHA の血中濃度について分散分析を実施した結果、週齢 (F(2, 223) = 128.44, p < .001), 群 (F(2, 223) = 21.94, p < .001) の主効果、および週齢と群の交互作用 (F(4, 223) = 9.91, p < .001) が有意であった。下位検定の結果、3 週齢において CT 群の血中濃度が SP 群・EW 群よりも高くなっていた (p < .05)。

AA の血中濃度について分散分析を実施した結果、週齢 (F(2, 222) = 8.81, p < .001), 群 (F(2, 222) = 40.60, p < .001), 性別 (F(1, 222) = 7.01, p < .01) の主効果、および週齢と群の交互作用 (F(4, 222) = 32.97, p < .001) が有意であった。週齢、群に関わらず、オスよりもメスにおいて血中濃度が高かった。下位検定の結果、3 週齢においては CT 群、EW 群、SP 群の順に血中濃度が高くなっていた (p < .05)。

DTA の血中濃度について分散分析を実施した結果、週齢 (F(2, 222) = 11.30, p < .001), 群 (F(2, 222) = 56.59, p < .001) の主効果、および週齢と群の交互作用 (F(4, 222) = 16.51, p < .001) が有意であった。下位検定の結果、3 週齢においては CT 群、EW 群、SP 群の順に血中濃度が

高く、5 週齢においては CT 群の血中濃度が EW 群・SP 群よりも高くなっていた (p < .05)。

考 察

本研究では、(1) 早期離乳に伴い n-3 不飽和脂肪酸が低下するのか、さらに (2) 早期離乳したラットに n-3 不飽和脂肪酸を投与することで成熟後の不安傾向が軽減されるかについて検討した。

体重の変化について検討した結果、どの群においてもラットの体重は週齢があがるにつれて増加していた。しかし、EW 群および SP 群のラットは CT 群のラットよりも体重が軽かった。また、その体重差は早期分離直後の 3 週齢の時点だけでなく、5 週齢、10 週齢においても認められた。初期における母子分離の影響が成熟後にも及ぶことが示された。

驚愕反応の大きさの評定値は、CT 群よりも EW 群・SP 群において増大していた。驚愕反応の大きさは、不快状態において増大し、快状態において減弱することが知られている¹¹⁻¹³⁾。本実験の結果から、早期離乳したラットは成熟後に不安状態が高まることが再確認された。ただし、EW 群と SP 群の間に有意な差はなく、サプリメントの影響は認められなかった。

驚愕反応と不安傾向との関連性について詳細に検討するために、驚愕刺激呈示中の行動解析を実施し、評定値との関係について検討した。その結果、驚愕刺激の呈示中、EW 群・SP 群では CT 群よりも静止状態が多く、探索行動が少なくなっていた。また、驚愕刺激に対する慣れが生じると、3 群ともに静止状態が減り、毛づくろいや探索行動が増えていった。驚愕反応の大きさと同様に、EW 群と SP 群の顕著な差は認められていない。さらに、驚愕反応の大きさは毛づくろいや探索行動が増えると小さく、静止

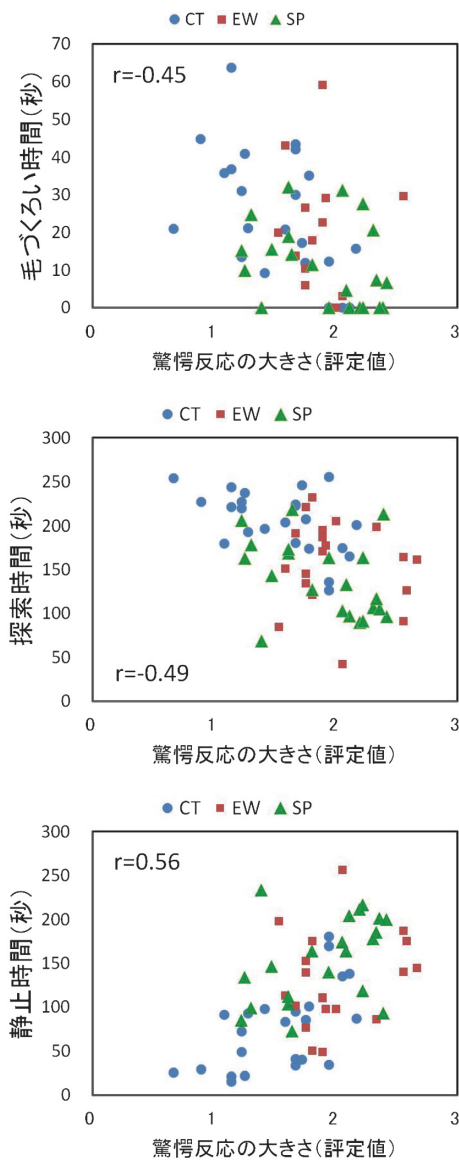


図 4. 驚愕反応の大きさと行動傾向の関係
驚愕反応の大きさは全 18 回の平均評定値である。
相関係数 (r) はいずれも有意性が認められた ($p < .01$)。

状態が増えると大きくなっていった。驚愕反応の大きさは不安行動と密接に関連しており、不安傾向の指標としての妥当性は十分に高いと考えられる。今後は、驚愕反応の大きさを物理量として客観的に捉え、その傾向を詳細に解析することが求められる。驚愕反応は週齢に関わらず測定可能であることから、不安状態の発達の变化についても検討できるだろう。

驚愕刺激提示中の行動解析からも示されたように早期離乳したラットは静止時間が増えるが、その理由の一つとして協調運動機能の低下が考えられる。そこで本研究では、協調運動機能の評価指標となる^{17,18)}ロータロッド・テストを実施した。その結果、EW 群のオスにおいて早期離乳に

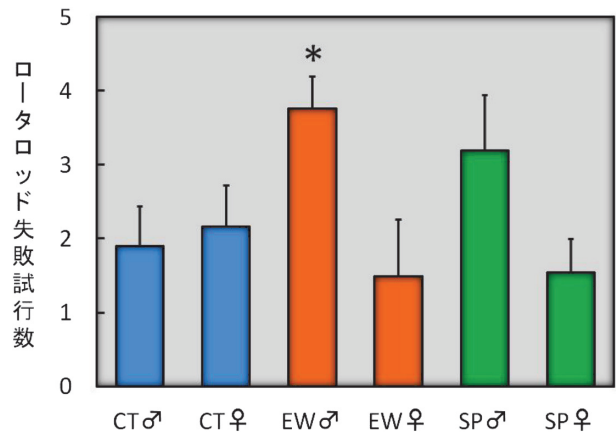


図 5. ロータロッド失敗試行数

* : EW 群のオスは、CT 群のオスよりも失敗試行数が多い ($p < .05$)。

伴う協調運動機能の低下が確認され、運動の困難さが静止状態を促す一因となっている可能性が示唆された。性差については、高架式十字迷路を用いた実験においても、オスのみにおいて早期離乳の効果が認められたとする報告がある⁴⁾。しかし、ロータロッド・テストに関してはオスとメスの体格差(体重差)が影響している可能性も考えられ、今後さらに検討する必要がある。

血中脂肪酸濃度の解析結果より、3 週齢における n-3 不飽和脂肪酸 (EPA, DPA, DHA) の濃度は CT 群よりも EW 群で低下していた。さらに DPA に関しては、その傾向が 10 週齢に至るまで続いていた。これらの結果から、早期離乳による n-3 不飽和脂肪酸の低下が成熟後まで維持されることが、不安傾向の増大につながっている可能性が示唆される。しかし、n-3 不飽和脂肪酸以外の要因が不安傾向に複合的に関与している可能性も考えられ、n-3 不飽和脂肪酸の低下が実際にどの程度影響力をもっているのかについては、今後の研究によって明らかにしていかなければならない。

サプリメントの影響に関しては、3 週齢における EPA 濃度が CT 群・EW 群よりも SP 群において高くなっていた。本研究で投与したサプリメントが最も多く含む成分は EPA であり、上記の結果と対応している。また、代謝の過程で共通の酵素を必要とするために競合的な作用が生じる n-6 不飽和脂肪酸 (AA, DPA) が 3 週齢において CT 群・EW 群よりも SP 群で低下していたことから、仔ラットがサプリメントを摂取していたことが確認できる。しかし、一方で行動指標(驚愕反応、ロータロッド・テスト)の結果は、SP 群の不安傾向が CT 群よりも高く EW 群と同程度であることを示している。サプリメントの影響が認められなかった理由として摂取量が不十分であった可能性が考えられ、今後は投与量や投与期間を増加させて、さらに検討を加える必要がある。

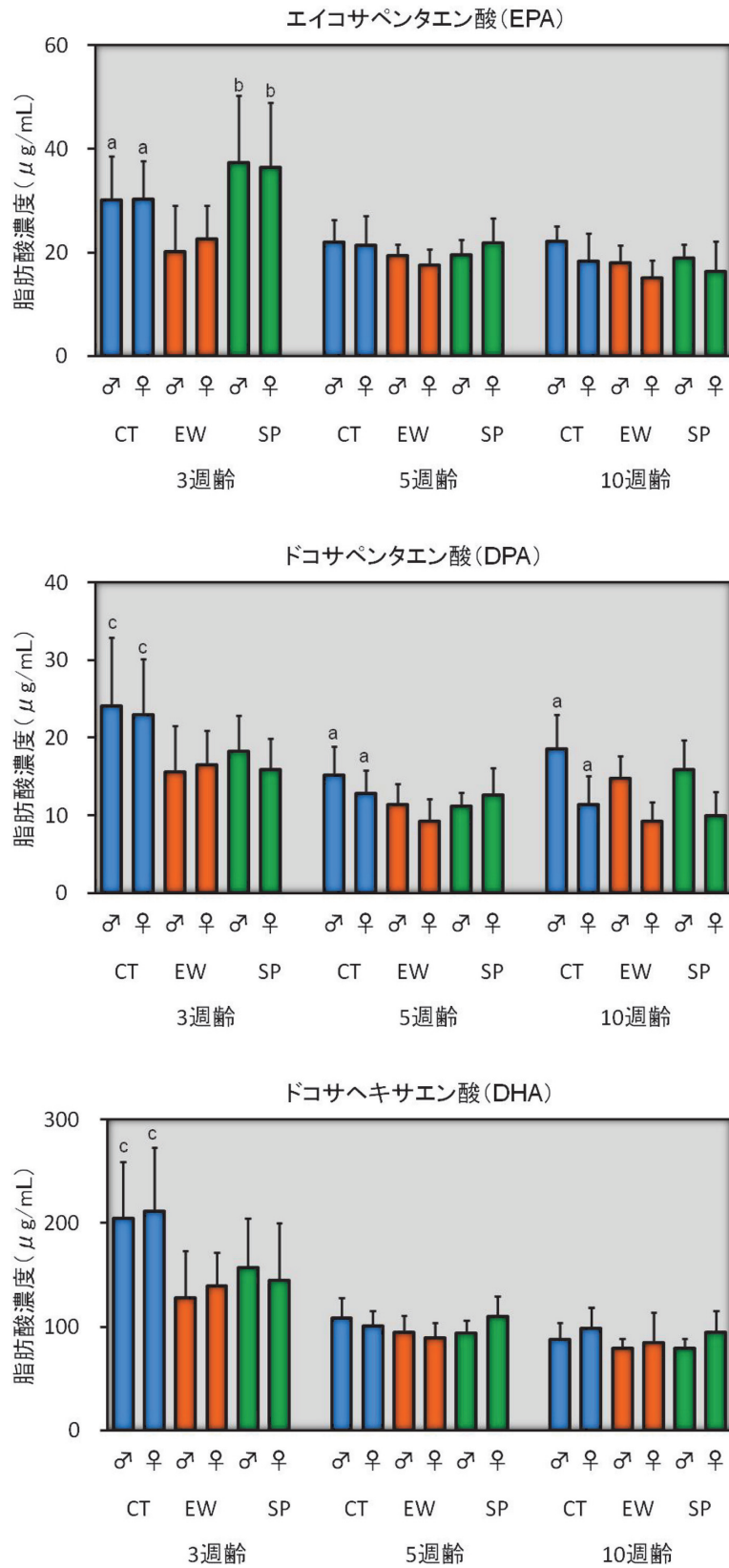


図 6. n-3 不飽和脂肪酸濃度の変化
 a : EW 群よりも増加, b : CT・EW 群よりも増加, c : EW・SP 群よりも増加 (p<.05)。

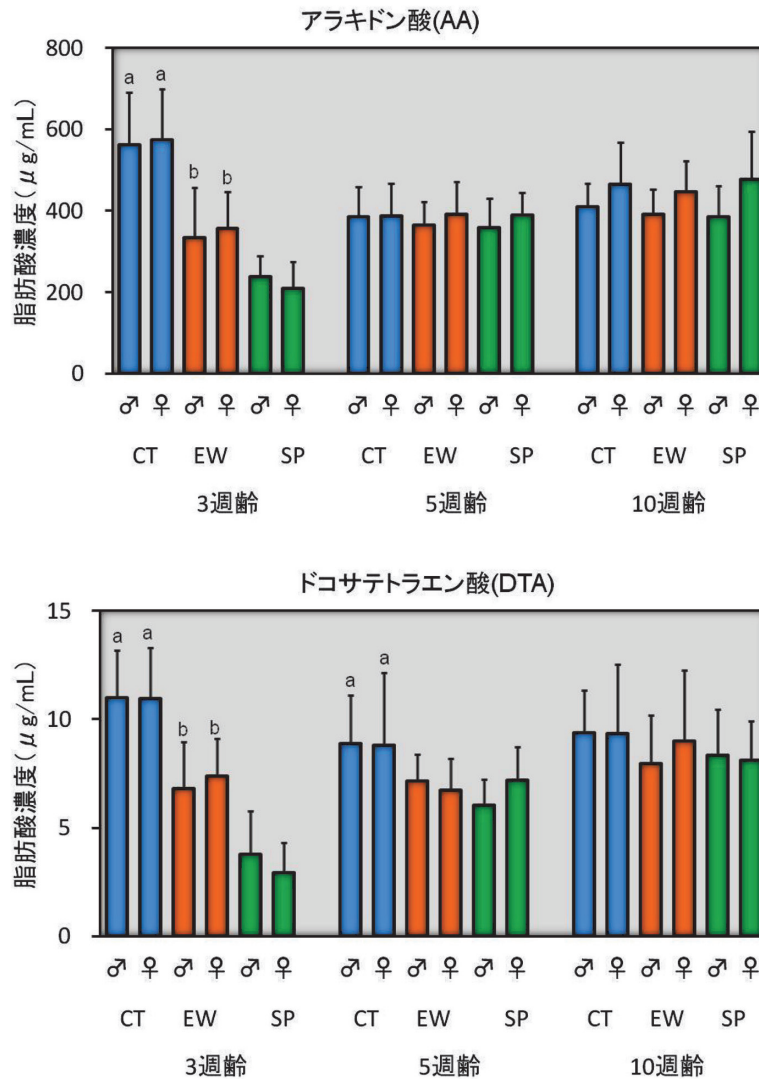


図 7. n-6 不飽和脂肪酸濃度の変化
a : EW・SP 群よりも増加, b : SP 群よりも増加 (p < 0.05)。

文 献

- 1) KIKUSUI, T. and MORI, Y. (2009). Behavioural and neurochemical consequences of early weaning in rodents. *Journal of Neuroendocrinology*, **21**, 427-31.
- 2) ONO, M., KIKUSUI T., MORI, Y., ICHIKAWA, M. and MUROFUSHI, K. (2008). Early weaning induces anxiety and precocious myelination in the anterior part of the basolateral amygdala of male Balb/c mice. *Neuroscience*, **156**, 1103-1110.
- 3) KODAMA, Y., KIKUSUI, T., TAKEKUCHI, Y. and MORI, Y. (2008). Effects of early weaning on anxiety and prefrontal cortical and hippocampal myelination in male and female Wistar rats. *Developmental Psychobiology*, **50**, 332-342.
- 4) ITO, A., KIKUSUI, T., TAKEUCHI, Y. and MORI, Y. (2006). Effects of early weaning on anxiety and autonomic responses to stress in rats. *Behavioural brain research*, **171**, 87-93.
- 5) KANARI, K., KIKUSUI, T., TAKEUCHI, Y. and MORI, Y. (2005). Multidimensional structure of anxiety-related behavior in early-weaned rats. *Behavioural brain research*, **156**, 45-52.
- 6) KAKINUMA, M., MATSUMOTO, H., NOSE, I. and HIROSE, H. (2010). Effects of early weaning over fatty acid concentration and anxiety level after maturation in rat : Early deprivation of milk leaves long-term effects. 12th World Congress of the World Association for Infant Mental Health, p. 116. (Abstract)
- 7) EYRUSSE, V., LABROUSSE, V.F., BRETILLON, L., MATUTE, C., RODRIGUEZ-PUERTAS, R., LAYE, S. and MANZONI, O.J. (2011). Nutritional omega-3 deficiency abolishes endocannabinoid-mediated neuronal functions. *Nature Neuroscience*, **14**, 345-50.
- 8) KIECOLT-GLASER, J.K., BELURY, M.A., ANDRIDGE, R.,

- MALARKEY, W.B. and GLASER R. (2011). Omega-3 supplementation lowers inflammation and anxiety in medical students : A randomized controlled trial. *Brain, Behavior, and Immunity*, **25**, 1725-1734.
- 9) DAVIS, M., GENDELMAN, D.S., TISCHLER, M.D. and GENDELMAN P.M. (1982). A primary acoustic startle circuit : lesion and stimulation studies. *Journal of Neuroscience*, **2**, 791-805.
- 10) HIRONAKA, N. (1999). Acoustic startle response in the study of developmental toxicity. *Congenital Anomalies*, **39**, 3-12.
- 11) HITCHCOCK, J. and DAVIS, M. (1986). Lesions of the amygdala, but not of the cerebellum or red nucleus, block conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. *Behavioral Neuroscience*, **100**, 11-22.
- 12) SCHMID, A., KOCH, M. and SCHNITZLER, H.U. (1995). Conditioned pleasure attenuates the startle response in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, **64**, 1-3.
- 13) MARTIN-IVERSON, M.T. and STEVENSON, K.N. (2005). Apomorphine effects on emotional modulation of the startle reflex in rats. *Psychopharmacology*, **181**, 60-70.
- 14) PLAPPERT, C.F., PILZ, P.K.D. and SCHNITZLER, H.-U. (1993). Acoustic startle response and habituation in freezing and nonfreezing rats. *Behavioral Neuroscience*, **107**, 981-987
- 15) LI, L., DU, Y., LI, N., WU, X., and WU, Y. (2009). Top-down modulation of prepulse inhibition of the startle reflex in humans and rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **33**, 1157-1167.
- 16) FOLCH, J., LEES, M., and SLOANE STANLEY, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, **226**, 497-509.
- 17) HUNTER, A.J., HATCHER, J., VIRLEY, D., NELSON, P., IRVING, E., HADINGHAM, S.J. and PARSONS, A.A. (2000). Functional assessments in mice and rats after focal stroke. *Neuropharmacology*, **39**, 806-16.
- 18) MIZOGUCHI, K., YUZURIHARA, M., ISHIGE, A. SASAKI, H. and TABIRA, T. (2002). Chronic stress impairs rotarod performance in rats : implications for depressive state. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **71**, 79-84.
-

Lower concentration of n-3 polyunsaturated fatty acids in early weaned rats
at 10 weeks : higher anxiety levels may be caused by
malnutrition during weaning

Izuru NOSE¹⁾, Hirotaka MATSUMOTO²⁾ and Miki KAKINUMA¹⁾

¹⁾ Laboratory of Comparative Developmental Psychology,
Nippon Veterinary and Life Science University

²⁾ Laboratory of Veterinary Internal Medicine, Nippon Veterinary and Life Science University

Abstract

Previous research has demonstrated that early weaning increases anxiety after maturation in rats. We speculated that deprivation of milk supply during early weaning may influence development, especially the lower supply of n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA), which is also related to anxiety levels in adults. If that is the case, the supplementation of n-3 PUFA to early weaned rats may reduce anxiety levels at 10 weeks.

Sixty-three Wistar-Imamichi rats were assigned to one of three groups ; control (CT), early weaning (EW), and supplement (SP). The CT rats were separated from each dam at the age of 21 days, and the EW and SP rats were weaned at 15 days. The SP rats were fed chows with additional n-3 PUFA supplements for 5 days after the weaning.

At 3 weeks, the SP rats showed higher n-3 PUFA levels than the CT and EW rats, but at 10 weeks, the CT rats showed higher concentration of n-3 PUFA than the EW rats. The EW rats showed a lower concentration throughout. At 10 weeks they were tested for anxiety and motor-coordination, with startle response paradigm and rotarod test. We confirmed that the both EW and SP rats showed higher anxiety and lower motor-coordination (only in males) than the CT rats.

Even though the n-3 PUFA levels were higher for SP rats at three weeks, their anxiety level was higher than the CT rats at 10 weeks. The lower concentration of n-3 PUFA at 10 weeks for EW rats indicated that early weaning does have effects over their metabolism. We need to conduct further investigation to examine the adequate amount of supplements or the supplementation period required to overcome the early experience of such deprivation.

Key words : early weaning, anxiety, n-3 polyunsaturated fat acids, malnutrition

Bull. Nippon Vet. Life Sci. Univ., **61**, 42-50, 2012.