

野生植物抽出ミネラルの経口投与による マウスの生理状態改善および繁殖能力向上

角田 出^{*1}・佐藤 聡^{*2}・村上 崇幸^{*2}
高瀬 清美^{*1}・門脇みとせ^{*2}・佐藤 利夫^{*3}

Oral Administration of Wild Plant Mineral Mixture Improves Physiological Conditions and Reproductive Ability of Mice

Izuru KAKUTA^{*1}, Satoshi SATO^{*2}, Takayuki MURAKAMI^{*2},
Kiyomi TAKASE^{*1}, MitoseKADOWAKI^{*2} and Toshio SATO^{*3}

^{*1}*Department of Bioengineering, Faculty of Science and Engineering, Ishinomaki Senshu
University, Miyagi 986-8580*

^{*2}*YATSKA Co., Ltd., Matsue 690-2103*

^{*3}*Faculty of life and Environmental Science, Shimane University, Matsue 690-8504*

Abstract

Wild Plant Mineral Mixture was evaluated for the ability to improve the physiological conditions and the reproductive performance of mice. Oral administration of this Mineral Mixture with 250 and 1,250 mg/kg body weight/day to mice for 3 (short-term experiment) or 21 (long-term experiment) weeks resulted in enhanced some physiological indices and reproductive performance of mice as follows: increases in the number of white blood cells in male and female mice on week 3, and the gonad-somatic index (weight of testis) of male, the swimming performance activities, the pregnancy rate and the number of mean live births in female administered orally the Mineral Mixture for 21 weeks. The results indicate that oral administration of the Wild Plant Mineral Mixture improves the physiological conditions and the reproductive ability of mice.

1. 緒言

食料自給率 39%の我が国では、タンパク質や脂質の供給量確保の意味から、水産業の再活性化に加えて、畜産業の効率化が重要な課題となっている。たとえば、平成 17 年度食品流通構造調査(農水省)⁽¹⁾によると、豚肉の場合、総仕入量は 510 万トンであるが、その自給率は 311 万トン(全体の約 60%)と低い。国産豚肉の生産性を上げるためには、優良な種豚の維持・確保と安定供給体制の確立(健全性の維持を含む)に加えて、母豚一頭当たりの産子数・繁殖性の向上が求められる。上記目的のために予防ワクチンやビタミン類等の飼料添加剤が使用されることが多いが、現状では、この付加コストが経営を大きく圧迫し、生産性向上の大きな障害要因となっている場

合すらある。それゆえ、これらの付加コストを低減し、かつ生産性を上げる効果を有する飼料原材料の発掘、商品化が望まれている。なお、当該飼料原料としては、その効果のみならず、保存や使用に際しての温度管理が容易であること、有効かつ安全な投与量範囲の広いこと等の特性も求められている。

野生植物抽出ミネラル(以下、植物ミネラルと記述する)は、水産養殖試験において、摂取した各種養殖対象魚類の一次および二次生体防御活性を賦活化したり、過剰なストレス反応を抑制(ストレス耐性を増強)したりする効果のあること^(2,3)が示唆されている。また、餌に当該植物ミネラルを添加すると、養殖魚の餌への食いつきが良くなり、残餌の減少、食欲の亢進等が認められ

¹石巻専修大学 理工学部 生物生産工学科(〒986-8580 石巻市南境新水戸 1)

²株式会社やつか 技術部(〒690-2103 松江市八雲町西岩坂 4210-3)

³島根大学 生物資源科学部(〒690-8504 松江市西川津町 1060)

るようになり、成長の促進（稚魚）⁽²⁾や肉質の改善（成魚）が図れること^(2,4)も報告されている。

ラクトフェリンやフコイダン、 γ -オリザノール等、これまで魚類を対象とした試験で生体防御活性の賦活効果やストレス耐性の増強等の効果が認められた素材の幾つかに関しては、魚類のみでなく哺乳類についても同様の効果を示すことが知られている⁽⁵⁻¹⁰⁾。植物ミネラルについても、魚類において認められたと同様の効果が、哺乳類にみられる可能性は高い。加えて、植物ミネラルは、価格、保存性、安全性の面でも、上記飼料原料に求められる特性を満たしていると考えられる。したがって、本稿では、マウスを対象動物として用い、植物ミネラルの投与がその生理状態および繁殖能力に及ぼす影響を調べたので、その結果について報告する。

2. 材料および方法

2. 1 対象動物および飼育条件

Slc社から購入した3週齢のSlc/ddyマウス（体重12g程度：第1世代）を用いた。マウスを、温度 $22\pm 4^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $60\pm 10\%$ 、明期12時間・暗期12時間に調整した、株式会社やつか内動物飼育室にて飼育し、以下の試験を実施した。

実験1： 短期間投与による健全性（健康維持・生体防御活性増強効果）評価試験

・・・各群、雌雄ともに各5匹を使用。

実験2： 短期間投与による繁殖能力向上性の評価（雌雄共に投与した場合）試験

・・・各群、雌5匹、雄10匹を使用。

実験3： 長期間投与による健全性（生理状態・外形異常・疾病発症・疲労度）評価試験

・・・被投与個体の生理状態・外形異常・疾病発症の確認試験には、各群、経産および非経産の雌各15匹、雄15匹を使用。ただし、血液・顕微鏡による組織観察用にはこの中から雌雄各5匹を、内臓の肉眼的観察用には同雌雄10匹を抽出して使用。また、遊泳運動負荷（疲労度評価）試験用には非経産雌5匹を使用。

実験期間中の基本飼料として、日本農産株式会社製の固形飼料ラボMRストック（組成はTable

Table 1 Proximal composition and energy value of a basal diet used in this experiment

Water	9.20	%
Crude protein	18.80	%
Crude lipid	3.90	%
Crude fiber	6.60	%
Crude ash	6.90	%
Energy	2,310	kcal/kg

Table 2 Elemental composition of Wild Plant Mineral Mixture used in the experiment

Ca	11.5	g/100g
K	10.0	g/100g
Na	4.0	g/100g
Mg	2.5	g/100g
P	0.8	g/100g
Fe	0.8	g/100g
Zn	21	mg/100g
Pb	<12	mg/100g
As (as As_2O_3)	< 8	mg/100g
Cu	5	mg/100g

1に記載)を用い、投餌量は1日あたり体重の10%とした。飲用水は、滅菌水を自由摂取させた。実際には、同基本飼料を粉砕機で破砕し、そこに総量の0.25%（植物ミネラル低濃度群）あるいは1.25%（植物ミネラル高濃度群）になるように植物ミネラル（組成はTable 2に記載）を加えてよく混合した後、飼料の1%量のカルボキシメチルセルロースナトリウムを添加し、精製水を加えて良く練りこみ、再成型・乾燥したものを給餌した。なお、対照群には、植物ミネラル無添加で、カルボキシメチルセルロースと精製水のみを加えて再成型・乾燥したものを投与した。

2. 2 調査項目および同方法

実験1： 実験開始から3週間後に、各群から、雌雄ともに5匹のマウスを取り上げ（6週令）、エーテル麻酔により不動化あるいは頸椎脱臼により安楽死させた直後の個体から、心臓穿刺により採血して、赤血球数および白血球組成の計測を行うとともに、雌につ

いては血漿のリゾチーム活性を測定した。また、内臓の肉眼的観察を行うとともに、肝臓・腎臓・小腸の各臓器を10%中性ホルマリンで固定し、常法により厚5 μ mの光学顕微鏡用パラフィン切片を作製して、HE染色を施し、組織学的観察に供した。

実験2： 実験開始から3週間後に、各群から、5匹の雄マウスを取り上げ（6週令）、実験1と同様の処理をした後、内臓の肉眼的観察を行うとともに、精巢を採取して重量を測定し、比精巢重量（=精巢重量 \div 体重 \times 100）を求めた。また、雌雄別に同一ケージ内で飼育した各5匹のマウスについては、雌の成熟（雌の膣の開口を持って成熟とみなした：8週令）を待って、それぞれ単独飼育に切り替えるとともに雌雄同時飼育に慣れさせてから、2週間にわたり雌雄各1匹をメイティング（10週令になった時点から11週令の最終日まで）し、同期間中における産子数と性比を調べた。その後、親マウスについては、21週間後まで継続飼育し、実験3の実験用個体とした。

実験3： 実験開始から21週間後までの生残率を調べるとともに、21週間の飼育実験終了時に各群から5匹のマウスを取り上げ（雌雄：24週令）、上記同様の不動化処理を行った後、外形異常の調査、赤血球数および白血球組成の計測、肝臓・腎臓・小腸の光学顕微鏡レベルでの組織観察に供した。なお、雌については、血漿のリゾチーム活性、血漿中アンモニア濃度、直接および間接ビリルビン濃度の測定を行い、雄については、精巢を取り出し、体重に対する精巢の割合（比精巢重量）を算出した。

また、21週間の飼育実験終了時において、各群雌5匹のマウス（24週令）を対象として、10分間の強制遊泳運動を負荷（容量10Lの水槽に、37 $^{\circ}$ C付近の温水を満し、その中に調査個体を投入）し、足かき回数の変化を調べた（疲労度の計測）。

2.3 血液性状の測定方法

ヘパリンリチウムにてコーティングした注射器

を用い、心臓より採取した血液をもとに、以下の血液性状を調べた。赤血球数（貧血、運動性の指標等）は、生理食塩水で希釈した後、血球計算盤（Thoma分画）を用いて計測した。白血球組成（生体防御活性の指標）は、血球塗沫標本を作製し、メイグリュンワルド染色後、光学顕微鏡下で白血球系の各種細胞数を計測した。血漿リゾチーム活性（生体防御活性の指標、対細菌が主）は、全血を3,000 rpm、5分間遠心分離し、血漿分画を得た後、リン酸緩衝液（300 mM、pH7.0）下で、*Micrococcus luteus*（和光純薬工業株式会社製）に対する溶菌活性を測定した。すなわち、*M. luteus*液 200 μ l に対し、血漿 10 μ l を添加し、37 $^{\circ}$ Cで60分間保温し、吸光度の低下を調べ、その差（ Δ 650nm 吸光度/時間）を活性とした。血漿中アンモニア濃度（肝機能・腎機能等の指標）はアンモニアテストワコー（和光純薬工業株式会社製）を用いて測定した。血漿中のビリルビン分画（肝疾患や黄疸の診断指標）は、血漿中の直接および間接ビリルビンを化学酸化法により求めた。

2.4 統計処理

Student's-*t*検定を用い、対照群と植物ミネラル低濃度群あるいは植物ミネラル高濃度群とを比較し、危険率が $p < 0.05$ を有意差ありとした。

3. 結果

3.1 実験1： 短期間投与による健全性（健康維持・生体防御活性増強効果）評価

植物ミネラル投与開始から3週間後における雌マウス（6週令）の血液性状を Table 3 に示す。赤血球数（RBC）では、対照群と植物ミネラル低濃度（0.25%）群および植物ミネラル高濃度（1.25%）群の間に有意な差は認められなかった。白血球数（WBC）では、植物ミネラル低濃度群に、対照群に比べて、有意に高い値が認められた。ただし、植物ミネラル高濃度群と対照群の間には有意な差は認められなかった。白血球はリンパ球、単球、好中球に大別されたが、白血球組成においては、対照群と植物ミネラル低濃度群および高濃度群の間に、有意な差は認められなかった。血漿リゾチーム活性においても、対照群と植

野生植物抽出ミネラルの経口投与によるマウスの生理状態改善および繁殖能力向上

Table 3 Changes in the blood properties of mice administered Wild Plant Mineral Mixture for 3 weeks

		Male			Female		
		Control	Mineral 0.25%	Mineral 1.25%	Control	Mineral 0.25%	Mineral 1.25%
Red blood cells	($\times 10^6$ cells/ μ L)	10.04 \pm 0.59	9.50 \pm 0.85	9.57 \pm 0.20	9.83 \pm 0.46	9.88 \pm 0.26	10.06 \pm 0.61
White blood cells	($\times 10^3$ cells/ μ L)	1.92 \pm 0.16	2.31 \pm 0.15*	1.92 \pm 0.18	2.10 \pm 0.15	2.30 \pm 0.06*	2.18 \pm 0.14
Composition of WBC	Lymphocyte (%)	83.1 \pm 0.7	82.5 \pm 0.8	83.4 \pm 1.0	75.2 \pm 1.6	75.4 \pm 1.4	75.4 \pm 2.1
	Monocyte (%)	2.0 \pm 0.4	2.1 \pm 0.3	2.1 \pm 0.4	2.5 \pm 0.3	2.5 \pm 0.2	2.5 \pm 0.2
	Neutrophil (%)	14.9 \pm 0.5	15.4 \pm 0.7	14.5 \pm 1.0	22.3 \pm 1.5	22.0 \pm 1.4	22.1 \pm 2.3
Plasma lysozyme activiti (\angle 650nm/h)					0.011 \pm 0.009	0.019 \pm 0.016	0.015 \pm 0.008

Data are given as mean \pm S.D., n=5.

*:Significant difference to the control (p<0.05)

Table 4 Effects of Wild Plant Mineral Mixture administered orally on the pregnancy rate and the number of mean live births of female mice, and the ratio of male to total live births

Group	Pregnancy rate (%)	The number of mean live births	Ratio of male (%) (Male/total) \times 100
Control	40	3.0	30
Mineral 0.25%	100	7.2	46
Mineral 1.25%	60	4.6	44

物ミネラル低濃度群および高濃度群の間に、有意な差は認められなかった。

内臓形態および各臓器の光学顕微鏡的観察結果においても、対照群、植物ミネラル低濃度群、高濃度群の全てについて異常は認められなかった。

また、同令雄マウスの調査でも、対照群と植物ミネラルを投与した2群間で、上述の血液性状、肉眼や光学顕微鏡レベルでの組織観察像に差はなく、それらに異常は認められなかった。

3. 2 実験2： 短期間投与による繁殖能力向上効果（雌雄共に投与した場合）の検討

植物ミネラル投与開始から3週間後における雄マウス（6週令）の体重に対する精巢の割合（比精巢重量：％）は、対照群で0.97 \pm 0.05、植物ミネラル低濃度群で0.89 \pm 0.29、植物ミネラル高濃度群では0.90 \pm 0.10となり、対照群と両植物ミネラル投与群の間に有意差は認められなかった。

第1世代マウスを交尾させた際の各群における妊娠率、群としての平均産仔数、および第2世代（仔マウス）の性比をTable 4に示す。妊娠率では、植物ミネラル摂餌群において、対照群より高い値が認められ、対照群の40%に対し、植物ミネラル低濃度群の値は100%、植物ミネラル高濃度群でもその値は60%と高くなった。産仔数で

は、仔を産んだ雌マウス1個体あたりの数では7~8個体であり、植物ミネラルの投与効果は認められなかったが、群としての平均産仔数は、対照群が3.0個体であったのに対し、植物ミネラル低濃度群では7.2個体、植物ミネラル高濃度群でも4.6個体となり、植物ミネラルの投与によって著しく増加した。また、仔マウスの性比については、雄の割合が対照群で30%であったのに対し、植物ミネラル低濃度および高濃度群では約45%と高くなり、植物ミネラルの投与によって雄の出現率が上昇する（雌雄の比が1:1に近づく）傾向がみられた。

3. 3 実験3： 長期間投与による健全性（生理状態・外形異常・疾病発症・疲労度）評価

21週間の飼育期間を通じて、対照群および植物ミネラルを投与した2群ともに、発達障害、毛の艶などの外形異常は認められなかった。対照群と植物ミネラル高濃度群において、飼育期間中に各1個体の死亡が確認されたが、その死亡原因については特定できなかった。

植物ミネラルの投与に伴う雌の体重の経時変化をFig. 1に示す。植物ミネラル投与試験の開始から7週間後（3週齢から10週齢）にかけて、各群とも、マウスの体重は大きく増加したが、そ

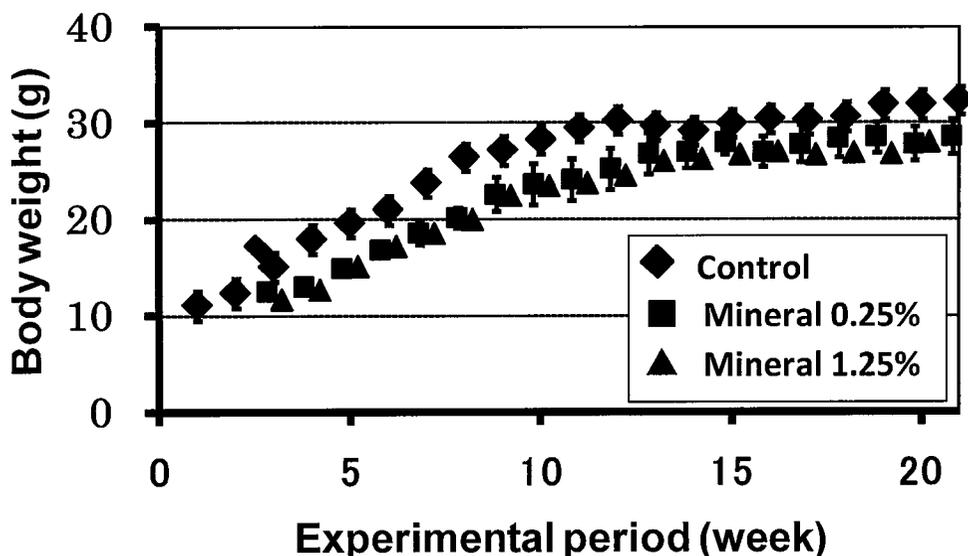


Fig.1 Changes in the body weight of female mice administered Wild Plant Mineral Mixture
Data are given as mean±S.D., n=30 (on week 0-3) or 25 (on week 4-21).

Table 5 Changes in the blood properties of mice administered Wild Plant Mineral Mixture for 21 weeks

		Male			Female		
		Control	Mineral 0.25%	Mineral 1.25%	Control	Mineral 0.25%	Mineral 1.25%
Red blood cells	($\times 10^6$ cells/ μ L)	8.12±0.14	9.17±0.26	9.02±0.28	8.49±0.93	9.23±0.26	8.96±0.10
White blood cells	($\times 10^3$ cells/ μ L)	2.25±0.20	2.43±0.25	1.88±0.17*	2.59±0.25	2.85±0.28	2.02±0.35*
Composition of WBC	Lymphocyte (%)	74.3±1.4	76.3±0.6	75.2±1.5	74.8±1.8	75.5±1.2	76.1±1.8
	Monocyte (%)	2.7±0.3	2.8±0.3	2.8±0.4	2.6±0.5	2.6±0.2	2.7±0.2
	Neutrophil (%)	23.0±1.5	21.3±0.8	22.4±1.0	22.6±1.4	21.9±1.1	21.4±1.6
Plasma ammonia	(μ g/100mL)				108±40	82±8	109±42
Plasma direct bilirubin	(mg/100mL)				0.075±0.045	0.083±0.024	0.236±0.233
Plasma indirect bilirubin	(mg/100mL)				0.082±0.038	0.091±0.022	0.159±0.027
Plasma lysozyme activity (Δ 650nm/h)					0.020±0.015	0.020±0.008	0.008±0.008

Data are given as mean±S.D., n=5.

* : Significant difference to the control (p<0.05)

の後の増重はわずかとなった。なお、対照群と植物ミネラルを投与した2群間の体重(成長速度)に顕著な差は認められなかった。

植物ミネラルの長期間投与が雌マウスの血液性状に及ぼす影響を Table 5 に示す。赤血球数(RBC)では、対照群と植物ミネラル低濃度および高濃度群の間に有意な差は認められなかった。白血球数(WBC)では、対照群に比べて、植物ミネラル高濃度群に統計的に低い値がみられたが、対照群と植物ミネラル低濃度群の間に差は認められなかった。白血球組成では、対照群と植物ミネラルを投与した2群の間に有意な差は認めら

れなかった。血漿リゾチーム活性、血漿中のアンモニア、直接および間接ビリルビンの濃度についても、対照群と植物ミネラルを投与した2群の間に有意な差は認められなかった。ただし、アンモニア濃度については、対照群や植物ミネラル高濃度群では、大きな個体差がみられたが、植物ミネラル低濃度群においては、個体差も小さく、その平均値は対照群と比べて低かった。また、直接ビリルビン、間接ビリルビンについては、3群共にその値は低かった。同上の結果は雄マウスにおいても認められた。

内臓の肉眼的観察および光学顕微鏡レベルでの

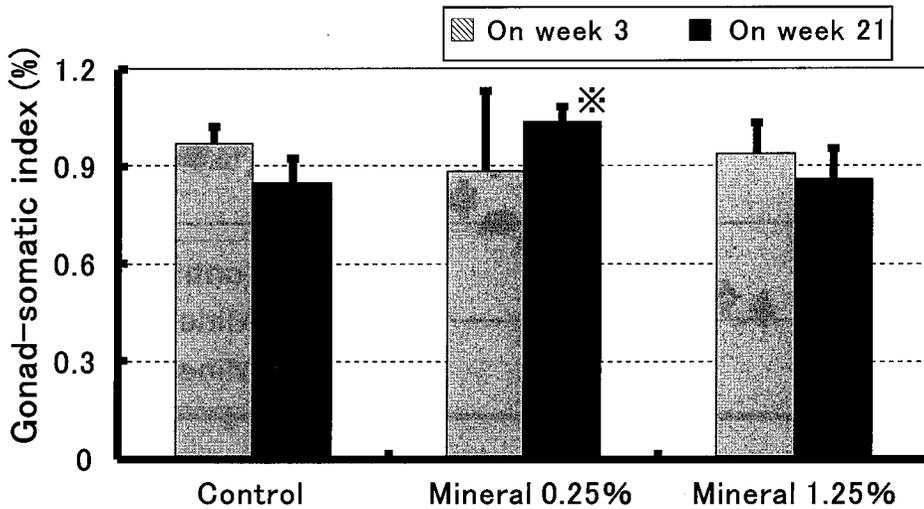


Fig. 2 Changes in the gonad-somatic index of male mice administered Wild Plant Mineral Mixture
Data are given as mean±S.D., n=5. * : Significant difference to the control (p<0.05)

組織観察では、各群とも、雄および経産・非経産雌ともに、異常は認められなかった。

植物ミネラルの長期間投与が雄マウス（24週令）の比精巣重量に及ぼす影響を Fig. 2 に示す。24週令の雄マウスの比精巣重量（%）については、対照群（ 0.85 ± 0.07 ）に比べ、植物ミネラル低濃度群では 1.04 ± 0.04 となり、値は有意に増加した。ただし、植物ミネラル高濃度群と対照群との間に差は認められなかった。

遊泳運動負荷試験に伴う雌マウス（24週令）の足かき回数の変化（遊泳行動）を Fig. 3 に示す。遊泳運動負荷試験を行った雌マウスの遊泳開始直後の足かき回数は 164 ± 47 回/分であった。対照群では、時間とともに、足かき回数は著しく減少し、遊泳開始から10分後には開始当初の50%程度にまで減少した。植物ミネラルを投与した2群では、遊泳時間が延長しても、足かき回数の減少はわずかであり、同低濃度群の遊泳開始から10分後、および、同高濃度群の遊泳開始から5および10分後に、それぞれ、対照群に比べて、有意に高い値が認められた。

4. 考察

4. 1 短期間投与による健全性（健康維持・生体防御活性増強効果）評価

植物ミネラルをマウスに 250 mg/kg 体重/日

の割合で投与（植物ミネラル低濃度群）し、3週間飼育した場合、白血球数は有意に増加したものの、赤血球数や白血球の組成、血漿のリゾチーム活性には変化がみられなかった。今回の健全性評価試験においては、試験中に感染症の発生や極端なストレス負荷等がなかったことから、マウスの生体防護機構が外部刺激によって促進されたり抑制されたりする必然性がなく、植物ミネラルの経口投与が調査項目に大きく影響することはなかったと思われる。なお、植物ミネラル低濃度群で白血球数が増加したことは生体防御活性が増強されつつある可能性を示すが、同様の変化は炎症性疾患の進行によっても生じることから、今後、リンパ球の機能評価試験等を追加したり、Th1/Th2比を調べたり、感染・ストレス負荷に伴う生理指標の変動（反応性）を把握することで、植物ミネラルの短期投与がマウスの健全性に及ぼす影響を明らかにする必要があるだろう。

一方、植物ミネラルをマウスに 1,250 mg/kg 体重/日の割合で投与した場合（植物ミネラル高濃度群）には、白血球数を含め、今回調査した全ての指標に有意な変化はみられなかった。飼育に用いた配合飼料の粗灰分量は 6.9% であることから、今回の給餌条件（毎日、体重の 10% 量を投与）から概算すると、植物ミネラル高濃度群における灰分（ミネラル）経口投与量は 8,150

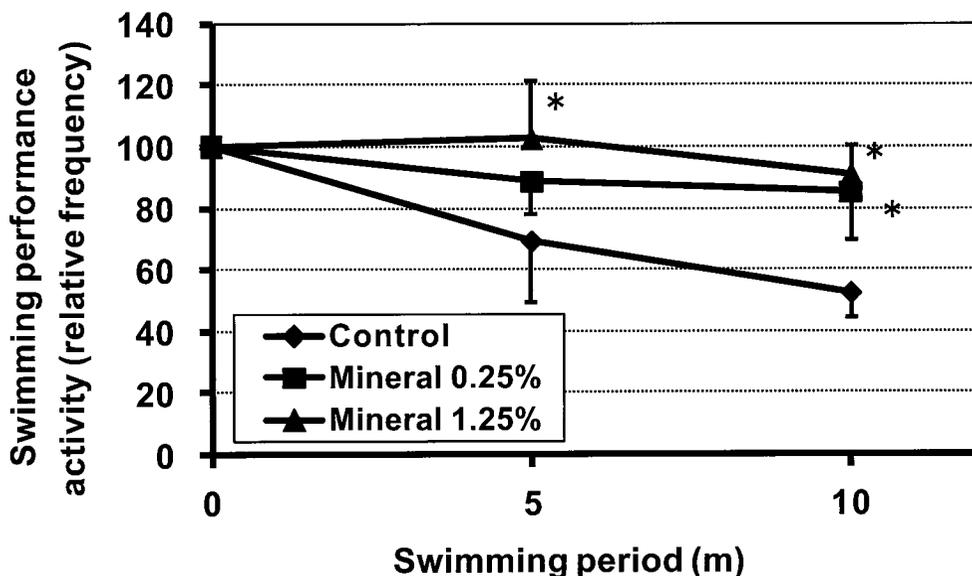


Fig. 3 Changes in the swimming performance activities of female mice administered Wild Plant Mineral Mixture
Data are given as mean±S.D., n=5.
* : Significant difference to the control (p<0.05)

mg/kg 体重/日程度となり、高濃度群は対照群の約 20%増し量のミネラルを摂取していたことになる。そのため、生体防御活性増強に最適なミネラルの摂取量を超えていた可能性はある。げっ歯類は一般に塩類負荷に弱いことが知られているが⁽¹¹⁾、内臓形態や光学顕微鏡レベルでの組織像、血液性状の結果は、植物ミネラル高濃度群のマウスが生理的な障害を被っていない（この程度の植物ミネラル投与量は過剰投与に当たらない）ことを示唆するものと思われる。なお、本試験の結果からは、マウスへの植物ミネラルの有効投与量は 250 mg/kg 体重/日程度でよいと思われるが、動物種や系統、投与時期等によって、最低投与量が変わる可能性もあることから、今後、家畜への応用に際しては、これらに関する詳細な調査が必要とされる。

植物ミネラルを養殖魚に投与（通常の投与量は、50~500 mg/kg 体重/日）した場合には、顆粒球（好中球）の数や食糸・殺菌活性、ナチュラルキラー様細胞活性、血漿中の補体、溶菌等の各種生体防御活性の増強が生じるほか、過剰なストレス反応も抑制される^(1~4)。養殖魚は、環境水質の悪化や高密度飼育によるストレス負荷、スレ

などに伴う二次感染症の頻発などによって、必ずしも健常とはいえない状態におかれていることが多いため、植物ミネラルの投与効果が捉えやすかったものと考えられる。したがって、今後、植物ミネラルの投与が、マウスの生体防御活性を増強したり、健常性の維持に重要な働きをしたりすることを明示するためには、実際に家畜が置かれているような環境（自然の温度変化・湿度変化・飼育密度条件）下での飼育試験を行ったり、人為的な感染試験やストレス負荷試験を行って、それに伴う血球組成、血液中の補体、ナチュラルキラー細胞、抗体産生細胞等の生体防御活性指標の変化・反応性、一般生理状態の変化を詳細に調べる必要がある。

4. 2 短期間投与による繁殖能力向上効果（雌雄共に投与した場合）の検討

3週間の植物ミネラル投与では、雄マウスの比精巢重量に影響を及ぼさなかった。しかし、メイトイングを行った時期、すなわち7~9週間の植物ミネラル投与個体では、妊娠率が著しく上昇するとともに、産仔数についても、仔を産んだ雌マウス1個体あたりの数では差がなかったものの、

群としての平均産仔数では、植物ミネラル投与群、特に低濃度群に著しい高値がみられ、植物ミネラルの投与によって繁殖能力が著しく高まることが分かった。これは、雄の交尾行動が増強されたり、射精時の精子数が増加したり、その活性が高まっていたりしたことを暗示する。この仮説は、次項に記載したように、少なくとも植物ミネラルを低濃度に含む餌で21週間飼育すると、対照群に比べて、精巣重量が有意に増加したことによって支持されよう。なお、その効果は植物ミネラル低濃度群で大きかったことから、マウスの繁殖能力の向上を図るに足る植物ミネラルの投与量は250 mg/kg 体重/日程度であることが推察された。

また、仔マウスの性比については、雄の割合が対照群で30%であったのに対し、植物ミネラルの投与によって高くなり、雌雄数差が縮まった。これは、植物ミネラル投与が生まれてくる雄の割合を高めたと捉えるよりは、対照群での仔マウスの雌雄比が少し乱れており、その乱れを植物ミネラルの投与が元に戻したことで、正常な仔マウスの雌雄比に戻ったものと考えたほうがよいであろう。

ただし、上述の結果は、植物ミネラルを雌雄の両方に投与した場合のものであり、本実験では、雄のみ、あるいは、雌のみに植物ミネラルを投与した場合の影響についての調査はなされていない。誕生直後の産仔数やその性比、授乳終了時までの仔マウスの生残率の調査等とともに、メイティング前の片親マウスへの植物ミネラルの投与効果について検証することで、植物ミネラルの投与が親のマウスにどのように作用し、繁殖能力の向上につながったかが明らかになるものと考ええる。

4. 3 長期間投与による健全性（生理状態・外形異常・疾病発症・疲労度）評価

3週令から24週令まで、成熟期および繁殖期の前半という生理機能の発達および変動の大きな時期に、植物ミネラルを250 mg/kg 体重/日あるいは1,250 mg/kg 体重/日の割合で、21週間にわたりマウスに長期間投与した場合でも、マウスの発達状況、毛の艶などの外見、生残率、血液

性状、内臓の外観や光学顕微鏡レベルでの組織像等に異常は認められず、その生理状態の乱れ、すなわち健全性喪失を引き起こすことがないことが分かった。なお、血漿中のビリルビン濃度については、植物ミネラル高濃度群にわずかに高い値がみられたが、調査した全ての個体の数値は低く、正常範囲内にあり、肝臓機能やその排泄機能に障害はなかったと考えられる。また、今回、ミネラル投与群の血液指標にみられたわずかな変化、白血球数の増加やアンモニア濃度の低下は生理的には健全性が高い（より改善基調にある）ことを示すものと考えられる。

雄マウスの比精巣重量については、飼育21週間後の植物ミネラル低濃度群に、対照群に比べて、有意に高い値がみられた。精巣重量の増加は、雄の性行動の活発化や精子数の増加につながることから、雄が生殖活動に参加する時期（令）が長くなることや、一回の交尾で放出される精子数が増加すること等により、交尾の成功率が上昇し、繁殖率の上昇も期待できる。

また、遊泳運動負荷試験の時間経過に伴う足かき回数の減少率の結果は、植物ミネラルの投与が、運動量の増加、運動の持久力アップにつながることを暗示している。ただし、通常、マウスの機能や行動発達を調べる場合には、遊泳運動のみでなく、正向反射、背地走性、断崖回避、嗅覚性指向反応等の行動を指標とすることが多い。しかし、今回実施したのは遊泳運動負荷試験のみであり、しかも本稿へのデータ提示は四肢の動きのみであった。遊泳運動負荷試験については、四肢の動きのみではなく、運動の方向、頭角度等も重要な指標となる。したがって、今後、田中らの方法⁽¹²⁾に準じて得た各パラメーターを、得点法を用いて発現頻度を分析することにより、正確な運動機能および疲労度評価を行う必要があるだろう。

以上のことから、マウスへの植物ミネラルの経口投与効果は次のように考えられる：(1) 健全性の維持については一定の効果を認めたが、その向上効果については明らかな証拠を得るまでには至らなかった。(2) ストレス耐性の増強については、直接の検証は行っていないものの、遊泳運動負荷試験の結果から一定の効果を認めることがで

きた。(3) 生殖行動・繁殖性については、少なくとも数週間以上の投与で行動・生理機構の活性増強、性比の安定化、産仔数増加・繁殖性の向上効果を示すことが分かった。(4) 長期間の投与の影響(21週間ではあるが、成熟期および繁殖期の前半という生理機能の発達および変動の大きな時期への持続的投与結果)については、少なくとも今回の投与レベルでは問題がないことに加え、運動量の増加、疲労の軽減、運動の持久力アップ等のポジティブな効果発現に寄与している可能性が示唆された。すなわち、本研究の結果は、豚を始め家畜に植物ミネラルを摂取させることにより、(i) 優良種の健全性・ストレス耐性を向上させ共用年数の延長を図る、特に夏季の高気温時期に起きる精子数の減少を防止する、(ii) 雌の健全性・ストレス耐性を向上させ、一頭当たりの産仔数増加・繁殖性の向上を図るということに関して一定の効果が望めることを示唆する。ただし、今回の実験では、調査期間や指標等に不足している部分が多々あることは否めず、今後、植物ミネラルの効果発現機序の解明、最適投与量の決定等を行っていく必要がある。

最後に、本稿の内容骨子は、財団法人しまね産業振興財団より国立大学法人島根大学等が受託した可能性試験研究(題目:野生植物抽出ミネラルの経口投与がマウスの生理・生殖行動および遺伝に及ぼす影響に関する研究—種豚および母豚の健全性・繁殖性向上用飼料原材料の開発—:研究期間;平成20年7月31日から平成21年5月31日)の結果得られたものであることを記す。

文献

(1) 平成17年食品流通構造調査(畜産物調査)結果の概要(2007) 農林水産統計 平成17年食品流通構造調査(畜産物調査)結果の概要—豚肉・牛肉・鶏肉の業種別仕入量・流通経路の状況—。農林水産省大臣官房統計部編:1-50

<http://www.maff.go.jp/toukei/sokuhou/data/syokuhinkouzou-chikusan2005/syokuhinkouzou-chikusan2005.pdf>

(2) 高瀬清美、佐藤 聡、村上崇幸、門脇みとせ、角田 出(2009) 野生植物由来ミネラルの投与によるヒラメ稚魚の成長促進、生体防御活性増強およびストレス軽減。日本海水学会誌、63(3):150-157

(3) 角田 出、高瀬清美(2009) 野生植物由来ミネラルの経口投与によるカンパチの生体防御活性増強とハダムシ症防除。日本海水学会誌、63(5):330-337

(4) 角田 出(2009) 野生植物由来ミネラルの添加効果Ⅱ—魚類のストレス軽減および体色・肉質の改善—。養殖、5:47-51

(5) 角田 出(1998) ラクトフェリンによるストレス軽減および非特異的生体防御活性の増強—魚類への投与効果—。バイオインダストリー、15(8):23-33

(6) 山内恒治(2003) ラクトフェリンの機能と応用、バイオサイエンスとインダストリー、61(10):663-668

(7) Maruyama H, Tamauchi H, Hashimoto M, Nakano T (2003) Antitumor activity and immune response of Mekabu fucoidan extracted from Sporophyll of *Undaria pinnatifida*. *In Vivo.*, 17(3):245-249

(8) 角田 出(2004) 海藻多糖フコイダン投与による魚類生体防御活性の増強および生理状態改善。水産増殖、52:413-420.

(9) 岡田忠司(1998) γ -オリザノールの機能と応用(特集/穀物由来原料の機能と応用)。フレグランスジャーナル、26:71-77.

(10) 角田 出(2008):米糠由来物質の投与による魚類の非特異的生体防御能の増強。水産増殖、56(1):105-111

(11) Matavelli LC, Zhou X, Varagic J, Susic D, Frohlich ED (2007) Salt loading produces severe renal hemodynamic dysfunction independent of arterial pressure in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 292(2):H814-819

(12) 田中豊人、高橋 省、大石 眞(2000) マウスを用いた混餌法及び混水法による食用赤色2号の2世代毒性試験。東京衛研年報、51:279-285