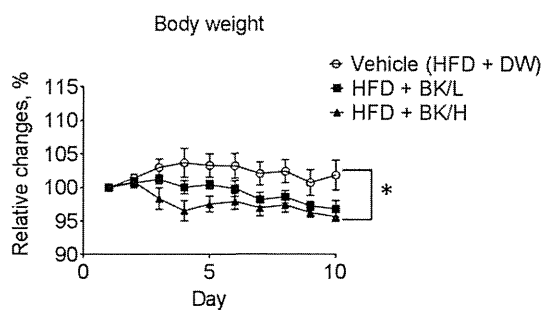


図1.1.2



血中のインスリン、総コレステロール、HDLコレステロール、homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR)は、紅麴抽出液投与により減少した(図1.1.3-6)。血中の中性脂肪は、紅麴50mgの投与により減少傾向を示した(P<0.10)。

図1.1.3

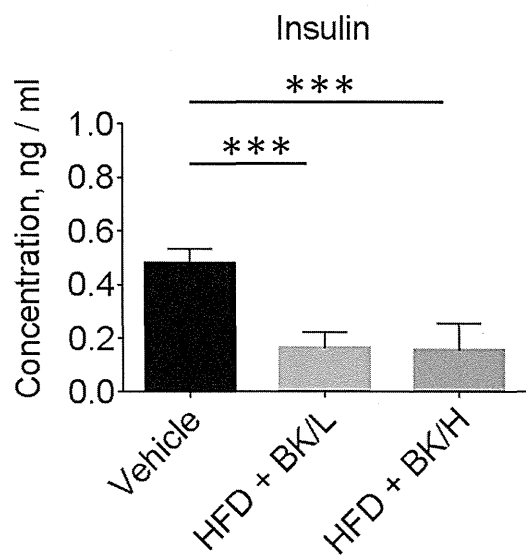


図1.1.4

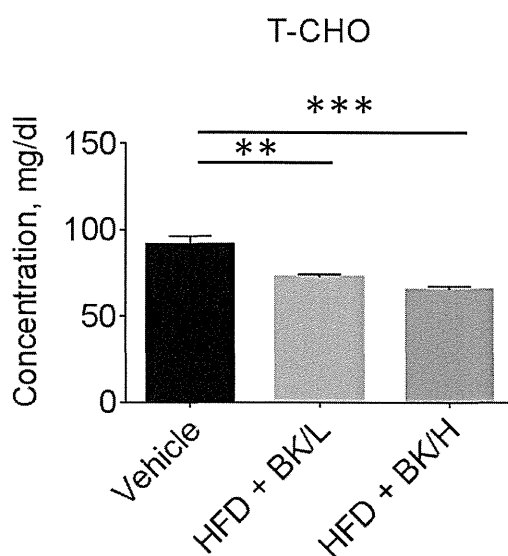
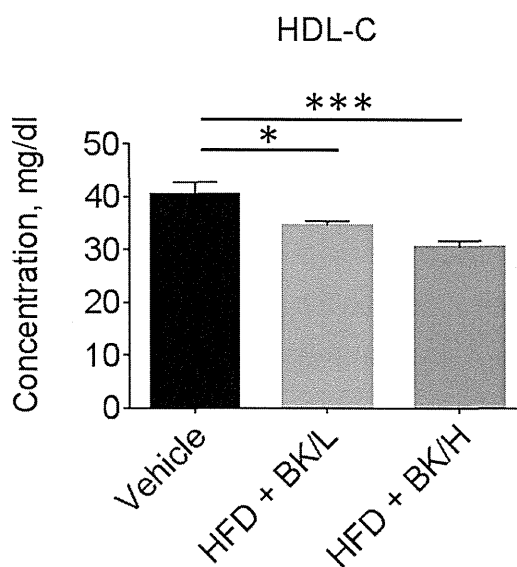
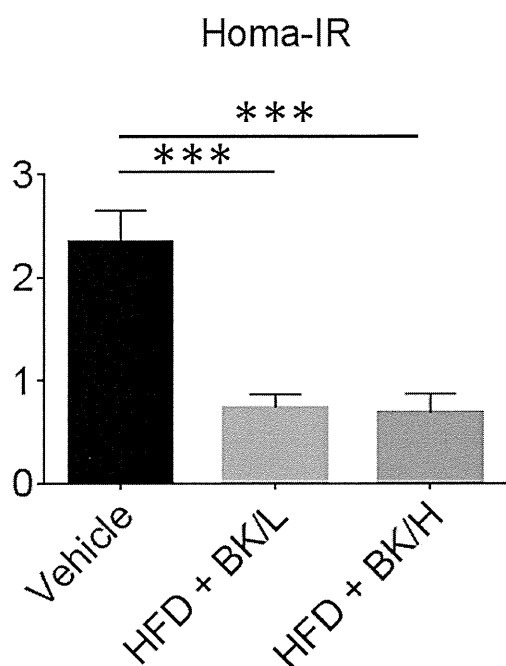


図1.1.5



高架式十字迷路試験における不安様行動、傍精巣上体脂肪重量、血中のグルコース、コレステロール、視床下部のCRF、oxytocin、AVPのmRNAの発現においては、差を認めなかった。

図1.1.6



2) レプチン受容体欠損db/dbマウスにおける紅麴抽出液の作用

遺伝性肥満モデルマウスである、db/dbマウスに対する紅麴抽出液の10日間の経口投与(1回/日、12.5mg)において、摂食量、飲水量、体重は、蒸留水投与と比較して差を認めなかった。高架式十字迷路試験においても、紅麴抽出液投与は、蒸留水投与と差を認めなかった。肝臓の重量、血中のグルコース、総コレステロール、HDLコレステロール、中性脂肪においても差を認めなかった。

2. 運動

1) 自発運動

C57BL/6マウスに対する4週間の高脂肪食給餌(脂肪40kcal%)は、普通食給餌(脂肪

10kcal%)と比較して体重を増加させた。その後の回転輪付ケージ飼育におけるマウスの走行距離は、平均10.9±3.9km/日であった(図2.1.1)。回転輪付ケージ飼育におけるマウスは、非回転輪付ケージ飼育と比較して摂食量が増加、体重は減少した(図2.1.2及び2.1.3)。

図2.1.1

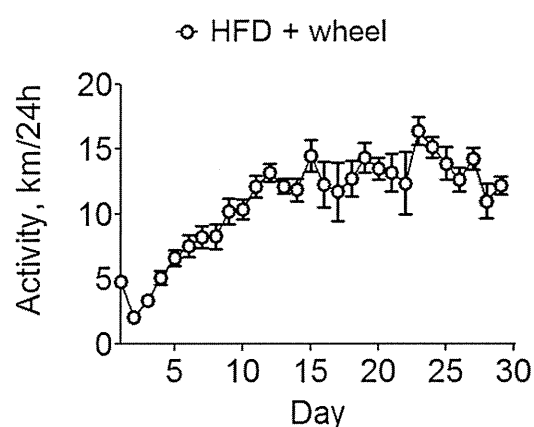
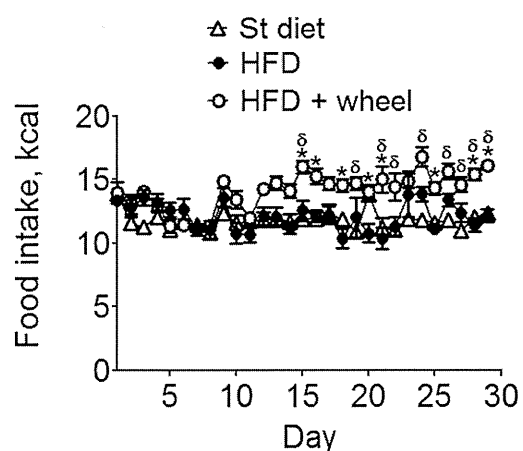


図2.1.2



* $p < 0.05$: HFD vs HFD + wheel
 $\delta p < 0.05$: St diet vs HFD + wheel

図2.1.3

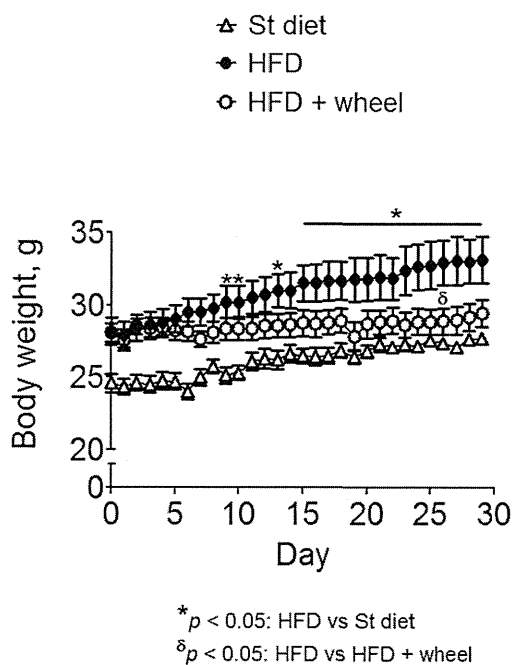


図2.1.4

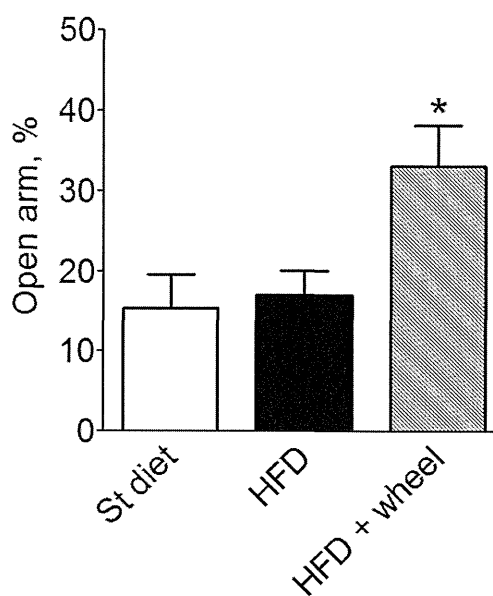
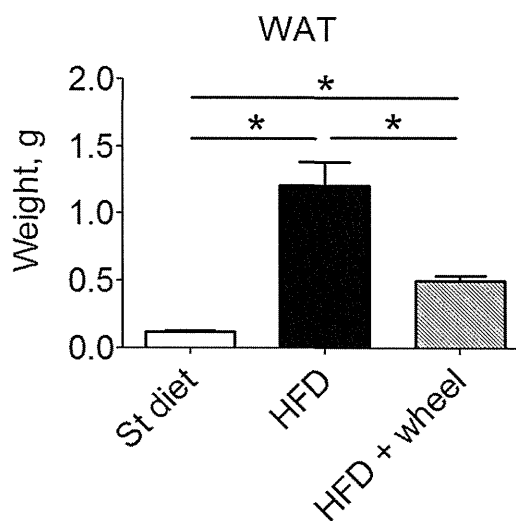


図2.1.5



回転輸付ケージ飼育は、非回転輸付ケージ飼育と比較して、高架式十字迷路試験において、不安様行動を減少させた(図2.1.4)。臓器重量においては、高脂肪食給餌により、傍精巣上体脂肪、腓腹筋は増加し、回転輸付ケージ飼育により、傍精巣上体脂肪は減少した(図2.1.5及び2.1.6)。また、高脂肪食給餌+回転輸付ケージ飼育により、肝臓の重量は、普通食給餌+非回転輸付ケージ飼育と比較して、減少した。血中のインスリン、総コレステロール、HDLコレステロールは、高脂肪食給餌により増加し、総コレステロールは、回転輸付ケージ飼育により減少した(図2.1.7-9)。

HOMA-IRは、高脂肪食給餌+非回転輸付ケージ飼育において高値を示した(図2.1.10)

図2.1.6

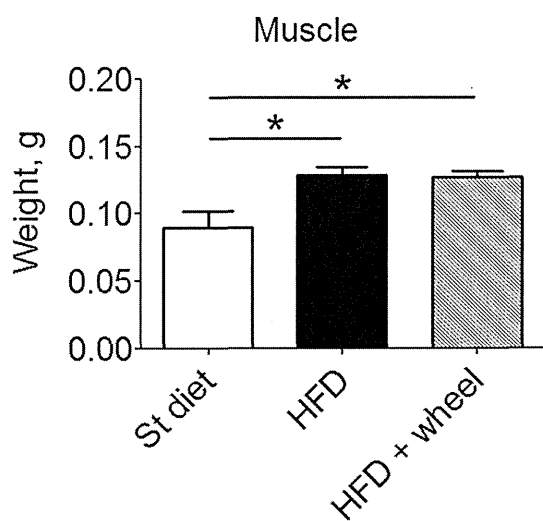


図2.1.8

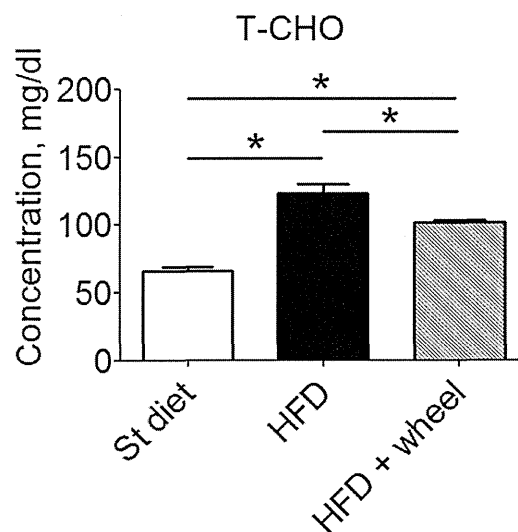


図2.1.7

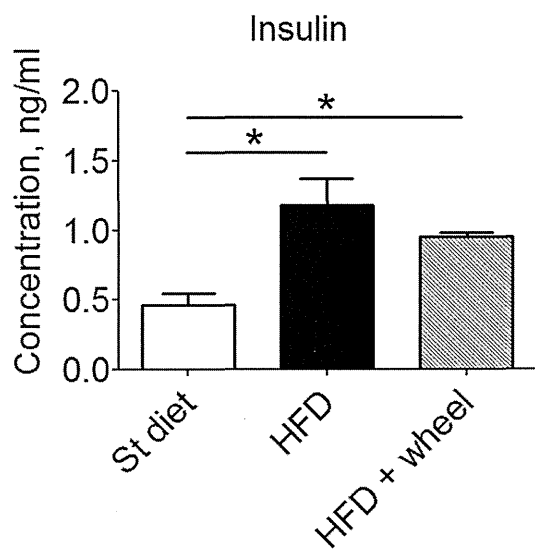
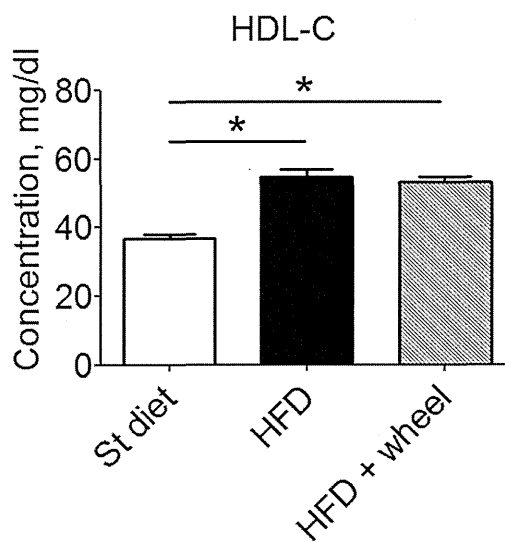


図2.1.9



血中のグルコース、中性脂肪、コルチコステロンにおいては、差を認めなかった。

図2.1.10

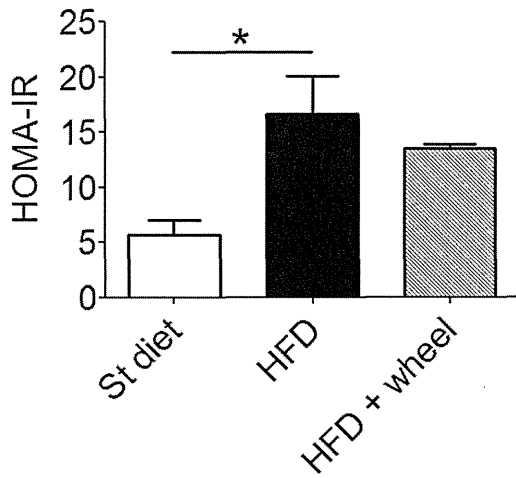


図2.2.1

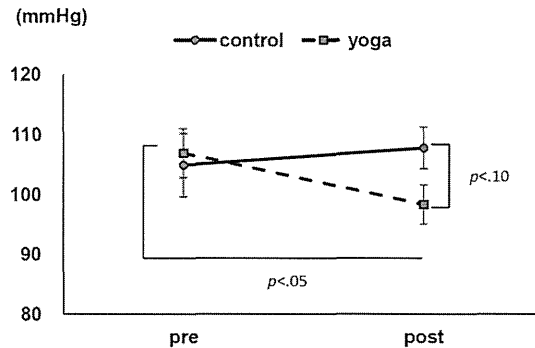
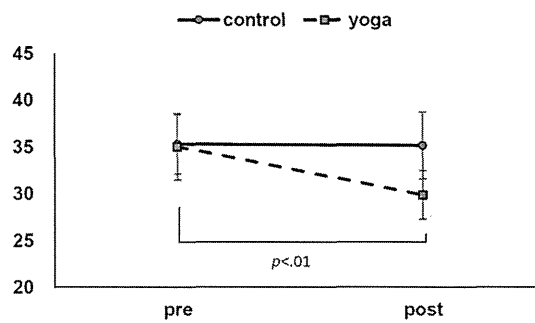


図2.2.2



2) ヨーガ

ヨーガ実施とヨーガ非実施のクロスオーバー比較試験は、重篤な既往疾患を有しない、健康男性7人(年齢 28.57 ± 1.88 歳、BMI 22.82 ± 1.28)によって実施された。ヨーガ実施群の収縮期血圧において、ヨーガ実施後は、ヨーガ実施前に比べ低下した(図2.2.1)。また、収縮期血圧において、ヨーガ実施後は、ヨーガ非実施後に比べ低下傾向を示した($P < 0.10$)。ヨーガ実施群のSTAIにおける不安尺度において、ヨーガ実施後は、ヨーガ実施前に比べ得点が低下した(図2.2.2)。拡張期血圧、脈拍、SDSにおける抑うつ尺度、血中のコレステロール、グルコース、インスリンに関しては差を認めなかった(表2.2)。

表2.2

Basic statistics and 2way ANOVA (Group × time) results for each outcomes

		pre	post	group	time	F test	
						pre - post	interaction
Systolic blood pressure	control	104.6(5.20)	107.7(3.48)	0.50	1.39	5.05*	post : control > yoga yoga : pre > post
	yoga	106.6(4.60)	98.2(3.25)				
Diastolic blood pressure	control	68.0(2.54)	68.5(2.04)	0.18	0.18	0.50	
	yoga	64.5(1.55)	64.4(1.70)				
Pulse rate	control	73.14(1.44)	74.26(2.85)	2.02	1.20	3.16	
	yoga	71.43(2.68)	66.26(2.60)				
SDS	control	29.71(2.15)	30.29(2.45)	0.01	0.54	2.49	
	yoga	30.43(2.69)	28.65(2.35)				
STAI-S	control	35.29(3.17)	35.44(3.07)	0.38	10.14*	9.97*	
	yoga	35.00(3.57)	29.86(2.68)				
Blood sugar	control	82.57(1.44)	82.26(2.01)	0.57	0.12	0.37	
	yoga	83.43(1.29)	84.43(1.50)				
Cortisol	control	15.30(1.63)	11.26(1.43)	1.96	14.17*	3.01	
	yoga	15.57(0.91)	14.63(1.50)		pre = post		
Insulin	control	6.03(0.67)	6.47(0.05)	0.57	6.84*	0.94	
	yoga	6.80(0.77)	6.06(0.84)		pre > post		

*p < 0.05 **p < 0.01

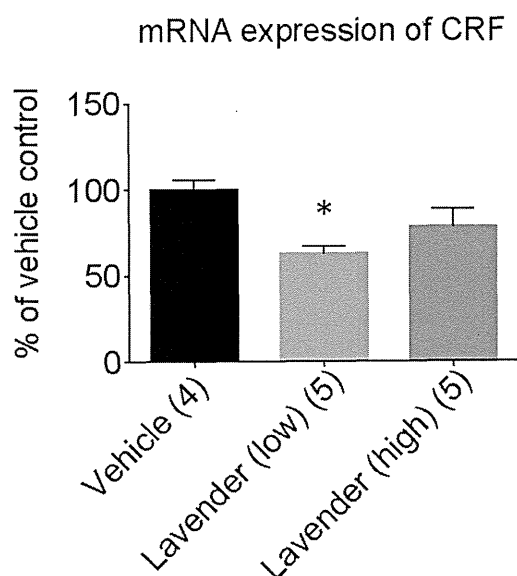
3. アロマセラピー

1) マウスにおけるラベンダーの作用

(1) マウスにおけるラベンダー吸入の作用

C57BL/6マウスに対するラベンダーの吸入暴露は、視床下部のCRFの発現を低下させた(図3.1.1)。視床下部のoxytocin、AVPのmRNAの発現、血中のコルチコステロンに関しては、ラベンダー吸入なし群と比較して、差を認めなかった。

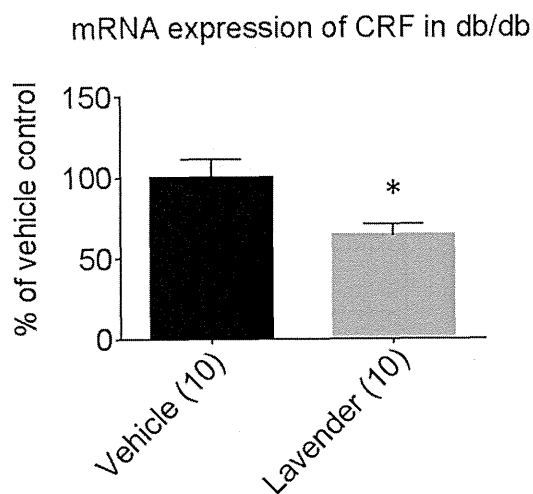
図3.1.1



(2) レプチン受容体欠損db/dbマウスにおけるラベンダー吸入の作用

遺伝性肥満モデルマウスである、db/dbマウスに対するラベンダーの吸入暴露は、視床下部のCRFのmRNAの発現を低下させた(図3.1.2)。視床下部のoxytocin、AVPのmRNAの発現、血中のコルチコステロンに関しては、ラベンダー吸入なし群と比較して、差を認めなかった。

図3.1.2



2) ヒトにおけるラベンダーの作用

ラベンダー芳香浴とラベンダー非芳香浴のクロスオーバー比較試験は、重篤な既往疾患を有しない、健常男性7人(年齢 28.00 ± 1.62 歳、BMI 22.58 ± 0.87)によって実施された。ラベンダー芳香浴群の収縮期及び拡張期血圧において、ラベンダー芳香浴後は、ラベンダー芳香浴前に比べ低下した(図3.2.1及び3.2.2)。また、ラベンダー芳香浴後は蒸留水群と比較して、収縮期血圧が低下した。ラベンダー芳香浴群のSDSにおける抑うつ尺度において、ラベンダー芳香浴後は、ラベンダー芳香浴前に比べ得点が低下した(図3.2.3)。脈拍、STAIにおける不安尺度、血中のコルチゾール、グルコース、インスリンに関しては、差を認めなかった(表3.2)。

図3.2.1

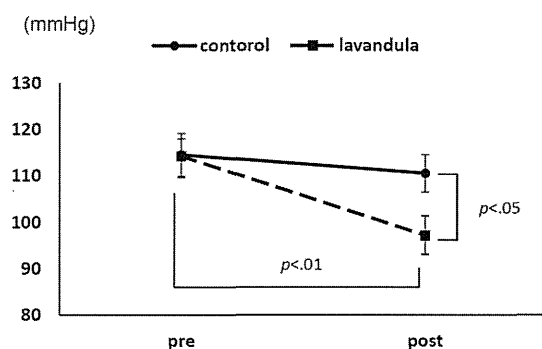


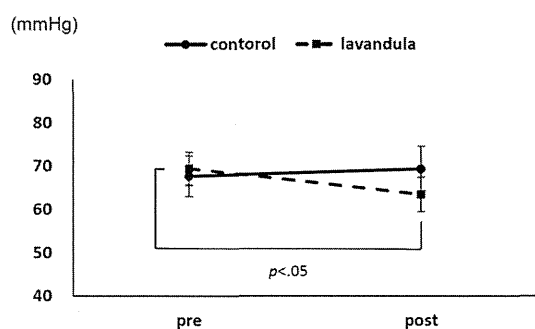
表3.2

Basic statistics and Two-way ANOVA (group X time) results for each outcomes

		pre	post	group	time	interaction	F ₍₂₎
Systolic blood pressure	control	114.67(4.83)	110.67(4.69)	pre > post	1.46	33.87**	15.41*
	lavandula	114.29(3.74)	97.14(4.27)				
Diastolic blood pressure	control	67.67(4.99)	70.59(5.27)	pre > post	0.37	2.21	5.63*
	lavandula	69.43(3.62)	63.43(3.99)				
Pulse rate	control	73.71(3.58)	70.59(2.72)	pre > post	0.99	6.52*	2.63
	lavandula	77.14(3.07)	67.14(2.35)				
BDS	control	32.71(2.19)	33.71(2.57)	0.05	3.03		7.89*
	lavandula	34.67(2.75)	30.29(2.54)				
STAI-S	control	39.60(2.65)	36.67(2.85)	0.50	13.0*		3.16
	lavandula	38.67(3.55)	31.71(1.87)				
Glucose-sugar	control	82.86(1.91)	86.67(1.30)	0.03	16.11**		1.66
	lavandula	83.67(3.13)	85.43(3.86)				
Control	control	15.51(1.07)	13.56(1.64)	pre > post	16.57**		0.02
	lavandula	14.94(0.96)	12.77(1.46)				
Insulin	control	6.57(1.05)	6.96(0.94)	0.12	0.15		0.00
	lavandula	6.19(0.87)	6.43(1.05)				

*p < .10 **p < .05 ***p < .01

図3.2.2



4. 精神療法

平成23年1月～平成26年10月の診療記録において、鹿児島大学病院呼吸器・ストレスケアセンター心身医療科の初診外来を経て、その後外来或は入院にて治療を受け、体重のフォローを受けた、初診時BMI25以上50未満の肥満症罹患者は11人であった(男性6人、女性5人)。臨床心理士介入有りが6人、無しが5人であった(表4)。

図3.2.3

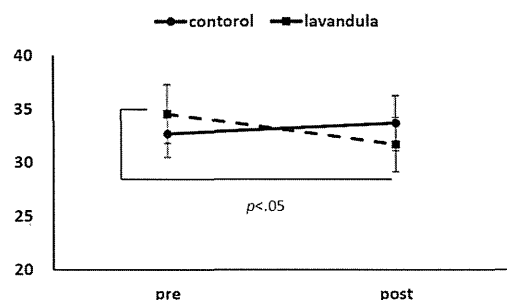


表4

	No clinical psychologist	Clinical psychologist
Number	6 (Male 3, Female 3)	5 (Male 3, Female 2)
Age (year)	53.17 ± 5.60	64.50 ± 6.61
Duration (month)	22.50 ± 7.91	19.00 ± 7.53
Height (m)	1.61 ± 0.06	1.62 ± 0.04
Weight (kg) (pre)	83.14 ± 9.80	77.02 ± 10.75
Weight (kg) (post)	75.58 ± 7.59	78.82 ± 10.40
BMI (pre)	31.78 ± 2.63	28.83 ± 2.51
BMI (post)	28.88 ± 0.97	29.62 ± 2.48

臨床心理士介入無しのBMIは、初診時が31.78 ± 2.63、期間内の最終BMIが28.88 ± 0.97であったのに対して、臨床心理士介入有りのBMIは、初診時が28.83 ± 2.51、期間内の

最終BMIが 29.62 ± 2.48 であった。臨床心理士介入の有無によるBMIの変化に、差を認めなかった。

D. 考察

1. 麴

古来より、日本を含む東洋の発酵食品に用いられてきた麴の作用に関して、動物を用いて検討した報告は少ない。本研究担当責任者らはこれまでに、紅麴或は白麴を添加した高脂肪食が、マウスの体重や体脂肪量の増加を抑制し、血糖、インスリンやレプチン値を低下させ、インスリン感受性を上昇させる事や、紅麴或は白麴の抽出液がL6 myotube細胞での糖の取り込みを、glucose transporter type 4を介して促進させることを報告している。また、紅麴に関して、紅麴添加食が、高血圧自然発症ラットにおいて高血圧及び学習障害を改善させることや、グルタミン酸ナトリウム誘発肥満糖尿病マウスにおいて内臓脂肪蓄積を抑制し、血中アディポネクチンレベルを上昇させることが、他のグループより報告されている。本研究においては、高脂肪食飼育による肥満マウス及び遺伝性レプチン受容体欠損肥満マウスに対する、紅麴抽出液の経口投与の効果を検討し、高脂肪食飼育マウスにおいて摂食量、体重が減少、糖・脂質代謝の改善が認められた。遺伝性レプチン受容体欠損肥満マウスに対する紅麴抽出液の経口投与は、蒸留水投与と比較して差を認めなかったが、投与量、レプチン受容体を介した作用メカニズムなどに関する検討が必要であると考えられる。今後の本研

究の進展は、麴を用いた日本食の、肥満症をはじめとした生活習慣病の進展・発症の予防に、有用である可能性を解明していくことに貢献すると予想される。

2. 運動

1) 自発運動

これまでに、肥満症に対する運動療法の、糖・脂質代謝の改善、インスリン感受性の増加、血圧の低下、心肺機能の増強、筋肉量の維持・増加などの効果をもたらすことが知られている。一方、肥満症は、不安障害や気分障害などの精神疾患と併存することが多いことも示されている。本研究においては、高脂肪食飼育による肥満マウスを用いて、運動の摂食、体重、不安様行動、血中糖・脂質レベルなどへの影響に関して検討し、高脂肪食が、体重、脂肪及び筋肉の重量、血中の総及びHDLコレステロール、インスリン、HOMA-IRを増加させ、自発運動は摂食量を増加させ、体重、脂肪重量、不安様行動、血中総コレステロールを減少、HOMA-IRの増加を抑制させた。本知見は、運動が、肥満、糖脂質代謝の改善に有効であるのみならず、個体の心身の総合的な状態を示す摂食を促進させ、不安を減弱させるとともに、気分障害や不安障害の予防・治療に有用である可能性を示唆している。

2) ヨーガ

これまでに、健常者におけるヨーガの実施の前後において、交感神経活動や唾液中のコルチゾール値が低下することや、気分尺度評

価において活気が上昇、怒り-敵意が低下することなどが報告されている。また、不眠症や強迫神経症、うつ病の罹患者において、ヨーガプログラムの前後での症状の緩解が報告されている。しかし、対照群が存在しない研究が多いことや、作用機序の解明が遅れていることが問題点として考えられる。本研究においては、ヨーガ実施後の収縮期血圧は、ヨーガ実施前に比べ低下した。また、STAIにおける不安尺度において、ヨーガ実施後は、ヨーガ実施前に比べ得点が低下した。ヨーガ非実施の対照群が、前後で差を認めなかったことから、ヨーガの実施は血圧を低下させ、不安を減弱させる可能性が示唆される。

3. アロマセラピー

1) マウスにおけるラベンダーの作用

動物実験において、ラベンダー精油の吸入が脳内のセロトニンの上昇及び代謝速度、5-HT_{1A}受容体を介してマウスの不安を減少させることや、痛覚感受性を低下させること、喘息モデルマウスにおけるアレルギー性気道炎症及び粘液細胞過形成を抑制すること、などが示されている。CRF、oxytocin、AVPは主に視床下部室傍核において発現・分泌され、生体のストレス応答系制御において、主要な役割を担っている。本研究においては、ラベンダーの吸入による、視床下部-下垂体-副腎軸への影響に関して、マウスを用いて検討し、正常マウス、肥満モデルマウスの両方において、視床下部のCRF mRNAの発現が低下した。本知見は、ラベンダーの吸入が、健常者の不安緩解

方法の一つになるのみならず、肥満症をはじめとした生活習慣病罹患者において、合併する不安障害の予防・治療や生活の質の向上に、有用である可能性を示していると考えられる。

2) ヒトにおけるラベンダーの作用

ラベンダーは広く世界において、不安や緊張、痛みを軽減することなどを目的に使われている。これまでに、健常人においてラベンダーの吸入後に、吸入前と比較して、血圧、体温、唾液アミラーゼ活性が低下することや、心電図上で高周波成分が上昇し、心拍数変動指標が低下すること、気分尺度評価において怒り-敵意・緊張-不安・疲労が低下することなどが示されている。また、ラットを用いた実験において、ラベンダーの吸入が、脂肪組織と副腎の交感神経活動を抑制、胃の迷走神経活動を促進、体温、血圧を低下させることが示されている。対照群が存在する本研究においては、ラベンダー芳香浴後の収縮期及び拡張期血圧は、ラベンダー芳香浴前に比べ低下した。また、SDSにおける抑うつ尺度において、ラベンダー芳香浴後は、ラベンダー芳香浴前に比べ得点が低下した。蒸留水を用いた対照群が、前後で差を認めなかったこと、蒸留水との比較において、ラベンダー芳香浴が収縮期血圧を低下させたことから、ラベンダー芳香浴が血圧を低下させ、抑うつを減弱させる可能性が示唆される。

4. 精神療法

肥満症治療においては、薬物治療や外科治療のみならず、認知と行動を変容させ、体重を減少させること、減少した体重を維持することに重点を置いた、認知行動療法が有効であることが報告され、心理への介入の重要性が示されている。臨床心理士は、公益財団法人日本臨床心理士資格認定協会が認定し、これまでに28,000名以上が認定され、臨床心理学的技法を用いて、臨床心理面接や臨床心理査定などを施行している。診療記録を用いて後ろ向き検討を行った本研究においては、臨床心理士の介入の有無は、肥満症罹患者のBMIに有意な影響を与えなかった。内容、期間などが確立した一定の肥満症治療に対する認知行動療法を施行していないために、対照群との差が認められなかった可能性があるが、研究対象人数が少ないため、今後、研究対象人数を増やして検討する必要性が考えられる。

E. 結論

1. 麴

食餌性肥満モデルマウスへの紅麴抽出液の経口投与が、摂食量、体重を減少、糖・脂質代謝を改善させた。紅麴の摂取が、肥満症をはじめとした生活習慣病の治療に有用である可能性が考えられた。今後、国民の健康、医療経済的に貢献するため、紅麴抽出液中の有効成分の同定、麴由来の食品の疾患治療・予防に対する有用性の検討に関する研究が、発展することが必要である。

2. 運動

食餌性肥満モデルマウスにおける回転輪による運動は、体重を減少、不安様行動を減弱、糖・脂質代謝を改善させた。また、健常者におけるヨガ実施の前後において、収縮期血圧及び不安尺度得点が低下した。運動の実施が肥満症、高血圧症をはじめとした生活習慣病や精神疾患の発症・進展の抑制、心身の健康の維持に、有用である可能性が考えられた。今後、国民の健康、より豊かな生活に貢献するため、ヨガなどの伝統医療の生体に対する有用性に関する研究が、発展することが必要である。

3. アロマセラピー

ラベンダーの吸入は、正常及び肥満マウスを用いた研究において、視床下部のCRFmRNAの発現を低下させた。また、健常者におけるラベンダー芳香浴の前後において、血圧及び抑うつ尺度得点が低下した。ラベンダーの吸入が、高血圧症をはじめとした生活習慣病や精神疾患の発症・進展の抑制、心身の健康の維持に、有用である可能性が考えられた。今後、国民の健康、医療費の抑制に貢献するため、ラベンダー吸入などのアロマセラピーの生体に対する有用性に関する研究が、発展することが必要である。

4. 精神療法

診療記録を用いた後ろ向き検討において、臨床心理士の介入の有無は、肥満症罹患者のBMIに有意な影響を与えなかった。臨床心

理士の介入の有無が、肥満症をはじめとした生活習慣病の治療、医療費増加の抑制に有用である可能性を検討するために、今後、研究対象人数を増やした検討が必要であると考えられる。

F. 健康危険情報

—

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

免疫組織化学によるペプチド発現解析

担当責任者 藤宮 峯子 札幌医科大学医学部解剖学第二講座 教授

研究要旨

視床下部の室傍核におけるcorticotropin - releasing factor (CRF)は、ストレス応答に対して重要な役割を担っている。本研究においては、不安緩解や催眠作用などを示す、ラベンダーの吸入によるマウスの室傍核の神経活動への影響に関して、CRFニューロンに焦点をあてて検討した。ラベンダーの吸入は、視床下部室傍核におけるc-FosとCRFの蛋白レベルの発現に影響を与えた。ラベンダーの吸入によるストレス緩解作用が、視床下部室傍核の神経ペプチドを介して発現している可能性が考えられた。

A. 研究目的

視床下部は、不安や怒りなどの情動行動制御の中心であり、特に室傍核におけるcorticotropin - releasing factor (CRF)が、ストレス応答に対して重要な役割を担っている。ラベンダーオイルは広く世界において、不安緩解や催眠作用などを期待して用いられ、これまでにマウスに対するラベンダーの吸入投与が、高架式十字迷路試験において、セロトニン5-HT1A受容体を介して不安緩解作用を示すことが報告されている。本研究においては、ラベンダーの吸入によるマウスの室傍核の神経活動への影響に関して、CRFニューロンに焦点をあてて検討した。

B. 研究方法

7週齢の雄性C57BL/6マウス、6匹を1週間

個別ケージにて飼育し、環境に馴化させた後、1. ラベンダー吸入(3匹)、2. ラベンダー吸入なし(3匹)、の2群にランダムに分け、ラベンダー吸入群には、ラベンダーの精油50 μ lを吸収させた脱脂綿(アロマ吸引なし群には精油なしの脱脂綿)をケージに入れ、60分間暴露させた。暴露終了後に麻酔下で、左心室よりパラフォルムアルデヒドにてかん流固定し、脳を摘出した。室傍核を含む視床下部の連続凍結切片を作成。切片をc-Fos抗体(Goat polychronal, sc-52G, Santa Cruz Biotech)とCRF抗体(Guinea-pig polychronal, T5007, GHC 8561, Peninsula Lab)で蛍光二重免疫組織化学染色を行った。2次抗体は、FITC-labeled anti-Guinea pig IgGとCy3-labeled anti-Goat IgGを用いた。画像の解析は、共焦点レーザー顕微鏡(Nikon A1)で

行った。

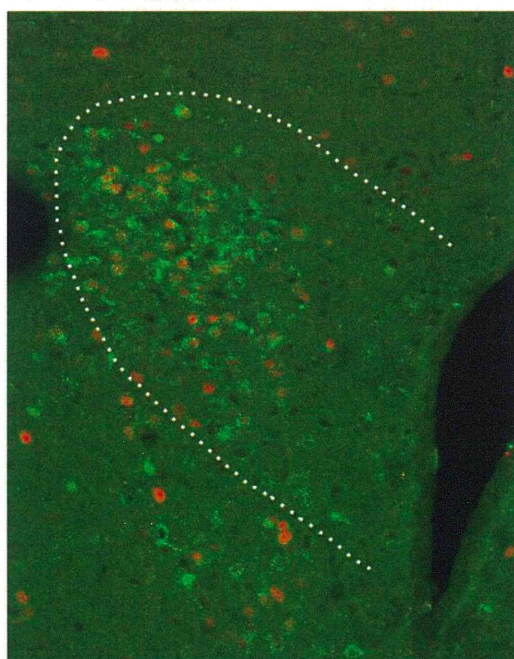
(倫理面への配慮)

本研究は、鹿児島大学の動物実験倫理委員会の承認の下、動物の生命倫理に十分に配慮して施行された。

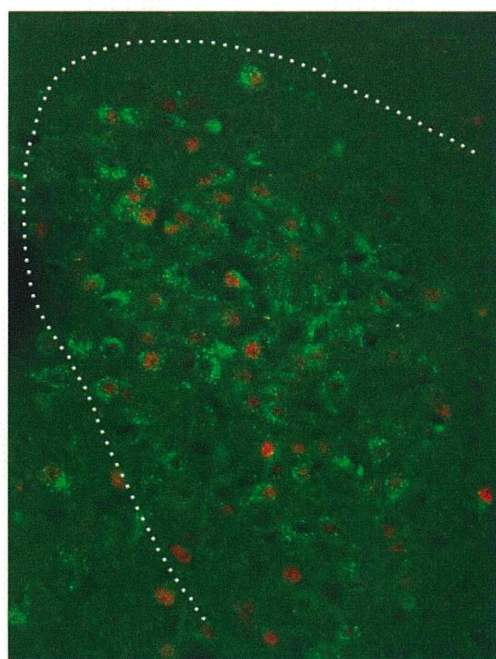
C. 研究結果

C57BL/6マウスに対するラベンダーの吸入暴露において、視床下部の室傍核におけるCRFの発現(緑色)は、ラベンダー吸入なしと比較して、顕著な差を認めなかったが、c-Fosの発現(赤色)は、増強傾向を認めた(図)。ラ

ラベンダー吸入なし

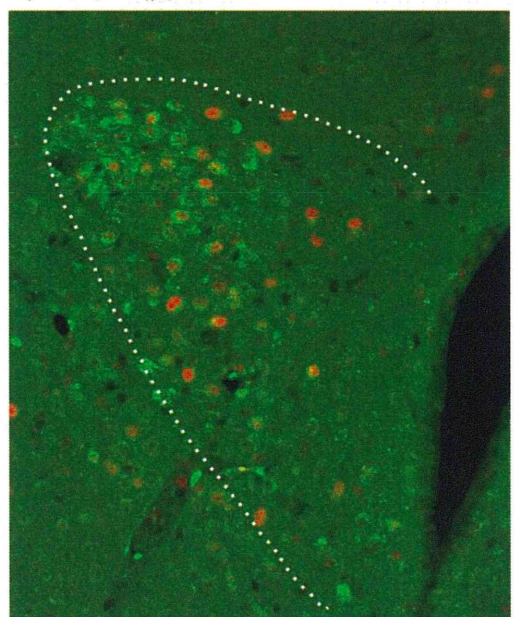


X20

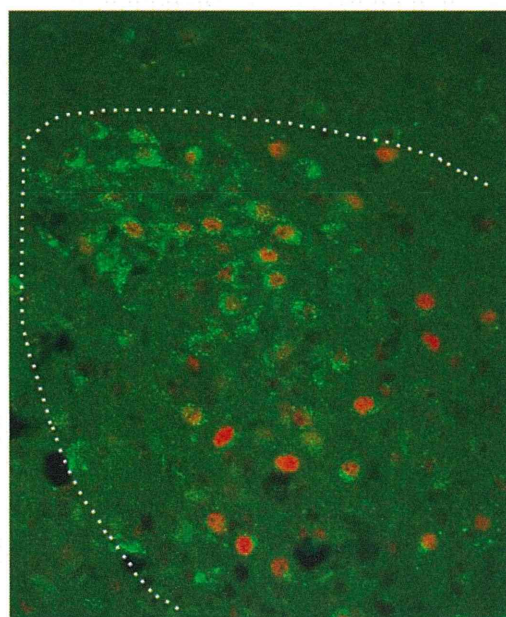


X40

ラベンダー吸入



X20



X40

ベンダーの吸入暴露において、視床下部の室傍核におけるc-Fosの発現は、ラベンダー吸入なしと比較して、CRFとの共存は少なく、CRF以外のニューロンにおける発現が認められた。

D. 考察

ラベンダーの吸入は、上部消化管内視鏡検査、経皮的冠動脈形成術、歯科治療などの施行前の不安を緩解させることが示されている。ストレスは、視床下部室傍核の背内側に存在する小細胞群のCRF産生ニューロンを活性化させ、下垂体前葉よりadrenocorticotrophic hormoneの分泌を促進、副腎皮質よりコルチゾールを分泌させ、生体はストレスに応答する。これまでに動物実験において、水回避、痛み、拘束、母子分離などのストレスが、室傍核のCRFの発現を増加させることが知られている。本研究においては、ラベンダーの吸入による、視床下部の室傍核のc-FosとCRFの蛋白レベル発現への影響に関してマウスを用いて検討し、ラベンダーの吸入が、c-Fosの発現を増加させる傾向を認めた。また、ラベンダーの吸入は、室傍核におけるc-FosとCRFの共存を減少させ、CRFと共存していない発現を増加させる傾向を示した。室傍核のCRF産生ニューロンの外側に位置する大細胞群には、oxytocin、arginine - vasopressinなどが存在しているため、今後、ラベンダーの他の神経ペプチドに対する影響を検討する必要性が考えられた。

E. 結論

ラベンダーの吸入は、マウスを用いた研究において、視床下部室傍核におけるc-FosとCRFの蛋白レベルの発現に影響を与えた。ラベンダーの吸入によるストレス緩解作用が、視床下部室傍核の神経ペプチドを介して発現している可能性が考えられた。今後、ラベンダー吸入などのアロマセラピーのさらなる普及のために、生体に対する作用機序に関する研究が進行することが必要である。

F. 健康危険情報

—

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究委託費(地域医療基盤開発推進研究事業)

委託業務成果報告(業務項目)

ラベンダー、麴の神経細胞に対する作用に関わる研究

担当責任者 矢田 俊彦 自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門 教授

研究要旨

室傍核corticotropin - releasing hormone (CRH)ニューロンは、ストレス物質セロトニン(5HT)によって細胞内カルシウムイオン濃度([Ca²⁺]_i)の上昇が惹起され、この作用は生体のストレス応答に重要な役割を担うと考えられる。ラベンダー吸入のストレス緩和作用が示唆されており、これが中枢性に作用することは知られているが、その作用機構は明らかではない。本研究は、ラベンダー精油がCRHニューロンに直接作用し、5HT誘発[Ca²⁺]_i増加を抑制することをはじめて明らかにした。この結果は、ラベンダー精油による抗ストレス作用が、室傍核CRHニューロンの抑制を介して発揮されている可能性を示唆する。

A. 研究目的

ストレス応答性の室傍核corticotropin - releasing hormone (CRH)ニューロンのセロトニン(5HT) 10⁻⁵M応答に対するラベンダー精油の作用を検討する。

B. 研究方法

5週齢の雄性C57BL6マウスを1週間ケージにて飼育し環境に馴化させた後、室傍核ニューロンを単離した。カルシウムイオン蛍光指示薬Fura-2標識後、灌流下に、蛍光画像解析により、単一ニューロンの細胞内カルシウムイオン濃度([Ca²⁺]_i)を経時的に測定した。灌流液に5HT 10⁻⁵M及びラベンダー精油(原液の1/1000量)を添加し [Ca²⁺]_iへの効果を観察した。その後CRH抗体を用いて免疫染色を行い

、CRHニューロンを同定した。

本研究は、矢田俊彦(自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門教授)、小平美里(自治医科大学医学部生理学講座統合生理学部門ポスト・ドクター)らが中心となって施行された。

(倫理面への配慮)

本研究は、自治医科大学の動物実験倫理委員会の承認の下、動物の生命倫理に十分に配慮して施行された。

C. 研究結果

本研究の結果、5HT 10⁻⁵MはCRHニューロンの[Ca²⁺]_iを増加させ、ラベンダー精油がこの[Ca²⁺]_i増加を抑制することが明らかになった。詳細は下記の通りである。

1. 5HT 10^{-5} Mは、室傍核ニューロン20個のうち7個で $[Ca^{2+}]_i$ を増加させた(図)。

2. 5HT 10^{-5} Mに応答した7個の室傍核ニューロン中6個(86%)において、ラベンダー精油1000倍希釈は5HT誘発 $[Ca^{2+}]_i$ 増加を抑制した(図)。

3. 免疫染色の結果、5HT 10^{-5} Mにより活性化され、ラベンダー精油により抑制された6個の室傍核ニューロン中5個(83%)が、CRH陽性ニューロンであった。

D. 考察

本研究は、ラベンダー精油が室傍核CRHニューロンに直接作用し、その5HT 10^{-5} Mによる

活性化を抑制することをはじめて示した。CRHは、代表的なストレス反応であるHPA軸活性化の起点となる神経ペプチドであり、5HTはその代表的な活性化物質である。従って、本研究結果からラベンダー精油は室傍核CRHニューロンの抑制、特に5HT 10^{-5} Mによる活性化に拮抗する作用を介して、抗ストレス作用を示す可能性が考えられる。有効成分に関しては、本研究では1000分の1量相当の低用量のラベンダー精油を灌流液に攪拌混和させたことから、ラベンダー精油の水溶性成分が作用したと推察される。紅麴抽出液のマウスへの経口投与が、不安緩解作用を示す可能性が存在し、今後、紅麴抽出液の室傍核CRHニューロンに対

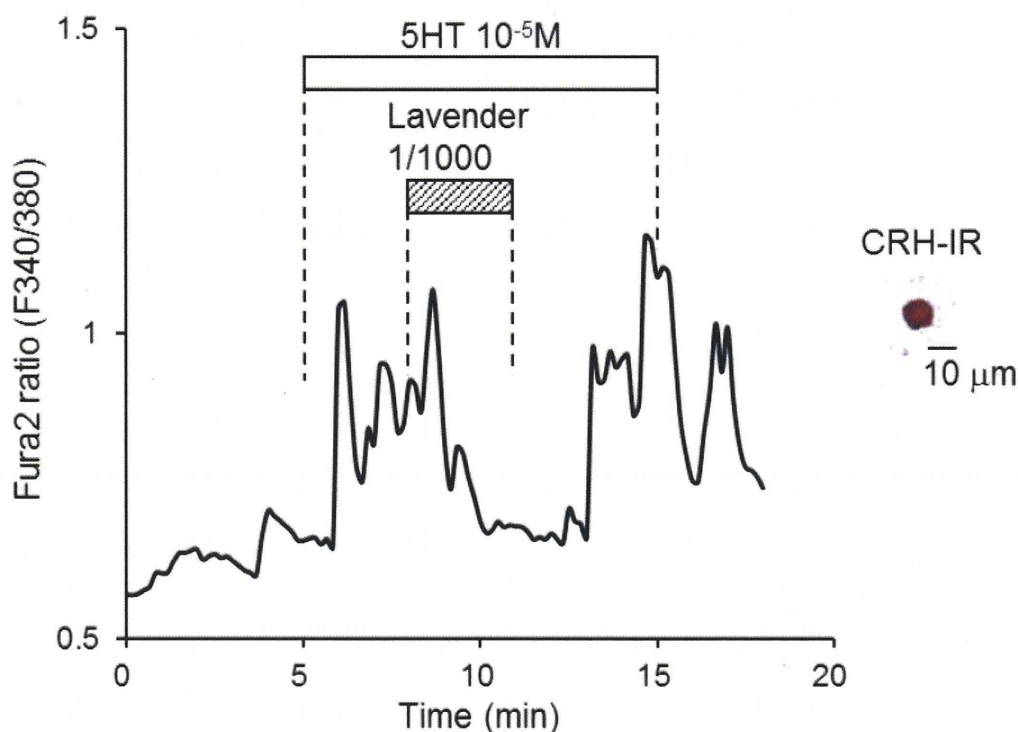


図:5HT応答性CRHニューロンはラベンダー精油によって抑制される。

IR: immunoreactivity

する作用についての検討も行う予定である。

なし

2. 学会発表

E. 結論

なし

ラベンダーは、室傍核CRHニューロンに直接作用し、その5HT 10^{-5} Mによる活性化に拮抗する。この作用が、ストレス反応緩和に繋がる可能性が考えられる。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

F. 健康危険情報

2. 実用新案登録

—

なし

3. その他

G. 研究発表

なし

1. 論文発表

厚生労働科学研究委託費(地域医療基盤開発推進研究事業)

委託業務成果報告(業務項目)

麴のadiponectin受容体に対する作用に関わる研究

担当責任者 上園 保仁 独立行政法人国立がん研究センター研究所

がん患者病態生理研究分野 分野長

研究要旨

発酵食品に含まれ、酒、焼酎製造にも用いられる麴類は、高脂肪食負荷の肥満モデルマウスにおいて、摂食量の低下、体重増加抑制が認められることから、肥満及び糖・脂質代謝の改善物質としての可能性がある。そのメカニズム解明のため、抗生活習慣病作用を有するアディポネクチンシグナルに注目し、その下流シグナルであるAMPKの活性化について、アディポネクチン受容体1、2型を発現するHepG2ヒト肝がん細胞を用い、紅麴によるAMPKへの影響を検討した。HepG2細胞ヒト肝がん細胞に、マウス投与実験で体重減少効果、過食抑制効果の認められている紅麴を処置し、その後AMPK活性化ならびにその発現量を測定した。HepG2ヒト肝がん細胞の無血清下培養で時間依存的なAMPKのリン酸化の上昇が認められた。紅麴0.1%は無血清下コントロールのAMPKリン酸化活性に影響を与えなかったが、AMPKタンパク発現量を時間依存的に増加させた。今回の結果より、紅麴はAMPKの発現量増加によりAMPK活性化を介するアディポネクチンを含む種々の生体物質の効果を増強させる可能性が考えられた。紅麴でみられる体重減少作用、過食抑制作用のメカニズムの一部はAMPKシグナルの増強を介している可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、食品の有する生体調節機能に関心が高まっている。その中でも発酵食品に含まれ、さらに酒、焼酎製造にも用いられる麴類、特に紅麴は高脂肪食負荷の肥満モデルマウスにおいて、摂食量の低下、体重増加抑制が認められることから、肥満及び糖・脂質代謝の改善物質としての可能性が考えられており、抗生活習慣病改善に貢献する食品として期待さ

れる。

アディポネクチンは脂肪細胞で産生、分泌される善玉アディポカインであり、肥満に伴い血中濃度が低下する。アディポネクチンシグナルの活性化は、脂肪酸燃焼、糖新生・炎症性サイトカイン産生及び活性を抑制することが知られており、アディポネクチン受容体シグナルはAMPKのリン酸化を介することが報告されており、アディポネクチンの生活習慣病改善効果のメカニズムのひとつと考えられている。AMPK

はアディポネクチンによる活性化のみならず生体内の多くの因子で活性化される。加えて運動でもその活性が増加し、抗生活習慣病効果を示すことが知られている。

今回アディポネクチン受容体1、2型を発現するHepG2ヒト肝がん細胞を用いて、紅麴によるAMPKへの影響を検討した。

B. 研究方法

HepG2細胞ヒト肝がん細胞を播種し、L6 myotubeにおいてGlucose取り込みを有意に上昇させ、マウスにおいて体重減少効果、過食抑制効果のある紅麴(0.1%)を1、3、6、9、15、24時間処置し、その後タンパク回収を行った。回収したサンプルを用いてウエスタンブロット法にてAMPK活性化ならびにその発現量を測定した。

(倫理面への配慮)

紅麴及びラベンダーの細胞レベルでの作用機序解明及び動物モデルを用いた実験においては、当施設の実験動物倫理審査委員会ならびに遺伝子組み換え実験管理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

HepG2細胞ヒト肝がん細胞を無血清下で培養を行うと、時間依存的にAMPKのリン酸化の上昇、すなわちAMPKの活性化が認められた。そのピークは9時間後であり、その後徐々に

活性は低下した。

紅麴0.1%は無血清下のコントロールと比較し、AMPKのリン酸化活性にほとんど影響を与えなかった。しかしながらAMPKタンパク質については、コントロールと比較しその発現量を時間依存的に増加させることがわかった。

D. 考察

紅麴はヒト肝がんHepG2ヒト肝がん細胞においてAMPKの活性化を誘導するのではなく、AMPKタンパク自体の発現量を増加させることが明らかとなった。

生体内においては、血中にアディポネクチンをはじめ、AMPKを活性化させる物質が存在しており、AMPKの活性化はこれらの多因子により活性化され、細胞反応を惹起することが知られている。

今回の実験より、おそらく紅麴はAMPKの発現量を増加させることで生体に存在するAMPK活性化物質の効果を増幅させる働きがあることが推測される。紅麴の効果がアディポネクチン受容体を介しているか否かは現時点では不明であるが、私たちが独自に作製したアディポネクチン1型受容体安定発現HEK293細胞を用いてその詳細なシグナル解析を行う予定である。

また同様の手法を用いて、現在ラベンダーについても検討を行っている。

E. 結論

紅麴はヒト肝細胞においてAMPK発現量を増加させた。紅麴でみられる動物モデルを用いて得られた体重減少作用、過食抑制作用のメカニズムの一部はAMPKシグナル調節を介している可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

1. 西村瞳, 宮野加奈子, 横山明信, 山川央, 須藤結香, 白石成二, 長瀬隆弘, 樋上賀一, 上園保仁. アディポネクチン受容体1新規アゴニスト探索のためのアディポネクチン受容体シグナルアッセイ法確立の試み. 第130回日本薬理学会春季関東部会. 東京 (2014年7月).

2. 西村瞳, 宮野加奈子, 横山明信, 山川央, 須藤結香, 白石成二, 長瀬隆弘, 樋上賀一, 上園保仁. アディポネクチン受容体シグナルアッセイ法確立と新規受容体アゴニストの開発. 第19回アディポサイエンス・シンポジウム. 大阪 (2014年8月).

3. 西村瞳, 宮野加奈子, 山川央, 横山明信, 須藤結香, 白石成二, 樋上賀一, 長瀬隆弘, 上園保仁. アディポネクチン受容体安定発現細胞の構築及び同細胞を用いてのアディポネクチンシグナル解析. 第131回日本

薬理学会関東部会. 横浜 (2014年10月).

4. 西村瞳, 宮野加奈子, 樋上賀一, 上園保仁. アディポネクチン受容体1 (AdipoR1)を介したCa²⁺シグナルアッセイ法の確立. 第35回日本肥満学会. 宮崎 (2014年10月).

5. 上園保仁. 細胞膜受容体機能解析への新たなアプローチ -label-free CellKey™システムおよびHalotag蛋白融合受容体を用いた機能アッセイ-. 第7回トランスポーター研究会九州部会. 北九州 (2014年11月).

6. 西村瞳, 宮野加奈子, 山川央, 川合田恵美, 横山明信, 須藤結香, 白石成二, 樋上賀一, 長瀬隆弘, 上園保仁. アディポネクチン受容体1 (AdipoR1)シグナルの迅速かつ簡便なアッセイ法の確立. 第7回トランスポーター研究会九州部会. 北九州 (2014年11月).

7. 西村瞳, 宮野加奈子, 山川央, 横山明信, 須藤結香, 白石成二, 長瀬隆弘, 樋上賀一, 上園保仁. アディポネクチン受容体1を介した迅速簡便な受容体シグナルアッセイ法確立の試み. 第67回日本薬理学会西南部会. 北九州 (2014年11月).

8. 川合田恵美, 横山明信, 根本悦子, 佐藤汐莉, 西村瞳, 宮野加奈子, 山川央, 平山重人, 白石成二, 長瀬隆弘, 藤井秀明, 上園保仁. 本邦で用いられている医療用麻薬の薬理学的特性の解析 -CellKey™システムならびに新規インターナリゼーションアッセイを用いて-. 第67回日本薬理学会西南部会. 北九州 (2014年11月).