

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：35302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01834

研究課題名(和文) 健常人を対象とした森林浴による体内酸化・抗酸化バイオマーカーの比較検証

研究課題名(英文) Forest bathing on urinary oxidative and anti-oxidative biomarker levels among healthy population

研究代表者

汪 達紘 (Wang, Da-Hong)

岡山理科大学・理学部・教授

研究者番号：90294404

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：森林散策の前後に尿中の酸化ストレスバイオマーカーレベルがどのように変動するのか、都市散策の場合はどう異なるのかを解明することを目的とした。そこで20代成人を対象に2017～2019年において、森林散策(新庄村、岡山県立森林公園)・都市散策(岡山市内)を行い、散策前・後の尿中酸化ストレスマーカーを比較し、以下の成果を得た。

尿中ジチロシン、ヘキサノイルリジン、過酸化水素、及び8-ヒドロキシデオキシグアノシンの濃度は、森林散策後において減少傾向が見られたのに対し、都市散策後では見られなかった。このことから短時間でも森林環境に滞在することで体内の酸化ストレスの緩和に寄与するのではと推測する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに森林浴の研究があまり焦点を当ててこなかった生体の酸化・抗酸化関連バイオマーカーに注目し、健常者を対象とし、森林散策の前後における体内の酸化・抗酸化バランスの変化及びそのメカニズムについて初めて考察した本研究は、独創性を有し、学術的意義が高いと考える。

本研究成果はレジャー活動としての森林浴による心身健康の増進・疾病予防の研究発展につながる基礎的データを提供し、さらに地域の森林の有効利用にも有意義な示唆を与えたと考える。

研究成果の概要(英文)：Some studies have shown that exposure to forests has positive effects on human health, although the mechanisms underlying the health benefits of a forest environment have not been elucidated yet. The current study was aimed at examining how the levels of urinary oxidative stress biomarkers change after a forest or urban walk in healthy young subjects. The forest walks were carried out in 2 forests in Okayama Prefecture, Japan, and the urban walks were carried out in the downtown area of Okayama city, each for two hours. Spot urine samples were collected before the walk, the next day and one week after the forest or urban walk. Compared with pre-forest walk levels, we found a decreased tendency in urinary dityrosine, hexanoyl-lysine, hydrogen peroxide, and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine concentrations in most participants after the forest walk, but not the urban walk. These findings suggest the possibility that exposure to forests may alleviate oxidative stress in the body.

研究分野：環境予防医学

キーワード：森林環境 都市環境 バイオマーカー 酸化ストレス 抗酸化能 過酸化水素 8-OHdG フィトンチン

1. 研究開始当初の背景

(1) 森林浴によるヒトNK細胞の活性化、抗がんタンパク質の増加等の免疫機能の増強、精神的疲労回復、心理的ストレス時に高まる交感神経活動の抑制などの知見が多く研究者により報告されている。さらに、2008年にRichardら英国の研究者が30万人を対象とした大規模疫学調査によって森林環境の豊かな地域に住んでいる住民のほうが全死因死亡率及び循環系疾患による死亡率が低値であったことが発表され、その後、ニュージーランド、カナダ、ドイツなどの国からの研究報告でも、森林環境の健康増進に対する有用性が示唆された。しかしながら、そのメカニズムについては明らかになっていない。一方、樹木から大気にフィトンチッドという活性物質が分泌されることが知られている。In vitro 実験では、フィトンチッドには強い抗酸化能力が示されており、細胞内シグナル伝達因子Akt及び細胞外シグナル調節キナーゼErkの活性化を阻害して、がん細胞の増殖抑制、抗炎症、免疫増強等がもたらされると推察されているが、ヒトにおける森林浴と体内の酸化・抗酸化バランスとの関連性に関する報告はほとんど見当たらない。

(2) 偏った食事、喫煙などの不健康な生活習慣や環境汚染物質の曝露、慢性炎症などによって、細胞内に多くの過酸化水素、スーパーオキシド、ヒドロキシラジカルなどの活性酸素種が生成されることが知られている。体内の酸化と抗酸化機構のバランスが崩れた状態が続くことにより、細胞内に酸化された分子が蓄積し、病気や老化の引き金になることが数多くの研究で証明されつつある。従って、生体内の酸化ストレス防御機構の強化が病気の予防につながると考えられている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生体の酸化・抗酸化関連バイオマーカーに注目し、健常者を対象とし、森林散策の前後における体内の酸化・抗酸化バランスの変化及びそのメカニズムを明らかにすることで、レジャー活動としての森林浴による健康増進・疾病予防の研究発展に寄与したい。

3. 研究の方法

(1) 20代を対象として、森林散策は2015年から2019年にかけて新庄村にて29名（男性22名、女性7名）及び、2016年から2019年にかけて岡山県立森林公園にて39名（男性29名、女性10名）で行い、都市散策は、2016年から2019年にかけて岡山駅周辺にて42名（男性31名、女性11名）で行った。いずれも散策時間は2時間程度であった（図1）。散策前、1日後、及び1週間後に唾液及び随時尿の採取、血圧・脈拍の測定を行った。唾液・尿試料は分析するまで-80℃で冷凍保存した。

また、散策前後の気分・感情の状態を総合的に評価するため、短縮版POMS法（Profile of Mood States）を用い、「緊張 - 不安」、「抑うつ - 落ち込み」、「怒り - 敵意」、「疲労」、「混乱」、「活気」の6尺度で参加者の気分尺度の得点を求めた。さらに気分障害を表すTMD（Total Mood Disturbance）も評価した。

(2) 唾液の分析は、遠心分離後（3000rpm、室温、15 min）の上清を用いた。唾液中のアミラーゼは、NIPRO 唾液アミラーゼモニターを用いて測定し、コルチゾールは酵素免疫測定法を用いて分析した。尿試料の分析は、遠心分離後（5000rpm、4℃、5 min）の上清を用いた。尿中過酸化水素（H₂O₂）の測定はFOX-1法、尿中マロンジアルデヒド（MDA）はTBARS法、尿中8-ヒドロキシデオキシグアノシン（8-OHdG）、ジチロシン（DT）、ヘキサノイルリジン（HEL）の測定はELISA法、尿中トータル抗酸化能（PAO）の測定は銅イオンの還元反応を用いた。これらすべての測定項目の濃度は尿中クレアチニンで補正した。

(3) 統計解析は IBM SPSS Statistics ver 22 を使い、対応するサンプルの t 検定或いは Mann - Whitney U 検定を行い、 $p < 0.1$ を有意差ありとした。

(4) 気中フィトンチッドの捕集は、吸引ポンプ (MP-Σ 30 NII) によるアクティブサンプリング法を用い、GC/MS でサンプル中の物質 (α -ピネン、 β -ピネン、3-カレン、p-シメン、リモネン) を分析した。

(5) 本研究計画は岡山理科大学倫理委員会の承認を得て行った。対象者に対して研究の主旨、協力の任意性、匿名性の保持などについて書面により事前説明を行い、署名により同意を得たうえで実施した。

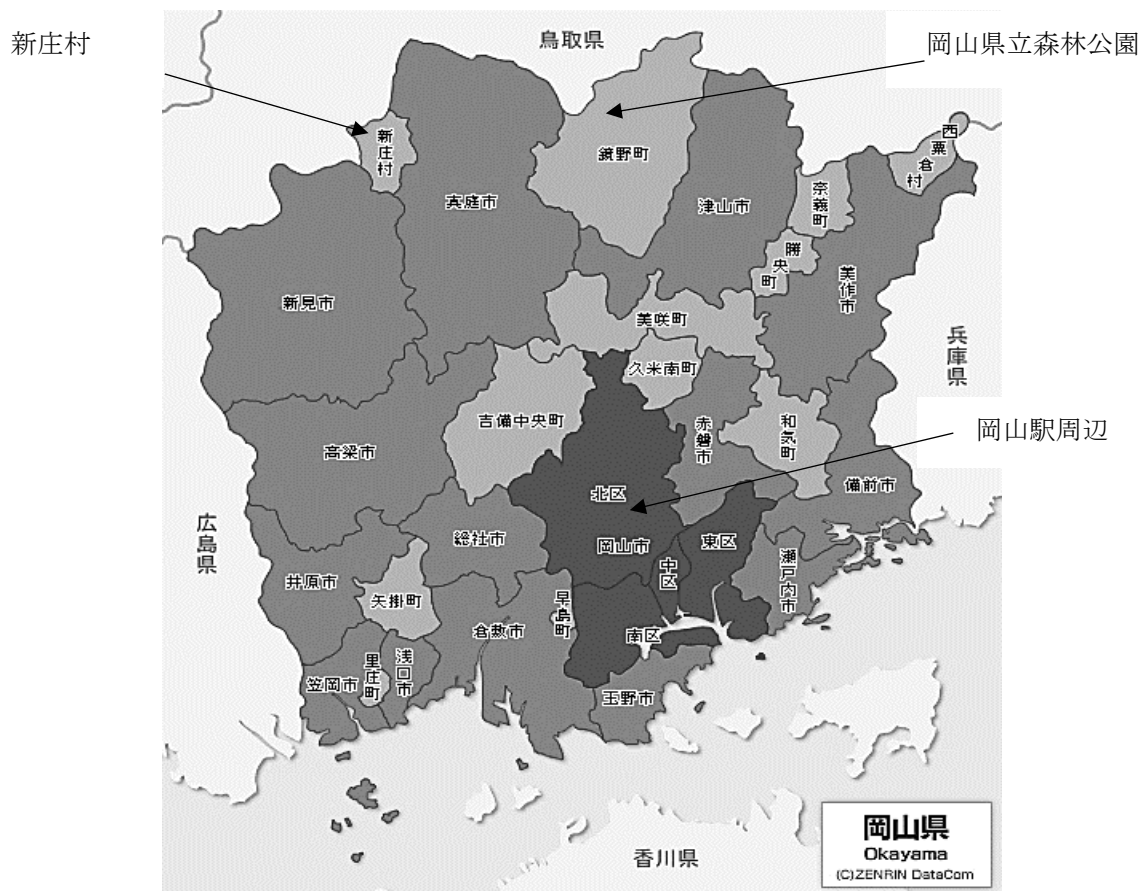


図 1. 森林・都市散策地点

4. 研究成果

(1) 森林散策前に比し、散策後の方が参加者の尿中 H_2O_2 及び 8 - OHdG の濃度は有意に低下した;さらに、尿中 8 - OHdG は森林散策 1 週間後でも低いレベルのまま維持していた。しかし、都市散策後ではこれらの酸化バイオマーカーの濃度に有意な変化は観察されなかった。

尿中 DT については、森林散策後においてやや減少傾向が示されたのに対し、都市散策後では増加傾向が見られた。尿中 HEL 濃度も、森林散策後に減少傾向が見られたのに対し、都市散策後では増加傾向が観察された。しかし、尿中 MDA は、都市・森林散策後ともに有意な変動は見られなかった。

尿中 PAO については、都市・森林散策前に比べ、散策後では、両方とも有意な変動は示されなかった。

(2) 唾液アミラーゼのレベルは、森林散策後では63%、都市散策後では45.5%で減少した。唾液コルチゾールは、森林散策前後では、大きな変動が見られなかったが、都市散策後では有意な増加が認められ、都市散策はより強いストレス負荷となっていることが示唆された。

(3) 多くの対象者の血圧・脈拍ともに正常範囲にあり、都市散策・森林散策後では有意な変化はなかったが、森林散策前に、収縮期血圧が130 mm Hgを超えた被験者の中では散策後に10mmHg以上低下している者もいたことから先行研究（住友ら、2006年、森林科学誌）と一致した結果であった。

(4) また、参加者の気分状態については、緊張-不安、憂うつ-落込み、怒り-敵意、疲労、TMDのスコアが、森林散策後に有意に減少したが、都市散策後では活気と疲労のみ得点が減少した。

(5) 気中フィトンチッド濃度(α -ピネン、 β -ピネン、3-カレン、p-シメン、リモネン)の合計は都市環境に比べ、新庄村では約1.5倍、岡山県立森林公園では約1.2倍高くなっていることが分かった。

(6) 以上の結果から、短時間でも森林環境に滞在することで体内の酸化ストレスの緩和に寄与するのではと推測する。また、参加者の気分状態も森林散策によって改善され、ストレス緩和の一助となることが示唆された。最後に本研究の対象者が若年層であり、また、サンプル数が少ないため結果を一般化するには慎重になる必要があるが、本研究成果はレジャー活動としての森林浴による心身健康の増進・疾病予防の研究発展につながることを期待したい。

<引用文献>

- ① Qing Li, Kanehisa Morimoto, Ari Nakadai, et al. Healthy Lifestyles Are Associated With Higher Levels of Perforin, Granulysin and Granzymes A/B-expressing Cells in Peripheral Blood Lymphocytes. *Prev. Med* 44, 2007, 117-123
- ② M Yamaguchi, M Deguchi, Y Miyazaki. The Effects of Exercise in Forest and Urban Environments on Sympathetic Nervous Activity of Normal Young Adults *J Int Med Res* 34, 2006, 152-159
- ③ 宮崎 良文、池井 晴美、宋 チョロン、日本における森林医学研究、日本衛生が学雑誌 69 巻、2014、122-135
- ④ Richard Mitchell, Frank Popham. Effect of exposure to natural environment on health inequalities: an observational population study. *Lancet* 372, 2008, 1655-1660
- ⑤ E.A. Richardson, J. Pearce, R. Mitchell, S. Kingham. Role of physical activity in the relationship between urban green space and health. *Public Health* 127, 2013, 318-324
- ⑥ Omid Kardan, Peter Gozdyra, Bratislav Misic, et al. Neighborhood greenspace and health in a large urban center. *Sci. Rep.* 2015, 5, 11610
- ⑦ Kabisch N, Haase D, Annerstedt van den Bosch M. Adding Natural Areas to Social Indicators of Intra-Urban Health Inequalities among Children: A Case Study from Berlin, Germany. *Int J Environ Res Public Health.* 13, 2016, 783.
- ⑧ Leejin Lim, Young-Su Jang, Je-Jung Yun, Heesang Song. Phytoncide, Nanochemicals From *Chamaecyparis Obtusa*, Inhibits Proliferation and Migration of Vascular Smooth Muscle Cells. *Journal of Nanoscience Nanotechnology.* 15, 2015, 112-115
- ⑨ Sukyung Kang, Jae Sung Lee, Hai Chon Lee, et al. Phytoncide extracted from pinecone decreases LPS-induced inflammatory responses in bovine mammary epithelial cells. *J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 2016, 579-587
- ⑩ Da-Hong Wang, Ai Yamada, Masamitsu Miyanaga. Changes in urinary hydrogen peroxide

and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels after a forest walk: A pilot study. *Int J Environ Res Public Health* 15, 2018, 1871

⑪ Ai Yamada, Da-Hong Wang, Masamitsu Miyanaga. Assessment of psychophysiological effects of forest and urban walking on young people. *Naturalistae* 24, 2020, 1-5

⑫ 住友 和弘、前田 冷子、土屋 里美、猪苺 冬樹、茨木 康彦、長谷部 直幸、菊池 健次郎、森林療法は高血圧治療代替療法となりうるか、*森林科学*、48巻、2006、21-25

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Da-Hong Wang, Ai Yamada, Masamitsu Miyanaga	4. 巻 15
2. 論文標題 Changes in Urinary Hydrogen Peroxide and 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine Levels after a Forest Walk: A Pilot Study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Environmental Research and Public Health	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.339	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ai Yamada, Da-Hong Wang, Masamitsu Miyanaga	4. 巻 24
2. 論文標題 Assessment of psychophysiological effects of forest and urban walking on young people.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Naturalistae	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 AI YAMADA, DAHONG WANG, MASAMITSU MIYANAGA
2. 発表標題 DECREASED URINARY HYDROGEN PEROXIDE AND 8-HYDROXY-2'-DEOXYGUANOSINE AFTER A FOREST WALK
3. 学会等名 24th IUBMB Congress and 15th FAOBMB Congress（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田愛, 汪達紘, 宮永政光
2. 発表標題 森林・都市散策における尿中ジチロシンとヘキサノイルリジンレベルの変動について
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山田 愛、宮永 政光、汪 達紘
2. 発表標題 森林と都市環境中のフィトンチッドの比較及び抗酸化能の評価
3. 学会等名 おかやまバイオアクティブ研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 DAHONG WANG, TOKUSHI HORIKE, MASAMITSU MIYANAGA
2. 発表標題 Effect of forest bathing on urinary oxidative and anti-oxidative biomarker levels
3. 学会等名 3rd Conference on Landscape and Human Health: Forests, Parks and Green Care (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	山田 愛 (YAMADA AI)		
研究協力者	堀家 徳士 (HORIKE TOKUSHI)		
研究協力者	宮永 政光 (MIYANAGA MASAMITSU)		