

令和元年5月31日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K17900

研究課題名(和文)アロマセラピーの作用経路の違いからみる、抗炎症効果をもつ精油探索と作用機序解明

研究課題名(英文) Screening of essential oils with anti-inflammatory effect and elucidation of mechanism from the difference of action route of aromatherapy

研究代表者

飯尾 友愛(上野友愛)(IIO(UENO), Tomoe)

岡山大学・保健学研究科・助教

研究者番号：80613158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は精油の抗炎症効果を定量的に評価するスクリーニングシステムを確立することと、作用経路の違いによるアロマセラピーの効能の違いを明らかにすることであった。皮膚と気管支細胞に複数の精油を添加し、サイトカイン刺激による炎症に効果のある精油を数種類同定した。今回の研究によって、作用経路によって同じ精油でも発揮する作用が異なることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、アロマセラピーで用いられる複数の精油の中から作用経路ごとにより、効果的な抗炎症作用をもつ精油を科学的に明らかにすることができた。これにより抗炎症作用をもつ精油が、より有効かつ副作用のない方法で利用できる科学的根拠となる。今後さらに細胞内での作用機序や今回開発したスクリーニング方法で有効成分を明らかにすることで、アロマセラピーを用いた新しい炎症治療法への発展につながる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research was to establish a screening system to quantitatively evaluate the anti-inflammatory effect of essential oils and to clarify the difference in aromatherapy efficacy depending on the action route. We added 47 types of essential oils to skin and bronchial cells, and identified several types of essential oils that are effective for cytokine-stimulated inflammation. This study has revealed that even the same essential oil has different effects depending on the action route.

研究分野：臨床免疫学

キーワード：精油 TARC アロマセラピー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

今や国民の3人に1人がアレルギー疾患を持つと言われるほど、気管支喘息(喘息)、アトピー性皮膚炎等のアレルギー疾患の罹患者数は増加している。現行治療の中心は、ステロイド吸入などの長期対症療法である。国のアレルギー疾患対策は当面の目標として、アレルギー疾患を「自己管理可能な疾患」にすることとしている(厚生科学審議会リウマチ・アレルギー対策委員会報告書(平成23年))。このことは、日々の生活の中で患者自身が継続することが可能な治療法および予防法の必要性を示している。

アロマテラピーは、補完代替医療に分類される。アロマテラピーの効果にはリラックスなどの精神的な作用とは別に、用いる精油による科学的効果があると推測されている。精油には約300もの種類があり、抗炎症作用や抗菌作用、鎮痛作用など多様な効果を持つとされる。

これまでの研究で、マウス喘息モデルに対してラベンダー精油の抗炎症作用をもつことを報告した(*Life Sciences* 108:109-115, 2014)。一方で「ある特定」の精油によって気道抵抗の悪化がみられるなど、精油の種類により効果作用に違いがあることも発見した。これらの一連の研究の中で、アロマテラピーの有効性をシステムティックに解析した報告がこれまでになく、精油の作用機序を網羅的かつ系統的に検証する研究が必要であると考えた。

2. 研究の目的

上述の研究結果・課題から、細胞を用いた効果判定システムが確立すれば少量の精油で同時に多数の精油種の効果判定が可能になる。網羅的な解析からより有効な精油同定が可能となる。また、アロマテラピーの代表的作用部位(肺と皮膚)について、精油の効果の相違について検討することとした。つまり本研究では、精油の抗炎症効果を定量的に評価するスクリーニングシステムを確立し、さらに作用経路の違いによるアロマテラピーの効能の違いを科学的に明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 炎症に対する精油効果の評価スクリーニング方法の確立

スクリーニング方法にはヒト正常皮膚線維芽細胞(NB1RGB)とヒト正常気管支上皮細胞(NHBE)を用いた。

精油の細胞毒性

精油が細胞に与える影響について、細胞毒性をMTTアッセイにより評価した。市販されており入手可能であった47種類の精油について精油濃度を変化させて48時間培養した。細胞毒性は、細胞生存率(%)と細胞生存率を50%まで減少させる50%細胞死滅濃度(CC50)で算出した。この結果から確認した、細胞増殖に影響のない精油濃度を続くスクリーニング法において用いた。

炎症に対する精油効果の評価スクリーニング法

スクリーニングのための炎症マーカーとしてthymus and activation-regulated chemokine(TARC)、ペリオスチンを用いた。どちらも喘息・アトピー性皮膚炎で局所的、全身的に発現することが明らかにされている。精油を培地に添加し、2時間後にTNF- α 10ng/mlとIL-4 10ng/mlを添加してサイトカイン刺激を行った。刺激後24時間の細胞からの炎症マーカーの発現は、reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR)で作製したcDNAを用いてPCRを行い、PCR産物を電気泳動像の画像解析により定量した。また刺激後48時間に回収した培養上清中のTARC濃度変化はELISA法を用いて測定した。

(2) 細胞による精油の作用効果の違いの分子メカニズム解明

精油の抗炎症作用メカニズムを解析するために、NF- κ B 経路、MAPK 経路について精油による活性化抑制を検討した。精油を培地に添加し、2 時間後に TNF- α 10ng/ml と IL-4 10 ng/ml を添加してサイトカイン刺激を行った。刺激後 15 分の細胞溶解液を作製し、電気泳動後抗体をもちいて Western blotting 解析を行った。

4. 研究成果

(1) 炎症に対する精油効果の評価スクリーニング方法の確立

精油の細胞毒性

まず細胞増殖に影響のない精油濃度を確認するために MTT アッセイにおける精油の細胞毒性を検討した。ミルラ、レモングラス、シナモン・カシヤ、シダー精油などは細胞毒性が強く、ローズウッド、ユーカリ・ラディアタ、ラベンダー・アングスティフォリア等の精油は 0.1%の精油濃度においても生存率 50%以上と細胞毒性が弱かった。精油に含まれる成分の類似した精油ほど近い細胞毒性を示したことから、主成分が主に影響を及ぼすことが考えられる。また、NB1RGB、NHBE どちらもよく似た結果となり、精油の種類による細胞毒性は皮膚、気管支どちらに作用する際も傾向は同じであることが分かった。この結果から細胞増殖に影響のない精油種ごとに濃度で以降の研究を続けた。

炎症に対する精油効果の評価スクリーニング法

NB1RGB、NHBE 細胞に精油添加、サイトカイン刺激後、炎症マーカーの mRNA 発現を見ていった。精油はの結果より 0.005%以上の濃度でも細胞増殖に影響のない種類を選んで用いた。当初どちらの細胞も精油の抗炎症作用を調べる炎症マーカーとして TARC とペリオスチンを候補としていたが、コントロールとサイトカイン処置群で差がみられなかったため NB1RGB 細胞は TARC、NHBE 細胞はペリオスチンを用いて実験を行った。サイトカイン処置群と精油+サイトカイン処置群間の炎症マーカーの mRNA 発現を RT-PCR で比較した結果、NB1RGB 細胞では、3 種類の精油において精油添加によって有意に TARC の発現が減少していた。NHBE 細胞では、2 種類の精油で periostin の発現が減少傾向であったが、統計的有意差は見られなかった。一方で、抗アレルギー炎症作用が報告されている真性ラベンダー、ユーカリ、ペパーミントには差が見られなかった。

つづいて NB1RGB にサイトカイン刺激 48 時間後の TARC タンパク濃度変化を ELISA 法で測定した。TARC の mRNA 発現が減少した精油の中、ジャスミン精油において有意にタンパク濃度が減少していた。

(2) 細胞による精油の作用効果の違いの分子メカニズム解明

NB1RGB を用いて精油の抗炎症の作用メカニズムを NF- κ B、MAPK 抗体を用いたウェスタンブロット解析を行った。TARC の mRNA 発現が減少した精油いずれもサイトカイン刺激によるバンドへの変化は見られなかった。今後は他の抗体を用いた精油のよる抗炎症作用メカニズムの探索が必要である。

本研究によって多種類の精油をもちいて抗炎症効果を判定する in vitro 検査法を皮膚、肺それぞれの細胞で確立し、精油の代表的な投与経路である皮膚と肺において数種類の精油、

特にジャスミン精油が抗炎症に関わっている可能性が示された。今後はさらなるメカニズム解析を行うとともに、スクリーニング法を用いて抗炎症に効果のある精油の成分についても探索を進めていき、成果を発表していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1件)

Michinori Aoe, Tomoe Ueno-Lio, Misako Shibakura, Ryoko Shinohata, Shinichi Usui, Yujiro Arao, Satoru Ikeda, Nobuaki Miyahara, Mitsune Tanimoto, and Mikio Kataoka
Lavender Essential Oil and Its Main Constituents Inhibit the Expression of TNF- α -induced Cell Adhesion Molecules in Endothelial Cells.

Acta Med. Okayama 2017; 71 (6) : 493-503. DOI: 10.18926/AM0/55586 査読有

〔学会発表〕(計 1件)

飯尾友愛、柴倉美砂子.

肺気腫マウスにおけるユーカリ・ラジアータ精油の抗炎症作用.2017年10月28日.

第20回日本アロマセラピー学会学術総会(大阪)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者
研究分担者氏名)

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。