

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 1 月 5 日現在

機関番号：32661

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650506

研究課題名(和文)食品の香りが脳のストレス応答に及ぼす影響の客観的評価

研究課題名(英文)Objective evaluation of the effects of food fragrance on the stress response in the brain

研究代表者

増尾 好則(MASUO, Yoshinori)

東邦大学・理学部・教授

研究者番号：60301553

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文):実験動物にストレスを負荷した後、行動科学的解析および解剖学・分子生物学的解析を行った結果、コーヒーの香りはストレスによる海馬や前頭葉皮質の炎症および神経細胞死を抑制することが示唆された。さらに、ヒト白血球中においても、ストレスによって炎症関連遺伝子の発現が増加傾向を示したが、コーヒーの香りによって抑制傾向が認められた。その他、様々な香りが行動や脳内遺伝子の発現に及ぼす影響を明らかにし、香りがストレスによる脳機能障害の予防に資することが示唆された。

研究成果の概要(英文):We performed behavioral, anatomical and molecular biological analyses in animals exposed to stress. The results suggest that a coffee aroma may inhibit an inflammation in the hippocampus and frontal cortex caused by stress. The expression of inflammation-related genes showed a tendency of increment in the human leukocyte, which tended to be decreased by coffee aroma. Additionally we observed the effects of several kinds of aroma on behavior and gene expression in the brain, and the results suggested that the fragrance might contribute to prevention of brain dysfunction by stress.

研究分野：神経科学

キーワード：ストレス 海馬 前頭葉皮質 炎症 神経細胞死

1. 研究開始当初の背景

香りのストレス抑制効果が注目されている。実際、芳香は唾液中コルチゾールやクロモグラニン A の低下を引き起こし、抗鬱作用を有することが行動薬理学的に示唆されている。しかし、香りの効果に関する神経科学的研究は未だ少なく、その脳内メカニズムは不明といわざるを得ない。申請者らは最近、実験動物の脳と血液からストレスマーカー候補群を同定し(関連論文:15報、特許出願:5報、招待講演:14件)、ストレスによる脳内ストレスマーカー候補群の発現変化がコーヒー豆の香りによって抑制されることを見出した。したがって、そのストレス抑制効果のメカニズムを脳内因子レベルで明らかにする必要がある。さらに、血中ストレスマーカーの妥当性をヒトで検証することにより、ヒトのストレスレベルを客観的に把握することが可能になると考えた。

2. 研究の目的

精神的健康は極めて重要なテーマである。ストレスは様々な疾患、特に精神疾患の発症に関わっていることが知られている。最近、ストレスの影響を軽減するものとして「香り」が注目されているが、脳のストレス応答の詳細は不明であり、香りの癒し効果に関する脳内物質レベルの研究は極めて少ない。申請者らは最近、コーヒーの香りがストレス関連遺伝子・蛋白質群の発現に影響を及ぼすことを見出した。本研究では、コーヒー豆の香りが脳のストレス応答に及ぼす効果を詳細に解析し、ストレス抑制メカニズムを明らかにすると共に、ヒト血中ストレスマーカー候補群の変化に対する香りの効果を明らかにすることを目的とする。得られる成果は、ストレスレベルおよびストレス抑制効果の客観的評価を可能にし、メンタルヘルスに貢献するものである。

3. 研究の方法

[動物実験]ストレスから鬱病様に至る過程とコーヒー豆による癒し効果の脳内メカニズムを明らかにするため、成熟ラットおよびマウスを4種の異なった環境(コーヒー豆の香りの有無およびストレス負荷の有無)下で一定時間飼育した。ストレスとしては、足が水に浸る程度の不快環境による不眠ストレスを24時間負荷した。当該ラットは鬱様状態になり、抗鬱薬が効果を示すことが知られている。ストレス負荷後、行動科学的解析として高架式十時迷路試験を行った。その他のストレス負荷後の動物から全脳を摘出し、前頭葉皮質、海馬、中脳等を摘出し、RT-PCR法により遺伝子発現解析を行うと共に、ウェスタンブロット法により蛋白質の発現解析を行った。また、免疫組織化学的解析を行った。[臨床実験]香りがヒトの血中遺伝子発現に及ぼす影響を解析した。ヒト(大学生、計12名)を4種の異なった環境(コーヒー豆の香

りの有無およびストレス負荷の有無)下で一定時間過ごした後、末梢血を採取した。得られた血液から白血球を採取し、RT-PCR法により遺伝子発現解析を行った。

4. 研究成果

1) 平成24年度

海馬における Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路の解析を行った。ラットを無作為に4群:対照群(通常環境)、ストレス群(水浸ストレス)、コーヒー群、ストレス+コーヒー群に分けた。各環境下で24時間飼育した後に海馬を摘出し、ウェスタンブロット法により各種蛋白質の発現量を測定した。脳由来神経栄養因子(BDNF)は各群間で有意な差を示さなかったが、ストレス群の BDNF 発現量は対照群より低下傾向を示した。BDNF の高親和性受容体である tropomyosin-related kinase b (TrkB) のアイソフォーム gp145 と gp95 を測定した結果、ストレス+コーヒー群の gp95 は対照群およびストレス群より有意に低下したが、gp145 は変化を示さなかった。ストレス+コーヒー群の TrkB においては、MAPK 経路を活性化するキナーゼを有する gp145 の割合が高かった。コーヒー豆の香りは、相対的な gp145 の増加を引き起こすことで MAPK 経路のシグナルを亢進させ、ストレス抵抗性を付加するものと考えられる。免疫組織化学染色を行った結果、前頭葉皮質の BDNF 陽性細胞数は対照群に比しストレス群で有意に減少、ストレス群に比しコーヒー群・ストレス+コーヒー群で有意に増加した。対照群とストレス+コーヒー群の間に有意差は認められなかった。前頭葉皮質の機能障害は様々な精神疾患に関わっており、BDNF は神経細胞の成長や分化、生存維持に重要な役割を果たしていることから、本研究結果は、コーヒー豆の芳香がこれら疾患の予防に資する可能性を示唆するものである。

2) 平成25年度

ラットを無作為に4群:対照群(通常環境)、ストレス群(水浸ストレス)、コーヒー群、ストレス+コーヒー群に分けた。各環境下で24時間飼育した後に中脳を摘出し、RT-PCR法により遺伝子発現解析を行った。BDNF 遺伝子発現は、各群間で有意な差が認められなかった。しかし、ストレス群は対照群より減少傾向を示し、ストレス+コーヒー群はストレス群より増加傾向を示した。ストレスは中脳における BDNF 遺伝子発現には影響を与えにくい可能性が示唆された。MAPK phosphatase-1 (MKP-1) 遺伝子発現は、ストレス群とストレス+コーヒー群において対象群より有意に増加した。しかし、ストレス+コーヒー群は、コーヒー群と比較しても有意に増加していた。ストレスによって増加する中脳域の MKP-1 遺伝子発現は、コーヒー豆の香りに顕著な影響を受けないものと

考えられる。

3) 平成 26 年度

マウスの行動解析および脳内ストレスマーカー候補遺伝子の発現解析を行った。水侵ストレスを 24 時間負荷(ストレス群)後、香り充満環境(ストレス+コーヒー群)で 90 分間飼育した。高架式十字迷路試験では、ストレス+コーヒー群のオープンアーム滞在時間がストレス群より有意に増加したことから、コーヒー豆の香りは抗不安作用を有することが示された。ストレス+コーヒー群の海馬における分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼホスファターゼ-1(MKP-1)遺伝子発現量はストレス群に比し有意な増加を示した。海馬の MKP-1 は炎症マーカーとして有用である可能性が考えられる。海馬の神経成長因子受容体(NGFR)遺伝子および中脳の NGFR、活動依存性細胞骨格関連蛋白質(Arc)遺伝子発現量も、ストレス+コーヒー群においてストレス群より増加傾向を示した。コーヒーの香り存在下でヒト(大学生、計 12 名)にストレスを負荷(30 分間の計算)した後、白血球の MKP-1 遺伝子発現を測定した結果、MKP-1 遺伝子発現はストレスによって増加傾向を示し、コーヒー豆の香りによって抑制される傾向が認められた。また、様々なアロマがマウスの行動および脳内遺伝子の発現に及ぼす影響を明らかにした。

4) 全研究期間

3 年の研究期間において、げっ歯類の行動解析および脳の解剖学的解析や脳内遺伝子・蛋白質発現解析により、香りのストレス抑制効果を明らかにすることが出来た。脳内メカニズムの解明には至っていないが、香りが種々の脳内遺伝子・蛋白質発現を変化させることを見出したのは新規な成果である。今後、特に海馬におけるストレスと炎症マーカーの関係を明らかにする必要がある。ヒトでの解析については、今後、ストレス負荷条件を検討すると共に、被験者を増やす必要があると考える。

上記研究結果に基づき、香りとう不安行動および脳内遺伝子の発現に関する内容を学会および国際誌に発表した。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Kasuya H, Okada N, Kubohara M, Satou T, Masuo Y, Koike K. Expression of BDNF and TH mRNA in the brain following inhaled administration of α -pinene. *Phytother Res*. 査読有, 29 (2015):43-7. doi: 10.1002/ptr. 5224.

Ishido M, Masuo Y. Temporal effects of bisphenol A on dopaminergic neurons: an experiment on adult rats. *Open Environmental Sciences*. 査読有, 8

(2014) 9-17.

Kasuya H, Hata E, Satou T, Yoshikawa M, Hayashi S, Masuo Y, Koike K. Effect on emotional behavior and stress by inhalation of the essential oil from *Chamaecyparis obtusa*. *Nat Prod Commun*. 査読有, 8 (2013) 515-518.

Takahashi M, Yoshino A, Yamanaka A, Asanuma C, Satou T, Hayashi S, Masuo Y, Sadamoto K, Koike K. Effects of inhaled lavender essential oil on stress-loaded animals: changes in anxiety-related behavior and expression levels of selected mRNAs and proteins. *Nat Prod Commun*. 査読有, 7 (2012) 1539-1544.

〔学会発表〕(計 15 件)

粕谷ひかる, 岡田成美, 久保原美佳, 佐藤忠章, 増尾好則, 小池一男. ヒノキ精油の主要な揮発性成分 α -ピネンが情動行動と脳内遺伝子発現量に及ぼす影響. *日本薬学会第 135 年会, デザイン・クリエイティブセンター神戸(兵庫県神戸市)*, 3 月 27 日 2015 年.

阿久津伸, 西井淳雄, 佐藤忠章, 増尾好則, 小池一男. コーヒーの香りがもたらす抗不安様作用についての研究. *日本薬学会第 135 年会, デザイン・クリエイティブセンター神戸(兵庫県神戸市)*, 3 月 27 日 2015 年.

Nishii A, Akutsu S, Mabuchi A, Kasuya H, Satou T, Masuo Y. Effects of coffee aroma on the stress: analysis of behavior and gene expression in the mice. *第 92 回日本生理学会大会・第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会 合同大会, 神戸国際会議場・展示場(神戸ポートアイランド(兵庫県神戸市))*, 3 月 23 日 2015 年.

西井淳雄, 阿久津伸, 馬淵亮史, 粕谷ひかる, 佐藤忠章, 増尾好則. コーヒーの香りによるストレス抑制効果の検討. *第 18 回日本統合医療学会・第 17 回日本アロマセラピー学会学術総会, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)*, 12 月 21 日 2014 年.

Tsuneishi W, Mabuchi A, Suzuki K, Sato T, Hiruta N, Kuroki N, Masuo Y. Stress-responsive biomarker candidates in human blood. *第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学会大会 合同年会, 奈良県文化会館(奈良県奈良市)*, 10 月 1 日, 2014 年.

佐藤俊哉, 常石和瑚, 馬淵亮史, 増尾好則, 藤井悠, 黒木宣夫, 蛭田啓之, 武城英明. 血液解析によるストレス度調査について. *第 7 回佐倉病院学術集会, 東邦大学医療センター佐倉病院(千葉県佐倉市)*, 9 月 13 日, 2014 年.

粕谷ひかる, 岡田成美, 久保原美佳, 佐藤

忠章, 増尾好則, 小池一男. 針葉樹の揮発成分 α -pinene 吸入による情動行動と脳内遺伝子発現量の関係. 第10回 東邦大学4学部合同学術集会, 東邦大学医学部(東京都大田区), 3月1日, 2014年.

粕谷ひかる, 佐藤忠章, 増尾好則, 小池一男. ヒノキ精油の抗不安様作用. 日本ハーブ療法研究会 第1回学術集会, (独)国立がん研究センター 国際研究交流会館(東京都中央区), 12月8日, 2013年.

Suzuki K, Rakwal R, Shibato J, Masuo Y. From stress to depression. 11th World Congress of Biological Psychiatry (WFSBP Congress 2013), 国立京都国際会館(京都府京都市), June 24, 2013.

Okamoto A, Numakawa T, Adachi N, Masuo Y, Kunugi H. Aldosterone enhanced release of neurotransmitter in cultured neurons. Neuro2013 (第36回日本神経科学大会・第56回日本神経化学学会大会・第23回日本神経回路学会大会 合同大会), 国立京都国際会館(京都府京都市), 6月22日, 2013年.

Suzuki K, Rakwal R, Shibato J, Masuo Y. Studies the onset depression: effect of water immersion stress on the rat. Neuro2013 (第36回日本神経科学大会・第56回日本神経化学学会大会・第23回日本神経回路学会大会 合同大会), 国立京都国際会館(京都府京都市), 6月21日, 2013年.

Ishido M, Masuo Y. Temporal effects of endocrine-disrupting chemicals on dopaminergic neurons in the rat. Neuro2013 (第36回日本神経科学大会・第56回日本神経化学学会大会・第23回日本神経回路学会大会 合同大会), 国立京都国際会館(京都府京都市), 6月20日, 2013年. 増尾好則, 佐藤忠章, 小池一男, 佐藤俊哉, 蛭田啓之, 黒木宣夫. 新規ストレス応答バイオマーカーの探索研究と医学・薬学への応用. 第9回 東邦大学4学部合同学術集会, 東邦大学薬学部(千葉県船橋市), 3月9日, 2013年.

Suzuki K, Masuo Y, Rakwal R, Shibato J. Effects of water immersion stress on the rat hippocampus for the onset of depression. 第35回日本神経科学大会, 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市), 9月21日, 2012年.

Masuo Y. Outlines of stress research and biomarkers, Symposium 'Stress and mental health'. 第35回日本神経科学大会, 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市), 9月19日, 2012年.

〔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:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

増尾 好則 (MASUO, Yoshinori)
東邦大学・理学部・教授
研究者番号: 60301553

(2)研究分担者

該当者無し

(3)連携研究者

蛭田 啓之 (HIRUTA, Nobuyuki)
東邦大学・医学部・准教授
研究者番号: 50201736

(4)研究協力者

佐藤 忠章 (SATO, Tadaaki)
東邦大学・薬学部・講師
研究者番号: 80287549

黒木 宣夫 (KUROKI, Nobuo)
東邦大学・医学部・教授
研究者番号: 80138990

ラクワル・ランディーブ (RAKWAL, Randeep)
筑波大学・大学院生命環境科学研究科・教授
研究者番号: 70590850

サルゼ・ミシェル (SALZET, Michel)
リール第1大学・Laboratoire de Spectrométrie de Masse Biologique Fondamentale & Appliquée・教授
研究者番号: 無し