科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号: 13701

研究種目: 基盤研究(B)(一般)

研究期間: 2014~2016

課題番号: 26292093

研究課題名(和文)樹木精油の香気成分による健康増進を切り口とする森林医薬アロマセラピーへの応用

研究課題名(英文)Application to forest medical aromatherapy using woody essential oil flavor

研究代表者

光永 徹 (MITSUNAGA, Tohru)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号:20219679

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文): スギ材やヒノキ材から採取した精油がヒトに心理的な安らぎや生理的なリラックス効果をもたらすことは既に報告されている。しかし,科学的にどのような影響を与えるかについて検討した研究報告は多くない。本研究では,岐阜県産材のスギ材とヒノキ材の精油をラットに嗅がせた時の交感神経活動を測定し、特に揮発性の高い画分であるモノテルペンやセスキテルペン炭化水素群は交感神経を抑制し、副交感神経を活性化することが示された。本研究を通して、岐阜県産材のスギ材及びヒノキ材さらには青森ヒバ材の香気成分が人や動物に与える生理・心理効果を科学的に検証する事ができた。

研究成果の概要(英文): Essential oils from Japaneses Cedar and Hinoki has well known to give a psychological ease and physiological relaxation effect to a human beings. However there are few reports about how do these essential oils work out in scientifically. Present study showed that the high volatile fractions mono-terpens and sesqui-terpenes depressed the sympathetic nerve activity of anesthesia rat when these essential oils were given to the nose of the rat. Through this experiment we have demonstrated the essential oils from Cedar and Hinoki grown in Gifu prefecture and Aomori Hiba should give a physiological and psychological effects to human and animals in scientific aspects.

研究分野: 天然物利用化学

キーワード: 樹木精油 自律神経活動 テルペン類 スギ ヒノキ ヒバ

1.研究開始当初の背景

花の香りや森林浴で緑の香りを嗅ぐと爽快感 が生まれ、心身が癒される。欧米から広まったア ロマセラピーは、ハーブや果実から抽出した精油 を嗅いだり、浴槽に入れたり、体に塗ったりするこ とでストレスを解消し、健康を促進する事を意味 する。しかしながら香気成分の薬効性に関しては、 アンケート等の感覚的なデータが先行し、科学的 証明がされているものは少ない。最近コーヒーや お茶、ワイン、ウィスキーなどの嗜好飲料の香りが 研究されており、リラクゼーション効果を含め各種 生体機能の向上に影響を与えていることが明ら かとなっている。その中で最も研究が進んでいる のが,グレープフルーツの香り(グレープフルー ツの香りが脂肪燃焼に及ぼす影響:針谷毅, Aromatopia, Vol.17, No.5, 2008) やラズベリーの 香りによる体脂肪分解や交感・副交感神経活動 の制御に関する基礎研究およびスリミング剤の開 発(香り成分の食用でのダイエット効果・外用で のスリミング効果: 佐藤友里恵, 第 14 回アロマサ イエンスフォーラム 2013 講演要旨集, 16-17, 2013)が化粧品メーカーを中心に研究開発され ている。

精油の健康増進を考慮したアロマセラピーに 関するこれまでの研究は、上述したように植物の 花や実を対象としたものが多く,大量の精油バイ オマスを得ることのできる樹木由来の香気成分に 関してはほとんど研究されていない。

我々はこれまでに、サイプレス材精油の匂い刺 激をマウスに与えたところ、血清および肝臓中の 中性脂肪が対照群の約2/3に減少すること(サイ プレス材精油による脂肪蓄積抑制効果,光永徹, 田丸貴絵: AROMA RESEARCH, Vol.09, No.02, 2008) およびこの効果に寄与する成分を検索し、 グアイオールと□オイデスモール画分にその効 果を認めている(光永 徹: サイプレス材精油に よるマウス・ラットの脂肪蓄積抑制効果(総説). グリーンスピリッツ, Vol.4 No.3, 2008)。また、サイ プレス材精油を麻酔下ラットに呈示したところ、交 感神経活動の亢進および褐色脂肪組織の熱産 生が確認され、精油を吸入することによる、肥満 抑制機構を考察した(サイプレス(豪州ヒノキ)材 精油の吸入が肥満抑制および交感神経活動に 及ぼす効果, 光永徹: 香料, No.256, 21-29, 2012)。本研究ではサイプレス材で得た知見およ び経験を元に、日本に自生する多彩な香気成分 を持つ樹木精油のアロマセラピー効果を検証し、

そのメカニズムの解明にアプローチする必要があるという着想に至った。

2.研究の目的

本研究課題では、岐阜県飛騨高山に自生し、特徴的な香りを持つスギ、ヒノキ、ヒバの木材精油を対象に、精油香気成分を嗅ぐことによる、健康増進を切り口とする森林医薬アロマセラピーの構築に関して、科学的な基礎知見を得ることを目的とする。具体的には、 精油の香気成分雰囲気下で飼育したマウスの肥満抑制効果の評価を行う。 香気成分を吸入した麻酔下ラットの自律神経活動を測定する。 香気成分を呈示したヒトによる生理・心理応答評価を実施する。

動物実験の結果と被験者の結果を総合的に 考察し、アロマセラピー効果を評価する。さらに、 有効成分を特定するために精油成分の分離 および単離・同定を行い、健康増進メカニズム の解明にアプローチする。

近年の消費者の天然物志向により、林産分 野において、樹木抽出成分等のヒトへの健康増 進効果の研究は、世界中で盛んに行われてい る。本研究代表者と研究分担者はともに、樹木 抽出成分のヒトへの健康増進作用について研 究を展開してきており、特に、近年は、木材精油 や植物葉油等の香気成分の肥満抑制作用とメ カニズムの解明、あるいはヒトの生理・心理応答 評価に関する研究分野を切り開いてきたため、 現在、申請者等それぞれのグループが、精油 香気成分のヒトの健康増進効果の基礎・応用研 究をリードしていると考える。樹木精油香気成分 の研究は、過去部分的に、他の研究者により行 われてきたが、抗菌や防虫活性の検討が主で あり、とトの健康増進に関する機能性の探索は、 不十分である。本研究では、申請者等が既に確 立している上記の多岐に渡る動物・ヒトでの機能 性評価法を、各種樹木精油に対して適用し、機 能性を徹底的に発掘し、樹木精油香気成分の 森林医薬アロマセラピーの応用へ向けた基盤 づくりを行う。申請者らは、既に予備的な検討で、 木材および樹木精油香気成分が、動物の肥満 抑制効果およびヒトの持続的注意力低下を防ぐ 効果等、興味ある結果を得ており、研究期間内 に本計画を達成可能な準備を整えている。さら に、上記計画しているような抗肥満効果や体内 時計調節作用等の効果が見いだされたならば、 非常に特色のある研究になると思われる。

このように、樹木精油の機能性研究において、基礎の研究から応用研究までの一貫した研究の基盤を確立できると考える。

3.研究の方法

(1) 樹木精油試料と分析実験

水蒸気蒸留法による長良スギ材、東濃ヒノキ 材および青森とバ材の各精油を調製した。用い た水蒸気蒸留装置を写真1に示す。25L容鍋に 蒸留水 3L を加え、その上にメッシュに包んだス ギ材約 1kg を金属すのこを挟んで加え IH ヒータ ーで加熱した。水蒸気と供に流出する精油は、 蒸留時間によって3つの蒸留物に分けた。1回 目は1時間半、2日目3回目は各2時間の蒸留 を行った。試料(563.7g ~ 1025.3kg)あたり3回 の蒸留操作を、計 4 回繰り返して精油を採取し た。1 回目の精油は、そのまま回収し遠心分離 によって水を取り除いた。2.3回目の精油は冷却 管内に残ってしまったため、エーテルで溶出さ せロータリーエバポレーターで溶媒を取り除いた。 また、水相は分液漏斗を用いてエーテル抽出し、 硫酸ナトリウムで脱水したのちエバポレーターで 溶媒を留去した。

(2) ガスクロマトー質量分析装置(GC-MS)による 精油分析

水蒸気蒸留によって得られた 1~3 回分の精油と、水層のエーテル抽出物の計 4 サンプルをGC-MS 分析によって成分分析に供した。

GC-MS の解析条件は以下の通りである。

Instrument: Shimadzu GCMS2010 , Injection temperature 250 , Ionization voltage 70eV , Ionization mode EI , Date processing method:Sprit , Spirit ration 25.0

Column:DB-5 MS[J&W scientific 0.25()mm \times 30(L)m \times 1(F) μ m] , Column temperature:80 (isothermal for 2 min)with an increase of 5 /min to 250 (isothermal for 12 min)

Carrier gas:He , Flow rate:41.0ml/min , Detector temperature:250 , MS detection:40-500m/z

これらの各サンプルはエーテルの1000 倍希釈溶液を用いた。水蒸気蒸留1回目の精油はモノトラップ法(精油の揮発成分のみを分析)によるGC-MS分析を行った。この時、1時間半吸着剤に精油の揮発成分を吸着させた。

今回の実験における GC-MS 分析では Ritention Index(RI)の使用検討を行った。RIとは、 化合物の同定などに用いられる指標のことであ



り、直鎖炭化水素に対する相対的な保持指標の

写真 1 25L 容水蒸気蒸留装置

ことである。これは、カラムの長さ、流量、分析室が変わっても同一の化合物であればほぼ同じ値となる。そのため、この RI 値をデータベース化しておくことで化合物の推定に使用することができる。 昇温条件下での Retention Time(Rt)と RI の関係式は、以下の式であらわされる。

$$RI = 100 \times \frac{t(x) - t(Cn)}{t(Cn + 1) - t(Cn)} + 100 \times n$$

未知化合物の保持時間:t(x)

直前に溶出する炭化水素(C_n)の保持時間:t(C_n) 直後に溶出する炭化水素(C_{n+1})の保持時間:t(C_n)

直前に溶出する炭化水素(C_n)の炭素数:n

ただし、カラムの極性や相比(カラム内径と膜圧の比)が変われば RI 値は変化するため、化合物の種類とカラムの種類で固有の値である。

(3) 薄層クロマトグラフィー(TLC)およびカラムク ロマトグラフィー

1 回目に抽出した精油の TLC 分析を溶離液 ヘキサン:酢酸エチル=10:1 を用いて行った。

この溶離液を用いてシリカゲル 600g を膨潤させ、カラム(70mm×400mm)に充填した。

一晩静置したのち、杉材精油 7mL をカラムベットへアプライし、試験管 1~120 本目までは4mL/minで20mL ずつ集め、121 220 本目まで

は 2.8mL/min で 16.8mL ずつ、221 340 本目までは 3.5mL/min で 17.5mL ずつ集めた。最後に メタノールで溶出し集めた。

集めた試験管の各溶液は TLC 分析を行い、Fr.1 Fr.10 及びメタノール洗浄画分(Fr.M)までを得た。得られた各フラクションは、エバポレートし溶媒を飛ばしたのち GC-MS 分析に供し、含まれる化合物を分析した。また、この時用いたGC-MS の機器類や分析条件は前述の精油の解析時に用いたものと同じであった。

(4) 精油雰囲気下におけるマウスの飼育

通常のWistar系ddyマウスおよび肥満モデルマウスob/obマウスを25、12時間のライトサイクル(7:00-19:00)で飼育し、飼料および水は自由摂取とした。マウスの飼料は高脂肪食餌として、基礎飼料+コレステロール粉末+ラード+コール酸ナトリウムを調製する。対照飼料は高脂肪食餌のラードを除いて他はすべて同じにし、1週間の予備飼育の後、各留分の精油を水で1000倍および100倍希釈した精油溶液にポンプで空気を送り、そのヘッドスペースガスを飼育用ゲージに揮散し、4週間25下で本飼育した。飼育期間は、岐阜大学応用生物科学部獣医学教育の共通備品である、摂食、飲水、行動量同時解析システムで各項目を測定した。

(5) 交感神経活動の測定

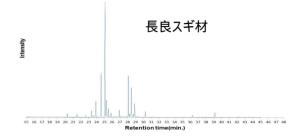
体重約 300g の Wistar 系雄ラットをウレタン麻酔下で開腹し、交感神経を露出し、活動測定する交感神経は精巣周辺の白色脂肪支配のものと肩胛骨周辺の褐色脂肪支配の 2 種類について行った。神経枝を切断し、中枢側から神経フィラメントを分離して電極にセットし、遠心性神経活動を磁気テープに記録した。さらにパワーラボシステムを用いて、5秒ごとのスパイク数を連続カウントし、経時変化を記録した。サイプレス材精油画分を100倍、1000倍、10000倍に蒸留水で希釈撹拌し、サスペンジョンとして使用し、サスペンジョンの入ったビーカーにラットの鼻を近づけ匂い刺激を10 分間行った後の神経活動を計測した。

4. 研究成果

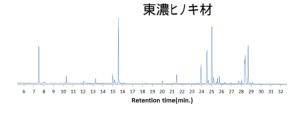
(1) 精油分析結果

一般に水蒸気蒸留によって木材精油を取得する場合、10時間程度の蒸留時間を要するが、本研究ではこれまでの当研究室の経験から、揮発性の高い成分は神経活動の活性化に影響することが判っている。よって、本研究に

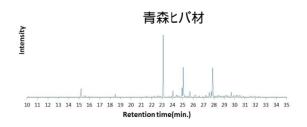
おいても数時間の蒸留で得られた精油をラットへ吸入し、交感神経の活動を調べる試料とした。図1に長良スギ、東濃ヒノキおよび青森ヒバの蒸留3時間で得られた精油のGCMS分析の結果を示した。



ピーク	化合物	Ret.Time	面積	面積比(%)
ï	α-cubebene	20.264	1133500	0.79
2	β-copaene	21.508	1068249	0.75
3	cadina-3,5-diene	23.363	2335694	1.63
4	humulene	23.619	620733	0.43
2 3 4 5 6	cadina-1(6),4-diene	23.912	6439027	4.51
	is olede ne	24.59	23650624	16.6
7	δ-cadinene	25.088	51102830	35.8
8	(−)− β −cadinene	25.271	9632407	6.74
9	cadina-1(2),4-diene	25.536	3128540	2.19
10	α-calacorene	25.805	821638	0.58
11	elemol	25.878	1565860	1.10
12	gleenol	26.929	2461906	1.72
13	di-epi-1,10-cubenol	28.081	14759439	10.3
14	γ-eudesmol	28.203	1166877	0.82
15	cubebol	28.463	13013515	9.11
16	T-cadinol	28.739	1053793	0.74
17	α −eudesmol	28.884	4412892	3.09
18	(R)-2-Methyl-5-(6-methylhepta-1,5-dien-2-yl)cyclohex-2-enone	30.252	2095922	1.47
19	(-)-abietadiene	39.169	2405287	1.68



1 2 3 4 5	α-pinene D+limonene fenchol endo-borneol terpinen-4-ol (91%) or 4-thuianol (90%)	7.512 10.305 13.249 14.985	2643958 530890 422873 810520	7.66 1.54 1.23	942 1037 1131
3 4	fenchol endo-borneol	13.249 14.985	422873	1.23	1131
4	endo-borneol	14.985			
			81.0520		
5	terningn-4-ol (91%) or 4-thulanol (90%)			2.35	1186
		15.169	277134	0.80	1192
6	α =terpineol	15.564	5318364	15.4	1205
7	(−)−β −elemene	21.46	759965	2.20	1402
8	γ −muuro le ne	23.922	1664738	4.82	1492
9	α −muuro le ne	24.526	3317178	9.61	1514
10	γ −cadine ne	25.015	7949180	23.0	1533
11	calamenene	25.197	675336	1.96	1540
12	α-cadine ne	25.594	472487	1.37	1555
13	α -calacore ne	25.773	665313	1.93	1562
14 (+)-epi-	-bicyclosesquiphellandrene (91%) or T-cadinol (91%)	28.34	2016673	5.84	1663
15	cyclosativene (87%)	28.391	3484190	10.1	1665
16	T-cadinol (89%)	28.693	3505941	10.2	1677

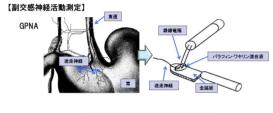


Peak	Name	Ret.Time (min.)	Area	Area ration (%)
1	4-thujanol	15.198	1259513	3.91
2	thymol	18.504	359691	1.12
3	cis-thujopsene	23.117	14712838	45.7
4	(1aS,4aS,8aR)-4a,8,8-trimethyl-2-methylene- 1,1a2,4a5,6,7,8-octahydrocyclopropa[d]naphthalene	24.051	874949	2.72
5	(+)−ß −himachalene	24.933	1466085	4.55
6	(+)-cupare ne	25.045	5060481	15.7
7	α −longipine ne	25.685	821865	2.55
8	1,2-dihydro cupare ne	26.198	366657	1.14
9	α −acorenol	27.553	745841	2.32
10	widdro I	27.746	947405	2.94
11	cedre no l	27.881	4815475	15.0
12	2-((2R,4aR,8aR)-4a,8-Dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,8a- octahydronaphthalen-2-yl)acrylaidehyde	29.679	763492	2.37

図1 各種木材精油の GCMS による分析結果 長良スギは カジネン,イソレデン,エピキュベノールが主要成分で、東濃ヒノキは カジネン, テルピネオール, ムロレンが主要成分であり、これまで報告されている岐阜県外のスギ、ヒノキ材の精油とほぼ同じ結果であった。また青森ヒバ精油はツヨプセンが約 50%を占め抗菌性を有する精油である事が再確認できた。

(2) 自律神経活動に及ぼす効果

上記3種の木材精油を麻酔下ラットの鼻の近くに呈示し、褐色脂肪組織支配交感神経活動および胃枝迷走神経(副交感神経)を神経の電気信号の変化でモニターした。その様子を図2に模式的に示した。



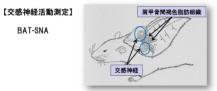
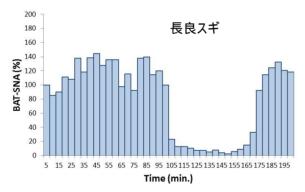


図 2 自律神経の取出と活動測定模式図



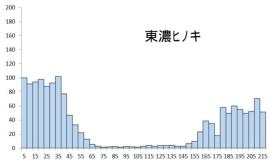


図 3 長良スギおよび東濃ヒノキ材精油の吸 入によるラット交感神経活動

図3にはと東濃ヒノキ材精油を吸入したラットの交感神経活動の結果を示す。どちらの精油も精油吸入直後から交感神経活動が低下し、その傾向が数時間持続した。特に東濃ヒ

ノキの持続性効果は顕著であった。ヒバに関してはデータの再現性に問題があると判断されたため今回は掲載していない。

おわりに

欧米から広まったアロマテラピーは、ハーブ や果実から抽出した精油を嗅いだり,浴槽に入 れたり、体に塗ったりすることでストレスを解消し、 健康を促進するといわれている。しかしながら香 気成分の薬効性に関してはアンケート調査等を もとにした感性に頼った研究が先行しており,科 学的証明がされているものは多くない。 最近,グ レープフルーツやラズベリーの香りによる体脂肪 分解や交換・副交感神経活動の制御に関する 基礎研究およびスリミング剤の開発等が行われ ている。一方、スギやヒノキなどの針葉樹材は深 い香気性を持ち、森林浴に代表されるようなリラ クゼーション効果を有すると言われているが、そ れを実証する科学的なエビデンスに乏しいのが 現状である。そこで本研究では、大量の精油バ イオマスを得ることのできる木材に関して、香り 成分の生理・心理応答について動物やヒトを用 いて検討し、一考察を得ることに興味を抱いた。

スギやヒノキは我が国を代表する主要な造林 樹種であり,国土の森林面積のうち約3割を占 めるほど豊富なバイオマス資源である。材質とし ては割裂性がよく角材から板材まで作ることがで きることから,建築資材として利用価値が高い。 一方で,その栽培面積に比して,間伐材や製材 時に出る鋸屑や端材,あるいは豪雨や災害等に よって倒れ資材として利用できなくなった廃棄材 も多い。特に,林地に放置されている材に関して は集積度が低いことから,有効な利用が図られ ていないのが現状である。近年,天然資源の有 効利用の観点から、建築資材として用いることの 出来ない間伐材や端材等を用いた精油採取が 積極的に行われている。スギは材部,葉部とも に多くのテルペン類を含み、得られた精油はス ギ独特の爽やかな香りを有しており, 生理活性と して殺蟻活性や抗菌活性などが知られている。 しかし,現段階では回収した精油の費用対効果 に見合う利用法が少な〈,多〈の精油製造所で は販路の開拓・拡大に苦慮を強いられている状 況である。本研究ではスギ材、ヒノキ材およびヒ バ材の有効活用を目指す上で,特徴の一つで ある香りに着目した。スギ材やヒノキ材から採取 した精油がヒトに心理的な安らぎや生理的なリラ ックス効果をもたらすことは既に報告されている。 しかし,木質内装化した実大空間において,香 りがヒトの心や身体にどのような影響を与えるか について検討した研究報告は多くない。

日本は近い将来、高齢化社会を迎えることは必至であり、認知症や生活習慣病などに代表される老人性疾病にどのように対処していくかが問題になるであろう。これらの問題に対処する一つの光明は、香り高い木のある生活を取り戻すことにほかならないと考える。その意味でも今後は、長期にわたる臨床実験やさらなる科学的エビデンスの提出が必要と思う。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に は下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

- 1. Harlinda Kuspradini, Agmi Sinta Putri, Edi Sukaton, <u>Tohru Mitsunaga</u>, Bioactivity of Essential Oils from Leaves of Dryobalanops lanceolata, Cinnamomum burmannii, Cananga odorata, and Scorodocarpus borneensis, Agriculture and Agricultural Science Procedia, (查読有) 9,411 –418,2016.
- 松原惠理, 光永徹, 川井秀一: 木質内装施 工空間における香りととトの生理心理応答, AROMA RESEARCH (査読有) 16: 254-259, 2015.
- 3. Irmanida Batubara, Irma Herawati Suparto, Siti Sa'diah, Ryunosuke Matsuoka, <u>Tohru Mitsunaga</u>, Inhaling Citronella Oil and Related Compounds Effects on Rat's Body Weight and Brown Adipose Tissue Sympathetic Nerve Activity, Nutrients, (查読有) 7(3), 1859-1870, **2015**
- 4. 光永 徹: サイプレス材精油香気成分の肥満抑制食品フレーバーとしての可能性, FOOD & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN, (査読無) Vol.219, No.2, 2014.
- 5. <u>光永 徹</u>: サイプレス材テルペンの吸入に よる肥満抑制効果,生物資源,(査読無) 第8巻第2号,2014.
- 6. <u>光永 徹</u>: サイプレス材精油の吸入が脂肪 分解および交感神経活動に及ぼす効果, BIO INDUSTRY, (査読無)3-9,2014.

[学会発表](計5件)

- 1. 林友香, 光永徹, 松原恵理, 「スギ葉および 材香気成分の吸入がラット自律神経活動に 及ぼす効果」, 第 67 回 日本木材学会大 会, 2017, 3月 17-19日(福岡)
- 2. 林友香,小川愛,光永徹,「針葉樹葉精油の嗅覚刺激が自律神経活動に及ぼす影響」,第60回 香料·テルペンおよび精油化学に関する討論会2016,10月30日(網走)
- Tomoka Hayashi, Megumi Ogawa, Eri Matsubara, Tohru Mitsunaga, 「Effect of autonomic nerve activity in rat by inhalation of essential oil flavor Cryptomeria japonica」, 17th International Symposium on Olfaction and Taste, 2016, June, 5-9(横浜)
- 4. 林友香,光永徹,松原恵理,「スギ葉および 材香気成分の吸入によるラット自律神経活 動に及ぼす効果」,第66回 日本木材学会 大会,2016,3月27-29日(名古屋)

5. 林友香,光永徹,小川愛,清水邦義「スギ葉精油の嗅覚刺激が自律神経活動に及ぼす効果」第 59 回 香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会,2015,9 月5-7日(大阪)

[図書](計1件)

<u>光永 徹</u>, 松原惠理:テルペン利用の新展開, シーエムシー出版, ISBN978-4-7813-1170-8, 2016 (共著)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称: 発明者: 種類: 種号質

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: 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

光永 徹 (MITSUNAGA, Tohru) 岐阜大学・応用生物科学部・教授 研究者番号: 20219679

(2)研究分担者

清水 邦義 (SHIMIZU, Kuniyoshi) 九州大学·農学研究院·准教授 研究者番号: 20346836

(3)連携研究者

()

研究者番号:

(4)研究協力者

山内 恒生 (YAMAUCHI, Kosei) 岐阜大学·応用生物科学部·助教

稲本 正 (INAMOTO, Tadashi) 正プラス株式会社・取締役社長