

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791988

研究課題名（和文） 匂いが摂食行動パターンへ及ぼす影響

研究課題名（英文） Effects of the fragrance on feeding behavior

研究代表者

辻 忠孝 (TSUJI TADATAKA)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：50527231

研究成果の概要（和文）：

脳内オレキシン活性レベルの上昇・下降に伴い、摂食量だけでなく他の摂食行動特性にも有意な変化がみられたことから、オレキシン活性レベルの調節は、捕食から嚥下に至る能動的な摂食行動を制御する要因の一つと推測された。さらに桂花の匂い刺激は、安静時と比較して血糖曲線における速やかな血糖の上昇・下降を引き起こし、唾液血清アミラーゼ値を減少させたことから、オレキシン活性レベルの下降は副交感神経系を賦活することにより、消化・吸収の受動的な活動調節にも関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Changes of orexin level in brain could effects on not only food intake but also the characteristics of feeding behavior with accompanying masticatory muscle activities. These results suggest that regulation of orexin level is one of factors that control feeding behavior. Only sniffing the fragrance of Osmanthus fragrans did not change blood glucose level, but when glucose was taken into the body simultaneously, the fragrance shifted the blood glucose curve to the left and reduced the serum amylase value in saliva. We conclude that this fragrance can retard digestion and/or absorption of glucose through the activation of the parasympathetic nervous system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,700,000 円	510,000 円	2,210,000 円
2010 年度	1,600,000 円	480,000 円	2,080,000 円
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000 円	990,000 円	4,290,000 円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：口腔外科学一般・摂食行動パターン

## 1. 研究開始当初の背景

現代社会は常に美味しい食べ物が満ち溢れており、気軽に何でも手に入り、過食になりやすい時代である。食べ物の匂いや香ばしいスパイスの香りは、食べ物の美味しさをさらに引き立て、

香りと食欲は密接に関係しているといえるだろう。また、現代人はストレスに取り囲まれ生活しており、暴飲暴食にも陥りやすくなっている。必ずしも規則的にゆとりのある食事をする事ができない職業の人や多忙な人が存在することは事実であり、

問題は、不規則な食生活を余儀なくされる人などのように対処すべきかである。これらの人の多くは、食事に要する時間が短い、すなわち「早食い」「一気食い」を余儀なくされ、多くは肥満傾向にあることが指摘されてきた。近年、増加傾向にある2型糖尿病やメタボリックシンドロームといった生活習慣病のトリガーにもなっている。

さて、肥満は、エネルギー量の獲得と消費のバランスの不均衡により、その差額を脂肪細胞が蓄積することで生じる。これは、摂食中枢や満腹中枢をはじめ脳内報酬系など様々な因子が関係していることが分かってきている。

特に、最近では、1998年に視床下部の摂食中枢が分泌する摂食促進ペプチドであるオレキシンが発見され、注目されている。このオレキシンは摂食量や飲水量の増加、または覚醒レベルの高揚など睡眠や覚醒にも密接な関係があることが徐々に分かってきている。さらにはキンモクセイ(桂花)の香りにこのオレキシン産生能を低下させる作用のあることが発見され、この香りにより動物における摂食量の低下、人における体重減少効果が報告されている。そこで、桂花の匂いなどを利用し、オレキシンを制御することで摂食行動つまり摂食量、摂食速度、咀嚼リズムに対する影響を追及し、さらにはオレキシンレベルを匂いにより上手にコントロールすることで、余儀なくされている生活習慣を変えることなく肥満防止に結びつくのではないかと考えるに至り、本研究に申請することとした。

## 2. 研究の目的

近年までの調査研究では、早食いの人ほど太りやすい傾向にあると指摘されており、その原因として、咀嚼回数が少なく未消化のまま食べ物を嚥下するため、腸管からの糖吸収が遅くなり、視床下部の満腹中枢を興奮させ、摂食を停止させるまでに長く時間がかかってしまうため、その間に多量に食べてしまうからだと言われてきた。

インスリン分泌速度が速くなり、エネルギー同

化作用が亢進するため肥満傾向になることも示唆されてきた。ところが、摂食量が同じであっても早食いの人ほど肥満傾向にあることを示唆する結果が報告された。この報告は従来からの説明に再考を促す極めて興味深いデータである。

先にも述べたが、桂花の香りにオレキシン産生能を低下させる作用のあることが発見され、香りにより動物における摂食量低下、人における体重減少効果が報告されている。そこで、食習慣と肥満傾向の背景にある生体のしくみとして、オレキシンの動態を明確にし、その結果を踏まえて、いかなる食生活指導をするべきか考えるとともに、匂いによってオレキシンレベルを上手にコントロールすることで、余儀なくされている生活習慣を変えることなく肥満防止に結びつく方策を考案したい。

## 3. 研究の方法

「早食い」にみられる咀嚼運動パターンの変化と「肥満」との関係性を科学的に解明するために、人を対象とした実験から始まり、動物(ラット)実験を介して多角的に解析・検討を行っていく。まず、人の食生活と健康につき、(1). 摂食行動が生体に与える影響について特に、「早食い」と「肥満」に着目して、調査研究を行った後、各個人につき、一定量 of 食物に対する摂食時間を変動させて、血糖値や血清インスリン値を経時的に測定した。

次に(2). 桂花の匂いが生体に与える影響について、オレキシンレベルを下げる方策を講じて、短期間における生体変化を血中糖動態・唾液アミラーゼ活性にて評価した。その際に桂花以外にも多種の匂い刺激を行った。

さらに、ラットによる行動生理学実験において、(3). 脳内のオレキシン活性レベルを変化させることで摂食行動パターン特性を比較検討した。

本研究は、大阪大学大学院歯学研究科倫理委員会の承認を得ており、調査対象者には、事前に調査の趣旨と内容について十分に説明を

行った上で、自主的に参加を希望した者とした。さらに、調査直前にもあらためて参加の意思を確認し、研究参加への同意書に署名を得たのち調査を施行した。全ての実験動物の取り扱いは、大阪大学大学院歯学研究科動物実験規約と動物の愛護及び管理に関する法律を遵守した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 摂食行動が生体に与える影響について

##### I-i) 食習慣に関する意識調査(ヒト)

大阪大学歯学部、大学院歯学研究科の学生(学部生、大学院生)、口腔外科学第一教室の医局員の男女100名(男性57名・女性43名)但し、対象者は全て基礎疾患を有しない健康な人に限定し、食習慣に関する意識調査を行った。質問票の内容は、食べ方に関する項目(食事速度、食事量、咀嚼回数、一口量、空腹感)、食事の内容に関する項目(肉料理または野菜の摂取)、食事摂取に関する項目(摂食時期、夜食や間食の有無)、生活習慣に関する項目(喫煙、酒の有無)など16項目をそれぞれ5段階評価したものである。結果の解析は、Body mass index(以下、BMI)値を25以上、25~18.5、18.5未満の3群に層別して食習慣との関連性を検討した。肥満に関する指標は、BMI(身長と体重から算出=Kg/m<sup>2</sup>)を用いた。

調査を実施した人のうち、BMIで25以上の『肥満』と判定されたのは、男性8.8%女性0%であった。18.5未満の『やせ』と判定されたのは、男性3.5%女性27.9%であった。

他人と比較して食べるのが『早い』と答えた人のBMIは、平均22.4 Kg/m<sup>2</sup>だったのに対して、『遅い』と答えた人は、平均19.3Kg/m<sup>2</sup>で『早食い』の人ほど、BMIが高いことが分かった。

食事の量について、『一口の量が多い』と回答した人のBMIは、平均22.7 Kg/m<sup>2</sup>だったのに対して、『少ない』と回答した人は平均19.5 Kg/m<sup>2</sup>と、『一口の量が多い』人ほど、BMIが高いことが分かった。また、『食事量が多い』と回答

した人のBMIは、平均21.8 Kg/m<sup>2</sup>だったのに対して、『少ない』と回答した人は平均19.6 Kg/m<sup>2</sup>と、『食事量が多い』人ほど、BMIが高いことが分かった。

咀嚼においては『咀嚼回数が少ない』と回答した人の平均は22.4Kg/m<sup>2</sup>だったのに対して、『多い』と回答した人は平均で、19.8 Kg/m<sup>2</sup>と、『咀嚼回数が少ない』人ほど、BMIが高いことが分かった。さらに、『朝食』や『夜食』と、BMIには有意な関連性は認められなかった。

##### I-ii) 摂食速度を変化させた際の糖動態(ヒト)

実験I-i 調査研究の対象者の中で、BMIの正常範囲内の健康な成人を対象とした。投与前において、医薬品の投与は中止し、過激な運動は禁止した。前日の午後9時以降試験直前までは絶食し、前日の暴飲暴食及び飲酒は禁止した。投与時においては早朝空腹時に行い、終了まで水以外の摂取を禁止した。まず、プラスチックカニューレ型静脈内留置針22Gにて前腕に採血用のルートを確認し、食前の血糖値を測定した。次に、経口糖耐容力試験用糖質液トレーラン G75(AJINOMOTO・グルコース 75g/225ml)を服用してもらい、食事開始から終了時間までの時間を1分または6分に設定した。食後15分・30分・45分・60分・75分・90分・105分・120分時の血糖値を測定した。但し、食後120分で食前値まで下がらなければ、下がるまで継続して測定した。測定終了後に留置針抜去した。ルート内が血栓で閉塞しないように生理食塩水にてロックし、血液採取はこのルートより行い、毎回留置針及びチューブ内の血液5ccを排出した後に採血するようにした。尚、血糖値測定には、メディセーフミニ MS-GR102(メディオメディカル)を使用した。血糖測定器によるデータの誤差を防止するために、1回の採血の際に3回分のデータを記録し、その平均値を解析に使用した。

摂食速度を変化させた際の糖負荷実験を行い、血糖値および血清インスリン値を測定すると、

有意差はでなかったものの摂食時間が短い方が、血糖値の上昇が早くそれに対応するかのよう、血清インスリン値も増加し、速やかに血糖値が下降するような傾向が観察された。つまり、早食いほど早く血糖値が下降するために、エネルギー同化作用を亢進し、肥満に結びつく可能性が示唆された。

(2). 桂花の匂いが生体に与える影響について、短期間における生体変化を血中糖動態・唾液アミラーゼ活性にて評価した。

#### II-i)糖負荷後の血中糖動態への影響(ラット)

雄性成獣ラット(280-300 g, n=10)を用いて、実験前日より絶食状態とし、15分間匂い刺激(1. 無臭, 2. 桂花匂い)を付与した。匂い刺激解除45分後に食前血糖値を測定した。20%糖液(グルコース/体重=1 mg/g)を3分間で経口投与し、15分間隔で120分間、尾静脈より採血し、血糖値を測定した。

糖負荷後の血糖曲線において『無臭』条件下に比較して『桂花匂い』条件下では、有意に早い時点(無臭:30-45 min, 桂花匂い:15-30 min)で血糖値は最高値を示した。最大血糖値は『桂花匂い』条件下で低値を示したが、統計学的に有意差を認めなかった。糖負荷後45分・60分時の血糖値は有意差を認めた。

#### II-ii)糖負荷後の血中糖動態, 唾液血清アミラーゼへの影響(ヒト)

基礎疾患を有さない健常人10名を対象とし、実験前日より絶食状態とし、15分間匂い刺激(1. 無臭, 2. 桂花匂い)を付与した。匂い刺激解除45分後、食前の血糖値を測定した。トレーランG75(グルコース75 g)を6分間で服用させた後、15分間隔で120分間血糖値を測定した。また、別の健常人6名を対象として、経口糖負荷試験を同様に実施し、糖負荷後60分時まで、5-10分間隔で血清インスリン値も測定した。対照実験として同じ健常人6名を対象として、同様の手法にて15分間の匂い刺激(1. 無臭, 2. 桂花匂い)を付

与し、匂い刺激解除45分後まで15分間隔で血糖値および血清インスリン値を測定した。さらに、別の健常人10名を対象に、10分間安静座位をとらせた後、同様の手法にて5分間匂い刺激を付与した。匂い刺激前・刺激中・刺激後にそれぞれ舌下部より唾液を採取し、唾液血清アミラーゼ値を測定した。

実験II-iと同様にラットでの糖負荷後の血糖曲線においても、『無臭』条件下に比較して『桂花匂い』条件下では、有意に早い時点(無臭:30-45 min, 桂花匂い:15-30 min)で血糖値は最高値を示した。また、最大血糖値は『桂花匂い』条件下で低値を示したが、統計学的に有意差を認めなかった。糖負荷後45分・60分時の血糖値は有意差を認めた。ともに『桂花匂い』条件下の方が、血糖値が低下しており、ピーク後からの下降曲線において、グルコースの細胞内への取り込みが促進されたあるいは排泄された可能性が示唆された。この最高値から糖負荷120分後までの血糖曲線をパターン化したところ指数関数的に減少していた。最高値からの下降の程度を比較するために、近似曲線を追加し、時定数 $\tau$ を用いて、二条件間で比較した。その結果、『無臭』条件下では、54分に対し、『桂花匂い』条件下では28分と有意に低値を示し、短時間で血糖値が減少したことが明らかとなった。以上より、血糖値の最高値は大きく差は認めないが、『桂花匂い』条件下の方が、早く血糖値が上昇し、速やかに減少したことが分かった。

ヒトでの糖負荷後の血清インスリン反応曲線は、二条件ともに糖負荷直後から30分以内に第一相の最高値を示し、その後再び分泌は持続的に増加して第二相の最高値を示した。『桂花匂い』条件下では、6名中4名は第一相の最高値までの時間が短縮され、第二相の最高値までの時間も、6名中5名は短縮した。糖負荷を行わずに15分間の桂花匂い刺激を付与した条件下では、匂い刺激解除45分後まで血糖曲線および血清インスリ

ン反応曲線において血糖値、血清インスリン値の明らかな変動は認められなかった。

ヒトでの唾液血清アミラーゼ値は、『無臭』条件下で著明な変化は認めなかったが、『桂花匂い』条件下では、刺激中の唾液血清アミラーゼは、刺激前後に比べて有意に低値を示した。

桂花匂いに副交感神経優位の増強作用があるとするれば、アセチルコリンが細胞内 IP3 を上昇させ、インスリン分泌を促進する。糖負荷後、早い段階でインスリン分泌が最大となり、それに伴って血糖値も最大値から下降が促進されるのではないだろうか。また副交感神経優位の際には口腔を除いた消化管での運動が促進的に作用し、消化管への糖の吸収が促進されるため、負荷後直後からの血糖値の上昇が加速される方向に作用する。糖負荷後、最大値までの時間が短縮した実験Ⅱの結果と一致するのではないだろうか。

そこで、交感神経系の制御を介して、摂食量減少・体重低下・脂肪分解などのエネルギー代謝に影響を与えることが報告されているグレープフルーツ(CP)の匂い刺激が糖負荷後の血中糖動態に与える影響について検討した。実験Ⅱ-iと同様に、無麻酔下の雄性成獣ラットを用いて、『CP 匂い』と『無臭』の二条件下で、経口ブドウ糖負荷試験を実施した。その結果、血糖曲線において『CP 匂い』条件下では、有意に遅い時点で最大値を示し、最大値も有意に低値を示した。また、匂い刺激の時間や匂い刺激解除後の時間を変化させることで、血糖曲線への影響力は変動し、匂いの主成分である Limonene が上記の血糖曲線への刺激効果の有効な成分であることも明らかとなった。また、CP 以外のミルクの匂い刺激では上記の血糖曲線の変化を起こさないことから CP 匂い特有の現象と考えられた。

以上より、CP 匂い刺激は、安静時と比較して血糖曲線における緩やかな血糖の上昇・下降を引き起こし、交感神経系を賦活することにより、

消化・吸収の活動調節にも関与している可能性が示唆された。さらに桂花の匂い刺激は、安静時と比較して血糖曲線における速やかな血糖の上昇・下降を引き起こし、唾液血清アミラーゼ値を減少させたことから、オレキシン活性レベルの下降は副交感神経系を賦活することにより、消化・吸収の受動的な活動調節にも関与している可能性が示唆された。

(3) 脳内のオレキシン活性レベルを上昇させた条件下で摂食行動パターン特性を検討し、桂花匂い刺激によりオレキシン活性レベルを下降させた条件下で摂食行動解析実験を行った。

### Ⅲ-i) 脳内オレキシン活性レベルを上昇させた条件下

雄性成獣ラット(280-300 g, n=10)を用いて、左側側脳室に薬物注入用のガイドカニューレ、左側咬筋・顎二腹筋前腹に双極誘導電極を留置した。術後 10 日の回復期間を経て、オレキシン A(OX-A)(3 nmol)あるいは Control として生理食塩水を脳室内投与した。薬物投与4時間後までの摂食量を測定し、ビデオ撮影による行動解析実験ならびに咀嚼筋からの筋活動記録実験を行い、二条件間で比較検討した。

薬液注入後の累積摂食量は二条件間で有意な差を認めた(4時間後 Control: 2.5 g, OX-A 投与条件下: 6.6 g)。摂食開始までの時間は OX-A 投与条件下で有意に短縮し(Control: 110 min, OX-A: 16 min)、摂食率も増大した(Control: 5.9 mg/s, OX-A: 8.1 mg/s)。また、一定飼料量(2 g ペレット)の咀嚼回数は、OX-A 投与条件下で有意に減少した(Control: 1278 回, OX-A: 965 回)。また、咬筋からの筋活動記録において Control 条件下では、咀嚼準備期および粉碎期に相当する規則的な交替性の筋活動が観察されたが、OX-A 投与条件下では咀嚼準備期と粉碎期に相当する筋活動の規則的な交替性が一部消失する傾向がみられた。さらに、OX-A 投与条件下において咀嚼準備期では筋

活動の最大振幅値の増大(Control: 51.1 mV, OX-A: 72.9 mV)、バースト間インターバルの短縮(Control:13.4 msec, OX-A: 11.6 msec)、バースト発生頻度の増加傾向(Control: 4.5 Hz, OX-A: 4.9 Hz)が観察された。一方、粉碎期においては、最大振幅値の増大(Control: 96.2 mV, OX-A: 136.1 mV)に加え、バースト持続時間の延長(Control: 5.7 msec, OX-A: 7.1 msec)、バースト発生頻度の有意な減少傾向(Control: 6.6 Hz, OX-A: 6.1 Hz)が認められた。さらに咀嚼準備期における二条件間のバースト間インターバルの減少率はバースト発生頻度の増加率と相関関係を示した。粉碎期でのバースト持続時間の増加率はバースト発生頻度の減少率と強い相関関係を示した。

### III-ii)脳内オレキシン活性レベルを下降させた条件下

雄性成獣ラット(280-300 g, n=10)を用いて、匂い刺激(1. 無臭, 2. 桂花匂い)を付与した状態で、実験III-iと同様の手法で開始後4時間までの摂食量を測定し、ビデオ撮影による行動解析実験にて二条件間で比較検討した。

桂花の匂い刺激で OX の脳内活性レベルを下降させた条件下では、摂食量は減少し(4 時間後 無臭: 3.04 g, 桂花匂い: 0.68 g)、同量の飼料を与えた際の摂食開始までの時間は延長し(無臭: 69 min, 桂花匂い: 200 min)、摂食率は減少した(無臭: 5.9 mg/s, 桂花匂い: 4.6 mg/s)。

### 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0件)

[学会発表](計9件)

① 辻 忠孝, Bakhshishayan Sanam, 田中 晋, 山本 隆, 古郷 幹彦: Effects of olfactory stimulation on glucose kinetics (The 88<sup>th</sup> Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2011年3月29日)

② 辻 忠孝, 田中 晋, 乾 賢, Bakhshishayan Sanam, 山本 隆, 古郷 幹彦: Orexin-A

changes the characteristics of masticatory muscle activities in feeding behavior (40th ANNUAL MEETING NEUROSCIENCE 2010, 2010年11月14日)

③ 辻 忠孝, 田中 晋, 古郷 幹彦: Effects of cerebral levels of orexin on pattern of feeding behavior (第55回日本口腔外科学会総会, 2010年10月16日)

④ 辻 忠孝, 田中 晋, 山本 隆: Effects of fragrance of grapefruit on glucose kinetics (第31回日本肥満学会, 2010年10月1日)

⑤ 辻 忠孝, 田中 晋, 山本 隆, Bakhshishayan Sanam, 古郷 幹彦: グレープフルーツ匂い刺激による糖負荷後の血中糖動態への影響 (第44回日本味と匂学会大会, 2010年9月8日)

⑥ 辻 忠孝, 田中 晋, 古郷 幹彦: 脳内オレキシン活性レベルが摂食行動特性へ与える影響: (第64回日本口腔科学会学術集会: 2010年6月25日)

⑦ 辻 忠孝, 田中 晋, 山本 隆, 古郷 幹彦: Effects of intracerebral orexin on the characteristics of feeding behavior (The 87<sup>th</sup> Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, 2010年5月19日)

⑧ 辻 忠孝, 田中 晋, 古郷 幹彦: Effects of cerebral levels of orexin on pattern of feeding behavior (第54回日本口腔外科学会総会 2009年10月10日)

⑨ 辻 忠孝, 田中 晋, 乾 賢, 山本 隆, 古郷 幹彦: 桂花(キンモクセイ)の匂いが糖負荷後のヒト血糖値および血清インスリン値へ与える影響 (第43回日本味と匂学会大会 2009年9月3日)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他] (計0件)

### 6. 研究組織

#### (1) 研究代表者

辻 忠孝 (TSUJI TADATAKA)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号: 50527231

#### (2) 研究分担者

なし

#### (3) 連携研究者

なし