

京都大学	博士 (薬学)	氏名	小川 鶴洋
論文題目	芳香性化合物の吸入投与がマウスの摂食行動に与える影響に関する研究		
(論文内容の要旨)			
<p>植物精油の吸入投与により抗鬱・抗不安効果を得る芳香療法が補完代替医療のひとつにあり、芳香性化合物には鎮静活性や食欲減退作用もあることが報告されている。また胃腸薬の中には芳香性健胃薬に分類されるものがあり、嗅覚刺激により食欲を増進させる効果があるとされる。これらの事象は化合物のにおいが生理活性をあらわすということを示しているが、その詳細について薬学的見地から検討を加えた例は多くない。本研究ではこれまでに自発運動抑制活性が報告されている沈香の加熱香気中の成分ベンジルアセトン(BA)とその構造類似化合物、また香辛料に含まれる精油成分を用いてマウスに対する摂食促進作用を調査した。</p> <p>第一章 BAの吸入投与による摂食促進作用の検討</p> <p>ラベンダー精油に含まれるリナロールなど鎮静活性を示す化合物が抗鬱・抗不安活性をも示すだけでなくストレスホルモンの増加も抑制することが報告されている。ストレスをラットやマウスに負荷すると自発運動が増加する事が知られており、芳香性化合物の鎮静活性にはストレスの抑制が関与している可能性がある。そこでマウスに芳香性化合物を吸入させた後に、ストレスホルモンの分泌や摂食行動に関与するプロオピオメラノコルチン(POMC) mRNAの発現量を、視床下部・下垂体混合組織から抽出したtotal RNAを用いて調査したところ、BA投与群ではコントロール群と比べ発現量が減少していた。しかし、比較試験として行った鎮静活性が無い1-フェニル-2-ブタノン(PB)を投与した群でもPOMC mRNA発現量が減少したことや、拘束ストレスをかけたマウスでもPOMC mRNA発現量が低下したことから、ここで観察されたPOMC mRNA発現量の低下はストレスの抑制とは別の作用に基づくものと考えられた。そこで、摂食促進作用を示す神経ペプチドY(NPY)のmRNAの発現を調査した結果、BA、PB、シンナムアルデヒド(CA)を吸入させた群ではNPYの発現量がコントロール群の約3倍に増加していることが明らかとなった。</p> <p>そこで、24時間絶食させたマウスにこれら芳香性化合物を異なる濃度で吸入させた後、4時間での摂食量を調査した結果、有意に摂食量が増加していた群ではNPY mRNA発現量が増加していた。また、BAを吸入させた群では、陽性対照として用いた摂食促進作用を有するホルモンであるグレリンを投与した場合の1.1倍の摂食量を示すことが明らかとなった。</p> <p>BAの摂食促進作用に投与濃度、投与時間が影響を与えるかを調査したところ、BAの投与時間が長くなる、または投与濃度が高くなるにつれ摂食量が増加したが、最も摂食量が増加した濃度を境にしてそれ以上の高濃度では逆に摂食量が減少した。また、1時間吸入させた際に作用がなかった投与量$7.4 \times 10^{-3} \text{mg/cm}^3$と、$7.4 \times 10^{-6} \text{mg/cm}^3$の投与濃度で作用が無かった吸入時間5分間を組み合わせる条件でBAを投与した際には有意な摂食量の増加が確認されたことから、摂食促進作用は受容体を刺激する</p>			

化合物の物質に依存した作用であることが考察された。

芳香性化合物の作用経路としては、嗅覚受容体の直接刺激、および血中移行後に中枢に作用する経路が考えられるが、コーンオイルで希釈したBAを腹腔内投与した場合には摂食量の増加は確認されなかったことから、BAの摂食促進作用は嗅覚受容体などに直接作用して発現していると考えられた。

第二章 BAの吸入投与による体重増加とそれに寄与する作用の検討

BAおよびCAの吸入投与を1日1回、14日間くりかえした際のマウスの体重を観察した。その結果、BAでは体重は有意に増加した。しかしCAでは体重の増加傾向があるが有意な増加ではなかった。摂食量はBA投与群、CA投与群間でコントロール群と比較してほぼ同等の増加傾向にあり、摂食促進作用以外の作用が体重の増減に関与していると考えられた。

BAの吸入投与は1時間あたりの自発運動量を有意に低下させるが、CAを主成分とする桂皮精油の吸入投与による1時間あたりの自発運動量は低下しない。そこでBA、CAをそれぞれ1時間吸入させた後、1日あたりの自発運動量を観察したところ、BA投与群ではコントロール群の30%に減少していたが、CA投与群では減少していなかった。以上の結果、BAによる有意な体重増加は摂食促進作用と行動抑制作用の両者に基づくと考えられた。

第三章 香辛料精油による摂食促進作用

多種の香辛料を混合したカレー粉の精油をマウスに吸入投与させたところ強い摂食促進作用が観察された。精油に含まれる特徴的な化合物、CA、オイゲノール(EU)、アネトール(AT)、カリオフィレン等について摂食量を調査したところ、CA、EU、ATで摂食量が有意に増加したためこれらが活性化化合物であると示唆された。これら活性化化合物を精油に含まれる比率(1 : 2.6 : 5.6)で混合しマウスに投与するとカレー粉精油の0.1倍の濃度で同等の作用が確認された。活性化化合物の混合は相乗効果を示すことが明らかとなった。

以上、申請者はBA、CAを中心とした芳香性化合物の吸入投与による摂食促進作用が嗅覚受容体などの刺激を介して起こることを明らかにした。これらの薬理作用の発現には視床下部におけるNPY mRNA発現量の増加が寄与していると考えられる。更にBAのくりかえし投与は摂食促進作用と自発運動抑制作用の両方に基づき有意な体重増加を示すことが明らかとなった。

本研究は希薄な芳香性化合物の吸入投与、すなわち、においが摂食促進作用を示すことをマウスを用いた動物実験により明らかにしたものである。これは吸入投与による医薬品の開発やにおいを利用したセルフメディケーションの考案など、芳香性化合物の新たな研究開発に有用な知見となると考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

補完代替医療のひとつに芳香療法がある。実際、芳香性化合物には鎮静活性や食欲減退作用も有するものが知られており、植物精油の吸入投与により抗鬱・抗不安効果が期待できる。また、胃腸薬の中で芳香性健胃薬に分類されるものは、嗅覚刺激により食欲を増進させる効果がある。これらの事象は化合物のにおいが生理活性をあらわすということの意味するが、動物実験によって薬理的検討を加えた例は多くない。本研究で著者は、これまでに自発運動抑制活性が報告されている沈香の加熱香気中の成分ベンジルアセトン(BA)とその構造類似化合物、さらに香辛料に含まれる精油成分を用いてマウスに対する摂食促進作用を検討した。

第一章 BAの吸入投与による摂食促進作用の検討

ラベンダー精油に含まれるリナロールなど鎮静活性を示す化合物は、抗鬱・抗不安活性を示し、同時にストレスホルモンの増加も抑制する。ストレスをラットやマウスに負荷すると自発運動が増加することから、著者は芳香性化合物の鎮静作用にストレス抑制が関与している可能性を考えた。そこでマウスに芳香性化合物を吸入させた後、ストレスホルモンの分泌や摂食行動に関与するプロオピオメラノコルチン(POMC) mRNAの発現量が視床下部・下垂体混合組織から抽出したtotal RNAを用いて調べられた。その結果、BA投与群ではコントロール群と比べ発現量が減少していたが、比較試験として行った鎮静活性が無い1-フェニル-2-ブタノン(PB)を投与した群でもPOMC mRNA発現量が減少したことや、拘束ストレスをかけたマウスでもPOMC mRNA発現量が低下したことから、ここで観察されたPOMC mRNA発現量の低下は、ストレスの抑制とは別の作用に基づくものと考えられた。そこで次に著者は、摂食促進作用を示す神経ペプチドY(NPY)のmRNAの発現を調査した結果、BA、PB、シンナムアルデヒド(CA)を吸入させた群ではNPYの発現量がコントロール群の約3倍に増加していることを見出した。

次に著者は、24時間絶食させたマウスにこれら芳香性化合物を異なる濃度で吸入させた後、4時間での摂食量を調査した。その結果、有意に摂食量が増加していた群でNPY mRNA発現量の増加を見出し、さらにBAを吸入させた群では陽性対照として用いた摂食促進作用を有するホルモンであるグレリンを投与した場合の1.1倍の摂食量を示すことを明らかにした。

また、BAの摂食促進作用に投与濃度や投与時間が与える影響を検討したところ、BAの投与時間が長く、投与濃度が高くなるにつれ摂食量が上昇したが、最も摂食量が増加した濃度以上の高濃度では逆に摂食量が減少した。さらに、1時間吸入させた際に作用がなかった投与量 $7.4 \times 10^{-3} \text{ mg/cm}^3$ と、 $7.4 \times 10^{-6} \text{ mg/cm}^3$ の投与濃度において、作用が無かった吸入時間5分間を組み合わせさせた条件でBAを投与した際には有意な摂食量の増加が確認されたことから、著者は摂食促進作用が受容体を刺激する化合物の物質質量に依存した作用であると考えた。芳香性化合物の作用経路としては、嗅覚受容体の直接刺激、および血中移行後に中枢に作用する経路が考えられる。コーンオイルで希釈したBAを腹腔内投与した場合では摂食量の増加は確認されなかったことから、BAの摂食促進作

用は嗅覚受容体などに直接作用して発現していると結論された。

第二章 BAの吸入投与による体重増加とそれに寄与する作用の検討

BAおよびCAの吸入投与を1日1回、14日間くりかえした際のマウスの体重を観察した結果、BAでは体重の有意な増加が見られた。しかしCAでは体重の増加傾向があるが有意な増加ではなかった。摂食量はBA投与群、CA投与群間でコントロール群と比較してほぼ同等の増加傾向にあり、摂食促進作用以外の作用が体重の増減に関与していると考えられた。

BAの吸入投与は1時間あたりの自発運動量を有意に低下させたが、CAを主成分とする桂皮精油の吸入投与による1時間あたりの自発運動量は低下しなかった。そこでBA、CAをそれぞれ1時間吸入させた後、1日あたりの自発運動量を観察したところ、BA投与群ではコントロール群の30%に減少していたが、CA投与群では減少しなかった。以上の結果、BAによる体重増加は摂食促進作用と行動抑制作用の両者に基づくと考えられた。

第三章 香辛料精油による摂食促進作用

多種の香辛料を混合したカレー粉の精油をマウスに吸入投与させたところ、強い摂食促進作用が観察された。精油に含まれる特徴的な化合物、CA、オイゲノール(EU)、アネトール(AT)、カリオフィレン等について摂食量を調べたところ、CA、EU、ATで摂食量が有意に増加したので、これらが活性化化合物であると示唆された。これら活性化化合物を精油に含まれる比率(1 : 2.6 : 5.6)で混合しマウスに投与するとカレー粉精油の0.1倍の濃度で同等の作用が確認された。よって活性化化合物の混合は相乗効果を示すことが明らかとなった。

以上、申請者はBA、CAを中心とした芳香性化合物の吸入投与による摂食促進作用が嗅覚受容体などの刺激を介して起こることを明らかにした。これらの薬理作用の発現には視床下部におけるNPY mRNA発現量の増加が寄与していると考え、さらにBAの繰り返し投与は摂食促進作用と自発運動抑制作用の両方に基づき有意な体重増加を示すことが明らかとなった。

本研究は希薄な芳香性化合物の吸入投与、すなわち、においが摂食促進作用を示すことをマウス動物実験により明らかにしたものである。これは吸入投与による医薬品の開発やにおいを利用したセルフメディケーションの考案など、芳香性化合物の新たな研究開発に有用な知見となると考えられる。

よって、本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成28年2月26日、論文内容とそれに関連した事項について諮問を行った結果、合格と認めた。