

テレメトリーシステムを用いた SHR の循環生理値に対するフィトンチッドの影響

Effects of phytoncides on cardiovascular parameters of SHR

川上 浩平, 下崎 俊介, 石田 勇,
言美 昇, 野村 正人, 並河 徹

Kohei Kawakami, Syunsuke Shimosaki, Isamu Ishida,
Noboru Gonbi, Masato Nomura, Toru Nabika

原 著

テレメトリーシステムを用いたSHRの循環生理値に対するフィトンチッドの影響

Effects of phytoncides on cardiovascular parameters of SHR

川上浩平¹⁾, 下崎俊介¹⁾, 石田 勇²⁾, 言美 昇³⁾, 野村正人²⁾, 並河 徹³⁾Kohei Kawakami¹⁾, Syunsuke Shimosaki¹⁾, Isamu Ishida²⁾,
Noboru Gonbi³⁾, Masato Nomura²⁾, Toru Nabika³⁾

(Received 8 June 2006 / Accepted 8 September 2006)

Summary

Phytoncides, a group of aromas emitted from trees, were composed primarily of organic compounds terpenoids. It was reported that phytoncides were the major component of the wood providing relaxing as well as antibacterial effects. In this study, we therefore evaluated the relaxing effect of phytoncides using the spontaneously hypertensive rat (SHR) that is known to show exaggerate cardiovascular responses to various stresses. Six male SHR of 8 weeks of age were employed. A telemetric transmitter (TA11PA-C40, DataScience, USA) was implanted in the aorta under anesthesia with pentobarbital (50 mg/kg, i.p.). Heart rate (HR), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP) and locomotor activity (ACT) were continuously recorded every 5 minutes. The results were as follows: 1) In each group, HR and ACT in the dark period were higher than those in the light period. 2) Exposure to phytoncides significantly decreased HR in SHR under the restraint stress (282.1 ± 15.3 vs 321.1 ± 17.5 beats/min, $P < 0.05$ by Fisher's PLSD Test). Based on these results, we concluded that phytoncides may have relaxing effects on SHR.

1. 緒 言

近年, 森林浴効果をもたらす森林や木の香りのリフレッシュ作用が注目されている^[1]。この香りの物質はフィトンチッドと言われ, これは樹木が発散する揮発性物質である。主な成分はテルペン類とよばれる有機化合物であり, 生物活性を有する植物の二次的代謝成分である。このフィトンチッドにはストレス軽減作用があると報告^[3]され, 我々はこの物質を実験動物の飼育環境の改善に発展させるように研究を行っている^[5]。

最近, テレメトリーシステム^[2]が開発され, 実験動物の行動生理学的なパラメータを無麻酔・無拘束下にて測定することが可能となった。本システムは, 動物の体内あるいは体外に取り付けられたセンサー (トランス

ミッター) と送信機によって, 心拍数や血圧などの各種の生理的指標の変化を無線でデータ取得・解析装置に搬送する計測手技である。

今回はこのテレメトリーシステムを用いて, 疾患モデル動物の高血圧自然発症ラット (Spontaneously Hypertensive Rat, 以下SHR) の心拍数, 血圧, 活動量を無麻酔・無拘束条件下において観察し, フィトンチッドを噴霧した場合の生体に及ぼす影響を検討した。また, SHRの拘束ストレス負荷時における血圧動態に対するフィトンチッドの影響についても検討を行った。

2. 材料および方法

実験には8週齢の雄性SHR/Izm (日本SLC) を6匹用

1) 島根大学総合科学研究支援センター
〒693-8501 島根県出雲市塩冶町89-1
Center for Integrated Research in Science,
Shimane University, 89-1 Enya-cho, Izumo 693-
8501, Japan
2) 近畿大学工学部生物化学工学科
〒739-2116 広島県東広島市高屋町
Department of Biotechnology and Chemistry,

School of Engineering, Kinki University, Takaya-
cho, Higashi-Hiroshima, 739-2116, Japan
3) 島根大学医学部病態病理学
〒693-8501 島根県出雲市塩冶町89-1
Department of Functional Pathology, School of
Medicine, Shimane University, 89-1 Enya-cho,
Izumo 693-8501, Japan

いた。実験開始前の処置として、ペントバルビタールナトリウム麻酔下 (50mg/kg. ip.) でラット用テレメータ送信機 (TA11PA-C40, DataScience社製) を腹部大動脈に埋め込んだ。手術は腹部正中線切開による開腹後、大動脈を露出し、カテーテル先端を総腸骨動脈の分岐部近位より左腎臓動脈の分岐部遠位まで挿入した。大動脈のカテーテル進入部位ではカテーテルと血管を生体用瞬間接着剤と繊維片を用いて固定した。腹筋の縫合と共に送信機本体を腹壁に固定した後、皮膚を縫合した。飼育環境は室温 23 ± 2 °C, 照明は12L:12D (7時点灯, 19時消灯) の条件下において自由摂食・給水で, 居住環境は木材チップ入りTPX樹脂製平底型ケージ (260W×330W×170Hmm, 日本クレア製) の中に1匹飼育した。動物は術後10日間以上の回復期を置き, 送信される信号を5分間隔でDataScience社製解析ソフトDataQuestに取り込んで心拍数 (HR), 収縮期血圧 (SBP), 拡張期血圧 (DBP) および活動量 (ACT) を記録した (図1)。使用したフィトンチッド液 (PT-150, フィトン・タオ118製) は約118種類の植物エキスを原料とし, 各々の特性にあった抽出法で精製した混合液である。この主な成分であるテルペン類はD-limonene (18.7%), α -terpineol (15.2%), methyl salicylate (11.1%), 3-phenyl propenal (10.7%), α -pinene (7.3%) などである。

実験1では通常飼育時のラットにフィトンチッドを噴霧したときの循環生理値および活動量の日内変動の確認を行った。始めに対照群として蒸留水を噴霧器 (風速0.1m/s, フィトン・タオ118製) を用いて明期と暗期の各々6時間噴霧 (明期: 13~19時, 暗期: 19~1時) を7日間継続した。翌週はフィトンチッド液を前述と同様の条件でラットに噴霧して7日間継続し観察を行った。さらに翌週には, 再び蒸留水噴霧 (2回目) を同様に行い, 噴霧の順番の影響についても比較検討した。

実験2では拘束ストレス負荷時における循環生理値に対するフィトンチッドの影響を確認した。始めにSHRを拘束ストレス用布製ホルダー (ソフトロン製) に5時間拘束しながら, 蒸留水 (対照群) を噴霧し心拍数と血圧に及ぼす影響を検討した。翌週, 同様の条件でラットを5時間拘束しながらフィトンチッド液を噴霧し同項目に及ぼす影響を比較検討した。

本実験は島根大学総合科学研究支援センター動物実験専門部会による承認を受け, 動物の管理ならびに処置については島根大学動物実験に関する指針に従った (承認番号H17-107)。

統計学的処理として, 測定値は平均値 \pm 標準誤差で示した。平均値の差の検定はANOVAを用いた後にPost-

Hoc TestとしてFisher's PLSD Testを用いた ($P < 0.05$)。

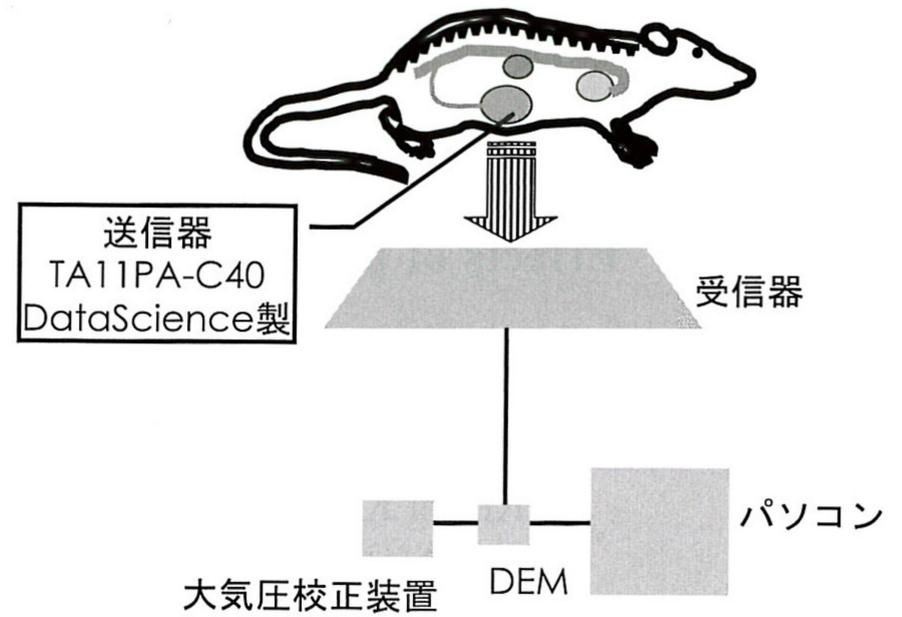


図1 テレメトリーシステムの構成図

3. 成績

1. SHRの循環生理値および活動量の日内変動

フィトンチッド群はHRが $250 \sim 380$ b.p.m, SBPは $150 \sim 180$ mmHg, ACTは $0 \sim 60$ 回の範囲で推移した。フィトンチッド群と対照群間には明らかな相違は認められなかった (図2)。

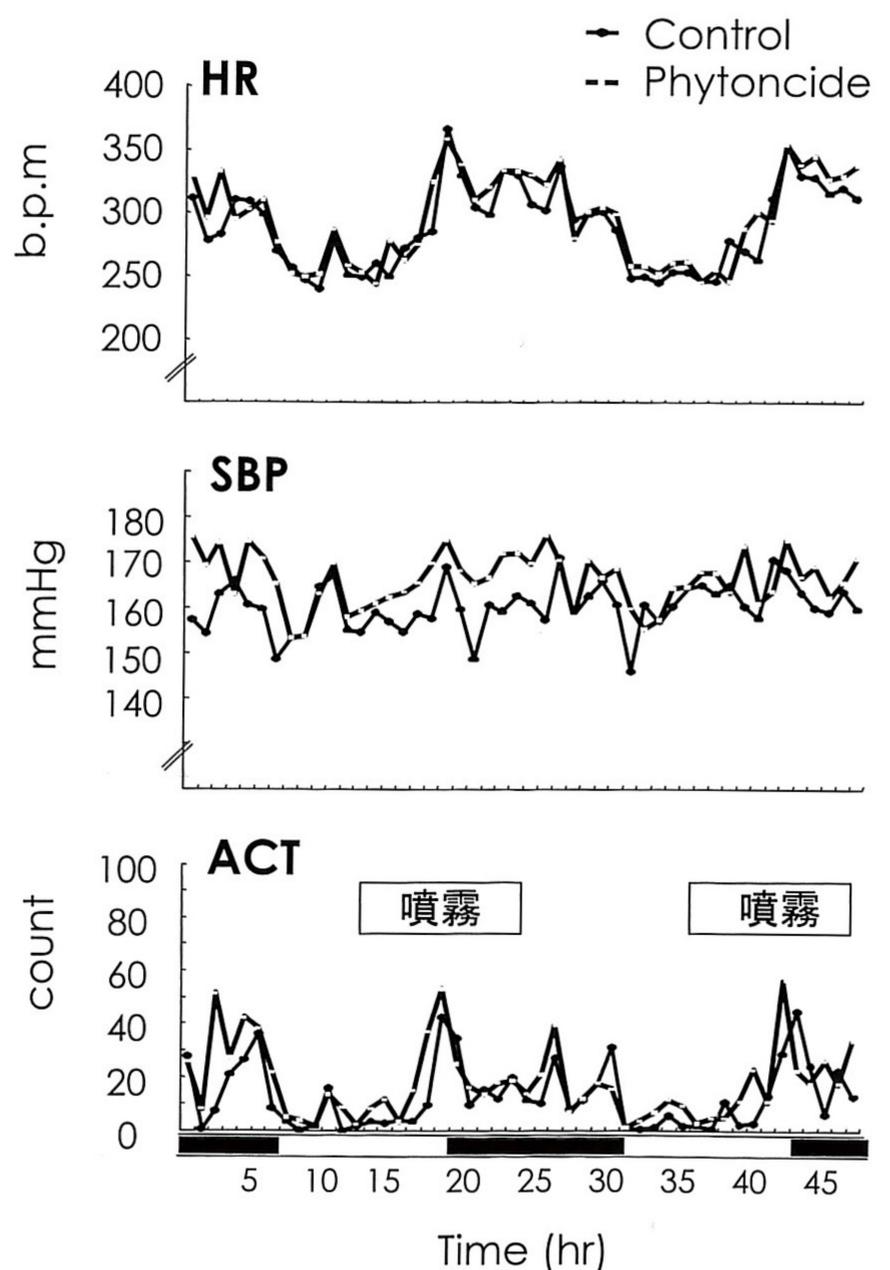


図2 日内変動における血行動向と活動量
対照群およびフィトンチッド群ともに実験2日目より48時間のデータ (SHR#1の例) を示した。照明時間 (明期7:00~19:00, 暗期19:00~7:00), 噴霧時間 (明期13:00~19:00, 暗期19:00~1:00)

2. 明期と暗期の比較

HRは対照群およびフィトンチッド群とも明期よりも暗期が著しく高く、各群ともに有意差が認められた ($p < 0.001$)。またフィトンチッド群と対照群間には差が認められなかった。ACTもHRと同様に、明期よりも暗期が多く有意差 ($p < 0.001$) が認められ、夜行性動物としての行動活性を示した。SBPのフィトンチッド群は明期 164.7 ± 3.4 mmHg、暗期 169.7 ± 3.6 mmHgであり対照群との間に有意差は認められなかった。DBPについても明期および暗期ともフィトンチッド群と対照群の間に有意差は認められなかった (図3)。

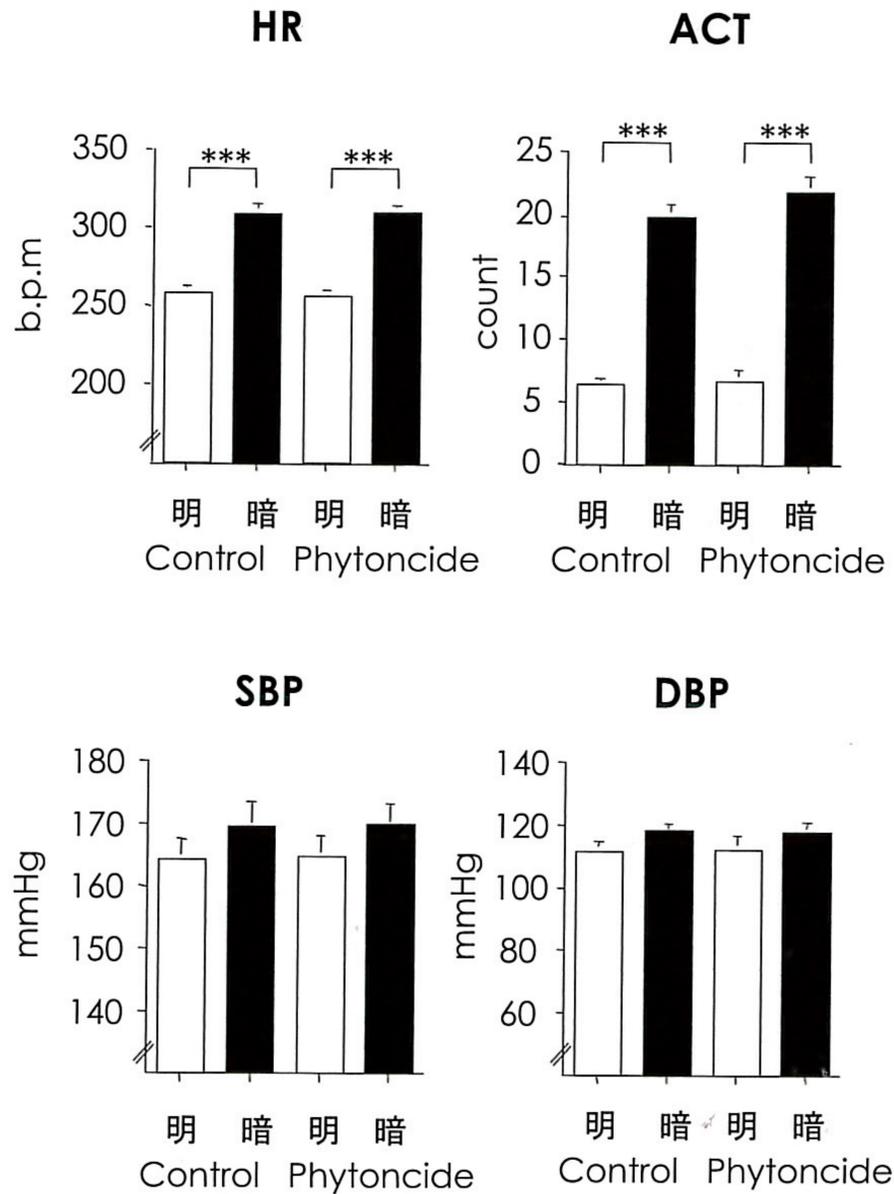


図3 明期と暗期の各種のパラメータの比較
各測定値はmean ± SEM, n=6, ***P<0.001

3. 蒸留水噴霧の比較

フィトンチッド噴霧の前後の週に蒸留水を噴霧した。その蒸留水 (1回目と2回目) のHRおよびSBPの測定値の比較を表1に示した。HRおよびSBPともに1回目と2回目の間には有意差は認められなかった。

表1 蒸留水噴霧1回目と2回目の比較

	HR (b.p.m)		SBP (mmHg)	
	Light	Dark	Light	Dark
1回目	251.5 ± 4.1	306.9 ± 4.7	164.1 ± 3.7	169.4 ± 3.8
2回目	255.2 ± 3.5	313.1 ± 3.2	165.5 ± 4.1	170.9 ± 4.1

mean ± SEM, n=6

4. フィトンチッド噴霧の有無の比較

フィトンチッドは1日の明暗期ともに各々6時間噴霧した。そのフィトンチッド噴霧の有無の時間帯の測定値を表2に示した。測定値は明暗の切り替え時間帯 (6:00~8:00, 18:00~20:00) を除いて平均値とした。HRは明期では違いは認められなかったが、暗期ではフィトンチッド噴霧の方が高く有意差 ($p < 0.01$) が認められた。SBPでは明暗期ともにフィトンチッド噴霧の有無の違いは認められなかった。

表2 フィトンチッド噴霧の有無の比較

	HR (b.p.m)		SBP (mmHg)	
	Light	Dark	Light	Dark
無	250.6 ± 3.4	299.2 ± 4.5	164.7 ± 3.4	171.5 ± 3.5
有	251.1 ± 3.7	315.9 ± 4.6**	165.4 ± 3.5	167.0 ± 3.7

噴霧無 (明期8:00~13:00, 暗期1:00~6:00), 噴霧有 (明期13:00~18:00, 暗期20:00~1:00), mean ± SEM, n=6, **P<0.01

5. 実測値の相関関係

図4は実験開始2日目からの48時間のHR, SBPおよびACTの関係を見たものである。HRは230~400b.p.mそ

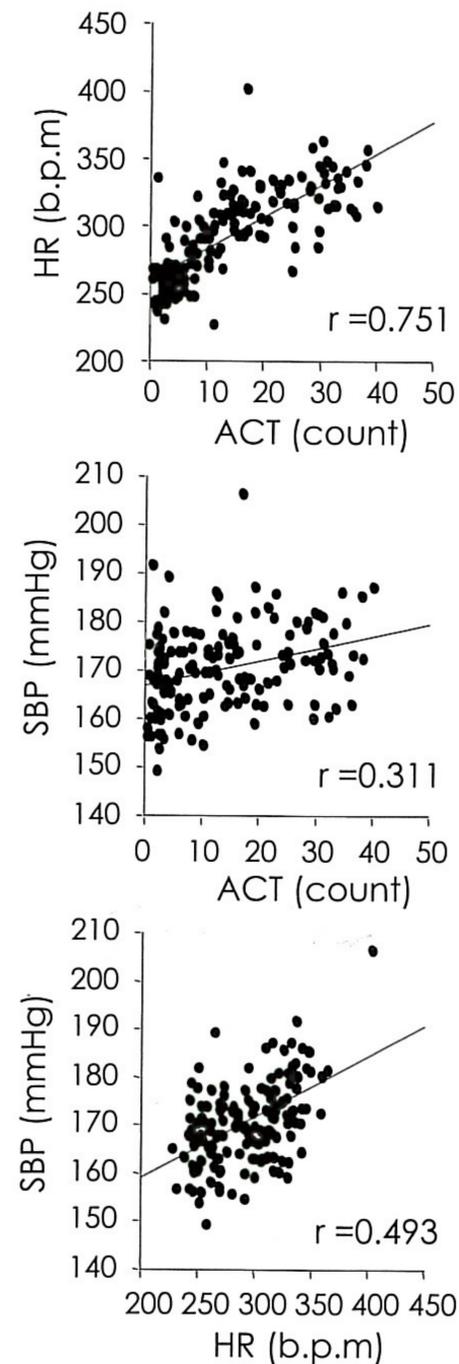


図4 各種のパラメータの相関関係
実験2日目の24時間の値, n = 144

してSBPは150~210mmHg, ACTは0~50回と変動があり, いずれも互いに正の相関関係を認めた。とくにHRとACTに強い相関を認めた。

6. 拘束ストレスに及ぼすフィトンチッドの影響

HRは対照群およびフィトンチッド群ともに拘束開始時には, 通常時 (pre値は240b.p.m) と比較して約350b.p.mに上昇した。両群ともに拘束開始時より経時的に減少傾向を示したが, 5時間後には再び上昇を示した。しかし, フィトンチッド群のHRは対照群より低い傾向を示し, とくに5時間後には有意差 ($p < 0.05$) が認められた。SBPもHRと同様な傾向を示したが, 両群間には有意差は認められなかった (図5)。

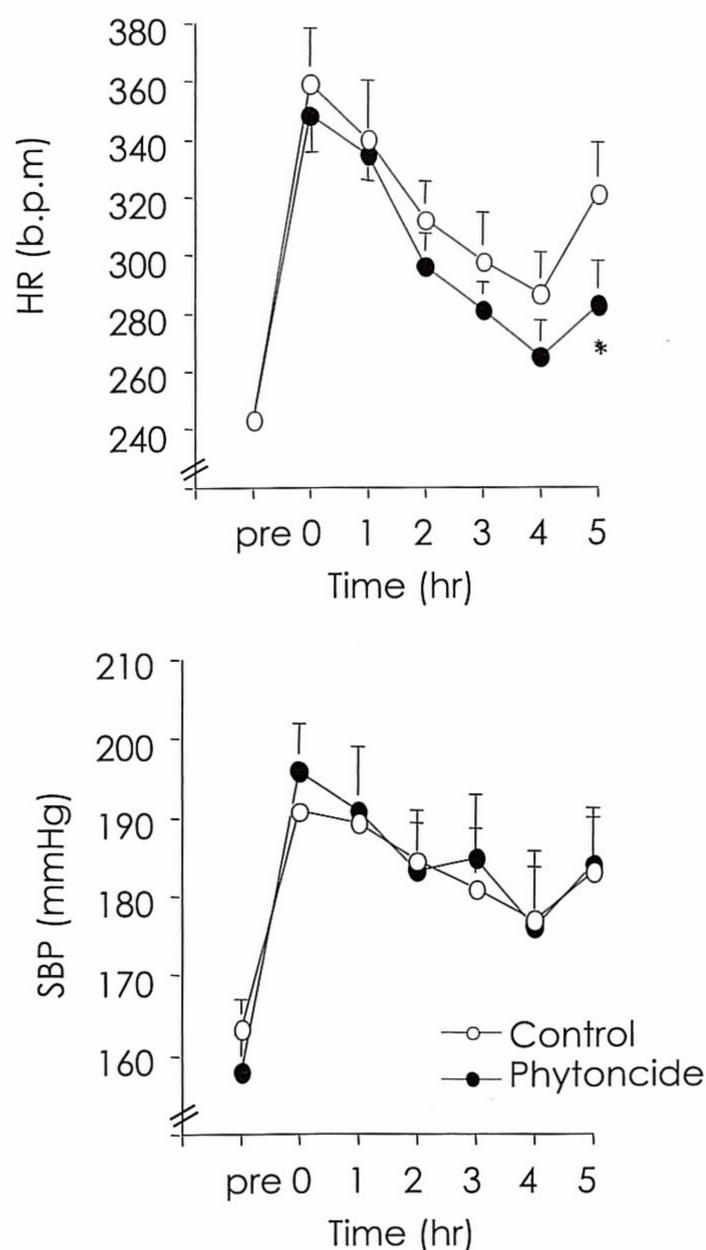


図5 拘束ストレス負荷状態によるHRおよびSBPの変化
mean \pm SEM, n=6, * $P < 0.05$

4. 考察

テレメトリーシステムの最大の利点は, 測定時に無麻酔, 自由行動下の動物から種々の生理的变化を長期間にわたって連続的に観察することが可能な点である。そのため, テレメトリーシステムは動物の様々な病態解析や正常なバイオリズム研究などに極めて有効な手段となっている [8, 10]。

今回のフィトンチッド噴霧におけるSHRの循環動態

の日内変動には顕著な相違は認められなかった (図2, 3)。この結果から動物を通常の飼育状態 (木材チップ入りTPX樹脂製平底型ケージ) においてフィトンチッド噴霧をすることには負の効果は認められないと推察できる。

一方, 動物を拘束してストレスを負荷した場合には, 不安や恐怖情動を反映するHRがフィトンチッドを噴霧することにより対照群と比較して低く, 正常時に近い値を示し安定する傾向が示された (図5)。これらから, ストレス状態の動物においては臭脳を起点として辺縁系の神経線維を介してリラックス状態になっていることが考えられる [7, 9]。今回のテレメトリーシステムを用いたストレス状態の評価は推奨できる検査法であり, フィトンチッドは動物のストレスに対して軽減する可能性が期待される。

一般に適正な動物実験を行うことは, 実験動物を最適な環境下に置いて飼育管理することであり, これは再現性の高い実験を行う上でも大切である。そして実験動物の福祉に配慮した環境基準を検討する上でも環境要因が実験動物の生体にどのように関与するのか確認する必要がある。著者らは, これまで居住環境の違いが実験動物に与える影響について報告 [6] しており, とくに金網ケージを用いてラットを飼育すると動物に微弱なストレスが掛かり実験データに影響が認められることを明らかにしている [4]。また, 環境エンリッチメント材や香りの飼育環境への導入に関して, 谷沢ら [11] は快適な環境がマウスの皮膚生理に好影響を与え, 心地よい香りがストレス緩和手段として有効であることを報告している。

今後の課題として, フィトンチッドによるラットの行動活性の変動と心拍数の関係の検討およびラットを金網ケージで飼育した場合にフィトンチッドを噴霧することによって心拍数や血圧の上昇を軽減できるか検討したいと考えている。

謝辞

本研究の一部は, 平成17年度科学研究費補助金 (奨励研究, 課題番号17916003) および第14回 (平成18年度) 島根大学医学教育研究振興財団助成金を受け実施しました。また本実験に対してご協力, ご助言を頂いた(有)フィトン・タオ118の三原安経氏に深謝致します。

文献

- [1] Aoshima, H., and Hamamoto, K. (1999). Potentiation of GABA_A receptors expressed in *Xenopus* oocytes by perfume and phytoncide. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **63**, 743-748.