

# アロマ吸引によるラット顎下腺における 抗菌因子の分泌

Antimicrobial factor secretion  
in the rat submandibular gland induced by aroma inhalation

内橋 賢二  
(Kenji UCHIHASHI)

**キーワード：**アロマ、唾液、抗菌因子

**Key Words：**Aroma, saliva, antimicrobial factor

## I. Abstract

I studied the influence of sympathetic nerve stimulation and aroma inhalation on both SIgA and lactoferrin secretion in the rat submandibular gland. I found no spontaneous secretion from the submandibular gland in the control rats. Although the flow of the saliva evoked by black pepper and cardamom was very small in volume, a marked saliva secretion was found evoked when isoprenaline stimulation was combined with black pepper or cardamom inhalation. Significant secretion of SIgA and lactoferrin was not obtained with black pepper or cardamom inhalation alone. However, there was considerable secretion of SIgA and lactoferrin induced when isoprenaline stimulation was combined with black pepper inhalation. The salivary amylase activity induced by aroma inhalation was approximately 10% that of isoprenaline stimulation alone. Combined use of the two enhanced salivary amylase activity compared with stimulation by isoprenaline alone. Their combined use had a synergistic effect.

These results suggest that the use of aroma inhalation enhances salivary antibacterial activity, and that this activity may be induced by the sympathetic nervous system. In addition, aroma inhalation imparts a greater effect on SIgA and lactoferrin secretion than does solitary sympathetic stimulation alone. We hypothesized that aroma inhalation might positively influence the intraoral environment.

## Ⅱ. 緒 言

唾液は口腔および上部消化管機能の健康を維持するために不可欠な存在である<sup>1)</sup>。ヒトの唾液には多種類のタンパク質、ペプチド、上皮細胞および白血球などが含まれ、それぞれに重要な生理学的機能を有している。近年、唾液の研究はバイオインフォマティクス、メタボロミクス、ゲノミクスおよびプロテオミクスなどの新しいテクノロジーの進歩によって、唾液が口腔と全身の健康に寄与することが明らかにされている<sup>2)</sup>。唾液は三大唾液腺および口腔に散在する小唾液腺で生成され、それぞれの導管を介して口腔に分泌される<sup>3) .4)</sup>。唾液は主に口腔体性感覚、咀嚼運動および味覚を刺激とする自律神経反射によって水分とタンパク質を分泌する<sup>5)</sup>。顎下腺の唾液分泌は副交感神経系では鼓索神経を介して、節後線維終末からアセチルコリンおよびサブスタンスPを放出し、それぞれムスカリン受容体とタキキニン 1 受容体を活性化することにより多量の漿液性唾液を分泌する。一方、交感神経系は上頸神経節由来の節後線維終末からノルアドレナリンを放出し、 $\alpha$ -および $\beta$ -アドレナリン受容体を活性化することにより、タンパク質が豊富で水分の少ない粘性唾液を分泌する<sup>6)</sup>。また、唾液には特異的免疫物質のSIgAや非特異的免疫物質のラクトフェリンなど、多くの抗菌タンパク質が含まれている。唾液中SIgAは口腔の免疫システムの主要な構成要素で、形質細胞から分泌される高分子J鎖含有IgAは、腺細胞の基底膜に存在する高分子免疫グロブリン受容体 (pIgR) に結合し、腺腔側膜に経細胞輸送される<sup>7)</sup>。そしてpIgR-IgA複合体は細胞質で切断されて唾液中に分泌される。ラット唾液腺に関するいくつかの研究から、SIgAの分泌は交感神経性刺激によって増加することが示唆されており<sup>8)</sup>、SIgAはムチン、ラクトフェリンおよびペルオキシダーゼなど、他の糖タンパク質とともに、感染因子に対する粘膜表面の防御機構に関わっていることが知られている<sup>9)</sup>。

トランスフェリンファミリーの80kDaの鉄結合糖タンパク質であるラクトフェリンは、牛乳や唾液などの外分泌分泌物であり、歯周病原性細菌に対する抗菌活性とその関係についての研究がなされており<sup>10)</sup>、抗菌活性、抗ウイルス活性、抗酸化活性、免疫調節、細胞増殖の調節およびいくつかの生物活性化化合物と結合して多様な生物学的活性を示すことから、ラクトフェリンは口腔内の重要な宿主防御因子と考えられている<sup>11)</sup>。

アロマセラピーは植物由来のアロマ成分を使用することで、ストレスを軽減し、心身をリラックスさせることで健康を促進することを目的として使用されており、その効果は血液循環の促進、筋肉のけいれんの抑制、抗菌作用、免疫力の促進および抗利尿作用など、さまざまな効用が実証されている<sup>12) .13)</sup>。また、食物摂取中には、食品の揮発物質によって特殊感覚(味覚、嗅覚)が生じ、とくに後鼻腔経路を介した嗅覚刺激は、脳で形成される風味に大きく関与し<sup>13) .14)</sup>、特定の風味は特定の芳香性物質に起因することが知られている<sup>15) .16)</sup>。唾液は嗅覚刺激による反射唾の分泌が生じる可能性があり、アロマセラピーが口腔内環境に何らかの影響を与える可能性が示唆される。

一方、唾液 $\alpha$ -アミラーゼの主な機能は高分子量の炭水化物を低分子量の二糖類に分解する

ことであるが<sup>17)</sup>、近年は $\alpha$ -アミラーゼが粘膜免疫の維持に役割を果たすことも報告され、連鎖球菌の粘膜への細菌付着を阻害し、細菌の繁殖とコロニー形成および口腔内の正常な細菌叢の調節に役立つ可能性が報告されている<sup>18)</sup>。また、唾液 $\alpha$ -アミラーゼはストレス時に急速に増加することが示され、交感神経系活動レベルのマーカーとしても有用であることが示唆されている<sup>19)</sup>。

アロマオイル吸入による嗅覚刺激は、人間に様々な生理学的影響を及ぼす。香りの生理学的効果の定量的測定には、脳波、血圧、心拍数などの物理的測定が使われている<sup>20)</sup>。芳香族植物由来のアロマオイルは気分を高める、痛みを和らげるおよび認知機能の改善など、さまざまな生物学的特性が示されているが<sup>13)</sup>、それらは伝統的医学やプライマリ・ケア環境での補完的治療として使用されている<sup>21-23)</sup>。呼吸器から吸入されたアロマはさまざまな症状の改善に役立つと考えられており、人間の脳と感情<sup>24)</sup>、<sup>25)</sup>、血圧<sup>26)</sup>、心拍数<sup>27)</sup>などに焦点が当てられている。

唾液の分泌量は就寝中に減少し、抗菌因子も減少することから、口腔内の免疫機能が減退すると考えられる。そこで就寝中にも応用できるアロマセラピーを用いて、アロマオイルによる嗅覚刺激が唾液中抗菌因子の分泌を促進する可能性を探る目的でアロマオイルによる催唾効果について検討した。

### Ⅲ. 実験動物および実験方法

#### 1. 実験動物

大阪歯科大学動物研究委員会（第15-04008号）の承認を得て、国際疼痛学会の倫理指針に沿って実験を行った<sup>28)</sup>。実験は大阪歯科大学中央歯学研究所の実験動物施設を利用した。体重250～280gの18匹の雄性Wistar系ラットは、 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相対湿度55%で、12時間の暗/明サイクルの制御された光および環境条件下で動物管理センターに収容し、水と固形飼料（MF、オリエンタル酵母工業、東京）の自由摂取で飼育した。ラットは飼育ゲージに慣れさせるため、購入後1日の飼育期間をおいてのち実験に供した。18匹のラットを3つのグループに分けた。すなわち、対照群（非吸入群）：3匹、イソプレナミン（IPR）投与群：3匹、アロマ吸入群：12匹（（ブラックペッパーオイル群（BPP）：3匹、カルダモンオイル（CAR）：3匹、ブラックペッパーオイル群（BPP）+IPR投与群：3匹、カルダモンオイル（CAR）+IPR投与群：3匹））である。

#### 2. 実験デザイン

アロマを2時間吸入させた後、交感神経刺激（IPR投与）がある場合とない場合の顎下腺唾液を採取した。採取した唾液から、SIgA濃度、ラクトフェリン濃度、アミラーゼ活性および総タンパク質量を分析した（Fig1）。

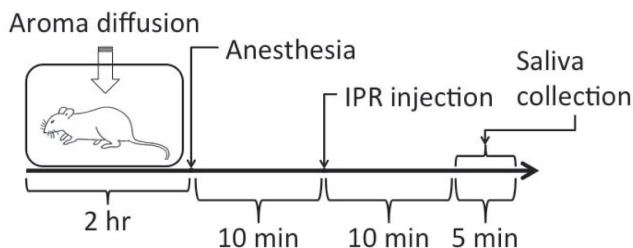


Fig.1

### 3. アロマ吸入法

交感神経系を誘発する自律神経系の挙動に反対の影響を与えることが知られている2つのアロマオイルのBPPとCARを使用した（どちらもDr. Eberhardt GmbH, Trausdorf, オーストリア）。各オイル（ $10 \mu\text{L} / 100 \text{ mL H}_2\text{O}$ ）は、市販の芳香拡散装置（Aroma Lamp Diffuser, Global Product Planning, 東京）を使用してラットのゲージ内に10分間拡散させた（Fig. 2）。

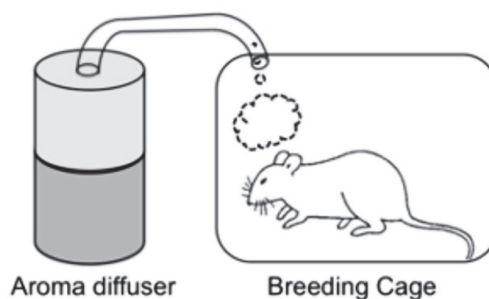


Fig.2

### 4. 顎下腺唾液採取法

ラットはペントバルビタールナトリウム（ $65 \text{ mg / kg}$ 、体重）の腹腔内注射で麻酔し、顎下腺の口腔開口部にポリエチレンカニューレ（Intramedic PE-10; Becton Dickinson, フランクリンレイクス、ニュージャージー州、米国）を挿入し、交感神経（IPR）刺激によって誘発される反射唾液を採取した。アロマオイルを吸引したラットと吸引しなかったラットは、さらに交感神経刺激と非刺激の2つのグループに分けて実験した。交感神経刺激は、 $2 \text{ mg / kg}$ （体重）のイソプレナリン塩酸塩（IPR）（和光純薬工業、大阪、日本）の腹腔内投与で行った。投与から10分目に分泌唾液を5分間採取した（Fig.1）。

### 5. 唾液タンパク質のアッセイ

唾液SIgAの濃度は酵素免疫測定法（ELISA）によって測定した。一次抗体（抗ヒトIgA）および二次抗体（ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgA）は、ウサギ抗ラットIgA（Serotec, オックスフォード、英国）を使用した。アッセイはヒト初乳IgA（Sigma）の段階希釈を使用して校正した。唾液中のラクトフェリン（SLF）濃度の測定はELISAアッセイキット（DRG Diagnostics, Marburg, Germany）を使用して、製造元の指示に従って測定した。唾液 $\alpha$ -アミラーゼ活性（SAA）は、携帯型唾液アミラーゼ活性モニター（Nipro、大阪、日本）を使用

して測定した。この装置では、唾液の採取から測定終了まで1分間で、ドライケミカルシステムによって唾液アミラーゼ活性を自動測定できる。すなわち、テストストリップの先端を30秒間舌下に保持し、唾液を浸透させ、アナライザーに挿入すると結果は10秒間で自動的に表示される。唾液中の総タンパク質（TP）含有量はLowryの方法で分析した。

## 6. 統計分析

実験測定値から平均値と標準偏差を求めた。スチューデントのt検定を統計分析に使用し統計学的有意水準を5%未満とした。

## IV. 実験結果

### 1. 唾液分泌量

安静時ラット顎下腺からの水分分泌は観察されなかった。IPRの腹腔内投与ラットでは $9.0 \pm 1.1 \mu\text{L}/\text{分}/100\text{mg}$ 腺重量の分泌反応が測定できた。また、わずかな唾液分泌反応が、BPP（ $0.2 \mu\text{L}/\text{分}/100\text{mg}$ 腺重量）のみ、あるいはCAR（ $0.1 \mu\text{L}/\text{分}/100\text{mg}$ 腺重量）のみのアロマ吸入で観察された。IPRとBPPを併用した時およびIPRとCARを併用した時ではIPRのみの単独使用した時と比較すると、BPP（ $13 \pm 1.9 \mu\text{L}/\text{分}/100\text{mg}$ 腺重量）、CAR（ $12 \pm 1.1 \mu\text{L}/\text{分}/100\text{mg}$ 腺重量）と有意に増加した（\* $p < 0.05$ ）（Fig.3）。

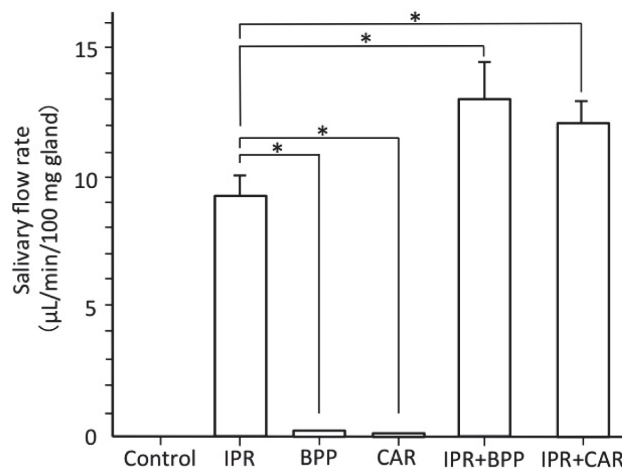


Fig.3

### 2. 唾液中SIgAの濃度

SIgA濃度はIPR刺激では $114 \pm 11 \mu\text{g}/\text{mL}$ であったが、BPP吸入時では $5.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ 、CAR吸入時では $2.0 \mu\text{g}/\text{mL}$ で極めて僅かでアロマの単独吸入ではSLFの分泌はほとんど観察されなかった。ところが、IPRとBPPを併用した時では $140 \pm 11 \mu\text{g}/\text{mL}$ と単独投与よりも有意に

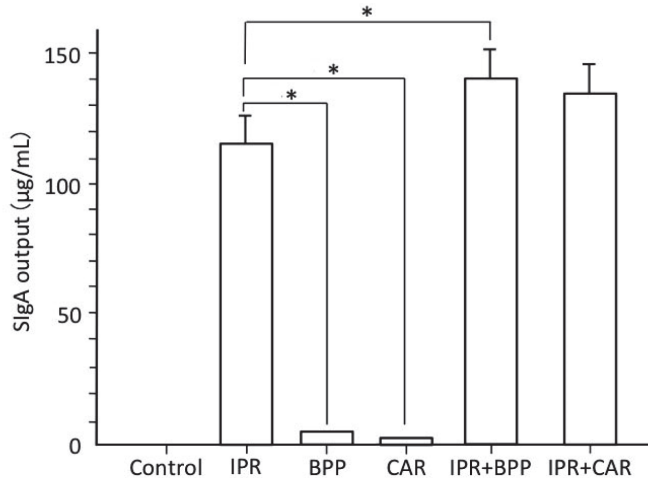


Fig.4

増加した (\* $p < 0.05$ )。またIPRとCARを併用した時も  $125 \pm 15 \mu\text{g/mL}$  と大幅に増加した (Fig.4)。

### 3. 唾液中SLFの濃度

IPR刺激によって誘発されたSLF濃度は  $3.85 \pm 0.5 \mu\text{g/mL}$ 、BPP吸入時では  $0.9 \mu\text{g/mL}$ 、CAR吸入時では  $0.5 \mu\text{g/mL}$  で、アロマの単独吸入ではSLFの分泌はほとんど観察されなかった。ところが、IPRとBPPの併用時では  $6.55 \pm 0.4 \mu\text{g/mL}$ 、IPRとCARの併用時では  $5.50 \pm 0.5 \mu\text{g/mL}$  で、IPRとBPPを併用すると分泌量が有意に増加し、IPR単独刺激と比較してSLF濃度も有意に増加した (\* $p < 0.05$ ) (Fig5)。

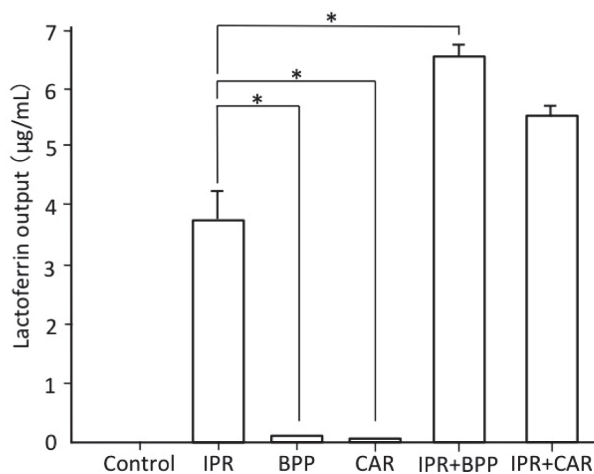


Fig.5

#### 4. 唾液アミラーゼ活性 (SAA)

SAAは交感神経の賦活度の指標として用いた。IPR刺激によって誘発されるSAAは $120 \pm 11$  U/L、BPP吸入では8 U/L、CAR吸入時では2 U/Lであった。アロマの単独吸入ではSAAは僅かであった。ところがIPRとBPPおよびCARの併用吸入によってSAAが大きく増加し、特にIPRとBPPの併用時では $144 \pm 13$  U/LでIPR単独刺激と比較して有意に増加した(\* $p < 0.05$ ) (Fig.6)。IPRとアロマセラピーとを併用するとSAAレベルは大幅に増加したことから、アロマの吸入により交感神経の興奮がさらに亢進することがわかった。

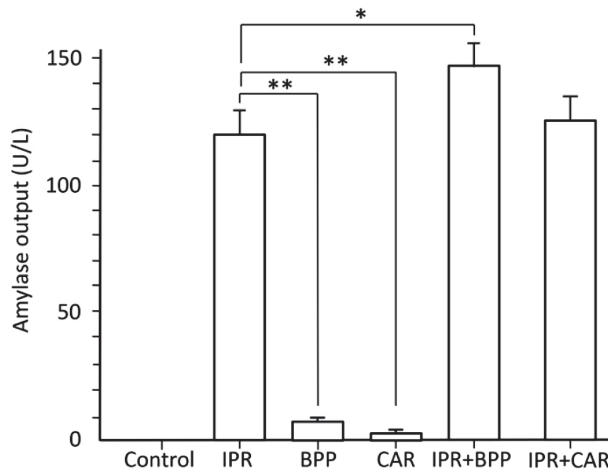


Fig.6

#### 5. 顎下腺の組織総タンパク質量

対照群（安静時）の組織総タンパク質（TP）量は $13.5 \pm 1.5$  mg/100mg腺重量であった。一方、IPR刺激群では $16.7 \pm 2.0$  mg/100mg腺重量、BPP吸入後は $15.6 \pm 1.4$  mg/100mg腺重量、CAR吸入後は $14.2 \pm 1.5$  mg/100mg腺重量であった。TP量はBPPおよびCAR単独吸入群でも対照群と比較して有意に増加した。さらに、IPRとBPPとの併用した時では $19.3 \pm 1.8$  mg/100mg腺重量、IPRとCARとの併用した時では $17.9 \pm 1.7$  mg/100mg腺重量で、アロマの吸引によって腺組織の総タンパク質量が有意に増加することがわかった(\* $p < 0.05$ ) (Fig.7)。

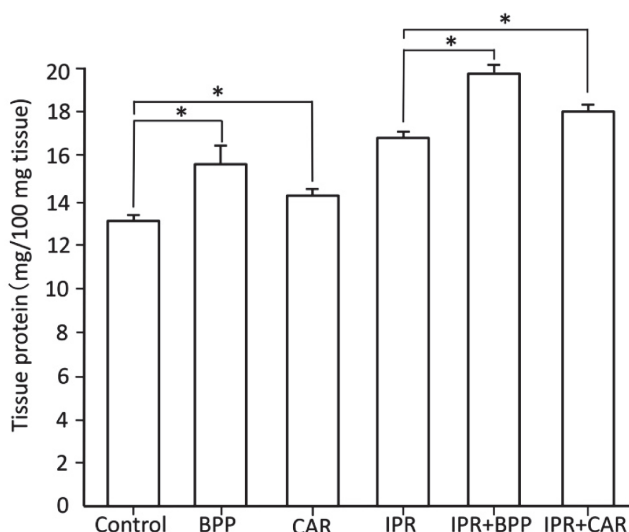


Fig.7

## V. 考 察

対照ラット（安静時）の顎下腺唾液分泌は極めて微量であったので測定不能であった。交感神経刺激（IPR）は、水分泌が少量に関わらずタンパク質が豊富な唾液を分泌した。2 mg/kg 体重の IPR 投与で刺激したラット顎下腺の唾液分泌量は  $9 \pm 1.1 \mu\text{L}/\text{分}/100\text{mg}$  であった。この IPR 投与量はラット顎下腺の分泌閾値である。アロマの吸入によって引き起こされる唾液分泌は IPR 閾値刺激の約 10～20% 程度であったが、IPR と BPP 吸入との併用時では、IPR 刺激と比較して 1.4 倍に増加した。したがって、BPP 吸入は、IPR 刺激と組み合わせると分泌刺激としては自律神経系に相乗効果をもたらすことがわかった。交感神経系では、 $\alpha$ -および  $\beta$ -アドレナリン受容体を刺激することにより、唾液分泌を制御するのでアロマの吸入は自律神経中枢を促進的に刺激すると考えられる。また BPP は唾液分泌の催唾物質であることが示唆された。

SIgA 分泌は BPP または CAR の単独吸入では極めて少量しかみられなかったが、IPR 刺激で BPP または CAR の単独吸入時の 22 倍以上の分泌が観察された。さらに、IPR 刺激とアロマオイル吸引とを併用すると SIgA 分泌は IPR 単独の 1.2 倍以上に増加した。SIgA の最大分泌量は IPR によって引き起こされるがアロマセラピーによって相乗効果することがわかった。

唾液の主要な抗体は唾液腺内の実質細胞によって活発に輸送される SIgA であるが、交感神経が唾液中への SIgA の分泌量を調節することを示唆している。SIgA は高分子免疫グロブリン受容体 (pIgR) を発現する腺房細胞によって経細胞的に輸送されるが<sup>30)</sup>、ラット唾液腺では交感神経系がこの分泌過程を増強する可能性がある。

SLF は唾液中の抗菌因子の 1 つで、Takakura et al.<sup>10)</sup> は口腔病原体 *Candida albicans* への影響<sup>31)</sup> や SLF は歯周病原性細菌に対する抗菌活性と歯周病との関係について報告している<sup>10)</sup>。



また、炎症状態ではSLFは好中球から歯肉溝滲出液中にも分泌されること<sup>12)</sup>や、激しい運動の直後にSLF濃度が変調されることなども報告されている<sup>13),14)</sup>。IPRはBPPまたはCAR吸入よりも25-27倍のSLF分泌を引き起こしたが、アロマオイルとの併用時では、IPR単独刺激と比較して1.1倍に増加した。SLF分泌はCAR吸入により増加したが、その増加はBPP吸入時よりも少量であった。IPRとアロマオイルの併用はSIgAとSLFの両方の分泌に相乗効果があることがわかった。さらにSIgAおよびSLFの分泌はBPPによって誘発され、総タンパク質分泌量に比例した。

自律神経系は身体の生理学的な機能に重要な役割をする唾液腺の生理活性タンパク質の分泌を調節しており、外分泌腺の自律神経による機能調節は生理的発作とストレスに対する重要な反応でもある<sup>32)</sup>。TP量はIPR刺激時の単独刺激と比較して、IPRとアロマセラピーの併用で大幅に増加することがわかった。この結果はアロマ吸入が交感神経の興奮を増強する可能性があり、アロマ刺激の感覚求心路が上位の中樞神経系である可能性を示唆している。また、交感神経刺激によって誘発される唾液中のタンパク組成は異なる結果を示した。SIgAの分泌は交感神経刺激によって大幅に増強されるが、交感神経刺激によって誘発されたSLF分泌はSigA分泌よりもかなりの低レベルであった。SLFは口腔病原菌に対する抗菌因子であると考えられているが<sup>31)</sup>、本研究ではSIgA濃度は安静時のレベルを超えなかった。またアロマ吸入時のSLFレベルの増加はSAAレベルの増加に遅れて観察された。アロマ吸入によるSLF分泌増加への影響はSIgA分泌への影響よりも低いことがわかった。

どのような自律神経受容体がアロマ刺激を伝達するのか、あるいはアロマを用いてSIgAとSLFの分泌を促進するためにどのような反射経路が存在するのかは不明である。いくつかの研究では交感神経伝達物質である5-ヒドロキシトリプタミンとドーパミンは、ローズ、ラベンダー、レモン、ペパーミントなどのアロマオイルによって変調される可能性があるとし唆されており、これらの研究は匂いが人間の神経心理学的および自律神経機能に特定の効果をもたらす可能性があることを一貫して示している<sup>16)</sup>。これらのことはアロマセラピーが心因性ストレスに十分な効果があることを示唆している<sup>36)</sup>。本研究は雄性Wistar系ラットの唾液分泌に対するアロマオイル吸引の生理学的効果を評価するために行ったが、実験結果はアロマセラピーが視床下部-下垂体-副腎皮質（HPA）系の活動を増強することを示唆している。SAAは非侵襲的に交感神経系の興奮のレベルを測定する方法として考えられており<sup>37)</sup>、SAAを各刺激時に測定したところ、顎下腺唾液のSAAレベルはIPR刺激とアロマ吸入の両方を併用した時に大きく上昇することが観察された。心因性ストレス下では顎下腺唾液のSAAレベルは唾液分泌量と関係なく大幅に上昇することが知られているが、本実験では交感神経興奮時のSAAレベルの大幅な増加は唾液分泌量の変化に起因する可能性がある<sup>38)</sup>。

## VI. 結 論

以上の結果から、アロマ吸入時における顎下腺からのタンパク質分泌は交感神経系によって

調節されていることがわかった。また唾液中のSIgAとSLF分泌がアロマ吸入によって増加することから、アロマオイルが唾液の抗菌活性を高め、同時に交感神経系が抗菌作用に対して有用な効果をもたらす可能性があることが示唆された。さらに、視床下部-下垂体系（HPA）のホメオスタシスシステムには、アロマ吸入によって活性化する抗菌タンパク質分泌の反射経路がある可能性が示唆された。

# 【参考文献】

- 1) Vissink A, Burlage FR, Spijkervet FKL, Jansma J, Coppes RP. Prevention and treatment of the consequences of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; **14**: 213-225.
- 2) Streckfus CF, Dubinsky WP. Proteomic analysis of saliva for cancer diagnosis. *Expert Rev Proteomics* 2007; **4**: 329-332.
- 3) Okumura K, Shinohara M, Endo F. Capability of tissue stem cells to organize into salivary rudiments. *Stem Cells Int* 2012; **12**: 11-15.
- 4) Tucker AS. Salivary gland development. *Semin Cell Dev Biol* 2007; **18**: 237-244.
- 5) Hector MP, Linden RWA. Reflexes of salivary secretion. In: Garrett JR, Ekström J, Anderson LC, eds. *Frontiers in Oral Biology: Neural mechanisms of salivary secretion: secretion of saliva is dependent upon stimulus from autonomic nerves that are the effector arms of reflexes activated predominantly by taste*. Basel: Karger, 1999: 196-218.
- 6) Garret JR, Suleiman AM, Anderson LC, Proctor GB. Secretory responses in granular ducts and acini of submandibular glands *in vivo* to parasympathetic or sympathetic nerve stimulation in rats. *Cell Tissue Res* 1991; **264**: 117-126.
- 7) Mostov KE. Transepithelial transport of immunoglobulins. *Ann Rev Immunology* 1994; **12**: 63-84.
- 8) Carpenter GH, Garrett JR, Hartley RH, Proctor GB. The influence of nerves on the secretion of immunoglobulin A into submandibular saliva in rats. *J Physiology* 1998; **512**: 567-573.
- 9) Mandel I. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* 1989; **119**: 298-304.
- 10) Levay PF, Vilijoen M. Lactoferrin: a general review. *Haematologica* 1995; **80**: 252-267.
- 11) Aguilera O, Andres MT, Heath J, Fierro JF, Douglas CWI. Evaluation of the antimicrobial effect of lactoferrin on *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1998; **21**: 29-36.
- 12) Baveye S, Ellass E, Mazurier J, Spik G, Legrand D. Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein involved in the modulation of the inflammatory process. *Clin Chem Lab Med* 1999; **37**: 247-269.
- 13) Shephars GM. Smell images and the flavor system in the human brain. *Nature* 2006; **444**: 316-321.
- 14) Verhagen JV, Engelen L. The neurocognitive bases of human multimodal food perception: sensory integration. *Neurosci Biobehav Rev* 2006; **30**: 613-650.
- 15) Frank RA, Ducheny K, Mizes SS. Strawberry odor, but not red color, enhances the sweetness of sucrose solution. *Chem Senses* 1989; **14**: 371-377.
- 16) Schifferstein HN, Verlegh PW. The role of congruency and pleasantness in odor-induced taste enhancement. *Acta Psychol* 1996; **94**: 87-105.
- 17) Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. *Psychoneuroendocrinology* 2009; **34**: 486-96.
- 18) Bosch JA, Ring C, de Geus EJ. Stress and secretory immunity. *Int Rev Neurobiol* 2002; **52**: 213-53.

- 19) Kang Y. Psychological stress-induced changes in salivary alpha-amylase and adrenergic activity. *Nursing and Health Sciences* 2010; **12**: 477-484.
- 20) Grosser BI, Monti-Bloch, Jennings-White C, Berliner DL. Behavioral and electrophysiological effects of androstadienone. *Psychoneuroendocrinology* 2000; **25**: 289-299.
- 21) Haze S, Sakai K, Gozu Y. Effects of fragrance inhalation on sympathetic activity in normal adults. *Jpn J Pharmacol* 2002; **90**: 247-253.
- 22) Romine IJ, Bush AM, Geist CR. Lavender aromatherapy in recovery from exercise. *Percept Mot Skill* 1999; **88**: 756-758.
- 23) Lee MS, Choi J, Posadzki P, Ernst. Aromatherapy for health care: an overview of systematic reviews. *Maturitas* 2012; **71**: 257-260.
- 24) Lehrner J, Marwinski G, Lehr S, Jöhren P, Deecke L. Ambient odors of orange and lavender reduce anxiety and improve mood in a dental office. *Physiol Behav* 2005; **86**: 92-95.
- 25) Buchbauer G, Jirovetz L, Jäger W, Plank C, Dietrich H. Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation. *J Pharmaceut Sci* 2006; **82**: 660-664.
- 26) Haze S, Sakai K, Gozu Y. Effects of fragrance inhalation on sympathetic activity in normal adults. *Jpn J Pharmacol* 2002; **90**: 247-253.
- 27) Romine IJ, Bush AM, Geist CR. Lavender aromatherapy in recovery from exercise. *Percept Mot Skill* 1999; **88**: 756-758.
- 28) Zimmerman M. Ethical guideline for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* 1983; **16**: 109-110.
- 29) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; **193**: 265-275.
- 30) Carpenter GH, Proctor GB, Ebersole LE, Garrett JR. Secretion of IgA by rat parotid and submandibular cells in response to autonomic stimulation in vitro. *Int Immunopharmacology* 2004; **4**: 1005-1014.
- 31) Takakura N, Wakabayashi H, Yamaguchi, Takase M. Influences of orally administered lactoferrin on IFN- $\gamma$  and IL-10 production by intestinal intraepithelial lymphocytes and mesenteric lymph-node cells. *Biochem Cell Biol* 2006; **84**: 363-368.
- 32) Morris KE, St. Laurent CD, Hoeve RS, Forsythe P, Suresh MR, Mathison RD, Befus AD. Autonomic nervous system regulates secretion of anti-inflammatory prohormone SMR 1 from rat salivary glands. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; **296**: C514-C524.
- 33) Forsythe P, Dery RE, Mathison R, Davison JS, Befus AD. Submandibular gland factors and neuro-endocrine regulation of inflammation and immunity. In: *Autonomic Neuroimmunology*, ed: Goetzl E, Blennerhasset M, Bienenstock J, Reading J, UK: Harwood Academic, 2003: 171-196.
- 34) Komiya M, Takeuchi T, Harada E. Lemon oil vapor causes anti-stress effect via modulating the 5-HT and DA activities in mice. *Behav Brain Res* 2006; **172**: 240-249.
- 35) Small DM, Voss J, Mak YE, Simmons KB, Parrish T, Gitelman D. Experience-dependent neural integration of taste and smell in the human brain. *J Neurophysiol* 2004; **92**: 1892-1903.
- 36) Buchbauer G, Jirovetz L, Jäger W, Plank C, Dietrich H. Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation. *J Pharmaceut Sci* 1993; **82**: 660-664.
- 37) Yamaguchi M, Deguchi M, Wakasugi J, Ono S, Takai N, Higashi T, Mizuno Y. Hand-held monitor of sympathetic nervous system using salivary amylase activity and its validation by driver fatigue assessment. *Biosensors and Bioelectronics* 2006; **21**: 1007-1014.
- 38) Umezu T. Evidence for dopamine involvement in ambulation promoted by polygon in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2010; **94**: 497-502.