

カカオポリフェノールに関する包括的研究



株式会社 明治 夏目みどり

はじめに

カカオ豆は、チョコレートやココアの原料として、アフリカ、中南米、東南アジアの熱帯雨林地域において生産されている。生のカカオ豆を発酵・乾燥させた後、生産工場にて焙焼・磨砕されカカオマスが調製される。このカカオマスに砂糖、ミルク等を加え成型したものがチョコレートであり、油分を一部除いたものがココアである。チョコレートは1797年より日本で食されてきた嗜好食品で、2014年には国内の菓子販売金額が和生菓子を抜きトップになり、身近な食品の1つになっている。我々の研究グループでは、当社の主要商品であるチョコレートの原料であるカカオ豆に含まれるポリフェノールに着目し研究を進め、カカオポリフェノールの構造をはじめ吸収代謝、それらが有する抗酸化作用、抗炎症作用、抗アレルギー作用、抗動脈硬化作用や抗がん作用など多彩な生理機能を明らかにしてきた。以下、これまで行ってきた研究概要についてお示しする。

1. カカオに含まれるポリフェノール成分とその活性

1-1. 成分および抗酸化活性

はじめに、カカオに含まれるポリフェノールの構造を明らかにした。カカオマスを脱脂、70%アセトンで抽出、定法により精製し構造決定をした。フラボノイドである(-)-epicatechin, (+)-catechin, (-)-epicatechinの重合体である2量体のprocyanidin B2, procyanidin B5, 3量体のprocyanidin C1, 4量体のcinnamtannin A2が主要成分であることが確認された(図1)。

次いで、市販のチョコレートやココア中のポリフェノール量を定量分析した。チョコレートやココア中には多くのポリフェノールが含まれていることが確認された。また、チョコレートとココアのポリフェノールの成分の組成比は、異なることが分かった。ココアは、一般にその製造工程中でアルカリゼーションを行なう、そのアルカリによりポリフェノールが分解され、チョコレートとは組成比が異なると推察された。

単離した成分について、その活性を評価した。カカオ豆から

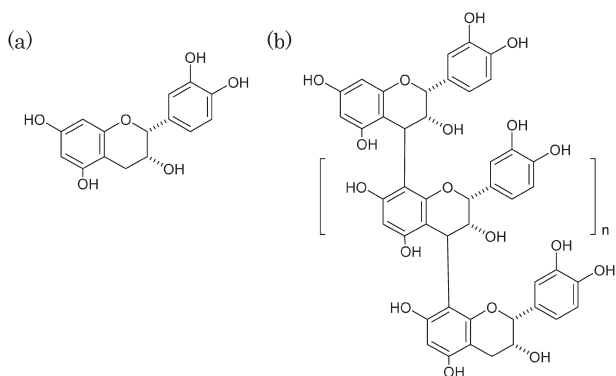


図1 カカオポリフェノールの構造
(a) (-)-epicatechin, (b) procyanidin類

単離した(-)-epicatechinならびにその重合体であるプロシアニジン類の銅イオンを酸化開始剤に用いた際のヒトLDLの酸化抵抗性について調べた。その効果は、銅イオンによって惹起された場合(+)-catechin>procyanidin B2≥(-)-epicatechin≥procyanidin C1>cinnamtannin A2, の順位で活性が認められた。成分によって効果に差はあるものの、いずれの成分にもLDLの酸化を抑制する作用があることが確認された。他にも、赤血球膜酸化抑制や superoxide radical 消去、ニトロチロシン生成抑制を明らかとした。これらの結果が、生活習慣病に対する研究へとつながっていった。

2. カカオポリフェノールの吸収代謝

カカオポリフェノールの生理機能を明らかにするためには、これら成分の吸収代謝について明らかにする必要がある。そのためカカオポリフェノールの主要成分であるエピカテキンの吸収代謝についてラットおよびヒトで評価した。ラットおよびヒトにココアあるいはチョコレートを摂取させ、血中のエピカテキンおよびエピカテキン代謝物の分析を行った。その結果、エピカテキンはラットおよびヒトで摂取後速やかに吸収され、1時間から2時間で最大血中濃度となり、尿中へと排泄されることを確認した。血中では、グルクロン酸や硫酸基で抱合体化された代謝物で存在することを見出した。また尿中の代謝物を定量し、摂取量の30~50%が吸収されることを明らかにした。さらにエピカテキンをラットおよびヒトに摂取させ、尿中から代謝物を精製単離しNMR等を用い、構造を確認した。ラットおよびヒト尿中から得られた代謝物の構造式を示す(図2)。

興味深いことに、ラットとヒトではグルクロン酸抱合体の結合位置が異なることがわかった。これら代謝物のアゾ化合物お

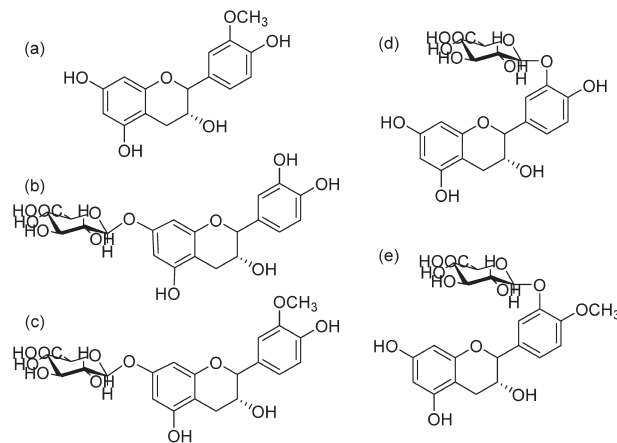


図2 Epicatechinの代謝物の構造
(a) 3'-O-methyl(-)-epicatechin (rat)
(b) (-)-epicatechin-7-O-glucuronide (rat)
(c) 3'-O-methyl(-)-epicatechin-7-O-glucuronide (rat)
(d) (-)-epicatechin-3'-O-glucuronide (human)
(e) 4'-O-methyl(-)-epicatechin-3'-O-glucuronide (human)

よび銅イオンによるヒト LDL の酸化抵抗性を評価したところ、エピカテキンの B 環のヒドロキシル基が抱合体化あるいはメチル化されると、本来エピカテキンが持つ抗酸化活性が減弱した。抗酸化活性という視点では、カテコール構造が重要であることがわかった。吸収代謝、および代謝物の活性を測定することで、体内でのエピカテキンの働きを推察する手がかりとなった。

3. 動物モデルを用いた抗がん作用、動脈硬化、糖代謝への効果

3-1. 抗がん作用

カカオポリフェノールの抗がん作用については、ヘテロサイクリックアミンに対する抗変異原作用、DNA 酸化障害抑制作用といった作用、さらにはマウス皮膚 2 段階発癌試験による抗プロモーション作用がある。またヘテロサイクリックアミンの一種である 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine (PhIP) による乳腺発がんモデルにおいて、カカオポリフェノールの投与が乳腺腫瘍生成に抑制的な作用を示すこと、F344 系雄性ラットを用い、多剤のイニシエーターによる多臓器発がん試験において生存期間を有意に延長させることを報告した。

3-2. 抗動脈硬化作用

脳心血管系疾患は日本人の死因上位の疾患である。その原因である動脈硬化の予防作用について評価を行った。コレステロールを負荷したウサギにカカオポリフェノール含有餌を摂取させると、血中 LDL の酸化抵抗性の増加が認められた。さらに Apo-E 欠損マウスを用いた実験では、カカオポリフェノール摂取が病理学的評価により動脈硬化病変を抑制することや大動脈弓においてコレステロールの結晶の増加が抑制されたことを明らかにした。同時に、病変部位での接着因子の発現抑制や、dityrosine などの修飾タンパク質の発現抑制を確認した。その他、肝細胞 HepG2 を用いた評価では、カカオポリフェノールの各成分が ApoA1 タンパク質の増加促進作用や LDL Receptor の発現低下作用を示すことを見出し、カカオポリフェノールがコレステロール代謝に与える影響の作用メカニズムを明らかにした。カカオポリフェノールが動脈硬化を抑制する働きがあることが推察され、臨床試験へとつながった。

3-3. 糖代謝への作用

糖尿病の罹患率が世界中で増加していること、加えて糖代謝異常は動脈硬化発症の一要因であることから、糖尿病予防を目的として糖代謝への作用についてカカオポリフェノールの評価を行った。Streptozotocin で膵臓機能を低下させ糖尿病を発症させたラットでは、コントロール群に比較し、カカオポリフェノール群で血糖値、尿糖値が有意に低いことが確認され、さらに白内障について評価した結果、その白濁が抑制されていることが確認された。またカカオポリフェノールには、筋肉細胞での Glut4 の誘導やインクレチンの誘導効果が認められることが分かった。カカオポリフェノールの摂取により、糖代謝異常や糖代謝異常によって生じる QOL 低下が抑制される可能性が示唆された。

4. 高カカオポリフェノールココアならびに高カカオチョコレートによる臨床試験

動物実験の結果からココアやチョコレートをを用いた臨床試験を行い、その健康効果について評価を進めた。

4-1. ココアによる脂質代謝に関する臨床試験

動物実験によってカカオポリフェノールの LDL 酸化抑制作用等が明らかになったことから臨床試験での評価を行なうことにした。健康な日本人の男女 160 名を 4 群に分け、カカオポリフェノールを含まないプラセボココアと濃度の異なる 3 種類のココアを、それぞれ 4 週間摂取させた。その結果ポリフェノールを含むココアを摂取させた被験者では、LDL-コレステロール濃度の低下、HDL-コレステロールの上昇、LDL-コレステロールの酸化抵抗性の上昇が認められた。また摂取前の LDL-コレステロールが 125 mg/dL 以上の被験者ではそれらの結果が顕著になることが分かった。これらの結果よりカカオポリフェノールは動脈硬化発症を予防する可能性を示した。

4-2. チョコレートによる生活習慣病に関する大規模臨床試験

高カカオチョコレート を 4 週間摂取させたときの生活習慣病への影響について、健康な日本人男女 347 名を対象に評価を行った。その結果、血圧低下作用、HDL コレステロールの上昇、酸化マーカーである 8-OHdG の低下、炎症マーカーである hs-CRP の低下が認められた。これら結果から高カカオチョコレートを摂取することで、動脈硬化進展を抑制する方向で働く可能性を見出した。

おわりに

カカオポリフェノールは、*in vitro* ならびに動物実験により抗酸化活性、糖代謝、脂質代謝改善作用、動脈硬化抑制作用などを有することが認められた。さらに臨床試験ではカカオポリフェノールを多く含むココアやチョコレートを摂取することで、脂質代謝改善や血圧の低下作用などが認められた。海外の疫学研究においてカカオ製品を摂取することで心疾患の発症率が低いことが報告されている。これらの結果を併せて考えるとカカオ製品の摂取により動脈硬化発症を遅延させる働きがあることが推察される。心疾患の死亡者数が増えている日本で、おいしく健康に良いカカオ製品を提供することで、心疾患発症を予防する一助になればと考えている。

謝辞 本研究のご指導をいただきました名古屋大学大学院(現 愛知学院大学)大澤俊彦教授、徳島大学大学院(現 甲南大学)寺尾純二教授、岡山大学大学院吉田隆志名誉教授、波多野力教授、お茶の水女子大学(現 東洋大学)近藤和雄教授、神戸大学大学院芦田均教授に感謝いたします。また、本研究は、明治製菓株式会社並びに株式会社 明治にて、中村哲夫、滝沢登志雄、越阪部奈緒美(現 芝浦工業大学教授)、馬場星吾、染谷恵、三本木千秋、草野亜紀子、佐々木和恵、武藤裕子、福田久美子、伊藤裕之、山地健人、大柴幸男など多くの先輩方、同僚とで行った研究です。関係者の皆様に、この場を借りまして御礼申し上げます。