

カカオマスはエンドトキシンによる 臓器障害を制御する

間藤 卓（埼玉医科大学総合医療センター高度救命救急センター講師）

我々は、ほとんど偶然の機会からカカオと巡り会い、今日、カカオを医療に役立てることを目的とした研究を行っているグループです。以下、我々が明らかにしつつある、カカオの新しい効能について、お話ししたいと思います。

はじめに

我々は、高度救命救急センターといわれる3次医療施設、すなわち生命が危機的な状況にある患者さんを主な対象とする医療施設で診療を行っています。このように生命が危険な状態にある患者さんを対象とする場合は、通常の病気や外傷以上にいろいろな点で、慎重かつ綿密に治療を進めなくてはなりません。その中でも特に留意しなくてはならないことは、このような患者さんは、本来の病気や傷の治療だけでなく、その全身の状態を常に把握し、積極的に全身管理（←やや不適切な言葉ですが、医学では慣用的に用いられていますのでご容赦下さい）を行わなくてはならないという点です。

具体的には、折れた骨をきれいにつないで、傷を一生懸命縫っても、それだけでは患者さんは元気に歩いて退院できないということです。なぜなら、たとえば大腿骨などの太い骨が折れると、（詳しい機序は省略させていただきます→もし興味があれば個別にお尋ね下さい）呼吸状態が悪くなったり、意識障害が出現したりと、全身に影響が出ます。またそのような全身に対して診断・治療が行われないとたとえ、骨折部分の手術が成功しても、この患者さんの生命予後はきわめて厳しい状態になるわけです。

さらにバイク事故（増えています！）などで、衝突でまず外傷をうけ、さらに投げ出されて道路に強く打ち付けられる（さらに後続車に轢かれる…）など、多発外傷といわれるような頭部、胸部、腹部、四肢などに複数の外傷があるような場合は、当然、状況はますます厳しくなります。

とはいえ、厳しいからと諦めていては我々の存在意義がなくなってしまうので、このような患者さんに対して、日夜必死になって救命医療を行っているわけです。

今回は、そのような医学、つまり救急医療および集中治療の領域で、今日、もっとも重大な障害と言われている現象にたいして、カカオが有効であるという、我々のかなりユニークかつ興味深い研究結果をお示ししたいと思います。

LPSは患者の生命を脅かす黒幕的存在

それには、まずLPSといわれる物質についてお話しなくてはなりません。LPSは、lipopolysaccharide、リポ多糖類の略で、一般的にはエンドトキシン（endotoxin）ともいわれる物質です（表1）。

表1 細菌の毒素

	外毒素（エクソトキシン）	内毒素（エンドトキシン）
存在場所	菌体外に分泌	グラム陰性菌の菌体内（外膜）
毒素の本体	タンパク質 あるいはペプチド	リポ多糖類（活性は主に リポドA部分が担う）
加熱に対して	不安定（時に耐熱）	安定
抗原性	抗体誘導容易	抗体誘導困難
トキシoid化	できる（ワクチンとして 用いる）	できない
毒性	各毒素はそれぞれ特異的な 作用をもつ	生物作用はいずれの菌の 内毒素も似ている 作用は多様

トキシンとつくことから想像できるように、元来、非常に強い「毒素」として発見されたものです。

ともあれ、歴史は古く1865年、Billrothが少量の生菌あるいは死菌を含んだ水をイヌに注射すると体温が上昇することを見いだしており、これが最初のエンドトキシンに関する報告とされています。その後、この物質により、ショック症状、ひいては死に至ることが判明し、菌体には毒素として働く物質が含まれていることが推察されました。これがエンドトキシンです。

このエンドトキシンは、グラム陰性菌（細菌はグラム染色により、グラム陽性菌と、グラム陰性菌に分けられます。グラム陽性菌には、例のブドウ球菌やレンサ球菌、グラム陰性菌には、大腸菌やサルモネラ菌などその他多くの種類の細菌が含まれます）といわれる菌群の一番外の膜（外膜：あくまで菌体構成成分で、菌の生存中に体外に分泌などはしない）に含まれていることが判りましたが、その複雑な構造から、物質として抽出されたのは1930年代、正確な構造が確定したのは1980年代です。

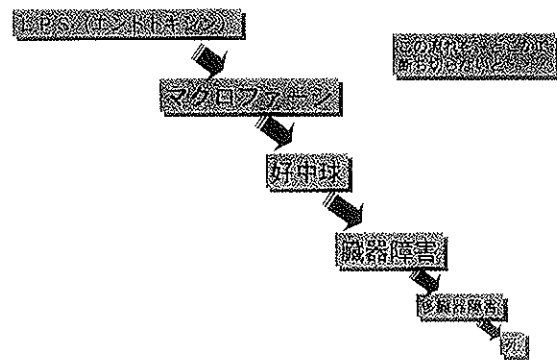
ごく簡単には、グルコサミンなどのアミノ糖と3~4本の脂肪酸からなるリポドAとヘキサースやヘプトースなど糖類からなるRコア、さらにO多糖といわれる多糖類からなっており、細菌の種類などで、細かな相違があります。生理活性としての観点からはエンドトキシン、物質名としてLPSと呼ばれているわけです。

この物質には興味深い点が多くありますが、その一つに細菌にひろく存在する物質である一方、カプトガニなどの進化的に下等な生物からヒトに至るまでのきわめて広い生物界において、毒素として作用することがあげられます。たとえば、カプトガニの体液は、極々微量のエンドトキシンによりゲル化することが知られています（これは体内に侵入した細菌を、ゲル化により包囲しそれ以上の拡大を防ぐメカニズムと考えられます）が、実はこれが今日、患者さんの血液中のエンドトキシンを測定する原理となっています。（試薬は未だにカプトガニの体液から精製しているらしい←ただしカプトガニは殺さず、一定量を採取したら、また海へ戻すらしい）

卑近なメリットは別にして、これは進化論的には、細菌界と動物界の戦いは非常に太古から一貫して続いており、そのなかで動物は、細菌を代表し、細菌の体内への侵入を検知する物質、さらには侵入後の体内の防御機構を始動させるトリガーとして、エンドトキシンを使っていることを示していると考えられます。

ヒトにおいてもエンドトキシンは非常に微量(1.5ng/kg静脈注射程度)で生体に種々な反応を引き起こすことが知られています。ヒトでは免疫系の細胞が、非常に鋭敏に反応することが知られ、発熱以外にも、血圧が下がり種々の障害を引き起こす原因となるショック症状、さらには血管内で血液が凝固してしまい致命的な状態となるDIC(播種性血管内凝固症候群)、このような状態がさらに持続するとやがて多臓器不全などを引き起こすことが知られています(図1)。影響を及ぼす

図1 多臓器障害(MOF)の成立



器官としては、マクロファージや好中球さらにリンパ球系などの免疫系のほか血管内皮や脳神経細胞系、内分泌系などに広く影響を与えることも知られてきています。ただし一概に生体に不利に働くわけではなく、少量のエンドトキシンは免疫系の賦活、抗腫瘍作用など生体に有用な面も持っています。

我々はこの物質を、広く生理活性を持つ物質として捉えたいという考えから、エンドトキシン(内毒素)という限定的な意味合いではなく、物質を指すLPSと呼ぶことにさせて頂きたいと思えます。

それでは、このLPSと重症患者の間には、どのような関係があるのでしょうか。

当初、このエンドトキシンは、(当たり前と言われそうですが)グラム陰性菌による感染時ののみ問題となると思われていました。ところがごく最近になって、患者さんが重症な状態にある場合には、どうやら日常的にエンドトキシンの悪影響に晒されていることが明らかになってきたのです。

以下では、LPSが病気の重症化の黒幕である、という我々でも当初はにわかに信じがたい関係が明らかになるまでの経過を簡単に説明いたします。

事はやはり1980年代にさかのぼります(とはいえ、ごく最近…ようにするにこの領域は新しい学問なのです)、ベトナム戦争などの戦争医学から得た知識・経験を元に外傷医学のほか、人工呼吸管理や中心静脈栄養など今日の救急・集中治療において主要な医療技術がほぼ完成の域に達してありました。

そのような中、さらなる集中治療下の重症患者の死亡率の低下・予後の改善を目指して解析が行われたところ、意外な結果が判明しました。それは、多くの重症患者において死因は(本来の疾患の悪化ではなく)、最終的には敗血症→多臓器不全という似通った病態で死亡しているという事実です。

敗血症とは、細菌が全身を流れる血液中からも検出されるという非常に重篤、ある種究極的な感染症の状態です。こうなると治療は困難で、致死率も非常に高いものになります。そこでまず問題となるのは、それまでの病態とはあまり関係なく(あいまいな言い方ですみません)敗血症になるとすると、その原因となる細菌はなにか、そしてどこから来たかです。

常識的に考えれば、肺炎があれば肺から肺炎の起因菌ということになるでしょう。確かに経過の初

期は、体の各部分の感染からの影響が大きいようでした。しかし病が進むにつれて、状況は変化して行きます。ではいったい、ただでさえ大変なときに、乱入してトドメを刺しに来る細菌たちは、何者か…で、答えを言いますと、血液中から検出される細菌のほとんどは、腸内細菌群、つまり腸管内に常在もしくは生き残っていた大腸菌などのグラム陰性杆菌でした。ここで注意したいのは、この大腸菌は、最近問題となっているようなO-157などのいわゆる毒素を体外に分泌して生体にダメージを与える病原性大腸菌などといわれるタイプではなく、あくまで“ふつう”の大腸菌であることです。つまり通常、腸管内にいる大腸菌およびその菌体の一部が、血液中に流入し、敗血症を起こしていることになります。

聡明な諸兄はもうお判りかと思われそうですが、この大腸菌由来のLPS＝エンドトキシンが発熱、ショック、多臓器不全を起こして、トドメを刺していたわけです。

そこで、次に問題となるのは、なぜ重症な患者さんに限って腸内細菌が血液中出现するのかです。大腸菌などの腸内細菌は、普段から腸管内に天文学的な数で存在しているわけですが、健康な我々はそれで何ともないわけです。つまり、それらの菌もしくは菌由来のLPSが体内に流入する、何らかの原因・機序および特定の条件下があるはずなんです。

その謎を解くヒントは、ある臨床比較試験から得られました。

その研究は、重症患者への栄養の投与方法について行われたもので、古くから行われている鼻から細い管を入れて流動食を注入するいわゆる経腸栄養と、腸管を経由せず直接太い静脈にブドウ糖やビタミン類を投与する中心静脈栄養です。経腸栄養に比較して、中心静脈栄養は、高度に精製したブドウ糖などの栄養素や塩類、多種の微量ビタミン類を、完全な無菌下で調製、投与せねばならず非常にコストのかかる栄養法です。その一方で、誤嚥の心配も少なく、なにより腸管に損傷などを受けていても栄養投与が可能であり、爆弾などで腹部外傷を負った場合でもためらわず使用できるメリットがありました。研究は、その両者が適応可能な症例において、コスト対デメリットの比較を目的としたものでした（想像も入りますが、cost/benefitの評価に厳しいアメリカで、研究者は、たぶんコスト的に圧倒的に有利である経腸栄養が、両者が選択できる状況下において、中心静脈栄養に劣らない効果をあげる、ということを検証したかったのだと思います）ところが、得られた結果は驚くべきものでした。なんと重症患者の栄養管理において、経腸栄養を施行した群の方が、致死率があきらかに低かったのです。（驚いてばかりですみません。しかし当時、いままでやってきたのは何だったのだろう…と、我々も愕然としました）

そして現在に至る精力的な研究から、その機序はかなり明らかになってきました。

端的に言いますと、一番大きな理由は、中心静脈栄養では（当たり前ですが）腸管が全く使われず、一種廃用萎縮として腸管の壁が非薄化してペラペラになり、腸内細菌の体内への侵入を防ぐための十分なバリアとなり得なくなるということが挙げられます。この腸管の健全化には、とくに食物に含まれる食物繊維が重要であることが指摘されています。

さらに、ある種のアミノ酸（グルタミン）は、必須アミノ酸ではないものの腸管の壁を健常に維持するためには相当量が必要である、一方中心静脈栄養では溶解度の点から十分量が含まれていなかったことも、判明しました。

要するに、我々が良かれと思って行っていた（当時）最新の医療が必ずしもベストの方法では無かった訳です。

今日、我々は可及的に経腸栄養を適用し、重症患者さんの栄養管理を行っています。しかしそれだけですべての問題が解決したわけではありません。一つは、経腸栄養剤として用いる栄養剤の成分についての問題です。現在販売されている経腸栄養剤は、本来咀嚼や嚥下が困難な患者を対象に開発されています。つまり今まで述べてきたような多発外傷患者や重症患者さんへの栄養法をターゲットにはしていないのです。むしろ全く考慮していないことはないでしょうが、お年寄りや、このような患者さんにおいて、カロリー量以外にも、必要とされる栄養素の組成バランスにおいて違いが出てくるのは当然です。このような観点から、我々は、組織の修復に必須な亜鉛や鉄などのミネラルに富み、また腸管の健全化や潰瘍防止作用をもつ食物繊維に富み、さらにはポリフェノールなどの有効成分を含むカカオを、投与しやすい形としてココアとして利用することを考案しました。

その成果として、まずは看護婦さんたちによって見いだされた便秘改善効果と便臭低減効果という、若干意外な（正直、便臭の低減までは予想していなかった）しかし興味深い「効果」を、今年のチョコレートココアシンポジウムで発表させていただきました。

そして本年は、いよいよ重症患者における経腸栄養復活の原動力ともなったLPSとの関係に、カカオがどのような効果を及ぼすかを発表させていただきます。

LPS投与に対するココアの効果を検討する

検討は、なにせ患者さんで安易に検討できる内容ではありませんから、ラットとマウス（大きなネズミと小さなネズミ）などの小動物を用いて実験を行いました。

以前にもお話いたしましたようにカカオの添加法としては、経腸栄養への添加が簡便で量の調節が容易な点から、我々はココアを使用していますが、ネズミたちはココアを飲みませんので、ココア（Morinaga pure cocoa）を通常の固形飼料（日本クレアCE-2）に12.5%添加したものを作製し、これで一定期間ネズミを飼育して実験を行っています。比較には通常の固形飼料を使用しています。

ちなみに、このココア添加固形飼料は、脂肪分は4.4から6.7%に増えていますが、カロリー的には殆ど差が無く、繊維は4%から8%に増えていきます。この飼料で飼育したマウスの体重に差は出でず、危惧されるような興奮などの行動異常も無いようです。（私とナース6名で、この餌でハムスターを飼っていますが、結構いけてます（笑）。このままハムスターの餌としても売り出せるのではないかと考えています）

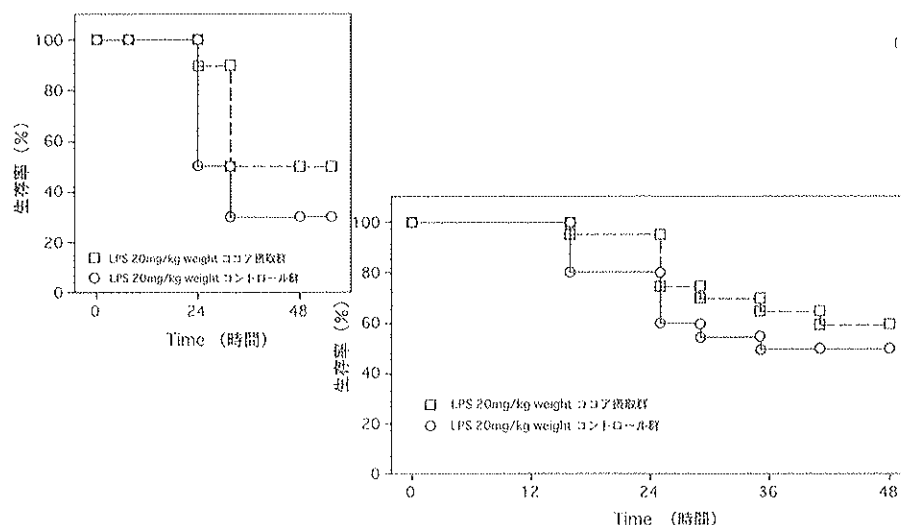
この飼料で飼育したネズミを用いた実験の結果の要点をお示しします。いずれもつい最近得られたばかりの最新の結果ですので、詳細をご希望の方は論文投稿中につき、お手数ですがそちらをご参照下さい。

(1) ココア添加のマウスにおける生存率の差

ココア添加飼料にて2週間飼育したマウスに20mg/kgのLPSを腹腔内投与し、その後の生存率を観察しました（図2）。残念ながら0.05以下の有意差をもって生存率の差を出すことは出来ませんでした（最高0.070）、多少の投与量などの条件を変えて行った3回の実験では、3回ともココア投与群において死亡率が低くなっており、何らかの差が現れていることを予想させます。現在実験法を

変えて検討をおこなっているところです。

図2 LPS投与による生存曲線



(2) ココア添加のマウスにおける組織障害の差

同じくココア添加飼料にて2週間飼育したマウスに、LPSを1.0mg/kg腹腔内投与しました（あんまり投与すると死んでしまう）。そして、48時間後に肺、肝、腎臓などの組織標本を作製し、H.E.、PAS染色などの方法で染めて顕微鏡下で検討しました。検討の結果、肺や肝臓で所見に差が認められました（図3、4）。とくに肺では、通常の餌で飼育したマウスでは、肺胞内には、浸潤した主に好中球と思われる細胞が多数認められ、それ以外にもPAS陽性の浸出物が肺胞内を占めていますが、ココア添加群ではこの程度が明らかに軽減しています。一方、今回の検討では、腎には明らかな差は認められませんでした（図5）。

先に述べた人の敗血症などで引き起こされる呼吸不全はARDS（adult respiratory distress syndrome、成人呼吸促進症候群）とよばれ、多臓器不全の中で最終的に死の原因となることの多い病態です。今回マウスにLPSを投与して作成した肺の障害は、このARDSと同様の病態と考えられますので、ココア添加により肺の所見に差が見いだされたことは、カカオが、何らかの機序によりLPS

図3 LPS投与による組織障害—肺—

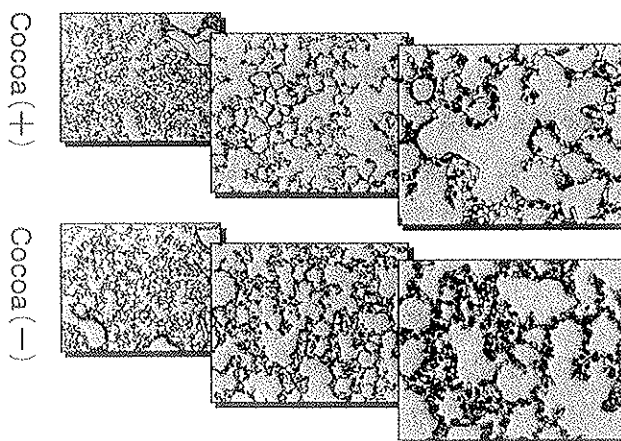
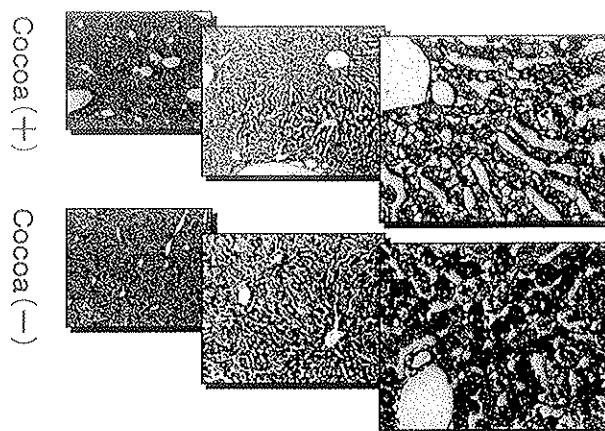
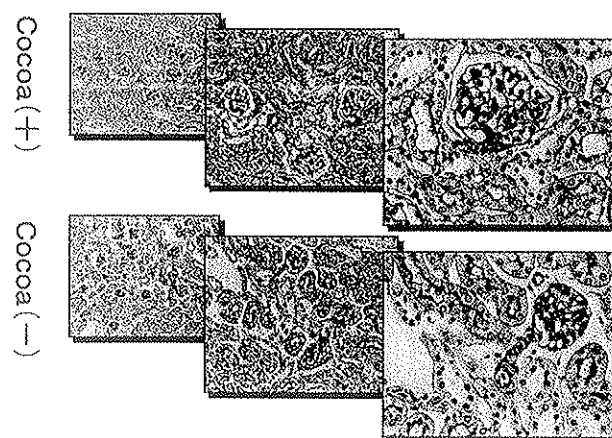


図4 LPS投与による組織障害—肝臓—



による肺の障害を抑制したことを示唆していると言って良いと思います。

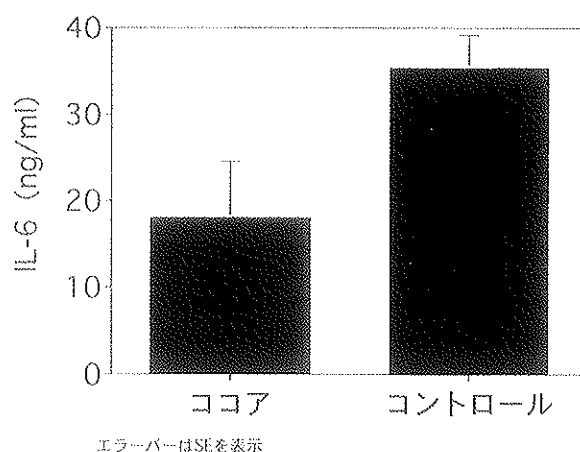
図5 LPS投与による組織障害—腎臓—



(3) ココア添加のマウスにおけるIL-6値の差

IL-6は、炎症時に上昇するサイトカインの一つで、ヒトでも手術侵襲などの評価として測定されています。ここではLPSをマウスの腹腔に1.0mg/kg投与し、LPSによっておこる炎症の示標として測定してみました。その結果、通常の飼料群では、IL-6が上昇する一方、ココア添加群では、あきらかにIL-6の上昇が抑制されています(図6)。今回の検討では匹数が少ないため、今後実験を追加する予定です。

図6 LPS投与における血中IL-6の濃度



ココアはLPSの作用を抑制する

現在、さらに詳細な検討を行っているところですが、以上の実験の結果は、ココアというかカカオが、LPSによって惹起される生体の望ましくない反応を抑制することを示していると考えられます。このことから、先に述べた敗血症→多臓器不全を防止するためにおこなう経腸栄養のメリットに加え、経腸栄養にココアを添加すると、さらにこのような病態を改善できる可能性を示していると言えます。むろん、これらの効果はヒトにおいて、ダブルブラインドなどの検討で証明されたわけではありませんから、現時点で重症患者に投与しても直ちに効果があると断じるのは早計です。

また、この効果を発揮している成分については、現在のところはっきりしていません。ココアに含まれる抗菌成分が腸内細菌に影響を与え(この点についても現在検討中です)腸管内のグラム陰性杆菌の数や種類を変えている可能性もありますし、従来より判明しているココアの良質かつ豊富な食物繊維が、腸管壁をより健全化している可能性もあります。

またココアの熱湯抽出液に含まれる物質がLPSを直接ブロック(無毒化)することを示唆する実験結果も実は我々は有しており、この点も現在さらに検討しております。さらに亜鉛やポリフェノ

ールなどの物質が、炎症をコントロールし、その結果、LPSへの反応性を低下させているのかもしれませんが。そしてもちろんある物質が単独で作用している可能性も否定はできませんが、カカオに含まれる数十、数百の複数の物質が協調して、この興味深い効果を発揮させているかもしれません。個人的には後者のほうが面白いと思っていますが…。

ともあれココアは長年、嗜好品として愛されてきており、まだ飲んだことがないという方はまずいません。そのため、食物アレルギーなどの心配が殆どなく（あらかじめ判っているから）、添加、調節も容易であり、その他の効能の明らかな成分も多いため、食物としての摂取・添加に支障は少ないと考えます。つまり現場の医療への応用は容易で、また我々のような特殊な状況以外でも、もっと軽症の患者さんや、小児、老人医療の分野でも効果が期待できるということです。

これから

現在、今回の発表以外にも、ココアに関して臨床の現場から多くの興味深い知見が得られています。そのなかには、みなさんがなるほどと思っていたけるものから、「えっ」と思われるようなものまであります。しばらくはココアを相手に飽きることもなさそうなので、またデータがまとまりましたら、発表させていただきたいと思います。