

カカオマスの血液流動性改善効果

西堀 すき江 (東海学園女子短期大学教授)

血栓性疾患は、動脈の硬化による血管の柔軟性の欠如を基礎疾患とし、これに血小板凝集能の亢進、赤血球変形能の低下などによる血液流動性の低下の原因も加わる。近年、フレンチパラドックス以降、赤ワイン中のポリフェノールに注目が集まり、カカオマスポリフェノール (CMP) についても種々の研究がなされている。しかし、フレンチパラドックスの根拠となった虚血性心疾患への直接的効果と関連を持つと考えられる血流への影響に関する報告はほとんどみられない。そこで今回、CMP、チョコレート、ココア摂食における血流への影響を、毛細血管モデルを組み込んだ血流測定装置を用いて検討した。さらに、CMPに存在するポリフェノール、アルカロイドなどの標品6種類を用い、*in vitro*でも検討したので報告する。

1. 摂食実験 (*in vivo*)

【実験方法】

CMPを250mg、500mg、1000mgポリフェノール量相当量になるように摂取し、摂食前後における血流量の変化を検討した。チョコレート、ココアのそれぞれは500mg相当量を摂取し、同様に検討した。採血はヘパリン採血 (血液9.5量に対し、ヘパリンナトリウム溶液0.5量) で、得られた新鮮な全血を、幅7 μ m、長さ30 μ m、深さ4.5 μ mの血液フィルターチップ (Bloody 6-7; 日立原町電子工業) を用い、MC-FANで測定した。

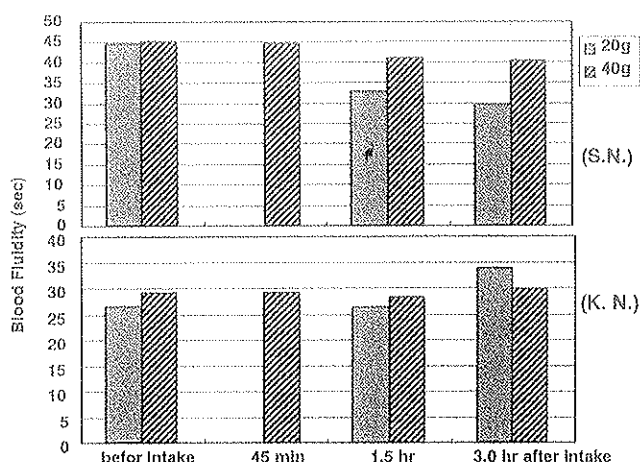
【結果】

(1)CMP

摂食後の測定時間の検討を含め、CMPの摂食による血流促進効果の実験を行った (Fig.1)。摂食量はカカオマス20g (ポリフェノール量500mg)、40g (同1,000mg) の2段階とし、それぞれ摂食後、45分、1.5時間、3時間に採血を行った。被験者は共同研究者2名で、繰り返し摂食実験をおこなった。

その結果、40g摂食実験での経時的な血流量の変化を見ると、S.N、K.Nの何れにおいても摂食後45分では変化がなかったが、1.5時間では血流が6.0%、5.2%早くなった。摂食後3時間では、S.Nは11.1%とさらに早くなったが、K.Nでは-2.1%と改善効果がみられなくなった。この実験結果から、カカオマスの場合摂食後

Fig.1 Effect of Cacao mass on Blood Fluidity



45分では効果がなく、1.5時間後から血流に変化があらわれることがわかった。そこで、20g摂食実験では、摂食後1.5時間、3時間を測定することにした。

20g摂食実験においてS.Nは1.5時間後、3時間後と、一定量の血流の速度が顕著に早くなり、30.2%、33.6%の向上率を示した。しかし、摂食前の血流が健常な女性の平均的血流速（35~45sec/100 μ l）より早かったK.Nにおいては1.5時間で3.0%の改善率であったが、3時間後では-15.5%と血流が遅くなった。この結果から、以後の摂食実験は、1.5時間後に採血し、血流の改善効果を検討することにした。

(2)ココア

カカオマス摂食実験から、ポリフェノール摂取量は500mg（カカオマス20g）が1,000mg（40g）より血流に及ぼす改善効果が顕著であったので、ココア（「ココア効果」、明治製菓（株）製の摂取量は23g（ポリフェノール量500mg相当量）で行った（Fig.2）。

その結果、K.N 12.7%、S.N 19.3%と血流の高い改善効果が認められた。しかし、S.Aは0.2%にとどまった。S.Aは日頃ビタミンC、Eなどの含有されている栄養サプリメントを常用していることから、顕著な改善効果が現れなかったと考えられる。

(3)チョコレート

①共同研究者による摂食実験

チョコレート摂取実験は、「チョコレート効果」（明治製菓（株）製、ポリフェノール含量2,000mg/100g）25gを用い行った（Fig.3）。摂食後の採血はココア摂食実験と同様に摂食1.5時間後に行った。

チョコレート摂食による血流の変化は、K.N、S.N、T.Mの3人には2.9~5.6%の改善効果が認められた。しかし、ココア摂取実験で改善率の低かったS.Aは、-6.1%と改善効果が全く見られなかった。この理由として、ココア摂取の場合と同じく、栄養サプリメントの常用による影響が考えられる。

初めて男性の被験者で摂食実験を行った。この男性被験者（T.M）は、健常な男性の平均的な血流速（40~55sec/100 μ l）と比較すると、やや早い区分に分類されるが、チョコレート摂食により5.6%の改善効果が認められた。

②医療関係施設勤務者による摂食実験

今まで、摂食実験を共同研究者のみ被験者としてきたが、医療関係施設勤務のボランティア等11

Fig.2 Effect of Cocoa on Blood Fluidity

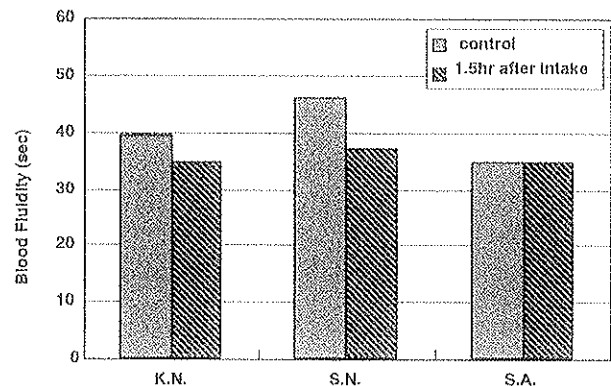


Fig.3 Effect of Chocolate on Blood Fluidity

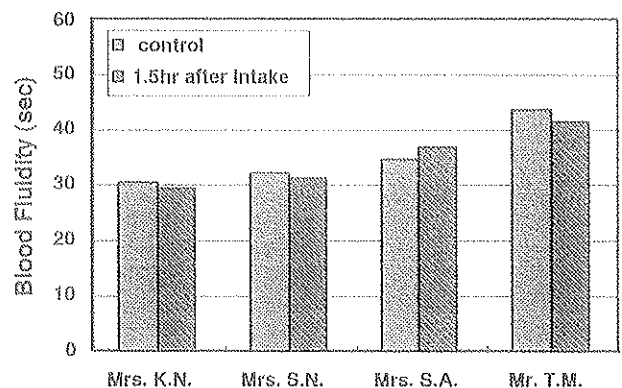


Fig.4 Effect of Chocolate on Blood Fluidity

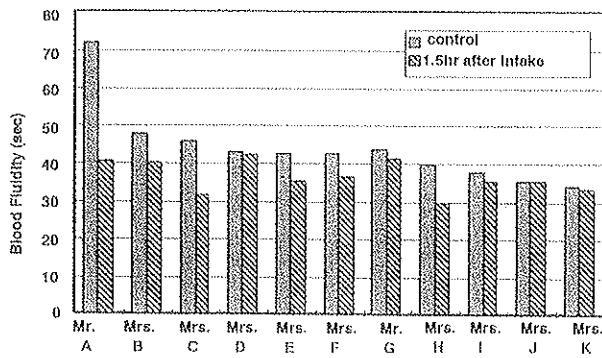
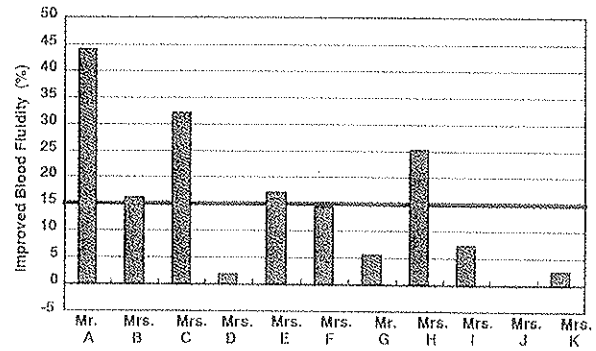


Fig.5 Changes of Blood Flow Rate after 1.5hours by Chocolate Intake

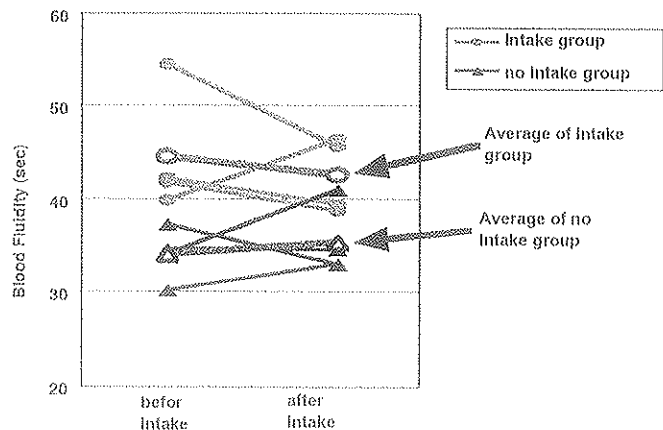


名を被験者として、チョコレート摂食実験を同条件で行った (Fig.4)。その結果、摂食前の血流が非常に遅かった被験者Aは最も改善効果が認められ、44.0%の向上率を示した。最も改善効果の低かった被験者Kは0.2%で、11人の平均向上率は15.1%であった。摂食による影響は、摂食前の血流が遅い被験者ほど改善される傾向が見られるが、被験者CやHのように、摂食前の血流が比較的早い人においても31.8%、25.2%と高い改善率を示すこともあった (Fig.5)。被験者の中には種々の薬を服用している人もいたがほぼ全員が血流が早くなった。

③寮生による摂食実験

本学寮生ボランティア8人を被験者とし、摂食グループと非摂食グループの2群に分け、3日間の摂食実験をおこなった。チョコレートの摂食量は1箱/1日とし、食事は、朝、夕は寮の食事、昼は学食で、全員同じメニューを同じ量だけ摂取するという条件で行った (Fig.6)。その結果、最も改善効果が認められたのは、摂食グループの16.2%であった。摂食グループ4人中3人は血流に改善が認められ、-16.7~16.2%の幅で変化した。一方、非摂食グループは1人のみ11.7%と早くなったが、1人はほとんど変化が

Fig.6 Change of Blood Fluidity by Chocolate Intake for 3Days



なく、2人は遅くなった。摂食グループの平均向上率は33.3%、非摂食グループは-4.5%であった。以上、カカオマス、ココア、チョコレートの摂食実験により、血流改善効果を認めたことから、カカオマス中のポリフェノールについて検討することにした。

2. カカオマス中成分の血流改善効果

【実験方法】

標品 (エピカテキン、カテキン、ケルセチン、ポリフェノール混合物 (カテキン類、プロシアニジン類、シンナムタンニンなど)、カフェイン、テオブロミン) の 0.1 μM~10mM濃度 (血中終濃度0.001~100 μM) について血流量の変化を検討した。試料血液はヘパリン採血で得られたヒト静

脈血を自家血漿により4倍希釈に調整し、これに標品希釈液を添加して血流への影響を、*in vivo*と同様にMC-FANで測定した。

【結果】

(1)等モルでの比較

各1mMサンプル液（終濃度 $10\mu\text{M}$ 、1/4血液1ml中にサンプル $10\mu\text{M}$ 添加）を用い血流を測定した結果、カカオマス中に存在するポリフェノールのカテキンが14.3%と最も高い改善効果を示した。次に活性の高かったのはエピカテキンで、改善率は7.0%であった（Fig.7）。しかし、分子量が大きいポリフェノール混合物は血流にほとんど影響を与えなかった。アルカロイドのカフェインは全く血液の改善効果を示さなかった。

(2)活性限界

次に、活性の認められたカテキン、エピカテキン、ケルセチン、テオブロミンの活性限界を検討した（Fig.8）。

Fig.7 Improvement of Blood Fluidity by 1mM Polyphenols and Alkaloids

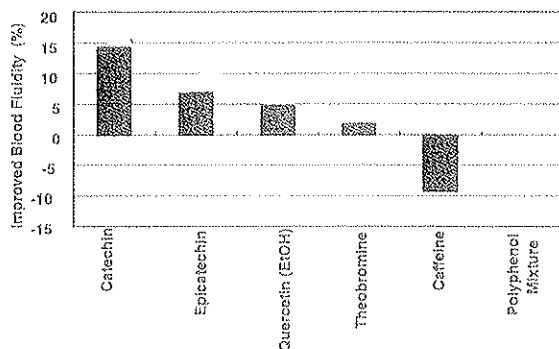
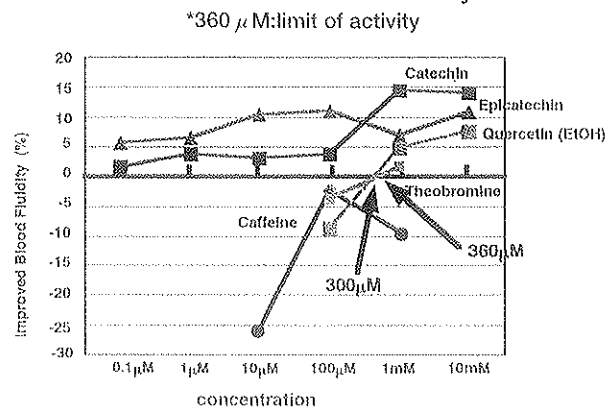


Fig.8 Effect of Various Polyphenols and Alkaloids on Blood Fluidity



その結果、1mM（血中終濃度 $10\mu\text{M}$ ）濃度で比較的強い活性の見られたケルセチンは、10倍希釈されると活性が認められなくなった。対数表から活性限界を求めると $360\mu\text{M}$ （血中終濃度 $3.6\mu\text{M}$ ）であった。1mM（血中終濃度 $10\mu\text{M}$ ）濃度でわずかな活性が認められたテオブロミンは、10倍希釈では活性がなくなった。同様に活性限界を求めると $300\mu\text{M}$ （血中終濃度 $3\mu\text{M}$ ）であった。

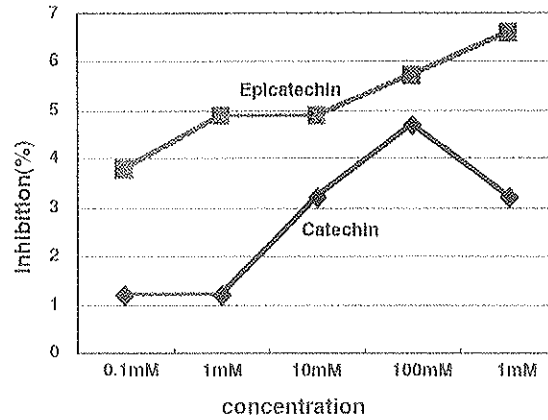
カテキンとエピカテキンを比較すると1mMまではカテキンの方が血流の向上率が高いが、さらに希釈が進むと、エピカテキンの方が活性が高くなった。エピカテキン、カテキンともに $0.1\mu\text{M}$ （終濃度1mM）でも活性が認められた。

次に、カカオマス中に存在するポリフェノールが血流に改善効果を示すことから、ポリフェノールの活性機序を検討するために、血流改善効果の高かったエピカテキン、カテキンについて血小板凝集阻害の検討を予備実験的に行った。

3. 血小板凝集阻害効果

実験方法等詳細は次の機会に述べるとして、ヘマトレーサーを用いて予備実験的に血小板凝集阻害に関して検討した（Fig.9）。サンプル濃度としては血液流動性実験と同じものを用いたが、血小板凝集測定では10%サンプル添加であるため、血中終濃度は10倍濃い終濃度である。

Fig.9 Effect of Epicatechin and Catechin on Platelet Agglutination



結果としてエピカテキン、カテキンともに活性が認められ、エピカテキン、カテキンの血小板凝集阻害活性が血流の改善に一部寄与していると考えられた。

4. まとめ

- (1)全血通過時間、すなわち血液流動性にはかなり個人差があり、血小板凝集塊による流路障害が認められる人もいた。また、同一被験者においても、体調、服用している栄養サプリメント等により、全血通過時間や血小板凝集塊による流路障害などに変化がみられた。
- (2)CMP、チョコレート、ココアの摂食実験においては、全血通過時間のやや遅い被験者の場合、顕著な血液流動性が改善される傾向があった。しかし、一部血流の早い被験者においても高い改善率が認められることがあった。
- (3)ポリフェノール類ではエピカテキン、カテキンに血流増加傾向が認められた。分子量の大きいポリフェノール混合物ではほとんど効果が認められなかった。中枢神経に対する興奮性があるといわれるカフェイン、テオプロミンはポリフェノール類より改善効果が低かった。
- (4)血小板凝集に関する実験において、エピカテキン、カテキンに凝集抑制効果が認められた。この実験に関しては、さらに検討を要する。