

カカオ摂取の脳機能に及ぼす影響

横越 英彦 (静岡県立大学食品栄養科学部)

近年、栄養条件、食品成分、ストレス、ある種の病態時などによって、脳内神経伝達物質（セロトニン・カテコールアミン類・アセチルコリンなど）は比較的容易に変動することや、さらにその変動に伴いある種の行動（記憶・学習・睡眠・食欲・情緒など）にも影響を及ぼすことが明らかにされてきた。また、古来から試験的に愛用されてきた食べ物や生薬に対して、その生理作用などに関する研究も行われている。

カカオはアステカ王侯達に「不老長寿の薬」として珍重され、そのカカオマスはチョコレートなどの主原料として利用されている。これまで、カカオマスについては、ポリフェノールによる抗酸化能、抗ストレス効果、慢性炎症やアレルギー炎症に対する抑制作用、発ガン抑制作用、抗動脈硬化作用、カカオ脂のコレステロールへの影響、ピロリ菌の除菌作用、カカオの香りによる生理心理効果など多くの生理機能が研究されており（チョコレート・ココア国際栄養シンポジウム講演録に記載）、また、カフェインやテオブロミン、ミネラルが豊富に含まれていることから、それら物質のもつ様々な機能が報告されている。

そこで今回、カカオマスによる脳内物質への影響といくつかの行動解析、また、ヒトの脳波、自律神経系に及ぼす影響について実験を行ったのでその結果について報告する。

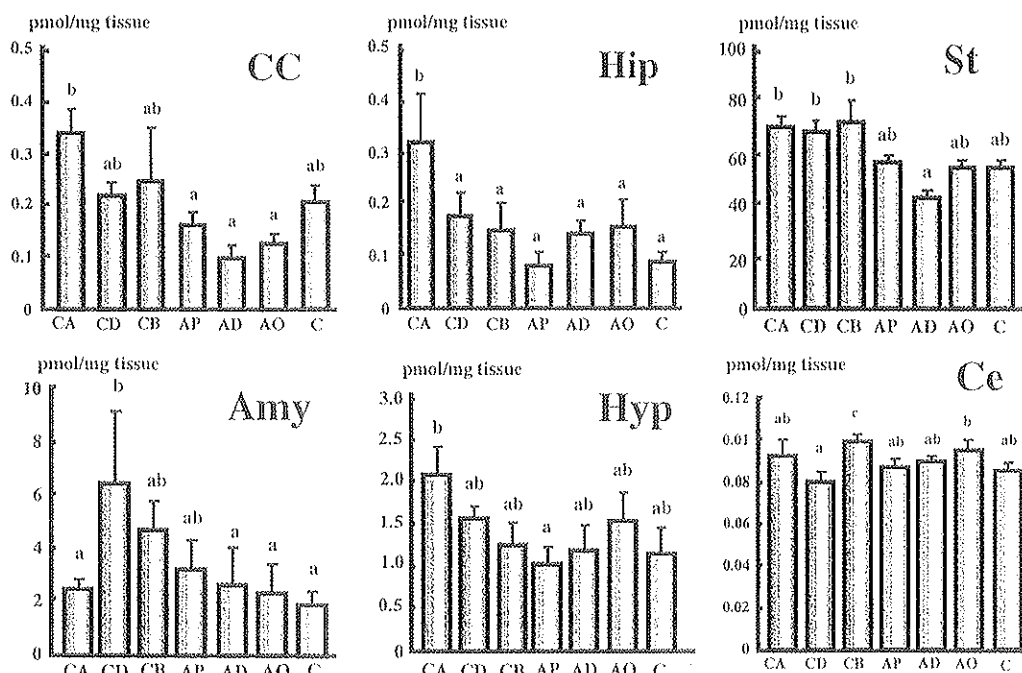
実験1 カカオマスの脳内モノアミン量に及ぼす影響

〈方法〉ウイスター系雄性ラット（6週齢）42匹を用いた。ラットは人工照明（12時間の明暗サイクル）下で飼育し、7群（各群6匹）に分けた。カカオおよびアーモンドから調整した各サンプルは午前10時に経口投与した（1.2ml/100g体重）。サンプルは1%CMC(CM)をコントロールとして、CMにカカオマス(CA)、脱脂カカオマス粉末(DC)、カカオ脂(CF)、アーモンドペースト(AP)、脱脂アーモンド粉末(DA)、アーモンド油(AO)を25%となるように溶かしたものをを用いた。投与2時間後に断頭により屠殺し、すみやかに脳を取り出し、各部位（大脳皮質・海馬・線条体・小脳・視床下部・扁桃体）に分画した。その後各部位ごとの脳内モノアミン含有量をHPLC-ECD法を用いて測定した。

〈結果と考察〉脳内モノアミンの中では、主に脳内ドーパミン含有量に変動がみられたので、その結果を図1に示した。CA群ではCM群と比較して海馬で有意($p < 0.05$)に増加し、大脳皮質・線条体・視床下部で増加傾向を示した。DC群ではCM群と比較して扁桃体で有意($p < 0.05$)に増加し、線条体で増加傾向を示した。CF群ではCM群と比較して小脳で有意($p < 0.05$)に増加し、線条体と扁桃体で増加傾向を示した。しかしアーモンド3群ではほとんどの部位でCM群と比較して変化がなかった。このようにカカオ3群では、CM群と比較して脳内ドーパミン量が増加する傾向がみられたが、同じ種実類であるアーモンド3群にはそのような変動はみられなかったことから、カカオマス

に特有の脳内ドーパミン量の増加作用のあることが分かった。

図1 カカオマス、アーモンド投与後の脳各部位のドーパミン濃度



Values are means \pm SEM. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

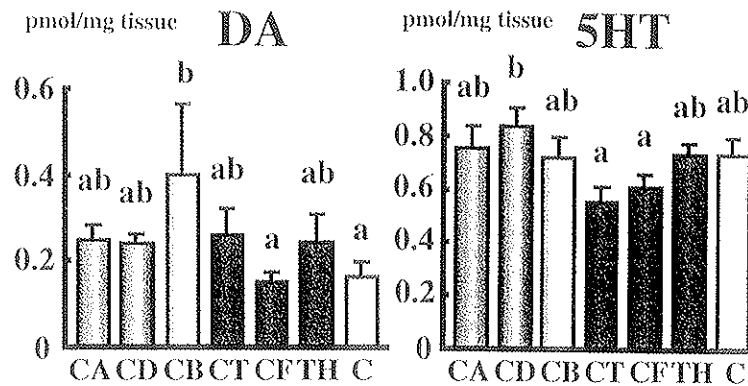
脳部位：CC；大脳皮質、Hip；海馬、St；線条体、Amy；扁桃体、Hyp；視床下部、Ce；小脳
 試験群：CA；カカオマス、CD；脱脂カカオマス、CB；カカオ脂、AP；アーモンドペースト、
 AD；脱脂アーモンドペースト、AO；アーモンド脂、C；対照群

実験2 脳内モノアミン量に及ぼすカカオマス中のカフェイン・テオブロミンについて

<方法> ウィスター系雄性ラット（6週齢）42匹を7群（各群6匹）に分け、試験日の午前9時に各サンプルを経口投与した（1.2ml/100g体重）。サンプルは1%CMC(CM)をコントロールとし、CMにカカオマスを25%となるように溶かしたもの(CA)、CAには約48.8%脱脂カカオマス粉末が含まれているのでCMにDCを12.2%溶かしたもの(DC)、カカオ脂を12.8%溶かしたもの(CF)、CAに含まれていると同量のカフェイン・テオブロミン量（カフェイン0.0625%、テオブロミン0.325%となるようにCMに溶かした）にあわせたもの(CF)、同濃度でカフェイン単独(CN)、及びテオブロミン単独のもの(TN)とした。各サンプル投与2時間後に断頭により屠殺し、すみやかに脳を取り出し各部位（大脳皮質・海馬・線条体・小脳・視床下部・扁桃体）を採取した。その後、各部位ごとの脳内モノアミン含有量をHPLC-ECD法を用いて測定した。

<結果> 脳内ドーパミン及びセロトニン量の変動を図2に示した。脳内ドーパミン量は、大脳皮質ではCMと比較してCFで有意($p < 0.05$)に増加した。他の群（CNを除く）でも増加傾向がみられた。線条体では、CNを除く各群でドーパミンは有意($p < 0.05$)に増加した。また、CT、TNと比較してCA、DC、CFで有意($p < 0.05$)に増加した。小脳ではCMと比較してCTで有意($p < 0.05$)に増加し、視床下部ではCAで有意($p < 0.05$)に増加した。他の群（CNを除く）でもCMと比較して脳内ドーパミンは増加傾向がみられた。一方、脳内セロトニン量については、大脳皮質では、CMと比較してDAで増加傾向がみられ、CT、CNで減少傾向がみられた。線条体ではCAで有意($p < 0.05$)に増加し、また、DC、CFで増加傾向がみられ、CT、CN、TNでは減少傾向がみられた。小脳では、

図2 カカオマス、カフェイン、テオブロミンなどの投与後の大脳皮質のドーパミン及びセロトニン濃度の変化



Values are means \pm SEM. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

脳内物質：DA；ドーパミン、5HT；セロトニン

試験群：CA；カカオマス、CD；脱脂カカオマス、CB；カカオ脂、

CT；カフェイン+テオブロミン、CF；カフェイン、TH；テオブロミン、C；対照群

CAで有意 ($p < 0.05$) に増加し、また、他の群でも増加傾向がみられた。視床下部では、CMと比較してCAで増加傾向がみられ、TNで減少傾向がみられた。扁桃体では、CT、CN、TNで有意 ($p < 0.05$) に減少し、CA、DC、CFでは減少傾向がみられた。

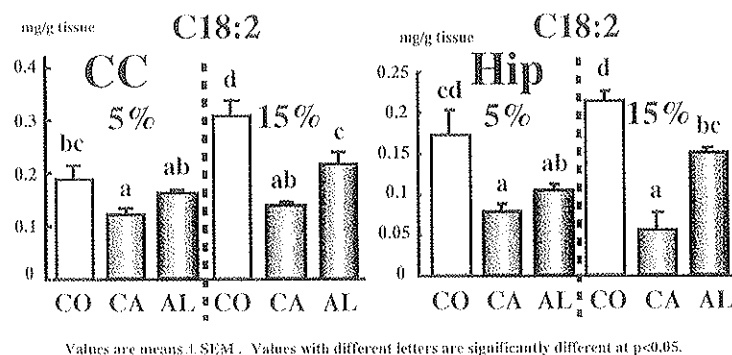
<考察> 実験1でカカオマス投与により、脳内ドーパミンの変動がみられたが、カカオマスには脳内ドーパミンを増やすと報告されている物質（カフェイン・テオブロミン等）が含まれているので、それらの成分による作用なのか、または、カカオマス中の有効成分（ポリフェノールや食物繊維、脂肪酸等）によるのかを実験2で検討した。その結果、カフェインやテオブロミンにも脳内ドーパミン・セロトニン量を変動させる作用があるが、それだけでは十分に説明することは出来ず、カカオマス中には、それ以外の脳内物質変動因子が含まれている可能性が示唆された。

実験3 カカオ脂の脳内脂肪酸組成に及ぼす影響

<方法> ウィスター系雄性ラット（5週齢）36匹を、1群6匹ずつの6群に分けた。その後、試験食を21日間与えた。試験食は20%カゼイン食（5%コーン油を含む）を基本として、20%カゼイン食中のコーン油をカカオ脂、アーモンド油に置換したもの、また、20%カゼイン食の糖質をそれぞれ10%分脂質に置き換えた（つまり15%油脂）ものを用いた。さらに7日間試験食を与えた後、断頭により屠殺し、すみやかに脳を取り出し、各部位（大脳皮質・海馬・小脳）を採取した。その後各部位の脳内脂肪酸組成を測定した。

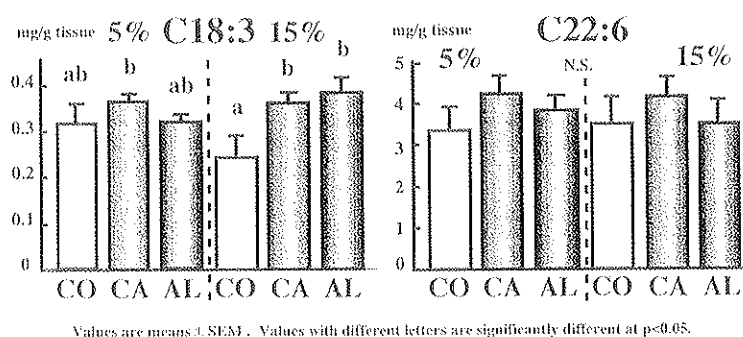
<結果> 大脳皮質と海馬における脳内リノール酸含有量（n-6系脂肪酸）は、5%コーン油群で5%カカオ脂群と比べて有意 ($p < 0.05$) に増加した（図3）。また、海馬では5%コーン油群で5%アーモンド油と比べて有意 ($p < 0.05$) に増加し、大脳皮質では5%コーン油群で5%アーモンド油と比べて増加傾向がみられた。15%油脂食の3群では、コーン油群でカカオ脂群、アーモンド油群と比べて有意 ($p < 0.05$) に増加し、アーモンド油群でカカオ脂群と比較して有意 ($p < 0.05$) に増加した。一方、大脳皮質における α リノレン酸含有量（n-3系脂肪酸）は、15%油脂食の場合、コーン油群と比較してカカオ脂群とアーモンド油群で有意 ($p < 0.05$) に増加した（図4）。5%油脂食群では、カカオ脂群と比較してコーン油群、アーモンド油群で増加傾向を示した。また、脳内DHA含有量（n-3系脂肪酸）

図3 コーン油、カカオ脂、アーモンド脂投与後の大脳皮質及び海馬中のリノール酸量の変化



脳部位：CC；大脳皮質、Hip；海馬
 試験群：CO；コーン油、CA；カカオ脂、AL；アーモンド脂

図4 コーン油、カカオ脂、アーモンド脂投与後の大脳皮質中のn-3系脂肪酸の変化



n-3系脂肪酸：C18:3； α リノレン酸、C22:6；ドコサヘキサエン酸
 試験群：CO；コーン油、CA；カカオ脂、AL；アーモンド脂

は各群で有意差はなかったものの、カカオ脂群で増加傾向が観察された。

<考察> 脳内脂肪酸組成は食餌中の脂肪酸組成を反映するという報告があるが、本実験でもそれを支持する結果となった。食品成分表によるとリノール酸はコーン油に約50%、アーモンド油に約25%含まれ、カカオ脂には殆ど含まれていない。それゆえ、脳内リノール酸量が、5%、15%食群で濃度依存的にコーン油群、アーモンド油群、カカオ脂群の順に高い濃度となったのは、食餌成分が影響した結果と考えられる。一方、 α リノレン酸やDHAでは同様の結果は得られなかった。 α リノレン酸はコーン油に約1.5%、カカオ脂に約0.6%含まれており、アーモンド油には全く含まれていない。DHAはそれぞれの油脂に含まれていない。それぞれの飼料を摂取した結果、カカオ脂群で他の群と比較してn-3系脂肪酸が増加する傾向がみられた。この原因は明らかではないが、カカオ脂には脳内n-3系脂肪酸を増加させる作用が予測され、今後は脳内脂肪酸不飽和化酵素の変動を測定するなどして明らかにしていきたい。

実験4 カカオマスの空間認知試験（モリス水迷路試験）に及ぼす影響

<方法> ウィスター系雄性ラット（8週齢）32匹を用い、4群（1群8匹）に分けた。その後、試験食を40日間与え、空間認知試験としてモリス水迷路試験を行った。試験食は20%カゼイン食を基本とし、それにカカオマス、脱脂カカオマス、カカオ脂を5%添加した飼料を用いた。また、試験中

(17日間)にも試験食を与え続けた。

<結果>水迷路試験の結果、プラットホームにたどり着くまでの時間は13日間のトレーニングでどの群も速くなったが、各群間に有意差はなかった。また、トレーニング終了後にプラットホームを取り除き、プラットホームが置いてあった領域にどれくらい滞在したのかを調べたが、各群間に有意差はみられなかった。

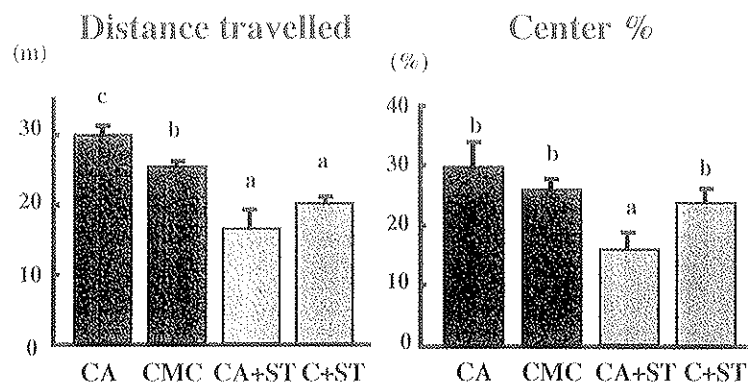
<考察>記憶・学習能を調べる方法は色々あるが、今回はモリス水迷路試験を用いて解析した。その結果、今回の測定法では、カカオマスには記憶学習能の影響は観察されなかった。

実験5 各種行動試験に及ぼすカカオマスの影響

<方法>ウィスター系雄性ラット (6週齢) 34匹を用い、14匹をカカオマス投与群(CA)、20匹をCMC投与群(CM)とした。その後、午後7時にサンプルを経口投与した(1.2ml/100g体重)。サンプルは1%CMCをコントロールとして、1%CMCにカカオマスを25%となるように溶かしたものを用いた。CM、CAの各6匹はストレスを与え(水浸拘束)、サンプル投与2時間後にオープンフィールドテストを行った。また、ストレスを与えていないラットもサンプル投与2時間後にオープンフィールドテストを行った(10分間)。テスト終了後、ストレス負荷群12匹とCM(コントロール)6匹は断頭により屠殺し、すみやかに脳を取り出し各部位(大脳皮質・海馬・線条体・小脳・視床下部・扁桃体)を採取し、脳内モノアミン含有量をHPLC-ECD法を用いて測定した。また、血清中コルチコステロン濃度を測定した。屠殺をしなかったCA8匹、CM8匹はオープンフィールドテスト終了12日後、午後7時に各サンプルを経口投与し(1.2ml/100g体重)、その2時間後にプラスメイズテスト(10分間)を行った。プラスメイズテスト終了14日後、前と同様に午後7時に各サンプルを経口投与し(1.2ml/100g体重)、その2時間後にパッシブアボイダンステストを行った。テスト中にした糞の量を記録した。

<結果>オープンフィールドテストの結果、CAはCMと比較して行動量が有意($p < 0.05$)に増加し、また、ストレス負荷することにより、行動量が有意($p < 0.05$)に減少した(図5)。ストレス負荷群のCAとCMに有意差はみられなかったが、CAで行動量が減少する傾向がみられた。オープンフィールドテストのボックスを16等分し、その真ん中の4エリアに滞在した割合(Center %)はCA

図5 オープンフィールド行動試験



Values are means \pm SEM. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$.

試験群: CA; カカオマス投与群、CMC; 対照群、CA+ST; ストレス負荷のカカオマス投与群、C+ST; ストレス負荷の対照群

でその他の群と比較して有意 ($p < 0.05$) に減少した。血中コルチコステロン濃度はストレス負荷したCA群で、CM群と比較して有意 ($p < 0.05$) に増加し、また、ストレス負荷2群はストレスを負荷していないCMと比較して有意 ($p < 0.05$) に増加した。プラスメイズテストの結果は、CAはCMと比較してオープンスペースに滞在した時間と行動量が有意 ($p < 0.05$) に増加した (図6)。パッシブアボイダンステストの結果では、CA群での改善効果はみられなかったが、糞の個数は、全ての期間において、CAはCMと比較して有意 ($p < 0.05$) に少なかった (図7)。

<考察>オープンフィールドテストの結果、カカオマスには自発行動量を増加させる作用のある

図6 プラスメイズテスト

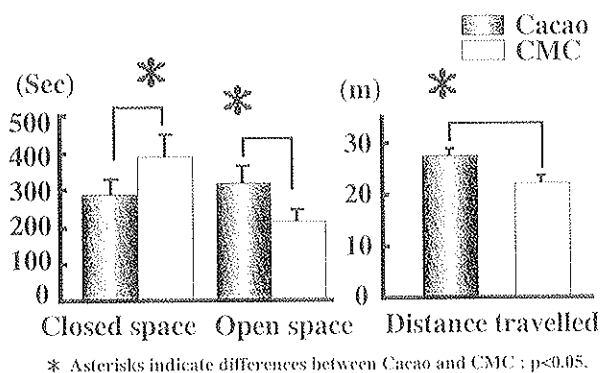
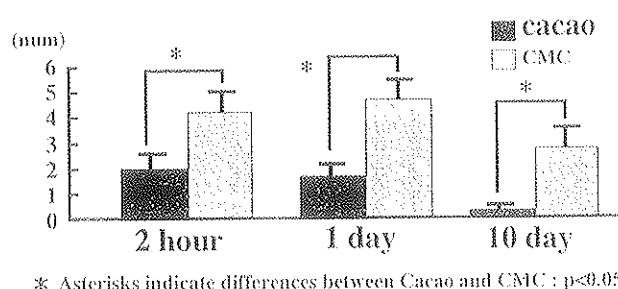


図7 ストレス負荷中の糞排泄個数



ことが分かった。カフェインには自発行動量を増加させるという報告があり、今回のカカオマスによる行動量の増加は、カフェインが関与していたかも知れない。Center %と血清コルチコステロンの結果より、カカオマス摂取した後にストレスを与えると、より活動が抑制されることが分かった。Center %の減少は活動的でなくなった、血清コルチコステロン濃度の増加はストレスを受けていると考えるからである。これまで、身体的ストレス・精神的ストレスに対するカカオマスポリフェノールの回復効果が示されているが、今回は逆の結果となった。その理由として、今回用いたサンプルはポリフェノールではなくカカオマスであったこと、負荷したストレスの種類が違うこと、行動試験の指標の異なることなどが考えられる。

プラスメイズテストの結果、カカオマスには抗不安作用のあることが示唆された。パッシブアボイダンステストではカカオマス摂取により、見かけ上の学習成績の低下がみられた。この理由として、プラスメイズテストで示された抗不安作用が考えられる。パッシブアボイダンステストはラットが電撃刺激を怖がる性質と暗所を好む性質を利用している。今回の結果はカカオマス摂取により、電撃刺激の起こる暗所に行きやすくなったということだが、これは抗不安作用により電撃が怖くな

くなったとも理解される。その証拠として、パッシブアボイダンステスト中のラットの糞をした個数がカカオマス摂取により少なくなった。すなわち、ラットは恐怖心などを感じたときに脱糞するからである。

実験6 ヒト脳波に及ぼすカカオマスの影響

＜方法＞空調の整備された部屋で、食後2時間以上経過後、21～29歳の健常なボランティア（男3名、女3名）に、サンプルを飲用させ、その前後で脳波測定を行った。サンプルはカカオマス15gと人工甘味料であるスクラロース15mgを約40℃のお湯に溶かしたもの（カカオ溶液）と、スクラロース15mgを溶かしたもの（スクラロース溶液）を用いた。被験者には1日につき1サンプルの飲用とし、2日続けて飲用させた。脳波の解析は、飲用前5分間の脳波をベースとし、サンプル飲用後0-05分、30-35分、60-65分の脳波を安静状態（座位・閉眼）で、SYNA ACT MT11（NEC）を用いて測定した。測定方法はMT11用脳波皿電極 SEBI20（NEC）を10極使用した。各電極は10/20（ten-twenty）法に基づき、前頭（Fp1, Fp2）・側頭（T3, T4）・後頭（O1, O2）・頭頂（C2）及び鼻根（F）に設置した。これらを組み合わせてBIMUTAS II（キッセイコムテック）で測定プログラムを作成し、脳波を測定しながら波形を保存した。その後、BIMUTAS IIを用いて周波数解析を行った。各5分間の波形を抽出し、これを高速フーリエ変換（FFT）して、周波数解析を行い、各周波数の脳波の含有量を算出した。帯域設定はdelta波（2～4Hz）、theta波（4～8Hz）、alpha波（8～13Hz）、beta波（13～30Hz）とした。飲用前5分間を100%（ベース）として飲用後の各時間における各周波数の脳波を結果として示した。

また、サンプル服用前及び脳波測定終了後において気分調査アンケート（POMS：Profile of Mood States）を実施し、サンプル飲用効果による気分あるいは情動的状态の変化について検討を行った。

＜結果＞脳波におけるalpha波変動については各群に有意差はみられなかったが、カカオ溶液でスクラロース溶液と比較して増加傾向がみられた（60-65分： $p=0.1875$ ）。また、theta波変動についても有意差はみられなかったが、カカオ溶液飲用後に減少傾向がみられた（60-65分： $p=0.0605$ ）。

飲用前と脳波測定終了後のPOMSの結果を、全被験者のスコアから比較検討したところ有意差は得られなかったが、緊張・不安の項目において、カカオ溶液の飲用で、より改善傾向がみられた。

＜考察＞スクラロース溶液摂取と比較して、カカオ溶液摂取によりalpha波が増加傾向を示し、theta波が減少傾向を示した。我々はこれまで、緑茶成分テアニンによる様々な研究の結果、テアニン摂取によりalpha波が増加し、リラックス状態が誘導されることを明らかにしてきた。また、一般的に、リラックス状態時にはalpha波が多く出現すると報告されている。カカオマスにはalpha波を増加させる働きのあることから、リラックス作用があると思われる。一方、チョコレートの香りを嗅がせるとalpha波の出現が増加し、theta波の減少、感情評価テストにおける緊張・不安の改善がみられたという報告がある。今回の実験では、0-05分後の結果は、香りやテクスチャーによる影響と考えられるが、60-65分後でも影響が観察されたことから、カカオマス成分による効果と考えられるので、今後ともこの現象を調べることは興味深いことである。

実験7 瞳孔反応反射に与えるカカオマスの影響

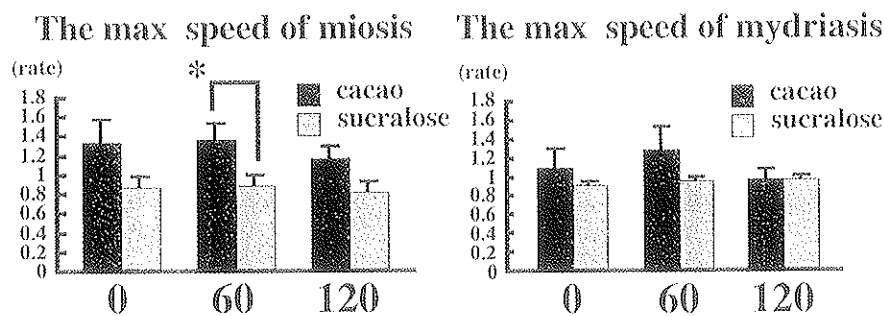
＜方法＞23～51歳の健常なボランティア（男8名、女2名）を対象に、昼食後2時間以上経過した午後3時からサンプルを飲用させ、飲用前後での瞳孔反射測定（イリスコーダC7364浜松ホトニクス

製)とPOMSを行った。サンプルはカカオマス15gと人工甘味料であるスクラロース15mgを約40℃のお湯30mlに溶かしたもの(カカオ溶液)と、スクラロース15mgを溶かしたもの(スクラロース溶液)を用いた。飲用前の瞳孔反射測定値(3回測定)をベースとし、サンプル飲用直後、60分後、120分後の計12回測定した。POMSはサンプル飲用前とサンプル飲用1時間以内の計2回行った。

<結果>縮瞳最大速度は、カカオ溶液摂取によりスクラロース溶液摂取と比較して各期間で増加し、60分後では有意差($p < 0.05$)がみられた(図8)。カカオ溶液群では基本値と比較して、各期間で1.2~1.4倍程度増加したが、スクラロース溶液群では0.9倍程度で変化がなかった。散瞳最大速度は、カカオ溶液群でスクラロース溶液群と比較して60分後に増加傾向がみられたが、その他の期間では殆ど変化がなかった。POMSの結果は、有意差はないもののカカオ溶液群で緊張・不安、抑うつ・落ち込みの項目でより改善される傾向がみられた。

<考察>瞳孔はヒトの体の中で唯一の見える自律神経系支配の器官であり、その変化は非接触的に測定することができる。瞳孔の大きさは主に瞳孔括約筋と瞳孔散大筋により調節されている。瞳

図8 カカオマス飲用後の瞳孔反射反応



* Asterisks indicate differences between Cacao and CMC : $p < 0.05$.

孔括約筋は副交感神経系により支配されており、瞳孔散大筋は交感神経系により支配されている。そのため縮瞳最大速度の増大は副交感神経系が優位になっているか、あるいは交感神経系が抑制されている。逆に散瞳最大速度の増大は交感神経系が優位になっているか、副交感神経系が抑制されていると考えられる。対照群と比較し、カカオマス摂取により縮瞳最大速度が増大し、一方、散瞳最大速度は60分後では増加傾向を示したものの他の期間ではそれほど変化がなかった。この結果から、カカオマスには副交感神経系の活性度を高め、交感神経系を抑制する作用があることが示唆された。

<全体の考察>

チョコレート・ココアの主成分であるカカオマスについては、これまで多くの研究があり、カカオポリフェノールなどの成分による詳細な研究がある。一方、チョコレートなどは人間が食べる物であり、それらを摂取したときの何ともいえないハッピーな気分の裏付けは何なのかを今回検討した。その結果、動物実験では、カカオマス投与により脳内神経伝達物質や脂質組成の変化すること、また、幾つかの行動試験で影響のあることが示された。そこで、人を対象とした脳波や自律神経系の活性度を測定した。その結果、脳波分析では有意差はみられなかったものの、カカオマス摂取により α 波がより放出される傾向が観察された。また、アンケートによる気分調査を行った結果、緊

張・不安、抑うつ・落ち込みの項目でより改善される傾向がみられた。そこで、自律神経系を直接測定することが出来る瞳孔反射で調べた結果、カカオマスの摂取により有意に副交感神経系の活性度の増すことが示された。このことは、チョコレートなどを摂取したときの気分的な安らぎ感の原因となっている可能性が示された。

<参考文献>

神様のたべものチョコレート・ココア：チョコレート・ココア国際栄養シンポジウム講演録

Hirsh, K. R., Pinzone, M. G. and Forde, J. M.: Fed. Proc., 33, 466- (1974)

伊藤恭子：カカオマスのリラックス効果。FOOD Style 21, Vol. 6 (No.3), 81-83 (2002)

武田弘志：カカオ豆成分の抗ストレス効果。食の科学：228, 52-56 (1997)

Martin, G. N.: Human electroencephalographic (EEG) response to olfactory stimulation: Two experiments using the aroma of food. International Journal of Psychophysiology, 30, 287-302 (1998)