

カカオポリフェノールの生物学的効果 ～その発現機序と健康維持への応用～

岡嶋 研二

(名古屋市立大学大学院 医学研究科 展開医科学分野教授)

はじめに

インシュリン様成長因子-1 (IGF-1) は、インシュリンと似た構造を持つポリペプチド化合物で、成長ホルモンにより多くの臓器の血管内皮細胞や実質細胞で産生され、自らの細胞や周辺の細胞に作用することが知られている。IGF-1の生理機能は、

- ① 骨粗しょう症を防ぐ骨密度上昇作用
- ② 血管拡張による血圧正常化、心不全改善作用
- ③ ウイルス感染やがん細胞に対する免疫活性を発揮するナチュラルキラー細胞 (NK細胞) 活性化による免疫賦活作用
- ④ 筋肉増強作用
- ⑤ 生殖機能の亢進による不妊症改善作用
- ⑥ 記憶や認知能力をつかさどる海馬の神経細胞再生による認知症やうつ症状の予防・改善作用
- ⑦ 糖代謝を改善するインシュリン抵抗性改善作用
- ⑧ LDLの取り込み促進による高脂血症改善作用
- ⑨ 毛髪の成長を促進する育毛作用
- ⑩ 知覚神経を刺激することによる食欲抑制作用
- ⑪ 繊維芽細胞の増殖促進による創傷治癒亢進
- ⑫ 皮膚の血流を増やして汗腺の機能を亢進する発汗促進作用
- ⑬ コラーゲンを増やすことによる肌の老化防止作用

などが知られている。

加齢により成長ホルモンの分泌が低下するとIGF-1の産生が減少することから、IGF-1産生と老化現象はリンクしており、IGF-1産生増加はアンチエイジング効果をもたらすと考えられる。これまでに、IGF-1の産生増加機序は、成長ホルモンによるものしか知られていなかった。我々は、カプサイシン感受性知覚神経刺激がIGF-1産生を増加させることを明らかにした[1]。カプサイシンによるIGF-1の産生増加機序は次のように考えられる。カプサイシンにより刺激された知覚神経が、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) を放出する。放出されたCGRPが血管内皮細胞のCGRP受容体に作用し、血管内皮細胞内のカルシウム濃度ならびにcAMP (サイクリックAMP) 濃度を上昇させる。上昇したこれらの物質が血管内皮型NO合成酵素を活性化させ、NOの産生を促進する。このようにして、産生されたNOがシクロオキシゲナーゼ-1 (COX-1) のシステインのSニトロシル化を起こし、プロスタグランジン産生を増加させる。プロスタグランジンにも知覚神経の刺激作用があるため、CGRPの更なる放出が惹起される。カプサイシンによって産生されるCGRPとプロスタグランジンが共に幼若な細胞に作用し、IGF-1の産生が増加する。

カプサイシン摂取が知覚神経を刺激しCGRPの放出を促し、次いで全身性のIGF-1の産生を促進する。これらの結果、海馬のIGF-1産生促進により、神経細胞が再生し、認知機能が改善する [2]。カプサイシンと同様な作用を、カカオポリフェノールが有するか否か検討した。

カカオポリフェノールの知覚神経刺激作用

マウスの知覚神経節から分離してきた知覚神経細胞を培養し、培養した知覚神経細胞にカカオポリフェノールを作用させてCGRPが放出されるかを検討した。培養細胞にカプサイシンならびにカカオ由来のポリフェノールであるprocyanidin B2、procyanidin B5、procyanidin C1、cinnamtannin A2を、それぞれ1 μ Mと10 μ M加えた結果を図1に示した。ポリフェノール成分は、10 μ Mでカプサイシンと同様にCGRPの放出を促進する作用が認められ、その中でも分子量の大きいcinnamtannin A2は、1 μ MでもCGRPの放出を促進することが判明した。これらの結果から、カカオポリフェノールにはカプサイシンと同様に知覚神経刺激作用があることが確認された。カプサイシンは、パニロイド受容体1 (VR-1) を活性化し、神経細胞内のcAMP濃度を上昇させる。上昇したcAMPによりプロテインキナーゼA (PKA) が活性化され、VR-1がリン酸化される。VR-1がリン酸化されると刺激に対する感受性が高まることが知られている。カカオポリフェノールを神経細胞に作用させると、CGRPの放出が促進されるのと同時に、細胞内のcAMP濃度が有意に上昇した。このことから、カカオポリフェノールは、細胞内cAMP濃度を増加させ、VR-1を活性化して知覚神経を刺激する可能性が示された。

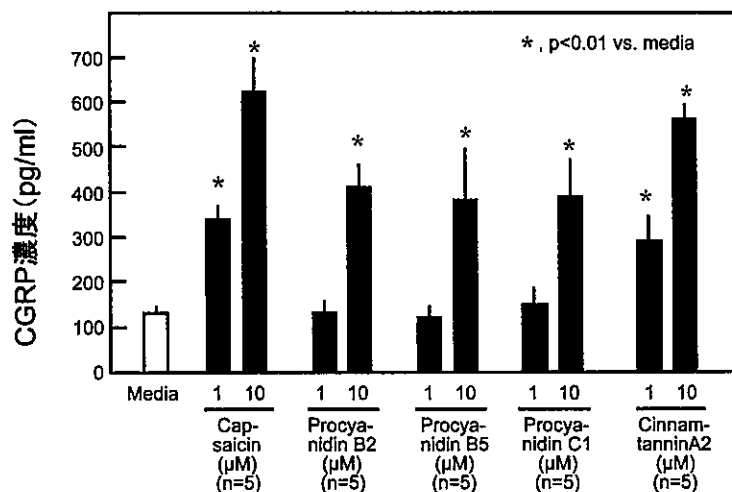


図1 カカオポリフェノールの知覚神経細胞に対する刺激作用

カカオ豆に含まれるポリフェノールは、知覚神経刺激作用を有するが、その作用は、特に高分子のポリフェノールに強く認められた。

In vivoにおけるカカオポリフェノールの作用

マウスに、カカオ豆から抽出したカカオポリフェノールを0.5%含んだ餌を4週間摂取させ、血中や組織中のIGF-1濃度を測定した。その結果を図2に示した。コントロールのIGF-1の濃度を100%として比較した結果、カカオポリフェノールを含んだ餌を摂取したマウスの心臓、肺、腎、肝、胃、空腸、脳、脊髄、皮膚、血液中のIGF-1濃度が2倍から3倍に増加していることが明らかとなった。

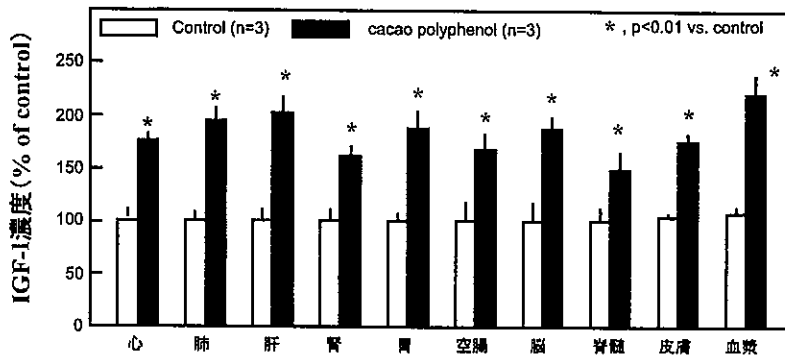


図2 カカオポリフェノール (cacao liquor preparations : CLPr) の経口投与 (4週間) のマウスの血液中および組織IGF-1濃度への影響

カカオポリフェノールは、マウスの組織IGF-1濃度を増加させる。

同様に、野生型マウスとCGRPを持っていないマウス (CGRPノックアウト (CGRPKO) マウス) にカカオポリフェノールを4週間投与し、海馬中のIGF-1濃度を測定した。その結果、野生型マウスの海馬では、脳と同様にIGF-1濃度の上昇が認められたが、CGRPKOマウスでは海馬中のIGF-1濃度の上昇が認められなかった。以上の結果から、カカオポリフェノールは知覚神経を刺激してCGRPの放出を促進することにより海馬のIGF-1の産生を促進していることが確認された。

次に、カカオポリフェノール投与で海馬の神経再生が起こるかどうか調べた。結果を図3に示した。再生した神経細胞数を比較するために、calbindin-D28K (神経細胞マーカー) とBrdU (再生細胞のマーカー) に染色された細胞数をカウントした。その結果、カカオポリフェノール群の方が

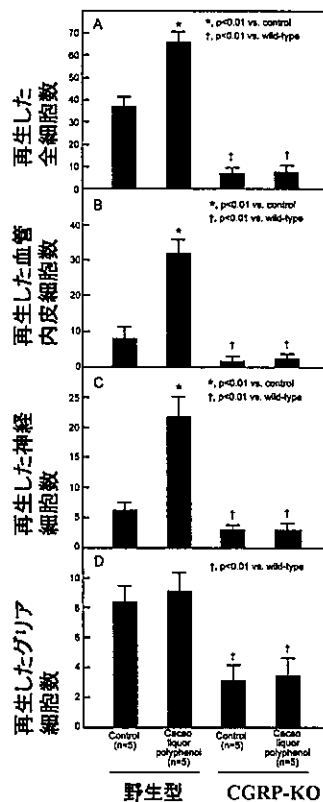


図3 野生型、およびCGRPノックアウトマウスにおけるカカオポリフェノールの経口投与の海馬の細胞再生への影響

コントロール群よりも有意に再生数が多いことが確認された。一方、グリア細胞繊維性酸性たんぱく質 (GFAP) とBrdUで染色した結果、コントロール群とカカオポリフェノール群で差が認められず、カカオポリフェノールによるグリア細胞の再生促進は起こっていないことが確認された。次に、血管内皮細胞に特有なCD31とBrdUで染色した結果、カカオポリフェノール群で血管内皮細胞が再生していることが確認された。カカオポリフェノール群では、IGF-1が、血管新生因子である内因性の血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) を増加させ、血管新生を介して海馬の神経細胞を再生していることが推察された。更に、CGRPKOマウスでは野生型マウスで認められた血管新生・神経再生がおこらないことが確認された。以上の結果から、カカオポリフェノールは、知覚神経を刺激し、CGRPの放出を促進

し、海馬のIGF-1の産生を高め血管新生を起し、ついで神経細胞を再生していると考えられた。

神経細胞再生による認知機能改善の有無を、野生型マウスとCGRPKOマウスを用いて水迷路試験によって確認した。ゴールに到達するまでに要した時間を5日間毎日測定し、カカオポリフェノール群とコントロール群で、要した時間を比較した。カカオポリフェノール群は、ゴールまでの到達時間が短縮され認知機能の有意な改善が認められた(図4)。一方、CGRPKOマウスでは、カカオポリフェノールを投与しても認知機能改善が認められなかったことから、カカオポリフェノールは知覚神経を刺激してIGF-1産生を増やし、神経細胞再生を増加させることで認知機能を改善することが判明した。

カカオポリフェノールによる知覚神経刺

激の情報伝達経路を解明するために、脊髄後角、孤束核、海馬の再生がおこる歯状回でのc-fosの発現量を調べた。その結果、これらの部位で、カカオポリフェノール投与群ではc-fosを発現している神経細胞が、コントロール群に比べて増加していることがわかった。カカオポリフェノールが、消化管の知覚神経を刺激して、そのシグナルが求心性の迷走神経と知覚神経を介して海馬に到達し、海馬のIGF-1を増やしている可能性が示された。

われわれは、ココアやチョコレートとして日常食べることで、カカオポリフェノールが消化管の知覚神経を刺激し、シグナルが神経を介して海馬に到達し、海馬のIGF-1産生を増加させることが推定された。

カカオポリフェノールの抗酸化作用とIGF-1産生促進

これまでカカオポリフェノールによる動脈硬化の防止、がん予防、アレルギー症状の緩和などの有効性は、その抗酸化作用によるものと説明されてきた。酸素がスーパーオキシドアニオン($O_2^{\cdot-}$)に変化した場合、スーパーオキシドアニオン($O_2^{\cdot-}$)はNOに作用してパーオキシナイトライト($ONOO^-$)に変化させる。その結果、NO量の減少によってIGF-1産生が減少することになる。カカオポリフェノールの抗酸化作用によりスーパーオキシドアニオン($O_2^{\cdot-}$)が減少し、NOの減少抑制、ひいてはIGF-1の産生低下が抑えられることになる。さらに、パーオキシナイトライト($ONOO^-$)はDNAを傷害するが、IGF-1はDNAの傷害修復作用を持っている。カカオポリフェノールの抗酸化作用は、IGF-1によるDNAの傷害修復活性を増加させると考えられる。従って、カカオポリフェノールの抗酸化作用は、知覚神経刺激によるIGF-1産生促進に重要であるといえる。

今まで知られている抗酸化作用に加え、今回明らかとなったIGF-1産生増加作用によって、カカ

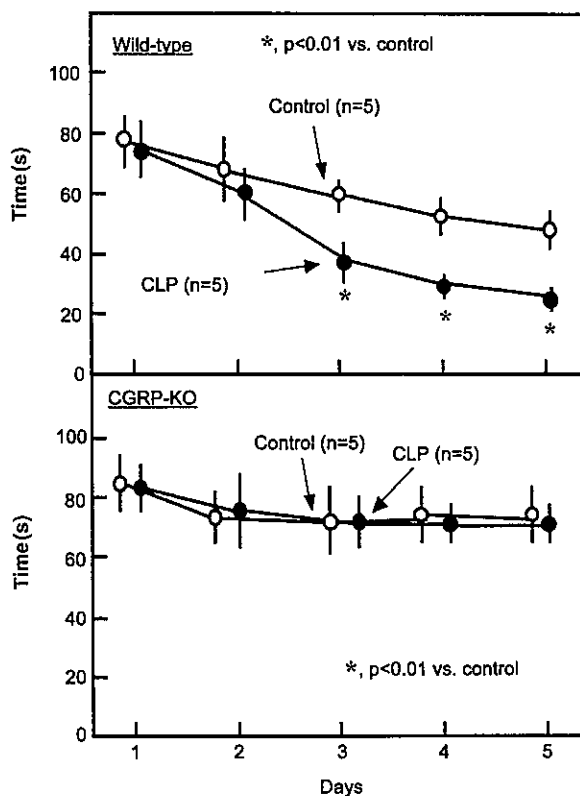


図4 カカオポリフェノール (CLP) 経口投与の野生型、およびCGRPノックアウトマウスの認知機能への影響

オポリフェノールの効能発現機序が明らかになり、さらに、その新たな効能が示されるであろう。

- [1] Harada, N.; Okajima, K.; Kurihara, H.; Nakagata, N. Stimulation of sensory neurons by capsaicin increases tissue levels of IGF-I, thereby reducing reperfusion-induced apoptosis in mice. *Neuropharmacology* 52:1303-1311; 2007.
- [2] Harada, N.; Okajima, K.; Arai, M.; Kurihara, H.; Nakagata, N. Administration of capsaicin and isoflavone promotes hair growth by increasing insulin-like growth factor-I production in mice and in humans with alopecia. *Growth Horm IGF Res* 17:408-415; 2007.