

# カカオポリフェノールによる 肥満に対する作用の検討

上野 有紀

愛知学院大学 心身科学部 健康栄養学科 講師

## はじめに

白色脂肪細胞は、体全体に広く分布し、エネルギーを中性脂肪として蓄える役割をもつ他、種々の内分泌因子（アディポサイトカイン）を産生・分泌することで、糖代謝、脂質代謝をコントロールしている。

肥満状態は、この白色脂肪細胞を肥大化させ、機能障害を引き起こすことで、糖尿病、高脂血症、高血圧のリスクを高めることになるが、そこには炎症が関与していることが知られている[1-2]。すなわち、白色脂肪細胞の機能を改善することは、肥満に伴う動脈硬化症および糖尿病合併症の発症抑制につながると考えられる。

一方、チョコレートやココアの原料であるカカオには、ポリフェノールが多く含まれ、強い抗酸化作用で生体を酸化障害から保護していることが知られている。

中でも、LDLコレステロールの酸化抑制[3]、LDLコレステロール低下[4]、HDLコレステロール上昇[5]、血小板凝集抑制[6]といった、動脈硬化性疾患の領域で、数々の報告がなされているが、白色脂肪細胞の機能改善という視点からの評価はまだ充分とは言えない。

そこで本試験では、カカオポリフェノールの肥満に対する作用を、白色脂肪細胞の機能に関する遺伝子発現から検証したので報告する。

## <カカオポリフェノール>

今回試験に用いたカカオポリフェノールは、既報[7]に従い調製した。サンプルの分析結果を表1に示す。表に示したように、フラボノイド類であるエピカテキン、カテキンと、その重合物であるプロシアニジン類が主成分である。

表1 カカオポリフェノール分析結果

	濃度 (%) (エピカテキン当量)
総ポリフェノール*	72.37
catechin**	4.56
epicatechin**	6.43
procyanidin B2**	3.54
procyanidin B5**	0.85
procyanidin C1**	2.36
cinnamtannin A2**	1.45

\* プルシアンブルー法

\*\* HPLC法

## カカオポリフェノールによるマウス脂肪細胞における炎症に対する作用

### (1) 炎症性サイトカイン分泌抑制作用について

3T3-L1マウス由来前駆脂肪細胞に、分化誘導剤であるDexamethazone、Insulin、3-isobutyl-1-methylxanthineを添加すると、添加後2日目から細胞内に脂肪が蓄積する。一般にこのように分化させた白色脂肪細胞にTNF- $\alpha$ などの炎症性サイトカインを与えると、抗炎症性サイトカインであるアディポネクチン産生量の減少や、炎症性サイトカインであるIL-6の産生量の増加が起こることが知られている。一般的に肥満状態の脂肪組織では、炎症性サイトカイン産生が亢進され、抗炎症性サイトカイン産生は減少することが知られており、これが肥満やメタボリックシンドロームに合併する炎症性変化に関連するとされている。

今回はIL-6産生量に及ぼすカカオポリフェノールの影響について評価した。分化した白色脂肪細胞に、各濃度のカカオポリフェノールを添加し1時間前処理後、マウスTNF- $\alpha$ （終濃度10 ng/ml）を添加し、24時間インキュベートし、培養上清を回収した。培養上清中のIL-6量をELISA法（Quantikine mouse IL-6<R&D Systems, Inc.>）により測定した結果を図1に示す。添加したカカオポリフェノールの濃度に依存して、IL-6の産生量が減少することが確認できた。特に、1000  $\mu$ g/mlでは、IL-6産生の顕著な抑制が認められた。この結果は、カカオポリフェノールにより脂肪組織における炎症性サイトカインの産生亢進が軽減することを示唆するものと考えられる。

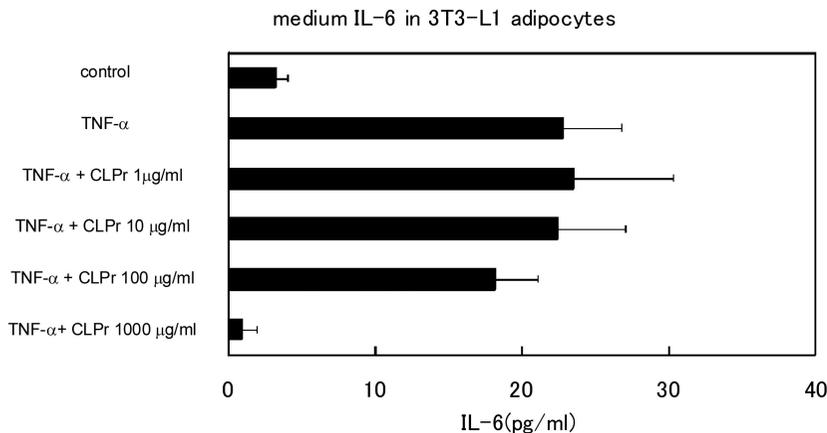


図1 カカオポリフェノール（CLPr）によるIL-6産生抑制作用

### (2) 炎症・酸化ストレスに関連する遺伝子発現への影響について

分化した白色脂肪細胞に各濃度のカカオポリフェノールを添加し1時間前処理後、マウスTNF- $\alpha$ （終濃度10 ng/ml）を添加し24時間処理した。処理した細胞を回収し、total RNAを抽出、DNAマイクロアレイ法により、炎症・酸化ストレスに関連する遺伝子発現へのカカオポリフェノールの影響を調べた。尚、本研究に用いたマイクロアレイは、三菱レイヨン研究所との共同研究で作製した、酸化ストレス、炎症反応、抗酸化酵素、解毒酵素、肥満関連の遺伝子、221種類を搭載したオーダーメイドチップ、ジェノパール<sup>®</sup>[8]を用いた。221種類の遺伝子群の中で、カカオポリフェノールを添加した群で、対照群（TNF- $\alpha$ のみを添加した群）と比較して大きく変動した遺伝子を表2-1、2-2にまとめて示す。炎症、酸化ストレス、肥満に関与するFas、Egfr、Ccl2、Timp1、Tnfrsf1b、Sod2、Vcam1、Nfkb1a、Cxcl10、Il6、Lep、Ccl5の遺伝子発現はTNF- $\alpha$ 添加により上昇したが、

表2-1 遺伝子

Gene Symbol	遺伝子名
Fas	Fas ligand
Egfr	epidermal growth factor receptor, transcript variant 1
Ccl2	chemokine(C-C-motif) ligand 10
Timp1	tissue inhibitor of metalloproteinase 1, transcript variant 1
Tnfrsf1b	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1b
Sod2	superoxide dismutase 2
Vcam1	vascular cell adhesion molecule 1
Nfkbia	nuclear factor of kappa light chain gene enhancer in B cells inhibitor
Cxcl10	chemokine(C-X-C-motif) ligand 10
Il6	interleukin 6
Lep	leptin
Ccl5	chemokine(C-C-motif) ligand 5

表2-2 結果

Gene Symbol	関連分野	TNF $\alpha$	TNF $\alpha$ + CLPr100 $\mu$ g/ml	TNF $\alpha$ + CLPr1000 $\mu$ g/ml
Fas	炎症	↑	↓	↓↓
Egfr	炎症	↑	↓	↓↓
Ccl2	炎症	↑	→	↓
Timp1	炎症	↑	↑	↓
Tnfrsf1b	炎症	↑	↓	↓
Sod2	酵素(酸化ストレス)	↑	→	↓↓
Vcam1	動脈硬化	↑	→	↓
Nfkbia	酸化ストレス	↑	→	↓
Cxcl10	炎症	↑	↓	↓↓
Il6	肥満、炎症	↑	↓	↓↓
Lep	肥満関連	↑	↓↓	↓↓
Ccl5	炎症	↑	↓	↓↓

CLPr:カカオポリフェノール

カカオポリフェノールの添加により濃度依存的に遺伝子発現の上昇が抑制される傾向を確認した。これらの結果から、カカオポリフェノールが脂肪組織の炎症や酸化ストレスに関わる遺伝子群の発現を改善することが示された。

#### まとめ

本試験では、カカオポリフェノールによるマウス白色脂肪細胞における炎症に対する作用という側面から、肥満に対するカカオポリフェノールの有効性を検討した。

その結果、カカオポリフェノールはTNF- $\alpha$ が惹起するIL-6の発現を強く抑制しており、肥満に伴う疾患の抑制に寄与できる可能性が示された。

また、DNAマイクロアレイで網羅的に解析した結果から、カカオポリフェノールが肥満時の脂肪組織の炎症や酸化ストレスに関わる遺伝子群の発現に対して顕著に影響することも確認している。

今回の試験では、マウス由来の脂肪前駆細胞を用いたが、今後はヒト皮下由来前駆脂肪細胞を用いて同様の実験を行っていく考えである。併せて、高脂肪食を負荷した動物モデルにおけるカカオポリフェノールの有効性を検討することが重要と考え、現在検討中である。これらの結果を積み重ねることは、カカオポリフェノールの肥満に対する効果を明らかにし、肥満、並びに肥満に起因する疾患の予防・改善といった課題の解決に向けた、ひとつの提案になるものと考えている。

## 参考論文

1. Dandona, P., et al.: Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 25: 4-7, 2004
2. Xu, H., et al.: Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest.* 112: 1821-30, 2003
3. Osakabe, N., et al.: Daily cocoa intake reduces the susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation as demonstrated in healthy human volunteers. *Free Radic Res.* 34: 93-9, 2001
4. Baba, S., et al.: Plasma LDL and HDL cholesterol and oxidized LDL concentrations are altered in normo- and hypercholesterolemic humans after intake of different levels of cocoa powder. *J Nutr.* 137: 1436-41, 2007
5. Baba, S., et al.: Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. *Am J Clin Nutr.* 85: 709-17, 2007
6. Holt, R.R., et al.: Chocolate consumption and platelet function. *Jama.* 287: 2212-3, 2002
7. Natsume, M., et al.: Analyses of polyphenols in cacao liquor, cocoa, and chocolate by normal-phase and reversed-phase HPLC. *Biosci Biotechnol Biochem.* 64: 2581-7, 2000
8. 地紙, 哲., et al.: DNAチップを用いた食品素材の機能性評価～精密解析に適したフォーカストアレイ「ジェノパール®」. *食品と開発.* 43: 47-49, 2008