

寿命に伴うストレスに対する認知・心理的弾力性の 促進におけるココアフラバノールの役割

ジウリオ・マリア・パシネッティ

マウント・サイナイ・アイカーン医科大学神経学部 博士、大学教授

要旨および緒言

現在、神経変性疾患および精神疾患に対し一般的に行われている治療介入は成果が上がっておらず、それらに疑問を投げかけるような新たな研究が登場しつつある。また、こうした疾患の統合治療のために、特定の栄養補助食品という形で天然化合物の消費がここ数年だけを見ても増加したことに驚きはしない。この数年で最も興味深いことは、ココア抽出物を主要源とするフラバノール（フラバン-3-オール）が種々の機序により作用し、高齢期のみならず全生涯にわたり認知的加齢に伴う多数の危険因子（Wang et al., 2014 ; Wang et al. 2012）を改善することが、*in vitro*試験や動物モデルだけでなく、一部のフィージビリティ試験から得られたエビデンスによっても示されていることである。著者らの所属するモルキュラー・インテグレーティブ・ニューロレジリエンス・センター（Center for Molecular Integrative Neuroresilience）で実施された最近の研究も、食事により摂取されるチョコレートまたはココア抽出物から得られた特定の生理活性フラボノイド代謝産物が脳に吸収され、こうした危険因子の改善に実際に活用できる可能性があることを示す新たなエビデンスを支持するものとなっている。例えば、ココアフラバン-3-オールが加齢性神経変性（アルツハイマー病（AD）や認知症等）の主な危険因子であるうつ病や不安といったストレス性気分障害に対する回復力を活性化する役割を果たす可能性があることを示唆するエビデンスが増加しつつあり、それによって現実に、ココア由来ポリフェノールへの関心が大いに高まっている。AD等の加齢に伴い認知力が低下する疾患の予防においてトランスレーショナルな方法が成果を挙げていないが、その理由として、広く利用されている単一機序のみを対象とした方法が不適切なのではないかと考えられている（Pasinetti, 2015）。ADにおける認知力低下は、生涯にわたって進行している可能性があり、相互に影響しあう生物学的表現型での複雑な関係を示すことを特徴とする。したがって、同時に複数の発症機序を対象とする別の戦略がより効果的な予防法となる可能性があり、それが米国アルツハイマー病プロジェクト法および米国国立老化研究所の戦略的優先事項である。このような考えに基づき、プレゼンテーションの最初の部分では、脳に吸収される特定の生理活性ポリフェノール、特にココア抽出物に多く含まれるココア由来フラバン-3-オールが、ADの特徴である認知力低下に有益な影響を与える一方、健全な脳老化を増進する機序を解明するための最近の新たな戦略を考察する。ココアから得られる生理活性フラバン-3-オール由来生理活性代謝産物等、一部の天然物の特性解析や場合によっては「目的変更」が、AD等の加齢性変性疾患の予防だけでなく、特定の「不適応な分子機構」に対する回復力の機序を促進するうえでも役立つことは疑いの余地がない（Wang et al., 2017; Qureshi et al., 2013）。こうした分子機構には、生涯発生するストレス誘発性気分障害の結果生じるものが含まれている。この目的を達成できれば、将来的に、健康的な脳老化を増進するとともに疾患発症を遅らせるため、脳で吸収される新たな生理活性ココア生理活性代謝産物といった薬剤のような特性をより明確化する新たな予防法を考案できることは間違いない（Dubner

et al., 2015)。ココア由来フラバン-3-オールに関する最近のバイオアベイラビリティおよび有効性に関する実験的研究は、この新たな研究戦略を支持しているように思われる。全体として、食事により摂取されるチョコレートまたは特定のココア調製品から得られた特定の生理活性ココアフラバノール代謝産物が、腸内微生物叢の役割を介し、生涯にわたり神経回復力を活性化する可能性があるという機序を解明することにより、加齢性変性疾患の発症および進行の遅延に向け、信頼性の高い食事による予防的取り組みにとって重要度の高い情報が得られることは間違いない。プレゼンテーションの最後に、他のポリフェノール調製品において広く検討されているように、ココア抽出物源、抽出処理、より標準化された試験に関する一層の理解が必要となる、将来の予防薬、場合によっては治療薬としてのココア抽出物の開発における一貫性および再現性に関連する重要課題を考察する。

医学における植物薬発見の歴史

歴史上、製薬企業による新薬のブロックバスター開発は、天然化合物の機構研究後に臨床・薬理・化学研究が行われることによって、上市が実現している。1940年代以降に開発された175の低分子抗がん剤のうち131 (74.8%) が天然物に基づく、または天然物から見出されたものであり、85 (48.6%) は薬剤自体が天然物である、または天然物から得られたものである。2010年に承認された20の低分子の新規化学物質 (NCE) のうち、半分は天然物である。天然物発見の歴史は、その発見が生物学および治療法の進歩にどれほど大きな影響を与えてきたかを示す素晴らしいストーリーで満ちあふれている。代表的な例は、アスピリンとして知られている抗炎症剤、アセチルサリチル酸の発見であり、これは天然物 *Filipendula ulmaria* (シモツケソウ) から生まれたものである (Schmidt et al., 2008)。同様に、天然物である *Papaver somniferum* (ケシ) の発見も、モルヒネ等、さまざまなアルカロイドの単離に繋がった (Schmidt et al., 2008)。別の例としては、ハーブ属の *Digitalis* (キツネノテブクロ) がある。生理活性代謝産物ジギトキシンが単離されるまでに3世紀かかったが、現在ではうっ血性心不全の治療に使用されている (Schmidt et al., 2008)。近年の事例としては、*Artemisia annua* (クソニンジン) から単離された中国伝統の漢方薬アルテミシニンが、現在の標準的な抗マラリア療法で利用されている。この発見は2015年のノーベル生理学・医学賞の受賞に繋がった。新しい天然物が、多くの医療分野、特に神経学や精神医学の分野において大幅な進歩が期待されていることに疑いの余地はない。しかし残念ながら、厳密なバイオアベイラビリティの研究から生理活性代謝産物の特性解析、薬物動態および薬力学の研究に至るまで、本当に必要な研究の大部分が、脳研究分野においてははまだ不十分である。この数年間で、脳内に吸収・蓄積される特定の生理活性ポリフェノール代謝産物の特性解析に関連して目覚ましい進歩が見られたが (Chen et al., 2015)、これなどは、健康的な脳の促進という点で将来への発展の大きな機会を約束するものである。連邦政府、特にアメリカ国立補完統合衛生センター (NCCIH) からの補助金のおかげで、体内に吸収可能な生理活性ポリフェノール代謝産物、特にココア抽出物の特性解析が可能になり、その結果、ADや、大うつ病性障害 (MDD) を含むストレス誘発性気分障害等の加齢性神経変性疾患の分野において、比類のない新しい躍進が生み出されることは間違いない。

アルツハイマー病および予防戦略としての「マルチターゲット」食事摂取フラバノールの開発

世界各国でADの発症数が増加している。2010年の時点で、AD患者は推計3,560万人に達し、この数は2030年には倍増するものと予測されている (世界保健機関, 2012)。現在使用されているAD

治療薬では、認知低下の改善に貢献するものの、症状の進行を遅らせることはできない。ADの2つの主な病理学的特徴は、細胞外のアミロイド β ($A\beta$) 斑と呼ばれるタンパク質凝集物の形成、および細胞内のタウ神経原線維変化である。 $A\beta$ ペプチド (Cleary et al., 2005) およびタウタンパク質オリゴマー (Santacruz et al., 2005) の毒性がエビデンスによって示されていることから、薬剤発見の試みは、主にこのような病理学的凝集物の蓄積の予防または一掃という点に注がれている。食事がADのリスクを低減する上で有益な役割を果たす [4] という疫学上のエビデンスも提出されていることにより、ADの発症を予防/遅延させるための食事による介入の研究にも関心が高まっている。

この要約では、単一の可変要因ではなく複数の要因/経路に焦点をあてた単純なシステムが、加齢に伴う認知力の低下およびADに対する予防、場合によっては治療において最良の戦略であるという仮説を裏付けるエビデンスについて考察する。これは、加齢に伴う認知力低下の原因となる機序を解明する上で確実に役立つものであり、同時にチョコレート(ココア抽出物)由来のマルチターゲットフラバン-3-オールの治療効果を特定する上でも重要になる。

ADの認知力低下におけるココア由来フラバン-3-オールの役割

進行中の機構研究の主な成果の一つに、認知的加齢からAD認知症への移行を予防し、場合によっては減衰、遅延させる上でのポリフェノールの役割に関する発見が挙げられる。これは、 $A\beta$ 生成と異常 $A\beta$ オリゴマー形成の抑制、 $A\beta$ 一掃の促進を通じたアミロイド病変の抑制や、異常タウのリン酸化反応およびタウ凝集の抑制を通じたタウ病変の抑制によって実現される (Wang et al., 2006)。このような $A\beta$ およびタウに関する機序はすべて、ADの重要な治療標的である。最近の研究では、ブドウ種子からのポリフェノール抽出物が、主に脳内でのフラバン-3-オールのバイオアベイラビリティを向上させるというその性質により、ADの遺伝子組換えマウスにおけるADの表現型を大幅に抑制することが判明している (Wang et al., 2012)。

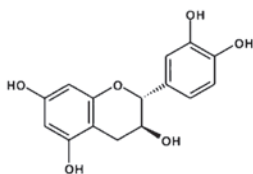
フラバン-3-オールとは、一般的に果実、野菜、植物系製品、中でも茶、ブドウ、ココア等に存在するフラボノイドの主要な一群、つまり植物性化学物質の1つの群である (Neilson et al., 2011)。フラバン-3-オールにはさまざまな型がある。(+) -カテキン (C)、(-) -エピカテキン (EC)、(-) -エピガロカテキン (EGC)、(-) -エピカテキンガラート (ECG)、(-) -没食子酸エピガロカテキン (EGCG) として知られる単量体のフラバン-3-オールは食品中に存在する。さらに複雑なフラバン-3-オールも存在し、プロシアニジン (PC) はこれに当たる。ダイマー PC、オリゴマー PC、ポリマー PCがある。チョコレートに含まれる主要なフラバン-3-オールはECとCで、PCも含まれる (Neilson et al., 2011)。チョコレートに含まれるポリフェノールの量と組成は、その加工処理方法によって変動するため、処理方法がADの機序および認知機能に対して影響する可能性がある。またフラバノールのバイオアベイラビリティも、チョコレートの組成や加工処理方法によって変動する (Neilson et al., 2011)。ココア摂取におけるフラバン-3-オールのバイオアベイラビリティについては、ココア由来Cの吸収と代謝の両方が、チョコレートマトリックス、つまりチョコレートの主要栄養素の組成と物理的形狀によって影響を受けることを示唆するエビデンスもある (Neilson et al., 2010)。例えば、ショ糖含有量が多いチョコレートは、ミルク含有量が多いチョコレートよりも、C代謝産物とEC代謝産物の血漿中濃度を高くする (Neilson et al., 2010)。

ココアを摂取後に血漿中で検出される主要なC代謝産物とEC代謝産物は、O-グルクロニドとO-Me-O-グルクロニドである (Neilson et al., 2010)。興味深いことに、これらの成分は、ブドウや

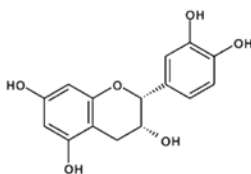
ワインを摂取した後に血漿中で見つかる主要な代謝産物でもある。近年のエビデンスでは、チョコレート抽出方法または加工処理方法が異なれば生理活性も異なることが示されている。例えば、ラバードチョコレートの抽出物には脳の可塑性に良い影響を及ぼしつつ β アミロイドの生成を抑える働きがあるが、ダッチチョコレートやナチュラルチョコレートにはそのような有益な効果はない (Wang et al., 2014)。この差は、抽出の調整方法の違いが原因であり、この調整方法の違いが、ポリフェノールの生理活性／バイオアベイラビリティーのレベルに影響すると考えられる。例えばラバードチョコレートの抽出物は、手洗いされ日光に曝された豆から生成されるが、ダッチチョコレートの処理では、カカオ豆をアルカリ加熱処理する (図1) (Hurst et al., 2015)。

Extracts	TP (GAE)	ORAC	Catechin	Epicatechin	Procyanidin (DP=2 to DP=10)
Natural Cocoa	62	825	1	4.5	34
Dutched Cocoa	21	325	0.1	1.5	6
Lavado Cocoa	100	1230	2.5	13	65.7

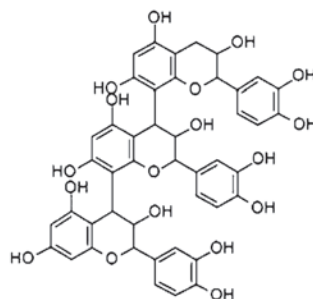
TP: total polyphenol gallic acid equivalents;
ORAC: oxygen radical absorbance capacity



Catechin



Epicatechin



Procyanidin

図1. さまざまな加工済みココア抽出物のポリフェノールの組成

さまざまなココア抽出物のポリフェノール成分。ラバードココアは EC 成分が最も多く、没食子酸 (GA) 相当量 (GAE) として測定された合計ポリフェノール量 (TP) が最も多い。また、酸素ラジカル吸収能 (ORAC) として測定された抗酸化活性が最も高く、プロシアニジンの成分も最も多い。ダッチココアは、対象の 3 つのココア抽出物の中で、ポリフェノール成分がもっとも少ない (出典: Wang et al., 2014)。

赤ワインとコンコードグレープジュースに含まれるケルセチン-3-O-グルクロニドは脳に到達し、 $A\beta$ 生成や $A\beta$ オリゴマー形成の抑制、神経可塑性プロセスの促進等複数の機序を調節することで AD の予防に関与できるという報告は注目すべきであろう (Ho et al., 2013)。特に、他の研究によって明らかになっているが、レスベラトロールが、生体内でオートファジーや AMPK シグナル伝達を活性化することによって、細胞内の $A\beta$ の一掃を促進する可能性があるということである (Vingtdeux et al., 2011)。さらに最近の研究が示しているように、ポリフェノールも異常なタウの過剰リン酸化とタウの蓄積を抑制する可能性がある (Ho et al., 2009)。AD の予防および治療におけるポリフェノールの役割に関する研究があげた大きな功績として、ポリフェノール調製品由来の複数のポリフェノール代謝産物が血液脳関門 (BBB) を通過することができ、薬理的に適切なサブ μM ~ μM 濃度で脳内に浸透・蓄積することが判明している (Ho et al., 2013)。

さらに我々の研究では、特定の脳内浸透ポリフェノールがADの神経病理性機序を調節できることも判明している。例えば、脳内浸透ポリフェノール代謝産物、ケルセチン-3-O-グルコシドの1つが、 $A\beta$ の神経病理性機序を調節できることがわかった (Ho et al., 2013)。また、別の脳内浸透ポリフェノール代謝産物、3'-O-メチル-エピカテキン-5-O- β -グルクロニドが、学習および記憶機能の機序に関わるcAMP応答配列結合タンパク (CREB) のシグナル伝達を促進することによって、直接シナプス可塑性を調節できるということも、我々の研究によって判明している (Wang et al., 2012)。このような知見に基づいて、我々の研究対象のポリフェノール調製品が、脳内に浸透したポリフェノール調製品活性を通じて、 $A\beta$ およびタウの神経病理性機序、神経可塑性、炎症等の複数の発病過程を調節することにより、結果的にADを調節できるという説を唱えた。

チョコレート、ココア抽出物、大うつ病性障害 (MDD)

うつ病や不安は、米国だけでも5,000万以上の人に影響を及ぼしていると考えられる。効果的な予防戦略もない上、現在利用可能な抗うつ剤にしても患者の50%未満にしか効いていないと考えられ (Rush et al., 2009)、根本的な疾患機序を標的にした新しい優れた治療法の必要性が高まっている。最近の多くの臨床研究により、心理社会的なストレス要因が末梢でのサイトカイン生成を増加させることが、うつ病や不安の発生において重要な要因になっている可能性があるとして示されている (Dowlati et al., 2010)。大うつ病性障害 (MDD) の患者の一部は、サイトカインであるインターロイキン6 (IL-6) 等、複数の炎症マーカーのレベルが高くなっている (Maes et al., 2011)。うつ病の診断に生物学的基準は使用されていないが、最新の診断基準では、うつ病の原因の可能性として炎症を特定していることは注目に値する (Association AP, 2013)。その上、最近のメタ分析からは、IL-6が、MDDの患者の血中において継続的に最も増加した炎症誘発性サイトカインであり (Dowlati et al., 2010)、その増加量は、抗うつ剤治療の効果がない患者の重症度とも相関していること (Lanquillon et al., 2000) がわかっている。うつ病患者の約30~60%で、承認されている抗うつ剤の治療効果がない (Krishnan and Nestler, 2008) が、それは、標準的な抗うつ剤で様に治療できないといううつ病の機序、これには全身性炎症等の機序も含まれるが、その多様性を反映している可能性がある。

このように、抗精神病薬開発に対する有望なアプローチとして、抗炎症性によって回復力を活性化させる化合物の選別に主軸が置かれている。我々の研究では、ポリフェノールを多く含むブドウ由来の特定植物性薬品が強い抗炎症性を持ち、IL-6を調節することで精神回復力と脳の健康を促進させることが判明している (Pasinetti, 作成中)。さらに、白血球からのIL-6放出等による末梢性炎症を緩和することによって、精神回復力と脳の健康を促進させられるということを示す強力なエビデンスもある (Pasinetti, 作成中)。このように、一部の体内に吸収された生理活性のあるフェノール代謝産物が、白血球内の末梢性炎症を緩和し、IL-6の生成を抑える可能性が高い。特定のフェノール代謝産物は、白血球由来のIL-6を抑制するだけでなく、シナプス関連遺伝子の発現を調節することによって精神回復力も活性化し、結果的に脳の健康を促進して、反復社会挫折ストレス (RSDS) のような環境ストレス要因によって誘発された不適応なシナプス可塑性を予防する可能性がある (Wang et al., 2017 ; 印刷中)。

炎症は、循環器疾患、2型糖尿病、がん、神経変性疾患等、複数の全身性疾患および局所性疾患の発生および進行において、潜在的なメディエーターとしての中心的な役割を担う。このため研究者達は、炎症反応の伝搬に主要な機序を求めている。近年の臨床的エビデンスにより、チョコレー

トの主要成分であるカカオに、炎症における重要な機序を標的とする潜在的な抗炎症作用が存在することが判明している。このような所見に触発されて、ココアの中に、その明白な治療効果に貢献しているバイオアベイラブルで生理活性のある化合物を探す研究が始められた。ココアに含まれる生理活性のある化合物を特定する上で一層困難な要因になったのが消化管内細菌である。消化管の細菌は、ココア内の化合物を代謝し、抗炎症性の原因となる新たな化合物を生成することがわかっている。我々のグループも、微生物叢が、ブドウ酒ポリフェノール抽出物に対して同様の機能を果たしていることを示している。このような状況の下、ココアの抗炎症作用の要因となる化合物およびその分子特性について完全に理解することを目指すこととした。

我々はかつて、不安およびうつ病のマウスモデルを用いて、認知機能の回復力におけるフラバン-3-オールの有効性を発見したが、この知見に基づいて、ココアを多く含む標準的な調製品に含まれるフラバン-3-オールの種およびその濃度を測定することにした (Pasinetti, 準備中)。定量的質量分析法を使用して解析した結果、フラバン-3-オールを多く含む標準ココア調製品に含まれる最も豊富な化学種はC、EC、ダイマー PC異性体であることが判明した (表1)。これらの化合物は、血流の調節、コレステロールの代謝、がんの発生に寄与する可能性がある活性酸素種の生成等、さまざまな細胞過程に影響することがわかっている。

表 1. 標準的なフラバン -3- オールを多く含む調製品の代表的な定量分析

HPLC/UV/MS を使用して、フラバン -3- オールを多く含むココア調製品の化学組成を定量分析した。P2 = プロアントシアニンジンドイマー、P1G1 = 没食子酸化カテキン派生物、P2G1 = 没食子酸化 PAC ダイマー、P3 = PAC トリマー、P3G1 = 没食子酸化トリマー、P4 = PAC テトラマー、N.D. = 未検出

<i>Compound</i>	<i>mg/g</i>	<i>(%)</i>
Catechin	19.2 ± 0.176	(1.92%)
epicatechin	79.7 ± 0.315	(7.97%)
P2 isomers	69.7 ± 0.608	(6.97%)
Gallic acid	56.2 ± 0.658	(5.62%)
P1G1	N.D.	
P2G1	N.D.	
P3	N.D.	
P3G1	N.D.	
P4	N.D.	

うつ病および炎症：フラバン-3-オールを多く含むココア調製品の役割

うつ病は、世界中で病気の最大原因になっており、現在のうつ病治療法は、その非常に高い治療ニーズを満たすのに必要なレベルに達していない。そのため、根本的な疾患機序に対応し、うつ病に対する回復力を活性化するような新しいアプローチが緊急に必要となっている。インターロイキン (IL) -6やTNF- α 等の特定の炎症メディエーターが現在、炎症の重要な生物学的特徴として、また、うつ病の病態生理学的特徴につながる要因としても認識されている。このため、このような

サイトカインは、新たなうつ病の重要な治療標的と考えられる。

我々は、CおよびECの有益な役割を考慮した上で、これらの化合物を抗炎症指標として治療に応用することへの可能性を探ろうと考えた。このような個別の化合物が、観察されているココアの抗炎症作用に影響していると確信した。我々の仮説を検証するため、C57BL6マウス群に対し、14日間飲み水と一緒にフラバン-3-オールを多く含む標準ココア調製品さまざまな量で投与した。ポリフェノール投与量は、1日あたり合計0、8、40、200、500 mg/kg BWとした。15日目にリポ多糖（LPS）を腹腔内注射によりチャレンジ投与し、6時間後にIL-6の血漿中濃度を測定した。マウスをLPSに曝露後、フラバン-3-オールを多く含む標準ココア調製品の投与量を増やしたところ、特定の濃度でIL-6の血漿中濃度が減少した。この結果、フラバン-3-オールを多く含む標準ココア調製品に含まれる化合物またはその派生物が、投与量依存的に抗炎症作用をもたらすことが示された。この現在進行中の研究は、将来的にうつ病等の気分障害の潜在的な治療方法として、チョコレートから摂取できるココア抽出物の開発を強力に支持するものである。

上記の最近実施した用量設定試験から、ココアを多く含む調製品から得られたフラバン-3-オールが、うつ病の炎症メディエーターに対する有効な治療法になる可能性があると考えられる。実際、実証されている反復社会挫折ストレス（RSDS）モデルでは、フラバノールを多く含む標準ココア調製品を事前に投与しているマウスでは社会的ストレスに対する回復力が高いことがわかっている（Pasinetti, 2017；印刷中）。本研究では、マウスに対して、ポリフェノールを含まない食品を事前に2週間与えた後、飲み水と一緒にフラバノールを多く含む標準ココア調製品または溶媒を1日40 mg/kgの用量で2週間与えてから、反復社会挫折ストレス（RSDS）をかけた。10日間のRSDSの後、マウスに対して社会的回避試験を実施した。

このエビデンスは、他の研究ともあわせて、うつ病のモデルである反復社会挫折ストレスへの曝露下で誘発されたストレスに対する回復力を活性化するためのフラバン-3-オールココア調製品の開発を支持するものとなっている。そのため、我々独自の調製品には、炎症介在性ストレス状況下にある人々に対して、代替治療を提供する可能性があると言える。

微生物叢関連の代謝でポリフェノールから生成されるフェノール代謝産物：

ココア抽出物調製品の生物活性特性解析に対する意味

フラバン-3-オールを多く含むココア抽出物を含む、脳の健康を指向したポリフェノールの開発は、経口摂取されるほとんどのポリフェノールが、吸収時や吸収後の生体異物代謝で消化管（GI）上皮細胞によって広範囲に代謝されるため、一層複雑なものになる。消費される食品ポリフェノール調製品の多くは、上部腸管で吸収されず、腸内細菌によって、フェノール酸等、GI上皮細胞（図2）が効率的に吸収できる低分子量のフェノール化合物に分解される（Ozdamar et al., 2016）。in vitro試験では、分離したヒトの糞便微生物叢がCおよびECを、3-ヒドロキシフェニル酢酸、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸、3-(3'-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸（3-HPP）、3-(3',4'-ジヒドロキシフェニル)プロピオン酸等、複数のフェノール酸に分解できることが示された（Aura et al., 2008）。in vitro試験で、腸内微生物叢でのプロアントシアニジン等のフラボノイドの代謝が確認されており、またフラボノイドの経口投与後のフェノール酸の尿中含量からも、フェノール化合物の産生が予想される（Aura et al., 2002）。文献によるエビデンス（Bolca et al., 2013）でも、腸内微生物群（つまり腸内細菌）が、経口摂取したポリフェノールを多く含む植物性サプリメントから、生理活性フェノール代謝産物、特にフェノール酸のバイオコンバージョンとバイオアベイラビリティの調節に

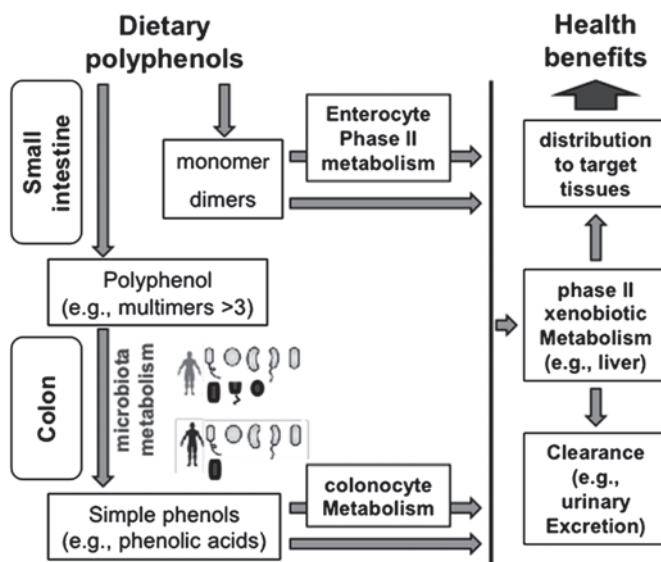


図 2. 腸内細菌組成の個人差が、ポリフェノールを多く含む植物性薬品による健康上の利益に影響

経口摂取の後、第II相代謝（例えばグルクロン酸化）により、腸細胞の変容があるかどうかに関係なく、単量体（程度は小さいが二量体の場合もある）ポリフェノールが小腸から吸収される。ほとんどのポリフェノール調製品、特に多重結合のものは、小腸から吸収されず、結腸に送られ、そこで微生物代謝により、フェノール酸等の単純フェノールに変換される。このようなフェノール酸の一部が、第II相代謝により、腸細胞の変容があるかどうかに関係なく、吸収される。吸収されたポリフェノール代謝産物およびフェノール酸はさらに、主に肝臓で第II相代謝され、その後、血液細胞や脳等の標的組織に送られる。この図では、個人間の微生物叢の多様性を「赤」の菌種で示しており、精神や認知機能の回復力をもたらず細胞／分子レベルの機序の調節が可能な特定の生理活性フェノール酸の生成に必要なものを表す。

において、重大な役割を果たしていることが示されている。例えば、我々のグループのエビデンスは、特定の植物性サプリメントの経口投与により、3,4-ジヒドロクシドシニアミノ酸、3-(3'-ヒドロキシフェニル) プロピオン酸、ホモバニリン酸等の複数のフェノール酸が循環血液内に蓄積されることを示している (Wang et al., 2015)。我々のこれまでの研究は、生理活性フェノール酸のバイオコンバージョンとバイオアベイラビリティの調節において、GI微生物叢がきわめて重要な役割を果たしているという事実を強力に支持しており、この生理活性フェノール酸に当たる、フラバン-3-オールを多く含むココア調製品は、認知的加齢の予防や、ストレス由来のMDDに対する精神回復力の促進等の点で健康上の利益をもたらす。

結論

以上、さまざまなエビデンスを挙げてきたが、ココア抽出物が認知機能に対してどのような機序で恩恵をもたらすかについての理解はまだまだ限定的である。エビデンスは、特定のココア調製品が、 $A\beta$ の物理構造を変化させることにより、ADの機序に影響することを示している。ADでの認知機

能の低下は発症の数十年前に始まっていると考えられるが、この事実はアルツハイマー型を含む認知症の予防分野に広範な示唆をもたらす。生産者、卸売販売業者、生物医学界の間で学際的な新しい共同研究を実施することにより、フラバン-3-オールを多く含むココア調製品およびチョコレートが人の健康に与える有益な作用について理解を深めるためのかつてない機会が得られると思われる。有益な作用を持つ脳内吸収生理活性代謝産物の生物活性や特性解析について、特にココア抽出物の加工処理に関するさらに多くのin vivo研究が必要である。さらに、ココアの基礎化学の進歩と、臨床応用のためのココア調製品開発の点でも、ココアおよびココア調製品からのポリフェノールの最適検出および定量化を標準化するための多大な努力が必要になる。ココア（およびブルーベリー、ザクロ、ブドウ等のその他のポリフェノールを多く含む食品）に含まれるポリフェノールの分析は通常、ポリフェノールを高圧液体クロマトグラフィー等のクロマトグラフィー技法で分解してから、質量分析（MS）やタンデムMS（MS/MS）、その他の検出方法を組み合わせ、紫外線（一種類または数種類の波長）を使用して、分離したポリフェノールを検出することによって実施される（Li et al., 2015）。ココア等、所定のポリフェノール調製品からのポリフェノールの検出と定量化は、分析用にポリフェノール調製品からポリフェノールを抽出する方法だけでなく、クロマトグラフィー／検出方法や分析手順によっても大きな影響を受ける（Ignat et al., 2011）。しかし、発表されているさまざまなポリフェノール抽出分析方法は、そのほとんどが、ポリフェノールの個別の群（一群）または個々のポリフェノールの分析に合わせて調整されていることから、それぞれで大きく異なっている。臨床応用のためのココアを開発するためには、ココアに含まれるポリフェノール成分の検出、測定、定量化のためのポリフェノール抽出／解析アプローチについて最適化、標準化を行うための協調した研究が必要になる。このような情報は、ブルーベリー、ザクロ、ブドウ等の他の天然抽出物に含まれるポリフェノールの臨床開発の進歩にも貢献することになる。

臨床でのココア抽出物のトランスレーショナル研究が成功するには、新しいココア抽出物源の開発、ココア調製品に含まれるポリフェノールの定量的検出方法の標準化、ココア加工処理方法の効果およびココアポリフェノールの生物学的有効性と生物活性についての研究等についての協調した研究努力が必要になる（図3）。

チョコレートメーカーが、このような重要な問題について検討し、食品またはAD予防のための機能性食品という形で市販できるココア抽出物の開発に踏み出すことが望まれる。上記のエビデンスを鑑みると、特定の食品やライフスタイルの選択がADの予防に及ぼす効果へ大きな期待を寄せることができる。

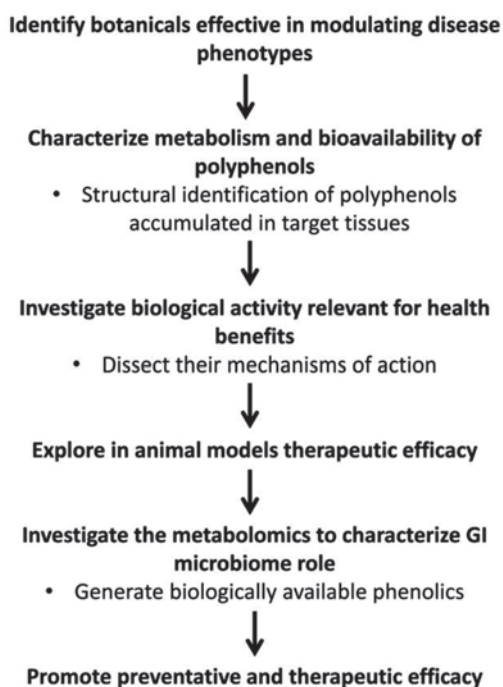


図3. 生涯にわたり認知力低下やストレス性気分障害に対する回復力を活性化させる潜在的な植物薬として、フラバン-3-オールを多く含むココア抽出物を開発する際の推奨手順。

謝辞

本稿は、アメリカ国立補完統合衛生センター(NCCIH)およびダイエタリーサプリメント局(ODS)からの補助を受け(認可番号P50 AT008661-01『Dietary Botanicals in the Preservation of Cognitive and Psychological Resilience』)作成された。

References

Association AP (2013). Diagnostic and statistical manual of mental disorders (Arlington: American Psychiatric Publishing).

Aura,A.M., Mattila,I., Seppanen-Laakso,T., Miettinen,J., Oksman-Caldentey,K.M., and Oresic,M. (2008). Microbial metabolism of catechin stereoisomers by human faecal microbiota: Comparison of targeted analysis and a non-targeted metabolomics method. *Phytochemistry Letters* 1, 18-22.

Aura,A.M., O'Leary,K.A., Williamson,G., Ojala,M., Bailey,M., Puupponen-Pimia,R., Nuutila,A.M., Oksman- Caldentey,K.M., and Poutanen,K. (2002). Quercetin derivatives are deconjugated and converted to hydroxyphenylacetic acids but not methylated by human fecal flora in vitro. *J Agric. Food Chem* 50, 1725-1730.

Bolca,S., Van de,W.T., and Possemiers,S. (2013). Gut metabotypes govern health effects of dietary polyphenols. *Curr Opin Biotechnol.* 24, 220-225.

Chen,T.Y., Kritchevsky,J., Hargett,K., Feller,K., Klobusnik,R., Song,B.J., Cooper,B., Jouni,Z., Ferruzzi,M.G., and Janle,E.M. (2015). Plasma bioavailability and regional brain distribution of polyphenols from apple/grape seed and bilberry extracts in a young swine model. *Mol Nutr Food Res* 59, 2432-2447.

Cleary JP, Walsh DM, Hofmeister JJ, Shankar GM, Kuskowski MA, Selkoe DJ, Ashe KH(2005) Natural oligomers of the amyloid-beta protein specifically disrupt cognitive function *Nat Neurosci*8: 7984

Dowlati,Y., Herrmann,N., Swardfager,W., Liu,H., Sham,L., Reim,E.K., and Lanctot,K.L. (2010). A meta- analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry* 67, 446-457.

Dubner L, Wang J, Ho L, Ward L, Pasinetti GM (2015) Recommendations for Development of New Standardized Forms of Cocoa Breeds and Cocoa Extract Processing for the Prevention of Alzheimer' s Disease: Role of Cocoa in Promotion of Cognitive Resilience and Healthy Brain Aging. *J Alzheimer' s Dis* 48(4), 879-89

Ho,L., Ferruzzi,M.G., Janle,E.M., Wang,J., Gong,B., Chen,T.Y., Lobo,J., Cooper,B., Wu,Q.L., Talcott,S. T., Percival,S.S., Simon,J.E., and Pasinetti,G.M. (2013). Identification of brain-targeted bioactive dietary quercetin-3-O-glucuronide as a novel intervention for Alzheimer's disease. *FASEB J* 27, 769-781.

Ho L, Yemul S, Wang J, Pasinetti GM (2009) Grape seed polyphenolic extract as a potential novel therapeutic agent in tauopathies. *J Alzheimers Dis* 16, 433-439.

Hurst WJ, Krake SH, Bergmeier SC, Payne MJ, Miller KB, Stuart DA (2011) Impact of

fermentation, drying, roasting and Dutch processing on flavan-3-ol stereochemistry in cacao beans and cocoa ingredients. *Chem Cent J* 5, 53-

Ignat I, Volf I, Popa VI(2011) A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables *Food Chem*126: 18211835

Krishnan,V., and Nestler,E.J. (2008). The molecular neurobiology of depression. *Nature* 455, 894-902. Lanquillon,S., Krieg,J.C., ing-Abu-Shach,U., and Vedder,H. (2000). Cytokine production and treatment response in major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology* 22, 370-379.

Lanquillon,S., Krieg,J.C., ing-Abu-Shach,U., and Vedder,H. (2000). Cytokine production and treatment response in major depressive disorder. *Neuropsychopharmacology* 22, 370-379.

Li J, He X, Li M, Zhao W, Liu L, Kong X(2015) Chemical fingerprint and quantitative analysis for quality control of polyphenols extracted from pomegranate peel by HPLC *Food Chem*176: 711

Maes,M., Kubera,M., Obuchowiczwa,E., Goehler,L., and Brzeszcz,J. (2011). Depression's multiple comorbidities explained by (neuro)inflammatory and oxidative & nitrosative stress pathways. *Neuro. Endocrinol Lett* 32, 7-24.

Neilson AP , Ferruzzi MG (2011) Influence of formulation and processing on absorption and metabolism of flavan-3-ols from tea and cocoa. *Annu Rev Food Sci Technol* 2, 125-151.

Neilson AP, Sapper TN, Janle EM, Rudolph R, Matusheski NV, Ferruzzi MG (2010) Chocolate matrix factors modulate the pharmacokinetic behavior of cocoa flavan-3-ol phase II metabolites following oral consumption by Sprague-Dawley rats. *J Agric Food Chem* 58, 6685-6691.

Ozda,T., Sela,D.A., Xiao,J., Boyacioglu,D., Chen,F., and Capanoglu,E. (2016). The Reciprocal Interactions between Polyphenols and Gut Microbiota and Effects on Bioaccessibility. *Nutrients*.

Pasinetti GM. Towards prevention and therapy of Alzheimer' s disease. (2015) *Mol Aspects Med* 43-44, 1-2.

Qureshi NA, Al-Bedah AM (2013) Mood disorders and complementary and alternative medicine: A literature review. *Neuropsychiatr Dis Treat* 9, 639–658.

Santacruz K, Lewis J, Spires T, Paulson J, Kotilinek L, Ingelsson M, Guimaraes A, DeTure M, Ramsden M, McGowan E, Forster C, Yue M, Orne J, Janus C, Mariash A, Kuskowski M, Hyman B, Hutton M, Ashe KH(2005) Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function *Science*309: 476481

Schmidt,B., Ribnický,D.M., Poulev,A., Logendra,S., Cefalu,W.T., and Raskin,I. (2008). A natural history of botanical therapeutics. *Metabolism* 57, S3-S9.

Vingtdeux V, Chandakkar P, Zhao H, Davies P, Marambaud P (2011) Small-molecule activators of AMP-activated protein kinase (AMPK), RSVA314 and RSVA405, inhibit adipogenesis. *Mol Med* 17, 1022-1030.

Wang D., Ho,L., Faith,J., Ono,K., Janle,E.M., Lachcik,P.J., Cooper,B.R., Jannasch,A.H., D'Arcy,B.R.,

Williams,B.A., Ferruzzi,M.G., Levine,S., Zhao,W., Dubner,L., and Pasinetti,G.M. (2015). Role of intestinal microbiota in the generation of polyphenol-derived phenolic acid mediated attenuation of Alzheimer's disease beta-amyloid oligomerization. *Mol Nutr Food Res* 59, 1025-1040.

Wang,J., Ferruzzi,M.G., Ho,L., Blount,J., Janle,E.M., Gong,B., Pan,Y., Gowda,G.A., Raftery,D., rrieta-Cruz,I., Sharma,V., Cooper,B., Lobo,J., Simon,J.E., Zhang,C., Cheng,A., Qian,X., Ono,K., Teplow,D.B., Pavlides,C., Dixon,R.A., and Pasinetti,G.M. (2012b). Brain-targeted proanthocyanidin metabolites for Alzheimer's disease treatment. *J Neurosci* 32, 5144-5150.

Wang J, Georgia E. Hodes², Hongxing Zhang³, Song Zhang³, Wei Zhao¹, Sam A. Golden², Weina Bi¹, Caroline Menard², Veronika Kana⁴, Marylene Leboeuf⁴, Marc Xie¹, Dana Bregman², Madeline Pfau², Meghan Flanigan², Adelaida Esteban-Fernández¹, Shrishailam Yemul¹, Ali Sharma¹, Lap Ho¹, Richard Dixon⁵, Miriam Merad⁴, Ming-Hu Han, Scott J. Russo², Giulio M. Pasinetti^{1,6} * Epigenetic modulation of inflammation and synaptic plasticity promotes resilience against stress disorders and depression, *Nature Communications*, 2017 (in press).

Wang J, Ho L, Zhao Z, Seror I, Humala N, Dickstein DL, Thiyagarajan M, Percival SS, Talcott ST, Pasinetti GM (2006) Moderate consumption of Cabernet Sauvignon attenuates Abeta neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J* 20, 2313-2320.

Wang J, Hodes G, Zhang HX, Zhang S, Zhao W, et al. Epigenetic modulation of inflammation and synaptic plasticity promotes resilience against stress disorder and depression (2017, submitted).

Wang J, Varghese M, Ono K, Yamada M, Levine S, Tzavaras N, Gong B, Hurst WJ, Blitzer RD, Pasinetti GM (2014) Cocoa extracts reduce oligomerization of amyloid-beta: Implications for cognitive improvement in Alzheimer' s disease *J Alzheimers Dis* 41: 643650

World Health Organization, Alzheimer' s Disease International (2012) Dementia: A public health priority. http://www.who.int/mental_health/publications/dementia_report_2012/en/