

ココアの睡眠障害改善効果

大石 勝隆

(国立研究開発法人産業技術総合研究所・細胞分子工学研究部門食健康機能研究グループ・研究グループ長)

はじめに

社会の24時間化や高齢化により、睡眠障害は日本における大きな社会問題となっており、成人の5人に1人が、入眠困難や早朝の中途覚醒、睡眠の質の悪さなどの睡眠障害の症状を有していることが報告されている。2017年のアメリカのシンクタンクの発表によると、日本の睡眠障害による経済損失は15兆円となり、GDP比では2.9%と世界で最も深刻であると指摘されている[1]。睡眠障害は、うつ病などの精神疾患や認知症、成長障害のみならず、肥満や糖尿病、高血圧、メタボリックシンドロームなどの生活習慣病の発症とも密接に関係していることが明らかとなってきた。

不眠症などの睡眠障害の治療は、生活習慣の改善による非薬物療法と、薬による催眠作用を利用した薬物療法に分けられるが、対症療法的な薬剤治療には副作用のリスクも存在する。生活習慣の改善による睡眠改善が重要であると考えられるが、新たな機能性表示制度が誕生したことにより、科学的根拠の下に、食品の機能性を利用した睡眠改善が期待されている[2]。

睡眠障害の発症メカニズムは複雑であり、他の多くの疾患と同様に遺伝的な要因と環境要因が複合的に関与しているものと予想される。睡眠障害のみならず、睡眠障害に起因するうつ病などの精神疾患や、肥満、糖尿病、高血圧、メタボリックシンドロームなどの生活習慣病の発症メカニズムについては、今のところほとんど不明である。筆者らは、睡眠障害や睡眠障害に関連する様々な疾患の発症メカニズムの解明とともに、睡眠障害の簡便な診断を可能とするバイオマーカーの開発、睡眠障害を改善するための機能性食品成分や医薬品リード化合物の探索を目指し、ヒトの睡眠障害への外挿が可能なモデル動物を開発した[3]。

カカオ豆には、エピカテキンやカテキンなどのポリフェノール類が豊富に含まれており、酸化ストレスや炎症に関連した心血管障害や生活習慣病の予防効果が知られている[4,5]。さらにココアフラボノイドには、血管拡張による脳内の血流増加作用や、神経細胞の保護作用、神経細胞の再生促進作用などを介して、認知機能を改善する効果が知られている[6-8]。

筆者らは、精神的ストレス負荷による慢性的な睡眠障害モデルマウスを用いて、ココアの摂取が、活動リズムや睡眠覚醒リズムの乱れに与える影響について検討を行った[9]。

活動リズムに対するココア摂取の影響

従来、睡眠障害の動物モデルとしては、実験者によるハンドリングや、回転かごを用いた強制輪回し運動、上位個体との接触による社会的敗北などが報告されてきたが、いずれも強制的断眠実験であり、ヒトの不眠症などで見られる睡眠の乱れとは異なる性質のものと思われる。筆者らは、マウス用の回転かごの付いた飼育ケージを用いて、床敷きの代わりに数センチの水を張るだけで、長期間にわたって昼夜の輪回し行動のリズムが大きく乱れることを発見した[3]。マウスは、ケージの底に張られた水を嫌い、ゆらゆらと安定しない回転かごの上で睡眠をとることになるが、餌や水

は自由に摂取することが可能であり、数ヶ月間もの長期実験が可能である。

以下に、このストレス性睡眠障害モデルマウスの特徴を示し、主な特徴について概説する。

- ① 遺伝子の改変を伴わない
- ② 昼夜の活動リズムの減衰（活動期における活動量の極端な減少）
- ③ 昼夜の睡眠覚醒リズムの消失（非活動期の覚醒時間の延長と睡眠時間の短縮、活動期の覚醒時間の短縮と睡眠時間の延長）
- ④ 数ヶ月間の長期にわたって、動物の衰弱や馴化が認められない[10]
- ⑤ 顕著な過食[11]
- ⑥ 耐糖能の低下（糖尿病のリスクが増大）[10]
- ⑦ 不安情動の亢進（うつ傾向）[12]
- ⑧ 長期記憶能の低下[12]

筆者らは、健康的とはいえない現代食を模倣する意図で、高脂肪高シヨ糖食に2%のナチュラルココアパウダーを混餌し、マウスの回転かご運動に与える影響を睡眠障害の有無で比較した。すなわち、高脂肪高シヨ糖食群、高脂肪高シヨ糖食+ココア摂取群、高脂肪高シヨ糖食/睡眠障害群、高脂肪高シヨ糖食+ココア摂取/睡眠障害群の4群を設け、活動量及び1日の活動リズムに対する影響を30日間計測した。

マウスは夜行性のため、回転かご運動の大半は暗期に認められるが、ストレスの負荷によって明期の前半にも活動が認められ、暗期の活動量が大きく減少する(図1)。ココアを摂取させたマウスにおいては、ストレスを負荷しない状態では活動量や活動リズムに全く影響しないものの、ストレスを負荷した状態では、暗期の活動量の低下を有意に抑制することが示された。

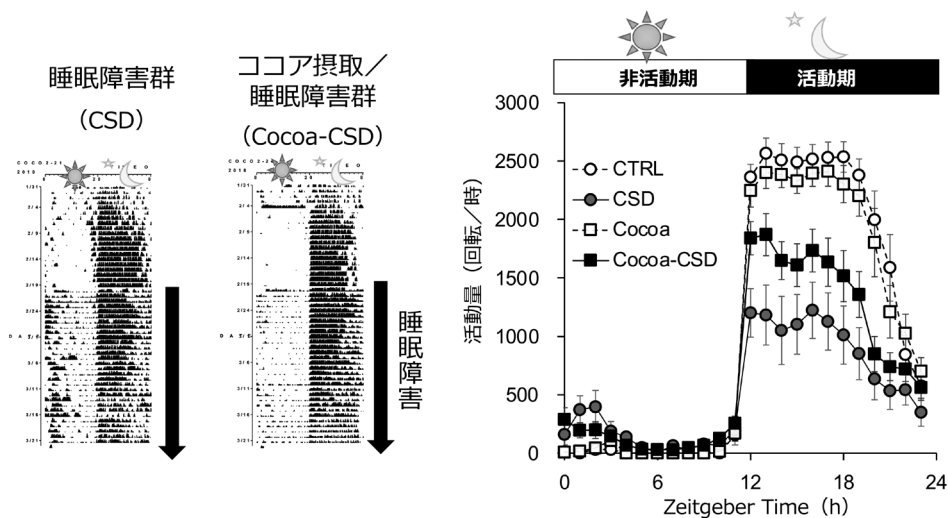


図1 ナチュラルココアの摂取が睡眠障害モデルマウスの活動リズムに与える影響
平均値±標準誤差 (n = 8-13)。CTRL, 対照群; CSD, 睡眠障害群; Cocoa,
ココア摂取群; Cocoa-CSD, ココア摂取睡眠障害群。

睡眠覚醒リズムに対するココア摂取の影響

プライムテック社のテレメトリーシステムにより、睡眠脳波への影響について検討を行った。図2に、1時間当たりの覚醒時間、レム睡眠時間、ノンレム睡眠時間の推移を示した。活動リズムと同様、ココアの摂取は、ストレスを負荷しない状態においては、睡眠覚醒リズムにほとんど影響しないもの(図2A)、ストレスを負荷した状態においては、明期、暗期ともに睡眠覚醒リズムに影響が認められた(図2B)。ココアの影響を分かりやすくするために、1日を6時間ごとに分け、明期前半(L1)、明期後半(L2)、暗期前半(D1)、暗期後半(D2)としてグラフに示した(図3)。ストレスの負荷は、活動リズムに対する影響以上に、明期前半における覚醒時間を延長してノンレム睡眠時間を減少させることが示された。一方、暗期前半においては、ストレス負荷によって覚醒時間が減少し、ノンレム睡眠時間が延長することが示された。ココアの摂取は、明期前半においても暗期前半においても、これらの影響を有意に抑制し、正常時の睡眠覚醒リズムに近づけることが示された。

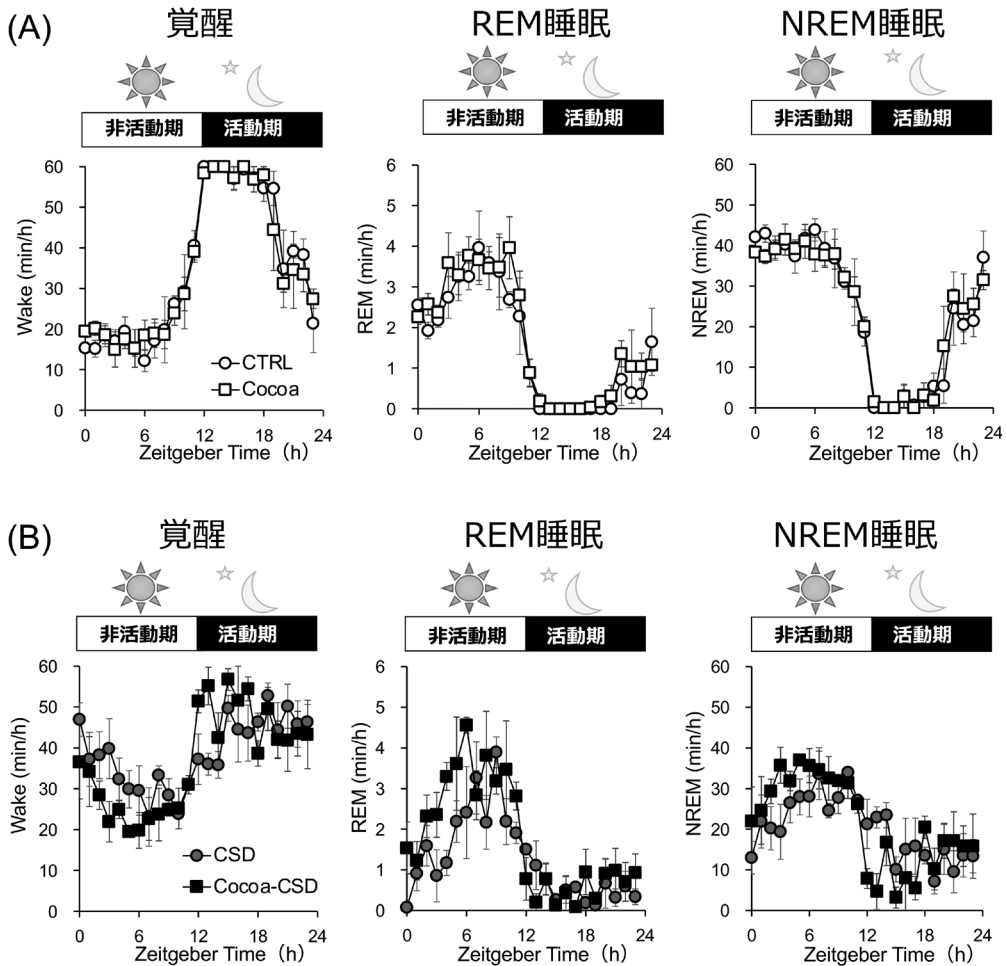


図2 ナチュラルココアの摂取が睡眠障害モデルマウスにおける睡眠覚醒リズムに与える影響

A; 通常時の睡眠覚醒リズム。B; 睡眠障害負荷時の睡眠覚醒リズム。

平均値±標準誤差 (n = 3)。CTRL, 対照群; CSD, 睡眠障害群; Cocoa,

ココア摂取群; Cocoa-CSD, ココア摂取睡眠障害群。

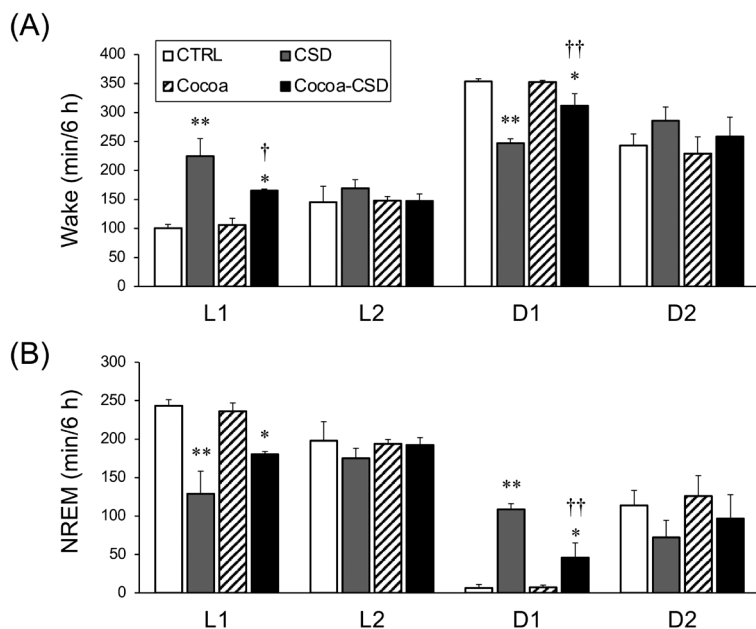


図3 ナチュラルココアの摂取が睡眠障害モデルマウスにおける睡眠覚醒リズムに与える影響（6時間ごと）
 A：6時間ごとの覚醒時間に与える影響。B：6時間ごとのノンレム睡眠時間に与える影響。
 平均値±標準誤差（n = 3）。L1, 明期前半；L2, 明期後半；D1, 暗期前半；D2, 暗期後半。
 CTRL, 対照群；CSD, 睡眠障害群；Cocoa, ココア摂取群；Cocoa-CSD, ココア摂取睡眠障害群。

昼夜の睡眠覚醒リズムが体内時計によって制御される一方で、24時間トータルの睡眠時間については、ホメオスタティックなメカニズムによって制御されている。今回の実験から、ストレス負荷の有無にかかわらず、トータルのレム睡眠時間がココア摂取によって延長することが示され、ココアがレム睡眠を促進する可能性も示された。

ココア摂取が脳内の分子シャペロンの発現に与える影響

ナチュラルココアがストレス性睡眠障害を緩和するメカニズムについては不明であるが、脳内における分子シャペロンの発現制御を介した作用である可能性が考えられる。分子シャペロンの多くは熱ショックタンパク質とも呼ばれており、様々なタンパク質の高次構造の構築や、変性タンパク質の不可逆的な凝集の阻止や天然構造への回復を担うタンパク質である。従来動物を用いた断眠実験結果から、断眠によっていくつかのシャペロンタンパク質の発現が誘導されることが報告されていた。そこで筆者らは、代表的なシャペロンタンパク質であるHSP70をコードする遺伝子*Hspa1a*の発現や関連する*Dnajb1*、*Hsp90*、*Hsp105*の脳内での発現を調べた(図4)。その結果、ストレス性睡眠障害の負荷によって、*Hspa1a*と*Dnajb1* mRNAの発現量が有意に増加することが示された。これらの遺伝子がコードしているタンパク質は、両者が結合することによって変性タンパク質の修復を行うことが知られている。興味深いことに、ココアの摂取によって睡眠障害を負荷しない状態において*Hspa1a* mRNAの発現量が増加しており、ココア摂取群では、睡眠障害負荷によってこれらの遺伝子の発現量が全く増加しないことが示された。すなわち、ココアの摂取によって予めタンパク質の変性に対して防御能力を向上させている可能性が考えられた。

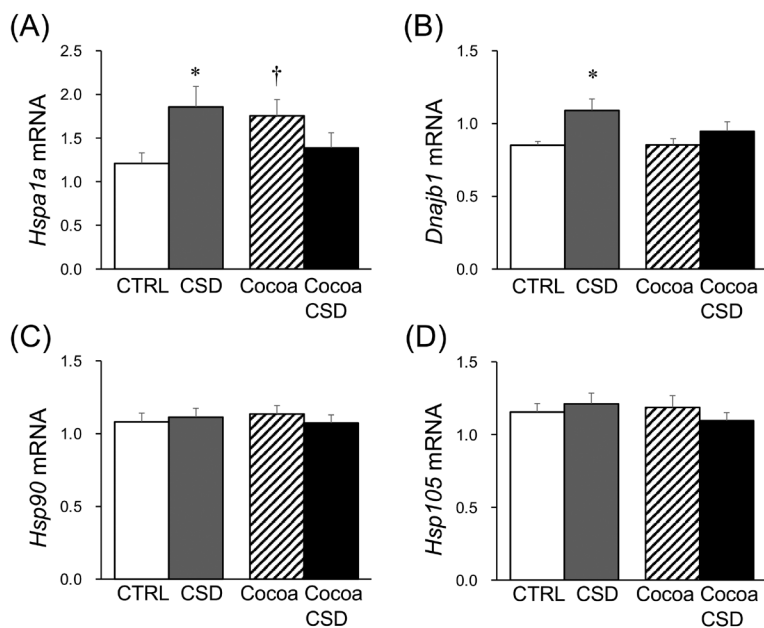


図4 ナチュラルココアの摂取が脳内におけるヒートショックタンパク質のmRNA発現に与える影響
平均値±標準誤差 (n = 5-7)。CTRL, 対照群; CSD, 睡眠障害群; Cocoa,
ココア摂取群; Cocoa-CSD, ココア摂取睡眠障害群。

おわりに

本研究では、ナチュラルココアの摂取が、ストレスによる慢性的な睡眠障害を予防する可能性を動物実験によって示したものであるが、その有効成分の同定と作用メカニズムの解明が期待されるとともに、ヒト試験による検証も必要であると考えられる。

謝辞

本研究の一部は、財団法人糧食研究会からの研究助成により実施いたしました。ここに記して厚く感謝の意を表します。本研究の遂行にあたり貴重なご助言や情報のご提供をいただきました株式会社 明治の夏目みどり氏に心より感謝申し上げます。

参考文献

1. Hafner M, Stepanek M, Taylor J, Troxel WM, van Stolk C. Why Sleep Matters-The Economic Costs of Insufficient Sleep : A Cross-Country Comparative Analysis. *Rand Health Q* 2017 ; 6 : 11.
2. 大石勝隆. 機能性食品と時間栄養, 柴田重信 編, *時間栄養学*, 化学同人, 2020年.
3. Miyazaki K, Itoh N, Ohyama S, Kadota K, Oishi K. Continuous exposure to a novel stressor based on water aversion induces abnormal circadian locomotor rhythms and sleep-wake cycles in mice. *PLoS One* 2013 ; 8 : e55452.
4. Strat KM, Rowley TJt, Smithson AT, Tessem JS, Hulver MW, Liu D, et al. Mechanisms by which cocoa flavanols improve metabolic syndrome and related disorders. *J Nutr Biochem*.

2016 ; 35 : 1-21.

5. Jaramillo Flores ME. Cocoa flavanols : Natural agents with attenuating effects on metabolic syndrome risk factors. *Nutrients*. 2019 ; 11 : 751.
6. Spencer JP. Flavonoids and brain health : multiple effects underpinned by common mechanisms. *Genes Nutr*. 2009 ; 4 : 243-250.
7. Williams RJ, et al. Flavonoids, cognition, and dementia: actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med*. 2012 ; 52 : 35-45.
8. Sokolov A, et al. Chocolate and the brain : Neurobiological impact of cocoa flavanols on cognition and behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 2013 ; 37 : 2445-2453.
9. Oishi K, Okauchi H, Yamamoto S, Higo-Yamamoto S. Dietary natural cocoa ameliorates disrupted circadian rhythms in locomotor activity and sleep-wake cycles in mice with chronic sleep disorders caused by psychophysiological stress. *Nutrition* 2020 ; 75-76 : 110751.
10. Oishi K, Ohyama S, Higo-Yamamoto S. Chronic sleep disorder induced by psychophysiological stress induces glucose intolerance without adipose inflammation in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2018 ; 495 : 2616-2621.
11. Oishi K, Yamamoto S, Itoh N, Miyazaki K, Nemoto T, Nakakita Y, Kaneda H. Disruption of behavioral circadian rhythms induced by psychophysiological stress affects plasma free amino acid profiles without affecting peripheral clock gene expression in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2014 ; 450 : 880-4.
12. Sakamoto K, Higo-Yamamoto S, Egi Y, Miyazaki K, Oishi K. Memory dysfunction and anxiety-like behavior in a mouse model of chronic sleep disorders. *Biochem Biophys Res Commun* 2020 ; 529 (2) : 175-179.