

カカオフラバノール摂取に伴う認知機能の変化： 機能的近赤外分光法 (fNIRS) を用いた検討

佐藤 大樹

(芝浦工業大学システム理工学部生命科学科生命医工学コース教授)

1. はじめに

近年、カカオ豆に豊富に含まれるカカオフラバノール (CF) の摂取がもたらす健康効果が注目されている。代表的な効果として、高血圧や高血糖を軽減し、心血管疾患を予防する心臓血管系への作用が知られているが[1-2]、近年では、認知機能の向上など中枢神経系への作用も明らかにされつつある[3-4]。本研究では、特にCFの単回摂取に伴う短期的な認知機能の向上について、主観的な覚醒度や気分状態、自律神経活動、および認知課題に対するパフォーマンスと脳活動信号の観点から検討した。

CF摂取に伴う認知機能の向上に関する先行研究は多く報告されているが、ヒトを対象とした体系的な検討は不十分であると考えられる。例えば、難易度が低い引き算課題では、高CF飲料 (CF 994 mg) と中CF飲料 (CF 520 mg) の両条件で成績が向上したのに対し、難易度が高い引き算課題では高CF飲料摂取条件で逆に成績が低下することが報告されている[5]。一方、Grattonら(2020)は、認知的抑制や注意を要するストループ課題を用いて、難易度が高い場合のみ、高CF飲料 (CF 681.4 mg) 摂取による効果が見られることを示した[6]。このように、これまでの研究では、認知課題の種類や難易度、摂取するCF量により様々なパターンの影響が見られている。また、認知課題のパフォーマンスだけでなく、主観的な気分状態や脳活動についても同様に、研究間での一貫性は必ずしも明確ではない。そのため、複数の計測方法を使った検討により、対象者の属性 (年齢や性別など) や摂取するCFの量、認知課題の種類や難易度などによる効果を体系的に明らかにする必要があると考えた。

我々の研究では、そのアプローチの第1歩として、CF飲料摂取による短期的な中枢神経系 (認知機能) への効果を複数の生体信号 (マルチモダリティ生体信号) を用いて示すことを目的とした。具体的には、下記4種類のデータを用いて、CF飲料摂取による認知的・気分的な改善効果を検討した。

- (1) 主観評価 (アンケート) : 心理質問紙およびVisual Analog Scale (VAS) により、精神疲労、覚醒度 (眠気)、気分などのスコアを得る。
- (2) 心拍変動成分 (Heart Rate Variability: HRV) : 心拍変動の低周波 (LF) 成分は交感神経活動、高周波 (HF) 成分は副交感神経活動と関連することが知られているため[7]、心拍変動から自律神経活動の指標を得る。
- (3) 認知課題パフォーマンス : 記憶や注意に関わる代表的な認知課題を与え、正答率と反応時間を認知的パフォーマンスの指標とする。
- (4) 脳活動 (脳血流信号の変化) : 認知課題に伴う脳活動 (脳血流信号) の変化を、機能的近赤外分光法 (functional Near-infrared Spectroscopy : fNIRS) を用いて計測する。fNIRSは脳表のヘモグロビン濃度信号を多点同時計測する技術であり、実験参加者に対する拘束性が低く、また特別な実験環境を必要とせず日常環境下で使用できるという特長を持つ[8]。

2. 予備実験

はじめに、CF摂取による影響が見られる認知課題を選抜するため、ダブルブラインドクロスオーバーデザインの予備実験を実施した。

<参加者>

インフォームドコンセントが得られた40-64歳の成人（男性10名、女性10名、平均年齢52.2歳）が参加した。

<プロトコル>

各参加者は、1週間空けて2回の計測に参加した。各計測日では、下記の認知課題セットを実施した後、①CFを30-120 [mg] 含むCF飲料、②CFを含まない対照飲料、いずれかを摂取し、その30分後および90分後に、それぞれ2回目、3回目の認知課題セットを繰り返し実施した。

<認知課題>

Cognitrax（株式会社ヘルス・ソリューション）を用いて、言語記憶テスト、視覚記憶テスト、ストループテスト、注意シフトテスト、論理思考テスト、4パート持続処理テストを実施した。

<解析および結果>

測定上のトラブルでデータを取得できなかった7名を除いた13名を対象として、各テストのスコアと反応時間を解析した。飲料摂取前から摂取後にかけての変化量をCF飲料摂取条件と対照飲料摂取条件で比較した結果、飲料摂取の30分後に言語記憶テストと注意シフトテストのスコアが有意に向上した ($p<0.05$)。

以上より、30-120 [mg] 程度のCF摂取により、約30分という短時間で、言語記憶や注意などの認知機能に影響を与えうることが示された。そのため、本実験では、CF摂取の効果を検討するタイミングを摂取30分後とし、言語記憶および注意機能に関連する認知機能を検討することとした。

3. 本実験

ダブルブラインドクロスオーバーデザインを用いて、CF摂取による影響を、(1) 主観評価（アンケート）、(2) 心拍変動成分（Heart Rate Variability: HRV）、(3) 認知課題パフォーマンス、(4) 脳活動（脳血流信号の変化）から成る4つの項目で検討した。

<参加者>

インフォームドコンセントが得られた40-63歳の成人（男性10名、女性10名、平均年齢49.8歳）が参加した。

<プロトコル>

各参加者は、1週間空けて2回の計測に参加した。各計測日では、各種1回目（Pre）の計測後、①CFを30-120 [mg] 含むCF飲料、②CFを含まない対照飲料、いずれかを摂取し、その30分後に、2回目（Post）の計測を実施した（Fig.1）。

<計測>

- (1) 主観評価（アンケート）：「感情覚醒チェックリスト（EACL）[9]」を用いて、覚醒4尺度（「エネルギー覚醒+」「エネルギー覚醒-」「緊張覚醒+」「緊張覚醒-」）を評価した。また、VASを用いて、「気分」「疲労」「眠気」について評価した。
- (2) 心拍変動成分（Heart Rate Variability: HRV）：生体信号収録装置MP6000（ミユキ技研）を用いて、非利き手の指先から脈波信号を計測した。脈拍信号は2回微分することで加速度脈波とし、ピークを算出してRR間隔の変動を求めた。RR間隔の変動を周波数解析することにより、

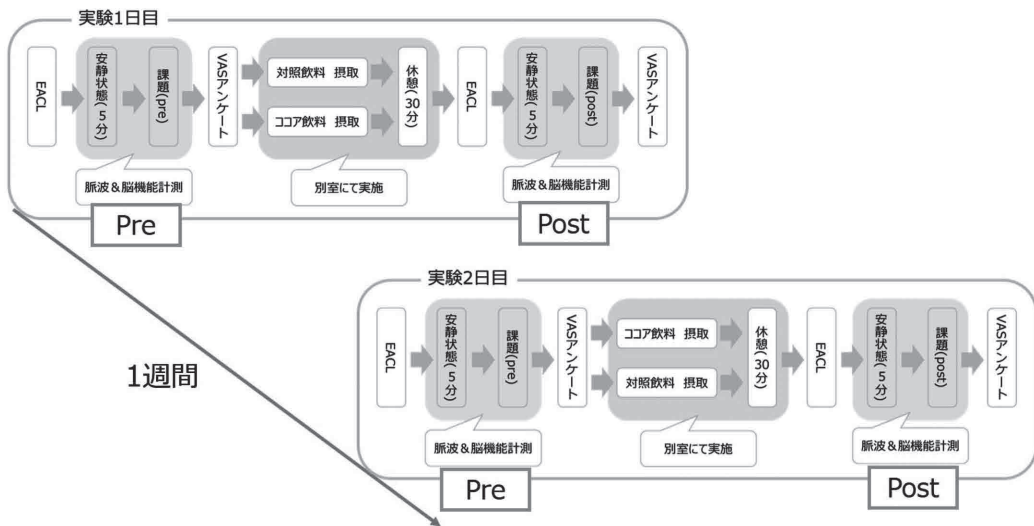


Fig. 1 本実験の流れ

0.04 ~ 0.15 [Hz] の低周波数 (Low Frequency : LF) 成分と、0.15 ~ 0.40 [Hz] 領域の高周波数 (High Frequency : HF) 成分のパワーを求める。交感神経活動の指標としてLF/HF (LF成分とHF成分の比率)、副交感神経活動の指標としてnHF (LF帯域以上の総パワーに対するHFパワー値の比) を用いた。

- (3) 認知課題パフォーマンス：予備実験の結果から、言語記憶に関わる言語性ワーキングメモリ (verbal working memory: VWM) 課題および注意・認知制御に関わるフランカー課題を採用し、その正答率と反応時間を認知的パフォーマンスの指標とした。
- (4) 脳活動 (脳血流信号の変化)：(3) のVWM課題およびフランカー課題に伴う前頭葉の活動 (脳血流信号) の変化をfNIRSで計測する。fNIRS装置には、光トポグラフィ ETG-4000 (日立) を用いて、前頭葉を中心とした52計測点 (チャンネル) からヘモグロビン濃度信号を計測した。

<解析および結果>

- (1) 主観評価 (アンケート)：

EACL、VASともに、PreからPostにかけての変化量を求めた後、CF飲料摂取条件と対照飲料摂取条件の差を検定した。その結果、EACLの指標にはいずれも有意差がなかった。ただし、「ゆったりした」「落ち着いた」などの項目からなる「緊張覚醒-」指標について、CF飲料摂取条件の方が高まる傾向は見られた。

一方、VASについては「眠気」で有意差が見られた ($p < 0.05$)。PreからPostにかけて、摂取した飲料に関わらず眠気が覚める傾向があるが、CF飲料摂取条件の方がより眠気が覚める (眠気スコアが低下する) ことが示され、CF摂取が覚醒させる効果を持つことが示唆された。

- (2) 心拍変動成分 (Heart Rate Variability: HRV)：

安静期間の心拍数は、各条件とも70前後で安定しており、有意な変化は見られなかった。交感神経活動の指標であるLF/HF、副交感神経活動の指標であるnHF、両指標ともPreからPostにかけての変化量を求め、CF飲料摂取条件と対照飲料摂取条件の差を検定した。その結果、LF/HFは飲料摂取後に増加する傾向があるが、摂取する飲料による差はなかった。

一方、nHFについては、有意差が見られ、対象飲料摂取条件の方がCF飲料摂取条件より有意に低下することが示された (Fig.2)。これは、CF摂取が副交感神経活動の低下を抑制する効果を持つことを示唆する。

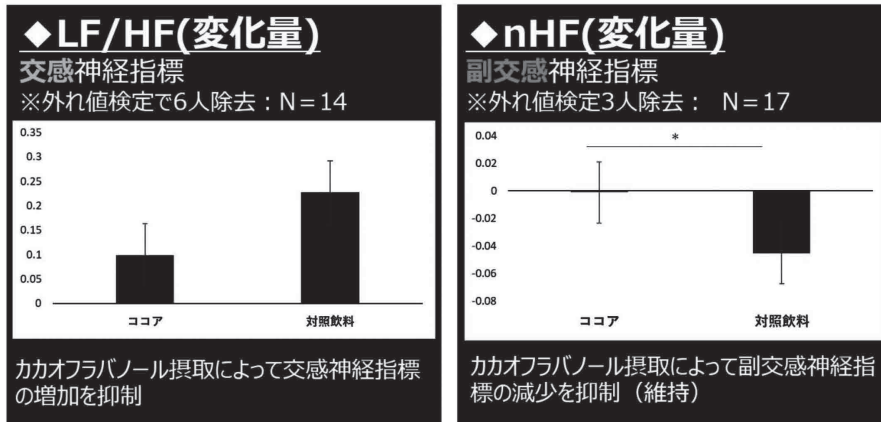


Fig. 2 自律神経活動指標の変化

(3) 認知課題パフォーマンス：

VWM課題では、コントロール課題 (1文字記憶条件) の正答率が60%未満だった参加者のデータを除いてパフォーマンスおよび脳活動の解析を実施した (N=17)。正答率、反応時間ともにPreからPostにかけての変化量をCF飲料摂取条件と対照飲料摂取条件で比較したが、有意差は見られなかった。

フランカー課題では、コントロール課題 (矢印一致条件) の正答率が60%未満だった参加者のデータを除いてパフォーマンスおよび脳活動の解析を実施した (N=16)。同様に、正答率と反応時間のPreからPostにかけての変化量をCF飲料摂取条件と対照飲料摂取条件で比較したが、有意差は見られなかった。

(4) 脳活動 (脳血流信号の変化)：

VWM課題の4文字条件と1文字条件を比較し、ワーキングメモリ負荷に応じた脳活動を抽出した (Fig.3)。先行研究と同様に背外側前頭前野を中心とした領域で脳活動が見られ、ワーキングメモリに関連した脳活動信号が得られていることを確認した。

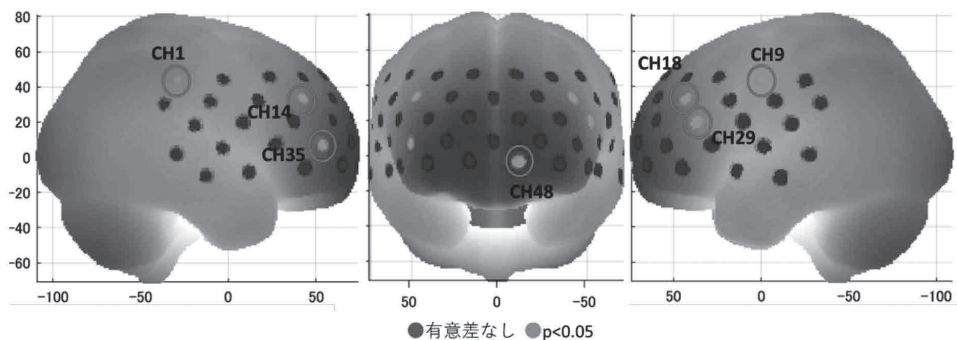


Fig. 3 ワーキングメモリ負荷を反映した脳活動部位

次に、それらの部位における脳活動信号（4文字条件と1文字条件の差）の変化量を、CF飲料摂取条件と対照飲料摂取条件で比較した。その結果、ch48（前頭極）において、CF飲料摂取条件と対照飲料摂取条件の差が有意であることが分かった（Fig.4）。この結果は、WM課題に伴う前頭極活動がCF摂取により強まったことを示唆する。

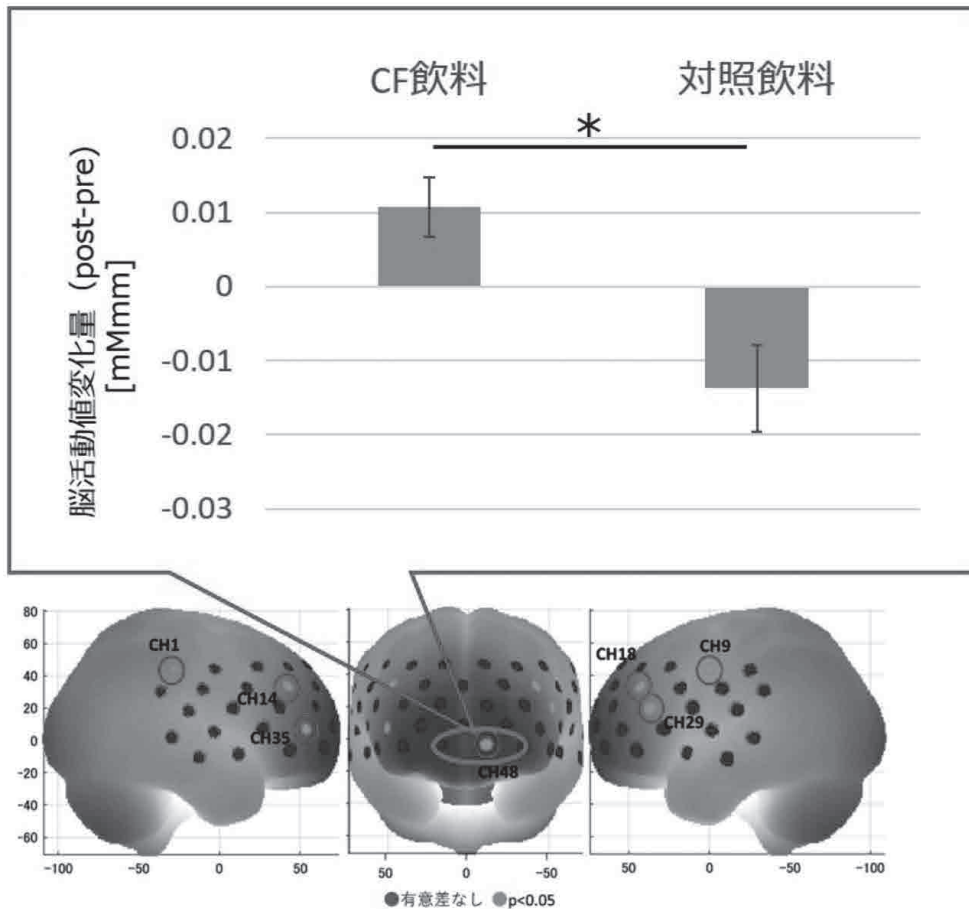


Fig. 4 CF飲料摂取条件と対照飲料摂取条件における脳活動の違い

一方、フランカー課題では、注意負荷に対応した脳活動（一致条件と不一致条件の差）が見られたものの、ベースラインが不安定だったため、CF飲料摂取条件と対照飲料摂取条件の比較は困難であると判断した。

4. まとめ

本研究では、CF飲料摂取による短期的な効果を複数の生体信号から検討した。

はじめに予備実験により、CF摂取の30分後に言語記憶課題および注意課題のパフォーマンスが向上することを確認した。

本実験では、予備実験に基づき言語性ワーキングメモリ課題とフランカー課題を用いて、(1) 主観評価（アンケート）、(2) 心拍変動成分（Heart Rate Variability: HRV）、(3) 認知課題パフォーマンス、(4) 脳活動（脳血流信号の変化）、4つの観点からCF摂取の効果を検討し、下記の知見を得た。

- (1) CF摂取により眠気スコアが低減する（眠気が覚める）。
- (2) CF摂取が、副交感神経活動指標（nHF）の低下を抑える。
- (3) 脳活動などを複数の生体信号を同時に計測した場合、認知課題のパフォーマンスに与える影響は明確ではない。
- (4) 言語性WM課題に伴う前頭極の活動が、CF飲料摂取条件で増加する。

以上のように、部分的にはあるが、CF摂取がもたらす効果を複数の側面から示すことができた。ただし、予備実験で見られたパフォーマンスの向上が本実験で再現しなかった点や、フランカー課題に対する脳活動信号が安定しなかった点など、今後さらに検討すべき課題は残る。今後、CF摂取がもたらす効果（精神疲労の改善や認知機能の向上）の大きさについて、より客観的に考察し、体系的な理解を進める必要がある。

参考文献

- [1] Cassidy, A. *et al.* Habitual intake of flavonoid subclasses and incident hypertension in adults. *Am. J. Clin. Nutr.* 93, 338–347. (2011).
- [2] Bondonno, N. P. *et al.* Flavonoid intake is associated with lower mortality in the Danish Diet Cancer and Health Cohort. *Nat. Commun.* 10, 3651. (2019).
- [3] Letenneur, L. *et al.*, Flavonoid intake and cognitive decline over a 10-year period. *Am. J. Epidemiol.* 165, 1364–1371. (2007).
- [4] Kesse-Guyot, E. *et al.*, Total and specific polyphenol intakes in midlife are associated with cognitive function measured 13 years later. *J. Nutr.* 142, 76–83. (2012).
- [5] Scholey A.B. *et al.*, Consumption of cocoa flavanols results in acute improvements in mood and cognitive performance during sustained mental effort. *J Psychopharmacol.* 24:1505-24 (2009).
- [6] Gratton, G. *et al.*, Dietary flavanols improve cerebral cortical oxygenation and cognition in healthy adults. *Sci Rep* 10, 19409 (2020).
- [7] Sztajzel, J. Heart rate variability: a noninvasive electrocardiographic method to measure the autonomic nervous system. *Swiss medical weekly* 134.35-36, 514-522 (2004).
- [8] Koizumi, H. *et al.*, Optical topography: practical problems and new applications. *Applied optics*, 42(16), 3054-3062 (2003).
- [9] 織田 弥生他, 感情・覚醒チェックリストの作成と信頼性・妥当性の検討. *心理学研究*, 85(6), 579-589 (2015).