

# メチルキサンチン誘導体と健康－“賢さ”を求めて

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2018-06-18 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Sugimoto, Naotoshi メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00051112">https://doi.org/10.24517/00051112</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



## 【総説】

メチルキサンチン誘導体と健康  
- “賢さ” を求めて -

## Methylxanthine Derivative and Cognitive Function

金沢大学医薬保健研究域医学系 血管分子生理学

杉 本 直 俊

## はじめに

日本は今、未だ世界の誰もを経験していない少子高齢化社会に直面している。少子化による人口減少、特に労働人口の減少は社会規模の縮小を余儀なくされ、一方、高齢化はサルコペニアや認知症などの疾患により高齢者の生活のみならず介護者の生活も脅かし、社会保障費が膨張する。

日本近代医学のあけぼのは18世紀半ば京都での山脇東洋(1705-1762)による刑死者の人体解剖と伝えられている。19世紀(江戸末期から明治維新にかけて)には、本格的に西洋医学が導入され、医学は「病気を治す」学問となり、そして20世紀に入り飛躍的に発展した。しかし、上記のように経済の拡大が見込まれない現在、社会保障の増大は許し難い事象であり、この21世紀の医学・医療は「病気を予防する」予防医学へのかじ取りが余儀なくされている。

私たちは子どもたちの健やかな成長を望む時、子供たちが「よく食べ、よく遊び、よく眠る」ことを祈る。勿論、この3つの要素「食」、 「運動」、そして「睡眠」は私たち(大人たち)の健康を維持増進する上でも重要であることは異論ない。この3つの要素のどれかが欠くべきではないが、3つの要素の中のどれであれ、重点的に補強することで私たちの健康を維持増進できればと考える。しかし、「食事制限は苦しい」、「運動は辛い」、「睡眠は仕事が減らないと増やせない」などと考えると、頭が痛くなる。

食べ物(食品)の中には、「栄養としての摂取」を主とした目的としない食品」と定義される食品がある。それが一般に「嗜好食品」と称される食品であり、代表例としてコーヒー、紅茶、アルコールやチョコレートなどが挙げられる。この嗜好食品の中で唯一、子供から大人まで幅広く摂取される(摂取可能な)嗜好食品がチョコレートである。

## ノーベル賞とチョコレートとの意外な関係

2012年のNew England Journal of Medicine (NEJM)にとっても興味ある論文が掲載された<sup>1)</sup>。この論文では「チョコレート消費量とノーベル賞受賞者数との間に正の相関関係が存在する」ことを述べている。残念ながらこの論文では2011年度までのノーベル賞受賞者を対象としているため、山中伸弥教授(2012年受賞)や大隅良典教授(2016年受賞)は含まれていない。そこで2017年度までのノーベル賞受賞者を対象として、横軸に「国別チョコ

レート消費量」、縦軸に「国別人口1千万人当たりのノーベル賞受賞者数」をプロットしてみた(図1)。まさにチョコレート消費量の多い国が多く、ノーベル賞受賞者を輩出していることがうかがい知れる。もし「チョコレート消費量とノーベル賞受賞者数との正の相関関係」が真に正しいならば、私たちはチョコレートを食べれば(より一層)“賢く”なれるのだろうか?そして、チョコレートの成分の中の何が私たちを“賢く”するのだろうか?(これらが次に解明しなければならない課題である。)

チョコレートにはカカオ由来のポリフェノール(カカオポリフェノール)が多く含まれる。フレンチ・パラドックスで有名になったレスベラトロールもポリフェノールの一種である。一般にポリフェノールは強い抗酸化作用を有しており、ポリフェノールの摂取が、抗炎症作用、抗アレルギー作用、認知機能維持作用などに有効であることが報告されている。しかし、ポリフェノールは現在数千種以上存在し、その化学構造により生体内での動態は大きく左右される。かつ、ポリフェノールは生体内で代謝されやすく、化学構造が変化することでその作用が

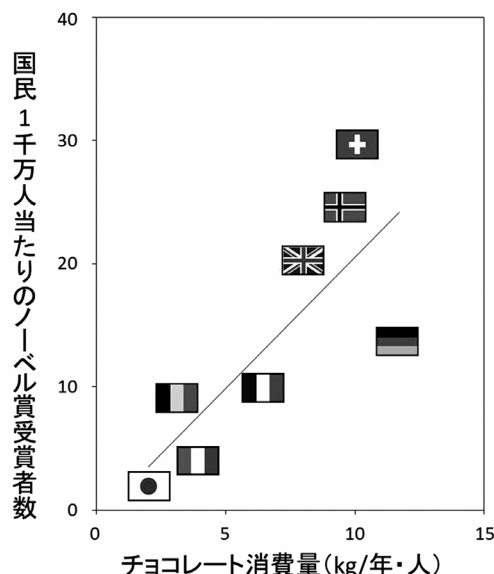


図1. 国別チョコレート消費量とノーベル賞受賞者数  
2017年度までのノーベル賞受賞者を対象として、国別チョコレート消費量と1千万人当たりのノーベル賞受賞者数に正の相関関係が認められた。2012年のNEJMでの報告<sup>1)</sup>では2011年度までのノーベル賞受賞者を対象とし、チョコレート消費量とノーベル賞受賞者数の間には、有意な正の相関関係を認めている ( $r = 0.791$ ,  $P < 0.0001$ )。

失われる。つまり上記のNEJMのチョコレート効果は、チョコレートに含まれるカカオポリフェノールに完全に依存するとは簡単には結論できない。

#### ダークチョコレートと神様の食べ物(テオブロミン)

ここで(チョコッと寄り道をして)チョコレートの製造過程を覗いてみよう(<http://www.chocolate.or.jp/chocolate/process.html>)。チョコレートの主原料はカカオ豆である。このカカオ豆をローストし、胚芽と皮を取り除き砕いたものをカカオニブという。さらにカカオニブを摩砕するとドロドロ状態のカカオマスが出来上がる。このカカオマスには約55%のココアバターが含まれ、カカオマスからココアバターを取り除いたのがココアパウダーの原料となる。一方、チョコレートはカカオマスに、ココアバター、砂糖、ミルクなどを加えて製造される(図2)。ちなみに、ココアバターにはカカオポリフェノールは含まれていない。近年、健康に良いとしてカカオ成分の多いダークチョコレートが人気を集めているが、菓子メーカーが表示する「カカオ含有〇〇%」は単位チョコレート当たりに含まれる「カカオマス」と「ココアバター」の合計であり、同じカカオ含有率であっても「カカオマス」を多く含むチョコレートはカカオポリフェノールが多い。そのため同じ「カカオ含有〇〇%」であっても菓子メーカー間でチョコレートの苦みが大きく異なる理由である(一般にカカオマスが多いと苦くなる)。

カカオは新大陸発見時代(16世紀後半)にスペインのエルナン・コルテスが南米で発見した。当時の南米では、すでにカカオは飲み物として王族たちの間で流行していた。かつ、カカオ豆はとても高価な品であったため、貨幣としても使用されたとの記録が残っている。カカオの学術名は *Theobroma cacao* である。Theobromaはギリシャ語で「神様(theos)」の「食べ物(broma)」を意味する(アステカの皇帝モンテスマはカカオを不老長寿のくすりとして服用していた)。この *Theobroma cacao* から1878年に抽出されたアルカロイドが「神様の食べ物」と命名されたテオブロミン(Theobromine)である。テオブロミンはカフェインやテオフィリンと似た構造(図3)のメチルキサンチン誘導体である。嗜好食品にはメチルキサンチン誘導体を成分にもつ食品が数多く、チョコレートやココアにはテオブロミンが多く含まれ、コーヒーや緑茶・紅茶にはカフェインやテオフィリンが多く含まれている(ちなみに、テオブロミンはココアバターには含まれず、カカオマスに含まれている)。

これらメチルキサンチン誘導体の中で一般的にもっとも知名度があるものはどれだろうか? 検索サイトであるGoogleを用いてCaffeine, Theophylline, Theobromine(英語)をキーワードとして検索してみた。その結果を表の左に示す。カフェインがダントツの一位で、テオフィリン、テオブロミンが続く。一般人にとってコーヒーは日常の嗜好食品であり、コーヒーとカフェインは切り離せない関係であると思われる。しかし、チョコレートも一般的な嗜好食品であるにも関わらずテオブロミン検索件数が極端に少ないことは、テオブロミンという物質の知名度がかなり低いと推察できる。

では、医学・生物学の分野ではどのメチルキサンチン

誘導体がもっとも知名度があるだろうか? PubMed検索をしてみると、気管支拡張薬であるテオフィリンが僅差ではあるがカフェインを抜き、第一位である。テオブロミンは桁違いで最下位であった。

このように「神様の食べ物」と名付けられたテオブロミンであっても、一般分野でも、医学・生物学の分野においても、知名度がまったくない。この知名度の無さが、これまでテオブロミン研究がほとんどなされていなかった理由であるとともに、逆にいえば、テオブロミン研究で成果が出れば、それは世界初の業績となるといえるかもしれない。

#### 小動物によるテオブロミン食餌経口摂取実験プロトコル

前項で記したようにチョコレート摂取が「賢さ」に影響を与えるのであれば、チョコレートの成分もしくはその代謝物が脳血液関門を通過して直接的に脳を刺激することが想定できる。しかしながら、カカオポリフェノールやテオブロミンについての生体内での動態は、まったくと言って解明されていない。そこで、ほぼ研究が手つかずの「神様の食べ物」テオブロミン(Theobromine)について、経口摂取による生体内での動態と「賢さ」への影響を重点に置き、動物実験を計画した。しかしながら、(テオブロミンの知名度が低いいためか)参考となる経口摂取による先行研究が少なく、どれだけのテオブロミンを小動物に食べさせればよいのかまったく見当がつかない。そのため数多くあるカフェイン研究を参考にして、基本となる普通食餌に0.05% W/W(重量%)テオブロ

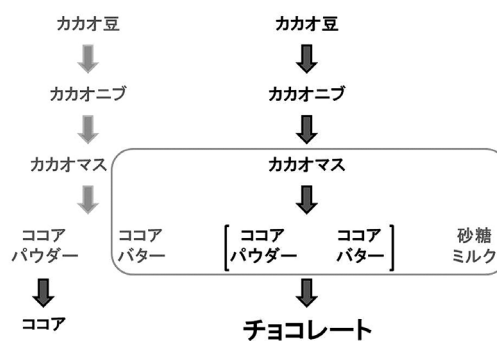


図2. カカオ豆からチョコレートまでカカオ豆をローストし、胚芽と皮を取り除き、さらに摩砕すると液状のカカオマスが出来上がる。カカオマスはココアバターとココアパウダーから成る。チョコレートはカカオマスに、ココアバター、砂糖、ミルクなどを加えて製造される

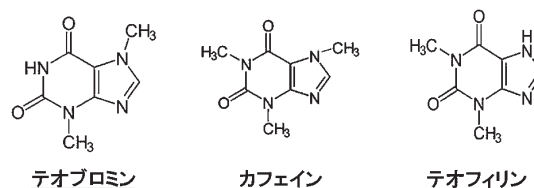


図3. 嗜好食品よく含まれるメチルキサンチン誘導体

Google検索(2018年3月31日現在)		PubMed検索(2018年3月31日現在)	
キーワード	検索結果数	キーワード	検索結果数
Caffeine	約22,000,000件	Theophylline	32,664件
Theophylline	約2,630,000件	Caffeine	31,505件
Theobromine	約1,020,000件	Theobromine	5,532件

ミンを追加した特殊食餌を製造した。

このテオブロミン特殊食餌を用いて、次に挙げる3つの点の解明を目指した。

- (1) テオブロミン経口摂取によりテオブロミンは脳へ移行するのか？
- (2) 脳に移行したテオブロミンは脳を刺激するのか？
- (3) テオブロミンは“賢さ”を導くのか？

ただ、残念ながら、“賢さ”を判定する行動実験（後述する3レバー・オペラント実験）では、その実施期間中のテオブロミン含有食餌の摂取が（実験の都合上）不可能なため、行動実験を開始するまでの30日間に限りテオブロミン含有食餌を摂取とし、行動実験中は普通食餌の摂取とした（図4）。

これより先行して行った予備実験では、テオブロミン含有食餌（0.05% W/W）摂取開始後、約30日でテオブロミンの血中濃度がほぼ最大に達することを確認している。

#### 経口摂取テオブロミンの生体内での動態

カフェインの先行研究から、経口から摂取したカフェインは速やかに吸収され、かつ脳血液関門を通過する。カフェインの脳血液関門の通過には制限がないため、カフェインの脳内と血中濃度はほぼ同程度であることが知られている。では、テオブロミン経口摂取ではどうか。

コントロール群に普通食餌を、テオブロミン群にテオブロミン含有食餌（0.05% W/W）を30日間経口摂取させ、その間の摂食量、体重増加量、30日後の血糖値およ

びテオブロミン濃度を測定した。普通食餌にはテオブロミンとカフェインが含まれていないことを、テオブロミン食餌にはカフェインが含まれていないことを前もって確認している。

両群とも摂取開始30日後に同等程度の摂食量、体重増加量、そして血糖値を示した。コントロール群の血中と脳内からはテオブロミンやカフェインは検出されなかったが、テオブロミン群では血中と脳内にテオブロミンのみが検出された。また、脳内のテオブロミン濃度は血中の約10分の1程度であった（図5）。以上は、テオブロミンが脳血液関門を通過できるが、カフェインとは異なり脳血液関門の通過は自由ではなく制限があることを示している。

また、テオブロミン群でカフェインは検出されなかったことは、生体内ではテオブロミンからカフェインへの変換は起きないことを意味している。逆に、カフェインからテオブロミンへ変換されることが知られていることから、カフェイン摂取時に知られている生体への作用の一部は（カフェインから一部変換された）テオブロミンの作用である可能性が予測された。

次に、経口摂取後に脳内へ移動したテオブロミンは薬理作用を導くのに十分な濃度なのだろうか？また、どのような働きをするのだろうか？

#### 脳由来神経栄養因子 (BDNF) と情報伝達

以前、私たちは、いくつかのメチルキサンチン誘導体がphosphodiesterase (PDE) 活性阻害作用を有して細胞内cAMP濃度の上昇を導くことを見出している<sup>24)</sup>。そのためメチルキサンチン誘導体であるテオブロミンの薬理作用も同様であると考えられる。細胞内情報伝達でのセカンドメッセンジャーとして知られるcAMPはタンパク質キナーゼA (PKA) を活性化して、様々なタンパク質をリン酸化する。その中にはアクチン骨格制御に関与するvasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP) も含まれ、VASPのリン酸化はPKAの活性化、あるいはcAMPの上昇を意味している。実際、テオブロミン群の脳においてVASPのリン酸化が確認できたことから、脳内のテオブロミンが薬理作用を引き起こすのに十分な濃度であったことが示唆された<sup>5)</sup>。

“賢さ”の分子基盤として、脳由来神経栄養因子 (BDNF) が知られている。BDNFは、中枢神経や末梢神経に作用して、現存するニューロンの維持に働くとともに、ニューロンの成長や新生を促すと考えられている。脳の中では、BDNFは、海馬、大脳皮質、大脳基底核で主に作用し、学習や記憶、高度な思考に重要であり、長期記憶に関与すると考えられている。

菓子メーカーから支援を受けた本邦の介入研究の結果ではあるが、チョコレート摂取がヒト血中BDNFを増加させた。増加した血中BDNFがどこで産生されているのか、脳内BDNF量が増加しているのか、BDNFは生理的に働いているのかなど、解明しなければならない点は多々あると思われるが、チョコレートとBDNFとの間に何らかの関係が存在していることは推察できる。そこで、テオブロミン含有食餌摂取のマウスの脳内BDNF量を測定したところ、テオブロミン群で有意に増加していた。

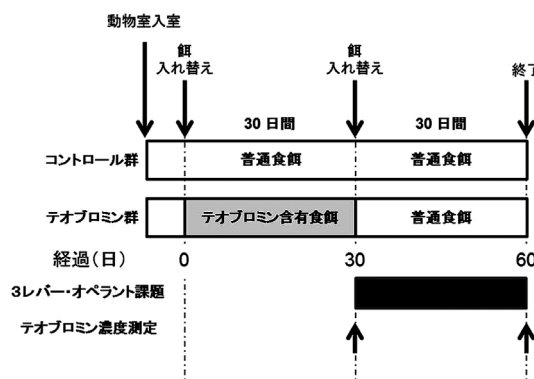


図4. テオブロミン食餌経口摂取実験プロトコル

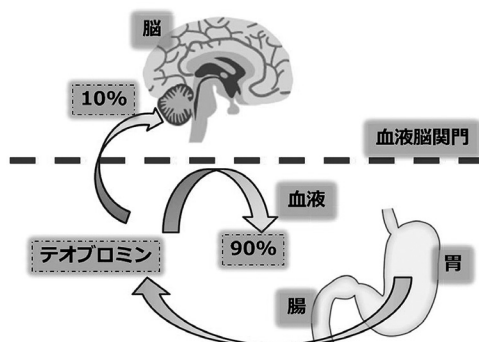


図5. テオブロミン経口摂取後の動態

テオブロミンは血液脳関門を通過し、脳内に移行するが、脳内テオブロミン濃度は血中濃度の約10分の1であった。

次に、cAMPからBDNFまでを繋ぐ分子の一つである転写因子CREBに注目した。リン酸化された転写因子CREBはBDNFを誘導することが知られている。テオブロミン含有食餌摂取のマウスの脳では確かにリン酸化された転写因子CREBの存在が確認できた。

以上をまとめると、経口摂取したテオブロミンは脳血管門を通過し、脳内に移行する。脳内に移行したテオブロミンは血中濃度に比べかなり低く約10分の1程度ではあるが、PDE阻害作用を発揮し、脳細胞内のcAMPを増加させる。増加した細胞内cAMPはタンパク質キナーゼA (PKA) を活性化し、その下流で転写因子CREBをリン酸化する。リン酸化された転写因子CREBは核内で転写を促進し、脳由来神経栄養因子 (BDNF) が脳内で増加する (図6)。

これまでBDNF増加に有効な刺激は“運動”のみであったことから、このテオブロミンないしはチョコレートの摂取がBDNF量を促進することの意味は極めて重要であると考えられる。

#### テオブロミンは学習行動を促進する

レバー (ボタン) を押すと餌が与えられる実験装置にマウスをいれると、最初は偶然レバーを押すだけだったものが、マウスは意図してレバーを押すようになる。マウスは「レバーを押す」という自らの行動で「餌がもらえる」という「環境」を生みだし、その結果として「レバー押し」行動が増加する。

オペラント行動とは、行動 (レバー押し) が生じた直後の環境の変化 (餌がもらえる) に応じて、頻度に変化する行動 (レバー押し) のことを言い、オペラント条件づけとは、オペラント行動が自発的に行動された直後の環境の変化に応じて、その後の自発頻度に変化する学習のことをいう。

私たちはテオブロミン摂取マウスのオペラント学習能力を、少し高度な3レバー・オペラント課題 (以下、3レバー課題) を用いて評価した。この3レバー課題とは、実験装置内 (図7) に3つのレバー (仮にそれぞれのレバーをA, B, Cと名づける) があり、この3つのレバーを一定の順序 (例えば、A→B→Cの順序) で制限時間内に押すと餌がもらえる仕組みで、通常マウスは数週間でのこの順序を学習する。この3レバー課題をクリアしたマウスは次のステップであるリバーズ3レバー課題へ進む。リバーズ3レバー課題は、押す順を逆順 (C→B→A) としマウスは制限時間内に押すと餌がもらえる。このリバーズ課題も通常マウスは学習する。

テオブロミン摂取マウスは、3レバー課題、リバーズ3レバー課題ともにコントロール群と比べ有意に早くかつ正確に学習することが示された。

このことは、テオブロミン摂取がマウスの運動学習のさまざまな要素 (順序学習、スキル学習、適応、リバーズ学習) において有効に働くことを示唆している。

テオブロミンの効果はテオブロミン摂取中止後30日間は継続する

前項によりテオブロミンがマウスの認知学習行動を促進することが示されたが、テオブロミンの効果はいつまで続くのだろうか。

実験の都合上、3レバー・オペラント課題 (リバーズ3レバー課題も含む) 中にはテオブロミン含有食餌は摂取していない。つまり、テオブロミン摂取中止後のオペラント実験中の30日間、両群とも普通飼料を摂取しているのに関わらずテオブロミン群はコントロール群に比べ学習能力が優れていたことになる。(この期間中テオブロミンは血中、脳において検出されない)。このことはテオブロミンが学習行動などの脳機能のみならず神経新生、神経シナプスや樹状突起形成などの脳の形態にまで影響を及ぼす可能性を示唆している。

#### テオブロミンのその他の効果

私たちは、動物実験以外に培養細胞を用いた解析も行っている。その結果、テオブロミンは細胞増殖に関与するシグナル (mTORシグナル、Ras-ERKシグナル、そして炎症シグナルNF- $\kappa$ B) の抑制と細胞死を誘導するシグナル (p38とJNK) を活性化した (図8)。

このことはテオブロミンにより“がん”が抑制される可能性を示唆している。実際、テオブロミンは神経膠芽腫の増殖を抑制した<sup>6)</sup>。

#### 今後の展開 (図9)

mTOR阻害剤であるラパマイシンおよびその誘導体は、抗がん剤や免疫抑制剤として既に臨床で使用されて

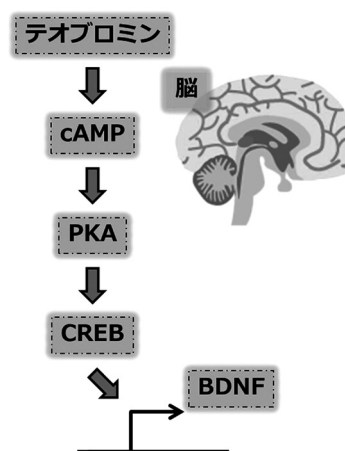


図6. テオブロミンの脳内での薬理作用

テオブロミンは細胞内cAMPを増加させ、その下流のタンパク質キナーゼA (PKA)、転写因子CREBを介して、脳内の脳由来神経栄養因子 (BDNF) を増加させた。

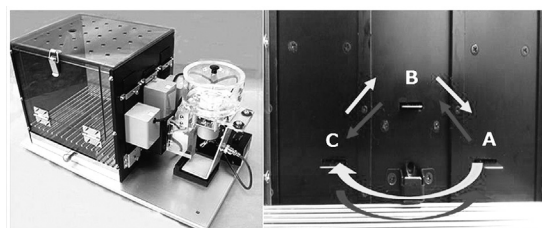


図7. 3レバー・オペラント課題実験装置

実験装置内に3つのレバー (A, B, C) があり、マウスがこの3つのレバーを一定の順序 (例えば、A→B→Cの順序) で制限時間内に押すと餌がもらえるのが、3レバー課題である。一方、リバーズ3レバー課題は、押す順を逆順 (C→B→A) とし制限時間内に押すと餌がもらえる。

いる。一方、基礎研究においてもラパマイシンは、マウスの寿命を延ばすことや、自閉症モデルマウス（結節性硬化症モデル）の神経学的症状を改善することなどが報告されている。以上から、mTORシグナルの活性化ががん化、老化や発達障害の病態に関与することが示唆されることから、mTORシグナルを抑制するテオブロミンがこれらのがん化、老化や発達障害の予防や治療で有効であることが期待される。今後はがん化、老化や発達障害に範囲を広げた研究も進めていきたい。

### おわりに

嗜好食品にはカフェインなどのメチルキサンチン誘導体を成分にもつ食品が数多くある。メチルキサンチン誘導体はphosphodiesterase (PDE) 活性阻害作用を有して細胞内cAMP濃度を上昇させる。私たちは、チョコレートの成分でありメチルキサンチン誘導体のテオブロミンがマウス認知学習行動を促進すること、脳内の脳由来神

経栄養因子 (BDNF) を増加させることを見出した。この認知学習行動の促進はテオブロミン食を中止し、テオブロミンが体内から完全に除去された後でも継続した。このことはテオブロミンが脳の機能のみならず神経新生、神経シナプスや樹状突起形成などの脳の形態にまで影響を及ぼす可能性を示唆している。

また、テオブロミンは老化やがん化、神経発達障害に関与するmTOR活性を抑制することから、今後、その方面での研究も進めたい。

テオブロミンやチョコレートの摂取が少子高齢化社会の救世主となることを期待しつつ、本稿をおわりにしたい。

### 謝辞

本研究は科学研究費基盤研究 (B) (25282021) 『嗜好食品ががん化、老化、発達障害を予防する—メチルキサンチン誘導体を中心として—』と同基盤研究 (B) (17H01963) 『嗜好食品による抗老化作用と認知機能促進の分子基盤及び機能的形態学的機序の解明』のもと行われました。また、本研究を実施するにあたり多大なご支援をいただきました金沢大学医薬保健研究域小児科学・谷内江昭宏教授、金沢大学医薬保健研究域公衆衛生学・中村裕之教授、金沢大学医薬保健研究域整形外科・土屋弘行教授、ならびに鳥根大学医学部・紫藤治教授に深く感謝申し上げます。最後に、今回の執筆の機会を与えて下さいました金沢大学十全医学雑誌編集委員長・土屋弘行教授に厚くお礼申し上げます。

### 文献

- 1) Messerli FH. Chocolate consumption, cognitive function, and Nobel laureates. *N Engl J Med* 367 : 1562-1564, 2012.
- 2) Miwa S, Sugimoto N, Shirai T, Hayashi K, Nishida H, Ohnari I, Takeuchi A, Yachie A, Tsuchiya H. Caffeine activates tumor suppressor PTEN in sarcoma cells. *Int J Oncol* 39 :465-472, 2011.
- 3) Miwa S, Sugimoto N, Yamamoto N, Shirai T, Nishida H, Hayashi K, Kimura H, Takeuchi A, Igarashi K, Yachie A, Tsuchiya H. Caffeine induces apoptosis of osteosarcoma cells by inhibiting AKT/mTOR/S6K, NF- $\kappa$ B and MAPK pathways. *Anticancer Res* 32 : 3643-3649, 2012.
- 4) Saito T, Sugimoto N, Ohta K, Shimizu T, Ohtani K, Nakayama Y, Nakamura T, Hitomi Y, Nakamura H, Koizumi S, Yachie A. Phosphodiesterase inhibitors suppress *Lactobacillus casei* cell-wall-induced NF- $\kappa$ B and MAPK activations and cell proliferation through protein kinase A- or exchange protein activated by cAMP-dependent signal pathway. *ScientificWorldJournal* 2012 : 748572, 2012.
- 5) Sugimoto N, Miwa S, Hitomi Y, Nakamura H, Tsuchiya H, Yachie A. Theobromine, the primary methylxanthine found in *Theobroma cacao*, prevents malignant glioblastoma proliferation by negatively regulating phosphodiesterase-4, extracellular signal-regulated kinase, Akt/mammalian target of rapamycin kinase, and nuclear factor-kappa B. *Nutr Cancer* 66 : 419-423, 2014.
- 6) Yoneda M, Sugimoto N, Katakura M, Matsuzaki K, Tanigami H, Yachie A, Ohno-Shosaku T, Shido O. Theobromine up-regulates cerebral brain-derived neurotrophic factor and facilitates motor learning in mice. *J Nutr Biochem* 39 : 110-116, 2017.

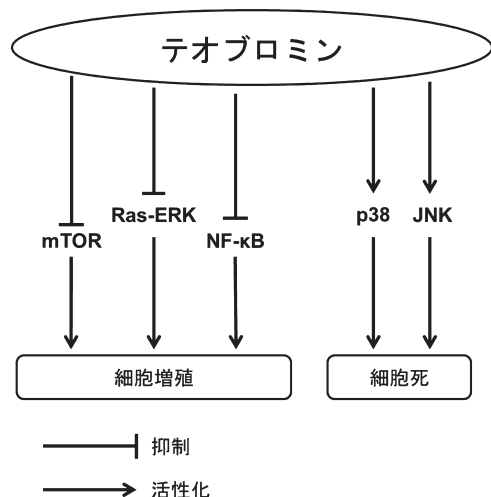


図8. 培養細胞実験で明らかとなったテオブロミンの薬理作用

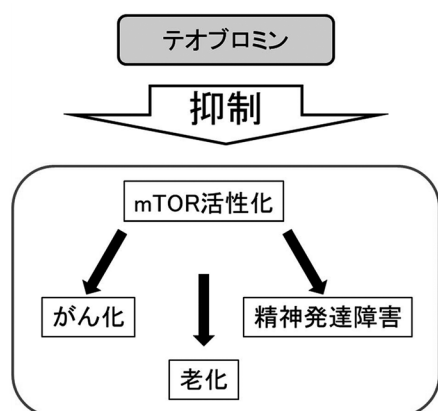


図9. テオブロミンはがん化、老化、精神発達障害を予防するか？ テオブロミンはmTORを抑制することから、mTOR活性化が関与するがん化、老化、精神発達障害の予防ないしは治療に有効と考えられる。