

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01963

研究課題名(和文)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

研究課題名(英文) Theobromine, a primary methylxanthine in cacao beans, improves cognitive performance.

研究代表者

杉本 直俊 (SUGIMOTO, Naotoshi)

金沢大学・医学系・准教授

研究者番号：80272954

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：チョコレートの主原料はカカオには、メチルキサンチン誘導体であるカフェインを似た構造のテオブロミンが多く含まれる。私たちはテオブロミンがphosphodiesterase (PDE) 活性阻害作用を有することを報告してきた。本研究では、テオブロミンの認知機能に与える影響を小動物実験及びヒト介入試験で明らかにした。ラットには0.05%重量率でテオブロミンを加えた飼料を、健康人にはテオブロミン含有の多いダークチョコレート摂取とした。ラット、健康人ともにテオブロミンを摂取することにより認知行動が促進することが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子供から大人まで幅広く摂取される嗜好食品の代表がチョコレートである。チョコレートはメチルキサンチン誘導体であるテオブロミンを多く含み、その摂取が認知機能を亢進させることが明らかとなった。高齢化が進む中、認知症への取り組みは重要な課題である。本研究は、チョコレートの摂取が認知症の予防に貢献する可能性を示唆したことで、学術的にも社会的にも意義あるものである。

研究成果の概要(英文)：Theobromine (TB) is a primary methylxanthine found in cacao beans. Previous reports showed that habitual chocolate intake was related to cognitive performance and frequent chocolate consumption was significantly associated with better memory performances. Here we investigated whether theobromine acts on the cognitive and learning function in rats and human. Male Wistar rats received a normal diet or the same food with a 0.05% TB supplement, while healthy young subjects were intake dark chocolate or theobromine-free white chocolate. The working memory in rats or human seemed to be improved by theobromine or dark chocolate ingestion, respectively. These results suggested that consumption of dark chocolate (theobromine) has sub-chronical beneficial effects on health to enhance cognitive functions.

研究分野：栄養生理学

キーワード：食品

## 1. 研究開始当初の背景

### ①研究の学術的背景と目的

子供から大人まで幅広く摂取される嗜好食品、その代表の一つがチョコレートである。チョコレートの主原料はカカオで、その学術名は *Theobroma cacao* であり、ギリシャ語で「神様 (theos)」の「食べ物 (broma)」を意味する。その「神様の食べ物」*Theobroma cacao* から抽出されたアルカロイドがテオブロミン (Theobromine) であり、これはカフェインやテオフィリンと似た構造 (図1) 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。

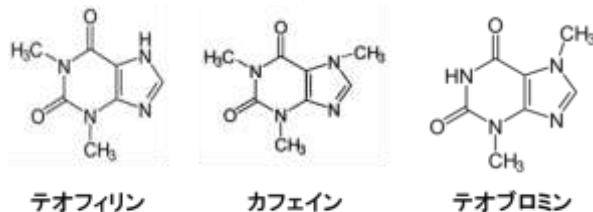


図1 食品に含まれるメチルキサンチン誘導体

これまでチョコレート摂取やコーヒー摂取が長寿と関係すること、大腸がん発症リスクを減少させること、認知機能改善に関与することなどが疫学研究により明らかにされている。しかし、テオブロミンに着目した研究はない。

mammalian Target of Rapamycin (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。

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 濃度の上昇を導く。私たちはメチルキサンチン誘導体 (テオブロミンやカフェイン) による細胞内 cAMP 上昇が老化やがん化、神経発達障害に関与する mTOR 活性を抑制すること、炎症を抑制することを世界に先駆けて報告してきた [1], [2], [3]。

このことは、メチルキサンチン誘導体を成分に持つ嗜好食品の摂取が、がん化や老化、そして精神発達障害の予防や QOL 等の改善に有効であることを示唆している。

## 2. 研究の目的

本研究では、それら嗜好食品の摂取が認知機能に与える影響を動物実験やヒト介入試験から解明することを目的とする。その中で、これまであまり生体への作用が知られていなかったテオブロミンに焦点を当て、その働きについて解明する。

## 3. 研究の方法

### (動物実験)

小動物 (ラット) を用いて、カカオに含まれるメチルキサンチン誘導体テオブロミンの効果を検討した。小動物用の普通餌に 0.05% の重量率でテオブロミンを加えた飼料を作製した。一定期間のテオブロミン含有飼料の摂取によりテオブロミンの体内分布、および行動性学習能力を観察、さらには臓器での mTOR 活性化状態を検討した。

### (ヒト介入試験)

健常人を無作為に、カカオ成分の多いダークチョコレート摂取群 (24.0g/日) とテオブロミンを含まないホワイトチョコレート摂取群 (24.5g/日) の2群に分け、それぞれ30日間の摂取とした。カフェイン入り飲料は1日3杯までとし、支給したもの以外のチョコレートの摂取を禁止した。認知機能および血液検査は、連続30日間摂取の介入前、介入終了時、そして介入終了から3週間経過した時点の計3回、評価した。

## 4. 研究成果

### (小動物実験)

30日間、ラットにテオブロミン含有飼料を与えた。飼料摂取量、体重、血糖値にはテオブロミン含有飼料を与えたラットと普通飼料を与えたラットでは差を認めなかった。

テオブロミン含有飼料を与えたラットの血中や脳、肝臓に於いてテオブロミンが検出された。脳にテオブロミンが存在したことから、テオブロミンは血液脳関門を通過することが示唆された。テオブロミン飼料を摂取したラットの脳や肝臓の組織で、有意な mTOR 活性の低下が観察さ

れた[4]。さらに、テオブロミン飼料を摂取したラット脳での CREB 活性化及び脳由来神経栄養因子 (BDNF) の上昇が観察され、行動性学習能力も促進していた[5]。

(ヒト介入試験)

介入前の認知機能と血中テオブロミン濃度、神経成長因子 (NGF) 濃度は両群同等だった。介入終了時、ダークチョコレート摂取群ではテオブロミン濃度、NGF 濃度が有意に上昇し、かつ認知機能の亢進が確認された。一方、ホワイトチョコレート摂取群ではいずれも有意な変化はなかった。介入終了から3週間後、ダークチョコレート摂取群ではテオブロミン濃度、NGF 濃度は介入前のレベルまで戻っていた。しかし、認知機能は引き続き高い状態に維持されていた。

私たちのヒト介入試験から、ダークチョコレートの継続的な摂取は、脳の活性化に関与する神経成長因子 (NGF) を増加させ、認知機能も向上することが示唆された。さらに、チョコレート摂取を中止した後も認知機能の向上が維持された[6]。

以上から、テオブロミンは脳での cAMP を増加させ、その cAMP の下流にある protein kinase A (PKA) の活性化と転写因子 CREB の活性化を誘導すると考えられる。つまり、テオブロミンにより cAMP-PKA-CREB-BDNF/NGF のシグナル伝達系が惹起されたことにより、行動性学習能力が促進したものと推察された。

<引用文献>

[1] Miwa, S., Sugimoto, N. et al. Caffeine activates tumor suppressor PTEN in sarcoma cells. (2011) *International Journal of Oncology*, 39 (2), pp. 465-472.

DOI: 10.3892/ijo.2011.1051

[2] Miwa, S., Sugimoto, N. et al. Caffeine induces apoptosis of osteosarcoma cells by inhibiting AKT/mTOR/S6K, NF- $\kappa$ B and MAPK pathways. (2012) *Anticancer Research*, 32 (9), pp. 3643-3649.

[3] Sugimoto, N. et al. 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. (2014) *Nutrition and Cancer*, 66 (3), pp. 419-423.

DOI: 10.1080/01635581.2013.877497

[4] Sugimoto, N. et al. Chronic administration of theobromine inhibits mTOR signal in rats. (2019) *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 124 (5), pp. 575-581.

DOI: 10.1111/bcpt.13175

[5] Islam, R., Matsuzaki, K., Sumiyoshi, E., Hossain, M.E., Hashimoto, M., Katakura, M., Sugimoto, N., Shido, O. Theobromine improves working memory by activating the CaMKII/CREB/BDNF pathway in rats. (2019) *Nutrients*, 11 (4), art. no. 888.

DOI: 10.3390/nu11040888

[6] Sumiyoshi, E., Matsuzaki, K., Sugimoto, N., Tanabe, Y., Hara, T., Katakura, M., Miyamoto, M., Mishima, S., Shido, O. Sub-chronic consumption of dark chocolate enhances cognitive function and releases nerve growth factors: A parallel-group randomized trial. (2019) *Nutrients*, 11 (11), art. no. 2800.

DOI: 10.3390/nu11112800

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Matsuzaki Kentaro, Sugimoto Naotoshi, Islam Rafiad, Hossain Md Emon, Sumiyoshi Eri, Katakura Masanori, Shido Osamu	4. 巻 21
2. 論文標題 Salivary Immunoglobulin A Secretion and Polymeric Ig Receptor Expression in the Submandibular Glands Are Enhanced in Heat-Acclimated Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 815～815
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms21030815	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sumiyoshi Eri, Matsuzaki Kentaro, Sugimoto Naotoshi, Tanabe Yoko, Hara Toshiko, Katakura Masanori, Miyamoto Mayumi, Mishima Seiji, Shido Osamu	4. 巻 11
2. 論文標題 Sub-Chronic Consumption of Dark Chocolate Enhances Cognitive Function and Releases Nerve Growth Factors: A Parallel-Group Randomized Trial	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2800～2800
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu11112800	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 KURODA Yoko, MATSUZAKI Kentaro, WAKATSUKI Harumi, SHIDO Osamu, HARAUMA Akiko, MORIGUCHI Toru, SUGIMOTO Hachiro, YAMAGUCHI Shuhei, YOSHINO Katsumi, HASHIMOTO Michio	4. 巻 65
2. 論文標題 Influence of Ultra-High Hydrostatic Pressurizing Brown Rice on Cognitive Functions and Mental Health of Elderly Japanese Individuals: A 2-Year Randomized and Controlled Trial	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 S80～S87
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3177/jnsv.65.S80	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Islam Rafiad, Matsuzaki Kentaro, Sumiyoshi Eri, Hossain Md Emon, Hashimoto Michio, Katakura Masanori, Sugimoto Naotoshi, Shido Osamu	4. 巻 11
2. 論文標題 Theobromine Improves Working Memory by Activating the CaMKII/CREB/BDNF Pathway in Rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 888～888
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu11040888	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 MATSUZAKI Kentaro, YANO Shozo, SUMIYOSHI Eri, SHIDO Osamu, KATSUBE Takuya, TABATA Mitsumasa, OKUDA Michiaki, SUGIMOTO Hachiro, YOSHINO Katsumi, HASHIMOTO Michio	4. 巻 65
2. 論文標題 Long-Term Ultra-High Hydrostatic Pressurized Brown Rice Intake Prevents Bone Mineral Density Decline in Elderly Japanese Individuals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Nutritional Science and Vitaminology	6. 最初と最後の頁 S88 ~ S92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3177/jnsv.65.S88	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugimoto Naotoshi, Matsuzaki Kentaro, Katakura Masanori, Nakamura Hiroyuki, Ueda Yoshibumi, Yachie Akihiro, Shido Osamu	4. 巻
2. 論文標題 Heat attenuates sensitivity of mammalian cells to capsaicin	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biochemical and Molecular Toxicology	6. 最初と最後の頁 e22288 ~ e22288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jbt.22288	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugimoto Naotoshi, Katakura Masanori, Matsuzaki Kentaro, Sumiyoshi Eri, Yachie Akihiro, Shido Osamu	4. 巻 124
2. 論文標題 Chronic administration of theobromine inhibits mTOR signal in rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology	6. 最初と最後の頁 575 ~ 581
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bcpt.13175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inoue Takayuki, Hashimoto Michio, Katakura Masanori, Hossain Shahdat, Matsuzaki Kentaro, Shido Osamu	4. 巻 63
2. 論文標題 Effect of chronic administration of arachidonic acid on the performance of learning and memory in aged rats	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Food & Nutrition Research	6. 最初と最後の頁
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.29219/fnr.v63.1441	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Al Mamun Abdullah, Hashimoto Michio, Katakura Masanori, Tanabe Yoko, Tsuchikura Satoru, Hossain Shahdat, Shido Osamu	4. 巻 85
2. 論文標題 Effect of dietary n-3 fatty acids supplementation on fatty acid metabolism in atorvastatin-administered SHR.Cg-Leprcp/NDmcr rats, a metabolic syndrome model	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biomedicine and Pharmacotherapy	6. 最初と最後の頁 372 ~ 379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.biopha.2016.11.038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsuzaki Kentaro, Katakura Masanori, Sugimoto Naotoshi, Hara Toshiko, Hashimoto Michio, Shido Osamu	4. 巻 12
2. 論文標題 Neural progenitor cell proliferation in the hypothalamus is involved in acquired heat tolerance in long-term heat-acclimated rats	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0178787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0178787	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugimoto Naotoshi, Katakura Masanori, Matsuzaki Kentaro, Miyamoto Mayumi, Sumiyoshi Eri, Wada Taizo, Yachie Akihiro, Nakamura Hiroyuki, Shido Osamu	4. 巻 23
2. 論文標題 Ginger facilitates cell migration and heat tolerance in mouse fibroblast cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Medicine Reports	6. 最初と最後の頁 205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/mmr.2021.11889	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Rafiad Islam, Kentaro Matsuzaki, Eri Sumiyoshi, Md Emon Hossain, Michio Hashimoto, Masanori Katakura, Naotoshi Sugimoto, Osamu Shido
2. 発表標題 Long-Term Theobromine Supplementation Ameliorates Working Memory by Activating the CaMKII/CREB/BDNF Pathway in Rats
3. 学会等名 第71回日本生理学会中国四国地方会
4. 発表年 2019年

1 . 発表者名 Naotoshi Sugimoto, Masanori Katakura, Kentaro Matsuzaki, Mayumi Miyamoto, Eri Sumiyoshi, Akihiro Yachie, Osamu Shido
2 . 発表標題 Effect of Ginger Powder Extracts on Actin Assembly In Vitro
3 . 学会等名 EXPERIMENTAL BIOLOGY 2018 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Naotoshi Sugimoto, Akihiro Yachie, Takako Ohno-Shosaku
2 . 発表標題 Hypoxia downregulates cannabinoid receptors, upregulates COX-2, and attenuates cannabinoid receptor agonist-induced cell death in glioblastoma cells
3 . 学会等名 8th International Congress of Pathophysiology ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Eri Sumiyoshi, Kentaro Matsuzaki, Naotoshi Sugimoto, Yoko Tanabe, Toshiko Hara, Masanori Katakura, Mayumi Miyamoto, Osamu Shido
2 . 発表標題 Effects of long-term dark chocolate intake on cognitive function in healthy young subjects
3 . 学会等名 Europhysiology 2018 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Naotoshi Sugimoto, Mitsugu Yoneda, Masanori Katakura, Kentaro Matsuzaki, Hayate Tanigami, Yuki Tabata, Takako Ohno-Shosaku, Osamu Shido, Akihiro Yachie
2 . 発表標題 A THEOBROMINE-CONTAINING DIET STIMULATES CENTRAL CREB/BDNF PATHWAYS AND MOTOR LEARNING IN YOUNG MICE
3 . 学会等名 The 14th Asian Pan - Pacific Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Congress ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1. 発表者名 Naotoshi Sugimoto, Masanori Katakura, Kentaro Matsuzaki, Mayumi Miyamoto, Eri Sumiyoshi, Akihiro Yachie, Osamu Shido
2. 発表標題 Ginger powder extract prevents heat shock-induced cell death in mouse fibroblast cells
3. 学会等名 Pharmacology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Islam Rafiad, Kentaro Matsuzaki, Naotoshi Sugimoto, Masanori Katakura, Eri Sumiyoshi, Michio Hashimoto, Osamu Shido
2. 発表標題 Theobromine improves working memory by activating CREB/BDNF pathway in rats.
3. 学会等名 The 4th International Conference on Pharma-Food (ICPF 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Eri Sumiyoshi, Kentaro Matsuzaki, Naotoshi Sugimoto, Yoko Tanabe, Toshiko Hara, Masanori Katakura, Mayumi Miyamoto, Osamu Shido
2. 発表標題 Possible improvement of cognitive function by long-term dark chocolate ingestion in young subjects.
3. 学会等名 The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Natsuki Hiruma, Naotoshi Sugimoto, Kentaro Matsuzaki, Eri Sumiyoshi, Osamu Shido, Masanori Katakura
2. 発表標題 Theobromine increases plasma cholesterol levels by increasing ABCA1 protein
3. 学会等名 The 9th Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies Congress (FAOPS2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Sugimoto N, Nishimura N, Ohnishi N, Matsumoto T, Kitaura T, Shido O, Yachie A.
2. 発表標題 Lipopolysaccharide increases the expression level of the aquaporin-4 water channel.
3. 学会等名 Experimental Biology 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井野綾音、片倉賢紀、杉林堅次、杉本直俊、松崎健太郎、紫藤治
2. 発表標題 テオプロミンのマウス海馬神経幹細胞増殖に及ぼす影響
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 並木溪、片倉賢紀、杉林堅次、杉本直俊、松崎健太郎
2. 発表標題 ラット由来培養神経幹細胞の分化に及ぼすテオプロミンの影響
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naotoshi Sugimoto, Masanori Katakura, Kentaro Matsuzaki, Mayumi Miyamoto, Eri Sumiyoshi, Akihiro Yachie, Osamu Shido
2. 発表標題 Ginger Powder Extracts activate MAP kinases in mouse fibroblast cells
3. 学会等名 British Pharmacological Society 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	紫藤 治 (SHIDO Osamu) (40175386)	島根大学・学術研究院医学・看護学系・教授  (15201)	
研究分担者	谷内江 昭宏 (YACHIE Akihiro) (40210281)	金沢大学・附属病院・特任教授  (13301)	
研究分担者	片倉 賢紀 (KATAKURA Masanori) (40383179)	城西大学・薬学部・准教授  (32403)	
研究分担者	上田 善文 (UEDA Yoshibumi) (60391877)	東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・特任研究員  (12601)	
研究分担者	宮本 まゆみ (MIYAMOTO Mayumi) (80551746)	島根大学・学術研究院医学・看護学系・講師  (15201)	
研究分担者	田中 正二 (TANAKA Seiji) (70422657)	金沢大学・保健学系・助教  (13301)	
研究分担者	内田 薫 (UCHIDA Kaoru) (30724132)	高崎健康福祉大学・健康福祉学部・助教  (32305)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	横山 忠史  (YOKOYAMA Tadafumi)  (00837362)	金沢大学・附属病院・特任助教    (13301)	
研究分担者	少作 隆子  (SHOSAKU Takako)  (60179025)	金沢大学・保健学系・教授    (13301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------