

# カカオ製品の記憶・学習能力への影響についての検討

栗脇 淳一・小松 あゆ

美作大学・美作大学短期大学部紀要（通巻第64号抜刷）

## カカオ製品の記憶・学習能力への影響についての検討

Effects of Cacao Components on Learning and Memory Functions in Rats

栗脇 淳一<sup>1†</sup>・小松 あゆ<sup>2</sup>

### 要約

近年、カカオ製品を摂取することで、記憶・学習機能が促進されるなど人体機能への影響について報告されている。そこで、本研究ではカカオの成分であるテオブロミンとカフェインに注目し、テオブロミン単独摂取およびテオブロミンとカフェインの同時摂取が、記憶・学習能力に及ぼす影響について検討を行った。

今回の実験の結果から、テオブロミンおよびカフェインの摂取が記憶・学習能力へ与える影響について有意な差を確認することはできなかった。また、テオブロミン摂取で報告のある胸腺や精巣の萎縮といった毒性も見られなかった。これらのことから、テオブロミンおよびカフェインの暴露経路および暴露濃度、暴露期間について更なる検討を行うことで、毒性を示さず人体機能に良い影響を与える可能性が示唆された。

---

キーワード：カカオ テオブロミン カフェイン 新規位置認知試験 記憶・学習

---

### 序論

チョコレートやココアなどのカカオ製品は古くから世界中の人々に食されている食品である。古くは、紀元前1000年頃にメキシコ原住民がカカオ豆をすりつぶして食しており、日本においては江戸時代に長崎の出島において阿蘭陀（オランダ）人から“しょくらあと（現チョコレート）”を現地の日本人が貰い請けたことから、食べられるようになったといわれている。

カカオは、中南米に植生する常緑樹の種子を原料とし、食物繊維やテオブロミン、カフェイン、ポリフェノールといった栄養素が含まれている<sup>1)</sup>ことが広く知られている。

近年、カカオ製品を摂取することで、記憶・学習機能が促進されるなど人体機能への影響についての論文が報告されている。例えば、東京医科歯科大学の佐久

間氏らによると、コンピュータ操作演習開始時にチョコレートを摂取すると、集中力の維持や精神を安定させる効果を持つ可能性が示唆されたという報告<sup>2)</sup>や、東京福祉大学の栗原氏によるカカオ成分の一つであるカフェインの摂取は、注意・集中力の維持などに有益で、その有効性は50 mg（コーヒー換算で1杯）以上で現れると報告<sup>3)</sup>されている。また、Brickmanらによると、チョコレートなどのカカオポリフェノールを多く含むカカオ製品を摂取すると、脳血流量の上昇により認知機能テストのスコアが上昇するという報告<sup>4)</sup>もある。

カカオの成分にカフェインが含まれていることは一般的によく知られているが、カフェインと共にその約10倍量のテオブロミンが含まれている<sup>5)</sup>ことはあまり知られていない。

そこで、本研究ではテオブロミン単独摂取およびテオブロミンとカフェインの同時摂取が、記憶・学習能

---

<sup>1†</sup> 美作大学短期大学部 栄養学科

<sup>2</sup> 美作大学 生活科学部 食物学科

力に及ぼす影響について検討を行った。

## 材料および方法

### I. 動物

実験には10週齢の雄ラット(396.3±17.1g, Wistar) 9匹を用いた。動物は、体重および実験期間前の飼料の摂取状況を基に3群各3匹に群分けを行った。動物は室温24.0 ± 2.0°C、湿度65.0 ± 15.0 %の動物飼育室で個別に飼育した。また、明期:am 8:00 - pm 8:00、暗期pm 8:00 - am 8:00の12時間毎の明暗サイクルとし、飼料および水の摂取は任意とした。また、動物の飼育および実験は美作大学・美作大学短期大学部動物実験に関する指針に基づいて行った。

### II. 薬物投与

対象群には通常飼料 {CE-2 (日本クレア株式会社) を粉末化}、Te群には通常飼料+テオブロミン150mg/kg、TC群には通常飼料+テオブロミン150mg/kg+カフェイン15mg/kgを28日間経口摂取させた。28日間の経口摂取期間は24時間に1回 (14:00~16:00)、動物の体重および摂餌量を計測・記録した。経口摂取期間の28日目には動物の行動および体重、摂餌量を観察・記録し、その30分後に記憶・学習行動課題を行った。(表1)

表1：実験スケジュール：3群とも28日間の経口摂取を行った後、28日目には動物の行動および体重、摂餌量を観察・記録した30分後に新規位置認知試験を行った。

群	日数																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9																			27
対照群	通常飼料摂取																											
Te群	通常飼料+テオブロミン150mg/kg摂取																											
TC群	通常飼料+テオブロミン150mg/kg+カフェイン15mg/kg摂取																											

### III. 記憶・学習課題 (新規位置認知試験)

行動試験は、簡便性が高く、情動レベルの低い条件下での薬剤や遺伝子変化による認知機能変化を捉える事が出来る新規位置認知試験を用いて行った<sup>7),8)</sup>。

新規位置認知試験は、同一の2つの物体 (小型木製

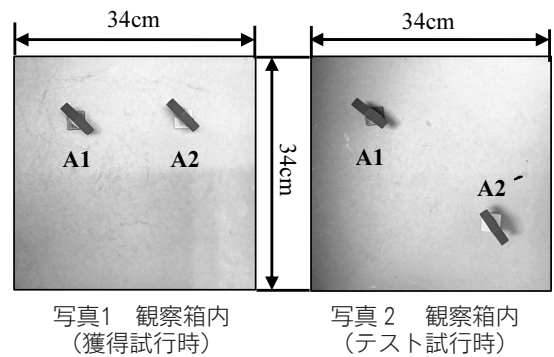


写真1, 2 獲得試行時 (写真1) とテスト試行時 (写真2) の観察箱内。A1、A2、A2' は、小型の木製ブロックを用いた。A2、A2' は、同じもので獲得試行時とテスト試行時で設置場所を変更。

ブロック) の入った観察箱 (縦:34cm、横:34cm、高さ:57.5cm) の中に動物を入れ、10分間自由行動を観察後 (獲得試行、写真1)、動物を観察箱から取り出し、1時間後に片方の小型木製ブロックの位置を変更し、再度ラットを観察箱に10分間入れた (テスト試行、写真2)。また、新規位置認知試験中は動画撮影を行い、試験後に探索行動時間の測定を3名で行い、その平均値を用いて各群の探索時間を比較・検討した。

### IV. データ解析

獲得試行とテスト試行でそれぞれの小型木製ブロックに対する探索行動時間を測定・記録した。

獲得試行時小型木製ブロックA1に対する探索行動時間をa秒、A2に対する探索行動時間をb秒、テスト試行時A2のあった場所に対する探索行動時間をc秒、A2'に対する探索行動時間をd秒とした。

獲得試行時の位置を変える前の小型木製ブロックA2の探索行動割合は「 $b/(a+b) \times 100$ 」の式より、テスト試行の位置を変える前の小型木製ブロックA2'の探索行動割合を「 $d/(c+d) \times 100$ 」式よりそれぞれ求めた。

テスト試行で、動物が獲得試行時の物体の位置を記憶していれば、場所が変わった小型木製ブロックに対してより長い探索行動時間を示す。すなわち、獲得試行時の小型木製ブロックA2の探索行動割合よりテス

ト試行時の小型木製ブロックA2<sup>レ</sup>の探索行動割合が増加していれば、学習記憶能力が向上したと評価することができる。

データは平均±標準誤差で示し、統計解析にはt検定 (unpaired *t*-test) を用いた。

## 結果

### I. 新規位置認知試験を用いた探索行動時間の比較・検討

新規位置認知試験を用いた探索行動時間から対照群、Te群、TC群それぞれの探索行動割合を算出した後、各群のデータを比較し、カカオ成分であるテオブロミンとカフェインの記憶・学習能力への影響について検討を行った (図1)。

対照群とTe群および対照群とTC群、Te群とTC群のいずれの群間においても有意な差は見られず、テオブロミン単独摂取およびテオブロミン+カフェイン同時摂取の記憶・学習能力への影響について確認することはできなかった。しかし、対照群に比べTe群及びTC群で獲得試行とテスト試行の探索行動割合の差が小さい傾向が見られた。

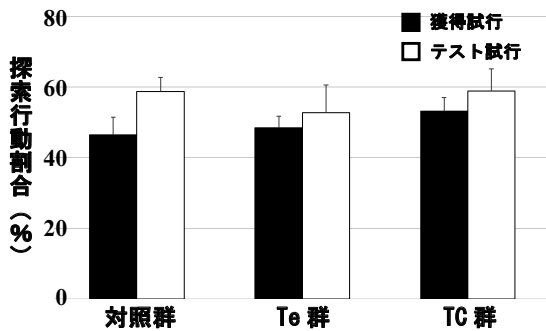


図1 各群の探索行動割合：対照群 (n=3) およびTe群 (n=3)、TC群 (n=3) それぞれの比較。新規位置認知試験を実施後、各群探索行動割合を算出し比較・検討した。縦軸 探索行動割合 (%), 横軸 群名, 黒：獲得試行, 白：テスト試行, 平均±S.E. (unpaired *t*-test)。

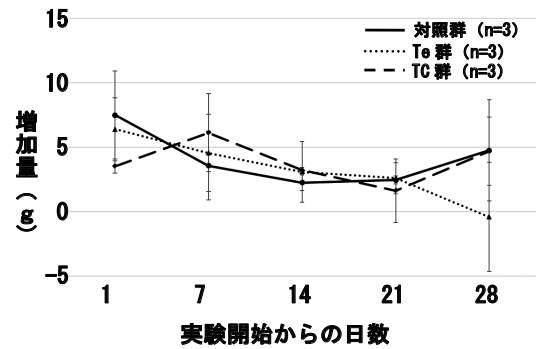


図2 体重増加量：対照群 (n=3) およびTe群 (n=3)、TC群 (n=3) の比較。体重は毎日同じ時間帯 (14:00~16:00の間) に計測し、前日体重との差を増加量とした。縦軸 体重増加量 (g), 横軸 実験開始からの日数, 実線：対照群, 細破線：Te群, 破線：TC群, 平均±S.E. (unpaired *t*-test)。

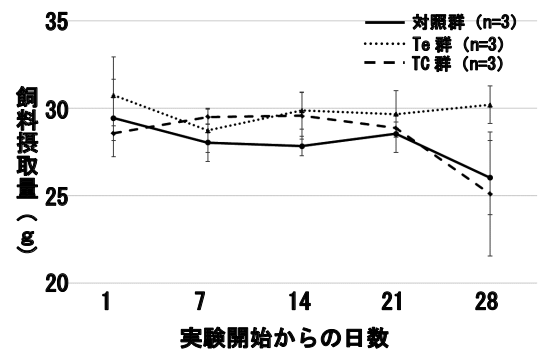


図3 実験期間中の飼料摂取量：対照群 (n=3)、Te群 (n=3)、TC群 (n=3) の比較。飼料摂取量は毎日同じ時間帯 (14:00~16:00の間) に計測した。縦軸 飼料摂取量 (g), 横軸 実験開始からの日数, 実線：対照群, 細破線：Te群, 破線：TC群, 平均±S.E. (unpaired *t*-test)。

### II. 実験期間 (薬物混入飼料摂取期間) 中の体重増加量及び飼料摂取量

実験期間中の体重増加量について比較・検討を行った (図2)。対照群とTe群および対照群とTC群、Te群とTC群のいずれの群間においても有意な差は見られなかった。しかしながら、実験開始から緩やかな体重増加量の低下傾向を示した。

実験期間中の飼料摂取量について比較・検討を行った (図3)。対照群とTe群および対照群とTC群、Te群とTC群のいずれの群間においても有意な差は見ら

れなかった。

## 考察

### I. 新規位置認知試験を用いた探索行動時間

新規位置認知試験の結果からカカオ成分の記憶・学習能力への影響を調べたが、対照群とTe群および対照群とTC群、Te群とTC群のいずれの群間においても有意な差は見られず、テオブロミンおよびカフェインの記憶・学習能力への影響について確認することはできなかった。実験期間中の行動観察において、実験開始時には3群共に活動量に違いは見られなかったが、Te群およびTC群のラットでは実験の経過と共に徐々に活動量が多くなり興奮性が上昇している印象であった。これは、テオブロミンおよびカフェインには中枢神経興奮作用があるという報告<sup>5)</sup>と一致しており、今回の研究においてもTe群とTC群において興奮性の高い様子が観察されたと考えられる。また、マウスを用いた実験において、半数致死量の10分の1量のテオブロミンを投与した時に行動学習試験においてベストパフォーマンスを示したという報告<sup>9)</sup>から、ラットにおいても行動学習試験のベストパフォーマンスを引き出す濃度があることが推測される。しかし、今回実験で用いたテオブロミンの投与濃度である150mg/kgは、ラットのベストパフォーマンスを引き出す濃度ではなかったことが示唆された。そのため、今後はテオブロミンの濃度および摂取期間、摂取経路を再検討する必要がある。

### II. 実験期間（薬物混入飼料摂取期間）中の体重増加量及び飼料摂取量

実験期間中の体重増加量については、3群間で有意な差は見られなかったが、21日目から実験終了の間Te群は、対照群およびTC群に比べて体重増加量が低下傾向を示した。飼料の0.8%のテオブロミンまたは飼料の0.5%のカフェインを摂食したラットにおいて体重増加量が減少したという論文<sup>10)</sup>が報告されていることから、Te群はテオブロミンの体重増加抑制作用によって体重増加量の減少傾向を示したと考えられ

る。今回の実験では15mg/kgのカフェインを4週間摂取したが、10週齢雄のZuckerラットに10mg/kg/dayのカフェインを10週間毎日反復経口投与すると体重増加抑制が見られたという論文<sup>11)</sup>が報告されていることから、カフェインの摂取期間を延長するとTC群において体重増加量の減少が見られたのではないかと推測される。

実験期間中の飼料摂取量については、3群間で有意な差は見られなかったが、TC群は21日目以降減少傾向であった。J.H.GANSら（1984）<sup>10)</sup>によると、コントロール群の餌の摂取量を100%とすると、7～8週間飼料の0.5%のカフェインを摂取したラットは57.2%、飼料の0.8%のテオブロミンを摂取したラットは77.9%に減少したと報告されていることから、TC群はテオブロミンとカフェインを同時摂取したことによって飼料摂取量が減少したと考えられる。一方、実験開始から実験最終日まで間Te群の飼料摂取量には変化がなかった。今回の実験のテオブロミン摂取期間は4週間であったが、J.H.GANSらの飼料の0.8%のテオブロミンを摂食したラットは体重増加量が減少したと報告<sup>10)</sup>されていることから、実験期間の延長により飼料摂取量が減少していくのではないかと推測される。

また、Te群では実験開始から終了まで飼料摂取量に大きな変化は見られなかったが、体重増加量は減少していた。これは、テオブロミンには脂肪分解作用があることが報告<sup>12),13)</sup>されていることから、今回の実験でTe群の体重増加量が減少傾向を示した要因の一つにテオブロミンの脂肪分解作用の関与が示唆された。

## 総括

本研究から、カカオに含まれる成分の摂取と記憶・学習能力への影響について有意な差を確認することはできなかった。また、今回の実験ではテオブロミン摂取による健康影響として報告<sup>14),15)</sup>のある胸腺と精巣の萎縮についても実験後、胸腺と精巣を摘出し萎縮の有無についてそれらの湿重量を測定し検討を行ったが、対照群とTe群および対照群とTC群およびTe群とTC

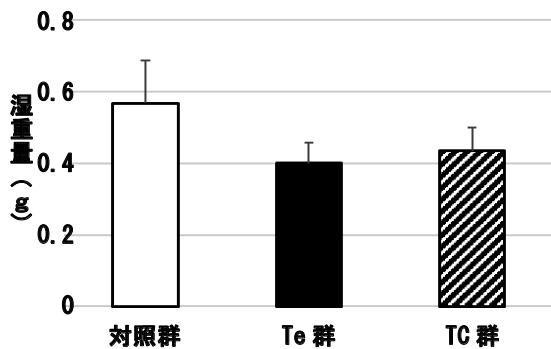


図4 胸腺の湿重量：対照群 (n=3), Te群 (n=3), TC群 (n=3) の比較。胸腺の湿重量は新規位置認知試験実施後、動物より摘出し測定した。縦軸 湿重量 (g), 横軸 群名, 平均±S.E. (unpaired t-test)。

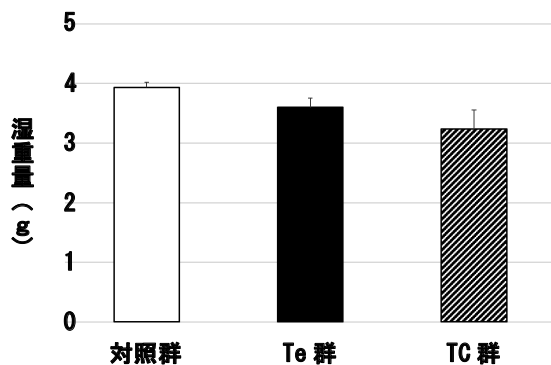


図5 精巣 (左+右) の湿重量：対照群 (n=3), Te群 (n=3), TC群 (n=3) の比較。精巣の湿重量は、新規位置認知試験実施後、動物より摘出し測定した。縦軸 湿重量 (g), 横軸 群名, 平均±S.E. (unpaired t-test)。

群のいずれの群間においても胸腺 (図4) および精巣 (図5) の湿重量に有意な差は見られなかった。

これらのことから、テオブロミンおよびカフェインの投与期間および投与量について再検討を行う必要がある。

本研究では動物を用いてカカオに含まれる成分の記憶・学習能力への影響について検討を行った。今後も、世界中の人々に広く親しまれているカカオ製品の生体に対する様々な影響について詳細に検討を行いたいと考えている。

## 参考文献

- 1) Scalbert A, Williamson G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr.*, 130(8S Suppl), 2073S-85S, 2000.
- 2) 佐久間 夕美子、友藤 裕美、宮内 清子、佐藤 千史 チョコレート摂取がコンピュータ演習後の疲労感に及ぼす影響 *日本健康医学会雑誌*, 17(1), 13-19, 2008.
- 3) 栗原 久 コーヒー／カフェイン摂取と生活：カフェインの精神運動刺激作用と行動遂行 *東京福祉大学・大学院紀要=Bulletin of Tokyo University and Graduate School of Social Welfare.* 7(1), 5-17, 2016.
- 4) Brickman A.M, Khan U.A, Provenzano F.A, Yeung L.K, Suzuki W, Schroeter H, Wall M, Sloan R. P, Small S.A Enhancing dentate gyrus function with dietary flavanols improves cognition in older adults. *Nat Neurosci.*, 17, 1798-803, 2014.
- 5) 独立行政法人国民生活センター 高カカオをうたったチョコレート 独立行政法人国民生活センターホームページ 4-5, 2008.
- 6) 安全衛生情報センター：化学物質：3, 7-ジメチルプリン-2, 6-ジオン <http://anzeninfo.mhlw.go.jp/anzen/gmsds/83-67-0.html>, 2012.
- 7) 奥田 尚紀, 村井 建之, 太田 尚 げっ歯類を用いた物体認識試験及び位置認識試験の行動学的・薬理学的特徴 万有製薬株式会社 つくば研究所 薬理研究所 企業研究紹介 92-94, 2016.
- 8) Matt Carter and Jennifer Shieh. *Guide to Research Techniques in Neuroscience.* Canada, Academic Press, 55-56, 2009.
- 9) KURIBARA Hisashi, ASAH I Toshio, TADOKORO Sakutar o BEHAVIORAL EVALUATION OF PSYCHO-PHARMACOLOGICAL AND PSYCHOTOXIC ACTIONS OF METHY LXANTHINES BY AMBULATORY ACTIVITY AND DISCRETE

AVOIDANCE IN MICE. *The Journal of Toxicological Sciences*, 17(2), 81-90, 1992.

- 10) J.H.GANS Comparative toxicities of dietary caffeine and theobromine in the rat. *Food and Chemical Toxicology*, Volume 22, 365-369, 1984.
- 11) 兼田 直人, 大嶋 篤, 長谷川 也須子, 山下 龍, 渋谷 一元 Zuckerラットにおけるカフェインの体重増加抑制効果 日本毒性学会学術年会, 36(0), 4103-4103, 2009.
- 12) Fredholm B. Lindgren E. The effect of alkylxanthines and other phosphodiesterase inhibitors on adenosine-receptor mediated decrease in lipolysis and cyclic AMP accumulation in rat fat cells. *Acta. Pharmacol. Toxicol.*, 54 64-71, 1984.
- 13) Hayashi S. Sakaguchi T. Studies on 3,7-dimethyl-1-(5-oxo-hexyl)-xanthine (BL 191). II. Effect of BL 191 on lipolysis in rat epididymal adipose tissue. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, 23, 3119-3124, 1975.
- 14) Wang Y. Waller DP. Theobromine toxicity on Sertoli cells and comparison with cocoa extract in male rats. *Toxicol Lett.*, 70(2), 155-64, 1994.
- 15) Wang Y. Waller DP. Hikim AP. Russell LD. Reproductive toxicity of theobromine and cocoa extract in male rats. *Reprod. Toxicol.*, 6(4), 347-53, 1992.