

## ココア粉末摂取が食餌性肥満ラットの 体重および体脂肪減少に及ぼす影響

曾川美佐子・武川由里子

Low-energy Diet of Cocoa Powder Reduces Body Weight and Fat in Obese Wistar Rats

Misako SOGAWA and Yuriko TAKEKAWA

### ABSTRACT

Cocoa powder contains various polyphenols known as cacao mass polyphenol and physiologically active compounds, such as methylxanthine, which inhibits arteriosclerosis, hypertension and cancer. The present study reviewed whether a low-energy diet of cocoa powder reduces body weight and fat in male Wistar rats with obesity induced by diet.

Obese rats were fed ad libitum with a 25% w/w high-fat diet for 12 weeks and separated into groups C, LC and HC, which were fed with a 20% casein diet, and the same diet containing 650 or 2,500 mg/kg body weight of cocoa powder, respectively, for four weeks. The total energy intake of 50 kcal/day was restricted to 50% of the previous ad libitum intake for all groups.

After four weeks, body weight and %body fat significantly decreased in groups LC and HC compared with group C. Plasma triglyceride levels significantly decreased in the groups given cocoa powder. The index of insulin resistance (Homeostasis Model Assessment ratio; HOMA-R) tended to be lower in groups LC and HC. The weight and fat content of feces significantly increased in the LC and HC groups compared with group C. These findings suggested that consuming a low-energy diet containing cocoa powder reduces body weight and fat by reducing physiological fat absorption.

KEYWORDS: Insulin resistance, Diet, Polyphenol, Methylxanthine, Triglyceride

### I. 緒 言

肥満は、摂取エネルギー量と消費エネルギー量のバランスの乱れによって、脂肪組織に脂肪が過剰に蓄積した状態である。脂肪がたまる部位によって皮下脂肪型肥満と内臓脂肪型肥満に大別され、皮下脂肪型肥満では、合併症の頻度は比較的低い。一方、内臓脂肪型肥満は、消化管周辺の脂肪から門脈を介して肝臓につながっているため代謝系に大きな影響を及ぼし、生活習慣病の主要な危険因子となる。平成28年国民健康・栄養調査<sup>1)</sup>によると肥満者（BMI25以上）の割合は、男性31.3%、女性20.6%であり、男性では約3人に1人が、女性では5人に1人が肥満者といっても過言ではない状況である。

肥満の予防のためには、適切な食事や継続的な運

動が基本となるが、日常生活では実践することが難しいのが現状である。よって、食品中に含まれる肥満抑制効果を持つ成分を見つけ出すことは、非常に有意義である。現在は、種々のポリフェノールが注目されており、中でも緑茶に含まれるカテキンの抗肥満効果がラット<sup>2)</sup>、マウス<sup>3)</sup>、ヒト<sup>4)</sup>において報告されている。これを受けて消費者庁によって「体脂肪が気になる方に」という表示が許可された特定保健用食品や、消費者庁に届出された機能性表示食品などが販売されている。このようなポリフェノールを含む食品摂取による十分な減量効果を得るためには、当該食品を毎日摂取する必要があるが、「飽きる」などの理由で継続が難しいという問題がある。よって、カテキンを含む緑茶の他にも減量効果がある食品を発見し、食品選択に多様性をもたせることが重

要であると考えられる。これまでに我々の研究室では、乳酸発酵茶である阿波番茶の抗肥満効果について研究し、阿波番茶にも緑茶のような体重や体脂肪減少効果を有すること、そして、抽出した阿波番茶中にも生きた乳酸菌が存在し、腸内細菌叢改善効果も見られる事などを報告した<sup>5)</sup>。

そこで今回は、緑茶以外でポリフェノールを含む食品の抗肥満効果について検討することとした。食品としてはココア粉末を選んだ。ココア粉末に含まれるカカオポリフェノールの健康効果については、粥状動脈硬化やがんの抑制作用<sup>6)</sup>だけでなく、肥満状態でストレプトゾトシンを投与して糖尿病を発症させたラットに対する血糖低下作用や、血中コレステロール低下作用<sup>7)</sup>なども報告されている。よって、ココア粉末には、肥満ラットの体脂肪を抑制する効果がある可能性も考えられる。

よって、本研究においては、ココア粉末の抗肥満効果を明らかにするため、食餌性肥満ラットに、低エネルギー食にココア粉末を添加した食餌を与え、肥満ラットの体重および体脂肪減少に及ぼす影響について検討を行った。

## Ⅱ. 方 法

### 1. 実験動物

動物実験は、「実験動物の飼養及び保管に関する基準」(昭和55年3月総理府告示第6号)、「研究機関等における動物実験の実施に関する基本指針」(平成18年文部科学省告示第71号)ならびに「実験動物の飼養および保管ならびに苦痛の軽減に関する基準」(平成18年4月環境省告示第88号)の遵守を基本とし、四国大学動物実験委員会における倫理審査を経て実施した。

#### 1) 実験動物の飼育

##### (1) 食餌性肥満ラットの作成期

実験動物として6週齢のウィスター系雄ラット17匹(日本チャールズ・リバー k.k.)を用い、室温  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、12時間の明暗サイクルの飼育室で、個別ケージに入れて飼育した。固型飼料(MF)(オリ

エンタル酵母工業 k.k.)と水を自由に与えて、1週間予備飼育した後、食餌性肥満ラットの作成は、25%高脂肪食を12週間にわたり自由に摂取させることにより行った。25%高脂肪食は、粉末飼料(MF)(オリエンタル酵母工業 k.k.)1000gにラード260gを混合して作成した。高脂肪食の組成は表1に示す。

表1 高脂肪食の組成

	重量	タンパク質	脂肪	炭水化物	エネルギー
	(g)			(kcal)	
粉末飼料	100	24.6	5.6	52.8	360
ラード	26	0.0	26.0	0.0	245
高脂肪食	100	18.1	25.1	41.9	480

その間、ラットの体重と摂食量は、1日おきに測定した。高脂肪食を12週間にわたって投与することにより、ラットの体重は、214gから565gまで増加した。また、高脂肪食の摂取量は12週間の平均で、 $94 \pm 8\text{kcal/日}$ となった。

#### (2) 減量実験期

12週間の高脂肪食投与後、対照食群と試験食群に分け、減量実験を行った。なお、減量実験のエネルギー投与量は、 $50\text{kcal/日}$ に制限した。この量は、高脂肪食摂取時( $94 \pm 8\text{kcal/日}$ )の約50%に相当する量である。また、基本飼料は、20%カゼイン食(AIN93G, オリエンタル酵母工業 k.k.)とし、糖質としてコーンスターチおよび砂糖、ミネラル混合、ビタミン混合、セルロースおよび大豆油を混合して使用した(表2)。なおこの飼料は、100g当たり377kcalのエネルギーをもつ。

表2 実験食の組成

	20%カゼイン食
カゼイン	200
シスチン	3
ショ糖	120
コーンスターチ	529.5
大豆油	50
AIN-93G ミネラル混合	35
AIN-93G ビタミン混合	10
重酒石酸コリン	2.5
セルロース	50
合計 (g)	1,000

表3に示すように、基本飼料である20%カゼイン食に、ココア粉末(森永純ココア, 森永製菓 k.k.)

を低濃度（650mg/ラットの体重 1kg）または高濃度（2500mg/ラットの体重 1kg）添加した食餌を作成した。1日の投与量は 50kcal/日であり、エネルギーはココア粉末の成分表示値の 360kcal/100g を用いて計算した。ココア粉末を添加した食餌を投与する群を、それぞれ LC 群、HC 群とした。また、ココア粉末を含まない 20% カゼイン食を投与する群を C 群とした。これらの実験食は、適当量の水を加え団子状にし、毎日 1 個ずつ 4 週間与えた。なお、この間のラットの体重は 1 日おきに測定した。

表3 実験食の投与量（ココア粉末）

	投与量 (kcal/日)	ココア粉末 投与量 (mg/kg 体重)	配合量	
			20%カゼイン食	ココア粉末
			(g/日)	
C 群	50	—	13.26	—
L C 群	50	650	12.88	0.398
HC 群	50	2500	11.89	1.438

## 2) ラットの解剖

ラットをソムノベンチル麻酔下（共立製薬 k.k. 1mg/kg 体重）で開腹し、ヘパリンナトリウム（SAJ 特級 シグマアルドリッチジャパン k.k.）入り注射器で下大静脈より採血した。次に肝臓、腎臓、胃、筋肉（腓腹筋）、小腸、腎周辺脂肪、副睾丸周辺脂肪および腸間膜脂肪を取り出し、重量を（小腸は長さ）測定した。

血液は 3,000rpm で 10 分間遠心分離し、血漿を集め、-25℃で凍結保存した。肝臓、筋肉、脂肪組織およびカーカスも -25℃で凍結保存した。

## 2. 測定方法

### 1) エネルギー代謝

24 時間のラットのエネルギー消費量は、小動物用代謝計測システム（MODEL MK-5000RQ/02）にて測定した。

### 2) 血漿成分

血漿総たんぱく質、アルブミン、総コレステロール、HDL-コレステロール、TG（トリアシルグリセロール）、グルコース濃度は、富士ドライケム

3030（富士メディカルシステム k.k.）により測定を行った。

3) 血中インスリン濃度（ELISA 法）および HOMA-R 値  
レビス インスリン-ラット T（シバヤギ k.k.）を用いて行い、Benchmark Plus マイクロプレートリーダー（BLO-RAD k.k.）で 450nm の吸光度を測定した。

空腹時血糖値（上記のグルコース濃度）およびインスリン濃度から、インスリン抵抗性の指標である HOMA-R 値を算出した。なお、HOMA-R 値は以下の式で求めた<sup>8)</sup>。

$$\text{HOMA-R 値} = \frac{\text{空腹時血糖値 (mg/dL)} \times \text{空腹時インスリン濃度 (}\mu\text{g/mL)}}{405}$$

### 4) 血中レプチン濃度

ラットレプチン ELISA キットワコー（和光 k.k.）を用いて行い、Benchmark Plus マイクロプレートリーダー（BLO-RAD k.k.）で 490nm の吸光度を測定した。

### 5) 体組成（体水分量と体脂肪含有量）

体水分は、冷凍保存したカーカスを斧で細かく碎き、乾燥機で 105℃、24 時間乾燥させ、乾燥前後の重量を差し引くことで測定した。乾燥後のカーカスは、ミキサーで細かく粉碎し、体脂肪含有量の測定を、Exfat 装置（日本ゼネラル k.k.）を用いた熱エーテル抽出法で求めた。

### 6) 糞中脂肪量

#### (1) 糞の採取

ラット解剖前 3 日間の糞を採取し、蒸留水ですすいでよくゴミを落とした。シャーレに入れて乾燥機で 105℃、24 時間乾燥させ重量を測定した。

#### (2) 脂肪量の測定（熱エーテル抽出法、Exfat）

乾燥した糞をコーヒーミルで細かく粉碎し、脂肪含量の測定に用いた。糞中の脂肪量の測定は、熱エーテル抽出法で求めた。

### 7) 筋たんぱく質含有量（Lowry 法<sup>9)</sup>）

筋肉 0.5g を秤量し、30% 水酸化カリウム 4.5ml を入れ、沸騰水浴中で攪拌しながら溶解させた後、Lowry 法<sup>9)</sup>で測定した。

#### 8) 肝臓の TG および総コレステロール含量

肝臓 0.5g を秤量し、クロロホルム：メタノール（2：1）溶液 4.5mL を入れ、冷却下で 3 分間ホモジナイザー（ultra-turraxT25）でホモジナイズした。5℃で 2 日間抽出したあと、クロロホルム：メタノール（2：1）溶液で 5mL に定容した。その後、3,000rpm、10 分間で遠心分離し、クロメタ層より 1mL 取り蒸発乾固した残渣を 5% Triton-X100 を含むイソプロパノール 3mL に溶解し、試料溶液とした。

試料溶液中の TG 含量はトリグリセライド E - テストワコー（和光純薬工業 k.k.）、総コレステロール含量はコレステロール E - テストワコー（和光純薬工業 k.k.）を用いて測定した。

#### 9) 総ポリフェノールおよびカテキン類の定量

ココア粉末に含まれる総ポリフェノール量は、Folin - Ciocalteu 法<sup>10)</sup>で測定した。ココア粉末に含まれるカテキン類の定量は、HPLC 法<sup>11)</sup>にて行った。

### 3. 統計学的分析

各測定値は、すべて平均値 ± 標準偏差で示した。群間の有意差検定は、JMP ver.5 ソフト（SAS Institute Inc.）を用いて、Tukey's HSD 検定による多重群間検定を行い、 $p < 0.05$  を有意とした。

### Ⅲ. 結果および考察

ポリフェノールはほとんどの植物に含まれており、植物が自身を酸化ダメージから守るために作り出す物質で、その種類は数千種以上もある。全てのポリフェノールには抗酸化作用や抗炎症作用があり、また種々のポリフェノールにおいて、血糖値上昇抑制、肝機能改善、血中コレステロール上昇抑制、血圧の低下、抗肥満、虫歯予防、抗菌作用などいろいろな効果があることが知られている。中でも、赤ワインに含まれるレスベラトロールや緑茶に含まれ

るカテキン類などが有名である。今回の実験で用いたココア粉末にはわずかであるがエピカテキン（EC）が含まれている（表 6）。本研究においては、ココア粉末を含む低エネルギー食を食餌性肥満ラットに投与することにより、その抗肥満効果を検討した。

まず、食餌性肥満ラットは、25% 高脂肪食を 12 週間にわたって与えることにより作成した。12 週間の 25% 高脂肪食投与による肥満ラットの体重は  $565 \pm 41\text{g}$ 、体脂肪 % は  $25.7 \pm 2.3\%$  であり、本減量実験に用いたラットは明らかに肥満を呈していた。

作成した肥満ラットに 4 週間にわたって、ココア粉末添加食を、エネルギー制限しながら投与し、ココア粉末を添加しない対照群に比べて減量の効果を強めるかについて検討した。

図 1 は、ココア粉末投与による体重減少量を示した。4 週間の体重減少量を見ると、C 群が  $29 \pm 8\text{g}$  であったのに比べて、ココア粉末を投与した LC 群はその約 1.8 倍、HC 群では約 2.1 倍と有意な体重減少が見られた。また、ココア粉末の投与濃度が高いほど、体重減少量が多い傾向が見られた。

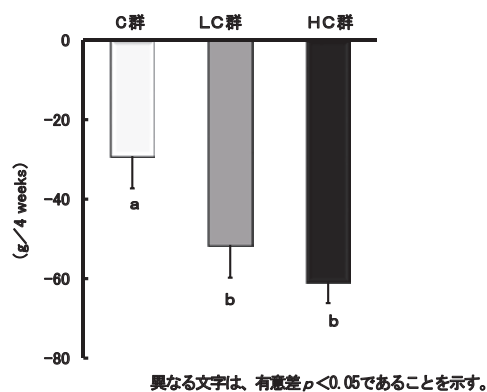


図 1 体重減少量

各群の臓器重量は C 群と比較してほとんど差は見られなかった（データは示していない）。

表 4 は脂肪組織重量について表したものである。LC 群では、脂肪組織の部位別重量および合計値ともに C 群との差は見られなかった。しかし、ココア粉末を高い濃度で投与した HC 群においては、C 群に比べて少ない傾向にあった。ラットを用いた実

験での内臓脂肪とは、腸間膜脂肪など門脈系に存在する脂肪組織で、皮下脂肪とは異なり、直接肝臓に流入する脂肪組織のことを指す<sup>12)</sup>。よって、後腹膜に存在する腎周辺脂肪や副睾丸周辺脂肪組織は、皮下脂肪に分類される。したがって、ココア粉末を高い濃度で投与することにより、ラットの皮下脂肪と内臓脂肪ともに減少させる傾向にあることが分かった。

表 4 脂肪組織重量

	例数	腎周辺 脂肪 (g)	副睾丸周辺 脂肪 (g)	腸間膜 脂肪 (g)	合計 (g)
C 群	6	18.7 ± 4.5	16.3 ± 2.3 <sup>a</sup>	7.1 ± 2.7	42.1 ± 8.5
LC 群	6	18.2 ± 7.3	18.1 ± 3.9 <sup>a</sup>	7.2 ± 2.4	43.5 ± 12.3
HC 群	5	13.0 ± 2.6	13.1 ± 2.0 <sup>b</sup>	4.6 ± 1.2	30.7 ± 5.2

平均 ± SD 異なる文字は、有意差  $p < 0.05$ であることを示す。

図 2 は実験食投与後の体脂肪 % について表したものである。体脂肪 % は C 群が  $27.2 \pm 5.4\%$  と高値を示したのに比較して、LC 群では差が見られなかったが、HC 群で  $20.2 \pm 0.6\%$  と有意に減少していた。図 1、表 4 および図 2 の結果より、単に食餌量を減らすより、その中にココア粉末を一定量添加した方がより効果的であると考えられた。

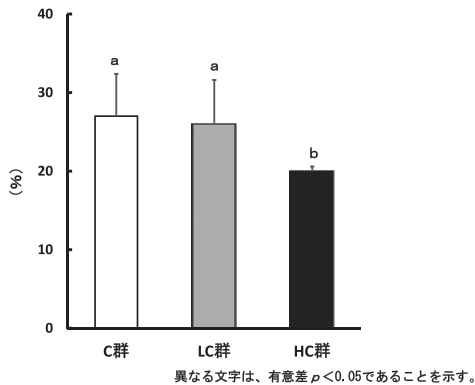


図 2 体脂肪 %

肝臓のタンパク質および TG 含量、筋肉のタンパク質含量の分析結果は示していないが、いずれの項目においても差が見られなかった。

次に、血漿成分の測定結果を示す。血漿 TG 濃度を図 3 に示した。血漿 TG 濃度は、ココア粉末を投与した 2 群で、C 群の 1/2 以下のレベルまで大幅に低下していた。Jalil らも、肥満の糖尿病ラットへのココア粉末の長期的な投与が、ラットの血漿 TG を

低下させることを報告している<sup>7)</sup>。血漿総コレステロール濃度、HDL - コレステロール濃度、総タンパク質濃度およびアルブミン濃度は、C 群と比較して差が見られなかった（データは示していない）。

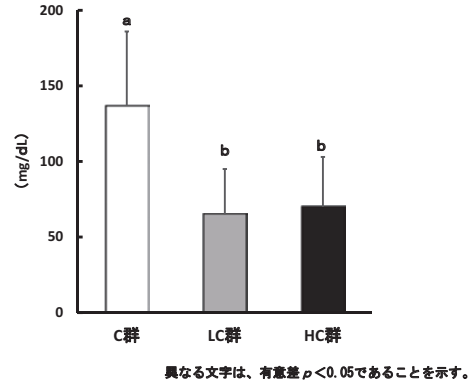


図 3 血漿 TG

血漿グルコース濃度（空腹時血糖値）を図 4A に示した。C 群に比べて LC 群、HC 群ともに有意な差は見られなかった。血中インスリン濃度を図 4B に示した。LC 群および HC 群の血中インスリン濃度は、C 群と比べると濃度依存的に低下する傾向が見られたが、いずれも有意な差ではなかった。この空腹時血糖値およびインスリン濃度から HOMA-R 値を算出した結果を図 4C に示した。LC 群と HC 群において、有意ではないが HOMA-R 値の低下傾向が見られたことから、ココア粉末を投与することにより、インスリン抵抗性が改善することが考えられた。

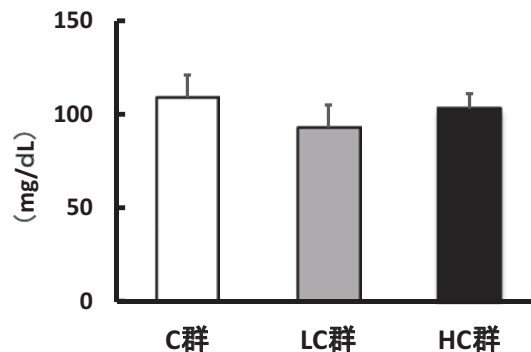


図 4 A 血漿グルコース濃度（空腹時）

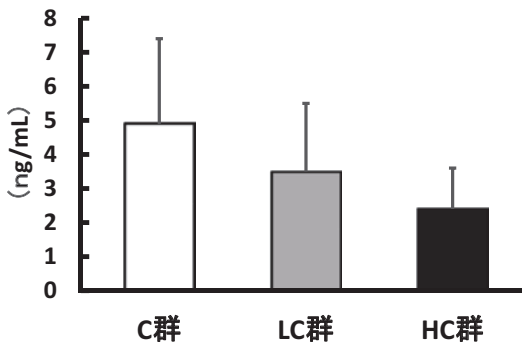


図4B 血中インスリン濃度（空腹時）

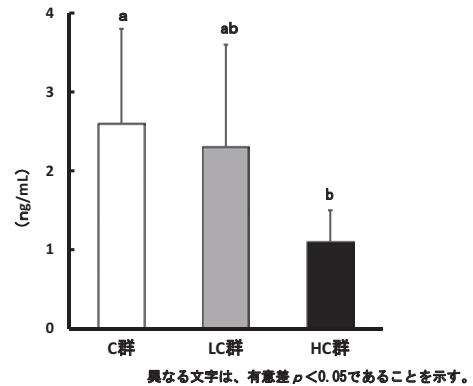


図5 血漿レプチン濃度

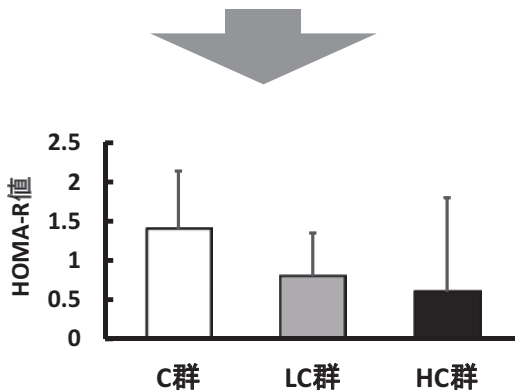


図4C HOMA-R

HOMA-R 値インスリン抵抗性の指標となる。  
 計算式：  

$$\frac{\text{空腹時血糖値 (mg/dL)} \times \text{空腹時インスリン濃度 } (\mu\text{g/mL})}{405}$$
  
 1.6 以下で正常  
 2.5 以上で抵抗性有り

血中レプチン濃度を図5に示した。レプチン濃度は、体重および体脂肪%が減少していたHC群において、C群に比べて有意な低下が見られた。血中レプチン濃度は体脂肪量に比例するといわれているため、体脂肪%が有意に減少したHC群で有意なレプチン濃度の減少が見られたと考えられる。

次に、24時間のエネルギー消費量を図6に示した。LC群およびHC群ともに、体重100g当たりで示したエネルギー消費量は、C群と比べて全く差が見られなかった。よって、ココア粉末投与による体重および体脂肪減少は、エネルギー代謝の亢進による結果ではないと考えられた。

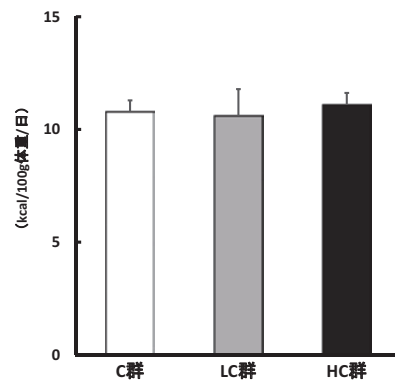


図6 エネルギー消費量

脂肪のみかけの消化吸収率について表5に示した。3日間の糞重量はC群に比べて、HC群で有意に増加しており、ココア粉末に排便促進効果があると考えられた。また、糞中に排泄された粗脂肪量もLC群およびHC群において有意に増加しており、粗脂肪量と脂肪摂取量から計算した、脂肪のみかけの消化吸収率は、ココア粉末投与群で有意に低下していた。よって、ココア粉末投与による体重および体脂肪減少は、脂肪の消化吸収率が低下したためと考えられた。

表5 脂肪のみかけの消化吸収率

例数		糞重量	脂肪含量	粗脂肪量	脂肪の消化吸収率
		A (g/3日)	B (%)	A × B ÷ 100 (g)	(%)
C群	6	3.82±0.35 <sup>b</sup>	0.69±0.22 <sup>b</sup>	0.03±0.01 <sup>c</sup>	98.67±0.48 <sup>a</sup>
LC群	6	4.08±0.18 <sup>b</sup>	3.08±0.37 <sup>a</sup>	0.13±0.01 <sup>b</sup>	93.92±0.60 <sup>b</sup>
HC群	5	5.69±0.90 <sup>a</sup>	3.27±0.38 <sup>a</sup>	0.18±0.02 <sup>b</sup>	93.37±0.58 <sup>b</sup>

平均±SD 異なる文字は、有意差  $p < 0.05$  であることを示す。



本研究では、食餌性肥満ラットに、高脂肪食投与時の摂取エネルギーの約 50% に制限した実験食を 4 週間与え、減量実験を行った。対照群にも同様の低エネルギー食を与えているため、エネルギー摂取量は同量であり、さらにココア粉末を加えることで肥満抑制効果が増強されるか検討した。まず、摂取エネルギーの決定であるが、今回は自由摂取時の約半分（約 53%）に制限したが、これについては我々が行った先行研究<sup>13)</sup>の結果、エネルギー制限の程度が緩やかな場合、体重や体脂肪減少量に差が出にくかったことから、この量に決定した。減量する上で大切なことは、筋肉量や体タンパク質を減らすことなく、緩やかに脂肪量を減少させることである。約 50% のエネルギー制限で、ラットの栄養状態が悪くなることも考えられたが、筋肉重量、血漿総タンパク質濃度およびアルブミン濃度、肝臓・筋肉のタンパク質含量などに異常な値はなく、今回の減量はラットにとって負担が少なかったと推察された。

次にココア粉末の投与濃度であるが、体重 1kg あたり、650 mg (LC 群)、または 2500mg (HC 群) 添加の 2 つの濃度に設定した。これについては、まず表 6 に示すように、Folin - Ciocalteu 法でココア粉末中の総ポリフェノール量を測定し、さらに我々が先行研究で行った緑茶抽出物投与実験<sup>14)</sup>や Jalil<sup>7)</sup>らの報告を参考にし、その濃度に決定した。以前の研究において、肥満ラットに効果があつた緑茶抽出物投与濃度は、体重 1kg あたり 650mg であつた。しかし、ココア粉末は表 6 に示すように、含まれるポリフェノールの量が少ないので、650mg が低用量投与、2500mg は同用量投与と考えた。

表 6 総ポリフェノール量とその組成 (mg / g)

	ココア粉末	緑茶抽出物
総ポリフェノール量 <sup>1)</sup>	68.3	366.3
EGC <sup>2)</sup>	—	82.6
C <sup>2)</sup>	—	31.0
EC <sup>2)</sup>	9.2	22.5
EGCg <sup>2)</sup>	—	156.0
ECg <sup>2)</sup>	—	29.6
カテキン類以外のポリフェノール <sup>3)</sup>	59.1	44.6

1) Folin-Ciocalteu 法

ECG：エピガロカテキン

EGCg：エピガロカテキンガレート

2) HPLC 法

C：カテキン

ECg：エピカテキンガレート

3) 差し引きで求めた

EC：エピカテキン

したがって、今回効果が見られた投与量を緑茶の結果と比較すると、ココア粉末は緑茶と同量の投与で効果が見られたと考えられた。また、表 6 には、総ポリフェノール中の個々の成分として、HPLC 法で測定したカテキン類含量についても示している。ココア粉末には、緑茶抽出物に比較して、カテキン類がほとんど含まれていないことが分かる。

今回、ココア粉末投与により、有意な体重および体脂肪減少が観察された。有意ではないが、ココア粉末投与により、インスリン抵抗性の改善傾向が見られた。緑茶の抗肥満効果の作用機序として、Matsumoto ら<sup>15)</sup>は消化管内のマルターゼ、スクラーゼ活性阻害による糖質吸収抑制を、Muramatsu ら<sup>2)</sup>はラットにおける糞便中への総脂質とコレステロールの排泄増加を報告している。今回の実験結果で、ココア粉末添加食が肥満を抑制した主な要因としては、脂肪の消化吸収率が著しく低下していたことから、Muramatsu らの緑茶での報告と同様に、ココア粉末に含まれるポリフェノールには糞中への脂肪排泄作用があるためと考えられた。また、ココア粉末投与により、血漿 TG 濃度の有意な減少が見られた。この理由として、ココア粉末に含まれるポリフェノールが、腓リパーゼの活性を阻害してトリアシルグリセロール (TG) の吸収を遅らせたためと考えられた。Jalil ら<sup>7)</sup>は、ココア粉末のリパーゼ阻害効果を既に報告している。また、腓リパーゼ活性が低下したために、糞中への脂肪排泄量が増加し、脂肪のみかけの消化吸収率が低下したのと考えられる。また、テアフラビンなどの重合ポリフェノールは、脂肪酸合成に関与する肝臓の FAS (fatty acid synthase) の発現を減少させることが知られている<sup>16)</sup>。今回使用したココア粉末にもテアフラビンが含まれているため、血中の TG 濃度が低下した可能性もある。

体重および体脂肪減少の作用機序に関する別の要因として、ポリフェノールによりラットのエネルギー代謝が亢進していることが予想された。よって、各群のラットの 24 時間のエネルギー消費量を測定した。しかし、エネルギー消費量は対照群と比較して全く差が見られなかった。一方、緑茶投与により、

エネルギー代謝が亢進し呼吸商も低下することが知られている<sup>17)~18)</sup>。それは、緑茶に含まれるエピカテキンガレート (ECg) が、脂質代謝に関与するカテコールアミンの分解酵素である Catechol - O - methyltransferase (COMT) 活性を阻害するためと報告されている。表 6 に示すように、今回使用したココア粉末にはカテキン類がほとんど含まれておらず、このような効果は観察されなかったものと考えられる。

緑茶抽出物には、表 6 に示すようにカテキン類が多く含まれており、今までに述べたように、カテキン類の抗肥満効果に関する報告が多くある。しかし、今回使用したココア粉末には、カテキン類はわずかしかな含まれていない。カテキン類は単量体であり、標準品も市販されているため HPLC 法で測定が可能であるが、2 量体以上のポリマーになると測定が難しい。よって今回測定ができなかった成分は、差し引き計算で「カテキン類以外のポリフェノール」に含めた。しかし、それらの成分について LC/MS 等で測定を行っている文献を参照すると、ココア粉末は、カテキン類の重合体であるプロシアニジン類が主成分であり、二量体から、高分子なものでは十量体まで存在するとの報告がある<sup>19)</sup>。よって、今回観察された抗肥満効果は、ココア粉末に含まれるプロシアニジン類によるものと考えられたが、今後これらの成分についてさらに検討していく必要がある。

今回の実験結果より、ココア粉末には脂肪の吸収阻害効果があり、ラットの脂肪蓄積抑制に寄与することが証明された。

ココア粉末については、ポリフェノールに注目して研究を進めてきたが、ココア粉末の持つ抗肥満効果や血糖値上昇抑制作用などは、ポリフェノールとは別の成分であるメチルキシサンチン誘導体のテオブロミンによるという報告もある<sup>7)</sup>。今後、ココア粉末中のどの成分が効いているのか特定するとともに、その他の成分についての検討も行いたいと考える。

#### IV. 結 論

7 週齢のウィスター系雄ラットに 25% 高脂肪食を 12 週間にわたり自由に摂食させて、食餌性肥満

ラットを作成した。作成した肥満ラットにココア粉末を添加した低エネルギー食 (50kcal/日) を 4 週間投与し、肥満ラットの体重および体脂肪減少に及ぼす効果について検討し、以下の結果が得られた。

- 1) ココア粉末投与によって、C 群に比べて有意な体重減少が見られ、またココア粉末の投与濃度が高いほど、体重減少量が多い傾向が見られた。さらに、高濃度のココア粉末投与によって、皮下脂肪と内臓脂肪ともに減少させる傾向にあることが分かった。この作用機序としては、エネルギー代謝の亢進ではなく、ココア粉末に含まれるポリフェノールによる、脂肪の消化吸収率の低下が主であると考えられる。
- 2) 血漿 TG 濃度は、ココア粉末を投与した 2 群で、C 群の 1/2 以下のレベルまで大幅に低下していた。ココア粉末に含まれるポリフェノールが、膵リパーゼの活性を阻害して、TG の吸収を抑制したためであると考えられる。
- 3) 空腹時の血漿グルコースおよびインスリン濃度には差が見られなかったが、インスリン抵抗性の指標となる HOMA-R 値は、ココア投与群で低くなる傾向が見られた。
- 4) 今回確認されたココア粉末の抗肥満効果は、ポリフェノールよりも、むしろテオブロミンといった他のココア粉末中の成分によるものであるという報告もある。よって、今後はポリフェノールの中でも、どの成分が抗肥満効果を有しているのか特定するとともに、その他の成分の検討も行っていきたい。

#### V. 参考文献

- 1) 厚生労働省．平成 28 年国民健康・栄養調査結果の概要．肥満及びやせの状況．2017. [https://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/kekkgaiyou\\_7.pdf](https://www.mhlw.go.jp/file/04-Houdouhappyou-10904750-Kenkoukyoku-Gantaisakukenkouzoushinka/kekkgaiyou_7.pdf) (2018 年 8 月 2 日閲覧)．
- 2) Muramatsu, K., Fukuyo, M., Hara, Y., 1986. Effect of green tea catechins on plasma cholesterol level in cholesterol - fed rats. Journal



- of Nutritional Science and Vitaminology 32 : 613 – 622.
- 3) Meguro, S., Mizuno, T., 2001. Effects of tea catechins on diet – induced obesity in mice. Journal of Oleo Science 50 : 593 – 598.
- 4) Hase, T., K, Yumiko., et al, 2001. Anti – obesity effects of tea catechins in humans. Journal of Oleo science 50 : 599 – 605.
- 5) Sogawa, M., Seura, T., et al, 2009. Awa(Tokushima) lactate – fermented tea as well as green tea enhance the effect of diet restriction on obesity in rats. The Journal of Medical Investigation 56 : 42 – 48.
- 6) 食品機能性の科学 編集委員会, 2008. 食品機能性の科学, 産業技術サービスセンター, 東京 : 357 ページ.
- 7) Jalil, A. M. M., Ismail, A., Chong, P. P., Hamid, Muhajir., and Kamaruddin, S. H. S., 2009. Effect of cocoa extract containing polyphenols and methylxanthines on biochemical parameters of obese – diabetic rats. Journal of the Science of Food and Agriculture 89 : 130 – 137.
- 8) 山内有信, 2011. ラットにおける玄米発酵食品摂取の血糖値に及ぼす効果. 栄養学雑誌 69 (4) : 175 – 181.
- 9) Lowry, O. H., N. J. Rosebrough., A. L. Farr and R. J. Randall, 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. The Journal of Biological Chemistry 193 : 265 – 275.
- 10) 真部孝明, 2003. フローチャートで見る食品分析の実際—植物性食品を中心に— 初版, 幸書房. 東京 : 79 – 80 ページ.
- 11) 西篠了康, 武田善行, 1999. HPLC による各種緑茶に含まれるカテキン類の分析. 日本食品科学工学会誌 46 (3) : 138 – 147.
- 12) 前田和久, 2008. 内臓脂肪は運動で減らす. 臨床栄養別冊 特定保健指導の決め手 メタボリックシンドロームを防ぐ「グッド・ダイエット」エビデンスに基づく栄養と食事 : 22 – 31.
- 13) 亀田弥可, 古林恵理, 2005. マンゴーゼンジャーエキスが肥満ラットの体重および体脂肪に及ぼす影響. 四国大学卒業論文.
- 14) 曾川美佐子, 2010. 食餌性肥満ラットの体重および体脂肪減少に及ぼす緑茶の効果. 四国大学紀要 B 自然科学編 30 : 9 – 15.
- 15) Matsumoto, N., et al, 1993. Reduction of blood glucose levels by tea catechin. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 57 : 525 – 527.
- 16) C – W Yea, W – J Chen, et al, 2003. Suppression of fatty acid synthase in MCF – 7 breast cancer cells by tea and tea polyphenols : a possible mechanism for their hypolipidemic effects. The Pharmacogenomics Journal 3 : 267 – 276.
- 17) Dulloo, A. G., Duret, C., Rohrer, D., Girardier, L., Mensi, N., Fathi, M., Chantre, P. and Vandermader, J., 1999. Efficacy of a green tea extract rich in catehin polyphenols and caffeine in increasing 24 – h energy expenditure and fat oxidation in humans. The American Journal of Clinical Nutrition 70 : 1040 – 1045.
- 18) Hase, T., Komine, Y., Meguro, S., Takeda, Y., Takahashi, H., Matsui, Y., Inaoka, S., Katsuragi, Y., Tokimitsu, I., Shimasaki, H. and Itakura, H., 2001. Anti – Obesity Effects of Tea Catechins in humans. Journal of Oleo Science 50 (7) : 599 – 605.
- 19) Natsume, M., Osakabe, N., Yamagishi, M., Takizawa, T., Nakamura, T., Miyatake, H., Hatano, T., and Yoshida, T., 2000. Analyses of Polyphenols in Cacao Liquor, Cocoa, and Chocolate by Nomal – Phase and Reversed – Phase HPLC. Bioscience Biotechnology and Biochemistry. 64 (12) : 2581 – 2587.

(曾川美佐子, 武川由里子 : 四国大学生生活科学部栄養学研究室)