

# 魚皮由来コラーゲンペプチド摂取による 被験者の安全性および皮膚への効果

Safety evaluation test and effect of skin conditions of volunteer intake of collagen peptide derived from fish skin collagen.

荻野明彦<sup>1)</sup>, 岡村健史<sup>2)</sup>, 山村 聡<sup>3)</sup>,  
横野智砂子<sup>4)</sup>, 野村義宏<sup>4)\*</sup>

Akihiko Ogino<sup>1)</sup>, Takeshi Okamura<sup>2)</sup>, Satoshi Yamamura<sup>3)</sup>,  
Chisako Yokono<sup>4)</sup>, Yoshihiro Nomura<sup>1)\*</sup>

## 要旨

コラーゲン加水分解物を摂取することで、乾燥肌の改善が報告されている。そこで、本研究では、コラーゲン摂取に関心のある一般の方 38 名を対象として「魚皮由来コラーゲンペプチド」およびプラセボを 8 週間摂取してもらい、摂取前、摂取 4 および 8 週間後に、血液の生化学検査および血中の Pro-Hyp 量、皮膚の水分量、経表皮水分蒸散量 (TEWL) を測定した。被験者について「魚皮由来コラーゲンペプチド 2.5 g 摂取」、「魚皮由来コラーゲンペプチド 12.5 g 摂取」およびプラセボの 3 群を設定し、無作為化二重盲検並行群間比較試験を行った。

その結果、摂取前に比べてコラーゲンペプチド 2.5 および 12.5 g 摂取による血中のアルブミン量、 $\gamma$ -GT 量などの指標の変化を認められなかった。通常の 5 倍量の摂取である 12.5 g 摂取でも血液中の生化学データに変化がなく、安全性が確かめられた。血液中の Pro-Hyp 濃度は、コラーゲンペプチド摂取により高くなっていたが、血中のコラーゲン濃度に影響は認められなかった。

摂取 2 か月後の皮膚の水分量は、統計的有意差はないもののプラセボ群に比べ、コラーゲンペプチド摂取群で高くなっていた。また、摂取 2 か月後の TEWL がプラセボ群に比べてコラーゲンペプチド 2.5 g 摂取群で低くなっていた。

よって、コラーゲンペプチドの 5 倍量の過剰投与の影響は認められず、皮膚水分量の上昇、皮膚バリア機能の亢進の可能性が示唆された。

Functional Food Research 20 : 97-104, 2024

## keywords

コラーゲンペプチド、無作為化二重盲検並行群間比較試験、安全性評価、皮膚水分量、経表皮水分蒸散量 (TEWL)

## はじめに

健康な東洋人のコラーゲンペプチドの摂取効果として、乾燥肌の改善効果<sup>1-7)</sup> や膝関節に違和感を持つ対象者の膝の動きの改善<sup>8,9)</sup>、骨をつくる働きをサポートする機能<sup>10)</sup> が報告されており、機能性表示食品として登録されている。その機能性関与成分はコラーゲ

ンペプチドであり、低分子であることが特徴になっている。特に、コラーゲンペプチド摂取によりプロリル-ヒドロキシプロリン (Pro-Hyp) が血中で高濃度に存在することが報告されている<sup>11,12,13)</sup>。Pro-Hyp が皮膚細胞を刺激し、コラーゲンやヒアルロン酸の産生を高めることが報告されており、コラーゲンペプチド摂取による皮膚状態を改善する可能性の根拠となつて

受付日 2024 年 6 月 13 日 受理日 2024 年 8 月 13 日 原著

1) コンテンツワークス株式会社 Contents Works Inc. 2) ドクターウエルネス株式会社 DR.WELLNESS 3) メンズクララクリニック Men's Clala Clinic 4) 東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設 Scleroprotein and Leather Research Institute, Tokyo Univ. Agric. And Technol. 〒183-8509 東京都府中市幸町 3-5-8 \* ny318@cc.tuat.ac.jp

いる<sup>14)</sup>。

コラーゲン加水分解物の安全性は、その食履歴の長さや米国食品医薬品局 (FDA) による GRAS (Generally Recognized as Safe, ID: 9000-70-8) に登録されていることから明らかであるが、製品ごとの担保も重要である。原料、使用する酵素、精製工程の違いから、コラーゲン加水分解物中には多様なペプチドが存在する。基原が異なることで血中移行する食餌由来のコラーゲンペプチドが異なっても、光老化皮膚モデルにおける皮膚水分量の改善効果に大きな違いがないことも明らかになっている<sup>15)</sup>。コラーゲン加水分解物は、コラーゲンの変性物であるゼラチンを酵素で加水分解することで製造されることが多く、動物性食材を摂取することでも摂取可能である。タンパク質であるが所以でアレルギー表示が義務付けられているが、免疫原性が比較的低いタンパク質である。魚アレルギーの原因物質としての報告<sup>16)</sup>もあることから、標品での安全性の担保を行うことも必要と考えている。

そこで、本研究では、コラーゲンペプチド標品の安全性の評価と皮膚への効果について研究を行った。安全性の担保に通常投与量の5倍を設定し、摂取前後の血液中の肝臓、腎臓などのタンパク質摂取により影響を受けうる生化学指標の測定を計画した。また、コラーゲンペプチド摂取効果として皮膚の水分量や TEWL に着目して測定を行った。

## 1. 実験材料および方法

### 1-1. 試験デザインと倫理的配慮

本試験は、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に関する倫理指針」および「ヘルシンキ宣言」の趣旨に則り、メンズクララクリニックにおいて医師の監視下で実施した。(株)ドクターウエルネス社のヒト倫理委員会の審査により承認(承認番号20231020-01)され、被験者の血液中のコラーゲン量の測定は東京農工大学ヒト倫理委員会でも審査・承認(承認番号231102-0553)の下で、ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験を実施した。被験者は、疾患に罹患していない健康者であり、コンテツワークス(株)が募集した有償ボランティアである。被験者に対し、試験の目的、方法、予想される副作用などについて書面および口頭で説明を行った後、試験内容を理解した上で自発的に試験参加の同意を書面にて受け取った。

### 1-2. 被験者の募集方法および選択方法

20歳以上、80歳未満の成人でコラーゲンペプチドの摂取に興味がある男女を募集した。試験希望者のうち、以下の除外基準および忌避条件を回避できた参加者39名に対し、ヘルシンキ宣言の趣旨および本試験の内容の説明、参加判断の確認の後、医師の問診、血液の生化学検査を経て被験者を決定した。群構成は、プラセボ群13名(平均年齢47.5歳)、コラーゲンペプチド2.5g摂取群14名(平均年齢49.1歳)、コラーゲンペプチド12.5g摂取群12名(平均年齢46歳)の3群に分けた。仕事の関係で来院できなくなったコラーゲンペプチド12.5g摂取群1名が脱落した。除外基準として

- ①被験部位(顔面、前腕内側)の皮膚状態に顕著な異常がある方。
  - ②被験食品に対して過敏症の既往歴があるなど、アレルギーを示す恐れのある方。
  - ③アトピー性皮膚炎などの慢性的な皮膚症状がある方。
  - ④現在、通院し、医薬品を使用している方。
  - ⑤他の食品を摂取する試験や化粧品および薬剤などを塗布する試験に参加中の方。または同様の試験に参加し終了後3か月以上経過していない方。
  - ⑥喘息の方。
  - ⑦妊娠中またはその予定のある方、授乳中の方。
  - ⑧被験部位に保湿効果のある化粧品等を試験開始前1か月以内に使用していた方。
  - ⑨花粉症で薬を飲んでいる方、もしくは飲む予定の方。
  - ⑩運動器の疾患で痛み止めの摂取および通院している方。
  - ⑪その他、試験担当責任者が不適当と判断した方。
- 試験食品摂取前に医師による診断を行い、問題ない方を被験者とした。

#### 忌避行為

試験期間を通して、以下の行為を禁止もしくは制限した。

- ①化粧品は現在使用中のものを継続して使用することとし、使用経験の少ない、あるいは新規の化粧品(医薬部外品)の測定部位(顔面)への使用は禁止する。
- ②測定日前2週間以内の測定部位(顔面)の無駄毛処理(剃刀、ヘアリムーバー)は禁止する。
- ③試験期間中に新たな入浴剤の使用は禁止する(通常の生活での使用は問題ない)。

- ④医薬品、指定医薬部外品および漢方の使用は原則として禁止する。やむを得ず使用した場合は、摂取したメーカー名および商品名を記録すること。
- ⑤現在日常的に摂取している健康食品、保健機能食品（特定保健用食品）の商品名および摂取量は記録し、それ以外の新規の健康食品、保健機能食品（特定保健用食品）の摂取または外箱のコピー等を記録紙に添付すること。
- ⑥アルコールの摂取量は記録する（例：ビール 350 mL 2本）。日常の摂取範囲を超えた過剰なアルコールの摂取は禁止する。また、測定前日のアルコールの摂取は禁止する。
- ⑦海水浴や屋外でのスポーツ、人工紫外線照射等、日焼けを起こすような行為を禁止する。日常生活でも屋内外において直接日光に曝されないように注意することとする。具体的には帽子、衣類、通常使用しているサンスクリーンなどで太陽の紫外線から顔および足を防御対策することとする。やむを得ず日焼けした場合は、日を浴びた時刻、時間、皮膚状態（例：赤くなった、ひりひりする、など）の変化を日誌に記録することとする。
- ⑧測定日の測定が終わるまでの激しい運動は禁止する。
- ⑨測定日当日の辛いものなどの刺激性のある食品（カレー、唐辛子、タバコ等）の摂取は禁止する。
- ⑩測定日前日は必ず就寝前に入浴することとする。また、測定日当日の測定前に入浴は禁止する。

### 1-3. 試験食品

試験食品は魚皮由来コラーゲンペプチド（ドクターウエルネス社製）であり、0, 2.5, 12.5 g 含有ゼリーをドクターウエルネス社が提供し、被験者にわからないようなアルミシートの標品とした。プラセボは、コラーゲンペプチドを含有せず寒天をゲル化剤で固めたものとし、他の成分は同じにした。

試験食品の摂取時間は、なるべく朝食時としたが、摂取し忘れた場合は、その日の内での摂取とした。

### 1-4. 試験方法

試験は、ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験を実施した。試験に関与しない担当者が、宅配業者から被験者宅に配送した。被験者の割付は、コンテンツワークス(株)の担当者が、年齢のばらつきがないように無作為に行った。試験実施期間は、11月中旬から1月末までであり、2か月間のコラーゲン加水

分解物食およびプラセボ食であり、初回の試験食品摂取前の診断後に試験食品群を設定した。

試験実施期間中は、忌避行為の順守をお願いし、大きく逸脱した際はアンケートでの記述を指導した。

被験者は、体重および血圧測定、採血、医師の問診の後に皮膚の状態を測定した。項目として、皮膚の水分量および TEWL の測定とし、測定部位を市販のコットンで化粧を落とした後、温度湿度管理した部屋で20分間の安静の後に行った。皮膚の測定部位は、頬の鼻下限延長線と目尻垂直との交点とした。ただし、測定部位には、引っ掻き傷や皮膚炎などの皮膚症状がない部位とした。皮膚水分量測定は Corneometer CM825 (Courage+Khazaka electronic GmbH) を、TEWL の測定は Tewameter TM300 (COURAGE+KHAZAKA electronic GMBH 社製) を用いて、試験食品摂取前、摂取4および8週間後に測定を行った。

### 1-5. 被験者の血中の生化学検査方法

被験者の血中の生化学検査は、株式会社 LSI メディエンスに依頼した。検査項目は、アルブミン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリフォスファターゼ (ALP)、ガンマグルトミルトランスフェラーゼ ( $\gamma$ -GT)、クレアチン、尿中窒素量である。コラーゲンペプチド摂取による肝臓、腎臓、胆のう機能への影響を中心に検査した。

### 1-6. LC-MS/MS による血中のコラーゲン由来ペプチドの分析法

被験者の血中のコラーゲンペプチド由来 Pro-Hyp 量の分析は、日本皮革研究所で行った<sup>17,18)</sup>。すなわち、Agilent 1200 シリーズ HPLC システム (Agilent Technologies, パロアルト, カリフォルニア州) に結合した 3200 QTRAP ハイブリッドトリプル四重極/リニアイオントラップ質量分析計 (AB Sciex, カリフォルニア州フォスターシティ) を用いて、内部標準標識安定同位体と混合して分析した。Pro-Hyp 量は、内部標準ペプチドを使用した補正を伴う外部検量線を使用して、ピーク面積に基づいて決定した。

### 1-7. 血液中のコラーゲン量の測定方法

被験者中の各群3名の血中のコラーゲン量を測定した。被験者の血清を100倍に希釈し、Chondrex 社製の Human/Monkey Anti-Type I and II collagen

IgA Antibody ELISA kits のヒト (1045T) を用いて測定した。

### 1-8. 統計処理法

血液の生化学検査, 血中コラーゲンペプチド量, 皮膚水分量, TEWL の値は, 試験食品摂取後 1 および 2 か月の値を摂取前の値で割ったものをデータ (%) とした。

すべてのパラメーターについて, 正規性の有無, 等分散性の有無を確認した。独立 2 群間の検定において正規分布に従いかつ等分散である場合は Student's *t*-test を行った。正規性の有する多群間の検定では一元分散分析を行った。水準間に差がある群間には Tukey-Kramer's test により統計処理を行った。

## II. 結果および考察

### 2-1. コラーゲンペプチド摂取の安全性

本試験を通して仕事の関係で通院が難しい方 1 名の脱落があったが, 試験期間を通して有害事象は認められなかった。

コラーゲンペプチド摂取による血液の生化学検査の結果を Table 1 に示した。いずれの測定項目においても変動は認められず, 通常の摂取量である 2.5 g およびその 5 倍量である 12.5 g のコラーゲンペプチド摂取により, 肝臓, 腎臓, 胆のうの機能に影響を及ぼすことがないことが明らかになった。よって, コラーゲン加水分解物を 1 日 12.5 g 摂取しても問題がないことが確認できた。

Pro-Hyp は, コラーゲンペプチド摂取後の血中で

高濃度に検出可能なペプチドである。そこで, 本試験では, 被験者のコラーゲンペプチド摂取前, 1 および 2 か月後の血中の Pro-Hyp 量を測定した。Table 2 に示したようにプラセボ群の 1 か月後で  $1.35 \pm 0.98$  ng/ml, 2 か月後で  $1.3 \pm 0.82$  ng/ml であり, 摂取前より高くなっているが 1 から 2 か月後でのジペプチドの濃度は変わらないものであった。コラーゲンペプチド 2.5 g 摂取群で, 1 か月後で  $2.71 \pm 4.04\%$ , 2 か月後で  $1.26 \pm 1.02\%$  であった。1 か月後で上昇したが, 2 か月後ではプラセボ群の値と変わらなくなっていた。コラーゲンペプチド 12.5 g 摂取群で, 1 か月後で  $3.04 \pm 4.81\%$ , 2 か月後で  $2.43 \pm 2.90\%$  であった。1 か月後で上昇し, 2 か月後では 1 か月後に比べれば低い値であるが, プラセボ群に比べて高値を示した。コラーゲンペプチド摂取により, 血中の Pro-Hyp 量が高値で維持されることが明らかになった。しかし, 摂取期間が長くなると低下する可能性が考えられる。本試験において, コラーゲンペプチドの摂取時間を決めていなかったので血中の Pro-Hyp の滞留時間を考慮できないが, 恒常的に摂取することで摂取したコラーゲンペプチドに由来する Pro-Hyp が血中に残留していることが明らかになった。

無作為に選んだ被験者の血清に対して抗コラーゲン抗体を用いた ELISA を行った。Table 3 に示したようにプラセボ群で抗体価の高い被験者が認められたが, 試験期間中の変動は少ないものであった。コラーゲンペプチド摂取群において, 摂取期間での変動は, それほど大きいものではなかった。12.5 g 摂取群の 1 名でコラーゲン量が高い方がおり, 摂取 1 か月後で

Table 1 魚皮由来コラーゲン加水分解物摂取後の生化学検査

	プラセボ		2.5 g 摂取		12.5 g 摂取	
	1 か月後	2 か月後	1 か月後	2 か月後	1 か月後	2 か月後
アルブミン	$0.99 \pm 0.03$	$0.97 \pm 0.05$	$0.95 \pm 0.07$	$0.94 \pm 0.05$	$0.98 \pm 0.05$	$0.97 \pm 0.05$
AST	$1.02 \pm 0.26$	$1.09 \pm 0.19$	$0.99 \pm 0.21$	$0.92 \pm 0.17$	$0.94 \pm 0.22$	$0.85 \pm 0.15$
ALT	$1.14 \pm 0.45$	$1.42 \pm 0.80$	$0.86 \pm 0.20$	$0.91 \pm 0.29$	$1.07 \pm 0.45$	$0.87 \pm 0.25$
ALP	$1 \pm 0.16$	$1.04 \pm 0.14$	$0.99 \pm 0.12$	$1.01 \pm 0.10$	$0.99 \pm 0.11$	$0.94 \pm 0.09$
γ-GT	$0.99 \pm 0.23$	$1.11 \pm 0.46$	$0.97 \pm 0.18$	$1.04 \pm 0.13$	$1.06 \pm 0.28$	$0.97 \pm 0.20$
クレアチン	$0.97 \pm 0.11$	$0.98 \pm 0.12$	$1 \pm 0.91$	$1.03 \pm 0.11$	$1 \pm 0.13$	$0.98 \pm 0.12$
尿素窒素	$0.92 \pm 0.24$	$1.05 \pm 0.27$	$1.03 \pm 0.15$	$1.09 \pm 0.18$	$1.2 \pm 0.30$	$1.2 \pm 0.24$

Table 2 魚皮由来コラーゲン加水分解物摂取後の血中 Pro-Hyp 量

(%)	1 か月後	2 か月後
プラセボ	$1.35 \pm 0.98$	$1.30 \pm 0.82$
2.5 g 摂取群	$2.71 \pm 4.04$	$1.26 \pm 1.02$
12.5 g 摂取群	$3.04 \pm 4.81$	$2.43 \pm 2.90$

Table 3 魚皮由来コラーゲン加水分解物摂取後の血中コラーゲン量 ( $\mu\text{g/ml}$ )

	No.	Pre	1 か月後	2 か月後
プラセボ	8	2.6	0.7	0.6
	26	1.9	3.4	7.1
	39	27.3	26.6	24.9
2.5 g 摂取	1	1.7	1.8	1.6
	15	0.5	0.4	1.6
	25	0.7	0.7	0.9
12.5 g 摂取	6	0.2	0.6	0.6
	9	11.8	21.3	9.2
	20	2.2	3.8	0.6

高くなり、2 か月後に摂取前の値に戻っていた。ヒトによって血中のコラーゲン量が高い方がいることが明らかになった。また、コラーゲンペプチド摂取により血中のコラーゲン量が極端に変化することがないことも認められた。

よって、コラーゲンペプチド摂取において、5 倍量でも肝機能をはじめとしたタンパク質摂取による負荷の問題は認められず、問題はないものと考えている。

## 2-2. コラーゲンペプチド摂取による肌への影響

本試験に参加した被験者は、コラーゲンペプチド摂取に興味のある男女で、特に乾燥肌や敏感肌など、肌を気にする症状を持っている方はいなかった。頬の皮膚水分量および TEWL の値は、個人による差および季節による変動が大きく、標準誤差が大きいものであった。Fig. 1 にコラーゲンペプチド摂取 1 および 2 か月後の値を摂取前の値で割った皮膚水分量 (%) を示した。摂取 1 か月後の皮膚水分量に変化は認められないが、2 か月後では、プラセボ群に比べ統計的有

意差は認められなかったが、コラーゲンペプチド摂取群で高くなることが認められた。また、2.5 g 摂取群に比べ、12.5 g 摂取群の方が高いものであった。

コラーゲンペプチド摂取による頬の TEWL の比を Fig. 2 に示した。2.5 g 摂取群および 12.5 g 摂取群において、摂取 1 か月後の TEWL が上昇していた。これは本試験を行った 10 月および 11 月の気温が非常に高く、TEWL の変動が非常に大きいものであったことによるものと考えている。2 か月後の 12 月では気温が安定してきており、12.5 g 摂取群において誤差が小さくなっている。統計的有意差は認められないが、2.5 g コラーゲンペプチド摂取群で TEWL が若干低値を示した。

コラーゲン加水分解物摂取による肌の保水性の改善に関するヒトを対象とした研究は、国内外を問わず多数報告されている。その中でもシステマティックレビューがあり、2019 年の Choi らは、ヒト試験でコラーゲン摂取したランダム化プラセボ対照試験において 805 名の参加者で 11 件の研究をレビューして

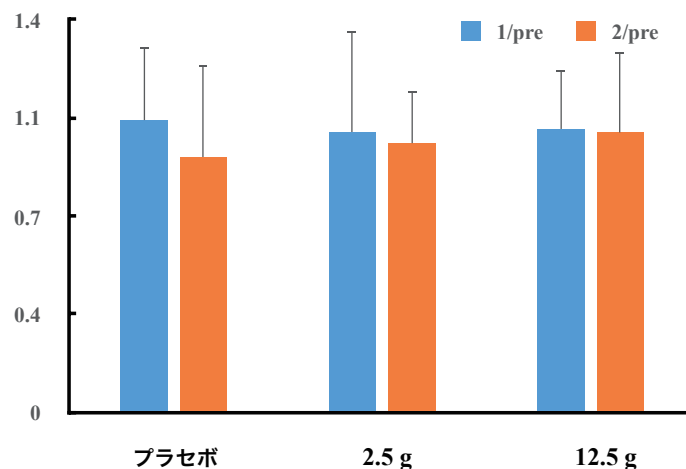


Fig. 1 魚皮コラーゲン加水分解物摂取後の頬の皮膚水分量の比

プラセボ群、2.5 g 摂取群および 12.5 g 摂取群の 1 および 2 か月後の皮膚水分量を投与前の皮膚水分量で割った値で示した。

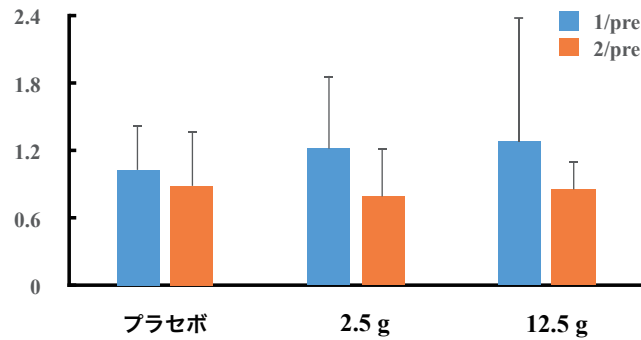


Fig. 2 魚皮コラーゲン加水分解物摂取後の頬のTEWLの比

プラセボ群, 2.5 g 摂取群および 12.5 g 摂取群の 1 および 2 か月後の TEWL を投与前の TEWL で割った値で示した。

いる<sup>19)</sup>。褥瘡, 乾燥症, 皮膚の老化, セルライトの治療に, コラーゲン加水分解物 2.5 g/日~10 g/日を 8~24 週間使用した結果, 肌の弾力性と水分補給に顕著な改善を認めており, 暫定的ではあるが創傷治癒と皮膚老化に対する経口コラーゲンサプリメントの短期および長期使用が有望であると結論づけている。Mokari-Yamchi A らのシステマティックレビューでは, 2010 年~2020 年の 10 年間のコラーゲンサプリメント摂取による皮膚老化への影響について評価している<sup>20)</sup>。31 件の項目が適格性をもって選択され, 最終的に 10 件に関してレビューしている。コラーゲン加水分解物の経口投与によって皮膚の健康の臨床的症候が改善されることが明らかであり, その作用機序として, コラーゲン由来のペプチドが, 線維芽細胞または M2 様マクロファージに直接的に影響を及ぼすこと, および経口耐性関連のメカニズムが肌に対して有益な効果を示すと結論している。また, de Miranda RB らは, 系統的レビューとそれに続く肌の老化プロセスに焦点を当てた臨床試験のメタ分析を通じて, コラーゲン加水分解物の摂取がヒトの肌に及ぼす影響について検討している<sup>21)</sup>。データベースから検索した後, 19 件の研究が選択され, 合計 1,125 人の参加者が 20 歳から 70 歳まで (95% が女性) であった。メタ分析では, 研究のグループによる分析により, コラーゲン加水分解物の摂取はプラセボと比較して, 肌の水分量, 弾力, しわの点で好ましい結果を示した。肌の水分量と弾力の改善に関する知見は, サブグループのメタ分析でも確認できており, コラーゲン加水分解物を 90 日間摂取すると, しわが減り, 肌の弾力性と水分補給が改善されることから, 肌の老化を軽減するのに効果的であると考察している。

本研究は, 肌の健康を気にしている方を対象として

はないが, 被験者の皮膚水分量および TEWL の変化の結果から考えると, コラーゲンペプチド摂取により皮膚水分量の改善が期待でき, 皮膚バリアの改善も期待できる可能性が考えられた。

#### 【利益相反】

本研究は, ドクターウエルネス(株)が費用負担および試験食品を提供し, 臨床試験を実施した。なお, ドクターウエルネス(株)は, 臨床試験の実施, データの解析には関与しなかった。荻野明彦は, 本試験のデザインを担当しており, ドクターウエルネス(株)の委託により実施している。岡村健史は, ドクターウエルネス(株)の相談役であり, 出資者の代理になっている。山村聡は, 本試験の責任医師である。社外の著者である野村義宏はドクターウエルネス(株)より依頼を受け, データの解析および論文執筆を行った。よって, ドクターウエルネス(株)との間に経済的な利益相反が存在するが, それ以外の個人的および組織的な利益相反はない。

#### ◆文献

- 1) 桑葉くみ子, 小山洋一, 小池田崇文, 塚田幸宏. Oral Supplementation of Collagen Peptides Improves Skin Hydration by Increasing the Natural Moisturizing Factor Content in the Stratum Corneum: A Randomized Double Blind Placebo Controlled Clinical Trial. *Jpn Pharmacol Ther (薬理と治療)* 2014; 42 : 995-1004.
- 2) Choi SY, Ko EJ, Lee YH, Kim BG, Shin HJ, Seo DB, Lee SJ, Kim BJ, Kim MN. Effects of collagen tripeptide supplement on skin properties: a prospective, randomized, controlled study. *J Cosmet Laser Ther.* 2014; 16(3):132-137. Doi: 10.3109/14764172.2013.854119.
- 3) Sugihara F, Inoue N, Wang X. Clinical Effects of Ingesting Collagen Hydrolysate on Facial Skin

- Properties – A Randomized, Placebo-controlled, Double-blind Trial. *Jpn Pharmacol Ther (薬理と治療)* 2015; 43 : 67–70.
- 4) Inoue N, Sugihara F, Wang X. Ingestion of bioactive collagen hydrolysates enhance facial skin moisture and elasticity and reduce facial aging signs in a randomized double-blind placebo-controlled clinical study. *J Sci Food Agric.* 2016; 96: 4077–4081. doi: 10.1002/jsfa.7606.
  - 5) Kim DU, Chung HC, Choi J, Sakai Y, Lee BY. Oral Intake of Low-Molecular-Weight Collagen Peptide Improves Hydration, Elasticity, and Wrinkling in Human Skin: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Nutrients.* 2018; 26; 10(7):826. doi: 10.3390/nu10070826.
  - 6) Koizumi S, Sugihara F, Inoue N, Wang X. The Effects of Collagen Hydrolysate Derived from Tilapia Scales or Skin on Human Facial Skin – A Randomized, Double-blind Placebo-controlled Clinical Study – *Jpn Pharmacol Ther (薬理と治療)* 2019; 47: 57–63.
  - 7) Miyanaga M, Uchiyama T, Motoyama A, Ochiai N, Ueda O, Ogo M. Effect of Collagen Peptides Ingestion on Skin Properties: Placebo-controlled Double-blind Trial. *Skin Pharmacol Physiol* 2021; 34: 115–127. doi: 10.1159/000513988.
  - 8) 山本貴之, 森貞夫, 深川光彦, 朝長昭仁, 守田稔, 長岡功. コラーゲンペプチド摂取による膝関節の自覚症状へ及ぼす効果—ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験— *Jpn Pharmacol Ther (薬理と治療)* 2018; 46: 837–847.
  - 9) 知花幹雄, 坂田純, 阿部哲也, 王滝由美子, 横山練蔵. 健康成人を対象とした「低分子魚コラーゲン源末」の継続摂取による膝関節機能に対する効果の検証—ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験— *Jpn Pharmacol Ther (薬理と治療)* 2019; 47: 295–304.
  - 10) 下間早織, 山本貴之, 森貞夫, 守田稔, 安藤恵美子, 伊藤明子. コラーゲンペプチド摂取による骨代謝マーカーへ及ぼす効果—ランダム化二重盲検プラセボ対照並行群間比較試験— *Jpn Pharmacol Ther (薬理と治療)* 2019; 47: 493–501.
  - 11) Iwai K, Hasegawa T, Morimatsu F, Sato K, Nakamura Y, Higashi A, Kido Y, Nakabo Y, Ohtsuki K. Identification of Food-Derived Collagen Peptides in Human Blood after Oral Ingestion of Gelatin Hydrolysates. *J. Agric. Food Chem.* 2005; 53, 6531–6536. doi: 10.1021/jf050206p.
  - 12) Yazaki M, Ito Y, Yamada M, Goulas S, Teramoto S, Nakaya M, Ohno S, and Yamaguchi K. Oral Ingestion of Collagen Hydrolysate Leads to the Transportation of Highly Concentrated Gly-Pro-Hyp and Its Hydrolyzed Form of Pro-Hyp into the Bloodstream and Skin. *J. Agric. Chem.* 2017; 65: 2315–2322. doi: 10.1021/acs.jafc.6b05679.
  - 13) 佐藤健司, 重村泰毅. コラーゲン 基礎から応用 東京農工大学硬蛋白質利用研究施設編. 第11章 コラーゲン, ゼラチン, およびコラーゲン加水分解物の消化と吸収. 2020; 111–119.
  - 14) Ohara H, Ichikawa S, Matsumoto H, Akiyama M, Fujimoto N, Takashi Kobayashi T, Tajima S. Collagen-derived dipeptide, proline-hydroxyproline, stimulates cell proliferation and hyaluronic acid synthesis in cultured human dermal fibroblasts. *J Dermatol.* 2010, 37, 330–338. doi: 10.1111/j.1346-8138.2010.00827.x.
  - 15) 王璐瑤, 細川茉佑子, 望月萌恵, 宮田真路, 稲田全規, 野村義宏. 光老化皮膚および骨粗鬆症モデル動物への基原の異なるコラーゲン加水分解物の投与効果 *Functional Food Research* 2023; 19: 73–83.
  - 16) 足立厚子, 大塚晴彦, 山野希, 濱岡大, 井上友介, 小林征洋. 魚コラーゲンが原因抗原と考えられた魚および美容ドリンク剤によるアナフィラキシーの1例. *日本皮膚免疫アレルギー学会雑誌* 2019; 2(2), 317–322. <https://doi.org/10.18934/jscia.2.2.317>.
  - 17) Kumazawa Y, Taga Y, Takashima M, Hattori S. A novel LC-MS method using collagen marker peptides for species identification of glue applicable to samples with multiple animal origins *Herit Sci* (2018) 6:43. <https://doi.org/10.1186/s40494-018-0209-y>.
  - 18) Taga Y, Iwasaki Yu, Shigemura Y, and Mizuno K. Improved in Vivo Tracking of Orally Administered Collagen Hydrolysate Using Stable Isotope Labeling and LC-MS Techniques. *J. Agric. Food Chem.* 2019; 67(16), 4671–4678. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00571>.
  - 19) Choi FD, Sung CT, Juhasz ML, Mesinkovsk NA. Oral Collagen Supplementation: A Systematic Review of Dermatological Applications. *J Drugs Dermatol.* 2019; 18(1): 9–16.
  - 20) Barati M, Jabbari M, Navekar R, Farahmand F, Zeinalian R, Salehi-Sahlabadi A, Abbaszadeh N, Mokari-Yamchi A, Davoodi SH. Collagen supplementation for skin health: A mechanistic systematic review. *J Cosmet Dermatol.* 2020; 19(11): 2820–2829. doi: 10.1111/jocd.13435. Epub 2020 May 21.
  - 21) de Miranda RB, Weimer P, Rossi RC. Effects of hydrolyzed collagen supplementation on skin aging: a systematic review and meta-analysis. *Int J Dermatol.* 2021; 60(12): 1449–1461. doi: 10.1111/ijd.15518. Epub 2021 Mar 20.

## Abstract

There are many papers to intake of collagen hydrolysate improves dry skin. In this study, 38 volunteer who are interested in taking collagen were participated to ingestion of fish skin-derived collagen peptide. The volunteers ingested the test food for 8 weeks. Their blood biochemistry tests, blood Pro-Hyp levels, skin moisture levels, and stratum corneum water loss (TEWL) were measured before, 4, and 8 weeks after ingestion. Three groups were set up for the subjects: "ingestion of 2.5 g group with fish skin-derived collagen peptide", "ingestion of 12.5 g group with fish skin-derived collagen peptide", and placebo group. A randomized double-blind parallel group comparison study was conducted.

As a result, no changes were observed in blood albumin levels,  $\gamma$ -GT levels, and other indicators after ingestion of 2.5 and 12.5 g with collagen peptide compared to before ingestion. Even taking 12.5 g, which is five times the usual amount, there was no change in blood biochemistry data, confirming safety. Blood Pro-Hyp levels were higher after ingestion of collagen peptide, but no effect was observed on blood collagen levels. Although there was no statistical significance, skin moisture content after two months was higher in the collagen peptide ingestion group compared to the placebo group. In addition, TEWL after two months was lower in the collagen peptide 2.5g ingestion group compared to the placebo group. Therefore, negative effect was not observed from administering a five-fold excess of collagen peptide, suggesting the possibility of an increase in skin moisture content and enhanced skin barrier function.