

- 17) D. G. Brown et al. : J. Biol. Chem., 268, 3037-3039 (1993)
- 18) M. Provinciali, et al. : Int. J. Immunopharmacol., 17, 735-744 (1995)
- 19) K. H. Madean, et al. : Blood, 98, 3831-3839 (2001)
- 20) K. Poikolainen : Alcohol. Clin. Exp. Res., 8, 223-225 (1984)
- 21) R. A. Sharma et al. : Clin. Cancer Res., 10, 6847-6854 (2004)
- 22) G. G. Mackenzie et al. : Int. J. Cancer, 123, 56-65 (2008)
- 23) M. A. Bill et al. : Mol. Cancer Ther., 8, 2726-2735 (2009)
- 24) J. A. Bush et al. : Exp. Cell Res., 271, 305-314 (2001)
- 25) T. W. Tan et al. : Anticancer Res., 25, 4361-4371 (2006)
- 26) R. E. Cocco et al. : Mol. Biol. Cell, 12, 919-930 (2001)

製品紹介

EU加盟国, 及び加盟候補国における

貫流蒸気ボイラ CZI-2000GS システム販売に関する第三認証機関認証取得

小型貫流ボイラのトップメーカーである三浦工業(株) (本社 愛媛県松山市) 中国現地法人 三浦工業設備(蘇州)有限公司は、欧州 (EU加盟国)、並びに、トルコなどの EU加盟候補国における「貫流蒸気ボイラ CZI-2000GS システム」の販売開始に必要な CE マーキングの適合について、第三認証機関より認証を受けた。

CE マーキングとは、欧州 (EU加盟国) 等で販売する指定の製品に貼付の義務がある基準適合マークのこと。ミウラグループとして、CE マーキングへの適合準備を進めた背景には、近年成長目覚ましいトルコ市場があり、その先に、欧州・CIS 諸国^{※1}の市場を展望している。トルコにおいては、拠点を準備中で、同国の TSE (Turkish Standards Institution) の認証も申請予定で、今後、製品ラインナップを拡充し、グローバル化する顧客のニーズに最適なシステム提案を迅速に行える体制を整えつつある。

今回の認証は、貫流蒸気ボイラ CZI-2000GS のみでなく、運転管理や水処理など、付随するシステムをあわせた形で受けている。三浦工業の一貫した製品で蒸気の安定供給を担保しつつ、自社によるメンテナンス・販売拠点の拡大を進めていく。

※1… CIS 諸国：独立国家共同体 (Commonwealth of Independent States)

アゼルバイジャン・アルメニア・ウズベキスタン・カザフスタン・キルギス・タジキスタン・トルクメニスタン・ベラルーシ・モルドバ・ロシア

(トルクメニスタン、モルドバの2国は客員参加国)

▼お問い合わせ先 三浦工業株式会社 ブランド企画室
TEL : 089-979-7019 FAX : 089-979-7126
Mail : burandokikakushitsu@miuraz.co.jp

最近の研究

コラーゲンペプチド摂取による血管への作用

河 口 友 美*
森 松 文 毅**

はじめに

我が国においては、食品の三次機能が注目されるようになって久しい。特に、三次機能をもつ食品について、抽出や発酵によりその効果本体を高濃度化したものは機能性食品として消費者に利用されている。ビタミン、ミネラル、アミノ酸類のほか、茶の成分の一つであり抗酸化作用を有するカテキン¹⁾、女性ホルモン様の働きをする大豆イソフラボン²⁾、魚油に含まれコレステロール低減作用のある docosahexaenoic acid (DHA) や eicosapentaenoic acid (EPA)³⁾、整腸作用を有する乳酸菌⁴⁾等、現在市販されている機能性食品は多種多様である。これらの多様な機能性食品の中で、特に、飲料やヨーグルト、パン等の一般食品にも添加され、活用の用途を広げているのがコラーゲンペプチドである。

1. コラーゲン

1.1 生体におけるコラーゲンの役割

コラーゲンは生体における主要なタンパク質であり、哺乳類、特にヒトでは生体を構成するタンパク質のうち約1/3を占める。コラーゲンは、ポリペプチド鎖3本からなる右巻きの3重らせん構造を有し、分子量約30万、分子の形状は長さ280nm、直径1.5nmの棒状の形態であり⁵⁾、細胞外マトリックスとして結合組織の形成や細胞の足場としての役割を担っている。一次構造としてはグリシン (Gly) が3残基ごとに存在し、コラーゲン特異的なアミノ酸であり翻訳語修飾により産生されるヒドロキシプロリン (hydroxyproline, Hyp) を含むことから、他のタンパク質と大きく異なる⁶⁾。Hyp は3本のポリペプチド鎖の間で水素結合を作り、らせん構造の安定化に寄与している。このよ

うな特異な構造のため、コラーゲンは強度としなやかさを併せ持つタンパク質として、生体内の様々な組織で重要な機能を担っている。大型化した生物は体を支えるために骨組織を保有しているが、骨の内部にもコラーゲンから構成される繊維束が含まれ、そのため骨はしなりに強い構造となっている。また皮膚や血管にも大量のコラーゲン繊維が含まれており、この柔軟性を活用することで、生体組織は様々な外力に対応している⁷⁾。

1.2 コラーゲンの高度利用

コラーゲンは食品分野において広範に利用されている。コラーゲンはコラゲナーゼ以外のプロテアーゼには抵抗性を示すことから、消化酵素にコラゲナーゼを含まないヒトが摂取しても、ほとんど消化できない。しかし、熱変性によりコラーゲンが3重らせん構造を失うと、ゼラチン (gelatin) となる。ゼラチンはコラゲナーゼ以外のプロテアーゼでも分解されるため、ヒトの体内においても消化され、栄養素として利用することが可能である⁸⁾。ゼラチンは水溶性であり、加温および冷却により可逆的なゲル化を繰り返すという性質を持つため、ゲル化剤、増粘剤および安定剤として、ゼリー、煮凝り、グミの他、ヨーグルト、クリームチーズ、ハム、ソーセージ等の加工食品に広く利用されている。さらに、ゼラチンを酵素分解したものは、コラーゲンペプチドと呼ばれる⁹⁾ (図1)。コラーゲンペプチドは、ゲル化能が消失し、ゼラチンに比べて溶解性が増していることから、食品として大量摂取することが容易である。そのため我が国においては機能性食品の原料として広く利用されている。

*Tomomi Kouguchi, **Fumiki Morimatsu : 日本ハム(株)中央研究所, 〒300-2646 茨城県つくば市緑ヶ原3-3, TEL 029(847)7815

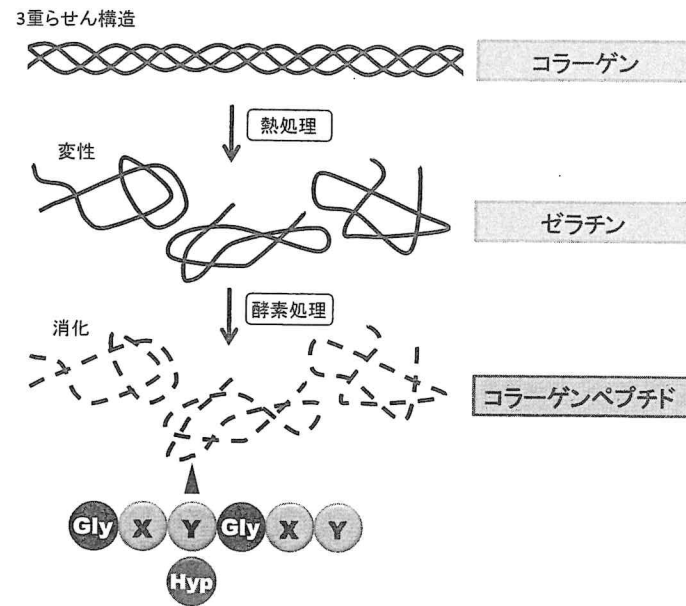


図1 コラーゲンペプチドの生成

生体内におけるコラーゲンは3重らせん構造を有しているが、加熱により変性するとゼラチンとなる。さらにこれを酵素処理したものはコラーゲンペプチドと呼ばれる。コラーゲンは、-Gly-X-Y-Gly-X-Y-という特殊な繰返し配列から成り、Yの位置にはコラーゲン特異的なアミノ酸であるヒドロキシプロリン(Hyp)が含まれることが多い。

1.3 コラーゲンペプチドの機能性

コラーゲンペプチドの機能性に関する報告は多い。大原らは、プラセボコントロールを用いたダブルブラインド試験により、コラーゲンペプチドを摂取したヒトの表皮では、冬期における水分量が上昇することを報告している¹⁰⁾。また摂取者による主観的評価においても、コラーゲンペプチド摂取群における皮膚状態の改善が報告されている¹¹⁾。さらに、紫外線照射マウスにおいては、コラーゲンペプチドの摂取による皮膚ダメージの回復促進効果が確認されている¹²⁾。表皮に関する報告に加え、骨や関節等の運動器への影響も報告されている。Wuらは低カルシウム状態で飼育したラットにコラーゲンペプチドを摂取させることで、骨密度が有意に高くなることを示している¹³⁾。また、人為的に骨折させたモデルラットにおいても、コラーゲンペプチドの連続摂取によりカルスの石灰化が亢進し、骨折線の消失が促進されることが確認されている¹⁴⁾。さらに、Clarkらは運動過程で発生したアスリートの関節痛について¹⁵⁾、Bruyereらは加齢により発生した中高齢者の関節痛について¹⁶⁾、いずれもコラーゲンペプチドの摂取により痛みが低下することを報告している。またウサギを用いた実験では、コラーゲンペプチドを摂取させた群では、同量のラクトアルブミンを摂取させた群に比べて、アキレス腱のコラーゲン繊維が有意

に太くなることが示されている¹⁷⁾。

1.4 コラーゲンペプチドの体内吸収

このように、コラーゲンペプチド摂取による機能性は多岐に報告されているが、加えて近年では、摂取者の体感性を裏付けるように、経口摂取されたコラーゲンペプチドによる生理機能が急速に明らかにされつつある。Iwaiらは、経口摂取したコラーゲンペプチド由来のHypが、アミノ酸に完全に分解されることなく、ペプチドとしてヒト末梢血中に長時間にわたり存在することを報告している¹⁸⁾。さらに、血中へ吸収されたこれらのコラーゲンペプチドの構造も同定されている。豚、鶏、魚類等の由来にもよるが、これまでに、Pro-Hyp, Pro-Hyp-Gly, Ala-Hyp, Ala-Hyp-Gly, Ser-Hyp, Ser-Hyp-Gly, Leu-Hyp, Ile-Hyp, Phe-Hyp および Hyp-Gly のジペプチドおよびトリペプチドが同定されている¹⁸⁻²¹⁾。既報によると、いずれもPro-Hypが主要なペプチドとして検出されていることから、Shigemuraらにより、Pro-Hyp分子による生理活性が検討された。前述のように、コラーゲンペプチドでは、摂取による皮膚ダメージの回復促進が報告されている。そこでShigemuraらは、マウス腹部より皮膚片を採取し、培地にPro-Hypを添加した組織共培養を行い、皮膚から遊走してくる細胞数を検討

した。その結果、Pro-Hypの添加により、培地中に遊走する細胞が増加することが見出された。加えて、遊走した細胞はコラーゲン合成能を保持した線維芽細胞であることが確認された²⁰⁾。傷の修復には、線維芽細胞の傷口への遊走とコラーゲン合成が重要であることから、これらの結果はコラーゲンペプチド摂取による皮膚ダメージの回復促進現象を支持した。さらに、OharaらはPro-Hypが線維芽細胞のヒアルロン酸合成を促進することを報告しており²¹⁾、これも皮膚の保湿に寄与している可能性が考えられた。

以上のように、コラーゲンペプチドの機能性に関する研究は、メカニズムの解析とともに進展している。しかし、食事由来コラーゲンペプチドによる機能が明らかとなってきたのは近年であり、未知の三次機能の存在も期待された。そこで我々は、コラーゲンペプチドにさらなる機能性を付加することを試みた。特に、皮や骨と同様にコラーゲンを多く含む血管に焦点を当て、コラーゲンペプチド摂取が血管系に与える影響に

ついて検討を行った。

2. コラーゲンペプチドの摂取が循環器系に与える作用

2.1 各種コラーゲンによる血圧上昇抑制作用

第一に、2種のコラーゲンペプチドによる自然発症高血圧ラットの血圧上昇抑制作用について検討した。4週齢雄性 spontaneously hypertensive rats/Izm (SHR/Izm, SHR) に対し、4週間の予備飼育を行った。予備飼育後は、体重および血圧を指標に群間差が最少となるよう3群に分け、一般的に利用されている鶏由来コラーゲンペプチド(商品名:CCOP, 日本ハム)および豚由来コラーゲンペプチド(商品名:P-LAP, 日本ハム)を3g/kg体重にて14週間連続摂取させた。コントロール群には生理食塩水を投与した。血圧値は、非観血式自動血圧装置BP-98A(ソフトロン)を用いて収縮期血圧(Systolic blood pressure, SBP)および拡張期血圧(Diastolic blood pressure, DBP)を測定した。その結果、SBPにおいて、CCOP群はコントロール群に比べて有意な低値を示し、P-LAP群に比べても有意な低値を示した(図2)。また、DBPにおいて、CCOP摂取群はP-LAP摂取群に比べて低値を示していた(図2)。一方、コントロール群とP-LAP摂取群の間の血圧値にはいずれも有意な変化は認められなかった。以上の結果から、CCOPの摂取においてのみ、SHRに対する血圧上昇抑制作

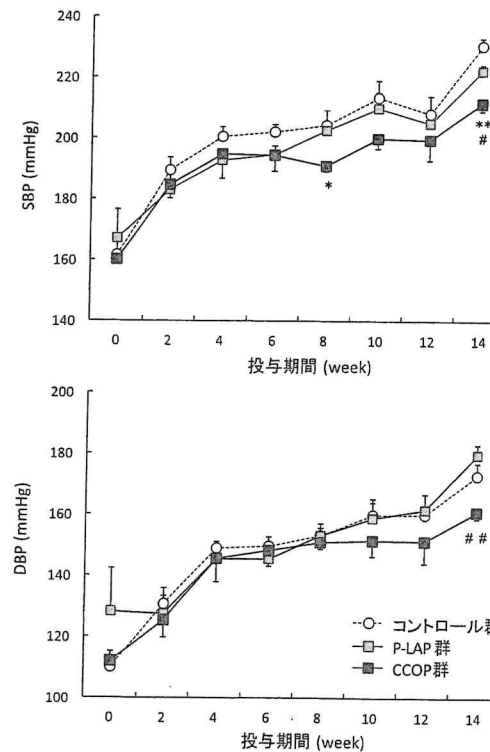


図2 2種のコラーゲンペプチド投与によるSBPおよびDBPの推移
 平均値±標準誤差で示した(コントロール群:n=5, CCOP群:n=6, P-LAP群:n=4).
 コントロール群との比較:*p<0.05, **p<0.01
 P-LAP群との比較:#p<0.05, ##p<0.01
 SBP:収縮期血圧, DBP:拡張期血圧.
 血圧測定は9週齢(投与期間0週)から開始した。

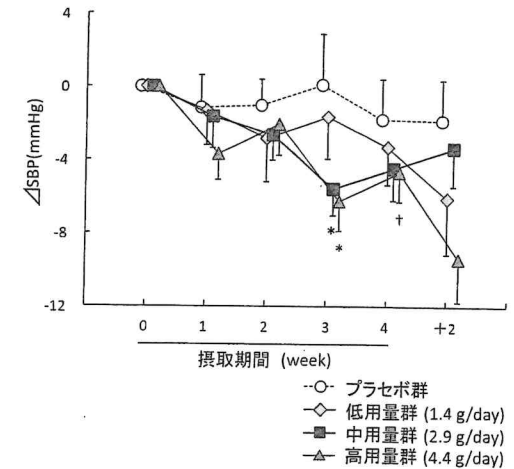


図3 CCOP摂取によるSBPの摂取前値に対する差分值の推移
 平均値±標準誤差で示した(プラセボ群:n=17, 低用量群:n=18, 中用量群:n=18, 高用量群:n=18).
 試験食品群間の比較:有意差なし.
 摂取前値との比較:†p<0.1, *p<0.05
 摂取前値は摂取開始2, 1週間前, 摂取開始日の平均値。

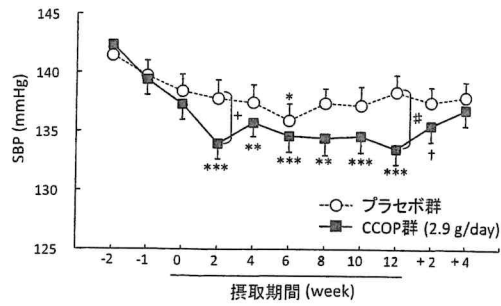


図4 CCOP 摂取による SBP の推移
平均値±標準誤差で示した (プラセボ群: n=60, CCOP 群: n=60).
試験食品群間の比較: † p<0.1, # p<0.05
摂取前値との比較: † p<0.1, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001
摂取前値は摂取開始 2, 1 週間前, 摂取開始日の平均値。

用が認められた²³⁾。

2.2 ヒトに対する降圧作用

続いて、血圧上昇抑制作用が確認された CCOP について、血圧が高めのヒトに対する降圧作用を検討した。まず、CCOP のヒトへの至適用量を確認するために、CCOP をそれぞれ1.4 g, 2.9 gあるいは4.4 g含有する飲料およびプラセボ飲料を作成した。1 度高血圧者71名を対象に、プラセボを対照に4群並行で4週間摂取させ、血圧の推移を検証した。その結果、CCOP 2.9 g/日および4.4 g/日の摂取において、摂取前に比べて有意な収縮期血圧の低下が認められた²⁴⁾ (図3)。そこで、CCOP の降圧作用についてさらに詳細に検討するために、前述の CCOP 2.9 g/日を配合した飲料を用いて、1 度高血圧者および正常高血圧者120名を対象に、12週間の長期摂取試験を実施した。その結果、CCOP 摂取群はプラセボ群に対して有意な収縮期血圧の低下を示し、摂取前に比べても持

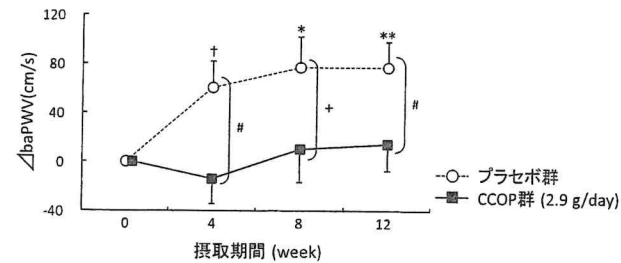


図6 CCOP 摂取による baPWV の摂取開始日に対する差分値の推移
平均値±標準誤差で示した (プラセボ群: n=29, CCOP 群: n=29).
試験食品群間の比較: † p<0.1, # p<0.05, ## p<0.01
摂取開始日との比較: † p<0.1, * p<0.05, ** p<0.01

続的な血圧の低下を示していた²⁵⁾ (図4)。さらに、CCOP を高用量摂取した際の安全性について検討するために、1 度高血圧者、正常高血圧者および正常血圧者48名を対象に、通常摂取量の3倍量 (CCOP 8.7 g/日) を4週間摂取させた。その結果、体重、BMI、血液検査、尿検査、医師による診察・問診において、CCOP の摂取を起因とするような臨床上の有害事象および検査値の異常変動は認められなかった²⁶⁾。

2.3 ヒトに対する血管柔軟性の改善作用

さらに、血管のしなやかさに着目し、CCOP の摂取がヒトの血管柔軟性に与える影響について検討した。前述の飲料を用いて、1 度高血圧者および正常高血圧者58名を対象に、プラセボを対照とした12週間の連続摂取試験を実施し、動脈のしなやかさの指標として上腕足首脈波伝播速度 (brachial-ankle pulse wave velocity, baPWV) および血中 NOx を測定した。baPWV は脈波が血管を伝わる速度を測定することに

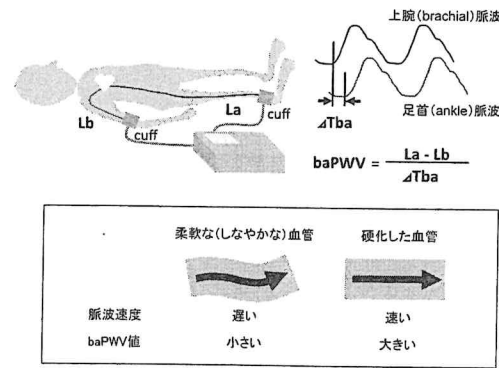


図5 baPWV の測定原理

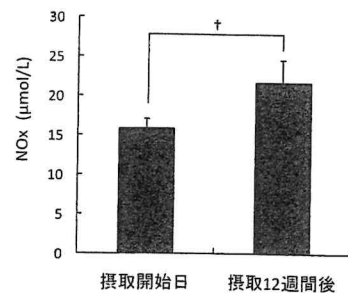


図7 CCOP 摂取による血中 NOx 量の変化
数値は、平均値±標準誤差で示した (n=29).
摂取開始日との比較: † p<0.1

より、血管の柔軟性を評価するものである。非侵襲的に評価できることから、現在我が国で最も汎用されている血管診断機器である (図5)。試験の結果、CCOP 群において、プラセボ群に比べ有意な baPWV の低下が確認された²⁷⁾ (図6)。加えて、CCOP 群では、CCOP 摂取による血中 NOx の増加傾向が認められた²⁷⁾ (図7)。NOx は NO の代謝産物であり、NO は血管内皮細胞を介して抗動脈硬化作用を示す血管保護物質である。これらの結果より、CCOP の摂取がヒトにおいて血圧を低下させるとともに血管柔軟性を改善させることが示された。加えて、血中 NOx に増加傾向が認められたことより、CCOP の摂取により血管内皮機能が改善される可能性が示唆された。

3. コラーゲンペプチドの体内動態および血中移行ペプチドによる血管保護作用

3.1 コラーゲンペプチドの体内動態

そこで、CCOP の摂取により確認される降圧作用および血管内皮改善作用について、作用機序を検討することとした。CCOP が血管内腔に面する血管内皮細胞に影響を与えていると考えられたため、第一に、CCOP を摂取させたヒトの末梢血をサンプルとし、Hyp をマーカーに CCOP 由来血中移行ペプチドを探索した。その結果、9種類のジペプチドおよびトリペプチドが血中移行ペプチドとして同定された²⁸⁾ (表1)。また、これらのペプチドはアンジオテンシン変換酵素 (angiotensin-converting enzyme, ACE) 阻害活性を有していたことから²⁹⁾、ペプチドによる ACE 阻害が降圧作用に少なくとも一部寄与していたものと考えられた。

表1 CCOP 摂取2時間後に存在する血中移行ペプチドの構造および血中濃度

アミノ酸配列	濃度 (μmol/L)
Pro-Hyp	47.79
Leu-Hyp	28.22
Pro-Hyp-Gly	5.58
Phe-Hyp	3.79
Ala-Hyp	2.27
Hyp-Gly	1.68
Glu-Hyp-Gly	1.02
Ala-Hyp-Gly	0.50
Ser-Hyp-Gly	0.26

3.2 血中移行ペプチドによる血管保護作用

続いて、これらの血中移行ペプチドによる抗炎症作

用について検討した。tumor necrosis factor-α (TNF-α) によって人工的に炎症を惹起させた血管内皮細胞に対し、血中移行ペプチドである Pro-Hyp を添加したところ、炎症マーカーである intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) および interleukin-8 (IL-8) の発現が有意に低下した²⁹⁾ (図8-10)。このことから、Pro-Hyp に代表される血中移行ペプチドには、抗炎症をはじめとした生理活性作用があることが示唆された。

そこで続いて、正常な血管内皮細胞に対して9種の血中移行ペプチド混合物を添加した。その結果、血中移行ペプチドの添加により、内皮型一酸化窒素合成酵素 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) の mRNA 発現が上昇することが確認された。また、

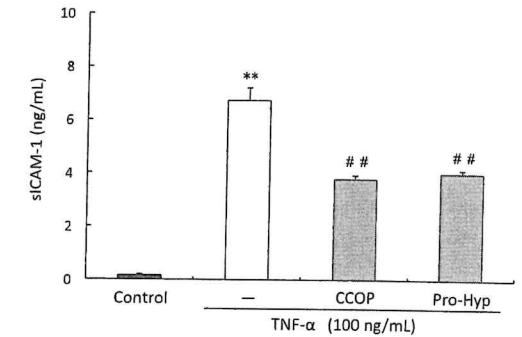


図8 CCOP および Pro-Hyp 添加により変化する sICAM-1 タンパク質の発現量
平均値±標準誤差で示した (n=4).
コントロール区との比較: ** p<0.01
TNF-α 添加区 (-) との比較: ## p<0.01
sICAM-1 : soluble intercellular adhesion molecule-1 (可溶性 ICAM-1).

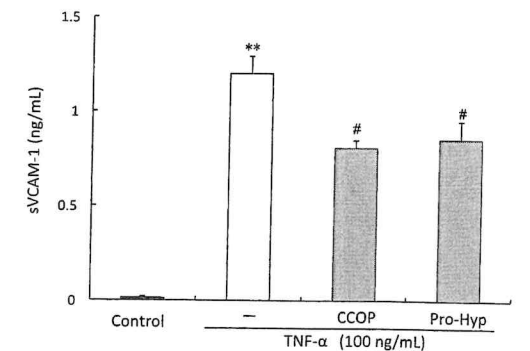


図9 CCOP および Pro-Hyp 添加により変化する sVCAM-1 タンパク質の発現量
平均値±標準誤差で示した (n=4).
コントロール区との比較: ** p<0.01
TNF-α 添加区 (-) との比較: # p<0.05
sVCAM-1 : soluble vascular cell adhesion molecule-1 (可溶性 VCAM-1).

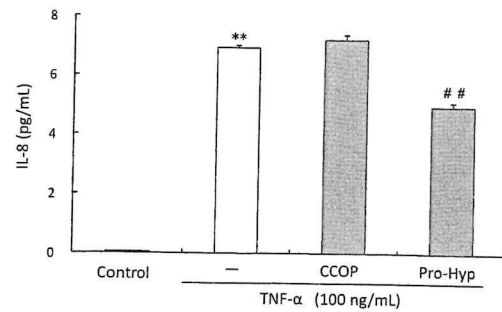


図10 CCOP および Pro-Hyp 添加により変化する IL-8 タンパク質の発現量
 平均値±標準誤差で示した (n = 3).
 コントロール区との比較: ** p < 0.01
 TNF-α 添加区 (-) との比較: ## p < 0.01

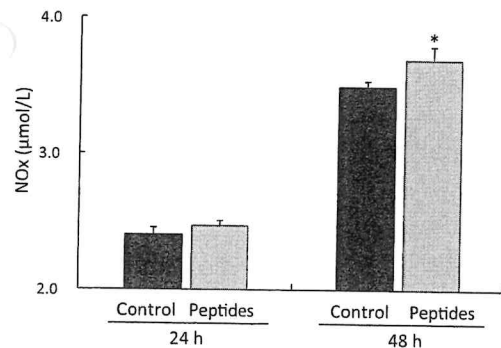


図11 血中移行ペプチドの添加により変化する NOx の産生量
 平均値±標準誤差で示した (n = 8).
 コントロール区との比較: * p < 0.05

eNOS タンパク質のリン酸化および NO 産生の亢進も確認された (図11)。さらに、血中移行ペプチドの添加により、生理活性ペプチドであるブラジキニン (bradykinin, BK) レセプター BKR2 の発現が上昇していることが確認された。ブラジキニンは、BKR2 を介して血管内皮細胞に発現する eNOS をリン酸化し、NO の産生を亢進させる血管保護物質である。すなわち、CCOP を摂取した際に現われる血中移行ペプチドは、内因性ブラジキニンの作用を促進させることで、間接的にも NO の産生を促進し、血管保護作用を示す可能性が示唆された。以上のように、血中移行ペプチドによる血管内皮細胞に対する生理作用は、先の臨床試験における血管保護効果を支持していた。

4. まとめ

以上のように、本研究では、鶏コラーゲンペプチド CCOP の摂取により、血圧上昇抑制作用および血管

内皮細胞を介した血管保護作用が発揮される可能性が示された。これまで、コラーゲンペプチド摂取による機能は肌や骨の症状改善が主であったが、本研究において、血圧の高めの方に対する降圧および血管保護作用という新たな効果が見出された。厚生労働省が発表した平成24年の主な死因別死亡数の割合においては、第一位の悪性新生物 (全死亡者における割合28.7%) に次いで、心疾患 (15.8%)、脳血管疾患 (9.7%) と、循環器系に関わる死因が極めて多い。このことから、本研究成果は、食品による循環器疾患の予防を通じて人々の QOL 改善に寄与するものと考えられた。

謝辞

本研究は、民間実用化研究促進事業「生活習慣病を予防する高付加価値畜産食品及び素材の開発研究」の一環として実施致しました。農研機構 生研センター並びに試験にご参加いただいた被験者の皆様に深く感謝致します。

また、研究にあたりご指導を賜りました京都大学 佐藤健司教授、広島大学 田辺誠一教授をはじめ多くの方にご協力をいただきました。ここに謹んで御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Suzuki J, Isobe M, Morishita R, Nagai R: Tea polyphenols regulate key mediators on inflammatory cardiovascular diseases. *Mediators Inflamm.*, 2009: 494928, 2009.
- 2) Hooper L, Ryder JJ, Kurzer MS, Lampe JW, Messina MJ, Phipps WR, Cassidy A: Effects of soy protein and isoflavones on circulating hormone concentrations in pre- and post-menopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update*, 15: 423-440, 2009.
- 3) Makhoul Z, Kristal AR, Gulati R, Luick B, Bersamin A, Boyer B, Mohatt GV: Associations of very high intakes of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids with biomarkers of chronic disease risk among Yup'ik Eskimos. *Am. J. Clin. Nutr.*, 91: 777-785, 2010.
- 4) Patel RM, Lin PW: Developmental biology of gut-probiotic interaction. *Gut Microbes.*, 1: 186-195, 2010.
- 5) Brodsky B, Ramshaw JAM: The collagen triple-helix structure. *Matrix Biol.*, 15: 545-554, 1997.
- 6) Xu X, Gan Q, Clough RC, Pappu KM, Howard JA, Baez JA, Wang K: Hydroxylation of recombinant human collagen type I alpha 1 in transgenic maize co-expressed with a recombinant human prolyl 4-hydroxylase. *BMC Biotechnol.*, 11: 69, 2011.
- 7) 大崎茂芳: コラーゲンと人体。「コラーゲンの話 健康

- と美をまろる高分子」, 中央公論, 東京, pp. 1-40, 2007.
- 8) Gomez-Guillen MC, Gimenez B, Lopez-Caballero ME, Montero MP: Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. *Food Hydrocolloids*, 25: 1813-1827, 2011.
- 9) Zague V: A new view concerning the effects of collagen hydrolysate intake on skin properties. *Arch. Dermatol. Res.*, 300: 479-483, 2008.
- 10) 大原浩樹, 伊藤恭子, 飯田博之, 松本均: コラーゲンペプチド経口摂取による皮膚角層水分量の改善効果. 日本食品科学工学会誌, 56: 137-145, 2009.
- 11) 小山洋一: コラーゲンの肌への応用・最新研究. 食品と開発, 44: 10-12, 2009.
- 12) Tanaka M, Koyama Y, Nomura Y: Effects of collagen peptide ingestion on UV-B-induced skin damage. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 73: 930-932, 2009.
- 13) Wu J, Fujioka M, Sugimoto K, Mu G, Ishimi Y: Assessment of effectiveness of oral administration of collagen peptide on bone metabolism in growing and mature rats. *J. Bone Miner. Metab.*, 2: 547-553, 2004.
- 14) Tsuruoka N, Yamato R, Sakai Y, Yoshitake Y, Yonekura H: Promotion by collagen tripeptide of type I collagen gene expression in human osteoblastic cells and fracture healing of rat femur. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 71: 2680-2687, 2007.
- 15) Clark KL, Sebastianelli W, Flechsenhar KR, Aukermann DF, Meza F, Millard RL, Deitch JR, Sherbondy PS, Albert A: 24-Week study on the use of collagen hydrolysate as a dietary supplement in athletes with activity-related joint pain. *Curr. Med. Res. Opin.*, 24: 1485-1496, 2008.
- 16) Bruyere O, Zegels B, Leonori L, Rabenda V, Janssen A, Bourges C, Reginster JY: Effect of collagen hydrolysate in articular pain: a 6-month randomized, double-blind, placebo controlled study. *Complement. Ther. Med.*, 20: 124-130, 2012.
- 17) Minaguchi J, Koyama Y, Meguri N, Hosaka Y, Ueda H, Kusubata M, Hirota A, Irie S, Mafune N, Takehana K: Effects of ingestion of collagen peptide on collagen fibrils and glycosaminoglycans in Achilles tendon. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 51: 169-174, 2005.
- 18) Iwai K, Hasegawa T, Taguchi Y, 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.*, 53: 6531-6536, 2005.
- 19) Ohara H, Matsumoto H, Ito K, Iwai K, Sato K: Comparison of quantity and structures of hydroxyproline-containing peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates from different source. *J. Agric. Food Chem.*, 55: 1532-1535, 2007.
- 20) Shigemura Y, Iwai K, Morimatsu F, Iwamoto T, Mori T, Oda C, Taira T, Park EY, Nakamura Y, Sato K: Effect of Prolyl-Hydroxyproline (Pro-Hyp), a food-derived collagen peptide in human blood, on growth of fibroblasts from mouse skin. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 444-449, 2009.
- 21) Shigemura Y, Akaba S, Kawashima E, Park EY, Nakamura Y, Sato K: Identification of a novel food-derived collagen peptide, hydroxyprolyl-glycine, in human peripheral blood by pre-column derivatization with phenyl isothiocyanate. *Food Chem.*, 129: 1019-1024, 2011.
- 22) Ohara H, Ichikawa S, Matsumoto H, Akiyama M, Fujimoto N, Kobayashi T, Tajima S: Collagen-derived dipeptide, proline-hydroxyproline, stimulates cell proliferation and hyaluronic acid synthesis in cultured human dermal fibroblasts. *J. Dermatol.*, 37: 330-338, 2010.
- 23) 河口友美, 岩井浩二, 清水宗茂, 大森丘, 高畑能久, 鈴木卓弥, 森松文毅, 田辺創一: 市販コラーゲンペプチドの自然発症性高血圧ラットにおける血圧上昇抑制作用. 日本食品科学工学会誌, 60: 142-147, 2013.
- 24) 河口友美, 大森丘, 早川徹, 高畑能久, 森松文毅, 梶本佳孝: 鶏コラーゲン加水分解物 (C-COP) を配合した乳酸菌飲料の軽症高血圧者に対する降圧作用の検討. 日本臨床栄養学会雑誌, 29: 414-424, 2008a.
- 25) 河口友美, 大森丘, 早川徹, 高畑能久, 前山佳昭, 梶本佳孝, 北風政史, 森松文毅: 鶏コラーゲン加水分解物 (C-COP) を配合した乳酸菌飲料による軽症高血圧者および正常高血圧者に対する降圧作用と安全性の検討. 薬理と治療, 36: 561-575, 2008b.
- 26) 河口友美, 大森丘, 早川徹, 高畑能久, 前山佳昭, 梶本佳孝, 森松文毅: 鶏コラーゲン加水分解物 (C-COP) を配合した乳酸菌飲料の過剰摂取時における安全性. 薬理と治療, 36: 549-559, 2008c.
- 27) Kouguchi T, Ohmori T, Shimizu M, Takahata Y, Maeyama Y, Suzuki T, Morimatsu F, Tanabe S: The effects of chicken collagen hydrolysate on the circulatory system in subjects with mild hypertension or high-normal blood pressure. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 77: 691-696, 2013.
- 28) 岩井浩二, 張有做, 河口友美, 清水宗茂, 大森丘, 高畑能久, 森松文毅: 鶏コラーゲン加水分解物摂取後のヒト血中ペプチドの動態と ACE 阻害作用. 日本食品科学工学会誌, 56: 326-330, 2009.
- 29) Kouguchi T, Ito A, Iwai K, Shimizu M, Takahata Y, Suzuki S, Morimatsu F, Tanabe S: Chicken collagen hydrolysate-derived peptides inhibit tumor necrosis factor-α-induced inflammatory response in endothelial cells. *Food Sci. Technol. Res.*, 18: 667-671, 2012.