

魚うろこコラーゲンの特徴とその応用

Features of Fish Scale Collagen and the Applications

多賀谷 基博 東京工業大学 理工学研究科 日本学術振興会 特別研究員 PD
Motohiro TAGAYA

田中 順三* 東京工業大学 理工学研究科 教授
Junzo TANAKA

Abstract

コラーゲンは、いにしえから私たちの衣食住に役立っている。人になじみ深い材料である。これまでコラーゲンは、牛・豚などの哺乳動物由来が主であるが、海綿状脳症や口蹄疫のような人獣共通感染症のリスクから、近年、魚を原料としたコラーゲンの優れた保水性、線維化能、細胞接着能などが見出されている。そのため、化粧品・再生医療の分野へ応用されはじめており、機能性食品の原料としても期待されている。本稿では、魚うろこから抽出されるコラーゲンの構造と特徴について紹介し、魚コラーゲンの機能性食品への応用について述べた。

キーワード：魚うろこコラーゲン、三重らせん構造、ゼラチン、コラーゲンペプチド

1 はじめに

動物の皮はコラーゲンからできており、その強靱な性質が衣服やバックに使われている。骨や皮から煮出したゼラチンは、身近なゼリーやお菓子として食され、さらに、膠（にかわ）は、接着剤として使われてきている。最近、コラーゲンのいくつかの優れた性質が化粧品と再生医療の分野で有効であることが知られ、注目を浴びている。

コラーゲンは「タンパク質」である。アミノ酸からなるこのタンパク質は、細胞と細胞のすき間に存在する「細胞外マトリックス」である。細胞となじみやすく、細胞が活発に活動するのに大切な役割を果たしている。図1(a)に示すように、コラーゲンは3本のポリペプチド鎖からできており、それらがお互いにきれいに巻いた「3重らせん構造」を形成している。この美しい立体構造が、コラーゲンの強靱な強さ、高い細胞の接着性、高い細胞増殖能へ寄与する大本となっている。

食品分野では、コラーゲンは主にソーセージケーシングとして、コラーゲンの熱変性物であるゼラチンはゼリーや食肉製品として古くから利用されてい

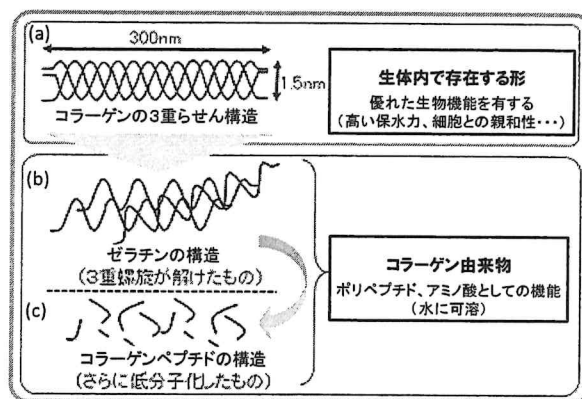


図1 生体内に存在するコラーゲンの各構造イメージ ((a) コラーゲンの3重らせん構造、熱や酵素によって3重らせん構造が壊れて形成される (b) ゼラチンおよび (c) ペプチドの構造) 13)。

る。また、コラーゲン（ゼラチン）を酸あるいは酵素で分解・低分子化したコラーゲンペプチドが栄養補助食品として、飲料や錠菓などの製品に利用されている。これらに利用されているコラーゲンは、牛・豚などの哺乳動物由来であった。しかし、海綿状脳症（狂牛病由来のBSE）や口蹄疫（豚）のように動物から人に感染する疾患が心配されており、ヨーロッパや国内を中心に、魚を原料とした安心安全な魚を

*〒152-8550 東京都目黒区大岡山2丁目12番1号
tel 03-5734-2519 fax 03-5734-2519
E-mail/tanaka.j.aa@m.titech.ac.jp

◎特集

原料としたコラーゲンが注目されている。本稿では、魚を原料としたコラーゲンを中心に、コラーゲンの機能的食品への応用について紹介する。

2 魚を原料としたコラーゲンの構造と特徴

コラーゲンには、I型からXIII型までの多くの種類が存在する。うろこに含まれているコラーゲンはI型である^{1),2)}。I型コラーゲンは、皮膚や骨にも含まれており、生物の中で最も多く存在する。I型コラーゲンは、分子量10万のポリペプチド鎖が3本集まって「3重らせん構造」を作っている。形は一本の硬い棒状であり、その大きさは、長さ300nm、直径1.5nmである。

コラーゲンは、グリシン、プロリン、ヒドロキシプロリンから構成されている。コラーゲンが、「3重らせん構造」を作るのは、ポリペプチド鎖のアミノ酸配列が関係している。ポリペプチド鎖は、3個のアミノ酸が並んだユニット「G-X-Y」のつながりからなる。Gは最も小さいアミノ酸グリシンであり、Xは主にプロリンからなり、Yにはヒドロキシプロリンが含まれている。ヒドロキシプロリンは、普通のタンパク質には存在しないコラーゲンに特有のアミノ酸である。ヒドロキシプロリンは、プロリンの形で合成され、タンパク質合成後に酸化酵素（プロリルヒドロキシラーゼ）によってヒドロキシル基が導入（翻訳後修飾）されることが知られている。

コラーゲン分子は、3本の α 鎖がらせん構造を形成した分子である。哺乳類のコラーゲン分子は、 α_1 と α_2 の2種類の α 鎖を持ち、それらが $(\alpha_1)_2(\alpha_2)_1$ の組み合わせで一つのコラーゲン分子を構成する。魚コラーゲンでは、哺乳類型の $(\alpha_1)_2(\alpha_2)_1$ に加えて、第3の α 鎖「 α_3 」を持つことが報告されている¹⁰⁾。 α 鎖は、それぞれ独自のアミノ酸配列を持ち、 α 鎖組成が異なれば、そのコラーゲンの性状も変わる。Saitoら¹¹⁾は、ニジマスコラーゲン α_3 鎖にはコラーゲンの変性温度を上げるとされるグリシン-プロリン-プロリン配列が少なく、変性温度を下げるるとされるグリシン-グリシン配列が多いと報告している。 α_3 鎖が含まれると、コラーゲンの熱安定性が低下する。しかし、 α_3 鎖の量がどの程度コラーゲンの性状に影響をおよぼすのかについては、未だ解明されていない。

コラーゲン構造の変性温度は、細胞の環境温度と関係がある。すなわち、変性温度は生物種によって異なっており、一般に、生物の体温や生物が生活する環境温度より少し高い。例えば、哺乳類の体温は36~40℃に維持されているため、変性温度はおよそ40℃である。魚類については冷たい海に生息する魚は変性温度が低く、暖かい海に生息する魚は高いため、変性温度は5~37℃のように幅広い分布である。熱帯に生息する魚「テラピア」は、中国南部から東南アジアで養殖されており⁶⁾、その変性温度は36~37℃に達し、哺乳類コラーゲンに近い⁶⁾ため、注目されている。哺乳類コラーゲンに比べて、“線維化速度が速い”、“細胞接着性と増殖能が高い”、“生体内における分解性が高い”などの特徴がある。さらに、大量に入手可能であり、高い変性温度を示すことから応用範囲の広い魚種である。このようなコラーゲン分子の熱安定性には、ヒドロキシプロリンが重要な働きを担っている。プロリンへOH基が導入されることにより、分子内の水素結合およびH₂Oを介しての水素結合が形成され易くなり、3重らせん構造が安定化すると考えられている³⁾。従って、ヒドロキシプロリンの含有量が多くなると、変性温度も高くなる。

3 魚うろこからのI型コラーゲンの抽出・製造法

うろこは、コラーゲンの他に、リン酸カルシウムを含んでいる。その両者の含有率は魚により異なる。テラピアの場合、コラーゲンとリン酸カルシウムがほぼ1:1（重量比）になっている。うろこは、コラーゲンを豊富に含んでおり、魚皮と比べると脂質などの不純物が少ないのが特徴である。そのため、純度が高く臭いを嫌う分野では、皮よりうろこを原料とした方が良い。

うろこ表面は、リン酸カルシウムと構造の乱れたコラーゲン線維からできている。うろこの内部では、コラーゲンが規則正しく並んでおり、いくつもの層が積み重なってできている。1つの層に注目すると、その層の中ではコラーゲンは一方向に規則正しく並んでいる⁷⁾。また、コラーゲンは集合し、太さ数nm~数十nmの線維を形成している⁸⁾。従って、

うろこからコラーゲンを抽出するためには、うろこの緻密で強固な構造を分解して、一つ一つのコラーゲンを取り出す必要がある。

うろこコラーゲンは、私たちの体温よりも低い変性温度をもっている。3重らせん構造が壊れないゼラチンやペプチドを製造する場合、熱水で簡単に溶かし出すことができる。例えば、魚の煮ごりは3重らせん構造が壊れてゼラチンになっている。コラーゲンの優れた性質を活かすには、3重らせん構造を保ったコラーゲンを抽出する必要があるため、変性温度より低い温度での抽出法が重要である。

図2に、通常魚うろこコラーゲンの抽出・製造法を示す。最初に、酸でうろこのリン酸カルシウム

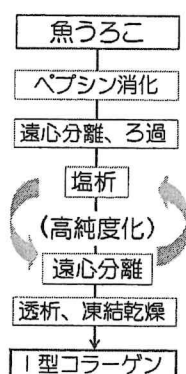


図2 魚うろこからのI型コラーゲンの抽出・製造プロセス。

を除去する。うろこの形を保ったままコラーゲンが得られるが、このコラーゲンは「酸可溶性コラーゲン」と呼ばれ、抗原性部位を保持している。次に、酵素「ペプシン」を用いてコラーゲン同士を結びつけている架橋を切る。細長い棒状の3重らせん構造・コラーゲンの両方の末端は「テロ部位」と呼ばれており、このテロ部位でコラーゲン同士の架橋が形成されている。そこを切るため、3重らせん構造を維持したまま、I型コラーゲンを得ることができる。テロ部位は異物反応が起こる抗原性があるが、ペプシンで抽出するとコラーゲンの抗原性は低くなる。このテロ部位のないコラーゲンは「アテロコラーゲン」と呼ばれ、化粧品から医療材料までの幅広い分野で利用されようとしている。

コラーゲン抽出には、温度、pH、濃度など多くの条件が関係している。そのため、コラーゲン抽出は

ノウハウの塊になっている。東京工業大学の田中・生駒研究室では、製造上の問題点を解決し、3重らせん構造を保ったまま効率よく、完全無臭の高純度コラーゲンを製造する技術を確立している。

4 魚うろこコラーゲンの機能性食品としての効果と課題

4.1 コラーゲンの食品利用

高齢者の増加に伴って、健康を維持して医療費を抑制するために、食品のもつ生理機能を活用することが重要となる。食品生理機能学分野では、食品の生体調節機能に注目して、食品成分が生体調節系に対して示す作用を、臓器・細胞・遺伝子および分子レベルで解析し、疾患の予防および健康の維持・増進に効果的な食品について研究されている。1日に食事から摂取するコラーゲン量は、女性では約1.7g、男性では、約1.8gである。ヒトを対象としたコラーゲン摂取試験から、1日あたり5~10gの摂取で健康に有意な効果が確認されている¹²⁾。

図3に、コラーゲンを原料とした健康食品群のイメージを示す。コラーゲンを豊富に含む食品として、



図3 魚うろこのコラーゲンを原料とする健康食品群のイメージ。

豚足、牛筋、軟骨、鶏皮、魚皮、ふかひれ、エイひれなどが知られている。加熱調理した場合、三重ら

◎特集

せん構造がほぐれてゼラチンに変性する。また、コラーゲンを摂取しても、直接体内に吸収されず、消化に際して「アミノ酸 2~3 個程度のペプチド」や「単アミノ酸」までに分解されて吸収される。従って、コラーゲンを経口摂取した際に、体内でコラーゲンを生成させるために直接用いられるかどうか分からない。

近年の検査機器の発達に伴って、コラーゲンが「3重らせん構造を持つコラーゲン」なのか「ゼラチン」なのか「ペプチド又はアミノ酸」なのかなのかを区別できるようになっている。生体内で線維を形成しているコラーゲンの分子量は、約 30 万である。しかし、温度を上げると、「コラーゲン」の 3 重らせん構造がほどけて一つ一つのポリペプチドになり「ゼラチン」に変化する (図 1(b))。この変化を変性と呼ぶ。変性すると材料の性質も大きく変化する。一度完全に壊れた 3 重らせん構造は、その後で温度を下げても、元の 3 重らせん構造に戻ることはできない⁴⁾。加熱変性させて抽出したゼラチンは、部分的な加水分解を受けているため、分子量が数千から数十万となる。さらに、ゼラチンをタンパク分解酵素で小さい分子に加水分解したものが「コラーゲンペプチド⁵⁾」である (図 1(c))。コラーゲンペプチドは、分子量が数百~数千である。しかしながら、市場では、これらの違いが区別されず、一概にコラーゲンと呼ばれている。

4.2 ゼラチン、コラーゲンペプチドを含む食品

ゼラチンは、プロテアーゼによる分解を受けやすく、アミノ酸供給源として体内に吸収され易い。乾燥した際の形状により板ゼラチンと粉ゼラチンに分類される。水溶性であり、コラーゲンと異なった物理的・化学的性質を示す。ゼラチンは、コラーゲン配合と表記されている補助食品やゼリーの原料として用いられている。

コラーゲンペプチドは、前述したように、ゼラチンが消化酵素処理で分解されて、低分子化したものである。すなわち、食品として摂取した場合、体内でアミノ酸へ分解し易く、水溶性と吸収性が高い。現在の産業原料として、粉末・水溶液で用いられており、ウシ、ブタなどの他に、ヒラメ、サケ、スズキなどの魚類の皮や鱗が多く使用されている。近年、

コラーゲンペプチドの経口摂取により、紫外線・皮膚刺激物、低栄養などに起因する皮膚のダメージが抑制される可能性が明らかにされている⁸⁾。例えば、ヒドロキシプロリンを含むコラーゲンペプチドには、細胞の働きを活発にする生理活性化機能があることが報告されている⁹⁾。コラーゲンを経口摂取することで、ヒドロキシプロリンペプチドの血中濃度が長時間上昇し、ペプチドが損傷した線維芽細胞を刺激し、再生を促進すると考えられている。すなわち、間接的な経路によってコラーゲンペプチドが体内でのコラーゲン線維の産出能に寄与する可能性が示されている。

ゼラチンやコラーゲンペプチドの消化吸収は、必ずしも遊離アミノ酸として吸収されないことが特徴である。このことが、コラーゲンの摂取が、生体に対して他のタンパク質と異なる作用を示す原因であると考えられている。

4.3 3重らせん構造をもったコラーゲン線維の食品応用

3重らせん構造をもつコラーゲンは、動物の体内に広く存在する。人間の進化の過程で、動物を捕え、食糧として食ってきており、「3重らせん構造をもつコラーゲンを食べる」ことは我々にとって自然なことであった。前述したように、I型コラーゲンは生体内で複数が会合し、線維として存在する。線維化したコラーゲンは、3重らせん構造をもったコラーゲン同士が結合して、その間に架橋結合を形成している。線維となったコラーゲンは、高い機械強度を持っている。すなわち、コラーゲン線維は、食品原料である生物内に豊富に含まれており、この高い機械的強度が、食品における食味・食感に大きく影響している。そのため、架橋結合を制御し、食品における食味・食感を調整することは、新しい食品を開発するうえで重要である。魚由来のコラーゲンは安全であるが、変性温度が低く、20℃前後でゼラチン化するため、食品へ配合しても「3重らせん構造」が保たれなかった。東京工業大学 田中・生駒研究室では、産学官との共同研究により、魚由来のコラーゲンで変性温度が 37℃ (ほぼヒトの体温と同じコラーゲン) の開発に成功している。このコラーゲンの変性温度は、食品へ配合するための適当な温度で

あり、食品応用が期待される。今後、食品に存在する架橋結合の同定や架橋結合の形成メカニズムなどの解析技術の開発が、分子生物学的な手法により展開され、食味・食感をコントロールしたセラピアコラーゲン含有食品の創製が必要である。

5 おわりに

魚うろこからの3重らせん構造を特徴としたコラーゲンの特徴とその応用について紹介した。セラピアのうろこコラーゲンは、“豚のコラーゲンと同様の高い変性温度”、“純度が高く無臭”、“塗布するだけでコラーゲンを線維化可能”、“高い保湿性”などの特徴があげられた。現在、セラピアのうろこコラーゲンは「3重らせんコラーゲン」の商品名として多木化学株式会社から試験販売が開始されている。多くの研究機関で評価され、セラピアうろこコラーゲんに特有な性質が明らかにされている。近い将来には、化粧品用途、細胞培養用途、再生医療分野へ実用されるであろう。また、セラピアうろこコラーゲンの変性温度は食品へ配合するために最適であり、機能性食品の有用な原料となることが期待される。今後、経口摂取による効果についての科学的立証がなされ、食品としての機能性と有効性を見出されることが期待される。

[参考文献]

- 1) L. Zylberberg *et al.* *J. Cell Sci.* **103**, 273-285(1992).
- 2) S. Kimura. *Nippon Suisan Gakkaishi.* **68**, 637-645 (2002).
- 3) T. Ikoma *et al.* *Int. J. Biol. Macromol.*, **32**, 199-204 (2003).
- 4) Y. Nomura *et al.* *J. Food Sci.* **60**, 1233-1236 (1995).
- 5) 野村義宏. バイオサイエンスとインダストリー. **66**, 191-195 (2008).
- 6) EL. Sayed. *Tilapia Culture*, 1-24, CABI publishing (2003).
- 7) T. Ikoma *et al.* *J. Struct. Biol.*, **142**, 327-333 (2003).
- 8) N. Matsuda *et al.* *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **52**, 211-215 (2006).
- 9) K. Iwai *et al.* *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 6531-6536 (2005).
- 10) 木村茂. 魚介類の細胞外マトリックス. 9-17 (1997).
- 11) M. Saito *et al.* *Eur J Biochem*, **268**, 2817-2827 (2001)
- 12) 小山洋一. 皮革科学 **56**, 71-79 (2010).
- 13) 斎藤秀敬, 他. マテリアルインテグレーション. **23**, 54-57 (2010).