

コラーゲンと骨の健康維持

東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設 助教授 のむらよしひろ 野村義宏

はじめに

コラーゲンはヒトの全たん白質の25%を占め、皮膚、骨、軟骨、腱をはじめ、各種臓器の結合組織を構成している。コラーゲンは動物由来のものであり、その構造的な特徴としてグリシン-X-Yの繰り返しを持ち、コラーゲンのポリペプチド鎖3本が三重らせん構造をもつものと定義されている。コラーゲンの型は、原線維形成するコラーゲンであるI、II、III、V、XI型、原線維に結合するコラーゲンであるIX、XII型、網目構造形成するコラーゲンであるIV、VII型、膜貫通型コラーゲンであるVIII、X型を始めとして、20種類のコラーゲンと約25種類のコラーゲン分子鎖である α 鎖が同定されている¹⁾。

コラーゲン、およびその変性物であるゼラチンは、皮革、食品、写真用フィルム、化粧品、カプセル、工業用接着剤、医療用材料、機能性食品など広い範囲で利用されている。化粧品や機能性食品としてのコラーゲンが認知されて以来、ゼラチンを酵素ないしは酸により加水分解した、ゲル化しない低分子のコラーゲンをコラーゲン加水分解物(またはコラーゲンペプチド)として用いている²⁾。ブタのコラーゲンは、Takadaらの毒性研究³⁾、FDAのGRAS(Substances Generally Recognized as Safe, GRN 000021)⁴⁾で、また国立健康・栄養研究所の石見により28日間反復投与毒性試験でも食品としての安全性が認めら

れている⁵⁾。食品としてのコラーゲンの主原料はウシ骨や皮であったが、牛海綿状脳症(BSE)、口蹄疫、高病原性鳥インフルエンザ、重症急性呼吸器症候群(SARS)などの流行により、家畜動物以外の水生動物由来原料である魚皮、魚鱗、魚骨、魚軟骨、浮き袋なども利用されている⁶⁾。表1に各種動物由来可溶性コラーゲンのアミノ酸組成を示した。水生動物由来コラーゲンの特徴として、プロリンやヒドロキシプロリンの含量が少なく、変性温度が低いという点があげられる。下等動物では、酸性アミノ酸のグルタミン酸とアスパラギン酸が多いことも特徴である。

1. コラーゲンを食べることにより期待される効果

コラーゲン摂取により期待される効果として、(1)骨密度改善、(2)皮膚の水分保持力向上、(3)胃粘膜保護、(4)腸管吸収向上、(5)免疫賦活があげられている。また、コラーゲンが加齢にともない減少することから、それを補う必要があるといった広告が多々ある。しかし、これらの効果を検証した研究は少なく、変形性関節症(OA)、関節リウマチ(RA)、骨粗しょう症を対象として研究が行われている。

OA患者を対象とした大規模試験が欧米を中心に行われてきた。1991年、Adamは、81名のOA患者に対してコラーゲン加水分解物、ゼラチン、ゼラチン+グリシン+水酸化カルシウム、卵白アルブミンの4群の投与実験を行った。その結果、コラーゲン加水分解物を投与した際に痛みの軽減が認められたと報告している⁷⁾。また、Moskowitzらは、1996~1998年にアメリカ、イギリス、ドイツの19施設において、膝のOA患者389人に対しコラーゲン加水分解物の効果について検証した^{8, 9)}。その結果、ドイツにおいて痛みの軽減、身体機能の改善が認められたと報告している。

アメリカにおいてRA患者に対してニワトリ由来II型コラーゲンを経口投与することで症状の改善が認められるという報告がある^{10, 11)}。しかし、その後の臨床試験では、II型コラーゲン投与はRAの症状を改善しないという報告がなされている^{12~15)}。これは、あくまで薬としての評価であることを考慮しなければならず、何故II型コ

表1 各種動物由来コラーゲンのアミノ酸組成

	クラゲ*1	ホタテ*2	魚鱗*3	サメ皮	マグロ皮	サケ皮	ブタ皮	ウシ骨
Hyp	43	87	63	64	62	49	69	103
Asp	81	60	52	40	48	53	45	46
Thr	43	33	24	22	30	23	17	16
Ser	37	58	40	44	38	50	37	28
Glu	108	115	73	77	95	92	78	84
Pro	78	92	108	121	65	62	157	103
Gly	306	354	324	332	336	365	327	341
Ala	87	54	125	117	150	141	111	121
Cys	4	0	0	0	0	2	0	2
Val	35	17	19	24	22	11	22	25
Met	12	0	10	15	11	16	6	3
Ile	19	19	8	19	8	5	9	1
Leu	31	32	21	22	17	15	23	24
Tyr	7	5	3	2	2	2	3	1
Phe	9	10	22	15	14	12	14	14
Hly	16	0	8	9	8	8	7	9
Lys	32	7	32	24	29	24	26	31
His	2	4	19	8	10	18	5	3
Arg	50	51	52	47	55	53	44	46

*1:クラゲ傘、*2:ホタテ外套膜、*3:イワシ魚鱗の酸可溶性コラーゲン /1,000残基

ラーゲンであるのかという実験的根拠が示されていないという問題もある。

Moskowitzは総説の中で、ヒトの骨粗しょう症患者に対するコラーゲン加水分解物の効果について、Adamらが行った結果を紹介している⁹⁾。骨粗しょう症患者に対し、骨吸収抑制剤であるカルシトニンと同時にコラーゲン加水分解物を摂取させると、カルシトニン単独に比べ、尿中ピリジノリン(骨吸収マーカー)排泄量が低下するというものであったが、実際の骨密度への効果に関しては明らかではない。

一方、動物実験では、卵巣摘出による閉経後骨粗しょう症モデル¹⁰⁾、低たん白食による老人性骨粗しょう症モデル¹⁷⁾、低カルシウム食で飼育したモデル¹⁸⁾、および人工的に骨折させたモデル¹⁹⁾にコラーゲン加水分解物を与えることによる効果について検討した研究が行われている。いずれの実験でも、コラーゲン加水分解物投与群で骨密度や骨強度の改善効果が認められている。近年、注目されているマリンコラーゲンでも骨密度を高める効果は確認されている²⁰⁾。特殊な動物モデルを用いることで、コラーゲンの効果を証明することは可能であるが、骨の強化に関する臨床成績が待たれるところである。また、**腱の再生にも効果がある**という研究報告^{19, 21)}もあり、非常に興味深い。

2. コラーゲン摂取による骨密度改善効果

当研究室において行ってきた、コラーゲン摂取による骨密度改善効果に関する研究を紹介する。

骨代謝を極端に制限したラットモデルを用いた。すなわち、4週齢のWister系雌ラットを低たん白食で飼育し、週間に卵巣摘出するovx群および偽手術するsham群を作成した。さらに1週間後、ラット体重100gあたり10、20、40mgのコラーゲン熱変性物(ゼラチン)を強制投与し、2週間飼育した。対照群には、卵白アルブミンをラット体重100gあたり20mg投与した。飼育終了後、大腿骨を切除し、二重エネルギーX線吸収測定法を用いて骨密度の測定を行った。大腿骨を20分割し測定した結果で、海綿骨付近のNo.4およびNo.17の骨密度を図1に示した。その結果sham群に対し、ovx群は有意に骨密度の低下が認められ、骨粗しょう症の病態を示した。ovx群の中で、コラーゲン20および40mg投与群で骨密度の改善が認められた。20mg投与群が特に効果の大きいものであった。

そこで、海綿骨部分を切除し、液体窒素中で凍結粉砕した。骨端粉末からプロテアーゼ阻害剤を含む4M塩酸グアニジン溶液(pH7.2)で4℃、48時間振とう抽出を行

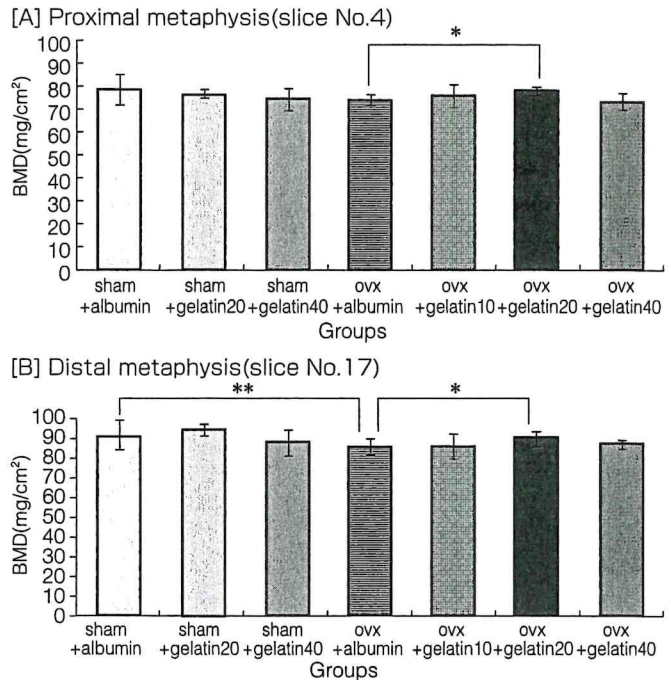


図1 コラーゲン(ゼラチン)投与による卵巣摘出ラットの大腿骨骨密度への影響

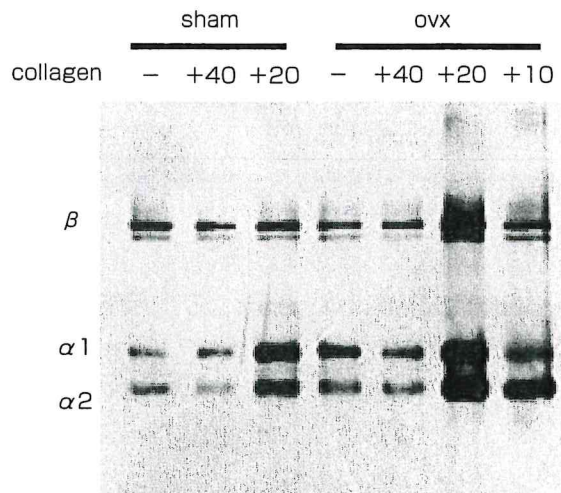


図2 卵巣摘出ラット大腿骨骨端中のコラーゲンのウエスタンブロッティングパターン

Sham : 偽手術群, ovx : 卵巣摘出群, - : アルブミン投与群
 +20 : 体重100g当たり20mgコラーゲン投与群,
 +40 : 体重100g当たり40mgコラーゲン投与群,
 一次抗体 : 抗 $\alpha 1$ 型コラーゲン抗体,
 二次抗体 : 抗ウサギIgG抗体

った。その抽出液を電気泳動し、抗I型コラーゲン抗体を用いたウエスタンブロッティングを行った結果を図2に示した。コラーゲン投与群において、shamおよびovx群ともに抽出されたコラーゲン量の増加が認められた。このことから、海綿骨付近のコラーゲン量の増加が骨密度の上昇の原因であると考えられる。骨密度は、破骨細胞による骨マトリックスの分解と骨芽細胞や骨細胞による骨マトリックスの合成のバランスで正常の値を維持している。本実験では、卵巣摘出することでエストロジェンの分泌を抑え、極端な低たん白食で飼育することで老化

を促進させるモデルを用いた。この動物実験は、骨マトリックスの合成系を抑制する系である。コラーゲン投与により骨密度の改善は可能であった。最近行った実験において、同じ動物モデルを用いてコラーゲン投与による骨髄中の免疫担当細胞への影響に関して検討を行った。その結果、コラーゲン投与により破骨細胞分化を誘導する未熟B細胞の減少を認めている。以上の事より、コラーゲン投与により、破骨細胞分化を抑制し、新たに合成される骨中のコラーゲン量を増やすことで、骨密度の改善効果を示すものと考えている。

おわりに

コラーゲン(ゼラチン)は安全な食品として認められており、機能性食品として常に売れ筋ランキングで上位を占めている。しかし、その機能については不明な点が多く、効果効能を明らかにするためにも、さらなる研究が必要である。

《 《 《 《 参考文献 》 》 》 》

- 1) 細胞の分子生物学 4版 監訳：中村桂子・松原謙一
動物の細胞外マトリックス Newton Press, 1090-1112 (2004)
- 2) 野村義宏：コラーゲンの利用科学, 皮革科学, 43(1), 1-12 (1997)
- 3) Takada U.: *J. Toxicol. Sci.*, Suppl 2, 53-91 (1982)
- 4) Agency response letter GRAS notice No. GRN 000021, July 29 (1999)
- 5) 石見佳子, 呉堅, 穆剛: *Osteoporosis Japan*, 11, 212-214 (2003)
- 6) 野村義宏: *ジャパンフードサイエンス*, 44(1), 29-34 (2005)
- 7) Adam M.: *Therapiewoche*, 41, 2456-2461 (1991)
- 8) Deal C.L., Moskowitz R.W.: *Rheum. Dis. Clin. North. Am.*, 25(2), 379-395 (1999)
- 9) Moskowitz R.W.: *Semin. Arthritis Rheum*, 30, 87-99 (2000)
- 10) Trentham D.E., Dynesius-Tretham R.A., Orav E.J., Combitchi D., Lorenzo C., Sewell K.L., Hafler D.A., Weiner H.L.: *Science*, 261, 1727-1730 (1993)
- 11) Alarcon G.S., Straaton K.V.: *JAMA*, 273, 1721-1723 (1995)
- 12) Sieper J., Kary S., Sorensen H., Alten R., Eggens U., Hüge W., Hiepe F., Kuhne A., Listing J., Ulbrich N., Braun J., Zink A., Mitchison N. A.: *Arthritis Rheum.*, 39, 41-51 (1996)
- 13) Hauselmann H. J., Caravatti M. Seifert B., Wang K., Bruckner P., Michel B.A.: *Br. J. Rheumatol.*, 37, 1110-1117 (1998)
- 14) Mckown K.M., Carbone L.D., Kaplan S.B., Aelion J.A., Lohr K.M., Cremer M.A., Bustillo J., Gonzalez M., Kaeley G., Sreere E.L., Somes G.W., Myers L.K., Seyer J.M., Kang A.H., Postlethwaite A.E.: *Arthritis Rheum.*, 42, 1204-1208 (1999)
- 15) Cazzola M., Antivalle M., Sarzi-Puttini P., Dell'Acqua D., Panni B., Caruso I.: *Clin. Exp. Rheumatol.*, 18, 571-577 (2000)
- 16) 田中秀幸, 佐藤智樹: *食品と開発*, 36, 58-60 (2001)
- 17) Koyama Y., Hirota A., Mori H., Kuwaba K., Kusubata M., Matsubara Y., Kasugai S., Itoh M., Irie S.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 47, 84-86 (2001)
- 18) Wu J., Fujioka M., Sugimoto K., Mu G., Ishimi Y.: *J. Bone Miner Metab.*, 22(6), 547-553 (2004)
- 19) 大和留美子, 酒井康夫: *FFI J. Jpn.*, 210, 854-858 (2005)
- 20) Nomura Y., Oohashi K., Watanabe M., Kasugai S.: *Nutrition*, 21(11-12), 1120-1126 (2005)
- 21) Minaguchi J., Koyama Y., Meguri N., Hosaka Y., Ueda H., Kusubata M., Hirota A., Irie S., Mafune N., Takehana K.: *J. Nutr. Sci. Vitaminol*, 51, 169-174 (2005)



のむら・よしひろ/Yoshihiro Nomura

1990年 東京農工大学大学院連合農学研究科修了(農学博士)、同年 東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設 助手、2003年 東京農工大学農学部附属硬蛋白質利用研究施設 助教授

専門・研究テーマ：コラーゲン、セラチン、プロテオグリカンの機能やその利用に関する研究が中心であり、最近では海洋性コラーゲン摂取の効果に関する研究を手がけている。食品素材の評価を、骨や皮膚への効果を検証する動物モデルを用いて行っている

最近の主な研究活動：動物資源の有効活用に関する研究
著者・論文：Nomura Y., Oohashi K., Watanabe M., Kasugai S.; Increase in the bone mineral density by orally administering gelatin from shark skin to ovariectomized rats, *Nutrition*, 21, 1120-1126(2005)、野村義宏：フィッシュコラーゲンの近況と機能性食品への利用, *ジャパンフードサイエンス*, 44(1), 29-34(2005)、野村義宏：1型糖尿病モデルにおけるグルコサミンの効果, *グルコサミン研究*, 1, 49-52(2005)