

最近の研究

コラーゲンペプチド摂取後に見られるペプチド 血中移行の個人差

重村泰毅¹⁾ 鈴木朝日²⁾ 黒川美保子²⁾
 朝長昭仁³⁾ 深川光彦⁴⁾ 渡邊景太⁵⁾
 山本哲郎⁶⁾ 長岡功⁷⁾

はじめに

2015年度から、機能性食品表示に新たな制度が導入されることで、これまで「いわゆる健康食品」に分類されていた多くの食品に「効果・効能」の表記が許されると考えられる。これは企業の責任のもと表記が許される米国式の制度を手本にしたもので、エビデンスに関してはこれまでの特定保健用食品同様に、ヒト臨床試験による明確な“作用”が求められる見通しである。

食品の体調改善機能は健康者を対象としており、病者の症状を改善させる薬品のような「強い作用」や「異常値を基準値に戻す」ことは期待できない。改善作用基準があいまいな点や、ある意味でははっきりとした改善作用が得られにくい現状でもある。このような理由からも多くの健康食品の効果に関して、消費者レベルや臨床試験から個人差が報告されている。この効果の個人差に関するメカニズムが明らかとなれば、食品の機能性がより効果的に発揮できる方法が開発さ

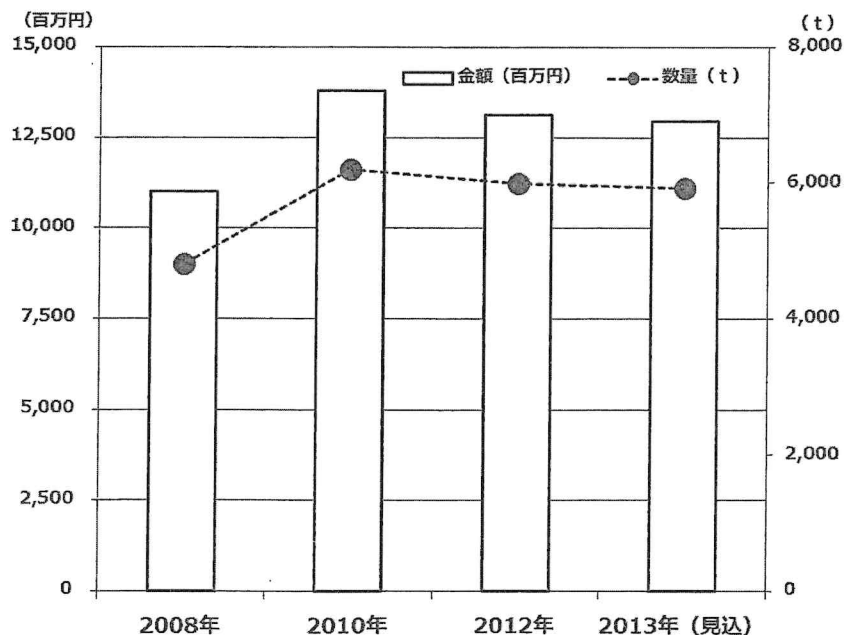


図1 コラーゲン市場規模推移

出典：「2013年版 生物由来有用成分・素材市場徹底調査」株式会社 富士経済 調べ

1) Yasutaka Shigemura：東京家政大学食品機能学研究室，〒173-8602 東京都板橋区加賀1-18-1，TEL 03(3961)5629，2) キューサイ(株)，3) 田奈整形外科・外科，4) 新横浜篠原口整形外科・皮膚科，5) 北新横浜整形外科・外科，6) 株式会社 TTC，7) 順天堂大学医学部生化学・生体防御学

れるなど、また効果が期待できる消費者タイプの抽出が可能になるといった可能性を秘めている。本稿では、コラーゲンペプチド摂取試験から、個人差のメカニズム解明のヒントとなりえる研究について紹介する。

コラーゲンペプチド

1) 健康食品としてのコラーゲン

「コラーゲン」と聞くと、一般の消費者には「肌や関節に良い印象があるが、その効果の詳細は不明」といったイメージが強い。事実、ここ10数年前までコラーゲン摂取による生化学的な機構は不明であった。その一方で、摂取後の体調改善効果は古くから報告されている。「中世ヨーロッパ最大の賢女」・「ドイツ薬草学の祖」と称される、ドイツの聖ヒルデガルトは、「食事からのゼラチン摂取は関節痛を緩和する」と1175年に記録している¹⁾。

「ゼラチン」とは、コラーゲンの加熱分解物であり、現代ではゼリーや煮ごごりなどの素材として知られている。健康食品としての「コラーゲン」は、ゼラチンをさらに分解・低分子化した「コラーゲンペプチド」であり、多くがコラーゲンの名称で流通している。コラーゲン関連食品は、「特定保健用食品」としての表示が認可されていないが、ここ5年間、非常に大きな市場として拡大した(図1)。図1のグラフに見られるように、国内市場は2010年がピークとなっているものの、未だ大きな市場を保っている。現在、各企業はアジア圏での市場拡大も進めている。上述の機能性食品表示の新制度開始から、新たなコラーゲン機能性食品の登場、そしてさらなる関連市場拡大が期待される。

2) コラーゲンの生化学的特徴

ここでは、生物学的な側面からのコラーゲンについて紹介する。コラーゲンは動物性タンパク質であり、人体では総タンパク質の約1/3を占める。コラーゲンは20種類以上ありローマ数字(I, II, III...)で表され、血管・軟骨・皮膚等の広範囲に分布している。そのため、体内のコラーゲンの機能や構造に異常が生じると疾病などにつながる。コラーゲン遺伝子異常によって生じる遺伝性疾患としては、エーラスダンロス症、ステックラー症候群、アルポート症候群、多発性骨端骨異形成症、シュミット型骨幹異形成症などの症状が知られている。

生体内でコラーゲンは、細胞外マトリックスの主要成分として存在し、細胞同士を結合させる役割などを

担っている。分子中のアミノ酸配列の3つに1つはグリシン(Gly)が、また他のタンパク質には見られないヒドロキシプロリン(Hyp)やヒドロキシリジン(Hyl)というアミノ酸の存在が非常に特徴的な点である。生体内のコラーゲンは加熱処理等によって分解し、ゼラチンとして抽出可能である。この際、三重螺旋構造を持つ分子量約30万のコラーゲンは、構造が崩壊した約10万のゼラチンへと変化する。ゼラチンは水に溶けにくく、摂取後の吸収性も良くないと考えられてきた。そこで、ゼラチンを酵素で低分子化した「ゼラチン加水分解物」・「コラーゲンペプチド」が調製された。健康食品として販売されているコラーゲンペプチドは、各メーカーによってその分子量が異なるが、分子量10000~3000のコラーゲンペプチドが多く流通している。

3) コラーゲンペプチド摂取による作用

古くから、ゼラチン経口摂取による体調改善が伝えられてきたため、ゼラチンやコラーゲンペプチド経口摂取後の体調改善作用が、動物やヒト試験によって多く実施されてきた。肌や関節だけでなく、ゼラチン摂取が動物の骨密度を増強し²⁾、ヒト毛髪の直径増加³⁾、脆弱な爪の改善⁴⁾に効果的であることが報告されている。

コラーゲンペプチドも同様に、ヒトに対する効果が臨床試験から報告されている(表1)。アメリカ、イギリス、ドイツで実施された、コラーゲンペプチド摂取後のヒト骨関節炎の症状に関する報告がある⁵⁾。その結果、アメリカとイギリスでは有意な改善が見られなかったのに対して、ドイツでは有意な改善が見られた。この結果から、コラーゲンペプチド摂取による効果は遺伝的、または食生活の影響がおよぼす可能性についても示唆されている。また、25人の日本人女性に魚類I型コラーゲンペプチドを6週間(5g/日)摂取したところ、皮膚の皮脂量が減少し、保水能が増加した⁶⁾。関節病の症状がみられないアスリートが、10gのコラーゲンペプチドを24週間摂取したところ、非摂取群に比べて運動による関節痛が軽減したことを報告している⁷⁾。これら研究から、健康者の運動による痛みの改善に対しても効果的であることが示唆されている。

表1 コラーゲンペプチド摂取試験

状態改善	摂取期間	摂取量(g)
● 関節痛の緩和 <small>Moskowitz et al. Semin. Arthritis Rheum.2000 30, 87-99</small>	2か月	10
● 皮膚保水能の向上と皮脂量の減少 <small>Matsumoto et al. ITE Lett. 2006 7, 386-390</small>	4週間	5
● 運動選手の関節痛緩和効果 <small>Clark et al. Curr. Med. Res. 2008 24, 1485-1496</small>	24週間	10
● 肌の弾力性を向上 <small>Yun-Sun et al. J. Med. Food 2014 7, 810-816</small>	12週間	20

コラーゲンペプチド摂取後の体調改善とマーカー変動

1) 摂取後の膝関節症の改善作用

前述のように、コラーゲンペプチドの摂取後の体調改善効果が報告されている一方で、作用の詳細なメカニズムは解明されていない。これには、摂取による体調改善と同時に、体内関連物質の変化を捉えることが必要で、より詳細な機構が明らかになると考えられる。

著者らの研究グループでは、コラーゲンペプチド含有食品摂取後の膝関節症の改善作用と、関連マーカーの変動について調べた。被験者としては、片側または両側に膝関節痛がある40~79歳の方で、Kellgren & Laurence 分類でグレードがI~II、またはVAS法でどちらか片方の膝の痛みが20mm以上の評価であった方29名に参加して頂いた。対照群として14名の被験者の方には、マルトデキストリンを4.8g含むプラセボ食品を、15名の被験者には約4.5gのコラーゲンペ

チドを含む5gの食品を毎日16週間摂取して頂いた。被験者の症状改善は変形性関節症の障害程度を客観的に評価したJOAスコアと、被験者の主観的な痛みを定量化したVASについて、摂取前と摂取から4、8、12そして16週後にプラセボ群と比較した。JOAスコアは、各膝の「疼痛・歩行能」、「疼痛・階段昇降能」、「屈曲角度」、「腫脹」の4項目から評価を行ったが、「屈曲角度」以外では有意な改善が見られなかった(図2a)。「屈曲角度」においては、図2aのような変化が見られた。コラーゲンペプチド摂取群のJOAスコアは、摂取4週間後と比べて8週間以降は有意に上昇した。またプラセボ群と比較すると、4週間後にペプチド摂取によるスコアの改善傾向が見られ、8週間後には有意な改善が見られた。それ以降の12、16週間後にも有意な変化では無いものの、スコアの改善傾向が見られた。VASは、「安静時」・「歩行時」・「昇降時」の痛みについて評価を行った。その結果、「安静時」のみの改善が見られ、JOAスコアと同様に、摂

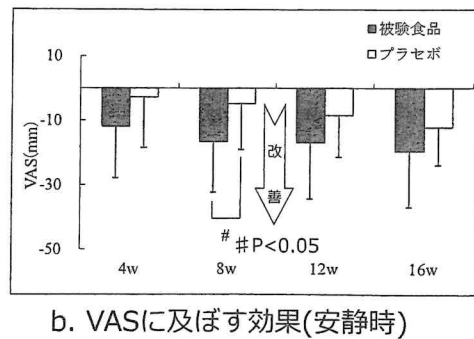
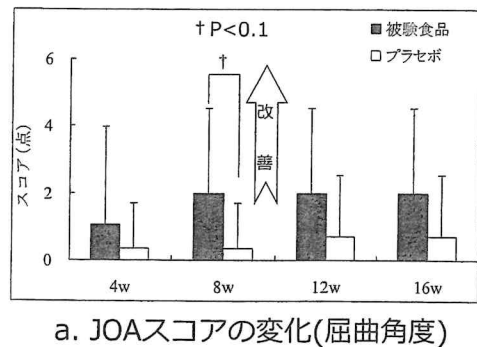


図2 摂取後の膝関節症の改善作用
■被験食品：コラーゲンペプチド摂取群
□プラセボ：コラーゲンペプチド非摂取群

取後16週間後まで改善傾向が見られるものの、8週間後のみにおいて有意な改善作用が認められた(図2b)。また、摂取8週間後の昇降時に評価したVASは、プラセボ群に比べて有意な改善は見られなかったが、改善傾向が見られた。この原因の一つとして、各データから被験者間における改善作用の個人差が大きいことが考えられる。

2) 被験者の軟骨代謝マーカーと炎症マーカーの変化

同試験において、被験者の血中または尿中の軟骨代謝マーカーと炎症マーカーをコラーゲンペプチド摂取前と摂取16週間後の値と比較した。軟骨代謝マーカーとしては、II型コラーゲン分解マーカー(血清C2C、尿中CTX-II)、II型コラーゲン合成マーカー(血清CPII)、I型コラーゲン分解マーカー(尿中NTx)を測定した。滑膜炎マーカーとして血清中のヒアルロン酸、さらにその他炎症マーカーとして血清中のMMP-3、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、TNF- α 、IFN-g、IL-17Aを測定した。その結果、滑膜炎マーカーとIL-17Aのみに摂取後の有意な減少が確認された(図3)。このことから、コラーゲンペプチド摂取後に炎症が抑制されることで、膝関節症の状態が改善され、結果的に痛みが緩和されたのではないかと推測

される。また、今回の結果では有意な変化は見られなかったが、各被験者間でコラーゲンペプチド摂取後のII型コラーゲンの分解と合成の比(CTX-II/CPII比)に個人差が見られた。

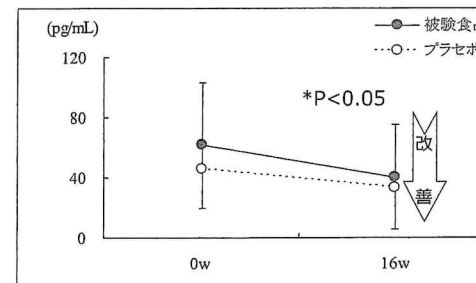
コラーゲンペプチドの吸収と生物学的活性

1) Hyp-ペプチドの血中移行

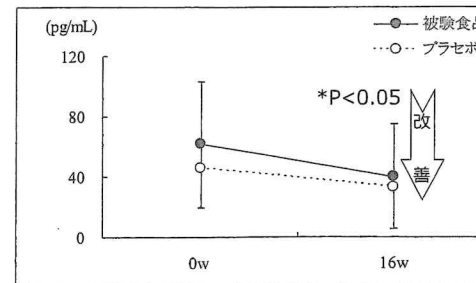
コラーゲンペプチド摂取後の状態改善作用と炎症マーカーの個人差の原因についての詳細は不明だが、その一因としてHyp-ペプチドのヒト血中移行の個人差が考えられる。

十数年前まで、摂取したコラーゲンペプチドがどのように消化吸収されるかについては不明であった。様々な推測の中、「摂取後全てアミノ酸へと分解されるため、コラーゲン摂取後の作用はプラセボ効果」と消化吸収について断言される事もあった。しかし、2005年にコラーゲンペプチド摂取後のヒト血中からHypを含むジ、またはトリペプチド(Hyp-ペプチド)が検出された⁹⁾。この研究では、摂取後に血中へ移行したHypのうち、1/4~1/3はペプチド態として存在していた。また、そのペプチドの中でもPro-Hypが主成分として存在し、他に5から6種類のHypを含むペプチドが血中から同定された。この報告から、血中へ吸収された短鎖ペプチドが体調改善作用の有効成分ではないかと考えられ、これらペプチドの生理作用に関する研究が行われ始めた。

我々は血中で検出されたペプチドの皮膚に対する作用を調べるため、動物皮膚線維芽細胞を用いた試験を実施した⁹⁾。この試験では、生体内の条件を反映するため、動物皮膚を組織培養することで初代線維芽細胞を調製、そしてコラーゲンゲル上での初代細胞の培養を行った。細胞培養中にアミノ酸のProとHypをそれぞれ、そして混合した両アミノ酸、さらにPro-Hypを加えて細胞増殖を測定した。その結果、Pro-Hypのみに有意な増殖促進作用が見られた。さらに、Pro-Hypを中心としたペプチドが軟骨¹⁰⁾や血管¹¹⁾の状態改善に関わる事が動物や細胞試験から報告されている。



a. 滑膜炎マーカー (血清ヒアルロン酸)



b. IL-17A

図3 各マーカーの変化

被験者	Pro-Hyp	Hyp-Gly
1	100.0	0.0
2	82.7	17.3
3	77.0	23.0
4	45.4	54.6
5	16.6	83.4

またこれらの研究から、血液中に吸収されたペプチド種によってその生理作用が異なる可能性も示唆されている。

2) 食事由来ペプチドの血中移行の個人差

我々は、高感度な血中ペプチド検出方法を用いて分析を行った結果、Pro-Hyp に次ぐ主成分として新たに Hyp-Gly を検出した¹⁰⁾。この試験では、コラーゲンペプチド摂取後に数名の被験者の血中 Pro-Hyp と Hyp-Gly の割合を調べた。その結果、被験者間でそれぞれのペプチドの割合が大きく異なっており、被験者の中には Hyp-Gly が主要な食事由来コラーゲンペプチドとして血中に存在していた (表 2)。コラーゲンには Pro-Hyp-Gly の繰り返し配列が多く、Pro-Hyp と Hyp-Gly はこの繰り返し配列からの低分子化分解物であることが分かる。そのため、図 4 に示すように、繰り返し配列の中での切断部位が異なると、小腸上皮から吸収される Pro-Hyp と Hyp-Gly の割合が変化する。つまり、摂取後の血中ペプチド種の個人差は被験者の消化酵素、特にエンドペプチダーゼやエクソペプチダーゼ活性の違いが影響したのではないかと推測される (図 4)。さらに、被験者の酵素活性の個人差から血中出现するペプチド種が異なると、体調改善作用にも個人差が生じるのではないかと考えられる。

また血中移行後のペプチドは、その種類によって血中ペプチダーゼ耐性が異なることも考えられる。そこで我々は、Gly-Pro-Hyp、Pro-Hyp、そして Hyp-Gly を市販のラットとヒト血清内に混合し、インキュ

ベート後に遊離 Hyp の変化を測定した。その結果、ペプチドの分解から遊離する Hyp 量は、全ペプチド種においてヒトよりもラット血清中で多い傾向が見られた。(図 5) さらに、ペプチド種別では、Pro-Hyp、Hyp-Gly、Gly-Pro-Hyp から順に遊離 Hyp 量が増加していた。コラーゲンペプチド摂取後のラット血中で検出される Hyp-ペプチド濃度が、ヒトに比べると非常に低いことが報告されており、これは図 5 に見られたヒトとは異なる血清酵素活性が原因の一つとして考えらえる。さらにこの結果から、消化器官中の酵素だけでなく、吸収後のペプチド種の酵素分解耐性が体調改善作用の個人差に影響する可能性が示唆された。

摂取回数と摂取量の違いによるペプチド血中移行変化

1) 摂取回数による血中ペプチド濃度の変化

前述のとおり、血中ペプチド移行変化が体調改善作用に影響を及ぼす可能性があることから、摂取方法の



図 4 推測されるペプチド血中移行の個人差機構

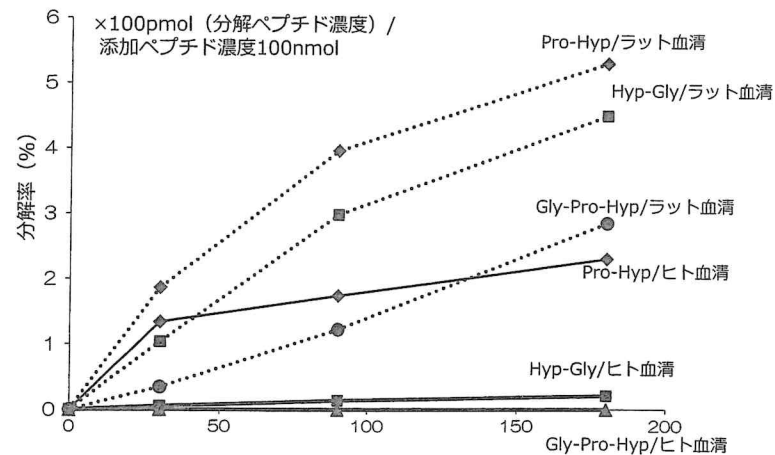


図 5 血清中 3 種ペプチドからの遊離 Hyp 量変化

違いが血中のペプチド移行を変化し、体調改善作用に影響を及ぼす可能性も考えられる。実際に、薬事法に抵触するため「摂取タイミング・摂取回数・摂取量」を詳細に表記できない食品の摂取方法は、消費者レベルで大きく異なっている。これまでのコラーゲンペプチド血中移行研究については単回摂取試験のみであり、連続摂取後の血中への吸収については調べられていない。

そこで、我々はコラーゲンペプチドの摂取回数の変化によるペプチドの血中移行について調べた。この試験では、12名の女性に参加して頂き、12時間絶食後に 5 g のコラーゲンペプチド含有食品を摂取して頂いた。初回摂取から続けて毎日同量のコラーゲンペプチドを 4 週間摂取して頂き、摂取初日、摂取 3 日、1、2、4 週間目の摂取前と摂取から 1 時間後の各ポイントで採血を行った。さらに摂取終了期間から 2 週間後 (最初の摂取から 6 週間後) にも採血を行い、被験者血液から調製した血漿中の Hyp-ペプチド濃度を測定した。図 6 に見られるように、これまでの報告同様に、単回摂取 1 時間後の血漿中 Hyp-ペプチドは増加した。一方で連続摂取後、摂取前の血漿中 Hyp-ペプチド濃度は、単回摂取前の値との有意な差は見られなかった。また、連続摂取 1 時間後の血漿中 Hyp-ペプチド濃度は、単回摂取 1 時間後の値と有意な変化は無くかった。これまでの単回摂取試験によると、摂取から 6-8 時間後まで血中で Hyp-ペプチドの存在が確認されている。これらの結果から、摂取から 24 時間以内には血中 Hyp-ペプチド濃度は摂取前と同程度に減少するため、

体調改善を維持するためにはコラーゲンペプチドを連続的に摂取し、血中濃度を連続的に上昇させる必要があると考えられる。前述した、コラーゲンペプチド摂取による体調改善効果も全て連続摂取後に見られた作用であり (表 1)、これまでに単回摂取後の症状改善報告は少ない。

上記の試験で参加して頂いた被験者 12 名のうち、6 名が 20 代、残り 6 名が 60 代の方であった。年代別に血中ペプチド濃度から AUC を算出して比較したが、有意差は見られなかった。この結果から被験者の年代差によるペプチド吸収に差は見られず、体調改善効果の個人差は被験者年齢によるペプチド吸収の違いではないことが示唆された。

2) コラーゲンペプチド摂取量による血中濃度の変化

前述の研究結果から、被験者間で異なる摂取期間がコラーゲンペプチド摂取後の体調改善効果の個人差の一因である可能性が考えられた。ところで、コラーゲンペプチドの摂取量は、表 1 にもみられるように試験間で異なっている。消費者レベルにおいても、摂取量が異なる事が想像され、それによるペプチド血中移行濃度の変化が体調改善作用にも影響を及ぼすのではないかと推測される。そこで、我々は同一の被験者に摂取量を変えてコラーゲンペプチドを摂取して頂き、その後の血中移行を評価した¹⁰⁾。試験には 5 名の被験者に参加して頂き、それぞれ体重 65kg あたり 2、10、25 g のコラーゲンペプチドを摂取して頂いた。摂取前、摂取 15、30、60、120、240、360 分後に採血を行い、

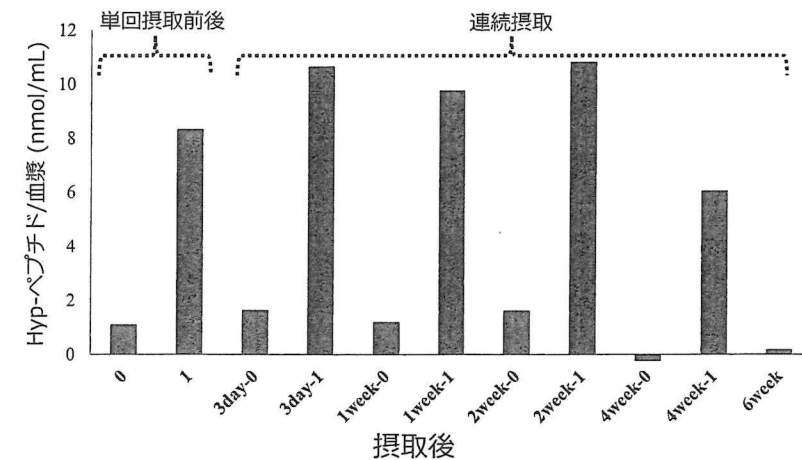


図 6 単回と連続摂取後の血漿中 Hyp-ペプチド濃度
0 : 摂取前 1 : 摂取後

血漿中の遊離 Hyp と Hyp-ペプチド濃度を測定した。その結果、摂取後血中の遊離 Hyp と Hyp-ペプチド濃度は摂取量依存的に上昇した(図7&8)。図7に見られるように、遊離 Hyp は 2, 10, 25 g (／体重65kg) 摂取後、最大で21.54, 54.23, 88.25nmol/mL に到達した。また、摂取前と比較して2 g/65kg摂取後は有意な血中濃度の上昇が見られなかった。それに対して10と25 g/65kg摂取群では、摂取から6時間以降も血中で検出された。血中 Hyp-ペプチド濃度も同様に、2, 10, 25 g (／体重65kg) 摂取後、最大で10.60, 20.17, 32.84nmol/mL に到達した。こちらの

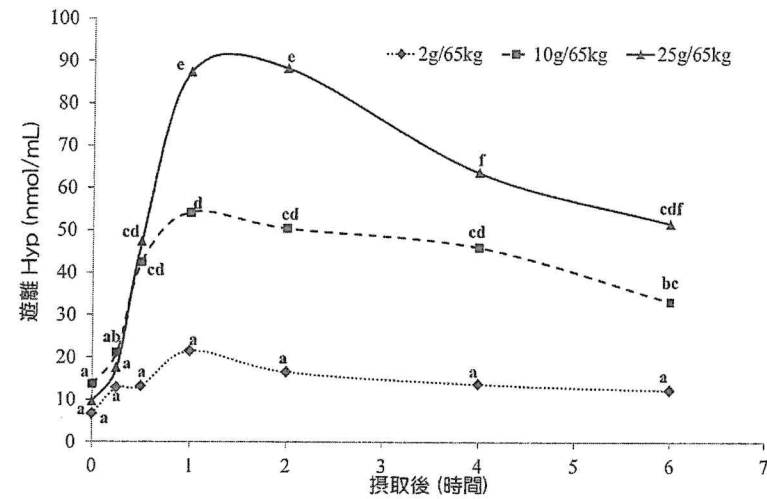


図7 摂取量による血中遊離 Hyp 濃度変化

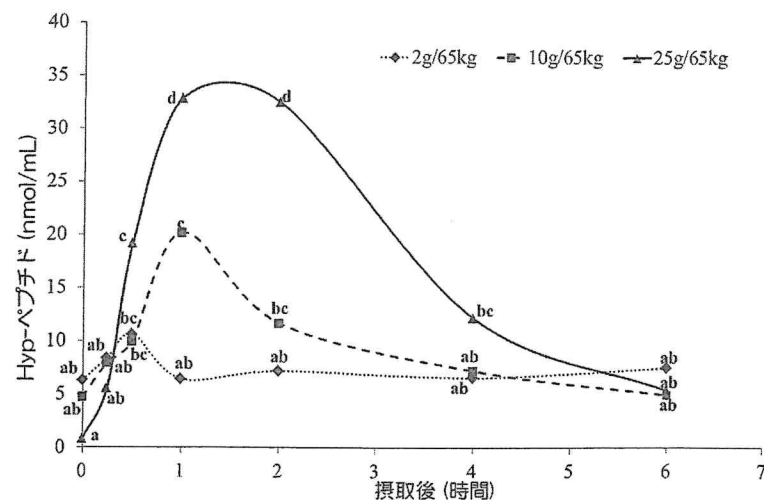


図8 摂取量による血中 Hyp-ペプチド濃度変化

ケースも2 g/65kg摂取では、摂取前に比べて有意な濃度上昇は見られなかった。

以上の結果から、コラーゲンペプチド摂取量が2 g (／体重65kg) 以下では、血中の Hyp-ペプチド濃度が上昇せず、効果的な体調改善は望めない可能性が示唆された。つまり、摂取量の違いが被験者間での状態改善の個人差の一因と考えられる。また、10と25 g/65kg摂取後の血中最大濃度に有意差が見られた結果は、吸収限界が見られなかったことを示唆している。つまり摂取量を増加させる程血中移行濃度が上昇するため、溶解性の改良などから吸収量が効率的に上昇する製品

の開発も可能であろう。

おわりに

今回の研究からコラーゲンペプチドの摂取回数や摂取量が体調改善の個人差に影響を及ぼす可能性が考えられた。また他にも、被験者の酵素活性や体調などの多くの要因が関わると考えられる。現在我々は、個人差のメカニズムだけではなく、血中ペプチド移行濃度を上昇させるコラーゲンペプチド摂取方法の開発に着手している。これまでの一連の摂取・吸収試験は、水に溶解したコラーゲンペプチドの摂取試験のみである。消費者レベルでは、水以外の飲料溶媒に溶解して摂取する方が多く、溶媒中のマトリックスの影響などが血中移行濃度にどのような影響を与えるかは不明である。この際、溶媒マトリックスによっては、血中移行濃度を増加、または減少する可能性が考えられる。この作用から、同じ被験者でも溶媒の変更によるペプチド血中移行濃度が上昇すれば、個人差による非効率的な状態改善を抑える事も可能である。

参考文献

- 1) Verlag Hermann Bauer KG : The nutritional therapy of St. Hildegard : recipes, cures and diet. 3rd ed. ISBN 3-7626-0383-9. Freiburg, Germany,
- 2) Koyama Y, Hirota A, Mori H, Takahara H, Kuwaba K, Kusubata M, Matsubara Y, Kasugai S, Itoh M, Irie S : Japan. Journal of Nutritional Science and Vitami-
- 3) Scala J, Hollies N. R. S, Sucher, K. P, Nutrition Reports International, 13 (6), 579-592 (1976).
- 4) Rosenberg S, Oster K. A, Kallos A, Burroughs W : American Medical Association archives of dermatology Archives of dermatology, 76 (3), 330-335 (1957).
- 5) Moskowitz R. W : Seminar in Arthritis and Rheumatism, 30, 87-99 (2000).
- 6) Matsumoto H., Ohara H., Itoh K., Nakamura Y., Takahashi, S : ITE Lett, 7, 386-390 (2006).
- 7) Clark K. L, Sebastianelli W, Flechsenhar, K. R, Aukermann D. F, Meza F, Millard R. L, Deitch J. R, Sherbondy P. S, Albert A : Current Medical Research and Opinion, 24 (5), 1485-1496 (2008).
- 8) Iwai K, Hasegawa T, Taguchi Y, Morimatsu F, Sato K, Nakamura Y, Higashi A, Kido Y, Nakabo Y, Ohtsuki K : Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 6531-6536 (2005).
- 9) Shigemura Y, Iwai K, Morimatsu F, Iwamoto T, Mura T, Oda, C, Taira T, Park E. Y, Nakamura Y, Sato K : Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57, 444-449 (2009).
- 10) Nakatani S, Mano H, Sampei C, Shimizu J, Wada M : Osteoarthritis and Cartilage, 12, 1620-1627 (2009).
- 11) 岩井浩二, 張有做, 河口友美, 雜賀(江草)愛, 清水宗茂, 大森 丘, 高畑能久, 森松文毅 : 日本食品科学工学会誌56 (6), 326-330 (2009).
- 12) Shigemura Y, Akaba S, Kawashima E, Park E. Y, Nakamura Y, Sato K : Food Chemistry, 129 (3), 1019-1024 (2011).
- 13) Shigemura Y, Kubomura D, Sato Y, Sato K : Food Chemistry, 159, 328-332 (2014).

本会行事案内

■平成28年度 年次大会

【開催日】平成28年6月29日(水)大阪国際会議場で開催予定

《お問合せ》

日本食品・機械研究会

TEL : 06 (6654) 1801 FAX : 06 (6654) 1804

<http://homepage2.nifty.com/nisshoku/>