

# ヒトの末梢血中の食事由来 コラーゲンペプチドの構造と機能

京都府立大学大学院 生命環境科学研究科 応用生命科学専攻

さとうけんじ  
佐藤健司

## はじめに

コラーゲンは細胞外マトリックスのタンパク質の主要成分であり、特長的な3重らせん構造を持つ。また組成的にはグリシン(Gly)が全体の1/3程度含まれ、アラニン(Ala)、プロリン(Pro)、グルタミン(Gln)に富み、他のタンパク質にはほとんど見られないプロリンとリジンの水酸化物であるヒドロキシプロリン(Hyp)、ヒドロキシリシン(Hyl)を構成アミノ酸として持つ。一方、必須アミノ酸の1つであるトリプトファン(Trp)は含まれない。

健康食品の世界では、コラーゲンの熱変性物のゼラチンの酵素分解によって生じたコラーゲンペプチドが「コラーゲン」と呼ばれている。本報では以後、コラーゲンペプチドと表記する。

健康食品としてのコラーゲンの知名度がこれだけ高いのは、経口摂取により肌や関節の状態の改善が体感できることにあるといわれている。しかし、一方でコラーゲンペプチドの摂取がこのような有益な効果を持つことを疑問視する考えも強く、フードファディズムの代表のように考えられている場合もある。その理由として、経口摂取したコラーゲンペプチドがどのようなメカニズムで示唆されているような有益な作用を持つかが全く不明であったことによると考えられる。一般には経口摂取したタンパク質・ペプチドは、消化・吸収の過程でアミノ酸にまで分解してしまう。そのため、食事由来のコラーゲン、ゼラチン、コラーゲンペプチドがそのまま組織のコラーゲンとなることは考えられない。またコラーゲンの構成アミノ酸はほとんどが非必須アミノ酸であり、コラーゲンの合成材料が他のタンパク質に比べて不足しやすいとも考えにくい。コラーゲンに特長的なアミノ酸であるHypはコラーゲン合成には利用されないことも分かっている。そのため、体感されたといわれている作用はプラセボ効果と決めつけている論調も目にする。しかし、コラーゲンペプチドのヒトでの機能はピアレビューを受けた論文にも報告されている<sup>1)</sup>。また動物実験でも、骨密度の増加、紫外線によるダメージの改善効果、骨折の回復の促進、皮膚や腱中のコラーゲン線維の太さが変化するなど、コラーゲンペプチドの経口摂取による有意な生理機能が報告され<sup>2-4)</sup>、ヒトでの有益な効果を支持している。そのため、単なるプラセボ効果ではなく、コラ

ーゲンペプチドの摂取により何らかの機能が生じると考えられることができる。

これらのコラーゲンペプチドの機能解明の糸口として、本報ではヒトが摂取したコラーゲンペプチドの末梢血中への移行と、移行したペプチドの線維芽細胞への影響について最近我々が得た知見を紹介する。

## 1. コラーゲンペプチドの原料

コラーゲンペプチドはゼラチンを酵素分解したものであり、材料のゼラチンはほ乳動物、鳥類、魚類から製造されている。ゼラチンの材料としては消石灰に漬け込んだ牛の骨が従来から利用されていた。このアルカリ処理によりコラーゲン中の架橋構造が破壊され熱水等でゼラチンが抽出されやすくなる。このアルカリ処理によりGln、Asn残基が脱アミドを生じ、Glu、Aspとなる。そのため等電点が酸性に変化する。豚、鶏、魚が原料となる場合は比較的抽出が容易であるためアルカリ処理を行わない場合が多く、脱アミド化の程度が少ないと考えられている。

コラーゲンペプチドの材料としてのほ乳動物は牛と豚にほぼ限られるが、魚類は多くの種が用いられている。魚種の差によるコラーゲンのアミノ酸配列の差が最終製品の性質の差に影響する可能性が考えられるが、魚のコラーゲンの一次構造は十分に解明されていない。一般に棲息水温が低い魚類のコラーゲンはHyp含量が少ない傾向があり<sup>5)</sup>、この差がヒトの血中に移行するコラーゲンペプチドの構造と量に影響する可能性がある。

## 2. コラーゲンペプチドの血中移行

コラーゲンペプチドに限らず、経口摂取により生理機能を発現するペプチドは、単にアミノ酸源として機能する他にペプチドのまま標的臓器に到達して生理機能を発現すると考えられている。しかし、動物やヒトの血液・組織中の食事由来ペプチドを同定するのは大変困難であった。これまでに*in vitro*の研究により同定された活性ペプチドのヒト血液への移行が調べられた例があるが、その含量は数pmol/ml程度のごく微量であり<sup>6)</sup>、*in vitro*で

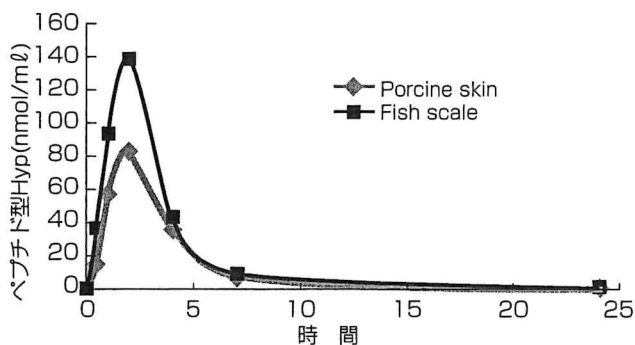


図1 0.385g/kgの豚皮膚および魚鱗由来コラーゲンペプチドを摂取したヒト(n=5)の末梢血中のペプチド型Hyp量 (論文7より改作)

見出された活性が経口摂取でも効果があるのか疑問が呈されている。一方、コラーゲンペプチド中には他のタンパク質にはほとんど含まれないHypがモル比で約10%含まれている。そのため、血液中のペプチド型のHypを測定すれば、比較的容易に食事由来のコラーゲンペプチドの量を評価できる。図1に示すように豚および魚由来のコラーゲンペプチドを摂取したヒト末梢血中に数時間にわたりHyp含有ペプチドが存在している<sup>7)</sup>。その含量は最大で80~140 nmol/ml程度であり、従来の特定保健用食品を摂取したときに血中に存在するバリルチロシン(Val-Tyr)などの活性ペプチドの100倍以上の高値であった。またヒト末梢血中のHyp含有ペプチドは、コラーゲンペプチド摂取前はほとんど含まれず、摂取後検出されたHyp含有ペプチドは食事由来であると考えられる。

従来、摂取したタンパク質・ペプチドはエンドプロテアーゼ消化によりオリゴペプチドまで分解され、小腸で吸収直前にエクソペプチダーゼでさらに分解を受け、アミノ酸またはジ、トリペプチドとして吸収されるが、吸収されたジ、トリペプチドも速やかにアミノ酸に分解されると考えられていた。事実、いくつかのペプチドは血中で数分以内に分解されることが示されている<sup>8)</sup>。食事由来コラーゲンペプチドの存在は、従来のペプチドの吸収・消化の考え方に例外があることを示し、一部のペプチドは血中にかなりの量が到達し、数時間存在することを明確に示している。

図1に示すように魚鱗由来のコラーゲンペプチドを摂取した被験者の血中のHyp含量は、同じ被験者を用いて同量の豚由来のコラーゲンペプチドを摂取した場合より、最大値およびAUC値の両方で高くなっている。一見、魚由来コラーゲンペプチドの吸収性が良いように考えられるが、後述するように、血中に移行したペプチドの組成が両者で必ずしも同じではないため、魚由来コラーゲンペプチドの中には血中に移行する構造を持ったペプチドの割合が高いと考えられる。

同様の実験をラットを用いて行った場合、ペプチド型Hypの割合は遊離型の10分の1程度であり、ヒトではペプチド型の割合がラットと比べてかなり高いことが示された。この現象は動物とヒトで血中に移行するペプチド量がかなり異なることを示し、ペプチドの機能を評価する上で十分考慮する必要がある。

### 3. 血中移行した食事由来コラーゲンペプチドの構造

摂取したコラーゲンペプチドの原料が異なってもヒト末梢血中の食事由来コラーゲンペプチドの主成分はプロリルヒドロキシプロリン(Pro-Hyp)であった。魚由来のコラーゲンペプチドを摂取した場合は、セリルヒドロキシプロリン(Ser-Hyp)、アラニルヒドロキシプロリン(Ala-Hyp)を含むペプチドの割合が多く、コラーゲンペプチドの原料により血中の食事由来ペプチドの量のみならず、そのペプチドの組成にも差があることが明らかとなった<sup>7,9)</sup>。さらに最近、魚由来のコラーゲンペプチドを摂取したヒト末梢血中からヒドロキシプロリルグリシン(Hyp-Gly)を分離同定している。このペプチドは逆相高性能液体クロマトグラフィーに保持されないため以前は見過ごされていたが、新たにフェニルイソチオシアネートで誘導化し分離する手法により分離することに成功した<sup>10)</sup>。Hyp-GlyもPro-Hypに相当する量が含まれていた。Hyp-Glyがほ乳動物由来のコラーゲンペプチドを摂取したヒト末梢血中に存在するかは現在のところ不明である。

### 4. 食事由来コラーゲンペプチドの機能

いずれの原料由来のコラーゲンペプチドを摂取した場合にヒトの末梢血中に存在したPro-Hypの皮膚中の細胞への影響をマウス皮膚デスクを用いて調べた。マウスの皮膚を無血清培地に加え培養すると線維芽細胞の皮膚からの遊走が認められる。図2に示すようにPro-Hypをこ

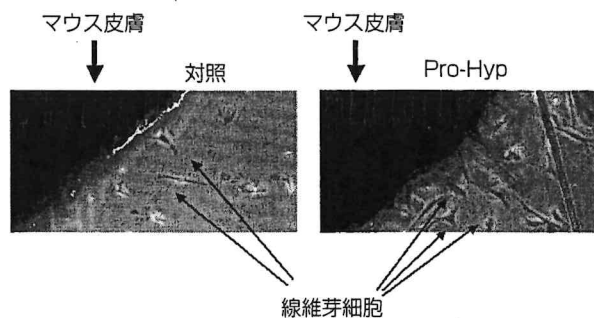


図2 マウス皮膚片にPro-Hypを200nmol/ml 加えると遊走してくる線維芽細胞数が有意に増加する。培養96時間後の写真

の培地に200 nmol/ml加えると、線維芽細胞の遊走数は有意に増加した。また皮膚より分離した線維芽細胞をコラーゲン上で培養すると、線維芽細胞は増殖が止まるが、Pro-Hypを加えると増殖が進む。これらの結果は食事由来コラーゲンペプチドが皮膚の線維芽細胞の増殖を促進し、その結果皮膚から遊走してきた線維芽細胞数を増加させると考えられる。

### おわりに

科学的な研究より、消費者が生理機能を体感する方が先であったコラーゲンペプチドの機能も、ヒト末梢血中の食事由来コラーゲンの発見とその構造解析、さらに食事由来コラーゲンペプチドが動物皮膚中の線維芽細胞の増殖を促進することが明らかとなったことで、その作用メカニズムの解明が緒についた。皮膚中の線維芽細胞は傷の修復時に傷へ遊走し、コラーゲンを合成することで重要な役割を果たすことが知られている。そのため、食事由来コラーゲンペプチドが肌の傷の修復を促進する可能性が考えられる。

Pro-Hypおよびその他の食事由来コラーゲンペプチドが線維芽細胞以外にも生理機能を示す可能性がある。これらの機能が、コラーゲンペプチドの摂取により生じる有益な効果に関係している可能性がある。今後のこの分野の研究が待たれる。

### 《 《 《 《 参考文献 》 》 》 》 》

- 1) H. Matsumoto, H. Ohara, K. Ito, Y. Nakamura, S. Takahashi: Clinical effects of fish type I collagen hydrolysate on skin properties. *ITE Letters on Batteries, New Technologies & Medicine*, **7**, 386-390 (2006)
- 2) Y. Koyama, A. Hirota, H. Mori, H. Takahara, K. Kuwaba, M. Kusubata, Y. Matsubara, S. Kasugai, M. Itoh, S. Irie: Ingestion of gelatin has differential effect on bone mineral density and body weight in protein undernutrition. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **47**, 84-86 (2001)
- 3) J. Wu, M. Fujioka, K. Sakaguchi, G. Mu, Y. Ishimi: Assessment of effectiveness of oral administration of collagen peptide on bone metabolism in growing and mature rats. *J. Bone Miner. Metab.* **22**, 547-533 (2004)
- 4) N. Tsuruoka, R. Yamato, Y. Sakai, Y. Yoshitake H. Yonekura: 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)

- 5) K. Sato, R. Yoshinaka, M. Sato: Hydroxyproline content in the acid-soluble collagen from muscle of several fishes. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1467 (1989)
- 6) T. Matsui, K. Tamaya, E. Seki, K. Osajima, K. Matsumo, T. Kawasaki: Absorption of Val-Tyr with in vitro angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity into the circulating blood system of mild hypertensive subjects. *Biol. Pharm. Bull.* **25**, 1228-1230 (2002)
- 7) H. Ohara, H. Matsumoto, K. Ito, K. Iwai, K. Sato: Comparison of quantity and structures of hydroxyproline-containing peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates from different sources. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 1532-1535 (2007)
- 8) W. Hubl, W. Druml, K. Langer, H. Lochs: Influence of molecular structure and plasma hydrolysis on the metabolism of glutamine-containing dipeptides in humans. *Metabolism* **38**, 59-62 (1989)
- 9) K. Iwai, T. Hasegawa, Y. Taguchi, F. Morimatsu, K. Sato, Y. Nakamura, A. Higashi, Y. Kido, Y. Nakabo, K. Ohtsuki: Identification of food-derived collagen peptides in human blood after oral ingestion of gelatin hydrolysates. *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 6531-6536 (2005)
- 10) M. Aito-Inoue, K. Ohtsuki, Y. Nakamura, E.Y. Park, K. Iwai, F. Morimatsu, K. Sato: Improvement in isolation and identification of food-derived peptides in human plasma based on precolumn derivatization of peptides with phenyl isothiocyanate. *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 5261-5266 (2006)



さとう・けんじ / Kenji Sato

1983年 京都大学農学部水産学科卒業、  
 1985年 京都大学大学院農学研究科博士後  
 期課程水産学専攻入学、1988年 農学博士  
 の学位を修得(京都大学農博第546号)、1989  
 年 京都府立大学生活科学部助手、1995年 京都府立大生活  
 科学部助教授、1997年 京都府立大学人間環境学部助教授、  
 2005年 同 教授、2008年 京都府立大学大学院生命環境  
 科学研究科教授  
 専門：食品科学、食品機能学  
 研究テーマ：経口摂取により効果のあるペプチドの同定、  
 ヒト血中の食事由来ペプチドの同定  
 最近の主な研究や活動：大容量ペプチド分画装置の開発、  
 ヒト血中での食事由来コラーゲンペプチドの同定とその機  
 能解明