

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：14602

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K14009

研究課題名（和文）調理肉摂取後の血中コラーゲンペプチド量向上のための調理加工方法の構築

研究課題名（英文）Construction of cooking method to improve content of collagen peptide in blood after ingestion of cooked meat

研究代表者

浅井 智子（Asai T., Tomoko）

奈良女子大学・生活環境科学系・助教

研究者番号：50832036

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,600,000円

研究成果の概要（和文）：同じコラーゲン量を含むコラーゲン加水分解物、蒸し調理ウナギ、焼き調理ウナギの摂取では、血中コラーゲン由来ペプチドの構造と量が異なった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、これまで調理肉中のコラーゲン（あるいはゼラチン）を摂取してもアミノ酸として分解されてしまうため生理作用はない、とされてきた定説を改めて覆す結果である。調理操作によっても生体へと吸収されるコラーゲン由来ペプチドの構造やその量が異なることが明らかとなったことから、コラーゲン加水分解物のみならず肉や魚などの調理肉摂取が健康寿命の延伸に寄与する可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：Contents and structures of collagen-derived peptides in human blood after ingestion of collagen with different molecular weights and structures (collagen hydrolysate, grilled and steamed Japanese eel: collagen content, 13 g) were differed.

研究分野：食品科学、調理科学、食品機能学、食品分析学

キーワード：調理操作 コラーゲンペプチド コラーゲン加水分解物 プロリルヒドロキシプロリン ヒドロキシプロリルグリシン ウナギ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

少子高齢化により日本は世界一の高齢社会となり、それに伴い変形性膝関節症などの運動器障害関連疾患を有する患者数は約 3000 万人以上と推定されている。今後さらに高齢者人口の上昇が予想されることから、人々の健康を維持するためにはこれら疾患の予防、治療にあたることが求められている。近年コラーゲン酵素分解物(コラーゲンを熱変性させたゼラチンの酵素分解物。以下 CH。)の摂取は褥瘡スコアの改善 (*Scientific Reports*, 2018, 8, 11403), 関節痛症状の改善(*J. Sci. Food Agric.* 2015, 95(4), 702-707) など有益な作用をもたらすことが、二重盲検比較試験により報告された。褥瘡予防・治療ガイドライン 2015 年版には CH が「有効な栄養素」であると明記され、今後さらに CH が医学分野で応用されることが期待されている。

従来、タンパク質は消化吸収過程においてアミノ酸にまで分解されることから CH 摂取による健康増進効果は科学的根拠に基づかないと考えられてきた。しかし CH 摂取後のヒト血中にはコラーゲン由来ペプチドが約 20-60 μ M にまで非常に高濃度で増加することを明らかにし、上記栄養学の定説が大きく覆された (*J. Agric. Food Chem.* 2005, 53 (16), 6531-6536.)。さらに研究代表者らはコラーゲンを含む 1 食分の調理肉中のコラーゲン量を定量し、コラーゲンを多く含む調理肉摂取によっても血中コラーゲン由来ペプチド量を増加させることを初めて明らかとした (Asai et al., *J. Agric. Food Chem.* 2019)。しかし CH 摂取よりもその量は低かった。この理由として、消化酵素に可溶化するコラーゲン量が低いことを *in vitro* 試験により明らかとした。そこで本研究では、調理加工方法により血中へと吸収されるコラーゲン由来ペプチド量を向上させることを目的として研究を開始した。

2. 研究の目的

具体的には、以下の点を明らかとすることを目的とした。

- ・消化酵素可溶性コラーゲン量に対する加熱調理操作の影響を明らかとする。
- ・調理肉摂取後の血中コラーゲン由来ペプチド量に対する調理操作の影響を明らかとする。

3. 研究の方法

調理法

試料には、1 食当たりのコラーゲン含有量の多い養殖ニホンウナギ (*Anguilla japonica*) を用いた (大サイズ; うなぎ屋かわすい川口水産; 徳島県産、宮崎県産)。頭と尻尾を除いた 1 匹分のウナギ肉を 4 等分し、1 切れの重さが約 200g になるようにカットした。調理方法を焼き調理と蒸し調理の異なる調理時間の 3 種類に分けて加熱調理魚肉を調製した。以下、焼き調理 9 分のもを G、蒸し調理 11 分のもを S1、蒸し調理 18 分+むらし 10 分のもを S2 とする。焼き調理(G)は魚焼き機(株式会社ハーマン DG3296NR)を用い、強火でまず 5 分余熱した後に中火で表面を 4 分焼き、裏返して 2 分半焼いた。タレを塗った後に弱火で再び 2 分半焼いた。11 分の蒸し調理(S1)では、蒸し器で 8 分蒸した後、タレを塗り表面と裏で 1 分半ずつグリルで焼いた。18 分の蒸し調理(S2)では、蒸し器で 15 分蒸した後、火を止めて 10 分蒸らした。その後タレを塗り表面と裏で 1 分半ずつグリルで焼いた。蒸し調理肉については調理後溶出した汁も採取し、試料とした。

テクスチャー解析

各調理法のウナギ肉試料 3 種類(G,S1,S2)を 2.5cm 幅にカットした。山電製のクリープメータ (RE-3305S 山電) を使用し、くさび型プランジャー(1mm/s, 先端 1mm)を用いて 2 回圧縮し破断荷重を測定した。試料の高さは約 15mm、クリアランス 10.5mm とした。得られた破断荷重の数値から、肉の硬さを考察した。

肉中消化酵素可溶性コラーゲン量の測定

加熱前後の調理肉に対し、ペプシン・パンクレアチンによるプロテアーゼ処理を行い遠心分離後の上清を塩酸加水分解を行うことによって、消化酵素可溶性コラーゲン量を測定した。コラーゲン量は、コラーゲン特有のアミノ酸であるヒドロキシプロリンをアミノ酸分析により定量することで算出した。

ヒト試験

2 種類の調理魚肉 (G&S2、生重量 200 g / 1 食分) と同量のコラーゲンを含む CH (イクオス 50SP, 新田ゼラチン)13 g を、1 週間の wash out 期間後それぞれ健康なボランティア 7 名に摂取させた。実施日は、コラーゲンドリンク 9/9(木)、ウナギ肉焼き調理(G)9/16(木)、ウナギ肉蒸し調理 9/27(月)であった。各週において摂取後 0、30、60、120 分の血液を採取した。血液を遠心し血清と血餅に分け、血清を 2.0mL μ チューブに分取し、-20 で保存した。血清に 3 倍量のエタノールを加え、沈殿させた。上澄みを AccQ 試薬を用い誘導化させた。なお、本臨床試験は「奈良女子大学人を対象とする研究に関する倫理審査委員会」に承認されている (承認番号 21-02)。

血中コラーゲンペプチド量の測定

タンデム四重極型質量分析計(LC-MS/MS, Waters) を用いて、AQC 誘導化後に MRM モードで分析した。分析用カラムには、 μ Bondasphere / Delta-Pak カラム (Waters 株式会社) を使用

した。溶離液は、A 液に 0.1%ギ酸を含む 100%アセトニトリル、B 液に 0.1%ギ酸を含む 100%アセトニトリルを用いた。

4. 研究成果

テクスチャー測定及び SDS-PAGE

G、S1、S2 の順で硬さの値が低くなり、コラーゲン分子の分解が観察された。

肉中消化酵素可溶性コラーゲン量

ペプシン・トリプシンによる消化酵素分解後の可溶性コラーゲン量は、G、S1、S2 の順で増加した。

ヒト血中コラーゲン由来ペプチド量

ヒト血中コラーゲン由来ペプチドの主要成分であるプロリルヒドロキシプロリン (Pro-Hyp) 量は、CH 摂取が最も高く、次いで、G、S2 となった。しかしヒドロキシプロリルグリシン (Hyp-Gly) 量は、CH 摂取と比較して、わずかに G および S2 では低かったが有意な差はなく、G と S2 間の平均値は同程度であった。

Pro-Hyp はコラーゲンゲル上に播種した初代線維芽細胞の増殖を促進すること、さらに間葉系幹細胞マーカーの一つである p75NTR 陽性細胞数を増加させることを報告している (論文)。また Hyp-Gly は Pro-Hyp よりも初代線維芽細胞の増殖促進機能が高いことが報告されている。調理肉摂取時には、Pro-Hyp よりも高い Hyp-Gly の血中移行割合が確認されたことから、調理肉からのコラーゲン摂取は他種類のコラーゲン由来ペプチドによる生体への有益な作用が得られるかもしれない。

考察

消化酵素可溶性コラーゲン量の多い蒸し調理ウナギ肉の摂取は、消化酵素可溶性コラーゲン量の少ない焼き調理ウナギ肉摂取と比較して、血中コラーゲン由来ペプチド量が低かった。これは、ヒドロキシプロリンなどのアミノ酸にまで分解されてしまった可能性が考えられる。一方で、CH はすべて水溶性であることからすべてが消化酵素可溶性であり、さらにより低分子化されたコラーゲンであるほど血中コラーゲン由来ペプチド量が増加することが報告されている。消化酵素可溶性コラーゲン量の多い調理肉でも血中コラーゲン由来ペプチド量の増加が抑制されたことから、微生物や食品由来のプロテアーゼで分解処理される CH と異なり、加熱調理の熱により分解される調理肉では、アミノ酸配列の切断部位が異なる可能性が示唆された。さらに、その後のヒト消化酵素による分解性にも影響し、血中へ移行するコラーゲン由来ペプチドの量および構造が異なると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sato Kenji, Asai Tomoko T., Jimi Shiro	4. 巻 8
2. 論文標題 Collagen-Derived Di-Peptide, Prolylhydroxyproline (Pro-Hyp): A New Low Molecular Weight Growth-Initiating Factor for Specific Fibroblasts Associated With Wound Healing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 548975
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2020.548975	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 浅井智子	4. 巻 40
2. 論文標題 コラーゲンの豊富な調理肉摂取後のヒト血中コラーゲン由来ペプチド	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 食品加工技術	6. 最初と最後の頁 54 - 62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 佐藤健司、浅井智子	4. 巻 3
2. 論文標題 腸から皮膚	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 美容皮膚医学 『BEAUTY』	6. 最初と最後の頁 20 - 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Asai Tomoko T., Yoshikawa Kazunobu, Sawada Kazuhiro, Fukamizu Kazuna, Koyama Yoh-ichi, Shigemura Yasutaka, Jimi Shiro, Sato Kenji	4. 巻 66
2. 論文標題 Mouse skin fibroblasts with mesenchymal stem cell marker p75 neurotrophin receptor proliferate in response to prolyl-hydroxyproline	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Functional Foods	6. 最初と最後の頁 103792 ~ 103792
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jff.2020.103792	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Asai Tomoko T., Oikawa Fumi, Yoshikawa Kazunobu, Inoue Naoki, Sato Kenji	4. 巻 21
2. 論文標題 Food-Derived Collagen Peptides, Prolyl-Hydroxyproline (Pro-Hyp), and Hydroxyprolyl-Glycine (Hyp-Gly) Enhance Growth of Primary Cultured Mouse Skin Fibroblast Using Fetal Bovine Serum Free from Hydroxyprolyl Peptide	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 229
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21010229	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件(うち招待講演 2件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Tomoko T. Asai
2. 発表標題 Collagen-derived peptides in human blood after ingestion of collagen hydrolysate and gelatin
3. 学会等名 Virtual Symposium on Asian Foods and Traditional Drugs: Young Asian Researchers Association (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 関野朱夏, 浅井智子, 萬成 誉世, 松田覚, 高村 仁知, 佐藤 健司
2. 発表標題 調理魚肉に含まれる消化酵素可溶性コラーゲン量と摂取後ヒト血中コラーゲンペプチド量に調理加工方法が及ぼす影響
3. 学会等名 第26回日本フードファクター学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tomoko T. Asai, Kyoka Sugiyama, Kumiko Saito, Takayo Mannari, Hitoshi Takamura, Kenji Sato
2. 発表標題 Effect of cooking treatment on the amount of pepsin/pancreatin-soluble collagen in meat
3. 学会等名 19th World Congress on Nutrition and Food Chemistry 2020年9月(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 浅井 智子
2. 発表標題 The p75NTR-positive fibroblasts from mouse skin respond to Pro-Hyp, collagen-derived peptide
3. 学会等名 The 7th International Conference of Food Factors (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 浅井智子, 吉川和伸, 澤田和浩, 自見至郎, 佐藤健司
2. 発表標題 食品由来コラーゲンペプチドPro-Hyp は体性幹細胞マーカーp75NTR発現細胞の成長を促進する
3. 学会等名 第51回日本結合組織学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ASAI T. Tomoko, Kazunobu Yosikawa, Kazuhiro Sawada, Shiro Jimi, Kenji Sato
2. 発表標題 Pro-Hyp, food-derived collagen peptide in blood, enhances growth of fibroblasts expressing p75NTR, somatic stem cell marker
3. 学会等名 2nd International Symposium on Bioactive Peptides (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kazuhiro Sawada, Kazunobu Yosikawa, Tomoko Asai, Kenji Sato
2. 発表標題 Pro-Hyp is specifically incorporated in fibroblast expressing p75NTR
3. 学会等名 The 7th International Conference of Food Factors (ICoFF2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Xin Wei, Shiro Jimi, Kazunobu Yosikawa, Tomoko Asai, Kenji Sato
2. 発表標題 Generation of Pro-Hyp and p75NTR- positive cell in cultured skin
3. 学会等名 The 7th International Conference of Food Factors (ICoFF2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	関野 朱夏 (SEKINO Ayaka)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------