科学研究費補助金研究成果報告書

平成 22 年 6 月 10 日現在

研究種目:若手研究(B) 研究期間:2008~2009 課題番号:20700613

研究課題名(和文) コラーゲンペプチド摂取によって血中移行したペプチドの定量と同定

研究課題名(英文) Identification and quantification of food-derived peptide in human blood after oral ingestion of collagen peptides

研究代表者 重村泰毅 (SHIGEMURA YASUTAKA) 大阪夕陽丘学園短期大学 食物学科 助手

研究者番号: 20373178

研究成果の概要(和文):本研究では、コラーゲンペプチド摂取後のヒト血液中の食事由来ペプチドの量と種類について調べた。その結果、コラーゲンペプチド摂取量の増加に伴い、血中での食事由来ペプチド濃度も増加していた。また長期摂取によって、血液中の食事由来 Pro-Hyp濃度が減少し、Hyp-Gly が増加する傾向が見られた。

研究成果の概要 (英文): In present study, We quantified the concentration of food-derived peptides and identified the amino acid sequence of the peptides after oral ingestion of collagen peptides. The concentration of food-derived peptides in human blood dependently increased by the concentration of ingested collagen peptides. The food-derived Pro-Hyp decreased and food-derived Hyp-Gly increased in human blood by the long-term ingestion of collagen peptides.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合 計
2008年度	600000	180000	780000
2009年度	900000	270000	1170000
年度			
年度			
年度			
総計	1500000	450000	1950000

研究分野:

科研費の分科・細目:

キーワード:コラーゲン、ペプチド、ハイドロキシプロリン、皮膚、線維芽細胞, Pro-Hyp

1.研究開始当初の背景

コラーゲンペプチドの経口摂取によって関節や肌の状態が改善すると報告されているが、そのメカニズムについては解明されてこなかった。近年、コラーゲンペプチド摂取後のヒト血中で、Pro-Hypを主要成分とするペプチドが検出された。これより、血中で増加するペプチド型 Hyp が生理活性を有するこ

とが考えられた。これまでに、コラーゲンペプチドの摂取量とヒト血中で Hyp 型ペプチドがどのように増加するかは明らかにされておらず、その種類についても網羅的な検索は行われていない。

2.研究の目的

本研究では、異なる摂取量が血中の食事由来ペプチド量へどのように影響するか?また

そのペプチドの種類を網羅的に検索した。 3.研究の方法

2、10、25gのコラーゲンペプチド摂取前と15、30、60、120、240、360分後に採血を行い、得られた血漿中のヒドロキシプロリン(Hyp)量と血漿加水分解物中のHyp量を測定した。血漿加水分解物中のHyp量から血漿中の遊離 Hyp量を引くことでペプチド型のHyp量を求めた。

さらにコラーゲンペプチド摂取前と1時間後に採取した血漿を,強陽イオン交換樹脂を用いた固相抽出とゲルろ過クロマトグラフィーによる連続的に溶出を行うことで血中のペプチドを分離した。さらにPITC誘導化試薬によってゲルろ過クロマトグラフィー溶出画分をプレカラム誘導化後、逆相クロマトグラフィーによる分離を行った。

4. 研究成果

コラーゲンペプチド摂取量の増加に伴い血中で検出されたペプチド型 Hyp量が増加した。さらに摂取量の増加に伴い血中でのペプチド型 Hyp の残留時間および,ペプチドが最大濃度に達する時間が延長された。

血液中に移行した食事由来ペプチドはその 6 割以上が主要成分である Pro-Hyp が占め, Hyp-Gly, Pro-Gly, Ala-Gly, Pro-Hyp-Gly, Ile-Hyp, Leu-Hyp, Glu-Hyp, が微量成分と して検出・同定された。

PITC 誘導化試薬を用いてプレカラム誘導化法により、人血液から食事由来ペプチドを検出・同定することが可能となった。この方法は従来の誘導化試薬を用いない方法に比べ、親水性ペプチドの分離を改善し、これまでに検出されていないペプチドの検出・同定も可能にした。

食品由来ペプチドの機能性に関しては,国内 でいくつかの研究があるが, 国外ではまだ少 なく今後、検出・同定されたペプチドの機能 性について明らかにすることは,日本が食品 科学分野でリードできる大きなチャンスで ある。また、国内でも in vivo における研究 例は多いものの,実際ペプチド摂取後の血中 から有効成分となりうる食事由来ペプチド の検出例は少ない。今後本方法をさらに改良 し,他の食事摂取後,血中でどのようなペプ チドが増加するのか, さらにそのよう機能性 について検討していく。本研究は血液中へと 吸収されない, つまり有効成分となりえない ペプチドについて研究を進めるといった無 駄な手順を回避する確実性の高い研究であ る。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に は下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

重村泰毅、佐藤健司、コラーゲンペプチ

ド経口摂取による生理機能とそのメカニズム、食品加工技術、査読無し、30巻(1)、2010、1-7

Yasutaka Shigemura、 Koji Iwai、Fumiki Morimatsu、Taka-aki Iwamoto、Toshio Mori、 Chikako Oda、 Toshio Taira、 Eun Young Park、 Yasusi Nakamura、 Kenji Sato、 __Effect of Prolyl-Hydroxyproline (Pro-Hyp)、 a Food-Derived Collagen Peptide in Human Blood、 on Growth of Fibroblasts from Mouse Skin.Journal of Agriculture and Food Chemistry 查読有り 57(2)、2009、444-449.

佐藤健司・岩井浩二・井上美佐子・ 重村泰毅・森俊雄・平敏夫、コラー ゲンペプチドの経口摂取とその生理 機能、グルコサミン研究会、 査読 無し、4巻、2008、57 - 62

[学会発表](計 13件)

Yasutaka Shigemura 、Effect of Prolyl-Hydroxyproline (Pro-Hyp) on proliferation of skin fibroblasts: A possible mechanism for improvement of skin condition by collagen peptide ingestion、The 5th Joint Graduate School Seminar Kyoto、The 5th Joint Graduate School Seminar Kyoto、2010年3月16日、Kyoto Prefecture Univ.

重村泰毅、プレカラム誘導法に基づくヒト血液中からの食事由来ペプチド検出方法、バイオ計測・試薬分野における若手科学者・技術者のシーズ・構想発表会、2010年3月1日、京都高度技術研究所

<u>
重村泰毅</u>、食事由来エラスチンペプチド、 Pro-Glyの検出と同定、第3回京都3大 学連携研究発表会、2009年12月20日、京都府立医科大学

Yasutaka Shigemura、Identification of a food-derived elastin peptide (Pro-Gly) in human blood after oral ingestion of elastin hydrolysate、 ISNFF (The International Society for Nutraceuticals and Functional Foods) 2009、Misako Nakaba、 Eun Young Park、 Yasushi Nakamura、 Kenji Sato、2009年11月3日、San Francisco、 CA、 USA

重村泰毅、食事由来コラーゲンペプチド、

(Pro-Hyp、 Hyp-Gly)の吸収と血液中での分解、第7回高付加価値食品開発のためのフォーラム、2009年9月30日、富士教育研究所

重村泰毅、中場操子、朴恩榮、中村考志、 佐藤健司、ヒト抹消血における食事由来 エラスチンペプチドの検出、第 63 回栄 養食糧学会、2009 年 5 月 21 日、長崎ブ リックホール

Yasutaka Shigemura、Kenji Sato、Effect of Prolyl-Hydroxyproline (Pro-Hyp) on proliferation of skin fibroblasts: A possible mechanism for improvement of skin condition by collagen peptide ingestion、ACS(American Chemical Society)2009 National Meeting & Exposition Division of Agricultural & Food Chemistry、2009 年 3 月 23 日、Marriott Downtown Salt Lake City UT

重村泰毅、朴恩榮、中村考志、佐藤健司、ヒト血液中に存在する食事由来 Pro-Hyp の線維芽細胞増殖促進活性、第4回3大学連携研究発表会、2009年3月17日、京都工芸繊維大学

Yasutaka Shigemura、Koji Iwai、Fumiki Morimatsu、Toshio Mori、Toshio Taira、Eun Young Park、Yasusi Nakamura、Kenji Sato、Growth enhancement of skin fibroblast by food derived collagen peptide in human blood、ISNFF (The International Society for Nutraceuticals and Functional Foods) 2008、2008年11月16日、Green Laurel Hotel Taichung、Taiwan、

重村泰毅、食事由来コラーゲンペプチドが皮膚線維芽細胞増殖におよぼす影響、第6回高付加価値食品開発のためのフォーラム、2008年9月25日、富士教育研修所

<u>
重村泰毅</u>、佐藤健司、食事由来主要コラーゲンペプチド (Pro-Hyp、 Hyp-Gly)がマウス皮膚線維芽細胞増殖におよぼす影響、2008 年農芸化学会関西支部会、2008 年 9 月 13 日、京都学園大学

Yasutaka Shigemura, Koji Iwai, Fumiki Morimatsu, Taka-aki Iwamoto, Toshio Mori, Chikako Oda, Toshio Taira, Eun Young Park, Yasusi Nakamura, Kenji Sato, Effect of Prolyl-Hydroxyproline (Pro-Hyp)、 A Food-Derived Peptide in Human Blood、 on Growth of Fibroblast、 IFT (Institute of Food Technologists)2008、2008年7月1日、New Orleans Morial Convention Center New Orleans、 Louisiana、 USA

重村泰毅、岩井浩二、森松文毅、岩本 顕 聰、森俊雄、尾田千佳子、平敏夫、朴恩 榮、中村考志、佐藤健司、食事由来コラーゲンペプチド Pro-Hypのマウス皮膚線維芽細胞増殖への影響、第 62 回栄養食糧学会、2008 年 5 月 3 日、女子栄養大学

〔図書〕(計 0件) 〔産業財産権〕 出願状況(計 2件)

名称: 創傷治療用医薬組成物

発明者: 佐藤健司、重村泰毅、島谷明子、

若本裕晶、

権利者:チッソ株式会社

種類:特許 番号:P-C90184

出願年月日: 2009年2月28日

国内外の別:国内

名称:創傷治療用医薬組成物

発明者: 佐藤健司、重村泰毅、中安清一朗、

陶山真司、中場操子、 権利者: 林兼産業株式会社

種類:特許

番号: PA09303HYK

出願年月日: 2009年3月3日

国内外の別:国内

取得状況(計0件)

名称: 発明者: 権利者: 種号: 番号: 日日: 国内外の別:

〔 その他 〕 ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

重村 泰毅 (Shigemura Yasutaka) 大阪夕陽丘学園短期大学 食物学科助手

研究者番号: 20700613