

(¹ 東京家政大・院・人間生活, ² (株)ニッピ・バイオマトリックス研)

○岩崎優¹, 多賀祐喜², 楠畑雅², 林田治², 水野一乗², 佐藤吉朗¹, 重村泰毅¹

【目的】我々は、近年、コラーゲンペプチド摂取後のヒト血中から、コラーゲンに特有のヒドロキシプロリン(Hyp)を含有する環状ペプチドとして、cyclo(Pro-Hyp)を始めとした 7 種類の環状ペプチドを検出した。これらは被験者が摂取する前のコラーゲンペプチド中にはほとんど含まれていないことから、鎖状ペプチドが体内で環状化したと考えられる。本研究では、鎖状ペプチドが消化酵素で分解される際に環状化していると予想し、2 種類の消化酵素を用いてコラーゲンペプチドの人工消化実験を行い、環状ペプチドが生成されるかを調べた。

【方法】本研究では、ペプチドの末端のアミノ酸を切断する、ロイシンアミノペプチダーゼとカルボキシペプチダーゼを用いて、コラーゲンペプチドの人工消化を行った。コラーゲンペプチドにパンクレアチンを添加し、37℃、14h で部分的に分解した後、ロイシンアミノペプチダーゼまたはカルボキシペプチダーゼ B を 37℃で反応させた。反応 1, 3, 6 時間後の試料は、100℃、5 分で酵素を失活させた。試料中のヒドロキシプロリン(Hyp)含有鎖状及び環状ペプチドは、安定同位体標識ペプチドを用いた内部標準法により LC-MS で定量した。

【結果】パンクレアチン処理後のコラーゲンペプチドをロイシンアミノペプチダーゼで分解後、6 種類の Hyp 含有環状ジペプチドが 10-35 µg/g コラーゲンペプチドまで増加した。中でも cyclo(Leu-Hyp)の増加率が高く、反応 6h 後の濃度は反応前の約 10 倍であった。同時に、Leu-Hyp 等の鎖状ジペプチド 7 種類もロイシンアミノペプチダーゼによる分解で増加した。一方で、カルボキシペプチダーゼ B では、コラーゲンペプチドの分解率が低く、環状ペプチドは増加していなかった。以上より、ロイシンアミノペプチダーゼでコラーゲンペプチドを分解すると Hyp 含有環状ジペプチドが生成することが確認された。この結果から、摂取したコラーゲンペプチドは消化酵素で分解され、その過程で切り出された一部の鎖状ペプチドがロイシンアミノペプチダーゼの作用で環化していると考えられた。