キチン, キトサンの構造, 生体機能およびその代謝

Structures, Biological Functions, and Metabolism of Chitin and Chitosan

 徳安 健 農林水産省食品総合研究所
 Ken TOKUYASU

キチン質（キチン, キトサン）はセルロースに類似した構造の天然多糖であり, アミノ糖を構成単位としていているところに特徴がある. ここでは, キチン質の生体における機能に関して, そのアミノ糖残基およびアミノ基に結合する *N*-アセチル基に注目した知見について解説し, さらに生物界におけるキチン質の代謝とその存在意義について紹介する.

① はじめに

天然高分子は合成高分子と異なり, 数億年にわたる分子進化と生命活動の所産であり, これらを活用する上では生物学的見地からの理解が不可欠である. その中でキチン質はウイルスから人間まで生物界全体にわたり, その存在が“認識”されてきた高分子多糖であることが知られている. ここではキチン質の高分子構造に関する解説のほか, キチン質をその構造体成分として含む生物と, それらを攻撃する生物とが営む活動について紹介し, さらに人類とキチン質との関わりについて併せて解説する.

② キチン質の構造と機能

キチンは *N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) 残基が β -1,4 結合で直鎖状に並んだ高分子であり (図 1), 節足動物等の下等動物や菌類などの外骨格あるいは細胞壁の構成成分として存在し, 一部の例外を除いてほとんどの溶媒に不溶性を示す. 一方, キトサンはキチンが脱アセチル化されたもので, グルコサミン (GlcN) 残基からなる. キトサンは, 天然には糸状菌の一種である接合菌類の細胞壁成分としてのみ存在しているが, 工業的にはカニ, エビの殻より精製したキチンを熱濃アルカリ下で脱アセチル化処理することによって製造されている. しかしながら, 天然に存在するキチンはその一部が脱アセチル化されており, また天然のキトサンについてもアセチル基の一部が残っていると言われており, 現時点ではキチン, キトサンの呼称はあまり厳密なものではない. 一般には脱アセチル化の程度が 70% 以上で希酢酸に可溶性のものをキトサンと呼んでいることが多い.

一方, アセチル基がランダムに分布している部分脱アセチル化キチン (脱アセチル化度 30% 程度¹⁾ から 60%

程度のもの) が水溶性を示すなどのユニークな特性をもつことが知られているが, キチンとキトサンの構造と物性の関係については, 天然から得られる材料の脱アセチル化度とその分布が不均一であることから, いまだ不明な点が多い. それに対して, (1) ウリジン二リン酸 *N*-アセチルグルコサミン (UDP-GlcNAc) を原料とした, 精製合成酵素による *in vitro* でのキチン合成法²⁾, (2) 特殊な 2 糖誘導体から酵素による重合付加反応で GlcNAc 残基のみからなる均一なキチンを合成する手法の開発³⁾ などは, キチン質の構造と物性の関係を究明する上で極めて意義深い. さらに, アセチル基の配置が厳密に制御されたキチン質の合成も試みられており⁴⁾, このような素材の開発によって, 今後はキチン質の物性を理解し, さらに同素材を高度利用する上で極めて重要な基礎的知見が得られてくるものと期待できる.

図 1 セルロース, キチンおよびキトサンの構造

図1に示したように、キチンおよびキトサンの分子構造はセルロースのものと極めて類似している。分子鎖が会合してできる結晶構造もセルロース結晶に近い逆平行鎖のものが主体であり、タンパク質、無機塩あるいはグルカン等と共に強固な構造体を形成することが明らかとなっている。植物が中性糖であるグルコースを単位にして強固なセルロースを合成するのに対して、動物や菌類の細胞壁を構成するキチンの場合は、アミノ糖 GlcN のアミノ基をアセチル CoA でアセチル化した GlcNAc を単位として合成される。さらに接合菌の場合は、重合途中のキチンを自らの脱アセチル化酵素によりグルコサミン残基に戻してから、キトサンとして細胞壁に沈着させるという、かなり複雑な過程を経た合成を行うと推測されている⁵⁾。

ここで、「なぜ、下等動物や菌類はわざわざ窒素原子とアセチル CoA を余分に用いて、植物セルロースのように中性糖でなく、アミノ糖を単位としてキチン質を生合成しているのだろうか」という、キチン質の機能に関する疑問が起こる。緊急時の窒素源の備蓄場所としての役割、または細胞壁に同様に沈着されるグルカン等の高分子とキチンを糖単位の違いで区別することによって、脱皮や細胞伸長時にそれぞれの分子認識を可能とし、代謝制御に役立たせていると考えることもできる。ここで、キチンのアミノ糖残基の存在意義を考察する上で極めて示唆に富む、最近の研究成果を2つ紹介する。

ひとつは、“Substrate Assisted Catalysis”という概念に関するもので、ファミリー18に属するキチナーゼの三次元構造の解析結果をもとに提唱された⁶⁾。一般的な糖質分解酵素は、グリコシル結合の切断によって還元糖残基となる側の糖残基の1位炭素を求核攻撃し、反応中間体を安定化させる働きをもつ、“General Base”と呼ぶ酸性アミノ酸残基が存在するが、上記キチナーゼはこれに相当するアミノ酸残基を欠いている。代わりに基質の GlcNAc 残基に付いている *N*-アセチル基のカルボニル酸素がその GlcNAc 残基の1位炭素を求核攻撃し、オキサゾリン環の形をとることによって反応中間体を安定化させると推論している。このように、キチンはその分子中に、自らの加水分解を助ける機能をもつ官能基として *N*-アセチル基を導入している可能性が示唆された。

いまひとつは、キチン内のアセチル基を意図的に脱離することがスイッチとなって、細胞壁の構造に変化を起こすという説であり、酵母の子嚢胞子中のキチンに対して作用するキチン脱アセチル化酵素の研究から明らかとなった⁷⁾。子嚢胞子中では、キチンのアセチル基を酵素的に脱離することによって、GlcNAc 残基をプラス荷電の GlcN 残基に変換する。これに疎水性領域をもつジチロシンと呼ばれる物質が結合し、種々のストレスに対する

子嚢胞子の耐性が賦与されるという結論が導かれた。

一方、一度はキチンを合成しながらも、それを脱アセチル化し、キトサンを沈着させる接合菌類については、キチン脱アセチル化酵素が生育段階初期から一定量が生産されていることから、一般的には外敵の産生するキチナーゼに対する耐性を細胞壁に賦与するためではないかと考えられている。しかしながら、先述した酵母由来のキチン脱アセチル化酵素とのアミノ酸配列のホモロジーが高いことから、類似した役割が今後報告される可能性は否定できない。

それに対して、植物病原菌であるコレトリカム属不完全菌が植物体感染時に誘導生産するキチン脱アセチル化酵素は、植物体への侵入の際に自らの菌糸のキチンを脱アセチル化することによって、植物由来のキチナーゼによる分解を防ぐ役割を果たすという見方が有力となっている⁸⁾。コレトリカム・リンデムチアナム ATCC 56676 株より精製した同酵素の特性を詳細に調べた結果、フィードバック阻害を受ける接合菌由来のものと異なり、反応生成物である酢酸による阻害作用がほとんど見られないこと⁹⁾や、酵素タンパクの分子量やアミノ酸配列が接合菌由来のものと大幅に異なること¹⁰⁾などから、その役割が接合菌由来のキチン脱アセチル化酵素と異なることが予想される。今後は、植物防疫の立場から、病原菌が感染時に生産する本酵素の生理学的意義を解明することが必要である。

先述したように、一般的な天然キチンも数パーセントは脱アセチル化されているといわれている。糖質の *N*-アセチル基は全体あるいはその一部分が脱離することによってその存在意義があるという仮説は、キチン質のみならず、細菌のペプチドグリカン¹¹⁾や動物のヘパラン硫酸¹²⁾等についても示唆されており、アミノ糖を含む高分子を理解する上で見落とすことができない要素となっている。

③——キチン質の代謝

冒頭にキチン質が極めて多種の生物によって“認識”されていると記したが、これは、キチン質をまとった生物に対して作用し、影響を及ぼす酵素系を備えている生物が極めて多岐にわたり、その目的も多様であることを意味する。表1にその代表的な数例を示し、以下に個別に解説を行う。

3-1. キチン質の生合成

キチン合成酵素は UDP-GlcNAc を供与体として、GlcNAc 残基を受容体 (GlcNAc, キトデキストリン, キチンなど) に次々と付加させることによってキチンを合成する酵素である。一般に活性発現は Mg イオンを要求し、糸状菌由来の酵素は不活性チモーゲン型からプロテ

表1 キチンに関連する生命現象の例と関係する酵素系

現 象	影響を与える生物 (例)	影響を受ける生物 (例)	関係する酵素系
キチン質の生合成	昆虫, 糸状菌など	—	キチン合成酵素系, キチン脱アセチル化酵素 (キトサン生合成)
脱 皮	昆虫など	—	キチン合成酵素系 キチン分解酵素系
植物の生体防御	高等植物など	病原性糸状菌など	キチナーゼ
動物の生体防御	人間など	病原性糸状菌など	リゾチーム, キチナーゼ
細胞壁の溶解と細胞内への侵入	ウイルスなど	昆虫など	キチナーゼ
キチン質の資源化	細菌など	糸状菌細胞壁など	キチン分解酵素系, キトサナーゼ

アーゼ処理を経て活性化することが知られている。1993年に初めて接合菌のキトソーム画分からの精製例が報告された²⁾。一方、接合菌の細胞壁を構成するキトサンは、UDP-GlcNが供与体となるのではなく、生合成途上にあるために結晶化が不完全なキチン分子が、キチン脱アセチル化酵素の作用を受けることにより合成されたと考えられている。

3-2. 脱皮

甲殻類や昆虫のキチンは剛直性に富み、外界からの攻撃に対して頑丈な外骨格を構成するが、一方で伸展性に欠けることから生物体が成長する際にキチンはいったん分解を受け、成長した身体に合わせて再構築されるという、いわゆる脱皮過程を経る。この時には細胞壁のキチナーゼ (エンド型)、 β -N-アセチルヘキソサミニダーゼ (エキソ型) 等のキチン分解系による低分子化と、キチン合成酵素系による新規細胞壁の構築とが時間的・空間的に厳格な調節を受けながら進行することが不可欠である。一方、昆虫の脱皮や真菌類の細胞壁キチン質の代謝回転をキチナーゼ活性を阻害することによって制御する目的で、阻害剤の探索が行われた結果、放線菌の代謝産物からアロサミジンが見いだされた¹³⁾。この化合物は甲殻類、昆虫や菌類、細菌等のキチナーゼに対して広く阻害効果を示すが、植物キチナーゼに対しては阻害作用が見られないことが報告されている¹⁴⁾。

3-3. 植物の生体防御

植物病原菌の侵入に対して植物が誘導するキチナーゼに関する研究は、学術的見地のみならず、植物防疫上の重要性からも精力的に行われている。これまでに、植物体に侵入した菌体の細胞壁あるいは植物体の細胞壁の分解物が防御機構誘導の引き金 (エリシター) となって、キチナーゼ等の防御酵素系が誘導発現することが明らかとなっている。特に、イネに関してはキチンオリゴ糖のエリシター活性が詳細に調べられている¹⁵⁾。近年、遺伝

子工学技術を活用してキチナーゼ遺伝子を植物体に導入し、形質転換植物の微生物抵抗性を増す試み¹⁶⁾がなされており、農作物栽培・育種分野への応用が期待されている。

3-4. 動物の生体制御

細菌細胞壁溶解酵素のリゾチームがキチンを基質とすることが明らかになっており、真菌類に対する生体防御機構の一翼を担っていることが予想された。一方、1995年になって、ヒトの白血球および血清からキチナーゼ活性が検出され¹⁷⁾、広い抗菌スペクトルをもつリゾチームのほかにもキチンを特異的に分解する生体防御機構が存在することが示唆された。また、キチンは生体適合性が高く、しかも徐々にリゾチームによって分解されるという特性をもつことから、創傷保護材や縫合糸などの医療材料¹⁸⁾としてキチン質の製品化がなされている。さらに、種々の動物に対するキチン質の親和性についても詳しく調べられており¹⁹⁾、副作用がない創傷保護材としての用途開発がなされている。

3-5. 細胞壁の溶解と細胞内への侵入

藻類²⁰⁾や昆虫²¹⁾へ感染するウイルスや酵母キラー・キシンをコードするプラスミド²²⁾がキチナーゼ様遺伝子をもつ例が報告されており、宿主細胞壁成分であるキチンの分解によって細胞内部への侵入や毒素注入、あるいは感染宿主からのウイルス放出に寄与していると推定されている。また、昆虫を捕食するクモ²³⁾や感染を行う昆虫病原菌²⁴⁾が分泌する消化液にキチン分解酵素系が含まれているという報告もなされている。

3-6. キチン質の資源化

キチンを唯一炭素源およびエネルギー源としたプレートに、土壌あるいは河川水・海水等の採集サンプルを撒くと、無数の細菌および真菌が生育する。一説にはセルロースに匹敵する年間100億トンもの生物生産量を誇る²⁵⁾といわれるキチン質は、おもにこのようなキチン分

解菌による生物遺体の資源化を通じて物質循環されると考えられる。キチン質の資源化は、キチナーゼ、キチン脱アセチル化酵素、キトサナーゼ、 β -N-アセチルグルコサミニダーゼ (β -N-アセチルヘキソサミニダーゼ)、 β -グルコサミニダーゼ、アセチルグルコサミン脱アセチル化酵素等がかかわっており、多くの微生物についてそれぞれの酵素が精製され、特性が解明されている²⁶⁾。

④—展 望

生物界においてキチン質がどのような役割を果たし、どのように代謝されるのかについて、これまでの知見を簡単に紹介したが、詳しくは優れた総説²⁷⁾、解説書²⁸⁾、²⁹⁾等を参考にしていただきたい。一方、キチン質を天然高分子素材として活用する上での利点としては、(1)キチン質がアミノ糖のポリマーであることから、N-アセチル基を取り除いたキトサンは高分子電解質となり、凝集剤や合成原料等種々の用途が考えられる、(2)キチンはリゾチーム等によって分解を受けることから、生体に対して適合性が高い素材となる、(3)廃棄物資源等から回収される動物性バイオマスとして大量に調製が可能である、(4)生分解性が高く、環境への負荷が少ない、等が挙げられる。キチン質の構造と役割を理解することによってその特性を活かし、生物界におけるキチン質の挙動を解明することによって、農学、医学、薬学、化学工業、環境科学等の分野におけるキチン質の高次活用へと道が拓けるものと考えられる。

文 献

- 菊地数晃, 郭 暁風, 又平芳春, 坂井和男, 小川宏蔵: 第10回キチン・キトサン・シンポジウム講演要旨, (1996) p. 140
- S. Machida, M. Saito: *J. Biol. Chem.*, **268**, 1702 (1993)
- S. Kobayashi, T. Kiyosada, S. Shoda: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 13113 (1996)
- 北川由樹, 徳安 健, 森 隆, 林 清, 西田芳弘, 小林一清: 1998年度農芸化学会大会講演要旨集 (1998)
- C. Calvo-Mendez, J. Ruiz-Herrera: *Exp. Mycol.*, **11**, 128 (1987)
- I. Tews, A. C. T. Scheltinga, A. Perrakis, K. S. Wilson, B. W. Dijkstra: *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 7954 (1997)
- A. Christodoulidou, V. Bouriatis, G. Thireos: *J. Biol. Chem.*, **271**, 31420 (1996)
- J. Siegrist, H. Kauss: *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **36**, 267 (1990)
- K. Tokuyasu, M. Ohnishi-Kameyama, K. Hayashi: *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60**, 1598 (1996)
- 徳安 健, 荒木田昌子, 森 隆, 濱松潮香, 林 清: 1998年度農芸化学会大会講演要旨集 (1998)
- Y. Araki, S. Fukuoka, S. Oba, E. Ito: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **45**, 751 (1971)
- T. Toida, H. Yoshida, H. Toyoda, I. Koshiishi, T. Imanari, R. E. Hileman, J. R. Fromm, R. J. Linhardt: *Biochem. J.*, **322**, 499 (1997)
- S. Sakuda, A. Isogai, S. Matsumoto, A. Suzuki: *J. Antibiot.*, **40**, 296 (1987)
- D. Koga, A. Isogai, S. Sakuda, S. Matsumoto, A. Suzuki, S. Kimura, A. Ide: *Agric. Biol. Chem.*, **51**, 471 (1987)
- N. Shibuya, H. Kaku, K. Kuchitsu, M. J. Mailarik: *FEBS Lett.*, **329**, 75 (1993)
- K. Broglie, I. Chet, M. Holliday, R. Cressman, P. Biddle, S. Knowlton, C. J. Mauva: *Science*, **254**, 1194 (1991)
- G. M. Escott, D. J. Adams: *Infect. Immun.*, **63**, 4770 (1995)
- 本船絃爾: キチン, キトサンハンドブック, キチン, キトサン研究会編, 技報堂出版 (1995) p. 324
- Y. Okamoto, S. Minami, A. Matsushashi, H. Sashiwa, H. Saimoto, Y. Shigemasa, T. Tanigawa, Y. Tanaka, S. Tokura: *J. Vet. Med. Sci.*, **55**, 743 (1993)
- T. Yamada, S. Hiramatsu, P. Songsri, M. Fujie: *Virology*, **230**, 361 (1997)
- Z. Lu, Y. Li, Q. Que, G. F. Kutish, D. L. Rock, J. L. Van Etten: *Virology*, **216**, 102 (1996)
- A. R. Butler, R. W. O'Donnell, V. J. Martin, G. W. Gooday, M. J. Stark: *Eur. J. Biochem.*, **199**, 483 (1991)
- T. P. Mommsen: *Comp. Biochem. Physiol.*, **60A**, 371 (1978)
- F. Ishikawa, K. Oishi, K. Aida: *Agric. Biol. Chem.*, **45**, 2361 (1981)
- 平野茂博: 化学と生物, **21**, 635 (1983)
- 大宝 明: 最後のバイオマス—キチン・キトサン, キチン, キトサン研究会編, 技報堂出版 (1988) p. 189
- G. W. Gooday: キチン・キトサン研究, **3**, 233 (1997)
- キチン, キトサン研究会編: 最後のバイオマス—キチン・キトサン, 技報堂出版 (1988)
- キチン, キトサン研究会編: キチン, キトサンハンドブック, 技報堂出版 (1995)

徳安 健 農林水産省食品総合研究所資源素材化研究室 (305-8642 つくば市観音台 2-1-2) 農林水産技官
1987年東京大学農学部林産学科卒,
1989年同大学院農学系研究科修士課程修了, 1993年より食品総合研究所勤務。専門は微生物工学, 酵素工学。〈趣味〉水泳 (水球), 散歩。