機能性成分としての糖質とその利用

Carbohydrates as nutraceuticals and their applications

太陽化学(株)総合研究所

レカ・ラジュ・ジュネジャ Lekh Raj JUNEJA

佐々木 賢 Ken SASAKI

Key words: egg yolk; sialyloligosaccharides; influenza virus; partially hydrolyzed guar gum (PHGG); short chain fatty acid (SCFA)

はじめに

従来、糖質は炭水化物としての栄養源、あるいは砂糖に代表される甘味源として利用されてきた。しかし近年、食物繊維が血糖値調節作用、血中脂質改善作用、整腸作用などの生体調節機能を有することが明らかとなり、機能性成分としての糖質の利用が注目されている。また、糖鎖の合成技術および構造解析法の進歩に伴い、生理活性分子としての糖鎖の重要な役割が次々と解明されている。生体内にはさまざまな糖鎖がタンパク質や脂質に結合して存在しており、これらの糖鎖を介して細胞間の情報伝達、免疫応答、細胞の増殖・分化、レセプター機能の調節、およびウイルス・細菌・細菌毒素との接着など生命現象に深く関与していることが明らかにされている¹⁾。本稿では、われわれが日常食している鶏卵と豆類由来の糖質に関して、医薬用途そして機能性食品用途への可能性について紹介したい。

1. 鶏卵由来シアリルオリゴ糖

鶏卵にはさまざまな糖鎖がタンパク質や脂質に結合した状態で存在している。1970年代に木幡ら²⁾が卵白アルブミ

ンに結合している全糖鎖構造を決定したのをはじめとしてオボムコイド、オボトランスフェリン、ホスピチン、リボフラビン結合タンパク質、鶏卵抗体(IgY)などの鶏卵中の糖タンパク質の糖鎖構造が明らかにされてきた³⁾。筆者らは、これまでに糖鎖、特にシアリルオリゴ糖の供給源として鶏卵卵黄に着目し、大量調製法や生理活性を検討してきた。その過程で卵黄中にはN-結合型のシアリルオリゴ糖ペプチド(SGP)および遊離のシアリルオリゴ糖(YDS)が存在していることを確認した⁴⁾。これらの糖鎖構造を解析した結果、SGPおよびYDSは、ともにシアリ酸が $\alpha 2 \rightarrow 6$ でガラクトースに結合した複合型2分岐糖鎖であり、また、SGPのアミノ酸配列はLys-Val-Ala-Asn-Lys-Thrであった(図1)。特に、SGPは卵黄1個当たり約8 mg (2.8 μ mol)含有している。卵黄中の主要なタンパク質である低密度リポタンパク質(LDL)、 α -、 β -リポビテリンの含有量がそれぞれ1.4, 1.5, 2.5 μ molであることから、SGPは卵黄の主要な構成成分の一つであると考えられる。SGPはアクチナーゼあるいはN-グリカナーゼで分解することにより、それぞれYDS-Asn, YDSとなり、これらは以下に述べるようにさまざまな用途に利用できる。

細菌やウイルスは細胞表面の糖鎖を認識・結合し感染する。例えば、インフルエンザA,B型ウイルスは宿主の受容体へ結合するヘマグルチニンとその受容体破壊酵素である

シアリルオリゴ糖(YDS)

シアリルオリゴ糖ペプチド(SGP)

図1 卵黄中のシアリルオリゴ糖およびシアリルオリゴ糖ペプチドの構造

図2 インフルエンザウイルス阻害効果を示す糖鎖誘導体
(2) $n=700$

ノイラミニダーゼと呼ばれている2種類のスパイク糖タンパク質をもち、ヘマグルチニンはシアル酸を含有する特定の糖鎖構造を受容体として認識していることが判明している⁵⁾。YDSおよびSGPは、非還元末端にシアリル *N*-アセチルラクタサミン構造 (NeuAc α 2 $\rightarrow$ 6Gal β 1 $\rightarrow$ 4GlcNAc-) を有しており、インフルエンザウイルスの感染阻害剤としての利用が期待されている。小林らは末端に α -グルコースを有するトリスビピリジニルテニウム錯体を構築し⁶⁾、これに *Mucor hiemalis* 由来のエンド β -*N*-アセチルグルコサミニダーゼ (エンド-M) の糖鎖転移活性⁷⁾を利用して YDS-Asn の糖鎖を1個および2個結合させた YDS-Ru 複合体 (YDS₁-ΔRu, YDS₂-ΔRu) を合成した⁸⁾。図2(1)に YDS₁-ΔRu の構造を示した。これらの複合体はA型インフルエンザウイルス (A/Memphis/1/71) に対し非常に高い親和性を示し、YDS₁-ΔRu および YDS₂-ΔRu の IC₅₀ はそれぞれ 19 μ M, 8.4 μ M であった。さらに、これら複合体はウイルスが結合すると蛍光強度が減少するという特性をもち、優れたウイルスセンサーとしての機能を有していることが確認された。Bovin らは複数の YDS をポリアクリルアミドに結合させた糖鎖クラスター物質 (PAA-YDS) を作成し (図2(2))、*in vitro* でのインフルエンザウイルス接着阻害試験で、クラスター化することにより阻害効果が100倍以上上昇することを確認した⁹⁾。さらに、マウスを用いた試験では、PAA-YDS をウイルスを感染させる30分前あるいは10分後に鼻腔内に単回投与することにより、死亡率が低下することも報告されている

($p < 0.01$)¹⁰⁾。この結果はクラスター化された YDS がウイルスに対し *in vivo* で感染阻害効果を示したものであり、糖鎖を利用した医薬品開発の一つの方向性を示すものと考えられる。

生体内に存在する糖鎖の構造には多様性がある。それらの糖鎖の機能を解明するためには、さまざまな糖鎖を単一化合物として確保することが重要である。しかし一般的に、糖鎖は生体内に微量しか存在していない。また、類似した構造の糖鎖が多数存在しているため、生体試料より糖鎖を単一化合物として分離することは通常困難である。しかし、SGP は卵黄中に高濃度で存在しているため、糖鎖の供給源として非常に有用である。梶原¹¹⁾はSGPより調製した YDS-Asn を出発原料として *N*-結合型糖鎖誘導体の簡便な合成方法を確立した。すなわち、YDS-Asn の非還元末端からどちらか一方のシアリ酸のみを酸加水分解により除去した後に、糖加水分解酵素を順次作用させさまざまな構造の糖鎖誘導体を調製する方法である。その際、アスパラギン残基に脂溶性の保護基を導入し、逆相 HPLC を使用することで数十〜数百 mg スケールでの分離精製が可能とした。本方法により20種以上の糖鎖誘導体を単一化合物として合成することが可能となり、糖鎖の機能解明に重要な役割を果たすものと考えられる。

2. グアーガム酵素分解物 (PHGG)

近年、食生活の欧米化に伴い、食物繊維の摂取比率が減少している。その結果が糖尿病、高脂血症などの生活習慣病の増加の一因であると指摘されており、食物繊維摂取の必要性が高まっている。食物繊維はその構成糖、結合様式、さらに鎖長の違いにより、物理・化学的特性や生理機能も異なる。グアーガムはグアー豆 (*Cyamopsis tetragonolobus*) の胚乳から精製される高分子多糖類で、マンノースが β 1 $\rightarrow$ 4結合したマンナンを主鎖とし、これに α 1 $\rightarrow$ 6でガラクトースが側鎖として結合している。マンノースとガラクトースの構成比は約2:1である (図3)。これは天然の食物繊維としてさまざまな生理機能が明らかにされている¹²⁾が、高い粘性を有するので、その利用には制限があった。筆者らは β -マンナーゼで限定加水分解することにより食物繊維としての生理機能を保持し、かつ粘度を低下させたグアーガム酵素分解物 (PHGG) を開発した。PHGGは無味無臭で低粘度のため、食品の風味およびテクスチャーを損なうことなく食物繊維を補うことができる有用な水溶性食物繊維である。

食物繊維はヒトの消化酵素で分解されずに大腸に到達する。食物繊維はその種類により腸内細菌によって完全に資化されるものから資化を受けないものまでさまざまであ

図3 グァーガム、グァーガム酵素分解物 (PHGG) の糖鎖構造
グァーガム $n \approx 600$
グァーガム酵素分解物 $n \approx 40$

表1 グァーガム酵素分解物 (PHGG) の生理機能

腸内細菌叢のバランス改善
便秘改善
下痢症状改善
小腸絨毛細胞萎縮改善
ミネラル吸収促進
耐糖能
血中コレステロールおよびトリグリセライド低下

る。大久保¹³⁾は、健康人に1日21gのPHGGを摂取させると、摂取期間中の*Bifidobacterium*属細菌の占有率が増加するとともに、短鎖脂肪酸(SCFA)の増加と糞便pHが低下することを明らかにしている。SCFAは腸内細菌により食物繊維が資化され産生される。Velázquezらは、ヒトの新鮮な糞便を用いて種々の食物繊維およびオリゴ糖を嫌気発酵させ、総SCFAの生成量を調べたところ、PHGGは他の食物繊維やオリゴ糖と比較して総SCFAの産生量が高いことを報告している¹⁴⁾。SCFAは、大腸粘膜から吸収され粘膜細胞のエネルギー源として重要であるとともに、大腸粘膜増殖作用やCa吸収促進といったさまざまな生理機能に関与していることが知られている¹⁵⁾。

2003年に厚生労働省は、「栄養表示基準等の取扱いについて」の一部を改正し、個々の食物繊維についてエネルギー換算係数を設定した¹⁶⁾。PHGGは、大腸に到達して腸内細菌で完全に発酵されるので、2kcal/gと分類される。このエネルギーの由来はSCFAである。すなわち、PHGG

は、短鎖脂肪酸に関連する生理効果が高い食物繊維であると言い換えることができる。SCFAに関連したPHGGの生理機能について述べてきたが、それ以外にも食物繊維は多くの生理機能が見いだされている。現在までに報告されているPHGGの生理機能を表1に示した¹⁷⁾。

本稿では、鶏卵由来シアリルオリゴ糖のインフルエンザウイルス阻害作用への利用、糖鎖誘導体の出発原料としての利用、およびグァー豆由来食物繊維グァーガム酵素分解物の生理機能について報告した。われわれが日常摂取している食品中にはさまざまな糖質が存在している。それらの構造と機能を解明することは農芸化学におけるグライコミクスの重要な課題の一つと考える。

- 1) A. Varki: *Glycobiology*, **3**, 97-130 (1993).
- 2) K. Yamashita, Y. Tachibana, and A. Kobata: *J. Biol. Chem.*, **253**, 3862-3869 (1978).
- 3) M. Koketsu: in "Hen Eggs," ed. by T. Yamamoto, L. R. Juneja, H. Hatta, and M. Kim, CRC Press, New York, 1997, pp. 99-115.
- 4) A. Seko, M. Koketsu, M. Nishizono, Y. Enoki, H. R. Ibrahim, L. R. Juneja, M. Kim, and T. Yamamoto: *Biochim. Biophys. Acta*, **1335**, 23-32 (1997).
- 5) 鈴木康夫, 鈴木 隆: 化学と生物, **35**, 339-345 (1997).
- 6) T. Hasegawa, T. Yonemura, K. Matsuura, and K. Kobayashi: *Tetrahedron Lett.*, **42**, 3989-3992 (2001).
- 7) K. Yamamoto, S. Kadowaki, J. Watanabe, and H. Kumagai: *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **203**, 244-252 (1994).
- 8) S. Kojima, T. Hasegawa, T. Yonemura, K. Sasaki, K. Yamamoto, Y. Makimura, T. Takahashi, T. Suzuki, Y. Suzuki, and K. Kobayashi: *Chem. Commun.*, **11**, 1250-1251 (2003).
- 9) A. B. Tuzikov, A. S. Gambaryan, L. R. Juneja, and N. V. Bovin: *J. Carbohydr. Chem.*, **19**, 1191-1200 (2000).
- 10) A. S. Gambaryan, A. B. Tuzikov, A. A. Chinarev, L. R. Juneja, N. V. Bovin, and M. N. Matrosovich: *Antiviral Res.*, **55**, 201-205 (2002).
- 11) 梶原康宏: 第23回日本糖質学会年会要旨集, pp. 1-2 (2002).
- 12) 大和谷和彦: "食物繊維の科学", 辻 啓介, 森 文平編, 朝倉書店, 1997, pp. 67-73.
- 13) T. Okubo, N. Ishihara, H. Takahashi, T. Fujisawa, M. Kim, T. Yamamoto, and T. Mitsuoka: *Biosci. Biotechnol. Biochim.*, **58**, 1364-1369 (2000).
- 14) M. Velázquez, C. Davis, R. Maret, J. L. Slavin, and M. Feirtag: *Anaerobe*, **6**, 87-92 (2000).
- 15) 原 博: バイオサイエンスとインダストリー, **55**, 255-260 (1997).
- 16) 厚生労働省医薬局食品保健部, 食新発第0217002号
- 17) 阪中専二, 余川丈夫, L. R. ジュネジャ: *BIO INDUSTRY*, **18**, 29-35 (2001).