食用きのこ類子実体のヘテロガラクトン

志田万里子[§], 酒井望美

山梨学院短期大学

Heterogalactans Obtained from Some Typical
Edible MushroomsMariko Shida[§] and Nozomi SakaiYamanashi Gakuin Junior College,
2-4-5, Sakaori, Kofu, Yamanashi 400-8575

Eight distinct heterogalactans were extracted with 3% trichloroacetic acid followed by fractional alcoholic precipitation with methanol and Cetavlon from 8 species of Japanese edible mushrooms (*Flammulina velutipes*, *Hypsizigus marmoreus*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus eryngii*, *Agaricus bisporus*, *Agaricus blazei*, *Grifola frondosa*, *Hericium erinaceum*). On complete acid hydrolysis of these heterogalactans, D-galactose, D-mannose, and L-fucose were confirmed as common constituents. By applying partial acid hydrolysis, galactobiose and galactotriose were identified. These results reveal that all of these heterogalactans should contain α -1,6 linked D-galactan backbone. The molar-ratio of component sugars in each heterogalactans was quite different from species to species. In aspect of the molar-ratio of component sugars, we classified these heterogalactans into following 4 types. Type 1: fucose free, mainly contain mannogalactan; Type 2: mannose and fucose-rich (each 30~60% of galactose content); Type 3: intermediate amount of fucose (10~20% of galactose content) and intermediate amount of mannose (5% of galactose content); Type 4: mannose free, mainly contain fucogalactan. Though we could not detect type 4 in Agaricales, another type of heterogalactans; type 1 was not detected in Aphyllophorales.

(Received Mar. 29, 2004; Accepted Jul. 9, 2004)

きのこはほとんどが担子菌類に属し、食物繊維を多く含み、多糖含量が乾物量の半分以上を超えるものも多い。きのこの多糖は β -グルカン類を中心に α -グルカン、キチンなどを含み、野菜のセルロースやヘミセルロース、果物のペクチンとは異なっており、その生理効果が注目されている。

ヘテロガラクトン (HG) はきのこ類から容易に抽出される多糖で、D-ガラクトース (Gal), D-マンノース (Man), L-フコース (Fuc) が主な構成糖である。これまでタコウキン (多孔菌) 科 (Polyporaceae) のきのこを中心に^{1)~3)}に、著者らの報告した食用菌のシイタケ (*Lentinula edodes*)⁴⁾やフクロタケ (*Volvariella volvacea*)⁵⁾にも見出

されている。

本報告では容易に入手できる8種の食用きのこ類を取りあげ、HGがこれらに共通して存在することを示した。また、構成糖の分析結果からその構造が少しずつ異なることを明らかにしたので報告する。

1. 実験方法

(1) 試料

8種類の食用きのこ類を試料とした。エノキタケ (*Flammulina velutipes*)、ブナシメジ (*Hypsizigus marmoreus*)、ヒラタケ (*Pleurotus ostreatus*)、エリンギ (*Pleurotus eryngii*)、ツクリタケ (*Agaricus bisporus*)、マイタケ (*Grifola frondosa*)、ヤマブシタケ (*Hericium erinaceum*)の7種類は市場より新鮮なものを購入し、カワリハラタケ (別名アガリクス茸) (*Agaricus blazei*) は甲斐きのこ組合 (韭崎市穴山町) から提供された。通常食用に供する部分をスライスして凍結乾燥後、ミルで細砕した。

(2) 子実体から多糖の抽出と分画

きのこ乾燥粉末 50 g に 20 倍容の 3% 冷トリクロ酢酸 (TCA) 溶液を加え、4℃で一晩攪拌後、遠心して上清を集めた (同操作を3回)。3回分の上清を合一し、流水で透析して酸を除いた後、約 300 ml まで濃縮した。ついで濃縮液に同容量のメタノールを加え、生じた沈殿 (50% メタノール沈殿) は一晩放置後、遠心で集めた。沈殿を除いた上清にはさらに濃縮液の3倍容になるまでメタノールを追加し、ここで生じた沈殿 (75% メタノール沈殿) も遠心で集めた。各沈殿はメタノール、エーテルで洗浄、乾燥した。

セタブロン分画⁶⁾では多糖の5%溶液に、同容量の5%セタブロン (セチルトリメチルアンモニウムブロミド) 溶液と pH 8.0 の 0.1 mol/l ホウ酸緩衝液を加えた。生じた沈殿は遠心で集め、少量の 2 mol/l 酢酸に溶解した。次いでメタノールを加えて多糖を沈殿させ、常法に従い乾燥粉末を得た。

(3) 多糖の構成糖分析と酸部分分解

構成糖の分析では多糖に 0.5 mol/l の硫酸を加えて 100℃、4 時間完全水解した。生成した単糖は水素化ホウ素ナトリウムで還元し、ついで糖アルコールのトリフルオロアセチル誘導体として⁷⁾ GLC で分析した。GLC は島津 GC-12A で行い、ガラスカラム (0.4×160 cm) に Silicone DC QF-1 on Chromosorb W を充填、温度: 128℃、検出: FID、キャリアーガス: ヘリウムの条件で行った。

多糖の酸部分分解は多糖に 0.2 mol/l の塩酸を加えて 100℃で行った。30 分、60 分、100 分の3通りの分解時間を試み、オリゴ糖生成量が多かった 60 分を採用した。オリゴ糖の検出は PPC と HPLC によった。PPC は展開溶媒 n-ブタノール: 酢酸: 水 = 4: 1: 5 (上層)、ろ紙は Toyo No. 50 (25×20 cm) を用い、上昇法で 4 回展開した。発色は硝酸銀試薬によった。HPLC は島津 LC-9A により行い、カラム: Shim-pack CLC-NH₂ (6.0×150

〒400-8575 山梨県甲府市酒折 2-4-5

[§] 連絡先 (Corresponding author), shida@ygu.ac.jp

mm), 移動相: 75% アセトニトリル/水 (1 ml/min), カラム温度: 30°C, 検出器: 示差屈折計の条件で行った。

2. 実験結果および考察

きのこ類を TCA, 熱水, アルカリ等で順次抽出していくと, 含まれる多糖をある程度分画できる。今回用いた TCA 抽出は, 熱水よりもさらに穏和な条件での抽出であり, 細胞のもっとも外側の多糖が溶出してくると思われる。また, TCA はタンパク沈殿剤でもあるので, TCA 抽出画分はタンパク質含量が少ないのが特徴である。きのこ類多糖の主成分である β -1,3 グルカン等の β -グルカンは, TCA 抽出残渣をさらに熱水やアルカリによって抽出することで得られる。

8 種類の食用きのこ類を TCA で抽出し, 抽出液中の多糖を 50% および 75% のメタノール濃度で分画沈殿した。両画分の構成糖を分析したところ, いずれのきのこでも HG は 75% メタノール沈殿に多く含まれていた。この画分にはグリコーゲン様多糖も一部 (大部分は 50% メタノールで沈殿する) 含まれるので, ホウ酸緩衝液の存在下で pH を変化させながらセタブロン分画を行ったところ, pH 8.0 で HG が選択的に沈殿した。表 1 にセタブロン分画した多糖の構成糖比 (モル比) を示した。いずれも Gal がもっとも多く含まれ (46~83%), ほかに Man と Fuc が検出されたが, その量はきのこの種類によってさまざまであった。また, L-ラムノース (Rha) も少量検出された。D-グルコース (Glc) がごく少量残ったものもあったが, セタブロン処理を繰り返せば完全に抜けると思われるので

表 1 からは省いた。

これまで報告されている HG の基本構造は, 著者らが報告したシイタケ⁴⁾をはじめとして, α -1,6 結合のガラクトン主鎖に Fuc や Man の側鎖を持つものが多い。今回得た 8 種類のセタブロン精製 HG も同様な基本構造を持つことを確認するため, 酸部分分解を行った。図 1 に酸部分分解物の PPC を示した。標準糖にはシイタケ HG から得た α -1,6 結合のガラクトビオースとガラクトトリオース⁴⁾を用いた。いずれのきのこでも濃淡はあるものの, 2 つのオリゴ糖と同じ Rf の位置にスポットが検出された。さらに部分分解物を HPLC で調べたところ (図 2), いずれも前述の 2 つのオリゴ糖と同一の保持時間にピークが検出され, これらが α -1,6 ガラクトシル結合の主鎖を共通して持つことが推定された。

以上の結果から, 今回用いた 8 種のきのこ類には Gal を主な構成糖とし Man と Fuc を含む HG が共通して存在することが分った。これらの HG を構成糖の比から 3 つのタイプに分けた。① Fuc がほとんど存在せず, Man が Gal のほぼ半量のマンノガラクトンである。ここではヒラタケ, エリンギが該当する。② Man および Fuc が多く, それぞれ Gal の 30~60% であった。エノキタケ, ブナシメジ, マイタケが該当する。③ Fuc, Man は少ない。Fuc は Gal の 10~20%, Man は 5% 程度。ツクリタケ, カワリハラタケ, ヤマブシタケが該当する。

本報告で取り扱ったきのこ類の分類⁹⁾と, これらの HG タイプの関連を表 2 にまとめた。さらに, これまでに HG

表 1 セタブロン精製ヘテロガタクトンの構成糖比

キノコ名	学 名	HG 量 (%) [*]	構成糖 (モル%) ^{**}			
			Fuc	Rha	Man	Gal
エノキタケ	<i>Flammulina velutipes</i>	0.35	21.6 (0.36)	—	18.7 (0.31)	59.7 (1.00)
ブナシメジ	<i>Hypsizigus marmoreus</i>	0.52	19.4 (0.34)	2.5 (0.04)	21.1 (0.37)	57.1 (1.00)
ヒラタケ	<i>Pleurotus ostreatus</i>	0.50	1.9 (0.03)	2.5 (0.04)	29.9 (0.46)	65.7 (1.00)
エリンギ	<i>Pleurotus eryngii</i>	0.28	2.3 (0.04)	1.2 (0.02)	34.5 (0.56)	62.1 (1.00)
ツクリタケ	<i>Agaricus bisporus</i>	0.43	10.6 (0.13)	1.3 (0.02)	5.5 (0.07)	82.7 (1.00)
カワリハラタケ	<i>Agaricus blazei</i>	0.41	17.9 (0.23)	—	4.3 (0.06)	77.7 (1.00)
マイタケ	<i>Grifola frondosa</i>	0.21	23.8 (0.51)	2.9 (0.06)	26.6 (0.57)	46.7 (1.00)
ヤマブシタケ	<i>Hericium erinaceum</i>	0.68	16.6 (0.23)	7.6 (0.11)	3.9 (0.05)	71.8 (1.00)
シイタケ ***	<i>Lentinula edodes</i>	0.46	17.6 (0.25)	—	12.6 (0.18)	69.8 (1.00)

* HG 量は 75% メタノール沈殿からグルカン分を差し引いた量 (%) を記載 (対乾物重)。

** 括弧内の数字はガラクトースを 1 としたときの他の糖の割合を示す。

*** シイタケは著者らの既報の試料を再分析。

の存在が知られているきのこでのデータも加えた。これらのきのこはいずれも担子菌亜門 (Basidiomycotina), 真正担子菌綱 (Eubasidiomycetes), 帽菌亜綱 (Hymenomycetidae) に属し, さらにハラタケ目 (Agaricales) とヒダナシタケ目 (Aphylllophorales) に分類される。HG のタイプは①～③は上述の分け方に従った。④は今回取りあげたきのこにはないが, Man を含まないフコグラクタンである。ここで示した範囲では, ハラタケ目には④のタイプが, またヒダナシタケ目には①のタイプがないのが特

図 1 ヘテログラクタン部分分解物の PPC
(オリゴ糖部分のみを表示)

ろ紙, ADVANTEC No. 50 (25×20 cm). 展開溶媒, n-ブタノール:酢酸:水=4:1:5 (上層), 4回展開。① ラミナリビオース ② エノキタケ ③ ブナシメジ ④ ヒラタケ ⑤ エリンギ ⑥ ツクリタケ ⑦ カワリハラタケ ⑧ マイタケ ⑨ ヤマブシタケ ⑩ シイタケ ⑪ 標準 α -1,6 ガラクトビオース ⑫ 標準 α -1,6 ガラクトトリオース

図 2 ヘテログラクタン部分分解物の HPLC
(オリゴ糖部分のみを表示)

Gal 2 は標準 α -1,6 ガラクトビオース, Gal 3 は標準 α -1,6 ガラクトトリオースの溶出位置を表わす。カラム: Shim-pack CLC-NH₂ (6.0×150 mm), 移動相: 75% アセトニトリル/水 (1 ml/min)。① シイタケ ② カワリハラタケ ③ ツクリタケ ④ エノキタケ ⑤ ヤマブシタケ ⑥ ブナシメジ ⑦ マイタケ ⑧ ヒラタケ

表 2 きこの分類とヘテログラクタンタイプの関連

科	属	キノコ名	タイプ
ハラタケ科	ハラタケ属	ハラタケ	①
	ハラタケ属	エリンギ	①
	マツオウジ属	シイタケ	②または③ ¹⁾
ハラタケ目	キシメジ科	ブナシメジ	②
	エノキタケ属	エノキタケ	②
	ナラタケ属	ナラタケ	②または③ ⁸⁾
ウラベニガサ科	フクロタケ属	フクロタケ	① ⁵⁾
ハラタケ科	ハラタケ属	ツクリタケ	③
	ハラタケ属	カワリハラタケ	③
サンゴハリタケ科	サンゴハリタケ属	ヤマブシタケ	③
ヒダナシタケ目	タコウキン科	マイタケ	②
	ツガサルノコシカケ属	ツガサルノコシカケ	②と④ ³⁾
	タマショレイタケ属	アミハラタケ	④ ¹⁾
	ツリガネタケ属	ツリガネタケ	②または③ ²⁾
	マンネンタケ科	マンネンタケ	④ ¹¹⁾
	コフキサルノコシカケ属	コフキサルノコシカケ	②と④ ¹²⁾

① 構成糖として Fuc をほとんど含まず (マンノグラクタンが主)。② Man, Fuc が多く, Gal の 30~60%。③ Fuc は Gal の 10~20%, Man は Gal の 5% 程度。④ Man をほとんど含まず (フコグラクタンが主)。

徴である。

Usui らはツガサルノコシカケ (*Fomitopsis pinicola*), コフキサルノコシカケ (*Ganoderma applanatum*), マンネンタケ (*Ganoderma lucidum*) でセタブロン沈殿により精製した HG をさらに Con A-Sepharose カラムで分画し, フコガラクトンとマンノフコガラクトンを得ている³⁾¹⁰⁾¹¹⁾。本報告で得た HG もこの方法で分画するとさらに分離する可能性がある。

近年きのこ類からレクチンが得られた¹²⁾¹³⁾。ヒラタケのレクチンはヒラタケ中に摂食抑制活性を示す物質を含むことが示され, その活性物質追求の過程で見出された。このレクチンはガラクトース系列と親和性を持ち, 調べた単糖・オリゴ糖の中では $\text{Fuc}\alpha 1 \rightarrow 2 \text{Gal}\beta 1 \rightarrow 4 \text{Glc}$ (2^1 fucosyl lactose) ともっとも高い親和性を示すという。 α -1, 6 ガラクトオリゴ糖についてのデータは示されていないが, $\text{Fuc}\alpha 1 \rightarrow 2 \text{Gal}$ の部分は HG にあるとされており, HG の機能を考える上で興味深い。

3. 要 約

(1) 8 種の食用きのこ類から 3%TCA 抽出, アルコール分画, セタブロン分画により HG を得た。

(2) これら HG の構成糖は Gal がもっとも多く, 他に Man, Fuc が検出された。酸部分分解で α -1, 6 結合のガラクトビオースとトリオースが検出されたことから, いずれの HG も α -1, 6 ガラクトンの主鎖を持つと推定された。

(3) HG の構成糖比はきのこの種類により大きく異なっており, これを 3 つ (文献から引用したものを入れて 4 つ) のタイプに分類した。これまでの結果では, ハラタケ目には④タイプ (フコガラクトン) が, ヒダナシタケ目には①タイプ (マンノガラクトン) が見られなかった。

文 献

- 1) Björndal, H. and Wågström B., A heterogalactan elaborated by *Polyporus squamosus* (Huds.). *Acta Chem. Scand.*, **23**, 3313-3320 (1969).
- 2) Björndal, H. and Lindberg, B., Polysaccharides elaborated by *Polyporus fomentarius* (Fr.) and *Polyporus igniarius* (Fr.). Part I. Water-soluble neutral polysaccharides from the fruit bodies. *Carbohydr. Res.*, **10**, 79-85 (1969).
- 3) Usui, T., Hosokawa, S., Mizuno, T., Suzuki, T. and Meguro, H., Investigation of the heterogeneity of hetero-galactan from the fruit bodies of *Fomitopsis pinicola*, by employing concanavalin A-Sepharose affinity chromatography. *J. Biochem.*, **89**, 1029-1037 (1981).
- 4) Shida, M., Haryu, K. and Matsuda, K., On the water-soluble heterogalactan from the fruit bodies of *Lentinus edodes*. *Carbohydr. Res.*, **41**, 211-218 (1975).
- 5) Misaki, A., Nasu, M., Sone, Y., Kishida, E. and Kinoshita, C., Comparison of structure and antitumor activity of polysaccharides isolated from *Fukuro-take*, the fruiting body of *Volvariella volvacea*. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2171-2183 (1986).
- 6) 志田万里子, 多糖の分画 (沈殿法), 「多糖の分離・精製法」, 第 1 版, 松田和雄編, (学会出版センター, 東京), pp. 47-72 (1987).
- 7) Imanari, T., Arakawa, Y. and Tamura, Z., Gas chromatographic analysis of aldoses. *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 1967-1969 (1969).
- 8) Fraser, R.N. and Lindberg, B., Polysaccharides elaborated by *Armillaria mellea* (Tricholomataceae). Part I. A water-soluble polysaccharide from the fruit bodies. *Carbohydr. Res.*, **4**, 12-19 (1967).
- 9) 今関六也, 大谷吉雄, 本郷次雄編, 「日本のきのこ」, (山と溪谷社, 東京), pp. 2-5 (1988).
- 10) Usui, T., Iwasaki, Y. and Mizuno, T., Isolation and characterization of two kinds of heterogalactan from the fruit bodies of *Ganoderma applanatum* by employing a column of concanavalin A-Sepharose 4B. *Carbohydr. Res.*, **92**, 103-114 (1981).
- 11) 水野 卓, 加藤尚美, 戸塚篤史, 竹中一秀, 新海健吉, 清水雅子, マンネンタケ (霊芝) の水溶性多糖類の分画, 構造, 抗腫瘍活性について, 農化, **58**, 871-880 (1984).
- 12) Kawagishi, H., Suzuki, H., Watanabe, H., Nakamura, H., Sekiguchi, T., Murata, T., Usui, T., Sugiyama, K., Suganuma, H., Inokuma, T., Ito, K., Hashimoto, Y., Ohnishi-Kameyama, M. and Nagata, T., A lectin from an edible mushroom *Pleurotus ostreatus* as a food intake-suppressing substance. *Biochim. Biophys. Acta*, **1474**, 299-308 (2000).
- 13) 河岸洋和, キノコ由来の細胞機能調節物質, 農化, **68**, 1671-1677 (1994).

(平成 16 年 3 月 29 日受付, 平成 16 年 7 月 9 日受理)