

〈総 説〉

糖類が秘める生体内機能. I. オリゴ糖とは何か?

細見 修*・池田 啓一**・奈良岡佑南*

Oligosaccharides and their physiological functions —What is the oligosaccharide?

Osamu HOSOMI*, keiichi IKEDA** and Yuuna NARAOKA*

Abstract

There are various kinds of oligosaccharides that have been found and isolated from mammalian colostrum, milk and urine, plant seeds, etc. Oligosaccharides consist of 2~20 monosaccharides (glucose, galactose, fucose, N-acetylglucosamine, N-acetylgalactosamine, mannose, fructose, sialic acid, and others) and have physiological roles in the body. However, their precise functions have not been yet clarified. In this review, we present a general overview of the oligosaccharides, and introduce novel synthesized oligosaccharides and their physiological function(s).

Key words: oligosaccharide, chitin, chitosan, glucosamine

はじめに

オリゴ糖 (oligosaccharide) とは, 単糖 (monosaccharide) 類同士がグリコシド結合によって結合した糖化合物で, 分子量300-3000程度のものを指す. オリゴとはギリシア語の「少ない」を意味する語 *oligos* に由来することから, 少糖類と呼ぶこともある. 二糖である砂糖や乳糖などもその仲間であるが, 三糖類以上のものをオリゴ糖と称することが多く, 単糖が20個程度結合したものでオリゴ糖と呼ばれることが多い. それ以上の単糖が結合しているものは多糖 (ポリサッカライド, polysaccharide) と呼ばれることが多い. 現在, 報告されているオリゴ糖類は動植物界から広く発見されたもので, 今なお新しいオリゴ糖の発見が続いていると言

える. しかし, その歴史は意外と浅く, 1958年に Khun R²³⁾によって初めてヒト乳汁や授乳女性尿からフコシルラクトース, ラクト-N-テトラオース等が分離精製された報告がなされ, その後, さらに複雑で僅かにしか存在しないオリゴ糖 (例: フコシルラクト-N-ヘキサオース) が分離され¹¹⁾¹⁴⁾³⁵⁾, その構造が苦難の末に次々と明らかにされていった. 日本人研究者も大いに活躍し, ヒト乳汁中のオリゴ糖の発見には Kobata A の貢献も大きい^{25)~27)}. 更に, これら糖鎖の構造解析に多大の功績をもたらした完全メチル化法を確立した Hakomori S¹⁶⁾が挙げられる. 尿からは, 乳汁と類似のオリゴ糖やシアル酸を持つオリゴ糖の存在が明らかにされている⁵⁾⁸⁾¹⁹⁾²⁶⁾²⁹⁾. その他, 動物の乳汁から Urashima T, Saito T 等⁵⁾⁶⁾¹³⁾³¹⁾⁴²⁾⁴⁶⁾はヒトとは異なる希少なオリゴ糖を次々と発見し, その構造解析と生体内機能について言及している.

本稿では, オリゴ糖が歴史的には注目されなかった時代から, 今や健康分野から工学分野まで幅広く利用され, また新たな機能が見出されてきたことを

* 順天堂大学大学院スポーツ健康科学研究科
Graduate School of Health and Sports Science,
Juntendo University

** 順天堂大学スポーツ健康科学部
School of Health and Sports Science, Juntendo
University

踏まえ、オリゴ糖の概念を示すと共に、現在、我々が開発しているグルコサミンを有する新たな機能性オリゴ糖の健康・予防医学等への利用について二回に渡って概観してみたい。

1. オリゴ糖

生体内に存在するオリゴ糖や組織・細胞の糖鎖を構成している糖類は、アミノ酸の種類に比べると10種程度であるが、蛋白質の構造や機能の解明の歴史に比べて糖鎖の解析などは、はるかに遅れていた。その最も大きな原因は糖鎖の複雑さに起因していたと言える。例えばアミノ酸二個からなるペプチドは二種類のみであるが、異なる糖からなる二糖類の取り得る構造は理論的には40程度(実際には10数種)にもなる。更に、ペプチド鎖にはない枝分かれ構造が加わって、より糖鎖を複雑にしている。

1.1 動物由来のオリゴ糖類

オリゴ糖鎖を構成する糖で、もっともよく知られているのが血糖(ブドウ糖)と言われるグルコース(glucose, Glc)を有する種類であるが、この糖は生体のオリゴ糖構成成分として占める割合は意外と低く、ヒトや動物乳汁等に見られる。グルコースに基本的構造(図1)が同じなのが、グルコースの2番

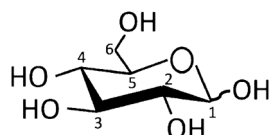


図1 代表的単糖(グルコース)構造と炭素(C)番号

目の炭素(C2)にある水酸基(-OH)の代わりにN-アセチル基が付いた天然型グルコサミン(N-アセチルグルコサミン, N-acetylglucosamine, GlcNAc)で、この天然型グルコサミンを多く含む代表的なものとして広く知られるようになってきたのがヒアルロン酸(図2a)である。ヒアルロン酸はN-アセチルグルコサミンとグルクロン酸の二糖単位(GlcNAc β 1-4GlcA β 1-3)が繰り返す構造の高分子で、関節、硝子体、皮膚、脳など広く生体内の細胞外マトリックス(細胞外の空間を充填する物質であり、同時に骨格的役割を持つ細胞間の構造体)に存在し、特に関節軟骨ではその機能維持に重要な役目を果たしている²⁾。また、同様にコンドロイチン硫酸(図2b)は、グルクロン酸(GlcA)とN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)の二糖単位が反復する糖鎖に硫酸基が結合した構造で、コラーゲンなどと共に軟骨の重要な成分として注目される高分子の糖鎖を持つ糖蛋白質である²⁰⁾。このようにN-アセチルグルコサミン(天然型グルコサミン)はグルコースと異なって、多くのオリゴ糖や糖鎖に豊富に含まれる。

その他、オリゴ糖類や多糖類の構成成分としてN-アセチルグルコサミンと同じ程度含まれるのがガラクトース(galactose, Gal)である。この糖はグルコースのC4に結合している水酸基(OH)と水素の位置が逆転した構造をしており(図3)、動物の組織等に存在している糖鎖構造にはグルコースよりもはるかに多く含まれる糖である。更に、N-アセチルグルコサミンと同様に、N-アセチル基がガ

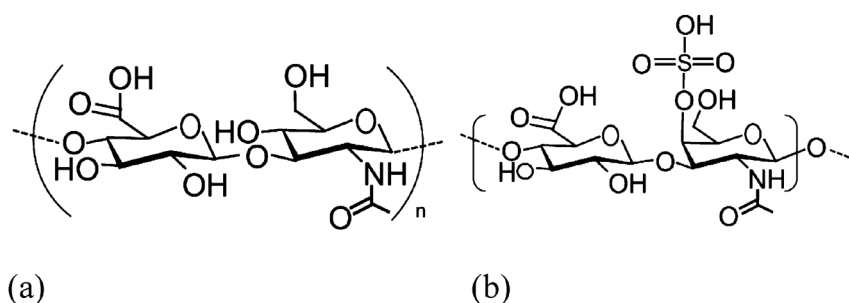


図2 ヒアルロン酸(a)とコンドロイチン硫酸(b)の基本骨格

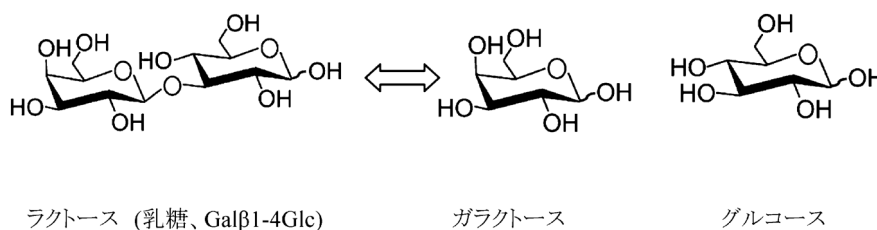
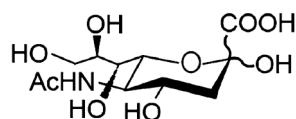
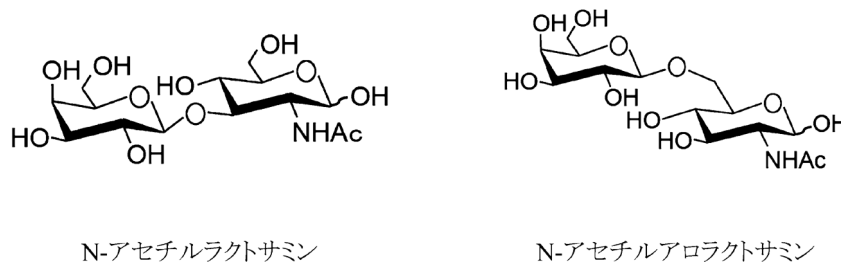


図3 ラクトースとその構成糖



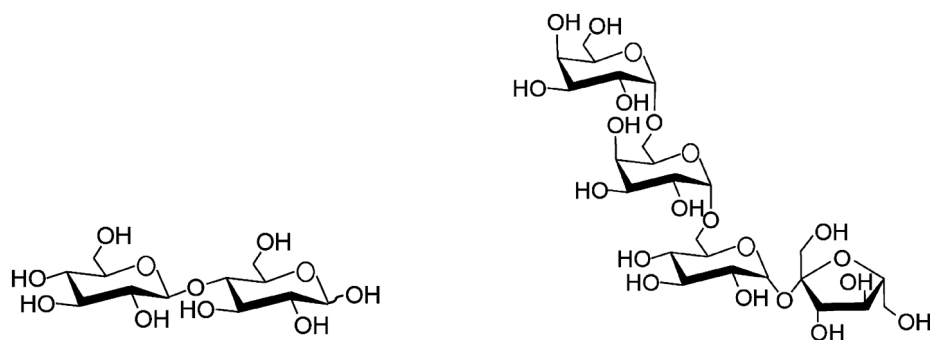
シアル酸

図4 シアル酸とオリゴ糖(二糖類)

ラクトースに付いた N-アセチルガラクトサミン (N-acetylgalactosamine, GalNAc), 褐藻類 (昆布, ワカメ, もずく等) の他, なまこにも類似物質として粘性物質フコイダン¹⁶⁾に豊富に含まれるフコース (fucose, Fuc), こんにゃくの主成分であるマンナン⁴⁴⁾を構成するマンノース (mannose, Man), 更に今注目されているシアル酸 (sialic acid, N-acetylneuraminic acid, Neu5Ac, NAN, NANA) 等がある (図4). それでは, 身近にあるオリゴ糖を紹介すると, 牛乳やヒトの母乳に豊富に含まれているのがラクトースと呼ばれる二糖類である. ラクト (lacto) とは「ミルクに関係する」という意味をもつ連結語で, ラクトース (lactose, Galβ1-4Glc) とは正にミルク (乳汁) に含まれるオリゴ糖を意味している. ラクトースは図3に示すような構造で, ガラクトースとグルコース1分子ずつで構成されている. 更

に, この二糖の結合は図のようにガラクトース→グルコースの順で, この場合のガラクトースは外側と言った表現 (正式には非還元側) をし, 一方, グルコースは内側 (還元側) と表現される.

さて, ヒトの乳汁 (特に初乳, colostrum) 中には成乳と異なりラクトース以外に, 様々な構造や大きさのオリゴ糖が含まれ, これらは稀少糖といわれる. 同様にヒト以外の哺乳動物の初乳にも特有のオリゴ糖が見出されている⁵⁾⁶⁾¹³⁾¹⁹⁾⁴²⁾⁴⁶⁾. ヒト由来のオリゴ糖で, ラクトースを基本としたオリゴ糖はその構成単位にラクトサミン構造 (図4) を持ち, ガラクトース β1-4N-アセチルグルコサミン (Galβ1-4GlcNAc) の繰り返しが有するものが多く見られ, ラクトテトラオース類やラクトヘキサオース類の他, ポリラクトサミン構造を持つものも多くみられる. 更に, このような基本糖鎖に枝分かれ構造やフ



セロビオース

スタキオース

図5 植物由来のオリゴ糖類(一部)

コース, シアル酸などの側鎖が末端に結合したより複雑な構造のオリゴ糖を形成している. そして, これらオリゴ糖類の作用としては, 特に新生児の腸内細菌叢の形成や乳酸菌の栄養素として, 又, 免疫力を高めたり, 病原性微生物から生体を防御するなどの働きがあるとされる.

1.2 植物由来のオリゴ糖類

植物由来のオリゴ糖にはこれ等と異なった構造のものが特徴的に見受けられ, マルトース, セロビオース, ラフィノース等がある(図5)³⁸⁾⁴⁷⁾. イソマルトオリゴ糖は甘味その他, 食品の旨み, 防腐作用による日持ち性改善効果などの他, 便秘解消効果等も示す¹⁰⁾.

セロビオースは, 松葉やトウモロコシの茎などに存在し, グルコースが二つ β 1-4結合(Glc β 1-4Glc)した構造(図5)で, 難消化性(消化酵素で分解されにくく腸まで到達)で水には溶けにくく整腸作用を持つ²²⁾. この整腸作用は, 大腸で酪酸菌によりセロビオースが分解され, 生成された酪酸によるもので, 大腸上皮細胞の新陳代謝を促す結果とされる. ラフィノースは, ビート(砂糖大根)から分離精製される天然のオリゴ糖で, ユーカリの樹液や大豆等にも比較的多く含まれ, 植物界に広く存在して, 腸の動きを促進して便秘を防ぎ, 免疫力を高めたり病原菌の感染を防いだりするといわれる²⁴⁾. スタキオース(stachyose)は大豆に比較的多く存在し(3~4%), 善玉乳酸菌の増殖や納豆菌の生育にも影響

するとされている(図5)⁴⁸⁾. その他, 注目されている糖類にキシリトール(xylitol)がある. 化学式 $C_5H_{12}O_5$ で表され, グルコース等6炭糖よりCとOが一つずつ少ない糖アルコールと言われている. 甘味料として加熱によっても甘味に変化がなく, 清涼感等が好まれて次第に用途が広がっている. 更に, 種々のオリゴ糖類が発見されている.

2. キチン, キトサン, キトサンオリゴ糖

キトサンオリゴ(糖)と呼ばれる糖類は, 現代, グルコサミンやキトサン等とともに, 健康サプリメントとして市場に出回るようになってきた. 図6のように, N-アセチルグルコサミンを主成分とするキチン質はカニ, エビ等の甲羅, その他動植物界に広く存在し, 強固な構造体を作り出している. このキチン質は広葉樹の艶のある葉にも含まれる. このキチン質からキトサンを生成するには, 甲羅等を希塩酸及び希水酸化ナトリウムで処理(脱灰処理)して, カルシウム, 蛋白質を除去した「キチン」を調製する. このキチンを更に濃水酸化ナトリウム(NaOH)や濃水酸化カリウム(KOH)で脱アセチル化したものが様々な長さの集合体からなる「キトサン」である³⁰⁾. 得られたキトサンは, その脱アセチル化の程度が薬品処理時間等で異なり, 100%脱アセチル化されるとグルコサミンのみから構成されたものとして得られる(図7). キチン, キトサンは淡黄色~白色を呈しており, セルロースと極めて

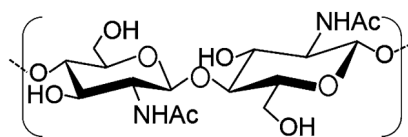


図6 キチンの構造 (N-アセチルグルコサミンが β 1-4結合のポリマー構造)

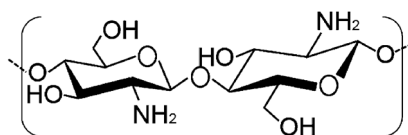


図7 キトサンの構造 (主に脱アセチル化されたグルコサミンが結合している)

よく似た構造をしている。更に、キトサンを加水分解するとキトサンオリゴ糖が得られる。これによって様々な長さのオリゴ糖の集合体になり、更に活性炭カラムで重合度の異なるオリゴ糖を分離して、重合度(糖鎖)のそろったオリゴ糖を得ることが出来る¹⁾³⁴⁾⁴⁰⁾。キトサンやキトサンオリゴ糖分子に含まれるグルコサミンには強力な分子間結合性を有するアミノ基が含まれ、これによって安定した構造体を構築している。このようにして得られたキトサンやキトサンオリゴ糖の効用として、このキトサン構成糖であるグルコサミンが \sim 20個程度まで結合したものが注目され、6個繋がったキトヘキサオースは免疫力を高める作用を示し癌抑制作用を持つことや⁴³⁾、更に、キトサンが抗菌性を持つことなどが挙げられる。キトサンは大腸菌等の一般的な細菌の増殖を抑制し濃度によっては乳酸菌の増殖に影響を及ぼさないことや、血中コレステロール上昇抑制作用・尿酸値低下作用をもつことが報告されている⁹⁾²⁸⁾³⁹⁾⁴⁵⁾。キトサンオリゴ糖の抗菌性を調べた研究では、重合度の大きい方(五、六糖)で高いことが明らかにされ、キトサンの中でも、脱アセチル化の程度が70%のものにはマクロファージ活性化など免疫機能の増強作用を最も強く示すことが知られている³⁹⁾。これらキチンやその誘導体が示す生理的機能性は、特異的な反応として何らかの受容体が介在しているのではなく、むしろ非特異的作用と予想さ

れる。

4. 新しいオリゴ糖の設計と可能性

この様々な作用を示すとされるグルコサミンは、酸性糖(アミノ糖)の一種で、C4(4番目の炭素)に結合している水酸基(-OH)と水素(-H)の位置が逆転しているガラクトサミン(Galactosamine)やマンノサミン(Mannosamine)などもアミノ糖の仲間である。これらのアミノ糖も天然のN-アセチルガラクトサミンやN-アセチルマンノサミン等を塩酸で処理して、アセチル基(-COCH₃)を外したもので、アミノ酸の一種ともいわれる。その根拠はアミノ基(-NH₂)を有することによるが、アミノ酸の定義ではアミノ基とカルボキシル基(-COOH)を共に有することからすると、アミノ酸とはいえない。そうした意味合いからすると、ここで取り上げるアミノ糖とはやや異なるが、抗生物質の中にはストレプトマイシン、カナマイシン、ゲンタマイシン等、アミノ糖誘導体を持つアミノグルコシド系と呼ばれるものがあり(図8)、現代の医療に大きく貢献していることを考慮すると、アミノ糖の持つ生体内機能性については未知の部分がかかり残されているとも考えられる。

キトサンなどの構成糖であるグルコサミンはそのアミノ基の存在によって様々な機能を有することが言われている³⁶⁾。しかし、それらの生体内機能性は特異的とはいえないのも事実である。それは、グルコサミン特異的な受容体の存在やトランスポーターといった分子の存在が未発見なのかも知れない。一方では、ガラクトース(Gal)、特に β ガラクトースに対する受容体としてガレクチン(galactin)という低分子タンパク質群が発見されており、そのファミリーは14 \sim 15種類にも達している⁴¹⁾。このガレクチンは元々ガラクトース結合性レクチンの名称から由来しており、今では一般的にガレクチンの名称で呼ばれている。我々が着目したのは、このガラクトースに対するレクチン(ガレクチン)の糖特異的結合性とグルコサミンの生理活性を結び付けることであった。そこで、ガラクトース-グルコサ

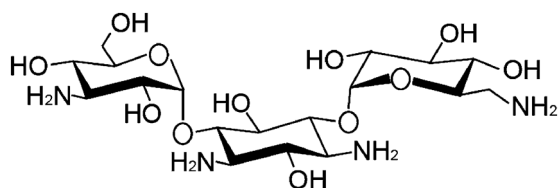


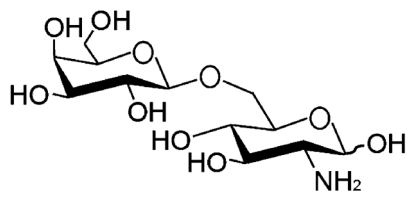
図8 アミノグルコシド系抗生物質(カナマイシン)の構造

ミン (Gal-GlcNH₂) という二糖類を合成すれば、生体内ガレクチンの機能を生かして Gal-GlcNH₂ の生体内における機能に特異性が賦与出来るものと考えたわけである。そういった着想から、このような二糖類を合成する方向が模索され、有機化学合成と酵素化学合成が検討された³⁾⁷⁾¹²⁾。有機化学合成は幾段階もの反応の結果として目的の糖による特定の結合を有するオリゴ糖を作ることが可能となる合成方法で、これまでも様々な方法が開発されてきた¹⁵⁾。しかし、現時点では国内では糖研究者が簡単にこの技術を会得し、自由に合成するのは困難で、限られた研究者にその合成を委ねなければならない⁷⁾。しかし、酵素を利用したオリゴ糖の合成は二法あるがどちらも比較的簡単である。この酵素学的合成には糖転移酵素(グリコシルトランスフェラーゼ)を利用した方法と、糖分解(加水分解)酵素(グリコシダーゼ)の逆反応を利用した方法があり、前者の特徴は特定の糖転移酵素を使うために、二つの糖(受容体としての糖と糖供与体としての糖)間の結合位置が特異的であること、そのために期待通りの合成が確実に行えることである。しかし、糖供与体(UDP-Gal, UDP-GlcNAc等)と糖転移酵素(精製)が大変高価であるのでこの手法は広く用いられてこなかった。糖転移酵素によるオリゴ糖類の合成は、大量合成には適さず、むしろ糖転移酵素反応性の解明や酵素自身の存在の証明等に限定されたものとなっていた。一方の糖分解酵素の逆反応を利用したオリゴ糖合成法は、最も特徴的なのは安価で実行できることである。糖供与体(例, Lactose, Melibiose等)と糖受容体(例, GlcNAc, GlcNH₂等), それに糖分解酵素(必ずしも精製を必要とせ

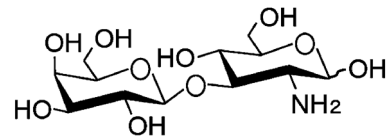
ず、部分精製でも可能)を加えるだけの反応系でオリゴ糖の合成が出来る。この方法の短所としては合成反応の効率が悪く、生成物の収量は用いた基質の10~20%に止まると思われる。更に、反応特異性が保証されていないことから、反応生成物の構造解析が必須となる等の点も挙げられる。しかし、これら短所があるとしても糖分解酵素によるオリゴ糖合成は大量合成に適しており、更に最大の長所と見られる点がある。それは生成物の意外性である。糖分解酵素の原材料(細菌の種類、植物の種類等)によって同じ様な働き(糖分解)をする酵素であっても、その由来によっては基質に対する糖転移位置(基質の何番目の炭素に糖を結合させるのか)が異なる現象が起きることによって、研究者が予想していなかった反応生成物が得られる可能性がある。

次にどのようなオリゴ糖が糖分解酵素の逆反応を利用して合成されているのかを見てみる。例えば、ラクトースを原料として、 β -ガラクトシダーゼの合成活性(逆反応性)を利用してガラクトオリゴ糖が製造されている³³⁾。ガラクトオリゴ糖の場合には、幸いにもラクトースを原料として用いることが出来るが、その他のオリゴ糖の場合には、適切な糖供与体は見あたらないのが現状である。即ち、フコシルオリゴ糖の場合には、可能性としては、フコイダン、あるいはそのオリゴ糖が考えられるが、これらは高価であるため原料糖として用いることは難しい。一般に、糖転移反応にはパラニトロフェニル- α -L-フコピラノシドのような合成基質が供与体として用いられることが多いが⁴⁾、これまで天然素材から安価な方法でフコシルオリゴ糖を合成する方法は見出されていない。一般的にこのような化合物は有機合成化学的手法により合成された物質であり、それを原料とした製品を食品添加物として利用することは食品衛生法等の関連法規で規制されている。

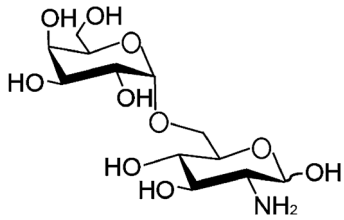
一方、単糖であって生理機能を持つとされるグルコサミンを有するオリゴ糖の合成で、糖分解酵素(の逆反応)を利用した例は著者らがやっている他に例を見ない¹⁸⁾¹⁹⁾。その代表的なオリゴ糖(二糖類)に Gal α 1-6GlcNH₂(メリビオサミン)があげられ



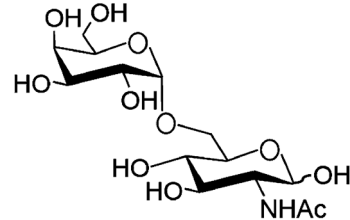
アロラクトサミン(Galβ1-6GlcNH₂)



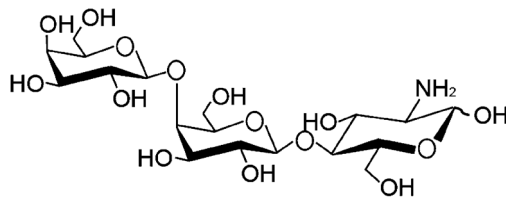
ラクトサミン(Galβ1-4GlcNH₂)



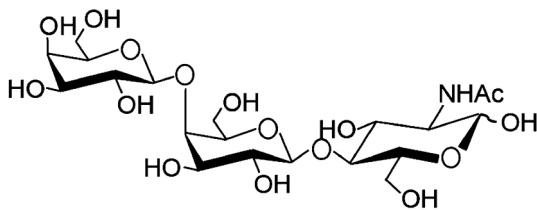
メリビオサミン(Galα1-6GlcNH₂)



N-アセチルメリビオサミン(Galα1-6GlcNAc)



ガラクトシルラクトサミン(Galβ1-4Galβ1-4GlcNH₂)



ガラクトシル-N-アセチルラクトサミン(Galβ1-4Galβ1-4GlcNAc)

図9 酵素により合成された新しいオリゴ糖類

る。図9のように、ラクトサミン (Galβ1-4GlcNH₂) やアロラクトサミン (Galβ1-6GlcNH₂) と同じ構成糖であるが、結合様式がメリビオースと同じく α1-6 グリコシド結合している。

この他、上にも挙げたラクトサミン、アロラクト

サミン、ガラクトシルラクトサミン (Galβ1-4Galβ1-4GlcNH₂) 等が同様の方法で合成出来た。このように還元末端側にグルコサミンを持つオリゴ糖、特に非還元末端側は中性糖などレクチンの反応性を考慮した構造のオリゴ糖類の合成は、ある意味

では始まったばかりであり, それらの生体内機能性についてはこれから解明していかなければならない課題といえる。

今回は, 更にこのように合成されたオリゴ糖の生体内機能性についての論文や, 今後の研究展開等について紹介して行く予定だ。

謝 辞

今回の総説は, オリゴ糖というまだまだ認知度が十分でない物質についてのものであるが, ようやくその重要性が広がりつつある中で, かつその極一部について紹介したという内容になった。研究を遂行する上で, 長年に亘って支援をいただいた焼津水産化学工業㈱の又平芳春博士, 三澤義知博士に深く感謝申し上げます。

引用文献

- 1) Aam, B. B., Heggset, E. B., Norberg, A. L., Sørli, M., Vårum, K. M. & Eijsink, V. G. (2010) Production of chitooligosaccharides and their potential applications in medicine. *Mar Drug*. 8, 1482-1517.
- 2) Abato, M., Pulcini, D., Dilorio, A., & Schiarione, C. (2010) Viscosupplementation with the intra-articular hyaluronic acid for treatment of osteoarthritis in the elderly. *Curr Pharm Des*. 16, 631-640.
- 3) Ajisaka, K. (1989) Synthetic studies of oligosaccharides by use of a reversed hydrolysis activity of glycohydrolases. *Denpun Kagaku* 36, 113-122.
- 4) Ajisaka, K. & Shirakabe, M. (1992) Regioselective synthesis of alpha-L-fucosyl-containing disaccharides by use of alpha-L-fucosidases of various origins. *Carbohydr Res*. 224, 291-299.
- 5) Asakuma, S., Akahori, M., Kimura, K., Watanabe, Y., Nakamura, T., Urashima, T. & et al. (2007) Sialyl oligosaccharides of human colostrum: changes in concentration during the first three days of lactation. *Biosci Biotechnol Biochem*. 71, 1447-1451.
- 6) Asakuma, S., Urashima, T., Akahori, M., Obayashi, H., Nakamura, T., Kimura, K., & et al. (2008) Variation of major neutral oligosaccharides levels in human colostrum. *Eur J Clin Nutr*. 62, 488-494.
- 7) Bartolozzi, A., & Seeberger, PH. (2001) New approach to the chemical synthesis of bioactive oligosaccharides. *Current Opinion in Structural Biology*, 11, 587-592.
- 8) Bjorndal, H., & Lundblad, A. (1970) Structure of two urinary oligosaccharides characteristic of blood group O (H)- and B-secreters. *Biochim Biophys Acta* 201, 434-437.
- 9) Bokura, H., & Kobayashi, S. (2003) Chitosan decreases total cholesterol in women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 57, 721-725.
- 10) Chen, H. L., Lu, Y. H., Lin, J. J., & Ko, L. Y. (2001) Effects of isomalto-oligosaccharides on bowel functions and indicators of nutritional status in constipated elderly men. *J Am Coll Nutr*. 20, 44-9.
- 11) Date, J. W. (1964) The excretion of lactose and some monosaccharides during pregnancy and lactation. *Scand J Clin Lab Invest*. 16, 589-596.
- 12) Fujimoto, H., Nakano, H., Isomura, M., Kitahata, S. & Ajisaka, K. (1997) Enzymatic Synthesis of Oligosaccharides Containing Gal β -4Gal Disaccharide at the Non-Reducing End Using β -Galactanase from *Penicillium citrinum*. *Biosci Biotech Biochem*. 61, 1258-1261.
- 13) Goto, K., Fukuda, K., Senda, A., Saito, T., Kimura, K. & Urashima, T. (2010) Chemical characterization of oligosaccharides in the milk of six species of New and Old world monkeys *Glycoconj J*. 27, 703-715.
- 14) Grimmonprez, L. & Montreuil, J. (1968) Physicochemical study of 6 new oligosaccharides isolated from human milk. *Bull Soc Chim Biol (Paris)*. 50, 843-855.
- 15) 橋本俊一, 中島 誠 (1996) オリゴ糖鎖合成の新戦略. *ファルマシア*, 32, 1375-1380.
- 16) Hakomori, S. (1964) A rapid permethylation of glycolipid, and polysaccharide catalyzed by methylsulfinyl carbanion in dimethyl sulfoxide. *J Biochem*. 55, 205-208.
- 17) Hayashi, K., Nakano, T., Hashimoto, M., Kanekiyo, K. & Hayashi, T. (2008) Defensive effects of a fucoidan from brown alga *Undaria pinnatifida* against herpes simplex virus infection. *Int Immunopharmacol*. 8, 109-16.
- 18) Hosomi, O., Takeya, A., Misawa, Y., Ikeda, K. & Matahira, Y. (2008) Binding specificities of novel synthesized oligosaccharides to galectin (C-16) and anti- α Gal IgG antibody. *Chitin Chitosan Res*. 14, 263-268.
- 19) Hosomi, O., Misawa, Y., Takeya, A. & Kudo, S. (2008) Novel oligosaccharide has suppressive activity

- against human leukemia cell proliferation. *Glycoconjugate J.* 26, 189-198.
- 20) Jin-Yih, W. (1976) Studies on sialoglucides in human urine. I. *Fukushima J Med Sci.* 22, 199-220.
- 21) Kahan, A., Uebelhart, D., De Vathaire, F., Delmas, P. D. & Reginster, J.Y. (2009) Long-term effects of chondroitins 4 and 6 sulfate on knee osteoarthritis: the study on osteoarthritis progression prevention, a two-year, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis & Rheumatism* 60, 524-533.
- 22) 柿野賢一, 高良 毅, 鈴木直子, 山本和夫, 黒木修, 中島精一, その他(2011) 綿花由来“セロビオース”摂取による腸内菌叢改善効果の検証試験. *新薬と臨床*, 60, 149-164.
- 23) Khun, R. (1958) Oligosaccharides of milk. *Bull Soc Chim Biol.* 40, 297-314.
- 24) 清信浩一, 大崎忠夫, 東綾美, 大澤銀子, 神田善姫, 鴨井久一(1998) 免疫細胞に対するオリゴ糖(ラフィノース)の影響. *歯学*, 85, 551-558.
- 25) Kobata, A. & Ginsburg, V. (1969) Oligosaccharides of human milk. II. Isolation and characterization of a new pentasaccharide, lacto-N-fucopentaose 3. *J. Biol. Chem.* 244, 5496-5502.
- 26) Kobata, A. & Ginsburg, V. (1972) Oligosaccharides of human milk. 3. Isolation and characterization of a new hexasaccharide, lacto-N-hexaose. *J Biol Chem.* 247, 1525-1529.
- 27) Kobata, A. & Ginsburg, V. (1972) Oligosaccharides of human milk. IV. Isolation and characterization of a new hexasaccharide, lacto-N-neohexaose. *Arch Biochem Biophys.* 150, 273-281.
- 28) Koguchi, T., Nakajima, H., Wada, M., Yamamoto, Y., Innami, S., Tadokor, T. & et al. (2002) Dietary fiber suppresses elevations of uric acid and allantoin in serum and urine induced by dietary RNA and increases its excretion to feces in rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 48, 184-93.
- 29) Koseki, M., Jin-Yih, W. & Tsurumi, K. (1976) Studies on sialoglucides in human urine. I. *Fukushima J Med Sci.* 22, 187-197.
- 30) Kurita, K. (2006) Chitin and Chitosan: Functional Biopolymers from Marine Crustaceans. *Marine Biotechnol.*, 8, 203-226.
- 31) Leo, E., Asakuma, S., Nakamura, T., Fukuda, K., Senda, A. & Urashima, T. (2009) Improved determination of milk oligosaccharides using a single derivatization with anthranilic acid and separation by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr. A.* 1216, 1520-1523.
- 32) Lundblad, A. & Svensson, S. (1973) The structures of urinary difucosyl pentasaccharide, characteristic of secretors with the blood-group A gene. *Carbohy Res.* 30, 187-189.
- 33) Matahira, Y., Tashiro, A., Sata, T., Kawagishi, H. & Usui, T. (1995) Enzymic synthesis of lacto-N-triose II and its positional analogues. *Glycoconjugate J.* 12, 664-671.
- 34) Minke, R. & Blackwell (1978) The structure of alpha-chitin. *J Mol Biol.* 120, 167-181.
- 35) Montreuil, R. (1960) The glucides of milk. *Bull Soc Chim Biol.* 42, 1399-1427.
- 36) 西川研二郎 監修, 食品機能性の科学. (2008) 第6章 動物性機能性成分, 第5節 グルコサミン. 産業技術サービスセンター発行, 745-749.
- 37) 西川研二郎 監修, 食品機能性の科学. (2008) 第7章 機能性多糖と少糖類・糖アルコール, 第5節 キチン・キトサン. 産業技術サービスセンター発行, 784-792.
- 38) 西川研二郎 監修, 食品機能性の科学. (2008) 第7章 機能性多糖と少糖類・糖アルコール, 第4節 オリゴ糖. 産業技術サービスセンター発行, 779-784.
- 39) Nishimura, K., Nishimura, S., Nishi, N., Saiki, I., Tokura, S. & Azuma, I. (1984) Immunological activity of chitin and its derivatives. *Vaccine.* 2, 93-99.
- 40) Park, J. K., Chung, M. J., Cho, H. N. & Park, Y. I. (2011) Effects of the molecular weight and the degree of deacetylation of chitosan oligosaccharides on antitumor activity. *Int J Mol Sci.* 12, 266-277.
- 41) Rapoport, E. M., Kurmyshkina, O. V. & Bovin, N. V. (2008) Mammalian galectins: structure, carbohydrate specificity, and functions. *Biochemistry (Mosc).* 73, 393-40.
- 42) 齊藤忠夫, 浦島 匡 (2010) ミルクオリゴ糖(乳中少糖)の比較生化学(XI)—ヒトミルクオリゴ糖のHPLCによる定量分析— *The Chemical Times* 215, 3-8.
- 43) Suzuki, K., Mikami, T., Okawa, Y., Tokoro, A., Suzuki, S. & Suzuki, M. (1986) Antitumor effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose. *Carbohydr Res.* 151, 403-408.
- 44) 高松道生, 柳沢素子, 町田輝子, 松島松翠, 飯島秀人, 佐々木敏, その他 (1999) グルコマンナンのコレ

- ステロール低下作用に関する研究. 日農医誌, 48, 595-602.
- 45) Tsai, G. J., Wu, Z. Y. & Su, W. H. (2001) Enzymatic preparation of chitooligosaccharide with antibacterial activity. ed. Uragami, T., Kurita, K. and Fukamizo, T. Chitin and Chitosan. Kodansya Scientific LTD. 186-189.
- 46) Urashima, T., Okada, G., Saito, T., Fukuda, K., Messer, M., Oftetal, O. T. & et al. (2009) Chemical characterization of oligosaccharides in chimpanzee, bonobo, gorilla, orangutan, and siamang milk or colostrum. Glycobiology 19, 499-508.
- 47) 渡邊隆司, 里内美津子, 都宮孝彦, 越島哲夫, 桑原正章 (1995) バイオリアクターにより連続生産したセロビオースのヒトへの経口投与. 日農芸化学誌, 69, 133.
- 48) 和田浩一, 水谷潤, 渡部恂子, 鈴木宏美 (1991) 大豆オリゴ糖の各摂取量によるヒト腸内フローラに及ぼす影響. ビフィズス, 5, 51-54.

(平成23年6月20日 受付)
(平成23年8月6日 受理)