

ムコ多糖について

はじめに

インターネット検索エンジン「Google」で、ムコ多糖関連のキーワード検索をすると、非常に多くのホームページがヒットします(表-1)。これら全てがそのキーワードに直接関連したものではありませんが、ムコ多糖に対する情報の多さが窺えます。一方、キーワードに「分析法」を追加して検索するとヒット率は著しく減少します(表-1, カッコ内の数値)。消費者の立場であれば、分析法まで知らずともその成分を含んだ健康食品は購入できますし、また、知らずとも効果を体感できるかもしれません。消費者にとって、「分析法」は必ずしも重要な情報ではありませんが、健康食品を製造・販売する立場の場合はどうでしょうか。

ムコ多糖はその成分の特性から、定量が難しい成分の一つであり、分析結果は方法に依存する場合があります。このため定量値の妥当性評価にはムコ多糖や定量法の特性を良く知ることが大切です。そこで本稿では、ムコ多糖の概要や定量法についてご紹介します。

表-1 Google におけるヒット数, 2009年4月27日現在

名称(成分)	ヒット数
ヒアルロン酸	2,570,000 (21,500)
コンドロイチン	827,000 (9,560)
ムコ多糖	437,000 (4,880)
キチン	2,200,000 (24,600)
キトサン	244,000 (11,200)

そもそも、ムコ多糖とは？

1938年, K. Meyerにより Mucopolysaccharide が提唱され, この和訳が簡略化され「ムコ多糖」となりました。当初, Muco は粘膜の粘質性分泌物に由来しましたが, 「アミノ糖(水酸基の代わりにアミノ基が結合した部分を持つ糖)を含有する多糖類」が現在の定義になっています。

ムコ多糖は, 構造にカルボン酸などの酸性基を包含する酸性ムコ多糖(ヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸)と包含しない中性ムコ多糖(キチンやキトサン)とに大別されます。表-2にそれら代表的な名称(成分)とそれらを構成する単糖を示しました。

表-2 ムコ多糖の名称とその構成単糖

	名称(成分)	構成単糖
酸性ムコ多糖	ヒアルロン酸	N-アセチルグルコサミン グルクロン酸
	コンドロイチン硫酸 A(4 硫酸) *	N-アセチルガラクトサミン
	コンドロイチン硫酸 C(6 硫酸) *	グルクロン酸
	デルマタン硫酸* (コンドロイチン硫酸 B)	N-アセチルガラクトサミン, イズロン酸
	へパリン*	(N-アセチル)グルコサミン, イズロン酸, グルクロン酸
ケラタン硫酸*	N-アセチルグルコサミン, ガラクトース	
中性ムコ多糖	キチン	N-アセチルグルコサミン
	キトサン	グルコサミン

* : 硫酸基が構成糖の一部に結合する。

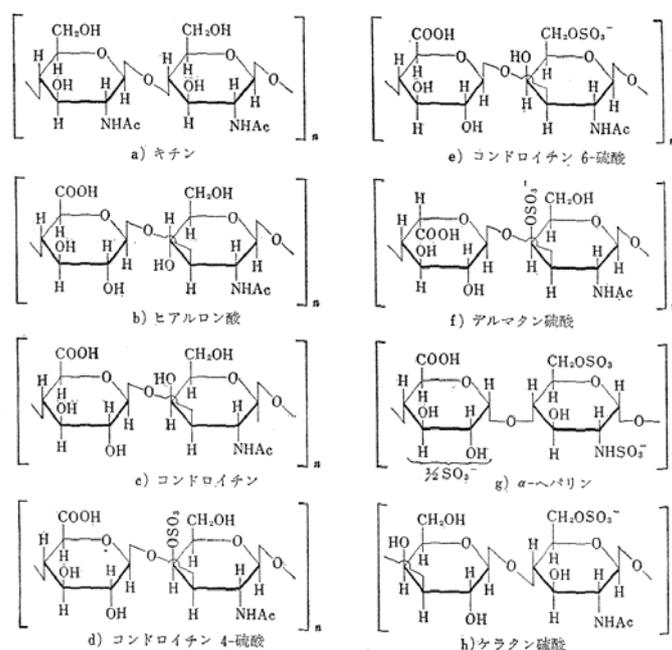


図-1 主なムコ多糖の構造

(ムコ多糖実験法 [I], p. 5, 図 1・2 を複写)

特徴や機能について

ムコ多糖は主に軟骨に代表される結合組織に存在します。結合組織でタンパク質と結合(プロテオグリカンと総称)し、組織構造維持や潤滑作用を持ちます。また、酸性ムコ多糖は硫酸基やウロン酸を持つため全般に強い負電荷を帯びて、分子内に水を多く保持できるため高い粘性を示したり、細菌などの侵入を遮断する作用があります。

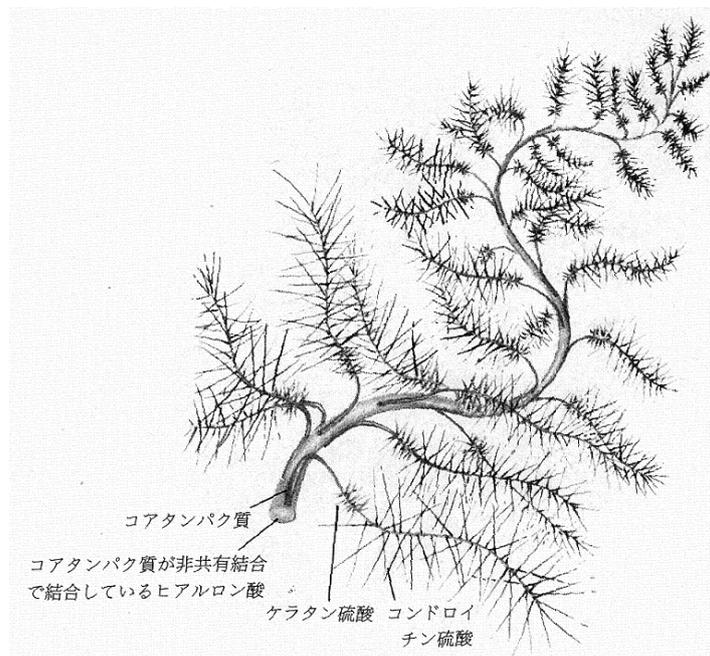


図-2 軟骨の微細構造模式図

(第2版 レーニンジャーの生化学 [上], p391, 図 11-21 を複写)

例えば、軟骨ではその構造の柱になる成分がヒアルロン酸です。それにタンパク質が結合し、更にそのタンパク質にコンドロイチン硫酸やケラタン硫酸などのムコ多糖が結合して軟骨は形作られています。そして高次構造において、ムコ多糖が保持した水も含めて複雑に絡み合い、柔軟性のある構造体(軟骨)が形成されます。柱になったヒアルロン酸は100万を超える巨大分子であるのに対して、コンドロイチン硫酸やケラタン硫酸は単体として数万程度の大きさの分子と言われており、様々な分子量を持ったムコ多糖が混在します。

なお、軟骨の示す粘性は、多糖もしくはタンパク質が僅かに分解するだけで著しく低下する特徴があります。

ムコ多糖の定量

このような類似構造を持ったムコ多糖であるため、それらを個別に定量するのは簡単ではありません。基本構造が類似すると、特異性も類似してしまうため、特定成分だけを取り出すのが難しくなるためです。

そこで、弊財団ではムコ多糖を一括測定する方法(図-3左)を採用しています。

測定は、ムコ多糖と共存するタンパク質を除去し、遊離したムコ多糖に四級アンモニウム塩を添加してムコ多糖を沈殿として回収します。沈殿を洗浄してデンプンやグリコーゲンなどムコ多糖とは関係ない多糖やブドウ糖などの少糖類を除去し、次いでウロン酸に特異性のあるカルバゾール硫酸法によって定量することを原理にしています。

この方法は基本的に酸性ムコ多糖のみを抽出していますが、ムコ多糖以外でウロン酸(単糖類の末端の第1級アルコールがカルボン酸になったもの)を持つペクチンやアルギン酸が混在すると、これらも沈殿として一部回収され、定量性に問題を生じることがあります。このため植物素材が含まれた試料には適用が難しい制約付きの方法です。

ムコ多糖の定量法	ヒアルロン酸の定量法
試料 ↓ 加熱によるタンパク変性 ↓ アクチナーゼ処理(タンパク質分解) ↓ 四級アンモニウム塩添加 ↓ 濾過, 洗浄 ↓ カルバズール硫酸法による定量	試料 ↓ 加熱によるタンパク変性 ↓ アクチナーゼ処理(タンパク質分解) ↓ ヒアルロニダーゼによる酵素分解 ↓ 生成物を HPLC 法により定量

図-3 ムコ多糖(ヒアルロン酸)定量の流れ

カルバズール硫酸法はムコ多糖の定量に良く使われる方法ではありますが、ムコ多糖に含まれるウロン酸に対する特異性は絶対的なものではありません。ブドウ糖などにも若干反応することから、加工食品等を溶媒に溶解・抽出してそのままカルバズール硫酸法で定量する場合、その定量結果をムコ多糖とするには十分な考察が必要です。

ムコ多糖の一つであるヒアルロン酸だけは、その単純な連続構造を根拠にして分析法を定めています。図-3右にその流れを示しました。タンパク質を酵素分解で除去するのはムコ多糖の定量と同じです。違いは、遊離したヒアルロン酸に酵素(ヒアルロニダーゼ, EC 4.2.2.1)を作用させる点です。この処理により、多糖であるヒアルロン酸は特異なオリゴ糖である不飽和4糖及び不飽和6糖を生成するため、これらをHPLC法によって測定します。なお、検量線は鶏冠由来ヒアルロン酸(試薬)を用い、試料と同様に酵素処理して生成させた不飽和4糖及び不飽和6糖を用いて作成します。

この他、コンドロイチン硫酸の定量法として、コンドロイチナーゼ酵素処理し、生成物をHPLCで定量する方法が報告されています(参考文献 3)。ただし、生成する糖の標準品が入手困難であり、まだ通常の試験に用いるには現実的でないようです。

おわりに

ムコ多糖の所在と機能を考えると、人間には必須の成分です。特に、今後の高齢化社会において、何かと注目される成分であるがゆえの問題もあります。品質管理を適切に行い、分析法に対する正しい理解を深めることに本文が役立てば幸いです。

参考文献

- 1) 阿武喜美子・長谷川栄一編集, ムコ多糖実験法 [I], 南江堂(1972)
- 2) 山科郁夫・監修/川寄敏祐・編集, 第2版 レーニンジャーの生化学 上, 廣川書店 (1995)
- 3) David Ji, Mark Roman, Joseph Zhou, Jana Hildreth, J. AOAC Int., **90**, 659-669, 2007