

最後のバイオマス、キチン質の由来・性質と応用

矢 吹 稔

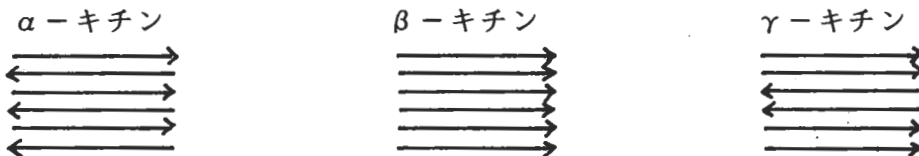
最近10年ほどの間にキチンあるいはキトサンを応用する話題が多く見られるようになり、とくに健康食品関連の製品が多数登場してその効き目を喧伝する出版物も目につくようになった。キチンやキトサンが言われるように健康増進に効果があるか否かは別として、地球上で年間 $10^9 \sim 10^{11}$ トンにのぼると言われるその生産量と、このN-アセチルグルコサミンのホモポリマーが最後のバイオマスとして数々の特徴ある機能を有することだけは強調しておきたい。

次頁に示すようにキチンはN-アセチルグルコサミンのホモポリマーであり、キトサンはグルコサミンのホモポリマーであると言われている。つまりキトサンはキチンが脱アセチル化されたものと言える。しかし天然であれ人工的にであれその脱アセチル化の度合いはvariableであり、キチンで10%前後、キトサンで通常70%から100%と言われている。

1. キチン、キトサンの化学的性質のあらまし

○分子量	キチン	3×10^6	キトサン	3×10^5
○脱アセチル化度	キチン	10%程度	キトサン	60%~100%

○キチンは化学的にきわめて安定



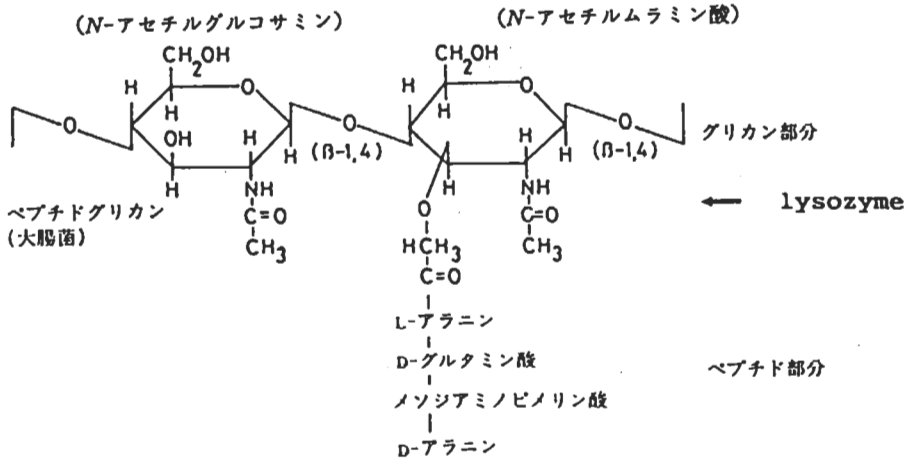
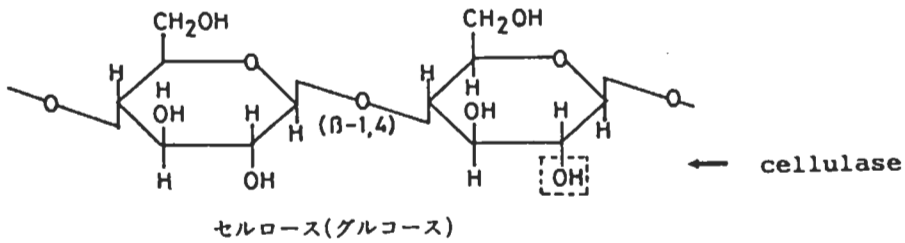
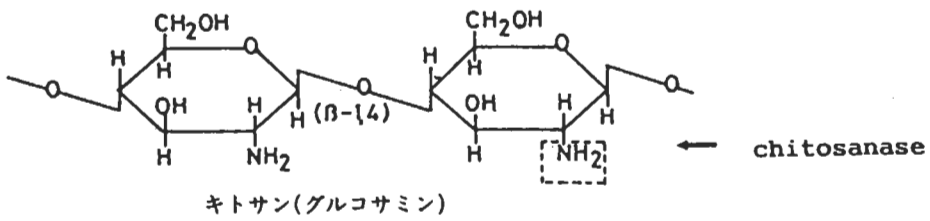
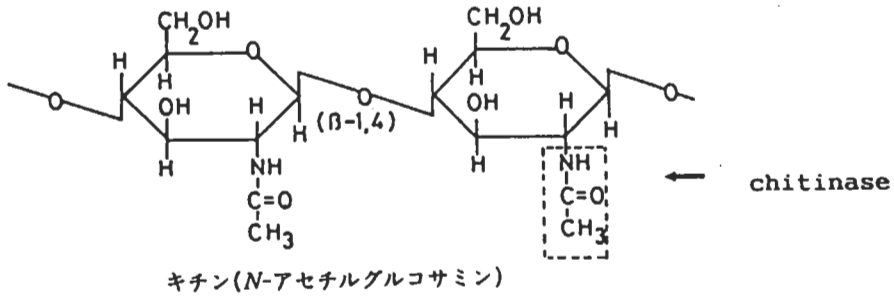
○キチンの溶媒 濃塩酸、濃硫酸、85%リン酸、ギ酸（分子量低下を招く）
ギ酸-ジクロロ酢酸、メタンスルホン酸、ギ酸-ジクロロエタン、ジメチルアセトアミド-LiCl, ジメチルアセトアミド-N-メチル-2-ピロリドン-LiCl, N-メチル-2-ピロリドン-LiCl, ヘキサフルオロイソプロパノール

○キトサンの溶媒 多くの無機酸あるいは有機酸の希薄溶液に溶ける

2. キチン、キトサンの生物学

a. キチン、キトサンの分布と所在

キチンは昆虫、エビ、カニなどの甲殻類（節足動物）の外骨格構造、イカ



キチン、キトサンの生分解性

の軟甲、その他菌類細胞壁の主成分として存在している。

キトサンは天然には一部の菌類（接合菌類）ケカビ、クモノスカビなどの細胞壁にのみ見出されている。後述するようにキトサンはキチンを熱濃アルカリ溶液中で脱アセチル処理して人工的に製造している。

b. 動物におけるキチンの役割

タンパク質、色素、脂質、無機質（ Ca^{++} など）と結合して生物体の形態の保持と強度の維持の役割を果たしている。

c. 菌類におけるキチン、キトサンの役割

タンパク質と結合して菌類細胞の形態維持と強度保持に役立っている。

d. キチン、キトサンの生合成

キチン生合成の直接の基質はUDP-N-アセチルグルコサミンであり関与する酵素はキチンシンターゼ (UDP-2-acetamido-2-deoxy-D-glucose:chitin-4- β -acetamidodeoxyglucosyltransferase, EC2.4.1.16) である。この酵素はN-acetylglucosaminを β -1,4-結合によって1つずつ1万個以上繋げて分子量 10^6 以上の巨大分子を構築する。

動物では強固な外骨格構造中にキチンを含むので、生長するためにはその構造を緩めて脱ぎ捨て、その下に新たな外骨格構造を用意しなければならない（脱皮）。この脱皮に際してはキチンの構造を緩める作用をするキチナーゼとキチンの生合成を行なうキチンシンターゼとが生長に見合ったキチンの合成と分解の方向とバランスを適切に保つ必要があり、これはホルモンにより調節されている。このことは害虫駆除の目的でキチン生合成の阻害剤ポリオキシシン類やニッコウマイシンが開発されたり、キチナーゼの阻害剤アロサミジン見出される端緒ともなっている。

一方菌類においてはキチンは細胞最外層の細胞壁に存在し、また菌類細胞は先端生長をすることが知られている。そこで菌類細胞の先端では動物の外骨格の場合と同様にキチンシンターゼとキチナーゼの作用が微妙に調節されて作用している。

またキトサンを細胞壁の成分としてもつ接合菌類では、キトサンはキチンとして生合成され、合成されるそばから直ちに脱アセチル酵素の作用を受けてキトサンが生じると言われている。この場合の脱アセチラーゼは既に出来上がってミセル構造をとった安定な形のキチンには作用せず、生合成されたばかりの(nascent chitin)にのみ作用する。

e. キチン、キトサンの生分解

外骨格構造にキチンを含む動物の場合や細胞壁構造にキチンやを含む菌類では、生長に必要な要素としてキチン分解酵素キチナーゼを含むことは既に述べた。しかし巨大なバイオマスとして存在するキチン質をエネルギー源や栄養源として利用する生物はたくさんあり、それらはキチンやキトサンを低分子化する酵素キチナーゼやキトサナーゼをもっている。多くの細菌類、放線菌類、菌類が強力なキチナーゼやキトサナーゼの分泌生物として知られており、その生成する酵素の研究や応用が盛んに行なわれている。

このほかキチナーゼには極めて特徴的な存在様式がある。それは多くの高等植物ではその体内にキチンの存在が知られていないにもかかわらず、植物キチナーゼが多く分離・精製され、その性質が調べられている。そして植物が細胞壁にキチンを含む植物病原菌の侵入を受けたり、植物病原菌の死菌体やキチン質と接触すると、これらがエリシターとなってキチナーゼ、グルカナーゼやファイトアレキシンなどが誘導生成されるという。つまり植物の場合はキチナーゼは病原菌を攻撃する防御作用の一環として働くことが解釈されている。

まとめると、生物体におけるキチナーゼの存在意義は

- i . 生物自身の生長を制御する要素
 - ii . キチンをエネルギー源、栄養源として利用するための要素
 - iii . 植物の自己防衛機構の一環としての要素
- などと考えられる。

キトサンの分解に関与する酵素キトサナーゼもまた多くの細菌類、放線菌類、菌類などから分離・精製されているが、キトサン自体の自然界における存在の範囲が限られているのでキチナーゼほどの研究の厚みは未だない。しかし、近年キトサン分解物調製への応用、キチンやキトサンの分解様式の研究の道具として興味を持たれている。

f . キチン、キトサンの生合成、生分解の遺伝子レベルの研究

今迄報告されたキチンシンターゼは同一種生物（酵母）から複数種類見出され、これらのアイソザイムの遺伝子は順次見付けられ、その機能の異同なども研究されている。

キチナーゼの場合も多くのアイソザイムの存在が見出されており、進化の歴史、機能や細胞内局在性の違いなどについて研究が進められている。

また細菌類の強力なキチナーゼ遺伝子を植物に導入して発現させ、植物の病原菌に対する抵抗性を増強しようとする試みもなされている。

キトサナーゼの遺伝生化学的研究は数種の酵素について研究が始められたところである。キチナーゼアイソザイムは互いに遺伝子レベルで関連性が認められるが、キトサナーゼ遺伝子との関連性は今のところ薄いとされている。

3. キチン、キトサンとそのオリゴマーの生理活性

a. 脱アセチル化度70% キチン (DAC70)

マウス、モルモット等に腹腔内投与でマクロファージ活性化、ナチュラルキラー細胞活性化、ヘルパーT細胞、細胞障害性T細胞に対する免疫アジュバント活性、インターフェロン、インターロイキン1、2、マクロファージ活性化因子産生刺激など免疫系への作用が認められている。

b. 硫酸化カルボキシメチルキチン (SCMキチン)

マウスへの静脈内注射によりガン細胞の付着が阻害され腫瘍の自然転移が阻止された。

抗ガン剤と組み合わせて薬剤に徐放生や標的親和性を付与する薬剤送達法への応用の可能性が示唆された。

c. キチンオリゴマー (GlcNAc 6量体、NACOS 6)

マウス腹腔内投与によりマクロファージ活性化、インターロイキン1の産生誘導、インターロイキン2産生の活性化が認められた。

またマウス静脈内注射により腫瘍壊死因子(TNF)の生成誘導によるガンにたいする抵抗性の増強、同尾静脈内注射でサプレッサーT細胞の作用低下による免疫能低下阻止効果などがみとめられた。またこれと並行してキトサンオリゴマー (GlcN 6量体、COS 6) も部分的に効果のあることが認められた。

さらにNACOS 6、COS 6のマイトマイシンCやプレオマイシン等抗ガン剤の薬剤送達法への応用も検討されている。

d. キチン、キトサンの動物への親和性

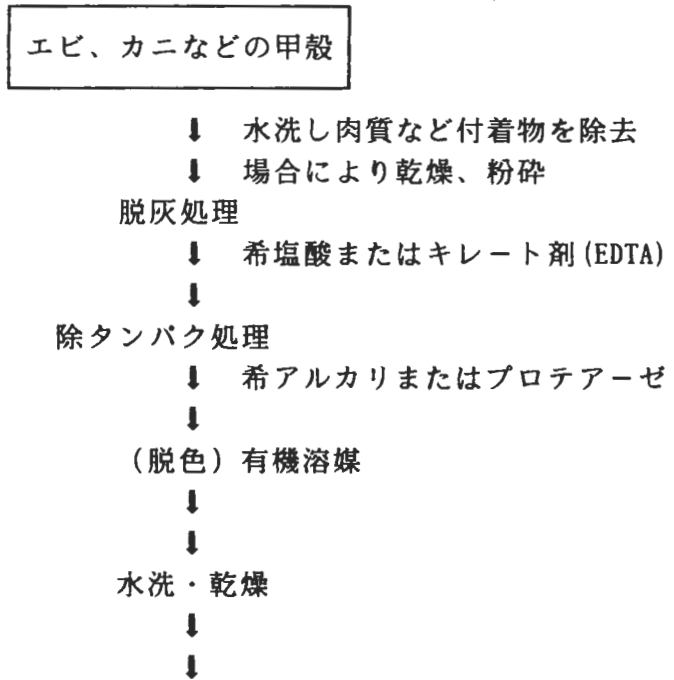
キチンスポンジを創傷に接触させその組織反応を検討したところ、新組織の構築は良好、止血効果、鎮痛効果があり、適合性良好と判断された。

またその生体内消化性も良く、リゾチーム可溶性であった。

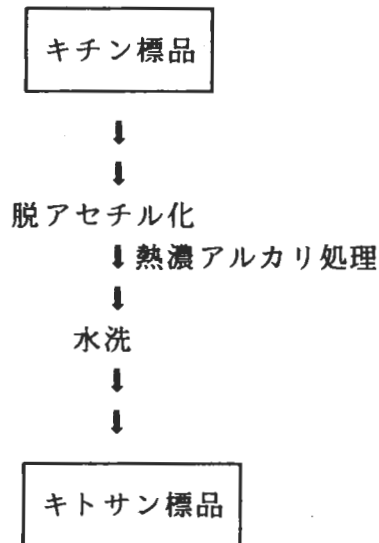
キチンスポンジ、キチン傷面被覆材、キチン綿、キチンフレーク、キトサン綿、キトサン懸濁液(組織内注入用)などについて適宜検討されたが、創傷治癒効果として、炎症が抑えられる、痛みが和らげられる、止血効果がある、傷跡がきれいである、細胞毒性が極めて低いなどの結果が得られた。但しイヌ、タヌキなど(イヌ属)ではキトサンの場合肺に障害を生じる等の毒性が認められた。

4. キチン、キトサンおよびそれらのオリゴマーの調製法

a. キチンの調製法

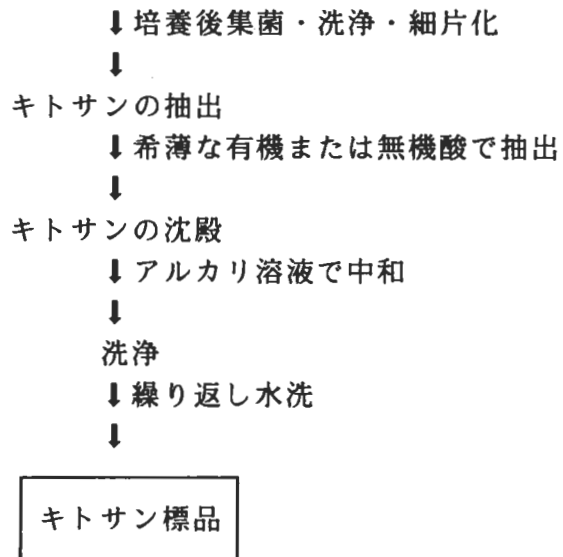


b. キトサン調製法



c. 菌類からキトサンの調製

接合菌類 (Absidia, Mucor, Rhizopus属菌) 細胞



d. キチンオリゴマーの調製

- i. キチンを酸またはキチナーゼ処理して低分子化し、生じたオリゴ糖混合物を活性炭またはその他適切なクロマトグラフ法で分別する。
- ii. モノマーまたはダイマーまでキチンを加水分解し、この混合物を適当な条件下でリゾチームまたはキチナーゼの糖残基転移活性を応用してオリゴ糖混合物を得、上記同様分別する。

e. キトサンオリゴマーの調製法

キトサンを酸またはキトサナーゼで穏やかに低分子化し、得られたオリゴ糖の混合物を主としてイオン交換クロマトグラフ法で分別・調製する。

5. キチン、キトサンの誘導体の調製

キチンやキトサンの分子に種々の化学処理を加え、その溶解性、反応性、親水性、疎水性、結晶性、加工性、生理活性などを改変することが出来る。例を挙げれば、脱アセチル化、水溶性化、O-アシル化、O, N-アシル化、N-アシル化、トシル化、O-アルキル化、N-アルキル化、カルボキシル化、硫酸化、シッフ塩基生成、四級アンモニウム塩生成、その他がある。

6. キチン、キトサンおよびそのオリゴマーの応用

a. 抗菌作用の応用

キトサンは細菌 Pseudomonas, Bacillus, Staphylococcus aureus に対し生育抑制、一部乳酸菌には生育促進作用、植物病原菌 Fusarium, Verticillium に対し生育抑制作用が認められているので、穏やかな食品保存料として、また植物病原菌の発生予防などへの応用が可能であろう。

b. 医用材料への応用

キチンの生体吸収性、創傷治癒促進、止血作用、鎮痛効果を利用して、人工皮膚、生体吸収性縫合糸、人工腱、人工靭帯、キチンスポンジ、キチン綿などが製造され、徐放性薬剤の調製など薬剤送達基材としても利用出来る。

c. 化粧品への応用

主としてキトサンまたはその誘導体の示す親水性、ポリカチオン性、保水性、保護性、美観付与性、肌や毛髪へのなじみのよさを応用した化粧水、クリーム、シャンプー、ヘアトリートメント料がある（ヒドロキシプロピルキトサンなど）。

d. 食品材料としての応用

キトサン	抗コレステロール作用 微生物生育抑制 呈味性（渋味、苦味） 増粘、保水、保湿、乳化	機能性食品素材 食品保存料 呈味調節材 菓子、麺類、みそ、アイスクリーム、チーズ
キトサンオリゴ糖	ビフィダス菌増殖促進（整腸作用）、 β -グルコシダーゼ誘導	乳幼児食品添加材、乳糖含有食品に添加、ホエーの飼料化
低分子化キチン	パン生地の膨化促進	製パン
キチン、キトサン	焙焦による有機酸、ピラジンの生成	焦げ風味の付与

e. 分離材料への応用

キチンやキトサンまたはそれらの誘導体を薄膜に加工し、その特性を生かして種々の分離膜として物質の分離・精製に利用する。

例としては逆浸透膜、限外濾過膜、拡散透析膜、浸透気化膜、気化浸透膜、キャリアー輸送膜、触媒機能化膜、気体分離膜などが挙げられる。

f. 農業資材への応用

キチン、キトサンがキチナーゼ、ファイトアレキシンなどのエリシターであることから植物の耐病性を増加させ植物病原菌の防除に応用される。

また、理由は未だよく解明されていないが、現象としては作物の生長促進、収量増加、品質改良などの効果が栽培試験の結果認められている。

それらの理由を明らかにする基礎的な研究が切に望まれる。

g. シート材料への応用

キトサン塗布により洋紙、和紙の耐水性、耐油性、印刷性の向上や強度などを改良することが出来る。

また、生分解性プラスチック、セルロースーキチン複合フィルムなどをつくることが出来る。

h. 繊維用資材への応用

主としてキトサンの示す保湿性、抗菌性、抗カビ性を応用してキトサン含有繊維を製造し、機能性を持たせた肌着、靴下、スポーツウエア、布製靴などの生地として利用する。

またキトサン微粉末を練りこんだポリノジック繊維は白癬菌（水虫菌）やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）などにも生育阻害作用を示すので、これから一般用衣類はもとより医療用衣類やシャツなどへの応用もひろがりつつある。

i. 水処理技術への応用

廃水処理施設での余剰汚泥の凝集・脱水剤（陰イオン性ポリマーと併用）として応用されるほか、培養微生物細胞の凝集・分離、核酸、エンドトキシンの選択的除去などに利用されている。

j. 多孔質ゲルへの応用

キトサン多孔質ゲルの架橋、官能基導入などにより有用微生物菌体、動物細胞、酵素などの固定化担体としてバイオリアクターの構築に利用される。実際にはデンプン糖化、異性化糖・液糖、各種オリゴ糖、サイクロデキストリン、消化タンパク液の製造や尿素除去による酒質保全処理などに使われる。またゲルビーズは高速液体、アフィニティー、ゲル濾過などのクロマトグラフィ用担体や細胞培養用マイクロキャリアーとしての用途がある。

k. 放射性同位元素（ストロンチウム）の体外排出促進

ラットが経口摂取した放射性ストロンチウムをキトサン酢酸溶液の腸管内注入により排出させることが出来た。これは放射性ストロンチウムがキトサンを包摂してその吸収が妨げられた結果であり、キトサン分子中のアミノ基、1級並びに2級アルコール基の水酸基が金属イオンの配位子として働き、キトサン・金属イオン複合体が形成されたことによる。

キチン、キトサンのリン酸化誘導体はキチン、キトサンに比べて Cu^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cr^{2+} などの重金属イオン Li^+ , Na^+ , K^+ などのアルカリ金属イオン

Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} などのアルカリ土類金属イオンの吸着が良好であるという。

CMキチンは Ca^{2+} に対し特異的に高い吸着性を示し、粒状キチンは6価クロムイオンを、メルカプタン化キトサンは水銀イオンの除去に有効との報告もある。

l. 降コレステロール作用

キトサンを1.5 ~ 3.0 g/day, キトサン入りビスケットの形で青年男女に2週間与え、その他の食事は自由にして血中コレステロール量の変動を調べたところ有意に減少したという。

m. その他の生理作用

ラットのキトサン経口投与で血糖値の低下が認められた。

またキトサンは Cl^- の吸着により、 NaCl 摂取に由来する血圧の上昇を防止した。キトサンは脂肪の腸管吸収を阻害して高脂血症が予防出来る。

GlcNAc , GluN をラットに経口投与すると食欲増進が認められる。

などの報告もある。

以上キチン、キトサン及びそれらのオリゴマーの化学的性質のあらまし、生物界における分布、キチン質の生物学、調製法、種々の応用について述べた。しかし、キチン質の研究や応用開発の発表の場であるキチン、キトサン・シンポジウムの第1回会合が開かれたのは1981年のことであり、わずか14年を経たに過ぎない。同じ天然ポリマーであるデンプンやセルロースの研究・開発の歴史の長さとは比べようもないほど短いと言えよう。

言うまでもなく応用と基礎研究とは相互に因果関係を有し、基礎研究の進展なくして豊かな応用はあり得ない。また応用からの要請なしに基礎研究の足掛りは見出し難い。ここに述べた応用の事例のなかには、その基礎研究や基盤としての科学的理由づけに乏しいものも含まれている。

本日ここにお集まりの皆様方が興味をもってこの分野の研究や開発に当たって頂きたいものと念願してやまない。

主要参考文献

1. 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)
2. キチン、キトサンの応用、キチン、キトサン研究会編、技報堂出版、(1990)
3. キチン、キトサン実験マニュアル、キチン、キトサン研究会編、技報堂出版、(1991)
4. キチン、キトサンのゲル化への応用、木船紘爾、技報堂出版、(1994)
5. キチン、キトサンー基礎と薬理ー、奥田拓道、薬局新聞社(1994)
6. 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) 2月刊行予定