

制癌性多糖類に関する研究(12)

誌名	静岡大学農学部研究報告 = Reports of the Faculty of Agriculture, Shizuoka University
ISSN	05598850
著者	水野, 卓 河岸, 洋和 伊藤, 均
巻/号	38号
掲載ページ	p. 29-35
発行年月	1988年3月

制癌性多糖類に関する研究 (第12報)
二三の薬用キノコの β -D-グルカン及び
キチン質の抗腫瘍活性について

水野 卓*¹・河岸 洋和*¹・伊藤 均*²・志村 圭志郎*³

(昭和63年10月30日受理)

Immunostimulative Antitumor Effects of β -D-Glucans and
Chitin Substances Isolated from Some Medicinal Mushrooms

Takashi MIZUNO,*¹ Hirokazu KAWAGISHI,*¹ Hitoshi ITO*² and Keishiro SHIMURA*³

Summary

Two groups of antitumor polysaccharides from three medicinal mushrooms, "Mannentake", "Maitake" and "Himematsutake", every the cultured fruiting bodies of *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa* and *Agaricus blazei*, were respectively extracted with hot water. One group was a neutral glycan FI-1a-1 β , FIo-a- β ₁ and FIo-a- β , and another was an acidic glycan FA-1a- β , FA-1a- β ₁ and FA-1a- β (Table I). Common structure of both active neutral and acidic glycans were estimated to have a (1 \rightarrow 6)-D-glucosylbranch on the β -(1 \rightarrow 3)-D-glucan chain.

Three kinds of antitumor heteroglycans, water-insoluble each FIII-2-b fractions, were obtained from the above-residue of the same mushrooms by the 5% NaOH extraction (Table I).

Chitosan preparations were obtained from three mushrooms, and then antitumor screening test carried out according to Sarcoma 180, solid type/mice, in i. p. route method. Antitumor activities of our chitosan preparations could not find (Table II).

Commercial chitin substances, such as chitin, chitosan, and the related N-acetylchitooligosaccharides (DP 2~6) and chitooligosaccharides (DP 2~6) prepared from a creb-crust, had no remarkable antitumor effect on Sarcoma 180/mice in i. p. route (Table IV).

緒 言

近年、主に我が国の研究者によって、多くの食用キノコや薬用キノコから、顕著な宿主伸介性の抗腫瘍活性 (Sarcoma 180/mice, ip or po 法によるスクリーニング) を示す多糖体が単離され、それらの構造と活性相関が研究された。活性多糖体は、それぞれ、分岐鎖 [β -(1 \rightarrow 6)-グルコシル基など]、分岐度、重合度、水に対する溶解性などを異にするが、いずれも β -(1 \rightarrow 3)-D-グルコピラン直鎖を基本骨格とする三本鎖右手巻きヘリツクス構造をとることが明らかにされた。⁽¹⁻⁴⁾

前報 文献 6)

*¹ 静岡大学農学部 生物化学研究室

Laboratory of Biochemistry, Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Ohya 836, Shizuoka 422, JAPAN

*² 三重大学医学部 薬理学教室

Department of Pharmacology, School of Medicine, Mie University, Tsu, Mie 514, JAPAN

*³ 三重大学医学部附属動物実験施設

Institute of Laboratory Animals, School of Medicine, Mie University, Tsu, Mie 514, JAPAN

これらのうち、カワラタケ（さるのこしかけ科、*Coriolus versicolor* 菌糸体）から Krestin（PSK, 1976年）が、シイタケ（しめじ科、*Lentinus edodes* 子実体）から Lentian（1985年）、そしてスエヒロタケ（しめじ科、*Schizophyllum commune* 液内生産物）から Schizophyllan（SPG, Sonifilan, 1986年）の3種が癌の免疫療法剤として我が国で認可・実用化された。⁴¹

我々は漢方キノコ（マンネンタケ、コフキおよびツガサルノコシカケ）や食用キノコ（マイタケ、ヒメマツタケなど）から多くの抗腫瘍活性多糖を分離し、それらの化学構造と活性相関について詳細な研究を実施してきた。¹¹⁻¹⁷

一方では、キノコの多糖体にはBRM（Biological Response Modifier）として抗腫瘍活性とともに、抗炎症、抗血栓、血糖下降、血圧降下、脱コレステロール、抗変異原性などの多様な生物活性や機能が報告されるようになり、キノコの機能性食品としての価値が見なおされており、また、新しい生物活性物質の開発素材としても注目されるようになってきた。¹¹⁻¹²

多くのキノコの細胞壁多糖は、セルロースではなくてキチン質である。本質的にはエビ、カニ、昆虫などの動物性キチンと大差ない。キチン質から誘導される化学修飾キチンやキトオリゴ糖類のあるものには抗腫瘍性や感染症予防効果など免疫活性が見出されている。¹³⁻²²

キチン質には、人体に対する作用として食物繊維としての効果²³の他に、抗血栓、抗血液凝固、ピフズス菌因子、創傷治癒促進などの作用が、また、人工皮膚や手術糸への利用、さらに、ポリカチオン性の廢水処理剤、イオン交換体、アフィニティ素材、ゲル濾過剤としての諸利用が試みられている。¹³⁻²⁰

本研究では、三種の薬用キノコ：マンネンタケ *Ganoderma lucidum*（さるのこしかけ科）、マイタケ *Grifola frondosa*（さるのこしかけ科）、ヒメマツタケ *Agaricus blazei*（はらたけ科）から分離した¹¹⁻¹⁷ β -(1 \rightarrow 3)-D-グルカンには顕著な抗腫瘍活性が認められたが、同系の β -(1 \rightarrow 4)-D-グルコサミンであるキチン質と関連のオリゴ糖類（DP 2~6）には活性を認めることができなかった

ので報告する。

実験方法

1. マンネンタケ、マイタケ、ヒメマツタケから β -D-グルカンの分画調製

既報¹¹⁻¹⁷に従って分別抽出し、細分画、さらに再クロマト法によって精製した。理化学性を Table I に示した。

2. マンネンタケ、マイタケ、ヒメマツタケからキチン質の分別調製

既報¹⁵⁻¹⁷に従って、それぞれキノコから20% NaOH で予備処理後、キチン質を5% LiCl-DMAA²³ (70°C) 抽出し、エタノール沈澱を繰返す、最後に凍結乾燥した。理化学的性質は Table II に示した。

3. カニ殻からキチン質およびキトオリゴ糖類

(1) Chitin 1000：片倉チッカリン(株)製。ズワイガニのカニ殻からの調製品。7,500円/100g（生化学工業）。

(2) Chitosan 500と1,000：片倉チッカリン(株)製。Chitin を熱40% NaOH で脱アセチル化したものであり、脱アセチル化度 DAc-70%と DAc-90%。12,000円と15,000円/100g（生化学工業）。

(3) N-Acyl chitosan 3種：鳥取大学農学部平野茂博教授からの提供品。それぞれ N-Myristoyl (DS=0.2), N-Butyryl (DS=1.0), N-Palmytoyl (DS=1.0) chitosans である。

(4) N-アセチル-キトオリゴ糖類：焼津水産化学工業(株)製。カニ殻キチンを塩酸で水解し、活性炭-セライトカラムで分画・精製した DP 2~6 の5種のオリゴ糖で、それぞれ HPLC 的に単一であり、遊離のアミノ基もニンヒドリン反応も陰性。理化学性は Table III 参照。

(5) キトオリゴ糖類：焼津水産化学工業(株)製。カニ甲殻から調製したキトサンを塩酸で水解し、クロマトグラフ法によって分画・精製した、DP 2~6 の5種のオリゴ糖・塩酸塩で、PPC, TLC, HPLC 的に、それぞれ単一糖である。Table III 参照。

(6) CM-chitin (6-Carboxymethyl chitin)：一丸ファルコス(株)研究開発部から提供載いた精製品である。

二三の薬用キノコのβ-D-グルカン及びキチン質の抗腫瘍活性について

Table I. Physico-chemical Properties and Antitumor Effects (Sarcoma 180, Solid type/mice, ip) of β-D-Glucans Isolated from Some Medicinal Mushrooms

Mushroom (Name in Japan)	β-D-Glucan	MW ^a 10 ⁴	[α] _D NaOH	IR _{KBr} cm ⁻¹	Component Sugar				Tumor diameter				
					Major ^b Glc %	Minor ^c	Uronate ^d %	Protein ^e %	Dose mg/kg/day	(mm) on day 25 T/Cont. Inhibition %	Complete regression	Mortality at 35 day	
<i>Ganoderma lucidum</i> (Mannentake)	F I-1a-1 β	105	+10°	890	80	none	0	1.1	50×1	0/18.3	100	5/5	—
	F a-1a-β	45	-44°	890	88	Man, Xyl	9.6	1.1	100×1	12.7/18.3	31	—	—
	F III-2-b	4-7	+ 8°	890	61	Fac, Xyl, Man	7.6	0.4	100×1	0/18.5	100	5/5	—
<i>Grifola frondosa</i> (Maitake)	F I o-a-β ₁	100	+ 9°	890	95	none	0	0	20×1	0/19.6	100	5/5	—
	F A-1a-β ₁	50	+ 5°	890	82	GlcUA	8.8	1.2	40×1	0/14.5	100	5/5	—
	F III-2-b	7-10	+43°	890	86	Xyl, Man	10.0	10.6	100×1	0/17.0	100	5/5	—
<i>Agaricus blazei</i> (Himematsutake)	F I o-a-β	50	+45°	890	77	Gal	0	7.7	10×10	7.9/26.7	71	1/6	4/6
	F A-1-a-β	200	- 4°	910	78	Gal, Xyl, Man	5	6.3	10×10	3.8/26.7	97	5/8	0/8
	F III-2-b	1-5	-23°	913	55	Gal, Xyl, Man	7	43.3	10×10	0.4/43.0	99	8/10	0/10

a Measured by a gel filtration method.

b Calculated as glucose by the phenol-sulfuric acid method.

c Determined as alditol acetates by GLC.

d Calculated as glucuronic acid by a modified carbazole method.

e Measured by Lowry method.

Table II. Physico-chemical Properties and Antitumor Effects (Sarcoma 180, Solid type/mice, ip) of the Chitin Substances Isolated from Some Medicinal Mushrooms

Mushroom (Name in Japan)	Chitin substances ^a	Yield % ^b	IR _{KBr} cm ⁻¹	X-ray diff. 2θ	N %	Glucosa- mine % ^c	Protein % ^d	Tumor diameter				
								Dose mg/kg/day	(mm) on day 25 T/Cont. Inhi. %	Complete regression	Mortality at 35 day	
<i>Ganoderma lucidum</i> (Mannentake)	FVI-1	0.81	890, 950, 1156, 1310, 1375, 1556, 1658	9.8 19.7	5.22	81.0	1.3	100×1	19.2/20.0	4.0	0/5	—
<i>Grifola frondosa</i> (Maitake)	FVI-1	1.03	890, 952, 1158, 1376, 1656	9.8 19.7	5.95	95.4	0.3	100×1	22.8/20.3 -12.0	—	0/5	—
<i>Agaricus blazei</i> (Himematsutake)	FVI	1.06	893, 1156, 1375, 1658	11.0 19.8	6.12	98.6	0.9	10×10	22.4/43.0	48.1	1/10	5/10

a Extracted with 5% LiCl-Dimethylacetamide at 70°C.

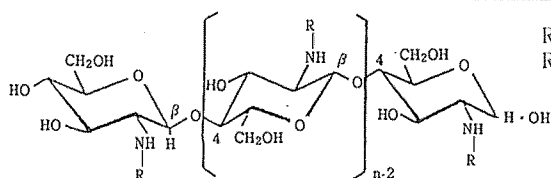
b % for dry matter.

c Calculated as D-glucosamine by Elson-Morgan method.

d Measured by Lowry method.

Table III. Properties of N-Acetyl-chitooligosaccharides and Chitooligosaccharides

Oligosaccharides	MW	MP (°C)	[α] _D (H ₂ O)	Solubilities in (20°C, g/100ml)		Prices at 1988 Seikagaku Kogyo Co., Ltd.
				Water	Methanol	
N-Acetyl-chitooligosaccharides						
Di-N-acetyl chitobiose	426	205-209	+17.5°	37.0	—	Yen/25mg 10,500
Tri-N-acetyl chitotriose	628	308-311	-1.0°	2.5	—	10,500
Tetra-N-acetyl chitotetraose	831	293-298	-4.0°	2.0	—	13,200
Penta-N-acetyl chitopentaose	1034	296-304	-12.0°	1.9	—	13,200
Hexa-N-acetyl chitohexaose	1237	292-300	-15.0°	1.4	—	34,200
Chitooligosaccharides						
Chitobiose·2HCl	413	—	+40.6°	190	5.4	Yen/100mg 7,000
Chitotriose·3HCl	611	—	+25.8°	177	37	7,000
Chitotetraose·4HCl	809	—	+18.1°	158	45	15,000
Chitopentaose·5HCl	1006	—	+10.4°	86	4.6	15,000
Chitohexaose·6HCl	1203	—	+7.8°	68	1.7	25,000



R = H·HCl: Chitooligosaccharides, n = 2~6.
R = CH₃CO: N-Acetyl-chitooligosaccharides, n = 2~6.

Table IV. Antitumor Effects of Chitin, Chitosan and the Related Oligosaccharides.

Chitin Substances	Dose mg/kg/day	Tumor size/ Control cm ³ or mm (φ) on day 25	Inhibition %	Complete regression on day 25	Mortality at 35 days
Chitin substances					
Chitin	10×10	25.4/28.3	10.3	0/5	—
Carboxymethyl chitin	10×10	17.3/31.4	44.9	0/5	—
Chitosan (DAc-70)	100×1	18.4/19.3	5.0	0/5	—
Chitosan (DAc-95)	10×10	26.7/28.3	5.5	0/5	—
N-Myristoyl chitosan (DS=0.2)	100×1	23.2/19.3	-20.2	0/5	—
N-Butyllyl chitosan (DS=1.0)	100×1	19.7/19.3	-2.1	0/5	—
N-Palmytoyl chitosan (DS=1.0)	100×1	16.6/19.3	14.0	0/5	—
N-Acetyl-chitooligosaccharides					
Di-N-acetyl chitobiose	5×5	31.2/28.3	-10.4	0/5	0/5
Tri-N-acetyl chitotriose	5×5	26.9/28.3	4.8	0/5	0/5
Tetra-N-acetyl chitotetraose	5×5	23.8/28.3	15.9	0/5	0/5
Penta-N-acetyl chitopentaose	5×5	24.8/28.3	12.2	0/5	0/5
Hexa-N-acetyl chitohexaose	5×5	25.5/28.3	9.8	0/5	0/5
Chitooligosaccharides					
Chitobiose·2HCl	10×10	20.6/31.4	34.4	0/5	0/5
Chitotriose·3HCl	10×10	28.2/31.4	10.2	0/5	0/5
Chitotetraose·4HCl	10×10	32.1/31.4	-2.2	0/5	0/5
Chitopentaose·5HCl	10×10	24.9/31.4	21.3	0/5	0/5
Chitohexaose·6HCl	10×10	17.9/31.4	43.3	0/5	0/5

4. 抗腫瘍試験

Sarcoma 180固形癌/mice,ip 法によった。^{12,8)} 空調室にて、市販の飼料(オリエンタル酵母社)と水を ad libitum に与えて飼育した5週令のICR/SLC or ICR/JCL マウス(雄性, 25 ± 2 g) 5頭を試験群とした。最初、国立がんセンター研究所から供与を受け、三重大学医学部附属動物実験施設で継代培養している14日目のSarcoma 180 solid tumor 片(約 ϕ 3 mm)をマウスの右鼠脛部にトコカルで移植した。移植24時間後に、検体を0.1 M NaCl 液に溶解あるいは懸濁し(5, 10 or 100mg/kg/10 day), 腹腔内(ip)投与した。無投与区(生理的食塩水)と比較した。

腫瘍移植25日目に、腫瘍の大きさ(直径mm)を測定し、それを次式によって対照群と比較し、腫瘍増殖抑制率(%)を算出した。

$$I = (1 - T/C) \times 100 \%$$

T: 検体を投与したマウスの腫瘍の大きさ(mm)

C: 検体無投与のマウスの腫瘍の大きさ(mm)

また、腫瘍移植35日後の腫瘍完全消失率(完全消失頭数/5頭)ならびに死亡率(死亡頭数/5頭)を調べた。

動物試験結果は Table I (キノコの β -D-グルカン), Table II (キノコのキチン質) および Table IV (カニ殻からのキチン質と関連オリゴ糖類)に纏めて掲げた。

結果および考察

1. キノコ多糖体の分別と抗腫瘍活性

マンネンタケ、マイタケおよびヒメマツタケの子実体から、それぞれ、熱水、1% $\text{NH}_4\text{-oxalate}$ (100°C), 5% NaOH (30°C, 80°C), 20% NaOH (30°C), 5% LiCl-DMAA (70°C) によって、順次、多糖類を抽出し、さらに各種クロマト法によって細分画・精製した。¹¹⁻²⁾ それぞれのキノコから得た各種多糖体の抗腫瘍活性をスクリーニングした。

顕著な活性を示した β -D-グルカン画分、並びにキチン質の試験結果と理化学性をともに Table I, Table II に示した。即ち、キノコから得られた β -D-グルカンには顕著な活性が認められたが、キチン質にはいずれも活性は認められなかった。

2. キノコ β -D-グルカンの抗腫瘍活性

マンネンタケ、マイタケ、ヒメマツタケから、それぞれ、強い活性を示す水溶性の中性多糖(FI-Ia-1 β , Flo-a- β ₁, Flo-a- β)ならびに酸性多糖(FA-Ia- β ₁, FA-I-a- β)が得られた。いずれも、 β -(1 \rightarrow 6) グルコシル分岐鎖を持つ β -(1 \rightarrow 3)-D-グルカン直鎖を繰返し基本構造としていた。

酸性多糖では、 β -(1 \rightarrow 3)あるいは β -(1 \rightarrow 6)-D-グルカン直鎖の他に、ウロン酸、マンノース、ガラクトース、キシロースなどのヘテロ糖残基の存在が認められた。

さらに、いずれのキノコからも、水溶性多糖抽出残渣から5% NaOH (30°Cあるいは70°C)で抽出され、アルコールによって沈澱し、次いでゲル濾過によって分画精製された水不溶性多糖画分FIII-2-bにも強い抗腫瘍活性が認められた。FIII-2-b画分の主要構成糖は、いずれもグルコースではあるが、キノコの種類によって副構成糖の組成を異にしている。即ち、マンネンタケからのFIII-2-bではグルコースとマンノース、キシロース、フコース、ウロン酸から成り、マイタケからのそれはグルコースの他にキシロース、マンノース、ウロン酸を含み、さらに蛋白質含量10.6%のヘテログルカンであった。

ヒメマツタケから得たFIII-2-bは、グルカン55%と蛋白質43%から成る β -(1 \rightarrow 6)-D-グルカン蛋白複合体で、特に顕著な抗腫瘍活性を認めた。¹⁷⁾

3. キノコキチン質の抗腫瘍活性

キノコ(子実体)を85%エタノール、水、1% $\text{NH}_4\text{-oxalate}$, 5% NaOH, 20% NaOHによって順次抽出していくと、いずれの溶剤にも不溶の最終残渣が得られた。この画分は、木材分析法では α -セルロースとして定量される不溶性の β -(1 \rightarrow 4)-D-グルカンであるはずである。しかし、キノコでは、この画分に純セルロースは存在しないし(酸水解によってグルコースが検出されない)抗腫瘍活性も認められない。我々は、この不溶性残渣を5% LiCl-DMAA (N, N'-Dimethylacetamide, 70°C)抽出すること²³⁾によってキチン質を得た。この抽出画分および最終残渣ともに、酸加水分解によってグル

コサミンを生成し、IR スペクトル、X 線回折などの理化学性からキトサンと同定した。我々が三種のキノコから分離したキチン質（キトサン）には抗腫瘍活性（Sarcoma 180/mice, ip 法）を証明することはできなかった（Table II）。

4. 動物起源キチン質の抗腫瘍性

キチン質は甲殻類、昆虫類や貝類の甲殻、それに菌類（カビ、酵母、キノコなど）の細胞壁の主成分であり、生物界においてセルロースに次いで多量に生産され存在するバイオマスとして注目されている。周知のように、キチン（chitin）はアミノ糖の一種である 2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucose 残基が（1 \rightarrow 4）結合した生体高分子（ホモ多糖）であり、その N-アセチル化物がキトサン（chitosan）である。これら関連物質を総称してキチン質（chitin substances, chitins）と呼んでいる。キチンの構造は、セルロースの C-2 位の水酸基をアセトアミド基で置換した β -(1 \rightarrow 4)-D-グルカンともいえる。キチンあるいはキトサンは、酸や酵素によって、N-アセチルキトオリゴ糖類を径て N-アセチルグルコサミンあるいはキトオリゴ糖類（キトサンオリゴ糖類）からグルコサミンにまで加水分解される。

生体中で、キチン質やそのオリゴ糖類が関与している生理機能として、生物体の骨格形成、外敵防護、細菌と植物の接触による認識とファイトアレキシンの誘導産生（エリシター活性）、動物における免疫賦活（BRM活性）、血液中のコレステロールや中性脂肪の低下、抗菌、抗カビ、抗ウイルス活性、生体適合性などが証明されている。⁽¹³⁻²⁰⁾

我々が試験した抗腫瘍性のスクリーニング（Sarcoma 180, solid type/mice, ip 法）条件下では、3. 項で述べたキノコから分離したキトサン、それにカニ殻から調製されたキチン、キトサン誘導体、N-アセチルキトオリゴ糖類（DP 2~6）並びにキトオリゴ糖類（DP 2~6）のいずれについても、見るべき抗腫瘍活性は証明できなかった（Table IV）。

他方、西村ら⁽²¹⁾は、キチンを脱アセチル化などの化学修飾をすることによって、マクロファージ、抗体の産生、T 細胞の誘導、NK 活性、インターロイキンの産生など免疫アジュバント活性の発現を見出した。70% 脱アセチル化したキチン（70%

DA-chitin）には Meth A-BALB/C マウスの同系移植腫瘍系に対して強い抗腫瘍活性を認めた。また、鈴木ら⁽²²⁾は、ddYマウスの腹腔内に 1 日おきにキチンあるいはキトサン 1~50mg/kg を 3 回投与し、その 2 日後に Sarcoma 180 細胞 1×10^6 個を腹腔内に移植し、その後 60 日目の生存マウス数（キチンでは 4/6、キトサンでは 3/6）から、腹水型腫瘍に対する増殖抑制効果を確認した。さらに、水溶性ヘキサ-N-アセチルヘキサオース（DP 6）とキトヘキサオース（DP 6）を 100mg/kg/day \times 5 回静脈内投与したところ、両者とも 30 日後の腫瘍増殖抑制率 100% の好成績を得ている。

要 約

1. マンネンタケ、マイタケ、ヒメマツタケ子実体の熱水抽出物から、それぞれ強い抗腫瘍活性を示す中性多糖体（FI-1a-1 β , FIo-a- β 1, FIo-a- β ）ならびに酸性多糖体（FA-1a- β 1, FA-1-a- β ）を得た。いずれも β -(1 \rightarrow 6) グルコシル分岐鎖を持つ β -(1 \rightarrow 3)-D-グルカン直鎖を基本構造としていた。（Table I）

2. さらに、三種のキノコの熱水抽出残渣から、5% NaOH 抽出によって、それぞれ、顕著な抗腫瘍活性を示す三種のヘテロ多糖体（FIII-2-b画分）が得られた。（Table I）

3. 三種のキノコから、それぞれキトサンを分離した。それらには腫瘍増殖抑制効果は認められなかった。（Table II）

4. カニ殻から調製されたキチン、キトサン、N-アセチルキトオリゴ糖類（DP 2~6）およびキトオリゴ糖類（DP 2~6）についても Sarcoma 180/mice, ip 法による抗腫瘍効果は認めることはできなかった。（Table IV）

謝 辞

終りに、本研究のためにキノコをご提供戴いた日恵きのご開発研究所の黛 文丸氏（靈芝）、妙義きのご園の黛 栄長氏（舞茸）、岩出菌学研究所の隅谷利光氏（姫松茸）、また、キトサンの N-アシル誘導体を恵与下さった鳥取大学農学部平野茂博教授に、CM-キチンは一丸ファルコス（近松義博研究室

長からご提供を受けた。ここに、併せて、ご好意に厚く御礼申し上げます。

制癌性多糖類の開発研究にご援助を賜わった三共(株)、呉羽化学工業(株)、ニチレイ(株)に深く感謝致します。

本報告の要旨は、第5回(1982年)、第7~10回糖質シンポジウム(1984~1987年)において講演した。

文 献

- 1) 水野 卓, 加藤尚美, 戸塚篤史, 竹中一秀, 新海健吉, 清水雅子: 農化, **58**, 871 (1984); **59**, 1143 (1985).
- 2) T. Mizuno, K. Ohsawa, N. Hagiwara and R. Kuboyama: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1679 (1986).
- 3) 水野 卓, 河岸洋和, 稲垣隆一, 伊藤 均, 志村圭志郎, 萩原俊彦, 中村卓二, 朝倉昭寛, 隅谷利光: 第10回糖質シンポジウム講演要旨集, **BO3**, 71 (1987).
- 4) 水野 卓, 河岸洋和: 食品と開発, **23**, 37 (1988); ACTIVE 技術年報・東海, 薬学・ライフサイエンス UPU, p. 126 (1987); 化学と生物, **23**, 797 (1985).
- 5) 水野 卓, 狭間利裕: 静岡大学農研報, **36**, 77 (1986).
- 6) 水野 卓, 河岸洋和, 水野希美: 静岡大学農研報, **36**, 85 (1986).
- 7) H. Kawagishi, R. Inagaki, T. Kanao, T. Mizuno, K. Shimura, H. Ito, T. Hagiwara and T. Nakamura: *Carbohydr. Res.*, in press, (1989).
- 8) K. Shimura, H. Ito and H. Hibasami: *Japan J. Pharmacol.*, **33**, 403 (1983).
- 9) ヒキノヒロシ: 漢方医学, **10**, 26 (1986); *Planta Medica*, **51**, 339 (1985); H. Hikino and T. Mizuno: *Planta Medica*, in press, (1988).
- 10) 漆崎 一朗, 塚越 茂: 癌とBRM, p. 145 (1982), サイエンスフォーラム.
- 11) 太田敏博, 並木満夫: 化学と生物, **26**, 161 (1988); 原 征彦: ファルマシア, **24**, 265 (1988).
- 12) 池ヶ谷賢次郎: 食品と開発, **22**, 20 (1987).
- 13) 平野茂博: 化学, **43**, 155 (1988); 化学と生物, **21**, 635 (1983); 蛋白質核酸酵素, **22**, 1431 (1977); 高分子, **26**, 102 (1977).
- 14) 栗田恵輔: 化学の領域, **35**, 929 (1981).
- 15) 戸倉清一, 西 則雄: 化学と生物, **15**, 766 (1977).
- 16) 食品化学新聞社: キチン/キトサンの科学, p. 5, p. 47 (1987).
- 17) 工業技術会: キチン・キトサンの開発と応用, p. 202 (1987).
- 18) 戸倉清一, 西村紳一郎: 蛋白質核酸酵素, **31**, 1621 (1986); 化学と生物, **25**, 296 (1987); 繊維学会誌, **39**, 507 (1983).
- 19) S. Hirano and S. Tokura: Chitin and Chitosan, Proceedings of the Second International Conference on chitin and chitosan, July 12~14, 1982, Sapporo, Japan, p. 1~254 (1982).
- 20) R. A. A. Muzzarelli, C. Jeuniaux and G. W. Gooday: Chitin in Nature and Technology, p. 1~583 (1986), Plenum Press; R. A. A. Muzzarelli: *Carbohydr. Polymers*, **8**, 1 (1988).
- 21) K. Nishimura, S. Nishimura, N. Nishi, I. Saiki, S. Tokura and I. Azuma: *Vaccine*, **2**, 93 (1984).
- 22) K. Suzuki, T. Mikami, Y. Okawa, A. Tokoro, S. Suzuki and M. Suzuki: *Carbohydr. Res.*, **151**, 403 (1986); *Microbiol. Immunol.*, **30**, 777 (1987); 第10回糖質シンポジウム講演要旨集, **BO5**, 75 (1987).
- 23) P. R. Austin, C. J. Brine, J. E. Castle and J. P. Zikakis: *Science*, **212**, 749 (1981).
- 24) G. V. Vahouny and D. Kritchevsky: Dietary Fiber, Basic and Clinical Aspects, p. 275, 427, 433, 487, 515, (1986), Plenum Publishing Co., New York.