

ペクチン摂取による生理機能制御と疾病予防効果

誌名	応用糖質科学：日本応用糖質科学会誌 = Bulletin of applied glycoscience
ISSN	21856427
著者名	北口, 公司
発行元	日本応用糖質科学会
巻/号	10巻4号
掲載ページ	p. 230-236
発行年月	2020年11月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat





あたり前に在る
ペクチンに秘め
られた複雑さ

ペクチン摂取による生理機能制御と 疾病予防効果



北口公司 (きたぐち こうじ)¹

¹ 岐阜大学応用生物科学部応用生命科学課程 助教

1. はじめに

ペクチンは、陸生植物の細胞壁を構成する主要な分子の一つであり、一次細胞壁と中葉に普遍的に存在する複合多糖類である¹⁾。ジャムやゼリーのゲル化剤やフルーツジュースや乳酸飲料の安定剤、高蛋白質飲料や抗酸化栄養強化食品の安定剤として食品産業で広く利用されている。また、野菜や果実を食することでも細胞壁に含まれる天然のペクチンを我々は日常的に摂取している。ペクチンは、ヒトの消化酵素による分解を受けず、小腸では栄養素として吸収されないため、食品科学・栄養学的には食物繊維に分類される食品成分である。近年、食物繊維の摂取がヒトの腸内細菌叢に影響を及ぼすことで健康の維持や疾患の予防に重要な役割を果たしていることが次々と報告されている。水溶性食物繊維であるペクチンも、心臓病、がん、アレルギーや消化管疾患などのさまざまな病気の進行のリスクを低減させる可能性が指摘されてきた²⁻⁴⁾。ペクチンを摂取することによる保健機能の少なくとも一部は、大腸の腸内細菌によるペクチンの発酵とその結果生じる二次代謝産物が関係していることが明らかになりつつある⁵⁾。さらにペクチンは、腸管を構成する細胞に直接作用することで、腸内細菌非依存的にヒトの生理機能を調節している可能性も示唆されている。本総説では、ペクチンの有する生体調節機能や保健効果について概説し、現在までに提唱されている作用機序についても我々の研究を含めて紹介したい。

2. ペクチンの化学構造

ペクチンは複雑な構造を示す複合多糖類である。1936年にペクチンはD-ガラクトuron酸 (GalA) が α -1,4結合によって直鎖状に結合した重合体であることが報告され、現在では、L-ラムノース (Rha)、D-アラビノース (Ara)、D-ガラクトース (Gal) といった13個の異なる単糖から構成される数種類の構造領域を有していると考えられている⁶⁾。ペクチンには、ホモガラクトuron (HG)、ラムノガラクトuron-I (RG-I) 及びラムノガラクトuron-II (RG-II) と呼ばれる少なくとも三つの構造領域から構成されていると考えられている (図1)。これら三つの構造領域は、それぞれの位置関係や結合様式は不明であるが、共有

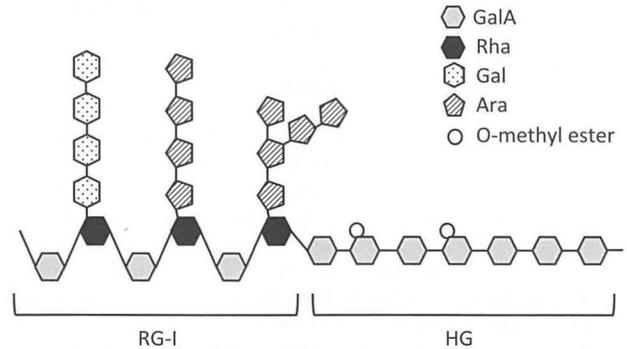


図1. ペクチンの模式図

GalAが直鎖状に重合したHGは、6位のカルボキシ基が一部メチルエステル化されている。RG-Iは、中性糖のRhaやGal, AraがGalAに付加し、アラビナンやガラクトンが側鎖を形成する。

結合によって互いに連結していると考えられている⁷⁾。

一般にペクチンの構造は、GalA重合体である主鎖を平滑領域と毛様領域に分けることができる。平滑領域はHGから構成され、直鎖状の骨格を形成している。HGはペクチンの約65%を占める構造領域であり、6位のカルボキシ基が高頻度にメチルエステル化された状態で植物細胞壁中に分泌された後、細胞壁中に存在するペクチンメチルエステラーゼファミリー酵素によって、部分的に脱メチルエステル化されることでHGが完成する。また、2位及び3位のヒドロキシ基が部分的にアセチル化された構造も存在する。メチルエステル化度 (DM) は、植物種や組織、熟度によって異なり、溶解性やゲル形成能、酵素への耐性に影響を及ぼすことが知られている。

毛様領域はRG-IとRG-IIから構成されている。RG-Iは、ペクチンの30%程度を占める構造領域であり、GalAとRhaとが交互に結合した二糖 [\rightarrow 4]- α -D-GalA-(1 \rightarrow 2)- α -L-Rha-(1 \rightarrow) の繰り返し単位をもち、側鎖がRha残基の4位のヒドロキシ基に結合している。側鎖としてAraの α -1,5結合によって構成されるアラビナンや、Galの β -1,4結合によって構成されるガラクトンが付加している⁸⁾。RG-IIはペクチンの約10%を占める非常に複雑な構造領域である。RG-IIは、進化の過程を通して非常によく保存されており、すべての陸上植物の一次細胞壁に含まれる。基本構造は、9~12残基のGalA重合体に構造の異なる4種類の側鎖が結合した複合多糖領域である⁹⁾。

略記: GalA, ガラクトuron酸; Rha, ラムノース; Ara, アラビノース; Gal, ガラクトース; HG, ホモガラクトuron; RG-I, ラムノガラクトuron-I; RG-II, ラムノガラクトuron-II; DM, メチルエステル化度; SCFA, 短鎖脂肪酸; Treg, 制御性T細胞; PSADT, 前立腺特異抗原倍加時間; HS, ヘパラン硫酸; TLR, Toll-like receptor; LPS, リポ多糖; PP, パイエル板。

3. ペクチンによる生理機能調節機構

ペクチンの化学構造と生体調節作用は密接に関係していることが報告されており、ペクチンを摂取した際に保健効果を発揮するためには、生理活性を有する特定の構造領域や組成が必要不可欠であることが示唆されている。食品成分としてペクチンを摂取すると、消化酵素による分解を受けずに腸管を通過する際に、その化学構造に依存したシグナルを生体に導入することで様々な生理機能を調節していることが示唆されている。さらにペクチンが大腸に到達すると、腸内細菌によって完全に資化され、生体調節機能を有した二次代謝産物が産生される。現在までに、ペクチンは主に三つの作用機序を介して保健機能を発揮していることが判明している。すなわち、1) 他の食品成分や有機化合物との物理化学的な相互作用、2) 腸内細菌叢に作用するプレバイオティクス作用、及び3) 腸管を構成する細胞・分子への直接的な生理活性の三種類に大別できる(図2)。以降では、それぞれの作用機序を介したペクチンの保健効果をペクチンの構造と関連づけながら、生理学・免疫学的な観点から解説する。

4. 物理化学的な相互作用による代謝制御

ペクチンはゲルを形成する食物繊維であり、この特性が消化を遅らせ、ヒトに満腹感をもたらすことで血中コレステロールの低減作用や血糖値の上昇抑制作用を示すことが示唆されている。グアーやペクチンのような果物や野菜のゲルは、小麦繊維よりも抗コレステロール作用が強いことが報告されている¹⁰⁾。この抗コレステロール作用は、粘性ゲルの形成、コレステロールと胆汁酸との間の結合の仲介、排泄の促進、吸収の減少を介しており⁹⁾、ペクチンの粘度や分子量、DMが影響を及ぼす。高分子量のペクチンは、水と脂質を内部構造に閉じ込める複雑なゲルを形成することによって、腸管内容物の粘度を増加させる。その結果、脂質とリパーゼの拡散が制限される。さらに、ペクチンゲル中の脂質のカプセル化によるリパーゼからの保護効

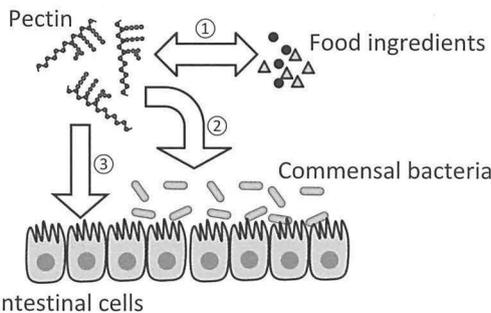


図2. ペクチンの生体調節機構

食品として摂取したペクチンは、腸管内で他の脂質や糖などの食品成分と相互作用し、それらの吸収を抑制する(①)。ペクチンが腸内細菌に資化された結果生じる代謝産物にも生理機能を調節する作用がある(②)。さらに、腸管を構成する細胞にペクチンが直接作用する経路も存在する(③)。

果も加わり、脂質分解反応を低下することとなる⁴¹⁾。ペクチンのゲル形成特性は食品の消化不良に関連する臨床試験でも有効性が示されている^{12,13)}。12か月未満の小児にペクチンを混餌投与した試験では、持続性の下痢が減少することが示された。さらに、脳性麻痺の小児に高ペクチン食を投与した試験では、胃食道からの逆流が減少し、嘔吐症状が改善することも報告されている¹³⁾。物理化学的性質の異なるペクチンを健康な被験者に乳製品ベースの製品に添加することで投与した試験では、ゲル化ペクチンは他の試料と比較して食欲ならびに胃内容物の排出速度を低下させることが示されている¹⁴⁾。また、グアーとペクチンの低粘度サプリメントは、高コレステロール血症患者のコレステロール値を低下させなかったことも報告されている¹⁵⁾。

すべての研究が代謝制御においてペクチン食の有効性を示しているわけではない。シュガービートペクチン添加が、糖代謝不全患者の食後グルコース濃度または血清脂質プロファイルを改善しなかった¹⁶⁾。一方、Liu 他は、シトラスペクチンが、PI3K/Akt シグナル伝達経路における主要蛋白質の発現を調節することで、糖尿病モデルラットにおけるインスリン感受性を改善することを報告している¹⁷⁾。これらの対照的な結果は、由来植物種が異なるペクチンに起因する可能性や異なる実験系やヒトと実験動物の種差によるものである可能性が考えられるが、ペクチンや他の食物繊維の構造的特徴に関してその有効性とメカニズムを研究することの重要性を裏付けている。

5. プレバイオティクス作用による免疫・アレルギー疾患への保護効果

近年、腸内細菌由来の二次代謝産物が、免疫系細胞の機能を調節し、免疫系疾患に対して影響を及ぼしていることが次々と報告されている。腸管は、消化・吸収の場であると同時に、末梢の免疫細胞のおよそ70%が集積する人体で最大の免疫系臓器でもあり、食品や腸内細菌との接点としての腸管免疫系を介して消化管のみならず全身の免疫応答が調節されている。無菌マウスの観察から腸内細菌が関与する免疫調節分子として短鎖脂肪酸(SCFA)が同定された。SCFAはペクチンを含めた難消化性の食物繊維が腸内細菌により資化された結果生じる代謝産物であり、従来は宿主のエネルギー源として利用されると考えられていたが、食物繊維を摂取することで、腸管内のSCFAの産生量を増加させ、アレルギーなどの免疫系疾患を緩和できることが報告¹⁸⁾されている(プレバイオティクス作用)。腸管では主に酢酸、プロピオン酸、酪酸が大量に産生されるが、酢酸やプロピオン酸そのものや酪酸付加澱粉の摂取でも腸炎の緩和作用が報告されている。

ペクチンは食物繊維の中でも資化性が高い繊維である。Trompette 他は、高ペクチン含有飼料を摂取したマウスでは、腸管のSCFA濃度のみならず血中でもその濃度が上昇することを報告している¹⁹⁾。さらに、このマウスにアレルギー

ゲンを経鼻感作させることで、アレルギー性気道炎症を誘導すると、高ペクチン含有飼料を摂取したマウスでは症状が改善し、低ペクチン含有飼料摂取で悪化することが示されている。この研究では、ペクチン摂取により増加したプロピオン酸が血液を介して全身に循環し、骨髄の単球系前駆細胞に発現する短鎖脂肪酸受容体 GPR41 に作用することで、肺における Th2 分化を抑制する経路が提唱されている。SCFA の摂取が、関節リウマチ²⁰⁾や多発性硬化症モデルの実験的自己免疫性脳脊髄炎^{21,22)}に対しても保護効果を示すことが報告されており、消化管のみならず全身の免疫系疾患に対しても SCFA が奏功する可能性が示唆されている。構造の異なるペクチンをラットに給餌し、腸内の短鎖脂肪酸の産生量を比較した研究では、低 DM ペクチンとダイズペクチンの給餌で盲腸内の SCFA 産生量が有意に上昇することが報告されており²³⁾、ペクチンの腸内発酵に関してもその化学構造が影響を及ぼすことが示唆されている。さらに、大腸内発酵モデル装置により食物繊維の SCFA 産生能を比較した試験では、他の食物繊維と比べて、ペクチンの酪酸の産生能が低いことが報告されている²⁴⁾。酪酸は、SCFA の中でも最もヒストン脱アセチル化酵素の阻害活性が高く、Foxp3 遺伝子プロモーターのヒストンアセチル化を亢進させ、免疫応答を負に制御する制御性 T 細胞 (Treg) の分化を促進することが報告されており²⁵⁾、ペクチンの Treg 分化促進能は他の食物繊維よりも低い可能性が考えられる。

6. ペクチン認識受容体との相互作用による生理機能制御

腸内細菌の存在しない細胞培養実験においても、ペクチンが細胞の機能を制御していることが示唆されてきた。すなわち、ペクチンが直接生体に働きかけ、腸内細菌非依存的に生理機能を調節している可能性がある。本項では、これまでに報告されているペクチン認識受容体分子毎にその機能を紹介する。

6.1 Galectin-3 を介した抗腫瘍作用

柑橘類、リンゴ、ジャガイモ、もしくはサツマイモ由来のペクチンには、抗腫瘍活性が報告されている²⁶⁾。この抗腫瘍作用は、ペクチンが、Galectin-3 に結合することで発揮されると考えられている²⁷⁾。Galectin-3 は、ガラクトース残基に結合できるレクチンドメインを有する糖結合蛋白質で、細胞間や細胞外マトリックスとの相互作用に関与している²⁸⁾。Galectin-3 は多くのがん細胞で過剰発現することが示されており、抗がん治療の標的の一つである²⁹⁾。Galectin-3 の阻害を介して、前立腺がん²⁹⁾、乳がん³⁰⁾、メラノーマ³¹⁾及び血管肉腫³²⁾に対して *in vivo* または *in vitro* で有効性が示されている。前立腺がん患者を対象とした第 II 相パイロット研究では、ペクチンが前立腺特異抗原倍加時間 (PSADT) を延長することが示された²⁹⁾。PSADT の増加

は全身へのがんの進行の減少と関連し、治療後の生存率及び転移の進行を予測するための指標である。

6.2 フィブロネクチンを介した小腸粘膜の構造変化

摂取する食物繊維の多寡により、小腸粘膜構造が変化することが古くから知られているが、その影響の少なくとも一部はペクチンに由来することが、動物実験から示唆されている。ペクチンを含む飼料を給餌したラットの空腸及び回腸の陰窩が、ペクチンを摂取していないラットよりも深くなったという報告³³⁾やラット小腸の粘膜増殖がペクチンによって促進されたという報告³⁴⁾、さらにはペクチンを高含有する飼料を摂取したラットやニワトリの絨毛は不規則になったという報告などがある^{35,36)}。腸管の形態が変化するためには、ペクチンを摂取した際に、腸管腔内を移動するペクチンに対して小腸上皮細胞がその分子構造を特異的に認識し、細胞内に情報を伝達している可能性が考えられる。Nishida 他は、動物細胞表面に普遍的に存在する糖鎖のヘパラン硫酸 (HS) に注目し、腸管上皮細胞がペクチンを認識すると、細胞表面の HS の硫酸化構造が著しく変化することを報告している³⁷⁾。細胞表面に輸送された HS は、脱硫酸化酵素の Sulf-1, Sulf-2 により、HS の硫酸化構造を変化させていることが判明しているが^{38,39)}、ペクチンは、Sulf-2 の発現を増加させ、一方で、顕著に Sulf-1 の発現を阻害することで細胞表面の HS の硫酸化構造を変化させている様である³⁷⁾。さらに、酵素処理したペクチンがフィブロネクチンと相互作用するという報告⁴⁰⁾に注目し、フィブロネクチンに結合したペクチンが細胞表面の受容体である $\alpha 5 \beta 1$ インテグリンを介して ERK1/2 シグナルを導入することで Sulf-2 発現が誘導されることを報告している³⁷⁾。HS は、硫酸化構造に基づいて、Wnt, Hedgehog, FGF, TGF- β といった生理活性物質の受容体もしくは共受容体として働くことが知られており、これらの蛋白質の機能修飾が絨毛形態の変化に関与している可能性が指摘されている。腸管の陰窩における増殖細胞と上皮細胞を共培養したモデル実験系では、上皮細胞の頂端側にペクチンを添加した際に、基底側から分泌される分子によって増殖細胞の分裂が促進されることが示され、ペクチン刺激により分泌する増殖因子として Wnt3a が同定された⁴¹⁾。すでに Wnt3a は細胞表面の HS に強く結合することが知られているが、この相互作用はペクチン処理後に非常に弱くなったことから⁴¹⁾、ペクチンは Wnt3a との相互作用を弱めるために細胞表面の HS 構造を変化させ、そして結果的に Wnt3a の分泌を容易にして細胞増殖を促進している可能性が示されている。ペクチンが腸管上皮細胞に作用することで HS の総量は変化しないが、アルブミンの吸収が促進されることも報告されており⁴²⁾、小腸絨毛の形態変化と栄養素の吸収能が密接に関係している可能性も考えられる。

6.3 Toll-like receptor (TLR) シグナル伝達阻害による抗炎症作用

様々な炎症モデル動物にペクチンを経口投与することで、ペクチンが抗炎症作用を示すことが報告されてきた。これらの研究の多くが、ペクチンがプレバイオティクス効果を介して抗炎症作用を示すと結論付けている。一方で、いくつかの論文ではペクチンが直接宿主細胞に作用することで抗炎症作用を発揮することが報告されている。炎症性メディエーターを産生する免疫細胞においてもペクチンと相互作用する蛋白質が発現し、炎症応答を制御していることが示唆されており、病原体関連分子パターン認識受容体の一種である TLR がその標的分子として活発に研究されている。ペクチンをマクロファージやヒト末梢血単核細胞に添加すると、TLR4 のリガンドであるリポ多糖 (LPS) 刺激で誘導される iNOS や COX-2、IL-1 β などの催炎症分子の発現が抑制されることが報告されている^{43,44}。さらに、ペクチンを経口投与したマウスでは、致死量の LPS 暴露による生存率の低下が改善することも示唆されている⁴⁵⁻⁴⁷。このペクチンによる抗炎症作用の詳細な機構は不明なままであるが、ペクチンが TLR に対してアゴニスティックに作用している可能性が示唆されている。Chen 他は、高 DM ペクチンが LPS と相互作用することで、LPS と TLR4 との結合を阻害することを報告している⁴³。Sahasrabudhe 他は、低 DM ペクチンが TLR2 と結合し、TLR2-TLR1 ヘテロダイマーの形成を阻害し、TLR2-TLR1 シグナルにより誘導される炎症性サイトカインの発現を特異的に抑制することを示した⁴⁸。これら *in vitro* と *in vivo* の研究では、ペクチンの抗炎症作用は主鎖の DM と相関することが示されている^{43,45,48}。我々の研究室でも TLR シグナル阻害作用に必要なペクチンの化学構造を報告している。TLR 刺激で活性化させたマクロファージ細胞株 RAW264.7 の炎症性サイトカイン IL-6 の産生が、ペクチンの主鎖分解物の添加で抑制される一方、GalA 重合体のみでは抑制されなかった⁴⁹。この結果は、ペクチンの側鎖が抗炎症作用を示すために必要不可欠であることを示唆している。さらにペクチンによる抗炎症作用は、LPS 刺激のみならず他の TLR リガンド刺激 (TLR1/2、TLR2/6 及び TLR9 刺激) も緩和した⁴⁹。TLR シグナル伝達経路は TLR ファミリー分子間でよく保存されており、アダプター分子の MyD88 を介する経路が知られていることから、ペクチンの側鎖を介したマクロファージの活性化を抑制するメカニズムとして、ペクチン側鎖の中性糖を認識するレクチン様の受容体が、TLR-MyD88 シグナルを減弱させる抑制性のシグナルを導入している可能性が考えられた (図 3)。現在までにペクチンの側鎖と相互作用する免疫抑制性の受容体は未同定であるが、シュガービート (甜菜) ペクチン由来のアラビナンが骨髄由来樹状細胞へ TLR や β -グルカン受容体の Dectin-1 を介さず Syk 依存的にサイトカイン発現を誘導するシグナルを導入することが報告されており⁵⁰、ペクチン側鎖を認識する未知の免疫系受容体が存在する可

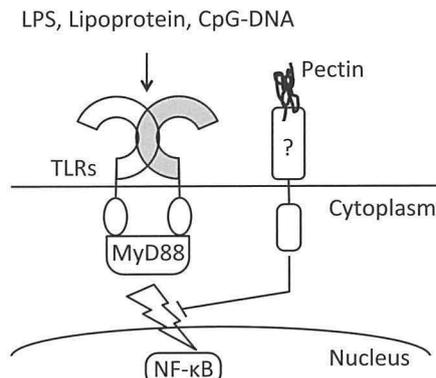


図 3. ペクチン側鎖による抗炎症作用機構の仮説

LPS やリポ蛋白質などの病原体関連分子パターンを TLR は認識し、アダプター分子 MyD88 をリクルートすることで炎症応答が始動するが、ペクチン側鎖を認識する未知の受容体が TLR-MyD88 シグナルを負に制御することで炎症を抑制している可能性が考えられた。

能性は高いと考えられる。

ペクチンを経口投与したマウスに LPS を腹腔投与することで全身性の炎症を惹起すると、小腸のパイエル板 (PP) では炎症性サイトカイン発現量が低下するが、脾臓や肝臓ではペクチンの投与の効果は認められなかった⁴⁹。PP には、M 細胞と呼ばれる特殊な上皮細胞が存在し、感染性の細菌やウイルスだけでなく非感染性細菌や巨大粒子をも取り込み、それらを基底膜側に存在する免疫細胞に輸送できることが示されている⁵¹。Sakurai 他は、ペクチン特異的抗体を用いて、経口投与したペクチンが PP から検出されることを報告しており⁵²、我々もペクチンがごく僅かながら PP に取り込まれる可能性があると考えている。ペクチンを経口投与すると、PP 内の CD11c 陽性細胞から分泌される IL-6 の量が低下することを、初代培養細胞を用いた実験で見出しており⁴⁹、ペクチン側鎖を介した直接的な炎症制御効果が *in vivo* でも発揮されると考えている。

ペクチン側鎖を介した直接的な炎症制御効果をさらに調査する為に、我々はシトラス由来ペクチンもしくはオレンジ由来ペクチンをそれぞれ 5% ずつ含有する飼料をマウスに給餌し、トリニトロベンゼンスルホン酸もしくはデキストララン硫酸ナトリウムで大腸炎を誘導しその症状を比較した⁵³。ペクチンは由来植物種により構造が異なることが知られており、オレンジペクチンには、シトラスペクチンよりも RG-I が多く含まれていることが報告されている⁵⁴。したがって、側鎖含量の高いオレンジペクチンと側鎖含量の低いシトラスペクチンを給餌することで、ペクチン分子中の側鎖の多寡が大腸炎病態に影響を及ぼすのかを調査した (図 4)。その結果、側鎖含量の高いオレンジペクチンを給餌したマウスでは大腸炎の症状が緩和したが、側鎖含量の低いシトラスペクチンの給餌はペクチン無添加飼料給餌の場合と同程度の大腸炎症状を示した。Treg や Th17 などの T 細胞も大腸炎に関与するが、ペクチン側鎖は T 細胞の分化には影響を与えておらず、大腸の炎症性サイトカイン発現が側鎖含量に依存して低下しており、マクロファージなどの骨髄球系貪食細胞の機能を制御している可能性が

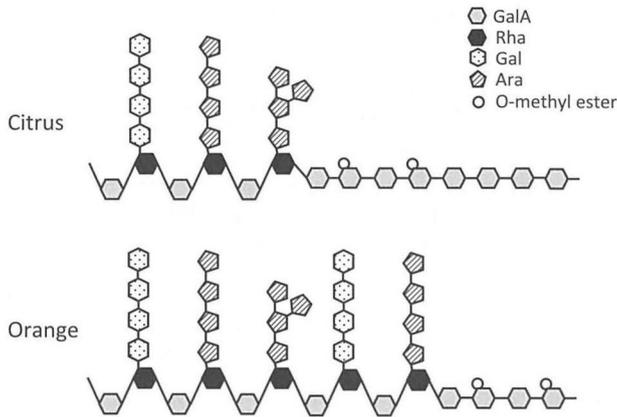


図4. シトラスペクチンとオレンジペクチンの構造比較

オレンジペクチンは、シトラスペクチンよりも側鎖を構成するGalやAraの含量が高いが、重量平均分子量やDM、側鎖長は同程度である。

考えられた⁵³⁾。興味深いことに、側鎖含量に依存した大腸炎緩和効果は、抗生剤投与により腸内細菌を除菌した場合でも維持されていた。これらの結果は、ペクチンが側鎖を介して大腸の炎症細胞の機能を腸内細菌非依存的に制御している可能性を示している。

7. おわりに

本稿で紹介した通り、ペクチンは、様々な食品成分や有機化合物、生体分子と相互作用することや腸内細菌に代謝されることで保健機能を発揮する。近年、スフィンゴモナス属細菌から走化性に関する遺伝子が同定され、その蛋白質SPH118がペクチンと結合することが報告された⁵⁵⁾。今後もペクチンを認識する分子が報告され、新たなペクチンの機能が発見される可能性に期待したい。一方で、ペクチンの化学構造と生理活性との相関に関しては、十分に解明されているとは言い難い。疫学研究などにより食物繊維の摂取と疾病の予防効果には相関があることが見出され、世界中で食物繊維の摂取が推奨されるようになってきたが、どの様な食物繊維(種類・質)をどのくらい食べれば(量)どのような疾患を予防できるのかを示す科学的根拠に乏しいのが現状である。この現状を打破するためにも、ペクチンを含めた食物繊維の化学構造とそれを特異的に認識する分子との相互作用を詳細に解析する必要が不可欠であると考えられる。

謝辞

本総説で紹介した我々の抗炎症作用に関する研究は、JSPS 科研費(#JP16K21075 and #JP18K05553)の助成を受けたものです。上記の研究は、当時大学院生だった石其慧太博士が中心となって行なったものです。同氏をはじめとする研究室の同僚に感謝申し上げます。

文献

1) E.G. Maxwell, N.J. Belshaw, K.W. Waldron, and V.J. Morris:

- Pectin—An emerging new bioactive food polysaccharide. *Trends in Food Science & Technology*, **24**, 64–73 (2011).
- 2) W. Zhang, P. Xu, and H. Zhang: Pectin in cancer therapy: A review. *Trends in Food Science & Technology*, **44**, 258–271 (2015).
- 3) A. Noreen, Z.I. Nazli, J. Akram, I. Rasul, A. Mansha, N. Yaqoob, R. Iqbal, S. Tabasum, M. Zuber, and K.M. Zia: Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, **101**, 254–272 (2017).
- 4) F. Naqash, F.A. Masoodi, S.A. Rather, S.M. Wani, and A. Gani: Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin-A Review. *Carbohydrate Polymers*, **168**, 227–239 (2017).
- 5) B. Min, O.K. Koo, S.H. Park, N. Jarvis, S.C. Ricke, P.G. Crandall, and S.O. Lee: Fermentation patterns of various pectin sources by human fecal microbiota. *Food & Nutrition Sciences*, **6**, 1103–1114 (2015).
- 6) J.P. Vincken, H.A. Schols, R.J.F.J. Oomen, M.C. McCann, P. Ulvskov, A.G.J. Voragen, and R.G.F. Visser: If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology*, **132**, 1781–1789 (2003).
- 7) D. Mohnen: Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, **11**, 266–277 (2008).
- 8) A.G.J. Voragen, G.J. Coenen, R.P. Verhoef, and H.A. Schols: Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*, **20**, 263–275 (2009).
- 9) M. Bar-Peled, B.R. Urbanowicz, and M.A. O'Neill: The synthesis and origin of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II - Insights from nucleotide sugar formation and diversity. *Frontiers in Plant Science*, **3**, 92 (2012).
- 10) D.J. Jenkins, C. Newton, A.R. Leeds, and J.H. Cummings: Effect of pectin, guar gum, and wheat fibre on serum-cholesterol. *Lancet*, **305**, 1116–1117 (1975).
- 11) M. Espinal-Ruiz, L.P. Restrepo-Sánchez, C.E. Narváez-Cuenca, and D.J. McClements: Impact of pectin properties on lipid digestion under simulated gastrointestinal conditions: Comparison of citrus and banana passion fruit (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) pectins. *Food Hydrocolloids*, **52**, 329–342 (2016).
- 12) G.H. Rabbani, T. Tekka, B. Zaman, N. Majid, M. Khatun, and G. J. Fuchs: Clinical studies in persistent diarrhea: dietary management with green banana or pectin in Bangladeshi children. *Gastroenterology*, **121**, 554–560 (2001).
- 13) R. Miyazawa, T. Tomomasa, H. Kaneko, H. Arakawa, N. Shimizu, and A. Morikawa: Effects of pectin liquid on gastroesophageal reflux disease in children with cerebral palsy. *BMC Gastroenterology*, **8**, 11 (2008).
- 14) A.J. Wanders, E.J. Feskens, M.C. Jonathan, H.A. Schols, C. de Graaf, and M. Mars: Pectin is not pectin: a randomized trial on the effect of different physicochemical properties of dietary fiber on appetite and energy intake. *Physiology & Behavior*, **128**, 212–219 (2014).
- 15) M.H. Davidson, L.D. Dugan, J. Stocki, M.R. Dicklin, K.C. Maki, F. Coletta, R. Cotter, M. McLeod, and K. Hoersten: A low-viscosity soluble-fiber fruit juice supplement fails to lower cholesterol in hypercholesterolemic men and women. *The Journal of Nutrition*, **128**, 1927–1932 (1998).
- 16) U. Schwab, A. Louheranta, A. Törrönen, and M. Uusitupa, M: Impact of sugar beet pectin and polydextrose on fasting and postprandial glycemia and fasting concentrations of serum total and lipoprotein lipids in middle-aged subjects with abnormal glucose metabolism. *European Journal of Clinical Nutrition*, **60**, 1073–1080 (2006).
- 17) Y. Liu, M. Dong, Z. Yang, and S. Pan: Anti-diabetic effect of citrus pectin in diabetic rats and potential mechanism via PI 3 K/Akt signaling pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, **89**, 484–488 (2016).
- 18) J. Tan, C. McKenzie, P.J. Vuillermin, G. Govere, C.G. Vinuesa, R.E. Mebius, L. Macia, and C.R. Mackay: Dietary fiber and bacterial SCFA enhance oral tolerance and protect against food allergy through diverse cellular pathways. *Cell Reports*, **15**, 2809–2824 (2016).
- 19) A. Trompette, E.S. Gollwitzer, K. Yadava, A.K. Sichelstiel, N.

- Sprenger, C. Ngom-Bru, C. Blanchard, T. Junt, L.P. Nicod, N. L. Harris, and B.J. Marsland: Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nature Medicine*, **20**, 159–166 (2014).
- 20) K.M. Maslowski, A.T. Vieira, A. Ng, J. Kranich, F. Sierro, D. Yu, H.C. Schilter, M.S. Rolph, F. Mackay, D. Artis, R.J. Xavier, M.M. Teixeira, and C.R. Mackay: Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR 43. *Nature*, **461**, 1282–1286 (2009).
 - 21) A. Haghikia, S. Jörg, A. Duscha, J. Berg, A. Manzel, A. Waschbisch, A. Hammer, D.H. Lee, C. May, N. Wilck, A. Balogh, A.I. Ostermann, N.H. Schebb, D.A. Akkad, D.A. Grohne, M. Kleinewietfeld, S. Kempa, J. Thöne, S. Demir, D.N. Müller, R. Gold, and R.A. Linker: Dietary fatty acids directly impact central nervous system autoimmunity via the small intestine. *Immunity*, **43**, 817–829 (2015).
 - 22) M. Luu, S. Pautz, V. Kohl, R. Singh, R. Romero, S. Lucas, J. Hofmann, H. Raifer, N. Vachharajani, L.C. Carrascosa, B. Lamp, A. Nist, T. Stiewe, Y. Shaul, T. Adhikary, M.M. Zaiss, M. Lauth, U. Steinhoff, and A. Visekruna A. The short-chain fatty acid pentanoate suppresses autoimmunity by modulating the metabolic-epigenetic crosstalk in lymphocytes. *Nature Communications*, **10**, 760 (2019).
 - 23) L. Tian, J. Scholte, K. Borewicz, B. van den Bogert, H. Smidt, A.J. Scheurink, H. Gruppen, and H.A. Schols: Effects of pectin supplementation on the fermentation patterns of different structural carbohydrates in rats. *Molecular Nutrition & Food Research*, **60**, 2256–2266 (2016).
 - 24) J. Yang, I. Martínez, J. Walter, A. Keshavarzian, and D.J. Rose: In vitro characterization of the impact of selected dietary fibers on fecal microbiota composition and short chain fatty acid production. *Anaerobe*, **23**, 74–81 (2013).
 - 25) Y. Furusawa, Y. Obata, S. Fukuda, T.A. Endo, G. Nakato, D. Takahashi, Y. Nakanishi, C. Uetake, K. Kato, T. Kato, M. Takahashi, N.N. Fukuda, S. Murakami, E. Miyauchi, S. Hino, K. Atarashi, S. Onawa, Y. Fujimura, T. Lockett, J.M. Clarke, D.L. Topping, M. Tomita, S. Hori, O. Ohara, T. Morita, H. Koseki, J. Kikuchi, K. Honda, K. Hase, and H. Ohno: Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*, **504**, 446–450 (2013).
 - 26) M. Bergman, M. Djaldetti, H. Salman, and H. Bessler: Effect of citrus pectin on malignant cell proliferation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **64**, 44–47 (2010).
 - 27) V.V. Glinsky and A. Raz: Modified citrus pectin anti-metastatic properties: one bullet, multiple targets. *Carbohydrate Research*, **344**, 1788–1791 (2009).
 - 28) F.T. Liu, D.K. Hsu, R.I. Zuberi, I. Kuwabara, E.Y. Chi, and W.R. Henderson Jr: Expression and function of galectin-3, a beta-galactoside-binding lectin, in human monocytes and macrophages. *The American Journal of Pathology*, **147**, 1016–1028 (1995).
 - 29) B.W. Guess, M.C. Scholz, S.B. Strum, R.Y. Lam, H.J. Johnson, and R.I. Jennrich: Modified citrus pectin (MCP) increases the prostate-specific antigen doubling time in men with prostate cancer: a phase II pilot study. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*, **6**, 301–304 (2003).
 - 30) P. Nangia-Makker, V. Hogan, Y. Honjo, S. Baccarini, L. Tait, R. Bresalier, and A. Raz: Inhibition of human cancer cell growth and metastasis in nude mice by oral intake of modified citrus pectin. *Journal of the National Cancer Institute*, **94**, 1854–1862 (2002).
 - 31) H. Inohara and A. Raz: Effects of natural complex carbohydrate (citrus pectin) on murine melanoma cell properties related to galectin-3 functions. *Glycoconjugate Journal*, **11**, 527–532 (1994).
 - 32) K.D. Johnson, O.V. Glinskii, V.V. Mossine, J.R. Turk, T.P. Mawhinney, D.C. Anthony, C.J. Henry, V.H. Huxley, G.V. Glinsky, K.J. Pienta, A. Raz, and V.V. Glinsky: Galectin-3 as a potential therapeutic target in tumors arising from malignant endothelia. *Neoplasia*, **9**, 662–670 (2007).
 - 33) J.S. McCullogh, B. Ratcliffe, N. Mandir, K.E. Carr, and R.A. Goodlad: Dietary fibre and intestinal microflora: effects on intestinal morphometry and crypt branching. *Gut*, **42**, 799–806 (1998).
 - 34) W. Chun, T. Bamba, and S. Hosoda: Effect of pectin, a soluble dietary fiber, on functional and morphological parameters of the small intestine in rats. *Digestion*, **42**, 22–29 (1989).
 - 35) C. Tasman-Jones, R.L. Owen, and A.L. Jones: Semipurified dietary fiber and small-bowel morphology in rats. *Digestive Diseases and Sciences*, **27**, 519–524 (1982).
 - 36) D.J. Langhout, J.B. Schutte, P. Van Leeuwen, J. Wiebenga, and S. Tamminga: Effect of dietary high- and low-methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks. *British Poultry Science*, **40**, 340–347 (1999).
 - 37) M. Nishida, K. Murata, Y. Kanamaru, and T. Yabe: Pectin of *Prunus domestica* L. alters sulfated structure of cell-surface heparan sulfate in differentiated Caco-2 cells through stimulation of heparan sulfate 6-O-endosulfatase-2. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **78**, 635–643 (2014).
 - 38) W.C. Lamanna, M.A. Frese, M. Balleininger, and T. Dierks: Sulf loss influences N-, 2-O-, and 6-O-sulfation of multiple heparan sulfate proteoglycans and modulates fibroblast growth factor signaling. *The Journal of Biological Chemistry*, **283**, 27724–27735 (2008).
 - 39) M.A. Frese, F. Milz, M. Dick, W.C. Lamanna, and T. Dierks: Characterization of the human sulfatase Sulf 1 and its high affinity heparin/heparan sulfate interaction domain. *The Journal of Biological Chemistry*, **284**, 28033–28044 (2009).
 - 40) M.D. Nagel, R. Verhoef, H. Schols, M. Morra, J.P. Knox, G. Ceccone, C. Della Volpe, P. Vigneron, C. Bussy, M. Gallet, E. Velzenberger, M. Vayssade, G. Cascardo, C. Cassinelli, A. Haeger, D. Gilliland, I. Liakos, M. Rodriguez-Valverde, and S. Siboni: Enzymatically-tailored pectins differentially influence the morphology, adhesion, cell cycle progression and survival of fibroblasts. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1780**, 995–1003 (2008).
 - 41) M. Nishida, M. K. Murata, K. Oshima, C. Itoh, K. Kitaguchi, Y. Kanamaru, and T. Yabe: Pectin from *Prunus domestica* L. induces proliferation of IEC-6 cells through the alteration of cell-surface heparan sulfate on differentiated Caco-2 cells in co-culture. *Glycoconjugate Journal*, **32**, 153–159 (2015).
 - 42) C. Kong, M. Elderman, L. Cheng, B.J. de Haan, A. Nauta, and P. de Vos: Modulation of intestinal epithelial glycocalyx development by human milk oligosaccharides and non-digestible carbohydrates. *Molecular Nutrition & Food Research*, **63**, e1900303 (2019).
 - 43) C.H. Chen, M.T. Sheu, T.F. Chen, Y.C. Wang, W.C. Hou, D. Z. Liu, T.C. Chung, and Y.C. Liang: Suppression of endotoxin-induced proinflammatory responses by citrus pectin through blocking LPS signaling pathways. *Biochemical Pharmacology*, **72**, 1001–1009 (2006).
 - 44) H. Salman, M. Bergman, M. Djaldetti, J. Orlin, and H. Bessler: Citrus pectin affects cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **62**, 579–582 (2008).
 - 45) S.V. Popov, P.A. Markov, G.Y. Popova, I.R. Nikitina, L. Efimova, and Y.S. Ovodov: Anti-inflammatory activity of low and high methoxylated citrus pectins. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, **3**, 59–63 (2013).
 - 46) R.G. Ovodova, V.V. Golovchenko, S.V. Popov, G.Y. Popova, N.M. Paderin, A.S. Shashkov, and Y.S. Ovodov: Chemical composition and anti-inflammatory activity of pectic polysaccharide isolated from celery stalks. *Food Chemistry*, **114**, 610–615 (2009).
 - 47) S.V. Popov, R.G. Ovodova, V.V. Golovchenko, G.Y. Popova, F.V. Viatyasev, A.S. Shashkov, and Y.S. Ovodov: Chemical composition and anti-inflammatory activity of a pectic polysaccharide isolated from sweet pepper using a simulated gastric medium. *Food Chemistry*, **124**, 309–315 (2011).
 - 48) N.M. Sahasrabudhe, M. Beukema, L. Tian, B. Troost, J. Scholte, E. Bruininx, G. Bruggeman, M. van den Berg, A. Scheurink, H.A. Schols, M.M. Faas, and P. de Vos: Dietary fiber pectin directly blocks Toll-like receptor 2-1 and prevents doxorubicin-induced ileitis. *Frontiers in Immunology*, **9**, 383 (2018).
 - 49) K. Ishisono, T. Yabe, and K. Kitaguchi: Citrus pectin attenuates endotoxin shock via suppression of Toll-like receptor sig-

- naling in Peyer's patch myeloid cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*, **50**, 38–45 (2017).
- 50) M. Meijerink, C. Rösch, N. Tavernier, K. Venema, H. Gruppen, H.A. Schols, and J.M. Wells: Structure dependent-immunomodulation by sugar beet arabinans via a SYK tyrosine kinase-dependent signaling pathway. *Frontiers in Immunology*, **9**, 1972 (2018).
- 51) M. De Jesus, G.R. Ostroff, S.M. Levitz, T.R. Bartling, and N.J. Mantis: A population of Langerin-positive dendritic cells in murine Peyer's patches involved in sampling β -glucan microparticles. *PLoS One*, **9**, e91002 (2014).
- 52) M.H. Sakurai, T. Matsumoto, H. Kiyohara, and H. Yamada: Detection and tissue distribution of anti-ulcer pectic polysaccharides from *Bupleurum falcatum* by polyclonal antibody. *Planta Medica*, **62**, 341–346 (1996).
- 53) K. Ishisono, T. Mano, T. Yabe, and K. Kitaguchi: Dietary fiber pectin ameliorates experimental colitis in a neutral sugar side chain-dependent manner. *Frontiers in Immunology*, **10**, 2979 (2019).
- 54) M. Kaya, A.G. Sousa, M.J. Crépeau, S.O. Sørensen, and M.C. Ralet: Characterization of citrus pectin samples extracted under different conditions: influence of acid type and pH of extraction. *Annals of Botany*, **114**, 1319–1326 (2014).
- 55) H. Konishi, H. M. Hio, M. Kobayashi, R. Takase, and W. Hashimoto: Bacterial chemotaxis towards polysaccharide pectin by pectin-binding protein. *Scientific reports*, **10**, 3977 (2020).