大阪市立大学生活科学部紀要・第39巻（1991）

キシメジ科食用茸（ヒラタケ，タモギタケ）の多糖の化学的性質および抗腫瘍作用

三崎　旭・松井元子・浜田澄子[1)]

Chemical characterization and antitumor activities of the polysaccharide components of Simeji mushrooms (*Pleurotus* species).

Akira Misaki, Motoko Matsui and Sumiko Hamada[1)]

序　論

食用茸のうちシイタケ（*Lentinus edodus*），ヒラタケ（*Pleurotus ostreatus*），エノキタケ（*Flammulina velutipes*），ナメコ（*Pholiota nameko*）などは，最も親しまれており，その他に食用に供される茸は50種にもおよんでいる。最近では，人工栽培法によりその生産量は飛躍的に増大した[1)]。そのなかでもヒラタケ（*Pleurotus ostreatus*）タモギタケ（*Pleurotus cornucopiae*）は共にハラタケ目（*Agaricales*），キシメジ科（*Tricholomataceae*）の担子菌の子実体である[2)]。特に食用茸としてシイタケについで人工栽培の盛んなヒラタケは，色・形ともにシメジに極似しているので通称“シメジ”という名称で市場にでている。ヒラタケについては，成分組成や生理的効果についても，ビタミンやミネラル含量，香りおよび呈味成分，またコレステロール低下作用，抗ウイルス性および抗腫瘍活性物質の探求など多岐にわたる研究がなされている[3)-4)]。

我々は，これまでに担子菌（フクロタケ[5)-7)]，キクラゲ[8)]）の多糖成分の生理活性，特にβ-(1→3)-D-グルカンの構造と腫瘍抑制作用の相関性を調べてきた。また，カビの細胞壁（*Elsinoe leucospila*[9)]，*Aureobasidium pullulans*[10)]）や子嚢菌の菌体外多糖（ペスタロタン；*Pestalotia* sp.815が産生する細胞外多糖[11)]）についても研究を行ってきた。

本研究ではいわゆる“シメジ”として栽培されているヒラタケ，さらに色及び形態が若干異なるタモギタケについて，まず食物繊維の観点からそれらの多糖成分の化学的特性を明かにしようとした。その過程で化学組成は両者共似ている事が分かったので，詳細な構造および抗腫瘍活性については，まだ充分な知見の得られていないタモギタケについて行った。

なお，多くの食用茸には，グリコーゲン様多糖が含まれており，我々は先にフクロタケのグリコーゲンについて鎖長分布などを報告した[12)]。本報告では，さらに，最近開発されたアニオンカラムを用いたパルスアンペロメトリック方式の高速液体クロマトグラフィー（High performance anion exchange chromatography；HPAEC）[13)]を用いてヒラタケ，タモギタケに含まれるグリコーゲンの鎖長分布を精密に測定し，フクロタケのグリコーゲンおよび他の生物起源のグリコーゲンとの鎖長分布を比較したのでこれらについても報告する。

実験材料と方法

1．実験材料

ヒラタケ（*Pleurotus ostreatus*）は信州産の人工栽培のものを用いた。かさは半円形または貝殻形で，学名の*Pleurotus*で表現されるようにかたよった耳形となる。表面はネズミ色，灰かっ色，成熟するに従い灰白色に変化する。肉は白色で軟らかく，ヒダは茎に長く垂生している[2)]。

一方，タモギタケ（*Pleurotus cornucopiae*）は主として北海道産のものを用いたが，形はヒラタケと同様の貝殻形または円形で中央部がくぼみ表面は平滑，黄色で，ひだは白色で茎に著しく垂生する。茎は長さ2～10cmで　ほとんどの茎が中心につき多数が根元で合着するか，あるいはサンゴ状に枝分かれする[2)]。試料の一部は，バイオジャパン株式会社の杉山博章氏より提供され

1）新姓：金丸澄子

た。

2．一般的分析方法

全糖量の定量はグルコースを標準物質としてフェノール硫酸法[14]で，還元糖はSomogyi-Nelson法[15]で，グルコサミンは Mogan-Elson法[16]で，ウロン酸は Nelly Blumenkrants-Gustav Asboe-Hansen法[17]で測定した。ペーパークロマトグラフィー（PPC）は，東洋ろ紙No.50を用い，展開溶媒は，1－ブタノール：ピリジン：水（6:4:3）で，ペーパークロマトグラム上の糖の検出はアルカリ硝酸銀による呈色反応で行った。中性糖およびメチル化糖のガスクロマトグラフィー（GLC）分析はアルジトールアセテート誘導体として，Hitachi gas chromatograph Model 163で行った。カラムは，3％ECNSS-M on Gas Chrom Q（0.4×200cm）を用い，カラム温度は180℃（メチル化糖），または190℃(中性糖)で行った。多糖の分子量はSepharose CL-6B カラム（2.2×100cm）を用い0.1N-NaOHで溶出した多糖をフェノール硫酸法[14]でモニターし，標準化されたデキストランおよびプルランの分子量と比較した。

構成糖の分析は，多糖試料に72％硫酸を加え室温で1.5時間静置後，蒸留水で7倍に希釈し，100℃，12時間加水分解した後アルジトールアセテート誘導体としてＧＬＣ分析に供した。

3．ヒラタケおよびタモギタケの多糖の分画

ヒラタケ，タモギタケ（各乾燥重量：約85g）をミキサーで粉砕後，リン酸緩衝生理食塩水（PBS, pH7.0, 3ℓ）中で5℃にて24時間かくはんして抽出する操作を2回繰り返した。抽出液は，3倍容のエタノールで沈澱させて，多糖画分（PBS抽出画分：CW）を得た。PBS抽出後の残渣は，蒸留水に懸濁し120℃, 20分オートクレーブによる抽出操作を2回繰り返し，溶液を濃縮後エタノールを加えて沈澱させることにより熱水抽出画分（HW）を得た。熱水抽出残渣は，少量の水素化ホウ素ナトリウム（$NaBH_4$）の添加と窒素気流下の還元状態で25℃および65℃で2時間，1M-水酸化ナトリウム（NaOH）によるアルカリ抽出の操作を2回行なった。可溶性画分を塩酸で中和した後透析し，得られた多糖画分を冷アルカリ抽出画分（CA），熱アルカリ抽出画分（HA）とした。残渣は，蒸留水に懸濁し，中和後に透析して，アルカリ抽出残渣（Res.）とした。

さらに，ヒラタケの場合は酸性及び中性多糖に分画する目的でセチルピリジニウムクロリド（CPC）処理を行った。試料（HW,HA）を0.01M硫酸ナトリウム（Na_2SO_4）に溶解し，10％CPC溶液を加えた。遠心分離によって得られた上清を透析，濃縮し，エタノール沈澱によって中性糖画分（n）を得た。不溶性CPC－多糖複合体は，10％水酸化ナトリウム溶液（NaCl）にとかし透析したのち，酸性糖画分（a）を得た。それぞれの画分について，中和して透析した。透析中に沈澱が生じたので遠心分離によって可溶画分（s）と沈澱画分（p）に分けた。タモギタケのPBS抽出後の残渣は，Pronaseを作用（pH7.2, 37℃, 24hr×2）させて除蛋白した。

3．Glucoamylaseによるグリコーゲンの除去

タモギタケの水抽出および熱水抽出物にはヨード反応により，グリコーゲンの存在が予想されたので酵素分解による除去を行った。すなわち，多糖（100mg）を50 mM酢酸緩衝液（pH5.0）に懸濁し，Glucoamylase（生化学工業）約10mg（34.6u／mg）を加え37℃にて72時間反応させた。

5．Zymolyaseによるβ-(1→3)グルカンの分解

Endo-1,3-β-D-glucanaseとしてZymolyase 6000（キリンビール株式会社）を用い，β-グルカン画分（787 mg）を1M-NaOH（10ml）に溶かし，2M酢酸で中和後，1／15Mリン酸緩衝液（pH7.5）を加え37℃にて15時間酵素分解した。反応液は，5分間沸騰水浴中で酵素を失活後，遠心分離した。反応の途中に生じた不溶性グルカンを分離し，可溶部は，Bio-Gel P-4(2.2×50cm)とP-2(2.2×100cm)を連結させたカラムによって低分子化したグルカンおよびオリゴ糖を得た。

6．多糖のメチル化分析

箱守法[18]に従いメチル化を行った。多糖試料(約5mg)をジメチルスルホオキサイド（DMSO 2ml）に溶解または懸濁後，窒素置換し，メチルスルフォニルカルバニオン（0.5ml）及びヨウ化メチル（1.5ml）でメチル化した。メチル化反応液は，予めメタノール（5ml×2）続いて蒸留水（5ml×2）で洗浄したSep-Pak C_{18}カートリッジ[19]（Waters Associates,Milford,Ma,U.S.A.）を用いて蒸留水（5ml×2），メタノール：蒸留水（1:1, 5ml×3），メタノール（5ml×3）で処理し各々の画分をＴＬＣでスポットテストを行いメチル化糖画分を得た。メチル化は，赤外吸収スペクトルにて3400～3600cm^{-1}のOH基の吸収が消失するまで繰り返した。完全にメチル化された糖は，90％ギ酸（100℃, 12時間）及び 2N-トリフルオロ酢酸(TFA)（100℃, 6時間）にて加水分解し，アルジトールアセテート誘導体としてＧＬＣ分析に供した。

7．赤外吸収スペクトル分析

試料(4mg)を粉末KBr(700mg)と混合後，真空中で加圧(50～150kg／cm^2, 30min)して錠剤を作製し，赤

外吸収分析を行った。

8．抗腫瘍活性の測定

我々のこれまでの方法[6]に準じSarcoma 180 ICR-JCLマウス系を用いて測定した。すなわち，日本クレアより購入した4週齢メスICR-JCLマウスの右足そけい部皮下に，Sarcoma 180（6×10^6 ascites cells）を移植したマウスに，細胞を移植して24時間後から毎日連続10日間，多糖試料を腹腔内に投与した。多糖試料はPBS(pH7.2)に溶解あるいは懸濁し，オートクレーブにより滅菌したものを用いた。腫瘍を移植してから35日後にマウスを解剖して腫瘍を摘出し，その重量を測定し，次式より腫瘍抑制率(Inhibition ratio)を求めた。

Inhibition ratio(%)＝(A-B)／A×100

A:コントロール群の平均腫瘍重量

B:テスト群（多糖投与）の平均腫瘍重量

9．グリコーゲンの鎖長分布測定

試料（ヒラタケ:HW-s，タモギタケ;Pro-s，フクロタケ;熱水抽出画分）を0.1Mの酢酸緩衝液(pH3.5)に溶解して38℃で24時間，*Pseudomonas* isoamylaseを作用させグリコーゲンの枝切りを行った[20]。反応液は沸騰水中で，10分間加熱して酵素を不活性化した後，HPAEC(High performance anion exchange chromatography）で分画し単位鎖長測定を行った。*Pseudomonas* isoamylaseは，林原生物化学研究所から分与された純粋な標品を用いた。

10. HPAEC (High performance anion exchange chromatography)

ＨＰＡＥＣは，Dionex社のBIO LC MODEL 4500Iで，カラムは，HPIC-AS6(250mm×4mm I.D.)とHPIC-AG6(50×4mmI.D.)のガードカラムを用いPulsed Amperometric Detectorで検出した。溶出は，0.15M NaOHと 0.15M NaOH-MNaOAcのグラジュエントを行った。この陰イオンクロマトグラフィーでは単糖(DP1)から 約30糖(DP30)まで完全に分離することができた。

結果と考察

1．ヒラタケおよびタモギタケ多糖の分画と化学組成

ヒラタケについて，まずPBS抽出を行い，その残渣を熱水，熱アルカリにより処理した。これらの抽出物から中性糖，酸性糖を分離する目的でCPC処理し分画を順次行った。タモギタケについてもPBS抽出を行ったが，抽出残渣をさらにPronaseで処理して除蛋白した後，熱水，冷アルカリおよび熱アルカリにより抽出し，分画を行った（CW,Pro,HW,CA,HA）。各画分については，透析中に沈澱が生じたので，さらに可溶画分（s）と不溶画分（p）に分けた。以上の分画操作で得られた各多糖画分の収率と糖組成をTable 1 に示す。

Table. 1 Fractionation and chemical compositions of mushrooms.

Polysaccharide fraction	Yield (%)	Carbohydrate component (%)						
		Glc	Gal	Man	Xyl	Ara	Fuc	Rham
P.ostreatus								
CW	6.5		68.5	29.7			1.8	
HW-n	0.3	100						
HW-a	0.2	84.1	15.9					
HA-n-s	15.5	80.0	13.5	5.8			0.7	
HA-n-p	5.0	100						
HA-a-s	0.9	90.1	4.7	3.7	0.4	1.2		
HA-a-p	30.1	86.3		7.3	4.2	2.2		
Residue	41.5	81.3	18.7					
P.cornucopiae								
CW-s	12.5	13.4	33.4	27.8		13.4	2.7	8.3
p	0.7	41.7		33.2		16.7	4.2	4.2
Pro-s	2.9	52.6	5.3	5.3		31.5		5.3
p	0.8	66.6		20.0		6.7		6.7
HW-s	1.1	83.4		8.3				8.3
p	0.2	83.3		16.7				
CA-s	6.4	83.4		8.3	8.3			
p	20.1	90.9		9.1				
HA-s	6.1	83.3		16.7				
p	1.2	50.0		35.0	5.0	5.0	5.0	
Residue	48.0	100.0						

Glc, D-glucose;Gal, D-galactose;Man, D-mannose; Xyl, D-xylose;Ara, L-arabinose;Fuc, L-fucose;Rham, L-rhamnose

a)Weight proportion based on whole polysaccharides. CW, cold water extract;HW, hot water extract;CA, cold alkali extract;HA, hot alkali extract;s,soluble;p, precipitate;n, neutral and a, acidic fraction

ヒラタケのPBS抽出画分（CW）は，主にマンノースとガラクトースから成り（モル比，1.0:2.3）フクロタケのPBS抽出画分のマンノガラクタン（モル比，1.0：2.7）と類似していた[12]。構造については明かではない

が糖組成からフクロタケと同様にガラクトース残鎖を主鎖にするマンノガラクタン，またはフコガラクトマンナンであるかもしれない。タモギタケのPBS抽出画分（CW－s, p）もヒラタケに類似するが植物ヘミセルロースの様にアラビノースおよびラムノースも含まれており，いわゆる食物繊維の構成糖という観点から興味深い。これらのヘテロ多糖は，細胞壁表層に存在しているために比較的穏和な条件で抽出されたと考えられる。これは，マンネンタケにおいても認められている[21]。

熱水抽出画分は収量は少ないが中性糖画分は，グルコースのみから成りほとんどがグリコーゲンと考えられる。また，酸性糖画分では，ウロン酸を含んでいた。熱アルカリ抽出画分においては，ほとんどがグルコースを主成分とするグルカンで後に述べるように大部分が分岐β-(1→3)グルカンと思われる。他の画分は，わずかにマンノースなどの糖を含んでいるが，グルコースが主成分であった。

2．分岐β-(1→3)グルカンの構造および抗腫瘍活性

前述の様にヒラタケとタモギタケでは水抽出性のヘテロ多糖の構成糖に若干の相違があるが，両者に共通して主要な多糖となっているものは，Table 1 に示す様に主として熱水およびアルカリで抽出されるβ-グルカンと考えられる。このグルカンは冷水抽出画分にも少量含まれる。これらの画分のグルカン中のグルコース残基の結合状態を調べるためにメチル化，メチル化多糖を加水分解，GLCにより部分メチル化グルコースの同定をした結果はTable 2.に示す。なお，熱水抽出画分に混在しているグリコーゲンはglucoamylaseを作用させて可及的に除去した。

メチル化の結果から何れの画分も(1→3)結合が主体で，O-6の分岐点を有する分岐構造であることが明らかであるが，少量の(1→6)結合も存在する。なお，冷および熱アルカリ抽出物は酸で中和することにより沈澱が生じるが，Table 2 にはこの沈澱画分(CA-p,HA-p)のメチル

Table 2. Identities and molar ratio of the acid hydrolysis products of methylated polysaccharides of fruiting body of "Tamogitake" (*P.cornucopiae*).

O－Methyl suger	Lincage indicated	Molar ratio						
		Hot water		Cold alkali		Hot alkali		Residue
		HW－s	HW－p	CA－s	CA－p	HA－s	HA－p	
2,3,4,6－tetra－Glc	[Glc] 1→	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
2,4,6－tri－Glc	→3 [Glc] 1→	0.8	4.6	1.3	64.2	2.3	13.2	1.8
2,3,4－tri－Glc	→6 [Glc] 1→	0.9	0.3	0.4		0.3	0.1	1.6
2,3,6－tri－Glc	→4 [Glc] 1→	0.2			1.3		1.3	
2,4,－di－Glc	→3,6 [Glc] 1→	0.9	1.1	1.2	1.1	1.0	1.0	1.3

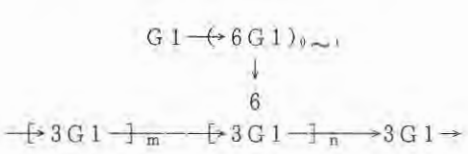

Fig 1. Structure of β－(1→3) glucan of each fraction from Tamogitake (*P.cornucopiae*).

Cold water extract (CW)	n／m＋n＝1／4
Hot water extract (HW)	n／m＋n＝1／3
Cold alkali extract (CA)	n／m＋n＝1／3
Hot alkali extract (HA)	n／m＋n＝1／3
Residue	n／m＋n＝1／14

n／m＋n, branching ratio

化の結果も示すがメチル化糖のモル比から沈澱画分は分岐が少ないグルカンがあることが分かる。これらの結果から分かるように，分岐度(d.b.)の異なったβ-(1→3)グルカンは，それぞれの抽出画分に広く分布し抽出条件が強くなる程，一般的に分岐度の小さく直鎖構造に近いグルカンが含まれる(Fig.1)。すなわち，熱水抽出画分では d.b.1:3で少量の(1→4)および(1→6)結合も存在する。同様に冷アルカリ可溶（分子量40万）では d.b. 1:2～2.5であり熱アルカリ抽出では 1:3，その沈澱画分では 1:14という値が得られた。

冷アルカリ可溶多糖(CA-s)の詳細な構造を明かにするために endo-(1→3)-glucanase(Zymolyase)を作用させ，酵素分解物を可溶画分と不溶画分にわけた。不溶性グルカンはSepharose CL-6Bカラムにより分子量

40万以上のものと5万以下の低分子多糖の混合物であった。この不溶グルカンのメチル化の結果，酵素反応前と比べ(1→6)グルコース残基あるいは分岐を持つグルコース残基の存在により酵素分解が阻害されたことを示唆する。可溶画分は，Bio-Gel P-4とP-2を連結させたカラムを用いて分画した結果，Vo付近に溶出した多糖（回収率:14.5%，糖含量:51.04%）および単糖とlaminari-oligosaccharide（回収率:17.05%）が得られた。これらのオリゴ糖についてメチル化分析を行った結果をTable 3に示す。この結果からそれぞれのオリゴ糖の構造を示す。

G 1→3（Ⅰ），G 1→6 G 1→3 G（Ⅱ）およびO-6位で分岐した(1→3)結合のグルコース残基から構成される4糖（Ⅲ）が考えられる。なお，Ⅱの構造はこの3糖を還元後メチル化すると(1→3)結合が消失することから推定した。酵素作用で生じたこれらのオリゴ糖は，比較的分岐度の少ないブロックに由来すると考えられる。一方，作用を受けずに残ったグルカンは，d.b.1:4であることが明らかになった。Zymolyaseが比較的長いβ-(1→3)結合鎖(d.b.>5)に作用することを考慮すれば，冷アルカリ抽出画分(CA-p)はフクロタケの抗腫瘍グルカンと同様に分岐が密でしかも(1→6)結合鎖も多いブロック(d.b.1:2)，中程度の分岐(d.p.1:4)のZymolyaseにresistantなブロックおよび酵素反応を受け易い分岐の少ないブロックから構成される構造的に不均一なグルカンであると推定される。(Fig.2)

なお，水抽出画分からヘテロ多糖を除去した画分(Fr. CW)にも分岐度の大きい(d.b.1:2〜1:4)のβ-(1→3)グルカンが含まれる。その画分には(1→4)結合のグルコース残基も検出された（メチル化の結果）が，これは混在するグリコーゲンに由来するものと推定される。

一方，熱アルカリ残渣（収量48%）は，メチル化の結果からむしろ多分岐(d.b.1:3)であり，キクラゲのアルカリ抽出残渣とよく似た構造と推定される。また，この画分のIR分析の結果よりキチンに特異的な1655，1620および1550cm^{-1}の吸収が認められた[23]ことより，キチンも混在すると考えられる。Fig.1には，タモギタケの分岐β-(1→3)グルカンの一般構造を示すが，興味あることは，他のキノコと異なり(1→6)結合のグルコース残

Table 3. Results of methylation analysis of oligosaccharides.

O−Methyl glucose	Lincage indicated	Molar ratio		
		Oligosaccharide		
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
2，3，4，6−tetra−	[Glc] 1→	1.0	1.0	2.0
2，4，6−tri−	→3 [Glc] 1→	1.3	0.9	1.0
2，3，4−tri−	→6 [Glc] 1→		1.0	
2，4−di−	→3，6 [Glc] 1→			0.8

β−G 1→3 G
（Ⅰ）

β−G 1→6 G 1→3 G
or
β−G 1→3 G 1→6 G
（Ⅱ）

β−G
1
↓
6
β−G 1→3 G 1→ 3 G
（Ⅲ）

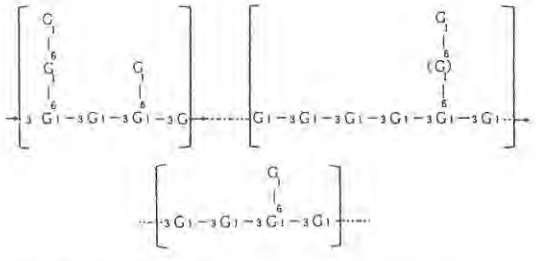

Fig. 2 Possible structural units of the alkali extracted glucan (CA−s)

Table 4. Antitumor activities of polysaccharides of *P.cornupiae* against Sarcoma 180 solid tumor.

Polysaccharide fraction	Dose (mg／kg×days)	Average Tumor weight (treated／control)	Tumor growth inhibition (%)	Complete regression
CW－s	10×10	5.7／12.1	53.1	2／6
HW－s	1×10	7.2／12.1	40.7	2／7
－s	5×10	0／12.1	100	7／7
－s	10×10	0／12.0	100	5／5
－s※	10×10	7.1／12.1	41.6	0／7
CA－p	10×10	7.9／12.0	33.7	0／6
－p※	10×10	9.9／12.1	18.0	0／6
HA－s	10×10	0.9／12.1	93.0	5／6
－p	10×10	9.9／12.0	17.3	0／7

※After Zymolyase treatment

基が比較的多く含まれることで，これは，フクロタケの場合と同様に側鎖中に存在すると推定される。

次にこれらの多糖の抗腫瘍活性に関して移植ガン(Sarcoma 180)に対する増殖抑制作用を調べた。腫瘍抑制率は腹腔内の投与量10mg／kgのとき，HW-s(53%)，CA-s(100%)，CA-p(34%)，HA-s(93%)，HA-p(17%)であった(Table 4)。またCA-sでは，投与量が5mg／kgでも100%腫瘍抑制効果が認められた。しかし，この抗腫瘍活性の極めて高いCA-s画分にZymolyaseを作用させ，その酵素消化による部分分解物を投与すると活性は著しく低下した（抑制率：42%)。

分岐β-(1→3)グルカン系多糖の分子量と抗腫瘍の相関性についてシゾフィランの研究によると，水溶液中で分子量が10万以上では規則的な三重ラセン構造をとり，強い抗腫瘍活性を保持するが，この分子量以下では三重ラセンの分率が減りそれに伴い抗腫瘍活性は低下することが報告されている[24]。抗腫瘍活性をもったCA-s，HA-sの分子量は共に40万以上であったが，Zymolyase反応後の分解生成物の分子量は，平均5万以下になり腫瘍抑制活性が低下したものと考えられる。

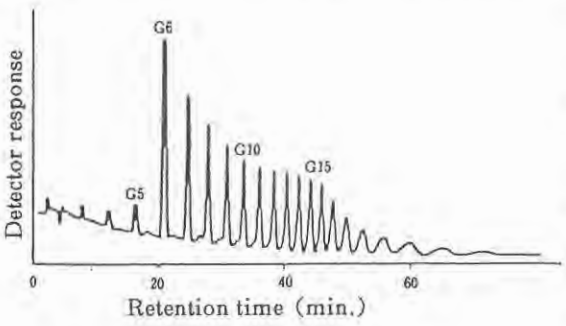

Fig. 3　HPAEC (High performance anion exchange chromatography) profile of unit chain distributions of Fukurotake (*V.volvacea*) glycogen.

3．茸グリコーゲンの鎖長分布

ヒラタケ(HW-s)，タモギタケ(Pro-s)およびフクロタケ(熱水抽出画分)[12]についてisoamylaseによる分岐切断後，HPAECを行いグリコーゲン分子を構成するα-(1→4)unit鎖によるPADの値を測定した。

フクロタケの場合，Fig 3に示すようなパターンが得られマルトヘキサオース（G6）から長い枝では，G22位まで存在していた。

ヒラタケ，タモギタケおよびフクロタケの Detector response の値を，Molar response[25]で補正し，それぞれのunit chainの数の比率(%)で示すと，Fig 4のようになった。各々のグリコーゲンのα-(1→4)unit鎖は，似たタイプのパターンを示しマルトヘキサオース(G6)からマルトオクタオース（G8）を中心に存在していた。しかし，タモギタケに関しては，他のものより若干長いunit鎖の割合が少なかった。我々の研究室では，現在種々の起源の異なったグリコーゲンの鎖長分布を比較している[26]が，これらの茸のα-(1→4)unit鎖の分布

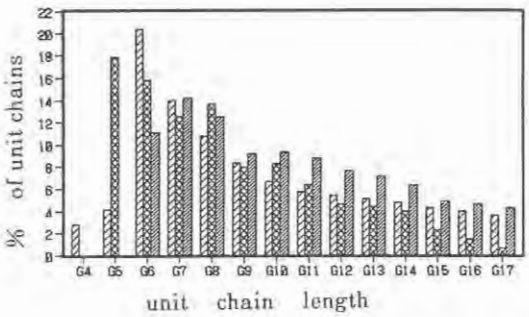

Fig. 4　Comparison of distributions of α-(1→4) unit chains of some glycogens by pulsed amperometric anion exchange chromatography. Each glycogen was completely debranched by isoamylase action.
The values were expressed as molar proportion, computed by responses of each chain length.

▨ ; Fukurotake (*V.volvacea*)
▩ ; Tamogitake (*P.cornucopiae*)
▨ ; Hiratake (*P.ostreatus*)

パターンはアスペルギウス症の起炎菌であるフミガタスのグリコーゲン (G2～G17)や結核菌(青山B株)の細胞抽出グリコーゲン(G2～G15)より長い枝が多く，パン酵母(Bakers'yeast)のグリコーゲン(G5～G23)より短い枝が多かった。また，動物のRabbit liver glycogen, Bovine liver glycogen, Oyster glycogenとも植物由来のフィトグリコーゲン(sweet corn)とも異なり担子菌に特徴的なパターンが得られた。

要　約

*P.ostreatus*子実体であるヒラタケをPBS，熱水，熱アルカリで多糖の抽出を行った。PBS抽出により得られた画分は，マンノースおよびガラクトースを含むヘミセルロースに似たヘテロ多糖であった。他の画分は，グルコースを主成分とするグルカンであった。同じくシメジ科ヒラタケ属の*P.cornucopiae*子実体であるタモギタケについて，PBS抽出，Pronaseによる分画，熱水，冷および熱アルカリで逐次分画を行った。PBS画分は，少量のアラビノース，フコース，ラムノースを含むが，ヒラタケと似たヘテロ多糖であった。他の画分は，メチル化分析の結果，少量の(1→4)および(1→6)結合も含むが，主としてβ-(1→3)結合のグルコース残基に，*O*-6で分岐をもつβ-グルカンであった。

また，冷アルカリ可溶画分は，Endo-β-(1→3)-D-glucanase (Zymolyase) により数種のオリゴ糖が得られ，その微細構造を分析した結果，分岐度1:3のブロック，1:2の高分岐をもち(1→6)richなブロックと，β-(1→3)および(1→6)結合のグルコース残基からなるブロックから構成されていた。このグルカンは，固形腫瘍であるSarcoma 180に対して強い増殖を抑制する効果をしめした。ところが，Endo型酵素処理で得られたグルカンは，抗腫瘍の活性発現が認められなかった。活性発現には，適度な分岐をもつβ-(1→3)グルカンと三重ラセン構造を保持できる分子量が必要と考えられた。しかし，β-(1→3)グルカンの持つ立体構造がなぜ抗腫瘍作用の発現に必要なのか，この特異的な構造と免疫調節機構との関係については，まだ解明されていない。

さらに，ヒラタケ，タモギタケおよびフクロタケのグリコーゲンのα-(1→4)unit鎖の分布をパルスアンペロメトリック方式のアニオンカラムを用いた液体クロマトグラフィー(DIONEX)で検討した結果，各α-(1→4)unit鎖はいずれもG6からG8を中心に分布しているが分布の状態はキノコの種類によりやや異なっているように思われる。しかし，他の動物および植物起源のグリコーゲンのα-(1→4)unit鎖の分布とは，かなり異なっていた。

謝　辞

タモギタケの入手に御協力頂いたジャパンバイオ (株)の杉山博章氏に感謝します。また，抗腫瘍作用の測定を指導して下さった曽根良昭博士に深く御礼申し上げます。

文　献

1) 原　洋一，伊藤達次郎，村井貞克　ほか：ナメコ・エノキタケ・ヒラタケの栽培と経営，誠文堂新光社，p156(1976)
2) 今関六也，本郷次郎，椿　啓介：標準原色図鑑全集14巻，保育社，P60(1970)
3) G.Chihara, Y.Maeda, J.Hamuro, T.Sasaki, and F.Fukuoka : *Nature*, 222, 687(1969)
4) N.Komatsu, S.Okubo, S.Kikumoto, K.Kimura, G.Saito and S.Sasaki : *Gann*, 60, 137(1969)
5) 松井元子：阪市大卒業論文(1980)
6) A.Misaki, M.Nasu(Matsui), Y.Sone, E.Kishida and C.Kinoshita : *Agric. Biol. Chem.*, 50, 2171(1986)
7) 岸田恵津：阪市大修士論文(1985)
8) A.Misaki, M.Kakuta, T.Sasaki, M.Tanaka

and H.Miyaji : *Carbohydr.Res.*, 92, 115(1981)
9) 片岡直子，三崎　旭，東　一郎：生化学，58，872 (1986)
10) 片岡直子，生田純子，黒島朱美，三崎　旭：阪市大生紀要，34，1(1986)
11) A.Misaki, K.Kawaguchi, H.Miyaji, H.Nagae, S.Hokkoku, M.Kakuta and T.Sasaki : *Carbohydr. Res.*, 129, 209(1984)
12) 松井元子：阪市大修士論文(1982)
13) Mark R.Hardy, R.Reid Townsend and Yunn C. Lee *Anal. Biochem.*, 170, 54(1988)
14) M.Dubois, K.A.Gilles, J.K.Hamilton, P.A. Robers and F.Smith : *Anal. Chem.*, 28, 350 (1956)
15) M.Somogyi : *J.Biochem.*, 195, 19(1952)
16) W.T.J.Morgan, L.A.Elson : *Biochem.J.*, 26, 988 (1934)
17) N.Blumenkrants, G.A.Hansen : *Anal.Biochem.*, 54, 484(1973)
18) S.Hakomori : *J.Biochem.*, 55, 205(1964)
19) A.J.Mort, S.Parker and M.Kou : *Anal. Biochem.*, 133 ,380(1983)
20) 中村道徳，貝沼圭二：生物化学実験法19「澱粉・関連糖質実験法」，学会出版センター，p105(1989)
21) 岸田恵津，奥田玲子，曽根良昭，三崎　旭：阪市大生紀要，35，1(1987)
22) A.Haug and O.SmidsrΦd : *Acta Chem. Scand.*, 19, 221(1965)
23) A.J.Michell and G.Scurfield : *Aust. J. Biol. Sci.*, 23, 345(1970)
24) 染木利夫：高分子学会予稿集，32，702(1983)
25) 小泉京子，福田正子，檜作　進：日本農芸化学大会講演要旨集，97(1991)
26) 那須元子（松井），角田万里子，三崎　旭：日本栄養食糧学会・近畿支部大会講演要旨集，p44，(1990)

（平成３年10月11日受理）

Summary

Two edible mushrooms, belonging to *Pleurotus* species, *i. e. P.ostreatus* (Hiratake) and *P.cornucopiae* (Tamogitake), were extracted successively with cold and hot water, and then cold and hot alkali, and the polysaccharides were fractionated. This procedure afforded similar polysaccharide fractions from Hiratake and Tamogitake, *i. e.* water-extracted galactomannan, hot water-extracted glycogen and branched β－(1→3)－D－glucans. The alkali extracted glucans contained a back bone of (1→3)－linked D－glucosyl residues, attached with D－glucosyl groups at *O*－6 and also a few short chains of (1→4)－ or (1→6)－linked glucosyl units. Degrees of branching of these glucans appeared to vary, depending on the extracted conditions. With regard to antitumor action, the cold－alkali extractable glucan showed relatively high inhibition activities against the growth of mouse－implanted tumors (Sarcoma 180), administrated intraperiniously. However, the products degraded by Zymolyase treatment lost their original activity. In addition to β－glucans, these mushrooms also contained glycogen, as obtained by extracted with hot water. The precise distribution of (1→4) －linked glucosyl unit chains of the glycogen were examined mainly by using high performance anione xchange chromatography, and compared with those from Fukurotake and other origins. The cell surface polysaccharide, extracted with cold water appeared to be a galactomannan comprising D－galactose and D－mannose.