

総説 (REVIEW)

リグニンの進化*

樋口 隆 昌**

Evolution of Lignin

Takayoshi HIGUCHI

はじめに

地球を含む太陽系は太陽の近くを他の星が通過した際、この接近した星の巨大な重力により太陽からひきちぎられて出来たという説が広く信じられた時期があったが、そのようなすれちがいが起こる確率は極端に小さいこと、また仮りにそのようにして惑星が出来たとしても大きな内部エネルギーによって崩壊してしまう筈であることなどから、現在では太陽および惑星は広大な宇宙塵とガスから生成したものと信じられている。また地球の年令については、同位元素法による地殻岩石と隕石の年令との比較、地球上の岩石中に含まれる鉛の同位元素比の測定などから約45億年と推定されている。

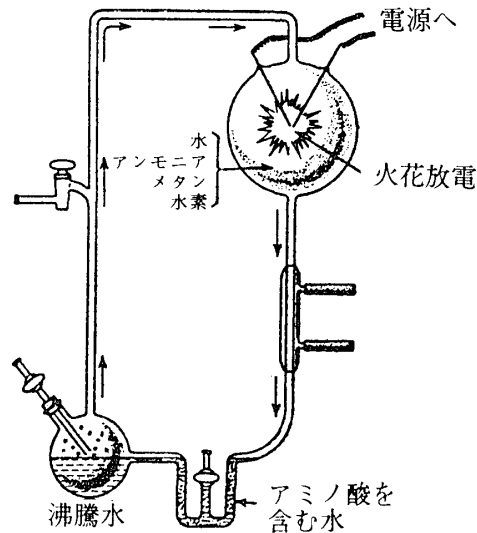
上記のような地球の成因から考えて原始地球表面の温度も極端な高温にはならなかったようであるが、現在よりも一層多量に含まれていた放射性物質の崩壊エネルギーにより地球の火山活動はずっと盛んであったと考えられる。それでも地球表面の平均温度は短期間で現在の地表程度に落ちついたようで、最初の地球が出来あがってから約10億年間に原始大気中の無機物質の反応によって生じた有機物質を経て次第に生命が誕生していったものと考えられる。

今日一般に信じられている説によると、原始大気は現在の地球の大気に比べて一層還元的で、遊離の O_2 は痕跡程度しか含まれていず、地球内部の放射性元素崩壊による莫大なエネルギーによって地球の内部から放出されたメタン、アンモニア、水、 H_2 、 N_2 、炭酸ガスなどからなっていたものと考えられている。また生成初期の地球は内部から放出された水蒸気によって大気が飽和されて雨が降りつづき、ところどころに小さな湖ができ、次第に大洋が発達していったものと推定されている。¹⁾

地球のこのような条件下で紫外線・雷による放電、火山の熱などによって、上記の簡単な成分から生物体の基本的構成成分であるアミノ酸、核酸塩基、糖などが生成し得たことについては、1955年シカゴ大学の S. MILLER による有名な実験がある²⁾。彼は第1図のような装置を用い、原始大気を構成していたと思われるアンモニア、メタン、 H_2 の混合ガス中でタングステン電極をスパークさせ、装置中に水蒸気を還流させると、1週間で大気中の炭素の15%が放電によって固定されて水に溶解込み、しかもその中にはグリシン、アラニン、アスパラギン酸など天然のアミノ酸が存在することを確認している。この実験は原始大気中に含まれる主成分による原始海洋中での反応を想定したもので、放電は原始大気における雷光とみなされた。その後多くの研究者によって同様な実験が行われ、今日ではほとんどすべてのアミノ酸、RNA、DNA 構成要素としてのアデニン、シトシン、ウラシルなどが同様の反応条件下で生成し、さらに核酸の重要な構成要素

* 第27回木研公開講演会（大阪、1974. 5. 17）において講演

** リグニン化学部門 (Division of Lignin Chemistry)



第1図 還元的ガス混合物からのアミノ酸の生成実験にミラーが用いた装置。

であるリボースもホルムアルデヒドと炭酸カルシウムまたは水酸化カルシウムとの反応で生じる事も明らかにされた。

このような始原化学の研究の発達によって、現在では原始地球の長い経過の後にたんぱく質、核酸などが生成し、その後 OPARIN が想定しているようなコアセルバートなどの段階を経て次第に原始生命として発展していったものと信じられている。¹⁾

I 地球上の最古の生物³⁾

^{40}K は12億6千万年の半減期で崩壊して ^{40}Ar になるので、今ある岩石中に ^{40}K と ^{40}Ar の原子が同数入っており、その ^{40}Ar がすべて ^{40}K から生じたことが確実であれば、その岩石は12億6千万年前のものであることがわかる。同様にウラニウムから鉛、ルビジウムからストロンチウムの崩壊などを基準にして地殻の年令が測定されてきた。この方法により化石の年令を測定すると、大型生物(海産無脊椎動物)の化石で最も古いものとしては先カンブリア紀(約5億8千万年前)のものが知られているが、微生物の化石としては BARGHOON らによりカナダ、オンタリオ州西部スペリオル湖北岸のガンフリント湖周辺のガンフリント層から、アニミキエアや *Entospheroides* と名づけられた糸状の藻状体が発見されている。この地層の年代は前記同位元素法によって約20億年前のものであると推定された。さらに南アフリカのトランスヴァール東部、デエイライト鉄鉱山のフイグツリー統と呼ばれる地層中から長さ 0.56μ 、幅 0.24μ の桿菌状のものがみつかって *Eobacterium* と命名された。なおこの地層から単細胞球状のラン藻、*Archeospheroides* もみつかっており、ルビジウム-ストロンチウム法によりその年令は約31億年前と測定されている。その後も ENGEL によって南アフリカで35億年前の藻類と思われる化石が発見されている。

II 陸上植物の進化^{3,4)}

初期の生物は現在の細菌類、ラン藻類と同じように単細胞で、はっきりした核を持たず海洋中で細胞分裂によって無性的に増殖していたが、次第に有核多細胞植物へと進化し、葉状体段階を経て陸上植物に進化していったものと推定される。

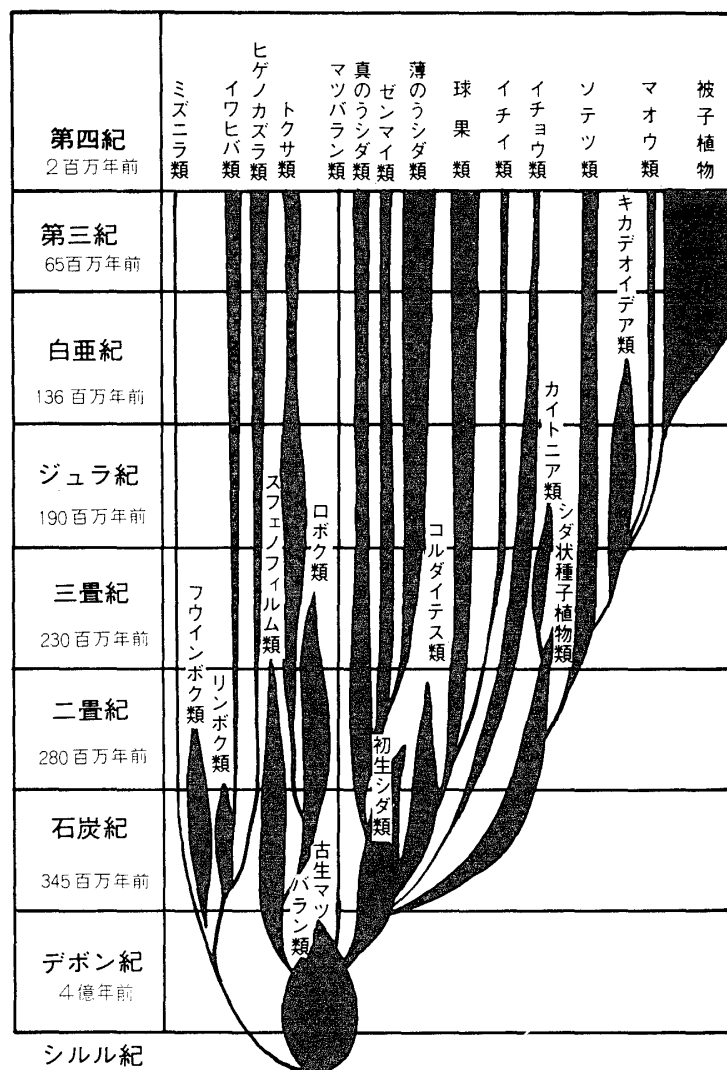
水中生活をしている藻類などでは体の全表面から養分を吸収し、根のようになった部分でも単に体を他物に付着させるだけで、茎に当る部分も柔軟な葉状体であったが、陸上植物では乾燥、日光、風雨など周囲の厳しい環境に対応して光合成機能をもつ葉と水や養分を吸収する根および茎に分化している。しかし原始的

な陸上植物であるコケでは茎の組織分化がまだほとんど認められず、シダ植物になって初めて光合成を行う茎と、体の各部分に水や養分を送る通路としての維管束組織が分化している。維管束段階の植物でも原始的なマツバラン類 (*Psilophytales*) のような植物では、光合成を行う皮層と通道組織である維管束との分化しきれないが、体制の進んだ高等植物になると枝葉を広げて体を真直に保持するための木部が形成され、10m以上の樹体に達するものも現われて大森林を構成するようになってくる。木部を作っている細胞のうちで最も普遍的にみられるのは仮道管で、針葉樹木部では90%以上が仮道管から構成されている。環紋、らせん紋、階紋、孔紋仮道管などの種類があり、水分の通道と樹体維持の両方の役目を果たしているが、さらに進化した被子植物 (広葉樹を含む) では仮道管は水分通道の役をする道管と樹体の強度保持のための木繊維に分化している。

一般にシダ植物や裸子植物では仮道管のみがみられ、被子植物では道管が主となっているが、被子植物にもわずかながら道管がなく仮道管だけのものがあり無道管被子植物と言われている。南米南部や、タスマニア、ニュージーランドからフィリピン・ボルネオ・セレベスなどの山地に生じる シキミモドキ (*Drimys*)、ヤマグルマ、中国からヒマラヤにあるスイセイジュ (水青樹)、センリョウなどがそれである。

一方、裸子植物でありながら道管をもつものとしてグネツム、西アフリカ砂漠植物である ウェルウィチア、マオウ (いずれもグネツム類) が知られている。被子植物の起源については植物系統学上の最大の謎と言われておりまだ定説はないようである。

植物の進化について歴史的にたどってみると、陸上植物はオルドビス紀からシルル紀にかけて発生したように最初の陸上植物としてはボヘミアのシルル紀最末期の地層 (約4億年前) から得られたクツソニアが知られている。またイギリス、ドイツ、オーストラリアのデボン紀 (約3億9500万年前) の地層から *Zosterophyllum* という維管束植物が見出され、スコットランドのライニーではデボン紀前期の地層から *Rhynia* と呼ばれる植物化石が発見されている。*Rhynia* は水平にのびる地下茎から直立した高さ20~30cm、幅2mm以下の茎を持ち、二また二またと分れた茎の先端には原始的な胞子のうをつけ葉はみられない。シルル紀後半からデボン紀にかけては *Psilophyton* や *Rhynia* など古生マツバラン類に属するシダ植物が繁茂していたものと考えられ、さらにデボン紀には、ヒカゲノカズラ類の祖先とみられる *Drepanophycus*, *Protolepidodendron*, トクサの祖先とみられる *Protohyenia*, *Hyenia*, 真正シダ類の祖先とみられる *Protopteridium*, *Cladoxylon* などが知られている。ついで石炭紀中期になると古生マツバランは絶滅し、シダ植物に加えてリンボク、フウインボクのようなヒカゲノカズラ類、ロボク、ケツヨウボクなどのトクサ類が繁栄し、新しく発達してきた種子植物 *Calymmatotheca* や *Cordaite* が入りこんで大森林を形成していたものと信じられている。石炭紀からペルム紀にかけては当時起っていたバリスカン造山運動による地殻の変動、地層隆起による陸地の乾燥などに伴って、シダ類は次第に一層環境に適応した種子植物によって圧倒され、また寒冷な気候への著るしい変化によって南半球と北半球の植物群に大きな変動が起っている。ペルム紀の地球は広く南半球を含むゴンドワナ大陸、北アメリカとヨーロッパの大部分を含むエリアーバルチカ大陸、ウラルからシベリア、アラスカにいたるアンガラ大陸、インドシナ、中国に広がるカサイシア大陸の4つからなっていたものと考えられ、これらの大陸にはそれぞれの気候に適した植物が繁茂しており、例えばカサイシア大陸においては比較的温帯な気候に適応して葉の広くて薄いソテツシダ類の *Gigantopteris* や *Emplectopteris* が繁茂していたと思われる。さらに三畳紀になるとショウハク類、ソテツ類、イチョウ類が主となり、またジュラ紀にかけては緯度に平行して植物群に違いが現われ、北半球北部はショウハク類とイチョウ類が多い北部寒帯区系森林、シベリア、中国北部、アラスカ、北アメリカ西部にはイチョウとソテツが多い温帯区系の森林、グリーンランド、北アメリカ東部、ヨーロッパの大部分、インド、中国南部、東南アジア、オーストラリアではソテツ類とシダ類が多くショウハク類とイチョウ類の少ない熱帯区系の森林が広がっていたようである。白亜紀中頃になるとそれまでの植生に急激な変化が起り、被子植物が出現している。裸子植物



第2図 維管束植物の系統図³⁾

から被子植物への変化は北方から次第に南方へと広がり、グリーンランドでは白亜紀初期にすでにスズカケノキ属、ホオノキ属などが知られており、その後現在生えているような被子植物が次第に増えていったものと考えられている。以上植物系統発生と地球の歴史との関係は第2図のように示すことができる。

III 植物系統発生とリグニンの関係

植物組織中におけるリグニンの発生は、植物の進化の過程と密接に結びついており、細菌、菌類、藻類、地衣、蘚苔類など、一般に非維管束植物はリグニン呈色反応を示さず、リグニンを含まないことが明らかにされてきた。ただ、みずぐけの一種である *Sphagnum* についてのみは古くから多くの研究がなされている⁵⁾。たとえば、*Sphagnum* のニトロベンゼン酸化では少量のパニリン、シリンガアルデヒドと共に試料あたり 0.7% の *p*-ヒドロキシベンズアルデヒドが、酸化銅触媒によるアルカリ酸化では主成分としての *p*-ヒドロキシアセトフェノンと共に少量の *p*-ヒドロキシベンズアルデヒド、アセトグワヤコン、パニリン、*p*-ヒドロキシ安息香酸、パニリン酸が、さらにメチル化 KMnO_4 酸化では 4% の *p*-アニス酸を生じることなどが報告されてきた。また FREUDENBERG と HARKIN⁶⁾ は *Sphagnum* および *Polytrichum commune* から MWL の調製法によって得られた抽出物の加水分解残渣がそれぞれ $\text{C}_9\text{H}_{7.96}\text{O}_2[\text{H}_2\text{O}]_{0.90}[\text{OCH}_3]_{0.25}$ (*Sphagnum*),

樋口：リグニンの進化

$C_9H_{7.94}O_2[H_2O]_{0.78}[OCH_3]_{0.25}$ (*Polytrichum*) の分析値を与えることからこれらの抽出物をリグニンとして報告している。REZNIKOV と SOROKINA⁷⁾ も *Sphagnum medium* から 0.43% 収率で MWL を抽出し、そのものがニトロベンゼン酸化によって *p*-ヒドロキシベンズアルデヒド, 2.21%, パニリン, 0.82%, *p*-ヒドロキシ安息香酸, 0.75%, パニリン酸, 0.5% を与えるばかりでなく, 液体アンモニア-Na 処理によってグワヤシルプロパンとグワヤシルプロパノールからなる C_6-C_8 物質を与えることを報告している。

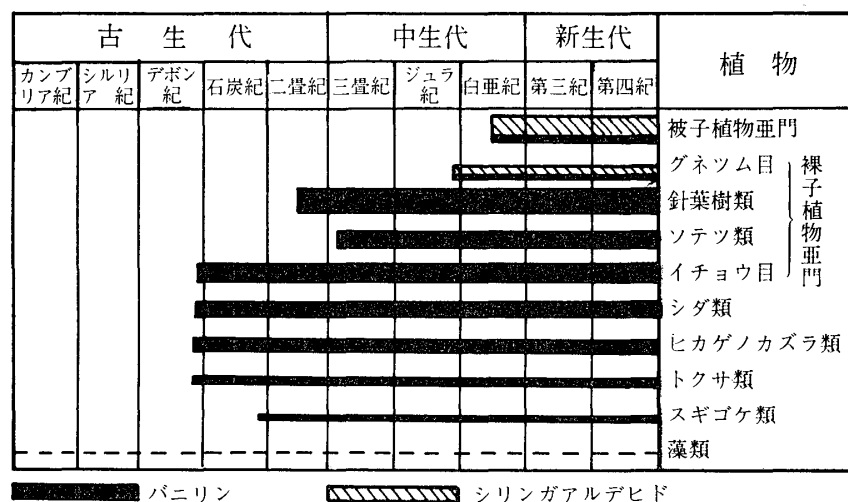
しかし *Sphagnum* の UV, IR スペクトルは一般のグワヤシルリグニンのそれと著しく異なっていることが知られており, NILSSON, TOTTMAR⁸⁾ は *Sphagnum nemoreum* の抽出物をクロマトグラフで分別したリグニンの各フラクションが酸化によって *p*-ヒドロキシベンズアルデヒドを生じるばかりでなく, アルカリ分解によってフロログルシノール, オルシノール, レゾルシノールをも与えることを明らかにし, この物質がリグニンポリマーというよりポリフラバノイドに近いことを明らかにしている。

したがって *Sphagnum* 中のポリフェノール物質をリグニンと呼ぶことは時期尚早のようであるが, ポリフラバノイド系物質と共にごく少量のリグニンが含まれている可能性は否定できない。

ごく最近になって SIEGEL⁹⁾ はニュージーランドゴケ *Dawsonia* および *Dendroligotrichum* の配偶体のリグニン様物質がマツパランと同じ程度のフロログルシン反応陽性を示し, メトキシ量 5~8%, ニトロベンゼン酸化で 14~19% の芳香族アルデヒドを与えることを報告している。この物質がリグニンであるかどうかなお不明であるが, *Sphagnum* と同じように少量のグワヤシルリグニンが他のポリフェノールと共存している可能性が強い。

以上述べてきたように非維管束植物におけるリグニンの存在については明確な結論が得られていないが, これらのリグニンを獲得するにいたっていない植物では, 非リグニン性の “structural polyphenol” が多糖類と結合して細胞壁を結着し, リグニンと同じような役割をしていることは充分考えられることである。

リグニンは MÄULE 反応, $Cl_2-Na_2SO_3$ 反応, IR スペクトル, ニトロベンゼン酸化およびメチル化- $KMnO_4$ 酸化によるグワヤシル化合物とシリングル化合物の比などによって容易に分類することができる。その結果, 原始的な陸上植物 (シダ類, ヒカゲノカズラ類), 裸子植物 (針葉樹類) は一般にグワヤシルリグニンから, 一層進化した被子植物ではグワヤシル・シリングルリグニンから, また被子植物中のイネ科植物 (最も進化した植物群に属する) はグワヤシル・シリングル・*p*-ヒドロキシフェニルリグニンからなっており¹⁰⁾, この関係は MANSKAYA¹¹⁾ による分析結果とも一致することが明らかにされた (第3図)。



第3図 地質年代の異なる各植物群におけるリグニン量およびその構成芳香環の相異¹¹⁾
棒状グラフの幅はリグニン相対量を示す。

第1表 道管を持つシダ、裸子植物および無道管被子植物におけるシリングリグニンの分布

科あるいは属				道管要素	MÄULE 反 応	シリリング アルデヒド	分	類									
<i>Selaginella</i>	イ	ワ	ヒ	パ	+	+	+	<i>Glossopsida</i>	イ	ワ	ヒ	パ	類				
<i>Equisetum</i>	ト		ク	サ	+	—	—	<i>Sphenopsida</i>	ト	ク	サ		類				
<i>Pteridium</i>	シ		ダ		+	±	—	<i>Pteropsida</i>	シ		ダ		類				
<i>Denstedtia</i>	コ	バ	ノ	イ	シ	カ	グ	マ	<i>Pteropsida</i>	シ		ダ	類				
<i>Colysis</i>	イ	ワ	ヒ	ト	デ		+	<i>Pteropsida</i>	シ		ダ	類					
<i>Elaphoglossum</i>	ア	ツ	イ	タ			+	<i>Pteropsida</i>	シ		ダ	類					
<i>Plagiogyria</i>	キ	ジ	ノ	オ	シ	ダ	±	<i>Pteropsida</i>	シ		ダ	類					
<i>Ceratopteris</i>	ミ	ズ	ワ	ラ	ビ		+	<i>Pteropsida</i>	シ		ダ	類					
<i>Zamia</i>	ザ		ミ		ア		+	<i>Cycadopsida</i>	ソ	テ	ツ		類				
<i>Tetraclinis</i>							+	+	<i>Coniferopsida</i>	針	葉	樹	類				
<i>Podocarpus</i>	マ		キ				±	±	<i>Podocarpaceae</i>	マ		キ	目				
(<i>Welwitschiaceae</i>)						+	+	+	<i>Welwitschiales</i>	ウ	エ	ル	ウ	イ	チ	ア	目
(<i>Ephedraceae</i>)						+	+	+	<i>Ephedrales</i>	マ	オ	ウ		目			
(<i>Gnetaceae</i>)						+	+	+	<i>Gnetales</i>	グ	ネ	ツ	ム	目			
(<i>Winteraceae</i>)						—	+	+	<i>Magnoliales</i>	モ	ク	レ	ン	目			
<i>Trochodendron</i>	ヤ	マ	グ	ル	マ	—	+	+	<i>Magnoliales</i>	モ	ク	レ	ン	目			
<i>Tetracentron</i>	水		青		樹	—	+	+	<i>Magnoliales</i>	モ	ク	レ	ン	目			
<i>Amborella</i>	ア	ン	ボ	レ	ラ	—			<i>Magnoliales</i>	モ	ク	レ	ン	目			
<i>Sarcandra</i>	セ	ン	リ	ヨ	ウ	—	—		<i>Magnoliales</i>	モ	ク	レ	ン	目			

しかしこの分類にも幾つかの例外が認められる。既述したようにシダ類と裸子植物の中には例外として道管を持つもの（グネツム、マオウなど）が知られているが、その中のあるもの（*Selaginella*, *Tetracims*, *Welwitschia*, *Ephedra*, *Gnetum* など）は MÄULE 反応陽性でシリングリグニンを含んでいることが知られている。

一方、水生被子植物には水中生活に適応して道管が退化し、リグニンを含まない *Elodea*, *Halophila*, *Vallisneria* などが知られ、その他原始的な被子植物と考えられている *Magnoliales* のいくつかの無道管植物の中センリョウ属、(*Sarcandra*) は MÄULE 反応陰性であることが報告されている¹²⁻¹⁶⁾ (第1表)。したがって道管とシリングリグニンとの間に直接の関係は認められないようであるが、GORING ら¹⁷⁾ はカバ木繊維細胞壁はシリングリグニンから構成されていると報告しているので裸子植物の被子植物への進化に伴う仮道管の道管と木繊維への分化によって生じた木材中の木繊維の量とシリングリグニンとの間に関係があるのかもしれない。

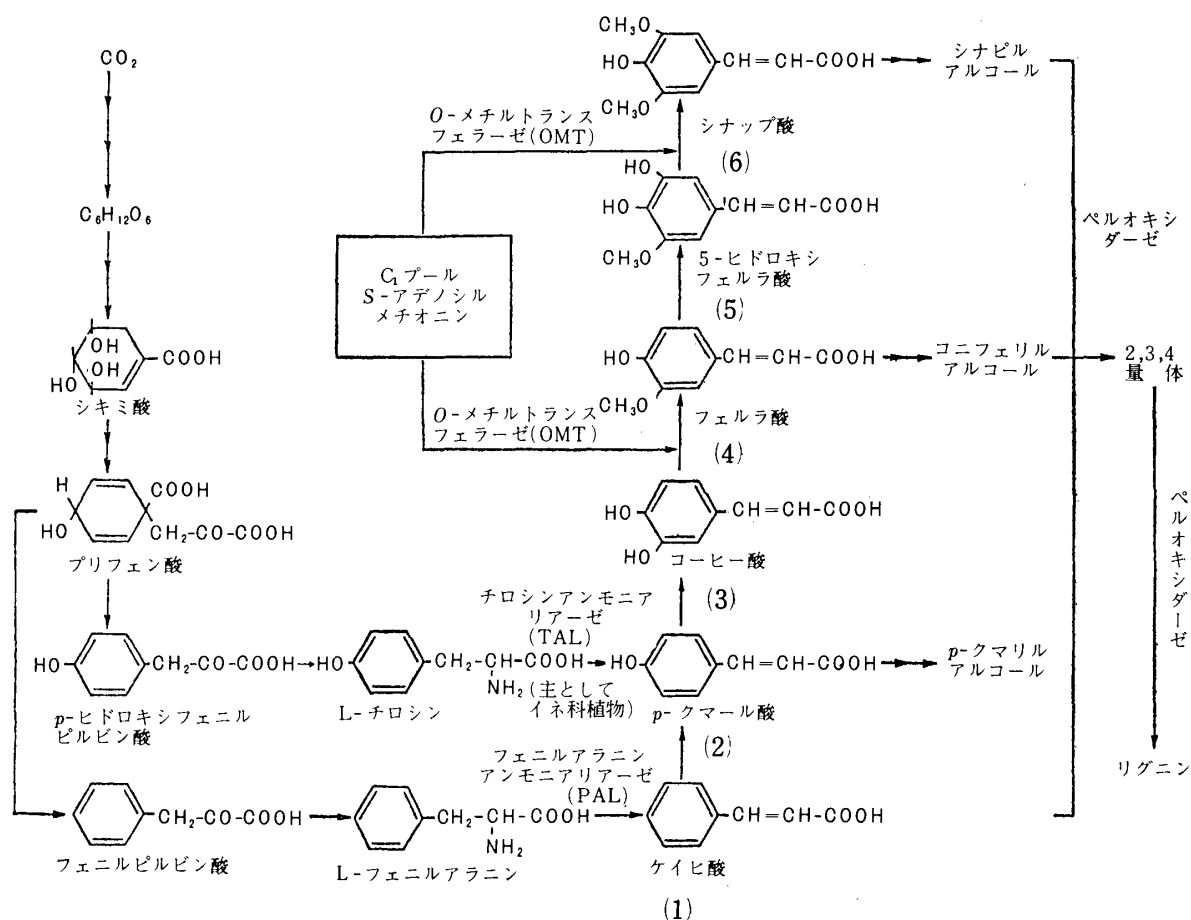
IV リグニン生合成経路の進化¹⁸⁾

シキミ酸経路

リグニンは第4図に示すようにシキミ酸経路を経て生じた L-フェニルアラニン、桂皮酸から合成されることは今ではよく知られている。シキミ酸経路は DAVIS らにより最初微生物による芳香族アミノ酸生合成経路として発見されたがその後植物界にも広く分布していることが明らかにされてきた。

最近この経路に関与する 5-デヒドロキネートヒドロリアーゼ (DHQase), シキメートデヒドロゲナーゼ (SH. ORase), プリフェネートデヒドロゲナーゼなどの細胞内存在部位と代謝機能の関係について研究が始

樋口：リグニンの進化



第4図 高等植物におけるリグニンの生合成経路

められている。BOUDET¹⁹⁾らはシキミ酸経路の酵素 5DHQ シンテターゼ, DHQase, SH. ORase, シキミートキナーゼ, 3-エノールピルビルシキメート-5-ホスフェイトシンテターゼなどは生物によって異っており、プロカリオートではこれらの酵素は容易に分離できるが、カビ類では上記5酵素がマルチエンザイムの形で複合しており、さらに多くの高等植物(シダ、裸子、被子植物)では SH. ORase と DHQase が複合体を作っていることを明らかにした。また、トウモロコシ芽生えには2種類の DHQase があり、その一つはシキミ酸で活性化される遊離型で C₆-C₁ 化合物の合成に関与し、他は SH. ORase を結合して C₆-C₃ 化合物合成に機能しており、これら二組の酵素によって C₆-C₁, C₆-C₃ 化合物合成経路上のデヒドロキナ酸の利用が効果的に制御されていることを報告している。

シキミ酸経路を経て合応された L-フェニルアラニン(1)はフェニルアラニンアンモニアリアーゼ (PAL) によってトランス桂皮酸(1)になるが、この酵素は桂皮酸誘導体を生成する二、三の微生物(主として担子菌)をのぞけば、リグニン、フラボノイド類を生成する高等植物にのみ見いだされる。したがって植物による PAL の獲得が藻類から陸上植物への進化にとってきわめて重要な役割をしていたものと考えられ、この酵素によって必須アミノ酸としての L-フェニルアラニンからリグニン合成へのスタートが切られ、維管束植物が進化してきたものと考えられる。

一般に PAL は大部分可溶性であることが知られているが、一部はミトコンドリア(サツマイモ)、ミクロボディ(ヒマ、ヒマワリ、ナラ芽生え幼根)、ミクロゾーム(ソルガム、ソバ胚軸、ナラ芽生え幼根、ジャガイモ塊茎)、クロロプラストなどに分布し、クロロプラストの場合主としてチラコイド膜に局在して

いるといわれている。

最近, BOUDET²⁰⁾ らはナラ芽生えの幼根から二つの PAL アイソザイムを分離し, ミクロボディーと結合した PAL I は, 安息香酸によってフィードバックコントロールを受け, ミクロボディー中に共存するベンゾエートシンターゼ (トランス桂皮酸から安息香酸の反応を触媒する) と共に C₆-C₁ 化合物の合成に参与しており, ミクロゾーム中の PAL II は シンナメート-4-ヒドロキシラーゼと強く結合していて, C₆-C₃ 化合物の生成に関与しており, 二つの PAL アイソザイムの コンパートメンティションによって C₆-C₁, C₆-C₃ 化合物の代謝が制御されていると推定している。なお PAL I, II はともに 没食子酸によって活性化され, 過剰の没食子酸はフェニルアラニンの利用を促進し, フェニルアラニンあるいはデヒドロシキミ酸から合成されるフェノール酸類の均衡に参与しているものと推定している。現在のところ PAL およびシキミ酸系酵素によるフェノール化合物の代謝制御機構と植物系統発生との関係についてまだ充分解明されていないが, おそらく陸上植物では 5-デヒドロキナ酸からの C₆-C₁ フェノールの生合成経路と L-フェニルアラニンから C₆-C₃ フェノールの生合成系が基本的に確立され, 次いで C₆-C₃ から C₆-C₁ 化合物合成の酵素系が新たに加ったものと推定され, この代謝の複雑化に伴って細胞器官および機能が分化してきたものであろうと考えられ, したがって進化の度合の高い植物ほどアイソザイム, コンパートメンティションなどによる代謝制御が効率よく行われているものと考えられる。

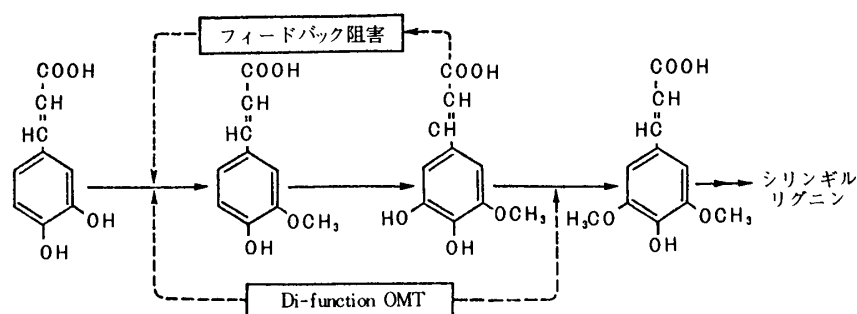
なお, *p*-ヒドロキシフェニルリグニンを含むイネ科植物では PAL と共に L-チロシンから直接 *p*-クマール酸を生じる反応を触媒するチロシンアンモニアリアーゼ (TAL) が見い出され, TAL の分布はほとんどイネ科植物に限られていること, 実際に L-チロシンは針葉樹, 広葉樹のリグニン中にはとり込まれないが, イネ科植物リグニンの *p*-ヒドロキシフェニル, グワヤシル, シリンギル核および *p*-クマール酸エステル中には効率よくとり込まれるので, イネ科植物では PAL と共に TAL がリグニンの合成に直接関与していることが証明されている。以上のように PAL および TAL は L-フェニルアラニン, L-チロシンからリグニンを主体とする桂皮酸誘導体への生合成に関与しており高等植物における一次代謝と二次代謝の関係を制御する重要な酵素である。

グワヤシル・シリンギルリグニンの生成を制御する O-メチルトランスフェラーゼ

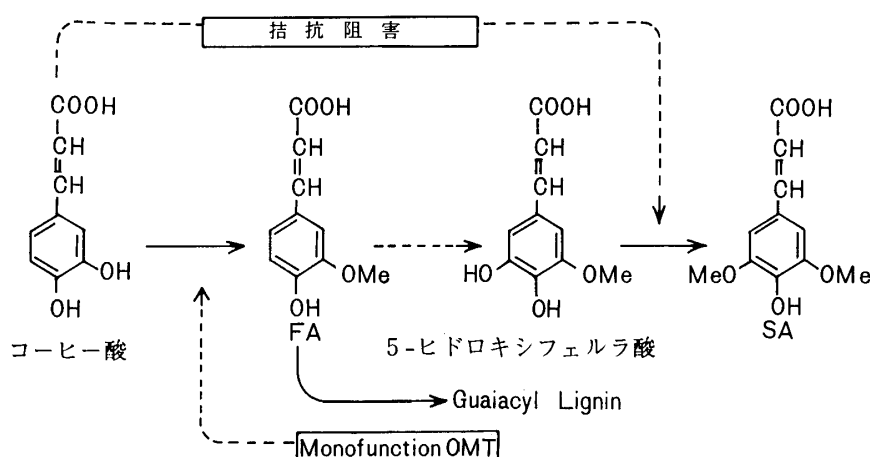
第4図に示したように L-フェニルアラニンから生じたトランス桂皮酸は *p*-クマール酸(2), コーヒー酸(CA; 3) を経てフェルラ酸 (FA; 4) に変化することが知られているが CA から FA への反応を触媒する O-メチルトランスフェラーゼ (OMT) は FINKLE ら^{21,22)} によってリノゴ樹形成層およびススキから得られた。¹⁴C-フェルラ酸を植物に与えると, 裸子植物のグワヤシルリグニンばかりでなく, 被子植物のグワヤシル・シリンギルリグニンのグワヤシルおよびシリンギル核によくとり込まれる。したがって, FA の生合成までの反応系は裸子, 被子両植物で共通であると考えられる。

それでは, 被子植物だけがなぜ FA からシリンギルリグニンを合成できるのであろうか? この問題は我々によって解明された。タケノコ, ポプラなどの被子植物から抽出した OMT は, CA と S-アデノシルメチオニンから FA の生成を触媒するばかりでなく, 5-ヒドロキシフェルラ酸 (5HFA; 5) からはシナップ酸 (SA; 6) を生成する。生成する FA, SA の比はタケノコでは 1:1, ポプラでは 3:1 であり, タケノコ OMT の基質に対する K_m は CA で 5×10⁻⁵M, 5HFA では 1×10⁻⁵M で, 5HFA→SA の反応に適している。しかも, CA, 5HFA の共存下で反応を進めると, 5HFA が CA→FA 反応を拮抗的に阻害し, フィードバックコントロールしていることが明らかになった²³⁾ (第5図)。

一方, クロマツ芽生えから抽出精製した OMT は CA から EA への生成反応のみを触媒し, 5HFA から SA への反応はほとんど触媒せず, 被子植物 OMT と著しく基質特異性が異なっている。しかも, CA および 5HFA に対する K_m 値もそれぞれ 5×10⁻⁵M, 2.77×10⁻⁴M で, その V_{max} も 5HFA のその約 25 倍で CA→FA 反応に適しており, CA, 5HFA の共存下の反応では CA が 5HFA→SA の反応 (もとも



第5図 被子植物（シリギル）リグニン生成におけるフィードバック阻害



第6図 裸子植物（グワヤシル）リグニン生成における拮抗阻害

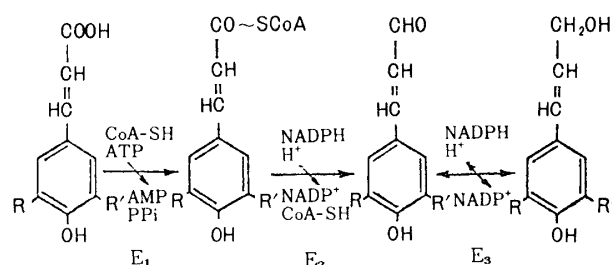
とわずかに存在するのみであるが）を拮抗的に阻害した²⁴⁾（第6図）。

このように、被子植物 OMT はシリギルリグニンの生成に適している。単一酵素タンパクでありながら、CA, 5HFA をともにメチル化する di-function であり、一方、裸子植物 OMT は事実上 CA→FA 反応のみを触媒する mono-function でグワヤシルリグニンの生成に適していることは、植物の進化がリグニン生成に関与する酵素の進化を伴うことを意味してきわめて興味深い。

p-ヒドロキシ桂皮酸の還元酵素系

筆者ら²⁵⁾は、トレーサー実験によりフェルラ酸はコニフェリルアルデヒドを経てコニフェリルアルコールになるものと推定した。ZENK²⁶⁾らおよび GRISEBACH²⁷⁾らはヤナギ (*Salix alba*) およびレンギョウ (*Forsythia suspensa*) の若枝の形成層部と大豆培養細胞からフェルラ酸の還元に関与するヒドロキシシンナメート:CoA リガーゼ (E₁), ヒドロキシシンナミル CoA レダクターゼ (E₂), ヒドロキシシンナミルアルコールオキシレダクターゼ (E₃) の3つの酵素の抽出に成功した（第7図）。これらの酵素は本部分化しつつある組織に広く分布し、その基質特異性（ヒドロキシ桂皮酸に特異的）からみて、リグニンの直接の前駆物質であるコニフェリル、シナピルおよび *p*-クマールアルコールの生成に関与しているものと信じられる。

ただ ZENK らの E₁ 酵素は *p*-クマール酸、フェルラ酸からそれらの CoA エステルへの反応を効率よく触媒するが、シナップ酸のシナピル CoA への反応を触媒しないことが問題であった。最近 HÄHLBROCK²⁸⁾



第7図 *p*-ヒドロキシ桂皮酸の還元酵素系

E₁: Hydroxycinnamate: CoA ligase (AMP)

E₂: Hydroxycinnamyl CoA: NADP oxidoreductase (acylating CoA)

E₃: Hydroxycinnamyl alcohol: NADP oxidoreductase

R, R'=H: *p*-クマリルアルコール

R=H, R₃'=OCH₃: コニフェリルアルコール

R, R'=OCH₃: シナピルアルコール

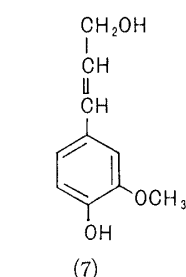
らは *p*-クマレート: CoA リガーゼの二つのアイソザイムを大豆細胞培養から抽出し、リガーゼ1は FA, SA, 5HFA, *p*-クマール酸, CA に特異的であるが、リガーゼ2は CA, *p*-クマール酸, *m*-クマール酸, *o*-クマール酸に特異的でシナップ酸には作用しないことを明らかにし、リガーゼ2が ZENK らの酵素にあたるとしている。

筆者らの研究によると、若枝の伸長し始める時期におけるポプラ、サクラの木化しつつある組織片は、¹⁴C-フェルラ酸、¹⁴C-シナップ酸をともに対応するアルデヒドを経てアルコールに還元するが、未分化あるいは脱分化組織（カルス）はフェルラ酸をコニフェリルアルコールに還元できるが、シナップ酸のシナピルアルコールへの還元はできないことが明らかになった²⁹⁾。このことは、シナピル CoA リガーゼの生成が植物組織の分化および木化の過程と密接に関連していることを推定させるがこの酵素が HAHNBROCK らのリガーゼ1にあたるのかどうかは不明である。

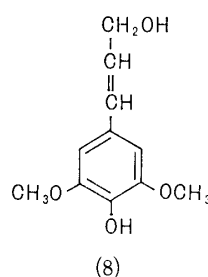
一方 E₃ 酵素は広く木化組織に分布しているが、筆者らの研究によると、この酵素は針葉樹起源のもので、広葉樹起源のもので、ともに NADPH を還元剤としてコニフェリルアルデヒドとシナピルアルデヒドを、対応するアルコールに還元することができ、したがって針葉樹組織片にシナピルアルデヒドあるいはシナピルアルコールを吸収させると、一般には針葉樹には含まれていないシリングリグニンを生成させることができる。以上述べたように、針、広葉樹のリグニン代謝は、OMT および桂皮酸→CoA エステル→シナミルアルデヒドの反応段階で異なるが、アルデヒドからアルコール、アルコールからリグニンへの脱水素重合反応では共通であり、一方イネ科植物では多量に含まれている *L*-チロシンから TAL の触媒作用によって生じる *p*-クマール酸のプールが大きく、相当部分が *p*-クマリルアルコールに還元されてリグニンに、また一部は *p*-クマリル CoA を経てリグニン側鎖にエステル結合するものと考えられる（第9図参照）。

リグニンモノマーの脱水素重合とペルオキシダーゼ

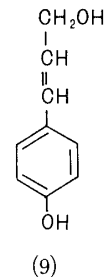
一般にリグニンは、コニフェリルアルコール（7；針葉樹）、あるいは7とシナピルアルコール（8；広葉樹）のペルオキシダーゼによる脱水素重合によって生じ、イネ科植物リグニンではさらに7、8に *p*-クマリルアルコール



コニフェリルアルコール



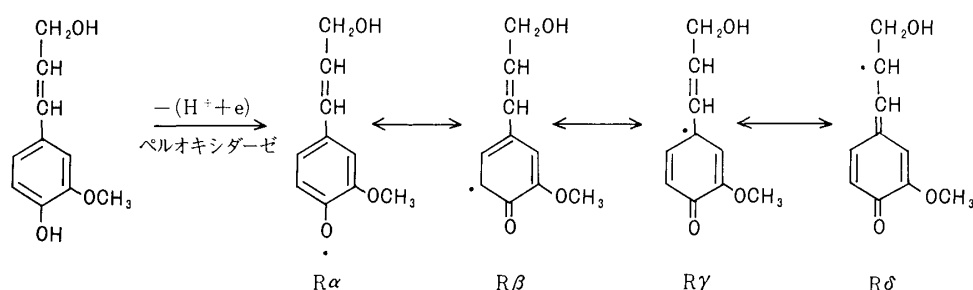
シナピルアルコール



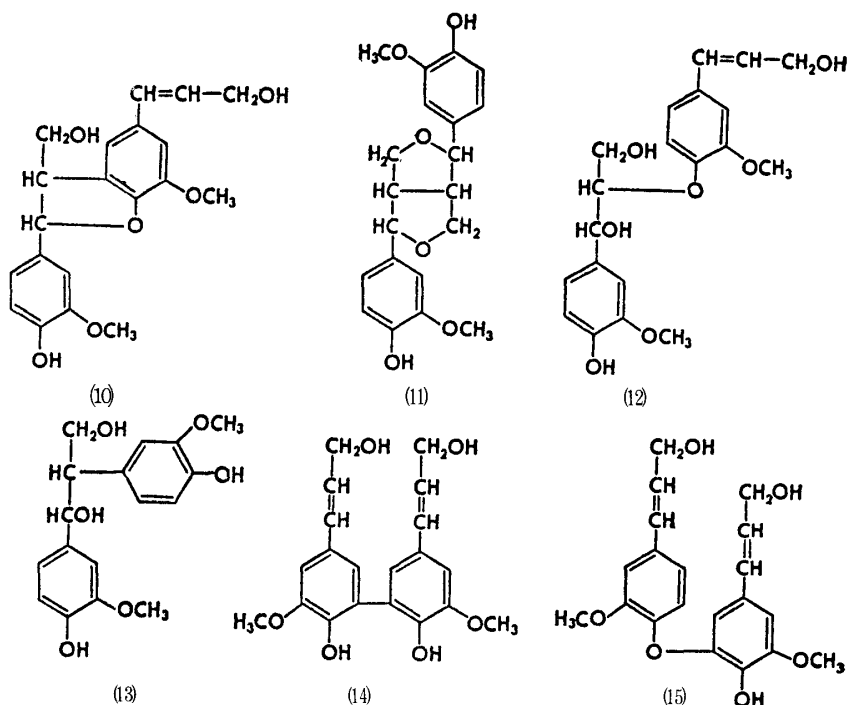
p-クマリルアルコール

(9) が共重合していることが明らかにされてきた。リグニン中におけるこれらのモノマーの割合は、既述したようにフェルラ酸-5-ヒドロキシラーゼ、OMT、シナップ酸の還元酵素系の活性とその反応調節機構によって制御されているものと考えられる。

高等植物にはペルオキシダーゼが広く分布しているが、その生理的意義については必ずしも明確にされていなかった。筆者らの研究³⁰⁾、最近ではこれを補足した HARKIN³¹⁾ らの研究などによって、ペルオキシダーゼの重要な生理的役割の一つとしてリグニンモノマーの脱水素重合反応をあげることができる。上記のヒドロキシ桂皮アルコール類は、細胞壁と結合したペルオキシダーゼの作用によってフェノール OH が脱水素されてフェノキシラジカルとなり、生じたラジカルはその後、酵素の支配を受けずにランダムにカップリングして重合していくものと考えられている (第8図)。その中でも反応の初期には $R_\beta + R_\delta$, $R_\delta + R_\delta$, $R_\alpha + R_\delta$ のカップリングが多く、生成した2量体を定量的に調べてみると、デヒドロジコニフェリルアルコール(10) 54%, *DL*-ピノレジノール (11) 27%, グワヤシルグリセロール- β -コニフェリルエーテル (12) 19% となり、 $R_\delta + R_\gamma$ から生じる 1,2-ジグワヤシルプロパン-1,3-ジオール(13) および $R_\beta + R_\beta$ から生じるデヒ



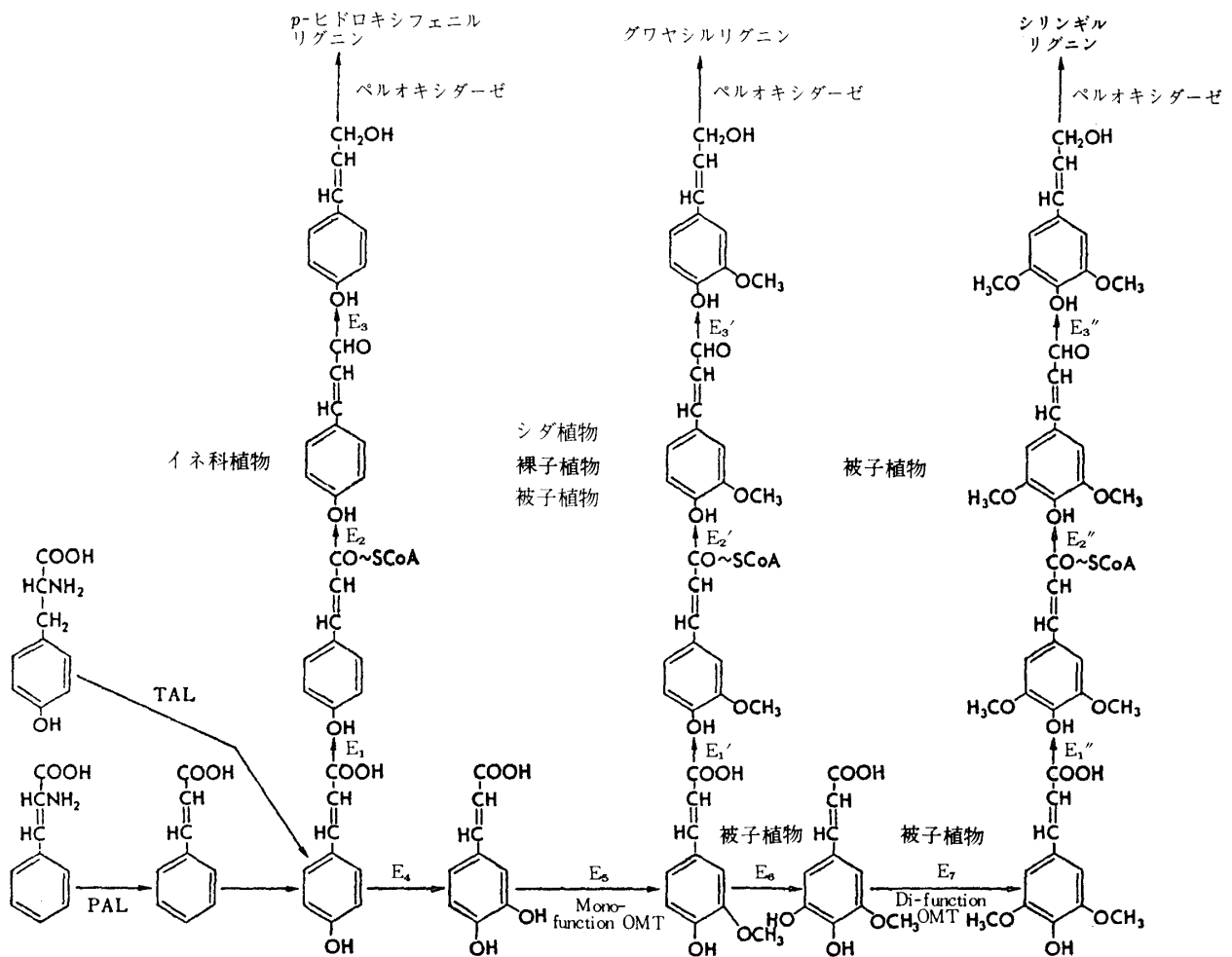
第8図 ペルオキシダーゼによるコニフェリルアルコールの脱水素反応



ドロビスコニフェリルアルコール (14) はごく少量で、また $R_\alpha + R_\beta$ から生じると考えられるジフェニルエーテル型化合物 (15) は確証されていない。

従来、広葉樹リグニンは常にグワヤシル・シリングルリグニンからなっており、グワヤシルリグニンは針葉樹にみられるが、シリングル基だけからなるシリングルリグニンは天然にないものとされてきた。しかし、筆者³²⁾らは最近、ペルオキシダーゼの反応条件によってはシナピルアルコールだけでも 20~30% の DHP を生じ、その分解生成物も一般広葉樹のシリングルリグニン部から生じたものとよく一致することを明らかにした。したがって、シナピルアルコールから生じたフェノキシラジカルは、本質的にはコニフェリルアルコールの場合と同様なカップリング反応を通して高分子物質に成長していくものと考えられる。既述したように GORING ら¹⁷⁾は、カバ木繊維二次壁がシリングルリグニンでできていると推定しているが、木繊維細胞の二次壁形成にあたって、一定の細胞器官にフェルラ酸-5-ヒドロキシラーゼ、di-function OMT, シナップ酸還元酵素系が生成し、局所的にシナピルアルコールが供給されれば、シリングルリグニンのみができる可能性はありうると考えられる。

以上、植物の進化とリグニンの生合成機構について説明してきたが、この関係をまとめると第9図のように表現することができよう。図中の反応を触媒する酵素は、いずれも植物組織の分化に伴って増大することが明らかにされてきたが、とくに E_6 と E_1' は組織の木化過程に強く依存しており、細胞の種類によっても



第9図 シダ植物、裸子植物、被子植物によるリグニン代謝系の差異

その含量に著しく差がある可能性もある。定常状態において、被子植物では E_6 と E_1' の酵素活性（コンパートメンテーションによる代謝制御も含む）がほぼ等しく、グワヤシルリグニンとシリギルリグニンがほぼ等量合成され、イネ科植物では p -クマール酸のプールが大きく、 E_4 反応は飽和し、一部が E_1 により還元されて p -クマリルアルコールになるとともに、残りの一部はイネ科植物リグニン特有の p -クマール酸エステルになるものと考えられる。

なお、リラ、ポプラ、ニレ、クワなどの培養カルスのリグニンは、例外なくニトロベンゼン酸化による S/V 比が非常に低く、その他の種々の化学的性質も針葉樹リグニンによく似てくる³⁹⁾。ところが、この組織から得られた OMT は SA/FA=1.8 で高い SA 活性を示し、正常の被子植物 OMT と同じく di-function を示す。また、タケの成熟過程でも、幼竹のリグニンは S/V は低いが、その OMT の性質は成竹の場合と変わらず、SA/FA=1 であった。これらの事実から推定されることは、カルス組織および幼竹などの脱分化あるいは末分化組織では、フェルラ酸-5-ヒドロキシラーゼおよびシナピル CoA リガーゼ活性が低いため、シリギルリグニンの生合成が制御されていることである。

また、筆者らの最近の研究²⁰⁾によると、針葉樹のペルオキシダーゼと広葉樹ペルオキシダーゼはともにコニフェリルアルコール(7)とシナピルアルコール(8)の混合物に作用し、針・広葉樹間で基質特異性は認められず、シリギル基とグワヤシル基を含む共重合体を生成するので、ペルオキシダーゼがシリギルリグニン生合成の制限因子になることはないと考えられる。しかし、SIEGEL の研究⁹⁾によると、ペルオキシダーゼも植物の進化と関係があり、藻類の段階では基質特異性も異なっており、紅藻、褐藻のペルオキシダーゼは 7 を含むグワヤシル化合物およびシリギル化合物を酸化しないが、緑藻のそれは酸化することを認めている。このことは高等植物が緑藻の祖先型を経て進化してきた(第2図)との考えと一致しておりきわめて興味深い。

文 献

- 1) L. E. オーゲル著(長野敬, 石神正浩, 川村越共訳), 生命の起源と発展 共立出版(1974).
- 2) S. L. MILLER, J. Am. Chem. Soc., **77**, 2351 (1955).
- 3) 粉川昭平, 田村道夫, 植物の系統と進化, 日本放送出版協会(1975). 田村道夫, 生きている古代植物, 保育社(1974).
- 4) 山崎敬, 福田一郎, 椿啓介, 千原光雄, 共上浩, 植物系統進化学, 築地書館(1974).
- 5) K. V. SARKANEN and C. H. LUDWIG, Wiley-Interscience, p. 79 (1971).
- 6) K. FREUDENBERG and J. M. HARKIN, Holzforschung, **18**, 166 (1964).
- 7) V. M. REZNIKOV and N. F. SOROKINA, Zh. Prikl. Chim., **41**, 176 (1968) (Chem. Abstr., 20541 (1969)).
- 8) E. NILSSON and O. TOTTMAR, Acta Chem. Scand., **21**, 1558 (1967).
- 9) S. M. SIEGEL, P. CORROL, I. UMEMO, and C. CORN, Recent Adv. Phytochem., **4**, 223 (1972).
- 10) 樋口隆昌, 木材研究資料, No. 7, 1 (1973).
- 11) S. M. MANSKAYA, Biochemistry of Wood (IVth Intern. Congr. Biochemistry, Pergamon Press, P. 215 (1958).
- 12) R. D. GIBBS, The physiology of Forest Trees ed. by K. V. THIMANN The Ronald Press, p. 269 (1958).
- 13) M. ERIKSON, G. E. MIKSCH and I. SOMFAI, Holzforschung, **27**, 113 (1973).
- 14) M. ERIKSON, G. E. MIKSCH and I. SOMFAI, Holzforschung, **27**, 147 (1973).
- 15) M. ERIKSON, and G. E. MIKSCH, Holzforschung, **28**, 135 (1974).
- 16) M. ERIKSON, and G. E. MIKSCH, Holzforschung, **28**, 157 (1974).
- 17) B. J. FURGUS and D. A. I. GORING, Holzforschung, **24**, 113 (1970).
- 18) 樋口隆昌, 化学と生物, **13**, 206 (1975).
- 19) A. M. BOUDET and R. LECUSSAN, PLANTA, **119**, 71 (1974).
- 20) A. M. BOUDET, R. RANJEVA and P. GADAL, Phytochemistry, **10**, 997 (1971).

- 21) B. J. FINKLE and R. F. NELSON, *Biochim. Biophys. Acta*, **78**, 747 (1963).
- 22) B. J. FINKLE and M. S. MASRI, *Biochim. Biophys. Acta*, **85**, 167 (1964).
- 23) M. SHIMADA, H. KURODA and T. HIGUCHI, *Phytochemistry*, **12**, 2873 (1973).
- 24) H. KURODA, M. SHIMADA and T. HIGUCHI, *Phytochemistry*, **14**, 1759 (1975).
- 25) T. HIGUCHI and S. A. BROWN, *Can. J. Biochem. Physiol.*, **41**, 621 (1963).
- 26) G. G. GROSS and M. H. ZENK, *Eur. J. Biochem.*, **42**, 453 (1974).
- 27) H. GRISEBACH and K. HAHNBROCK, *Recent Adv. Phytochem.*, **8**, 21 (1974).
- 28) K. H. KNOBLOCH and K. HAHNBROCK, *Eur. J. Biochem.*, **52**, 311 (1975).
- 29) Y. NAKAMURA, H. FUSHIKI and T. HIGUCHI, *Phytochemistry*, **13**, 1777 (1974).
- 30) T. HIGUCHI, and Y. ITO, *J. Biochem. (Japan)* **45**, 575 (1958).
- 31) J. M. HARKIN and J. R. OEST, *Science*, **180**, 296 (1973).
- 32) 樋口隆昌, *化学*, **28**, 226 (1973).
- 33) 樋口隆昌, F. BARNOUD, *木材誌*, **12**, 36 (1966).