

植物と人を“支える”細胞壁の科学

飛松 裕基*

1. はじめに

植物の細胞は厚く硬い細胞壁で覆われている。植物はその進化の過程で水を効率的に体内に輸送するための通水細胞と体を支えるための支持細胞を発達させた。植物にとって、前者は乾燥した環境での生命維持を、後者は重力に逆行した大型化を可能とし、約4億7千万年前に達成されたとされる植物の陸上進出とその後現在まで続く生活圏拡大を成功に導く決定打となったと考えられている。これら陸上植物の生存に必須の細胞がその機能を発揮する際に、中心的な役割を果たしているのが細胞壁である。また細胞壁は、紫外線に対する耐性、微生物や動物による病害・傷害への防御応答など、植物が過酷な陸上環境で生き延びるために欠かせない様々な役割を担っている。複雑かつ多様な細胞壁の構造と機能、そして植物がそれを作り出す仕組みを明らかにすることは、陸上植物の進化の道筋や緻密な環境適応の仕組みを解明するヒントとなる。

また視点を変えれば、細胞壁には、人の暮らしに欠くことのできないバイオマス資源という側面もある。植物が生産する木質バイオマスは、地球上の再生可能資源の中で最も蓄積量が多く、その大半は森林の木材や農作物などに蓄積された細胞壁に由来する。木材やそれに由来する紙に代表されるように、人は古来、細胞壁を様々な生活用途に利用してきた。これに留まらず、深刻化する環境問題やエネルギー問題を背景に、石油由来製品を代替する燃料や化学製品を細胞壁から作り出す新たな資源利用システム（バイオリファイナリー）の構築が強く求められている。すなわち、人の暮らしを豊かにする新たなテクノロジーの創出という応用的な側面からも、細胞壁の研究が今大きく注目されている。

本講演では、特に細胞壁の主要成分の一つであるリグニンという物質に着目して、細胞壁の多様性と植物進化との関係について概説し、またバイオリファイナリーへの応用も視野に入れた遺伝子工学による細胞壁の改質などについても紹介する予定である。

2. 細胞壁の構造

2.1 一次細胞壁と二次細胞壁^{1,2)}

一般に、植物の細胞壁は一次細胞壁と二次細胞壁に分類される（図1A）。一次細胞壁は、細胞分裂時に細胞膜の周囲に形成される薄い細胞壁であり、全ての植物細胞に共通して作られる。一次細胞壁は、強靱でありながら柔軟性を持ち、細胞が成長する過程で拡大・伸長して、細胞のかたち作りを様々な機構で制御していると言われている。一方、二次細胞壁は、一次細胞壁の内側に形成される厚く強固な細胞壁であり、維管束植物の水分輸送や構造支持を担う特定の細胞（通水細胞と支持細胞）においてのみ作られる。二次細胞壁の形成は、細胞の成長が停まった後、プログラム細胞死（細胞が自ら計画的に死ぬこと）と連動して進行する。すなわち、二次細胞壁の形成を完了した細胞は細胞の中身（原形質）を失い空洞化した筒状の死細胞である。通水細胞は水道管のように空洞化した細胞の内側に水を通すことで効率的に働く。またこのような空洞化した構造は、高い強度を保持しつつ、軽量性と断熱性を有する支持細胞の機能にも大きく寄与している。

* 〒611-0011 宇治市五ヶ庄 京都大学生存圏研究所森林代謝機能化学分野。
E-mail: tobimatsu@rish.kyoto-u.ac.jp

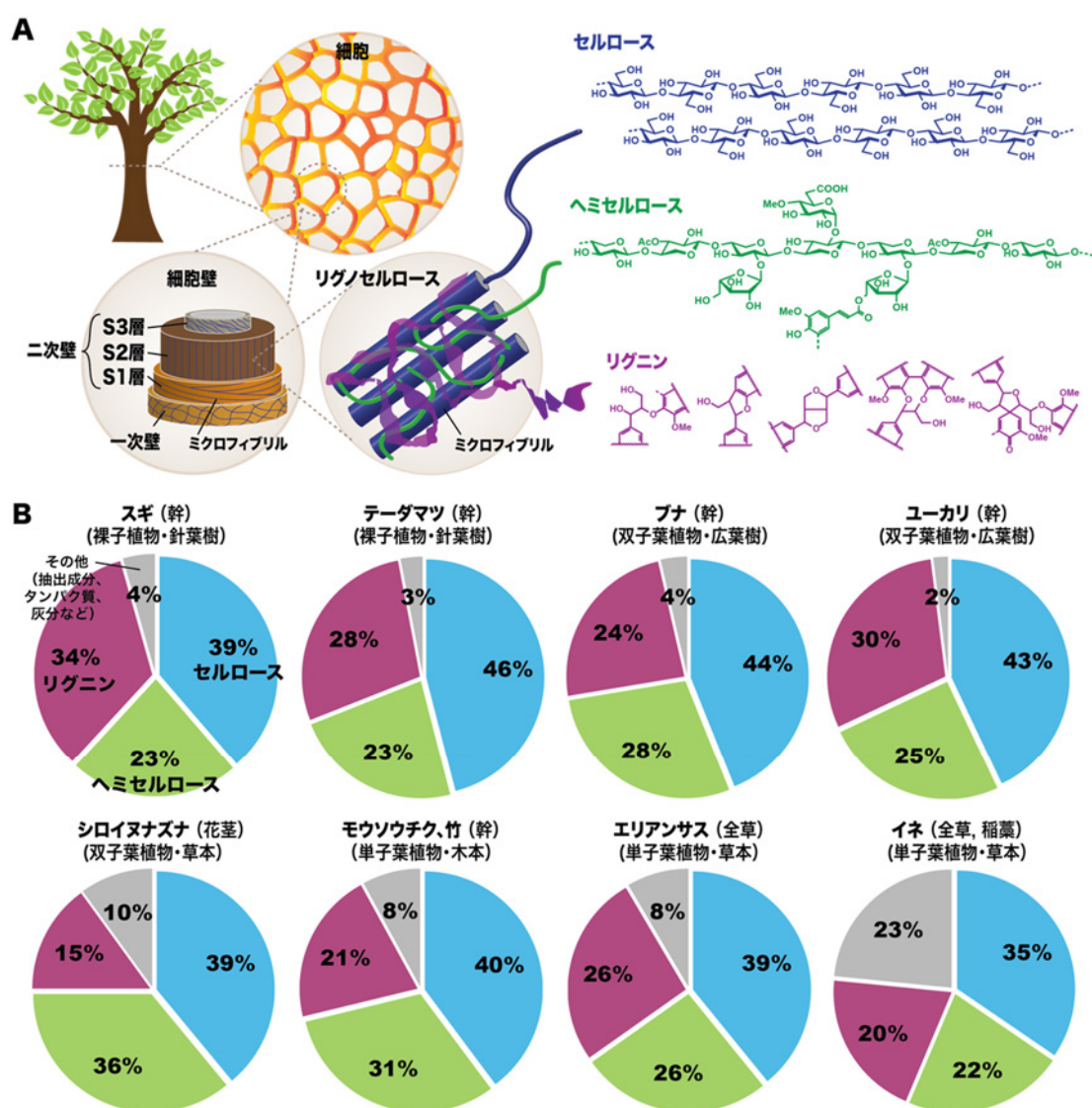


図 1: 細胞壁およびそれを構成するリグノセルロースの基本構造 (A) と様々な乾燥植物試料 (主に二次細胞壁のリグノセルロースに由来) の化学成分組成 (B)。B のグラフは文献 3 (スギ、ブナ、モウソウチク、エリアンサス、イネ)、文献 4 (デーダマツ、ユーカリ) および文献 5 (シロイヌナズナ) のデータに基づき作成。

既に述べたように、一次細胞壁が全ての植物細胞で形成されるのに対し、二次細胞壁は通水細胞や支持細胞など特定の細胞でのみ形成される。とはいえ、植物がその生涯を通して蓄積する量としては、細胞の数は少なくとも細胞の大きさや細胞壁の厚みで大きく上回る二次細胞壁の方が一次細胞壁よりも圧倒的に多く、我々が資源として扱う細胞壁 (木質バイオマス) の大半は二次細胞壁に由来する。

2.2 リグノセルロース -二次細胞壁を構成する高分子複合体^{1,2)}

バイオマスの実体である二次細胞壁を構成するのは、主に多糖であるセルロース、ヘミセルロースと芳香族高分子であるリグニンであり、総じてリグノセルロースと呼ばれる (図 1A)。各成分の構成比は植物種により変動し、セルロースが 40-50%、ヘミセルロースとリグニンがそれぞれ 15-35%程度である (図 1B)³⁻⁵⁾。

セルロースはグルコースが直線状につながった高分子である。各セルロース分子は互いに集まり (結晶化し) ミクロフィブリルと呼ばれる強靱な束を形成し、隣り合うミクロフィブリルは同じ方向

を向いて一定の間隔を空けて並ぶ（図 1A）。セルロースの化学構造は植物種によってほぼ変化はないが、分子の集まり方（結晶型）やマイクロフィブリルの大きさや形には違いがある。

ヘミセルロースは様々な糖（キシロース、マンノース、グルコース、アラビノースなど）が一見不規則につながった多糖分子の総称である。ヘミセルロースは、セルロースのように結晶化はせず、マイクロフィブリルの束を部分的に覆い、架橋するように存在すると考えられている（図 1A）。本講演では以下、主にリグニンを中心とした話をするが、二次細胞壁や一次細胞壁を構成するヘミセルロースの化学構造も植物種によって大きく異なる。

リグニンは主に *p*-ヒドロキシケイ皮アルコール類からなる前駆体が酵素の作用で反応して、複雑多様な結合様式でつながった（重合した）芳香族分子である。後で述べるように、リグニンの化学構造は植物種や組織、成長段階により大きく異なる。リグニンは、セルロースマイクロフィブリルとヘミセルロースの隙間を充填し（図 1A）、細胞壁内のセルロースマイクロフィブリルを強固につなぎ合わせるとともに、隣接する細胞同士も強固につなぎ合わせる。リグニンは疎水的（水をはじく性質）であるため、水漏れなく効率的に水を輸送する通水細胞や、濡れた状態でも脆くなったり伸び縮みしない支持細胞ができる。また後で述べるように、リグニンは複雑多様で難分解性の化学構造を持つため、リグニンに覆われた細胞・組織は微生物や昆虫に対する強い抵抗性を持つ。

なお、一次細胞壁は二次細胞壁と同様にセルロースとヘミセルロースが主要成分であるが、それらの隙間を埋める役割は、リグニンではなく、多糖であるペクチンやタンパク質が担う。

3. 細胞壁とリグニンの起源

細胞壁の構造とリグニンの存在は陸上植物の進化と密接に関連している（図 2）。

最初に陸上進出を果たした植物は、淡水に生息する車軸藻類（緑藻類）から進化し、現在のコケ植物（あるいはシダ植物かもしれない）に近い植物であったと考えられている（図 2）。車軸藻の一次細胞壁ではすでに陸上植物の二次細胞壁でよく見られる結晶構造（I_β 型）を持つセルロースからなる強靱なマイクロフィブリルが作られることが示されている⁶⁾。

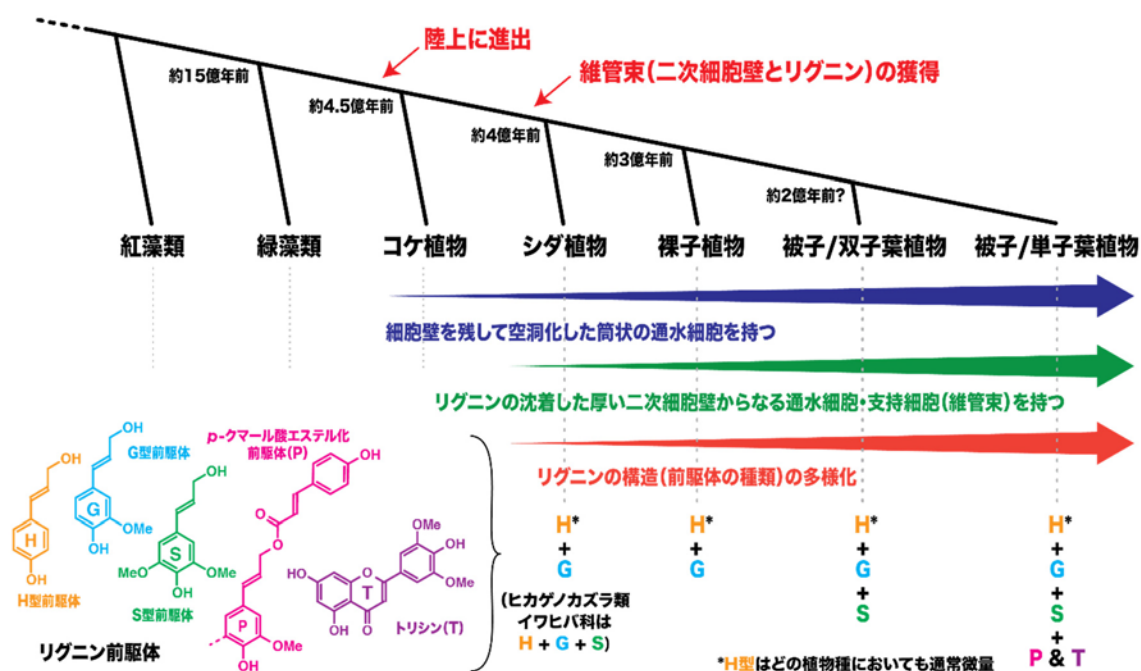


図 2：細胞壁およびリグニンの形成と植物進化の関係

現存する陸上植物の中で、最も原始的なグループと考えられているコケ植物は、“ハイドロイド”と呼ばれる通水組織を形成することが知られている。ハイドロイドはリグニンのない薄い一次細胞壁でできているが、リグニンが蓄積した厚い二次細胞壁からなる維管束植物の通水細胞（被子植物の道管など）と同様に、細胞の中身（原形質）を失い空洞化した筒状の死細胞でできている。ごく最近、ヒメツリガネゴケ（*Physcomitrella patens*）が持つハイドロイド形成の開始の合図を出す遺伝子が、被子植物が持つ通水細胞（道管）形成の開始の合図を出す遺伝子と全く同じ機構で働くよく似た遺伝子（*INS* 転写因子）であることが示されている。これは自ら細胞を死なせて筒状の通水細胞を作る共通の仕組みが、維管束植物が誕生する以前の陸上植物ですでに確立されていたこと示す⁷⁾。現存する陸上植物全てにこの仕組みがあるとすれば、その仕組みの獲得による水分輸送の効率化が植物の陸上進出の鍵となった可能性がある。

4. 細胞壁リグニンの多様性と可変性

一口にリグニンと言っても、維管束植物の二次細胞壁で形成されるリグニンの化学構造は様々であり、またリグニンの化学構造と植物系統との間には強い相関が見られる (図 2)。これは、維管束植物

図3：様々なリグニンの分子モデル図

が進化の過程で、何らかの目的（諸説あるが不明）で、リグニンの化学構造を変化させて細胞壁の改良を行ってきたことを示している。

シダ植物や裸子植物（針葉樹）の二次細胞壁では、一部の例外を除き、ほぼグアイアシル（G）型前駆体だけが重合した G 型リグニンが合成される。被子植物の中で双子葉植物（広葉樹が含まれる）では、G 型前駆体に加えて芳香核のメトキシ基（-OMe）が一つ増えたシリングル（S）型前駆体と一緒に重合（共重合）した G/S 型リグニンが合成される^{1,2)}。さらに、イネ科植物など被子植物の中でもより進化の進んだ単子葉植物では、G 型前駆体と S 型前駆体に加えて、それらに *p*-クマール酸エステルが追加された前駆体（P）も重合に寄与する¹⁰⁾。またごく最近になって、イネ科植物を中心とする単子葉植物全般と一部の双子葉植物の二次細胞壁においては、フラボノイドの 1 種であるトリシン（T）も他のリグニン前駆体と同様に重合して高分子リグニンに取り込まれることが明らかになった¹¹⁾。なお全ての植物種において、微量の *p*-ヒドロキシフェニル（H）型前駆体の重合で生成する H 型リグニンも検出される。維管束植物の進化に沿って見ていくと、進化とともに、リグニン前駆体の構造と種類が多様化していることが分かる（図 2）。

リグニン前駆体の構造は、トリシン（T）を除けば、芳香核や側鎖についたメトキシ基（-OMe）や *p*-クマール酸エステルなどの置換基の数が異なるだけで、かなり類似しているように見える（図 2）。しかし、それらの重合で生成するリグニンの化学構造は大きく異なり、分子の形や性質にも相当な違いが生じる（図 3）。これはリグニンの重合反応（脱水素重合反応）における様々な結合の生成パターンが前駆体の化学構造の違いに大きく影響を受けるためである¹²⁾。

4.2 植物個体内におけるリグニンの多様性

リグニンの構造は、植物種のみならず、一植物個体内においても、組織や細胞、成長段階などによっても変化する。このことは植物が自らリグニン前駆体の合成（すなわちそれに関わる遺伝子の発現）を調節して異なる化学構造を持つリグニンを作り分ける能力を持つことを示している。

例えば、双子葉植物においては、通水細胞として機能する道管の二次細胞壁では G 型リグニンに富み、支持細胞として機能する木部繊維の二次細胞壁では S 型リグニンに富むこと¹³⁾が古くから知られている（図 4A）¹⁴⁾。前述のように、G 型リグニンと S 型リグニンの化学構造は似て非なるものであるが（図 3）、このようなリグニンの化学構造の違いが通水細胞（G 型に富む）と支持細胞（S 型に富む）の機能にどのように関係しているのかは未だよく分かっていない。

また最近の研究において、双子葉植物のクレオメ科、トウダイグサ科、サボテン科、単子葉植物ラン科のバニラなどの種皮において、茎、葉、根などの維管束組織には全く見られないタイプのリグニン（C 型前駆体からできる C 型リグニン、図 3）が合成されることが分かった¹⁵⁻¹⁷⁾。クレオメの種皮は G 型リグニンと C 型リグニンの両方からなるが、受粉してから種子が成熟していく過程を顕微鏡や化学分析などにより追跡したところ、受粉後 12 日目まではその後種皮となる部分に G 型リグニンのみからなる細胞壁の層ができて、14 日目以降において、G 型リグニンでできた細胞壁の層の内側に C 型リグニンのみからなる別の細胞壁の層が形成される様子が観察された（図 4B）。リグニン前駆体の合成に必要な酵素や遺伝子の解析から、受粉後 12 日前後で、まるでスイッチを入れたように、G 型前駆体の合成が止まり、C 型前駆体の合成が開始されることが確認されている¹⁷⁾。

植物がなぜこのようなことをしているのかは全く不明だが、植物はリグニン前駆体の合成に関わる遺伝子を緻密に制御して様々なリグニンを組織や成長段階に応じて作り分ける能力を持っている。

4.3 リグニンの可変性 -リグニンを改変した遺伝子組換え植物たち-

以上のように、植物はリグニン前駆体の合成を制御することで様々な構造を持つリグニンを天然で作り出している。この仕組みを利用して、遺伝子工学によってリグニンの化学構造を人為的に改変した遺伝子組換え植物が作られている。

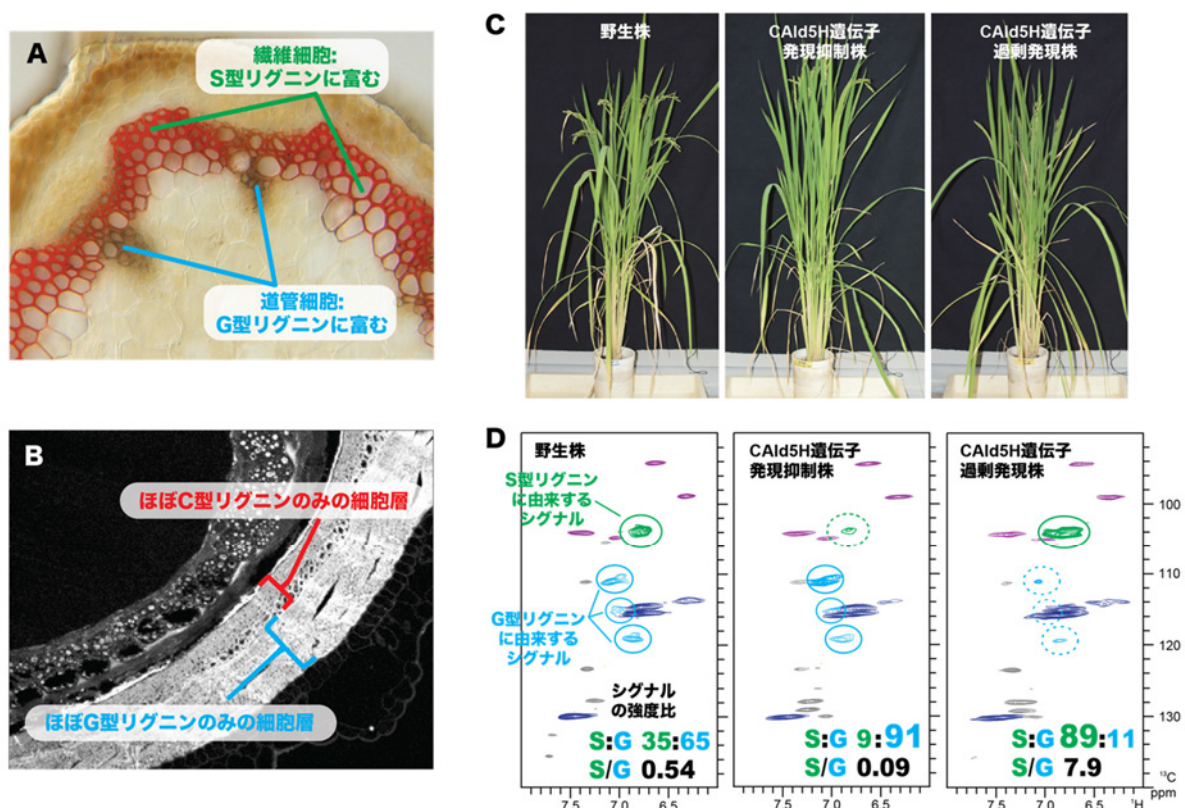


図 4: (A) シロイヌナズナの花茎切片の光学顕微鏡写真。モイレ染色法により G 型リグニンに富む通水細胞（道管）の細胞壁を褐色に、S 型リグニンに富む支持細胞（繊維）の細胞壁を赤色に染めている¹⁴⁾。(B) クレオメの種皮切片の共焦点レーザー顕微鏡画像。細胞壁中のリグニンが発する自家蛍光を検出している¹⁷⁾。(C and D) リグニンの構造を改変した遺伝子組換えイネの例¹⁸⁾。G 型リグニンと S 型リグニンの生成比率をコントロールする *Cald5H/F5H* 遺伝子の発現を制御したイネの様子 (C) と最新の NMR 解析法を用いたイネの細胞壁リグニンの化学構造解析 (D)。

例えば、G 型と S 型が混じった G/S 型リグニンを作るシロイヌナズナやポプラ（双子葉植物）、イネ（単子葉植物）などの被子植物では、G 型前駆体を S 型前駆体へと変化させる遺伝子 (*Cald5H/F5H* 遺伝子) の発現を強く抑制すると、シダ植物や裸子植物のようにほぼ G 型リグニンのみの細胞壁からなる植物が得られる (図 4C,D)¹⁸⁾。逆に、裸子植物であるマツでこの遺伝子を強制的に過剰発現させた植物は、被子植物のように G 型リグニンに加えて S 型リグニンも細胞壁で合成するようになる¹⁹⁾。この他にも、リグニン前駆体の合成に関与する遺伝子の発現を制御することで、天然では通常ごく微量あるいは殆ど検出されない H 型リグニン^{20,21)}や C 型リグニン²²⁾、アルデヒド基に富んだリグニン²³⁻²⁵⁾など、様々な化学構造を持つリグニンを作る植物が得られている。

興味深いことに、植物の乾燥重量の約 20%も占める成分であるリグニンが、全く別の（時には天然にはないような）タイプのリグニンにほぼ完全に置き換わったような組換え植物においても、少なくとも管理された実験生育条件では、植物の成長や細胞壁構造に目立った異常が現れない事例が多く報告されている。これらの研究結果は、植物が細胞壁におけるリグニンの構造変化をかなりの度合いで許容できることを示している。次項で述べるように、このような「リグニンの可変性」が細胞壁（バイオマス）の資源利用という観点から大きく注目されている。

5. バイオリファイナリー構築に向けた細胞壁リグニンの改質

化石資源の大量消費が招いた環境汚染やエネルギー問題などを受けて、石油資源をもとに様々な工業製品を作り出す現在の「オイルリファイナリー」から、再生産可能な細胞壁（バイオマス）資源をもとにバイオ燃料や様々な製品を生産するカーボンニュートラルな次世代の生産システム「バイオリファイナリー」へと移行することが重要な課題と世界的に認識されている（図 5）^{26,27)}。

細胞壁成分を余すことなく利用して、経済性の優れたバイオリファイナリーを構築するための鍵（言い換えれば厄介者）となるのはリグニンと言われている。例えば、細胞壁の多糖から酵素糖化と発酵（お米からお酒を作るのと似たプロセス）によりバイオエタノールを製造する試みが多くなされている。このとき予め細胞壁中の多糖を覆い保護するリグニンを化学的あるいは物理的に引き剥がす前処理を行わなければならない、実用化に向けたコスト削減の重い足枷となっている^{26,28)}。また、紙パルプやバイオエタノールの生産など、現在実用化されている、あるいは実用化に近いと言われているバイオマスの工業的利用は、主に多糖の利用に主眼をおいたものばかりであり、その際、邪魔者として多糖から引き剥がされたリグニンは専ら燃料として工場内で燃焼利用されるのみで、多糖のように価値ある製品として大規模に利用される手段はまだ見出されていない。これはリグニンの構造が複雑多様で利用価値の高い製品へと効率よく変換するのが非常に困難であるためである^{27,28)}。因みに、今年 6 月に閣議決定された「日本再興戦略 2016」には「リグニンをを用いた高付加価値製品の研究開発」の重要性が明記されている²⁹⁾。

前項で述べたように、(遺伝子組換え技術を使わない) 育種交配技術や最新の遺伝子工学によって、人為的にリグニンの構造を大幅に改変することが可能である。すなわち、扱いにくいリグニン（難分解性・複雑多様な構造）の構造を扱いやすいリグニン（易分解性・シンプルな構造）へと改変し、バイオマスとしての利用性を大きく向上させた植物細胞壁をデザインすることが可能となりつつある。実際に、我々のグループも含めた世界中の研究者達が、リグニンの可変性に着目したバイオマス植物の分子育種の研究を進めている。本講演でも我々の最近の試みを幾つか紹介する予定である。

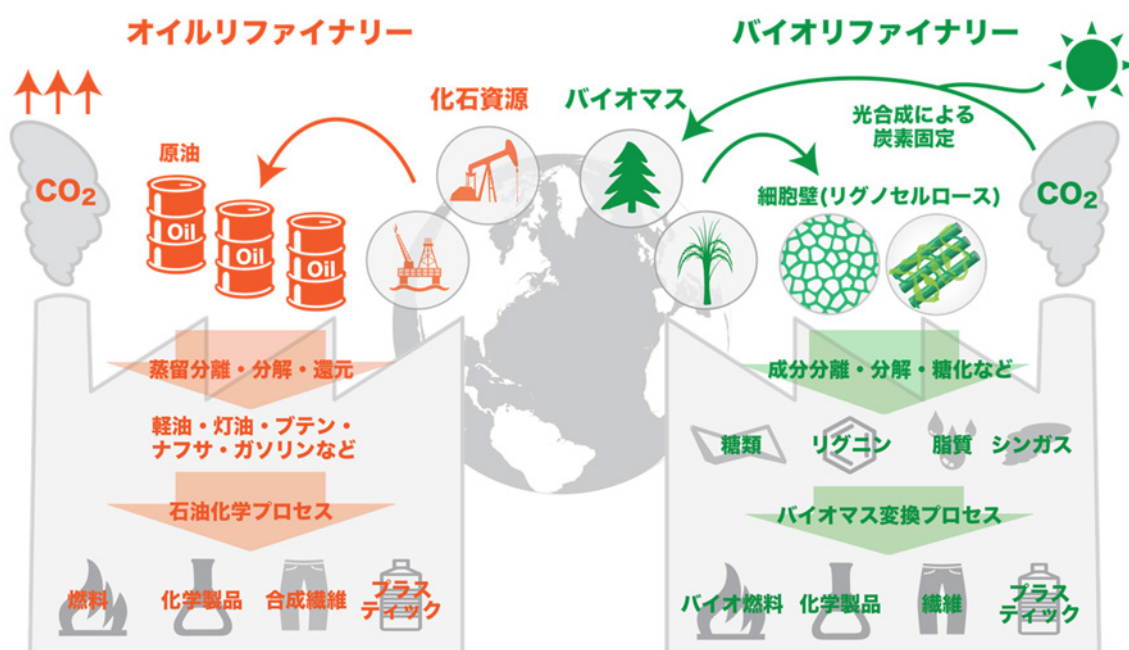


図 5：オイルリファイナリーとバイオリファイナリーの概念図

参考文献

- 1) 西谷和彦, 梅澤俊明 編著, 植物細胞壁, 講談社, 2014.
- 2) 福島和彦, 船田良, 杉山淳司, 高部圭司, 梅澤俊明, 山本浩之 編集, 木質の形成, 2011.
- 3) Rabemanolontsoa, H. and Saka, S., *RSC Adv.*, **12**, 3946-3956, 2013.
- 4) Ragauskas, A.J., Beckham, G.T., Biddy, M.J., Chandra, R., Chen, F., Davis, M.F., Davison, B.H., Dixon, R.A., Gilna, P., Keller, M., Langan, P., et al., *Science*, **344**, 1246843, 2014.
- 5) Acker R.V., Vanholme, R., Storme, V., Mortimer, J.C., Dupree, P., Boerjan, W., *Biotechnol. Biofuels*, **6**:46, 2013.
- 6) 和田昌久, 杉山淳司, 岡野健, 木材学会誌, **41**, 186-192, 1995.
- 7) Xu, B., Ohtani, M., Yamaguchi, M., Toyooka, K., Wakazaki, M., Sato, M., Kubo, M., Nakano, Y., Sano, R., Hiwatashi, Y., Murata, T., Kurata, T., Yoneda, A., Kato, K., Hasebe, M., Demura, T., *Science*, **343**, 1505-1508, 2014.
- 8) アーネスト・ギフォード, エイドリアン・フォスター, 維管束植物の形態と進化, 文一総合出版, 2002.
- 9) Stein, W.E., Mannolini, F., Hernick, L.V.A., Landling, E., Berry, C.M., *Nature* **446**, 904-907, 2007.
- 10) Withers, S., Lu, F., Kim, H., Zhu, Y., Ralph, J., Wilkerson, C.G., *J. Biol. Chem.*, **287**, 8347-8355, 2012.
- 11) Lan, W., Lu, F., Regner, M., Zhu, Y., Rencoret, J., Ralph, S.A., Zakai, U.I., Moreel, K., Boerjan, W., Ralph, J. *Plant Physiol.*, **167**, 1284-1295, 2015.
- 12) Ralph, J., Lundquist, K., Brunow, G., Lu, F., Kim, H., Schatz, O.F., Marita, J.M., Hatfield, R.D., Ralph, S.A., Christensen, J.H., Boerjan W., *Phytochem. Rev.*, 2004, **3**, 29-60, 2004.
- 13) Saka, S., Thomas, R.J., Gratzl, J.S., *Tappi*, **61**, 73-76, 1978.
- 14) Tobimatsu, Y., Wagner, A., Donaldson, L., Mitra, P., Niculaes, C., Dima, O., Kim, J.I., Anderson, N., Loque, D., Boerjan, W., Chapple, C., Ralph J., *Plant J.*, **76**, 357-366, 2013.
- 15) Chen, F., Tobimatsu, Y., Havkin-Frenkel, D., Dixon, R.A., Ralph, J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 1772-1777, 2012.
- 16) Chen, F., Tobimatsu, Y., Jackson, L., Nakashima, J., Ralph, J., Dixon, R.A., *Plant J.*, **73**, 201-211, 2012.
- 17) Tobimatsu, Y., Chen, F., Nakashima, J., Escamilla-Treviño, L. L., Jackson, L., Dixon, R.A., Ralph, J., *Plant Cell*, **25**, 2587-2600, 2013.
- 18) 武田ゆり, 小柴太一, 飛松裕基, 山村正臣, 服部武文, 坂本正弘, 高野俊幸, 鈴木史朗, 梅澤俊明, 第33回日本植物細胞分子生物学会講演要旨集, 12A-08, 2015.
- 19) Wagner, A., Tobimatsu, Y., Phillips, L., Flint, H., Geddes, B., Lu, F., Ralph, J., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**: 6218-6223, 2015.
- 20) Bonawitz, N.D., Kim, J.I., Tobimatsu, Y., Ciesielski, P.N., Anderson, N.A., Ximenes, E., Maeda, J., Ralph, J., Donohoe, B.S., Ladisch, M., Chapple, C., *Nature*, **509**, 376-380, 2014.
- 21) 武田ゆり, 小柴太一, 飛松裕基, Steven Karlen, 山村正臣, 服部武文, 坂本正弘, John Ralph, 鈴木史朗, 梅澤俊明, 第34回日本植物細胞分子生物学会講演要旨集, 3Aa-02, 2016.
- 22) Wagner, A., Tobimatsu, Y., Phillips, L., Flint, H., Torr, K., Donaldson, L., Pears, L., Ralph, J., *Plant J.*, **67**, 119-129, 2012.
- 23) Koshiba, T., Murakami, S., Hattori, T., Mukai, M., Takahashi, A., Miyao, A., Hirochika, H., Suzuki, S., Sakamoto, M., Umezawa, T., *Plant Biotechnol.*, **30**, 365-373, 2013.
- 24) Zhao, Q., Tobimatsu, Y., Zhou, R., Pattathil, S., Gallego-Giraldo, L., Fu, C., Shadle, G.L., Jackson, L.A., Hahn, M.G., Kim, H., Ralph, J., Chen, F., Dixon, R.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 13660-13665, 2013.
- 25) Anderson, N.A., Tobimatsu, Y., Ciesielski, P.N., Ximenes, E., Ralph, J., Donohoe, B.S., Ladisch, M., Chapple, C. *Plant Cell*, **27**, 2195-2209, 2015.
- 26) 渡辺隆司, 生存圏研究, **7**, 23-28, 2012.
- 27) 梅澤俊明, 生存圏研究, **8**, 25-32, 2012.
- 28) 坂志朗 監修, リグニン利用の最新動向, シーエムシー出版, 2013.
- 29) 日本経済再生本部, 日本再興戦略2016 -第4次産業革命に向けて-, http://www.kantei.go.jp/jp/singi/keizaisaisei/pdf/2016_zentaihombun.pdf.