

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25450240

研究課題名(和文) 樹木抽出成分を指標とする長期的変化としての心材形成機構への新規アプローチ

研究課題名(英文) New approach toward the mechanism of long-term heartwood formation applying wood extractives as indicators

研究代表者

今井 貴規 (Imai, Takanori)

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：20252281

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)： 一般に心材分量は樹幹等放射方向において、心材外方から髄に向かって減少する傾向がある。スギ心材成分のノルリグナンに係る本減少の一因として、その二次変化(重合)を検討した。

ノルリグナン標品を試験管内酵素重合し、5種類の二量体を単離構造決定した。その構造をスギ心材抽出物高分子画分(天然ノルリグナン重合体)の部分構造として提出した。またスギ心材から数種類のノルリグナン二・三量体を単離構造決定した。さらに二・三量体量は心材外方から中央部/内方部に向かい増加する傾向にあった。以上、心材形成機構に係る「心材中心部に向かう抽出物の減少」について、長期に渡る二次変化を一因として提案した。

研究成果の概要(英文)： In general, the contents of heartwood extractives tend to decrease from the outer part toward the inner part of heartwood. As one of the reasons for the decrease of norlignans in sugi heartwood, their secondary alterations were investigated.

Authentic norlignans were enzymatically polymerized in vitro, and five kinds of dimers were isolated and their chemical structures were determined. The chemical structures were supposed as the structural unit in the polymer fraction of sugi heartwood extract: natural norlignan polymer. A norlignan dimer and two kinds of trimers were also isolated from sugi heartwood and their chemical structures were supposed. Furthermore, the contents of the norlignan oligomers tend to increase from the outer part toward the inner part of heartwood. Thus, from the perspective of heartwood formation mechanisms, secondary alterations of the heartwood extractives over time was supposed as one of the causes of their radial decrease toward the inner heartwood.

研究分野：樹木生理化学

キーワード：心材 ノルリグナン 重合 心材形成 スギ

1. 研究開始当初の背景

幼齢木の樹幹等二次木部は、外観的に淡色な辺材と呼ばれる材組織のみからなるが、加齢(スギの場合、10年程)と直径成長と共に、より老いた組織である中心部から、多くの樹種において濃色を示す心材へと変化する(図1)。この変化過程は心材化・心材形成と呼ばれ、樹木としてほとんどの種のもが行う生理活動の一つである。また、木材利用上注視される材の諸性質(色調・耐久性等)は、心材の特性によって引き出される(特に化学物質による、後述)ことが多い。このように心材・心材形成研究は、木材科学において基礎学問ならびに利用応用の両面から重要な領域となるが、それにもかかわらず心材が形成されるその機構や意義が、完全に理解されているとは言い難い。

心材形成の際は辺材から心材への変化中途ともなる移行材(図1)とされ、ここが心材形成機構の解明に向けて研究の対象とされてきた。

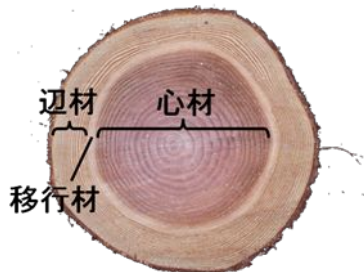


図1

心材形成の際には、乾燥等の水分状態の変化、柔細胞(辺材では生きていた)の老化・全細胞の死滅、化学物質すなわち心材成分の新生・堆積、細胞壁の二次的な構造変化(心材成分の沈着等による)、が起こる。移行材は多くの場合、いかに大径な樹木(心材割合の高い)であっても1年未満~僅か数年(輪)分であり、上記の現象の極めて複雑な積算といえる心材形成の全てを、限られた材組織部位である移行材での生理活動のみに帰着させることは、十分ではないように思われる。例えば、心材成分量は樹幹等放射方向において、心材外方から中心に向かって減少する傾向があり、この理由として(a)心材成分生合成・堆積後の二次変化、(b)樹木の成長・加齢に伴う生合成能の増大、(c)生合成・堆積後の放射方向での移動、などが考えられるが、このうち幾つかは、樹木一個体内での心材の占有割合が移行材のそれより格段に多いことから、"移行材での変化(数年間)の後に起こり得る長期的(10年超)な現象"として説明される。以上を経て最終的な心材特性が与えられるのであれば、心材形成機構の解明に向け、移行材研究ばかりではなく、「心材の成熟」とも呼べる課題へのアプローチが重要となる。これまでに本課題について種々

想像されたことはあったが、取り上げられることは少なく、その理由の一つが、「死細胞のみからなる心材(上述)では生物学的に重大な事象は起こり得ない」とする先入観と思われる。

心材成熟研究への取り掛かりとして、心材成分の生合成後の二次変化がモデルの一つとなり得る。例えばスギの場合、ノルリグナンが心材色に関与すると認知されているが、ノルリグナンそのものは無色・淡色であるため、心材色の発現に向けて何らかの二次的变化が想定される。一般には、心材成分の酸化重合が起こるとされるが、重合物が単離・構造決定された例はほとんどない。酸化重合の機構についても、酵素的あるいは非酵素的と説は分かれ、不確かなままである。

応募者は近年、「スギ心材ノルリグナンの樹体内二次変化」について調査を開始した。まず、スギ心材にフェノール酸化酵素(PO)が真に存在することを証明すると共に、スギ心材由来PO処理によりノルリグナンが着色することを確認した。次に、心材成熟の評価に向け、(i)ノルリグナンのモデル的酵素酸化重合物および(ii)スギ心材から天然高分子画分を調製し、(iii)天然物のNMRおよびMALDI-TOFMS分析結果がモデル重合物の結果と酷似することから、スギ心材中におけるノルリグナン重合物の存在を提唱するとともに、さらにその化学構造を明らかにした。

以上、スギ心材ノルリグナンの生合成後二次変化を、心材成熟の指標として定性的定量的に評価することが可能であることが示され、これが心材形成を終始理解するために有効なアプローチの一つになり得ると考え至った。

2. 研究の目的

心材形成の科学に、「心材の成熟」という概念を導入することを最終的な目標とする。そのため、スギ心材の化学成分(抽出成分:ノルリグナン)に着目し、スギ心材におけるノルリグナン重合物の存在を証明する。ノルリグナンの重合を、移行材で行われるノルリグナン生合成の後に、心材で進行する二次変化とし、これを指標として心材の成熟を定性的定量的に評価することを本研究課題の目的とした。

3. 研究の方法

(1)ノルリグナン標品をモデル的に酵素酸化重合させた。LH-20ゲルカラムクロマトグラフィー、分取高速液体クロマトグラフィー(p-HPLC)により、重合物から数種類の二量体を単離精製した。これらの化学構造を、一次元・二次元核磁気共鳴スペクトル法により決定した。

(2) (1)のNMR帰属結果を基に、スギ心材抽出物高分子画分(以前に分離された、上述のiii)の化学構造を解析した(結合様式の頻度等)。

(3) スギ心材から酢酸エチル抽出物を調製した。これについて、(1)の手順に従い、スギ心材から数種類のノルリグナン二量体・三量体を単離・構造決定した。

(4) スギ赤心材および黒心材を放射方向に、外方部、中央部および内方部に分割し、これらから酢酸エチル抽出物を調製した。抽出物について、サイズ排除(SEC)-HPLCにより分子量分布を調査した。また、(1)の手順に従って、スギ心材中のノルリグナンオリゴマー画分を調製し、オリゴマーを(半)定量した。

(1)~(3)により、心材成分の二次変化については心材の成熟を、定性的に評価した。さらに、樹幹放射方向を時間の軸に見立てた上で(樹幹中心部ほど古く老いている)(4)により、心材成分の二次変化・心材の成熟を、定量的に評価した。

4. 研究成果

(1) アガサレジノールモデル重合体から、55、60%メタノール水溶液を展開溶媒とするLH-20カラムクロマトグラフィー、続くp-HPLCにより、5種類のアガサレジノール二量体を単離精製した。NMRによりこれらの構造を決定した(図2、Yanase et al. 2014)。

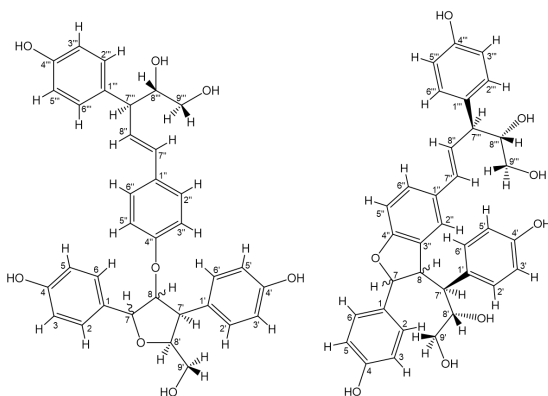


図2

(2) (1)のNMR帰属結果を基に、これらの構造(結合様式)をスギ心材抽出物高分子画分(天然ノルリグナン重合体)の部分構造として提出した(Yanase et al. 2014)。

(3) (1)の手順に従って、スギ心材から1種類のノルリグナン二量体および2種類の三量体を単離・構造決定した。二量体はセクイリンC2分子から成り、三量体は2つ共に、アガサレジノール1分子とセクイリンC2分子からなるものであった(築瀬ら2014、論文投稿準備中)。

(4) スギ赤心材、黒心材の酢酸エチル抽出物の

SEC-HPLC分析の結果、赤心材と比較して、黒心材にはより高分子化合物が含まれていることが分かった。また樹幹放射方向と比較すると、特に黒心材の場合、心材内方ほど高分子化合物の割合が増加する傾向にあった。

次に、酢酸エチル可溶部についてLH-20カラムクロマトグラフィーを行い、50、55、60、100%メタノール溶出画分に分画した。各画分のSEC-HPLC分析の結果、50%溶出部にはノルリグナンモノマー、55%にはモノマー~二量体、60%には二~三量体、100%には六~十一量体に相当する分子量の化合物が主に検出され、したがって分子量に基づいて分画されていることが分かった。

上述の55、60%メタノール溶出画分についてLCMS分析を行った。その結果、数種類のノルリグナン二量体および三量体が検出された。これらの存在量を樹幹放射方向と比較すると、赤心材の場合、心材外方から中央部さらに内方に向かい増加する傾向にあった。一方、黒心材の場合、二・三量体は心材外方から中央部に向かい増加し、次いで内方に向かい減少する傾向にあった。したがって、赤心材では樹木の成長に伴いノルリグナン重合が進行すること、一方黒心材では二・三量体がさらに重合等し、変化している可能性が示された。

以上、心材形成機構に深く関わる「心材中心部に向かう抽出物の減少傾向」といった課題について、その理由の一つとして「二次的变化」を実験的に示すことができた(論文投稿中)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2件)

(1) Isolation and structural elucidation of norlignan polymers from the heartwood of *Cryptomeria japonica*. Y. Yanase, K. Sakamoto, T. Imai, *Holzforchung*, **69**, 281-296 (2015).
査読有 DOI: 10.1515/hf-2013-0251

(2) 蛍光顕微鏡法によるカラマツ心材成分の組織内分布の可視化、河西優衣、尾頭信昌、中田了五、今井貴規、*木材学会誌*, **61**, 297-307 (2015). 査読有 doi.org/10.2488/jwrs.61.297

[学会発表](計 3件)

(1) スギ心材ノルリグナンオリゴマーの化学構造解析、築瀬 優、坂本和之、今井貴規、第64回日本木材学会大会(松山) 2014年3月14日

(2) スギ心材におけるノルリグナンオリゴマーの質的・量的挙動の調査、清水友梨、井城泰一、今井貴規、第 66 回日本木材学会大会(名古屋)、2014 年 3 月 28 日

(3) 樹木・木材リアルタイム直接(Direct Analysis in Real Time)質量分析(DART-MS)スペクトルの集積、今井貴規、八木貴大、第 66 回日本木材学会大会(名古屋)、2014 年 3 月 27 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者
今井貴規 (Imai Takanori)
名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：20252281

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
中田了五 (Nakada Ryogo)
国立研究開発法人森林総研究所・林木育種センター北海道育種場・課長

研究者番号：60370847