

# フェニルプロパノイド代謝の進化

棟方 涼介<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>京都大学 生存圏研究所  
〒611-0011 京都府宇治市五ヶ庄 京都大学 生存圏研究所 森林圏遺伝子統御分野  
<sup>2</sup>科学技術振興機構・さきがけ  
〒102-0076 東京都千代田区五番町 7

## Evolution of phenylpropanoid metabolism

Ryosuke Munakata<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute for Sustainable Humanosphere, Kyoto University  
Gokasho, Uji 611-0011, Japan  
<sup>2</sup>JST·PRESTO, Goban-cho 7, Chiyoda-ku, Tokyo, 102-0076, Japan

Keywords: furanocoumarins, phenylpropanoid, plant secondary (specialized) metabolism

DOI: 10.24480/bsj-review.15a3.00256

### 1. はじめに

植物が生産する代謝産物は 100 万種に及ぶとされ (Afendi et al. 2012), この化学構造の多様性の大部分を占めるのは, 植物系統特異的に獲得されてきた二次代謝産物 (特化代謝産物) である。中でも, フェノール類はテルペノイドやアルカロイドに並ぶ主要なグループであり, その多くはケイ皮酸/モノリグノール経路から生じるフェニルプロパノイドである。“二次”代謝産物といってもフェニルプロパノイドの起源は古く, 初発酵素の phenylalanine ammonia lyase (PAL) は陸上植物で広く保存されている (Barros and Dixon 2020)。

植物体の物理的支持の役割を果たすリグニン (Tobimatsu and Schuetz 2019), 紫外線からの防御物質となるフラボノール類, 必須微量元素である鉄吸収に寄与するクマリン類 (Tsai and Schmidt 2017), そのほか, 病原菌や捕食者といった生物的ストレスに対する防御物質も多種報告されている。さらにマメ科では窒素欠乏時に分泌されるイソフラボンなどが根粒形成のシグナル分子として機能するなど (Munakata et al. 2019a), フェニルプロパノイドが果たす機能は実に多様であり, 植物の生存を多面的に支えている。

また, フェニルプロパノイドは我々人の生活にも密接にかかわっている。例えば, メギ科植物が生産するポドフィロトキシンは高い抗腫瘍活性を示すことから, その誘導体であるエトポシドは抗がん剤として用いられている (Suzuki and Umezawa 2007) ムラサキ科ムラサキが生産する赤色色素のシコニン<sup>1</sup>は古くから天然の染料として用いられてきた他, シコニンは抗炎症作用を始めとした種々の薬理活性を有する (Yazaki 2017)。本稿では, フェニルプロパノイドの生合成を俯瞰しながら, その分子進化や, 合成生物学を用いた代謝工学について, 近年の例を紹介する。

## 2. フェニルプロパノイド合成経路 (図 1)

フェニルプロパノイドの化学構造上の特徴は、炭素 6 個から成る芳香環と、それに結合した炭素 3 個のプロパン鎖 (C6-C3) のユニットである。このグループはフェニルアラニンやチロシンに由来し、これらの芳香族アミノ酸はシキミ酸経路によって供給される。図 1 に示すように、フェニルアラニンやチロシンはケイ皮酸/モノリグノール経路に入り、フェニルアラニンやチロシンのアミノ基の脱離反応を担う初発酵素 PAL/Tyrosine ammonia lyase (TAL) によって、ケイ皮酸や *p*-クマル酸が生成する (Barros and Dixon 2020)。その後、芳香環については水酸化やメチル化、プロパン鎖については CoA エステル化、還元反応、炭素脱離反応など種々の酵素反応を受けて化学構造が多様化していく。その過程で、フラボノイドやクマリン類を始めとした種々の代謝物グループの前駆体となる化合物が生じる (水谷ら 2019)。

いくつかの代謝物グループの主要経路を説明すると、クマリン類はフェニルプロパン酸の CoA エステル体が前駆体となって、一段階の水酸化が生じたのち、プロパン鎖が環化することで基本骨格となるベンゾピロン環が生じる (Bourgaud et al. 2014)。高分子のリグニンについては、フェニルプロパン酸のプロパン鎖が還元され、モノマーとなるモノリグノール類 (*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) が作られる。一方で、C3 のプロパン鎖に対する炭素脱離反応によって C6-C2 や C6-C1 といった新たな骨格が生じる。このような化合物種の中には香気成分が多く、バニラの香り成分であるバニリンなどが含まれる (Dötterl and Gershenzon 2023)。また、フェニルプロパノイドで最大のグループを形成するフラボノイドは、C6-C3-C6 を基本骨格となり、C6 が一つ多い。これは *p*-クマル酸の CoA エステル体 (C6-C3) と、ケイ皮酸/モノリグノール経路とは別の代謝経路から生じるマロニル CoA が 3 分子 (C2×3) 縮合反応することで C6-C3-C6 骨格を持つナリンゲニンカルコンが生成することに由来する (Nakayama et al. 2019)。

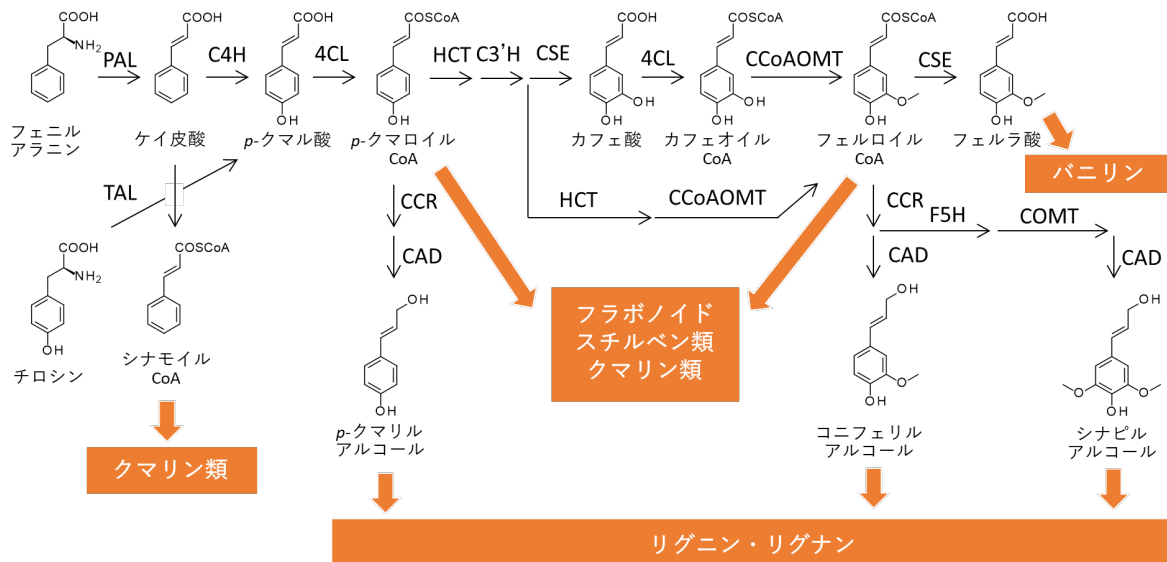


図 1. ケイ皮酸・モノリグノール経路と派生するフェニルプロパノイド類の例  
水谷ら「基礎から学ぶ植物性化学」より編集。酵素略称: 4CL, 4-coumaroyl CoA ligase; C3'H, *p*-coumaroyl shikimate/quinate 3-hydroxylase; C4H, cinnamate 4-hydroxylase; CAD, cinnamyl alcohol dehydrogenase; CCoAOMT, caffeoyl CoA *O*-methyltransferase; CCR, cinnamoyl CoA reductase; COMT, caffeate *O*-methyltransferase; CSE, caffeoyl shikimate esterase; F5H, ferulate 5-hydroxylase; HCT, hydroxycinnamoyl CoA: shikimate hydroxycinnamoyl transferase; PAL, phenylalanine ammonia lyase; TAL, tyrosine ammonia lyase.

これらの他にも、特定の植物科のみで見られる代謝経路が多数生じている。その中には、最終産物が産業上有用であるものや、最終産物の化学構造式から生合成経路や関わる酵素種を予測しにくいものも多い。このような面で解明しがいがあるなど、（私も含め）植物代謝の研究者の興味を引き、植物二次代謝研究において、多様な生合成経路を遺伝子レベルで解明する研究は長年メインストリームの1つである。

### 3. フェニルプロパノイドの収斂進化

代謝の多様性とは対照的だが、植物分類上は遠縁ながら、同じ代謝産物を生産するという現象があることも古くから知られている。その中には、生産機構が植物系統毎に独自に獲得された例が頻繁にみられ、これは収斂進化の一種といえる (Pichersky and Lewinsohn 2011) (図2)。最も有名な例はアルカロイドのカフェインである。カフェインはアカネ科コーヒーノキやツバキ科チャノキ、またミカン科の柑橘類など複数の植物系統で生産する。生合成経路上は複数段階の *N*-メチル化酵素が存在するため、それらの分子進化的解析を行った結果、それぞれの植物系統で独立にカフェイン生合成経路が獲得されたことが分かった (Huang et al. 2016)。特に近年、次世代シーケンサーや質量分析といった成分分析技術の発展に伴い、フェニルプロパノイドを始め、収斂進化の例が新たな代謝産物、新たな植物系統で報告されてきた。

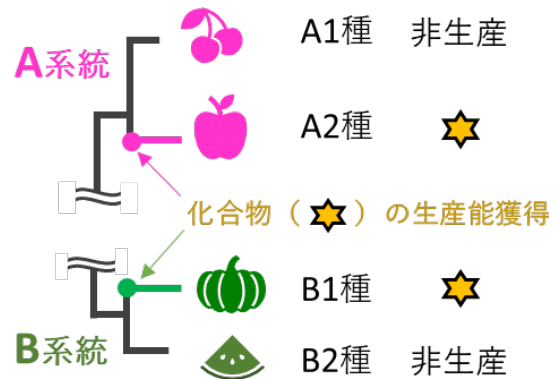


図2. 植物二次代謝産物の生合成能の収斂進化  
A 系統と B 系統は互いに独立に同じ化合物の生産能を獲得。

#### 3-1. フラノクマリン生合成の収斂進化

フラノクマリン (Furanocoumarin : FC) 類はクマリン骨格にフラン環が結合した三環性の化合物群であり、主に病害虫や食植性昆虫といった生物的ストレスに対する化学防御を担う (Bourgaud et al. 2014)。植物界においては、セリ科、ミカン科、マメ科、クワ科で多く報告されている (図3a)。不思議であったのは、これらの植物系統は互いに遠縁であるにもかかわらず、共通した生合成中間体から構成される生合成経路を有していることであった (図3b) (Brown and Steck 1973; Murray et al. 1982; The Angiosperm Phylogeny Group et al. 2016)。そこで、FC 生合成経路がどの様にして植物界で発生したのかを明らかにするため、セリ科やクワ科の FC 生合成関連遺伝子が複数同定され、その分子進化的解析が行われた (Munakata et al. 2020, 2021; Villard et al. 2021)。その結果、各生合成段階が植物系統毎に独立に獲得されたことがわかり、FC 生合成能が収斂進化によって獲得されたことが判明した (図3c)。FC 類は UV 照射下で二本鎖 DNA にインターカレートする遺伝毒性 (Kitamura et al. 2005)、また広い生物種のシトクロム P450 酵素を不活性化することが示されており (Gravot et al. 2004)、あらゆる外敵生物に有効となりうる毒性を持つ。これが一因となって、複数の植物系統が独立して FC 類を獲得するに至ったという可能性が考えられる。

また、FC 生合成経路の収斂進化は生態学的な観点でも興味深い。チョウ目昆虫の一部はセリ科やミカン科の天敵であり、これらは FC 類の分解酵素を獲得している (Ozaki et al. 2023)。かつ、チョウ目昆虫は種分化の過程でミカン科からセリ科に宿主を転換させたと考えられている。これらの知見は、FC 類の解毒酵素の存在がこの食草転換の要因の一つとなった、つまりフェニルプロパノイドの収斂進化が食植性昆虫の種分化に貢献した可能性を示している。

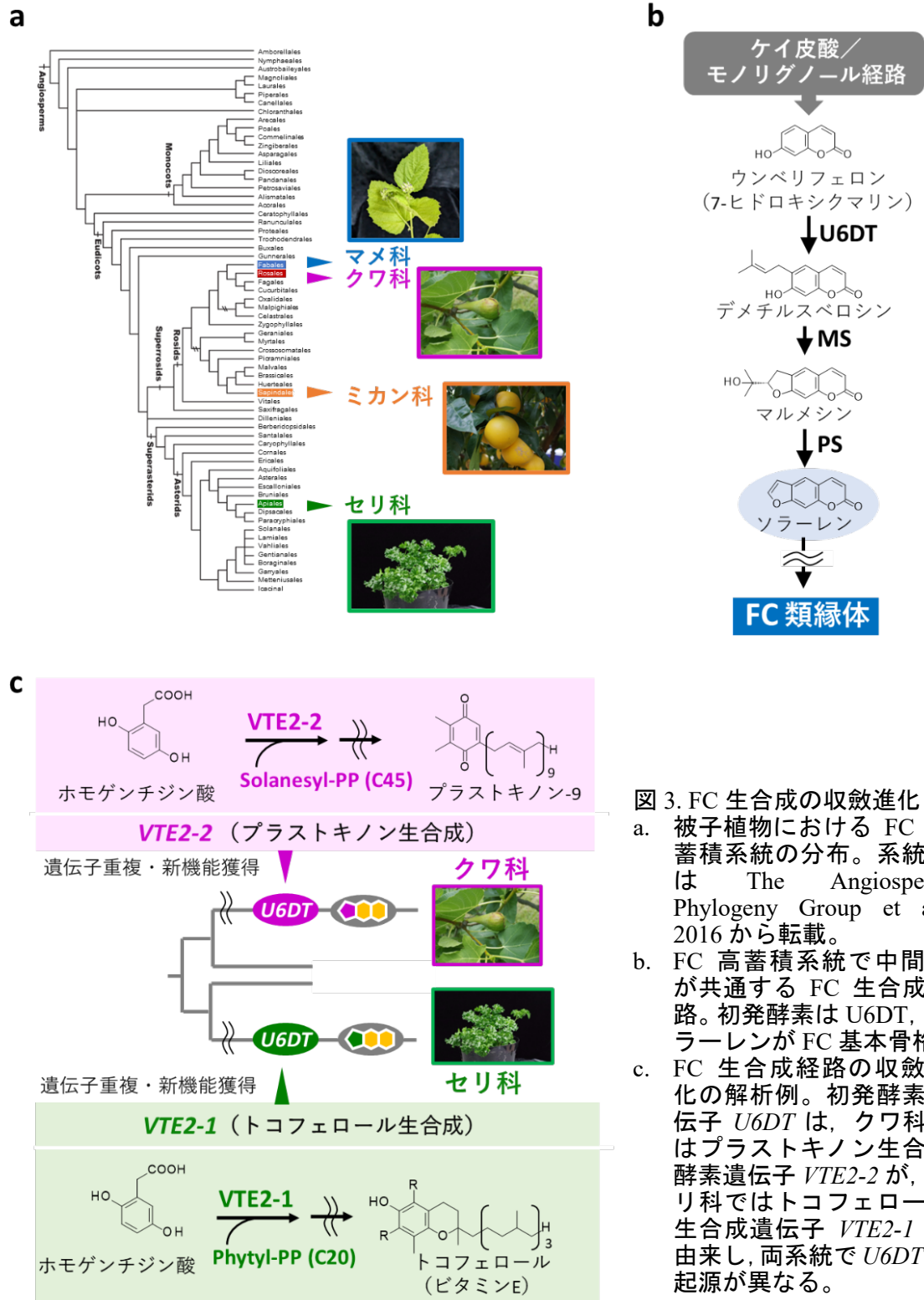


図 3. FC 生合成の収斂進化

- 被子植物における FC 高蓄積システムの分布。系統樹は The Angiosperm Phylogeny Group et al., 2016 から転載。
- FC 高蓄積システムで中間体が共通する FC 生合成経路。初発酵素は U6DT, ソラーレンが FC 基本骨格。
- FC 生合成経路の収斂進化の解析例。初発酵素遺伝子 U6DT は、クワ科ではプラストキノン生合成酵素遺伝子 VTE2-2 が、セリ科ではトコフェロール生合成遺伝子 VTE2-1 に由来し、両システムで U6DT の起源が異なる。

### 3-2. イソフラボン生合成の収斂進化

イソフラボンにはマメ科において病原菌の感染により生産が誘導されるほか、地下部においては根粒形成のシグナル分子、また根圏微生物叢の形成にも寄与する (Sugiyama 2019)。Polturak らは、コムギもイソフラボンを有することから、本種のイソフラボン生合成を解析し、コムギはマメ科とは進化的系譜が異なるイソフラボン生合成経路を有することが示された (Polturak et al. 2023)。イソフラボンは機能性成分としても知られるため、この新規のイソフラボン生合成遺伝子をターゲットとした育種で、コムギもイソフラボンの摂取源として利用できる可能性がある。またコムギとマメ科で共通してイソフラボンが病原菌感染に応答する点も興味深い。マメ科ではイソフラボンは地下部において顕著な機能を有する。そのため、今後コムギにおいても地下部でのイソフラボンの役割が理解され、環境適応上、イソフラボン生産能獲得が植物系統間でどれほど共通した意義があるのかについても理解が進むと期待される。

## 4. 代謝工学と収斂進化

植物特化代謝産物の中には薬理活性が高い成分、また機能性成分や香料といった人の生活を支える化合物も多い。しかしながら、その中には生産植物体内の含量が低い、また特異的な条件下でのみ蓄積する、大規模栽培が困難などの理由から、大量生産が困難な化合物が散見される。そこで近年活発に研究されているのが、合成生物学を活用した異種生産である (Cravens et al. 2019)。

このアプローチを簡潔に説明すると、目的成分の生産種から生合成遺伝子群を同定し、その遺伝子群を異種生物において機能的に発現させることで、生産能を付与する、というものである。生育の速さや培養の容易さ、また分子生物学的手法の多彩さから、発現のホストには大腸菌や出芽酵母といったモデル微生物種が最もよく使用される。この手法を用いて、フェニルプロパノイドも含め様々な植物特化代謝産物の微生物生産が報告されてきた (図4) (Li et al. 2015; Liu et al. 2019; Munakata et al. 2019b; An et al. 2023; Utomo et al. 2024)。しかしながら、生合成酵素遺伝子を導入しただけでは、目的成分が生産されない、また生産されたとしてもごく微量である場合

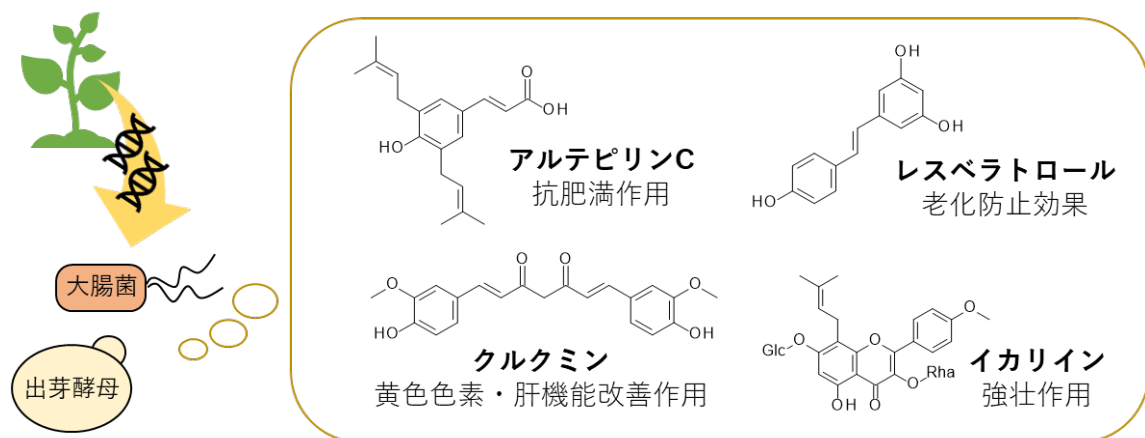


図4. 合成生物学によるフェニルプロパノイドの微生物生産の例  
Glc: グルコシル基, Rha: ラムノシル基。

が多く、目的成分の生産性向上のためには様々な工夫が必要である。その1つが、目的代謝経路への代謝フラックスを増大させるといったホスト種の内生の代謝改変である。これに関して、様々なフェニルプロパノイド種の共通中間体となる *p*-クマル酸の高生産酵母株が作出されている (Liu et al. 2019)。近年はホスト種のバリエーションも多彩になり、安価なメタノールを炭素源にできるメタノール資化性酵母 (Kumokita et al. 2023)、また光合成能を持つ藻類や光合成細菌など様々な種

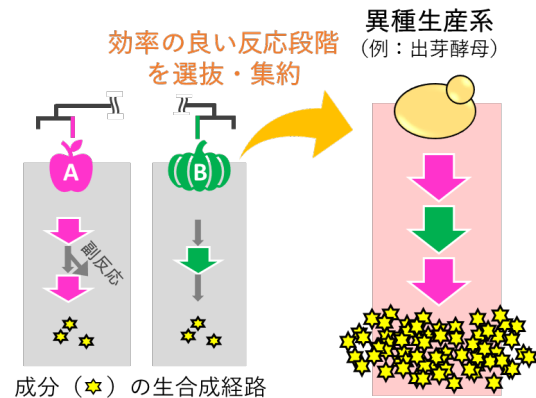


図 5. 収斂進化の代謝工学への応用

が植物二次代謝産物の生産ホストとして検討されている (Moses et al. 2017)。さらには、酵素発現との相性や基質供給力等を考慮して、複数ホスト種に代謝経路を分けて導入し、共培養によって目的成分を生産するといった報告もみられる (Thuan et al. 2022)。

意外かもしれないが、前項で紹介した収斂進化も生産系改良のためのアプローチとして有望である。二つの植物系統間で収斂進化によって獲得された生合成経路について、各酵素反応段階を細かく比較してみる。すると、ある反応ステップの変換効率が片方の系統が優れている一方で、別のステップでは他方が優れているといった系統間の差異が認められる。実際に、収斂進化によって獲得された酵素間では、同じ反応は触媒するものの、その効率が 50 倍異なる (Dick et al. 2012)、副反応の有無の差が存在するといった報告がある (Karamat et al. 2014; Munakata et al. 2020)。合成生物学の場合、両系統の生合成酵素遺伝子を好きなように織り交ぜて導入できる。そのため、収斂進化が持つ多様性を活用して、単一の植物系統由来の酵素遺伝子群だけでは達成できない高生産が期待できる (図 5)。

## 5. おわりに

フェニルプロパノイドは植物の環境適応を支えるだけでなく、多様な薬理活性も持つ化合物群である。様々な植物系統で生合成経路の解明が進む中で、収斂進化が植物二次代謝において普遍的に存在する現象であることも認識されつつある (Ono and Murata 2023)。植物二次代謝の収斂進化について考えると、生合成機構が植物系統間でどこまで異なる／似るのか、また同じ化合物でも植物系統が異なると生存戦略上の役割は共通するのかなど、非常に興味深い疑問が生まれる。これに加え、収斂進化の裏に潜む生合成機構の多様性を理解・活用することは、物質生産への高い応用可能性を秘めているため、収斂進化は植物二次代謝の基礎・応用研究の両面での展開を加速させると期待される。

## 引用文献

Afendi FM, Okada T, Yamazaki M, Hirai-Morita A, Nakamura Y, Nakamura K, Ikeda S, Takahashi H, Altaf-UI-Amin M, Darusman LK, et al. (2012) KNApSAcK family databases: integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant research. *Plant Cell Physiol* 53: doi: 10.1093/pcp/pcr165

- An T, Lin G, Liu Y, Qin L, Xu Y, Feng X, Li C. (2023) *De novo* biosynthesis of anticarcinogenic icararin in engineered yeast. *Met Eng* 80: 207–215. doi: 10.1016/j.ymben.2023.10.003
- Barros J, Dixon RA. (2020) Plant phenylalanine/tyrosine ammonia-lyases. *Trends Plant Sci* 25: 66–79. doi: 10.1016/j.tplants.2019.09.011
- Bourgaud F, Olry A, Hehn A. (2014) Recent advances in molecular genetics of furanocoumarin synthesis in higher plants. In: Jacob C, Kirsch G, Slusarenko A, et al. (eds) *Rec Adv Redox Active Plant Microbial Prod*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 363–375. doi: 10.1007/978-94-017-8953-0\_14
- Brown SA, Steck W. (1973) 7-Demethylsuberosin and ostenol as intermediates in furanocoumarin biosynthesis. *Phytochemistry* 12: 1315–1324. doi.org/10.1016/0031-9422(73)80558-8
- Cravens A, Payne J, Smolke CD. (2019) Synthetic biology strategies for microbial biosynthesis of plant natural products. *Nat Commun* 10: 2142. doi: 10.1038/s41467-019-09848-w
- Dick R, Rattei T, Haslbeck M, Schwab W, Gierl A, Frey M. (2012) Comparative analysis of benzoxazinoid biosynthesis in monocots and dicots: independent recruitment of stabilization and activation functions. *The Plant Cell* 24: 915–928. doi: 10.1105/tpc.112.096461
- Dötterl S, Gershenzon J. (2023) Chemistry, biosynthesis and biology of floral volatiles: roles in pollination and other functions. *Nat Prod Rep* 40: 1901–1937. doi: 10.1039/d3np00024a
- Gravot A, Larbat R, Hehn A, Lievre K, Gontier E, Goergen JL, Bourgaud F. (2004) Cinnamic acid 4-hydroxylase mechanism-based inactivation by psoralen derivatives: cloning and characterization of a C4H from a psoralen producing plant—*Ruta graveolens*—exhibiting low sensitivity to psoralen inactivation. *Arch Biochem Biophys* 422: 71–80. doi: 10.1016/j.abb.2003.12.013
- Huang R, O'Donnell AJ, Barboline JJ, Barkman TJ. (2016) Convergent evolution of caffeine in plants by co-option of exapted ancestral enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA* 113: 10613–10618. doi: 10.1073/pnas.1602575113
- Karamat F, Olry A, Munakata R, Koeduka T, Sugiyama A, Paris C, Hehn A, Bourgaud F, Yazaki K. (2014) A coumarin-specific prenyltransferase catalyzes the crucial biosynthetic reaction for furanocoumarin formation in parsley. *The Plant J* 77: 627–638. doi: 10.1111/tpj.12409
- Kitamura N, Kohtani S, Nakagaki R. (2005) Molecular aspects of furocoumarin reactions: Photophysics, photochemistry, photobiology, and structural analysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochem Rev* 6: 168–185. doi: 10.1016/j.jphotochemrev.2005.08.002
- Kumokita R, Yoshida T, Shirai T, Kondo A, Hasunuma T. (2023) Aromatic secondary metabolite production from glycerol was enhanced by amino acid addition in *Pichia pastoris*. *Appl Microbiol Biotechnol* 107:7391–7401. doi: 10.1007/s00253-023-12798-5
- Li M, Kildegaard KR, Chen Y, Rodriguez A, Borodina I, Nielsen J. (2015) *De novo* production of resveratrol from glucose or ethanol by engineered *Saccharomyces cerevisiae*. *Met Eng* 32: 1–11. doi: 10.1016/j.ymben.2015.08.007
- Liu Q, Yu T, Li X, Chen Y, Campbell K, Nielsen J, Chen Y. (2019) Rewiring carbon metabolism in yeast for high level production of aromatic chemicals. *Nat Commun* 10: 4976. doi: 10.1038/s41467-019-12961-5

- Moses T, Mehrshahi P, Smith AG, Goossens A. (2017) Synthetic biology approaches for the production of plant metabolites in unicellular organisms. *J Exp Bot* 68: 4057–4074. doi: 10.1093/jxb/erx119
- Munakata R, Kitajima S, Nuttens A, Tatsumi K, Takemura T, Ichino T, Galati G, Vautrin S, Berges H, Grosjean J et al. (2020) Convergent evolution of the UbiA prenyltransferase family underlies the independent acquisition of furanocoumarins in plants. *New Phytol* 225: 2166–2182. doi: 10.1111/nph.16277
- Munakata R, Larbat R, Duriot L, Olry A, Gavira C, Mignard B, Hehn A, Bourgaud F. (2019a) Polyphenols from plant roots: An expanding biological frontier. In: Halbwirth H, Stich K, Cheynier V, Quideau S (eds) *Rec Adv Polyphenol Res*, 1st edn. Wiley, pp 207–236. doi: 10.1002/9781119427896.ch8
- Munakata R, Olry A, Takemura T, Tatsumi K, Ichino T, Villard C, Kageyama J, Kurata T, Nakayasu M, Jacob et al. (2021) Parallel evolution of UbiA superfamily proteins into aromatic *O*-prenyltransferases in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 118: e2022294118. doi: 10.1073/pnas.2022294118
- Munakata R, Takemura T, Tatsumi K, Moriyoshi E, Yanagihara K, Sugiyama A, Suzuki H, Seki H, Muranaka T, Kawano N et al. (2019b) Isolation of *Artemisia capillaris* membrane-bound di-prenyltransferase for phenylpropanoids and redesign of artemipillin C in yeast. *Commun Biol* 2: 384. doi: 10.1038/s42003-019-0630-0
- Murray RDH, Méndez J, Brown SA (1982) *The natural coumarins*. New York, USA: Wiley & Sons.
- Nakayama T, Takahashi S, Waki T (2019) Formation of flavonoid metabolons: functional significance of protein-protein interactions and impact on flavonoid chemodiversity. *Front Plant Sci* 10: 821. doi: 10.3389/fpls.2019.00821
- Ono E, Murata J (2023) Exploring the evolvability of plant specialized metabolism: uniqueness out of uniformity and uniqueness behind uniformity. *Plant and Cell Physiol* 64: 1449–1465. doi: 10.1093/pcp/pcad057
- Ozaki K, Matsumoto N, Kotera M (2023) Swallowtail butterflies' initial stage of speciation is influenced by adaptation to plant-defensive substances. *Researchsquare*. doi: 10.21203/rs.3.rs-2863301/v1.
- Pichersky E, Lewinsohn E (2011) Convergent evolution in plant specialized metabolism. *Annu Rev Plant Biol* 62: 549–566. doi: 10.1146/annurev-arplant-042110-103814
- Polturak G, Misra RC, El-Demerdash A, Owen C, Steed A, McDonald HP, Wang J, Saalbach G, Martins C, Chartrain L et al. (2023) Discovery of isoflavone phytoalexins in wheat reveals an alternative route to isoflavonoid biosynthesis. *Nat Commun* 14: 6977. doi: 10.1038/s41467-023-42464-3
- Sugiyama A (2019) The soybean rhizosphere: Metabolites, microbes, and beyond—A review. *J Adv Res* 19: 67–73. doi: 10.1016/j.jare.2019.03.005
- Suzuki S, Umezawa T (2007) Biosynthesis of lignans and norlignans. *J Wood Sci* 53: 273–284. doi: 10.1007/s10086-007-0892-x
- The Angiosperm Phylogeny Group, Chase MW, Christenhusz MJM, Fay MF, Byng JW, Judd WS, Soltis DE, Mabberley DJ, Sennikov AN, Soltis PS et al. (2016) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Bot J Linn Soc* 181: 1–20. doi: 10.1111/boj.12385



- Thuan NH, Tatipamula VB, Canh NX, Van Giang N (2022) Recent advances in microbial co-culture for production of value-added compounds. *3 Biotech* 12: 115. doi: 10.1007/s13205-022-03177-4
- Tobimatsu Y, Schuetz M (2019) Lignin polymerization: how do plants manage the chemistry so well? *Curr Opin Biotechnol* 56: 75–81. doi: 10.1016/j.copbio.2018.10.001
- Tsai HH, Schmidt W (2017) Mobilization of iron by plant-borne coumarins. *Trends Plant Sci* 22: 538–548. doi: 10.1016/j.tplants.2017.03.008
- Utomo JC, Barrell HB, Kumar R, Smith J, Brand MS, Siegler HSLH, Ro DK. (2024) Reconstructing curcumin biosynthesis in yeast reveals the implication of caffeoyl-shikimate esterase in phenylpropanoid metabolic flux. *Met Eng* 82: 286–296. doi: 10.1016/j.ymben.2024.02.011
- Villard C, Munakata R, Kitajima S, Velsen RV, Schranz ME, Larbat R, Hehn A. (2021) A new P450 involved in the furanocoumarin pathway underlies a recent case of convergent evolution. *New Phytol* 231: 1923–1939. doi: 10.1111/nph.17458
- Yazaki K (2017) *Lithospermum erythrorhizon* cell cultures: Present and future aspects. *Plant Biotechnol* 34: 131–142. doi: 0.5511/plantbiotechnology.17.0823a
- 水谷正治, 土反伸和, 杉山暁史 (2019) 基礎から学ぶ植物代謝生化学. 羊土社. ISBN 978-4-7581-2090-6.