

4 科学の箱馬車

馬の腱組織を構成する分子

東京農工大学農学部 附属硬蛋白質利用研究施設 教授 新井 克彦

1. 腱組織の特徴

馬の浅指屈腱炎は、競走馬の運動器疾患として極めて重要な疾病ですが、その病変の場はいうまでもなく腱組織です。腱組織はコラーゲンを主体としたいわゆる細胞外マトリックス複合体より成る頑強な構造体ですが、いったいどの様にしてその構造が作られるのか、新陳代謝は行われているのか、については充分解明されているとは言えません。実験的に良く用いられる腱組織として、ネズミ尻尾の腱線維があります。この腱線維は純白で光沢のある美しい外観を示していることから、純粋なコラーゲン分子の集合体であると考えられ、古くからコラーゲン研究の材料として用いられてきました。しかし、1980年代後半より、その腱組織から新しいマトリックス分子の遺伝子がたくさん発見されてきました。図1に示すように、腱組織は太いコラーゲン線維の束から成る腱束とそれを取り囲む柔軟な結合組織である腱周膜、さらにその腱周膜内を走行する血管にもコラーゲンが存在しますが、それらの場所によって分布しているコラーゲンおよび線維制御因子

であるプロテオグリカンと呼ばれる糖タンパク質などの種類が異なっています。おそらく、この頑強な腱束と柔軟な腱周膜との力学的なバランスが、腱組織の強度や耐久性を決めているのだらうと思います。この腱組織にはコラーゲン分子種だけで少なくとも7種類、さらに他にも化粧品やサプリメントでおなじみのヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸などの酸性ムコ多糖やプロテオグリカンも多量に存在しています。これらの分子がどの様に混ざり合いながら腱組織を形成しているのかは、ヒトの整形外科領域を含めても全くと言っていいほど分かっていません。さらに馬の腱組織というのはとても固く、胎仔の腱組織であっても既にかなり頑丈にできあがっています。馬に限らず出生後直ちに立ち上がるような草食動物では、足の腱組織はその生命維持に非常に重要であり、母胎にいる間に基本構造はほぼ完成されてしまっているようです。そして純白で美しい縞模様を持った腱組織は、多くの分子が複雑に会合することにより極めて正確に作り上げられた構造物であり、それゆえ21世紀になった今でも、人工的に腱組織を作製することは成し得ていません。

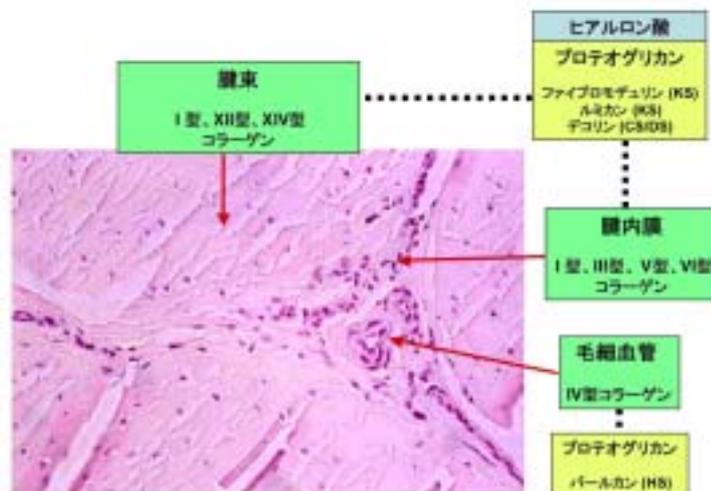


図1 浅指屈腱における細胞外マトリックスの分布

2. コラーゲン分子の特徴

化粧品などで最近様々なメディアで取り上げられているコラーゲンという用語は、ギリシャ語の‘膠(にかわ)’を意味する単語を元にフランス語として作られ、その後英語の‘collagen’となり、加熱・変性させるとゼラチン(膠)となる物質であると定義されたようです。コラーゲンもたんぱく質ですからアミノ酸が数珠玉のようにつながったポリペプチド鎖というものであり、当然その設計図は染色体上にゲノムとして存在します。近年、急速に発展した遺伝子研究手法により、2008年までに28種類のコラーゲン分子種(実際の標記はXXVIII型などとローマ数字で表されます)が発見されており、さらに一分子が2つあるいは3つの異なるポリペプチド鎖から成るコラーゲンもありますので、コラーゲン遺伝子は今のところ41種類存在することになります。コラーゲンが他のたんぱく質と大きく異なることは、図2に示すように、1)グリシン(Gly)という最も単純なアミノ酸が3つおきに出現し、このアミノ酸を支点にして-ヘリックスというらせん構造をとること、2)ヒドロキシプロリン(Hyp)という特殊なアミノ酸が含まれること、および3)3本のポリペプチド鎖がロープのようにより合わさった三重らせん構造を形成することです。これらの特徴によりコラーゲン分子は丈夫で熱にも強い構造になり、特にHypがコラーゲンの熱安定性に寄与しています。このHypはプロリンというアミノ酸がポリペプチド鎖へ組み込まれた後の「翻訳後修飾」である水酸化反応により生成し、その反応にはビタミンCが必須の因子となります。すなわち、ビタミンCの不足はコラーゲンの安定性を低下させます。この影響が最も早く現れるのは毛

細血管周囲のコラーゲンで、この部位のコラーゲンが弱くなると血液が血管より漏れ出して微細な内出血を起こし、これを壊血病と呼びます。ビタミンCはアスコルビン酸(ascorbic acid)とも呼びますが、これは壊血病(scorbic)に対抗する酸という意味です。ビタミンCは、ブドウ糖(グルコース)からいくつかの反応を経てL-グルノラクトンオキシダーゼという酵素により合成されますが、この酵素はヒトなどの霊長類とモルモットは持っていません。馬では肝臓でこのビタミンを合成できるので壊血病にはならないといわれていますが、もしかしたら競走などの激しい運動の後や創傷治癒などコラーゲン合成の盛んな時期には、自前のビタミンCだけでは足りないかもしれません。余談ですが、コラーゲン分子の熱に対する安定性は動物によって異なり、北の海や深海などの冷たい水に住むタラやキンメダイのような魚のコラーゲンのHyp含量は低く、我々ほ乳類のものとは比べて熱に弱いようです。ですから、煮魚などにするととても柔らかくなるのですが、同じコラーゲンでもほ乳類由来の腱組織でおなじみの「牛すじ」などはしっかり調理しないと柔らかくなりません。このような動物種間におけるコラーゲンの熱安定性の違いにも進化の歴史をかいま見ることができます。

コラーゲン1分子の大きさですが、最もポピュラーな型コラーゲン分子を例にとると、太さ1.5nm(1.5×10⁶nm)、長さ300nmの細長い棒状の外観で、ある程度の太さに集まったコラーゲン分子を電子顕微鏡で観察すると、今度は横紋構造と呼ばれる1周期が67nmの縞模様を見ることができます(図2-3)。この縞模様のパターンはアミノ酸の電荷と電子顕微鏡で観察する際に用いる重金属の種類との関係で決まります。

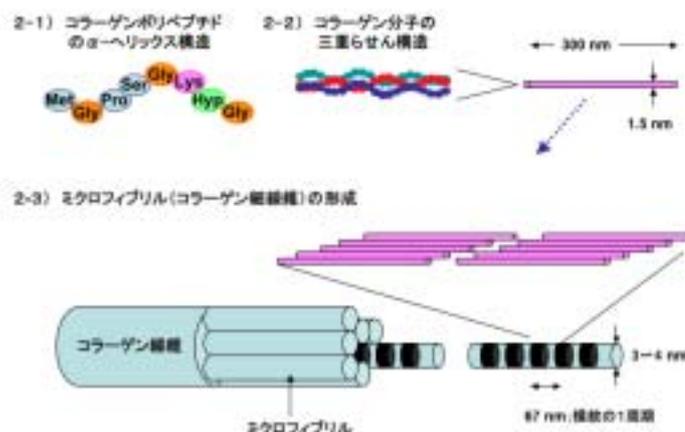


図2 腱の構造

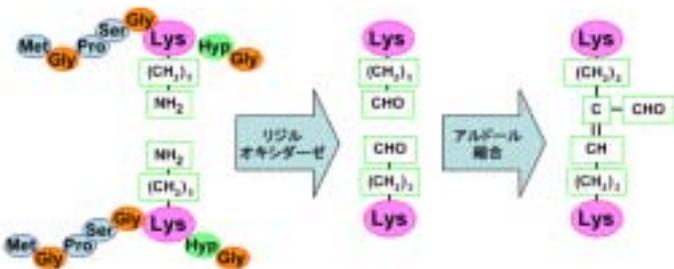
3. コラーゲン分子の成熟とコラーゲン線維の集合

分子同士の間新しい化学的結合が入ることで、コラーゲン分子は成熟します。この化学結合のことを架橋結合と呼び、この結合は老化と共に増加してコラーゲン線維は固くなります(図3-1)。コラーゲンにはリジン(Lys)というアミノ酸が3-4%含まれます。このリジンというアミノ酸は様々な機能をコラーゲンに与えています。その重要な機能の一つが架橋結合の形成です。リジンは他のアミノ酸と比べ余分なアミノ基(-NH₂)を持ち、このアミノ基がコラーゲン分子同士の架橋結合に関与します。この架橋結合は化学的にはアルドール縮合とって、リジンの側鎖にあるアミノ基がリジロキシダーゼという酵素によって反応性の高いアルデヒド基に変わることにより生成します(図3-2)が、この酵素を阻害する物質がマメ科Lathyrus属のスイートピーに含まれています。スイートピーを食べた若い動物が骨の奇形や動脈瘤を起こす疾病はラチリズム(Lathyrism)と呼ばれ古くから知られていますが、後にこのスイートピーから -アミノプロピオニトリル(BAPN)というリジロキシダーゼ阻害物質が単離され、この物質の中毒であったことが証明されました。ラチリズムでは架橋結合ができないのでコラーゲン分子の成熟が起こらず、丈夫な線維が形成できないのです。このリジンを介したコラーゲン分子の架橋結合にはさらにピリジノリンと呼ばれるより複雑な構造も発見され、また、動脈壁等に存在する弾性線維の主成分であるエラスチンにおいても、デスマシンやイソデスマシンといった架橋結合が組織の強度に寄与していることが分かっています。

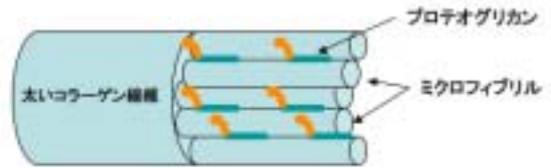
3-1) コラーゲン分子同士の架橋結合による結合(コラーゲンの老化)



3-2) リジンの酸化修飾アミノとアルドール縮合の形成



4-1) 線維形成を促進するプロテオグリカンなどが存在する場合(腱など)



4-2) 線維形成を抑制する因子が存在する場合(軟骨など)

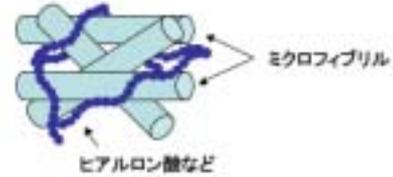


図4 コラーゲン線維形成(マイクロフィブリル集合体)の制御

コラーゲン線維は組織によってその太さが異なります。その理由はまだ完全には明らかになっていないわけではありませんが、いくつかのモデルが提唱されています。コラーゲン分子はまずコラーゲン線維形成の最小単位であるマイクロフィブリルを形成します。このマイクロフィブリルはコラーゲン同士の自己集合により形成されると考えられています。腱の主要部分を占める腱束などのしっかりとした太い線維を形成するためには、マイクロフィブリル同士をまとめて束ねるプロテオグリカンと呼ばれる糖たんぱく質が介在する必要があります(図4-1)。一方、軟骨ではコラーゲン線維自体は細いままを保っており、これは多量のヒアルロン酸がコラーゲン線維の太くなることを防いでいるためであると考えられています(図4-2)。腱や軟骨、或いは骨や血管などコラーゲンはどこにでも存在しますが、形成されるコラーゲン線維の太さは組織により異なっており、それがその組織の力学的な強度と密接に関わっていると考えられています。さらに、FACITと呼ばれる特殊なコラーゲンの一群がコラーゲン線維の太さを制御している、という別のモデルも提唱されています(図5-1)。まだ仮説の域は出ていませんが、ある種のFACITコラーゲンはマイクロフィブリルの両脇に張り付いて分子の集合を妨害することで線維を細いままに保つ、例えば、組織学的に細網線維とか好銀線維とか呼ばれるコラーゲン線維の形成に関与している可能性があります(図5-2)。このような線維形成を抑制するコラーゲン分子が無ければ、図5-3のようにマイクロフィブリルが集合して太い線維になります。さらに、細胞

図3 コラーゲン分子の成熟・老化(架橋結合)

に張力などの物理的負荷のかかることが、ある種のコラーゲン分子の合成を増強させることも判明しており、細胞やコラーゲン分子を取り巻く微小環境が複雑に影響を及ぼし合うことが組織の強度の決定に関わっていることは間違いありません。すなわち、腱組織の形成には腱のみに存在する特別な分子と特別な環境の組み合わせが必要であると言えます。

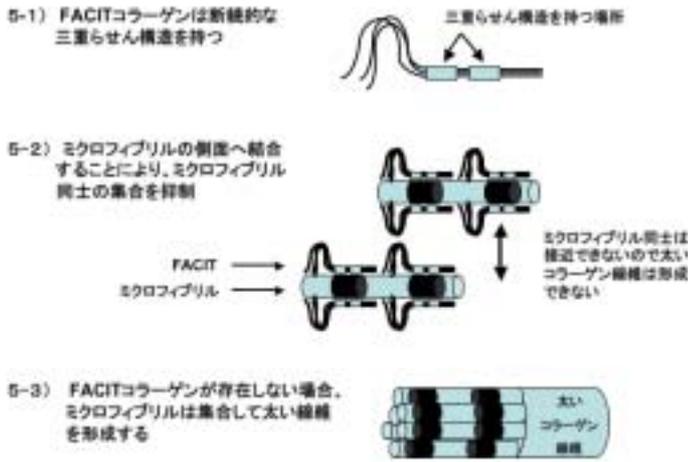


図5 FACITコラーゲンによるコラーゲン線維径の制御

4. おわりに

ヒトゲノムプロジェクトが既に終了し、おそらく馬ゲノムも数年のうちに全てが明らかになるかと思えます。しかし、ゲノム上に個々のたんぱく質の設計図は書かれていても、お互いの相互作用についての直接的な情報は何も書かれてはいません。10種類近くのタンパク質と酸性ムコ多糖がどのように詰め込んでいけばあのように頑強な腱組織ができあがるのかを完全に解明できるのはまだまだずっと先のことで、それよりも早く再生医療の進歩により、障害を受けた腱の再建が可能になるでしょう。それは腱に限らず、やはり再生の困難な関節軟骨や神経組織など対象となる組織は多くあり、だからこそ間葉系幹細胞や iPS 細胞（人工多能性幹細胞）が注目されているわけです。完全な腱組織を人工的に作製するには、腱組織を構成するすべての分子の種類とその比率、さらにはそれらが組み立てられる順番などを完全に明らかにしなければなりません。このような研究はポストゲノム時代のテーマとして最も重要な位置づけにあると考えています。