

◎総説

細胞間マトリックスの構成成分と線維化

妹尾 敏伸, 原田 英雄, 越智 浩二, 田中淳太郎,
松本 秀次, 石橋 忠明, 武田 正彦, 三宅 啓文¹⁾

岡山大学医学部環境病態研究施設成人病学分野

¹⁾岡山大学医学部第2内科

要旨：慢性膵炎の症例は近年増加の一途をたどっており，その発症機序と病態の解明および対策の確立が急がれている。慢性膵炎の重要な所見の一つである膵間質線維化の発症機序の解明および早期発見法の確立は重要な課題であるが，従来の知見は断片的にすぎない。そこで，筆者らは膵線維化の系統的な研究を始めるにあたって，細胞間マトリックスの構成成分と線維化に関する従来の知見および今後の課題を整理した。細胞間マトリックスのうちでも特にコラーゲン，グリコサミノグリカン，フィブロネクチンをとりあげ，その構造と機能および組織の線維化形成における役割について文献的考察を行った。今後，膵組織および膵液中のプロリンハイドロキシラーゼ，コラーゲンとその型別分布および各型コラーゲンの比，ヘキサミン，デルマタン硫酸，フィブロネクチン，ラミニンを検討することが重要と思われた。

索引用語：慢性膵炎，膵の線維化，膵間質成分

Key words: Chronic pancreatitis, Interstitial fibrosis of the pancreas,
Interstitial matrix of the pancreas.

緒言

最近，慢性膵炎が症例数の増加とその難治性のために注目されるようになった。厚生省難治性膵疾患調査研究班の報告によると，昭和52年3月の時点で2017例であったものが¹⁾，その後の7年9カ月の間に新しく診断された症例数が4719例に達した²⁾。最近の症例数の増加はアルコール消費量の増加と関連したアルコール性慢性膵炎と高齢者症例の増加によるところが大きい³⁾。発症機序の解明と対策の確立が急がれているところである。慢性膵炎の病理像の特徴の一つは膵実質の破壊・喪失と間質の線維化である⁴⁾。慢性膵炎における間質の線維化が何故常に進行性で不可逆性であるのかは，急性膵炎における線維化が可逆性であることと対比して従来注目の的となってきたと

ころであるが，未だに解明されていない。急性膵炎の病変部においては，初期に間質のフィブロネクチン(FN)の増加が起こり，続いてコラーゲンおよびプロコラーゲンⅢ型からなる線維化が形成されるが，やがてこの線維化は消失し，正常な組織像に回復することが知られている⁵⁾。一方，慢性膵炎においてはコラーゲンⅠ型の増加による線維化が形成されるために不可逆性になることが示唆されており⁵⁾，肺臓や肝臓の繊維化との類似性が考えられているがその詳細はなお不明である。慢性膵炎の発症機序および病態を解明するためには膵の細胞間マトリックス成分の変化を追及することが重要であり，その面の系統的な研究を行うにあたって従来の知見の整理を試みたのでここに報告する。一般に細胞間マトリックスは多細胞生物が個体を形成するための支持組織として必要不

可欠なものであると同時に、細胞や組織の障害に際して生じる炎症や免疫反応の場でもある。最近この細胞間マトリックスは、炎症の進展や癌の増殖、転移および脱癌に深く関与することが明らかとなり^{6,7,8)}、注目されている。そして慢性疾患の病巣の線維化の機序を解明するために、各種疾患の臨床例、疾患モデル動物および細胞培養系を用いて細胞間マトリックスの構成成分の動態が検討されている^{6,9)}。

コラーゲン

(1) 構造と機能

コラーゲンの基本構成単位はトロポコラーゲンと呼ばれる蛋白質で、分子量約10万の α 鎖3個で構成されている。 α 鎖にはアミノ酸構造の異なる $\alpha 1(I)$ 、 $\alpha 1(II)$ 、 $\alpha 1(III)$ 、 $\alpha 1(IV)$ 、 $\alpha 2(I)$ 、 $\alpha 2(V)$ など20種以上があり、これらの組合せによって、コラーゲンI型 $\{[\alpha 1(I)]_2 \alpha 2(I)\}$ 、I型トリマー $\{[\alpha 1(I)]_3\}$ 、II型 $\{[\alpha 1(II)]_3\}$ 、III型 $\{[\alpha 1(III)]_3\}$ 、IV型{基底膜型、 $[\alpha 1(IV)]_3\}$ 、およびV型 $\{[\alpha 1(V)]_2 \alpha 2(V)\}$ の6種類が主に存在する¹⁰⁾。I型コラーゲンはほとんどすべての結合組織に存在するが、特に高密度の結合組織に存在し、太い線維を形成している。I型トリマーは培養細胞系、鶏胚の腱、腫瘍組織に存在するが、その機能は不明である。II型コラーゲンは硝子様軟骨や弾性軟骨などに存在するが、その機能は不明である。III型コラーゲンはI型とともに殆どすべての組織に存在するが、特に高レベルのコンプライアンスを必要とする組織に存在する。IV型コラーゲンは基底膜に存在し、膜の形成に関与している。V型コラーゲンは種々の細胞の表層に存在し、フィブロネクチンとともにマトリックスと細胞との親和性を保つ働きをもつ^{10,11)}。正常腓の間質にもI型、III型、IV型、V型のコラーゲンが少量ながら存在することが知られている¹²⁾。

(2) 線維化との関連

炎症反応が長期にわたって継続すると、ほとんどの臓器で線維化が認められる。線維化は単に通常の合成過程の活性化のみに基づくものではなく、

コラーゲン線維の組織内分布や超微構造およびコラーゲンの型の比が変化することも深く関与する。線維化の形成にはI型およびIII型コラーゲンが密接に関連しているようである。例えば肺線維症の生化学的分析はIII型の著明な相対的減少を示す¹³⁾。さらに免疫蛍光法による分析では、I型の著明な増加とIII型の減少が認められている¹⁴⁾。すなわち、I/III型の比の増加はより硬い萎縮した組織への移行を示すようである¹⁵⁾。事実、皮膚や動脈硬化性血管のような硬い組織では、I/III型比は他の組織より高い¹⁶⁾。

慢性膵炎の線維化におけるI/III型比についての検討は未だ進んでおらず、今後の課題として残っている。筆者らは膵液中および血中のコラーゲンを検討しているが、III型については慢性膵炎例でも高値を認めていない¹⁷⁾。I型コラーゲンについては目下検討中である。

組織の線維化に関しては、コラーゲンの代謝活性についての検討もまた重要である。コラーゲン量が増加する場合、その合成が亢進するか、あるいは分解が低下するかのいずれかによる。合成系の活性状態を反映する酵素として、コラーゲン合成過程でペプチド中のプロリンを水酸化する酵素であるプロリンヒドロキシラーゼが注目されており^{18,19)}、一方、分解系の酵素としてはコラゲナーゼやカテプシンB1などが挙げられている。臓器の線維化とともに、組織内のプロリンヒドロキシラーゼの活性や酵素量が増加することが報告されている¹⁸⁾。筆者らは膵液中および血中プロリンヒドロキシラーゼの検討を行っているが、慢性膵炎初期例で膵液中プロリンヒドロキシラーゼの高値を認め、線維化が完成した進展例においては正常例との間に有意差を認めていない¹⁷⁾。これは慢性膵炎初期例の膵内におけるコラーゲン合成の亢進を示唆する所見であるが、コラゲナーゼについても目下検討中である。

上述したコラーゲンの型、量、部位の変動以外に変性コラーゲンが産生される可能性もある。変性コラーゲンがリンパ球に認識されて、病態の進展に重大な影響を及ぼす可能性も考えられる。

グリコサミノグリカン

(1) 構造と機能

グリコサミノグリカンはヘキソサミンとヘキソロン酸(ケラト硫酸の場合にはガラクトース)が交互に結合した2糖単位からなる多糖体で、ヒアルロン酸とコンドロイチン以外はヘキソサミンが、ときにはウロン酸も硫酸化されている。グリコサミノグリカンの構造を図-1~4に示す。グリコサミノグリカンの機能は多岐にわたり、細胞外液の水および電解質の調節、コラーゲン線維の形成および骨の形成に関与することが知られている。最近、細胞表面物質および細胞内オルガネラの成分にもなることが知られ、発生、成長、老化あるいは癌を含む種々の疾患の発症に関与することが示唆されている^{20,21)}。

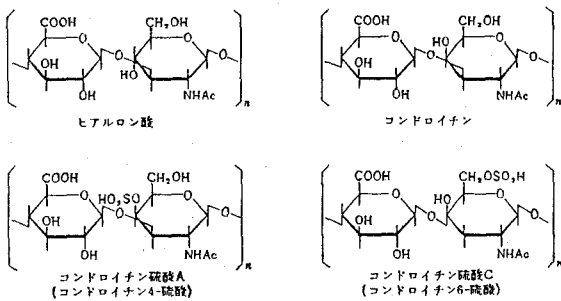


図1 ヒアルロン酸, コンドロイチン, およびコンドロイチン硫酸の構造

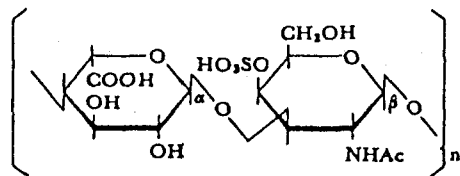


図2 デルマタン硫酸の基本骨格

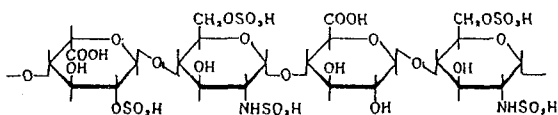


図3 ウシ肺のヘパリンを構成する主な構造

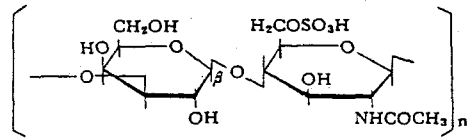


図4 角膜ケラタン硫酸の構造

グリコサミノグリカンの合成は細胞の分化、増殖、線維化、そして癌化により変化する^{22,23)}。鶏胚の腱の線維芽細胞を用いて行った検討によると²⁴⁾、細胞増殖の最も盛んな対数期には細胞あたりのグリコサミノグリカン合成はコンドロイチン硫酸が最も高く、定常期ではデルマタン硫酸、ヘパラン硫酸の合成が最も盛んであった。ヒアルロン酸は細胞増殖の過程を通じて細胞あたりの合成は低いままほぼ一定していた。ヒトの皮膚線維芽細胞でも細胞増殖の過程を通じてほぼ同様なグリコサミノグリカンの合成の変化が観察されている²⁵⁾。一方、クローン化された肝実質細胞では、対数期にヘパラン硫酸、デルマタン硫酸、コンドロイチン硫酸の合成が増加する^{26,27)}。しかし、8日間にわたって培養すると、グリコサミノグリカンの合成は肝硬変の細胞のように変化した²⁷⁾。このように細胞の種類は異なっても、細胞の増殖にともなうグリコサミノグリカンの合成の変化はほぼ一定している。

(2) 線維化との関連

ほとんどの臓器・組織がその線維化に際して細胞間のコラーゲンとともにグリコサミノグリカン組成の量的、質的变化を示す。この過程は前述したように線維芽細胞の活性化と増殖によるだけでなく、実質細胞の代謝の変化によっても起こることが知られるようになった。肺臓や肝臓の線維化の過程では主としてデルマタン硫酸が増加する^{9,28)}。同様な結果は強皮症の患者の皮膚でも認められている²⁹⁾。したがって、組織の線維化形成にはデルマタン硫酸が関与することが示唆される。筆者らは脾液中ヘキソサミンの検討を行ったが、慢性脾炎初期例で高値を認めた³⁰⁾。デルマタン硫酸の検討は目下計画之中である。

フィブロネクチン (FN)

(1) 構造と機能

FNは分子量約230,000のペプチド鎖2本が鎖間ジスルフィド結合で重合した糖蛋白で、血液中に存在する血漿FNと細胞表面に存在する細胞性FNとに大別される。血漿FNは分子量235,000のA鎖と230,000のB鎖とからなるヘテロダイマーであり、細胞性FNは構造的には血漿FNとほとんど同じであるが、サブユニットの分子量が血漿FNのそれより約10,000大きい2量体がさらに重合した多量体からなる。図-5にFNに結合性を示す生体物質とこれらの結合に関与するドメインを示す³¹⁾。

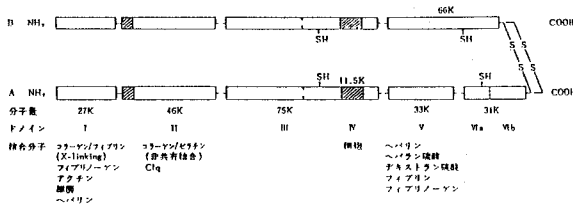


図5 フィブロネクチン分子のペプチド鎖モデルと結合分子(文献³¹⁾より引用)

FNは細胞接着, 細胞・細胞外マトリックス相互作用, 細胞形態の形成, 細胞移動性, 細胞走化性, 細胞増殖, 細胞分化, 食作用, 組織損傷後の修復など多様な生理活性を示す³²⁾。FNのこのような機能は図-5に示した生体物質との相互作用の結果として発揮される。一方, 断片化したFNの中には, もとのFNよりも強い生理活性を示すものがあることを, FNの機能を調べるうえで考慮すべきである³³⁾。

(2) 線維化との関連

線維芽細胞, 単球およびマクロファージによって産生, 分泌されるFNはコラーゲンやグリコサミノグリカンに結合し, 細胞間マトリックスを形成する³¹⁾。線維芽細胞に対しては, chemotactic activityを持ち, 細胞間マトリックスへの接着を容易にする³³⁾。さらにFNは単球を刺激して線維芽細胞に対する増殖因子の合成, 分泌を促す³⁴⁾。

これらの知見, および肺, 肝線維症に関する研究結果から次のような組織線維化の機序が推定されている³⁵⁾。すなわち, 炎症過程でマクロファージからの産生亢進により増加したFNおよびFNフラグメントが組織に線維芽細胞を遊走させ, さらに接着, 増殖させる。ついで, その数を増した線維芽細胞からコラーゲン, グリコサミノグリカンおよびFNが産生され, 細胞間に沈着し, 線維化に至ると言うのが主要な過程と考えられる。しかしながら, ラミニンなどの関与も報告されており³⁶⁾, 詳細な機序は未だ完全には解明されていない。脾の線維化とフィブロネクチンの関連については, 慢性膵炎例における膵液中フィブロネクチン濃度の高値を筆者らが報告しているが³⁷⁾, さらにその詳細を目下検討中である。

おわりに

以上, 臓器・組織の線維化に関与する細胞間マトリックスの主たるものについて従来の知見と今後の課題を整理した。慢性膵炎の主要な所見の一つである膵間質の線維化の機序を解明すべく, 今後, 膵組織および膵液, 血液を用いて系統的な検討を進める予定である。

文 献

- 1) 厚生省特定疾患慢性膵炎調査研究班(班長 佐藤寿雄): 慢性膵炎調査報告。昭和52年度報告書, 1978, p.73.
- 2) 厚生省特定疾患難治性膵炎調査研究班(班長 竹内 正): 慢性膵炎全国集計調査報告, 8: 359-387, 1987.
- 3) Miyake, H., Harada, H., Kunichika, K., Ochi, K. and Kimura, I.: Clinical course and prognosis of chronic pancreatitis. *Pancreas*, 2: 378-385, 1987.
- 4) 原田英雄, 松本秀次, 田中淳太郎: 慢性膵炎の病因, 病態と発生メカニズム。最新医学, 43: 933-937, 1988.
- 5) Uscanga, L., Kennedy, R. H., Cuoux, R., Druguet, M., Grimaud, J-A. and Sarles, H.: Sequential connective matrix

- changes in experimental acute pancreatitis. An immunohistochemical and biochemical assesment in the rat. *International J Pancreatology*, 2 : 33-45, 1987.
- 6) 永井 裕：間質細胞の活性化と炎症，代謝，23 (10) : 881-888, 1986.
- 7) Tarin, D. : Fine structure of murine mammary tumours : The relationship between epithellum and connective tissue in neoplasma induced by various agents. *Brit. J. Cancer.*, 23 : 417 - 425, 1969.
- 8) DeCosse, J. J., Gossens, L. L. and Kuzma, J. E. : Breast cancer : Induction of differentiation by embryonic tissue. *Science.*, 181 : 1057 - 1058, 1973.
- 9) 安岡 劭，真鍋英基，尾崎年男，螺良英郎：原因不明の肺線維症—生化学—，最新医学，32 (6) : 1095-1101, 1977.
- 10) Bornstein, P. : Structurally distinct collagen types. *Ann. Rev. Biochem.*, 49 : 957-1003, 1980.
- 11) 三上理一郎，堅田 均：肺線維症の生化学，代謝，23(10) : 923-932, 1986.
- 12) Uscanga, L., Kennedy, R. H., Stoker, S., Grimaud, J - A. and Sarles, H. : Immunolocalization of collagen types, laminin and fibronectin in the normal human pancreas. *Digestion*. 30 : 158 - 164, 1984.
- 13) Seyer, J. M., Hutcheson, E. T. and Kang, A. H. : Collagen polymorphism in idiopathic chronic pulmonary fibrosis. *J. Clin. Invest.*, 57 : 1498 - 1507, 1976.
- 14) Madri, J. A. and Furthmary, H. : Isolation and tissue localization of type AB2 collagen from normal lung parenchyma. *Am. J. Pathol.*, 94(2) : 323 - 331, 1979.
- 15) Fulmer, J. D., Roberts, W. C., vonGal, W. R., and Crystal, R. G. : Molphologic-physiologic correlates of the severity of fibrosis and degree of cellularity in idiopathic pulmonary fibrosis. *J. Clin. Invest.*, 63 (4) : 665 - 676, 1979.
- 16) Bowen, J. G. and Baldwin, R. W. : Collagen characterisation and cell transformation in human atherosclerosis. *Nature.*, 258 : 73-76, 1975.
- 17) 原田英雄，越智浩二，田中淳太郎，松本秀次，妹尾敏伸，三宅啓文：飲酒による腓液成分の変化。厚生省特定疾患難治性腓疾患調査研究班平成元年度研究報告書，1989. (in press)
- 18) Kivirikko, K. I. and Risteri, L. : Biosynthesis of collagen and its alterations in pathological states. *Med. Biol.*, 54 : 159-186, 1976.
- 19) 安原 稔，高田 昭：プロリンハイドロキシレース，肝胆膵，14(5) : 713-723, 1987.
- 20) Kawamoto, T. and Nagai, Y. : Developmental changes in glycosaminoglycans, collagen and collagenase activity in embryonic chick skin. *Biochim. Biophys. Acta.*, 437(1) : 190-199, 1976.
- 21) Ninomiya, Y. and Nagai, Y. : Modulation of glycosaminoglycan syntheses is during cell growth as observed in an embryonic chick tendon cell culture. *J. Biochem (Tokyo).*, 86 (1) : 111-119, 1979.
- 22) 畑 隆一郎：細胞の機能変化とプロテオグリカン合成，代謝，18(7) : 613-627, 1981.
- 23) Ohnishi, T., Ohshima, E., and Ohtsuka, M. : Effect of liver cell coat acid mucopolysacchalide on the appearance of density-dependent inhibition in hepatoma cell growth. *Exp. Cell. Res.* 93(1) : 136 - 142, 1975.
- 24) Barnhart, B. J., Cox, S. H., and Kraemer, P. M. : Detachment variants of chinese hamster cells. Hyaluronic acid as a modulator of cell detachment. *Exp. Cell. Res.*, 119(2) : 327-332, 1979.
- 25) Hopwood, J. J. and Dorfman, A. : Glycosaminoglycan synthesis by cultured

- human skin fibroblasts after transformation with simian virus 40. *J. Biol. Chem.*, 252 (14) : 477 - 4785, 1977.
- 26) Ninomiya, Y., Hata, R., and Nagai, R. : Glycosaminoglycan Synthesis by liver Parenchymal cell clones in culture and its change with transformation. *Biochim. Biophys. Acta.*, 629 : 349 - 358, 1980.
- 27) Ninomiya, Y., Hata, R., and Nagai, R. : Active synthesis of glycosaminoglycans by liver parenchymal cells in primary culture. *Biochim. Biophys. Acta.*, 675 : 248 - 255, 1981.
- 28) 小泉岳夫, 末松俊彦: 肝臓と多糖鎖, 原田篤也, 小泉岳夫編, 講談社, 東京, 1974, 480 - 502.
- 29) Ishikawa, H. and Horiuchi, R. : Initial change of glycosaminoglycans in systemic scleroderma. *Dermatologica.*, 150 (6) : 334 - 345, 1975.
- 30) Harada, H., Takeda, M., Yabe, H., Hanafusa, E., Hayashi, T., Kunichika, K., Kochi, F., Mishima, K., Kimura, I., and Ubuga, T. : The hexosamine concentration and output in human pure pancreatic juice in chronic pancreatitis. *Gastroenterol Jpn.*, 15 : 520 - 526, 1980.
- 31) 米増國雄: フィブロネクチンと炎症, 代謝, 23 (11) : 985 - 994, 1986.
- 32) Hynes, R. O. and Yamada, K. M. : Fibronectins : Multifunctional modular glycoproteins. *J. Cell. Biol.*, 95 (2) : 369 - 377, 1982.
- 33) Tsukamoto, Y., Hessel, W. E., and Wahl, S. M. : Macrophage production of fibronectin, a chemoattractant for fibroblasts. *J. Immunol.*, 127 : 673 - 678, 1981.
- 34) Martin, B. M., Gimbrone, M. A. Jr., Majeau, G. R., Ununue, E. R., and Cortan, R. S. : Stimulation of human monocyte macrophage-derived growth factor (MDGF) production by plasma fibronectin. *Am. J. Pathol.*, 111 (3) : 367 - 373, 1983.
- 35) 渡邊 宏, 大塚盛男, 角田力弥: 肺疾患とフィブロネクチン, 最新医学, 39 : 2046 - 2050, 1984.
- 36) Brown, S. S., Malinoff, H. L., and Wicha, M. S. : Connection : Cell surface protein that binds both laminin and actin. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 80 : 5927 - 5930, 1983.
- 37) 原田英雄, 田中淳太郎, 武田正彦, 三宅啓文 : 膵液中フィブロネクチン測定とフィブロネクチンの組織染色による慢性膵炎の病態の研究。厚生省特定疾患難治性膵疾患調査研究班昭和61年度研究報告書, 1978, 121 - 123.

Interstitial matrix components in relation to the pathogenesis of fibrosis

Toshinobu Seno, Hideo Harada,
Koji Ochi, Juntaro Tanaka,
Shuji Matsumoto, Tadaaki Ishibashi,
Masahiko Takeda and Hirofumi Miyake¹⁾
Institute for Environmental Medicine,
Okayama University Medical School.
¹⁾Second Department of Internal Medicine,
Okayama University Medical School.

Increasing numbers of patients with chronic pancreatitis have been reported all over the world, including Japan. Pathogenesis of chronic pancreatitis has remained to be revealed and the early detection has remained difficult despite extensive investigations. Interstitial fibrosis forms one of the most important histopathological features of chronic pancreatitis along with

loss of parenchyma and irregular dilatation of the ducts and ductules. However, only a limited numbers of reports have been published on the pathogenetic mechanisms of interstitial fibrosis of the pancreas, because tissue materials are not easily accessible and blood samples can hardly reflect the fibrotic process of the pancreas unlike the case of the liver. Our preliminary studies revealed that biochemical and immunochemical analysis of pure pancreatic juice, such as determination of collagen, hex-

osamine, fibronectin and proline hydroxylase, might reflect the fibrotic process of the pancreas. The results led us to review the earlier reports on inter-cellular matrix in relation to the formation of fibrosis to find suitable markers to be evaluated in the future systematic investigations. The review revealed that pure pancreatic juice should be analyzed for collagen, types of collagen, hexosamine, dermatan sulfate, fibronectin, laminin, proline hydroxylase, collagenase and cathepsin B₁.