# 肩関節構成組織における
# コラーゲンの生化学的分析とその臨床的意義

昭和大学藤が丘病院整形外科
今里有紀彦・山本龍二
土持綱正・鈴木隆之
保刈成・味八木二郎
三原研一・平川誠
安楽岩嗣・筒井廣明
黒木良克
東京慈恵会医科大学整形外科
藤井克之

# Biochemical Study of Collagen from the Organic Constituent Tissues of the Shoulder Joint

by
Y. Imazato, R. Yamamoto, T. Tsuchimochi,
T. Suzuki, S. Hokari, J. Miyaki,
K. Mihara, M. Hirakawa, I. Anraku,
H. Tsutsui and Y. Kuroki
Department of Orthopaedic Surgery,
Showa University, Fujigaoka Hospital
K. Fujii
Department of Orthopaedic Surgery,
The Jikei University, School of Medicine

The present study has been performed to investigate the biochemical characteristics of collagen in the organic constituent tissues of the shoulder joint.

1. Collagen was extracted from human deltoid, major pectoral, supraspinatus, infraspinatus, and minor teres muscles, long head of the biceps, the anterior capsule, membrane tissue of the rotator interval, subacrominal bursa, coracoacrominal and glenohumeral ligaments, and skin in 4 cases of males immediately after their accidental deaths ranging from 25 to 59 years old.

2. Hydroxyproline was determined to estimate the collagen contents in a neutral salt soluble, a citric acid soluble and an insoluble fraction.

3. Insoluble collagen was reduced with tritiated sodium borohydride. Hydrolysis of the reduced materials was carried out with 6N HCl for 24h at 110°C in vacuo. Hydrolyzed samples were chromatographed in an Aminex A-5 colum.

4. Similar results were obtained from the tendon, capsule and subacrominal bursa, but the membrane tissue of the rotator interval was similar to the ligament.

5. In the biochemical study, the ligament was composed of the most stable collagen fibers, but the long head of the biceps produced relatively immature collagen fibers.

6. These data may approximately reflect the clinical features of each tissue.

key words : biochemical study（生化学的分析），collagen（コラーゲン），shoulder joint（肩関節）

## はじめに

コラーゲンは，結合組織の主要構成タンパクとして存在し，それぞれの組織における弾性発現と支持作用に重要な役割を果たしていることが広く知られている[2]．これまでに著者らは，肩関節の機能を解明して行く第一歩として，ヒトの肩，肘，股，膝関節の関節包におけるコラーゲンの生化学的分析を行い，肩関節においては他の関節に比べ，比較的未熟なコラーゲン線維を形成している事実を見いだしてきた[4]．この肩関節包における生化学的特性は，肩関節が非荷重関節であり，また広い可動域を有するため他の関節に比べ，特異な解剖学的特徴を示していることに何らかの関連があるのではないかと思われる．今回さらに，肩関節構成組織におけるコラーゲンの生化学的分析を行い，その結果を比較することにより，それぞれの組織における臨床的意義を考え，一考察を加えたので報告する．

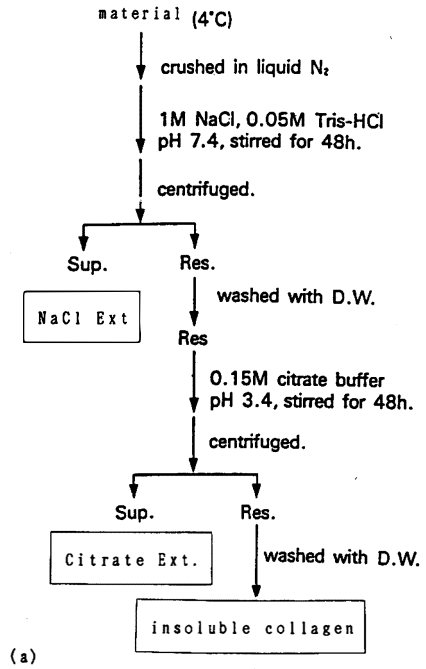
## 研究材料

研究材料として，死後少なくとも5時間以内の新鮮死体，男性5症例（25～59才）から採取した皮膚，三角筋，大胸筋，棘上筋，棘下筋，小円筋，coraco-acrominal ligament, gleno-humeral ligament，前方関節包，rotator interval の膜様組織（以下 rotator interval），上腕二頭筋長頭腱，肩峰下滑液包を用いた．また，あらかじめ，コラーゲン代謝に影響を及ぼすと思われるような既往疾患がないことを確認した．

## 方法ならびに結果

各々の組織からのコラーゲンの分離，精製は，Fig. 1 (a) に示した方法に準じて行った．筋肉組織ではコラーゲン以外のタンパク質が多く存在するため，これらを除去する目的で，最初に Fig. 1 (b) の方法で精製している[2][3]．

まず，各組織のコラーゲン含有量を hydroxyproline 量を測定することにより求めてみると，筋肉組織では



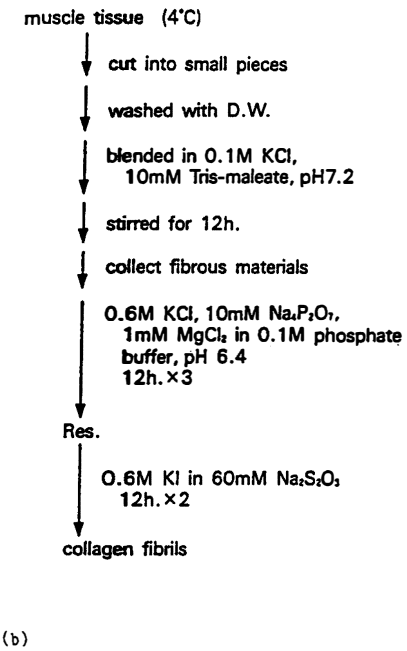




**Fig. 1** extraction of collagen

湿性重量あたり，1％前後であったが，皮膚，肩峰下滑液包では乾燥重量あたり約70％前後を示し，関節包，rotator interval, coraco-acrominal ligament, gleno-humeral ligament, 上腕二頭筋長頭腱では90％以上の含有量を示した．

ここで，比較的類似の傾向を示した，肩峰下滑液包（SAB），関節包（Cap），rotator interval（RI），coraco-acrominal ligament（C-A），gleno-humeral ligament（G-H），上腕二頭筋長頭腱（BLT）に注目し，中性塩（1 M NaCl 0.05 M Tris HCl pH 7.4），および酸抽出(0.15 M Citrate buffer pH 3.4）において可溶化される，いわゆる可溶性コラーゲン量を求めてみると，rotator innterval, coraco-acrominal ligament, gleno-humeral ligament では0.1％以下であったのに対し，肩峰下滑液包では0.1％，関節包では0.2％，上腕二頭筋長頭腱ではもっとも高い0.3％の可溶性を示した（Fig. 2）．

各組織におけるコラーゲン分子種についてみると，Ⅰ型コラーゲンに加え，Ⅲ型コラーゲンに比較的特異的とされるシステイン残基が，rotator interval，関節包において，全アミノ酸1,000残基あたり1残基程度が認められたが，他の組織では検出されなかった．

次に，不溶性コラーゲンを，tritiated sodium borohydride にて還元し，コラーゲンに含まれる全還元性物質量の測定と，還元性架橋結合の分析を行った．コラーゲン線維の物理・化学的安定性の獲得には，コラーゲン分子間の架橋結合の形成が重要な役割をはたしており，生体内においては，aging とともに，物理・化学的に不安定な還元性架橋結合から，安定性の高い非還元性架橋結合へ変化して行くことが知られている[1]．

全還元性物質量は，単位 hydroxyproline 量（$\mu$g）あたりの Specific radioactivity (cpm) として求めてみると，上腕二頭筋長頭腱がもっとも高値を示し，以下，肩峰下滑液包，関節包，rotator interval, coraco-

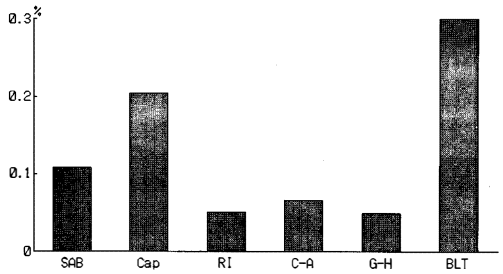



**Fig. 2** Soluble collagen
Results are expressed as % of total collagen.

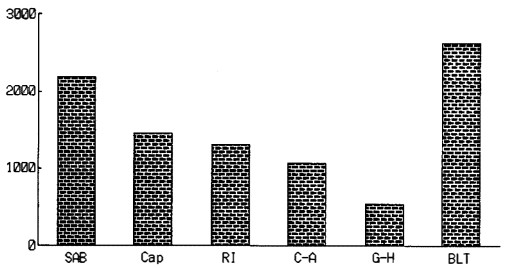



**Fig. 3** Specific radioactivity of insoluble collagen
Results are expressed as cpm/$\mu$g hydroxyproline in the hydrolysates.

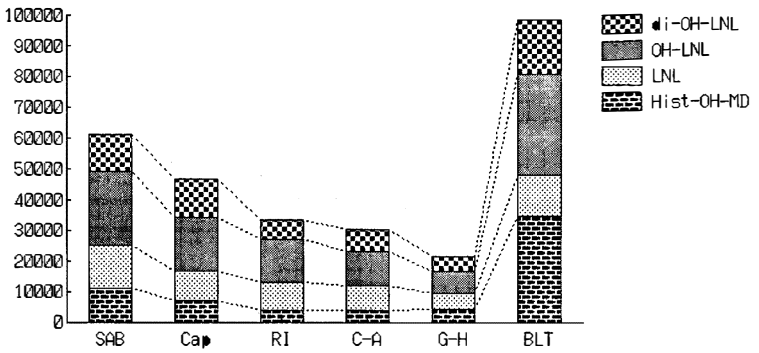



**Fig. 4** Reducible cross-links of collagen
The results are expressed as cpm under each cross-link peak/mg of hydroxyproline in the hydrolysates loaded on a colum.

acrominal ligament, gleno-humeral ligament の順となった(Fig. 3)．また，各々の還元性架橋結合の分離，同定は，Aminex A-5 カラムを用いて行い，還元性架橋結合の形成量を，カラムに添加した水解物中に含まれる hydroxyproline 量 1 mg あたりの各架橋結合ピークの radioactivity (cpm) により算出してみると，やはり同様な傾向を示した (Fig. 4)．このことから，上腕二頭筋長頭腱では架橋結合の前駆体および還元性架橋結合が多く含まれていると考えられ，他の組織に比べ，もっとも未熟なコラーゲン線維が形成されていることが推察される．

さらに，各コラーゲン線維にタンパク分解酵素であるペプシンを加えることにより，可溶化されるコラーゲン量を測定してみると，関節包では約 60 %，他の組織では，約 40 %前後を示した．

## 考　　察

以上の結果を総合して考えてみると，生化学的にもっとも安定している組織は ligament であり，次いで rotator interval がこれに近い傾向を示していると思われる．また，関節包は肩峰下滑液包に比べ，全還元性物質量および還元性架橋結合の形成量が低値を示したにもかかわらず，可溶性コラーゲン量およびペプシン可溶化コラーゲン量が高値を示したことから，不安定なコラーゲン線維を形成していると推察される．上腕二頭筋長頭腱では前記したように他の組織に比べ，もっとも未熟なコラーゲン線維が形成されていると考えられる．

バイオメカニカルにも強固である ligament，および肩関節の運動を円滑にし緩衝機構としての働きを有するとされ，この部分の機能不全が起こると，肩関節の不安定性の一因となるのではないかと考えられている rotator interval が生化学的に安定しており，上腕二頭筋長頭腱が生化学的に不安定な傾向を示したことは，これらの分析の結果が，それぞれの組織における臨床的意義を考える上で非常に興味深いものと思われ，さらに詳細な肩関節構成組織の分析を行うことにより，現在数多く考案されている肩関節の形成術，再建術などを施行する際に有用なデータを得られるのではないかと考えている．

## 参 考 文 献


1) Fujii, K.: Aging of the collagen in human joint components — Changes in the reducible cross-links and solubilities —, J. Jap. Orthop. Ass., 49: 145-155, 1975.
2) Fuji, K.: Isolation of Skeletal Muscle Collagen. Anal. Chem. 127: 449-452, 1982.
3) 藤井克之：種々の整形外科疾患のコラーゲン分析．整形・災害外科，増刊号：1377-1386，1983.
4) 平川　誠ほか：肩，肘，股，膝の各関節包におけるコラーゲンの生化学的分析．日整会誌，61：S 277，1987.