

P-3 CRYSTALLINITY AND CRYSTALLOGRAPHIC FIBER PERIOD OF COLLAGEN FIBER WITH AGING

Ki-ichiro Tanaka and Toshio Ono

Dep. of Oral Biochemistry, School of Dentistry, Nagasaki Univ.

Scott et. al. obtained the following interesting results about aging of rat tail tendon. They stained a proteoglycan in rat tail tendon by caproic acid and observed it using an electron microscope. The proteoglycan could be seen as like a fiber which is coiled around collagen fibril perpendicular to the axis. The interval of the proteoglycan increased with aging, and the content of the proteoglycan decreased with aging. A question could be raised whether the crystallographic fiber period of collagen fiber itself changes with aging. We may expect that the amino acid sequence of tropocollagen could not be changed with aging because its gene expression would not change with aging and the period does not change. However, this is not self-evident. This must be confirmed experimentally. This question could be clarified by the x-ray small angle scattering method (XSAS). We define here the crystallographic fiber period as a spacing which can be determined by x-ray small angle scattering of the first order reflection. It is usually about 64nm. This paper will deal the fiber period, the sharpness of the diffraction spots and the diffuseness of the amorphous halo which attributes to proteoglycan..

And we obtained the following results.

The X-ray Small angle Scattering method disclosed that the crystallographic fiber period of gerbil tai tendon collagen did not change with aging. Two kinds of scattering profiles were recognized ; crystalline diffraction spots and the amorphous diffuse scattering halo. The crystalline diffraction spots were broad in a younger tendon. However, they became shaper with aging. The amorphous diffuse halo that is marked in young tendon diminishes with aging. these results indicate that 1; the collagen fiber of a young tendon contains many crystal defects, 2; the content of proteoglycan in a younger tendon is higher than that in an older tendon . The X-ray diffraction profiles become clear with aging.

Similar phenomena were also recognized in domestic fowl, therefore they should be common nature of collagen fiber in species.

P-4 monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 による結膜線維芽細胞の活性化

福田 憲¹, 藤津揚一朗², 山本和隆², 関 馨介¹, 熊谷直樹², 西田輝夫²
山口大学医学部 眼病態学¹, 分子感知医科学・眼科学²

目的：春季カタルは眼アレルギー疾患の1つで、巨大乳頭形成などの結膜の増殖性病変を特徴とする。組織学的に、巨大乳頭は結膜線維芽細胞の増殖と細胞外マトリックスの沈着から形成されている。また巨大乳頭では、monocyte chemoattractant protein (MCP)-1などのCCケモカインの発現が亢進していることが報告されている。今回我々は、CCケモカインの巨大乳頭形成における役割を知る目的で、培養ヒト結膜線維芽細胞の増殖および細胞外マトリックスの合成に対するMCP-1の作用を検討した。

方法：種々の濃度のMCP-1を培養ヒト結膜線維芽細胞に添加し、72時間後の細胞数をMTS Assayにより測定した。MCP-1を添加して24時間後の培養上清中に含まれるprocollagen type I C-peptideおよびフィブロネクチンの濃度をEIA法で測定し、I型コラーゲンおよびフィブロネクチン産生量を検討した。III型コラーゲンの発現は、MCP-1を添加して72時間後にwhole-cell ELISA法を用いて検討した。培養ヒト結膜線維芽細胞におけるCCケモカイン受容体(CCR)2 mRNAの発現はRT-PCR法を用いて検出した。

結果：MCP-1は、濃度依存性にヒト結膜線維芽細胞の増殖を促進した。また、MCP-1は濃度依存性にI型、III型コラーゲンおよびフィブロネクチンの産生を促進した。培養ヒト結膜線維芽細胞はCCR2を発現していた。

考察：アレルギー性炎症において放出されるCCケモカインである、MCP-1は結膜線維芽細胞を活性化し、増殖および細胞外マトリックスの合成を促進する。また、結膜線維芽細胞はMCP-1の受容体であるCCR2を発現している。これらの結果より、MCP-1が、春季カタルにおける結膜の増殖性病変の形成に関与している可能性が示唆された。