

(A) 非糖化コラーゲングル

(B) 糖化コラーゲングル

コラーゲン線維

線維芽細胞

シャーレ

コラーゲングルとシャーレ
が付着している

細胞が巻きつけようと
している
コラーゲン線維

細胞が巻きつけようと
しても巻きつけられない
コラーゲン線維

移動前の
細胞の位置

移動後の細胞

細胞は移動する

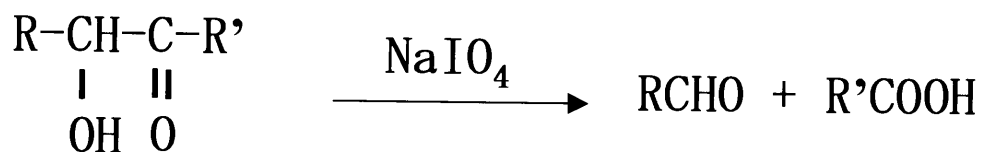
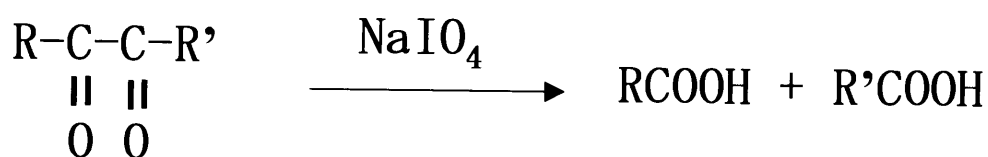
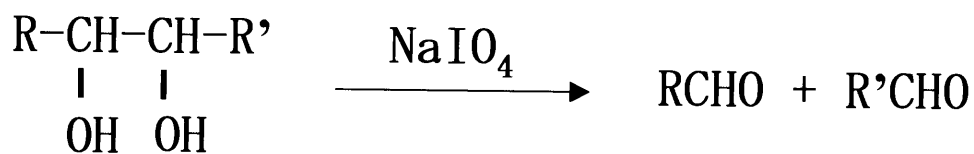
糖化反応により
コラーゲン線維間
に形成された架橋

糖化反応により
線維内に架橋が
形成された
コラーゲン線維

細胞は移動できない

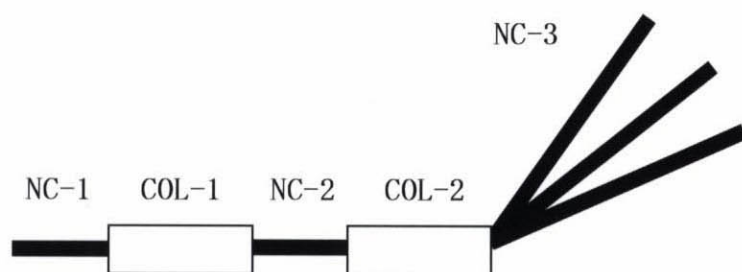
糖化によるコラーゲン線維と細胞の結合部位数の減少、コラーゲングルの可塑性の低下、細胞の運動によるコラーゲン線維を濃縮しようとするポテンシャルの低下のためにコラーゲングル中での細胞遊走は抑制される。

図 2 1 糖化コラーゲングル中での線維芽細胞の遊走

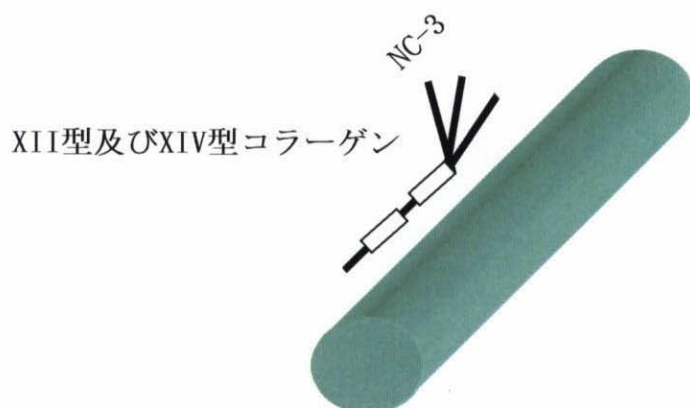


NaIO_4 は隣接炭素原子に2個またはそれ以上の水酸基またはカルボニル基が結合している化合物を酸化して、炭素-炭素結合を開裂させ、カルボニル基またはカルボン酸を生成する。

図 2 2 NaIO_4 による反応



XII型及びXIV型コラーゲン分子の模式図



I型コラーゲン線維

XII型及びXIV型コラーゲン分子は、コラーゲンヘリックスドメインにてI型コラーゲン線維束と結合し、NC-3ドメインを線維から突き出していると考えられる

図 2 3 XII型コラーゲン及びXIV型コラーゲンとI型コラーゲン線維との相互作用についてのモデル図

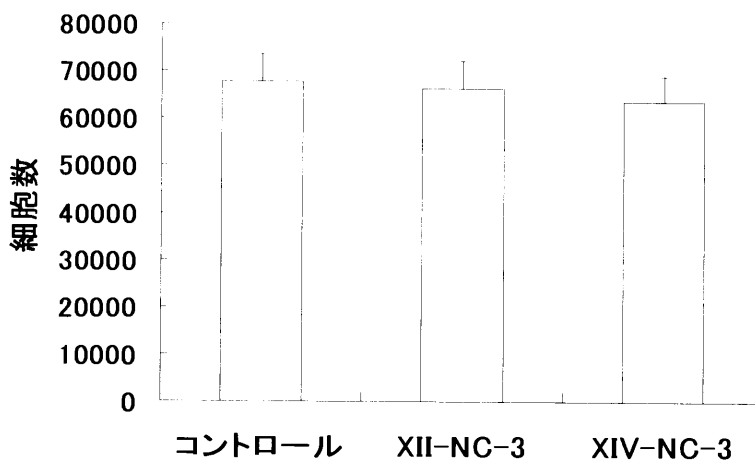
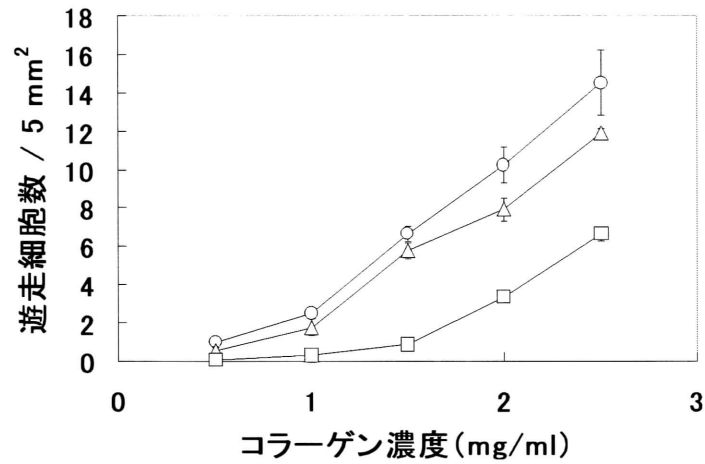


図 2 4 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3がコラーゲンゲル上での線維芽細胞の増殖活性へ及ぼす影響

50 μ g/mlのXII-NC-3あるいはXIV-NC-3を含有する2 mg/mlのコラーゲンゲルを作製し、 1×10^5 細胞数の線維芽細胞をコラーゲンゲル上に植えつけ、7日間培養し、細胞数を求めた。5サンプルの平均値と標準偏差 \pm SDをプロットした。

(A)



(B)

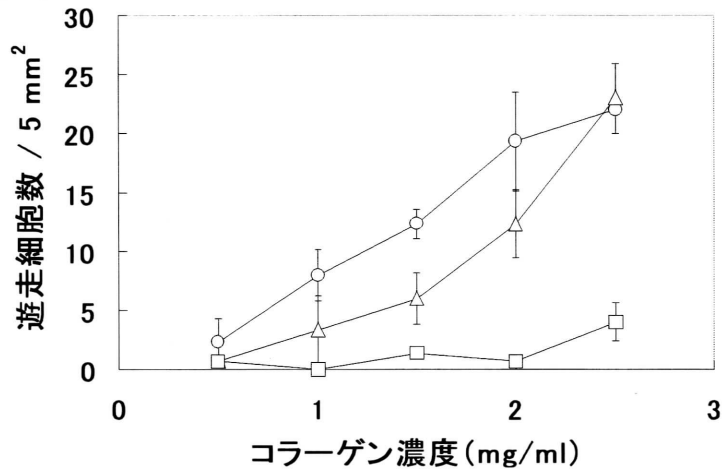


図 2 5 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3が線維芽細胞のコラーゲンゲル上からゲル中への遊走活性へ及ぼす影響

0 (○)、10 (△) 及び50 $\mu\text{g/ml}$ (□) のXII-NC-3 (A) あるいはXIV-NC-3 (B) を含有するコラーゲンゲル (0.5、1.0、1.5、2.0及び2.5 mg/ml) を作製し、 1×10^5 細胞数の線維芽細胞をコラーゲンゲル上に植えつけ、3日間培養した。コラーゲンゲル表面から100 μm よりも深く遊走した細胞数を測定し、遊走細胞数とした。5サンプルの平均値と標準偏差 $\pm\text{SD}$ をプロットした。

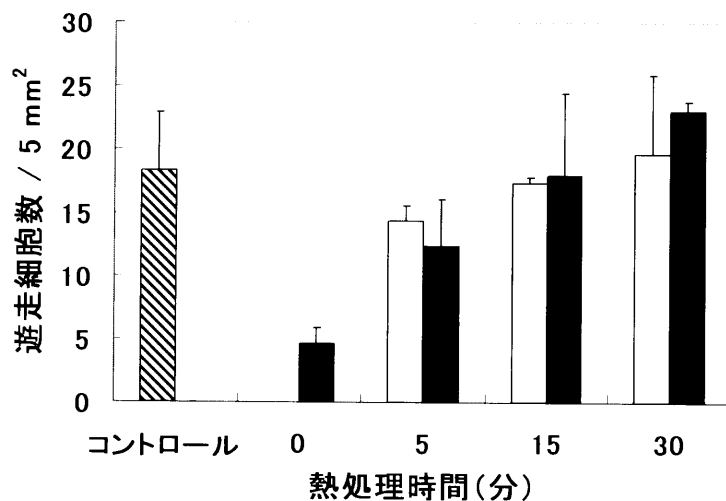


図 2 6 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3の熱処理が線維芽細胞のコラーゲンゲル上からゲル中への遊走活性へ及ぼす影響

60℃にて5、15及び30分間熱処理した50 μ g/mlのXII-NC-3 (□)、あるいはXIV-NC-3 (■) を含有する2 mg/mlのコラーゲンゲルを作製し、 1×10^5 細胞数の線維芽細胞をコラーゲンゲル上に植えつけ、3日間培養した。ゲル表面から100 μ mよりも深く遊走した細胞数を測定し、遊走細胞とした。コントロールは、XII-NC-3あるいはXIV-NC-3を含有していないコラーゲンゲル。5サンプルの平均値と標準偏差 \pm SDをプロットした。

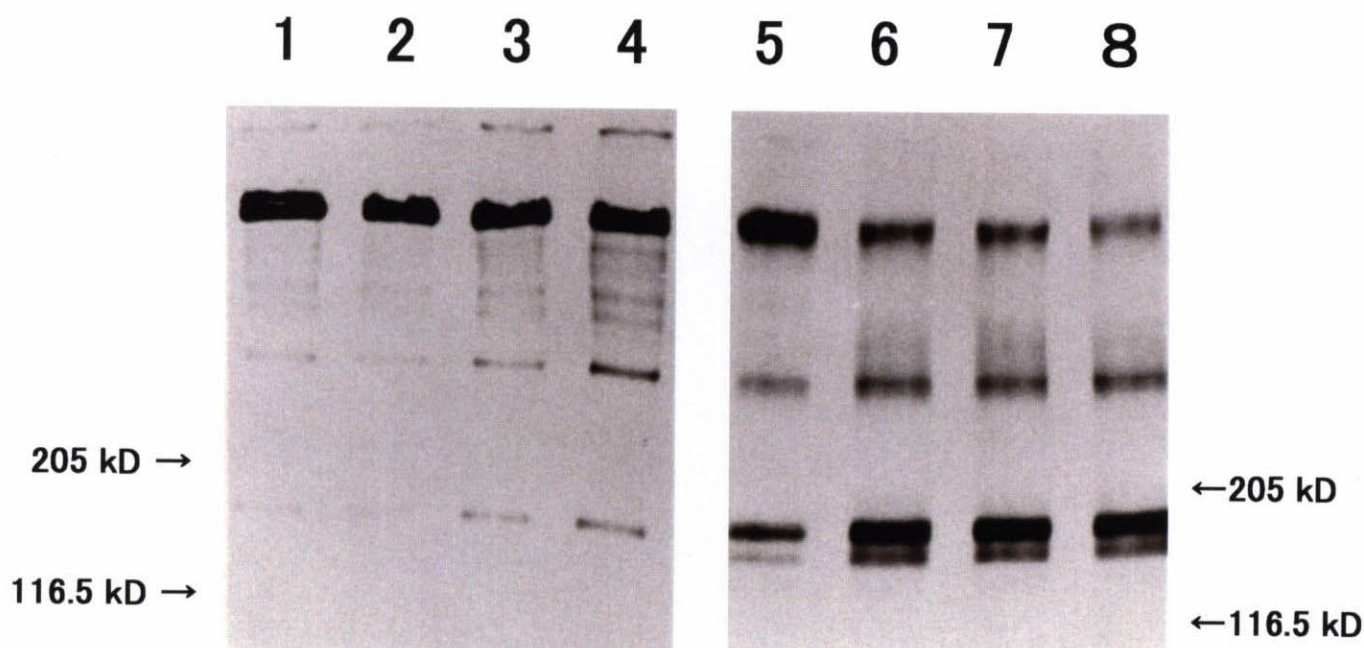


図 2 7 ウェスタンプロットティング法による熱処理後の
XII-NC-3あるいはXIV-NC-3の検討

XII-NC-3 (レーン1~4) あるいはXIV-NC-3 (レーン5~8) を60℃にて0 (レーン1、5)、5 (レーン2、6)、15 (レーン3、7) 及び30 分間 (レーン4、8) 熱処理した。SDS-PAGE (ゲル濃度：3~5%) 後、XII型コラーゲン特異的認識ポリクローナル抗体 (レーン1~4) あるいはXIV型コラーゲン特異的認識ポリクローナル抗体 (レーン5~8) にて免疫染色した。

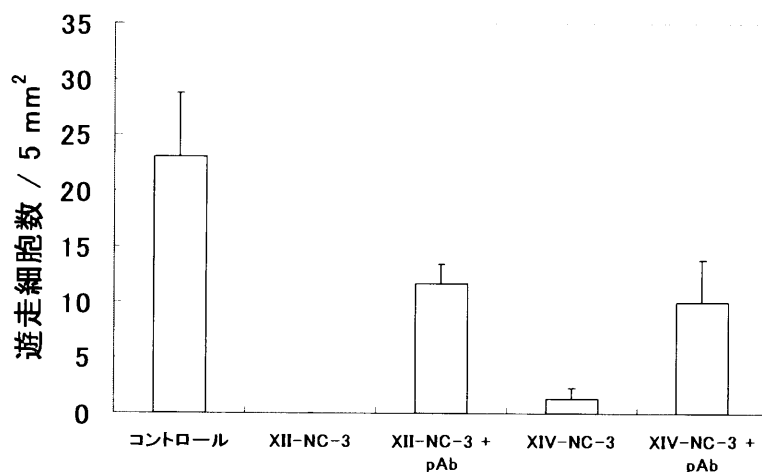
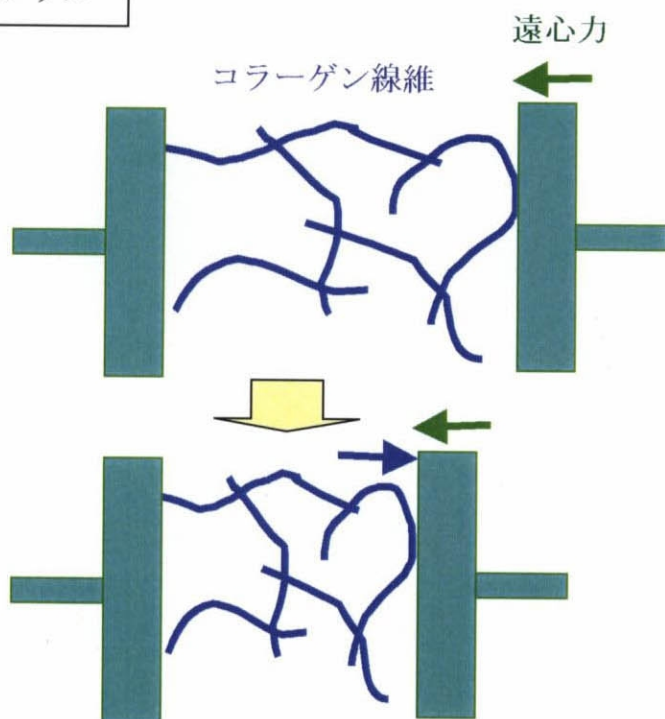


図 2 8 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3 による線維芽細胞のI型コラーゲンゲル上からゲル中への遊走活性抑制作用へ及ぼす抗体の影響

50 μ g/mlのXII-NC-3と50 μ g/ml XII型コラーゲン特異的認識ポリクローナル抗体、あるいは、50 μ g/mlのXIV-NC-3と50 μ g/ml XIV型コラーゲン特異的認識ポリクローナル抗体含有コラーゲンゲル(2 mg/ml)を作製後、 1×10^5 細胞数の線維芽細胞をコラーゲンゲル上に植えつけ、3日間培養した。ゲル表面から100 μ mよりも深く遊走した細胞数を測定し、遊走細胞とした。コントロールは、NC-3ドメイン及び抗体非含有コラーゲンゲルである。5サンプルの平均値と標準偏差 \pm SDをプロットした。

(A) コラーゲンゲル



(B) XII-NC-3あるいはXIV-NC-3添加コラーゲンゲル

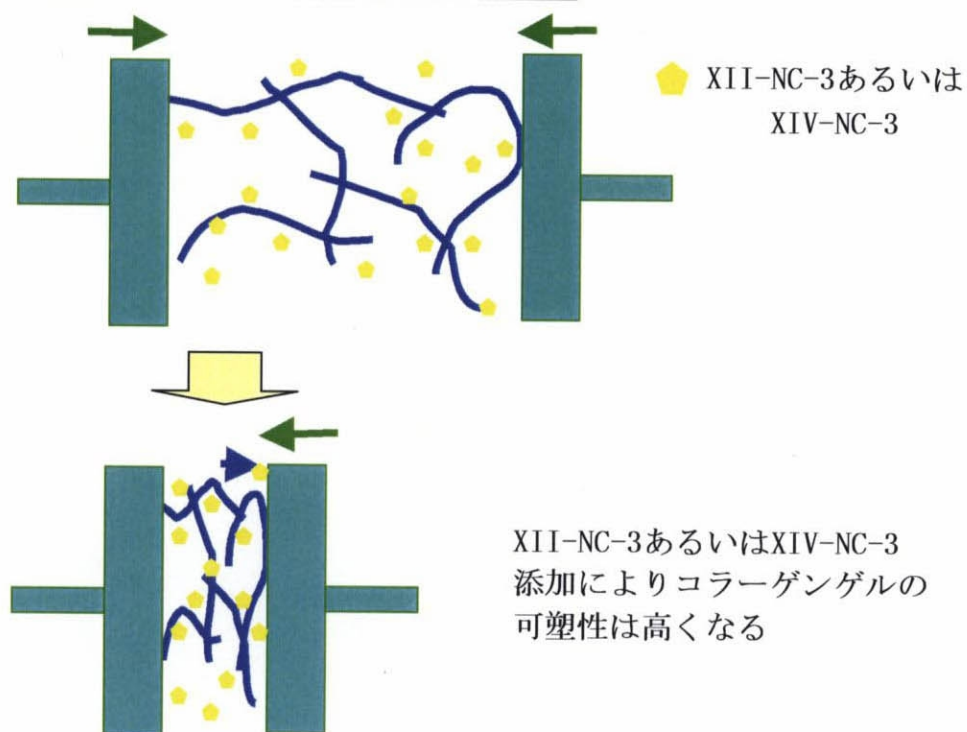
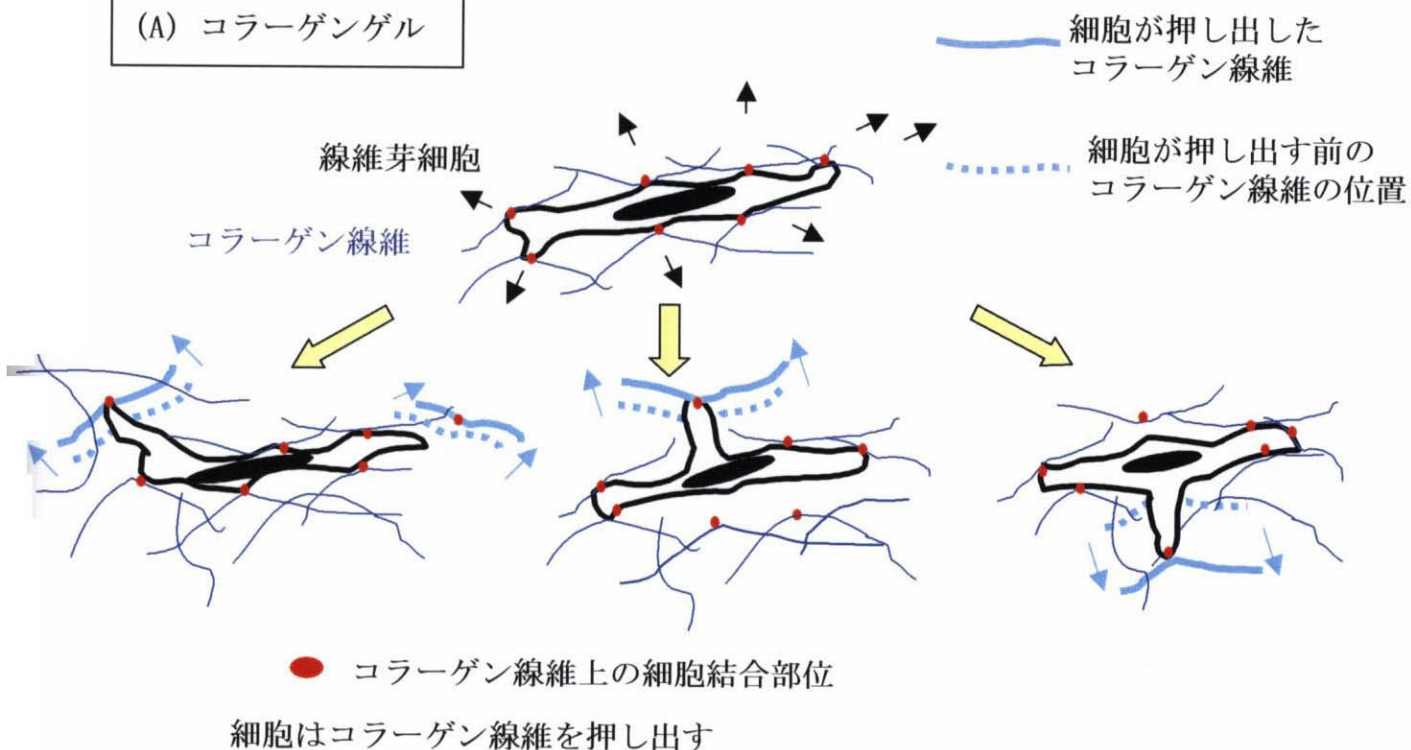
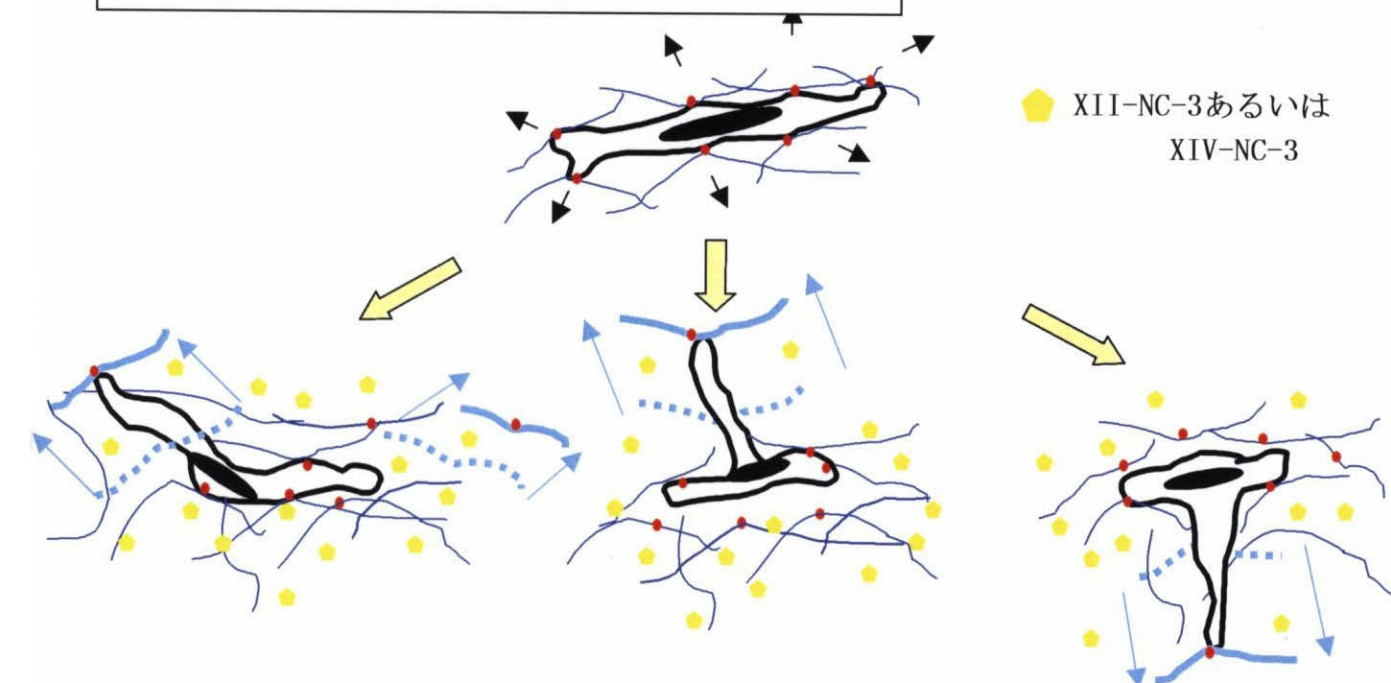


図 2 9 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3によるコラーゲンゲル可塑性促進作用

(A) コラーゲングル



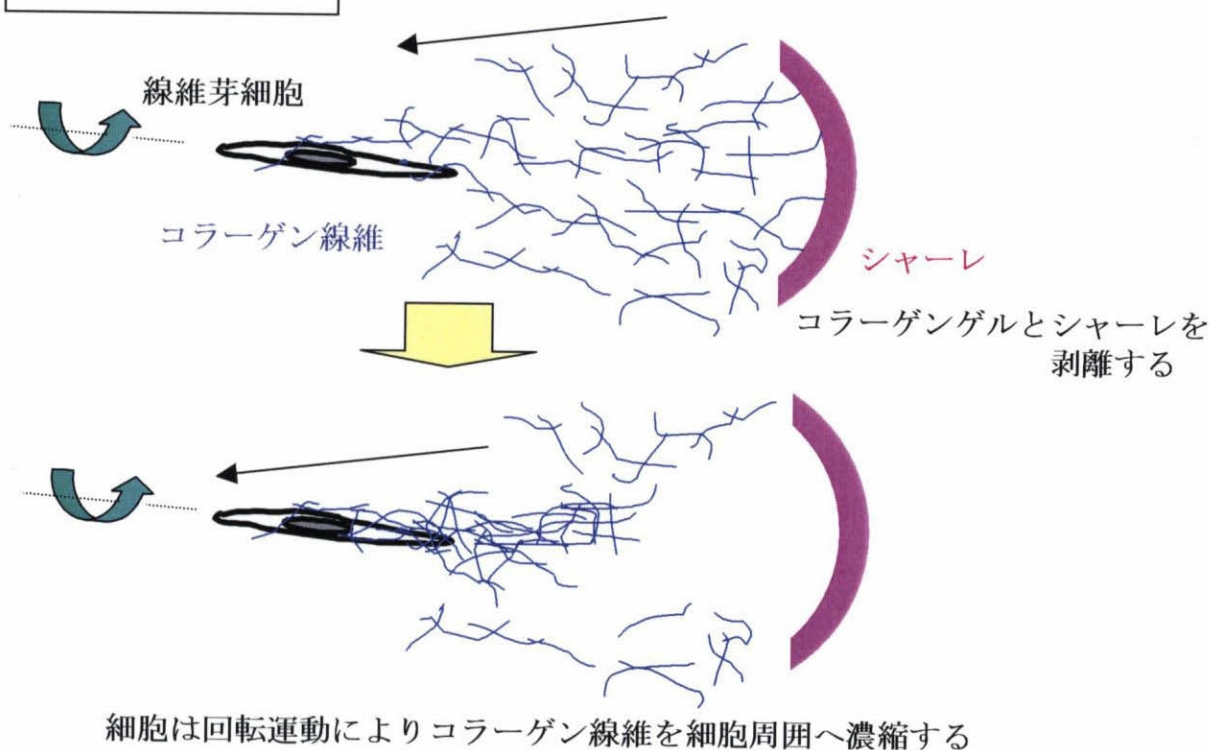
(B) XII-NC-3あるいはXIV-NC-3添加コラーゲングル



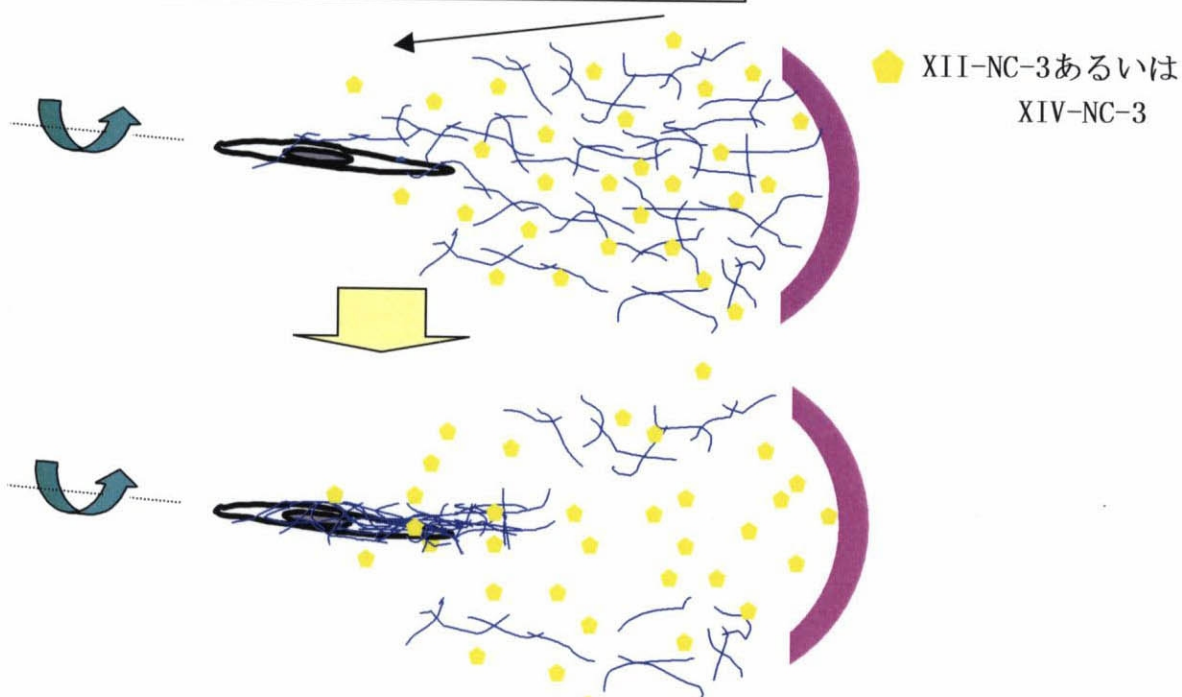
XII-NC-3あるいはXIV-NC-3によりコラーゲン線維の可動性が高くなり、コラーゲン線維間の相互作用が減少すると可塑性が高くなる。コラーゲン線維の押し出しと引き寄せが容易になる

図 30 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3がコラーゲンドルの可塑性へ及ぼす影響

(A) コラーゲングル



(B) XII-NC-3あるいはXIV-NC-3添加コラーゲングル

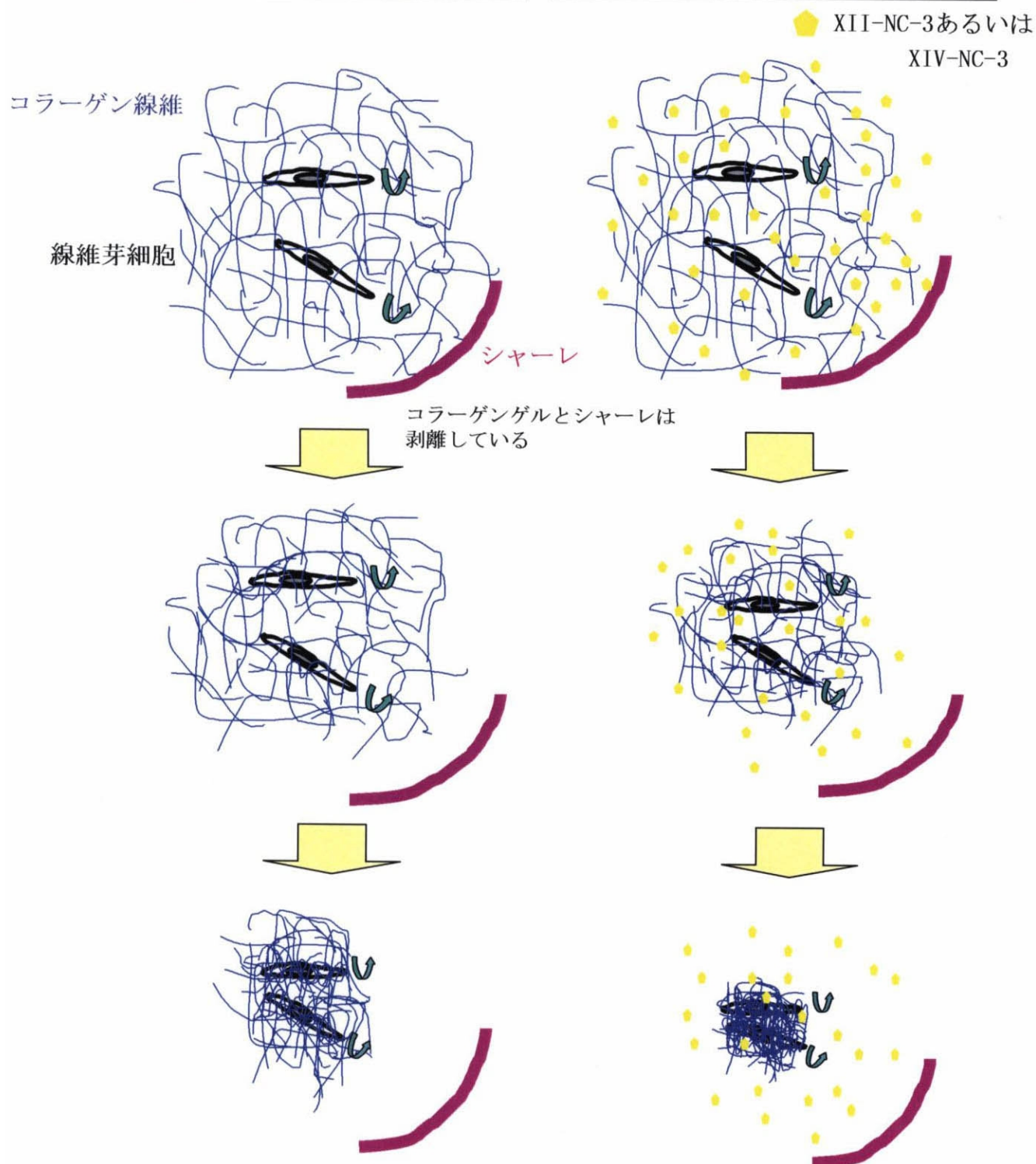


XII-NC-3あるいはXIV-NC-3によりコラーゲン線維の可動性が増加し、コラーゲン線維間相互作用が減少するため細胞の回転運動によるコラーゲン線維の濃縮が促進される。

図 3 1 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3が細胞の運動によるコラーゲン線維濃縮へ及ぼす影響

(A) コラーゲングル

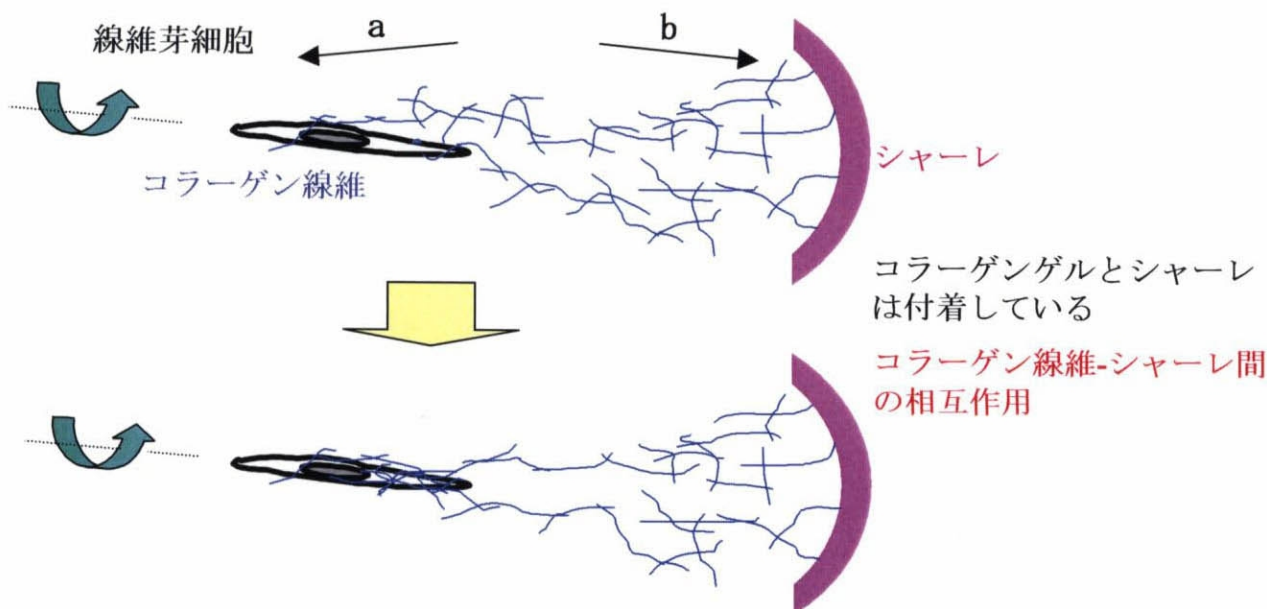
(B) XII-NC-3あるいはXIV-NC-3添加
コラーゲングル



XII-NC-3あるいはXIV-NC-3によりコラーゲングルの可塑性が増加し、細胞の回転運動によるコラーゲン線維の濃縮が促進されるためにコラーゲングル収縮活性は促進される

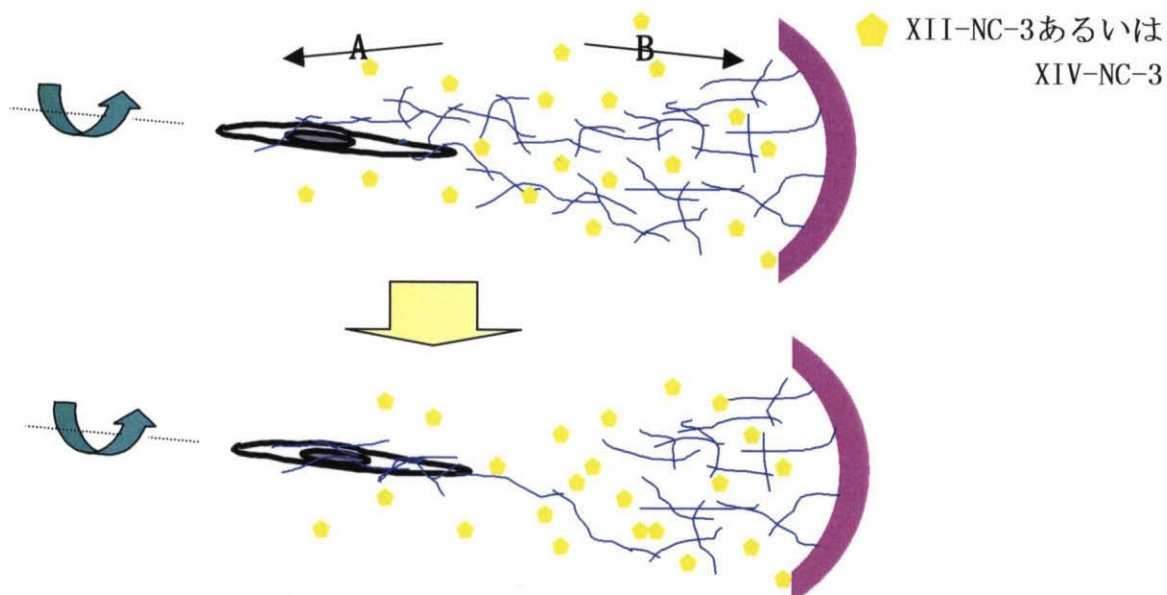
図 3 2 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3が線維芽細胞によるコラーゲングル収縮活性へ及ぼす影響

(A) コラーゲングル



細胞の回転運動によるコラーゲン線維を濃縮しようとするポテンシャルがある。

(B) XII-NC-3あるいはXIV-NC-3添加コラーゲングル



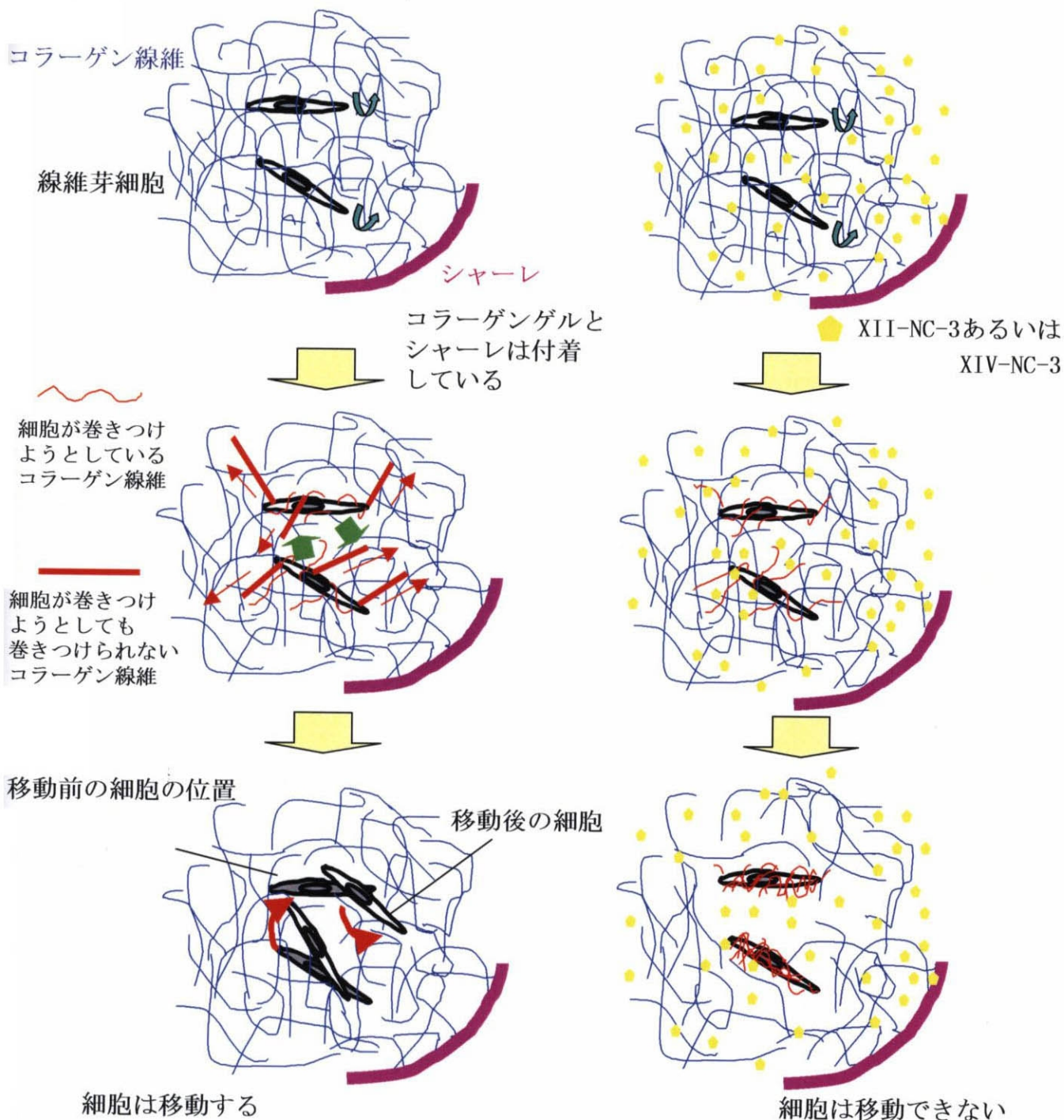
XII-NC-3あるいはXIV-NC-3によりコラーゲン線維の可動性が増加し、コラーゲン線維間相互作用が減少するために遠く隔たった線維まで力が及ばないため細胞周囲のコラーゲン線維のみ濃縮される

細胞の回転運動によるコラーゲン線維を濃縮しようとするポテンシャルが低下する

図 3 3 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3が細胞の回転運動によるコラーゲン線維を濃縮しようとするポテンシャルへ及ぼす影響

(A) コラーゲングル

(B) XII-NC-3あるいはXIV-NC-3添加
コラーゲングル

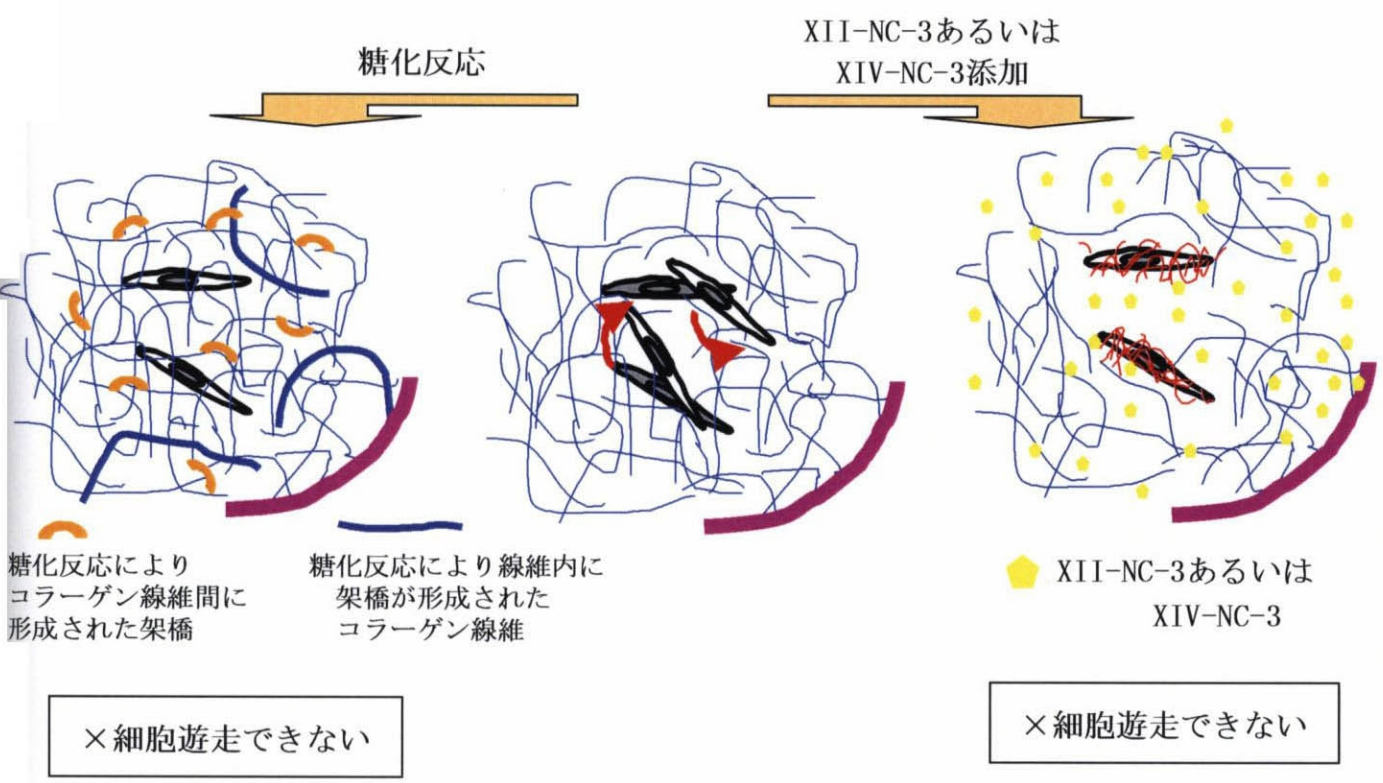


XII-NC-3あるいはXIV-NC-3により、コラーゲングルの可塑性が低下し、細胞の運動によるコラーゲン線維を濃縮しようとするポテンシャルが低下するためにコラーゲングル中での細胞遊走は抑制される。

図 3 4 XII-NC-3あるいはXIV-NC-3がコラーゲングル中での線維芽細胞の遊走へ及ぼす影響

糖化コラーゲングル	コラーゲングル	XII-NC-3 あるいは XIV-NC-3 添加コラーゲングル
≒	コラーゲン線維と細胞の結合部位数	=
↓	コラーゲングルの可塑性	↑
↑	コラーゲン線維間相互作用	↓
↓	細胞遊走活性	↓

↑：促進 ↓：抑制 =：変化なし ≒：わずかな変化



細胞遊走には至適なコラーゲングルの可塑性とコラーゲン線維間相互作用が存在する

図 3 5 コラーゲングルの可塑性及びコラーゲン線維間相互作用と細胞遊走の関係

(A) 細胞遊走至適コラーゲン濃度よりも
コラーゲン濃度が低い場合

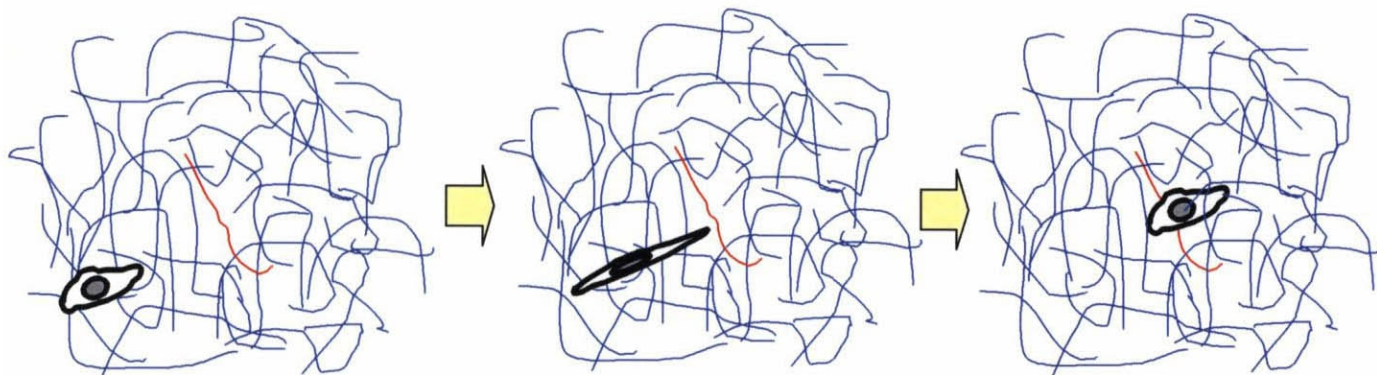
コラーゲン線維（赤色）を足場としようとしても安定性が微弱であるために線維が動き、細胞遊走できない



細胞の足場としてのコラーゲン線維の安定性が微弱であるために細胞は遊走できない

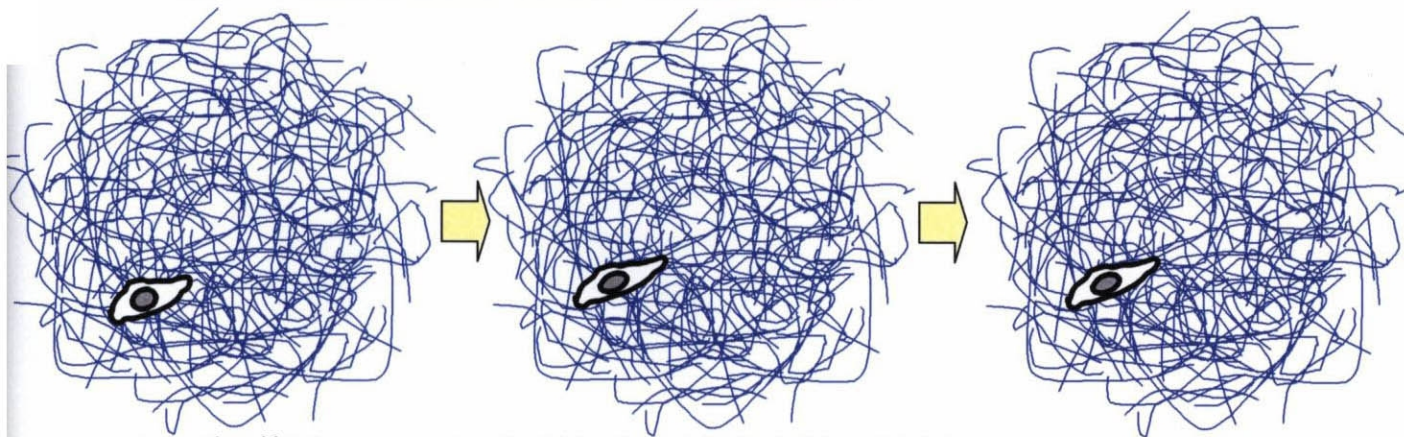
(B) 細胞遊走至適コラーゲン濃度

コラーゲン線維（赤色）は足場として安定しており、線維のパッキングも密でないために細胞遊走できる



細胞は遊走できる

(C) 細胞遊走至適コラーゲン濃度よりも
コラーゲン濃度が高い場合



コラーゲン線維のパッキングが密になるために細胞は遊走できない

図 3 6 細胞遊走についてのSchorの考察

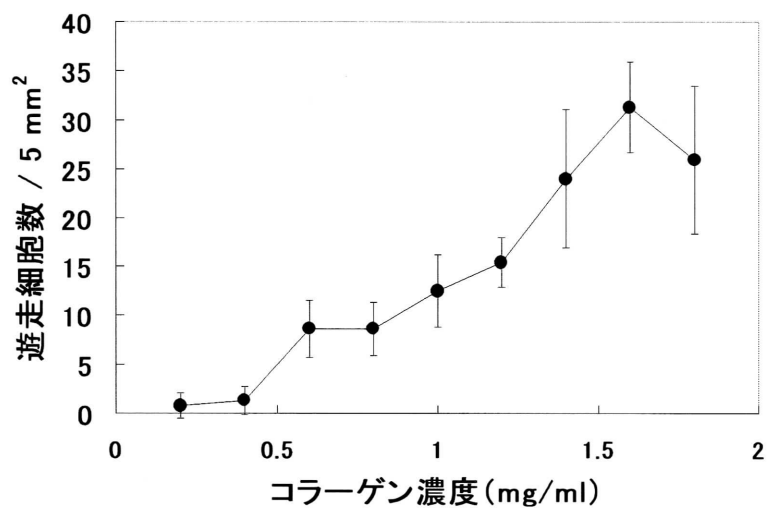


図 3 7 コラーゲン濃度が線維芽細胞のコラーゲンゲル上からゲル中への遊走活性へ及ぼす影響

濃度の異なるI型コラーゲンゲルを作製し、 1×10^5 細胞数の線維芽細胞をコラーゲンゲル上に植えつけ、3日間培養した。ゲル表面から100 μm よりも深く遊走した細胞数を測定し、遊走細胞数とした。5サンプルの平均値と標準偏差 \pm SDをプロットした。