

角膜実質細胞のコラーゲンゲル収縮作用に対する上皮細胞の影響

日比野 剛¹⁾, 和田 幸久¹⁾, 三島 弘¹⁾, 大鳥 利文¹⁾, 西田 輝夫²⁾

¹⁾近畿大学医学部眼科学教室, ²⁾山口大学医学部眼科学教室

要 約

角膜実質の創傷治癒過程における瘢痕収縮の機序を知る目的で、コラーゲンゲル内に培養した角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮作用および、それに対する角膜上皮細胞の影響を検討した。角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮作用は、培養5日目までのゲルの直径を計測することにより定量化した。角膜実質細胞によるコラーゲンゲルの収縮作用はウシ胎児血清存在下で認められ、細胞数に比例し、コラーゲン濃度には反比例した。角膜上皮細胞培養上清の添加によって、角膜実質細胞によるコラーゲンゲルの収縮は添加した角膜上皮細胞培養上清の濃度に依存して促進された。また、角膜実質細胞

のコラーゲンゲル収縮作用に対する促進効果は、培養3～7日目の角膜上皮細胞培養上清に認められた。以上の結果から、ウシ胎児血清存在下で角膜実質細胞はコラーゲンゲルを収縮させることが明らかとなった。また、角膜上皮細胞が角膜実質細胞によるコラーゲンゲルの収縮を促進する液性因子を産生することが示唆された。(日眼会誌 99:989-994, 1995)

キーワード：角膜創傷治癒, コラーゲンゲル収縮, 角膜実質細胞, 角膜上皮細胞

The Effect of Corneal Epithelial Cells on the Collagen Gel Contraction by Keratocytes

Tsuyoshi Hibino¹⁾, Yukihisa Wada¹⁾, Hiroshi Mishima¹⁾,
Toshifumi Otori¹⁾ and Teruo Nishida²⁾

¹⁾Department of Ophthalmology Kinki University School of Medicine

²⁾Department of Ophthalmology, Yamaguchi University School of Medicine

Abstract

To understand the mechanism of corneal stromal wound contraction, we investigated the effect of corneal epithelial cells on the collagen gel contraction by keratocytes. Subcultured rabbit keratocytes embedded in type I collagen gel were cultured. Rabbit corneal epithelial cells were also cultured and the cultured medium was collected and used as an epithelial cell conditioned medium (ECCM). The collagen gel contraction by keratocytes was estimated by measuring the diameter of the collagen disc once a day for 5 days. The diameter of the collagen gel decreased in proportion to the number of keratocytes in the presence of fetal calf serum (FCS), but it decreased in inverse proportion to the concentration of collagen. The collagen gel contrac-

tion by keratocytes was enhanced by the addition of ECCM in a dose dependent manner. This stimulatory activity was found in ECCM obtained from 3 to 7 day cultivation of corneal epithelial cells. These findings demonstrated that keratocytes contracted collagen gel in the presence of FCS. It also appeared that corneal epithelial cells secrete a factor or factors that stimulate the collagen gel contraction by keratocytes. (J Jpn Ophthalmol Soc 99:989-994, 1995)

Key words: Corneal wound healing, Collagen gel contraction, Keratocytes, Corneal epithelial cells

別刷請求先：589 大阪府大阪狭山市大野東 377-2 近畿大学医学部眼科学教室 日比野 剛
(平成7年1月31日受付, 平成7年4月25日改訂受理)

Reprint requests to: Tsuyoshi Hibino, M.D. Department of Ophthalmology, Kinki University School of Medicine,
377-2 Ohno Higashi, Osaka-Sayama-shi, Osaka-fu 589, Japan

(Received January 31, 1995 and accepted in revised form April 25, 1995)

I 緒 言

角膜実質部の創傷治癒では、損傷部周囲の角膜実質細胞が重要な役割を演じている。角膜実質が損傷を受けた場合、周囲から遊走してきた角膜実質細胞は傷害されたコラーゲン線維を貪食し、また、新しくコラーゲンやプロテオグリカンを合成して不透明な瘢痕組織を形成する¹⁾。さらに、この形成された瘢痕組織には収縮が生じる²⁾。近年、角膜形状を変化させて屈折異常を矯正しようとする屈折矯正手術が注目されているが、屈折矯正手術の問題点の一つとして屈折矯正効果が不安定であることが挙げられる³⁾。これは、術後長期にわたって角膜形状の変化が持続していることが原因で、この機序に実質細胞による瘢痕部のコラーゲンの収縮作用が関与しているものと考えられる。しかし、角膜実質における創傷部位に生じるコラーゲンの収縮の機構は明らかにされていない。

角膜創傷治癒過程では、上皮細胞と実質細胞が各々の細胞活性に相互的に影響していることが考えられている。実質細胞が産生するフィブロネクチンなどの細胞外マトリックスが上皮細胞の伸展移動を促進することが知られている⁴⁾。さらに、各々の細胞が種々の成長因子⁵⁾⁶⁾やサイトカイン⁷⁾を産生することが報告されており、これらの成長因子やサイトカインによる上皮細胞と実質細胞間の相互作用が推察されている。

生体では角膜実質細胞はコラーゲン線維間に存在しており、コラーゲン内での実質細胞の挙動を知ることは、角膜創傷治癒の過程を理解する上で重要である。このため、我々は角膜実質の *in vitro* モデルとして角膜実質細胞のコラーゲン内三次元培養法を確立し、この実質細胞のコラーゲンゲル培養法を用いて実質細胞の形態や増殖能について検討してきた⁸⁾⁹⁾。一方、皮膚などの組織における瘢痕収縮の *in vitro* モデルとして、線維芽細胞を同様にコラーゲンゲル内に培養する方法が用いられている^{10)~12)}。

今回、角膜実質の創傷治癒の機構を知る目的で、コラーゲンゲル内三次元培養法を用いて培養角膜実質細胞によるコラーゲンゲルの収縮作用を検討し、さらに、角膜実質細胞によるコラーゲン収縮作用に及ぼす角膜上皮細胞の影響を検討した。

II 方 法

1. 材料および試薬

白色家兎(日本在来種、雌、体重2~3 kg)は北摂産業から購入した。0.25%トリプシン溶液、0.02% EDTA 溶液、tissue culture medium 199 (TC-199) 培養液、minimum essential medium (MEM) 培養液は阪大微生物病研究会、ウシ胎児血清 (FCS) は Boehringer Mannheim 社、細胞培養用ブタ腱由来 I 型コラーゲン (Cell Matrix

type Ia[®]) は新田ゼラチン社、ディスパーゼは合同酒精、細菌性コラーゲナーゼは Sigma 社、プラスチック培養皿 (24 穴培養皿) は Costar 社から購入した。

2. 実験方法

1) 角膜上皮細胞および角膜実質細胞の培養

家兎をペントバルビタールナトリウム (ネンブタール[®]) 静脈注射で麻酔死させ、速やかに眼球を摘出し、角膜片を作製した。内皮細胞をデスマ膜とともに機械的に除去した後、残った角膜をディスパーゼ (2 mg/ml) と反応させて角膜上皮層を採取した。さらに、上皮層を 0.01% EDTA、0.125% トリプシン混合溶液中で 10 分間培養して単細胞浮遊液を作製し、162 cm² 培養用フラスコ内で 15% FCS を含む TC-199 培養液中で培養した。

また、角膜実質に細菌性コラーゲナーゼ溶液 (1 mg/ml) を添加してコラーゲンを溶解し、遊離した角膜実質細胞を 10% FCS を含む MEM 培養液中で継代培養した。今回の実験では、角膜実質細胞は培養 4~5 代の細胞を用いた。

2) 角膜上皮細胞培養上清の作製

角膜上皮細胞を 162 cm² 培養用フラスコ内で 15% FCS を含む TC-199 培養液で 3 日間培養した後、FCS 無添加の TC-199 培養液に交換した。さらに、3 日間培養した後、培養上清を回収し、遠心 (80 G×10 min) によって細胞成分を除去し、角膜上皮細胞培養上清 (ECCM) として実験に用いた。

3) 角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮作用

角膜実質細胞のコラーゲンゲル内培養は既報⁸⁾のごとく行った。低温下に保ったコラーゲン塩酸溶液 (3 mg/ml)、中和用緩衝液 (0.0875 N NaOH, 0.455 M NaHCO₃, 350 mM HEPES)、8.75 倍濃度の MEM 培養液、FCS を 28:1:2:2 の割合で混合し、速やかに中性化させた。その後、コラーゲン溶液と角膜実質細胞浮遊液を 5.5:1 の比率で混和し、あらかじめウシ血清アルブミン (10 mg/ml) でコートした 24 穴培養皿上 (直径 17 mm) に 300 μl 注入し、37°C incubator 内でゲル化させた (最終濃度: 10% FCS, コラーゲン濃度 1.90 mg/ml)。その後、種々の濃度の FCS を含む TC-199 培養液および ECCM を重層し、一定時間培養した。角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮作用は経時的にゲルの直径を計測することによって定量化した。また、実質細胞のコラーゲンゲル収縮活性を評価するために、培養開始時のゲルの直径 (17 mm) と培養 5 日目のゲル直径から、以下の式を用いて収縮係数 (contraction index, CI) を算出した。

$$CI =$$

$$\frac{\text{培養開始時のゲルの直径 (17 mm)} - \text{培養 5 日目のゲルの直径}}{\text{培養開始時のゲルの直径 (17 mm)}}$$

III 結 果

1. 角膜実質細胞数がコラーゲンゲル収縮に及ぼす影響

角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮作用を検討するために、まず、細胞数によるコラーゲンゲル収縮に対する影響を検討した。コラーゲンゲル内に角膜実質細胞を各々 0, 3×10^3 , 1×10^4 , 3×10^4 個包埋し、FCS 濃度 12.5%, コラーゲンゲル濃度 1.90 mg/ml の条件下で培養した。5 日間の培養期間中、角膜実質細胞を包埋していないコラーゲンゲルではゲルの収縮は全く認められなかった。一方、実質細胞を包埋したコラーゲンゲルでは培養 1 日目からゲルの収縮が認められ、培養時間に比例してゲル直径の減少を認めた。さらに、コラーゲンゲル内に包埋した細胞数が増加するに従ってコラーゲンゲルの収縮は促進され、 3×10^4 個の細胞を包埋したコラーゲ

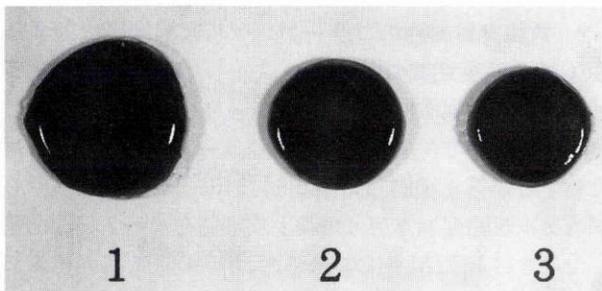


図1 培養 5 日目のコラーゲンゲル。

角膜実質細胞 (3.0×10^4 個) をコラーゲンゲル内に包埋し 5 日間培養した。12.5% FCS 存在下 (中) では、非存在下 (左) に比しゲルの収縮を認める。また、ECCM を添加するとゲルがさらに収縮していることが認められる (右)。

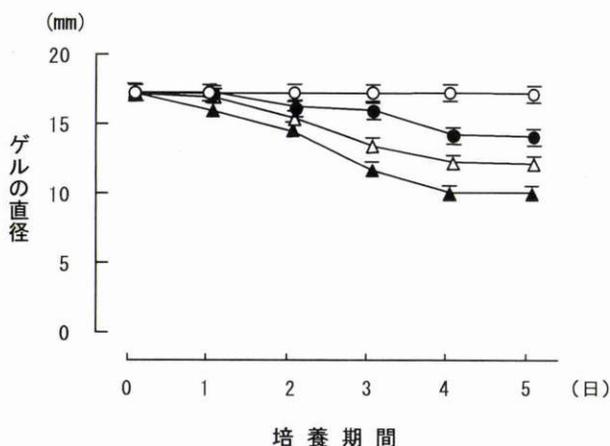


図2 角膜実質細胞数がコラーゲンゲル収縮に及ぼす影響 (平均値±標準誤差, n=4)。

角膜実質細胞数. 白丸: 0, 黒丸: 3.0×10^3 個, 白三角: 1.0×10^4 個, 黒三角: 3.0×10^4 個, ウシ胎児血清 (FCS) 濃度 12.5%, コラーゲンゲル濃度 1.90 mg/ml

ンゲルでは培養 5 日目でゲルの直径は約 11 mm となった (図 1, 2). このことから、角膜実質細胞がコラーゲンゲルを収縮させることが明らかとなった。

2. FCS がゲル収縮に及ぼす影響

角膜実質細胞のコラーゲンゲル収縮作用に対する FCS の影響を検討するために、種々の濃度 (0%, 3.13%, 6.25%, 12.5%) の FCS 存在下でコラーゲンゲル内に角膜実質細胞 (3×10^4 個) を培養した。図 3 に示すように、FCS 無添加の条件ではコラーゲンゲルの収縮は認められなかった。一方、FCS を添加して培養すると、添加した FCS の濃度依存的にコラーゲンゲルの収縮は促進された。このことから、角膜実質細胞によるコラーゲンゲルの収縮には FCS が必要であることが明らかとなった。

3. コラーゲン濃度がゲル収縮に及ぼす影響

角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮に及ぼすコラーゲン濃度の影響を検討した。種々の濃度のコラーゲンを含むコラーゲンゲル (0.24 mg/ml, 0.48 mg/ml, 0.95 mg/ml, 1.90 mg/ml) 内に角膜実質細胞 (3×10^4 個) を包埋し、FCS 濃度 12.5% の条件下で培養し、コラーゲンゲル直径の変化を計測した。図 4 に示すように、コラーゲンゲルはコラーゲン濃度が低くなるに従ってより収縮し、コラーゲン濃度 0.24 mg/ml のコラーゲンゲルでは培養 3 日目にはゲルの直径は約 4 mm となった。このことから、角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮作用はゲルのコラーゲン濃度に反比例することが明らかとなった。

4. ECCM がゲル収縮に及ぼす影響

角膜実質細胞のコラーゲンゲル収縮作用に対する角膜上皮細胞の影響を知る目的で、角膜実質細胞をコラーゲ

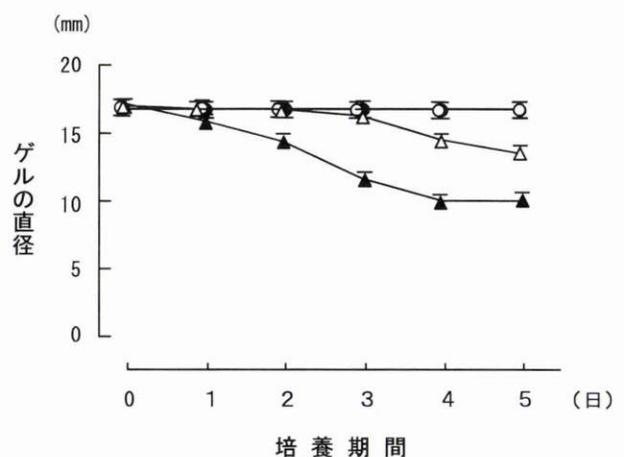


図3 角膜実質細胞のコラーゲンゲル収縮作用に対するウシ胎児血清 (FCS) の影響 (平均値±標準誤差, n=4)。

ウシ胎児血清 (FCS) 濃度. 白丸: 0%, 黒丸: 3.13%, 白三角: 6.25%, 黒三角: 12.5%, 角膜実質細胞数 3.0×10^4 個, コラーゲンゲル濃度 1.90 mg/ml

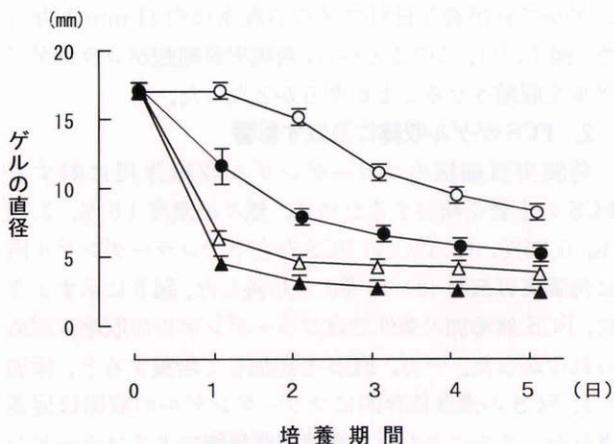


図4 角膜実質細胞のコラーゲンゲル収縮作用に対するコラーゲンゲル濃度の影響 (平均値±標準誤差, n=4).
コラーゲンゲル濃度. 白丸: 1.90 mg/ml, 黒丸: 0.95 mg/ml, 白三角: 0.48 mg/ml, 黒三角: 0.24 mg/ml, ウシ胎児血清 (FCS) 濃度 12.5%, 角膜実質細胞数 3.0×10^4 個

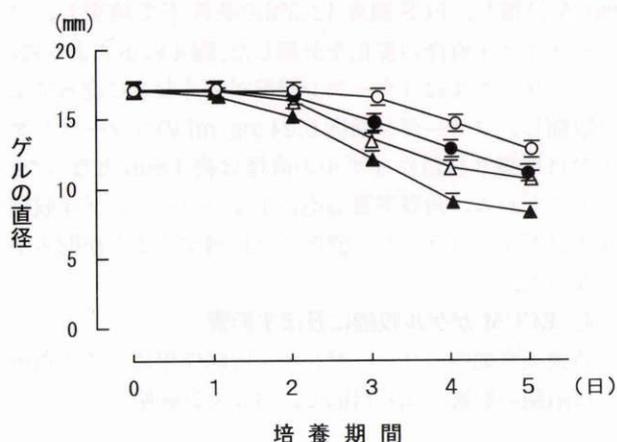


図5 角膜実質細胞のコラーゲンゲル収縮作用に対する角膜上皮細胞培養上清 (ECCM) の影響 (平均値±標準誤差, n=4).
ウシ胎児血清 (FCS) 濃度 12.5%, 角膜実質細胞数 3.0×10^4 個/well, 角膜上皮細胞培養上清 (ECCM) 濃度. 白丸: 0%, 黒丸: 20%, 白三角: 30%, 黒三角: 40%

ゲル内に包埋し, 12.5% FCS を含む培養液中に種々の濃度 (0%, 20%, 30%, 40%) の ECCM を添加して培養した. 図5に示すように, ECCM 無添加群ではコラーゲンゲルの収縮は培養3日目から生じ, 培養5日目まで収縮が進行した. 一方, ECCM を添加した群では培養2日目からコラーゲンゲルの収縮が開始し, さらに, 添加した ECCM の濃度に依存してコラーゲンゲルの直径がより縮小することが認められた (図1, 5). 以上のことから, ECCM が角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮作用を濃度依存的に促進することが明らかとなった.

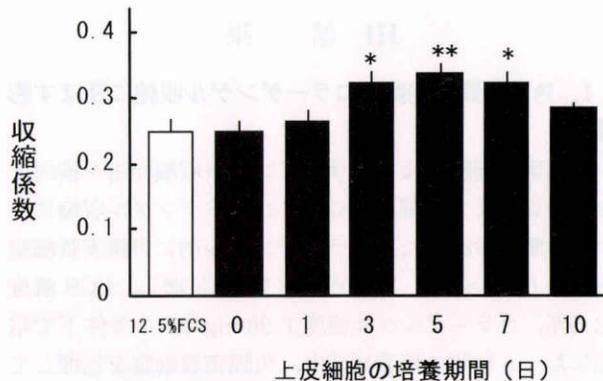


図6 角膜実質細胞のコラーゲンゲル収縮作用に対する角膜上皮細胞の培養期間の影響 (平均値±標準誤差, n=4).
ウシ胎児血清濃度 12.5%, 角膜実質細胞数 3.0×10^4 個, 角膜上皮細胞培養上清 (ECCM) 濃度 40%, 対照: 10% ウシ胎児血清 (FCS) TC 199. *: p<0.05, **: p<0.01

5. 角膜実質細胞のコラーゲンゲル収縮作用に対する ECCM の培養期間の影響

角膜上皮細胞を種々の期間培養し (0~10日), その培養上清を用いて角膜実質細胞のコラーゲンゲル収縮作用に対する影響を検討した (図6). ECCM によるコラーゲンゲル収縮促進作用は角膜上皮細胞を3~7日間培養したときの ECCM 中に認められ, 培養期間5日の ECCM の作用が最も強かった.

IV 考 按

今回の結果から, FCS 存在下でコラーゲンゲル内に培養した角膜実質細胞がコラーゲンゲルを収縮させることが明らかとなった. コラーゲンゲルの収縮量は角膜実質細胞数および FCS 濃度に比例し, コラーゲン濃度に反比例して促進された. さらに, ECCM がこの角膜実質細胞によるコラーゲンゲルの収縮作用を促進することが明らかとなった.

細胞によるコラーゲンゲルの収縮作用に関しては, 皮膚線維芽細胞¹⁰⁾¹²⁾やメラノーマ細胞¹³⁾を用いた研究が報告されている. 眼科領域においても培養網膜色素上皮細胞によるコラーゲンゲル収縮活性が報告^{14)~16)}された. しかし, 現在まで, 細胞によるコラーゲンゲル収縮の機構は完全には解明されていない. Guidry ら¹¹⁾はコラーゲンゲル上でヒトの皮膚線維芽細胞を培養し, コラーゲンゲルの体積が 85% 以上減少したにも関わらず, 分解されたコラーゲン量は 5% にすぎなかったことから, コラーゲンゲルの収縮は細胞によるコラーゲンゲル線維の分解や再合成よりむしろ, それ以前に存在するコラーゲンゲル線維の物理的な再編成によるものであると推測している. また, サイトカラシン D の添加によりコラーゲンゲルの収縮は完全に抑制されたことから, コラーゲンゲル

の収縮には細胞内骨格系, すなわちアクチンフィラメントが関与していると報告している. 角膜実質細胞をコラーゲンゲル内に包埋しても, プラスミンなどの蛋白分解酵素がない条件では実質細胞のコラーゲンの分解はほとんど認められない¹⁷⁾. このことから, 本研究でのコラーゲンゲル収縮作用にも実質細胞によるコラーゲン分解機序は関与していないと考えられる. 我々も本実験系ではコラーゲンの分解が生じていないことを確認している.

細胞とコラーゲンなどの細胞外マトリックスとの接点として, 細胞表面の細胞外マトリックス蛋白質に対する受容体であるインテグリンファミリーが知られており¹⁸⁾¹⁹⁾, インテグリン $\alpha_2\beta_1$ が細胞のコラーゲンに対する受容体であることが報告²⁰⁾²¹⁾されている. インテグリン $\alpha_2\beta_1$ に対するモノクローナル抗体を用いた実験でヒト線維芽細胞, メラノーマ細胞および網膜色素上皮細胞によるコラーゲンゲルの収縮が抑制されたことから, 細胞によるコラーゲンゲル収縮作用にインテグリン $\alpha_2\beta_1$ が関与していることが示唆されている¹¹⁾¹³⁾²²⁾²³⁾. しかし, 角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮にインテグリン $\alpha_2\beta_1$ が関与しているかについては今後検討する必要があると思われる.

細胞によるコラーゲンゲル収縮において細胞増殖による影響も考えられる. しかし, 皮膚線維芽細胞のコラーゲンゲルが収縮するに従って, より抑制されたと報告¹²⁾されており, また, 我々も以前にコラーゲンゲル内に培養した角膜実質細胞はコラーゲン濃度に依存して細胞増殖が抑制されることを報告⁸⁾している. これらのことから, 今回の角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮作用には細胞の増殖の影響は少ないものと考えられる.

今回の実験では, 角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮作用には血清の存在が必要であることが認められた. 線維芽細胞によるコラーゲンゲル収縮作用においても血清の必要性が報告¹¹⁾されている. コラーゲンゲル収縮に関与する因子について, 種々の成長因子やサイトカインが検討されており, TGF- β 単独²⁴⁾²⁵⁾あるいはIL-1と同時に添加した場合¹⁵⁾やPDGF²⁶⁾²⁷⁾, EGF²⁸⁾, 低濃度のb-FGFの添加²⁵⁾によってゲル収縮が促進する. 一方, 高濃度のb-FGF²⁵⁾やINF- γ ²⁷⁾を添加するとゲル収縮を抑制することが報告されている. しかし, 血清による作用が実際にこれらの因子を介して行われているかは未だ明らかではなく, 今後検討する必要がある.

さらに今回の実験では, 角膜上皮細胞が実質細胞によるコラーゲン収縮を促進させる因子を産生していることが明らかとなった. 現在までに上皮細胞がTGF- β ⁶⁾, EGF⁵⁾やIL-1⁷⁾などの種々の成長因子やサイトカインを産生することも報告されている. これらの成長因子やサイトカインは, 角膜実質細胞の種々の活性に影響することから⁶⁾¹⁷⁾²⁸⁾, 上皮細胞がこれらの因子を介して実質細胞に作用していることが推測されている. しかし, 今回認

められた角膜上皮細胞由来の角膜実質細胞によるコラーゲンゲル収縮促進因子が, これらの因子と同一のものであるかは不明であり, この点について今後検討する必要がある. 今後, この因子を検討することにより, 角膜の創傷治癒における角膜上皮細胞と角膜実質細胞の相互作用が, なお一層明らかなものにされると考えられる.

文 献

- 1) Cintron AC, Schneider H, Kublin C: Corneal scar formation. *Exp Eye Res* 17: 251-259, 1973.
- 2) Bores LD: *Refractive eye surgery*. Blackwell SP, Boston, 1993.
- 3) Seilar T, Wollensak J: Myopic photorefractive keratectomy with the excimer laser. *Ophthalmology* 98: 1156-1163, 1991.
- 4) Nishida T, Ohashi Y, Awata T, Manabe R: Fibronectin: A new therapy for corneal trophic ulcer. *Arch Ophthalmol* 101: 1046-1048, 1983.
- 5) Frati L, Daniele S, Delogu A, Covelli I: Selective binding of the epidermal growth factor and its specific effects on the epithelial cells of the cornea. *Exp Eye Res* 14: 135-141, 1972.
- 6) Hayashi K, Frangieh G, Wolf G, Kenyon KR: Expression of transforming growth factor- β in wound healing of vitamin A-deficient rat corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30: 239-247, 1989.
- 7) 坂本真栄, 稲田捷也, 千葉可芽里, 吉田昌男, 田澤豊: 人眼角膜上皮細胞によるインターロイキン6およびインターロイキン1 α の産生. *日眼会誌* 95: 728-732, 1990.
- 8) Nishida T, Ueda A, Fukuda M, Mishima H, Yasumoto K, Otori T: Interactions of extracellular collagen and corneal fibroblast: Morphologic and biochemical changes of rabbit corneal cells cultured in a collagen matrix. *In Vitro Cell Dev Biol* 10: 1009, 1988.
- 9) Ueda A, Nishida T, Otori T, Fujita H: Electron microscopic studies on the presence of gap junctions between corneal fibroblasts in rabbits. *Cell Tissue Res* 249: 473-475, 1987.
- 10) Bell E, Ivarsson B, Merrill C: Production of a tissue-like structure by contraction of collagen lattices by human fibroblasts of different proliferative potential *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 1274, 1979.
- 11) Guidry C, Grinnell F: Studies on the mechanism of hydrated collagen gel reorganization by human skin fibroblast. *J Cell Sci* 79: 67-81, 1985.
- 12) Yoshizato K, Taira T, Yamamoto N: Growth inhibition of human fibroblasts by reconstituted collagen fibrils. *Biomed Res* 6: 61-71, 1985.
- 13) Klein CE, Dressel D, Steinmayer T, Mauch C, Eckes B, Krieg T, et al: Integrin $\alpha_2\beta_1$ is upregulated in fibroblasts and highly aggressive melanoma cells in three-dimensional collagen lattices and mediates the organization of collagen I fibrils. *J Cell Biol* 115: 1427-1436, 1991.

- 14) **Guidry C, McFarland RJ, Morris R, Wither- spoon CD, Hook M**: Collagen gel contraction by cells associated with proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 2429—2435, 1992.
- 15) **Hunt RC, Fox A, Pakalnis VA, Sigel MM, Kosnosky W, Choudhury P, et al**: Cytokines cause cultured retinal pigment epithelial cells to secrete metalloproteinases and to contract collagen gels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34: 3179—3186, 1993.
- 16) 唐沢容子, 矢島保道, 沖坂重邦: 硝子体収縮のモデル系としてのコラーゲン内細胞培養. 第1報. ゲル内の細胞の種類とゲル収縮との関係. *日眼会誌* 92: 2053—2062, 1988.
- 17) 岡本純之助: 角膜実質細胞によるコラーゲン分解の調節機序について. *近畿大医誌* 19: 243—256, 1994.
- 18) **Hynes RO**: Integrins: A family of cell surface receptors. *Cell* 48: 549—554, 1987.
- 19) **Buck CA, Horwitz AF**: Cell surface receptors for extracellular matrix molecules. *Annu Rev Cell Biol* 3: 179—205, 1987.
- 20) **Staatz WD, Rajpara SM, Wayner EA, Carter WG, Santoro SA**: The membrane glycoprotein Ia-IIa (VLA-2) complex mediates the Mg^{++} -dependent adhesion of platelets to collagen. *J Cell Biol* 108: 1917—1924, 1989.
- 21) **Staatz WD, Fok K, Zutter MM, Adams SP, Rodriguez BA, Santoro SA**: Identification of a tetrapeptide recognition sequence for the $\alpha_2\beta_1$ integrin in collagen. *J Biol Chem* 266: 7363—7367, 1991.
- 22) **Schiro JA, Chan BMC, Roswit WT, Kassner PD, Pentland AP, Helmer ME, et al**: Integrin $\alpha_2\beta_1$ (VLA-2) mediates reorganization and contraction of collagen matrices by human cells. *Cell* 67: 403—410, 1991.
- 23) **Hunt RC, Pakalnis VA, Choudhury P, Black EP**: Cytokines and serum cause $\alpha_2\beta_1$ integrin-mediated contraction of collagen gels by cultured retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35: 955—963, 1994.
- 24) **Montesano R, Orci L**: Transforming growth factor β stimulates collagen-matrix contraction by fibroblasts: Implication for wound healing. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 4849—4897, 1988.
- 25) **Finesmith TH, Broadley KN, Davidson JM**: Fibroblast from wounds of different stages of repair vary in their ability to contract a collagen gel in response to growth factors. *J Cell Biol* 144: 99—107, 1990.
- 26) **Clark RAF, Folkvord JM, Hart CE, Murray MJ, McPherson JM**: Platelet isoforms of platelet-derived growth factor stimulate fibroblasts to contract collagen matrices. *J Clin Invest* 84: 1036—1040, 1989.
- 27) **Dans MJ, Isseroff R**: Inhibition of collagen lattice contraction by pentxifylline and interferon- α , - β , and - γ . *J Invest Dermatol* 102: 118—121, 1994.
- 28) **Assouline M, Chew SJ, Thompson HW, Beuerman R**: Effect of growth factors on collagen lattice contraction by human keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 1742—1755, 1992.