

피부 섬유아세포에서의 교원질 및 Fibronectin 유전자의 발현*

계명대학교 의과대학 피부과학교실

노용지 · 이규석

서 론

피부 및 여러 장기의 세포외기질은 교원질과 비교 원질 성분의 복잡한 복합체이다. 피부 뿐만 아니라 여러 조직에서 정상적인 생리작용을 위해 세포외기질은 적당량과 상호작용이 필요하다. 그러므로 섬유아세포에서 세포외 기질 유전자의 발현을 조사 연구하여 정상 생물학적 및 생화학적 작용을 이해하는 것이 이에 관계된 질환의 병인을 밝혀 내는데 중요한 역할을 할 것이다.

교원질은 섬유아세포에서 생성되어 세포외로 분비되며, 세포외 기질의 대부분을 이루고 피부조직 무게의 70~80%를 담당하며, 유전학적으로 독특한 단백질군으로서 인체에는 I, III, IV, V, VI 및 VII 형 등의 6종류가 있다. 진피내 교원질 성분은 I 형과 III 형이 대부분으로 교원질의 95%를 차지하고, 비교교원질 성분으로 fibronectin이 대표적이다. IV 형 교원질과 laminin은 기저세포막을 구성하는 주요한 성분이다^{1~3)}.

저자들은 피부 진피 섬유아세포가 태반조직에서 교원질 및 fibronectin 유전자가 어떻게 발현되는가를 비교 분석하여, 진피에 발생하는 여러 질환의 병인 연구에 기초자료를 얻고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

정상으로 보이는 피부 조직을 생검하여 잘게 썰어 10% fetal calf serum을 첨가한 Dulbecco's

modified Eagle's medium(DMEM)으로 37°C, 5% CO₂ 조건 하에 배양하고 trypsinization으로 계대배양 한 뒤 3~6세대의 피부 섬유아세포를 얻었다. 성별 및 연령에 맞추어 선택한 산모에서 태반 조직을 얻어 즉시 -70°C에 냉동한 다음 300mg씩 조직분쇄기로 분해하여 그 추출액을 채취하였다.

2. 실험방법

1) RNA 분리

RNA 분리는 chloroform isoamylalchol 추출액⁴⁾을 이용하여 다음과 같이 시행하였다. 배양된 섬유아세포와 조직분쇄기로 분해하여 채취한 태반 조직 추출액 각각을 pH 7.0의 guanidium thiocyanate 완충액(이하 GT buffer)에 모은 뒤 chloroform-isoamylalchol, 2 M Na-acetate와 phenol을 첨가한 후 4°C에서 20분간 10,000rpm으로 원심분리한 다음 상층부를 채취하여 isopropanol을 첨가하고 다시 30분간 원심분리하여 침전물을 얻어, GT buffer에 녹였다. 1시간 이상 -70°C에서 저장한 뒤 다시 원심분리 한다음 depc(diethylpyrocarbonate)-treated water에 녹여 spectrophotometer로 260nm에서 RNA 농도를 측정하였다.

2) cDNA probe 정제

I 형 교원질은 1.8 kb pro $\alpha 1(I)$ collagen cDNA, III 형 교원질은 1.32kb pro $\alpha 1(III)$ collagen cDNA, 1.3 kb fibronectin cDNA, 및 2.0 kb β -actin cDNA 등으로 형질변형 시킨⁵⁾ *escherichia coli* 균주 HB 101에서 Triton-lysozyme 방법⁶⁾으로 각각의 plasmid DNA를 분리하여 Yang 등⁷⁾의 방법으로 cDNA를 정제하였다.

Nick translation⁸⁾은 각각의 cDNA 탐지자를 ³²P로 표지(labeling)시키는 과정으로 cDNA 25 μ g

* 이 논문은 1991년도 계명대학교 을종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌음

$/\mu\ell$, ^{32}P -dCTP $2\ \mu\ell$, dATP, dGTP, dTTP $3\ \mu\ell$, $10\times$ buffer $2\ \mu\ell$, enzyme mixture $2\ \mu\ell$ 를 혼합하여 15°C 에서 60분간 가온한 다음 stop buffer $2\ \mu\ell$ 을 첨가하여 반응을 중단시켰다 cDNA는 특이 활성도가 $1\times 10^8\ \text{cpm}/\mu\text{g}$ 이상되게 하였다

3) Northern blot 및 slot-blot 유전자 재결합반응

Northern blot 분석을 하기위하여 추출한 RNA 표본을 formaldehyde 및 formamide로 변성시킨 후 0.8% agarose gel에 $10-30\text{v}$ 전압으로 18시간 동안 전기영동⁹⁾하여 RNA를 분절 시킨다음 nitrocellulose filter(Bio-Rad Laboratories)에 약 12시간동안 전이 하였다¹⁰⁾

Slot-blot 분석^{11, 12)}은 먼저 RNA 표본을 formaldehyde로 변성시킨 후 40, 20, 1.0 및 $0.5\ \mu\text{g}$ 4단계로 희석한 뒤 vacuum minifold(Schleicher & schuell)를 이용하여 nitrocellulose filter 위에 점적하였다.

상기의 방법으로 얻은 각각의 필터들을 공기건조시킨 후, 78°C 에서 1시간 30분동안 가온하여 RNA를 필터에 결합시켰다 그런다음 필터는 0.75M NaCl, 0.075M Na-citrate, 0.5M Na-phosphate, 0.02% polyvinylpyrrolidone, salmon sperm DNA 및 50% formamide를 함유한 용액에 42°C 에서 12시간 동안 prehybridization하였다 RNA-cDNA 유전자 재결합반응은 ^{32}P 표지 cDNA probe가 함유된 상기 용액에 42°C 에서 24시간 시행하였다 표적 mRNA와 유전자 재결합반응을 시킨 필터는 0.03M NaCl/ 30mM Na-citrate로 설온에서, 그리고 0.12M NaCl/ 15mM Na-citrate, 75mM NaCl/ 7.5mM Na-citrate/ 0.1% NaDODSO₄ 및 37.5mM NaCl/ 3.75mM Na-citrate/ 0.1% NaDODSO₄로는 65°C 에서 각각 10분간 세척하였다 그런다음 필터는 공기건조시켜 강화 스크린이 장치된 카셋트안의 x-ray 필름(Kodak)에 -70°C 에 3일간 노출시킨 다음 현상하였다. mRNA량의 측정은 IBM 컴퓨터 연결된 음영농도 계측기를 사용하여 정량하고, 수치는 cDNA 탐지자 각자의 특이활성 및 cDNA의 크기, 그리고 교원질 chain 구성비에 따라 교정하였다

성 적

1. 교원질 및 fibronectin mRNA의 Northern blot 분석

피부조직과 태반조직으로부터 RNA를 분리한 후 Northern blot 분석을 한 결과 ^{32}P 표지 pro $\alpha 1$ (I) collagen, pro $\alpha 1$ (III) collagen, fibronectin 및 β -actin cDNA 소식자와 유전자 재결합 특이성을 보였다 pro $\alpha 1$ (I) 및 pro $\alpha 1$ (III) collagen은 분자크기가 각각 5.8kb , 4.8kb 및 5.4kb , 4.8kb 인 다형성 mRNA transcripts 소견을 fibronectin 및 β -actin은 분자크기가 각각 8.0kb 및 2.0kb 인 단형성 mRNA transcript 소견을 보였다(Fig 1)

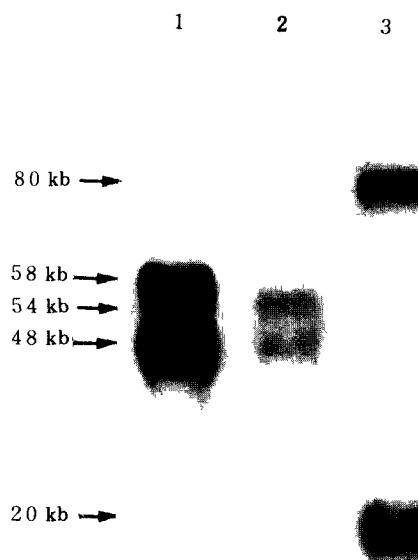


Fig 1 Northern transfers analysis of pro $\alpha 1$ (I) collagen(lane 1), pro $\alpha 1$ (III) collagen(lane 2), fibronectin(lane 3), and β -actin(lane 3) specific mRNA transcripts from skin fibroblasts

2. 세포외 기질 mRNA의 정량

Slot-blot 분석을 통하여 각종 세포외 기질의 RNA량을 조사하였다(Fig 2) 피부와 태반의 결체 조직의 대부분을 차지하는 I형, III형 교원질 및 fibronectin, β -actin의 mRNA양을 정량 하였다

I형 교원질은 피부와 태반에서 각각 0.79 ± 0.185 unit(μ g), 0.042 ± 0.011 u/ μ g, III형 교원질은 각각 1.78 ± 0.046 u/ μ g, 0.056 ± 0.017 u/ μ g, fib-

ronectin은 각각 0.082 ± 0.007 u/ μ g, 0.047 ± 0.011 u/ μ g, 그리고 β -actin은 각각 0.136 ± 0.041 u/ μ g, 0.071 ± 0.015 u/ μ g 이었다. 따라서 I, III형 교원질 및 fibronectin mRNA의 양은 피부 섬유아세포에서 태반 조직에서 보다 각각 18.8배, 3.2배, 1.7배 상대적으로 더 많았다(Table 1) I / III형 교원질 비는 각각 4.4 및 0.75이었다. 그리고 피부섬유아세포에서는 I형 교원질 mRNA양이 전체 세포외 기질

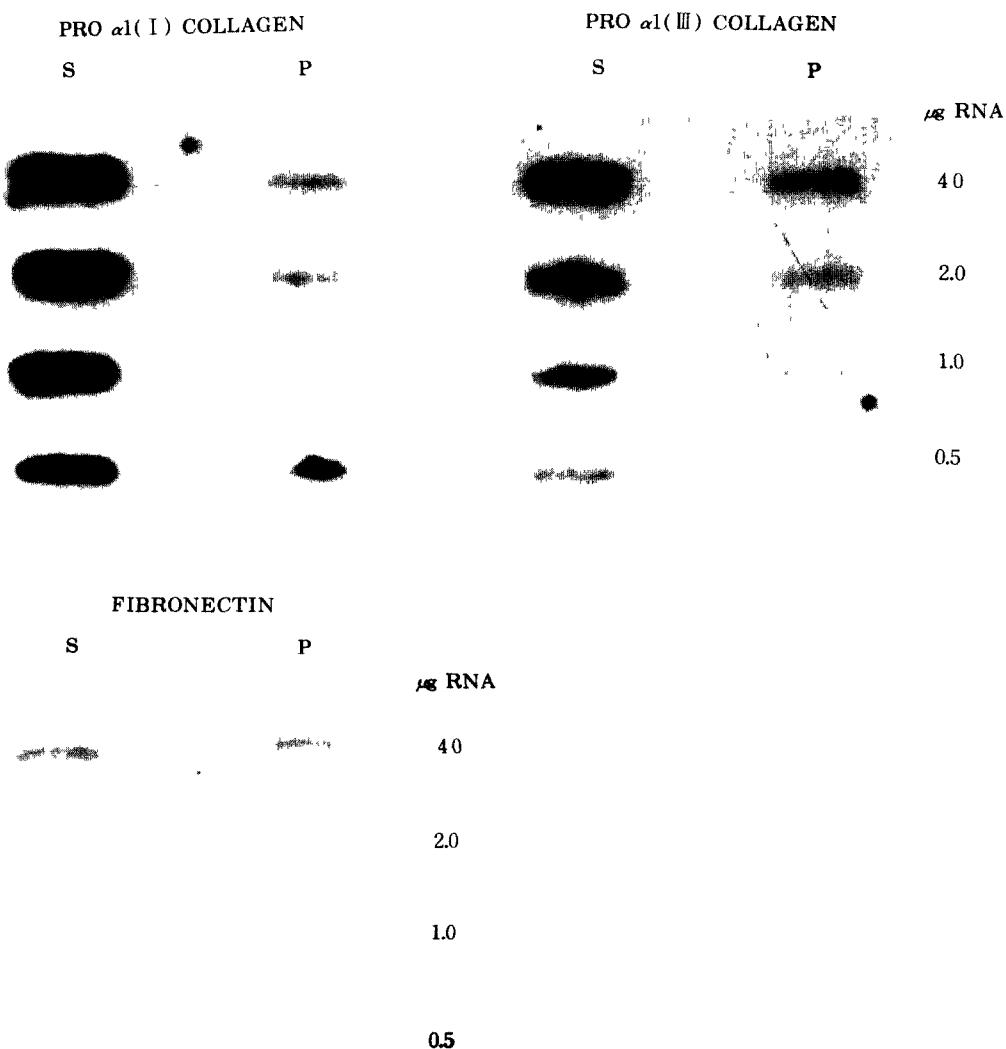


Fig 2. Slot-blot hybridization of RNA isolated from skin(S) fibroblasts or placenta(P). Total RNA was isolated, and different amounts, 4.0, 2.0, 1.0, and 0.5 μ g, were dotted nitrocellulose filters.

Table 1. Quantitation of pro $\alpha 1(I)$ collagen, pro $\alpha 1(III)$ collagen, fibronectin mRNA levels in human skin fibroblasts and placental tissues

	Skin(S)	Placenta(P)	S/P Ratio
$\alpha 1(I)$ collagen	0.790 \pm 0.185	0.042 \pm 0.011	18.8
$\alpha 1(III)$ collagen	0.178 \pm 0.046	0.056 \pm 0.017	3.2
Fibronectin	0.082 \pm 0.007	0.047 \pm 0.011	1.7

의 약 75% 차지하고 III형 교원질 mRNA는 17%인 반면, 태반조직에서는 오히려 III형 교원질 mRNA 이 I형 교원질 보다 많았다(Fig 3) 이상의 결과에 의하면 피부섬유아세포에서는 I형 및 III형 교원질 mRNA를 주로 발현하며 특히 I형 교원질이 대부분 차지하고 있고, 태반조직에는 I, III형 교원질 및 fibronectin 유전자가 비슷한 양으로 발현되었으며 발현량 또한 피부조직에 비해 많지 않았다

고 찰

분자생물학의 발달로 성상피부조직 및 다른 장기조직의 기초 생화학 및 생물학적 재현상을 비교 연구하기 위해 섬유아세포가 세포외 기질 유전자를 어떻게 발현하는가를 조사하는 것이 가능하게 되었고, 피부조직과 다른 장기조직을 대상으로 비교실험하여 피부조직에서의 세포외기질 유전자의 발현

양상을 보다 명확하게 규명하게 되었다 또한 최근에는 경파증¹³⁻¹⁴⁾, 웰로이드¹⁵⁻¹⁷⁾ 등 여러질환의 병인을 알아내는데 섬유아세포에서 각종 교원질 및 fibronectin 등의 세포외 기질 mRNA를 분석하고 있다 mRNA를 분석 및 검출하는 방법으로 Northern blot, Slot-blot 및 In situ hybridization 등이 있는데, Northern blot 유전자 재결합 방법은 RNA 복합체에서 hybridization probe에 상응하는 특이한 mRNA의 문자크기를 분석하며¹⁸⁾, Slot-blot 분석은 표본내 RNA의 정량적 분석이 가능하고, In situ hybridization은 세포내 및 조직표본에서 표적 DNA 또는 mRNA를 직접 검출하여 그 분포와 발현 양상을 규명할 수 있다¹⁹⁾

교원질은 3개의 다단백질 즉 alpha-chain의 triple helix를 형성하고 있는데 구성하는 alpha-chain의 종류에 따라 교원질은 약 13종류가 있으며 그 중에서 사람의 피부에는 I, II, IV, V, VI, VII형의 6종류의 교원질이 밝혀져 있다^{1,2)} 그리고 25종류의 alpha-chain들은 각각 독특한 유전자의 산물로 생산되고 있다 성인의 피부진피에 존재하는 세포외 기질의 대부분은 교원질이며 이중 I형 교원질이 80-85%, III형 교원질이 10-15%를 차지한다¹⁾ 이 외에도 IV형, V형 및 VII형 교원질과 elastin, proteoglycan, heparan sulfate, fibronectin, laminin 등의 비교교원질 성분들이 역시 피부진피의 세포외 기질을 이루고 있다¹⁻³⁾ 진피와 표피를 구분하는 표피 진피 경계부는 이와는 다르게 IV형 교원질과

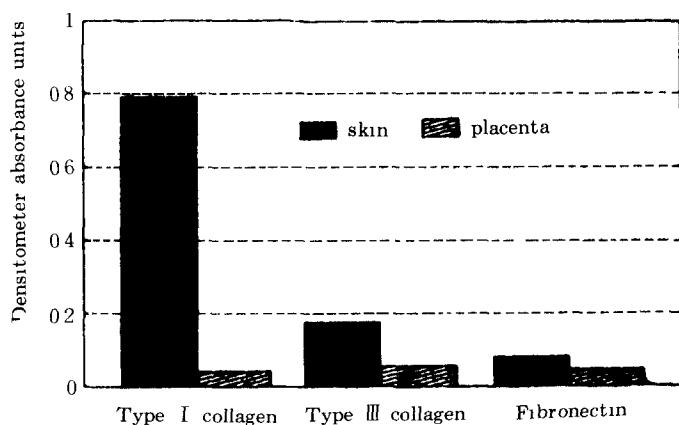


Fig 3 Steady-state levels of type I, III procollagen, and fibronectin mRNA in skin(S) fibroblasts and placenta(P)

Laminin이 주성분으로 되어 있다. 이러한 양상은 피부조직과 다른 장기조직에서 유사하나 조금씩 그 구성비가 다르다. I형 교원질은 30~35nm의 cross banded fiber들의 large fiber bundle로 존재하고 III형 교원질은 10~15nm의 beaded fiber들이 I형 교원질과 meshwork를 형성하고 있다. fibronectin은 이러한 세포외 기질과 세포사이를 유착시키는 중요한 작용을 한다²⁰⁾

이 연구의 결과에서도 I형 교원질은 피부와 태반에서 각각 0.790 ± 0.185 unit(u) μg , 0.042 ± 0.011 u/ μg , III형 교원질은 각각 0.178 ± 0.046 u/ μg , 0.056 ± 0.017 u/ μg , fibronectin은 각각 0.082 ± 0.007 u/ μg , 0.047 ± 0.011 u/ μg 으로 I, III형 교원질 및 fibronectin mRNA의 양은 피부 섬유아세포에서 태반 조직에서 보다 각각 18.8배, 3.2배, 1.7배 상대적으로 더 많았다. I / III형 교원질 비는 각각 4.4 및 0.75이었다 그리고 피부섬유아세포에서는 I형 교원질 mRNA양이 전체 세포외 기질의 약 75%를 차지하고 III형 교원질 mRNA는 17%인 반면, 태반 조직에서는 오히려 III형 교원질 mRNA양이 I형 교원질 보다 많았다. 따라서 피부섬유아세포에서는 I형 및 III형 교원질 mRNA를 주로 발현 하며 특히 I형 교원질이 대부분 차지하고 있고, 태반조직에서는 I, III형 교원질 및 fibronectin유전자가 비슷한 양으로 발현되었으며 발현량 또한 피부조직에 비해 많지 않았다 그리고 각종 alpha-chain의 유전자는 그 유전정보를 mRNA에 전사된 후 splicing 과정을 거친다음 완전한 mRNA가 되어 세포질내에 각종 alpha-chain의 다단백질을 합성하게 된다 이렇게 합성된 전교원질(procollagen)은 섬유아세포 외부로 배출되어 효소에 의해 섬유소가 되어지고, 섬유소가 cross-linking하여 완전한 교원질이 된다²¹⁾ 그런데 이런 복잡한 교원질 생성과정에서, 교원질 유전자의 표현의 거의 대부분 전사과정에서 조절된다^{21, 22)}. 따라서 교원질 mRNA치는 교원질 다단백질의 생산량과 대부분의 경우 일치한다

교원질 유전자 표현의 조절 즉 섬유아세포에 의해 생성되는 교원질의 양은 합성 및 분해의 평형에 의해 유지된다고 하겠으며, I형 교원질 유전자의 발현은 전사과정에서 복합적으로 조절되는데, 주로 I형 procollagen 유전자의 조장자 부분인 CATT

와 TATA box에서 조정되며^{23, 24)}, 5'flanking 부위 및 첫번째 intron도 관여 한다고 한다 이 조절 기능의 장애로 인하여 여러가지 질환들이 유발되어 질 수 있으며 병인들은 분자생물학적인 방법으로 규명이 가능해지고 있다. 교원질 침착기전은 질병에 따라 다르게 나타나는데 경피증에서는 I형과 III형 교원질 및 fibronectin 유전자의 발현이 비슷하게 증가되어 전반적인 결체조직의 침착을 초래하고^{14, 25)} 켈로이드에서는 I형 교원질이 선택적으로 증가한다^{13, 15, 26)} 그리고 팽창 선조에서는 교원질 및 fibronectin mRNA의 발현이 감소된다²⁷⁾ 따라서 여러가지 다른 세포외 기질 유전자의 발현의 이상으로 인하여 임상적으로 독특한 피부 질환이 유발됨을 알 수 있다.

이 연구에서는 태반조직을 대조군으로 하여 피부 진피 섬유아세포에 의한 I형, III형 교원질 및 fibronectin 유전자의 발현 양상을 각각의 mRNA를 분석함으로서 조사 연구하여, 여러 가지 다른 진피 질환의 병인 연구에 기초 자료를 얻고자 하였으며, 향후 이에 대한 더 많은 연구가 필요하다 하겠다

요 약

피부 섬유아세포와 태반조직에서 I형 교원질, III형은 교원질 및 fibronectin 등의 세포외 기질 유전자의 발현을 비교 연구하기 위하여, Northern 및 Slot-blot hybridization 방법에 의하여 각각의 mRNA를 분석한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. Northern blot 분석 결과 pro $\alpha 1(I)$ collagen은 분자 크기가 5.8과 4.8kb, pro $\alpha 1(III)$ collagen은 5.4과 4.8 kb, fibronectin은 8.0kb으로, 배양된 섬유아세포와 태반 조직에서의 세포외 기질 mRNA의 질적인 변화는 없었다.

2 Slot-blot 유전자 재결합 반응에 의한 각종 세포외 기질의 mRNA양을 조직음영 계측기로 측정한 바, I, III형 교원질 및 fibronectin mRNA의 양은 피부 섬유아세포에서 태반 조직에서 보다 각각 18.8배, 3.2배, 1.7배 상대적으로 더 많았으며, I / III형 교원질 비는 각각 4.4 및 0.75이었다. 그리고 피부섬유아세포에서는 I형 교원질 mRNA양이 전체 세포외 기질의 약 75%를 차지하고 III형 교원질

mRNA는 17%인 반면, 태반 조직에서는 오히려 III형 교원질 mRNA 양이 I형 교원질 보다 많았다. 3. 이상의 결과에 의하면 세포의 기질유전자의 질적인 변화는 없었으나, 피부섬유아세포에서는 I형 및 III형 교원질 mRNA를 주로 발현 하며 특히 I형 교원질이 대부분 차지하고 있고, 대반조직에서는 I, III형 교원질 및 fibronectin 유전자가 비슷한 양으로 발현되었으며 발현량 또한 피부조직에 비해 많지 않았다.

참 고 문 헌

- 1 Uitto, J, Olsen DR, Fazio MJ Extracellular matrix of the skin 50 years of progress *J Invest Dermatol* 1989. 92 61s-77s.
- 2 Uitto J, Murray LW, Blumberg B, et al Biochemistry of collagen in diseases *Ann Intern Med* 1986. 105 740-756.
- 3 Prockop DJ, Kivirikko K, Tuderman L, et al The biosynthesis of collagen and its disorders *N Engl J Med* 1979. 301 13-23, 77-85
- 4 Chomczynski P, Sacchi N Single-step method of RNA isolation by acid guanidium, thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987. 162 156-159
- 5 Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T *Molecular Cloning, A laboratory manual*, ed 2 Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory press, 1989, pp 1.74-1.84.
- 6 Clewell DB, Helinski DR Effect of growth conditions on the formation of the relaxation complex of supercoiled colE1 deoxyribonucleic and protein in Escherichia coli. *J Bacteriol* 1972. 110 1135-1146
- 7 Yang RA, Lis J WUR Elution of DNA from agarose gels after electrophoresis *Methods Enzymol* 1979. 68 176-180
- 8 Pigby P NJ, Dieckmann M, Rhodes L, et al Labeling deoxyribonucleic acid to high specific activity in vitro by nick-translation with DNA polymerase *J Mol Biol* 1977. 113 237-251
- 9 Wahl GM, Starn M, Starck GR Efficient transfer of large KNA fragments from agarose gels to diaabenzoylozymethyl paper and rapid hybridization by using dextran sulfate *Proc Natl Acad Sci USA* 1979. 76 3683-3687
- 10 Thomas PS Hybridization of denatured RNA and small DNA fragments transferred to nitrocellulose *Proc Natl Acad Sci USA* 1979. 77 5201-5205.
- 11 Abergel RP, Pizzuro D, Meeker AC, et al Biochemical of the connective tissue in keloids and analysis of collagen metabolism in keloid fibroblast cultures *J Invest Dermatol* 1985. 84 383-390.
- 12 Sasaki T, Majamaa K, Uitto J Reduction of collagen production in keloid fibroblasts cultured by ethy 1-3, 4-dihydroxybenzoate *J Biol Chem* 1987. 262 9397-9403
- 13 Graves PN, Weiss IK, Perlish JS, et al Increased procollagen mRNA levels in scleroderma fibroblasts *J Invest Dermatol* 1983. 80 130-132
- 14 이규석, 김석주, 서민호 등, 경피증 섬유아세포에서 세포의 기질 mRNA 분석 대한피부과학회지 1991. 29 322-330
- 15 Uitto J, Perejda AJ, Abergel RP, et al Altered steady state ratio of type I / III procollagen mRNA correlates with selectively increased type I procollagen biosynthesis in cultured keloid fibrblasts *Proc Natl Acad Sci USA* 1985. 82 669-676
- 16 이규석, 박장환, 송준영 등 켈로이드 섬유아세포에서 세포의 기질 mRNA의 분석 대한의학협회지 1990. 33 669-676.
- 17 Lee KS, Song JY, Suh MH Collagen mRNA expression detected by in situ hybridization in keloid tissue *J Dermatol Sci* 1991. 2 316-323

18. Pollard JW, Perry CR, Thurston CF Northern blotting In method of molecular biology. Walker JM, Clifton, New Nucleic Acid Techniques, ed 1. New Jersey, Human Press, 1988, pp 13-25.
19. Wicox JH, Gee CE, Roberts JL In situ cDNA mRNA hybridization. developments of a technique to measure mRNA levels in individual cells. *Methods Enzymology* 1986, 124 510-533.
20. Hynes RO, Yamada KM Fibronectins Multifunctional modular glycoproteins. *J Cell Biol* 1982, 95 369-377.
21. Rowe DW, Moen RC, Davidson JM, et al Correlation of procollagen mRNA levels in normal and transformed chick embryo fibroblasts with different rates of procollagen synthesis. *Biochemistry* 1978, 17 1581-1590.
22. Merlino GT, McKeon C, de Crombrugghe B, et al Regulation of the expression of genes encoding type I, II, III collagen during chick embryonic development. *J Biol Chem* 1983, 258 10041-10048.
23. Chu M-L, Wet W, Bernard M, et al Fine structural analysis of the human pro-alpha1(I) collagen gene. *J Biol Chem* 1985, 280 2315-2320.
24. Vogeli G, Ohkuho H, Sobel ME, et al Structure of the promotor for chicken type I collagen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981, 78 5334-5338.
25. Fleischmajer R, Perlish IS, Krieg T, et al Variability collagen and fibronectin by scleroderma fibroblasts in primary culture. *J Invest Dermatol* 1981, 76 400-403.
26. Diegelman RF, Cohen IK, McKoy BJ Growth kinetics and collagen synthesis of normal skin, scar and keloid fibroblasts in vitro. *J Cell Physiol* 1979, 98 341-346.
27. Lee KS, Rho YJ, Song JY Decreased extracellular matrix gene expression in striae distensae. *J Dermatol Sci* 1991, 2 E25.

= Abstract =

Expression of Type I, III Collagen and Fibronectin Genes by Skin Fibroblasts

Yong Ji Rho, MD; Kyu Suk Lee, MD

*Department of Dermatology, Keimyung University,
School of Medicine, Taegu, Korea*

The expression of various extracellular matrix genes is examined by skin fibroblast cultures and placental tissues using Northern and slot-blot hybridization. Total RNA from 3-6 passaged fibroblasts cultures was isolated.

In Northern blot analysis, type I and type III procollagen-specific mRNA transcripts from cultured skin fibroblasts demonstrated the specificity of hybridization with pro $\alpha 1(I)$ and pro $\alpha 1(III)$ collagen. Specifically, pro $\alpha 1(I)$ or pro $\alpha 1(III)$ collagen cDNA probes hybridized to two distinct mRNA species with apparent sizes of 5.8 and 4.8 kilobases(kb), or 5.4 and 4.8 kb, respectively. The molecular size of fibronectin and β -actin mRNA revealed 8.0 kb and 2.0 kb, respectively. Therefore, it showed no changes of sizes of mRNAs between skin fibroblasts and placental tissues.

In slot-blot analysis, the levels of type I, III collagen and fibronectin mRNA in skin fibroblasts is higher each 18.8, 3.2, and 1.7 folds than in placental tissues. And determination of type I / III procollagen ratios revealed 4.4 in fibroblast cultures, and 0.75 in placental tissues.

This results indicate that type I collagen is predominant extracellular matrix produced by skin fibroblasts when compared to placental tissues.

Key Words Collagen, Fibronectin, Gene expression