

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

皮膚 (1996.02) 38巻1号:132～147.

創傷治癒における表皮細胞の増殖制御

飯塚一、青柳俊

創傷治癒における表皮細胞の増殖制御

旭川医科大学皮膚科 飯塚 一
青柳皮膚科 青柳 俊

創傷治癒における表皮の動態は正常表皮のそれと本質的に異なっている。創傷治癒においては表皮は急速に分裂し不完全な角化（緊急時角化）を示す。表皮の増殖亢進は通常、緊急時角化と連動する。表皮細胞の増殖制御因子として数多くのもものが報告されているが、*in vitro* 培養系での作用と、実際の *in vivo* での作用との間にしばしば解離が見られることは注意すべきである。*in vivo* における創傷治癒は種々の細胞と多くの増殖制御因子が複雑にからみあった複合系であり、そこにおいて血管新生の占める役割は重要である。（皮膚, 38 : 132-147, 1996）

キーワード：創傷治癒, *outgrowth* 系, *cyclic AMP*, グルココルチコイド, 血管新生

はじめに

表皮は外界から内部環境を守っている組織である。表皮細胞は基底細胞層で分裂し、分化しながら上方へ移動し、終末角化（terminal differentiation）とよばれるドラチックな変動を経て、角質細胞になる。角質細胞は最終的に古いものから順番に剥がれ落ちていく。これらのプロセスは全体として秩序だったものであり、表皮は厚くもならず、薄くもならず、定常状態を保っている。

表皮は、同時に外からの物理的な障害に晒されている。外力による表皮の欠損はありふれた事態であるし、それに対する修復機構はあらゆる生物にとって必須のものである。表皮が本来果たすべき機能から考えると、表皮にとって真の意味の緊急事態は、表皮それ自身が欠損した時にほかならない。これに対する修復機構を進化の初期段階で獲得した種のみが淘汰に耐えて生き残ったに違いない。

表皮の欠損という緊急事態においては、表皮はおそらくあらゆる手段を使って、急速に分裂し、角化し、失われた欠損部を被覆しようとする。このように考えると創傷治癒における表皮細胞の動態が正常表皮のそれとは大きく異なったものであることが理解される。

正常表皮と創傷治癒における表皮の動態は本質的に異

なっている。前者はゆっくり時間をかけたプロセスであるのに対し、後者は急速に進む。前者は機能的に完成された角質細胞を作るのに対し、後者は不完全なそれを作る。前者を正常角化機構、後者を緊急時角化機構と便宜的に名づける。

略号

EGF : epidermal growth factor
TGF- α : transforming growth factor- α
TGF- β : transforming growth factor- β
HB-EGF : heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor
KGF : keratinocyte growth factor
PDGF : platelet-derived growth factor
CTGF : connective tissue growth factor
HGF : hepatocyte growth factor
IGF-1 : insulin-like growth factor-1
NGF : nerve growth factor
TNF- α : tumor necrosis factor- α
IFN : interferon
PD-ECGF : platelet-derived endothelial growth factor
CSF : colony stimulating growth factor
GM-CSF : granulocyte-macrophage CSF
G-CSF : granulocyte CSF
M-CSF : macrophage CSF
spr : small proline-rich protein

Table 1 Effects of various factors on keratinocyte proliferation, wound healing, and angiogenesis.

	in vitro culture	outgrowth	in vivo/wound	angiogenesis	references
cyclic AMP	↑ ↑ ↓*	↓	↑	↑	8-10,15,16,23,24,120
epinephrine/isoproterenol	↑	↓		vasoconstriction	8-10,15
cholera toxin	↑ ↑ ↓*	↑	↑	↑	12,15,17,60,61,118
forskolin	↓	↓			79,80,120
EGF/TGF- α	↑	↑	↑	↑	12,39,40,41,45, 46,59,63,81,85
amphiregulin	↑				33
HB-EGF	↑				35
TGF- β	↓	(↑**)	(↓**)	↑	24,26,27,29,58, 59,82,83
PDGF	(-) (may ↑)		↑	↑	38,64-66
bFGF	↑		↑	↑	45,52-54,58,59,67
KGF	↑		↑	(-)	47,55
HGF	↑			↑	81,84,85
IGF-1	↑			↑	38,85,86
NGF	↑				87
TNF- α	↓		↑	↑	58,88-90,99
glucocorticoid	(↑ : required) ↓	↓	↓	vasoconstriction	16,20,21,39, 58,59,62,69
retinoid	↓	↑	(↓***)	↓	16,91,93-95
Vit D3	↓				96,97
prolactin	↑				107
TPA	↓	↓	↑		11,108,119
IFN- α	↓				106
IFN- β	↓				106
IFN- γ	↓		↑	↓	89,109,112,121,125,126
IL-1	(-) (↑ : through induction of KGF)			↑(?)	110,111,122,127
IL-2	(-)				111,113
IL-3	↑				112
IL-6	↑				114,115
IL-8	↑			↑	116,123
GM-CSF	↑				112
G-CSF	unknown?				
M-CSF	(-)				112

* = variable(depending on cell line or culture condition)

** = early phase

*** = diabetic rat model

The data of conventional culture system(s) and those of the outgrowth system are separately shown. Note there is a marked discrepancy between the results of the two systems. The results of the two culture systems are also different from those of in vivo/wound healing system, that are mostly parallel to angiogenesis effects. Angiogenesis and endothelial cell proliferation may not be the same. For example, TGF- β and TNF- α , while showing angiogenic effects, inhibit endothelial cell proliferation. Epinephrine and isoproterenol increase cyclic AMP levels of keratinocytes through β -adrenergic receptor-adenylate cyclase system. Cholera toxin and forskolin activates Gs and adenylate cyclase, respectively, increasing cyclic AMP levels of keratinocytes.

創傷治癒における緊急時角化

表皮欠損の修復は表皮細胞増殖の亢進と急速な角化からなる。創傷治癒に際しては、表皮細胞は急速に分裂して細胞数を増やす一方で、急速に角化する。一般に表皮細胞の増殖亢進は急速な角化すなわち緊急時角化と連動する^{1, 2)}。これは表皮が必要に応じて遂行しなければならない創傷治癒という観点からすると極めて合目的な現象である。このような性質は病的状態においても保持されており、たとえば尋常性乾癬では、その病態が創傷治癒過程の表皮と類似しており、増殖亢進と急速かつ不完全な角化の共存がみられる。表皮細胞の動態を角化との関連でみると、あたかも増殖のスピードが角化機構まで同時に決定しているかのように見える。

緊急時角化とは、たとえ不完全であっても、必要最小限の角化だけは短時間に何とかそろえようとするものである。したがって角化プロセスにおいて重要なものが優先される。たとえば、ケラチン、インボルクリン、cornifin/sprは優先順位が高く、フィラグリン、ロリクリンは優先順位が低い^{1, 3-7)}。

正常角化と緊急時角化は目的が異なっている。後者の急速な角化は、早期に開始されないと時間的に間に合わない。2つの角化機構の振り分けは基底細胞層に限りなく近いところで起こっているはずである。

表皮細胞の増殖亢進因子

表皮において細胞増殖亢進は原則として急速な角化すなわち緊急時角化と連動する。したがって、増殖亢進だけを追いかけていけば、創傷治癒につながるという考え方が生まれる(注1)。一般に培養系で表皮細胞の増殖亢進をもたらす因子が創傷治癒の促進因子として解釈されるのはこの理由による。しかしながら実際はそう単純なものではない。

Table 1 に代表的な表皮細胞増殖制御因子を示す。この表を見て、一般原則を引き出すことは極めて難しい。直ちに気づかれるのは *in vivo* と *in vitro* の報告の解離である。すなわち培養系で表皮細胞増殖の亢進をひきおこす因子が、必ずしも創傷治癒モデルにおいて正の作用を示さない。一方、TGF- β や TNF- α のように培養系では表皮細胞の増殖を強く抑制する因子が *in vivo* では創傷治癒の促進因子として評価されていたりする。

in vitro の培養系は、本来、*in vivo* における複雑な相互作用を切り離すために設定されたものである。した

がって個々の増殖制御因子の作用を解析するには適しているのだが、創傷治癒は最終的には数多くの増殖制御因子が複雑にからみあった *in vivo* における作業であり、培養系で得られた結果が、必ずしも創傷治癒を反映するとは限らない。さらに *in vitro* でも、培養系の種類によって増殖制御因子の作用は大きく異なってくる。増殖制御の解析にあたって、どのような培養系を選ぶかは、実は非常に大きな問題である。

創傷治癒モデルとしての outgrowth 系

表皮細胞の培養系を選択するに当たって、われわれは豚表皮 outgrowth 系を選択した⁵⁾。この系は古くから知られているもので、ヒト表皮でも Karasek や Flaxman らの仕事がある⁹⁾。豚表皮に関しては Halprin らによって発展させられた^{10, 11)}。

outgrowth 系は真皮のついた表皮をスライドガラス上に接着させ、そのへりからの表皮の伸展を計測するものである (Fig. 1)。通常の培養系は基本的に表皮細胞をばらばらにして植える操作であり、生理的な創傷治癒モデルというには若干、抵抗がある。個々の表皮細胞が孤立した状態で存在することは、*in vivo* ではおそらくないはずである。通常の培養系でみられる初期の対数的増加も *in vivo* ではみられない。むしろ outgrowth でみられる直線的な増加である。創面の上皮化のプロセスは現象的には、ちょうど outgrowth に対応しているように見える。outgrowth 系と通常の培養系との結果に、しばしば解離がみられるが、少なくとも表皮の創傷治癒モデルとしては outgrowth 系の方が *in vivo* の状態をより正確に反映しているとわれわれは推定した。なお Compton らも附属器由来の表皮細胞に依存した *in vitro* の創傷治癒モデルを報告しているが、これも一種の outgrowth 系である¹²⁾。また後述する Barrandon and Green のメガコロニーも一種の outgrowth 系とみなされる¹³⁾ (注2)。

outgrowth は2つの構成要素からなる。1つは表皮細胞の分裂にともなう細胞数の増加である。もう1つはへりからの表皮細胞の移動 (migration) である。通常、この2つの組み合わせにより1日に150-250 μ m ずつ伸びる。outgrowth 系において最初の2-3日は migration が主体であり、その後は細胞分裂が主体となる。この2つはいずれも創傷治癒においては極めて重要であるが¹³⁾、しばしば解離が見られる。たとえばメソトレキセートは細胞分裂を抑制するが、migration には影響を与え

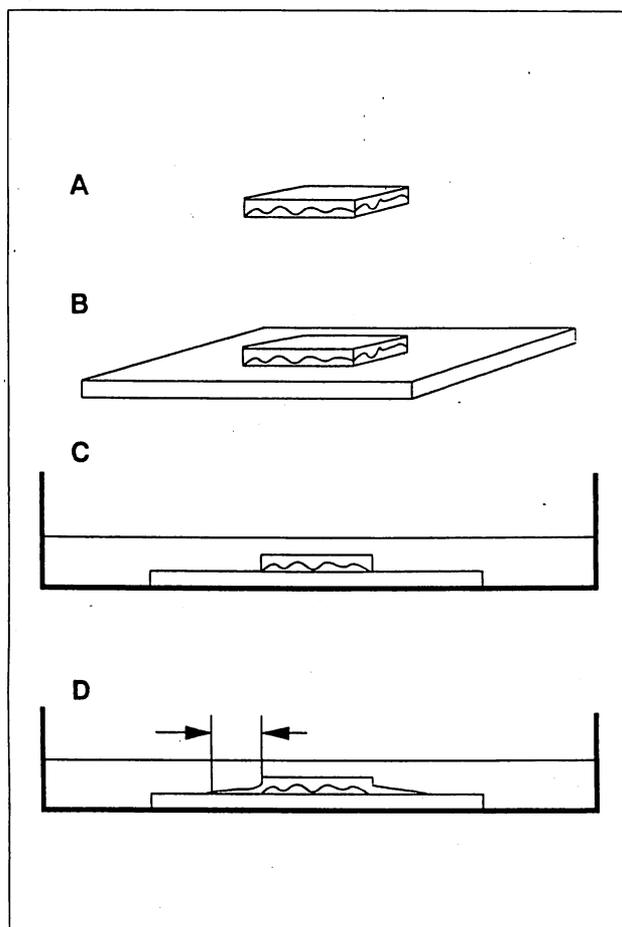


Fig. 1: Pig Skin Outgrowth System.

- A. Pig skin slice was obtained by using Castroviejo keratome set at 0.2mm thickness. The skin slice was cut into 2×2mm-sized squares.
- B, C. Pig skin squares were then put with their keratin layers up on cover glasses, that had been placed in 35mm (diameter)×10mm-sized plastic dishes. The skin squares were firmly attached to the cover glasses in 5–10min, and then incubation media (see below) were added to the plastic dishes.
- D. Incubations were performed at 37°C in 5% CO₂ in air for 3 days in 2ml of RPMI 1640 medium containing 10% fetal calf serum, and antibiotics (penicillin, streptomycin, fungizone). In a standardized condition, outgrowth from the edge of the skin square is usually 150–250 μm per day.

Following 3 days of culture, explants with outgrowing edges in at least 3 directions were randomized. The maximal outgrowth of each explants was determined under a stereomicroscope. The explants were cultured with various chemicals and/or growth factors for 3 more days and the outgrowth of each explant was determined under the stereomicroscope daily. Mitotic index was determined following hematoxylin staining.

ない¹⁴⁾。

outgrowthにおよぼすcyclic AMPの作用

outgrowthは原理的には表皮の創傷治癒を反映しているはずである。例としてcyclic AMPの作用をあげる。outgrowth系において、cyclic AMPないしcyclic AMPを上昇させる薬剤はoutgrowthも細胞分裂も抑制する⁸⁻¹⁰⁾。一方、cyclic AMPは培養系によっては増殖促進作用を示す^{15, 16)}。さらに同一の培養系であっても細胞の置かれた条件により異なる作用を示したりする。Okadaらによれば、通常の培養系であっても、cyclic AMPを上昇させるコレラ毒素は対数的増殖期には表皮細胞増殖を亢進させ、confluent近くになると逆に増殖を抑制する¹⁷⁾。in vivoの表皮はconfluent culture系に対応しているはずであるから、この結果は、outgrowth系が、よりin vivoに近い状態を反映しているという概念に合致する。

outgrowth系はそれ自身、論理的な整合性を持っている。たとえば、β-adrenergic agonistはcyclic AMP系を介してoutgrowthを抑制する。一方、グルココルチコイドには表皮β-adrenergic adenylate cyclaseの反応性を増強させる働きがある^{18, 19)}。outgrowth系において表皮をグルココルチコイドで処理すると、それに対応してβ-agonistによるoutgrowth抑制作用が増強される²⁰⁾ (Fig. 2)。この結果は古くから知られているグルココルチコイドによる創傷治癒の抑制作用²¹⁾を、ある程度説明するものである。

outgrowthの結果は、cyclic AMP系がin vivoに近い状態では表皮細胞増殖を抑制することを、言いかえるとcyclic AMPは創傷治癒において、少なくとも表皮に対しては抑制的に働くことを示唆している。

一方、cyclic AMPは、in vivoでは創傷治癒を促進することが報告されており、皮膚潰瘍に対する外用治療剤として臨床応用もなされている^{22, 23)}。創傷治癒はどのような形であれ、最終的には上皮化により完結するはずである。にもかかわらず、正常表皮により近いはずのoutgrowthの結果が、in vivoの創傷治癒促進作用と連動していないのは問題である。cyclic AMP系の作用の結果は、創傷治癒研究における表皮細胞の増殖亢進というアプローチに警告を与えるものである。

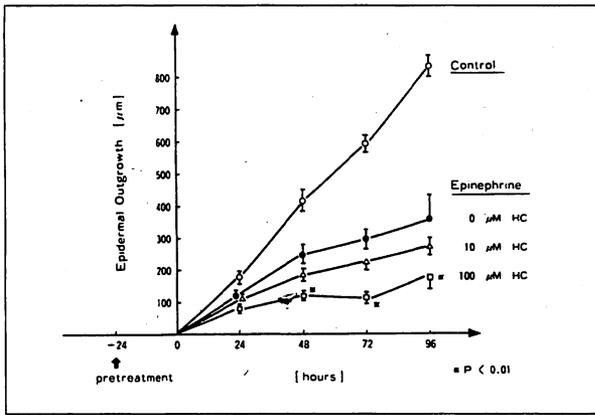


Fig. 2 : Glucocorticoid augments the inhibitory effect of epinephrine on epidermal outgrowth²⁰. Epinephrine inhibits pig skin outgrowth. Glucocorticoids, that augment the β -adrenergic adenylate cyclase response of epidermis^{18, 19}, also augment the inhibitory effect of epinephrine on outgrowth. Hydrocortisone pretreatment for 24 h augmented the inhibitory effect of epinephrine in a dose-dependent manner²⁰. HC : hydrocortisone

TGF- β と創傷治癒

cyclic AMPと同様な議論がTGF- β においても成立する。TGF- β は表皮細胞に対して強い増殖抑制作用を示す^{24, 25}。にもかかわらず、TGF- β は通常、創傷治癒促進因子として評価される^{26, 27, 29}。

TGF- β は哺乳類では $\beta 1$ - $\beta 3$ の3種類が知られている。いずれも前駆体として生合成され、ジスルフィド結合を介した二量体となり、ついで成熟タンパク二量体へ変換され活性型となる。この過程にはプラスミンが働くと推定されている²⁸。

TGF- β は細胞膜上の受容体を介して働く。TGF- β 受容体もI-IIIの3つがある。このうち情報伝達に関与するのはタイプIとタイプII受容体であり、後者はセリン/スレオニンキナーゼ活性を持つ²⁶。タイプI受容体はタイプII受容体とヘテロ二量体を形成することにより受容体としての機能を獲得する。タイプIII受容体はベータグリカンと呼ばれるプロテオグリカンであるが、その機能はよくわかっていない。

TGF- β は厳密に言えば真皮に対する創傷治癒促進因子である。TGF- β は線維芽細胞を増殖させ、コラゲン、エラスチン、フィブロネクチンなどの合成を促進する。線維芽細胞やマクロファージに対する強い遊走活性を示し²⁵、肉芽形成も促進させる⁵⁸。線維芽細胞に対

する増殖亢進作用はPDGF様タンパク (CTGF) を介する二次的なものである³⁰。表皮細胞にはPDGF受容体がないため、増殖促進作用は見られない²⁵。

TGF- β はむしろ表皮細胞の増殖を強く抑制する。これにはRbのリン酸化の抑制と、それともなうmycの発現抑制が関与する^{31, 32}。TGF- β はしたがって上皮化を遅延させるはずであるが、おそらく真皮に対する強い増殖促進作用のゆえに、全体として創傷治癒を促進させる。QuaglianoによるとTGF- β は初期には上皮化をある程度遅らせるが、最終的には創傷治癒促進には影響を及ぼさない²⁶。このことは、少なくともTGF- β に限って言えば、in vivoの創傷治癒においては、表皮よりも真皮側の関与がより重要であることを示唆している。創傷治癒に決定的な影響を与えるのは真皮であり真皮が良くなれば、表皮は二次的に良くなるように見える。

EGF/TGF- α と創傷治癒

EGFは古い歴史を持つ増殖因子である。特殊な細胞を除き、上皮系の細胞に対しては、増殖促進的に働く。EGFはTGF- α など、いくつかの類似の因子とファミリーを構成している。これらは全てEGF受容体を介して働く。EGF受容体はチロシンキナーゼ活性を持つ。

従来、表皮細胞においてはTGF- α がEGF受容体に働く生理的なアゴニストと考えられてきたが、amphiregulin, HB-EGF (heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor) といった新しい因子が発見され、EGF受容体を介する制御は複雑なものになった³³⁻³⁵。後2者はヘパリン結合能を有しamphiregulinは上皮系細胞が、HB-EGFはマクロファージと表皮細胞が産生する。表皮細胞の増殖亢進に際してTGF- α , amphiregulinいずれも発現増強がみられる^{34, 36}。またTGF- α とHB-EGFは、それ自身の誘導のみならず、相互の発現を増強する³⁵。

EGF受容体は、創傷治癒に先だち増加がみられ、正常化すると減少する³⁷。IGF-1はEGF受容体数を増やすことによりEGF作用を増強するという³⁸。

EGF/TGF- α は、表皮細胞に対しては培養系を問わず増殖促進作用を示す^{13, 39-41}。また表皮細胞のmigrationも促進する。in vivoでもEGFやTGF- α 処理による創傷治癒促進作用が報告されている⁴⁴⁻⁴⁶。ただし、この場合、頻回に処置する必要がある^{13, 45}。

KGFとFGFファミリー

KGF (FGF-7) はFGFファミリーに属する増殖因子である。真皮線維芽細胞が産生し、パラクリンに表皮細胞に働く^{47, 48)}。表皮細胞に対する増殖促進作用はEGF, TGF- α よりもむしろ強い。

FGFファミリーとしてKGFを含め現在7種類が知られている。acidic FGF (FGF-1: aFGF) とbasic FGF (FGF-2: bFGF) 以外のFGFはシグナルペプチドを持ち、分泌タンパクとして機能する。aFGF, bFGFの分泌メカニズムについては確定していない。これら2つは細胞障害時にものみ働く可能性もあるが、創傷に際して、その誘導がみられることは⁴⁹⁾、両者が生理的に分泌される増殖因子であることを推定させる。FGFファミリーはいずれも (amphiregulinやHB-EGFと同様) ヘパリンに強い親和性を示し、このことがFGFと受容体との結合に重要な意味を持つ。たとえばbFGFと細胞膜受容体の結合には細胞膜ヘパラン硫酸の存在が必須である⁵⁰⁾。

FGFファミリーの受容体は、チロシンキナーゼ活性を持つ。FGF受容体は現在4種類 (FGF受容体1-4) 知られているが、KGF受容体はFGF2型受容体mRNAがalternative splicingにより生じたものである⁵¹⁾。FGF2型受容体はbFGFにもaFGFにも結合するが、KGFには結合せず、KGF受容体はKGF (とaFGF) にしか結合しない。

FGFファミリーのうち、創傷治癒に関係するのは、主にbFGFとKGFである。前者は線維芽細胞、血管内皮細胞などが産生し、これらの細胞の増殖因子として働くほか、表皮細胞や色素細胞など幅広い細胞を標的にしている。

bFGFは創傷において、その発現が誘導される⁴⁹⁾。また培養系でもin vivo創傷モデルでも、表皮細胞の増殖を引きおこし上皮化を促進させる⁵²⁻⁵⁴⁾。

KGFもbFGF同様、培養系でも、in vivoでも表皮細胞の増殖を促進する⁵⁵⁾。KGFが注目されるのは、上皮系の細胞のみに働くという標的細胞特異性と、創傷に際しての、その著名な誘導による。WernerによるとmRNAレベルで160倍もの誘導が認められ、またbFGFの誘導が比較的後期に起こるのに対し、KGFは早期に発現増強が認められるという⁴⁹⁾。表皮だけに限って言えば、創傷治癒に際し、KGFが最も重要な増殖因子である可能性がある (注3)。IL-1は線維芽細胞に働きKGFの合成を転写レベルで増強する¹²⁷⁾。

メガコロニー系

outgrowth系が、in vivoの状態をより強く反映しているという推定にもかかわらず、cyclic AMPに関していえば、通常の培養系の方がよりin vivoの作用と関連した。これはoutgrowth系の限界を示すものではあったが、原理的にoutgrowthの方が良いというわれわれの立場まで崩したわけではない。これが崩れたのが、1987年のBarrandon and Greenによるメガコロニーの報告である¹⁹⁾。メガコロニーとはGreenのfeeder layerを用いた培養系において1個の細胞からスタートして1cm²以上の大きさになったものを指す。この状態では細胞は対数的ではなく直線的な増加を示す。この系は細胞動態上は明らかにわれわれのoutgrowth系に対応しており、in vivoの上皮化モデルと見なすことができる。さらに至適条件、すなわちTGF- α 存在下では、1日に約1mmのびる。われわれの系の150-250 μ mと比べ、いかにすぐれたものであるかがわかる。われわれが今から8年前、outgrowth系から撤退した直接のきっかけになったのがこの報告である。通常の培養系が、最終的にoutgrowthと同じ挙動を、それもスケールアップした形で示した時、我々はoutgrowthから撤退せざるを得なかった (注4)。

今、考えるとなぜわれわれのシステムに問題があるかは明らかである。表皮細胞のmigrationには下床の性状が重要な意味を持つ。たとえば、migrationはフィブロネクチン、コラーゲンにより促進され、ラミニンにより抑制される⁵⁶⁾ (注5)。ガラス表面を接着面に使ったわれわれのシステムは、この点で明らかに生理的とはいえない。この他、KGFをはじめとする真皮線維芽細胞由来の多くの因子との相互作用も当然、考えられる。なおフィブロネクチン、コラーゲンいずれも前述したTGF- β により誘導がかかることは注目に値する。TGF- β は表皮細胞の増殖を亢進させなくてもmigrationに有利な環境を作ることにより、上皮化を促進させている可能性がある。

血管新生と創傷治癒

もう一度表を見てみると、in vivoにおける創傷治癒促進作用が表皮細胞の増殖亢進よりも、むしろ血流亢進ないし血管新生といった作用と連動していることがわかる。TGF- β がその代表的な例であるが⁶⁰⁾、このほかにも血管内皮細胞を増殖させるcyclic AMPは創傷治癒

を促進^{22, 23, 60, 61)}, 血管収縮作用を持つグルココルチコイドは創傷治癒を抑制する^{21, 62)}。TGF- α も表皮細胞増殖のほかに血管新生作用を示す^{59, 63)}。PDGFは表皮細胞には受容体がないため作用を示さないが(注6), 血管新生作用を有し, 同時に *in vivo* の創傷治癒を促進させる⁶⁴⁻⁶⁶⁾。臨床的にも創傷の上皮化に際し, 良好な肉芽組織が要求されることはよく知られた事実である。われわれは血管新生の意味するものをもう1度考える必要がある。

表皮の酸素環境と血管新生

血流は体内の各組織に酸素をもたらす。外界には多量の酸素が存在しているが, 角層が事実上酸素を通さないため, 正常表皮は嫌気的狀態にあり, 表皮は通常, 嫌気的解糖系にそのエネルギー代謝を依存している¹⁾。にもかかわらず培養系を用いた実験によると表皮細胞の増殖能のピークは高酸素環境にある(注7)。Horikoshiらによると1気圧大気の酸素分圧付近で表皮細胞は最もよく増殖する⁷⁰⁾。これは他の細胞と比べ異常に高い設定であり, たとえば線維芽細胞は9-16mmHgの嫌気的狀態で最も良く増殖する。表皮は通常の状態では, 酸素環境から見ると極めて条件の悪いところで分裂していることが分かる。

すでに述べたように, 表皮にとって真の意味の緊急事態は, 表皮それ自身が欠損した時である。通常表皮はゆっくりターンオーバーを繰り返していればよいわけで, 必ずしも急速な分裂を必要としない。表皮が欠損した時, すなわち創傷治癒において, 欠損辺縁に存在する表皮細胞は外界に向かって開放系となり, 増殖に有利な高酸素環境を獲得していることになる⁷¹⁾。同様に創傷治癒でみられる血管新生も血流亢進を介する酸素アクセスの上昇につながる。痂皮もほとんど酸素を通さないため, 最終的には血流を介した酸素の方がおそらく重要である。いいかえると創傷における肉芽形成は表皮細胞の増殖に有利な高酸素環境をもたらすシステムとなっている。このことは創傷治療における肉芽組織の持つ意味や, 高圧酸素療法とのかねあいからも重要である。表皮細胞増殖の亢進した乾癬においても正常の約10倍の血流亢進が認められる¹⁾。

これらの結果は, 創傷治癒機構における血流ないし血管新生の関与が, 表皮細胞だけをとりだした増殖の制御よりもはるかに重要であることを示唆している。血管新生は血流由来の増殖因子のみならず, 表皮細胞の分裂に

にとって有利な高酸素環境を作り出す。創傷治癒において, 表皮細胞自身が血管新生因子を出しているという最近の報告はその意味からも重要である¹²⁴⁾。

おわりに

創傷治癒における表皮細胞の増殖制御についてまとめた。本稿は今から8年前, われわれが *outgrowth* 系から撤退した理由づけの記録にもなっている。*in vivo* に対応する培養系という *outgrowth* の存在理由に自信を失った時, われわれは撤退せざるを得なかった。

現時点で血流ないし血管新生の問題まで含めて考えると, 創傷治癒について, ある程度の一般化が得られそうにも思える。しかしながら, これも例外をとまなう単純化の一つにすぎず, 検討すべき問題点は数多く残される。おそらく最も重要なことは, *in vitro* の培養系における表皮細胞増殖が, 必ずしも創傷治癒と相関するとは限らないという困った現実である。*in vitro* の培養系は, *in vivo* とは決して同一でない。創傷治癒は, 種々の細胞と多くの増殖因子が複雑にからみあった複合系なのである (Table 2) (注8)。

in vivo に近くなればなるほど, 解析が困難になることを承知の上で, 結局, 最終的な答えをだすのは *in vivo* モデルであると言わざるを得ないところに創傷治癒における培養系の持つ本質的な問題がある。培養系の結果はあくまでも手がかりにすぎない。さらに *in vivo* モデルでも bFGF のように1回の処置でよいもの⁵⁹⁾, EGF のように繰り返し処置しなければならないもの⁴⁶⁾, さらにいくつかの増殖因子の組み合わせが良い⁷²⁾ ということになる。創傷治癒の実験系は飛躍的に複雑なものとなる。動物を用いた *in vivo* モデルでは皮膚感染症に対する対策も厄介な問題である。

最初に述べたように表皮細胞の増殖亢進は緊急時角化と連動しているため, 通常は増殖亢進だけを追いかければ, 角化も含めて創傷治癒の促進を見ているという暗黙の前提がある。しかしながら, 今後は角化そのものを, より特異的に制御する因子も検討されるはずである^{73, 74)}。おそらく, そこにおいても培養系に固有の限界が随所にあらわれてくるであろうし, 創傷治癒の研究はいずれにしても時間と労力のかかる困難なものになるだろう。

Table 2 Growth Factors in Various Cells during Wound Healing Process

platelet	PDGF IGF-1 EGF TGF- β PD-ECGF HGF
macrophage	TGF- β TGF- α MDGF (macrophage-derived growth factor, a PDGF-like protein) bFGF HB-EGF PDGF IGF-1 TNF- α IL-1(β)
fibroblasts	IGF-1. bFGF TGF- β PDGF KGF
endothelial cells	bFGF CTGF (connective tissue growth factor) PDGF
eosinophil	TGF- α

These growth factors affect wound healing process synergistically. The major source of EGF, TGF- β , and PDGF is platelets ; that of bFGF is endothelial cells ; and that of TGF- α is eosinophils.

謝 辞

outgrowth系に関わった当時のグループのメンバーに深謝いたします。

注の説明

- 注1 厳密に言えば細胞数を増やす方法としてアポトーシスに対する抑制もあげられる。表皮におけるアポトーシスの制御機構は最近、急速に解明されつつある⁷⁵⁾。
- 注2 Bellのdermal equivalentに、punch biopsyした皮膚を植えこむCoulombの系も、やはり一種のoutgrowth系である⁵⁷⁾。dermal equivalentとはコラゲン溶液を線維芽細胞と培養したもので、こうするとコラゲンは収縮して水を大量に押しだ

しゲル化する。この状態のゲルは線維芽細胞と3次元構造を形成しており、in vivoに対応する真皮モデルとみなされる。

- 注3 KGFは、表皮細胞に働いてTGF- α の誘導を起こすことにより表皮細胞の増殖促進作用を示すことが報告された¹¹⁷⁾。
- 注4 メガコロニー系はGreenの培養系の延長線上にあるため、cyclic AMPを上昇させるコレラ毒素が入っている。厳密に言えば、メガコロニー系におけるcyclic AMPの作用については決着はついていない。かれらの培養液中には確かにコレラ毒素が入っているが、メガコロニー化した時点で、コレラ毒素が、本当に増殖を亢進させ、培養に必須の成分かどうかは別の問題である。cyclic AMPの増殖に対する作用は培養条件により相当異なるため^{16, 17)}、もう一度、予断を排して評価を行なう必要がある。

- 注5 線維芽細胞は創傷に際し、フィブロネクチンを強く産生する。フィブロネクチンについてはこのほか血液由来、表皮細胞由来のものも考える必要がある^{76, 77)}。
- 注6 創傷時において表皮細胞がPDGF受容体を発現するという報告があり⁷⁸⁾、特殊な状況下では表皮細胞もPDGFに反応する可能性がある。
- 注7 cell migrationは低酸素状態でも起こるが¹⁰⁴⁾、細胞増殖に限っていえば、そのピークは高酸素状態にある。
- 注8 たとえば創傷治癒においては通常、血小板の凝集が起こる。血小板の α -granuleの中には多くの増殖因子が含まれているが (Table 1), 特にTGF- β はマクロファージに対する強い遊走活性を持つ。活性化されたマクロファージはさらに数多くの増殖因子を分泌する (Table 1)。このように考えると血小板を起点とする創傷治癒サイトカインカスケードが形成され、血小板抽出液そのものを創傷に加えたら良いという発想がうまれる。事実、そのようなアプローチがなされており、有効性が報告されている¹⁰⁵⁾。

文 献

1. 飯塚 一: 尋常性乾癬の病態: 表皮細胞の解析, 日本皮膚科学会専門医講習会テキスト, 1991
2. Mansbridge JN, Knapp AM: Changes in keratinocyte maturation during wound healing, J Invest Dermatol, 89: 253-263, 1987
3. Iizuka H, Takahashi H: Psoriasis, involucrin and protein kinase C., Int J Dermatol, 32: 333-338, 1993
4. Takahashi H, Iizuka H: Analysis of the 5'-upstream promoter region of human involucrin gene: activation by 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate, J Invest Dermatol, 100: 10-15, 1993
5. Fujimoto W, Marvin K, George MD, Celli G, Darwiche N, De Luca LM, Jetten AM: Expression of cornifin in squamous differentiating epithelial tissues, including psoriatic and retinoic acid-treated skin, J Invest Dermatol, 101: 268-274, 1993
6. Yoneda K, Hohl D, McBride OW, et al: The human loricrin gene, J Biol Chem, 267: 18060-

- 18066, 1992
7. Ishida-Yamamoto A, Eady RAJ, Watt FM, Roop DR, Hohl D, Iizuka H: Immunoelectron microscopic analysis of cornified cell envelope formation in normal and psoriatic epidermis, J Histochem Cytochem (in press)
8. Aoyagi T, Kamigaki K, Iizuka H, Miura Y: The effects of db-cAMP and related compounds on the outgrowing epidermis in vitro, J Dermatol, 8: 83-90, 1981
9. Flaxman B, Harper R: In vitro analysis of the control of keratinocyte proliferation in human epidermis by physiologic and pharmacologic agents, J Invest Dermatol, 65: 52-59, 1975
10. Halprin KM, Taylor JR, Levine V, Woodyard C, Adachi K, Comerford M: Agents that activate cyclic AMP-dependent protein kinase inhibit explant culture growth and mitotic activity, J Invest Dermatol, 81: 553-557, 1983
11. Halprin KM, Taylor JR, Comerford M: Control of epidermal cell proliferation in vitro, Br J Dermatol, 111 Suppl 27: 13-26, 1984
12. Regauer S, Compton CC: Cultured keratinocyte sheets enhance spontaneous re-epithelization in a dermal explant model of partial-thickness wound healing, J Invest Dermatol, 95: 341-346, 1990
13. Barrandon Y, Green H: Cell migration is essential for sustained growth of keratinocyte colonies: the roles of transforming growth factor and epidermal growth factor, Cell, 50: 1131-1137, 1987
14. Taylor JR, Halprin KM, Levine V, Woodyard C: Effects of methotrexate in vitro on epidermal cell proliferation, Br J Dermatol, 108: 45-61, 1983
15. Green H: Cyclic AMP in relation to proliferation of the epidermal cell: a new view, Cell, 15: 801-811, 1978
16. Marcelo CL, Tomich J: Cyclic AMP, glucocorticoid, and retinoid modulation of in vitro keratinocyte growth, J Invest Dermatol, 81: 64s-68s, 1983
17. Okada N, Kitano Y, Ichihara K: Effects of cholera toxin on proliferation of cultured human keratinocytes in relation to intracellular cyclic AMP

- levels, *J Invest Dermatol*, 79 : 42-47, 1982
18. Iizuka H, Ohkawara A : Effects of glucocorticoids on the beta-adrenergic adenylate cyclase system of pig skin, *J Invest Dermatol*, 80 : 524-528, 1983
19. Iizuka H, Takahashi H : Glucocorticoid-induced regulation of β 2-adrenergic receptors in keratinocytes, *The Biology of the Epidermis* (A. Ohkawara J McGuire Ed) Elsevier 1992, 97-105
20. Aoyagi T, Umeda K, Iizuka H, Miura Y : Effect of hydrocortisone on the adenylate cyclase system of the skin-in vitro explant study, *Br J Dermatol*, 105 : 257-266, 1981
21. Eaglstein WH, Mertz PM : New method for assessing epidermal wound healing : the effects of triamcinolone acetamide and polyethylene film occlusion, *J Invest Dermatol*, 71 : 382-384, 1978
22. Niimura M, Yamamoto K, Kishimoto S, Oohara K, Ogawa N : Clinical evaluation of DT-5621 in patients with chronic skin ulcer : multicenter, placebo-controlled double blind study, *Jpn Pharmacol Ther*, 18 : 2757-2770, 1990
23. Kasai Y, Tamura K : Wound healing effect of DT-5621 ointment containing dibutyryl cyclic AMP on rat skin burns, *Jpn J Pharmacol Ther*, 18 : 2919-2924, 1990
24. Shipley GD, Pittelkow MR, Wille JJ, Scott RE, Moses HL : Reversible inhibition of normal human prokeratinocyte proliferation by type β transforming growth factor-growth inhibitor in serum free medium, *Cancer Res*, 46 : 2068-2071, 1986
25. Lyons RM, Moses HL : Transforming growth factors and the regulation of cell proliferation, *Eur J Biochem*, 187 : 467-473, 1990
26. Quaglino D, Nanney LB, Kennedy R, Davidson JM : Transforming growth factor- β stimulates wound healing and modulates extracellular matrix gene expression in pig skin, *Lab Invest*, 63 : 307-319, 1990
27. Quaglino D, Nanney LB, Ditesheim JA, Davidson JM : Transforming growth factor-beta stimulates wound healing and modulates extracellular matrix gene expression in pig skin, *J Invest Dermatol*, 97 : 34-42, 1991
28. 上野直人 : TGF- β スーパーファミリーの受容体, *生化学*, 66 : 158-162, 1994
29. Mustoe TA, Pierce GF, Thomason A, et al, Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor β , *Science* 237 : 1333-1335, 1987
30. Igarashi A, Okochi H, Bradham DM, Grotendorst GR : Regulation of connective tissue growth factor gene expression in human skin fibroblasts and during wound repair, *Mol Biol Cell*, 4 : 637-645, 1993
31. Pietenpol JA, Holt JT, Stein RW, Moses HL : Transforming growth factor β 1 suppression of c-myc gene transcription : role in inhibition of keratinocyte proliferation, *Proc Natl Acad Sci USA*, 87 : 3758-3762, 1990
32. Laiho M, Decaprio JA, Livingston DM, Massague J : Growth inhibition by TGF- β linked to suppression of retinoblastoma protein phosphorylation, *Cell*, 62 : 175-185, 1990
33. Shoyab M, Plowman GD, McDonald VL, Bradley JG, Todaro GJ : Structure and function of human amphiregulin : a member of the epidermal growth factor family, *Science*, 243 : 1074-1076, 1989
34. Cook PW, Pittelkow MR, Keeble WW, Graves-Deal R, Coffey RJ, Shipley GD : Amphiregulin messenger RNA is elevated in psoriatic epidermis and gastrointestinal carcinomas, *Cancer Res*, 52 : 3224-3227, 1992
35. Hashimoto K, Higashiyama S, Asada H, et al : *J Biol Chem*, 269 : 20060-20066, 1994
36. Elder JT, Fisher GJ, Lindquist PB, et al : Overexpression of transforming growth factor α in psoriatic epidermis, *Science*, 243 : 811-814, 1989
37. Stoscheck CM, Nanney LB, King LE : Quantitative determination of EGF-R during epidermal wound healing, *J Invest Dermatol*, 99 : 645-649, 1992
38. Krane JF, Murphy DP, Carter DM, Krueger JG :

- Synergistic effects of epidermal growth factor (EGF) and insulin-like growth factor I/somatomedin C (IGF-I) on keratinocyte proliferation may be mediated by IGF-I transmodulation of the EGF receptor, *J Invest Dermatol*, 96 : 419-424, 1991
39. Rheinwald JG, Green H : Epidermal growth factor and the multiplication of cultured human epidermal keratinocytes, *Nature*, 265 : 421-424, 1977
40. Aoyagi T, Kato N, Suya H, Miura Y, Yoshida T, Ohura T : Effects of mouse and human epidermal growth factor on the outgrowing epidermis of pig and human skin explants, *J Dermatol*, 11 : 519-522, 1984
41. Pittelkow MR, Coffey RJ, Moses HL : Keratinocytes produce and are regulated by transforming growth factors, *Ann NY Acad Sci*, 548 : 211-224, 1988
42. Ju WD, Schiller JT, Kazempour MK, Lowy DR : TGF- α enhances locomotion of cultured human keratinocytes, *J Invest Dermatol*, 100 : 628-632, 1993
43. Ando Y, Jensen PJ : Epidermal growth factor and insulin-like growth factor I enhance keratinocyte migration, *J Invest Dermatol*, 100 : 633-639, 1993
44. Brown GL, Nanney LB, Griffin J, Cramer AB, Yancy JM, Curtsinger LJ, Holtin L, Schultz GS, Jurkiewicz MJ, Lynch JB : Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor, *N Eng J Med*, 321 : 76-79, 1989
45. Nanney LB : Epidermal and dermal effects of epidermal growth factor during wound repair, *J Invest Dermatol*, 94 : 624-629, 1990
46. Schultz GS, White M, Mitchell R, et al : Epithelial wound healing enhanced by transforming growth factor α and vaccinia growth factor, *Science*, 235 : 350-352, 1987
47. Rubin JS, Osada H, Finch PW, Taylor WG, Rudikoff S, Aaronson SA : Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells, *Proc Natl Acad Sci USA*, 86 : 802-806, 1989
48. Tsuboi R, Sato C, Kurita Y, Ron D, Rubin JS, Ogawa H : Keratinocyte growth factor (FGF-7) stimulates migration and plasminogen activator activity of normal human keratinocytes, *J Invest Dermatol*, 101 : 49-53, 1993
49. Werner S, Peters KG, Longaker MT, Fuller-Pace F, Banda MJ, Williams LT : Large induction of keratinocyte growth factor expression in the dermis during wound healing, *Proc Natl Acad Sci USA*, 89 : 6896-6900, 1992
50. Yayon A, Klagsbrun M, Esko JD, Leder P, Ornitz DM : Cell, heparin-like molecules are required for binding of basic fibroblast growth factor to its high affinity receptor, *Cell*, 64 : 841-848, 1991
51. Miki T, Bottaro DP, Fleming TP, et al : Determination of ligand-binding specificity by alternative splicing : two distinct growth factor receptors encoded by a single gene, *Proc Natl Acad Sci USA*, 89 : 246-250, 1992
52. O'Keefe EJ, Chiu ML, Payne RE : Stimulation of growth of keratinocytes by bFGF, *J Invest Dermatol*, 90 : 767-769, 1988
53. Hebda PA, Klingbeil CK, Abraham JA, Fiddes JC : Basic fibroblast growth factor stimulation of epidermal wound healing in pigs, *J Invest Dermatol*, 95 : 626-631, 1990
54. Tsuboi R, Rifkin DR : Recombinant basic fibroblast growth factor stimulates wound healing in healing-impaired db/db mice, *J Exp Med*, 172 : 245-251, 1990
55. Staiano-Coico L, Krueger JG, Rubin JS, et al : Human keratinocyte growth factor effects in a porcine model of epidermal wound healing, *J Exp Med*, 178 : 865-878, 1993
56. Woodley DT, Bachman PM, O'Keefe EJ : Laminin inhibits human keratinocyte migration, *J Cell Physiol*, 136 : 140-146, 1988
57. Coulomb B, Lebreton C, Dubertret L : Influence of human dermal fibroblasts on epidermalization, *J Invest Dermatol*, 92 : 122-125, 1989
58. Folkman J, Klagsbrun M : A family of angiogenic peptides, *Nature*, 329 : 671-672, 1987

58. Folkman J, Klagsbrum M : Angiogenic factors, *Science*, 235 : 442-447, 1987
60. Davidson PM, Karasek MA : Human dermal microvascular endothelial cells in vitro : effect of cyclic AMP on cellular morphology and proliferation rate, *J Cell Physiol*, 106 : 253-258, 1981
61. Meininger CJ, Granger HJ : Mechanisms leading to adenosine-stimulated proliferation of microvasculat endothelial cells, *Am J Physiol*, 258 : H198-206, 1990
62. Cornell RC, Stoughton RB : Correlation of the vasoconstrictor assay and clinical activity in psoriasis, *Arch Dermatol*, 121 : 63-67, 1985
63. Schreiber AB, Winkler ME, Derynck R : Transforming growth factor- α : a more potent angiogenic mediator than epidermal growth factor, *Science*, 232 : 1250-1253, 1986
64. Grotendorst GR, Martin GR, Poncer D, Sodek J, Harvey AK : Stimulation of granulation tissue formation by platelet-derived growth factor in normal and diabetic rats, *J Clin Invest*, 76 : 2323-2329, 1985
65. Beitz JG, Kim I-S, Calabresi P, Frackelton AR : Human microvascular endothelial cells express receptors for platelet-derived growth factor, *Proc Natl Acad Sci USA*, 88 : 2021-2025, 1991
66. Lynch SE, Nixon JC, Colvn RB, Antoniades HN : The role of platelet-derived growth factor in wound healing : synergistic effects with other growth factors, *Proc Natl Acad Sci USA*, 84 : 7696-7700, 1987
67. Greenhalgh DG, Sprugel KH, Murray MJ, Ross R : PDGF and FGF stimulate wound healing in the genetically diabetic mouse, *Am J Pathol*, 136 : 1235-1246, 1990
68. Robson MC, Philips LG, Thompson A, Robson LE, Pierce GF : Platelet-derived growth factor BB for the treatment of chronic pressure ulcers, *Lancet*, 339 : 23-25, 1992
69. Sakamoto N, Tanaka NG, Tohgo A, Osada Y, Ogawa H : Inhibitory effects of heparin plus cortisone acetate on endothelial cell growth both in cultures and in tumor masses, *J Natl Cancer Inst*, 78 : 581-585, 1987
70. Horikoshi T, Balin AK, Carter DM : Effect of oxygen on the growth of human epidermal keratinocytes, *J Invest Dermatol*, 86 : 424-427, 1986
71. 飯塚 一, 橋本喜夫, 小林孝志 : 表皮細胞増殖と SOD, *J Act Oxyg Free Rad*, 3 : 313-321, 1992
72. Lynch SE, Colvin RB, Antoniades HN : Growth factors in wound healing, *J Clin Invest*, 84 : 640-646, 1989
73. Mansbridge JN, Hanawalt PC : Role of transforming growth factor beta in the maturation of human epidermal keratinocytes, *J Invest Dermatol*, 90 : 336-341, 1988
74. Adams JC, Watt FM : Fibronectin inhibits the terminal differentiation of human keratinocytes, *Nature*, 340 : 307-309, 1989
75. Takahashi H, Kobayashi H, Hashimoto Y, Matsuo S, Iizuka H : Interferon γ -dependent stimulation of Fas antigen in SV40-transformed human keratinocytes : modulation of the apoptotic process by protein kinase C, *J Invest Dermatol* (105: 810-815, 1995)
76. Grinnell F : Fibronectin and wound healing, *J Cell Biochem*, 26 : 107-116, 1984
77. O'Keefe EJ, Woodley DT, Falk R, Gammon WR, Briggaman RA : Production of fibronectin by epithelium in a skin equivalent, *J Invest Dermatol*, 88 : 634-639, 1987
78. Antoniades HN, Galanopoulos T, Neville-Golden J, Kiritsy CP, Lynch SE : Injury induces in vivo expression of platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF receptor mRNAs in skin epithelial cells and PDGF mRNA in connective tissue fibroblasts, *Proc Natl Acad Sci USA*, 88 : 565-569, 1991
79. Takeda J, Adachi K, Halprin KM, Itami S, Levine V, Woodyard C : Forskolin activates adenylate cyclase activity and inhibits mitosis in in vitro in pig epidermis, *J Invest Dermatol*, 81 : 236-240, 1983
80. Yamanishi K, Kishimoto S, Yasuno H : Cyclic AMP as a negative regulator of DNA synthesis in

- FRSK cells, a fetal rat epidermal cell line, *J Dermatol*, 16 : 2-6, 1989
81. Matsumoto K, Hashimono K, Yoshikawa K, Nakamura T : Marked stimulation of growth and motility of human keratinocytes by heptocyte growth factor, *Exp Cell Res*, 196 : 114-120, 1991
 82. Hebda PA : Stimulatory effects of transforming growth factor-beta and epidermal growth factor on epidermal cell outgrowth from porcine skin explant cultures, *J Invest Dermatol*, 91 : 440-445, 1988
 83. Bernstein EF, Harisiades L, Salomon G, et al : Transforming growth factor- β improves healing of radiation impaired wounds, *J Invest Dermatol*, 97 : 430-434, 1991
 84. Grant DS, Kleinman HK, Goldberg ID, et al : Scatter factor induces blood vessel formation in vivo, *Proc Natl Acad Sci USA*, 90 : 1937-1941, 1993
 85. Sato Y, Okamura K, Morimoto A, et al : Indispensable role of tissue-type plasminogen activator in growth factor-dependent tube formation of human microvascular endothelial cells in vitro, *Exp Cell Res*, 204 : 223-229, 1993
 86. Tavakkol A, Elder JT, Griffiths CEM, et al : Expression of growth hormone receptor, insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and IGF-1 receptor mRNA and proteins in human skin, *J Invest Dermatol*, 99 : 343-349, 1992
 87. Di Marco, Mathor M, Bondanza S, et al : Nerve growth factor binds to normal human keratinocytes through high and low affinity receptors and stimulate their growth by a novel autocrine loop, *J Biol Chem*, 268 : 22838-22846, 1993
 88. Pillai S, Bikle DD, Eessalu TE, et al : Binding and biological effects of tumor necrosis factor alpha on cultured human neonatal foreskin keratinocytes, *J Clin Invest*, 83 : 816-821, 1989
 89. Symington FW : Lymphotoxin, tumor necrosis factor and gamma interferon are cytostatic for normal human keratinocytes, *J Invest Dermatol*, 92 : 798-805, 1989
 90. Moony DP, O'Reilly M, Gamelli RL : Tumor necrosis factor and wound healing, *Ann Surg*, 211 : 124-129, 1990
 91. Aoyagi T, Kamigaki K, Kato N, Fukaya T, Iizuka H, Miura Y : Retinoid stimulates epidermal outgrowth of pig skin explants, *J Dermatol*, 8 : 197-205, 1981
 92. Marcelo CL, Madison KC : Regulation of the expression of epidermal keratinocyte proliferation and differentiation by vitamin A analogs, *Arch Dermatol Res*, 276 : 381-389, 1984
 93. Frosch PJ, Czarnetzki BM : Effect of retinoids on wound healing in diabetic rats, *Arch Dermatol Res*, 281 : 424-426, 1989
 94. Lutzow-Holm C, De Angelis P, Clausen OPF : Retinoic acid provokes a regeneration-like proliferative response in murine epidermis, *Arch Dermatol Res*, 284 : 418-423, 1992
 95. Oikawa T, Okayasu I, Ashino H, Morita I, Murota S, Shudo K : Three novel synthetic retinoids, Re 80, Am 580 and Am 80, all exhibit anti-angiogenic activity in vivo, *Eur J Pharmacol*, 249 : 113-116, 1993
 96. Kobayashi T, Hashimoto K, Yoshikawa K : Growth inhibition of human keratinocytes by 1,25-dihydroxyvitamin D3 is linked to dephosphorylation of retinoblastoma gene product, *Biochem Biophys Res Commun*, 196 : 487-493, 1993
 97. Oikawa T, Hirotsu K, Ogasawara H, et al : Inhibition of angiogenesis by vitamin D3 analogues, *Eur J Pharmacol*, 178 : 247-250, 1990
 98. Takehara K, LeRoy EC, Grotendorst GR : TGF- β inhibition of endothelial cell proliferation : alteration of EGF binding and EGF-induced growth regulatory (competence) gene expression, *Cell*, 49 : 415-422, 1987
 99. Frater-Schroeder M, Risau W, Hallmann R, Gautschi P, Boehlen P : Tumor necrosis factor type α , a potent inhibitor of endothelial cell growth in vitro, is angiogenic in vivo, *Proc Natl Acad Sci USA*, 84 : 5277-5281, 1987
 100. Rappolee DA, Mark D, Banda MJ, Werb Z : Wound macrophages express TGF- α and othe

- growth factors in vivo : analysis by mRNA phenotyping, *Science*, 241 : 708-712, 1988
101. Wahl SM, Wong H, McCartney-Francis N : Role of growth factors in inflammation and repair, *J Cell Biochem*, 40 : 193-199, 1989
 102. Benett NT, Schultz GS : Growth factors and wound healing, *Am J Surg*, 166 : 74-81, 1993
 103. Todd R, Donoff BR, Chiang T, et al : The eosinophils a cellular source of transforming growth factor alpha in healing cutaneous wounds, *Am J Pathol*, 138 : 1307-1313, 1991
 104. Reed BR, Clark RAF : Cutaneous tissue repair : practical implications of current knowledge II, *J Am Acad Dermatol*, 13 : 919-941, 1985
 105. Knightson DR, Fiegle VD, Austin LL, Ciresi KF, Butler DL : Classification and treatment of chronic nonhealing wounds : Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF), *Ann Surg*, 204 : 322-330, 1986
 106. Yaar M, Karassik RL, Schnipper LE, Gilchrist BA : Effect of alpha and beta interferon on cultured human keratinocytes, *J Invest Dermatol*, 85 : 70-74, 1985
 107. Girolomoni G, Phillips JT, Bergstresser PR : Prolactin stimulates proliferation of cultured human keratinocytes, *J Invest Dermatol*, 101 : 275-279, 1993
 108. Bollag WB, Ducote J, Harmon CS : Effects of the selective protein kinase C inhibitor, Ro 31-7549, on the proliferation of cultured mouse epidermal keratinocytes, *J Invest Dermatol*, 100 : 204-246, 1993
 109. Matsue H, Bergstresser PR, Takashima A : Reciprocal cytokine-mediated cellular interactions in mouse epidermis : promotion of γ δ T-cell growth by IL-7 and TNF α and inhibition of keratinocyte growth by γ IFN, *J Invest Dermatol*, 101 : 543-548, 1993
 110. Ristow H-J : Interleukin-1 does not stimulate DNA synthesis of cultured human keratinocytes growth-arrested in growth-factor-depleted medium, *J Invest dermatol*, 95 : 688-692, 1990
 111. Morhenn VB, Wastek GJ, Cua AB, Mansbridge JN : Effects of recombinant interleukin 1 and interleukin 2 on human keratinocytes, *J Invest Dermatol*, 93 : 121-126, 1989
 112. Hancock GE, Kaplan G, Cohn ZA : Keratinocyte growth regulation by the products of immune cells, *J Exp Med*, 168 : 1395-1402, 1988
 113. Gaspari AA, Lotze MT, Rosenberg SA, Stern JB, Katz SI : Dermatologic changes associated with interleukin 2 administration, *JAMA*, 258 : 1624-1629
 114. Grossman RM, Kupper T, Yourish F, et al : Interleukin 6 is expressed in high levels in psoriatic skin and stimulates proliferation of cultured human keratinocytes, *Proc Natl Acad Sci USA*, 86 : 6367-6371, 1989
 115. Kirnbauer R, Koeck A, Neuner P, et al : Regulation of epidermal cell interleukin-6 production by UV light and corticosteroids, *J Invest Dermatol*, 96 : 484-489, 1991
 116. Tuschil A, Lam C, Haslberger A, Lindley I : Interleukin-8 stimulates calcium transients and promotes epidermal cell proliferation, *J Invest Dermatol*, 99 : 294-298, 1992
 117. Dlugosz AA, Cheng C, Denning MF, Dempsey PJ, Coffey RJ, Yuspa SH : Keratinocyte growth factor ligands induce transforming growth factor α expression and activate the EGF receptor signaling pathway in cultured epidermal keratinocytes, *Cell Growth and Diff*, 5 : 1283-1292, 1994
 118. Kuroki T : Induction by cholera toxin of synchronous divisions in vivo in the epidermis resulting in hyperplasia, *Proc Natl Acad Sci USA*, 78 : 6958-6962, 1981
 119. Morris RJ, Fischer SM, Slagle TJ : Evidence that the centrally and peripherally located cells in the murine epidermal proliferative unit are two distinct cell populations, *J Invest Dermatol*, 84 : 277-281, 1985
 120. Florin-Christensen M, Missero C, Florin-Christensen J, Tranque P, Cajal SR, Dotto GP : Counteracting effects of E1a transformation on cAMP growth inhibition, *Exp Cell Res*, 207 : 57

- 61, 1993
121. Barker JNWN, Goodland JR, Ross EL, Yu CC, Groves RW, MacDonald DM : Increased epidermal cell proliferation in normal human skin in vivo following local administration of interferon- γ , *Am J Pathol*, 142 : 1091–1097, 1993
122. Watson CA, Camera-Benson L, Palmer-Crocker R, Pober JS : Variability among human umbilical vein endothelial cultures, *Science*, 268 : 447–448, 1995
123. Nickoloff BJ, Mitra RS, Varani J, Dixit VM, Polverini PJ : Aberrant production of interleukin 8 and thrombospondin-1 by psoriatic keratinocytes mediates, *Am J Pathol*, 144 : 820–828, 1994
124. Detmer M, Yeo K-T, Nagy JA, et al : Keratinocyte-derived vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) is a potent mitogen for dermal microvascular endothelial cells, *J Invest Dermatol*, 105 : 44–50, 1995
125. Strieter RM, Kunkel SL, Arenberg DA, Burdick MD, Polverini PJ : Interferon-gamma-inducible protein 10 (IP-10), a member of the C-X-C chemokine family is an inhibitor of angiogenesis, *Biochem Biophys Res Commun*, 210 : 51–57, 1995
126. Angiolillo AL, Sgadari C, Taub DD, et al : Human interferon-inducible protein 10 is a potent inhibitor of angiogenesis in vivo, *J Exp Med*, 182 : 155–162, 1995
127. Chedid M, Rubin JS, Csaky KG, Aaronson SA : Regulation of keratinocyte growth factor gene expression by interleukin 1, *J Biol Chem*, 269 : 10753–10757, 1994

Regulation of Keratinocyte Proliferation during Wound Healing

Hajime Iizuka

Department of Dermatology, Asahikawa Medical College
3-11 Nishikagura, Asahikawa 078, Japan

Takashi Aoyagi

Aoyagi Dermatology Office
Inaho 2-2-6, Otaru 047, Japan

Key words : *wound healing, outgrowth, cyclic AMP, glucocorticoid, angiogenesis*

In wound healing epidermal hyperproliferation is accompanied by altered keratinization process. Numerous growth factors and cytokines seem to participate in the epidermal hyperproliferation. Although these 'growth factors' stimulate keratinocyte proliferation in various culture conditions, they might not necessarily accelerate wound healing in vivo. Wound healing process should be regarded as a highly complex mechanism with many cellular participants that affect keratinocyte proliferation. Among the factors that affect keratinocyte proliferation, angiogenesis seems to play an important role on wound healing.

Skin Research, 38 : 132-147, 1996