

# MECHANISMS OF STEM CELL ACTIVITY IN HAIR AND EPIDERMAL DIFFERENTIATION.

撰: 黃文彥

Ph.D student in 林頌然 lab

Institute of Biomedical engineering, NTU

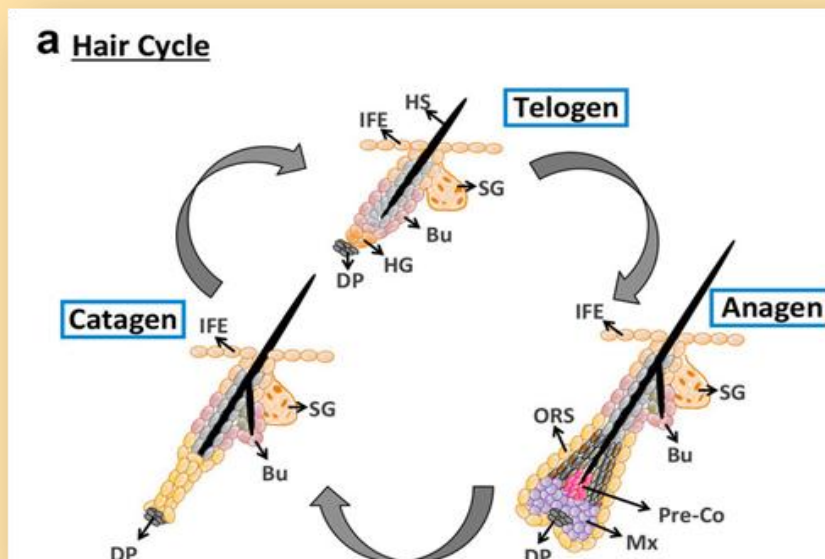


**Pantelis Rompolas, Ph.D.**

**Assistant Professor of Dermatology, University of Pennsylvania**

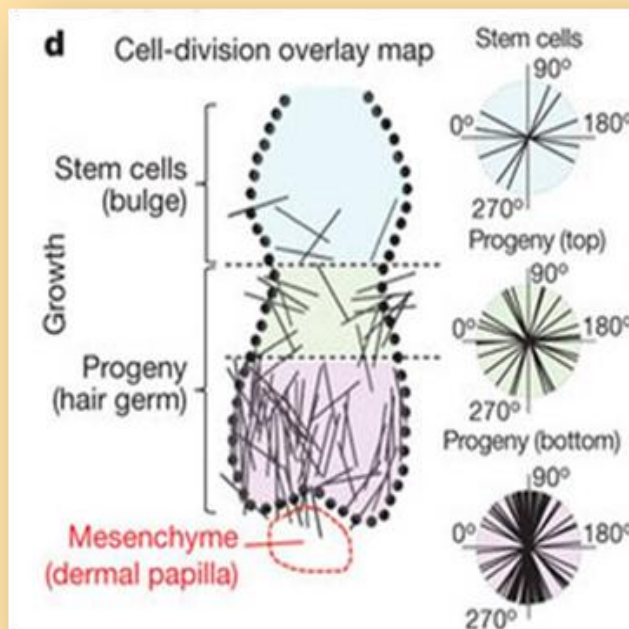
幹細胞存在於組織器官內，被認為是具有增生與自我更新能力的一群未分化細胞。組織幹細胞的功能除了維持組織器官生理上的恆定狀態 (Homeostasis)，在修復受損的組織及器官時更扮演著重要角色。幹細胞的研究促進了再生醫學的發展，而再生醫學的目標之一即是尋找器官或組織內的幹細胞，了解其作用的機制，進而在組織或器官受損時能有效率的活化幹細胞進行修復。

毛囊雖小，五臟俱全。小小的毛囊對於動物在自然界中生存卻是不可或缺，例如：體內的溫度可藉由調整毛髮的密度來調節以應變自然界中多變的天氣，毛髮也是吸引異性的關鍵因素，雄獅的鬃毛與男性的鬍鬚都具有第二性徵的意義，另外，某些動物的毛髮所形成的保護色能幫助牠們躲避天敵，提高生存機會。生理上，毛囊的生長週期可分為：生長期 (Anagen)、退化期 (Catagen)、和休止期 (Telogen) 三個階段。在休止期時，毛囊有兩群功能上不同的幹細胞存在其特殊的微環境中 (Niche) 並維持睡眠狀態 (Quiescence) 以保持其原始能力 (Stemness)，分別是毛囊幹細胞 (Hair follicle stem cells, HFSCs, 存在於bulge) 和初始幹細胞 (Prime stem cell, 存在於hair germ)，當刺激生長的訊號由間質細胞 (Dermal papilla) 發出並傳到初始幹細胞時，毛囊週期便開始準備進入生長期，此時初始幹細胞與毛囊幹細胞先後被活化進行細胞分裂 (Two-step activation)，兩者的前驅細胞 (Progenitor) 隨後持續分化形成複雜的生長期毛囊結構並產生毛髮 (圖一)。由於幹細胞的分子機制與動態行為在各毛囊週期中具有不同的調控，因此毛囊非常適合當作研究模式，來幫助釐清幹細胞在再生過程中所扮演的角色。

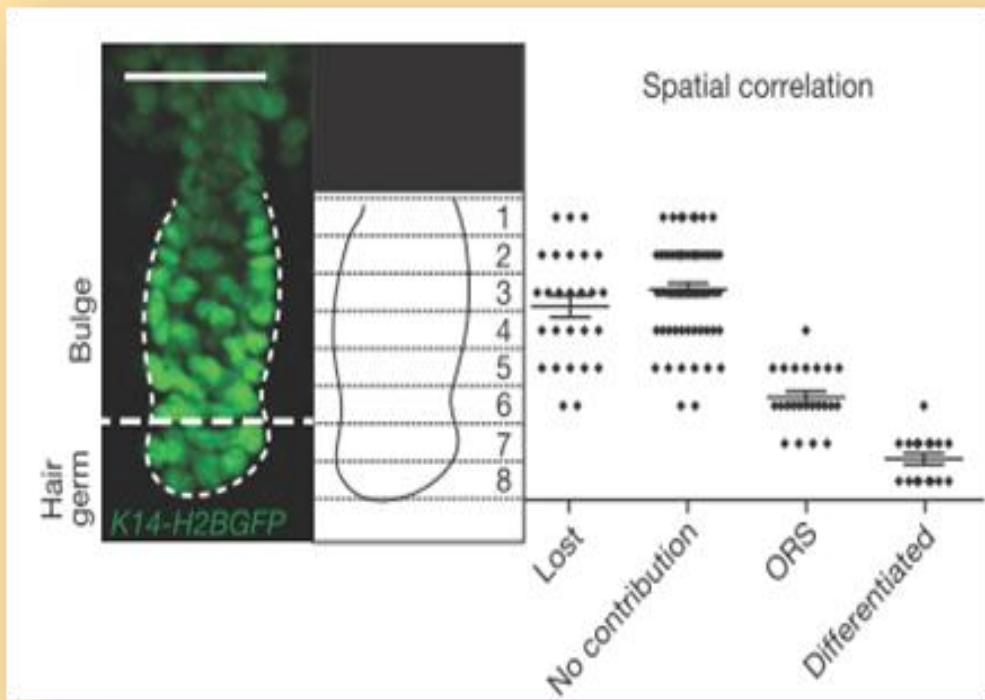


圖一. The hair cycles. (Wen-Hui Lien, Nature Cell Biology, Vol 16 179-190, 2014)

這次發育生物與再生醫學研究中心邀請**Dr. Pantelis Rompolas**來分享他利用活體影像觀測毛囊再生時幹細胞動態的研究成果，現場聽眾坐無虛席。開場由台大醫工所林頌然副教授介紹，**Rompolas**博士來自希臘，2009年在University of Connecticut Health Center取得博士學位後於2011-2015在Yale University的Valentina Greco實驗室進行博士後研究，**Rompolas**博士利用multiphoton microscopy system 配合特殊的螢光轉殖鼠，於2012年在nature發表了關於毛囊幹細胞如何參與毛囊再生過程的研究成果，這是第一個在哺乳類動物活體內直接觀測到組織再生時幹細胞的細胞動態<sup>1</sup>。隨後，他又陸續在Nature, Science等雜誌，陸續發表關於毛囊幹細胞在其niche內，如何受到時空上的調控。這次有機會邀請他到本校訪問演講，跟大家分享他如何結合活體造影與分子研究，來釐清幹細胞調控的動態與機轉。**Rompolas**博士觀察到在毛囊再生的初期，細胞分裂受到空間上的調控，大部份的細胞分裂發生在毛囊的底部，也就是接觸到間質細胞的部分，而上半部的幹細胞分裂次數相對減少(圖二)。利用14-H2BGFP基因轉殖鼠與Rosa-tdTomato小鼠交配，使特定細胞被標定紅色螢光，分析數百根毛囊中被標定的細胞在再生過程中的動態後，**Rompolas**博士將休止期的毛囊細分為八個子單位，發現大部分的HFSCs幾乎不參與毛囊再生 (Part1-6)，中下部份的HFSCs與Prime SCs參與了生長期毛囊outer root sheath (ORS)的建構 (Part5-7)，而Prime SCs則傾向於分化成生長期毛囊的各層結構 (Part7-8) (圖三)<sup>2</sup>。

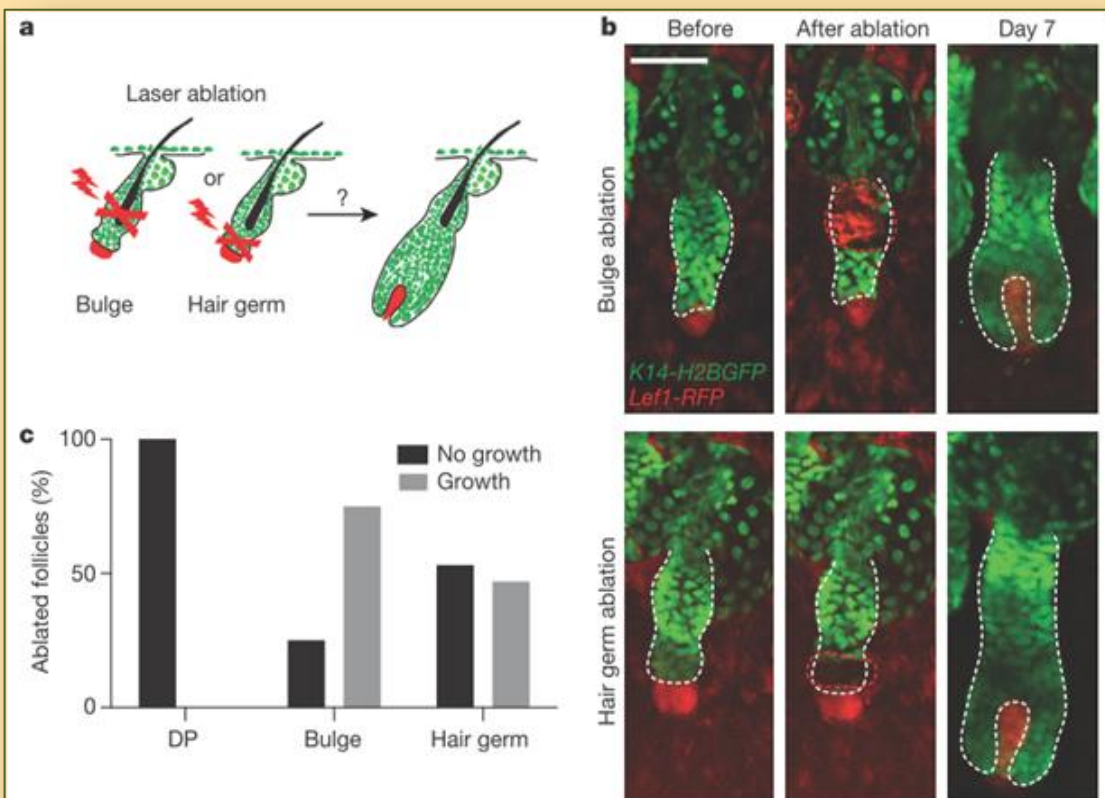


圖二. Cell divisions are spatially regulated in the hair follicle at the beginning of a new growth.

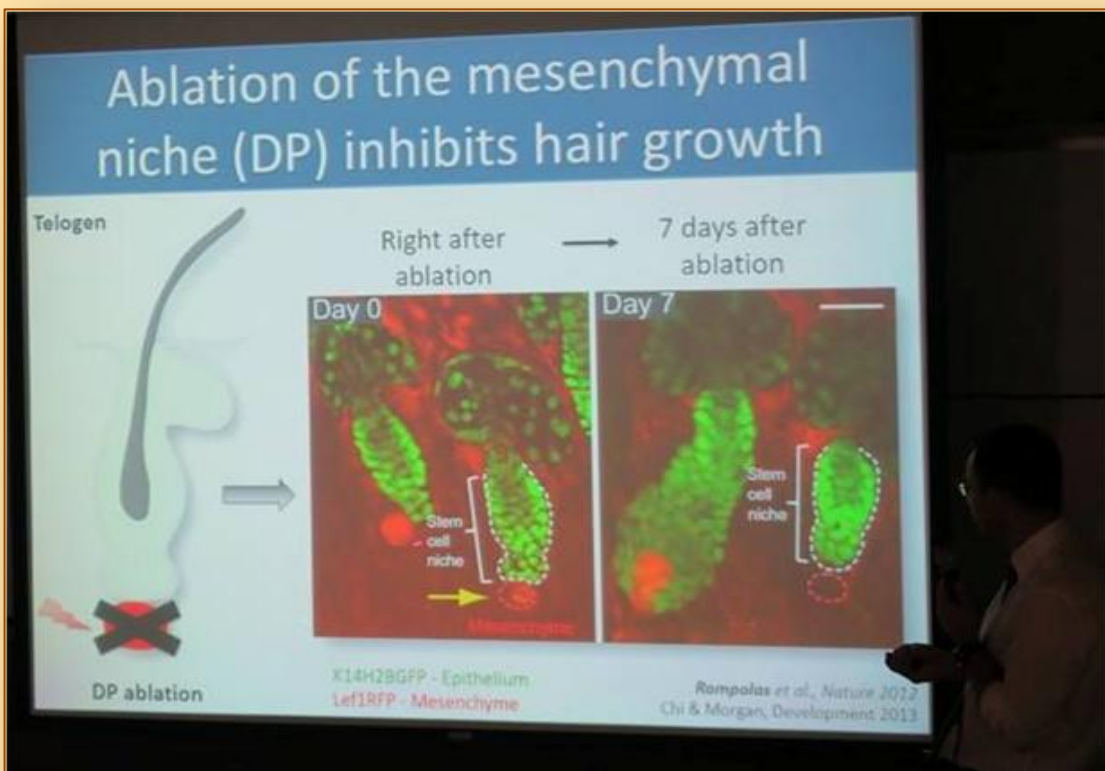


圖三. Niche location can predict the fate of hair follicle stem.

幹細胞參與了組織或器官的再生，為了釐清存在於niche中的幹細胞在再生過程中是否絕對必須，Rompolas博士利用雷射將bulge的HFSCs及hair germ的Prime SCs分別去除後觀察毛囊再生是否會受到影響。有趣的是，無論HFSCs或Prime SCs被去除後，毛囊依然會有相當機率的再生，然而，在沒有幹細胞的幫助下，毛囊再生的過程是如何被調控的？藉由Lineage tracing的實驗得知，位在bulge上方 (infundibulum)的細胞感應到傷害後會快速活化並進行細胞分裂，重建niche，提供再生所需的能量(圖四)。而若是發出刺激生長訊號的間質細胞被去除後，毛囊則停留在休止期無法再生(圖五)，這些研究結果顯示了幹細胞雖參與了組織或器官的再生，但並非是不可或缺的，受損的niche可藉由活化其他細胞幫助重建，確保組織能夠再生。然而不管是正常生理狀態的恆定或是受損時的修復或再生，都需要精準的表皮-間質交互作用 (epithelial-mesenchymal interaction, EMI)，若一開始發號施令的間質細胞出了問題，則再生過程便無法啟動。



圖四. Bulge and hair germ are mutually dispensable for hair regeneration.

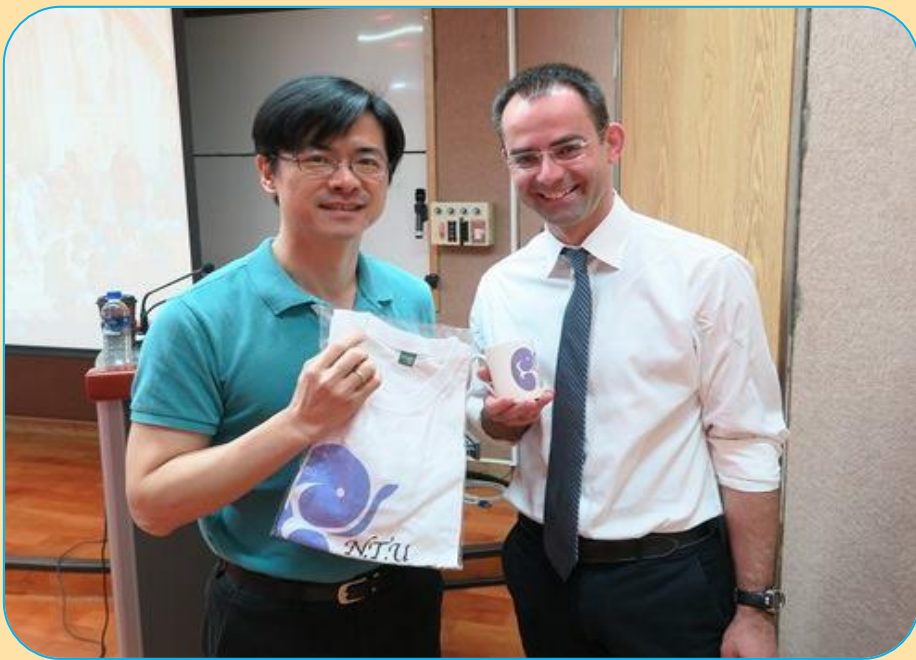


圖五. Ablation of the mesenchymal dermal papilla impairs initiation of hair regeneration.

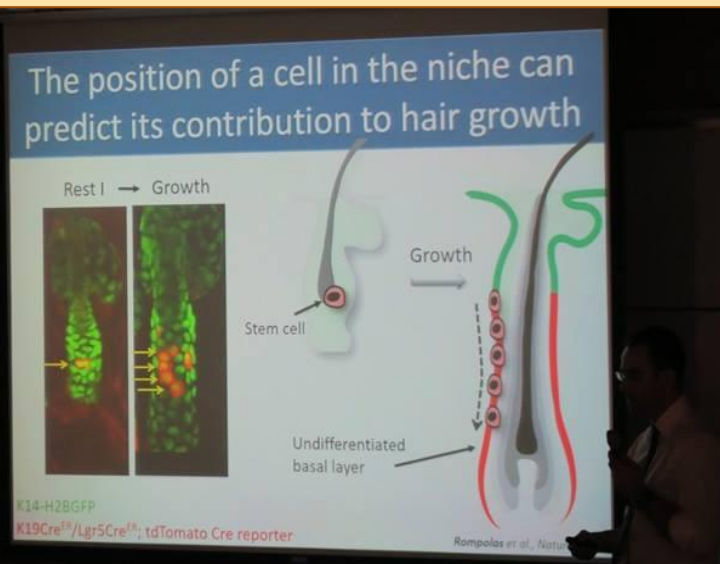
關於毛囊幹細胞的研究結果告一段落後，**Rompolas**博士更大方地分享他正在投稿中，關於表皮分化的**unpublished data**，皮膚根據分化的程度可分為四層結構，皮膚幹細胞位在表皮的基底層 (**basal layer**)，由於觀測方法的限制，長久以來一直缺乏強烈的證據幫助釐清表皮幹細胞到底是**symmetric division** 還是**asymmetric division**，被廣泛接受的是1974年由**Dr. Potten**提出的 **EPU model (Epidermal proliferation unit)**，**EPU model**指出每個unit約由10-20個**basal cell**為單位，透過**asymmetric division**產生一個**self-renew**的幹細胞及一個前驅細胞，前驅細胞透過細胞分裂最後形成表皮的**EPU** (圖六)。



**Rompolas**博士利用活體影像做了直接觀察後認為**cell fate**並不是在**division**時做決定，而是**cell division**後，兩個**daughter cell**再各自獨立決定要不要分化。根據他的觀察結果他提出了“**Epidermal differentiation unit (EDU)**”希望取代過去40-50年的**EPU model**，這部份的結果目前正投稿於**Science**審查中，讓我們靜待**Rompolas**博士對於表皮幹細胞及**EDU**的研究成果。演講結束後賈景山教授問了許多關鍵性的問題，引起了許多討論。這個世代可謂是影像時代，2014年諾貝爾化學獎即頒給了對提高顯微鏡影像解析度做出貢獻的科學家們，以往我們只能利用2D的**lineage tracing**來追蹤幹細胞的動態，隨著顯微鏡設備的進步，我們現在可以得到更高解析度的影像，幫助我們“看”清楚細胞在體內的行為。**Rompolas**博士利用活體造影，配合基因轉殖鼠，釐清了過去對於幹細胞行為的多個重要猜想與爭議，也將幹細胞的研究帶向了一個全新的領域，真的是“**To see is to believe**” !!



林頌然副教授贈送中心禮品於Prof. Rompolas



演講現場座無虛席



演講後於臺大醫學院202教室合影

**1.Rompolas, P. *et al.* Live imaging of stem cell and progeny behaviour in physiological hair-follicle regeneration. *Nature* 487, 496-499, doi:10.1038/nature11218 (2012).**

**2.Rompolas, P., Mesa, K. R. & Greco, V. Spatial organization within a niche as a determinant of stem-cell fate. *Nature* 502, 513-518, doi:10.1038/nature12602 (2013).**