

毛囊干细胞标记物的研究进展

倪振洪 邵勇 李玉红^{1*}(第三军医大学学员旅一队, 重庆 400038; ¹ 第三军医大学基础部细胞生物学教研室, 重庆 400038)

摘要 毛囊干细胞是一类位于毛囊隆突区的成体干细胞, 对毛囊的周期性生长, 表皮和皮脂腺的更新以及皮肤损伤后修复有着至关重要的作用。毛囊干细胞的标记物是对毛囊干细胞进行分离和鉴定的重要依据, 对毛囊干细胞的基础研究起着关键作用。因此寻找特异性较高的毛囊干细胞标记物成为了近年的研究热点。本文按毛囊干细胞标记物在细胞中所处部位进行分类, 将其分为位于细胞膜、细胞质、细胞核的标记物, 综述了目前国内外主要采用的整合素、角蛋白、CD34、CD200 等标记物以及新发现的 Lgr5、Sox9、Tcf3 等基因标记物。

关键词 毛囊干细胞; 标记物; 隆突区

毛囊是控制毛发生长的皮肤附属器官, 为包围在毛发根部的囊状组织, 由上皮(毛母质与外根鞘)和真皮(毛乳头和结缔组织鞘)两大部分组成, 其生长周期可分为生长期、退行期和休止期。毛囊干细胞(hair follicle stem cells, FSCs)是定位于毛囊隆突区(即皮脂腺开口处与立毛肌毛囊附着处之间的毛囊外根鞘)的一类成体干细胞(图 1), 其分化经毛囊干细胞、短暂增殖细胞和有丝分裂后分化细胞三个阶段, 在体内表现为自我更新能力和慢周期性, 体外培养时表现出高克隆能力和多分化潜能^[1,2]。FSCs 对毛囊的周期性生长, 表皮和皮脂腺的更新以及皮肤损伤后修复有着至关重要的作用。表皮干细胞(epithelial stem cells, ESCs)和 FSCs 同属上皮来源的成体干细胞, 且空间位置临近, 在一定条件下可以相互转化(创伤时, 体外诱

导分化), 在用许多标记物进行标定时也发现标记阳性细胞分布于隆突区和表皮基底^[2](图 1)。ESCs 和 FSCs 具有许多相同的标记物, 在此一起综述。

FSCs 自我更新能力强, 具有多分化潜能, 易于获取, 是干细胞生物学和组织工程研究的理想模型之一, 且具有广泛的临床应用前景, 是近几年国内外学者的研究热点^[2]。FSCs 的标记物不仅可以为 FSCs 的鉴定提供依据, 还是分离获得高纯度 FSCs 的前提, 同时也是对 FSCs 的分子生物学机制进行深入研究的基础。本文按标记物在细胞中所处部位分类, 将 FSCs 标记物分为位于细胞膜、细胞质和细胞核的标记物。

1 位于细胞膜的标记物

1.1 整合素

整合素是由 α 和 β 亚单位组成的杂二聚体受体超家族, 主要介导细胞与细胞外基质的粘附。ESCs 常高表达某些整合素介导干细胞与基底膜粘附, 干细胞对基底膜的脱粘附是诱导干细胞脱落并进入分化周期的重要调控机制^[4]。研究发现 ESCs 和短暂增殖细胞表面都高表达 $\beta 1$ 整合素, 而有丝分裂后细胞及终末分化细胞不表达 $\beta 1$ 整合素, 因而可用 $\beta 1$ 整合素来鉴别 ESCs 及短暂增殖细胞^[4]。但一般的光镜不能分辨这种差别, 需要用激光共聚焦显微镜, 将组织切片进行 $1 \mu\text{m}$ 的断层扫描, 在单层细胞水平上观察, 方

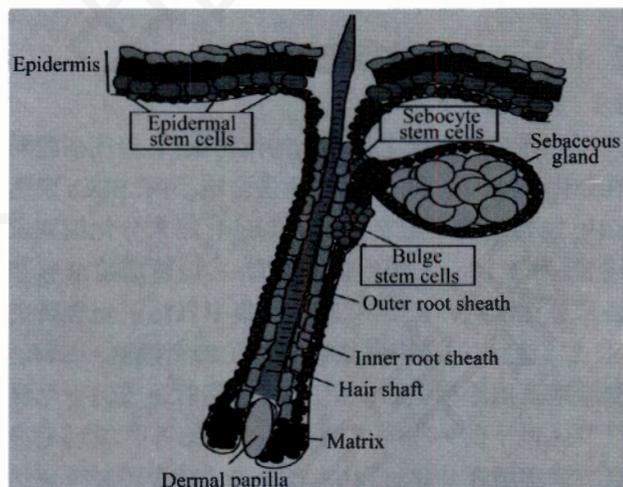


Fig.1 structure of hair follicle^[3]

收稿日期: 2009-05-11 接受日期: 2009-11-16

国家自然科学基金资助项目(No.30671888)

* 通讯作者。Tel: 023-68753260, E-mail: Leo61999@163.com

可分辨出两种细胞 $\beta 1$ 整合素的不同^[4]。唐红英等^[5]针对目的基因 $\beta 1$ 整合素,选择RNA干扰作用靶点特异性的寡核苷酸序列,构建到siRNA表达质粒pSilencer3.1/H1z中,并转染人ESCs,结果发现重组载体转染组能抑制 $\beta 1$ 整合素的表达,抑制效率达70%;ESCs中外皮蛋白表达较对照组增加50%; G_0/G_1 期细胞较对照组明显减少, G_2 期及S期细胞较对照组增多;干细胞克隆形成率较对照组显著降低,表明 $\beta 1$ 整合素是ESCs进入分化的重要调控因素。近年来有实验把ESCs表面的 $\alpha 6$ 整合素和与增殖有关的表面标志10G7结合用以区分干细胞与定向祖细胞^[6]。 $\alpha 6$ 阳性而10G7阴性的细胞处于静息状态,在体外培养中具有很强的增殖潜能,认为是ESCs。而 $\alpha 6$ 与10G7均阳性的细胞是定向祖细胞,体外培养证实其增殖能力有限,提示 $\alpha 6$ 整合素可能比 $\beta 1$ 整合素具有更高的分选价值,但仍不能作为特异标记物。Terunuma等^[7]发现体外培养人 $\alpha 6$ 阳性、CD71阴性的角质化细胞在33周的时间里大量扩增,也表明 $\alpha 6$ 和CD71联合运用可较好的标记ESCs。

1.2 CD34

Trempeus等^[8]于2003年首次通过实验发现CD34可以作为小鼠FSCs的一种特异性标记物,但它并不表达于人类的FSCs^[9]。Raposio等^[10]将从人体皮肤分离得到的游离毛囊置于5%CO₂,37℃细胞培养箱内培养,加入抗CD34、CD38、CD45、CD90、CD133、CD146的抗体,采用流式细胞术观察发现人类毛囊隆突区细胞的CD34阳性率仅为1%~2%,其中大部分为CD34⁺、CD45⁻、CD133⁻、CD146⁻细胞,并且和细胞增殖抗原标记物Ki67共同表达,表明CD34不能作为人类毛囊干细胞的标记物。黄恩毅等^[11]用免疫磁珠法有效分离并成功培养了大鼠CD34⁺毛囊细胞,分选后的细胞活性好,细胞核较大,核仁明显,细胞质小,核质比例大,细胞器少,呈幼稚细胞的典型形态,增殖速度快,增殖期长,而CD34⁻细胞则较快进入平台期。培养的CD34⁺细胞中干细胞标记物 $\beta 1$ 整合素、CD34和 $\alpha 6$ 整合素的表达均强于CD34⁻细胞,表明CD34是一种较好的啮齿类FSCs分选标记物。Trempeus等^[12]发现给与CD34基因敲除(CD34KO)小鼠初始剂量200nmol的7,12-二甲苯蒎(DMBA)和连续20周的促癌物TPA涂抹,并没有诱发CD34KO小鼠肿瘤的形成。与其对照组野生型小鼠相比,诱发CD34KO小鼠皮肤肿瘤的形成需要更大的DMBA初始剂量和更长的TPA诱导时间。CD34KO

小鼠的毛囊细胞停留在毛发生长终期,并呈现溴脱氧尿苷标记滞留。因此认为CD34对TPA诱导FSCs的激活以及皮肤肿瘤的形成是必须的。

1.3 CD200

研究表明CD200表达于小鼠毛囊隆突区细胞,CD200与CD200受体间的相互作用可以传递抑制性信号,减低髓样细胞的活性,改变其迁移,在免疫疾病和抑制排斥反应中作为一种免疫耐受信号,对免疫和炎症调节起着重要的作用,可能解决组织工程皮肤移植时的免疫排斥问题,有望成为今后的研究重点^[13]。Inoue等^[14]发现人类毛囊隆突区的CD200⁺、CD34⁻细胞比CD34⁺细胞有更强的克隆形成能力,表明CD200可作为人类FSCs较好的标记物,同时也说明CD34的阴性表达对于人类FSCs的鉴定有一定意义。Ohyama等^[15]运用激光捕获显微切割技术直接从人毛囊获得隆突区细胞,用基因芯片分析发现CD200、CD59上调,CD24、CD34、CD71、CD146下调。从人毛囊隆突区分离得到的CD200⁺、CD24⁻、CD34⁻、CD71⁻、CD146⁻细胞,体外培养具有较高增殖能力,表明此组标记物对分选人FSCs具有很好的应用价值。

1.4 ABCG2

ABCG2属于ABC转运蛋白超家族的成员,具有ATP依赖性药物外排功能,定位于质膜。ABCG2/Bcrp1在不同组织来源的侧群干细胞中均高表达,被认为是侧群干细胞的表型标记^[16]。Yano等^[17]发现ABCG2集中表达于表皮基底层和毛囊隆突区细胞,并与 $\beta 1$ 整合素, $\alpha 6$ 整合素等共同表达。但也有实验发现皮肤侧群细胞并不表达 $\beta 1$ 整合素,也不定位于毛囊隆突区^[18]。因此ABCG2能不能作为FSCs的标记物尚存争议。

2 位于细胞质的标记物

2.1 角蛋白

角蛋白是皮肤上皮细胞的结构蛋白,表皮细胞随着分化程度的不同,表达的角蛋白也不同,ESCs表达K19;短暂增殖细胞表达K5和K14;终末分化细胞表达K1和K10,可用于鉴别ESCs、短暂增殖细胞和终末分化细胞。K15和K19都集中表达于毛囊隆突区,它们标记的隆突区细胞为标记滞留细胞,不表达细胞增殖抗原标记物Ki67,但K19同时还表达于毛囊隆突区以下的外根鞘细胞^[19,20]。Lyle等^[19]发现毛囊隆突区细胞在分化过程中,K15表达减少较K19表达减少更早,K15阴性而K19阳性可能是早期的短暂增

殖细胞, 因此认为 K15 在鉴别 FSCs 方面可能比 K19 更有意义。Liu 等^[21]用 K15 的启动子驱动报告基因 lacZ 的表达来研究毛囊隆突区的标记滞留细胞时发现, 表达报告基因的标记滞留细胞呈现出多分化潜能和体外高度克隆能力, 并且还表达其他两种 FSCs 标记物 β 1 整合素和 CD34。Chen 等^[22]研究发现 K19 在皮肤鳞状细胞癌中高表达, 这与 FSCs 的生物学特性密切相关, 进一步表明 K19 作为 FSCs 标记物的临床应用价值。

2.2 巢蛋白

巢蛋白即 nestin, 是一种细胞骨架蛋白。Amoh 等^[23]发现从转基因小鼠毛囊隆突区分离得到的 nestin-GFP 阳性细胞表达 CD34 而不表达 K15, 呈现出未分化状态, 在体外进一步培养可分化为神经元、神经胶质细胞、角质化细胞、平滑肌细胞和黑素细胞。把 nestin-GFP 阳性的小鼠毛囊隆突区细胞植入小鼠神经和脊髓损伤部位, 发现它能分化成施旺细胞, 促进受损神经和脊髓的修复^[24,25]。

3 位于细胞核的标记物

3.1 p63

p63 是肿瘤抑制因子之一, p53 的同族体, 为维持表皮基底角胚细胞增生潜能所必需。Pellegrini 等^[26]发现在角膜缘的基底细胞有 p63 表达, 而在角膜表面的短暂增殖细胞没有 p63 表达, 因而可用以区分 ESCs 和短暂增殖细胞。研究发现 p63 对成人表皮的形成和维持有重要作用, 缺乏 p63 的表皮发育不全, 不能形成复层上皮, p63 的下调引起表皮细胞终末分化的发生, 表明 p63 对于维持 ESCs 的生物学特性起重要作用^[27]。研究表明 p63 对小鼠表皮的形成有特殊意义, 在外胚层向表皮的分化过程以及维持 ESCs 群的稳定起决定性作用, 可作为啮齿类 ESCs 的一种特异性标记物^[28]。

3.2 Tcf3

Tcf3 是人类 T 细胞因子(Tcf)基因家族的成员, 在经典 Wnt 信号通路中与 β - 连环蛋白结合形成转录复合物调节靶基因的表达, 在毛囊隆突区和外根鞘的底部都有 Tcf3 的表达^[29]。Merrill 等^[29]发现在 Wnt 信号途径不被激活时, Tcf3 能抑制细胞的分化, 维持 FSCs 的特性。Nguyen 等^[30]研究发现 Tcf3 阳性的隆突区细胞高表达干细胞标记物 CD34 和 α 6 整合素而不表达短暂增殖细胞的标记物 K14, 这与 Tcf3 阴性的表皮基底细胞刚好相反; 胚胎祖细胞中也存在

Tcf3, 并且能抑制这些细胞向表皮、毛囊和皮脂腺方向分化; 利用基因芯片将胚胎上皮细胞、Tcf3 被重新激活的细胞和 FSCs 三种细胞的基因图谱进行对比, 发现 Tcf3 被重新激活的细胞许多基因的活性受到影响, 具有 FSCs 和未分化的胚胎表皮细胞的基因表达特征; 出生后诱导 Tcf3 的表达造成表皮的生成延迟以及皮脂腺的发育受损, 进一步证实了 Tcf3 对胚胎祖细胞和出生后 FSCs 生物学特性的维持和分化的启动都起着决定性作用。

3.3 Lgr5

Lgr5 基因又名 Gpr49, 编码一种富含亮氨酸的 G 蛋白偶联受体, 为 Wnt 信号通路的靶基因, 可作为肠上皮干细胞的标记物^[31]。基因微阵列分析显示 Lgr5 mRNA 高表达于成人毛囊的隆突区^[32]。Jaks 等^[33]研究发现从毛囊 Bulge 区分离得到的表达 Lgr5 (Lgr5⁺) 的细胞是一种活跃增殖和多分化潜能的干细胞群, 能周期性地生成毛囊、表皮和皮脂腺。但 Lgr5⁺ 细胞并不表达 CD34, 对毛发重建进行分析测定发现, Lgr5⁺ 细胞的毛发再生率高于 CD34⁺ 细胞。然而, 这些拥有干细胞特性的 Lgr5⁺ 细胞呈现出活跃的周期生长, 这与原先认为的 FSCs 具有慢周期性不同, 预示着一种周期活跃的干细胞存在于毛囊。

3.4 Lhx2

Lhx2 是一种转录因子, 在胚胎及胎儿发育的关键过程中起作用。Rhee 等^[34]从胎鼠中分离出早期未分化的毛囊细胞, 利用 DNA 微阵列分析对比细胞中数千个基因的表达情况, 发现在发育阶段的毛囊细胞, Lhx2 基因的表达量是邻近表皮细胞的 18 倍以上; 进一步实验发现 Lhx2 过度表达会使细胞分化受到抑制, 若将此基因剔除则会促使干细胞进行分化, 显示 Lhx2 在 FSCs 未分化状态的维持和启动分化的过程中扮演着关键角色。Lhx2 也是第一个被确定的在胚胎期毛囊基板和生后隆突区 FSCs 都特异表达的标记物^[34]。

3.5 Sox9

Sox9 基因是 Sox 基因家族的一个重要成员, 其基因家族的主要特征是具有一个保守基序 HMG-box, 可以和 DNA 进行序列特异性的结合, 在哺乳动物性别决定和软骨生成中起着关键的调控作用。Vidal 等^[35]发现 Sox9 集中表达于毛囊外根鞘, 当使 Sox9 基因失活时会造成毛囊外根鞘细胞分化受阻和皮肤缺失; Sox9 基因敲出的毛发呈现出严重的增生障碍和 FSCs 巢隆突区的永久缺失, 表明 Sox9 对毛囊外根鞘细胞的分化以及隆突区的形成起着至关重要的作用。研

究还发现 Sox9 基因的表达是通过 Shh 信号通路的激活, 在小鼠和人类的皮肤肿瘤中 Sox9 都呈现出较高的表达^[35]。Nowak 等^[36]使用 Sox9-Cre 作为基因标记物, 发现表达 Sox9 的细胞能形成所有上皮细胞体系; 并通过实验进一步证明了 Sox9 对维持早期 FSCs 的特性、启动增殖分化及皮肤肿瘤的形成中发挥着重要作用。Greco 等^[37]研究发现 Sox9 基因在毛囊隆突区的阳性率较其他基因标记物如 Lhx2、NFATc1 和 Tcf3 等更高, 很可能是 FSCs 的特异性较强的标记物。

3.6 NFATc1

NFATc1 即活化 T 细胞核因子 1, 是近年来发现的与破骨细胞的产生分化成熟及功能发挥等过程密切相关的一种转录因子。Horsley 等^[38]发现 NFATc1 集中表达于毛囊隆突区的干细胞, 能够维持干细胞的静息状态。当被 BMP 信号通路激活时, NFATc1 表达下调, 诱发 FSCs 的增生分化。临床中服用环孢菌素 A 引起的毛发过度生长就与 NFATc1 的表达下调密切相关^[38]。

此外, 还有诸如 S100A6、 β -连环蛋白、GDF-3、DKK3 等也可作为 FSCs 的标记物^[2]。现将目前发现的 FSCs 标记物进行列表并归类(表 1)。

4 问题与展望

目前已有组织工程皮肤应用于临床, 但存在缺乏

毛囊、皮脂腺和汗腺等皮肤附属器、免疫排斥、抗感染能力弱等问题。FSCs 因其独特的生物学特性从理论上说能够解决上述问题, 从而成为了组织工程皮肤的理想种子。但目前对 FSCs 的研究仍处于初级阶段, 存在对 FSCs 体内的增殖分化调控机制不甚清楚, 标记物特异性不高, 移植后的疗效不理想等问题。FSCs 的标记物不仅可以为 FSCs 的鉴定提供依据, 还是分离获得大量高纯度 FSCs 的前提, 同时也是对 FSCs 的信号通路、生物学特性的维持和分化的启动等分子生物学机制进行深入研究的基础。本文所述的几种标记物各有其特点, 位于细胞质和细胞核的标记物主要用于 FSCs 的鉴定以及分化调控机制等方面的研究, 而不宜用于分离纯化; 位于细胞膜的标记物主要用于干细胞的鉴定和分离纯化, 同时在介导免疫耐受和启动分化等方面也发挥着重要作用。已有许多学者根据 β 1 整合素、CD34、CD200 等细胞膜表面标记物, 采用流式细胞术和免疫磁珠等方法获取了一定纯度的 FSCs 并成功进行了体外培养, 但依然存在提取的干细胞纯度不高, 长期传代不能维持生物学特性等问题。因此找到一种特异性较高的 FSCs 标记物一直是近年来国内外学者研究的热点。随着各种技术如基因敲除和转基因技术在毛囊干细胞研究中的应用, 相信一定能找到特异性更高的标记物, 分离获得高纯度的毛囊干细胞, 使其在皮肤重建、皮肤肿瘤以及免疫性疾病等方面发挥重要作用。

Table 1 Some markers of hair follicle stem cells

	In the cell membrane	In the cytoplasm	In the nucleus
Positive	β 1 integrin ^[4,5]	K15 ^[19,21]	p63 ^[26-28]
	α 6 integrin ^[6,7]	K19 ^[19,20,22]	PHLDA1 ^[11]
	CD34 (mouse) ^[8,11,12]	S100A4 ^[1,2]	Lgr5 ^[32,33]
	CD200 ^[13-15]	S100A6 ^[2]	Lhx2 ^[34]
	CD44 ^[1,2]	Nestin ^[1,23-25]	Tcf3 ^[29,30]
	C8/144B ^[19]		NFATc1 ^[38]
	ABCG2 ^[17]		TERT ^[2]
	β -catenin ^[2]		GDF-3 ^[2]
	Frizzled homolog 1 ^[11]		Nanog ^[40]
			Oct4 ^[40]
Negative	CD24 ^[15]	K1 ^[40]	Sox9 ^[35-37]
	CD71 ^[2,15]	K5 ^[40]	DKK3 ^[2]
	CD146 ^[15]	K10 ^[40]	WIF1 ^[2]
	Cx43 ^[2]	K14 ^[40]	
	Dsg3 ^[39]	MAP2 ^[40]	
	CD34 (human) ^[9,10]		
			Ki67 ^[37]
		Msx2 ^[37]	
		Shh ^[37]	
		Wnt10b ^[37]	
		Lef1 ^[37]	

参考文献(References)

- 1 Waters JM, Richardson GD, Jahoda CA. Hair follicle stem cells. *Semin Cell Dev Biol* 2007; 18(2): 245-54.
- 2 Tiede S, Klopper JE, Bodò E, Tiwari S, Kruse C, Paus R. Hair follicle stem cells: walking the maze. *Eur J Cell Biol* 2007; 86(7): 355-76.
- 3 Fuchs E, Horsley V. More than one way to skin *Genes Dev* 2008; 22(8): 976-85.
- 4 Kaur P, Li A. Adhesive properties of human basal epidermal cells: an analysis of keratinocyte stem cell, transit amplifying cells, and postmitotic differentiating cells. *J Invest Dermatol* 2000; 114(3): 413-20.
- 5 唐红英, 伍素华, 陈建, 梁光萍, 苏踊跃, 孙荣距, 等. 整合素 $\beta 1$ 对人表皮干细胞增殖与分化的影响. *中华实验外科杂志* 2007; 24(1): 22-4.
- 6 Tani H, Morris RJ, Kaur P. Enrichment of murine keratinocyte stem cells based on cell surface phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(25): 13473-5.
- 7 Terunuma A, Kapoor V, Yee C, Telford WG, Udey MC, Vogel JC. Stem cell activity of human side population and $\alpha 6$ integrin-bright keratinocytes defined by a quantitative *in vivo* assay. *Stem Cells* 2007; 25(3): 664-9.
- 8 Trempus CS, Morris RJ, Bortner CD, Cotsarelis G, Faircloth RS, Reece JM, *et al.* Enrichment for living murine keratinocytes from the hair follicle bulge with the cell surface marker CD34. *J Invest Dermatol* 2003; 120(4): 501-11.
- 9 Cotsarelis G. Epithelial stem cells: a folliculocentric view. *J Invest Dermatol* 2006; 126(7): 1459-68.
- 10 Raposio E, Guida C, Baldelli I, Curto M, Fiocca R, Kunkl A, *et al.* Characterization of multipotent cells from human adult hair follicles. *Toxicol in Vitro* 2007; 21(2): 320-3.
- 11 黄恩毅, 杨恬, 陈伟, 杨力. 大鼠毛囊干细胞的纯化培养鉴定及其生物学特性. *第三军医大学学报* 2008; 30(1): 39-42.
- 12 Trempus CS, Morris RJ, Ehinger M, Elmore A, Bortner CD, Ito M, *et al.* CD34 Expression by hair follicle stem cells is required for skin tumor development in mice. *Cancer Res* 2007; 67(9): 4173-81.
- 13 Rosenblum MD, Olasz EB, Yancey KB, Woodliff JE, Lazarova Z, Gerber KA, *et al.* Expression of CD200 on epithelial cells of the murine hair follicle: a role in tissue-specific immune tolerance? *J Invest Dermatol* 2004; 123(5): 880-87.
- 14 Inoue K, Aoi N, Sato T, Yamauchi Y, Suga H, Eto H, *et al.* Differential expression of stem-cell-associated markers in human hair follicle epithelial cells. *Lab Invest* 2009; 89(8): 844-56.
- 15 Ohyama M, Terunuma A, Tock CL, Radonovich MF, Pise-Masison CA, Hopping SB, *et al.* Characterization and isolation of stem cell-enriched human hair follicle bulge cells. *J Clin Invest* 2006; 116(1): 249-60.
- 16 谢超, 裴雪涛. ABCG2/Bcrp1 转运蛋白: 侧群干细胞的表型标记与功能调控蛋白. *生理科学进展* 2003; 34(1): 57-9.
- 17 Yano S, Ito Y, Fujimoto M, Hamazaki TS, Tamaki K, Okochi H. Characterization and localization of side population cells in mouse skin. *Stem Cells* 2005; 23(6): 834-41.
- 18 Triel C, Vestergaard ME, Bolund L, Jensen TG, Jensen UB. Side population cells in human and mouse epidermis lack stem cell characteristics. *Exp Cell Res* 2004; 295(1): 79-90.
- 19 Lyle S, Christofidou-Solomidou M, Liu Y, Elder DE, Albelda S, Cotsarelis G. The C8/144B monoclonal antibody recognizes cytokeratin 15 and defines the location of human hair follicle stem cells. *J Cell Sci* 1998; 111(Pt21): 3179-88.
- 20 Commo S, Gaillard O, Bernard BA. The human hair follicle contains two distinct K19 positive compartments in the outer root sheath: a unifying hypothesis for stem cell reservoir? *Differentiation* 2000; 66(4-5): 157-64.
- 21 Liu Y, Lyle S, Yang Z, Cotsarelis G. Keratin 15 promoter targets putative epithelial stem cells in the hair follicle bulge. *J Invest Dermatol* 2003; 121(5): 963-8.
- 22 Chen S, Takahara M, Kido M, Takeuchi S, Uchi H, Tu Y, *et al.* Increased expression of an epidermal stem cell marker, cytokeratin 19, in cutaneous squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* 2008; 159(4): 952-5.
- 23 Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Penman S, Hoffman RM. Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(15): 5530-4.
- 24 Amoh Y, Li L, Campillo R, Kawahara K, Katsuoka K, Penman S, *et al.* Implanted hair follicle stem cells form Schwann cells that support repair of severed peripheral nerves. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(49): 17734-8.
- 25 Amoh Y, Li L, Katsuoka K, Hoffman RM. Multipotent hair follicle stem cells promote repair of spinal cord injury and recovery of walking function. *Cell Cycle* 2008; 7(12): 1865-9.
- 26 Pellegrini G, Dellambra E, Golisano O, Martinelli E, Fantozzi I, Bondanza S, *et al.* p63 identifies keratinocyte stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(6): 3156-61.
- 27 Koster MI, Roop DR. The role of p63 in development and differentiation of the epidermis. *J Dermatol Sci* 2004; 34(1): 3-9.
- 28 Ji KH, Xiong J, Hu KM, Wang Y, Liu HQ. P63 expression pattern during rat epidermis morphogenesis and the role of p63 as a marker for epidermal stem cells. *J Cutan Pathol* 2007; 34(2): 154-9.
- 29 Merrill BJ, Gat U, DasGupta R, Fuchs E. Tcf3 and Lef1 regulate lineage differentiation of multipotent stem cells in skin. *Genes Dev* 2001; 15(13): 1688-705.
- 30 Nguyen H, Rendl M, Fuchs E. Tcf3 governs stem cell features and represses cell fate determination in skin. *Cell* 2006; 127(1): 171-83.
- 31 Haegebarth A, Clevers H. Wnt signaling, *lgr5*, and stem cells in the intestine and skin. *Am J Pathol* 2009; 174(3): 715-21.
- 32 Morris RJ, Liu Y, Marles L, Yang Z, Trempus C, Li S, *et al.* Capturing and profiling adult hair follicle stem cells. *Nat Biotech* 2004; 22(4): 411-7.
- 33 Jaks V, Barker N, Kasper M, van Es JH, Snippert HJ, Clevers H, *et al.* *Lgr5* marks cycling, yet long-lived, hair follicle stem cells. *Nat Genet* 2008; 40(11): 1291-99.
- 34 Rhee H, Polak L, Fuchs E. *Lhx2* maintains stem cell character in hair follicles. *Science* 2006; 312(5782): 1946-49.
- 35 Vidal VP, Chaboissier MC, Lützkendorf S, Cotsarelis G, Mill P, Hui CC, *et al.* *Sox9* is essential for outer root sheath differentiation and the formation of the hair stem cell compartment. *Curr Biol* 2005; 15(15): 1340-51.
- 36 Nowak JA, Polak L, Pasolli HA, Fuchs E. Hair follicle stem

- cells are specified and function in early skin morphogenesis. *Cell Stem Cell* 2008; 3(1): 33-43.
- 37 Greco V, Chen T, Rendl M, Schober M, Pasolli HA, Stokes N, *et al.* A two-step mechanism for stem cell activation during hair regeneration. *Cell Stem Cell* 2009; 4(2): 155-69.
- 38 Horsley V, Aliprantis AO, Polak L, Glimcher LH, Fuchs E. NFATc1 balances quiescence and proliferation of skin stem cells. *Cell* 2008; 132(2): 299-310.
- 39 Wan H, Stone MG, Simpson C, Reynolds LE, Marshall JF, Hart IR, *et al.* Desmosomal proteins, including desmoglein 3, serve as novel negative markers for epidermal stem cell-containing population of keratinocytes. *J Cell Sci* 2003; 116(Pt 20): 4239-48.
- 40 Yu H, Fang D, Kumar SM, Li L, Nguyen TK, Acs G, *et al.* Isolation of a novel population of multipotent adult stem cells from human hair follicles. *Am J Pathol* 2006; 168(6): 1879-88.

Progress in Markers of Hair Follicle Stem Cells

Zhen-Hong Ni, Yong Shao, Yu-Hong Li^{1*}

(*Team One of Students Brigade, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; ¹Department of Cell Biology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China*)

Abstract Hair follicle stem cells (FSCs) located in the hair follicle bulge region are a group of adult stem cells which play a key role in periodic growth of hair follicle, renewal of epidermis and sebaceous gland and skin repair after injury. The markers of FSCs are necessary for the identification and separation of FSCs and critical for the basic research of FSCs. To find the better markers of FSCs has become a study hotspot in recent years. In this review we classify the makers to three types according to their distinct locations in the cells, one in the cell membrane, one in the cytoplasm and one in the nucleus. We focus on the frequently used markers such as integrin, keratin, CD34, CD200 and also introduce some novel ones including Lgr5, Sox9, Tcf3, and so on.

Key words hair follicle stem cells; markers; bulge region

Received: May 11, 2009 Accepted: November 16, 2009

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30671888)

*Corresponding author. Tel: 86-23-68753260, E-mail: Leo61999@163.com