

领域前沿 · 中国



张兵, 西湖大学生命科学学院研究员。2007年毕业于山东大学; 2015年获得美国凯斯西储大学生物化学博士学位; 2015至2020年在美国哈佛大学干细胞与可再生生物学系任职博士后, 从事哺乳动物皮肤干细胞调控与皮肤和毛发再生的研究。曾先后获得哈佛大学杰出教学奖和Charles A. King Trust博士后奖金。2020年秋季入职西湖大学任研究员。张兵研究组的主要方向为系统性因素对皮肤干细胞的调控以及皮肤和毛发再生, 代表性研究工作在*Nature*、*Cell*等国际学术期刊上发表。

间歇性禁食通过引发器官间互作抑制毛囊再生

崔诗遥 张兵*

(西湖大学, 生命科学学院, 杭州 310000)

摘要 间歇性禁食因其潜在的健康益处而在全球范围内受到青睐。这种饮食方式不仅有助于改善代谢健康和体重控制, 还对组织健康产生了深远的影响。然而, 其具体作用机制尚不完全清楚。成体干细胞是组织更新和再生的核心驱动力, 位于特殊的“微环境”中, 该微环境通过整合局部和全身信号(包括神经、代谢和免疫等因素)精准调控干细胞的命运和行为, 从而影响组织和机体的整体健康。研究团队以毛囊干细胞(HFSCs)及毛囊再生为模型, 揭示了常见的间歇性禁食方案通过选择性诱导激活的毛囊干细胞凋亡来抑制毛囊再生的作用机制。这一现象与热量摄入减少、昼夜节律改变或mTORC1营养感应通路无关。相反, 禁食通过激活肾上腺与皮肤中真皮脂肪细胞的相互作用, 触发游离脂肪酸迅速释放至微环境, 干扰毛囊干细胞的代谢稳态, 并升高细胞活性氧水平, 最终导致氧化损伤和细胞凋亡。此外, 一项在人群中开展的随机对照试验也表明, 间歇性禁食会抑制人类毛发生长。这一研究对间歇性禁食如何影响组织健康的根本机制进行了深入解析, 为理解其对组织再生和干细胞命运的影响提供了重要依据。

关键词 间歇性禁食; 成体干细胞; 毛囊干细胞; 毛囊再生; 毛发生长

Intermittent Fasting Triggers Interorgan Communication to Suppress Hair Follicle Regeneration

CUI Shiyao, ZHANG Bing*

(School of Life Sciences, Westlake University, Hangzhou 310000, China)

国家自然科学基金(批准号: 32170850)、浙江省重点研发计划(批准号: 2024SSYS0031)、西湖生命科学与生物医学实验室、西湖大学未来产业研究中心和西湖大学合成生物学与生物智造中心资助的课题

*通信作者。Tel: 0571-88112095, E-mail: zhangbing@westlake.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32170850), the Key R&D Program of Zhejiang (Grant No.2024SSYS0031), the Westlake Laboratory of Life Sciences and Biomedicine, the Research Center for Industries of the Future (RCIF), and the Center of Synthetic Biology and Integrated Bioengineering at Westlake University

*Corresponding author. Tel: +86-571-88112095, E-mail: zhangbing@westlake.edu.cn

Abstract Intermittent fasting has become increasingly popular worldwide due to its potential health benefits. This dietary strategy not only supports metabolic health and weight management but also exerts significant effects on tissue health. However, the underlying mechanisms remain largely unclear. Adult stem cells, the driving force behind tissue renewal and regeneration, are located within specialized “niches” that integrate local and systemic signals—such as neural, metabolic, and immune factors—to precisely regulate their fate and behavior. These processes are essential for maintaining tissue and overall organismal health. Using HFSCs (hair follicle stem cells) and hair follicle regeneration as a model, researchers discovered that intermittent fasting inhibits hair follicle regeneration by selectively inducing apoptosis in activated HFSCs. Notably, this effect is independent of calorie restriction, circadian rhythm changes, or the mTORC1 nutrient-sensing pathway. Instead, fasting activates interactions between the adrenal glands and dermal adipocytes, leading to a rapid release of free fatty acids into the HFSC niche. This disrupts the metabolic balance of HFSCs, elevates ROS (reactive oxygen species) levels, and causes oxidative damage, ultimately triggering cell apoptosis. Additionally, a randomized controlled trial in humans revealed that intermittent fasting suppresses hair growth. These findings provide critical insights into the mechanisms by which intermittent fasting influences tissue health, shedding light on its impact on tissue regeneration and stem cell dynamics.

Keywords intermittent fasting; adult stem cells; hair follicle stem cells; hair follicle regeneration; hair growth

1 间歇性禁食对组织健康的影响

近年来,多种饮食干预方式[如热量限制饮食、间歇性禁食(intermittent fasting, IF)、生酮饮食等]在多种生物体中展现出显著益处,包括改善代谢健康、降低炎症水平和延长寿命^[1-3],因而在全球范围内广受欢迎^[4-5]。间歇性禁食已在人群中被开发出多种具体方案,并被广泛应用于临床和日常生活。据统计,美国18至80岁的人群中,超过10%的人采用间歇性禁食作为饮食调控手段。然而,尽管间歇性禁食的实践日益普及,其对身体各系统的具体影响及作用机制仍未被完全阐明。

在哺乳动物中,机体对饮食变化的适应涉及多个层面,从全身系统性变化到器官间的相互协作,甚至延伸至单个细胞和亚细胞水平。成体干细胞是驱动机体各组织器官更新与再生的关键力量。这些干细胞位于独特的“生态位”(niche, 也称微环境)中,生态位通过整合局部和全身多种信号,决定干细胞的命运,并在应对多种生理与环境变化时调控组织再生过程,从而帮助动物适应自然环境和维持生存^[6]。一些研究表明,间歇性禁食可改善多种成体干细胞群体(如肠道、肌肉和造血系统)的功能及稳态维持能力^[7-9]。然而,间歇性禁食对外周组织(如皮肤)的具体影响尚不明确。

从机制上看,间歇性禁食通过延长进餐间隔、

改变饮食节律以及减少总热量摄入对机体产生影响。然而,目前尚不清楚这些因素中的哪一个在间歇性禁食对成体干细胞及组织再生的影响中起主要作用。此外,间歇性禁食引起的全身性变化如何通过具体途径作用于外周组织,以及这些信号在生态位中的哪类细胞中被感知并如何调控干细胞命运,这些问题尚未得到充分解答。值得注意的是,成体干细胞通常表现出异于生态位其他细胞的独特代谢特征,并在组织再生的不同阶段依赖不同的代谢途径。然而,这些代谢特性如何塑造干细胞对间歇性禁食的响应,目前仍不明确。接下来我们将以研究间歇性禁食对毛囊干细胞和毛囊再生的影响及机制为例^[10],介绍干细胞及其微环境对系统性代谢变化的响应,为此类研究提供参考。

2 常用的间歇性禁食方案会抑制毛囊再生

在皮肤中,毛囊经历生长期(anagen)、退行期(catagen)和休止期(telogen)的周期性变化,其中毛囊干细胞(hair follicle stem cells, HFSCs)的周期性激活是驱动毛发新生的关键动力^[11-12](图1A)。在休止期,毛囊干细胞处于其特有的生态位(hair bulge和hair germ)中,保持休眠状态。当毛囊进入生长期时,毛囊干细胞会短暂被激活,进行自我更新并启动毛囊再生^[13-14]。此外,皮肤中的多种细胞类型围绕毛囊

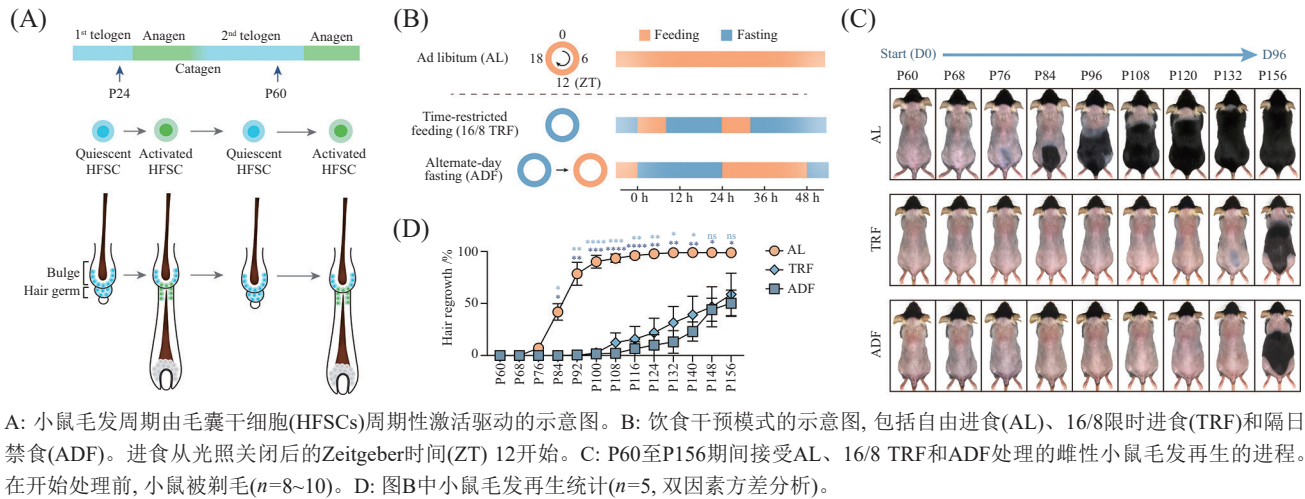


图1 间歇性禁食抑制毛囊再生(根据参考文献[10]修改)
Fig.1 Intermittent fasting inhibits hair follicle regeneration (modified from reference [10])

干细胞形成一个复杂的微环境,可响应外界刺激或生理变化,精确调控毛囊干细胞的再生活动^[15]。

为了探讨间歇性禁食对毛囊再生的影响,我们采用了两种常见的间歇性禁食方案:16/8限时进食(time restricted feeding, TRF),即每日仅允许在8小时的进食窗口内进食,其余16小时禁食;隔日禁食(alternate day fasting, ADF),即在24小时禁食期和24小时自由饮食期之间交替(图1B)。实验中,我们选取P60的小鼠,剃去背部毛发,并使其在接下来的96天中分别接受不同饮食处理,以观察毛发生长情况(图1C)。

实验结果显示,自由采食(ad libitum, AL)喂养的小鼠在P80左右进入生长期,到P100时,大部分背部毛发重新长出。而接受TRF或ADF饮食干预的小鼠则表现出显著的毛囊再生障碍:即使到P156,仍仅有部分背部毛发生长出来(图1C和图1D)。值得注意的是,与先前研究一致^[16-17],间歇性禁食的小鼠表现出增强的葡萄糖耐受性,说明代谢健康得到了改善。综上所述,尽管间歇性禁食在代谢调控方面具有显著益处,但我们的研究发现,常见的间歇性禁食方案对毛囊再生产生了显著的抑制作用。

3 延长的禁食时间选择性诱导激活的HFSC凋亡

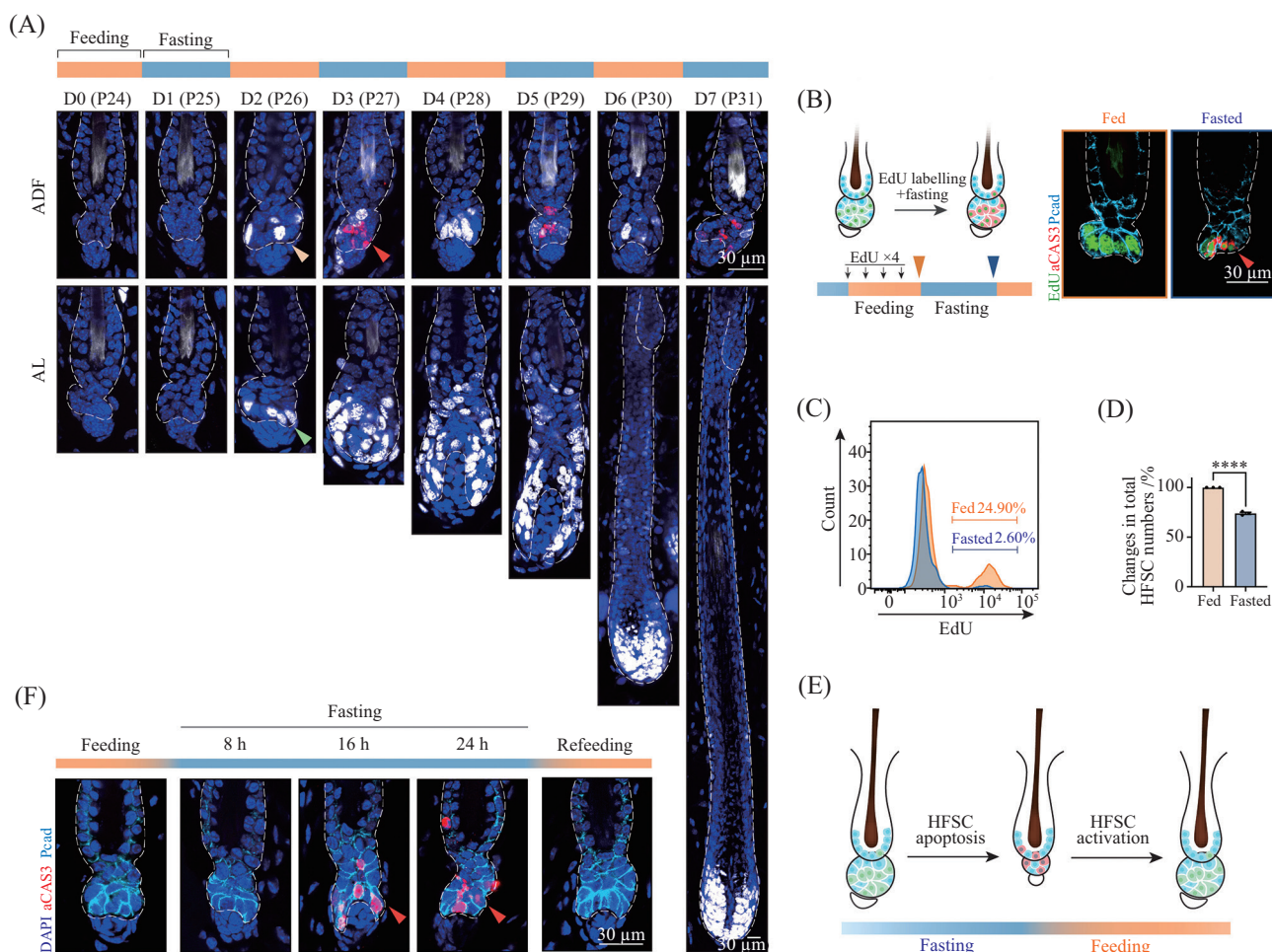
为了揭示毛囊再生受到抑制的原因,我们从干细胞命运和行为角度入手展开研究。静止状态下的HFSC

无法被激活是许多毛囊再生缺陷的常见成因^[18-19]。因此,我们从P24(此时小鼠的毛囊处于休止期, HFSC处于静止状态)开始对小鼠进行ADF处理,并每日检测HFSC的激活状态(图2A)。结果显示,在AL条件下,小鼠在P26便开始激活HFSC(EdU^+)并进入生长期。同样地,ADF处理的小鼠在P26也出现了相当数量的HFSC激活。然而,在24小时禁食期结束后,毛囊内 EdU^+ HFSC数量骤减,同时伴随大量凋亡信号(aCas3 , active caspase-3)(图2A)。

通过EdU追踪实验,我们发现,大多数凋亡的HFSC为EdU阳性,表明这些细胞在凋亡前已被激活(图2B)。流式细胞术分析表明,在ADF处理中,大约25%的HFSC会在喂食阶段被激活(图2C),其中约90%在随后的禁食期发生凋亡。这种周期性的激活与凋亡的循环导致了HFSC总数的显著减少(图2D和图2E)。

一般认为,间歇性禁食通过减少总卡路里摄入或改变饮食节律发挥作用。然而,我们的研究显示,在间歇性禁食处理的小鼠中,平均每日的卡路里摄入并未显著减少。此外,无论禁食发生在白天还是夜晚,都会导致毛囊再生延迟,表明这一现象并非源于昼夜节律的改变。

为了探究HFSC凋亡是否与禁食时间长短有关,我们让小鼠接受不同禁食时长的处理,并检测HFSC的凋亡情况。结果发现,在禁食8小时后,毛囊内仅检



A: 从P24开始接受自由进食(AL)和隔日禁食(ADF)处理的小鼠中毛囊干细胞(HFSCs)的激活与凋亡。Active caspase-3 (aCAS3, $n=30$, 30个毛囊来自5只小鼠, 单因素方差分析)。B: EdU追踪间歇性禁食下激活的HFSCs的命运($n=30$ 个毛囊, 来自5只小鼠, 双尾非配对 t 检验)。C: 流式细胞术分析显示24小时禁食后EdU+HFSCs比例的下降。D: 流式细胞术分析显示24小时禁食后HFSCs总数的减少($n=3$, 双尾非配对 t 检验)。E: 模型总结了间歇性禁食期间HFSCs的周期性激活与凋亡过程。F: HFSCs在24小时禁食和24小时再进食期间的凋亡时间进程。红色箭头标记了凋亡的HFSCs($n=30$ 个毛囊, 来自5只小鼠, 单因素方差分析)。

A: activation and apoptosis of HFSCs in mice subjected to AL and ADF starting from P24. Active caspase-3 (aCAS3, $n=30$, HF from five mice, One-Way ANOVA). B: tracing the fate of activated HFSCs upon intermittent fasting ($n=30$ HF from five mice, two-tailed unpaired t -test). C: flow cytometry analysis showing the proportion of EdU+HFSCs. D: flow cytometry analysis showing the total number of HFSCs decrease after a 24 h fasting period in ADF ($n=3$, two-tailed unpaired t -test). E: model summarizing the cyclic activation and apoptosis of HFSCs during intermittent fasting. F: time course of HFSC apoptosis along the 24 h fasting and 24 h refeeding periods. Red arrowheads mark the apoptotic HFSCs. ($n=30$ HF from five mice, One-Way ANOVA).

图2 延长的禁食时间导致激活的HFSCs发生凋亡(根据参考文献[10]修改)

Fig.2 Extended duration of fasting induces apoptosis in activated HFSCs (modified from reference [10])

测到少量凋亡信号。然而,当禁食时间延长至16小时时,凋亡的HFSC显著增多,并随着禁食时长的进一步延长而持续增加。值得注意的是,凋亡现象在重新进食后逐渐消失(图2F)。这些数据表明,延长禁食时间会诱导激活的HFSC发生凋亡,从而阻碍毛囊再生。

4 禁食诱导的脂肪分解导致HFSC凋亡

我们发现,延长的禁食时间会导致HFSC凋亡并抑制毛囊再生。那么,这一现象的具体机制是什

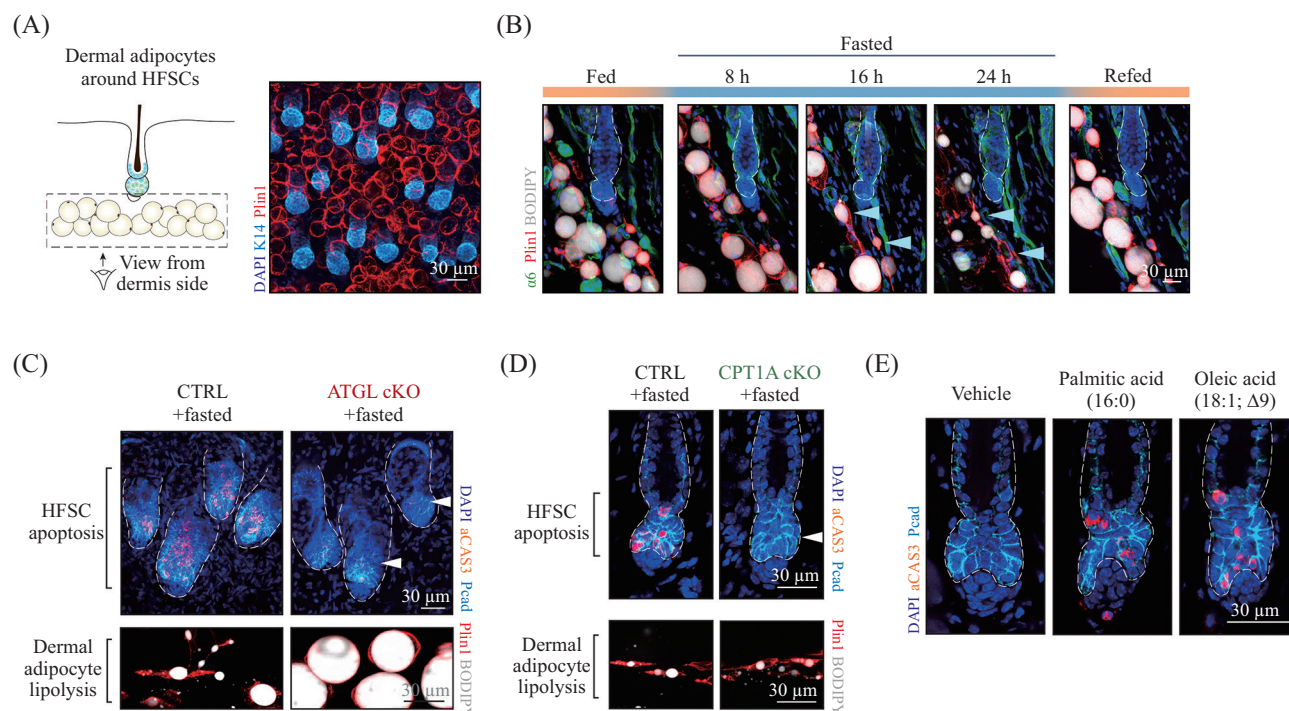
么呢?禁食引起的全身性营养水平暂时下降可能是关键因素, HFSC可能通过其细胞内的营养感应机制(nutrient sensing)直接感知这一变化^[20],进而引发凋亡。为验证这一假设,我们在HFSC中敲除*Tsc2*基因(mTORC1信号通路的负调控因子),以破坏其经典营养感知能力^[21]。结果显示,即便在*Tsc2*敲除的小鼠中, HFSC仍在禁食后发生显著凋亡,表明禁食引起的HFSC凋亡并不依赖于mTORC1介导的细胞营养感应机制。

延长禁食时间会引发一系列全身性适应反应,例如通过脂肪组织调动储存的能量。在皮肤中,真皮脂肪细胞是HFSC微环境的重要组成部分^[22-23](图3A)。我们进一步探讨禁食诱导的全身性变化是否会传递到皮肤,并通过微环境中的脂肪细胞影响HFSC。研究发现,在禁食24小时后,真皮脂肪细胞发生剧烈的脂解,分解储存的甘油三酯并向微环境释放大量游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)(图3B)。在ADF小鼠中,我们监测了24小时禁食期间的脂肪分解过程,发现禁食16小时后,真皮脂肪细胞出现显著脂解,与毛囊中HFSC的凋亡同步发生(图2F和图3B)。这些数据表明,禁食期间真皮脂肪细胞脂解与HFSC凋亡之间存在密切联系。

为了确定真皮脂肪细胞脂解是否直接导致HFSC凋亡,我们利用*AdipoQ^{CreER};Atgl^{fl/fl}*小鼠敲除脂肪细胞中的甘油三酯脂肪酶(adipose triglyceride lipase, ATGL, 脂

解的限速酶)^[24]。在ATGL敲除小鼠中,真皮脂肪细胞在禁食条件下无法进行脂解,同时HFSC的凋亡显著减少(图3C)。接下来,我们使用*Lhx2^{CreER};Cpt1a^{fl/fl}*小鼠,在HFSC中特异性敲除肉碱棕榈酰转移酶1A(carnitine palmitoyltransferase 1A, CPT1A),它是将自由脂肪酸转运至线粒体进行 β 氧化的限速酶^[9]。结果显示,尽管在CPT1A敲除小鼠中,禁食引起的脂解依然存在,但HFSC的凋亡显著减少(图3D)。

为进一步验证FFA是否能够独立诱导HFSC凋亡,我们从真皮脂肪细胞中提取甘油三酯,并通过气相色谱-质谱(GC-MS)分析FFA的组成,发现棕榈酸(16:0)、油酸(18:1, 顺式-9)和亚油酸(18:2, 顺式-9,12)是最丰富的FFA类型。将这些FFA注射至自由饮食(AL)小鼠的皮肤中,结果显示,即使在无禁食的条件下,这些FFA也能够显著诱导HFSC凋亡(图3E)。综上所述,我们的研究表明,禁食期间



A: 全组织染色的真皮脂肪细胞(Plin1, 脂滴包被蛋白)和毛囊(K14)。B: 真皮脂肪细胞在24小时禁食和24小时再进食期间的脂解时间进程。 $\alpha 6$ 标记毛囊轮廓, BODIPY标记脂滴($n=30$, 30个脂滴, 来自3只小鼠, 单因素方差分析)。C: 在*AdipoQ^{CreER};Atgl^{fl/fl}*(ATGL cKO)小鼠中观察到的真皮脂肪细胞的脂解(下方)和HFSCs的凋亡(上方)。D: 在*Lhx2^{CreER};Cpt1a^{fl/fl}*(CPT1A cKO)小鼠中, 在24小时禁食后的脂解和HFSCs凋亡($n=30$, 30个毛囊, 来自6只小鼠, 双尾非配对 t 检验)。E: 在自由饮食(AL)小鼠中皮内注射FFA后HFSCs的凋亡($n=30$ 个毛囊, 来自3只小鼠, 单因素方差分析)。

A: whole-mount staining of dermal adipocytes (Plin1, marks the surface of lipid droplets) and HFs (K14). B: time course of dermal adipocyte lipolysis along the 24 h fasting and 24 h refeeding periods. $\alpha 6$ outlines the HF, and BODIPY marks lipid droplets ($n=30$, lipid droplets from three mice, One-Way ANOVA). C: lipolysis of dermal adipocytes (bottom) and apoptosis of HFSCs (top) in *AdipoQ^{CreER};Atgl^{fl/fl}* (ATGL cKO) mice. D: *Lhx2^{CreER};Cpt1a^{fl/fl}* (CPT1A cKO) mice after 24 h fasting ($n=30$, HFs from six mice, two-tailed unpaired t -test). E: apoptosis of HFSCs upon FFAs intradermal injection on AL mice. ($n=30$ HFs from 3 mice, One-Way ANOVA).

图3 禁食诱导的微环境脂肪细胞脂解驱动HFSC凋亡(根据参考文献[10]修改)

Fig.3 Fasting-induced lipolysis in niche adipocytes drives HFSC apoptosis (modified from reference [10])

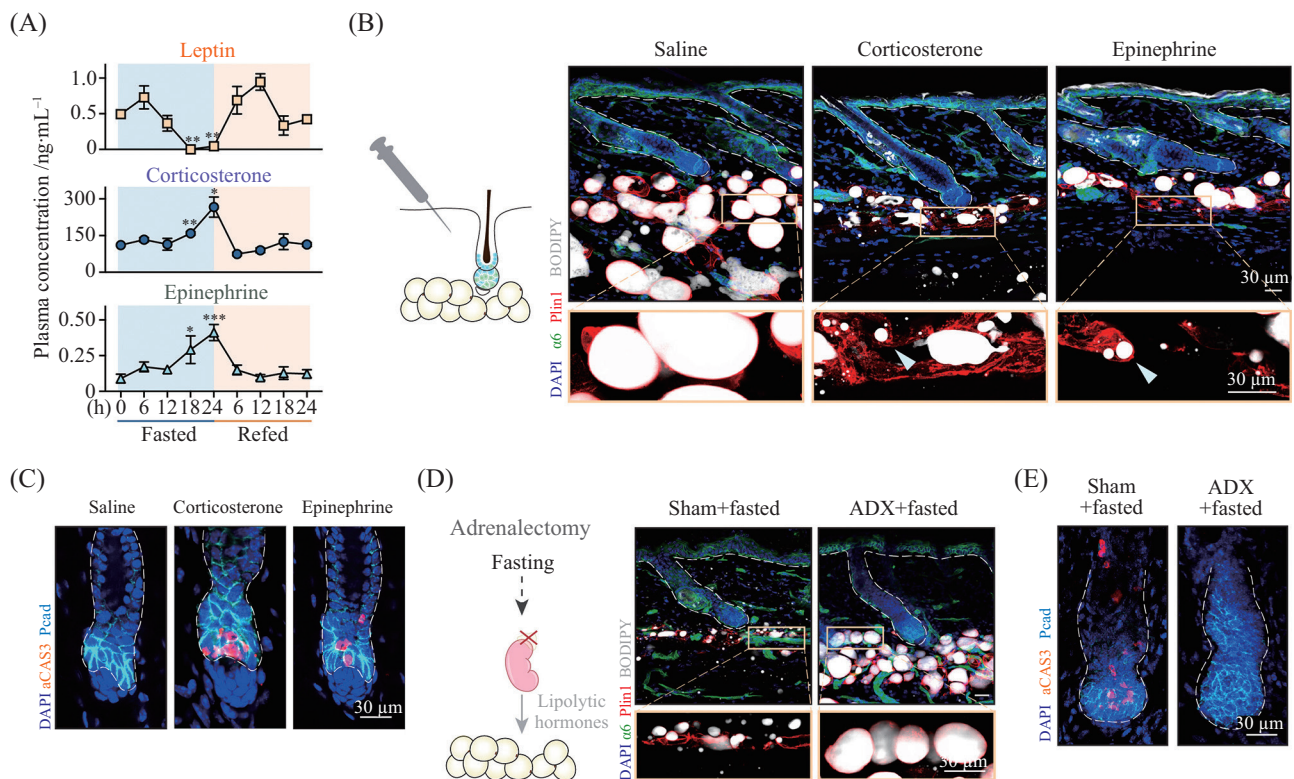
真皮脂肪细胞释放的过量FFA及其在HFSC中的 β 氧化是导致HFSC凋亡的主要原因,从而抑制毛囊再生。

5 禁食通过激活肾上腺抑制毛囊再生

为了探究禁食信号如何传递到皮肤并诱导真皮脂肪细胞脂解从而导致HFSC凋亡,我们首先关注了靠近真皮脂肪细胞的交感神经^[25]。通过使用6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)神经毒素去除皮肤中的交感神经^[26]后发现,即使交感神经被去除,禁食时真皮脂肪细胞的脂解和HFSC的凋亡仍然存在,这排除了交感神经支配的作用。另一种可能的机制涉及肾上腺,其在调节机体对禁食的适应性反应中起着核心作用^[27-29]。禁食会导致全身瘦素水平下降,从而刺激下丘脑神经元,通过下丘脑-垂体-

肾上腺(HPA)轴启动激素级联反应,促使肾上腺释放激素(主要为皮质酮和肾上腺素)进入血液。这些激素具有显著的促脂解功能。既往研究表明, β 3-肾上腺素受体(beta-3 adrenergic receptor, ADRB3)和糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)在真皮脂肪细胞中表达^[30]。因此,我们假设禁食激活肾上腺释放的激素诱导真皮脂肪细胞脂解,从而介导禁食对HFSC和毛囊再生的影响。

为验证这一假设,我们监测了ADF小鼠在24小时禁食和24小时再喂食周期内血液中瘦素、肾上腺素和皮质酮的水平变化(图4A)。在禁食的最初12小时内,这些激素水平保持相对稳定。然而,在禁食超过12小时后,瘦素水平显著下降,同时肾上腺素和皮质酮水平显著升高,表明肾上腺被激活(图4A)。这一现象与真皮脂肪细胞的显著脂解及HFSC的凋亡



A: ELISA measurement of plasma leptin, corticosterone, and epinephrine levels during the 24 h fasting and 24 h refeeding periods ($n=5$, One-Way ANOVA). B: intradermal injection of corticosterone or epinephrine caused lipolysis of dermal adipocytes. C: apoptosis of HFSCs ($n=30$, HF from three mice, One-Way ANOVA). D: fasting-induced lipolysis in dermal adipocytes was blocked in ADX mice ($n=30$, lipid droplets from three mice, One-Way ANOVA). E: fasting-induced apoptosis of HFSCs was blocked in ADX mice ($n=30$, HF from three mice, One-Way ANOVA).

图4 禁食激活肾上腺引发niche脂肪细胞的脂解及HFSCs的凋亡(根据参考文献[10]修改)

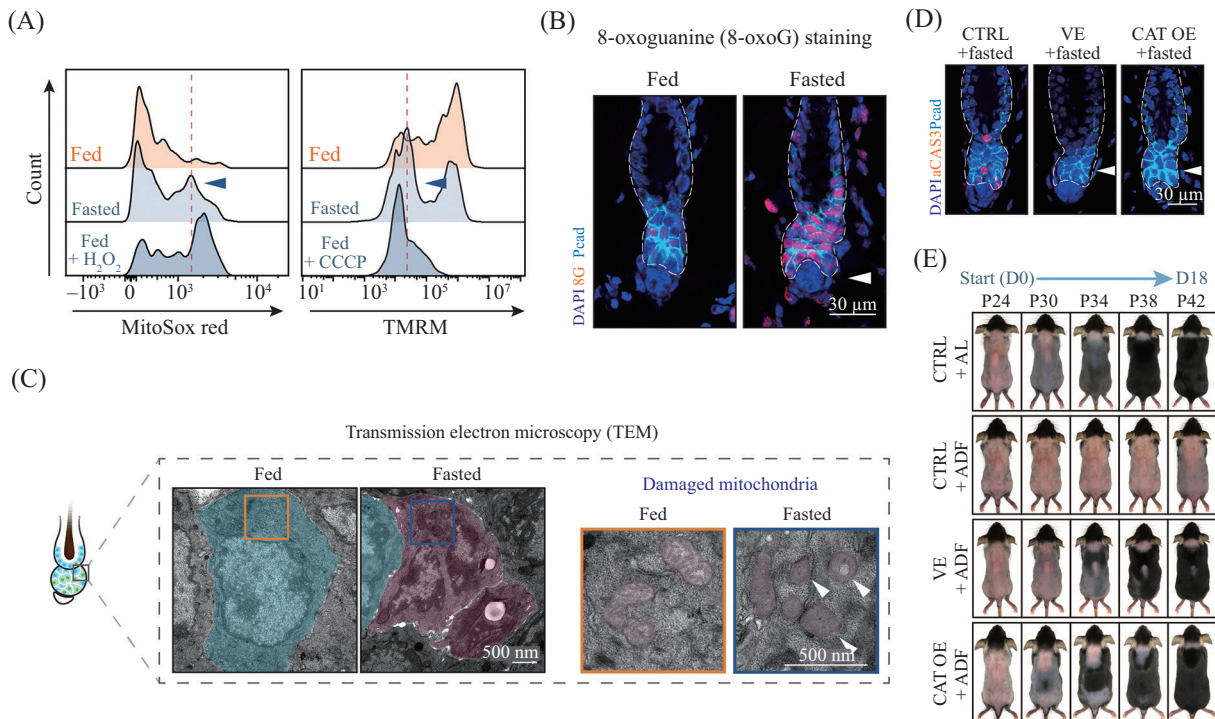
Fig.4 Fasting activates adrenal glands to induce lipolysis in niche adipocytes and apoptosis in HFSCs (modified from reference [10])

同步发生(图3B和图2F)。在重新进食后,激素水平迅速恢复正常。这些数据表明,禁食期间肾上腺激活、真皮脂肪细胞脂解及HFSC凋亡之间存在强相关性。我们在未禁食的情况下向皮肤内注射高浓度的皮质酮或肾上腺素,发现真皮脂肪细胞发生剧烈脂解,同时HFSC出现显著凋亡(图4B和图4C)。为验证肾上腺释放激素在这一过程中发挥主要作用,我们对小鼠进行了双侧肾上腺切除术(ADX),并将其与假手术对照组一起接受ADF处理。结果显示,在ADX小鼠中,禁食诱导的真皮脂肪细胞脂解和HFSC凋亡均显著减少(图4D和图4E)。因此,我们的研究表明,延长的禁食时间通过激活肾上腺释放脂解激素,这些激素作用于真皮脂肪细胞,诱导其脂解并释放FFA,诱导HFSC发生凋亡,导致毛囊再生被抑制。

6 禁食引起HFSC中的ROS升高,诱导细胞凋亡

为了研究禁食引起HFSC死亡的分子机制,我们使用荧光激活细胞分选(FACS)从对照组和禁食组小鼠中分离了HFSC,并进行了RNA测序,发现禁食小鼠的HFSC显著上调了脂肪酸代谢、氧化应激反应和线粒体功能障碍相关的代谢和信号通路。由于细胞氧化应激通常来源于活性氧(ROS)的增加,我们使用MitoSox染料对分离出的HFSC的线粒体超氧化物水平进行检测。结果显示,在禁食24小时后,HFSC中的MitoSox信号显著增强,表明线粒体ROS水平增加(图5A)。

为了进一步验证禁食对HFSC线粒体功能的影响,我们利用四甲基罗丹明甲酯(TMRM)检测线粒体膜电位,发现禁食处理后的HFSC中TMRM信号明

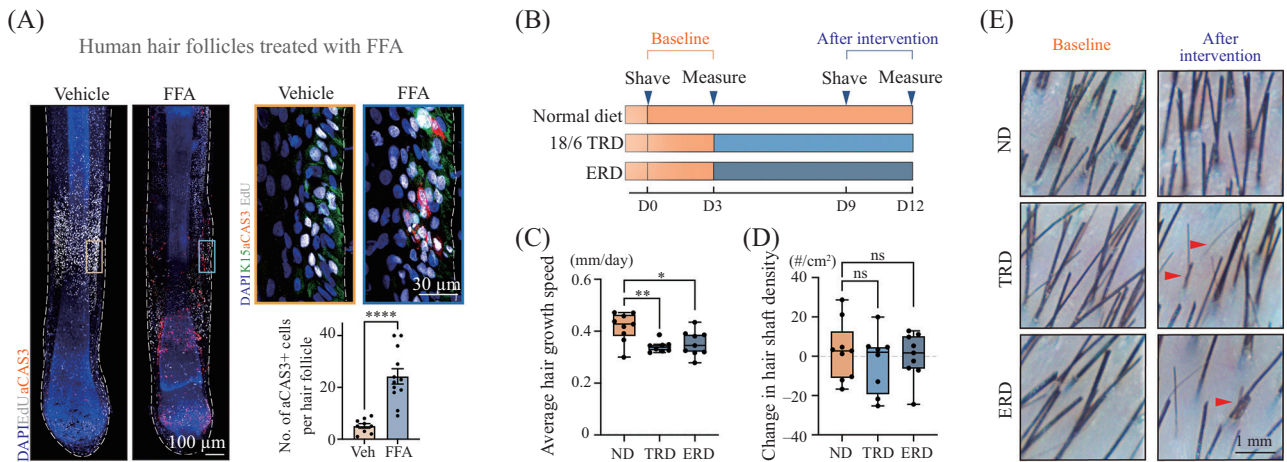


A: 通过MitoSox Red测量HFSCs中的mROS, 通过TMRM测量小鼠HFSCs在24小时禁食后的线粒体膜电位($n=3$)。MitoSox阳性对照: 500 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 ; TMRM阳性对照: 碳酰氰基对氯苯基肼(CCCP, 氧化磷酸化解偶联剂)。B: 24小时禁食后HF中的8-oxoG染色($n=3$)。C: 透射电镜下HFSCs的超微结构。伪彩表示正常HFSCs(绿色)和凋亡的HFSCs(红色)。白色箭头标记禁食后HFSC中损伤的线粒体(蓝色框)。D: VE的局部施用或过表达过氧化氢酶(CAT OE)可挽救HFSCs在禁食后的凋亡。E: 在ADF下接受VE或CAT OE处理的小鼠毛发生长($n=3\sim5$)。

A: measurement of mROS by MitoSox Red and mitochondrial membrane potential by TMRM in HFSCs from mice upon 24 h fasting ($n=3$). Positive controls: 500 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 (for MitoSox), carbonyl cyanide m-chlorophenylhydrazone (CCCP, an oxidative phosphorylation uncoupler, for TMRM). B: 8-oxoG staining of HFSCs after 24 h fasting ($n=3$). C: ultrastructure of HFSCs under TEM. Pseudo-coloring indicates normal HFSCs (green) and apoptotic HFSCs (red). White arrowheads mark the damaged mitochondria in fasted HFSC (blue box). D: topical application of VE, or genetic overexpression of catalase (CAT OE) rescued HFSC apoptosis upon fasting. E: hair regrowth of mice receiving VE or CAT OE under ADF ($n=3\sim5$).

图5 HFSCs中的ROS升高导致凋亡, 增强抗氧化能力可防止HFSCs在禁食时的凋亡(根据参考文献[10]修改)

Fig.5 Elevated ROS in HFSCs leads to apoptosis, and enhancing antioxidant capability prevents HFSC apoptosis upon fasting (modified from reference [10])



A: 左图为对经FFA或载体处理的培养人毛囊(HFs)进行EdU和aCAS3全毛囊染色。右上图为对经FFA或对照处理的人毛囊进行aCAS3、角蛋白15(K15, 标记人毛囊干细胞的标志物)和EdU的染色($n=9\sim12$ 个毛囊, 双尾非配对 t 检验)。B: Weprecision-2人类随机对照试验(RCT)中饮食干预的示意图。C: 干预最后3天的平均毛发生长速度(毫米/天)。D: 干预后毛发密度的变化。E: 在基线期或干预期剃毛后3天重新生长的毛发。红色箭头指示异常毛发。

A: left, whole-mount staining for EdU and aCAS3 of cultured human HFSCs treated with FFA or vehicle. Right top, staining for aCAS3, keratin 15 (K15, a marker for human HFSC), and EdU of human HFSCs treated with FFA or vehicle ($n=9\sim12$ HFSCs, two-tailed unpaired t -test). B: schematic of dietary intervention in the Weprecision-2 human RCT study. C: average hair growth speed (millimeter per day) in the last three days of intervention. D: changes in hair shaft density after intervention. E: hairs regrown three days post-shaving during baseline or intervention periods. Red arrowheads mark the abnormal hair shafts.

图6 代谢切换到脂肪酸氧化(FAO)诱导HFSC凋亡并抑制人类毛发生长(根据参考文献[10]修改)

Fig.6 Metabolic switching to FAO induces HFSC apoptosis and inhibits hair growth in humans (modified from reference [10])

显减弱,提示线粒体功能障碍(图5A)。此外,通过8-氧鸟嘌呤(8-oxoG)染色观察到禁食HFSC中的氧化性DNA损伤增加,表明禁食引发了更强的细胞氧化应激(图5B)。透射电子显微镜(TEM)图像显示,禁食HFSC的线粒体嵴结构退化,这是线粒体损伤的典型特征(图5C)。这些数据表明,禁食通过促进脂肪酸氧化(fatty acid oxidation, FAO)和ROS生成,导致HFSC发生氧化损伤并诱导细胞凋亡。在RNA-seq数据中,我们发现与禁食期间不会发生凋亡的表皮干细胞(EpiSC)相比, HFSC中抗氧化基因表达水平较低,使其更容易受到ROS的损害。因此,我们尝试通过外源性抗氧化剂来缓解HFSC的氧化压力并防止细胞凋亡。结果显示,局部涂抹维生素E或过表达关键抗氧化酶——过氧化氢酶(CAT)^[31], 均能显著减少禁食诱导的HFSC凋亡,并缓解禁食对毛囊再生的抑制(图5D和图5E)。

7 脂肪酸氧化诱导HFSC凋亡并抑制人类毛发生长

为了确定使用FFA是否也会诱导人类HFSC中的ROS升高和细胞凋亡,我们使用健康供体的头皮毛囊建立了人类毛囊外植体培养模型,并用FFA对

其进行了处理^[32],发现HFSC中处于活跃增殖状态的HFSC和祖细胞凋亡增加^[33],与我们在小鼠HFSC中的发现一致(图6A)。为了确定间歇性禁食是否影响人类的毛发生长,我们进行了一项人群随机对照试验(RCT)研究(Westlake Precision Nutrition Study 2, Clinicaltrials.gov NCT05800730)。首要结局为间歇性禁食对血糖稳态的影响,而毛发生长的变化则作为次要结局进行测量。为了确定毛发生长的变化,我们在基线期和干预期结束时进行头发生长速度测定:剃掉头皮上1 cm²区域内的现有毛发,然后测量3天后重新长出的头发的长度(图6B)。与我们在小鼠模型中的发现一致,间歇性禁食组的人表现出显著的毛发生长变缓:与对照组相比, TRD组的平均毛发生长速度降低了18%($P=0.0028$,图6C和图6D)。虽然毛干密度没有显示出显著变化,但许多重新长出的头发长度变得更短、直径更细(图6E)。这表明间歇性禁食在人类中,同样对HFSC和毛发生长产生不利影响。

8 总结与展望

间歇性禁食近年来已在全球范围内得到广泛应用,尽管关于其代谢益处已有许多报道,但这种副

烈的代谢波动对干细胞功能和组织更新的影响和机制, 仍然不清楚。在本研究中, 我们以毛囊干细胞和毛囊再生为模型, 发现间歇性禁食期间肾上腺和干细胞微环境中的脂肪细胞之间存在密切的器官间通讯, 结果促使激活的成体干细胞发生凋亡, 破坏了正常的组织再生过程。由于脂肪细胞是许多干细胞系统的常见微环境成分, 我们推测这也可能影响其他组织再生过程。在进化过程中, 野生动物和我们的人类祖先都面临着食物供应的波动, 使得禁食成为一种常见现象。这一机制可能使它们停止外周组织再生, 为大脑等更重要的器官节省资源, 从而促进适应和生存。同时, 我们的研究表明, 通过外源性补充抗氧化剂来增强 HFSC 的抗氧化能力可以显著减轻间歇性禁食对毛囊再生的抑制作用, 这为减轻间歇性禁食在应用中产生的不利影响提供了参考策略。

我们的研究结果阐明了间歇性禁食深刻影响成体干细胞和组织生物学的原理和机制, 并概括出了研究此类影响的综合策略。考虑到间歇性禁食在全球范围内的广泛采用, 在未来, 彻底评估各种禁食方案对不同干细胞系统的影响将非常重要。了解不同干细胞和组织反应的复杂性对于优化人类的饮食干预策略, 减轻对组织生物学的不利影响同时保留其益处至关重要。

参考文献 (References)

- [1] LONGO V D, PANDA S. Fasting, circadian rhythms, and time-restricted feeding in healthy lifespan [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(6): 1048-59.
- [2] MATTISON J A, ROTH G S, BEASLEY T M, et al. Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study [J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 318-21.
- [3] ULGHERAIT M, MIDOUN A M, PARK S J, et al. Circadian autophagy drives iTRF-mediated longevity [J]. *Nature*, 2021, 598(7880): 353-8.
- [4] Effects of intermittent fasting on health, aging, and disease [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(10): 978.
- [5] DI FRANCESCO A, DI GERMANIO C, BERNIER M, et al. A time to fast [J]. *Science*, 2018, 362(6416): 770-5.
- [6] ZHANG B, CHEN T. Local and systemic mechanisms that control the hair follicle stem cell niche [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25(2): 87-100.
- [7] BENJAMIN D I, BOTH P, BENJAMIN J S, et al. Fasting induces a highly resilient deep quiescent state in muscle stem cells via ketone body signaling [J]. *Cell Metab*, 2022, 34(6): 902-18, e6.
- [8] MANA M D, KUO E Y, YILMAZ O H. Dietary regulation of adult stem cells [J]. *Curr Stem Cell Rep*, 2017, 3(1): 1-8.
- [9] MIHAYLOVA M M, CHENG C W, CAO A Q, et al. Fasting activates fatty acid oxidation to enhance intestinal stem cell function during homeostasis and aging [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(5): 769-78, e4.
- [10] CHEN H, LIU C, CUI S, et al. Intermittent fasting triggers inter-organ communication to suppress hair follicle regeneration [J]. *Cell*, 2024, doi: 10.1016/j.cell.2024.11.004.
- [11] MORRIS R J, POTTEN C S. Highly persistent label-retaining cells in the hair follicles of mice and their fate following induction of anagen [J]. *J Invest Dermatol*, 1999, 112(4): 470-5.
- [12] PAUS R, COTSARELIS G. The biology of hair follicles [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(7): 491-7.
- [13] BLANPAIN C, LOWRY W E, GEOGHEGAN A, et al. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche [J]. *Cell*, 2004, 118(5): 635-48.
- [14] COTSARELIS G, SUN T T, LAVKER R M. Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis [J]. *Cell*, 1990, 61(7): 1329-37.
- [15] HSU Y C, LI L, FUCHS E. Emerging interactions between skin stem cells and their niches [J]. *Nat Med*, 2014, 20(8): 847-56.
- [16] ANSON R M, GUO Z, DE CABO R, et al. Intermittent fasting dissociates beneficial effects of dietary restriction on glucose metabolism and neuronal resistance to injury from calorie intake [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(10): 6216-20.
- [17] CHAIX A, LIN T, LE H D, et al. Time-restricted feeding prevents obesity and metabolic syndrome in mice lacking a circadian clock [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(2): 303-19, e4.
- [18] CHOI S, ZHANG B, MA S, et al. Corticosterone inhibits GAS6 to govern hair follicle stem-cell quiescence [J]. *Nature*, 2021, 592(7854): 428-32.
- [19] WANG L, SIEGENTHALER J A, DOWELL R D, et al. Foxc1 reinforces quiescence in self-renewing hair follicle stem cells [J]. *Science*, 2016, 351(6273): 613-7.
- [20] LIU G Y, SABATINI D M. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(4): 183-203.
- [21] DENG Z, LEI X, ZHANG X, et al. mTOR signaling promotes stem cell activation via counterbalancing BMP-mediated suppression during hair regeneration [J]. *J Mol Cell Biol*, 2015, 7(1): 62-72.
- [22] FESTA E, FRETZ J, BERRY R, et al. Adipocyte lineage cells contribute to the skin stem cell niche to drive hair cycling [J]. *Cell*, 2011, 146(5): 761-71.
- [23] ZHANG B, TSAI P C, GONZALEZ-CELEIRO M, et al. Hair follicles' transit-amplifying cells govern concurrent dermal adipocyte production through Sonic Hedgehog [J]. *Genes Dev*, 2016, 30(20): 2325-38.
- [24] GRABNER G F, XIE H, SCHWEIGER M, et al. Lipolysis: cellular mechanisms for lipid mobilization from fat stores [J]. *Nat Metab*, 2021, 3(11): 1445-65.
- [25] SIPE L M, YANG C, EPHREM J, et al. Differential sympathetic outflow to adipose depots is required for visceral fat loss in response to calorie restriction [J]. *Nutr Diabetes*, 2017, 7(4): e260.
- [26] ZHANG B, MA S, RACHMIN I, et al. Hyperactivation of sympathetic nerves drives depletion of melanocyte stem cells [J]. *Nature*, 2020, 577(7792): 676-81.
- [27] AHIMA R S, PRABAKARAN D, MANTZOROS C, et al. Role

- of leptin in the neuroendocrine response to fasting [J]. *Nature*, 1996, 382(6588): 250-2.
- [28] PERRY R J, WANG Y, CLINE G W, et al. Leptin mediates a glucose-fatty acid cycle to maintain glucose homeostasis in starvation [J]. *Cell*, 2018, 172(1/2): 234-48, e17.
- [29] DOUGLASS A M, RESCH J M, MADARA J C, et al. Neural basis for fasting activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis [J]. *Nature*, 2023, 620(7972): 154-62.
- [30] SHOOK B A, WASKO R R, MANO O, et al. Dermal adipocyte lipolysis and myofibroblast conversion are required for efficient skin repair [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(6): 880-95, e6.
- [31] SCHRINER S E, LINFORD N J, MARTIN G M, et al. Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria [J]. *Science*, 2005, 308(5730): 1909-11.
- [32] KAGEYAMA T, MIYATA H, SEO J, et al. *In vitro* hair follicle growth model for drug testing [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 4847.
- [33] ROCHAT A, KOBAYASHI K, BARRANDON Y. Location of stem cells of human hair follicles by clonal analysis [J]. *Cell*, 1994, 76(6): 1063-73.