

細胞極性制御因子 aPKC の毛包幹細胞の維持, および創傷治癒における役割

長田 真一

日本医科大学多摩永山病院皮膚科

The Role of Cell Polarity Regulator aPKC in Hair Follicle Stem Cell Maintenance and Wound Healing

Shin-Ichi Osada

Department of Dermatology, Nippon Medical School Tama Nagayama Hospital

Abstract

The protein kinase C (PKC) family is a group of serine/threonine kinases that mediate intracellular signaling activated by growth factor receptors, tyrosine kinase receptors, and G-protein coupled receptors through lipid-derived secondary messengers. In mammals, the PKC family is composed of the following three structurally and functionally distinct subgroups: conventional PKCs (cPKC; α , β I/II, and γ), novel PKCs (nPKC; δ , ϵ , η , and θ), and atypical PKCs (aPKC; ζ and ι/λ ; λ in mice). Among the PKC family members, aPKCs play essential roles in establishing epithelial cell polarity by interacting with partition-defective (Par) proteins, Par3 and Par6, which were first identified in genetic screening for regulators of asymmetric division in the early embryo of *Caenorhabditis elegans*. The aPKC-Par3-Par6 ternary complex is evolutionarily conserved and is implicated in a variety of cell polarity events. To clarify functional differences between aPKC ζ and aPKC λ in the stratified epidermis *in vivo*, we have generated mutant mice with genetic deletion of each aPKC isoform. Epidermis-specific aPKC λ conditionally knockout mice (aPKC λ cKO) showed progressive hair loss, abnormal hair cycling, a gradual decrease of hair follicle stem cell (HFSC) population, and loss of the HFSC quiescence. In addition, cutaneous wound healing was significantly retarded in aPKC λ cKO mice, and the correct orientation of cell protrusions toward the wound was disrupted in aPKC λ -deleted keratinocytes, through the destabilization of Par6 β . Conversely, HFSC maintenance, wound healing, and directional cell migration in aPKC ζ -deleted mice were comparable to those in their control littermates. These results indicate that aPKCs are not functionally equivalent; aPKC λ , but not aPKC ζ , plays a primary role in maintaining HFSC population and cutaneous wound healing.

(日本医科大学医学会雑誌 2020; 16: 130–137)

Key words: aPKC, Par, cell polarity, hair follicle stem cells, wound healing

はじめに

私たちの体の表面を覆う皮膚や消化管上皮、網膜など、多くの組織の上皮細胞は、頂端面 (apical)、基底面 (basal) という極性構造をもっている。細胞極性が生み出されるメカニズムの一つは、細胞極性因子複合体が頂端 (apical) 側に非対称に分配されることである¹。細胞内の重要なシグナル伝達分子である、プロテインキナーゼ C (protein kinase C, PKC) ファミリーに属する atypical PKC (aPKC) は、Par3 および Par6 と複合体を形成する。aPKC-Par3-Par6 複合体は進化的に保存されており、種を超えて細胞極性を制御している²。aPKC には aPKC ζ と aPKC λ の 2 種の分子種が存在し、ともに細胞極性制御因子として働くが、両者の個体レベルでの機能の違いについてはほとんどわかっていない。本稿では、aPKC の毛包幹細胞の維持、および創傷治癒における役割、aPKC ζ と aPKC λ の機能的差異について、私たちの研究を含めて概説する。

PKC ファミリー

プロテインキナーゼ C (protein kinase C, PKC) は、G 蛋白質共役受容体、チロシンキナーゼ受容体、および成長因子受容体によって活性化される細胞内シグナル伝達を仲介する³。哺乳類では、現在までに 10 種類の分子種が報告されており、conventional PKC (cPKC: α , β I/II, γ), novel PKC (nPKC: δ , ϵ , η , θ), および atypical PKC (aPKC: ζ , ι/λ) という、構造的、機能的に異なる 3 つのサブグループに分けられる (図 1)^{4,5}。PKC ファミリーのメンバーは、高度に保存されたカルボキシ末端のキナーゼドメインを有

している。各分子種の活性化のメカニズムや機能は、アミノ末端の制御ドメインの構造と、そこに結合する活性化因子や結合蛋白質の違いによって規定されている⁵。

cPKC は、リン脂質やカルシウムで活性化される PKC のプロトタイプといえるグループで、C1 と C2 という 2 つの保存された領域で構成される制御ドメインがある。C1 領域はジアシルグリセロール (diacylglycerol, DAG) とリン脂質の結合部位として機能し、C2 領域にはカルシウムが結合する。C1 領域には、発癌プロモーターである 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) も結合する⁶。nPKC は cPKC 同様、DAG, リン脂質, TPA によって活性化されるが、C2 領域にカルシウム結合ループがないため、その活性化はカルシウムに依存しない⁵。aPKC は制御ドメインの構造が他の分子種と大きく異なるため、非定型 (atypical) と呼ばれる^{7,8}。

皮膚の重層化と細胞極性

私たちの体の表面は、もともとは単層であったものが重層化した皮膚で覆われている。では、単層表皮が重層化し、肥厚するきっかけは何であろうか？重層化の開始、すなわち分化と表皮基底細胞の分裂軸の方向は、密接に関係している¹。発生初期の胎児の単層表皮では、基底細胞の分裂軸は基底膜に平行で、対称分裂 (symmetric cell division, SCD) により、等価な 2 つの細胞を生み出す (図 2A)。これは、急速に成長する胎児の表面積を大きくするのに役立っていると考えられる。

一方、発生がある程度進むと、SCD が減り、分裂軸が基底膜に垂直な分裂が増えてくる (図 2B)。垂直分裂は増殖能を持つ基底細胞と、分化する方向に運命

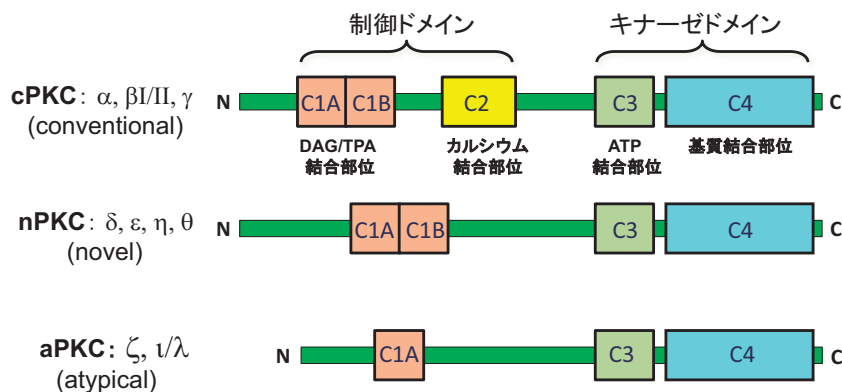


図 1 PKC 分子種の構造

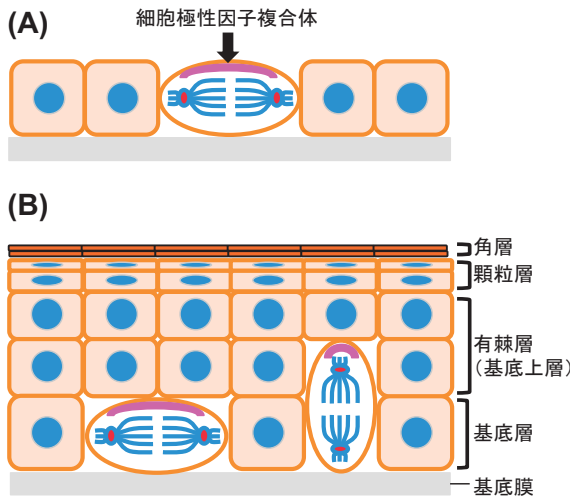


図2 表皮の重層化と細胞極性

(A) 単層表皮では、ほとんどの基底細胞の分裂軸は基底膜に平行である。(B) 重層化が始まる時には、分裂軸が基底膜に垂直な細胞が増えてくる。細胞極性因子複合体は頂端側に局在する。

づけられた上基底細胞 (suprabasal cell) という、非対称な細胞を生み出す (非対称分裂, asymmetric cell division, ACD)。胎生 12.5 日 (E12.5) のマウス表皮の大部分は単層であり、細胞分裂の 90% 以上は SCD であるのに対し、E14.5~18.5 では細胞分裂の 70% 以上が ACD となる⁹。ACD の増加は Notch シグナル経路を活性化し、細胞分化を促進する¹⁰。SCD, ACD いずれの場合も、細胞極性因子複合体は頂端側に非対称に分配され、頂底極性 (apicobasal polarity) を司る (図 2)。

細胞極性因子複合体

細胞極性因子複合体の骨格をなすのが、aPKC-Par 複合体である。aPKC には、aPKC ζ (ゼータ), aPKC λ (ラムダ) の 2 種類の分子種があるが²⁸, aPKC は、partition defective (Par) 蛋白質と相互作用することにより、上皮細胞の極性の確立に不可欠な役割を果たす。

もともと Par 遺伝子は、線虫 *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) の初期胚における、非対称分裂を制御する遺伝子のスクリーニングで同定されたものである^{11,12}。aPKC と相互作用する蛋白質を探索する過程で、Par3 (*C. elegans* の par-3 の哺乳類オースログ) が同定されたことが、哺乳類における細胞極性の研究が進展する嚆矢となった¹³。一方、線虫でも PKC-3 (*C. elegans* の aPKC オースログ) を RNAi 法により枯渇させると、par-3 および par-6 変異体と同様の表現型

が得られることがわかり^{14,15}, PKC-3, par-3, および par-6 間の機能的相互作用が示唆された。Par3 と Par6 はともに PDZ ドメインを含む足場蛋白質 (scaffold protein) として機能するが、実際 Par6 と aPKC は、それぞれの PBI ドメインを介して安定したヘテロダイマーを形成する^{16,17}。さらに、aPKC-Par6 ヘテロダイマーは、Rho ファミリー GTPase である Rac1 や Cdc42 により活性化されると Par3 に結合する^{18,19}。この aPKC-Par3-Par6 複合体は進化的に保存されており、さまざまな細胞極性イベントに関係している^{20,21}。

I. aPKC と毛包幹細胞の維持

(1) aPKC 欠損マウスの表現型

aPKC ζ と aPKC λ はいずれも表皮基底層に強く発現している²²。表皮における aPKC の機能を調べるために、私たちはそれぞれの遺伝子欠損 (knockout, KO) マウスを作製した。aPKC λ の KO マウスは、胎生致死だったので、表皮基底細胞に特異的に発現する keratin 5 (K5) のプロモーターの下流に Cre 遺伝子を組み込んだ K5-Cre トランスジェニック・マウスを用い、Cre-lox システムにより表皮特異的に aPKC λ を欠損したマウス (aPKC λ cKO) を作製した²³ (註: 同じく基底層に発現する keratin 14-Cre マウスを用いて作製した aPKC λ cKO マウスでも同様の表現型が得られている²⁴)。一方、aPKC ζ KO マウスは、胎生致死となることはなかったため、そのまま表皮の解析に用いた。

aPKC λ cKO マウスは、生後直後はコントロールマウスと外見上大きな差はなかったが、成長するにつれ徐々に体毛の脱毛が顕著となり (図 3)、生後約 1 年で全脱毛となった^{23,24}。体毛のみならず、ヒゲも脱落した。aPKC λ cKO マウスでは、毛周期も異常をきたしていた。正常の毛包は生後 4 週ほどで第 1 成長期に入り、退行期、休止期をへて、生後 12 週頃再び第 2 成長期に入る²⁵。しかし、aPKC λ cKO マウスの毛包は、第 1 成長期に入るのが生後 5 週以降と遅れ、しかもその後退行期、休止期に入ることなく成長期にとどまり、次第に変性して脱落した^{23,24}。一方、aPKC ζ KO マウスは、脱毛をきたさず、毛周期の異常もみられなかった²⁶。

(2) aPKC λ による毛包幹細胞の動態制御

マウスの休止期毛包は、漏斗部、峽部、バルジ、バルジ下部といったコンパートメントから形成されているが、各々のコンパートメントに特異的なマーカーが知られている (図 4)。毛包幹細胞が存在するバルジ部のマーカーとしては、keratin 15 (K15)^{27,28}, CD34²⁹,

コントロール aPKCζ KO aPKCλ cKO

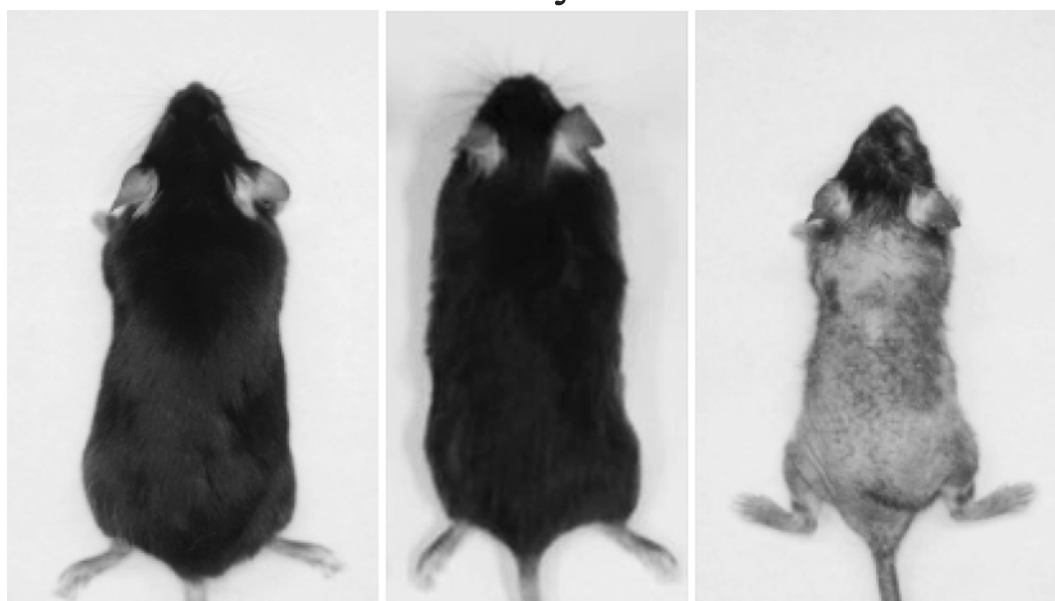


図3 aPKC欠損マウスの表現型
aPKCλ cKO マウスは進行性の脱毛をきたすが, aPKCζ KO マウスでは体毛に異常はみられない。

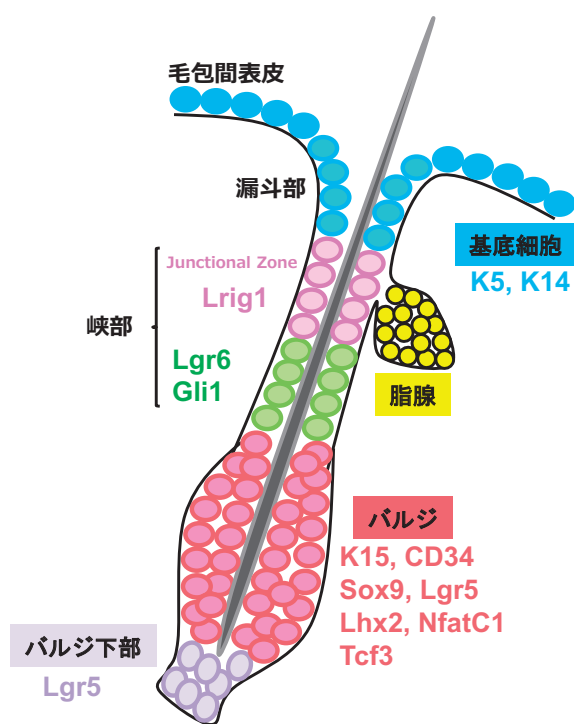


図4 マウス休止期毛包のコンパートメントとその特異的マーカー
マウスの休止期毛包は, 漏斗部, 峡部, バルジ, バルジ下部のコンパートメントに分かれ, それぞれに特異的なマーカーが発現する。

Sox9^{30,31}, Lhx2^{32,33}, NfatC1³⁴, Tcf3³⁵, バルジ上部 (下部峡部に相当) のマーカーとして Lgr6³⁶, Junctional

zone (上部峡部に相当) のマーカーとして Lgr1³⁷, バルジ下部のマーカーとして Lgr5³⁸などが報告されている。これらのマーカーの発現は, aPKCλ cKO マウスで減少するか, 異所性に発現しており, aPKCλ が毛包幹細胞の発現と局在化を調節していることがわかった^{23,24}。

aPKCλ cKO マウスにおける脱毛のメカニズムを解明するために, 毛包幹細胞に着目した。毛包幹細胞はフローサイトメトリーでは, CD34^{High}α6-integrin^{High} の細胞として同定される。aPKCλ cKO マウスでは, CD34^{High}α6-integrin^{High} 細胞が減少し, しかも加齢とともに減少が顕著になることがわかった^{23,24}。

一般に幹細胞は bromodeoxyuridine (BrdU) で標識すると, 標識が長く留まるのが特徴であり, label-retaining cell (LRC) と呼ばれる。生後2週目にマウスを BrdU で標識し, 50日後に調べてみると, コントロールマウスではバルジ領域に LRC が検出できたのに対し, aPKCλ cKO マウスのバルジ領域では LRC は検出されず, 毛包幹細胞が消失していることがわかった^{23,24}。

(3) aPKCλ による毛包幹細胞の休眠状態の制御

毛包幹細胞の大部分は通常休眠状態 (quiescence) にある。一般に, 幹細胞の一部が休眠し「リザーブ状態」にあるからこそ, 組織の一部が欠損しても「リザーブ状態」から覚め活性化した幹細胞が組織の再生に対応できる。上述のように, aPKCλ cKO マウスは, 毛

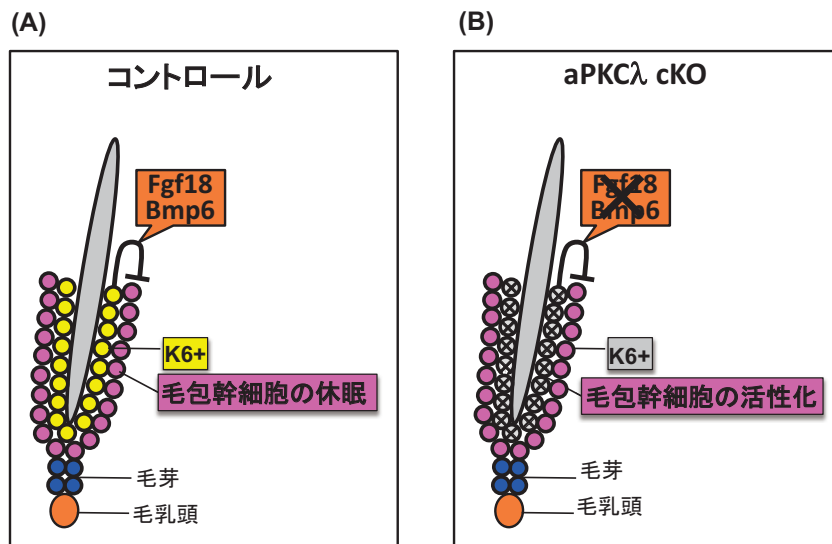


図5 aPKC λ cKO マウスの脱毛メカニズム

(A) コントロールマウスでは、K6 陽性細胞から分泌される Fgf18, および Bmp6 により毛包幹細胞の休眠状態が維持されている。(B) aPKC λ cKO マウスでは、Fgf18, および Bmp6 の発現が低下するため、毛包幹細胞の休眠状態が破綻し常に活性化された状態となる。その結果、毛包幹細胞が徐々に枯渇するため、脱毛をきたす。

周期が異常になり成長期が持続していること、毛包幹細胞が徐々に枯渇することから、毛包幹細胞の休眠状態を調べた。毛包幹細胞の休眠状態の維持は、毛包のバルジ領域の内層に存在する keratin6 (K6) 陽性細胞から分泌される Fgf18 と Bmp6 によって維持されると考えられている (図 5A)³⁹。そこで、aPKC λ cKO マウスの Fgf18, および Bmp6 の発現を調べたところ、定量的 PCR, 免疫組織化学染色いずれにおいても両者の発現が著しく低下しており、aPKC λ cKO マウスでは毛包幹細胞の休眠状態が破綻していることがわかった (図 5B)²³。以上より、aPKC λ cKO マウスでは、aPKC λ の欠損により、毛包幹細胞の休眠状態を維持する Fgf18, Bmp6 の発現が抑制される。そのため毛包幹細胞の休眠状態が破綻し、毛包幹細胞は常に活性化された状態になり、毛包の成長期が持続する。その結果、次第に毛包幹細胞が枯渇し、脱毛にいたると考えられた²³。

II. aPKC と創傷治癒

(1) aPKC λ 欠損マウスにおける創傷治癒の遅延

創傷治癒時には、傷周囲の毛包に存在する幹細胞や前駆細胞 (progenitor cell) が創傷部に移動して、表皮細胞に分化し、再上皮化を促すことが知られている⁴⁰。バルジにある K15 陽性細胞は創傷部に移動して、一時的な再上皮化に関与する⁴¹。一方、峽部に存在する Lgr6 陽性細胞と漏斗部に存在する Lrig1 陽性

細胞は、長期的な再上皮化に関与する。私たちは aPKC λ cKO マウスでは、毛包幹細胞が徐々に枯渇するため、傷の周りの毛包から幹細胞が供給されず、創傷治癒が異常をきたすのではないかと考えた。

図 6 にマウスを使った創傷治癒実験の結果を示す。7~8 週齢のマウスの背中の皮膚に、15 mm 四方の皮膚欠損創を作り創傷治癒過程を観察した。コントロールでは痂皮の脱落と上皮化が創傷後 3 週間までには完了したのに対し、aPKC λ cKO マウスでは、痂皮の脱落が遅れ、3 週間を過ぎても上皮化が完了しなかった。創傷面積を計測すると、aPKC λ cKO マウスでは、コントロールと比べて約 1.7 倍、有意に大きかった。一方、aPKC ζ KO マウスでは、創傷治癒の遅れはなく、創傷面積もコントロールと有意差がなかった²⁶。

(2) aPKC と細胞移動

創傷治癒が遅れる原因としては、傷周囲の細胞の増殖異常と移動障害の 2 つの可能性が考えられる。aPKC λ cKO マウスの傷の周りの組織を BrdU で染色すると、コントロールよりも表皮の BrdU 陽性細胞が有意に増加していた²⁶。また、変異マウスから表皮角化細胞を初代培養し、増殖能を調べたところ、aPKC λ 欠損細胞は、コントロールに比し高い増殖能を示したが、aPKC ζ 欠損細胞はコントロールとほぼ差はなかった。以上より、aPKC λ cKO マウスで創傷治癒が遅延するのは、細胞の増殖の異常によるものでないことがわかった²⁶。



図6 aPKC λ cKO マウスにおける創傷治癒の遅延
創傷後 26 日目のマウス. aPKC λ cKO マウスでは創傷治癒と収縮が遅延する.

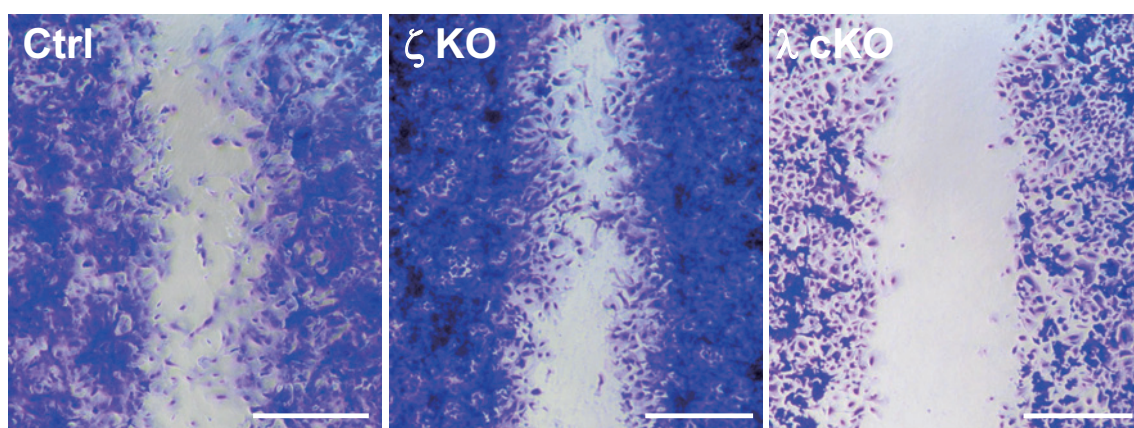


図7 培養表皮角化細胞を用いた創傷治癒実験
生直後のマウスから採取した表皮角化細胞を初代培養し、コンフルエントになったところでチップで人工的に傷をつくり、48 時間後に傷の埋まり具合を観察した. Ctrl, コントロール.

次に細胞移動について検討した. 初代培養した表皮角化細胞がコンフルエントに達したところで、ディッシュにチップで傷をつける創傷治癒実験を行ったところ、コントロールと aPKC ζ 欠損細胞では傷の中央に向かって細胞が移動し、傷が埋まってきているのに対して、aPKC λ 欠損細胞では、細胞の移動が少なく傷もほとんど埋まらなかった (図7). 傷が埋まった面積を測定したところ、aPKC λ 欠損細胞ではコントロールの 50% 未満だったのに対し、aPKC ζ 欠損細胞ではコントロールと有意差はなかった²⁶.

(3) aPKC λ による細胞移動の制御

一般に創傷治癒時には、傷に接している細胞は、傷の方向に向かって突起を伸ばして移動していく. この時ゴルジ体も傷の方向に再配列する (Golgi reorientation) ことが知られている⁴² (図8). 創傷治癒時の aPKC 欠損細胞の動態を詳しく観察したところ、コントロールと aPKC ζ 欠損細胞では、細胞突起が傷の方向に向かって一方向に伸び、ゴルジ体も傷の方向に再配列する傾向がみられた. 一方、aPKC λ 欠損細胞では、細胞の伸展がみられず、突起の方向、ゴ

ルジ体の再配列の方向は、傷の方向と関係なく、ランダム化していることがわかった²⁶. 免疫プロットでは、aPKC λ 欠損角化細胞で Par6 β の発現が低下しており、aPKC λ が欠損することにより aPKC-PAR 複合体が不安定化し、極性が失われることが示唆された²⁶.

以上の結果より、aPKC λ は創傷治癒時に、細胞移動の極性を制御することがわかった. ラット培養アストロサイトを用いた *in vitro* の創傷治癒実験では、aPKC λ より aPKC ζ が創傷治癒に重要と報告されている⁴³. しかし、実際の創傷治癒過程により近い、表皮角化細胞を用いた私たちの実験の結果から、aPKC ζ より aPKC λ が創傷治癒時の極性を制御していると考えられた.

まとめ

1. 細胞極性制御因子である aPKC λ は毛包幹細胞の維持に必須である.
2. aPKC λ は創傷治癒時に表皮細胞が移動する方向を制御している.

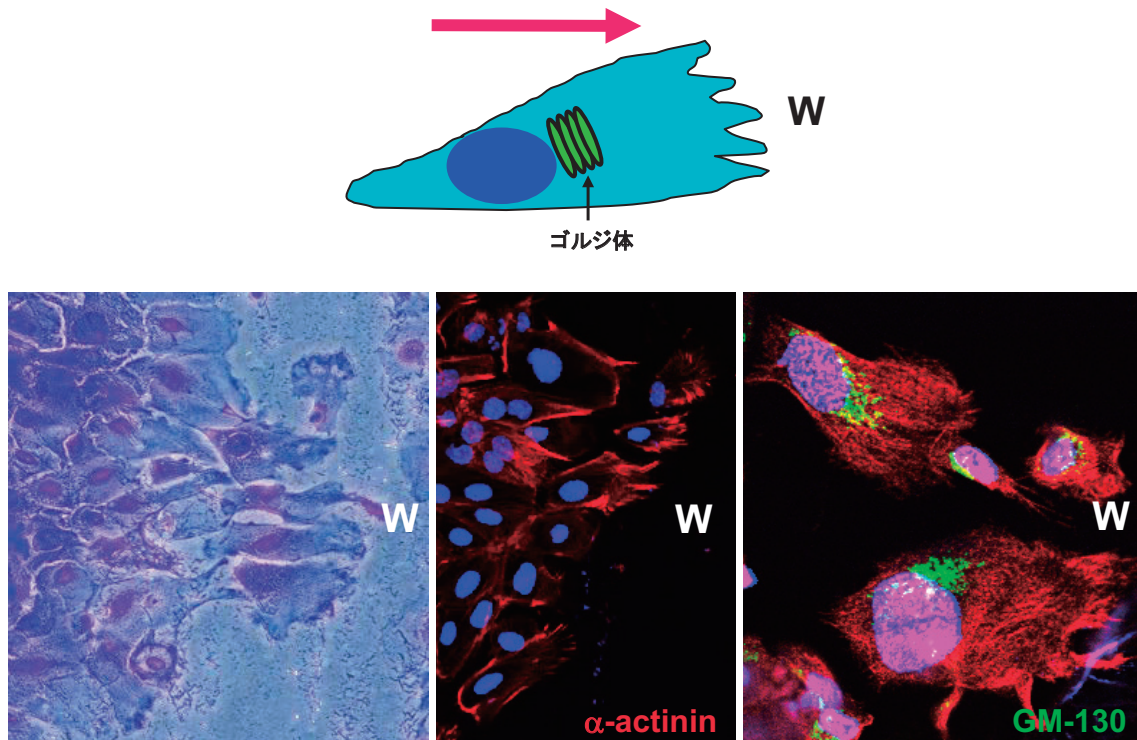


図8 創傷治癒時の細胞突起の伸長とゴルジ体の再配列
創傷治癒時、傷に面した細胞は傷の方向に向かって細胞突起を伸ばして移動する。この時、ゴルジ体も傷の方向に再配列する。 α -actininは細胞突起、GM-130はゴルジ体のマーカー。W, wound.

3. 2つある aPKC 分子種のうち、上述の2つの機能において主要な役割を果たしているのは、aPKC ζ ではなく、aPKC λ である。

文 献

- Kulukian A, Fuchs E: Spindle orientation and epidermal morphogenesis. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 2013; 368: 20130016.
- Suzuki A, Ohno S: The PAR-aPKC system: lessons in polarity. *J Cell Sci* 2006; 119: 979-987.
- Nishizuka Y: Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses. *FASEB J* 1995; 9: 484-496.
- Ohno S, Nishizuka Y: Protein kinase C isotypes and their specific functions: prologue. *J Biochem* 2002; 132: 509-511.
- Steinberg SF: Structural basis of protein kinase C isoform function. *Physiol Rev* 2008; 88: 1341-1378.
- Castagna M, Takai Y, Kaibuchi K, et al: Direct activation of calcium-activated, phospholipid-dependent protein kinase by tumor-promoting phorbol esters. *J Biol Chem* 1982; 257: 7847-7851.
- Ono Y, Fujii T, Ogitat K, et al: Protein kinase C subspecies from rat brain: Its structure, expression, and properties. *Biochemistry* 1989; 86: 3099-3103.
- Akimoto K, Mizuno K, Osada SI, et al: A new member of the third class in the protein kinase C family, PKC λ , expressed dominantly in an undifferentiated mouse embryonal carcinoma cell line and also in many tissues and cells. *J Biol Chem* 1994; 269: 12677-12683.
- Lechler T, Fuchs E: Asymmetric cell divisions promote stratification and differentiation of mammalian skin. *Nature* 2005; 437: 275-280.
- Williams SE, Beronja S, Pasolli HA, Fuchs E: Asymmetric cell divisions promote Notch-dependent epidermal differentiation. *Nature* 2011; 470: 353-358.
- Kemphues KJ, Priess JR, Morton DG, Cheng NS: Identification of genes required for cytoplasmic localization in early *C. elegans* embryos. *Cell* 1988; 52: 311-320.
- Kemphues K: PARsing embryonic polarity. *Cell* 2000; 101: 345-348.
- Izumi Y, Hirose T, Tamai Y, et al: An atypical PKC directly associates and colocalizes at the epithelial tight junction with ASIP, a mammalian homologue of *Caenorhabditis elegans* polarity protein PAR-3. *J Cell Biol* 1998; 143: 95-106.
- Watts JL, Etemad-Moghadam B, Guo S, et al: par-6, a gene involved in the establishment of asymmetry in early *C. elegans* embryos, mediates the asymmetric localization of PAR-3. *Development* 1996; 122: 3133-3140.
- Tabuse Y, Izumi Y, Piano F, et al: Atypical protein kinase C cooperates with PAR-3 to establish embryonic polarity in *Caenorhabditis elegans*. *Development* 1998; 125: 3607-3614.
- Suzuki A, Yamanaka T, Hirose T, et al: Atypical protein kinase C is involved in the evolutionarily conserved par protein complex and plays a critical role in establishing epithelia-specific junctional structures. *J Cell Biol* 2001; 152: 1183-1196.

17. Moscat J, Diaz-Meco MT, Albert A, Campuzano S: Cell signaling and function organized by PB1 domain interactions. *Mol Cell* 2006; 23: 631-640.
18. Lin D, Edwards AS, Fawcett JP, et al.: A mammalian PAR-3-PAR-6 complex implicated in Cdc42/Rac1 and aPKC signalling and cell polarity. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 540-547.
19. Yamanaka T, Horikoshi Y, Suzuki A, et al.: PAR-6 regulates aPKC activity in a novel way and mediates cell-cell contact-induced formation of the epithelial junctional complex. *Genes Cells* 2001; 6: 721-731.
20. Goldstein B, Macara IG: The PAR Proteins: Fundamental Players in Animal Cell Polarization. *Dev Cell* 2007; 13: 609-622.
21. Rosse C, Linch M, Kermorgant S, et al.: PKC and the control of localized signal dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11: 103-112.
22. Helfrich I, Schmitz A, Zigrino P, et al.: Role of aPKC isoforms and their binding partners Par3 and Par6 in epidermal barrier formation. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 782-791.
23. Osada S-I, Minematsu N, Oda F, et al.: Atypical protein kinase C isoform, aPKC λ , is essential for maintaining hair follicle stem cell quiescence. *J Invest Dermatol* 2015; 135: 2584-2592.
24. Niessen MT, Scott J, Zielinski JG, et al.: Apkcy controls epidermal homeostasis and stemcell fate through regulation of division orientation. *J Cell Biol* 2013; 202: 887-900.
25. Müller-Röver S, Handjiski B, van der Veen C, et al.: A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 3-15.
26. Noguchi N, Hirose T, Suzuki T, et al.: Atypical protein kinase C isoforms differentially regulate directional keratinocyte migration during wound healing. *J Dermatol Sci* 2019; 1-8.
27. Cotsarelis G, Sun TT, Lavker RM: Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. *Cell* 1990; 61: 1329-1237.
28. Taylor G, Lehrer MS, Jensen PJ, et al.: Involvement of follicular stem cells in forming not only the follicle but also the epidermis. *Cell* 2000; 102: 451-461.
29. Trempus CS, Morris RJ, Ehinger M, et al.: CD34 expression by hair follicle stem cells is required for skin tumor development in mice. *Cancer Res* 2007; 67: 4173-4181.
30. 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: 33-43.
31. Vidal VP, Chaboissier MC, Lützkendorf S, et al.: Sox9 is essential for outer root sheath differentiation and the formation of the hair stem cell compartment. *Curr Biol* 2005; 15: 1340-1351.
32. Mardaryev AN, Meier N, Poterlowicz K, et al.: Lhx2 differentially regulates Sox9, Tcf4 and Lgr5 in hair follicle stem cells to promote epidermal regeneration after injury. *Development* 2011; 138: 4843-4852.
33. Rhee H, Polak L, Fuchs E: Lhx2 maintains stem cell character in hair follicles. *Science* 2006; 312: 1946-1949.
34. Horsley V, Aliprantis AO, Polak L, et al.: NFATc1 balances quiescence and proliferation of skin stem cells. *Cell* 2008; 132: 299-310.
35. Merrill BJ, Gat U, DasGupta R, Fuchs E: Tcf3 and Lef1 regulate lineage differentiation of multipotent stem cells in skin. *Genes Dev* 2001; 15: 1688-1705.
36. Snippert HJ, Haegebarth A, Kasper M, et al.: Lgr6 Marks Stem Cells in the Hair Follicle That Generate All Cell Lineages of the Skin. *Science* 2010; 327: 1385-1389.
37. Jensen KB, Collins CA, Nascimento E, et al.: Lrig1 expression defines a distinct multipotent stem cell population in mammalian epidermis. *Cell Stem Cell* 2009; 4: 427-439.
38. Jaks V, Barker N, Kasper M, et al.: Lgr5 marks cycling, yet long-lived, hair follicle stem cells. *Nat Genet* 2008; 40: 1291-1299.
39. Hsu YC, Pasolli HA, Fuchs E: Dynamics between stem cells, niche, and progeny in the hair follicle. *Cell* 2011; 144: 92-105.
40. Takeo M, Lee W, Ito M: Wound healing and skin regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015; 5: a023267.
41. Ito M, Liu Y, Yang Z, et al.: Stem cells in the hair follicle bulge contribute to wound repair but not to homeostasis of the epidermis. *Nat Med* 2005; 11: 1351-1354.
42. Etienne-Manneville S, Hall A: Cdc42 regulates GSK-3 b and adenomatous polyposis coli to control cell polarity. *Nature* 2003; 421: 753-756.
43. Etienne-Manneville S, Hall A: Integrin-mediated activation of Cdc42 controls cell polarity in migrating astrocytes through PKC ζ . *Cell* 2001; 106: 489-498.

(受付：2020年4月21日)

(受理：2020年5月27日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的の場合、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことが出来る。