

DOI: 10.13376/j.cblls/2017009

文章编号: 1004-0374(2017)01-0062-08

## Edar信号通路调控毛囊发育的研究进展

李雪儿, 郑昕婷, 牟春燕\*

(华中农业大学动物科学技术学院动物医学院, 武汉 430070)

**摘要:** Edar 信号通路最早发现于人少汗型外胚层发育不良综合征 (hypohidrotic ectodermal dysplasia, HED) 疾病患者, 它是调控胚胎发育早期皮肤附属物——头发、指甲、牙齿、外分泌腺等的形态发生、发育过程的重要信号通路。与人类相同, 小鼠皮肤内毛囊于胚胎期发生并发育成熟, 出生后进入动态变化的毛囊周期性生长。小鼠模型的相关研究表明, Edar 信号通路在早期初级毛囊的发生、成体毛囊周期性生长和被毛纤维直径等方面都发挥重要的调控作用。现综述 Edar 通路中重要信号分子的结构特点、转导途径及其在皮肤和毛囊早期形态发生中的作用; 阐述 Edar 信号通路对毛囊生长周期的调控, 对维持皮肤微环境稳态、促进皮肤损伤修复和表皮再生的作用, 以及在临床治疗 HED 相关疾病方面的潜在应用前景。

**关键词:** Edar 信号通路; 毛囊; 皮肤损伤修复; HED

**中图分类号:** Q25; Q418; R363 **文献标志码:** A

## Research advances of Edar signaling pathway in hair follicle development

LI Xue-Er, ZHENG Xin-Ting, MOU Chun-Yan\*

(College of Animal Sciences & Technology College of Veterinary Medicine,  
Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Edar signaling pathway, which was initially characterized from hypohidrotic ectodermal dysplasia (HED) syndrome, plays an important role in morphogenesis and development of ectodermal appendages including hair, nails, teeth, exocrine glands, etc. In mice, hair follicles initiate and develop in embryonic stage and go through cyclic growth after birth which are regulated by many signaling pathways. Of those, Edar is one of the key stimulator for primary hair follicle formation and highly associated with hair fiber thickness in adulthood. This review elucidates the function of Eda/Edar/Edaradd signaling pathway on hair follicle development and cycling, wound healing and skin tissue homeostasis, and speculates the potential clinical application for HED-associated disorder targeted on Eda/Edar genetic variants.

**Key words:** Edar signaling pathway; hair follicle; wound healing; HED

动物的毛发是毛囊经过一系列发生发育和生长等过程形成的皮肤衍生物, 在维持哺乳动物体温、适应周围环境等方面具有重要作用<sup>[1]</sup>。胚胎发育过程中, 皮肤真皮层细胞与表皮层细胞间相互作用, 通过一系列分子信号转导, 诱导未分化的皮肤细胞进行增殖和分化, 相继形成基板、真皮乳头、毛球、内根鞘和外根鞘等结构, 最终形成成熟的毛囊<sup>[1]</sup>。成熟的毛囊在出生后进入连续动态变化的周期性生长, 包括活跃的生长阶段(生长期)、生长的退化阶段(退化期)和几乎静止的阶段(休止期)<sup>[1]</sup>。对

小鼠相关模式动物的研究发现, 毛囊在胚胎期的形态发生和发育以及成体的周期性生长过程中受多个信号通路的调控, 如 Wnt (Wnt/ $\beta$ -catenin)<sup>[2-3]</sup>、Edar (ectodysplasin-A receptor)<sup>[4-5]</sup>、BMP (bone morphogenetic protein)<sup>[6]</sup>、FGF (fibroblast growth factor)<sup>[7]</sup>、

收稿日期: 2016-04-27; 修回日期: 2016-07-24

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2662015PY007)

\*通信作者: E-mail: chunyanmou@mail.hzau.edu.cn

Notch<sup>[8-9]</sup> 和 Shh (sonic hedgehog)<sup>[10-12]</sup> 等。其中 Wnt 和 Edar 信号通路在毛囊早期形态发生的起始阶段发挥至关重要的作用<sup>[13]</sup>, Edar 信号通路主要调控最早出现的一类毛囊——初级毛囊, 以及牙齿等其他皮肤附属物的发育<sup>[14]</sup>。该信号通路包括 *Eda-A1*、*Edar* 和 *Edaradd* 三个基因, 其中任何一个基因发生突变均会导致不同程度的人少汗型外胚层发育不良综合征 (hypohidrotic ectodermal dysplasia, HED), 在小鼠突变体模型中也表现出类似于人 HED 的症状<sup>[15-19]</sup>。此外, Edar 通路不仅调控小鼠被毛毛囊的早期发育<sup>[4]</sup> 和周期性生长<sup>[20]</sup>, 还参与皮肤组织损伤的修复过程<sup>[21]</sup>。

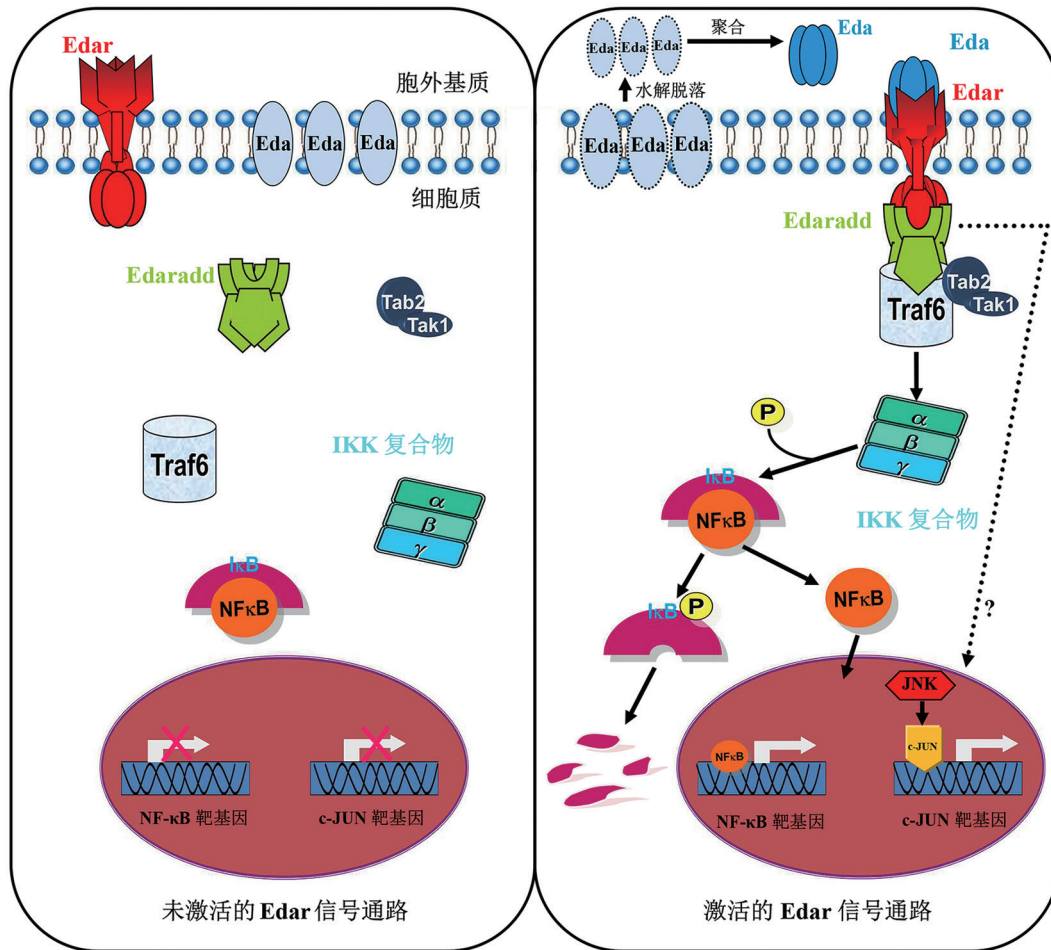
## 1 Edar信号通路

Edar 信号通路主要由配体 Eda (ectodysplasin-A)、跨膜受体 Edar 和胞质内衔接蛋白 Edaradd (ectodysplasin-A receptor-associated adapter protein) 组成<sup>[14,16-17,22]</sup>。Edar 与其特异性配体 Eda 分别属于肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 受体家族和配体家族<sup>[16]</sup>, 具有 TNF 受体家族的典型胞内死亡结构域, 可以与相应衔接蛋白 Edaradd 的死亡结构域特异性结合, 启动信号转导, 从而调控下游靶基因转录<sup>[23]</sup>。

以人为例, 配体 Eda 编码基因定位于 Xq12-q13.1, 有 12 个外显子, 可变剪接产生不同的转录本, 编码 9 种蛋白亚型<sup>[24]</sup>。目前研究较多的 2 个亚型为 Eda-A1 (编码 391 个氨基酸, 下文 Eda 指 Eda-A1) 和 Eda-A2 (编码 389 个氨基酸), 分别与 TNF 家族受体的 Edar、Eda2r (即 Xedar, X-linked ectodysplasin-A receptor) 特异性结合<sup>[24-25]</sup>, 均属 II 型跨膜蛋白, 由较短的 N-端胞内域、跨膜域和较长的 C-端胞外域组成<sup>[26]</sup>。其中, 胞外结构域中含有 Furin 蛋白酶切割位点、(Gly-X-Y)<sub>9</sub> 的胶原重复片段以及 TNF 同源域<sup>[26]</sup>。在对 100 多个 X 连锁少汗型外胚层发育不良综合征 (X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia, XLHED) 的遗传病家族患者 DNA 进行检测时发现, *Eda* 基因的突变位点主要发生在编码胞外结构域的序列<sup>[27]</sup>。受体 Edar 的编码基因定位于 2q13, 具有 13 个外显子, 编码 448 个氨基酸。Edar 属 I 型跨膜蛋白, 一级结构包括 N-端胞外域、跨膜域和 C-端胞内域, 其 N-端胞外域中含有 1 个 N-端信号肽和 3 个重复的 CRDs (cystein-rich domains); 胞内域包含死亡结构域, 以同源三聚体形式发挥信号转导作用<sup>[14]</sup>。其家族的另一位成员 Eda2r 和 Troy (又名 TNFRSF19 或 Taj) 的编码基因分别位于 Xq12

和 13q12.11-12.3, 分别具有 9 和 12 个外显子, 编码 318 和 416 个氨基酸。Eda2r 属 III 型跨膜蛋白, 其 N-端胞外域由 3 段重复的 CRDs 组成, 缺乏 N-端信号肽; Troy 属 I 型跨膜蛋白, 其 N-端胞外域由重复的约 40 个氨基酸残基的 CRDs 组成<sup>[25,28-29]</sup>。胞内衔接蛋白 Edaradd 的编码基因位于 1q42.3, 具有 7 个外显子, 编码 208 个氨基酸。Edaradd 含有 N-端 Traf (tumor necrosis factor receptor-associated factor) 结合序列和 C-端死亡结构域, 以 N-末端序列的差异分为两种亚型 (A 和 B)<sup>[17]</sup>。

目前已知 Edar 通路有两条途径: Eda-A1/Edar/Edaradd 途径和 Eda-A2/Eda2r 途径<sup>[30-31]</sup>。已经建立的小鼠突变体表型分析结果显示, 第一个信号途径的 3 个关键基因突变体显示相同的被毛表型: 缺失了初级毛囊, 显示该信号通路是初级毛囊正常发育的关键因素之一; 而 Eda-A2 的突变小鼠与正常小鼠相比没有明显的表型变化, 深入的研究较少, 后续的相关报道大多集中在 Eda-A1/Edar/Edaradd 通路。该信号通路被激活时, 配体 Eda-A1 被 Furin 丝氨酸蛋白酶水解, 从细胞膜上脱落, 形成可溶的 ectodomain 游离至细胞膜外, 导致其构型发生改变, 随后聚合形成三连体复合物。该三聚体复合物能够特异性地结合到配体 Edar 的 N-端胞外域, 形成配体-受体异构体 ectodomain-Edar。该异构体的形成导致 Edar C-端的胞内域构型发生改变, 并特异性地与胞内衔接蛋白 Edaradd 结合, 启动下游 NF- $\kappa$ B 信号转导的级联反应<sup>[32]</sup>。在 Edar 信号通路没有被激活时, 胞浆中的 NF- $\kappa$ B 通常与其抑制因子 I- $\kappa$ B 结合而失去活性<sup>[33]</sup>。Eda 的水解产物 ectodomain 与受体 Edar 特异性结合后, Edar 构象发生改变, 使其死亡结构域与胞内衔接分子 Edaradd 的死亡结构域相结合, 形成三联体复合物。构象改变的 Edaradd 招募胞浆内的 Traf6<sup>[34]</sup>, 随后 Traf6 结合 TAK1 (Tgf  $\beta$  activated kinase 1) 复合物, 并通过多聚泛素化活化该复合物<sup>[34]</sup>。TAK1 复合物由激酶 TAK1 和 TAB1 (TAK1 binding protein 1, TAB1)、TAB2 或 TAB3 组成<sup>[35]</sup>。活化的 TAK1 激酶进一步激活 IKK (I- $\kappa$ B kinase) 复合物, 活化的 IKK 复合物使 I- $\kappa$ B 磷酸化, 使其被蛋白酶识别并水解, 从而释放 NF- $\kappa$ B 并游离在胞浆中。胞浆中 NF- $\kappa$ B 浓度升高后入核, 调控下游靶基因的转录<sup>[34]</sup> (图 1)。IKK 复合物包含两个催化亚基 IKK $\alpha$  和 IKK $\beta$ , 以及一个调节亚基 IKK $\gamma$  (NF- $\kappa$ B essential modulator, NEMO), 其中 IKK $\gamma$  的基因突变在人体中也会导致 HED<sup>[36]</sup>。Edar 也可能会激活其他下游因子



配体Eda被丝氨酸蛋白酶水解, 从质膜上脱落, 形成游离的Eda ectodomain并聚合形成三聚体, 特异性结合Edar 形成配体-受体异构体ectodomain- Edar, 并与Edaradd死亡结构域结合, 改变了Edaradd的构型, 招募Traf6, 通过Traf6激活TAK1复合物, 释放出游离的NF- $\kappa$ B。胞质中游离的NF- $\kappa$ B入核并调控下游靶基因转录, Edaradd还可能激活JNK通路。

图1 Eda-A1/Edar/Edaradd信号转导途径

如 JNK (C-Jun N-terminal kinase), 并进行信号转导, 其具体调控机制尚未明确<sup>[37]</sup>。Eda-A2/Eda2r 途径可以通过 Traf3 和 Traf6 激活 JNK 通路, 也可以激活 NF- $\kappa$ B 的非经典通路<sup>[38-39]</sup>, 对于其功能与机制仍然不是十分清楚。另有报道称, Troy 可以被 TNF 家族成员 LT $\alpha$  (lymphotoxin  $\alpha$ ) 激活<sup>[40]</sup>, 但关于 Troy 的信号转导途径目前鲜有报道。

## 2 Edar通路在早期毛囊形态发生中的功能研究

小鼠有 4 种被毛类型: 粗长的 Guard hair, 由初级毛囊发育形成; 稍短而弯曲的 Awl hair 和弯折 Auchene hair, 由次级毛囊发育形成; 最短的卷毛 Zig-zag hair, 对应的毛囊形成最晚。Edar 通路是调控初级毛囊发生发育的重要通路, 在小鼠模型研究中发现, *Eda*<sup>-/-</sup> (Tabby 小鼠)、*Edar*<sup>-/-</sup> (downless 小鼠)、*Edaradd*<sup>-/-</sup> (crinkled 小鼠) 的基因敲除小鼠具有同样

的表型特征: 初级毛囊以及由初级毛囊形成的 Guard hair 缺失, 耳根背侧和尾部无毛, 尾尖形成扭曲, 牙齿发育异常等 (表 1)<sup>[14,16,22]</sup>, 这些表型都与胚胎期皮肤附属结构发育不良有关。

在小鼠胚胎发育过程中, 毛囊形态发生的重要标志是皮肤表皮层细胞局部增厚形成基板 (E14 左右), 而调控毛囊形成的分子事件是在胚胎发育的 E13 左右起始。对 *Eda* 与 *Edar* 的时空表达模式研究显示: E13 时, *Eda* 与 *Edar* 弥散分布在胚胎皮肤最外层较薄的上皮细胞层中; E14 时, 基板 (之后将发育成成熟的毛囊) 出现, *Edar* 的表达被聚集在正在形成的基板处, 而 *Eda* 在与其互补的基板间的细胞中表达<sup>[41]</sup>。进一步研究发现, 在初级毛囊形态发生的过程中 (E13~E14), *Edar* 基因的表达模式具有鲜明的特点: 表达总量没有发生明显的改变, 但是表达部位发生了明显的富集, 从皮肤表皮层的

弥散性分布 (E13) 到特异的聚集在基板内 (E14), 而在基板间则基本检测不到表达信号<sup>[41]</sup>。只有 Eda-A1 在早期胚胎 (E13 起) 表皮细胞中表达, 而 Eda-A2 在初级毛囊形成后 (E17) 才出现, 表明参与初级毛囊基板形成的主要是 Eda-A1/Edar 信号通路, 而 Eda-A2/Eda2r 对于该时期初级毛囊基板的形成则是非必需的<sup>[25]</sup>。以 *Tabby* 小鼠为例, 用可溶性的 Fc-Eda-A1 融合蛋白注射入 E11.5-E15.5 的 *Tabby* 孕鼠, 其子代小鼠表型恢复正常, 耳后和尾部长出毛发, 尾尖扭曲消失, 初级毛囊结构完整, 汗腺、皮脂腺发育正常; 但是使用 Fc-Eda-A2 融合蛋白处理同时期 *Tabby* 孕鼠, 其子代出生后仍为缺陷型表型, 进一步说明在初级毛囊发育初期 Eda-A1/Edar 信号通路起主导作用, 而非 Eda-A2/Eda2r 信号通路<sup>[42]</sup>。在牙齿、胡须、皮脂腺和次级毛囊的发育过程中, *Troy* 的空间表达模式与 *Edar* 非常相似<sup>[43]</sup>, 但时间 (E17 左右) 上晚于 *Edar*。在 *Troy*<sup>-/-</sup> 基因敲除小鼠中, 其被毛与其他附属物并无明显缺陷; *Eda*<sup>-/-</sup>*Troy*<sup>-/-</sup>

双基因敲除小鼠中, 毛囊缺失; 而 *Eda*<sup>-/-</sup>*Troy*<sup>+/-</sup> 基因敲除小鼠中存在次级毛囊。推测 *Troy* 可能参与调控次级毛囊的发育过程, 其具体机制还有待进一步的深入探讨<sup>[43-44]</sup>。

几类经典信号通路, 如 Wnt/ $\beta$ -catenin、BMP 等对毛囊的发育也起着重要的调控作用。Wnt/ $\beta$ -catenin 是迄今为止研究最多的, 也是毛囊形态发生最早激活的信号通路, 在皮肤表皮和真皮层都具有广泛的表达, 使早期处于未分化的皮肤细胞接受不同的命运决定, 逐渐分化形成潜在的毛囊细胞群和毛囊间细胞群<sup>[2-3]</sup>。这两类细胞群最终能否形成有序的、规则排列的圆点状毛囊基板, 需要后续 Edar 信号通路的共同作用。如果后续 Edar 信号通路不能正常行使其相应功能, 即使 Wnt/ $\beta$ -catenin 过量表达, 毛囊基板也不能形成正常的圆点状结构, 仅可观察到随机分布的、不规则排列的类毛囊结构; Edar 是 Wnt/ $\beta$ -catenin 潜在的靶基因, 该观点还有待进一步的验证<sup>[13]</sup>。Edar 和 BMP 相互作用, 形成初级毛囊

表1 Edar信号通路信号分子基因修饰小鼠表型

基因	染色体	基因修饰小鼠	表型	参考文献
<i>Eda</i>	X	<i>Eda</i> 基因敲除小鼠( <i>Tabby</i> )	被毛缺少Guard hairs, 耳后有秃斑, 胡须数量减少, 胡须变短, 尾部无毛, 尾尖扭曲变形; 缺乏汗腺, 皮脂腺腺体变小, 分支变少; 眼睑孔径变小; 切齿萎缩或不萌出, 白齿较小, 智齿不萌出, 颅面畸形; 呼吸系统失调。	[46-50]
<i>Eda-A1</i>	X	<i>Eda-A1</i> 转基因小鼠 (K14-Eda-A1)	超量表达Eda-A1的转基因小鼠, 被毛毛囊基板增大, 形状不规则; 成熟毛囊靠近表皮部分结构偶有融合现象发生; 白齿基板增大, 乳腺数目多于野生型对照组。	[51]
<i>Eda-A2</i>	X	<i>Eda-A2</i> 转基因小鼠 (K14-Eda-A2)	超量表达Eda-A2的转基因小鼠没有异常表型变化。	[51]
<i>Edar</i>	10	<i>Edar</i> 基因敲除小鼠 ( <i>downless</i> ) <i>Edar</i> 转基因小鼠	表型类似 <i>Tabby</i> 小鼠。 超量表达Edar的转基因小鼠被毛毛发粗糙, 毛纤维更粗更直, 超微结构横截面近圆, 纵剖面髓质细胞数较野生型多。	[14,44,48-49] [51-52]
<i>Eda2r</i> (or <i>Xedar</i> )	X	<i>Eda2r</i> 基因敲除小鼠	没有异常表型变化。	[53]
<i>Troy</i> (or <i>TNFRSF19</i> or <i>Taj</i> )	14	<i>Troy</i> 基因敲除小鼠	没有异常表型变化。	[44]
<i>Edaradd</i>	13	<i>Edaradd</i> 基因敲除小鼠 ( <i>crinkled</i> )	表型类似 <i>Tabby</i> 小鼠。	[16,50]

形态发生的激活因子 (Edar) 和抑制因子 (BMP), 两者形成动态平衡, 在皮肤表皮和真皮间建立互作, 使毛囊能够正常的形成和分布<sup>[4,45]</sup>。

### 3 Edar通路对毛干形成和毛囊生长周期的影响

#### 3.1 Edar通路对毛干形成的影响

小鼠模型研究中, Edar 通路基因敲除或突变会导致小鼠 4 种被毛类型缺失或异常, 说明 Edar 通路参与调控小鼠毛干的形成<sup>[15-16]</sup>。Gilon 等<sup>[54]</sup>报道毛发角蛋白, 如 Krt5 (hair keratin 5) 其编码基因已证实是 NF- $\kappa$ B 的靶基因, 这种毛发角蛋白可能也受到 Edar 通路的调控。在人类群体研究中, 人的发质在不同人群中差异显著, 东亚人和印第安人的头发与欧洲人和非洲人相比, 质地粗糙, 发丝纤维偏直, 横截面超微结构呈近似圆形并且直径较大, 而欧洲人的发丝纤维多卷曲, 横截面超微结构呈椭圆形<sup>[51,55]</sup>。这一表型与 Edar 的基因型具有高度的关联性。Edar 基因非同义突变的 SNP (rs3827760)<sup>[56]</sup>(人类 EDAR 基因第 1 540 个碱基, 小鼠第 1 326 个碱基, T 突变为 C), 导致编码 Edar 氨基酸序列的第 370 位由缬氨酸变成丙氨酸 (Val370Ala)。该关键位点位于 Edar 的死亡结构域内, 在亚洲人中这种演变表现出强烈的阳性选择<sup>[57-58]</sup>。2008 年, Mou 等<sup>[51]</sup>在转基因小鼠模型的研究中发现, Edar370A 在细胞水平增强 Edar 受体信号转导, 导致下游 NF- $\kappa$ B 的活性上调; 在活体水平导致小鼠被毛纤维变粗、变直、横截面超微结构变圆等类似亚洲人头发型的特征<sup>[59]</sup>。2013 年, Kamberov 等<sup>[52]</sup>结合人类群体遗传学数据深入研究, 发现该位点不仅影响小鼠被毛纤维粗细, 也影响其他皮肤附属结构: 370A 纯合子小鼠相对于 370V 纯合子小鼠毛发更粗, 汗腺数量增加, 皮脂腺体积变小, 腺体分支增加。在小鼠模型中模拟 Edar 基因特定 SNP 的变化改变了皮肤附属物的相应表型, 阐明了不同人群在漫长的进化历程中头发表型差异的部分遗传基础。

#### 3.2 Edar通路对毛囊生长周期的影响

Edar 通路中的重要分子, 在毛囊周期性生长过程中有着鲜明的时空表达模式, 并且有着与其周期对应的变化趋势: 野生型小鼠的毛囊周期性生长中, Eda、Edar 和 Edaradd 的表达量在生长期末期达峰值, 退化期中期至末期表达量下降, 静止期表达量最低<sup>[20]</sup>。生长期末期, Eda-A1 在毛囊的毛基质、内根鞘、外根鞘中表达, 而在退化期中期, Eda-A1 的表达量急剧下降, 并且只在次级毛囊的毛芽中有

表达; 生长期中期, Edar 在毛基质和内根鞘中表达, 末期内根鞘和外根鞘的表达量快速上升; 在退化期初期, Edar 只在内根鞘和外根鞘中表达, 而在末期其表达只出现在次级毛囊的毛芽中<sup>[20]</sup>。因此, Edar 信号通路可能参与调控毛干的周期性生长, 特别是从生长期到退化期的演变<sup>[20]</sup>。相关的研究表明, K14-Eda-A1 转基因小鼠中毛囊第一个生长期较野生型小鼠有所延长, 其背部和尾部毛发及胡须长度明显大于野生型小鼠<sup>[60]</sup>。由于毛的长度与其所在生长期的时间是呈正相关的, Mustonen 等<sup>[60]</sup>猜测 Eda-A1 参与调控毛囊生长期, 使生长期相对延长, 较长的毛发则是来源于生长期被延长的毛囊。downless 小鼠的退化期相对于野生型小鼠更短, 其退化期毛基质和外根鞘细胞内 NF- $\kappa$ B 信号的靶基因 X 连锁凋亡抑制蛋白 (X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP) 表达下调<sup>[61]</sup>; 这说明抑制 Edar 通路会诱导毛囊细胞加速凋亡, 导致退化期提前结束, 提早进入下一个生长期<sup>[20]</sup>。

### 4 Edar通路在临床医学中的应用前景

随着对 Edar 通路作用机制的深入研究, 发现它在成体皮肤的创伤修复过程中起促进作用<sup>[21]</sup>, 并且在 HED 相关疾病的临床治疗中有一定的应用前景<sup>[62]</sup>。

皮肤受到损伤后, 创伤修复主要包括三个阶段: 止血与炎症反应阶段、细胞增殖阶段和重塑阶段<sup>[63]</sup>, 其中 Edar 信号通路主要参与细胞增殖阶段的调控。在细胞增殖阶段中, 皮肤创伤后 24 h 内, 创口边缘的细胞最先增殖, 并向创口中心聚拢, 创伤周围的表皮增殖是创伤修复过程中十分重要的一步<sup>[64]</sup>。Garcin 等<sup>[21]</sup>发现, 在正常小鼠皮肤损伤的伤口边缘, Edar 的表达量升高; 而在 Tabby 小鼠中, 由于 Edar 信号通路未被激活, 导致损伤修复滞后。为了进一步激活 Edar 信号通路, 分别在两类小鼠伤口处局部添加 mAbEDAR1 (Edar 激活抗体) 进行处理, 发现 Tabby 小鼠中皮肤损伤修复恢复到对照小鼠水平; 正常小鼠中, 激活的 Edar 信号通路极大地促进了皮肤创面上皮化, 创面伤口减小, 细胞增殖显著增加, 胶原蛋白的组成增加, 极大地促进了伤口愈合<sup>[21]</sup>。在人的原代上皮细胞系中, Edar 信号通路的高水平表达也显示了类似的促进伤口愈合的功能<sup>[21]</sup>。创伤皮肤组织愈合过程中, 毛囊内 BrdU (5-bromo-2-deoxy uridine, 细胞增殖标记) 阳性细胞数是对照组的 4 倍左右, 而皮肤表皮内细胞增殖速率没有明显差异,

表明 Edar 信号通路可能是通过调节与组织修复相关的其他毛囊干细胞群以促进组织损伤修复<sup>[21]</sup>。Edar 信号通路调控哪一类毛囊干细胞, 调控毛囊干细胞的机制, 与其他信号通路的互作, 是否适用于人类皮肤创口治疗等, 是下一步研究中值得探讨的问题。

HED 有三种遗传方式: X 染色体遗传 (*Eda*)、常染色体隐性遗传 (*Edar*) 和常染色体显性遗传 (*Edaradd*)<sup>[65]</sup>。HED 的病患常表现为头发稀少, 外分泌腺不发达或有缺陷, 牙齿畸形等。婴儿期的病患, 甚至由于汗腺缺陷, 出现因温度不适而中暑甚至致死的现象<sup>[66]</sup>, 许多病患还出现周期性呼吸道疾病以及眼部疾病<sup>[67]</sup>。以小鼠<sup>[68]</sup>和犬科<sup>[69]</sup>为模型的实验为进一步治疗人类 HED 提供了治疗参考方案。Kowalczyk 等<sup>[70]</sup>构建并纯化了人的 anti-EDAR 抗体, 并将该抗体通过静脉注射到 13 d 和 20 d 的 *Tabby* 孕鼠体内, 分析发现其子代小鼠表型与正常小鼠无异, 即耳后与尾部长出毛发, 尾尖无扭曲, 足垫中的汗腺恢复正常, 眼睛能正常睁开, 牙齿正常, 表明该外源性的 anti-EDAR 抗体能够特异性地结合体内 EDAR, 并激活 EDAR 信号通路, 模拟了配体 EDA 结合 EDAR 并激活该信号通路的机制, 使 *Tabby* 小鼠的 XLHED 症状得到改善和治疗, 并且该治疗是长效性的, 已经观察到至少 2 年之内的治疗小鼠表型正常。该 anti-EDAR 抗体的相关治疗也可改善患有 EDA 缺陷的狗的牙齿和相关腺体的症状。在此基础上, Hermes 等<sup>[62]</sup>对 15 d *Tabby* 孕鼠羊膜内注射 EDI200, 一种体外合成的包含 EDA-A1 的受体结合结构域的 Fc-Eda-A1 融合蛋白。这些 *Tabby* 小鼠出生后表型与之前相同母体出生的 *Tabby* 小鼠有明显区别: 经过治疗的小鼠表型完全恢复正常。这两个案例表明, 不论是体外合成配体 EDA-A1, 还是直接合成受体 EDAR 的抗体, 其基本作用原理都是激活受体 EDAR, 从而激活该信号通路并发挥正常的调控毛囊、皮肤附属物如牙齿和汗腺发育等功能。

临床研究证明, 在有遗传性皮肤病或者其他家族遗传病史的胎儿胚胎早期阶段治疗, 能减轻甚至消除出生后胎儿的病症。需要特别注意的是, 不同病患的病症表型轻重不一, 有些患者临床症状较轻 (例如有汗腺孔或者有部分汗腺), 这些症状较轻的病患, 其遗传背景是否完全是由于 Edar 信号通路的突变造成还尚未确定。另外, 在动物疾病模型中发现, 疗效与治疗时间关系十分紧密, 所以, 在人类治疗中时间点的掌控也是一个难点。如果能够克

服这些困难, EDI200 将会在治疗皮肤及其附属结构发育缺陷方面有重大应用前景。

目前已经有众多的病例报道显示, Edar 信号通路是引起人类 HED 的遗传病因。随着日新月异的测序技术以及个体医学的飞速发展, 如何进一步研究 *Eda*、*Edar*、*Edaradd* 等 Edar 通路信号分子的生物学作用, 特别是在毛发生长、皮肤损伤修复、干细胞、衰老等方面具有重要意义。探究 Edar 信号通路在人类 HED 治疗方案优化中的应用, 为减轻病患病症乃至完全康复提供了理论依据。另一方面, Edar 信号通路在组织创伤修复中的功能是目前比较新的一个研究方向, 为 Edar 信号通路在医学中的应用开辟了新途径。初步显示可能通过激活毛囊干细胞、促进细胞增殖来促进伤口愈合, 并减小创面, 其具体调控机制以及与临床组织创伤修复案例的结合运用, 是目前相关研究的一个难点, 有待进一步的挖掘。Edar 信号通路重要分子在临床治疗中的应用方案目前仍在试验和进一步的研究中, 相信在不久的将来, Edar 信号通路会在皮肤病学领域取得新的突破。

#### [参 考 文 献]

- [1] Schneider MR, Schmidt-Ullrich R, Paus R. The hair follicle as a dynamic miniorgan. *Curr Biol*, 2009, 19: 132-42
- [2] Andl T, Reddy ST, Gaddapara T, et al. WNT signals are required for the initiation of hair follicle development. *Dev Cell*, 2002, 2: 643-53
- [3] Enshell-Seijffers D, Lindon C, Kashiwagi M, et al.  $\beta$ -catenin activity in the dermal papilla regulates morphogenesis and regeneration of hair. *Dev Cell*, 2010, 18: 633-42
- [4] Mou C, Jackson B, Schneider P, et al. Generation of the primary hair follicle pattern. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 9075-80
- [5] Stecksén-Blicks C, Falk Kieri C, Hägg D, et al. Hair shaft structures in EDAR induced ectodermal dysplasia. *BMC Med Genet*, 2015, 16: 79
- [6] Genander M, Cook PJ, Ramsköld D, et al. BMP signaling and its pSMAD1/5 target genes differentially regulate hair follicle stem cell lineages. *Cell Stem Cell*, 2014, 15: 619-33
- [7] Kimura-Ueki M, Oda Y, Oki J, et al. Hair cycle resting phase is regulated by cyclic epithelial FGF18 signaling. *J Invest Dermatol*, 2012, 132: 1338-45
- [8] Demehri S, Kopan R. Notch signaling in bulge stem cells is not required for selection of hair follicle fate. *Development*, 2009, 136: 891-6
- [9] Lin HY, Kao CH, Lin KM, et al. Notch signaling regulates late-stage epidermal differentiation and maintains postnatal hair cycle homeostasis. *PLoS One*, 2011, 6: e15842

- [10] Ouspenskaia T, Matos I, Mertz AF, et al. WNT-SHH antagonism specifies and expands stem cells prior to niche formation. *Cell*, 2016, 164: 156-69
- [11] Michno K, Boras-Granic K, Mill P, et al. Shh expression is required for embryonic hair follicle but not mammary gland development. *Dev Biol*, 2003, 264: 153-65
- [12] Woo WM, Zhen HH, Oro AE. Shh maintains dermal papilla identity and hair morphogenesis via a Noggin-Shh regulatory loop. *Genes Dev*, 2012, 26: 1235-46
- [13] Zhang Y, Tomann P, Andl T, et al. Reciprocal requirements for EDA/EDAR/NF- $\kappa$ B and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways in hair follicle induction. *Dev Cell*, 2009, 17: 49-61
- [14] Headon DJ, Overbeek PA. Involvement of a novel TNF receptor homologue in hair follicle induction. *Nat Genet*, 1999, 22: 370-4
- [15] Monreal AW, Ferguson BM, Headon DJ, et al. Mutations in the human homologue of mouse dl cause autosomal recessive and dominant hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Nat Genet*, 1999, 22: 366-9
- [16] Headon DJ, Emmal SA, Ferguson BM, et al. Gene defect in ectodermal dysplasia implicates a death domain adapter in development. *Nature*, 2001, 414: 913-6
- [17] Bal E, Baala L, Cluzeau C, et al. Autosomal dominant anhidrotic ectodermal dysplasias at the EDARADD locus. *Hum Mutat*, 2007, 28: 703-9
- [18] Cluzeau C, Hadj-Rabia S, Jambou M, et al. Only four genes (*EDA1*, *EDAR*, *EDARADD*, and *WNT10A*) account for 90% of hypohidrotic/anhidrotic ectodermal dysplasia cases. *Hum Mutat*, 2011, 32: 70-2
- [19] Kuramoto T, Yokoe M, Hashimoto R, et al. A rat model of hypohidrotic ectodermal dysplasia carries a missense mutation in the *Edaradd* gene. *BMC Genet*, 2011, 12: 91
- [20] Fessing MY, Sharova TY, Sharov AA, et al. Involvement of the Edar signaling in the control of hair follicle involution (catagen). *Am J Pathol*, 2006, 169: 2075-84
- [21] Garcin CL, Huttner KM, Kirby N, et al. Ectodysplasin a pathway contributes to human and murine skin repair. *J Invest Dermatol*, 2016, 136: 1022-30
- [22] Sadier A, Lambert E, Chevret P, et al. Tinkering signaling pathways by gain and loss of protein isoforms: the case of the EDA pathway regulator EDARADD. *BMC Evol Biol*, 2015, 15: 129
- [23] Yan MH, Zhang ZM, Brady JR, et al. Identification of a novel death domain-containing adaptor molecule for ectodysplasin-A receptor that is mutated in crinkled mice. *Curr Biol*, 2002, 12: 409-13
- [24] Hashimoto T, Cui CY, Schlessinger D. Repertoire of mouse ectodysplasin-A (EDA-A) isoforms. *Gene*, 2006, 371: 42-51
- [25] Yan M, Wang LC, Hymowitz SG, et al. Two-amino acid molecular switch in an epithelial morphogen that regulates binding to two distinct receptors. *Science*, 2000, 290: 523-7
- [26] Ezer S, Bayés M, Elomaa O, et al. Ectodysplasin is a collagenous trimeric type II membrane protein with a tumor necrosis factor-like domain and co-localizes with cytoskeletal structures at lateral and apical surfaces of cells. *Hum Mol Genet*, 1999, 8: 2079-86
- [27] Schneider P, Street SL, Gaide O, et al. Mutations leading to X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia affect three major functional domains in the tumor necrosis factor family member ectodysplasin-A. *J Biol Chem*, 2001, 276: 18819-27
- [28] Hu S, Tamada K, Ni J, et al. Characterization of TNFRSF19, a novel member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Genomics*, 1999, 62: 103-7
- [29] Kojima T, Morikawa Y, Copeland NG, et al. TROY, a newly identified member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, exhibits a homology with Edar and is expressed in embryonic skin and hair follicles. *J Biol Chem*, 2000, 275: 20742-7
- [30] Lefebvre S, Mikkola ML. Ectodysplasin research - Where to next? *Semin Immunol*, 2014, 26: 220-8
- [31] Koppinen P, Pispala J, Laurikkala J, et al. Signaling and subcellular localization of the TNF receptor Edar. *Exp Cell Res*, 2001, 269: 180-92
- [32] Elomaa O, Pulkkinen K, Hannelius U, et al. Ectodysplasin is released by proteolytic shedding and binds to the EDAR protein. *Hum Mol Genet*, 2001, 10: 953-62
- [33] Ferreira DU, Komives EA. Molecular mechanisms of system control of NF- $\kappa$ B signaling by I $\kappa$ B $\alpha$ . *Biochemistry*, 2010, 49: 1560-7
- [34] Morlon A, Munnich A, Smahi A. TAB2, TRAF6 and TAK1 are involved in NF- $\kappa$ B activation induced by the TNF-receptor, Edar and its adaptor Edaradd. *Hum Mol Genet*, 2005, 14: 3751-7
- [35] Besse A, Lamothe B, Campos AD, et al. TAK1-dependent signaling requires functional interaction with TAB2/TAB3. *J Biol Chem*, 2007, 282: 3918-28
- [36] Courtois G, Smahi A. NF- $\kappa$ B-related genetic diseases. *Cell Death Differ*, 2006, 13: 843-51
- [37] Kumar A, Eby MT, Sinha S, et al. The ectodermal dysplasia receptor activates the nuclear factor- $\kappa$ B, JNK, and cell death pathways and binds to ectodysplasin A. *J Biol Chem*, 2001, 276: 2668-77
- [38] Sinha SK, Zachariah S, Quiñones HI, et al. Role of Traf3 and -6 in the activation of the NF- $\kappa$ B and JNK pathways by X-linked ectodermal dysplasia receptor. *J Biol Chem*, 2002, 277: 44953-61
- [39] Verhelst K, Gardam S, Borghi A, et al. XEDAR activates the non-canonical NF- $\kappa$ B pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 465: 275-80
- [40] Hashimoto T, Schlessinger D, Cui C. Troy binding to lymphotoxin- $\alpha$  activates NF- $\kappa$ B mediated transcription. *Cell Cycle*, 2008, 7: 106-11
- [41] Laurikkala J, Pispala J, Jung HS, et al. Regulation of hair follicle development by the TNF signal ectodysplasin and its receptor Edar. *Development*, 2002, 129: 2541-53
- [42] Gaide O, Schneider P. Permanent correction of an inherited ectodermal dysplasia with recombinant EDA. *Nat Med*, 2003, 9: 614-8
- [43] Pispala J, Mikkola ML, Mustonen T, et al. Ectodysplasin, Edar and TNFRSF19 are expressed in complementary and overlapping patterns during mouse embryogenesis. *Gene*

- Expr Patterns, 2003, 3: 675-9
- [44] Pispá J, Pummila M, Barker PA, et al. Edar and Troy signalling pathways act redundantly to regulate initiation of hair follicle development. *Hum Mol Genet*, 2008, 17: 3380-91
- [45] Pummila M, Fliniaux I, Jaatinen R, et al. Ectodysplasin has a dual role in ectodermal organogenesis: inhibition of Bmp activity and induction of Shh expression. *Development*, 2007, 134: 117-25
- [46] Falconer DS. A totally sex-linked gene in the house mouse. *Nature*, 1952, 169: 664-5
- [47] Fraser AS, Kindred BM. Selection for an invariant character, vibrissa number, in the house mouse. II. Limits to variability. *Aust J Biol Sci*, 1960, 13: 48-58
- [48] Grüneberg H. The molars of the tabby mouse, and a test of the 'single-active X-chromosome' hypothesis. *J Embryol Exp Morphol*, 1966, 15: 223-44
- [49] Sofaer JA. Aspects of the tabby-crinkled-downless syndrome. I. The development of tabby teeth. *J Embryol Exp Morphol*, 1969, 22: 181-205
- [50] Mustonen T, Ilmonen M, Pummila M, et al. Ectodysplasin A1 promotes placodal cell fate during early morphogenesis of ectodermal appendages. *Development*, 2004, 131: 4907-19
- [51] Mou C, Thomason HA, Willan PM, et al. Enhanced ectodysplasin-A receptor (EDAR) signaling alters multiple fiber characteristics to produce the East Asian hair form. *Hum Mutat*, 2008, 29: 1405-11
- [52] Kamberov YG, Wang S, Tan J, et al. Modeling recent human evolution in mice by expression of a selected EDAR variant. *Cell*, 2013, 152: 691-702
- [53] Brosh R, Sarig R, Natan EB, et al. p53-dependent transcriptional regulation of EDA2R and its involvement in chemotherapy-induced hair loss. *FEBS Lett*, 2010, 584: 2473-7
- [54] Gilon M, Sher N, Cohen S, et al. Transcriptional activation of a subset of hair keratin genes by the NF- $\kappa$ B effector p65/RelA. *Differentiation*, 2008, 76: 518-30
- [55] Hammerschmidt B, Schlake T. Localization of Shh expression by Wnt and Eda affects axial polarity and shape of hairs. *Dev Biol*, 2007, 305: 246-61
- [56] Kimura R, Yamaguchi T, Takeda M, et al. A common variation in EDAR is a genetic determinant of shovel-shaped incisors. *Am J Hum Genet*, 2009, 85: 528-35
- [57] Fujimoto A, Kimura R, Ohashi J, et al. A scan for genetic determinants of human hair morphology: EDAR is associated with Asian hair thickness. *Hum Mol Genet*, 2008, 17: 835-43
- [58] Sabeti PC, Varilly P, Fry B, et al. Genome-wide detection and characterization of positive selection in human populations. *Nature*, 2007, 449: 913-8
- [59] Bryk J, Hardouin E, Pugach I, et al. Positive selection in East Asians for an EDAR allele that enhances NF- $\kappa$ B activation. *PLoS One*, 2008, 3: e2209
- [60] Mustonen T, Pispá J, Mikkola ML, et al. Stimulation of ectodermal organ development by ectodysplasin-A1. *Dev Biol*, 2003, 259(1): 123-36
- [61] Kaur S, Wang F, Venkatraman M, et al. X-linked of apoptosis (XIAP) inhibits C-Jun N-terminal kinase 1 (JNK1) activation by transforming growth factor $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) through ubiquitin-mediated proteosomal degradation of the TGF- $\beta$ 1-activated kinase1 (TAK1). *J Biol Chem*, 2005, 280: 38599-608
- [62] Hermes K, Schneider P, Krieg P, et al. Prenatal therapy in developmental disorders: drug targeting via intra-amniotic injection to treat X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *J Invest Dermatol*, 2014, 134: 2985-7
- [63] Bielefeld KA, Amini-Nik S, Alman BA. Cutaneous wound healing: recruiting developmental pathways for regeneration. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70: 2059-81
- [64] Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, et al. Wound repair and regeneration. *Nature*, 2008, 453: 314-21
- [65] Mikkola ML. Molecular aspects of hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Am J Med Genet A*, 2009, 149A: 2031-6
- [66] Blüschke G, Nüsken KD, Schneider H. Prevalence and prevention of severe complications of hypohidrotic ectodermal dysplasia in infancy. *Early Hum Dev*, 2010, 86: 397-9
- [67] Dietz J, Kaercher T, Schneider AT, et al. Early respiratory and ocular involvement in X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Eur J Pediatr*, 2013, 172: 1023-31
- [68] Kowalczyk-Quintas C, Willen L, Dang AT, et al. Generation and characterization of function-blocking anti-ectodysplasinA (EDA) monoclonal antibodies that induce ectodermal dysplasia. *J Biol Chem*, 2014, 289: 4273-85
- [69] Mauldin EA, Gaide O, Schneider P, et al. Neonatal treatment with recombinant ectodysplasin prevents respiratory disease in dogs with X-linked ectodermal dysplasia. *Am J Med Genet A*, 2009, 149: 2045-9
- [70] Kowalczyk C, Dunkel N, Willen L, et al. Molecular and therapeutic characterization of anti-ectodysplasin A receptor (EDAR) agonist monoclonal antibodies. *J Biol Chem*, 2011, 286: 30769-79