



ACTAS Derma-Sifiliográficas

Full English text available at
www.actasdermo.org



REVISIÓN

Células madre de la piel: en la frontera entre el laboratorio y la clínica. Parte I: células madre epidérmicas



I. Pastushenko^{a,*}, L. Prieto-Torres^b, Y. Gilaberte^{c,d} y C. Blanpain^{a,e}

^a *Institut de Recherche Interdisciplinaire en Biologie Humaine et Moléculaire (IRIBHM), Université Libre de Bruxelles (ULB), Bruselas, Bélgica*

^b *Servicio de Dermatología, Hospital Clínico Lozano Blesa, Zaragoza, España*

^c *Servicio de Dermatología, Hospital San Jorge, Huesca, España*

^d *Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, España*

^e *Walloon Excellence in Life Sciences and Biotechnology (WELBIO), Université Libre de Bruxelles (ULB), Bruselas, Bélgica*

Recibido el 1 de mayo de 2015; aceptado el 27 de mayo de 2015

Disponible en Internet el 17 de julio de 2015

PALABRAS CLAVE

Células madre del adulto;
Células madre epidérmicas;
Revisión;
Dermatología;
Aplicaciones terapéuticas

KEYWORDS

Adult stem cells;
Epidermal stem cells;
Review;

Resumen Las células madre son células que se caracterizan por su capacidad para autorrenovarse y diferenciarse hacia células de todos los linajes que constituyen su tejido de origen. El descubrimiento de las células madre en un organismo adulto, y la descripción de los marcadores que han permitido aislar de forma específica estas células, han abierto nuevas perspectivas y nuevos horizontes en la investigación biomédica y también nuevas esperanzas en el tratamiento de muchas enfermedades. En este artículo se revisan de forma detallada las principales características de las células madre que dan origen a las distintas células de la piel humana, incluyendo las células madre epidérmicas, mesenquimales y melanocíticas, y sus potenciales implicaciones y aplicaciones en las enfermedades cutáneas. La primera parte de este artículo revisa las células madre epidérmicas, con sus principales características y sus potenciales aplicaciones en dermatología.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. y AEDV. Todos los derechos reservados.

Skin Stem Cells: At the Frontier Between the Laboratory and Clinical Practice. Part 1: Epidermal Stem Cells

Abstract Stem cells are characterized by their ability to self-renew and differentiate into the different cell lineages of their tissue of origin. The discovery of stem cells in adult tissues,

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jane.pastushenko@gmail.com (I. Pastushenko).

together with the description of specific markers for their isolation, has opened up new lines of investigation, expanding the horizons of biomedical research and raising new hope in the treatment of many diseases.

In this article, we review in detail the main characteristics of the stem cells that produce the specialized cells of the skin (epidermal, mesenchymal, and melanocyte stem cells) and their potential implications and applications in diseases affecting the skin.

Part I deals with the principal characteristics and potential applications of epidermal stem cells in dermatology.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. and AEDV. All rights reserved.

Introducción

Las células madre se definen por 2 características fundamentales: 1) su capacidad de autorrenovarse; y 2) dar lugar a células diferenciadas de todos los linajes celulares que constituyen su tejido de origen¹. En la edad adulta se han identificado células madre en distintos órganos, incluyendo la piel, el intestino, el músculo, el sistema hematopoyético e incluso en el cerebro humano². Estas células son las responsables de mantener la homeostasis del tejido donde se localizan y también de reparar el daño cuando este se produce.

El descubrimiento de las células madre en un organismo adulto y la descripción de los marcadores que han permitido aislar de forma específica estas células han abierto nuevas perspectivas y nuevos horizontes en la investigación biomédica, y también nuevas esperanzas en el tratamiento de muchas enfermedades. En este sentido, las células madre epidérmicas son especialmente atractivas, debido a su número relativamente elevado, y también por su accesibilidad y relativa facilidad en su obtención. En la primera parte de esta revisión hemos intentado sintetizar los principales hallazgos de los estudios de investigación básica en el campo de las células madre epidérmicas, y a continuación discutimos sus potenciales aplicaciones en la dermatología clínica.

Distintas poblaciones de las células madre en la epidermis

En la capa basal de la epidermis interfolicular coexisten 2 tipos de progenitores: las células madre $\alpha 6 + CD34^-$, caracterizadas por su división lenta (4-6 veces al año) y una vida larga, y las células progenitoras de la capa basal $K14 + Inv^3$, también posiblemente $Axin2^+$ ⁴, caracterizadas por su división más rápida (una vez por semana) y vida más corta, ya que después de un número determinado de divisiones estas células experimentan diferenciación terminal hacia los queratinocitos diferenciados, perdiendo su capacidad de división. La **tabla 1** resume las principales características de los marcadores.

El folículo piloso evoluciona en 3 fases: anágena o fase de crecimiento (que dura en promedio 3 años), catágena o fase de involución (que dura varias semanas) y telógena o fase de reposo (que dura varios meses). Las células madre

responsables de la regeneración del folículo piloso durante la fase anágena se localizan en el *bulge* (parte inferior de la porción permanente del folículo piloso) y se caracterizan por la expresión de los marcadores $CD34$, $Lgr5$ y $K15$. Estas son células multipotentes⁵, ya que tienen la capacidad de diferenciarse en todas las líneas celulares que componen la unidad pilosebácea. Durante la fase anágena las células madre del bulge darán lugar a las llamadas células amplificadoras de tránsito, que se localizan en el bulbo del folículo piloso y que proliferan rápidamente de forma transitoria antes de embarcarse en 7 programas de diferenciación, que finalmente darán lugar al folículo piloso maduro. Cuando las células de la matriz agotan su capacidad proliferativa, el crecimiento del pelo se detiene y el folículo entra en la fase catágena⁶, que lleva a la degeneración de los 2/3 inferiores del folículo, mientras que la zona del bulge permanece intacta.

En la parte inferior del folículo piloso se encuentra el bulbo piloso, que corresponde a la progenie comprometida de las células madre del bulge, y que apoya sobre la papila dérmica. La papila dérmica contiene fibroblastos dérmicos especializados, fibras nerviosas y un bucle capilar, y desempeña un papel fundamental en el desarrollo del folículo piloso y en el control del ciclo del pelo en la edad adulta⁷. Las células de la papila dérmica tienen la capacidad de diferenciarse hacia linajes neuronales y mesodérmicos^{8,9}. En un estudio reciente, Rahmani et al. eliminaron las células madre de la papila dérmica y observaron un retraso en la regeneración del folículo piloso, y una alteración en la especificación del tipo del pelo, sugiriendo que la papila dérmica ejerce un papel fundamental en la restauración del crecimiento del pelo después del daño, de la enfermedad o en el proceso del envejecimiento¹⁰.

Al menos otros 3 tipos de células madre epiteliales han sido identificadas recientemente: las localizadas en las glándulas sebáceas, en el infundíbulo y en las glándulas sudoríparas. Las glándulas sebáceas son mantenidas por células madre unipotentes $Lgr6^+$, que se originan a partir de los progenitores $Blimp1^+$ ¹¹. Además, las células madre del istmo expresan el marcador $MTS234$ ¹² y, si se trasplantan a un ratón inmunodeficiente, sorprendentemente son capaces de dar lugar a las líneas celulares epidérmica, folicular y sebácea, lo que sugiere que puede tratarse de células multipotentes¹³. Las células madre del infundíbulo se caracterizan por expresar el marcador $Lrig1$, son multipotentes¹⁴ y se piensa que también pueden contribuir

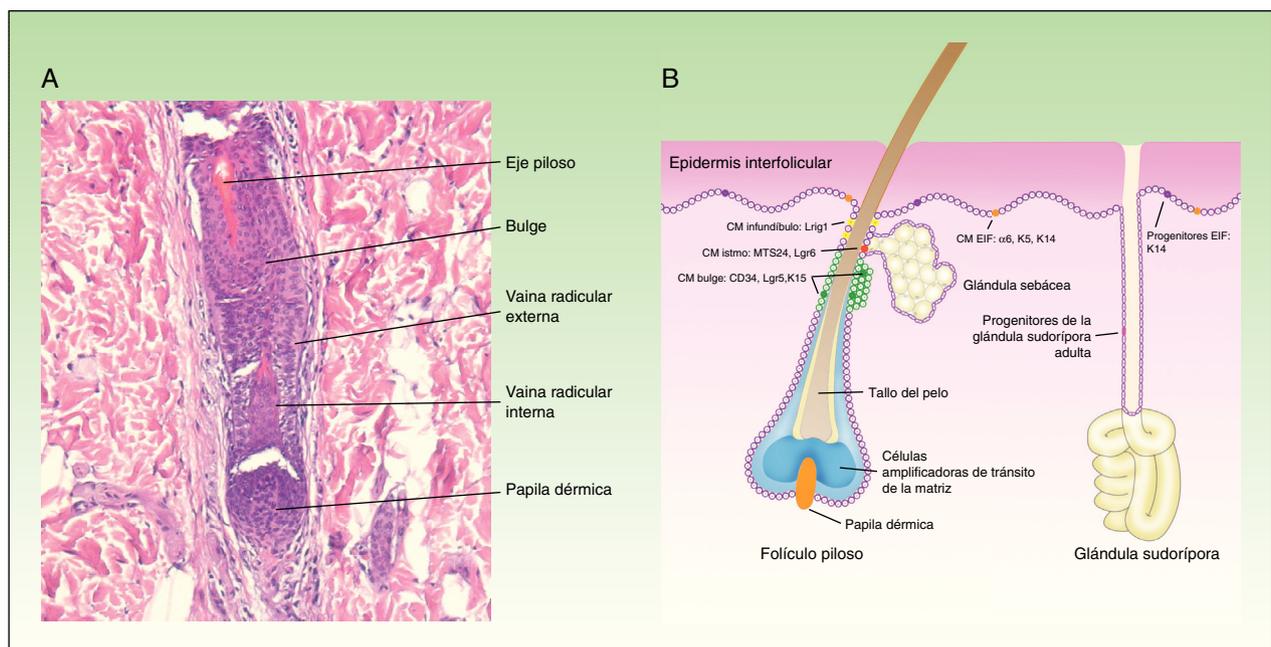
Tabla 1 Resumen de las principales características de los marcadores de las células madre epidérmicas de distintos compartimentos

Marcador	Nombre completo	Células que lo expresan	Patrón de expresión
$\alpha 6$	Integrina $\alpha 6$	CM de la epidermis interfolicular	Membrana
Axin2	Axin-like proteína	¿Progenitores de la epidermis interfolicular?	Citoplasmático
CD34	CD34	CM del bulge	Membrana
Inv	Involucrina	Progenitores de la epidermis interfolicular	Citoplasmático
K5	Queratina 5	CM de la epidermis interfolicular	Citoplasmático
K14	Queratina 14	CM y progenitores de la epidermis interfolicular	Citoplasmático
K15	Queratina 15	CM del bulge	Citoplasmático
Lgr5	<i>Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 5</i>	CM del bulge	Citoplasmático
Lgr6	<i>Leucine-rich repeat-containing G-protein-coupled receptor 6</i>	CM del istmo	Citoplasmático/membrana
Lrig5	<i>Leucine-rich repeats e immunoglobulin-like domain protein 1</i>	CM del infundíbulo	Citoplasmático
MTS24	MTS24	CM del istmo	Membrana

CM: células madre.

a la homeostasis de las glándulas sebáceas¹⁵. Por último, y aunque tradicionalmente se consideraba que las glándulas sudoríparas son quiescentes en la edad adulta, un estudio publicado recientemente sugiere la existencia de 4 tipos diferentes de progenitores en el epitelio de la glándula

sudorípara¹⁶. La **figura 1** muestra una microfotografía del folículo piloso (**fig. 1 A**) y un esquema de los diferentes compartimentos en el epitelio de la piel y la localización de las células madre, así como un resumen de sus marcadores (**fig. 1 B**).

**Figura 1** Estructura del folículo piloso y distintos tipos de células madre epidérmicas.

La **figura 1** muestra (A) microfotografía del folículo piloso (H-E, $\times 20$) y (B) ilustración de los distintos tipos de células madre y células progenitoras en la epidermis, así como sus marcadores específicos.

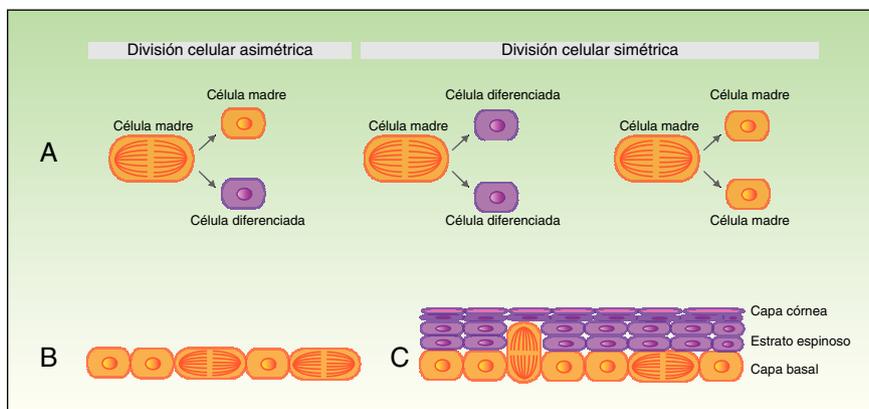


Figura 2 Autorrenovación de las células madre.

La figura 2A muestra el concepto de la división celular simétrica y asimétrica.

Durante el desarrollo embrionario (B) la mayoría de las divisiones son simétricas, y el eje de la división es paralelo a la membrana basal, lo que asegura aumento de la superficie del embrión durante el crecimiento. Durante la estratificación del epitelio, que se produce en la morfogénesis y en la edad adulta (C), la mayoría de las divisiones son asimétricas. Durante la división asimétrica el eje puede ser perpendicular a la membrana basal (al dividirse, una célula hija al perder el contacto con las integrinas y los factores de crecimiento que secreta la membrana basal sufre el fenómeno de diferenciación, y la segunda célula hija al permanecer en contacto con la membrana basal mantiene sus características de célula madre), pero también puede ser paralelo a la membrana basal (en este caso la diferenciación de una de las células hijas se induce por otro mecanismo).

Autorrenovación de las células madre

Tal y como veníamos comentando, las células madre tienen capacidad para dar lugar a células diferenciadas, pero también tienen que autorrenovarse para mantener un *pool* constante de células madre, pudiéndose dividir de forma simétrica o asimétrica. Así, durante el proceso de división asimétrica, una célula madre da lugar a una célula hija con fenotipo original, y a otra célula hija que estará destinada a diferenciarse. Por otro lado, en la división simétrica una célula madre da lugar a 2 células hijas idénticas, ambas con el fenotipo diferenciado o poco diferenciado (fig. 2A).

Durante el desarrollo embrionario, la mayor parte de las divisiones de las células basales son simétricas y paralelas al eje de la membrana basal (fig. 2B), lo que permite el crecimiento de la superficie del embrión y mantiene el epitelio en una sola capa. En cambio, durante la estratificación del epitelio, alrededor del 70% de las divisiones son asimétricas (fig. 2C)^{6,17}, lo que permite el desarrollo de las células supra-basales y el establecimiento de la barrera cutánea durante el desarrollo y la homeostasis epidérmica en la edad adulta.

Papel de las células madre epidérmicas en la homeostasis cutánea y en la cicatrización

Homeostasis es el proceso fisiológico por el que el número de células en los órganos con capacidad de regeneración se mantiene constante. En la homeostasis cutánea las células madre de cada compartimento son las responsables de reemplazar a las células diferenciadas que mueren en el mismo. Sin embargo, durante el proceso evolutivo, las células madre han adquirido la capacidad de participar en la reparación de los compartimentos vecinos en el caso de que las células madre de estos estén dañadas.

La forma en la que las células madre responden al daño varía drásticamente, dependiendo no solo del compartimento en el que se localizan, sino también de la proximidad a la herida¹⁸. La técnica de *in vivo lineage tracing* nos ofrece información funcional de gran valor sobre el comportamiento de las células madre en la homeostasis y durante la reparación tisular, puesto que permite seguir en el tiempo la evolución de las células en su ambiente natural (fig. 3).

Durante la reparación del daño de la epidermis interfolicular se produce un reclutamiento masivo de las células madre interfoliculares al área de la herida, pudiendo observarse clones derivados de estas células migrando desde la periferia de la herida hacia el centro, persistiendo allí durante mucho tiempo tras la cicatrización³. Sin embargo, el número de células Inv+ (progenitores de vida corta) que migran hacia la zona dañada es mucho menor, los clones son mucho más pequeños y 35 días después del daño la mayoría de los mismos desaparece³. Es decir, parece que los progenitores de vida corta son los responsables de mantener la homeostasis de la epidermis en condiciones normales, mientras que las células madre, que normalmente se encuentran en estado quiescente, se activan al producirse una agresión (herida o administración de un fármaco)¹⁹.

Además, tanto las células madre del bulge como del infundíbulo pueden migrar hacia la epidermis en respuesta a una herida, y participar en la reparación del daño. De forma sorprendente, y por mecanismos todavía no bien conocidos, cuando estas células migran hacia la epidermis pierden sus marcadores específicos de folículo piloso, y adoptan un fenotipo más similar al de las células madre de la epidermis interfolicular. Sin embargo, una vez en la epidermis, no persisten mucho tiempo y desaparecen poco tiempo después de la reparación del daño^{20,21}.

Otro fenómeno de gran interés, que se observó al eliminar mediante láser las células madre de un compartimento específico de la epidermis, fue que los nichos vacíos eran capaces

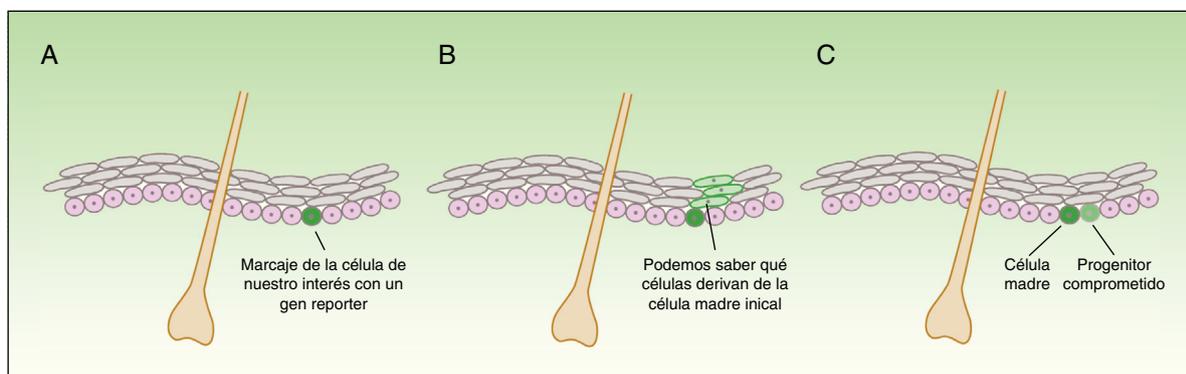


Figura 3 Concepto de *lineage tracing*.

La figura 3 muestra un esquema de la información que nos permite obtener los experimentos de *lineage tracing*. Consiste en introducir un gen reportero asociado al marcador de las células que nos interesa (A), obteniendo señal fluorescente en el subgrupo de células de nuestro interés. Todas las células hijas de las células marcadas también tendrán la señal fluorescente (B), pero la intensidad de la señal irá disminuyendo conforme las células se van dividiendo. De esta forma, por un lado, nos permite identificar las células que descienden de las células inicialmente marcadas, y por otro lado, valorar la velocidad de división (las células que a lo largo del tiempo mantienen la señal fluorescente intensa serán las células quiescentes que se dividen muy lentamente —las células madre—), mientras que aquellas células que van perdiendo la intensidad del color son progenitores comprometidos (C).

de reclutar células diferenciadas normales de dicho compartimento e inducir su proliferación y desdiferenciación hacia un estado similar al de las células madre^{22,23}.

Células madre epidérmicas como célula de origen del cáncer de piel no melanoma

La identificación de las células que dan el origen al cáncer sigue siendo un reto en la mayoría de los tumores malignos. Teóricamente, dichas células adquieren las primeras alteraciones genéticas o epigenéticas que culminan en la iniciación del proceso maligno²⁴. Parece lógico pensar, que por sus características (la capacidad para autorrenovarse durante un período de tiempo prolongado) las células madre tienen un riesgo incrementado de acumulación de las mutaciones oncogénicas, y por tanto podrían ser las células en las que se inicia el cáncer^{25,26}.

Utilizando ratones modificados genéticamente mediante el sistema inducible CreER-LoxP (CreER hace referencia a la enzima Cre-recombinasa asociada al receptor de estrógeno [ER], de tal modo que la administración de tamoxifeno induce la recombinación de Cre, con la consiguiente activación o delección del gen de nuestro interés) se ha demostrado que en el caso del carcinoma basocelular la activación de la mutación SmoM2 en las células madre del bulge o en las células de amplificación de tránsito del folículo piloso no inducía la formación del tumor. De hecho, los autores demostraron que el 90% de los carcinomas basocelulares superficiales tienen su origen en las células madre de la epidermis interfolicular, y el restante 10% se origina en el infundíbulo^{27,28}.

En el caso del carcinoma espinocelular de ratón, la expresión de la mutación KRas en las células madre del bulge y en la epidermis interfolicular, pero no en las células amplificadoras de tránsito, induce la formación de tumores benignos, pero para la progresión hacia carcinoma es necesaria la combinación de la mutación KRAS y la delección de gen supresor de tumores p53²⁹.

Potenciales aplicaciones de las células madre en dermatología clínica

Quemaduras

Para el tratamiento de las quemaduras cutáneas extensas se ha utilizado con éxito la epidermis generada *in vitro* a partir de las células madre epidérmicas autólogas, procedentes de una biopsia de la piel no dañada del paciente³⁰. La biopsia de piel se disocia con tripsina³¹ y se aíslan las células madre epidérmicas. Estas a continuación se expanden sobre una base de fibroblastos irradiados, que secretan matriz extracelular y factores de crecimiento, convirtiendo el ambiente en particularmente adecuado para la proliferación de los queratinocitos³², que se mantienen en cultivo hasta la formación de epitelio estratificado que puede ser utilizado para cubrir la herida. Sin embargo, esta técnica tiene 2 principales inconvenientes: el primero es el tiempo que requiere la expansión *in vitro* de los queratinocitos, y la segunda es el elevado coste del procedimiento³³.

Es interesante destacar que la piel obtenida por este método no tiene anejos (folículos pilosos ni glándulas sudoríparas). En una quemadura de tercer grado la desaparición de los folículos pilosos se debe no solo a la destrucción de las células madre multipotentes del folículo, sino también a la destrucción de la dermis (la papila dérmica). Así, para poder lograr la regeneración de los folículos pilosos se debe trasplantar, junto con los queratinocitos, las células de la papila dérmica³⁴. En un estudio publicado recientemente los autores lograron trasplantar las células humanas de la papila dérmica en un ratón *nude* (inmunodeficiente y sin pelo), y describieron la regeneración de los folículos pilosos³⁵. Para conseguir un color de piel similar al original del paciente, un grupo de investigadores suizos ha añadido melanocitos aislados de la biopsia cutánea al cultivo de los queratinocitos, consiguiendo resultados favorables, tanto en pacientes con fototipos claros como oscuros³⁶.

Como alternativa al trasplante de láminas de queratinocitos cultivados sobre base de fibroblastos irradiados, se ha utilizado cultivo de queratinocitos sobre una base de fibroblastos humanos embebidos en una matriz de plasma, que permite restaurar tanto el compartimento epidérmico como el dérmico³⁷. En 24-26 días de cultivo los autores consiguieron una expansión 1.000 veces la zona de cultivo, y trasplantaron con éxito la piel artificial obtenida de 2 pacientes con quemaduras graves. Investigadores de la Universidad de Granada han utilizado biomateriales de fibrina-agarosa como base para generar sustitutos de piel a partir de fibroblastos y queratinocitos humanos. La piel artificial obtenida se trasplantó en el ratón *nude* y se tomaron muestras para análisis histológico y con microscopía electrónica a los 10, 20, 30 y 40 días, demostrando que la estructura de la piel obtenida mediante ingeniería tisular era muy similar a la de la piel normal del ratón³⁸.

Dos estudios en modelo murino publicados recientemente plantean una alternativa al método tradicionalmente utilizado. Así, la estimulación de las células madre del bulge del folículo piloso en quemaduras de tercer grado en el ratón mediante alfa-defensina-5 humana derivada del intestino aceleró la cicatrización de la herida y, de forma llamativa, indujo la regeneración del pelo³⁹. De forma similar, el trasplante de las células madre Lgr6+ aisladas mediante *fluorescence-activated cell sorting* administradas por medio de inyecciones en el lugar de la herida promueve la reepitelización, crecimiento del pelo y angiogénesis⁴⁰.

Corrección terapéutica del genoma de las células madre epidérmicas en enfermedades genéticas

En los últimos años el coste de la secuenciación génica se ha reducido de forma significativa, y como consecuencia se ha producido un incremento exponencial del volumen de datos sobre el genoma humano en diferentes contextos y enfermedades. Estos avances de conocimiento han generado enormes expectativas sobre sus potenciales aplicaciones terapéuticas en enfermedades genéticas. Aunque la terapia génica todavía no se aplica en la práctica clínica diaria de los dermatólogos, en los últimos años se han hecho grandes y prometedores avances en este campo.

Hasta la fecha las 2 tecnologías genéticas terapéuticas más poderosas son la terapia génica, que permite el reestablecimiento de la función perdida de un gen determinado mediante la expresión de un transgén que se incorpora en el genoma mediante vectores víricos⁴¹, y los ARN de interferencia, que permiten suprimir la expresión del gen defectivo mediante la inhibición del ARN mensajero⁴². En los últimos años, además, se han desarrollado nuevas tecnologías con un potencial prometedor para el futuro de la terapia génica, basadas en el uso de las nucleasas programables, que son capaces de editar el genoma de las células o tejidos enfermos, resultando en la eliminación o corrección de las mutaciones perjudiciales o en la inserción de las mutaciones protectoras⁴³⁻⁴⁶.

Desde el punto de vista teórico, para el tratamiento de las enfermedades genéticas de la piel existirían

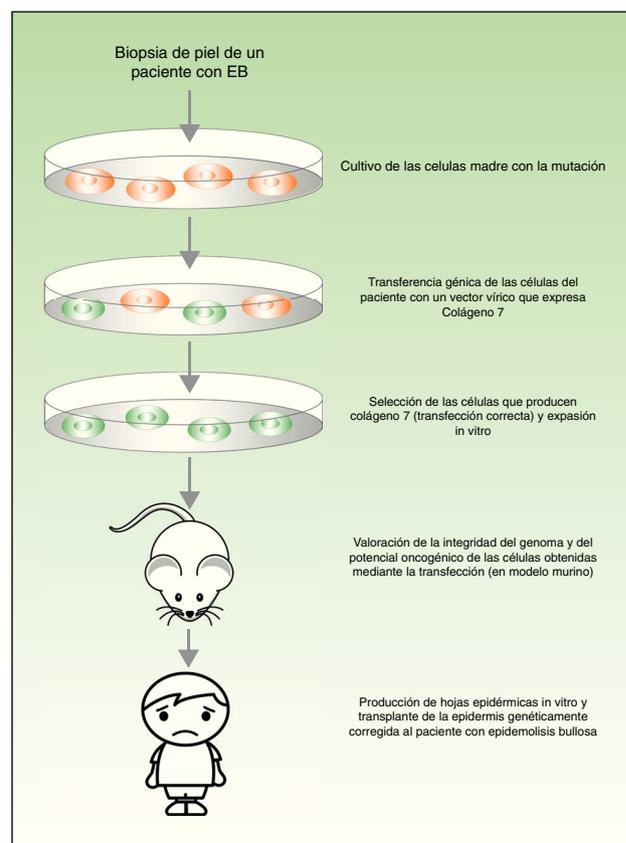


Figura 4 Ejemplo de aplicación de terapia génica en una enfermedad dermatológica.

La figura 4 muestra un esquema del estudio llevado a cabo por Droz-Georget Lathion et al. en epidermolisis bullosa, como ejemplo de la eficacia y seguridad de la terapia génica en una enfermedad dermatológica.

2 posibilidades (fig. 4). La terapia *ex-vivo* consistiría en extraer las células madre epidérmicas con alteración genética (como por ejemplo el déficit de la laminina 5⁴⁷ o del colágeno 7⁴⁸ en el caso de los pacientes con la epidermolisis bullosa) de la biopsia cutánea, corregir la mutación *in vitro* mediante transferencia génica, seleccionar las células en las que la transferencia se ha realizado con éxito y el defecto se ha corregido, y volver a trasplantar los queratinocitos en la piel del paciente. En un estudio publicado recientemente, antes de volver a trasplantar las células madre epidérmicas corregidas a los pacientes con epidermolisis bullosa, los autores evaluaron la integridad del genoma y también el potencial oncogénico de dichas las células, demostrando que se trata de un procedimiento seguro (al tratarse de una transfección mediante vectores virales, una de las mayores preocupaciones e inconvenientes es la posible mutagénesis)^{49,50}. La terapia *in vivo* consistiría en hacer llegar los vectores víricos o nucleasas programables directamente a las células afectadas en su entorno natural, mediante inyección intravenosa del fármaco o en el mismo órgano. Este abordaje presenta varias dificultades técnicas y de seguridad, que no vamos a discutir en esta revisión, pero que han impedido su utilización en los pacientes con enfermedades dermatológicas con alteraciones genéticas.

Conclusiones y perspectivas futuras

Las características de las células madre de autorrenovarse y para dar origen a diferentes tipos celulares, junto con el desarrollo asombroso de la bioingeniería, plantean un horizonte de posibilidades apasionante. Las células madre epidérmicas tienen un atractivo especial, por su número relativamente elevado, proporcional a la superficie corporal, y su accesibilidad. Aunque de momento se trate de técnicas complejas y con un coste elevado, es probable que en los próximos años los conocimientos sobre la biología de las células madre, así como la seguridad de las técnicas utilizadas, se incrementen, permitiendo que su aplicación se generalice en medicina, y en dermatología en particular.

Financiación

El trabajo de I. Pastushenko ha sido financiado por la beca Télévie.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores de esta revisión quieren agradecer a Kostiantyn Kokoriev (Kiev, Ucrania) la realización de los esquemas y a Jesús Vera (Servicio de Anatomía Patológica, Hospital San Jorge, Huesca) la imagen histopatológica del folículo piloso.

Bibliografía

- Blanpain C, Lowry WE, Geoghegan A, Polak L, Fuchs E. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell*. 2004;118:635–48.
- Weissman IL, Anderson DJ, Gage F. Stem and progenitor cells: Origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001;17:387–403.
- Macré G, Dekoninck S, Drogat B, Youssef KK, Brohé S, Sotiropoulou PA, et al. Distinct contribution of stem and progenitor cells to epidermal maintenance. *Nature*. 2012;489:257–62.
- Lim X, Tan SH, Koh WL, Chau RM, Yan KS, Kuo CJ, et al. Interfollicular epidermal stem cells self-renew via autocrine Wnt signalling. *Science*. 2013;342:1226–30.
- Oshima H, Rochat A, Kedzia C, Kobayashi K, Barrandon Y. Morphogenesis and renewal of hair follicles from adult multipotent stem cells. *Cell*. 2001;104:233–45.
- Blanpain C, Fuchs E. Epidermal homeostasis: A balancing act of stem cells in the skin. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009;10:207–17.
- Hardy MH. The secret life of the hair follicle. *Trends Genet*. 1992;8:55–61.
- Fernandes KJ, McKenzie IA, Mill P, Smith KM, Akhavan M, Barnabé-Heider F, et al. A dermal niche for multipotent adult skin-derived precursor cells. *Nat Cell Biol*. 2004;6:1082–93.
- Hunt DP, Morris PN, Sterling J, Anderson JA, Joannides A, Jahonda C, et al. A highly enriched niche of precursor cells with neuronal and glial potential within the hair follicle dermal papilla of adult skin. *Stem Cells*. 2008;26:163–72.
- Rahmani W, Abbasi S, Hagner A, Raharjo E, Kumar R, Hotta A, et al. Hair follicle dermal stem cells regenerate the dermal sheath, repopulate the dermal papilla, and modulate hair type. *Dev Cell*. 2014;31:543–58.
- Horsley V, O'Carroll D, Tooze R, Ohinata Y, Saitou M, Obukhanych T, et al. Blimp 1 defines a progenitor population that governs cellular input to the sebaceous gland. *Cell*. 2006;126:597–609.
- Nijhof JG, Braun KM, Giangreco A, van Pelt C, Kawamoto H, Boyd RL, et al. The cell-surface marker MTS24 identifies a novel population of follicular keratinocytes with characteristics of progenitor cells. *Development*. 2006;133:3027–37.
- Jensen UB, Yan X, Triel C, Woo SH, Christensen R, Owens DM. A distinct population of clonogenic and multipotent murine follicular keratinocytes residing in the upper isthmus. *J Cell Sci*. 2008;121:609–17.
- Jensen KB, Collins CA, Nascimento E, Tan DW, Frye M, Itami S, et al. Lrig 1 expression defines a distinct multipotent stem cell population in mammalian epidermis. *Cell Stem Cell*. 2009;4:439.
- Beck B, Blanpain C. Mechanisms regulating epidermal stem cells. *EMBO J*. 2012;31:2067–75.
- Lu CP, Polak L, Rocha AS, Pasolli HA, Chen SC, Sharma N, et al. Identification of stem cell populations in sweat glands and ducts reveals roles in homeostasis and wound repair. *Cell*. 2012;150:136–50.
- Lechler T, Fuchs E. Asymmetric cell divisions promote stratification and differentiation of mammalian skin. *Nature*. 2005;437:275–80.
- Blanpain C, Fuchs E. Stem cell plasticity. Plasticity of epithelial stem cells in tissue regeneration. *Science*. 2014;344:1242281.
- Tumbar T, Guasch G, Greco V, Blanpain C, Lowry WE, Rendl M, et al. Defining the epithelial stem cell niche in skin. *Science*. 2004;303:359–63.
- Page ME, Lombard P, Ng F, Göttgens B, Jensen KB. The epidermis comprises autonomous compartments maintained by distinct stem cell populations. *Cell Stem Cell*. 2013;13:471–82.
- Levy V, Lindon C, Zheng Y, Harfe BD, Morgan BA. Epidermal stem cells arise from the hair follicle after wounding. *FASEB J*. 2007;21:1358–66.
- Rompolas P, Deschene ER, Zito G, Gonzalez DG, Saotome I, Haberman AM, et al. Live imaging of stem cell and progeny behaviour in physiological hair-follicle regeneration. *Nature*. 2012;487:496–9.
- Rompolas Mesa KR, Greco V. Spatial organization within a niche as a determinant of stem-cell fate. *Nature*. 2013;502:513–8.
- Becker JC, zur Hausen A. Cells of origin in skin cancer. *J Invest Dermatol*. 2014;134:2491–3.
- Pardal R, Clarke MF, Morrison SJ. Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nature Rev Cancer*. 2003;3:895–902.
- Clake MF, Fuller M. Stem cells and cancer: Two faces of Eve. *Cell*. 2006;124:1111–5.
- Youssef KK, Van Keymeulen A, Lapouge G, Beck B, Michaux C, Achouri Y, et al. Identification of the cell lineage at the origin of basal cell carcinoma. *Nat Cell Biol*. 2010;12:299–305.
- Youssef KK, Lapouge G, Bouvrée K, Rorive S, Brohé S, Appels-tein O, et al. Adult interfollicular tumor-initiating cells are reprogrammed into an embryonic hair follicle progenitor-like fate during basal cell carcinoma initiation. *Nat Cell Biol*. 2012;14:1282–94.
- Lapouge G, Youssef KK, Vokaer B, Achouri Y, Michaux C, Sotiropoulou PA, et al. Identifying the cellular origin of squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:7431–6.
- Lapouge G, Blanpain C. Medical applications of epidermal stem cells. *StemBook* (Internet). Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute; 2008.
- Ronfard V, Rives JM, Neveux Y, Carsin H, Barrandon Y. Long-term regeneration of human epidermis on third degree burns transplanted with autologous cultured epithelium grown on a fibrin matrix. *Transplantation*. 2000;70:1588–98.

32. Green H, Kehinde O, Thomas J. Growth of cultured human epidermal cells into multiple epithelia suitable for grafting. *Proc Natl Acad USA*. 1979;76:5665–8.
33. Clark RA, Ghosh K, Tonnesen MG. Tissue engineering for cutaneous wounds. *J Invest Dermatol*. 2007;127:1018–29.
34. Rendl M, Polak L, Fuchs E. BMP signaling in dermal papilla cells is required for their hair follicle-inductive properties. *Genes Dev*. 2008;22:543–57.
35. Thangapazham RL, Klover P, Wang JA, Zheng Y, Devine A, Li S, et al. Dissociated human dermal papilla cells induce hair follicle neogenesis in grafted dermal-epidermal composites. *J Invest Dermatol*. 2014;134:538–40.
36. Bottcher-Haberzeth S, Klar AS, Biedermann T, Schiestl C, Meuli-Simmen C, Reichmann E, et al. Trooping the color: Restoring the original donor skin color by addition of melanocytes to bioengineered skin analogs. *Pediatr Surg Int*. 2013;29:239–47.
37. Llamas SG, del Rio M, Larcher F, García E, García M, Escamez MJ, et al. Human plasma as a dermal scaffold for the generation of a completely autologous bioengineered skin. *Transplantation*. 2004;77:350–5.
38. Carriel V, Garzón I, Jiménez JM, Oliviera AC, Arias-Santiago S, Campos A, et al. Epithelial and stromal development patterns in novel substitute of the human skin generated with fibrin-agarose biomaterials. *Cells Tissues Organs*. 2012;196:1–12.
39. Lough D, Dai H, Yang M, Reichensperger J, Cox L, Harrison C, et al. Stimulation of the follicular bulge Lgr5+ and Lgr6+ stem cells with the gut-derived human alpha defensin 5 results in decreased bacterial presence, enhanced wound healing, and hair growth from tissues devoid of adnexal structures. *Plast Reconstr Surg*. 2013;132:1159–71.
40. Lough DM, Yang M, Blum A, Reichensperger JD, Cosenza NM, Wetter N, et al. Transplantation of the Lgr6+ epithelial stem cell into full-thickness cutaneous wound results in enhanced healing, nascent hair follicle development, and augmentation of angiogenic analytes. *Plast Reconstr Surg*. 2014;133:576–90.
41. Cox DB, Platt RJ, Zhang F. Therapeutic genome editing: Prospects and challenges. *Nat Med*. 2015;21:121–31.
42. Kay MA. State-of-the-art gene-based therapies: the road ahead. *Nat Rev Genet*. 2011;12:316–89.
43. Stoddard BL. Homing endonucleases: From microbial genetic invaders to reagents for targeted DNA modifications. *Structure*. 2011;19:5–7.
44. Urnov FD, Rebar EJ, Holmes MC, Zhang HS, Gregory PD. Genome editing with engineered zinc-finger nucleases. *Nat Rev Genet*. 2010;11:636–46.
45. Bogdanove AJ, Voytas DF. TAL effectors: Customizable proteins for DNA targeting. *Science*. 2011;333:1843–6.
46. Doudna JA, Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*. 2014;346:1258096.
47. Mavilio F, Pellegrini G, Ferrari S, di Nunzio F, di Iorio E, Recchia A, et al. Correction of junctional epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal stem cells. *Nat Med*. 2006;12:1397–402.
48. Larcher F, del Río M. Innovative therapeutic strategies for recessive dystrophic edipermolysis bullosa. *Actas Dermosifiliogr*. 2015;106:376–82.
49. Droz-Georget Lathion S, Rochat A, Knott G, Recchia A, Martinet D, Benmohammed S, et al. A single epidermal stem cell strategy for safe ex vivo gene therapy. *EMBO Mol Med*. 2015;7:380–93.
50. Larsimont JC, Blanpain C. Single stem cell gene therapy for genetic skin disease. *EMBO Mol Med*. 2015;7:366–7.