**Journal de la Société de Biologie,** 197 (1), 57-61 (2003)

# Dynamique du cycle pilaire : le cas du follicule de cheveu humain

**par Bruno A. Bernard**

*L'Oréal Recherche, Centre C. Zviak, 90 rue du Général Roguet, 92110 Clichy*

*Reçu le 12 novembre 2002*

## RÉSUMÉ

**L'existence d'un cycle de croissance et de régénération fait du follicule pileux un vrai paradigme d'homéostasie tissulaire. L'analyse d'environ 9000 cycles nous a permis de proposer un modèle stochastique de la dynamique du follicule de cheveu humain. L'existence d'un cycle suppose que des cellules souches doivent être activées cycliquement et que l'unité de pigmentation soit renouvelée. En utilisant différents marqueurs, nous avons pu identifier deux réservoirs de cellules épithéliales pluripotentes, localisés dans le tiers supérieur et le tiers inférieur de la gaine externe du follicule anagène. Ces réservoirs fusionnent pendant la phase de régression et se séparent à nouveau lors de la régénération du follicule.**

**En utilisant des marqueurs de la lignée mélanocytaire et de la mélanogenèse, nous avons pu suivre le renouvellement de l'unité de pigmentation au cours du cycle. Dans le cheveu anagène, les mélanocytes actifs sont localisés au sommet de la papille dermique, tandis qu'une population de mélanocytes quiescents réside dans le tiers supérieur de la gaine externe du follicule. Cette population représente probablement un réservoir de mélanocytes pour les cycles successifs, puisqu'à l'induction d'une nouvelle phase anagène, certains de ces mélanocytes se divisent et entrent en mélanogenèse active, mais uniquement en contact de la papille dermique du follicule néoformé.**

## SUMMARY Dynamics of human hair cycle and pigmentation

**The existence of a growth and regeneration cycle makes the hair follicle a true paradigm of tissue homeostasis. Analysis of about 9000 cycles led us to propose a stochastic model of human hair dynamics. The existence of hair cycles implies that stem cells must be cyclically activated and hair melanin unit has to be renewed. Using different markers, we were able to identify two distinct epithelial stem cell reservoirs, located in the upper and lower thirds of the anagen hair follicle outer root sheath. These two reservoirs fuse during the regression phase and individualize again in the new forming anagen hair follicle.**

**Using a set of antibodies specific of melanocyte lineage and melanogenesis, pigmentation unit turnover was followed throughout the entire hair cycle. In the terminal anagen hair, active melanocytes were localized on top of the dermal papilla, while amelanotic melanocytes were identified in the upper third of the outer root sheath (ORS). Those amelanotic melanocytes located in upper ORS probably represented a melanocyte reservoir for successive hair generation, since at the induction of anagen phase, some melanocytes were committed to cell division and melanogenesis was turned on, but only in the nascent hair bulb, close to the dermal papilla.**

## INTRODUCTION

La chevelure humaine représente un ensemble d'environ 100 000 cheveux. Ce cheveu est produit par un organe complexe, le follicule pileux. A tout moment, un follicule pileux est i) soit en phase de croissance et de production de tige pilaire (phase anagène), ii) soit en arrêt de croissance et en involution (phase catagène), iii) soit en phase de repos avec chute du cheveu (phase télogène) (Bernard, 1994 ; Courtois *et al.*, 1994). A la suite de la phase télogène et par un processus de néo-morphogenèse, le follicule se régénère sur place à partir d'un réservoir de cellules pluripotentes et initie une nouvelle phase anagène. Une phase de latence qui peut atteindre quelques

mois est parfois observée entre la phase télogène et la nouvelle phase anagène (Courtois *et al.*, 1994 ; Courtois *et al.*, 1995). C'est la phase exogène (Stenn *et al.*, 1998). Ces phases successives constituent le cycle pilaire.

La durée moyenne de la phase anagène est de 3 ans, celle de la phase catagène 3 semaines et celle de la phase télogène 3 mois. Toutefois, une des caractéristiques de la chevelure humaine est sa permanence, en dépit de l'existence de ces cycles successifs de croissance, d'involution et de régénérescence. Cette permanence suppose au moins que, d'un follicule à l'autre, les cycles pilaires soient asynchrones. En fait, à tout moment et sur une chevelure normale, environ 85 % des follicules sont en phase anagène et 15 % en phase télogène. Un certain nombre de questions restaient cependant ouvertes : quelle est l'amplitude de la variation de la durée des phases ? la durée des phases est-elle constante pour un follicule donné ? le cycle *n* influence-t-il le cycle *n+1* ? quelle est la nature du réservoir à partir duquel le follicule se régénère ? autant de questions auxquelles nous avons aujourd'hui au moins partiellement répondu, à travers une étude qui a consisté à suivre l'évolution d'un élément de chevelure chez 10 volontaires, pendant 14 ans.

## DYNAMIQUE DU CYCLE PILAIRE

L'évolution au cours du temps d'un élément de chevelure peut être suivie grâce à la technique du photo-trichogramme (Courtois *et al.*, 1994 ; Courtois *et al.*, 1995). Cette technique consiste à raser une petite surface du cuir chevelu (0,5 cm$^2$), prendre une première photo, attendre 2 jours et reprendre une photo de la même surface. Si un cheveu est en phase anagène, il aura poussé de 0,6 mm (un cheveu pousse à la vitesse de 0,3 mm/j) (Loussouarn, 2002) ; s'il est en phase télogène, il n'aura pas poussé. En répétant cette manipulation tous les mois, sur la même surface identifiée par un tatouage, on peut suivre individuellement chaque follicule et évaluer la durée de ses phases, avec un pas d'un mois. L'étude mentionnée a ainsi permis, sur une période de 144 mois, de suivre environ 9000 cycles pilaires sur un total de 930 follicules (Courtois *et al.*, 1994 ; Courtois *et al.*, 1995 ; Courtois *et al.*, 1996 ; Halloy *et al.*, 2000).

Le premier résultat est que la durée des phases varie d'un individu à l'autre et qu'elle varie au cours du temps (Courtois *et al.*, 1995). La phase dont l'amplitude varie le plus est la phase anagène : elle peut durer de quelques mois à plus de 10 ans ! D'un point de vue général, la durée de la phase anagène est plus courte chez les personnes alopéciques que chez les personnes non alopéciques (Courtois *et al.*, 1994), et elle raccourcit au cours du vieillissement (Courtois *et al.*, 1995). Le deuxième résultat montre que, si on considère un follicule individuellement, la durée des différentes phases varie d'un cycle à l'autre de façon apparemment aléatoire, ce qui suggère l'absence d'influence du cycle *n* sur le cycle *n+1* et l'absence d'influence de la durée de la phase *i* sur celle de la phase *i+1* (Halloy *et al.*, 2000). Enfin, le pourcentage des cheveux en phase anagène et télogène fluctue au cours du temps autour d'une valeur moyenne (Halloy *et al.*, 2000 ; Halloy *et al.*, 2002). Ces fluctuations et le caractère apparemment aléatoire de la durée des phases nous ont poussés à analyser plus finement la répartition de la durée des phases pour une centaine de follicules, chez un individu donné. Cette durée varie autour d'une valeur moyenne, avec une variance de l'ordre de la moyenne. En fait, la répartition de ces durées peut être représentée par une fonction log-normale (Halloy *et al.*, 2000). En utilisant cette loi de répartition des durées, un automate folliculaire a pu être modélisé, qui mime de façon fidèle l'évolution des durées en fonction des cycles successifs non seulement pour un follicule donné, mais aussi pour un ensemble de follicules. Il ressort que les transitions d'une phase à l'autre se produisent indépendamment pour chaque follicule, de façon non déterministe, après des intervalles de temps donnés de façon stochastique à partir d'une loi de distribution caractérisée par une moyenne et une variance pour chacune des phases. De façon intéressante, de tels processus stochastiques se retrouvent dans de très nombreux systèmes biologiques (Goldbeter, 1996), jusqu'au niveau de l'expression génique (Ozbudak *et al.*, 2002). En ce qui concerne le follicule pileux, le caractère fluctuant de la durée de ses phases reflète probablement la multiplicité des acteurs susceptibles de moduler son activité, ainsi que les gradients de répartition qui les caractérisent. Parmi ces acteurs (tableau I) on peut citer les facteurs de croissance

Tableau I. – Quelques modulateurs de la croissance du follicule pileux.

| Modulateurs | Effets sur le follicule pileux |
|---|---|
| *Facteurs de croissance* | |
| EGF | Induit la prolifération des kératinocytes de la gaine externe |
| IGF-1 | Stimule la croissance du follicule de cheveu *in vitro* |
| HGF | Stimule la croissance du follicule en culture d'organe |
| PTH-rP | Inhibe la morphogenèse du poil (souris transgénique) |
| TGFb | Inhibe la morphogenèse du poil (souris transgénique) |
| KGF | Favorise la morphogenèse du poil (souris transgénique) |
| bFGF | Inhibe la morphogenèse du poil |
| FGF5 | Inhibe la croissance du follicule *in vivo* (souris transgénique) et déclencherait la phase catagène |
| *Immunosuppresseurs* | |
| Cyclosporine A | Prolonge la phase anagène *in vivo* et *in vitro* |
| FK506 | Stimule la croissance du poil *in vivo* |
| *Cytokines* | |
| IL-1 | Inhibe la croissance du follicule en culture d'organe |
| *Hormones* | |
| Glucocorticoïdes | Stoppent la croissance du follicule |
| Vitamine D | Stimule la croissance du follicule en culture d'organe |
| Agoniste RXR | Stimule la croissance du follicule en culture d'organe |
| T3 | Stimule la croissance du follicule en culture d'organe |
| Acide rétinoïque | Inhibe la croissance du follicule en culture d'organe |

(Bernard, 1994), les hormones (Billoni *et al.*, 1997 ; Billoni *et al.*, 2000a ; Billoni *et al.*, 2000b), les cytokines (Mahé *et al.*, 1996) et ...l'hérédité (Birch & Messenger, 2001).

## LE RENOUVELLEMENT DU FOLLICULE

Si les follicules anagènes et télogènes sont aisément détectables, il n'en est pas de même des follicules catagènes. Or, l'étude de cette phase d'involution très rapide et difficile à suivre montre que le follicule pileux subit une véritable destruction au cours de cette phase, impliquant le processus d'apoptose. Les cellules de la matrice, responsables de la croissance du follicule et à l'origine des différents compartiments folliculaires, cessent de se multiplier (Commo & Bernard, 1997a). Le programme de différenciation de la gaine interne s'interrompt, la structure folliculaire régresse et migre vers la surface de l'épiderme, laissant derrière elle la papille dermique, un des éléments moteurs de l'unité pilo-sébacée. En phase télogène ne subsiste qu'une capsule épithéliale peu différenciée dont sont absentes les différentes structures du follicule anagène. Le cheveu va finalement tomber, tandis que la papille dermique, dans un mouvement ascendant, va rétablir le contact avec la capsule télogène. Lors du cycle suivant, la structure folliculaire va être entièrement régénérée, tant au niveau des compartiments épithéliaux que du compartiment pigmentaire, responsable de la couleur du cheveu. A l'aide de marqueurs spécifiques, les cellules à partir desquelles les structures folliculaires sont régénérées ont pu être identifiées et localisées dans le follicule pileux.

## LE RENOUVELLEMENT DES STRUCTURES ÉPITHÉLIALES

L'identification des cellules souches épidermiques a fait l'objet d'intenses recherches depuis des années, et des marqueurs consensuels ont pu être dégagés, à savoir la sur-expression de l'intégrine-β1 et l'expression de la kératine 19 (K19) (Akiyama *et al.*, 2000 ; Cotsarelis *et al.*, 1999 ; Jones *et al.*, 1995 ; Lane *et al.*, 1991 ; Michel *et al.*, 1996 ; Zhu *et al.*, 1999). Nous avons étudié l'expression de ces marqueurs dans le follicule pileux humain anagène. Nous avons alors observé une sur-expression de l'intégrine-β1 dans deux zones de la gaine externe du follicule, i) dans sa partie inférieure au dessus du bulbe et ii) dans sa partie supérieure, sous la glande sébacée (Commo & Bernard, 1997b). Son expression est fortement réprimée dans sa partie médiane. De façon comparable, l'expression de la kératine 19 est restreinte à ces deux zones. Lorsque le follicule pileux est marqué *in toto* par un anticorps anti-K19, le marquage observé se présente sous la forme de deux anneaux, l'un situé sous l'abouchement de la glande sébacée, l'autre au dessus du bulbe (Commo *et al.*, 2000). De plus, que ce soit l'intégrine-β1 ou la K19, leur expression est limitée à la couche basale de la gaine externe, et les cellules K19 (+) n'expriment pas le marqueur d'activité mitotique Ki67. L'ensemble de ces résultats suggère fortement que des cellules « souches » épithéliales seraient concentrées dans ces deux zones du follicule pileux humain et non pas dans une seule zone – le *bulge* –, comme observé dans le poil de Souris (Cotsarelis *et al.*, 1990). Cette conclusion est d'ailleurs corroborée par le fait que de l'épiderme peut être reconstruit *in vitro* à partir de ces deux zones (Lenoir *et al.*, 1988). Qu'en est-il du devenir de ces cellules K19 (+) au cours du cycle ? En fait, durant la phase catagène, l'anneau inférieur n'est pas détruit et migre avec la colonne épithéliale en régression pour finalement fusionner avec l'anneau supérieur, dans la capsule télogène. Lors du redémarrage d'un nouveau cycle, une fraction des cellules K19 (+) va redescendre avec le follicule néo-formé, pour redonner l'anneau inférieur.

En somme, cette population de cellules K19 (+) subit, au cours des cycles successifs, un processus de fusion-séparation qui maintient deux zones de cellules pluripotentes. Outre leur rôle probable dans la régénération du follicule (Panteleyev *et al.*, 2001), ces zones doivent pouvoir assurer la régénération rapide de l'épiderme (Lenoir *et al.*, 1988 ;Taylor *et al.*, 2000) à partir des follicules pileux, lors d'agressions superficielles ou profondes.

## LE RENOUVELLEMENT DES STRUCTURES PIGMENTAIRES

Une des caractéristiques du cheveu humain est la présence de grains de mélanine dans son cortex, responsable de sa couleur. Cette mélanine est produite par des cellules spécialisées et dendritiques, les mélanocytes, qui, dans le cas du follicule de cheveu humain en phase anagène, sont localisés dans le bulbe, à l'apex de la papille dermique où ils forment l'unité de pigmentation. Il faut noter toutefois, qu'en plus de ces mélanocytes actifs, une autre population de mélanocytes réside dans la région supérieure de la gaine externe du follicule, sous l'abouchement de la glande sébacée : ces mélanocytes n'ont pas de dendrites, sont quiescents et inactifs quant à la mélanogenèse. Leur fonction restait inconnue. De plus, comme nous l'avons vu plus haut, le follicule pileux suit une succession de cycles comportant des phases de croissance, d'involution, de repos et de régénérescence. A chaque cycle, l'unité de pigmentation est détruite à la transition anagène-catagène mais est régénérée lors de la phase de néomorphogenèse. L'origine des mélanocytes formant cette nouvelle unité de pigmentation restait elle aussi inconnue.

En utilisant un marqueur de la lignée mélanocytaire (la protéine Pmel-17), des marqueurs de la mélanogenèse (la tyrosinase et la protéine TRP-1) et un marqueur de prolifération cellulaire (Ki67), nous avons suivi, au cours du cycle pilaire la distribution et l'activité des deux populations de mélanocytes détectées dans le follicule pileux, à savoir l'unité de pigmentation et les mélanocytes quiescents de la gaine externe (Commo & Bernard, 2000). Comme décrit plus haut, en phase anagène les mélanocytes de l'unité de pigmentation sont actifs (ils expri-

ment Pmel-17, la tyrosinase et TRP-1), tandis que les mélanocytes de la partie supérieure de la gaine externe n'expriment que Pmel-17. Aucun de ces mélanocytes ne prolifère. A la transition anagène-catagène, l'unité de pigmentation involue : la mélanogénèse cesse, la synthèse de tyrosinase et de TRP-1 n'est plus détectée. Il faut noter toutefois que si la grande majorité des mélanocytes de l'unité de pigmentation rentre en apoptose, certains d'entre eux subsistent dans la colonne épithéliale en régression. Les mélanocytes quiescents de la gaine externe sont inchangés. En phase télogène, une seule population de mélanocytes est détectée, située dans la partie inférieure de la capsule télogène : elle a les mêmes caractéristiques que les mélanocytes précédemment identifiés dans la partie supérieure de la gaine externe (Pmel-17 +/tyrosinase –/TRP-1 –). A la transition télogène-anagène, un processus de sélection s'opère : une sous-population est apparemment recrutée pour migrer avec le bulbe du follicule en régénération tandis qu'une autre sous-population va rester dans la partie supérieure de la gaine externe. De façon évidente, seuls les mélanocytes du bulbe néoformé prolifèrent (ils expriment Ki67), et se remettent à exprimer les marqueurs de mélanogenèse (tyrosinase et TRP-1).

En somme, les mélanocytes quiescents de la gaine externe semblent former un réservoir qui se retrouve regroupé à la base de la capsule télogène et à partir duquel, à chaque cycle, une sous-population est recrutée pour repeupler le bulbe du follicule nouvellement formé et régénérer une unité de pigmentation.

## CONCLUSION

Le follicule de cheveu humain apparaît comme un organe autonome, qui se renouvelle de façon cyclique et asynchrone, sans mémoire ou empreinte apparente des cycles précédents. Cette absence de mémoire suggère une remise à zéro tant au niveau de ses structures épithéliales que de ses structures pigmentaires. Pour assurer ce renouvellement, le follicule pileux possède ses propres réservoirs de cellules épithéliales pluripotentes et de mélanocytes. Bien que des processus de recrutement et de sélection semblent toucher ces deux types de réservoirs à la transition télogène-anagène, ces processus sont probablement indépendants puisqu'au cours du vieillissement, des cheveux peuvent continuer à pousser vigoureusement tout en ayant blanchi, alors que des cheveux peuvent se miniaturiser tout en restant pigmentés.

## BIBLIOGRAPHIE


Akiyama M., Lynne T.S. & Shimizu H., Changing patterns of localization of putative stem cells in developing human hair follicle. *J. Invest. Dermatol.*, 2000, *114*, 321-327.

Bernard B.A., Approche moléculaire de la biologie du cheveu, *C. R. Soc. Biol.*, 1994, *188*, 223-233.

Billoni N., Gautier B., Mahé Y.F. & Bernard B.A., Expression of retinopid nuclear receptor superfamily members in human hair follicles and its implication in hair growth. *Acta Derm. Venereol (Stockh)*, 1997, *77*, 350-355.

Billoni N., Buan B., Gautier B.,Gaillard O., Mahé Y.F. & Bernard B. A., Thyroid hormone receptor b1 is expressed in the human hair follicle. *Br. J. Dermatol.*, 2000a, *142*, 645-652.

Billoni N., Buan B., Gautier B., Collin C., Gaillard O., Mahé Y.F. & Bernard B.A., Expression of peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) in human hair follicle and PPARa involvement in hair growth. *Acta Derm. Venereol. (Stockh)*, 2000b, *80*, 329-334.

Birch M.P. & Messenger A.G., Genetic factors predispose to balding and non-balding in men. *Eur. J. Dermatol.*, 2001, *11*, 309-314.

Commo S. & Bernard B.A., Immunohistochemical analysis of tissue remodelling during the anagen-catagen transition of the human hair follicle. *Br. J. Dermatol.*, 1997a, *137*, 31-38.

Commo S. & Bernard B.A., The distribution of a2b1, a3b1 and a6b4 integrins identifies distinct subpopulatins of basal keratinocytes in the outer root sheath of the human anagen hair follicle. *Cell. mol. life Sci.*, 1997b, *53*, 466-471.

Commo S. & Bernard B.A., Melanocyte subpopulation turnover during the human hair cycle: an immunohistochemical study. *Pigment Cell Res.*, 2000, *13*, 253-259.

Commo S., Gaillard O. & Bernard B.A., The human hair follicle contains two distinct K19 positive compartments in the outer root sheath: a unifying hypothesis for stem cell reservoir? *Differentiation*, 2000, *66*, 157-164.

Cotsarelis G., Kaur P., Dhouailly D., Hengge U. & Bickenbach J., Epithelial stem cells : definition, markers, localization and functions. *Exp. Dermatol.*, 1999, *8*, 80-88.

Cotsarelis G., Sun T.T. & Lavker R., Label-retaining cells reside in the bulge area of pilosebaceous unit: implications for follicular stem cells, hair cycle, and skin carcinogenesis. *Cell*, 1990, *61*, 1329-1337.

Courtois M., Loussouarn G., Hourseau C. & Grollier J.F., Hair cycle and alopecia. *Skin Pharmacol.*, 1994, *7*, 84-89.

Courtois M., Loussouarn G., Hourseau C. & Grollier J.F., Ageing and hair cycles. *Br. J. Dermatol.*, 1995, *132*, 86-93.

Goldbeter A., Biochemical Oscillations and Cellular Rhythms: The Molecular Bases of Periodic and Chaotic Behaviour. Cambridge University Press, 1996, Cambridge, England.

Halloy J., Bernard B.A., Loussouarn G. & Goldbeter A., Modeling the dynamics of human hair cycles by a follicular automaton. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, *97*, 8328-8333.

Halloy J., Bernard B.A., Loussouarn G. & Goldbeter A., The follicular automaton model: effect of stochasticity and of synchronization of hair cycles. *J. Theor. Biol.*, 2002, *214*, 469-479.

Jones P.H., Harper S. & Watt F.M., Stem cell patterning and fate in human epidermis. *Cell*, 1995, *80*, 83-93.

Lane E.B., Wilson C.A., Hughes B.R. & Leigh I.M., Stem cells in hair follicles. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1991, *642*, 197-213.

Lenoir M.C., Bernard B.A., Pautrat G., Darmon M. & Shroot B., Outer root sheahth cells of human hair follicle are able to regenrate a fully differentiated epidermis *in vitro*. *Dev. Biol.*, 1988, *130*, 610-620.

Loussouarn G., African hair growth parameters. *Br. J. Dermatol.*, 2001, *145*, 294-297.

Mahé Y.F., Buan B., Billoni N., Loussouarn G., Michelet J.F., Gautier B. & bernard B.A. , Pro-inflammatory cytokine cascade in human plucked hair. *Skin Pharmacol.*, 1996, *9*, 366-375.

Michel M., Török N., Godbout M.J., Lussier M., Gaudreau P., Royal A. & Geramin L., Keratin 19 as a biochemical marker of skin stem cells *in vivo* and *in vitro*/keratin 19 expressing cells are differentially localised in function of anatomic

sites, and their number varies with donor age and culture stage. *J.Cell Sci.*, 1996, *109*, 1017-1028.

Ozbudak E.M., Thattai M., Kurtser I., Grossman A.D. & Van Oudenaarden A., Regulation of noise in the expression of a single gene. *Nature Genetics*, 2002, *31*, 69-73.

Panteleyev A., Jahoda C.A.B. & Christiano A.M., Hair follicle predetermination. *J. Cell Sci.,* 2001, *114*, 3419-3431.

Stenn K., Parimoo S. & Prouty S.M., Growth of the hair follicle: a cycling and regenerating biological system. In *Molecular Basis of Epithelial Appendage Morphogenesis*, ed. Chuong C.M. (Landes, Austin, TX, USA), 1998, pp. 111-130.

Taylor G., Lehrer M.S., Jensen P.J., Sun T.T. & Lavker R.M., Inviolvement of follicular stem cells in forming not only the follicle but also the epidermis. *Cell*, 2000, *102*, 451-461.

Zhu A.J., Haase I. & Watt F.M., Signaling via b1 integrins and mitogen-activated protein kinase determines human epidermal stem cell fate *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, *96*, 6728-6733.