

DOI: 10.13376/j.cblls/2015125

文章编号: 1004-0374(2015)07-0908-06

肝细胞衰老及其在肝脏疾病 和肝细胞移植中作用的研究进展

谭超^{1*}, 刘朝奇², 沈雪莲³, 覃玉娥³

(1 三峡大学第一临床医学院/宜昌市中心人民医院, 宜昌 443003; 2 三峡大学分子生物学研究所, 宜昌 443002;
3 三峡大学医学院, 宜昌 443002)

摘要: 细胞衰老 (cellular senescence) 是指细胞生理功能的衰减, 包括增殖能力下降、细胞周期停滞、对促凋亡应激不敏感、衰老相关基因和蛋白质表达增加, 伴有形态学衰老改变。衰老肝细胞在形态和功能上已经发生了很多根本性的改变。越来越多的证据表明, 肝细胞衰老和衰老信号通路 (p53-p21-pRb 和 p16-pRb) 在多种肝脏疾病进展和肝细胞移植效果中发挥了重要作用。就近年来肝细胞衰老的分子机制及其与肝脏疾病和肝细胞移植关系的最新研究进展进行综述, 以期为衰老相关肝脏疾病治疗和肝细胞移植提供新思路。

关键词: 肝细胞衰老; 衰老肝细胞; 分子机制; 慢性肝脏疾病; 肝癌; 肝细胞移植
中图分类号: Q485; R575; R963 **文献标志码:** A

Research progress of hepatocyte senescence and its function in liver diseases and hepatocyte transplantation

TAN Chao^{1*}, LIU Chao-Qi², SHEN Xue-Lian³, QIN Yu-E³

(1 First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University/Yichang Central People's Hospital, Yichang 443003, China; 2 Institute of Molecular Biology, China Three Gorges University, Yichang 443002, China; 3 Medical Science College of China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract: Cell senescence refers to the attenuation of physiological function of cells including decreased proliferation ability, cell cycle arrest, apoptosis resistance and altered gene expression, accompanied by morphological changes of senescence. Senescent hepatocytes have many fundamental changes in morphology and function. There is increasing evidence that hepatocyte senescence and senescence pathways (p53-p21-pRb and p16-pRb) play a central role in age-dependent disease of the liver and hepatocyte transplantation. In this review, we summarize the current concepts in the molecular mechanisms of hepatocyte senescence and correlate these theories with the available literature on liver diseases and hepatocyte transplantation in order to provide new ideas for the treatment of liver diseases and hepatocyte transplantation.

Key words: hepatocyte senescence; senescent hepatocyte; molecular mechanisms; chronic liver diseases; liver cancer; hepatocyte transplantation

细胞作为有机体的基本结构单位, 从其新生开始, 就在经历着衰老的过程, 直至死亡。细胞衰老 (cellular senescence) 是指细胞生理功能的衰减, 包括增殖能力下降、细胞周期停滞、对促凋亡应激不敏感、衰老相关基因和蛋白质表达增加, 伴有形态

学衰老改变, 其至少可分为复制性衰老 (replicative

收稿日期: 2014-11-03; 修回日期: 2015-05-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(H2902)

*通信作者: E-mail: yczxytanchao@sina.com; Tel: 0717-6487147

senescence) 和应激诱导的过早衰老 (stress-induced premature senescence, SIPS)。细胞复制性衰老主要是由于有丝分裂中细胞复制或增殖压力引起细胞复制障碍, 导致细胞周期阻滞, 通常是由于细胞周期依赖性蛋白激酶抑制剂 (cyclin-dependent protein kinase inhibitor, CDK-I) 增加导致的。复制性衰老的特殊形式是应激引起的过早衰老。肝细胞衰老有其自身的特征。近期研究发现, 肝细胞衰老、肝纤维化、肝癌等多种肝脏疾病的发生和发展都与肝细胞移植存在密切关系。因此, 对肝细胞衰老的深入理解, 可以为衰老相关肝脏疾病的药物研发和治疗以及肝细胞移植提供新靶点和新视野。

1 肝细胞衰老的生物特征

衰老肝细胞虽然能保持一些基本的代谢活性, 但无论是在形态还是在功能上已经发生了很多根本性的改变^[1]。DNA 损伤是衰老肝细胞最明显的特征^[2-3]; 衰老肝细胞 DNA 损伤反应中持续激活的标志物和 CDK-I p16、p21、p27 等表达增加^[4-5]; 与其他的衰老细胞相比, 衰老的肝细胞并没有完全丧失 DNA 复制和增殖能力, 只是 DNA 复制和增殖能力降低, 如尿苷 BrdU 摄取能力降低, 以及增殖细胞核抗原 PCNA、Ki-67 表达降低等^[6-7]。

衰老肝细胞体积增大, 细胞核体积增大更明显^[8]。学者普遍认为肝细胞核变大与肝细胞核内 DNA 含量和双核多倍体肝细胞数量随年龄增长逐渐增多有关^[9]。衰老肝细胞中多倍体肝细胞所占比例明显增加^[7,10]。人 85 岁以后, 多倍体肝细胞所占比例约为 27%, 而在他们 20 岁的时候, 其比例约为 6%^[11]。遗传物质的异常, 如 DNA 损伤, 可能会导致多倍体肝细胞的形成。无论是正常肝脏, 还是有肝脏疾病时, 肝内都可见到许多多倍体细胞, 而这些多倍体细胞正走向细胞衰老^[10]。Wang 等^[7]发现衰老小鼠的肝脏中积累了许多衰老和多倍体的肝细胞, 这与 DNA 损伤的积累以及 p53-p21 和 p16-pRb 信号通路的激活有关。

衰老肝细胞还有很多其他的标志。衰老肝细胞中, 衰老相关 β -半乳糖苷酶 (senescence-associated β -galactosidase, SA- β -Gal) 的表达和活性增加^[4]。SA- β -Gal 染色可用来鉴别衰老细胞, 衰老细胞中 SA- β -Gal 在 pH 值为 6 的柠檬酸缓冲液中有活性, 作用于底物产生蓝绿色沉淀, 衰老细胞被染成蓝色。肝细胞衰老标志蛋白-30/葡萄糖酸内酯酶 (senescence marker protein-30/gluconolactonase, SMP-30/GNL) 随

着衰老表达降低^[12]。Aravinthan 等^[13]研究发现, 肝细胞核空泡形成是肝细胞衰老的标志。衰老肝细胞还表现出特征性的凋亡抵抗和脂肪变性抵抗^[14]。

2 衰老肝细胞的形成和功能

肝细胞受到一种或多种可诱发衰老的刺激后, 表达 SA- β -Gal, 分泌多种生长因子、炎症因子、趋化因子、蛋白酶等, 这些分泌物统称为衰老信息传递分泌物 (senescence-messaging secretome, SMS)。SMS 是肝细胞转变为衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 的重要标志。其中, IL-1 α 、IL-6、IL-8 等具有维持肝细胞 SASP 的作用^[5]。IL-6 还可通过“衰老传染”引起其他细胞的衰老^[15], 这预示着一旦肝细胞走向衰老, 衰老相关细胞分泌功能的改变会使肝内微环境发生变化, 进而通过反馈调节机制, 促进其他肝细胞启动衰老进程。Nelson 等^[16]研究发现, 衰老细胞可以介导旁观者效应将衰老传给邻近增殖能力正常的细胞; 衰老细胞通过缝隙连接介导的细胞间通讯诱导邻近细胞 DNA 损伤反应 (DNA damage response, DDR) 和衰老表型, 由此解释了小鼠肝内的衰老肝细胞常聚集在一起的机制。

3 肝细胞衰老的机制

细胞衰老是有丝分裂活跃细胞应对各种压力的一种具体的反应形式。细胞衰老表型由多种刺激因素诱导产生, 如端粒缩短、端粒功能障碍、DNA 损伤、氧化应激、原癌基因活化和非基因毒性应激, 如表观遗传变异等^[17]。这些刺激因素诱导细胞衰老主要通过两条途径: 一条是部分依赖端粒的 p53-p21-pRb 信号通路, 另一条是不依赖端粒功能障碍的 p16-pRb 信号通路。尽管两条通路之间也有重叠和相互作用, 但是这两条通路各自都可引起细胞衰老^[17-18]。DDR 和衰老信号通过活化 p53-p21 和 p16-pRb 信号通路改变细胞表型。

3.1 端粒功能障碍和肝细胞衰老

端粒/端粒酶系统可以介导复制性衰老, 受到了大量的关注。端粒是存在于真核生物线性染色体末端, 由串联重复的短的 dsDNA 序列及相关蛋白所组成的 DNA 蛋白质复合体。端粒在维护基因组的完整性和稳定性中发挥了重要作用^[19]。由于 DNA 聚合酶不能完全复制 DNA 末端, 导致细胞端粒 DNA 在每次细胞分裂中丢失 50~200 个碱基^[20-21]。端粒酶能够延伸端粒 DNA, 从而抵消了因细胞分

裂导致的端粒 DNA 的消耗；但是大部分正常体细胞不表达端粒酶，随着细胞的分裂和增殖，其端粒长度不断变短。环境因素和基因改变，如端粒酶基因突变也可影响端粒长度^[22]。当端粒缩短到 Hayflick 极限时，就会促发 DDR，导致细胞失去分裂能力，停止增殖，表现为细胞复制性衰老^[17,23]。端粒缩短被认为是双链 DNA 断裂，由 MRN 蛋白复合物包括 MRE11、NBS1 和 RAD50 识别，进而招募和激活 DDR 激酶共济失调毛细血管扩张突变基因 (ataxia telangiectasia-mutated, ATM) 和 Rad-3 相关蛋白 (ATM and Rad-3 related, ATR)，激活 CDK-I，磷酸化 p53，激活 p53 通路，进而促进其下游 p21 表达。p53-p21 信号通路活化最终导致细胞周期阻滞和复制性衰老^[24]。

人肝脏端粒长度随着年龄增长逐渐变短。Aikata 等^[25]分析了年龄范围在 17~81 岁人的肝脏标本，发现正常肝脏端粒缩短速率是每年减少 120 bp；80 岁人的肝脏端粒长度平均缩短至 10 kb，但是端粒的长度不会短于 5 kb。Takubo 等^[26]检测了年龄范围在 0~101 岁的 94 名正常人肝组织端粒长度，得出正常肝脏端粒缩短速率为每年减少 55 bp。研究人员依据年龄将端粒长度分组： (13.2 ± 2.0) kb (≤ 8 岁；10 名)、 (7.8 ± 1.9) kb (40~79 岁；29 名) 和 (7.5 ± 2.0) kb (≥ 80 岁；53 名)，表明到中年时肝脏端粒缩短速率变慢；而 Verma 等^[27]研究发现，正常的肝脏中肝细胞和胆管细胞随年龄增加端粒长度保持不变，年龄相关的端粒长度变短仅限于枯否细胞和肝星状细胞。

肝脏慢性炎症时端粒缩短加速，可能导致端粒介导的肝细胞复制能力丧失和再生能力下降^[28]。慢性肝炎和肝硬化组织的端粒长度显著低于同年龄的正常肝脏端粒长度^[25]。研究还发现，肝硬化组织端粒长度显著低于非硬化性肝组织，并且与患者的年龄没有关联。Wiemann 等^[29]研究发现，肝硬化时端粒缩短和衰老限于肝细胞，肝硬化区域内其他的细胞类型，如肝淋巴细胞和肝星状细胞未发现端粒缩短和衰老，并且端粒缩短的肝细胞与 SA- β -Gal 染色阳性细胞一一对应。

3.2 DNA 损伤与肝细胞衰老

染色体 DNA 断裂损伤会立即引发强烈的细胞 DDR。这一细胞学反应涉及一系列复杂的分子变化。ATM 和 ATR 能分别被染色体断裂暴露出的双链和单链 DNA 断端诱导磷酸化。活化后的 ATM 和 ATR 分别介导两个重要的细胞周期监控激酶 CHK2 和 CHK1 磷酸化，从而活化一系列涉及细胞周期、

DNA 修复和基因组转录活性调控的下游效应蛋白，抑制细胞分裂，以防止损伤的染色体及其形成的有害突变遗传到子代细胞^[30]。

DDR 被认为是细胞衰老形成和维持所必需。 γ -H2AX 是组蛋白 H2A 家族中的一员 H2AX 的磷酸化形式。当细胞中发生 DNA 链断裂时，H2AX 被迅速磷酸化为 γ -H2AX，并且形成可以在荧光显微镜下清楚可辨的焦点。 γ -H2AX 焦点被认为是一种灵敏地检测 DNA 损伤的有效指标。端粒功能障碍可激活 DDR，进而 γ -H2AX 焦点形成，最终促发细胞衰老。FOXM1 是一种可以促进细胞增殖的转录因子。Baranski 等^[31]研究发现，正常的小鼠肝细胞中高水平的 FOXM1 与其他的癌基因蛋白一样，可能导致持续的 DNA 损伤和肝细胞衰老。Panda 等^[3]经体内实验诱导幼年小鼠肝细胞衰老后，检测发现肝细胞稳定表达 DDR 标志物。有 DNA 损伤焦点的大量衰老细胞很可能会出现于许多患病的有机体内。研究表明， γ -H2AX 焦点可以作为体内肝细胞衰老的可靠定量指标。Wang 等^[2]分析了年龄范围从 12~42 个月 C57B16 小鼠肝脏的 γ -H2AX 焦点数量，结果显示肝脏中含有 γ -H2AX 焦点的细胞数量随着衰老剧增。

3.3 氧化应激与肝细胞衰老

氧化应激，即细胞内的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 超过其抗氧化能力时的状态，是目前较为普遍接受的细胞衰老的外在诱因。氧化应激通过多种途径引起细胞衰老，其中包括 DDR 途径。高浓度的 ROS 可破坏 DNA 结构，激活 ATM 激酶活性，促进受损 DNA 附近组蛋白 H2AX 的磷酸化，上调 p53/p21 的活性，引发细胞衰老；或者直接调控衰老相关信号通路，促进细胞衰老的发生。氧化应激引发细胞衰老的各种途径都涉及 p53/p21 和 p16 基因表达的改变^[32]。Wang 等^[2]在研究小鼠肝细胞衰老时发现，在衰老小鼠肝脏中，暴露在更高水平的氧化应激下的肝小叶中央区域可优先找到 γ -H2AX 焦点阳性的细胞。由此可以推测，氧化应激依赖的细胞衰老是小鼠衰老的一个原因。

3.4 p53-p21-pRb 和 p16-pRb 信号通路激活

与细胞衰老相关的调控途径主要有两条：p53-p21-pRb 途径与 p16-pRb 途径，其中 p53 和 pRb 基因是两条调控途径的核心，在诱导与维持细胞衰老的进程中发挥重要作用^[33]。虽然 p53-p21 和 p16-pRb 信号通路存在相互调节，然而，这两条通路都可分别使细胞周期阻滞。

3.4.1 p53-p21-pRb信号通路上调与肝细胞衰老

p53 和 *p21* 基因分别定位于人类染色体 17p13.1 和 6p21.2, 编码抑癌蛋白 p53 和 CDK-I p21。细胞 DNA 损伤、原癌基因激活等可引起 p53 迅速上调, 促进下游效应蛋白 p21 的高表达, 抑制 CDK 及 Rb 蛋白的磷酸化, 使细胞不能进入 S 期, 最终导致细胞周期停滞, 引起细胞衰老。沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 是一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的去乙酰化酶。SIRT1 使 p53 蛋白去乙酰化并使其表达下调, 从而延缓细胞衰老。抵抗素是存在于血浆中的富含半胱氨酸的分泌性蛋白。抵抗素通过损伤肝细胞 SIRT1 功能诱导肝细胞衰老相关表型, 也可能在衰老相关肝脏疾病中发挥了重要作用^[34]。

Menthen 等^[35] 研究发现, 衰老肝细胞 p21 和 p15INK4b 表达水平明显增加。研究表明, 酒精性肝病 (alcohol-related liver disease, ALD) 患者存在肝细胞衰老和永久性的细胞周期阻滞, 受损的肝细胞细胞周期阻滞于 G₁/S 期。Aravinthan 等^[36] 研究发现, 肝细胞表达衰老标志物 p21 与肝纤维化和不良临床预后密切相关。测量肝细胞 p21 表达水平可以作为临床脂肪性肝病预后标志, 也可能成为一个潜在的干预治疗靶点。

3.4.2 p16-pRb信号通路上调与肝细胞衰老

促发 DNA 损伤反应的信号也可以活化 p16-pRb 信号通路。尽管端粒功能障碍也可以诱导 p16 表达, 但是 p16 表达主要反映了环境压力。人类 p16 蛋白由定位于 9p21 的 INK4a/ARF 基因编码, 其 N 端具有细胞周期蛋白 cyclin D 同源结构, 能与 cyclin D 竞争结合细胞周期依赖性蛋白激酶 4/6, 影响 pRB 蛋白的磷酸化^[37]。上调的 p16 使 pRB 蛋白转变为非活性形式的低磷酸化和去磷酸化状态, 低磷酸化的 pRB 与转录因子 E2F 结合, 使得 E2F 不能激活细胞周期必需的基因表达, 进而使细胞停滞于 G₀/G₁ 期, 无法进入 S 期从而启动染色体的复制以完成增殖活动, 继而启动细胞衰老^[17]。Serra 等^[4-5] 研究发现, 衰老肝细胞中 CDK-I p16、p21、p27 表达增加; 因为大多数衰老细胞都表达 p16, p16 因此可以用来鉴定衰老细胞^[38]。

4 肝细胞衰老与肝脏疾病

4.1 肝细胞衰老与慢性肝脏疾病

Aravinthan 等^[39] 研究发现, 肝细胞衰老与慢性肝脏疾病的纤维化进程和肝脏合成功能受损密切

相关。在肝纤维化区域, 各种原因导致肝细胞端粒明显缩短, 肝细胞进入衰老状态, 衰老的肝细胞可激活肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 等其他类型的细胞, 导致肝纤维化的加剧^[29]。衰老相关细胞分泌功能的改变会使肝内微环境发生变化, 进而通过反馈调节机制促进其他肝细胞启动衰老进程, 这意味着将有更多的衰老肝细胞参与到肝纤维化的发生与发展之中^[15]。

在西方国家, ALD 是肝脏相关死亡的一个主要原因。Aravinthan 等^[36] 研究表明, ALD 患者会出现肝细胞衰老和永久的细胞周期阻滞, 且肝细胞衰老和酒精性肝病肝纤维化程度与临床预后密切相关。然而, 2014 年, Wan 等^[14] 研究发现, 肝细胞衰老是酒精性肝病早期的一个保护机制。酒精所致脂肪肝和肝损伤早期阶段的机制包括炎症反应和氧化应激。炎症反应由枯否细胞向促炎的 M1 表型极化而启动。当促进枯否细胞向抗炎的 M2 表型极化时, 可以保护酒精所致的肝细胞脂肪变性和细胞凋亡, 其作用机理为 M2 型巨噬细胞通过炎症介质 IL-6 诱导肝细胞衰老, 具体表现为肝细胞 SA-β-Gal 活力增加, CDKN1A mRNA 表达水平提高, 细胞核内 p21 表达增加。衰老肝细胞表现出特征性的凋亡抵抗和脂肪变性抵抗。因此, 在酒精性肝病早期阶段靶向 M2 极化的药物干预可能成为一个极具吸引力的限制炎症、肝细胞凋亡和脂肪变性的方法。

非酒精性脂肪肝病模型也体现了衰老加速的特征, 如肝细胞再生受损和肝细胞性肝癌风险增加等。Aravinthan 等^[40] 研究了非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 衰老加速、疾病进展和临床预后的关系, 他们发现, NAFLD 患者肝细胞端粒比正常人要短; γ-H2AX 焦点数量增加; CDK-I p21 表达水平升高, 以及肝细胞阻滞于 G₁ 期。进一步分析发现, 肝细胞高表达 p21 和肝细胞核面积增加与肝纤维化程度一一对应, 并且其与糟糕的肝脏相关临床预后高度相关。肝细胞表达 p21 可以作为 NAFLD 患者临床预后指标。因此, 加强肝细胞衰老与肝纤维化的相关研究对抑制肝纤维化的发生与发展起着重要作用。

4.2 肝细胞衰老与肝癌

肝细胞衰老对于肝癌具有双刃剑式的调控作用。一方面, 肝细胞衰老抑制肝癌生长: 肝细胞衰老是抵抗肝细胞向肝癌细胞转化以及肝癌细胞恶化的一个关键机制。肝癌恶化过程中, p53-p21-pRb、p16-pRb、DNA 损伤等多条衰老信号通路活化启动

细胞衰老进程, 导致细胞增殖抑制, 由此抑制了肿瘤的生长和侵袭^[41]。同源异型盒转录因子 Prox1 在成人肝细胞中高表达。Chang 和 Hung^[42] 研究发现, Prox1 通过抑制 Twist 来促发 p53 依赖的肝癌细胞衰老, 从而抑制癌细胞增殖。Prox1 可以抑制肝细胞性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的增殖, 并且 Prox1 表达降低与 HCC 患者不良预后相关。因此, Prox1 有望成为 HCC 的潜在治疗靶点。

另一方面, 肝细胞衰老促进肝癌恶化: 衰老肝细胞产生和分泌各种生物活性分子, 包括白细胞介素、生长因子、基质降解酶和 ROS, 损害局部内环境, 刺激肿瘤的生长和侵袭^[16]。Marongiu 等^[43] 研究发现, 清除衰老的肝细胞可以延缓肝细胞性肝癌的发生。因此, 加强肝细胞衰老机制的研究, 对寻找肝癌防治的新思路有着重要意义。

5 肝细胞衰老与肝细胞移植

肝细胞衰老在肝细胞移植中有重要作用, 对肝细胞衰老的深入理解可以为肝细胞移植提供新思路。在延胡索酸乙酰水解酶缺乏的小鼠中, Wang 等^[7] 进行了连续的肝细胞移植实验, 发现持续增生的肝细胞可以避免衰老, 而且一直保持年轻的状态。连续移植后肝细胞中端粒酶的激活与衰老的逆转有关。此外, 来自于老龄小鼠的衰老肝细胞在持续移植后可以恢复活力, 完全恢复增殖的能力。在人肝细胞上也得到了相同的发现。连续移植后, 最初的高比例八倍体肝细胞减少, 与年轻肝脏的低水平相适应。逆转肝细胞衰老的发现使未来致力于肝脏衰老和细胞治疗的研究成为可能。

Serra 等^[4] 研究发现, 大鼠肝脏经射线辐照和肝部分切除术后以及用倒千里光碱 (RS) 预处理肝脏后^[5] 所致的体内肝细胞衰老和衰老相关分泌表型有利于移植肝细胞大量增殖。具体表现为肝细胞体积变大, 肝细胞 SA- β -gal 以及 CDK-I p21、p27、p16 和 p21 表达上调, DNA 损伤反应中持续激活的标志物、肝内细胞因子 IL-6 和 IL-1 α 表达显著增加, 而且射线辐照后接受肝部分切除术的大鼠衰老相关改变更加突出。但是 Zhu 等^[44] 研究发现, 老年患者半肝切除术后肝脏再生能力差可能与衰老相关基因, 如 p16 的上调, 和再生促进基因, 如 HGF 和 Met 的下调有关。

6 肝细胞衰老——潜在的治疗靶点

目前, 全世界许多国家正面临日趋严重的人口老龄化问题, 这无疑会带来严重的医疗和社会问题。

世界卫生组织数据显示, 衰老相关性疾病已成为人类死亡的重要因素, 而细胞衰老与多种衰老相关性疾病密切相关。目前的研究认为在端粒功能障碍、DNA 损伤、氧化应激和其他压力因素的诱导之下, 衰老相关基因和蛋白质与信号通路, 如 p53-p21-pRb、p16-pRb、SIRT1 等, 共同调节肝细胞的衰老进程。肝细胞衰老在肝纤维化、肝癌等多种肝脏疾病的发病进程和肝细胞移植效果中发挥着重要作用。因此, 加强肝细胞衰老与肝脏疾病的相关研究对抑制肝纤维化的发生、发展和寻找肝癌防治的新思路有着重要意义。此外, 逆转肝细胞衰老的发现使未来致力于肝脏衰老和细胞治疗的研究成为可能。

[参 考 文 献]

- [1] Rodier F, Campisi J. Four faces of cellular senescence. *J Cell Biol*, 2011, 192(4): 547-56
- [2] Wang C, Jurk D, Maddick M, et al. DNA damage response and cellular senescence in tissues of aging mice. *Aging Cell*, 2009, 8(3): 311-23
- [3] Panda S, Isbatan A, Adami GR. Modification of the ATM/ATR directed DNA damage response state with aging and long after hepatocyte senescence induction *in vivo*. *Mech Ageing Dev*, 2008, 129(6): 332-40
- [4] Serra MP, Marongiu F, Sini M, et al. Hepatocyte senescence *in vivo* following preconditioning for liver repopulation. *Hepatology*, 2012, 56(2): 760-8
- [5] Serra MP, Marongiu F, Sini M, et al. Hepatocyte senescence induced by radiation and partial hepatectomy in rat liver. *Int J Radiat Biol*, 2014, 90(10): 876-83
- [6] Schmucker DL. Age-related changes in liver structure and function: Implications for disease? *Exp Gerontol*, 2005, 40(8-9): 650-9
- [7] Wang MJ, Chen F, Li JX, et al. Reversal of hepatocyte senescence after continuous *in vivo* cell proliferation. *Hepatology*, 2014, 60(1): 349-61
- [8] Aini W, Miyagawa-Hayashino A, Ozeki M, et al. Accelerated telomere reduction and hepatocyte senescence in tolerated human liver allografts. *Transpl Immunol*, 2014, 31(2): 55-9
- [9] Schmucker DL. Hepatocyte fine structure during maturation and senescence. *J Electron Microscop Tech*, 1990, 14(2): 106-25
- [10] Gupta S. Hepatic polyploidy and liver growth control. *Semin Cancer Biol*, 2000, 10(3): 161-71
- [11] Kudryavtsev BN, Kudryavtseva MV, Sakuta GA, et al. Human hepatocyte polyploidization kinetics in the course of life cycle. *Virchows Arch B: Cell Pathol Incl Mol Pathol*, 1993, 64(6): 387-93
- [12] Ishigami A, Masutomi H, Handa S, et al. Age-associated decrease of senescence marker protein-30/gluconolactonase in individual mouse liver cells: Immunohistochemistry and immunofluorescence. *Geriatr Gerontol Int*, 2015, 15(6): 804-10
- [13] Aravinthan A, Verma S, Coleman N, et al. Vacuolation in hepatocyte nuclei is a marker of senescence. *J Clin Pathol*,

- 2012, 65(6): 557-60
- [14] Wan J, Benkdane M, Alons E, et al. M2 kupffer cells promote hepatocyte senescence: an IL-6-dependent protective mechanism against alcoholic liver disease. *Am J Pathol*, 2014, 184(6): 1763-72
- [15] Kuilman T, Michaloglou C, Vredeveld LC, et al. Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network. *Cell*, 2008, 133(6): 1019-31
- [16] Nelson G, Wordsworth J, Wang C, et al. A senescent cell bystander effect: senescence-induced senescence. *Aging Cell*, 2012, 11(2): 345-9
- [17] Campisi J, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(9): 729-40
- [18] Collado M, Serrano M. Senescence in tumours: evidence from mice and humans. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(1): 51-7
- [19] Lu W, Zhang Y, Liu D, et al. Telomeres-structure, function, and regulation. *Exp Cell Res*, 2013, 319(2): 133-41
- [20] Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*, 1990, 345(6274): 458-60
- [21] Zhao Y, Sfeir AJ, Zou Y, et al. Telomere extension occurs at most chromosome ends and is uncoupled from fill-in in human cancer cells. *Cell*, 2009, 138(3): 463-75
- [22] Calado RT, Young NS. Telomere diseases. *N Engl J Med*, 2009, 361(24): 2353-65
- [23] Falandry C, Bonnefoy M, Freyer G, et al. Biology of cancer and aging: a complex association with cellular senescence. *J Clin Oncol*, 2014, 32(24): 2604-10
- [24] d'Adda di Fagagna F. Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(7): 512-22
- [25] Aikata H, Takaishi H, Kawakami Y, et al. Telomere reduction in human liver tissues with age and chronic inflammation. *Exp Cell Res*, 2000, 256(2): 578-82
- [26] Takubo K, Nakamura K, Izumiyama N, et al. Telomere shortening with aging in human liver. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2000, 55(11): B533-6
- [27] Verma S, Tachtatzis P, Penrhyn-Lowe S, et al. Sustained telomere length in hepatocytes and cholangiocytes with increasing age in normal liver. *Hepatology*, 2012, 56(4): 1510-20
- [28] Djojusbrotto MW, Choi YS, Lee HW, et al. Telomeres and telomerase in aging, regeneration and cancer. *Mol Cells*, 2003, 15(2): 164-75
- [29] Wiemann SU, Satyanarayana A, Tshauridu M, et al. Hepatocyte telomere shortening and senescence are general markers of human liver cirrhosis. *FASEB J*, 2002, 16(9): 935-42
- [30] Niida H, Nakanishi M. DNA damage checkpoints in mammals. *Mutagenesis*, 2006, 21(1): 3-9
- [31] Baranski OA, Kalinichenko VV, Adami GR. Increased FOXM1 expression can stimulate DNA repair in normal hepatocytes *in vivo* but also increases nuclear foci associated with senescence. *Cell Prolif*, 2015, 48(1): 105-15
- [32] Gambino V, De Michele G, Venezia O, et al. Oxidative stress activates a specific p53 transcriptional response that regulates cellular senescence and aging. *Aging Cell*, 2013, 12(3): 435-45
- [33] Bennecke M, Kriegl L, Bajbouj M, et al. Ink4a/Arf and oncogene-induced senescence prevent tumor progression during alternative colorectal tumorigenesis. *Cancer Cell*, 2010, 18(2): 135-46
- [34] Yu A, Zheng Y, Zhang R, et al. Resistin impairs SIRT1 function and induces senescence-associated phenotype in hepatocytes. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 377(1-2): 23-32
- [35] Menthen A, Koehler CI, Sandhu JS, et al. Activin A, p15INK4b signaling, and cell competition promote stem/progenitor cell repopulation of livers in aging rats. *Gastroenterology*, 2011, 140(3): 1009-20
- [36] Aravinthan A, Pietrosi G, Hoare M, et al. Hepatocyte expression of the senescence marker p21 is linked to fibrosis and an adverse liver-related outcome in alcohol-related liver disease. *PLoS One*, 2013, 8(9): e72904
- [37] Jeong SW, Lee JS, Kim KW. *In vitro* lifespan and senescence mechanisms of human nucleus pulposus chondrocytes. *Spine J*, 2014, 14(3): 499-504
- [38] Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, et al. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *J Clin Invest*, 2004, 114(9): 1299-307
- [39] Aravinthan A, Shannon N, Heaney J, et al. The senescent hepatocyte gene signature in chronic liver disease. *Exp Gerontol*, 2014, 60: 37-45
- [40] Aravinthan A, Scarpini C, Tachtatzis P, et al. Hepatocyte senescence predicts progression in non-alcohol-related fatty liver disease. *J Hepatol*, 2013, 58(3): 549-56
- [41] Finkel T, Serrano M, Blasco MA. The common biology of cancer and ageing. *Nature*, 2007, 448(7155): 767-74
- [42] Chang TM, Hung WC. The homeobox transcription factor Prox1 inhibits proliferation of hepatocellular carcinoma cells by inducing p53-dependent senescence-like phenotype. *Cancer Biol Ther*, 2013, 14(3): 222-9
- [43] Marongiu F, Serra MP, Sini M, et al. Clearance of senescent hepatocytes in a neoplastic-prone microenvironment delays the emergence of hepatocellular carcinoma. *Aging*, 2014, 6(1): 26-34
- [44] Zhu C, Ikemoto T, Utsunomiya T, et al. Senescence-related genes possibly responsible for poor liver regeneration after hepatectomy in elderly patients. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(5): 1102-8