

DOI: 10.13376/j.cblls/2023057

文章编号: 1004-0374(2023)04-0486-07

间充质干细胞衰老基础的研究进展

周晓宇^{1,2}, 王维莉¹, 高力扬^{1,3*}

(1 宁夏大学西部特色生物资源保护与利用教育部重点实验室, 银川 750021; 2 中科宝承生物医学科技有限公司, 银川 750000; 3 宁夏大学生命科学学院, 银川 750021)

摘要: 间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是再生医学领域和组织工程领域研究应用最广泛的成体干细胞。MSCs 不仅随着机体的衰老而衰老, 而且 MSCs 的衰老也被认为是引起机体衰老的主要原因, 是许多衰老相关退行性疾病的重要诱因。干细胞治疗的发展为衰老相关疾病的治疗带来了新的方向, 然而体外扩增过程中供体细胞容易出现衰老, 影响治疗效果, 制约临床发展与应用。因此, 该文针对 MSCs 衰老基础研究进行综述, 为加快 MSCs 临床转化提供参考。

关键词: 间充质干细胞; 细胞衰老; 退行性疾病; 衰老检测

中图分类号: R329.25

文献标志码: A

Advances in basic research on senescence of mesenchymal stem cells

ZHOU Xiao-Yu^{1,2}, WANG Wei-Li¹, GAO Li-Yang^{1,3*}

(1 Key Laboratory of Ministry of Education for Conservation and Utilization of Special Biological Resources in the Western China, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2 ZKBC Biomedical Technology CO., LTD., Yinchuan 750000, China; 3 College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: Mesenchymal stem cells (MSCs) are widely used in regenerative medicine and tissue engineering. Senescence of MSCs is closely related to the aging of the body and many aging-related degenerative diseases. The development of stem cell therapy has brought a new direction for the treatment of aging-related diseases. However, donor cells are prone to senescence after multiple passages *in vitro*, which affects the therapeutic effect and restricts clinical development and application. Therefore, the basic studies on senescence of MSCs are reviewed to provide reference for accelerating the clinical transformation of MSCs.

Key words: mesenchymal stem cells; cell senescence; degenerative diseases; senescence detection

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 是一类源于中胚层、具有自我更新和多向分化能力的成体干细胞。目前 MSCs 作为一种“药物”已广泛用于新冠肺炎^[1]、慢性阻塞性肺病^[2]、肺损伤修复^[3]及骨科疾病^[4]等多种疾病的治疗。细胞移植需要体外扩大培养 MSCs, 然而体外培养的 MSCs 也会出现衰老而导致治疗作用下降。例如在 MSCs 培养过程中, 经常可以观察到传代次数较多的 MSCs 增殖速率下降、细胞形态发生变化、细胞体积变大等现象^[5]。因此, 我们回顾了近年来 NCBI 收录的 MSCs 衰老相关文献, 并从干细胞衰老概念、干细胞衰老内在及外在因素、干细胞衰老相关疾病

及衰老干细胞检测等方面进行综述。

1 干细胞衰老

人口老龄化及衰老相关疾病的高发是全世界共同面临的重大社会问题。2023年, López-Otín等^[6]完善了衰老的标志, 由十年前的9大标志新增至12个, 分别是: (1) 营养感应失调; (2) 蛋白质稳态失衡; (3) 基因组不稳定; (4) 线粒体功能障碍;

收稿日期: 2022-07-07; 修回日期: 2022-10-06

基金项目: 宁夏重点研发计划项目(2018BFH030)

*通信作者: E-mail: pandarun@nxu.edu.cn; Tel: 15622097174

(5) 端粒缩短; (6) 表观遗传学改变; (7) 细胞间通讯改变; (8) 细胞衰老; (9) 干细胞衰竭; (10) 慢性炎症; (11) 生态失调 (菌群失调); (12) 巨噬失活。人体内各种成体干细胞也存在衰老现象, 通常表现出衰老组织的稳定和再生能力逐渐下降, 也表现为机体衰老干细胞数量增加、微环境改变及功能性干细胞减少^[7-9]。因此, 避免组织器官中干细胞池耗竭、维持干细胞池中功能干细胞的数量对延缓机体衰老有重要意义。

1.1 干细胞衰老的内在影响因素

体内干细胞衰老可能由以下因素引起: (1) DNA 损伤修复缺陷, 干细胞的长期生存容易受到积累的 DNA 损伤的影响, 最终导致细胞死亡、衰老或丧失再生功能^[10-12]。例如基因组 DNA 修复缺陷会导致早衰综合征^[13]; (2) 体内微环境的变化, 体内微环境的改变引起干细胞增殖活性及分化潜能发生变化^[14]; (3) IL-6、IL-8、TGF- β 、VEGF 和 CCL2 等炎症因子和趋化因子^[15]的影响; (4) 氧化应激的诱导^[16]; (5) 干细胞表观遗传学改变^[17-18]。

1.1.1 ROS 相关通路与干细胞衰老

ROS 和随之而来的氧化应激是衰老的基础, 能够导致 DNA 损伤、蛋白质损伤和线粒体功能障碍, 从而引发衰老的内在过程, 包括组蛋白去乙酰化酶 (HDAC)^[19] 和 DNA 甲基化转移酶 (DNMT)^[20] 的变化、端粒和端粒酶的失衡^[21]、基因表达、分泌表型以及信号通路的改变。高水平的 ROS 可以通过激活 MAPK/P38 通路促进造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 衰老, 反之较低水平的胞内 ROS 则能通过抑制凋亡来促进 HSCs 生长^[22]。通常来讲, 细胞内 ROS 的异常升高与线粒体功能障碍有直接关系, 高水平的 ROS 对线粒体进一步产生损害, 形成恶性循环^[23], 打破了人 HSCs 需要依靠低水平 ROS 维持的静息状态, 使之提前损耗^[13]。当 HSCs 暴露于 IL-1 β ^[24]、TNF- α ^[25]、IL-6^[26] 和 TGF- β ^[27] 等炎症因子中时, 可因微环境的改变进而影响其细胞内 ROS 的产生, 从而引起增殖能力降低和功能受损。ROS 的另一主要来源是 NADPH 氧化酶 NOX 家族, 该家族是维持氧化还原状态的关键因素, NOX 的激活可以促进 ROS 的升高从而促进大鼠 MSCs 向神经元样细胞分化^[28]。综上所述, ROS 表达水平对干细胞的增殖、分化及凋亡起到关键的调节作用, ROS 可以作为 MSCs 氧化还原及代谢稳态的效应器和调节剂, 因此在未来可以作为对抗衰老的一个研究方向。

1.1.2 lncRNA 对干细胞衰老的影响

非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 尤其是长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 在 MSCs 衰老中的作用是目前研究的一个热点, 能为 MSCs 衰老引发的疾病提供治疗思路。研究人员通过对小鼠及人类的年轻和老年群体基因微阵列比对发现, lncRNA BMNCR 在骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 衰老过程中表达显著降低; 并且发现小鼠和人衰老后表现出的 lncRNA BMNCR 下调主要由氧化应激引起, 同时 lncRNA BMNCR 基因敲除小鼠的 BMSCs 成骨相关基因下调, 成脂相关基因上调, 表现出骨质流失和脂肪堆积, 表明 lncRNA BMNCR 是 BMSCs 年龄相关成骨生态位改变的关键调节因子^[29]。另一研究显示, 在衰老的 BMSCs 中, lncRNA NEAT 表达上调, 通过海绵化 miR-27b-3p 上调 BNIP3L、BMP2K 和 PPARG 蛋白的表达, 从而影响 BMSCs 的骨脂分化平衡^[30]。小鼠 lncRNA NEAT1 基因的敲除导致神经元中 H3K9me2 的下调, 从而导致神经元中海马依赖性记忆相关基因 c-Fos 表达增加, 因此老年小鼠神经元中 lncRNA NEAT1 表达明显上调制约了海马依赖性记忆的形成^[31]。综上所述, lncRNA 与 MSCs 衰老密切相关, 并且随着近年来对 lncRNA 与干细胞衰老的深入研究, 陆续发现了与衰老相关的众多 lncRNA, 并且涉及诸多信号通路与转录因子 (表 1)。

1.1.3 细胞内信号转导与衰老的调控

衰老状态主要特征是持久的细胞周期停滞, 细胞周期蛋白依赖性激酶 (CDK) 抑制剂 p21^{CIP1/WAF1} 和 p16^{INK4A} 的激活对于衰老相关的细胞周期停滞至关重要^[37]。在系统性红斑狼疮 (SLE) 患者 BMSCs 衰老机制的两项研究中发现, SLE 患者的 BMSCs 中 p53、p21^{CIP1/WAF} 和 p16^{INK4A} 的表达增加, 而 CDK2、CDK4、CDK6 和 p-Rb 的表达降低, 并且 p21^{CIP1/WAF} 与 p16^{INK4A} 的敲低均可逆转 SLE 患者的 BMSCs 的衰老, 说明 p53/p21^{CIP1/WAF} 和 p16^{INK4A}/Rb 通路在 SLE 患者 BMSCs 的衰老中起重要作用; 而 ERK1/2 的抑制逆转了 p16^{INK4A} 被敲低后所恢复的衰老状态, 表明 ERK1/2 通路参与了 p16^{INK4A} 介导的 SLE 患者 BMSCs 的衰老^[38-39]。另外, 多项研究表明 NF- κ B^[40]、Nrf2^[41]、Notch^[42] 等相关分子均通过调节细胞周期参与 MSCs 的衰老过程。

自噬被认为是 MSCs 抵抗应激的一种细胞保护机制, 自噬功能障碍会损害 MSCs 的功能^[43]。自噬受许多信号通路调节, 例如单磷酸腺苷活化蛋白

表1 衰老相关lncRNA及其调节机制

lncRNA	干细胞类型	衰老调节机制	参考文献
BMNCR	骨髓间充质干细胞	下调, 促进脂肪生成, 抑制成骨分化	[29]
NEAT1	骨髓间充质干细胞	上调, 促进BNIP3L、BMP2K 和 PPARG 的表达, 影响骨脂分化平衡	[30]
LYPLAL1-AS1	脂肪间充质干细胞	下调, 负调控miR-let-7b 的表达, 促进细胞衰老	[32]
Xist	骨髓间充质干细胞	下调, 作为 miR-19a-3p 的功能海绵来调节 BMSCs 中 Hoxa5 的表达, 抑制成骨分化	[33]
LINC01255	人脐带间充质干细胞	上调, 联合BMI1通过抑制MCP-1转录调控细胞衰老	[34]
p21	骨髓间充质干细胞	上调, 调控Wnt/ β -catenin信号通路引起细胞衰老	[35]
CYP7A1-1	骨髓间充质干细胞	上调, 抑制细胞骨架相关基因SYNE1的表达, 促进细胞衰老	[36]

激酶 (AMPK) 和磷酸肌醇 3 激酶 (PI3K)/AKT 通路, 这两条信号通路交汇于自噬负调节剂哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 上^[44]。缺氧预处理的 MSCs 表现出 AMPK/mTOR 信号激活、自噬增强及促血管生成效果改善^[45]; 另外, 抑制 mTOR 的激活可以通过调节 ROS-p53 通路促进 BMSCs 的成骨分化, 在骨骼重塑中起关键作用^[46]。

研究发现内源性 Rho 是维持干细胞间接触所必需的, 起到调控干细胞分化和维持多潜能性的作用^[47]。目前大多数研究集中于哺乳动物的 22 种 Rho 蛋白, 包括 RHO、RAC、CDC42、RND 等家族蛋白, 其功能涉及细胞-细胞黏附、微管动力学、囊泡运动、细胞周期进程^[48]。RhoA 已被证明通过控制 Th2 或 Th17 细胞分化来调节过敏性气道炎症, RhoA/Rho 激酶信号的激活诱导 MSCs 分化为成纤维细胞或肌成纤维细胞促进气道重塑, 为哮喘的治疗提供了新的靶点^[49]。在老年雄性大鼠脂肪间充质干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cells, ADMSCs) 中, Cdc42 水平明显升高, CASIN (一个选择性的 GTPase Cdc42 的抑制剂) 对 Cdc42 的抑制显著改善了老年雄性大鼠 ADMSCs 的成脂分化能力, 有效降低了 ROS 产生, 在一定程度上提高了细胞增殖能力, 表明 Cdc42 参与了雄性大鼠 ADMSCs 的衰老过程^[50]。

1.2 影响干细胞衰老的外在因素

体内 MSCs 处于半静止状态, 因此复制衰老不太可能是体内 MSCs 衰老的主要原因, 更重要的影响因素是微环境和激素条件^[51]。每个组织的 MSCs 生态位由一组独特的细胞外基质 (ECM) 蛋白组成, 用以调节 MSCs 自我更新, 指导组织修复和分化, 防止细胞库衰竭或肿瘤形成。研究表明, 年轻小鼠骨髓细胞产生的 ECM 能够有效恢复老年 MSCs 的增殖能力, 表现出高水平的端粒酶活性和 ATP 活性,

且促进了 MSCs 的骨形成能力, 一定程度上逆转了 MSCs 的衰老^[52]。MSCs 的功能与一些年龄相关的激素有关, 雌激素和睾酮可以促进 MSCs 的增殖和迁移并保持其多潜能性^[53-54]。

随着年龄的增长, 衰老细胞在组织中逐渐积累, 显示衰老相关的分泌表型 (senescence associated secretory phenotype, SASP), 通过非细胞自主机制促进衰老和组织稳态的丧失^[55]。已知 SASP 是衰老细胞实现细胞间信息传递的手段, 目前 SASP 可分为经典胞间通讯和非经典胞间通讯两种类型^[20]。经典衰老细胞间通讯主要通过衰老细胞释放的可溶性因子 (sSASP) 介导, 包括 IL-1 α 、IL-6、IL-8、TGF- β 等。sSASP 可通过诱导 DNA 持续损伤或者诱导发生 DNA 损伤的细胞中通过染色质片段 (CCFs) 激活 STING 通路和抗病毒环状 GMP-AMP 合酶 (cGAS), 进一步诱导 sSASP 的产生。除此之外, NF- κ B、C/EBP β 及 p38/MAPK 等细胞信号通路也被发现可以调控 sSASP 的产生^[56-57]。近年来通过对细胞外囊泡 (EVs) 的研究新发现了一种引发衰老的经典胞间通讯方式, 即通过衰老细胞释放的 EVs 中所携带的 DNA、RNA、蛋白质等物质诱发正常细胞衰老。例如通过衰老和年轻 MSCs 分泌的 EVs 对急性肺损伤的治疗效果评估发现, 衰老组的抗炎效果差, 这很可能与 EVs 中几种存在表达水平差异的 miRNA 有关^[58]。非经典衰老细胞间通讯是一种依赖受体与配体结合的邻近细胞间的通讯方式, 在这个过程中, IL-1 α 是主要调控因子。也有研究发现衰老细胞通过胞质联通交换物质, 这一方式也称为细胞桥, RNA、蛋白质、细胞器等都可以通过细胞桥在细胞之间交换, 实现信号转导^[57]。

2 干细胞衰老与疾病发生

干细胞的衰老是机体衰老和功能障碍的重要驱

动因素, 与多种疾病的发生密切相关。

2.1 干细胞衰老与慢性阻塞性肺病

肺泡上皮细胞的修复及稳态细胞的更新都取决于肺泡上皮干细胞, 而肺泡上皮细胞是一个连续的细胞片, 从鼻腔通过气道延伸至肺泡, 根据部位的不同, 常驻的干细胞也不同, 因此肺部拥有一个完备的肺泡上皮干细胞群^[59-62]。当人体暴露在如吸烟、粉尘或者有害化学物质中时, 通常会引发慢性阻塞性肺病。研究发现吸烟能够引起肺泡上皮的复发性损伤, 这主要是由于烟雾中的有害物质破坏了细胞间接触, 引起了DNA损伤, 诱发了慢性炎症和免疫细胞浸润, 最终导致肺泡干细胞衰竭和分化缺陷^[63-64], 说明干细胞衰老很可能在慢性阻塞性肺病的发病中起至关重要的作用。

2.2 干细胞衰老与神经受损

在包括人类在内的脊柱动物的大脑中, 神经干细胞(neural stem cell, NSC)在整个生命过程中都会产生神经元和神经胶质细胞, 随着年龄的增加或者外部因素(如辐射)的影响引起的NSC衰老或早衰就会导致神经退行性疾病或记忆和认知障碍。脑肿瘤患者在接受放疗过程中其NSC不可避免会受到伽马射线的辐射, 为了评估射线在短期和长期对神经干细胞的影响, 通过对射线辐射处理小鼠的多能神经干细胞(RGL)和扩增神经祖细胞(ANP)标记后检测发现, 处于分裂期中的RGL和ANP暴露于伽马射线24h后大部分都发生了细胞周期停滞, 存活的细胞分裂能力也大幅下降, 尽管2个月后干细胞池中RGL和ANP总数均与对照小鼠无显著差异, 干细胞生态位也达到正常水平, 但是新生的神经元数量并没有增加, 这种缺陷导致6个月后神经元损失显著, 表明辐射后NSC受损发生早衰, 其增殖能力和分化能力大幅下降^[65]。

2.3 干细胞衰老与其他疾病

在特发性肺纤维化患者中可观察到MSCs的衰老、线粒体功能下降及DNA损伤等^[66];此外, MSCs的衰老还可能是导致骨髓增生异常综合征转化为白血病的重要原因^[67]。系统性红斑狼疮患者体内的BMSCs表现出形态肥大和 β -半乳糖苷酶活性增强的典型衰老症状^[68], 并且通过同种异体BMSCs移植能够有效缓解症状^[69], 提示BMSCs的衰老参与了系统性红斑狼疮的产生。

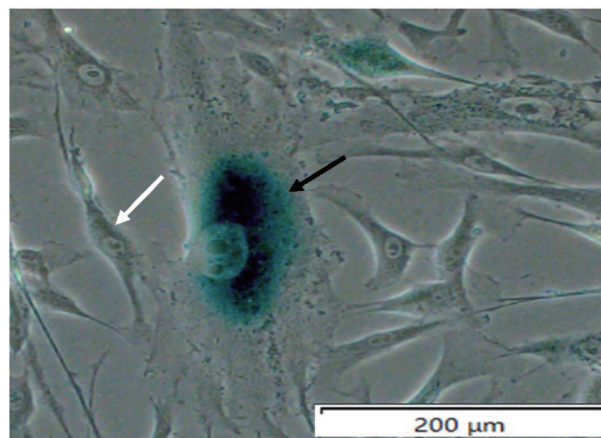
3 目前体外培养MSCs常用的衰老相关检测指标

正常培养MSCs形态均一, 属于成纤维细胞型

贴壁细胞, 呈平行或涡旋状均匀贴于皿底, 有明显的较大的细胞核, 也可见到多角形细胞^[70-71]。在分子水平上, MSCs高水平表达CD73、CD90、CD105、CD54、CD13、CD29, 不表达CD34、CD45、CD14、CD33等表面标志物^[72], 因此CD105、CD90、CD73通常作为检测MSCs质量的标志物用于质控。一些研究表明, 多能性相关因子Nanog、Oct4、Sox2的表达随着培养时间的增长而降低, MSCs多潜能性降低影响了细胞增殖与分化, 对MSCs衰老检测也有指导性意义^[73-74]。在形态学上, 衰老MSCs胞体增大, 形态不规则, 并表达一种衰老相关的 β -半乳糖苷酶, 因此 β -半乳糖苷酶活性检测成为了一种MSCs衰老检测的手段, 可通过染色结果判断细胞的衰老情况(图1)。

4 展望

自21世纪以来, 干细胞技术在再生医学领域大放异彩。根据国家卫生健康委员会发布的答复, 截至2021年12月, 按照干细胞临床研究机制和项目双备案管理机制, 全国已备案机构111家, 已备案项目共计99个, 并有研究项目陆续结束。所备案项目涉及多种疾病, 包括心脑血管疾病、骨科疾病、神经系统疾病、妇产科疾病、呼吸系统疾病、肝病、皮肤病、风湿免疫病、糖尿病、眼科疾病、口腔、炎症性疾病、烧伤和血液疾病。干细胞研究和转化问题多次在国民经济和社会发展五年计划建议中被提出, 国家加大了对干细胞及转化研究的支持力度, 各部门也在逐步建立、健全干细胞领域立



注:黑色箭头所指为被染成蓝色的衰老人脐带间充质干细胞, 显示 β -半乳糖苷酶阳性;白色箭头所指为正常人脐带间充质干细胞。

图1 β -半乳糖苷酶染色检测人脐带间充质干细胞衰老

法和完善监管体系。MSCs 作为干细胞治疗的领头羊, 探究 MSCs 衰老对衰老相关疾病的预防和治疗以及干细胞技术的发展和临床转化至关重要。现阶段细胞衰老检测手段单一且没有形成完备的检测体系, 不利于临床应用的安全性和有效性监管。笔者相信, 随着国家的大力支持和科研工作者的努力, 干细胞临床转化的法律法规颁布和完善的治疗体系正渐行渐近。

[参 考 文 献]

- [1] Rogers CJ, Harman RJ, Bunnell BA, et al. Rationale for the clinical use of adipose-derived mesenchymal stem cells for COVID-19 patients. *J Transl Med*, 2020, 18: 203
- [2] Le Thi Bich P, Nguyen Thi H, Dang Ngo Chau H, et al. Allogeneic umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation for treating chronic obstructive pulmonary disease: a pilot clinical study. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 60
- [3] Zhao F, Ma Q, Yue Q, et al. SARS-CoV-2 infection and lung regeneration. *Clin Microbiol Rev*, 2022, 35: e0018821
- [4] Malekpour K, Hazrati A, Zahar M, et al. The potential use of mesenchymal stem cells and their derived exosomes for orthopedic diseases treatment. *Stem Cell Rev Rep*, 2022, 18: 933-51
- [5] 曹洋嘉, 彭雪梅, 张英驰, 等. 体外培养对间充质干细胞生物学功能的影响. *中国细胞生物学学报*, 2022, 44: 10-5
- [6] Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, et al. Hallmarks of aging: an expanding universe. *Cell*, 2023, 186: 243-78
- [7] Clemot M, Senos Demarco R, Jones DL. Lipid mediated regulation of adult stem cell behavior. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 115
- [8] Florian MC, Klose M, Sacma M, et al. Aging alters the epigenetic asymmetry of HSC division. *PLoS Biol*, 2018, 16: e2003389
- [9] Boyette LB, Tuan RS. Adult stem cells and diseases of aging. *J Clin Med*, 2014, 3: 88-134
- [10] Rodier F, Coppe JP, Patil CK, et al. Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat Cell Biol*, 2009, 11: 973-9
- [11] Maynard S, Fang EF, Scheibye-Knudsen M, et al. DNA damage, DNA repair, aging, and neurodegeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2015, 5: a025130
- [12] McNeely T, Leone M, Yanai H, et al. DNA damage in aging, the stem cell perspective. *Hum Genet*, 2020, 139: 309-31
- [13] Jang YY, Sharkis SJ. A low level of reactive oxygen species selects for primitive hematopoietic stem cells that may reside in the low-oxygenic niche. *Blood*, 2007, 110: 3056-63
- [14] Ho YH, Mendez-Ferrer S. Microenvironmental contributions to hematopoietic stem cell aging. *Haematologica*, 2020, 105: 38-46
- [15] Verovskaya EV, Dellorusso PV, Passegue E. Losing sense of self and surroundings: hematopoietic stem cell aging and leukemic transformation. *Trends Mol Med*, 2019, 25: 494-515
- [16] Chen F, Liu Y, Wong NK, et al. Oxidative stress in stem cell aging. *Cell Transplant*, 2017, 26: 1483-95
- [17] Cakouros D, Gronthos S. Epigenetic regulation of bone marrow stem cell aging: revealing epigenetic signatures associated with hematopoietic and mesenchymal stem cell aging. *Aging Dis*, 2019, 10: 174-89
- [18] Beerman I, Rossi DJ. Epigenetic control of stem cell potential during homeostasis, aging, and disease. *Cell Stem Cell*, 2015, 16: 613-25
- [19] Jung JW, Lee S, Seo MS, et al. Histone deacetylase controls adult stem cell aging by balancing the expression of polycomb genes and jumoni domain containing 3. *Cell Mol Life Sci*, 2010, 67: 1165-76
- [20] So AY, Jung JW, Lee S, et al. DNA methyltransferase controls stem cell aging by regulating BMI1 and EZH2 through microRNAs. *PLoS One*, 2011, 6: e19503
- [21] Robinson H, Ali SI, Diaz-Hernandez ME, et al. Telomere attrition in induced pluripotent stem cell-derived neurons from ALS/FTD-related C9ORF72 repeat expansion carriers. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10: 874323
- [22] Mejia-Ramirez E, Florian MC. Understanding intrinsic hematopoietic stem cell aging. *Haematologica*, 2020, 105: 22-37
- [23] Mu WC, Ohkubo R, Widjaja A, et al. The mitochondrial metabolic checkpoint in stem cell aging and rejuvenation. *Mech Ageing Dev*, 2020, 188: 111254
- [24] Frisch BJ, Hoffman CM, Latchney SE, et al. Aged marrow macrophages expand platelet-biased hematopoietic stem cells via interleukin-1B. *JCI Insight*, 2019, 5: e124213
- [25] He H, Xu P, Zhang X, et al. Aging-induced IL27Ra signaling impairs hematopoietic stem cells. *Blood*, 2020, 136: 183-98
- [26] Ho YH, Del Toro R, Rivera-Torres J, et al. Remodeling of bone marrow hematopoietic stem cell niches promotes myeloid cell expansion during premature or physiological aging. *Cell Stem Cell*, 2019, 25: 407-18 e6
- [27] Valletta S, Thomas A, Meng Y, et al. Micro-environmental sensing by bone marrow stroma identifies IL-6 and TGFβ1 as regulators of hematopoietic ageing. *Nat Commun*, 2020, 11: 4075
- [28] Wang N, Xie K, Huo S, et al. Suppressing phosphatidylcholine-specific phospholipase C and elevating ROS level, NADPH oxidase activity and Rb level induced neuronal differentiation in mesenchymal stem cells. *J Cell Biochem*, 2007, 100: 1548-57
- [29] Li CJ, Xiao Y, Yang M, et al. Long noncoding RNA Bmncr regulates mesenchymal stem cell fate during skeletal aging. *J Clin Invest*, 2018, 128: 5251-66
- [30] Zhang H, Xu R, Li B, et al. LncRNA NEAT1 controls the lineage fates of BMSCs during skeletal aging by impairing mitochondrial function and pluripotency maintenance. *Cell Death Differ*, 2022, 29: 351-65
- [31] Butler AA, Johnston DR, Kaur S, et al. Long noncoding

- RNA NEAT1 mediates neuronal histone methylation and age-related memory impairment. *Sci Signal*, 2019, 12: eaaw9277
- [32] Yang Y, Liu S, He C, et al. LncRNA LYPLAL1-AS1 rejuvenates human adipose-derived mesenchymal stem cell senescence via transcriptional MIRLET7B inactivation. *Cell Biosci*, 2022, 12: 45
- [33] Chen S, Li Y, Zhi S, et al. lncRNA Xist regulates osteoblast differentiation by sponging miR-19a-3p in aging-induced osteoporosis. *Aging Dis*, 2020, 11: 1058-68
- [34] Liu Q, Dong J, Li J, et al. LINC01255 combined with BMI1 to regulate human mesenchymal stromal senescence and acute myeloid leukemia cell proliferation through repressing transcription of MCP-1. *Clin Transl Oncol*, 2021, 23: 1105-16
- [35] Xia W, Zhuang L, Deng X, et al. Long noncoding RNA p21 modulates cellular senescence via the Wnt/ β catenin signaling pathway in mesenchymal stem cells. *Mol Med Rep*, 2017, 16: 7039-47
- [36] Dong J, Liu J, Wen Y, et al. Down-regulation of Lnc-CYP7A1-1 rejuvenates aged human mesenchymal stem cells to improve their efficacy for heart repair through SYNE1. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 600304
- [37] Weng Z, Wang Y, Ouchi T, et al. Mesenchymal stem/stromal cell senescence: hallmarks, mechanisms, and combating strategies. *Stem Cells Transl Med*, 2022, 11: 356-71
- [38] Gu Z, Jiang J, Tan W, et al. p53/p21 pathway involved in mediating cellular senescence of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from systemic lupus erythematosus patients. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013: 134243
- [39] Gu Z, Cao X, Jiang J, et al. Upregulation of p16INK4A promotes cellular senescence of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from systemic lupus erythematosus patients. *Cell Signal*, 2012, 24: 2307-14
- [40] Goyal U, Ta M. p53-NF- κ B crosstalk in febrile temperature-treated human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*, 2019, 28: 56-68
- [41] Kubben N, Zhang W, Wang L, et al. Repression of the antioxidant NRF2 pathway in premature aging. *Cell*, 2016, 165: 1361-74
- [42] Tian Y, Xu Y, Xue T, et al. Notch activation enhances mesenchymal stem cell sheet osteogenic potential by inhibition of cellular senescence. *Cell Death Dis*, 2017, 8: e2595
- [43] Oliver L, Hue E, Priault M, et al. Basal autophagy decreased during the differentiation of human adult mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*, 2012, 21: 2779-88
- [44] Jung CH, Ro SH, Cao J, et al. mTOR regulation of autophagy. *FEBS Lett*, 2010, 584: 1287-95
- [45] Liu J, Hao H, Huang H, et al. Hypoxia regulates the therapeutic potential of mesenchymal stem cells through enhanced autophagy. *Int J Low Extrem Wounds*, 2015, 14: 63-72
- [46] Ma Y, Qi M, An Y, et al. Autophagy controls mesenchymal stem cell properties and senescence during bone aging. *Aging Cell*, 2018, 17: e12709
- [47] Zhang Z, Liu M, Zheng Y. Role of Rho GTPases in stem cell regulation. *Biochem Soc Trans*, 2021, 49: 2941-55
- [48] Vega FM, Ridley AJ. SnapShot: Rho family GTPases. *Cell*, 2007, 129: 1430
- [49] Zhang Y, Saradna A, Ratan R, et al. RhoA/Rho-kinases in asthma: from pathogenesis to therapeutic targets. *Clin Transl Immunol*, 2020, 9: e01134
- [50] Umbayev B, Masoud AR, Tsoy A, et al. Elevated levels of the small GTPase Cdc42 induces senescence in male rat mesenchymal stem cells. *Biogerontology*, 2018, 19: 287-301
- [51] Ganguly P, El-Jawhari JJ, Giannoudis PV, et al. Age-related changes in bone marrow mesenchymal stromal cells: a potential impact on osteoporosis and osteoarthritis development. *Cell Transplant*, 2017, 26: 1520-9
- [52] Sun Y, Li W, Lu Z, et al. Rescuing replication and osteogenesis of aged mesenchymal stem cells by exposure to a young extracellular matrix. *FASEB J*, 2011, 25: 1474-85
- [53] Mihai MC, Popa MA, Suica VI, et al. Proteomic analysis of estrogen-mediated enhancement of mesenchymal stem cell-induced angiogenesis *in vivo*. *Cells*, 2021, 10: 2181
- [54] Corotchi MC, Popa MA, Simionescu M. Testosterone stimulates proliferation and preserves stemness of human adult mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells. *Rom J Morphol Embryol*, 2016, 57: 75-80
- [55] Robbins PD. Extracellular vesicles and aging. *Stem Cell Investig*, 2017, 4: 98
- [56] Yin Y, Chen H, Wang Y, et al. Roles of extracellular vesicles in the aging microenvironment and age-related diseases. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10: e12154
- [57] Fafian-Labora JA, O'Loughlen A. Classical and nonclassical intercellular communication in senescence and ageing. *Trends Cell Biol*, 2020, 30: 628-39
- [58] Huang R, Qin C, Wang J, et al. Differential effects of extracellular vesicles from aging and young mesenchymal stem cells in acute lung injury. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11: 7996-8014
- [59] Boers JE, Ambergen AW, Thunnissen FB. Number and proliferation of basal and parabasal cells in normal human airway epithelium. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 157: 2000-6
- [60] Hegab AE, Ha VL, Darmawan DO, et al. Isolation and *in vitro* characterization of basal and submucosal gland duct stem/progenitor cells from human proximal airways. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1: 719-24
- [61] McCauley KB, Hawkins F, Kotton DN. Derivation of epithelial-only airway organoids from human pluripotent stem cells. *Curr Protoc Stem Cell Biol*, 2018, 45: e51
- [62] Song H, Yao E, Lin C, et al. Functional characterization of pulmonary neuroendocrine cells in lung development, injury, and tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 17531-6
- [63] Kumar M, Seeger W, Voswinckel R. Senescence-associated secretory phenotype and its possible role in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Cell*

- Mol Biol, 2014, 51: 323-33
- [64] Heijink IH, Brandenburg SM, Postma DS, et al. Cigarette smoke impairs airway epithelial barrier function and cell-cell contact recovery. *Eur Respir J*, 2012, 39: 419-28
- [65] Mineyeva OA, Bezriadnov DV, Kedrov AV, et al. Radiation induces distinct changes in defined subpopulations of neural stem and progenitor cells in the adult hippocampus. *Front Neurosci*, 2018, 12: 1013
- [66] Lv X, Liu C, Liu S, et al. The cell cycle inhibitor P21 promotes the development of pulmonary fibrosis by suppressing lung alveolar regeneration. *Acta Pharm Sin B*, 2022, 12: 735-46
- [67] Matos A, Magalhaes SMM, Rauh MJ. Immune dysregulation and recurring mutations in myelodysplastic syndromes pathogenesis. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1326: 1-10
- [68] Gu Z, Tan W, Feng G, et al. Wnt/ β -catenin signaling mediates the senescence of bone marrow-mesenchymal stem cells from systemic lupus erythematosus patients through the p53/p21 pathway. *Mol Cell Biochem*, 2014, 387: 27-37
- [69] Liang J, Zhang H, Hua B, et al. Allogenic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study. *Ann Rheum Dis*, 2010, 69: 1423-9
- [70] 周建宇, 徐悦, 黄文敬, 等. 脐带间充质干细胞在不同培养体系条件下的生物学特性. *中国组织工程研究*, 2014, 18: 5114-9
- [71] 赵春艳, 管英俊, 滕海林, 等. 小鼠骨髓间充质干细胞体外诱导分化的形态学观察. *潍坊医学院学报*, 2008, (04): 327-8+386
- [72] Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, 8: 315-7
- [73] Han J, Mistriotis P, Lei P, et al. Nanog reverses the effects of organismal aging on mesenchymal stem cell proliferation and myogenic differentiation potential. *Stem Cells*, 2012, 30: 2746-59
- [74] Fu X, Wu S, Li B, et al. Functions of p53 in pluripotent stem cells. *Protein Cell*, 2020, 11: 71-8