

造血干细胞老化与mTOR信号通路

曾慧红¹ 朱清仙¹ 匡渤海² 范广勤³ 邵立健^{3*}

(¹南昌大学基础医学院组织胚胎学教研室, 南昌 330006; ²南昌大学基础医学院医学遗传与细胞生物学教研室, 南昌 330006; ³南昌大学公共卫生学院, 南昌 330006)

摘要 衰老是一个生命的自然过程,也是世界性的健康问题,目前并无有效延缓衰老的对策。细胞老化可能在哺乳动物衰老发生、发展方面起关键作用,特别是成人干细胞的老化现象。该综述主要回顾了生理和病理环境条件下造血干细胞老化的证据。近年来,随着研究的深入,对细胞老化的理解及其机制有了新的认识,不仅包括传统的p53/p21途径和p16/Rb途径,而且G-CSF/STAT3/BATF通路和衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)也引起学者们的重视。有效清除体外和体内老化细胞已经成为可能。最近有研究表明, mTOR(mammalian target of rapamycin)信号通路激活后参与细胞老化的发生、发展过程。在细胞老化机制深入研究基础上,这为进一步探索预防老化细胞产生或有效消除老化细胞的方法提供了新思路。

关键词 造血干细胞; 衰老; 细胞老化; mTOR信号通路

Senescence of Hematopoietic Stem Cells and mTOR Signaling Pathway

Zeng Huihong¹, Zhu Qingxian¹, Kuang Bohai², Fan Guangqin³, Shao Lijian^{3*}

(¹Department of Histology and Embryology, Basic Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, China;

²Department of Medical Genetics and Cell Biology, Basic Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, China;

³School of Public Health, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract Aging is a process in life but becomes a worldwide health issue with unresolved strategies to extend lifespan. Recent studies have shown that cellular senescence might play crucial roles in mammalian aging, specifically in adult stem cell senescence. We presently reviewed the evidence of hematopoietic stem cell senescence in physiological and pathological contexts. Understanding mechanisms of senescence have been made significant improvement including p53/p21 pathway, p16/Rb pathway, G-CSF/STAT3/BATF pathway and SASP. Depletion of senescent cells has become possible *in vitro* and *in vivo*. Activation of mTOR signaling pathway may be involved in the initiation and development of cellular senescence. These remarkable findings will provide us new opportunities for developing the mechanism-based strategies to prevent and/or deplete senescent cells in near future.

Keywords hematopoietic stem cells; aging; cellular senescence; mTOR signaling pathway

在多细胞生物体中,随着年龄增加各组织器官存在以下特点:(1)功能下降;(2)癌症发病率呈指数增加;(3)老化细胞积累;(4)长期处于低水平慢性炎症状态。如65岁以上的老年人,呼吸道感染、泌尿

收稿日期: 2016-08-31 接受日期: 2017-02-16

国家自然科学基金(批准号: 81160050、30900574、81460110)、江西省教育厅科技计划(批准号: GJJ14102)和江西省研究生创新专项资金(批准号: YC2016-B028)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0791-86362283, E-mail: lshao@ncu.edu.cn

Received: August 31, 2016 Accepted: February 16, 2017

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81160050, 30900574, 81460110), the Scientific Research Project of Jiangxi Provincial Education Department (Grant No.GJJ14102) and the Graduate Innovation Special Fund of Jiangxi Province (Grant No.YC2016-B028)

*Corresponding author. Tel: +86-791-86362283, E-mail: lshao@ncu.edu.cn

网络出版时间: 2017-05-24 17:11:56 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170524.1711.002.html>

生殖道感染、胃肠道感染发病率较年轻人显著增高,免疫系统功能下降,白血病发病率升高^[1]。究其原因,有学者归咎于各组织成体干细胞数量和功能异常所致。研究表明,大部分组织器官有相应的成体干细胞,如造血干细胞、肠道干细胞、肌肉干细胞和神经干细胞等,它们不仅通过自我更新来保持组织生理稳态,还有多向分化能力产生不同类型细胞以保证组织细胞的更新。随着年龄增加,机体干细胞是否变老?若干细胞能迈向老化,引起干细胞老化的机制有哪些?能否推迟干细胞老化的发生?能否通过清除老化的干细胞,给正常的干细胞更多空间来增殖分化以保证细胞组织稳态?此外,应用雷帕霉素(rapamycin)或限制能量摄入能维持生物体的健康状态及延长生物体的寿命,并抑制mTOR(mammalian target of rapamycin)信号通路。因此,本综述将以干细胞(特别是造血干细胞)为对象来讨论老化与mTOR信号通路的关系。关于老化与DNA损伤、端粒、活性氧及表观遗传修饰等的关系在其他综述中已有详细讨论^[2-5]。

1 造血干细胞的老化

造血干细胞是目前研究较为深入、细致的成体干细胞,它不仅能通过各种造血祖细胞分化产生不同类型的成熟细胞以维持机体终生造血稳态,而且通过骨髓移植也证明其具有很强的自我更新能力。骨髓移植是通过体内实验研究造血干细胞自我更新和多向分化能力的经典手段。将流式细胞术分选出的2月龄造血干细胞移植入已照射受体小鼠,能有效重构受体小鼠造血系统。4个月后将第一次移植的受体小鼠造血干细胞分离出来,将其移植入已照射受体小鼠(二次移植)。理论上,若造血干细胞不会老化,其应能通过无数次移植来重建受体小鼠造血系统,但实际上在进行第四或第五次移植后,大部分小鼠由于造血系统衰竭而死亡,这表明造血干细胞失去其功能而迈向老化^[6]。已知端粒长度与细胞老化密切相关,老年人体内白细胞的端粒长度明显比年轻人的短。在人和小鼠移植试验中也发现,随着移植后造血干细胞的端粒长度会变短,这可能是造血干细胞老化的原因之一^[7]。造血干细胞保持一定程度端粒酶活性以维持端粒长度。端粒长短在保持造血干细胞干性中发挥重要作用。以端粒酶基因敲除(telomerase RNA component, *TERC*^{-/-})小鼠为例,第

一和第二代*TERC*^{-/-}小鼠造血干细胞具有正常的自我更新和分化能力,第三代*TERC*^{-/-}小鼠造血干细胞端粒变短,自我更新能力下降。进一步研究显示,端粒变短导致静止状态造血干细胞DNA损伤,进而引起造血干细胞凋亡和老化^[8]。然而,这些现象并未在造血祖细胞水平观察到,这表明端粒在造血干细胞老化中起重要作用。

造血干细胞老化的两个显著特征是:自我更新能力降低和偏向髓系细胞分化。通过对大于24月龄C57BL/6老年小鼠的研究发现,与成年小鼠比较,其造血干细胞数量明显增加,但归巢能力和骨髓移植重建功能显著下降^[9-10]。将流式细胞术分选出的2月龄和2年龄的造血干细胞进行基因芯片测定,发现老年造血干细胞内显著高表达髓系细胞相关基因和低表达淋系细胞相关基因^[11]。与之一致的是,老年人髓系白血病发病率显著高于年轻人。最近研究发现,小鼠经6.0戈瑞(gray, Gy)全身 γ 射线照射后2个月,通过p16表达和SA- β -gal染色观察到,近15%的造血干细胞处于老化状态;骨髓移植结果进一步显示,照射后造血干细胞的重构能力和自我更新能力显著下降,并具有偏向髓系分化的老化造血干细胞特征^[12]。化疗是临床治疗白血病的常用手段之一。化疗不仅能有效杀伤白血病细胞,而且对正常造血干细胞也有一定毒性,环磷酰胺(cyclophosphamide)和阿糖胞苷(cytarabine)能有效减少白血病细胞数量,同时又具有杀伤正常造血干细胞的能力,这主要是通过引起细胞凋亡、促进干细胞增殖和伴有高活性 β -gal及高表达p16/p21的老化干细胞来发挥作用,因此,化疗引起正常造血干细胞老化而限制了其肿瘤治疗效果^[13]。这些证据均表明,无论是自然条件还是放疗或化疗条件下均会引起造血干细胞老化。

2 造血干细胞老化的机制

化疗、放疗、原癌基因和活性氧类(reactive oxygen species, ROS)等多种应急因素能导致细胞周期停止和细胞老化。目前认为,老化细胞的形成主要由以下机制介导(图1)。(1)p53/p21通路:在应急条件下(如DNA损伤、缺氧和感染等),p53激活在保护细胞存活中发挥重要作用^[14]。DNA损伤激活p53导致p21高表达,p21能有效抑制细胞周期蛋白依赖激酶(cyclin dependent kinase, CDK),引起细胞周期停止;上调p14^{ARF}或nutlin-3引起p53激活和p21高表

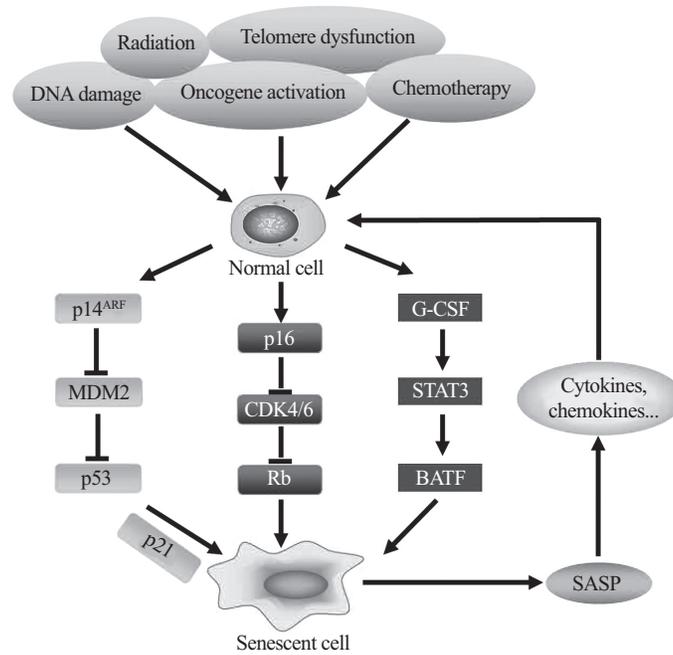


图1 老化细胞形成机制

Fig.1 The mechanisms of cellular senescence

达导致成纤维细胞老化,降低p14^{ARF}、p53和p21表达能阻止成纤维细胞周期停止和细胞老化^[15-18]。(2) p16^{INK4a}/pRb通路: ROS升高等因素激活p38 MAPK通路,导致p16^{INK4a}高表达以抑制CDK4/6,阻止RB蛋白磷酸化,抑制E2F转录因子,阻断细胞周期由G₁期向S期过渡,引起细胞老化^[19]; (3)G-CSF(granulocyte colony-stimulating factor)/STAT3(signal transducer and activator of transcription 3)/BATF(B cell-activating transcription factor)通路: 以第三代*TERC*^{-/-}小鼠、照射小鼠和自然衰老小鼠为模型,发现这些小鼠内淋系造血干细胞(lymphoid-biased hematopoietic stem cells, Ly-HSCs)较年轻小鼠显著降低,这与Ly-HSCs内高表达BATF和Per2(period 2)密切相关^[20-21]。进一步研究证实, *G-CSF*基因敲除、*STAT3*基因干扰、*BATF*和*Per2*基因敲除均能显著增强老年造血干细胞自我更新能力和改善造血干细胞偏向髓系细胞分化潜能,增强机体免疫力^[20-21]。虽然抑制G-CSF/STAT3/BATF通路能改善造血干细胞功能,但并不能减少老化造血干细胞内DNA损伤,而伴有DNA损伤的造血干细胞依然有转化为白血病细胞的潜能^[20]。因此,在由DNA损伤导致造血干细胞损伤的条件下,仅抑制G-CSF/STAT3/BATF通路的作用有限,应考虑结合其他信号通路来降低造血干细胞的DNA损伤。(4)老化细胞的衰老相关分泌表型(senescence

associated-secreted phenotype, SASP): 有关老化细胞SASP的发生及机制(如NF- κ B和C/EBP β 等)在其他综述中有详细的讨论^[22-23]。老化细胞可分泌少量炎症细胞因子(如IL-6/IL-8)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)(如MMP2/9)和化学因子等造成细胞和组织器官的损伤及老化。

近年来,学者们对造血干细胞老化也进行了深入研究。如Scadden研究小组^[24]将分离的年轻和老年造血干细胞行 γ H2AX染色,发现老年鼠造血干细胞内的 γ H2AX染色即DNA损伤较年轻鼠造血干细胞显著升高。应用照射小鼠模型研究造血干细胞老化形成机制,结果表明,照射导致造血干细胞ROS产生持续升高、正常细胞周期被打破和DNA损伤等因素促进干细胞老化。因此,用抗氧化剂NAC(N-acetyl-L-cysteine)和MnTE[Mn(III) meso-tetrakis-(N-ethylpyridinium-2-yl) porphyrin]等处理照射小鼠后,造血干细胞的体内重构能力显著提高^[12,25-26];用CDK4/6抑制剂处理照射后的小鼠也能改善造血干细胞的自我更新和多向分化能力^[27]。因此,在研究造血干细胞损伤和老化机制的基础上,探索改善造血干细胞功能的措施是完全有可能的。

3 老化细胞的清除

早在1965年,已有学者证明,人成纤维细胞经

过数次分裂后将迈向不可逆的细胞老化现象,随后进一步证明,细胞老化伴随着胞内SA- β -gal活性增加和p16高表达^[28-29]。2011年, Baker等^[30]构建了INK-ATTAC小鼠模型,经体内外实验证明, AP20187能有效清除p16高表达细胞,这是通过激活半胱氨酸蛋白酶8(caspase8)导致半胱氨酸蛋白酶3/7(caspase3/7)的活化和细胞凋亡来发挥作用。随后,该小组结合BuRb老年小鼠模型进一步显示,体内清除p16高表达细胞能延迟肿瘤形成和抑制多个器官发生年龄相关的退化^[31]。这是第一次通过体内实验证明老化细胞和小鼠衰老有密切关系,清除老化细胞能延长小鼠健康时间。

近年来,学者们积极寻找能有效清除老化细胞的小分子物质或前体药物。2015年, Kirkland研究小组^[32]通过比较正常细胞和老化细胞基因表达差异结合siRNA筛选,发现dasatinib(D)和quercetin(Q)能选择性清除老化脂肪细胞和脐静脉内皮细胞,体内实验证实其能有效降低p16表达和SA- β -gal阳性细胞数量。随后,另两个研究小组发现,前体药ABT263能有效选择性杀伤老化成纤维细胞和内皮细胞,但其对老化脂肪细胞作用较弱,体内实验证实ABT263不仅能降低p16表达和SA- β -gal阳性细胞,而且有效增强造血干细胞和肌肉干细胞的自我更新和多向分化能力^[33-34]。在低密度脂蛋白受体缺陷的动脉粥样硬化小鼠模型中发现,应用基因工程途径或ABT263清除衰老的巨噬细胞能显著改善动脉粥样硬化形成的病理过程^[35]。ABT263的作用效果虽佳,但对血小板有毒副作用,因此,开发其替代药物具有一定的应用前景。最近报道显示,具有抗肿瘤活性药piperlongumine能通过引起体外培养的老化细胞凋亡来选择性杀伤这些老化细胞^[36],但其体内清除老化细胞的效果还未见报道。JAK1/2抑制剂ruxolitinib作用于老化脂肪细胞,通过降低激活蛋白A(activin A)的量,减少老年鼠脂肪丢失、脂肪毒性和增强机体对胰岛素的敏感性^[37]。这些研究表明,不同组织细胞老化并不是通过相同机制促进细胞老化,而是由各自不同的机制来介导细胞的老化过程。

4 mTOR信号通路和造血干细胞

mTOR是1994年在酵母中分离出来并且在真核细胞中存在。mTOR是一种丝/苏氨酸激酶,它在细胞内存在两种不同的复合体: mTORC1(mTOR complex

1)和mTORC2。mTORC1主要由mTOR、Raptor和mLST8组成,而mTORC2主要包含了mTOR、Rictor和mLST8。mTOR信号通路的组成在其他综述中已有详细介绍^[38]。mTOR信号通路承担着来自细胞内外营养、生长因子、能量和环境压力等多种重要的信号,故其是一个调节细胞周期进程和细胞生长信号的汇聚点,其中mTORC1的研究较为深入。mTORC1的上游调节分子TSC1/TSC2的抑制和Rheb高表达均可致mTORC1激活而引起下游效应器4E-BP1和S6K的磷酸化,进一步调节蛋白质翻译和细胞生长。mTORC2的激活可参与Akt磷酸化和Rho/Rac有关的细胞骨架形成。

在对老化细胞是通过何机制介导SASP的研究中发现,激活mTOR信号通路能升高膜结合细胞因子白细胞介素-1A(interleukin-1 alpha, IL-1A)和丝裂原活化蛋白激酶活化蛋白激酶2(mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2, MAPKAPK2)的翻译,IL1A升高可通过自分泌和旁分泌方式激活NF- κ B(nuclear factor-kappa B)信号通路引起SASP。MAPKAPK2作为p38MAPK的下游因子能稳定mRNA水平导致炎症因子水平升高,其均能有效促进老化细胞产生SASP引起组织器官变性和损伤(图2)。与之一致的是,雷帕霉素通过阻止mTOR信号通路能有效地抑制IL1A和MAPKAPK2的表达来降低SASP的分泌,从而抑制肿瘤细胞生长^[39-40]。因此,抑制mTOR信号通路也许能延缓或阻止细胞组织器官的老化。用雷帕霉素处理线虫、果蝇和小鼠等能显著延长其寿命^[41],提示mTOR信号通路在生物体老化中发挥一定作用。雷帕霉素作用的细胞分子机制有可能与增强成体干细胞功能有关^[42]。这些结果表明,激活mTOR信号通路在引起老化细胞发生过程中起重要作用。另外一个有意思的现象是,雷帕霉素通过抑制IL1A和MAPKAPK2的表达来阻止SASP和细胞老化时,其对细胞周期的停止并没有影响。因此,在细胞老化发生过程中,细胞周期停止和SASP是两个相对独立的现象,其可能通过不同的机制来调控。雷帕霉素可能主要与SASP的发生密切相关,细胞周期的停止主要受到p53/p21和p16^{INK4a}/pRb通路的调控。最近,有研究应用原癌基因Ras-G12V诱导的细胞老化模型研究Notch信号通路在SASP的发生过程中的作用^[43]。结果表明,Notch信号通路通过两个不同阶段调节老化细胞SASP。在细胞老化早期,

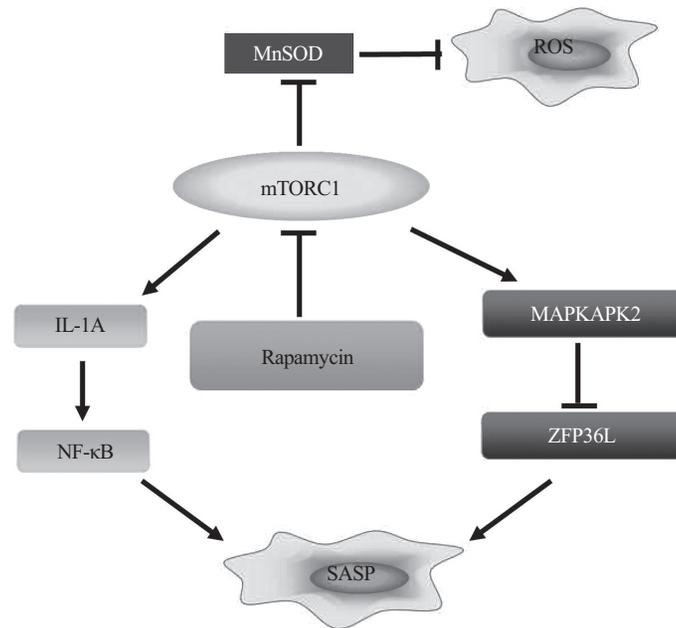


图2 mTORC1信号通路在老化细胞中的作用

Fig.2 The roles of mTORC1 signaling pathway in senescent cells

激活的Notch信号通路显著升高TGF- β 依赖的炎症分泌; 在细胞老化晚期, Notch信号弱表达并伴随着CCAAT/增强子结合蛋白 β (CCAAT/enhancer binding protein β , C/EBP β)活性显著升高, 以促进SASP的发生。但是, mTOR信号通路和Notch信号通路是如何相互作用或相对独立作用来调节细胞老化过程中的SASP现象, 以及抑制mTOR信号通路是通过何机制抑制IL1A和MAPKAPK2的表达来降低SASP等问题需要进一步探索。

如前所述, 造血干细胞的功能随着年老而降低, 主要表现在自我更新能力下降和分化功能异常。外源性和内源性机制均有可能与老年造血干细胞功能下降有关。外源和内源性的营养、生长因子、氧和能量应激均能激活mTOR信号通路来调节基因转录和翻译、细胞生长、增殖及细胞生存等。研究发现, *TSC1*(tuberous sclerosis 1)基因敲除小鼠*TSC1*^{-/-}造血干细胞内p16、p21和p19表达显著升高, 引起的造血干细胞老化表现为自我更新能力和体内重构能力下降, 这与mTORC1过度激活增加造血干细胞细胞周期、ROS和线粒体代谢异常等因素相关, 应用雷帕霉素或NAC能改善造血干细胞的功能并增强老年小鼠的免疫力^[44-45], 这一结果与Rheb高表达转基因鼠的表现型一致^[46]。

已有研究表明, 老年造血干细胞内有较年轻造血干细胞显著增强的mTOR信号因子如高磷酸化的

AKT、mTOR和S6等^[45,47]。*S6K1*(ribosomal protein S6 kinase beta 1)基因敲除小鼠的寿命明显较正常小鼠长, 这是由于敲除*S6K1*降低造血干细胞内Cyclin D1和Cyclin D2的表达, 保持了造血干细胞静止状态而降低其走向老化的风险^[48]。在小鼠能量限制模型中同样也观察到, 其能有效保持造血干细胞的静止状态而避免其老化, 进一步研究显示, 这与能量限制降低胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor 1, IGF1)水平有关^[49]。这也许提示, 维持造血干细胞静止状态在延长生物体寿命中起着至关重要的作用。与正常小鼠造血干细胞相比, 年轻*S6K1*^{-/-}造血干细胞并没有更强的自我更新能力, 但老年*S6K1*^{-/-}造血干细胞有更强的自我更新和体内移植重构能力, 这表明, 抑制mTOR信号通路能够缓解老年造血干细胞功能降低^[48]。

由于雷帕霉素有显著的免疫抑制效果, 加上长期抑制mTOR信号通路可能影响机体细胞组织器官的生长和生存, 这提示, 长时程抑制mTOR有可能对机体带来一定程度的负面影响。在对小鼠能量限制的模型中发现, 虽然能量限制能增强造血干细胞的自我更新和体内重构能力, 但是能量限制显著抑制了造血干细胞向淋系细胞分化的能力和淋系细胞的增殖能力。这可能是由于能量限制机体内低水平IL-7和IL-6导致造血干细胞淋系分化和增殖能力异常, 因为体外补充IL-7和IL-6能改善限制能量的这种

副作用^[49],对胰岛素-胰岛素受体(Insulin-InsR)信号通路的研究也证实这一现象。敲除*InsR*破坏了造血干细胞的髓系和淋系细胞分化平衡,导致多能干细胞偏向髓系细胞分化,这是由于敲除*InsR*降低mTOR活性、减少STAT3磷酸化而导致在淋系分化中起重要作用的Ikaros水平降低^[50],提示Insulin-InsR信号通路在多能干细胞分化过程中起着重要作用以维持免疫系统的平衡。这也表明,不能长期抑制mTOR信号,因此,在雷帕霉素的应用中需要优化雷帕霉素的最佳剂量和作用时间。最近研究报道,给予20月龄小鼠腹腔注射(8 mg/kg)或口服(126 ppm)两种不同途径给予雷帕霉素3个月,能显著延长雄性和雌性小鼠寿命达50%,这可能与雷帕霉素改善老年小鼠肠道菌群稳态有关^[51]。这些现象表明,老年体内mTOR信号通路的激活状态与造血干细胞向髓系及淋系细胞分化失衡有密切关系。若能通过调节mTOR信号通路减少SASP改善造血干细胞分化失衡,这将有利于增强机体免疫稳态,减少或延缓与老年相关的免疫性疾病的发生。

雷帕霉素不仅能延缓造血干细胞老化,而且在其他成体干细胞老化研究中也得到证实。例如,在对放疗导致的口腔溃疡动物模型研究中发现,雷帕霉素通过上调锰超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase, MnSOD)抑制干细胞的老化,能有效地增强口腔上皮干细胞的自我更新及分化能力(图2),从而缓解放疗引起的口腔溃疡^[52-53]。在小鼠模型中,持续性激活Wnt信号通路可导致皮肤干细胞老化出现毛发脱落,应用雷帕霉素抑制mTORC1激活可显著缓解这种表现型出现^[54]。用限制能量摄入的小鼠为模型,结果提示,在小肠潘氏细胞中高表达Bst1(bone marrow stromal cell antigen 1)并且mTOR信号通路参与调节小肠干细胞功能。进一步的研究结果表明,限制能量摄入能抑制IGF/PKA分子通路来增强造血干细胞自我更新和调节造血免疫微环境^[55]。虽然目前研究显示,限制能量摄入能延长寿命,但我们并不知道其对自然条件或应急条件下成体干细胞如造血干细胞、肌肉干细胞和小肠干细胞等老化的影响。

5 结语

mTOR信号通路在调节老化细胞SASP表现型方面发挥了重要作用,能有效调节口腔上皮干细胞、

造血干细胞、白血病干细胞和毛发干细胞的自我更新及分化能力,这些成体干细胞所在组织特点是更新快。但是,mTOR信号通路是否调节成体干细胞?如何调节成体干细胞?在成体干细胞损伤(如放疗、化疗)时mTOR信号通路的作用如何? mTOR信号通路与成体干细胞老化的关系如何?如何通过调节mTOR信号通路的激活水平来改善老年造血干细胞向髓系和淋系细胞分化的不平衡?这些问题值得进一步探索。通过对mTOR信号通路与成体干细胞关系机制的探索,或许能找到一条新途径来预防和治疗由成体干细胞损伤引起的一系列病理生理紊乱。

参考文献 (References)

- Makinodan T. Studies on the influence of age on immune response to understand the biology of immunosenescence. *Exp Gerontol* 1998; 33(1/2): 27-38.
- 贺洁宇, 刘峰. mTOR信号通路衰老及衰老相关重大疾病. *生物化学与生物物理进展*(He Jieyu, Liu Feng. mTOR signaling in aging and aging-associated diseases. *Progress in Biochemistry and Biophysics*) 2014; 41(3): 257-65.
- 马珊珊, 姚宁, 王欣欣, 邢衢, 韩康, 孟楠, 等. 干细胞衰老的调控机制. *河南医学研究*(Ma Shanshan, Yao Ning, Wang Xinxin, Xing Qu, Han Kang, Meng Nan, *et al.* Mechanisms of stem cell senescence. *Henan Medical Research*) 2015; 24(12): 56-8.
- Beerman I. Accumulation of DNA damage in the aged hematopoietic stem cell compartment. *Semin Hematol* 2017; 54(1): 12-8.
- Kramer A, Challen GA. The epigenetic basis of hematopoietic stem cell aging. *Semin Hematol* 2017; 54(1): 19-24.
- Ogden DA, Mickliem HS. The fate of serially transplanted bone marrow cell populations from young and old donors. *Transplantation* 1976; 22(3): 287-93.
- Brummendorf TH, Rufer N, Baerlocher GM, Roosnek E, Lansdorp PM. Limited telomere shortening in hematopoietic stem cells after transplantation. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 938: 1-7, discussion 7-8.
- Wang J, Lu X, Sakk V, Klein CA, Rudolph KL. Senescence and apoptosis block hematopoietic activation of quiescent hematopoietic stem cells with short telomeres. *Blood* 2014; 124(22): 3237-40.
- Liang Y, van Zant G, Szilvassy SJ. Effects of aging on the homing and engraftment of murine hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 2005; 106(4): 1479-87.
- Dykstra B, Olthof S, Schreuder J, Ritsema M, de Haan G. Clonal analysis reveals multiple functional defects of aged murine hematopoietic stem cells. *J Exp Med* 2011; 208(13): 2691-703.
- Rossi DJ, Bryder D, Zahn JM, Ahlenius H, Sonu R, Wagers AJ, *et al.* Cell intrinsic alterations underlie hematopoietic stem cell aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(26): 9194-9.
- Shao L, Feng W, Li H, Gardner D, Luo Y, Wang Y, *et al.* Total body irradiation causes long-term mouse BM injury via induction of HSC premature senescence in an Ink4a- and Arf-independent

- manner. *Blood* 2014; 123(20): 3105-15.
- 13 Jiang C, Hu X, Wang L, Cheng H, Lin Y, Pang Y, *et al.* Excessive proliferation and impaired function of primitive hematopoietic cells in bone marrow due to senescence post chemotherapy in a T cell acute lymphoblastic leukemia model. *J Transl Med* 2015; 13: 234.
- 14 Rubbi CP, Milner J. Disruption of the nucleolus mediates stabilization of p53 in response to DNA damage and other stresses. *EMBO J* 2003; 22(22): 6068-77.
- 15 Brown JP, Wei W, Sedivy JM. Bypass of senescence after disruption of p21CIP1/WAF1 gene in normal diploid human fibroblasts. *Science* 1997; 277(5327): 831-4.
- 16 Villalonga-Planells R, Coll-Mulet L, Martinez-Soler F, Castano E, Acebes JJ, Gimenez-Bonafe P, *et al.* Activation of p53 by nutlin-3a induces apoptosis and cellular senescence in human glioblastoma multiforme. *PLoS One* 2011; 6(4): e18588.
- 17 Wang Y, Blandino G, Oren M, Givol D. Induced p53 expression in lung cancer cell line promotes cell senescence and differentially modifies the cytotoxicity of anti-cancer drugs. *Oncogene* 1998; 17(15): 1923-30.
- 18 Wei W, Hemmer RM, Sedivy JM. Role of p14(ARF) in replicative and induced senescence of human fibroblasts. *Mol Cell Biol* 2001; 21(20): 6748-57.
- 19 Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D, Lowe SW. Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell* 1997; 88(5): 593-602.
- 20 Wang J, Sun Q, Morita Y, Jiang H, Gross A, Lechel A, *et al.* A differentiation checkpoint limits hematopoietic stem cell self-renewal in response to DNA damage. *Cell* 2012; 148(5): 1001-14.
- 21 Wang J, Morita Y, Han B, Niemann S, Loffler B, Rudolph KL. Per2 induction limits lymphoid-biased haematopoietic stem cells and lymphopoiesis in the context of DNA damage and ageing. *Nat Cell Biol* 2016; 18(5): 480-90.
- 22 Campisi J, Andersen JK, Kapahi P, Melov S. Cellular senescence: A link between cancer and age-related degenerative disease? *Semin Cancer Biol* 2011; 21(6): 354-9.
- 23 Tchkonja T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J, Kirkland JL. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: Therapeutic opportunities. *J Clin Invest* 2013; 123(3): 966-72.
- 24 Janzen V, Forkert R, Fleming HE, Saito Y, Waring MT, Dombkowski DM, *et al.* Stem-cell ageing modified by the cyclin-dependent kinase inhibitor p16INK4a. *Nature* 2006; 443(7110): 421-6.
- 25 Wang Y, Liu L, Pazhanisamy SK, Li H, Meng A, Zhou D. Total body irradiation causes residual bone marrow injury by induction of persistent oxidative stress in murine hematopoietic stem cells. *Free Radic Biol Med* 2010; 48(2): 348-56.
- 26 Li H, Wang Y, Pazhanisamy SK, Shao L, Batinic-Haberle I, Meng A, *et al.* Mn(III) meso-tetrakis-(N-ethylpyridinium-2-yl) porphyrin mitigates total body irradiation-induced long-term bone marrow suppression. *Free Radic Biol Med* 2011; 51(1): 30-7.
- 27 Johnson SM, Torrice CD, Bell JF, Monahan KB, Jiang Q, Wang Y, *et al.* Mitigation of hematologic radiation toxicity in mice through pharmacological quiescence induced by CDK4/6 inhibition. *J Clin Invest* 2010; 120(7): 2528-36.
- 28 Hayflick L. The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell STRAINS. *Exp Cell Res* 1965; 37: 614-36.
- 29 Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, *et al.* A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(20): 9363-7.
- 30 Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Childs BG, van de Sluis B, *et al.* Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 2011; 479(7372): 232-6.
- 31 Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, *et al.* Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 2016; 530(7589): 184-9.
- 32 Zhu Y, Tchkonja T, Pirtskhalava T, Gower AC, Ding H, Giorgadze N, *et al.* The Achilles' heel of senescent cells: From transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell* 2015; 14(4): 644-58.
- 33 Chang J, Wang Y, Shao L, Laberge RM, Demaria M, Campisi J, *et al.* Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat Med* 2016; 22(1): 78-83.
- 34 Zhu Y, Tchkonja T, Fuhrmann-Stroissnigg H, Dai HM, Ling YY, Stout MB, *et al.* Identification of a novel senolytic agent, navitoclax, targeting the Bcl-2 family of anti-apoptotic factors. *Aging Cell* 2016; 15(3): 428-35.
- 35 Childs BG, Baker DJ, Wijshake T, Conover CA, Campisi J, van Deursen JM. Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science* 2016; 354(6311): 472-7.
- 36 Wang Y, Chang J, Liu X, Zhang X, Zhang S, Zhang X, *et al.* Discovery of piperlongumine as a potential novel lead for the development of senolytic agents. *Aging (Albany NY)* 2016; 8(11): 2915-26.
- 37 Xu M, Palmer AK, Ding H, Weivoda MM, Pirtskhalava T, White TA, *et al.* Targeting senescent cells enhances adipogenesis and metabolic function in old age. *Elife* 2015; 4: e12997.
- 38 Wang X, Chu Y, Yuan W. mTORC signaling in hematopoiesis. *Int J Hematol* 2016; 103(5): 510-8.
- 39 Herranz N, Gallage S, Mellone M, Wuestefeld T, Klotz S, Hanley CJ, *et al.* mTOR regulates MAPKAPK2 translation to control the senescence-associated secretory phenotype. *Nat Cell Biol* 2015; 17(9): 1205-17.
- 40 Laberge RM, Sun Y, Orjalo AV, Patil CK, Freund A, Zhou L, *et al.* mTOR regulates the pro-tumorigenic senescence-associated secretory phenotype by promoting IL1A translation. *Nat Cell Biol* 2015; 17(8): 1049-61.
- 41 Ehninger D, Neff F, Xie K. Longevity, aging and rapamycin. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71(22): 4325-46.
- 42 Luo Y, Li L, Zou P, Wang J, Shao L, Zhou D, *et al.* Rapamycin enhances long-term hematopoietic reconstitution of *ex vivo* expanded mouse hematopoietic stem cells by inhibiting senescence. *Transplantation* 2014; 97(1): 20-9.
- 43 Hoare M, Ito Y, Kang TW, Weekes MP, Matheson NJ, Patten DA, *et al.* NOTCH1 mediates a switch between two distinct secretomes during senescence. *Nat Cell Biol* 2016; 18(9): 979-92.
- 44 Chen C, Liu Y, Liu R, Ikenoue T, Guan KL, Liu Y, *et al.* TSC-mTOR maintains quiescence and function of hematopoietic stem cells by repressing mitochondrial biogenesis and reactive oxygen species. *J Exp Med* 2008; 205(10): 2397-408.
- 45 Chen C, Liu Y, Liu Y, Zheng P. mTOR regulation and therapeutic

- rejuvenation of aging hematopoietic stem cells. *Sci Signal* 2009; 2(98): ra75.
- 46 Campbell TB, Basu S, Hangoc G, Tao W, Broxmeyer HE. Overexpression of Rheb2 enhances mouse hematopoietic progenitor cell growth while impairing stem cell repopulation. *Blood* 2009; 114(16): 3392-401.
- 47 Siegemund S, Rigaud S, Conche C, Broaten B, Schaffer L, Westernberg L, *et al.* IP3 3-kinase B controls hematopoietic stem cell homeostasis and prevents lethal hematopoietic failure in mice. *Blood* 2015; 125(18): 2786-97.
- 48 Selman C, Sinclair A, Pedroni SM, Irvine EE, Michie AM, Withers DJ. Evidence that hematopoietic stem cell function is preserved during aging in long-lived S6K1 mutant mice. *Oncotarget* 2016; 7(21): 29937-43.
- 49 Tang D, Tao S, Chen Z, Koliesnik IO, Calmes PG, Hoerr V, *et al.* Dietary restriction improves repopulation but impairs lymphoid differentiation capacity of hematopoietic stem cells in early aging. *J Exp Med* 2016; 213(4): 535-53.
- 50 Xia P, Wang S, Du Y, Huang G, Satoh T, Akira S, *et al.* Insulin-InsR signaling drives multipotent progenitor differentiation toward lymphoid lineages. *J Exp Med* 2015; 212(13): 2305-21.
- 51 Bitto A, Ito TK, Pineda VV, LeTexier NJ, Huang HZ, Sutlief E, *et al.* Transient rapamycin treatment can increase lifespan and healthspan in middle-aged mice. *Elife* 2016; doi: 10.7554/eLife.16351.
- 52 Finkel T. Relief with rapamycin: mTOR inhibition protects against radiation-induced mucositis. *Cell Stem Cell* 2012; 11(3): 287-8.
- 53 Iglesias-Bartolome R, Patel V, Cotrim A, Leelahavanichkul K, Molinolo AA, Mitchell JB, *et al.* mTOR inhibition prevents epithelial stem cell senescence and protects from radiation-induced mucositis. *Cell Stem Cell* 2012; 11(3): 401-14.
- 54 Castilho RM, Squarize CH, Chodosh LA, Williams BO, Gutkind JS. mTOR mediates Wnt-induced epidermal stem cell exhaustion and aging. *Cell Stem Cell* 2009; 5(3): 279-89.
- 55 Yilmaz OH, Katajisto P, Lamming DW, Gultekin Y, Bauer-Rowe KE, Sengupta S, *et al.* mTORC1 in the Paneth cell niche couples intestinal stem-cell function to calorie intake. *Nature* 2012; 486(7404): 490-5.