

综述

自噬与间充质干细胞衰老的关系研究进展

邓嘉强 李韦瑶 钟丽君 余树民*

(四川农业大学动物医学院 成都 611130)

摘要 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具备多向分化、免疫调控和靶向迁移的能力,在再生医学领域一直备受关注。但是,随着供体年龄的增长和体外培养时间的延长, MSCs 通常表现出衰老特征。MSCs 衰老以及功能衰退被认为是机体衰老和相关退行性疾病发展的重要诱发因素,同时也制约着 MSCs 在再生医学领域中的应用。自噬是溶酶体依赖途径介导细胞内物质的降解和再循环过程,是真核细胞的非核(细胞质)部分得以更新的有效途径,对维持细胞稳态至关重要,是调节 MSCs 衰老的潜在调控靶标。对 MSCs 衰老的表型特征、功能变化和分子机制,以及自噬与衰老之间的关系进行综述,为促进 MSCs 临床应用提供理论基础。

关键词 间充质干细胞 细胞衰老 分化 免疫抑制 迁移 自噬

中图分类号 Q255 Q2.33

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类中胚层来源的多能成体干细胞,在治疗多种疾病或损伤修复方面显示出巨大潜力^[1]。然而多种细胞内外因素引发的细胞衰老导致 MSCs 生物学功能受损,严重影响了 MSCs 的临床治疗效果。自噬(autophagy)作为细胞质底物降解和再循环的主要途径,对维持细胞内稳态和抵御环境压力至关重要。研究表明,体内干细胞通常处于静息状态以维持其自我更新能力,而自噬对于这一状态的维持似乎是不可或缺的^[2-3]。近十年,自噬在 MSCs 生物学中的作用得到了广泛研究,被认为是改善 MSCs 临床治疗效率的潜在调控靶点^[4]。对 MSCs 的衰老特征、分子机制和功能变化,以及自噬在 MSCs 衰老中的作用进行综述,旨在推动 MSCs 在再生医学领域更为广泛的应用。

1 MSCs 衰老的分子机制及表型特征

MSCs 通常在经历有限次数的细胞分裂后便进入衰老状态。衰老是具备有丝分裂能力的细胞对诸多应

激源所作出的一种反应,包括端粒功能异常、遗传毒性应激/DNA 损伤、氧化应激、致癌基因活化(Ras 和 Raf)和蛋白质稳态失衡^[5]等。在应激源的刺激下,下游的 p16INK4a(p16)/pRB 和 p53/p21CIP(p21)/pRB^[6-7] 信号通路被激活,两条信号途径相互作用,共同触发细胞衰老(图1)。

衰老的 MSCs 不仅在细胞形态、基因表达和分泌功能等表型特征上发生明显的变化,而且会出现固有功能的损伤甚至丢失(图1)。MSCs 的衰老表型特征一般主要表现在以下方面:(1)细胞形态改变,衰老的 MSC 通常表现出体积增大和形态不规则化,这与蛋白激酶 CK2 参与调节细胞骨架重组密切相关^[8]; (2)衰老相关分泌表型(senescence associated secretory phenotype, SASP),衰老的 MSCs 通常表现出较强的炎症因子分泌能力,但 SASP 因细胞种类、衰老机制和培养条件的不同而存在差异^[9],因此需要结合其他衰老特征来监测细胞衰老;(3)衰老相关 β 半乳糖苷酶(senescence associated- β -galactosidase, SA- β -gal)活性增强;(4)细胞周期停滞,细胞周期相关调控蛋白表达上调,如 p16 和 p21;(5)DNA 损伤应答(DNA-damage response, DDR),出现含有 DDR 蛋白复合物(如 γ H2AX^[10]、53BP1^[11]和

H3K9^[12])的核灶区,并积累独特的异染色质结构,称为衰老相关的异染色质病灶(senescence-associated heterochromatin foci, SAHFs)。然而,并不是所有的细胞都表达相同的基因以及表现出相同的衰老表型,因为衰老细胞具有异质性,这些标记并不是衰老细胞特异性的。除此之外,MSCs衰老过程中还会出现线粒体形态和功能变化,具体表现在抗氧化能力降低、活性氧(reactive oxygen species, ROS)蓄积、细胞内ATP浓度降低和线粒体增大以及膜电位降低^[13]。衰老的MSCs通常表现出极为复杂的表型特征,有效监测细胞衰老表型特征对于正确评估和预防MSCs衰老具有重要意义。

2 衰老MSCs的功能变化

2.1 分化潜能

MSCs多向分化潜能受多种转录因子和信号调控,过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)和CCAAT/增强子结合蛋白 α (CCAAT/enhancer binding protein α , C/EBP α)^[14]参与调控MSCs成脂分化,而成骨分化由转录因子Osterix和Runt相关转录因子/核心结合因子 α 1(runt-related transcription factors/core-binding factor α 1, RUNX2/CBFA1)所介导^[15-16]。MSCs衰老过程中,其分化潜力会逐渐降低,原本的成脂和成骨谱系分化的平衡也会被破坏。研究指出,MSCs的成骨和成软骨分化能力随着供体年龄增长或长期体外培养而逐渐下降^[17],这与成骨效率随年龄增长而降低相一致,而成脂分化和神经元样分化能力与供体年龄无明显关联^[18]。但另一项研究指出,随着供体年龄的增长,MSCs的成骨和成脂分化能力均被显著削弱^[19]。MSCs成脂分化通常是指向米色脂肪细胞而非棕色脂肪细胞分化,老年供体脂肪来源的MSCs其米色脂肪分化能力受损,这与MSCs衰老过程中沉默信息调节因子1(silent information regulator transcript-1, Sirt1)表达受损密切相关^[20]。Cheng等^[21]研究同样表明,体外长期培养的MSCs,PPAR γ 和C/EBP α 的基因表达水平下降,而钙积累明显增加,表明成脂分化能力随着细胞衰老降低而成骨分化能力增加,以维持成骨和成脂分化处于相互约束的平衡状态。目前,有关衰老对于MSCs分化平衡影响的观点是不一致的,这可能与不同研究中培养条件差异导致MSCs衰老的触发因素不同,进而对MSCs分化平衡中的影响产生差异。

2.2 免疫抑制能力

多种可溶性因子的分泌以及直接与免疫细胞相互作用是MSCs介导体内外的免疫调控过程的重要方式^[22-23]。研究指出,脂肪来源的MSCs通过减少炎症细胞浸润和炎症介质产生来发挥对结肠炎和脓毒症患者的保护作用,但体外复制衰老的MSCs对单核细胞和T淋巴细胞的增殖抑制作用减弱,且对急性结肠炎的保护作用降低,这与p38MAPK失活介导的环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)和前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)的表达下调有关^[24],而采用低氧培养环境(1% O₂)则可以通过增加B细胞特异单克隆鼠白血病病毒插入位点基因1(B-cell-specific monoclonal leukemia virus insert site 1, Bmi1)表达抑制该过程的发生^[25]。另一项研究表明,尽管辐射诱导的衰老MSCs其免疫调节能力受损,但在体外仍然具有调节巨噬细胞对炎症的反应能力,并保留了对淋巴细胞增殖的抑制作用^[26],但由活化蛋白-1(activator protein-1, AP-1)介导的炎症信号靶向迁移能力在辐射诱导后明显下降,致使衰老MSCs对脂多糖诱导的致死性内毒素血症小鼠的保护作用严重受损^[26]。

2.3 迁移能力

靶向迁移功能是基于MSCs细胞疗法的关键,然而衰老MSCs的迁移功能严重受损。Rombouts等^[27]在辐射照射后的同基因小鼠模型中对比原代MSCs和扩增培养后MSCs的迁移能力,结果表明扩增培养显著降低了MSCs向骨髓和脾脏的迁移效率。此外,另一项研究通过对比不同年龄供体来源(儿童、年轻人和老年人)的MSCs,发现老年供体来源的MSCs表现出衰老表型和迁移能力受损,并显示与趋化因子受体CXCR4和CXCR7的表达降低有关^[28]。体外培养老化和供体年龄是影响MSCs迁移能力的重要因素,MSCs通过扩展伪足来实现迁移,然后在内皮细胞滚动和黏附,该过程不仅需要通过多种趋化因子、黏附分子及其受体的活化来介导,也强烈依赖于局部细胞骨架组织和肌动蛋白周转^[28]。Geissler等^[17]研究发现,供体年龄因素和体外培养引起的MSCs老化,不仅表现出基质细胞衍生因子(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)及其受体CXCR4的表达下调,同时与局灶性黏附和肌动蛋白细胞骨架组织相关基因的表达水平降低,细胞的丝状伪足和片状伪足减少。此外,在培养体系中添加透明质酸可以有效补偿衰老MSCs中VCAM-1的合成,进而改善MSCs的迁移和黏附能力^[29]。

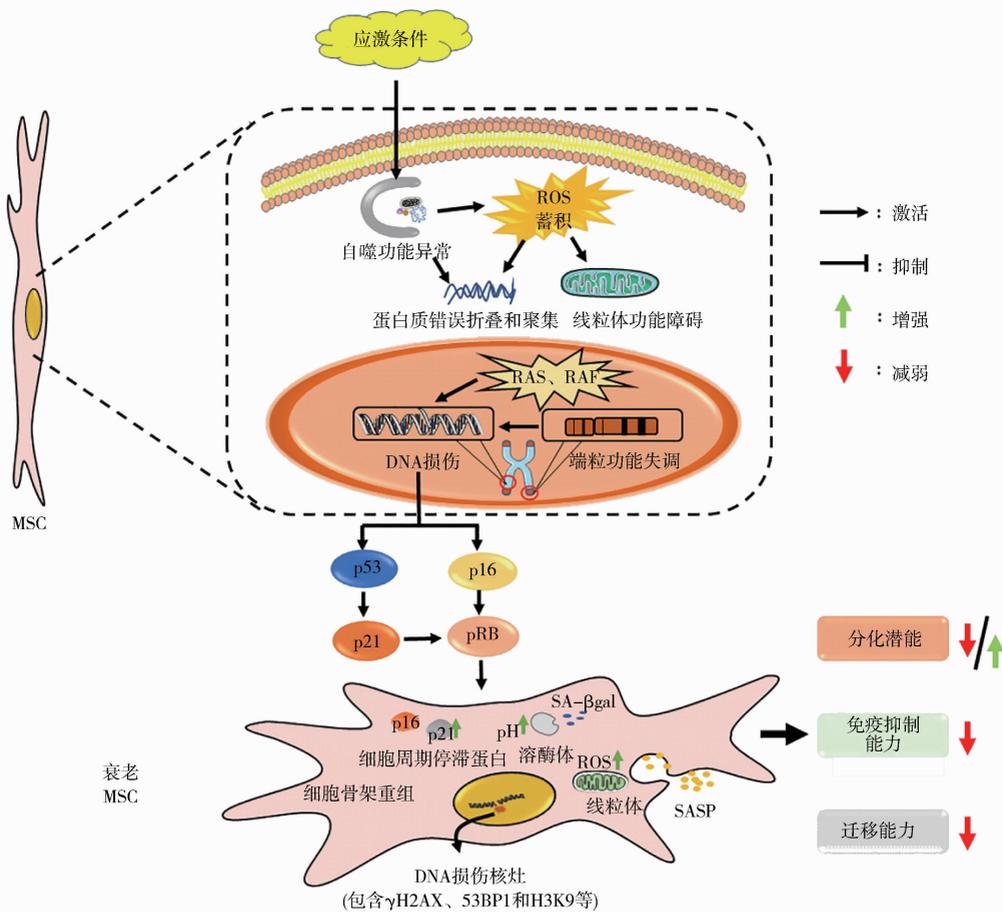


Fig.1 Functional alterations and molecular mechanisms in senescent MSCs

3 自噬与 MSCs 衰老

3.1 自噬

自噬是在不同生理和病理条件下细胞内蛋白质和细胞器依赖溶酶体进行降解和再循环的关键途径,主要包含有三种不同的类型:微自噬、伴侣介导的自噬和巨自噬^[4]。巨自噬(以下简称自噬)是目前研究最为透彻的自噬类型,被认为是细胞内最为有效的细胞降解再循环机制。自噬是不同调节信号严格控制的多步骤过程,这一过程包括吞噬泡(也称为隔离膜)的形成和延伸、自噬体的形成、自噬体与溶酶体融合以形成自噬溶酶体,通过溶酶体内一系列的水解酶将所包裹的细胞质底物进行降解,进而实现细胞对自身代谢所需原料和能量的再利用(图2)。

3.2 自噬活化抑制 MSCs 衰老

自噬是细胞适应环境压力的关键过程,在抗衰老

和改善年龄相关疾病中表现出巨大的潜力。最近的研究证实,自噬是 MSCs 干性和分化潜能维持所必需的,移植前的自噬调节可以有效增强 MSCs 活力,并改善其促血管生成和免疫调节的生物学特性^[30]。真核细胞通常维持基础水平的自噬活性,进而控制细胞质底物降解和循环来维持细胞内稳态,而衰老细胞通常表现出功能异常的细胞器和有害代谢产物蓄积,这可能与自噬功能失调密切相关。

Ma 等^[31]研究发现,相比年轻供体,老年供体骨髓来源的 MSCs 自噬水平更低,自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)预处理可以降低幼龄供体来源 MSCs 的成骨分化和自我更新能力,促进其成脂分化,诱导细胞衰老;自噬激活剂雷帕霉素可通过增加成骨分化和增殖能力,降低成脂分化能力,恢复老年供体来源 MSCs 的生物学特性,这与自噬介导的 ROS 水平降低和 p53 的表达下调有关。骨髓来源的 MSCs 在维

持骨量周转和骨密度中发挥至关重要的作用,由于机体衰老过程干细胞的衰竭,导致骨组织的细胞周转受阻和再生能力减弱,进而容易诱发骨质疏松症。Wan 等^[32]研究发现,骨质疏松患者骨髓来源 MSCs 表现出典型的衰老相关表型、较低的自噬活性和受损的成骨分化潜能,雷帕霉素处理可以促进其体内外的成骨分化潜能恢复,而 3-MA 则显著抑制了 MSCs 的成骨分化。艾滋病病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 感染者骨髓中的造血祖细胞 (hematopoietic progenitor cells, HPCs) 被认为是重要的 HIV 病毒储存库,通过 HIV 蛋白和传染性病毒的释放对邻近细胞 (如 MSCs) 产生有害影响。体外实验显示,长期的 HIV 蛋白 (Tat 或 Nef) 处理可以诱导 BM-MSCs 细胞衰老、氧化损伤和线粒体功能障碍,并降低其成骨分化潜能,但二者机制不同, Tat 诱导的 MSCs 衰老与 NF- κ B 介导的炎症活化有关,而 Nef 诱导的细胞衰老与自噬活性抑制密切相关^[33]。最近的一项研究显示,视神经蛋白 (optineurin, OPTN) 的表达减少是造成老年骨质疏松症、MSCs 衰老加剧和骨脂分化平衡失调的重要诱因,同时 OPTN 也作为自噬受体,OPTN 依赖性自噬可以通过清除脂肪酸结合蛋白 3 (fatty acid binding protein 3, FABP3) 来缓解 MSCs 衰老和重建骨脂分化平衡^[34]。因此,自噬活性下降是老年供体来源的 MSCs 出现退行性变化的主要原因,也与年龄相关的骨质流失密切相关。此外,老年供体来源的 MSCs 由于其自噬活性较低,在缺氧和血清剥夺 (hypoxia and serum deprivation, H/SD) 的培养条件下表现出更严重的细胞损伤^[35],而过表达巨噬细胞迁移抑制因子 (macrophage migration inhibitory factor, MIF) 可以通过激活自噬来恢复老年供体来源的 MSCs 活力,提高其在心肌梗死中的治疗效果^[36]。另一项研究通过雷帕霉素和 3-MA 预调节自噬,以探究自噬在 MSC 衰老中的作用,结果显示雷帕霉素预处理 24h 可以有效减缓 D-半乳糖 (D-galactose, D-gal) 诱导的细胞衰老,并且抑制细胞内 ROS 的生成,这一过程与 ROS/JNK/p38 途径介导的自噬活化密切相关^[37]。

近年来,许多研究表明缺氧环境预处理后的 MSCs 表现出更强的增殖和分化能力,并能延缓细胞的衰老进程^[38]。Kim 等^[39]研究结果显示,缺氧条件下胎盘来源的 MSCs (placenta-derived mesenchymal stem cells, P-MSCs) 中衰老活化蛋白 (ARS-interacting multifunctional proteins, AIMP3) 被显著抑制,同时 p16 表达下调;过表达的 AIMP3 则加速 P-MSC 衰老和损伤其分化潜能,同

时增强线粒体呼吸和抑制自噬活性,而缺氧诱导因子 (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF1 α)-Hey1 介导的 AIMP3 抑制,诱导自噬活化并限制线粒体呼吸,从而抑制 MSCs 衰老。在体外诱导的 MSCs 慢性 (复制衰老) 和急性衰老 (过氧化物、阿霉素和 X 射线诱导) 模型中,复制衰老中自噬活性并未表现出差异,而急性衰老过程中自噬水平均显著降低,且高辐射的自噬水平相比低辐射受损程度更高^[40],因此自噬可能作为抵消细胞衰老的一种代偿机制,细胞试图通过激活自噬来抵御环境压力,从而减少细胞受损程度,自噬功能的损伤则导致了细胞的衰老。

3.3 自噬活化促进 MSCs 衰老

Zheng 等^[41]在 MSCs 体外复制衰老过程中观察到自噬相关蛋白 ATG7 和 ATG12 的表达上调,以及自噬微管相关蛋白轻链 3-II (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3-II) 的生成增加,而 3-MA 处理可以有效缓解细胞的衰老状态。MSCs 复制衰老过程伴随着 p53 上调,敲除 p53 可以减少 LC3-II 的生成和增加自噬负调控因子哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 活性,进而缓解细胞衰老^[42]。另一项研究指出,高糖 (high glucose, HG) 浓度的培养环境诱导的 MSCs 衰老与自噬活性的增强有关,经 3-MA 处理尽管可以缓解 MSCs 衰老,但细胞凋亡增加,而抗氧化剂二联苯碘鎓 (diphenyleneiodonium, DPI) 和 N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 则可以消除 HG 诱导的自噬和衰老^[43]。Yun 等^[44]研究指出,褪黑素可以通过抑制 mTOR 依赖性自噬有效缓解甲酚诱导 MSCs 增殖抑制和老化。该研究中甲酚诱导 MSCs 中活 ROS 的蓄积和自噬的高度活化,经褪黑素处理后发现 AKT 信号活化、过氧化氢酶活性增强以及自噬活性降低,最终有效逆转甲酚诱导的 MSCs 衰老^[44]。另一项研究同样表明 3-MA 进一步加重了 MSCs 的衰老,而胆固醇 (cholesterol, CH) 预处理可恢复 MSCs 自噬活性,进而逆转了这一衰老过程^[45]。ROS 蓄积作为一种重要的细胞内应激源,是导致衰老的直接因素,细胞外应激环境 (如高糖和甲酚) 诱导细胞内 ROS 的蓄积,此时自噬作为细胞适应环境压力的关键途径而被激活,而外源抗氧化剂的加入或内源抗氧化酶的产生有效改善细胞内 ROS 蓄积,此时自噬活性的降低可能只是作为细胞衰老状态改善的一种结果。此外, Molaei 等^[46]研究发现,自噬在轻度的血清剥夺和氧化应激条件下有利于细胞存活,而严重的应激条件下,自噬活化会导致细胞

死亡,而抑制自噬则可有效调节细胞以适应应激环境。因此,应激条件下 MSCs 衰老可能与自噬的程度密切,应激种类、强度和持续时间的不同可能对于细胞自噬

的影响不同,维持细胞内适度的自噬水平对于细胞稳态维持和适应应激环境具有至关重要的作用(图2)。

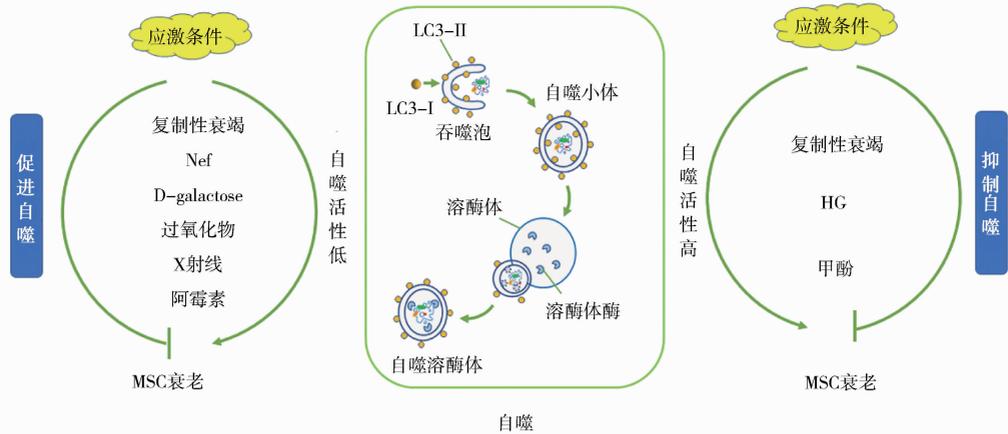


图2 自噬在 MSC 衰老中的调节作用

Fig. 2 The roles of autophagy in regulation MSC senescence

4 问题与展望

细胞衰老是循序渐进的过程,在从短暂到持续稳定的细胞周期停滞之前,该过程似乎是可逆的。深入了解触发 MSCs 衰老的分子机制,尤其是与自噬交叉的调控机制,有助于寻找缓解甚至抵消这些衰老因素的方法,以促进 MSCs 生物学功能的维持。自噬作为一种调控 MSCs 生物学功能的潜在靶标,通过基因修饰和细胞外刺激调节自噬来促进 MSCs 对应激环境的适应,有助于缓解 MSCs 衰老状态,然而自噬抑制/激活调节 MSCs 衰老的潜在调控机制仍然不够清晰。自噬作为一把双刃剑,应激诱导的衰老一定程度取决于自噬的程度,适度水平的自噬有助于维持 MSCs 内稳态平衡,而自噬的过度活化则可能通过触发衰老来保护细胞在应激环境下免于凋亡。因此,精准靶向调节自噬使其有助于改善 MSCs 生物学功能,进而在细胞治疗和再生医学中充分发挥其潜在的治疗效力。

致谢 感谢“四川农业大学学科建设双支计划(035/2121993256)”对研究的支持。

参考文献

[1] Samsonraj R M, Raghunath M, Nurcombe V, et al. Concise review: multifaceted characterization of human mesenchymal stem cells for use in regenerative medicine. *Stem Cells Translational Medicine*, 2017, 6(12): 2173-2185.

[2] Beerman I, Seita J, Inlay M, et al. Hematopoietic stem cell quiescence attenuates DNA damage repair and response contributing to age-dependent DNA damage accumulation. *Experimental Hematology*, 2014, 42(8): S24.

[3] Ferro F, Spelat R, Shaw G, et al. Survival/adaptation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after long-term starvation through selective processes. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 2019, 37(6): 813-827.

[4] Ceccariglia S, Cargnoni A, Silini A R, et al. Autophagy: a potential key contributor to the therapeutic action of mesenchymal stem cells. *Autophagy*, 2020, 16(1): 28-37.

[5] Ho T T, Warr M R, Adelman E R, et al. Autophagy maintains the metabolism and function of young and old stem cells. *Nature*, 2017, 543(7644): 205-210.

[6] Hao H J, Chen G H, Liu J J, et al. Culturing on Wharton's jelly extract delays mesenchymal stem cell senescence through p53 and p16INK4a/pRb pathways. *PLoS One*, 2013, 8(3): e58314.

[7] Pan X H, Chen Y H, Yang Y K, et al. Relationship between senescence in macaques and bone marrow mesenchymal stem cells and the molecular mechanism. *Aging*, 2019, 11(2): 590-614.

[8] Wang D J, Jang D J. Protein kinase CK2 regulates cytoskeletal reorganization during ionizing radiation-induced senescence of human mesenchymal stem cells. *Cancer Research*, 2009, 69(20): 8200-8207.

[9] Yang Y H K, Ogando C R, See C W, et al. Changes in phenotype and differentiation potential of human mesenchymal stem cells aging *in vitro*. *Stem Cell Research & Therapy*, 2018, 9(1): 131.

[10] Carlessi L, De Filippis L, Lecis D, et al. DNA-damage

- response, survival and differentiation *in vitro* of a human neural stem cell line in relation to ATM expression. *Cell Death & Differentiation*, 2009, 16(6): 795-806.
- [11] Minieri V, Saviozzi S, Gambarotta G, et al. Persistent DNA damage-induced premature senescence alters the functional features of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2015, 19(4): 734-743.
- [12] Zhang H Y, Sun L L, Wang K, et al. Loss of H3K9me3 correlates with ATM activation and histone H2AX phosphorylation deficiencies in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0167454.
- [13] Stab B R, Martinez L, Grimaldo A, et al. Mitochondrial functional changes characterization in young and senescent human adipose derived MSCs. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2016, 8: 299.
- [14] Kim J, Ko J. A novel PPAR γ 2 modulator sLZIP controls the balance between adipogenesis and osteogenesis during mesenchymal stem cell differentiation. *Cell Death & Differentiation*, 2014, 21(10): 1642-1655.
- [15] Lee J S, Lee J M, Im G I. Electroporation-mediated transfer of Runx2 and Osterix genes to enhance osteogenesis of adipose stem cells. *Biomaterials*, 2011, 32(3): 760-768.
- [16] 孙泽绪, 赵辰, 廖军义, 等. 抑制 Runx2 的表达增强 BMP2 诱导的干细胞成软骨分化. *中国生物工程杂志*, 2016, 36(4): 57-62.
- Sun Z X, Zhao C, Liao J Y, et al. Suppression of Runx2 potentiates BMP2-induced chondrogenic differentiation. *China Biotechnology*, 2016, 36(4): 57-62.
- [17] Geissler S, Textor M, Kühnisch J, et al. Functional comparison of chronological and *in vitro* aging: differential role of the cytoskeleton and mitochondria in mesenchymal stromal cells. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52700.
- [18] Choudhery M S, Badowski M, Muise A, et al. Donor age negatively impacts adipose tissue-derived mesenchymal stem cell expansion and differentiation. *Journal of Translational Medicine*, 2014, 12: 8.
- [19] Liu M C, Lei H, Dong P, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells from the elderly exhibit decreased migration and differentiation abilities with senescent properties. *Cell Transplantation*, 2017, 26(9): 1505-1519.
- [20] Khanh V C, Zulkifli A F, Tokunaga C, et al. Aging impairs beige adipocyte differentiation of mesenchymal stem cells via the reduced expression of Sirtuin 1. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 500(3): 682-690.
- [21] Cheng H C, Qiu L, Ma J, et al. Replicative senescence of human bone marrow and umbilical cord derived mesenchymal stem cells and their differentiation to adipocytes and osteoblasts. *Molecular Biology Reports*, 2011, 38(8): 5161-5168.
- [22] 常铖, 刘梦婷, 张权, 等. 长期传代培养人脐带间充质干细胞免疫调节功能的比较. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(4): 609-619.
- Chang C, Liu M T, Zhang Q, et al. Comparison of immunomodulatory functions in human umbilical cord mesenchymal stem cells after long-term expansion. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2020, 42(4): 609-619.
- [23] 李丹婷, 黄晓雅, 白利鹏, 等. IFN- γ 对犬 BMSCs 增殖及分泌多种免疫抑制因子的影响. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(19): 2326-2331.
- Li D T, Huang X Y, Bai L P, et al. Effect of IFN- γ on proliferation and secretion of various immunosuppressive factors in canine BMSCs. *Chinese Journal of Immunology*, 2019, 35(19): 2326-2331.
- [24] Yu K R, Lee J Y, Kim H S, et al. A p38 MAPK-mediated alteration of COX-2/PGE2 regulates immunomodulatory properties in human mesenchymal stem cell aging. *PLoS One*, 2014, 9(8): e102426.
- [25] Lee J Y, Yu K R, Kim H S, et al. BMI1 inhibits senescence and enhances the immunomodulatory properties of human mesenchymal stem cells via the direct suppression of MKP-1/DUSP1. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8(8): 1670-1689.
- [26] Sepúlveda J C, Tomé M, Fernández M E, et al. Cell senescence abrogates the therapeutic potential of human mesenchymal stem cells in the lethal endotoxemia model. *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 2014, 32(7): 1865-1877.
- [27] Rombouts W J C, Ploemacher R E. Primary murine MSC show highly efficient homing to the bone marrow but lose homing ability following culture. *Leukemia*, 2003, 17(1): 160-170.
- [28] Tang D D, Gerlach B D. The roles and regulation of the actin cytoskeleton, intermediate filaments and microtubules in smooth muscle cell migration. *Respiratory Research*, 2017, 18(1): 54.
- [29] Jung E M, Kwon O, Kwon K S, et al. Evidences for correlation between the reduced VCAM-1 expression and hyaluronan synthesis during cellular senescence of human mesenchymal stem cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, 404(1): 463-469.
- [30] Jakovljevic J, Harrell C R, Fellabaum C, et al. Modulation of autophagy as new approach in mesenchymal stem cell-based therapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 104: 404-410.
- [31] Ma Y, Qi M, An Y, et al. Autophagy controls mesenchymal stem cell properties and senescence during bone aging. *Aging Cell*, 2018, 17(1): e12709.
- [32] Wan Y X, Zhuo N Q, Li Y L, et al. Autophagy promotes osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cell derived from osteoporotic vertebrae. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 488(1): 46-52.
- [33] Beaupere C, Garcia M, Larghero J, et al. The HIV proteins Tat and Nef promote human bone marrow mesenchymal stem cell senescence and alter osteoblastic differentiation. *Aging Cell*,

- 2015, 14(4): 534-546.
- [34] Liu Z Z, Hong C G, Hu W B, et al. Autophagy receptor OPTN (optineurin) regulates mesenchymal stem cell fate and bone-fat balance during aging by clearing FABP3. *Autophagy*, 2021, 17(10): 2766-2782.
- [35] Yang M, Wen T, Chen H X, et al. Knockdown of insulin-like growth factor 1 exerts a protective effect on hypoxic injury of aged BM-MSCs; role of autophagy. *Stem Cell Research & Therapy*, 2018, 9(1): 284.
- [36] Zhang Y L, Zhu W W, He H W, et al. Macrophage migration inhibitory factor rejuvenates aged human mesenchymal stem cells and improves myocardial repair. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(24): 12641-12660.
- [37] Zhang D Y, Chen Y F, Xu X B, et al. Autophagy inhibits the mesenchymal stem cell aging induced by D-galactose through ROS/JNK/p38 signalling. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 2020, 47(3): 466-477.
- [38] Kheirandish M, Gavvani S P, Samiee S. The effect of hypoxia preconditioning on the neural and stemness genes expression profiling in human umbilical cord blood mesenchymal stem cells. *Transfusion and Apheresis Science*, 2017, 56(3): 392-399.
- [39] Kim C, Park J M, Song Y, et al. HIF1 α -mediated AIMP3 suppression delays stem cell aging via the induction of autophagy. *Aging Cell*, 2019, 18(2): e12909.
- [40] Capasso S, Alessio N, Squillaro T, et al. Changes in autophagy, proteasome activity and metabolism to determine a specific signature for acute and chronic senescent mesenchymal stromal cells. *Oncotarget*, 2015, 6(37): 39457-39468.
- [41] Zheng Y, Hu C J, Zhuo R H, et al. Inhibition of autophagy alleviates the senescent state of rat mesenchymal stem cells during long-term culture. *Molecular Medicine Reports*, 2014, 10(6): 3003-3008.
- [42] Zheng Y, Lei Y S, Hu C H, et al. P53 regulates autophagic activity in senescent rat mesenchymal stromal cells. *Experimental Gerontology*, 2016, 75: 64-71.
- [43] Chang T C, Hsu M F, Wu K K. High glucose induces bone marrow-derived mesenchymal stem cell senescence by upregulating autophagy. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0126537.
- [44] Yun S P, Han Y S, Lee J H, et al. Melatonin rescues mesenchymal stem cells from senescence induced by the uremic toxin p-cresol via inhibiting mTOR-dependent autophagy. *Biomolecules & Therapeutics*, 2018, 26(4): 389-398.
- [45] Zhang M Y, Du Y, Lu R Z, et al. Cholesterol retards senescence in bone marrow mesenchymal stem cells by modulating autophagy and ROS/p53/p21^{Cip1/Waf1} pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016: 7524308.
- [46] Molaei S, Roudkenar M H, Amiri F, et al. Down-regulation of the autophagy gene, ATG7, protects bone marrow-derived mesenchymal stem cells from stressful conditions. *Blood Research*, 2015, 50(2): 80-86.

Research Progress on the Relationship Between Autophagy and Mesenchymal Stem Cell Senescence

DENG Jia-qiang LI Wei-yao ZHONG Li-jun YU Shu-min

(College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract Mesenchymal stem cells (MSCs) have attracted great attention in regenerative medicine due to their capacities for multilineage differentiation, immunomodulation and migration. However, increased donor age and prolonged *in vitro* culture inevitably trigger senescence. MSC senescence and cellular dysfunction are considered one of the main causes of aging in an individual and the development of degenerative diseases, while they hinder the application of MSCs in regenerative medicine. As a major lysosome-dependent degradation and recycling pathway, autophagy is the mechanism through which the cytoplasmic components can be renewed, contributing to maintaining intracellular homeostasis and resisting environmental stress, and may become a potential therapeutic target for regulating MSC senescence. This review focuses on the phenotypic characterizations, functional alterations and molecular mechanisms in senescent MSCs, and the relationship between autophagy and senescence, which develop a theoretical foundation for the research and clinical application of MSCs.

Keywords Mesenchymal stem cells Senescence Differentiation Immunosuppression Migration Autophagy