

孟博,杨盛,彭晴,等. 间充质干细胞衰老的表观遗传学研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(7): 922-927.

Meng B, Yang S, Peng Q, et al. Research progress in epigenetics of senescence of mesenchymal stem cells [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(7): 922-927.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.07.011

间充质干细胞衰老的表观遗传学研究进展

孟博^{1,2}, 杨盛^{1,2}, 彭晴², 赵文杰^{1,2}, 张钰²,
胡满^{1,2}, 刘鑫², 张亮^{2*}

(1. 大连医科大学研究生院, 辽宁 大连 116044; 2. 扬州大学临床医学院, 江苏 扬州 225001)

【摘要】 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类具有自我复制和多向分化能力的成体干细胞。MSCs 可分化为骨、软骨、肌肉等多种人体组织,因此在人体组织内源性修复中具有广阔临床应用前景。但伴随细胞复制次数增加以及年龄增长, MSCs 不可避免的面临衰老问题,从而一定限度上限制了 MSCs 的临床应用。为了将 MSCs 更有效地应用于基础及临床研究,有必要研究 MSCs 衰老的机制并寻找延缓 MSCs 衰老的策略。本文主要从表观遗传学的角度出发探讨 MSCs 衰老的机制。

【关键词】 间充质干细胞; 细胞衰老; 表观遗传学

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 07-0922-06

Research progress in epigenetics of senescence of mesenchymal stem cells

MENG Bo^{1,2}, YANG Sheng^{1,2}, PENG Qing², ZHAO Wenjie^{1,2}, ZHANG Yu², HU Man^{1,2}, LIU Xin², ZHANG Liang^{2*}

(1. Graduate School of Dalian Medical University, Dalian 116044, China. 2. Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001)

Corresponding author: ZHANG Liang. E-mail: zhangliang6320@sina.com

【Abstract】 Mesenchymal stem cells (MSCs) are adult stem cells with self-replication and multi-directional differentiation abilities. MSCs can differentiate into various human tissues such as bone, cartilage, and muscle, and thus have broad clinical application prospects in the endogenous repair of human tissues. However, increased cell replication and aging mean that MSCs inevitably face the problem of senescence, which affects and limits their clinical application. To allow MSCs to be applied more effectively in basic and clinical research, it is necessary to study the mechanisms responsible for their senescence and develop strategies to prevent its occurrence. This report highlights the role of epigenetics in MSC senescence.

【Keywords】 mesenchymal stem cell; cellular senescence; epigenetics

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类来源于中胚层的多能干细胞,1987 年

Friedenstein 等^[1]首先在小鼠骨髓中发现 MSCs,后有学者陆续发现 MSCs 也存在于肌肉、脂肪、椎间

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(82172462),江苏省中医药科技发展计划项目(YB2020085),江苏省第六期“333 工程”优秀青年人才科研项目(11),扬州市重点研发项目(社会发展)(YZ2021083),苏北人民医院院级科研基金(交叉合作专项)(SBJC21014)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (82172462), the Traditional Chinese Medicine Science and Technology Development Plan Project of Jiangsu Province (YB2020085), Phase 6 “333 Project” Outstanding Young Talents Scientific Research Project of Jiangsu Province(11), Key Projects of Social Development of Yangzhou City (YZ2021083), Cross Cooperation Project of Northern Jiangsu People’s Hospital (SBJC21014).

【作者简介】 孟博(1998—),男,在读硕士研究生,研究方向:脊柱外科及骨组织工程。Email: mengbo9809@163.com

【通信作者】 张亮(1983—),男,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:椎间盘退变性疾病组织工程及干细胞相关研究。Email: zhangliang6320@sina.com

盘、脐带及牙髓等其他组织中^[2-6]。MSCs 具有高度的自我更新能力、多向分化潜能及低免疫原性,因此是用于组织修复的理想细胞来源。但由于 MSCs 在临床应用中需要体外扩增,从而不可避免的面临细胞衰老问题,进而一定程度上限制了其在临床的广泛应用^[7]。MSCs 衰老的机制十分复杂,本文将近年来与 MSCs 衰老相关的表观遗传修饰方面的研究进行综述,探讨表观遗传修饰对 MSCs 衰老的影响,以期今后的基础研究和临床应用提供一种新思路。

1 细胞衰老

细胞衰老是指细胞在执行生命活动过程中,随着时间推移,细胞增殖与分化能力及生理功能逐渐衰退的变化过程。细胞衰老现象首先于 1965 年被美国生物学家 Hayflick^[7] 在培养肌成纤维细胞过程中发现,即细胞在体外培养时,经过有限次数增殖,即使给予最适宜的培养环境,细胞经过一定代数的分裂后也会发生衰竭,从而进入到一种不可逆的细胞周期停滞状态,此种细胞增殖能力的极限被称为 Hayflick 极限。当细胞复制次数到达 Hayflick 极限后,细胞就会发生衰老,最终通过启动凋亡而死亡^[7]。Hayflick 极限能够阻止正常细胞的无限增殖。

复制性衰老的细胞通常表现为细胞增殖率降低,细胞形态增大及端粒缩短^[8]。细胞发生衰老后,细胞膜、细胞质及细胞核等均会发生明显变化,如:(1)细胞含水量下降,体积变小,新陈代谢速度减慢;(2)细胞内酶活性降低;(3)细胞内色素沉积;(4)细胞呼吸速率下降,细胞核体积增大,线粒体数量减少,体积增大;(5)细胞膜通透性功能改变,物质运输功能降低。衰老现象是所有细胞共同具有的特性, MSCs 作为细胞的一种,同样面临衰老问题。由于体内可直接提取的 MSCs 数量较少,难以达到临床应用的量标准,故在临床应用过程中 MSCs 常需体外扩增培养。然而由于存在 Hayflick 极限,随着细胞传代次数增多, MSCs 不可避免的面临衰老问题,使其生物学功能下降甚至失调,限制了临床应用。

细胞衰老是多种因素共同作用的结果,是一个复杂的综合生物进程。目前细胞衰老机制的研究主要集中于端粒与端粒酶学说、氧化应激损伤、DNA 损伤、Wnt/ β -catenin 通路激活、SIRT 家族蛋白及表

观遗传调控等方面^[9-11]。本文主要从表观遗传方面阐述 MSCs 衰老的机制。

2 表观遗传调控

表观遗传调控是指在不改变基因序列的情况下,基因表达发生可逆的、可遗传的变化。经过表观遗传修饰, DNA 的空间结构或者染色体结构发生改变,导致基因沉默或过表达。近年来研究证实表观遗传调控与多种代谢性疾病、自身免疫性疾病及肿瘤等密切相关^[12-14]。表观遗传修饰可通过 3 种方式改变基因表达: DNA 甲基化、组蛋白修饰及非编码 RNA。

2.1 DNA 甲基化修饰

DNA 甲基化修饰在真核生物中是十分常见的复制后修饰,是哺乳动物基因表达调控的主要表观遗传学形式。DNA 甲基化是指在 DNA 甲基转移酶 (DNA methyltransferase, DNMT) 的参与下,在基因组 CpG 二核苷酸的胞嘧啶 5 号碳位共价键结合一个甲基基团,甲基供体通常来源于 S-腺苷甲硫氨酸。DNA 甲基化通常会抑制或沉默基因表达,从而改变细胞生理功能^[15]。

Farahzadi 等^[16]通过具有抗衰老作用的 L-肉碱处理脂肪间充质干细胞 (adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, ADMSCs), 结果发现 hTERT 启动子区 CpG 岛的甲基化状态发生改变,总的甲基化水平降低,端粒酶活性增加,最终导致 ADMSCs 衰老程度显著降低,因此推测 hTERT 启动子区甲基化能够促进 ADMSCs 衰老。但由于在此研究中端粒酶活性的增加同样可以延缓细胞衰老进程,因此并不能充分说明相关基因的甲基化会促进 ADMSCs 衰老。Kornicka 等^[17]通过 DNA 甲基转移酶抑制剂 5-氮杂胞苷 (5-AZA) 处理 ADMSCs, 并通过 ELISA 定量评估 DNA 甲基化状态,结果发现 DNA 甲基化水平明显降低, β -半乳糖苷酶阳性染色细胞数量明显减少,说明 5-AZA 能有效抑制 ADMSCs 衰老,但其具体机制有待进一步研究。Oh 等^[18]通过 DNA 甲基转移酶抑制剂 RG108 处理人骨髓间充质干细胞 (bone marrow-derived stem cells, BMSCs), 结果发现抗衰老基因端粒酶逆转录酶 (telomerase reverse transcriptase, TERT)、成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 及血管紧张素 (angiotensin, ANG) 表达增加,而衰老相关共价

失调毛细血管扩张突变基因 (ataxia telangiectasia-mutated gene, ATM)、p21 及 p53 表达降低,且 β -半乳糖苷酶染色阳性细胞数量显著减少;因此说明 RG108 通过对 TERT 启动子区域的去甲基化作用,解除甲基化对 TERT 表达的抑制,延缓端粒短缩速度,从而有效保护细胞衰老。有学者通过 5-AZA/白藜芦醇联合用药探究二者对 ADMSCs 的影响,结果发现二者联合能够明显降低 DNA 中的 5-甲基胞嘧啶水平,从而在一定程度上延缓 MSCs 衰老^[19]。

综上可知,衰老相关基因的甲基化水平增加能够加速 MSCs 衰老进程;反之,抑制衰老相关基因的甲基化能够延缓甚至逆转 MSCs 衰老。

2.2 组蛋白修饰

组蛋白是一种存在于染色体内的与 DNA 结合的碱性蛋白质,富含精氨酸和赖氨酸等碱性氨基酸,与 DNA 共同组成核小体结构。染色体是由重复单位核小体组成。每一核小体包括:一个核心 8 聚体(由 4 种核心组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4 的各两个单体组成);长度约为 200 个碱基对的 DNA 以及一个单体组蛋白 H1。长度为 147 碱基对的 DNA 盘绕于核心 8 聚体外面。在核心 8 聚体之间则由长度约为 60 个碱基对的“接头”DNA 连接^[20]。组蛋白在维持染色体结构稳定方面发挥重要作用。组蛋白修饰是指在相关酶的作用下发生甲基化、乙酰化及磷酸化等过程,是一种常见的翻译后修饰。其中,组蛋白的甲基化修饰是最稳定的修饰方式,通常发生在赖氨酸残基和精氨酸残基上。而乙酰化、磷酸化、腺苷酸化、泛素化及 ADP 核糖基化等修饰具有较高动态。这些修饰能够更加灵活的影响染色质的结构与功能,通过多种修饰方式的组合发挥调控功能。

既往研究表明组蛋白修饰特别是组蛋白甲基化与乙酰化参与 MSCs 衰老相关病理过程。Xu 等^[21]研究发现在早期传代的 BMSCs 中,精氨酸甲基转移酶 1 (coactivator-associated arginine methyltransferase 1, CARM1) 与 H3R17 甲基化水平较高的盘状结构域受体 2 (discoidin domain receptor 2, DDR2) 启动子区域直接结合;与早期传代细胞相比,晚期传代细胞中 DDR2 表达减少,敲除 DDR2 后可以削弱早期传代细胞的自我更新能力;CARM1 能够在早期传代细胞中优先甲基化 H3R17,抑制 CARM1 介导的组蛋白精氨酸甲基化可以降低 DDR2 表达并导致细胞衰老;过表达 CARM1 或

DDR2 可以延缓晚期传代细胞的衰老。该研究表明在不同的细胞培养周期中,CARM1 介导的 H3R17 甲基化对骨髓间充质干细胞衰老会产生不同作用,但具体机制仍有待进一步研究。Huang 等^[22]报道 H3K9 去甲基化酶 (KDM3A 和 KDM4C) 在 BMSCs 衰老过程中通过转录激活凝集素成分 NCAPD2 和 NCAPG2 调节异染色质重组;抑制 KDM3A/KDM4C 或 NCAPD2 可引起强烈的 DNA 损伤反应,从而加剧细胞衰老;而过表达 KDM3A/KDM4C 或 NCAPD2 则可以促进异染色质重组,使 DNA 损伤反应钝化,从而能够延缓或减弱 MSCs 衰老。Hu 等^[23]研究发现衰老 BMSCs 中 NAP1L2 蛋白表达增加,而 NAP1L2 表达量与 H3K14 乙酰化水平呈明显负相关;进一步研究发现,NAP1L2 通过调控 H3K14 乙酰化 NF- κ B 通路调控衰老相关表型表达促进 BMSCs 衰老。有学者通过 WNT10A 诱导大鼠骨关节炎滑膜间充质干细胞衰老,结果发现 WNT10A 通过 Wnt/钙通路介导组蛋白去乙酰化酶 HDAC5 磷酸化,使得 HDAC5 胞质异位,增加细胞核内 P53 的乙酰化水平,从而加速细胞衰老^[24]。另外,Wang 等^[25]在衰老 MSC 模型中发现编码一种组蛋白乙酰转移酶的基因 KAT7 表达上调,KAT7 失活能够使 H3K14 的乙酰化水平下调并抑制 p15 INK4b 转录,从而延缓细胞衰老。

总体来说,目前关于组蛋白修饰的研究主要集中在组蛋白甲基化及乙酰化方面,对于组蛋白其他类型修饰的作用机制及涉及的信号转导通路认识有限,有待于进一步研究。

2.3 非编码 RNA

非编码 RNA (noncoding RNA, ncRNA) 是指不编码蛋白质的 RNA,人类基因组中大多数 RNA 均属于非编码 RNA。非编码 RNA 包括核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA)、转义 RNA (transfer RNA, tRNA)、核小 RNA (small nuclear RNA, snRNA) 和微小 RNA (microRNA, miRNA) 等。非编码 RNA 的表观遗传修饰包括由外源 RNA 分子(小干扰 RNAs 或 siRNA)或内源性 RNA 分子(microRNAs)介导的调控修饰^[26]。近年来关于 RNA 甲基化的研究逐渐成为热点。有学者研究发现敲除 m⁶A 甲基转移酶 METTL3 可以促进 MSCs 衰老,而过表达 METTL3 则可以在一定程度上逆转 MSCs 衰老;进一步研究发现衰老 MSCs 中 MIS12 的 mRNA 含量明显降低,这是由于缺乏 m⁶A 修饰导致 MIS12 mRNA 的周转速

度加快所致,从而加速细胞衰老^[27]。因此说明 METTL3 能够通过 m⁶A 修饰增加 MIS12 转录本的稳定性来延缓 MSCs 衰老^[27]。Sun 等^[28] 分别从年老和年轻大鼠中提取 BMSCs,通过高通量测序和生物信息学进行分析,结果发现 4229 个 circRNAs 参与 MSCs 的年龄相关性衰老;并且与年轻组比较,年老组中有 29 个差异表达的 circRNAs,其中 4 个上调,25 个下调。因此差异表达的 circRNA 可能在与年龄相关的 MSCs 衰老中发挥重要作用,但具体机制缺乏进一步研究。Li 等^[29] 研究发现髓核细胞与 BMSCs 共培养后,可以通过上调 RNA 去甲基化酶 ALKBH5 调控髓核细胞的自噬,保护 FIP200 mRNA 免受 m⁶A“阅读器”YTHDF2 介导的降解,从而抑制压应力导致的髓核细胞凋亡。另外,Cai 等^[30] 研究发现与野生型相比,长链非编码 RNA 基因 Gm31629 敲除小鼠的 BMSCs 衰老明显增加,从而导致骨再生修复受损;进一步研究发现 Y-box 蛋白 1(YB-1)可与 Gm31629 相互作用并延缓其降解,降低 p16 INK4A 转录从而延缓 BMSCs 衰老。此外,

microRNA 对调控 MSCs 衰老也是目前研究热点。Xu 等^[31] 发现老年大鼠 BMSCs 衰老表型增加与 miR-31a-5p 的上调有关。研究表明 miR-31a-5p 与 E2F2 的 3'UTR 直接结合,促进细胞中衰老相关异染色质灶(SAHF)的形成调节细胞衰老。有学者发现过表达 miR-141-3p 可抑制牙根尖乳头干细胞(stem cells from apical papilla,SCAPs)增殖以及加速 SCAPs 衰老^[32]。生物信息学及双荧光素酶分析 miR-141-3p 通过下调下游靶基因 Yes-associated protein (YAP)抑制 SCAPs 的增殖并加速 SCAPs 的衰老^[32]。Fafián-Labora 等^[33] 发现抑制大鼠 BMSCs 来源外泌体中 miR-188-3p 表达能够增加老年大鼠 BMSCs 中 Rictor 水平,AKT 磷酸化水平降低,抑制 BMSCs 衰老。另外有学者发现 miR-155-5p 可通过 AMPK 信号通路抑制 MSCs 的线粒体裂变加速细胞衰老^[34]。

目前关于非编码 RNA 的表观遗传调控与 MSCs 衰老的相关性研究多集中于 m⁶A、circRNA 以及 microRNA。而 circRNA 与 microRNA 在 MSCs 衰老调控中的相互作用仍有待进一步完善研究(见表 1)。

表 1 表观遗传修饰在 MSC 衰老中的调控网络

Table 1 Regulatory networks of epigenetic modifications in MSC senescence

研究者 Researcher	调控类型 Type of regulation	处理方法/调控位点 Disposal/Regulatory site	表达量 Expression	调控结果 Results
Farahzadi ^[16]	DNA 甲基化 DNA methylation	左旋肉碱 L-carnitine	甲基化水平下调 Methylation levels are down-regulated	延缓脂肪间充质干细胞衰老 Delay the senescence of adipose mesenchymal stem cells
Katarzyn ^[17]	DNA 甲基化 DNA methylation	5-氮杂胞苷 5-azacytidine	甲基化水平下调 Methylation levels are down-regulated	延缓脂肪间充质干细胞衰老 Delay the senescence of adipose mesenchymal stem cells
Oh ^[18]	DNA 甲基化 DNA methylation	RG108(N-酞酰-L-色氨酸) RG108 N-Phthalyl-L-tryptophan	甲基化水平下调 Methylation levels are down-regulated	延缓骨髓间充质干细胞衰老 Delay the senescence of bone marrow mesenchymal stem cells
Kornicka ^[19]	DNA 甲基化 DNA methylation	5-氮杂胞苷/白藜芦醇 5-azacytidine/resveratrol	甲基化水平下调 Methylation levels are down-regulated	延缓脂肪间充质干细胞衰老 Delay the senescence of adipose mesenchymal stem cells
Xu ^[21]	组蛋白甲基化 Histone methylation	H3R17	甲基化水平下调 Methylation levels are down-regulated	促进早期骨髓间充质干细胞衰老 Promote senescence of early bone marrow mesenchymal stem cells
Xu ^[21]	组蛋白甲基化 Histone methylation	H3R17	甲基化水平上调 Methylation levels are up-regulated	促进晚期骨髓间充质干细胞衰老 Promote senescence of advanced bone marrow mesenchymal stem cells
Huang ^[22]	组蛋白甲基化 Histone methylation	H3K9	甲基化水平上调 Methylation levels are up-regulated	促进骨髓间充质干细胞衰老 Promote the senescence of bone marrow mesenchymal stem cells
Hu ^[23]	组蛋白乙酰化 Histone acetylation	H3K14	乙酰化水平下调 The level of acetylation is down-regulated	延缓骨髓间充质干细胞衰老 Delay the senescence of bone marrow mesenchymal stem cells
Cao ^[24]	组蛋白乙酰化 Histone acetylation	HDAC5/P53	乙酰化水平上调 The level of acetylation is up-regulated	促进滑膜间充质干细胞衰老 Promote the senescence of synovial mesenchymal stem cells

续表 1

研究者 Researcher	调控类型 Type of regulation	处理方法/调控位点 Disposal/Regulatory site	表达量 Expression	调控结果 Results
Wang ^[25]	组蛋白乙酰化 Histone acetylation	H3K14	乙酰化水平下调 The level of acetylation is down-regulated	延缓骨髓间充质干细胞衰老 Delay the senescence of endodontic mesenchymal stem cells
Wu ^[27]	RNA 甲基化 RNA methylation	MIS12 mRNA	m ⁶ A 修饰上调 The level of m ⁶ A is down-regulated	促进间充质干细胞衰老 Promote mesenchymal stem cell senescence
Sun ^[28]	环状 RNA circRNA	29 个差异表达的 circRNA 29 differentially expressed circRNAs	25 个下调,4 个上调 25 down-regulated circRNAs and 4 up-regulated circRNAs	骨髓间充质干细胞衰老水平增加 Increases the level of bone marrow mesenchymal stem cells senescence
Li ^[29]	RNA 甲基化 RNA methylation	FIP200 mRNA	RNA 甲基化水平下调 RNA methylation levels are down-regulated	骨髓间充质干细胞通过 m ⁶ A 增强髓核细胞自噬,减少凋亡 Bone marrow mesenchymal stem cells enhance autophagy and reduce apoptosis of nucleus pulposus cells through m ⁶ A
Cai ^[30]	长链非编码 RNA Long noncoding RNA	Gm31629	基因缺失 Gene deletion	促进骨髓间充质干细胞衰老 Promote the senescence of bone marrow mesenchymal stem cells
Xu ^[31]	微小 RNA Micro RNA	miR-31a-5p	过表达 Over-expression	促进骨髓间充质干细胞衰老 Promote the senescence of bone marrow mesenchymal stem cells
Li ^[32]	微小 RNA Micro RNA	miR-141-3p	过表达 Over-expression	促进牙根尖乳头干细胞衰老 Promote the senescence of stem cells from apical papilla
Fafián-Labora ^[33]	微小 RNA Micro RNA	miR-188-3p	下调表达 Low-expression	延缓骨髓间充质干细胞衰老 Delay the senescence of bone marrow mesenchymal stem cells
Hong ^[34]	微小 RNA Micro RNA	miR-155-5p	过表达 Over-expression	促进间充质干细胞衰老 Promote mesenchymal stem cell senescence

3 结语与展望

综上所述,表观遗传学修饰在调控 MSCs 衰老过程中发挥重要作用。目前关于 MSCs 衰老与表观遗传学的研究尚处于起步阶段,研究多集中在其多向分化调控上。间充质干细胞的分化方向如成骨、成脂分化与其衰老密切相关。许多表观遗传调控间充质干细胞衰老同时伴随着成骨及成脂分化的调控。如表观遗传调控促进间充质干细胞衰老的同时,往往伴有成骨分化能力减弱以及成脂分化能力增加,反之亦然。但关于二者之间的机制还有待进一步研究。另外,circRNA 作为 microRNA 的上游调控位点,在 microRNA 调控中发挥分子海绵机制,在 microRNA 对于间充质干细胞衰老相关文献中并未进行深入研究。笔者相信,随着研究不断深入,表观遗传调控 MSCs 衰老的神秘面纱会被逐渐揭开。届时,可以通过表观遗传学延缓甚至逆转 MSCs 衰老进程,为 MSCs 更好的用于生物治疗和组织再生提供可能。

参 考 文 献(References)

[1] Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Gerasimov UV. Bone marrow osteogenic stem cells; *in vitro* cultivation and transplanta-tion in diffusion chambers [J]. Cell Tissue Kinet, 1987, 20(3): 263-272.

[2] Zentelytė A, Gasiūnienė M, Treigytė G, et al. Epigenetic regulation of amniotic fluid mesenchymal stem cell differentiation to the mesodermal lineages at normal and fetus-diseased gestation [J]. J Cell Biochem, 2020, 121(2): 1811-1822.

[3] Zhou D, Chen Y, Bu W, et al. Modification of metal-organic framework nanoparticles using dental pulp mesenchymal stem cell membranes to target oral squamous cell carcinoma [J]. J Colloid Interface Sci, 2021, 601: 650-660.

[4] Sivaraman S, Hedrick J, Ismail S, et al. Generation and characterization of human mesenchymal stem cell-derived smooth muscle cells [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(19): 10335.

[5] Wang JW, Zhu L, Shi PZ, et al. 1, 25 (OH)₂D₃ mitigates oxidative stress-induced damage to nucleus pulposus-derived mesenchymal stem cells through PI3K/Akt pathway [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 1427110.

[6] Wei S, Zhang Z, Yan L, et al. miR-20a overexpression in adipose-derived mesenchymal stem cells promotes therapeutic

- efficacy in murine lupus nephritis by regulating autophagy [J]. Stem Cells Int, 2021, 2021: 3746335.
- [7] Hayflick L. The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains [J]. Exp Cell Res, 1965, 37: 614–636.
- [8] Kuilman T, Michaloglou C, Mooi WJ, et al. The essence of senescence [J]. Genes Dev, 2010, 24(22): 2463–2479.
- [9] Sun J, Guo Y, Fan Y, et al. Decreased expression of IDH1 by chronic unpredictable stress suppresses proliferation and accelerates senescence of granulosa cells through ROS activated MAPK signaling pathways [J]. Free Radic Biol Med, 2021, 169: 122–136.
- [10] Miao J, Liu J, Niu J, et al. Wnt/ β -catenin/RAS signaling mediates age-related renal fibrosis and is associated with mitochondrial dysfunction [J]. Aging Cell, 2019, 18(5): e13004.
- [11] Awad A, Glousker G, Lamm N, et al. Full length RTEL1 is required for the elongation of the single-stranded telomeric overhang by telomerase [J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(13): 7239–7251.
- [12] Xu F, Li W, Yang X, et al. The roles of epigenetics regulation in bone metabolism and osteoporosis [J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 619301.
- [13] Velleuer E, Carlberg C. Impact of epigenetics on complications of fanconi *Anemia*: the role of vitamin D-modulated immunity [J]. Nutrients, 2020, 12(5): 1355.
- [14] Surace AEA, Hedrich CM. The role of epigenetics in autoimmune/inflammatory disease [J]. Front Immunol, 2019, 10: 1525.
- [15] Rothi MH, Tsuzuki M, Sethuraman S, et al. Reinforcement of transcriptional silencing by a positive feedback between DNA methylation and non-coding transcription [J]. Nucleic Acids Res, 2021, 49(17): 9799–9808.
- [16] Farahzadi R, Fathi E, Mesbah-Namin SA, et al. Anti-aging protective effect of L-carnitine as clinical agent in regenerative medicine through increasing telomerase activity and change in the hTERT promoter CpG island methylation status of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells [J]. Tissue Cell, 2018, 54: 105–113.
- [17] Kornicka K, Marycz K, Marędzia K, et al. The effects of the DNA methyltransferases inhibitor 5-Azacytidine on ageing, oxidative stress and DNA methylation of adipose derived stem cells [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(2): 387–401.
- [18] Oh YS, Jeong SG, Cho GW. Anti-senescence effects of DNA methyltransferase inhibitor RG108 in human bone marrow mesenchymal stromal cells [J]. Biotechnol Appl Biochem, 2015, 62(5): 583–590.
- [19] Kornicka K, Szlapka-Kosarzewska J, Śmieszek A, et al. 5-Azacytydine and resveratrol reverse senescence and ageing of adipose stem cells via modulation of mitochondrial dynamics and autophagy [J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(1): 237–259.
- [20] Smith MM. Histone structure and function [J]. Curr Opin Cell Biol, 1991, 3(3): 429–437.
- [21] Xu Z, Wu W, Shen F, et al. Histone arginine methylation-mediated epigenetic regulation of discoidin domain receptor 2 controls the senescence of human bone marrow mesenchymal stem cells [J]. Stem Cell Int, 2019, 2019: 7670316.
- [22] Huang B, Wang B, Lee WYW, et al. KDM3A and KDM4C regulate mesenchymal stromal cell senescence and bone aging via condensin-mediated heterochromatin reorganization [J]. iScience, 2019, 21: 375–390.
- [23] Hu M, Xing L, Zhang L, et al. NAP1L2 drives mesenchymal stem cell senescence and suppresses osteogenic differentiation [J]. Aging Cell, 2022, 21(2): e13551.
- [24] Cao X, Wang X, Zhang W, et al. WNT10A induces apoptosis of senescent synovial resident stem cells through Wnt/calcium pathway-mediated HDAC5 phosphorylation in OA joints [J]. Bone, 2021, 150: 116006.
- [25] Wang W, Zheng Y, Sun S, et al. A genome-wide CRISPR-based screen identifies *KAT7* as a driver of cellular senescence [J]. Sci Transl Med, 2021, 13(575): eabd2655.
- [26] Stein R. Epigenetics and environmental exposures [J]. J Epid Com Health, 2011, 66: 13–18.
- [27] Wu Z, Shi Y, Lu M, et al. METTL3 counteracts premature aging via m⁶A-dependent stabilization of MIS12 mRNA [J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(19): 11083–11096.
- [28] Sun H, Sun Y, Yu X, et al. Analysis of age-related circular RNA expression profiles in mesenchymal stem cells of rat bone marrow [J]. Front Genet, 2021, 12: 600632.
- [29] Li G, Song Y, Liao Z, et al. Bone-derived mesenchymal stem cells alleviate compression-induced apoptosis of nucleus pulposus cells by N6 methyladenosine of autophagy [J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 103.
- [30] Cai G, Xiao Y, Yang M, et al. Long noncoding RNA *Gm31629* promotes bone regeneration by maintaining bone marrow mesenchymal stem cells activity [J]. Peer J, 2022, 10: e13475.
- [31] Xu R, Shen X, Si Y, et al. microRNA-31a-5p from aging BMSCs links bone formation and resorption in the aged bone marrow microenvironment [J]. Aging Cell, 2018, 17(4): e12794.
- [32] Li Z, Ge X, Lu J, et al. miR-141-3p regulates proliferation and senescence of stem cells from apical papilla by targeting YAP [J]. Exp Cell Res, 2019, 383(2): 111562.
- [33] Fafián-Labora J, Morente-López M, Sánchez-Dopico MJ, et al. Influence of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles *in vitro* and their role in ageing [J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 13.
- [34] Hong Y, He H, Jiang G, et al. miR-155-5p inhibition rejuvenates aged mesenchymal stem cells and enhances cardioprotection following infarction [J]. Aging Cell, 2020, 19(4): e13128.