

# 骨髓微环境对造血干细胞静息的调节机制

李欢 饶青\*

(中国医学科学院、北京协和医学院血液学研究所、血液病医院, 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020)

**摘要** 自我更新、多向分化和静息状态是造血干细胞的重要特征, 其中静息状态的维持是维持造血干细胞数量及造血干细胞池稳定的重要机制。骨髓微环境是造血干细胞定居的场所, 是维持造血干细胞静息必要的土壤, 尤其是成骨细胞微环境可通过多种跨膜分子信号通路、黏附分子等调节造血干细胞的静息。造血干细胞静息关系到造血干细胞自我更新的平衡, 其失衡与白血病的发生及白血病干细胞的干性维持相关。该文通过总结近几年最新研究进展并结合作者实验室的研究成果, 对介导骨髓微环境调节造血干细胞静息的主要分子机制作一综述。

**关键词** 造血干细胞; 自我更新; 静息状态; 骨髓微环境

## Regulation Mechanism of Bone Marrow Niche on Hematopoietic Stem Cell Quiescence

Li Huan, Rao Qing\*

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology, Blood Disease Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

**Abstract** Hematopoietic stem cell (HSC) is characterized by its potentiality in self-renewal, multipotential differentiation and quiescence. Quiescent state is more important to maintain the number of HSC and the stability of HSC pool. HSC resides in bone marrow niche, which provides necessary soil to maintain HSC quiescence. Bone marrow niche, especially osteoblast niche, regulates HSC quiescence through a variety of transmembrane molecules, signaling pathways and adhesion molecules. Quiescence of HSC is critical for HSC' self-renewal. Imbalance between self-renewal and quiescence may be associated with leukemogenesis and even be essential for leukemia stem cells' stemness. In this review, based on the recent research progress and the results of our study, we briefly reviewed the current advances of the quiescence regulators in the bone marrow niche for the HSC.

**Keywords** hematopoietic stem cell; self-renewal; quiescent state; bone marrow niche

造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)的多向分化潜能使造血干细胞分化为各类祖细胞, 祖细胞又可以分化为各种类型的血细胞。在造血干细胞发育、成熟的过程中, 除了分化为成熟的细胞, 部分细胞会衰老、死亡。为了维持终生造血, 造血干细

胞会不断地进行自我更新。但是在一次次的DNA复制和细胞分裂中又增加了突变的可能。除了自我更新和多向分化的特点, 一部分造血干细胞还可以处于细胞周期中的G<sub>0</sub>期, 不进入分裂周期, 即处于静息状态。在成体中, 70%的HSC处于静息状态<sup>[1]</sup>, 这种

收稿日期: 2014-06-23 接受日期: 2014-07-24

国家自然科学基金(批准号: 81370599)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 022-23909403, E-mail: raoqing@ihcams.ac.cn

Received: June 23, 2014 Accepted: July 24, 2014

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81370599)

\*Corresponding author. Tel: +86-22-23909403, E-mail: raoqing@ihcams.ac.cn

网络出版时间: 2014-12-25 09:52

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20141225.0952.001.html>

状态可使终生存在的造血干细胞可以尽可能减少由于增殖带来的基因组不稳定性,降低细胞应激带来的伤害。当造血干细胞受到信号刺激时,静息的造血干细胞就会退出G<sub>0</sub>期,进入分裂状态,补充血细胞的种类和数量。造血干细胞这种静息与自我更新的平衡受到信号通路分子、黏附相关分子等的调节<sup>[2]</sup>。静息与自我更新的平衡,关系到造血干细胞的转化及白血病干细胞干性的维持,与白血病的发生相关。探索调节静息的相关细胞间的相互作用及分子机制,可以更好地了解造血干细胞的生物学特征,阐释其衰老和癌变的机制。

由内皮细胞、成骨细胞、脂肪细胞等组成的造血微环境是造血干细胞赖以生存的场所,调节着造血干细胞的静息、增殖和分化。影响造血干细胞的微环境成分主要分为两种:成骨微环境和血管微环境。血管微环境富含沿血管分布的窦内皮细胞(sinusoidal endothelial cell),主要参与短期造血干细胞的增殖和分化;而成骨微环境主要是指骨髓腔内表面的区域,包含丰富的成骨细胞<sup>[3]</sup>,对长期造血干细胞处于静息状态发挥重要的作用。研究发现,处于静息状态或者增殖缓慢的造血干细胞位于骨髓中靠近骨小梁的内膜表面区域<sup>[4]</sup>,在受到组织损伤的时候,静息状态的造血干细胞就会被动员重新进入细

胞周期,补充血细胞成分。Celso等<sup>[5]</sup>和Xie等<sup>[6]</sup>通过不同的方法证实,造血干细胞储存在成骨微环境中,维持造血。成骨细胞减少,就会诱发造血生成,这说明成骨细胞可以使造血细胞处于静息状态<sup>[7]</sup>。造血干细胞通过与成骨细胞相互作用维持静息状态<sup>[8]</sup>,一方面,成骨细胞表面可以表达多种信号分子,如Jagged1,通过Notch途径调节造血干细胞;另一方面,成骨细胞还可分泌多种可溶性分子,如血小板生成素(thrombopoietin, TPO)、干细胞生长因子(stem cell factor)、血管生成素(angiopoietin)等调节造血干细胞的静息和维持。一些介导造血干细胞和成骨细胞的黏附分子以及体内的钙氧含量等也参与介导了骨髓微环境对HSC静息的调节。对影响静息的相关分子总结如图1所示。本文结合作者实验室的研究就近年来对骨髓微环境影响静息机制的研究进展进行如下综述。

## 1 介导成骨细胞与造血干细胞相互作用的分子对HSC静息的调节

### 1.1 TPO/MPL信号通路

血小板生成素TPO主要分布在脾、肺、肾、平滑肌和骨髓<sup>[9]</sup>。骨髓中的TPO可由成骨细胞分泌。TPO的受体c-MPL,主要表达于巨核细胞、血小板、

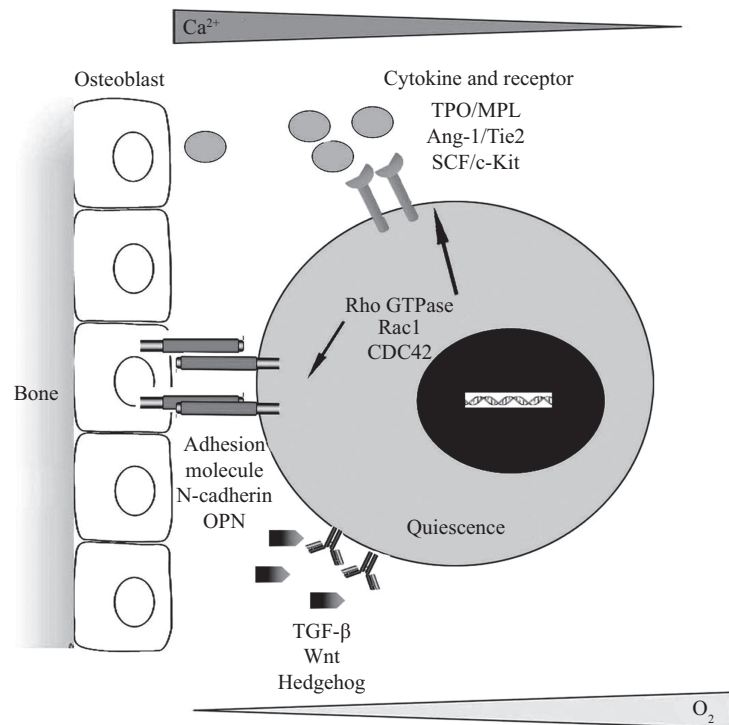


图1 调节造血干细胞静息的分子机制

Fig.1 Molecular mechanism for the hematopoietic stem cell quiescence

造血干细胞的表面<sup>[10]</sup>。最早发现, TPO具有促进巨核细胞的增殖和分化的作用<sup>[11]</sup>。后来, Qian等<sup>[12]</sup>和Yoshihara等<sup>[13]</sup>发现, TPO/MPL信号参与造血干细胞的静息调节。Qian等<sup>[12]</sup>发现, 在TPO敲除的小鼠模型中, 骨髓中造血干细胞和造血干祖细胞的细胞数目逐渐减少, 尤其以长期造血干细胞(long term-hematopoietic stem cells)的减少最为显著。其中, TPO/MPL信号通路调节静息的分子机制主要是通过其对周期相关蛋白的调节实现的。Yoshihara等<sup>[13]</sup>发现, 鼠的LSKCD34<sup>-</sup>MPL<sup>+</sup>和LSKCD34<sup>+</sup>MPL<sup>+</sup>这两群细胞分别代表了静息状态和增殖状态的HSC, 静息状态LSKCD34<sup>-</sup>MPL<sup>+</sup>主要黏附在骨内膜区的成骨细胞上, 两者之间的定位关系意味着TPO/MPL信号可以维持成骨细胞龛中LT-HSC的静息状态。用抗MPL的抗体阻断TPO/MPL信号通路后, 静息的HSC细胞数目减少, 其与微环境之间的相互作用减弱。另一方面, 外源给小鼠注射TPO, 可观察到静息的HSC比例增加<sup>[13]</sup>。敲除TPO或MPL的小鼠不仅巨核细胞和血小板的数目有所减少, 而且骨髓中的造血干细胞也会减少。研究发现, TPO/MPL可以上调LT-HSC中 $\beta 1$ -integrin的表达<sup>[13]</sup>, 而 $\beta 1$ -integrin作为黏附分子对介导HSC和微环境之间的相互作用非常重要。TPO与MPL结合, 可引起MPL的二聚化, 磷酸化JAK2, 激活下游信号STATs。Wang等<sup>[14]</sup>研究发现, 在STAT5<sup>-/-</sup>小鼠的造血干细胞中, 静息相关的调节因子Tie2、p57等均表达下降。STAT又可以激活SOCS (suppressors of cytokine signaling)家族的表达, 反向调节JAK2-STAT信号途径<sup>[15]</sup>。另外, Bersenev等<sup>[16]</sup>发现, Lnk也可以反向调节JAK2。以上说明, MPL可以通过TPO/MPL/JAK2/Lnk途径参与造血干细胞的静息调节。

Rho GTP分子作为细胞内信号分子, 也参与了对造血干细胞及白血病干细胞静息状态的调节, 上调造血干细胞中MPL的表达是其对HSC及白血病干细胞静息调节的分子机制之一。作者实验室将活化型Rac1 GTPase转染正常造血干祖细胞后, 发现处于G<sub>0</sub>期的造血干祖细胞的比例增加, 调节静息相关的分子的表达上调, 说明Rac1的活化可以促进造血干祖细胞处于静息状态, 在白血病干细胞中也发现同样的调节作用。进一步研究发现, Rac1 GTPase的活化可促进介导造血干细胞与微环境相互作用的膜表面分子c-MPL的表达上调<sup>[17]</sup>。

## 1.2 Wnt信号通路

Wnt信号通路分为两种, 一种为经典的Wnt信号通路, 另一种是非经典的Wnt信号通路。这两种信号通路似乎都能调节造血干细胞的静息。但是经典的Wnt通路调节造血干细胞静息的能力有些争议。一些研究表明, 成骨细胞表达的Dkk1可以抑制经典的Wnt5a信号通路, 从而使静息的造血干细胞减少, 同时也会降低长期造血干细胞的重塑能力<sup>[18]</sup>。Nemeth等<sup>[19]</sup>用 $\beta$ -catenin条件敲除小鼠研究发现, 微环境中的 $\beta$ -catenin对造血干祖细胞的维持很重要。但是Schaniel等<sup>[20]</sup>研究Wnt信号抑制因子1(Wif1)时得出了相反的结论, 即当经典的Wnt信号通路被激活时, 静息的造血干细胞数量减少, 最终引起造血干细胞的耗竭。早期研究发现, 表达在造血干祖细胞上的Wnt5a配体, 可以激活非经典的Wnt信号通路, 提高鼠和人造造血干细胞的造血重塑能力<sup>[19,21-22]</sup>。Povinelli等<sup>[23]</sup>发现, Wnt5a可以抑制造血干细胞的增殖, 使之保持静息状态。这种静息状态的调节受到Wnt5a配体的受体Ryk的控制, 通过控制活性氧的种类来实现对造血干细胞静息的调节。

## 1.3 SCF/c-Kit细胞因子及受体

c-Kit是III型受体酪氨酸激酶, 与它的配体SCF结合, 激活信号通路, 进行细胞信号通路的转导<sup>[24]</sup>。在成体骨髓中处于稳定状态的HSC表面有丰富的c-Kit的表达。现在c-Kit已经成为HSC的表面标记之一<sup>[25]</sup>。Thoren等<sup>[26]</sup>通过对c-Kit部分功能丧失的小鼠的造血干细胞的研究发现, c-Kit的部分功能丧失虽然不影响幼鼠造血干细胞的大量扩增, 但对十二周龄小鼠的造血干细胞的扩增有影响, 即在c-Kit部分功能缺失后, 十二周龄的小鼠长期造血干细胞的数量减少两倍, 而短期造血干细胞和多功能祖细胞数量基本保持不变, 联合后来的竞争实验以及BrdU掺入实验都说明c-Kit在维持静息的造血干细胞的数量中起重要作用。用抗c-Kit的抗体封闭SCF/c-Kit信号通路, 骨髓中的HSC会减少, 说明这个信号通路可以维持HSC数量<sup>[27]</sup>。c-Kit信号途径受到shp2的调节, 与正常的LSK造血干细胞相比, shp2<sup>-/-</sup>LSK细胞群中G<sub>0</sub>期细胞数量减少, 而S期细胞增多, 造血干细胞的自我更新能力减低, 敲除shp2后迫使静息的细胞进入细胞周期进行分裂<sup>[28]</sup>。

## 1.4 Ang-1/Tie2信号通路

Tie2是表达在内皮细胞、HSC表面的一种受体

酪氨酸激酶。它的配体主要有四种, 血管生成素1、2、3、4(Ang-1、Ang-2、Ang-3、Ang-4)。其中, Ang-1/Tie2信号通路研究地比较广泛。表达Tie2的造血干细胞黏附在骨髓微环境的成骨细胞上, 既能保持静息状态又具有抗凋亡的能力。Ang-1的表达可使造血干细胞变得更为静息, 使其附着在骨髓表面, 防止造血干细胞受到骨髓抑制的压力, 且Tie2和Ang-1相互作用能维持造血干细胞的长期存活。这些说明, Tie2/Ang-1信号通路可以使造血干细胞在微环境中保持静息状态<sup>[29-30]</sup>。2009年, Gomei等<sup>[31]</sup>在研究Ang-1和Ang-2调节造血干细胞的功能差别时发现, Ang-1可上调造血干细胞中*p57*、*p18*、*Itgb1*、*Alcam*、*Tie2*、*Hoxb4*和*Bmi1*基因的表达, 而*P57*等是调节造血干细胞静息的内源分子<sup>[32]</sup>。Ang-2则拮抗Ang-1的这种效应。体外用这两种血管生成素培养造血干细胞后进行移植实验, 发现Ang-1可以保持HSC的重塑, 而用Ang-2培养的造血干细胞则不能重建造血。通过基因表达和骨髓移植实验说明, 含Ang-1的培养基可在体外维持长期造血干细胞的扩增, 而Ang-2则起着负性调节作用<sup>[31]</sup>。后来, Ikushima等<sup>[30]</sup>构建了CAG-Cre+/COMP-Ang-1+、Mx1-Cre+/COMP-Ang-1+和Colla1-Cre+/COMP-Ang-1+三种转基因小鼠, 发现Ang-1过表达可上调LSK细胞中*Cdkn1a*、*Cdkn1c*、*Hoxb4*、*Foxo4*、*Vcam1*、*Cd44*、*Cdh2*和*Ctnd1*基因的表达, 这些基因很多是调节造血干静息的重要分子。从Colla1-Cre+/COMP-Ang-1+小鼠分离出的造血干细胞重建造血能力较强, 且更加维持静息状态。

我们对Rac1在造血干细胞及白血病干细胞静息状态的调节机制的研究中也发现, Rac1的活化也可通过上调Tie2在造血干细胞及白血病干细胞上的表达促进其与成骨细胞的相互作用, 从而促进细胞静息状态的维持<sup>[17]</sup>。

### 1.5 Hedgehog信号通路

Hedgehog信号通路被认为是调节造血干细胞静息的负性调控因子<sup>[33]</sup>。Hedgehog信号通路受靶细胞膜上两种受体Patched(Ptc)和Smoothed(Smo)的控制。正常情况下, Ptc抑制Smo蛋白的活性, 从而抑制下游靶基因的转录。当Ptc和Hedgehog结合以后, 解除了Ptc对Smo蛋白的抑制作用, 促使Gli(glioma-associated oncogene)蛋白与PKA等形成分子复合物, 使得全长Gli蛋白进入细胞核, 进而激活下游靶基因的转录<sup>[34]</sup>。Trowbridge等<sup>[33]</sup>通过对*ptc-1*敲除

小鼠和野生型小鼠的研究发现, 与野生型小鼠相比, *ptc-1*敲除的小鼠骨髓中LSK数量明显增加, 但成熟的血细胞的数量没有明显差异, 这说明, 激活Hedgehog信号通路可以诱导干细胞进入细胞周期, 使原代骨髓造血干细胞不断扩增。Hedgehog信号通路影响造血干细胞的更新, 敲除Smo的小鼠, 在原代和二次移植中, 长期造血干细胞的功能会产生缺陷<sup>[35]</sup>。但也有研究表明, 敲除或者激活Smo对成体HSC的自我更新和功能作用不大<sup>[36]</sup>。

### 1.6 TGF- $\beta$ 信号通路

TGF- $\beta$ 主要是由骨髓基质细胞和造血祖细胞产生的约25 kDa大小的蛋白<sup>[37-38]</sup>。体外实验证明, TGF- $\beta$ 对造血干细胞的静息状态有一定的作用。用抗体特异性地阻断它的一个受体TGF- $\beta$ RII, 可以诱导造血干细胞离开静息状态, 进行增殖<sup>[39]</sup>。TGF- $\beta$ 通过上调包括p21在内的CDK抑制分子调节造血干细胞<sup>[40]</sup>, 而且在造血干祖细胞的原代培养中, TGF- $\beta$ 可以诱导其静息<sup>[41-44]</sup>, 但是在体内, TGF- $\beta$ 调节造血干细胞静息的作用似乎没有那么显著。研究条件性敲除TGF- $\beta$ RI的造血干细胞发现, 与对照组相比, 用5-FU处理后, 两者对5-FU的敏感性并没有显著差异<sup>[45]</sup>。

## 2 黏附分子对造血干细胞静息状态的调节

### 2.1 Osteopontin

Osteopontin(Opn)是1985年由Franzen和Heinegard发现的, 在骨髓中主要由成骨细胞分泌<sup>[46]</sup>。Osteopontin是影响造血干细胞的负性调控因子, 调节着造血干细胞的定位和增殖。体内小鼠移植实验发现, Opn能诱导HSC从骨髓迁移至内皮区域。体外, 人的HSC可以通过 $\beta$ 1-integrins特异地黏附在Opn上。通过对敲除Opn的小鼠的一系列研究发现, 不论是体内还是体外, Opn都能负性调节HSC的增殖<sup>[47]</sup>。检测用BrdU处理4周的Opn<sup>-/-</sup>小鼠的HSC发现, 与对照组相比, Opn<sup>-/-</sup>HSC都插入了BrdU, 而且Opn<sup>-/-</sup>小鼠骨髓的细胞数和HSC的比例与对照组相比也有所增加。这说明, Opn在维持造血干的静息方面有重要的作用, 可能是通过阻止细胞进入周期实现的<sup>[47]</sup>。此外, Stier等<sup>[48]</sup>也证明了Opn的这种作用。

### 2.2 N-cadherin

N-cadherin是钙依赖的黏附分子家族的成员, 参与维持组织的结构, 调节干细胞和微环境之间的相互作用。N-cadherin在造血干细胞和成骨细胞

表面均有表达<sup>[49-51]</sup>。Arai等<sup>[56]</sup>发现, HSC表面过表达N-cadherin可以阻止造血干细胞的分裂, 增加HSC的储存, 保持其长期重塑能力。而对N-cadherin进行干扰之后, 这种作用明显减弱。Tie2/Ang-1信号通路可以诱导 $\beta$ 1-integrin和N-cadherin依赖的HSC的黏附<sup>[52]</sup>。因此, N-cadherin可能是造血干细胞Tie2/Ang-1信号通路的下游靶点。C-Myc的失活可以引起HSC表面N-cadherin表达异常增多, 使HSC紧紧黏附在微环境中而不能增殖<sup>[53]</sup>。这说明N-cadherin介导的细胞黏附作用不仅可以使HSC锚定在微环境中, 还可以维持HSC的静息状态。但是, Greenbaum等<sup>[54]</sup>和Bromberg等<sup>[55]</sup>分别条件性敲除不同发育阶段的成骨细胞表面的N-cadherin, 发现N-cadherin的敲除对造血干细胞的数目、周期、分化潜能等都没有显著影响。这说明, N-cadherin可能也并不是维持HSC静息所必需的。

同Rac1 GTPase可上调Tie、MPL的表达相同, 在我们的研究中发现, Rac1可以上调N-cadherin在造血干细胞及白血病干细胞上的表达, 从而促进二者与骨髓微环境的相互作用, 进而促进细胞处于静息状态<sup>[17]</sup>。Rho GTPase家族的另一成员CDC42同样参与造血干细胞的静息调节。通过BrdU掺入实验、Hoechst 33342和pyronin Y双染实验证明, 敲除CDC42的造血干细胞, 处于G<sub>0</sub>期的Lin<sup>-</sup>c-Kit<sup>+</sup>的祖细胞比例减少, G<sub>1</sub>期的细胞比例增加。进一步研究发现, CDC42也可促进造血干细胞中N-cadherin的表达, 促进造血干细胞与骨髓微环境的相互作用, 提示N-cadherin是CDC42对造血干细胞静息调节的分子机制之一<sup>[56]</sup>。

### 3 参与造血干细胞静息的其他微环境因素

#### 3.1 低氧

增殖不活跃的HSC大都分布在骨髓中远离血管的低氧区, 而早期的造血祖细胞分布在靠近血管的地方。这说明氧可能是调节造血干细胞静息的因子之一<sup>[57]</sup>。相比于靠近血管分布的细胞, 处于低氧微环境中的HSC, Notch-1、端粒酶和p21的表达要高一些<sup>[58]</sup>。LSK细胞在1% O<sub>2</sub>浓度下培养4天, 增殖的细胞会减少, 处于G<sub>0</sub>期的细胞则增加。在同样的氧浓度下培养人脐血来源的CD34<sup>+</sup>细胞, 低氧通过阻止已经在G<sub>0</sub>期的细胞退出周期和使处在周期中的细胞进入静息两种途径增加G<sub>0</sub>期的细胞数<sup>[59]</sup>。低氧的微环境限制了活性氧的产生。保护造血干细胞不受活

性氧的刺激。ROS<sup>low</sup>的造血干细胞群钙离子受体、N-cadherin、Notch1和p21的表达比较高。而ROS<sup>high</sup>的造血干细胞容易分化耗尽<sup>[58]</sup>。5-FU处理造血干细胞会引起活性氧的积累, 下调N-cadherin的表达, 从而引起造血干细胞从微环境中脱离进入细胞周期, 用抗氧化剂处理, 就会阻止LSK中的活性氧水平的升高, N-cadherin的表达水平也得以维持, 这就说明活性氧可以通过抑制N-cadherin的表达负性调节造血干细胞与微环境的相互作用, 使造血干细胞离开静息状态进行增殖<sup>[60]</sup>。

#### 3.2 钙离子

骨内膜区的钙离子浓度比中央骨髓处的浓度要高, 而HSC表面表达有七次跨膜的钙感受体。HSC通过表达的钙离子受体感知钙离子的浓度梯度, 从而分布在骨内膜区。敲除钙离子感受体的小鼠出生前在血液和脾均能发现造血干细胞, 但是在骨髓内皮微环境区几乎检测不到<sup>[61]</sup>。也就是说, 条件性敲除钙感受体的HSC在迁移至骨髓内皮微环境的能力存在缺陷, 不能和内皮微环境相互作用并定居。另一方面, 用不同的钙离子浓度培养成骨细胞, 虽然成骨细胞的增殖能力不受影响, 但是它的形态却发生了改变。当钙离子浓度升高时, 成骨细胞Ang-1的表达会显著升高<sup>[62]</sup>, 而Ang-1是介导微环境与造血干细胞相互作用的分子。总的来说, 钙离子参与了造血干细胞与微环境之间相互作用的调节。

### 4 结语与展望

本文概述了近年来影响造血干细胞静息相关的分子机制。如上所述, 造血干细胞的自我更新、静息状态等干性受到来自于细胞外部的分子及细胞内分子的调节, 细胞的静息是通过细胞周期分布决定的, 尽管细胞周期调节蛋白是细胞静息的直接调节者, 但这些分子又受到细胞外在分子, 尤其是介导骨髓微环境及造血干细胞相互作用的分子如细胞因子、黏附分子及其他外部因素的调节。此外, 一些造血干细胞内信号分子如Rho GTPase家族成员也参与了对造血干细胞静息的调节, 但目前结果提示, 这种调节也有介导微环境与造血干细胞相互作用的细胞外分子参与。虽然近年来对维持造血干细胞静息的细胞及分子机制有了更深入的了解, 但是一些黏附分子等对造血干细胞的静息作用的调节还存在争议, 尚待进一步的实验依据。阐明造血干细胞静

息的相关分子机制,对揭示造血干细胞自我更新的调控机制、提高造血干细胞的移植效率具有一定的理论指导意义。此外,对白血病细胞静息状态的调控机制的研究,也为阐释白血病干细胞的干性及白血病的治疗提供了线索和依据。

### 参考文献 (References)

- 1 Wilson A, Laurenti E, Oser G, van der Wath RC, Blanco-Bose W, Jaworski M, *et al*. Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell* 2008; 135(6): 1118-29.
- 2 Wilson A, Trumpp A. Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(2): 93-106.
- 3 Guerrouahen BS, Al-Hijji I, Tabrizi AR. Osteoblastic and vascular endothelial niches, their control on normal hematopoietic stem cells, and their consequences on the development of leukemia. *Stem Cells Int* 2011; 2011: 1-8.
- 4 ter Huurne M, Figdor CG, Torensma R. Hematopoietic stem cells are coordinated by the molecular cues of the endosteal niche. *Stem Cells Dev* 2010; 19(8): 1131-41.
- 5 Lo Celso C, Fleming HE, Wu JW, Zhao CX, Mlake-Lye S, Fujisaki J, *et al*. Live-animal tracking of individual haematopoietic stem/progenitor cells in their niche. *Nature* 2008; 457(7225): 92-6.
- 6 Xie Y, Yin T, Wiegraebe W, He XC, Miller D, Stark D, *et al*. Detection of functional haematopoietic stem cell niche using real-time imaging. *Nature* 2008; 457(7225): 97-101.
- 7 Visnjic D, Kalajzic Z, Rowe DW, Katavic V, Lorenzo J, Aguila HL. Hematopoiesis is severely altered in mice with an induced osteoblast deficiency. *Blood* 2004; 103(9): 3258-64.
- 8 Czechowicz A, Kraft D, Weissman IL, Bhattacharya D. Efficient transplantation via antibody-based clearance of hematopoietic stem cell niches. *Science* 2007; 318(5854): 1296-9.
- 9 de Sauvage FJ, Hass PE, Spencer SD, Malloy BE, Gurney AL, Spencer SA, *et al*. Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. *Nature* 1994; 369(6481): 533-8.
- 10 Methia N, Louache F, Vainchenker W, Wendling F. Oligodeoxynucleotides antisense to the proto-oncogene c-mpl specifically inhibit *in vitro* megakaryocytopoiesis. *Blood* 1993; 82(5): 1395-401.
- 11 Kaushansky K, Lok S, Holly RD, Broudy VC, Lin N, Bailey MC, *et al*. Promotion of megakaryocyte progenitor expansion and differentiation by the c-Mpl ligand thrombopoietin. *Nature* 1994; 369(6481): 568-71.
- 12 Qian H, Buza-Vidas N, Hyland CD, Jensen CT, Antonchuk J, Mansson R, *et al*. Critical role of thrombopoietin in maintaining adult quiescent hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell* 2007; 1(6): 671-84.
- 13 Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, Hagiwara T, Takubo K, Nakamura Y, *et al*. Thrombopoietin/MPL signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. *Cell Stem Cell* 2007; 1(6): 685-97.
- 14 Wang Z, Li G, Tse W, Bunting KD. Conditional deletion of STAT5 in adult mouse hematopoietic stem cells causes loss of quiescence and permits efficient nonablative stem cell replacement. *Blood* 2009; 113(20): 4856-65.
- 15 Han L, Wierenga AT, Rozenveld-Geugien M, van de Lande K, Vellenga E, Schuringa JJ. Single-Cell STAT5 signal transduction profiling in normal and leukemic stem and progenitor cell populations reveals highly distinct cytokine responses. *PLoS One* 2009; 4(11): e7989.
- 16 Bersenev A, Wu C, Balcerak J, Tong W. Lnk controls mouse hematopoietic stem cell self-renewal and quiescence through direct interactions with JAK2. *J Clin Invest* 2008; 118(8): 2832-44.
- 17 Wang J, Yu P, Chen S, Xing H, Chen Y, Wang M, *et al*. Activation of Rac1 GTPase promotes leukemia cell chemotherapy resistance, quiescence and niche interaction. *Mol Oncol* 2013; 7(5): 907-16.
- 18 Fleming HE, Janzen V, Lo CC, Guo J, Leahy KM, Kronenberg HM, *et al*. Wnt signaling in the niche enforces hematopoietic stem cell quiescence and is necessary to preserve self-renewal *in vivo*. *Cell Stem Cell* 2008; 2(3): 274-83.
- 19 Nemeth MJ, Topol L, Anderson SM, Yang Y, Bodine DM. Wnt5a inhibits canonical Wnt signaling in hematopoietic stem cells and enhances repopulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(39): 15436-41.
- 20 Schaniel C, Sirabella D, Qiu J, Niu X, Lemischka IR, Moore KA. Wnt-inhibitory factor 1 dysregulation of the bone marrow niche exhausts hematopoietic stem cells. *Blood* 2011; 118(9): 2420-9.
- 21 Liang H, Chen Q, Coles AH, Anderson SJ, Pihan G, Bradley A, *et al*. Wnt5a inhibits B cell proliferation and functions as a tumor suppressor in hematopoietic tissue. *Cancer Cell* 2003; 4(5): 349-60.
- 22 Reya T, O'Riordan M, Okamura R, Devaney E, Willert K, Nusse R, *et al*. Wnt signaling regulates B lymphocyte proliferation through a LEF-1 dependent mechanism. *Immunity* 2000; 13(1): 15-24.
- 23 Povinelli BJ, Nemeth MJ. Wnt5a regulates hematopoietic stem cell proliferation and repopulation through the Ryk receptor. *Stem Cells* 2014; 32(1): 105-15.
- 24 Yarden Y, Kuang WJ, Yang-Feng T, Coussens L, Munemitsu S, Dull TJ, *et al*. Human proto-oncogene c-kit: A new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J* 1987; 6(11): 3341-51.
- 25 Ikuta K, Weissman IL. Evidence that hematopoietic stem cells express mouse c-kit but do not depend on steel factor for their generation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(4): 1502-6.
- 26 Thorén LA, Liuba K, Bryder D, Nygren JM, Jensen CT, Qian H, *et al*. Kit regulates maintenance of quiescent hematopoietic stem cells. *J Immunol* 2008; 180(4): 2045.
- 27 Shin JY, Hu W, Naramura M, Park CY. High c-Kit expression identifies hematopoietic stem cells with impaired self-renewal and megakaryocytic bias. *J Exp Med* 2014; 211(2): 217-31.
- 28 Zhu HH, Ji K, Alderson N, He Z, Li S, Liu W, *et al*. Kit-Shp2-Kit signaling acts to maintain a functional hematopoietic stem and progenitor cell pool. *Blood* 2011; 117(20): 5350-61.
- 29 Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, *et al*. Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell* 2004; 118(2): 149-61.
- 30 Ikushima YM, Arai F, Nakamura Y, Hosokawa K, Kubota Y, Hirashima M, *et al*. Enhanced Angpt1/Tie2 signaling affects the dif-

- ferentiation and long-term repopulation ability of hematopoietic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 430(1): 20-5.
- 31 Gomei Y, Nakamura Y, Yoshihara H, Hosokawa K, Iwasaki H, Suda T, *et al.* Functional differences between two Tie2 ligands, angiopoietin-1 and -2, in regulation of adult bone marrow hematopoietic stem cells. *Exp Hematol* 2010; 38(2): 82-9.
- 32 Scandura JM, Bocconi P, Massague J, Nimer SD. Transforming growth factor beta-induced cell cycle arrest of human hematopoietic cells requires p57KIP2 up-regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(42): 15231-6.
- 33 Trowbridge JJ, Scott MP, Bhatia M. Hedgehog modulates cell cycle regulators in stem cells to control hematopoietic regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(38): 14134-9.
- 34 Ogden SK, Ascano M, Stegman MA, Robbins DJ. Regulation of Hedgehog signaling: A complex story. *Biochem Pharmacol* 2004; 67(5): 805-14.
- 35 Zhao C, Chen A, Jamieson CH, Fereshteh M, Abrahamsson A, Blum J, *et al.* Hedgehog signalling is essential for maintenance of cancer stem cells in myeloid leukaemia. *Nature* 2009; 458(7239): 776-9.
- 36 Gao J, Graves S, Koch U, Liu S, Jankovic V, Buonamico S, *et al.* Hedgehog signaling is dispensable for adult hematopoietic stem cell function. *Cell Stem Cell* 2009; 4(6): 548-58.
- 37 Nemunaitis J, Tompkins CK, Andrews DF, Singer JW. Transforming growth factor beta expression in human marrow stromal cells. *Eur J Haematol* 1991; 46(3): 140-5.
- 38 Moore SC, Theus SA, Barnett JB, Soderberg LS. Bone marrow natural suppressor cells inhibit the growth of myeloid progenitor cells and the synthesis of colony-stimulating factors. *Exp Hematol* 1992; 20(10): 1178-83.
- 39 Fortunel N, Hatzfeld J, Kisselev S, Monier MN, Ducos K, Cardoso A, *et al.* Release from quiescence of primitive human hematopoietic stem/progenitor cells by blocking their cell-surface TGF-beta type II receptor in a short-term *in vitro* assay. *Stem Cells* 2000; 18(2): 102-11.
- 40 Massague J, Blain SW, Lo RS. TGFbeta signaling in growth control, cancer, and heritable disorders. *Cell* 2000; 103(2): 295-309.
- 41 Keller JR, Mcniece IK, Sill KT, Ellingsworth LR, Quesenberry PJ, Sing GK, *et al.* Transforming growth factor beta directly regulates primitive murine hematopoietic cell proliferation. *Blood* 1990; 75(3): 596-602.
- 42 Hatzfeld J, Li ML, Brown EL, Sookdeo H, Levesque JP, O'Toole T, *et al.* Release of early human hematopoietic progenitors from quiescence by antisense transforming growth factor beta 1 or Rb oligonucleotides. *J Exp Med* 1991; 174(4): 925-9.
- 43 Dao MA, Taylor N, Nolte JA. Reduction in levels of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 (kip-1) coupled with transforming growth factor beta neutralization induces cell-cycle entry and increases retroviral transduction of primitive human hematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(22): 13006-11.
- 44 Soma T, Yu JM, Dunbar CE. Maintenance of murine long-term repopulating stem cells in *ex vivo* culture is affected by modulation of transforming growth factor-beta but not macrophage inflammatory protein-1 alpha activities. *Blood* 1996; 87(11): 4561-7.
- 45 Larsson J, Blank U, Klintman J, Magnusson M, Karlsson S. Quiescence of hematopoietic stem cells and maintenance of the stem cell pool is not dependent on TGF-beta signaling *in vivo*. *Exp Hematol* 2005; 33(5): 592-6.
- 46 Haylock DN, Nilsson SK. Osteopontin: A bridge between bone and blood. *Brit J Haematol* 2006; 134(5): 467-74.
- 47 Nilsson SK. Osteopontin, a key component of the hematopoietic stem cell niche and regulator of primitive hematopoietic progenitor cells. *Blood* 2005; 106(4): 1232-9.
- 48 Stier S, Ko Y, Forkert R, Lutz C, Neuhaus T, Grunewald E, *et al.* Osteopontin is a hematopoietic stem cell niche component that negatively regulates stem cell pool size. *J Exp Med* 2005; 201(11): 1781-91.
- 49 Gumbiner BM. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell* 1996; 84(3): 345-57.
- 50 Miyatani S, Shimamura K, Hatta M, Nagafuchi A, Nose A, Matsunaga M, *et al.* Neural cadherin: Role in selective cell-cell adhesion. *Science* 1989; 245(4918): 631-5.
- 51 Takeichi M. Cadherins: A molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Annu Rev Biochem* 1990; 59: 237-52.
- 52 Arai F, Hosokawa K, Toyama H, Matsumoto Y, Suda T. Role of N-cadherin in the regulation of hematopoietic stem cells in the bone marrow niche. *Ann NY Acad Sci* 2012; 1266(1): 72-7.
- 53 Wilson A, Murphy MJ, Oskarsson T, Kaloulis K, Bettess MD, Oser GM, *et al.* c-Myc controls the balance between hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation. *Genes Dev* 2004; 18(22): 2747-63.
- 54 Greenbaum AM, Revollo LD, Woloszynek JR, Civitelli R, Link DC. N-cadherin in osteolineage cells is not required for maintenance of hematopoietic stem cells. *Blood* 2012; 120(2): 295-302.
- 55 Bromberg O, Frisch BJ, Weber JM, Porter RL, Civitelli R, Calvi LM. Osteoblastic N-cadherin is not required for microenvironmental support and regulation of hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 2012; 120(2): 303-13.
- 56 Yang L, Wang L, Geiger H, Cancelas JA, Mo J, Zheng Y. Rho GTPase Cdc42 coordinates hematopoietic stem cell quiescence and niche interaction in the bone marrow. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(12): 5091-96.
- 57 Kubota Y, Takubo K, Suda T. Bone marrow long label-retaining cells reside in the sinusoidal hypoxic niche. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 366(2): 335-9.
- 58 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(8): 3056-63.
- 59 Guitart AV, Hammoud M, Dello Sbarba P, Ivanovic Z, Praloran V. Slow-cycling/quiescence balance of hematopoietic stem cells is related to physiological gradient of oxygen. *Exp Hematol* 2010; 38(10): 847-51.
- 60 Hosokawa K, Arai F, Yoshihara H, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, *et al.* Function of oxidative stress in the regulation of hematopoietic stem cell-niche interaction. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363(3): 578-83.
- 61 Adams GB, Chabner KT, Alley IR, Olson DP, Szczepiorkowski ZM, Poznansky MC, *et al.* Stem cell engraftment at the endosteal niche is specified by the calcium-sensing receptor. *Nature* 2005; 439(7076): 599-603.
- 62 Nakamura S, Matsumoto T, Sasaki J, Egusa H, Lee KY, Nakano T, *et al.* Effect of calcium ion concentrations on osteogenic differentiation and hematopoietic stem cell niche-related protein expression in osteoblasts. *Tissue Engineering Part A* 2010; 16(8): 2467-73.