



郑俊克, 上海交通大学医学院, 研究员, 国家杰出青年科学基金、国家优秀青年科学基金、中组部青年千人计划入选者。主要从事造血干细胞干性维持的机制及其恶性转化为白血病干细胞的规律研究。近年来, 围绕干细胞代谢和微环境成分——免疫抑制性受体介导的信号通路在干性维持中的作用和机制方面, 取得系列重要发现, 并以通讯/共同通讯作者在*Nature*、*Cell Metabolism*、*JCI*、*Blood*、*Leukemia*、*EMBO J*、*Haematologica*、*Cell Reports*等著名杂志上发表论文12多篇。目前累计发表论文40篇, 他引900余次。担任中国生理学会血液专业委员会委员、中国病理生理学会肿瘤专业青年委员会副主任委员、中国细胞生物学学会细胞代谢分会委员等学术职务。获上海市第十五届“银蛇奖”、“上海市五四青年奖章”和“吴孟超医学青年基金奖”等。

造血干细胞的代谢调控规律

陈迟琪[#] 黄丹[#] 郝晓鑫 谷浩 谢莉 于卓 郑俊克^{*}

(上海交通大学医学院细胞分化和凋亡教育部重点实验室, 上海交通大学医学院附属同仁医院, 上海 200025)

摘要 造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)是成体一种非常重要的成体干细胞, 能自我更新和分化形成所有血液细胞, 并被广泛用于血液疾病的治疗。研究提示, 诸多内在因素以及外在造血微环境因素对HSCs命运决定具有重要的调控作用, 但是具体机制亟待阐明, 同时这也是HSCs临床应用所亟需解决的问题。该综述总结了目前已有报道的HSCs代谢的主要特征和代谢调控机制: 成体HSCs定位于相对低氧的骨髓微环境, 并以糖酵解作为能量的主要来源, 线粒体的氧化磷酸化在一定程度上也维持着HSCs干性; 此外, 脂类和氨基酸等营养物质也对HSCs功能具有决定作用; MEIS1/HIF1A和ROS等信号参与了HSCs代谢特性和功能的维持。开发基于有限HSCs数量的新型精准代谢分析体系, 有助于阐明HSCs不同营养物质的时空代谢规律。

关键词 代谢调控; 糖代谢; 造血干细胞; 干性维持; 骨髓微环境

Metabolic Regulations in Hematopoietic Stem Cells

Chen Chiqi[#], Huang Dan[#], Hao Xiaoxin, Gu Hao, Xie Li, Yu Zhuo, Zheng Junke^{*}

(Key Laboratory of Cell Differentiation and Apoptosis of Chinese Ministry of Education, Shanghai Tongren Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract Hematopoietic stem cells (HSCs) are one of the important adult stem cells, which can further self-renewal and differentiate to all the blood cell types. HSCs have been widely used for the treatments of many

国家杰出青年科学基金(批准号: 81825001)和上海市优秀青年学术带头人计划(批准号: 19XD1422100)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通讯作者。Tel: 021-63846590, E-mail: zhengjunke@shsmu.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81825001) and Shanghai Science and Technology Municipality Commission (Grant No.19XD1422100)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding author. Tel: +86-21-63846590, E-mail: zhengjunke@shsmu.edu.cn

网络出版时间: 2019-08-06 16:18:04

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190806.1617.002.html>

hematopoietic disorders. Increasing evidence shows that many intrinsic and extrinsic regulatory factors are involved in the cell fate determinations of HSCs, although the underlying mechanisms remains largely unknown and may impede the HSC applications in the clinic. In this review, we summarize the current findings in HSC metabolisms and its related regulatory networks: adult HSCs reside in the relatively hypoxic bone marrow niches and prefer to utilizing glycolysis as the main energy sources; oxidative phosphorylation may also play a role in HSC activities; other nutrient metabolisms (such as lipid and amino acid) are reported to be critical for HSC stemness as well; MEIS1/HIF1A and ROS signals have been found to be critical in the maintenance of HSC metabolic profiles and activities; it is urgent to develop novel precise metabolic techniques with limited HSC amounts, which will definitely benefit for the understanding the temporal and spatial metabolic properties of HSCs.

Keywords metabolic regulations; glucose metabolism; hematopoietic stem cells; stemness maintenance; bone marrow niche

1 历史回顾

造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)是一种非常重要的成体干细胞,能自我更新及分化(又称为干性或多能性)为所有造血系统祖细胞和成熟血细胞,以维持机体的各种生理活动。目前,HSCs已被广泛地应用于治疗不同类型的良性及恶性造血系统疾病,包括淋巴瘤、白血病、再生障碍性贫血和免疫系统疾病。此外,结合基因编辑技术,HSCs也被认为可用于诸多遗传性疾病的治疗,包括血友病、地中海贫血等。然而,造血干细胞的应用方面还面临许多瓶颈问题,例如:如何获得足够数量的HSCs?如何进行有效地体外扩增?如何避免骨髓移植后的排斥问题等?这些悬而未决的科学问题严重阻碍了HSCs在多种造血系统疾病治疗中的进一步推广。因此,揭示调控HSCs干性维持的内在及外在因素(微环境),有助于解决临床应用所面临的HSCs来源、骨髓移植效率和排斥等诸多问题。

目前的研究显示,HSCs起源于主动脉-性腺-中肾区(aorta-gonad-mesonephros, AGM),随后迁移至胎儿肝脏进行快速扩增和分化,最后迁移到骨髓并定居在一个独特的低氧造血微环境(microenvironment, 又称niche)中而进行不断的自我更新和分化,以满足各种机体的生理功能^[1-3]。现有的研究表明,HSCs在发生、迁移、定位、扩增、分化和稳态等不同发育阶段,许多内在和外在因素精细地调控HSCs的不同命运^[4-5]。其中,内源性代谢调控通路/网络对HSCs命运决定的维持具有非常关键的作用,如许多证据表明,HSCs主要利用糖酵解途径而非氧化磷酸化作为主要能量来源^[6-7]。然而,在不同的发育阶段,不同的营养代谢调控HSCs命运的潜在机制

仍未完全阐明。本综述将主要围绕HSCs的代谢特征和相关调控机制作一简要阐述。

2 已有研究成果

2.1 低氧骨髓微环境和HSCs功能维持

在不同的造血发育阶段,除了一些内在的调控因素(如转录、表观遗传、代谢等)外,不同的造血微环境可能对造血的发生具有非常关键的作用,但不同时期不同部位的造血微环境构成还非常不清楚。目前认为,HSCs所在的微环境具有独特的解剖和功能结构,包含有多种不同类型的支持细胞,如内皮细胞、间充质干细胞、成骨细胞、脂肪细胞、交感神经细胞和几种血液细胞(如巨核细胞和巨噬细胞)等(图1)。所有微环境组成成分都可能产生不同生长因子、细胞因子或细胞外基质来维持HSCs自我更新、分化、凋亡等命运。最近有研究显示,胎肝HSCs微环境分布于门静脉附近,主要由Nestin⁺NG2⁺周细胞组成^[8]。出生后,造血细胞位于骨髓腔特殊的微环境中,这个独特的骨髓微环境与成体HSCs的干性维持之间存在紧密联系^[9]。尽管最初报道,静息状态HSCs定位于由成骨细胞构成的骨内膜微环境^[10],但最近的研究表明,早期淋巴干祖细胞似乎主要定位于骨内膜微环境,而HSCs更倾向定位于由血管内皮细胞构成的血窦或小动脉的血管周微环境^[11]。然而,一些研究也提示,骨内膜微环境和血管微环境之间并不能截然分开,而是形成一个功能性的动态微环境网络^[12]。有趣的是,部分证据也显示,静息态的HSCs和增殖状态的HSCs都可以定位于血管周微环境^[12],进一步表明,血管微环境可能是骨髓中HSCs主要生存环境^[12-13]。此外,近年来许多研究发现,来

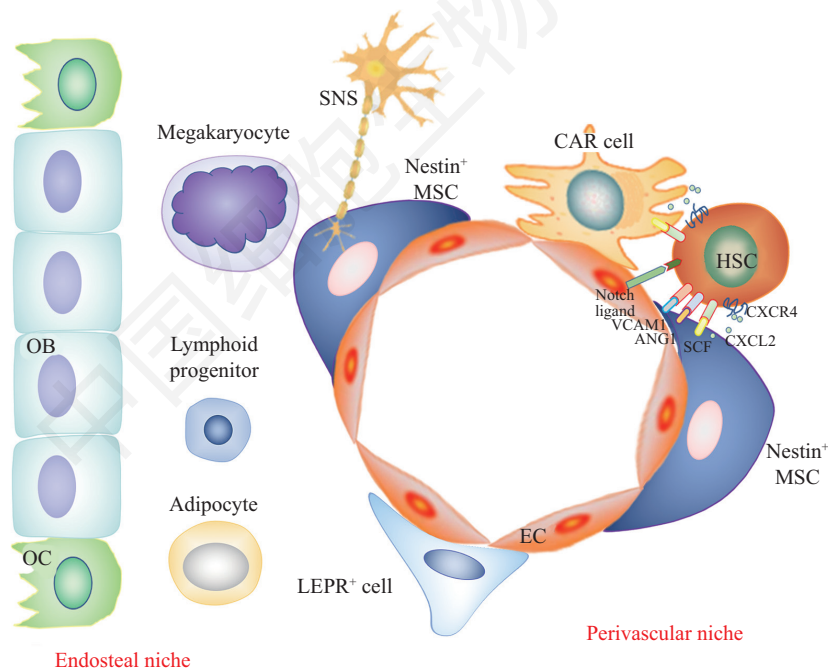
源于不同骨髓微环境细胞(包括巨核细胞、间充质干细胞和脂肪细胞)组成的多种类型的骨髓微环境,对HSCs的干性维持同样具有重要作用(图1)^[14-17]。

骨髓被认为是只有一定限度氧供的组织,因而HSCs微环境的一个基本特征就是低氧压力,也被称为“低氧微环境”。目前认为,相比于其他组织,骨髓其独特的解剖结构和造血细胞较高耗氧量是导致低氧微环境[$p(O_2)$ 为55 mmHg]的潜在原因^[18-19]。此外,骨髓微低氧的微环境也可以用低氧的指示剂标记出来,如pimonidazole(一种低氧标志物)可标记位于低氧微环境中的HSCs,而且大多数静息状态的HSCs存在于血流相对缓慢的区域^[20]。低水平的氧浓度(1%~3%)可进一步增强HSCs体外扩增能力及体内骨髓重建能力,并促进其向下游祖细胞和成熟造血细胞分化^[21-22]。但是,研究也表明,特定水平的氧气浓度对维持HSCs的干性具有非常重要的作用,因为一定表达程度(不太低或太高)的低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 alpha, HIF-1 α)对

HSCs活性维持至关重要^[23],因此,低氧微环境可能提供了一个非常窄的氧张力范围来维持HSCs干性。除了物理因素,骨髓中多种来源于微环境的细胞成分(内皮细胞、Nestin⁺间充质干细胞、成骨细胞)也可能通过影响HSCs代谢途径而调控HSCs命运。例如,高表达的表面受体GPR78有助于维持HSCs相对较高的糖酵解水平及较低的线粒体氧化磷酸化水平。抑制HSCs中GPR78的表达可导致HSCs向骨髓微环境外迁移^[24]。然而,对于骨髓中的低氧微环境所处的位置仍存在争议,最近的研究提示,血管微环境可能比骨内膜微环境具有更低的氧含量^[25],表明HSCs能够耐受相对较低的氧张力的低氧环境以重塑细胞固有的代谢调节。目前,低氧微环境与HSCs代谢调控之间的潜在互作机制仍亟待进一步的阐明。

2.2 糖酵解和HSCs功能维持

目前的研究表明,HSCs以糖酵解为能量的主要来源,与大多其他类型的细胞有所不同。生理情况下,大多数正常细胞倾向利用线粒体呼吸作为有氧



造血微环境主要有多种不同类型的细胞所组成,包括内皮细胞(endothelial cell, EC)、间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)、成骨细胞(osteoblast, OB)、脂肪细胞(adipocyte)、交感神经细胞(sympathetic nerve system, SNS)和几种血液细胞,如巨核细胞(megakaryocyte)等。这些细胞分泌多种因子维持,如SCF、VCAM1、ANG1和CXCL12等维持HSCs的不同命运决定。HSCs主要位于由内皮细胞及其周边细胞组成的血管附近的血管周微环境(perivascular niche)。一些淋巴祖细胞主要位于成骨细胞组成的周围(endosteal niche),其他类型微环境组成细胞成分还包括:CAR cell、LEPR⁺MSC等。

Bone marrow niche contains many different types of niche cells, including endothelial cell (EC), mesenchymal stem cell (MSC), osteoblast (OB), adipocyte, sympathetic nerve system (SNS), megakaryocyte, *et al.* HSCs prefer residing close to the sinusoid (perivascular niche) mainly constituted by endothelial cells and other niche cells. Some lymphoid progenitor cells localize in the endosteal niche comprised by the osteoblasts. Other types of niches may be formed by different stromal cells, including CAR cells, LEPR⁺MSC, *et al.*

图1 骨髓niche的组成

Fig.1 Components of bone marrow niches

状态下的主要能量来源,这可能与线粒体呼吸能更为有效地产生更多的ATP有关。在低氧状态下,ATP水平主要由糖酵解过程而产生,其中间代谢产物丙酮酸可进一步转化为乳酸以维持细胞中NAD⁺水平并不断驱动糖酵解过程。糖酵解速率受多种限速酶(如己糖激酶和丙酮酸激酶M2)的表达水平和活性的严格调控。尽管低氧状态导致糖酵解相关的能量产出比重增加(单位能量产出相比线粒体呼吸链产出减少),但大多数正常细胞在应激状态下更倾向于降低能量需求。这一现象表明,关闭细胞内不必要的能量活动过程以降低能量消耗,可能是一种非常有效的维持细胞功能的生物学行为,这一过程也被称为“关闭飞行灯”现象^[26-27]。有趣的是,HSCs也可能处于代谢性静息状态以维持其在“飞行灯”状态下的生理活动,并适应糖酵解途径有限能量供给,这与低氧骨髓微环境中HSCs主要处于静息状态的情况非常一致^[27]。

由于HSCs数量获取有限,使用常规方法分析HSCs的代谢状态目前还存在很多的困难。虽然研究人员一直在探讨新技术用于解析少量或者单个HSCs的代谢特征,也取得了一定的进展,但HSCs的代谢特征仍未明确。目前研究的比较多是HSCs的糖代谢,且越来越多证据提示,HSCs可能主要依靠糖酵解来获取能量。例如,低氧骨髓腔数学模型表明HSCs主要定位于低氧微环境中^[3];更多的低氧标志物pimonidazole被观察到掺入HSCs内^[1,6,23];给予tirapazamine(一种低氧毒性试剂)可显著降低总HSCs数量^[1];低罗丹明-123染色显示,HSCs线粒体膜电位较低^[28];HIF-1 α 能在HSCs中稳定高表达等^[6,23]。蛋白质组学数据还显示,HSCs更倾向于利用糖酵解途径,而不是将线粒体氧化呼吸链作为主要的能量来源。相比之下,分化程度更高的造血祖细胞或成熟血细胞具有更高的氧化磷酸化水平。与之一致,蛋白质组学分析结果也显示HSCs,与分化细胞相比,富集了更多的与糖酵解相关的信号通路^[29]。我们的研究也表明,MEIS1能够有效转录激活小鼠骨髓及人外周血动员的HSCs中的HIF-1 α 水平并增强HSCs的糖酵解过程,这些证据也提示,HSCs代谢特性可能并不完全是低氧微环境造成的结果,也可能是HSCs内源性信号网络起着决定作用^[6]。

目前认为,氧化磷酸化或线粒体呼吸产生大量活性氧/氧自由基(reactive oxygen species, ROS),其

主要来源于电子传递链电子泄漏,而ROS可进一步将氧转化为超氧阴离子。超氧阴离子则是许多其他氧自由基的前体,包括过氧化氮自由基和羟基自由基等。ROS水平在体内受到精细的调控,具有非常多样的生理和病理功能,并和许多组织或器官的稳态和衰老等过程密切相关。HSCs通常具有相对较低的ROS水平以维持其自我更新、分化、迁移和静息等诸多命运决定^[30]。虽然证据表明,高水平的糖酵解不仅可以避免低氧张力引起的应激,而且还可以避免线粒体呼吸链引起的活性氧介导的过度氧化应激,但是HSCs仍保留相当数量的线粒体^[28],提示一定的ROS水平可能也参与了HSCs功能的维持,但相关的调控机制有待进一步的探讨。

2.3 HSCs糖酵解的调控机制

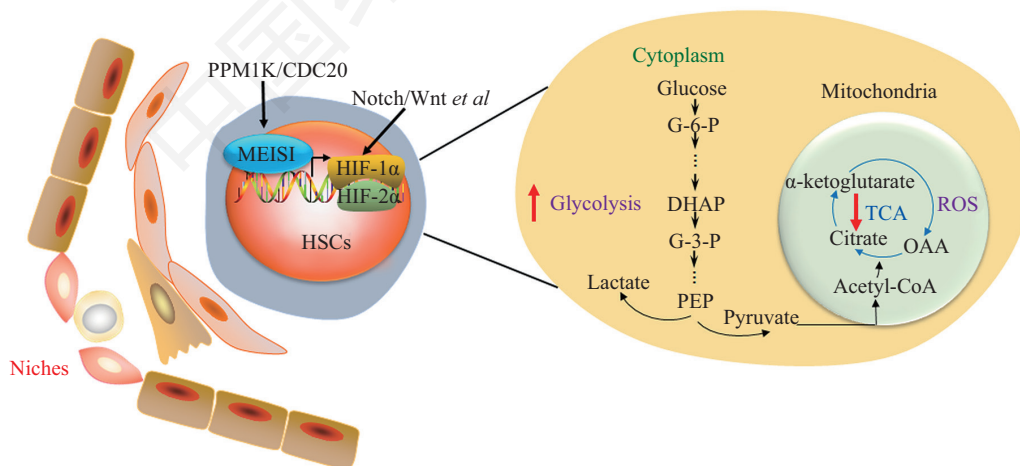
由于目前HSCs代谢的研究主要围绕糖代谢而开展,因而HSCs的糖酵解代谢调控机制也比较明确,其中,HIF-1 α 被认为是在低氧骨髓微环境下维持HSCs糖酵解水平的关键因素,它控制着参与糖酵解的多个下游靶点的表达。有意思的是,尽管HIF-1 α 可以与HIF-1 β 形成异二聚体而发挥作用,并在缺氧状态下才能相对稳定,如静息态的HSCs表达高水平的HIF-1 α ,但研究表明,常氧条件下HIF-1 α 似乎也能在HSCs中高度表达^[31],并在HSCs从低氧骨髓微环境向外周血迁移时也相当稳定^[31-32],这些证据提示,HSCs有比较独特的代谢调控机制。HIF-1 α 在成体HSCs中的缺失可导致重建能力显著降低和静止态的丧失,提示一定水平的HIF-1 α 对维持HSCs池非常重要^[23]。众所周知,HIF-1 α 通过许多下游靶基因(包括IDHA、PKM2、GKUT1、PDK2和Cripto)的激活来调节HSCs糖酵解和干性维持。HIF-1 α 下游靶点的LDHA或PKM2缺失将导致HSCs重建能力显著受损^[33]。同时HIF-1 α 也能显著增强PDK活性而有效抑制丙酮酸进入氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)或三羧酸循环(ricarboxylic acid cycle, TCA)^[34]。HSCs中HIF-1 α 的条件性缺失导致糖酵解向线粒体呼吸的快速转变,并出现HIF-2 α 水平的代偿性显著升高^[7]。尽管如此,对于HIF-1 α 在HSCs活性维持中的作用仍存在争议,最近的一项研究认为,HIF-1 α 的丢失对HSCs活性可能没有影响^[35],尽管他们的研究不能完全排除HIF-1 α 通过调控骨髓造血微环境中的细胞功能而发挥调控HSCs命运的可能性。

事实上,多个信号通路对维持HSCs中HIF-1 α

水平的稳定维持至关重要: 例如, VHL介导的去泛素化途径能维持HIF-1 α 水平和稳定性^[36]; AMPK或SIRT1介导的信号也参与维持HIF-1 α 水平^[37]; 血管内皮生长因子启动子序列中HIF-1 α 结合位点的突变也会导致HSCs干性的损害^[38]; 芳烃受体AHR可形成AHR/芳基复合物而抑制ARNT与HIF-1 α 的结合, 从而下调HIF-1 α 蛋白水平, 这表明, AHR拮抗剂可能是HSCs体外扩增的理想扩增剂^[39]; 我们之前的研究也发现, 细胞骨架蛋白PFN1可通过EGR1/G α 13信号通路维持HIF-1 α 表达, 从而调控HSCs的糖酵解过程及其稳态^[40]。所有这些调控分子或信号通路对于维持低氧状态或某些常氧状态下的HSCs活性和避免氧化磷酸化引起的ROS过度应激具有重要意义。此外, HIF-1 α 还可以通过与Wnt和Notch信号的相互作用而参与HSCs的干性。HIF-1 α 与 β -catenin的相互作用导致某些Wnt介导的靶基因显著下调, 同时增强HIF-1 α 靶基因的表达^[41]。HIF-1 α 可以直接与Notch的胞内结构域(NICD)相互作用, 维持其对下游靶分子的激活和稳定性维持^[42]。

除了HIF-1 α 之外, PI3K/AKT、MYC、OCT1等基因或信号通路也被发现对糖酵解水平的维持具有重要的作用。我们最近的研究提示, 进化上保守的DNA结合转录因子MEIS1可能也参与了对糖酵解的精细调控^[43]。MEIS1是HOX家族成员之一, 在不

同发育阶段HSCs中均呈现高度表达^[43]。以往的研究提示, MEIS1缺失会导致造血发生和血管生成的多重缺陷, 并导致小鼠胚胎致死^[44], 但我们的研究表明, MEIS1可以与HIF-1 α 的启动子区结合并直接激活其表达^[6], MEIS1也通过HIF-2 α /ROS/p16通路调控HSCs的糖酵解水平和自我更新能力^[7](图2)。虽然MEIS1通过多个信号通路调控HSCs或其他类型干细胞的干性, 但MEIS1自身水平的调控鲜有报道。我们最近的工作表明, CDC20作为E3连接酶, 可通过泛素化途径维持MEIS1蛋白水平^[45], 并受到支链氨基酸的关键调控因子PPM1K的精细调节。MEIS1缺失导致HIF-1 α 和HIF-2 α 表达水平显著降低(HIF-2 α 可能是由于HIF-1 α 水平的降低而代偿性升高)以及ROS水平升高, 而导致HSCs自我更新、分化和静息态丧失, 利用活性氧清除剂NAC几乎可以完全挽救MEIS1缺失的HSCs的功能^[7], 表明MEIS1能维持ROS水平的稳定。更为重要的是, 除了小鼠HSCs之外, 动员后人外周血的HSCs也偏向通过MEIS1/PBX1/HOXA9/HIF-1 α 信号通路增强糖酵解过程并将其作为主要能量来源, 这表明其内源性代谢网络决定了HSCs的代谢特征和诸多命运^[31]。综上所述, 尽管有一系列证据显示了MEIS1、HIF-1 α 等信号途径在调控HSCs糖酵解过程中起关键作用, 但其潜在的调节网络仍需进一步明确。



HSCs位于骨髓特殊的微环境(niche)内, 并倾向于采用糖酵解(glycolysis)而非有线粒体的氧化磷酸化/三羧酸循环(ricarboxylic acid cycle, TCA)以获取能量, 并受到MEIS1/HIF-1 α /HIF-2 α 在转录水平的精细调控。此外, MEIS1可受到PPM1K/CDC20在泛素化水平的调节, 而Notch、Wnt等相关因子也参与HIF-1 α 水平的维持。

HSCs localizes in a unique bone marrow niche and tends to utilize glycolysis, but not ricarboxylic acid cycle (TCA), as main energy sources, which is fine-tuned by MEIS1/HIF-1 α /HIF-2 α at transcriptional levels. In addition, MEIS1 is regulated through ubiquitination pathways by PPM1K/CDC20 and HIF-1 α level is tightly controlled by several other regulators including Notch and Wnt.

图2 HSCs以糖酵解作为主要代谢方式

Fig.2 HSCs mainly utilizes glycolysis as energy sources

2.4 氧化磷酸化和HSCs功能维持

虽然以往多数研究聚焦于HSCs的糖代谢的糖酵解途径并揭示了HSCs以糖酵解作为主要能量来源的特性,但是越来越多的证据也显示HSCs中仍存在一定量的线粒体,其功能还远未阐明。有意思的是,最近的一些研究提示,在HSCs的不同发育阶段或不同应激情况下,HSCs可能也依赖于氧化磷酸化而维持其功能。如Manesia等^[46]的研究证明,胎肝期HSCs氧化磷酸化水平明显升高,而这可能与成体HSCs有所不同。此外,FOXO3对维持HSCs氧化磷酸化和稳态至关重要^[47];敲除线粒体电子传递链III的亚单位RISP则可导致其骨髓重建功能的丧失^[48];这可能是由于胎肝期HSCs分裂需要供应更多能量和原料,而许多大分子是来源于三羧酸循环的中间代谢产物,表明氧化磷酸化可能有助于HSCs的正常细胞命运决定。或者,当静息期的HSCs从G₀阶段退出并开始进行自我更新和扩增时或某些应激情况下,HSCs中线粒体状态重新变得活跃并产生动态的变化,从而发挥能量储备的作用。与此一致,最近的一份报告也表明,成体HSCs含有非常高水平的线粒体数量并具有很强的染料排出能力,但其如何在特定的情况下发挥这些线粒体的功能有待进一步阐明^[49]。这些证据提示,虽然糖酵解过程可以快速产生ATP为许多生物大分子合成过程提供所需能量,但增强的细胞增殖能力也同时依赖于氧化磷酸化产生的不同类型的中间代谢产物。

目前,线粒体代谢如何参与HSCs功能维持的研究还比较少,但越来越多的证据的确表明,不同信号通路可以通过影响氧化磷酸化而调控HSCs的干性。如鸟嘌呤核苷酸交换因子结合蛋白5可维持线粒体膜电位及HSCs的自我更新和静息状态^[50];PGC-1 α 可明显增强许多抗氧化基因的表达并清除ROS水平而维持HSCs的稳态^[51];LKB1对维持HSCs中线粒体数量稳定非常关键,LKB1的缺失也会导致HSCs静息状态丧失和骨髓重建能力的损害,其表型与HIF-1 α 缺失后的表型非常一致。此外,许多氧化磷酸化过程关键酶的突变对维持HSCs的功能,甚至HSCs的恶性转化有着紧密关联。如野生型IDH1和IDH2分别定位于细胞质和线粒体中,并将异柠檬酸转化成 α -酮戊二酸,而突变型IDH1和IDH2将异柠檬酸催化成2-羟基戊二酸。 α -酮戊二酸是许多加氧酶(如TETs)的关键辅因子,TET2能以 α -酮戊二酸依赖性

方式将5mC转化为5hmC并启动DNA去甲基化^[52]。IDH1和IDH2的突变导致癌代谢物2-羟基戊二酸的产生,并引发TET2功能丧失而增强HSCs的异常的自我更新能力,从而导致骨髓增生异常综合征或急性髓系白血病的发生。但是,目前尚不清楚具有线粒体功能障碍的HSCs是否也具有异常的糖酵解水平,以及在生理及病理状态下线粒体呼吸和糖酵解途径是如何进行动态联系和切换的。因此,探索线粒体呼吸在HSCs的细胞命运决定中的作用亟待阐明。

2.5 氧化应激和HSCs功能维持

活性氧/氧自由基(ROS)是氧化磷酸化过程中电子泄露所造成的,主要由超氧化物、过氧化氢和含氧自由基等组成。超氧化物是通过自由氧和电子传递链释放未耦合电子之间的相互作用产生的,可被超氧化物歧化酶催化为过氧化氢,然后通过谷胱甘肽、过氧化氢酶和过氧化物酶等抗氧化系统进一步转化为羟基或氧化氢。虽然一定水平的ROS对各种细胞生理功能的维持具有非常重要的作用,但是ROS水平的异常升高可能导致氧化还原失衡,进而导致脂质、核酸、蛋白质等大分子物质的氧化,并引起细胞凋亡、衰老和恶性转化等。研究表明,异常升高的ROS可导致HSCs干性丢失及细胞凋亡。如ROS水平高的HSCs移植入受体小鼠后,具有明显髓系分化倾向和下降的骨髓重建能力^[30]。衰老的HSCs具有更高的ROS水平,并倾向于髓系分化。与HSCs中的ROS水平调节相关的途径主要包括以下几种。(1)DNA损伤修复:ATM的功能缺失可导致ROS水平升高和DNA损伤修复功能缺失,从而影响正常造血能力^[53]。(2)多梳蛋白复合体家族(如BMI1):BMI1在HSCs中呈现高表达,并可通过下调ROS水平以及p16^{ink4a}/p19^{arf}表达以维持HSCs活性^[54]。(3)FOXOs信号:FOXO3a与ATM协同抑制ROS的产生并激活DNA损伤修复以维持HSCs功能^[55]。(4)血红素加氧酶1(hemeoxygenase 1, HO-1)等应激依赖性抗氧化酶:NRF2和KEAP1可通过激活HO-1表达来抑制ROS生成以维持HSCs干性^[56]。虽然研究表明,异常ROS水平可能显著影响HSCs的自我更新、分化、归巢和静息等命运决定^[30,57]。但是,由于ROS水平具有快速、动态变化等特点,ROS如何精确调控HSCs的命运还很不清楚,因而迫切需要发展新的技术以精准监测HSCs中ROS水平的细微及动态变化

和来源,以揭示其在造血中的全新功能和调控机制。

2.6 其他代谢方式/通路和HSCs功能维持

此外,近年来大多数研究都在关注成体HSCs的糖代谢过程,特别是糖酵解和氧化磷酸化,但对于HSCs不同发育阶段(AGM期、胎肝期、成体期和老年期)糖代谢的其他代谢途径(如磷酸戊糖途径等)或其他营养物质代谢(如氨基酸代谢和脂代谢等)的代谢情况研究较少。已有的相关研究表明,不同的营养代谢对于不同时期HSCs干性维持至关重要。如Yuki等^[58]以及我们课题组^[45]发现,支链氨基酸代谢可以促进HSCs的体外增殖以及体内HSCs池的维持;Nina等^[59]发现,维生素A介导的信号参与了HSCs静息状态的维持;Ito等^[60]发现,PML-PPAR δ -FAO介导的脂肪酸氧化,可有效保护HSCs对称分裂和自我更新的能力;Signer等^[61]发现,过高或过低的蛋白质合成水平都损害HSCs的生理功能,这一过程受到PTEN的精确调控;这些研究提示,不同的营养物质代谢可以通过不同信号途径参与HSCs干性的维持。此外,许多其他信号通路或调控分子,如PI3K/AKT/mTOR、LKB1/AMPK、WNT、FOXOs、OCT1和MYC,也可能参与对造血微环境以及HSCs糖酵解或其他代谢方式的调节^[51,62-64],但相关具体机制有待进一步阐明。为了在有限数量的HSCs中精确描绘相关代谢网络,开发用于差异分析不同营养代谢的新工具或技术至关重要,这也是目前亟需解决的难题。

3 展望

3.1 不同发育阶段HSCs的代谢规律

多个证据提示,由于HSCs最早起源于AGM区^[65],随后逐渐迁移到胎肝^[66],最终定居到骨髓微环境中^[67],因此,其在发生、迁移、扩增、稳态和衰老等不同发育阶段可能具有不同的代谢特征和调控网络^[68]。研究提示在上述过程中,许多内在因素和外成分都可能参与了HSCs代谢状态的动态调控^[43]。如胎肝期HSCs可能具有不同于成体HSCs的代谢特征,并以氧化磷酸化作为主要能量来源^[46]。Wip1可协同p53及mTOR通路减缓HSCs的衰老。当HSCs从静息态退出并开始向下游的祖细胞或终末细胞分化时,其能量代谢方式可从糖酵解转换为线粒体氧化磷酸化,提示HSCs的分化很大程度依赖于氧化磷酸化过程,如氧化磷酸化调控基因PTPMT1的缺失会抑制HSCs的分化,并最终导致造血功能的障碍^[69]。此外,HIF-

1 α 对早期血管生成、造血或神经生成方面的具有重要作用,其缺失可导致小鼠的胚胎性致死。与野生型小鼠相比,HIF-1 α 的缺失可导致小鼠卵黄囊的显著缩小以及造血细胞数量的急剧减少^[70]。研究表明,HSCs中HIF-1 α 的转录组与人类间充质干细胞和胚胎干细胞有许多相似之处^[71]。因此,阐明不同发育阶段HSCs的代谢规律,有助于系统地理解HSCs命运决定关键因素。

3.2 HSCs代谢研究相关技术的发展趋势

由于HSCs数量稀少,许多常规代谢分析手段或技术还很不适合表征HSCs的代谢特性。近年来许多新型仪器和代谢技术的发展使HSCs代谢研究成为可能,并满足了HSCs的不同营养代谢分析的要求。如通过使用Seahorse XF分析仪动态监测HSCs细胞外产酸率和氧消耗率的变化,可以衡量糖酵解过程中的乳酸和氧化磷酸化的水平^[60],Seahorse XF分析仪也可用于测量脂肪酸代谢^[60]。近年来随着液相色谱-质谱(LC-MS)等技术条件的开发和优化,LC-MS可用于检测少量细胞内各种中间代谢物的水平,这使得HSCs代谢组学分析得以实现。最近的研究表明,可以在约10⁴个HSCs中进行代谢组学分析以揭示不同类型营养素的代谢过程^[72]。此外,分解代谢及合成代谢在本质上是一种氧化还原生物反应,并伴有特定辅酶[烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP⁺)]介导的不同底物之间的电子传递以及能量的合成与释放。最近的研究发现,通过遗传编码的NAD⁺/NADH或NADP⁺/NADPH感受器的荧光强度变化,可以在体内外监测活细胞的精细动态代谢变化过程^[73-74]。我们的研究也表明,这些遗传编码的感受器可用于评估HSCs或白血病细胞中的葡萄糖或氨基酸变化^[45,75]。这些新的代谢研究技术有望作为一种更为灵敏和精确的手段以动态评估HSCs或其他类型干细胞中细微代谢变化及与其命运决定的内在关联。

3.3 其他亟待阐明的问题

由于HSCs所处的不同发育阶段和状态,HSCs的稀缺性以及糖、脂肪、氨基酸三大营养物质的代谢过程相互联系、相互影响,导致HSCs代谢的基本规律和调控机制至今尚未得以明确阐明。例如:(1)目前HSCs代谢研究主要集中于对糖代谢的探讨,其他不同营养物质的代谢规律如何调控HSCs的干性维持,并与糖代谢相互作用而决定HSCs的命运,有

待进一步挖掘; (2)利用液相色谱-质谱分析、单细胞测序、代谢组学以及代谢感受器等综合性干细胞代谢研究技术,探讨有限细胞数量不同时期HSCs的基本代谢规律和调控机制还存在相应的技术瓶颈; (3)目前HSCs的代谢研究主要限于对小鼠HSCs方面的探讨,揭示不同发育阶段人HSCs的不同营养物质的代谢特性及其与HSCs干性维持的联系,还存在巨大的挑战和困难; (4)HSCs数量的稀少和来源的缺乏,是目前临床血液疾病治疗的主要瓶颈之一,是否可以通过调控HSCs的代谢规律而促进HSCs的体外和体内扩增,以期获得足够数量的HSCs以满足临床的需求,也有待进一步阐明; (5)生理状态下HSCs代谢规律的改变与疾病演变的内在联系也非常不清楚。克服上述困难将为血液性疾病的治疗提供潜在的HSCs来源和策略,为理解HSCs干性维持提供新的角度。HSCs及其他类型干细胞代谢学研究,是近年非常活跃的生物研究领域之一,这一领域的拓展有助于从新的视角理解干细胞生物行为和相关疾病的演变。

参考文献 (References)

- 1 Parmar K, Mauch P, Vergilio JA, Sackstein R, Down JD. Distribution of hematopoietic stem cells in the bone marrow according to regional hypoxia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(13): 5431-6.
- 2 Suda T, Takubo K, Semenza GL. Metabolic regulation of hematopoietic stem cells in the hypoxic niche. *Cell Stem Cell* 2011; 9(4): 298-310.
- 3 Chow DC, Wenning LA, Miller WM, Papoutsakis ET. Modeling pO₂ distributions in the bone marrow hematopoietic compartment. II. Modified Kroghian models. *Biophys J* 2001; 81(2): 685-96.
- 4 Bryder D, Rossi DJ, Weissman IL. Hematopoietic stem cells: The paradigmatic tissue-specific stem cell. *J Pathol* 2006; 169(2): 338-46.
- 5 Blank U, Karlsson G, Karlsson S. Signaling pathways governing stem-cell fate. *Blood* 2008; 111(2): 492-503.
- 6 Simsek T, Kocabas F, Zheng J, Deberardinis RJ, Mahmoud AI, Olson EN, *et al.* The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche. *Cell Stem Cell* 2010; 7(3): 380-90.
- 7 Kocabas F, Zheng J, Thet S, Copeland NG, Jenkins NA, DeBerardinis RJ, *et al.* Meis1 regulates the metabolic phenotype and oxidant defense of hematopoietic stem cells. *Blood* 2012; 120(25): 4963-72.
- 8 Khan JA, Mendelson A, Kunisaki Y, Birbrair A, Kou Y, Arnal-Estape A, *et al.* Fetal liver hematopoietic stem cell niches associate with portal vessels. *Science* 2016; 351(6269): 176-80.
- 9 Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells* 1978; 4(1/2): 7-25.
- 10 Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW, Weber JM, Olson DP, Knight MC, *et al.* Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 2003; 425(6960): 841-6.
- 11 Ding L, Saunders TL, Enikolopov G, Morrison SJ. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature* 2012; 481(7382): 457-62.
- 12 Ellis SL, Grassinger J, Jones A, Borg J, Camenisch T, Haylock D, *et al.* The relationship between bone, hemopoietic stem cells, and vasculature. *Blood* 2011; 118(6): 1516-24.
- 13 Kunisaki Y, Bruns I, Scheiermann C, Ahmed J, Pinho S, Zhang D, *et al.* Arteriolar niches maintain haematopoietic stem cell quiescence. *Nature* 2013; 502(7473): 637-43.
- 14 Zhou BO, Yue R, Murphy MM, Peyer JG, Morrison SJ. Leptin-receptor-expressing mesenchymal stromal cells represent the main source of bone formed by adult bone marrow. *Cell Stem Cell* 2014; 15(2): 154-68.
- 15 Mendez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F, Mazloom AR, Maccarthur BD, Lira SA, *et al.* Mesenchymal and hematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 2010; 466(7308): 829-34.
- 16 Zhao M, Perry JM, Marshall H, Venkatraman A, Qian P, He XC, *et al.* Megakaryocytes maintain homeostatic quiescence and promote post-injury regeneration of hematopoietic stem cells. *Nat Med* 2014; 20(11): 1321-6.
- 17 Naveiras O, Nardi V, Wenzel PL, Hauschka PV, Fahey F, Daley GQ. Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment. *Nature* 2009; 460(7252): 259-63.
- 18 Eliasson P, Jonsson JL. The hematopoietic stem cell niche: Low in oxygen but a nice place to be. *J Cell Physiol* 2010; 222(1): 17-22.
- 19 Harrison JS, Rameshwar P, Chang V, Bandari P. Oxygen saturation in the bone marrow of healthy volunteers. *Blood* 2002; 99(1): 394.
- 20 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.
- 21 Koller MR, Bender JG, Miller WM, Papoutsakis ET. Reduced oxygen tension increases hematopoiesis in long-term culture of human stem and progenitor cells from cord blood and bone marrow. *Exp Hematol* 1992; 20(2): 264-70.
- 22 LaLuppa JA, Papoutsakis ET, Miller WM. Oxygen tension alters the effects of cytokines on the megakaryocyte, erythrocyte, and granulocyte lineages. *Exp Hematol* 1998; 26(9): 835-43.
- 23 Takubo K, Goda N, Yamada W, Iriuchishima H, Ikeda E, Kubota Y, *et al.* Regulation of the hif-1 α level is essential for hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell* 2010; 7(3): 391-402.
- 24 Miharada K, Karlsson G, Rehn M, Rorby E, Siva K, Cammenga J, *et al.* Cripto regulates hematopoietic stem cells as a hypoxic-niche-related factor through cell surface receptor grp78. *Cell Stem Cell* 2011; 9(4): 330-44.
- 25 Spencer JA, Ferraro F, Roussakis E, Klein A, Wu J, Runnels JM, *et al.* Direct measurement of local oxygen concentration in the bone marrow of live animals. *Nature* 2014; 508(7495): 269-73.
- 26 Hochachka PW, Buck LT, Doll CJ, Land SC. Unifying theory of hypoxia tolerance: Molecular/metabolic defense and rescue

- mechanisms for surviving oxygen lack. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(18): 9493-8.
- 27 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.
- 28 Spangrude GJ, Johnson GR. Resting and activated subsets of mouse multipotent hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87(19): 7433-7.
- 29 Unwin RD, Smith DL, Blinco D, Wilson CL, Miller CJ, Evans CA, *et al.* Quantitative proteomics reveals posttranslational control as a regulatory factor in primary hematopoietic stem cells. *Blood* 2006; 107(12): 4687-94.
- 30 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.
- 31 Kocabas F, Xie L, Xie J, Yu Z, DeBerardinis RJ, Kimura W, *et al.* Hypoxic metabolism in human hematopoietic stem cells. *Cell Biosci* 2015; 5: 39.
- 32 Piccoli C, D'Aprile A, Ripoli M, Scrima R, Boffoli D, Tabilio A, *et al.* The hypoxia-inducible factor is stabilized in circulating hematopoietic stem cells under normoxic conditions. *FEBS Lett* 2007; 581(16): 3111-9.
- 33 Wang YH, Israelsen WJ, Lee D, Yu VW, Jeanson NT, Clish CB, *et al.* Cell-state-specific metabolic dependency in hematopoiesis and leukemogenesis. *Cell* 2014; 158(6): 1309-23.
- 34 Takubo K, Nagamatsu G, Kobayashi CI, Nakamura-Ishizu A, Kobayashi H, Ikeda E, *et al.* Regulation of glycolysis by pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell* 2013; 12(1): 49-61.
- 35 Vukovic M, Sepulveda C, Subramani C, Guitart AV, Mohr J, Allen L, *et al.* Adult hematopoietic stem cells lacking hif-1 α self-renew normally. *Blood* 2016; 127(23): 2841-6.
- 36 Li Z, Wang D, Messing EM, Wu G, Vhl protein-interacting deubiquitinating enzyme 2 deubiquitinates and stabilizes hif-1 α . *EMBO Rep* 2005; 6(4): 373-8.
- 37 Jeong JH, Kang JH, Hwang SL, Cho HJ, Park KK, Park YY, *et al.* 4-o-methylascochlorin, methylated derivative of ascoclorin, stabilizes hif-1 α via ampk activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 406(3): 353-8.
- 38 Rehn M, Olsson A, Reckzeh K, Diffner E, Carmeliet P, Landberg G, *et al.* Hypoxic induction of vascular endothelial growth factor regulates murine hematopoietic stem cell function in the low-oxygenic niche. *Blood* 2011; 118(6): 1534-43.
- 39 Ichihara S, Yamada Y, Gonzalez FJ, Nakajima T, Murohara T, Ichihara G. Inhibition of ischemia-induced angiogenesis by benzo[a]pyrene in a manner dependent on the aryl hydrocarbon receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 381(1): 44-9.
- 40 Zheng J, Lu Z, Kocabas F, Bottcher RT, Costell M, Kang X, *et al.* Profilin 1 is essential for retention and metabolism of mouse hematopoietic stem cells in bone marrow. *Blood* 2014; 123(7): 992-1001.
- 41 Kaidi A, Williams AC, Paraskeva C. Interaction between β -catenin and hif-1 promotes cellular adaptation to hypoxia. *Nat Cell Biol* 2007; 9(2): 210-7.
- 42 Dunwoodie SL. The role of hypoxia in development of the mammalian embryo. *Dev Cell* 2009; 17(6): 755-73.
- 43 Zhou F, Li X, Wang W, Zhu P, Zhou J, He W, *et al.* Tracing haematopoietic stem cell formation at single-cell resolution. *Nature* 2016; 533(7604): 487-92.
- 44 Azcoitia V, Aracil M, Martinez AC, Torres M. The homeodomain protein meis1 is essential for definitive hematopoiesis and vascular patterning in the mouse embryo. *Dev Biol* 2005; 280(2): 307-20.
- 45 Liu X, Zhang F, Zhang Y, Li X, Chen C, Zhou M, *et al.* Ppm1k regulates hematopoiesis and leukemogenesis through cdc20-mediated ubiquitination of meis1 and p21. *Cell Rep* 2018; 23(5): 1461-75.
- 46 Manesia JK, Xu Z, Broekaert D, Boon R, van Vliet A, Eelen G, *et al.* Highly proliferative primitive fetal liver hematopoietic stem cells are fueled by oxidative metabolic pathways. *Stem Cell Res* 2015; 15(3): 715-21.
- 47 Charitou P, Rodriguez-Colman M, Gerrits J, van Triest M, Groot Koerkamp M, Hornsveld M, *et al.* Foxos support the metabolic requirements of normal and tumor cells by promoting idh1 expression. *EMBO Rep* 2015; 16(4): 456-66.
- 48 Anso E, Weinberg SE, Diebold LP, Thompson BJ, Malinge S, Schumacker PT, *et al.* The mitochondrial respiratory chain is essential for haematopoietic stem cell function. *Nat Cell Biol* 2017; 19(6): 614-25.
- 49 de Almeida MJ, Luchsinger LL, Corrigan DJ, Williams LJ, Snoeck HW. Dye-independent methods reveal elevated mitochondrial mass in hematopoietic stem cells. *Cell Stem Cell* 2017; 21(6): 725-9.e4.
- 50 Chen Y, Yu M, Dai X, Zogg M, Wen R, Weiler H, *et al.* Critical role for gimap5 in the survival of mouse hematopoietic stem and progenitor cells. *J Exp Med* 2011; 208(5): 923-35.
- 51 Gan B, Hu J, Jiang S, Liu Y, Sahin E, Zhuang L, *et al.* Lkb1 regulates quiescence and metabolic homeostasis of haematopoietic stem cells. *Nature* 2010; 468(7324): 701-4.
- 52 Ko M, Huang Y, Jankowska AM, Pape UJ, Tahiliani M, Bandukwala HS, *et al.* Impaired hydroxylation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant tet2. *Nature* 2010; 468(7325): 839-43.
- 53 Guo Z, Kozlov S, Lavin MF, Person MD, Paull TT. Atm activation by oxidative stress. *Science* 2010; 330(6003): 517-21.
- 54 Park IK, Qian D, Kiel M, Becker MW, Pihalja M, Weissman IL, *et al.* Bmi-1 is required for maintenance of adult self-renewing haematopoietic stem cells. *Nature* 2003; 423(6937): 302-5.
- 55 Storz P. Forkhead homeobox type o transcription factors in the responses to oxidative stress. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14(4): 593-605.
- 56 Cao YA, Wagers AJ, Karsunky H, Zhao H, Reeves R, Wong RJ, *et al.* Heme oxygenase-1 deficiency leads to disrupted response to acute stress in stem cells and progenitors. *Blood* 2008; 112(12): 4494-502.
- 57 Ito K, Hirao A, Arai F, Takubo K, Matsuoka S, Miyamoto K, *et al.* Reactive oxygen species act through p38 mapk to limit the lifespan of hematopoietic stem cells. *Nat Med* 2006; 12(4): 446-51.
- 58 Taya Y, Ota Y, Wilkinson AC, Kanazawa A, Watarai H, Kasai M, *et al.* Depleting dietary valine permits nonmyeloablative mouse hematopoietic stem cell transplantation. *Science* 2016; 354(6316): 1152-5.
- 59 Cabezas-Wallscheid N, Buettner F, Sommerkamp P, Klimmck D, Ladel L, Thalheimer FB, *et al.* Vitamin a-retinoic acid signaling

- regulates hematopoietic stem cell dormancy. *Cell* 2017; 169(5): 807-23,e19.
- 60 Ito K, Carracedo A, Weiss D, Arai F, Ala U, Avigan DE, *et al.* A pml-ppar-delta pathway for fatty acid oxidation regulates hematopoietic stem cell maintenance. *Nat Med* 2012; 18(9): 1350-8.
- 61 Signer RA, Magee JA, Salic A, Morrison SJ. Haematopoietic stem cells require a highly regulated protein synthesis rate. *Nature* 2014; 509(7498): 49-54.
- 62 Fan Y, Dickman KG, Zong WX. Akt and c-myc differentially activate cellular metabolic programs and prime cells to bioenergetic inhibition. *J Biol Chem* 2010; 285(10): 7324-33.
- 63 Shakya A, Cooksey R, Cox JE, Wang V, McClain DA, Tantin D. Oct1 loss of function induces a coordinate metabolic shift that opposes tumorigenicity. *Nat Cell Biol* 2009; 11(3): 320-7.
- 64 Tothova Z, Kollipara R, Huntly BJ, Lee BH, Castrillon DH, Cullen DE, *et al.* Foxos are critical mediators of hematopoietic stem cell resistance to physiologic oxidative stress. *Cell* 2007; 128(2): 325-39.
- 65 Mariani SA, Li Z, Rice S, Krieg C, Frangkogianni S, Robinson M, *et al.* Pro-inflammatory aorta-associated macrophages are involved in embryonic development of hematopoietic stem cells. *Immunity* 2019; 50(6): 1439-52,e5.
- 66 Jassinskaja M, Johansson E, Kristiansen TA, Akerstrand H, Sjöholm K, Hauri S, *et al.* Comprehensive proteomic characterization of ontogenic changes in hematopoietic stem and progenitor cells. *Cell Rep* 2017; 21(11): 3285-97.
- 67 Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature* 2014; 505(7483): 327-34.
- 68 Tothova Z, Gilliland DG. Foxo transcription factors and stem cell homeostasis: Insights from the hematopoietic system. *Cell Stem Cell* 2007; 1(2): 140-52.
- 69 Yu WM, Liu X, Shen J, Jovanovic O, Pohl EE, Gerson SL, *et al.* Metabolic regulation by the mitochondrial phosphatase ptpmt1 is required for hematopoietic stem cell differentiation. *Cell Stem Cell* 2013; 12(1): 62-74.
- 70 Iyer NV, Kotch LE, Agani F, Leung SW, Laughner E, Wenger RH, *et al.* Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes Dev* 1998; 12(2): 149-62.
- 71 Kim CG, Lee JJ, Jung DY, Jeon J, Heo HS, Kang HC, *et al.* Profiling of differentially expressed genes in human stem cells by cDNA microarray. *Mol Cells* 2006; 21(3): 343-55.
- 72 Agathocleous M, Meacham CE, Burgess RJ, Piskounova E, Zhao Z, Crane GM, *et al.* Ascorbate regulates haematopoietic stem cell function and leukaemogenesis. *Nature* 2017; 549(7673): 476-81.
- 73 Zhao Y, Jin J, Hu Q, Zhou HM, Yi J, Yu Z, *et al.* Genetically encoded fluorescent sensors for intracellular NADH detection. *Cell Metab* 2011; 14(4): 555-66.
- 74 Tao R, Zhao Y, Chu H, Wang A, Zhu J, Chen X, *et al.* Genetically encoded fluorescent sensors reveal dynamic regulation of NADPH metabolism. *Nat Methods* 2017; 14(7): 720-8.
- 75 Hao X, Gu H, Chen C, Huang D, Zhao Y, Xie L, *et al.* Metabolic imaging reveals a unique preference of symmetric cell division and homing of leukemia-initiating cells in an endosteal niche. *Cell Metab* 2019; 29(4): 950-65,e6.