

**Delivery timing determines senomorphic efficacy: delayed local ruxolitinib restores macrophage polarization and rescues age-impaired bone repair**

Yamin Liu<sup>1</sup>, Erin M. O'Brien<sup>2</sup>, Christy Lottinger<sup>1</sup>, Govindaraj Perumal<sup>1</sup>, Kara L. Spiller<sup>2</sup>, Liisa Kuhn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomedical Engineering, University of Connecticut Health Center, Farmington, CT 06030

<sup>2</sup>School of Biomedical Engineering, Science, and Health Systems, Drexel University, Philadelphia, PA

\*=communicating author

**Table1: Top 30 differentially expressed genes at Day 1**

DAY1																
Gene Name	Log 10 (M0-TBL)	Log 10 (M1-TBL)	log 10 (Rux - Imm)	Log 10 (Rux - Del)	D1-M1-TBL vs. M0-TBL		D1-Rux-Imm vs. M0-TBL		D1-Rux-Delay vs. M0-TBL		D1-RUX-Imm vs. M1-TBL		D1-Rux-Delay vs. M1-TBL		D1-Rux-Delay vs Rux-Imm	
					P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value
CCL2	3.096	3.974	3.01	3.989	<0.000001	0.000001	0.176287	0.095136	<0.000001	0.000002	0.000049	0.000053	0.201468	0.346147	0.000049	0.000046
CCL5	3.231	4.198	4.47	4.232	<0.000001	0.000001	<0.000001	0.000002	<0.000001	0.000002	<0.000001	0.000003	0.009205	0.044503	0.000008	0.000014
CCL7	2.392	3.146	2.31	3.216	<0.000001	0.000002	0.004595	0.003963	<0.000001	0.000002	<0.000001	0.000002	0.003552	0.025549	<0.000001	0.000002
CCL8	1.316	3.183	0.386	3.221	0.000024	0.000039	0.016089	0.011956	0.000022	0.000031	0.000209	0.000157	0.008357	0.042416	0.000198	0.000137
CCN2 (C	2.737	2.989	3.451	2.891	0.000303	0.00026	0.000002	0.000019	0.003333	0.001805	0.000028	0.000035	0.024662	0.084667	0.000022	0.000026
CD71	3.228	2.571	2.928	2.526	0.000004	0.00001	0.000259	0.000371	0.00001	0.000019	0.000126	0.000109	0.14803	0.284957	0.000183	0.000129
CD74	3.197	3.569	3.439	3.622	0.000004	0.00001	0.000012	0.000054	0.000002	0.000006	0.000091	0.000087	0.004178	0.025549	0.000016	0.000021
CD83	2.056	2.946	1.819	2.943	<0.000001	0.000001	0.000303	0.000418	<0.000001	0.000002	<0.000001	0.000003	0.806487	0.783047	<0.000001	0.000002
CD86	2.123	3.41	1.887	3.464	<0.000001	<0.000001	0.078467	0.046503	<0.000001	0.000001	0.000109	0.0001	0.001567	0.021468	0.000096	0.000073
COL1A1	2.646	2.466	3.26	2.368	0.000353	0.00029	0.000004	0.000026	0.000082	0.000081	0.000003	0.000007	0.008584	0.042491	0.000002	0.000006
COL3A1	2.744	2.548	3.217	2.415	0.000424	0.000333	0.000002	0.000024	0.000043	0.000051	0.000001	0.000005	0.002001	0.022056	<0.000001	0.000002
CXCL10	2.761	3.617	1.35	3.661	0.000004	0.00001	0.000428	0.000552	0.000002	0.000007	0.000064	0.000064	0.00994	0.046967	0.000058	0.000051
CXCL12	1.279	1.183	1.631	0.831	0.510844	0.174694	0.002637	0.002426	0.066024	0.025926	0.029589	0.012945	0.181674	0.320084	0.011211	0.005023
CXCL2	3.098	2.865	3.418	2.777	0.000338	0.000283	0.000947	0.00104	0.000189	0.00014	0.00011	0.0001	0.021694	0.081579	0.000078	0.000061
CXCL3	3.306	2.462	3.912	2.452	<0.000001	0.000003	0.000001	0.000015	0.000004	0.00001	<0.000001	<0.000001	0.706555	0.718901	<0.000001	0.000002
Cxcl1	2.738	2.71	3.332	2.614	0.265013	0.102366	0.000114	0.000219	0.004549	0.002328	0.000058	0.00006	0.001111	0.020825	0.000032	0.000036
H2-Aa	2.795	3.23	3.222	3.305	0.000018	0.000032	0.000004	0.00003	0.000008	0.000015	0.670141	0.221871	0.021974	0.081579	0.006373	0.002989
HIF1a	3.236	3.978	3.668	4.002	<0.000001	0.000003	0.000005	0.000032	<0.000001	0.000002	0.000016	0.000026	0.076923	0.185956	0.000007	0.000013
IL36g	2.499	2.511	2.598	2.567	0.574963	0.193079	0.004479	0.003934	0.022356	0.009477	0.027345	0.012108	0.105096	0.229994	0.263982	0.093794
IL6	1.644	3.073	1.743	2.878	0.000011	0.000022	0.39863	0.18337	0.000025	0.000032	0.000183	0.000142	0.012328	0.055461	0.000366	0.000226
ISG15	3.533	4.216	2.37	4.199	0.000001	0.000004	0.000102	0.000203	<0.000001	0.000003	0.000016	0.000026	0.267082	0.399471	0.000017	0.000022
lrf7	3.366	3.811	1.668	3.813	0.000016	0.00003	0.000091	0.000195	0.00001	0.000018	0.000035	0.00004	0.850795	0.807672	0.000035	0.000038
Ly6C	3.129	3.299	2.28	3.406	0.00007	0.000094	<0.000001	0.000002	0.000076	0.000077	<0.000001	<0.000001	0.004098	0.025549	<0.000001	0.000002
Pd11 (CD	3.462	4.106	3.254	4.144	<0.000001	0.000001	0.000383	0.000507	<0.000001	0.000002	0.000001	0.000005	0.000756	0.020825	<0.000001	0.000003
STAT1	3.444	3.528	2.692	3.598	0.000896	0.000602	<0.000001	0.000002	0.000181	0.000139	<0.000001	<0.000001	0.003775	0.025549	<0.000001	0.000002
STAT3	2.721	3.427	2.691	3.413	<0.000001	0.000003	0.097139	0.055855	<0.000001	0.000002	0.000001	0.000005	0.256578	0.38654	<0.000001	0.000002
TLR9	1	2.493	0.577	2.558	0.000421	0.000333	0.302122	0.15524	0.000325	0.000222	0.004559	0.002446	0.205842	0.346147	0.003976	0.001984
TNF	3.013	2.874	2.745	2.902	0.002698	0.001572	0.000303	0.000418	0.00621	0.002964	0.000774	0.000486	0.064408	0.163785	0.000386	0.000234
CHIL3 (Y	2.634	2.37	2.992	2.305	0.000222	0.000197	0.000009	0.000047	0.000185	0.000139	0.000007	0.000014	0.093509	0.213631	0.00001	0.000015
L-Select	1.122	2.593	1.293	2.561	0.000129	0.000133	0.468256	0.210389	0.000139	0.000116	0.002365	0.001369	0.02419	0.084667	0.002584	0.001334

**Table2: Top 30 differentially expressed genes at Day 6**

Gene name	DAY6															
	Log 10 (M0-TBL)	Log 10 (M1-TBL)	Log 10 (Rux - Imm)	Log 10 (Rux - Del)	D6-M1-TBL vs.M0-TBL		D6-Rux-Imm vs.M0-TBL		D6-Rux-Delay vs.M0-TBL		D6-RUX-Imm vs. M1-TBL		D6-RUX-Delay vs. M1-TBL		D6-Rux-Delay vs. Rux-Imm	
					P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value
CCL2	2.981	4.189	3.622	3.375	<0.000001	<0.000001	0.000011	0.000025	0.000029	0.000077	0.000017	0.000068	0.000002	0.000004	0.00082	0.001
CCL5	2.16	4.219	3.342	2.903	<0.000001	<0.000001	0.000003	0.000011	0.000097	0.000156	<0.000001	0.000008	0.000004	0.000007	0.00035	0.0005
CCL7	2.581	3.458	2.921	3.018	<0.000001	0.000001	0.000324	0.000283	0.000015	0.00007	0.000033	0.0001	0.000002	0.000005	0.02236	0.0162
CCL8	0	2.474	2.263	2.409	<0.000001	<0.000001	<0.000001	0.000002	0.000002	0.00003	0.001078	0.001359	0.346473	0.099866	0.08314	0.0484
CCN2 (C	3.526	3.293	3.376	3.824	0.000162	0.000077	0.000534	0.000403	0.000017	0.00007	0.007724	0.006712	0.000003	0.000006	3E-06	3E-05
CD71	2.861	2.441	2.456	2.893	0.000012	0.000009	0.000066	0.000087	0.164359	0.087897	0.554153	0.263484	0.00002	0.000022	7.4E-05	0.0002
CD74	2.342	4.244	4.245	3.468	<0.000001	<0.000001	<0.000001	0.000001	0.000001	0.00003	0.982847	0.414523	0.000006	0.000008	7E-06	4E-05
CD83	1.906	2.451	2.186	1.96	0.000203	0.00009	0.001253	0.000797	0.303747	0.150302	0.003053	0.003205	0.000647	0.000343	0.00732	0.006
CD86	1.753	3.318	2.484	2.029	0.000038	0.000024	0.000714	0.000516	0.029371	0.018732	<0.000001	0.000008	0.000002	0.000005	0.0001	0.0002
COL1A1	3.556	2.439	3.484	4.064	<0.000001	<0.000001	0.02069	0.009754	0.000004	0.000032	<0.000001	0.000012	<0.000001	<0.000001	6E-06	4E-05
COL3A1	3.728	2.578	3.42	4.171	<0.000001	0.000001	0.000233	0.000224	0.000011	0.00006	0.000008	0.000038	<0.000001	0.000002	6E-06	4E-05
CXCL10	1.144	3.619	2.724	2.232	0.000006	0.000006	0.000047	0.000068	0.000453	0.000487	0.000005	0.000029	0.000029	0.000029	0.00226	0.0022
CXCL12	2.319	1.579	1.993	3.702	0.000864	0.000316	0.000255	0.000242	0.000003	0.000032	0.008324	0.007111	0.000019	0.00002	2E-06	3E-05
CXCL2	1.696	2.17	2.07	2.044	0.000596	0.000232	0.00096	0.000652	0.002769	0.00227	0.03932	0.0266	0.050625	0.016178	0.55666	0.2468
CXCL3	2.029	1.838	2.071	2.407	0.000086	0.000044	0.326397	0.118426	0.00002	0.00007	0.00378	0.003773	0.000006	0.000009	0.00112	0.0012
Cxcl1	1.688	2.108	2.063	2.169	0.000417	0.000169	0.000846	0.000586	0.000071	0.000139	0.353868	0.182074	0.122793	0.037027	0.03674	0.0231
H2-Aa	1.776	3.801	3.842	3.095	<0.000001	<0.000001	<0.000001	0.000004	0.000004	0.000032	0.019889	0.01432	0.000002	0.000005	3E-06	3E-05
HIF1a	3.381	3.603	3.596	3.615	0.000192	0.000088	0.000491	0.000374	0.0001	0.000157	0.705528	0.320348	0.334475	0.097362	0.30542	0.1508
IL36g	0.558	2.43	1.832	0.626	0.004764	0.001466	0.018168	0.008683	0.887197	0.363751	0.000005	0.000029	0.003992	0.001575	0.01642	0.0123
IL6	1.48	2.226	1.691	1.675	0.000927	0.000334	0.069657	0.029983	0.193293	0.100864	0.000001	0.000014	0.003849	0.001529	0.87278	0.3657
ISG15	2.192	3.656	2.79	2.678	0.000007	0.000006	0.000216	0.000214	0.000509	0.000541	<0.000001	0.000012	<0.000001	0.000004	0.00123	0.0013
Irf7	2.211	3.803	3.204	2.904	<0.000001	<0.000001	<0.000001	0.000004	0.000027	0.000076	0.000007	0.000035	0.000012	0.000014	0.00098	0.0011
Ly6C	2.412	3.793	3.537	3.232	<0.000001	<0.000001	0.000001	0.000006	0.000002	0.00003	0.000402	0.000634	0.000007	0.00001	0.00029	0.0005
Pd1 (CD	2.869	4.003	3.727	3.395	<0.000001	<0.000001	<0.000001	0.000003	0.00002	0.00007	0.000034	0.0001	0.000012	0.000014	0.00017	0.0003
STAT1	2.625	3.923	3.852	3.417	<0.000001	<0.000001	<0.000001	0.000002	0.000003	0.000032	0.005311	0.004867	0.000012	0.000014	2.3E-05	9E-05
STAT3	2.902	3.239	3.08	2.982	0.000012	0.000009	0.000039	0.000059	0.006422	0.00485	0.000375	0.0006	0.000176	0.000117	0.0044	0.0038
TLR9	0	2.258	1.613	0.813	<0.000001	<0.000001	<0.000001	0.000005	0.000114	0.000171	0.000031	0.000099	0.000012	0.000014	0.00021	0.0003
TNF	1.777	2.908	2.645	2.121	<0.000001	<0.000001	0.000007	0.000018	0.000155	0.000215	0.000416	0.000638	0.000002	0.000005	6.1E-05	0.0002
CHIL3 (N	1.889	2.134	0	1.625	0.006754	0.002039	<0.000001	0.000005	0.003181	0.002536	<0.000001	0.000007	0.000118	0.000089	<0.000001	4E-06
L-Select	-0.018	2.349	0.2	0.395	<0.000001	<0.000001	0.322628	0.117674	0.154802	0.083303	0.000372	0.0006	0.001159	0.000554	0.55514	0.2468
Bmp2	0.226	1.801	1.453	0.944	0.002445	0.000826	0.006619	0.003529	0.057711	0.034269	0.004751	0.004504	0.004319	0.001693	0.03058	0.0199
TGFB1	3.127	3.225	3.287	3.137	0.000051	0.000031	0.000335	0.000287	0.422808	0.190512	0.011648	0.009101	0.00142	0.000668	0.00095	0.0011
IGF1	2.652	2.384	2.591	2.63	0.000019	0.000013	0.007113	0.003729	0.299485	0.14905	0.000002	0.000014	0.000082	0.000065	0.06733	0.0394

**Table3: Specific differentially expressed genes at Day 1**

Gene name	DAY1															
	Log 10 (M0-TBL)	Log 10 (M1-TBL)	log 10 (Rux - Imm)	Log 10 (Rux - Del)	D1-M1-TBL vs. M0-TBL		D1-Rux-Imm vs. M0-TBL		D1-Rux-Delay vs. M0-TBL		D1-RUX-Imm vs. M1-TBL		D1-Rux-Delay vs. M1-TBL		D1-Rux-Delay vs. Rux-Imm	
					P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value
Bmp2	1.538	1.711	1.395	1.64	0.0459	0.0201	0.1351	0.075	0.1546	0.0552	0.0197	0.0092	0.3531	0.4584	0.041	0.0169
TGFB1	3.19	2.888	3.287	2.881	7E-06	2E-05	0.0056	0.0047	1E-05	2E-05	4E-05	4E-05	0.6702	0.7002	4E-05	4E-05
IGF1	2.617	2.355	2.659	2.325	4E-05	6E-05	0.0856	0.0497	2E-05	3E-05	7E-05	7E-05	0.0647	0.1638	5E-05	5E-05

**Table4: Specific differentially expressed genes at Day 6**

Gene name	DAY6															
	Log 10 (M0-TBL)	Log 10 (M1-TBL)	log 10 (Rux - Imm)	Log 10 (Rux - Del)	D6-M1-TBL vs. M0-TBL		D6-Rux-Imm vs. M0-TBL		D6-Rux-Delay vs. M0-TBL		D6-RUX-Imm vs. M1-TBL		D6-RUX-Delay vs. M1-TBL		D6-Rux-Delay vs. Rux-Imm	
					P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value	P value	q value
Bmp2	0.2257	1.801	1.453	0.9436	0.0024	0.0008	0.0066	0.0035	0.0577	0.0343	0.0048	0.0045	0.0043	0.0017	0.0306	0.0199
TGFB1	3.127	3.225	3.287	3.137	5E-05	3E-05	0.0003	0.0003	0.4228	0.1905	0.0116	0.0091	0.0014	0.0007	0.0009	0.0011
IGF1	2.652	2.384	2.591	2.63	2E-05	1E-05	0.0071	0.0037	0.2995	0.1491	2E-06	1E-05	8E-05	7E-05	0.0673	0.0394