

衰老的生物标志物研究进展

肖夤凡, 郑彬, 田丹丹, 毕建忠, 谢兆宏*

山东大学第二医院神经内科, 山东 济南

收稿日期: 2025年2月21日; 录用日期: 2025年3月14日; 发布日期: 2025年3月25日

摘要

衰老是一个复杂且多方面的过程, 其通常被认为是生命过程中各种事件和过程所带来影响的积累过程, 并将导致机体功能减退、慢性疾病, 最终指向死亡。衰老的生物学研究本质在于回答三个核心问题: 我们有多老? 我们为什么会衰老? 如何延缓衰老? 而作为可被定量的生物参数, 衰老的生物标志物可以衡量衰老的进程, 进而帮助我们探究衰老的相关机制, 最终做到干预衰老。本综述总结了衰老生物标志物研究的最新进展, 从细胞、器官层面上回顾了衰老标志物的特征及它们在衰老过程中的作用机制, 并讨论了利用这些标志物来开发衰老干预策略的潜力, 揭示了未来衰老研究的方向及所面临的挑战。

关键词

衰老, 生物标志物, 细胞衰老

Recent Advances in the Study of Biomarkers of Aging

Yinfan Xiao, Bin Zheng, Dandan Tian, Jianzhong Bi, Zhaohong Xie*

Department of Neurology, The Second Hospital of Shandong University, Jinan Shandong

Received: Feb. 21st, 2025; accepted: Mar. 14th, 2025; published: Mar. 25th, 2025

Abstract

Aging is a complex and multifaceted process characterized by the cumulative effects of various biological events and processes throughout the life course, ultimately resulting in diminished physiological function, chronic diseases, and eventually death. The core of biological research on aging revolves around three fundamental questions: How do we quantify age? What are the mechanisms driving aging? How can we delay or mitigate the aging process? Biomarkers of aging, as quantifiable

*通讯作者。

文章引用: 肖夤凡, 郑彬, 田丹丹, 毕建忠, 谢兆宏. 衰老的生物标志物研究进展[J]. 临床医学进展, 2025, 15(3): 2336-2348. DOI: 10.12677/acm.2025.153869

biological parameters, provide a means to measure and understand the aging process, thereby facilitating the exploration of underlying mechanisms and enabling potential interventions. This review synthesizes recent advancements in the study of aging biomarkers, examines the characteristics and mechanisms of these markers at both cellular and organ levels, evaluates their potential for developing intervention strategies, and outlines future directions and challenges in aging research.

Keywords

Aging, Biomarker, Cellular Senescence

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

研究背景与意义

伴随着年龄的增长, 衰老逐渐成为生命进程中不可忽略的一部分, 作为复杂且多方面的过程, 衰老涉及多个组织和细胞水平的改变, 其最终结果是导致功能下降和死亡率增加。2023 年 Carlos López-Otín 及其团队首次提出了衰老的十二个标志: 基因组不稳定、端粒损耗、表观遗传改变、蛋白质稳态丧失、大自噬失能、营养感应失调、线粒体功能障碍、细胞衰老、干细胞耗竭、细胞间通讯改变、慢性炎症和生态失调[1]。这些衰老中的生物过程有助于我们理解衰老的机制, 同时也对后续开发有效延缓衰老以及治疗与年龄相关疾病的策略至关重要。其实从古代时期我们的祖先就发现可以通过饮食、生活方式或药物等方式来实现长寿或者是延长健康寿命, 这也提示衰老过程可通过人为手段干预, 现代也有假说认为针对衰老过程本身调节, 可以同时预防、延缓、降低许多与年龄相关疾病的严重程度[2]。然而, 尽管通过动物模型得以方便我们研究干预措施对衰老过程的影响, 但受限于伦理道德、生物学差异或者经济等限制, 这些干预措施如何应用于人身上仍是巨大的挑战[3]。因此, 我们需要有替代方法来量化衰老的进程以及反应衰老相关的各种生物学变化, 同时对衰老的干预措施表现出足够的敏感性, 而这种替代我们称之为——衰老的生物标志物。

早在上世纪 60 年代, 人们便认识到需要生物标志物来量化衰老的进程以及预测其对干预措施的反应, 自那时起, 人们便开始致力于探索构建明确的衰老生物标志物检测组。进入 21 世纪以来, 随着各类组学技术以及检测手段的发展, 使得衰老生物标志物的可选择范围大大增加[4][5]。最近, 在中国衰老标志物研究联合体发布的综述中系统总结了衰老标志物研究在细胞衰老、器官衰老、衰老时钟及其应用、相应伦理及社会意义四个方面的重要进展。并首次提出了衰老标志物的三种“原色”(Primary Colors: 系统性、特异性和可用性), 定义了衰老标志物的六个“支柱”(Pillars: 生理学特征、影像学特征、组织学特征、细胞改变、分子改变和体液分泌因子), 并指出“生理行为特征”、“影像学特征”和“体液分泌因子”可作为衰老标志物临床转化的三个可应用指标[6]。同年, 衰老生物标志物联盟发表的综述也为衰老生物标志物的研究、验证和转化确立范式[7]。基于现有的研究, 本综述概括了细胞、器官等各个层面的生物标志物, 以及介绍如何评估与验证这些生物标志物并将其应用于衰老的临床研究中去, 希望可以为衰老领域的研究者提供参考。

2. 细胞衰老的生物标志物

细胞作为器官和机体的基础组成部分,细胞衰老是器官和机体衰老的原动力,细胞衰老通常描述的是细胞为响应应激或损伤而进入稳定细胞周期停滞,从而触发多种细胞内表型变化。细胞衰老的生物标志物可以展现生物体衰老过程中细胞层面的变化,拓宽了我们对衰老基本机制的了解,并可能成为干预衰老的潜在目标。然而,如何识别、分离出衰老细胞仍是一个巨大的挑战,目前被提出来的标志物仍缺乏特异性,单个标志物很难定义衰老的状态,我们通常需要多个角度的标志物来识别衰老细胞。因此,我们提出 10 个目前已知的细胞衰老标志物:细胞周期停滞、衰老相关分泌表型(SASP)、表观遗传改变、DNA 损伤反应、端粒损耗、细胞周期阻滞、线粒体及代谢功能障碍、蛋白质稳态丧失、异常信号通路、细胞表面标志物。接下来将逐一展开介绍。

2.1. 细胞周期停滞

细胞周期停滞是细胞衰老最显著的核心表现之一,表现为细胞丧失了增殖能力,无法响应正常的刺激进入有丝分裂,除非通过某些干预手段恢复其增殖能力,否则这种停滞通常是不可逆的。细胞衰老中的细胞周期停滞主要受 p53/p21CIP1 和 p16INK4a/RB 通路调控[8] [9],衰老细胞中肿瘤抑制基因 p53 的激活进而刺激了处于下游的 p21CIP1,其可以通过抑制周期素依赖性激酶(CDK)活性阻断视网膜细胞瘤抑制蛋白(RB)的低磷酸化,从而抑制 E2F 的转录因子,下调增殖标志物 MKI67,最终阻断细胞周期的进程[10]。同样地, p16INK4a 的激活也可以直接介导磷酸化 RB 的抑制过程来使细胞周期停滞。但是值得注意的是, p16INK4a 被发现在某些非衰老细胞中表达[11],甚至并非在所有衰老细胞中表达。这也提示了研究细胞周期停滞需要多种生物标志物协同评估。

2.2. 衰老相关分泌表型(SASP)

衰老相关分泌表型(SASP)是指衰老细胞在进入衰老状态后分泌的一系列生物活性分子,其中涉及的分子包括细胞因子(IL-6、IL-1 α 、IL-8 及 TNF- α)、生长因子(HGF、TGF- β)、趋化因子(CXCL1、CXCL3、CXCL8)、基质金属蛋白酶(MMPs)以及其他生物活性分子等,同时最近的研究认为小的胞外囊泡(sEVs)及其 miRNA 也可作为 SASP 的新成员,其提出被称为“EV-SASP”[12] [13],它们以类似于激素或细胞因子的方式,参与细胞间通讯,并维持衰老细胞的抗凋亡活性。由于 SASP 是高度复杂混合物组成,其确切成分随细胞和组织环境以及诱导衰老的刺激而显著不同。这些分子不仅改变了衰老细胞自身的行为,还对周围组织和细胞产生了广泛的影响。SASP 的分泌可以导致机体慢性低度炎症,并可以反作用于衰老细胞及其邻近细胞来加速它们的衰老进程,目前已经有研究发现 SASP 可介导旁分泌衰老[14]。

2.3. 表观遗传改变

表观遗传改变是指在不改变 DNA 序列的情况下,通过化学修饰(如 DNA 甲基化、组蛋白修饰等)改变基因的可表达状态,从而调控基因表达的过程[15]。

DNA 甲基化改变是最具有代表性的表观遗传生物标志物之一,当启动子内的 CpG 岛甲基化时,会导致相应的基因沉默,即表达被抑制。有研究发现随着年龄增加, DNA 甲基转移酶 1(DNMT1)水平逐渐降低,这或许能解释为什么在多种衰老的生物体中观察到 DNA 甲基化的整体水平降低[16]。而基于 DNA 甲基化模式,研究者开发出了最早的表现遗传时钟——DNAmAge,它能够估测大多数细胞和组织的年龄,并预测衰老的结果,包括死亡风险和与年龄相关的疾病[17] [18]。此后随着技术的进步,不断有新的具有更高准确度和精度的表观遗传时钟应用于衰老的研究之中。

组蛋白的多种翻译后修饰,如甲基化、乙酰化、磷酸化等,可以在不改变 DNA 序列的情况下调控基因的表达,影响细胞的功能和状态,包括细胞的衰老过程。例如秀丽隐杆线虫中缺乏 H3K4me3 (组蛋

白第3亚基H3第4位赖氨酸的三甲基化修饰)甲基转氨酶的蠕虫寿命延长[19],以及H3K4me3在阿尔茨海默病(AD)小鼠模型中会随着年龄的增长而增加[20]。

异染色质是一种高度保守且结构独特的真核染色质,它可以将DNA包裹进一个难以接近、转录失活的结构中,确保基因沉默和基因组的稳定性。根据导致基因沉默的修饰以及功能的差异,异染色质通常分为结构性和兼性两种[21],值得注意的是,在不同的细胞模型中,衰老相关的异染色质丢失通常伴随着组蛋白甲基转移酶的异常表达,如SET结构域分叉的组蛋白赖氨酸甲基转移酶1(SETDB1)的下调以及组蛋白赖氨酸去甲基酶4A(KDM4A)或KDM4B的上调,此外,操纵这些酶的表达或活性可以逆转或加速衰老[22][23]。所以,我们需要结合不同层面的表观遗传生物标志物,才能更好地评估临床衰老干预的手段。

2.4. DNA损伤与修复

当DNA损伤逐渐累积时,细胞会激活DNA的损伤反应(DDR)。DDR通过激活共济失调毛细血管扩张症突变激酶(ATM)介导和共济失调毛细血管扩张症基因Rad3相关激酶(ATR)介导的p53来激活CDKN1A以阻止细胞周期进程,从而协调参与细胞衰老[24]。DNA修复受阻也是衰老细胞中DNA损伤累积的原因之一,有研究发现 γ H2AX会在DNA双链断裂(DSB)位点形成焦点,招募检查点因子和DNA修复因子,包括TP53BP1、MDC1、NBS1和磷酸化的SMC1,形成持久的DNA损伤灶,导致DNA修复机制的功能障碍[25]。除了DDR外,通过测量8-羟基-2'-脱氧鸟苷(8-OHdG)可以发现,DNA氧化损伤水平也随着年龄增长显著增加,且负责修复DNA氧化损伤的碱基切除修复(BER)能力随着年龄增长而下降[26]。

2.5. 端粒损耗

端粒是真核生物染色体末端的帽状结构,在保护染色体末端DNA中起关键作用。端粒被一种称为shelterin的特征性多蛋白复合物结合,shelterin复合物包含6种蛋白质——端粒重复结合因子1(TRF1)、端粒重复结合因子2(TRF2)、TPP1(负责募集端粒酶)、POT1、TRF1相互作用核因子2(TIN2)、TRF2相互作用蛋白(RAP1/TERF2IP),其主要功能是防止DNA修复蛋白进入端粒。端粒DNA长度(TL)可被视为细胞分裂次数的计数器,当端粒缩短导致极短的TL(Hayflick极限)时,会触发不可逆的细胞周期停滞,称为复制衰老。因此,TL可以被认为是衡量衰老的生物标志物。除此之外,近年的研究发现,一种含有端粒重复序列的非编码RNA(Telomeric Repeat-Containing RNA, TERRA)也参与了端粒维持机制。在体内和体外的数据中均发现了端粒长度和TERRA的负相关[27][28]。端粒酶是唯一一种可以延长端粒的酶,通常在端粒酶肿瘤细胞中可见,因此它作为诊断/预后的肿瘤标志物而发展,但由于端粒酶在正常体细胞中无活性,其在正常衰老细胞中的作用尚未得到深入研究。

2.6. 线粒体功能障碍

线粒体作为重要的细胞内细胞器,承担了能量供应、钙稳态等功能,线粒体功能障碍的许多驱动因素也会导致细胞衰老,例如线粒体功能失调导致活性氧(ROS)生成增加,从而导致衰老和稳定细胞周期停滞[29]。线粒体本身基因组,称为线粒体DNA(mtDNA),在能量需求旺盛的组织(包括心脏、肝脏和皮肤组织)中,过度mtDNA突变积累会通过损害氧化磷酸化和加速衰老表型,导致线粒体功能障碍[30]。同时衰老细胞中的部分线粒体表现出线粒体外膜通透性,mtDNA由此释放到细胞质中,从而促进SASP[31]。

2.7. 蛋白质稳态丧失

蛋白质稳态网络包含超过1400种不同的蛋白质,为了维护蛋白质稳态,由分子伴侣、自噬-溶酶体

系统、泛素-蛋白酶体系统的活动,以及 URPER 和 UPRmt 的功能等共同参与[32],它们都可以作为衰老的生物学标志物。翻译后蛋白质修饰(PTM)通过调节蛋白质活性、定位或与其他细胞分子的相互作用,在衰老过程中起到关键调节能力;这些 PTM 主要是磷酸化、泛素化、SUMO 化、乙酰化、羰基化和氧化翻译后修饰(OxiPTM)。例如帕金森病(PD)和其他突触核蛋白病有关的关键蛋白—— α -突触核蛋白,其丝氨酸 129 位点(pS129)的磷酸化是 PD 的病理标志[33]。除此之外,氧化还原应激反应能力(RRC)也成为调节衰老中蛋白质稳态的另一个重要因素,RRC 可以影响细胞内维持适当活性氧的能力,而适当的活性氧可以激活细胞信号通路,维持氧化还原稳态,降解受损蛋白质,即维持蛋白质稳态[34]。

2.8. 异常信号通路

目前的研究表明,尽管许多刺激可以触发细胞衰老,但它们主要集中在 p53 途径和 pRb 途径这两个主要通路上[35]。然而,基因表达谱揭示了复制衰老反应的特征是高度细胞类型特异性,这表明存在多种途径可以诱导衰老反应[36]。其中 TNF α 信号与衰老密切相关,作为一种多效性促炎细胞因子,TNF α 可以介导广泛生物学功能,如刺激正常细胞增殖、对肿瘤细胞发挥细胞溶解活性、引起炎症和免疫调节作用等[37]。TNF α 的生物学效应由两种不同的细胞表面受体 TNFR1 和 TNFR2 介导,TNFR1 包含一个死亡域(DD),在与 TNF α 结合后,TNFR1 发生三聚化并诱导受体 DD 结合,随后募集两种含 DD 的蛋白质,形成一个瞬时膜信号复合体,称为 TNFR1 信号复合体(TNF-RSC)或复合体 I [38]。通过后续信号通路转导,促进 NF- κ B 通路激活[39],激活后的 NF- κ B 复合物易位到细胞核中促进特定靶基因组的表达。其中 NF- κ B 复合物的 p65 亚基更显著地富集在衰老成纤维细胞的染色质中[40]。同时,许多 TNF-RSC 成分也参与衰老过程,例如限制 NF- κ B 信号传导的泛素编辑酶 A20,在 TNF α 诱导的衰老中发挥重要作用,上调 A20 可预防多种炎症性疾病发生。这些都表明了 NF- κ B 通路在衰老过程中发挥作用[41]。除了 NF- κ B 通路,TNF α 信号转导还介导了 MAPK 通路的激活,其底物 MK2 参与 SASP 的翻译,将 MAPK 通路与 mTOR 通路联系起来,而 mTOR 通路在衰老细胞中也被激活[42]。此外,最近的几项研究都表明 cGAS-STING 通路在促进细胞衰老方面具有重要作用[43]-[45],cGAS 通过产生一系列细胞因子和趋化因子(例如 IFN- β 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-8),反馈到分泌细胞以加强衰老信号。鉴于 cGAS-STING 通路提供了维持细胞衰老所必需的关键旁分泌信号,该通路的激活也可能作为代表细胞衰老的生物标志物。

2.9. 核内小体紊乱

核内小体(核体)是真核细胞核内的大分子凝聚物,由于没有脂质膜,核体也被认为是具有细胞核的无膜细胞器(MLO) [46]。迄今为止,至少有 18 种核体被记录,包括核仁、Cajal 核体、早幼粒细胞白血病(PML)核体等[47]。核体常呈圆形或点状形态,偶为不规则的形状,例如小颗粒或扭曲的球体[48] [49]。随着衰老的进程,核仁大小一般与动物的寿命成反比,如老年健康人的核仁会扩大,这表明核仁大小是衰老的生物标志物[50]。不同细胞类型和特定压力条件下每种核体的数量差异很大,例如,人成纤维细胞 WI38 细胞中致癌基因 RasV12 的过表达使 PML 核体数量和大小均增加[51]。这表明细胞中某些核体的数量可能是细胞衰老的理想生物标志物。PML 核体参与泛素介导的蛋白水解系统运作,其功能障碍导致急性早幼粒细胞白血病、神经退行性疾病和抗病毒功能缺陷[52];更多与病理性衰老相关的核体表型仍需进一步研究。

3. 器官衰老的生物标志物

器官作为细胞的更上层结构,相比于细胞拥有更复杂的结构组成及生理功能。器官衰老的研究必须注意区分衰老细胞和正常细胞,由于已有充足的证据表明非衰老细胞中存在衰老标志物。例如,巨噬细胞 M2 表型的极化可以诱导 CDKN2A (也称为 p16INK4a)和衰老相关的 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal) [53]。而

且目前报道的细胞衰老相关标志物多数是通过细胞培养研究的,因此,单独的细胞衰老标志物不能识别器官中衰老细胞的特异性和敏感性,所以描述器官衰老的生物标志物我们需要做到多管齐下。同时不同于微观层面的细胞衰老,器官衰老通常伴随着一些表观变化,如临床功能、影像学等变化,这些变化也可以作为标准物来衡量器官的衰老,合格的器官衰老生物标志物应该是特异性的、系统性的、可用的。以下我们将着重介绍大脑、心脏、血管衰老的生物标志物。

3.1. 脑衰老

大脑作为人体最高指挥中心,也是容易衰老的器官,衰老的过程会导致一系列神经退行性疾病的发生,在此过程中,大脑所出现的一系列分子、细胞、功能及结构等变化可以作为生物标志物来反映和评价脑老化过程。

脑衰老过程中,表观遗传的改变也参与了脑细胞的衰老,例如在老年小鼠的大脑皮层和海马中,H3K9me2、H3K9me3 和 H3K27me3 的抑制性组蛋白标记增加,H3K36me3 和 H3K27ac 的激活性组蛋白标记减少[54]。蛋白质组学的发展也让蛋白质组生物标志物预测脑衰老成为可能,有研究发现 SYT12、GLUR2、FIS1、DRP1、PRDX6、GSTP1、GSTM1、RPL4、RPS3 等可以通过减少 ATP 含量、增加 DNA 氧化损伤和降低突触功能,导致脑功能衰退[55]。此外,有研究发现血浆促卵泡激素(FSH)、胰岛素生长因子 1(IGF-1)、 NAD^+ 或 NAD^+/NADH 等与整体衰老显著相关[56][57],这也代表着非脑细胞特异性标志物或许可以考虑作为脑衰老候选标志物。

血浆、尿液和脑脊液等体液中的成分,由于其非侵入性或微创性、高敏感性以及易于准确测量的特点,成为评估脑衰老不可或缺的生物标志物。 τ 蛋白是一种微管相关蛋白,主要分布在神经元轴突,在衰老过程中,过度磷酸化的 τ 蛋白(p- τ)聚集形成神经纤维缠结。研究发现,血浆中的 p- τ 与总 τ (t- τ)水平都与年龄呈正相关,其升高与较低的认知水平和较快的认知下降速度相关[58]。一项纵向随访队列研究显示,血浆 t- τ 水平的升高与基底前脑胆碱能系统的萎缩呈正相关,可以预测发生 AD 的风险[59]。因此,血浆 t- τ 和 p- τ 水平可以作为预测脑衰老的生物标志物。神经丝蛋白轻链(NfL)是大脑衰老和长寿的潜在生物标志物,它被发现在血液中的含量随年龄增长呈非线性增加,并且可预测认知能力下降[60]。此外,衰老可以诱发小胶质细胞的异常激活,髓系细胞 2 上表达的触发受体(TREM2)的细胞外结构域可裂解成为可溶性 TREM2 (sTREM2)并释放到脑脊液,随后进入血液,因此可视为小胶质细胞活性的指标,同时有研究发现,脑脊液和血浆 sTREM2 水平与年龄呈正相关,且与脑脊液中 t- τ 、p- τ 水平显著相关,并证实其可以预测轻度认知障碍(MCI)发展为 AD 的风险[61][62]。星形胶质细胞中,胶质纤维酸性蛋白(GFAP)作为星形胶质细胞重新激活的生物标志,可用于创伤性脑损伤、中枢神经脱髓鞘疾病和神经退行性疾病的评估和鉴别[63]。有荟萃分析显示,随着年龄的增加,突触传递功能下降和血浆 GFAP 的升高最为显著[64],这也表示血浆 GFAP 水平可以考虑作为评估脑衰老的体液标志物。

大脑功能包括认知功能、运动协调、感知觉和情感等方面,不同脑功能在脑衰老过程中的变化不一致,这或许可以作为潜在的生物标志物来预测大脑的衰老。情景记忆作为认知功能指标被发现在衰老过程中持续下降,且与内侧颞叶和后扣带回的萎缩程度显著相关[65]。一项纳入 3000 余名受试者的研究显示,精细运动能力在衰老过程中显著下降,且与大脑灰质体积的减少显著相关[66]。至于基于 MRI 影像学的多种结构成像标志物,包括脑萎缩、微血管改变、微出血、白质病变(WML)和白质完整性受损,可以预测脑老化和神经退行性疾病[67]。通过正电子发射断层扫描(PET)可以发现分子影像标志物,如 18F-氟脱氧葡萄糖(FDG)可以测量脑的葡萄糖代谢,正常老化过程中,18F-FDG 摄取量减少主要出现在额叶、扣带回和颞叶,这表明这些脑区容易受到衰老的影响[68][69]。

综上所述,脑衰老所带来的一系列包括 AD 和 PD 在内的各种神经退行性疾病,会对家庭和社会带

来了巨大负担, 所以通过干预脑衰老来预防或推迟疾病发生是很有必要的。同时, 上述的研究发现分子、细胞层面的生物学变化可以在体液、功能、影像学等表现层面变现出来, 为后续开展大规模纵向研究提供帮助。

3.2. 心脏衰老

衰老被认为是心血管疾病(CVD)的独立危险因素, 如何预防和管理心脏衰老带来的心血管疾病是目前全国乃至全世界急需解决的问题。

多项研究表明, 在衰老影响下, 各种心血管细胞谱系(如心肌细胞、心脏间充质基质细胞、心脏成纤维细胞等)中都发生衰老相关标记物的积累。研究发现, 衰老小鼠的心肌细胞出现了以下衰老相关标志物: TAF、周期蛋白依赖性激酶抑制剂(CDKN1a、CDKN2B (也称为 p15INK4b)和 CDKN2a)、活化的 SA- β -gal、衰老相关卫星扩张(SADS)和促纤维化相关 SASP 的累积[70]; 衰老的血管内皮细胞可发生内皮-间质转化(EndoMT)和纤维化, 这个过程受到 TGF- β 、内皮素-1 (EDN1)和 IL-1 等细胞因子的调节[71]。由于心肌细胞对能量需求大, 线粒体功能障碍可加速心脏衰老。衰老心脏中 ROS 的积累, 会导致线粒体蛋白羧基化程度升高, 同时线粒体 DNA 突变和缺失增加, 这也表明衰老加剧了心脏中线粒体氧化损伤[72]。同时单核转录组测序技术的发展也帮助我们发现 IL-7 在心脏老化过程中增加及确定 FOXP1 和 FOXP2 是关键的年龄下调转录调节因子[73] [74]。

心脏衰老产生的分泌因子可在血液和尿液中检测到, 如血清 B 型钠尿肽(BNP), 研究发现与年龄相关的左心房应变损害与更高的 BNP 水平正相关, 预示着其可以作为心脏衰老和心功能下降的体液生物标志物[75]。心肌酶、超敏肌钙蛋白 T、肌红蛋白等作为心脏损伤的重要血液指标, 有研究报道超敏肌钙蛋白 T 的水平也随着年龄增长而增加, 并且男性往往高于女性[76], 但仍需要进一步研究以确定它们能否作为潜在的心脏衰老标志物。

心脏衰老带来的功能减退, 诸如泵血功能降低(收缩和舒张功能减退)、窦房结起搏和电传导功能障碍、神经内分泌功能异常(血管紧张素 II (Angiotensin II, Ang II)、内皮素(Endothelin, EDN)和去甲肾上腺素分泌增加)等都可以较为准确地反映心脏的衰老状况[77], 是心脏衰老的潜在标志物, 并且在临床上可以通过超声心动图、心脏 MR、PET 等影像学检查完成评估。

总之, 我们总结了心脏衰老的相关生物标志物, 针对这些衰老生物标志物所开发的干预策略已经逐步在动物模型中开展, 并促进临床应用和转化。

3.3. 血管衰老

血管作为人体器官的重要组成成分, 血管衰老是引起人体各器官系统衰老的重要生理病理基础, 是老年人多种慢性病共同的发病机制。其主要表现为血管随增龄而发生形态和功能变化的过程, 包括血管僵硬增加、内中膜厚度增厚、内皮功能障碍、血管新生能力降低, 炎症因子分泌增加、胶原纤维沉积增加等[78]。

衰老过程中, 诸多血管的组成细胞会发生形态学改变和功能适应。例如衰老的血管内皮细胞(VECs)和血管平滑肌细胞(VSMCs)表现出增殖能力降低, 细胞形态变得扁平 and 增大[79], 并表现出细胞群中多倍体增加[80], 以及诸如细胞周期抑制剂(CDKN2a、CDKN1a 和 Trp53)、DNA 损伤病灶和 SASP 因子在老年小鼠的主动脉中上调[81]-[83]。同时, 在细胞衰老过程中, VECs 和 VSMCs 中观察到 p53/p21CIP1 和 p16INK4a/RB 通路上调、端粒损耗和 SA- β -gal 激活[11] [84] [85], 同时由 NF- κ B 通路介导的炎症也与血管老化相关, NF- κ B 激活上调炎症细胞因子和细胞粘附分子表达, 包括 IL-1 β 、TNF α 、IL-6、VCAM-1、ICAM-1、iNOS、MCP-1 和 COX-2 [85]。

血管衰老变现出的血管僵硬增加、内皮功能障碍等可以通过测量颈股动脉脉搏波速度(PWV)、流

量介导的扩张(FMD)技术、反应性充血指数(RHI)量化, 并作为潜在生物标志物反应衰老过程中血管功能的变化。此外还可以通过影像学手段测量颈动脉内膜中层厚度(cIMT)、冠状动脉钙化积分(CACS)等, 这些指标与时序年龄高度相关, 并且是冠心病和所有动脉粥样硬化相关 CVD 的重要预测因子[78]。在胸主动脉瘤和腹主动脉瘤的人和小鼠模型中也发现到衰老相关标志物, 包括 CDKN1A、p53、与端粒相关的总 γ H2AX 和 γ H2AX (TAF)以及 SASP 因子[86] [87], 这预示着其与血管衰老之间的潜在联系。

4. 衰老时钟

现代组学技术的发展, 也让衰老生物标志物的研究中有了更多的选择, 而基于各种建模技术, 尤其是人工智能技术所构建的被称为“衰老时钟”的预测模型, 能帮助选择最合适的生物标志物组合来量化不同层级的衰老程度, 预测个体生物年龄及衰老速度。以下我们将根据这些模型中使用的生物标志物性质, 分类介绍老化时钟及其应用。

4.1. 表观遗传时钟

衰老是一个伴随着表观遗传变化不断积累的过程, 最终导致细胞、组织和器官的退化。因此通过测量表观遗传变化的水平来预测生理年龄成为可能, 这种方法也被称为“表观遗传时钟”。随着年龄增长, 基因组中甲基化位点会发生变化。基于这一机制, 2013 年, Horvath [88]开发了第一个表观遗传衰老时钟, 共发现 353 个 CpG 位点与衰老密切相关。Horvath 时钟可以分析整个基因组的甲基化标记, 从而显示出衰老过程中不同组织老化速度。基于全血样本构建的 Hannum 时钟[17], 发现了 71 个与年龄相关的 CpG 位点, 尽管样本范围相对窄, 但在预测成人血液样本年龄时有着更高的准确性。尽管 Horvath 时钟与 Hannum 时钟可以很好地反应生物的时序年龄, 但无法准确地反应生物年龄, 因此在前代变化遗传时钟基础上开发的 DNAm PhenoAge 时钟[89]通过整合血压、血脂等 10 个临床特征, 能更全面地给个体生理状态“画像”, 在对全因死亡、癌症和阿尔茨海默症等预测方面较 Horvath 时钟、Hannum 时钟具有更好的表现, 以及在预测 10 年和 20 年死亡率方面表现更出色。Lu 等人[90]通过结合吸烟和年龄相关的血清蛋白水平的影响开发了 GrimAge, 可有效预测死亡风险和多种年龄相关疾病。毫无疑问, DNA 甲基化与衰老之间存在很强的相关性, 那或许通过操纵一些关键的 DNA 甲基化时钟相关基因可以影响衰老过程, 例如研究发现上调 ELVOL2 可恢复线粒体功能并减轻与年龄相关的黄斑变性[91]。因此 DNA 甲基化是表观遗传时钟的一个重要组成, 不仅可以作为衰老过程的标志, 也可以直接调节衰老过程。

4.2. 转录组时钟

基于 RNA 转录组数据构建的转录组时钟, 相比其他生物标志物拥有更强的组织特异性, 并且可以提供更详细的关于个人健康状况的信息。Peters 等人[92]对 7 个大型队列研究中的外周血单核细胞基因表达阵列数据进行线性回归得到一个模型, 可以用实际年龄的拟合值来衡量生理年龄, MAE 为 7.8 岁。Fleischer 等[93]基于人真皮成纤维细胞 RNA-seq 数据导出转录组时钟, 拟合实际年龄的 MAE 为 4.0 岁。但同样地, 过高的组织特异性意味着开发一个在不同组织和人群中都准确的转录组时钟将需要更多的研究和验证。近来, 发现简单二值化和相对年龄缩放定义基因集可以对数据进行去噪并改善年龄预测效果。同时 scRNA-seq 技术的发展使得能够在单个细胞水平上表征转录组数据, 并为构建衰老时钟提供了一种新方法。

4.3. 蛋白组时钟

由于蛋白质可以直接调节与年龄相关的健康状态和疾病, 以及蛋白质组学测量技术的发展也带动了蛋白组时钟的研究。Tanaka 等人构建了一种基于与时序年龄高度相关的循环血浆蛋白的老化时钟[94], 最终鉴定出 76 种蛋白质的蛋白质组学特征, 具有良好的年龄预测能力, 其中 GDF15 表现出最强的年龄

关联。尽管血浆蛋白质组学在发现衰老生物标志物方面有许多理论优势,但仍有局限性。首先,便是基于不同蛋白质平台的数据存在差异,如基于质谱(MS)可以定量整个蛋白组并精确识别蛋白质的翻译后修饰,但对于低丰度蛋白质的检测灵敏度不高。其次,需要构建多中心研究来用于验证模型,以避免任何基于性别或种族的差异,以及个体间或个体内的差异。最后,需要考虑蛋白质组与来自其他组学层面的各种特征的整合,通过多组学联合探索生物标志物能更大程度地揭示与衰老相关的改变。

5. 讨论

以上我们介绍了细胞、器官层面的衰老生物标志物及衰老时钟的研究进展,其实随着衰老研究的深入,我们认识到衰老并不单单局限于细胞、器官或者组织,还体现在生物个体甚至种群水平上。衰老标志物的探索需要多元化的进行,尽管不断有新的生物标志物被报道出来,但是这些标志物是否能满足特异性、系统性、可用性等要求仍待验证,同时衰老的复杂性注定不能用单个生物标志物来衡量,如何利用衰老的生物标志物构建完善的生物模型来预测或干预衰老以及转化为临床应用仍是巨大的挑战。对于衰老生物标志物的临床转化问题,Vadim N. Gladyshev 等人[95]总结了如下 6 大核心挑战:1) 数据共享壁垒;2) 衰老标志物评估标准;3) 衰老标志物应用年龄范围;4) 临床使用和实施的最低标准制定;5) 衰老标志物在医疗环境中的定位;6) 衰老标志物与医疗保健和预防医学相连接。并逐一给出建议指导实现衰老生物标志物的临床转化。同时随着人们对衰老的关注和投入增加,越来越多的临床队列尤其是大基数队列的建立,以及各种组学、计算机、人工智能技术等的发展,衰老生物标志物的发掘和验证以及应用模型的构建会稳步深入,我们会进一步揭示衰老的奥秘,以提升人类生活质量,最终实现延缓衰老的愿景。

基金项目

本项工作得到了中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费健康长寿(青年奖掖项目:2019-RC-HL-026)的支持。

参考文献

- [1] López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M. and Kroemer, G. (2023) Hallmarks of Aging: An Expanding Universe. *Cell*, **186**, 243-278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001>
- [2] Kennedy, B.K., Berger, S.L., Brunet, A., Campisi, J., Cuervo, A.M., Epel, E.S., *et al.* (2014) Geroscience: Linking Aging to Chronic Disease. *Cell*, **159**, 709-713. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.039>
- [3] Baker, G.T. and Sprott, R.L. (1988) Biomarkers of Aging. *Experimental Gerontology*, **23**, 223-239. [https://doi.org/10.1016/0531-5565\(88\)90025-3](https://doi.org/10.1016/0531-5565(88)90025-3)
- [4] Rutledge, J., Oh, H. and Wyss-Coray, T. (2022) Measuring Biological Age Using Omics Data. *Nature Reviews Genetics*, **23**, 715-727. <https://doi.org/10.1038/s41576-022-00511-7>
- [5] Wagner, K., Cameron-Smith, D., Wessner, B. and Franzke, B. (2016) Biomarkers of Aging: From Function to Molecular Biology. *Nutrients*, **8**, Article No. 338. <https://doi.org/10.3390/nu8060338>
- [6] Bao, H., Cao, J., Chen, M., Chen, M., Chen, W., Chen, X., *et al.* (2023) Biomarkers of Aging. *Science China Life Sciences*, **66**, 893-1066. <https://doi.org/10.1007/s11427-023-2305-0>
- [7] Moqri, M., Herzog, C., Poganik, J.R., Justice, J., Belsky, D.W., Higgins-Chen, A., *et al.* (2023) Biomarkers of Aging for the Identification and Evaluation of Longevity Interventions. *Cell*, **186**, 3758-3775. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.08.003>
- [8] Beausejour, C.M. (2003) Reversal of Human Cellular Senescence: Roles of the P53 and P16 Pathways. *The EMBO Journal*, **22**, 4212-4222. <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg417>
- [9] Shay, J. (1991) A Role for Both RB and P53 in the Regulation of Human Cellular Senescence. *Experimental Cell Research*, **196**, 33-39. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(91\)90453-2](https://doi.org/10.1016/0014-4827(91)90453-2)
- [10] Salama, R., Sadaie, M., Hoare, M. and Narita, M. (2014) Cellular Senescence and Its Effector Programs. *Genes & Development*, **28**, 99-114. <https://doi.org/10.1101/gad.235184.113>
- [11] Hernandez-Segura, A., Nehme, J. and Demaria, M. (2018) Hallmarks of Cellular Senescence. *Trends in Cell Biology*,

- 28, 436-453. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.001>
- [12] Takasugi, M., Okada, R., Takahashi, A., Virya Chen, D., Watanabe, S. and Hara, E. (2017) Small Extracellular Vesicles Secreted from Senescent Cells Promote Cancer Cell Proliferation through EphA2. *Nature Communications*, **8**, Article No. 15729. <https://doi.org/10.1038/ncomms15728>
- [13] Fafián-Labora, J.A., Rodríguez-Navarro, J.A. and O’Loghlen, A. (2020) Small Extracellular Vesicles Have GST Activity and Ameliorate Senescence-Related Tissue Damage. *Cell Metabolism*, **32**, 71-86.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.06.004>
- [14] Acosta, J.C., Banito, A., Wuestefeld, T., Georgilis, A., Janich, P., Morton, J.P., *et al.* (2013) A Complex Secretory Program Orchestrated by the Inflammasome Controls Paracrine Senescence. *Nature Cell Biology*, **15**, 978-990. <https://doi.org/10.1038/ncb2784>
- [15] Jaenisch, R. and Bird, A. (2003) Epigenetic Regulation of Gene Expression: How the Genome Integrates Intrinsic and Environmental Signals. *Nature Genetics*, **33**, 245-254. <https://doi.org/10.1038/ng1089>
- [16] Jung, M. and Pfeifer, G.P. (2015) Aging and DNA Methylation. *BMC Biology*, **13**, Article No. 7. <https://doi.org/10.1186/s12915-015-0118-4>
- [17] Hannum, G., Guinney, J., Zhao, L., Zhang, L., Hughes, G., Sada, S., *et al.* (2013) Genome-Wide Methylation Profiles Reveal Quantitative Views of Human Aging Rates. *Molecular Cell*, **49**, 359-367. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.10.016>
- [18] Horvath, S. (2015) Erratum to: DNA Methylation Age of Human Tissues and Cell Types. *Genome Biology*, **16**, Article No. 96. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0649-6>
- [19] Han, S., Schroeder, E.A., Silva-García, C.G., Hebestreit, K., Mair, W.B. and Brunet, A. (2017) Mono-Unsaturated Fatty Acids Link H3k4me3 Modifiers to *C. elegans* Lifespan. *Nature*, **544**, 185-190. <https://doi.org/10.1038/nature21686>
- [20] Cao, Q., Wang, W., Williams, J.B., Yang, F., Wang, Z. and Yan, Z. (2020) Targeting Histone K4 Trimethylation for Treatment of Cognitive and Synaptic Deficits in Mouse Models of Alzheimer’s Disease. *Science Advances*, **6**, eabc8096. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abc8096>
- [21] Bell, O., Burton, A., Dean, C., Gasser, S.M. and Torres-Padilla, M. (2023) Heterochromatin Definition and Function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **24**, 691-694. <https://doi.org/10.1038/s41580-023-00599-7>
- [22] Lee, J., Demarest, T.G., Babbar, M., Kim, E.W., Okur, M.N., De, S., *et al.* (2019) Cockayne Syndrome Group B Deficiency Reduces H3k9me3 Chromatin Remodeler SETDB1 and Exacerbates Cellular Aging. *Nucleic Acids Research*, **47**, 8548-8562. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz568>
- [23] Zhang, B., Long, Q., Wu, S., Xu, Q., Song, S., Han, L., *et al.* (2024) Retraction Note: KDM4 Orchestrates Epigenomic Remodeling of Senescent Cells and Potentiates the Senescence-Associated Secretory Phenotype. *Nature Aging*, **4**, 1898-1898. <https://doi.org/10.1038/s43587-024-00749-2>
- [24] Abuetabh, Y., Wu, H.H., Chai, C., Al Yousef, H., Persad, S., Sergi, C.M., *et al.* (2022) DNA Damage Response Revisited: The P53 Family and Its Regulators Provide Endless Cancer Therapy Opportunities. *Experimental & Molecular Medicine*, **54**, 1658-1669. <https://doi.org/10.1038/s12276-022-00863-4>
- [25] Rodier, F. and Campisi, J. (2011) Four Faces of Cellular Senescence. *Journal of Cell Biology*, **192**, 547-556. <https://doi.org/10.1083/jcb.201009094>
- [26] Fraga, C.G., Shigenaga, M.K., Park, J.W., Degan, P. and Ames, B.N. (1990) Oxidative Damage to DNA during Aging: 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine in Rat Organ DNA and Urine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **87**, 4533-4537. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4533>
- [27] Cusanelli, E., Romero, C.A.P. and Chartrand, P. (2013) Telomeric Noncoding RNA TERRA Is Induced by Telomere Shortening to Nucleate Telomerase Molecules at Short Telomeres. *Molecular Cell*, **51**, 780-791. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.08.029>
- [28] Xu, M., Senanayaka, D., Zhao, R., Chigumira, T., Tripathi, A., Tones, J., *et al.* (2024) TERRA-LSD1 Phase Separation Promotes R-Loop Formation for Telomere Maintenance in ALT Cancer Cells. *Nature Communications*, **15**, Article No. 2165. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46509-z>
- [29] Kokoszka, J.E., Coskun, P., Esposito, L.A. and Wallace, D.C. (2001) Increased Mitochondrial Oxidative Stress in the SoD2 (+/-) Mouse Results in the Age-Related Decline of Mitochondrial Function Culminating in Increased Apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **98**, 2278-2283. <https://doi.org/10.1073/pnas.051627098>
- [30] Herbst, A., Pak, J.W., McKenzie, D., Bua, E., Bassiouni, M. and Aiken, J.M. (2007) Accumulation of Mitochondrial DNA Deletion Mutations in Aged Muscle Fibers: Evidence for a Causal Role in Muscle Fiber Loss. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, **62**, 235-245. <https://doi.org/10.1093/gerona/62.3.235>
- [31] Victorelli, S., Salmonowicz, H., Chapman, J., Martini, H., Vizioli, M.G., Riley, J.S., *et al.* (2023) Apoptotic Stress Causes MtDNA Release during Senescence and Drives the SASP. *Nature*, **622**, 627-636. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06621-4>

- [32] Dikic, I. (2017) Proteasomal and Autophagic Degradation Systems. *Annual Review of Biochemistry*, **86**, 193-224. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-044908>
- [33] Chen, L. and Feany, M.B. (2005) A-synuclein Phosphorylation Controls Neurotoxicity and Inclusion Formation in a Drosophila Model of Parkinson Disease. *Nature Neuroscience*, **8**, 657-663. <https://doi.org/10.1038/nm1443>
- [34] Meng, J., Lv, Z., Qiao, X., Li, X., Li, Y., Zhang, Y., et al. (2017) The Decay of Redox-Stress Response Capacity Is a Substantive Characteristic of Aging: Revising the Redox Theory of Aging. *Redox Biology*, **11**, 365-374. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.026>
- [35] Campisi, J. (2005) Senescent Cells, Tumor Suppression, and Organismal Aging: Good Citizens, Bad Neighbors. *Cell*, **120**, 513-522. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.02.003>
- [36] Shelton, D.N., Chang, E., Whittier, P.S., Choi, D. and Funk, W.D. (1999) Microarray Analysis of Replicative Senescence. *Current Biology*, **9**, 939-945. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(99\)80420-5](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(99)80420-5)
- [37] Aggarwal, B.B. (2003) Signalling Pathways of the TNF Superfamily: A Double-Edged Sword. *Nature Reviews Immunology*, **3**, 745-756. <https://doi.org/10.1038/nri1184>
- [38] Micheau, O. and Tschopp, J. (2003) Induction of TNF Receptor I-Mediated Apoptosis via Two Sequential Signaling Complexes. *Cell*, **114**, 181-190. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00521-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00521-x)
- [39] Hayden, M.S. and Ghosh, S. (2012) NF- κ B, the First Quarter-Century: Remarkable Progress and Outstanding Questions. *Genes & Development*, **26**, 203-234. <https://doi.org/10.1101/gad.183434.111>
- [40] Chien, Y., Scuoppo, C., Wang, X., Fang, X., Balgley, B., Bolden, J.E., et al. (2011) Control of the Senescence-Associated Secretory Phenotype by NF- κ B Promotes Senescence and Enhances Chemosensitivity. *Genes & Development*, **25**, 2125-2136. <https://doi.org/10.1101/gad.17276711>
- [41] Wertz, I.E., O'Rourke, K.M., Zhou, H., Eby, M., Aravind, L., Seshagiri, S., et al. (2004) De-Ubiquitination and Ubiquitin Ligase Domains of A20 Downregulate NF- κ B Signalling. *Nature*, **430**, 694-699. <https://doi.org/10.1038/nature02794>
- [42] Herranz, N., Gallage, S., Mellone, M., Wuestefeld, T., Klotz, S., Hanley, C.J., et al. (2015) mTOR Regulates MAPKAPK2 Translation to Control the Senescence-Associated Secretory Phenotype. *Nature Cell Biology*, **17**, 1205-1217. <https://doi.org/10.1038/ncb3225>
- [43] Bi, S., Liu, Z., Wu, Z., Wang, Z., Liu, X., Wang, S., et al. (2020) SIRT7 Antagonizes Human Stem Cell Aging as a Heterochromatin Stabilizer. *Protein & Cell*, **11**, 483-504. <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00728-4>
- [44] Liu, X., Liu, Z., Wu, Z., Ren, J., Fan, Y., Sun, L., et al. (2023) Resurrection of Endogenous Retroviruses during Aging Reinforces Senescence. *Cell*, **186**, 287-304.e26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.017>
- [45] Glück, S., Guey, B., Gulen, M.F., Wolter, K., Kang, T., Schmacke, N.A., et al. (2017) Innate Immune Sensing of Cytosolic Chromatin Fragments through CGAS Promotes Senescence. *Nature Cell Biology*, **19**, 1061-1070. <https://doi.org/10.1038/ncb3586>
- [46] Lyon, A.S., Peebles, W.B. and Rosen, M.K. (2020) A Framework for Understanding the Functions of Biomolecular Condensates across Scales. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **22**, 215-235. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00303-z>
- [47] Sabari, B.R., Dall'Agnese, A. and Young, R.A. (2020) Biomolecular Condensates in the Nucleus. *Trends in Biochemical Sciences*, **45**, 961-977. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2020.06.007>
- [48] Brangwynne, C.P., Eckmann, C.R., Courson, D.S., Rybarska, A., Hoege, C., Gharakhani, J., et al. (2009) Germline P Granules Are Liquid Droplets That Localize by Controlled Dissolution/condensation. *Science*, **324**, 1729-1732. <https://doi.org/10.1126/science.1172046>
- [49] Galganski, L., Urbanek, M.O. and Krzyzosiak, W.J. (2017) Nuclear Speckles: Molecular Organization, Biological Function and Role in Disease. *Nucleic Acids Research*, **45**, 10350-10368. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx759>
- [50] Buchwalter, A. and Hetzer, M.W. (2017) Nucleolar Expansion and Elevated Protein Translation in Premature Aging. *Nature Communications*, **8**, Article No. 328. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00322-z>
- [51] Fox, A.H. and Lamond, A.I. (2010) Paraspeckles. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **2**, a000687. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000687>
- [52] Lallemand-Breitenbach, V. and de Thé, H. (2018) PML Nuclear Bodies: From Architecture to Function. *Current Opinion in Cell Biology*, **52**, 154-161. <https://doi.org/10.1016/j.ccb.2018.03.011>
- [53] Hall, B.M., Balan, V., Gleiberman, A.S., Strom, E., Krasnov, P., Virtuoso, L.P., et al. (2017) p16(Ink4a) and Senescence-Associated β -Galactosidase Can Be Induced in Macrophages as Part of a Reversible Response to Physiological Stimuli. *Aging*, **9**, 1867-1884. <https://doi.org/10.18632/aging.101268>
- [54] Akbarian, S., Beerli, M.S. and Haroutunian, V. (2013) Epigenetic Determinants of Healthy and Diseased Brain Aging and Cognition. *JAMA Neurology*, **70**, 711-718. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.1459>
- [55] Li, Y., Yu, H., Chen, C., Li, S., Zhang, Z., Xu, H., et al. (2020) Proteomic Profile of Mouse Brain Aging Contributions

- to Mitochondrial Dysfunction, DNA Oxidative Damage, Loss of Neurotrophic Factor, and Synaptic and Ribosomal Proteins. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2020**, Article ID: 5408452. <https://doi.org/10.1155/2020/5408452>
- [56] Duran-Ortiz, S., List, E.O., Ikeno, Y., Young, J., Basu, R., Bell, S., *et al.* (2021) Growth Hormone Receptor Gene Disruption in Mature-Adult Mice Improves Male Insulin Sensitivity and Extends Female Lifespan. *Aging Cell*, **20**, e13506. <https://doi.org/10.1111/ace1.13506>
- [57] Covarrubias, A.J., Perrone, R., Grozio, A. and Verdin, E. (2020) NAD⁺ Metabolism and Its Roles in Cellular Processes during Ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **22**, 119-141. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00313-x>
- [58] Chiu, M., Fan, L., Chen, T., Chen, Y., Chieh, J. and Horng, H. (2017) Plasma Tau Levels in Cognitively Normal Middle-Aged and Older Adults. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **9**, Article No. 51. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00051>
- [59] Cavedo, E., Lista, S., Houot, M., Vergallo, A., Grothe, M.J., Teipel, S., *et al.* (2020) Plasma Tau Correlates with Basal Forebrain Atrophy Rates in People at Risk for Alzheimer Disease. *Neurology*, **94**, e30-e41. <https://doi.org/10.1212/wnl.00000000000008696>
- [60] Kaeser, S.A., Lehallier, B., Thinggaard, M., Häsler, L.M., Apel, A., Bergmann, C., *et al.* (2021) A Neuronal Blood Marker Is Associated with Mortality in Old Age. *Nature Aging*, **1**, 218-225. <https://doi.org/10.1038/s43587-021-00028-4>
- [61] Henjum, K., Almdahl, I.S., Årskog, V., Minthon, L., Hansson, O., Fladby, T., *et al.* (2016) Cerebrospinal Fluid Soluble TREM2 in Aging and Alzheimer's Disease. *Alzheimer's Research & Therapy*, **8**, Article No. 17. <https://doi.org/10.1186/s13195-016-0182-1>
- [62] Zhao, A., Jiao, Y., Ye, G., Kang, W., Tan, L., Li, Y., *et al.* (2022) Soluble TREM2 Levels Associate with Conversion from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. *Journal of Clinical Investigation*, **132**, e158708. <https://doi.org/10.1172/jci158708>
- [63] Abdelhak, A., Hottenrott, T., Morenas-Rodríguez, E., Suárez-Calvet, M., Zettl, U.K., Haass, C., *et al.* (2019) Glial Activation Markers in CSF and Serum from Patients with Primary Progressive Multiple Sclerosis: Potential of Serum GFAP as Disease Severity Marker? *Frontiers in Neurology*, **10**, Article No. 280. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00280>
- [64] Wruck, W. and Adjaye, J. (2020) Meta-Analysis of Human Prefrontal Cortex Reveals Activation of GFAP and Decline of Synaptic Transmission in the Aging Brain. *Acta Neuropathologica Communications*, **8**, Article No. 26. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-00907-8>
- [65] Pelletier, A., Bernard, C., Dilharreguy, B., Helmer, C., Le Goff, M., Chanraud, S., *et al.* (2017) Patterns of Brain Atrophy Associated with Episodic Memory and Semantic Fluency Decline in Aging. *Aging*, **9**, 741-752. <https://doi.org/10.18632/aging.101186>
- [66] Hoogendam, Y.Y., van der Lijn, F., Vernooij, M.W., Hofman, A., Niessen, W.J., van der Lugt, A., *et al.* (2014) Older Age Relates to Worsening of Fine Motor Skills: A Population-Based Study of Middle-Aged and Elderly Persons. *Frontiers in Aging Neuroscience*, **6**, Article No. 259. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00259>
- [67] Zhang, L., Guo, J., Liu, Y., Sun, S., Liu, B., Yang, Q., *et al.* (2023) A Framework of Biomarkers for Vascular Aging: A Consensus Statement by the Aging Biomarker Consortium. *Life Medicine*, **2**, lnad033. <https://doi.org/10.1093/lifemedi/lnad033>
- [68] Loessner, A., Alavi, A., Lewandrowski, K.U., *et al.* (1995) Regional Cerebral Function Determined by FDG-PET in Healthy Volunteers: Normal Patterns and Changes with Age. *The Journal of Nuclear Medicine*, **36**, 1141-1149.
- [69] Pagani, M., Giuliani, A., Öberg, J., De Carli, F., Morbelli, S., Girtler, N., *et al.* (2017) Progressive Disintegration of Brain Networking from Normal Aging to Alzheimer Disease: Analysis of Independent Components of ¹⁸F-Fdg PET Data. *Journal of Nuclear Medicine*, **58**, 1132-1139. <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.184309>
- [70] Anderson, R., Lagnado, A., Maggiorani, D., Walaszczyk, A., Dookun, E., Chapman, J., *et al.* (2019) Length-Independent Telomere Damage Drives Post-Mitotic Cardiomyocyte Senescence. *The EMBO Journal*, **38**, e100492. <https://doi.org/10.15252/emboj.2018100492>
- [71] Piera-Velazquez, S. and Jimenez, S.A. (2019) Endothelial to Mesenchymal Transition: Role in Physiology and in the Pathogenesis of Human Diseases. *Physiological Reviews*, **99**, 1281-1324. <https://doi.org/10.1152/physrev.00021.2018>
- [72] Dai, D., Chen, T., Johnson, S.C., Szeto, H. and Rabinovitch, P.S. (2012) Cardiac Aging: From Molecular Mechanisms to Significance in Human Health and Disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, **16**, 1492-1526. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4179>
- [73] Ma, S., Sun, S., Li, J., Fan, Y., Qu, J., Sun, L., *et al.* (2020) Single-Cell Transcriptomic Atlas of Primate Cardiopulmonary Aging. *Cell Research*, **31**, 415-432. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-00412-6>
- [74] Zhang, Y., Zheng, Y., Wang, S., Fan, Y., Ye, Y., Jing, Y., *et al.* (2022) Single-Nucleus Transcriptomics Reveals a Gate-keeper Role for FOXP1 in Primate Cardiac Aging. *Protein & Cell*, **14**, 279-293. <https://doi.org/10.1093/procel/pwac038>
- [75] Yoshida, Y., Nakanishi, K., Daimon, M., Ishiwata, J., Sawada, N., Hirokawa, M., *et al.* (2019) Alteration of Cardiac

- Performance and Serum B-Type Natriuretic Peptide Level in Healthy Aging. *Journal of the American College of Cardiology*, **74**, 1789-1800. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.07.080>
- [76] de Lemos, J.A., Drazner, M.H., Omland, T., Ayers, C.R., Khera, A., Rohatgi, A., *et al.* (2010) Association of Troponin T Detected with a Highly Sensitive Assay and Cardiac Structure and Mortality Risk in the General Population. *JAMA*, **304**, 2503-2512. <https://doi.org/10.1001/jama.2010.1768>
- [77] Zhang, W., Che, Y., Tang, X., Chen, S., Song, M., Wang, L., *et al.* (2023) A Biomarker Framework for Cardiac Aging: The Aging Biomarker Consortium Consensus Statement. *Life Medicine*, **2**, lnad035. <https://doi.org/10.1093/lifemedi/lnad035>
- [78] Zhang, L., Guo, J., Liu, Y., Sun, S., Liu, B., Yang, Q., *et al.* (2023) A Framework of Biomarkers for Vascular Aging: A Consensus Statement by the Aging Biomarker Consortium. *Life Medicine*, **2**, lnad033. <https://doi.org/10.1093/lifemedi/lnad033>
- [79] Tian, X. and Li, Y. (2014) Endothelial Cell Senescence and Age-Related Vascular Diseases. *Journal of Genetics and Genomics*, **41**, 485-495. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2014.08.001>
- [80] Yang, D., McCrann, D.J., Nguyen, H., Hilaire, C.S., DePinho, R.A., Jones, M.R., *et al.* (2007) Increased Polyploidy in Aortic Vascular Smooth Muscle Cells during Aging Is Marked by Cellular Senescence. *Aging Cell*, **6**, 257-260. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2007.00274.x>
- [81] Bhayadia, R., Schmidt, B.M.W., Melk, A. and Hömme, M. (2015) Senescence-Induced Oxidative Stress Causes Endothelial Dysfunction. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, **71**, 161-169. <https://doi.org/10.1093/gerona/glv008>
- [82] Gao, P., Gao, P., Choi, M., Chegiredy, K., Slivano, O.J., Zhao, J., *et al.* (2020) Transcriptome Analysis of Mouse Aortae Reveals Multiple Novel Pathways Regulated by Aging. *Aging*, **12**, 15603-15623. <https://doi.org/10.18632/aging.103652>
- [83] Yu, H., Liao, K., Hu, Y., Lv, D., Luo, M., Liu, Q., *et al.* (2022) Role of the CGAS-Sting Pathway in Aging-Related Endothelial Dysfunction. *Aging and disease*, **13**, 1901-1918. <https://doi.org/10.14336/ad.2022.0316>
- [84] Minamino, T. and Komuro, I. (2007) Vascular Cell Senescence: Contribution to Atherosclerosis. *Circulation Research*, **100**, 15-26. <https://doi.org/10.1161/01.res.0000256837.40544.4a>
- [85] Wang, S., Hu, S. and Mao, Y. (2021) The Mechanisms of Vascular Aging. *Aging Medicine*, **4**, 153-158. <https://doi.org/10.1002/agm2.12151>
- [86] Aschacher, T., Geisler, D., Lenz, V., Aschacher, O., Winkler, B., Schaefer, A., *et al.* (2022) Impacts of Telomeric Length, Chronic Hypoxia, Senescence, and Senescence-Associated Secretory Phenotype on the Development of Thoracic Aortic Aneurysm. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article No. 15498. <https://doi.org/10.3390/ijms232415498>
- [87] Chen, H., Wang, F., Gao, P., Pei, J., Liu, Y., Xu, T., *et al.* (2016) Age-Associated Sirtuin 1 Reduction in Vascular Smooth Muscle Links Vascular Senescence and Inflammation to Abdominal Aortic Aneurysm. *Circulation Research*, **119**, 1076-1088. <https://doi.org/10.1161/circresaha.116.308895>
- [88] Horvath, S. (2013) DNA Methylation Age of Human Tissues and Cell Types. *Genome Biology*, **14**, R115. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115>
- [89] Levine, M.E., Lu, A.T., Quach, A., Chen, B.H., Assimes, T.L., Bandinelli, S., *et al.* (2018) An Epigenetic Biomarker of Aging for Lifespan and Healthspan. *Aging*, **10**, 573-591. <https://doi.org/10.18632/aging.101414>
- [90] Lu, A.T., Quach, A., Wilson, J.G., Reiner, A.P., Aviv, A., Raj, K., *et al.* (2019) DNA Methylation Grimage Strongly Predicts Lifespan and Healthspan. *Aging*, **11**, 303-327. <https://doi.org/10.18632/aging.101684>
- [91] Zbieć-Piekarska, R., Spólnicka, M., Kupiec, T., Parys-Proszek, A., Makowska, Ż., Pałeczka, A., *et al.* (2015) Development of a Forensically Useful Age Prediction Method Based on DNA Methylation Analysis. *Forensic Science International: Genetics*, **17**, 173-179. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2015.05.001>
- [92] Peters, M.J., Joehanes, R., Pilling, L.C., *et al.* (2015) The Transcriptional Landscape of Age in Human Peripheral Blood. *Nature Communications*, **6**, Article No. 8570.
- [93] Fleischer, J.G., Schulte, R., Tsai, H.H., Tyagi, S., Ibarra, A., Shokhiev, M.N., *et al.* (2018) Predicting Age from the Transcriptome of Human Dermal Fibroblasts. *Genome Biology*, **19**, Article No. 221. <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1599-6>
- [94] Tanaka, T., Biancotto, A., Moaddel, R., Moore, A.Z., Gonzalez-Freire, M., Aon, M.A., *et al.* (2018) Plasma Proteomic Signature of Age in Healthy Humans. *Aging Cell*, **17**, e12799. <https://doi.org/10.1111/accel.12799>
- [95] Herzog, C.M.S., Goeminne, L.J.E., Poganik, J.R., Barzilai, N., Belsky, D.W., Betts-LaCroix, J., *et al.* (2024) Challenges and Recommendations for the Translation of Biomarkers of Aging. *Nature Aging*, **4**, 1372-1383. <https://doi.org/10.1038/s43587-024-00683-3>