

学习·发现·交流

# 基于生物组学数据的衰老时钟研究及其应用

朱紫微<sup>1,2</sup> 程珊珊<sup>1,2</sup> 程翔<sup>3</sup> 陈卫红<sup>2,4</sup> 王超龙<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>华中科技大学同济医学院公共卫生学院流行病与卫生统计学系, 武汉 430030; <sup>2</sup>华中科技大学同济医学院公共卫生学院环境与健康教育部重点实验室, 武汉 430030; <sup>3</sup>华中科技大学同济医学院附属协和医院心内科, 武汉 430022; <sup>4</sup>华中科技大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系, 武汉 430030

通信作者: 王超龙, Email: chaolong@hust.edu.cn; 陈卫红, Email: wchen@mails.tjmu.edu.cn

**【摘要】** 衰老是增龄伴随的机体功能衰退过程, 是慢性病的主要风险因素。衰老速度存在显著的个体差异, 受到遗传和环境因素的共同影响。准确地定量生理年龄有助于识别加速衰老的个体和潜在疾病及死亡风险, 促进个体健康管理和精准医疗, 实现健康老龄化。本文对基于组学数据构建的衰老时钟及其应用进行总结, 并提出展望。

**【关键词】** 衰老时钟; 组学数据; 生理年龄

**基金项目:** 国家自然科学基金 (82325044, 82021005); 湖北省杰出青年自然科学基金 (2022CFA046)

## A research of omics-based biological aging clocks and their applications

Zhu Ziwei<sup>1,2</sup>, Cheng Shanshan<sup>1,2</sup>, Cheng Xiang<sup>3</sup>, Chen Weihong<sup>2,4</sup>, Wang Chaolong<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; <sup>2</sup>Ministry of Education Key Laboratory of Environment and Health, School of Public Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; <sup>3</sup>Department of Cardiology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China; <sup>4</sup>Department of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding authors: Wang Chaolong, Email: chaolong@hust.edu.cn; Chen Weihong, Email: wchen@mails.tjmu.edu.cn

**【Abstract】** Aging, a process of functional decline with the increase of chronological age, is a major risk factor for chronic diseases. Aging shows significant individual differences, which is influenced by both genetic and environmental factors. Accurate measurement of physiological age helps identify individuals with accelerated aging and those at high risk for chronic diseases and mortality, which would promote individual health management and precision medicine for healthy aging. In this paper, we summarize the omics-based aging clocks and discuss their current and future applications.

**【Key words】** Aging clock; Omics data; Physiological age

**Fund programs:** Natural Science Foundation of China (82325044, 82021005); Natural Science Fund for Distinguished Young Scholars of Hubei Province (2022CFA046)

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20240424-00215

收稿日期 2024-04-24 本文编辑 张婧

引用格式: 朱紫微, 程珊珊, 程翔, 等. 基于生物组学数据的衰老时钟研究及其应用[J]. 中华流行病学杂志, 2024, 45(9): 1291-1301. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20240424-00215.

Zhu ZW, Cheng SS, Cheng X, et al. A research of omics-based biological aging clocks and their applications[J]. Chin J Epidemiol, 2024, 45(9): 1291-1301. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20240424-00215.



人口老龄化指人口中 60 岁或 65 岁以上老年人口比重日益上升的现象。预计到 2050 年,我国老年人口总量将超过 4 亿,老龄化水平达到 30% 以上<sup>[1]</sup>。心血管疾病和癌症等慢性病负担增加是人口老龄化带来的主要健康问题。据统计,我国>60 岁老年人患≥1 种慢性病的比例高达 75.8%<sup>[1]</sup>,给公共卫生和社会经济发展带来沉重负担。衰老过程由遗传和多种外部环境因素共同驱动。遗传学研究发现,长寿老人后代的寿命往往也更长,携带载脂蛋白 E ε2 基因亚型的个体患阿尔茨海默病的风险更低、寿命更长<sup>[2-4]</sup>。环境和个体表型也影响衰老,肥胖、长期吸烟或社会经济收入低者比同龄人更易面临不良的健康结局<sup>[5]</sup>。由于个体差异巨大,仅使用实际年龄衡量衰老显然是不够的。为了有效应对人口老龄化及相关疾病、延缓衰老,首先需要测量或评估个体的衰老程度,即生理年龄。准确的衰老定量方法不仅能针对加速衰老的高风险人群进行健康干预,以降低衰老相关疾病发病风险,还能探究衰老危险因素的研究提供定量证据,成为识别和验证衰老干预措施的有效手段。

生理年龄由 Ries<sup>[6]</sup>于 1974 年提出,反映生物体在有限生命中所处的生理状态。生理年龄应比时间决定的实际年龄更好地反映生物体的衰老状况和未来疾病与死亡的发生风险。随后 30 多年,研究人员通过生理生化指标<sup>[7-8]</sup>、体能测试<sup>[9]</sup>、脆弱指数得分<sup>[10]</sup>、工作能力<sup>[11]</sup>等多种标志物来评估生理年龄。近 10 年,随着 RNA 测序、DNA 甲基化芯片等组学技术的发展和临床数据的不断积累,研究人员已经利用各种分子标志物开发了多种生理年龄估计方法,又称衰老时钟,包括端粒长度<sup>[12]</sup>、DNA 甲基化<sup>[13-16]</sup>、RNA 表达<sup>[17-18]</sup>、蛋白质<sup>[19-20]</sup>、代谢物<sup>[21-22]</sup>和常规临床表型<sup>[23-24]</sup>等。本文重点介绍基于生物组学数据构建的衰老时钟,讨论在组学时代如何量化个体生理年龄,以及衰老时钟在人群研究和临床研究中的实践价值。

1. 临床表型时钟:临床表型与机体功能和疾病状态密切相关,且具有容易获取、样本量巨大的优势。本文主要讨论体格检查涉及的人体测量学指标,以及血液和尿液的常规检查指标。对于临床表型,广泛采用的衰老时钟构建方法包括 Klemner 和 Doubal<sup>[25]</sup>提出的 KD 法、Cohen 等<sup>[26]</sup>提出的马氏距离法,以及监督类预测模型。更多构建方法见既往文献<sup>[27]</sup>。

KD 法通过赋予年龄相关生物标志物更高的权

重来估计生理年龄。Levine 等<sup>[28]</sup>基于美国国家健康与营养调查的数据,用 KD 法构建了一个临床表型时钟,称为 BioAge。Chen 等<sup>[29]</sup>利用中国慢性病前瞻性队列 (CKB) 构建了 KDM-BA,并验证了 KDM-BA 与全因死亡的关联。马氏距离法利用马氏距离量化样本多维度生理特征偏离人群平均值的程度,即生理失调程度,作为生理年龄的替代指标。2015 年, Li 等<sup>[30]</sup>利用 6 个生理系统的 37 种临床指标,测量每个样本的系统特异性生理失调程度,发现不同系统的生理年龄同时存在特异性和相关性。除脂质代谢外,各生理系统的失调程度均随着年龄增长而明显增加,并与系统特异性疾病结局相关。该研究结果表明,衰老过程是多组织、多器官相互作用的结果,提示生理年龄需要纳入多个层次的衰老标志物来全面评估。KD 法和马氏距离法均假设了临床指标和生理年龄之间的非线性关系,而 KD 法在模型中纳入了实际年龄,提高了生理年龄的预测精度,在后续研究中被广泛应用。

基于监督类预测模型的生理年龄估计方法主要分为 2 类:实际年龄模型,以实际年龄的拟合值作为生理年龄的替代指标;死亡风险模型,以相对死亡风险的函数作为生理年龄的替代指标。Lasso 和岭回归等机器学习方法,以及神经网络等深度学习方法广泛用于实际年龄模型。2016 年,Putin 等<sup>[24]</sup>开发了一款基于深度神经网络的网页应用程序 Aging.AI,基于 46 个常规临床指标拟合实际年龄。目前 Aging.AI 已由 Mamoshina 等<sup>[31]</sup>开发到第三版,基于韩国、加拿大和东欧国家约 14 万名患者的 19 种临床标志物,构建预测实际年龄的深度神经网络模型,其平均绝对误差 (MAE) 仅 5.94 岁。该研究指出,性别和种族是生理衰老速度差异的主要原因,基于欧洲人群训练的衰老时钟对东亚人群实际年龄的拟合准确性较低。Liu 等<sup>[32]</sup>基于英国生物银行 (UKB) 的 8 276 种表型,采用 LightGBM 和聚类等算法筛选得到了 20 个和实际年龄高度相关的预测因子,将拟合实际年龄线性模型的 MAE 降至 4.49 岁。

实际年龄模型的拟合精度越高,根据该模型定义的生理年龄在预测疾病时提供的独立于实际年龄的信息越有限,与生理年龄比实际年龄能更好预测个体未来疾病状况的期望相悖<sup>[33]</sup>。一些研究者认为,同一实际年龄个体的生存时间反映了其生理年龄的相对大小,可体现在全因死亡或因病死亡风险<sup>[13, 23]</sup>。Levine 等<sup>[14]</sup>纳入实际年龄和 9 个临床指

标,基于死亡风险模型构建了 PhenoAge。Pyrkov 等<sup>[23]</sup>基于血细胞计数的死亡风险模型,采用动态生物体状态指标(DOSI)来衡量健康状况。该研究指出,老年期 DOSI 变异性增加反映了高龄导致的生物体状态恢复时间的增加,生理弹性丧失的临界点在 120~150 岁,提示人类寿命的绝对极限。2023 年, Bortz 等<sup>[34]</sup>基于 UKB 中 306 115 名样本的 25 种血液生化指标构建了基于死亡风险的衰老时钟,进一步提升了基于临床指标的衰老时钟对死亡风险的预测能力。

基于 KD 法的 BioAge<sup>[28]</sup>和基于死亡风险模型的 PhenoAge<sup>[14]</sup>是目前经典的临床表型时钟,其纳入的临床指标在 UKB 等多个队列中均已检测,使其能在大样本人群中被广泛验证和应用。基于 UKB 的观察性研究发现, BioAge 和 PhenoAge 与癌症、心血管疾病、神经退行性疾病等多种慢性病的发病风险相关<sup>[35-36]</sup>。靶向生物衰老的干预措施可能有利于减轻衰老相关慢性病患者负担。一项基于 UKB 的孟德尔随机化(MR)研究发现,二甲双胍靶向的蛋白水平和 PhenoAge 呈负相关,提示二甲双胍可能通过靶点 GPD1 和 AMPK $\gamma$ 2 降低生理年龄<sup>[37]</sup>。基于常规临床指标的衰老时钟极具推广应用潜力,能利用体检中心和医疗单位的大量临床数据,为一般人群提供更科学有效的健康管理和精准医疗策略。然而,这些研究集中在欧洲人群,限制了研究结论在不同人群中的解释和推广。扩大研究样本覆盖范围,有助于更全面地理解生理年龄的影响因素和健康后果,从而为个性化抗衰老干预策略提供更有针对性的科学依据<sup>[38]</sup>。

2. DNA 甲基化时钟:DNA 甲基化是一种重要的表观遗传机制,指甲基转移到 CpG 二核苷酸序列的胞嘧啶的 C5 位置的过程。机体通过控制 CpG 位点的甲基化状态来调节基因表达。DNA 甲基化时钟主要基于 Lasso 和弹性网络等有监督的机器学习方法构建,即在大量高度相关的 CpG 位点中选择一组位点预测实际年龄或其他衰老相关生理过程。基于 DNA 甲基化时钟(又称表观遗传衰老时钟)估计的生理年龄可简称为 DNA 甲基化年龄或表观遗传年龄。2011 年, Bocklandt 等<sup>[39]</sup>在唾液样本中发现了 88 个和年龄高度相关的 CpG 位点,这些位点拟合实际年龄的 MAE 仅为 5.2 岁。2013 年, Horvath<sup>[16]</sup>构建了第一个多组织 DNA 甲基化时钟,利用弹性网络回归选择了 353 个 CpG 位点预测实际年龄,中位数绝对误差仅为 3.6 岁。Horvath<sup>[16]</sup>将

表观遗传年龄加速定义为生理年龄校正实际年龄后的残差部分,残差值大于零表示衰老速度超过同龄人,发现癌症患者的表观遗传衰老速度更快。同年, Hannum 等<sup>[40]</sup>基于成年人全血样本构建了一个仅包含 71 个 CpG 位点的衰老时钟。该时钟在成年人血液样本中对实际年龄拟合效果优于 Horvath 时钟,同样发现肿瘤组织的生理年龄更高,且女性的生理年龄低于同龄男性。

高准确性的 DNA 甲基化时钟开启了生物计时学新篇章<sup>[33]</sup>。随后,陆续开发了数十种 DNA 甲基化时钟,例如 Lin 等<sup>[41]</sup>基于 99 个 CpG 位点构建的全血时钟, Horvath 等<sup>[42]</sup>构建的皮肤和血液组织时钟。后者首次在哈钦森-吉尔福德早衰综合征患者中检测到了表观遗传年龄加速。除了上述基于欧美人群构建的衰老时钟, Zheng 等<sup>[43]</sup>基于中国南方衢州队列的 250 名中国人,利用弹性网络回归选择了 65 个 CpG 位点拟合实际年龄。该时钟 iCAS-DNAmeAge 在包含 689 名中国人的测试集中与年龄的相关性为 0.77, MAE 为 4.37 岁,而 Hannum 和 Horvath 时钟在该测试集中的表现不足, MAE 分别为 11.69 岁和 9.92 岁。因此,种族差异同样是影响 DNA 甲基化时钟对实际年龄拟合准确性的重要因素之一,未来需要在样本量更大的中国人群中开发并验证新的 DNA 甲基化时钟。

生理年龄受到遗传和环境因素共同影响,对预测寿命和不良健康结局具有重要价值。然而,对实际年龄拟合精度越高的 DNA 甲基化时钟,其提供的独立于实际年龄的价值越低<sup>[44-45]</sup>。因此,第二代 DNA 甲基化时钟以实际年龄以外的生理指标或健康结局作为训练标签。2016 年, Yang 等<sup>[46]</sup>基于 385 个随有丝分裂逐渐甲基化的 DNA 位点,构建了有丝分裂时钟,是第一个二代衰老时钟。2018 年, Levine 等<sup>[14]</sup>通过预测死亡风险构建了临床表型时钟 PhenoAge 和 DNA 甲基化表型年龄 DNAm PhenoAge。2019 年, Lu 等<sup>[13]</sup>首先利用 CpG 位点预测血浆蛋白质和吸烟包年数,再以基于 DNA 甲基化的蛋白质和吸烟包年数拟合值评估死亡风险,构建了 GrimAge。DNAm PhenoAge 和 GrimAge 是目前使用广泛的 2 种 DNA 甲基化二代时钟,已在多个独立队列中得到验证,与多种新发疾病风险相关<sup>[47-48]</sup>。

基于 DNA 甲基化预测血浆蛋白质水平,并将预测值用于构建 DNA 甲基化二代时钟的方法进一步提高了 DNA 甲基化时钟对衰老相关健康结局的



预测效果。Bernabeu 等<sup>[49]</sup>利用大样本量单一队列的全血 DNA 甲基化数据(24 674 名欧洲人),分别基于实际年龄模型和死亡风险模型构建了一代时钟 cAge 和二代时钟 bAge, cAge 拟合实际年龄的 MAE 低至 2.3 岁。bAge 采用了和 GrimAge 类似的构建方法,基于血浆蛋白的 DNA 甲基化预测器构建死亡预测模型。Chen 等<sup>[50]</sup>进一步纳入临床指标、蛋白质和代谢物的多组学信息,构建了二代 DNA 甲基化时钟 OMICmAge。

Belsky 等<sup>[15]</sup>构建了第一个纵向队列时钟,又称三代时钟。该团队基于一项出生队列中参与者在 26、32 和 38 岁 3 个年龄段检测的 19 种临床指标的变化趋势,构建了衡量衰老趋势的 PoA 指标<sup>[51]</sup>,基于参与者 38 岁和 45 岁时的 DNA 甲基化水平拟合预定义的衰老速度 PoA,分别构建了 DunedinPoAm<sup>[15]</sup>和 DunedinPACE<sup>[52]</sup>。与二代时钟相比,DunedinPoAm 和 DunedinPACE 反映了身体功能和认知水平的衰老程度,对痴呆高风险人群具有更强的识别能力<sup>[53-54]</sup>。

机器学习方法根据 CpG 位点之间的相关性选择相对独立的位点构建衰老时钟,而不考虑 CpG 位点与衰老之间的因果关系。因此,尽管不同的 DNA 甲基化时钟对衰老相关的健康结局均具有预测作用,这些模型纳入的 CpG 位点具有极低的重叠性<sup>[33]</sup>。Ying 等<sup>[55]</sup>利用 MR 方法识别和衰老相关的因果 CpG 位点,同时包括衰老的风险位点和适应性保护位点,并由此分别构建了 DamAge 和 AdaptAge。DamAge 被报道在老年人的脐带浓缩血浆注射试验和超重个体的 Omega-3 脂肪酸补充试验中显示出对短期抗衰老干预效应的识别能力。而在其他 DNA 甲基化时钟中,仅 GrimAge 与脐带浓缩血浆注射干预有关。因此,阐明 DNA 甲基化在衰老过程中的潜在生物学机制可能对推动 DNA 甲基化时钟的临床应用具有重要意义。

表观遗传时钟对实际年龄和疾病风险的预测能力使其成为目前应用广泛的衰老时钟。观察性研究发现,DNA 甲基化年龄升高与健康人群的患癌风险增加、癌症患者的生存时间缩短相关<sup>[56]</sup>。因此,针对加速衰老个体的定期体检和健康管理有助于提高癌症筛查率、降低发病风险<sup>[57]</sup>。一项 MR 研究发现 GrimAge 加速对结直肠癌存在因果作用<sup>[58]</sup>。社会和环境压力对结直肠癌的影响可能由表观遗传衰老介导,是否能以表观遗传年龄来重新定义结直肠癌筛查年龄已被广泛讨论<sup>[59]</sup>。

表观遗传信息丢失是动物衰老的主要原因,恢复表观遗传完整性有望逆转衰老<sup>[60]</sup>。2023 年,Horvath 团队的 Lu 等<sup>[61]</sup>基于 185 种哺乳动物的 59 种组织类型,发现单一的数学公式就能准确估计不同哺乳动物组织和物种的实际年龄。该研究进一步证实衰老并非仅来自细胞损伤的积累过程,也是发育程序化进程的体现。Poganik 等<sup>[62]</sup>指出,生理年龄是动态变化的,外界压力会使表观遗传衰老加速,而压力消失后衰老可能会被逆转。例如,大型手术、严重的新型冠状病毒感染和妊娠均会使人类和小鼠的 DNA 甲基化年龄发生短暂变化,而康复和分娩会使衰老逆转<sup>[62-63]</sup>。观察性研究同样发现 DNA 甲基化存在长期记忆性,例如青春期不健康的生活方式与成年早期的表观遗传衰老加速有关<sup>[64]</sup>。因此,外界压力导致的表观遗传衰老加速能否完全恢复,而增龄是否会造成表观遗传恢复弹性丧失等问题有待进一步研究。尽管如此,表观遗传衰老的可逆性依然为抗衰老研究提供了新思路。细胞实验揭示了表观遗传重编程对恢复细胞衰老和功能损伤的巨大潜力<sup>[65]</sup>。大量研究基于表观遗传时钟探究衰老的风险因素,发现吸烟、精神类药物滥用、心理压力、PM<sub>2.5</sub>暴露等因素均会导致衰老加速<sup>[66-67]</sup>,而戒烟、增强体育锻炼<sup>[68]</sup>和改善饮食习惯<sup>[69-70]</sup>等干预措施能降低表观遗传年龄。表观遗传时钟被认为是抗衰老干预的重要评价指标,以表观遗传时钟为评价指标的抗衰老治疗手段和药物研发也陆续启动<sup>[71]</sup>。缺氧<sup>[72]</sup>、热量限制<sup>[73]</sup>、二甲双胍<sup>[73]</sup>和雷帕霉素<sup>[74]</sup>使用已在体外或模式动物中被证实能延长寿命、降低表观遗传年龄<sup>[71,75]</sup>。在临床干预研究中,使用二甲双胍可使糖尿病患者的表观遗传年龄降低 2.77 岁<sup>[76]</sup>,但其抗衰老作用在其他人群中尚未被证实<sup>[77-78]</sup>。研究发现,胸腺再生、免疫恢复和胰岛素缓解等能通过逆转免疫系统功能衰退,降低男性的表观遗传年龄<sup>[79]</sup>。这些降低表观遗传年龄的干预研究为实现衰老逆转提供了更积极的科学证据。

3. 转录组时钟:基于 RNA 转录组数据估计的生理年龄将衰老与基因表达直接联系起来,增强了衰老时钟的可解释性。2015 年,Peters 等<sup>[80]</sup>基于 7 项大型队列研究,发现并验证了 1 497 个与年龄相关的基因,并开发了血液转录组时钟。该时钟用实际年龄的拟合值来衡量生理年龄,验证集中 MAE 为 7.8 岁。由于微阵列芯片和测序平台的差异,转录组时钟在不同队列的预测准确度存在较大差异,

且明显低于 DNA 甲基化时钟。然而,转录组时钟与 SBP 的关联在 Horvath 和 Hannum 时钟分析中未被检测到<sup>[80]</sup>。DNA 甲基化和血浆蛋白质等循环生物标志物与衰老导致的心脑血管结构变化之间的关联不强,而血液或其他组织的转录组数据却能捕获这些变异。Fleischer 等<sup>[18]</sup>和 Mamoshina 等<sup>[81]</sup>分别构建了真皮成纤维细胞和肌肉组织的转录组时钟,拟合实际年龄的 MAE 分别为 4 岁和 6.24 岁。Ren 和 Kuan<sup>[82]</sup>基于 GTEx 数据库、Shokhirev 和 Johnson<sup>[83]</sup>基于公开发表的 3 060 个高质量 RNA 测序数据,构建了多组织的转录组衰老时钟。丰富的多组织 RNA 测序数据对组织特异性衰老机制和抗衰老干预研究具有重要意义。

4. 蛋白质组时钟:近年来,蛋白质组学测量技术的成熟与广泛应用也推动了蛋白质组衰老时钟的发展。多项研究在人类脑脊液、血浆和血清样本中探究了蛋白质组学随年龄变化的模式<sup>[84-86]</sup>。蛋白质作为生命活动的主要承担者,对器官的功能性衰老更敏感,基于循环蛋白质构建的衰老时钟能准确拟合实际年龄。Tanaka 等<sup>[87]</sup>和 Lehallier 等<sup>[88]</sup>分别筛选了 76 种和 373 种 SomaScan 平台检测的血浆蛋白质预测实际年龄,在不同独立队列中拟合相关性高达 0.92~0.98,与身体和认知功能<sup>[88]</sup>、多病以及全因死亡率<sup>[89]</sup>相关。衰老相关分泌表型(SASP)是促炎因子、趋化因子和蛋白酶等一系列细胞因子的总称,是细胞衰老的重要标志之一。Schafer 等<sup>[90]</sup>选择了 24 种在年轻人和老年人中有差异的 SASP,由此构建的蛋白质时钟和脆弱指数、手术预后相关。除 SASP 已知与生理衰老相关外,Johnson 等<sup>[91]</sup>系统综述了 32 项不同的人类蛋白质组学衰老研究,并基于 83 个在≥3 项研究中被报道和年龄相关的血浆蛋白质构建了衰老时钟,该时钟在验证集中预测实际年龄的 MAE 为 5.5 岁。同年,该团队基于 Lasso 方法筛选了 491 种基于 SomaScan 平台测定的血浆蛋白质来构建衰老时钟,在验证集中与实际年龄的 MAE 进一步缩小至 2.44 岁<sup>[92]</sup>。尽管基于系统综述筛选的衰老相关蛋白质具有更强的生物学证据,采用 Lasso 方法筛选的蛋白质则纳入了更多年龄相关信息,预测效果更好。

UKB 蛋白质组学项目(UKB-PPP)基于 Olink 平台检测了 50 000 余人的 3 000 余种血浆蛋白质,发现多种蛋白质与年龄、疾病和死亡风险密切相关<sup>[93]</sup>。已有 2 项研究基于该数据,分别构建了一代和二代衰老时钟。其中,Argentieri 等<sup>[20]</sup>基于

UKB-PPP 和 CKB( $n=2\ 026$ )的血浆蛋白质数据拟合实际年龄。该时钟与身体脆弱指数、多种疾病发病率和全因死亡风险均显著相关。Kuo 等<sup>[19]</sup>基于 UKB-PPP 样本构建了二代衰老时钟 PAC。与临床表型时钟 PhenoAge 和 BioAge 相比,PAC 对痴呆发病风险的预测效果有明显提升,这可能与血浆蛋白质来自不同的组织和器官,捕获了更广泛的生理变化有关。

来源广泛的血浆蛋白质是评估不同器官和系统之间衰老差异的有力工具。Sayed 等<sup>[17]</sup>基于血液免疫蛋白质组,开发了评估年龄相关炎症模式的深度学习方法,并定义为衰老炎症时钟,为炎症介导的衰老相关疾病的早期检测提供了一个有效指标。2023 年,Oh 等<sup>[94]</sup>基于血浆蛋白质组定量 11 种主要器官的衰老程度,发现近 2 成的研究对象在单一器官中出现加速衰老,而心脏加速衰老会使个体心力衰竭风险增加 2.5 倍。与既往研究不同,该研究利用器官特异高表达的蛋白质来评估该器官的衰老程度,进而实现在器官水平评估衰老的个体差异,为组织特异性筛查和个性化治疗提供科学依据。

蛋白质是药物的天然靶点,蛋白质组衰老时钟能促进抗衰老药物研发,降低年龄相关疾病的发病风险。然而,不同蛋白质组学检测平台的数据之间存在一定差异。非靶向的质谱法能定量整个蛋白质组且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,靶向的 SomaScan 和 Olink 平台基于蛋白质的亲和力实现了低丰度蛋白质的准确定量。然而,研究表明不同平台对某些蛋白质不同异构体的敏感性不同<sup>[93]</sup>。目前,探究循环蛋白质和年龄及衰老之间的研究尚处于起步阶段,需要在大型队列、分子和动物实验中进一步验证。

5. 代谢组时钟:人体代谢物(氨基酸、糖、核苷酸、脂质和有机酸等)是参与细胞代谢过程的小分子化合物(<1 500 Da),执行能量产生、大分子合成和信号传导等多种生理功能。核磁共振和质谱技术可以从尿液、血清和血浆等生物样品中检测出数千种代谢物。2013 年,Menni 等<sup>[95]</sup>基于 6 055 名英国人的空腹血液样本,利用 22 种代谢物构建了代谢组时钟,与实际年龄的相关性为 0.77。作为各种生命活动的末端产物,循环代谢物和衰老的关联更易受到多种因素影响,且对实际年龄的拟合能力不足。Rist 等<sup>[96]</sup>发现血浆和尿液代谢组学对男性年龄的线性拟合效果优于女性,相关性分别为 0.78~0.88 和 0.65~0.78。而血浆代谢组学数据能预测女



性绝经状态,准确率达 88%。Hertel 等<sup>[21]</sup>基于 3 611 名白种人的 59 种尿液代谢物,采用多元分数多项式回归拟合男性和女性中代谢物与实际年龄的非线性关联,拟合值与实际年龄的相关性分别为 0.74 和 0.78。代谢年龄对女性样本实际年龄预测准确性的提升可能与围绝经期导致的代谢物随年龄非线性变化有关。Hertel 等<sup>[21]</sup>将代谢衰老加速定义为代谢年龄对实际年龄回归后的残差部分,发现代谢衰老加速与肥胖、糖尿病、心肌梗死的疾病史,以及高死亡风险有关。此外,代谢衰老加速能预测接受减肥手术患者的体重减轻程度,在个性化医疗中具有一定应用前景。

营养感知、线粒体功能障碍、细胞间通讯改变等衰老标志均能对代谢物产生影响<sup>[97]</sup>。因此,尽管代谢组时钟对实际年龄的拟合效果不足,依然能作为有效的生理年龄评估指标来预测衰老相关不良健康状况。van den Akker 等<sup>[98]</sup>基于 26 个队列约 2.5 万名样本中的 56 种代谢物构建了代谢年龄 metaboAge,与实际年龄的相关性为 0.65,MAE 为 7.3 岁。该研究指出,代谢衰老加速提示更高的心血管疾病和死亡发生风险。Deelen 等<sup>[22]</sup>在 12 个队列共 44 168 名研究对象的血液代谢组中采用逐步回归法筛选了 14 个与全因死亡风险相关的代谢物。与传统危险因素相比,这些代谢物具备更高的 5 年和 10 年死亡风险预测能力。2024 年, Lau 等<sup>[99]</sup>基于英国和芬兰的 9 个队列共计 3.8 万名样本的血液代谢组学数据,分别构建了以实际年龄和全因死亡为预测目标的衰老时钟。其中,以实际年龄为预测目标的衰老时钟在 UKB 中的拟合准确度较低 (Pearson's  $r=0.33$ )。2 种代谢年龄均与全因死亡风险、多种慢性病发病风险相关,具有一定的临床应用价值。

已有研究表明,血液代谢组时钟和血液 DNA 甲基化时钟可能捕获了不同层面的衰老变异。Robinson 等<sup>[100]</sup>收集了来自多个代谢检测平台的 2 238 名样本的非靶向代谢组学数据,由此构建代谢衰老时钟,并定义代谢衰老加速 mAA 为代谢年龄和实际年龄的差值。值得指出的是, mAA 与多个 DNA 甲基化年龄均不相关,且捕获了不同的心理健康特征。例如, mAA 与肥胖、糖尿病、酗酒和抑郁相关,而 Hannum 和 Horvath 时钟则与焦虑、创伤后应激障碍和低收入相关,与抑郁无关。Zhang 等<sup>[101]</sup>基于 3 002 名健康中国人的血清代谢组数据,通过弹性网络回归筛选了 9 种代谢标志物构建一

代衰老时钟,并发现低代谢年龄与结直肠癌患者晚期癌前病变风险升高相关。与此类似,一项结直肠组织样本的表观遗传时钟研究同样观察到结直肠癌高风险人群的正常结肠黏膜组织样本表现出 PhenoAge 时钟减速<sup>[102]</sup>。这可能是因为血浆代谢物包含了来自分化程度较低的癌症组织细胞的代谢产物,而血液 DNA 甲基化记录了个体衰老的程序化进程,较少受到其他组织或器官的影响。因此,整合不同组学的衰老时钟有助于更全面地评估生理衰老状况。

6. 多组学时钟:衰老是诸多生理、病理过程共同作用的结果,不同衰老标志物之间密切相关,单一组学数据难以全面反映衰老程度及健康影响。整合多组学数据构建更全面的模型有望进一步提高衰老时钟的预测性能和风险评估价值。Nie 等<sup>[103]</sup>基于 4 066 名青年志愿者的血液多组学数据,包括宏基因组、免疫组、代谢组和临床表型组,采用 KD 法构建了不同器官和系统的衰老时钟,以探究其衰老差异。基于血液样本的多组学生物标志物可以捕获不同器官或系统的衰老信息,对识别组织或器官特异的功能损伤和慢性病更具成本效益。Li 等<sup>[104]</sup>基于 113 名中国女性样本,利用弹性网络回归分别构建了表型组、转录组、蛋白质组、代谢组等的单一组学时钟和多组学时钟 compositeAge。compositeAge 对实际年龄的拟合效果最好,MAE 仅 4.00 岁,且和所有单一组学时钟均高度相关。基于此,研究发现激素替代疗法对女性衰老具有保护作用。不同组学数据和衰老之间的关联并非简单的线性加和,如何精准识别与衰老最相关的生物特征,解决特征冗余和共线性问题,是多组学衰老时钟研究亟需解决的重要挑战之一。然而,目前仍缺乏基于大型单一队列的多组学时钟,高昂的时间和成本限制了多组学时钟的发展和临床推广应用。未来期待更多的多组学时钟,用于探究不同组学层面的衰老机制及联系,描绘更全面的衰老分子图谱。

本文总结了基于临床表型组、DNA 甲基化组、转录组、蛋白质组和代谢组的单一组学和多组学衰老时钟的研究进展(图 1)。基于不同组学的衰老时钟各有优势和局限性。DNA 甲基化时钟是目前应用最广泛的衰老时钟。生命历程中的环境暴露和遗传因素对个体衰老的影响均可能反映在 DNA 甲基化水平改变上。因此, DNA 甲基化时钟能反映生命过程中积累的生物效应。相比而言,临床表

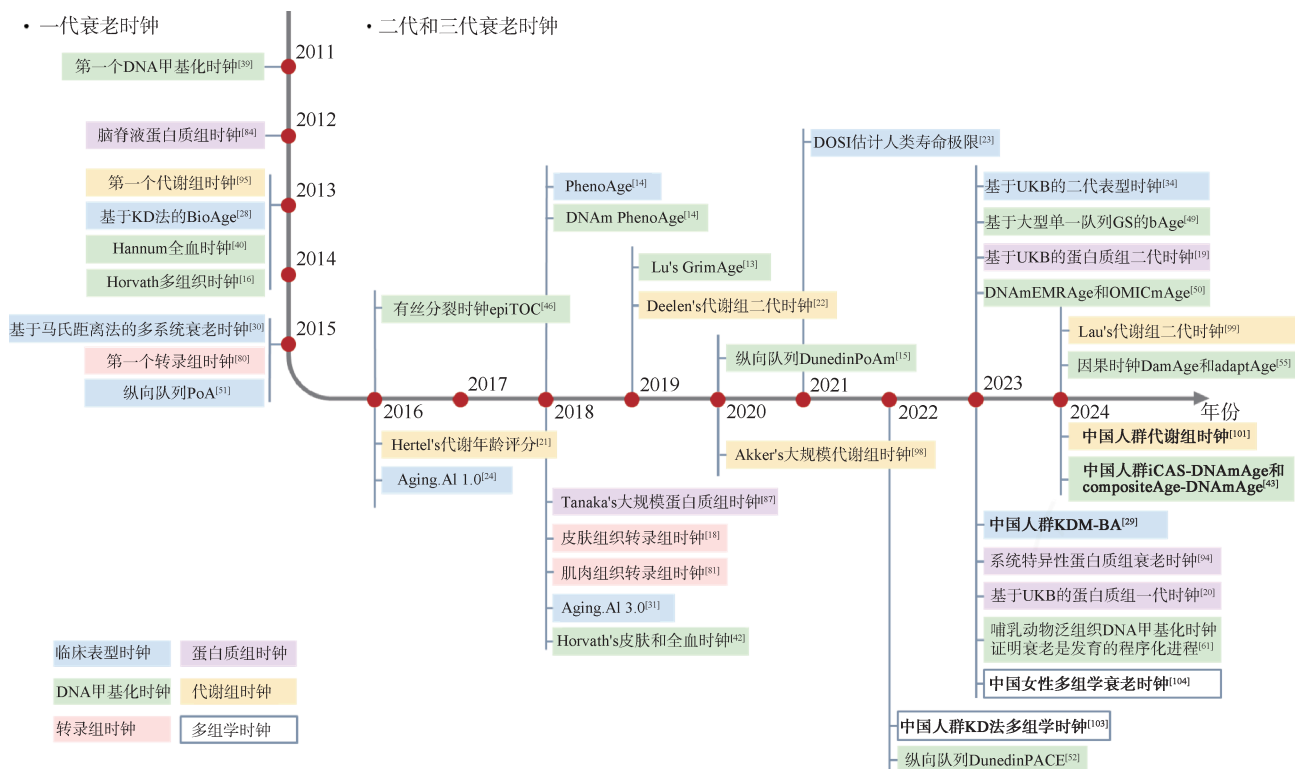
型、血浆蛋白质和循环代谢物更多地反映短期内机体功能和生理状况的变化。RNA 和代谢物对年龄的预测准确性较低,但能捕捉到其他组学无法识别到的衰老信息。且代谢物检测价格较低,更容易推广应用。DNA 甲基化、RNA 和蛋白质等生物大分子的定量检测成本依然较高,针对计算生理年龄所需位点开发相应的靶向检测技术十分重要,如 TIME-seq 等<sup>[105]</sup>。相较而言,众多临床指标已纳入医疗机构的常规检测,数据可及性大大提高。因此,基于临床指标的衰老时钟能充分利用海量的体检数据资源,为体检人群提供健康预警和指导<sup>[106]</sup>。

尽管循环蛋白质和小分子代谢物等更易测量的分泌型分子难以捕捉到衰老导致的组织结构变化。计算机断层扫描、磁共振成像等影像技术能无侵入地识别心脏和脑等组织结构特征,弥补上述分子标志物的不足<sup>[107-108]</sup>。图像数据预测的脑年龄与大脑健康状况相关,脑龄增加被认为是轻度认知障碍、阿尔茨海默病和精神分裂症等脑部疾病的风险因素。此外,面部和手部图像数据也用于视觉衰老标志物识别,在医学美容等领域受到广泛关

注<sup>[109-110]</sup>。不同细胞类型或组织的衰老模式和速度既有共性,也存在实质差异。单细胞衰老时钟能进一步深入了解衰老过程中人体组织和细胞衰老的普遍性和复杂性,为恢复细胞活力、逆转细胞衰老研究提供方法基础,从而推动细胞水平抗衰老策略的研究和发展<sup>[111-112]</sup>。

除了使用的数据类型,衰老时钟的构建方法也对其所捕获不同生理衰老信息具有重要影响。以实际年龄为预测目标的一代时钟最大程度捕获了时间尺度上的变化,其对实际年龄的准确估计适用于法医学研究。以死亡或其他衰老变化作为预测目标的二代时钟则对未来疾病发病风险具备更高的预测能力。但构建二代衰老时钟需要以长时间随访的大型队列作为基础,这类大型队列往往难以负担高昂的多组学检测费用;由于 RNA 极易降解,转录组学检测需要从新鲜样本中提取 RNA,难以在已经进行了长期随访的大型队列中实现。此外,基于纵向数据训练的三代时钟能直接预测未来的衰老速度,其临床价值超越一代和二代时钟,仍然有待进一步开发<sup>[113]</sup>。

尽管已有几十种基于组学数据的衰老时钟,但



注: DOSI: 动态生物体状态指标; UKB: 英国生物银行; 主要基于中国人群构建的衰老时钟用粗体表示; 一代衰老时钟: 以实际年龄为训练标签的衰老模型; 二代衰老时钟: 以实际年龄以外的生理指标或健康结局为训练标签的衰老模型; 三代衰老时钟: 基于纵向数据训练的衰老模型

图1 基于组学数据的衰老时钟研究的主要进展

这些分子表型与衰老之间的因果关系并不清楚。大型数据库 Aging Atlas 集成了各种衰老相关的多组学数据,有助于识别参与衰老过程的分子调控网络<sup>[114]</sup>。遗传关联研究极大地促进了对疾病驱动因素的理解。因此,数量性状位点关联分析、遗传共定位和 MR 等遗传学方法的应用有助于进一步阐明衰老时钟参与的因果路径<sup>[113,115]</sup>。尽管如此,单一的衰老模型难以衡量不同组织和系统之间的衰老差异,多组学时钟为探究衰老的复杂机制提供了更全面的定量工具。聚焦多组学数据整合分析,深入探究衰老时钟背后的多组学调控网络,可为衰老的预防和干预提供 stronger 因果证据。

由于衰老时钟的构建和验证缺乏公认的标准流程,目前尚缺乏衰老时钟被用于指导临床的实践研究。首先,潜在的模型过拟合问题会限制衰老时钟的外推性,故衰老时钟需要在多个人群队列中验证以证明模型的稳健性和临床应用价值,特别是在不同种族和不同性别人群中进行验证,以促进健康公平。其次,由于高通量组学数据检测在不同平台和批次之间往往存在系统差异,不适当的批次效应处理方法会限制相应衰老模型的泛化能力。因此,开发更稳健的实验技术和更适用的批次处理方法,在衰老模型发表时详细报告相应数据检测和质控流程十分必要。临床预测模型报告规范将有助于衰老时钟的发表和应用<sup>[116]</sup>。

总而言之,如何利用爆炸式增长的多组学数据量化个体的衰老程度和速度,并用于指导临床实践和健康干预是一项重要研究议题。衰老时钟的不断发展为揭示衰老的生物过程提供了重要工具。一方面,衰老时钟有望作为疾病精准筛查的辅助手段,降低人群筛查的时间和经济成本;另一方面,衰老时钟能替代寿命作为衰老风险因素和干预研究的标志性终点,降低研究成本。阐明衰老时钟的生物学机制与实现数据检测和模型构建的标准化将对衰老时钟在临床上的推广应用具有重大促进作用。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 朱紫薇:论文撰写;程珊珊、程翔:论文修改;陈卫红:研究指导、论文修改;王超龙:研究指导、论文修改、经费支持

## 参 考 文 献

- [1] 王丽敏,陈志华,张梅,等.中国老年人群慢性病患状况和疾病负担研究[J].中华流行病学杂志,2019,40(3):277-283. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.03.005.  
Wang LM, Chen ZH, Zhang M, et al. Study of the prevalence and disease burden of chronic disease in the

- elderly in China[J]. Chin J Epidemiol, 2019, 40(3): 277-283. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.03.005.
- [2] Timmers PRHJ, Wilson JF, Joshi PK, et al. Multivariate genomic scan implicates novel loci and haem metabolism in human ageing[J]. Nat Commun, 2020, 11(1):3570. DOI: 10.1038/s41467-020-17312-3.
- [3] Deelen J, Evans DS, Arking DE, et al. A meta-analysis of genome-wide association studies identifies multiple longevity genes[J]. Nat Commun, 2019, 10(1):3669. DOI: 10.1038/s41467-019-11558-2.
- [4] Bin-Jumah MN, Nadeem MS, Gilani SJ, et al. Genes and longevity of lifespan[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1499. DOI:10.3390/ijms23031499.
- [5] Partridge L, Deelen J, Slagboom PE. Facing up to the global challenges of ageing[J]. Nature, 2018, 561(7721): 45-56. DOI:10.1038/s41586-018-0457-8.
- [6] Ries W. Problems associated with biological age[J]. Exp Gerontol, 1974, 9(3): 145-149. DOI: 10.1016/0531-5565(74)90044-8.
- [7] Bae CY, Kang YG, Kim S, et al. Development of models for predicting biological age (BA) with physical, biochemical, and hormonal parameters[J]. Arch Gerontol Geriatr, 2008, 47(2):253-265. DOI:10.1016/j.archger.2007.08.009.
- [8] Dubina TL, Mints AY, Zhuk EV. Biological age and its estimation. III. Introduction of a correction to the multiple regression model of biological age in cross-sectional and longitudinal studies[J]. Exp Gerontol, 1984, 19(2): 133-143. DOI: 10.1016/0531-5565(84)90016-0.
- [9] Lee MS, Tanaka K, Nakagaichi M, et al. The relative utility of health-related fitness tests and skilled motor performance tests as measures of biological age in Japanese men[J]. Appl Human Sci, 1996, 15(3): 97-104. DOI:10.2114/jpa.15.97.
- [10] Goggins WB, Woo J, Sham A, et al. Frailty index as a measure of biological age in a Chinese population[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2005, 60(8):1046-1051. DOI: 10.1093/gerona/60.8.1046.
- [11] Cho IH, Park KS, Lim CJ. An empirical comparative study on biological age estimation algorithms with an application of work ability index (WAI) [J]. Mech Ageing Dev, 2010, 131(2): 69-78. DOI: 10.1016/j. mad. 2009. 12.001.
- [12] Rossiello F, Jurk D, Passos JF, et al. Telomere dysfunction in ageing and age-related diseases[J]. Nat Cell Biol, 2022, 24(2):135-147. DOI:10.1038/s41556-022-00842-x.
- [13] Lu AT, Quach A, Wilson JG, et al. DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(2):303-327. DOI:10.18632/aging.101684.
- [14] Levine ME, Lu AT, Quach A, et al. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan[J]. Aging (Albany NY), 2018, 10(4):573-591. DOI:10.18632/aging.101414.
- [15] Belsky DW, Caspi A, Arseneault L, et al. Quantification of the pace of biological aging in humans through a blood test, the DunedinPoAm DNA methylation algorithm[J]. Elife, 2020, 9:e54870. DOI:10.7554/eLife.54870.
- [16] Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types[J]. Genome Biol, 2013, 14(10): 3156. DOI:10.1186/gb-2013-14-10-r115.
- [17] Sayed N, Huang YX, Nguyen K, et al. An inflammatory aging clock (iAge) based on deep learning tracks multimorbidity, immunosenescence, frailty and cardiovascular aging[J]. Nat Aging, 2021, 1(7): 598-615. DOI:10.1038/s43587-021-00082-y.
- [18] Fleischer JG, Schulte R, Tsai HH, et al. Predicting age from the transcriptome of human dermal fibroblasts[J].



- Genome Biol, 2018, 19(1): 221. DOI: 10.1186/s13059-018-1599-6.
- [19] Kuo CL, Chen ZD, Liu PR, et al. Proteomic aging clock (PAC) predicts age-related outcomes in middle-aged and older adults[OL]. [2024-04-24]. Aging Cell, 2024: e14195. <https://doi.org/10.1111/ace1.14195>.
  - [20] Argentieri MA, Xiao SH, Bennett D, et al. Proteomic aging clock predicts mortality and risk of common age-related diseases in diverse populations[J]. medRxiv, 2023. DOI: 10.1101/2023.09.13.23295486.
  - [21] Hertel J, Friedrich N, Wittfeld K, et al. Measuring biological age via metabolomics: the metabolic age score [J]. J Proteome Res, 2016, 15(2): 400-410. DOI: 10.1021/acs.jproteome.5b00561.
  - [22] Deelen J, Kettunen J, Fischer K, et al. A metabolic profile of all-cause mortality risk identified in an observational study of 44, 168 individuals[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3346. DOI: 10.1038/s41467-019-11311-9.
  - [23] Pyrkov TV, Avchaciov K, Tarkhov AE, et al. Longitudinal analysis of blood markers reveals progressive loss of resilience and predicts human lifespan limit[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 2765. DOI: 10.1038/s41467-021-23014-1.
  - [24] Putin E, Mamoshina P, Aliper A, et al. Deep biomarkers of human aging: application of deep neural networks to biomarker development[J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(5): 1021-1033. DOI: 10.18632/aging.100968.
  - [25] Klemmer P, Doubal S. A new approach to the concept and computation of biological age[J]. Mech Ageing Dev, 2006, 127(3): 240-248. DOI: 10.1016/j.mad.2005.10.004.
  - [26] Cohen AA, Milot E, Yong J, et al. A novel statistical approach shows evidence for multi-system physiological dysregulation during aging[J]. Mech Ageing Dev, 2013, 134(3/4): 110-117. DOI: 10.1016/j.mad.2013.01.004.
  - [27] 曹利美, 陈淑婷, 王彤. 生物学年龄量化方法研究进展[J]. 中华流行病学杂志, 2023, 44(3): 516-520. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20220814-00709.
  - [28] Cao LM, Chen ST, Wang T. Progress in research of quantification of biological age[J]. Chin J Epidemiol, 2023, 44(3): 516-520. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20220814-00709.
  - [29] Levine ME. Modeling the rate of senescence: can estimated biological age predict mortality more accurately than chronological age? [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2013, 68(6): 667-674. DOI: 10.1093/gerona/gls233.
  - [30] Chen L, Zhang YQ, Yu CQ, et al. Modeling biological age using blood biomarkers and physical measurements in Chinese adults[J]. EBioMedicine, 2023, 89: 104458. DOI: 10.1016/j.ebiom.2023.104458.
  - [31] Li Q, Wang SR, Milot E, et al. Homeostatic dysregulation proceeds in parallel in multiple physiological systems[J]. Aging Cell, 2015, 14(6): 1103-1112. DOI: 10.1111/ace1.12402.
  - [32] Mamoshina P, Kochetov K, Putin E, et al. Population specific biomarkers of human aging: a big data study using south Korean, Canadian, and eastern European patient populations[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2018, 73(11): 1482-1490. DOI: 10.1093/gerona/gly005.
  - [33] Liu WS, You J, Ge YJ, et al. Association of biological age with health outcomes and its modifiable factors[J]. Aging Cell, 2023, 22(12): e13995. DOI: 10.1111/ace1.13995.
  - [34] Galkin F, Mamoshina P, Aliper A, et al. Biohorology and biomarkers of aging: current state-of-the-art, challenges and opportunities[J]. Ageing Res Rev, 2020, 60: 101050. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101050.
  - [35] Bortz J, Guariglia A, Klaric L, et al. Biological age estimation using circulating blood biomarkers[J]. Commun Biol, 2023, 6(1): 1089. DOI: 10.1038/s42003-023-05456-z.
  - [36] Mak JKL, McMurrin CE, Hägg S. Clinical biomarker-based biological ageing and future risk of neurological disorders in the UK biobank[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2023, 95(5): 481-484. DOI: 10.1136/jnnp-2023-331917.
  - [37] Mak JKL, McMurrin CE, Kuja-Halkola R, et al. Clinical biomarker-based biological aging and risk of cancer in the UK biobank[J]. Br J Cancer, 2023, 129(1): 94-103. DOI: 10.1038/s41416-023-02288-w.
  - [38] Luo S, Wong ICK, Chui CSL, et al. Effects of putative metformin targets on phenotypic age and leukocyte telomere length: a mendelian randomisation study using data from the UK biobank[J]. Lancet Healthy Longev, 2023, 4(7): e337-344. DOI: 10.1016/S2666-7568(23)00085-5.
  - [39] Khramtsova EA, Davis LK, Stranger BE. The role of sex in the genomics of human complex traits[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(3): 173-190. DOI: 10.1038/s41576-018-0083-1.
  - [40] Bocklandt S, Lin W, Sehl ME, et al. Epigenetic predictor of age[J]. PLoS One, 2011, 6(6): e14821. DOI: 10.1371/journal.pone.0014821.
  - [41] Hannum G, Guinney J, Zhao L, et al. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates[J]. Mol Cell, 2013, 49(2): 359-367. DOI: 10.1016/j.molcel.2012.10.016.
  - [42] Lin Q, Weidner CI, Costa IG, et al. DNA methylation levels at individual age-associated CpG sites can be indicative for life expectancy[J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(2): 394-401. DOI: 10.18632/aging.100908.
  - [43] Horvath S, Oshima J, Martin GM, et al. Epigenetic clock for skin and blood cells applied to hutchinson gilford progeria syndrome and ex vivo studies[J]. Aging (Albany NY), 2018, 10(7): 1758-1775. DOI: 10.18632/aging.101508.
  - [44] Zheng ZK, Li JM, Liu TZ, et al. DNA methylation clocks for estimating biological age in Chinese cohorts[OL]. [2024-04-24]. Protein Cell, 2024: pwae011. <https://doi.org/10.1093/procel/pwae011>.
  - [45] Zhang Q, Vallerga CL, Walker RM, et al. Improved precision of epigenetic clock estimates across tissues and its implication for biological ageing[J]. Genome Med, 2019, 11(1): 54. DOI: 10.1186/s13073-019-0667-1.
  - [46] Jylhävä J, Pedersen NL, Hägg S. Biological age predictors [J]. EBioMedicine, 2017, 21: 29-36. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.03.046.
  - [47] Yang Z, Wong A, Kuh D, et al. Correlation of an epigenetic mitotic clock with cancer risk[J]. Genome Biol, 2016, 17(1): 205. DOI: 10.1186/s13059-016-1064-3.
  - [48] Hillary RF, Stevenson AJ, McCartney DL, et al. Epigenetic measures of ageing predict the prevalence and incidence of leading causes of death and disease burden[J]. Clin Epigenetics, 2020, 12(1): 115. DOI: 10.1186/s13148-020-00905-6.
  - [49] Liu ZY, Chen X, Gill TM, et al. Associations of genetics, behaviors, and life course circumstances with a novel aging and healthspan measure: evidence from the health and retirement study[J]. PLoS Med, 2019, 16(6): e1002827. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002827.
  - [50] Bernabeu E, McCartney DL, Gadd DA, et al. Refining epigenetic prediction of chronological and biological age [J]. Genome Med, 2023, 15(1): 12. DOI: 10.1186/s13073-023-01161-y.
  - [51] Chen QW, Dwaraka VB, Carreras-Gallo N, et al. OMICmAge: an integrative multi-omics approach to quantify biological age with electronic medical records[J]. bioRxiv, 2023. DOI: 10.1101/2023.10.16.562114. (published

- online ahead of print)
- [51] Belsky DW, Caspi A, Houts R, et al. Quantification of biological aging in young adults[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(30): E4104-4110. DOI: 10.1073/pnas.1506264112.
  - [52] Belsky DW, Caspi A, Corcoran DL, et al. DunedinPACE, a DNA methylation biomarker of the pace of aging[J]. *Elife*, 2022, 11:e73420. DOI:10.7554/eLife.73420.
  - [53] Elliott ML, Caspi A, Houts RM, et al. Disparities in the pace of biological aging among midlife adults of the same chronological age have implications for future frailty risk and policy[J]. *Nat Aging*, 2021, 1(3): 295-308. DOI: 10.1038/s43587-021-00044-4.
  - [54] Sugden K, Caspi A, Elliott ML, et al. Association of pace of aging measured by blood-based DNA methylation with age-related cognitive impairment and dementia[J]. *Neurology*, 2022, 99(13): e1402-1413. DOI: 10.1212/WNL.0000000000200898.
  - [55] Ying KJ, Liu HN, Tarkhov AE, et al. Causality-enriched epigenetic age uncouples damage and adaptation[J]. *Nat Aging*, 2024, 4(2): 231-246. DOI: 10.1038/s43587-023-00557-0.
  - [56] Dugué PA, Bassett JK, Joo JE, et al. DNA methylation-based biological aging and cancer risk and survival: pooled analysis of seven prospective studies[J]. *Int J Cancer*, 2018, 142(8):1611-1619. DOI:10.1002/ijc.31189.
  - [57] Yu M, Hazelton WD, Luebeck GE, et al. Epigenetic aging: more than just a clock when it comes to cancer[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(3):367-374. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-19-0924.
  - [58] Morales Bernstein F, McCartney DL, Lu AT, et al. Assessing the causal role of epigenetic clocks in the development of multiple cancers: a Mendelian randomization study[J]. *Elife*, 2022, 11:e75374. DOI:10.7554/eLife.75374.
  - [59] Nwanaji-Enwerem JC, Mair WB. Redefining age-based screening and diagnostic guidelines: an opportunity for biological aging clocks in clinical medicine? [J]. *Lancet Healthy Longev*, 2022, 3(6): e376-377. DOI: 10.1016/s2666-7568(22)00114-3.
  - [60] Yang JH, Hayano M, Griffin PT, et al. Loss of epigenetic information as a cause of mammalian aging[J]. *Cell*, 2023, 186(2):305-326.e27. DOI:10.1016/j.cell.2022.12.027.
  - [61] Lu AT, Fei Z, Haghani A, et al. Universal DNA methylation age across mammalian tissues[J]. *Nat Aging*, 2023, 3(9): 1144-1166. DOI:10.1038/s43587-023-00462-6.
  - [62] Poganik JR, Zhang BH, Baht GS, et al. Biological age is increased by stress and restored upon recovery[J]. *Cell Metab*, 2023, 35(5): 807-820. e5. DOI: 10.1016/j.cmet.2023.03.015.
  - [63] Sidik S. Pregnancy advances your 'biological' age - but giving birth turns it back[J]. *Nature*, 2024, 628(8006): 18-19. DOI:10.1038/d41586-024-00843-w.
  - [64] Kankaanpää A, Tolvanen A, Heikkinen A, et al. The role of adolescent lifestyle habits in biological aging: a prospective twin study[J]. *Elife*, 2022, 11: e80729. DOI: 10.7554/eLife.80729.
  - [65] Zhang WQ, Qu J, Liu GH, et al. The ageing epigenome and its rejuvenation[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2020, 21(3): 137-150. DOI:10.1038/s41580-019-0204-5.
  - [66] Galkin F, Kovalchuk O, Koldasbayeva D, et al. Stress, diet, exercise: common environmental factors and their impact on epigenetic age[J]. *Ageing Res Rev*, 2023, 88: 101956. DOI:10.1016/j.arr.2023.101956.
  - [67] Gao X, Huang J, Cardenas A, et al. Short-term exposure of PM<sub>2.5</sub> and epigenetic aging: a quasi-experimental study[J]. *Environ Sci Technol*, 2022, 56(20): 14690-14700. DOI: 10.1021/acs.est.2c05534.
  - [68] Fiorito G, Caini S, Palli D, et al. DNA methylation-based biomarkers of aging were slowed down in a two-year diet and physical activity intervention trial: the DAMA study[J]. *Aging Cell*, 2021, 20(10): e13439. DOI: 10.1111/acer.13439.
  - [69] Föhr T, Waller K, Viljanen A, et al. Mortality associations with DNA methylation-based biological aging and physical functioning measures across a 20-year follow-up period[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2023, 78(8): 1489-1496. DOI:10.1093/gerona/glad026.
  - [70] Waziry R, Ryan CP, Corcoran DL, et al. Effect of long-term caloric restriction on DNA methylation measures of biological aging in healthy adults from the CALERIE trial [J]. *Nat Aging*, 2023, 3(3): 248-257. DOI: 10.1038/s43587-022-00357-y.
  - [71] Johnson AA, English BW, Shokhirev MN, et al. Human age reversal: fact or fiction? [J]. *Aging Cell*, 2022, 21(8): e13664. DOI:10.1111/acer.13664.
  - [72] Matsuyama M, WuWong DJ, Horvath S, et al. Epigenetic clock analysis of human fibroblasts *in vitro*: effects of hypoxia, donor age, and expression of hTERT and SV40 largeT[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(10): 3012-3022. DOI:10.18632/aging.101955.
  - [73] Martin-Montalvo A, Mercken EM, Mitchell SJ, et al. Metformin improves healthspan and lifespan in mice[J]. *Nat Commun*, 2013, 4:2192. DOI:10.1038/ncomms3192.
  - [74] Galow AM, Peleg S. How to slow down the ticking clock: age-associated epigenetic alterations and related interventions to extend life span[J]. *Cells*, 2022, 11(3): 468. DOI:10.3390/cells11030468.
  - [75] Wang TN, Tsui B, Kreisberg JF, et al. Epigenetic aging signatures in mice livers are slowed by dwarfism, calorie restriction and rapamycin treatment[J]. *Genome Biol*, 2017, 18(1):57. DOI:10.1186/s13059-017-1186-2.
  - [76] Li M, Bao LT, Zhu P, et al. Effect of metformin on the epigenetic age of peripheral blood in patients with diabetes mellitus[J]. *Front Genet*, 2022, 13:955835. DOI: 10.3389/fgene.2022.955835.
  - [77] Nwanaji-Enwerem JC, Chung FFL, van der Laan L, et al. An epigenetic aging analysis of randomized metformin and weight loss interventions in overweight postmenopausal breast cancer survivors[J]. *Clin Epigenetics*, 2021, 13(1): 224. DOI:10.1186/s13148-021-01218-y.
  - [78] Quach A, Levine ME, Tanaka T, et al. Epigenetic clock analysis of diet, exercise, education, and lifestyle factors [J]. *Aging (Albany NY)*, 2017, 9(2): 419-446. DOI: 10.18632/aging.101168.
  - [79] Fahy GM, Brooke RT, Watson JP, et al. Reversal of epigenetic aging and immunosenescent trends in humans [J]. *Aging Cell*, 2019, 18(6): e13028. DOI: 10.1111/acer.13028.
  - [80] Peters MJ, Joehanes R, Pilling LC, et al. The transcriptional landscape of age in human peripheral blood[J]. *Nat Commun*, 2015, 6:8570. DOI:10.1038/ncomms9570.
  - [81] Mamoshina P, Volosnikova M, Ozerov IV, et al. Machine learning on human muscle transcriptomic data for biomarker discovery and tissue-specific drug target identification[J]. *Front Genet*, 2018, 9:242. DOI:10.3389/fgene.2018.00242.
  - [82] Ren X, Kuan PF. RNAAgeCalc: a multi-tissue transcriptional age calculator[J]. *PLoS One*, 2020, 15(8): e0237006. DOI:10.1371/journal.pone.0237006.
  - [83] Shokhirev MN, Johnson AA. Modeling the human aging transcriptome across tissues, health status, and sex[J]. *Aging Cell*, 2021, 20(1):e13280. DOI:10.1111/acer.13280.
  - [84] Baird GS, Nelson SK, Keeney TR, et al. Age-dependent changes in the cerebrospinal fluid proteome by slow

- off-rate modified aptamer array[J]. *Am J Pathol*, 2012, 180(2):446-456. DOI:10.1016/j.ajpath.2011.10.024.
- [85] di Narzo AF, Telesco SE, Brodmerkel C, et al. High-throughput characterization of blood serum proteomics of IBD patients with respect to aging and genetic factors[J]. *PLoS Genet*, 2017, 13(1): e1006565. DOI:10.1371/journal.pgen.1006565.
- [86] Menni C, Kiddle SJ, Mangino M, et al. Circulating proteomic signatures of chronological age[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2015, 70(7): 809-816. DOI: 10.1093/gerona/glu121.
- [87] Tanaka T, Biancotto A, Moaddel R, et al. Plasma proteomic signature of age in healthy humans[J]. *Aging Cell*, 2018, 17(5):e12799. DOI:10.1111/acer.12799.
- [88] Lehallier B, Gate D, Schaum N, et al. Undulating changes in human plasma proteome profiles across the lifespan[J]. *Nat Med*, 2019, 25(12): 1843-1850. DOI: 10.1038/s41591-019-0673-2.
- [89] Tanaka T, Basisty N, Fantoni G, et al. Plasma proteomic biomarker signature of age predicts health and life span [J]. *Elife*, 2020, 9:e61073. DOI:10.7554/eLife.61073.
- [90] Schafer MJ, Zhang X, Kumar A, et al. The senescence-associated secretome as an indicator of age and medical risk[J]. *JCI Insight*, 2020, 5(12):e133668. DOI: 10.1172/jci.insight.133668.
- [91] Johnson AA, Shokhirev MN, Wyss-Coray T, et al. Systematic review and analysis of human proteomics aging studies unveils a novel proteomic aging clock and identifies key processes that change with age[J]. *Ageing Res Rev*, 2020, 60: 101070. DOI: 10.1016/j. arr. 2020. 101070.
- [92] Lehallier B, Shokhirev MN, Wyss-Coray T, et al. Data mining of human plasma proteins generates a multitude of highly predictive aging clocks that reflect different aspects of aging[J]. *Aging Cell*, 2020, 19(11):e13256. DOI: 10.1111/acer.13256.
- [93] Eldjarn GH, Ferkingstad E, Lund SH, et al. Large-scale plasma proteomics comparisons through genetics and disease associations[J]. *Nature*, 2023, 622(7982): 348-358. DOI:10.1038/s41586-023-06563-x.
- [94] Oh HSH, Rutledge J, Nachun D, et al. Organ aging signatures in the plasma proteome track health and disease[J]. *Nature*, 2023, 624(7990): 164-172. DOI: 10.1038/s41586-023-06802-1.
- [95] Menni C, Kastenmüller G, Petersen AK, et al. Metabolomic markers reveal novel pathways of ageing and early development in human populations[J]. *Int J Epidemiol*, 2013, 42(4):1111-1119. DOI:10.1093/ije/dyt094.
- [96] Rist MJ, Roth A, Frommherz L, et al. Metabolite patterns predicting sex and age in participants of the Karlsruhe metabolomics and nutrition (KarMeN) study[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0183228. DOI: 10.1371/journal.pone.0183228.
- [97] López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, et al. Hallmarks of aging: an expanding universe[J]. *Cell*, 2023, 186(2): 243-278. DOI:10.1016/j.cell.2022.11.001.
- [98] van den Akker EB, Trompet S, Barkey Wolf JH, et al. Metabolic age based on the BBMRI-NL <sup>1</sup>H-NMR metabolomics repository as biomarker of age-related disease[J]. *Circ Genom Precis Med*, 2020, 13(5):541-547. DOI:10.1161/CIRCGEN.119.002610.
- [99] Lau CHE, Manou M, Markozannes G, et al. NMR metabolomic modeling of age and lifespan:a multicohort analysis[J/OL]. [2024-04-24]. *Aging Cell*, 2024: e14164. <https://doi.org/10.1111/acer.14164>.
- [100] Robinson O, Chadeau Hyam M, Karaman I, et al. Determinants of accelerated metabolomic and epigenetic aging in a UK cohort[J]. *Aging Cell*, 2020, 19(6):e13149. DOI:10.1111/acer.13149.
- [101] Zhang L, Mo SB, Zhu XR, et al. Global metabolomics revealed deviations from the metabolic aging clock in colorectal cancer patients[J]. *Theranostics*, 2024, 14(4): 1602-1614. DOI:10.7150/thno.87303.
- [102] Wang T, Maden SK, Luebeck GE, et al. Dysfunctional epigenetic aging of the normal colon and colorectal cancer risk[J]. *Clin Epigenetics*, 2020, 12(1): 5. DOI: 10.1186/s13148-019-0801-3.
- [103] Nie C, Li Y, Li R, et al. Distinct biological ages of organs and systems identified from a multi-omics study[J]. *Cell Rep*, 2022, 38(10): 110459. DOI: 10.1016/j. celrep. 2022. 110459.
- [104] Li JM, Xiong MZ, Fu XH, et al. Determining a multimodal aging clock in a cohort of Chinese women[J]. *Med*, 2023, 4(11):825-848.e13. DOI:10.1016/j.medj.2023.06.010.
- [105] Griffin PT, Kane AE, Trapp A, et al. TIME-seq reduces time and cost of DNA methylation measurement for epigenetic clock construction[J]. *Nat Aging*, 2024, 4(2):261-274. DOI: 10.1038/s43587-023-00555-2.
- [106] Moqri M, Herzog C, Poganik JR, et al. Biomarkers of aging for the identification and evaluation of longevity interventions[J]. *Cell*, 2023, 186(18): 3758-3775. DOI: 10.1016/j.cell.2023.08.003.
- [107] Lee J, Burkett BJ, Min HK, et al. Deep learning-based brain age prediction in normal aging and dementia[J]. *Nat Aging*, 2022, 2(5): 412-424. DOI: 10.1038/s43587-022-00219-7.
- [108] Leonardsen EH, Peng H, Kaufmann T, et al. Deep neural networks learn general and clinically relevant representations of the ageing brain[J]. *Neuroimage*, 2022, 256:119210. DOI:10.1016/j.neuroimage.2022.119210.
- [109] Georgievskaya A, Tlyachev T, Kiselev K, et al. Predicting human chronological age via AI analysis of dorsal hand versus facial images:a study in a cohort of Indian females [J]. *Exp Dermatol*, 2024, 33(3): e15045. DOI: 10.1111/exd.15045.
- [110] Han SF, Guo YL, Zhou XY, et al. A Chinese face dataset with dynamic expressions and diverse ages synthesized by deep learning[J]. *Sci Data*, 2023, 10(1):878. DOI:10.1038/s41597-023-02701-2.
- [111] Trapp A, Kerepesi C, Gladyshev VN. Profiling epigenetic age in single cells[J]. *Nat Aging*, 2021, 1(12):1189-1201. DOI:10.1038/s43587-021-00134-3.
- [112] Tao WY, Yu ZQ, Han JD. Single-cell senescence identification reveals senescence heterogeneity, trajectory, and modulators[J]. *Cell Metab*, 2024, 36(5): 1126-1143.e5. DOI:10.1016/j.cmet.2024.03.009.
- [113] Rutledge J, Oh H, Wyss-Coray T. Measuring biological age using omics data[J]. *Nat Rev Genet*, 2022, 23(12): 715-727. DOI:10.1038/s41576-022-00511-7.
- [114] Aging Atlas Consortium. Aging atlas: a multi-omics database for aging biology[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1):D825-830. DOI:10.1093/nar/gkaa894.
- [115] de Magalhães JP. Distinguishing between driver and passenger mechanisms of aging[J]. *Nat Genet*, 2024, 56(2):204-211. DOI:10.1038/s41588-023-01627-0.
- [116] Collins GS, Reitsma JB, Altman DG, et al. Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis (TRIPOD):the TRIPOD statement[J]. *BMJ*, 2015, 350: g7594. DOI: 10.1136/bmj. g7594.