文章编号:1000-5854(2026)04-0349-15

细胞水平体外衰老模型的构建策略与研究进展

刘建玲[1]， 李 双[2]， 李 京[1]， 张佳燚[2]， 孙璐瑶[2]， 程 宇[2]

(1.广西科学院 大健康研究所,广西 南宁 530012; 2.河北师范大学 生命科学学院,河北 石家庄 050024)

摘 要:随着科技进步,人类寿命延长,衰老相关问题备受关注.衰老作为现代医学面临的重大挑战,是由细胞衰老、基因组变异、端粒缩短、线粒体功能障碍等多因素驱动的复杂过程,与心血管疾病、癌症、阿尔茨海默病等多种老年疾病密切相关.其中,细胞衰老通过产生衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype,SASP)破坏组织稳态,被视为衰老及年龄相关疾病的关键驱动因素.体外衰老模型的构建对揭示衰老机制及开发干预策略具有重要意义.根据诱导因素,衰老可分为 4 大核心类型:复制性衰老(replicative senescence,RS)、癌基因性衰老(oncogene-induced senescence,OIS)、应激诱导早衰(stress-induced premature senescence,SIPS)和治疗诱导衰老(treatment induced senescence,TIS).由于其关键机制尚不明确,且人类受试者研究受限(伦理、技术),建立可靠的衰老模型至关重要,而体外模型通过模拟细胞衰老过程,为剖析衰老机制、评估抗衰老疗法提供了可靠途径,有助于推动衰老相关疾病的干预研究.笔者聚焦多种体外衰老模型构建方法(辐射、药物作用、线粒体损伤、三维培养、器官芯片以及微生理系统和人工智能应用等),体现衰老的重要特征,以期为衰老研究提供新视角.

关键词:衰老; 体外; 衰老模型

中图分类号:Q 255 **文献标志码**:A **DOI**:10.13763/j.cnki.jhebnu.nse.202604010

Strategies and research advances in constructing in vitro senescence models at the cellular level

Liu Jianling[1], Li Shuang[2], Li Jing[1], Zhang Jiayi[2], Sun Luyao[2], Cheng Yu[2]

(1.Institute of Grand Health,Guangxi Academy of Sciences,Nanning Guangxi 530012,China;
2.College of Life Sciences,Hebei Normal University,Shijiazhuang Hebei 050024,China)

Abstract: With the advancement of technology and the extension of human lifespan, aging-related issues have attracted significant attention. As a major challenge in modern medicine, aging is a complex process driven by multiple factors such as cellular senescence, genomic variation, telomere shortening, mitochondrial dysfunction, etc., and is closely associated with various age-related diseases including cardiovascular diseases, cancer, and Alzheimer's disease. Among these, cellular senescence disrupts tissue homeostasis by producing the senescence-associated secretory phenotype (SASP), and is regarded as a key driver of aging and age-related diseases. The construction of in vitro aging models is of great significance for revealing the mechanisms of aging and developing intervention strategies. According to the inducing factors, aging can be divided into four core types: replicative senescence (RS), oncogene-induced senescence (OIS), stress-induced premature senescence (SIPS), and treatment-induced senescence (TIS). Due to the un-

收稿日期:2025-06-18; **修回日期**:2025-09-02

基金项目:国家自然科学基金(82460763); 河北省自然科学基金(B2023205010); 广西科学院改革发展专项项目(2024YGFZ505-908)

作者简介:刘建玲(1973-),女,河北张家口人,博士,副主任医师,研究方向为干细胞与衰老.

共同第一作者:李 双(1994-),女,河北涿鹿人,博士研究生,研究方向为生物化学与分子生物学.

通信作者:刘建玲(1973-),女,副主任医师,硕士生导师,研究方向为干细胞与衰老.E-mail:602570864@qq.com

clear key mechanisms and the limitations of research on human subjects(ethical and technical constraints),establishing reliable aging models is crucial. In vitro models, by simulating the process of cellular senescence,provide a reliable approach for dissecting aging mechanisms and evaluating anti-aging therapies, thereby facilitating research into interventions for aging-related diseases. This review focuses on various methods for constructing in vitro senescence models (including radiation, drug action, mitochondrial damage,three-dimensional culture,organ-on-a-chip and microphysiological systems,and application of artificial intelligence,etc.),illustrating the critical features of senescence,with the aim of providing new perspectives for aging research.

Key words:aging; in vitro; aging models

人类的寿命随着科技的进步而增长,但与衰老有关的一系列问题也随之出现.延缓衰老、减少老年疾病已成为医学界和生物界的热门话题.衰老是一个复杂的过程,是现代医学面临的最大挑战之一[1].它会增加个体的死亡率,削弱人体的免疫力,严重时甚至会危及生命.衰老由多个因素共同驱动,包括细胞衰老、基因组变异、表观遗传改变、端粒缩短、蛋白质稳态丧失、营养感应变化、线粒体功能障碍、干细胞活力下降,以及细胞间通讯的崩溃(图 1)[2].在衰老过程中,组织功能会逐渐恶化.衰老使人更容易受到环境挑战的影响,是众多疾病的危险因素,其中包括心血管疾病、癌症、糖尿病、阿尔茨海默病以及器官纤维化[3].在这些标志中,细胞衰老直接被认为是衰老和年龄相关疾病的关键驱动因素[4].当细胞衰老时,其增殖和复制停止[5],导致稳定的细胞周期停滞[6].衰老细胞开始产生促炎因子(肿瘤坏死因子 α、白细胞介素-1α 和白细胞介素-6)和基质降解分子(基质金属蛋白酶),构成衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype,SASP)[7].而 SASP 构成了细胞衰老的独特表型,可产生各种分泌蛋白、细胞因子、趋化因子、生长因子和蛋白酶,这种表型会引发继发性衰老并破坏组织稳态,最终导致组织修复和再生能力的丧失[8].衰老细胞的特征是形态变化、染色质重组、线粒体功能障碍和基因表达改变.目前已知有多种诱导细胞衰老的方式,主要包括因细胞反复增殖后,端粒不断磨损所引发的细胞衰老、由亚毒性剂量的外源性或内源性刺激(表观遗传发生变化、照射(辐射)、药物作用以及线粒体损伤)所导致的细胞衰老等[5,8].

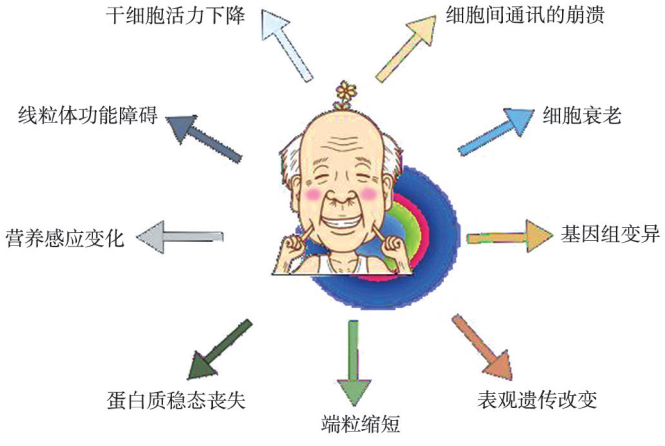


图 1　影响衰老的因素

Fig.1　Factors influencing aging

1　体外衰老模型

细胞衰老是一种自然现象,可以被视为一种自我防御机制[9].当某些细胞变得异常时,便可能会经历衰老,作为一种自我牺牲机制来保持整体健康.但是随着生物体年龄的增长、免疫功能衰退或长期损伤会阻碍衰老细胞的迅速清除,衰老细胞的产生和清除会发生不平衡,导致在体内积累.这些衰老细胞的积累不仅导致纤维化,损害相关组织和器官的正常功能,还导致 SASP 的分泌,从而损害邻近细胞并促进其他衰老细胞的产生[10].大量研究表明,衰老细胞的积累不仅加速器官的衰老过程和功能退化,还会导致各种慢性疾病的

发生:动脉粥样硬化(内皮细胞衰老)、2 型糖尿病(胰岛 β 细胞衰老)、阿尔茨海默症(星形胶质细胞衰老)、骨质疏松症(细胞衰老)等(图 2)[11].衰老细胞异质性的源于衰老细胞对衰老细胞裂解药物呈现出的不同易感性.然而,所有衰老细胞裂解类药物对不同衰老细胞群的疗效存在差异.例如,达沙替尼在清除衰老前脂肪细胞方面效果最佳,槲皮素则更易靶向作用于内皮细胞;漆黄素可杀伤衰老成纤维细胞和内皮细胞,但对衰老前的脂肪细胞的作用有限[12].即便如此,在单细胞水平上,衰老细胞裂解药物在体内究竟靶向哪些细胞群体,目前仍普遍缺乏确切的认知,这限制了它们在更广泛的病理背景下的实用性.为此,可靠的体外衰老模型对于揭示细胞衰老类型及开发干预策略具有重要意义.

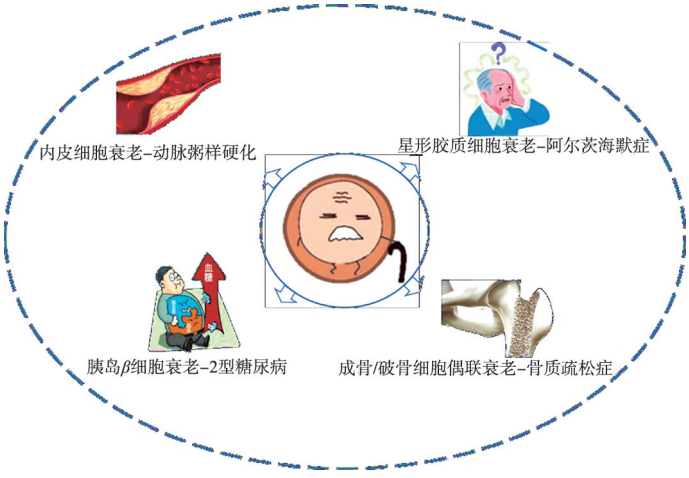


图 2　衰老细胞所导致的慢性疾病

Fig.2　Chronic diseases caused by senescent cells

2　衰老的核心类型

从胚胎发育起始至生命晚期,人类细胞持续暴露于多种信号传导与应激刺激.其中诸多因素可诱导衰老表型,使细胞进入不可逆的生长停滞状态,这一过程与机体衰老进程密切相关.事实上,体内清除衰老细胞可延长健康寿命.根据初始触发因素,衰老反应可分为多种类型:如端粒损耗引发的复制性衰老(replicative senescence,RS)、癌基因激活诱导的癌基因性衰老(oncogene-induced senescence,OIS)、氧化应激导致的应激诱导衰老(stress-induced premature senescence,SIPS),以及放化疗后脱氧核糖核酸(deoxyribo nucleic acid,DNA)损伤引发的治疗诱导衰老(treatment induced senescence,TIS)(图 3).尽管不同类型衰老对应独特的基因表达程序,但其最终均收敛于细胞周期调控与转录重塑相关的共性转录特征[13-14].

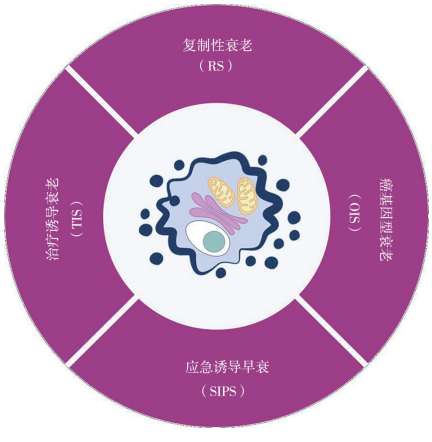


图 3　衰老反应的各种类型

Fig.3　Various types of senescence responses

2.1 复制性衰老(RS)

RS 最初由 Hayflick 和 Moorhead[15]在人类成纤维细胞中发现(1961 年),指细胞在经历多次群体倍增后出现的增殖停滞现象,伴随细胞结构与功能的不可逆改变.从定义上看,复制性衰老可描述为细胞经重复分裂周期后最终进入不可逆的增殖停滞状态,并伴随显著端粒缩短的现象.作为衰老的核心生物学标志物,衰老细胞已被证实参与多种生理与病理过程,包括但不限于伤口愈合、纤维化、糖尿病等[16-17].端粒是线性染色体末端的基因组结构.脊椎动物端粒 DNA 由 TTAGGG 重复序列与一组蛋白质结合构成,这些蛋白质调控其生物学功能并防止其被识别为 DNA 损伤而触发 DNA 损伤反应(DNA damage response,DDR).由于标准 DNA 聚合酶在缺乏端粒酶(一种不依赖 DNA 模板的 DNA 聚合酶)的情况下无法完全复制线性 DNA 模板,加之核酸外切酶的加工作用,DNA 复制会导致染色体端粒逐渐缩短.当端粒缩短至临界长度时,其无法结合足够的端粒加帽蛋白,暴露的 DNA 末端会被感知[18],进而激活 DDR 通路,通过诱导细胞周期抑制剂 p21 和 p16 来阻断细胞增殖[19].值得注意的是,这种短端粒仍保留足够数量的端粒结合蛋白,以抑制 DNA 修复并避免染色体融合,从而持续维持 DNA 损伤信号,促使细胞进入永久性 DNA 损伤诱导的增殖停滞状态.这一过程会启动并维持细胞衰老,而细胞衰老正是机体衰老及多种年龄相关疾病的关键驱动因素[20].端粒酶在端粒与衰老的关系中起着至关重要的作用,端粒酶作为核糖核蛋白酶复合物,在维持端粒长度与功能中发挥关键作用,其主要功能是抵消 DNA 复制过程中产生的端粒缩短.该酶通过平衡基因组稳定性与复制应激,可缓解由癌基因激活、非整倍体或 DNA 损伤剂诱导的复制应激反应[18,21].

2.2 癌基因性衰老(OIS)

癌基因诱导衰老由 Serrano 等[22]首次报道,其作为一种复杂的细胞程序,通过建立持续性增殖停滞状态来抑制恶性转化.OIS 是通过激活 *RAS*、*RAF* 和 *BRAF* 等癌基因发生的[23].衰老细胞表现出一系列特征性改变,包括形态学重塑、染色质结构重排、衰老相关 β-半乳糖苷酶(SA-β-gal)活性升高,以及特征明确的 SASP[6,24].SASP 是一种独特的促炎分泌组,由多种白细胞介素和细胞因子组成,可通过环境依赖性方式影响周围细胞.尽管 SASP 一方面通过自分泌和旁分泌途径强化衰老进程,但其持续性存在可能诱发促肿瘤效应,并参与多种衰老相关病理过程的发生发展[25].线粒体是衰老细胞分泌多种促炎因子的必要条件.抑制脂肪酸氧化、线粒体生物发生或线粒体融合等分解代谢途径,可减少包括 SASP 在内的多种衰老标志物.鉴于线粒体功能的多样性,“线粒体功能障碍”这一术语已被用于阐释不同类型的改变[26].例如,多项研究报道了衰老进程中的线粒体功能异常,观察到 AMP 活化蛋白激酶活性升高、线粒体活性氧(reactive oxygen species,ROS)水平及线粒体膜电位降低[27].然而在 OIS 中,线粒体分解代谢显著增强,涉及电子传递链、丙酮酸脱氢酶、β-氧化及 NAD^+ 补救合成途径[28].

2.3 应激诱导早衰(SIPS)

20 世纪末,Toussaint 等[29]的研究数据显示,多种非致死性应激因素可加速细胞衰老进程,并首次提出了基于氧化应激原理的 SIPS.SIPS 的特点是氧化应激增加和广泛的细胞损伤[30].大量研究表明,成纤维细胞、角质形成细胞、黑素细胞及脐血管内皮细胞在慢性或急性氧化应激条件下(涵盖亚致死性应激因素如紫外线、高氧、缺氧、过氧化氢(hydrogen peroxide,H_2O_2)、乙醇、博来霉素及丝裂霉素 C 等)均会发生应激响应.过度应激所致的细胞过早衰老,会促使衰老样细胞异常积聚,进而对细胞功能、组织修复能力以及衰老相关疾病的发生发展产生影响[29,31].在氧化分子损伤的介导下,SIPS 会激活 DDR 机制,最终导致细胞增殖停滞,并促使衰老标志物(尤其是衰老相关 β-半乳糖苷酶、p16、p21 和 8-羟基-2′-脱氧鸟苷)的表达增加[21,32].与细胞时序性衰老不同,这些事件的发生不伴随端粒缩短,这使得 SIPS 可与 RS 区分开来[33].

2.4 治疗诱导衰老(TIS)

在放疗或化疗所致的遗传毒性应激作用下,细胞未走向死亡而是进入持续性衰老样停滞状态,这一现象被称为 TIS[34].对 TIS 的首次观察可追溯至 1999 年,彼时 Chang 等[35]报道了多种化疗药物与电离辐射可诱导人肿瘤细胞系发生形态学和生化改变,这些改变与正常细胞中观察到的复制性衰老特征相似,但 2 者的衰老诱导时间尺度存在显著差异:人类细胞的 RS 需在体外经历多次群体倍增,而 TIS 可通过短期暴露于抗癌药物或辐射快速诱导.

2.4.1 放 疗

与具有全身效应的促衰老化疗不同,放疗采用肿瘤局部照射的方式,从而减少对非癌组织的损伤.与化疗相似,放射治疗的部分免疫刺激效应会被正常细胞中的脱靶效应所抵消.辐射诱导的免疫衰老可抑制有效的免疫应答[36],而清除衰老免疫细胞能够恢复 T 细胞增殖能力及巨噬细胞吞噬活性[37].此外,正常组织经放疗后持续存在的衰老状态会引发慢性炎症、纤维化及组织功能障碍,呈现出类似加速衰老的特征[38].因此,为优化治疗效果,研发更特异性靶向肿瘤细胞衰老的疗法具有重要意义.

2.4.2 化 疗

化疗可触发细胞凋亡或衰老,具体取决于化疗药物的剂量和作用机制.由于化疗药物的全身性给药特性,其可诱导基质细胞及正常组织发生衰老,进而引发局部与全身炎症反应,最终导致化疗毒性加剧、机体衰老进程加速,以及肿瘤复发和转移风险升高[39].促进细胞衰老的化疗药物类别包括以下几项.1) DNA 合成抑制剂:通过导致复制叉停滞和 DNA 损伤发挥作用(如吉西他滨、5-氟尿嘧啶、甲氨蝶呤);2) 拓扑异构酶抑制剂:可阻止超螺旋解旋后的 DNA 重连接,引发单链及双链 DNA 断裂(如阿霉素、依托泊苷、米托蒽醌);3) 铂类化合物与烷化剂:通过诱导 DNA 交联产生广泛的遗传毒性损伤(如顺铂、环磷酰胺、美法仑);4) 微管抑制剂:在细胞中期向后期转换过程中干扰微管纺锤体组装,激活有丝分裂检查点(如多西他赛、紫杉醇)[40].

目前,体外完全诱导衰老表型的最佳时间窗及实验分析的时间尺度仍存在争议,单纯的药物诱导细胞周期停滞尚不足以界定为衰老表型,需通过实验探索合适的细胞培养条件以明确诱导衰老表型,避免体外研究中出现不完全衰老.

3 传统衰老模型

关于衰老的关键机制研究较少.因此为了深入探究衰老机制并寻找有效的干预策略,建立可靠的衰老模型至关重要.合适的衰老模型有助于剖析衰老进程,评估潜在的抗衰老疗法.由于对人类受试者的研究受到伦理、技术和法律问题的限制,因此,在大多数情况下,在对人类进行临床试验之前,会在非人类物种(哺乳动物和非哺乳动物物种)进行体内衰老和衰老过程的研究[41].体内实验需要考虑对使用动物模型时动物福利、成本、有效性、处理难易程度和结果适用性的担忧,因此选择合适的体外模型来研究疾病潜在发病机制是必要的.体外衰老模型是指在生物体外环境中构建的衰老模型,是在体外使用细胞模拟衰老过程来研究衰老的分子机制以及衰老相关疾病.本文主要通过介绍体外衰老模型的构建旨在为衰老研究提供全面的参考(表 1).

表 1 体外衰老模型构建方法的优劣

Tab.1 Advantages and disadvantages of methods for establishing in vitro aging models

构建衰老模型	优势	劣势
诱导性多能干细胞	易培养, 永生特性.	细胞生长缓慢, 具有有丝分裂特性.
间充质干细胞	大规模研究、开发和应用.	较难进行深度研究.
电离辐射	实验周期相对较短, 实验条件可以精确控制.	辐射剂量和照射方式等 因素对模型的影响较大.
化学药物	节省研究时间操作简单.	严格控制药物浓度和处理时间.
线粒体功能障碍	直接构建与线粒体功能障碍相关的衰老模型.	处理较繁琐.
三维培养 (三维细胞、类器官)	更好模拟体内组织和器官中的细胞相互作用.	生成速度相对较慢, 亟待开发新技术.
器官芯片与微生理系统	保真地模拟人体组织,更好地了解复杂的生物系统和疾病机制,以及测试药物疗效和毒性.	现有研究大多局限于单一组织或器官水平.
人工智能应用 与组学技术	能够对分子、细胞及组织在不同生理病理 状态下的动态行为进行系统性表征与模拟.	伦理考量、数据隐私保护及监管 框架构的规范亟需攻克.
动态建模	提供了动态理论框架.	复杂性,操作难度高.

3.1 干细胞衰老模型

3.1.1 诱导多能干细胞衰老模型

目前,诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells,iPSCs)作为细胞衰老模型主要是通过诱导iPSCs 衍生衰老细胞、来自患有衰老相关疾病患者的 iPSCs 和早衰综合征 iPSCs 构建[42].长期进行 iPSCs 细胞的培养,增多传代次数,可以产生部分衰老的表型,导致了衰老相关标志物的出现,包括细胞增殖减少、DNA 损伤、ROS 生成增加、衰老相关基因和蛋白质高表达等[43-45].iPSCs 若携带与年龄相关疾病中出现的基因突变,便有可能为调控衰老的机制提供极具价值的信息.研究表明,源于终末期肥厚型心肌病或扩张型心肌病患者的 iPSCs 衍生心肌细胞,其衰老速度相较于其他 iPSCs 衍生的心肌细胞更快,而这一现象通过显著缩短的端粒得以证明[46].人类早衰综合征能够帮助研究者更加深入地理解在自然衰老进程中,控制生物衰老的相关机制.因此从患有早衰综合征的患者体内获取 iPSCs 可以提供一种独特的方法来研究衰老细胞以及细胞如何衰老[42].该模型也可以被用作筛选平台,用于评估可能与病理衰老和实际衰老相关的药物化合物的作用机制及其产生的影响[47].早老素诱导的 iPSCs 衍生多巴胺能神经元衰老样表型会导致一些多巴胺能神经元特异性的衰老相关表型,包括神经黑色素的积累、移植神经元中酪氨酸羟化酶表达的进行性丧失,以及体外实验中明显的树突退化表型,可以模拟神经元衰老的多个方面[48].

一旦 iPSCs 相关衰老细胞系建立,它便基本具备永生特性,可提供近乎永久的细胞来源.而且 iPSCs 适合运用基于 CRISPR 技术进行基因工程操作,从而生成对照的细胞模型[49].然而,所有 CRISPR 相关技术(Cas9、Prime 编辑、单碱基编辑等)均高度依赖细胞自身的 DNA 损伤修复机制,经过 CRISPR 相关技术编辑后会造成细胞生长迟缓并伴随异常有丝分裂,使 iPSC 衰老模型产生非生理状态的衰老表型.因此,此类模型与人体自然衰老进程的直接生物学关联性有限,其作为年龄相关疾病危险因素研究模型的参考价值也相应受限[50].

3.1.2 间充质干细胞衰老模型

基于间充质干细胞(mesenchymal stem cell,MSC)的治疗策略是再生医学领域的核心基础.MSC 所具备的独特优势包括:在多种组织中(如脐带、脂肪、骨髓等)具有较高的可获得性;具备自我更新与增殖能力;能够定向分化为多种终末细胞谱系[51].在临床应用场景中,获取大量均质化的细胞至关重要,而 MSC 的体外规模化培养可实现这一目标.这一过程通常需要对 MSC 进行反复传代操作.与其他细胞类似,MSC 衰老状态的激活会改变其形态和功能特征.观察到存在不可逆的细胞周期停滞;平均细胞大小、颗粒度和活性氧水平增加,包括阴离子超氧化物;细胞器形态和活性的改变;特异性基因表达;异染色质病灶的外观;以及细胞衰老的许多其他标志[52-53].Ren 等[54]开发了 STGF R-CNN 模型来检测 MSC 的衰老,STGF R-CNN 模型提供了一种替代的、侵入性更小且更准确的方法来量化 MSC 的衰老程度,这有助于促进 MSC 衰老评估和定量分析过程的标准化.同时,降低了 MSC 的培养成本,促进了 MSC 的大规模研究、开发和应用.在很大程度上避免了与传统衰老评估方法相关的问题.但是,深度研究也有一些局限性.由于细胞衰老是一个动态过程,因此它与细胞形态的逐渐变化有关,而不是突然的变化.因此,仅根据细胞面积和形状测量细胞衰老将导致一定的误差.骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cell,BMSC)会随着年龄的增长而发生成骨不足或脂肪过多的问题,最终导致老年性骨质疏松症的骨密度降低和骨折风险增加.Wang 等[55]采用明胶法制备了 PLGA-FT-LPKD/LPB 复合支架,并与 BMSC 进行体外三维(three-dimensional,3D)共培养.纳米水凝胶支架凭借 3D 打印构建的复杂结构提供空间力学支撑,该组合在多阶段组织高效再生领域展现出良好的应用前景与长期生物安全性.然而,纳米水凝胶支架仍面临一些限制,例如无法进行末端湿热灭菌,复杂的制备过程限制了其工业规模生产.

3.2 电离辐射衰老模型

众所周知,皮肤老化是衰老最常见的表现.除了与年龄相关的细胞修复能力下降引起的生理衰老外,阳光中的紫外线(ultraviolet,UV)也会导致皮肤老化[56].皮肤光老化不仅影响外表,还会给患者带来心理负担,影响正常工作和社交互动,甚至会导致皮肤癌等疾病的发生[57].UV 辐射是光老化的主要原因,可诱发 DNA 损伤、氧化应激和细胞衰老[58].Chen 等[59]构建人包皮成纤维细胞体外衰老模型时,先将细胞培养至 50% 融合度,随后培养在磷酸盐缓冲盐水(phosphate buffered saline,PBS)环境中,每天以 5 J/cm^2 的 UVA

剂量连续照射 3 a 即可.Liu 等[60]使用 SH2B 紫外线辐射计产生的 60 J/cm^{2}的中波 UVB 照射 HaCaT 细胞(角质形成细胞),随后在含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基恢复培养 24 h,成功诱导皮肤体外衰老模型.Frediani 等[61]构建了 SIPS 模型,主要将接近衰老前期的正常人皮肤成纤维细胞培养物(其中增殖细胞>70%,衰老相关 β-半乳糖苷酶阳性细胞<10%)接种,培养至细胞汇合,然后使用 Gamma Cell 1000 辐照仪,通过 137Cs 以 146 Gy/h 的剂量率进行 γ 射线照射构建模型.

辐射暴露,特别是电离辐射,会增加 ROS 的产生和 DNA 损伤.暴露于电离辐射可通过各种机制诱导细胞衰老[62].通过该体外模型可以研究电离辐射如何引起细胞和机体的衰老,包括 DNA 损伤修复、氧化应激等方面的变化,有助于深入了解衰老的发生机制.与自然衰老相比,实验周期相对较短,而且实验条件可以精确控制,但是辐射剂量和照射方式等因素对模型的影响较大,需要进行优化和标准化.

3.3 化学药物衰老模型

阿霉素(doxorubicin,DOX)作为一种蒽环类药物具有嵌入 DNA 双链体的能力,破坏 DNA 的复制与转录,造成 DNA 损伤,促使细胞周期停滞,进而诱导细胞衰老[63].MCF-7 细胞在完全培养基中用 50 nmol/L DOX 处理 24 h,处理后在无药物的培养基中孵育 72 h 进行稳定,可以维持衰老的表型,从而完成 DOX 诱导体外衰老模型的构建[64].将人心肌细胞 AC16 细胞维持在含有 10%胎牛血清的 DMEM 培养基中,使用 1.25、2.5、5 μmol/L 不同浓度的 DOX 处理 AC16 细胞 24 h,可有助于氧化应激和细胞衰老模型的成功构建[65].

博来霉素(bleomycin,BLM)是最常用的硬化剂之一,能产生多种生化效应,包括诱导细胞周期阻滞在 G2/M 期、引发细胞凋亡以及促使细胞核糖核酸(ribonucleic acid,RNA)降解.BLM 已被用于构建一些严重的衰老相关疾病模型,如肺纤维化和真皮纤维化[66-67].研究人员将培养的人血管平滑肌细胞在含有 50 μmol/L BLM 的生长培养基中培养 3 h 从而成功构建衰老模型,导致 DNA 甲基化[68].

H_2O_2 也是重要的衰老诱导因子,因为 ROS 暴露引起的氧化应激会造成损伤[69].将不同浓度(0.05~2 mmol/L)的 H_2O_2 添加到髓核细胞中后,ROS 水平、SA-β-半乳糖苷酶活性、p53、p21 和 p16 蛋白表达以及促炎细胞因子的基因表达均呈剂量依赖性增加,同时细胞活力和增殖能力呈剂量依赖性下降[70].然而,H_2O_2 处理会产生一种短期衰老表型,该表型会在数天内导致细胞快速凋亡和死亡,且更容易触发细胞凋亡而非细胞衰老.

化学药物构建体外衰老模型,只需在细胞培养过程中加入特定化学药物,无需复杂设备与技术,节省研究时间;但是需要把控不同浓度以及细胞的挑选.化学药物除诱导衰老外,还可能影响细胞其他生理功能,干扰实验结果,需严格控制药物浓度和处理时间[71].

3.4 线粒体功能障碍衰老模型

衰老的主要特征之一是线粒体功能障碍,这也是衰老的重要触发因素[72].在衰老进程中,线粒体功能因 mtDNA 突变积累、蛋白质稳态缺陷(呼吸链复合物不稳定)、细胞器更新减少及线粒体动力学变化等交织机制而恶化.这不仅损害了线粒体对细胞生物能量学的贡献、增强 ROS 产生,还可能触发线粒体膜意外透化,最终引发炎症与细胞死亡.因此,维持健康是线粒体主要功能之一,其功能渐衰会致使表型衰老[73].线粒体功能障碍可导致细胞周期产生不可逆的停滞状态,进而诱导 SASP 的形成[74].SASP 包含促炎细胞因子、趋化因子、生物活性脂质以及损伤相关分子模式等成分,这些组分能够对组织微环境造成破坏,最终引发各类与衰老相关的病症以及组织功能障碍[75].为了诱导细胞衰老,将永生化的正常小鼠肝细胞系(AML12)暴露于 20 g/L d-gal 中 48 h 或暴露于 100 μmol/L H_2O_2 中 2 h 后,在正常培养基中培养 2 d,会导致线粒体呼吸功能受损、细胞内和线粒体 ROS 生成增加、以及线粒体膜结构受损,从而构建了与线粒体功能障碍相关的衰老模型[76].苯乙酰谷氨酰胺(phenylacetylglutamine,PAGln)是一种与肠道微生物群相关的代谢物,可驱动宿主细胞衰老;而 PAGln 通过肾上腺素受体 ADR-AMP 活化蛋白激酶信号传导,诱导线粒体功能障碍和 DNA 损伤.将融合度为 25%的细胞用 PAGln 处理 24 h,或者根据需要处理 14~28 d.当细胞达到 80% 融合度时,以 1∶4 的比例进行传代,并接种到新的培养板中进行进一步研究,可以成功诱导体外衰老表型[77].Kim 等[78]研究表明衰老细胞内高水平的 ROS 可作为形成二硫键的化学燃料,含芳基二硫醇的肽段仅在衰老明细胞的线粒体内发生细胞内寡聚化.这种寡聚化形成具有稳定 α-螺旋二级结构的类人工蛋白纳米组装

体，可通过多价相互作用破坏线粒体膜，这种线粒体内寡聚化系统能够选择性诱导衰老细胞凋亡，而对正常细胞无副作用.

4 三维衰老模型

4.1 三维细胞衰老模型

大多数与衰老相关的体外模型采用二维(two-dimensional，2D)细胞培养方式，原因在于成本低廉、操作简便、具备适用于多种生化、分子及显微复制分析的成熟细胞培养方法[12].然而，2D 培养模型存在一定局限性(与底物的相互作用、细胞迁移以及塑料培养皿的影响等)，会对细胞生理学和增殖产生影响.因此，为评估细胞间相互作用中与年龄相关的修饰，科研人员开发出 3D 细胞培养模型，以便更深入地了解器官或组织与年龄相关的生理学特性[79].众所周知，衰老细胞会通过 SASP 与白细胞介素-1α、白细胞介素-6、白细胞介素-8、肿瘤坏死因子-β、脂质介质以及细胞外囊泡等发生相互作用[80-81].含有特定细胞类型和细胞外基质(extracellular matrix，ECM)的 3D 培养模型，能够模拟复杂的微环境，有助于更好地理解细胞内通讯、生化因素对细胞活动的影响以及细胞外基质重塑.从老年小鼠中分离的高纯度骨骼肌肌源性祖细胞(myogenic progenitor cells，MPCs)可以制备 3D 肌肉衰老模型，将 MPCs 包埋于含纤维蛋白和基质胶的水凝胶混合物中，将其转移至含有 2 个固定锚的聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane，PDMS)腔室中.该模型不仅可以重现肌肉衰老的特征，还能展现出再生能力受损的情况，从而模拟随年龄增长而出现的机能衰退[82].

4.2 类器官衰老模型

类器官技术起源于 2009 年，是 3D 体外培养的微器官模型，能够自我组装，再现自然组织的结构和功能，能模拟器官的多种特征，如结构和细胞组成[83-84].近年来，类器官技术在生物医学研究领域引起了极大的关注.随着研究的进展，类器官为研究组织发育、疾病机制和药物筛选提供了新的方法[85].与传统的 2D 培养不同，类器官属于复杂的 3D 细胞培养系统，其来源可以是从多能干细胞分化而来的祖细胞，在基因和蛋白质表达、代谢功能和微结构方面更接近自然器官[86].类器官既可以在悬浮液中培养，也能够包埋在 ECM 中.其形成依赖于由类器官起始细胞(原代细胞、组织干细胞或多能干细胞)启动的形态发生过程，在某些情形下，还依赖于可让细胞重塑的特定 ECM，而这一特性在部分组织工程器官中并不存在.这些 3D 细胞系统有望提供近乎生理状态的模型，用于研究人类衰老[87].自 1981 年，研究人员便开始运用器官型模型来探究皮肤生物学[88-89].器官型皮肤培养物(organotypic skin cultures，OSC)通常也被称作人体皮肤等效物或全层皮肤模型，一般具备真皮层以及分层适宜的表皮层.OSC 能够用于深入的衰老研究，且不存在人体试验的风险，也无需使用昂贵的动物模型.且具备长期培养稳定性，适合开展慢性研究(典型的培养时长为 8～12 周)[90].最常见的情况是，OSC 包含真皮成纤维细胞和角质形成细胞，并在气液界面进行培养，以促进表皮分化和分层.Diekmann 等[91]采用丝裂霉素-C 进行处理，诱导人真皮成纤维细胞和角质形成细胞衰老，随后将这些细胞掺入 OSC 中.相较于处于有丝分裂状态的 OSC，该衰老模型呈现出与体内老化皮肤类似的变化，具体表现为角质层(分化表皮的最外层)更为紧凑、真皮成纤维细胞数量减少、弹性蛋白表达下降等.

3D 细胞培养方法可以更好的模拟体内组织和器官中的细胞相互作用，但是也具有一定的缺点，例如水凝胶技术系统导致营养物质扩散[92].类器官模型的生成速度相对较慢，而且与 2D 细胞培养相比，目前尚不存在可靠且可重复的方法来对类器官进行规模化培养，因为目前的培养流程很复杂并且会产生可变的结果.实现更高的可重复性和标准化至关重要[93].因此，亟待开发新技术，以加快 3D 生产以及后续疾病建模的发展进程.

5 器官芯片与微生理系统衰老模型

微生理系统(microphysiological systems，MPS)，也称为器官芯片(organs-on-a-chip，OOC)，是一项尖端技术，通过利用微芯片或微流体设备来模拟人体细胞、组织或器官的功能和病理.这些模型可用于更好地了解复杂的生物系统和疾病机制，以及测试药物疗效和毒性[94].因此，MPS 为更好地了解人类疾病和生理学提供了潜力.

迄今为止，衰老研究中已采用各种模型系统，包括传统细胞培养和 3D 类器官系统等.然而，这些模型系统背负着重大的约束.它们难以忠实地复制组织和器官的复杂结构和生理复杂性，容易引发伦理问题，带来高昂的成本，以及其他限制.MPS 为衰老和人类疾病建模提供了一个可重复的高通量系统，并且有可能保真

地模拟人体组织，从而推进了衰老对人体各个部位影响的研究.Pauty 等[95]构建了一种包含人类衰老成纤维细胞与血管结构的三维体外组织芯片模型(用于模拟衰老表型的 MPS)，该模型通过在胶原基质中植入衰老或年轻成纤维细胞以重构血管微环境，系统评估衰老成纤维细胞及其所处的衰老微环境对人类血管生物学行为的调控机制.Giza 等[96]构建了一种灌注式 MPS 实验平台，该系统整合供体来源的卫星细胞及其衍生的骨骼肌束结构，旨在模拟肌肉衰老进程(如肌肉减少症病理表型)，并系统探究青年与老年个体来源的骨骼肌细胞在收缩功能上的差异性特征.哈钦森-吉尔福德早衰症(hutchinson-gilford progeria syndrome，HGPS)是由核纤层蛋白 A(lamin A)基因点突变所致的早老性疾病，该基因突变可引发心血管疾病进展加速及其他年龄相关性异常表型.Ribas 等[97]构建了“早衰芯片”系统，旨在探究生理及病理牵张条件对血管衰老进程的调控机制.

相较于传统细胞培养体系，MPS 致力于更精准复现人体器官的机械力学与生化微环境.该系统通过微制造技术在芯片设备中重构组织微环境的核心特征，构建仿生组织培养体系，从而强化对人体器官完整结构与功能的体外模拟.这一特性不仅提升了临床试验结果的预测效能，同时可显著降低研究耗时与成本投入[98].尽管目前已开发出多种用于衰老相关疾病研究的 MPS，但现有研究大多局限于单一组织或器官水平.为深化对衰老机制的系统性认知，未来研究需着力构建多器官整合的芯片模型，通过将不同组织器官系统集成于单一芯片平台，逐步实现“芯片上的人类衰老”这一前沿研究构想.

6 人工智能应用与组学技术衰老模型

细胞作为理解健康与疾病机制的核心单元，其功能与行为的建模和模拟一直是传统研究模型面临的重要挑战.人工智能(artificial intelligence，AI)与组学技术的突破性进展，为构建 AI 虚拟细胞创造了前所未有的机遇，能够对分子、细胞及组织在不同生理病理状态下的动态行为进行系统性表征与模拟[99].

BioGPT 是一种在大规模生物医学文献上预训练的语言模型，Zagirova 等[100]基于大规模生物医学文献对 BioGPT 进行预训练，并构建了一套靶点预测生成流程.该流程不仅成功从数据库中检索出具有前瞻性的衰老及年龄相关疾病靶点，还提出 CCR5 和 PTH 作为潜在的新型双功能抗衰老与疾病干预靶点.研究人员基于英国生物样本库的纵向脑成像数据与生理表型，构建了多器官衰老预测模型.该模型不仅可量化各器官系统的年龄特征，还能推算整体生物年龄，这为开发针对特定系统的疾病特异性长寿干预策略提供了理论依据.此外，模型分析显示，生物衰老进程可从原发病器官向多系统级联扩展，为建立疾病早期预警新策略提供了重要启示[101].随着人口老龄化的增长，研究人员构建了 SUNSHINE 框架，该模型被定义为个人、家庭、系统和社区在逆境中适应和蓬勃发展的能力，强调全人健康、跨学科协作以及对技术的战略运用，以应对不断变化的老龄人口需求.该框架还确定了利用基于科学证据的 AI 和机器学习技术的机会，以支持个性化的预防、治疗和护理策略.这些技术对于优化决策、改善医疗服务和提高系统灵活性至关重要[102].

AI 系统在大量数据收集、标注与分析、多模态数据集成以及复杂隐藏模式识别等方面的独特优势，有望彻底革新衰老机制研究及创新抗衰老干预策略的开发进程.尽管 AI 驱动领域已取得显著进展，但仍存在若干待解问题与挑战.其中，伦理考量、数据隐私保护及监管框架构建是亟需攻克的核心议题，这对确保 AI 在药物研发中得以负责任且合乎伦理的应用至关重要.

7 动态建模

衰老细胞在多组织微环境中呈累进性蓄积，目前已被确认为年龄相关性疾病发生发展的关键病理驱动因素.值得关注的是，通过干预手段清除衰老细胞可显著改善机体生理机能；而在胚胎发育、组织损伤修复及肿瘤监视等生理过程中，衰老细胞又发挥着不可或缺的调控作用.鉴于此，系统解析衰老调控的分子网络架构，并以此为基础开发靶向衰老的干预策略以延长健康寿命，已成为当前衰老生物学与转化医学领域的研究焦点[103].

动态衰老细胞命运的特化进程受调控基因网络(gene regulatory network，GRN)的层级调控，其中转录因子网络的层级架构决定了特化事件的时序逻辑[104].基因表达建模为预测细胞在不同内外部衰老应激条件下的表型动态提供了理论框架.随着高通量转录组学技术的发展，目前已衍生出多种 GRN 推断方法，主要包括信息论模型、贝叶斯网络、布尔网络及微分方程模型[105].值得注意的是，基因表达建模仍面临根本性挑战：GRN 的复杂性导致待推断参数维度极高，而通过实验获取足以唯一确定系数矩阵的数据集在现有技术条件

下尚不可行.

8 总结及展望

本文只综述了体外模型,体外衰老模型通常通过连续传代培养、氧化应激刺激、辐照处理及遗传毒性应激等手段在培养体系中诱导细胞衰老,但其难以完全模拟整体生物体的生理状态[8].从体内衰老研究视角来看,构建符合生理相关性的衰老诱导模型也是开发新型治疗策略的必要基础,也为深入探究衰老在衰老性疾病及代谢性疾病中的致病机制提供了关键研究工具,但是使用体内模型开展衰老研究存在固有局限性.首先,无脊椎动物模型因器官系统构造简单,难以模拟人类复杂生理环境;其次,实验动物的寿命周期及免疫系统构成与人类存在显著种属差异;再次,动物模型中年龄相关疾病的病理表型无法完全复刻人类疾病特征.上述因素导致通过动物模型仅能部分推断疾病病理过程与衰老机制的交互作用[42].但是随着社会的进步,从 2D 到 3D 体外模型的构建技术也在不断改进,同样可以更全面理解衰老过程,并改进促进健康老龄化的策略开发.

体外模型能够提供关于细胞-细胞相互作用、细胞-细胞外基质相互作用、表面受体表达,以及蛋白质和生长因子合成等方面的信息.此外,复杂的体外模型不仅可用于收集有关安全性和细胞相容性的初步数据,还能用于获取新开发的材料、医疗设备或疗法在生物活性和治疗效果方面的初步数据[106].目前,许多衰老研究使用永生化细胞系,不能完全代表原代细胞的衰老过程,需要频繁地使用原代细胞从而提供有关衰老机制的相关见解[70].当前体外衰老模型构建方法的优劣见表 1.因此体外模型可用于对照实验和初步见解,对于理解人类特异性衰老过程和干预措施至关重要.

参考文献:

[1] Popescu I,Deelen J,Illario M,et al.Challenges in anti-aging medicine-trends in biomarker discovery and therapeutic interventions for a healthy lifespan[J].Journal of Cellular and Molecular Medicine,2023,27(18):2643-2650.DOI:10.1111/jcmm.17912.

[2] 李静宜,范艳玲,黄皓琰,等.衰老机制与干预研究进展[J].科技导报,2024,42(22):6-14.DOI:10.3981/j.issn.1000-7857.2024.04.00427.
Li Jingyi,Fan Yanling,Huang Haoyan,et al.Research status and prospect of aging mechanism and intervention[J].Science & Technology Review,2024,42(22):6-14.

[3] Parimon T,Hohmann M S,Yao C F.Cellular senescence:pathogenic mechanisms in lung fibrosis[J].International Journal of Molecular Sciences,2021,22(12):6214.DOI:10.3390/ijms22126214.

[4] Zhang L,Pitcher L E,Yousefzadeh M J,et al.Cellular senescence:a key therapeutic target in aging and diseases[J].Journal of Clinical Investigation,2022,132(15):e158450.DOI:10.1172/jci158450.

[5] 苏建飞,董莹,臧奕,等.糖酵解在血管内皮细胞衰老中的作用机制[J].中国细胞生物学学报,2024,46(5):991-999.DOI:10.11844/cjcb.2024.05.0012.
Su Jianfei,Dong Ying,Zang Yi,et al.The mechanism of glycolysis in the senescent of vascular endothelial cells[J].Chinese Journal of Cell Biology,2024,46(5):991-999.

[6] Gorgoulis V,Adams P D,Alimonti A,et al.Cellular senescence:defining a path forward[J].Cell,2019,179(4):813-827.DOI:10.1016/j.cell.2019.10.005.

[7] He S H,Sharpless N E.Senescence in health and disease[J].Cell,2017,169(6):1000-1011.DOI:10.1016/j.cell.2017.05.015.

[8] Muthamil S,Kim H Y,Jang H J,et al.Biomarkers of cellular senescence and aging:current state-of-the-art,challenges and future perspectives[J].Advanced Biology,2024,8(9):2400079.DOI:10.1002/adbi.202400079.

[9] Varela-Eirín M,Demaria M.Cellular senescence[J].Current Biology,2022,32(10):R448-R452.DOI:10.1016/j.cub.2022.04.003.

[10] Sun H F,Xia T Y,Ma S T,et al.Intercellular communication is crucial in the regulation of healthy aging via exosomes[J].Pharmacological Research,2025,212:107591.DOI:10.1016/j.phrs.2025.107591.

[11] Chaib S,Tchkonia T,Kirkland J L.Cellular senescence and senolytics:the path to the clinic[J].Nature Medicine,2022,28(8):1556-1568.DOI:10.1038/s41591-022-01923-y.

[12] Cohn R L, Gasek N S, Kuchel G A, et al. The heterogeneity of cellular senescence: insights at the single-cell level[J]. Trends in Cell Biology, 2023, 33(1): 9-17. DOI: 10.1016/j.tcb.2022.04.011.

[13] Palikyras S, Sofiadis K, Stavropoulou A, et al. Rapid and synchronous chemical induction of replicative-like senescence via a small molecule inhibitor[J]. Aging Cell, 2024, 23(4): e14083. DOI: 10.1111/acel.14083.

[14] Foutadakis S, Soureas K, Roupakia E, et al. Identification of oncogene-induced senescence-associated microRNAs[M]// Oncogene-induced senescence: methods and protocols. New York, NY: Springer, 2025: 189-213.

[15] Hayflick L, Moorhead P S. The serial cultivation of human diploid cell strains[J]. Experimental Cell Research, 1961, 25(3): 585-621. DOI: 10.1016/0014-4827(61)90192-6.

[16] Welter E M, Benavides S, Archer T K, et al. Machine learning-based morphological quantification of replicative senescence in human fibroblasts[J]. GeroScience, 2024, 46(2): 2425-2439. DOI: 10.1007/s11357-023-01007-w.

[17] Hu Y L, Fryatt G L, Ghorbani M, et al. Replicative senescence dictates the emergence of disease-associated microglia and contributes to Aβ pathology[J]. Cell Reports, 2021, 35(10): 109228. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109228.

[18] Boccardi V, Marano L. Aging, cancer, and inflammation: the telomerase connection[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(15): 8542. DOI: 10.3390/ijms25158542.

[19] Rossiello F, Jurk D, Passos J F, et al. Telomere dysfunction in ageing and age-related diseases[J]. Nature Cell Biology, 2022, 24(2): 135-147. DOI: 10.1038/s41556-022-00842-x.

[20] Schumacher B, Pothof J, Vijg J, et al. The central role of DNA damage in the ageing process[J]. Nature, 2021, 592(7856): 695-703. DOI: 10.1038/s41586-021-03307-7.

[21] Mohamad Kamal N S, Safuan S, Shamsuddin S, et al. Aging of the cells: insight into cellular senescence and detection methods[J]. European Journal of Cell Biology, 2020, 99(6): 151108. DOI: 10.1016/j.ejcb.2020.151108.

[22] Serrano M, Lin A W, McCurrach M E, et al. Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a[J]. Cell, 1997, 88(5): 593-602. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81902-9.

[23] Hernández-Mercado E, Prieto-Chávez J L, Arriaga-Pizano L A, et al. Increased CD47 and MHC class I inhibitory signals expression in senescent CD1 primary mouse lung fibroblasts[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(19): 10215. DOI: 10.3390/ijms221910215.

[24] López A R, Frankel L B. Selective degradation of ribosomes during oncogene-induced senescence: molecular insights and biological perspectives[J]. Autophagy, 2024, 20(6): 1462-1464. DOI: 10.1080/15548627.2024.2319022.

[25] López A R, Jørgensen M H, Havelund J F, et al. Autophagy-mediated control of ribosome homeostasis in oncogene-induced senescence[J]. Cell Reports, 2023, 42(11): 113381. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.113381.

[26] Monzel A S, Enríquez J A, Picard M. Multifaceted mitochondria: moving mitochondrial science beyond function and dysfunction[J]. Nature Metabolism, 2023, 5(4): 546-562. DOI: 10.1038/s42255-023-00783-1.

[27] Marmisolle I, Chacón E, Mansilla S, et al. Oncogene-induced senescence mitochondrial metabolism and bioenergetics drive the secretory phenotype: further characterization and comparison with other senescence-inducing stimuli[J]. Redox Biology, 2025, 82: 103606. DOI: 10.1016/j.redox.2025.103606.

[28] Nacarelli T, Lau L, Fukumoto T, et al. NAD^+ metabolism governs the proinflammatory senescence-associated secretome [J]. Nature Cell Biology, 2019, 21(3): 397-407. DOI: 10.1038/s41556-019-0287-4.

[29] Toussaint O, Michiels C, Raes M, et al. Cellular aging and the importance of energetic factors[J]. Experimental Gerontology, 1995, 30(1): 1-22. DOI: 10.1016/0531-5565(94)00038-5.

[30] Guerrero-Navarro L, Monfort-Lanzas P, Krichbaumer V, et al. TFEB orchestrates stress recovery and paves the way for senescence induction in human dermal fibroblasts[J]. Aging Cell, 2025, 24(7): e70083. DOI: 10.1111/acel.70083.

[31] Luo X Y, Jiang X K, Li J, et al. Insulin-like growth factor-1 attenuates oxidative stress-induced hepatocyte premature senescence in liver fibrogenesis via regulating nuclear p53-progerin interaction[J]. Cell Death & Disease, 2019, 10: 451. DOI: 10.1038/s41419-019-1670-6.

[32] Barnes R P, de Rosa M, Thosar S A, et al. Telomeric 8-oxo-guanine drives rapid premature senescence in the absence of telomere shortening[J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2022, 29(7): 639-652. DOI: 10.1038/s41594-022-00790-y.

[33] Novaes R D, Souza-E-Leite E G, Silva T D, et al. Pharmacological blockade of infection chronification modulates oxy-inflammation and prevents the activation of stress-induced premature senescence markers in schistosomiasis[J]. Microbial Pathogenesis, 2025, 199: 107264. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.107264.

[34] Liu Y, Lomeli I, Kron S J. Therapy-induced cellular senescence: potentiating tumor elimination or driving cancer resistance and recurrence[J]. Cells, 2024, 13(15): 1281. DOI: 10.3390/cells13151281.

[35] Chang B D, Broude E V, Dokmanovic M, et al. A senescence-like phenotype distinguishes tumor cells that undergo terminal proliferation arrest after exposure to anticancer agents[J]. Cancer Research, 1999, 59(15): 3761-3767.

[36] Sadhu S, Decker C, Sansbury B E, et al. Radiation-induced macrophage senescence impairs resolution programs and drives cardiovascular inflammation[J]. The Journal of Immunology, 2021, 207(7): 1812-1823. DOI: 10.4049/jimmunol.2100284.

[37] Palacio L, Goyer M L, Maggiorani D, et al. Restored immune cell functions upon clearance of senescence in the irradiated splenic environment[J]. Aging Cell, 2019, 18(4): e12971. DOI: 10.1111/acel.12971.

[38] Hansel C, Barr S, Schemann A V, et al. Metformin protects against radiation-induced acute effects by limiting senescence of bronchial-epithelial cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(13): 7064. DOI: 10.3390/ijms22137064.

[39] Yao Z T, Murali B, Ren Q H, et al. Therapy-induced senescence drives bone loss[J]. Cancer Research, 2020, 80(5): 1171-1182. DOI: 10.1158/0008-5472.can-19-2348.

[40] Chibaya L, Snyder J, Ruscetti M. Senescence and the tumor-immune landscape: implications for cancer immunotherapy [J]. Seminars in Cancer Biology, 2022, 86: 827-845. DOI: 10.1016/j.semcancer.2022.02.005.

[41] Salazar-Terreros M J, Vernot J P. In vitro and in vivo modeling of normal and leukemic bone marrow niches: cellular senescence contribution to leukemia induction and progression[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(13): 7350. DOI: 10.3390/ijms23137350.

[42] Pitrez P R, Monteiro L M, Borgogno O, et al. Cellular reprogramming as a tool to model human aging in a dish[J]. Nature Communications, 2024, 15: 1816. DOI: 10.1038/s41467-024-46004-5.

[43] Acun A, Nguyen T D, Zorlutuna P. In vitro aged, hiPSC-origin engineered heart tissue models with age-dependent functional deterioration to study myocardial infarction[J]. Acta Biomaterialia, 2019, 94: 372-391. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.05.064.

[44] Fernandez-Rebollo E, Franzen J, Goetzke R, et al. Senescence-associated metabolomic phenotype in primary and iPSC-derived mesenchymal stromal cells[J]. Stem Cell Reports, 2020, 14(2): 201-209. DOI: 10.1016/j.stemcr.2019.12.012.

[45] Vera E, Bosco N, Studer L. Generating late-onset human iPSC-based disease models by inducing neuronal age-related phenotypes through telomerase manipulation[J]. Cell Reports, 2016, 17(4): 1184-1192. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.09.062.

[46] Chang A C Y, Chang A C H, Kirillova A, et al. Telomere shortening is a hallmark of genetic cardiomyopathies[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(37): 9276-9281.

[47] Egesipe A L, Blondel S, Lo Cicero A, et al. Metformin decreases progerin expression and alleviates pathological defects of Hutchinson-gilford progeria syndrome cells[J]. Npj Aging and Mechanisms of Disease, 2016, 2: 16026. DOI: 10.1038/npjamd.2016.26.

[48] de Luzy I R, Lee M K, Mobley W C, et al. Lessons from inducible pluripotent stem cell models on neuronal senescence in aging and neurodegeneration[J]. Nature Aging, 2024, 4(3): 309-318. DOI: 10.1038/s43587-024-00586-3.

[49] Pitrez P R, Estronca L, Monteiro L M, et al. Vulnerability of progeroid smooth muscle cells to biomechanical forces is mediated by MMP13[J]. Nature Communications, 2020, 11: 4110. DOI: 10.1038/s41467-020-17901-2.

[50] Davis J R, Banskota S, Levy J M, et al. Efficient prime editing in mouse brain, liver and heart with dual AAVs[J]. Nature Biotechnology, 2024, 42(2): 253-264. DOI: 10.1038/s41587-023-01758-z.

[51] Lee H, Massaro M, Abdelfattah N, et al. Nuclear respiratory factor-1(NRF1) induction as a powerful strategy to deter mitochondrial dysfunction and senescence in mesenchymal stem cells[J]. Aging Cell, 2025, 24(4): e14446. DOI: 10.1111/acel.14446.

[52] Matveeva D, Kashirina D, Ezdakova M, et al. Senescence-associated alterations in matrisome of mesenchymal stem cells [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(10): 5332. DOI: 10.3390/ijms25105332.

[53] Govarthanan K, Meenakshi Sundaram R S, Richard A S, et al. Inhibition of GSK-3β restores differentiation potential of late-passage mesenchymal stem cells[J]. Pharmaceuticals, 2025, 18(4): 483. DOI: 10.3390/ph18040483.

[54] Ren Y, Song Y Y, Li M Z, et al. An object detection-based model for automated screening of stem-cells senescence during drug screening[J]. Neural Networks, 2025, 183: 106940. DOI: 10.1016/j.neunet.2024.106940.

[55] Wang X H, Wu S L, Li R Y, et al. ROS-activated nanohydrogel scaffolds with multi-factors controlled release for targeted dual-lineage repair of osteochondral defects[J]. Advanced Science, 2025, 12(20): 2412410. DOI: 10.1002/advs.202412410.

[56] Franco A C, Aveleira C, Cavadas C. Skin senescence: mechanisms and impact on whole-body aging[J]. Trends in Molecular Medicine, 2022, 28(2): 97-109. DOI: 10.1016/j.molmed.2021.12.003.

[57] Banach K, Kowalska J, Rzepka Z, et al. The role of UVA radiation in ketoprofen-mediated BRAF-mutant amelanotic melanoma cells death: a study at the cellular and molecular level[J]. Toxicology in Vitro, 2021, 72: 105108. DOI: 10.1016/j.tiv.2021.105108.

[58] Karthikeyan R, Kanimozhi G, Prasad N R, et al. Alpha pinene modulates UVA-induced oxidative stress, DNA damage and apoptosis in human skin epidermal keratinocytes[J]. Life Sciences, 2018, 212: 150-158. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.10.004.

[59] Chen Q Y, Zhang H Y, Yang Y M, et al. Metformin attenuates UVA-induced skin photoaging by suppressing mitophagy and the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(13): 6960. DOI: 10.3390/ijms23136960.

[60] Liu T, Zhu S, Yang Y, et al. Oroxylin A ameliorates ultraviolet radiation-induced premature skin aging by regulating oxidative stress via the Sirt1 pathway[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2024, 171: 116110. DOI: 10.1016/j.biopha.2023.116110.

[61] Frediani E, Scavone F, Laurenzana A, et al. Olive phenols preserve lamin B1 expression reducing cGAS/STING/NFκB-mediated SASP in ionizing radiation-induced senescence[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2022, 26(8): 2337-2350. DOI: 10.1111/jcmm.17255.

[62] Ungvari A, Kiss T, Gulej R, et al. Irradiation-induced hair graying in mice: an experimental model to evaluate the effectiveness of interventions targeting oxidative stress, DNA damage prevention, and cellular senescence[J]. GeroScience, 2024, 46(3): 3105-3122. DOI: 10.1007/s11357-023-01042-7.

[63] Bisht A, Avinash D, Sahu K K, et al. A comprehensive review on doxorubicin: mechanisms, toxicity, clinical trials, combination therapies and nanoformulations in breast cancer[J]. Drug Delivery and Translational Research, 2025, 15(1): 102-133. DOI: 10.1007/s13346-024-01648-0.

[64] George N, Joshi M B, Satyamoorthy K. DNA damage-induced senescence is associated with metabolomic reprogramming in breast cancer cells[J]. Biochimie, 2024, 216: 71-82. DOI: 10.1016/j.biochi.2023.09.021.

[65] Zhou L N, Zhai G L, Tian G. CRIF1 attenuates doxorubicin-mediated mitochondrial dysfunction and myocardial senescence via regulating PXDN[J]. Aging, 2024, 16(6): 5567-5580. DOI: 10.18632/aging.205664.

[66] 宋紫琼, 管艳云, 钱卫斌, 等. 肺纤维化动物模型的构建方法及评价[J]. 中国工业医学杂志, 2025, 38(1): 53-57. DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2025.01.017.
Song Ziqiong, Guan Yanyun, Qian Weibin, et al. Establishment and evaluation of animal model of pulmonary fibrosis[J]. Chinese Journal of Industrial Medicine, 2025, 38(1): 53-57.

[67] 左志威, 卞博, 崔家康, 等. 基于系统性硬化症溶酶体相关基因的人工神经网络模型的构建及实验验证[J]. 海南医科大学学报, 2025, 31(2): 109-117. DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20240717.001.
Zuo Zhiwei, Bian Bo, Cui Jiakang, et al. Construction and experimental verification of artificial neural network model based on lysosome related genes in systemic sclerosis[J]. Journal of Hainan Medical University, 2025, 31(2): 109-117.

[68] ZHANG Y, LIANG Q Y, ZHANG Y N, et al. Olmesartan alleviates bleomycin-mediated vascular smooth muscle cell senescence via the miR-665/SDC1 axis[J]. American Journal of Translational Research, 2020, 12(9): 5205-5220.

[69] Kudlova N, De Sanctis J B, Hajduch M. Cellular senescence: molecular targets, biomarkers, and senolytic drugs[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(8): 4168. DOI: 10.3390/ijms23084168.

[70] Veronesi F, Contartese D, Di Sarno L, et al. In vitro models of cell senescence: a systematic review on musculoskeletal tissues and cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(21): 15617. DOI: 10.3390/ijms242115617.

[71] Luzhin A, Rajan P, Safina A, et al. Comparison of cell response to chromatin and DNA damage[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(21): 11836-11855. DOI: 10.1093/nar/gkad865.

[72] Martini H, Passos J F. Cellular senescence: all roads lead to mitochondria[J]. The FEBS Journal, 2023, 290(5): 1186-1202. DOI: 10.1111/febs.16361.

[73] López-Otín C, Blasco M A, 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.

[74] Miwa S,Kashyap S,Chini E,et al.Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging[J].Journal of Clinical Investigation,2022,132(13):e158447.DOI:10.1172/jci158447.

[75] Cai Y S,Song W,Li J M,et al.The landscape of aging[J].Science China Life Sciences,2022,65(12):2354-2454.DOI:10.1007/s11427-022-2161-3.

[76] Zhou X H,Tan B W,Gui W W,et al.IGF2 deficiency promotes liver aging through mitochondrial dysfunction and upregulated CEBPB signaling in d-galactose-induced aging mice[J].Molecular Medicine,2023,29(1):161.DOI:10.1186/s10020-023-00752-0.

[77] Yang H,Wang T Y,Qian C L,et al.Gut microbial-derived phenylacetylglutamine accelerates host cellular senescence[J].Nature Aging,2025,5(3):401-418.DOI:10.1038/s43587-024-00795-w.

[78] Kim S,Chae J B,Kim D,et al.Supramolecular senolytics via intracellular oligomerization of peptides in response to elevated reactive oxygen species levels in aging cells[J].Journal of the American Chemical Society,2023,145(40):21991-22008.

[79] Wen G P,Eder K,Ringseis R.Comparative evaluation of the modulatory role of 1,25-dihydroxy-vitamin D3 on endoplasmic reticulum stress-induced effects in 2D and 3D cultures of the intestinal porcine epithelial cell line IPEC-J2[J].Journal of Animal Science and Biotechnology,2024,15(1):153.DOI:10.1186/s40104-024-01112-6.

[80] D′Ambrosio M,Gil J.Reshaping of the tumor microenvironment by cellular senescence:an opportunity for senotherapies[J].Developmental Cell,2023,58(12):1007-1021.DOI:10.1016/j.devcel.2023.05.010.

[81] Fafián-Labora J A,O′Loghlen A.Classical and nonclassical intercellular communication in senescence and ageing[J].Trends in Cell Biology,2020,30(8):628-639.DOI:10.1016/j.tcb.2020.05.003.

[82] Wang K,Smith S H,Iijima H,et al.Bioengineered 3D skeletal muscle model reveals complement 4b as a cell-autonomous mechanism of impaired regeneration with aging[J].Advanced Materials,2023,35(17):2207443.DOI:10.1002/adma.202207443.

[83] 李清敏,张锣,赵铖龙,等.肿瘤类器官在骨与软组织肿瘤中的应用[J].中国生物工程杂志,2024,44(7):40-48.DOI:10.13523/j.cb.2401040.
Li Qingmin,Zhang E,Zhao Chenglong,et al.Application of tumor organoids in bone and soft tissue sarcomas[J].China Biotechnology,2024,44(7):40-48.

[84] Hofer M,Lutolf M P.Engineering organoids[J].Nature Reviews Materials,2021,6(5):402-420.DOI:10.1038/s41578-021-00279-y.

[85] Zhang C,Jing Y,Wang J,et al.Skeletal organoids[J].Biomaterials Translational,2024,5(4):390-410.DOI:10.12336/biomatertransl.2024.04.005

[86] Fang H Y,Xu H Y,Yu J,et al.Human hepatobiliary organoids:recent advances in drug toxicity verification and drug screening[J].Biomolecules,2024,14(7):794.DOI:10.3390/biom14070794.

[87] Hu J L,Todhunter M E,LaBarge M A,et al.Opportunities for organoids as new models of aging[J].The Journal of Cell Biology,2018,217(1):39-50.DOI:10.1083/jcb.201709054.

[88] 唐奕,陈荃,彭丽倩,等.体外 HPV 感染皮肤粘膜细胞及器官模型的研究进展[J].皮肤性病诊疗学杂志,2021,28(6):520-523.DOI:10.3969/j.issn.1674-8468.2021.06.021.
Tang Yi,Chen Quan,Peng Liqian,et al.Advances in the research of HPV-infected skin mucosal cell models in vitro[J].Journal of Diagnosis and Therapy on Dermato-Venereology,2021,28(6):520-523.

[89] Nicolaou A,Kendall A C.Current insights into skin lipids and their roles in cutaneous health and disease[J].Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care,2023,26(2):83-90.DOI:10.1097/MCO.0000000000000902.

[90] Sanchez M M,Orneles D N,Park B H,et al.Automated epidermal thickness quantification of in vitro human skin equivalents using optical coherence tomography[J].BioTechniques,2022,72(5):194-200.DOI:10.2144/btn-2021-0123.

[91] Diekmann J,Alili L,Scholz O,et al.A three-dimensional skin equivalent reflecting some aspects of in vivo aged skin[J].Experimental Dermatology,2016,25(1):56-61.DOI:10.1111/exd.12866.

[92] Huang X,Huang Z X,Gao W D,et al.Current advances in 3D dynamic cell culture systems[J].Gels,2022,8(12):829.DOI:10.3390/gels8120829.

[93] Wensink G E,Elias S G,Mullenders J,et al.Patient-derived organoids as a predictive biomarker for treatment response in cancer patients[J].NPJ Precision Oncology,2021,5(1):30.DOI:10.1038/s41698-021-00168-1.

[94] Park S, Laskow T C, Chen J C, et al. Microphysiological systems for human aging research[J]. Aging Cell, 2024, 23(3): e14070. DOI: 10.1111/acel.14070.

[95] Pauty J, Nakano S, Usuba R, et al. A 3D tissue model-on-a-chip for studying the effects of human senescent fibroblasts on blood vessels[J]. Biomaterials Science, 2021, 9(1): 199-211.

[96] Giza S, Mojica-Santiago J A, Parafati M, et al. Microphysiological system for studying contractile differences in young, active, and old, sedentary adult derived skeletal muscle cells[J]. Aging Cell, 2022, 21(7): e13650. DOI: 10.1111/acel.13650.

[97] Ribas J, Zhang Y S, Pitrez P R, et al. Biomechanical strain exacerbates inflammation on a progeria-on-a-chip model[J]. Small, 2017, 13(15): 1603737. DOI: 10.1002/smll.201603737.

[98] Song C, Yang J C, Gu Z Z. Latest developments of microphysiological systems(MPS) in aging-related and geriatric diseases research: a review[J]. Ageing Research Reviews, 2025, 107: 102728. DOI: 10.1016/j.arr.2025.102728.

[99] Bunne C, Roohani Y, Rosen Y, et al. How to build the virtual cell with artificial intelligence: priorities and opportunities [J]. Cell, 2024, 187(25): 7045-7063. DOI: 10.1016/j.cell.2024.11.015.

[100] Zagirova D, Pushkov S, Leung G H D, et al. Biomedical generative pre-trained based transformer language model for age-related disease target discovery[J]. Aging, 2023, 15(18): 9293-9309. DOI: 10.18632/aging.205055.

[101] Tian Y E, Cropley V, Maier A B, et al. Heterogeneous aging across multiple organ systems and prediction of chronic disease and mortality[J]. Nature Medicine, 2023, 29(5): 1221-1231. DOI: 10.1038/s41591-023-02296-6.

[102] Chen J, Maguire T K, McCoy R G, et al. Reimagining resilience in aging: leveraging AI/ML, big data analytics, and systems innovation[J]. The American Journal of Geriatric Psychiatry, 2025, 33(9): 1005-1017. DOI: 10.1016/j.jagp.2025.05.007.

[103] Nabuco Leva Ferreira de Freitas J A, Bischof O. Dynamic modeling of the cellular senescence gene regulatory network [J]. Heliyon, 2023, 9(3): e14007. DOI: 10.1016/j.heliyon.2023.e14007.

[104] Martínez-Zamudio R I, Roux P F, de Freitas J A N L F, et al. AP-1 imprints a reversible transcriptional programme of senescent cells[J]. Nature Cell Biology, 2020, 22(7): 842-855. DOI: 10.1038/s41556-020-0529-5.

[105] Delgado F M, Gómez-Vela F. Computational methods for gene regulatory networks reconstruction and analysis: a review [J]. Artificial Intelligence in Medicine, 2019, 95: 133-145. DOI: 10.1016/j.artmed.2018.10.006.

[106] Martinez-Pacheco S, O'Driscoll L. Pre-clinical in vitro models used in cancer research: results of a worldwide survey[J]. Cancers, 2021, 13(23): 6033. DOI: 10.3390/cancers13236033.

(责任编辑　张晓曼)