

生物学年龄量化方法研究进展

曹利美 陈淑婷 王彤

山西医科大学公共卫生学院卫生统计学教研室, 太原 030001

通信作者: 王彤, Email: tongwang@sxmu.edu.cn

【摘要】 生物学年龄已被证明优于时序年龄衡量个体间衰老的真实差异, 但生物学年龄的量化方法在衰老研究领域至今未达成共识。本文对目前常用的一些生物学年龄的量化方法进行概述, 并提出展望。

【关键词】 生物学年龄; 衰老; 量化

Progress in research of quantification of biological age

Cao Limei, Chen Shuting, Wang Tong

Department of Health Statistics, School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: Wang Tong, Email: tongwang@sxmu.edu.cn

【Abstract】 Biological age has been proved to be better than chronological age to measure the real difference of aging among individuals, but no consensus has been reached in the quantification of biological age in the field of aging research. In this paper, we summarize some commonly used quantification methods of biological age and discuss its future development.

【Key words】 Biological age; Aging; Quantification

常用于衡量人体生长发育的年龄主要包括时序年龄 (chronological age, CA) 和生物学年龄 (biological age, BA)。CA 指一个人从出生时起到计算时止生存的时间长度, 是常用的年龄计算方法, 也称“实足年龄”。BA 虽没有明确的定义, 但通常被解释为一个比 CA 更好地表达衰老生物体“真实全局状态”的量, 反映了人体组织结构和生理功能的实际衰老程度, 被视为个体的真实年龄^[1]。BA 和 CA 之间的差异被用来量化衰老率, 即衰老速度^[2]。

一、BA 的研究意义

受遗传、环境和生活方式等多种因素的影响, 相同或相近 CA 的个体, 与衰老相关的表型, 如器官功能状态等, 可能存在很大差异, 因此, 由出生日期习得的 CA 可能并不能反映个体间真实的衰老差异。相反, 由各系统生物标志物结合不同算法计算所得的 BA, 代表了身体组织和整个生物体的功能状态, 以及与年龄相关的疾病和残疾风险, 是人体健康状况的综合指数, 能更准确地反映个体的遗传学、累积的生活方式以及其他决定因素的综合影响。有观点认为, BA

比 CA 能更好地衡量个体的预期寿命^[3]。

BA 的研究意义在于, 不仅可以使个体知晓自己在生命阶段所处的真实位置、可能会导致衰老加速 (CA-BA<0) 的不利因素, 以及如何更健康地生活使自己“更年轻”, BA 的纵向研究还可以揭示个体的衰老轨迹; 同时, 在全球老龄化加速, 衰老导致心血管疾病、神经退行性疾病、癌症、慢性病等的患病风险增高, 疾病负担加重的背景下, 准确地量化 BA 不仅可以筛选出衰老加速的高危个体^[4], 及早进行抗衰老干预, 还可为各种抗衰老干预措施的有效性评估提供替代终点, 对健康老龄化战略的实施具有重要意义。量化 BA 主要分三步: 衰老生物标志物的筛选、BA 计算以及评价。

二、衰老生物标志物与衰老相关结局的联系

随着研究者们对衰老背后基础机制的揭秘及高通量测序技术的发展, 可获取多种类型的生物标志物数据用于 BA 估计, 如端粒长度、DNA 甲基化、转录组、蛋白质组等基因组学数据及各种临床表型指标。目前, 衰老生物标志物的筛选, 或基于与 CA 的相关性, 或基于与死亡率或与年龄相关

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20220814-00709

收稿日期 2022-08-14 本文编辑 张婧

引用格式: 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.

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.



疾病发病率的关系。比较公认的 BA 生物标志物筛选标准由美国衰老研究联盟提出:①与年龄有相关性,且相关性越高,灵敏度越高;②可反复测试并对人体无创;③必须适用于人类和实验室动物;④能够监控衰老的基本过程,而不是因疾病所产生的影响。

不同的衰老生物标志物可能与不同的衰老结局相联系,反映了衰老的不同方面。端粒是位于染色体末端的 DNA 非编码重复序列,作用是保持染色体完整性和控制细胞分裂周期^[5]。细胞每分裂一次,端粒就缩短一次,当缩短至关键长度后,细胞会因无法分裂而死亡。端粒的长度决定了细胞分裂的次数,控制着细胞衰老和死亡的过程,进而影响人的寿命长短。目前已有大量科学实验证实,端粒长度与心血管疾病、神经退行性疾病、肺部疾病、多种癌症等有关,对健康至关重要^[6]。有 3 种典型的衰老相关疾病与端粒偏短存在明显关联,分别是 2 型糖尿病、间质性肺炎和肺纤维化。Mons 等^[7]对欧洲地区和美国的 2 项大型前瞻性队列研究进行了个体参与者数据荟萃分析,发现最短端粒长度的五分位数与最长长度的五分位数相比,年龄调整后的风险比在全因死亡率、心血管疾病死亡率和癌症死亡率方面分别高 23%、29% 和 10%;端粒长度缩短还与阿尔茨海默病^[8]、精神分裂症^[9]等的发病率增高有关。

DNA 甲基化时钟,由基于 CpG 二核苷酸胞嘧啶的 DNA 甲基化标记构建,依赖于数学算法和 CpG 集的组合使用来估计细胞、器官或个体的 BA,是目前认为最准确的 BA 预测因子^[10]。至今已开发出近 20 个 DNA 甲基化衰老时钟^[11],不同时钟选择的特定 CpG 位点通常不会重叠,并且不同的表观遗传时钟捕获不同的生物信号,因此,同时评估几个 DNA 甲基化时钟可能是捕获衰老过程复杂性的最有效策略。许多与年龄相关的疾病,如心血管疾病和癌症,都观察到了 DNA 甲基化模式的改变。此外,其他类型基因组学模式改变也被证实与衰老相关疾病有关,如代谢组学改变与老年肥胖、抑郁、2 型糖尿病发病有关^[12]。

目前,尚没有单一的衰老生物标志物本身足以测量衰老,血液复合型生物标志物算法被认为是一种比单一衰老生物标志物指标更可靠的替代方法。2013 年,Levine^[13]基于 NHANES III 的大型纵向随访数据,选择了 30~75 岁共 9 389 名参与者,随访期间测量了 21 种指标,最终筛选出 10 个指标进行了 BA 估计,结果显示 BA 估计数是比 CA 更显著的死亡率预测因子。高可及性、标准化的方案和可负担得起的价格使临床生物化学测试成为一个很有前途的衰老生物标志物来源,可以独立使用或补充用于其他 BA 预测的候选指标集。

三、BA 量化方法

迄今所提出的用于 BA 估计的方法主要有:多重线性回归 (MLR)、主成分分析 (PCA)、Klemera-Doubal 法 (KD 法)、机器学习 (ML) 和深度学习 (DL) 等。对 BA 估计的评价^[3]主要从 3 方面进行:①估计精确度评价:可通过计算 BA 与 CA 的相关性、平均绝对误差 (MAE) 及均方根误差 (RMSE) 等的

大小来评价 BA 估计的精确度;②衰老率评价:衰老率定义为 BA 与 CA 回归的残差, $\Delta = CA - BA$ 。 Δ 为正表明个体处于较“年轻”的状态; Δ 为负表明个体衰老加速;③ BA 预测能力评价:可通过构建 Cox 比例风险回归或 logistic 回归等模型评估 BA 加速度与死亡率、疾病计数或其他健康相关结局的关系来评价 BA 预测能力的大小。

1. MLR^[14]:最早的建立 BA 预测模型的统计方法之一。该模型首先基于与 CA 的相关性筛选生物标志物,然后将筛选的生物标志物与 CA 做回归,得到的 CA 预测值为 BA: $CA_i = BA_i + \varepsilon$ 。1983 年, Dubina 等^[14]对 5~29 月龄大鼠分性别建立了 MLR 的 BA 估计公式,结果显示,处于 8~23 月龄大鼠的平均 BA 接近 CA,而幼龄 (5~7 月龄) 大鼠的 BA 被高估,老龄 (24~29 月龄) 大鼠的 BA 被低估。对年龄谱两端 BA 估计的失真在线性回归中很常见,这意味着与真实 BA 相比,自变量取值范围两端的个体 BA 估计有一定的误差,且距离 CA 中心位置越远,误差越大。2000 年,丹麦哥本哈根-瑞典一项针对 50~59 岁男性的研究进行了 3 种线性回归方法的比较,结果同样证明了线性回归的这一缺陷^[15]。

MLR 方法计算简便,易于解释,但 MLR 模型对年龄谱两端 BA 的高估和低估会导致相对较低的决定系数^[16]。此外,该模型基于与 CA 的相关性选择衰老生物标志物,因此该方法还存在“生物标志物悖论”,即与 CA 接近完全相关的生物标志物被认为应该由 CA 直接替代。

2. PCA:用于 BA 估计的主要方法之一。利用 PCA 建立 BA 估计方程的方法通常包括相关分析、稳定性分析 (仅存在于纵向研究中)、冗余分析、PCA 和方程构建 5 个步骤^[17]。该方法目的是将原始生物标志物转换为一个 (或一组) 功能不相关的新变量,用较少的不相关变量来解释最多的方差,而不是结合不同的变量组成一个回归方程。

2007 年, Nakamura 和 Miyao^[18]收集了日本健康成年男性生物标志物纵向数据,使用 PCA 获得的因子得分系数进行加权求和建立了 BA 估计方程,并用多元 logistic 回归分析了生活习惯 (如吸烟) 对衰老的影响。研究表明,以 BA 为代表的不同年龄段男性的衰老率并不是恒定的,而是遵循指数曲线,老年组 BA 的变化率是年轻组的 1.8 倍。此外,横断面分析不能用来得出衰老现象随时间发生变化的结论。相反,纵向设计显示年龄相关变化的时间轨迹。2010 年, Bai 等^[19]利用北京-沈阳-大连汉族健康人口的横断面数据,建立了中国人群的 BA 估计方程,研究证明 BA 在评估中国健康人群的老龄化率方面优于 CA,且 BA 预测的生物衰老率随着 CA 的增加而加速,并在健康男性和女性达到 ≥ 75 岁时达到峰值,生物衰老率与 CA 密切相关。

PCA 方法对年龄谱两端的 BA 估计进行了校正,避免了 MLR 的缺陷^[20]。然而,通常情况下,PCA 方法的最后一步是在新的生物标志物上应用 MLR 方法,因此,该方法仍然是基于线性的,未解决“生物标志物悖论”。

3. KD 法:2006 年, Klemera 和 Doubal^[1]提出了一种在非线性的情况下也适用的 BA 的最优估计方法,即 KD 法。

使用了一个不同的概念来建立 BA 估计方程。其基本原理: 计算 BA 估计值的过程是使由对象的生物标志物值确定的点与由所有生物标志物空间中回归函数确定的一维直线(或曲线)的距离最小化。它没有使用线性回归作为基本工具, 而是通过计算 BA、CA 和生物标志物之间的数学关系, 基于生物标志物与 CA 之间的关联强度得出一个加权总和, 并纳入了非线性的概念。该方法的另一个优点是, CA 被用作标准的生物标志物纳入模型, 大大提高了 BA 估计的精度, 并阐明了已知的“生物标志物悖论”的相对性。模拟结果表明, 将 CA 作为生物标志物进行估计会显著降低 BA 估计的标准误。在预测死亡率方面, KD 法已被证明优于其他传统方法^[13, 21-22]。

2020 年, 一项针对新加坡华人的队列研究比较了 MLR、PCA 和 KD 法在 BA 预测衰弱和死亡率方面的差异^[23]。结果表明, KD 法的 BA 在年轻组中具有显著的预测能力, 且对于 CA 相同的群体来说, BA 加速的群体比 BA 年轻的群体, 其虚弱的发生率更高, 健康状况更差, 功能退化更严重。2017 年, Jee 和 Park^[24] 利用 KD 法建立了韩国健康女性的 BA 估计方程, 并与 MLR、PCA 方法所建立的方程进行了 BA 估计精度的比较。结果证明, 基于所选生物标志物建立的 KD 法的 BA 预测模型为 BA 的实际评估提供了更可靠和更稳定的结果。2013 年, Levine^[13] 通过比较 5 种 BA 估计方法的精度和预测死亡率的能力, 包括 PCA、MLR、KD 法、PCA 结合 MLR、PCA 结合 KD 法, 并将每种 BA 计算结果与 CA 进行比较。结果发现, KD 法用于 BA 估计是更可靠的死亡率预测因子, 且表现明显优于 CA。此外, 当在模型中纳入 CA 时, KD 法具有更强的预测能力, 并导致 CA 不再与死亡率显著相关。2015 年, 新西兰达尼丁研究中心将 Levine^[13] 的研究结论用于量化年轻人群的 BA, 强调了在年轻人群中开展衰老研究的重要性^[21]。

4. ML^[25]: 由于基因表达数据的高维性、异构性、稀疏性和不规则性及衰老过程本身的复杂性, ML 方法越来越多地用于分析人类衰老的生物标志物。ML 可以从数据中学习关系, 而无需事先定义关系, 主要的吸引力在于能够在不需要对潜在机制进行强有力假设的情况下导出预测模型, 这些机制通常未知或定义不足。用于预测的 ML 方法进一步分为线性模型和非线性模型。如 Galkin 等^[26] 所综述的, 大多数 DNA 甲基化年龄预测因子是系数正则化方法(弹性网、岭回归或 Lasso)的线性模型, 非线性模型如支持向量机、K 近邻法和随机森林, 也已经被用于年龄预测。2021 年, 华中科技大学团队使用极端梯度增强方法开发了一个 BA 预测因子, 并与其他 ML 方法(弹性网、支持向量机)和 PCA、KD 法等进行了比较^[4]。结果表明, 在不同的建模方法中, 基于极端梯度增强方法的 BA 与 CA 相关性最高, 误差最小。此外, 本研究利用排列特征重要性技术确定平均频率听力阈值、1 秒内用力呼气量、性别、SBP 和同型半胱氨酸是 BA 预测因子的五大重要特征。

然而, 传统的 ML 和数据挖掘方法通常需要特征提取来

获得稳健性^[27]。特征提取是一个主要的挑战, 因为它需要重要的专业领域知识。DL 的最新进展提供了一种从复杂数据中引出有意义的知识的范式转变, 而无需执行显式的特征提取, 优势突出^[3]。

5. DL: 深度结构化学习, 也被称为 DL 或层次学习^[25], 指的是一类 ML 技术, 利用许多层的非线性计算单元来建模数据之间的复杂关系。这些体系结构由多层组成, 每个连续的一层都使用来自前一层的输出作为输入; 较高级别的特征从较低级别的特征中派生出来, 以形成一个层次表示, 这种特性的层次通常被称为深度神经网络(DNN)。初始单隐层人工神经网络与 DNN 的区别在于深度, 也就是处理数据的节点层数, 通常超过 3 层被称为 DL。因此, “深”是一个技术术语, 意指不止一个隐藏层。迄今为止提出的不同架构中, 递归神经网络、卷积神经网络(CNN)、生成对抗网络和迁移学习技术在衰老研究中应用越来越广泛。

DL 模型已用于不同类型数据开发衰老时钟。2016 年, Zhavoronkov 实验室发布了第一个基于 DNN 的衰老时钟^[28]。他们利用多个 DNN 的集合, 对包含超过 5 万健康受试者数据集的 41 个血液测试指标进行了训练, 并与其他 7 种 ML 模型进行了比较, 证明 DNN 模型表现优于其他模型, 表现最佳的集成 DNN 模型 MAE 为 5.55 年。2018 年, Mamoshina 等^[29] 扩大样本量, 利用加拿大、韩国、东欧地区国家的数百万匿名受试者对上述集成 DNN 模型进行了验证, 结果显示, 韩国受试者拥有更小的 BA。该研究还发现, 衰老缓慢或预测更年轻的个体预期寿命更高。

高通量方法的快速发展使基于基因组学的 DL 衰老时钟被逐步开发。2015 年, Peters 等^[30] 提出了第一个转录组衰老时钟, 它是根据 14 983 个个体的全血基因表达阵列数据进行了岭回归, MAE 为 7.8 年。该研究显示预测年龄的增加与高血压、血糖和胆固醇水平增高有关。2018 年, Fleischer 等^[31] 发布了一个转录组衰老时钟, 该时钟对 133 人的皮肤成纤维细胞谱进行了训练, MAE 为 7.7 年。同年, 第一个针对骨骼肌健康个体的基因表达谱的深度转录组衰老时钟也出现了, MAE 为 6.24 年^[32]。目前转录组衰老时钟还没有达到 MAE < 5 年的准确性, 但随着 ML 和 DL 方法的发展和应用, 实现可能只是时间问题^[26]。在目前提出的 3 个转录组时钟中, 基于 DNN 的时钟是最准确的^[26]。其他如基于蛋白质组^[33-34]、代谢组^[12]、宏基因组^[35]、多组学数据^[36] 的 DL 衰老时钟也陆续被研究者开发出来。

深度成像衰老时钟在预测实际年龄方面更准确。2018 年, Bobrov 等^[37] 使用眼角区域的摄影图像进行衰老预测。该时钟是一种利用 DNN 模型和 8 414 张眼角图像预测 CA 的方法, MAE 为 2.3 年。2015 年, Chen 等^[38] 发布了第一个基于 3D 面部图像的 BA 估计方法, MAE 为 6 年。与其他衰老时钟相比, 图像数据在与其他类型数据相结合时更有价值, 且具有无创和低成本的优点。

此外, DL 方法还用于穿戴和移动设备提供的身体活动数据衰老时钟的开发。2019 年, Rahman 和 Adjero^[39] 将深

度卷积长短期记忆模型应用于每分钟测量的为期一周的身体活动数据来估计 BA。2020 年, Ashiqur 等^[3]发现, 不同的 DL 模型在不同的数据模式上表现良好, 尤其是二维 CNN, 倾向于在图像数据上表现最好。

DNN 在人类实足年龄预测任务中明显优于回归模型, 因为它们允许捕获非常复杂的非线性函数、反馈回路和隐藏参数, 且对缺失值不敏感; 但目前 DL 算法主要用于单一类型数据衰老时钟的开发, 如何对应不同的数据类型, 使用不同的 DL 方法, 最后进行数据融合, 得到更精确的 BA, 将是未来有潜力的研究方向。

6. 其他方法:

(1) 马氏距离(DMs): 2013 年, Cohen 等^[40]应用一种基于统计距离的测度来测量多系统生理失调, 即 DMs。该方法首先测量各系统生物标志物的值与参考群体平均值的距离, 然后将该距离测量值进行对数转换, 转换后可得到老年个体生理失调测量的单一值。尽管生理失调不能直接估计 BA, 但捕捉了从健康状态向非健康状态过渡的临床前表现, 就其与死亡率和疾病的相关性而言, 是一种很有前途的衰老测量方法。2019 年, Arbeev 等^[41]研究得出, 生物标志物与其正常状态的多重偏差可能导致对许多疾病的易感性增加, 该研究支持使用生理失调作为从健康状态过渡到非健康状态的临床前指标。2021 年, Liu^[42]利用 KD 法和 DMs, 在中国人群中开发 2 种复合衰老测量方法。结果表明, 这 2 种年龄指标都能预测死亡率, 而且在按年龄、性别、文化程度和健康行为进行分层后, 结果仍然是稳健的。

(2) 衰弱: 老年人的一个共同特征是衰弱, 研究者将衰弱定义为“一种与年龄增长相关的多种生理储备的功能衰退和压力源性脆弱性增加的状态”^[43]。衰弱表型和衰弱指数是常见的 2 种衰老测量方法: 衰弱表型基于是否存在 5 种症状或体征(在过去 12 个月内体重减轻、自我报告的疲惫、握力弱、步行速度慢和低体力活动), 衰弱指数则反映了健康赤字的累积数量。许多研究表明, 衰弱与老年人群死亡率之间有直接联系。2019 年, 一项针对 1 788 名中国社区老年人群的研究得出, 与在该指数上得分稳健的老年人群相比, 衰弱指数定义的虚弱其全因死亡风险增加 2.31(95%CI: 1.16~4.60)倍^[44]。

(3) 结构方程模型(SEM)^[20]: 是基于变量的协方差矩阵来分析多指标变量间错综复杂关系结构的多元统计分析方法。SEM 已用于衰老研究, 但未用于 BA 估计, 可能的原因是 SEM 只构建了 BA 的潜在概念, 而不是特定的变量, 不能直接与 CA 进行比较。SEM 在 BA 研究中的尝试可能为分析潜在变量和各因素之间的相互作用提供了思路。

四、展望

衰老的生物标记物或衰老时钟是一种很有前途的工具, 有可能为评估临床健康寿命延长的干预措施的治疗疗效提供定量基础。然而, BA 量化并不容易。首先, 衰老是一个复杂的过程, 只影响一个或几个器官的细胞内少数生物过程的功能障碍可以传播到身体所有部位, 因此, 当只监测有限数量的生理过程时, 就不能完全理解或控制衰老。

最近的研究表明, 一套生物标志物, 而不是任何单独的生物标志物, 构成了评估患者健康状况最有效的手段, 但目前大多数研究只关注单一数据类型与不同健康结局的关系, 且由于 BA 尚缺乏精确的定义, 很难比较各类型数据所代表的衰老不同方面^[29]。第二, 衰老是一个渐进的、时间依赖的过程。从横断面分析中出现的生物参数和实足年龄之间的相关性只能揭示该参数在特定时间点的年龄差异, 不能得出由于衰老现象而发生变化的结论。相反, 纵向设计可以提供与年龄相关变化随时间变化的更完整的解释。第三, 衰老具有高度的人口特异性, 受遗传、环境等因素的影响, 各个国家、地区之间衰老方式可能存在很大差异, 因此, 种族多样性的衰老时钟可能比一般的衰老时钟能更准确地量化 BA^[29]。此外, 衰老的性别差异现象已经在动物实验和人类中得到了广泛研究, 且结果一致。

在估计 BA 的现有方法中, 一个可能的缺点是其大多假设输入的生物标志物随年龄呈线性变化, 实际情况往往不是这样。未来的工作应该模拟生物标志物与年龄非线性关系的生物衰老估计量^[23]。人工智能方法可能提供了解决方案, 它使用多种数据类型估计 BA, 并可挖掘生物标志物与实足年龄之间的非线性关系, 利用 DL 的分层特性, 使用适当的深度模型单独处理每个数据源, 最后将结果堆叠在联合模型中以实现被测量数据的多模态整合^[25]。

此外, 目前大多数研究对 BA 的评价主要集中于估计的准确性方面, 但计算 BA 更重要的目的是对各种健康结局及死亡率进行预测, 结局预测方面评价指标单一, 需开发一套更为完整的 BA 评价指标体系, 以实现针对不同衰老生物标志物所代表的衰老的不同方面进行更精确的预测和更完整的解释。

最后, 有研究者提出, 衰老研究不应该只研究老年人群, 还应该研究年轻人群^[21]。由于与年龄相关的生理变化从生命早期就开始积累, 在疾病诊断前的数年内影响器官系统, 将衰老过程量化到足够年轻的人群, 在年轻时期就采取干预措施来预防年龄相关疾病, 其价值更大, 这为抗衰老疗法打开了一扇新的大门。此外, 应该开展进一步的工作来研究决定生物衰老和健康寿命的个体差异的遗传、环境和行为因素。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] Xia X, Wang YY, Yu ZQ, et al. Assessing the rate of aging to monitor aging itself[J]. Ageing Res Rev, 2021, 69: 101350. DOI:10.1016/j.arr.2021.101350.
- [3] Ashiqur Rahman S, Giacobbi P, Pyles L, et al. Deep learning for biological age estimation[J]. Brief Bioinform, 2021, 22(2):1767-1781. DOI:10.1093/bib/bbaa021.
- [4] Wang CM, Guan X, Bai YS, et al. A machine learning-based biological aging prediction and its associations with healthy lifestyles: the Dongfeng-Tongji cohort[J]. Ann New York Acad Sci, 2022, 1507(1): 108-120. DOI: 10.1111/nyas.14685.
- [5] Vaiserman A, Krasnienkov D. Telomere length as a marker of biological age: state-of-the-art, open issues, and future perspectives[J]. Front Genet, 2021, 11: 630186. DOI: 10.3389/fgene.2020.630186.

- [6] Wang Q, Zhan YQ, Pedersen NL, et al. Telomere length and all-cause mortality: a meta-analysis[J]. *Ageing Res Rev*, 2018, 48:11-20. DOI:10.1016/j.arr.2018.09.002.
- [7] Mons U, Muezzinler A, Schöttker B, et al. Leukocyte telomere length and all-cause, cardiovascular disease, and cancer mortality: results from individual-participant-data meta-analysis of 2 large prospective cohort studies[J]. *Am J Epidemiol*, 2017, 185(12):1317-1326. DOI:10.1093/aje/kww210.
- [8] Honig LS, Kang MS, Schupf N, et al. Association of shorter leukocyte telomere repeat length with dementia and mortality[J]. *Arch Neurol*, 2012, 69(10):1332-1339. DOI: 10.1001/archneurol.2012.1541.
- [9] Corfdir C, Pignon B, Szöke A, et al. Accelerated telomere erosion in schizophrenia: A literature review[J]. *L'Encéphale*, 2021, 47(4):369-375. DOI: 10.1016/j.encep.2020.12.001.
- [10] He X, Liu JJ, Liu B, et al. The use of DNA methylation clock in aging research[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2021, 246(4):436-446. DOI:10.1177/1535370220968802.
- [11] Crimmins EM, Thyagarajan B, Levine ME, et al. Associations of Age, Sex, race/ethnicity, and education with 13 epigenetic clocks in a nationally representative U. S. sample: the health and retirement study[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2021, 76(6): 1117-1123. DOI: 10.1093/gerona/glab016.
- [12] Robinson O, Hyam MC, 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/acel.13149.
- [13] 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.
- [14] Dubina TL, Dyundikova VA, Zhuk EV. Biological age and its estimation. II. Assessment of biological age of albino rats by multiple regression analysis[J]. *Exp Gerontol*, 1983, 18(1):5-18. DOI:10.1016/0531-5565(83)90046-3.
- [15] Krøll J, Saxtrup O. On the use of regression analysis for the estimation of human biological age[J]. *Biogerontology*, 2000, 1(4):363-368. DOI:10.1023/a:1026594602252.
- [16] Hochschild R. Improving the precision of biological age determinations. Part 1: a new approach to calculating biological age[J]. *Exp Gerontol*, 1989, 24(4):289-300. DOI: 10.1016/0531-5565(89)90002-8.
- [17] Jia LP, Zhang WG, Jia RF, et al. Construction formula of biological age using the principal component analysis[J]. *BioMed Res Int*, 2016, 2016: 4697017. DOI: 10.1155/2016/4697017.
- [18] Nakamura E, Miyao K. A method for identifying biomarkers of aging and constructing an index of biological age in humans[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2007, 62(10): 1096-1105. DOI: 10.1093/gerona/62.10.1096.
- [19] Bai XJ, Han LL, Liu Q, et al. Evaluation of biological aging process-a population-based study of healthy people in China[J]. *Gerontology*, 2010, 56(2):129-140. DOI:10.1159/000262449.
- [20] Zhang W, Jia L, Cai G, et al. Model construction for biological age based on a cross-sectional study of a healthy Chinese Han population[J]. *J Nutr Health Ag*, 2017, 21(10): 1233-1239. DOI: 10.1007/s12603-017-0874-7.
- [21] Belsky DW, Caspi A, Houts R, et al. Quantification of biological aging in young adults[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(30): E4104-4110. DOI: 10.1073/pnas.1506264112.
- [22] Jee H. Selection of a set of biomarkers and comparisons of biological age estimation models for Korean men[J]. *J Exerc Rehabil*, 2019, 15(1): 31-36. DOI: 10.12965/jer.1836644.322.
- [23] Zhong X, Lu YX, Gao Q, et al. Estimating biological age in the Singapore longitudinal aging study[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2020, 75(10):1913-1920. DOI:10.1093/gerona/glz146.
- [24] Jee H, Park J. Selection of an optimal set of biomarkers and comparative analyses of biological age estimation models in Korean females[J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 2017, 70:84-91. DOI:10.1016/j.archger.2017.01.005.
- [25] Zhavoronkov A, Mamoshina P, Vanhaelen Q, et al. Artificial intelligence for aging and longevity research: Recent advances and perspectives[J]. *Ageing Res Rev*, 2019, 49: 49-66. DOI:10.1016/j.arr.2018.11.003.
- [26] 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.
- [27] Miotto R, Wang F, Wang S, et al. Deep learning for healthcare: review, opportunities and challenges[J]. *Brief Bioinform*, 2018, 19(6): 1236-1246. DOI: 10.1093/bib/bbx044.
- [28] Putin E, Mamoshina P, Aliper A, et al. Deep biomarkers of human aging: Application of deep neural networks to biomarker development[J]. *Aging*, 2016, 8(5):1021-1033. DOI:10.18632/aging.100968.
- [29] 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.
- [30] 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.
- [31] 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.
- [32] 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.
- [33] 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/acel.13256.
- [34] Sathyan S, Ayers E, Gao TN, et al. Plasma proteomic profile of age, health span, and all-cause mortality in older adults[J]. *Aging Cell*, 2020, 19(11): e13250. DOI: 10.1111/acel.13250.
- [35] Galkin F, Mamoshina P, Aliper A, et al. Human gut microbiome aging clock based on taxonomic profiling and deep learning[J]. *iScience*, 2020, 23(6): 101199. DOI: 10.1016/j.isci.2020.101199.
- [36] Ahadi S, Zhou WY, Rose SMSE, et al. Personal aging markers and ageotypes revealed by deep longitudinal profiling[J]. *Nat Med*, 2020, 26(1): 83-90. DOI: 10.1038/s41591-019-0719-5.
- [37] Bobrov E, Georgievskaya A, Kiselev K, et al. PhotoAgeClock: deep learning algorithms for development of non-invasive visual biomarkers of aging [J]. *Aging*, 2018, 10(11): 3249-3259. DOI: 10.18632/aging.101629.
- [38] Chen WY, Qian W, Wu G, et al. Three-dimensional human facial morphologies as robust aging markers[J]. *Cell Res*, 2015, 25(5):574-587. DOI:10.1038/cr.2015.36.
- [39] Rahman SA, Adjeroh DA. Deep learning using convolutional LSTM estimates biological age from physical activity[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 11425. DOI: 10.1038/s41598-019-46850-0.
- [40] 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.
- [41] Arbeevev KG, Ukraintseva SV, Bagley O, et al. "Physiological Dysregulation" as a promising measure of robustness and resilience in studies of aging and a new indicator of preclinical disease[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2019, 74(4):462-468. DOI:10.1093/gerona/gly136.
- [42] Liu ZY. Development and validation of 2 composite aging measures using routine clinical biomarkers in the Chinese population: analyses from 2 prospective cohort studies[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2021, 76(9):1627-1632. DOI: 10.1093/gerona/glaa238.
- [43] Kojima G, Iliffe S, Walters K. Frailty index as a predictor of mortality: a systematic review and meta-analysis[J]. *Age Ageing*, 2018, 47(2): 193-200. DOI: 10.1093/ageing/afx162.
- [44] Shi GP, Ma T, Zhu YS, et al. Frailty phenotype, frailty index and risk of mortality in Chinese elderly population-Rugao longevity and ageing study[J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 2019, 80: 115-119. DOI: 10.1016/j.archger.2018.11.001.