

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.11.003

小鼠衰老所致“正虚”过程中免疫功能衰退表征的特点

田建辉^{1a, 1b, 2}, 姚望², 阙祖俊^{1b}, 于盼^{1a, 2}, 姚嘉良^{1a, 2}, 罗斌^{1a, 2} (1. 上海市中医医院暨上海中医药大学附属市中医医院 a. 肿瘤临床医学中心; b. 肿瘤研究所, 上海 200071; 2. 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科, 上海 200032)

[摘要] **目的:** 基于小鼠渐进衰老模型探讨衰老所致“正虚”的免疫功能衰退表征的特点。**方法:** 使用不同月龄(2、6、15月龄) C57BL/6小鼠, 通过流式细胞术检测并比较小鼠外周血和脾组织中T细胞、髓源性抑制细胞(MDSC)及其亚群的丰度变化。**结果:** 外周血中T细胞亚群表型为CD3⁺CD4⁺CD44⁺CD62L⁺的幼稚CD4⁺T细胞(2 vs 6月龄, $P=0.137$; 2 vs 15月龄, $P=0.004$; 6 vs 15月龄, $P=0.105$)和表型为CD3⁺CD8⁺CD44⁺CD62L⁺的幼稚CD8⁺T细胞(2 vs 6月龄, $P=0.179$; 2 vs 15月龄, $P=0.001$; 6 vs 15月龄, $P=0.015$)出现与衰老有关的细胞比例降低, 差异具有统计学意义。表型为CD3⁺CD4⁺CD44⁺CD62L⁺的中央记忆CD8⁺T细胞出现与衰老有关的比例升高, 差异具有统计学意义(2 vs 6月龄, $P=0.01$; 2 vs 15月龄, $P=0.007$; 6 vs 15月龄, $P=0.164$)。对脾组织的检测结果具有与外周血相同特点。同时, CD8⁺T细胞比例随衰老逐渐升高(2 vs 6月龄, $P=0.027$; 2 vs 15月龄, $P<0.001$; 6 vs 15月龄, $P<0.001$); 表型为CD8⁺CD28⁺的活化CD8⁺T细胞亚群比例也出现随月龄增长的上升(2 vs 6月龄, $P=0.863$; 2 vs 15月龄, $P=0.016$; 6 vs 15月龄, $P=0.024$), 差异均具有统计学意义。**结论:** 衰老所致“正虚”过程中, 不同免疫细胞亚群变化并不都反映免疫抑制特点, 虽然总体免疫功能下降, 但单一表型难以反应整体免疫功能变化。

[关键词] 衰老; 免疫功能; 正虚; 肺癌; T细胞; 髓源性抑制细胞

[中图分类号] R392.12; R228 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)11-0950-07

Characteristic of immune function decline in the process of “Declined of Vital Qi” caused by aging in mice

TIAN Jianhui^{1a, 1b, 2}, YAO Wang², QUE Zujun^{1b}, YU Pan^{1a, 2}, YAO Jialiang^{1a, 2}, LUO Bin^{1a, 2} (1. a. Cancer Clinical Medical Center; b. Institute of Oncology, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China; 2. Department of Oncology, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the characteristics of “Declined of Vital Qi” in the characterization of immune function decline caused by aging based on a mouse model of progressive aging. **Methods:** C57BL/6 mice of different months (2, 6 and 15 months) were used to detect and compare the specific abundance of T cells, myeloid-derived suppressor cells (MDSC) and their subpopulations in peripheral blood and spleen of mice by flow cytometry. **Results:** In the peripheral blood, T cell subsets CD3⁺CD4⁺CD44⁺CD62L⁺ naive CD4⁺T cells (2 vs 6 months old, $P=0.137$; 2 vs 15 months old, $P=0.004$; 6 vs 15 months old, $P=0.105$) and CD3⁺CD8⁺CD44⁺CD62L⁺ naive CD8⁺T cells (2 vs 6 months old, $P=0.179$; 2 vs 15 months old, $P=0.001$; 6 vs 15 months old, $P=0.015$) showed a decrease in proportion to aging. However, the proportion of CD3⁺CD4⁺CD44⁺CD62L⁺ central memory CD8⁺T cells increased with aging (2 vs 6 months old, $P=0.01$; 2 vs 15 months old, $P=0.007$; 6 vs 15 months old, $P=0.164$). The results in spleen experiment showed the same trend. At the same time, the proportion of CD8⁺T cells increased gradually with aging (2 vs 6 months old, $P=0.027$; 2 vs 15 months old, $P<0.001$; 6 vs 15 months old, $P<0.001$). The subsets of activated CD8⁺T cells with phenotype CD8⁺CD28⁺ also increased with age (2 vs 6 months old, $P=0.863$; 2 vs 15 months old, $P=0.016$; 6 vs 15 months old, $P=0.024$). **Conclusion:** In the process of “Declined of Vital Qi” caused by aging, the changes of different immune cell subsets do not all reflect the characteristics of immunosuppression, although the overall immune function decreases. A single phenotype is difficult to reflect the change of overall immune function.

[Key words] aging; immune function; Declined of Vital Qi; lung cancer; T cell; myeloid-derived suppressor cell (MDSC)

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(11): 950-956. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.11.003]

[基金项目] 国家自然科学基金(No. 81774166); 上海市卫生健康委领军人才基金(No. 2022LJ014); 上海市炎癌转化病证生物学前沿研究基地课题(No. 2021科技03-12)

[作者简介] 田建辉(1973—), 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事中医药防治肺癌的基础与临床研究工作

[通信作者] 田建辉, E-mail: tjhhawk@shutcm.edu.cn

衰老是导致机体内环境失衡并引起包括肿瘤等大部分慢性疾病发生发展的主要因素^[1]。最新研究^[2]将大自噬失能、细胞衰老、慢性炎症和生态失调纳入了衰老标志中。这些衰老特征导致了机体内环境稳态失衡,是造成肺癌的发病率随着年龄的增长而显著升高的重要原因^[3]。本课题组前期研究^[4]发现,衰老同样也促进了肺癌转移的发生,因此能完整阐述衰老的免疫变化特征能对肺癌等疾病的控制起到关键指导作用。传统观点认为,瘤体是“全身属虚、局部属实”的疾病局部表现,“正气亏虚”是肺癌发生发展的根本原因和病机演变的关键。而随着衰老产生的免疫衰老等免疫功能衰退则是“正虚”的重要特征。现代研究也从免疫细胞表型丰度或活性反映免疫功能在衰老过程中减弱,体现中医“正虚”特征。但临床研究^[5]发现,衰老反而导致人体反映免疫功能的杀伤性细胞如NK细胞数量的水平升高,却并不能提示更好的疾病预后。浸润性CD8⁺T细胞会在早期复发肿瘤中增加,却与较差的预后相关^[6]。上述研究结果说明,单一免疫细胞表型难以反映衰老过程中整体“正气”,即免疫衰老和慢性炎症共存的免疫功能状态。因此,本研究以不同月龄小鼠作为“渐进衰老模型”,对小鼠外周血及脾组织免疫细胞进行检测,以期整体阐述衰老导致的免疫细胞变化,并由此探讨衰老所致“正虚”与免疫细胞亚群水平变化的关系,以指导临床肿瘤治疗。

1 材料与方法

1.1 实验动物

近交系C57BL/6小鼠购自杭州子源实验动物科技有限公司[许可证号为SCXK(浙)2019-0004],雄性,15月龄20只、6月龄20只、2月龄20只。饲养于上海中医药大学附属龙华医院实验动物中心,饲养环境为无特定病原体级屏障系统,环境参数为温度(22±2)℃、相对湿度(55±10)%,12 h昼夜交替。小鼠自由摄食和饮水,造模前适应性喂养1周。本次实验经上海中医药大学实验动物福利与伦理委员会审核批准(伦理批号为PZSHUTCM191213001)。

1.2 主要试剂

PE Anti-Mo Ly-6G抗体(货号B290416)、PE/Cy7 Anti-Mo CD62L抗体(货号B269976)、FITC Anti-Hu/Mo CD11b抗体(货号B295202)、APC Anti-Mo Ly-6C抗体(货号B274371)、PE Anti-Mo CD25抗体(货号B291570)、Alexa 488 Anti-Mo FOXP3抗体(货号B248076)、FITC Anti-Mo CD3e抗体(货号B271821)、BV605 Anti-Mo CD8抗体(货号B318405)、BV421 Anti-Mo CD28抗体(货号B291217)、PE/Cy7 Anti-Mo CD28

抗体(货号B316300)均购自美国Biolegend公司,PE Anti-Mo CD4抗体(货号1923424)、APC Anti-Mo CD3e抗体(货号1989981)、FITC Anti-Mo CD8抗体(货号2002710)、PerCP-Cy5.5 Anti-Hu/Mo CD44抗体(货号2142979)均购自美国Invitrogen公司,红细胞裂解液(货号6208846)购自美国BD公司。

1.3 仪器

5430R型高速冷冻离心机购自德国Eppendorf公司,流式细胞分析仪FACSVerse购自美国BD公司。

1.4 小鼠分组

将所有小鼠按照月龄分为2月龄、6月龄、15月龄3组,每组各20只,适应性饲养1周后取材。

1.5 流式细胞术检测小鼠外周血和脾组织中免疫细胞亚群水平

取洁净流式上样管,加入100 μL小鼠外周血或脾组织,经200目筛研磨后获得混悬液,再加入5 μL的BSA封闭5 min。加入相应抗体,避光处理20 min。随后加入红细胞裂解液,裂解8 min,当上样管中细胞悬液澄清时350×g离心4 min。弃去上清液,加入2 mL的PBS重悬清洗,再次350×g离心4 min,重复清洗2次后,弃上清液,加入300 μL的PBS重悬,流式细胞仪上机检测。

Treg细胞检测:同上取样100 μL,加入红细胞裂解液,裂解8 min,当上样管细胞悬液澄清时,350×g离心4 min。弃去上清液,加入CD3、CD25抗体,20 min后加入0.8 mL固定破膜剂,避光处理40 min,再加入2 mL破膜缓冲液,350×g离心4 min。弃去上清液,管底沉淀物重悬后加入Foxp3抗体处理20 min,再加入破膜缓冲液2 mL重悬,再次350×g离心4 min,弃去上清液,加入300 μL的PBS重悬,流式细胞仪上机检测。

表1 流式术检测免疫细胞及其对应表型

类型	表型
正向免疫应答细胞亚群	
细胞毒性T细胞总群	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺
辅助T细胞总群	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁻
幼稚CD4 ⁺ T细胞	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD44 ⁺ CD62L ⁺
幼稚CD8 ⁺ T细胞	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD44 ⁺ CD62L ⁺
活化T细胞总群	CD3 ⁺ CD28 ⁺
活化CD8 ⁺ T细胞	CD8 ⁺ CD28 ⁺
负向免疫应答细胞亚群	
中央记忆CD4 ⁺ T细胞	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD44 ⁺ CD62L ⁺
中央记忆CD8 ⁺ T细胞	CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD44 ⁺ CD62L ⁺
Treg细胞	CD4 ⁺ CD25 ⁺ FOXP3 ⁺
粒细胞样MDSC	CD11b ⁺ Ly6C ⁺ Ly6G ⁺
单核细胞样MDSC	CD11b ⁺ Ly6C ⁺ Ly6G ⁻

1.6 统计学处理

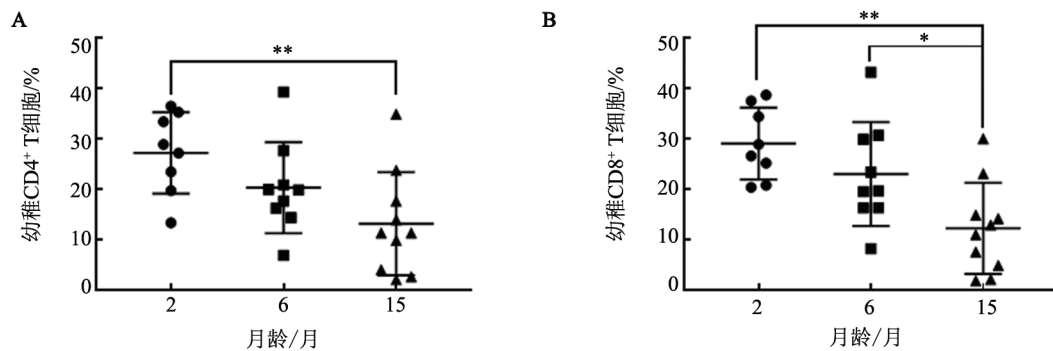
采用 SPSS24.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 多组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。计数资料的组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 衰老小鼠外周血和脾组织中幼稚 T 细胞比例下降为揭示衰老小鼠具有的免疫衰老特征, 将小鼠外周血进行流式术检测, 结果(图 1)显示, 表型为

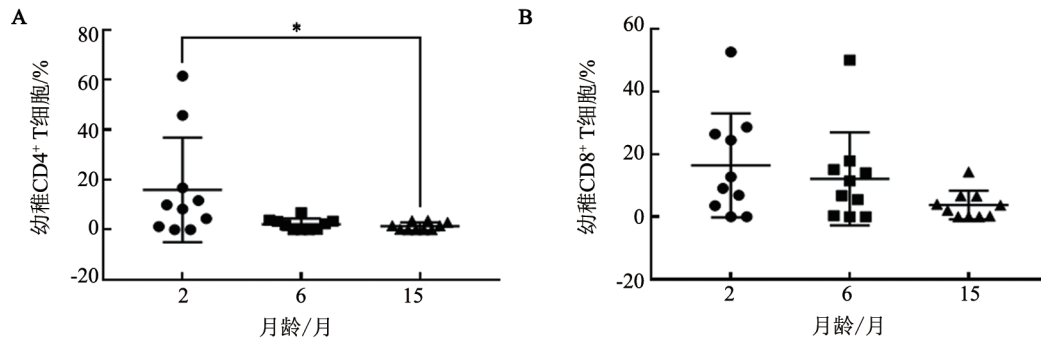
$CD3^+CD4^+CD44^+CD62L^+$ 的幼稚 $CD4^+$ T 细胞(2 vs 6 月龄, $P=0.137$; 2 vs 15 月龄, $P=0.004$; 6 vs 15 月龄, $P=0.105$)和表型为 $CD3^+CD8^+CD44^+CD62L^+$ 的幼稚 $CD8^+$ T 细胞(2 vs 6 月龄, $P=0.179$; 2 vs 15 月龄, $P=0.001$; 6 vs 15 月龄, $P=0.015$)出现与衰老相关的比例降低, 差异具有统计学意义。

脾组织的流式术检测结果(图 2)显示, 小鼠幼稚 $CD4^+$ T 细胞比例(2 vs 6 月龄, $P=0.052$; 2 vs 15 月龄, $P=0.029$; 6 vs 15 月龄, $P=0.481$)随月龄增长而下降。而幼稚 $CD8^+$ T 细胞水平在各月龄组小鼠间的差异不具有统计学意义。



A: 小鼠外周血幼稚 $CD4^+$ T 细胞水平; B: 小鼠外周血幼稚 $CD8^+$ T 细胞水平。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 1 2、6、15 月龄小鼠外周血中幼稚 T 细胞亚群比例



A: 小鼠脾内幼稚 $CD4^+$ T 细胞水平; B: 小鼠脾组织中幼稚 $CD8^+$ T 细胞水平。* $P < 0.05$ 。

图 2 2、6、15 月龄小鼠脾组织幼稚 T 细胞亚群比例

2.2 衰老小鼠外周血中中央记忆 T 细胞比例上升

对小鼠外周血记忆细胞的检测结果(图 3)显示, 表型为 $CD3^+CD4^+CD44^+CD62L^+$ 的中央记忆 $CD4^+$ T 细胞比例变化不具有统计学意义, 同时表型为 $CD3^+CD4^+CD44^+CD62L^+$ 的中央记忆 $CD8^+$ T 细胞出现与衰老相关的比例升高, 差异具有统计学意义(2 vs 6 月龄, $P=0.01$; 2 vs 15 月龄, $P=0.007$; 6 vs 15 月龄, $P=0.164$)。脾组织的中央记忆 T 细胞比例变化均不具有统计学意义(图 4)。

2.3 衰老小鼠外周血和脾组织中免疫抑制相关细胞比例的变化

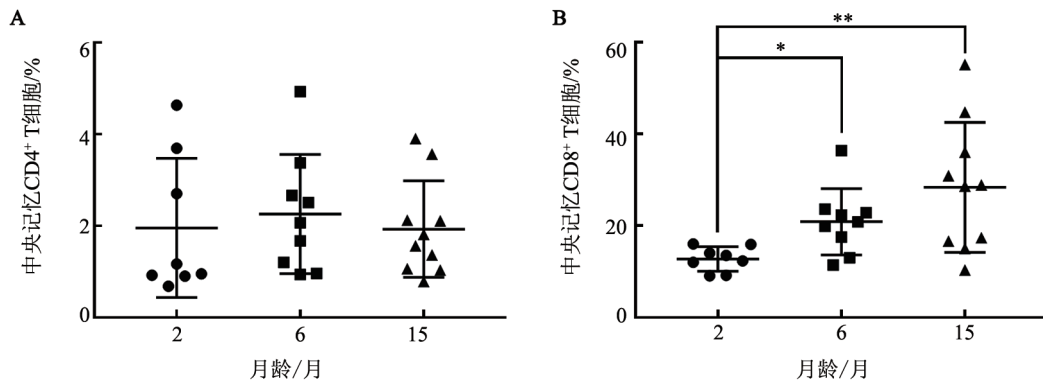
流式术检测结果(图 5、6)显示, 外周血中仅有表型为 $CD11b^+Ly6C^+Ly6G^+$ 的粒细胞样 MDSC (granulocytic MDSC, G-MDSC) 比例出现随月龄下降趋势(2 vs 15 月龄, $P=0.039$)。其余的单核样 MDSC (monocytic-MDSC, M-MDSC) 和 Treg 细胞比例变化无统计学意义。小鼠脾组织中两种 MDSC 细胞亚群和 Treg 细胞比例变化无统计学意义。

2.4 衰老小鼠慢性炎症相关 T 细胞亚群的变化

外周血流式术检测结果(图 7、8)显示, 随着月龄上升小鼠外周血的 $CD4^+$ T 细胞比例逐渐降低, 差异具有统计学意义(2 vs 6 月龄, $P < 0.001$; 2 vs

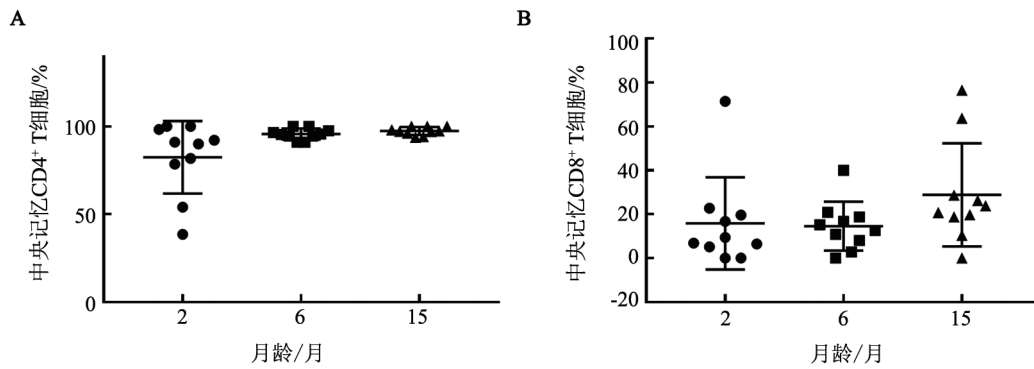
15月龄, $P < 0.001$; 6 vs 15月龄, $P < 0.001$)。CD8⁺ T细胞比例随月龄增加而逐渐升高, 差异具有统计

学意义(2 vs 6月龄, $P = 0.027$; 2 vs 15月龄, $P < 0.001$; 6 vs 15月龄, $P < 0.001$)。



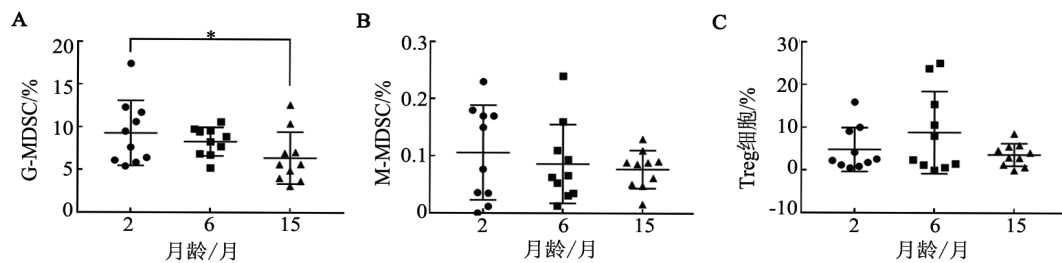
A: 小鼠外周血中央记忆CD4⁺ T细胞水平; B: 小鼠外周血中央记忆CD8⁺ T细胞水平。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图3 2、6、15月龄小鼠外周血中央记忆T细胞亚群比例



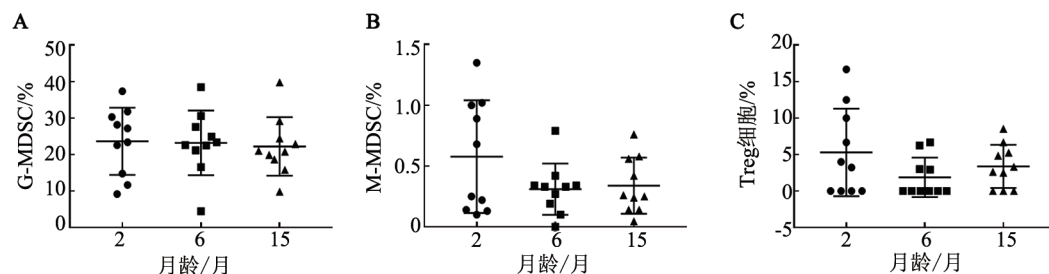
A: 小鼠脾中央记忆CD4⁺ T细胞水平; B: 小鼠脾中央记忆CD8⁺ T细胞水平。

图4 2、6、15月龄小鼠脾组织中中央记忆T细胞亚群比例



A: 小鼠外周血G-MDSC水平; B: 小鼠外周血M-MDSC水平; C: 小鼠外周血Treg细胞水平。* $P < 0.05$ 。

图5 2、6、15月龄小鼠外周血MDSC、Treg细胞亚群比例



A: 小鼠脾组织中G-MDSC水平; B: 小鼠脾组织中M-MDSC水平; C: 小鼠脾组织中Treg细胞水平。

图6 2、6、15月龄小鼠脾组织中MDSC、Treg细胞亚群比例

脾组织中 CD4⁺ T 细胞出现与月龄相关的比例下降(2 vs 6 月龄, $P=0.442$; 2 vs 15 月龄, $P=0.001$; 6 vs 15 月龄, $P=0.007$)。CD8⁺ T 细胞比例变化不具有统计学意义。

外周血流式术检测结果(图9)显示,表型为 CD3⁺CD28⁺的活化 T 细胞也出现随月龄增长的比

例下降,差异具有统计学意义(2 vs 6 月龄, $P=0.248$; 2 vs 15 月龄, $P=0.003$; 6 vs 15 月龄, $P=0.041$),而表型为 CD8⁺CD28⁺的活化 CD8⁺ T 细胞亚群则出现随月龄增长的比例上升,差异有统计学意义(2 vs 6 月龄, $P=0.863$; 2 vs 15 月龄, $P=0.016$; 6 vs 15 月龄, $P=0.024$)。

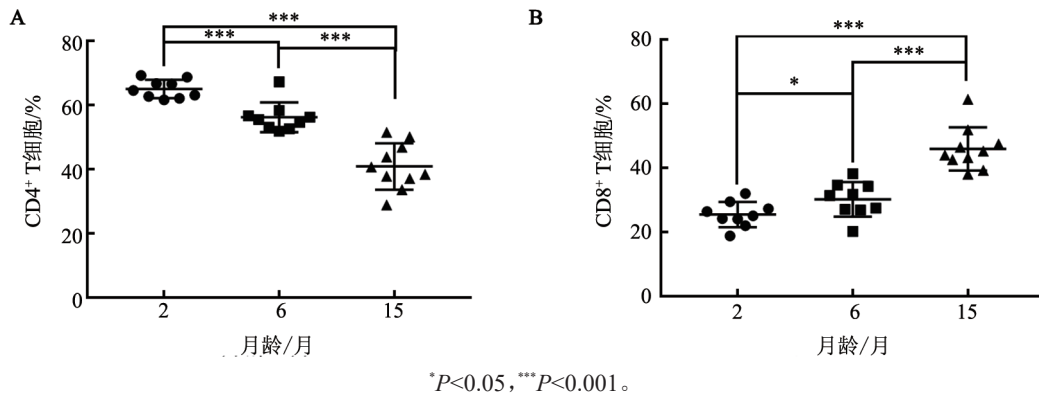


图7 2、6、15月龄小鼠外周血中 CD4⁺(A)、CD8⁺ T(B)细胞亚群比例

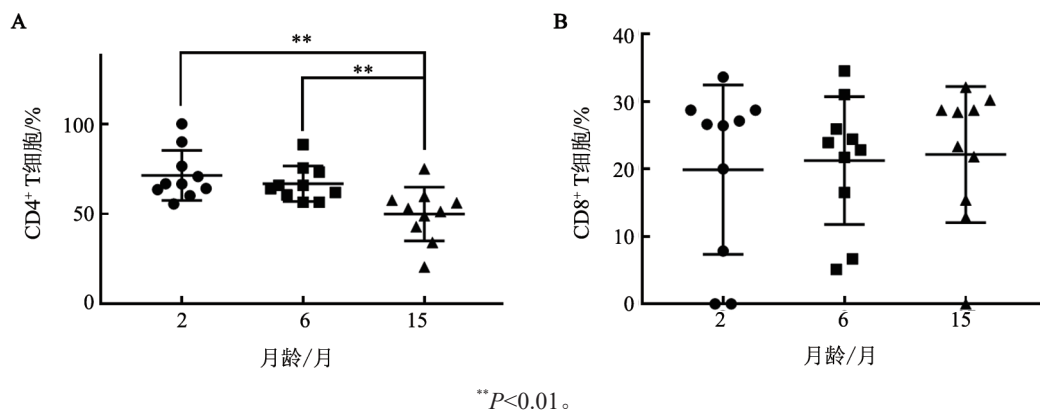


图8 2、6、15月龄小鼠脾组织中 CD4⁺(A)、CD8⁺T(B)细胞亚群比例

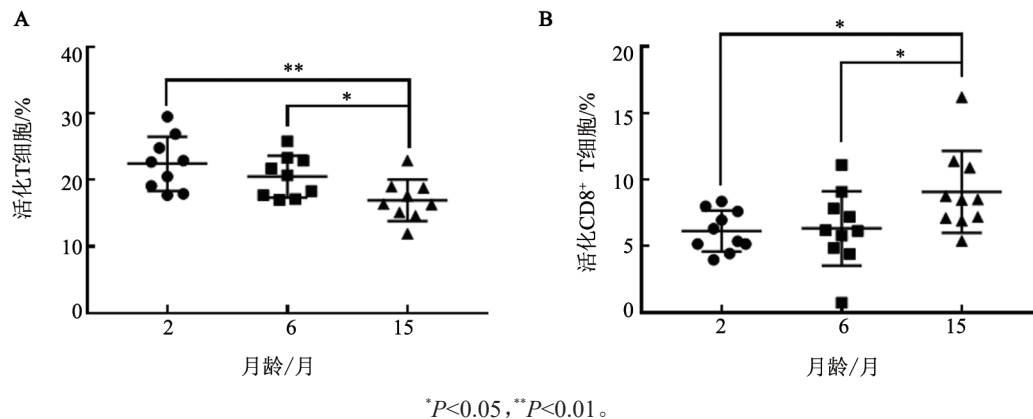


图9 2、6、15月龄小鼠外周血中活化 T 细胞(A)与活化 CD8⁺ T 细胞(B)亚群比例

3 讨论

衰老机体是多系统组织器官变化的复杂进程^[7]。本研究从免疫学角度探讨衰老所致“正虚”的具体变

化,研究发现,老龄实验小鼠外周血和脾组织中的 T 细胞亚群中出现幼稚细胞的比例减少和中央记忆细胞的比例增多,这与其他衰老相关研究^[8-9]结果一致;同时也发现,不同月龄小鼠外周血 CD8⁺CD28⁺ T 细胞

和CD8⁺T细胞随月龄增加而升高,该现象可能部分反映了衰老所伴随的慢性炎症状态;但仅有部分研究^[10]结果支持这一推测。并且,衰老过程中增多的活化T细胞本该具有抑癌作用,但前期研究^[4]却证实衰老能促进肺癌转移发生,产生这一现象的具体机制有待进一步研究明确。

衰老所致“正虚”过程中,不同免疫细胞亚群变化并不都能反映免疫抑制特点^[11];虽然机体总体免疫反应下降,但对免疫功能的阐述仍缺乏系统评判标准,单一表型难以反应整体免疫功能变化。免疫功能抑制作为衰老过程中的主要表现,不仅以T细胞功能障碍为特点,还会出现NK细胞、DC等固有免疫细胞的功能障碍^[12-13];一般认为,这些变化是导致肺癌等衰老相关疾病的促进因素,而衰老同样导致了慢性炎症的产生^[14]。从本次研究的T细胞表型上看,慢性炎症相关的活性T细胞与对肺癌等肿瘤具有杀伤作用的毒性T细胞并无明显差异。对于这一矛盾,有理论解释为慢性炎症是促进“炎癌转化”的促进因素;也有实验发现是因为此类T细胞具有低毒性,会竞争性抑制正常毒性T细胞的杀伤作用,促进转移发生^[6]。同时,在技术不断进步的推进下,可能使现有T细胞亚群不断细分出功能相悖的亚群,就如同虚拟记忆T细胞(virtual memory T cell, Tvm)不同于一般记忆T细胞具有一定免疫杀伤能力,却拥有与一般记忆T细胞极其相近的表型,如仅关注其杀伤作用,又难以代表整体记忆细胞的免疫抑制特点^[15-16]。该现象提示了在肿瘤等疾病过程中,各亚群的数量和功能权重应得到整体评判,才能全面评估免疫系统的变化对疾病的影响,继而判断治疗手段的有效性。

中医理论中的整体观念,肯定是值得借鉴的一种评估方案。不同于西方医学的疾病病理诊断特点,中医的诊断评价方式从患者症状出发,在此基础上,结合体征、环境因素等,形成针对个体的辨证论治的个性化临床诊疗模式。患者的临床证候,作为辨证论治的主要依据,探索病证结合的肺癌等疾病的具体分型和“正气”在衰老过程中的变化特征,从而指导临床治疗。在高维统计下,这种“正气”盛衰变化的整体可以看作是一个免疫抑制与兴奋的不断波动到稳定的收敛平衡^[17],此观点与本次实验结果相呼应;并且,随年龄增长,这种动态变化并不是匀速发展的^[18],而是在不断的波动变化过程中。因此,在衰老所致疾病治疗中就更应强调对患者当下的“正虚”特征整体把握,本次研究的T细胞表型变化特征可能仅仅是整体中一个很小的部分。《黄帝内经》素有“五八肾气衰,发堕齿槁”等对人体衰老的完整描述,概括了衰老导致“正虚”的具体表征。因此,只有

对衰老过程中的“正虚”变化进行系统评价,中医药治疗才能通过调节人体自身内环境平衡和恢复患者自身“正气”,从而达到延长患者生存期的目的。

因此,建立免疫评分可能是解决目前免疫功能评价困境的可行手段^[19],故需要大样本、多维度的表型大数据建立评分模型和进行权重分析。应强调的是,衰老的“正虚”变化不能仅从免疫细胞表型角度去分析,细胞因子、外泌体、甚至菌群变化都可能是肺癌等衰老相关疾病发生的诱因^[20]。应该认识到,中医“正虚”概念不可能被单纯的免疫细胞表型变化所涵盖,如何系统评判衰老的“正虚”特征还有很长的路要走。

[参考文献]

- [1] LÓPEZ-OTÍN C, PIETROCOLA F, ROIZ-VALLE D, *et al*. Metahallmarks of aging and cancer[J]. *Cell Metab*, 2023, 35(1): 12-35. DOI: 10.1016/j.cmet.2022.11.001.
- [2] 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.
- [3] 辛雯艳, 黄磊, 闫貽忠. 2005—2014年中国老年人肺癌发病的时间趋势分析[J]. *现代预防医学*, 2020, 47(12): 2113-2116. DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2017.21.049.
- [4] 姚望, 阙祖俊, 姚嘉良, 等. 金复康调控免疫衰老抑制肺癌转移[J]. *肿瘤防治研究*, 2022, 49(11): 1134-1138. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2022.21.1474.
- [5] GOUNDER S S, ABDULLAH B J J, BINTI MOHD RADZUANB N E I, *et al*. Effect of aging on NK cell population and their proliferation at *ex vivo* culture condition[J]. *Anal Cell Pathol*, 2018, 2018: 1-6. DOI: 10.1155/2018/7871814.
- [6] SUN Y F, WU L, ZHONG Y, *et al*. Single-cell landscape of the ecosystem in early-relapse hepatocellular carcinoma[J]. *Cell*, 2021, 184(2): 404-421. DOI: 10.1016/j.cell.2020.11.041.
- [7] CAI Y S, SONG W, LI J M, *et al*. The landscape of aging[J]. *Sci China Life Sci*, 2022, 65(12): 2354-2454. DOI: 10.1007/s11427-022-2161-3.
- [8] QIN L, JING X, QIU Z F, *et al*. Aging of immune system: immune signature from peripheral blood lymphocyte subsets in 1068 healthy adults[J]. *Aging*, 2016, 8(5): 848-859. DOI: 10.18632/aging.100894.
- [9] MORO-GARCÍA M A. When aging reaches CD4⁺ T-cells: phenotypic and functional changes[J/OL]. *Front Immunol*, 2013, 4: 107 [2013-07-07]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00107>. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00107.
- [10] BAKER D J, CHILDS B G, DURIK M, *et al*. Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan[J]. *Nature*, 2016, 530(7589): 184-189. DOI: 10.1038/nature16932.
- [11] ZHOU D X, BORSA M, SIMON A K. Hallmarks and detection techniques of cellular senescence and cellular ageing in immune cells[J/OL]. *Aging Cell*, 2021, 20(2): e13316 [2023-07-07]. <http://dx.doi.org/10.1111/accel.13316>. DOI: 10.1111/accel.13316.
- [12] CHOUGNET C A, THACKER R I, SHEHATA H M, *et al*. Loss of

- phagocytic and antigen cross-presenting capacity in aging dendritic cells is associated with mitochondrial dysfunction[J]. *J Immunol*, 2015, 195(6): 2624-2632. DOI: 10.4049/jimmunol.1501006.
- [13] FANG M, ROSCOE F, SIGAL L J. Age-dependent susceptibility to a viral disease due to decreased natural killer cell numbers and trafficking[J]. *J Exp Med*, 2010, 207(11): 2369-2381. DOI: 10.1084/jem.20100282.
- [14] BLEVE A, MOTTA F, DURANTE B, *et al.* Immunosenescence, inflammaging, and frailty: role of myeloid cells in age-related diseases[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2023, 64(2): 123-144. DOI: 10.1007/s12016-021-08909-7.
- [15] WANG Y Y, HU W, WANG F S, *et al.* Revisiting the role of human memory CD8⁺ T cells in immune surveillance[J/OL]. *Cell Mol Immunol*, 2022, 19(11): 1319-1321[2023-07-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9622901/>. DOI: 10.1038/s41423-022-00900-2.
- [16] HALUSZCZAK C, AKUE A D, HAMILTON S E, *et al.* The antigen-specific CD8⁺ T cell repertoire in unimmunized mice includes memory phenotype cells bearing markers of homeostatic expansion[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(2): 435-448. DOI: 10.1084/jem.20081829.
- [17] ALPERT A, PICKMAN Y, LEIPOLD M, *et al.* A clinically meaningful metric of immune age derived from high-dimensional longitudinal monitoring[J]. *Nat Med*, 2019, 25(3): 487-495. DOI: 10.1038/s41591-019-0381-y.
- [18] LI J, XIONG M, FU X H, *et al.* Determining a multimodal aging clock in a cohort of Chinese women[J]. *Med*, 2023. DOI: 10.1016/j.medj.2023.06.010.
- [19] 罗添乐, 周奕阳, 杨蕴, 等. 外周免疫评分对经中医药治疗的非小细胞肺癌患者预后的影响及相关预测模型的构建[J]. *中医杂志*, 2022, 63(1): 35-42. DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2022.01.008.
- [20] CHEN H A, HO Y J, MEZZADRA R, *et al.* Senescence rewires microenvironment sensing to facilitate antitumor immunity[J]. *Cancer Discov*, 2023, 13(2): 432-453. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-22-0528.
- [收稿日期] 2023-07-10 [修回日期] 2023-10-10
[本文编辑] 黄静怡, 沈志超