

衰老的本质—模型、原因、抗衰老和癌症

Essence of Aging-Model, Reason Anti-aging and Cancer

刘学武 Liu Xuewu

(北京万斌赛尔生物技术有限公司 Beijing Wanbin Cell Biotechnology Co., Ltd.)

摘要: 本文提出了一个标准的衰老模型, 该模型能够与传统的衰老理论相容, 并且给出了衰老的原因, 以及抗衰老的思路。本文研究发现癌症符合衰老模型, 故认定癌症就是衰老的一种表现形式, 其原因和治疗思路与衰老一致。

Abstract: This paper proposes a standard aging model, which is compatible with the traditional theory of aging. And gives reasons for aging and anti-aging ideas. The paper found that the hallmarks of cancer in line with the aging model, so cancer is a form of manifestation of aging, causes and treatment of cancer is consistent with the idea of aging.

关键词: 衰老模型; 衰老细胞; 癌症; 坏死; 自噬; 凋亡.

Key word: aging model; senescent cells; cancer; necrosis; autophagy; apoptosis.

0 引言

按照物理学家薛定谔的看法, 生命是以“负熵”为特征, 从环境中汲取能量来维持系统的组织状态^[1]。这一“负熵”特性伴随着生命自始至终。按照热力学第二定律, 孤立系统自发地朝着热力学平衡方向——最大熵状态——演化。构成生命的物质基础的机体存在一种生命力来抵抗这种自“有序”向“无序”演化的过程。因此机体处于某种“有序”状态是生命的基础, 或者说, 当这种“有序”状态逐步演变为某种程度“无序”状态时, 生命体就到了寿命的终点, 这一过程可以被称为衰老。

1 衰老模型

动物的机体是由细胞构成, 所以机体的“有序”结构也是由细胞的“有序”结构累计而成。先不区分细胞的种类, 在统计上, 我们可以定义机体是由两类细胞构成: “有序”的细胞和“无序”的细胞。其中, “有序”细胞占全体细胞的比率高于一百分比, 我们称该动物机体具有生命, 一旦该比率低于这一百分比数, 我们可以将之定义为衰老的终点——死亡。生命结束并不要求全体细胞都由“无序”细胞构成, 只需要达到某一种程度。

我们可以将“有序”细胞定义为健康细胞, 而将“无序”细胞定义为衰老细胞, 即受到损伤的不健康细胞, 其作为细胞的特定结构或功能出现缺失, 当衰老细胞的比率过高时, 机体就会死亡。

随着时间, 或者年龄的增加, 某一机体的总体细胞是一个可定量的值, 机体的寿命取决

于一段时间积累衰老细胞的数量与该段时间被清除并得以再生细胞的差。衰老细胞的数量是随着时间而增加，而被清除并得以再生细胞理应也是随着时间而增加。被清除并得以再生细胞是代替衰老细胞的健康细胞。

假设：衰老细胞与机体总体细胞数量的比例为 β 时，机体走向死亡。

我们将机体总细胞量表示为： $D(t) = a + bt$ ， t 为时间。

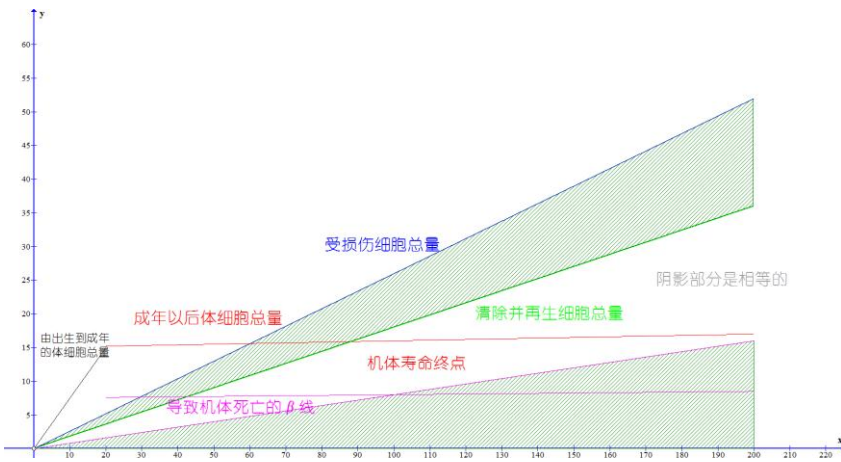
一段时间累计的衰老细胞表示为： $S(t) = dt$ ，累计衰老细胞数是随着时间而逐步增加。

一段时间累计的衰老细胞被清除并得以再生的健康细胞表示为： $AR(t) = et$ ，该再生细胞数量也是随着时间逐步增加。

当机体走向死亡时：
$$\beta = \frac{S(t) - AR(t)}{D(t)} = \frac{dt - et}{a + bt} \quad (1)$$

解出：
$$t = \frac{\beta a}{d - e - \beta b} \quad (2)$$

用图表示为：



上部分阴影部分即表示一段时间内受损失的衰老细胞数量与被清除并得以再生健康细胞数量的差，下部分阴影等同于上部分阴影，当该阴影与导致机体死亡的 β 线相交时，机体就会死亡。

图 1 衰老模型示意图

机体细胞是一个比较确定的量；衰老细胞可以看作受到各种环境因素影响，导致细胞部分结构或者功能有损伤；衰老细胞并不总是停留在机体内，他们有部分会被清除并被再生细胞所代替，这种清除表现的形式为细胞死亡，并被降解。

从公式 (2) 可以看出，机体寿命和 d 成反向关系，即正常细胞受到损伤变为衰老细胞的比例越高，机体寿命越短；机体寿命和 e 和 b 成正向关系，即衰老细胞得以清除并再生出健康细胞的比例越高，机体寿命越长，如果机体的体积能够持续增长，机体寿命也越长；按图表示，阴影面积越小，机体寿命越长。

动物整个机体可以说是由细胞和细胞间基质构成，衰老模型只包括细胞的衰老，而没有包括细胞内部的“失序”和细胞间基质的“失序”。不仅损伤的细胞，还包括细胞内部的损坏和细胞间的基质的损坏都需要清除，并再生新的“零件”来补充健康机体。所以，我们的衰老模型也可以包括除细胞层面的以外的、细胞内或细胞间有序物质的损伤、清除和再生。我们相信三个变量是相关的，可以用细胞层面的变量来代替。

2 机体体积与衰老的关系

从衰老模型的数学关系可以看出，如果细胞受损伤速度是固定的，那么机体体积越大，或者说机体体积能够不断增加，细胞总量将持续增加，机体寿命将会延长。这是一个很有意思的关系，实际中，也可以用现实的长寿命动物的例子来佐证。

鱼类、贝壳类、爬行类动物的身体会随着年龄而持续增长，所以这些类动物经常性的出现长寿和巨大体积伴随的情况。再考察鸟类和哺乳动物，基本上体积越大寿命越长。大致可以测算出一个关系：成年体重越重（或体积越大）的动物，其最大寿命也越长，成年动物的体积变量可以解释其最大寿命的 63%^[2]。

机体体积的增加能力有助于长寿，我们认为原因可能是：1）体积增加，健康正常的体细胞数量较大，受损衰老细胞的占比要达到一定比率需要更长的时间；2）体积的可增加性为再生新的细胞留出空间，机体的空间除了存量增加的空间，就是增量带来的空间，再生新细胞的物质前提就是需要有空间的存在。按人的体积看，成年以后，体积几乎不再增加，因此人体寿命没有受益于体积的增长。不过，有报告指出被国际标准界定为“超重”的人在同样的生命阶段比“正常”体重者死亡危险少 6%^[3]。过于肥胖肯定是不健康的，但是一般的肥胖为什么能增加寿命，有可能与体细胞总量增加有一定关系。

3 清除并再生细胞与衰老的关系

从基本的物理学角度理解，衰老细胞不断积累而得不到清除，衰老细胞占总体细胞的比例肯定会持续提高，很快机体就会死亡。而动物世界中总有一套清除衰老细胞的方法。从衰老模型中可以看出，如果清除并再生细胞的能力提高，寿命就可以延续，这一机制能够很好的解释了衰老的本质。清除并再生新的细胞似乎涉及到两个过程，首先是清除衰老细胞，其次是再生新的细胞。我们来探讨一下这两个过程的关系。

显然，清除衰老细胞是再生新细胞的必要条件，因为在机体总细胞数量不变的情况下，再生新细胞必须要有物理空间，所以清除衰老细胞是再生新细胞所必需的，然而清除之后，再生新细胞是否能够实现似乎是不确定的。但是，动物机体的本质属性在这里显示出来了，因为现实中我们不可能看到空的细胞结构存在，所以一旦有特异性的诱导空间存在，有生命力的机体就会通过再生的方式来弥补该空间。当然这一过程肯定不是 100%达到的，否则我们不会看到非正常细胞的疤痕的存在，这似乎直接和干细胞再生能力有关系。

有研究表明：终身清除衰老细胞，能够延迟与年龄相关的表现型的最初出现时间。而且，晚年的清除会延缓已经出现的与年龄相关的病症的发展。这表明，衰老细胞的确能引起与年龄相关的表现型，而且它们的清除能够防止或延迟与年龄相关的组织功能丧失^[4]。可以说，清除衰老细胞，降低衰老细胞的比例，机体就能表现的更为年轻，并且可以防止或者延迟与年龄相关的组织功能丧失。

清除衰老细胞也意味着让衰老细胞死亡，其过程一般来说有如下三个机制：自噬（autophagy）、凋亡（apoptosis）和坏死（necrosis）。

就人类最复杂的器官大脑来说，蛋白酶体降解和自噬是主要的清除细胞内垃圾的手段，而细胞间的蛋白质垃圾则需要其他的手段，即在睡眠的时候，脑脊液以很快的速度冲洗脑组织，一路扫除多余的蛋白质和其他废物，而大脑垃圾得以清除，加强这样清除垃圾的能力，可能会延缓老年性疾病如阿尔兹海默症，从而延长寿命^[5]。

衰老的成纤维细胞能够抵抗程序性死亡^[6]。衰老细胞通过中等程度的再生可以保持存活几年^[7]。衰老并不意味着濒临死亡，如果定期更换培养液，衰老细胞仍可长期生存^[8]。衰老细胞的增殖抑制是不可逆的，其生长停滞在细胞周期 G1 期，不能再进入 S 期。这提示衰老细胞可能比增殖活跃的年轻细胞抗凋亡，从而长期维持生存^[9]。

因此在理论上找到了一种抗衰老的思路，即通过对衰老细胞的死亡诱导，促使衰老细胞发生自噬、凋亡或坏死，走向死亡，从而得以从机体中清除出去。机体会自动启动干细胞再生能力，再生出新的细胞以代替被清除的细胞，使该机体年轻化。

有意识的诱导衰老细胞死亡，不论是凋亡、坏死或自噬，是清除衰老细胞最适宜的思路。在胚胎发育阶段通过细胞凋亡清除多余的和已完成使命的细胞，保证了胚胎的正常发育；在成年阶段通过细胞凋亡清除衰老和病变的细胞，保证了机体的健康。比如，在小鼠研究中发现，当把年老的干细胞置于一个年轻的微环境中，它们能够返老还童^[10]，即年轻化，也表示再生能力更强。从另一个方面理解，组织中衰老细胞得以清除，由于特异性的诱导空间存在，组织中的干细胞会自动再生，再生的组织更为年轻化，因此机体整体表现为年轻化。

有较多研究指出细胞凋亡有助于机体延迟与衰老相关的组织功能丧失。比如，DNA 断裂也是细胞凋亡的标志特征，DNA 双链断裂（DNA double-strand breaks）在老鼠大脑活动的变化关系表明：这种 DNA 分子的断裂，即使在完全健康的小鼠神经元中也会发生，在适应新环境过程的小鼠大脑中，DNA 断裂的速度是那些待在旧环境中不动小鼠的六倍^[11]。显然适应新环境的小鼠记忆和思维能力更强，这表明 DNA 双链断裂的这种细胞凋亡过程能够促进小鼠的大脑年轻化。

自噬促进了凋亡细胞最终的降解，也是衰老细胞清理的最后一步。自噬增多具有抗衰老效应^[12]。

白藜芦醇能够显著提高人外周血单核细胞（PBMC）产生 TNF- α ^[13]。而红酒中发现的化合物白藜芦醇确实提供了抗衰老的好处^[14]。我们猜想正是由于白藜芦醇增加了 TNF- α 的产生，增加了衰老细胞的坏死，从而提供了抗衰老的作用。

长寿命不得癌的盲鼯鼠，会在特定情况下通过释放 $\text{INF-}\beta$ 触发坏死（necrosis）程序来杀死某些细胞，从而延长寿命并抵抗癌症^[15]。

4 衰老模型与一般衰老理论的关系

最新研究显示，衰老有九大特征，他们是：基因组不稳定性（genomic instability）、端粒缩短（telomere attrition）、表观遗传学改变（epigenetic alterations）、蛋白内稳态丧失（loss of proteostasis）、营养感应失调（deregulated nutrient sensing）、线粒体功能异常（mitochondrial dysfunction）、细胞衰老（cellular senescence）、干细胞耗竭（stem cell exhaustion）和细胞间信息交换改变（altered intercellular communication）^[16]。

我们的衰老模型表达了：衰老取决于细胞发生损伤的累计占比，一旦这个比例超过一定程度，比如 50%，机体就会走向死亡。机体具有天然的再生能力，再生新的细胞能够替换发生损伤的细胞，可以降低该比例。这个模型在物理学角度是正确的，也正因为如此，已经得到实验验证的衰老理论应该符合这一模型的预测，或者说，是这个模型的一部分。

衰老模型： $t = \frac{\beta a}{d - e - \beta b}$ ， a 、 b 不变化， β 是常数，比如 0.5，寿命取决于 d 和 e 。其中， d 是一时间段损伤细胞的累计量， e 是同样时间段内得以再生的新的细胞数量。由于物理空间的限制，可以肯定的是 $d < e$ 。

基因组不稳定性可能会导致遗传信息的不稳定，是细胞受到损伤的一种形式，因此属于 d 的范围；**表观遗传学改变**也可能导致遗传信息的变化，偏离了健康的状况，也是细胞受到损伤的一种形式；显然**线粒体功能异常**和**细胞衰老**，是细胞功能或结构受到破坏的形式，所以均属于 d 的范围。

由于受到外部环境，或自身增长的机会性错误，机体内的细胞在功能上或者结构上会发生损伤，导致不能履行正常的细胞功能。这符合物理学中的“熵增”的规律。理论上受到损伤的细胞如果能够被清除，留下特异性的空间，机体就有办法再生出新的健康细胞，这就是机体生命力的体现，也就是从环境中吸收能量抵抗“熵增”，产生更为“有序”的细胞，即“负熵”。清除衰老细胞是机体自身的能力所在，在清除完成后，留下的物理空间需要新生细胞填补，这就会需要**端粒缩短**、**干细胞耗竭**和**细胞间信息交换改变**理论来补充，也就是说这三个变量应属于 e 的范围。

端粒是限制细胞过度增殖的一种手段，但在逻辑上与衰老没有关系。我们可以将人体细胞分为干细胞和功能性细胞。其中，干细胞有分化为其他细胞，并且具有自我复制的能力，但干细胞没有其他功能。除了干细胞之外，不能自我复制，但有其他功能的细胞统称为功能性细胞。机体由干细胞和功能性细胞构成，我们暂时不考虑细胞间基质，这些均是由功能性细胞所产生。

用传统的干细胞理论来理解，干细胞的端粒不会因为细胞分化而变短，或者说干细胞的端粒是可以增长的，所以在干细胞的生命期中，干细胞可以实现无限制分化细胞。这也可以

从干细胞的定义中逻辑推演而来，因为干细胞可以自我复制，所以干细胞理论上不会因为分化出新细胞而使端粒变短。

研究发现，特定的啮齿动物干细胞、人星型胶质细胞、啮齿神经胶质细胞和啮齿少突祖细胞似乎有无限的寿命，并保持正常表型^{[17][18]}。

而功能性细胞则不一样，功能性细胞除了实现各种生化功能，还有一点他们也可以分化，但是他们的分化受到端粒变短的限制，这种限制对机体有非常大的好处。我们猜想端粒限制有可能是维护机体的特定结构的主要因素，没有端粒限制，机体的细胞可能不受限制的分化，产生更多的细胞，导致动物机体的功能性结构变得模糊，类似于癌症一般。这与肿瘤细胞端粒酶活跃是相互印证的。正是由于没有端粒的限制，癌细胞可以无限分化和增殖，癌组织无限扩大，破坏了动物机体的有序的功能结构，生命因此而结束。

细胞潜在的分化能力与动物衰老没有关系^[17]。一个研究大鼠肾脏衰老的报告中，发现老年大鼠的肾脏细胞的端粒并没有比年轻大鼠肾脏细胞的端粒显著缩短，显然大鼠的衰老并非是由端粒缩短导致的，甚至于大鼠衰老的肾脏细胞并没有出现端粒缩短的迹象^[19]。

除了受到环境因素影响，**细胞的衰老**是不可违背的规律，这是物理学“熵增”所决定的。至少不同细胞的衰老可能不一样，这还与新细胞产生有一定的关系。

有理论认为，单细胞细菌是通过生殖的方式来分化，并且暗示多细胞动物的细胞也是通过生殖的方式来分裂^[20]。最新的研究显示，当绿脓杆菌分裂形成两个子细胞时，尽管子细胞的基因完全相同，但只有一个子细胞能够遗传到母细胞的螺旋桨结构，另一个子细胞需要自己合成螺旋桨结构^[21]。这说明，在细菌细胞分裂成为两个子细胞时，细胞内容物的分配并不平均，结果使两个子细胞产生差异。细胞由一个分裂为两个，传统有丝分裂理论认为，分裂为两个完全一样的细胞，也即他们的寿命又从新开始，但是这与现实有逻辑矛盾的地方。如果细胞分裂一次，产生新的两个细胞是更为年轻的，那么机体其实不应该存在衰老细胞。按照细胞的生殖论者所说，细胞分裂时，一个是母细胞，一个是子代细胞，母细胞还会延续分裂前的衰老途径继续衰老，也即子代细胞比母细胞更为年轻。我们认为**干细胞的分化是按照生殖的方式进行的**。一个干细胞分化为一个功能性细胞和一个干细胞（不对称分裂），该干细胞还是原来的干细胞，其衰老还是会继续，功能性的细胞是一个新的细胞；一个干细胞分化为两个干细胞（对称分裂），那么其中一个是老的干细胞，另一个是新的干细胞，在同样的条件下，老的干细胞的年龄要大于新的干细胞。干细胞可能通过生殖的方式来更新，在更宏观层面看，干细胞是不朽的，但是，实际情况可能是，有新的干细胞出现。这也说明**干细胞耗竭**是有可能，因为干细胞也会受到环境因素的影响，发生死亡，如果其不能够繁殖，那么干细胞的数量将会下降，从而影响了再生新细胞的能力。

细胞间信息交换改变是机体细胞的天然功能，该信息及时有效是新细胞得以再生的关键。受影响因素可能包括，清除衰老细胞、特异性空间、细胞再生信号等等，尽管这些信息的改变可能是细胞受到损伤后的表现，但是更多的影响应该是之后的细胞再生过程，所以属于 e 的范围。衰老伴随着慢性促炎症反应表现，而促炎症因子又与自噬有关^[22]，炎症又会引起

细胞的坏死^[23]。寿命很长且不宜得癌症的裸鼯鼠具有明显的细胞接触抑制（contact inhibition），当细胞距离缩短，密度增加时，裸鼯鼠会启动凋亡的程序使多余的细胞发生凋亡，由此达到长寿命和抗肿瘤的作用^[24]。我们理解多余的细胞更有可能是衰老的细胞或者有癌变可能的细胞，通过凋亡程序可以清除衰老或者癌变细胞，一方面可以留下空间为新的健康细胞再生，另一方面降低不健康细胞的比例，这与我们的衰老模型是一致的。而另一个长寿命不得癌的盲鼯鼠，会在特定情况下通过释放 INF- β 触发坏死（necrosis）程序来杀死某些细胞，从而延长寿命并抵抗癌症^[25]。我们理解通过让衰老和可能癌变的细胞死亡，一方面可以为健康细胞再生留下空间，另一方面本身就是降低了不健康细胞的比例，这也与我们的衰老模型是一致的。

营养感应失调（deregulated nutrient sensing）比较复杂，似乎有一部分与线粒体功能失常有关。有证据强烈的支持合成代谢信号加速衰老而降低营养信号则延长寿命这样的观点^[26]。随着哺乳动物的衰老，细胞核活力或 NAD⁺水平降低会减少细胞核 SIRT1 的活性，导致 VHL 水平下降和 HIF-1 α 表达上升并趋于稳定化。HIF-1 α 介导的新陈代谢调整发生在正常组织，这种调整会破坏线粒体的稳定。老年老鼠的线粒体非稳态调整是一种无氧呼吸的状况^[27]，即使在氧气充足的情况下，也会类似于二型糖尿病和癌症细胞那样的低氧呼吸^{[28][29]}。卡路里限制（CR, calorie restriction）可以阻止老年老鼠的 NAD⁺水平和 ATP 水平的下降，从而有助于延长老鼠的寿命^[27]。卡路里限制能够延缓多种与年龄相关的疾病发生^{[30][31]}。卡路里限制可以诱导自噬发生，从而延长寿命^[32]。卡路里限制估计类似于减少营养感应失调的状况。因此，营养感应失调是细胞受损伤的表现形式，属于 d 的范围。

5 抗衰老的思路

5.1 清除衰老细胞是简单可行的思路

根据衰老模型， $t = \frac{\beta a}{d - e - \beta b}$ ，需要明确的是，人体的 β 值、a 值和 b 值可改变的范围是比较小的，也即没有多少余地选择抗衰老途径。如果需要延长寿命 t，则需要降低 d 或/和增加 e。

降低 d 的思路：

基因组不稳定性：	减少环境损伤、健康生活
细胞衰老：	减少环境损伤、合理饮食、健康生活
表观遗传学改变：	减少环境损伤、健康生活
蛋白内稳态丧失：	减少环境损伤、合理饮食、健康生活
营养感应失调：	减少环境损伤、合理饮食、健康生活
线粒体功能异常：	减少环境损伤、合理饮食、健康生活

提高 e 的思路：清除衰老细胞，再生年轻组织。

可以看出对于降低 d 的思路基本上是无效的，时间跨度太长，人无法长时间坚持，外部损伤不可避免。合理饮食和健康生活的范围太广。所以抗衰老的最佳思路就是提高 e，而提

高 e 的前提是清除衰老细胞, 才能为再生新的细胞留出特异性空间。衰老细胞的清除, 在机体内, 主要是通过凋亡、自噬和坏死等三个过程来促进衰老细胞死亡并降解。因此提高 e 是比较简单高效的抗衰老方法。

细胞接受到累积的损伤如果在细胞内部的层面, 可以通过自噬或者整体或者部分来更新为更为健康的细胞; 如果是细胞或者以上的层面, 则通过凋亡、自噬或坏死彻底清除损伤细胞, 在干细胞的作用下再生出新的细胞。

比如针对**蛋白质稳态失控**, 有两个蛋白质分解系统用于蛋白质质量控制, 分别是自噬—溶酶体系统 (autophagy-lysosomal system) 和泛素—蛋白酶体 (ubiquitin-proteasome system), 这两个系统功能均随着年龄而下降^{[33][34]}。这两个系统均是起到降解损伤或有毒蛋白质的作用, 如果加强这两个系统则会延长衰老^[35]。泛素—蛋白酶体系统可以促进细胞凋亡^[36]。连续或者间断的使用 mTOR 抑制剂雷帕霉素可以延长中年老鼠的寿命, 其中雷帕霉素诱导了自噬^[37]。

实验中发现, 用 NMN (Nicotinamide mononucleotide) 注射 1 周的时间, 提高 NAD⁺ 水平, 促使线粒体平衡, 可以让 22 周龄大的老鼠的肌肉健康水平达到 6 周龄大老鼠的水平, 部分意义上来说, 增加 NAD⁺ 水平, 阻止 HIF-1 α 稳定化或者下调其的表达, 可以作为抗机体衰老的有效治疗方法^[26]。使用 Nicotinamide (NAM) 处理细胞, 能够发现 NAM 增加, 通过 NMN, 也会产生更多的 NAD⁺, 从而加速细胞的自噬, 通过自噬又可以延长细胞的寿命^[38]。当然细胞不管是不是完全再生抑或亚细胞层面的再生, 总是可以提高细胞的健康水平。

自噬保护细胞存活还是自噬导致细胞死亡是有争论的, 在实验中观察到自噬导致了最终细胞的死亡并被分解, 但是有些观点认为自噬能够应对环境的应激压力并保护细胞存活下去^[39]。我们认为, 不管自噬在细胞存活或死亡中起到那种作用, 自噬清除“无序”的细胞组织从而为“有序”的细胞组织留下再生的空间这一功能均符合我们的衰老模型。比如线粒体自噬即通过将细胞内的损坏细胞器进行清除, 从而为更为健康的细胞再生提供了动力。不管这种清除是细胞内的还是细胞层面的, 都是对“无序”的物质或结构进行清理, 从而促进了再生更为健康的细胞, 使机体健康细胞的比例提高, 延长了机体寿命, 也即提高了 e 的水平。

自噬促进凋亡细胞的降解, 所以也能起到衰老细胞清除的作用。研究发现, 果蝇的记忆缺失能够通过食用富含多胺的食物扭转过来, 喂果蝇等吃多胺能够增强生物体的寿命, 它似乎通过逆转与年龄相关的自噬来起作用, 通过基因技术或限制卡路里摄入提高自吞噬, 也能够延长果蝇的寿命^[40]。

5.2 活性氧的清除衰老细胞的作用

具体如何提高机体环境下细胞自噬、凋亡或坏死的能力, 有待于我们考以下的案例。

通过对巨噬细胞和单核细胞的研究, Albina 等提出 NO 是细胞凋亡的诱导剂^[41]。一氧化氮 (NO) 对诸多衰老性疾病有治疗作用, 比如, 一氧化氮具有防止导致帕金森氏症的神经细胞异常的作用, 这其中一氧化氮促进了废弃蛋白质的分解, 起到了保护神经细胞的作用^[42]。一氧化氮的这种缓解衰老性疾病的机理似乎就是促进衰老细胞发生凋亡。

高水平的 ROS 可诱导细胞凋亡^[43]。研究显示当线虫以生产一氧化氮的细菌为食时，寿命得到显著延长^[44]。这说明氧化性强的物质（NO 在酸性环境下的氧化还原电位为 1.59）可以促进衰老细胞发生凋亡，从而延长机体寿命。

尽管抗氧化作为抗衰老的有效标准一直存在，但是现实证据却很少支持。没有任何遗传学证据能说明，增强机体的抗氧化防御能够延缓衰老^[16]。

较多的实验发现自由基或活性氧具有加速衰老细胞死亡，从而延长机体寿命。我们认为，氧化性较强的物质通过氧化反应会对动物机体的细胞、细胞内部或细胞间基质产生破坏作用，从而导致其死亡或降解。我们相信相对年轻的细胞或新生的细胞间基质的结构相对稳固，对比与相对衰老或功能有缺损的结构而言，前者更能应对氧化反应，而后者可能会导致死亡或被降解。因此，在一定程度说明氧化性强的物质对于诱导细胞死亡有一定的选择性，他们对于衰老细胞的影响更大。动物机体内部的自由基或活性氧有可能是清除衰老细胞的天然武器，也就是自然应对衰老的变量。如果人为要提高衰老模型 e 的值，则需要外部补充某种氧化性强的物质，且这种物质没有大的毒副作用；易溶于水，相对容易穿透细胞；氧化电位不需要太高，从而减轻对正常健康细胞结构的破坏。我们在实验中发现，**二氧化氯是比较适合的物质，可以用于诱导衰老细胞死亡，从而延长机体寿命。**

5.3 酸性环境对衰老细胞的影响

衰老细胞较年轻细胞在糖酵解的过程中产生更多的乳酸也消耗更多的葡萄糖^[45]，因为无氧糖酵解才产生大量乳酸，所以我们判断衰老细胞的能量获得更多依靠无氧糖酵解，这与癌细胞非常相似。

衰老或者凋亡细胞在酸性的条件下更容易走向死亡。衰老细胞糖酵解作用加强，酸性代谢产物增多，如果外部施加酸压力（降低 pH 值），衰老细胞将加速走向死亡。

肌酸（creatine）在生物化学中，是一种自然存在于脊椎动物体内的一种含氮的有机酸，能够辅助为肌肉和神经细胞提供能量。研究发现，口服肌酸能够改善 G93A 转基因小鼠（肌萎缩性脊髓侧索硬化症）机体性能，并延长寿命，该种作用呈现量效关系，同时还保护小鼠运动神经元和黑质神经元的损伤^[46]。研究也发现硫辛酸（lipoic acid）能够减缓衰老过程。

多种酸性物质有美容的作用。比如，以 30% 高浓度的水杨酸作为化学换肤的药剂，可达到和 70% 果酸换肤相同的淡化色素斑、缩小毛孔、去除细小皱纹及改善日晒引起的老化等多项效果。皮肤美容就是让皮肤年轻化，所以大致可以得出结论，酸性物质能够清除衰老细胞，促进年轻皮肤再生。中剂量和高剂量柠檬酸处理组引起了小鼠睾丸组织细胞的凋亡^[47]。

我们猜想，肌酸，硫辛酸等酸性物质能够抗衰老的作用，更多的是因为其酸性特征能够加速衰老细胞发生凋亡，从而引起机体年轻化。

抗癌和长寿的裸鼹鼠通过接触抑制来启动凋亡程序，从而实现长寿和抗癌。裸鼹鼠对酸不敏感；裸鼹鼠体内含有大量（超过人体 5 倍比例）的透明质酸（hyaluronan），是其保持长寿和无癌的关键^[48]；冬眠动物由于高二氧化碳和低代谢会产生低 pH 值环境^[49]。裸鼹鼠对酸性疼痛不敏感，在高二氧化碳的环境下，体内酸性会增强，裸鼹鼠能够耐受这种环境而不

受影响，但是他们像一般老鼠那样对于热和压力疼痛是敏感的^[50]。我们可以理解，裸鼹鼠并非没有痛觉，而是对酸性物质特别耐受，可能与他们的环境以及与他们的酸性体液有关。所以有可能是，裸鼹鼠的酸性体环境可以诱导衰老细胞凋亡从而保证其长寿并且不得癌症。

所以，根据以上实验的提示，我们猜想酸性环境有助于诱导衰老细胞死亡，从而实现抗衰老的作用。按照衰老模型的预测，外部补充酸性环境有助于提高 e 值，从而延长动物机体寿命。

5.4 酸性二氧化氯溶液的抗衰老实验

我们可以总结出，两种思路可以增加清除衰老细胞的能力，一、利用氧化物，通过氧化反应可以诱导细胞死亡，无论是通过自噬、凋亡或坏死；二、酸性环境有助于有选择性地压迫衰老细胞走向死亡。我们的实验发现酸性环境的二氧化氯容易具有诱导细胞发生凋亡从而走向死亡的作用。

5.4.1 酸性二氧化氯溶液的生发实验

配置二氧化氯酸性溶液，浓度为 2900ppm，pH 值为 2.1。用棉签沾液涂抹脱发区域，再等待 1~2 小时后，用水清洗头部，一天一次。按照疗程使用，第一个疗程 15~25 天，停药 2~5 个月，然后开始第二个疗程，自第二个疗程开始用药 10~15 天，再停药 2~5 个月，再用下一个疗程。

有 42 位男性脱发患者和 1 名女性脱发患者（年龄分布为 22~68 岁）作为自愿者使用该药物（以下简称为用药），情况如表 1 所示。

表 1 酸性二氧化氯生发作用		
具体效果人数	有效比例	效果描述
42	98%	用药后 3~5 天脱发区域长出新头发，用手摸类似胡茬感觉，肉眼可见，是粗壮的健康头发。
43	100%	用药后 2~6 天，脱发区域加速掉发，细头发首先掉，脱发越严重的，掉的越多。4 级以上脱发者，6 天以后，原脱发区域头发可能全部掉光。
40	93%	用药 15~25 天后肉眼可见新的头发持续长出。轻度脱发者，发迹线明显前移。
35	81%	用药 1 个疗程，停药 2~5 个月后，用肉眼可以判断头发恢复至上一个级别。比如 2 级恢复到 1 级，4 级恢复到 3 级。1~2 个月后，开始第二个疗程，用肉眼可以判断头发恢复再上一个级别。

用药 5 分钟开始，使用者描述有刺痛感，持续时间大约 15~30 分钟；在连续用药 3 天左右，用药区域产生微型的伤口，外观表现为成片的红斑，类似伤口出血凝固，出现红斑（伤口）的区域新生头发密度更高，也更粗。

在头顶中心（头旋之前，区域 1）、头顶与前额上中间（区域 2）、前额上（区域 3）、前额两侧（区域 4）四个区域选择直径在 2.54 厘米的圆形区域（5.1 平方厘米）通过数码照片分别计算用药第一个疗程后 10 天（时间 1）、1 个月（时间 2）、2 个月（时间 3）、用药第二个疗程后 2 个月（时间 4）、用药第三个疗程后 2 个月的头发（时间 5），并且分别

与用药前的头发数量对比，计算比值，得到不同区域头发密度增加比值，见表 2。

表 2 不同区域生发效果

	时间 1	时间 2	时间 3	时间 4	时间 5
区域 1	123%	137%	154%	196%	354%
区域 2	117%	129%	142%	185%	402%
区域 3	133%	134%	153%	201%	396%
区域 4	102%	157%	163%	260%	433%

注： $P<0.001$, $n=43$

从表 1、表 2 的结果可以看出，使用二氧化氯酸性溶液作为药物对于脱发治疗具有显著效果，根本原因是解决了脱发的关键问题，那就是脱发区域的干细胞在转化为祖细胞的过程中出现了问题，以至于干细胞不能分化出足够的毛囊细胞^[51]。

脱发是典型的随年龄而发展的疾病，因为脱发区域毛囊已经丢失，但是并没有出现空间，原来的毛囊空间被皮脂腺细胞占去，所以脱发患者在脱发区域油脂分泌特别旺盛。理论上，要再生出毛囊，必须为其预留空间，酸性二氧化氯溶液对头皮产生明显的微型伤口，这应该类似于清除多余细胞的一个过程。脱发实验可以证明酸性二氧化氯溶液可以清除多余的皮脂腺细胞和衰老的毛囊细胞，从而促进新的毛囊再生。

5.4.2 酸性二氧化氯溶液对关节炎治疗的案例

配置酸性二氧化氯溶液，浓度为 2900ppm，pH 值为 2.1，按照 1: 1 的比例加入二甲基亚砷。患者（男性，37 岁，作者本人）髌骨关节炎，病程 20 年，一周二次，连续四周，两边髌关节注射，每次 1ml。疼痛强度：使用直观模拟标度尺（VAS），以 0（正常）~100（最大疼痛强度）表示，患者自行判断；

疾病严重性：使用 Womac 骨关节炎指标问卷法，即髌骨关节炎的自我评价等级，由 24 项组成用于检测该病的进展和确定治疗效果。另外使用超声评价软骨厚度。具体结果见表 3 与表 4。

表 3 Womac 骨关节炎指标

评价项目	基线	3 个月	6 个月
患者 VAS 平均值	58.32	18.24	6.32
与基线比较改善		68.7%	89.16%

表 4 软骨的超声评价

评价项目	基线	3 个月与基线比较	6 个月与基线比较
中间软骨平均值 mm	0.51	0.59 (15.6%)	0.66 (11.9%)
侧软骨平均值 mm	0.61	0.679	0.73 (8.9%)

中心软骨平均值 mm	0.73	3.19 (8.2%)	0.89 (12.7%)
------------	------	-------------	--------------

说明酸性二氧化氯溶液可以明显消除关节炎症，基本治愈骨关节炎。关节炎也是一个典型的老年性疾病，炎症随着衰老而增加，炎症细胞即是衰老而不健康的细胞，酸性二氧化氯溶液能够治愈该关节炎病例，应该是首先要清除炎症组织，然后刺激软骨组织再生。

5.4.3 酸性二氧化氯溶液对皮肤抗衰老的实验

用于皮肤美容的含二氧化氯制剂的化妆品制备：用去离子水配置浓度为 7.47%亚氯酸钠和 1.59%氯化钠的混合溶液，制备出第一份溶液；用去离子水配置浓度为 16.7%的柠檬酸溶液，制备出第二份溶液。分别从不同份溶液的容器中取出相同体积的溶液，混合，等待溶液混合静止 3~5 分钟，再用 0.22 μm 的双层滤膜过滤。再加入等体积 90%的二甲基亚砷，然后装入玻璃瓶密封保存，制成针对皮肤抗衰老或年轻化的化妆品，用于皮肤涂抹。

通过女性观察员(100 名) 实际涂抹到皮肤上使用，按照下述的评价区分，评价“黏腻使用感的有无”、“发涩感的有无”、“皮肤上的移动的有无”以及“对皱纹、松弛(皮肤的拉伸感) 的效果的有无”。

从结果看，酸性二氧化氯溶液作为化妆品具备非常优异的美容护肤作用。

表 5 皮肤美容直观感觉

关于黏腻使用感		关于发涩感		对皮肤的密合性		对皱纹、松弛效果	
黏腻非常少	99	无发涩感（光滑感）	98	密合性强	90	有效果	90
黏腻少	1	感到发涩	1	一般	5	稍微有效果	4
略微黏腻	0	发涩	1	弱	5	无效果	6

采用以上制备的化妆品为例进行疗效观察，在人群中进行功效测试，观察使用者在使用过程中的肌肤水分含量、弹性、细纹、粗糙度等改善情况。选取 30 名健康女性和 10 名健康男性，每天涂抹自由选择皮肤位置，共 15 天，在使用前、1h、7 天（使用 1h 后）、第 14 天（使用 1h 后）、第 28 天对受试者进行皮肤状况的评估，包括临床判断及非创性仪器评估。临床评判包括以下参数：皮肤水分含量、皮肤弹性、皮肤光泽度、皮肤粗糙度/光滑度、肤色均匀度、细纹的改善。非创性仪器评估是利用皮肤水分测定仪 Corneometer CM820 测定皮肤水分含量，利用皮肤弹性测定仪(Cutometer SEM 575) 测定皮肤弹性。

由结果可见：使用此化妆品后，皮肤含水量急剧增加，说明产品对改善皮肤干燥效果非常明显，随着时间的推进到第 28 天时，皮肤的含水量继续得到持续的改善。

皮肤弹性值越大越好，说明皮肤弹性越好，由下表可看出 7 天后，皮肤的弹性得到了明显的改善，弹性变得越来越好并与基础值之间有显著差异性。

光泽度等四个指标值，数据数值越少，说明改善越好。从上述数据结果可以看出，与基础值相比，各项参数在第 7、14、28 天均有改善，与基础值之间有显著差异性(表现在各项数值随时间推移的下降趋势)。

表 6 皮肤美容效果

时间	皮肤含水量 (%)	皮肤弹性	光泽度	粗糙度/光滑度	肤色均匀度 (美白)	细纹改善
使用前-基础值	30.1±3.5	0.70±0.21	4.55±0.64	3.74±0.47	4.81±0.51	5.16±0.67
1h	48.3±5.5*	0.69±0.19	4.55±0.55	3.72±0.32	4.80±0.43	5.10±0.56
7 天	58.6±4.3*	0.74±0.13*	3.68±0.38*	3.19±0.41*	4.35±0.53	4.84±0.53
14 天	59.7±3.6*	0.79±0.14*	3.18±0.40*	2.85±0.29*	4.12±0.42	4.56±0.49
28 天	47.5±6.3*	0.80±0.23*	3.02±0.29*	2.79±0.31*	4.01±0.39*	4.13±0.56*

注：*与基础值相比， $P<0.01$ 。

通过实验发现，酸性二氧化氯溶液对皮肤具有明显的年轻化作用。其过程中发现有脱皮和刺痛的现象，说明清除衰老细胞作用明显，也是皮肤年轻化的主要过程。

6 癌症与衰老的关系

根据癌症和年龄的关系可以确定癌症和衰老是同步的，所以他们之间一定有着紧密的联系。从细胞层面来理解，衰老的九大特征和癌症的特征也有一定联系。肿瘤细胞有十大特征：自给自足生长信号 (Self-Sufficiency in Growth Signals)；抗生长信号的不敏感 (Insensitivity to Antigrowth Signals)；抵抗细胞死亡(Resisting Cell Death)；潜力无限的复制能力(Limitless Replicative Potential)；持续的血管生成(Sustained Angiogenesis)；组织浸润和转移(Tissue Invasion and Metastasis)；避免免疫摧毁 (Avoiding Immune Destruction)；促进肿瘤的炎症 (Tumor Promotion Inflammation)；细胞能量异常 (Deregulating Cellular Energetics)；基因组不稳定和突变 (Genome Instability and Mutation) ^[52]。我们把癌症的特征和衰老的特征放在表 7 中，试图找出他们的联系。

表 7 癌症与衰老联系

衰老的特征	癌症的特征	同一属性的解释
基因组不稳定性	基因组不稳定和突变	目前发现癌症来自于基因的突变和表观遗传学改变，和衰老机体内的蛋白内稳态丧失一样都可
蛋白内稳态丧失		

表观遗传学改变		以看作受到外界环境损伤的变量，属于衰老模型中的 d。
端粒缩短	潜力无限的复制能力	我们猜想端粒是机体维护自身结构的最基本手段，由于有端粒的限制，使细胞不可无限生长，也许自干细胞之下的细胞分裂谱系，依靠端粒严格限制了干细胞周围细胞分裂的次数，从而约束细胞无限增殖，保持机体结构的完整。癌细胞由于没有端粒的限制，所以才可能自给自足无限增殖。
	自给自足生长信号	
	抗生长信号的不敏感	
营养感应失调	细胞能量异常	衰老细胞和癌细胞均出现线粒体损伤，所以导致细胞能量异常，主要以无氧糖酵解获取能量，因此属于衰老模型中的 d
线粒体功能异常		
细胞衰老	抵抗细胞死亡	衰老细胞存在而不坚决被新细胞代替是衰老的根本，所以衰老细胞具有抗细胞凋亡的情况，癌细胞也是一样。癌细胞避免免疫摧毁也是抗凋亡的一种形式。炎症可以促进肿瘤，是癌细胞抗细胞死亡的表现。
	避免免疫摧毁	
	促进肿瘤的炎症	
细胞间信息交换改变	组织浸润和转移	基于细胞间的信号改变，癌细胞才有可能抵抗细胞之间的抑制作用，而不断可以转移，并伴随新的血管生成。
	持续的血管生成	
干细胞耗竭		病态的机体不管有没有癌细胞都有可能发生干细胞耗竭。

看得出来肿瘤细胞也是因为受到环境因素的影响而发生损伤，这与衰老的特征基本一致。逻辑上，让肿瘤细胞发生死亡有助于抗癌，这与我们的衰老模型又是一致的。

如果抑制其抵抗细胞死亡，也就是诱导肿瘤细胞凋亡、自噬或坏死，很大程度抑制了癌症的发生。从逻辑上考虑，由于肿瘤细胞是非正常细胞，机体自身天生应该对其有抑制作用，也就是这些细胞应该自动发生凋亡，之所以不发生凋亡与其自身特征有关。研究发现，一些癌症或许不能完全归因为遗传损伤，而是衰老细胞绕过了告诉它们停止生长的开关所引起，衰老细胞与癌细胞之间的行为存在相似之处表明，如果衰老细胞设法逃脱死亡，它们有潜力变为癌症^[53]。甚至于，衰老的成纤维细胞通过释放致癌因子对临近细胞有致癌作用^[54]。新的观点认为，癌症和衰老的根源是一样的^[16]。如果肿瘤细胞属于衰老细胞，它理应走向死亡。因此我们认为，肿瘤细胞是因为具有的一些特殊能力让其不走向死亡，而长期滞留在机

体内。和抗衰老的思路一致，诱导肿瘤细胞发生自噬、凋亡或坏死可以抗肿瘤。

Nampt 抑制剂 AP0866 可以显著降低细胞内 NAD⁺的水平，此过程可以诱导肿瘤细胞线粒体自噬，从而杀死多发骨髓瘤细胞，而外部补充 NAM 则会反转 AP0866 介导的多发骨髓瘤细胞死亡^[55]。裸鼯鼠和盲鼯鼠不得癌症的重要原因是他们的凋亡和坏死程序能够及时启动。

针对肿瘤细胞的两个特征也许是消灭肿瘤的最佳方式。该两个特征就是，抵抗细胞死亡和细胞能量异常。诱导衰老细胞死亡的思路同样适用于肿瘤细胞。尽管肿瘤细胞有自身的特征，一般癌症病人存在是由于肿瘤细胞不在机体环境作用下自动走向死亡，但是相对于正常的细胞，肿瘤细胞和衰老细胞一样本身发生了变化，也应该更怕氧化性强的物质，也更怕酸性环境。

通过口服西地那非治疗 3 例患有囊状淋巴管瘤的儿童，通过用药，3 位患儿的肿瘤体积均出现明显的缩小^[56]。西地那非是 5-磷酸二酯酶抑制剂，磷酸二酯酶是 NO-cGMP 通路的负调节因子，因此西地那非能够通过释放生物活性物质一氧化氮。因此，我们认为一氧化氮这种自由基起到抑制肿瘤的直接作用。

在针对乳腺和黑素瘤癌细胞的实验中发现，硝酸甘油通过产生一氧化氮可以加强一般化疗药物杀死癌细胞的作用^[57]。促一氧化氮释放的前体药物，诱导乳腺癌癌细胞死亡，同时保留正常乳腺上皮细胞^[58]。普遍认为，高浓度的一氧化氮合酶表达，可以对肿瘤细胞产生抑制其生长的毒性作用^[59]。过氧化氢可以诱导 HeLa 细胞发生凋亡^[60]。

可以看出，自由基或 ROS 能够诱导肿瘤细胞发生凋亡就如同他们诱导衰老细胞发生凋亡一样，我们估计二氧化氯同样可以诱导肿瘤细胞死亡。

肿瘤细胞和衰老细胞一样，更多的是依靠低氧的糖酵解方式提供能量。早在 80 多年前就发现肿瘤细胞的糖代谢较正常细胞旺盛，而且即使是在有氧条件下也依赖于糖酵解，该现象称为“Warburg 效应”，其机制与肿瘤细胞的细胞膜上的葡萄糖转运蛋白(Glut) 功能活跃，且己糖激酶活性增强有关。“Warburg 效应”的结果是细胞产生大量糖酵解产物——乳酸。从糖脱下来的大量 H⁺不能像有氧氧化那样经过呼吸链氧化为水，大量的 H⁺聚集将使细胞内面临 pH (pHi) 酸化和发生凋亡的威胁，而肿瘤细胞增强的泌酸功能使细胞内 pHi 得以维持，但对周围正常的宿主细胞将产生不利影响。肿瘤细胞的“Warburg 效应”使肿瘤细胞比正常细胞产生更多的酸，但对肿瘤细胞 pH 检测发现细胞内 pHi 值较正常细胞无明显区别，而细胞外 pH(pHe) 和细胞内酸性囊泡内的 pH(pHv) 明显低于正常细胞，提示可能与肿瘤细胞有较强的泌酸功能有关^[61]。

为了躲避酸性微环境的毒性，肿瘤细胞遂向外排出氢离子，最终产生细胞外的酸性环境以及细胞内的碱性环境。肿瘤细胞通过上调细胞质膜的氢离子相关转运蛋白，如钠氢交换蛋白(Na⁺ / H⁺)、Na⁺ / K⁺-ATPase、囊泡型 H⁺-ATPases、H⁺ / Cl⁻共输送体和单羧酸转运蛋白(MCT) 等，来实现这一机制^[62]。

因此，我们猜想如果通过增加压力让肿瘤细胞泌酸功能降低，那就会引起肿瘤细胞内 pHi 降低，使其酸中毒，从而诱导肿瘤细胞凋亡或死亡。而增加压力，即使肿瘤细胞外环境

的 pH(pHe)降低, 让肿瘤细胞的运输 H^+ 离子的质子泵增加压力, 并最终崩溃。

有较多的文献支持, 酸性环境能够诱导肿瘤细胞发生凋亡。比如, 酸性环境, 通过 p53 介导诱导人腺癌和胃癌的细胞株凋亡^[63]。

实验表明: 给予体外培养的胃癌 AGS 细胞一个 pH 为 6.0 的酸性环境, 这种酸性环境使细胞外 H^+ 离子浓度升高, 可能通过抑制肿瘤细胞的 NHE-1 的 Na^+-H^+ 交换功能使细胞内糖酵解产生的过多 H^+ 离子无法排出使本来偏碱性的细胞内环境明显酸化, 这样既起到了改变胃癌细胞外环境的作用, 同时也改变了细胞内环境。胃癌细胞的这种内外环境的酸化作用改变了适合它生长增殖的细胞内外环境的酸碱度, 从而使大部分胃癌细胞停止增殖^[64]。

Rich IN 等证明了从白血病患者体内获得的白细胞系及外周淋巴血细胞有着比正常造血组织细胞普遍的、具有统计学意义的高的 pH 值。说明了在胞内 pH 值与正常造血细胞和白血病细胞的细胞周期调控之间存在一种直接的关系。利用这种关系, 他们用 Na^+/H^+ 交换体的抑制剂 5- (N, N-hexamethylene) -amiloride (HMA) 处理白血病细胞, 降低了胞内 pH 值, 从而诱导了细胞凋亡^[65]。

可见, 类似于对抗衰老细胞一样, 酸性二氧化氯溶液既具有强的氧化性, 又具有较强的酸性, 我们预计酸性二氧化氯溶液有助于促进肿瘤细胞的凋亡。接下来我们即将开展这方面的实验。

7 二氧化氯诱导细胞死亡

在研究二氧化氯消毒剂对人牙龈成纤维细胞 (human gingival fibroblast) 的影响的实验中发现, 二氧化氯溶液对人牙龈成纤维细胞半数致死量 LD_{50} 为 0.16 mmol/L, 且以诱导细胞坏死而非凋亡为主^[66]。

通过对培养基的年轻或衰老成纤维细胞的各种毒性压力反应的实验中发现, 衰老的成纤维细胞经历更多的坏死, 而不是像年轻细胞那样经历更多的 p53 依赖性凋亡^[67]。凋亡作为程序性死亡, 可能更多依赖细胞内部健全的功能所介导, 而要想使细胞更快速死亡, 更多可能需要通过外部物质诱导坏死而达到。

结合以上分析, 我们判断, 酸性二氧化氯溶液可以更多的通过细胞坏死而使衰老细胞死亡, 而对年轻的细胞影响不大。

[参考文献]

- [1] Erwin Schrödinger. What Is Life, London:Cambridge University Press; Reprint edition (March 26, 2012)
- [2] João Pedro de Magalhães, Costa, J., and Church, G. M. An analysis of the relationship between metabolism, developmental schedules, and longevity using phylogenetic independent contrasts. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2007a,62(2):149-160.
- [3] Flegal KM, Kit BK, Orpana H, Graubard BI. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis. JAMA 2013 Jan 2;309(1):71-82.

- [4] Darren J. Baker, Tobias Wijshake, Tamar Tchkonia, Nathan K. LeBrasseur, Bennett G. Childs, Bart van de Sluis, et al. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature*, 2011, 479: 232-236.
- [5] Maiken Nedergaard. Garbage Truck of the Brain[J]. *Science* 28 June 2013: Vol. 340 no. 6140 pp. 1529-1530
- [6] Wang E. Senescent human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress bcl2 is involved. *Cancer Res.* 1995, 55, 2284-2292.
- [7] Bree RT, Stenson-Cox C, Grealy M, Byrnes L, Gorman AM, Samali A. Cellular longevity: role of apoptosis and replicative senescence. *Biogerontology* 2002, 3, 195-206.
- [8] Seshadri T, Campisi J. Repression of c-fos transcription and an altered genetic program in senescent human fibroblasts. *Science*, 1990 Jan 12; 247(4939): 205-9
- [9] 黄英, 张宗玉, 童坦君. 人衰老成纤维细胞凋亡的可诱导性. *中华老年医学杂志*, 2000, 19(3): 170-173. (Huang Ying, Zhang Zongyu, Tong Tanjun. The ability of inducing apoptosis in human senescent fibroblasts. *Chin J Geriatr*, Jun. 2000, Vol. 19, No. 3: 170-173.)
- [10] Sun Y, Li W, Lu Z, Chen R, Ling J, Ran Q, Jilka RL, et al. Rescuing replication and osteogenesis of aged mesenchymal stem cells by exposure to a young extracellular matrix. *The FASEB Journal*, May 2011, vol. 25 no. 5: 1474-1485.
- [11] Elsa Suberbielle, Pascal E Sanchez, Alexxai V Kravitz, Xin Wang, Kaitlyn Ho, Kirsten Eilertson, Nino Devidze, et al. Physiologic brain activity causes DNA double-strand breaks in neurons, with exacerbation by amyloid- β . *Nature Neuroscience* 2013, 6: 613-621.
- [12] Louis R. Lapierre, C. Daniel De Magalhaes Filho, Philip R. McQuary, Chu-Chiao Chu, Orane Visvikis, Jessica T. Chang, et al. The TFEB orthologue HLH-30 regulates autophagy and modulates longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun*, 2013, Aug 8, 4: 2267.
- [13] Gualdoni GA, Kovarik JJ, Hofer J, Dose F, Pignitter M, Doberer D, et al. Resveratrol enhances TNF- α production in human monocytes upon bacterial stimulation. *Biochim Biophys Acta*, 2014 Jan, 1840(1): 95-105.
- [14] Hua Yuan. Ronen Marmorstein Red Wine, Toast of the Town (Again). *Science*, 8 March 2013, Vol. 339, no. 6124: 1156-1157
- [15] Gorbunova V, Hine C, Tian X, Abulaeva J, Gudkov AV, Nevo E, et al. Cancer resistance in the blind mole rat is mediated by concerted necrotic cell death mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012 Nov 20; 109(47): 19392-6
- [16] Carlos López-Otín, María A. Blasco, Linda Partridge, Manuel Serrano, Guido Kroemer. The Hallmarks of Aging. *Cell*, 6 June 2013, 98(6): 845-853.
- [17] Rubin H. Promise and problems in relating cellular senescence in vitro to aging in vivo. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 2002, 34: 275-286.
- [18] Ramirez RD, Morales CP, Herbert BS, Rohde JM, Passons C, Shay JW, et al. Putative telomere-independent mechanisms of replicative aging reflect inadequate growth conditions. *Genes Dev.* 2001, 15: 398-403.
- [19] Melk A, Kittikowit W, Sandhu I, Halloran KM, Grimm P, Schmidt BM, et al. Cell senescence in rat kidneys in vivo increases with growth and age despite lack of telomere shortening. *Kidney Int.* 2003 Jun; 63(6): 2134-43.
- [20] Liu, S. V. Tracking bacterial growth in liquid media and a new bacterial life model. *Science in China (Series C: Life Science) (English)* 1999, 42: 644-654.
- [21] Bridget R Kulasekara, Cassandra Kamischke, Hemantha D Kulasekara, Matthias Christen, Paul A Wiggins, Samuel I Miller c-di-GMP heterogeneity is generated by the chemotaxis machinery to regulate flagellar motility. *eLife* 2013; 2: e01402.

- [22] Salminen, A., Kaarniranta, K., and Kauppinen, A. Inflammaging: disturbed interplay between autophagy and inflammasomes. *Aging (Albany NY)*,2012,4:166-175.
- [23] Fink SL, Cookson BT. Apoptosis, pyroptosis, and necrosis: mechanistic description of dead and dying eukaryotic cells. *Infect. Immun.*2005 73 (4): 1907-1916.
- [24] Seluanov A, Hine C, Azpurua J, Feigenson M, Bozzella M, Mao Z, et al. Hypersensitivity to contact inhibition provides a clue to cancer resistance of naked mole-rat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Nov 17; 106(46):19352-7.
- [25] Gorbunova V, Hine C, Tian X, Ablaeva J, Gudkov AV, Nevo E, et al. Cancer resistance in the blind mole rat is mediated by concerted necrotic cell death mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,2012 Nov 20;109(47):19392-6
- [26] Fontana, L., Partridge, L., and Longo, V.D. Extending healthy life span-from yeast to humans. *Science*,2010,328:321-326.
- [27] Ana P. Gomes, Nathan L. Price, Declining NAD⁺ Induces a Pseudohypoxic State Disrupting Nuclear-Mitochondrial Communication during Aging. *Cell*,2013, Volume 155, Issue 7, 1624-1638.
- [28] Ido, Y., and Williamson, J.R. Hyperglycemic cytosolic reductive stress 'pseudohypoxia': implications for diabetic retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*1997, 38:1467-1470.
- [29] Sanders, E. Pseudohypoxia, mitochondrial mutations, the Warburg effect, and cancer. *Biomed. Res.* 2012,23: 109-131.
- [30] Haigis, M.C., and Sinclair, D.A. Mammalian sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annu. Rev. Pathol.*2010, 5: 253-295.
- [31] Libert, S., Guarente, L. Metabolic and neuropsychiatric effects of calorie restriction and sirtuins. *Annu. Rev. Physiol.*2013,75:669-684.
- [32] Aris JP, Alvers AL, Ferraiuolo RA, Fishwick LK, Hanvivatpong A, Hu D, et al. Autophagy and leucine promote chronological longevity and respiration proficiency during calorie restriction in yeast. *Exp Gerontol.* 2013 Oct; 48(10):1107-19.
- [33] Rubinsztein DC, Mariño G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell*, 2011, 146:682-695.
- [34] Tomaru, U., Takahashi, S., Ishizu, A., Miyatake, Y., Gohda, A., Suzuki, S., et al. Decreased proteasomal activity causes age-related phenotypes and promotes the development of metabolic abnormalities. *Am. J. Pathol.*2012, 180:963-972.
- [35] Kruegel, U., Robison, B., Dange, T., Kahlert, G., Delaney, J.R., Kotireddy, S., et al. Elevated proteasome capacity extends replicative lifespan in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS Genet.*2011,7, e1002253.
- [36] Orłowski RZ. The role of the ubiquitin-proteasome pathway in apoptosis. *Cell Death Differ*,1999,6: 303-313.
- [37] Blagosklonny, M.V. Rapamycin-induced glucose intolerance: hunger or starvation diabetes. *Cell Cycle*, 2011,10, 4217-4224.
- [38] Hyun Tae Kang and Eun Seong Hwang, Nicotinamide enhances mitochondria quality through autophagy activation in human cells *Aging. Cell* 2009,8:426-438.
- [39] Debnath J, Baehrecke EH, Kroemer G. Does autophagy contribute to cell death?. *Autophagy*. 2005 Jul;1(2):66-74.
- [40] Varun K Gupta, Lisa Scheunemann, Tobias Eisenberg, Sara Mertel, Anuradha Bhukel, Tom S Koemans, et al. Restoring polyamines protects from age-induced memory impairment in an autophagy-dependent manner. *Nature Neuroscience*, 2013,16:1453-1460.
- [41] Albina JE, Cui S, Mateo RB, Reichner JS. Nitric oxide-mediated apoptosis in murine peritoneal macrophage. *J Immunol*, 1993 Jun 1;150(11):5080-5.
- [42] Kentaro Ozawa, Akira T. Komatsubara, Yuhei Nishimura, Tomoyo Sawada,

Hiroto Kawafune, Hiroki Tsumoto. S-nitrosylation regulates mitochondrial quality control via activation of parkin. *Scientific Reports* 2013, Article number:2202.

[43] Lau AT, Wang Y, Chiu JF. Reactive oxygen species: current knowledge and applications in cancer research and therapeutic. *J Cell Biochem.* 2008 May 15;104(2):657-67.

[44] Gusarov I, Gautier L, Smolentseva O, Shamovsky I, Eremina S, Mironov A et al. Bacterial Nitric Oxide Extends the Lifespan of *C. elegans*. *Cell*,2013,Volume 152, Issue 4:818-830.

[45] Zwerschke W, Mazurek S, Stöckl P, Hütter E, Eigenbrodt E, Jansen-Dürr P. Metabolic analysis of senescent human fibroblasts reveals a role for AMP in cellular senescence. *Biochem J.* 2003 Dec 1;376(Pt 2):403-11.

[46] Klivenyi P, Ferrante RJ, Matthews RT, Bogdanov MB, Klein AM, Andreassen OA, et al. Neuroprotective effects of creatine in a transgenic animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Medicine.* 1999.mar, 5 (3): 347-350.

[47] 王艳杰.柠檬酸对小鼠睾丸组织凋亡的影响; 河南科技大学: 2012 年.

[48] Tian X, Azpurua J, Hine C, Vaidya A, Myakishev-Rempel M, Ablueva J, et al. High-molecular-mass hyaluronan mediates the cancer resistance of the naked mole rat[J].*Nature.* 2013 Jul 18;499(7458):346-9.

[49] Malan A, Mioskowski E. pH-temperature interactions on protein function and hibernation: GDP binding to brown adipose tissue mitochondria. *J.Comp.Physiology B.* 1988, Volume 158, Issue 4:487-493.

[50] Smith E S J, Omerbašić D, Lechner SG, Anirudhan G, Lapatsina L, Lewin GR. The molecular basis of acid insensitivity in the African naked mole-rat. *Science.* 2011 Dec 16; 334(6062):1557-60.

[51] Garza LA, Yang CC, Zhao T, Blatt HB, Lee M, He H, et al. Bald scalp in men with androgenetic alopecia retains hair follicle stem cells but lacks CD200-rich and CD34-positive hair follicle progenitor cells.*J Clin Invest.* 2011 February 1; 121(2): 613-622.

[52] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar 4;144(5):646-74.

[53] Hazel A. Cruickshanks, Tony McBryan, David M. Nelson, Nathan D., VanderKraats, Parisha P. Shah, John van Tuyn, et al. Senescent cells harbour features of the cancer epigenome. *Nature Cell Biology,* 2013,15:1495-1506.

[54] Krtolica A, Parrinello S, Lockett S, Desprez P-Y, Campisi J. Senescent fibroblasts promote epithelial cell growth and tumorigenesis: a link between cancer and aging.*Proc. Natl Acad. Sci. USA,*2001,98, 12072-12077.

[55] Cea M, Cagnetta A, Fulciniti M, Tai YT, Hideshima T, Chauhan D , et al. Targeting NAD⁺ salvage pathway induces autophagy in multiple myeloma cells via mTORC1 and extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2) inhibition. *Blood.* 2012 October 25; 120(17): 3519-3529.

[56] Swetman GL, Berk DR, Vasanawala SS, Feinstein JA, Lane AT, Bruckner AL. Swetman, Sildenafil for Severe Lymphatic Malformations. *N Engl J Med* 2012; 366:384-386.

[57] Ivraym B Barsoum, Thomas K Hamilton, Xin Li, Tiziana Cotechini, Ellen A Miles, D Robert Siemens,. Hypoxia induces escape from innate immunity in cancer cells via increased expression of ADAM10: role of nitric oxide. *Cancer Res.*2011,71(24):7433-41.

[58] Vanity McMurtry, Joseph E. Saavedra, René Nieves-Alicea, Ann-Marie Simeone, Larry K. Keefer, Ana M. Tari. JS-K, a nitric oxide-releasing pro-drug, induces breast cancer cell death while sparing normal mammary epithelial cells. *International of journal of oncology*, Published online on: Tuesday, January 25, 2011,Pages: 963-971.

[59] Xu W, Liu LZ, Loizidou M, Ahmed M, Charles IG. The role of nitric oxide in cancer. *Cell*

Res. 2002 Dec;12(5-6):311-20.

[60] Singh M, Sharma H, Singh N. Hydrogen peroxide induces apoptosis in HeLa cells through mitochondrial pathway. *Mitochondrion*, 2007 Dec;7(6):367-73.

[61] Izumi H, Torigoe T, Ishiguchi H, Uramoto H, Yoshida Y, Tanabe M, et al. Cellular pH regulators: potentially promising molecular targets for cancer chemotherapy. *Cancer Treat Rev*, 2003, 29(6): 541-549.

[62] Harguindeguy S, Orive G, Luis Pedraz J, Paradiso A, Reshkin SJ. The role of pH dynamics and the Na⁺/H⁺ antiporter in the etiopathogenesis and treatment of cancer. Two faces of the same coin--one single nature. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1756(1): 1-24.

[63] Williams AC, Collard TJ, Paraskeva C.. An acidic environment leads to p53 dependent induction of apoptosis in human adenoma and carcinoma cell lines: implications for clonal selection during colorectal carcinogenesis. *Oncogene*. 1999 May 27;18(21):3199-204.

[64] 高艳, 赵伟, 沈炜炜, 傅爱芬, 郑林, 傅国辉等, 胃癌 AGS 细胞内 pH 值的测定及酸性环境对其增殖和凋亡的影响. *现代生物医学进展*, 2008 年 09 期:1656-1658.(GAO Yan, ZHAO Wei, SHEN Wei-wei, FU Ai-fen, ZHENG Lin, FU Guo-hui, et al. Measurement of Intracellular pH of Gastric Cancer AGS Cell and Effect of Acidic Extracellular Environment on Proliferation and Apoptosis Of AGS Cell. *Progress in Modern Biomedicine*, 2008 Vol.8 No.9:1656-1658)

[65] Rich IN, Worthington-White D, Garden OA, Musk P. Apoptosis of leukemic cells accompanies reduction in intracellular pH after targeted inhibition of the Na⁺/H⁺ exchanger. *Blood*. 2000;15,95 (4) :1427~1434.

[66] Ryo Nishikiori, Yuji Nomura, Masahiko Sawajiri, Kohei Masuki, Isao Hirata, Masayuki Okazaki. Influence of chlorine dioxide on cell death and cell cycle of human gingival fibroblasts. *Journal of Dentistry* .10/2008; 36(12):993-8.

[67] Andrei Seluanov Vera Gorbunova, Ayellet Falcovitz, Alex Sigal, Michael Milyavsky, Irit Zurer, et al. Change of the death pathway in senescent human fibroblasts in response to DNA damage is caused by an inability to stabilize p53. *Cell. Biol.* March 2001 vol.21 no.5:1552-1564.