

卢延华,管博文,孟爱民. 衰老动物模型及其研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(9): 109-113.
Lu YH, Guan BW, Meng AM. Research progress in aging animal models [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(9): 109-113.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.09.017

衰老动物模型及其研究进展

卢延华,管博文,孟爱民*

(中国医学科学院医学实验动物研究所,北京协和医学院比较医学中心,国家卫生健康委员会人类疾病比较医学重点实验室,北京市人类重大疾病实验动物模型工程技术研究中心,北京 100021)

【摘要】 衰老是生物体的必然结局。延缓衰老延长寿命、减少老年病改善老年人生活质量一直是人们的研究热点。构建衰老动物模型,使实验动物呈现与人类相似的衰老表型,是研究人类衰老机制和研发抗衰老药物的重要手段。目前广泛应用的衰老模型,涵盖了从果蝇、线虫等无脊椎动物,到小型鱼类、啮齿动物和非人灵长类等。近年来,各种基因修饰小鼠在研究衰老发生、发展及干预评价中起到重要作用;另外在常规模式动物之外,选用寿命不同的生物以及寿命差异较大的同一物种,进行寿命相关生物学分析也为研究衰老提供了新的手段。由于衰老是复杂的生物学过程,影响因素多,只有充分进行比较医学研究才能更好地将研究成果转化,为人类健康老年提供保障。

【关键词】 衰老;动物模型;比较医学
【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 09-0109-05

Research progress in aging animal models

LU Yanhua, GUAN Bowen, MENG Aimin*

(Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS); Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College (PUMC); NHC Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine; Beijing Engineering Research Center for Experimental Animal Models of Human Critical Diseases, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Aging is an inevitable outcome for all organisms. Researchers are exploring how to delay senescence and reduce the incidences of age-related diseases, prolong life-span and improve the quality of life in old age. Establishing aging animal models that show aging phenotypes similar to those of humans is an effective way to explore the mechanisms of human aging and research of anti-aging drugs. There are various animal models, such as nematodes, rodents and primates. In recent years, different types of genetically modified mice have emerged. At the same time, researchers have started to use animal models with different life-spans to conduct comparative studies. As aging is a complex biological process with many influencing factors, only by conducting fully comparative medical research can we better transform the research results of aging and guarantee healthier aging of human beings.

【Keywords】 aging; animal model; comparative medicine

据年鉴显示,2017 年末中国老年人口(65 岁及以上)占全国总人口的 11.4%,已达 1.58 亿^[1]。老龄化不可避免地伴随一系列社会医疗问题,衰老相关疾病也给人类带来了沉重的疾病负担,如何延缓

【基金项目】 中国医学科学院医学与健康科技创新工程经费资助(2017-I2M-3-015);国家重点研发计划(2017YFA0105204);国家自然科学基金(81573094)。
【作者简介】 卢延华(1993—),女,硕士研究生,专业:放射医学。E-mail: 2439660316@qq.com
【通信作者】 孟爱民(1963—),女,研究员,研究方向:造血干细胞放化疗损伤机制研究。E-mail: ai_min_meng@126.com

衰老、延长寿命、减少老年性疾病、改善生活质量一直是社会的研究热点。衰老动物模型,系指表现出与人类相似衰老表型的动物模型,在衰老机制和抗衰老药物的临床前研究中发挥着重要作用,目前广泛应用的衰老模型包括啮齿类、非人灵长类、小型鱼类以及无脊椎动物模型。近年来,不仅常规动物出现了新的衰老模型,如遗传多样性小鼠、INK-ATTAC 转基因小鼠等,也增加了新物种的应用,如非洲青鳉鱼、非洲绿皮猴等,同时研究者也选用寿命不同的模型如裸鼯鼠和大小鼠以及蝙蝠、大小鼠和人类等进行比较研究,这些模型和方法也为衰老研究提供了新的手段。由于衰老是十分复杂的生物学过程,要充分进行比较医学研究才能更好地将研究成果转化,为人类健康老年提供保障。本文从衰老动物模型特点和应用等方面进行综述。

1 衰老及衰老相关疾病

衰老是指机体生长发育达到成熟期以后,各组织、器官随着年龄增长而发生退行性变化的过程。目前存在许多衰老学说,如个体水平的遗传学说,器官水平的免疫学说,细胞水平的线粒体损伤学说,分子水平的自由基氧化应激学说等。细胞总体水平的衰老一般被认为是机体衰老的基础,细胞衰老是指增殖细胞脱离细胞周期呈永久性生长停滞的状态,衰老细胞可抵抗凋亡并长期存活,分泌大量衰老相关分泌表型使微环境发生变化,影响正常细胞生理功能,参与疾病的发生发展。衰老不可避免地会导致一系列疾病的发生,由于各大系统功能减退引起的代谢综合征,以及肿瘤、免疫系统疾病等,同时在衰老过程中脑组织易受到损伤而发生神经退行性疾病,均导致了健康寿命的减少和生命质量的下降。

2 衰老模型制备方法

衰老模型是指能够表现出与人类相似的衰老表型,并且其潜在的生化机制与人类具有保守性的动物模型,包括自发性、诱导性和转基因模型^[2]。自发性衰老模型包括自然衰老和快速老化模型,自然衰老模型最符合人类衰老特征,主要表现为抗应激能力、免疫功能以及学习记忆功能的减退,省略了手术或给药步骤,是研究衰老机制较为理想的模型,但饲养周期长、健康状况差、死亡率高且个体差异较大等特点也限制了自然衰老模型的广泛应用;

快速老化小鼠(senescence-accelerated mouse, SAM)表现为随着年龄增长出现快速老化且不可逆转的特征,SAMP 包括 9 个亚系,病理表现各异,其中 SAMP8 是应用最多的亚系,也是研究学习记忆功能障碍和阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的理想模型。诱导性衰老模型是应用最广泛的衰老模型制备方法,主要包括 D-半乳糖致亚急性衰老模型、 β 淀粉样蛋白诱导模型、去胸腺诱导模型、 γ 射线诱导模型、氯化铝诱导和亚硝酸钠等药物诱导模型。转基因衰老动物模型指通过转基因技术改变疾病相关基因表达,使实验动物表现出相应的衰老表型,随着衰老机制的深入探索和转基因技术如 CRISPR/Cas9 等的发展成熟,转基因衰老模型也逐渐得到更广泛的应用。

3 衰老动物模型

3.1 脊椎动物模型

3.1.1 啮齿动物模型

啮齿动物是医学研究中最常用的动物模型,大小鼠寿命较短、易于饲养繁殖和遗传改造、环境因素可控,小鼠有 99% 的基因与人类同源,免疫、内分泌和消化系统的结构功能与人类相似, Ackert-Bicknell 等^[3]通过纵向和横断面研究,发现衰老小鼠的认知功能、肾功能、血液功能和免疫功能下降等衰老表型与人类相似。啮齿动物作为一类重要的实验动物模型,无论是自发性、诱导性还是转基因衰老模型均有广泛应用,但由于啮齿类动物模型在药代动力学方面与人类存在巨大差异,因此在进行药物评价时仍需谨慎考量。

SAMP 是由日本京都大学培育成功的自发性小鼠衰老模型^[4], SAMP 共有 9 个亚系,病理表现有所差异,其中 SAMP8 是应用最多的亚系,主要表现为学习记忆功能障碍并出现老年性淀粉样变,但并未发现 tau 蛋白,因此常被应用于改善学习记忆功能障碍药物的评价。Vela 等^[5]发现 DHA (docosahexaenoic acid) 可以抑制 JNK (Jun N-terminal kinase) 活性改善 SAMP8 模型的认知功能障碍,有望成为治疗 AD 的新方法。

早衰综合征是一类罕见的遗传性疾病,研究者一直致力于开发此类疾病的动物模型以探讨其病理机制并进行药物研发,如 DNA 修复缺陷 *Ercc1*^{-/-} 和 *Xpg*^{-/-} 模型以及 Werner 综合征 *Werner*^{-/-} 模型和 Hutchinson-Gilford 综合征 *Imna*^{-/-}、*Zmpste24*^{-/-} 模型,

这些早衰模型可引起寿命缩短和神经退行性变等病理改变,同时也表现出多种器官生理性衰老症状,因此常应用于抗衰老药物评价和研究特定器官的衰老改变^[6]。

针对衰老发生发展的复杂性机制,美国国家老龄化研究所从 2004 年开始启动了干预测试计划,旨在研究饮食干预对健康老龄化的促进作用。临床前研究使用的重组近交系小鼠是由雌性 CB6F1 与雄性 C3D2F1 杂交形成,检测的 30 种化合物有 6 种可明显延长寿命,包括阿司匹林、雷帕霉素、去甲二氢化愈创木酸、雌二醇、阿卡波糖和普天登。为了更好地利用动物模型研究复杂性疾病,2002 年国际复杂性状联盟启动了遗传多样性小鼠(Collaborative Cross Mice)项目,建立了具有 200 多个品系的遗传多样性小鼠资源库。遗传多样性小鼠更能反映人类个体差异,增加研究成果向人类转化,是研究抗衰老药物最佳的哺乳动物模型^[6-7]。

衰老细胞累积在器官和机体衰老中发挥着重要的作用,P16 是衰老细胞的重要标志物。Baker 等^[8]首次构建了 INK-ATTAC 转基因小鼠,该模型可动态观测 P16 在组织器官中的表达情况,可以在化学物诱导下清除表达 P16 的衰老细胞,证明了衰老细胞累积是衰老发生发展过程中重要驱动因子,为衰老机制研究和清除衰老细胞治疗肿瘤和防治老年病开启了新的思路^[9]。

成年裸鼯鼠体型在小鼠和大鼠之间,是寿命最长的啮齿动物(30 年),并且同种裸鼯鼠如达马拉鼯鼠,生殖者比非生殖者寿命长两倍,因此常对裸鼯鼠和其他啮齿动物甚至人类进行基因组学比较医学研究以得到长寿机制的线索^[10]。

3.1.2 非人灵长类模型

非人类灵长类(nonhuman primate,NHP)与人类有相似的遗传、生理、行为特征和衰老改变,是基础研究和临床应用之间的一个重要环节,其研究结果具有更高的参考价值,能够最大程度实现实验数据的外推,在衰老研究中 NHP 更多的被应用于神经退行性疾病的分子机制和衰老行为学及认知功能改变的研究。但由于 NHP 体型较大,来源紧张,寿命较长,而衰老或衰老相关疾病的病理表现通常出现在中年以后,因此进行实验研究周期较长,需要耗费大量的人力和时间,这为实验研究的开展增加了难度。

恒河猴是地理上分布最广,也是生物医学研究

中应用最多的 NHP,大约 93% 的基因序列与人类相同,与啮齿类动物不同,恒河猴的饮食和睡眠行为模式以及发育和衰老方式与人类相似^[11],在神经退行性变、器官衰老、代谢综合征、免疫缺陷等衰老研究中均有应用,是目前存在的最为理想的衰老动物模型。

普通狨猴体型较小,易于饲养,寿命较恒河猴短,繁殖速度在 NHP 中是最快的,并且传播动物性疾病的危险性较低,更为重要的是,现在已能够建立稳定的转基因狨猴衰老模型^[12],如 AD 和帕金森疾病等神经退行性疾病模型。

近期,Cramer 等^[13]发现,随着年龄的变化,非洲绿猴皮质基因表达谱与 AD 病人相似,脑脊液中 tau 蛋白和 β 淀粉样蛋白的变化过程与 AD 病人趋于一致,并且老年非洲绿猴也表现出 AD 患者的特征性病变——老年斑和神经纤维缠结,这些结果均说明非洲绿猴有望成为一种新型的研究 AD 的动物模型。

3.1.3 新型哺乳动物模型

目前一些其他寿命较长的哺乳动物也相继成为衰老研究模型,如蝙蝠、犬以及中国树鼩等,这些模型的出现为衰老研究提供了新的工具。蝙蝠体型小而寿命长,常将蝙蝠和啮齿动物进行比较医学研究探索长寿和抗衰老机制^[14]。犬的基因信息如 GC 含量和端粒结构,以及 GH/IGF-1 (growth hormone/insulin-like growth factor-1) 通路与人类较为相似,最常用的衰老犬模型是比格犬,常被用于 AD 相关的药物研究。最近,Hoffman 等^[15]通过大规模比较人类和伴侣犬的老年病发病率和死亡率,发现伴侣犬和人具有相似性。近期中国学者 Fan 等^[16]发现中国树鼩与人 AD 相关基因的序列保守性普遍高于小鼠,并且脑组织中 β 淀粉样蛋白表达模式和神经纤维缠结形成机制与人类相似,这些结果均提示树鼩有望成为新型的研究 AD 的动物模型。

3.1.4 小型鱼类模型

小型鱼类占脊椎动物的一半,具有体型小、生长快、寿命短、易于繁殖饲养等特征,其中鲮鱼和斑马鱼是重要的衰老动物模型。鲮鱼的寿命较短,常被用于衰老有关基因的研究如 IGF-1、Sir2 基因以及微粒体运输蛋白,Valenzano 等^[17]首先在鲮鱼研究中描述了白藜芦醇的抗衰老特性。非洲青鲮鱼是一种新型的衰老动物模型,老年非洲青鲮鱼表现出

端粒缩短、线粒体损伤等人类特征性衰老改变, Sahm 等^[18]发现老年非洲青鳉鱼体内参与合成线粒体呼吸链复合体的基因表达上调,而线粒体呼吸链复合体 1 被认为与寿命呈负相关。斑马鱼是最重要的模式脊椎动物之一,表现出与人类相似的衰老表现,如脂褐素的积累、学习记忆认知功能下降,以及氧化产物的积累和线粒体功能的下降等^[19],常用于高通量药物筛选和抗衰老药物的研究。虽然鱼类器官与人类迥异,但鱼类具有非常丰富的基因资源,也表达一些人类衰老相关基因,并且存在许多哺乳动物衰老标记,目前以水生动物为模型进行的衰老研究还在起步阶段,对人类衰老的机制参考作用有待于进一步深入探讨和验证。

3.2 无脊椎动物模型

虽然哺乳动物是研究衰老最常用的实验模型,但抗衰老药物的临床前研发通常始于线虫、果蝇等无脊椎动物,缘于其具有结构简单、寿命较短、操作方便、易于培养观察等特点,可以快速评估临床前药物的潜在疗效。线虫遗传背景清楚、基因组测序已完成,主要有 IIS (insulin/IGF-1 signaling) 模型、饮食限制模型以及神经退行性疾病模型,在抗衰老药物筛选中也得到大量应用。Heintz 等^[20]通过线虫的饮食限制模型发现饮食限制可延长线虫寿命,同时引起 mRNA 剪接因子 1 (splicing factor 1, SFA1) 的过表达, SFA1 通过抑制 TORC1 (mechanistic target of rapamycin complex 1) 通路成分延长线虫寿命,这些发现提示或可调节特定剪接因子活性延长健康寿命。这些结果为研究人类衰老机制提供了线索。

果蝇繁殖速度快、生命周期短、生理结构简单、品系丰富、遗传背景清楚,与哺乳动物很多信号通路相关基因具有保守性,如 IGF-1、phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)、protein kinase B (PKB)、AMPK 和 mTOR 等,并且在神经编码方式、突触传递机制、以及神经疾病的发生等方面与哺乳动物具有相似性,因此常应用于衰老机制和 AD 等神经退行性疾病的研究^[21]。虽然部分人类衰老特征能够在无脊椎动物模型复制,但由于存在生理结构和功能活性的差异以及重要病理机制的缺失,研究结果仍需建立更可靠的动物模型进行验证以提高向人类转化效率。

4 结语

目前有许多动物模型用以研究衰老,寿命较短

的动物模型在研究衰老机制和抗衰老药物的疗效时具备优势,而与人类亲缘关系更近的非人灵长类在研究老年病如二型糖尿病和神经退行性疾病时则更有价值。同时,越来越多的物种和研究方法被用于衰老研究,并且卓有成效,比如非洲青鳉鱼、非洲绿猴等新模型的应用, P16 报告小鼠 INK-ATTAC 转基因小鼠的构建,以及不同寿命物种如海胆、蝙蝠和小鼠,甚至非洲象和北极头鲸的比较医学研究等等。研究者们致力于通过衰老动物模型来探索衰老的发生机制,虽然迄今为止尚未有任何一种动物模型可以完美复制人类衰老表型,但是随着定向基因修饰等技术的发生发展以及不同寿命物种的联合使用,人们对于衰老机制的认识也将更为深刻,也将为抗衰老药物的研究以及新的药物靶点的发现提供更好的依据。

参考文献:

- [1] 国家统计局. 中国统计年鉴 [M]. 北京: 中国统计出版社, 2018.
- [2] 王喆, 李瑞生. 衰老动物模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2013, 23(3): 67-70.
- [3] Ackert-Bicknell CL, Anderson LC, Sheehan S, et al. Aging research using mouse models [J]. Curr Protoc Mouse Biol, 2015, 5(2): 95-133.
- [4] Takeda T, Hosokawa M, Higuchi K. Senescence-accelerated mouse (SAM): a novel murine model of senescence [J]. Exp. Gerontol., 1997, 32(1-2): 105-109.
- [5] Vela S, Sainz N, Moreno-Aliaga MJ, et al. DHA selectively protects SAMP-8-associated cognitive deficits through inhibition of JNK [J]. Mol Neurobiol, 2019, 56(3): 1618-1627.
- [6] Folch J, Busquets O, Etcheto M, et al. Experimental models for aging and their potential for novel drug discovery [J]. Curr Neuropharmacol, 2018, 16(10): 1466-1483.
- [7] 李欣悦, 向志光. 复杂性状遗传 CC 小鼠的特点及实际应用中的提示 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(9): 1-4.
- [8] Baker DJ, Wijshake T, Tchekonia T, et al. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders [J]. Nature, 2011, 479(7372): 232-236.
- [9] 陈孟毅, 孟爱民. 细胞衰老与老龄化疾病 [J]. 生命科学, 2017, 29(5): 485-488.
- [10] MacRae SL, Zhang QW, Lemetre C, et al. Comparative analysis of genome maintenance genes in naked mole rat, mouse, and human [J]. Aging Cell, 2015, 14(2): 288-291.
- [11] Colman RJ. Non-human primates as a model for aging [J]. Biochim Biophys Acta, 2018, 1864(9 Pt A): 2733-2741.
- [12] Sasaki E. Prospects for genetically modified non-human primate models, including the common marmoset [J]. Neurosci Res,

- 2015, 93: 110–115.
- [13] Cramer PE, Gentzel RC, Tanis KQ, et al. Aging African green monkeys manifest transcriptional, pathological, and cognitive hallmarks of human Alzheimer's disease [J]. *Neurobiol Aging*, 2018, 64: 92–106.
- [14] Dammann P. Slow aging in mammals—Lessons from African mole-rats and bats [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 70: 154–163.
- [15] Hoffman JM, Creevy KE, Franks A, et al. The companion dog as a model for human aging and mortality [J]. *Aging Cell*, 2018, 17(3): e12737.
- [16] Fan Y, Luo R, Su LY, et al. Does the genetic feature of the Chinese tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis*) support its potential as a viable model for Alzheimer's disease research? [J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 61(3): 1015–1028.
- [17] Valenzano DR, Terzibasi E, Genade T, et al. Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate [J]. *Curr Biol*, 2006, 16(3): 296–300.
- [18] Sahm A, Bens M, Platzer M, et al. Parallel evolution of genes controlling mitonuclear balance in short-lived annual fishes [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(3): 488–496.
- [19] Gilbert MJ, Zerulla TC, Tierney KB. Zebrafish (*Danio rerio*) as a model for the study of aging and exercise: physical ability and trainability decrease with age [J]. *Exp Gerontol*, 2014, 50: 106–113.
- [20] Heintz C, Doktor TK, Lanjuin A, et al. Splicing factor 1 modulates dietary restriction and TORC1 pathway longevity in *C. elegans* [J]. *Nature*, 2017, 541(7635): 102–106.
- [21] Bouleau S, Tricoire H. *Drosophila* models of Alzheimer's disease: advances, limits, and perspectives [J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 45(4): 1015–1038.
- [收稿日期]2019-02-18

(上接第 91 页)

- [4] 刁孟元, 管军, 林兆奋, 等. 家兔心搏骤停-心肺复苏模型研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28(12): 1157–1160.
- [5] 田欣, 王晶, 赵芯晨, 等. 2 月龄和 4 月龄大鼠制备心肺复苏模型后神经功能评价及亚组评分的比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(9): 53–58.
- [6] 窦微微, 王立祥, 刘惠亮, 等. 插入式腹主动脉按压对心搏骤停兔心肺脑复苏的实验研究 [J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26(10): 718–721.
- [7] Huang G, Zhou J, Zhan W, et al. The neuroprotective effects of intraperitoneal injection of hydrogen in rabbits with cardiac arrest [J]. *Resuscitation*, 2013, 84(5): 690–695.
- [8] 郑静, 黄志, 沈蓉, 等. 兔全身麻醉的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(7): 107–110.
- [9] Zipes DP, Camm AJ, Borggreffe M, et al. ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines (writing committee to develop Guidelines for Management of Patients With Ventricular Arrhythmias and the Prevention of Sudden Cardiac Death): developed in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society [J]. *Circulation*, 2006, 114(10): e385–e484.
- [10] Yoshioka K, Amino M, Usui K, et al. Nifekalant hydrochloride administration during cardiopulmonary resuscitation improves the transmural dispersion of myocardial repolarization: experimental study in a canine model of cardiopulmonary arrest [J]. *Circ J*, 2006, 70(9): 1200–1207.
- [11] 左艳芳, 宋凤卿, 甘伟妮, 等. 两种小鼠心脏骤停模型方法的建立和比较 [J]. *岭南急诊医学杂志*, 2016, 21(2): 95–96, 109.
- [12] 杨叶桂, 李诺, 石佳欣, 等. 氯化钾对心室纤颤大鼠心肺复苏效果的影响 [J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28(12): 1095–1098.
- [13] 汪小玲. 危重患者高浓度补钾的应用 [J]. *药学与临床研究*, 2011, 19(3): 269–271.
- [14] 陈长春, 姬尚义, 计乐群, 等. 血液停跳液与晶体停跳液对冠状动脉搭桥术患者术中心肌保护的比较 [J]. *中国心血管病研究杂志*, 2007, 5(2): 92–95.
- [收稿日期]2019-03-04