

洪晶,张娅俐,闫莎莎,等. D-半乳糖诱导衰老小鼠模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(3): 136–142.

Hong J, Zhang YL, Yan SS, et al. Research progress of the D-galactose-induced aging mouse model [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(3): 136–142.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.03.018

D-半乳糖诱导衰老小鼠模型研究进展

洪 晶^{1,2}, 张娅俐^{1,2}, 闫莎莎^{1,2}, 李 雪^{1,2}, 田晓静^{1,2*}, 曹 竑^{1,2},
张福梅^{2,3}, 丁功涛^{1,2}

(1.西北民族大学生命科学与工程学院,兰州 730124;2.西北民族大学生物医学研究中心中国-马来西亚国家联合实验室,兰州 730030;3.西北民族大学医学部,兰州 730124)

【摘要】 为了促进健康老龄化进程,预防与衰老相关的健康问题,正确理解衰老机制以及开发有效的抗衰老干预措施。系统注射 D-半乳糖(D-galactose)已被用于人工诱导体外和体内衰老,以及抗衰老治疗干预研究。本文从氧化应激、线粒体功能障碍、免疫衰老以及对各器官的影响四个方面综述了 D-半乳糖诱导衰老的特征性变化,从多角度为抗衰老提供理论依据。

【关键词】 D-半乳糖;衰老;氧化应激;线粒体损伤;免疫衰退

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 03-0136-07

Research progress of the D-galactose-induced aging mouse model

HONG Jing^{1,2}, ZHANG Yali^{1,2}, YAN Shasha^{1,2}, LI Xue^{1,2}, TIAN Xiaojing^{1,2*}, CAO Hong^{1,2},
ZHANG Fumei^{2,3}, DING Gongtao^{1,2}

(1. College of Life Science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou 730124, China.
2. China-Malaysia National Joint Laboratory, Biomedical Research Center, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030.
3. Medical Department, Northwest Minzu University, Lanzhou 730124)

【Abstract】 We discuss studies aimed to promote a healthy aging process, prevent health problems related to aging, correctly understand the aging mechanism, and develop effective anti-aging treatment measures. Systemic injection of D-galactose has been used for artificial induction of aging *in vitro* and *in vivo*, and anti-aging research. This review summarizes the characteristic changes of aging induced by D-galactose from four aspects: oxidative stress, mitochondrial dysfunction, immune aging, and the influence of immune aging on various organs. Furthermore, a theoretical basis for anti-aging is provided from various viewpoints.

【Keywords】 D-galactose; aging; oxidative stress; mitochondrial damage; immune decline

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

据第七次人口普查结果显示:与 2010 年相比,60 岁及以上人口比重上升 5.44 个百分点,占总人口的 18.7%^[1]。随着人口老龄化的速度不断加快,

由衰老引起的老年性疾病的发生率也在不断升高。随即,对于衰老机制与抗衰老相关措施的研究成为目前人们关注和研究的重点^[2]。

【基金项目】 西北民族大学中央高校基本科研业务费资金资助项目(31920210006);教育部动物医学生物工程专业创新团队(IRT_17R88);牦牛乳全成分分析(XBMU-2020-BC-30)。

【作者简介】 洪晶(1998—),女,硕士研究生,研究方向:预防兽医学。E-mail: 2529006829@qq.com

【通信作者】 田晓静(1982—),女,副教授,博士,研究方向:食品、农产品品质快速检测。E-mail: smile_tian@yeah.net

衰老是一个逐渐发生的,以生物变化积累为特征,与氧化应激、线粒体功能障碍和炎症反应密切相关且复杂的过程,随时间的推移,衰老能够导致机体的结构、代谢功能及适应性逐渐衰退^[3],最终诱导帕金森、阿尔兹海默症、癌症、糖尿病等一系列致残、致死率较高的疾病。机体的衰老严重危害老年群体的身心健康,甚至加速机体的死亡^[4]。老龄化社会是目前世界各国面临的严峻现实,急需提高对衰老潜在机制的认识,寻找有效的抗衰老治疗干预措施。动物模型在衰老机制和抗衰老研究中至关重要,衰老模型又分为自然衰老模型和诱导衰老模型两大类^[5]。自然衰老模型最接近于人类的老化,但其耗时长、存活率较低;而诱导衰老模型造模周期短,应用方便,存活率较高^[6]。诱导衰老模型有 SAMP 系小鼠衰老模型、臭氧损伤衰老模型、去胸腺衰老模型、D-半乳糖致衰老模型等^[7]。SAMP 系衰老模型共有 12 个品系,SAMP8 是阿尔茨海默病的理想模型,但其价格昂贵且来源不足^[8];臭氧损伤衰老模型中因臭氧特性活泼,稳定性差,需较高的试验条件^[9]。去胸腺致衰老模型需要手术摘除动物胸腺,其致死率较高^[10];而 D-半乳糖致衰老模型操作简便、副作用少、整个实验期存活率较高,已成为较公认的衰老动物模型^[8-10]。目前基于 D-半乳糖致衰老模型,大量文献及成果集中在萝卜硫素^[11]、虾青素^[12]、花青素^[13]、白藜芦醇^[4]、党参^[14]等食品、药品抗氧化性能的研究。

本文对 D-半乳糖致衰老作用机制及效果进行综述,根据 D-半乳糖对不同脏器及各系统的退行性改变的能力,以期探讨 D-半乳糖衰老模型在衰老和抗衰老相关机制研究中的应用前景。

1 D-半乳糖致衰老模型作用机理

D-半乳糖存在于人体和部分食物中,可在摄入后 8 h 内代谢和排出体外^[15],但持续高剂量摄入后,D-半乳糖经半乳糖氧化酶催化转化为醛糖和过氧化氢,进而产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)^[16],ROS 的增加导致氧化应激、炎症、线粒体功能障碍和细胞凋亡^[17]。D-半乳糖通过加剧氧化应激和糖基化模拟啮齿动物的自然衰老^[18]。

1.1 氧化应激

氧化应激指机体在受到各种有害刺激时,产生过多的自由基,且氧化物清除能力下降,打破了体内氧化与抗氧化体系之间的平衡关系^[19],是导致衰

老和多种疾病的重要因素。在 D-半乳糖诱导衰老模型中,过量 D-半乳糖导致机体代谢率提高,自由基增加引起一系列于氧化应激相关的病理学变化^[20]。对 D-半乳糖连续干预 6 周的小鼠,Guo 等^[21]和 Zhu 等^[22]均发现干预组小鼠肝和脾中的 HO-1、Nrf2、 γ -GCS 和 NQO1 mRNA 表达水平显著低于对照组,且其氧化应激标志物 MDA、NO 显著上升;康甲超等^[14]研究发现干预组小鼠肺部组织中 MDA 和 NO 等氧化指标显著增加,而 SOD、CAT、NOS 等抗氧化指标显著降低。D-半乳糖诱导的大鼠衰老模型中大脑组织细胞中 ROS 和 MDA 水平升高,而机体内抗氧化酶 SOD、CAT、GSH-Px 及谷胱甘肽转移酶(GSTs)水平显著下降^[23]。

氧化应激产生伤害机理主要与 Keap1-Nrf2-ARE 信号通路相关^[11]。正常情况下,Nrf2 与 Keap1 结合存在于胞质中;在机体受到 ROS 攻击时,Nrf2 与 Keap1 解偶联,进入细胞核与抗氧化反应原件 ARE 相互作用,调节抗氧化蛋白基因(如 CAT、SOD、HO-1^[12]、NQO1 和 γ -GCS^[20]等)的转录和翻译活性,以维持氧化还原稳态。但持续给药 D-半乳糖抑制 Nrf-2 调控的细胞保护基因的渐进式上调,导致抗氧化酶活性降低,抗氧化能力下降。在 D-半乳糖诱导衰老模型中,过量 D-半乳糖导致机体代谢率提高,自由基增加引起一系列与氧化应激相关信号通路的变化,氧化应激标志物表达水平升高^[23]。最近研究也表明,Akt 和雷帕霉素(mTOR)的机制靶标与干细胞衰老密切相关。在间充质干细胞中,阻断 Akt/mTOR 信号通路可防止细胞衰老相关的表型发育并增强其增殖能力。还有证据表明氧化还原状态与 Akt/mTOR 信号传导之间存在密切关系。细胞内 ROS 的积累可以激活 Akt 并引起细胞凋亡。在神经系统中,ROS 诱导的氧化损伤可以激活 Akt/mTOR 级联反应并引起神经退行性疾病^[24]。

1.2 线粒体结构和功能损伤

线粒体是细胞的能量代谢工厂,维持细胞的正常新陈代谢,还在钙储存、细胞分化和凋亡过程中发挥重要作用^[25]。随着年龄的增长及衰老疾病的发生,线粒体的形态和结构发生变化、功能衰退甚至出现障碍,对细胞稳态和存活构成威胁^[26]。

线粒体内呼吸链反应是产生 ROS 的主要来源,同时也是 ROS 攻击的重要目标。高剂量 D-半乳糖干预机体,导致线粒体内 ROS 生成增多,氧化线粒体内部和外部的蛋白质、脂质和核酸^[27-28],破坏线

粒体结构。Du 等^[29-30]通过透射电镜观察 D-半乳糖诱导衰老大鼠的线粒体超微结构,均发现与对照组相比,D-半乳糖衰老组线粒体肿胀,基质中电子密度降低,严重退化;且在耳蜗腹核区神经元胞浆中出现脂褐素颗粒。以上研究表明,D-半乳糖破坏了线粒体的超微结构。

线粒体结构破坏导致其功能损伤:三磷酸腺苷(ATP)合成障碍;线粒体外膜的通透性升高,使细胞色素 c 进入到细胞质中诱导细胞凋亡^[31];线粒体 DNA(mtDNA)被暴露进入到细胞质中引发炎症反应,缺失组蛋白的保护,mtDNA 易发生缺失以及产生突变,使 mtDNA 重要功能丧失,引起细胞衰老与死亡^[32]。研究发现,人类 mtDNA 4977 bp 缺失能够引起老年性耳聋,自然衰老大鼠会发生类似的 mtDNA 4834 bp 缺失^[33-34],而经 D-半乳糖诱导衰老大鼠的不同组织和血液样本中 mtDNA 4834 bp 缺失的突变率增高,ATP 水平下降,线粒体功能明显受损,加速了内耳的衰老^[30]。Salehpour 等^[35]通过活性线粒体 ATP 和 ROS 水平,以及膜电位(MMP)来分析脑组织的线粒体功能,利用 MitoTracker 探针对脑细胞进行线粒体标记,测定荧光强度来表示活性线粒体水平。结果显示,D-半乳糖诱导组的活性线粒体、ATP、MMP 水平显著下降,ROS 水平显著上升,线粒体功能受到严重损害。

线粒体自噬是一种选择性自噬,通过空泡包绕隔离形成自噬小体进行高度保守的降解,清除多余或受损的线粒体,是维持线粒体稳态的基础,可有效缓解细胞衰老的发生^[36-37]。线粒体通过线粒体 BNIP3L 膜蛋白(NIX)和线粒体外膜结构域包含蛋白 FUN141(FUNDC1)招募自噬结构蛋白微血管相关蛋白轻链并与之结合,从而诱导自噬^[38],还可通过招募 E3 泛素连接酶活性帕金森病蛋白 2(Parkin)启动线粒体自噬^[39]。在 D-半乳糖诱导衰老模型的研究中,主要通过检测 NIX、FUNDC1、LC3-II 和 Parkin 蛋白表达水平评价线粒体自噬。研究发现,D-半乳糖诱导衰老小鼠蛋白表达水平显著下降^[38-39],线粒体自噬活性降低,致使线粒体稳态被破坏,细胞衰老等相关影响相继发生。现有研究主要集中于利用中药及其提取物如淫羊藿苷^[39]、金丝桃苷^[40]、人参多糖^[41]等诱导线粒体自噬延缓衰老、干预相关疾病。此外研究表明运动能够激活自噬改善 D-半乳糖诱导衰老大鼠的学习记忆能力^[42-44]。

1.3 免疫衰退

随着年龄的增长,机体免疫系统发生退行性变

化,不仅降低了对外来特异性抗原的免疫应答,而且还表现出免疫功能的普遍失衡,最终导致各种疾病的发生。免疫衰退是衰老的一个标志,其特征是 T 细胞、B 细胞和先天性免疫细胞的免疫反应减弱^[13]。老年小鼠和人类免疫力低下主要是由与衰老相关的慢性炎症,即炎症衰老所驱动。研究发现,长期注射 D-半乳糖导致的氧化应激能够激活核因子- κ B(NF- κ B)炎症信号通路:ROS 激活 I κ B 激酶(IKK),引起 I κ B 的磷酸化泛素化,使其最终被降解,激活 NF- κ B^[45],促进炎症因子(IL-1 β 、IL-2、IL-6^[12]、TNF- α ^[46]等)的释放,加快机体炎性状态形成,加速衰老;此外,作为机体的免疫器官胸腺能够反映非特异性免疫系统的强度。在 D-半乳糖诱导衰老小鼠的研究过程中,Uddin 等^[47]观察胸腺超微结构发现胸腺内固缩且不规则形状的淋巴细胞增加,且胸腺上皮细胞内的自噬水平显著降低,以上现象均与自然衰老结果一致。Du 等^[48]研究表明,大剂量 D-半乳糖给药小鼠能够诱导由氧化应激引起的胸腺萎缩,产生与自然衰老类似的中央免疫耐受缺陷。此外,由 D-半乳糖诱导衰老导致的细胞损伤及坏死通过引发线粒体功能障碍降低免疫功能:(1)释放病原体相关分子(DAMP)激活 NF- κ B 和 NLRP3 炎症小体,诱导炎症反应的发生;(2)在受到病毒侵袭时,富集在线粒体上的线粒体抗病毒信号蛋白(MAVS)无法启动信号通路,抑制干扰素的生成,不能提供抗病毒保护^[49]。

2 D-半乳糖诱导衰老模型各组织器官的影响

衰老与许多病理生理过程的退行性改变相关,导致健康并发症和疾病,包括运动能力下降、心血管疾病、神经退行性疾病、癌症和其他器官慢性衰竭等年龄相关疾病。通过对 D-半乳糖诱导衰老各器官的组织学观察,能够更加直观的感受由衰老引起的相关病理变化,了解不同器官衰老相关进展。

2.1 脑

在动物体内注射 D-半乳糖会在大脑皮层^[30]、海马^[50]、耳蜗腹核^[51]和听觉皮质^[52]等不同脑区诱导氧化应激和线粒体功能障碍导致认知缺陷、神经元退化和凋亡等^[31]脑老化现象。D-半乳糖诱导的脑老化模型动物已被广泛应用,并被证实有利于衰老研究^[6]。Ullah 等^[17]为验证咖啡因的抗氧化性,以腹腔内注射 D-半乳糖 120 mg/(kg·d)持续干预 60 d 诱导大鼠衰老模型,发现 D-半乳糖衰老组大脑

皮层和海马两个脑区的氧化应激标记物 8-羟基-2-脱氧鸟苷(8-OHdG)的表达量明显增加,表明 D-半乳糖干预后的氧化应激程度的增加;此外,D-半乳糖破坏线粒体功能释放细胞色素 c,同时抗神经元凋亡蛋白 Bcl2 表达降低,凋亡蛋白 Bax 表达增高,导致线粒体功能障碍及神经元凋亡,D-半乳糖干预后神经元形态紊乱,数量减少,变性神经元数量显著增加;Rehman 等^[13]通过莫里斯水迷宫和 Y-迷宫测试发现,D-半乳糖会导致小鼠的认知功能下降及学习记忆障碍等脑损伤,并通过激活 c-Jun-N-末端激酶(JNK)使 JNK 的表达量增加,导致神经炎症的发生,使炎症因子 TNF- α 、iNOS 产生过表达。

D-半乳糖引起的脑组织氧化应激、认知障碍、神经元凋亡等现象,符合脑部自然衰老的特征,D-半乳糖诱导的衰老动物模型是研究脑组织衰老的有效模型。

2.2 心脏

衰老群体患有心脏肥大、老年缺血性心肌病等各种心血管和脑血管疾病的风险增加,并伴随着高发病率和死亡率。这与过量的 ROS 导致氧化应激并伴随炎症反应相关^[6]。D-半乳糖通过增加氧化应激标志物降低总抗氧化能力,在动物心脏组织中诱导氧化应激。除了氧化应激外,D-半乳糖还导致心脏结构严重紊乱引起炎症反应。Lei 等^[52]检测心脏组织悬液中 SOD、CAT 及 NOS 等抗氧化指标结果显示,D-半乳糖组抗氧化指标的表达明显增高。心脏切片 HE 染色发现正常的心肌纤维细胞呈梭形延伸,排列呈束且紧密,而 D-半乳糖组心肌纤维丰满,结构模糊,心肌纤维细胞扭曲缩短,细胞间隙增宽;且 D-半乳糖组的心脏细胞的大小显著大于正常组的心脏细胞,心脏细胞大小的增加是心脏肥大的标志;Masson 三色染色观察到,D-半乳糖组的心脏中有大量的胶原沉积,心脏中的胶原沉积是心脏纤维化的标志^[53];Chen 等^[46]表明长期的 D-半乳糖注射能够增加心脏中 TNF- α 、p-NF κ B 和 COX-2 等炎症标记物的水平。

D-半乳糖诱导衰老动物模型引起心脏衰老、氧化应激、炎症、线粒体功能障碍、DNA 损伤、心肌细胞凋亡和纤维化等改变,是研究心脏衰老的有效模型。

2.3 肺

随着年龄的增加,肺部对环境压力和损伤的反应能力降低,肺部疾病的患病率也随之增高^[54]。年

龄对肺的主要影响是肺泡大小增加和肺弹性结构的改变^[6]。D-半乳糖干预可以增加肺组织中的 NO 和 MDA 等氧化标记物,降低 SOD、GSH-Px、NOS 和 CAT 等抗氧化酶,增加了肺部的氧化应激^[54]。Chen 等^[50]发现在 D-半乳糖干预 49 d 后,介导促炎因子 JNK 磷酸化的表达水平明显增高,促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量也显著升高,这与自然衰老组表现一致。Ji 等^[55]连续 90 d D-半乳糖皮下注射比格犬,引发其肺部损伤,发现其肺部的炎症标志物 NF- κ B、iNOS 和 COX2 水平也明显升高。肺组织 HE 染色切片也观察到组织学上的变化,即出现炎症细胞浸润和肺泡壁破坏,并增加了肺纤维化状态,使肺的弹性结构发生改变等肺损伤。

与自然衰老过程相似,D-半乳糖诱导小鼠衰老增加了小鼠肺部的氧化应激、纤维化状态,并通过上调 JNK/JUN 途径使炎症因子过表达,增加肺部炎症反应。

2.4 肝

随着年龄的增长,由于活性氧的攻击,肝功能逐渐下降诱发脂肪型肝炎、肝硬化等疾病。D-半乳糖主要在肝代谢,过量的 D-半乳糖会增加肝代谢负担。D-半乳糖干预会导致肝结构和组织学损伤,如肝细胞出现凋亡、点状坏死、部分细胞核溶解^[56]、水泡及空泡样变性,肝索排列混乱,肝细胞肿胀伴有炎性浸润,且 Masson 三色染色显示血管周围区域和肝组织间隔中的胶原纤维染色较多呈现肝纤维化状态^[57]。同时大量实验已证明,D-半乳糖通过增加肝组织中的 MDA 和 8-OHdG 以及降低总抗氧化能力,在肝中诱导氧化应激^[56-58]。与氧化应激相结合,D-半乳糖干预也可引发炎症反应,使炎症标记物如 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的增加^[56],炎症级联反应的触发可能导致肝细胞大量凋亡,进而损害肝功能。研究发现,D-半乳糖干预的动物在肝炎症或功能障碍期间,谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)的肝损伤等指标显著升高,活性增加^[58-59],表明肝损伤。

与自然衰老(动物)一样,D-半乳糖诱导衰老(动物)肝组织 HE 染色中均积聚炎性细胞和坏死碎片的微小脓肿,且其肺、肝和脾中 NF- κ B、iNOS 和 COX2 水平均高于年轻对照组^[55],D-半乳糖诱导的衰老是研究肝组织衰老的有效模型。

2.5 肾

肾衰老主要体现在肾组织结构和功能的改

变^[60]。其组织学典型特征是肾小球硬化、间质纤维化、肾小管萎缩和动脉硬化^[61]。与自然衰老变化一致,D-半乳糖诱导可引起肾小管萎缩、氧化应激、炎症等导致的肾功能损伤。

对 D-半乳糖干预动物模型,其肾脏组织结构可见肾小球数量减少;随着白细胞和炎性细胞的浸润,肾小球增大,肾小囊扩张^[62];在部分区域观察到肾小管管腔中上皮细胞脱落;肾小管间质、肾小球病变评分、肾皮质和外髓质细胞坏死的小管数量均显著高于年轻对照;此外,由于氧化还原稳态受损的影响,肾的生理性能降低。

D-半乳糖干预通过诱导肾组织氧化应激加速衰老,其肾脏组织中 MOD 等氧化酶水平升高,SOD、GSH-Px 水平以及总抗氧化能力降低^[63]。氧化应激可进一步激活多种炎性转录因子,从而导致炎性细胞因子 TNF- α 和 IL-6^[59]的表达。在 D-半乳糖干预下,尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)等肾功能指标水平升高,且作为急性肾损伤的标志物胱抑素 C(Cys-C)也显著增加^[64]。

3 结语

衰老是生命科学的重大理论问题,随着我国老龄人口比率的逐年升高,探索衰老的原因与机制并寻找有效的延缓衰老、防止老年疾病药物的任务日益迫切,因此在衰老机制和抗衰老研究中建立快速衰老模型尤为重要。氧化应激增加、线粒体功能障碍以及免疫衰老是衰老的重要标志,氧化应激增加主要表现为氧化应激标志物 MDA、8-OHdG 等表达水平的升高以及抗氧化物 SOD、GSH-Px 表达水平的降低;线粒体功能障碍的特征是线粒体形态不规则、ATP 产生不足、mtDNA 突变积累、ROS 产生增加以及随之而来的对核酸、蛋白质的氧化损伤和脂质;免疫衰老表现为免疫功能下降,促炎细胞因子表达水平的增高。

基于以上积累的证据,D-半乳糖干预作为最简单有效的诱导衰老的方法能够诱导各脏器发生氧化应激增加、炎症、细胞凋亡、线粒体功能障碍、组织结构发生变化,具有模仿自然衰老特征的能力,从而成功模拟衰老过程,是抗衰老治疗干预研究的理想模型。综合讨论了利用 D-半乳糖建立加速衰老模型对氧化应激、线粒体损伤、免疫衰退及不同组织器官中的影响,从不同角度为抗衰老提供理论依据。

参考文献:

- [1] 韦艳,段重利,梅丽,等. 从第七次人口普查数据看新时代中国人口发展[J]. 西安财经大学学报, 2021, 34(5): 107-121.
- [2] Diamanti-Kandarakis E, Dattilo M, Macut D, et al. Mechanisms in endocrinology: aging and anti-aging: a combo-endocrinology overview[J]. Eur J Endocrinol, 2017, 176(6): R283-R308.
- [3] Forman HJ. Redox signaling: an evolution from free radicals to aging[J]. Free Radic Biol Med, 2016, 97: 398-407.
- [4] 张贤益. 白藜芦醇对 D-gal 致衰老小鼠的保护作用及机制探究[D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- [5] 赵焕东,胥洪鹏,李坚,等. 高剂量 D-半乳糖复制 C57BL/6J 衰老小鼠模型的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(16): 10-16.
- [6] Azman KF, Zakaria R. D-Galactose-induced accelerated aging model: an overview[J]. Biogerontology, 2019, 20(6): 763-782.
- [7] 秦红兵,杨朝晖,范忆江,等. D-半乳糖诱导衰老小鼠模型的建立与评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(7): 1275-1278.
- [8] 刘传铃,王佳贺. 衰老相关动物模型研究进展[J]. 实用老年医学, 2018, 32(12): 1103-1105, 1120.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] Jiang XP, Tang JY, Xu Z, et al. Sulforaphane attenuates Di-N-butylphthalate-induced reproductive damage in pubertal mice: involvement of the Nrf2-antioxidant system[J]. Environ Toxicol, 2017, 32(7): 1908-1917.
- [12] Chen Z, Xiao J, Liu H, et al. Astaxanthin attenuates oxidative stress and immune impairment in D-galactose-induced aging in rats by activating the Nrf2/Keap1 pathway and suppressing the NF- κ B pathway[J]. Food Funct, 2020, 11(9): 8099-8111.
- [13] Rehman SU, Shah SA, Ali T, et al. Anthocyanins reversed D-galactose-induced oxidative stress and neuroinflammation mediated cognitive impairment in adult rats[J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(1): 255-271.
- [14] 康甲超,蒙洁,陈冬梅,等. 党参水提物对 D-半乳糖致衰老小鼠肺组织自噬蛋白 BNIP3 表达的影响[J]. 中医学报, 2021, 49(10): 23-27.
- [15] Morava E. Galactose supplementation in phosphoglucomutase-1 deficiency: review and outlook for a novel treatable CDG[J]. Mol Genet Metab, 2014, 112(4): 275-279.
- [16] Wu DM, Lu J, Zheng YL, et al. Purple sweet potato color repairs D-galactose-induced spatial learning and memory impairment by regulating the expression of synaptic proteins[J]. Neurobiol Learn Mem, 2008, 90(1): 19-27.
- [17] Ullah F, Ali T, Ullah N, et al. Caffeine prevents D-galactose-induced cognitive deficits, oxidative stress, neuroinflammation

- and neurodegeneration in the adult rat brain [J]. *Neurochem Int*, 2015, 90: 114–124.
- [18] Yu Y, Bai F, Wang W, et al. Fibroblast growth factor 21 protects mouse brain against D-galactose induced aging via suppression of oxidative stress response and advanced glycation end products formation [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2015, 133: 122–131.
- [19] 陈兵, 贺娟, 张春斌. 氧化应激的原理及作用 [J]. *黑龙江医药科学*, 2014, 37(6): 2–3.
- [20] 许扬, 吴涛, 顾佳黎, 等. D-半乳糖诱导衰老动物模型研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(13): 1710–1713.
- [21] Guo H, Kuang Z, Zhang J, et al. The preventive effect of *Apocynum venetum* polyphenols on D-galactose-induced oxidative stress in mice [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(1): 557–568.
- [22] Zhu K, Zeng X, Tan F, et al. Effect of insect tea on D-galactose-induced oxidation in mice and its mechanisms [J]. *Food Sci Nutr*, 2019, 7(12): 4105–4115.
- [23] Kumar A, Prakash A, Dogra S. Naringin alleviates cognitive impairment, mitochondrial dysfunction and oxidative stress induced by D-galactose in mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(2): 626–632.
- [24] Chen L, Yao H, Chen X, et al. Ginsenoside Rg1 decreases oxidative stress and down-regulates Akt/mTOR signalling to attenuate cognitive impairment in mice and senescence of neural stem cells induced by D-galactose [J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(2): 430–440.
- [25] 朱梦琪, 闵赛南, 吴立玲, 等. 线粒体功能障碍在细胞衰老中作用的研究进展 [J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(10): 1888–1893.
- [26] Chen G, Kroemer G, Kepp O. Mitophagy: an emerging role in aging and age-associated diseases [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 200.
- [27] Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release [J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 909–950.
- [28] Redza-Dutordoir M, Averill-Bates DA. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(12): 2977–2992.
- [29] Du Z, Yang Y, Hu Y, et al. A long-term high-fat diet increases oxidative stress, mitochondrial damage and apoptosis in the inner ear of D-galactose-induced aging rats [J]. *Hear Res*, 2012, 287(1–2): 15–24.
- [30] Du Z, Yang Q, Liu L, et al. NADPH oxidase 2-dependent oxidative stress, mitochondrial damage and apoptosis in the ventral cochlear nucleus of D-galactose-induced aging rats [J]. *Neuroscience*, 2015, 286: 281–292.
- [31] Li J, Bonkowski MS, Moniot S, et al. A conserved NAD⁺ binding pocket that regulates protein-protein interactions during aging [J]. *Science*, 2017, 355(6331): 1312–1317.
- [32] Hamilton JAG, Henry CJ. Aging and immunotherapies: new horizons for the golden ages [J]. *Aging Cancer*, 2020, 1(1–4): 30–44.
- [33] Meissner C, Bruse P, Mohamed SA, et al. The 4977 bp deletion of mitochondrial DNA in human skeletal muscle, heart and different areas of the brain: a useful biomarker or more? [J]. *Exp Gerontol*, 2008, 43(7): 645–652.
- [34] Nicklas JA, Brooks EM, Hunter TC, et al. Development of a quantitative PCR (TaqMan) assay for relative mitochondrial DNA copy number and the common mitochondrial DNA deletion in the rat [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2004, 44(4): 313–320.
- [35] Salehpour F, Ahmadian N, Rasta SH, et al. Transcranial low-level laser therapy improves brain mitochondrial function and cognitive impairment in D-galactose-induced aging mice [J]. *Neurobiol Aging*, 2017, 58: 140–150.
- [36] 刘天宇, 王志维. 线粒体自噬与心血管疾病的研究进展 [J]. *医学综述*, 2021, 27(21): 4165–4170.
- [37] 张海银, 许言午. 线粒体自噬与心肌衰老 [J]. *生命的化学*, 2017, 37(6): 1035–1043.
- [38] 夏德尧, 张桃, 陈颖, 等. 延龄草总皂苷对 D-半乳糖诱导的 SD 大鼠心肌线粒体自噬的影响 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(8): 582–587.
- [39] 周勇, 刘晶, 陈刚. 淫羊藿苷对 D-半乳糖诱导的脑衰老模型小鼠皮层线粒体自噬的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(12): 5674–5678.
- [40] 刘不梅. 金丝桃苷调控 AMPK-ULK1 介导自噬改善 D-半乳糖诱导肾脏衰老与损伤的作用和机制 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [41] 乔巨慧, 刘颖, 邢欣, 等. 人参多糖对 D-半乳糖诱导的 PC12 细胞拟老化模型自噬和相关信号通路的影响 [J]. *中药材*, 2020, 43(10): 2519–2524.
- [42] 龚文翰. 不同形式的运动预适应对力竭运动大鼠骨骼肌线粒体自噬和功能的影响 [D]. 大连: 辽宁师范大学, 2021.
- [43] 马春伟, 高炳宏. 运动介导线粒体未折叠蛋白反应调控线粒体质量控制机制研究进展 [J]. *中国运动医学杂志*, 2021, 40(3): 216–223.
- [44] 李婕, 寇现娟, 刘醒然, 等. 运动激活自噬改善 D-半乳糖诱导的衰老大鼠学习记忆能力 [A]. 第四届 (2016) 全国运动生理与生物化学学术会议——运动·体质·健康论文摘要汇编 [C]; 2016.
- [45] Wang Q, Zou L, Liu W, et al. Inhibiting NF- κ B activation and ROS production are involved in the mechanism of silibinin's protection against D-galactose-induced senescence [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2011, 98(1): 140–149.
- [46] Chen WK, Tsai YL, Shibu MA, et al. Exercise training augments Sirt1-signaling and attenuates cardiac inflammation in D-galactose induced-aging rats [J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(12): 4166–4174.
- [47] Uddin MN, Nishio N, Ito S, et al. Toxic effects of D-galactose on thymus and spleen that resemble aging [J]. *J Immunotoxicol*, 2010, 7(3): 165–173.
- [48] Du HM, Wang YJ, Liu X, et al. Defective central immune tolerance induced by high-dose D-galactose resembles aging [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2019, 84(6): 617–626.
- [49] Yeh SL, Wu TC, Chan ST, et al. Fructo-oligosaccharide

- attenuates the production of pro-inflammatory cytokines and the activation of JNK/Jun pathway in the lungs of D-galactose-treated Balb/cJ mice [J]. *Eur J Nutr*, 2014, 53(2): 449–456.
- [50] Chen B, Zhong Y, Peng W, et al. Increased mitochondrial DNA damage and decreased base excision repair in the auditory cortex of D-galactose-induced aging rats [J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38(6): 3635–3642.
- [51] Yu H, Yuan B, Chu Q, et al. Protective roles of isoastilbin against Alzheimer's disease via Nrf2-mediated antioxidation and anti-apoptosis [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(3): 1406–1416.
- [52] Lei L, Ou L, Yu X. The antioxidant effect of *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. shoot in D-galactose induced mice aging model and *in vitro* [J]. *J Chin Med Assoc*, 2016, 79(4): 205–211.
- [53] Dehghani A, Hafizibarjin Z, Najjari R, et al. Resveratrol and 1, 25-dihydroxyvitamin D co-administration protects the heart against D-galactose-induced aging in rats; evaluation of serum and cardiac levels of klotho [J]. *Aging Clin Exp Res*, 2019, 31(9): 1195–1205.
- [54] 陈冬梅. 基于多种 RNA 表达谱研究党参对衰老小鼠肺组织的干预作用 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2021.
- [55] Ji M, Su X, Liu J, et al. Comparison of naturally aging and D-galactose induced aging model in beagle dogs [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(6): 5881–5888.
- [56] Chen P, Chen F, Zhou B. Author Correction: Antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of ellagic acid in liver and brain of rats treated by D-galactose [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 19129.
- [57] Huang CC, Chiang WD, Huang WC, et al. Hepatoprotective effects of swimming exercise against D-galactose-induced senescence rat model [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 275431.
- [58] Yang J, He Y, Zou J, et al. Effect of *Polygonum Multiflorum* Thunb on liver fatty acid content in aging mice induced by D-galactose [J]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1): 128.
- [59] Feng Y, Yu YH, Wang ST, et al. Chlorogenic acid protects D-galactose-induced liver and kidney injury via antioxidation and anti-inflammation effects in mice [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(6): 1027–1034.
- [60] 朱婧婧. 槲皮素延缓顺铂诱导肾小管上皮细胞衰老的机制研究 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- [61] Fliedl L, Wieser M, Manhart G, et al. Controversial role of gamma-glutamyl transferase activity in cisplatin nephrotoxicity [J]. *ALTEX*, 2014, 31(3): 269–278.
- [62] Fan Y, Xia J, Jia D, et al. Mechanism of ginsenoside Rg1 renal protection in a mouse model of D-galactose-induced subacute damage [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(9): 1815–1821.
- [63] Liu CM, Ma JQ, Lou Y. Chronic administration of troxerutin protects mouse kidney against D-galactose-induced oxidative DNA damage [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48(10): 2809–2817.
- [64] 樊艳玲. 1. 异常卵裂的胚胎能够产生活产婴儿——一项 Time-lapse 研究 2. 人参皂苷对 D-半乳糖致小鼠肾脏亚急性损伤的保护作用及机理 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2016.

[收稿日期]2022-05-07

(上接第 109 页)

- [110] Hu J, Schell TD, Peng X, et al. Using HLA-A2.1 transgenic rabbit model to screen and characterize new HLA-A2.1 restricted epitope DNA vaccines [J]. *J Vaccines Vaccin*, 2010, 1(1): 1000101.
- [111] Neff EP. What is a lab animal? [J]. *Lab Anim (NY)*, 2018, 47(9): 223–227.
- [112] Swearingen JR. Choosing the right animal model for infectious disease research [J]. *Animal Model Exp Med*, 2018, 1(2): 100–108.
- [113] Vergara P, Morahan G. The development and application of Laboratory Animal Science in China [J]. *Animal Model Exp Med*, 2018, 1(4): 247–249.
- [114] Stripecke R, Münz C, Schuringa JJ, et al. Innovations, challenges, and minimal information for standardization of humanized mice [J]. *EMBO Mol Med*, 2020, 12(7): e8662.
- [115] Ngiam KY, Khor IW. Big data and machine learning algorithms for health-care delivery [J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(5): e262–e273.
- [116] Tiffon C. The impact of nutrition and environmental epigenetics on human health and disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(11): 3425.
- [117] Gilbert JA, Blaser MJ, Caporaso JG, et al. Current understanding of the human microbiome [J]. *Nat Med*, 2018, 24(4): 392–400.
- [118] Turner PV. The role of the gut microbiota on animal model reproducibility [J]. *Animal Model Exp Med*, 2018, 1(2): 109–115.
- [119] Honda A, Ogura A. Rabbit models for biomedical research revisited via genome editing approaches [J]. *J Reprod Dev*, 2017, 63(5): 435–438.

[收稿日期]2022-07-20