

衰老动物模型的研究及其在抗衰老药物活性筛选中的应用

周玉枝¹, 闫明亮^{1,2}, 高丽¹, 秦雪梅^{1*}, 杜冠华^{1,3}

1. 山西大学 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

2. 山西大学化学化工学院, 山西 太原 030006

3. 中国医学科学院 北京协和医科大学药物研究所, 北京 100050

摘要: 衰老以及衰老相关疾病使得人类生活的负担逐年加重。延缓衰老、减少衰老相关疾病的发生是解决问题的根源。动物模型是衰老研究的重要工具, 就酵母、线虫、果蝇、斑马鱼、快速老化小鼠、D-半乳糖衰老模型、恒河猴等多种衰老研究中常用动物模型的特点及其在抗衰老药物筛选中的应用进展进行归纳总结, 为衰老研究中相关动物模型的选择提供依据。

关键词: 衰老; 动物模型; 药物筛选; 抗衰老; 酵母; 线虫; 果蝇; 斑马鱼; 快速老化小鼠; D-半乳糖衰老模型; 恒河猴

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)06-1061-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.06.002

Study on aging animal models and its application in activity screening of anti-aging drugs

ZHOU Yu-zhi¹, YAN Ming-liang^{1,2}, GAO Li¹, QIN Xue-mei¹, DU Guan-hua^{1,3}

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University; Taiyuan 030006, China

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China

Abstract: Aging and aging-related diseases make human life burden increase year by year. We can solve this problem by delaying aging and reducing the incidence of aging-related diseases. Animal model is an important tool for aging research, in this paper, we focused on all kinds of models for aging study including *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans*, *Drosophila melanogaster*, *Danio rerio*, senescence accelerated mouse, D-galactose induced aging model, and rhesus. The characteristics, application status, and research progress of these models were introduced separately, which provides the basis for the selection of animal models in aging research.

Key words: aging; animal model; drug screening; anti-aging activity; *Saccharomyces cerevisiae*; *Caenorhabditis elegans*; *Drosophila melanogaster*; *Danio rerio*; aenescence accelerated mouse; D-galactose induced aging model; rhesus

随着人类科学水平的不断发展, 世界人口老龄化程度的日益加深, 人类对于衰老的研究也越来越不满足于现状, 急切地希望能够进一步揭开衰老的神秘面纱, 探索更多的衰老相关机制。近年来, 对于衰老方面的研究越来越多。从单细胞酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 到多细胞线虫 *Caenorhabditis elegans* 到无脊椎动物果蝇 *Drosophila melanogaster* 到哺乳类动物小鼠再到灵长类动物恒河猴 (rhesus), 人类对于衰老动物模型的研究也一直处于不断地更新中。对于低等短寿命模式生物而言, 它

们大多系统相对简单、成本低、研究时间短, 是研究衰老机制的理想模型。然而, 这些低等生物的衰老过程很大程度上与人类存在诸多差异, 导致基础研究难以转化为临床应用。对于高等动物或者灵长类恒河猴而言, 他们可能是研究人类衰老最理想的替代模型, 但由于实验的复杂性、成本高以及伦理方面的诸多因素使得对于它们的研究困难重重^[1-5]。因此从实际问题出发, 恰当地选择衰老相关模式生物, 充分地发挥每一种衰老模型的优势对于进一步完善衰老及其机制的研究极其重要。

收稿日期: 2016-10-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81673572); 山西省科技基础条件平台建设项目(2014091022); 山西省科技攻关项目(20140313008-14); 山西省应用基础研究项目(201601D021164); 山西省高校科技创新项目(2016120)

作者简介: 周玉枝, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为中药药效物质基础研究。E-mail: zhouyuzhi@sxu.edu.cn

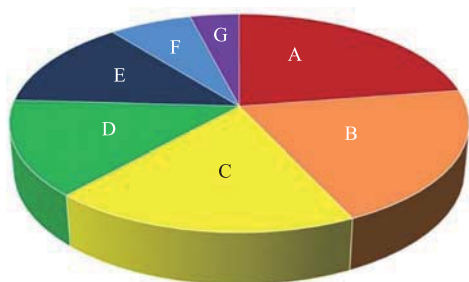
*通信作者 秦雪梅, 教授, 博士生导师, 主要从事中药质量标准及代谢组学研究。E-mail: Qinxm@sxu.edu.cn

1 衰老动物模型的研究现状

为了更好地了解各种衰老动物模型的研究现状, 本文对每种衰老动物模型的科研使用情况进行分析。通过 Pubmed 数据库^[6], 分别以主题词: “*Saccharomyces cerevisiae*, aging” “*Caenorhabditis elegans*, aging” “*Drosophila melanogaster*, aging” “*Danio rerio*, aging” “senescence accelerated mouse, aging” “*D-gal*, aging” “rhesus, aging” 将各个衰老模型进行单独检索, 统计各个模型的使用次数, 结果见图 1。由图 1 可见, 当前衰老研究中, 各个衰老动物模型出现的频率依次是线虫>果蝇>快速老化小鼠 (senescence accelerated mouse)>恒河猴>酵母>*D*-半乳糖衰老模型 (*D-galactose induced aging model*)>斑马鱼 *Danio rerio*。对其近 5 年来出现的频率进行统计, 结果见图 2。由图 2 可知, 近 5 年的衰老研究中, 应用相对比较多的衰老动物模型分别为线虫、果蝇、快速老化小鼠和酵母等模式生物, 由此可见模式生物在衰老及相关机制的研究中占据重要的地位。

2 常用衰老动物模型的特点及其在抗衰老药物筛选中的应用

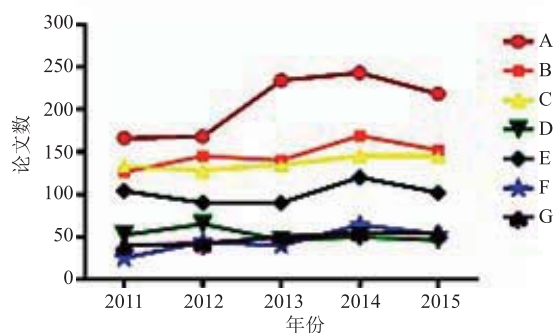
单细胞酵母、多细胞线虫、无脊椎动物果蝇、脊椎动物斑马鱼、哺乳类动物小鼠以及灵长类动物恒河猴, 从最简单的单细胞, 到最复杂与临床试验最为接近的灵长类动物, 人们已经开始尝试从这些衰老模型中探寻衰老的奥秘, 并尝试着筛选一些能够延缓衰老甚至延长寿命的药物或者保健食品。



A-线虫 (23%) B-果蝇 (20%) C-快速老化小鼠 (19%) D-恒河猴 (14%) E-酵母 (13%) F-D-半乳糖衰老模型 (7%) G-斑马鱼 (4%)
A-*Caenorhabditis elegans* (23%) B-*Drosophila melanogaster* (20%) C-senescence accelerated mouse (19%) D-rhesus (14%) E-*Saccharomyces cerevisiae* (13%) F-*D-galactose* aging model (7%) G-*Danio rerio* (4%)

图 1 衰老动物模型的科研应用现状

Fig. 1 Research and application status of aging animal models



A-线虫 B-果蝇 C-快速老化小鼠 D-恒河猴 E-酵母 F-D-半乳糖衰老模型 G-斑马鱼
A-*Caenorhabditis elegans* B-*Drosophila melanogaster*
C-senescence accelerated mouse D-rhesus E-*Saccharomyces cerevisiae* F-*D-galactose* aging model G-*Danio rerio*

图 2 衰老动物模型近 5 年的科研应用现状

Fig. 2 Research and application status of aging animal models in recent five years

2.1 酿酒酵母衰老模型

酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* 是人类衰老研究中最简单的单细胞真核生物。酿酒酵母具有与动植物相似的细胞结构特征, 其细胞的衰老代谢机制与人体细胞衰老代谢机制相似, 其简单而独特的生长代谢规律使其成为细胞衰老研究的重要模式生物, 并随着抗衰老机制的深入研究而被日益重视。

2.1.1 酿酒酵母衰老模型的特点 酿酒酵母生活周期短, 作为单细胞生物, 其遗传背景比较简单, 人类已经完成对酿酒酵母的全基因组测序, 在多年的科学研究应用中也已经有了丰富的实验操作积累, 如今正在被广泛地应用到衰老研究中^[7]。酿酒酵母有 2 种衰老形式: 复制衰老 (replicative aging) 和时序衰老 (chronological aging)。复制衰老的寿命即世代寿命, 是指单个酿酒酵母细胞在死亡之前的分裂次数; 时序衰老的寿命即时序寿命, 是指一定数量的酵母细胞在停止分裂后, 酵母细胞的存活时间^[8]。

目前酿酒酵母衰老模型的研究主要应用于 2 个方面: (1) 对细胞衰老机制的进一步探索。自 1991 年首次从酿酒酵母中分离得到 TOR (target of rapamycin) 蛋白 (雷帕霉素靶标蛋白), 之后人类对于 TOR 蛋白的研究就从未停止过, TOR 蛋白是一种进化上非常保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族中的一员, 有研究表明下调 TOR 信号通路活性可显著延长酿酒酵母的寿命^[9-10]。当前 TOR 蛋白已经成了老年医学和药学的重点关注对象。(2) 对于药物以及保健食品抗衰老活性的筛选及机制的进一步探索。

2.1.2 酿酒酵母衰老模型在抗衰老药物活性筛选中的应用 Sun 等^[11]以复制衰老酵母模型研究橙皮苷抗衰老活性,发现 5 和 10 μmol 的给药浓度都能够延长酵母的寿命,主要通过抑制酵母体内活性氧以及 UTH1 基因的表达水平而发挥作用。Xiang 等^[12]以复制衰老酵母模型研究根皮苷抗衰老活性,发现根皮苷能够通过调节超氧化物歧化酶(SOD)和 Sir2 基因的表达发挥抗衰老活性。Wu 等^[13]以时序衰老酵母模型筛选了 144 种药用植物,最终发现丹参的干燥根具有显著的抗衰老活性,对其活性成分进行分离,发现隐丹参酮能够显著延长酿酒酵母的时序寿命,通过进一步研究表明,隐丹参酮主要通过调节 TOR1、Sch9、GCN2 和 SOD2 等蛋白来达到延长寿命的作用。多吃苹果能够减少癌症、神经退行性疾病以及心血管疾病等发生,这些都归功于苹果中苹果多酚等天然产物的存在^[14]。Palermo 等^[15]以时序衰老酵母模型分别筛选苹果整体、果皮、果肉以及苹果多酚类成分的抗衰老活性,结果发现苹果果皮、果肉以及多酚类成分均能够延长酿酒酵母的时序寿命,但是苹果整体能够达到更好的抗衰老效果。这些研究表明,酿酒酵母衰老模型作为一种单细胞生物,不仅能够高通量筛选药物活性,更能够进一步从细胞水平探寻衰老的机制。

2.2 秀丽隐杆线虫衰老模型

早在 20 世纪 60 年代初期,科学家 Brenner 就将秀丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* (简称线虫)引入到发育生物学和神经生物学的研究中,并因此获得 2002 年的诺贝尔奖^[16]。1998 年底,科学工作者已经完成了对线虫全基因组序列的测序,自此线虫成为了第 1 个完成全基因组测序的多细胞真核生物。

2.2.1 秀丽隐杆线虫衰老模型的特点 线虫体长仅为 1.3 mm 左右,但其本身具有肌肉、表皮、肠、生殖系统、腺体以及神经系统等多个器官,是一类相对比较简单模式生物;线虫体积小,对成长空间的需求也比较小;线虫可以在液氮或 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中长期冷冻保存;在实验室条件下易于大量培养、繁殖,线虫的生长和繁殖速度很快;线虫身体透明,在普通显微镜下易于观察其体内结构及生长发育过程^[17-18]。当前对线虫的深入研究,以及在线虫研究领域的大量开拓性工作使之成为基础研究的经典模式动物。

研究表明,线虫与人类基因存在很大的保守序列,这就为衰老研究奠定了理论基础。早在 2000 年,

科学工作者就已经完成了线虫全基因组的 RNAi 文库,使得线虫成了第一个能够在全基因组范围内进行功能缺失分析的多细胞生物^[19]。线虫以大肠杆菌为食,因此使用表达 dsRNA 的细菌喂养线虫能够产生很好的 RNA 干扰效果,并且成本低廉,可实现大批量培养^[20-22]。RNA 干扰导致基因敲除的线虫在当前的科学研究中占据着很重要的地位。

2.2.2 秀丽隐杆线虫在抗衰老药物活性筛选中的应用 Akhoun 等^[23]对印度地道中药材南非醉茄进行研究,发现其活性成分睡茄素 A 能够显著延长线虫寿命,可能主要通过调节 insulin/IGF-1 信号通路发挥作用。Wang 等^[24]对当归的蛋白水解液进行研究,发现当归生物活性肽能够提高抗氧化酶 SOD、过氧化氢酶(CAT)等活性,降低丙二醛(MDA)水平发挥抗氧化活性,进而延长线虫寿命。Wang 等^[25]以线虫衰老模型进行研究,发现芝麻肽能够延长线虫寿命,降低体内活性氧水平,这些作用可能主要通过激活转录因子 SKN-1/NRF-2 来实现。大蒜衍生的 *S*-烯丙基半胱氨酸(SAC)和 *S*-烯丙基硫基半胱氨酸(SAMC)已被证明具有多种生物活性^[26]。Ogawa 等^[27]研究表明 SAC 及 SAMC 均能够延长线虫的寿命及应激能力,降低线虫体内的活性氧水平,不同于饮食限制, SAC 及 SAMC 主要是通过选择性的诱导 SKN-1 使其细胞内含量略有增加而发挥作用。Zheng 等^[28]以线虫为衰老模型对多酚类成分绿原酸(chlorogenic acid, CGA)进行研究,发现绿原酸能够显著延长线虫寿命,提高机体抵抗力,应用基因敲除的线虫对其作用机制进行进一步探索,发现 CGA 可能主要通过作用于 insulin/IGF-1 信号转导通路中的 DAF-16 而发挥作用。Havermann 等^[29]以线虫为模式生物,研究发现黄芩的黄酮类成分黄芩素能够显著延长线虫寿命,其中 100 μmol 的给药剂量作用极佳。进一步利用 RNA 干扰线虫衰老模型探讨黄芩素延长寿命的作用机制,发现黄芩素主要通过调节 SKN-1 来发挥延长寿命的功效。Zhang 等^[30]以线虫为模式生物,研究发现水解玉米蛋白之后的 Tyr-Ala 新型二肽能够显著延长线虫寿命,并以荧光定量 PCR 进一步研究表明新型二肽能够显著上调部分衰老相关的基因如 daf-16、SOD-3、HSP-16.2 和 SKN-1 等。这些研究表明,线虫不仅能够高通量筛选药物活性,其完整的 RNAi 文库及其 RNA 干扰导致基因敲除的突变体在抗衰老机制研究中占据着重要的地位。

2.3 黑腹果蝇衰老模型

黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 是双翅目昆虫, 生物学领域的经典模式生物之一, 因其经常出现在腐烂的水果附近, 所以得名。20 世纪初, Morgan 以黑腹果蝇作为研究对象, 建立了遗传的染色体理论, 自此人类对于黑腹果蝇的研究就从未停止过。

2.3.1 黑腹果蝇衰老模型的特点 多年来, 在生物学的研究中, 以果蝇为模式生物不仅取得了巨大的突破, 更是获得了多次诺贝尔奖, 这些都奠定了果蝇这种模式生物在生命科学研究中的重要地位^[31-33]。尽管果蝇的体积比较小, 但器官和结构都比较复杂, 并且果蝇的内分泌系统也比较完整, 许多代谢途径、生理学功能都类似于哺乳动物, 所以多被用于衰老机制的研究。果蝇生命周期比较短, 繁殖能力比较强, 易饲养, 实验操作简单, 能够保证足够的数量以及足够的空间进行实验, 因此是一种常用的衰老模式生物^[34]。

果蝇是研究复杂生物生命过程的一个重要模型。研究表明, 近 70% 的人类致病基因在果蝇中都存在着同源基因, 用分子遗传学方法构建的 Gal4/UAS 系统, 可以将脊椎动物的任何基因在果蝇的特定组织和细胞内进行表达^[35-37]。例如, 将阿尔茨海默病 (AD) 的致病基因 A β 42 插入 UAS 的下游使之过表达, 能够构建立 AD 果蝇模型, 可以进一步研究衰老相关疾病的发病机制^[38]。另外, UAS-AMPK 果蝇模型的应用表明, 激活肠道系统 AMPK 基因, 能够使果蝇寿命延长 30%。这就提示, 激活人类肠道的 AMPK 基因, 是否能够达到同样的效果^[39]。

2.3.2 黑腹果蝇衰老模型在抗衰老药物活性筛选中的应用 Xin 等^[40]以果蝇为模式生物对蜂王浆成分进行研究, 发现蜂王浆能够延长果蝇寿命, 可能主要通过调节体内 CuZn-SOD 以及表皮生长因子受体介导的信号通路来发挥作用。Peng 等^[41]以果蝇衰老模型为研究平台, 发现苹果多酚能够调节果蝇体内 SOD、CAT、MTH 和 Rpn11 等相关基因表达, 进而显著延长果蝇寿命。Kim^[42]以果蝇为衰老模型, 对朝鲜红参进行研究, 发现朝鲜红参能够有效地调节果蝇体内代谢进而达到延长寿命的效果。Jafari 等^[43]以果蝇为衰老模型, 通过研究发现 30 mg/mL 红景天提取物在延长果蝇寿命的同时可降低果蝇的繁殖力。Huang 等^[44]以自然衰老果蝇和突变体果蝇共同研究虾青素抗衰老活性, 结果表明, 虾青素主要发挥抗氧化活性进而延长果蝇寿命。Lin 等^[45]发现毛

龙草提取物能够显著延长高热量饮食果蝇寿命却不能延长低热量饮食果蝇寿命, 提示毛龙草提取物可能通过热量限制相似的途径延缓衰老, 延长果蝇寿命。Gao 等^[46]结合网络药理学在黄芩中筛选出可能的抗衰老化合物黄芩素, 并以自然衰老果蝇为模型对其作用机制进行验证, 发现 0.04、0.2 和 1 mg/mL 的黄芩素均能够延长果蝇的平均寿命、中位寿命和最高寿命, 而黄芩素延长果蝇寿命可能主要是通过增强 CAT 活性, 提高谷胱甘肽还原酶 (GSH) 水平等抗氧化途径来实现的。这些研究表明果蝇不仅拥有丰富的突变体, 更能够建立多种实验模型, 其组织器官均相对比较完善, 在药物筛选及抗衰老机制研究中扮演者重要的角色。

2.4 斑马鱼衰老模型

斑马鱼 *Danio rerio* 原是热带的一种常见观赏鱼, 产自巴基斯坦、缅甸、印度东部以及孟加拉国等地, 是短担尼鱼属 *Danio* 的一种硬骨鱼, 属于辐鳍亚纲 (Actinopterygii) 鲤科 (Cyprinidae), 其体侧有纵向暗蓝色与银色相间的条纹, 故名为斑马鱼^[47]。

2.4.1 斑马鱼衰老模型的特点 20 世纪 70 年代初美国 Oregon 大学著名遗传学家 Streisinger 注意到斑马鱼的优点并开始对其研究, 并于 1981 年在 *Nature* 杂志上发表文章报道了斑马鱼遗传学方面的技术: 体外受精、单倍体诱导并建立了斑马鱼的纯合品系及其第一个突变体, 自此开启了人类对斑马鱼这种模式生物的探索之路^[48-50]。1996 年 *Development* 增刊发表了 36 篇论文进行报道斑马鱼突变体, 在生命科学领域引起轰动, 并吸引大批科学工作者以斑马鱼为模式生物, 自此, 斑马鱼成为了最重要的模式脊椎动物之一^[51]。斑马鱼生长发育、组织系统结构都与人类有很高的相似性, 在基因和蛋白质的结构以及功能上也与人类表现很高的保守性, 已发现斑马鱼与人类基因的相似度高达 87%, 并且研究表明, 斑马鱼的老化与人类的衰老过程都有一定的相似之处, 均表现为体内脂褐素的积累、认知功能下降等特点。斑马鱼还具有体积小、生殖能力强、体外受精且胚胎发育透明等特点, 因此是能够进行高通量药物筛选的唯一脊椎动物模型^[52-55]。

2.4.2 斑马鱼衰老模型在抗衰老药物活性筛选中的应用 Lai 等^[56]以斑马鱼为模型研究黄芪中的活性成分, 发现黄芪多糖通过作用于血管内皮生长因子 (VEGF) 信号通路表现出促血管生成活性, 通过提高细胞活力促进 DNA 的合成, 刺激人微血管内皮

细胞 (HMEC-1) 的增殖。Xia 等^[57]以斑马鱼为模型, 对枸杞多糖的作用机制进行研究, 发现枸杞多糖能够显著降低 p53、p21 和 Bax 等基因的表达水平, 升高 Mdm2 和 TERT 等基因的表达水平, 表明枸杞多糖通过调节 p53 信号通路发挥抗衰老的作用。Lee 等^[58]以斑马鱼为模型, 对甘蔗脂肪醇进行研究, 发现甘蔗脂肪醇表现出抗细胞凋亡、增加细胞复制和组织再生的能力, 并且甘蔗脂肪醇能够有效地降低血清中总胆固醇和三酰甘油的量, 缓解脂肪肝病。

2.5 快速老化小鼠模型

2.5.1 快速老化小鼠模型的特点

快速老化小鼠属近交系小鼠群, 其特征为随着年龄的增长不断地出现快速老化的症状, 包括神经退行、记忆功能障碍、骨质疏松、免疫系统功能紊乱等, 近年来研究发现其病理学特征与人类衰老特征极其相似^[59]。因此越来越多的研究者以快速老化小鼠为模型进行衰老相关的研究。快速老化小鼠共有 12 个亚系, 不同亚系小鼠具有不同的病理表现型, 其中快速老化小鼠亚系 (senescence accelerated mouse/prone, SAMP) 包含 9 个品系, 均能够表现出衰老的相关症状, 具体如表 1 所示, 通常为衰老研究的模型组; 而抗快速老化小鼠亚系 (senescence accelerated mouse/resistance, SAMR) 各项生理指标均与正常动物相似, 常被用来作为衰老研究的正常对照组^[60]。

2.5.2 快速老化小鼠模型在抗衰老药物活性筛选中的应用

鉴于正常衰老动物模型实验周期长并且不

伴随有衰老相关疾病的缺点, 快速老化小鼠衰老模型应运而生, 并且为药物筛选及抗衰老活性评价提供了良好的平台。Ma 等^[61]以 SAMP8 亚型快速老化小鼠为衰老模型, 对山茱萸环烯醚萜苷的抗衰老活性进行评价, 发现 100、200 mg/kg 山茱萸环烯醚萜苷均能显著地改善 SAMP8 快速老化小鼠的认知功能和运动能力, 并有效抑制海马 tau 蛋白的过度磷酸化。Palomera-Avalos 等^[62]以正常饮食、高脂饮食、高脂饮食加白藜芦醇分别喂养 SAMP8 亚型快速老化小鼠 15 周, 以水迷宫等方法对小鼠的认知能力及行为能力分别检测, 以 Western blotting 对其作用机制进行探讨, 结果发现白藜芦醇能够有效地改善小鼠的认知行为能力, 保护线粒体功能, 调节 Wnt/ β -catenin 信号通路。Okiura 等^[63]以正常水和含有水解骨胶原蛋白的水分别饲养 SAMP6 亚型的快速老化小鼠, 分别在 42 周和 60 周测定 SAMP6 小鼠的纤维横截面积 (CSA) 和纤维琥珀酸脱氢酶 (SDH) 水平, 结果表明水解骨胶原蛋白能够抑制衰老引起的肌肉氧化能力, 同时抑制衰老引起的骨密度降低。快速老化小鼠不同的亚系有不同的表型, 其中 SAMP8 亚系在衰老研究中应用相对较多, 具体表现为学习记忆障碍、情绪障碍、免疫力低下等症状。当然在科研实验中要根据实验目的的不同选取合适的快速老化小鼠亚系。

2.6 D-半乳糖衰老模型

D-半乳糖致衰老模型是指在一定时间内, 连续给动物注射大剂量的 D-半乳糖, 使机体细胞内半乳糖浓度增高, 进而表现出与衰老相似的症状^[64]。

2.6.1 D-半乳糖衰老模型的特点

D-半乳糖是一种小分子单糖, 在体内的量正常时是一种营养成分, 可被氧化为葡萄糖, 为机体提供能量。但是当机体中 D-半乳糖量很高时, 通过氧化反应, D-半乳糖会被氧化成醛糖和过氧化氢, 进一步形成超氧阴离子和氧自由基, 进而导致机体生理活性和生理功能发生改变。也有研究认为 D-半乳糖能够使机体细胞内半乳糖浓度升高, 在醛糖还原酶的催化下还原成半乳糖醇, 半乳糖醇因为不能被细胞进一步代谢而堆积在细胞内, 影响正常渗透压, 导致细胞出现功能障碍, 进一步加速细胞的衰老与凋亡, 最终致使机体产生类自然衰老特征^[65-67]。D-半乳糖模型最早用于建立白内障模型, 1985 年我国学者徐黻本首次提出给予啮齿动物 D-半乳糖溶液, 能够诱导其产生类似于加速衰老进程的生理变化特征。1991

表 1 快速老化小鼠各亚系及其表现型特点

Table 1 Each subtype in senescence accelerated mouse and characteristics of its phenotype

亚系	表现型
SAMP1	免疫功能低下、老年淀粉样变性、听力障碍
SAMP2	肺部病理变化、继发性淀粉样变性
SAMP3	退行性颞下颌关节病
SAMP6	老年性骨质疏松症、继发性淀粉样变性
SAMP7	胸腺淋巴母细胞性淋巴瘤、继发性淀粉样变性
SAMP8	学习记忆障碍、情绪障碍、免疫力低下
SAMP9	白内障、胸腺淋巴母细胞性淋巴瘤、老年淀粉样变性
SAMP10	脑萎缩、学习记忆障碍、情绪障碍
SAMP11	老年淀粉样变性、肾固缩

年我国学者龚国清建立了 *D*-半乳糖致亚急性大鼠衰老模型^[68]。经过不断的研究发展,该模型的各种生化指标与生理指标均与自然衰老相似,目前已得到广泛的运用,成为国内公认的经典衰老模型。

2.6.2 *D*-半乳糖衰老模型在抗衰老药物活性筛选中的应用 *D*-半乳糖致衰老模型的内在机制尚不明确,但该模型本身表现出与衰老相似的认知能力下降、神经损伤等生理生化指标。Lu 等^[69]以 50 mg/kg *D*-半乳糖注射诱导昆明小鼠造模,给予 5、10 mg/kg 槲皮素治疗,发现槲皮素能够有效地逆转 *D*-半乳糖诱导的小鼠认知障碍,调节小鼠体内抗氧化酶活性,同时维持脑内 Ca^{2+} 离子浓度平衡,升高脑内生长相关蛋白 43(GAP43)mRNA 的表达水平。Yang 等^[70]以 sc *D*-半乳糖诱导记忆障碍小鼠为衰老模型,对阿魏酸药理活性及作用机制进行研究, Morris 水迷宫实验表明阿魏酸 50、100 mg/kg 能够有效地改善 *D*-半乳糖诱导的小鼠记忆障碍,主要通过调节抗氧化酶活性抑制氧化应激、抑制神经炎症而发挥作用。Banji 等^[71]以 150 mg/kg *D*-半乳糖诱导 56 d 制备大鼠衰老模型,分别对姜黄素单独给药、橙皮苷单独给药以及姜黄素和橙皮苷组合给药进行研究,发现姜黄素和橙皮苷均能有效改善大鼠的认知障碍,分别给药的结果显示姜黄素比橙皮苷更为有效,组合给药的结果表明姜黄素和橙皮苷联用不仅能够增强机体抗氧化能力,更能够提高神经元的生化功能,起到改善认知的功能。Zhao 等^[72]以去卵巢的雌性大鼠再给予 *D*-半乳糖诱导造模对白藜芦醇的药理活性进行研究,发现 40、80 mg/kg 的白藜芦醇能够有效地改善大鼠认知障碍,并能够显著调节大鼠体内的抗氧化酶活性。这些研究表明,以 *D*-半乳糖注射造模能够模拟衰老过程中的记忆障碍、认知减退等症状,适用于抗衰老活性(具备改善认知能力、改善神经损伤等生理生化指标)药物及保健食品的筛选。

2.7 非人类灵长类恒河猴衰老模型

2.7.1 非人类灵长类恒河猴衰老模型的特点 研究衰老相关机制的目的是临床转化与应用,但是低等动物以及衰老研究模型系统结构相对比较简单,在探索衰老机制方面有一定的优势,在临床转化与应用方面却存在很大的差距。从临床转化的角度考虑,非人类灵长类动物无疑是研究衰老相关机制的理想模型,恒河猴就是其中之一。恒河猴与人类亲缘关系较近,其体内的代谢途径也与人类高度一致,并且是中国境内

分布较多、较广的非人类灵长类动物,因此是研究衰老机制及临床转化所必不可少的动物模型^[73-74]。

2.7.2 非人类灵长类恒河猴衰老模型在衰老研究中的应用 热量限制是当前研究相对较多、有利于抗衰老的一种饮食方式,目前已经在酵母、果蝇、线虫等大量的低等模式生物中发现热量限制能够有效地延缓衰老、延长寿命。科研工作者已经开始对非人类灵长类进行此类实验。目前,对热量限制干预恒河猴衰老的研究已经取得了阶段性的成果。其中美国威斯康辛国家灵长类研究中心^[75]1989 年开始利用恒河猴进行热量限制的研究,对照组可进行自由饮食,20 年的研究过程中发现热量限制能显著降低衰老相关疾病的发生,并能够显著降低死亡率。而美国国家衰老研究所^[76]以对照组控制定量饮食进行研究,发现热量限制组除免疫系统增强外,并不能够延长恒河猴平均寿命,也未能降低衰老相关疾病的发病率。实验结果的差异,可能与空白对照组是否自由饮食相关。这也为今后热量限制研究中的实验设计提出了更高的要求。

3 结语

随着对酵母、线虫、果蝇、斑马鱼、鼠等衰老相关机制的研究,人类对于衰老的认识也越来越深入。但实验动物与人类毕竟相差太多,其衰老模式与人类也存在差异,对于简单生物衰老的研究成果能否应用到人类便成了衰老研究问题的关键。

在用于衰老研究的模式生物如酵母、线虫和果蝇等中 Sir2 及其同源类似物已被证明是调控衰老和寿命的重要因子,并且还参与热量限制引起的抗衰老以及寿命延长等^[77]。而在人类及哺乳动物 sirtuin 家族中的 Sirt1 蛋白与酵母等模式生物中 Sir2 蛋白有高度的序列相似性,并且有研究表明人和哺乳动物细胞内的 Sirt1 蛋白同样在调控衰老和寿命方面发挥着重要的作用^[78]。由此可见, sirtuin 家族蛋白从模式生物到高等动物在衰老过程中发挥的作用存在一定的相似性。研究者通过剔除 TOR 信号通路的关键基因,将酵母 S6 蛋白激酶的类似物 SCH9 基因敲除后,明显地延长酵母的寿命^[79],而将小鼠的 S6 激酶基因敲除后,小鼠的寿命也明显地延长^[80],而在人体,当 TORC1 受抑制的时候,SKN-1 和 DAF-16 活性增强,保护性基因激活,人体抵抗胁迫的能力增强,寿命也就延长^[81]。TOR 蛋白及其相关信号通路是目前老年医学和药学研究中重点的关注对象,过去 10 多年的研究表明, TOR 信号通路在生物进

化过程中也存在着一定的保守性，在实验动物及人类衰老过程中同样发挥着相似的作用。另外，DAF-2/IGF-1 是秀丽隐杆线虫中第一个为人类所认识的衰老相关信号通路，随着线虫中 daf-2 和 daf-16 等 DNA 序列被测定，人们发现它与果蝇、小鼠和人类中编码 insulin/IGF-1 受体的基因同源。此后越来越多的研究表明 insulin/IGF-1 信号通路对寿命的影响在进化中是保守的^[82]。在果蝇中，系统地抑制 insulin/IGF-1 信号可延长果蝇寿命^[83]。在小鼠中，insulin/IGF-1 通路上的 IRS2 基因突变也可延长小鼠的寿命^[84]。而对于人类，破坏 IGF-1 信号通路的活性，也会延长人的寿命^[85]。所以很多与衰老过程相关的信号通路在简单的模式生物和人类等高等动物之间都存在很强的相似性。以简单的动物模型研究

衰老过程，探索衰老相关机制，能够为人类等高等动物衰老的研究提供思路。

从单细胞酵母到多细胞线虫到无脊椎动物果蝇到脊椎动物斑马鱼再到哺乳类动物小鼠以及灵长类动物恒河猴，本文从各种衰老模型的科研使用情况、特点及药物活性筛选中的应用等多方面进行了综述。尽管人类对于这些衰老动物模型的研究从未停止，但衰老的过程是机体系统性的、复杂的变化过程，至今为止也无法完全揭示衰老的机制。即便如此，多年来研究的积累已经让人们逐渐地、更深层次地认识到衰老，并逐步地筛选出能够延缓衰老的药物以及保健食品（其应用到的衰老模型及其相应的机制见表 2），这些都要归功于科学工作者对多种衰老动物模型的深入研究。

表 2 各种衰老动物模型在药物筛选中的应用及药物潜在的抗衰老作用机制

Table 2 Application of various aging animal models in drug screening and mechanism of potential anti-aging effects of drugs

衰老动物模型	药物或保健食品	潜在抗衰老作用机制	
酿酒酵母	酿酒酵母（复制衰老）	橙皮苷	抗氧化，抑制 uth1 基因表达，增强 SIRT1 活性
	酿酒酵母（复制衰老）	根皮苷	显著升高 SOD 和 SIRT1 的活性
	酿酒酵母（时序衰老）	丹参酮	作用于 TOR1、Sch9、GCN2 和 SOD2 等靶标
	酿酒酵母（时序衰老）	苹果	果肉、果皮及多酚类成分均能发挥抗衰老疗效，但苹果整体的抗衰老作用最好
秀丽隐杆线虫	线虫（正常和基因敲除）	芝麻肽	抗氧化，激活转录因子 SKN-1/NRF-2
	线虫（正常和基因敲除）	绿原酸	调节胰岛素信号转导通路
	线虫（正常和基因敲除）	黄芩素	调节转录因子 SKN-1
	线虫（正常和基因敲除）	大蒜衍生的二烯丙基硫化物（SAC 和 SAMC）	增强机体抗氧化应激的能力，选择性诱导 SKN-1 使其水平略有增加
	线虫（正常和基因敲除）	睡茄素 A	调节胰岛素/胰岛素样生长因子信号转导通路
	线虫（正常）	水解玉米蛋白中分离的新型二肽（Tyr-Ala）	清除自由基，调解衰老相关基因（daf-16、sod-3、hsp-16.2、skn-1）
	线虫（正常）	当归蛋白水解液中的生物活性肽	抗氧化
果蝇	果蝇（自然衰老）	黄芩素	抗氧化
	果蝇（自然衰老）	虾青素	抗氧化
	果蝇（自然衰老）	朝鲜红参	调节生物体内代谢
	果蝇（自然衰老）	红景天	延长寿命的同时降低繁殖力
	果蝇（自然衰老）	蜂王浆	调节体内 Cu/Zn-SOD，调节表皮生长因子受体介导的信号通路
	果蝇（自然衰老）	姜黄素	调节 Notch 信号通路、Wnt 信号通路、p53 通路，对细胞周期进行调控
	果蝇（高热量饮食和低热量饮食）	毛龙草	饮食限制相关机制
	果蝇（自然衰老和百草枯慢性应激模型）	苹果多酚	调节 SOD、CAT、MTH 和 Rpn11 等相关基因

续表 2

	衰老动物模型	药物或保健食品	潜在抗衰老作用机制
斑马鱼	斑马鱼 (高脂血症)	甘蔗脂肪醇	抗凋亡, 调血脂, 改善脂肪肝
	斑马鱼 (正常)	枸杞多糖	通过 p53 信号通路介导对细胞凋亡及衰老进行调节
	斑马鱼 (转基因)	黄芪多糖	促进血管生成, 促进内皮细胞增殖, 增加细胞活力
快速老化小鼠	SAMP8	白藜芦醇	保护线粒体功能, 调节 Wnt/ β -catenin 信号通路
	SAMP8	山茱萸环烯醚萜苷	改善认知功能, 改善运动能力, 抑制海马 tau 蛋白的过度磷酸化
	SAMP6	水解骨胶原蛋白	抑制衰老引起的肌肉氧化能力降低, 抑制衰老引起的骨密度降低
D-半乳糖致衰老模型	D-半乳糖 (小鼠)	阿魏酸	抑制氧化应激, 抑制神经炎症, 抑制神经退行性改变
	D-半乳糖 (小鼠)	人参皂苷 Rg ₁	抑制氧化应激, 过度激活 Wnt/ β -catenin 信号通路
	D-半乳糖 (小鼠)	槲皮素	抗氧化, 维持 Ca ⁺ 离子平衡, 升高生长相关蛋白 GAP43 mRNA 的表达
	D-半乳糖 (大鼠)	花青素	减少晚期糖基化终产物受体的表达, 降低活性氧和脂质过氧化水平, 抑制神经炎症
	D-半乳糖 (大鼠)	姜黄素和橙皮苷	抗氧化, 抑制线粒体功能障碍和细胞凋亡
	D-半乳糖 (切除卵巢大鼠)	白藜芦醇	抗氧化, 调节雌激素受体

因此, 选择合适的衰老动物模型, 充分利用每种衰老动物模型的优势对于衰老相关研究以及抗衰老药物的筛选都很有帮助。

参考文献

[1] Manayi A, Saaidnia S, Gohari A R, *et al.* Methods for the discovery of new anti-aging products-targeted approaches [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2014, 9(4): 383-405.

[2] Rodal A A, Signore S J D, Martin A C. *Drosophila*, comes of age as a model system for understanding the function of cytoskeletal proteins in cells, tissues, and organisms [J]. *Cytoskeleton*, 2015, 72(5): 207-224.

[3] Gruber J, Chen C B, Sheng F, *et al.* *Caenorhabditis elegans*: what we can and cannot learn from aging worms [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 23(3): 256-279.

[4] Stenvinkel P, Kooman J P, Shiels P G. Nutrients and ageing: what can we learn about ageing interactions from animal biology? [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2015, 19(1): 19-25.

[5] Kishi S. Using zebrafish models to explore genetic and epigenetic impacts on evolutionary developmental origins of aging [J]. *Transl Res*, 2014, 163(2): 123-135.

[6] 李 蓓. PubMed 数据库检索 [J]. *中国全科医学*, 2007, 10(19): 1645-1645.

[7] Lin S J, Kaeberlein M, Andalis A A, *et al.* Calorie restriction extends *Saccharomyces cerevisiae* lifespan by increasing respiration [J]. *Nature*, 2002, 418(6895): 344-348.

[8] Barea F, Bonatto D. Aging defined by a chronologic-replicative protein network in *Saccharomyces cerevisiae*: An interactome analysis [J]. *Mech Ageing Dev*, 2009, 130(7): 444-460.

[9] Crespo J L, Hall M N. Elucidating TOR signaling and rapamycin action: lessons from *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2002, 66(4): 579-591.

[10] Fingar D C, Blenis J. Target of rapamycin (TOR): An integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression [J]. *Oncogene*, 2004, 23(18): 3151-3171.

[11] Sun K, Xiang L, Ishihara S, *et al.* Anti-aging effects of hesperidin on *Saccharomyces cerevisiae* via inhibition of reactive oxygen species and UTH1 gene expression [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2012, 76(4): 640-645.

[12] Xiang L, Sun K, Lu J, *et al.* Anti-aging effects of phloridzin, an apple polyphenol, on yeast via the SOD and Sir2 genes [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2011, 75(5): 854-858.

[13] Wu Z, Song L, Liu S Q, *et al.* Tanshinones extend chronological lifespan in budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2014, 98(20): 8617-8628.

[14] He X, Liu R H. Phytochemicals of apple peels: isolation, structure elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2008,

- 56(21): 9905-9910.
- [15] Palermo V, Mattivi F, Silvestri R, *et al.* Apple can act as anti-aging on yeast cells [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2012, 2012(4): 491759.
- [16] Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. [J]. *Genetics*, 1974, 77(1): 71-94.
- [17] Lee G D, Wilson M A, Zhu M, *et al.* Dietary deprivation extends lifespan in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Aging Cell*, 2006, 5(6): 515-524.
- [18] Lan J F, Xuan Z, Di C. Molecular mechanisms of dietary restriction in aging-insights from *Caenorhabditis elegans* research [J]. *Sci China Life Sci*, 2015, 58(4): 1-7.
- [19] Kamath R S, Fraser A G, Dong Y, *et al.* Systematic functional analysis of the *Caenorhabditis elegans* genome using RNAi [J]. *Nature*, 2003, 421(6920): 231-237.
- [20] Smardon A, Spoerke J M, Stacey S C, *et al.* EGO-1 is related to RNA-directed RNA polymerase and functions in germ-line development and RNA interference in *C. elegans* [J]. *Curr Biol*, 2000, 10(4): 169-178.
- [21] Tabara H, Sarkissian M, Kelly W G, *et al.* The rde-1 gene, RNA interference, and transposon silencing in *C. elegans* [J]. *Cell*, 1999, 99(2): 123-132.
- [22] Timmons L, Court D L, Fire A. Ingestion of bacterially expressed dsRNAs can produce specific and potent genetic interference in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Gene*, 2001, 263(1/2): 103-112.
- [23] Akhoun B A, Pandey S, Tiwari S, *et al.* Withanolide A offers neuroprotection, ameliorates stress resistance and prolongs the life expectancy of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Exp Gerontol*, 2016, 78(6): 47-56.
- [24] Wang Q, Huang Y, Qin C, *et al.* Bioactive peptides from *Angelica sinensis* protein hydrolyzate delay senescence in *Caenorhabditis elegans* through antioxidant activities [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, doi: 10.1155/2016/8956981.
- [25] Wang Z, Ma X, Li J, *et al.* Peptides from sesame cake extend healthspan of *Caenorhabditis elegans*, via upregulation of *skn-1*, and inhibition of intracellular ROS levels [J]. *Exp Gerontol*, 2016, 82(9): 139-149.
- [26] Chu Q, Ling M T, Cheung H W, *et al.* A novel anticancer effect of garlic derivatives on cancer cell invasion through restoration of *E-cadherin* expression [J]. *Carcinogenesis*, 2006, 27(11): 2180-2189.
- [27] Ogawa T, Kodera Y, Hirata D, *et al.* Natural thioallyl compounds increase oxidative stress resistance and lifespan in *Caenorhabditis elegans* by modulating *SKN-1/Nrf* [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep21611.
- [28] Zheng S Q, Huang X B, Xing T K, *et al.* Chlorogenic acid extends the lifespan of *Caenorhabditis elegans* via insulin/IGF-1 signaling pathway [J]. *J Geronto*, 2016, doi: 10.1093/gerona/glw105.
- [29] Havermann S, Humpf H U, Wätjen W. Baicalein modulates stress-resistance and life span in *Caenorhabditis elegans*, via *SKN-1* but not *DAF-16* [J]. *Fitoterapia*, 2016, 113(9): 123-127.
- [30] Zhang Z, Zhao Y, Wang X, *et al.* The novel dipeptide Tyr-Ala (TA) significantly enhances the lifespan and healthspan of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Food Funct*, 2016, 7(4): 1975-1984.
- [31] Deng A, Mays Z, Dew A D, *et al.* The genome sequence of *Drosophila melanogaster* [J]. *Science*, 2000, 287(5461): 2185-2196.
- [32] Giot L, Bader J S, Brouwer C, *et al.* A protein interaction map of *Drosophila melanogaster* [J]. *Science*, 2003, 302(5651): 1727-1736.
- [33] Rubin G M, Lewis E B. A brief history of *Drosophila's* contributions to genome research [J]. *Science*, 2000, 287(5461): 2216-2218.
- [34] Jana S C. *Drosophila melanogaster* as a model for basal body research [J]. *Cilia*, 2016, 5(1): 1-7.
- [35] Rørth P. A modular misexpression screen in *Drosophila* detecting tissue-specific phenotypes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(22): 12418-12422.
- [36] Duffy J B. GAL4 system in *Drosophila*: A fly geneticist's swiss army knife [J]. *Genesis*, 2002, 34(1/2): 1-15.
- [37] Martinek S, Young M. Specific genetic interference with behavioral rhythms in *Drosophila* by expression of inverted repeats [J]. *Genetics*, 2000, 156(4): 1717-1725.
- [38] Lin J Y, Wang W A, Zhang X, *et al.* Intraneuronal accumulation of A β 42 induces age-dependent slowing of neuronal transmission in *Drosophila* [J]. *Neurosci Bull*, 2014, 30(2): 185-190.
- [39] Ulgherait M, Rana A, Rera M, *et al.* AMPK modulates tissue and organismal aging in a non-cell-autonomous manner [J]. *Cell Rep*, 2014, 8(6): 1767-1780.
- [40] Xin X, Yong C, Di C, *et al.* Supplementation with major royal jelly proteins increases lifespan, feeding and fecundity in *Drosophila* [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(29): 5803-5812.
- [41] Peng C, Chan H Y E, Huang Y, *et al.* Apple polyphenols extend the mean lifespan of *Drosophila melanogaster* [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(5): 2097-2106.
- [42] Kim M S. Korean red ginseng tonic extends lifespan in *D. melanogaster* [J]. *Biomol Ther*, 2013, 21(3): 241-245.
- [43] Jafari M, Felgner J S, Bussell I I, *et al.* Rhodiola: a promising anti-aging Chinese herb [J]. *Rejuvenation Res*, 2007, 10(4): 587-602.

- [44] Huangfu J, Liu J, Sun Z, *et al.* Antiaging effects of astaxanthin-rich alga *Haematococcus pluvialis* on fruit flies under oxidative stress [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(32): 7800-7804.
- [45] Lin W S, Chen J Y, Wang J C, *et al.* The anti-aging effects of *Ludwigia octovalvis* on *Drosophila melanogaster* and SAMP8 mice [J]. *Age*, 2014, 36(2): 689-703.
- [46] Gao L, Duan D D, Zhang J Q, *et al.* A bioinformatic approach for discovery of the anti-aging effects of baicalein from *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. *Rejuvenation Res*, 2016, doi: 10.1089/rej.2015.1760.
- [47] Kimmel C B, Ballard W W, Kimmel S R, *et al.* Stages of embryonic development of the zebrafish [J]. *Dev Dyn*, 1995, 203(3): 253-310.
- [48] Hörstgen-Schwark G. Production of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*) [J]. *Nature*, 1981, 291(5813): 293-296.
- [49] Haffter P, Granato M, Brand M, *et al.* The identification of genes with unique and essential functions in the development of the zebrafish, *Danio rerio* [J]. *Development*, 1996, 123(6): 1-36.
- [50] Chen J N, Haffter P, Odenthal J, *et al.* Mutations affecting the cardiovascular system and other internal organs in zebrafish [J]. *Development*, 1996, 123(6): 293-302.
- [51] Driever W, Solnica-Krezel L, Schier A F, *et al.* A genetic screen for mutations affecting embryogenesis in zebrafish [J]. *Development*, 1996, 123(6): 37-46.
- [52] Zon L I, Peterson R T. *In vivo* drug discovery in the zebrafish [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4(1): 35-44.
- [53] Lieschke G J, Currie P D. Animal models of human disease: zebrafish swim into view [J]. *Nat Rev Genet*, 2007, 8(5): 353-367.
- [54] Hill A J, Teraoka H, Heideman W, *et al.* Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity [J]. *Toxicol Sci*, 2005, 86(1): 6-19.
- [55] 赵崇军, 田敬欢, 王金凤, 等. 斑马鱼在中药研究中的应用进展 [J]. *中草药*, 2015, 46(17): 2635-2648.
- [56] Lai K K, Chan Y W, Kwok H F, *et al.* Induction of angiogenesis in zebrafish embryos and proliferation of endothelial cells by an active fraction isolated from the root of *Astragalus membranaceus* using bioassay-guided fractionation [J]. *J Tradit Complement Med*, 2014, 4(4): 239-245.
- [57] Xia G, Xin N, Liu W, *et al.* Inhibitory effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on cell apoptosis and senescence is potentially mediated by the p53 signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9(4): 1237-1241.
- [58] Lee E Y, Yoo J A, Lim S M, *et al.* Anti-aging and tissue regeneration ability of policosanol along with lipid-lowering effect in hyperlipidemic zebrafish via enhancement of high-density lipoprotein functionality [J]. *Rejuvenation Res*, 2016, 19(2): 149-158.
- [59] Takeda T. Senescence-accelerated mouse (SAM): with special reference to age-associated pathologies and their modulation [J]. *Nihon Eiseigaku Zasshi*, 1996, 51(2): 569-578.
- [60] Takeda T, Hosokawa M, Higuchi K, *et al.* A novel murine model of aging, Senescence-Accelerated Mouse (SAM) [J]. *Arch Gerontol Geriatr*, 1994, 19(2): 185-192.
- [61] Ma D, Zhu Y, Li Y, *et al.* Beneficial effects of cornel iridoid glycoside on behavioral impairment and senescence status in SAMP8 mice at different ages [J]. *Behav Brain Res*, 2016, 312(10): 20-29.
- [62] Palomera-Avalos V, Griñán-Ferré C, Puigoriol-Illamola D, *et al.* Resveratrol protects SAMP8 brain under metabolic stress: focus on mitochondrial function and wnt pathway [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, doi: 10.1007/s12035-016-9770-0.
- [63] Okiura T, Oishi Y, Takemura A, *et al.* Effects of collagen hydrolysate on the tibialis anterior muscle and femur in senescence-accelerated mouse prone 6 [J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2016, 16(2): 161-167.
- [64] Song X, Bao M, Li D, *et al.* Advanced glycation in *D*-galactose induced mouse aging model [J]. *Mech Ageing Dev*, 1999, 108(3): 239-251.
- [65] Haider S, Liaquat L, Shahzad S, *et al.* A high dose of short term exogenous *D*-galactose administration in young male rats produces symptoms simulating the natural aging process [J]. *Life Sci*, 2015, 124(3): 110-119.
- [66] Qu Z, Zhang J, Yang H, *et al.* Protective effect of tetrahydropalmatine against *D*-galactose induced memory impairment in rat [J]. *Physiol Behav*, 2015, 154(11): 114-125.
- [67] Jin G, He H, Jiang W, *et al.* Salidroside ameliorates cognitive impairment in a *D*-galactose-induced rat model of Alzheimer's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2015, 293(10): 27-33.
- [68] 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.
- [69] Lu J, Zheng Y L, Luo L, *et al.* Quercetin reverses *D*-galactose induced neurotoxicity in mouse brain [J]. *Behav Brain Res*, 2006, 171(2): 251-260.
- [70] Yang H, Qu Z, Zhang J, *et al.* Ferulic acid ameliorates memory impairment in *D*-galactose-induced aging mouse model [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2016: 67(7): 806-817.
- [71] Banji O J F, Banji D, Ch K. Curcumin and hesperidin

- improve cognition by suppressing mitochondrial dysfunction and apoptosis induced by *D*-galactose in rat brain [J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 74(12): 51-59.
- [72] Zhao H, Qiao N, Li X, *et al.* Long-term resveratrol consumption protects ovariectomized rats chronically treated with d-galactose from developing memory decline without effects on the uterus [J]. *Brain Res*, 2012, 1467(1): 67-80.
- [73] Colman R J, Anderson R M. Nonhuman primate calorie restriction [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(2): 229-239.
- [74] Kemnitz J W. Calorie restriction and aging in nonhuman primates [J]. *ILAR J*, 2011, 52(1): 66-77.
- [75] Colman R J, Anderson R M, Johnson S C, *et al.* Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys [J]. *Science*, 2009, 325(5937): 201-204.
- [76] Mattison J A, Roth G S, Beasley T M, *et al.* Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study [J]. *Nature*, 2012, 489(7415): 318-321.
- [77] Blander G, Guarente L. The Sir2 family of protein deacetylases [J]. *Annu Rev Biochem*, 2004, 73(1): 417-435.
- [78] Kim E J, Um S J. SIRT1: roles in aging and cancer [J]. *BMB Rep*, 2008, 41(11): 751-756.
- [79] Kaeberlein M, Kennedy B K. Regulation of yeast replicative life span by TOR and Sch9 in response to nutrients [J]. *Science*, 2005, 310(5751): 1193-1196.
- [80] Selman C, Tullet J M, Wieser D, *et al.* Ribosomal protein S6 kinase 1 signaling regulates mammalian life span [J]. *Science*, 2009, 326(326): 140-144.
- [81] Robida-Stubbs S, Glover-Cutter K, Lamming D W, *et al.* TOR signaling and rapamycin influence longevity by regulating SKN-1/Nrf and DAF-16/FoxO [J]. *Cell Metab*, 2012, 15(5): 713-724.
- [82] Andrzej B. Insulin and aging [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(21): 3338-3343.
- [83] Barbieri M, Bonafè M, Franceschi C, *et al.* Insulin/IGF-I-signaling pathway: an evolutionarily conserved mechanism of longevity from yeast to humans [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2003, doi: 10.1152/ajpendo.00296.2003.
- [84] Taguchi A, Wartschow L M, White M F. Brain IRS2 signaling coordinates life span and nutrient homeostasis [J]. *Science*, 2007, 317(5836): 369-372.
- [85] Suh Y, Atzmon G, Cho M O, *et al.* Functionally significant insulin-like growth factor I receptor mutations in centenarians [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(9): 3438-3442.