

SAMP8 小鼠在抗衰老实验中的应用探析

吴国庆¹, 汪子栋¹, 焦智博¹, 姜 婧², 田君健¹, 高效铭¹, 唐银杉³,
王忠义^{4,5}, 孟泽宇⁶, 李志刚^{1**}

(1. 北京中医药大学针灸推拿学院 北京 100029; 2. 北京中医药大学护理学院 北京 100029; 3. 浙江大学医学院附属第二医院 杭州 311100; 4. 南京中医药大学附属江苏省中医院 南京 210004; 5. 南京中医药大学 南京 210023; 6. 黑龙江中医药大学 哈尔滨 150040)

摘 要:快速老化小鼠是日本学者T. Takeda教授实验室在对美国Jackson实验室捐赠的AKR/J品系小鼠的兄妹近交系繁殖产生的子代中筛选出了具有遗传倾向的衰老品系(The senescence accelerate mouse prone, SAMP), 且SAMP8小鼠表现出多种衰老特征, 如记忆和学习障碍、行为异常、皮肤粗糙老化毛发脱落、眼部病变(视力障碍、白内障、眼周病变)、听力障碍、体质量降低、肌肉力量下降、生殖系统衰老、肝脏和脂肪代谢障碍等病理改变, 并广泛应用于相关疾病或病理的实验研究当中, 为疾病的研究做出了相当的贡献, 但其在应用中也存在诸多问题, 如月龄的选择、干预方法的使用、病理变化与研究内容的恰当性, 以及不同理论背景下的模型认识等, 都极具研究价值, 故而本文基于现有文献对上述问题进行系统分析, 以求为SAMP8小鼠在不同领域、不同机制的应用提供相关依据。

关键词:快速老化小鼠 病理变化 动物实验 模型应用

doi: 10.11842/wst.20240125007 中图分类号: Q95-33 文献标识码: A

自1970年以来, 日本京都大学胸部疾病研究所病理学系的研究团队一直在开发衰老加速小鼠(The senescence accelerate mouse, SAM), 通过对1968年美国Jackson实验室捐赠的AKR/J小鼠品系进行选择近亲繁殖所产生的子代中选育出了具有遗传倾向的衰老品系(The senescence accelerate mouse prone, SAMP), 根据衰老、寿命和病理表型的分级评分, 将其主要分为9种易衰老品系:SAMP1、SAMP2、SAMP3、SAMP6、SAMP7、SAMP8、SAMP9、SAMP10、SAMP11和3种抗衰老品系:SAMR1、SAMR4和SAMR5^[1], 随着研究的不断深入目前已经有11种易衰老自交系(SAMP)和7种抗衰老自交系(SAMR)^[2], 其中SAMP8小鼠以其空间学习和记忆能力减退的特点被广泛应用于阿尔

茨海默病的实验研究, 然而根据其快速老化倾向的选育特点, 将SAMP8小鼠作为动物模型应用不应仅关注其学习与记忆障碍, 更应该从其衰老的大病理视角来重新评估SAMP8小鼠的应用。

1 SAMP8小鼠的衰老变化

1.1 外观与行为改变

SAMP8小鼠在外观上表现出皮肤光泽度丧失和粗糙度增加、毛发的脱落和稀疏、背部隆起(脊柱后凸)^[3-4]等衰老状态, 在行为上主要表现出昼夜节律的紊乱、睡眠障碍^[5-7]、喜静不喜动体力活动减少^[8]并蜷缩在鼠笼角落, 或者表现为极度兴奋的躁狂状态, 出现在鼠笼中快速的绕圈跑跳并维持一段时间的情况。在行为学实验

收稿日期: 2024-01-25

修回日期: 2024-11-06

* 国家自然科学基金面上项目(82274654): 中性粒细胞黏附与内皮修复途径探讨“通督启神”针法干预AD的血脑屏障保护机制研究, 负责人: 李志刚; 北京中医药大学2022年度揭榜挂帅项目(2022-JYB-JBZR-024): 穴位敏化的物质基础与成像研究, 负责人: 李志刚; 国家自然科学基金面上项目(82174515): 从“肠道菌群-神经炎症”探讨“通腑升清”针法保护AD神经元的作用机制, 负责人: 姜婧。

** 通讯作者: 李志刚(ORCID:0000-0003-0378-3496), 本刊副主编, 博士生导师, 二级教授, 主要研究方向: 针刺手法及针刺干预中枢神经损伤机理的研究。

当中SAMP8小鼠主要表现出多种的神经精神症状(焦虑^[9-10]、抑郁^[11]等)和学习记忆障碍^[12-14](见表1,表2)。

1.2 组织和器官的病理改变

SAMP8小鼠因衰老所表现出多种组织和器官的病理改变,都具有作为不同疾病的动物模型进行实验研究的巨大潜力。

1.2.1 SAMP8小鼠脑组织病理改变

有研究表明SAMP8的脑组织中存在着多种病理变化主要表现为:海马区神经元形态异常^[15]、数量较少^[16]、新生障碍与凋亡增加^[17-18],促炎因子水平升高^[19-20];基质金属蛋白酶(MMP-9)水平升高,脑微血管内皮细胞紧密连接蛋白(Claudin-5、ZO-1)降解,紧密连接结构断裂,血脑屏障损伤^[21]、细胞焦亡^[22]、自噬功能紊乱^[23]、A β 蛋白沉积^[24]、Tau蛋白过度磷酸化^[25]、铁死亡^[26]、DNA甲基化^[27]、氧化应激^[28]、神经元骨架蛋白表达降低^[29]、突触可塑性降低^[30]、胶质细胞增生,神经发生数量减少^[31]、脑葡萄糖代谢下降、中枢胰岛素抵抗^[32]、microRNA调节引起脑干变性^[33]等多种损伤(见表3)。

1.2.2 SAMP8小鼠其他组织和器官的病理改变

SAMP8小鼠出现尿蛋白、肌酐、尿素氮和血清肿瘤坏死因子(TNF- α)和白介素(IL-1 β)水平升高、铁

死亡脂质过氧化水平升高都提示肾损伤,组织学检测肾纤维化^[34-36];肌肉细胞中的铁过载上调了P53的表达,从而抑制了铁死亡相关基因Slc7a11蛋白的表达,进而通过脂质过氧化产物的积累诱导肌肉细胞的铁死亡,导致了肌肉减少症^[2],比目鱼肌细胞中肌肉磷酸肌酸含量和II型纤维水平降低最为明显,提示肌肉质量与收缩力量的降低^[37],JAK2/STAT3通路因子的表达升高,导致骨骼肌萎缩^[38],神经肌肉接头变性和纤维成脂祖细胞纤维化促进了肌肉减少症的发展^[39-40];随着年龄的增长SAMP8小鼠表现出发情周期缩短,卵母细胞减数分裂纺锤体畸变率增加,每窝幼崽数量的减少,提示其发生生殖衰老^[41];葡萄糖耐量受损和循环脂联素水平降低,磷酸化蛋白激酶降低,TNF- α 、IL-1 β 、诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)、单核细胞趋化蛋白1(MCP1)水平升高,出现肝损伤及脂肪代谢障碍^[42-44];随月龄的不断增加SAMP8小鼠血浆降钙素(CT)水平逐渐下降,血浆甲状旁腺激素(PTH)和1,25-二羟基胆钙化醇(1,25(OH)2D3)水平升高,经骨密度测试提示其存在骨质疏松症,且相比于SAMR1小鼠其骨折后出现愈合延迟情况^[45-46];SAMP8小鼠抗/促凋亡mRNA表达比例-b细胞淋巴瘤2(Bcl-2)Bcl-2相关X蛋白(BAX)+Bcl-xL/Bcl-2相关死亡启动子(BAD)-在衰老过程中降低。细胞凋亡x-抑制剂(XIAP)在衰老过程中减少,胰腺中核转录因子p52-100(NF- κ B p52-100)和核因子 κ B抑制蛋白 α (I κ B- α)的蛋白表达随着年龄的增长而升高,另一方面,随着年龄的增长,I κ B- β 的表达降低,提示胰腺组织炎症、氧化应激和细胞凋亡^[47];视网膜中铜锌超氧化物歧化酶和锰超氧化物歧化酶水平随着SAMP8小鼠月龄的增加而不断升高,提示其发生了视网膜老化,尚有文献表明其出现眼周疾病与白内障^[48-49];肠道菌群中有害菌群(疣状微生物菌科、瘤胃球菌科、阿克曼菌科和幽门螺杆菌科)丰度升高,有益菌群(乳酸菌属、糖状念珠菌属和螺旋藻科)丰度降低,免疫球蛋白A(IgA)浓度降低,MCP-1水平升高,提示SAMP8小鼠存在肠道菌群紊乱、免疫力降低以及炎症损伤^[50-51],并有文献显示其与学习记忆障

表1 SAMP8小鼠的外观衰老变化

组织器官	病理改变	研究领域	文献来源
皮肤	光泽度丧失和粗糙度增加	皮肤衰老	[3-4]
毛发	脱落和稀疏	毛发脱落	[3-4]
脊柱	曲度后突	脊柱曲度	[3-4]

表2 SAMP8小鼠的行为学改变

神经精神症状	研究领域	文献来源
昼夜节律的紊乱	生物节律紊乱	[5-7]
睡眠障碍	睡眠障碍疾病	[5-7]
活动减少	精神类疾病	[8]
兴奋躁狂	精神类疾病	[实验观察]
焦虑	精神类疾病	[9-10]
抑郁	精神类疾病	[11]
学习与记忆障碍	痴呆	[12-14]

表3 SAMP8小鼠脑组织病理改变

组织器官	病理改变	研究领域	文献来源
脑	海马区神经元损伤、炎症反应、血脑屏障损伤、细胞焦亡、自噬功能紊乱、A β 蛋白沉积、Tau蛋白过度磷酸化、铁死亡、血流量降低、血管损伤、DNA甲基化、氧化应激、神经元骨架蛋白表达降低、突触可塑性降低、胶质细胞增生、脑葡萄糖代谢下降、中枢胰岛素抵抗、microRNA调节引起脑干变性	脑病(脑血管病、痴呆、精神类疾病)	[15-33,46-47]

表4 SAMP8小鼠其他组织和器官的病理改变

组织器官	病理改变	研究领域	文献来源
肾	尿蛋白、肌酐、尿素氮和血清TNF-α和IL-1β水平升高	肾纤维化	[34-36]
肌肉	肌肉细胞铁过载脂质过氧化、磷酸肌酸含量和II型纤维水平降低,肌肉质量和力量下降、JAK2/STAT3通路因子的表达升高、神经肌肉接头变性、纤维成脂祖细胞纤维化	肌肉减少症、肌肉萎缩症	[2,37-40,59]
生殖系统	发情周期缩短,卵母细胞减数分裂纺锤体畸变率增加,随年龄增长每窝幼崽数量逐渐减少;睾酮水平下降;端粒酶水平降低,短端粒和产生的形态异常胚胎增多	生殖衰老	[41,69]
肝	葡萄糖耐量受损和循环脂联素水平降低,磷酸化蛋白激酶降低,TNF-α、IL-1β、iNOS、MCP1水平升高	肝损伤、脂肪代谢障碍	[42-44]
骨骼	CT水平逐渐下降,PTH、(1,25(OH)2D3)水平升高,骨折后愈合延迟	骨质疏松症	[45-46]
胰腺	炎症、氧化应激和细胞凋亡	胰腺组织损伤	[47]
眼	视网膜中铜锌超氧化物歧化酶和锰超氧化物歧化酶水平等病理改变	视网膜病变、眼周疾病、白内障	[48-49]
肠	肠道菌群中有害菌群丰度升高,有益菌群丰度降低,IgA浓度降低,MCP-1水平升高	肠道菌群紊乱、肠道炎症、学习记忆障碍	[50-54]
心脏	舒张功能障碍、线粒体氧化应激及呼吸链损伤、炎症、氧化应激、细胞凋亡标志物升高	心肌损伤、心脏重构和炎症损伤	[55-56]
血管	内皮功能失调,缺乏抵消平滑肌收缩的正常能力	血管衰老	[57]
膝关节	软骨破坏、滑膜炎、关节肿胀	自发性膝关节骨关节炎	[58]
血液	骨髓造血祖细胞的增殖能力降低,免疫T细胞和B细胞增殖能力减弱	造血功能障碍、血小板功能障碍	[60-61]
肺	呼吸中枢损伤,气道阻力增加,通气障碍	衰老性肺功能障碍	[62]
其他	耳蜗衰老、耳蜗机械感觉毛细胞丧失、脾脏炎症因子水平升高、淋巴细胞浸润,巨噬细胞减少、胸腺氧化应激损伤、白血病毒水平升高、皮肤老化	听力障碍、脾脏炎症损伤、肺免疫障碍、胸腺疾病、白血病、皮肤衰老	[63-71]

表5 随月龄/年龄增长SAMP8小鼠和人的行为改变情况

行为	SAMP8	人	文献来源
昼夜节律紊乱	↑	↑	[5-7,74]
睡眠质量	↓	↓	[5-7,74]
活动能力	↓	↓	[8,75]
兴奋躁狂	↑	↑	[实验观察][72]
焦虑	↑	↑	[9-10]
抑郁	↑	↑	[11]
学习与记忆能力	↓	↓	[12-14,73]

注:↑表示行为改变情况升高;↓表示行为改变情况降低。

碍有关^[52-54];SAMP8小鼠出现心脏舒张功能障碍、线粒体氧化应激及呼吸链损伤、炎症、氧化应激、细胞凋亡标志物增加,提示心肌损伤、心脏重构和炎症损伤^[55-56];内皮功能失调,缺乏抵消平滑肌收缩的正常能力^[57],海马脑血流量降低^[58],提示其出现血管衰老的病理过程;SAMP8小鼠随着年龄的增长出现软骨破坏、滑膜炎、关节肿胀,发展为自发性膝关节骨关节炎,出现行走不利、肌肉萎缩等症状^[59];骨髓造血祖细胞的增殖能力降低,免疫T细胞和B细胞增殖能力减弱,血小板线粒体功能障碍,提示SAMP8小鼠出现造血功能障碍,与血小板损伤^[60-61];有研究显示SAMP8小鼠脑干呼吸中枢表现出表达NK1r的神经元的丢失,以及中枢和外周呼吸机制的损害,使SAMP8小鼠出现通气

障碍^[62]。

SAMP8小鼠尚存在耳蜗衰老、耳蜗机械感觉毛细胞丧失与听力障碍^[63-64]、脾脏炎症损伤^[65]、肺免疫障碍^[66]、胸腺氧化应激损伤^[67]、白血病毒水平升高^[68]、睾酮水平下降,睾丸功能降低^[69]、端粒酶表达降低,雌性SAMP8的短端粒和产生的形态异常胚胎均明显高于SAMR1^[70]、皮肤老化^[71]等病理变化(见表4)。

2 SAMP8小鼠与人

疾病动物模型的设计与生产必然基于人所患疾病的核心病因或病理机制,多采用人为定向干预的方法,如以高脂饮食造高脂血症模型,急慢性应激造抑郁模型,转基因法造阿尔茨海默病模型,手术法造脑缺血、高血压模型,药物灌胃造溃疡性结肠炎模型等造模方法,定向干预疗法因其单因素使得模型病理稳定,有利于相关研究的开展,且可靠性较高,但相关疾病的病因不明,发病机制十分复杂,且存在多因素与多系统影响,这就导致定向造模的方法无法真实接近患相关疾病的真实状态。通过对SAMP8小鼠的外观、行为和组织器官病理改变进行系统梳理,发现SAMP8小鼠作为近交系自发的衰老模型相比于人为干预模型,具有明显的外观衰老表现和神经精神症状和更加

复杂的病理变化,但其是否能成为抗衰老研究的优质模型,还需要与人的衰老变化进行对比分析,由于外观改变为常识性内容,且以人为实验对象的相关研究因伦理限制所导致研究内容存在局限性,故而本文仅从行为表现、生物标志物、组织器官病理改变等角度进行文献梳理以分析SAMP8小鼠与人衰老情况的异同,为以SAMP8小鼠为模型的抗衰老实验研究提供一定支持。

2.1 行为表现

2019年世界卫生组织所发布的相关信息显示:约14%的60岁及以上成年人出现精神障碍(Global health data exchange, GHDX)。老年人最常见的心理健康问题是抑郁和焦虑(Global health estimates, GHE)。在全球范围内,27.2%的自杀死亡发生在60岁及以上人群中,可见老年性焦虑与抑郁已经成为危害老年人生命健康的重要问题,尚有研究者发现患有以躁狂为主要表现的双相情感障碍老年人可能逐渐增多^[72]。有研究显示全球AD痴呆期、前驱AD和临床前AD患者人数估计分别为0.32、0.69和3.15亿。在整个AD连续体数据中,他们总共有4.16亿人,占有50岁及以上人口的22%^[73]。有文献指出,总睡眠时间随着年龄的增长而减少,且逐渐出现入睡困难、睡眠效率降低、睡眠质量降低、昼夜节律的紊乱^[74]。随着年龄的增长,老年人的最大有氧能力和骨骼肌性能不断下降,体力活动显著降低^[75]。以上文献所显示出的人随年龄增长而逐渐出现的行为改变与SAMP8小鼠呈现出相同趋势,而且有研究显示人出现的多种精神神经症状及多种行为表现之间存在密切关联并相互影响^[76-78],可同时出现,SAMP8小鼠同样表现出多种行为改变,这也是SAMP8小鼠作为衰老模型的优势之一,但各种症状和行为改变具体出现年龄和表现量级等方面的差异仍有待进一步探讨(见表5)。

2.2 组织和器官的病理改变

有研究人员对衰老进行了全景综述^[79],指出人类出现血管衰老、细胞型特异性脑老化(神经元、胶质细胞衰老)、肺老化、心脏衰老、骨衰老、骨骼肌衰老、皮肤老化、生殖衰老、肠道与微生物群衰老变化、免疫衰老、代谢、内质网应激与衰老(肝脏糖代谢、胰腺衰老、胰岛素代谢障碍、脾免疫功能障碍)等衰老的病理表现与SAMP8小鼠的相关病理趋势呈现出相对一致性。随着年龄的增长,肾脏内会发生实质性的功能和

结构改变,呈现持续衰老变化,出现肾小球硬化、肾小管萎缩、肾小管间质纤维化等病理变化^[80];膝关节因为长期出现组织损伤和修复之间的不平衡导致膝骨关节炎^[81];视网膜出现氧化应激衰老反应,超氧化物歧化酶水平改变^[82]等衰老的病理表现与SAMP8小鼠的相关病理趋势呈现出相对一致性。然而从文献研究显示的相关结果来看SAMP8小鼠与人在具体研究内容和检测指标上仍存在差异,但整体病理表现呈现出趋势的一致性,更加深入的内容还有待于后续开展。

3 SAMP8小鼠的应用

3.1 应用领域与潜在问题

3.1.1 应用领域

SAMP8小鼠目前广泛的应用于阿尔茨海默病的病理、治疗及不同疗法的内在机制研究,然而其快速老化的特性却被诸多的研究人员所忽视,其模型自发衰老的特性更加符合人类的自然衰老,对于抗衰老研究具有重要意义。正如上文所述病理,其在皮肤衰老、毛发脱落、脊柱曲度改变、生物节律紊乱疾病、睡眠障碍疾病、精神类疾病、脑病、肾纤维化、肌肉减少症、肌肉萎缩症、生殖衰老、肝损伤、脂肪代谢障碍、骨质疏松症、胰腺组织损伤、视网膜病变、眼周疾病、白内障、肠道菌群紊乱、肠道炎症、学习记忆障碍、心肌损伤、心脏重构和炎症损伤、血管衰老、自发性膝关节炎、造血功能障碍、血小板功能障碍、听力障碍、脾脏炎症损伤、肺免疫障碍、胸腺疾病、白血病等领域具有十分重要的研究价值,但仅仅依靠其病理表现就将其作为一种疾病的研究模型显然是不可靠的,应对其病理情况进行准确评估,主要评估其病理机制与病理损伤程度等。

3.1.2 潜在问题

有综述总结SAMP8小鼠存在心脏的氧化应激病理改变^[56],但有研究通过对SAMP8的心脏观察,发现NF- κ B通路的激活及其调节的促炎介质的基因和蛋白在SAMR1小鼠中的表达没有差异的研究结果,对SAMP8小鼠作为心脏氧化应激病理损伤模型提出了质疑^[83]。故而对于SAMP8小鼠的非稳定应用领域应谨慎对待并仔细验证,实验前需要提出其作为相关模型的实验依据或提供可靠文献、业内共识支撑。在阿尔茨海默病动物实验的研究中,多采用莫里斯水迷宫评价其学习与记忆能力,但因SAMP8小鼠存在眼部病

变恐有视力缺陷会影响可视平台实验的数据结果,可采用跳台实验、水箱实验/视觉水迷宫进行小鼠视力评估,同时水箱实验尚可粗略观察小鼠的游泳能力,从而剔除视觉障碍和游泳能力过差的动物。SAMP8小鼠虽作为AD模型表现十分稳定,使用多年并得到行业的认可,但使用其作为干预模型,应在干预之前使用行为学方法进行痴呆情况评定,有研究发现被动回避实验、巴恩斯迷宫测试、T迷宫、Y迷宫、五臂迷宫、莫里斯水迷宫、跳台实验均可检测学习与记忆能力^[84-91],但莫里斯水迷宫检测周期长,小鼠运动量大,对SAMP8小鼠的痴呆状态可能存在影响,正如有研究显示运动疗法具有改善AD小鼠学习记忆功能的能力^[92-93],所以在实验前可以采用一种或几种相对简便且对模型影响小的行为学检测方法,在干预结束后使用检测前的方法进行证据闭环检测,并增加其他的检测方法以排除干预前方法对小鼠的影响,从而排除干预后的同法检测的干扰,以保障模型病理的显著性,实验结果的可靠性。

3.2 月龄选择

3.2.1 疾病与月龄

(1)肌肉减少症:现有研究显示:SAMP8小鼠腓肠肌质量从7月龄开始逐渐下降,表明肌肉减少症应该在7-8月龄开始,肌肉收缩和疲劳性能测试表明,肌肉力量和功能从8月龄开始下降,IIA型肌纤维和IIB型肌纤维的横截面积的最大峰值出现在8月龄,并均随老化过程而降低,研究结果符合肌肉减少症诊断标准,所以可以确定SAMP8小鼠肌肉减少症的发病时间应为8月龄时期,10月龄时最为显著,并且对比了The Fisher 344×棕色挪威大鼠(The Fisher 344×Brown Norway Rat, FBN rat)和C57BL/6鼠,分别在33月龄和18月龄时的肌肉减少表现出与肌肉减少症之间存在高度相关,而SAMP8小鼠的快速老化特性使其在8月龄时期便满足肌肉减少症的模型条件,并表现出肌肉线粒体功能障碍、氧化应激损伤和其自身与人类衰老十分相似的病理状态,建议将SAMP8作为肌肉减少症研究的高性价比动物模型^[94],然而由于SAMP8小鼠的寿命限制^[95],结合实验干预和检测时间的设计,以及小鼠对干预和检测方法的耐受度与完成度,认为在肌肉减少症模型应用时SAMP8小鼠的月龄应选择在8-10月较为合适。

(2)阿尔茨海默病:SAMP8小鼠的学习与记忆功

能的出现时间节点,在不同的研究中存在差异,有研究通过行为学(Y迷宫)检测发现3月龄SAMP8小鼠未表现出空间记忆能力的降低,4月龄小鼠表现出学习与记忆能力障碍(莫里斯水迷宫),且应为SAMP8小鼠出现学习与记忆障碍的早期阶段,6月龄小鼠的学习与记忆障碍加重,且大脑皮层中的神经胶质纤维酸性蛋白(Glial fibrillary acidic protein, GFAP)反应性显著增加,神经元数量显著减少,tau蛋白磷酸化水平增加等与AD相关的病理表现。随着月龄的不断增加,SAMP8小鼠的空间学习与记忆能力也不断降低,9-12月则出现严重的学习与记忆障碍^[31-98]。在以往的研究中,已经有将4月龄SAMP8小鼠作为模型进行药物治疗AD的实验研究,并取得一定研究成果^[99]。故而笔者推荐选择4-10月龄的SAMP8小鼠作为AD模型使用较为合适,其中应根据干预和检测方法的具体时间、干预方法的实际疗效、小鼠对于实验的耐受情况与实验完成度,选择合适月龄的小鼠进行应用,当然在合理范围之内选择更大月龄的小鼠进行研究更具说服力。

(3)膝关节骨关节炎:有研究团队使用关节组织学评分、组织病理学检测、显微计算机断层扫描等方法对6-33周龄雄性SAMP8小鼠进行了系统评估,发现从14周龄开始,SAMP8小鼠表现出轻微的OA样变化,例如蛋白多糖丢失和软骨纤维颤动。从18周龄到33周龄,SAMP8小鼠的OA样变化进展为部分或全层缺损,胫骨内侧软骨下骨外露,并出现滑膜炎表现,并且在14周龄时,SAMP8小鼠的胫骨内侧软骨下骨硬化、股骨干骺端骨密度减低和半月板退变的发生时间远早于软骨退变的产生^[100-101],故而SAMP8小鼠作为OA模型应用的最低周龄应为14周。

(4)听力衰老:经听性脑干反应(Auditory brainstem response, ABR)和畸变产物耳声发射(Distortion product otoacoustic emission, DPOAE)检测发现SAMP8小鼠从37日龄开始ABR阈值逐渐增加,畸变产物耳声发射振幅降低,并随年龄的增加听力逐渐呈现下降趋势,从37日龄开始,在中频时也观察到DPOAE振幅的降低,并且在133日龄时,该振幅在高频时强烈降低,表明听觉衰老过程已进入晚期阶段^[102],所以SAMP8小鼠作为听力衰老模型应用的最低龄应为37日龄。

(5)骨质疏松:使用Viva CT对6-10月龄的SAMP8小鼠第5腰椎进行扫描检查发现,随月龄的不断增加

SAMP8小鼠的骨密度逐渐下降,SAMP8小鼠的股骨密度和钙含量在6月龄时达到峰值,之后便逐渐降低^[45-46],由此,可以得出SAMP8小鼠的骨质疏松症应开始于6月龄,所以模型应用不应早于6月龄。

(6)生殖衰老:有团队为研究SAMP8小鼠年龄相关的生殖衰老,系统分析了3、5、7、9、11月的雌性SAMP8小鼠发情周、生殖激素水平、下丘脑 β -内啡肽(β -endorphin, β -EP)和P物质(Substance P,SP)的水平,结果显示:SAMP8小鼠的发情周期和发情期随年龄的增长明显延长,血清雌二醇浓度较低,垂体黄体生成素水平较高,在3月龄时,SAMP8小鼠的血清雌二醇远高于SAMR1小鼠,在3-5月龄时SAMP8小鼠血清中的雌二醇显著下降到较低水平,但SAMR1小鼠血清中的雌二醇浓度在3-11月龄间未见显著变化,这说明SAMP8小鼠的下丘脑-垂体-性腺(Hypothalamus-pituitary-ovary,HPO)轴,出现促性腺激素-性腺功能低下的病理表现^[103],然而尚有研究发现4-12个月龄的雄性SAMP8小鼠的睾酮水平呈现显著下降趋势^[104],这都表明SAMP8小鼠的生殖衰老可能出现在3月(雌)或4月龄(雄)。虽然SAMP8小鼠的病理表现很多但不是所有都具备成为疾病模型的条件,以及诸多文献未明确提出其可作为相关模型应用的结论,故而在疾病与月龄的选择部分综述

了以上内容(见表6)。

3.2.2 实验设计与月龄

单纯的病理研究可选择不同龄的SAMP8小鼠进行分析,同时可以与SAMR1进行对比研究,但对于应用SAMP8小鼠的干预研究不仅应仅考虑疾病的发生时间,还应考虑适应性饲养、模型检测实验的时长、干预进行的时间节点和持续的时间、活体检测手段所需时间以及动物样本取材的时间节点等因素,不同的行为学检测手段所需时间不同,干预后的行为学检测方式对比干预前是否要进行增加,干预后的活体检测时间与干预总时长的对比,如果活体检测时间已经超过了治疗效果的洗脱时间,则后续的病理和分生检测结果可能就不具有显著差异,进而不具有意义。所以,动物月龄的选择应经过谨慎的评估,不可直接参考以往文献,因为研究的设计不同、检测手段和技术不同,会导致诸多影响因素的改变,进而影响研究结果的可靠性,有研究通过新物体识别实验发现其在2.5月龄时开始表现出了长期记忆缺陷,而用于检测短期记忆的Y迷宫在整个衰老过程中结果未见明显差异^[105],但是文献^[106]的结果出现了与其相反的情况,可见研究仍需要使用多种评价方法,在相互佐证的同时也能够排除诸多影响因素,使结果的可靠性更高(见图1)。

然而除时间设计以外,还应考虑具体研究内容的发生时间与反应显著的时间,值得注意的是,同一种疾病的不同病理反应或者病理假说的发生之间并非与疾病发生的时间一致,反应最显著的时间也有不同,有研究发现:SAMP8小鼠大脑中活化的半胱天冬酶1(Caspase-1)水平显著升高。与年龄匹配的SAMR1小鼠相比,发现3月龄时未见明显差异,7月龄时表现出Caspase-1水平显著升高,在11月龄时变化

表6 SAMP8小鼠疾病与月龄

疾病	月龄/周龄/日龄	文献来源
肌肉减少症	8月龄	[94]
阿尔茨海默病	4月龄	[96-99]
膝关节骨关节炎	14周龄	[100-101]
听力衰老	37日龄	[102]
骨质疏松	6月龄	[45-46]
生殖衰老	3月龄(雌)/4月龄(雄)	[103-104]

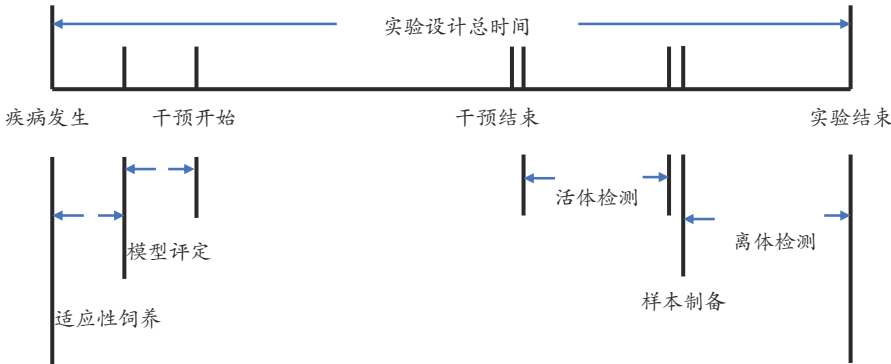


图1 实验设计时间轴

更为明显^[107],然而SAMP8小鼠学习与记忆障碍一般出现在4月龄,所以更要根据相关病理选择合适的月龄进行研究,此外,更应该关注的是不同月龄下,研究内容与疾病的相关关系。有研究发现12月龄的SAMP8小鼠的学习和记忆缺陷与血脑屏障完整性的改变或血脑屏障胰岛素转运蛋白的活性不构成相关关系^[108],值得反思的是在干预疗法机制解释性实验中,确定多大月龄下机制与疾病存在相关性,从而选择合适月龄进行研究就显得尤为重要了。值得注意的是如果按照常规的老鼠月龄与人的平均年龄进行对照的计算方式,那么SAMP8小鼠的某些疾病的出现时间,如听力衰老出现在37日龄,这与《黄帝内经》中提出的人生长壮老已的生命周期中九窍不利所出现的时间节点存在较大差异,生殖衰老也是如此。所以,SAMP8小鼠的快速老化进程在不同组织和器官中可能存在较大差异,具体规律还需要进一步的研究与探讨。

3.3 应用展望

3.3.1 应用优势与局限

通过文献了解到SAMP8小鼠适合多种衰老性疾病的研究,且其病理状态与人的衰老病理较为相似,是衰老性疾病研究的良好模型,既可以研究单一疾病,又可以研究具有相关性的衰老疾病,最为重要的是SAMP8小鼠为研究某一衰老性疾病提供了全身的衰弱状态。有研究对SAMP8小鼠进行了衰弱表型评估,测量了选定的可能与衰老有关的miRNA的全血水平,发现SAMP8小鼠的衰弱评分均高于SAMR1对照线,表明SAMP8小鼠可用于临床前水平的衰弱研究^[109]。同时相比于自然老化小鼠,又表现出多种稳定的疾病状态,同时具有培养成本低、实验周期短、节省人力物力、研究方法较为完备等多种优势,但其诸多衰老的病理表现仍然不够显著,未能成为学术界公认的优秀的相关疾病模型,下面就相关模型以探讨SAMP8小鼠应用的优势与局限性。

(1)肌肉减少症模型:在肌肉减少症动物模型当中,SAMP8小鼠作为快速衰老模型,较自然老化模型能够缩短近2/3的造模时间,降低饲养成本,与普通老化小鼠、基因突变果蝇、斑马鱼模型动物相比其本身价格较高,但相比于使用威尔士柯基犬和拉布拉多寻回犬模型也要经济得多。同时,线粒体功能障碍是SAMP8小鼠肌肉组织中高氧化应激状态的主要原因,这与人肌肉减少症的病理比较相似,所以SAMP8是一

种相对较高成本的效益模型^[110-111]。

(2)阿尔茨海默病模型:阿尔茨海默病是一种衰老性疾病,其在人体中的表现就是因衰老而引起的,随着研究的不断深入,可能的发病机制逐渐的被报道和验证,但尚未有定论,故而快速衰老模型相比于注入诱导损伤模型、复合因素AD动物模型、转基因动物模型都要更加符合老年患者的身体机能与健康状态,能够更加真实的接近阿尔茨海默病患者^[112]。然而在不同研究中也提出其行为(焦虑、抑郁)检测结果存在不一致的情况,这可能是由于其属于近交系模型,同时也存在基因突变情况^[113],虽然表现为快速老化,但不同组织器官以及不同老化病理出现的时间节点和反应量级有所差别,这将导致其病理机制复杂,并于人类存在一定差异,所以在研究当中仍应谨慎对待。

(3)膝关节骨关节炎模型:膝关节骨关节炎的发生与发展与衰老相关又与外力损伤、寒冷刺激、前交叉韧带横断、半月板切除、卵巢切除等因素有关,并且也将这些原因作为方法进行膝关节骨关节炎的动物模型造模,所以SAMP8小鼠作为OA模型,并不适用于多种病因的研究,但是值得注意的是,在14周龄时表现出OA样变化的同时,SAMP8雌性小鼠表现出生殖衰老,这使得其可能作为研究绝经后女性群体因为雌激素缺乏所导致的OA的研究模型,相比于卵巢切除造模法可能更加接近于人的真实情况,同时也可能作为中医肾虚型OA的研究模型^[114]。

(4)听力衰老模型:研究结果显示,随着快速老化小鼠月龄的增加,与之相对应的各月龄SAMP8小鼠的ABR反应阈显著增高^[115],说明SAMP8小鼠作为听力衰老模型所需时间极短,大大节省了实验造模时间。同时该品系小鼠个体差异较小,且在听力衰退过程中表现为对称性听力下降,但该品系小鼠对麻醉的耐受性较差,且饲养过程中更容易死亡,模型获取难度较大^[116]。

(5)骨质疏松模型:目前骨质疏松动物实验的开展,主要使用大鼠、小鼠、兔、狗等动物。具体造模方法主要有去势骨质疏松模型、药物诱导骨质疏松模型、失用型骨质疏松模型、老年型骨质疏松模型、基因诱导骨质疏松模型等^[117],基本都采用单一因素造模方法,能够有效控制关键量化因素,可以有效模拟人体骨质疏松病理状态,便于得出可靠结果。在老年型骨质疏松模型的造模当中使用D-半乳糖致雄性鼠骨质

疏松症是一种比较成熟且简便经济的方法,但是对于雌性小鼠无效,自然衰老模型在饲养中死亡率较高,饲养和管理的费用较高,不够经济。SAMP6小鼠作为快速老化模型,与人老年性骨质疏松症病理表现十分相似,是研究骨质疏松症较为优良的动物模型,较SAMP8小鼠更为适合,然而SAMP8小鼠所表现出的骨质疏松状态虽然不如SAMP6小鼠,但是因其复杂的病理状态,可能为研究AD、肌肉较少症与骨质疏松症关系的内在机制提供优质模型。

(6)生殖衰老模型:已有研究对SAMP8小鼠年龄相关的生殖衰老进行系统分析得出3-5月龄模型促性腺激素-性腺功能低下等结论,并有相关对照组进行验证,可作为较可靠的生殖衰老模型。但与此同时也有结果显示,4-12月龄的SAMP8雄性小鼠血清睾酮水平显著降低,性行为减弱,生殖力下降^[104-118]。因此,SAMP8雌性小鼠与雄性小鼠的生殖衰老情况是存在时间差异的,所以作为生殖衰老模型时还需注意性别和月龄的选择,然而使用相关激素指标来评估SAMP8小鼠的生殖衰老情况尚不能准确判定其生殖衰老情况,还需要对精卵细胞活性与数量以及其繁殖子代能力的评估^[119-120],从而得出其可以成为生殖衰老的优秀模型。

总体而言,SAMP8小鼠的优势在于衰老特征明显,和人类衰老相似程度高,已经成为AD的优质模型,尚未开发和明确的部分还有很多,具有巨大的应用潜力。但是其非常明显的局限性就是某些病理表现不足以成为单一特定疾病的优质模型,或相关研究不足以全面评估认定这一模型,并且由于SAMP8小鼠作为实验动物一直饲养与清洁屏障系统当中与人所处的环境有较大差距,然而恰恰有流行病学证据表明阿尔茨海默病的发生发展与空气污染存在相关关系,长期接触噪音也会增加AD的患病风险,然而暴露于空气中的颗粒物(Particulate matter, PM)会导致神经炎症、增加身体金属负荷、导致呼吸和心血管功能障碍及睡眠异常等健康问题^[121-122],或因骨质疏松、肌肉减少症所导致的骨折愈合延迟^[45-46]。故而若在研究中涉及外界病因可参照相关复合模型的造模方法,如高脂饮食致SAMP8小鼠肝脏脂质代谢紊乱模型^[123]、高脂肪饮食诱导的肥胖加速衰老加速小鼠易感小鼠自发性骨关节炎模型^[124]。在SAMP8小鼠的基础上进行造模以进行科学研究,

既能够获得所需外因又借助其全身衰老的病理状态,使其与人的病理更加相似。非外因研究的衰老相关疾病也可以采用以SAMP8小鼠为基础进行复合造模。有研究使用腹腔注射1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶诱导SAMP8小鼠以制备帕金森模型^[125]、链脲佐菌素诱导SAMP8小鼠糖尿病模型^[126]、手术致SAMP8小鼠退行性脊柱后凸小鼠模型^[127]等为相关研究提供了较好的研究基础。

3.3.2 应用潜力与挑战

从已经报道的文献数量来看,以衰老为背景利用SAMP8小鼠进行衰老及衰老性疾病的内在机制探索研究仍处于初级阶段,目前所能够获得的数据信息仍然较少,还需要大量的研究工作,并且未来的工作中也将充满挑战。从现有文献中发现,大部分实验都使用雄性SAMP8小鼠,似乎忽略了在相关疾病中的雌雄差异,对于SAMP8小鼠中雌性小鼠与雄性小鼠的病理差异研究仍不够深入,这也可能让实验研究结果存在性别差异,有研究发现,背侧海马体的表观遗传机制在雄性和雌性SAMP8小鼠中受到差异调节^[128],所以SAMP8小鼠的未知领域还存在极大空间,在面临挑战的同时SAMP8小鼠也存在着巨大研究和应用潜力。SAMP8小鼠同时存在的多种疾病和衰老状态为中医药研究中探索“脾-肾-肌-骨”“脾病下流乘肾”“脾肾互赞”“肾藏精生髓主骨”“肾藏志”“肾开窍于耳”“脑-肾-生殖”“髓脉相关”“骨肉不相亲”等理论的现代内涵提供了良好的动物模型与研究依据,与此同时通过对基于SAMP8小鼠开展的中医药疗法的内在理论反向认识所得出的SAMP8小鼠的中医证型也为后续研究提供了重要的理论依据,极大的拓展了SAMP8小鼠的应用领域。

4 小结

综上所述:①SAMP8小鼠因其全身衰老病理的特点,在衰老性疾病和抗衰老实验研究中具有巨大的潜力与价值,同时也存在着局限和挑战。②SAMP8小鼠的多系统病变可能为阐明不同器官与系统之间的生理联系以及不同疾病的相关关系提供优质研究模型。③SAMP8小鼠在多领域应用时应仔细地进行模型评定和月龄选择。④总结了SAMP8小鼠作为肌肉减少症、阿尔茨海默病、膝关节骨关节炎、骨质疏松症动物模型的优势与局限性。本文对SAMP8小鼠的病理与

应用进行了系统综述,为SAMP8小鼠的应用提供文献

支持和理论指导。

参考文献

- 1 Takeda T, Hosokawa M, Higuchi K. Senescence-accelerated mouse (SAM): a novel murine model of senescence. *Exp Gerontol*, 1997, 32(1/2):105-109.
- 2 Huang Y, Wu B, Shen D, et al. Ferroptosis in a sarcopenia model of senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8). *Int J Biol Sci*, 2021, 17(1):151-162.
- 3 Takeda T, Hosokawa M, Takeshita S, et al. A new murine model of accelerated senescence. *Mech Ageing Dev*, 1981, 17(2):183-194.
- 4 Okouchi R, Sakanai Y, Tsuduki T. The effect of carbohydrate-restricted diets on the skin aging of mice. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2019, 65(Supplement):S67-S71.
- 5 Ito N, Takemoto H, Hasegawa A, et al. Neuroinflammation underlies emotional disturbances and circadian rhythm disruption in young male senescence-accelerated mouse prone 8 mice. *Exp Gerontol*, 2020, 142: 111109.
- 6 Beuckmann C T, Suzuki H, Musiek E S, et al. Evaluation of SAMP8 mice as a model for sleep-wake and rhythm disturbances associated with Alzheimer's disease: impact of treatment with the dual orexin (hypocretin) receptor antagonist lemborexant. *J Alzheimers Dis*, 2021, 81(3):1151-1167.
- 7 Kitaoka K, Sano A, Chikahisa S, et al. Disturbance of rapid eye movement sleep in senescence-accelerated mouse prone/8 mice is improved by retinoic acid receptor agonist Am80 (Tamibarotene). *Neuroscience*, 2010, 167(3):573-582.
- 8 Allison D B, Ren G, Pelicciari-Garcia R A, et al. Diurnal, metabolic and thermogenic alterations in a murine model of accelerated aging. *Chronobiol Int*, 2020, 37(8):1119-1139.
- 9 Meeker H C, Chadman K K, Heaney A T, et al. Assessment of social interaction and anxiety-like behavior in senescence-accelerated-prone and-resistant mice. *Physiol Behav*, 2013, 118:97-102.
- 10 Vasilopoulou F, Bellver-Sanchis A, Companys-Aleman J, et al. Cognitive decline and BPSD are concomitant with autophagic and synaptic deficits associated with G9a alterations in aged SAMP8 mice. *Cells*, 2022, 11(16):2603.
- 11 Yanai S, Endo S. Early onset of behavioral alterations in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8). *Behav Brain Res*, 2016, 308: 187-195.
- 12 Mima Y, Izumo N, Chen J R, et al. Effects of *Coriandrum sativum* seed extract on aging-induced memory impairment in SAMP8 mice. *Nutrients*, 2020, 12(2):455.
- 13 Bromley-Brits K, Deng Y, Song W. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *J Vis Exp*, 2011(53):2920.
- 14 Huang Y, Hu Z Y, Yuan H, et al. Danggui-Shaoyao-San improves learning and memory in female SAMP8 via modulation of estradiol. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014:327294.
- 15 Li Y Y, Huang N Q, Feng F, et al. Icaritin improves memory and learning ability by decreasing BACE-1 expression and the Ba_x/bcl-2 ratio in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020:8963845.
- 16 Yang X, Yu D, Xue L, et al. Probiotics modulate the microbiota-gut-brain axis and improve memory deficits in aged SAMP8 mice. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(3):475-487.
- 17 刘欣媛, 杜艳军, 孙国杰, 等. 基于 Shh 信号通路在海马及肾组织的变化探讨益肾调督针灸对 SAMP8 小鼠海马 DG 区神经元新生障碍的影响. *中华中医药杂志*, 2022, 37(12):7027-7032.
- 18 史珊怡, 邢菁, 陈奥, 等. “原络通经”针刺法治疗痴呆小鼠学习记忆能力机制研究. *辽宁中医药大学学报*, 2022, 24(5):198-203.
- 19 Xie Z, Lu H, Yang S, et al. Salidroside attenuates cognitive dysfunction in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice and modulates inflammation of the gut-brain axis. *Front Pharmacol*, 2020, 11:568423.
- 20 Zhang X, Sun Y, Yu Q, et al. Jia-Wei-Kai-Xin-San treatment alleviated mild cognitive impairment through anti-inflammatory and antiapoptotic mechanisms in SAMP8 mice. *Mediators Inflamm*, 2023, 2023:7807302.
- 21 姚晰晨, 高爱社, 田浩, 等. 丹萎片对 SAMP8 小鼠认知功能和脑微血管连接蛋白表达的影响. *中药新药与临床药理*, 2023, 34(4): 480-486.
- 22 李瑒. 电针通过 *NLRP3/Caspase-1* 细胞焦亡信号通路改善 SAMP8 小鼠轻度认知障碍的作用机制研究. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学硕士学位论文, 2023.
- 23 宋军营, 丁蕊, 李俊霖, 等. 六味地黄丸通过 PI3K/Akt/FoxO3a 通路调控自噬对 SAMP8 小鼠记忆功能的影响. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(17):1-8.
- 24 尹天琦, 王冰, 王旭. 补肾活血法对 SAMP8 小鼠学习记忆及脑内 A β 和 BACE1 影响的研究. *实用中医内科杂志*, 2022, 36(1):44-46.
- 25 何瑞阳, 孔立红, 马冉, 等. 电针对 SAMP8 小鼠海马组织 Tau 蛋白磷酸化及 MAP2 的影响. *中华中医药杂志*, 2022, 37(4):2250-2253.
- 26 Yang S, Wang L, Zeng Y, et al. Salidroside alleviates cognitive impairment by inhibiting ferroptosis via activation of the Nrf2/GPX4 axis in SAMP8 mice. *Phytomedicine*, 2023, 114:154762.
- 27 Chen H, Zhang C J, Zhao Z Y, et al. Mechanisms underlying LncRNA SNHG1 regulation of Alzheimer's disease involve DNA methylation. *J Toxicol Environ Health A*, 2024, 87(10):428-435.
- 28 Wang Y, Wang Z, Guo S, et al. SVHRSP Alleviates Age-Related Cognitive Deficiency by Reducing Oxidative Stress and Neuroinflammation. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13(6):628.

- 29 杨玉秋,高玉峰,王澈力莫格.蒙药黑苏嘎-25促进神经元骨架蛋白表达提高神经递质含量改善阿尔茨海默病小鼠症状.细胞与分子免疫学杂志,2023,39(2):153-158.
- 30 Kan B, Dong Z, Tang Z, *et al.* Acupuncture improves synaptic plasticity of SAMP8 mice through the RhoA/ROCK pathway. *Curr Alzheimer Res*, 2023, 20(6):420-430.
- 31 Pačesová A, Holubová M, Hrubá L, *et al.* Age-related metabolic and neurodegenerative changes in SAMP8 mice. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(18):7300-7327.
- 32 Li T, Tian J, Wu M, *et al.* Electroacupuncture stimulation improves cognitive ability and regulates metabolic disorders in Alzheimer's disease model mice: new insights from brown adipose tissue thermogenesis. *Front Endocrinol*, 2023, 14:1330565.
- 33 Kawakita R, Takata T, Nonaka W, *et al.* Age-related brainstem degeneration through microRNA modulation in mice. *Mol Med Rep*, 2023, 28(2):146.
- 34 Cao B, Zeng M, Si Y, *et al.* Extract of *Corallodiscus flabellata* attenuates renal fibrosis in SAMP8 mice via the Wnt/ β -catenin/RAS signaling pathway. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1):52.
- 35 Yang S, Pei T, Wang L, *et al.* Salidroside alleviates renal fibrosis in SAMP8 mice by inhibiting ferroptosis. *Molecules*, 2022, 27(22):8039.
- 36 Shen X, Dong X, Han Y, *et al.* Ginsenoside Rg1 ameliorates glomerular fibrosis during kidney aging by inhibiting NOX4 and NLRP3 inflammasome activation in SAMP8 mice. *Int Immunopharmacol*. 2020 Feb 27;82:106339.
- 37 Derave W, Eijnde B O, Ramaekers M, *et al.* Soleus muscles of SAMP8 mice provide an accelerated model of skeletal muscle senescence. *Exp Gerontol*, 2005, 40(7):562-572.
- 38 Yao B, Li L, Guan X, *et al.* Endurance Training Inhibits the JAK2/STAT3 Pathway to Alleviate Sarcopenia. *Physiol Res*, 2024, 73(2): 295-304.
- 39 Bao Z, Cui C, Liu C, *et al.* Prevention of age-related neuromuscular junction degeneration in sarcopenia by low-magnitude high-frequency vibration. *Aging Cell*, 2024, 23(7):e14156.
- 40 Zhong W, Jia H, Zhu H, *et al.* Sarcopenia is attenuated by mairin in SAMP8 mice via the inhibition of FAPs fibrosis through the AMPK-TGF- β -SMAD axis. *Gene*, 2024, 931:148873.
- 41 Bernstein L R, Mackenzie A C, Kraemer D C, *et al.* Shortened Estrous Cycle Length, Increased FSH Levels, FSH Variance, Oocyte Spindle Aberrations, and Early Declining Fertility in Aging Senescence-Accelerated Mouse Prone-8 (SAMP8) Mice: Concomitant Characteristics of Human Midlife Female Reproductive Aging. *Endocrinology*, 2014, 155(6):2287-2300.
- 42 Rui Y, Cheng J, Qin L, *et al.* Effects of vitamin D and resveratrol on metabolic associated markers in liver and adipose tissue from SAMP8 mice. *Exp Gerontol*, 2017, 93:16-28.
- 43 Cuesta S, Kireev R, Forman K, *et al.* Melatonin improves inflammation processes in liver of senescence-accelerated prone male mice (SAMP8). *Exp Gerontol*, 2010, 45(12):950-956.
- 44 Liu H W, Chan Y C, Wei C C, *et al.* An alternative model for studying age-associated metabolic complications: Senescence-accelerated mouse prone 8. *Exp Gerontol*, 2017, 99:61-68.
- 45 Chen C C, Wang M F, Liu M H, *et al.* Effects of age on plasma levels of calcium-regulating hormones and bone status in male SAMP8 mice. *Chin J Physiol*, 2004, 47(1):7-14.
- 46 Zhang N, Chow S K H, Leung K S, *et al.* An animal model of co-existing sarcopenia and osteoporotic fracture in senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8). *Exp Gerontol*, 2017, 97:1-8.
- 47 Cuesta S, Kireev R, García C, *et al.* Effect of growth hormone treatment on pancreatic inflammation, oxidative stress, and apoptosis related to aging in SAMP8 mice. *Rejuvenation Res*, 2011, 14(5):501-512.
- 48 Ogawa T, Ohira A, Amemiya T, *et al.* Superoxide dismutase in senescence-accelerated mouse retina. *Histochem J*, 2001, 33(1):43-50.
- 49 Takeda T, Matsushita T, Kurozumi M, *et al.* Pathobiology of the senescence-accelerated mouse (SAM). *Exp Gerontol*, 1997, 32(1/2): 117-127.
- 50 Ding T, Xu M, Li Y. An overlooked prebiotic: beneficial effect of dietary nucleotide supplementation on gut microbiota and metabolites in senescence-accelerated mouse prone-8 mice. *Front Nutr*, 2022, 9: 820799.
- 51 You M, Liu R, Wei C, *et al.* Exogenous nucleotides ameliorate ageing-related intestinal inflammation in senescence-accelerated mouse prone-8 (SAMP8) Mice. *Nutrients*, 2023, 15(11):2533.
- 52 田小平, 夏军, 卫静雯, 等. 基于16S rDNA测序研究当归芍药散调控肠道菌群改善SAMP8小鼠认知能力的作用机制. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(24):26-34.
- 53 Peng W, Yi P, Yang J, *et al.* Association of gut microbiota composition and function with a senescence-accelerated mouse model of Alzheimer's Disease using 16S rRNA gene and metagenomic sequencing analysis. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(12):4054-4065.
- 54 Pellegrini C, Daniele S, Antonioli L, *et al.* Prodromal intestinal events in Alzheimer's disease (AD): colonic dysmotility and inflammation are associated with enteric AD-related protein deposition. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10):3523.
- 55 Forman K, Vara E, García C, *et al.* Cardiological aging in SAM model: effect of chronic treatment with growth hormone. *Biogerontology*, 2010, 11(3):275-286.
- 56 Karuppagounder V, Arumugam S, Babu S S, *et al.* The senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8): a novel murine model for cardiac aging. *Ageing Res Rev*, 2017, 35:291-296.
- 57 Lloréns S, de Mera R M M F, Pascual A, *et al.* The senescence-accelerated mouse (SAM-P8) as a model for the study of vascular functional alterations during aging. *Biogerontology*, 2007, 8(6): 663-672.
- 58 丁宁, 姜婧, 卢梦晗, 等. “通督启神”针法对SAMP8小鼠海马脑血流量的影响及其作用机制研究. 中华中医药杂志, 2019, 34(11): 5116-5122.
- 59 Norimatsu K, Nakanishi K, Ijuin T, *et al.* Effects of low-intensity

- exercise on spontaneously developed knee osteoarthritis in male senescence-accelerated mouse prone 8. *Arthritis Res Ther*, 2023, 25(1):168.
- 60 Liu F J, Zhang Y X, Lau B H. Pycnogenol enhances immune and haemopoietic functions in senescence-accelerated mice. *Cell Mol Life Sci*, 1998, 54(10):1168–1172.
- 61 Shi C, Xiao S, Liu J, *et al.* *Ginkgo biloba* extract EGb761 protects against aging-associated mitochondrial dysfunction in platelets and hippocampi of SAMP8 mice. *Platelets*, 2010, 21(5):373–379.
- 62 Lino-Alvarado A, Maia O A C, Oliveira M A, *et al.* Central and peripheral mechanisms underlying respiratory deficits in a mouse model of accelerated senescence. *Pflugers Arch*, 2024, 476(11):1665–1676.
- 63 Menardo J, Tang Y, Ladrech S, *et al.* Oxidative stress, inflammation, and autophagic stress as the key mechanisms of premature age-related hearing loss in SAMP8 mouse Cochlea. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 16(3):263–274.
- 64 Castelli V, D' Angelo M, Zazzeroni F, *et al.* Intranasal delivery of NGF rescues hearing impairment in aged SAMP8 mice. *Cell Death Dis*, 2023, 14(9):605.
- 65 杨佳一, 姜婧, 田会玲, 等. 电针对阿尔茨海默病小鼠海马与脾脏相关炎性因子表达的影响. 针刺研究, 2021, 46(5):353–361.
- 66 Gan W, Nie B, Shi F, *et al.* Age-dependent increases in the oxidative damage of DNA, RNA, and their metabolites in normal and senescence-accelerated mice analyzed by LC-MS/MS: urinary 8-oxoguanosine as a novel biomarker of aging. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(9):1700–1707.
- 67 陈发菊, 金凤, 吴芹, 等. 淫羊藿苷对SAMP8小鼠肝脏、肾脏及胸腺的保护作用. 遵义医学院学报, 2016, 39(2):150–153.
- 68 Carp R I, Meeker H C, Caruso V, *et al.* Scrapie strain-specific interactions with endogenous murine leukaemia virus. *J Gen Virol*, 1999, 80 (Pt 1):5–10.
- 69 Zhao X, Bian Y, Sun Y, *et al.* Effects of moderate exercise over different phases on age-related physiological dysfunction in testes of SAMP8 mice. *Exp Gerontol*, 2013, 48(9):869–880.
- 70 Polonio A M, Medrano M, Chico-Sordo L, *et al.* Impaired telomere pathway and fertility in Senescence-Accelerated Mice Prone 8 females with reproductive senescence. *Aging*, 2023, 15(11):4600–4624.
- 71 Yamamoto H, Shimomura N, Hasegawa Y. Oral administration of nacre extract from pearl oyster shells has anti-aging effects on skin and muscle, and extends the lifespan in SAMP8 mice. *Pharmaceuticals*, 2024, 17(6):713.
- 72 Dols A, Kupka R W, van Lammeren A, *et al.* The prevalence of late-life mania: a review. *Bipolar Disord*, 2014, 16(2):113–118.
- 73 Gustavsson A, Norton N, Fast T, *et al.* Global estimates on the number of persons across the Alzheimer's disease continuum. *Alzheimers Dement*, 2023, 19(2):658–670.
- 74 Li J, Vitiello M V, Gooneratne N S. Sleep in normal aging. *Sleep Med Clin*, 2022, 17(2):161–171.
- 75 Medicine A C O S, Chodsko-Zajko W J, Proctor D N, *et al.* American College of Sports Medicine position stand. *Exercise and physical activity for older adults*. *Med Sci Phys Exerc*, 2009, 41(7):1510–1530.
- 76 Holzer K J, Vaughn M G, Loux T M, *et al.* Prevalence and correlates of antisocial personality disorder in older adults. *Aging Ment Health*, 2022, 26(1):169–178.
- 77 Fang H, Tu S, Sheng J, *et al.* Depression in sleep disturbance: a review on a bidirectional relationship, mechanisms and treatment. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(4):2324–2332.
- 78 Lui K K, Dave A, Sprecher K E, *et al.* Older adults at greater risk for Alzheimer's disease show stronger associations between sleep apnea severity in REM sleep and verbal memory. *Alzheimers Res Ther*, 2024, 16(1):102.
- 79 Cai Y, Song W, Li J, *et al.* The landscape of aging. *Sci China Life Sci*, 2022, 65(12):2354–2454.
- 80 Rex N, Melk A, Schmitt R. Cellular senescence and kidney aging. *Clin Sci*, 2023, 137(24):1805–1821.
- 81 Geng R, Li J, Yu C, *et al.* Knee osteoarthritis: Current status and research progress in treatment (Review). *Exp Ther Med*, 2023, 26(4):481.
- 82 Pinazo-Durán M D, Gallego-Pinazo R, García-Medina J J, *et al.* Oxidative stress and its downstream signaling in aging eyes. *Clin Interv Aging*, 2014, 9:637–52.
- 83 Schiborr C, Schwamm D, Kocher A, *et al.* The senescence-accelerated mouse-prone 8 is not a suitable model for the investigation of cardiac inflammation and oxidative stress and their modulation by dietary phytochemicals. *Pharmacol Res*, 2013, 74:113–120.
- 84 Tian H, Ding N, Guo M, *et al.* Analysis of Learning and Memory Ability in an Alzheimer's Disease Mouse Model using the Morris Water Maze. *J Vis Exp*, 2019, 152:1–6.
- 85 Bashiri H, Enayati M, Bashiri A, *et al.* Swimming exercise improves cognitive and behavioral disorders in male NMRI mice with sporadic Alzheimer-like disease. *Physiol Behav*, 2020, 223:113003.
- 86 Miyamoto M, Kiyota Y, Nishiyama M, *et al.* Senescence-accelerated mouse (SAM): age-related reduced anxiety-like behavior in the SAM-P/8 strain. *Physiol Behav*, 1992, 51(5):979–985.
- 87 Guo W, Zeng Z, Xing C, *et al.* Stem cells from human exfoliated deciduous teeth affect mitochondria and reverse cognitive decline in a senescence-accelerated mouse prone 8 model. *Cytotherapy*. 2022 Jan; 24(1):59–71.
- 88 Armbrrecht H J, Siddiqui A M, Green M, *et al.* SAMP8 mice have altered hippocampal gene expression in long term potentiation, phosphatidylinositol signaling, and endocytosis pathways. *Neurobiol Aging*, 2014, 35(1):159–168.
- 89 潘艳芳, 贾晓涛, 屈梦扬, 等. 基于IL-1 β 信号通路探讨当归芍药散对SAMP8小鼠学习记忆的影响. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(11):1969–1973.
- 90 Miyamoto M. Characteristics of age-related behavioral changes in senescence-accelerated mouse SAMP8 and SAMP10. *Exp Gerontol*,

- 1997, 32(1/2):139-148.
- 91 Xiao-Hang Q, Si-Yue C, Hui-Dong T. Multi-strain probiotics ameliorate Alzheimer's-like cognitive impairment and pathological changes through the AKT/GSK-3 β pathway in senescence-accelerated mouse prone 8 mice. *Brain Behav Immun*. 2024 Jul;119:14-27.
- 92 Guo L, Li S, Zhang Y, *et al*. Effects of exercise intensity on spatial memory performance and hippocampal synaptic function in SAMP8 mice. *Neurobiol Learn Mem*, 2023, 203:107791.
- 93 Brunetti D, Bottani E, Segala A, *et al*. Targeting multiple mitochondrial processes by a metabolic modulator prevents sarcopenia and cognitive decline in SAMP8 mice. *Front Pharmacol*, 2020, 11:1171.
- 94 Guo A Y, Leung K S, Siu P M F, *et al*. Muscle mass, structural and functional investigations of senescence-accelerated mouse P8 (SAMP8). *Exp Anim*, 2015, 64(4):425-433.
- 95 苑振云, 顾平, 刘静, 等. 快速老化动物模型SAMP8小鼠及其相关研究进展. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12(46):9126-9129.
- 96 Liu B, Liu J, Shi JS. SAMP8 Mice as a Model of Age-Related Cognition Decline with Underlying Mechanisms in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. 2020;75(2):385-395.
- 97 Zhang X, Li G, Guo L, *et al*. Age-related alteration in cerebral blood flow and energy failure is correlated with cognitive impairment in the senescence-accelerated prone mouse strain 8 (SAMP8). *Neuro Sci*, 2013, 34(11):1917-1924.
- 98 Yamaguchi Y, Saito K, Matsuno T, *et al*. Effects of ZSET1446/ST101 on cognitive deficits and amyloid β deposition in the senescence accelerated prone mouse brain. *J Pharmacol Sci*. 2012;119(2):160-6.
- 99 Matsui N, Takahashi K, Takeichi M, *et al*. Magnolol and honokiol prevent learning and memory impairment and cholinergic deficit in SAMP8 mice. *Brain Res*. 2009 Dec 11;1305:108-17.
- 100 Sanada Y, Ikuta Y, Ding C, *et al*. Senescence-accelerated mice prone 8 (SAMP8) in male as a spontaneous osteoarthritis model. *Arthritis Res Ther*, 2022, 24(1):235.
- 101 Nagira K, Ikuta Y, Shinohara M, *et al*. Histological scoring system for subchondral bone changes in murine models of joint aging and osteoarthritis. *Sci Rep*, 2020, 10(1):10077.
- 102 Marie A, Larroze-Chicot P, Cosnier-Pucheu S, *et al*. Senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) as a model of age-related hearing loss. *Neurosci Lett*, 2017, 656:138-143.
- 103 Ma Y, Zhou W X, Cheng J P, *et al*. Age-related changes in the oestrous cycle and reproductive hormones in senescence-accelerated mouse. *Reprod Fertil Dev*, 2005, 17(5):507-512.
- 104 Flood J F, Farr S A, Kaiser F E, *et al*. Age-related decrease of plasma testosterone in SAMP8 mice: replacement improves age-related impairment of learning and memory. *Physiol Behav*, 1995, 57(4):669-673.
- 105 Dacomo L, La Vitola P, Brunelli L, *et al*. Transcriptomic and metabolomic changes might predict frailty in SAMP8 mice. *Aging Cell*, 2024, 23(10):e14263.
- 106 Song J, Jia Y, Li J, *et al*. LiuweiDihuang improved cognitive functions in SAMP8 mice by inhibiting COX-2 expression and subsequent neuroinflammation. *J Ethnopharmacol*. 2022 Oct 5;296:115491.
- 107 Tan MS, Liu Y, Hu H, *et al*. Inhibition of caspase-1 ameliorates tauopathy and rescues cognitive impairment in SAMP8 mice. *Metab Brain Dis*, 2022, 37(4):1197-1205.
- 108 Banks W A, Farr S A, Morley J E. Permeability of the blood-brain barrier to albumin and insulin in the young and aged SAMP8 mouse. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2000, 55(12):B601-6.
- 109 Musazzi L, Carini G, Barbieri S S, *et al*. Phenotypic frailty assessment in SAMP8 mice: sex differences and potential role of miRNAs as peripheral biomarkers. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2023, 78(11):1935-1943.
- 110 王维, 杨艳, 张伊祎, 等. 肌肉减少症动物模型造模方法研究进展. *成都医学院学报*, 2023, 18(5):658-663, 674.
- 111 黄凯, 侯红燕, 宋敏, 等. 肌少症的动物模型研究现状. *中国实验动物学会. 第十四届中国实验动物科学年会论文集*. 甘肃中医药大学, 2018:5.
- 112 吴国庆, 高誉珊, 汪子栋, 等. SAMP8小鼠在中医药抗痴呆中的应用研究进展. *世界科学技术-中医药现代化*, 2024, 26(4):886-894.
- 113 Tanisawa K, Mikami E, Fuku N, *et al*. Exome sequencing of senescence-accelerated mice (SAM) reveals deleterious mutations in degenerative disease-causing genes. *BMC Genom*, 2013, 14:248.
- 114 张师饶, 李宁, 杨永菊, 等. 膝关节骨关节炎动物模型应用现状和研究进展. *海南医学院学报*, 2022, 28(10):793-800.
- 115 张红佳, 刘强和, 王杰. 快速老化小鼠听功能及耳蜗组织中 p-ERK1/2 的增龄性变化. *听力学及言语疾病杂志*, 2015, 23(5):510-514.
- 116 李子博, 李雨青, 任巍, 等. 两种听力老化小鼠听力特征及优缺点分析. *中华耳科学杂志*, 2023, 21(1):99-104.
- 117 李彦冉, 闫盼盼, 苗艳艳, 等. 骨质疏松动物模型构建进展与应用特点分析. *中国实验动物学报*, 2023, 31(7):928-934.
- 118 罗娇. 神经生长因子对快速老化小鼠迟发性性腺机能减退症的治疗作用及其机制研究. 广州: 暨南大学博士学位论文, 2018.
- 119 Bernstein L R, Mackenzie A C, Lee S J, *et al*. Activin decoy receptor ActRIIB: Fc lowers FSH and therapeutically restores oocyte yield, prevents oocyte chromosome misalignments and spindle aberrations, and increases fertility in midlife female SAMP8 mice. *Endocrinology*, 2016, 157(3):1234-1247.
- 120 Luo J, Yang Y, Zhang T, *et al*. Nasal delivery of nerve growth factor rescue hypogonadism by up-regulating GnRH and testosterone in aging male mice. *EBioMedicine*, 2018, 35:295-306.
- 121 Hussain R, Graham U, Elder A, *et al*. Air pollution, glymphatic impairment, and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci*, 2023, 46(11):901-911.
- 122 Cui B, Su D, Li W, *et al*. Effects of chronic noise exposure on the microbiome-gut-brain axis in senescence-accelerated prone mice: implications for Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1):190.
- 123 Xie Q Y, Shu X, Liu T, *et al*. Ethanol extract of *Propolis* attenuates liver lipid metabolism disorder in high-fat diet-fed SAMP8 mice. *Mol*

Nutr Food Res, 2024, 68(17):e2400297.

124 Ding C, Yimiti D, Sanada Y, *et al.* High-fat diet-induced obesity accelerates the progression of spontaneous osteoarthritis in senescence-accelerated mouse prone 8. *Mod Rheumatol*, 2024, 34(4): 831-840.

125 Sun L, Wang F, Han J, *et al.* Repetitive transcranial magnetic stimulation reduces neuronal loss and neuroinflammation in parkinson? *s disease through the miR-195a-5p/CREB axis. Turk Neurosurg*, 2023, 33(2):229-237.

126 Li XL, Yu F, Fu C L, *et al.* Phosphoproteomics analysis of diabetic cardiomyopathy in aging-accelerated mice and effects of D-pinitol. *Proteomics Clin Appl*, 2022, 16(1):e2100019.

127 Hu Z, Tang Z, Kiram A, *et al.* The establishment of a mouse model for degenerative kyphoscoliosis based on senescence-accelerated mouse prone 8. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022:7378403.

128 Ravanelli F, Musazzi L, Barbieri S S, R, *et al.* Differential epigenetic changes in the dorsal hippocampus of male and female SAMP8 mice: a preliminary study. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(17):13084.

Application of SAMP8 Mice in Anti-Aging Experiment

WU Guoqing¹, WANG Zidong¹, JIAO Zhibo¹, JIANG Jing², TIAN Junjian¹, GAO Xiaoming¹, TANG Yinshan³,
WANG Zhongyi^{4,5}, MENG Zeyu⁶, LI Zhigang¹

(1. College of Acupuncture and Massage, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China ;

2. School of Nursing, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China ;3. the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310000, China ;4. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Provincial Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210004, China ;

5. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China ;6. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract: The senescence accelerate mouse prone strain was identified by Professor T. Takeda's laboratory in Japan from the offspring produced by the brother-sister inbred line of AKR/J mice donated by Jackson Laboratory in the United States SAMP), and SAMP8 mice showed a variety of aging characteristics, such as: Pathological changes such as memory and learning disorders, behavioral abnormalities, skin roughness, aging, hair loss, eye lesions (visual impairment, cataract, periocular lesions), hearing impairment, weight loss, muscle strength loss, reproductive system aging, liver and fat metabolism disorders, etc., are widely used in experimental studies of related diseases or pathology, and have made considerable contributions to the research of diseases. However, there are also many problems in its application, such as the selection of month age, the use of intervention methods, the suitability of pathological changes and research content, and the understanding of models under different theoretical backgrounds, which are of great research value. Therefore, this paper systematically analyzes the above problems based on existing literature, in order to provide relevant basis for the application of SAMP8 mice in different fields and different mechanisms.

Keywords: The senescence accelerate mouse prone, Pathological changes, Animal experimental, Model application

(责任编辑: 刘玥辰)