

SAMP8 小鼠在中医药抗痴呆中的应用研究进展*

吴国庆¹, 高誉珊², 汪子栋¹, 李志刚^{1**}

(1. 北京中医药大学针灸推拿学院 北京 100029; 2. 北京中医药大学中医学院 北京 100029)

摘要:快速老化小鼠是一种早期学习记忆障碍模型,因其表现出阿尔茨海默病发病机制的大多数特征,包括抗衰老因子的异常表达、炎症因子的过度升高、淀粉样蛋白沉积、tau 蛋白过度磷酸化、线粒体自噬、血脑屏障损伤的中枢机制以及多系统多器官的病理损伤,因而成为阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)研究的理想模型而广泛应用。随着 AD 机制实验研究的不断深入,发现 SAMP8 小鼠在行为活动、组织病理及生化参数指标上相较于 SAMR1 发生明显变化,并与人体疾病相类似。基于此,本文对 SAMP8 小鼠的行为学、组织病理和中医药实验研究进行了系统综述,加深对 SAMP8 小鼠的认识,了解其生理病理特性,并依据中医药实验研究对其中医证型进行推测,以期对 SAMP8 小鼠的科学应用提供有益帮助。

关键词:快速老化小鼠 行为学 病理变化 阿尔茨海默病 综述

doi: 10.11842/wst.20230412001 中图分类号: R277.7 文献标识码: A

京都大学胸部疾病研究所病理学系在对美国 Jackson 实验室捐赠的 AKR 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(Snescence accelerate mouse prone, SAMP, P-1、P-2、P-3、P-4、P-5)和抗衰老品系(Senescence accelerate mouse resistant, SAMR, R-1、R-2、R-3),且 SAMP 品系小鼠除衰老(寿命一般为 12-13 个月)外又表现出独有的记忆和学习障碍,以及脱毛、皮肤粗糙老化、眼周病变、白内障、听力损伤、体重降低、肌肉力量下降、脊柱前凸增加、直肠温度升高、行为障碍和多系统多器官的病理改变^[1-7],其中 SAMP8 小鼠的中枢学习记忆功能随增龄进行性快速衰退的特点使其成为研究学习和记忆中年龄相关缺陷的理想动物模型,随着研究的不断深入,逐渐发现 SAMP8 小鼠存在的多种病理变化与阿尔茨海默病患者非常相似,其多器官的衰老变化与人体衰老变化具有相当的相似性,为缩短动物实验与临床试验证据等级的差距,以及探究阿尔茨海默病的

自然病理变化和治疗性实验研究提供了重要的研究依据。

1 SAMP8 小鼠的行为和心理症状(Behavioural and psychological symptoms of dementia, BPSD)

1.1 神经精神症状(Neuropsychiatric symptoms, NPS)

NPS 在 AD 的发病率高达 91.2%,具体表现为焦虑、抑郁、病态的欣快、易怒、冷漠、妄想、幻觉、和精神错乱等多种症状,并随认知衰退程度的增加而增加^[8-9]。而在 SAMP8 小鼠中主要表现为焦虑和抑郁。

1.1.1 焦虑

有研究显示,在 SAMP8 小鼠的行为学研究中通过社交测试发现与 SAMR1 相比, SAMP8 在陌生小鼠附近花费的时间减少和不动性增加,互动性减少;物体识别实验中 SAMP8 无法识别物体空间排列的变化,且在边缘性区域的时间增加,而在中心区域的时间减少,表现出更多的焦虑样行为^[10]。旷场实验显示:

收稿日期:2023-04-12

修回日期:2023-07-14

* 国家自然科学基金委员会面上项目(81973938):基于 miRNA 介导的小胶质细胞级化途径探讨“通督启神”针法治疗 AD 的机制研究,负责人:李志刚;国家自然科学基金委员会面上项目(82274654):中性粒细胞粘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;北京中医药大学揭榜挂帅项目(2022-JYB-JBZR-024):穴位敏化物质基础与成象研究,负责人:李志刚。

** 通讯作者:李志刚,本刊副主编,博士生导师,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。

SAMP8在明亮照明条件与在黑暗照明条件下的移动距离显著大于SAMR1,在开放视野中心的时间都显著短于SAMR1,这表明SAMP8的焦虑水平在两种光照条件下都有所升高;然而有研究发现SAMP8的焦虑行为在旷场实验和高架十字实验(EPM)的结果中出现了与上述研究相反的情况^[10-11],旷场实验表明与SAMR1相比,SAMP8出现了较高的焦虑水平,且高架十字实验的结果也显示出SAMP8的焦虑水平低于SAMR1,研究人员对相同行为测试的数据进行分析认为,与SAMR1相比,SAMP8也倾向于在迷宫的封闭臂中花费更多时间,以及在开放和封闭迷宫臂中花费的时间平行增加可能是由于SAMP8显示的较高运动活性,使得EPM数据出现偏差,这也解释了在不同文献中出现的SAMP8焦虑行为或高于或低于SAMR1的情况。

1.1.2 抑郁

强迫游泳实验显示:SAMP8和SAMR1在最初置于水中时剧烈移动可能是由于对环境改变和水温较凉的强迫反应,然而SAMR1在整个实验期间不断的快速在水域中探寻试图逃脱,而SAMP8逐渐采取不动策略,最终只是在水面上漂浮。事实上,在任务的最后4 min,SAMP8的不动时间明显长于SAMR1,这表明SAMP8有抑郁样行为^[12]。

表1 SAMP8小鼠的神经精神症状

神经精神症状	行为学实验	结果	文献来源
焦虑	社交测试	↑	[10]
	物体识别	↑	[10]
	旷场实验	↓	[10-11]
	高架十字实验	↓	[10-11]
抑郁	强迫游泳实验	↑	[12]

注:↑:SAMP8小鼠的神经精神症状升高;↓:SAMP8小鼠的神经精神症状降低。

1.2 昼夜节律紊乱

SAMP8随着年龄的不断增长而出现多种的焦虑、抑郁行为,昼夜节律中断、异相睡眠等情况^[13-14]。有研究将SAMP8和SAMR1分别置于带有滚轮并能够调节光照与黑暗状态的塑料笼子中来分析其昼夜活动节律,发现SAMR1在开灯期间活动最小,熄灯后活动增加,具有十分明确的跑轮活动日模式,昼夜节律正常,然而SAMP8则表现为,熄灯期开始前开始活动,熄灯期后半段活动减少,熄灯期后期开始出现第二个活动高峰,并一直延续到开灯期的异常的昼夜节律^[15],并且这种现象与Devin McAuley等的^[16]研究结果相一致,从

而验证其研究结果的可靠性。Colas等^[17]探究了诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)抑制剂(AMT)治疗后快速老化小鼠(SAMP8和SAMR1)的睡眠参数基线,发现在基线条件下,衰老导致两组慢波睡眠(Slow-wave sleep,SWS)量略有增加,与SAMR1相比,SAMP8的快速眼动睡眠结构恶化情况更为严重。Pang等^[18]SAMP8在其生命期内3个时间点(2、7和12个月)的昼夜节律。在7月龄时观察到活动节律的持续中断,发现SAMP8整体跑轮活动和节律幅度与年龄的大幅度降低相关,在通常不活动的光照阶段期间发生的活动比例的增加,一些较老的SAMP8中出现分裂活动节律。然而值得注意的是,调节昼夜节律的紊乱可能来源于内部生物钟的老化,而生物钟的老化和昼夜节律紊乱也可能参与认知功能和记忆障碍的调节^[14-19]。

1.3 学习和记忆障碍

SAMP8小鼠随着月龄的不断增长其学习和记忆障碍也逐渐加重^[20-21]。有研究显示:在被动回避测试(Passive avoidance test)中,在SAMP8组中,通过重复训练获得的被动回避反应被迅速消除,但与之相反,SAMR1组则保持良好,其中大部分SAMR1小鼠甚至在最后的消退实验中仍表现出最大的回避^[22],表明SAMP8小鼠学习能力衰退并出现记忆障碍;巴恩斯迷宫测试(Barnes maze test)结果显示:在空间记忆与空间探索测试中SAMP8小鼠的逃生时间明显长于对照组(正常的ICR小鼠),出现空间记忆障碍^[23];在T迷宫(T-maze)的研究中进行了获取(学习)和保留(记忆)以及物体识别的测试,发现SAMP8小鼠的T迷宫学习记忆和物体识别记忆在4-12个月显著下降^[24];Y迷宫的研究结果显示:与SAMR1小鼠相比较,SAMP8组小鼠进臂正确率显著下降^[25];有研究将八臂迷宫测试(8-arm maze test)改良为五臂迷宫(5-arm maze test),将食物杯中的巧克力片作为诱饵,SAMP8小鼠被训练在20天内有效地接受这些奖励,研究发现与SAMR1对照小鼠相比,SAMP8小鼠的参考记忆错误(进入无饵臂)和工作记忆错误(重新进入先前选择的有饵臂)的数量略有增加,表明SAMP8小鼠的长时记忆和短时记忆都出现了不同程度的障碍^[26]。Morris水迷宫(Morris water maze,MWM)最初是由神经科学家Richard G. Morris在1981年建立的,目的是测试海马体依赖学习和记忆,包括空间记忆和长期空间记忆的习得^[27],时至今日,莫里斯水迷宫仍然是国际上广泛应用的评估空

间学习和记忆的重要工具^[28]。有研究使用其来评估 SAMP8 小鼠的学习和记忆功能^[29],因有研究证实 SAMP8 小鼠存在视力障碍^[2]和骨骼肌力量减弱^[7],所以在 MWM 的第 1 天进行可见平台实验,如果小鼠能直接游到平台上,说明动物的游泳能力和视力正常能够满足进行水迷宫测试的基本条件,以及确保各组小鼠的学习水平相一致。MWM 的第 2 天进行隐蔽平台实验持续 5 天,以评估小鼠获得学习和记忆能力的能力;MWM 的第 7 天开展空间探索实验持续 1 天,用来评估工作记忆;MWM 的第 8 天进行反向实验持续 4 天,再次评估工作记忆并为空间探索实验提供证据支持,以上实验研究结果显示:与 SAMR1 相比 SAMP8 小鼠具有较低的学习和记忆能力。跳台实验(Step-down test)的研究结果显示:SAMP8 小鼠从跳台跳下的潜伏期缩短,跳下的次数增加,而 SAMR1 小鼠从跳台跳下的潜伏期延长,触电次数明显减少,说明 SAMP8 小鼠与 SAMR1 相比其学习和记忆能力明显下降^[30]。

表2 SAMP8小鼠的学习和记忆障碍

行为学实验	结果	文献来源
被动回避实验	↓	[22]
巴恩斯迷宫测试	↓	[23]
T迷宫	↓	[24]
Y迷宫	↓	[25]
五臂迷宫	↓	[26]
莫里斯水迷宫	↓	[27]
跳台实验	↓	[29-30]

注:↓:学习和记忆能力降低。

2 SAMP8小鼠的组织和器官的病理变化

2.1 脑组织病理改变

SAMP8 小鼠存在着大量的因衰老而产生的组织和器官的病理变化,其中受到相当关注的便是脑组织的病理损伤。在探究组织器官病理变化的过程中,诸多研究使用小动物活体成像系统或组织染色技术制备病理标本,再使用透射电镜、荧光显微镜、荧光显微光学切片断层扫描仪等仪器观察并获取组织图像以便分析其病理变化,以及使用免疫印迹(Western blot)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、聚合酶链式反应(PCR)等技术进行相关化学指标测定来评估 SAMP8 小鼠的组织器官病理变化情况。

2.1.1 影像学

Ding 等^[31]基于血脑屏障功能障碍、脑低灌注、脑血

流减少(CBF)等阿尔茨海默病的发病机制,使用动脉自旋标记 MRI 技术来检测 SAMP8 小鼠前额叶和海马双侧 CBF 情况,应用 Paravision 5.1 重建 CBF 图像发现:与正常组(SAMR1)相比,AD 组(SAMP8)前额叶和海马双侧 CBF 明显降低。Liang 等^[32]为探究类淋巴系统对 AD 小鼠大脑中沉积 Aβ 的清除作用,采用对比增强核磁共振(Contrast-enhanced MRI, CE-MRI),在钆塞酸二钠(Gd-DTPA)造影剂显影下进行 3D T1 加权成像(T1-weighted MR images, T1WIs),测量脑脊液-间质(CSF-ISF)的动态交换, T1 加权 MRIs 的动态时间序列可以清楚地揭示类淋巴系统血管旁内流随时间的不同而出现的解剖结构路径,发现在 SAMP8 小鼠 CSF-ISF 的交换过程中 Gd-DTPA 的清除减少导致造影剂残余浓度升高,说明 SAMP8 小鼠的类淋巴系统受到抑制,其清除 Aβ 蛋白的能力下降。

2.1.2 形态学

虽然使用活体成像技术能够更加直观地发现 SAMP8 小鼠脑的病理改变,但离体组织染色和显微镜观察技术对 SAMP8 脑组织的病理研究同样具有不可替代的优势。有研究表明:尼氏染色和免疫组化染色显示,与 SAMR1 相比, SAMP8 小鼠大脑皮层和海马 CA1 区神经元数量显著减少^[33],海马 CA1 区 Iba-1、CD68 蛋白阳性表达显著升高^[34]; SAMP8 海马齿状回组织免疫荧光显示:神经元新生障碍^[35]; HE 染色显示: SAMP8 小鼠海马 CA1 和 CA3 区存在不良神经元^[36],海马组织神经元出现核皱缩及出现空泡^[37]; TUNEL (TdT-mediated dUTP Nick-end labeling)法检测发现 SAMP8 小鼠海马组织神经元凋亡数量明显增多^[38]。

2.1.3 生物化学

ELISA 检测发现 SAMP8 小鼠海马组织裂解物中的肿瘤坏死因子(TNF-α)、白介素(IL-6、IL-1β)水平明显升高^[39]。然而有些组织因组成物质和构成结构的异常而导致其结构和生理功能的损伤,如 Western blot 和 PCR 研究显示 SAMP8 小鼠脑组织密封蛋白 5 (Claudin-5) mRNA 表达水平显著下调^[40], 闭合蛋白(Occludin)、Claudin-5、闭锁连接蛋白 1(ZO-1)表达更为紊乱^[41], 晚期糖基化终产物(Receptor of Advanced Glycation Endproducts, RAGE)的过度表达^[42], 使血脑屏障通透性改变使物质转运障碍,引发脑组织神经炎症和 Aβ 蛋白的产生^[43]。

以上通过多种检测手段发现了致 SAMP8 小鼠痴

表3 SAMP8小鼠脑的病理变化

检测方法		结果	文献来源
影像学	核磁共振	前额叶和海马双侧CBF明显降低	[31]
	增强核磁共振	CSF-ISF的交换过程中Gd-DTPA的清除减少导致造影剂残余浓度升高,类淋巴系统受到抑制,其清除A β 蛋白的能力下降	[32]
形态学	尼氏染色	大脑皮层和海马CA1区神经元数量显著减少	[33]
	免疫组化染色	海马CA1区Iba-1、CD68蛋白阳性表达显著升高	[34]
	免疫荧光染色	神经元新生障碍	[35]
	HE染色	海马CA1和CA3区存在不良神经元,海马组织神经元出现核皱缩及出现空泡	[36-37]
	TUNEL检测	海马组织神经元凋亡数量明显增多	[38]
生物化学	ELISA检测	海马组织裂解物中的TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平明显升高	[39]
	PCR检测	(Claudin-5)mRNA表达水平显著下调	[40]
	Western blot检测	Occludin、Claudin-5、ZO-1表达紊乱,RAGE过度表达	[41-42]

表4 SAMP8小鼠其他器官的组织病理改变

器官	病理改变	文献来源
心脏	心脏舒张功能障碍、心脏线粒体氧化应激、线粒体呼吸链损伤、心脏细胞的凋亡情况显著上调、炎症反应增加以及心脏重构	[44]
肾	肾脏系膜细胞数量、肾小球体积、系膜基质增殖、肾纤维化	[45]
肝	p-Aktser473降低,PTP1B、APP、p-eIF2 α 、GRP78、p-JNK蛋白表达升高,提示其肝损伤	[46]
脾	被膜组织肿胀增厚、结构疏松,组织界限不清,骨髓区IL-1 β 、IL-6及TNF- α 含量升高,提示脾脏炎症性损伤	[47]
肺	肺泡间隔增厚,组织线粒体中ATP含量降低,8-OH-dG、8-oxo-Gsn的含量相对升高,线粒体转录调控因子表达存在差异,淋巴细胞浸润极少、巨噬细胞较少等免疫障碍情况	[48-50]
胸腺	衰老相关的氧化应激损伤	[51]

呆的多种病理因素,如血脑屏障损伤、类淋巴系统循环障碍、神经元损伤、炎症反应等,然而SAMP8小鼠因其衰老特性而产生的病理变化不局限于脑组织,还存在多组织多器官退行性改变,并常用做多种衰老性疾病的研究。

2.2 其他器官的组织病理改变

Karuppagounder等^[44]系统地综述了SAMP8小鼠的心脏病理损伤,发现以往有研究报道其出现心脏舒张功能障碍、心脏线粒体氧化应激、线粒体呼吸链损伤、心脏细胞的凋亡情况显著上调、炎症反应增加以及心脏重构等病理变化。SAMP8小鼠肾组织的HE染色标本经观察发现其系膜细胞数量、肾小球体积、系膜基质增殖进一步增加,提示其肾脏纤维化^[45];肝脏磷酸化蛋白激酶(p-Aktser473)降低,蛋白酪氨酸磷酸酶1B(PTP1B)和淀粉样前体蛋白(APP)、磷酸化eIF2 α 蛋白(p-eIF2 α)、内质网分子伴侣(GRP78)和磷酸化-氨基末端激酶(p-JNK)蛋白表达升高,提示其肝损伤^[46];脾脏被膜组织肿胀增厚、结构较为疏松,观察发现其组织界限不清晰,且通过检测发现其骨髓区IL-1 β 、IL-6及TNF- α 含量明显升高,提示脾脏炎症性损伤^[47]。有研究显示:随着SAMP8小鼠月龄的不断增加,肺泡间

隔增厚,且肺组织线粒体中三磷酸腺苷(ATP)含量降低,而8-羟基-2-脱氧鸟苷(8-OH-dG)、8氧化脱氧鸟苷(8-oxo-Gsn)的含量相对升高,且线粒体转录调控因子表达存在差异,还出现淋巴细胞浸润极少,巨噬细胞较少等免疫障碍情况^[48-50],然而淋巴细胞的成熟与胸腺密切相关,由此可以推测SAMP8小鼠可能存在胸腺病理损伤,然而这种猜想也在陈发菊等^[51]的研究中得到了证实,发现其胸腺组织中存在与衰老相关的氧化应激损伤。以上研究为SAMP8小鼠作为多种衰老性疾病研究的动物模型提供了实践基础,并且有着巨大的研究潜力。

3 基于SAMP8小鼠开展的中医药实验研究

中医药内治法和外治法均在阿尔茨海默病的治疗中表现出了独特的优势^[52-53]。

3.1 内治法

3.1.1 中药有效化合物

有研究发现淫羊藿苷能够有效改善SAMP8小鼠的空间学习和记忆功能,降低脑CA1、CA3区坏死细胞数量和海马组织中BACE1、A β 1-42水平表达及Bax/Bcl-2比值,还表现出对肝、肾的保护作用^[37-52];肉苁蓉

总苷可以有效改善 SAMP8 小鼠学习记忆能力,明显增加小鼠海马完整的锥体细胞数量,发挥神经保护作用^[54],此外山茱萸环烯醚萜苷能显著增强其自主活动和记忆能力,增加去整合素金属蛋白酶 10、胰岛素降解酶、可溶性淀粉样前体蛋白 α 的表达,可以有效改善老化引起的认知障碍及阿尔茨海默病样的病理改变^[55]。金钗石斛生物碱有延缓 SAMP8 小鼠衰老的作用,其作用机制可能与下调 p53 信号通路,升高 p53 蛋白所介导的 DNA 甲基转移酶的表达降低有关^[56]。此外人参皂苷 Rb1^[57]、龙眼参多糖^[58]、甘草素和薯蓣皂苷元^[59]等具有滋补肝肾、补益脾胃功效的中药的活性成分都表现出对 SAMP8 小鼠的治疗作用。

3.1.2 中药复方

六味地黄丸能够通过调控硫氧还蛋白相互作用蛋白/NLR 家族 Pyrin 结构域 3(TXNIP/NLRP3)炎症信号轴下调多种炎症因子的表达,发挥神经保护作用^[60],还能调控磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/叉头框转录因子 O3a(PI3K/Akt/FoxO3a)通路下调自噬因子的表达,减少神经细胞凋亡,改善 SAMP8 小鼠的学习记忆功能^[61]。补益脾胃元气方药可以有效增加突触功能相关蛋白 complexin1/2(cplx1/2)和 syntaxin1(stx1)和海马细胞色素 C 氧化酶的表达,从而增加海马神经营养因子含量,促进海马神经元修复,降低小鼠脑内 A β 表达^[62-64]。此外龟龄集^[65]、补中益气汤^[66]等具有调补肝肾、滋养脾胃功效的中药复方也都表现出对 SAMP8 小鼠学习和记忆功能的改善作用。

3.2 外治法

3.2.1 针刺

针刺疗法是中医外治法的重要组成部分,在脑病的治疗中表现出了独特的优势。李志刚教授认为阿尔茨海默病的核心病机为督脉不畅-脑髓失养-神机失用,遂将多年治疗脑病的经验总结为“通督启神”针法(水沟穴、印堂穴、百会穴),通过课题组研究发现“通督启神”针法能够有效提升 SAMP8 小鼠学习记忆能力与海马脑血流量^[67];减缓大脑额叶免疫细胞的增生和聚集,抑制 IL-1 β 、IL-6 的表达对神经细胞的损伤,从而改善其学习记忆功能^[68]。孙远征教授将治疗脑病的针刺经验总结为“原络通经”针法(丰隆、太白、关元、百会),具有祛瘀通络、补肾填精、化痰醒脑益智的功效^[69],经实验研究发现能有效改善 SAMP8 小鼠学习记忆功能障碍,降低海马 CA-1 区损伤程度^[37]和脑组

织中 A β 1-42 和 APP 基因表达^[70]。

3.2.2 艾灸

根据艾灸疗法具有温阳补虚、通经活络、防病保健的功效,在虚证的治疗中表现出了独特的优势,为临床广泛应用。有研究表明:艾灸能够通过调控脑源性神经营养因子(Brain derived neurotrophic factor, BDNF)、酪氨酸激酶受体 B(TrkB)及磷酸化 TrkB(p-TrkB)通路^[71],有效缓解 SAMP8 小鼠海马区突触超微结构损伤^[72],抑制小鼠海马 NSCs 向少突胶质细胞分化^[73],降低小鼠海马 APP、 β -分泌酶 1(BACE1)表达^[74],提高其学习记忆能力。

中医治疗疾病遵循“以病为纲,辨证论治”的原则,在疾病诊断的基础之上,分析刻下证,确定证型,从而制定治疗方案,在动物实验研究中也应当遵循此原则和方法,然而现在的 AD 动物模型多以现代医学的组织病理损伤研究成果为造模导向进行制备,与中医证型相脱离,使得用中药或针刺方法治疗 AD 实验当中的理论基础与动物模型无法形成证据闭环,忽略了动物模型的证型不清对治疗理论的影响和干扰,或者仅仅将中医疗法作为一种单纯的干预手段,这与中医药现代化研究的核心宗旨存在一定的偏差,所以寻找更加符合 AD 中医发病机制和证型的动物模型的制备方法或对现有 AD 动物模型进行证型评价,为进一步应用现代科学技术解释中医治疗 AD 的传统理论和原理具有至关重要的作用。由于 SAMP8 小鼠为近交系繁殖选育而非人为损伤定向造模,所以基于中医对痴呆病的认识和以上实验研究可以从治疗理论和效果的对应性推测 SAMP8 小鼠可能存在肝肾不足、气血虚衰、督脉不通畅、痰瘀内阻、脑髓消等病机,涵盖中医痴呆病的多种发病机制,是中医药研究阿尔茨海默病的良好模型,然而仅仅从治疗药物的功效和针刺方法的理论基础对 SAMP8 小鼠模型的中医证型进行推测,尚不属于充分且必要条件,因为方法和结果之间的作用途径十分复杂,存在多种未知途径,但这种分析方式依旧可能为 SAMP8 小鼠的实验研究和中医治疗 AD 理论的现代解释研究提供有益帮助,但证型分析结果的可靠性仍需进一步的实验验证。

4 讨论

SAMP8 小鼠在行为学、组织病理、生化指标上的诸多改变都展现了与人阿尔茨海默病相似的临床表

现和病理变化,再加上其固有的衰老倾向而非人工损伤造模的特点,使其成为阿尔茨海默病研究的良好模型,而且相比于AD的其他大动物模型如:猪、狗、兔子、猫和非人灵长类动物(Non-human primates, NHP),SAMP8小鼠具有培养成本低、实验周期短、节省人力物力,且研究方法较为完备等多种优势,而AD猪模型缺乏有效的行为学评价方法,然而单从与人类在基因组、形态结构、发育等方面的相似程度上看SAMP8小鼠却远不及NHP,但是NHP作为一种濒临灭绝的生物,很难发展成一种通用的应用模式,难以大范围推广。与其他AD鼠模型(自然衰老型、转基因动物模型、人工干预模型等)相比,SAMP8小鼠的培养周期较短,模型相对稳定,存在AD的多种病理损伤,更加符合人阿尔茨海默病的病理情况,适合多方向多机制的实验研究,且不像人工干预模型会因造模方法而产生其他外源性损伤的干扰。然而像黑腹果蝇、秀丽隐杆线虫和斑马鱼为载体的AD模型的脑结构与人差距较大,实验数据的证据等级较低,故较少选用^[75-76]。

虽然SAMP8小鼠的模型优势明显,但其在使用中表现出诸多问题,尤其是病理损伤的始发月龄,Yanai等^[12]认为4月龄的SAMP8在学习和记忆方面没有显著差异;Ryosuke等^[77]发现6月龄SAMP8存在与年龄相关的运动不协调,具有更高的运动活动,没有焦虑类行为和空间工作记忆障碍。然而这与很多的研究结论相矛盾,但这种情况的产生可能是由于SAMP8小鼠自身老化的相关差异,以及不同实验使用的评估方法不同使得SAMP8小鼠的表现具有一定差异。而且不同研究针对的月龄不同,一些针对AD的早期发作(6-8周龄),大多数研究开始于成年期(4-6月龄),

还有研究针对AD的晚期阶段(10-12月龄)^[78],所以在进行实验干预之前可以基于研究内容进行模型月龄和病理变化的评定,从而使实验的结论更加可靠。此外在以往的很多研究中,认为血脑屏障的损伤是AD发生的可能机制之一,并在SAMP8小鼠的研究中发现了血脑屏障损伤,并认为其可能与学习记忆障碍的发生有关,但是有研究认为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并不是老年SAMP8小鼠学习和记忆缺陷的基础^[79],所以在研究前进行模型的月龄评定和预实验就显得尤为重要了。在SAMP8小鼠的治疗性研究当中褪黑素^[80]、橄榄油^[81]等表现出了一定的效果,这对通过调整作息、改善饮食来预防和延缓AD的发生和疾病的进程具有重要意义。

综上所述:①SAMP8小鼠因其具有显著外在形体异常(如皮肤毛糙无光泽、白内障、脊柱后凸等)、行为反应异常(如被动性逃避反应)等老化特点及内在较为复杂的衰老性病理机制,因此其被广泛应用于阐明与年龄相关的学习记忆功能改变及认知缺陷的基本机制的中医药抗痴呆的实验研究。②SAMP8小鼠肝肾不足、气血虚衰、督脉不畅、痰瘀内阻、脑髓髓消的中医证型分析研究可能为基于SAMP8小鼠的中医药抗痴呆研究提供重要的理论依据和实践基础。③基于异病同治理论,依据中医药疗法功效推断出的SAMP8小鼠在痴呆病中的证型可能为基于SAMP8小鼠的其他衰老性疾病研究提供理论支持。所以说SAMP8小鼠是研究老化相关性疾病、评价治疗老化关联疾病和改善学习记忆机能的中医药疗法有效性和内在机制的极具潜力的动物模型。

参考文献

- 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.
- Takeda T, Hosokawa M, Takeshita S, et al. A new murine model of accelerated senescence. *Mech Ageing Dev*, 1981, 17(2):183-194.
- 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.
- Morley J E, Farr S A, Kumar V B, et al. The SAMP8 mouse: A model to develop therapeutic interventions for Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des*, 2012, 18(8):1123-1130.
- Marie A, Meunier J, Brun E, et al. N-acetylcysteine treatment reduces age-related hearing loss and memory impairment in the senescence-accelerated prone 8 (SAMP8) mouse model. *Aging Dis*, 2018, 9(4):664.
- Pačesová A, Holubová M, Hrubá L, et al. Age-related metabolic and neurodegenerative changes in SAMP8 mice. *Aging*, 2022, 14(18):7300-7327.
- 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.
- Siafarikas N, Selbaek G, Fladby T, et al. Frequency and subgroups of neuropsychiatric symptoms in mild cognitive impairment and different stages of dementia in Alzheimer's disease. *Int Psychogeriatr*, 2018,

- 30(1):103–113.
- 9 Cerejeira J, Lagarto L, Mukaetova-Ladinska E B. Behavioral and psychological symptoms of dementia. *Front Neurol*, 2012, 3:73.
 - 10 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.
 - 11 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.
 - 12 Yanai S C, Endo S. Early onset of behavioral alterations in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8). *Behav Brain Res*, 2016, 308: 187–195.
 - 13 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.
 - 14 Takeda T. Senescence-accelerated mouse (SAM): A biogerontological resource in aging research. *N Neurobiol Aging*, 1999, 20(2):105–110.
 - 15 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.
 - 16 Devin McAuley J, Miller J P, Beck E, *et al.* Age-related disruptions in circadian timing: Evidence for "split" activity rhythms in the SAMP8. *Neurobiol Aging*, 2002, 23(4):625–632.
 - 17 Colas D, Bezin L, Gharib A, *et al.* REM sleep control during aging in SAM mice: A role for inducible nitric oxide synthase. *Neurobiol Aging*, 2005, 26(10):1375–1384.
 - 18 Pang K C H, Miller J P, Devin McAuley J. Circadian rhythms in SAMP8: A longitudinal study of the effects of age and experience. *Neurobiol Aging*, 2004, 25(1):111–123.
 - 19 ang K C H, Miller J P, Fortress A, *et al.* Age-related disruptions of circadian rhythm and memory in the senescence-accelerated mouse (SAMP8). *Age*, 2006, 28(3):283–296.
 - 20 Miyamoto M, Kiyota Y, Yamazaki N, *et al.* Age-related changes in learning and memory in the senescence-accelerated mouse (SAM). *Physiol Behav*, 1986, 38(3):399–406.
 - 21 Tomobe K, Nomura Y. Neurochemistry, neuropathology, and heredity in SAMP8: A mouse model of senescence. *Neurochem Res*, 2009, 34(4): 660–669.
 - 22 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.
 - 23 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.
 - 24 Armbricht 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.
 - 25 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.
 - 26 Miyamoto M. Characteristics of age-related behavioral changes in senescence-accelerated mouse SAMP8 and SAMP10. *Exp Gerontol*, 1997, 32(1–2):139–148.
 - 27 Bromley-Brits K, Deng Y, Song W H. Morris water maze test for learning and memory deficits in Alzheimer's disease model mice. *J Vis Exp*, 2011, 53:2920.
 - 28 Othman M Z, Hassan Z, Che Has A T. Morris water maze: A versatile and pertinent tool for assessing spatial learning and memory. *Exp Anim*, 2022, 71(3):264–280.
 - 29 Tian H L, Ding N, Guo M W, *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:e60055.
 - 30 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.
 - 31 Ding N, Jiang J, Xu A P, *et al.* Manual acupuncture regulates behavior and cerebral blood flow in the SAMP8 mouse model of Alzheimer's disease. *Front Neurosci*, 2019, 13:37.
 - 32 Liang P Z, Li L, Zhang Y N, *et al.* Electroacupuncture improves clearance of amyloid- β through the glymphatic system in the SAMP8 mouse model of Alzheimer's disease. *Neural Plast*, 2021, 2021:9960304.
 - 33 Yang X Q, Yu D K, 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.
 - 34 洪苗苗, 赵恩聪, 陈丽敏, 等. 电针对SAMP8小鼠海马区补体及小胶质细胞吞噬能力的作用机制. *针刺研究*, 2022, 47(6):479–484.
 - 35 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.
 - 36 Li Y Y, Huang N Q, Feng F, *et al.* Icaritin improves memory and learning ability by decreasing BACE-1 expression and the Bax/bcl-2 ratio in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020:8963845.
 - 37 郭文海, 颜敬斌, 邢菁, 等. “原络通经”针法对SAMP8小鼠病理形态学及NMDAR表达的影响. *针灸临床杂志*, 2022, 38(6):69–74.
 - 38 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.
 - 39 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.
 - 40 杨之雪, 唐成林, 李小宏, 等. 电针调控SAMP8小鼠血脑屏障 增强盐酸多奈哌齐对 β -淀粉样蛋白的清除. *针刺研究*, 2020, 45(4): 281–286.

- 41 王煜, 阚伯红, 赵岚, 等. 三焦针法对SAM小鼠血脑屏障通透性的改善作用及通过RhoA/ROCK通路的调控作用. 吉林大学学报(医学版), 2021, 47(5):1086-1091.
- 42 贾亚泉, 宋军营, 袁永, 等. 六味地黄丸通过RAGE/LRP1受体介导对SAMP8小鼠脑血管的调节作用. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(16):9-18.
- 43 Cai Z Y, Qiao P F, Wan C Q, *et al.* Role of blood-brain barrier in alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2018, 63(4):1223-1234.
- 44 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.
- 45 Yang S, Pei T, Wang L, *et al.* Salidroside alleviates renal fibrosis in SAMP8 mice by inhibiting ferroptosis. *Molecules*, 2022, 27(22):8039.
- 46 Rui Y H, Cheng J B, Qin L Q, *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.
- 47 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症因子表达的影响. 针刺研究, 2021, 46(5):353-361.
- 48 Esquivel N, García Y, Lores B, *et al.* Characterization of aged male BALB/c_cenp mice as a model of dementia. *Lab Anim Res*, 2020, 36(1): 1-11.
- 49 张文娟, 杨帆, 高剑基等. SAMP8小鼠快速老化中肺组织线粒体生物学性状及其转录调控因子表达变化. 中国环境科学学会环境医学与健康分会, 中国毒理学会生化与分子毒理专业委员会. 2017环境与公共健康学术会议暨中国环境科学学会环境医学与健康分会、中国毒理学会生化与分子毒理专业委员会2017年年会论文集, 2017:2.
- 50 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.
- 51 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.
- 52 李慧, 刘文婷, 刘廷辉, 等. 中医药治疗阿尔茨海默病研究进展. 河北中医, 2022, 44(9):1558-1562.
- 53 李慧, 许磊, 何玲, 等. 针刺治疗阿尔茨海默病的现状与存在问题. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(8):1310-1314.
- 54 刘心朗, 周丽丽, 杨占君, 等. 肉苁蓉总苷对SAMP8小鼠学习能力及突触可塑性的影响. 中华中医药学刊, 2022, 40(1):110-115.
- 55 马登磊, 李延峰, 祝艳秋, 等. 山茱萸环烯醚萜苷对快速老化小鼠行为学及病理学改变的影响. 首都医科大学学报, 2021, 42(5): 754-760.
- 56 王宇宇. 金钗石斛生物碱对高蛋白氨基酸饮食SAMP8小鼠的保护作用. 遵义: 遵义医科大学硕士学位论文, 2021.
- 57 石艳清, 张静, 朱元贵, 等. 人参皂苷Rb1改善快速老化小鼠P8学习记忆功能障碍. 2011全国老年痴呆与衰老相关疾病学术会议第三届山东省神经内科医师(学术)论坛论文汇编, 2011:1.
- 58 黄忠仕, 焦杨, 张士军, 等. 龙眼参多糖对老年痴呆模型SAMP8小鼠学习记忆的改善作用. 中国老年学杂志, 2008, 28(21):2086-2088.
- 59 雷梦瑶, 高佩佩, 龙建纲. 中药有效成分对AD相关认知功能的改善作用及其机制研究进展. 药学报, 2022, 57(7):1925-1936.
- 60 宋军营, 李俊霖, 丁蕊, 等. 六味地黄丸通过TXNIP/NLRP3信号通路对SAMP8小鼠的神经保护作用. 中药药理与临床, 2023, 39(2): 3-8.
- 61 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.
- 62 雷筱菁, 第五永长, 屈夏夏, 等. 补益脾胃元气方药对SAMP8小鼠海马突触活性带蛋白cplx1/2及stx1表达的影响. 中华中医药杂志, 2020, 35(11):5811-5815.
- 63 陈璐, 第五永长, 温晓强, 等. 补益脾胃元气方药对SAMP8小鼠海马区形态功能和皮层胆碱能系统的影响. 中草药, 2020, 51(20): 5187-5193.
- 64 岳涛, 第五永长, 温晓强, 等. 补益脾胃元气方药对SAMP8小鼠海马COX活性及神经营养因子表达的影响. 辽宁中医杂志, 2020, 47(10):170-174.
- 65 陈慧琴, 李玺, 权乾坤, 等. 龟龄集胶囊对SAMP8小鼠不同组织MDA、SOD、GSH-PX及端粒酶的影响. 现代中医药, 2022, 42(3): 67-71.
- 66 徐静汶. 补中益气汤中用红芪替换黄芪的免疫调节作用比较及红芪多糖的抗免疫老化机制研究. 兰州: 兰州大学博士学位论文, 2020.
- 67 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.
- 68 汪子栋, 姜婧, 田会玲, 等. “通督启神”电针对SAMP8小鼠认知记忆功能及额叶区炎症因子表达的影响. 针灸临床杂志, 2021, 37(4): 76-83.
- 69 张立, 关莹, 王璐, 等. 孙远征教授原络通经针法治疗认知功能障碍经验. 中医药信息, 2015, 32(4):71-73.
- 70 徐佳, 陈奥, 史珊怡, 等. “原络通经”针法调节痴呆小鼠肠道菌群微生态及肠道SCFA代谢的机制研究. 辽宁中医药大学学报, 2022, 24(9):161-166.
- 71 林瑶, 左滢竹, 哈略, 等. 艾灸对快速老化小鼠海马区突触可塑性相关蛋白表达的影响. 世界中医药, 2019, 14(5):1149-1152.
- 72 林瑶, 赵百孝. 艾灸对阿尔茨海默病小鼠海马区突触超微结构的影响*. 中医学报, 2022, 37(4):804-809.
- 73 唐勇, 卢圣锋, 乔秀兰, 等. 艾灸对快速老化模型小鼠海马神经干细胞分化的影响. 中国康复医学杂志, 2010, 25(4):301-304.
- 74 崔莹雪, 哈略, 刘钧天, 等. 艾灸早期干预对SAMP8小鼠学习记忆行为及APP、BACE1表达影响研究. 中华中医药学刊, 2020, 38(6): 112-116.
- 75 李少创, 韩诚, 秦亚莉, 等. 阿尔茨海默病实验动物模型评述. 中国实验动物学报, 2022, 30(1):131-145.
- 76 钟伟聪, 张然, 皮荣标. 大动物AD模型研究进展. 药学研究, 2022, 41(7):421-429.
- 77 Ryosuke T, Kenta M R, Takaaki N, *et al.* Motor dyscoordination and alteration of functional correlation between DGK γ and PKC γ in

- senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8). *Front Aging Neurosci*, 2021, 13:573966.
- 78 Liu B, Liu J, Shi J S. 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.
- 79 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-B606.
- 80 Shibata S, Asai M, Oshima I, *et al.* Melatonin normalizes the re-entrainment of senescence accelerated mice (SAM) to a new light-dark cycle. *Adv Exp Med Biol*, 1999, 460:261-270.
- 81 Farr S A, Price T O, Dominguez L J, *et al.* Extra virgin olive oil improves learning and memory in SAMP8 mice. *J Alzheimers Dis*, 2012, 28(1):81-92.

Research Progress on the Application of SAMP8 Mice in Anti-Dementia of Traditional Chinese Medicine

WU Guoqing¹, GAO Yushan², WANG Zidong¹, LI Zhigang¹

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

2. College of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract: The senescence accelerate mouse prone are a model of early learning and memory impairment, because they exhibit most of the characteristics of the pathogenesis of Alzheimer's disease, including abnormal expression of anti-aging factors, excessive increase of inflammatory factors, amyloid deposition, tau protein hyperphosphorylation, mitochondrial autophagy, the central mechanism of blood-brain barrier damage, and pathological damage of multiple systems and organs. Therefore, it has been widely used as an ideal model for Alzheimer's disease research. With the deepening of the experimental research on the mechanism of AD, it was found that SAMP8 mice showed obvious changes in behavior, histopathology and biochemical parameters compared with SAMR1, which were similar to human diseases. Therefore, this paper reviews the research progress of SAMP8 mice in recent years, in order to provide useful guidance and help for the application of SAMP8 mouse model in a variety of aging diseases.

Keywords: Senescence accelerate mouse prone, Behavioral, Pathological changes, Alzheimer's disease, Review

(责任编辑: 刘玥辰)