

朱紫悦,金美玲,许翔月,等. D-半乳糖诱导脑老化模型机制的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2024, 34(10): 104-110, 117.

Zhu ZY, Jin ML, Xu XY, et al. Research progress on the mechanism of D-galactose-induced brain aging model: a review [J]. Chin J Comp Med, 2024, 34(10): 104-110, 117.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2024.10.013

D-半乳糖诱导脑老化模型机制的研究进展

朱紫悦¹,金美玲¹,许翔月²,刘 晴²,朱嘉雪¹,付明军¹,雷 霞^{2*},张 宁^{3*}

(1.黑龙江中医药大学基础医学院,哈尔滨 150040;2.南京中医药大学无锡附属医院,江苏 无锡 214071;
3.黑龙江中医药大学,哈尔滨 150040)

【摘要】 D-半乳糖(D-galactose, D-gal)作为正常的生理物质,过量摄入能在体内外引发类似自然脑衰老的过程,故在国内外被广泛用来诱导脑老化模型。D-半乳糖诱发的脑衰模型耗时短、成本低、效果明显,但其诱导机制复杂多样,各机制间的关系尚不明确,导致目前该模型的实际运用存在局限性。本文就 D-半乳糖的体内代谢和诱导脑老化的各种机制,以及机制间的联系作一综述,旨在为该模型的运用发展和脑衰老的深入研究提供参考。

【关键词】 脑老化;D-半乳糖;模型机制

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856 (2024) 10-0104-07

Research progress on the mechanism of D-galactose-induced brain aging model

ZHU Ziyue¹, JIN Meiling¹, XU Xiangyue², LIU Qing², ZHU Jiaxue¹, FU Mingjun¹, LEI Xia^{2*}, ZHANG Ning^{3*}

(1. College of Basic Medical Science, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China.

2. Wuxi Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Wuxi 214071.

3. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040)

【Abstract】 As a normal physiological substance, D-galactose can induce a process similar to natural brain aging *in vivo* and *in vitro* when administered excessively, and thus it is widely used to induce brain aging models in China and abroad. The model of brain failure induced by D-galactose has the advantages of a short modeling time, low cost, and significant effect. However, the induction mechanisms are complex and diverse, and the relationships between the mechanisms are unclear, which limit the practical applications of the model. This article reviews the *in vivo* metabolism of D-galactose and the various mechanisms involved in the induction of brain aging, as well as the links between the mechanisms, to provide a reference for the application and development of this model and the in-depth study of brain aging.

【Keywords】 brain aging; D-galactose; model mechanism

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

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(82174007);无锡市卫生健康委中青年拔尖人才资助计划(BJ2023072);无锡市卫生健康委科研项目(M202206)。

【作者简介】朱紫悦(1998—),女,硕士研究生,研究方向:滋肾阴、清虚热中药抗神经炎症机制研究。E-mail:1597508758@qq.com

【通信作者】雷霞(1982—),女,博士,副教授,硕士生导师,研究方向:滋阴清热中药性味理论研究。E-mail:leixia2006@163.com

张宁(1974—),男,教授,博士生导师,研究方向:中药抗阿尔茨海默病的药效物质及机制研究。

E-mail:zhangning0454@163.com * 共同通信作者

世界人口正在日益老龄化,全球生育率的下降和预期寿命的显著增加,使与年龄相关的退行性疾病已成为社会关注的前沿^[1-2]。脑老化是指从亚细胞到组织器官水平的一系列形态、结构的退行性变化,包括大脑体积减少、皮质变薄、白质退化等形态学特征和神经元细胞萎缩、树突变性、脱髓鞘等病理生理特征,最终伴随记忆丧失等认知缺陷和精神行为异常,成为推动神经退行性疾病的重要因素,也是社会老龄化负担的主要原因,因此,对脑老化的深入研究十分迫切^[3]。

动物模型是探索疾病的重要手段,其中脑老化相关的人工加速衰老模型因耗时短、易重复等优点在研究中更为常用^[4]。快速老化 SAMP8 系小鼠表现为记忆减退、淀粉样 β 前体蛋白 (amyloid beta precursor protein, APP) 代谢异常、神经元退化等,其饲养周期短,但价格昂贵,繁殖力弱来源较少;单侧/双侧海马区注射 β 淀粉样蛋白 (amyloid beta protein, A β) 片段模型表现为学习困难、A β 斑块周围星形胶质细胞增生、神经炎症等,造模周期短且成功率高,但诱发因素单一,对脑组织具有穿透性损伤;APP/PS1 双转基因模型表现为认知障碍、早期淀粉样斑块和突触损失等,但基因表达不稳定,造价高,未能完全观察到 Tau 蛋白过度磷酸化^[5-7]。D-半乳糖诱导模型是国内外应用较广泛的模型之一,能观察到认知记忆缺陷的行为学表现和胆碱能神经元减少、A β 免疫反应物聚集等病理特征,肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素-1 β (interleukin, IL-1 β) 等炎症因子、自由基和 8-羟基脱氧鸟苷 (8-hydroxyguanosine) 等衰老标志物水平的增高,是行之有效的脑老化模型^[8-10]。D-半乳糖诱导脑衰模型具有广泛性和多样性,且构建简便易行,价格低廉,性价比高,具有极大研究开发的潜能^[11]。

过量 D-半乳糖能降低脑组织的氧化酶活性,形成更多损害神经细胞的活性氧 (reactive oxygen species, ROS),其氧化应激效应已成为公认的主要机制,此外线粒体功能障碍、自噬、神经炎症和凋亡等也被证实与 D-半乳糖的作用相关^[2]。D-半乳糖诱发脑老化的机制是构建和研究模型的基础,目前已有大量关于其造模机制的研究,但结果繁杂,各机制之间的关系不甚明确,散乱且不成体系的机制理论也给模型使用者带来混淆和困扰。本文梳理了以往对 D-半乳糖致脑老化模型的研究,对 D-半

乳糖在体内的正常和异常代谢及其脑老化模型的构建机制进行总结,并讨论机制间的连接关系,以期为该模型今后的发展运用和脑老化相关疾病的研究奠定基础。

1 D-半乳糖的代谢和损害

D-半乳糖是一种还原的小分子醛己糖,和 D-葡萄糖互为同分异构体,存在于许多食物中,主要来源是哺乳动物乳汁中的乳糖^[4,7]。半乳糖推荐的正常最大日摄入量为 50 g,其中大部分在摄入后约 8 h 内从体内代谢排出,血液中 D-半乳糖的正常浓度低于 10 mg/dL^[2]。

摄入的 D-半乳糖被钠依赖性葡萄糖共转运蛋白 1 型 (sodium-glucose cotransporter-1, SGLT-1) 运输到细胞中,再通过葡萄糖转运蛋白 2 型 (glucose transporters-2, GLUT-2) 进入血液,被半乳糖激酶和 1-磷酸半乳糖尿苷转移酶代谢成葡萄糖,并进入糖酵解途径或作为糖原储存在肝、肌肉和脂肪组织中,也可通过葡萄糖转运蛋白 1 型 (glucose transporters-1, GLUT-1) 穿过血脑屏障摄取到大脑中^[2]。

D-半乳糖过量时,会被醛糖还原酶催化成不易被细胞分解的半乳糖醇,影响正常渗透压,引起如细胞肿胀、代谢紊乱,消耗并破坏机体抗氧化防御系统^[12]。另外,大量堆积的半乳糖也可被半乳糖氧化酶 (galactose, GOA) 氧化成乙醛糖和过氧化氢 (hydrogen peroxide, H₂O₂),生成多种活性氧自由基,导致细胞的线粒体功能障碍、氧化应激、炎症和凋亡^[2,7]。鉴于半乳糖的代谢特点,可通过注射大量 D-半乳糖造成动物糖代谢异常,从而建立具有特殊研究目的的动物模型。

2 D-半乳糖诱导脑老化模型的机制

2.1 氧化应激损伤

D-半乳糖浓度升高时,GOA 为将其氧化成 H₂O₂,使超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 减少;增加的 H₂O₂ 与还原形式的 Fe 反应形成 OH⁻,H₂O₂ 和 OH⁻ 与其他 ROS 共同导致细胞膜脂质过氧化,损害氧化还原稳态。胺与 D-半乳糖反应形成不稳定的席夫碱 (Schiff's base) 产物,几天内生成更稳定的 Amadori 产物,并在数月或数年内不可逆地转化为晚期糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs)。AGEs 与其受体

(receptor for advanced end glycation products, RAGE) 结合, 增加烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (triphosphopyridine nucleotide, NADPH) 氧化酶和 ROS, 导致神经元损伤和认知功能障碍。同时, 累积的半乳糖醇形成渗透应激, 使线粒体的电子传递链 (electron transfer chain, ETC) 活性降低, ROS 增加^[2,13]。还有研究发现, 苯二氮卓受体可能是控制线粒体呼吸以防 ROS 损伤的一部分机制, D-半乳糖可以通过降低苯二氮卓受体影响大脑皮层线粒体抗氧化能力^[2]。激活核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 作为维持氧化稳态的主要调节因子, 介导了 II 期酶 HO-1 的表达, 该酶提高了抗氧化和受保护细胞免受氧化损伤的能力, D-半乳糖可通过下调 Nrf2 和 HO-1 的表达水平来抑制其抗氧化功能^[14]。实验研究中常用氧化应激相关酶的活性作为测定指标, 如 SOD、GSH-Px、CAT、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽 (glutathione, GSH)、氧化型谷胱甘肽 (glutathione oxidized, GSSG) 和过氧化脂质 (lipid peroxidation, LPO) 以及谷胱甘肽 巯基转移酶等^[2,15]。

2.2 线粒体功能障碍

D-半乳糖能诱发线粒体结构损伤, 使海马神经元线粒体肿胀、破碎及嵴断裂和缩小, 线粒体长度和面积减少^[16-17]。D-半乳糖产生的 ROS 导致线粒体 Ca^{2+} 超载, 线粒体膜电位下降, 膜中基质的电子密度也大面积降低, 部分膜溶解。D-半乳糖可降低线粒体 ATP 表达, 使细胞能量代谢不足。D-半乳糖能降低三羧酸循环酶水平, 脑线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 突变积累也可被 D-半乳糖诱发, 可能是 D-半乳糖通过减少 DNA 修复酶以及通过 NOC 依赖性途径进行的; D-半乳糖产生的 ROS 也可诱导 mtDNA 的突变, 从而抑制 mtDNA 的转录和翻译^[2,18-19]。

新的线粒体产生依赖于线粒体的生物发生, 其中 PGC-1 α -NRF1-TFAM 信号通路是调节线粒体生物发生的关键, 而 D-半乳糖能降低海马组织中的过氧化物酶体增殖受体 γ 共激活因子 α (peroxisome proliferators-activated receptor γ coactivator- α , PGC-1 α), 进而阻碍线粒体的新生和稳态^[20]。D-半乳糖也可以影响线粒体动力学的两种代表性蛋白, 提高促分裂的动力蛋白相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, DRP1) 和促融合的线粒体融合蛋白 2

(mitochondrial fusion protein, MFN2) 在海马组织中的表达水平, 使线粒体分裂融合增加^[21]。D-半乳糖诱导的线粒体生物发生和动力学异常, 导致线粒体损伤和功能障碍。

2.3 细胞自噬抑制

D-半乳糖在海马组织中能诱导自噬抑制, 使自噬体的形成减少, 自噬标志物水平异常, 其中自噬起始物微管相关蛋白 1A/1B-轻链 3 (light chain 3, LC3) 及其衍生物 LC3 II/I、自噬相关蛋白 ATG3、ATG5、ATG7、BECN1 含量降低, 自噬降解底物 p62 增加^[1,21-22]。沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 能调控自噬降解, 哺乳动物雷帕霉素靶标 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 则能抑制自噬信号通路, D-半乳糖可以诱导 SIRT1 蛋白表达降低和 mTOR 表达水平升高; D-半乳糖还能使在自噬调节中充当自噬主要抑制因子的 p53 水平升高, 从而抑制自噬功能^[23]。当自噬发生时, LC3a 被酯化成 LC3b, p62 可以与 LC3b 结合并被泛素化的蛋白质降解。D-半乳糖诱导后 LC3b/a 和 p62 的表达随着溶酶体功能蛋白的降低而提高, 表明大量错误折叠蛋白质和衰老线粒体启动自噬过的同时, 由于溶酶体功能损害, p62 不能及时被消化, 次生溶酶体不能被分解而积累。D-半乳糖除了改变自噬指标, 还能降低溶酶体功能蛋白转录因子 EB (transcription factor EB, TFEB) 和溶酶体相关膜蛋白 2 (lysosome-associated membrane protein-2, LAMP2) 的表达, 通过影响溶酶体功能进而阻滞自噬通量^[16]。

2.4 脑细胞衰老和凋亡

p53、p21 和 p16ink4 α 蛋白是影响细胞周期的关键因素, 激活 p53 基因, 可促进下游 p21 基因的表达, 降低细胞周期蛋白依赖性激酶复合物的活性, 阻断细胞周期; p16ink4 α 负调节细胞周期蛋白 (cyclin-dependent kinases 4, CDK4) 的活性, 阻断 DNA 复制, 导致细胞周期停滞。D-半乳糖的持续积累可以提高 p53、p21 和 p16ink4 α 水平, 降低 CDK4, 进而诱导细胞衰老^[1,24]。D-半乳糖可诱导海马神经元的凋亡, 并能导致细胞凋亡标志性蛋白的表达异常, 如抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平下降及促凋亡蛋白 Bax 和半胱天冬酶-3 (caspase-3) 的水平升高^[25-26]。D-半乳糖可通过内外两种途径致细胞凋亡: 外在死亡受体途径通过 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 直接激活效应半胱天冬

酶,并与线粒体的内在凋亡途径汇合;内在激活 p-JNK 并增强细胞色素 c (cytochrome c, Cyt c) 的水平,刺激 caspase-3、caspase-9 和裂解的聚 ADP 核糖聚合酶(poly(ADP-ribose) polymerase, PARP-1) 的活化,诱导细胞凋亡^[2]。miR-34a mRNA 在调节细胞衰老中至关重要,并在衰老大脑中表达激活,D-半乳糖也可以升高 miR-34a 水平,通过其介导的衰老负调节因子 SIRT1 的下调诱导脑衰,也可以通过 miR-34a 的重要靶标 Bcl-2 的降低诱导细胞凋亡^[23]。

2.5 炎症信号激活

D-半乳糖可以通过 Ras 和氧化还原敏感信号通路激活转录因子 NF- κ B; Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 可促进 NF- κ B 释放,TLR4/NF- κ B 通路被激活时,会促进炎症因子的大量释放,而核蛋白相关受体 1 (nuclear receptor related 1, Nurr1) 通过置换核因子活化 NF- κ B 从而抑制炎症因子的产生,D-半乳糖能降低脑部区 Nurr1 水平,激活 TLR4/NF- κ B 信号通路导致炎症产生^[27]。髓系分化原发性应答基因 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 是 Toll 样和白细胞介素受体募集的衔接蛋白,以 MyD88 依赖性途径的形式能被所有 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 激活,从而去活化 NF- κ B; 组蛋白去乙酰化酶 3 (histone deacetylase 3, HDAC3) 是长期记忆形成的关键负调节因子,HDAC3 能通过脱乙酰影响 NF- κ B p65 途径的激活^[28-29]。D-半乳糖能联合 $AlCl_3$, 显著提高 MyD88、TRAF6、HDAC3、NF- κ B 的表达及其诱导的神经炎症。

2.6 神经物质代谢异常

与年龄相关的神经退行性疾病的学习和记忆缺陷与胆碱能下降有关,D-半乳糖能使乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AChE) 活性显著增加,乙酰胆碱 (acetylcholine, ACh) 水平降低;单胺氧化酶 (monoamine oxidase, MAO) 可降解单胺类神经递质,减弱记忆能力,D-半乳糖可使被认为是脑老化标志的 MAO-B 水平升高^[30]。D-半乳糖能使去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE) 的代谢产物 3-甲氨基-4-羟基苯乙二醇 (3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol, MHPG) 和 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 的代谢产物 5-羟基吲哚乙酸 (5-hydroxyindole acetic acid, 5-HIAA) 的水平明显下降,提示 D-半乳糖可能影响单胺能系统功能。D-半乳糖可以使黑质内生

成多巴胺 (dopamine, DA) 的限速酶酪氨酸羟化酶 (tyrosine hydroxylase, TH) 阳性细胞数量下降,减少多巴胺能神经元^[31]。

脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 是认知功能以及神经元生长和存活的重要因素,在 D-半乳糖处理的小鼠中被发现减少^[31-32]。突触后密度蛋白 95 调控突触连接,在突触结构和信号传递以及突触可塑性中发挥重要作用,D-半乳糖能明显降低大鼠海马中突触后密度蛋白 95 的 mRNA 和蛋白表达^[33]。D-半乳糖干预可造成海马 CA1 区树突棘密度降低,突触数量减少,突触相关蛋白表达下降,Tau 蛋白过度磷酸化水平升高,A β 蛋白沉积^[8,34-35]。

2.7 机制间的联系

张熙等^[7]发现 D-半乳糖大鼠的组织器官中存在过量 ROS,最早提出自由基致衰老学说,认为 D-半乳糖活性氧应激效应态是拟衰老和脑老化的启动因子,这一学说机制得到普遍公认。D-半乳糖诱导亚细胞水平的氧化应激时,脑线粒体是最容易被损伤的部位,大量 ROS 导致蛋白质错误折叠,线粒体膜电位降低、呼吸链损伤、mtDNA 突变积累,这些变化诱导更多的 ROS 产生,从而形成 ROS 和线粒体损伤的恶性循环。ROS 诱导的线粒体功能障碍被认为是加速大脑衰老的主要机制^[1-2,36]。自噬能及时清理损伤的线粒体以维持其动态平衡^[37],D-半乳糖本身可作为自噬的抑制因子,也可通过降低溶酶体功能来削弱自噬,从而阻断线粒体稳态的恢复,进一步恶化线粒体障碍^[22]。

D-半乳糖诱发的氧化应激和炎症之间存在许多信号分子和通路的连接,任一种机制的传播都可能导致另一种机制的恶化或激活,它们的自我强化循环会使脑细胞内外环境失衡,进一步加速衰老^[38]。氧化应激也可以激活细胞外死亡受体凋亡途径,或者让脂质过氧化产物进入线粒体介导的细胞凋亡途径,致线粒体损伤,释放 Cyt c 入胞质,形成凋亡体^[13]。D-半乳糖可以破坏脑组织细胞的结构,也可通过诱发的其他认知障碍机制,如影响神经递质和神经因子以及特异性病理产物的水平,从而产生协同破坏作用,共同推动 D-半乳糖致脑老化的结果^[39-41]。

3 D-半乳糖诱导脑老化模型的运用和局限性

3.1 模型的应用与优势

D-半乳糖模型最早在国外应用于白内障研究,

1985 年我国学者徐黻本^[42]首次在延缓衰老药物疗效实验中使用 D-半乳糖模型作为衰老模型。D-半乳糖可以诱导出记忆巩固与再现障碍、细胞退行病变、基因表达与调控功能异常、寿命缩短等全身衰老表现,而大脑因其高耗氧耗能导致的损伤敏感性,成为衰老的“重灾区”^[43-44]。D-半乳糖模型能在表现行为、脑组织病理和生化分子方面成功模拟出脑老化的状态,其致衰老的启动机制氧化应激易发生在能量代谢最活跃的脑部,累积的 ROS 损伤线粒体,进一步可抑制自噬清除,使脑细胞亚生理活动首当其冲受到 D-半乳糖的影响,持续的氧化应激加重神经炎症,诱发凋亡衰老,破坏脑部形态功能。D-半乳糖对各种衰老机制都能产生作用,各机制间也并非独立运行,而是相互联系、协同加速衰老的进程,这种机制联合体现出神经退行性疾病多因素致病的特点,且在神经退行性疾病尤其是阿尔茨海默病的模型构建中,得到特别青睐。

由于脑老化疾病的复杂性和多样性,近年来衍生出以 D-半乳糖诱导的脑老化模型为基础,配合具有目标疾病神经毒性的药物共同制备的复合式造模法,如 D-半乳糖联合 A β 类寡聚体、D-半乳糖联合 AlCl₃ 及 D-半乳糖联合 NaNO₂ 制备的 AD 模型^[8]。另外,除了体内的动物实验外,D-半乳糖还能用于体外细胞的加速衰老模型^[45]。重要的是,利用该模型探索的治疗方法或干预措施可以转化为临床应用。研究人员在 D-半乳糖模型中观察到低水平激光治疗的效果后,发现该疗法可能会恢复 ATP 以延缓衰老人类的认知能力下降;在 D-半乳糖模型中起抗衰老作用的花青素,也被证实可以改善老年人的认知行为和大脑功能^[46-48]。此模型的大量研究和实践已充分说明其可行性,以及作为加速脑衰模型的优势和广阔前景。

3.2 模型的局限性

一些研究提出质疑,表示对 1 月龄的 Wistar 大鼠腹腔内注射 300 mg/kg 的 D-半乳糖 8 周没有发现影响焦虑水平、空间学习、记忆和神经发生^[49]。有的研究指出 D-半乳糖诱导的衰老与啮齿动物中天然发生的衰老并不完全一致,建议 D-半乳糖更适合诱导多囊卵巢综合征(PCOS)而不是衰老;D-半乳糖模型鼠虽然某些指标接近自然衰老,但免疫、行为等方面存在较大差异,用于氧化损伤研究尚可,不能完全反映真实衰老情况^[50-51]。

这与 D-半乳糖模型的研究自发于各个领域的

独立团队有关,各实验室在实验设置上存在差异,关于动物的品系、年龄以及注射剂量、方式和时间间隔尚未达成共识,造模过程缺乏标准化,研究结果质量也参差不齐,有些缺少降低偏移风险的报告^[52]。但 D-半乳糖致衰老的公认机制是通过氧化应激的扳机产生机体损伤,而加速衰老是指衰老表型的表现早于实际年龄,并且是由累积的适应不良和以氧化应激和慢性炎症为特征的病理引起的,因此 D-半乳糖用于模拟衰老早期反应是被认可且理想的^[38]。已有的大量结果证明,D-半乳糖是能够通过氧化损伤进一步导致后续老化病程的,各实验室造模得到的老化结果不一,并不能完全否认 D-半乳糖致衰老的最终效果,至于这种继发或原发(尚未了解的 D-半乳糖效应)于 D-半乳糖诱导形成的全方位多因素衰老模型,要如何准确稳定的制备出来,则需要进一步的探索和完善。

4 总结

综上,D-半乳糖的过量摄入可用作诱发脑老化的加速衰老模型,氧化应激作为 D-半乳糖启动衰老的机制,可进一步通过 ROS 加重线粒体障碍和抑制自噬,造成代谢紊乱,并继续协同脑细胞凋亡和炎症、神经功能障碍等模拟脑衰进展。D-半乳糖诱导早期脑老化的研究已得到广泛研究认可,其对后续衰老进程的影响则仍需深入探索。

参考文献:

- [1] ZHANG J J, HU R Y, CHEN K C, et al. 20 (S)-protopanaxatriol inhibited D-galactose-induced brain aging in mice via promoting mitochondrial autophagy flow [J]. *Phytother Res*, 2023, 37(7): 2827-2840.
- [2] SHWE T, PRATCHAYASAKUL W, CHATTIPAKORN N, et al. Role of D-galactose-induced brain aging and its potential used for therapeutic interventions [J]. *Exp Gerontol*, 2018, 101: 13-36.
- [3] BLINKOUSKAYA Y, CAÇOILLO A, GOLLAMUDI T, et al. Brain aging mechanisms with mechanical manifestations [J]. *Mech Ageing Dev*, 2021, 200: 111575.
- [4] AZMAN K F, ZAKARIA R. D-Galactose-induced accelerated aging model: an overview [J]. *Biogerontology*, 2019, 20(6): 763-782.
- [5] 孙孟艳, 秦合伟, 李彦杰, 等. 基于中西医临床病证特征的轻度认知障碍动物模型分析 [J]. *中药药理与临床*, 2024, 40(2): 119-124.
SUN M Y, QIN H W, LI Y J, et al. Animal models of mild cognitive impairment based on the characteristics of clinical conditions in TCM and western medicine [J]. *Pharmacol Clin*

- Chin Mater Med, 2024, 40(2): 119-124.
- [6] CHINTAPALUDI S R, UYAR A, JACKSON H M, et al. Staging Alzheimer's disease in the brain and retina of B6. APP/PS1 mice by transcriptional profiling [J]. J Alzheimers Dis, 2020, 73(4): 1421-1434.
- [7] 张熙, 李文彬, 张炳烈. D-半乳糖亚急性中毒大鼠拟衰老生化改变 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1990, 4(4): 309-310.
ZHANG X, LI W B, ZHANG B L. Biochemical changes of D-galactose subacute poisoning rats in mimetic senescence [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 1990, 4(4): 309-310.
- [8] 魏玉婷, 朱田田, 苏明莉, 等. D-半乳糖法制备 AD 动物模型的综合总结与初步评价 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(6): 846-856.
WEI Y T, ZHU T T, SU M L, et al. Classification and research progress on animal models of Alzheimer's disease prepared by D-galactose [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(6): 846-856.
- [9] 吴媛妮, 尹晓晨, 李梓民, 等. D-半乳糖衰老模型致衰特征及衰老标志物的研究 [J]. 中国热带医学, 2018, 18(7): 682-686.
WU Y N, YIN X C, LI Z M, et al. Decay characteristics and aging markers of D-galactose induced aging model [J]. China Trop Med, 2018, 18(7): 682-686.
- [10] 刘建亚, 冯文静, 王仁萍, 等. D-半乳糖致衰老动物模型及其机制研究进展 [J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2018, 17(3): 224-227.
LIU J Y, FENG W J, WANG R P, et al. Research progress in D-galactose-induced aging animal model and its mechanisms [J]. Chin J Mult Organ Dis Elder, 2018, 17(3): 224-227.
- [11] 洪晶, 张娅俐, 闫莎莎, 等. D-半乳糖诱导衰老小鼠模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(3): 136-142.
HONG J, ZHANG Y L, YAN S S, et al. Research progress of the D-galactose-induced aging mouse model [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(3): 136-142.
- [12] 陆盈盈, 高良才, 袁崇刚. D-半乳糖致老年性痴呆模型的评价和海马脑区甘丙肽表达研究 [J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2007, 14(4): 191-193, 200, II.
LU Y Y, GAO L C, YUAN C G. Evaluation on alzheimer-like disease model induced by D-galactose and expression of galanin in the hippocampus [J]. Chin J Neuroimmunol Neurol, 2007, 14(4): 191-193, 200, II.
- [13] KUDRYAVTSEVA A V, KRASNOV G S, DMITRIEV A A, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and cancer [J]. Oncotarget, 2016, 7(29): 44879-44905.
- [14] 申屠路媚, 牟艳玲. 线粒体功能障碍机制及其相关疾病研究进展 [J]. 生命科学, 2018, 30(1): 87-93.
SHENTU L M, MOU Y L. Research progress in mitochondrial dysfunction and its related diseases [J]. Chin Bull Life Sci, 2018, 30(1): 87-93.
- [15] 朱亚珍, 朱虹光. D-半乳糖致衰老动物模型的建立及其检测方法 [J]. 复旦学报(医学版), 2007, 34(4): 617-619.
ZHU Y Z, ZHU H G. Establishment and measurement of D-galactose induced aging model [J]. Fudan Univ J Med Sci, 2007, 34(4): 617-619.
- [16] ZHANG J J, CHEN K C, ZHOU Y, et al. Evaluating the effects of mitochondrial autophagy flux on ginsenoside Rg2 for delaying D-galactose induced brain aging in mice [J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154341.
- [17] CHEN Y, YANG C, ZOU M, et al. Inhibiting mitochondrial inflammation through Drp1/HK1/NLRP3 pathway: a mechanism of alpinetin attenuated aging-associated cognitive impairment [J]. Phytother Res, 2023, 37(6): 2454-2471.
- [18] 杨梅桂, 郑凯, 宋质银. 线粒体-内质网相互作用机制、功能及其与相关疾病的关系研究进展 [J]. 新乡医学院学报, 2020, 37(10): 996-1001.
YANG M G, ZHENG K, SONG Z Y. Research progress on the mechanism and function of mitochondrial-endoplasmic reticulum interaction and its relationship with related diseases [J]. J Xinxiang Med Univ, 2020, 37(10): 996-1001.
- [19] MANCZAK M, JUNG Y, PARK B S, et al. Time-course of mitochondrial gene expressions in mice brains: implications for mitochondrial dysfunction, oxidative damage, and cytochrome c in aging [J]. J Neurochem, 2005, 92(3): 494-504.
- [20] 何丽玲. 补肾养心化痰安神法防治健忘的理论探讨及强记汤对认知障碍模型小鼠线粒体功能的影响 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2023.
HE L L. Theoretical discussion on the prevention and treatment of amnesia by tonifying kidney, nourishing heart, resolving phlegm and tranquilizing mind and the effect of Qiangji decoction on mitochondrial function in cognitive impairment model mice [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2023.
- [21] KOU X, LI J, LIU X, et al. Swimming attenuates d-galactose-induced brain aging via suppressing miR-34a-mediated autophagy impairment and abnormal mitochondrial dynamics [J]. J Appl Physiol, 2017, 122(6): 1462-1469.
- [22] WONG S Q, KUMAR A V, MILLS J, et al. Autophagy in aging and longevity [J]. Hum Genet, 2020, 139(3): 277-290.
- [23] CHEN P, CHEN F, LEI J, et al. Activation of the miR-34a-mediated SIRT1/mTOR signaling pathway by urolithin a attenuates D-Galactose-induced brain aging in mice [J]. Neurotherapeutics, 2019, 16(4): 1269-1282.
- [24] HOU Y, DAN X, BABBAR M, et al. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease [J]. Nat Rev Neurol, 2019, 15(10): 565-581.
- [25] LOU Q, MENG X E, WEI C, et al. Jian-Yan-Ling capsules ameliorate cognitive impairment in mice with D-galactose-induced senescence and inhibit the oxidation-induced apoptosis of HT22 hippocampal cells by regulating the Nrf2-HO1 signaling pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2023, 310: 116356.
- [26] 董会萍. D-半乳糖衰老模型建立及模型小鼠认知功能障碍的研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2008.
DONG H P. Establishment of aging model of D-galactose and study on cognitive dysfunction of model mice [D]. Dalian:

- Dalian University of Technology, 2008.
- [27] 代世嗣. Nurr1 调控 TLR4/NF- κ B 信号通路对衰老相关慢性炎症及多巴胺能神经元的作用及机制研究 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2023.
- DAI S S. The effect and mechanism of Nurr1 on aging-related chronic inflammation and dopaminergic neurons by regulating TLR4/NF- κ B signaling pathway [D]. Guiyang: Guizhou Medical University, 2023.
- [28] SONG X, ZHAO Z, ZHAO Y, et al. Protective effects of *Bacillus coagulans* JA845 against D-galactose/ AlCl_3 -induced cognitive decline, oxidative stress and neuroinflammation [J]. J Microbiol Biotechnol, 2022, 32(2): 212-219.
- [29] YU X, YU W, WU L, et al. Chitotriosidase attenuates brain inflammation via HDAC3/NF- κ B pathway in D-galactose and aluminum-induced rat model with cognitive impairments [J]. Neurosci Res, 2021, 172: 73-79.
- [30] 金红. 山茱萸多糖对 D-半乳糖致衰老大鼠脑老化及 NGFmRNA 表达影响的实验研究 [D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2009.
- JIN H. Experimental study on the effect of *Cornus officinalis* polysaccharide on brain aging and NGFmRNA expression in D-galactose-induced aging rats [D]. Jiamusi: Jiamusi University, 2009.
- [31] 武燕, 张弘, 布仁, 等. 肉苁蓉多糖对 D-半乳糖所致急性衰老模型保护作用研究 [J]. 中国药理学通报, 2017, 33(7): 927-933.
- WU Y, ZHANG H, BU R, et al. *In vivo* and *in vitro* studies of protective effect of CDPS on acute aging mouse model induced by D-galactose [J]. Chin Pharmacol Bull, 2017, 33(7): 927-933.
- [32] 桑旭星. 远志寡糖酯改善实验性痴呆小鼠学习记忆能力及神经保护作用的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.
- SANG X X. Study on the improvement of learning and memory ability and neuroprotective effect of polygala tenuifolia oligosaccharide ester in experimental dementia mice [D]. Beijing: Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2018.
- [33] 杨雅竹, 杜鹃, 屈海峰, 等. 人参皂苷 Rg1 对 D-半乳糖诱导脑老化小鼠学习记忆功能的影响 [J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(28): 4487-4493.
- YANG Y Z, DU J, QU H F, et al. Effect of ginsenoside Rg1 on learning and memory ability of brain aging mice induced by D-galactose [J]. Chin J Tissue Eng Res, 2023, 27(28): 4487-4493.
- [34] 陈宁园. 火麻仁提取液对 D-半乳糖致衰老大鼠空间学习和记忆的干预作用及其机制研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2017.
- CHEN N Y. Intervention effect of hemp seed extract on spatial learning and memory of aging rats induced by D-galactose and its mechanism [D]. Nanning: Guangxi Medical University, 2017.
- [35] 杨娟. 石菖蒲对 D-半乳糖诱导 AD 模型小鼠认知障碍的影响及机制研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2023.
- Yang J. Study on the effect and mechanism of *Acorus tatarinowii* Schott on cognitive impairment in AD model mice induced by D-galactose [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2023.
- [36] WANG C H, WU S B, WU Y T, et al. Oxidative stress response elicited by mitochondrial dysfunction: implication in the pathophysiology of aging [J]. Exp Biol Med, 2013, 238(5): 450-460.
- [37] TAN J X, FINKEL T. Lysosomes in senescence and aging [J]. EMBO Rep, 2023, 24(11): e57265.
- [38] ROSS K S, SMITH C. D-galactose: a model of accelerated ageing sufficiently sensitive to reflect preventative efficacy of an antioxidant treatment [J]. Biogerontology, 2020, 21(6): 745-761.
- [39] HOU J Y, XU H, CAO G Z, et al. Multi-omics reveals Dengzhan Shengmai formulation ameliorates cognitive impairments in D-galactose-induced aging mouse model by regulating CXCL12/CXCR4 and gut microbiota [J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1175970.
- [40] 郑清, 孔立红, 余超超, 等. 电针对 D-半乳糖诱导的阿尔茨海默病大鼠认知功能及海马神经元自噬的影响 [J]. 针刺研究, 2020, 45(9): 689-695.
- ZHENG Q, KONG L H, YU C C, et al. Effects of electroacupuncture on cognitive function and neuronal autophagy in rats with D-galactose induced Alzheimer's disease [J]. Acupunct Res, 2020, 45(9): 689-695.
- [41] KRZYSZTOFORSKA K, PIECHAL A, BLECHARZ-KLIN K, et al. Administration of protocatechuic acid affects memory and restores hippocampal and cortical serotonin turnover in rat model of oral D-galactose-induced memory impairment [J]. Behav Brain Res, 2019, 368: 111896.
- [42] 徐藏本. D-半乳糖的亚急性毒性. 第二届国际衰老研究会议 [R]. 哈尔滨, 1985.
- XU F B. Subacute toxicity of D-galactose. The second international conference on aging research [R]. Harbin, 1985.
- [43] RAPPE A, MCWILLIAMS T G. Mitophagy in the aging nervous system [J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10: 978142.
- [44] 赵凡凡, 周玉枝, 高丽, 等. D-半乳糖致衰老大鼠模型的研究进展 [J]. 药学报, 2017, 52(3): 347-354.
- ZHAO F F, ZHOU Y Z, GAO L, et al. Advances in the study of the rat model of aging induced by D-galactose [J]. China Ind Econ, 2017, 52(3): 347-354.
- [45] XUE A, ZHAO D, ZHAO C, et al. Study on the neuroprotective effect of Zhimu-Huangbo extract on mitochondrial dysfunction in HT22 cells induced by D-galactose by promoting mitochondrial autophagy [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 318(Pt B): 117012.
- [46] ROSLI H, SHAHAR S, RAJAB N F, et al. The effects of polyphenols-rich tropical fruit juice on cognitive function and metabolomics profile-a randomized controlled trial in middle-aged women [J]. Nutr Neurosci, 2022, 25(8): 1577-1593.