

NAMPT 在延缓血管平滑肌细胞衰老 保护腹主动脉瘤中的作用研究

杨航真¹ 洪一梅² 林艳雅³ 李欣^{1,2}

¹ 华南理工大学生物科学与工程学院, 广东广州 510006; ² 广东省人民医院(广东省医学科学院) 急诊科, 广州 510080; ³ 莆田学院附属医院重症医学科, 福建莆田 351100

通信作者: 李欣, Email: xlidoct@qq.com

【摘要】 目的 观察烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)通过延缓主动脉血管平滑肌细胞(VSMC)衰老对腹主动脉瘤的保护作用。**方法** 用组织贴壁法培养正常人和腹主动脉瘤患者原代 VSMC 细胞,将细胞分为正常人来源 VSMC 组(Ctrl-VSMC 组)、腹主动脉瘤患者来源 VSMC 组(AAA-VSMC 组)、血管紧张素 II(Ang II)体外建立腹主动脉瘤模型组(AngII-VSMC 组, 100 nmol/L Ang II 处理正常人来源 VSMC 48 h)、NAMPT 激动剂 P7C3 干预后的 Ang II + P7C3 组和 AAA + P7C3 组(分别在 Ang II -VSMC 组和 AAA-VSMC 组基础上加入 5 μ mol/L P7C3)。采用免疫荧光染色法鉴定 VSMC; 采用细胞增殖相关抗原 Ki67 染色检测细胞增殖能力; 采用衰老相关 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal)染色检测各组细胞衰老情况; 采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测各组细胞衰老相关蛋白 p21、p16 及 NAMPT 的蛋白表达水平。**结果** 与 Ctrl-VSMC 组相比, AAA-VSMC 组和 Ang II -VSMC 组衰老细胞 SA- β -gal 染色阳性率及衰老相关蛋白 p21、p16 表达量均明显升高[SA- β -gal 染色阳性率:(74.1 $\pm$ 4.4)%、(68.6 $\pm$ 5.5)%比(36.8 $\pm$ 10.3)%, p21/GAPDH:0.61 $\pm$ 0.07、0.51 $\pm$ 0.03 比 0.31 $\pm$ 0.03, p16/GAPDH:0.77 $\pm$ 0.03、0.72 $\pm$ 0.06 比 0.33 $\pm$ 0.26, 均 P <0.01], NAMPT 表达量均明显降低(NAMPT/GAPDH:0.88 $\pm$ 0.07、0.79 $\pm$ 0.14 比 1.29 $\pm$ 0.02, 均 P <0.01)。与 Ang II -VSMC 组相比, Ang II + P7C3 组衰老细胞 SA- β -gal 染色阳性率及衰老相关蛋白 p21、p16 表达量均明显降低[SA- β -gal 染色阳性率:(49.1 $\pm$ 3.2)%比(68.6 $\pm$ 5.5)%, p21/GAPDH:0.35 $\pm$ 0.06 比 0.51 $\pm$ 0.03, p16/GAPDH:0.47 $\pm$ 0.08 比 0.72 $\pm$ 0.06, 均 P <0.05], NAMPT 表达量明显升高(NAMPT/GAPDH:1.15 $\pm$ 0.06 比 0.79 $\pm$ 0.14, P <0.01)。与 AAA-VSMC 组相比, AAA+P7C3 组衰老细胞 SA- β -gal 染色阳性率及衰老相关蛋白 p21、p16 表达量均明显降低[SA- β -gal 染色阳性率:(54.1 $\pm$ 6.0)%比(74.1 $\pm$ 4.4)%, p21/GAPDH:0.38 $\pm$ 0.02 比 0.61 $\pm$ 0.07, p16/GAPDH:0.50 $\pm$ 0.13 比 0.77 $\pm$ 0.03, 均 P <0.05], NAMPT 表达量明显升高(NAMPT/GAPDH:1.25 $\pm$ 0.28 比 0.88 $\pm$ 0.07, P <0.01)。**结论** P7C3 可激动 NAMPT, 延缓 VSMC 衰老, 进而发挥对腹主动脉瘤的保护作用。

【关键词】 烟酰胺磷酸核糖转移酶; 腹主动脉瘤; 血管平滑肌细胞; 细胞衰老

基金项目: 国家自然科学基金(82072225)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20220218-00153

Role of nicotinamide phosphoribosyltransferase in delaying smooth muscle cell senescence and protecting abdominal aortic aneurysm

Yang Hangzhen¹, Hong Yimei², Lin Yanya³, Li Xin^{1,2}

¹School of Biology and Biological Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong, China; ²Department of Emergency Medicine, Guangdong Provincial People's Hospital (Guangdong Academy of Medical Sciences), Guangzhou 510080, Guangdong, China; ³Department of Critical Care Medicine, Affiliated Hospital of Putian College, Putian 351100, Fujian, China

Corresponding author: Li Xin, Email: xlidoct@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) on abdominal aortic aneurysm by delaying the senescence of aortic vascular smooth muscle cells (VSMC). **Methods** The primary VSMC cells from normal and patients with abdominal aortic aneurysm were cultured by tissue adherence method. Cells were divided into normal human-derived VSMC group (Ctrl-VSMC group), abdominal aortic aneurysm patient-derived VSMC group (AAA-VSMC group), and angiotensin II (Ang II) *in vitro* abdominal aortic aneurysm model group (Ang II -VSMC group, 100 nmol/L Ang II treated normal human-derived VSMC for 48 hours), Ang II + P7C3 group and AAA + P7C3 group after NAMPT agonist P7C3 intervention (adding 5 μ mol/L P7C3 on the basis of Ang II -VSMC group and AAA-VSMC group, respectively). Immunofluorescence staining was used to identify VSMC; cell proliferation-associated antigen Ki67 staining was used to detect cell proliferation; senescence associated β -galactosidase (SA- β -gal) staining was used to detect cell senescence in each group; Western blotting was used to detect the protein expression levels of senescence-related proteins p21, p16 and NAMPT in each group. **Results** Compared with the Ctrl-VSMC group, the positive rate of SA- β -gal staining and the expression levels of senescence-related proteins

p21 and p16 in the AAA-VSMC group and Ang II-VSMC group were significantly increased [SA- β -gal staining positive rate: (74.1 $\pm$ 4.4)%, (68.6 $\pm$ 5.5)% vs. (36.8 $\pm$ 10.3)%, p21/GAPDH: 0.61 $\pm$ 0.07, 0.51 $\pm$ 0.03 vs. 0.31 $\pm$ 0.03, p16/GAPDH: 0.77 $\pm$ 0.03, 0.72 $\pm$ 0.06 vs. 0.33 $\pm$ 0.26, all $P < 0.01$]. However, the expression of NAMPT was significantly decreased (NAMPT/GAPDH: 0.88 $\pm$ 0.07, 0.79 $\pm$ 0.14 vs. 1.29 $\pm$ 0.02, both $P < 0.01$). Compared with the Ang II-VSMC group, the positive rate of SA- β -gal staining and the expressions levels of senescence-related proteins p21 and p16 in the Ang II+P7C3 group were significantly lower [SA- β -gal staining positive rate: (49.1 $\pm$ 3.2)% vs. (68.6 $\pm$ 5.5)%, p21/GAPDH: 0.35 $\pm$ 0.06 vs. 0.51 $\pm$ 0.03, p16/GAPDH: 0.47 $\pm$ 0.08 vs. 0.72 $\pm$ 0.06, all $P < 0.05$], while the expression of NAMPT was significantly increased (NAMPT/GAPDH: 1.15 $\pm$ 0.06 vs. 0.79 $\pm$ 0.14, $P < 0.01$). Compared with the AAA-VSMC group, the positive rate of SA- β -gal staining and the expression levels of senescence-related proteins p21 and p16 in the AAA+P7C3 group were significantly lower [SA- β -gal staining positive rate: (54.1 $\pm$ 6.0)% vs. (74.1 $\pm$ 4.4)%, p21/GAPDH: 0.38 $\pm$ 0.02 vs. 0.61 $\pm$ 0.07, p16/GAPDH: 0.50 $\pm$ 0.13 vs. 0.77 $\pm$ 0.03, all $P < 0.05$], but the expression of NAMPT was significantly increased (NAMPT/GAPDH: 1.25 $\pm$ 0.28 vs. 0.88 $\pm$ 0.07, $P < 0.01$). **Conclusion** NAMPT agonist P7C3 can delay the senescence of VSMC and play a protective role in abdominal aortic aneurysm.

【Key words】 Nicotinamide phosphoribosyltransferase; Abdominal aortic aneurysm; Vascular smooth muscle cell; Cell senescence

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82072225)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20220218-00153

腹主动脉瘤是指局部主动血管异常扩张超过 3 cm 或超过正常血管直径 50% 的血管性疾病。腹主动脉瘤具有高发病率和病死率的特点,目前除手术治疗外,无其他明显有效的药物能延缓主动血管的扩张或干预其发生发展^[1],因此探讨腹主动脉瘤的发病机制对治疗该疾病具有重大意义。腹主动脉瘤的病理生理过程极其复杂,除年龄是发生腹主动脉瘤的主要危险因素外^[2],主动血管退行性病变也是引起腹主动脉瘤的主要原因^[3]。衰老血管理论认为引起主动血管退行性病变的主要原因是血管衰老^[4],主动血管壁中层主要由血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 组成,而 VSMC 的衰老是包括腹主动脉瘤在内的多种血管类疾病发生的主要诱因。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 是存在于人体细胞中维持细胞年轻态的重要物质,其水平与机体衰老密切相关^[5]。NAD⁺ 是参与调节细胞衰老和炎症反应的新型抗衰老蛋白 Sirtuins 1 (SIRT 1) 的唯一底物,因此可作为延缓机体衰老、维持细胞年轻态的靶标^[6]。人体内 80% 的 NAD⁺ 通过补救合成途径产生,烟酰胺磷酸核糖转移酶 (nicotinamide phosphoribosyltransferase, NAMPT) 是该途径的限速酶,影响和限制 NAD⁺ 的水平。有研究表明,胸主动脉瘤患者主动血管组织中的 NAMPT 蛋白水平与瘤体直径呈负相关^[7];在人 VSMC 中敲除 NAMPT 可增加 VSMC 的凋亡^[8]。综上所述, NAMPT 可能在血管平滑肌中扮演重要角色,参与主动血管瘤的发生发展。因此,本研究旨在通过采用腹主动脉瘤来源的 VSMC 及血管紧张素 II

(angiotensin II, Ang II) 体外建立模型探讨 NAMPT 在腹主动脉瘤中的作用,并通过调控 NAMPT 表达水平来验证增加其表达是否能够延缓 VSMC 衰老,进而延缓腹主动脉瘤的发生发展。

1 材料与方法

1.1 实验材料来源和伦理学: 本研究中所使用的人 VSMC 分别来自广东省人民医院 (广东省医学科学院) 器官移植捐献者主动血管以及需要进行手术的腹主动脉瘤患者的主动血管组织。标本收集过程所涉及患者或家属均已签署知情同意书并遵循广东省人民医院医学伦理委员会所制订的伦理学标准 (审批号: GDREC2018060H)。

1.2 原代细胞分离培养: 用组织贴壁法分离培养细胞,手术中获取的新鲜组织样本装在预冷的磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 中,并尽快转移至超净工作台处理。用 PBS 轻轻涮洗组织表面的血液至肉眼未见血凝块后,用手术剪及镊子钝性分离血管中、外、内膜,将主动血管组织中膜剪成碎块置于培养箱中培养,定期换液并观察组织周围细胞生长情况,待大部分组织块周围细胞密度长至 70%~80% 时进行传代,取 3~6 代细胞进行实验。

1.3 NAMPT 激动剂 P7C3 最佳浓度的选择: 在 96 孔板每孔中种入相同个数的人 VSMC,细胞贴壁后分 6 组进行不同条件下的处理,其中空白对照组只加基础培养基,其余 5 组加入 100 nmol/L Ang II 后,分别加入 0、2.5、5.0、7.5、10.0 μ mol/L P7C3, 48 h 后根据说明书比例加入含细胞增殖与毒性检测试剂 (cell counting kit-8, CCK-8) 的培养基孵育 1 h,用全波长酶标仪在 450 nm 处检测吸光度 (absorbance, A) 值并

分析结果,以确定 NAMPT 激动剂 P7C3 的使用浓度。

1.4 细胞分组及处理:实验设为 5 组,分别为正常人来源 VSMC 组(Ctrl-VSMC 组)、腹主动脉瘤患者来源 VSMC 组(AAA-VSMC 组)、Ang II 体外建立腹主动脉瘤模型组(Ang II-VSMC 组, 100 nmol/L Ang II 处理正常人来源 VSMC 48 h)、NAMPT 激动剂 P7C3 干预处理后的 Ang II + P7C3 组和 AAA + P7C3 组(分别在 Ang II-VSMC 组和 AAA-VSMC 组基础上加入 5 μ mol/L P7C3 进行干预)。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 免疫荧光染色法:将 VSMC 接种于培养板中,加入培养基培养,待细胞密度达 80% 时,弃去培养基,用 PBS 清洗,经过多聚甲醛室温固定、通透封闭液室温封闭、一抗 / 二抗室温孵育等步骤后进行封片,于荧光显微镜下分别观察各组细胞钙调蛋白(Calponin)和细胞增殖相关抗原 Ki67 染色情况。

1.5.2 衰老相关的 β -半乳糖苷酶(senescence associated β -galactosidase, SA- β -gal)染色:将 VSMC 接种于培养板中至细胞贴壁,按实验需求分组处理细胞后弃去培养基,用 PBS 清洗 2 次,加入细胞固定液固定细胞。根据 SA- β -gal 染色试剂盒说明书配制工作液,在 pH 6.0 条件下染色^[9]孵育 12 ~ 16 h,于倒置显微镜下观察细胞染色情况,采用 Image J 软件计算衰老细胞 SA- β -gal 染色阳性率。

1.5.3 蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测细胞衰老相关蛋白 p21、p16 和 NAMPT 蛋白表达:不同条件处理后的细胞用蛋白裂解液于冰上裂解,提取细胞总蛋白、离心取上清液,用 BCA 法测定蛋白浓度,将配制好的蛋白样品按照分组方案依次进行凝胶电泳、经过转膜、封闭、一抗 / 二抗孵育、洗膜后进行发光成像,用 Image J 软件灰度分析,以目的蛋白与内参蛋白[3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)]的灰度比值表示目的蛋白的表达量。

1.6 统计学分析:采用 SPSS 26.0 统计软件分析实验数据。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,其中两组数据比较采用独立 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 原代培养人 VSMC 鉴定(图 1):免疫荧光染色显示, VSMC 表面 Calponin 呈阳性表达,其中细胞质呈绿色荧光,胞核未着色,且胞质呈明显肌丝样与细胞纵轴平行,说明原代培养的细胞符合 VSMC 特征。

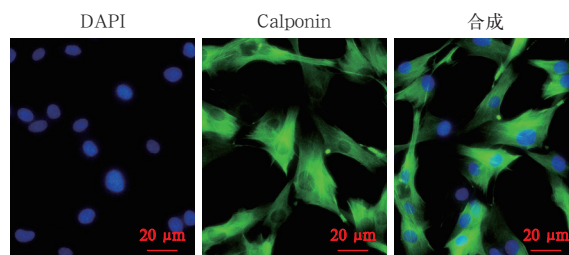


图 1 光镜下观察原代培养的人血管平滑肌细胞(VSMC)表面标志物钙调蛋白(Calponin)染色情况 VSMC 表面 Calponin 呈阳性表达,蓝色荧光为 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)标记的细胞核,绿色荧光标记 Calponin 免疫荧光染色 中倍放大

2.2 正常人及腹主动脉瘤来源 VSMC 增殖能力(图 2):Ki67 免疫荧光染色结果显示,与 Ctrl-VSMC 相比,相同传代数下 AAA-VSMC 的 Ki67 阳性率明显降低[(46.2 $\pm$ 8.9)% 比 (72.8 $\pm$ 6.4)%, $P < 0.01$],说明 AAA-VSMC 增殖能力下降,可能存在衰老现象。

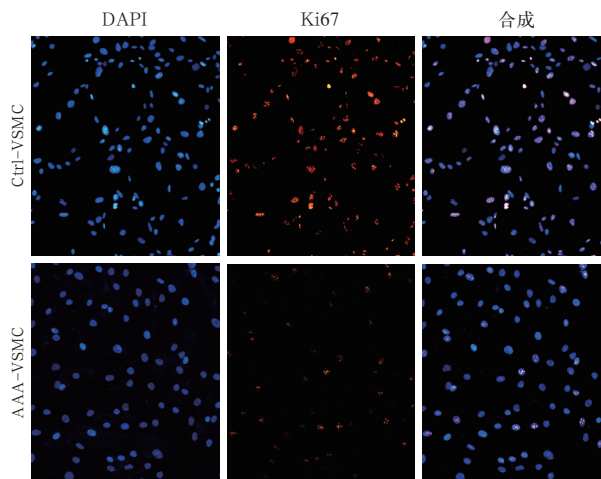


图 2 光镜下观察正常人来源血管平滑肌细胞(Ctrl-VSMC)和腹主动脉瘤来源血管平滑肌细胞(AAA-VSMC)细胞增殖相关抗原 Ki67 染色情况 AAA-VSMC Ki67 表达较 Ctrl-VSMC 减弱,蓝色荧光为 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)标记的细胞核,红色荧光标记 Ki67 免疫荧光染色 低倍放大

2.3 测定细胞活力以选择 P7C3 最佳浓度(图 3):Ang II-VSMC 组细胞培养液测得的 A 值较空白对照组明显降低($P < 0.01$);与 Ang II-VSMC 相比,加入 P7C3 后细胞活力恢复,其中 5.0、7.5、10.0 μ mol/L 组之间细胞活力无明显差异,因此本研究采用 5.0 μ mol/L P7C3 进行后续实验。

2.4 衰老细胞的 SA- β -gal 染色阳性率(图 4 ~ 5):与 Ctrl-VSMC 组相比,AAA-VSMC 组和 Ang II-VSMC 组衰老细胞的 SA- β -gal 染色阳性率均明显升高(均 $P < 0.01$)。Ang II + P7C3 组 SA- β -gal 染色阳性率较 Ang II-VSMC 组明显降低($P < 0.05$);AAA + P7C3 组 SA- β -gal 染色阳性率较 AAA-VSMC 组明显降低($P < 0.05$)。

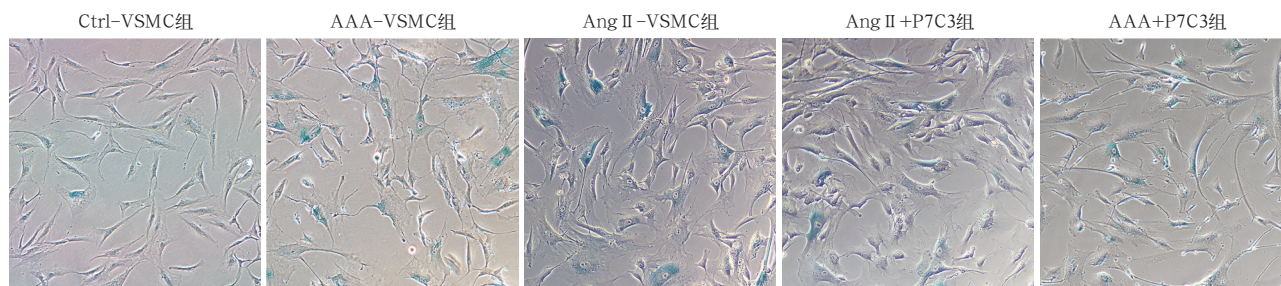
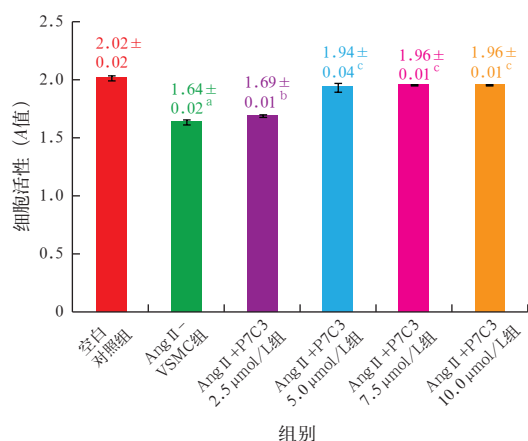
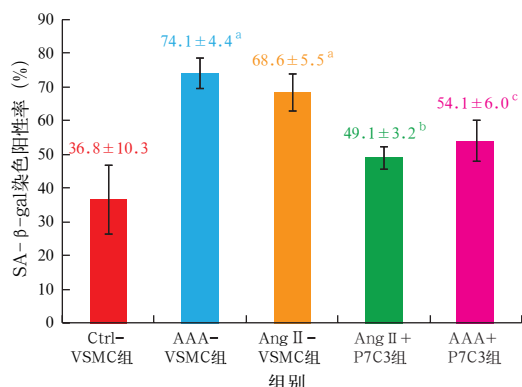


图4 光镜下观察各组血管平滑肌细胞(VSMC)衰老相关 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal)染色情况 蓝色代表衰老细胞;与正常人来源 VSMC 组(Ctrl-VSMC 组)相比,腹主动脉瘤(AAA)患者来源 VSMC 组(AAA-VSMC 组)和血管紧张素 II(Ang II)体外建立 AAA 模型组(Ang II-VSMC 组)阳性表达显著增高;与 AAA-VSMC 组和 Ang II-VSMC 组相比,Ang II-VSMC 加入烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)激动剂 P7C3 组(Ang II+P7C3 组)及 AAA-VSMC 加入 P7C3 组(AAA+P7C3 组)阳性表达明显减弱 SA- β -gal 染色 低倍放大



注:空白对照组为正常人来源血管平滑肌细胞(VSMC)组,Ang II-VSMC 组为血管紧张素 II(Ang II)体外建立腹主动脉瘤模型组,Ang II+P7C3 2.5、5.0、7.5、10.0 μ mol/L 组为 Ang II-VSMC 加入不同浓度的烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)激动剂 P7C3 组;与空白对照组比较,^a $P < 0.01$;与 Ang II-VSMC 组比较,^b $P < 0.05$,^c $P < 0.01$

图3 细胞增殖与毒性检测试剂(CCK-8)检测加入不同浓度 P7C3 后的各组细胞活力



注:Ctrl-VSMC 组为正常人来源血管平滑肌细胞(VSMC)组,AAA-VSMC 组为腹主动脉瘤患者来源 VSMC 组,Ang II-VSMC 组为血管紧张素 II(Ang II)体外建立腹主动脉瘤模型组,Ang II+P7C3 组为 Ang II-VSMC 加入烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)激动剂 P7C3 组,AAA+P7C3 组为 AAA-VSMC 加入 P7C3 组;与 Ctrl-VSMC 组比较,^a $P < 0.01$;与 Ang II-VSMC 组比较,^b $P < 0.05$;与 AAA-VSMC 组比较,^c $P < 0.05$

图5 各组细胞的衰老相关细胞的 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal)染色阳性率比较

2.5 衰老相关蛋白 p21、p16 和 NAMPT 蛋白表达量(图 6;表 1):与 Ctrl-VSMC 组相比,AAA-VSMC 组和 Ang II-VSMC 组衰老相关蛋白 p21、p16 表达量均明显升高,NAMPT 蛋白表达量明显降低(均 $P < 0.01$)。与 Ang II-VSMC 组相比,Ang II+P7C3 组衰老相关蛋白 p21、p16 表达量均明显降低,NAMPT 蛋白表达量明显升高(均 $P < 0.05$)。与 AAA-VSMC 组相比,AAA+P7C3 组衰老相关蛋白 p21、p16 表达量均明显降低,NAMPT 蛋白表达量明显升高(均 $P < 0.05$)。

指标	Ctrl-VSMC 组	AAA-VSMC 组	Ang II-VSMC 组	Ang II+P7C3 组	AAA+P7C3 组	相对分子质量
p21						21 000
p16						16 000
NAMPT						55 000
GAPDH						36 000

注:Ctrl-VSMC 组为正常人来源血管平滑肌细胞(VSMC)组,AAA-VSMC 组为腹主动脉瘤患者来源 VSMC 组,Ang II-VSMC 组为血管紧张素 II(Ang II)体外建立腹主动脉瘤模型组,Ang II+P7C3 组为 Ang II-VSMC 加入烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)激动剂 P7C3 组,AAA+P7C3 组为 AAA-VSMC 加入 P7C3 组;p21 和 p16 为衰老相关蛋白,GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶

图6 蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测各组细胞 p21、p16 和 NAMPT 的蛋白表达

表1 各组细胞 p21、p16 和 NAMPT 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数(孔)	p21/GAPDH	p16/GAPDH	NAMPT/GAPDH
Ctrl-VSMC 组	3	0.31 ± 0.03	0.33 ± 0.26	1.29 ± 0.02
AAA-VSMC 组	3	0.61 ± 0.07 ^a	0.77 ± 0.03 ^a	0.88 ± 0.07 ^a
Ang II-VSMC 组	3	0.51 ± 0.03 ^a	0.72 ± 0.06 ^a	0.79 ± 0.14 ^a
Ang II+P7C3 组	3	0.35 ± 0.06 ^c	0.47 ± 0.08 ^b	1.15 ± 0.06 ^b
AAA+P7C3 组	3	0.38 ± 0.02 ^d	0.50 ± 0.13 ^d	1.25 ± 0.28 ^d

注:Ctrl-VSMC 组为正常人来源血管平滑肌细胞(VSMC)组,AAA-VSMC 组为腹主动脉瘤患者来源 VSMC 组,Ang II-VSMC 组为血管紧张素 II(Ang II)体外建立腹主动脉瘤模型组,Ang II+P7C3 组为 Ang II-VSMC 加入烟酰胺磷酸核糖转移酶(NAMPT)激动剂 P7C3 组,AAA+P7C3 组为 AAA-VSMC 加入 P7C3 组;p21 和 p16 为衰老相关蛋白,GAPDH 为 3-磷酸甘油醛脱氢酶;与 Ctrl-VSMC 组比较,^a $P < 0.01$;与 Ang II-VSMC 组比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$;与 AAA-VSMC 组比较,^d $P < 0.01$

3 讨论

腹主动脉瘤扩张速度和破裂风险会随瘤体体积增大而提高。在对腹主动脉瘤的风险研究中发现, VSMC 衰老引起的血管老化加速是腹主动脉瘤病变的重要原因^[2]。主动脉主要分为内膜、中膜和外膜, 其中中膜最厚, 主要由 VSMC 构成, 是主动脉的主要成分。VSMC 对构建血管组织和结构, 维护血管张力和弹性具有重要意义^[10]。本研究显示, 腹主动脉瘤患者主动脉及 Ang II 诱导模型中 VSMC 衰老明显。VSMC 的老化会导致血管壁功能改变, 且衰老的细胞无法参与重建退化的主动脉壁, 因此延缓 VSMC 的衰老对调控腹主动脉瘤的发展至关重要。

NAD⁺ 是维持机体功能, 调节细胞代谢的重要因子, 其水平失调在心血管疾病、慢性衰老、神经退行性疾病等多种疾病中发挥重要作用。近年来, NAD⁺ 作为机体抗衰老的靶标而广受关注, 补充 NAD⁺ 前体以提高 NAD⁺ 水平在多个体外模型中均被证实能延长个体寿命。但其各类前体的补充均有优缺点, 且大部分受到 NAD⁺ 补救合成途径的限速酶 NAMPT 限制。近年来, 有研究表明, NAMPT 可以通过提高机体 NAD⁺ 的水平从而延缓衰老, 延长个体寿命^[11], 如将富含细胞外 NAMPT (extracellular NAMPT, eNAMPT) 的胞外囊泡注射进小鼠体内, 会明显延长老年小鼠的寿命^[12]。也有研究显示, 在细胞内过表达 NAMPT 可增强 VSMC 活力^[8], 这为延缓 VSMC 衰老、干预腹主动脉瘤发生发展提供了新的思路。

P7C3 是一种 NAMPT 的小分子激动剂^[13], 具有良好的药物半衰期和分布性, 且可以穿过血脑屏障, 被广泛用于神经保护^[14], 但尚无研究报道其是否能在腹主动脉瘤中发挥保护作用。本研究显示, 在 Ang II 诱导的 VSMC 中加入 NAMPT 激动剂 P7C3 可延缓腹主动脉瘤细胞衰老。SA- β -gal 染色实验及衰老蛋白表达也证明, 在 AAA-VSMC 细胞中加入 P7C3 可降低 AAA-VSMC 衰老水平。因此 NAMPT 在腹主动脉瘤发展过程中扮演重要角色, 其可通过调控 VSMC 衰老进而延缓腹主动脉瘤的发生发展。

综上, VSMC 衰老是腹主动脉瘤发生发展的

重要因素, 通过补充 NAMPT 激动剂 P7C3 可延缓 VSMC 衰老, 进一步延缓腹主动脉瘤的发生。但由于本实验主要涉及体外, 未涉及体内动物实验部分, 关于 NAMPT 如何调控衰老, 其分子机制等相关问题有待下一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Davis FM, Rateri DL, Daugherty A. Mechanisms of aortic aneurysm formation: translating preclinical studies into clinical therapies [J]. Heart, 2014, 100 (19): 1498–1505. DOI: 10.1136/heartjnl-2014-305648.
- [2] Chen HZ, Wang F, Gao P, et al. Age-associated sirtuin 1 reduction in vascular smooth muscle links vascular senescence and inflammation to abdominal aortic aneurysm [J]. Circ Res, 2016, 119 (10): 1076–1088. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308895.
- [3] Zhang CY, Zhao HM, Cai YJ, et al. Cyclic nucleotide phosphodiesterase 1C contributes to abdominal aortic aneurysm [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118 (31): e2107898118. DOI: 10.1073/pnas.2107898118.
- [4] Le Couteur DG, Lakatta EG. A vascular theory of aging [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2010, 65 (10): 1025–1027. DOI: 10.1093/gerona/gdq135.
- [5] Rajman L, Chwalek K, Sinclair DA. Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: the *in vivo* evidence [J]. Cell Metab, 2018, 27 (3): 529–547. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.02.011.
- [6] Imai S, Guarente L. NAD⁺ and sirtuins in aging and disease [J]. Trends Cell Biol, 2014, 24 (8): 464–471. DOI: 10.1016/j.tcb.2014.04.002.
- [7] Watson A, Nong ZX, Yin H, et al. Nicotinamide phosphoribosyltransferase in smooth muscle cells maintains genome integrity, resists aortic medial degeneration, and is suppressed in human thoracic aortic aneurysm disease [J]. Circ Res, 2017, 120 (12): 1889–1902. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.310022.
- [8] van der Veer E, Nong Z, O'Neil C, et al. Pre-B-cell colony-enhancing factor regulates NAD⁺-dependent protein deacetylase activity and promotes vascular smooth muscle cell maturation [J]. Circ Res, 2005, 97 (1): 25–34. DOI: 10.1161/01.RES.0000173298.38808.27.
- [9] 李开龙, 王建民, 丁涵露, 等. p21 对缺血-再灌注损伤后肾小管上皮细胞演变的影响 [J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17 (10): 606–610. DOI: 10.3760/j.issn:1003-0603.2005.10.010.
- [10] Wang G, Jacquet L, Karamariti E, et al. Origin and differentiation of vascular smooth muscle cells [J]. J Physiol, 2015, 593 (14): 3013–3030. DOI: 10.1113/JP270033.
- [11] Chu XG, Raju RP. Regulation of NAD⁺ metabolism in aging and disease [J]. Metabolism, 2022, 126: 154923. DOI: 10.1016/j.metabol.2021.154923.
- [12] Yoshida M, Satoh A, Lin JB, et al. Extracellular vesicle-contained eNAMPT delays aging and extends lifespan in mice [J]. Cell Metab, 2019, 30 (2): 329–342. e5. DOI: 10.1016/j.cmet.2019.05.015.
- [13] Pieper AA, Xie SH, Capota E, et al. Discovery of a proneurogenic, neuroprotective chemical [J]. Cell, 2010, 142 (1): 39–51. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.018.
- [14] Wang GL, Han T, Nijhawan D, et al. P7C3 neuroprotective chemicals function by activating the rate-limiting enzyme in NAD salvage [J]. Cell, 2014, 158 (6): 1324–1334. DOI: 10.1016/j.cell.2014.07.040.

(收稿日期: 2022-02-18)

关于经过广告审批后的广告中存在不规范医学名词术语未予更改的声明

依照广告审批的相关规定, 按照广告厂家的要求, 本刊刊登的新活素、血必净及佳维体广告图片和内容均按照广告审查批准文件的原件刊出, 故广告内容中“适应症”“禁忌症”未按标准医学名词术语修改为“适应证”“禁忌证”, “其它”未修改为“其他”, “成份”未修改为“成分”, 时间单位仍用汉字表示, 剂量单位“ml”未修改为“mL”, 标示数值范围的标点符号“-”未修改为“~”。特此声明!