

β -烟酰胺单核苷酸对尘肺大鼠呼吸肌疲劳的改善作用 及其线粒体相关机制

刘 薇¹, 何 君¹, 侯 玲¹, 王 涛², 季 方^{1*}

(¹南京市职业病防治院药剂科, 南京 210042; ²中国药科大学药物科学研究所新药筛选中心, 南京 210009)

摘 要 采用大鼠尘肺模型, 探讨 β -烟酰胺单核苷酸(NMN)对呼吸肌功能的改善作用及线粒体相关机制。通过气管注射石英粉尘建立大鼠慢性尘肺模型, 造模3个月后, 治疗组灌胃给予NMN 300, 150 mg/kg, 给药4周后进行各项指标检测。结果显示, 尘肺模型大鼠出现明显的呼吸异常和通气障碍, 表现为呼吸频率增加, 呼吸幅度下降($P < 0.01$), 血液pH、PaO₂和SaO₂均显著降低, 而PaCO₂显著升高($P < 0.01$), NMN给药可以明显改善模型大鼠的呼吸功能, 增加血氧饱和度。NMN可明显增强离体膈肌的收缩功能和ATP含量, 改善肌肉疲劳状态($P < 0.05$, $P < 0.01$)。尘肺大鼠膈肌线粒体膜电位显著降低($P < 0.01$), 琥珀酸脱氢酶(SDH)活力显著下降($P < 0.01$), 同时超氧化物歧化酶(SOD)活力下降、丙二醛(MDA)水平增加($P < 0.05$), 表明膈肌线粒体氧化代谢障碍和氧化应激损害, NMN对这些膈肌线粒体功能相关改变具有明显的改善。NMN可以显著上调尘肺大鼠膈肌*Sirt1*、*Pgc-1 α* 、*Nrf1*和*Tfam*等线粒体生物发生相关基因的mRNA水平。结果表明, NMN灌胃给药可以调节尘肺模型大鼠膈肌线粒体功能, 改善膈肌能量代谢, 增强膈肌收缩功能, 进而改善呼吸和通气状态, 此作用可能是通过促进膈肌线粒体生物发生而介导的。

关键词 β -烟酰胺单核苷酸; 尘肺; 呼吸肌疲劳; 线粒体

中图分类号 R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2022)05-0599-07

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20220510

引用本文 刘薇, 何君, 侯玲, 等. β -烟酰胺单核苷酸对尘肺大鼠呼吸肌疲劳的改善作用及其线粒体相关机制[J]. 中国药科大学学报, 2022, 53(5): 599–605.

Cite this article as: LIU Wei, HE Jun, HOU Ling, et al. Effect of β -nicotinamide mononucleotide on respiratory muscle fatigue in pneumoconiosis rats and its mitochondrial mechanism[J]. J China Pharm Univ, 2022, 53(5): 599–605.

Effect of β -nicotinamide mononucleotide on respiratory muscle fatigue in pneumoconiosis rats and its mitochondrial mechanism

LIU Wei¹, HE Jun¹, HOU Ling¹, WANG Tao², JI Fang^{1*}

¹Department of Pharmaceutics, Nanjing Prevention and Treatment Center for Occupational Diseases, Nanjing 210042;

²Center for New Drug Screening, Institute of Pharmaceutical Research, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract To explore the effect of β -nicotinamide mononucleotide (NMN) on respiratory muscle function and its mitochondrial related mechanism, the rat model of chronic pneumoconiosis was established by intratracheal injection of quartz dust. Three months after the model was established, the treatment group was given NMN 300 and 150 mg/kg by gavage. All indexes were detected 4 weeks after administration. The results showed that the pneumoconiosis model rats had obvious respiratory abnormalities and ventilation disorders, including the respiratory rate increase, the respiratory amplitude decrease ($P < 0.01$), the significantly decreased blood pH value, PaO₂ and SaO₂, and significantly increased PaCO₂ ($P < 0.01$). NMN could significantly improve the respiratory function and increase the blood oxygen saturation of the model rats. It could significantly enhance the contractile function and ATP content of diaphragm and improve muscle fatigue ($P < 0.05$, $P < 0.01$). In model rats, the mitochondrial membrane potential of diaphragm and activity of SDH decreased significantly ($P < 0.01$), while the activity

收稿日期 2022-04-03 *** 通信作者** Tel: 025-85411810 E-mail: 1533407149@qq.com

基金项目 南京市卫生科技发展资助项目(No. YKK21188)

of SOD decreased and the level of MDA increased ($P < 0.05$), however, NMN could significantly improve oxidative stress and mitochondrial function of diaphragm. NMN could significantly up-regulate the mRNA levels of mitochondrial biogenesis related genes such as *Sirt1*, *Pgc-1 α* , *Nrf1* and *Tfam* in the diaphragm. In conclusion, this experiment showed that NMN intragastric administration can regulate the function of diaphragm mitochondria in pneumoconiosis model rats, improve diaphragm energy metabolism, enhance diaphragm contraction function, and then improve the state of respiration and ventilation, which may be mediated by promoting the biogenesis of diaphragm mitochondria.

Key words β -nicotinamide mononucleotide; pneumoconiosis; respiratory muscle fatigue; mitochondrion

This study was supported by the Project of Nanjing Health Science and Technology Development (No. YKK21188)

尘肺病是我国职业病患者中最大的群体,尘肺病一旦发生,呈进行性发展,严重降低患者劳动能力和生活质量,且给国家造成巨大的经济损失,迄今国内外均没有针对尘肺病纤维化有效的治疗药物和措施^[1]。临床研究显示,包括尘肺在内的慢性阻塞性肺疾病(COPD)患者由于气道阻力持续增加,并长期处于低氧血症、二氧化碳滞留及全身营养不良的状态下,容易发生呼吸肌疲劳(inspiratory muscle fatigue/weakness),不能产生及维持一定的肌力,进而与原有的呼吸障碍形成恶性循环,最终可导致呼吸衰竭^[2-3]。

呼吸肌疲劳的治疗,目前主要有机械通气、药物、呼吸肌训练等。茶碱类、咖啡因等药物有增强呼吸肌收缩力的作用,但缺乏确切的临床疗效数据,且长期应用不良反应发生率较高;此外,机械辅助通气属于短期对症治疗,长期应用的难度很大且不良反应发生率较高^[4]。

以膈肌为主的呼吸肌属于骨骼肌,是高能量需求组织,也是机体中线粒体含量最高的组织之一。在线粒体的呼吸功能方面,烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+ ,辅酶I)浓度对肌肉细胞线粒体ATP合成及氧化还原反应能力具有直接调控作用,在维持线粒体及细胞正常功能中有着重要的作用^[5]。 β -烟酰胺单核苷酸(NMN)是 NAD^+ 最直接的前体,补充NMN可以增加体内 NAD^+ 含量并且能改善线粒体功能, NAD^+ 补充策略在多种疾病中都发挥了有益作用^[6]。本研究采用大鼠尘肺模型,考察NMN对呼吸肌疲劳的改善作用,并探讨线粒体功能相关机制。

1 材料

1.1 试剂与试药

β -烟酰胺单核苷酸(NMN,纯度大于95%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);石英粉(粒径小于5 μm ,江苏联瑞新材料股份有限公司),采用生理盐水制备成50 mg/mL悬液供造模用。无菌生理盐水(辰欣药业股份有限公司);琥珀酸脱氢酶(SDH)、丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)等生化试剂盒(南京建成生物工程研究所)。线粒体分离试剂盒和线粒体膜电位(JC-1)检测试剂(碧云天生物技术有限公司);组织ATP检测试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司);其余试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器

BS210S精密电子天平(德国Sartorius公司);TL系列中高通量组织细胞研磨破碎仪(北京鼎昊源科技有限公司);BL-420F生物机能系统(成都泰盟软件有限公司);i-STAT血气分析仪及CG4+芯片(美国雅培床旁监护有限公司);VarioskanLux多功能酶标仪,Applied Biosystems StepOne™实时荧光定量PCR仪(美国Thermo公司)。

1.3 动物

SPF级SD大鼠,180~220 g,雄性,杭州医学院实验动物中心,生产许可证号SCXK(浙)2019-0002。大鼠饲养于中国药科大学动物中心[动物使用许可证号:SYXK(苏)2021-0011],实验室温度(24 ± 2) $^{\circ}\text{C}$;相对湿度60%~80%;每小时空气交换次数10~15次;正常光照周期(12 h光照/12 h黑暗),每笼不超过5只。所有动物实验均符合中国药科大学动物伦理委员会标准。

2 方 法

2.1 模型建立

参考《职业卫生标准制定指南》及文献方法,将研磨过的石英粉(99% 粉尘颗粒直径≤5 μm)用生理盐水制备成 50 mg/mL 混悬液,供造模用。

SD 大鼠麻醉卧位固定,于颈部切口,分离肌肉,暴露气管,将石英粉尘混悬液 1 mL 经气管慢速注入(10 s),注射完毕竖立大鼠,保持大鼠直立位,并按摩双肺 10 次,使粉尘进入肺内并均匀分布。注射完毕,缝合颈部肌肉和皮肤,标记并分笼饲养。根据前期实验结果,采用本方法约在造模后 3 个月左右出现明显的肺纤维化及呼吸状态改变,肺组织病理检查可见中度的肺泡炎(HE 染色)和肺纤维化(Masson 染色),接近尘肺病变特征^[7]。

2.2 动物分组及给药

取上述造模大鼠 48 只,根据体重随机分为以下 3 组:模型组(生理盐水)、NMN 300 mg/kg、NMN 150 mg/kg;另取 16 只正常大鼠作为空白对照组。大鼠灌胃给药,每天 1 次,每周给药 6 d,连续给药 4 周,给药体积均为 1 mL/kg。

2.3 检测指标

2.3.1 一般状况观察及体重测定 每天给药前,观察大鼠毛色、行为、运动等一般状态,重点观察呼吸系统的相关症状,包括:呼吸困难,腹式呼吸,喘息,呼吸暂停,紫绀,呼吸急促,鼻分泌物等。每周测定体重 1 次,并根据体重调整给药量。

2.3.2 呼吸功能测定 于给药 4 周后,进行呼吸功能测定。大鼠采用戊巴比妥钠(30 mg/kg)注射麻醉,仰卧固定,在剑突连线于肌力换能器,并连于生物机能实验系统上,用张力 4.9×10^{-2} N 定标,记录呼吸曲线,测算呼吸频率和呼吸幅度(生物机能软件根据呼吸波峰谷值计算平均张力,以平均张力表示呼吸幅度)。

2.3.3 血气分析 自颈动脉取新鲜抗凝全血,采用血气分析仪检测动脉血气参数:pH、氧分压(PaO₂)、二氧化碳分压(PaCO₂)和血氧饱和度(SaO₂)。

2.3.4 膈肌收缩功能及疲劳实验 每组取大鼠 8 只,断头处死,开胸速取膈肌,包括中心腱及部分肋骨,置于充满 Krebs's 液(NaCl 135 mmol/L, CaCl₂ 2.5 mmol/L, MgSO₄ 1 mmol/L, NaH₂PO₄ 1 mmol/L, NaHCO₃ 15 mmol/L, KCl 5 mmol/L, 葡萄糖 11 mmol/L, pH 7.3 ~ 7.4)的玻璃平皿中,持续通入 95% O₂和 5% CO₂混合气体。每块膈肌沿中心腱分成两半,右半膈肌去除肋骨中心腱脂肪及结缔组织,用冷磷酸缓冲液(PBS)洗去血液,滤纸吸干称重备生化测定用。左半膈肌中部剪出 1 条 0.4 cm × 1.5 cm 的肌条,参考文献方法进行膈肌张力及疲劳测定,记录张力-频率曲线,并计算疲劳指数(fatigue index, FI)^[8]。

2.3.5 膈肌线粒体功能检测 每组取大鼠 8 只新鲜膈肌组织,常规制备组织匀浆,采用线粒体分离试剂盒,提取纯化膈肌线粒体,分别采用相应试剂盒检测线粒体膜电位(ΔΨ_m, JC-1 染色)和 ATP 水平。

2.3.6 膈肌氧化应激指标检测 每组取大鼠 8 只冻存膈肌组织,常规制备组织匀浆,取上清液检测超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量及琥珀酸脱氢酶(SDH)活性变化,考察膈肌组织的氧化应激状态。

2.3.7 膈肌线粒体生物发生信号分子表达 每组取大鼠 8 只冻存膈肌组织,采用 Real time PCR 检测线粒体生物发生信号分子的 mRNA 表达水平,包括:沉默信息调节因子 1(*Sirt1*),过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1α(*Pgc-1α*),核呼吸因子 1(*Nrf1*),线粒体转录因子 A(*Tfam*)。引物序列见表 1。

Table 1 Primer sequences of real time PCR

Gene	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (5'→3')
<i>Sirt1</i>	GCTGACGACTTCGACGACG	TCGGTCAACAGGAGGTGTCT
<i>Pgc-1α</i>	TATGGAGTGACATAGAGTGTGCT	CCACTTCAATCCACCCAGAAAG
<i>Tfam</i>	GGAATGTGGAGCGTGCTAAAA	ACAAGACTGATAGACGAGGGG
<i>Nrf1</i>	AGCACGGAGTGACCCAAAC	TGTACGTGGCTACATGGACCT
<i>β-actin</i>	CATTGCTGACAGGATGCAGAAGG	TGCTGGAAGGTGCACAGTGAGG

Real time PCR 检测: Trizol 一步法提取组织总 RNA, 按照逆转录试剂盒说明书, 37 °C 孵育 15 min, 85 °C 5 s, 4 °C 2 min, 获得的 cDNA 样品 -80 °C 保存。取 96 孔 PCR 板, 依次加入下列成分(总体积 20 μ L): EvaGreensupermix 10 μ L, 混合引物(10 μ mol/L) 1 μ L, cDNA 1 μ L, 超纯水 8 μ L。涡旋混匀, 1 500 r/min, 离心 2 min, 按下列循环条件反应: 95 °C, 30 s; 95 °C, 5 s/60 °C, 10 s, 40 个循环; 65 °C ~ 95 °C, 10 min。

2.4 数据处理与统计方法

计量数据均以平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采

用 Microsoft Excel 2010 统计软件, 组间比较采用 student-*t* 检验考察显著性, 以 $P < 0.05$ 为统计学显著性。

3 结果

3.1 一般状况观察及体重测定

给药期间各组大鼠精神状态较好, 模型组部分大鼠可见呼吸频率有所增加, 其他未见明显异常。与正常对照组相比, 模型大鼠体重接近, NMN 给药对大鼠体重亦未见明显影响(表 2)。

Table 2 Effect of β -nicotinamide mononucleotide (NMN) (ig) on body weight of pneumoconiosis rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Group	Dosage/(mg/kg)	Body weight/g				
		Before dosing	1	2	3	4 week
Control		439.7 \pm 25.5	455.0 \pm 23.1	472.7 \pm 16.2	482.1 \pm 18.4	492.7 \pm 17.3
Model		427.7 \pm 28.8	440.9 \pm 15.4	453.9 \pm 15.6	469.3 \pm 13.9	480.9 \pm 13.4
NMN	300	428.6 \pm 27.2	451.9 \pm 21.7	458.4 \pm 22.4	472.6 \pm 26.1	483.6 \pm 32.7
	150	428.9 \pm 21.6	447.9 \pm 24.0	453.9 \pm 23.6	465.6 \pm 24.0	478.7 \pm 25.8

3.2 呼吸功能测定

与正常对照组相比, 模型大鼠呼吸状态出现明显改变, 呼吸频率增加而呼吸幅度下降($P < 0.01$), 提示呼吸功能的显著改变。NMN 给药可以明显改善模型大鼠的呼吸状态, 300 mg/kg 组呼吸频率和呼吸幅度均有明显改善($P < 0.05$)(表 3)。

3.3 血气分析

如表 4 所示, 模型组大鼠血液 pH、PaO₂ 和 SaO₂ 均显著降低, 而 PaCO₂ 显著升高($P < 0.01$), 表明动物出现明显的呼吸通气障碍。NMN 高、低剂量组

Table 3 Effects of NMN (ig) on respiratory parameters of pneumoconiosis rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Group	Dosage/(mg/kg)	Respiratory rate/(times/min)	Respiratory amplitude/($\times 10^{-2}$ N)
Control		103.0 \pm 8.2	3.4 \pm 0.2
Model		119.6 \pm 11.8**	2.8 \pm 0.3**
NMN	300	109.4 \pm 4.3 [#]	3.1 \pm 0.1 [#]
	150	112.6 \pm 4.4	3.1 \pm 0.1 [#]

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group

可明显增加模型大鼠 PaO₂ 和 SaO₂ ($P < 0.05$), 改善呼吸通气功能。

Table 4 Effect of NMN (ig) on blood gas composition of pneumoconiosis rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Group	Dosage/(mg/kg)	pH	PaCO ₂ /mmHg	PaO ₂ /mmHg	SaO ₂ /%
Control group		7.3 \pm 0.2	39.8 \pm 2.6	89.3 \pm 3.9	94.8 \pm 3.5
Model group		6.8 \pm 0.2**	47.4 \pm 3.5**	81.7 \pm 3.4**	86.0 \pm 3.9**
NMN	300	7.1 \pm 0.2 ^{##}	42.3 \pm 4.4 [#]	86.7 \pm 3.3 [#]	91.0 \pm 2.9 [#]
	150	7.0 \pm 0.2	44.4 \pm 3.5	85.7 \pm 3.0 [#]	90.5 \pm 2.5 [#]

PaCO₂: Partial pressure of carbon dioxide in artery; PaO₂: Partial pressure of oxygen in artery; SaO₂: Oxygen saturation; 1 mmHg = 133.3 Pa

** $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ vs model group

3.4 膈肌收缩功能及疲劳实验

分别记录 10, 20, 40, 60, 100 Hz 刺激下的膈肌收缩力, 并采用肌肉横截面积(CSA)进行数据校正, 绘出张力-频率曲线(图 1-A)。然后以 50 Hz 刺激频率, 持续刺激膈肌条 2 min 作疲劳实验, 求得膈

肌在重复刺激后收缩力占刺激开始时的百分比, 即疲劳指数(图 1-B)。与正常大鼠相比, 尘肺大鼠膈肌的收缩力和疲劳指数均显著下降($P < 0.01$), 表明膈肌功能减弱, NMN 可明显改善模型大鼠膈肌的收缩功能和疲劳指数($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

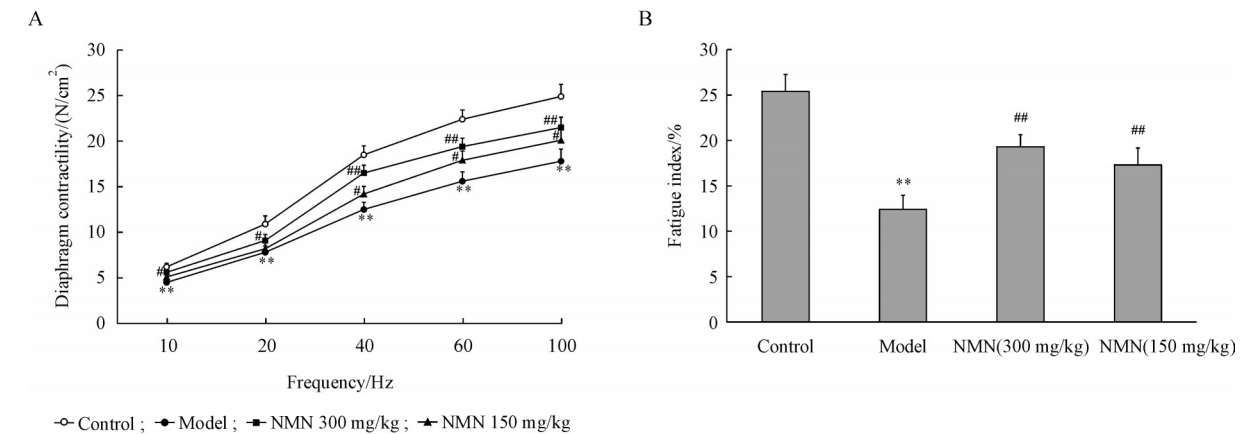


Figure 1 Effects of NMN (ig) on contractility (A) and fatigue index (B) of isolated diaphragm in pneumoconiosis rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs model group

3.5 膈肌线粒体功能检测

与正常大鼠相比,尘肺模型大鼠膈肌 ATP 含量和线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)均显著降低($P < 0.01$),提示膈肌出现能量代谢障碍和线粒体功能异常,NMN 300 mg/kg 具有明显改善作用($P < 0.05$),而 150 mg/kg 组的病变也可见一定的减轻(图 2)。

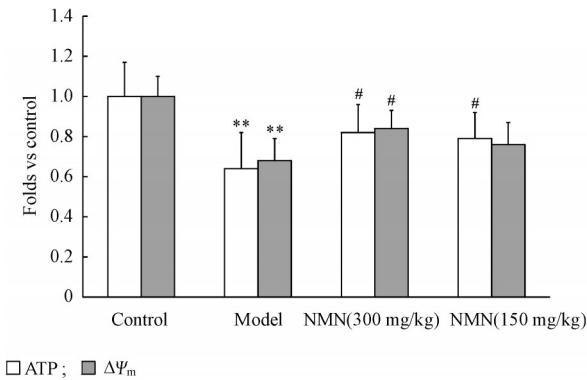


Figure 2 Effects of NMN (ig) on ATP content and mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) of diaphragm in pneumoconiosis rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs model group

3.6 膈肌氧化应激指标检测

与正常对照组相比,模型组大鼠膈肌琥珀酸脱氢酶(SDH)活力显著下降($P < 0.01$),提示线粒体氧化代谢功能障碍。同时超氧化物歧化酶(SOD)活力下降、丙二醛(MDA)水平增加($P < 0.05$),表明膈肌组织出现明显的氧化应激损害。NMN 灌胃给药可以显著增加模型组大鼠膈肌 SDH 和 SOD 活力,同时降低 MDA 水平(表 5)。

Table 5 Effects of NMN (ig) on the levels of succinate dehydrogenase (SDH), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) of diaphragm in pneumoconiosis rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Group	Dosage/(mg/kg)	MDA/(nmol/mg prot)	SOD/(U/mg prot)	SDH/(U/mg prot)
Control		6.87 \pm 0.97	87.3 \pm 7.3	35.6 \pm 3.2
Model		9.34 \pm 1.12*	63.8 \pm 7.1*	20.3 \pm 2.7**
NMN	300	7.87 \pm 0.98#	79.3 \pm 6.3#	30.4 \pm 2.8#
	150	8.12 \pm 0.94	75.1 \pm 6.9	28.8 \pm 2.5#

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group

3.7 膈肌线粒体生物发生信号分子表达

与正常大鼠相比,尘肺模型大鼠膈肌组织 *Sirt1*、*Pgc-1 α* 、*Nrf1* 和 *Tfam* 等线粒体生物发生相关基因的 mRNA 水平均显著下调($P < 0.01$),NMN 高、低剂量组灌胃给药可以显著上调模型组大鼠膈肌中线粒体生物发生相关基因表达($P < 0.05$, $P < 0.01$)(图 3)。

4 讨论

尘肺是伴有进展性和实质性肺组织损害的严重肺部疾病,以膈肌为主的呼吸肌是尘肺长期呼吸障碍状态下的易损器官。

本研究采用的尘肺模型出现明显的呼吸状态改变(呼吸频率增加,呼吸幅度下降),同时呼吸通气功能也显著抑制(血液 pH、PaO₂ 和 SaO₂ 均显著降低,而 PaCO₂ 显著升高),与既往研究一致^[9]。NMN 灌胃给药可以改善尘肺大鼠呼吸频率和呼吸幅度,同时显著纠正血气成分的变化,由此表明本实验条

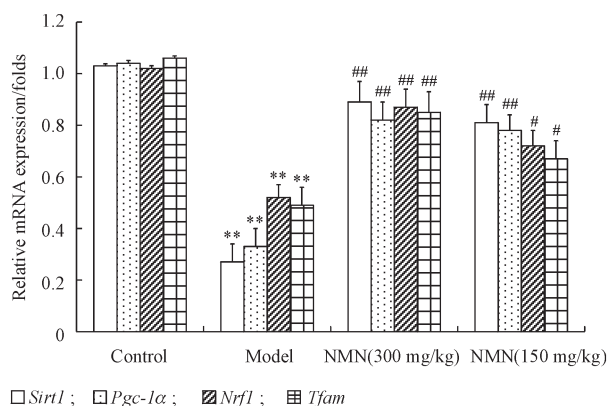


Figure 3 Effects of NMN (ig) on mRNA expression levels of mitochondrial biogenesis related genes of diaphragm in pneumoconiosis rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs model group

件下NMN灌胃给药对于尘肺大鼠呼吸功能具有明确的改善作用。同时,NMN可显著改善尘肺大鼠膈肌的收缩力和疲劳指数,并升高膈肌组织ATP水平,这可能是其改善呼吸功能的重要基础^[10]。

多项研究发现线粒体异常可造成慢性阻塞性肺病患者骨骼肌功能障碍,包括呼吸肌疲劳和外周骨骼肌萎缩^[11-13]。本实验中尘肺大鼠膈肌线粒体膜电位降低,同时SDH活力显著下降,提示线粒体氧化代谢功能障碍。同时SOD活力下降、MDA水平增加,表明膈肌组织出现明显的氧化应激损害。NMN灌胃给药对于模型大鼠线粒体功能具有明显的改善作用,同时减轻氧化应激反应,由此表明其改善呼吸肌疲劳的作用机制可能与线粒体调节作用相关^[14-15]。

骨骼肌可通过线粒体生物发生(mitochondrial biogenesis)调节线粒体数量和功能,进而适应组织能量代谢的变化^[16]。SIRT1是一种NAD⁺依赖的脱乙酰化酶,在细胞能量感知和线粒体生物发生调节过程中发挥重要作用,其下游蛋白即包括PGC-1 α ,而PGC-1 α 是目前已知调控线粒体生物发生最为关键的转录因子,NRF1和TFAM是线粒体重要功能蛋白,其表达量可以反映线粒体生物发生的水平^[17-18]。本实验中,NMN给药可以显著上调模型组大鼠膈肌中线粒体生物发生相关基因表达,此作用与NMN其他相关研究报道一致,这可能是NMN调节膈肌线粒体功能,改善呼吸肌疲劳的潜在机制^[19-20]。

综上,本研究结合当前尘肺病临床防治需求

和NMN药理作用特点,通过大鼠尘肺模型,考察NMN对呼吸肌疲劳的改善作用及相关机制。结果表明,NMN灌胃给药可以调节尘肺模型大鼠膈肌线粒体功能,改善膈肌能量代谢,增强膈肌收缩功能,进而改善呼吸和通气状态,此作用可能通过SIRT1/PGC-1 α /NRF1、TFAM途径促进膈肌线粒体生物发生而介导。多项研究表明,增强线粒体功能是运动锻炼改善骨骼肌功能的重要机制^[21-23],基于本研究结果,NMN与呼吸肌训练联合对尘肺病呼吸肌疲劳将具有潜在的协同作用。此外,鉴于尘肺病的主要病因是肺组织持续和进展性的炎症、纤维化等病变,后续研究可以关注NMN对尘肺模型肺部组织病变的影响,同时探索NMN与汉防己甲素等抗肺纤维化药物联合应用,考察NMN改善肺纤维化方面的潜力,进而为其临床应用提供更充分的实验依据。

References

- [1] Occupational Lung Disease Group, Labor Health and Occupational Disease Branch, Chinese Preventive Medical Association. Consensus of Chinese experts on pneumoconiosis treatment (2018) [J]. *J Environ Occup Med* (环境与职业医学), 2018, **35**(8):677-689.
- [2] Yan P, Ye LB, Chen WQ. Progress in therapeutic targets and development of drugs against chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2021, **52**(2):144-155.
- [3] Langer D, Charusisin N, Jácome C, et al. Efficacy of a novel method for inspiratory muscle training in people with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Phys Ther*, 2015, **95**(9):1264-1273.
- [4] Yin PY, Chen FQ. Research progress of TCM treatment of ventilator fatigue in acute phase of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Mod J Integr Tradit Chin West Med* (现代中西医结合杂志), 2021, **30**(35):3987-3990.
- [5] Romani M, Sorrentino V, Oh CM, et al. NADPLA⁺ boosting reduces age-associated amyloidosis and restores mitochondrial homeostasis in muscle [J]. *Cell Rep*, 2021, **34**(3):108660.
- [6] She J, Sheng R, Qin ZH. Pharmacology and potential implications of nicotinamide adenine dinucleotide precursors [J]. *Ageing Dis*, 2021, **12**(8):1879-1897.
- [7] Liu W, Jiang SF, Tu L, et al. Mechanism of JinShuiBao capsule in ameliorating rat pneumoconiosis model [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2018, **49**(4):476-482.
- [8] Jiao GY, Li CF, Tan ST, et al. Effect of end-expiratory positive pressure on contractile function and ultrastructure of diaphragm

- [J]. *Med J Chin PLA* (解放军医学杂志), 2008, **33**(6): 676-679.
- [9] Wang J, Jiang SF, Hu WY, *et al.* Pharmacodynamic study on Jinshuibao Capsules on rat pneumoconiosis model [J]. *Occup Health* (职业与健康), 2018, **34**(13): 1772-1776.
- [10] Uddin GM, Youngson NA, Sinclair DA, *et al.* Head to head comparison of short-term treatment with the NAD(+) precursor nicotinamide mononucleotide (NMN) and 6 weeks of exercise in obese female mice [J]. *Front Pharmacol*, 2016, **7**: 258.
- [11] Hu T, Zhou XY, Xue D, *et al.* Protective effect of modified sijunzi decoction against diaphragmatic mitochondria injury of mice with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med* (广州中医药大学学报), 2020, **37**(3): 523-527.
- [12] Ye B, Li FX. Clinical studies on the functions of mitochondrial function of intercostal muscles in patients with chronic obstruction pulmonary disease [J]. *Chin J Lung Dis Electron Ed* (中华肺部疾病杂志 电子版), 2018, **11**(5): 544-550.
- [13] Puente-Maestu L, Pérez-Parra J, Godoy R, *et al.* Abnormal mitochondrial function in locomotor and respiratory muscles of COPD patients [J]. *Eur Respir J*, 2009, **33**(5): 1045-1052.
- [14] Davila A, Liu L, Chellappa K, *et al.* Nicotinamide adenine dinucleotide is transported into mammalian mitochondria [J]. *eLife*, 2018, **7**: e33246.
- [15] Fletcher RS, Ratajczak J, Doig CL, *et al.* Nicotinamide riboside kinases display redundancy in mediating nicotinamide mononucleotide and nicotinamide riboside metabolism in skeletal muscle cells [J]. *Mol Metab*, 2017, **6**(8): 819-832.
- [16] Xue CL, Zhuge YL, Zeng JX. Improved effect of curcumin on mitochondrial dysfunction induced by high glucose in L6 cells [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2016, **47**(3): 342-347.
- [17] Taylor DF, Bishop DJ. Transcription factor movement and exercise-induced mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: current knowledge and future perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, **23**(3): 1517.
- [18] Sligar J, DeBruin DA, Saner NJ, *et al.* The importance of mitochondrial quality control for maintaining skeletal muscle function across health span [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2022, **322**(3): C461-C467.
- [19] Huang RX, Tao J. Nicotinamide mononucleotide attenuates glucocorticoid-induced osteogenic inhibition by regulating the SIRT1/PGC-1 α signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2020, **22**(1): 145-154.
- [20] Rajabi M, Vafae MS, Hosseini L, *et al.* Pretreatment with nicotinamide mononucleotide increases the effect of ischaemic post-conditioning on cardioprotection and mitochondrial function following *ex vivo* myocardial reperfusion injury in aged rats [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2022, **49**(4): 474-482.
- [21] Parry HA, Roberts MD, Kavazis AN. Human skeletal muscle mitochondrial adaptations following resistance exercise training [J]. *Int J Sports Med*, 2020, **41**(6): 349-359.
- [22] Philp AM, Saner NJ, Lazarou M, *et al.* The influence of aerobic exercise on mitochondrial quality control in skeletal muscle [J]. *J Physiol*, 2021, **599**(14): 3463-3476.
- [23] Wahwah N, Kras KA, Roust LR, *et al.* Subpopulation-specific differences in skeletal muscle mitochondria in humans with obesity: insights from studies employing acute nutritional and exercise stimuli [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2020, **318**(4): E538-E553.