

烟酰胺磷酸核糖转移酶在扩张型心肌病中的 表达及机制初探*

窦青瑜¹, 周斌², 彭瑛³, 张奎⁴, 代小惠³, 宋雅平², 饶莉^{3△}

1. 四川大学华西医院老年医学中心(成都 610041); 2. 四川大学华西第二医院分子与转化实验室(成都 610041);
3. 四川大学华西医院心内科(成都 610041); 4. 四川大学华西基础与法医学院法医系(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨烟酰胺磷酸核糖转移酶(nicotinamide phosphoribosyltransferase, NAMPT)在扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)中的表达及其与DCM发生发展的关系。**方法** 收集2010~2013年期间经四川大学华西医院确诊的131例中国汉族DCM患者外周血,随机选择在四川大学华西医院体检中心体检的中国汉族健康人137例作为对照组。利用ELISA和Real time-PCR检测DCM组及对照组各样本NAMPT血浆蛋白及细胞内NAMPT mRNA表达水平。同时构建细胞内NAMPT过表达及空质粒转染大鼠心肌细胞系H9C2细胞,通过WST-1、细胞周期及流式细胞术检测NAMPT对H9C2细胞增殖、H₂O₂诱导氧化应激前后细胞凋亡的影响。**结果** DCM组血浆细胞外NAMPT蛋白水平高于对照组($P < 0.05$),且不同心衰程度及左室大小之间患者血浆NAMPT蛋白水平差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。DCM组细胞内NAMPT mRNA水平低于对照组($P < 0.05$)。体外实验中,转染NAMPT过表达质粒后H9C2细胞增殖能力较空质粒组显著增强,S期比例增加。直接转染或转染后用H₂O₂诱导氧化应激前后,NAMPT过表达组H9C2存活细胞比例高于空质粒组,晚期凋亡及坏死细胞比例降低。**结论** 细胞外NAMPT血浆蛋白水平的高表达与外周血细胞内NAMPT mRNA水平的低表达是DCM的生物学特征之一。细胞内NAMPT降低可能是DCM发病机制中的重要因素。

【关键词】 NAMPT DCM H9C2 凋亡 增殖

Expression and Initial Mechanism of Nicotinamide Phosphoribosyltransferase (NAMPT) in Dilated Cardiomyopathy

DOU Qing-yu¹, ZHOU Bin², PEN Ying³, ZHANG Kui⁴, DAI Xiao-hui³, SONG Ya-ping², RAO Li^{3△}. 1. Geratology Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Laboratory of Molecular Translational Medicine, West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Department of Cardiology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. Department of Forensic Pathology, West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: lrlz1989@163.com

【Abstract】 **Objective** To explore nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) expression in dilated cardiomyopathy (DCM) and its initial mechanism in the pathogenesis of DCM. **Methods** The peripheral blood of 131 Chinese patients with DCM confirmed by West China Hospital of Sichuan University during 2010-2013 were collected. 137 cases of Chinese Han healthy persons who were randomly selected in the physical examination center of West China Hospital of Sichuan University as the control group. The serum NAMPT levels were measured by ELISA. The NAMPT mRNA levels were determined by RT-PCR. Plasmids over-expressing NAMPT and empty vector were constructed and transfected into H9C2 cells. By using WST-1 technique, cell cycle detection and flow cytometry measurements, the effect of NAMPT on H9C2 proliferation and apoptosis was studied. **Results** Serum NAMPT level was significantly higher in the DCM group compared with that of controls and positively associated with the grade of heart failure and the size of left ventricular in DCM patients. The NAMPT mRNA level was significantly lower in the DCM group than that in the control group. The plasmid over-expressing NAMPT promoted H9C2 cells proliferation and increased the proportion of S phase cells compared with that of empty plasmid group. Over-expressing NAMPT increased proportion of the viable cells and reduced the proportion of late apoptotic and necrotic cells than empty plasmid group in the basic situation or after being treated with different concentrations of H₂O₂. **Conclusion** The high expression of plasma protein level of NAMPT while low expression of NAMPT

* 国家自然科学基金(No. 81270289)资助

△ 通信作者, E-mail: lrlz1989@163.com

mRNA in peripheral blood cells, contributes one of the biological characteristics to DCM. The decrease of intracellular NAMPT may be an important factor in the pathogenesis of DCM.

【Key words】 NAMPT DCM H9C2 Apoptosis Proliferation

扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)是一种原因不明的心肌疾病,临床表现以心室扩大及心室收缩功能下降为主,常伴房性或室性心律失常,是中、青年心力衰竭的常见病因。烟酰胺磷酸核糖转移酶(nicotinamide phosphoribosyltransferase, NAMPT)是合成烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)的关键限速酶^[1]。NAMPT以两种形式存在于体内,分别为细胞内 NAMPT(iNAMPT)形式和细胞外 NAMPT(eNAMPT)形式^[2]。iNAMPT主要作为 NAD 补救合成途径的限速酶而发挥其生物学功能,调节 NAD 依赖的蛋白质如沉默信息调节因子 1(sirtuin-1, SIRT1)参与了心肌发育、能量代谢、生存和死亡等重要的生理过程^[3];而 eNAMPT 作为细胞因子参与各种炎症性疾病的发生进展^[4]。我们前期研究也已发现 NAMPT 基因 SNP 位点 rs9034 和 rs2505568 与中国汉族人群 DCM 的发病及预后均有相关性,提示 NAMPT 在 DCM 的发生发展中扮演了重要角色^[5]。

本研究拟通过 ELISA、Real time-PCR 检测 DCM 患者和对照组外周血 NAMPT 蛋白及 mRNA 表达,结合临床特征分析,分析 eNAMPT 与 DCM 的关系;并构建 NAMPT 过表达质粒转染大鼠心肌细胞系 H9C2 细胞,研究 iNAMPT 对 H9C2 细胞增殖、凋亡的影响以及在氧化应激中的角色,分别探讨了细胞内、外 NAMPT 与 DCM 发生发展的关系。

1 材料与方法

1.1 病例及标本收集

DCM 组:2010~2013 年期间经四川大学华西医院确诊的中国汉族 DCM 患者 131 例,平均(63.49±12.96)岁。DCM 诊断依据:2006 年美国心脏病协会制定的诊断标准以及 2007 年中华医学会心血管学会和中华心肌病诊断与治疗建议工作组共同颁布的《心肌病诊断与治疗标准》。心功能评估采用美国纽约心脏病协会(New York Heart Association, NYHA)心功能分级标准,其中 II/III 级 78 例,IV 级 53 例。对照组:随机选择四川大学华西医院体检中心体检的中国汉族健康人 137 例,平均(63.12±10.28)岁。DCM 患者于入院次日凌晨

静息状态下取肘静脉血送检,采用罗氏 Cobas E602 电化学发光分析仪检测 B 型-钠尿肽(BNP)。

收集 DCM 患者及对照组新鲜外周血 2 mL 于肝素钠抗凝管中,置于离心机 1 600 r/min,离心 10 min。吸取最上层为淡黄透明的血清层,于 -80 °C 保存,以备 ELISA 使用;吸取中间层即外周血单个核细胞层加入事先置有 Trizol 试剂 DEPC 处理后的离心管中,提取 RNA,以备 Real time-PCR 检测。

本研究遵循的程序符合本院人体试验委员会所制定的伦理学标准,得到该委员会批准,并与受试者签署临床研究知情同意书。

1.2 试剂

NAMPT ELISA 试剂盒购自 USCNLIFE 公司,逆转录试剂盒购自 Bioneer 公司, FastStart Universal SYBR Green Master 购自 Roche 公司, Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司, H9C2 细胞株及 NAMPT 过表达质粒 NAMPT-pcDNATM 3.1(+) 和 pcDNATM 3.1(+) 空质粒由四川大学华西第二医院分子与转化实验室馈赠,细胞周期检测试剂盒购自凯基生物, WST-1 细胞增殖检测试剂盒购自碧云天生物试剂公司, 二甲基亚砜(DMSO)购自 Sigma 公司, 胰酶、DMEM 高糖培养基购自 HyClone 公司, 胎牛血清购自 ThermoFisher 公司, 无内毒素质粒大提试剂盒购自天根生化科技有限公司, Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒购自贝博公司, XtremeGENE HP DNA 转染试剂购自 Roche 公司, 3% H₂O₂ 溶液购自成都市科龙化工试剂厂。

1.3 实验方法

1.3.1 血清 NAMPT 蛋白检测 采用 ELISA 测定 DCM 组和对照组血清 NAMPT 的水平,操作步骤严格按说明书进行。采用酶标仪(美国 BIORAD550)测量吸光度值,选定波长为 450nm。

1.3.2 Real time-PCR 检测 NAMPT 基因 mRNA 水平 分别检测 40 例 DCM 患者及 40 例健康对照者外周血白细胞内 NAMPT mRNA 表达水平, DCM 组和对照组外周血提取 RNA, 逆转录成 cDNA, 然后进行 NAMPT 基因的荧光定量检测, H-Actin 作为内参照, PubMed 网站设计引物序列如下: NAMPT-F: 5'-AAGAGACTGCTGGCATA

GGA-3', NAMPT-R: 5'-ACCACAGATACAGGC ACTGA-3', H-Actin-F: 5'-TGACGTGGACATC CGCAAAG-3', H-Actin-R: 5'-CTGGAAGGTGG ACAGCGAGG-3',由上海生工公司合成。RT-PCR 结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量。

1.3.3 细胞培养及质粒转染 H9C2 细胞用含 10% 胎牛血清和 1% 抗生素的 DMEM 高糖培养基培养于 37 °C、体积分数 5% CO₂ 条件下。H9C2 细胞按每孔 2.5×10^5 数量接种于 24 孔培养板中,次日细胞长至 80% 左右时,按照 X-treme GENE HP DNA 转染试剂说明,将 0.5 μg NAMPT-pcDNATM 3.1(+)质粒加入 50 μL 无血清培养基中;以 1:1 加入 0.5 μL 转染试剂,对照组(空质粒组)用空质粒 pcDNATM 3.1(+)同剂量转染,转染 48 h 后提取细胞总 RNA,通过 RT-PCR 检测 NAMPT 的表达情况,方法同 1.3.2。

1.3.4 WST-1 法检测细胞增殖 H9C2 细胞按每孔 4×10^4 数量接种于 96 孔培养板中,次日将 0.1 μg NAMPT-pcDNATM 3.1(+)质粒加入 10 μL 无血清培养基中;以 1:1 的比例加入 0.1 μL 转染试剂,对照组用空质粒同剂量转染,置于 37 °C,体积分数 5% CO₂ 培养 24 h、48 h、72 h 及 96 h 后每孔加入 10 μL WST-1 溶液,细胞培养箱中继续孵育 2.5 h,随后置 96 孔板于摇床上摇动 1 min,在 450 nm 测定吸光度,以 690 nm 作为参考波长。同一样本设 5 个复孔,共行 3 次独立实验。

1.3.5 细胞周期检测 H9C2 细胞按每孔 5×10^5 数量接种于 12 孔培养板中,次日将 1 μg NAMPT-pcDNATM 3.1(+)质粒加入 100 μL 无血清培养基中;以 1:1 的比例加入 1 μL 转染试剂,对照组用空质粒同剂量转染,置于 37 °C,体积分数 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养,转染后 24 h 及 48 h 收集细胞,用 PBS 洗涤细胞并调整细胞浓度为 1×10^6 mL⁻¹,70% 乙醇固定,4 °C 保存过夜,染色前用 PBS 洗去固定液,加入 400 μL PI 染色混匀,4 °C 避光 30 min, FACS Aria Cell Sorter 流式细胞仪记录激发波 488 nm 处红色荧光。

1.3.6 Annexin V-FITC/PI 双染法检测 H₂O₂ 诱导氧化应激的细胞凋亡 利用 12 孔板将 NAMPT-pcDNATM 3.1(+)质粒及空质粒转染 H9C2 细胞(方法同前),分别检测转染后 24 h 及 48 h 基础凋亡情况;利用 12 孔板将 NAMPT-pcDNATM 3.1(+)质粒及空质粒转染 H9C2 细胞(方法同前),转染后 24 h 后加入 200 μmol/L 及 400 μmol/L

H₂O₂,继续培养 24 h 及 48 h 后收细胞。各组细胞以结合缓冲液重悬,调节细胞浓度到 1×10^6 mL⁻¹,加入 5 μL Annexin V 和 10 μL PI,避光反应 10 min;1 h 内上流式细胞仪进行检测分析,FL1 通道检测 Annexin V-FITC 绿色荧光,FL2 通道检测 PI 红色荧光。

1.4 统计学方法

组间连续性变量比较采取 Kruskal-Wallis *H* 和 Mann-Whitney 非参数检验;两组变量的相关性采取 Spearman's 相关性检验;实验数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 的形式表示,两组数据之间的差异采用独立样本 *t* 检验,三组间数据比较采用单因素方差分析,差异有统计学意义时采用 SNK 检验进行两两比较。检验标准为 0.05。

2 结果

2.1 外周血 NAMPT 蛋白和 mRNA 水平在 DCM 组与对照组中的表达差异

ELISA 结果表明,与对照组相比,DCM 组外周血 NAMPT 蛋白表达水平增高[(6.69 ± 4.97) ng/mL vs (3.71 ± 1.21) ng/mL, *P* < 0.05]。NYHA IV 级患者的血浆 NAMPT 蛋白含量[(10.67 ± 6.23) ng/mL] 高于 NYHA II/III 患者[(4.59 ± 2.17) ng/mL] 以及对照组[(3.71 ± 1.21) ng/mL] (*P* 均 < 0.05)。NYHA II/III 患者的血浆 NAMPT 蛋白含量高于对照组 (*P* = 0.006)。但 DCM 患者外周血中 NAMPT mRNA 水平低于健康对照组 (*P* < 0.05)。

2.2 DCM 患者外周血 NAMPT 蛋白水平与临床特征的相关性

相关分析发现,DCM 患者血清 NAMPT 蛋白水平与 BNP 间存在显著正相关(*r* = 0.56, *P* = 0.001),与左室舒张末内径和容积间也存在正相关(*r* = 0.293, *P* = 0.011; *r* = 0.294, *P* = 0.011),与左室搏出量、左室射血分数及短轴缩短率没有相关性 (*P* > 0.05)。

2.3 NAMPT 过表达对 H9C2 细胞增殖及凋亡的影响

2.3.1 成功转染 NAMPT 过表达质粒和对照质粒经 RT-PCR 检测结果显示,NAMPT 过表达质粒转染 48 h 后,H9C2 细胞内 NAMPT mRNA 表达与空质粒组相比明显升高,NAMPT 过表达质粒转染成功。

2.3.2 NAMPT 过表达对 H9C2 细胞增殖的作用 结果如图 1 示,培养 48 h 后,过表达质粒组 H9C2

细胞增殖能力提高,但与空质粒组差异没有统计学意义,转染后 72 h 及 96 h,过表达质粒组的 H9C2 细胞增殖能力较空质粒组增强 ($P < 0.05$)。

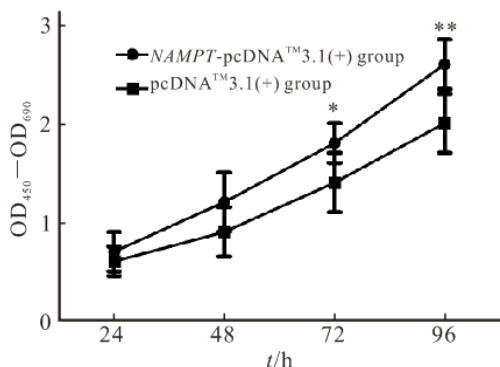


图 1 H9C2 细胞转染 NAMPT 过表达及空质粒后 24 h、48 h、72 h 及 96 h 的增殖能力

Fig 1 Proliferative capacity of H9C2 cells after being transfected with over-expressing NAMPT and empty plasmids for 24 h, 48 h, 72 h and 96 h

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.3.3 NAMPT 过表达对细胞周期的影响 结果如图 2 所示,转染后 24 h,过表达质粒组细胞位于 S 期的比例较空质粒组增加 ($P < 0.05$),转染后 48 h 更加明显 ($P < 0.01$),提示 NAMPT 表达升高能促进 H9C2 细胞的 DNA 合成,从而促进了 H9C2 细胞增殖。

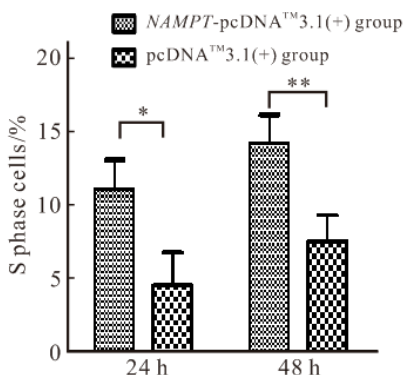


图 2 H9C2 细胞转染 NAMPT 过表达及空质粒后 24 h 及 48 h S 期细胞比例

Fig 2 The proportion of S phase cells of H9C2 after being transfected with over-expressing NAMPT and empty plasmids for 24 h and 48 h

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

附表 NAMPT 过表达对 H₂O₂ 诱导 H9C2 细胞凋亡的影响/%

Table The influence of over-expressing NAMPT on H9C2 apoptosis induced by H₂O₂/%

Phase	H ₂ O ₂	24 h		P	48 h		P
		Over	Empty		Over	Empty	
Late apoptotic+necrotic cells	200 μmol/L	32.93±1.51	44.42±1.74	0.000	27.61±1.71	30.34±1.85	0.129
	400 μmol/L	41.22±1.62	55.09±1.86	0.000	38.70±1.93	51.22±2.12	0.002
Viable cells	200 μmol/L	53.48±2.04	47.76±1.51	0.017	57.95±2.04	56.67±1.41	0.415
	400 μmol/L	50.19±1.83	41.04±1.72	0.003	52.42±1.82	39.67±1.75	0.001

Over: NAMPT-pcDNATM3.1(+) group; Empty: pcDNATM3.1(+) group

2.3.4 NAMPT 过表达对 H9C2 细胞凋亡的影响 结果见图 3,转染后 24 h 及 48 h,过表达质粒组的存活细胞均较空质粒组升高,24 h 时两组差异有统计学意义 ($P < 0.05$),48 h 时两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。过表达组晚期凋亡及坏死细胞的比例在转染后 24 h 及 48 h 较空质粒组均明显降低,48 h 时降低更明显。说明在基础情况下,NAMPT 对 H9C2 细胞生长有明显抗凋亡作用。

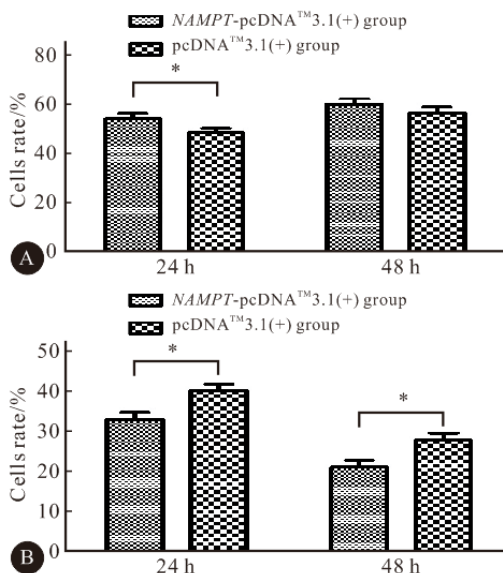


图 3 NAMPT 过表达对 H9C2 细胞凋亡影响

Fig 3 The effect of over-expression NAMPT on H9C2 apoptosis

A: The proportion of the viable cells of H9C2 after being transfected with over-expressing and empty plasmids for 24 h and 48 h; B: The proportion of late apoptotic and necrotic cells of H9C2 after being transfected with over-expressing and empty plasmids for 24 h and 48 h; * $P < 0.05$

2.3.5 NAMPT 过表达对 H₂O₂ 诱导 H9C2 细胞凋亡的影响 结果见附表。诱导凋亡后 24 h,过表达质粒组在 H₂O₂ 浓度 200 μmol/L 及 400 μmol/L 时,晚期凋亡及坏死细胞数比例较空质粒组下降,且存活细胞比例均高于空质粒组,差异均有统计学意义。200 μmol/L H₂O₂ 诱导凋亡后 48 h 两组存活细胞比例差异有统计学意义 ($P < 0.05$),400 μmol/L H₂O₂ 诱导时两组晚期凋亡及坏死细胞比例差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明 NAMPT 对 H₂O₂

诱导的 H9C2 细胞凋亡有明显保护作用。

3 讨论

3.1 NAMPT 在 DCM 中的表达及意义

研究已发现 eNAMPT 作为细胞因子参与各种炎症性疾病的发生进展,许多炎症疾病都存在血清 NAMPT 蛋白水平增高,包括败血症^[6]、急性肺损伤^[7]、类风湿关节炎^[8]、炎症性肠病^[9]、银屑病^[10]和心肌梗死^[11]。长期以来,DCM 的炎症本质被广泛研究,许多非特异性炎症标志如 CRP,补体 C3、C4、TNF- α 、IL-6、IL-10 等均发现在 DCM 患者中升高^[12-13]并参与了 DCM 的炎症和免疫调节过程^[14]。NAMPT 可刺激多种细胞因子,包括 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α ,其中对 IL-6 的刺激作用最强^[15]。IL-6 是辅助性 T 细胞 17(Th17)相关的细胞因子,导致调节性 T 细胞/辅助性 T 细胞 17(Treg/Th17)失衡,使慢性心肌炎向 DCM 发展^[16]。IL-6 和 TNF- α 还是细胞凋亡的膜表面分子 FAS-FASL 途径的重要决定因素,参与 DCM 心肌细胞的凋亡过程^[17]。本研究表明外周血中 NAMPT 蛋白表达与 DCM 患者心衰程度及患者左室大小呈正相关,NAMPT 可能作为促炎性细胞因子参与了 DCM 心力衰竭的过程。值得注意的是,NAMPT 的细胞外促炎作用主要通过 eNAMPT 形式展开,而非通过 iNAMPT 及 NAD 合成酶的作用,二者需单独评价^[15]。

在本研究中,我们发现 NAMPT mRNA 在 DCM 患者外周血白细胞中低表达,这可能是因为我们检测的 NAMPT mRNA 来自外周血白细胞提取的 RNA 逆转录而成,主要代表外周血白细胞内(即 iNAMPT)的 mRNA 水平,故可能与血清 NAMPT(eNAMPT)蛋白水平变化不一致,同时提示血清中升高的 NAMPT 蛋白可能来源于非血源器官或组织的分泌。有研究也发现 DCM 患者中心肌组织的 NAMPT mRNA 水平降低,但 NAMPT 蛋白升高^[18]。因此 NAMPT mRNA 水平的低表达与血清蛋白水平的高表达是 DCM 的生物学特征之一。

3.2 细胞内 NAMPT 对 H9C2 细胞增殖、凋亡的作用

细胞内 NAMPT 主要作为 NAD 补救合成途径的限速酶而发挥其生物学功能。本研究发现 NAMPT 促进了大鼠心肌细胞系 H9C2 细胞增殖,这与其他团队在平滑肌细胞^[19]及肿瘤细胞^[20]中的研究结果一致。VAN DER VEER^[19]等发现在人类血管平滑肌细胞中,NAMPT 通过增加细胞 NAD

水平,增加细胞 SIRT1 的活性,使 P53 组蛋白去乙酰化抑制 P53 的转录,最终促进平滑肌细胞增殖。该通路间接调节 P53 的活性,效果显著,因此推测 NAMPT 在细胞内发挥的作用可能比较单一,那就是主要产生 NAD,然后激活 SIRT1 调控细胞的代谢和寿命。WANG 等^[20]也发现在前列腺癌细胞中,NAMPT 和 SIRT1 明显增加,而抑制 NAMPT 后通过 NAD 的减少显著抑制了癌细胞生长和侵袭。本研究进一步发现,NAMPT 主要是通过增加细胞周期中 S 期(DNA 合成期)的比例促进了细胞增殖。

本研究还发现 H₂O₂ 诱导氧化应激前后,NAMPT 过表达均可明显减少细胞凋亡,这与目前心肌缺血研究中 NAMPT 对心肌细胞的保护作用一致,NAMPT 过表达的转基因小鼠心脏内 NAD 水平增加,在缺血模型中,其梗死面积和细胞凋亡都明显减少^[21]。

3.3 细胞内、外 NAMPT 在 DCM 发生发展中可能的作用差异

细胞内、外 NAMPT 二者的不同作用可能与其结构特征有一定关系。NAMPT 的二聚体结构是合成 NAD 限速酶的前提条件^[22],突变的 NAMPT 无法形成二聚体导致合成 NAD 的酶活性基本丧失,但仍然具有细胞因子活性^[23]。此外,NAMPT 的细胞因子作用和合成 NAD 限速酶的作用相互独立^[24]。同一疾病中细胞内、外 NAMPT 可能发生不同变化并发挥不同作用。有研究发现,血浆 NAMPT 增高所致脑血管疾病易感性增加和脑细胞内 NAMPT 降低导致神经元的丢失共同参与了大脑衰老过程^[25]。

本研究发现 DCM 患者血浆 NAMPT 含量增高,并与 DCM 患者心衰程度及左室容积正相关,提示 eNAMPT 具有促炎细胞因子功能。而细胞内 NAMPT 增加可促进 H9C2 增殖,减少氧化应激中的凋亡,均通过 NAD 合成酶的机制发挥作用。此外我们也发现 DCM 患者细胞内 NAMPT mRNA 水平降低,提示细胞内 NAMPT 降低导致细胞保护功能不足可能是 DCM 发病的重要因素。细胞外增高的 NAMPT 作为细胞因子和细胞内 NAMPT 作为 NAD 合成酶可能共同参与了 DCM 的发生发展,细胞内 NAMPT 降低可能是 DCM 发病机制的重要因素。

综上所述,NAMPT 血清中的高表达和外周血白细胞中 mRNA 水平的低表达是 DCM 患者的生

物学特征之一。细胞内 NAMPT 促进 H9C2 细胞增殖,减少基础情况下及氧化应激中的凋亡。细胞内、外 NAMPT 可能分别以 NAD 合成酶的机制和促炎细胞因子的作用共同参与 DCM 的发生发展,细胞内 NAMPT 降低可能是 DCM 发病的重要因素。细胞内、外 NAMPT 在 DCM 发病机制中不同的作用还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] RONGVAUX A, SHEA RJ, MULKS MH, *et al.* Pre-B-cell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis. *Eur J Immunol*, 2002, 32(11): 3225-3234.
- [2] KITANI T, OKUNO S, FUJISAWA H. Growth phase-dependent changes in the subcellular localization of pre-B-cell colony-enhancing factor. *FEBS Lett*, 2003, 544 (1/2/3): 74-78.
- [3] CHANG HC, GUARENTE L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25 (3): 138-145.
- [4] ZHANG LQ, HERUTH DP, YE SQ. Nicotinamide Phosphoribosyltransferase in Human Diseases. *J Bioanal Biomed*, 2011, 3: 13-25.
- [5] DOU Q, PENG Y, ZHOU B, *et al.* Association of nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) gene polymorphisms and of serum NAMPT levels with dilated cardiomyopathy in a Chinese population. *Int J Mole Sci*, 2015, 16 (9): 22299-22318.
- [6] JIA SH, LI Y, PARODO J, *et al.* Pre-B cell colony-enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis. *J Clin Invest*, 2004, 113(9): 1318-1327.
- [7] YE SQ, SIMON BA, MALONEY JP, *et al.* Pre-B-cell colony-enhancing factor as a potential novel biomarker in acute lung injury. *Am J Resp Crit Care Med*, 2005, 171(4): 361-370.
- [8] BRENTANO F, SCHORR O, OSPELT C, *et al.* Pre-B cell colony-enhancing factor/visfatin, a new marker of inflammation in rheumatoid arthritis with proinflammatory and matrix-degrading activities. *Arthritis Rheum*, 2007, 56 (9): 2829-2839.
- [9] TILG H, MOSCHEN AR. Role of adiponectin and PBEF/visfatin as regulators of inflammation; involvement in obesity-associated diseases. *Clin Sci(Lond)*, 2008, 114(4): 275-288.
- [10] KOCZAN D, GUTHKE R, THIESEN HJ, *et al.* Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear leukocytes from psoriasis patients identifies new immune regulatory molecules. *Eur J Dermatol*, 2005, 15(4): 251-257.
- [11] DAHL TB, YNDESTAD A, SKJELLAND M, *et al.* Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis; possible role in inflammation and plaque destabilization. *Circulation*, 2007, 115(8): 972-980.
- [12] LAPPE JM, PELFREY CM, TANG WH. Recent insights into the role of autoimmunity in idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Card Fail*, 2008, 14(6): 521-530.
- [13] SAMPIETRO T, NEGLIA D, BIONDA A, *et al.* Inflammatory markers and serum lipids in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*, 2005, 96(12): 1718-1720.
- [14] MANN DL, YOUNG JB. Basic mechanisms in congestive heart failure. Recognizing the role of proinflammatory cytokines. *Chest*, 1994, 105(3): 897-904.
- [15] MOSCHEN AR, KASER A, ENRICH B, *et al.* Visfatin, an adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties. *J Immunol*, 2007, 178(3): 1748-1758.
- [16] LI J, WANG L, WANG S, *et al.* The Treg/Th17 imbalance in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Scand J Immunol*, 2010, 71(4): 298-303.
- [17] GOPAL DM, SAM F. New and emerging biomarkers in left ventricular systolic dysfunction—insight into dilated cardiomyopathy. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013, 6(4): 516-527.
- [18] BOBBERT P, KUHL U, POLLER W, *et al.* Nicotinamide phosphoribosyltransferase/pre-B-cell colony enhancing factor/visfatin plasma levels and clinical outcome in patients with dilated cardiomyopathy. *J Card Fail*, 2015, 21(4): 330-338.
- [19] VAN DER VEER E, HO C, O'NEIL C, *et al.* Extension of human cell lifespan by nicotinamide phosphoribosyltransferase. *J Biol Chem*, 2007, 282 (15): 10841-10845.
- [20] WANG B, HASAN MK, ALVARADO E, *et al.* NAMPT overexpression in prostate cancer and its contribution to tumor cell survival and stress response. *Oncogene*, 2011 30 (8): 907-921.
- [21] ALCENDOR RR, KIRSHENBAUM LA, IMAI S, *et al.* Silent information regulator 2alpha, a longevity factor and class III histone deacetylase, is an essential endogenous apoptosis inhibitor in cardiac myocytes. *Circ Res*, 2004, 95 (10): 971-980.
- [22] REVOLLO JR, KORNER A, MILLS KF, *et al.* Nampt/PBEF/Visfatin regulates insulin secretion in beta cells as a systemic NAD biosynthetic enzyme. *Cell Metab*, 2007, 6(5): 363-375.
- [23] KORNER A, GARTEN A, BLUHER M, *et al.* Molecular characteristics of serum visfatin and differential detection by immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(12): 4783-4791.
- [24] LI Y, ZHANG Y, DORWEILER B, *et al.* Extracellular Nampt promotes macrophage survival via a nonenzymatic interleukin-6/STAT3 signaling mechanism. *J Biol Chem*, 2008, 283(50): 34833-34843.
- [25] LIU LY, WANG F, ZHANG XY, *et al.* Nicotinamide phosphoribosyltransferase may be involved in age-related brain diseases. *PLoS One*, 2012, 7(10): e44933 [2017-03-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044933>.

(2017-04-11 收稿, 2017-09-21 修回)

编辑 汤洁