

综述

NAD⁺与细胞衰老

王洁 刘琳 宋关斌*

(重庆大学生物工程学院, 重庆 400030)

摘要 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)作为糖酵解、三羧酸循环和氧化磷酸化中关键酶的辅助因子, 参与了细胞的物质代谢、能量合成、损伤DNA的修复等多种生理病理过程。近年来越来越多的研究发现, 细胞内NAD⁺水平在机体或细胞衰老过程中呈明显下降趋势, 而补充NAD⁺能延缓细胞/机体的衰老, 使NAD⁺及其前体物质在细胞衰老中的作用受到广泛关注。该文就NAD⁺及其前体物质与细胞代谢、衰老的关系及相关分子机制研究的最新进展进行综述, 以期深入认识NAD⁺与细胞衰老的内在联系, 为细胞衰老相关的基础及应用研究提供理论参考。

关键词 细胞衰老; 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸; 烟酰胺磷酸核糖基转移酶; 去乙酰化酶

NAD⁺ and Cellular Senescence

WANG Jie, LIU Lin, SONG Guanbin*

(College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China)

Abstract NAD⁺ (nicotinamide adenine dinucleotide) is an essential cofactor of key enzymes in glycolysis, TCA (tricarboxylic acid) cycle and oxidative phosphorylation, which participates in many physiological and pathological activities, such as cellular metabolism, energy synthesis, and repair of injured DNA. In recent years, studies have found that NAD⁺ shows a downward trend during the body or cell senescence, while replenishment of NAD⁺ or its precursors significantly delayed cell senescence and improved lifespan. Therefore, the application of NAD⁺ and its precursors has attracted widespread attention. In this review, we will briefly summarize the current research progresses about the relationship between the NAD⁺ and its precursors and cellular metabolism, senescence and the involved mechanisms. A better understanding of their relationship will provide an important reference for basic and applied studies on cellular senescence.

Keywords cellular senescence; nicotinamide adenine dinucleotide; nicotinamide phosphate ribosyltransferase; sirtuins

衰老是生命体在退化时期生理功能下降和紊乱的综合表现, 也是生命的基本特征。细胞衰老是细胞机能和结构随着时间推移发生退行性变化, 趋向死亡的不可逆现象。伴随着世界人口老龄化, 与衰

老相关的阿尔茨海默症、2型糖尿病和癌症等已成为威胁人类健康的重要疾病。目前延缓细胞衰老的方法主要集中在通过添加外源药物干扰衰老相关目的基因和蛋白表达或进行能量限制。烟酰胺腺嘌呤

收稿日期: 2019-02-18 接受日期: 2019-07-19

国家自然科学基金(批准号: 11532004、11772073、31700810、11832008)资助的课题

*通讯作者. Tel: 023-65102507, Email: song@cqu.edu.cn

Received: February 18, 2019 Accepted: July 19, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.11532004, 11772073, 31700810, 11832008)

*Corresponding author. Tel: +86-23-65102507, Email: song@cqu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5162>

二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)是所有活细胞中多种代谢酶的共同辅酶,与细胞多种生理/病理活动密切相关。近年的研究发现, NAD⁺水平在细胞衰老过程中呈下降趋势,而NAD⁺及其前体物质的补充在衰老相关疾病的防治方面显示出巨大应用前景^[1-2]。因此,阐明NAD⁺及其前体物质与细胞衰老的关系及其延缓细胞衰老的机制具有重要意义。

1 NAD⁺的结构、功能及其代谢

1.1 NAD⁺的结构和功能

在1个多世纪前,ARTHUR HARDEN^[3]在煮沸的酵母提取物中首次发现了NAD⁺,随后的研究确定了NAD⁺由烟酰胺单核苷酸(nicotinamide mononucleotide, NMN)和单磷酸腺苷共价连接而成。作为糖酵解、三羧酸循环和氧化磷酸化中关键酶的辅助因子, NAD⁺参与调节细胞的物质代谢、能量合成和DNA损伤修复等多种生理病理活动。同时, NAD⁺也是NAD⁺水解酶的作用底物,参与调节细胞衰老进程和寿命长短。此外, NAD⁺还作为环腺苷二磷酸核糖(cyclic adenosine diphosphate ribose, cADPR)的前体物质,参与细胞信号的传递。

1.2 NAD⁺的代谢

机体内NAD⁺的合成有2种途径:从头合成途径与补救途径。同位素示踪法发现,体内NAD⁺从头合成以色氨酸为起始物,选择性地肝脏中合成,然后再分解为烟酰胺(nicotinamide, NAM)^[4-5]。研究表明,哺乳动物不能直接摄入NAD⁺,为维持体内NAD⁺平衡,哺乳动物体内NAD⁺生物合成主要依赖于NAM和烟酰胺核糖核酸等前体物质参与的烟酰胺补救途径^[6]。在该途径中, NAM和烟酰胺核糖核酸在烟酰胺磷酸核糖基转移酶(nicotinamide phosphate ribosyltransferase, NAMPT)和烟酰胺核糖核酸激酶介导下转化为NAD⁺。此外,体内NAD⁺代谢受昼夜节律机制的调控,生物钟基因***bmal1/clock***通过调节NAMPT的合成介导NAD⁺生物生成, NAD⁺水平影响去乙酰化酶1(sirtuin1, SIRT1)活性后反馈调节***bmal1/clock***基因的表达^[7-8]。

在氧化还原反应中,由于细胞内NAD⁺/NADH处于平衡状态, NAD⁺水平保持稳定^[9]。在非氧化还原反应中, NAD⁺作为底物不断被NAD⁺水解酶分解,水解产物NAM在一系列NAD⁺生物合成相关酶的作用下再生成NAD⁺。

2 与NAD⁺消耗相关的酶

2.1 NAD⁺水解酶

CD38是一种具有ADP-核糖环化酶和cADPR水解酶活性的II型跨膜糖蛋白。目前已证实, CD38是哺乳动物组织中主要的NAD⁺水解酶,正常情况下, CD38将NAD⁺分解为NAM和二磷酸腺苷核糖以及少量的cADPR,并介导细胞内Ca²⁺储存^[7]。研究表明,体内CD38的表达受到NF-κB的监管调控^[10],其活性与NAD⁺水平呈负相关。CD38敲除或用CD38抑制剂处理后,小鼠体内NAD⁺水平升高,线粒体功能障碍和葡萄糖耐受不良得到改善,从而起到对阿尔茨海默症、糖尿病和肿瘤的治疗干预作用^[1,7,11-12]。

SARM1(sterile alpha and TIR motif-constraining 1)是Toll/白细胞介素-1受体激活的转录程序负调控因子,具有促细胞凋亡作用。新近发现, SARM1是一种存在于神经元和其他类型细胞中的NAD⁺水解酶,其SARM1 TIR(Toll/interleukin receptor)结构域二聚化可促进细胞NAD⁺降解,提示SARM1具有内源性NAD⁺水解酶活性^[13]。目前, SARM1已被鉴定为轴突死亡信号传导的关键介质^[14],除响应神经元损伤外,还催化细胞质NAD⁺转化为NAM、ADPR和cADPR,启动细胞破坏程序^[11,15]。

2.2 响应NAD⁺信号的酶

Sirtuins和聚腺苷酸二磷酸核糖聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerases, PARPs]是哺乳动物体内2个主要响应NAD⁺信号的酶。Sirtuins是高度保守的去乙酰化酶,能感受细胞内NAD⁺水平的变化,并将该信号通过NAD⁺依赖性的蛋白去乙酰化方式进行转导。细胞内的Sirtuins共有7种存在形式,其中SIRT1作为抗衰老蛋白,可通过调节凋亡基因、氧化应激及能量代谢,减少细胞凋亡,延缓衰老^[16]。研究表明, NAD⁺及其外源物质的补充可在一定程度上激活SIRT1,提升细胞内NAD⁺水平,延缓细胞衰老进程,避免衰老相关的神经变性、血管硬化和肾脏病变^[17-20]。其他sirtuins也在调控细胞衰老过程中发挥重要作用,如SIRT3作为线粒体中主要的蛋白去乙酰化酶,可通过激活ATP合酶,调控线粒体NAD⁺水平,维持线粒体功能和活性氧(reactive oxygen species, ROS)稳态^[8,21]; SIRT6通过NF-κB信号通路调控端粒稳定性和衰老相关的炎症反应,延长小鼠寿命^[22]。

PARPs既是一种DNA修复酶,也是真核生物中主要的NAD⁺消耗性核酶,能被氧化应激和DNA损

伤激活,在DNA损伤修复和细胞凋亡中发挥重要作用。当DNA未发生损伤时,PARPs活性较低;在DNA损伤的情况下,PARPs被过度激活,超活化的PARPs可通过NAD⁺消耗和PAR依赖性途径等多种信号途径促进细胞凋亡^[5]。

3 NAD⁺与细胞(机体)的衰老

氧化应激和慢性炎症参与细胞或机体自然衰老进程。研究表明,衰老、氧化应激和DNA损伤均会导致组织NAD⁺水平下降,而NAD⁺水平下降则可能促使上述成因加剧^[23]。因此,NAD⁺水平下降既是细胞衰老的结果,也是衰老相关细胞功能障碍的促成因素。

3.1 NAD⁺与氧化应激

氧化应激是引起细胞衰老的主要原因之一。机体在有氧代谢过程中产生的ROS对生理过程和抗病原体具有重要意义,但高浓度ROS引起的脂质过氧化损伤细胞的膜结构,导致线粒体、内质网和溶酶体等细胞器功能障碍,进而影响细胞内稳态和细胞间信号交流,促使细胞衰老甚至死亡。线粒体作为细胞内能量合成和ROS产生的主要场所,过量ROS导致的线粒体功能障碍可能是NAD⁺水平降低的原因。过量ROS直接攻击线粒体内的DNA、核酸和蛋白质等生物大分子,损伤线粒体呼吸链。IDE等^[24]于1999年发现,线粒体呼吸链复合物I(NADH还原酶)极易因受到ROS攻击而产生功能缺陷,使NAD⁺与NADH之间的相互转换受阻,细胞内NAD⁺水平降低。而NAD⁺水平下降也可导致细胞内ROS水平升高。作为维持氧化还原平衡的关键因素,细胞内NAD⁺水平下降可降低SIRT3活性,超氧化物歧化酶等线粒体蛋白去乙酰化减少,细胞抗氧化能力降低,导致线粒体和细胞功能受损。REN等^[25-26]的研究证明,通过下调肝癌细胞和原代皮层神经元细胞中NAD⁺/NADH比例和SIRT3活性,可抑制超氧化物歧化酶2的表达,导致ROS水平升高。TARANTINI等^[27]的研究表明,外源添加NMN恢复老年小鼠大脑血管内皮细胞中的NAD⁺水平和线粒体功能,并降低线粒体ROS水平。此外,已有研究表明,核能量状态或NAD⁺水平下降导致核SIRT1活性降低,使PGC-1 α / β 介导的线粒体氧化磷酸化受到限制,线粒体能量供应机制被破坏,导致细胞因能量不足而衰老或死亡^[28]。

3.2 NAD⁺与DNA损伤

外源性或内源性因子诱导的DNA损伤可直

接激活细胞DNA损伤应答反应,保护细胞正常的生理功能和稳定的遗传性状。PARP1是促进DNA碱基切除修复的核蛋白,能被DNA单链断裂快速激活,活化的PARP1将NAD⁺分解得到的ADP-核糖附着在DNA损伤部位附近的蛋白质上,构建PAR[(Poly(ADP-ribose))]聚合物,启动DNA修复程序。严重的DNA损伤引起PARP1过度活化,催化PAR聚合物大量生成。线粒体细胞凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)在生理条件下作为线粒体氧化还原酶催化细胞色素C和NAD⁺之间的电子传递,PAR聚合物与AIF形成PAR-AIF复合物,使NAD⁺循环再生受阻。同时PARP1过度激活导致细胞内NAD⁺被大量消耗,细胞在能量底物不足的情况下难以维持线粒体膜电位,线粒体去极化促进线粒体通透性转换,促使线粒体PAR-AIF复合物释放进入细胞核,诱导核DNA损伤,激活细胞凋亡程序。已有研究表明,抑制PARPs活性可延缓细胞衰老。例如:补充NAD⁺可抑制非酒精性脂肪肝患者和小鼠星形胶质细胞PARPs活性,恢复糖酵解和线粒体功能,减少氧化应激^[29-30]。尽管细胞质NAD⁺水平降低是PARP1介导的神经死亡的必要条件,但低水平NAD⁺能在不激活PARP1的情况下抑制糖酵解过程,诱导线粒体去极化和AIF释放^[31]。

4 细胞中NAD⁺的调控及机理

4.1 SIRT1相关信号通路

早在1999年,KAEBERLEIN等^[32]就证实,沉默信息调节因子2能够参与酵母细胞寿命调控,而作为其同系物的SIRT1在细胞衰老进程中也发挥重要作用^[33]。后续的实验证明,SIRT1感应NAD⁺浓度变化后,通过调控BMAL1和CLOCK活性介导NAMPT表达,调节NAD⁺浓度以昼夜节律方式波动^[28,34]。研究发现,使用FK866抑制NAMPT表达后,视网膜色素上皮细胞中的NAD⁺水平和SIRT1活性降低^[35];杨越等^[36]的研究证实,可通过NAMPT/NAD/SIRT1轴,延缓骨髓间充质干细胞的衰老。

p53是细胞周期的负调控因子,p53活化导致p21表达增加,p21与细胞周期依赖性蛋白激酶结合并抑制其活性,引起细胞周期停滞,促进细胞衰老。衰老相关蛋白p21和p16是SIRT1调节抗衰老机制的下游效应物,研究表明,激活腺苷酸活化蛋白激酶(adenylate-activated protein kinase, AMPK)可增加NAMPT的

活性和丰度,提高细胞内NAD⁺水平并活化SIRT1,进而调控*p16*和*p21*基因的表达以减缓细胞衰老^[34]。LIU等^[37]证明,外源NAD⁺补充剂以时间和浓度依赖方式提高细胞内NAD⁺水平,增加SIRT1活性,并通过SIRT1-p53途径降低HR(hypoxia/reoxygenation)诱导的氧化应激,抑制H9C2心肌细胞凋亡。

4.2 PI3K/Akt相关信号通路

磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)蛋白家族与蛋白激酶B(protein kinase B, PKB, 又称Akt)参与调节细胞存活、增殖和代谢等多个生物学过程。PI3K/Akt信号转导途径通过调节凋亡相关蛋白表达,调控自噬、代谢和氧化应激等多种生物学行为,因此PI3K/Akt信号通路可能是衰老过程中的关键靶标。研究表明,SIRT1可通过调节过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子1 α 的活性,激活PI3K/Akt信号通路,改善老年大鼠心肌收缩功能^[38];芦丁和硫化物等外源抗氧化物已被证明可通过激活PI3K/Akt信号通路增加细胞内NAD⁺水平,抑制细胞凋亡的发生并延缓细胞衰老^[39]。

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是调控细胞自噬的关键分子,也是Akt下游的一个重要作用靶点,在调控细胞自噬、存活及代谢方面发挥重要作用。Akt被激活后磷酸化激活mTOR信号转导途径,促进细胞生长和蛋白质合成。mTOR活性除被Akt磷酸化激活外,也受SIRT1调控。SIRT1通过作用于结节性硬化复合体1/2(tuberous sclerosis complex1/2, TSC1/2)调节mTOR活性,mTOR磷酸化后通过调节其下游靶标核糖体蛋白S6激酶和真核生物细胞起始因子4E结合蛋白1,调控细胞凋亡相关蛋白的表达,影响细胞增殖和存活。

4.3 AMPK信号通路

AMPK被认为是细胞的“能量传感器”,参与维持细胞代谢和能量平衡。自噬是真核细胞通过降解自身功能异常或错误折叠蛋白质和清除损伤或老化细胞器,维持细胞能量代谢与自我更新等的特有代谢过程。AMPK主要通过两个方面调节细胞自噬:一方面,AMPK通过与mTOR C1上的Rictor结合,影响其对核糖体蛋白S6激酶和真核生物细胞起始因子4E结合蛋白1的募集,抑制mTOR活性,激活细胞自噬;另一方面,p-AMPK磷酸化激活TSC2,抑制mTOR,激活自噬反应。同时,AMPK也是SIRT3的下游靶点,且已证实,可通过调控细胞自噬增加细胞内

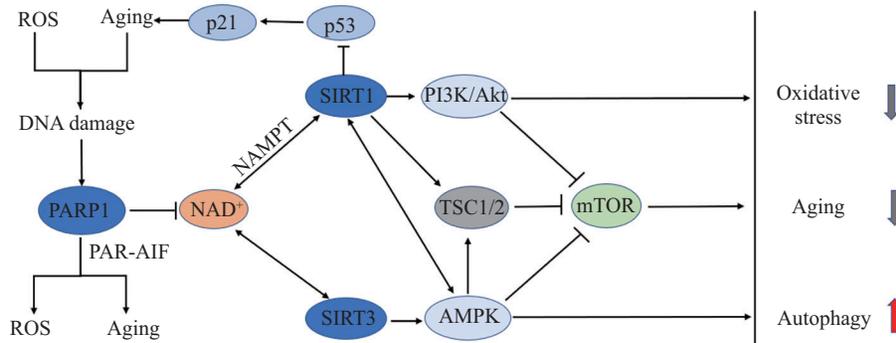
NAD⁺水平,保护机体免受氧化应激诱导的衰老^[40]。ZHANG等^[41]通过帕金森病模型实验发现,SIRT3的过表达增加自噬标记物LC3 II和Beclin 1的水平,促进LKB1磷酸化,然后激活AMPK并降低mTOR的磷酸化。LI等^[42]研究表明,咖啡因通过激活A2AR/SIRT3/AMPK介导的自噬,保护皮肤免受氧化应激诱导的衰老;反式白藜芦醇通过激活SIRT3/AMPK诱导的自噬,保护巨噬细胞免受氧化应激的损伤,表明SIRT3/AMPK通路在氧化应激诱导的自噬激活中起关键作用。此外,LI等^[43]的研究表明,抑制果糖-1,6-二磷酸醛缩酶和内质网定位的瞬时受体电位通道亚家族V之间的相互作用,可激活AMPK,并提升老年小鼠肌肉中的NAD⁺水平。研究表明,外源NAD⁺和咖啡酸苯乙酯可通过激活AMPK-SIRT1信号通路,延缓小鼠实验性自身免疫性脑脊髓炎的病理进程和顺铂诱导的神经轴突损伤^[44-45]。

4.4 NAD world

除上述调控方式外,IMAI等^[46]于2009年首次将NAD world定义为连接哺乳动物NAD⁺代谢、生物节律、衰老和长寿控制的系统监管网络,并在2016年对这一概念进行重新定义:他认为,NAD⁺生物合成减少和易感器官及组织的功能障碍可破坏机体稳态平衡,而这一级联反应是衰老的中心过程,在这一过程中,下丘脑是衰老的控制中心,骨骼肌是衰老的效应器,而脂肪组织则作为衰老的调节剂。下丘脑对NAD⁺水平变化极度敏感,并可通过交感神经系统将感知的信号传递给骨骼肌。骨骼肌通过调节 β 2肾上腺素能受体基因的表达和cAMP的组织水平响应下丘脑传递的信号,维持骨骼中线粒体的正常结构和功能,且骨骼肌也可能通过分泌某些肌细胞因子与其他组织和器官进行交流。下丘脑功能和NAD⁺生物合成受eNAMPT和NMN的调节,全身注射纯化的eNAMPT可提高下丘脑中NAD⁺水平和SIRT1活性。脂肪组织在SIRT1的介导下通过主动分泌eNAMPT,在系统水平上协调下丘脑的NAD⁺生物合成和功能。SIRT1和NAMPT起到介导这些组织间通信的作用^[47]。

5 结语

NAD⁺水平在衰老细胞中呈现下降趋势,而NAD⁺及其前体物质能够有效提高机体内NAD⁺水平,改善糖尿病、阿尔茨海默症和骨质疏松等与衰

图1 细胞内NAD⁺水平的调控及机理Fig.1 Regulation and mechanism of intracellular NAD⁺ levels

老相关疾病,提示NAD⁺及其前体物质在预防和治疗衰老及其相关疾病方面具有重大前景(图1)。

尽管NAD⁺在治疗衰老相关疾病发现表现出良好前景,但已有研究表明,NAD⁺及其前体物质的最适使用浓度因物种和组织不同而存在差异,且补充高浓度NAD⁺及其前体物质对细胞或机体具有不利影响^[48-50]。目前尚不明确NAD⁺及其前体物质在机体内的相互转化效率,未来的研究除继续着重探索NAD⁺在生物体内的作用靶点和调控机制外,还应阐明NAD⁺及其前体物质的药代动力学,明确其在机体衰老的关键过程和区域中的最佳给药方案,为衰老相关疾病的预防和临床治疗提供一个安全有效的新途径。

参考文献 (References)

- GONG Y S, GUO J, HU K, et al. Ameliorative effect of lotus seed-pod proanthocyanidins on cognitive impairment and brain aging induced by d-galactose [J]. *Exp Gerontol*, 2016, 74: 21-8.
- ZHANG H, RYU D, WU Y, et al. NAD⁺ repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice [J]. *Science*, 2016, 352(6292): 1436-43.
- HARDEN A, YOUNG W J. The alcoholic ferment of yeast-juice part II: the coferment of yeast-juice [J]. *Proc Soc*, 1906, 78: 369-75.
- JOHNSON S, IMAI S I. NAD⁺ biosynthesis, aging, and disease [J]. *F1000Res*, 2018, 7: 132.
- LIU L, SU X, QUINN W J, et al. Quantitative analysis of NAD⁺ synthesis-breakdown fluxes [J]. *Cell Metab*, 2018, 27(5): 1067-80.
- RAJMAN L, CHWALEK K, SINCLAIR D A. Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: the *in vivo* evidence [J]. *Cell Metab*, 2018, 27(3): 529-47.
- REINDERS M E, DE FIJTER J W, ROELOFTS H, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for the treatment of allograft rejection after renal transplantation: results of a phase I study [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2(2): 107-11.
- VERDIN E. NAD⁺ in aging, metabolism, and neurodegeneration [J]. *Science*, 2015, 350(6265): 1208-13.
- RUAN Q, JIAN R, ZHANG W, et al. Targeting NAD⁺ degradation: the therapeutic potential of flavonoids for Alzheimer's disease and cognitive frailty [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 128: 345-58.
- SCHULTZ M B, SINCLAIR D A. Why NAD⁺ Declines during aging: it's destroyed [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(6): 965-6.
- CAMACHO-PEREIRA J, TARRAGO M G, CHINI C C S, et al. CD38 dictates age-related NAD⁺ decline and mitochondrial dysfunction through an SIRT3-dependent mechanism [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(6): 1127-39.
- CHATTERJEE S, DAENTHANASANMAKA, CHAKRABORTY P, et al. CD38-NAD⁺ axis regulates immunotherapeutic anti-tumor T cell response [J]. *Cell Metab*, 2018, 27(1): 85-100.
- ESSUMAN K, SUMMER D W, SASAKI Y, et al. The SARM1 toll/interleukin-1 receptor domain possesses intrinsic NAD⁺ cleavage activity that promotes pathological axonal degeneration [J]. *Neuron*, 2017, 93(6): 1334-43.
- NEUKOMN L J, BURDETT T C, SEEDS A M, et al. Axon death pathways converge on axundead to promote functional and structural axon disassembly [J]. *Neuron*, 2017, 95(1): 78-91.
- GERDTS J, SUMMERS D, MILBRANDT J, et al. Axon self-destruction: new links among SARM1, MAPKs, and NAD⁺ metabolism [J]. *Neuron*, 2016, 89(3): 449-60.
- DAS A, HUANG G X, BONKOWSKI M S, et al. Impairment of an endothelial NAD⁺-H₂S signaling network is a reversible cause of vascular aging [J]. *Cell*, 2018, 173(1): 74-89.
- YOSHINO J, MILLS K F, YOON M J, et al. Nicotinamide mononucleotide, a key NAD⁺ intermediate, treats the pathophysiology of diet- and age-induced diabetes in mice [J]. *Cell Metab*, 2011, 14(4): 528-36.
- PAJK M, CSELKO A, VARGA C, et al. Exogenous nicotinamide supplementation and moderate physical exercise can attenuate the aging process in skeletal muscle of rats [J]. *Biogerontology*, 2017, 18(4): 593-600.
- KATSYUBA E, MOTTIS A, ZIETAK M, et al. *De novo* NAD⁺ synthesis enhances mitochondrial function and improves health [J]. *Nature*, 2018, 563: 354-59.
- KANFI Y, NAIMAN S, AMIR G, et al. The sirtuin SIRT6 regulates lifespan in male mice [J]. *Nature*, 2012, 483(7388): 218.
- JIANG L, CHEN Q, WU M, et al. Short-term high salt intake impairs hepatic mitochondrial bioenergetics and biosynthesis in SIRT3 knockout mice [J]. *Free Radic Res*, 2019, 53(4): 387-96.
- CHINI C C S, TARRAGO M G, CHINI E N. NAD⁺ and the aging process: role in life, death and everything in between [J]. *Mol Cell*

- Endocrinol, 2017, 455: 62-74.
- [23] GOMES A P, PRICE N L, LING A J, et al. Declining NAD⁺ induces a pseudohypoxic state disrupting nuclear-mitochondrial communication during aging [J]. *Cell*, 2013, 155(7): 1624-38.
- [24] IDE T, SEBASTIAN B, DEPPENMEIER U. Energy conservation by the H2: heterodisulfide oxidoreductase from *Methanosarcina mazei* Gö1: identification of two proton-translocating segments [J]. *J Bacteriol*, 1999, 181(13): 4076-80.
- [25] REN T, ZHANG H, WANG J, et al. MCU-dependent mitochondrial Ca²⁺ inhibits NAD⁺/SIRT3/SOD2 pathway to promote ROS production and metastasis of HCC cells [J]. *Oncogene*, 2017, 36: 5897-909.
- [26] HUANG Q, SUN M, LI M, et al. Combination of NAD⁺ and NADPH offers greater neuroprotection in ischemic stroke models by relieving metabolic stress [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(7): 6063-75.
- [27] TARANTINI S, VALCARCEL-ARES M N, TOTH P, et al. Nicotinamide mononucleotide (NMN) supplementation rescues cerebrovascular endothelial function and neurovascular coupling responses and improves cognitive function in aged mice [J]. *Redox Biol*, 2019, 24: 101192.
- [28] RYU D, ZHANG H, ROPELLE E R, et al. NAD⁺ repletion improves muscle function in muscular dystrophy and counters global PARylation [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(361): 361ra139.
- [29] WU M F, YIN J H, HWANG C S, et al. NAD⁺ attenuates oxidative DNA damages induced by amyloid beta-peptide in primary rat cortical neurons [J]. *Free Radic Res*, 2014, 48(7): 794-805.
- [30] GARIANI K, RYU D, MENZIES K, et al. Inhibiting poly-ADP ribosylation increases fatty acid oxidation and protects against fatty liver disease [J]. *J Hepatol*, 2017, 66(1): 132-41.
- [31] ALANO C C, GARNIERP, YING W. NAD⁺ depletion is necessary and sufficient for poly (ADP-ribose) polymerase-1-mediated neuronal death [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(8): 2967-78.
- [32] KAEBERLEIN M, MCVEY M, GUARENTE L. The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms [J]. *Genes Dev*, 1999, 13(19): 2570-80.
- [33] CHOI M R, HAN D M, KIM S H. Resveratrol relieves hydrogen peroxide-induced premature senescence associated with SIRT1 in human mesenchymal stem cells [J]. *Mol Cell Toxicol*, 2014, 10(1): 29-39.
- [34] MAGNI M, BUSCENMI G, ZANNINI L. Cell cycle and apoptosis regulator 2 at the interface between DNA damage response and cell physiology [J]. *Mutat Res*, 2018, 776: 1-9.
- [35] JADEJA R N, POWELL F L, JONES M A. Loss of NAMPT in aging retinal pigment epithelium reduces NAD⁺ availability and promotes cellular senescence [J]. *Aging*, 2018, 10(6): 1306-23.
- [36] 杨越. NAMPT对大鼠骨髓间充质干细胞衰老的调控作用. 吉林大学(硕士论文), 2017.
- [37] LIU L, WANG P, LIU X, et al. Exogenous NAD⁺ supplementation protects H9c2 cardiac myoblasts against hypoxia/reoxygenation injury via Sirt1-p53 pathway [J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2014, 28(2): 180-9.
- [38] CHEN X, ZHAO X, CAI H. The role of sodium hydrosulfide in attenuating the aging process via PI3K/AKT and CaMKK β /AMPK pathways [J]. *Redox Biol*, 2017, 12: 987-1003.
- [39] VLIRA V A, BENTON C R, YAN Z, et al. PGC-1 α regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010, 299(2): E145-61.
- [40] XU Z, FENG W, SHEN Q, et al. *Rhizoma coptidis* and berberine as a natural drug to combat aging and aging-related diseases via anti-oxidation and AMPK activation [J]. *Aging Dis*, 2017, 8(6): 760-77.
- [41] ZHANG M, DENG Y N, ZHANG J Y, et al. SIRT3 protects rotenone-induced injury in SH-SY5Y cells by promoting autophagy through the LKB1-AMPK-mTOR pathway [J]. *Aging Dis*, 2018, 1; 9(2): 273-26.
- [42] LI Y, YANG S, TU L, et al. Caffeine protects skin from oxidative stress-induced senescence through the activation of autophagy [J]. *Theranostics*, 2018, 8(20): 5713-30.
- [43] LI M, ZHANG C S, ZONG Y, et al. Transient receptor potential V channels are essential for glucose sensing by aldolase and AMPK [J]. *Cell Metab*, 2019, 30(3): 508-24, e12.
- [44] 赵聪颖. 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠AMPK/SIRT1通路的影响. 河北医科大学(硕士论文), 2017.
- [45] FERREIRA R S, DOS SANTOS N A G, BERNARDES C P, et al. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects PC12 cells against cisplatin-induced neurotoxicity by activating the AMPK/SIRT1, MAPK/Erk, and PI3k/Akt signaling pathways [J]. *Neurotox Res*, 2019, 36(1): 175-92.
- [46] IMAI S, YOSHINO J. The importance of Nampt/NAD⁺/SIRT1 in the systemic regulation of metabolism and ageing [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2013, 15 (3): 26-33.
- [47] IMAI S. The NAD World 2.0: the importance of the inter-tissue communication mediated by NAMPT/NAD⁺/SIRT1 in mammalian aging and longevity control [J]. *NPJ Syst Biol Appl*, 2016, 2: 16018.
- [48] MILLS K F, YOSHIDA S, STEIN L R, et al. Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice [J]. *Cell Metab*, 2016, 24(6): 795-806.
- [49] PARK J H, LONG A, OWENS K, et al. Nicotinamide mononucleotide inhibits post-ischemic NAD⁺ degradation and dramatically ameliorates brain damage following global cerebral ischemia [J]. *Neurobiol Dis*, 2016, 95: 102-10.
- [50] YOSHINO J, BAUR J A, IMAI S I. NAD⁺ intermediates: the biology and therapeutic potential of NMN and NR [J]. *Cell Metab*, 2018, 27(3): 513-28.