

DOI: 10.14188/j.1671-8852.2025.0856

文章编号 1671-8852(2026)04-0452-07

# NAD<sup>+</sup>强化抑制整合应激反应高度激活 减轻小鼠肠道缺血再灌注损伤

黄子怡 李霄垚 王露思 丁可 陈榕 孟庆涛  
武汉大学人民医院麻醉科 湖北 武汉 430060

**摘要** 目的:探讨烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>)强化通过抑制整合应激反应(ISR)高度激活在减轻肠缺血再灌注(IIR)损伤中的作用。方法:将36只健康雄性成年C57BL/6J小鼠随机分为6组,分别是磷酸盐缓冲液(PBS)+假手术组(PBS+S组,  $n=6$ )、PBS+IIR组( $n=6$ )、ISR抑制剂(ISRIB)+假手术组(ISRIB+S组,  $n=6$ )、ISRIB+IIR组( $n=6$ )、NAD<sup>+</sup>前体 $\beta$ -烟酰胺单核苷酸(NMN)+假手术组(NMN+S组,  $n=6$ )、NMN+IIR组( $n=6$ )。建立小鼠IIR损伤模型,留取小肠组织,苏木精-伊红(HE)染色观察组织改变并采用Chiu's病理学损伤评分,Western Blot法检测小肠组织紧密连接蛋白(E-cadherin、Claudin-1、Occludin)及ISR相关蛋白表达情况。结果:在动物实验中,与PBS+S组相比,PBS+IIR组Chiu's病理学评分显著增高( $P<0.05$ ),紧密连接蛋白表达显著降低( $P<0.05$ )及ISR相关蛋白表达显著增加( $P<0.05$ )。使用ISRIB及NMN抑制ISR后可显著抑制小鼠IIR引起的上述指标的变化。结论:ISR高度激活可能介导IIR损伤,NAD<sup>+</sup>增强可能通过抑制ISR减轻IIR引起的肠道损伤。

**关键词** 肠缺血再灌注损伤;烟酰胺腺嘌呤二核苷酸;整合应激反应;肠屏障

中图分类号 R574

文献标志码 A

## NAD<sup>+</sup> enhancement suppresses hyperactivation of the integrated stress response to alleviate intestinal ischemia-reperfusion injury in mice

HUANG Ziyi, LI Xiaoyao, WANG Lusi, DING Ke, CHEN Rong, MENG Qingtao

Department of Anesthesiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China

### Abstract

**Objective:** To investigate the role of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>) enhancement in suppressing hyperactivation of the integrated stress response (ISR) in intestinal ischemia-reperfusion (IIR) injury. **Methods:** Thirty-six healthy male C57BL/6J mice were equally and randomly divided into 6 groups, PBS+sham operation group (PBS+S), PBS+IIR group (PBS+IIR), ISR inhibitor ISRIB+sham operation group (ISRIB+S), ISR inhibitor ISRIB+IIR group (ISRIB+IIR), NAD<sup>+</sup> precursor NMN+sham operation group (NMN+S), and NAD<sup>+</sup> precursor NMN+IIR group (NMN+IIR). Small intestine tissues were collected for HE staining to observe morphological changes and Chiu's pathological injury scoring. Western Blot was used to detect the expression of tight junction proteins (E-cadherin, Claudin-1, and Occludin) and ISR-related proteins in intestinal tissues. **Results:** Compared with the PBS+S group, the PBS+IIR group showed significantly higher Chiu's pathological scores ( $P<0.05$ ), significantly decreased expression of tight junction proteins

课题来源:国家自然科学基金面上项目(编号:82172155);国家自然科学基金青年项目(编号:82202410);湖北省自然科学基金计划项目(编号:2025AFB711)。

作者简介:黄子怡,女,2001—,医学硕士生,主要从事肠缺血再灌注损伤免疫机制相关研究,E-mail:290224354@qq.com。

通信作者:孟庆涛,E-mail:mengqingtao2018@126.com。

( $P<0.05$ ), and significantly increased expression of ISR-related proteins ( $P<0.05$ ). Inhibition of ISR by ISRIB or NMN significantly reversed the above indices altered by IIR in mice. **Conclusion:** Hyperactivation of the ISR may mediate IIR injury, and NAD<sup>+</sup> enhancement may alleviate intestinal damage caused by IIR by suppressing ISR.

**Key Words** Intestinal Ischemia - Reperfusion Injury; Nicotinamide Adenine Dinucleotide; Integrated Stress Response; Intestinal Barrier

肠缺血再灌注(intestinal ischemia-reperfusion, IIR)损伤是临床常见且严重的一种疾病,可发生在各种危重的临床状况中,大多由急性肠梗阻、急性肠系膜缺血、小肠移植术、出血性或感染性休克、严重烧伤以及特定的外科手术等引起,这可能随后导致休克、严重感染、诱发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)甚至死亡等严重后果<sup>[1]</sup>。然而,IIR相关的预后仍然很差,IIR损伤的机制尚待明确。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD<sup>+</sup>)是氧化还原反应中的一种必需辅酶,已被证明在代谢过程中发挥重要作用,使其成为能量代谢的核心。IIR通过缺血缺氧、氧化应激、炎症反应导致NAD<sup>+</sup>耗竭;NAD<sup>+</sup>耗竭则进一步放大能量崩溃、屏障破坏、炎症失控,加剧IIR。NAD<sup>+</sup>还可作为非氧化还原酶的底物<sup>[2-3]</sup>,包括沉默调节蛋白脱乙酰酶(SIRT6)、环状ADP核糖水解酶CD38和聚ADP-核糖聚合酶(PARP)。在哺乳动物细胞中,NAD<sup>+</sup>在代谢、DNA修复、表观遗传调节、衰老和免疫调节中也起着关键作用<sup>[4-5]</sup>。研究<sup>[6-8]</sup>表明NAD<sup>+</sup>增强在各种疾病中的有益效果,包括肝脏、肾和心脏的缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)。然而,其在IIR损伤中的确切作用仍不清楚。

整合应激反应(integrated stress response, ISR)是细胞面对多种应激刺激时启动的适应性调控网络,通过翻译水平的重编程和基因表达重塑,维持细胞稳态或诱导决定细胞命运。IIR会通过缺血期的能量危机与再灌注期的氧化损伤以及炎症风暴,直接激活ISR。此前的研究<sup>[9-10]</sup>也已经表明,在体外和体内,ISR响应于线粒体电子传递链功能障碍而被激活。体外研究<sup>[11]</sup>证明依赖线粒体复合物I的NAD<sup>+</sup>再生可通过防止病理性ISR激活来控制细胞命运,补充NAD<sup>+</sup>前体烟酰胺单核苷酸(nicotinamide mononucleotide, NMN)可以抑制ISR的激活。ISR激活增加了真核翻译起始因子2 $\alpha$ (eif-2 $\alpha$ )亚基的磷酸化,这抑制了蛋白质合成,但增强了选择性基因的翻译,作为对抗代谢应激的适应性机

制。ISR激活后的矛盾翻译基因包括编码转录因子(ATF4和ATF5)的基因和编码CHOP的基因,它们可以诱导自身基因和一碳代谢相关基因的表达,这些蛋白质可作为ISR的指标。

本研究拟探索通过施用ISR抑制剂(ISRIB)和NMN预防性给药减轻IIR诱导的ISR高度激活,从而保护肠道免受IIR损伤的具体机制,并提供NAD<sup>+</sup>在IIR治疗中的证据。

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂与仪器** 兔抗鼠ATF4、eif-2 $\alpha$ 、p-eif-2 $\alpha$ 、E-cadherin单克隆抗体购于美国Cell Signal Technology公司;兔抗鼠 $\beta$ -actin、ATF5、Claudin-1、Occludin单克隆抗体和鼠抗鼠CHOP单克隆抗体购于武汉三鹰生物技术有限公司;NAD<sup>+</sup>/NADH检测试剂盒(WST-8法)购于上海碧云天生物技术有限公司;NMN、ISRIB购于美国MCE公司;AB-Script III RT Master Mix for qPCR、2 $\times$ Universal SYBR Green Fast qPCR Mix试剂盒购于武汉爱博泰克生物(ABclonal)公司;所有引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

**1.2 动物** 健康野生型SPF级雄性C57BL/6J小鼠36只,6~8周,体质量20~25 g,购买于三峡大学医学院,适应性喂养1周,饲养环境湿度为40%~60%,温度为(22 $\pm$ 2)℃,小鼠为自由进食状态。

**1.3 小鼠IIR模型的建立** 术前禁食12 h,不限制水摄入。术前称重,复制IIR模型<sup>[12]</sup>,按5 mL $\cdot$ kg<sup>-1</sup>的剂量腹腔注射1.5%戊巴比妥钠溶液,对小鼠进行麻醉,仰卧位固定小鼠。小鼠麻醉后腹部正中脱毛,消毒铺巾,正中切口开腹,找到并分离肠系膜上动脉(superior mesenteric artery, SMA),微动脉夹夹闭SMA根部,观察1 min确定血管搏动消失,肠壁苍白,SMA血流被阻断后缝合伤口。45 min后经原切口进腹,松开动脉夹恢复血供,观察肠壁颜色恢复,证明血供恢复后关闭腹腔。S组同样开腹,除不夹闭SMA外,其余操作均同IIR组相同。所有小鼠

再灌注 2 h 后处死,经原切口进腹,取小肠组织纵行切开,无菌生理盐水冲洗后用无菌干燥纱布吸干水分,分别用 4% 多聚甲醛固定行苏木精-伊红(HE)染色、液氮冰冻保存供蛋白和 RNA 提取,新鲜组织提取供 NAD<sup>+</sup> 相关指标检测等。

**1.4 实验分组** 本实验选择成年健康雄性 C57BL/6J 小鼠 36 只,随机数表法将小鼠分为 6 组,分别为磷酸盐缓冲液(PBS)+假手术组(PBS+S 组,  $n=6$ )、PBS+肠缺血再灌注组(PBS+IIR 组,  $n=6$ )、ISRIB+假手术组(ISRIB+S 组,  $n=6$ )、IS-

RIB+肠缺血再灌注组(ISRIB+IIR 组,  $n=6$ )、NAD<sup>+</sup>前体 NMN+假手术组(NMN+S 组,  $n=6$ )、NMN+肠缺血再灌注组(NMN+IIR 组,  $n=6$ )。为了证实 ISR 在组织损伤中的作用,本研究使用了 ISR 的特异性抑制剂 ISRIB,在通过 IIR 诱导组织损伤之前,提前 1 周给予 ISRIB( $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  腹腔注射)作为预处理<sup>[9]</sup>。同时,在术前 1 周,我们对 7 周大的雄性 C57BL/6J 小鼠给予 NMN( $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  腹腔注射)作为预处理<sup>[11]</sup>。实验过程及分组情况见图 1。

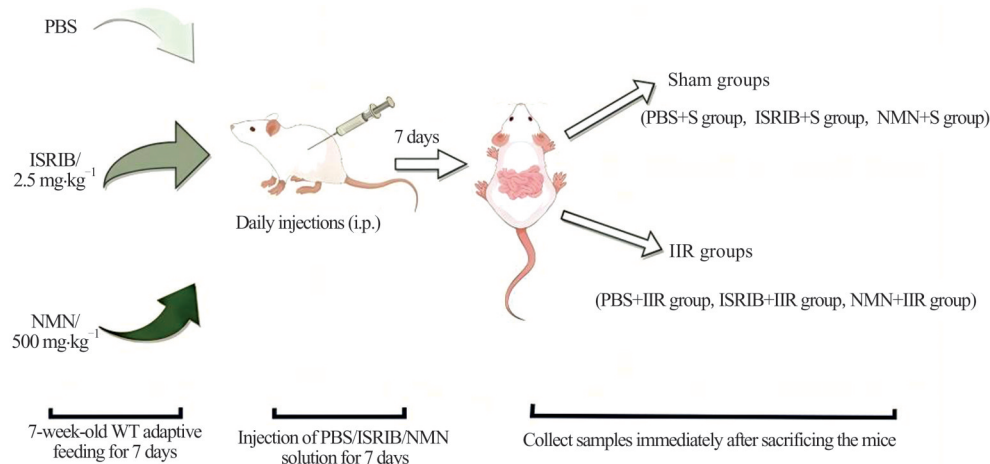


图 1 实验过程及分组情况示意图

注:PBS. 磷酸盐缓冲液;ISRIB. 整合应激反应抑制剂;NMN. 烟酰胺单核苷酸;S. sham,假手术;IIR. 肠缺血再灌注。

## 1.5 观察指标检测及方法

**1.5.1 肠黏膜病理学检测** 再灌注 2 h 后,迅速剪取采集 2~4 cm 长度的新鲜缺血区小肠组织标本。反复洗涤后置入 4% 多聚甲醛(pH 7.4)中固定 24 h,固定后的组织经脱水、透明、浸蜡后,用石蜡包埋成块,借助切片机切成 3~5  $\mu\text{m}$  厚的切片,贴附于载玻片上。为了检查组织病理损伤,我们采用 HE 染色切片,每个标本取 2 个不同切片 10 个视野,由两名经验丰富的病理学家,按照 Chiu's 小肠损伤评分分级法对小肠损伤程度进行双盲评估。

**1.5.2 Western Blot 检测蛋白表达水平** 取  $-80^\circ\text{C}$  保存的小肠组织,冰上剪取适量样本并称重,用  $4^\circ\text{C}$  预冷的 PBS 洗涤 3 次。按每 100 mg 组织加入 1 mL 预冷裂解液(RIPA:蛋白酶抑制剂 Cocktail:PMSF:磷酸酶抑制剂 A:磷酸酶抑制剂 B=1 000:2:1:1:1),液氮研磨仪研磨(30 Hz, 5 min)。冰上裂解 30 min 后用超声裂解 40 s,  $4^\circ\text{C}$  12 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20 min。收集上清后,按照 BCA 试剂盒的说明步骤检测样品蛋白浓度,并对蛋白进行定量后按 4:1 的比例加入  $5\times$  上样缓冲液  $100^\circ\text{C}$  煮沸变

性 10 min,  $-20^\circ\text{C}$  保存备用。然后进行 SDS-PAGE 电泳,转膜使蛋白转至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h 后, TBST 洗 3 次  $\times 5 \text{ min}$ 。然后按相应抗体说明书稀释一抗,  $4^\circ\text{C}$  摇床孵育过夜后, TBST 室温洗涤 3 次,每次 10 min。HRP 标记二抗室温孵育 1 h, TBST 室温洗涤 3 次,每次 10 min。化学发光仪器显影条带, Image J 分析目的蛋白与  $\beta$ -actin 灰度值,两者比值反映目的蛋白的表达。

**1.5.3 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)** 通过 RT-qPCR 检测 CHOP、ATF4、ATF5 基因转录水平的表达。根据制造商的说明,使用 RNA 抽提试剂盒分离小鼠小肠组织总 RNA,使用 ABScript III RT Master Mix 与 gDNA Remover 进行 qPCR,将  $1 \mu\text{g}$  的 RNA 反转录成 cDNA。RT-qPCR 采用  $2\times$  Universal SYBR Green Fast qPCR Mix。引物序列见表 1。

**1.5.4 肠道 NAD<sup>+</sup> 含量检测** 采用 WST-8 法 NAD<sup>+</sup>/NADH 检测试剂盒,按照说明书操作。组织样品的准备:将冰上预冷的 PBS 洗涤小肠组织后,称取约 10~30 mg 的组织样品,用剪刀剪碎,置

表1 RT-qPCR引物序列

| 物种 | 基因             | 正义(5'—3')               | 反义(5'—3')               |
|----|----------------|-------------------------|-------------------------|
| 鼠  | CHOP           | CTGGAAGCCTGGTATGAGGAT   | CAGGGTCAAGAGTAGTGAAGGT  |
| 鼠  | ATF4           | CTCTTGACCACGTTGGATGAC   | CAACTTCACTGCCTAGCTCTAAA |
| 鼠  | ATF5           | GCTCGTAGACTATGGGAAACTCC | CAGTCATCCAATCAGAGAAGCCG |
| 鼠  | $\beta$ -actin | CATTGCTGACAGGATGCAGAAGG | TGCTGGAAGGTGGACAGTGAGG  |

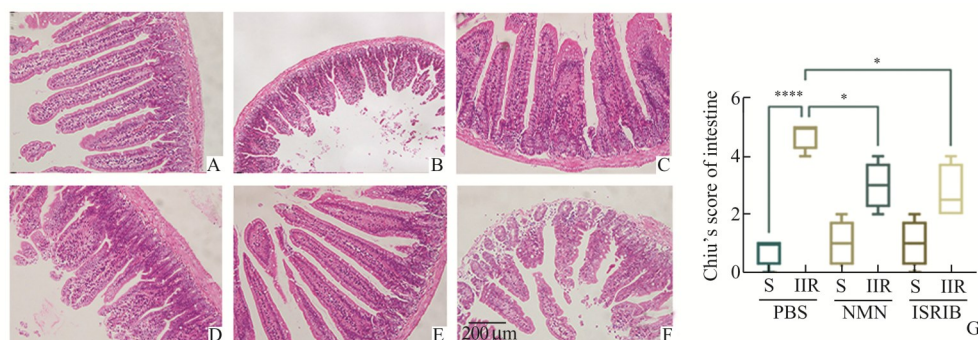
于匀浆器中,按照每10 mg组织加入200  $\mu$ L提取液的比例加入200~600  $\mu$ L NAD<sup>+</sup>/NADH提取液在室温或冰上进行匀浆,随后12 000  $r\cdot\min^{-1}$ ,4  $^{\circ}\text{C}$ 离心10 min,取上清作为待测样品备用。上清液处理:取50~100  $\mu$ L离心后的上清液转移至离心管中,60  $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min;之后在4  $^{\circ}\text{C}$ 、10 000  $r\cdot\min^{-1}$ 条件下离心5 min。显色与检测:取20  $\mu$ L上述离心后的上清液加入96孔板中,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min;随后加入10  $\mu$ L显色液,通过检测混合液在450 nm波长处的吸光度值,计算得到NAD<sup>+</sup>/NADH的比值。

**1.6 统计学方法** 所有数据采用GraphPad Prism 9.1.0统计软件进行分析,以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组间采用单因素方差分析(One-way ANOVA),多组间两两比较用Turkey法, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 小鼠肠组织病理改变** 为了阐明IIR损伤的分子机制,我们建立了IIR小鼠模型。图2A显示S组小肠组织黏膜基本正常,绒毛表现出良好且完整易识别的结构;而IIR组肠黏膜则失去其正常结构,绒毛缩短脱落,炎性细胞浸润,固有层细胞增加(图2B)。

小肠组织的HE染色显示,与PBS+IIR组相比,ISRIB+IIR组肠黏膜增厚,小肠绒毛上皮细胞轻度水肿,无明显坏死脱落(图2C和2D)。与PBS+IIR组相比,NMN+IIR组小肠绒毛的损伤减少,组织黏膜上皮细胞排列较规则,绒毛完整且排列相对整齐,无明显溃疡出血灶(图2E和2F)。Chiu's病理学评分显示,IIR组肠组织损伤程度远大于S组,预防性给药可显著改善肠道组织学异常( $P<0.05$ )(图2G)。



A~F. PBS+S组、PBS+IIR组、ISRIB+S组、ISRIB+IIR组、NMN+S组、NMN+IIR组小鼠小肠HE染色照片(HE $\times$ 100);G. 小鼠小肠组织Chiu's评分的比较。各组 $n=6$ , $^*P<0.05$ , $^{****}P<0.0001$ 。

图2 IIR后小鼠肠组织病理改变和病理学评分

**2.2 肠组织紧密连接蛋白表达情况的变化** Western Blot结果表明,与S组相比,IIR组紧密连接蛋白E-cadherin、Claudin-1、Occludin表达显著降低( $P<0.05$ ),表明肠道屏障受损(图3A)。此外,与PBS+IIR组相比,在用ISRIB和NMN预处理后,肠组织中的紧密连接蛋白表达升高( $P<0.05$ ),表明肠屏障损伤减轻(图3B、3C)。

**2.3 肠组织ISR相关蛋白表达情况的变化** 在预防性给药的条件下,用RT-qPCR和Western

Blot检测ISR相关基因的表达水平。RT-qPCR结果显示,IIR后ISR相关特征基因RNA表达均显著上调(图4A),与PBS+IIR组相比,ISRIB+IIR和NMN+IIR组ISR相关特征基因RNA表达均显著下降(图4B、4C)。Western Blot结果显示,IIR组蛋白表达远高于S组( $P<0.05$ )(图4D),这与肝脏和肾脏中的研究结果一致,预防性给药可显著改善ISR相关蛋白的表达( $P<0.05$ )(图4E、4F)。

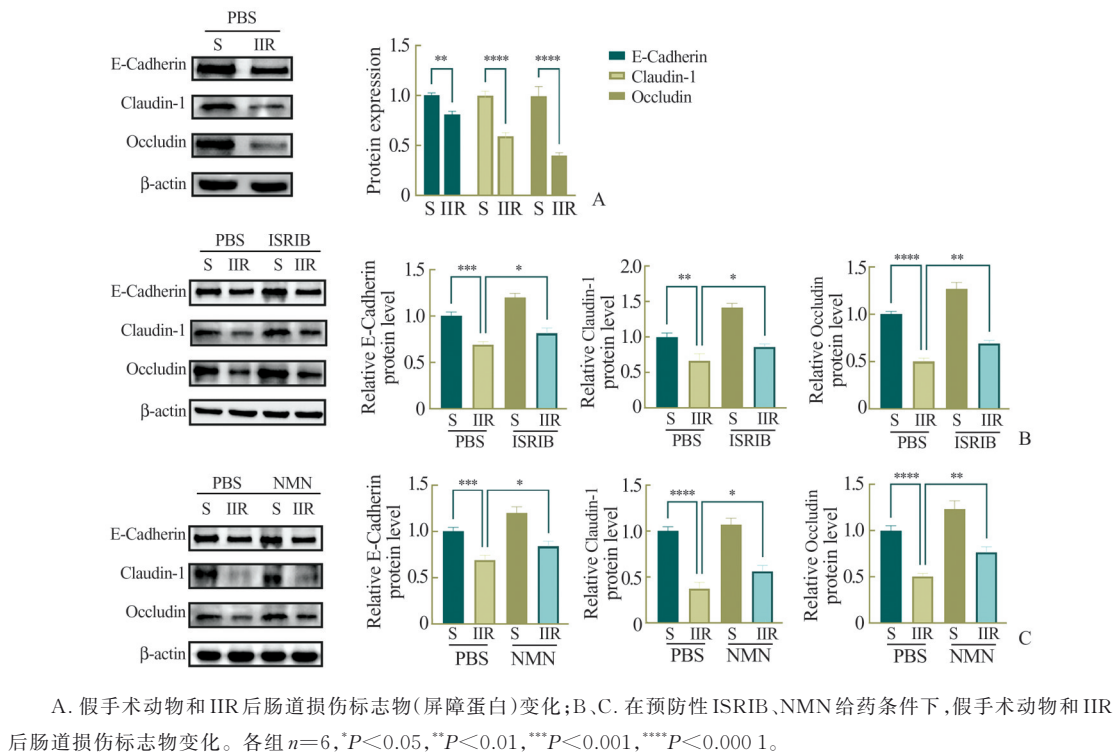


图3 IIR后肠组织紧密连接蛋白表达情况

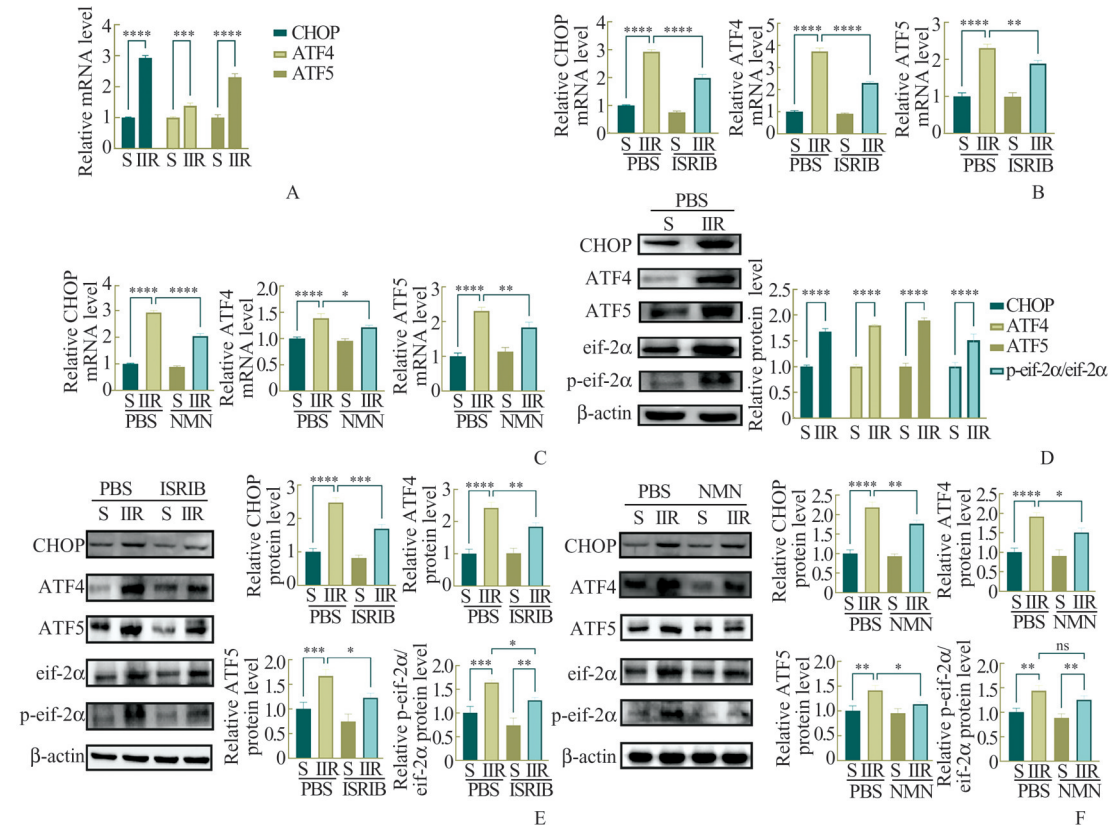
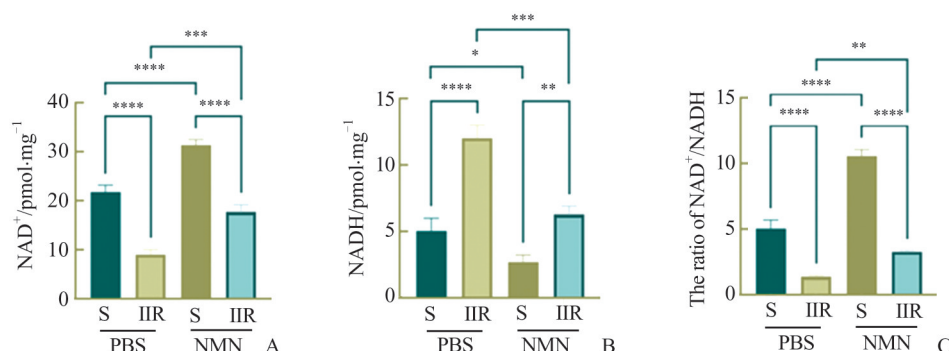


图4 IIR后肠组织ISR相关蛋白表达情况

**2.4 肠组织中NAD<sup>+</sup>含量的变化** 与PBS+S组相比,PBS+IIR组小鼠肠组织NAD<sup>+</sup>含量显著降低;与PBS+IIR组相比,NMN+IIR组肠组织NAD<sup>+</sup>

含量升高;NAD<sup>+</sup>/NADH的比值也有类似改变( $P < 0.05$ )(图5)。



A~C. 小鼠肠道中NAD<sup>+</sup>、NADH水平以及NAD<sup>+</sup>/NADH比例。各组n=6,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ,\*\*\* $P < 0.001$ ,\*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

图5 肠组织中NAD<sup>+</sup>含量

### 3 讨论

IIR的病理生理学包括氧化应激、炎症反应、钙超载及细胞死亡通路激活,可导致线粒体功能障碍和自噬,以及细胞NAD<sup>+</sup>减少,伴随导致ISR的高度激活。氧化应激是全身各脏器IR的重要机制,IIR后,大量的活性氧(ROS)产生,肠内皮细胞屏障功能受损,肠黏膜通透性增加、肠道内细菌和内毒素移位进入血液,引起严重的炎症反应和脓毒症,进一步引发多器官功能障碍<sup>[13-14]</sup>。在本研究中,我们通过对7周大的雄性C57BL/6J小鼠SMA夹闭45 min,松开动脉夹再灌2 h的方式建立IIR模型。实验结果显示夹闭SMA后,肠组织很快变得苍白,45 min取除动脉夹后,肠组织充血肿胀明显。我们还通过HE染色直观观察肠道黏膜状态,Chiu's病理学评分升高,IIR组肠组织损伤程度远大于S组。肠道上皮细胞间紧密连接蛋白复合物的通透性决定肠黏膜的机械屏障功能<sup>[15]</sup>,我们选用其中较主要的蛋白E-cadherin、Claudin-1、Occludin蛋白进行检测,Western Blot结果发现IIR组中的紧密连接蛋白较S组表达减少,提示IIR损伤严重破坏了肠内皮细胞功能,肠黏膜机械屏障受损。

NAD<sup>+</sup>稳态的破坏与衰老、肥胖、糖尿病多种疾病有关,也与IR相关的心、肝、肾等器官损伤有关。例如,已证实CD38的过度活化导致心脏缺血性损伤中NAD<sup>+</sup>的耗竭<sup>[16]</sup>。CD38的基因或药物阻断可显著挽救结局。在急性肾损伤(AKI)中,由于限制酶喹啉磷酸核糖基转移酶(QPRT)和NAM磷酸核糖基转移酶(NAMPT)的表达受限,NAD<sup>+</sup>的从头

合成和补救途径被阻断<sup>[8]</sup>。此外,NAD<sup>+</sup>剥夺也是IR损伤肝脏的脂质过氧化、炎症反应和细胞死亡的部分原因,并且这种损伤可以通过使用NMN来挽救<sup>[7]</sup>。

ISR是一种保守的反应网络,可以对发生在内质网和细胞质中的应激作出反应。ISR充当蛋白质稳态的调节中枢在认知和神经退行性疾病如阿尔茨海默病、帕金森病、肌萎缩性侧索硬化等均起到重要作用<sup>[17-19]</sup>,其动物模型大脑中都能检测到ISR的激活特征。

本研究中我们同样检测到在IIR中ISR相关基因的表达上调,通过使用ISR的特异性抑制剂ISRIB,减轻了IIR诱导的ISR高度激活,并逆转了在这些小鼠中观察到的肠道组织学异常。我们同时也发现IR导致肠缺血性损伤中NAD<sup>+</sup>的耗竭,小肠NAD<sup>+</sup>通过长期给予NAD<sup>+</sup>前体NMN而显著增加,并且IIR后NAD<sup>+</sup>的下降得到改善。NMN的使用不仅有效地增加了小肠NAD<sup>+</sup>水平,而且改善了由IIR导致的ISR高度激活,保护肠道屏障功能。我们的研究表明通过使用ISR抑制剂ISRIB或长期给予NMN增强小肠NAD<sup>+</sup>以减轻ISR,可能对IIR有保护作用。

综上所述,本研究证实ISR高度激活介导IIR损伤,NAD<sup>+</sup>增强可能通过抑制ISR减轻IIR引起的肠道损伤。



## 参考文献

- [1] DENG F, LIN Z B, SUN Q S, et al. The role of intestinal microbiota and its metabolites in intestinal and extraintestinal organ injury induced by intestinal ischemia reperfusion injury[J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(10): 3981-3992.
- [2] KATSYUBA E, ROMANI M, HOFER D, et al. NAD<sup>+</sup> homeostasis in health and disease[J]. *Nat Metab*, 2020, 2(1): 9-31.
- [3] SHATS I, WILLIAMS J G, LIU J, et al. Bacteria boost mammalian host NAD metabolism by engaging the deamidated biosynthesis pathway[J]. *Cell Metab*, 2020, 31(3): 564-579. e7.
- [4] NAVAS L E, CARNERO A. NAD<sup>+</sup> metabolism, stemness, the immune response, and cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 2.
- [5] MINHAS P S, LIU L, MOON P K, et al. Macrophage *de novo* NAD<sup>+</sup> synthesis specifies immune function in aging and inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(1): 50-63.
- [6] ABDELLATIF M, SEDEJ S, KROEMER G. NAD<sup>+</sup> metabolism in cardiac health, aging, and disease[J]. *Circulation*, 2021, 144(22): 1795-1817.
- [7] XU B W, ZHANG P, TANG X L, et al. Metabolic rewiring of kynurenine pathway during hepatic ischemia-reperfusion injury exacerbates liver damage by impairing NAD homeostasis[J]. *Adv Sci*, 2022, 9(35): e2204697.
- [8] POYAN MEHR A, TRAN M T, RALTO K M, et al. *De novo* NAD<sup>+</sup> biosynthetic impairment in acute kidney injury in humans[J]. *Nat Med*, 2018, 24(9): 1351-1359.
- [9] KASPAR S, OERTLIN C, SZCZEPANOWSKA K, et al. Adaptation to mitochondrial stress requires CHOP-directed tuning of ISR[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(22): eabf0971.
- [10] MICK E, TITOV D V, SKINNER O S, et al. Distinct mitochondrial defects trigger the integrated stress response depending on the metabolic state of the cell[J]. *eLife*, 2020, 9: e49178.
- [11] HAN S, LEE M, SHIN Y, et al. Mitochondrial integrated stress response controls lung epithelial cell fate[J]. *Nature*, 2023, 620(7975): 890-897.
- [12] JIA Y F, CUI R X, WANG C, et al. Metformin protects against intestinal ischemia-reperfusion injury and cell pyroptosis *via* TXNIP-NLRP3-GSDMD pathway[J]. *Redox Biol*, 2020, 32: 101534.
- [13] ZHAO F P, AUSTRIA Q, WANG W Z, et al. Mfn2 overexpression attenuates MPTP neurotoxicity *in vivo*[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 601.
- [14] CHEN Y, LIN J, CHEN J, et al. Mfn2 is involved in intervertebral disc degeneration through autophagy modulation[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2020, 28(3): 363-374.
- [15] HU C A, HOU Y Q, YI D, et al. Autophagy and tight junction proteins in the intestine and intestinal diseases[J]. *Anim Nutr*, 2015, 1(3): 123-127.
- [16] BOSLETT J, HELAL M, CHINI E, et al. Genetic deletion of CD38 confers post-ischemic myocardial protection through preserved pyridine nucleotides[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 118: 81-94.
- [17] FLURY A, ALJAYOUSI L, PARK H J, et al. A neurodegenerative cellular stress response linked to dark microglia and toxic lipid secretion[J]. *Neuron*, 2025, 113(4): 554-571. e14.
- [18] KRUKOWSKI K, NOLAN A, FRIAS E S, et al. Small molecule cognitive enhancer reverses age-related memory decline in mice[J]. *eLife*, 2020, 9: e62048.
- [19] MARLIN E, VALENCIA M, PEREGRÍN N, et al. Pharmacological inhibition of the integrated stress response accelerates disease progression in an amyotrophic lateral sclerosis mouse model[J]. *Br J Pharmacol*, 2024, 181(3): 495-508.

(2025-07-28 收稿)

编辑 张 峻