

烟酰胺单核苷酸改善二氧化硅诱导小鼠肺损伤的转录组学研究

马子怡¹, 丁琼桦¹, 杜文², 周丁子², 张勤³, 彭莉君²,
谢永美^{4,5}, 姚于勤^{1,2,3,6}, 王礼群^{6*}

1. 四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院, 卫生毒理与病理学系, 四川 成都 610041;
2. 四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院, 尘肺科/呼吸与危重症医学科;
3. 四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院, 劳动卫生与环境卫生学系;
4. 四川大学华西医院, 生物治疗国家重点实验室; 5. 成都川宇健维生物科技有限公司;
6. 四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院, 重大疾病医防融合研究所

摘要:目的 研究烟酰胺单核苷酸(Nicotinamide mononucleotide, NMN)缓解二氧化硅(SiO₂)诱导肺损伤的作用与机制, 为矽肺的辅助治疗提供新的选择。方法 雄性 C57BL/6 小鼠按体重随机分为对照组(Control 组)、SiO₂ 染尘组(SiO₂ 组)和 NMN 干预组(SiO₂ + NMN 组), 每组 10 只。通过单次非暴露式气管滴注法向小鼠滴注 SiO₂ 悬液(50 mg/ml, 80 μl)构建 SiO₂ 染尘模型; NMN 干预组小鼠采用相同方法染尘后通过灌胃每日给予 NMN(1 000 mg/kg), 分别持续 7 天、28 天。通过组织病理学染色观察肺部病变情况; 采用转录组学测序分析肺组织基因表达谱, 筛选关键基因。结果 NMN 干预减轻 SiO₂ 染尘小鼠的肺组织病变。基因聚类结果显示 NMN 干预能够在一定程度上改善染尘诱导的基因表达谱紊乱, 在 28 天时改善效果更好。染尘 7 天和 28 天后, 与对照组相比 SiO₂ 组上调、且与 SiO₂ 组相比 NMN 干预组下调的基因共有 1 163 个, 其中 445 个为差异基因; 染尘 7 天后和染尘 28 天后, 与对照组相比 SiO₂ 组下调、且与 SiO₂ 组相比 NMN 干预组上调的基因共有 1 657 个, 其中 571 个为差异基因。以上差异基因主要富集的 GO 条目为 RNA 聚合酶及转录调控等; KEGG 通路为 IL-17 信号通路($P < 0.001$)、细胞因子-细胞因子受体相互作用($P < 0.001$)、Th17 细胞分化($P < 0.001$)、TNF 信号通路($P < 0.001$)等。按差异基因参与调控的通路数筛选出其中 TOP 8 的核心基因, 为 *Mapk11*、*Mapk12*、*Il1b*、*H2-Ob*、*Csf2*、*Shc2*、*Mmp9*、*Ccl25*。结论 NMN 通过调节免疫缓解 SiO₂ 染尘小鼠的肺损伤。

关键词:矽肺; 烟酰胺单核苷酸; 转录组测序; 免疫调控

中图分类号: R-33 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2025)08-1476-08

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202411196

Transcriptomics of nicotinamide mononucleotide ameliorating silica-induced lung injury in mice

MA Zi-yi*, DING Qiong-hua, DU Wen, ZHOU Ding-zi, ZHANG Qin,
PENG Li-jun, XIE Yong-mei, YAO Yu-qin, WANG Li-qun

* West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: Objective To study the effect and mechanism of nicotinamide mononucleotide (NMN) in alleviating silica-induced lung injury, and to provide a new option for the adjuvant treatment of silicosis. **Methods** The male C57BL/6 mice were randomly divided into control group, SiO₂ group, and NMN intervention group according to body weight, with 10 mice in each group. Mice were given SiO₂ (50 mg/ml, 80 μl) by tracheal instillation to construct a mouse model of silicosis, and NMN (1 000 mg/kg) was given by gavage for 7 days and 28 days. Histopathological staining was used to assess lung lesions, and transcriptomic sequencing was used to analyze gene expression and screen for key genes. **Results** NMN intervention alleviated SiO₂-induced lung injury. Gene clustering results showed that NMN intervention improved SiO₂-induced gene expression disorders to a certain extent, and the improvement effect of 28 days was better than 7 days of NMN intervention. After 7 and 28 days of SiO₂ exposure, 1 163 genes were up-regulated in the SiO₂ group compared with the control group, and were down-regulated in the NMN group compared with the SiO₂ group, of which 445 were differential genes. Similarly, 1 657

基金项目: 国家自然科学基金(U22A20359, U23A20495), 四川省科技厅自然科学基金(2023NSFSC1729, 2023NSFSC0649)

作者简介: 马子怡(2000—), 女, 硕士在读, 研究方向: 卫生毒理学

通信作者: 王礼群, E-mail: wangliqun8393@163.com

genes were down-regulated in the SiO₂ group compared with the control group, and were up-regulated in the NMN group compared with the SiO₂ group, of which 571 were differential genes. The main GO term of the above differential genes was RNA polymerase and transcriptional regulation, and main KEGG pathways were IL-17 signaling pathway ($P < 0.001$), cytokine-cytokine receptor interaction ($P < 0.001$), Th17 cell differentiation ($P < 0.001$), TNF signaling pathway ($P < 0.001$). According to the number of pathways involved in the regulation of differential genes, the TOP8 hub genes were *Mapk11*, *Mapk12*, *Il1b*, *H2-Ob*, *Csf2*, *Shc2*, *Mmp9*, *Ccl25*. **Conclusion** NMN alleviates lung injury in silicosis mice by regulating immunity.

Keywords: Silicosis; Nicotinamide mononucleotide; RNA-seq; Immune regulation

尘肺是在职业活动中长期吸入生产性粉尘并在肺内滞留而引起的以肺组织弥漫性纤维化为主要特征的疾病,其中,矽肺是尘肺的一种主要类型^[1]。矽肺(Silicosis)也叫硅肺,是因长期吸入大量二氧化硅(SiO₂)粉尘而引起的一种肺部疾病,主要病变特征是肺组织炎性细胞浸润、纤维化和硅结节形成。来自于 Global Health Data Exchange (GHDx) 的数据显示,2019 年全球有超过 12 900 例死亡病例归因于矽肺^[1]。1990 至 2019 年,中国新发尘肺病类型仍以矽肺为主,占矽肺病发病的 81% 以上^[2],给我国公共卫生体系带来沉重的负担。

矽肺发病机制复杂,现有研究假说认为,先天免疫和适应性免疫系统的激活在矽肺的早期阶段起着关键作用。经呼吸道进入肺组织中的 SiO₂ 会对细胞造成损伤,激活免疫系统从而介导巨噬细胞吞噬 SiO₂ 粉尘,并释放细胞因子促进损伤修复^[3-4]。但由于粉尘无法被完全清除,粉尘诱导的系列炎性级联反应持续存在,导致组织修复过度,最终形成肺纤维化^[5]。由此可见,矽肺的发生和进展伴随着免疫失衡和持续的炎性损伤。然而,矽肺的发生涉及多种细胞与细胞、细胞与微环境以及分子与分子之间的相互作用,针对单一或有限分子的研究难以准确阐述矽肺发生发展的分子机制。转录组学技术是对生物样本中所有基因表达与变化情况进行分析的一种高通量技术,在矽肺致病机制与药物研究中已取得一定进展^[6-8],对于矽肺发病机制研究与治疗靶点筛选具有重要作用。

矽肺致病机制不清阻碍了特效治疗药物的研发,目前的临床治疗方案主要是对症治疗。小分子靶向药物如尼达尼布和汉防己甲素已应用于矽肺的临床治疗,但疗效仍不理想^[9-11];在临床前研究中,抗细胞因子、抗氧化剂、影响自噬溶酶体系统的药物、增加环腺苷水平的药物以及一些特异性 microRNA 等均可抑制 SiO₂ 诱导的肺损伤^[12]。然而,上述药物大多针对矽肺的具体症状,疗效有限且可能伴随一定的副作用,安全有效的矽肺治疗药物仍然缺乏。烟酰胺单核苷酸(Nicotinamide Mononucleotide, NMN)是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(Nicotinamide Adenine

Dinucleotide, NAD⁺)的直接前体和高效补充剂。研究表明,在细胞内 NAD⁺ 及其代谢产物是白细胞 Ca²⁺ 信号转导所必需的第二信使^[13],这些信号分子在调节先天免疫和适应性免疫中发挥着重要作用,表明 NAD⁺ 及其代谢物可以对多种免疫调节途径产生影响。既往研究表明,连续 7 天和 28 天给予 C57BL/6 小鼠 500 mg/kg 和 1 000 mg/kg 的 NMN 干预能显著减轻 SiO₂ 诱导的肺部病变,组织病理学上表现为肺重系数降低,肺组织中炎性细胞募集和浸润减少,并且 NMN 可以通过降低活性氧水平和增加谷胱甘肽水平来减轻 SiO₂ 诱导的氧化损伤^[14],但 NMN 在矽肺中的作用与机制尚不清楚。

综上,本研究将使用 SiO₂ 构建染尘小鼠模型,利用转录组测序分析染尘小鼠肺组织基因表达谱的变化,并筛选 NMN 缓解矽肺损伤的关键基因,全面解析 NMN 减轻肺损伤的机制,为将 NMN 用于矽肺的临床辅助治疗提供初步线索。

1 材料与方法

1.1 动物与实验样本 6~8 周龄的雄性 C57BL/6 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,饲养于四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院实验动物中心。本研究方案已通过四川大学华西公共卫生学院/华西第四医院动物伦理委员会的批准(No: Gwll2021073)。

1.2 主要试剂耗材 NMN 购自成都川宇健维生物科技有限公司;SiO₂ 购自美国西格玛-奥德里奇公司;Trizol 试剂购自美国赛默飞生物科技公司;4% 多聚甲醛购自合肥白鲨生物科技有限公司;生物分析仪 2100 和 RNA 6000 Nano 试剂盒购自美国安捷伦公司;动物总 RNA 分离试剂盒购自成都福际生物技术有限公司;Taq Pro Universal SYBR q-PCR 预混液购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;含 gDNA 去除剂的 qPCR 用 ABScript III RT 预混液购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 动物分组、造模及给药方法 将小鼠按体重随机分为对照组(Control 组)、SiO₂ 染尘组(SiO₂ 组)、

和 NMN 干预组 (SiO₂ + NMN 组), 每组 10 只动物。通过单次非暴露式气管滴注法向小鼠滴注 SiO₂ 悬液 (50 mg/ml, 80 μ l)^[15] 构建 SiO₂ 染尘模型; NMN 干预组小鼠采用相同方法染尘后通过灌胃每日给予 NMN (1 000 mg/kg)^[14,16-17], 分别持续 7 天、28 天, 每三天记录一次小鼠体重。

1.3.2 样本收集 分别于第 7 天、第 28 天行颈椎脱臼法处死小鼠, 解剖取肺组织, 部分肺组织固定于组织固定液中, 用于组织学染色; 剩余肺组织用液氮快速冷冻后放在 -80℃ 冰箱中保存备用。

1.3.3 小鼠肺组织病理学染色 采用苏木精伊红染色法 (Hematoxylin - Eosin staining, H&E) 观察肺组织病理变化, 用 4% 多聚甲醛固定组织, 24 小时后制作石蜡切片, 在染色前用梯度醇溶液对切片进行脱蜡后依次用苏木精溶液和伊红染色液染色, 梯度醇溶液脱水后置于二甲苯中透明, 最后用中性树脂密封切片。使用病理大组织全切片扫描系统观察肺组织的病变情况。

1.3.4 小鼠肺组织转录组学测序 使用 Trizol 试剂对总样品的 RNA 进行分离和纯化, 通过质控、完整性检测、琼脂糖电泳后对带有多聚腺苷酸的 mRNA 进行特异性捕获, 利用镁离子对其片段化后通过逆转录酶合成 cDNA 同时掺入 dUTP Solution, 经 UDP 酶消化后通过 PCR 形成片段大小为 (300 \pm 5) bp 的文库, 使用 illuminaNovaseq™ 6000 进行双端测序。

1.3.5 小鼠肺组织转录组学分析 使用 omicstudio 分析平台 (<https://www.omicstudio.cn/tool>) 对数据进行分析, 以 FPKM 值表示基因表达水平 (界值 $P < 0.05$), 以 $-\log_{10}(P - \text{value})$ 值绘制热图; 筛选与对照组相比 SiO₂ 组上调、且与 SiO₂ 组相比 NMN 组下调的差异基因为发挥促进保护作用的基因, 定义为保护基因, 与对照组相比 SiO₂ 组下调、且与 SiO₂ 组相比 NMN 组上调的差异基因为发挥抑制保护作用的基因, 定义为抑制基因, 绘制韦恩图; 对二者的共同基因进行 GO 和 KEGG 富集分析筛选出富集通路; 对共同 KEGG 通路中的基因进行蛋白质相互作用 (Protein - Protein Interaction, PPI) 网络分析筛选出关键基因。

1.3.6 统计分析 计数资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 GraphPadPrism 8 软件进行统计处理。差异基因的富集分析采用超几何检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

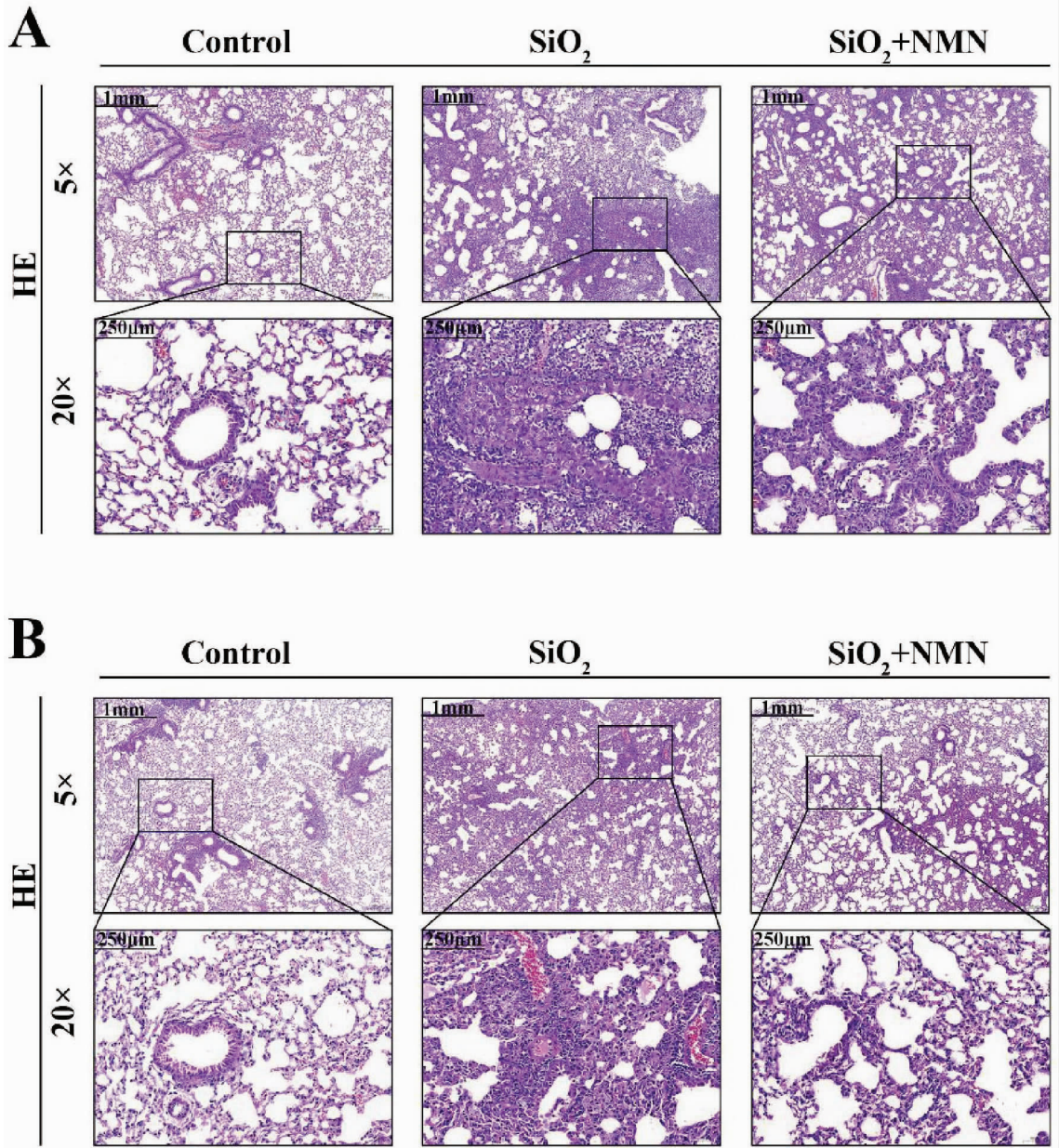
2.1 NMN 改善染尘小鼠的肺组织损伤 小鼠肺组织 H&E 染色结果如图 1A、1B 所示, 与对照组相比, 染尘 7 天后肺泡壁增厚, 肺泡完整性破坏, 可见炎性细胞浸润, NMN 干预后小鼠肺组织病变程度减轻; 染

尘 28 天后, 肺组织中可见炎性细胞结节形成, 伴纤维细胞增生, 与 SiO₂ 暴露 7 天相比, 暴露 28 天后小鼠肺组织的正常区域进一步减少, NMN 干预抑制 SiO₂ 诱导的肺组织病变, 提示 NMN 干预缓解 SiO₂ 诱导的肺损伤。

2.2 NMN 干预改善染尘小鼠肺组织基因表达谱的紊乱 如图 2A、2B 所示, 基因聚类热图显示染尘导致肺组织整体基因表达谱发生明显变化, 而 NMN 干预能够在一定程度上改善染尘诱导的基因表达谱紊乱, 并且在 28 天时, 改善效果更好。图 2C、2D 显示染尘 7 天后, 与对照组相比 SiO₂ 组上调、且与 SiO₂ 组相比 NMN 组下调的保护基因共 2 970 个, 染尘 28 天后共 11 878 个, 二者取交集后有 1 163 个共同基因, 其中 445 个为差异基因, 718 个为非差异基因; 染尘 7 天后与对照组相比 SiO₂ 组下调、且与 SiO₂ 组相比 NMN 组上调的抑制基因共 7770 个, 染尘 28 天后共 5 440 个, 二者取交集后共有 1 657 个共同基因, 其中 571 个为差异基因, 1 086 个为非差异基因。

2.3 NMN 通过免疫调节缓解染尘小鼠的肺损伤 对上述共同基因进行富集分析, GO 分析结果如图 3A、3B 所示, 保护基因的差异基因富集在生物过程的条目为 DNA 为模板的转录调控、RNA 聚合酶 II 对转录的正向调节、多细胞生物的发育、信号转导等; 富集在细胞组分的条目为细胞膜、细胞质、膜的组成部分、细胞核等; 富集在分子功能的条目为蛋白质结合、金属离子结合、相同蛋白质结合、DNA 结合等。在抑制基因的差异基因中, 富集在生物过程的条目为细胞周期、以 DNA 为模板的转录调控、信号转导、RNA 聚合酶 II 对转录的正向调节等; 富集在细胞组分的条目为细胞质、细胞核、细胞膜、细胞质等; 富集在分子功能的条目为蛋白质结合、金属离子结合、核苷酸结合、ATP 结合等。上述结果表明 NMN 通过调控 DNA 结合、RNA 聚合酶及转录等过程缓解 SiO₂ 染尘小鼠肺损伤。

KEGG 分析结果如图 3C、3D 所示, 保护基因的差异基因主要富集在丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen - activated Protein Kinase, MAPK) 信号通路 ($P < 0.001$)、IL - 17 信号通路 ($P < 0.001$)、肿瘤坏死因子 (Tumor Necrosis Factor, TNF) 信号通路 ($P < 0.001$)、辅助性 T 细胞 17 (T Helper Cell 17, Th17) 细胞分化 ($P < 0.001$) 等; 抑制基因的差异基因主要富集在细胞因子 - 细胞因子受体相互作用 ($P < 0.001$)、自然杀伤细胞介导的细胞毒性 ($P < 0.001$)、抗原呈递和表达 ($P < 0.001$)、原发性免疫缺陷 ($P < 0.001$) 等。如表 1、2 所示, 二者取交集后共筛选出 165 条共同 KEGG 通路, 其中生物系统相关的 KEGG 通路数目仅



注:A 为 NMN 干预 7 天小鼠肺组织 H&E 染色;B 为 NMN 干预 28 天小鼠肺组织 H&E 染色。放大倍数为 5 ×、20 ×。

图 1 NMN 干预 7 天和 28 天小鼠 H&E 染色结果

Fig. 1 Histopathological staining of 7day mice and 28day micewith NMN intervention

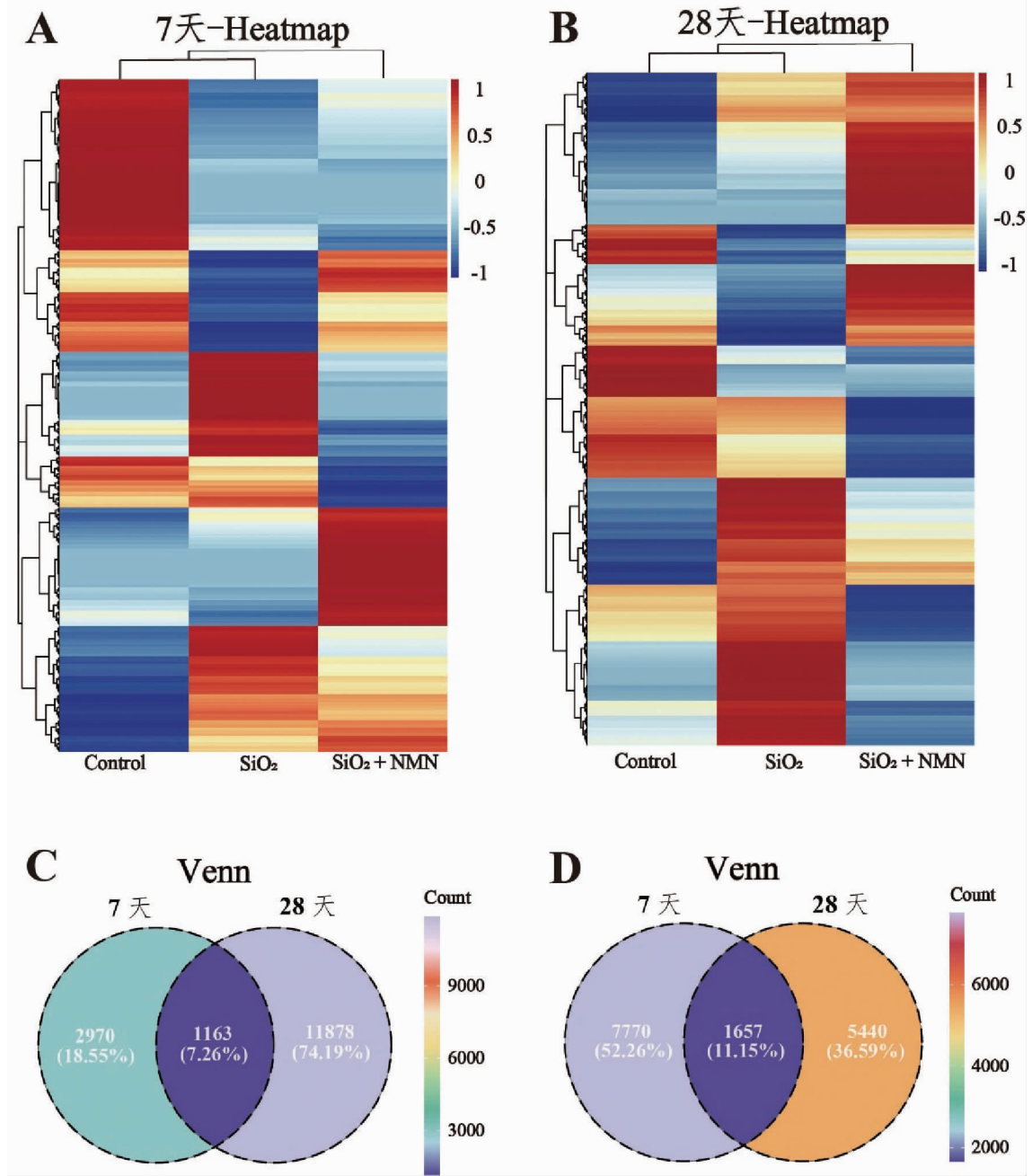
次于人类疾病,这些通路中与免疫系统相关的通路数目又为最多。表 3 中,这些免疫系统相关 KEGG 通路中共包含 30 个重复差异基因,按差异基因参与调控的通路数筛选出其中 TOP8 基因,包括 *Mapk11*、*Mapk12*、*Il1b*、*H2 - Ob*、*Csf2*、*Shc2*、*Mmp9*、*Ccl25*。表四中反向分析后发现 30 个重复差异基因主要在 IL - 17 信号通路、细胞因子 - 细胞因子受体相互作用、Th17 细胞分化、TNF 信号通路等通路中表达。PPI 分析结果如图 3E、3F 所示,基于现有的研究报道和数据库分析表明, TOP8 基因中有 6 个相互作用较为密切。以上结果提示 NMN 可以通过免疫调节缓解 SiO₂ 染

小鼠肺损伤。

表 1 共同基因 KEGG 富集条目一级水平

Table 1 Level 1 of KEGG terms for common genes

KEGG 富集条目一级水平	KEGG 条目数量
人类疾病	55
生物体系统	48
环境信息处理	19
代谢	17
分子过程	15
遗传信息处理	11
总计	165



注:A为NMN干预7天小鼠基因的聚类分析热图;B为NMN干预28天小鼠基因的聚类分析热图;C为NMN干预7天和28天小鼠肺组织中保护基因韦恩图;D为NMN干预7天和28天小鼠肺组织中抑制基因韦恩图。

图2 NMN干预7天和28天小鼠基因的热图与韦恩图

Fig. 2 Heatmaps and Venn diagrams for genes of 7day and 28day mice with NMN intervention

表2 共同基因 KEGG 富集条目二级水平

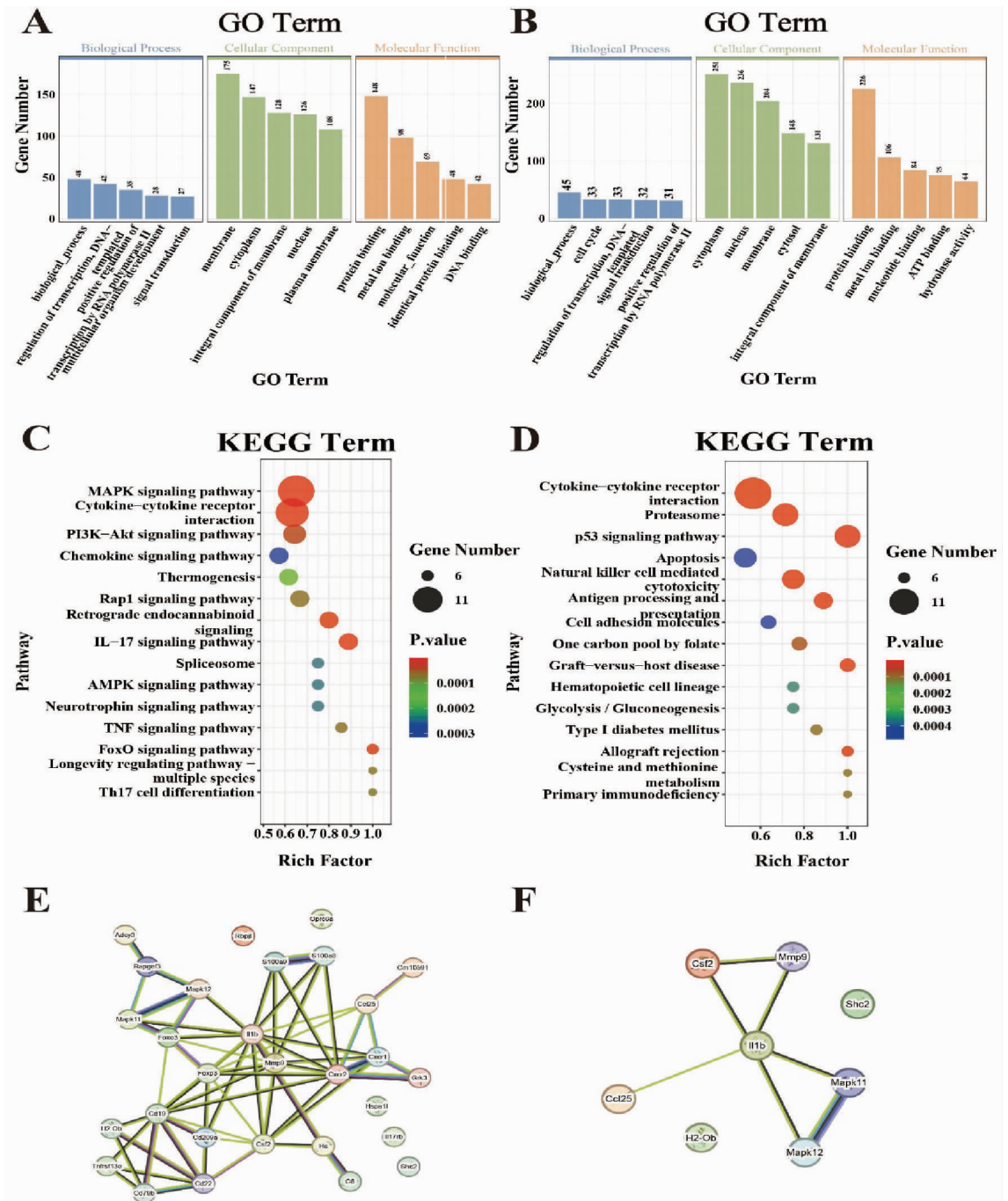
Table 2 Level 2 of KEGG terms for common genes

KEGG 富集条目二级水平	KEGG 条目数量
免疫系统	16
内分泌系统	12
神经系统	6
消化系统	5
感官系统	2
生长发育	2
环境适应	2
排泄系统	1
老化	1
循环系统	1
总计	48

表3 免疫相关通路中差异基因的重复次数

Table 3 Number of repetitions of differential genes in immune pathways

基因名称	重复次数
<i>Mapk11</i>	9
<i>Mapk12</i>	8
<i>Il1b</i>	6
<i>H2 - Ob</i>	5
<i>Csf2</i>	4
<i>Mmp9</i>	2
<i>Shc2</i>	2



注:A 为保护基因的 GO 富集分析;B 为抑制基因的 GO 富集分析;C 为保护基因的 KEGG 气泡图;D 为抑制基因的 KEGG 气泡图;E 为 30 个差异基因的 PPI 网络图;F 为 TOP8 差异基因的 PPI 网络图。

图 3 共同基因的富集分析图和关键差异基因的 PPI 分析图

Fig. 3 Enrichment analysis of common genes and PPI analysis of key differential genes

(续表)

基因名称	重复次数
<i>Ccl25</i>	2
<i>S100a8</i> , <i>Il17rb</i> , <i>S100a9</i> , <i>Foxp3</i> , <i>Cxcr2</i> , <i>Gm10591</i> , <i>Adcy3</i> , <i>Grk3</i> , <i>Foxo3</i> , <i>She2</i> , <i>Cxcr1</i> , <i>Gpr6a</i> , <i>Rbpjl</i> , <i>Cd22</i> , <i>Cd79b</i> , <i>Cd19</i> , <i>Cd209a</i> , <i>Rapgef3</i> , <i>Tnfrsf13c</i> , <i>C6</i> , <i>Hc</i> , <i>Hspa11</i>	1

表 4 包含关键差异基因的通路

Table 4 Pathways containing key differential genes

通路名称	包含的关键基因
IL-17 信号通路	<i>Mapk12</i> , <i>Mapk11</i> , <i>Csf2</i> , <i>Mmp9</i> , <i>S100a8</i> , <i>S100a9</i> , <i>Il17rb</i> , <i>Il1b</i>
细胞因子-细胞因子受体相互作用	<i>Il1b</i> , <i>Csf2</i> , <i>Ccl25</i> , <i>Tnfrsf13c</i> , <i>Cxcr1</i> , <i>Il17rb</i> , <i>Cxcr2</i>
Th17 细胞分化	<i>Mapk11</i> , <i>Mapk12</i> , <i>Il1b</i> , <i>H2-Ob</i> , <i>Foxp3</i>
TNF 信号通路	<i>Mapk11</i> , <i>Mapk12</i> , <i>Il1b</i> , <i>Csf2</i> , <i>Mmp9</i>

3 讨论

本研究结果表明, NMN 干预能有效减轻 SiO₂ 诱

导的肺损伤,表现为肺组织病变减轻,基因表达谱部分恢复。组织病理学染色是评价肺组织病变程度的金标准,既往研究表明,NMN 干预能够减轻颗粒物诱导的小鼠肺组织炎性细胞浸润和胶原沉积,从而缓解肺纤维化^[18]。在博来霉素诱导的肺纤维化小鼠中,NMN 干预也能减轻肺泡结构破坏的程度和肺间质炎性浸润程度^[19],与本研究观察到的结果相似。免疫调控是矽肺发生和进展的驱动因素,贯穿矽肺发展的整个病程,本研究的转录组学结果表明,NMN 主要通过调节免疫缓解 SiO₂ 诱导的肺损伤。已有研究报道了 NMN 在免疫调节中的作用,NMN 可通过激活 IDO - kynurenine - AhR 通路来抑制巨噬细胞的炎性损伤,而巨噬细胞与免疫调节密切相关^[20]。此外,NMN 还可以抑制 CD4⁺ T 细胞的激活,并增强嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法(Chimeric Antigen Receptor T - Cell Immunotherapy, CAR - T)治疗的效果,是一种潜在的抗病毒辅助制剂^[21]。上述研究进一步证实了 NMN 的免疫调节作用,此前已有临床研究证实 NMN 具有良好的安全性^[22],因此,NMN 可能是一种潜在的免疫调节辅助剂,可作为矽肺临床辅助治疗剂的一种选择。

除矽肺外,SiO₂ 暴露还与许多自身免疫性疾病有关,流行病学研究发现 SiO₂ 吸入与系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、原发性系统性血管炎、韦格纳肉芽肿病和系统性硬化症的发生密切相关^[23],与另一项关于 SiO₂ 相关肺病患者的风湿病并发症的评价结果一致^[24],提示免疫调控在矽肺发展中的重要作用。本研究从转录组学角度出发,筛选了 7 天和 28 天小鼠染尘后的 1 163 个共同保护基因,以及 1 657 个共同抑制基因,共 2 820 个共同基因,表明 NMN 干预可以在一定程度上纠正肺组织基因表达的紊乱。信号机制上,富集分析后发现这些共同基因主要富集的 GO 条目为 RNA 聚合酶及转录调控等,KEGG 通路为 IL - 17 信号通路、细胞因子 - 细胞因子受体相互作用、Th17 细胞分化、TNF 信号通路等,研究表明细胞因子与细胞因子受体结合后可传递信号,并参与免疫反应的调控,如 IL - 17 细胞因子及 TNF 在免疫调节、免疫抑制和免疫效应的功能中起着重要作用^[6,25],而 Th17 细胞可以通过分泌 IL - 17 从而介导免疫反应^[26]。对上述共同基因进行分析后筛选出 30 个共同差异基因,按差异基因参与调控的通路数筛选出 TOP 8 基因,包括 *Ccl25* 等。本研究与另一项转录组学分析研究筛选出的 KEGG 通路均包含细胞因子 - 细胞因子受体相互作用通路、IL - 17 信号通路、趋化因子信号通路^[27],且这些通路均与免疫调控相关;该研究筛选出的关键差异基因 *Ccl2*、*Ccl7* 与本研究筛选

出的关键差异基因 *Ccl25* 属于同一家族^[27],且 *Ccl2*、*Ccl7* 和 *Ccl25* 在肿瘤的发生和进展中起着重要作用^[28],进一步表明 NMN 在缓解染尘小鼠肺损伤中的作用。综上,推测 NMN 可以通过免疫调节来缓解 SiO₂ 染尘小鼠的肺损伤。

本研究结果提示 NMN 可改善 SiO₂ 染尘诱导的肺损伤,表明 NMN 可能是一种辅助缓解矽肺的营养补充剂,为矽肺的辅助治疗提供了一种新的选择和线索,但仍存在一定缺陷。首先,仅利用小鼠进行转录组测序,无法完全外推矽肺人群使用 NMN 的实际效果。其次,本研究设计仅为初步分析研究,鉴于机体以及矽肺病理的复杂性,其潜在分子机制以及在矽肺治疗中的预后影响需结合分子实验和临床研究进行进一步的验证,未来还需要更多实践来促进 NMN 的临床转化。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] Chen S, Liu M, Xie F. Global and national burden and trends of mortality and disability - adjusted life years for silicosis, from 1990 to 2019: results from the Global Burden of Disease study 2019 [J]. BMC Pulmonary Medicine, 2022, 22(1): 240.
- [2] 陈相,陈彦凡. 1990 至 2019 年全球和中国尘肺病的疾病负担分析[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2023,41(6):417-424. Chen X, Chen YF. Analysis of the disease burden of pneumoconiosis globally and in China from 1990 to 2019 [J]. Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, 2023, 41(6): 417 - 424. (In Chinese)
- [3] Du SL, Zhou YT, Hu HJ, et al. Silica - induced ROS in alveolar macrophages and its role on the formation of pulmonary fibrosis via polarizing macrophages into M2 phenotype: a review [J]. Toxicology Mechanisms and Methods, 2025, 35(2): 89 - 100.
- [4] Li S, Zhao JH, Han GZ, et al. Silicon dioxide - induced endoplasmic reticulum stress of alveolar macrophages and its role on the formation of silicosis fibrosis: a review article [J]. Toxicology Research, 2023, 12(6): 1024 - 1033.
- [5] Adamcakova J, Mokra D. New insights into pathomechanisms and treatment possibilities for lung silicosis [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(8): 4162.
- [6] Liu T, Su XS, Kong XM, et al. Whole transcriptome sequencing identifies key lncRNAs, circRNAs, and mRNAs for exploring the pathogenesis and therapeutic target of mouse pneumoconiosis [J]. Gene, 2024, 901: 148169.
- [7] Qi Y, Zhao Y, Xia J, et al. Jun and JunB members of the AP - 1 complex are potential therapeutic targets for silicosis [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 277 (Pt 1): 134024.
- [8] Wang JX, Zeng XY, Xue WM, et al. Transcriptomic profiling of lung fibroblasts in silicosis: Regulatory roles of Nrf2 agonists in a mouse model [J]. International Immunopharmacology, 2024, 143 (Pt 1): 113273.
- [9] Li T, Yang XY, Xu H, et al. Early identification, accurate diagnosis, and treatment of silicosis [J]. Canadian Respiratory

- Journal ; Journal of the Canadian Thoracic Society, 2022, 2022; 3769134.
- [10] Cao ZJ, Liu Y, Zhang Z, et al. Pirfenidone ameliorates silica - induced lung inflammation and fibrosis in mice by inhibiting the secretion of interleukin - 17A [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2022, 43(4): 908 - 918.
- [11] Wollin L, Maillet I, Quesniaux V, et al. Antifibrotic and anti - inflammatory activity of the tyrosine kinase inhibitor nintedanib in experimental models of lung fibrosis [J]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2014, 349(2): 209 - 220.
- [12] 柳彤彤, 韩燕星, 蒋建东, 等. 矽肺药物治疗的研究进展 [J]. 药理学学报, 2023, 58(5): 1196 - 1203.
- Liu TT, Han YX, Jiang JD, et al. The developments of silicosis drugs [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2023, 58(5): 1196 - 1203. (In Chinese)
- [13] Guse AH. Calcium mobilizing second messengers derived from NAD [J]. Biochimica et Biophysica acta, 2015, 1854(9): 1132 - 1137.
- [14] Wang LQ, Zhao MY, Qian R, et al. Nicotinamide mononucleotide ameliorates Silica - Induced lung injury through the Nrf2 - Regulated glutathione metabolism pathway in mice [J]. Nutrients, 2022, 15(1): 143.
- [15] Ma J, Wang JQ, Sun RT, et al. Adeno - Associated Virus - Mediated dickkopf - 1 gene transduction reduces Silica - Induced oxidative stress and silicosis in mouse lung [J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2024.
- [16] Ni R, Ji XY, Cao T, et al. Nicotinamide mononucleotide protects septic hearts in mice via preventing cyclophilin F modification and lysosomal dysfunction [J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2024.
- [17] Song Q, Zhou XF, Xu KX, et al. The safety and antiaging effects of nicotinamide mononucleotide in human clinical trials: an update [J]. Advances in Nutrition, 2023, 14(6): 1416 - 1435.
- [18] Zhang R, Chen S, Wang ZW, et al. Assessing the effects of nicotinamide mononucleotide supplementation on pulmonary inflammation in male mice subchronically exposed to ambient particulate matter [J]. Environmental Health Perspectives, 2023, 131(7): 77006.
- [19] Fang TT, Yang JY, Liu L, et al. Nicotinamide mononucleotide ameliorates senescence in alveolar epithelial cells [J]. MedComm, 2021, 2(2): 279 - 287.
- [20] Liu J, Hou WX, Zong ZY, et al. Supplementation of nicotinamide mononucleotide diminishes COX - 2 associated inflammatory responses in macrophages by activating kynurenine/AhR signaling [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2024, 214: 69 - 79.
- [21] Mo YF, Yue M, Yim LY, et al. Nicotinamide mononucleotide impacts HIV - 1 infection by modulating immune activation in T lymphocytes and humanized mice [J]. EBioMedicine, 2023, 98: 104877.
- [22] You YN, Gao Y, Wang H, et al. Subacute toxicity study of nicotinamide mononucleotide via oral administration [J]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 11: 604404.
- [23] Miller FW, Alfredsson L, Costenbader KH, et al. Epidemiology of environmental exposures and human autoimmune diseases: findings from a National Institute of Environmental Health Sciences Expert Panel Workshop [J]. Journal of Autoimmunity, 2012, 39(4): 259 - 271.
- [24] Shtraichman O, Blanc PD, Ollech JE, et al. Outbreak of autoimmune disease in silicosis linked to artificial stone [J]. Occupational Medicine (Oxford, England), 2015, 65(6): 444 - 450.
- [25] Mills KHG. IL - 17 and IL - 17 - producing cells in protection versus pathology [J]. Nature Reviews Immunology, 2023, 23(1): 38 - 54.
- [26] Wen Z, Qiu L, Ye Z, et al. The role of Th/Treg immune cells in osteoarthritis [J]. Frontiers in Immunology, 2024, 15: 1393418.
- [27] 周馨蓓, 张伟, 巢杰. 基于单细胞 RNA 测序和空间转录组测序分析矽肺中巨噬细胞差异基因及其功能 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(12): 1350 - 1358.
- Zhou XB, Zhang W, Chao J. Macrophage differential genes and their functions in silicosis based on single cell RNA sequencing and spatial transcriptome sequencing [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(12): 1350 - 1358. (In Chinese)
- [28] Korbecki J, Kojder K, Simińska D, et al. CC chemokines in a tumor: a review of Pro - Cancer and Anti - Cancer properties of the ligands of receptors CCR1, CCR2, CCR3, and CCR4 [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(21): 8412.

收稿日期: 2024-11-10

(上接第 1475 页)

- [16] Momen G, Aainouss A, Lamaammal A, et al. Molecular characterization of mutations associated with resistance to second line drugs in *Mycobacterium tuberculosis* patients from Casablanca, Morocco [J]. Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo, 2021, 63: e19.
- [17] Sirgel FA, Warren RM, Streicher EM, et al. gyrA mutations and phenotypic susceptibility levels to ofloxacin and moxifloxacin in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2012, 67(5): 1088 - 1093.
- [18] Von Groll A, Martin A, Jureen P, et al. Fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis* and mutations in gyrA and gyrB [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2009, 53(10): 4498 - 4500.
- [19] Yin XM, Yu ZX. Mutation characterization of gyrA and gyrB genes in levofloxacin - resistant *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates from Guangdong Province in China [J]. Journal of Infection, 2010, 61(2): 150 - 154.
- [20] Uddin M, Ather MF, Nasrin R, et al. Correlation of gyr mutations with the minimum inhibitory concentrations of fluoroquinolones among multidrug - resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Bangladesh [J]. Pathogens, 2021, 10(11): 1422.
- [21] Chaiyachatt P, Chairprasert A, Nonghanphithak D, et al. Whole - genome analysis of drug - resistant *Mycobacterium tuberculosis* reveals novel mutations associated with fluoroquinolone resistance [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2021, 58(3): 106385.

收稿日期: 2024-06-14