

機関番号：14101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19780095

研究課題名（和文）ニコチン酸、ニコチンアミドの細胞内への取込み機構ならびに細胞内における動態の解明

研究課題名（英文）Studies on the mechanism of uptake and intracellular dynamics of nicotinic acid and nicotinamide in human cells

研究代表者

緒方 進（OGATA SHIN）

三重大学・大学院生物資源学研究科・助教

研究者番号：70324556

研究成果の概要（和文）：水溶性ビタミンである、ニコチン酸およびニコチンアミドは、哺乳類において様々な生理作用を発揮するが、細胞内への取り込み機構やその動態については不明な点が多い。主に免疫沈降法および免疫染色法による解析の結果、特にニコチンアミドおよびその関連化合物は、ミトコンドリアに局在することが示唆された。しかしながら、これら取り込みにかかわる因子についての同定には至らなかった。

研究成果の概要（英文）：Nicotinic acid and nicotinamide are one of water-soluble vitamins and have various physiological functions in mammals. However, the mechanism of uptake and intracellular dynamics of nicotinic acid and nicotinamide are unknown. Especially, it was suggested that nicotinamide and its related compounds were localized in mitochondria by immunostaining analyses. However, related factors were not identifiable.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,100,000		1,100,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	3,300,000	660,000	3,960,000

研究分野：生化学、分子細胞生物学、分子ビタミン学

科研費の分科・細目：農芸化学・食品科学

キーワード：ニコチン酸、ニコチンアミド、NAD、動物培養細胞、PARP、Sirtuin

## 1. 研究開始当初の背景

水溶性ビタミンであるニコチン酸、ニコチンアミドは、細胞内に取り込まれ、NADに変換された後、様々な生理作用を示す事は広く知られていることであるが、これらビタミンがどのような機構により取り込まれるかについては、特に細胞レベルでの解析がなされていないことから本研究課題の着想に至った。また、ニコチンアミドについて注目すると、NADの前駆体であると同時に、NADが多彩な作用を発揮するうえでの調節因子として機能することも研究者のこれまでの

検討により示唆されていた。そこで、本ビタミンの細胞レベルでの動態解析を検討した。

## 2. 研究の目的

哺乳類細胞において、本ビタミンの細胞内への取込み機構ならびに細胞内における動態の解明を主な目的とした。

## 3. 研究の方法

動物培養細胞を研究材料とし、主に免疫染色法および免疫沈降法による解析により検討を行った。

#### 4. 研究成果

特に、ニコチンアミドが細胞内に取り込まれ、どのような挙動を示すかについて、抗ニコチンアミド抗体を用いての免疫染色法により、細胞内の局在について解析したところ、特にミトコンドリアと予想される部位に局在することが示唆された。さらに、この局在状態の動態を探るために、ニコチンアミドがどのようなタンパク質性の因子と結合しているかについて、続いてはアフィニティビーズによる免疫沈降法により解析した結果、今回のアプローチでは、ニコチンアミドと結合する特定因子の回収、同定には至らなかった。その理由として考えられる事としては、今回の検討で用いたアフィニティビーズの回収能力や特定因子の量の少なさなどが挙げられる。特に後者に関しては、免疫染色法による検討の結果、主にミトコンドリアへの局在が示唆された事から、今後は細胞分画等を行い、オルガネラレベルでの解析を検討する事により、より詳細な知見が得られると予想され、分子および細胞レベルでのビタミン学の進展に貢献することが期待される。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

- ① Keiko Iwata, Shin Ogata, and Hiroshi Taguchi. (2010) Novel events in mitochondria: Increase of poly(ADP-ribosyl)ation in human promyelocytic leukemia HL-60 cell line during differentiation by nicotinamide. *Process Biochemistry*, **45**, 54–59 (査読有)
- ② Chieri Ida, Shin Ogata, Katsuzumi Okumura, and Hiroshi Taguchi. (2009) Induction of Differentiation in K562 Cell Line by Nicotinic Acid-Related Compounds. *Biosci Biotechnol Biochem.*, **73**, 79-84 (査読有)
- ③ Chieri Ida, Shin Ogata, Katsuzumi Okumura, Hiroshi Taguchi. (2008) Changes in the Gene Expression of C-myc and CD38 in HL-60 Cells during Differentiation Induced by Nicotinic Acid-Related Compounds. *Biosci Biotechnol Biochem.*, **72**, 868-871 (査読有)

[学会発表] (計 18 件)

- ① 深田丈嗣、鳥居尚仁、緒方 進  
様々な DNA 損傷処理における PARP-2 の動態の解析  
第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会 2010 年 12 月 7～10 日 神戸市
- ② 緒方 進、井田智恵利、深田丈嗣、鳥居尚仁、奥村克純、田口 寛  
ゲノム維持機構における PARP-1 と PARP-2 の挙動の解析  
日本ビタミン学会第 62 回大会 2010 年 6 月 11～12 日 盛岡市
- ③ 井田智恵利、緒方 進、奥村克純、田口 寛  
ニコチン酸関連化合物によるヒト白血病細胞 K562 の分化誘導機構に関する研究  
日本ビタミン学会第 62 回大会 2010 年 6 月 11～12 日 盛岡市
- ④ 井田智恵利、緒方 進、奥村克純、田口 寛  
ニコチン酸関連化合物によるヒト白血病細胞 K562 の分化誘導における作用機構の検討  
日本ビタミン学会第 61 回大会 2009 年 5 月 30 から 31 日 亀岡市
- ⑤ 緒方 進、臼井貴博、井田智恵利、奥村克純、田口 寛  
ニコチンアミドによるアポトーシスにおける形態変化抑制機構の解析  
日本ビタミン学会第 61 回大会 2009 年 5 月 30 から 31 日 亀岡市

⑥井田智恵利、緒方 進、奥村克純、田口寛

ニコチン酸関連化合物によるヒト白血病細胞 K562 の赤芽球細胞への分化誘導効果について

アジア・コラボ・フォーラム, 2008 年 12 月 20 日 津市

⑦臼井貴博、緒方 進、井田智恵利、奥村克純、田口 寛

ニコチンアミドによるアポトーシス過程における形態変化抑制機構に関する検討

第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会 2008 年 12 月 9 ~12 日 神戸市

⑧井田智恵利、緒方 進、奥村克純、田口寛

ニコチン酸関連化合物によるヒト白血病細胞株における分化誘導効果の検討

第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会 2008 年 12 月 9 ~12 日 神戸市

⑨Cheri Ida, Shin Ogata, Katsuzumi Okumura, Hiroshi Taguchi

INDUCTION OF DIFFERENTIATION IN LEUKEMIA CELL LINE BY NICOTINIC ACID-RELATED COMPOUNDS. Forth China-Japan international Conference on Vitamins, October 12-15, 2008, Xi'an, China

⑩緒方 進、井田智恵利、奥村克純、田口寛

ニコチン酸関連化合物によるヒト慢性骨髄性白血病細胞 K562 の分化誘導効果について

日本ビタミン学会第 60 回大会 2008 年 6 月 13~14 日 仙台市

⑪井田智恵利、緒方 進、奥村克純、田口寛

ニコチンアミド処理によりヒト白血病細胞 HL-60 において発現が変動する遺伝子の解析

日本ビタミン学会第 60 回大会 2008 年 6 月 13~14 日 仙台市

⑫緒方 進、井田智恵利、大野麻衣、野畑靖浩、田口 寛

NAD 酵素サイクリング法による新規 DNA 損傷評価法の検討

日本農芸化学会大会 2008 年 3 月 26~29 日 名古屋市

⑬井田智恵利、緒方 進、奥村克純、田口寛

ヒト白血病細胞 HL-60 の分化誘導過程においてニコチンアミドにより発現が制御される遺伝子の解析

第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 2007 年 12 月 11 ~14 日 横浜市

⑭緒方 進、井田智恵利、小川瑠美子、奥村克純、田口 寛

ヒト白血病細胞 HL-60 の様々な分化誘導過程における細胞内 NADH 量の変動について 日本農芸化学会関西支部中部支部合同大会 (中部支部第 150 回例会) 2007 年 9 月 21~22 日 春日井市

⑮緒方 進、井田智恵利、奥村克純、田口寛

ヒト白血病細胞 HL-60 の分化誘導過程におけるニコチン酸関連化合物の併用効果の検討

日本農芸化学会関西支部中部支部合同大会（中部支部第 150 回例会）2007 年 9 月 21～22 日 春日井市

⑩緒方 進、鈴木荘史、奥村克純、田口 寛  
細胞死誘導機構時にニコチンアミド類による形態変化抑制効果に対する作用機構の解析

日本ビタミン学会第 59 回大会 2007 年 5 月 24～25 日 佐世保市

⑪緒方 進、東川七瀬、井田智恵利、奥村克純、田口 寛

白血病の分化誘導治療におけるニコチン酸関連化合物による併用効果の検討

日本ビタミン学会第 59 回大会 2007 年 5 月 24～25 日 佐世保市

⑫緒方 進、小川留美子、井田智恵利、奥村克純、田口 寛

ヒト白血病細胞 HL-60 の分化誘導過程における細胞内 NADH 量の解析

日本ビタミン学会第 59 回大会 2007 年 5 月 24～25 日 佐世保市

〔図書〕（計 1 件）

ビタミンの総合事典（共著）緒方 進  
「ナイアシン」 p 259-262  
日本ビタミン学会編 朝倉書店 2010 年

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

名称：DNA の損傷量を定量的に測定する方法

発明者：田口 寛、緒方 進、野畑 靖浩

権利者：国立大学法人 三重大学、伯東株式会社

種類：特許権

番号：特開 2010-022335

出願年月日：2008 年 07 月 24 日

国内外の別：国内

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

緒方 進 (OGATA SHIN)

三重大学・大学院生物資源学研究所・助教  
研究者番号：70324556

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：