

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：24201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K20117

研究課題名(和文)ナイアシン栄養状態の変動が代謝調節にもたらす影響の網羅的解析

研究課題名(英文)Comprehensive analysis on the effects of niacin nutritional fluctuations for metabolic regulation

研究代表者

畑山 翔(Hatayama, Sho)

滋賀県立大学・人間文化学部・講師

研究者番号：70825801

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：栄養生化学、生理学、ビタミン学の観点からナイアシン栄養状態が代謝調節機能におよぼす影響について網羅的に解析することを目指す。本研究により、トリプトファン-ニコチンアミド転換経路の律速酵素を欠失したキヌレニン-3-モノオキシゲナーゼ欠失(KMO-KO)マウスを用いたナイアシン栄養状態を自在にコントロール可能なモデル動物が確立された。このモデル動物を用いた解析から、エタノール摂取はNAD消費の亢進によってナイアシン栄養状態の低下を引き起こすことが示唆された。また、ヒト尿検体の解析により、アルコール依存症患者におけるナイアシン栄養状態の実態についても明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により確立したモデル動物は、生体内の「真」のナイアシン栄養状態を評価可能である。そのため、ナイアシン栄養状態に影響をおよぼす因子、またナイアシン栄養状態とさまざまな生理機能の関連について、分子レベルで解明することに貢献するものである。また、本研究成果はエタノール摂取によるナイアシン栄養状態の低下機構を明らかにしたことから、わが国においても問題となっているアルコール依存症患者におけるナイアシン欠乏様症状の効果的な予防・治療法の確立につながるという社会的意義をもつ。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to analysis the effect of niacin nutritional status on metabolic regulation from nutritional and vitaminology aspects. In the present study, we established the model animal that could control niacin nutritional status by using kynurenine-3-monooxygenase, rate limiting enzyme of tryptophan-nicotinamide pathway, knock out (KMO-KO) mice. By using this model animal, we suggested that ethanol intake induced the deterioration of niacin nutritional status via increase of NAD consumption. In addition, we also revealed the niacin nutritional status of patients with alcohol use disorders by using urine samples.

研究分野：栄養学および健康科学

キーワード：ナイアシン トリプトファン-ニコチンアミド転換経路 代謝 栄養

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ナイアシン(ニコチンアミド, ニコチン酸)は NAD, NADP として酸化還元反応を始めとする 500 以上もの生化学反応の補酵素となるほか, 生体内で重要なタンパク質の ADP リボシル化やサーチュインの基質として情報伝達や遺伝子の発現・修復に関与するなど, 生命維持の根幹に深く関与している。ナイアシンの欠乏状態では, 皮膚炎, 下痢, 精神神経障害を伴う古典的な欠乏症のペラグラを発症し, 近年わが国においては慢性的なアルコール摂取によるペラグラ様症状が注目されている。その一方で, ナシアシンが生体の生化学反応や遺伝子発現, 代謝経路におよぼす影響といった, ナシアシンの分子レベルでの作用機構については未だ不明な点が多い。

ナイアシンは必須アミノ酸のトリプトファンから生合成され, このトリプトファン由来のナイアシン供給は, 生体の必要量にほぼ等しい。これまで, このトリプトファン-ニコチンアミド転換経路によるナイアシン供給の影響を排除することができないため, 生体における「真」のナイアシン栄養状態が生理機能や代謝機構におよぼす影響を明らかにすることが困難であった。

2. 研究の目的

近年, トリプトファン-ニコチンアミド経路の律速酵素を欠失したマウスを用いることで, 「真」のナイアシン栄養状態を自在にコントロールすることが可能となった。このモデル動物を用いることにより, ナシアシン栄養状態に関連する因子およびナイアシン栄養状態が遺伝子発現や生化学反応, 代謝経路におよぼす影響を解明することが可能である。本研究では, 栄養生化学, 生理学, ビタミン学および臨床栄養学の観点から, ナシアシン栄養状態が遺伝子発現の制御や代謝機能の調節におよぼす影響について網羅的に解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物の飼育

本研究における遺伝子組換えマウスを用いた動物実験を行うにあたり, 滋賀県立大学動物実験委員会および遺伝子組換え実験安全委員会の承認を受けた。飼育室の温度を 22 前後, 湿度を 50%前後に維持した。明暗サイクルについては, 午前 6 時~午後 6 時を明, 午後 6 時~午前 6 時を暗とした。

(2) ヒト検体を用いた臨床研究

ヒト検体を用いた臨床研究において, 患者からの尿検体および血液検体の提供については提供先機関での倫理審査委員会において承認を受けた。研究へ参加することは個人の自由意志であり, 強制されるものではないこと, 同意しなくても不利益は生じないこと, 一旦同意した場合もいつでも同意を撤回できること, その場合は提供された研究用尿・血液およびその結果は破棄されて研究に使用されないこと, データは個人情報であり, 厳重に管理され, 個人識別情報(氏名, 生年月日, 患者 ID 等)とは分離し, 施錠されたキャビネットに厳重に保管されることなどを十分に説明した。

(3) モデル動物におけるナイアシン必要量算出試験

4 週齢の C57/BL6 KM0-KO マウスにさまざまな量のニコチン酸含有食(2.5, 5.0, 7.5, 10, 30 mg/kg)を与え, 28 日間飼育した。飼育期間中, 24 時間尿を採尿し, 分析に供した。飼育終了後にマウスを屠殺し, 採血および臓器(肝臓, 心臓, 腓腹筋, 脾臓, 腎臓, 肺, 胃, 小腸, 大腸)の摘出を行った。血液, 各臓器を分析に供した。

(4) モデル動物におけるナイアシン必要量算出試験

4 週齢の C57/BL6 KM0-KO マウスにさまざまな量のニコチン酸含有食(2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 30 mg/kg)を与え, 28 日間飼育した。飼育期間中, 24 時間尿を採尿し, 分析に供した。飼育終了後にマウスを屠殺し, 採血および臓器(肝臓, 心臓, 腓腹筋, 脾臓, 腎臓, 肺, 胃, 小腸, 大腸)の摘出を行った。血液, 各臓器を分析に供した。肝臓 Sirt1 発現量をウエスタンブロッティングにより評価した。

(5) モデル動物におけるアルコール摂取がナイアシン栄養状態におよぼす影響

4 週齢の C57/BL6 KM0-KO マウスに飼料として 4.0 mg/kg ニコチン酸含有食と 30 mg/kg ニコチン酸含有食のいずれか, 飲水として 15%エタノールと水のいずれかを与え, 35 日間飼育した。飼育期間中, 24 時間尿を採尿し, 分析に供した。飼育終了後にマウスを屠殺し, 採血および肝臓の摘出を行い, 血液, 肝臓を分析に供した。肝臓トリプトファン-ニコチンアミド転換経路の酵素活性を測定した。肝臓 Sirt1 発現量をウエスタンブロッティングにより評価した。

(6) アルコール依存症患者におけるナイアシン栄養状態の評価

共同研究先より提供されたアルコール依存症患者の尿検体を分析に供し, ナシアシン栄養指

標 (MNA, 2-Py, 4-Py, ニコチンアミド) を HPLC 法により測定した。

4. 研究成果

(1) モデル動物におけるナイアシン必要量算出試験

2.5 mg/kg ニコチン酸食群において成長抑制が認められ、また 5 mg/kg ニコチン酸食群で最大成長が認められたことから、若齢 KMO-KO マウスにおける最大成長を指標としたナイアシン必要量は 2.5~5 mg/kg であることが示された。2.5 mg/kg ニコチン酸食群では肝臓 NAD 含量および全血 NAD 濃度が低値を示したことから、ナイアシン栄養状態の低下が示された。各臓器においてもニコチン酸摂取量の減少に伴い臓器中総ニコチンアミド含量が低値を示した。この時、ニコチン酸摂取量の減少が臓器中ニコチンアミド含量におよぼす影響は臓器ごとに異なることから、ナイアシン供給の優先度は臓器ごとに異なる可能性が示唆された。また、2.5~10 mg/kg ニコチン酸食群において尿中総ニコチンアミド代謝産物排泄量は対照 (30 mg/kg ニコチン酸食摂取群) と比較して著しく低値であったことから、最大成長を示すニコチン酸を摂取した場合でも体内のナイアシン栄養状態は飽和には至っていないことが示唆された。以上の結果より、KMO-KO マウスにおけるナイアシン必要量が示されたが、このモデル動物を今後の検討に用いるためには、より正確なナイアシン必要量を解明する必要性が示唆された。

(2) モデル動物におけるナイアシン必要量算出試験

3 mg/kg 以下のニコチン酸食群において成長抑制が認められ、また 4 mg/kg ニコチン酸食群で最大成長が認められたことから、若齢 KMO-KO マウスにおける最大成長を指標としたナイアシン必要量は 4.0 mg/kg であることが示された。肝臓 NAD 含量および全血 NAD 濃度はニコチン酸摂取量の減少に伴い低値を示したことから、ニコチン酸摂取の減少によるナイアシン栄養状態の低下が示された。各臓器においてもニコチン酸摂取量の減少に伴い、臓器中総ニコチンアミド含量が低値を示し、特に消化管および腓腹筋はナイアシン栄養状態が変動しやすいことが示唆された。4 mg/kg ニコチン酸食摂取群において、肝臓 Sirt1 発現量が低値を示した。以上の結果より、KMO-KO マウスを用いたナイアシン栄養状態を評価可能なモデル動物が確立され、ナイアシン栄養状態の低下は Sirt1 発現の低下を介して代謝調節の影響をおよぼす可能性が示唆された。

(3) モデル動物におけるアルコール摂取がナイアシン栄養状態におよぼす影響

4 mg/kg ニコチン酸食摂取群において、エタノール摂取により飼育 21 日目以降での成長の停滞が認められた。一方、30 mg/kg ニコチン酸食摂取群ではエタノール摂取による影響は認められなかった。4 mg/kg ニコチン酸食摂取群では、エタノール摂取により肝臓 NAD 含量、全血 NAD 濃度および尿中総ニコチンアミド代謝産物排泄量が低値を示したことから、エタノール摂取によるナイアシン栄養状態の低下が示された。また、4 mg/kg ニコチン酸食摂取群におけるエタノール摂取による成長抑制は、飼料を 30 mg/kg ニコチン酸食に切り替えることで消失したことから、エタノール摂取による成長抑制はナイアシン欠乏に起因することが示唆された。エタノール摂取はいずれの群においても、肝臓トリプトファン ニコチンアミド酵素活性および Nampt 発現量に影響をおよぼさなかった。また、エタノール摂取は肝臓 Sirt1 発現量においても影響をおよぼさなかった。以上の結果から、エタノール摂取は NAD 消費の亢進を介してナイアシン栄養状態の低下を引き起こしていることが示唆された。

(4) アルコール依存症患者におけるナイアシン栄養状態の評価

分析した検体のうち、尿中ナイアシン関連代謝産物排泄量が著しく低下している検体が認められたことから、慢性的なアルコール摂取がナイアシン栄養状態の低下を引き起こしていることが示唆された。今後、さらに解析検体数を増やしていくことで、その関連を解明することが望まれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hirai M, Hatayama S, Kimata M, Shibata K, Fukuwatari T.	4. 巻 67
2. 論文標題 Effects of B-Group Vitamin Administration on Daily Change in Urine 2-Oxo Acids in Young Japanese Women	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Nutr Sci Vitaminol	6. 最初と最後の頁 63-67
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3177/jnsv.67.63.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 畑山 翔, 井上真実, 宮前里帆, 水谷天音, 福渡 努
2. 発表標題 ラットにおける部分肝切除がトリプトファン NAD合成経路におよぼす影響
3. 学会等名 第14回日本アミノ酸学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水谷 天音, 畑山 翔, 佐藤 未羽, 山本 康子, 斎藤 邦明, 福渡 努
2. 発表標題 マウスにおけるナイアシン必要量の算出
3. 学会等名 第74回 日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水谷 天音, 畑山 翔, 佐藤 未羽, 山本 康子, 斎藤 邦明, 福渡 努
2. 発表標題 ナイアシン低栄養状態におけるナイアシン生体指標
3. 学会等名 日本ビタミン学会第72回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 宮前里帆, 相宮紫乃, 畑山翔, 福渡努
2. 発表標題 部分肝切除が脳内キヌレン酸濃度におよぼす影響
3. 学会等名 日本ビタミン学会第73回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 畑山翔, 宮前里帆, 水谷天音, 松井藍子, 相宮紫乃, 福渡努
2. 発表標題 ラットにおける部分肝切除がナイアシン栄養状態におよぼす影響
3. 学会等名 日本ビタミン学会第73回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 畑山翔, 牧野すみれ, 諫本みなみ, 森紀之, 福渡努
2. 発表標題 ヒトにおける小麦胚芽に含まれるビタミンB1, B6の生物有効性
3. 学会等名 第75回日本栄養・食糧学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮前里帆, 相宮紫乃, 井上真実, 辰巳佐和子, 畑山翔, 福渡努
2. 発表標題 部分肝切除に伴う肝臓トリプトファン代謝低下が 脳内キヌレン酸産生におよぼす影響
3. 学会等名 日本アミノ酸学会第15回学術大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------