

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月25日現在

機関番号： 15201
研究種目： 基盤研究（C）
研究期間： 2009 ～ 2011
課題番号： 21591163
研究課題名（和文） ニコチン酸の長寿遺伝子 SIRT1 活性化を介した HDL-C 増加メカニズム
研究課題名（英文） Does nicotinic acid increase HDL-cholesterol through activation of longevity factor SIRT1?
研究代表者
土屋 美加子（TSUCHIYA MIKAKO）
島根大学・医学部・教授
研究者番号： 90188582

研究成果の概要（和文）：

高脂血症治療薬ニコチン酸のコレステロールに対する作用が、細胞内 NAD レベルの上昇による長寿遺伝子産物 SIRT1 の活性化を介している可能性を、ラット個体を用いて検討した。ニコチン酸はラット肝臓の NAD を上昇させたがいままでのところ SIRT1 の標的となる遺伝子 ABCA1、CYP7A の発現の変動は見られていない。

研究成果の概要（英文）：

To see whether nicotinic acid exerts its anti-hyperlipidemic effect through SIRT1 activation, expression of possible target genes of SIRT1, ABCA1 and CYP7A, in nicotinic acid administrated rat liver was examined. No change of the genes with marked increase in NAD has been observed so far.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：脂質代謝異常、コレステロール

1. 研究開始当初の背景

ニコチン酸が血中遊離脂肪酸およびコレステロールを低下させ HDL を上昇させる効果をもつことは広く認められている。近年ニコチン酸が脂肪細胞の PUMA-G/HM74A ニコチン酸受容体結合し、抑制性ヘテロ三量体 G タンパク質を介してホルモン感受性リパーゼを抑制し、血中への遊離脂肪酸放出を減少させることが明らかになり、これが高脂血症に対するニコチン酸の効果発現の機序であると考えられている。しかしながら、コレステロール代謝に重要な役割を果たしている肝臓や小腸にはこの受容体がなく、ニコチン酸のコレステロール低下効果の作用機序は不明のままである。ニコチン酸は B 群ビタミンのひとつで、細胞に取り込まれ NAPRT (nicotinic acid phosphoribosyltransferase) を律速酵素とするニコチン酸経路で酸化還元反応の補酵素 NAD に変換される。申請者はニコチン酸が NAD を効果的に上昇させること、この経路が肝臓、小腸で特異的に発現していることを発見した。しかしながらもう一つの NAD 前駆体であるニコチンアミドには NAD 上昇作用もコレステロール低下作用もない。SIRT 1 はカロリー制限による寿命の延長を司る NAD 依存性脱アセチル化酵素であり、NAD によって活性化され、p53 や LXR、PGC-1 α など様々な転写 (調節) 因子を脱アセチル化することでその活性を調節する。SIRT1 はコレステロール代謝を制御する転写因子 LXR を脱アセチル化して転写活性を上昇させ、ABCA1 の転写を促進することでコレステロール逆輸送を促進することが示された。さらに SIRT1 は PGC1- α を活性化してコレステロールを胆汁酸に変換する経路の律速酵素 CYP7A1 の転写を促進し胆汁酸産生を増加することが示された。以上よりニコチン酸のコ

レステロールを低下させ HDL-C を上昇させる効果を発現する機序が NAD 上昇による長寿遺伝子産物 SIRT1 の活性化を介しているのではないかと考えた。

2. 研究の目的

高脂血症治療薬ニコチン酸のコレステロールに対する作用は、細胞内の NAD レベルの上昇による長寿遺伝子産物 SIRT1 の活性化を介して ABCA1、CYP7A の発現を増強することによって起る可能性があることを示す。

3. 研究の方法

ヒト肝臓細胞株 HepG2 でニコチン酸経路の律速酵素 NAPRT (nicotinic acid phosphoribosyltransferase) を安定発現する細胞株を樹立し、ニコチン酸によって細胞内 NAD が上昇する条件を確立し、ニコチン酸投与によってコレステロール代謝に関わる ABCA1、CYP7A の発現がどのように変化するかを、SIRT1 の阻害剤 sirtinol を用いて検討する一方で、ラット初代培養肝細胞に系を変更して同様の実験を行う。

4. 研究成果

HepG2 で NAPRT の安定発現株を作成し、ニコチン酸投与によって細胞内 NAD を効率よく上昇させる系を得ることができたが ABCA1、CYP7A の発現に変化は見られなかった。さらにラット初代培養肝細胞でニコチン酸の効果を検討することを試みたがニコチン酸によって効率よく NAD を上昇させることができなかった。そこでラットの腹腔内にニコチン酸を投与して肝臓の NAD を測定したところ投与の 4 時間後には既に 2 倍程度に上昇することが明らかになった。この条件下で肝臓 mRNA のマイクロアレイ解析と RT-PCR を行ったが SIRT の標的と考えられる ABCA1、CYP7A の発現の変化は検出されなかった。従って肝細胞において NAD 濃度が上昇する条件下であっても少なくとも短時間ではこれら標的遺

伝子に影響を与えることはないと考えられ、より長期の投与において検討する必要がある。

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4件)

- ① Hara N, Yamada K, Shibata T, Osago H, Tsuchiya M., Nicotinamidephosphoribosyltransferase /visfatin does not catalyze nicotinamide mononucleotide formation in blood plasma, PLoS One, 査読有、6(8) e22781、2011、PMID: 21826208
- ② Yamada K., Miyazaki T., Hara N., Tsuchiya M., Interferon- γ elevates nicotinamide N-methyltransferase activity and nicotinamide level in human glioma cells, J. Nutr. Sci. Vitaminol., 査読有、56巻 83-86、2010、PMID:20495288

[学会発表] (計18件)

- ① 原伸正, 山田和夫, 柴田朋子, 長子晴美, 土屋美加子, ニコチン酸の薬理作用は細胞内 NAD レベルの増加を介するか?、第 84 回日本生化学大会、2011. 9. 21-24、京都国際会館 (京都)
- ② 山田和夫, 原伸正, 長子晴美, 土屋美加子, LC/MS/MS を用いた細胞の酸処理による酸化および還元型 NADP の同時定量法の確立、第 84 回日本生化学大会、2011. 9. 21-24、京都国際会館 (京都)
- ③ 土屋美加子, LC/MS/MS による NAD と NADH の同時定量、第 425 回ビタミン B 研究協議会、2011. 9. 1、ホテル宍道湖 (松江)
- ④ 土屋美加子, 細胞外 Nicotinamide phosphoribosyltransferase の生理的意義について、第 423 回ビタミン B 研究協議会、2011. 2. 4、東京商工会議所ビル (東京)
- ⑤ 原伸正, 山田和夫, 柴田朋子, 長子晴美, 土屋美加子, Visfatin/nicotinamide phosphoribosyltransferase does not function as an extracellular NAD synthetic enzyme、第 83 回日本生化学大会、2010. 12. 7-10、神戸コンベンションセンター (神戸)
- ⑥ 山田和夫, 原伸正, 柴田朋子, 長子晴美, 土屋美加子, 質量分析による NADH 酸分解産物を用いた NADH 定量法とこの方法の細胞の酸化還元状態の解析への応用の検討、第 83 回日本生化学大会、2010. 12. 7-10、神戸コンベンションセンター (神戸)
- ⑦ 土屋美加子, 質量分析計による Arg-ADP-リボシル化ペプチドの同定、第 418 回ビタミン B 研究協議会、2009. 11. 28、京都会館 (京都)
- ⑧ 原伸正, 山田和夫, 柴田朋子, 長子晴美, 土屋美加子, Quantitative determination of NAD turnover using deuterium-labeled nicotinamide and nicotinic acid、第 82 回日本生化学大会、2009. 10. 21-24、神戸ポートアイランド (神戸)
- ⑨ 山田和夫, 原伸正, 柴田朋子, 長子晴美, 土屋美加子, Tight regulation of the intracellular nicotinamide concentration in human cells、第 82 回日本生化学大会、2009. 10. 21-24、神戸ポートアイランド (神戸)
- ⑩ 長子晴美, 山田和夫, 柴田朋子, 原伸正, 土屋美加子, 質量分析によるアルギニン特異的 ADP-リボシル化ペプチドの同定、第 82 回日本生化学大会、2009. 10. 21-24、神戸ポートアイランド (神戸)
- ⑪ Nobumasa Hara, Kazuo Yamada, Tomoko Shibata, Harumi Osago, Mikako Tsuchiya, Elevation of Cellular NAD Levels by Nicotinic Acid and Involvement of Nicotinic Acid Phosphoribosyltransferase in Human Cells, NAD METABOLISM AND SIGNALING, 2009. 6. 21-26、CAREFREE,

ARIZONA

- ⑫ Kazuo Yamada, Nobumasa Hara, Tomoko Shibata, Harumi Osago, Mikako Tsuchiya, Measurement of the Precursors of NAD Biosynthesis in Mammalian Cells, NAD METABOLISM AND SIGNALING、2009. 6.21-26、CAREFREE, ARIZONA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土屋 美加子 (TSUCHIYA MIKAKO)
島根大学・医学部・教授
研究者番号：90188582

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：