

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17921

研究課題名（和文）抗老化戦略を見据えた新規NAD合成経路の解明

研究課題名（英文）Elucidation of novel NAD synthesis pathway to develop anti-aging strategy

研究代表者

夜久 圭介（Yaku, Keisuke）

富山大学・学術研究部医学系・助教

研究者番号：70761865

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：抗老化分子と期待されるNADの体内量は加齢によって減少し、その補充療法が注目されている。本研究では、NAD補充効果が高い前駆体であるNRの新たな代謝機構を解明することを目的とした。その結果、経口摂取したNRは大部分が消化管でニコチンアミドに分解され、さらに腸内細菌によってニコチン酸に変換された後に吸収され、利用されることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

NADは生命維持に必須であるビタミンB3であり、その体内量を維持することが老化関連疾患の予防・治療に有効であると考えられている。NAD補充方法の中でも前駆体の経口投与は最も簡便であり、効果的なNAD前駆体の探索が行われている。本研究ではNAD補充効率が良いと期待されるNRの消化管内での動態を明らかにした。これらの結果は肥満や糖尿病などの老化関連疾患に対する介入方法を確立する上で重要な知見となる。

研究成果の概要（英文）：Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) levels in the body decline with age, while replenishment of NAD is expected to slow or reverse aging processes. In this study, we aimed to elucidate the metabolism of Nicotinamide riboside (NR) which is the effective precursor for NAD repletion. We found that NR is digested into Nicotinamide by CD157, then converted into NR by gut microbiota.

研究分野：医化学一般

キーワード：NAD代謝 老化

1. 研究開始当初の背景

Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD)は細胞内の酸化還元反応に関わる補酵素であり、解糖系やTCA回路など様々な代謝反応において重要な役割を果たしている。また、Poly ADP ribose polymerase (PARP)によるポリ ADP リボシル化や Sirtuin による脱アセチル化反応において、基質としても利用されることが知られている。通常、細胞内において NAD は、ニコチンアミド (NAM)、ニコチンアミドリボシド (NR)を利用する salvage 経路を経て合成される(図1)。生体内の NAD 量は加齢や生活習慣によって変動することが数多く報告されており、その減少は肥満や糖尿病を含めた様々な老化関連疾患の発症に関わっていると考えられている。そのため、加齢に伴う NAD 濃度の低下を防止することが抗老化戦略として注目されており、マウスを中心として様々な介入試験が行われている。

例えば、NAD 前駆体であるニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN)や NR は動物を用いた研究から、肥満や2型糖尿病(Canto et al. Cell Metab.15:838-847. 2012, Yoshino et al. Cell Metab. 14:528-536. 2011)、神経変性疾患(Brown et al. Cell Metab. 20:1059-1068. 2014)などに対する治療・予防効果を持つことが報告されている。また近年は、日本や米国でも NMN や NR の抗老化作用を検証する臨床試験が開始されている。しかしながら、NAD 前駆体は非常に高価であることから、効率良く NAD レベルを上昇させる方法が望まれている。そのため、前駆体から NAD 合成に至る生体内での代謝経路の理解が不可欠であるが、その経路には不明な部分が多い。そこで、申請者らは NAD 前駆体から NAD が合成される経路を解析するために、NAD 関連代謝物を網羅的かつ一斉に検出できる測定系 (NAD メタボロミクス)を、質量分析計を用いて構築した。

この測定系と培養細胞を用いて、NAD 前駆体である NR から NAD の合成経路を解析したところ、NR 投与が細胞内のニコチン酸リボシド (NAR)量を著明に増加させることを見出した。図1に示す通り、NR は通常、NR kinase (Nrk)によって NMN に変換され、続く反応によって NAD を供給すると考えられていた。しかし、NR を始点とする既知の代謝経路には NAR は含まれず、申請者らの実験結果を説明することはできない。

さらに申請者らは、NAAD (Nicotinic acid adenine dinucleotide : NAD の脱アミド型)から NAD を合成する反応を触媒する NAD synthase (NADS)を阻害することによって、NR 添加時の NAAD 量の増加が非常に顕著になることを確認している。すなわち、NR の代謝には、今まで考えられていた NMN を経由する経路だけではなく、脱アミド型の代謝物を経由して NAAD に至る未知の経路が存在すると想定された (図2)。

2. 研究の目的

本研究では、NAD 前駆体のうち NAD 補充効果を強く期待されている NR の利用経路のうち、まだ知られていない機構を解明することを目的とした。特に、NR から脱アミド型の NAD 代謝物を合成する経路を明らかにすることによって、NAD 補充療法における重要な知見を得ることを目指した。

3. 研究の方法

NR から脱アミド型の NAD 代謝物への変換過程を解明するため、マウスに NR を投与し、NAD 代謝物の測定を行った。また、より包括的な NR 利用経路の解析を行うため、NAD 代謝に関わる酵素を欠損したマウスや抗生物質によって腸内細菌を除去したマウスに NR を投与し、NAD 代謝の変化を検討した。

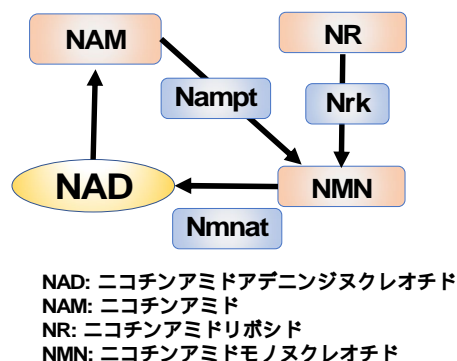


図1. NR からの NAD 合成経路

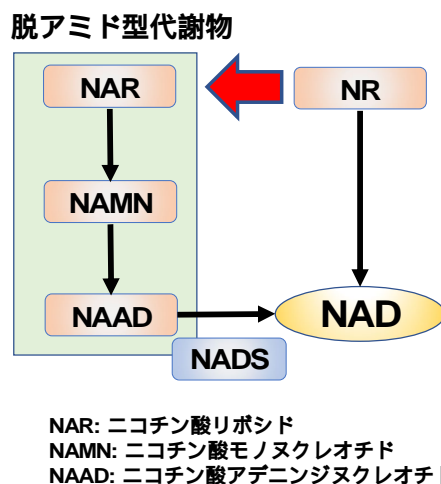


図2. NR から脱アミド型への移行

4. 研究成果

生体内における NR 利用経路を明らかにするため、野生型マウスに NR を経口投与し、NAD 代謝物を測定したところ、NR は生体内の NAD 量を増加させたことに加え、脱アミド型の前駆体であるニコチン酸 (NA)、ニコチン酸リボシド (NAR)、ニコチン酸モノヌクレオチド (NAMN)、ニコチン酸アデニンジヌクレオチド (NAAD) を増加させた (図 3)。

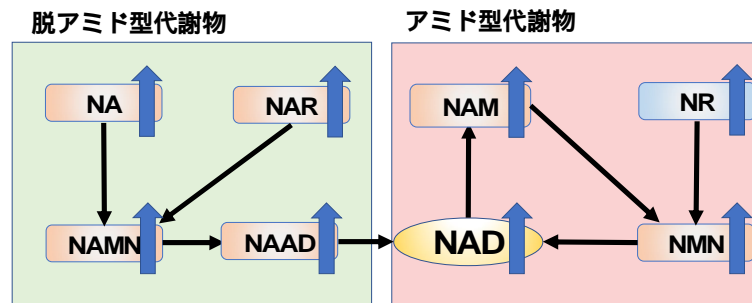


図 3 . NR はすべての脱アミド型の代謝物の量を増加させる

近年、腸内細菌が NAM を NA に変換すること、またこの反応が生体内における NAM の利用に重要であることが報告されており、NR の利用にも腸内細菌が必要であると考えられる (Shats et al. Cell Metab. 31(3):564-579. 2020)。そこで実際に抗生物質によって腸内細菌を除去したマウスに NR を投与し、肝臓の NAD 関連代謝物を測定したところ、NR による NAD の増加は抗生物質処理によって抑制され、また NR による脱アミド型代謝物の増加も抑制された。このことより、NR は腸内細菌の作用を受けることによって脱アミド型の前駆体に変換され、またこのことが生体内での NAD 量の増加に必要であることが示唆された (図 4)。

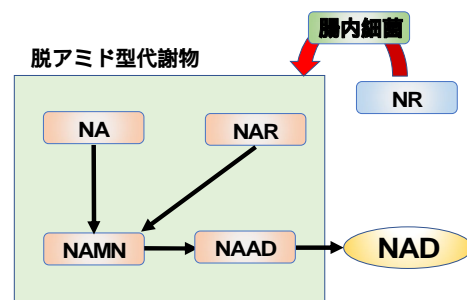


図 4 . 腸内細菌は NR からの脱アミド型代謝物の合成に関わっている

次に、腸内細菌が NR を直接的に NAR に変換するのか、あるいは腸管内で NR の分解によって生じた NAM を NA に変換するのかを検討した。NA の利用に必須の酵素である Naprt を欠損したマウスに NR を投与し、代謝物を解析したところ、Naprt 欠損マウスでは NA の蓄積を認め、また脱アミド型の代謝物と NAD の量が著しく減少した。このことから、NR は腸内において最終的に NA に変換された後、利用されることが示唆された (図 5)。

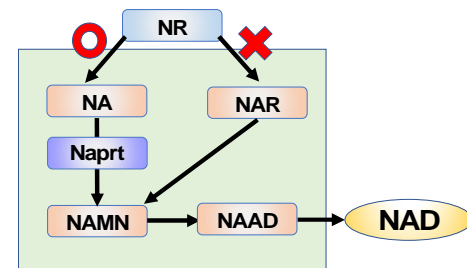


図 5 . NR は NA に変換され利用される

さらに、腸管における NR から NAM への分解機構を解明するため、NR 分解活性が報告されている CD157 に着目し検討を行った (Preugschat et al. Arch. Biochem. Biophys. 564: 156-163. 2014)。先に CD157 の発現量を確認したところ、CD157 は小腸に強く発現していることが明らかになった。また、CD157 のノックアウトマウスに NR を投与し、代謝物の測定を行ったところ、ニコチン酸 (NA) をはじめとした脱アミド型の代謝物が減少することが明らかになった。以上の結果をまとめると、経口投与された NR は腸管内で NAM に分解され、さらに腸内細菌によって NA に変換されたのちに吸収され利用されることが明らかになった (図 6)。

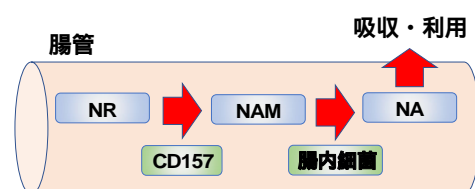


図 6 . 腸管における NR 動態

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okabe K, Yaku K, Tobe K, Nakagawa T.	4. 巻 26(1)
2. 論文標題 Implications of altered NAD metabolism in metabolic disorders.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Biomed Sci.	6. 最初と最後の頁 34
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12929-019-0527-8.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hikosaka K, Yaku K, Okabe K, Nakagawa T.	4. 巻 -
2. 論文標題 Implications of NAD metabolism in pathophysiology and therapeutics for neurodegenerative diseases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nutr Neurosci.	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/1028415X.2019.1637504.	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 -
1. 著者名 Yaku K, Okabe K, Gulshan M, Takatsu K, Okamoto H, Nakagawa T.	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 Metabolism and biochemical properties of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) analogs, nicotinamide guanine dinucleotide (NGD) and nicotinamide hypoxanthine dinucleotide (NHD).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 13102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-49547-6.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yasukawa K, Kinoshita D, Yaku K, Nakagawa T, Koshiha T.	4. 巻 295(2)
2. 論文標題 The microRNAs miR-302b and miR-372 regulate mitochondrial metabolism via the SLC25A12 transporter, which controls MAVS-mediated antiviral innate immunity.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Biol Chem.	6. 最初と最後の頁 444-457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.010511.	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 -

1. 著者名 Yaku K, Okabe K, Nakagawa T.	4. 巻 32(6)
2. 論文標題 Simultaneous measurement of NAD metabolome in aged mice tissue using liquid chromatography tandem-mass spectrometry.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biomed Chromatogr.	6. 最初と最後の頁 e4205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.arr.2018.05.006.	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 -

1. 著者名 Gulshan M, Yaku K, Okabe K, Mahmood A, Sasaki T, Yamamoto M, Hikosaka K, Usui I, Kitamura T, Tobe K, Nakagawa T.	4. 巻 e12798
2. 論文標題 Overexpression of Nmnat3 efficiently increases NAD and NGD levels and ameliorates age-associated insulin resistance.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Aging Cell.	6. 最初と最後の頁 e12798
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/accel.12798.	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 -

1. 著者名 Okabe K, Usui I, Yaku K, Hirabayashi Y, Tobe K, Nakagawa T.	4. 巻 504(1)
2. 論文標題 Deletion of PHGDH in adipocytes improves glucose intolerance in diet-induced obese mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 309-314
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.08.180.	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 -

1. 著者名 Yaku K, Okabe K, Nakagawa T.	4. 巻 47
2. 論文標題 NAD metabolism: Implications in aging and longevity.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ageing Res Rev.	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.arr.2018.05.006.	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 -

1. 著者名 Matsui S, Sasaki T, Kohno D, Yaku K, Inutsuka A, Yokota-Hashimoto H, Kikuchi O, Suga T, Kobayashi M, Yamanaka A, Harada A, Nakagawa T, Onaka T, Kitamura T.	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 Neuronal SIRT1 regulates macronutrient-based diet selection through FGF21 and oxytocin signalling in mice.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 4604
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-07033-z.	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 -

1. 著者名 Yaku K, Okabe K, Hikosaka K, Nakagawa T.	4. 巻 8
2. 論文標題 NAD Metabolism in Cancer Therapeutics.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Front Oncol.	6. 最初と最後の頁 622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2018.00622.	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5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 夜久 圭介、中川 崇
2. 発表標題 新規NAD合成経路の解析
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 夜久 圭介、中川 崇
2. 発表標題 NAD代謝による腸管恒常性維持機構の解明
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 夜久圭介, 中川 崇
2. 発表標題 新規NAD合成経路の発見と抗老化戦略に与える影響について
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 夜久圭介, 中川 崇
2. 発表標題 新規NADアナログNGDの機能解析
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中川 崇, 夜久圭介
2. 発表標題 新規NAD代謝経路による抗老化機構
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会大会
4. 発表年 2018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
---------	---------