

【第81回生涯教育講座】

高脂血症薬ニコチン酸と
メタボリックシンドロームはら のぶ まさ つち や み か こ
原 伸 正 土 屋 美 加 子キーワード：ニコチン酸, 高脂血症薬, NAD, Sirt1,
メタボリックシンドローム

要 旨

酵母において抗老化・寿命延長効果を仲介しているタンパク質分子として Sir2 が同定された。ヒトを含む哺乳類にも類似の構造を持つ Sirt1 が存在しており、葡萄や赤ワインに含まれるポリフェノールであるレスベラトロールを用いてこの分子を活性化すると、メタボリックシンドロームモデルマウスの代謝異常が改善し寿命が延長する。著者らは最近、高脂血症薬として古くから使われているニコチン酸が Sirt1 の活性化に必要な NAD (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド) の細胞内濃度を増加させるための最も優れた前駆体であり、レスベラトロールと同じく Sirt1 活性化のための有用なツールとなりうることを見出した。ニコチン酸をヒトメタボリックシンドロームの予防と治療のための有用な薬剤として用いることができるかもしれない。

1. はじめに

カロリー制限はさまざまな生物の老化を遅らせ寿命を延長させるが、この抗老化・寿命延長効果を仲介しているタンパク質分子として酵母において Sir2 が同定された¹⁾。ヒトを含む哺乳類にも類似の構造を持つ Sirt1 が存在しており、葡萄や赤ワインに含まれるポリフェノールであるレスベラトロールによりその活性が増加する²⁾。レスベラ

トロールがメタボリックシンドロームモデルマウスの代謝異常を改善し寿命を延長することから、Sirt1 はヒトにおけるこの疾患の予防と治療の標的と考えられている。Sirt1 の活性は酸化還元反応における補酵素である NAD に依存し細胞内の NAD 量を増加させることによっても上昇するので、細胞内 NAD 量を増加させる薬剤もレスベラトロールと同じく、ヒトのメタボリックシンドロームの予防と治療に有用ではないだろうか。

本稿ではまず Sirt1 活性化がメタボリックシンドローム改善につながる実験動物例を示し、つづいて Sirt1 の活性発現に必要な NAD が細胞にお

いてどのような経路を介して生合成されるかを概観したのち、高脂血症薬であるニコチン酸が細胞内のNAD量を増加させるための最も強力な前駆体であることを紹介する。最後に、ニコチン酸のヒトメタボリックシンドロームに対する予防・治療薬としての可能性を議論する。

2. Sirt1 を活性化させるとメタボリックシンドロームが改善し寿命が延長する

酵母においてカロリー制限はその老化を遅らせ寿命を延長させるが、この抗老化・寿命延長効果を仲介しているのがSir2である¹⁾。ヒトを含む哺乳動物でそのような働きを担っていると考えられるSirt1は、葡萄や赤ワインに含まれるポリフェノールであるレスベラトロールによって活性化される²⁾。レスベラトロールにより高カロリー餌摂取マウスの寿命が延長したが、血糖値の低下、インスリン感受性の改善、ミトコンドリアの数と機能の増強、肥満の低下、運動能力の改善を伴っていた^{3,4)}。Sirt1を活性化させることによりメタボリックシンドロームが改善し、その結果寿命が延長したものと考えられる。さらに、Sirt1は動物の末梢組織において細胞膜を介したコレステロール輸送を担うトランスポーターの量を増加させ、コレステロール逆輸送を促進させ、HDLレベルを増加させることができる⁵⁾ので、このこともメタボリックシンドロームの改善に寄与しているのかもしれない。これらのことは、ヒトにおいてもSirt1がメタボリックシンドロームの予防と治療の標的となりうることを示している。またSirt1は酸化ストレスやDNA傷害に対する細胞の抵抗性と生存を増強する作用を有する³⁾ので、このことによってもSirt1は寿命の延長に寄与しているかもしれない。

3. 哺乳動物におけるNAD生合成経路

Sirt1が活性を発現するために必要なNADは、細胞において図1に示すように、*de novo* およびsalvage経路を介して生合成される⁶⁾。前者の*de novo*経路において、トリプトファン(Trp)より形成されたキノリン酸(QA)がキノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ(QPRT)の作用によりニコチン酸モノヌクレオチド(NaMN)に変換される。このNaMNがNaMNアデニルトランスフェラーゼ(NaMNAT)によりニコチン酸アデニンジヌクレオチド(NaAD)に変換される。NaADはNADシンテターゼ(NADsyn)の作用によりNADへと変換される。後者のsalvage経路では、NADの分解から生じたニコチンアミドおよび細胞外から供給されたニコチン酸からNADが生合成される。ニコチンアミドはまずニコチンアミドホスホリボシルトランスフェラーゼ(NamPRT)の作用によりニコチンアミドモノヌクレオチド(NMN)に変換される。NMNはつづいてNMNアデニルトランスフェラーゼ(NMNAT)によりNADへと変換される。一方、ニコチン酸はニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ(NAPRT)の作用によりNaMNに変換され、前者の*de novo*経路に合流し、NADへと変換される。これらの経路に加え、ニコチンアミドリボシド(NR)からNADが生合成される経路が最近見つかった⁷⁾。この経路ではNRがNMNへとリン酸化され、さらにこれがNADへとNMNATにより変換されるか、あるいはNRの分解により産生されたニコチンアミドがNADへと変換される。

これらの経路の中でどれが最も効果的に細胞内NAD量を増加させることができるのであろう

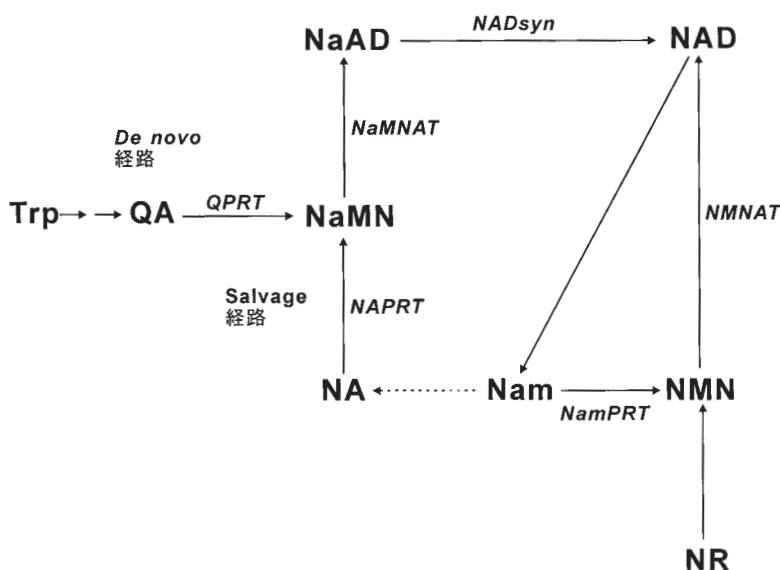


図1 哺乳動物における NAD 生合成経路 (文献11より改変)

De novo 経路, ニコチン酸 (NA) およびニコチンアミド (Nam) からの salvage 経路, さらにニコチンアミドリボシド (NR) からの経路を示す。破線は哺乳動物において Nam を NA に変換する酵素が同定されていないことを示す。詳細は本文を参照のこと。

か。哺乳動物ではニコチンアミドをニコチン酸に変換する酵素が見つからないため, NAD 生合成の主要経路はニコチンアミドからの経路であると考えられてきた。事実, この経路の最初のステップを触媒する NamPRT を過剰に発現させた細胞では, 細胞内 NAD 量が増大し Sirt1 の活性が上昇する⁸⁾。心筋細胞や神経細胞においても, NamPRT や NMNAT の過剰発現により細胞内 NAD 量が増加し Sirt1 が活性化され, ストレス負荷による細胞死が防御される^{3,9)}。しかしニコチンアミドが存在していても, 細胞にこれらの酵素を過剰量発現させない限り細胞内 NAD 量は増加しないので, 実際にはニコチンアミド経路の NAD 量増加への寄与は少ないものと考えられる。また NR も細胞内 NAD 量を増加させるためには高濃度が必要である¹⁰⁾ので, この経路も NAD 量を増加させるためには適していない。筆者らは最近, ヒト培養細胞においてニコチン酸か

らの NAD 生合成に関与する酵素を強制発現することなく, ニコチン酸を投与するのみで細胞内 NAD 量を顕著に増加させることができることを見出した¹¹⁾。ニコチン酸からの NAD 生合成について以下詳細に解説する。

4. ニコチン酸による細胞内 NAD 量の増加

4-1. ヒト NAPRT の分子同定

哺乳動物においてニコチンアミドをニコチン酸に変換する酵素が見つからないため, 哺乳動物の NAD 生合成経路においてニコチン酸からの経路は無視され, ニコチンアミドからの経路のみが研究されてきた。しかし前述のようにこのニコチンアミドからの経路は細胞内 NAD 量を増加させるためには適していない。

1950-60年代の研究において, ニコチン酸を投与した動物の組織で NAD 量が増加することが報告されていたので, 筆者らはニコチン酸からの生

合成経路が NAD 量を増加させるための優れた経路ではないかと考え、この経路の最初のステップを触媒する酵素 NAPRT 遺伝子の cDNA をクローニングするところから研究を開始した。この遺伝子がコードするタンパク質を大腸菌に発現させ、その酵素活性を調べたところ、確かにこのタンパク質が NAPRT 酵素活性を示すことを確認した。また NAPRT を持たない培養細胞にこの酵素を強制的に発現させると、この細胞はニコチン酸から NAD を生合成できるようになった。以上のことから、筆者らが同定した cDNA がヒト NAPRT をコードすることが明らかとなった。

4-2. ニコチン酸は細胞内 NAD 量を増加させる優れた前駆体である

NAPRT を発現しているヒト胎児腎臓由来培養細胞の培養液にニコチン酸を添加し、細胞の NAD 量を調べたところ、 $1 \mu\text{M}$ という低濃度のニコチン酸により NAD 量が顕著に増加し、 $5 - 10 \mu\text{M}$ ニコチン酸添加により NAD 量は対照の2倍にまで増加した (図2)。一方、ニコチン酸と同じ濃度を投与した場合、ニコチンアミドはほとんど NAD 量を増加させなかった (図2)。さらにニコチン酸の1000倍の濃度でニコチンアミドを

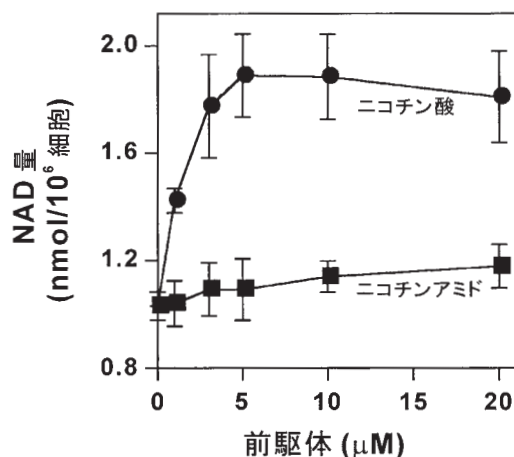


図2 ニコチン酸は細胞内 NAD を増加させる (文献11より改変)

投与しても NAD 量は30%増加するのみであった (データは示さず)。

ニコチン酸による細胞内 NAD 量の増加が NAPRT 酵素活性を介したものであるかを明らかにするため、NAPRT の発現を低減させた細胞を作製した。対照細胞と比較し、この細胞では NAPRT のタンパク量と酵素活性が低下し、これに対応してニコチン酸による NAD 量の増加の程度が低下した。このことは、ニコチン酸が NAPRT 酵素活性を介して NAD 量を増加させることを示している。

この培養細胞は NamPRT も発現しているのに、なぜニコチン酸のみが NAD 量を顕著に増加させることができるのであろうか。その理由として、NamPRT はこの経路の最終産物である NAD によって阻害されるのに対し NAPRT はこのフィードバック阻害を受けないということを考えることができる。実際、図3に示すように、NamPRT 酵素活性は反応液中の NAD の濃度に依存して低下し、細胞内の濃度に相当する 1 mM の NAD 存在下で対照の20%にまで低下した。一方、NAPRT 酵素活性は NAD の影響をほとんど受けなかった (図3)。NamPRT の活性が NAD

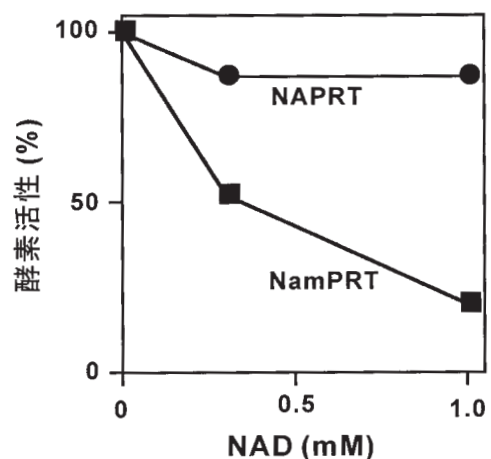


図3 NamPRT 活性は NAD により抑制される

により低下する機序を調べた結果、NADが通常の細胞内濃度で存在すると、この酵素の基質に対する親和性が著しく低下し、その結果活性が大きく低下することが明らかとなった。従って、NamPRTは細胞内に存在するNADによりその酵素活性が抑制されていてニコチンアミドを投与してもさらなるNAD合成はおこらず細胞内NAD量は増加しない、一方NAPRTはNADによる酵素活性の阻害を受けないためニコチン酸存在下においてさらにNAD合成を行うことができ、結果として細胞内NADレベルを上昇させることができることが明らかとなった。

以上のことから、ニコチン酸は哺乳動物において細胞内NAD量を増加させる強力な前駆体であり、従ってニコチン酸をレスベラトロールと同様Sirt1を活性化する優れたツールとして用いることができることが明らかとなった。一方、ニコチンアミドはこれまでの報告とは異なり、細胞内NAD量を増加させるための良い前駆体ではない。

4-3. ニコチン酸はNAD量上昇を介して細胞をストレスから守る

細胞内NAD量を増加させることにより細胞のストレス抵抗性が增強することがわかっている。上記に示したように細胞の培養液中にニコチン酸を添加することで細胞内NAD量を高レベルに維持することができるので、このビタミンを投与することにより培養細胞がストレスに対してより強い抵抗性を示すようになるかどうかを検討した。培養細胞に酸化ストレスとして過酸化水素を投与し、このストレスによる細胞傷害性を測定したところ、細胞内NAD量の低下を伴った細胞傷害性がみられた。ニコチン酸を投与した細胞ではこのストレスによる細胞傷害性が低下し、細胞がスト

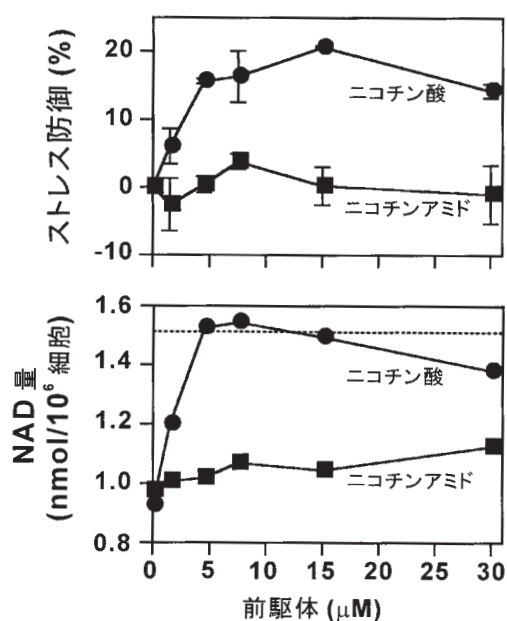


図4 ニコチン酸は細胞内NAD量の上昇を介して細胞をストレスから守る (文献11より改変)

レスから防御されていた (図4)。このときストレスによるNAD量の減少も回復していた (図4, 下段の破線はストレスを負荷しないときのNAD量を示す)。ニコチン酸とは対照的に、ニコチンアミドはストレス防御作用を示さなかった (図4)。さらにNAPRTの発現を低下させた細胞において、ニコチン酸による細胞傷害性の回復が低下した (データは示さず)。これらの結果は、ニコチン酸がNAPRT活性を介して細胞内NAD量を増加させることにより、酸化ストレスから細胞を防御することができることを示している。Sirt1の活性化により細胞のストレス抵抗性が高まる³⁾ので、ニコチン酸のこの効果は、NAD量増加によるSirt1の活性化を介したストレス抵抗性の増強によるものかもしれない。

5. ニコチン酸の薬理作用とメタボリックシンドローム

以上、ニコチン酸が細胞内NAD量を増加させ

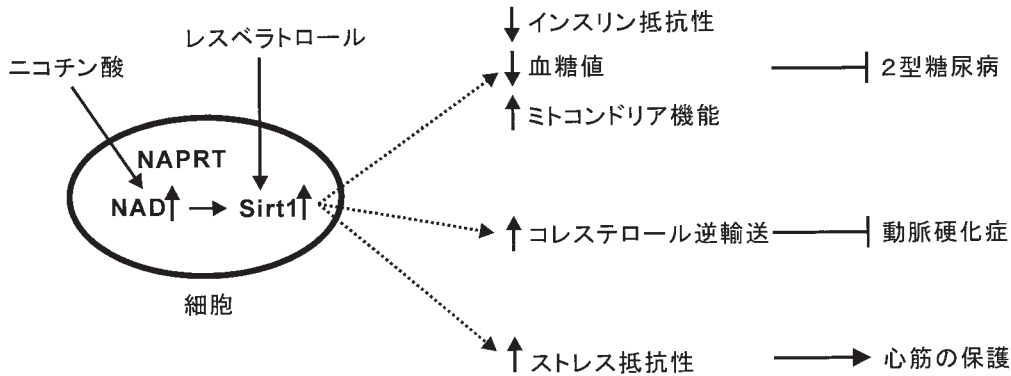


図5 ニコチン酸の薬理作用とメタボリックシンドローム

るための最もよい前駆体であることを示してきたが、このことはこのビタミンが細胞内 NAD 量の増加を介して Sirt1 を活性化することができることを意味している。従ってニコチン酸を投与することによりメタボリックシンドロームモデル動物において、レスベラトロールと同様に、血糖値の低下、インスリンの感受性の改善、ミトコンドリアの数と機能の増強、肥満の低下、運動能力の改善が誘導され、この動物の代謝異常が改善する可能性は十分あると考えられる (図5)。実際、ニコチン酸は高脂血症薬としてアテローム性動脈硬化症の治療に古くから用いられており、HDL レベルを増加させコレステロールを下げる作用がある¹²⁾。Sirt1 がコレステロール逆輸送を促進し HDL レベルを増加させることは先に述べたが、ニコチン酸の高脂血症薬としての薬理作用は、近年報告されたニコチン酸受容体を介する作用¹³⁾に加えて、末梢組織細胞内の NAD 量の増加による Sirt1 の活性化を介したものである可能性は高く (図5)、従ってこのことはさらに動物個体レベルにおいてニコチン酸が実際に Sirt1 を活性化していることを裏付けるものではないだろうか。ニコチン酸を Sirt1 の活性化剤として用いることにより、ヒトのメタボリックシンドロームの予防と治

療ができるかもしれない。

さらにニコチン酸が細胞内 NAD 量を増加させ細胞をストレスから守ることから、ニコチン酸を投与しておけば、たとえ動脈硬化性疾患が発症し心筋が虚血を被ったとしても、その傷害を最小限にとどめることが可能になるのではないだろうか (図5)。実際にスタチン系薬剤とニコチン酸の併用が臨床的によい結果をもたらすことが報告されている¹⁴⁾。

今後 NAPRT がヒトのどの組織に発現しているか、さらに NAPRT が発現している組織においてニコチン酸により実際に Sirt1 が活性化されるかどうか、その活性化の度合いはレスベラトロールに匹敵するものであるかどうかを明らかにしていく必要がある。

6. 終わりに

以上本稿では、動物モデルにおいて Sirt1 を活性化することによりメタボリックシンドロームが改善すること、さらにニコチン酸が Sirt1 の活性化に必要な NAD の細胞内濃度を増加させるための最も優れた前駆体であることから、このビタミンがレスベラトロールとともに Sirt1 の活性化のための有用なツールとなりうることを紹介してき

た。ヒト組織においてニコチン酸により Sirt1 が活性化されることが証明されれば、このビタミンをヒトメタボリックシンドロームの予防と治療の

ための有用な薬剤として用いることができるのではないだろうか。

文 献

- 1) Blander G, et al., The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu. Rev. Biochem.*, 73: 417-435, 2004
- 2) Howitz KT, et al., Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*, 425: 191-196, 2003
- 3) Yamamoto H, et al., Sirtuin functions in health and disease. *Mol. Endocrinol.*, 21: 1745-1755, 2007
- 4) Milne JC, et al., Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature*, 450: 712-716, 2007
- 5) Li X, et al., SIRT1 deacetylates and positively regulates the nuclear receptor LXR. *Mol. Cell*, 28: 91-106, 2007
- 6) Belenky P, et al., NAD⁺ metabolism in health and disease. *Trends Biochem. Sci.*, 32: 12-19, 2007
- 7) Denu JM, Vitamins and aging: Pathways to NAD⁺ synthesis. *Cell*, 129: 453-454, 2007
- 8) Revollo JR, et al., The NAD biosynthesis pathway mediated by nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates Sir2 activity in mammalian cells. *J. Biol. Chem.*, 279: 50754-50763, 2004
- 9) Pillai JB, et al., Poly (ADP-ribose) polymerase-1-dependent cardiac myocyte cell death during heart failure is mediated by NAD⁺ depletion and reduced Sir2 α deacetylase activity. *J. Biol. Chem.*, 280: 43121-43130, 2005
- 10) Yang T, et al., Syntheses of nicotinamide riboside and derivatives: Effective agents for increasing nicotinamide adenine dinucleotide concentrations in mammalian cells. *J. Med. Chem.*, 50: 6458-6461, 2007
- 11) Hara N, et al., Elevation of cellular NAD levels by nicotinic acid and involvement of nicotinic acid phosphoribosyltransferase in human cells. *J. Biol. Chem.*, 282: 24574-24582, 2007
- 12) Carlson LA, Nicotinic acid: the broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review. *J. Intern. Med.*, 258: 94-114, 2005
- 13) Offermanns S, The nicotinic acid receptor GPR109A (HM74A or PUMA-G) as a new therapeutic target. *Trends Pharmacol. Sci.*, 27: 384-390, 2006
- 14) Brown BG, et al., Simvastatin and niacin, antioxidant vitamins, or the combination for the prevention of coronary disease. *N. Engl. J. Med.*, 345: 1583-1592, 2001