

*Original article***Clinical evaluation of changes in biomarkers by oral intake of NMN**

Yuji Morita^{1,2)}, Hiromi Izawa^{1,3)}, Atsuyuki Hirano¹⁾, Eriko Mayumi¹⁾,
Seigo Isozaki^{2,4)}, Yoshikazu Yonei²⁾

1) Renais Clinic Nihonbashi, Tokyo, Japan

2) Anti-aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center,
Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan

3) Jingu-Gaien Woman Life Clinic, Tokyo, Japan

4) Antiaging-Bank Co., Ltd, Tokyo, Japan

Glycative Stress Research 2022; 9 (2): 33-41

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

NMN経口摂取による各種バイオマーカーの推移についての臨床的評価

森田祐二^{1,2)}、伊沢博美^{1,3)}、平野敦之¹⁾、真弓絵里子¹⁾、磯崎晴吾^{2,4)}、米井嘉一²⁾

1) ルネスクリニック日本橋

2) 同志社大学生命医科学部アンチエイジングリサーチセンター / 糖化ストレス研究センター

3) 神宮外苑 Woman Life Clinic

4) 株式会社 アンチエイジングバンク

抄録

【目的】 老化・寿命と代謝の制御はNADを介して全身的に統合されているとする「NAD world」(ワシントン大学今井眞一郎教授提唱)は、世界的な注目の中で様々な角度から研究が進みつつあるが、ヒトでの臨床研究の報告は少ない。本研究では、NADの前駆体であるNMN (nicotinamide mononucleotide) 経口摂取によるヒトにおける各種バイオマーカーの推移を調べ、その臨床的な意義について評価する。

【方法】 倫理審査での研究開始承認のもとに、本研究参加に同意した基礎疾患のない閉経後女性17名(平均年齢55.0歳)を被検者とし、高純度NMN 300 mg/日を8週にわたり経口摂取した。検査項目は、身体計測、基礎代謝量、血圧、握力、糖化度(AF値)、血液生化学検査、各種ホルモン、血中sirt1 mRNA発現量とNMN・NAD・NAM量、免疫検査(老化、疲弊細胞を含むT細胞サブセット)、肌のVAS (visual analog scale) で、0週と8週で統計解析を行い比較検討した(4週の時点で血液生化学検査を行い安全性を確認)。また、NMN摂取状況や、体感、副作用などをみる目的で経過中の日誌記載を依頼した。

連絡先：森田祐二
ルネスクリニック日本橋
〒103-0022 東京都中央区日本橋室町3-3-1
TEL & FAX: 03-6665-0888 e-mail: ymorita707@yahoo.co.jp
共著者：伊沢博美 izawa@woman-life-clinic.com;
平野敦之 a-hirano@renais-clinic.com; 真弓絵里子 e-mayumi@renais-clinic.com;
磯崎晴吾 isozaki@antiaging-bank.com; 米井嘉一 yyonei@mail.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2022; 9 (2): 33-41
本論文を引用する際はこちらを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

【結果】被検者17名のうち1名が軽度の頭痛が続くため4週経過の時点で脱落した。NAM (nicotinamide/ビタミンB3) 45.2 → 164.7 ($p < 0.001$)、アディポネクチン13.6 → 16.2 ($p = 0.004$)、肌VASスコア (6/7項目で $p < 0.001 \sim p = 0.001$) と摂取前後で有意な変化を認めた。さらに、BMI、AF値、血小板、HbA1c、HDL-c、アミラーゼ、DHEA-s、NAD、狭義の制御性T細胞についても有意差を認めた (以上 $p < 0.05$)。また、全被検者で肌や睡眠、疲労などで良い体感がみられている。完遂した16名の自覚症状、検査データに問題はみられなかった。

【結論】NMN 300 mg/日、8週間の経口摂取ではとくに安全性に問題はなく、多くのバイオマーカーで好ましい変化が示された。NAD worldの一員であるNMNは、ヒトにおいても老化や代謝制御のための有力な栄養素材となりうる可能性が示唆された。

KEY WORDS: NMN、NAD、サーチュイン、バイオマーカー、経口摂取、臨床試験

はじめに

分子遺伝学や分子生物学などを駆使した医学・生理学研究により老化、寿命という生命現象の仕組みが解き明かされてくるにつれ、不老不死や永遠の美貌は不可能としても、老化を遅らせ若々しく健やかな状態を保つための道筋は見えてきつつある。老化の仕方は誰もが同じなのではなく、生きものの宿命であり避けることのできない「生理的な老化」に、生活習慣の乱れによる生理的レベルを超えた老化が多かれ少なかれ加わっている。そうした生理的老化に加算された余計な老化の部分を、生活習慣の見直しや医療介入により修正・回復の可能性のある「病的な老化」ととらえると、老化も生活習慣病とみることもできる。病気の多くはこうした病的老化が土壌となり芽が出てくることから、それが育たないような生活習慣を続けることにより、若々しく健やかな健康長寿を手にすることが期待できる。

近年老化研究が進む中で、長寿/抗老化遺伝子として広く知られるようになった sirtuin や、NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) 代謝に関する研究が世界中で精力的に進められている¹⁻⁸⁾。それは病的老化を制御し生理的老化に近づけるとともに、全身の様々な病気の発症予防や治療法の確立のために大きく寄与することになるであろう。

本研究では、NAD前駆体であるNMN (nicotinamide mononucleotide) の経口摂取による各種バイオマーカーの変化を調べ、NMNがアンチエイジングライフと健康寿命延伸のための効果的な栄養素材となりうる可能性について検討した。

方法

対象

被検者は50歳以上80歳未満の閉経後女性17名 (平均年齢55.0歳)。除外基準として、現在何らかの疾患を患い薬

物治療を受けている/経過観察している、重篤な疾患の既往がある、消化管手術の既往がある、薬物アレルギーがある、試験期間中生活習慣が変わる可能性がある、試験統括医師が本試験の被検者として不適当と認めた者とした。被検者には事前に十分な説明を行い文書にて同意を得たうえで実施した。

なお、試験開始時の17名のうち1名が軽度の頭痛の持続により脱落し、最終的に16名を有効解析対象とした。

試験品

酵母を用いた発酵法により製造されたNMN 150 mg を含有するハードカプセルを用いた。製造・販売元は株式会社 CNB 医薬研究所 (東京) である。

試験プロトコール

試験品2カプセル (NMN 計300 mg 含有) を朝食後に一括して経口摂取し、摂取前 (0 週)、摂取4週後、摂取8週後の午前中の3ポイントで検査を行った。試験期間中は飲酒や喫煙習慣を含むライフスタイルを変えない、新たな健康食品の摂取を始めない、その他試験に影響を及ぼすと考えられる事項は禁止とした。また、検査前日は過度な運動は控える、検査の12時間前からは水以外の飲食は控える、夜更かしは避けるようにし、検査当日は試験品のみとして朝食は摂らないようにした。

0 週では、身長、体重、体格指数 (body mass index: BMI)、体脂肪率、基礎代謝量、血圧、握力、糖化度測定と、肌の状態をVAS (visual analog scale) で評価した。血液検査として、WBC、白血球分画、RBC、Hb、Ht、MCV、MCH、MCHC、PLT、TP、Alb、A/G 比、T-Bil、D-Bil、AST、ALT、 γ -GTP、ALP、LDH、LAP、ChE、CPK、TC、TG、HDL-c、LDL-c、アミラーゼ、BUN、Crea、UA、Na、K、Cl、Ca、BS、HbA1c、CRP、ソマトメジンC、DHEA-s、コルチゾル、TSH、F-T3、F-T4、エストロゲン (E2)、遊離テストステロン、インスリン、アディ

ポネクチン、NTX、オステオカルシン、免疫検査 (T細胞サブセット; T細胞、キラーT細胞、ナチュラルキラー細胞、制御性T細胞、NKT細胞、老化T細胞、疲弊T細胞)、sirt1 mRNA発現量、NMN、NAD、Niacin (ビタミンB3) の一種であるNAM (nicotinamide) を測定した。

4週では体重、BMI、体脂肪率、血圧測定と、血算および生化学検査、各種ホルモンを測定した。8週では0週と同じ検査を行った。

なお、血中sirt1 mRNA発現量については、白血球由来のものを定量 RT-PCR 法により測定し、解析センターが定めた基準を用いて評価した。血中NMN、NAD、NAM量は質量分析法により測定した。糖化度は皮膚の表皮～真皮層に沈着する蛍光性の終末糖化産物 (advanced glycation end products : AGEs) について、オランダ Diagnostics 社製の AGEreader mu を用いて算出された自家蛍光量 (autofluorescence : AF) で評価した。NMN摂取状況や、体感、副作用等をみる目的で経過中の日誌記載を被検者に依頼した。

以上の臨床試験は 2021 年 9 月～ 11 月に実施された。

統計解析

統計解析には Excel 統計 (株式会社 社会情報サービス、東京) を用い、対応のある t 検定を実施した。両側検定で危険率 5% 未満を有意差ありとした。

倫理基準

本試験はヘルシンキ宣言に基づく倫理原則および個人情報保護法を遵守し、「医薬品の臨床試験の実施に関する省令」並びに「疫学研究に関する倫理指針」を参考にした。一般社団法人 糖化ストレス研究会 倫理審査委員会で試験の倫理性、妥当性について承認のもとに実施し (承認番号; GSE 2021-009)、臨床試験事前登録を行った (登録番号; UMIN 000045347)。

結果

身体計測

8週にわたる経過で体脂肪率、基礎代謝量、血圧、握力に有意な変化はみられなかったが、BMIは23.19 → 23.38と $p < 0.05$ で有意に高くなった。

血液生化学

血小板は $25.9 \rightarrow 27.6 \times 10^4 / \mu\text{L}$ と増加、アミラーゼは $75.6 \rightarrow 69.8 \text{ U/L}$ と減少し有意差がみられた (いずれも $p < 0.05$)。代謝関連マーカーでは、糖代謝のHbA1cは $5.34 \rightarrow 5.23\%$ と低下、脂質代謝のHDLコレステロールは $67.5 \rightarrow 72.3 \text{ mg/dL}$ と増加し、両者とも $p < 0.05$ で有意差がみられた (Fig. 1-a, b)。骨代謝マーカーのオステオカルシンおよびI型コラーゲン架橋-Nテロペプチド (NTX) には有意な変化はみられなかった。

ホルモン

脂肪細胞から分泌され生活習慣病に対して抑制的に働くアディポネクチンは $13.6 \rightarrow 16.2 \mu\text{g/mL}$ と増加を示し、 $p < 0.01$ ($p = 0.004$) で有意差を認めた。また、マザーホルモンと言われる副腎ホルモンのDHEA-sも $1,078 \rightarrow 1,275 \text{ ng/mL}$ と $p < 0.05$ で有意な増加がみられた (Fig. 2-a, b)。コルチゾル、エストロゲン (E2)、遊離テストステロン、甲状腺刺激ホルモン (TSH)、甲状腺ホルモン (遊離T3、T4)、ソマトメジンC (インスリン様成長因子-I: IGF-I)、インスリンでは有意差はみられなかった。

免疫

T細胞サブセット (T細胞、キラーT細胞、ナチュラルキラー細胞、NKT細胞、制御性T細胞、キラー/ヘルパー老化T細胞、キラー/ヘルパー疲弊T細胞) では、狭義の制御性T細胞 ($\text{CD4}^+ \text{CD25}^{\text{int/high}} \text{CD127}^{\text{low}}$) が $4.66 \rightarrow$

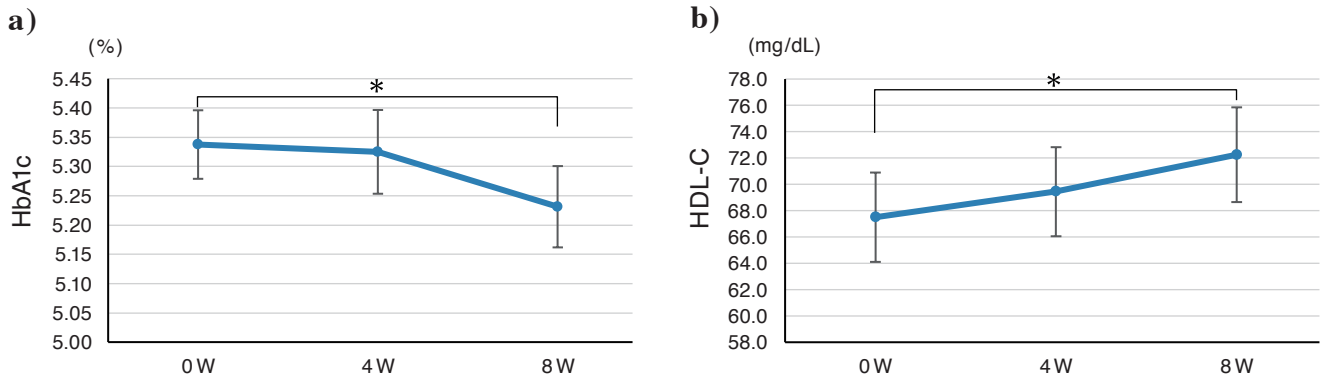


Fig. 1. Change in serum HbA1c and HDL-C.

a) HbA1c, **b)** HDL-C. Results are expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 16$, * $p < 0.05$, paired t test. HbA1c, hemoglobin A1c; HDL-C, high density lipoprotein-cholesterol; SEM, standard error mean.

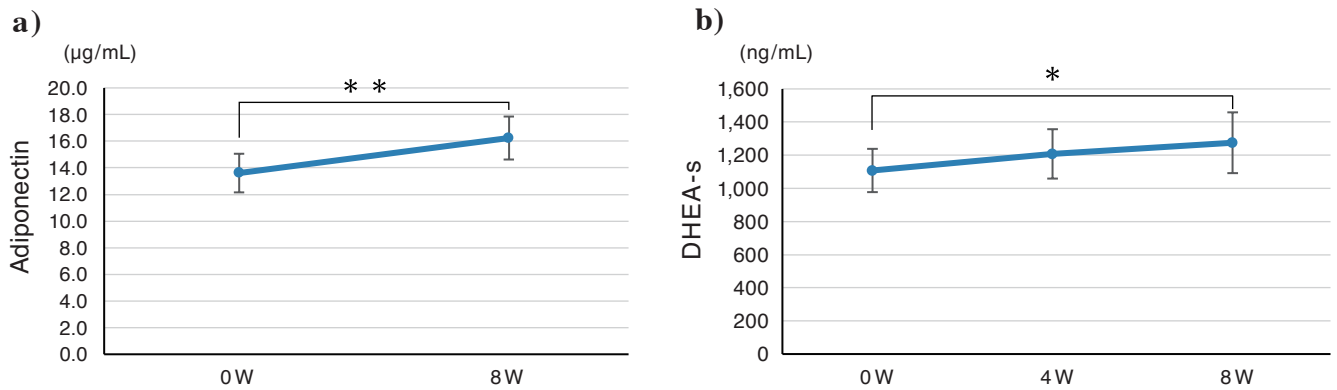


Fig.2. Change in serum adiponectin and DHEA-s.

a) Adiponectin, b) DHEA-s. Results are expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 16$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, paired t test. DHEA-s, dehydroepiandrosterone-sulfate; SEM, standard error mean.

5.10 % (CD4^+ 細胞領域内比率)となり、 $p < 0.05$ で有意な増加を示した (Fig.3)。その他では有意差はみられなかった。

NAD合成系 / sirtuin

NADを合成する主経路の構成員である血中のNAM、NMN、NAD量については、経路の起点であるNAMは $45.2 \rightarrow 164.7 \text{ ng/mL}$ と著増し、 $p < 0.001$ で有意差を認めた。また、NADは $17.4 \rightarrow 13.7 \text{ ng/mL}$ と $p < 0.05$ で有意な低下を示したが、NMNは $1.32 \rightarrow 1.28 \text{ ng/mL}$ と有意な変化はみられなかった。NAD依存性蛋白脱アセチル化酵素として働くsirtuin蛋白の設計図であるsirt1 mRNA発現量 (白血球由来) については、1例で $6.7 \rightarrow 33.5$ と著増を認めたが、被検者全体の平均では $5.75 \rightarrow 6.19$ であり有意な変化はみられなかった (Fig. 4-a, b, c, d)。

糖化

皮膚内の蛍光性終末糖化産物 (AGEs) 量を反映するAF値は $2.43 \rightarrow 2.35$ と低下し、 $p < 0.05$ で有意差を認めた (Fig. 5)。

肌

自覚的評価としてのVAS 7項目 (1.潤い 2.かさつき (乾燥肌) 3.シミ 4.張り 5.化粧の乗り 6.肌荒れ 7.吹き出もの)のうち、吹き出もの以外の6項目で減少し、 $p < 0.01$ ($p = 0.000 \sim 0.001$)の極めて有意な変化を認めた (Table 1)。

自覚的变化 (体感)

8週間の経口摂取でみられた体感として、肌の改善効果 (シミや小じわ、そばかすの減退、潤いの増加、張りが出てきた、ほうれい線が目立たなくなった、美白になってきたなど)、睡眠の改善効果 (ぐっすり眠れるようになった、途中で目が覚めなくなった、朝の目覚めがよくなったなど)、疲労や体力面の効果 (疲れにくくなった、疲労の回復が早くなった、体がよく動くようになった、ランニングのラップが速くなった、運動後の筋肉痛が軽くなったなど)が多く

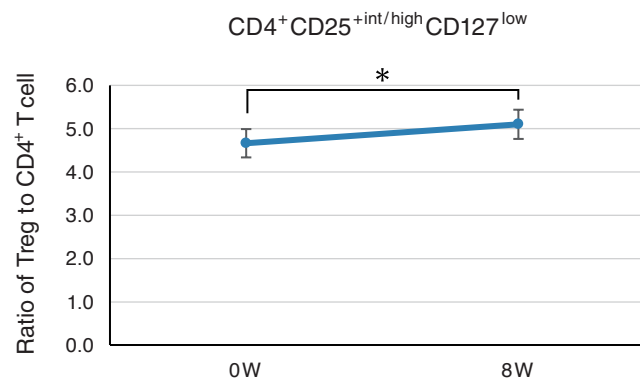


Fig.3. Ratio of Treg to CD4^+ T cell.

Results are expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 16$, * $p < 0.05$, paired t test. Treg: regulatory T cell, $\text{CD4}^+\text{CD25}^{\text{int/high}}\text{CD127}^{\text{low}}$; SEM, standard error mean.

の被検者でみられた。その他として、体が温かくなった (冷え性の改善)、目が疲れにくくなった、夜間の視力がよくなった、目のアレルギー症状が軽減した、太りにくくなった、お酒に酔いにくくなった、便秘が改善した、頭髮につやが出てきた、頭髮が伸びるのが速くなった、食欲が増した、気分がよくなった、関節の痛みが軽減した、頭の回転がよくなった気がする、など様々なポジティブな体感がみられている。

一方、頭痛、体がだるい感じ、下痢気味、めまい、眠気など、いずれもごく軽度ではあるが1-2名で一過性にみられている (Table 2)。

考察

Massachusetts工科大学Guarente教授の研究チームの一員であった今井らが2000年にNature誌に発表した論文が、老化研究に関する21世紀の扉を大きく開けることになった⁹⁾。

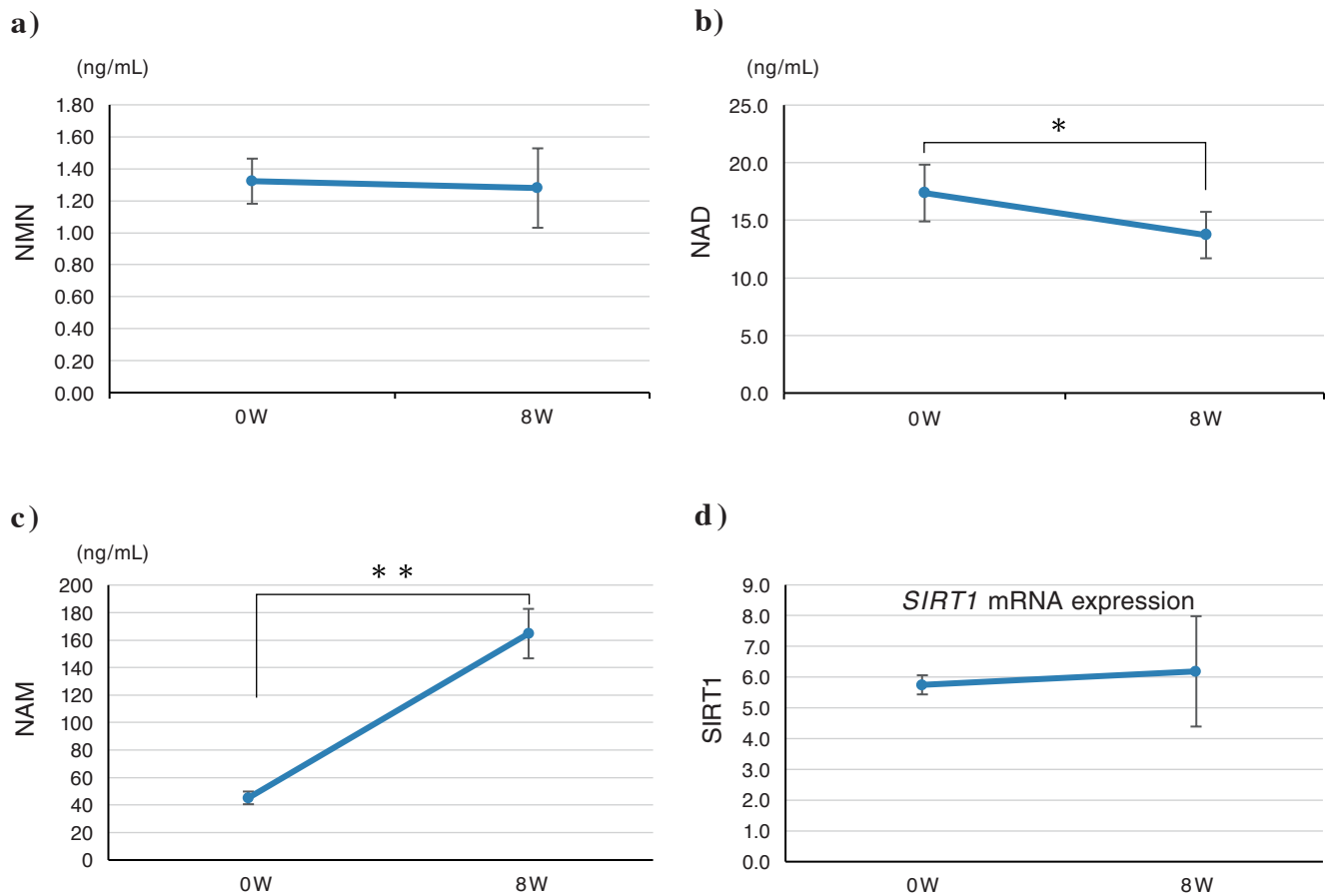


Fig.4. Change in serum NMN/NAD/NAM/sirt1mRNA expression.

a) NMN, **b)** NAD, **c)** NAM, **d)** sirt1 mRNA expression. Results are expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 16$, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, paired t test. mRNA expression of sirtuin 1 was evaluated in isolated peripheral mononuclear cell. NMN, nicotinamide mononucleotide; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; NAM, nicotinamide; SEM, standard error mean.

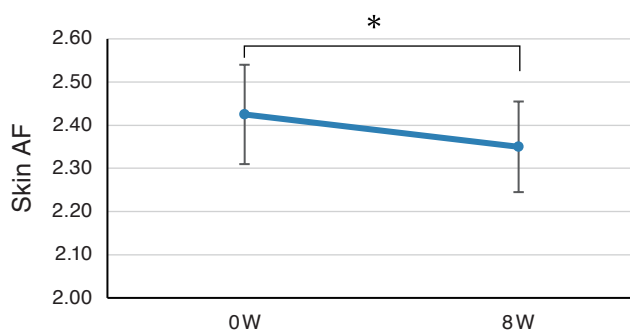


Fig.5. Change of skin AF.

Results are expressed as mean $\pm$ SEM, $n = 16$, * $p < 0.05$, paired t test. Skin AF value was measured by AGE reader mu. AF, autofluorescence; AGE, advanced glycation endproduct; SEM, standard error mean.

Table 1. Skin changes evaluated by visual analog scale.

Questions	Before intake (0 week)	After intake (8 weeks)	p value
How is your skin moisturized ?	52.1 ± 5.1	31.6 ± 4.3	<0.001
Is your skin dry ?	46.5 ± 5.3	25.1 ± 4.7	<0.001
Do you care about age spot ?	74.5 ± 4.6	52.8 ± 6.0	0.001
How is your skin firm & elastic ?	58.1 ± 4.3	31.8 ± 4.1	<0.001
How about a make-up routine ?	53.9 ± 5.0	30.1 ± 4.4	<0.001
Do you care about pimples ?	69.1 ± 5.2	70.1 ± 7.1	0.865
How about rough skin ?	46.5 ± 5.5	23.0 ± 4.1	<0.001

Table 2. Subjective change (Bodily sensation)

□ SKIN

Age spots, wrinkles, and freckles have decreased/Nasolabial fold becomes inconspicuous
Skin becomes moisturized/Skin is getting whiter

□ SLEEP

Better sleep quality/Not easy to wake up in the middle of the night
Awaking is getting better

□ PHYSICAL PERFORMANCE

Not easy to get tired/Fatigue recovery has become faster/Body becomes flexible
Run faster/Less muscle pain after exercise

□ OTHER

Reduced eye strain/Better night vision/Reduced allergies around the eyes
Body becomes warm/Not easy to get fat/Not easy to get a hangover
Constipation improved/Hair grows faster/Hair becomes smooth/Appetite improved
Reduced joint pain/Feel better/Mind becomes clear
Headache, malaise, diarrhea, dizzy, sleepiness (transient symptoms 1-2 participants)

酵母を用いた彼らの研究によって、NADにより活性化される sirtuin 蛋白が様々な遺伝子の発現を制御する蛋白脱アセチル化酵素として作用し、老化や代謝などに深く関わっていることが解明されたのである。以来、sirtuin 遺伝子や NAD 合成系・消費系の生体諸機能への関与についての解明研究が飛躍的に進みつつある。

多くの基礎的研究や動物を用いた研究が報告されてきている一方で、NMNを経由して NAD に変換されるビタミン B3 の一種 NR (nicotinamide riboside) を用いたヒトにおける臨床研究も報告されている¹⁰⁻¹²⁾。しかし、これらのいずれも明らかな抗老化効果は確認されていない。NR の経口摂取では腸内細菌によりその多くが分解されてしまうことから、吸収量の減少が効果の減弱をもたらした可能性が考えられる。そんな中で 2021 年 4 月、Washington 大学の今井グループが、NAD 前駆体の NMN を用いた世界初の臨床研究論文を Science 誌上に発表した¹³⁾。境界型糖尿病で肥満の閉経後女性 25 名を対象とする無作為化プラセボ対象二重盲検試験である。対象をプラセボ摂取群と NMN 摂取群 (250 mg/日) の 2 群に割付け、10 週にわたり摂取した。有害事象はみられず、NMN 摂取群で骨格筋のインスリン感受性やインスリンシグナル、筋肉のリモデリングが高まることなどが確認された。しかし、こうした変化

は筋肉のみで肝臓や脂肪組織では確認されず、マウスの実験のような劇的な効果はみられていない。この結果を受けての男性を交え人数を増やした第 2 次臨床研究の結果が待たれる。

同年 6 月にも中国 Guangzhou スポーツ大学からアマチュアランナー 48 名を対象とした臨床研究が報告されている¹⁴⁾。プラセボ群と NMN の用量を 300、600、1200 mg/日の 3 つに分けた 4 群間で、ベースライン時と介入 6 週後に比較検討する研究である。NMN の用量に関わらず体脂肪量、体脂肪率、徐脂肪体重、BMI などの体組成や心機能指標に変化はみられなかったが、中用量群と高用量群で用量依存性に骨格筋の酸素利用率の向上がみられた。有害事象については高用量群においてもとくにみられていない。こうした結果から、筋肉は NMN に対して感受性の高い組織の一つであり、NMN の補充を併用した運動トレーニングはアスリートの持久力向上のための運動戦略となりうる可能性について言及している。

また、2022 年 1 月に発表された筑波大学の臨床研究では、108 名の高齢者を 4 群 (NMN 午前摂取、午後摂取、プラセボ午前摂取、午後摂取) に分け、NMN 250 mg/日を 12 週間摂取して睡眠の質、疲労、身体能力への影響について検討している¹⁵⁾。とくに NMN 午後摂取群において下肢の

運動機能と眠気について最大改善効果がみられた。これらの知見から、高齢者の下肢機能の改善と眠気の軽減には午後のNMN摂取がより効果的であり、心身の健康に役立つ可能性が示唆されたとしている。

これらの臨床研究ではヒトにおけるNMNの臓器感受性の違い、運動能力や睡眠、疲労への影響、摂取タイミング、摂取量と長期連用による安全性などについて示されたが、本研究では安全性はもとより、臨床検査として測定される各種バイオマーカー（血液生化学、糖代謝、脂質代謝、ホルモン、免疫等）の変化や体感など、日常診療の現場で役立つであろう知見が得られた。

NADはエネルギー産生過程における酸化還元反応を触媒する補酵素として作用するとともに、NAD依存性に働くsirtuinによる蛋白脱アセチル化反応や、PARPsが触媒するADPリボシル化によるDNA損傷修復反応誘導といった蛋白翻訳後修飾にも重要な役割を演じている。NADは栄養素として直接的な取り込みはできないため、生体内ではNAMからの経路と、トリプトファンあるいはNA (nicotinic acid : NAM、NRと同じビタミンB3の一種) からの2つの経路で合成される。主要経路である前者はNADが補酵素や基質として働いた後の反応産物であるNAMの再利用によるsalvage pathwayで、中間体のNMNを経て再合成される。また、NRからsalvage pathwayのNMNを経由する経路も知られている。NMNはブロッコリーや枝豆、キュウイなどにも含まれており、食餌由来のNMNも利用されている。後者はそれとは別に新規に合成されるde novo経路である (Fig. 6)。salvage pathwayは、NAMPT (nicotinamide phosphoribosyltransferase) によるNAMからNMNへの変換とNMNAT (nicotinamide

mononucleotide adenylyltransferase) によるNMNからNADへの二段階の酵素反応である。最初の段階で働くNAMPTがこの反応の律速酵素となっており、環境や栄養状態などに応答して調節されながら加齢により減少していくことが知られている。それに伴い体内のNAD量も低下し、中年以降ではピーク時の半分以下となる。

これまで報告された臨床研究では、血中のNADやsirtuinなどについての検討はなされていない。本研究では、ヒトにおけるこれらの代謝状況を探ることを一つの大きな目的として、血液中のNMN、NAD、NAM、sirt1 mRNA発現量の測定を実施した。

8週間にわたるNMN 300 mg/日の経口摂取の前後で白血球のsirt1 mRNA発現量と血中NMN量に変化はなかったが、NAM量の著増とNAD量の低下がみられている (Fig. 4-a, b, c, d)。NMNは血液中での滞留時間が極めて短く、分単位で組織内へ急速に吸収されNADに変換されることが知られている¹⁶⁾。そのため時間の経過とともに血中NMN量は激減しその測定は難しくなっていく。細胞内で増加したNADは酸化還元反応やsirtuin、PARPsなどによる酵素反応を活性化し、自身はNAMに代謝される。NAMからNMNへの代謝で作用する律速酵素のNAMPTは増えてはいないため、NAM値は高止まりになっている。こうした一連の流れがNMN摂取を続けて行く中で形成されていったことがうかがわれる。

sirt1 mRNAは、その遺伝情報が翻訳されsirtuin蛋白の合成が進むにつれ役割を終え分解されていく。NADの消費はNMNと同様に分単位で急速に進むことが知られている¹⁷⁾。NADとの共同作業で働き急速に減少していくsirtuinの補充のためにsirt1 mRNAが発現してから分解さ

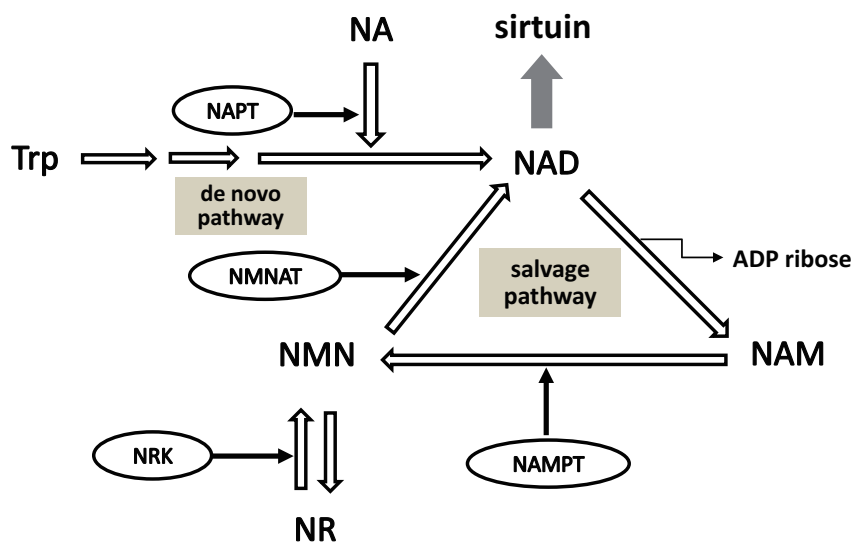


Fig. 6. NAD synthetic pathway.

Trp, tryptophan; NA, nicotinic acid; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; NMN, nicotinamide mononucleotide; NAM, nicotinamide; NR, nicotinamide riboside; NAPT, nicotinic acid phosphoribosyltransferase; NMNAT, nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase; NMNPT, nicotinamide phosphoribosyltransferase; NRK, nicotinamide riboside kinase; ADP, adenosine diphosphate.

れていくのも速いため、その細胞内での局在時間は短いと考えられる。本研究では、NMNの経口摂取は朝食後の1回のみであり、その後急速に発現しながら分解が進むであろうことから、測定タイミングによって発現量に大きな違いが生じることになる。したがって、血液中のsirt1 mRNA発現量については、採血した時間の状況をみているに過ぎないため本試験のような長期摂取前後の一時点での比較には向いておらず、短期の経時的変化をみることを目的とすべきであろう。

sirtuin1が脳の視床下部だけで増加するように遺伝子操作したBRASTOマウスの実験では、老化に伴いみられる症状や疾患の出現時期が遅延し、対象群と比べメスでは16.4%、オスでは9.1%健康寿命の延伸がみられている¹⁸⁾。これは人間に当てはめると女性は13～14年、男性は7～8年ということになり、寿命が長くなってもそれに健康寿命の伸びが追いついていない現状を転換しうる可能性を示すものである。健康寿命の延伸のためには、老化を加速させたり疾患の誘発・進展要因である酸化や糖化ストレスの低減はもとより、糖や脂質、骨などの各種の代謝や、ホルモン、免疫系などのいずれもが弱点とならずに相互連携でバランスを保ち続けることが望ましい。

本研究では、およそ過去2か月間の血糖値の状況を示すHbA1cの低下がみられた(Fig. 1-a)。ブドウ糖や果糖などの還元糖と蛋白質の非酵素下の反応である糖化は、中間体の一つであるHbA1cなどを經由して終末糖化産物(AGEs)が生成され、体中の蛋白質の質的・機能的劣化をもたらす¹⁹⁾。糖化度の評価として、皮膚内蛍光性AGEs蓄積量を反映するAF値も有意な低下がみられた(Fig. 5)²⁰⁾。また、LDL-c値は変化がない一方でHDL-c値が上昇しているのは脂質代謝への好影響を示すものであり、糖や脂質代謝の改善がみられたとするこれまでの報告と合致する(Fig. 1-b)^{6,18)}。

sirtuin 1は生活習慣病抑制作用のあるアディポネクチンの発現を促す働きがあることが知られている²¹⁾。NMNに感受性の高い脂肪組織(とくに内臓脂肪)からのアディポネクチン分泌の亢進に加え、副腎から分泌されるマザーホルモンと言われるDHEA-sの増加は、NMNによるホルモン系への働きかけを示すものと言えよう(Fig. 2-a, b)。

免疫細胞の主力であるリンパ球も生活習慣の乱れや加齢により疲弊し機能的な老化を来す^{22,23)}。その一種である制御性T細胞(Treg)は過剰な免疫反応を制御することから、潰瘍性大腸炎やクローン病などの自己免疫疾患、アレルギー性鼻炎、結膜炎などの対策として注目されている²⁴⁾。本研究では、先行臨床研究にはみられないTregや疲弊、老化細胞を含めたTリンパ球サブセットについて調べた。狭義のTregは有意に増えたが、疲弊、老化T細胞はどちらも有意な変化はみられなかった(Fig. 3)。免疫系の調整には時間を要することから8週程度の時間では不十分であるのかも知れない。近年、老化細胞の除去による抗老化治療の研究が進められてきている中で、老化細胞を標的とするワ

クチンが開発された²⁵⁾。マウスの老化T細胞の減少や耐糖能の改善がみられており、今後のヒトでの検証が待たれる。

老化現象を認識しやすい肌については、全ての被検者で明らかな改善がみられている(Table 1)^{26,27)}。また、肌の変化のほか、睡眠の質の低下や疲れなどの様々な不調・変調の改善効果も多くの被検者の声として寄せられている(Table 2)。NMNの摂取は、各種バイオマーカーの変化ばかりでなく、自覚的变化(体感)もみられやすい栄養素材と言える。

また、糖尿病患者などの糖化ストレスが強い状態ではミトコンドリア内のTCAサイクルの障害が生じ、NADが消耗しTCAサイクルがうまく回らなくなり、様々な障害が惹起されることが知られている²⁸⁻³⁰⁾。NMN補充は、NAD不足に対する対処法として有効と思われる。

Washington大学今井眞一郎博士が提唱するNAD world(老化・寿命と代謝の制御はNADを介して全身的に統合されている³¹⁾)の重要な構成員であるNMNの補充に期待がかかるが、カロリー制限でもNADの増加によりsirtuinが活性化することが知られている³²⁾。赤ワインに含まれるresveratrolはsirtuin遺伝子の活性化作用があるとされ一時期話題になったが、今日では否定的な意見が大勢を占めるようになっていく。しかし、resveratrolを含む赤ワインエキスの8週にわたる経口摂取(resveratrol 19.2 mg/日)で、血中単核球から抽出されたsirt1 mRNA発現量の増加やインスリン感受性の亢進を認めたとする臨床研究が2020年に報告されている³³⁾。興味深い結果であり、追試験が期待される。また、レジスタンストレーニングや有酸素運動でNAD合成経路の律速酵素であるNAMPTが増えることなどから、少なからず効果が見込める生活習慣の見直しから始めるべきであろう。

結論

NMNの経口摂取により各種バイオマーカーの好転がみられたことから、NMNは老化を制御し健康寿命を延ばす可能性のある有力な栄養素材となりうる可能性がある。

謝辞

この研究の著者は、試験に参加いただいた被験者の皆様に感謝します。本研究は、第22回日本抗加齢医学会総会(2022年6月、大阪)で発表された。

利益相反申告

著者らは本研究に関して利益相反はない。

参考文献

- 1) Guarente L. Sirtuins, aging, and metabolism. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2011; 76: 81-90.
- 2) Imai S, Yoshino J. The importance of NAMPT/NAD/SIRT1 in the systemic regulation of metabolism and ageing. *Diabetes Obes Metab.* 2013; 15 Suppl 3(03): 26-33.
- 3) Tummala KS, Gomes AL, Yilmaz M, et al. Inhibition of de novo NAD(+) synthesis by oncogenic URI causes liver tumorigenesis through DNA damage. *Cancer Cell.* 2014; 26: 826-839.
- 4) Pulla VK, Srirani DS, Soni V, et al. Targeting NAMPT for therapeutic intervention in cancer and inflammation: Structure-based drug design and biological screening. *Chem Biol Drug Des.* 2015; 86: 881-894.
- 5) Yao Z, Yang W, Gao Z, et al. Nicotinamide mononucleotide inhibits JNK activation to reverse Alzheimer disease. *Neurosci Lett.* 2017; 647: 133-140.
- 6) Yoshino J, Baur JA, Imai S. NAD⁺ intermediates: The biology and therapeutic potential of NMN and NR. *Cell Metab.* 2018; 27: 513-528.
- 7) Covarrubias AJ, Perrone R, Grozio A, et al. NAD⁺ metabolism and its roles in cellular processes during ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2021; 22: 119-141.
- 8) Ramanathan C, Lackie T, Williams DH, et al. Oral administration of nicotinamide mononucleotide increase nicotinamide adenine dinucleotide level in an animal brain. *Nutrients.* 2022; 14(2): 300.
- 9) Imai S, Armstrong CM, Kaeblerlein M, et al. Transcriptional silencing and longevity protein sir2 is an NAD-depending histone deacetylase. *Nature.* 2000; 403(6771): 795-800.
- 10) Døllerup OL, Christensen B, Svart M, et al. A randomized placebo-controlled clinical trial of nicotinamide riboside in obese men: Safety, insulin-sensitivity, and lipid-mobilizing effects. *Am J Clin Nutr.* 2018; 108: 343-353.
- 11) Døllerup OL, Chubanova S, Agerholm M, et al. Nicotinamide riboside does not alter mitochondrial respiration, content or morphology in skeletal muscle from obese and insulin-resistant men. *J Physiol.* 2020; 598: 731-754.
- 12) Remie CME, Roumans KHM, Moonen MPB, et al. Nicotinamide riboside supplementation alters body composition and skeletal muscle acetylcarnitine concentrations in healthy obese humans. *Am J Clin Nutr.* 2020; 112: 413-426.
- 13) Yoshino M, Yoshino J, Kayser BD, et al. Nicotinamide mononucleotide increases insulin sensitivity in prediabetic women. *Science.* 2021; 372(6547): 1224-1229.
- 14) Liao B, Zhao Y, Wang D, et al. Nicotinamide mononucleotide supplementation enhances aerobic capacity in amateur runners: A randomized, double-blind study. *J Int Soc Sports Nutr.* 2021; 18: 54.
- 15) Kim M, Seol J, Sato T, et al. Effect of 12-week intake of nicotinamide mononucleotide on sleep quality, fatigue, and physical performance in older Japanese adults: A randomized, double-blind placebo-controlled study. *Nutrients.* 2022; 14(4): 755.
- 16) Mills KF, Yoshida S, Stein LR, et al. Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice. *Cell Metab.* 2016; 24: 795-806.
- 17) Rechsteiner M, Hillyard D, Olivera BM. Turnover at nicotinamide adenine dinucleotide in cultures of human cells. *J Cell Physiol.* 1976; 88: 207-217.
- 18) Satoh A, Brace CS, Rensing N, et al. Sirt1 extend life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH. *Cell Metab.* 2013; 18: 416-430.
- 19) 森田祐二. 糖化の正体とその対処法. *日本アンチエイジング歯科学会誌.* 2019; 12: 138-142.
- 20) Morita Y, Yagi M, Ishizaki K, et al. Evaluation of the glycatc stress by non-invasive skin AGEs. *Glycative Stress Res.* 2019; 6: 92-102.
- 21) Majeed Y, Halabi N, Madani AY, et al. Sirt1 promotes lipid metabolism and mitochondrial biogenesis in adipocytes and coordinates adipogenesis by targeting key enzymatic pathways. *Sci Rep.* 2021; 11(1): 8177.
- 22) Rodriguez IJ, Ruiz NL, León ML, et al. Immunosenescence study of T cells: A systematic review. *Front Immunol.* 2021; 11: 604591.
- 23) Ando M, Ito M, Srirat T, et al. Memory T cell, exhaustion, and tumor immunity. *Immunol Med.* 2020; 43: 1-9.
- 24) Yu N, Li X, Song W, et al. CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-} T cells: A more specific Treg population in human peritoneal blood. *Inflammation.* 2012; 35: 1773-1780.
- 25) Yoshida S, Nakagami H, Hayashi H, et al. The CD153 vaccine is a senotherapeutic option for preventing the accumulation of senescent T cells in mice. *Nat Commun.* 2020; 11(1): 2482.
- 26) Tan CYR, Tan CL, Chin T, et al. Nicotinamide prevents UVB- and oxidative stress-induced photoaging in human primary keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 2021; S0022-202X(21)02475-1.
- 27) Zhou X, Du HH, Long X, et al. β -nicotinamide mononucleotide (NMN) administrated by intraperitoneal injection mediates protection against UVB-induced skin damage in mice. *J Inflamm Res.* 2021; 14: 5165-5182.
- 28) Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, et al. Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Med.* 2010; 7: 112-119.
- 29) Nagai R, Brock JW, Blatnik M, et al. Succination of protein thiols during adipocyte maturation: A biomarker of mitochondrial stress. *J Biol Chem.* 2007; 282: 34219-34228.
- 30) Frizzell N, Rajesh M, Jepson MJ, et al. Succination of thiol groups in adipose tissue proteins in diabetes: Succination inhibits polymerization and secretion of adiponectin. *J Biol Chem.* 2009; 284: 25772-25781.
- 31) Imai S. The NAD World: A new systemic regulatory network for metabolism and aging: Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance. *Cell Biochem Biophys.* 2009; 53: 65-74.
- 32) Michan S. Calorie restriction and NAD⁺/sirtuin counteract the hallmarks of aging. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2014; 19: 1300-1319.
- 33) Kitada M, Ogura Y, Monno I, et al. Supplementation with red wine extract increases insulin sensitivity and peripheral blood mononuclear sirt1 expression in nondiabetic humans. *Nutrients.* 2020; 12: 3108.