



β-ニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) の機能と分析について

はじめに

β-ニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) はナイアシン (ビタミン B3 ともいう ; JFRL ニュース Vol.5 No.23 参照) の誘導体の一種です。近年, NMN の摂取による老化制御の研究が進められていて, その役割に注目が集まっています。ここでは, 長寿遺伝子として話題を集めるサーチュイン遺伝子による老化制御のメカニズムへの NMN の関与と NMN の分析について簡単に紹介します。

老化制御メカニズムにおける NMN の役割

サーチュイン遺伝子から作られる酵素 (サーチュイン) は, 他のさまざまな遺伝子の発現をコントロールするスイッチであり, サーチュインが働くためにはニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD⁺; 補酵素) を必要とします¹⁾。NAD⁺ はエネルギー代謝 (電子伝達系) では「通貨」のような基本的物質で, 細胞代謝, 遺伝子発現および DNA 修復等, 生体の至る所で働いています¹⁾。脳の視床下部は老化・寿命を制御するコントロールセンターとして機能することが明らかになりつつあり, その働きは NAD⁺ によるサーチュインの活性化とそれにともなう, エネルギー代謝や遺伝子発現の制御にあると言われています¹⁾⁻³⁾。

哺乳類はニコチンアミド (NAM) を主要材料とし, NAD⁺ を合成しますが, その合成経路の一部で, 脂肪組織にある酵素 (NAMPT) が NAM を NMN に変換します⁴⁾。NAMPT は視床下部に入るための血液脳関門を通過出来ませんが, NMN は視床下部に入って, NAD⁺ 合成を賦活化し, その結果サーチュインが活性化します¹⁾。

一方, 老化に伴い NAMPT の発現量は低下し, これが一因となり臓器内の NAD⁺ 量は減少し, 種々の臓器機能障害, 老化関連疾患を引き起こすとされています^{4), 5)}。なお, NAD⁺ を補給するために直接投与しても, 分子構造が大きいため細胞の中に入りにくく, また, 腸内細菌により分解されてしまいますが, NAMPT の発現量低下に影響されず, 視床下部に入ることが可能な NMN は, NAD⁺ 合成を促進しサーチュインを活性化させることで老化制御に寄与することとなります (図-1)⁴⁾。

NAD⁺ の補給源としての役割を示す NMN は, 直接体内に取り入れることが可能なことから, 健康食品としての利用に注目が集まりつつあります。また, 2020 年 3 月には厚生労働省の「医薬品的効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質 (原材料) リスト」 (「非医薬品リスト」) にも追加されました⁶⁾。NMN と同様の役割を持つニコチンアミドリボシド (NR) を含めた NAD⁺, NMN, NR および NAM の構造式を図-2 に示します⁷⁾。

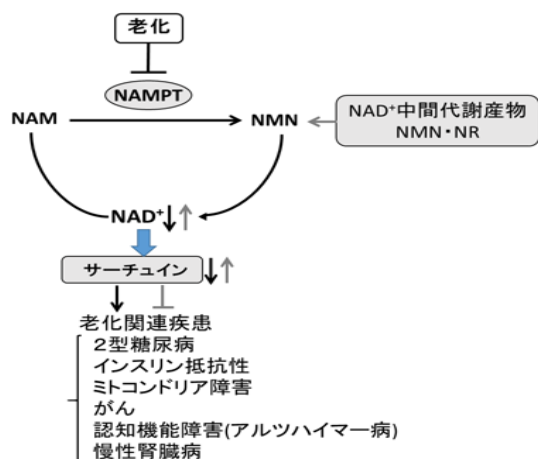


図-1 NAD⁺合成系を応用した
新規抗加齢療法の可能性⁴⁾

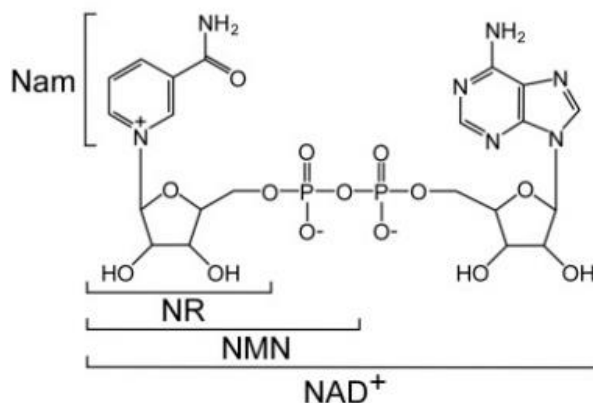


図-2 NAD⁺, NMN, NR および NAM の構造式⁷⁾

NMN 摂取による効果事例

2021年4月に世界初のNMN臨床治験に関する成果論文がScience誌に掲載されました。本論文では治験者に1日250mgのNMNを一定期間投与した結果、NMN摂取群の骨格筋でインスリン感受性が高まったという報告をしており、臨床試験によるNMNの効果の検証が始まっています⁸⁾。

一方、表-1に示すようにNMNは枝豆、ブロッコリー、きゅうりの果肉、きゅうりの皮、キャベツ、アボカド、トマト、マッシュルーム、生牛肉およびエビに含まれていますが微量です⁹⁾。仮に、表-1内で最も多く含まれている枝豆から1日に250mgのNMNを摂取しようとするすると約13.3kg食べなければいけません。このため、高含量のNMNが配合されている健康食品等から摂取することが現実的であるといえます。

表-1 食品に含まれるNMN含有量⁹⁾

Food Type	Name	mg/100g-Food
vegetable	edamame	0.47-1.88
vegetable	broccoli	0.25-1.12
vegetable	cucumber seed	0.56
	cucumber peel	0.65
vegetable	cabbage	0.0-0.90
fruit	avocado	0.36-1.60
fruit	tomato	0.26-0.30
other	mushroom	0.0-1.01
meat	beef (raw)	0.06-0.42
seafood	shrimp	0.22

食品中の NMN の分析方法

弊財団では食品中の NMN の分析について、含量が高い試料は高速液体クロマトグラフ (HPLC) を、低含量の試料もしくは夾雑成分を多く含む試料は液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) を使用しています。

分析に供する試料は様々ですが、高含量試料の分析例としてハードカプセルの分析法フローを図-3 に、低含量試料の分析例として野菜の分析法フローを図-4 に示しました。

図-3 のハードカプセルの分析法は、カプセルごと水で超音波照射抽出し、懸濁溶解させた後に定容したものを試験溶液とし、HPLC で定量するというものです。HPLC の分析時間は 1 注入につき 10 分程度と分析操作を含め非常に迅速な試験法となっております。図-4 の野菜の分析法は、予め磨砕した試料を水でホモジナイズおよび振とう抽出し、吸引ろ過した後に定容します。定容液を精製したものを試験溶液とし、LC-MS/MS で定量するというもので、LC-MS/MS の高感度・高選択性を利用し低定量下限で測定することを実現しております。

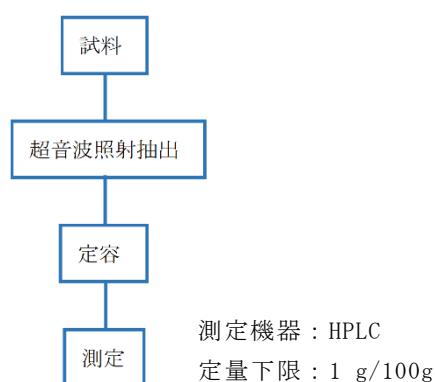


図-3 NMN の分析方法フロー
(ハードカプセル)

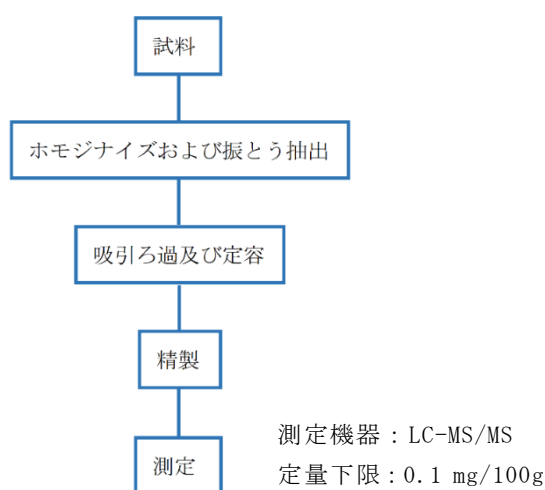


図-4 NMN の分析方法フロー
(野菜)

水溶液中の NMN は熱に弱い

弊財団で NMN 水溶液 (100 mg/L) を 40 °C および 80 °C に加温したときの安定性を調査しました。40 °C に加温したとき、30 分以内であれば、水溶液中で NMN の分解は認められませんが、80 °C に加温したときは加温時間によって、水溶液中で NMN の分解が認められました。このため、試験操作時は温度に注意し、迅速に試験が完了するよう努めています。

原料中の NMN の純度測定

弊財団では、食品中の NMN の分析だけではなく、定量 NMR 法¹⁰⁾や HPLC による面積百分率法¹¹⁾で原料中の NMN の純度測定も行っています。定量 NMR 法では、測定対象である NMN について測定するため、NMN 本来の純度(真値)により近い値を求めることが可能です。これに対して HPLC による面積百分率法では、観測されたすべての面積値の総和に対する NMN の面

積値の割合により純度を算出します。従って、水分等の NMN 以外のすべての成分を検出できるわけではないため、定量 NMR 法の数値より純度は高くなる傾向があります。このため、原料中の NMN の純度測定は、定量 NMR 法による純度測定を推奨しておりますが、ご依頼の目的が原料メーカーと同様の測定方法での数値の確認等の場合、HPLC による面積百分率法でも対応しております。

おわりに

NMN のヒトに対する効果の検証への注目は年々高まっています。それにともない、ハードカプセル、ソフトカプセル、錠剤および飲料等の健康食品が市場に流通してきております。NMN の臨床試験が進めばヒトに対して抗老化作用があるといえるようになる日もそう遠くないのかもしれないかもしれません。

現在も数多くのお問い合わせを頂いておりますが、弊財団では多様な試料での NMN の分析を実施しております。今後も、分析技術の向上を目指すとともに、分析方法の情報収集等も行っております。NMN の分析に関してご質問等ございましたら、お気軽にお問い合わせください。

参考文献(参考資料)

- 1) 今井眞一郎：老化を制御し、予防する, nature ダイジェスト, 2016, Vol.13 No.1, 21-23
- 2) Shin-ichiro Imai *et al.*, Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*, 2000, **403**, 795-800
- 3) Akiko Satoh *et al.*, Sirt1 extends life span and delays aging in mice through the regulation of Nk2 homeobox 1 in the DMH and LH. *Cell Metab*, 2013, **18(3)**, 416-430
- 4) 山口慎太郎, 吉野純：老化関連疾患における NAD⁺合成系の役割と創薬標的としての可能性, 生化学, 2015, 第 87 巻 第 2 号, 239-244
- 5) 山口慎太郎, 伊藤裕, 吉野純：超高齢社会日本における NAD⁺生物学トランスレーショナル研究の意義と可能性, 日本老年医学会雑誌, 2020, 57 巻 3 号, 213-223
- 6) 厚生労働省 HP：食薬区分医における成分本質(原材料)の取り扱いの例示 (令和 2 年 3 月 31 日)(薬生監麻発 0331 第 9 号)
https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=00tc4935&dataType=1&pageNo=1
- 7) Konstantin Shabalin *et al.*, NAD Metabolome Analysis in Human Cells Using ¹H NMR Spectroscopy. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, **19**, 3906
- 8) Mihoko Yoshino *et al.*, Nicotinamide mononucleotide increases muscle insulin sensitivity in prediabetic women. *Science*, 2021, **372**, 1224-1229
- 9) Kathryn F. Mills *et al.*, Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice. *Cell Metabolism*, 2016, **24(6)**, 795-806
- 10) JIS K 0138:2018 定量核磁気共鳴分光法通則(qNMR 通則)
- 11) 第十八改正日本薬局方 一般試験法