

博士論文

ニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN)

経口摂取のヒトの加齢に与える影響の検討

中川 佳子

(長濱)

ニコチンアミドモノヌクレオチド (NMN) 経口摂取のヒトの 加齢に与える影響の検討

所属：東京大学大学院医学系研究科 内科学専攻 (博士課程) 生体防御腫瘍内

科学講座 代謝・栄養病態学

指導教員名：山内 敏正

申請者名：中川 佳子

(長濱)

目次

要旨	• • • • •	1
略語一覽	• • • • •	2
序文	• • • • •	4
方法	• • • • •	9
結果	• • • • •	22
考察	• • • • •	42
結論	• • • • •	50
謝辞	• • • • •	51
利益相反	• • • • •	51
引用文献	• • • • •	52

要旨

目的:健常高齢者の NMN 経口摂取が生理的老化現象に与える影響への無作為化プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験を行う。

方法:健常高齢男性 42 人を NMN 群 (250 mg/日) とプラセボ群にランダムに割り付け、6 週あるいは 12 週間での骨格筋量の変化、及び副次評価項目の評価を行う。

結果:最長 12 週間の NMN 経口摂取は全血 NAD⁺濃度を有意に増加させ、骨格筋量に有意な変化はなかったが、歩行速度、握力は NMN 群で有意な改善を認めた。さらに聴力の改善傾向も認めた。また明らかな有害事象を認めなかった。

結論:健常高齢者において NMN の経口摂取の安全性と筋力および聴力の改善の可能性 が示唆された。

略語一覧

ANCOVA : analysis of covariance

AUC : 曲線下面積

BIA : 生体インピーダンス分析

BMI : 体格指数

hs-CRP : 高感度 C 反応性タンパク

CT : コンピュータ断層撮影

DSM-BIA : Direct Segmental Multi-frequency Bioelectrical Impedance Analysis

FMD : 血流依存性血管拡張反応

HOMA-IR : Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance

HOMA- β : Homeostasis Model Assessment for β cell function

IL-6 : インターロイキン-6

LC-MS/MS : 液体クロマトグラフィー質量分析計

MMRM : mixed-effect model for repeated measures

MMSE-J : 日本語版ミニメンタルステート検査

MOCA-J : 日本語版モントリオール認知機能評価

NAAD : ニコチン酸アデニンジヌクレオチド

NAD⁺ : ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド

NA : ニコチン酸

NAM : ニコチンアミド

NAMN : ニコチン酸モノヌクレオチド

NAR : ニコチン酸リボシド

NMN : ニコチンアミドモノヌクレオチド

NR : ニコチンアミドリボシド

OGTT : 経口ブドウ糖負荷試験

ROI : 関心領域

Sirtuins : NAD⁺依存性脱アセチル化酵素

SMI : 骨格筋指数

序文

世界的な高齢化社会の進行に伴い、健康寿命の延伸が昨今の課題になっている。特にサルコペニアやフレイルといった加齢に伴う筋肉疾患の概念は最近提唱され始めたが、高齢者の日常生活動作(ADL)の維持に大変重要な概念である。

加齢は、糖尿病、心血管疾患、がん、難聴、サルコペニア、アルツハイマー病といった神経疾患のリスクファクターであり、加齢に伴う生理的な衰えを抑制することは、加齢関連疾患を予防するための重要なアプローチである[1]。カロリー制限は、哺乳類をはじめとする多くの生物種で延命効果や健康増進効果があることが知られており[2]、健康増進効果をもたらすいくつかの分子機構を制御している。その中でも、酵母で発見され、マウスの寿命を延ばすことが証明されたニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD⁺) 依存性脱アセチル化酵素 Sirtuins は、カロリー制限の健康増進効果を媒介している[2]。

老化や加齢に伴う疾患は、NAD⁺レベルや Sirtuin 活性の低下と密接に関係していることが明らかになっている。図1にNAD⁺代謝経路を示す。NAD⁺代謝経路は主に3つの経路が知られているが、ニコチン酸(NA)は Preiss–Handler 経

路でニコチン酸モノヌクレオチド (NAMN)、ニコチン酸リボシド(NAR)に変換され、ニコチン酸アデニンジヌクレオチド (NAAD)を介して NAD⁺となる。またトリプトファンは de novo 経路でキノリン酸を介して NAAD に変換され、NAD⁺となる。ニコチンアミドモノヌクレオチド(NMN)、ニコチンアミド(NAM)、ニコチンアミドリボシド(NR)は Salvage 経路を介し、NAD⁺に変換される。動物実験では、NAD⁺の中間代謝産物である NMN や NR を投与すると、NAD⁺濃度が上昇し、Sirtuins が活性化されて、健康増進や寿命の延長が期待できる[2]-[6]。このように、中間体の NAD⁺関連代謝物がヒトの組織の若返りを改善する可能性があることから、NR や NMN を用いた多くの臨床試験が行われている。

ビタミン B3 アナログである NR は、牛乳に含まれる主要なビタミン成分であり (~1 mg/L) [7]、一方 NMN は枝豆、ブロッコリー、肉などの食品に含まれている (~1 mg/100 g) [8]。しかし、これらの食品中に含まれる分量は極めて少ないため、食事から十分な量を摂取することは困難であり、精製・濃縮された NR や NMN が臨床試験に用いられている。

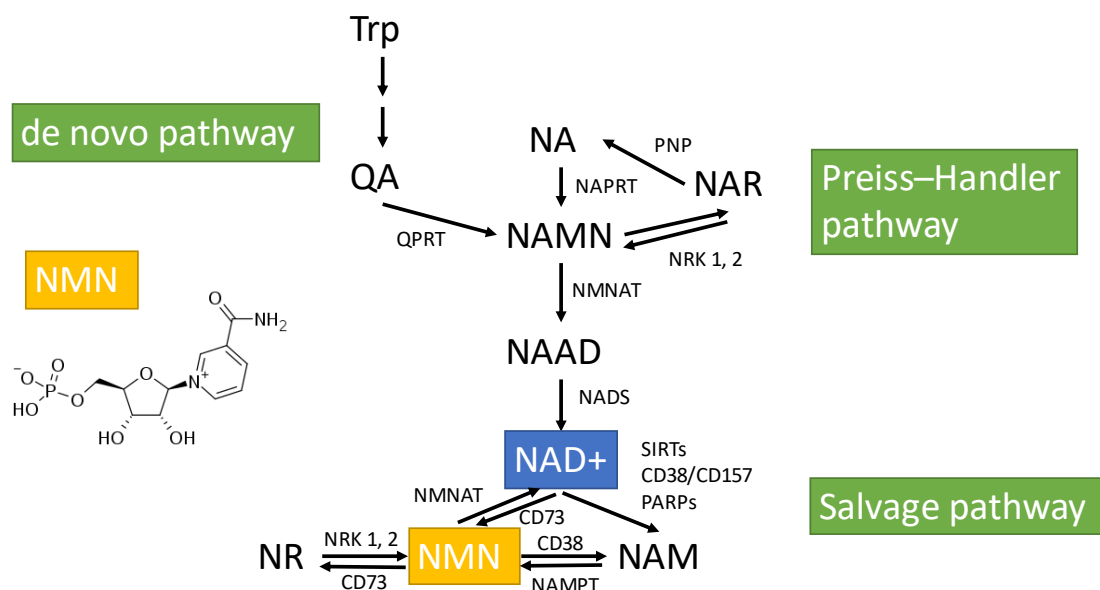


図 1. NAD⁺代謝経路および NMN 構造式

NR の臨床試験の結果はすでに多数報告されている。これらの報告では健康者や肥満を有する人を対象に NR (100~2000 mg/日) を最大 12 週間投与しており [9]-[19]、ほとんどの NR 臨床試験では、NR 投与の安全性 [9]-[18] と、血中または組織中の NAD⁺ または NAD⁺ 関連代謝物の上昇 [9]-[17] が報告されている。また NR は肥満を有する被験者の除脂肪体重を増加させたが、インスリン感受性、ミトコンドリア機能、肝細胞および細胞内脂質の蓄積には影響が見られなかった [17]。

NMN はマウスを用いた前臨床試験で筋肉への影響が報告されており、ヒトでの臨床試験についても複数報告がある (表 1)。まずヒトにおける単日経口

投与の安全性が報告された[20]。また、閉経後の糖尿病前段階の女性計 25 名を対象に NMN 経口補給の代謝機能への影響を評価する 10 週間の無作為化プラセボ対照二重盲検試験で、筋肉のインスリン感受性、インスリンシグナルおよびリモデリングを増加させたという報告があった[21]。さらに、27~50 歳の健康なアマチュアランナーを対象に、NMN の補給と運動トレーニングの組み合わせによる効果について、NMN の投与量に依存して運動中の換気閾値が増加し有酸素能力が向上した [22]という報告もされている。しかし NMN の高齢者に対する影響を評価した臨床試験の報告は限定的である。

そこで、高齢者における NMN 投与の安全性と有効性を明らかにするために、65 歳以上の健康な男性を対象に 12 週間、250 mg の NMN を投与するプラセボ対照無作為化二重盲検並行群間試験を行った。その結果、健康な高齢男性に 1 日 250 mg の NMN を 12 週間経口投与することで、安全性、忍容性が確認され、全血中の NAD⁺および NAD⁺関連代謝物が有意に増加することが明らかになった。さらに、NMN の投与は健康な高齢男性の歩行速度と握力で評価した運動機能を改善した。このように、NMN の慢性的な経口投与は、サルコペニアのようなヒトの老化関連疾患の治療戦略となりうる。

種別	性別	量	期間	結果	引用文献
マウス (C57BL/6J)	特定なし	500 mg/kg (IP)	7日	高齢マウスにおける骨格筋ミトコンドリアの酸化的代謝の亢進。	Gomes et al., 2013 [23]
マウス (C57BL/6N)	オス	100, 300 mg/kg (drinking water)	12カ月	加齢に伴う体重増加の抑制、インスリン感受性および血漿脂質の改善、身体活動量、エネルギー消費量、筋ミトコンドリア機能の上昇。	Mills et al., 2016 [8]
ヒト (健常者)	男性10名	100, 250, or 500 mg/day	1日	単日経口投与の安全性を報告。	Irie et al., 2020 [20]
ヒト (閉経後の糖尿病前段階)	女性25名	250 mg/day	10週	筋肉のインスリン感受性、インスリンシグナルおよびリモデリングの増加。	Yoshino et al., 2021 [21]
ヒト(27-50歳の健康なアマチュアランナー)	男女計48名	300, 600 or 1200 mg/day	6週	運動中の換気閾値が増加し有酸素能力が向上。	Liao et al., 2021 [22]

表 1. NMN サプリメント内服の先行文献

方法

1. 倫理的承認、インフォームドコンセント、および研究場所

本研究はヘルシンキ宣言のガイドラインに沿って行われ、東京大学大学院医学系研究科・医学部 倫理委員会 (2018013P) で承認された。本研究は、患者を募集する前に UMIN-CTR (UMIN000036321) に登録された。被験者は口頭および書面による情報提供を受けた後、書面による同意を得た。本研究は東京大学医学部附属病院の臨床研究支援センターP1 ユニットで実施された。(表 2)

役割	委託先
ボランティアのリクルート	特定非営利活動法人ニューイング
無作為割付、及びその管理	株式会社シー・エンド・シーインタビュー研究所
サプリメントの提供	三菱商事ライフサイエンス株式会社
各種検査	東京大学医学部附属病院の臨床研究支援センターP1ユニット

表 2. 研究上役割と各種委託先

2. 試験デザイン、無作為化、および介入

本試験は、プラセボ対照無作為化二重盲検並行群間試験としてデザインされた。被験者は、開始前、6週目および12週目に検査を受けた。12週間のNMNまたはプラセボの内服は第三者である株式会社シー・エンド・シーインタビュー研究所(東京、日本)によって、無作為に割り付けられ、両群間で年齢、体格指数(BMI)、骨格筋指数(SMI)に有意差はなかった(表3)。また、NMN群とプラセボ群の割付は、試験終了まで株式会社シー・エンド・シーインタビュー研究所が管理した。

被験者は、NMN 250 mg 朝食後1日1回(三菱商事ライフサイエンス株式会社、東京、日本)またはプラセボ錠を、開始前検査終了後より12週間にわたって経口補給した。NMNは三菱商事ライフサイエンス株式会社から提供を受け、化学合成法で製造されたものを使用した。今までにマウスを用いたNMN投与実験については、100-500mg/kg/日の量を腹腔内投与、もしくは経口投与を行っている複数の報告がある[4]。特に長期投与実験では100もしくは300mg/kg/日の用量を1年間摂取させているが、特に顕著な副作用はなく、加齢に伴う耐糖能の悪化、眼底病変の改善を認めている[7]。また、小腸の吸収面積で

換算すると、マウスでの NMN 100 mg/kg/日の摂取はヒトでの 8 mg/kg/日の摂取に相当するとされる[24]。一方で、ヒトへの投与は論文での報告はないものの、臨床試験開始時に登録が行われていた臨床研究は国内で 3 件、米国で 1 件あり、米国の試験（ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03151239）では 250 mg/日を 8 週間、日本での試験（UMIN 試験 ID UMIN000025739）では 100 または 200 mg/日の用量で 24 週間摂取を予定している。また、NMN の前駆体にあたる NR についてはヒトでの臨床試験結果が複数報告されており、100-2000 mg/日の量を最長 12 週間に渡って投与し、特に重篤な副作用は認めなかった[25]。マウスへの NR 長期投与実験では、400 mg/kg/日の用量を 12 週間投与していることから[26]、マウスにおいては効果のある長期投与量に NMN（100-300 mg/kg/日）と NR（400 mg/kg/日）で大きな差はなく、NR のヒトでの問題のない投与量（100-2000 mg/日）と米国、日本で行われている臨床試験での設定量（100、200、250 mg/日）を勘案し、今回の投与量を設定した。

被験者とデータ収集者は治療法について盲検化された。すべての被験者が試験を完了してから、無作為化コードを解除した。

本試験の主要評価項目は、12 週間の投与後の生体インピーダンス法によ

り測定した SMI の変化であり、副次評価項目で、身体測定、血液検査、生理学的検査、放射線検査、アンケート、日誌の実施により各種老化関連パラメータを評価した。

3. 研究被験者

参加基準は、65 歳以上の健常男性、BMI (kg/m²) 22-28、非喫煙者、本研究の参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、本人の自由意思による文書同意が得られた者とした。また除外基準として、1) 本臨床研究に影響を与える可能性のある処方薬やサプリメント(ビタミン B 群含有物)を服用している者、2) 毎日 1 時間以上の運動を 6 カ月以上継続して行っている者、3) 悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞の治療歴がある者、心房細動、不整脈、肝障害、腎障害、脳血管障害、リウマチ、糖尿病、脂質異常症、高血圧、その他の慢性疾患を有する者、4) 医薬品 (漢方薬を含む) を常用している者、アレルギー (医薬品・試験食品関連食品) がある者、5) 現在ほかの臨床研究・治験に参加している者、あるいは過去 3 ヶ月以内にほかの臨床研究・治験に参加した者、6) その他、試験責任医師が本試験の対象として不適切と判断した者とした。

第三者機関である特定非営利活動法人ニューイング(東京、日本)により健康な日本人男性のボランティア 65 名がリクルートされた。スクリーニング検査、医師による診察を行い、本研究への適格性を評価し、42 人が研究にエントリーした。介入期間中、被験者は生活習慣を変えず、ビタミン B3 関連の栄養補助食品を控えるように指示した。サプリメントは 0 週と 6 週の来院時に配布とした。

サプリメント番号貼付担当者のミスにより、6 週来院時に被験者のうち 22 名 (NMN 群 11 人、プラセボ群 11 人) に配布されたサプリメントが、NMN とプラセボで入れ替わって配布されたという事象が発生した。東京大学大学院医学系研究科・医学部 倫理委員会に報告し、これらの被験者を 6 週時点で脱落とした。最終的に、20 名の被験者が試験を完了した (図 2)。

4. 安全性、忍容性、およびアドヒアランスの評価

被験者にはあらゆる有害事象を日記に記録するよう指示し、来院時に医師による問診、診察を受けた。また、試験中に生じた重篤な有害事象は、直ちに治験責任医師に報告するように指示した。有害事象は血液検査と、6週間目と12週間目の安全確認の際に被験者を観察することでモニターした。アドヒアランスは日誌と残薬数で確認した。

5. 血算、血液生化学検査

開始前と12週目に、各被験者の前腕部から血液を採取した。白血球数、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血小板数、平均赤血球色素量、平均赤血球体積、平均赤血球色素濃度の血液学的検査を測定した。

75gのブドウ糖を用いて経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)を実施した。血糖値、インスリン値、C-ペプチド値は、ブドウ糖を経口投与してから0、30、60、120分後に測定し、それぞれグルコース、インスリン、C-ペプチドの曲線下面積(AUC)を台形の面積計算式を用いて算出した。Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR)を用いて決定したインスリン抵抗性

は、空腹時グルコース (mg/dL) × 空腹時インスリン (μU/mL) / 405 の式を用いて算出した。Homeostasis Model Assessment for β cell function (HOMA-β) は、 $360 \times \text{空腹時インスリン (μU/mL)} / (\text{空腹時グルコース [mg/dL]} - 63)$ で算出した。

生化学的検査として中性脂肪、総コレステロール、LDL-コレステロール、HDL-コレステロール、グルコース、HbA1c、インスリン、血中 C-ペプチド、AST、ALT、γ-GTP、CK、総タンパク、アルブミン、尿酸、尿酸窒素、クレアチニン、ナトリウム、カリウム、高感度 C 反応性タンパク (hs-CRP)、アディポネクチン、インターロイキン-6 (IL-6) を測定した。

アディポネクチンと IL-6 については、血液試料を 30 分間放置し、25°C、3500 rpm で 5 分間遠心分離し、-30°C で保存し、SRL (株式会社エスアールエル、東京、日本) にサンプルを送付して測定した。その他の血液検査は東京大学医学部附属病院で測定した。

6. NAD⁺及び NAD⁺関連代謝産物の抽出と液体クロマトグラフィー質量分析計

(LC-MS/MS) 分析

開始前および 12 週終了後に、ヘパリン処理した採血管で血液を採取し、-80℃で凍結させた後、富山大学で分析した。代謝物の抽出と NAD⁺メタボロミクスは、既出の方法で行った[27]。代謝物の抽出は、50 μ L の血液と 450 μ L の MeOH を混合し、10 秒間ボルテックスした後、同量のクロロホルムを加えて行った。この混合物を 13,000 \times g、4℃で 10 分間遠心分離した。分離した上部水相を新しい試験管に移し同じ手順を繰り返した。水相を乾燥させ、LC/MS グレード用の溶媒で再構成した。代謝物は、Agilent 6460 Triple Quad 質量分析計 (Agilent Technologies Inc.、サンタクララ、カリフォルニア州、アメリカ合衆国) と Agilent 1290 HPLC システム (Agilent Technologies Inc.、サンタクララ、カリフォルニア州、アメリカ合衆国) を組み合わせて分析した。分析物は、Atlantis T3 カラム (2.1 \times 150 mm、粒子径 3 μ m、Waters)、移動相 A (5 mM ギ酸アンモニウム) および移動相 B (メタノール) を用いて、流速 150 μ L/min、カラム温度 40 °C で分離した。プログラムされた移動相のグラジエントは、0-10 分：0%-70%B、10-15 分：70%B、15-20 分：0%B とした。データは MassHunter

Quantitative Analysis software (Agilent) を用いて解析し、様々な濃度の標準化合物から標準曲線を得て、定量に用いた。

7. 体成分

体成分の測定には、Direct Segmental Multi-frequency Bioelectrical Impedance Analysis (DSM-BIA) 機器 (InBody S10®; 株式会社インボディ・ジャパン、東京、日本) を用いた。開始前時、6 週目および 12 週目に、全身の骨格筋量、部位別筋肉量 (右腕、左腕、体幹、右脚、左脚)、脂肪量、体脂肪率を記録した。SMI (kg/m²) は全身の骨格筋量を身長²で割って算出した。

8. コンピュータ断層撮影 (CT)

試験開始前と 12 週目の訪問時に、肝臓と内臓の脂肪量を評価するために腹部 CT (Aquilion PRIME/TSX-303A/BI、Aquilion Precision/TSX-304A/2A、Aquilion ONE/TSX-101A Vision Edition) を実施した。

Centricity RA1000 ワークステーション (GE Healthcare、シカゴ、イリノイ州、アメリカ合衆国) 上の画像を用いて、肝臓と脾臓の CT 値の比 (L/S 比) を評

価し、肝臓の脂肪を評価した。肝臓では門脈の臍部(umbilical portion)のスライスで、右葉の腹側と背側と左葉に3つ、円形または卵円形の関心領域 (ROI) (直径~15mm) を配置した。一方脾臓の ROI は、脾臓の最大径の腹側と背側に2つ配置し、主脈、胆管、石灰化は避けた。各画像に ROI を配置した後、CT 値と標準偏差 (すなわち画像ノイズ) を記録した。L/S 比 (CT[L/S 比]) は、肝臓の3つの ROI の平均 (CT[L]) と脾臓の2つの ROI の平均 (CT[S]) の CT 値の比 (CT[L/S 比]= CT[L]/ CT[S]) として算出した。

内臓脂肪は、Fat Scan (株式会社東日本技術研究所、茨城、日本) を用いて評価した。内臓脂肪面積は、臍のスライスで測定した (図 4) [28]。

9. 運動能力および身体機能の評価

身体機能进行评估するために、試験開始前、6週間後、12週間後に、歩行速度、握力、30秒椅子立ち上がりテストを実施した。歩行速度は、既報の臨床研究に従い[29]、10mの歩行時間を2回測定し、その平均値を結果とした。握力は、スメドレー式デジタル握力計 (Grip D®; 竹井機器工業株式会社、東京、日本) を用いて、既出の方法で測定した[30]。測定は両手とも2回ずつ行った。

握力は2回の測定のうち高い方を採用とした。30秒椅子立ち上がりテストは、既出の[31]、[32]と同様に行った。被験者が30秒間に椅子から立ち上がった回数を記録した。

10. 聴力検査

開始前時と12週目に、オーディオメーター (Audiometer AA-79、リオン株式会社、東京、日本) を用いて両耳の聴力を測定した。聴力検査では、空気伝導のみを測定し、500 Hz、1000 Hz×2、2000 Hz の純音聴力レベルの平均値を評価した。

11. 認知機能検査

日本語版ミニメンタルステート検査 (MMSE-J) および日本語版モントリオール認知評価 (MOCA-J) を実施し、介入開始時と12週間後の被験者の認知機能を評価した[33][34]。

12. 血流依存性血管拡張反応 (FMD : Flow Mediated Dilation)

10 分間の安静後、血管内皮機能検査装置 (UNEX EF 18VG、株式会社ユニクス、愛知、日本) を用いて、試験開始時と 6 週目、12 週目に FMD を測定した。カフを用いて前腕部の血流を停止したとき、解放したときの血管の拡張幅を測定し、 $\%FMD = \text{最大拡張幅 (mm)} / \text{安静時血管径 (mm)} \times 100$ として算出した。

13. 統計解析

統計解析は、Easy R for Microsoft Windows[35]、R version 4.0.2 (2020-06-22) を用いて、試験開始前 ($n = 21$)、6 週間後 ($n = 21$)、12 週間後 ($n = 10$) の NMN 群またはプラセボ群のデータの解析をした。アウトカムデータは平均 \pm 標準偏差で報告されている。NMN 群とプラセボ群との比較では、各アウトカムデータは、正規性の検定として Shapiro-Wilk 検定を行った。正規分布に従ったデータは、 t 検定を用いて分析し、正規分布に従わなかったデータは、Mann-Whitney U 検定を用いて比較した。NMN 群とプラセボ群の開始前値と 6 週目来

院時および 12 週目来院時の変化 (差分) の評価は開始前値での補正するために analysis of covariance (ANCOVA) を用いて検定した。

本試験では、サプリメントの割り当てミスによるデータの欠落が多く見られたため、経時的な治療効果の比較は、混合効果モデルを用いて解析を行った。混合効果モデルでは、intercept と来院をランダム効果として含め、グループ、来院、およびグループと来院の相互作用を固定効果として含めた。一部の評価項目は混合効果モデルでは算出できなかったため、すべての評価項目は mixed-effect model for repeated measures (MMRM) を行い、固定効果はグループ、訪問、グループごとの相互作用とした。試験開始前の検査値と訪問間の共分散構造は制限ないと推定した。p-values は group-by-visit interaction を示す。

主要解析は、混合効果モデル (混合効果モデルで算出不能の場合は MMRM) により、開始前、6 週目、12 週目の各時点での NMN とプラセボの 2 群間の経時的な有効性を比較した。すべての解析は探索的なものであり、各エンドポイントの主要解析が指定されていたため、多重比較の補正は適用しなかった。

結果

1. 被験者の登録と被験者の試験開始前の特性

65 歳以上の高齢男性 65 名がスクリーニングされ、2019 年 7 月から 2019 年 11 月にかけて実施され、UMIN-CTR に UMIN000036321 という識別子で登録された。除外になった 11 人のうち、8 人の被験者は特定の病歴や検査値の異常のために除外され、3 人の被験者は同意を得た直後、他の臨床試験に登録していることが判明し投薬前に除外した。また 2 人は同意後すぐに辞退を申し出たため除外した。残った 52 人の中から来院時軽度合併症や検査困難であった 10 人を除き、42 人が登録され、2 つの治療群 (プラセボ群および 250mg NMN/日群) に無作為に割り付けられた (図 2)。

各群の被験者には、0 週目と 6 週目にサプリメント (プラセボまたは NMN) が配布された。しかし、研究終了後、6 週目の訪問時に、NMN 群とプラセボ群の各 11 名の被験者が、サプリメント番号貼付担当者のミスにより、入れ替わってもう一方のサプリメントを受け取っていたことが判明した。東京大学医学部附属病院倫理委員会の決定により、入れ替わって配布された 22 名 12 週目の取得データは除外された (図 2)。

Figure 1

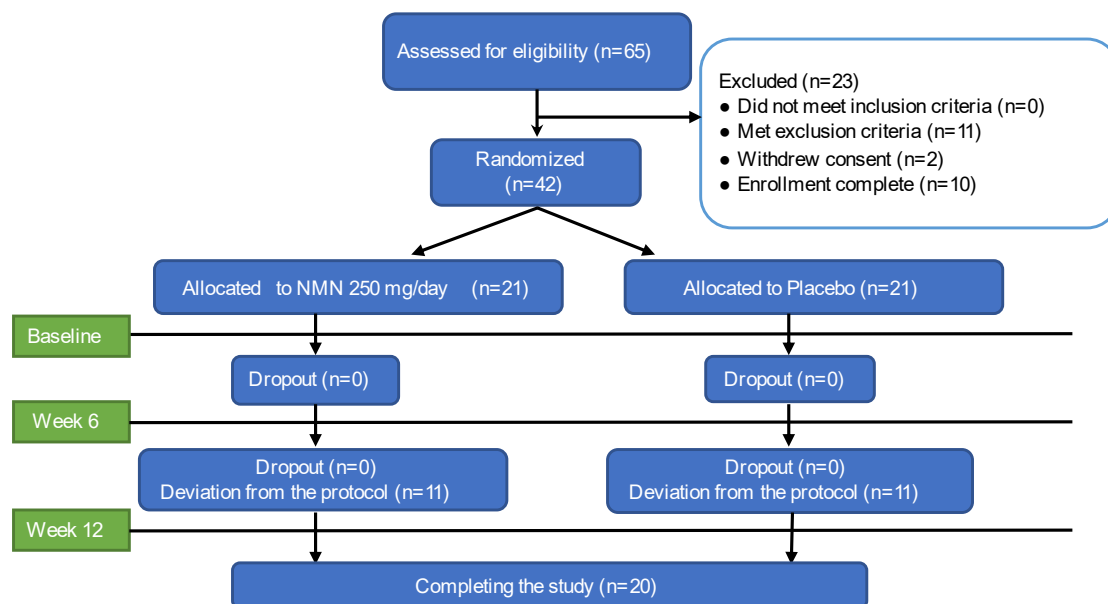


図 2 . NMN 臨床試験のフローチャート

試験参加者の選定とデータ解析の手順を示した臨床試験フローチャート。65名の被験者候補がスクリーニングされ、42名の適格な被験者が選ばれ、1対1の割合で2つのグループに無作為に割り付けられた。臨床検査は、0週目、6週目、12週目に実施した。22名の被験者が6週目以降にプロトコルから逸脱し、20名が12週目の試験を完了した。

NMN 群 (n = 21) とプラセボ群 (n = 21) の主な身体的・代謝的特徴を表 3

にまとめた。主要なパラメータは開始時に両群間で同等であった。なお 22 名の誤ってサプリメントが配布された被験者を除く、NMN 群とプラセボ群の 20 名の被験者の開始時の身体的特徴を表 4 に示す。歩行速度は NMN 群で 1.45 ± 0.17 m/s、Placebo 群で 1.36 ± 0.16 m/s と NMN 群で有意に速かった ($p=0.041$)。また BMI で Placebo 群が高値の傾向 ($p=0.063$) があったが、その他もともと両群間で調整していた年齢、SMI では両群間で有意な差はなかった。(表 4)

	Placebo Mean \pm SD (21)	NMN Mean \pm SD (21)	Between group p-value
Age (year)	71.8 \pm 6.1	71.1 \pm 3.9	0.960 ^b
BMI (kg/m ²)	24.5 \pm 1.4	24.1 \pm 1.4	0.283 ^b
Fat Mass (%)	26.7 \pm 3.9	25.7 \pm 3.8	0.424 ^a
SMI (kg/m ²)	7.62 \pm 0.42	7.64 \pm 0.29	0.867 ^a
Gait Speed (m/s)	1.36 \pm 0.16	1.45 \pm 0.17	0.106 ^a
A 30-s Chair-Stand Test (Counts/30s)	14.0 \pm 4.2	13.9 \pm 3.9	0.909 ^a
Right hand grip strength (kg)	37.7 \pm 6.1	39.1 \pm 4.7	0.686 ^b
Left hand grip strength (kg)	34.6 \pm 4.9	35.1 \pm 4.5	0.970 ^b
HbA1c (%)	5.82 \pm 0.29	5.90 \pm 0.53	0.761 ^b
FBG (mg/dL)	95.7 \pm 10.2	101.0 \pm 11.6	0.332 ^b
HOMA-IR	1.30 \pm 0.83	1.66 \pm 1.57	0.406 ^b
CT L/S ratio	1.16 \pm 0.12	1.14 \pm 0.13	0.460 ^a
Visceral adipose tissue (cm ²)	123.0 \pm 32.0	124.4 \pm 38.7	0.842 ^b

表 3. 試験開始前の被験者 42 名の臨床的特徴

試験に参加した 42 名 (NMN 群 (n = 21) とプラセボ群 (n = 21))の平均値と SD 値を合わせて表示した。両群間の P 値は、各項目の表に示した。

- a. グループ間の比較は、t 検定を行った。
- b. グループ間の比較は、Mann-Whitney U 検定を行った。

	Placebo Mean \pm SD (10)	NMN Mean \pm SD (10)	Between group p-value
Age (year)	70.1 \pm 5.6	69.8 \pm 2.6	0.520 ^b
BMI (kg/m ²)	24.8 \pm 1.2	23.7 \pm 1.3	0.063 ^a
Fat Mass (%)	26.8 \pm 4.4	25.1 \pm 3.2	0.343 ^a
SMI (kg/m ²)	7.79 \pm 0.44	7.65 \pm 0.39	0.459 ^a
Gait Speed (m/s)	1.31 \pm 0.19	1.50 \pm 0.20	0.041 ^{a*}
A 30-s Chair-Stand Test (Counts/30s)	13.5 \pm 5.2	14.8 \pm 4.0	0.539 ^a
Right hand grip strength (kg)	36.0 \pm 7.1	40.1 \pm 3.2	0.147 ^b
Left hand grip strength (kg)	34.8 \pm 4.8	36.1 \pm 5.6	0.587 ^a
HbA1c (%)	5.74 \pm 0.32	5.85 \pm 0.58	0.939 ^b
FBG (mg/dL)	94.4 \pm 7.8	99.0 \pm 9.0	0.236 ^a
HOMA-IR	1.08 \pm 0.38	1.35 \pm 0.79	0.684 ^b
CT L/S ratio	1.15 \pm 0.11	1.15 \pm 0.12	0.943 ^a
Visceral adipose tissue (cm ²)	126.3 \pm 38.1	129.3 \pm 45.8	0.874 ^a

表 4. 12 週間の試験を完了した 20 名の被験者の試験開始前の臨床的特徴

試験を完了した 20 名 (NMN 群 (n = 10) とプラセボ群 (n = 10)) の平均値と SD 値を合わせて表示した。両群間の P 値は、各項目の表に示した。

a. グループ間の比較は t 検定を行った。

b. グループ間の比較は Mann-Whitney U 検定を行った。

*p<0.05

2. 12 週の NMN 250 mg/日経口摂取の忍容性は良好

すべての被験者が配布された NMN およびプラセボのサプリメントを 90%以上摂取したことから、本試験の内服遵守状況は良好であった。NMN (250 mg/日) の忍容性は良好であり、重篤な有害事象は発生しなかった。臨床検査値は、開始前および 12 週の訪問時に採取した血液サンプルから得られた。血液学、肝酵素および腎機能を含む血液生化学所見については、NMN 群とプラセボ群の間に有意な差は認められず、すべての臨床検査値が NMN 群で正常範囲内にとどまった (表 5 および表 6)。これらの結果は、健康な高齢男性への NMN 250 mg/日 12 週間の内服が、忍容性良好であることを裏付けている。

	Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value		Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value
WBC (x10³counts/μL)				RBC (x10³counts/μL)			
Baseline	6.96 \pm 1.34 (21) 6.86 \pm 1.40 (10)	6.13 \pm 1.48 (21) 5.60 \pm 1.32 (10)	0.019 ^{b*} (21:21) 0.069 ^b (10:10)	Baseline	476.4 \pm 33.4 (21) 479.4 \pm 30.8 (10)	490.6 \pm 35.6 (21) 481.7 \pm 34.9 (10)	0.190 ^a (21:21) 0.878 ^a (10:10)
Week 12	5.61 \pm 0.78 (10)	4.85 \pm 0.87 (10)	0.054 ^a (10:10)	Week 12	462.6 \pm 28.2 (10)	464.6 \pm 30.9 (10)	0.882 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-1.25 \pm 0.87 (10)	-0.75 \pm 1.20 (10)	0.416 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-16.8 \pm 19.7 (10)	-17.1 \pm 14.1 (10)	0.974 ^c (10:10)
Platelet (x10⁴counts/μL)				Hemoglobin (g/dL)			
Baseline	22.8 \pm 5.8 (21) 23.0 \pm 6.9 (10)	23.0 \pm 5.5 (21) 23.2 \pm 5.1 (10)	0.850 ^b (21:21) 0.942 ^a (10:10)	Baseline	14.7 \pm 0.9 (21) 14.8 \pm 0.8 (10)	15.2 \pm 0.9 (21) 15.1 \pm 0.7 (10)	0.091 ^a (21:21) 0.424 ^a (10:10)
Week 12	23.3 \pm 5.8 (10)	22.2 \pm 2.9 (10)	0.606 ^a (10:10)	Week 12	14.4 \pm 0.5 (10)	14.5 \pm 0.7 (10)	0.555 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	0.3 \pm 1.9 (10)	-1.0 \pm 3.0 (10)	0.272 ^a (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-0.4 \pm 0.6 (10)	-0.6 \pm 0.3 (10)	0.963 ^c (10:10)
CRP (mg/dL)				Hematocrit (%)			
Baseline	0.115 \pm 0.162 (21) 0.069 \pm 0.053 (10)	0.070 \pm 0.059 (21) 0.043 \pm 0.023 (10)	0.569 ^b (21:21) 0.169 ^a (10:10)	Baseline	43.8 \pm 2.3 (21) 43.8 \pm 2.0 (10)	44.8 \pm 2.6 (21) 44.4 \pm 2.5 (10)	0.170 ^a (21:21) 0.533 ^a (10:10)
Week 12	0.231 \pm 0.506 (10)	0.086 \pm 0.106 (10)	0.760 ^b (10:10)	Week 12	43.0 \pm 1.5 (10)	43.0 \pm 2.1 (10)	0.990 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	0.162 \pm 0.516 (10)	0.043 \pm 0.104 (10)	0.344 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-0.8 \pm 1.8 (10)	-1.4 \pm 1.3 (10)	0.558 ^c (10:10)

表 5. 臨床検査データ (血算および hs-CRP) に対する NMN の効果

NMN 群とプラセボ群の平均値と SD 値、両群間の p 値を各項目ごとに表に示した。平均値の後の括弧内の数字は、それぞれの n を示す。

- グループ間の比較は t 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は Mann-Whitney U 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は、開始前値を調整した ANCOVA を行った。

*p<0.05

	Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value		Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value
TP (g/dL)				BUN (mg/dL)			
Baseline	7.31 \pm 0.38 (21) 7.32 \pm 0.40 (10)	7.46 \pm 0.31 (21) 7.49 \pm 0.34 (10)	0.191 ^a (21:21) 0.318 ^a (10:10)	Baseline	14.1 \pm 3.07 (21) 13.9 \pm 3.24 (10)	15.1 \pm 2.56 (21) 14.6 \pm 3.18 (10)	0.241 ^a (21:21) 0.627 ^a (10:10)
Week 12	6.90 \pm 0.29 (10)	6.98 \pm 0.34 (10)	0.576 ^a (10:10)	Week 12	13.9 \pm 1.92 (10)	13.4 \pm 2.49 (10)	0.670 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.42 \pm 0.27 (10)	-0.51 \pm 0.22 (10)	0.779 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-0.0 \pm 2.72 (10)	-1.2 \pm 2.42 (10)	0.388 ^c (10:10)
Albumin (g/dL)				Creatinine (mg/dL)			
Baseline	4.30 \pm 0.23 (21) 4.31 \pm 0.21 (10)	4.38 \pm 0.22 (21) 4.45 \pm 0.24 (10)	0.244 ^a (21:21) 0.182 ^a (10:10)	Baseline	0.913 \pm 0.12 (21) 0.928 \pm 0.14 (10)	0.900 \pm 0.14 (21) 0.865 \pm 0.15 (10)	0.687 ^a (21:21) 0.344 ^a (10:10)
Week 12	4.05 \pm 0.17 (10)	4.19 \pm 0.17 (10)	0.086 ^a (10:10)	Week 12	0.950 \pm 0.16 (10)	0.870 \pm 0.16 (10)	0.253 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.26 \pm 0.13 (10)	-0.26 \pm 0.16 (10)	0.294 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	0.021 \pm 0.05 (10)	0.000 \pm 0.03 (10)	0.372 ^c (10:10)
AST (U/L)				Uric acid (mg/dL)			
Baseline	19.6 \pm 4.8 (21) 19.7 \pm 5.0 (10)	21.8 \pm 4.3 (21) 22.4 \pm 4.2 (10)	0.073 ^b (21:21) 0.210 ^a (10:10)	Baseline	6.00 \pm 1.26 (21) 6.03 \pm 1.14 (10)	5.36 \pm 1.01 (21) 5.50 \pm 1.04 (10)	0.078 ^a (21:21) 0.292 ^a (10:10)
Week 12	20.1 \pm 4.5 (10)	23.8 \pm 6.3 (10)	0.148 ^a (10:10)	Week 12	6.14 \pm 1.09 (10)	5.56 \pm 1.24 (10)	0.282 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	0.4 \pm 2.9 (10)	1.4 \pm 4.7 (10)	0.448 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	0.11 \pm 0.68 (10)	0.06 \pm 0.56 (10)	0.744 ^c (10:10)
ALT (U/L)				Na (mEq/L)			
Baseline	18.0 \pm 7.7 (21) 18.7 \pm 10.2 (10)	21.7 \pm 8.6 (21) 21.8 \pm 7.0 (10)	0.073 ^b (21:21) 0.139 ^a (10:10)	Baseline	140.3 \pm 1.15 (21) 140.0 \pm 1.25 (10)	139.8 \pm 1.44 (21) 140.3 \pm 1.64 (10)	0.268 ^a (21:21) 0.650 ^a (10:10)
Week 12	19.1 \pm 7.4 (10)	23.6 \pm 7.6 (10)	0.197 ^a (10:10)	Week 12	140.1 \pm 1.37 (10)	139.9 \pm 1.37 (10)	0.748 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	0.4 \pm 6.2 (10)	1.8 \pm 5.7 (10)	0.300 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	0.1 \pm 0.88 (10)	-0.4 \pm 1.26 (10)	0.387 ^c (10:10)
γGTP (U/L)				K (mEq/L)			
Baseline	32.4 \pm 17.2 (21) 31.0 \pm 18.9 (10)	31.4 \pm 16.7 (21) 37.1 \pm 16.6 (10)	0.840 ^a (21:21) 0.384 ^a (10:10)	Baseline	4.28 \pm 0.30 (21) 4.26 \pm 0.17 (10)	4.22 \pm 0.27 (21) 4.16 \pm 0.28 (10)	0.484 ^a (21:21) 0.343 ^a (10:10)
Week 12	36.5 \pm 32.0 (10)	36.7 \pm 13.0 (10)	0.344 ^a (10:10)	Week 12	4.34 \pm 0.18 (10)	4.31 \pm 0.37 (10)	0.821 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	5.5 \pm 29.9 (10)	-0.4 \pm 6.8 (10)	0.685 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	0.08 \pm 0.24 (10)	0.15 \pm 0.31 (10)	0.822 ^c (10:10)

表 6. 血液生化学所見に対する NMN の影響

NMN 群とプラセボ群の平均値と SD 値、両群間の p 値を各項目ごとに表に示した。平均値の後の括弧内の数字は、それぞれの n を示す。

- グループ間の比較は t 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は Mann-Whitney U 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は、開始前値を調整した ANCOVA を行った。

3. NMN 経口投与により全血中 NAD⁺および NAD⁺関連代謝物が増加

開始時と 12 週間後に被験者から全血を採取し、LC-MS/MS を用いて NAD⁺と NAD⁺関連代謝物を分析した。図 3 に示すように、NMN を経口投与することにより、プラセボと比較して NMN および NAD⁺のレベルが効果的に上昇した。また、CD73 によって NMN が NR に変換された可能性を示す NR の増加傾向も観察された[36]。また、NMN は、NAD⁺の de novo 合成経路の中間体である NAMN および NAR の濃度を有意に上昇させた。これらの知見を総合すると、NMN の慢性的な経口補給は健康な高齢男性の NAD⁺代謝を効果的に促進することが示された。

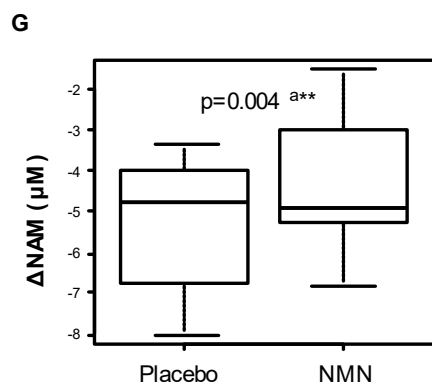
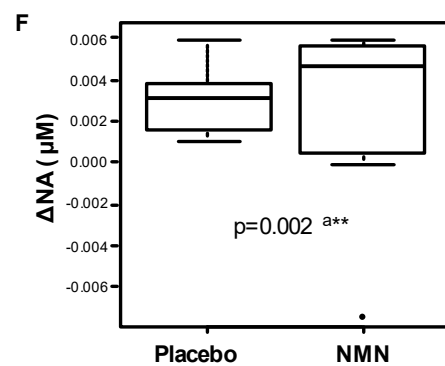
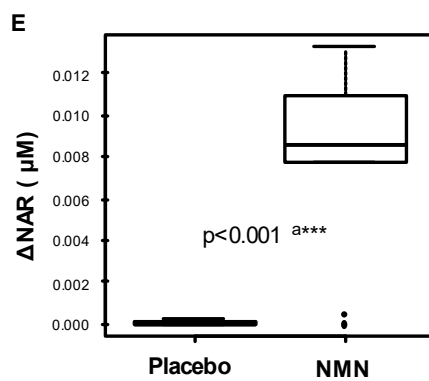
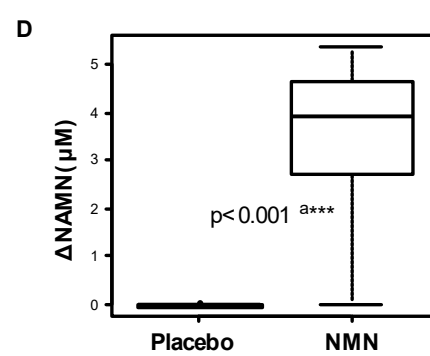
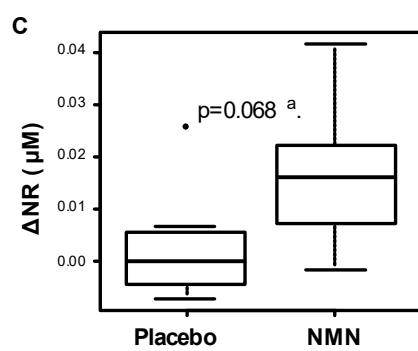
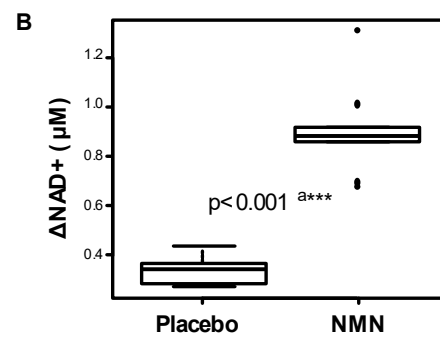
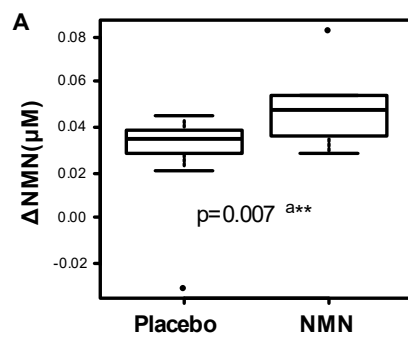


図 3. NMN の慢性経口投与による全血 NAD⁺および関連代謝物の濃度上昇

(A-G) プラセボ (n = 10) または NMN (n = 10) を 12 週間補給した後の全血 NAD⁺ および NAD⁺代謝物レベルの変化；NMN(A)、NAD⁺(B)、NR(C)、NAMN(D)、NAR(E)、NA(F)、NAM(G)を示している。

a. グループ間の比較は、開始前値を調整した ANCOVA を行った。

p<0.01; *p<0.001

4. NMN の慢性的な経口投与による運動機能の改善

NMN の経口投与が健康な高齢男性の骨格筋量に及ぼす影響を調べるため、生体インピーダンス分析 (BIA) を用いて SMI および部位別筋肉量 (右腕、左腕、体幹、右脚、左脚) を測定し、主要評価項目として NMN 群とプラセボ群の開始前、6 週目、12 週目の平均値を混合効果モデルまたは MMRM[37]を用いて解析評価した。また、両訪問日における各群の平均値の比較は正規分布の場合は t 検定を、非正規分布の場合は Mann-Whitney U 検定を用いて評価した。さらに、6 週目および 12 週目の訪問時における各群のサプリメント内服前後の差分を、ANCOVA を用いて分析した。いずれの解析においても、骨格筋量に有意な差は認められなかった (表 7)。

	Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value		Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value
SMI (kg/m²) p=0.979^a, p=0.874^b				Segmental Lean/Trunk (kg) p=0.094^a, p=0.605^b			
Baseline	7.62 \pm 0.42 (21) 7.79 \pm 0.44 (10)	7.64 \pm 0.29 (21) 7.65 \pm 0.39 (10)	0.867 ^c (21:21) 0.459 ^c (10:10)	Baseline	21.2 \pm 1.97 (21) 21.3 \pm 2.37 (10)	22.2 \pm 1.51 (21) 22.2 \pm 1.85 (10)	0.076 ^c (21:21) 0.357 ^c (10:10)
Week 6	7.69 \pm 0.40 (21) 7.85 \pm 0.42 (10)	7.64 \pm 0.32 (21) 7.65 \pm 0.40 (10)	0.703 ^c (21:21) 0.253 ^c (10:10)	Week 6	21.2 \pm 1.94 (21) 21.5 \pm 2.30 (10)	21.9 \pm 1.47 (21) 21.9 \pm 1.78 (10)	0.113 ^c (21:21) 0.669 ^c (10:10)
Week 12	7.64 \pm 0.52 (10)	7.52 \pm 0.43 (10)	0.582 ^c (10:10)	Week 12	21.1 \pm 2.25 (10)	21.9 \pm 1.89 (10)	0.412 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 6	0.06 \pm 0.15 (21) 0.06 \pm 0.12 (10)	0.00 \pm 0.13 (21) 0.00 \pm 0.13 (10)	0.167 ^c (21:21) 0.267 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 6	-0.1 \pm 0.53 (21) 0.2 \pm 0.47 (10)	-0.3 \pm 0.41 (21) -0.3 \pm 0.41 (10)	0.328 ^c (21:21) 0.039 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.15 \pm 0.22 (10)	-0.13 \pm 0.21 (10)	0.805 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-0.2 \pm 0.37 (10)	-0.3 \pm 0.51 (10)	0.706 ^c (10:10)
Segmental Lean/Right Arm (kg) p=0.374^b				Segmental Lean/Right Leg (kg) p=0.268^a, p=0.702^b			
Baseline	2.54 \pm 0.32 (21) 2.54 \pm 0.35 (10)	2.68 \pm 0.24 (21) 2.67 \pm 0.28 (10)	0.120 ^c (21:21) 0.364 ^c (10:10)	Baseline	7.92 \pm 0.81 (21) 8.10 \pm 0.90 (10)	8.16 \pm 0.58 (21) 8.21 \pm 0.72 (10)	0.274 ^c (21:21) 0.769 ^c (10:10)
Week 6	2.53 \pm 0.30 (21) 2.57 \pm 0.34 (10)	2.62 \pm 0.23 (21) 2.60 \pm 0.27 (10)	0.345 ^c (21:21) 0.852 ^c (10:10)	Week 6	8.05 \pm 0.81 (21) 8.15 \pm 0.93 (10)	8.27 \pm 0.57 (21) 8.36 \pm 0.70 (10)	0.332 ^c (21:21) 0.577 ^c (10:10)
Week 12	2.49 \pm 0.35 (10)	2.60 \pm 0.28 (10)	0.443 ^c (10:10)	Week 12	7.91 \pm 0.94 (10)	8.15 \pm 0.70 (10)	1.000 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 6	-0.01 \pm 0.10 (21) 0.04 \pm 0.08 (10)	-0.05 \pm 0.08 (21) -0.07 \pm 0.07 (10)	0.283 ^c (21:21) 0.012 ^c * (10:10)	Change from Baseline to Week 6	0.14 \pm 0.23 (21) 0.05 \pm 0.20 (10)	0.11 \pm 0.19 (21) 0.15 \pm 0.19 (10)	0.804 ^c (21:21) 0.275 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.05 \pm 0.08 (10)	-0.07 \pm 0.09 (10)	0.667 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-0.19 \pm 0.36 (10)	-0.05 \pm 0.31 (10)	0.367 ^c (10:10)
Segmental Lean/Left Arm (kg) p=0.761^b				Segmental Lean/Left Leg (kg) p=0.251^a, p=0.891^b			
Baseline	2.51 \pm 0.33 (21) 2.54 \pm 0.41 (10)	2.67 \pm 0.25 (21) 2.66 \pm 0.32 (10)	0.081 ^c (21:21) 0.462 ^c (10:10)	Baseline	7.78 \pm 0.82 (21) 8.02 \pm 0.93 (10)	8.02 \pm 0.50 (21) 8.05 \pm 0.59 (10)	0.264 ^c (21:21) 0.925 ^c (10:10)
Week 6	2.49 \pm 0.32 (21) 2.57 \pm 0.39 (10)	2.61 \pm 0.24 (21) 2.60 \pm 0.30 (10)	0.183 ^c (21:21) 0.854 ^c (10:10)	Week 6	7.84 \pm 0.77 (21) 8.02 \pm 0.86 (10)	8.07 \pm 0.53 (21) 8.12 \pm 0.62 (10)	0.256 ^c (21:21) 0.768 ^c (10:10)
Week 12	2.50 \pm 0.39 (10)	2.60 \pm 0.33 (10)	0.538 ^c (10:10)	Week 12	7.89 \pm 1.03 (10)	7.92 \pm 0.60 (10)	0.923 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 6	-0.01 \pm 0.11 (21) 0.03 \pm 0.09 (10)	0.06 \pm 0.09 (21) -0.06 \pm 0.09 (10)	0.351 ^c (21:21) 0.055 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 6	0.06 \pm 0.23 (21) 0.00 \pm 0.25 (10)	0.06 \pm 0.17 (21) 0.07 \pm 0.17 (10)	0.818 ^c (21:21) 0.473 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.04 \pm 0.06 (10)	-0.06 \pm 0.11 (10)	0.695 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-0.13 \pm 0.33 (10)	-0.13 \pm 0.24 (10)	0.979 ^c (10:10)

表 7. 筋肉量に対する NMN の効果

混合効果モデルと MMRM の経時比較結果を各項目の上部に示した。また、NMN 群とプラセボ群の平均値と SD、両群間の p 値を各項目の表の下部に示した。平均値の後の括弧内の数字は、それぞれの n を示す。

- 混合効果モデルを用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- MMRM を用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- グループ間の比較は t 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は Mann-Whitney U 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は開始前値を調整した ANCOVA を行った。

*p<0.05

一方、筋力とパフォーマンスを調べるために、歩行速度、30秒椅子立ち上がりテスト、握力を評価し、同じ統計手法を用いて分析した(表8)。混合効果モデルまたはMMRMにより、NMN投与後に歩行速度($p=0.033$)および左握力テスト($p=0.019$)の有意な改善が認められた(表8)。これらの結果から、慢性的なNMN経口内服は、骨格筋量には影響を与えないものの、健康な高齢男性の筋力とパフォーマンスを向上させることがわかった。また、歩行速度については、6週間後と12週間後の各群の平均値の間に有意な差が認められた(それぞれ $p=0.023$ 、 $p=0.002$)。さらに、6週間後の30秒椅子立ち上がりテストでは、プラセボ群とNMN群の間に有意差が認められた($p=0.031$)。

	Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	between group p-value		Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	between group p-value
Gait Speed (m/s) p=0.033^a, p=0.015^b				Right Grip Strength (kg) p=0.259^a, p=0.194^b			
Baseline	1.36 \pm 0.16 (21) 1.31 \pm 0.19 (10)	1.45 \pm 0.17 (21) 1.50 \pm 0.20 (10)	0.106 ^c (21:21) 0.041 ^{de} (10:10)	Baseline	37.7 \pm 6.1 (21) 36.0 \pm 7.2 (10)	39.1 \pm 4.7 (21) 40.1 \pm 3.3 (10)	0.686 ^d (21:21) 0.147 ^d (10:10)
Week 6	1.34 \pm 0.18 (21) 1.27 \pm 0.18 (10)	1.47 \pm 0.16 (21) 1.54 \pm 0.17 (10)	0.023 ^{de} (21:21) 0.004 ^{de} (10:10)	Week 6	39.2 \pm 5.3 (21) 38.7 \pm 6.3 (10)	40.6 \pm 4.0 (21) 41.8 \pm 4.7 (10)	0.348 ^c (21:21) 0.230 ^c (10:10)
Week 12	1.30 \pm 0.22 (10)	1.60 \pm 0.13 (10)	0.002 ^{de} (10:10)	Week 12	37.3 \pm 5.9 (10)	41.9 \pm 5.6 (10)	0.090 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 6	-0.02 \pm 0.13 (21) -0.04 \pm 0.11 (10)	0.02 \pm 0.09 (21) 0.03 \pm 0.10 (10)	0.111 ^e (21:21) 0.030 ^{de} (10:10)	Change from Baseline to Week 6	1.6 \pm 3.4 (21) 2.7 \pm 3.3 (10)	1.5 \pm 4.0 (21) 1.7 \pm 4.6 (10)	0.669 ^e (21:21) 0.974 ^e (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.01 \pm 0.10 (10)	0.09 \pm 0.13 (10)	0.066 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	1.3 \pm 3.2 (10)	1.8 \pm 4.2 (10)	0.479 ^e (10:10)
A 30-s Chair-Stand Test (Counts/30s) p=0.509^a, p=0.309^b				Left Grip Strength (kg) p=0.019^b			
Baseline	14.0 \pm 4.2 (21) 13.5 \pm 5.2 (10)	13.9 \pm 3.9 (21) 14.8 \pm 4.0 (10)	0.909 ^c (21:21) 0.539 ^c (10:10)	Baseline	34.6 \pm 4.9 (21) 34.8 \pm 4.8 (10)	35.1 \pm 4.5 (21) 36.1 \pm 5.7 (10)	0.970 ^d (21:21) 0.587 ^c (10:10)
Week 6	13.6 \pm 4.4 (21) 13.7 \pm 5.0 (10)	15.1 \pm 4.2 (21) 16.1 \pm 4.6 (10)	0.261 ^c (21:21) 0.278 ^c (10:10)	Week 6	34.7 \pm 5.0 (21) 35.5 \pm 5.0 (10)	36.6 \pm 5.4 (21) 37.0 \pm 6.2 (10)	0.207 ^d (21:21) 0.402 ^d (10:10)
Week 12	14.0 \pm 5.2 (10)	16.3 \pm 3.6 (10)	0.267 ^c (10:10)	Week 12	34.1 \pm 4.6 (10)	37.4 \pm 5.8 (10)	0.177 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 6	-0.5 \pm 2.6 (21) 0.2 \pm 2.3 (10)	1.2 \pm 2.1 (21) 1.3 \pm 1.6 (10)	0.031 ^{de} (21:21) 0.214 ^e (10:10)	Change from Baseline to Week 6	0.1 \pm 3.4 (21) 0.7 \pm 1.7 (10)	1.5 \pm 4.3 (21) 0.9 \pm 4.5 (10)	0.204 ^e (21:21) 0.815 ^e (10:10)
Change from Baseline to Week 12	0.5 \pm 3.7 (10)	1.5 \pm 1.7 (10)	0.311 ^e (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-0.7 \pm 2.5 (10)	1.3 \pm 2.7 (10)	0.082 ^e (10:10)

表 8. NMN は、筋力と運動機能を向上させる

混合効果モデルと MMRM の経時比較結果を各項目の上部に示した。また、NMN 群とプラセボ群の平均値と SD、両群間の p 値を各項目の表の下部に示した。平均値の後の括弧内の数字は、それぞれの n を示す。

- 混合効果モデルを用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- MMRM を用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- グループ間の比較は t 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は Mann-Whitney U 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は開始前値を調整した ANCOVA を行った。

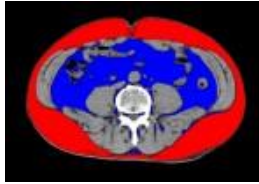
*p<0.05; **p<0.01

5. 肝臓および内臓脂肪は NMN 内服に影響を受けない

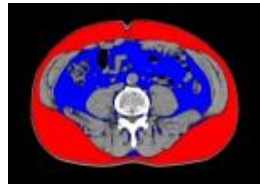
次に、NMN がインスリン感受性と脂肪肝に良い影響を与えることが動物実験で示唆されているため、脂肪量分布に対する NMN の効果を調べた[4] [5] (図 4)。慢性的な NMN の経口補給は、BIA を用いた脂肪量の測定 (図 4B) と同様に、CT スキャンにおける内臓脂肪面積 (図 4A) および肝臓と脾臓の CT 値 (L/S 比) に影響を与えなかった。同様に、NMN の投与はインスリン感受性の指標である HOMA-IR にも影響を与えなかった (図 4C)。また、インスリン感受性に関連してアディポネクチンおよび IL-6 も、NMN 投与による影響を受けなかった (表 9)。これらのデータは、本研究において、インスリン感受性と脂肪量が NMN の補給によって影響を受けなかったことを示している。同様に、トリグリセリド、LDL コレステロール、HDL コレステロール、HbA1c、FBG、HOMA- β 、75g OGTT で計算されたグルコース、インスリン、C-ペプチドの AUC にも、NMN 投与後に有意な差や傾向は見られなかった (図 4C および表 9)。

A

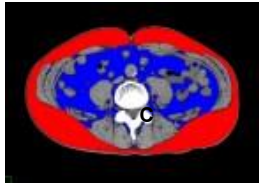
NMN 250mg/day 0 week



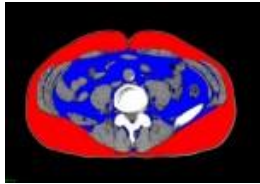
NMN 250mg/day 12 weeks



Placebo 0 week



Placebo 12 weeks



C

	Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value		Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value
HbA1c (%)				FBG (mg/dL)			
Baseline	5.82 \pm 0.29 (21) 5.74 \pm 0.32 (10)	5.90 \pm 0.53 (21) 5.85 \pm 0.58 (10)	0.761 ^d (21:21) 0.939 ^a (10:10)	Baseline	95.7 \pm 10.2 (21) 94.4 \pm 7.8 (10)	101.0 \pm 11.6 (21) 99.0 \pm 9.0 (10)	0.332 ^d (21:21) 0.236 ^c (10:10)
Week 12	5.69 \pm 0.30 (10)	5.88 \pm 0.56 (10)	0.647 ^d (10:10)	Week 12	97.2 \pm 9.0 (10)	101.4 \pm 11.1 (10)	0.365 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.05 \pm 0.09 (10)	0.03 \pm 0.13 (10)	0.0861 ^a (10:10)	Change from Baseline to Week 12	2.8 \pm 7.5 (10)	2.4 \pm 7.3 (10)	0.921 ^a (10:10)
HOMA-β				HOMA-IR			
Baseline	46.9 \pm 17.7 (21) 45.7 \pm 21.2 (10)	45.7 \pm 16.9 (21) 41.8 \pm 12.2 (10)	0.821 ^d (21:21) 0.625 ^c (10:10)	Baseline	1.32 \pm 0.83 (21) 1.08 \pm 0.38 (10)	1.67 \pm 1.57 (21) 1.35 \pm 0.79 (10)	0.481 ^c (21:21) 0.684 ^c (10:10)
Week 12	45.1 \pm 16.8 (10)	43.1 \pm 16.1 (10)	0.791 ^c (10:10)	Week 12	1.11 \pm 0.32 (10)	1.26 \pm 0.49 (10)	0.448 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.6 \pm 15.7 (10)	1.3 \pm 16.0 (10)	0.992 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	0.03 \pm 0.43 (10)	-0.09 \pm 0.55 (10)	0.812 ^c (10:10)
Glucose AUC				Insulin AUC			
Baseline	19362.1 \pm 2467.4 (21) 18019.5 \pm 2410.8 (10)	20804.3 \pm 5426.4 (21) 20158.5 \pm 4552.7 (10)	0.633 ^d (21:21) 0.206 ^c (10:10)	Baseline	4889.3 \pm 1941.3 (21) 4450.5 \pm 2188.8 (10)	4761.4 \pm 1875.8 (21) 4483.5 \pm 1589.2 (10)	0.829 ^d (21:21) 0.970 ^c (10:10)
Week 12	18706.5 \pm 2279.3 (10)	19299.0 \pm 4790.6 (10)	0.728 ^c (10:10)	Week 12	5508.0 \pm 2639.8 (10)	4389.0 \pm 1582.7 (10)	0.326 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 12	687.0 \pm 1989.7 (10)	-859.5 \pm 2092.9 (10)	0.201 ^a (10:10)	Change from Baseline to Week 12	1057.5 \pm 2215.9 (10)	-94.5 \pm 845.4 (10)	0.142 ^a (10:10)
C-peptide AUC							
Baseline	704.9 \pm 140.1 (21) 654.6 \pm 146.0 (10)	694.7 \pm 180.0 (21) 652.4 \pm 161.2 (10)	0.840 ^c (21:21) 0.974 ^c (10:10)				
Week 12	772.2 \pm 170.2 (10)	694.2 \pm 153.5 (10)	0.296 ^c (10:10)				
Change from Baseline to Week 12	117.6 \pm 199.9 (10)	41.9 \pm 88.2 (10)	0.244 ^a (10:10)				

B

	Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between groups p-value
CT L/S ratio			
Baseline	1.16 \pm 0.12 (21) 1.15 \pm 0.11 (10)	1.13 \pm 0.13 (21) 1.15 \pm 0.12 (10)	0.430 ^c (21:21) 0.943 ^c (10:10)
Week 12	1.18 \pm 0.08 (10)	1.17 \pm 0.15 (10)	0.631 ^d (10:10)
Change from Baseline to Week 12	0.03 \pm 0.05 (10)	0.02 \pm 0.04 (10)	0.651 ^c (10:10)
Visceral fat by CT (m²)			
Baseline	123.0 \pm 32.0 (21) 126.3 \pm 38.1 (10)	124.4 \pm 38.7 (21) 129.3 \pm 45.8 (10)	0.842 ^d (21:21) 0.874 ^c (10:10)
Week 12	126.3 \pm 36.7 (10)	120.1 \pm 46.4 (10)	0.744 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 12	0.0 \pm 11.6 (10)	-9.2 \pm 19.7 (10)	0.234 ^a (10:10)
Fat Mass by InBody (%) p=0.442^a, p=0.700^b			
Baseline	26.7 \pm 3.9 (21) 26.8 \pm 4.4 (10)	25.7 \pm 3.8 (21) 25.1 \pm 3.2 (10)	0.424 ^c (21:21) 0.343 ^c (10:10)
Week 6	26.7 \pm 4.1 (21) 26.5 \pm 4.7 (10)	26.0 \pm 3.5 (21) 25.4 \pm 3.0 (10)	0.543 ^c (21:21) 0.508 ^c (10:10)
Week 12	26.5 \pm 4.8 (10)	24.9 \pm 2.5 (10)	0.342 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 6	0.0 \pm 1.8 (21) -0.2 \pm 0.7 (10)	0.3 \pm 1.2 (21) 0.3 \pm 1.0 (10)	0.750 ^c (21:21) 0.269 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.2 \pm 1.3 (10)	-0.2 \pm 2.4 (10)	0.991 ^c (10:10)

図 4. NMN の内服は代謝関連する検査値に影響を与えない

(A) 図は各群 0 週及び 12 週の被験者の内臓脂肪面積を概算するのに使用した臍高の CT スライスの代表的なもの。赤い部分が内臓脂肪、青い部分が皮下脂肪である。(B) CT L/S 比、CT スライスから算出した内臓脂肪面積、BIA 法で測定した脂肪量に対する NMN の効果。(C) HbA1c、FBG、HOMA- β 、HOMA-IR、グルコース AUC、インスリン AUC、および C-ペプチド AUC に対する NMN の効果を示した。AUC は 75g OGTT の結果から算出した。

各項目の上部には、混合効果モデルの結果と MMRM の経時的な比較を示した。また、各項目の表の下部には、NMN 群とプラセボ群の平均値と SD、両群間の p 値を示した。平均値の後の括弧内の数字は、それぞれの n を示す。

- a. 混合効果モデルを用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- b. MMRM を用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- c. グループ間の比較は t 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- d. グループ間の比較は Mann-Whitney U 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- e. グループ間の比較は開始前値を調整した ANCOVA を行った。

	Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value		Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p-value
Triglycerides (mg/dL)				HDL Cholesterol (mg/dL)			
Baseline	114.6 \pm 49.5 (21) 102.2 \pm 44.9 (10)	116.5 \pm 42.4 (21) 116.7 \pm 36.8 (10)	0.897 ^a (21:21) 0.440 ^a (10:10)	Baseline	62.8 \pm 14.1 (21) 61.1 \pm 15.2 (10)	61.6 \pm 17.4 (21) 67.3 \pm 17.9 (10)	0.803 ^a (21:21) 0.422 ^a (10:10)
Week 12	82.4 \pm 36.8 (10)	107.6 \pm 37.0 (10)	0.045 ^{b*} (10:10)	Week 12	58.7 \pm 15.2 (10)	62.1 \pm 16.4 (10)	0.635 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-19.8 \pm 26.3 (10)	-9.1 \pm 14.2 (10)	0.133 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-2.5 \pm 4.2 (10)	-5.2 \pm 3.9 (10)	0.233 ^c (10:10)
LDL Cholesterol (mg/dL)				Interleukin-6 (pg/mL)			
Baseline	134.4 \pm 26.5 (21) 132.2 \pm 18.0 (10)	125.7 \pm 36.8 (21) 125.4 \pm 32.3 (10)	0.386 ^a (21:21) 0.568 ^a (10:10)	Baseline	1.66 \pm 0.62 (21) 1.78 \pm 0.68 (10)	1.29 \pm 0.75 (21) 0.90 \pm 0.37 (10)	0.031 ^{b*} (21:21) <0.001 ^{b****} (10:10)
Week 12	121.8 \pm 17.0 (10)	109.0 \pm 36.8 (10)	0.331 ^a (10:10)	Week 12	1.50 \pm 0.62 (10)	1.39 \pm 0.81 (10)	0.403 ^b (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-10.4 \pm 14.5 (10)	-16.4 \pm 10.3 (10)	0.311 ^c (10:10)	Change from Baseline to Week 12	-0.28 \pm 0.94 (10)	0.49 \pm 0.67 (10)	0.762 ^c (10:10)
Adiponectin (μg/mL)							
Baseline	8.59 \pm 2.70 (21) 8.97 \pm 2.90 (10)	8.95 \pm 4.91 (21) 8.32 \pm 3.59 (10)	0.458 ^b (21:21) 0.661 ^a (10:10)				
Week 12	8.76 \pm 2.93 (10)	8.35 \pm 3.50 (10)	0.780 ^a (10:10)				
Change from Baseline to Week 12	-0.21 \pm 0.87 (10)	0.03 \pm 1.15 (10)	0.669 ^c (10:10)				

表 9. NMN の補給は、脂質代謝および代謝関連検査に影響を与えない

NMN 群とプラセボ群の平均値と SD 値、両群間の p 値を各項目ごとに表に示した。平均値の後の括弧内の数字は、それぞれの n を示す。

- グループ間の比較は t 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は Mann-Whitney U 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は、開始前値を調整した ANCOVA を行った。

*p<0.05; ***p<0.001

6. 他の加齢関連表現型に対する NMN の効果

健康な高齢男性の他の生理的機能における NMN 経口補給の潜在的な効果を探るために、感覚、血管、認知機能を多方面から評価した。右聴力は、統計的に有意ではなかったが($p=0.054$ 、混合効果モデル)、改善する傾向があった(表 10)。一方、血管機能の指標である血圧や FMD の評価値には差が見られなかった(表 11)。最後に、MMSE-J および MOCA-J で評価された総合的な認知機能には、介入の効果は認められなかった(表 10)。

	Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p- value		Placebo Mean \pm SD (n)	NMN Mean \pm SD (n)	Between group p- value
Hearing Testing (Right/dB) p=0.054^a				Hearing Testing (Left/dB) p=0.636^b			
Baseline	23.8 \pm 12.2 (21) 18.1 \pm 9.7 (10)	27.2 \pm 14.0 (21) 25.9 \pm 10.0 (10)	0.512 ^d (21:21) 0.095 ^c (10:10)	Baseline	21.6 \pm 8.6 (21) 18.2 \pm 9.2 (10)	30.9 \pm 16.6 (21) 30.4 \pm 14.5 (10)	0.072 ^d (21:21) 0.045 ^{d*} (10:10)
Week 6	24.6 \pm 13.0 (21) 19.3 \pm 9.6 (10)	27.6 \pm 14.3 (21) 26.2 \pm 10.5 (10)	0.504 ^d (21:21) 0.146 ^c (10:10)	Week 6	21.9 \pm 9.1 (21) 18.8 \pm 10.0 (10)	31.5 \pm 16.6 (21) 29.9 \pm 13.6 (10)	0.051 ^d (21:21) 0.045 ^{d*} (10:10)
Week 12	20.3 \pm 10.2 (10)	25.8 \pm 9.6 (10)	0.229 ^c (10:10)	Week 12	19.3 \pm 9.0 (10)	31.0 \pm 13.5 (10)	0.019 ^{d*} (10:10)
Change from Baseline to Week 6	0.8 \pm 2.7 (21)	0.4 \pm 3.1 (21)	0.610 ^e (21:21) 0.574 ^e (10:10)	Change from Baseline to Week 6	0.3 \pm 3.8 (21) 0.6 \pm 2.3 (10)	0.7 \pm 3.9 (21) -0.5 \pm 4.6 (10)	0.617 ^e (21:21) 0.820 ^e (10:10)
Change from Baseline to Week 12	2.1 \pm 2.7 (10)	-0.1 \pm 2.2 (10)	0.117 ^e (10:10)	Change from Baseline to Week 12	1.1 \pm 2.4 (10)	0.6 \pm 3.0 (10)	0.766 ^e (10:10)
MMSE-J (score)				MOCA-J (score)			
Baseline	27.9 \pm 1.64 (21) 27.9 \pm 0.88 (10)	27.9 \pm 2.15 (21) 28.3 \pm 1.49 (10)	0.768 ^d (21:21) 0.475 ^c (10:10)	Baseline	24.9 \pm 2.49 (21) 25.7 \pm 1.49 (10)	24.9 \pm 2.43 (21) 25.7 \pm 2.54 (10)	1.000 ^c (21:21) 1.000 ^c (10:10)
Week 12	28.9 \pm 1.10 (10)	28.3 \pm 1.64 (10)	0.401 ^d (10:10)	Week 12	26.0 \pm 2.00 (10)	26.2 \pm 1.48 (10)	0.802 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 12	1.0 \pm 1.33 (10)	0.0 \pm 1.63 (10)	0.227 ^e (10:10)	Change from Baseline to Week 12	0.3 \pm 2.11 (10)	0.5 \pm 2.27 (10)	0.794 ^e (10:10)

表 10. NMN 経口摂取の聴覚・認知機能への影響について

NMN 群とプラセボ群の平均値と SD 値、両群間の p 値を各項目ごとに表に示した。平均値の後の括弧内の数字は、それぞれの n を示す。

- 混合効果モデルを用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- MMRM を用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- グループ間の比較は t 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は Mann-Whitney U 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は開始前値を調整した ANCOVA を行った。

*p<0.05

	Placebo Mean ± SD (n)	NMN Mean ± SD (n)	Between group p-value		Placebo Mean ± SD (n)	NMN Mean ± SD (n)	Between group p-value
BMI (kg/m²) p=0.341^a, p=0.851^b				Systolic Blood Pressure (mmHg) p=0.982^a, p=0.438^b			
Baseline	24.5 ± 1.36 (21) 24.8 ± 1.20 (10)	24.1 ± 1.44 (21) 23.7 ± 1.26 (10)	0.283 ^d (21:21) 0.063 ^c (10:10)	Baseline	130.7 ± 19.8 (21) 127.0 ± 18.2 (10)	129.5 ± 15.3 (21) 135.9 ± 18.9 (10)	0.950 ^d (21:21) 0.298 ^c (10:10)
Week 6	24.4 ± 1.32 (21) 24.7 ± 1.19 (10)	24.0 ± 1.44 (21) 23.6 ± 1.17 (10)	0.283 ^d (21:21) 0.044 ^{c*} (10:10)	Week 6	126.1 ± 19.4 (21) 125.2 ± 21.3 (10)	129.2 ± 16.1 (21) 136.5 ± 20.0 (10)	0.577 ^c (21:21) 0.237 ^c (10:10)
Week 12	24.6 ± 1.24 (10)	23.5 ± 1.23 (10)	0.664 ^c (10:10)	Week 12	128.8 ± 20.5 (10)	131.7 ± 25.1 (10)	0.781 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 6	-0.07 ± 0.34 (21) -0.08 ± 0.31 (10)	-0.08 ± 0.23 (21) -0.14 ± 0.27 (10)	0.752 ^a (21:21) 0.377 ^a (10:10)	Change from Baseline to Week 6	-4.6 ± 12.0 (21) -1.8 ± 10.5 (10)	-0.2 ± 7.8 (21) 0.6 ± 7.2 (10)	0.182 ^a (21:21) 0.584 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.26 ± 0.37 (10)	-0.25 ± 0.45 (10)	0.830 ^a (10:10)	Change from Baseline to Week 12	1.8 ± 13.0 (10)	-4.2 ± 13.0 (10)	0.333 ^a (10:10)
Flow Mediated Dilatation (%) p=0.839^b				Diastolic blood pressure(mmHg) p=0.306^b			
Baseline	4.00 ± 1.56 (21) 3.97 ± 1.91 (10)	4.09 ± 1.52 (21) 4.10 ± 1.32 (10)	0.850 ^c (21:21) 0.861 ^c (10:10)	Baseline	79.9 ± 9.4 (21) 81.2 ± 10.9 (10)	81.3 ± 11.8 (21) 85.2 ± 13.6 (10)	0.632 ^d (21:21) 0.477 ^c (10:10)
Week 6	3.80 ± 1.93 (21) 4.01 ± 2.53 (10)	3.84 ± 1.79 (21) 3.25 ± 1.76 (10)	0.941 ^c (21:21) 0.446 ^c (10:10)	Week 6	81.4 ± 12.2 (21) 80.8 ± 11.9 (10)	82.6 ± 11.2 (21) 86.9 ± 12.7 (10)	0.744 ^c (21:21) 0.283 ^c (10:10)
Week 12	3.77 ± 1.38 (10)	3.85 ± 1.35 (10)	0.897 ^c (10:10)	Week 12	81.2 ± 8.9 (10)	81.7 ± 11.0 (10)	0.912 ^c (10:10)
Change from Baseline to Week 6	-0.20 ± 1.46 (21) 0.04 ± 1.72 (10)	-0.24 ± 2.25 (21) -0.85 ± 1.91 (10)	0.936 ^c (21:21) 0.308 ^a (10:10)	Change from Baseline to Week 6	1.5 ± 7.3 (21) -0.4 ± 4.9 (10)	1.3 ± 4.6 (21) 1.7 ± 4.6 (10)	0.955 ^a (21:21) 0.287 ^a (10:10)
Change from Baseline to Week 12	-0.20 ± 2.10 (10)	-0.25 ± 1.72 (10)	0.925 ^a (10:10)	Change from Baseline to Week 12	0.0 ± 6.6 (10)	-3.5 ± 8.1 (10)	0.464 ^a (10:10)

表 11. BMI および血管機能に対する NMN 経口摂取の効果

混合効果モデルと MMRM の経時比較結果を各項目の上部に示した。また、NMN 群とプラセボ群の平均値と SD、両群間の p 値を各項目の表の下部に示した。平均値の後の括弧内の数字は、それぞれの n を示す。

- 混合効果モデルを用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- MMRM を用いて経時的な治療効果を比較した。p 値は交互作用を示す。
- グループ間の比較は t 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は Mann-Whitney U 検定を行った (開始前値の補正なし)。
- グループ間の比較は開始前値を調整した ANCOVA を行った。

*P<0.05

考察

本研究では、1日 250 mg の慢性的な NMN 経口補給が安全であり、健康な高齢男性の NAD⁺代謝を促進するために、忍容性の高い有効な戦略であることを報告した。さらに、生理学的機能に対する NMN 補給の効果に関する我々の探索的分析は、老化の重要な臨床的指標である筋力を改善する NMN の能力を示唆している。

本研究を企画した時点では、NMN の臨床試験の結果は出ていなかったが、いくつかの研究では、マウスにおける経口または腹腔内 NMN (100-500 mg/kg/日) 投与の効果が報告されており[4][5]、特に、NMN を 100 mg/kg/日または 300 mg/kg/日の用量で 1 年間長期に投与したところ、目立った副作用は見られなかったが、加齢に伴うインスリン感受性や眼の機能が改善されることがわかった[7]。この投与量を小腸の吸収面積で換算すると、マウスの 100 mg/kg/日の NMN は、ヒトの 8 mg/kg/日の摂取量に相当すると考えられる[24]。一方、日本、米国、中国では、ヒトを対象とした臨床試験がいくつか行われている。米国の研究[21]では 250 mg/日の用量で 10 週間、日本の研究 (UMIN ID UMIN000025739) では 100 または 200 mg/日の用量で 24 週間行われた。さら

に、NAD⁺のもう一つの前駆体である NR についても、いくつかのヒトでの臨床試験が行われており、NR は 100~2000 mg/日の用量で最大 12 週間投与されているが、重篤な副作用はなかった[9]-[19]。これらより、本試験における NMN の投与量は、過去に報告された NR の投与量 (100~2000 mg/日) および現在行われている NMN の臨床試験の投与量 (100、200、250 mg/日) を考慮して設定した。

同じ NAD⁺関連代謝物である NA は嘔気や顔面紅潮を引き起こすことが知られており、NAD⁺を増加させるために高用量の NA を使用することは困難である[38]。またもう一つの NAD⁺前駆体である NAM は、肝毒性や高血糖を引き起こすことが報告されている[39]が、NR は公表されたすべての臨床試験において忍容性が高いことが実証されている。同様に過去の NMN 試験では、慢性投与の最大量は NMN 1200 mg/日を 6 週間投与しており、いずれの試験においても有害事象は認めていない[22]。本研究においても肝酵素や血糖を含む臨床検査値に異常は見られなかった。全体として、NMN は 250 mg/日の慢性投与で良好な忍容性を示した。

これまでの研究で健常者において、NR の投与により組織の NAD⁺や血

漿または全血の NAD⁺濃度が有意に増加することが報告されている[9]-[12]、[15]、[16]。一方、最近の NMN 研究では、10 週間の投与で筋肉の NAD⁺含量は変化しなかったものの、血中の NAD⁺増加が直接検出された[21]。本研究は NMN 投与により全血中の NAD⁺および NAD⁺関連代謝物が有意に増加したことを報告する 2 つ目の研究である。予想外の発見としては、NMN から NAD⁺への変換のエンルートではない NAMN と NAR のレベルが顕著に上昇したことである。前述の報告では、NAD⁺の合成速度が上昇すると、NAD⁺の NAAD の脱アミド化が、NAD⁺の NAM への転化と競合して起こる可能性があることが提案されており、NAAD が NAD⁺代謝亢進の感度の高いバイオマーカーとして機能することが示唆されている[9]。あるいは、NAD⁺の増加により NMN の脱アミド化が起こり、NAMN が生成される可能性もある。もう一つの説明は、腸内細菌による NMN の脱アミド化である。経口摂取された NAM または NR は、小腸や大腸の腸内細菌叢によって NA、NAR、NAAD、NAMN に脱アミド化される[40]。これらの脱アミド化された NAD⁺関連代謝物は組織に循環し、NAD⁺の合成に寄与する[40]。

骨格筋量と筋力は加齢とともに筋萎縮のために低下し、QOL の低下につ

ながら[41]。NMN の in vivo で検証では、げっ歯類モデルにおいて筋力低下が改善が報告されている[4][5]。また、NMN はげっ歯類の骨格筋におけるミトコンドリア機能を改善することが報告されている[4][5][23]。さらにヒトでの臨床試験では、27 歳から 50 歳の健康な男女において、トレーニング中に NMN を補給することで、用量依存的に有酸素運動能力と換気閾値が改善された[22]。

我々の試験では日常と同じ生活をし、試験中は特別な運動はしないように指示したが、げっ歯類での報告やこの臨床試験の結果と一致するように、慢性的に NMN を補給することで、高齢男性の筋力とパフォーマンスが改善されることがわかった。歩行速度は運動による介入では、その強度により 0.05-0.10 m/s の改善がみられたことが報告されている[43]が、本試験では NMN 群とプラセボ群を比較して 0.11 m/s と運動に匹敵する改善効果がみられた。握力は左側のみに有意な差があり、効果があると考えられるが、左右で結果が異なるため、さらなる検証が必要である。一方、動物実験では NMN 300 mg/kg/日の投与で対照群と比較して除脂肪体重が増加する傾向にあったが[8]、我々の研究では NMN は骨格筋量に影響を与えなかった。最近、いくつかの NR 経口補給のヒトにおける臨床試験で、骨格筋のミトコンドリア機能は NR の補給後も増加しないことが報告されている[16][17][19]。したがって、我々の発見は、NMN の慢性的

な補給が全体的な筋肉の健康をサポートする可能性を示唆され、前臨床試験の結果からミトコンドリア機能の改善による筋力、パフォーマンスの改善[4][5][23]が機序として想定されるが、この観察された運動機能改善の背後にあるメカニズムを解明するためには、筋生検で筋線維レベルの解剖学的変化や筋の遺伝子発現の生理学的な評価を行うなどさらなる研究が必要である。

NMN の補給は、げっ歯類モデルにおいてインスリン感受性と代謝機能を改善することも示唆されている[4][5]。以前の NR によるヒトでの研究では、有意ではなかったものの、肥満の男性における肝脂肪の減少が報告されている[13]。さらに、最近の NMN 研究では、グルコースクランプ法を用いて評価したインスリン感受性、および骨格筋のインスリンシグナルが NMN 補給後に増加したことが報告されている[20]。本研究では、NMN が肝脂肪の蓄積およびインスリン感受性に影響を与えなかったが、これは本研究対象者の代謝状態が正常であったことに加え、既報[20]がグルコースクランプ法による測定であるのに対し本研究は 75gOGTT から算出された HOMA-IR によるインスリン抵抗性の評価であり、測定法の違いも結果の違いに影響を及ぼしたのと考えられる。

本研究では、NMN による介入の前後で、オーディオメーターを用いた聴覚能力の予備的評価も行った。マウスでは、ミトコンドリアに局在する NAD⁺ 依存性のタンパク質脱アセチル化酵素である SIRT3 が、加齢に伴う聴覚能力の調節に関与することが報告されている[44]。げっ歯類における NR の補給は、SIRT3 の活性化を介して騒音性難聴や加齢性難聴を改善することも報告されている[43][44][45]。我々の研究では、NMN の補給は高齢者の聴覚能力を部分的に改善する傾向があった。しかし、NAD⁺ 前駆体がヒトの聴覚を改善する基本的なメカニズムについてはほとんど知られていない。前臨床研究[43]-[46]に基づくと、NMN は、SIRT3 の活性化およびミトコンドリアにおける還元型グルタチオンと酸化型グルタチオンの比率の増加が関与するメカニズムにより、ヒトにおいても同様に聴覚に影響を与える可能性がある。しかし、このような研究はヒトでは技術的に困難であり、この仮説を検証するには今後新たな研究手法を検討する必要がある。また、SIRT3 活性化の効果を NAD⁺ 関連代謝物の上昇に惹起されうる多方面への影響から切り離して検討することも重要であろう。

本研究は、栄養補助食品および潜在的な治療物質としての NMN に関する新たな洞察を提供する一方で、いくつかの限界がある。まず、登録された 42

名の被験者は、年齢、BMI、SMIで調整された2つの治療群に無作為に割り振られた。サンプルサイズは、健常人におけるSMIの標準偏差は先行論文[47]より 0.60 kg/m^2 と考え、サプリメント摂取によるSMI予想変化量を 0.45 kg/m^2 と仮定した。サプリメント摂取群と非摂取群においてSMIの変化は認められないという帰無仮説を設定し、検出力75%で95%信頼区間において、上記の帰無仮説を棄却できるサンプルサイズとして、20サンプルずつ(合計40サンプル)を計算した。予測される脱落率は5%と想定し、被験者数を42人(各群21人)として設定した。しかしながら、サンプルサイズの計算過程において、『両側』で計算すべき部分を『片側』で計算してしまったこと、また途中22名の被験者の脱落があり、本来の想定で必要なサンプル数を大きく下回ってしまったという事象が発生した。このため事後的に20人での主要評価項目における検出力を再評価した。本臨床試験におけるSMIの変化の差分は標準偏差(SD) 0.22と我々が当初想定していた値と比較し低値であり、こちらの値をもとに計算すると、検出力99.08%と十分な値であった。また22名の被験者が脱落し、2群間の調整が崩れたため、本研究の結果が一部損なわれる可能性があるが、こちらも元々調整をしていた年齢、SMI、BMIの項目において有意な差はなかった。次に、本研究では健康な高齢男性のみを対象とした。高齢者を対象としたのは、

げっ歯類やヒトでは加齢とともに NAD⁺レベルが低下すること[48]、高齢者では NAD⁺の補給がより効果的であることが理由である。さらに、高齢女性のデータが閉経に伴うエストロゲンまたはプロゲステロンレベルの急激な減少の影響を受けている可能性を考慮して、男性を被験者として選んだ。同じ NAD⁺前駆体である NR に対する反応が年齢や性別によって明らかに異なることは、ヒトの臨床研究では報告されていないことから、NMN の投与は中年成人や高齢女性といった異なる集団で有効である可能性があると推測している[9]-[19]。しかし、経口 NMN 摂取の治療効果を判断する上で重要となる、性別、年齢、または開始前の生理機能が異なる集団において、NMN 経口摂取が有効であるかどうかは、まだ明らかになっていない。この点に関しては、特定の集団を対象にさらなる臨床研究を行う必要がある。

結論

健康な高齢男性に NMN 250 mg/日を 12 週間補給したところ、安全で忍容性が高く、全血中の NAD⁺および NAD⁺関連代謝物が有意に増加した。さらに、NMN は筋力とパフォーマンスを改善した。したがって、NMN の慢性的な経口投与は、サルコペニアのような加齢に伴う筋肉障害の予防に有効な戦略であると可能性がある。

謝辞

本研究は糖尿病代謝内科の山内敏正先生、五十嵐正樹先生、三浦雅臣先生にご指導いただきました。また病態栄養部の窪田直人先生には、主要評価項目である体成分測定で使用した InBody の貸し出し及びデータの抽出でご協力いただきました。臨床研究支援センターの柏原康佑先生には統計解析についてご指導いただき、富山大学医学部 分子医科薬理学講座の中川崇先生、夜久圭介先生には NAD⁺関連代謝物の測定でご協力いただきました。

最後に本研究に参加してくださったボランティアの皆様、本研究を支援してくださった東京大学医学部附属病院の臨床研究支援センターP1 ユニットのスタッフの皆様、NMN サプリメントの提供を頂いた三菱商事ライフサイエンス社に深く御礼申し上げます。

利益相反

この研究は、三菱商事ライフサイエンス株式会社から資金提供を受け、同社は NMN を提供した。三菱商事ライフサイエンス株式会社は、試験薬に関する情報の提供は行ったが、研究の実施、解析、報告に関与しなかった。

引用文献

1. Niccoli T., Partridge L., Ageing as a risk factor for disease. *Curr Biol* **22**, R741–R752 (2012).
2. Imai, S. I., Guarente, L., NAD⁺ and sirtuins in aging and disease. *Trends Cell Biol* **24**, 464–471 (2014).
3. Yoshino J., Baur J. A., Imai S. I., NAD⁺ intermediates: the biology and therapeutic potential of NMN and NR. *Cell Metab* **27**, 513–528 (2018).
4. Fang E. F., Lautrup S., Hou Y., Demarest T.G., Croteau D. L., Mattson M. P., Bohr V. A., NAD⁺ in aging: molecular mechanisms and translational implications. *Trends Mol Med* **223**, 899–916 (2017).
5. Mitchell S. J., Bernier M., Aon M. A., Cortassa S., Kim E. Y., Fang E. F., Palacios H. H., Ali A., Navas-Enamorado I., Francesco A. D., Kaiser T. A., Waltz T. B., Zhang N., Ellis J. L., Elliott P. J., Frederick D. W., Bohr V. A., Schmidt M. S., Brenner C., Sinclair D. A., Sauve A. A., Baur J. A., Cabo R., Nicotinamide improves aspects of healthspan, but not lifespan, in mice. *Cell Metab.* **27**, 667-676.e4 (2018).
6. Zhang H., Ryu D., Wu Y., Gariani K., Wang X., Luan P., D'Amico D., Ropelle E. R., Lutolf M. P., Aebersold R., Schoonjans K., Menzies K. J., Auwerx J., NAD⁺ repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice. *Science* **352**,1436-1443 (2016).
7. Trammell S. A., Yu L., Redpath P., Migaud M. E., Brenner C. J., Nicotinamide riboside is a major NAD⁺ precursor vitamin in cow milk. *J Nutr* **146**, 957–963 (2016).
8. Mills K. F., Yoshida S., Stein L. R., Grozio A., Kubota S., Sasaki Y., Redpath

- P., Migaud M. E., Apte R. S., Uchida K., Yoshino J., Imai S. I., Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice. *Cell Metab* **24**, 795–806 (2016).
9. Trammell S. A., Schmidt M. S., Weidemann B. J., Redpath P., Jaksch F., Dellinger R. W., Li Z., Abel E. D., Migaud M. E., Brenner C., Nicotinamide riboside is uniquely and orally bioavailable in mice and humans. *Nat Commun* **7**, 12948 (2016).
 10. Airhart S. E., Shireman L. M., Risler L. J., Anderson G. D., Gowda G. A. N., Raftery D., Tian R., Shen D. D., O'Brien K. D., An open-label, non-randomized study of the pharmacokinetics of the nutritional supplement nicotinamide riboside (NR) and its effects on blood NAD⁺ levels in healthy volunteers. *PLoS One* **12**, e0186459 (2017).
 11. Dellinger R. W., Santos S. R., Morris M., Evans M., Alminana D., Leonard Guarente L., Marcotulli E., Repeat dose NRPT (nicotinamide riboside and pterostilbene) increases NAD(+) levels in humans safely and sustainably: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *NPJ Aging Mech Dis* **3**, 17 (2017).
 12. Martens C. R., Denman B. A., Mazzo M. R., Armstrong M. L., Reisdorph N., McQueen M. B., Chonchol M., Seals D. R., Chronic nicotinamide riboside supplementation is well-tolerated and elevates NAD(+) in healthy middle-aged and older adults. *Nat Commun* **9**, 1286 (2018).
 13. Dollerup O. L., Christensen B., Svart M., Schmidt M. S., Sulek K., Ringgaard S., Stødkilde-Jørgensen H., Møller N., Brenner C., Treebak J. T., Jessen N., A randomized placebo-controlled clinical trial of nicotinamide riboside in obese

- men: safety, insulin-sensitivity, and lipid-mobilizing effects. *Am J Clin Nutr* **108**, 343–353 (2018).
14. Dolopikou C. F., Kourtzidis I. A., Margaritelis N. V., Vrabas I. S., Koidou I., Kyparos A., Theodorou A. A., Paschalis V., Nikolaidis M. G., Acute nicotinamide riboside supplementation improves redox homeostasis and exercise performance in old individuals: a double-blind cross-over study. *Eur J Nutr* **59**, 505–515 (2020).
 15. Conze D., Brenner C., Kruger C. L., Safety and metabolism of long-term administration of NIAGEN (nicotinamide riboside chloride) in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial of healthy overweight adults. *Sci Rep* **9**, 9772 (2019).
 16. Elhassan Y. S., Kluckova K., Fletcher R. S., Schmidt M. S., Garten A., Doig C. L., Cartwright D. M., Oakey L., Burley C. V., Jenkinson N., Wilson M., Lucas S. J. E., Akerman I., Seabright A., Lai Y. C., Tennant D. A., Nightingale P., Wallis G. A., Lavery G. G., Nicotinamide riboside augments the aged human skeletal muscle NAD⁺ metabolome and induces transcriptomic and anti-inflammatory signatures. *Cell Rep* **28**, 1717–1728 (2019).
 17. Remie C. M. E., Roumans K. H. M., Moonen M. P. B., Connell N. J., Havekes B., Mevenkamp J., Lindeboom L., Wit V. H. W., Weijer T., Aarts S. A. B. M., Lutgens E, Schomakers B. V., Elfrink H. L., Zapata-Pérez R., Houtkooper R. H., Auwerx J., Hoeks J., Schrauwen-Hinderling V. B., Phielix E., Schrauwen P., Nicotinamide riboside supplementation alters body composition and skeletal muscle acetylcarnitine concentrations in healthy obese humans. *Am J Clin Nutr* **112**, 413–426 (2020).

18. Simic P., Parada X. F. V., Parikh S. M., Dellinger R., Guarente L. P., Rhee E. P., Nicotinamide riboside with pterostilbene (NRPT) increases NAD⁺ in patients with acute kidney injury (AKI): a randomized, double-blind, placebo-controlled, stepwise safety study of escalating doses of NRPT in patients with AKI. *BMC Nephrol* **21**, 342 (2020).
19. Dollerup O. L., Chubanava S., Agerholm M., Søndergård S. D., Altıntaş A., Møller A. B., Høyer K. F., Ringgaard S., Stødkilde-Jørgensen H., Lavery G. G., Barrès R., Larsen S., Prats C., Jessen N., Treebak J. T., Nicotinamide riboside does not alter mitochondrial respiration, content or morphology in skeletal muscle from obese and insulin-resistant men. *J Physiol* **598**, 731–754 (2020).
20. Irie J., Inagaki E., Fujita M., Nakaya H., Mitsuishi M., Yamaguchi S., Yamashita K., Shigaki S., Ono T., Yukioka H., Okano H., Nabeshima Y. I., Imai S. I., Yasui M., Tsubota K., Itoh H., Effect of oral administration of nicotinamide mononucleotide on clinical parameters and nicotinamide metabolite levels in healthy Japanese men. *Endocr J* **67**, 153–160 (2020).
21. Yoshino M., Yoshino J., Kayser B. D., Franczyk M. P., Sindelar K. F. M., Pietka T., Patterson B. W., Imai S. I., Klein S., Nicotinamide mononucleotide increases muscle insulin sensitivity in prediabetic women. *Science*. **372**, 1224–1229 (2021).
22. Liao B., Zhao Y., Wang D., Zhang X., Hao X., Hu M., Nicotinamide mononucleotide supplementation enhances aerobic capacity in amateur runners: a randomized, double-blind study. *J Int Soc Sports Nutr.* **18**, 54. (2021)
23. Gomes A. P., Price N. L., Ling A. J. Y., Moslehi J. J., Montgomery M. K., Rajman L., White J. P., Teodoro J. S., Wrann C. D., Hubbard B. P., Mercken E.

- M., Palmeira C. M., Cabo R., Rolo A. P., Turner N., Bell E. L., Sinclair D. A., Declining NAD(+) induces a pseudohypoxic state disrupting nuclear-mitochondrial communication during aging. *Cell* **155**, 1624–1638 (2013).
24. Freireich E. J., Gehan E. A., Rall D. P., Schmidt L. H., Skipper H. E., Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man. *Cancer Chemother Rep* **50**, 219–244 (1966).
25. Poljsaka B and Milisav I. Vitamin B3 forms as precursors to NAD+: Are they safe? *Trends Food Sci Technol*. 2018 Sep;79:198-203
26. Cantó C, Houtkooper RH, Pirinen E, Youn DY, Oosterveer MH, Cen Y, Fernandez-Marcos PJ, Yamamoto H, Andreux PA, Cettour-Rose P, Gademann K, Rinsch C, Schoonjans K, Sauve AA, Auwerx J. The NAD(+) precursor nicotinamide riboside enhances oxidative metabolism and protects against high-fat diet-induced obesity. *Cell Metab*. 2012 Jun 6;15(6):838-47.
27. Yaku K., Okabe K., Nakagawa T., Simultaneous measurement of NAD metabolome in aged mice tissue using liquid chromatography tandem-mass spectrometry. *Biomed Chromatogr* **32**, e4205 (2018).
28. Yasaka K., Katsura M., Akahane M., Sato J., Matsuda I., Ohtomo K., Dose-reduced CT with model-based iterative reconstruction in evaluations of hepatic steatosis: how low can we go? *Eur J Radiol* **83**, 1063–1068 (2014).
29. Graham J. E., Ostir G. V., Fisher S. R., Ottenbacher K. J., Assessing walking speed in clinical research: a systematic review. *J Eval Clin Pract* **14**, 552–562 (2008).
30. Watanabe T., Owashi K., Kanauchi Y., Mura N., Takahara M., Ogino T., The short-term reliability of grip strength measurement and the effects of

- posture and grip span. *J Hand Surg Am* **30**, 603–609 (2005).
31. Jones C. J., Rikli R. E., Beam W. C., A 30-s chair-stand test as a measure of lower body strength in community-residing older adults. *Res Q Exerc Sport* **70**, 113–119 (1999).
 32. Nakatani T., Nadamoto M., Itoh M., Validation of a 30-sec chair-stand test for evaluating lower extremity muscle strength in Japanese elderly adults. Japanese Society of Physical Education **47**, 451–461 (2002).
 33. Folstein M. F., Folstein S. E., McHugh P. R., "Mini-mental state".
A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* **12**, 189–198 (1975).
 34. Nasreddine Z. S., Phillips N. A., Bédirian V., Charbonneau S., Whitehead V., Collin I., Cummings J. L., Chertkow H., The Montreal Cognitive Assessment (MoCA): a brief screening tool for mild cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc* **53**, 695–699 (2005).
 35. Kanda Y., Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics. *Bone Marrow Transplant* **48**, 452–458 (2013).
 36. Garavaglia S., Bruzzone S., Cassani C., Canella L., Allegrone G., Sturla L., Mannino E., Millo E., Flora A. D., Rizzi M., The high-resolution crystal structure of periplasmic *Haemophilus influenzae* NAD nucleotidase reveals a novel enzymatic function of human CD73 related to NAD metabolism. *Biochem J* **441**, 131–141 (2012).
 37. Mallinckrodt C. H., Clark W. S., David S. R., Accounting for dropout bias using mixed-effects models. *J Biopharm Stat* **11**, 9–21 (2001).
 38. Guyton J. R., Bays H. E., Safety considerations with niacin therapy. *Am J*

- Cardiol* **99**, S22–S31 (2007).
39. Knip M., Douek I. F., Moore W. P. T., Gillmor H. A., McLean A. E. M., Bingley P. J., Gale E. A. M. for the ENDIT Group, Safety of high-dose nicotinamide: a review. *Diabetologia* **43**, 1337–1345 (2000).
40. Shats I., Williams J. G., Liu J., Makarov M. V., Wu X., Lih F. B., Deterding L. J., Lim C., Xu X., Randall T. A., Lee E., Li W., Fan W., Li J. L., Sokolsky M., Kabanov A. V., Li L., Migaud M. E., Li X., Bacteria boost mammalian host NAD metabolism by engaging the deamidated biosynthesis pathway. *Cell Metab* **31**, 564–579 (2020).
41. Goodpaster B. H., Park S. W., Harris T. B., Kritchevsky S. B., Nevitt M., Schwartz A. V., Simonsick E. M., Tylavsky F. A., Visser M., Newman A. B. for the Health ABC Study, The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* **61**, 1059–1064 (2006).
42. Abbema R. V., Greef M. D., Crajé C., Krijnen W., Hobbelen H., Schans C. V. D., What type, or combination of exercise can improve preferred gait speed in older adults? A meta-analysis. *BMC Geriatr* **15**, 72 (2015).
43. Someya S., Yu W., Hallows W. C., Xu J., Vann J. M., Leeuwenburgh C., Tanokura M., Denu J. M., Prolla T. A., Sirt3 mediates reduction of oxidative damage and prevention of age-related hearing loss under caloric restriction. *Cell* **143**, 802–812 (2010).
44. Brown K. D., Maqsood S., Huang J. Y., Pan Y., Harkcom W., Li W., Sauve A., Verdin E., Jaffrey S. R., Activation of SIRT3 by the NAD⁺ precursor nicotinamide riboside protects from noise-induced hearing loss. *Cell Metab* **20**,

- 1059–1068 (2014).
45. Han S., Du Z., Liu K., Gong S., Nicotinamide riboside protects noise-induced hearing loss by recovering the hair cell ribbon synapses. *Neurosci Lett* **725**, 134910 (2020).
 46. Okur M. N., Mao B., Kimura R., Haraczy S., Fitzgerald T., Edwards-Hollingsworth K., Tian J., Osmani W., Croteau D. L., Kelley M. W., Bohr V. A., Short-term NAD(+) supplementation prevents hearing loss in mouse models of Cockayne syndrome. *NPJ Aging Mech Dis* **6**, 1 (2020).
 47. 貞清香織、佐々木拓良、杉田裕汰、前田聖也、遊佐彩野、渡邊真奈、貞清秀成、石坂正大、久保晃. 家庭用身体組成計の臨床利用の検討. 理学療法科学. 2018. 33 (1): 151–154.
 48. Clement J., Wong M., Poljak A., Sachdev P., Braidy N., The plasma NAD(+) metabolome is dysregulated in "normal" aging. *Rejuvenation Res* **22**, 121–130 (2019).