

## 論文の内容の要旨

論文題目 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

氏名 中川 佳子  
(長濱)

### 【序論】

加齢は、糖尿病、心血管疾患、がん、アルツハイマー病などの神経疾患のリスク因子であり、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。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、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<sup>+</sup>) 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。老化や加齢に伴う疾患は、NAD<sup>+</sup>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。動物実験では、NAD<sup>+</sup>の中間代謝産物である NMN やニコチンアミドリボシド (NR) を投与すると、NAD<sup>+</sup>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。このように、中間体の NAD<sup>+</sup> 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。

NR の臨床試験の結果はすでに多数報告されており、ほとんどの NR 臨床試験で NR 投与の安全性と、血中または組織中の NAD<sup>+</sup>または NAD<sup>+</sup>関連代謝物の上昇が報告されている。NMN についても最近複数の報告がされ始めている。代表的な報告では、閉経後の糖尿病前段階の女性への NMN 経口補給で、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。

しかしながら依然 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。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。

## 【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。登録された 42 名の被験者は、2 つの治療群（プラセボ群および NMN 250 mg/日群）に無作為に割り付けられた。各群の被験者には、0 週目と 6 週目にサプリメントが配布された。しかし試験終了後、6 週目の訪問時に、NMN 群とプラセボ群の各 11 名の被験者が食品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合計 22 名 12 週目の取得データは除外された。開始時の NMN 群 とプラセボ群の主要なパラメータは両群間で同等であった。

### 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 週間後の訪問時に採取した血液サンプルから得られた。血液学、血液生化学については、NMN 群とプラセボ群の間に有意な差は認められず、NMN 群ですべて変化は正常範囲内にとどまった。

### 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、液体クロマトグラフィー質量分析計を用いて NAD+と NAD+関連代謝物を分析した。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 の増加も観察された。また、NMN はニコチン酸モノヌクレオチド (NAMN) およびニコチン酸リボシド (NAR) の濃度を有意に上昇させた。これらを総合して、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。

### 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) を用いて主要評価項目として SMI 及び、部位別筋肉量を測定し、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 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。一方、運動機能を調べるために、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。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。これらの結果から、慢性的な NMN 経口補給は、骨格筋量には影響を与えないものの、健康な高齢男性の運動機能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 ( $p=0.031$ )。

#### 5. 肝臓および内臓の脂肪量は NMN 補給では影響を受けない

NMN の経口補給は、BIA を用いた脂肪量の測定と同様に、CT スキャンにおける内臓脂肪面積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。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。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。同様にその他糖代謝、脂質代謝に関与する項目も NMN 投与後に有意な差や傾向は見られなかった。

#### 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 ( $p=0.0537$ 、混合効果モデル)、改善する傾向があった。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。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。

## 【考察】

本研究では、250 mg/日の NMN 経口補給が安全であり、健康な高齢男性の NAD<sup>+</sup>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可能性を示唆している。本研究は NMN 投与により全血中の NAD<sup>+</sup>および NAD<sup>+</sup>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。

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 の低下につながる。NMN の *in vivo* で検証では、げっ歯類において筋力低下が改善が報告されている。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。さらにヒトでの臨床試験では、27 歳から 50 歳の健康な男女でトレーニング中に 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。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、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。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。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。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しているが、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、さらなる研究が必要である。

また NMN の介入の前後で、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 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。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。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<sup>+</sup>前駆体がヒトの聴覚を改善する基本的なメカニズムはほとんど知られていない。動物実験に基づく 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が、この仮説を検証するには今後の新たな研究手法を検討する必要がある。

## 【結論】

健康な高齢男性に 250 mg/日の NMN 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<sup>+</sup>および NAD<sup>+</sup>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。これら結果より 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考えられる。