

ニコチンアミドモノヌクレオチドを用いた抗酸化作用に関する研究

○東北学院大学 学生会員 高橋 将平
東北学院大学 学生会員 新井 健弘
東北学院大学 非会員 栗野 光良
東北学院大学 非会員 村上 颯飛
東北学院大学 正会員 韓 連熙

【序論】

近年、ニコチンアミドモノヌクレオチド(nicotinamide mononucleotide; NMN)は老化防止作用があることで注目されている¹⁾。NMN は体内の酸化還元反応において中心的な役割を果たす補酵素のニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(nicotinamide adenine dinucleotide; NAD)の前駆体である。このような役割をしているNAD の量を体内で上昇させることにより、老化防止などと密接に関係があるミトコンドリアの活性化に繋がると考えられる。また、最近の報告では、NAD の量を増加させるため、NMN を用いたマウス投与実験などが行われ、糖尿病の改善や寿命延長効果の可能性が示唆された²⁾。

飲酒や喫煙等の生活習慣やストレスなどによって、ミトコンドリア内から活性酸素が発生すると言われている。活性酸素とは、酸素が体内で変化してできた高い反応性を持つ物質のことである。主に、スーパーオキシドアニオン(O_2^-)ラジカル、ヒドロキシル(OH)ラジカル、過酸化水素(H_2O_2)、一重項酸素(1O_2)などが知られている。その中でも、OH ラジカルは有機物質との反応性が極めて高く、非選択的であることが知られている³⁾。活性酸素が過剰に発生するとタンパク質や核酸などの生体成分を酸化し損傷を与える。このようなことが、老化やがん、生活習慣病などの原因となっているといわれる。故に、活性酸素による酸化を抑える作用(抗酸化作用)を持つ、ポリフェノールなどの抗酸化物質の摂取が重要である⁴⁾。

そこで本研究では、NMN を用いて抗酸化作用について検討を行うため、ミトコンドリア内で最も多く発生される O_2^- ラジカルと最も酸化力が強い OH ラジカルのそれぞれの除去について実験を行った。

【実験方法】

β -NMN(Toronto Research Chemicals 社)を用いて調整した濃度 5000 mg/L の溶液を 2 倍(2500 mg/L), 4 倍(1250 mg/L), 8 倍(625 mg/L), 16 倍(312.5 mg/L), 32 倍(156.3 mg/L)希釈を行い、各濃度のスーパーオキシドアニオン(O_2^-)ラジカルとヒドロキシル(OH)ラジカルの除去能力の測定を行った。ラジカル生成量はラジカル標準物質である 4-hydroxy-tempo(富士フイルム和光純薬社)を用いてラジカル定量を行った。 O_2^- ラジカルはヒポキサンチン(Hx)とキサンチンオキシダーゼ(XOD)(共に Sigma-Aldrich)を用いる XOD システム, OH ラジカルでは硫酸鉄($FeSO_4$)と過酸化水素(H_2O_2)(共に富士フイルム和光純薬社)を用いるフェントン反応を生成させ、実験に用いた。その際、 O_2^- ラジカルおよび OH ラジカルはスピントラップ剤の CYPMPO(株式会社司代システム)を用いた。その後、NMN 溶液を添加し、ESR(JES-TE300; 日本電子株式会社)でラジカル除去能力を測定した。図 1 は XOD を 0.32 Unit, Hx を 800 μ M, CYPMPO を 40 mM, リン酸 buffer を各 10 μ L 添加し反応させた時の O_2^- ラジカルのスペクトルである。縦軸はマイクロ波吸収量を、横軸は磁場を表している。

キーワード： ニコチンアミドモノヌクレオチド 抗酸化作用 ヒドロキシルラジカル

連絡先：〒985-0873 宮城県多賀城市中央 1 丁目 13-1 東北学院大学工学部 環境建設工学科

TEL 022-368-7341

図2はFeSO₄とH₂O₂をそれぞれ50μM, CYPMPPOを40mM, 超純水を各10μL添加し反応させたOHラジカルのスペクトルである。

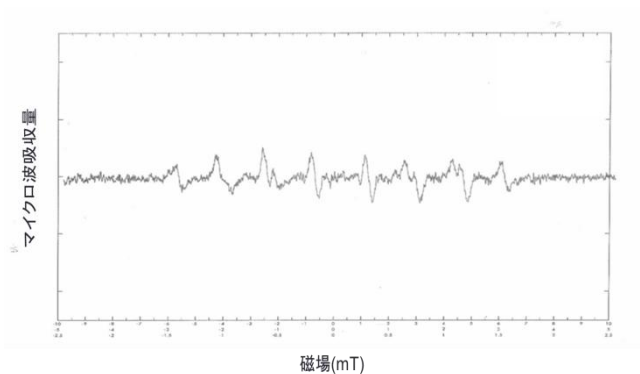


図1 XOD反応によるESRのO₂ラジカルのスペクトル

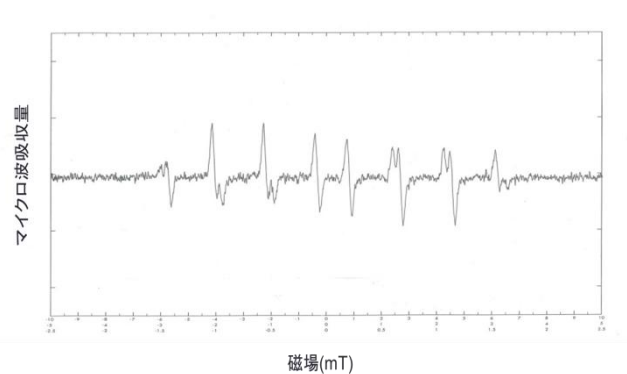


図2 フェントン反応によるESRのOHラジカルスペクトル

【実験結果】

図3はNMN溶液添加時のO₂ラジカル除去率を表す。5000mg/Lでは72.2%の除去率を示した。その後、2500mg/Lは53.9%、1250mg/Lは44.4%、625mg/Lは43.5%、312.5mg/Lは24.3%、156.3mg/Lは27.5%となり濃度が低くなるとともに除去率は低下した。

次に図4はNMN溶液添加時のOHラジカル除去率を表す。5000mg/Lでは60.3%を示した。その後、2500mg/Lは56.0%、1250mg/Lは49.3%、625mg/Lは48.4%、312.5mg/Lは34.7%、156.3mg/Lは33.2%の除去率となり、O₂ラジカルと同様に濃度が低くなるとともに除去率が低下した。

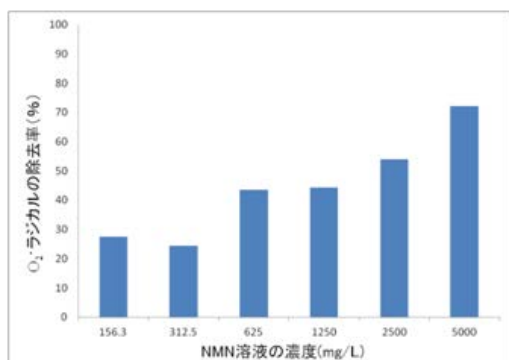


図3. NMNのO₂ラジカル除去率

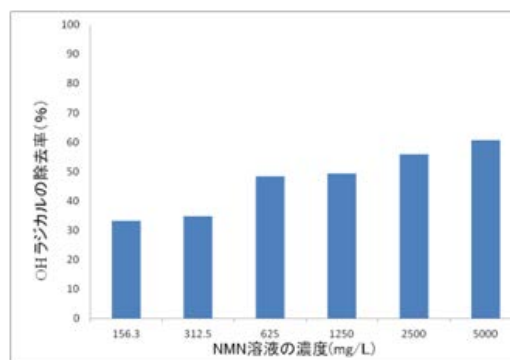


図4. NMNのOHラジカル除去率

【結論】

NMNによるO₂とOHラジカルのそれぞれの除去能力が確認できた。また、両ラジカルの除去能力はNMNの濃度に依存していることが分かった。このことにより、NMNは抗酸化作用があると判断される。今後の課題としては、低濃度のNMNにおいても高いラジカル除去能力を得るための共存物（添加物）についての検討が必要であると思われる。

【参考・引用文献】

- 1) 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.
- 2) 大塚健三: 老化・寿命研究最前線-GDF11とNMNは不老長寿の妙薬になりうるか.
- 3) 東邦大学 理学部 生物学科 生物学の知識 生体内のレドックス(酸化還元).
- 4) 中村成夫: 活性酸素と抗酸化物質の化学, 日医大医会誌, 第9巻, 第3号, PP 164-169, 2013年.