



国立研究開発法人
日本医療研究開発機構

配布先：神戸市政記者クラブ、神戸民間放送記者クラブ、神戸経済記者クラブ、大阪科学・大学記者
クラブ、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ
解禁時間（テレビ、ラジオ、WEB）：2019年6月14日（金）午前1時
（新聞）：2019年6月14日（金）朝刊

令和元年6月10日

公益財団法人神戸医療産業都市推進機構
国立研究開発法人日本医療研究開発機構

血液中を巡っている NAD 合成系酵素 eNAMPT が、 哺乳類の老化と寿命を制御していることを解明 —新しい抗老化方法論の開発に期待—

ポイント

- ・血液循環中にある NAD 合成系酵素 eNAMPT（※1）が、マウスとヒトで加齢に伴い減少すること、またマウスでは血液中の eNAMPT 量が個々の個体の余命と強い正の相関を示すことを明らかにしました。
- ・遺伝学的に血液循環中の eNAMPT 量を保持したマウス（ANKI マウス）を作製したところ、老齢になって様々な臓器・組織の NAD 量が高く保たれ、多彩な抗老化形質を示すことを明らかにしました。
- ・eNAMPT は細胞外小胞（※2）に内包された形で血液中を巡り、標的臓器・組織で細胞質に送り込まれて、NAD 合成を賦活化することを示しました。
- ・若齢個体から精製した eNAMPT 内包 EV は、老齢個体に投与することで、その身体的機能を活性化させ、寿命を延長させることができることを明らかにしました。

今井眞一郎博士（ワシントン大学医学部（米国ミズーリ州セントルイス）発生生物学部門・医学部門（兼任）教授、および神戸医療産業都市推進機構、先端医療研究センター客員上席研究員）の研究グループは、国立研究開発法人国立長寿医療研究センター、中枢性老化・睡眠制御研究プロジェクトチームのプロジェクトリーダーである佐藤亜希子博士との共同研究により、血液循環中に存在する NAD 合成系酵素 eNAMPT が、哺乳類における老化・寿命の制御に重要な役割を果たしていることを明らかにしました。両博士は、日本医療研究開発機構（AMED）の『老化メカニズムの解明・制御プロジェクト』に参画し、共同研究の部分は当プロジェクトの支援のもとに行われたもので、その研究成果は、国際科学誌 Cell Metabolism（セル・メタボリズム）に、2019年6月13日午前11時（米国東部時間）、6月14日午前1時（日本時間）にオンライン版で発表されます。

概要

1. 背景

生命活動にとって必須である NAD（ニコチナミド・アデニン・ジヌクレオチド）と呼ばれる物質が、全身のさまざまな臓器・組織において、加齢とともに低下してしまうことが、最近の老化・寿命研究によ

って明らかにされています。この NAD の低下が、臓器や組織の機能低下、ひいては老化関連疾患の病因を引き起こしていることもわかってきています (Yoshino *et al.*, *Cell Metab.*, 2018; Imai & Guarente, *npjAMD*, 2016)。NAD 低下の原因は、NAD 合成の低下と NAD 消費の増大のいずれか、あるいはその組み合わせによることが明らかになってきています。哺乳類において、NAD 合成の主要な経路は、NAMPT (nicotinamide phosphoribosyltransferase: ニコチナミド・ホスホリボシルトランスフェラーゼ) と呼ばれる酵素によって制御されるもので、ビタミン B3 の一種である nicotinamide (ニコチナミド) を出発物質とします。NAMPT はニコチナミドを、NMN (nicotinamide mononucleotide: ニコチナミド・モノヌクレオチド) という物質に変換し (Revollo *et al.*, *JBC*, 2004)、NMN はさらに別の酵素によって NAD に変換されます。すなわち、NAMPT は NAD 合成の中間体物質である NMN を作り出すことによって NAD の産生の制御を行う重要な酵素であり、NAD 合成を促進することによって、NAD 依存性タンパク脱アセチル化酵素であり哺乳類サーチュインの主要な一員である SIRT1 の活性を増大させることが知られています (Revollo *et al.*, *JBC*, 2004)。また、NMN には非常に顕著な抗老化作用があることが明らかになっています (Mills *et al.*, *Cell Metab.*, 2016)。興味深いことに、この NAMPT という酵素には、二つの独立した型があります。一つは細胞内型 (※3)、もう一つは細胞外型 (※3) で、それぞれ iNAMPT、eNAMPT と呼ばれています (Revollo *et al.*, *Cell Metab.*, 2007)。iNAMPT は白色・褐色脂肪組織の中でアセチル化 (※4) されていますが、特に 53 番目のリジン残基が NAD 依存性タンパク脱アセチル化酵素である SIRT1 によって脱アセチル化 (※4) されると、eNAMPT として脂肪組織から分泌されるようになることがわかっていました (Yoon *et al.*, *Cell Metab.*, 2015)。しかしながら、NAD 合成系酵素としての機能が明らかな iNAMPT に比べて、血液中を循環している eNAMPT については、哺乳類の老化・寿命制御にどのような役割を果たしているのか、現在まで不明のままです。

2. 研究手法・成果

私達は、まず血液中を循環している eNAMPT の加齢による変化を、マウスとヒトにおいて調べました。マウスでは、6ヶ月齢から18ヶ月齢で、オスで33%、メスで74%、血液中の eNAMPT 量が減少してしまうことが明らかになりました。この eNAMPT 量の減少はヒトにおいても認められ、eNAMPT の減少が哺乳類の老化過程に共通の現象である可能性が示唆されました。そこで、老齢マウスをランダムに選んで、ある一定の時点で血液中の eNAMPT 量を測定し、その時点から個々の個体の余命がどのくらいあるかを調べたところ、血液中の eNAMPT 量と余命の間に強い正の相関があることが明らかになりました。つまり、eNAMPT 量を測定することにより、老齢マウスのそれぞれの個体の余命がどのくらいあるのかを予測することができる、ということがわかりました。これらの結果から、血液循環中の eNAMPT が、老化・寿命の制御に重要な役割を果たしている可能性が強く示唆されました。

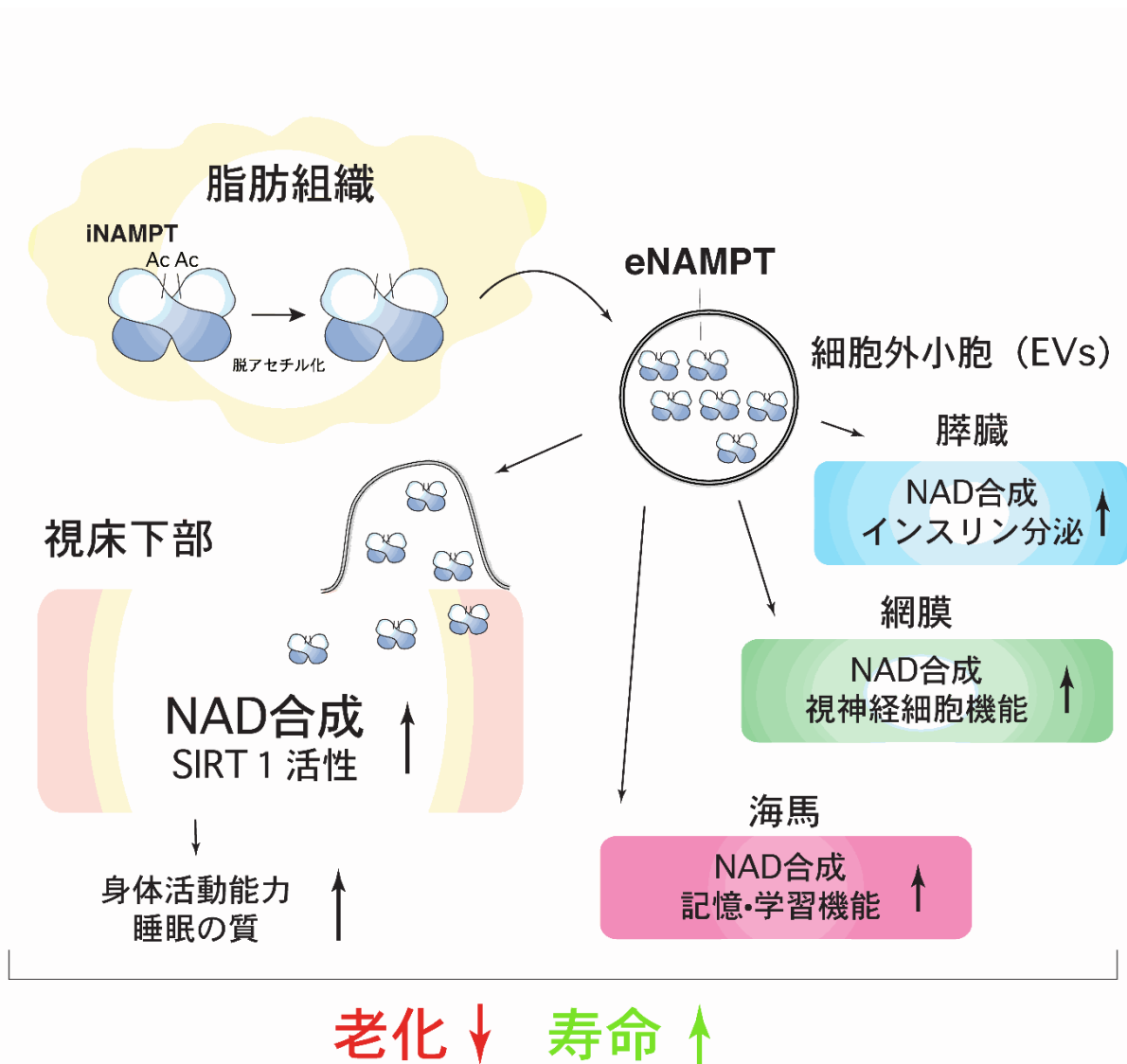
そこで、脂肪組織で NAMPT を特異的に発現させて、血液循環中の eNAMPT 量が老化しても保たれるようなマウス、ANKI (adipose tissue-specific *Nampt* knock-in) マウスを作製し、その老化形質を詳しく解析しました。ANKI マウスは24ヶ月齢の時点で、同じ月齢の対照群に比べて、血液中の eNAMPT 量が3.3~3.6倍高く保たれていました。老齢 ANKI マウスでは、メスでは視床下部、海馬、膵臓、網膜、といった組織において、オスでは膵臓、網膜において、対照群よりも高いレベルの NAD が保たれていることがわかりました。それと共に、老齢 ANKI マウスは対照群に比べて、1) 観覧車を回す身体活動能力が12ヶ月程若いレベルに保たれている、2) 睡眠の質が保たれている、3) 身体活動能力、睡眠の質の制御に重要な、視床下部内の SIRT1 標的遺伝子の発現が高い、4) 糖刺激によるイ

ンスリン分泌能が高く、膵臓のランゲルハンス氏島の数が多い、5) 桿体、錐体共に網膜の視神経細胞の機能が低い、6) 海馬依存性の記憶・学習能力が高い、といった多彩な抗老化作用を示すことが明らかになりました。これらの結果から、血液循環中の eNAMPT 量を保つことによって、さまざまな臓器・組織の NAD および機能を保つ、特に視床下部、海馬、膵臓、網膜の NAD と機能を保つことができるとわかりました。さらに特にメスの ANKI マウスは、健康寿命とも呼ばれる中間寿命 (※3) が対照群に比べて 13.4% 延びました。しかしながら、最大寿命は対照群と同じでした。オスの ANKI マウスは寿命の延長を全く示しませんでした。以上の結果より、性差があるものの、若い頃の eNAMPT 量を保つことが、老化を遅らせ、健康寿命を延伸させることに非常に重要であることが強く示唆されました。

それでは、eNAMPT はどのようにして、遠隔の臓器・組織に働きかけているのでしょうか？ 興味深いことに、eNAMPT はマウスでもヒトでも、裸のタンパク質として血液中を巡っているのではなく、細胞外小胞 (extracellular vesicles; EVs) に封入された形で循環していることが明らかになりました。EV 中に封入された eNAMPT は、EV が遠隔臓器・組織の標的細胞に到達して細胞膜に融合すると、細胞質の中に送り込まれて、直ちに NAD 合成を開始します。EV 中の eNAMPT の量は、加齢によって著減してしましますが、老齢 ANKI マウスでは対照群に比べて高く保たれていることが明らかになりました。EV 中に含まれているタンパク質について、6ヶ月齢と 24ヶ月齢、また老齢 ANKI マウスと対照群のマウスでプロテオミクス解析によって比較してみると、変化を示すタンパク質はわずか 2~3% であり、その何れもが NAD 合成には無関係のタンパク質であることがわかりました。さらに、培養脂肪細胞である OP9 細胞を用いて、培養上清中に分泌される eNAMPT を含む EV を調べてみると、顕著な NMN/NAD 合成能を示すことが明らかとなり、またこの能力は、NAMPT をノックダウンした細胞から得た EV では消失することがわかりました。すなわち、EV に内包されている eNAMPT そのものが、NMN/NAD 合成を担っていることが示されました。eNAMPT は細胞質の中に正しく送り込まれるためには、EV の中に内包されていることが必要で、NAMPT のタンパク質を裸のまま添加しても細胞質には送り込まれないこともわかりました。eNAMPT を内包する EV は、若齢個体から精製したものの方が老齢個体から精製したものよりも高い NAD 合成能を示し、また老齢 ANKI マウスから精製したものの方が対照群のマウスから精製したものよりも高い NAD 合成能を示します。以上の結果から、eNAMPT は EV に内包される形で分泌され、血液中を循環しており、標的細胞に送り込まれることによって NMN/NAD 合成を賦活化することが明らかとなりました。

これらの結果を基に、若齢個体から eNAMPT 内包 EV を精製し、老齢個体に投与したらどのようなことが起こるかについて検討しました。驚くべきことに、4~6ヶ月齢のマウスから精製した eNAMPT 内包 EV を、20ヶ月齢のマウスに投与すると、夜間 (活動期) に観覧車を回す身体活動能力が顕著に上昇するとともに、日中 (休息期) の活動はより低くなることがわかりました。これは、eNAMPT 内包 EV の投与によってより深く眠るようになったためではないか、と推測されました。さらにこの効果は、OP9 細胞の培養上清から精製した EV でも認められ、NAMPT をノックダウンした細胞の培養上清から精製した EV では消失しました。すなわち、EV 中に内包されている eNAMPT がこの効果に重要であることが示されました。次に、若齢個体から精製した eNAMPT 内包 EV を、26ヶ月齢の時点から老齢個体に継続的に投与すると、驚くべきことに、中間寿命 (※5) が 10.2%、さらに最大寿命が 15.8% も延長することが明らかになりました。eNAMPT 内包 EV を投与された老齢マウスは、対照群のマウスに比べ毛並みも良く、活動レベルも対照群と比べると顕著に高い状態に保たれていました。以上の結果から、EV に内包されている eNAMPT を投与することが、加齢による臓器・組織の機能低下を防ぎ、

寿命を延長させる効果的な抗老化方法論となることが示唆されました。



3. 波及効果

eNAMPT を内包している EV を分泌している主要な組織は、脂肪組織です。今回の研究結果は、脂肪組織が eNAMPT を内包する EV を分泌することにより、全身性に NAD 合成能を保ち、ひいては老化・寿命の制御に重要な役割を果たしていることを明らかにしました。私たちのこれまでの研究から、視床下部の特定の神経細胞群が、いわば高次の「老化のコントロール・センター」として、哺乳類における老化・寿命の制御に重要な機能を果たしていることがわかっていました (Sato *et al.*, *Cell Metab.*, 2013)。今回の研究結果から、脂肪組織がその「老化のコントロール・センター」に対して、さらには他の臓器に対しても、eNAMPT 内包 EV の分泌を通して「モジュレーター」としての役割を果たしていることが証明されました。これは哺乳類における老化・寿命制御のメカニズムを明らかにする上で非常に重要な結果であると同時に、責任著者である今井が 2016 年に提唱した、哺乳類における老化・寿命の全身性統括的制御系「NAD World 2.0」の概念をさらに証明、深化させる成果と言えます (Imai, *npjSBA*, 2016)。老齡 ANKI マウスでは、その一生の最後において脂肪組織の萎縮が見られ、おそらくそのために中間寿命 (健康寿命) の延伸は認められても最大寿命の延伸は認められなかったのだら

うと推察されます。しかし、eNAMPT 内包 EV を継続投与することで老齢の段階からでも健康状態を改善し、寿命を延長させることができることが示されたことから、eNAMPT 内包 EV を投与することによって健康長寿を実現させることができるという可能性が強く示唆されました。現時点では、血液中を循環している eNAMPT 内包 EV が、どのようにして特定臓器・組織で認識されるのか、というメカニズムについては不明のままです。このメカニズムを明らかにすることで、今後、人工的に作製した eNAMPT 内包 EV を、抗老化方法論の手段として使用することができるようになる、と期待されます。

4. 今後の予定

上記で述べたように、eNAMPT 内包 EV がどのようなメカニズムで、特定の臓器や組織で認識されるのか、というメカニズムを明らかにしていきます。また eNAMPT 内包 EV を人工的に作製する技術を確立していくことを目指します。

<論文タイトルと著者>

タイトル：

Extracellular vesicle-contained eNAMPT delays aging and extends lifespan in mice

(細胞外小胞に内包される eNAMPT が、マウスにおいて老化を遅延させ寿命を延長させる)

著者：

Mitsukuni Yoshida,^{1,6} Akiko Satoh,⁷ Jonathan B. Lin,^{2,6} Kathryn F. Mills,¹ Yo Sasaki,³ Nicholas Rensing,⁴ Michael Wong,⁴ Rajendra S. Apte,^{1,2,5} and Shin-ichiro Imai^{1,5,8,9}

¹ 発生生物学部門

² 眼科学／ビジュアルサイエンス部門

³ 遺伝学部門

⁴ 神経学部門

⁵ 医学部門

⁶ MD-PhD プログラム

ワシントン大学医学部 (ミズーリ州セントルイス)

⁷ 国立研究開発法人国立長寿医療研究センター 中枢性老化・睡眠制御研究プロジェクトチーム

⁸ 公益財団法人神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター 老化機構研究部

⁹ 責任著者

掲載誌：

Cell Metabolism DOI : 未定

<用語解説>

※1 eNAMPT

哺乳類において、NAD (ニコチナミド・アデニン・ジヌクレオチド) の主要合成経路を司る律速段階の酵素、nicotinamide phosphoribosyltransferase の細胞外型。

※2 細胞外小胞

細胞から分泌される脂質二重膜から形成される小胞を指す広義の用語。英語では extracellular

vesicles (EVs)と呼ばれる。EVの一種にエクソソーム (exosome) があるが、EV およびエクソソームの定義、研究法については MISEV2018 のガイドラインに従うことが求められている。様々なタンパク質、マイクロ RNA を内包し、近距離あるいは遠距離の細胞・組織のコミュニケーションに重要な役割を果たしていることが、近年明らかにされている。

※3 NAMPT の細胞内型・細胞外型

NAMPT には細胞内／組織内に局在するものと、血液中や脳脊髄液中など細胞外に局在するものがあり、それぞれ「細胞内型 (intracellular NAMPT; iNAMPT)」、「細胞外型 (extracellular NAMPT; eNAMPT)」と呼ばれている (Revollo *et al.*, *Cell Metab.*, 2007)。eNAMPT は、pre-B-cell enhancing factor (PBEF)、visfatin という名称で呼ばれることもあるが、これらの名称の基となった結果が再現されていない、あるいは撤回されたため、最近では eNAMPT という名称が定着しつつある。細胞内型と細胞外型は同一のタンパク質であるが、修飾状態が異なっており、特に eNAMPT は脱アセチル化を受けていることが明らかとなっている (Yoon *et al.*, *Cell Metab.*, 2015)。その他の修飾もあると考えられているが、その修飾の実体については未だ明らかになっていない。

※4 アセチル化・脱アセチル化

「アセチル化」はタンパク質の化学的修飾の一種であり、リジン残基あるいはアスパラギン酸残基のアミノ基 ($-NH_2$) の水素原子を、アセチル基 ($-COCH_3$) で置き換える反応である。逆に、アセチル基を除去する反応は、「脱アセチル化」と呼ばれる。アセチル化・脱アセチル化のそれぞれの反応を媒介する、アセチル基転移酵素 (アセチルトランスフェラーゼ)、脱アセチル化酵素 (デアセチラーゼ) が多数存在する。サーチュインが NAD 依存性のタンパク脱アセチル化酵素であり、その活性が老化・寿命の制御に重要であることが 2000 年に初めて明らかとなり、現在のサーチュインの生物学の基礎を築いた (Imai *et al.*, *Nature*, 2000)。

※5 中間寿命

ある個体群の半数が死亡するまでの期間。中間寿命の変化は個体の健康状態をよく反映するため、健康寿命 (healthspan) と同義のように使われることも多い。