

NAD⁺의 항노화제 활용 및 작용기작

아주대학교 의과대학 생리학교실 박찬배 교수

최연욱 석사과정

1. 개요

NAD⁺는 nicotinamide adenine dinucleotide의 약자로 세포내의 수많은 화학반응에 중요한 역할을 담당한다. 첫째로 NAD⁺는 세포 대사작용의 다양한 산화환원반응에 관여하며 전자의 공여/수용체로 작용한다. 이는 NAD⁺가 쉽게 전자를 얻어 NADH 형태로 변환하며 또한 NADH는 쉽게 전자를 잃어 NAD⁺로 변환하기 때문이다 (그림 1). 즉 NAD⁺는 주위의 분자들로부터 전자를 수용하거나 또는 전자를 공여하여 산화환원반응을 일으킨다. 세포 생존에 필수적인 에너지인 ATP의 생산은 NAD⁺의 산화환원반응에 전적으로 의존하며 NAD⁺양의 부족 시 ATP의 생산에 지대한 감소를 유발한다. 둘째로 NAD⁺는 DNA-ligase, PARP-1, Sirtuin 등과 같은 중요 효소들의 cofactor로 작용하여 세포의 생리활성 조절에 큰 역할을 수행한다. DNA-ligase, PARP-1 등의 효소들은 DNA repair에 관여하며, Sirtuin은 미토콘드리아 활성증진 등 신진대사 증진에 기여한다. ATP의 생산, DNA repair, 미토콘드리아 활성증진 등은 세포의 노화 조절에 매우 중요한 역할을 담당하고 있어 NAD⁺의 세포노화 관련성에 대한 연구가 최근 활발히 진행되고 있다.

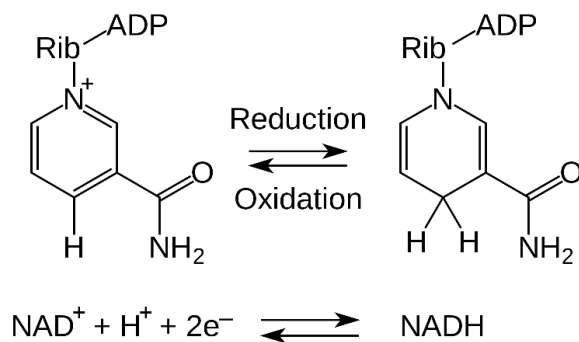


그림 1 NAD⁺의 구조와 산화/환원 형태

흥미롭게도 인체의 NAD^+ 양은 나이에 따라 감소하는 것이 보고되었다. 50세의 성인은 유년기에 비하여 약 50%의 NAD^+ 만을 보유하고 있으며, 80세에 이르면 1~10% NAD^+ 만 남아 있는 것으로 조사되었다 (그림 2) (1).

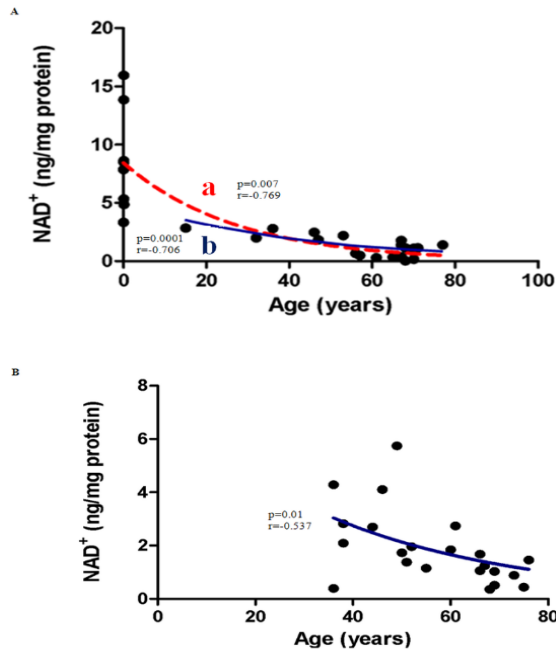


그림 2 나이에 따른 NAD^+ 양의 감소. (A) 남성, (B) 여성. (1)

2. NAD^+ 보충에 의한 수명연장 효과

최근 다양한 동물모델들을 이용한 연구의 결과들은 감소되는 NAD^+ 양을 보충함으로써 노화의 진행을 늦추며 수명을 연장할 수 있다는 사실을 보고하고 있다. NAD^+ 는 경구복용 시 소화기관에 의하여 nicotinamide와 5-AMP로 분해되어 직접적인 경구복용이 불가능하다. 이에 연구자들은 NAD^+ 양을 동물의 체내에서 증가시키기 위하여 NAD^+ 의 전구체인 nicotinamide riboside (NR)을 먹이에 첨가하여 공급하였다. NR은 소화과정에서 대부분 nicotinamide (NAM)로 전환되어 세포에 흡수되나, 소량 NR의 자체의 형태로 세포에 흡수된다. 세포에 흡수된 NAM은 nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) 효소에 의하여 nicotinamide adenine mononucleotide (NMN)으로 전환되고, 최종적으로 nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase (NMNAT) 효소에 의하여 NAD^+ 로 전환된다. 세포에 흡수된 NR은 nicotinamide ribose kinase (NRK) 효소에 의하여 NMN으로, NMNAT 효소에 의하여 NAD^+ 로 전환된다 (그림 3).

NR을 공급한 동물들은 선충류 *C. elegans*로부터 포유류 mouse에까지 모두 수명이 연장되었다. NR의 투여 시점에 대한 연구결과는 나이에 상관 없이 모든 연령대에서 NR의 투여가 수명을 연장하는 효과가 있음을 확인하였으며, 심지어 한계 수명에 가까운 24개월된 mouse에 NR을 공급하여도 수명이 연장되는 것을 확인 하였다 (2-7). 이와 같이 동물실험을 통하여 입증된 NAD^+ 의 항노화 및 수명연장 효과가 인간에도 적용되는 가를 규명하기 위한 연구들이 현재 활발히 진행되고 있는 현실이다. 또한 NAD^+ 의 항노화 작용기작 규명을 통하여 새로운 항노화/노화 지연 약제를 개발하려는 노력이 진행 중이다.

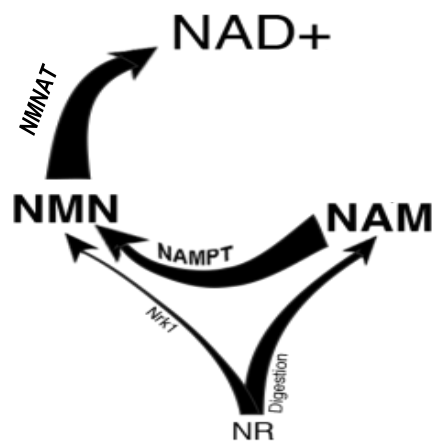


그림 3 인체 내에서 nicotinamide riboside (NR)로부터 NAD^+ 의 합성 pathway. NR, nicotinamide riboside; NAM, nicotinamide; NMN, nicotinamide adenine mononucleotide; NRK, nicotinamide ribose kinase; NAMPT, nicotinamide phosphoribosyltransferase; NMNAT, nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase. .

3. NAD^+ 항노화 작용기작

현재까지 밝혀진 NAD^+ 항노화 분자적 작용기작은 다음과 같다 (그림 4).

- 텔로미어 길이의 증가
- DNA repair 증진
- 게놈의 안정화
- 면역세포의 신호전달 조절
- Sirtuin 효소들의 활성화
- ATP 생산 증진

- 전자전달연쇄의 활성화
- 신경신호 전달 물질로 작용

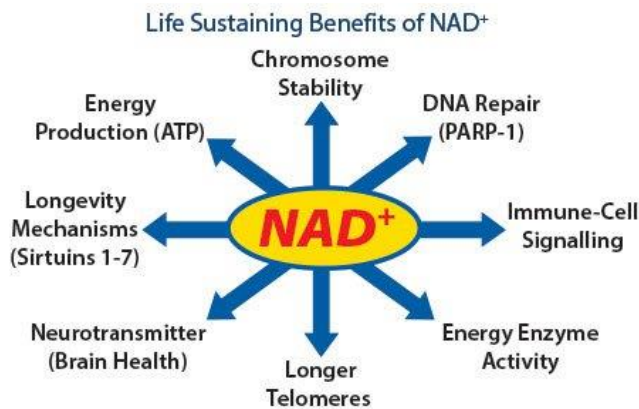


그림 4 NAD⁺ 항노화 작용기작

(1) NAD⁺는 텔로미어(telomere)의 길이를 증가 시킴

텔로미어(telomere)는 크로모솜(chromosome)의 말단에 존재하는 반복된 서열의 DNA 조각으로 텔로미어의 길이가 크로모솜 안정성의 척도이며 또한 세포노화의 척도이다. 텔로미어의 길이가 짧아지면 크로모솜이 불안정해지고 세포의 노화가 진행된다. NAD⁺는 텔로미어의 길이는 조절하는 효소인 텔로머레이즈 (telomerase)의 활성을 증진하여 텔로미어의 길이를 증가시킨다는 보고가 발표되었다 (8-10). NAD⁺는 텔로미어의 길이를 증가시켜 세포노화를 지연시킨다는 사실을 규명하였다.

(2) NAD⁺는 DNA Repair를 증가 시킴

크로모솜 DNA는 UV, 활성화 산소 등의 환경적인 요인으로 인하여 끊임 없이 손상을 받는다. 손상된 DNA는 세포의 기능저하, 세포의 사멸, 세포의 노화를 유발하는 주요한 원인으로 작용한다. 세포는 손상된 DNA를 복구하기 위한 DNA repair system을 보유하고 있으며, DNA repair system master regulator는 Poly [ADP-ribose] polymerase 1 (PARP-1) 효소가 담당하고 있다. PARP-1 효소는 NAD⁺를 cofactor로 사용하므로, NAD⁺ 양의 증가는 PARP-1의 활성 증진을 유발한다. 즉, NAD⁺ 양의 증가는 PARP-1은 활성증진, DNA repair system 활성화를 통하여 노화를 억제한다(11-14). 이외에도 DNA repair system에 중요한 역할을 담당하는 DNA-ligase의 cofactor로써 DNA-ligase의 효소활성을 증가시킨다.

(3) NAD⁺는 면역세포의 신호전달을 조절함

면역세포의 과도한 활성화는 염증반응, 세포의 사멸을 유발한다. 또한 면역세포 활성저하는 각종 병

원균 감염을 유발한다. 면역세포의 과도한 활성화 또는 활성저하는 노화의 과정에서 흔히 발견되는 현상으로, 이는 면역세포의 신호전달 체계의 교란으로 유발된다. 면역세포의 신호전달체계는 미토콘드리아에서의 에너지 생산조절에 의지하며, NAD^+ 는 미토콘드리아 활성화를 통하여 면역세포의 신호전달체계를 개선한다 (15-16).

(4) NAD^+ 는 Sirtuin 효소를 활성화함

Sirtuin은 단백질의 deacetylation을 일으키는 deacetylase 활성을 가지는 효소로, 수 많은 단백질들의 acetylation status를 변형하여 이들의 활성을 조절한다. Sirtuin의 substrate 단백질들은 세포분열 조절 (Rb, E2F1), 세포노화 조절 (H1, p53), 세포사멸 조절 (BCL6, Ku70), 면역 조절 (NF- κ B), 대사 조절 (PGC-1 α), 스트레스 조절 (FOXO-1,3,4)에 중요한 역할을 수행한다 (그림 5) (17-20).

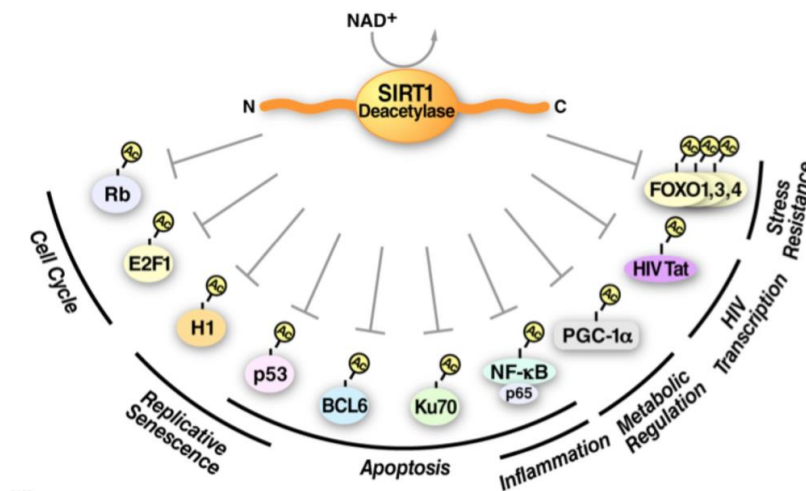


그림 5 NAD^+ 항노화 작용기작

Sirtuin은 substrate 단백질의 deacetylation을 위하여 NAD^+ 를 acetyl기의 수송체로 사용한다 (그림 6), NAD^+ 양의 증가는 Sirtuin의 활성 증진을 유발한다. 즉, NAD^+ 양의 증가는 Sirtuin의 활성증진을 통하여 노화를 억제한다 (21-23).

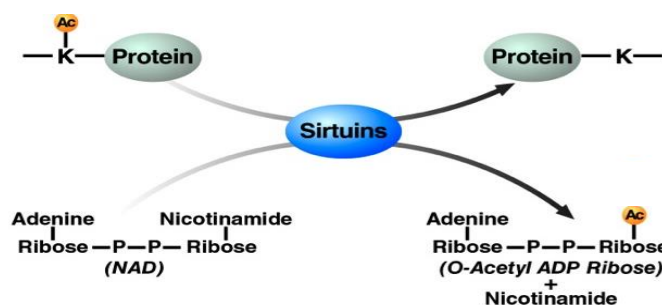


그림 6 Sirtuin의 단백질 deacetylation 활성화. Sirtuin은 단백질의 acetyl기를 받아 NAD^+ 를 o-acetyl ADP Ribose와 nicotinamide로 전환함.

(5) NAD^+ 는 미토콘드리아의 기능을 활성화 함

미토콘드리아는 세포의 필수적인 여러 기능들을 담당하고 있다. 미토콘드리아의 기능은 1. 세포 에너지 요구량의 85% 이상을 생산하는 에너지 공장, 2. 세포의 사멸 (apoptosis, necrosis)을 조절하는 세포운명의 결정자, 3. 세포 내에서 발생하는 활성화 산소의 대부분이 발생하는 오염 공장. 이에 미토콘드리아의 기능저하는 에너지 생산 감소로 인한 세포 활성저하, 세포사멸의 증가, 활성화 산소 증가로 인한 세포 손상 증가를 유발하며, 이는 노화를 유발하는 가장 중요한 원인이 된다.

Sirtuin은 전사인자인 PGC-1 α 을 deacetylation하여 효소활성을 증진시킨다. 활성화된 PGC-1 α 는 NRF1, TFAM을 통하여 미토콘드리아의 기능을 향상시킨다 (그림 7) (24-27). 미토콘드리아의 기능향상은 전자전달연쇄의 활성화, ATP 생산 증진을 유도하여 이로 인하여 세포의 노화를 억제할 수 있다.

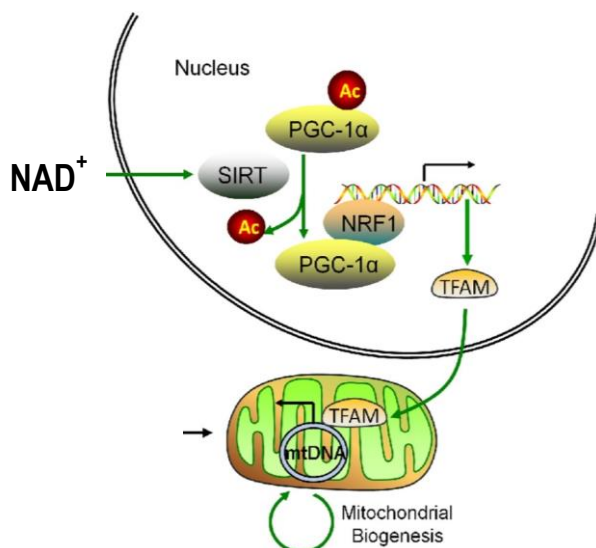


그림 5 NAD^+ 의 미토콘드리아 기능 활성화

3. 맺음말

NAD^+ 는 수많은 세포의 기능조절 메커니즘에 필수적인 cofactor로 작용한다. 다시 말하여 NAD^+ 양의 감소는 세포의 기능조절 실패를 초래하며, 이는 세포노화의 원인으로 작용한다. 흥미로운 사실은 노화가 진행됨에 인체에서 NAD^+ 양이 빠르게 감소한다는 것이다. 여러 연구를 통하여 세포의 NAD^+ 양을 증가시키면 세포의 노화를 늦출 수 있다는 사실이 밝혀졌다. 이러한 결과들은 향후 NAD^+ 를 향

노화제로 활용할 가능성을 제시하고 있다. NAD⁺를 항노화제로 활용하는데 있어서의 문제점은 다음과 같다. 1. NAD⁺의 세포전달 방법이 어려움. NAD⁺는 경구 투여시 소화기관에서 분해되어 세포로 바로 전달될 수 없다. 이 문제점의 해결책으로 NAD⁺의 전구체인 NR을 경구 투여하여 세포 내에서 NAD⁺의 합성을 촉진하는 방안이다. 그러나, 이 방법은 세포의 NAD⁺ 전환효소에 의지하며 개체간의 차이에 의하여 NAD⁺ 전환효율에 큰 차이가 존재한다. 2. NR, NAD⁺ 등의 복잡한 구조로 인하여 화학적 합성이 어렵다. NR, NAD⁺ 등의 항노화제 활용을 위하여 대사공학, 발효공학을 통한 생물학적 생산 방안의 개발이 매우 중요하다.

참고문헌

- [1] Massudi H, Grant R, Braidy N, Guest J, Farnsworth B, Guillemin GJ. Age-associated changes in oxidative stress and NAD⁺ metabolism in human tissue. PLoS One. 2012;7(7):e42357
- [2] Poljsak B, Milisav I. NAD⁺ as the Link Between Oxidative Stress, Inflammation, Caloric Restriction, Exercise, DNA Repair, Longevity, and Health Span. Rejuvenation Res. 2016.
- [3] Belenky P, Racette FG, Bogan KL, et al. Nicotinamide riboside promotes Sir2 silencing and extends lifespan via Nrk and Urh1/Pnp1/Meu1 pathways to NAD⁺. Cell. 2007;129(3):473-84.
- [4] Denu JM. Vitamins and aging: pathways to NAD⁺ synthesis. Cell. 2007;129(3):453-4.
- [5] Mouchiroud L, Houtkooper RH, Moullan N, et al. The NAD(+)/Sirtuin pathway modulates longevity through activation of mitochondrial UPR and FOXO signaling. Cell. 2013;154(2):430-41.
- [6] Tsang F, James C, Kato M, et al. Reduced Ssy1-Ptr3-Ssy5 (SPS) signaling extends replicative life span by enhancing NAD⁺ homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*. J Biol Chem. 2015;290(20):12753-64.
- [7] Zhang H, Ryu D, Wu Y, et al. NAD(+) repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice. Science. 2016;352(6292):1436-43.

- [8] Heidinger BJ, Blount JD, Boner W, et al. Telomere length in early life predicts lifespan. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(5):1743-8.
- [9] Carulli L, Anzivino C, Baldelli E, et al. Telomere length elongation after weight loss intervention in obese adults. *Mol Genet Metab*. 2016;118(2):138-42.
- [10] Honka MJ, Bucci M, Andersson J, et al. Resistance training enhances insulin suppression of endogenous glucose production in elderly women. *J Appl Physiol* (1985). 2016;120(6):633-9.
- [11] Ying W, Garnier P, Swanson RA. NAD⁺ repletion prevents PARP-1-induced glycolytic blockade and cell death in cultured mouse astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;308(4):809-13.
- [12] Dawicki-McKenna JM, Langelier MF, DeNizio JE, et al. PARP-1 Activation Requires Local Unfolding of an Autoinhibitory Domain. *Mol Cell*. 2015;60(5):755-68.
- [13] Liu M, Li Z, Chen GW, et al. AG-690/11026014, a novel PARP-1 inhibitor, protects cardiomyocytes from AngII-induced hypertrophy. *Mol Cell Endocrinol*. 2014;392(1-2):14-22.
- [14] Canto C, Houtkooper RH, Pirinen E, et al. The NAD(+) precursor nicotinamide riboside enhances oxidative metabolism and protects against high-fat diet-induced obesity. *Cell Metab*. 2012;15(6):838-47.
- [15] Van Gool F, Galli M, Gueydan C, et al. Intracellular NAD levels regulate tumor necrosis factor protein synthesis in a sirtuin-dependent manner. *Nat Med*. 2009;15(2):206-10.
- [16] Montecucco F, Cea M, Cagnetta A, et al. Nicotinamide phosphoribosyltransferase as a target in inflammation-related disorders. *Curr Top Med Chem*. 2013;13(23):2930-8.
- [17] Bonkowski MS, Sinclair DA. Slowing ageing by design: the rise of NAD⁺ and sirtuin-activating compounds. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016;17(11):679-90.
- [18] Watroba M, Dudek I, Skoda M, et al. Sirtuins, epigenetics and longevity. *Ageing Res Rev*. 2017;40:11-9.

- [19] Rowlands BD, Lau CL, Ryall JG, et al. Silent information regulator 1 modulator resveratrol increases brain lactate production and inhibits mitochondrial metabolism, whereas SRT1720 increases oxidative metabolism. *J Neurosci Res*. 2015;93(7):1147-56.
- [20] Hung CH, Chan SH, Chu PM, et al. Quercetin is a potent anti-atherosclerotic compound by activation of SIRT1 signaling under oxLDL stimulation. *Mol Nutr Food Res*. 2015;59(10):1905-17.
- [21] Xiao N, Mei F, Sun Y, et al. Quercetin, luteolin, and epigallocatechin gallate promote glucose disposal in adipocytes with regulation of AMP-activated kinase and/or sirtuin 1 activity. *Planta Med*. 2014;80(12):993-1000.
- [22] Canto C, Auwerx J. Targeting sirtuin 1 to improve metabolism: all you need is NAD(+)? *Pharmacol Rev*. 2012;64(1):166-87.
- [23] Landry J, Sutton A, Tafrov ST, et al. The silencing protein SIR2 and its homologs are NAD-dependent protein deacetylases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(11):5807-11.
- [24] Paradies G, Paradies V, Ruggiero FM, et al. Protective role of melatonin in mitochondrial dysfunction and related disorders. *Arch Toxicol*. 2015;89(6):923-39.
- [25] Udhayabanu T, Manole A, Rajeshwari M, et al. Riboflavin Responsive Mitochondrial Dysfunction in Neurodegenerative Diseases. *J Clin Med*. 2017;6(5).
- [26] Yue L, Yao H. Mitochondrial dysfunction in inflammatory responses and cellular senescence: pathogenesis and pharmacological targets for chronic lung diseases. *Br J Pharmacol*. 2016;173(15):2305-18.
- [27] Ziegler DV, Wiley CD, Velarde MC. Mitochondrial effectors of cellular senescence: beyond the free radical theory of aging. *Aging Cell*. 2015;14(1):1-7.