

NAD ワールドの新展開：最新のトピックスと展望

緒方 進・奥村 克純・田口 寛

三重大学大学院生物資源学研究科

Topics and Visions about New Roles of NAD World in Various Cellular Events

Shin OGATA, Katsuzumi OKUMURA, and Hiroshi TAGUCHI*

Graduate School of Bioresources, Mie University, 1577 Kurimamachiya, Tsu, Mie 514-8507

Abstract

Nicotinic acid and nicotinamide are known as water-soluble vitamins and are precursors of NAD. NAD is a coenzyme in various oxidation-reduction reactions and is important to obtain the energy in our body. Moreover, NAD is used as a substrate for biochemical reactions, which are ADP-ribosylation and NAD-dependent deacetylation of various proteins. In eukaryotic cells, poly (ADP-ribosyl) ation is related to DNA repair, cell death, transcription, DNA replication, cell cycle and so on. Recently, it is reported and regarded that life span is regulated by Sirtuin families, which are important factors of NAD-dependent deacetylation. Particularly, it is evidenced that the prolongation of life span is governed by regulation of SIRT1, which is one of Sirtuin families, via a NAD-dependent deacetylation of histones in mice. In this paper, we would like to introduce and discuss topics and visions of these biochemical reactions, that is to say, 'NAD World' in eukaryotic cells.

Key Words: nicotinamide, nicotinic acid, NAD, PARP, Sirtuin

はじめに

水溶性ビタミンB群に属するニコチン酸、およびその関連化合物であるニコチンアミドは、その欠乏症であるペラグラの予防因子として同定され、その生合成ならびに分解経路の解明を中心として様々な研究が展開されてきた。その生理機能としては、生体内で、ニコチン酸、ニコチンアミドを前駆体とし多段階を経てNADが合成され、酸化還元酵素の補酵素として、エネルギー獲得に重要な役割を果たす事は、一般的に良く知られている(図1)。

さらに、ここ数十年の研究により、NADを基質とする生化学反応が、様々な細胞内イベントに

関与することが明らかになってきている。すなわち、コレラやジフテリアの毒素タンパク質の作用機構として知られていたADP-リボシル化反応に加え、高等真核生物における特有のタンパク質翻訳後修飾反応の一つであるポリ(ADP-リボシル)化、セカンドメッセンジャーとして細胞内カルシウムイオン濃度の調節にかかわるとされる環状ADP-リボースの合成、そして、NAD依存的にヒストンを始めとする各種タンパク質の脱アセチル化反応にもNADが関与することは特筆すべき発見であろう。本稿においては、近年研究の進展が著しい、ポリ(ADP-リボシル)化とNAD依存的な脱アセチル化反応に関する最近の話題に焦点を絞り概説する。

2007年3月6日受理

〒514-8507 津市栗真町屋町 1577

* For correspondence (e-mail: hiroshi@bio.mie-u.ac.jp)

ポリ (ADP-リボシル) 化反応への関与

ポリ (ADP-リボシル) 化は、真核生物の核内においてのみ見られるタンパク質の翻訳後修飾反応である。その研究は、今から 30 年以上前、早石^{1)・2)}、杉村^{3)・4)}らのグループと Mandel⁵⁾らの各グループらによる、新規化合物 ポリ (ADP-リボース) の発見に端を発する。本反応は、リン酸化、メチル化、アセチル化、ユビキチン化、グリコシル化等と同様、タンパク質の翻訳後修飾反応の 1 つとして知られている。本反応は、NAD を基質とし、その ADP-リボース部位を、ヒストンなどのアクセプタータンパク質に転移させる反応で、ポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼ (EC 2.4.2.30: poly (ADP-ribose) polymerase, 以下, PARP

と略す) により触媒される一方、生成したポリ (ADP-リボース) 鎖は、ポリ (ADP-リボース) グリコヒドラーゼにより分解を受ける (図 2)。すなわち、この負電荷および分子量に富むポリ (ADP-リボース) 基による一連の可逆的な付加により、標的タンパク質の機能を修飾するものである。リン酸基やアセチル基などと比べると、高分子であるポリ (ADP-リボース) 基による修飾はタンパク質の機能を、より劇的に制御することが予想される。

ポリ (ADP-リボシル) 化が、リン酸化やアセチル化と同様、タンパク質の翻訳後修飾反応として、その機能調節を行い、DNA 修復のみならず、細胞レベルにおいて、あらゆる生命現象における関与が改めて確認されつつある。最近では、転写

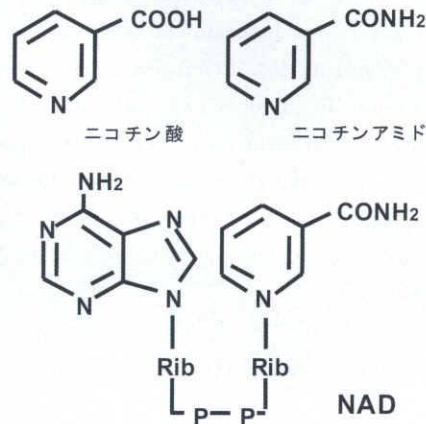


図 1. ニコチン酸、ニコチンアミドおよび NAD の構造式

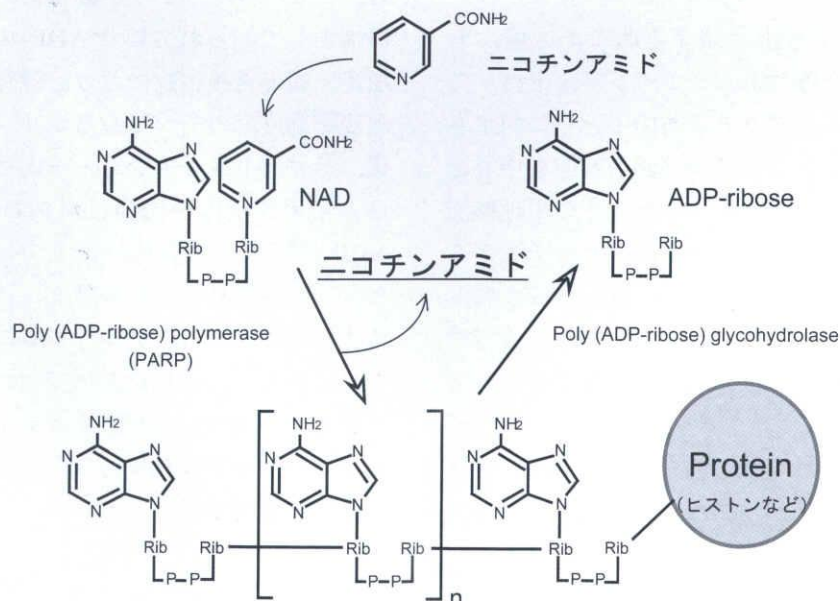


図 2. ポリ (ADP-リボシル) 化によるタンパク質の翻訳後修飾反応

調節やゲノムインプリンティングなどへの関与^{6,7)},そして核以外にも中心体における局在,そして細胞分裂機構を介して染色体の安定性維持にも関与していることが見出されつつある⁸⁾。また,ミトコンドリアにおいてもポリ(ADP-リボシル)化が認められるにいたり,酸化ストレスなどによる,ある種の細胞死において重要な役割を担うことを強く示唆している⁹⁾。

これまで複数のグループにより PARP のノックアウトマウスが作製され,若干効果が異なるとはいえ,主にアポトーシスは正常に誘導され,DNA 修復は正常であるとされる¹⁰⁾⁻¹²⁾。ただ,Jacobson らのグループによる検討では,PARP ノックアウトマウスにおいても,DNA 損傷に応じてポリ(ADP-リボース)合成が認められ¹³⁾,他の PARP タンパク質の存在が予想された。ホモログ検索を行ったところ,従来型に比べると,分子量がやや小さめのタンパク質が見出され,それを PARP-2,そして従来型を PARP-1 と命名した¹⁴⁾。またヒトゲノム配列や EST などの情報の急速なデータベース化は,更なる PARP ファミリータンパク質の発見を可能とした。de Murcia らのレビューによると,PARP-1 の catalytic domain によるデータベース検索の結果,PARP ドメインを有し,潜在的に PARP 活性を有する可能性があるホモログタンパク質は,現在のところ,18 種類にもおよぶという¹⁵⁾。

Tankyrase 1 (TRF 1-interacting ankyrin-related ADP-ribose polymerase) は,ヒトテロメアタンパク質 TRF-1 (Telomeric repeat binding factor-1) と相互作用するタンパク質として同定された。テロメア,核膜孔の他,中心体辺縁にも局在することが報告されている¹⁶⁻¹⁷⁾。また,Tankyrase 1 の過剰発現は,TRF-1 の ADP-リボシル化を促進し,その結果,TRF-1 のテロメアからの解離と,テロメアの伸長を引き起こす¹⁸⁾。すなわち,TRF-1 の ADP-リボシル化は,テロメア配列への結合能を失わせることで,テロメアの機能を調節していると考えられる。さらに,siRNA 法による Tankyrase 1 の機能阻害による *in vivo* 解析の結果,細胞分裂時に,複製後の姉妹テロメアが分離できず,anaphase 初期での停止が認められた¹⁹⁾。

Tankyrase 2 は, Tankyrase 1 とアミノ酸配列においては,約 85 % の相同性を示すが,HPS

(homopolymeric runs of histidine, proline, and serine) モチーフを有していないことがその特徴として挙げられる²⁰⁾。主にゴルジ体に局在するとされるが,その局在性は実に多彩であり,その 1 つの機能として, Tankyrase 1 と相互作用し,テロメアにおける機能調節に関与しているものと考えられている²¹⁾。

以上のように, NAD を基質とする種々の PARP ファミリータンパク質が,実に様々な細胞内イベントにおいて重要な役割を担うことが,近年改めて明らかになりつつある。取り分け,今回とりあげた, Tankyrase ファミリータンパク質は,テロメアの機能調節に関し重要な役割を担うとされる。一方,PARP-1 および 2 に関しては,染色体のセントロメア部位に局在することで,CENP-A, CENP-B, Bub 3 などのタンパク質と相互作用し,その機能制御にかかわることが報告されている²²⁻²³⁾。すなわち,染色体レベルでの構造維持においても,NAD を基質とする翻訳後修飾反応が,如何に総合的な役割を担うのかが伺い知れる知見ではないかと思われる。

Sirtuin を介した新規遺伝子発現調節機構の関与

真核生物染色体 DNA を規則正しく折りたたむためのクロマチンと呼ばれる構造は,ヒストン H1, H2A, H2B, H3, H4 の 5 種の主要タンパク質により形成される。コアヒストン H2~H4 が八量体を形成し,これを核として,その周りに DNA が 2 周巻き付いたものがヌクレオソームと呼ばれる。ヌクレオソームがリンカーヒストン H1 を介して複合体を形成し,さらに凝縮したものをクロマチンと呼ぶ。生物が正常に生きていくためには,このクロマチン構造が弛緩し,遺伝情報の担い手である遺伝子が正常に発現する必要がある。

ヒストンのアセチル化状態はヒストンアセチル化酵素 (HATs) とヒストン脱アセチル化酵素 (HDACs) により制御されている。現在,ヒトのヒストン脱アセチル化酵素は,クラス I およびクラス II に大別されており,構造上,酵母の Rpd 3 および Hda 1 がそれに対応している。新たなクラス III として,酵母において遺伝子のサイレンシング(遺伝子の不活性化)に必要なタンパク質

として発見された Sir 2 (Silent information regulator 2) タンパク質が知られている。

Sir 2 タンパク質は、NAD の濃度に応じてヒストンの脱アセチル化活性を呈し、*in vitro* においてヒストン H3 の 9 番目、14 番目のリジンを、またヒストン H4 については 16 番目のリジンを特異的に脱アセチル化することが報告されている²⁴⁾。Sir 2 タンパク質によるヒストンの脱アセチル化は NAD 依存的、つまりタンパク質の脱アセチル化と NAD の分解 (ADP-リボースとニコチンアミドに分解、さらに α -アセチル ADP-リボースが生じる) を同時に行うという、クラス I やクラス II の脱アセチル化酵素には見られない、極めて特徴的な反応でヒストンの脱アセチル化を行う。そして、この NAD 依存的な脱アセチル化酵素活性は、Sir 2 タンパク質によるサイレンシングやリボソーム DNA の組み換え抑制機能に必要とされる。近年、酵母や線虫では、Sir 2 タンパク質をコードする遺伝子の発現を抑制すると寿命が短縮し、多量に発現させると寿命が延長するということが明らかになり、寿命や老化の制御にも中心的な役割を果たすことが報告され、大変注目を集めている²⁵⁾ (図 3)。

Sir 2 タンパク質は、バクテリアからヒトに至るまで、その機能発現に必要な 250 のアミノ酸残基が良く保存されていることから、様々な生物種における、遺伝子のサイレンシングに重要な役割を担うことが予想される²⁶⁾。ヒトでもそのホモ

ログが現在までに 7 つ同定され、SIRT (Sirtuin) 1-7 と呼ばれている²⁷⁾。従来、Sir 2 が酵母や線虫などのモデル生物において、寿命を制御する遺伝子として同定された経緯があるためか、主にそれら生物種を対象とした研究報告が多かったが、近年、ほ乳類を対象とした興味深い研究結果も報告されている。Sir 2 のヒトホモログである SIRT 1 は、その NAD 依存的な脱アセチル化活性により、例えば、がん抑制遺伝子産物の 1 つである、p53 を脱アセチル化することで、その機能を抑制する²⁸⁾。実際、SIRT 1 を過剰発現した細胞では、UV や酸化ストレスが引き金となっておこる、p53 を介するアポトーシスが減少することが報告されている²⁹⁾。また、Motta らは、ほ乳類細胞における寿命調節に関しても、SIRT 1 と Forkhead 転写因子 Foxo 3 a との関連性について検討した結果、予想通り、両者の間には関連性が存在し、SIRT 1 の脱アセチル化活性により、Foxo 3 a の活性を抑制することで、その標的遺伝子の転写活性も抑制されることが示された³⁰⁾。

Vaquero らは、以前よりクロマチン構造の変化と細胞の老化に関する研究を行ってきたことから、老化の中心的制御因子である SIRT 1 に注目し、SIRT 1 がクロマチン構造の制御、特に抑制的なクロマチン構造形成における役割について検討した³¹⁾。その結果、SIRT 1 はヒストン H4 の 16 番目のリジンを NAD 依存的に脱アセチル化するということが明らかになった。この結果は、へ

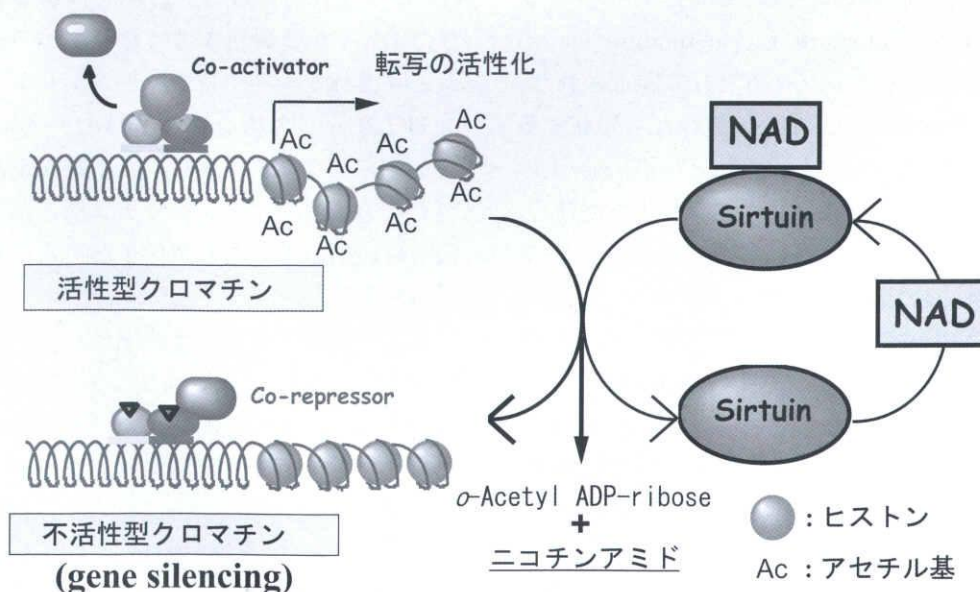


図 3. Sirtuin による NAD 依存的な転写調節機構

テロクロマチンではヒストン H4 の 16 番目のリジンは低アセチル化状態にあるという知見と一致する。さらに SIRT1 とリンカーヒストン H1 が相互作用すること、SIRT1 がリンカーヒストン H1 の 26 番目のリジンを NAD 依存的に脱アセチル化することを明らかにした。糸状菌においては、リンカーヒストン H1 が寿命の延長と関連があるという報告³²⁾や、マウスにおいてはリンカーヒストン H1 や Sir2 α が発生には不可欠という報告³³⁾などをはじめ、Sir2 とヒストン H1 との

関連を示唆する知見が相次いでいる³⁴⁾。

以上の報告において、SIRT1 による条件的なヘテロクロマチン形成にはやはり、NAD 依存的な脱アセチル化酵素活性が必須であると考えられる。また、最近の報告では、先述したポリ(ADP-リボシル)化を触媒する酵素、PARP がリンカーヒストン H1 のクロマチン結合部位と競合して結合することにより、クロマチン構造構築の重要な構成分子として機能していることが報告された³⁵⁻³⁶⁾。すなわち、NAD はクロマチンの構造制御を通じ、様々な細胞の機能発現に関与することが推察される。また、PARP や SIRT1 を始めとする、NAD を基質とする一連のファミリータンパク質による総括的な遺伝子発現制御機構の存在が示唆される。PARP ファミリーおよび Sirtuin の細胞内局在(図4)、これらのうち機能が明らかになりつつあるファミリーについて表1にまとめた。

表1. PARP ファミリーおよび Sirtuin の機能

PARP-1	DNA 修復, 転写制御, 細胞死制御, 中心体の調節, 染色体恒常性維持
PARP-2	DNA 修復, セントロメアに局在
PARP-3	中心体の調節, 中心体に局在
VPARP	Vault の構成成分, 細胞内輸送
Tankyrase-1	TRF-1 抑制によるテロメア制御
Tankyrase-2	Grab 14 に結合, ゴルジ体輸送
TiPARP	ダイオキシン (TCDD) により誘導
PARP-10	c-mycによる トランスフォーメーション抑制
SIRT1	エネルギー代謝, 炎症, 神経変性
SIRT2	細胞周期, 腫瘍形成
SIRT3	エネルギー代謝
SIRT4	インスリン分泌
SIRT6	DNA修復
SIRT7	rDNA転写

*: TCDD (2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin)

今後の展望

以上概説したように、ニコチン酸、ニコチンアミド、さらにNADは、従来のビタミンという単なる栄養素、そしてエネルギー獲得のための補酵素といった枠組みを超えて、種々の生命現象における重要な制御因子として重要な役割を担うことが明らかとなってきた。上記に共通して言える点は、NADの前駆体として同様に機能するニコチン酸、ニコチンアミドであるが、状況によっては、

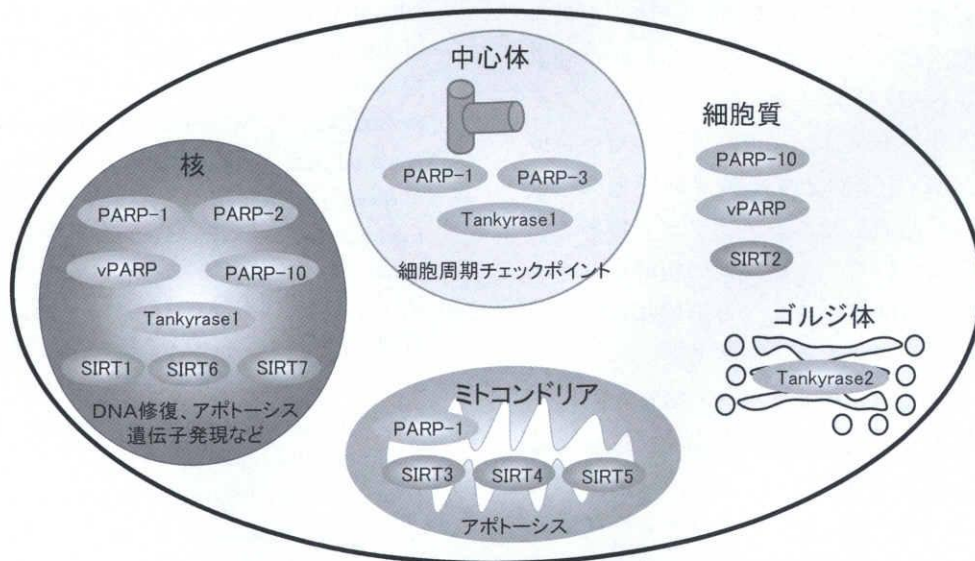


図4. PARP ファミリー, Sirtuin ファミリータンパク質の細胞内分布

全く別の効果を示す点である。事実、それらの薬理的効果に関しては、独自の作用が報告されている。例えば、ニコチン酸は、血清コレステロール低下効果、フラッシング効果などを示す一方³⁷⁾、ニコチンアミドに関しては、実験的糖尿病誘発ラットに対する予防効果などが報告されている³⁸⁾。これら効果の相違は、一部組織において、ニコチン酸の特異的レセプターが存在し、脂質代謝に関連すること³⁹⁾、ニコチンアミドは、先述した各種NADを基質とする生化学反応において、逆に阻害剤としても機能することなどにより説明される⁴⁰⁾。

Andersonらは、出芽酵母を用いた実験系において、その寿命を制御すると報告されていたPNC1の機能に着目し、その破壊株を用いての様々な解析を行った結果、寿命が短縮することを見出した⁴¹⁾。このPNC1は、実は、NADが基質として利用された結果生じたニコチンアミドを脱アミノ化し、ニコチン酸を生産する酵素、ニコチンアミドデアミダーゼをコードしており、出芽酵母においては、NAD生合成系へのサルベージ経路にかかわる鍵酵素であると考えられる。従ってこれらの結果は、ニコチンアミドの蓄積が、寿命を短縮したものと予想される。ただし、このニコチンアミドデアミダーゼは、高等真核生物において、現段階では生理的な条件下では機能していないとの報告もある。それでは、出芽酵母と比較すると、高等真核生物においては、かのようなNADを基質とする生化学反応が多々存在することが細胞レベルにおいて報告されているのが、一体、どのようにして細胞内濃度が制御されているのか？哺乳類において、NADはニコチン酸、ニコチンアミド、そしてトリプトファンを前駆体として生合成されるが、NADを基質とする種々の反応の結果生じる産物は、共通してニコチンアミドである。従来から知られている、生命現象の根幹をなすエネルギー代謝との関連からも、その興味がつきない魅力的な研究領域であると考えられる。

最後に、本稿で紹介してきた「NADワールド」が関連する報告で、最近なされた動物実験による興味深い知見につき紹介する。Baurらは、レスベラトロール(3,5,4'-トリヒドロキシシスチルベン)は、高カロリー食摂取マウスにおける健康状態を改善し、寿命を延長させることを見出した⁴²⁾。

レスベラトロールは、いわゆるポリフェノール成分の一つであり、特にブドウの表皮に含まれ、新鮮な赤ワインに豊富である事が知られている。また、レスベラトロールは、SirtuinファミリーのSIRT1の活性化因子であることが見出されている⁴³⁾。Lagoueらは、レスベラトロールが、SIRT1の活性化を介して、ミトコンドリアの機能改善に貢献し、さらにはメタボリック症候群の予防に貢献するとの報告をしている⁴⁴⁾。赤ワインの機能性に関しては、適度な摂取は健康に良いとされながらも、いわゆる、「フレンチパラドックス」の件からも様々な議論がなされているが、植物性食品に含まれる、このような低分子性機能成分による哺乳類における様々な機能改善は、メタボリック症候群の予防、治療への新たなアイデアを提言するにとどまらず、人類の健康増進へと大きく貢献するものと期待される。そのヒントが、この古いようで新しいビタミン、ニコチン酸、ニコチンアミドの未知なる生理作用を理解することに秘められていると考える。

文 献

- 1) NISHIZUKA, Y., UEDA, K., NAKAZAWA, K., and HAYAISHI, O., Studies on the polymer of adenosine diphosphate ribose. I. Enzymic formation from nicotinamide adenine dinucleotide in mammalian nuclei. *J. Biol. Chem.*, **242**, 3164-3171 (1967).
- 2) REEDER, R. H., UEDA, K., HONJO, T., NISHIZUKA, Y., and HAYAISHI, O., Studies on the polymer of adenosine diphosphate ribose. II. Characterization of the polymer. *J. Biol. Chem.*, **242**, 3172-3179 (1967).
- 3) SUGIMURA, T., FUJIMURA, S., HASEGAWA, S., and KAWAMURA, Y., Polymerization of the adenosine 5'-diphosphate ribose moiety of NAD by rat liver nuclear enzyme. *Biochim. Biophys. Acta.*, **138**, 438-441 (1967).
- 4) FUTAI, M., MIZUNO, D., and SUGIMURA, T., Hydrolysis of the polymer formed from NAD with rat liver phosphodiesterase yielding nucleoside 5'-monophosphate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **28**, 395-399 (1967).
- 5) CHAMBON, P., WEILL, J. D., DOLY, J., STROSSER, M. T., and MANDEL, P., On the formation of a novel adenylic compound by enzymatic extracts of liver nuclei. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **25**,

- 638-643 (1966).
- 6) 緒方 進, 田口 寛 (2003) ポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼによる転写調節. *ビタミン* **77**, 405-407.
 - 7) 緒方 進, 田口 寛 (2006) ゲノムインプリンティングにおけるポリ (ADP-リボシル) 化の役割. *ビタミン* **80**, 555-556.
 - 8) 緒方 進, 田口 寛 (2004) ポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼの新たな機能: 中心体への局在とその役割. *ビタミン* **78**, 34-36
 - 9) 緒方 進, 田口 寛 (2002) アポトーシスにおける PARP の役割: その新たな展開. *ビタミン* **76**, 609-613.
 - 10) WANG, Z. -Q., AUER, B., STING, L., BERGHAMMER, H., HAIDACHER, D., SCHWEIGER, M., and WAGNER, E. F., Mice lacking ADPRT and poly (ADP-ribosyl) ation develop normally but are susceptible to skin disease. *Genes Dev.*, **9**, 509-520 (1995).
 - 11) WANG, Z. -Q., STING, L., MORRISON, C., JANTSCH, M., LOS, M., Schulze-Ostchoff, K., and WANGER, E. F., PARP is important for genomic stability but dispensable in apoptosis. *Genes Dev.*, **11**, 2347-2358 (1997).
 - 12) de MURCIA, J. M., NIEDERGANG, C., TRUCCO, C., RICOUL, M., DUTRILLAUX, B., MARK, M., OLIVER, F. J., MASSON, M., DIERICH, A., LEMEUR, M., WALZTINGER, C., CHAMBON, P., and de MURCIA, G., Requirement of poly (ADP-ribose) polymerase in recovery from DNA damage in mice and in cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 7303-7307 (1997).
 - 13) SHIEH, W. M., AME, J. C., WILSON, M. V., WANG, Z. Q., KOH, D. W., JACOBSON, M. K., and JACOBSON, E. L., Poly (ADP-ribose) polymerase null mouse cells synthesize ADP-ribose polymers. *J. Biol. Chem.*, **273**, 30069-30072 (1998).
 - 14) AME, J. C., ROLLI, V., SCHREIBER, V., NIEDERGANG, C., APIOU, F., DECKER, P., MULLER, S., HOGER, T., Menissier-de MURCIA, and J., de MURCIA G., PARP-2, A novel mammalian DNA damage-dependent poly (ADP-ribose) polymerase. *J. Biol. Chem.*, **274**, 17860-17868 (1999).
 - 15) AME, J. C., SPENLEHAUER, C., and de MURCIA, G. (2004) The PARP superfamily. *Bioessays*. **26**, 882-893.
 - 16) SMITH, S., GIRIAT, I., SCHMITT, A., and de LANGE, T. (1998) Tankyrase, a poly (ADP-ribose) polymerase at human telomeres. *Science*, **282**, 1484-1487.
 - 17) SMITH, S., de LANGE, T. (1999) Cell cycle dependent localization of the telomeric PARP, tankyrase, to nuclear pore complexes and centrosomes. *J. Cell Sci.*, **112**, 3649-3656.
 - 18) SMITH, S. and de LANGE T. (2000) Tankyrase promotes telomere elongation in human cells. *Curr Biol.*, **10**, 1299-12302.
 - 19) DYNEK, J. N. and SMITH, S. (2004) Resolution of sister telomere association is required for progression through mitosis. *Science*, **304**, 97-100.
 - 20) KAMINKER, P. G., KIM, S. H., TAYLOR, R. D., ZEBARJADIAN, Y., FUNK, W. D., MORIN, G. B., YASWEN, P., and CAMPISI, J. (2001) TANK2, a new TRF1-associated poly (ADP-ribose) polymerase, causes rapid induction of cell death upon over-expression. *J Biol Chem.*, **276**, 35891-35899.
 - 21) COOK, B. D., DYNEK, J. N., CHANG, W., SHOSTAK, G., and SMITH, S. (2002) Role for the related poly (ADP-Ribose) polymerases tankyrase 1 and 2 at human telomeres. *Mol Cell Biol.*, **22**, 332-342.
 - 22) SAXENA, A., SAFFERY, R., WONG, L. H., KALITSIS, P., and CHOO, K. H. (2002) Centromere proteins Cenpa, Cenpb, and Bub3 interact with poly (ADP-ribose) polymerase-1 protein and are poly (ADP-ribosyl) ated. *J Biol Chem.*, **277**, 26921-26926.
 - 23) SAXENA, A., WONG, L. H., KALITSIS, P., EARLE, E., SHAFFER, L. G., and CHOO, K. H. (2002) Poly (ADP-ribose) polymerase 2 localizes to mammalian active centromeres and interacts with PARP-1, Cenpa, Cenpb and Bub3, but not Cenpc. *Hum. Mol. Genet.*, **11**, 2319-2329.
 - 24) IMAI, S, ARMSTRONG, C. M., KAEBERLEIN, M., and GUARENTE, L., Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*, **403**, 795-800 (2000).
 - 25) TANNY, J. C., DOWD, G. J., HUANG, J., HILZ, H., and MOAZED, D. An enzymatic activity in the yeast Sir2 protein that is essential for gene silencing. *Cell*, **99**, 735-745 (1999).
 - 26) LIN, S. J., DEFOSSEZ, P. A., and GUARENTE, L., Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science*, **289**, 2126-2168 (2000).
 - 27) MICHISHITA, E., PARK, J. Y., BURNESKIS, J. M., BARRETT, J. C., and HORIKAWA, I. Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Mol Biol Cell.*, (2005).
 - 28) VAZIRI, H., DESSAIN, S. K., Ng EATON E., IMAI, SI., FRYE, R. A., PANDITA, T. K., GUARENTE, L., and WEINBERG, R. A. hSIR2 (SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell*, **19**,

- 149-159 (2001).
- 29) BRUNET, A., SWEENEY, L. B., STURGILL, J. F., CHUA, K. F., GREER, P. L., LIN, Y., TRAN, H., ROSS, S. E., MOSTOSLAVSKY, R., COHEN, H. Y., HU, L. S., CHENG, H. L., JEDRYCHOWSKI, M. P., GYGI, S. P., SINCLAIR, D. A., ALT, F. W., and GREENBERG, M. E. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science*, **303**, 2011-2015 (2004).
- 30) MOTTA, M. C., DIVECHA, N., LEMIEUX, M., KAMEL, C., CHEN, D., GU, W., BULTSMA, Y., MCBURNEY, M., and GUARENTE, L. Mammalian SIRT1 represses forkhead transcription factors. *Cell*, **20**, 551-563 (2004).
- 31) VAQUERO, A., SCHER, M., LEE, D., Erdjument-Bromage, H., TEMPST, P., and REINBERG, D. Human SirT1 interacts with histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin. *Mol. Cell*, **16**, 93-105 (2004).
- 32) GUARENTE, L. SIR2 and aging-the exception that proves the rule. *Trends. Genet.*, **17**, 391-392 (2001).
- 33) JEDRUSIK, M. A. and SCHULZE, E. Telomeric position effect variegation in *Saccharomyces cerevisiae* by *Caenorhabditis elegans* linker histones suggests a mechanistic connection between germ line and telomeric silencing. *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 3681-3691 (2003).
- 34) BLANDER, G. and GUARENTE, L. The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu. Rev. Biochem.*, **73**, 417-435 (2004).
- 35) TULIN, A. and SPRADLING, A. Chromatin loosening by poly (ADP)-ribose polymerase (PARP) at *Drosophila* puff loci. *Science*, **299**, 560-562 (2003).
- 36) KIM, M. Y., MAURO, S., GEVRY, N., LIS, J. T., and KRAUS, W. L. NAD⁺-dependent modulation of chromatin structure and transcription by nucleosome binding properties of PARP-1. *Cell*, **119**, 803-814 (2004).
- 37) SVEDMYR, N., HARTHON, L., and LUNDHOLM, L., The relationship between the plasma concentration of free nicotinic acid and some of its pharmacologic effects in man. *Clin. Pharmacol. Ther.*, **10**, 559-570 (1969).
- 38) DULIN, W. E., and WYSE, M., Reversal of streptozotocin diabetes with nicotinamide. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **130**, 992-994 (1969).
- 39) OFFERMANN S., The nicotinic acid receptor GPR109A (HM74A or PUMA-G) as a new therapeutic target. *Trends Pharmacol Sci.* **27**, 384-390 (2006).
- 40) UEDA, K. and BANASIK, M., Inhibitors and activators of ADP-ribosylation reactions. *Mol. Cell. Biochem.* **138**, 185-197 (1994).
- 41) ANDERSON R. M., BITTERMAN K. J., WOOD J. G., MEDVEDIK O., SINCLAIR D. A., Nicotinamide and PNC1 govern lifespan extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature*. **423**, 181-185 (2003).
- 42) BAUR J. A., PEARSON K. J., PRICE N. L., JAMIESON H. A., LERIN C., KALRA A., PRABHU V. V., ALLARD J. S., Lopez-Lluch G., LEWIS K., PISTELL P. J., POOSALA S., BECKER K. G., BOSS O., GWINN D., WANG M., RAMASWAMY S., FISHBEIN K. W., SPENCER R. G., LAKATTA E. G., Le COUTEUR D., SHAW R. J., NAVAS P., PUIGSERVER P., INGRAM D. K., de CABO R., SINCLAIR D. A., Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. **444**, 337-342 (2006).
- 43) HOWITZ K. T., BITTERMAN K. J., COHEN H. Y., LAMMING D. W., LAVU S., WOOD J. G., ZIPKIN R. E., CHUNG P., KISIELEWSKI A., ZHANG L. L., SCHERER B., SINCLAIR D. A., Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*. **425**, 191-196 (2003).
- 44) LAGOUGE M., ARGMANN C., Gerhart-Hines Z., MEZIANE H., LERIN C., DAUSSIN F., MESSADEQ N., MILNE J., LAMBERT P., ELLIOTT P., GENY B., LAAKSO M., PUIGSERVER P., AUWERX J., Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell*. **127**, 1109-1122 (2006).