

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月6日現在

機関番号：33303

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22300264

研究課題名（和文） 生活習慣病予防における食後高血糖および食事性 AGEs の関与に関する研究

研究課題名（英文） Involvement of hyperglycemia and dietary AGEs in the prevention of life style-related disease

研究代表者

竹内 正義（TAKEUCHI MASAYOSHI）

金沢医科大学・総合医学研究所・教授

研究者番号：20154982

研究成果の概要（和文）：

糖代謝中間体のグリセルアルデヒドに由来する AGEs（toxic AGEs, TAGE と命名）がその受容体である RAGE（receptor for AGEs）を介し、糖尿病血管合併症の発症・進展に強く関わっていることが明らかになってきた。最近では、高血圧症、認知症、がん、非アルコール性脂肪肝炎や不妊症などの多様な疾患にも関与することが示されており、TAGE-RAGE 系の影響を抑えることが生活習慣病の発症・進展の予防および治療戦略上、必要なことがわかってきた。現代の食習慣の特徴である食後高血糖、果糖および食事性 AGEs の過剰摂取が、体内での TAGE の生成や RAGE の発現上昇をきたして生活習慣病の発症・進展に強く関与していることが明らかになってきた。

研究成果の概要（英文）：

Recently, we demonstrated that glyceraldehyde-derived AGEs (Glycer-AGEs), the predominant components of toxic AGEs (TAGE), play an important role in the pathogenesis of angiopathy in diabetic patients. Moreover, a growing body of evidence suggests that the interaction of TAGE with the receptor for AGEs (RAGE) alters intracellular signaling, gene expression, and the release of pro-inflammatory molecules and elicits oxidative stress generation in numerous types of cells, all of which may contribute to the pathological changes observed in diabetic vascular complications, hypertension, dementia, cancer, nonalcoholic steatohepatitis and sterility. It became clear that postprandial hyperglycemia, overeating of fructose or dietary AGEs causes generation of TAGE and over-expression of RAGE in a growing body, and is involving of development and progression of life style-related disease.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
2011年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
2012年度	3,200,000	960,000	4,160,000
年度			
年度			
総計	13,700,000	4,110,000	17,810,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学（健康と食生活）

キーワード：生活習慣病、Toxic AGEs (TAGE)、RAGE、食後高血糖、食事性 AGEs、果糖、清涼飲料水、加工食品

1. 研究開始当初の背景

これまで研究代表者は、生体内で生成される各種終末糖化産物 (advanced glycation end-products, AGEs) の中でも、特に糖代謝中間体のグリセルアルデヒドに由来する AGEs (Glycer-AGEs) が、AGEs 受容体 (receptor for AGEs, RAGE) を介して糖尿病血管合併症の発症・進展に強く関わっていることを解明してきた。最近では、Glycer-AGEs-RAGE 系が高血圧症、認知症、がん、非アルコール性脂肪肝炎、不妊症などの疾患にも関与することが示唆されてきており、Glycer-AGEs の影響を抑えることが生活習慣病の発症・進展の予防および治療戦略上、必要なことが分かってきた。

このように、生体内でのみ生成され、生活習慣病の直接的な病因物質となっている Glycer-AGEs を“toxic AGEs (TAGE)”と命名し、生活習慣病の発症・進展における“TAGE-RAGE 病因説”を提唱するに至っている。

2. 研究の目的

研究代表者らのこれまでの研究成果により、生体内で生成される TAGE が RAGE を介して種々の細胞に障害を引き起こし、生活習慣病の直接の原因になっていることが明らかになっている。一方、私達の身近な食/嗜好習慣そのものが生活習慣病の引き金になっている可能性が大きく、糖質 (ブドウ糖や果糖) の過剰摂取制限のみならず、食事性 AGEs の摂取制限や吸着除去と言う新たな概念が、未病も含めた生活習慣病予防を考える上で、重要な理論の一つになり得ることが期待される。

本研究では、従来の研究とは全く異なった切り口で生活習慣病の予防理論を科学的に証明し、国民の健康に関する総合的な情報を広く提供することを最終目的とする。

3. 研究の方法

研究代表者は、既に各種 AGEs (ブドウ糖由来 AGEs (Glc-AGEs), 果糖由来 AGEs (Fru-AGEs), TAGE など) およびそれぞれの AGEs に対する特異抗体の作製法を確立しており、また両者を組み合わせた競合 ELISA 法による血中あるいは飲食品中各種 AGEs 量を特異的に測定する系を構築済みである。

このような背景から、本研究では、(1)糖質含有量の測定や摂食後の血糖値に与える影響、(2)飲食品中 AGEs 量の比較、(3) AGEs 吸着食材のスクリーニング、(4)高糖質下での細胞内 AGEs 生成と遺伝子発現変化の検討、(5)食事性 AGEs の細胞障害性を確認する *in vitro* 簡易評価系の条件検討などを実施し、“国民の健康や食生活の安全性に関する具体的な

情報”を広く提供するという目的達成のための計画を立案した。

(1) 飲食品中の糖度 (Brix %) およびブドウ糖濃度の比較検討: TAGE は食後の高血糖に伴って生成されることが明らかになり、糖質の過剰摂取が TAGE 生成を加速することが懸念される。そこで、体内での TAGE 生成の原料になる飲食品中の糖度およびブドウ糖含有量を広く測定する。

(2) 飲食品中の各種 AGEs 量の比較検討: 高 AGEs 含有飲料の習慣的な摂取により、肝臓における RAGE 遺伝子の発現が増大し、肝細胞内に TAGE の蓄積が認められることが明らかになってきた。そこで、代表者が既に確立した競合 ELISA 法により、各種 AGEs 量を分別測定し、飲食品中の食事性 AGEs 量を飲食品の分類別に比較検討する。

(3) 各種食材による食事性 AGEs 吸着活性の比較検討: 保存期腎不全患者に kremezin を経口投与することで、血中の AGEs 量が有意に低下することが明らかになっている。そこで、食事性 AGEs の吸着作用を有する食材および食品を広くスクリーニングする。

(4) 高糖質下での肝細胞および血管内皮細胞における遺伝子発現変化の検討: 食後に腸管から吸収された糖質 (ブドウ糖/果糖) は門脈経由で肝臓へ運ばれ、肝細胞に取り込まれて異化される。そこで、肝細胞および血管内皮細胞を用いた細胞培養系を用いて高糖質下での細胞内遺伝子変化および細胞内 AGEs 生成に関して検討する。

(5) 株化細胞を用いた食事性 AGEs 簡易毒性評価系の条件検討: 食事性 AGEs の体内への影響を簡便に評価するため、株化細胞を用いて飲食品中の AGEs の影響を比較検討する簡易評価系の構築を試みる。

4. 研究成果

(1) 約千種類に及ぶ飲食品中の糖度などを測定した結果、市販飲料のほとんどに米国心臓協会ガイドライン (健康な生活の維持のため1日の砂糖摂取量を男性は150kcal (糖質換算で37.5g) 以下、女性は100kcal (同25g) 以下に抑えるべきである) の基準値を超える糖質が含まれていることが明らかになった。

すなわち、果糖ブドウ糖液糖や砂糖を多く含む清涼飲料水の過剰摂取は、通常の食事に比べて急激な血糖上昇から TAGE 量の増加を引き起こし、食後酸化ストレスの増大から組織障害につながることが示唆された。

また、研究代表者らは、TAGE が Glc-AGEs やその前駆体の一つであるヘモグロビン A1c と異なり、食後高血糖のスパイクに伴って生成されることを見いだした。すなわち、TAGE

は過去2〜3ヶ月の食後高血糖の程度を反映する新たな診断マーカーとなり得ることが期待される。

(2) また、食品の加熱調理時に生成する食事性AGEsの過剰摂取は、動物実験において肝臓内でのTAGEの蓄積やRAGEの発現増大を招いて肝障害を引き起こす事が危惧される。

そこで、約千種類に及ぶ飲料ならびに加工食品中の各種AGEs量を測定した結果、飲食品（特に乳酸菌飲料や健康食品に分類される加工食品）には多量のAGEs（主にブドウ糖由来AGEs, Glc-AGEs）を含むものが多く存在し、これらの摂取過多により肝臓内でのTAGEの蓄積やRAGE発現の増大を招いて肝障害を引き起こす事が示唆された。

(3) 上記の結果より、食事性AGEsを減らすことで臓器障害を抑制できる可能性が示唆されるが、実際に保存期腎不全患者に経口吸着炭薬kremezinを投与することで、血中Glc-AGEsおよびTAGEレベルが低下することを見出した。さらに、食物繊維を多く含む食材にはkremezin以上のAGEs吸着活性が認められ、食物繊維の豊富な食材を調理して食べる日本食には、糖質の分解/吸収を抑えたり、食事性AGEsを吸着除去すると言った優れた機能が備わっていることが明らかになってきた。

(4) 糖質は腸管から吸収され、門脈経由で肝臓に達する。TAGE前駆体のグリセルアルデヒドは、細胞内においてブドウ糖や果糖の代謝中間体として生成する。そこで、肝細胞および血管内皮細胞を用いて高ブドウ糖/果糖存在下で培養した結果、細胞内に数種類のTAGE化蛋白質が免疫化学的に検出された。

さらに、肝細胞にTAGE前駆体のグリセルアルデヒドを添加した結果、分子シャペロンの一つであるheat shock cognate 70 (HSC 70) が有意にTAGE化を受け、しかもTAGE化HSC 70は分子シャペロン活性が低下し、肝細胞機能障害から肝細胞死へと進展して行くことが示唆された。加えて、炎症マーカーの一つであるC反応性蛋白質（CRP）遺伝子の発現が上昇し、炎症反応をも惹起することが明らかになってきている。

(5) 株化細胞を用いた食事性AGEs簡易毒性評価系の条件検討では、数種類の細胞を用いて複数の遺伝子発現の変化を調べたが、飲食物中等から混入するエンドトキシンの影響が予想以上に強く、簡易評価系の完成には至らなかった。

(6) これまで、研究代表者らは、各種病態と血中TAGEレベルとの関連について検討してきている。血中TAGE量の増加は、糖尿病状態だけではなく、非糖尿病状態でもみられ、

TAGEレベルと血栓マーカーとの間にも正の相関があることを見出している。さらに、非糖尿病患者において血中TAGEレベルは、炎症/高血糖条件下で上昇することや、抗炎症作用を有するアディポネクチンレベルとは逆相関することも明らかになってきた。

加えて、研究代表者らは血中TAGEレベルと¹⁸F-fluoro-deoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET)で評価された血管炎症の程度が正相関することを見出しており、TAGEが動脈硬化巣における血管炎症の程度を反映するバイオマーカーとしての可能性を秘めていることが示されている。

一方、健常者においても、血中TAGEレベルは循環中の血管内皮前駆細胞の数の減少や遊走活性の低下と独立した関連がみられ、将来的な動脈硬化の進行と心血管イベントを予測するバイオマーカーとしての可能性があることを明らかにしている。

以上の情報は、既に論文公表、学会発表、市民公開講座、新聞や健康雑誌などを通じて広く国民に公開している。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計60件）

- ① Tahara N, Yamagishi S, Takeuchi M (3/8) *et al.*: Serum levels of advanced glycation end products (AGEs) are independently correlated with circulating levels of dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) in humans. *Clin. Biochem.* **46**: 300-303 (2013), 査読有り, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2012.11.023.
- ② Fukushima Y, Daida H, Takeuchi M (7/13) *et al.*: Relationship between advanced glycation end products and plaque progression in patients with acute coronary syndrome: The JAPAN-ACS Sub-study. *Cardiovasc. Diabetol.* **12**: 5 (2013), 査読有り, doi: 10.1186/1475-2840-12-5.
- ③ 竹内正義: 血管障害バイオマーカーとしての toxic AGEs (TAGE). *医学のあゆみ* **244** (8): 685-690 (2013), 査読なし
- ④ Tahara N, Yamagishi S, Takeuchi M (3/13) *et al.*: Positive association between serum level of glyceraldehyde-derived advanced glycation end products (AGEs) and vascular inflammation evaluated by ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET). *Diabetes Care* **35**: 2618-2625 (2012), 査読有り, doi: 10.2337/dc12-0087.
- ⑤ Ueda S, Yamagishi S, Takeuchi M (8/9) *et al.*: Serum levels of advanced glycation end products (AGEs) are inversely associated

- with the number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells in apparently healthy subjects. *Cardiovasc. Ther.* **30**: 249-254 (2012), 査読有り, doi: 10.1111/j.1755-5922.2011.00264.x.
- ⑥ Takino J, Yamagishi S and Takeuchi M: Glycer-AGEs-RAGE signaling enhances the angiogenic potential of HCC by upregulating VEGF expression. *World J. Gastroenterol.* **18**: 1781-1788 (2012), 査読有り, doi: 10.3748/wjg.v18.i15.1781.
- ⑦ Tahara N, Yamagishi S, Takeuchi M (4/8) *et al.*: Serum levels of advanced glycation end products (AGEs) are independent correlates of insulin resistance in non-diabetic subjects. *Cardiovasc. Ther.* **30**: 42-48 (2012), 査読有り, doi: 10.1111/j.1755-5922.2010.00177.x.
- ⑧ 竹内正義: 生活習慣病の発症・進展における Toxic AGEs (TAGE)-RAGE 系の関与: -新たな治療戦略-, *金沢医科大学雑誌* **37**: 141-161 (2012), 査読有り
- ⑨ 竹内正義: Toxic advanced glycation end-products: TAGE の多様な疾患への関与, *日本薬理学雑誌* **139**: 193-197 (2012), 査読有り
- ⑩ 竹内正義: AGEs と肝疾患, *Anti-aging Medicine* **8**: 55-61 (2012), 査読なし
- ⑪ Jinno M, Takeuchi M (2/7) *et al.*: Advanced glycation end-products accumulation compromises embryonic development and achievement of pregnancy by assisted reproductive technology. *Hum. Reprod.* **26**: 604-610 (2011), 査読有り, doi: 10.1093/humrep/deq388.
- ⑫ Takeuchi M, Takino J and Yamagishi S: Involvement of the toxic AGEs (TAGE)-RAGE system in the pathogenesis of diabetic vascular complications: A novel therapeutic strategy. *Curr. Drug Targets* **11**: 1468-1482 (2010)
- ⑬ Takino J, Yamagishi S and Takeuchi M: Cancer malignancy is enhanced by glyceraldehyde-derived advanced glycation end-products. *J. Oncol.* **2010**: 739852 (2010), 査読有り, doi: 10.1155/2010/739852.
- ⑭ Takeuchi M, Iwaki M, Takino J *et al.*: Immunological detection of fructose-derived advanced glycation end-products. *Lab. Invest.* **90**: 1117-1127 (2010), 査読有り, doi: 10.1038/labinvest.2010.62.
- ⑮ Takino J, Kobayashi Y and Takeuchi M: The formation of intracellular glyceraldehyde-derived advanced glycation end-products and cytotoxicity. *J. Gastroenterol.* **45**: 646-655 (2010), 査読有り, doi: 10.1007/s00535-009-0193-9.
- [学会発表] (計 60 件)
- ① 竹内正義, 生活習慣病の発症・進展における Toxic AGEs (TAGE)-RAGE 系の関与とその阻止, 日本薬学会第 133 年会ランチョンセミナー特別講演, 横浜 (2013. 3.29)
- ② 竹内正義, 糖化を以て生活習慣病予防～Toxic AGEs (TAGE)-RAGE 系からみた新たな戦略～, 日本薬学会東海支部特別講演, 名古屋 (2013. 1.11)
- ③ 竹内正義, 糖化を以て生活習慣病予防! ～TAGE-RAGE 系からみた新たな治療戦略～, 第 5 回抗加齢ウイメンズヘルス研究会特別講演, 東京 (2012.11.15)
- ④ 瀧野純一, 肝細胞癌における Glycer-AGEs-RAGE シグナルの影響, 第 51 回日本薬学会中国四国支部例会, 島根 (2012.11.10)
- ⑤ 竹内正義, 未病における Toxic AGEs (TAGE) の関与とその阻止, 第 19 回日本未病システム学会学術総会シンポジウム, 金沢 (2012.10.28)
- ⑥ 竹内正義, NASH の発症・進展における toxic AGEs (TAGE)-RAGE 系の関与, 第 84 回日本肝臓学会総会, 金沢 (2012. 6. 8)
- ⑦ 竹内正義, 生活習慣病の発症・進展予防と糖化制御, 第 7 回日本栄養改善学会北陸支部学術総会特別講演, 金沢 (2012. 2.26)
- ⑧ 竹内正義, アンチエイジングにおける TAGE-RAGE 系の関与, 第 14 回日本補完代替医療学会シンポジウム, 金沢 (2011.11. 5)
- ⑨ 竹内正義, 生活習慣病における TAGE-RAGE 系の関与とその阻止, 第 1 回糖化ストレス研究会シンポジウム, 東京 (2011.10.27)
- ⑩ 瀧野純一, NASH の発症・進展における TAGE-RAGE 系の関与, 第 84 回日本生化学会大会, 京都 (2011. 9.24)
- ⑪ 竹内正義, 食後高血糖-酸化ストレス-心血管病連関と TAGE-RAGE 系のクロストーク, 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会, 札幌 (2011. 5.20)
- ⑫ 竹内正義, 生活習慣病における Toxic AGEs (TAGE)-RAGE 病因説と食事性 AGEs のクロストーク, 第 65 回日本栄養・食糧学会シンポジウム, 東京 (2011. 5.15)
- ⑬ 竹内正義, Toxic AGEs (TAGE)-RAGE 病因説から考える未病と栄養, 第 17 回日本未病システム学会学術総会ワークショップ, 那覇 (2010.11.13)
- ⑭ 竹内正義, 糖尿病血管合併症に関わる食後高血糖及び食事性 AGEs と Toxic AGEs (TAGE)-RAGE 系のクロストーク, 第 25 回日本糖尿病合併症学会ワークショップ, 大津 (2010.10.22)
- ⑮ 竹内正義, 生活習慣病の発症・進展における TAGE 病因説と食事性 AGEs のクロストーク, 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会, 岡山 (2010. 5.29)

〔図書〕(計1件)

- ① 竹内正義, 「AGEs とアルツハイマー病・神経変性疾患」, AGEs と老化 -糖化制御からみたウエルエイジング-, 229-241, メディカルレビュー社 (2013)

〔その他〕

- (1) 金沢医科大学総合医学研究所先端医療研究領域糖化制御研究分野 HP

<http://mri-ages.kanazawa-med.labos.ac/one/>

- (2) 薬事日報 (2013年3月22日): 日本薬学会第133年会ランチョンセミナーの話題 (生活習慣病の発症・進展における Toxic AGEs (TAGE)-RAGE系の関与とその阻止)

- (3) 平成24年度バイオビジネスアワード JAPAN (2013年2月15日):

http://www.bioaward.jp/hyosho_past.php?eid=00004

- (4) BIO tech 2012 アカデミックフォーラム: 糖化制御で生活習慣病予防: 新たな治療戦略 (2012年4月26日)

- (5) 日経ヘルスプラムエ :

- ① 老化と肥満をストップする食事術 (2012年12月号)

- ② 肌と体の美を保つベストな食事術「野菜が最初!」 (2011年9月号)

- ③ 抗糖化美白, 始めましょう (2011年3月号)

- ④ お肌ぷりぷりきれい鍋 (2011年1月号)

- ⑤ たるみの原因「糖化を防ぐ食事法」 (2010年7月号)

- (6) 健康365 :

- ① 猛毒「AGE」の危険を徹底チェック (2012年4月号)

- ② シミ・シワの元凶物質「AGE」を排除 (2012年2月号)

- (7) 月刊北國アクタス: その習慣、大丈夫ですか? 糖化を防いでアンチエイジング (2012年1月号, 220-221)

- (8) 北国新聞 :

- ① 糖化制御で生活習慣病予防 (2011年11月29日)

- ② 丈夫がいいね「糖分に用心」(上) (2011年10月27日)

- ③ 丈夫がいいね「糖分に用心」(下) (2011年10月28日)

- (9) 日本経済新聞 (電子版): 40代からはじめる「たるみ」「しわ」を防ぐ食事術 (2011年11月19日)

http://www.nikkei.com/article/DGXNASFK1700P_X11C11A1000000/

- (10) 健康産業流通新聞 : 食事性 AGEs と生活習慣病 (2011年9月8日)

- (11) 健康産業新聞 : 特集「抗糖化」-今年注目のアンチエイジング (2011年3月2日)

- (12) 北國健康生きがい支援事業:

<http://www.kenko-ikigai.com/topics/95-20120508.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹内 正義 (TAKEUCHI MASAYOSHI)

金沢医科大学・総合医学研究所・教授

研究者番号: 20154982

(2) 研究分担者

瀧野 純一 (TAKINO JUN-ICHI)

広島国際大学・薬学部・助教

研究者番号: 00440529

(3) 連携研究者

なし