

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：34310

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K01880

研究課題名（和文）睡眠と糖化ストレス：メラトニンと蛋白糖化最終産物（AGEs）の関連を探る

研究課題名（英文）Sleep and glycative stress: Exploring the relationship between melatonin and advanced glycation endproducts (AGEs)

研究代表者

米井 嘉一（YONEI, Yoshikazu）

同志社大学・生命医科学部・教授

研究者番号：40191655

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：我々は「『睡眠の質』向上によってメラトニン分泌が増加し糖代謝が改善する」という仮説を立て、その検証試験を行った。基礎実験ではメラトニンがAGEs架橋切断作用を有するが、プロテアソーム活性、酸化蛋白分解酵素（OPH）活性には影響しなかった。メラトニンはマクロファージから破骨細胞への分化を促進した。臨床試験ではメラトニン摂取により食後高血糖が緩和されること、「睡眠の質」向上によりメラトニン産生が高まること、「睡眠の質」指標として6-sulfatoxy-melatoninが有用であった。『睡眠の質』向上による糖代謝改善の機序においてメラトニンが重要な役割を果たすこと示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

2型糖尿病で代表される糖化ストレス関連疾患は近年増加の一途を辿っているが、「睡眠の質」と深い関連があることがわかってきた。しかし、日本人の「睡眠の質」は諸外国に比べて低いのが現状である。「睡眠の質」評価指標としてメラトニン分泌量は重要であるが、その方法は確立されていない。我々は「『睡眠の質』を高めることによってメラトニン分泌が増加し糖代謝が改善する」という仮説をたてた。この仮説を検証し、国民の「睡眠の質」を向上させ、糖化ストレス関連疾患を減らすことの意義は大きいと考えている。

研究成果の概要（英文）：We made a hypothesis that “High “ ”sleep quality” ” may elevate melatonin secretion and improve glucose metabolism” and tested it. In the in vitro experiments, the melatonin action to accelerate the degradation of advanced glycation endproducts (AGEs) was verified, but no effect on the proteasome activity or oxidized protein hydrolase (OPH) activity. Melatonin promoted osteoclast differentiation. Furthermore, the clinical trials showed that exogenous melatonin alleviates postprandial hyperglycemia, high "sleep quality" increases melatonin secretion, and melatonin metabolite, 6-sulfatoxy-melatonin, is useful as an index for "sleep quality". Coupled with these findings, it was suggested that melatonin may play an important role in the mechanism of improving glucose metabolism by high "sleep quality".

研究分野：ライフサイエンス／健康科学

キーワード：メラトニン 糖化ストレス 食後高血糖 睡眠の質 蛋白糖化最終産物（AGEs）

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 我々の研究室では糖化ストレス (AGEs/RAGE 系) の実験的研究と睡眠・メラトニン分泌に関する臨床研究を行ってきた。糖化反応は還元糖と蛋白の非酵素的かつ不可逆的の反応であり、最終的に AGEs が生成される。老廃物としての AGEs 蓄積、蛋白 AGEs 化による生体への直接的障害、RAGE を介した炎症の惹起などの機序により、糖尿病合併症や加齢関連疾患に深く関与する。これらを総合したものが**糖化ストレスの概念**である。

近年傾向にある糖尿病は糖化ストレスが強い疾病の代表であり、腎症をはじめ様々な合併症を惹起する。しかし HbA1c が同程度の糖尿病患者でも生活習慣の違いにより合併症発症リスクは異なっており、合併症の進展には AGEs/RAGE 系糖化ストレスが深く関与すると考えられる。我々の研究室では、皮膚に蓄積する AGEs は加齢に伴って増加し、睡眠不足が AGEs 蓄積量を増悪させることを報告してきた。

(2) 「**睡眠の質**」と**糖化ストレスをつなぐ因子**としてメラトニンに注目し、メラトニン分泌の評価指標として尿中メラトニン代謝産物定量が適していること、メラトニンが AGEs 分解を促進することを報告している。メラトニンの AGEs 分解促進作用 (α ジケトン構造切断活性として評価) は陽性対照 N-phenacylthiazolium bromide (PTB) や他のフラボノイド (catechin など) よりも強力である。メラトニンの AGEs 生成・分解・排出機構に対する効果、AGEs に阻害されたインスリン合成・分泌への回復効果を検証することにより、睡眠障害に伴う糖代謝異常の発症機序を解明するとともに、AGEs が原因となる様々な疾患の発症予防への新たなアプローチとなる研究を計画した。

2. 研究の目的

我々は「『**睡眠の質**』を高めることによってメラトニン分泌が増加し糖代謝が改善する」という**仮説**を立てた。仮説の検証のために(1) 基礎実験および(2) 臨床試験を計画した。

(1) 基礎実験では、メラトニンが糖化ストレス並びに糖代謝を軽減する機序の解明を目的とした。

(2) 臨床試験では、メラトニン摂取の食後血糖変動への影響を観察することを目的とした。「睡眠の質」評価指標としてのメラトニン代謝産物 (6-sulfatoxy-melatonin : SaMT) の有用性を評価する目的で、「睡眠に質」と SaMT の関係、「睡眠の質」改善による SaMT の変化を検証した。

3. 研究の方法

(1) 基礎実験では 培養ヒト皮膚線維芽細胞 (human dermal fibroblast: HDF) に AGEs を貪食させた際のプロテアソームによるヒト血清アルブミン (human serum albumin: HSA) AGEs 分解活性に対するメラトニンの影響を検証した。AGEs として糖化ヒト血清アルブミン (human serum albumin: HSA) を用いた。培養マクロファージ (RAW264.7) を RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) 刺激により破骨細胞へ分化させ (osteoclastogenesis) メラトニンの影響を評価した。酸化蛋白分解酵素 (oxidized protein hydrolase: OPH) を精製分離して作成し、メラトニンによる OPH 活性の変化を検証した。

(2) 臨床試験では 前夜のメラトニン摂取が翌朝の食後血糖上昇に及ぼす影響、運動量の多寡・糖化ストレス・「睡眠の質」に関する調査を行った。「睡眠の質」はメラトニン代謝産物 (6-sulfatoxy-melatonin : SaMT) を指標として評価した。快適な寝具を用いた「睡眠の質」改善による SaMT の変化、騒音環境と「睡眠の質」改善による SaMT の変化を検証した。

4. 研究成果

(1) 基礎実験

「睡眠の質」が高いメラトニン分泌良好者では皮膚 AGEs 蛍光強度が低い傾向にあることから HDF に焦点を当てた。HDF が糖化 HSA を貪食した時に認められる細胞内 AGEs 蛍光強度ならびにプロテアソーム活性を測定し、メラトニン添加の影響を検証した。その結果、HDF にメラトニンを添加してもプロテアソーム活性も上昇せず、細胞内 AGEs 蛍光強度も減少しなかった。HDF 内の AGEs 分解活性やプロテアソーム活性へのメラトニンの作用はほとんどないと考えられた。論文発表 : Mamun-Or-Rashid ANM, et al. Glycative Stress Research 6(2), 2019.

RAW264.7 に発現する RAGE (Receptor for AGEs) は AGEs と結合して細胞内シグナルが活性化すると炎症性サイトカイン (TNF α など) を産生する。先行研究ではこの反応系においてメラトニンは影響しなかった。RAW264.7 を RANKL 刺激すると osteoclastogenesis が惹起され、この反応に対しメラトニンが促進的に作用することが示された。この現象の意義については現在不明であり、今後の検証が必要である。論文発表 : Mamun-Or-Rashid ANM, et al. Glycative Stress Research 6(3), 2019.

OPH は AGEs の分解作用を有するプロテアーゼの一種で、生体組織中に広く分布する。本研究では糖化ストレスの低減に寄与する成分の探索を目的にメラトニンや種々のハーブティー抽出物の OPH 活性に対する影響を検証した。その結果、チャノキ (*Camellia sinensis*) 由来の茶は緑茶 (不発酵茶) と紅茶 (発酵茶) で OPH 活性は阻害作用を示したが、ほうじ茶 (焙煎茶) 、

プーアル茶（後発酵茶）で OPH 活性増強した。メラトニンは OPH 活性に影響しなかった。論文発表：Ishizaki K, et al 2020.

研究期間中、東京医科歯科大学 服部淳彦教授らのグループが、2 型糖尿病モデル動物にメラトニンを投与すると、筋・脂肪組織においてインスリンシグナルが活性化され、インスリンの作用を増強すること、キンギョの脳の初代培養系において、インスリンを含まない培地でもメラトニンを添加すると糖の取り込みが増加することを見いだした（Watanabe K, et al. *Glycative Stress Research* 7(1): 105-109, 2020）。夜間のメラトニンがインスリンを介さない機序で脳への糖の取り込みを上げている可能性を示しており、メラトニンの糖代謝への関与における新たな知見である。

(2) 臨床試験

目的：近年、睡眠と糖脂質代謝関連の生活習慣病との関連が注目されている。今回、前夜のメラトニン摂取が翌朝の食後血糖に及ぼす影響についてクロスオーバー試験を行った。方法：対象は健康者 12 例（男性 4 例、女性 8 例、 22.9 ± 1.7 歳）とし、1 週間間隔で 2 回の血糖試験に参加した。第 1 回は朝食に基準食として白飯（200 g, 294 kcal）を摂取、第 2 回は前日夜 9 時にメラトニン 2 mg 服用し、翌朝に基準食を摂取した。血糖試験は基準食摂取開始から 15, 30, 45, 60, 90, 120 分後に自己血糖値測定器にて測定した。本研究は倫理審査の承認のもとに行われた。結果：2 回試験の血糖曲線における曲線下面積（AUC）の変動が大きい（ $\pm 50\%$ 以上）者 3 例は解析から除外した。メラトニン摂取により AUC が低下した者は 9 例中 8 例（ $-6.4 \sim -31.0\%$ ）で、上昇した者は 1 例（ 5.7% ）であった。AUC はメラトニン摂取により有意に低下した（ $p < 0.05$ ）。結論：前日のメラトニン摂取による「睡眠の質」改善の結果、食後高血糖が緩和された可能性が示唆された。食後高血糖が緩和されたメカニズムについて文献的考察を加えた。論文発表：Ogura M, et al. 2018.

目的：日本人高齢者を対象とした研究では、糖尿病の危険因子である糖化ストレスと「睡眠の質」との関係についてはまだ明らかになっていない。本研究では、高齢者を対象として日常生活での身体活動量を継続的に測定し、身体活動量の多寡や糖化ストレスと「睡眠の質」との関係性について検証した。方法：京都市有隣地区で日常的に歩行運動を行っている 23 名（ 78.7 ± 6.1 歳）を対象とし、ピッツバーグ睡眠質問票（PSQI-J）及び抗加齢 QOL 共通問診票（Anti-Aging QOL Common Questionnaire: AAQOL）による評価、血清コルチゾル及び IGF-I、夜間畜尿中 SaMT、AGE Reader™ を用いた皮膚 AGEs 蛍光強度 = skin autofluorescence（SAF）の測定を行った。生活活動による活動量を除くため 3 METs 以上の活動強度による活動量を測定した。結果：対象者の約 2 ヶ月間の月間平均活動量は 59.1 ± 53.5 Ex で、活動量の多寡により H・M・L の 3 群に分けて解析した。活動量が多い群ほど血清コルチゾルが低く、インスリン様成長因子-I（IGF-I）は高く、尿中 SaMT 生成量が多い傾向がみられた。PSQI-J では特に有意な所見は得られなかったが、AAQOL では H 群の「寝付きが悪い」スコアが M 群より有意に高かった（ $p = 0.019$ ）。H 群の夜間（18~23 時）活動量及び歩数は低群に比べ有意に多かった（ $p < 0.05$ ）。糖化ストレス指標 SAF については、PSQI-J「睡眠困難」スコアとの間に弱い相関傾向が見られた（ $r = 0.375$, $p = 0.077$ ）。結語：高齢者における身体活動量の多寡は「睡眠の質」に影響を及ぼす可能性があり、特に夜間に行う運動は睡眠の妨げとなり得る。論文発表：Tsuruta A, et al. 2019.

目的：近年、「睡眠の質」低下と糖代謝異常との関係が報告されている。本試験では「4 層特殊立体構造」寝具を試験品として「睡眠の質」、メラトニン分泌、夜間血糖に与える影響について検討した。方法：睡眠に不満を有する男女 12 例（男性：4 例、女性：8 例、 51.9 ± 7.2 歳）を対象に、持続血糖測定器（Free Style リブレ）を装着、試験品（AiR SX：西川）および対照品寝具を 2 週間のワッシュアウト後に 2 週間使用するクロスオーバー比較試験を行った。試験開始前、試験開始 2 週間後に自覚症状の確認、身体計測、血液生化学検査、蓄尿中メラトニン代謝産物検査を施行した。結果：睡眠関連の自覚症状は、ピッツバーグ睡眠質問票で「日中覚醒困難」（ $p < 0.1$ ）が試験群で改善傾向、OSA 睡眠調査票で「不快な気分である」（ $p < 0.05$ ）、「解放感がある」（ $p < 0.1$ ）、「眠りが浅かった」（ $p < 0.1$ ）が試験群で改善した。尿中メラトニン代謝物検査では尿中 SaMT、N-acetylserotonin、セロトニンに有意な変化は認められなかったが、SaMT（ $p < 0.1$ ）メラトニン（ $p < 0.05$ ）が試験群で高く保たれる傾向が認められた。2 週間の夜間血糖値を解析した結果、80 mg/dL 未満の低血糖の割合が試験群 9 日目及び 11 日目に減少する傾向を認めた（ $p < 0.1$ ）。結論：試験品の使用で「睡眠の質」向上により、メラトニン分泌が増加し、夜間低血糖の頻度が減る可能性があることが示唆された。論文発表：Ogura M, et al. 2019.

目的：調音パネルは不快な音を吸収し快適な音を残す特性を有することからストレス緩和やレラクセーション効果が期待されている。本研究では調音パネル（試験品）の寝室の設置が「睡眠の質」に及ぼす影響について SaMT を指標として検証した。方法：第 1 回目は男子学生 10 名（ 26.4 ± 8.7 歳）を対象に無対照オープンパイロット試験として、自宅寝室に試験品を設置、照度管理なしの条件とした。第 2 回目は男女学生 6 名（ 27.3 ± 11.6 歳）を対象に対照交代比較試験として、睡眠環境を一定にした合宿施設にて睡眠環境計測装置により照度管理ありの条件で、

SaMT 計測を行い、対照品パネルと比較した。結果：第 1 回目試験では夜間膀胱内蓄尿中 SaMT 生成量が試験品使用時の方が-13.4%少なかった ($p = 0.046$)。照度条件の差の影響と判断した。第 2 回試験では照度・温度が一定条件であることが確認され、24 時間蓄尿中 SaMT 濃度は対照品使用時 (24.7 ± 2.3 ng/mL) に比べ試験品使用時 (38.2 ± 5.6 ng/mL) の方が有意に高かった ($+54.7\%$, $p = 0.028$)。結語：調音パネルの寝室への設置により不快音の減少による睡眠環境が改善し、メラトニン分泌量が増え、「睡眠の質」が向上する可能性が示唆された。メラトニン分泌は睡眠環境に影響を受けるため、室温・照度といった条件を一定にして評価する必要がある。論文発表 (2020 年 6 月掲載予定): Fukushima M, et al. Effect of the newly developed articulatory panels (Aural Sonic): A pilot clinical trial. Glycative Stress Research. 2020; 7(2). (accepted)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Ogura M, Okuda F, Hattori A, Takabe W, Yagi M, Yonei Y.	4. 巻 5(2)
2. 論文標題 Effect of melatonin intake on postprandial blood glucose in the breakfast.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Glycative Stress Research	6. 最初と最後の頁 75-81
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.24659/gsr.5.2_75	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yonei Y, Yagi M, Takabe W.	4. 巻 8(6)
2. 論文標題 Glycative stress and sleep quality.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Prime: International Journal of Aesthetic & Anti-Ageing Medicine	6. 最初と最後の頁 19-23
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuruta A, Zheng T, Ogura M, Yagi M, Takabe W, Yonei Y.	4. 巻 6(1)
2. 論文標題 Sleep quality, physical activity, and glycative stress in the elderly: The Yurin Study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Glycative Stress Research	6. 最初と最後の頁 39-48
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.24659/gsr.6.1_039	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ogura M, Hattori A, Yagi M, Takabe W, Nonomura T, Shimura Y, Ando M, Yonei Y.	4. 巻 6(1)
2. 論文標題 Effect of mats with “A Distinctive 4-Layer 3 -Dimensional Structure” on sleep quality and nocturnal blood glucose: A crossover trial.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Glycative Stress Research	6. 最初と最後の頁 49-63
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.24659/gsr.6.1_049	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Mamun-Or-Rashid ANM, Takabe W, Yagi M, Yonei Y.	4. 巻 6(2)
2. 論文標題 Melatonin does not have any effect on proteasome activity in human dermal fibroblast.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Glycative Stress Research	6. 最初と最後の頁 68-74
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24659/gsr.6.2_068	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mamun-Or-Rashid ANM, Takabe W, Yagi M, Yonei Y.	4. 巻 6(3)
2. 論文標題 Melatonin and astaxanthin modulate RANKL-induced TRAP activity in RAW264.7 cells in an opposite fashion.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Glycative Stress Research	6. 最初と最後の頁 135-141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24659/gsr.6.3_135	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishizaki K, Yagi M, Sakiyama C, Yonei Y.	4. 巻 7(1)
2. 論文標題 Influence on the oxidized protein hydrolase (OPH) activity of herbal tea extract.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Glycative Stress Research	6. 最初と最後の頁 22-28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.24659/gsr.7.1_22	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件(うち招待講演 2件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 YONEI Y
2. 発表標題 Glycative stress and sleep quality.
3. 学会等名 AMWC 2019 17th Aesthetic & Anti-Aging Medicine World Congress, Monte-Carlo, Monaco (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米井嘉一
2. 発表標題 糖化ストレスと睡眠の質
3. 学会等名 第16回糖化ストレス研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 米井嘉一
2. 発表標題 糖化ストレスと戦う時代 : 老化と生活習慣を考える
3. 学会等名 第69回 日本家政学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 米井嘉一
2. 発表標題 SIP 次世代農林水産業創造技術 『次世代機能性農林水産物・食品の開発』 抗糖化機能性食品の確立 : 平成28年度成果報告
3. 学会等名 第12回 糖化ストレス研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 米井嘉一
2. 発表標題 未病と糖化ストレス対策
3. 学会等名 24回日本未病システム学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 米井嘉一
2. 発表標題 糖化ストレスと闘う時代：仲間を増やす！自治体を巻き込む！
3. 学会等名 第14回 糖化ストレス研究会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考