

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 -

竹 内 正 義

要 約：糖尿病患者数の増加に伴い，大小血管合併症をかかえた患者も激増の一途を辿っている。その主因として，近年，蛋白質の終末糖化産物 (advanced glycation end-products, AGEs) の関与が注目されてきている。なかでも，糖代謝中間体のグリセルアルデヒドに由来するAGEs (glyceraldehyde-derived AGEs, Glycer-AGEs：後に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，癌，非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 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。したがって，生体内におけるTAGE生成抑制のほか，TAGE-RAGE系の抑制，RAGE以降の細胞内情報伝達系抑制などの概念が生活習慣病の発症・進展の予防および治療を考える上での新たな戦略になり得るであろう。

キーワード：終末糖化産物 (AGEs)，毒性AGEs (toxic AGEs)，AGEs受容体 (RAGE)，TAGE-RAGE系，生活習慣病

1. はじめに

生活習慣病の代表である糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 患者数は，現在，予備軍まで含めて推定2,210万人いることが明らかにされている。これに伴い，大小血管合併症をかかえたDM患者数も激増の一途を辿っている。DM腎症は1998年以降，新規透析導入の原因疾患の第1位となっており，今や透析導入患者の44.5%を占め，年間17,000人に達している。最近，保存期腎不全患者や透析患者の心血管疾患 (cardiovascular disease, CVD) の発症率や死亡率が高いことが明らかにされ，「心腎連関」なる概念が注目を集めている。また，DM網膜症によっても年間約3,000人の方々が中途失明に至っているし，DM患者の約40-50%が心筋梗塞や脳血管障害などの心血管イベントが原因で死亡したり，寝たきりや認知症に陥っているのが現状である。この結果，DMでは健康で若々しく余生を過ごせる寿命，「健康寿命」が男女とも約15年短いこともわかってきた。これらの事実より，DMにおいては，血管合併症，特に動脈硬化症の進展を防ぎ，心血管イベントの発症を予防していくことが治療戦略上最も重要な課題となってきた。

一方，近年，加齢やDM状態で促進的に生成される終末糖化

産物 (advanced glycation end-products, AGEs) ，特に糖代謝中間体に由来するグリセルアルデヒド由来AGEs (glyceraldehyde-derived AGEs (Glycer-AGEsと略) ，後にtoxic AGEs (TAGE) と命名) がAGEs受容体 (receptor for AGEs, RAGE) を介し，血管内皮機能障害に強く関わっていることが明らかになってきた。TAGE-RAGE系の長期間にわたる持続的な活性化が，高血糖の記憶 (metabolic memory) を形作っていることが予想される。最近では，高血圧症，認知症，癌，非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) ，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。

本総説では，AGEsの概念および生体内AGEs生成経路を概説するとともに，生活習慣病の発症・進展におけるTAGE-RAGE系の関与とその阻止について言及していく。

2. 蛋白質糖化反応の概要

1912年にフランス人の生化学者Maillardによって食品の加熱調理・貯蔵に伴う褐変反応が発見されてからちょうど100年が経つが，生体における蛋白質糖化反応研究の歴史は意外と浅い。現在，血糖コントロール状態の指標として使用されているヘモグロビンA1c (hemoglobin A1c, HbA1c) は，1970年代に発見され，1980年代にはAGEsの特徴の一つである蛍光性を示す物質が脳硬膜に蓄積していることが報告され，生体での蛋白質糖化

反応が注目されるに至った(1-3)。

蛋白質糖化反応は、グルコースやフルクトースなどの還元糖と蛋白質の遊離のアミノ基が非酵素的に反応して Schiff 塩基からアマトリ化合物を生成する前期段階と、その後緩徐にはあるが不可逆的な脱水や縮合、酸化、還元などの反応を繰り返し、特有の蛍光を持つ黄褐色の複雑な物質 AGEs を生成するに至る後期段階に分けて考えられている (この一連の反応は、発見者の名にちなんで Maillard 反応とも呼ばれている)(1-4)。現在、DM の臨床マーカーとして使用されている HbA1c やグリコアルブミンは、Maillard 反応前期段階の生成物の一つであり、DM 状態では種々の蛋白質が糖化を受けることが報告されている。一方、食品分野において、後期段階の最終反応産物は“メラノイジン”と呼ばれ、食品の色、味、香りなどに関与していることが知られており、最近では食品中にも生体内で検出される AGEs 構造が含まれていることが明らかになってきた (図1)。

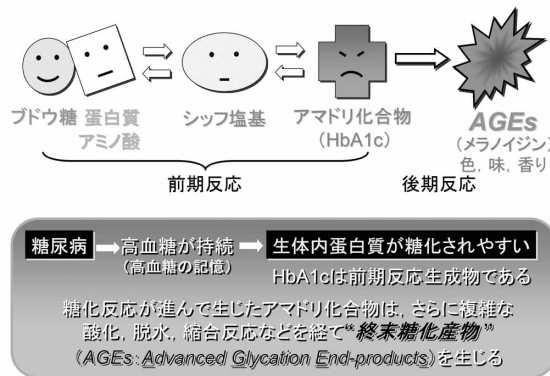


図1. 蛋白質糖化反応 (別名: Maillard 反応) の概要
HbA1c: ヘモグロビンA1c, AGEs: Advanced glycation end-products (終末糖化産物)

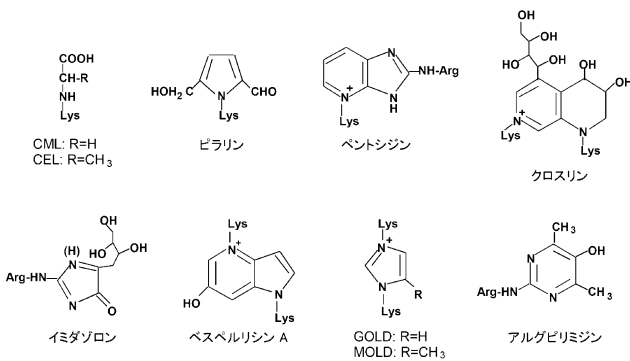


図2. これまでに解明された主な AGEs 構造
CML: N-カルボキシメチルリジン, CEL: N-カルボキシアチルリジン, GOLD: グリオキサール由来リジンダイマー, MOLD: メチルグリオキサール由来リジンダイマー, Lys: リジン残基, Arg: アルギニン残基, R: アルキル基

3. AGEs の概念

古典的な概念によれば、AGEs は特有の蛍光、褐色化、分子内および分子間での架橋形成といった物理化学的な性状と、マクロファージなどの細胞膜レセプターに認識されるという生物学的な特徴を有するものとされる(1-4)。ただし、これまでの AGEs 研究の経緯から、このような特徴を有さないカルボキシメチルリジン (N-(carboxymethyl)lysine, CML) やカルボキシアチルリジン (N-(carboxyethyl)lysine, CEL)、ピラリン (pyrrole) なども AGEs の概念の中に含めて考えられているのが現状である。これまでに構造が明らかにされた AGEs として、上記3種の他、ペントシジン (pentosidine)、クロスリン (crosslines)、イミダゾロン (imidazolones) などが知られている(1-4) (図2)。しかし、これらは生体内に存在する全 AGEs の数% にすぎず、どのような AGEs 構造が DM 血管合併症などの各種疾患の発症・進展に直接関わっているのかは未だ明らかではない。

4. AGEs の定量

AGEs 研究の歴史から、AGEs の定量は構造が明らかになっていくにつれて CML の定量で代替されてきた。CML は 1986 年に Ahmed らにより、グルコースとリジンの反応で生成するアマトリ化合物の糖部分が遷移金属の存在下で酸化的に解裂してエリスロン酸とともに生成される物質として同定された(4)。In vitro における CML の主な生成経路は、Schiff 塩基あるいはアマトリ化合物の酸化的解裂によると考えられている。また、CML はグリオキサール (glyoxal, GO) およびグリコールアルデヒドを前駆体とする分子内 Canizzaro 反応やグルコースの自動酸化によっても生成することが知られている (図3)(4,5)。蛋白質中の CML は酸加水分解に安定なこともあり、high-performance liquid chromatography (HPLC) 法や gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) 法で定量することが可能である。

一方、enzyme immunoassay (EIA) 法による AGEs の定量は、グルコースと蛋白質との最終反応産物を免疫して作製した抗 AGEs-keyhole limpet hemocyanin (KLH) 抗体や抗 AGEs-bovine serum albumin (BSA) 抗体を用いた競合 enzyme-linked

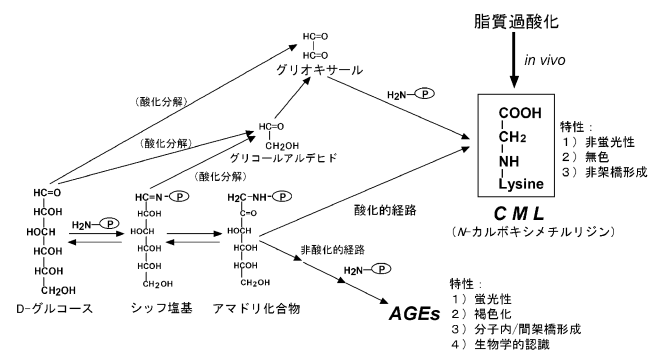


図3. In vitro および in vivo における CML 生成経路の概略
H₂N-P: 蛋白質中の遊離のアミノ基, AGEs: 終末糖化産物

TAGEの多様な疾患への関与とその阻止

immunosorbent assay (ELISA) 法に始まるが、後にこれらの抗体はCML構造をエピトープとする抗CML抗体であることが判明した(4,5)。また、AGEsの名付け親であるCeramiらが作製した抗AGEs-ribonuclease A (RNase A) 抗体も後にCML-BSAを認識することが明らかになった。このように、CML構造はいくつかの抗AGEs抗体で認識されたこともあり、AGEsの主要なエピトープであると考えられるようになった。しかし、先にも述べたようにCMLは蛍光、褐色化、架橋形成といったAGEsの主要な特徴を有さず、また、近年、生体内におけるCMLの主な供給源が脂質の過酸化によるものであり、糖化反応によるものではないことが報告された(4,5)。実際、ヒトの皮膚コラーゲンの解析においてCML値は加齢とともに上昇するが、DMと非DM患者間では差異を認めていない。また、血清アルブミンに含まれるCML量は健康者とDM患者では差はなく、腎不全患者で高値を示していた(4)。このような現状から、今日ではCMLは糖化ではなく、むしろ酸化ストレスマーカーと考えられるようになってきているが、CML構造を特異的に認識する抗体が抗AGEs抗体として市販されていることもあり、多くの研究者に誤解を招く原因となっている。また、他にも各種AGEsに対する抗体や測定キットが市販されているが、抗体の特異性が厳密に検討されていないなど市販品にはまだ問題点も多く見受けられ、結果の解釈には十分な注意が必要である。

このような理由から、筆者らは自ら作製した特異性の明らかな各種AGEsおよび特異抗体を用いて(特に、強力な細胞障害作用を持つGlycer-AGEsに焦点を当てて)生活習慣病の発症・進展との関連について検討してきた。

5. 生体内AGEs生成経路

筆者らは生体内における複雑なAGEs生成経路を解明するため、各種抗AGEs抗体を作製した。グルコース、フルクトース、ヒドロキシアルデヒド(グリセルアルデヒド、グリコールアルデヒド)およびジカルボニル化合物(メチルグリオキサル(MGO), GO, 3-デオキシグルコソン(3-DG))とウサギ血清アルブミンを無菌的条件下で一定期間反応させ、7種類のAGEs(グルコース由来AGEsをGlc-AGEs, フルクトース由来AGEsをFru-AGEs, グリセルアルデヒド由来AGEsをGlycer-AGEs, グリコールアルデヒド由来AGEsをGlycol-AGEs, MGO由来AGEsをMGO-AGEs, GO由来AGEsをGO-AGEs, 3-DG由来AGEsを3-DG-AGEsと命名)を作製した。これらのAGEsをウサギに免疫して各種抗血清を作製した後、7種類のAGEsアフィニティークラムおよびCML/CELアフィニティークラムを用いて各種抗AGEs抗体を分離、精製した。得られた7種類の抗AGEs抗体は、既存構造のCMLやCEL, pyrrolidine, pentosidine, imidazolonesなどは認識せず、おのおののAGEsを特異的に認識した(6-9)。これらの抗AGEs抗体を用いて生体内でのAGEsの局在を調べたところ、DM透析患者血中でおのおののAGEsが検出されたほか(6-9)、1型および2型DM患者の血中(10-12)および眼房水

中(13)、DMモデル動物の血中(14,15)、さらには筋萎縮性側索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)患者の脊髄前角(16)やフォークト・小柳・原田症候群(Vogt-Koyanagi-Harada disease)患者の血中(17)などにもAGEsが局在していることが明らかになってきた。

これまでAGEsは、生体内において主にグルコースと蛋白質から生成されると考えられてきたが、グルコースの代謝中間体や分解物、Maillard反応中間体、フルクトースなどからも生成され(図4)、しかもGlc-AGEsやFru-AGEsに比べて他のAGEsがはるかに早く生成(蛋白質がBSAの場合には、Glycer-AGEs, Glycol-AGEs > MGO-AGEs, GO-AGEs >> 3-DG-AGEs >>> Glc-AGEs, Fru-AGEs)することが明らかになってきている。

6. AGEs受容体

AGEsを認識する細胞表面受容体としてRAGE, マクロファージタイプI・IIクラスAスカベンジャー受容体(macrophage type-I and type-II class A scavenger receptors, MSR-A), クラスBスカベンジャー受容体ファミリーに属するCD36・SR-BI, lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 (LOX-1), galectin-3複合体, fasciclin EGF-like, laminin-type EGF-like, and link domain-containing scavenger receptor-1/2 (FEEL1/2), メガリン(megalin), toll-like receptor-4 (TLR-4)などが知られている(18-21)。なかでもパターン認識受容体(pattern recognition receptors, PRRs)であるRAGEやTLR-4は細胞内シグナル伝達を引きおこし、一方、他の受容体はAGEsを細胞内に取り込んで分解処理する働きを有すると考えられている。

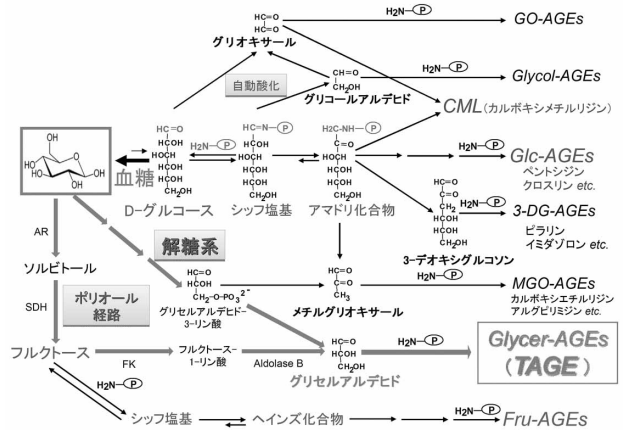


図4. 生体内におけるAGEs生成経路の総括

Glc-AGEs: グルコース由来AGEs, Fru-AGEs: フルクトース由来AGEs, Glycer-AGEs: グリセルアルデヒド由来AGEs, Glycol-AGEs: グリコールアルデヒド由来AGEs, MGO-AGEs: メチルグリオキサル由来AGEs, GO-AGEs: グリオキサル由来AGEs, 3-DG-AGEs: 3-デオキシグルコソン由来AGEs, CML: N-カルボキシメチルリジン, AR: アルドース還元酵素, SDH: ソルビトール脱水素酵素, FK: フルクトキナーゼ, H₂N-P: 蛋白質中の遊離のアミノ基

AGEsとの関連がよく研究されているRAGEは、AGEsを認識する細胞表面受容体として、1992年ウシの肺より分離同定された。ヒトRAGE蛋白質は分子量55kDaの1型膜蛋白質で、免疫グロブリンスーパーファミリーに属し、細胞外領域に3つの免疫グロブリン様ドメイン（1つの可変領域と2つの定常領域）をもっている。AGEsはRAGEのN末端にある可変領域で認識された後、活性酸素種（reactive oxygen species, ROS）の生成、mitogen activated protein (MAP) キナーゼの活性化、転写因子 nuclear factor- κ B (NF- κ B) の核への移行などを経て、下流のエフェクター遺伝子群が活性化され、さまざまな細胞応答が引き起こされることが知られている(22-24)。RAGE蛋白質は血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、血管周皮細胞、腎メサンギウム細胞、足細胞 (podocyte)、神経細胞やグリア細胞、肺胞および気管上皮細胞、マクロファージ、Tリンパ球、脂肪細胞など広範囲な組織でその発現が確認されているが(18-21)、肺を除いてその発現レベルは非常に低い。しかし、病態が悪化するにつれてその発現レベルが亢進する(22-24)。たとえば、AGEsが蓄積している動脈硬化巣のような病変部位で発現が増強していると考えられている。

最近、RAGEはマルチリガンド受容体として認識され、AGEs以外のリガンドとして、酸化ストレスから生じるadvanced oxidation protein products (AOPP)、アルツハイマー病の脳に蓄積するアミロイド (A β) 蛋白質、家族性アミロイドポリニューロパチーで蓄積するトランスサイレチン (transthyretin)、癌転移や炎症との関連が指摘されているアンフォテリン (amphoterin/high mobility group box-1 protein, HMGB-1)、免疫系細胞から分泌される炎症メディエーターのカルグラニューリン (calgranulin/S100)、白血球の細胞表面にあるMac-1、補体C3a、熱ショック蛋白質 (heat shock proteins, HSPs)、アポトーシス細胞上のフォスファチジルセリンなどの内因性あるいは外因性リガンドが報告され、RAGEがDM以外のさまざまな病態にも関与している可能性が指摘されている(25,26)。

近年、RAGEの構造には多様性があり、その多様性によって病態に与える影響も複雑であることが分かってきた。Yonekuraらにより、RAGEには1つの遺伝子から選択的スプライシングによって作り出される複数の分子種があり、さらに翻訳された蛋白質となった後でも酵素による切断分解で修飾を受けることが明らかにされてきている(27)。全長膜結合型RAGEがマトリックスメタロプロテアーゼ-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) やa disintegrin and metalloproteinase-10 (ADAM-10) などの酵素によって細胞膜上で切断され、可溶性RAGE (soluble form of RAGE, sRAGE) を形成することが分かってきた。一方、選択的スプライシングによって生じる全長膜結合型RAGEのC端側の膜貫通領域を欠き分泌型となる新たなRAGEは内在性分泌型RAGE (endogenous secretory RAGE, esRAGE) と命名されている(27)。

7. Glycer-AGEs-RAGE系の関与

1) DM血管合併症との関連

筆者らは生体内に存在する各種AGEsの中でも、特にGlycer-AGEsがRAGEを介しDM網膜症や腎症といったDM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た(28-30)。実際に生物作用の強力なGlycer-AGEsは、表面プラズモン共鳴法や標識リガンドを用いたスクッチャード分析においてRAGEとの強い結合 ($K_d = 230 \sim 360$ nM) が証明されている(27,31)。

(1) DM網膜症

DM網膜症の場合となる細小血管は、血管の内側を覆う内皮細胞とそれを取り囲む周皮細胞から構成されているが、網膜症の初期においては、網膜周皮細胞の選択的消失 (pericyte loss) と血管透過性の亢進、細小血管瘤の形成が認められる。また、網膜周皮細胞は内皮細胞の増殖を抑制するのみならず、プロスタグランジン I_2 (prostaglandin I_2 , PGI $_2$) 産生能を高め、過酸化脂質による内皮細胞障害に対しても保護的に作用して細小血管の恒常性維持に働いていることが示されている。さらに、pericyte lossを引き起こした動物モデルでは、虚血病変や病的血管新生が進行しやすいことも報告されている(32)。したがって、DM網膜症でひとたびpericyte lossが生じると、血管新生、血栓傾向、内皮細胞障害が引き起こされ、初期網膜症が進展・増悪していくことが推定される。

筆者らは、Glycer-AGEsがRAGEを介して認識され、周皮細胞に酸化ストレスを惹起させてアポトーシスを誘導することを明らかにした(33,34)。Glycer-AGEsはBcl-2の発現を抑えることで周皮細胞のアポトーシスを引き起こすことも示されている。さらに、Glycer-AGEsによる周皮細胞障害は、PGI $_2$ アナログであるberaprost/NaなどのサイクリックAMP (cAMP) アゴニストによっても、ほぼ完全に抑制されることが見いだされた(35)。cAMPアゴニストは、好中球の膜型NADPHオキシダーゼの活性化を阻害して、酸化ストレスの産生を抑制することが知られている。Glycer-AGEsは、NADPHオキシダーゼを介して細胞内酸化ストレスを産生させ、cAMPアゴニストはこの分子の活性を抑えることでGlycer-AGEs-RAGEのシグナル経路に対して抑制的に作用していることが考えられる。

DM状態では、AGEs生成が促進されるほかポリオール経路も亢進し、細胞内にソルビトールやフルクトースが蓄積することが知られている。筆者らは、高血糖下で観察される網膜周皮細胞の糖毒性が、ソルビトールからフルクトースへの変換を触媒するソルビトール脱水素酵素 (sorbitol dehydrogenase, SDH) を過剰に発現した細胞系で増悪することを明らかにした(36)。ソルビトールからフルクトースへの変換に伴う細胞内レドックス変化や過剰生成したフルクトースによる細胞内蛋白質のAGEs化が、pericyte lossやVEGFの発現誘導を引き起こしていることが考えられていたが、最近、筆者らは、SDHを過剰発現させた周皮細胞内において実際にFru-AGEsが生成し、細胞内フルク

TAGEの多様な疾患への関与とその阻止

トース生成量に比例して増加することを明らかにした(9)。一方、ポリオール経路を阻害するアルドース還元酵素 (aldose reductase, AR) 阻害薬の投与で、細胞内ソルビトール/フルクトース/Fru-AGEs生成量が減少し、pericyte lossとともに血管透過性が抑制されることも明らかになっている(9,36)。つい最近、筆者らは、細胞内フルクトースの過剰産生は、Fru-AGEsの生成だけではなく、フルクトース代謝系を介したグリセルアルデヒドの産生増加からGlycer-AGEsの生成をも促進させることを見いだした(論文投稿中)。

加えて筆者らは、アンジオテンシンII (angiotensin II, Ang II) や飽和脂肪酸であるパルミチン酸が、血管内皮および周皮細胞におけるRAGEの遺伝子発現を上昇させ、Glycer-AGEs作用を増強することを見いだした(37)。コントロール不良のDM状態では、局所的にレニン・アンジオテンシン (rennin-angiotensin, RA) 系の活性化に加えて血中遊離脂肪酸、とくに飽和脂肪酸が増加しており、これらがGlycer-AGEsと相まってDM血管合併症の発症・進展に拍車をかける、という機序が考えられる。Ang IIタイプ1受容体拮抗薬 (Ang II type 1 receptor blocker, ARB) であるtelmisartanの投与で周皮細胞や内皮細胞におけるRAGE発現およびそれに続く細胞内酸化ストレスの産生亢進が抑えられ、Glycer-AGEs作用が軽減される事実や、Ang IIで増加した内皮細胞のRAGE発現およびsRAGE分泌促進がtelmisartanによって完全に抑制されることは、DM網膜症の治療を考える上で注目される(38-42)。また、olmesartanにも内皮細胞におけるGlycer-AGEs-RAGE系を介した酸化ストレスの産生亢進を抑えて血管障害を抑制する作用があることが示されている(43,44)。

色素上皮由来因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF) は、網膜色素上皮細胞から単離、精製された分子量50 kDaのセリンプロテアーゼに属する分泌性蛋白質で、Glycer-AGEs-RAGE系や高血糖による細胞内酸化ストレスの産生を抑え、周皮細胞のアポトーシスを抑制することが示されている(34)。最近の筆者らの検討により、PEDFはグルタチオンペルオキシダーゼの発現誘導を介して抗酸化的に作用し、Bcl-2/Bax比を上昇させてカスパーゼ3の活性を抑制し、アポトーシスを抑制することが明らかにされている(34,45)。初期DM網膜症においては、血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) が細胞間接着分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) や血管細胞接着分子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1) などの発現を亢進させたり、網膜への白血球の捕捉 (leukostasis) を促して微小循環障害を促進させたりすることが報告されている(32)。最近、筆者らはPEDFがGlycer-AGEsによる血管内皮細胞内酸化ストレスの産生亢進と、それに引き続く転写因子NF- κ Bの活性化を抑え、VEGFやICAM-1遺伝子の発現亢進を抑制することを見いだした(46,47)。また、PEDFは抗ICAM-1抗体と同様に、Glycer-AGEsによる内皮細胞への白血球の接着亢進とGlycer-AGEs投与ラット網膜におけるleukostasisを抑制した(48)。さらに、ストレプトゾチン

(streptozotocin, STZ) 惹起性DMラットにおいては、DM発症1週間後に網膜におけるRAGEとICAM-1遺伝子の発現亢進と白血球の細小血管への接着の促進が認められるが、PEDFとAGEs形成阻害薬であるpyridoxamineの投与はともにこれらを抑制した(49)。このことより、PEDFはGlycer-AGEs-RAGE系による細胞内酸化ストレスの産生を抑制し、NF- κ BによるICAM-1遺伝子の発現誘導を抑えることで、初期DM網膜症に特徴的な網膜細小血管への白血球の接着亢進を抑制し、微小循環障害を阻止でき得ることが示唆される。加えてGlycer-AGEs投与ラットでは、網膜において酸化ストレスの産生亢進がおこり、VEGFの発現が誘導され、血管透過性の亢進も引き起こされる(49)。PEDFはGlycer-AGEsによるNADPHオキシダーゼの構成成分であるp22^{phox}とgp91^{phox}の遺伝子発現の誘導と、Rac-1の膜へのトランスロケーションを介した酸化ストレスの産生と、それに引きつづくNF- κ BによるVEGFの誘導を抑えることで、血管透過性の亢進と病的血管新生を抑制する(49)。このことよりPEDFは、Glycer-AGEs-RAGE-ROS産生系を阻害し、VEGFの発現を抑えることで、ICAM-1遺伝子の誘導を弱めて初期DM網膜症の血管障害を抑制しうることが考えられる。加えて、筆者らは、網膜症の進展・増悪因子であるレプチンによる周皮細胞および内皮細胞におけるVEGFの発現亢進が、PEDFの投与により抑制されることも明らかにしている(50,51)。

グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド (glucose-dependent insulinotropic polypeptide, GIP) およびグルカゴン様ペプチド (glucagon-like peptide-1, GLP-1) は、食事によりそれぞれ小腸上部のK細胞ならびに下部のL細胞からそれぞれ放出されるインスリンの分泌を高めるインクレチンであり、新しいDM治療薬として注目を集めている。最近、筆者らは、GIPおよびGLP-1が血管内皮細胞におけるRAGEの発現を抑制することで、Glycer-AGEsによる酸化ストレスの産生やVCAM-1, PAI-1などの発現を抑えることを見いだした(52,53)。また、Glycer-AGEs-RAGE系に対するGLP-1の抑制作用はdipeptidyl-peptidase 4 (DPP-4) 阻害薬のsitagliptinの同時投与により増強されることも示されている(54)。

DM患者硝子体中のGlycer-AGEsとVEGFの濃度は、DM網膜症の進展とともに有意に高くなっており、両因子とも硝子体液中の抗酸化活性と逆相関する(55)。一方、患者硝子体液中のPEDF濃度は、抗酸化活性と正相関する(56)。さらに、Glycer-AGEsとVEGFとの間にみられる正相関は、光凝固が十分な症例では認められる一方、光凝固が不十分な症例では認められない(57)。これらの事実は、虚血の所見が明らかでない単純性網膜症の初期には、Glycer-AGEsがVEGFの発現、誘導の主たる刺激因子であることを示唆している。

VEGFは、血管透過性の亢進や血管新生など、網膜症のさまざまな病態のステップにかかわっているため、初期DM網膜症の段階でGlycer-AGEs-RAGE-ROS系による情報伝達を抑えることができれば、それに引きつづく網膜症の進展・増悪を抑える

ことができるかもしれない。

(2) DM腎症

Glycer-AGEsは、腎臓における周皮細胞のcounterpartであるメサンギウム細胞にも作用し、周皮細胞の場合と同様にアポトーシスを誘導する(58)。メサンギウム細胞には隣接する糸球体内皮細胞のPGI₂産生能を保持するはたらきがあることから、Glycer-AGEsによるメサンギウム細胞のアポトーシスは、血栓傾向をもたらすことが予想される。また、糸球体を構成する細胞外基質のGlycer-AGEs化は、細胞外基質蛋白質の生理的な結合や細胞外基質-細胞間の相互作用を障害し、糸球体の恒常性を破綻させることが考えられる。さらにGlycer-AGEsは、糸球体を構成する血管内皮細胞やメサンギウム細胞、近位尿細管細胞、podocyte、マクロファージ上のRAGEに結合し、さまざまなサイトカインや増殖因子の産生を促進させる。加えて筆者らは、RAGEトランスジェニックマウスでDM腎症が進展・増悪すること、RAGE欠損マウスでは炎症反応が抑えられ、podocyteにおけるVEGFの発現も低下してDM腎症の進展が抑えられることを明らかにしている(59-62)。このように、Glycer-AGEs-RAGE系は、糸球体過剰濾過、微量アルブミン尿、腎メサンギウム領域の拡大、糸球体硬化症、間質尿細管の線維化といったすべての病態の発症プロセスにかかわることが予想されている。

筆者らは最近、腎メサンギウム細胞や近位尿細管細胞において、Glycer-AGEs-RAGE系とRA系とがクロストークし、腎症を進展・増悪させていくことを見いだした(30,63)。実際、Glycer-AGEsによるNADPHオキシダーゼ由来の酸化ストレスがRA系を活性化させて、腎メサンギウム細胞における形質転換増殖因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)-Smad系を刺激し、フィブロネクチンやp27蛋白質の産生を誘導し、メサンギウム領域の拡大や糸球体硬化症を惹起しうることが明らかにされてきている(64,65)。また、筆者らは、Glycer-AGEs-RAGE系による酸化ストレスの産生亢進が、腎近位尿細管細胞のアポトーシスや単球走化活性因子-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)、VCAM-1、TGF- β 、プラスミノゲン活性化因子抑制物質-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)などの誘導を引きおこし、尿細管間質の委縮性病変や炎症、線維化にもかかわることや、ARBなどの薬剤がRAGEの発現を抑えることでGlycer-AGEsによる尿細管障害を抑えることを見いだした(66-71)。これらの事実は、RA系阻害薬の降圧に依存しない臓器保護作用(DM腎症進展抑制作用)の一部に、Glycer-AGEs-RAGE系の抑制がかかわっていることを示唆している。

代表的なAGEs形成阻害剤であるaminoguanidine (AG)は、多くの動物実験でDM血管合併症の発症・進展が抑制できることが報告されているが(30,72)、臨床試験では安全面での問題点が多く、未だ治療薬としての承認を受けるには至っていない。

また、わが国で開発されたAGの約10倍のAGEs形成阻害活性を持つチアゾリジン誘導体のOPB-9195は、自然発症2型DMモデルOtsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLETF)ラットにおいて蛋白尿の有意な減少と糸球体硬化像の改善が認められることが報告されているが(73)、こちらも副作用の問題で開発が中止されている。筆者らは、DMマウスやOLETFラットにAG・pyridoxal付加体や抗血小板薬のdilatep/HClを投与することにより、DM腎症の進展が抑制されることを報告しているが(74,75)、広義のAGEs形成阻害剤は副作用も強く、未だ臨床応用の段階に至っていないのが現状である。したがって、今後は直接DM血管合併症の発症・進展に強く関与しているGlycer-AGEs特異的な阻害薬の開発に的を絞っていくのが得策と考えられる。筆者らは、最近、周皮細胞培養系においてGlycer-AGEs特異的DNA aptamerがGlycer-AGEsの細胞障害を完全にブロックすることを明らかにした(76)。さらに、筆者らは、自然発症2型DMモデルKKAYマウス腹腔内にGlycer-AGEs-DNA aptamerを持続的に投与することにより、DM腎症の発症・進展が抑えられることを明らかにしている(論文投稿準備中)。

DMや高血糖下では、メサンギウム細胞、尿細管細胞などの腎構成細胞や糸球体、尿細管間質領域でPEDFの発現が低下すること、1型DMモデル動物にPEDFを強制発現させることで、腎臓におけるTGF- β やフィブロネクチンレベルが低下し、アルブミン尿が軽減され腎の線維化が抑制されることが報告されている(77)。最近、筆者らは、Glycer-AGEs-RAGE-ROS系によりメサンギウム細胞におけるPEDFの産生が抑えられ、炎症や線維化反応が惹起される一方で、PEDFの投与によってRAGEの発現が抑制され、以降の情報伝達が抑えられることを明らかにした(78)。さらに筆者らは、STZ惹起性DMラットにPEDFを投与することで腎間質のGlycer-AGEs-RAGE系が遮断され、DM腎症における炎症や線維化反応が抑制されることを見いだしている(79)。PEDFは、Ang IIによるNADPHオキシダーゼの活性化を抑えることから、上記で述べたPEDFの腎保護効果に、Glycer-AGEs-RAGE系とRA系とのクロストークを断ち切る作用がかかわっているのかもしれない。

カルシウム拮抗薬のひとつであるnifedipineには、LDLの酸化や糖化(AGEs化)を抑える働きがあることが知られている。筆者らは最近、腎メサンギウム細胞や近位尿細管細胞において、nifedipineがペルオキシソーム増感剤応答性受容体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)の転写活性を上昇させることにより、Glycer-AGEsによるRAGEの発現、誘導を抑えることで、Glycer-AGEsによるメサンギウム細胞障害や間質の線維化を抑制できることを見いだした(80,81)。Nifedipineは、多面的作用を介して、DM血管障害の発症・進展に対して抑制的に作用するのかもしれない。

GLP-1にはインクレチン作用のほか、胃排泄速度低下作用、グルカゴン分泌抑制作用、食欲抑制や抗肥満作用などがある

TAGEの多様な疾患への関与とその阻止

ことも報告されている。最近、筆者らは、GLP-1が腎構成細胞におけるRAGEの発現を抑制することで、Glycer-AGEsによる酸化ストレスの産生や接着分子の発現を抑えることを見いだした(82)。GLP-1は受容体を介して認識され、cAMPレベルを高めることでRAGEの発現を抑制することが示されている。

(3) DM大血管症

Glycer-AGEsは、血管内皮細胞膜上に存在する受容体RAGEによって認識された後、NADPHオキシダーゼを活性化させ、細胞内酸化ストレスの産生を促し、NF- κ Bの活性化を介してさまざまなサイトカインや増殖因子の分泌、接着因子の発現亢進を誘導する(83,84)。また、Glycer-AGEs-RAGE系によってもたらされる酸化ストレスの産生亢進は一酸化窒素(nitric oxide, NO)などを不活性化させ、炎症反応や血栓傾向をさらに憎悪させて動脈硬化症の進展にかかわると考えられる(85,86)。さらに、Glycer-AGEsは内皮細胞におけるRAGEおよびMCP-1の発現を増加させ血管障害を促進するが、NOの不活性化を抑えるホスホジエステラーゼ-5(phosphodiesterase-5, PDE-5)阻害薬のvardenafilにより血管障害が完全に抑制されることが明らかになっている(87)。加えて、Glycer-AGEsは、内皮細胞におけるVEGFのオートクライン産生を促進させて、病的血管新生を誘導する(30,32)。近年、VEGFが動脈硬化巣における粥腫内の増大に関与することが報告された。また、粥腫内での血管新生を抑えることで動脈硬化症の進展が抑えられることも明らかになってきている。これらの事実は、Glycer-AGEs-RAGE系がVEGFの産生亢進を介して粥腫内での血管新生を促し、プラーク内の炎症を憎悪させ、粥腫の増大や粥腫内の出血などにも関与する可能性を示唆している。加えてGlycer-AGEs-RAGE系は、内皮細胞におけるPGI₂の産生を抑える一方、PAI-1の*de novo*合成を促進し、線溶活性を阻害して血栓の安定性にも関与する(88)。Glycer-AGEsは血小板の凝集を高めるとともに、組織因子の産生亢進を介して凝固系のカスケードを促進させることも知られている。

AGEsにより酸化、糖化変性を受けたLDLは、スカベンジャー受容体などによって認識され、マクロファージの泡沫化を促進する。泡沫化したマクロファージからはさまざまなケモカインや増殖因子が分泌され、平滑筋細胞の遊走・増殖やさらなる単球の内皮下への侵入を促進させる。Glycer-AGEsは、血管壁細胞に作用して骨芽細胞への分化を促し、動脈硬化における石灰化病変の発症にもかかわることが想定されている(32,89)。スタチン製剤は、コレステロール合成のメバロン酸経路の中間産物であるファルネシルピロリン酸の合成を阻害し、NADPHオキシダーゼのコンポーネントのひとつであるRac-1のプレニル化(ゲラニルゲラニル化)を阻害することでGlycer-AGEs-RAGE系によるNADPHオキシダーゼの活性化を抑え、RAGE以降の情報伝達を抑制する(83,84,90)。さらに、ストロングスタチンのひとつであるatorvastatinには、抗酸化活性を介したAGEs生

成抑制作用が見いだされており、これらGlycer-AGEs-RAGE系への阻害作用がASCOT-BPLA-extensionで観察されたatorvastatinのcarry over効果を説明できるのかもしれない。また、筆者らは、DPP-4阻害薬のvildagliptinにも1型および2型DMモデル動物においてGlycer-AGEs-RAGE系抑制作用を介した胸大動脈の血管障害をブロックする作用があることを明らかにしている(91)。さらに、minodronateなどの側鎖に窒素を含有したビスホスホネート製剤は、Rac-1のプレニル化をスタチン同様に抑制し、Glycer-AGEs-RAGE系による情報伝達系を遮断できる可能性が考えられている(92,93)。

大量のsRAGEを外因性に投与してGlycer-AGEs-RAGE系を抑制することで、DMモデル動物における動脈硬化症の発症・進展が抑えられることが報告されている(94)。また、RAGEノックアウトマウスでは、バルーン障害後のリモデリングが抑制されたり、アポEノックアウトマウスとのダブルノックアウトマウスではDMに伴う動脈硬化病変が軽減することも明らかにされてきた。さらにDM患者においては、血糖コントロールの悪化に比例して動脈硬化巣におけるRAGEの発現亢進が認められること、RAGE発現レベルとプラーク内の炎症細胞浸潤の程度やMMP活性が相関することなどが見いだされている(94)。

PEDFは、*in vitro*の系においてNADPHオキシダーゼの活性化を抑え抗酸化的にはたらくことで、サイトカインやAng IIなどによる内皮細胞障害を抑制する(95-97)。事実、PEDFは、内皮細胞における腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor-, TNF-)によるインターロイキン-6(interleukin-6, IL-6)の産生を抑えたり、Ang IIによるMCP-1産生を抑制したりして、内皮細胞障害保護的に作用する。さらにPEDFは、T細胞におけるIL-2のオートクライン産生を抑えることで、T細胞の増殖と血管内皮細胞への接着を抑制する(98)。また、PEDFには、Ang IIによる平滑筋細胞の増殖を抑制したり、Glycer-AGEsによるC反応性蛋白質(C-reactive protein, CRP)の産生を抑えたりする作用があることも見いだされてきている。加えてDMモデル動物において、PEDFはGlycer-AGEsによるCD40-CD40リガンドを介した血小板の活性化と凝集を抑え、PAI-1レベルを低下させることによって抗血栓的に作用する(99,100)。さらにPEDFを過剰に発現させることにより、バルーン傷害後の血管のリモデリングが抑制されることが見いだされた。PEDFは、NADPHオキシダーゼの活性化を抑え、抗酸化的に働くことで、血小板由来成長因子(platelet-derived growth factor-B, PDGF-B)によるG₁サイクリンの発現誘導を抑え、p27レベルを高めることで、平滑筋細胞の遊走と増殖を抑え、血管再狭窄を抑制する(101)。また最近、筆者らはPEDFの投与によってラット動脈血栓モデルにおける急性の血栓形成が抑制されることや、心筋梗塞後の心筋リモデリングが抑制でき、心機能が改善することも報告してきている(102,103)。

2) 高血圧症との関連

多くの疫学研究により高血圧がDM網膜症の発症，進展を規定する重要かつ独立した危険因子であることが報告されている。実際，高血圧を伴ったDM患者では，正常血圧者に比して約3～7倍増殖網膜症へと進展しやすく，また治療抵抗性の黄斑浮腫の合併も多いとされている。また，DM腎症の初期には，糸球体過剰濾過あるいは糸球体高血圧といった腎内血行動態の異常が存在する。糸球体内圧の上昇は，腎血管内皮細胞の透過性を亢進させ，アルブミン尿の一因になるとともに，メサンギウム細胞にも作用し，MAPキナーゼを活性化して細胞外基質の産生を増加させる。従って，このような腎内血行動態の異常を早期に是正できれば，DM腎症の発症・進展を予防できるかもしれない。また，最近の大規模臨床研究により，高血圧を伴ったDM患者にRA系の阻害薬を投与することで，DM血管合併症の発症・進展が抑えられることが明らかになった(30,32,104)。

筆者らは最近，Glycer-AGEs-RAGE系とRA系がクロストークすることで血管障害が進展することを見いだした(63)。Glycer-AGEs-RAGE系によるNADPHオキシダーゼ由来の酸化ストレスがRA系を活性化させて血管障害を引き起こすだけでなく，RA系の活性化がやはりNADPHオキシダーゼ由来の酸化ストレスを惹起させGlycer-AGEsの産生やRAGEの発現を増強して臓器障害を増悪させる(図5)。これらの事実は，ARBなどのRA系阻害薬による臓器保護作用の一部にGlycer-AGEs-RAGE系のブロックが関わっていることを示唆している。Glycer-AGEs-RAGE系とRA系とのクロストークの直接的な関与を示唆するエビデンスとして，筆者らは，正常ラットにGlycer-AGEsを投与して血中Glycer-AGEsレベルをDMレベルにまで上昇させると，i) 収縮期および拡張期血圧がともに上昇する事実や，ii) 蛋白尿の出現を認め，細胞外基質の増加と基底膜の肥厚，糸球体硬化症や尿細管障害などといったDM腎症類似の病変が観察されること，iii) ARBのひとつであるolmesartanの投与により血圧上昇が抑制され，かつこれらの腎病変が改善することを明らかにしている(105)。また，olmesartanはOLETFラットにおいてもDM腎症の進展を抑制することが示されている(106)。Olmesartanは抗酸化活性を介してAGEsの形成を抑えることが知られている。さらに筆者らは，選択的PPAR 活性化作用を有するtelmisartanの投与により，血管内皮細胞や腎メサンギウム細胞におけるRAGEの発現が抑制されてGlycer-AGEsによる情報伝達がブロックされる結果，動脈硬化関連遺伝子や酸化ストレス，炎症マーカーの発現が抑えられることを見いだした(40-42,63,65)。これらの事実は，選択的PPAR 活性化作用を有するtelmisartanが，Glycer-AGEs-RAGE系とRA系とのクロストークを断ち切る上で最も好ましいARBであることを示唆している。このように，DM状態ではGlycer-AGEs-RAGE系とRA系がクロストークすることで高血圧症が進展・増悪することが明らかになってきた。

Nifedipineには，血中過酸化脂質やisoprostaneなどの酸化ス

レスマーカーの上昇を抑え，高血圧患者における内皮機能異常を是正できることが報告されている(107)。筆者らは，i) nifedipineが，内皮細胞や腎メサンギウム細胞においてNADPHオキシダーゼに由来する酸化ストレスの産生を抑制することで，Glycer-AGEsによるアポトーシスやRAGE，VCAM-1，MCP-1，TNF-の過剰発現を抑えること，ii) これらの作用がnifedipineの構造に特有で，Caチャンネル阻害作用とは無関係なジヒドロピリジン骨格に起因すること，iii) nifedipineの抗酸化，抗Glycer-AGEs-RAGE系作用の一部にPPAR の活性化が関わることなどを見いだしてきた(108-113)。さらに，nifedipineは，TNF- の作用やGlycer-AGEs-RAGE系を抑えることから，DM患者における血管障害の発症，進展やインスリン抵抗性の増悪を予防していく上で最も好ましいCa拮抗薬のひとつかもしれない。

最近，筆者らは，Glycer-AGEsがRAGEを介してアルドステロン産生やMCP-1，TGF- β ，III型コラーゲンのmRNA発現を増加させて線維芽細胞の炎症や線維化を亢進することを明らかにした。これらの作用はnifedipineによって阻害されるが，そのメカニズムとしてアルドステロン - ミネラルコルチコイド受容体 (mineral corticoid receptor, MR) を介してGlycer-AGEs-RAGE系による炎症や線維化を抑制することを明らかにした(114)。さらに，STZ惹起性DMラットにおいてみられるGlycer-AGEsによって誘発されるPAI-1の発現亢進にもMRの関与が示唆されている(115)。加えて，筆者らは，他のCa拮抗薬であるazelnidipineにARBと同様にGlycer-AGEs投与ラットにおける血圧上昇抑制作用および糸球体硬化症や尿細管障害腎保護効果がみられることも報告している(116)。事実，筆者らは最近，非DMの慢性腎臓病 (chronic kidney disease, CKD) 患者においてazelnidipineを投与するとGlycer-AGEs-RAGE系の抑制により腎障害が低減されることを明らかにした(117)。

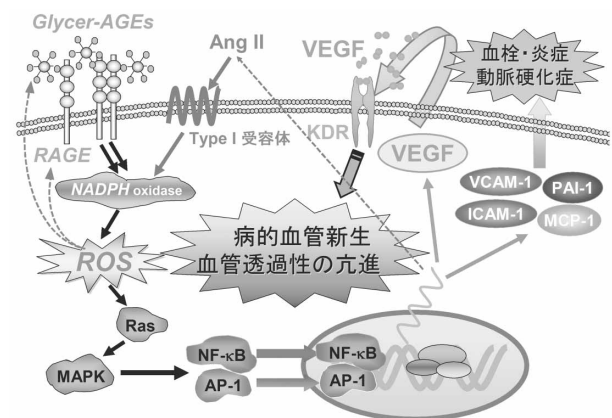


図5．Glycer-AGEs-RAGE系と細胞内情報伝達系
Glycer-AGEs: グリセルアルデヒド由来AGEs, RAGE: AGEs受容体, ROS: 活性酸素種, VEGF: 血管内皮増殖因子, KDR: VEGF受容体, VCAM-1: 血管細胞接着因子-1, ICAM-1: 細胞間接着因子-1, PAI-1: プラスミノゲン活性化因子抑制物質-1, MCP-1: 単球走化活性因子-1, Ang II: アンジオテンシンII

3) 認知症との関連

DMの代表的な合併症として、三大合併症のほか、CVD、下肢壊疽などが挙げられるが、これに加えて種々の中枢神経障害がある。最近、“糖尿病性認知症”が新たな中枢神経系合併症として注目されている。これまで、DMに伴う認知機能障害の発現には、脳血管性病変との関連から血管型認知症 (vascular dementia, VaD) が強調されてきたが、最近の基礎的、臨床的研究から、DMとアルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) との間にも密接な病因、病態学的な関連のあることが明らかとなってきた。これまでの大規模疫学研究では、DMによるAD発症の相対危険度は2倍前後といわれており、DMがあると認知機能障害が発症しやすい(20,21)。

近年、AGEsがDM血管合併症のみならず、ADにも関与することが示唆されており、AD患者脳病変部にCML, pyrraline, pentosidineが沈着していることや、RAGEがA 蛋白質による神経細胞毒性を媒介しうることなどが報告されている(118-120)。しかしながら、AGEsの直接的な神経細胞作用については、ほとんど明らかにされていない。

筆者らはADとの関連において、i) ラット胎仔大脳皮質神経細胞に各種AGEsを添加すると、Glycer-AGEsにおいて強力な神経細胞死がみられ、この神経細胞死は抗Glycer-AGEs特異抗体の添加により抑制されること、ii) DM透析患者血清から得たAGEs画分(図4に示す7種のAGEsおよびCMLなどを含有する画分)を神経細胞に添加すると、神経細胞死が再現され、この神経細胞障害は抗Glycer-AGEs特異抗体でのみ抑制されること、iii) AD患者脳病変部にGlycer-AGEsの蓄積およびRAGEの局在が認められることから、生体内で生成する各種AGEsのなかでもGlycer-AGEsがRAGEを介して神経細胞障害を引きおこし、ADの発症・進展に関与することを明らかにした(20,118,119,121-123)。

また、Koらはヒト神経芽細胞腫SH-SY5Y細胞にGlycer-AGEsを添加すると、i) 濃度依存的なROS産生の亢進と神経細胞死が見られること、ii) アミロイド前駆蛋白質 (amyloid precursor protein, APP) のmRNAの発現および蛋白質レベルが上昇すること、iii) APPの発現上昇に伴って培地中へ分泌されるA 1-42の濃度が増加すること、iv) Glycer-AGEsのマウス尾静脈内連続投与において脳内でのAPPの発現上昇が確認されることを明らかにしている(124)。さらにMiyajimaらは、アストロサイトにGlycer-AGEsを添加すると血管透過性促進作用を合わせもつVEGFの発現が増加する一方、血管透過性減少作用を有するグリア細胞由来神経栄養因子 (glial cell-line derived neurotrophic factor, GDNF) の発現が低下することを明らかにしている(125)。加えて、筆者らは、大動脈血管内皮細胞に比べて脳内細小血管内皮細胞がGlycer-AGEsに対する感受性が高く、Glycer-AGEs-RAGE-ROS系を介してVEGFの発現を上昇させ、その結果として脳内の血管透過性を上昇させることを報告しており(126,127)、血中Glycer-AGEsの脳内への移行、さらにはRAGEとの相互作用を介した神経細胞死の詳細な作用機序に興

味が持たれる。

一方、筆者らは、SH-SY5Y細胞にGlycer-AGEs前駆体のグリセルアルデヒド (GLA) を添加して細胞内Glycer-AGEs生成と神経細胞死の関連を検討し、GLA濃度依存的な神経細胞内Glycer-AGEs生成亢進に伴った神経細胞死が観察されることや、グリセルアルデヒド 3-リン酸脱水素酵素 (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) がGlycer-AGEs化を受けることによって細胞質から核内へ移行してアポトーシスを誘導することを見いだしている。また、GLA添加SH-SY5Y細胞培養上清中においては、AD患者脳脊髄液中の変化と一致したA 1-42の減少と総タウ蛋白質 (tTau) およびリン酸化タウ蛋白質 (pTau) の増加が見られている。さらに、細胞内tTauおよびpTau/tTau比はGLA添加により有意に上昇していたことから、AD患者脳内の神経原線維変化の形成と良く相関することが明らかになった。加えて、AD患者脳脊髄液中では、VEGFのほか、TGF- β やAPPの増加が報告されているが、GLA添加SH-SY5Y細胞内ではVEGF, TGF- β , APPの発現量がいずれも増大していることが示されている(論文投稿準備中)。

筆者らは、AD患者脳病変部において細胞毒性の強いGlycer-AGEsが海馬および海馬旁回神経細胞の細胞質内に主に局在しており、老人斑 (senile plaque, SP) およびアストロサイトでの局在はみられていないことを報告している(123)。これらの結果は、SPでのAGEs蓄積はADの発症や進展における直接原因ではなく、神経細胞内Glycer-AGEsの生成/蓄積こそがAD患者における神経細胞死の本質であることを示唆しているように思われる。Glycer-AGEs-RAGE系の亢進が細胞内GLA産生の増加を引きおこし、さらには細胞内Glycer-AGEsの生成亢進/蓄積へと進展し、神経細胞死を引きおこすという一連の流れは、ADの発症・進展に強く関与していることがうかがえるが、さらに詳細な検討が必要である。

4) 癌との関連

日本人一般の平均寿命に比してDM患者では男性で9.6歳、女性では13.0歳短く早期死を迎えている。DMと癌との関連は広く知られており、2010年に米国糖尿病協会と癌学会が合同で発表した報告によれば、肝臓、膵臓、子宮内膜、結腸、直腸、乳房、膀胱の癌で増加することが示されている。2011年の第71回米国糖尿病学会で報告された久山町研究においては、DMのみならず耐糖能異常 (impaired glucose tolerance, IGT) で胃癌、肺癌、および肝臓癌による死亡率が有意に増加する結果が示された。このように、DM患者の死因として癌が上昇中で、DM患者管理の上で、血糖管理とともに癌の存在にも注意を払う必要があることを示している。

筆者らは、悪性黒色腫 (メラノーマ) との関連において、i) Glycer-AGEsがRAGEを介してメラノーマ細胞に作用して、細胞の増殖および形態変化を促進すること、ii) 細胞の遊走および浸潤能も促進すること、iii) 実際にメラノーマ細胞を植え付

けたマウスのGlycer-AGEs-RAGEシグナルを抗RAGE抗体でブロックすることにより、腫瘍の増大や肺などの組織への転移が抑えられ、生存率が著しく高まることを明らかにした(128)。また、Glycer-AGEsはメラノーマ組織内に豊富に見られるのに対し、正常皮膚ではほとんど認められないことも、メラノーマ細胞自身がGlycer-AGEsを産生しautocrine的に腫瘍の進展を促進しているものと考えられる。さらに、メラノーマ細胞のみならず、周辺の間質においてもGlycer-AGEsが産生されており、メラノーマ周辺間質にGlycer-AGEsが沈着することはメラノーマの増殖・転移を誘導する因子のひとつと推察できる。加えて、筆者らは、PEDFを過剰発現させた動物では、血管新生が抑えられ、メラノーマ細胞の増殖が抑えられること(129)や、minodronateがVEGFシグナルをブロックすることによりメラノーマ細胞の増殖を抑制し、ヌードマウスにおけるサバイバルを改善することも明らかにしている(92)。

最近、筆者らは、肺癌細胞株A549細胞を用いて、癌の悪性度増加に関するGlycer-AGEsのメカニズムについて検討し、i) Glycer-AGEs添加により細胞増殖が抑制される一方、ii) Glycer-AGEsが有意に細胞遊走および浸潤能を増加させること、iii) また、そのメカニズムとして、細胞外Glycer-AGEsがRAGEを介してROSを産生させることで、Rac1を活性化させて細胞遊走能を高め、さらにMMP-2の活性化によって浸潤能も高めていることを明らかにした(130)。すなわち、Glycer-AGEs-RAGE系は癌細胞内でのROSの産生亢進を介して、癌細胞の増殖段階から転移・浸潤段階へとより悪性度を増加させていることが示唆される。

また、筆者らは、肝癌細胞株HuH7およびHepG2細胞を用いてAGEs-RAGE系の影響を検討したところ、i) RAGEのmRNAおよび蛋白質レベルでは両細胞間でのRAGE発現に差が見られないが、フローサイトメトリー (FACS) による解析ではHuH7細胞表面に過剰のRAGE発現が見いだされること、ii) 細胞表面にRAGEを過剰発現しているHuH7細胞では、Glc-AGEsによる細胞増殖の変化は全く見られないが、Glycer-AGEsでは細胞増殖の亢進が見られること、iii) 一方、細胞表面におけるRAGE発現の微量なHepG2細胞においては、両AGEsによる細胞増殖に対する影響は全く見られないことが明らかになった。さらに、梅肉抽出水和水物であるMK615はHuH7細胞におけるRAGE発現を抑制し、Glycer-AGEsによる細胞増殖亢進作用を減弱させることが示されている(131)。

すなわち、DM状態で亢進したGlycer-AGEs-RAGE系の相互作用が、癌細胞の増殖のみならず、癌の悪性度に関連する転移・浸潤に及ぶまで影響を与えている可能性が示唆される。一方、血中Glycer-AGEs量と癌の発症・進展との関連については、European Prospective Investigation of Cancer and Nutrition (EPIC) studyの保存血清約2,200検体の測定を終え、現在、データの解析が行われているところである。

5) 非アルコール性脂肪肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) との関連

近年、ライフスタイルの欧米化によるメタボリックシンドローム (metabolic syndrome, MetS) の増加に伴い、消化器領域でのMetSの一表現型として非アルコール性脂肪性肝疾患 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) が注目されてきている。NAFLDは予後良好な単純性脂肪肝と進行性のNASHを包括する疾患群である。NASHとは、飲酒歴がない (アルコール摂取量が20g/日以下) にもかかわらずアルコール性脂肪肝炎の肝組織所見を呈する疾患で、その背景には肥満やDM、インスリン抵抗性、脂質異常症、高血圧症などの生活習慣病との密接な関連が知られている。また、NASH患者の10~30%が肝硬変に進行し、肝臓癌の発症を増加させていることから、病態解明や治療法の確立が急務とされている(132,133)。

NASH患者においては、空腹時血糖 (fasting blood glucose, FBG) やHbA1c値が正常であるにもかかわらず、75g経口ブドウ糖負荷試験 (oral glucose tolerance test, OGTT) では高率にIGTやDMを認めることが報告されている。その原因の一つとして、NAFLD/NASH患者では砂糖などの糖質摂取量が多いこと (NAFLDにおいては健常者の約5倍の摂取量) が知られており、糖質 (特に砂糖および高果糖含有コーンシロップ (日本では果糖ブドウ糖液糖などと表示されることが多い)) 摂取とNAFLD/NASHの発症・進展との関わりが指摘されている(134-136)。

これまで筆者らは肝疾患との関連において、i) RAGEを発現した肝実質細胞株Hep3B細胞にGlycer-AGEsを添加すると炎症マーカーの1つであるCRPの発現が上昇すること、ii) 肝臓の線維化に関わる肝星細胞株LI90細胞にGlycer-AGEsを添加するとRAGEを介して酸化ストレスを誘導し、 α -smooth muscle actin (α -SMA), collagen type I 2 (collagen1A2), TGF- β , MCP-1などの肝星細胞の活性化、炎症、線維化に関連するマーカーの発現が増大することから、Glycer-AGEs-RAGE系は肝臓の炎症を惹起し、さらには線維化へと進行するNASHの発症から病期進展に寄与している可能性があることを明らかにした(137-139)。

肝臓において、単純性脂肪肝からNASH、肝硬変への進展にはインスリン抵抗性が深く関与することが知られている。筆者らは、Hep3B細胞にGlycer-AGEsを添加すると、i) Rac-1の活性化からインスリン受容体基質-1 (insulin receptor substrate-1, IRS-1) のセリンリン酸化を促進してインスリンシグナルを阻害しインスリン抵抗性を引き起こすこと、ii) Glycer-AGE-RAGE系を介したCRPの発現上昇がatorvastatin, PEDF, telmisartanなどの処理により阻害されることを明らかにした(140-142)。さらに筆者らは、KKAyマウスにおいて血中Glycer-AGEs量とインスリン抵抗性の程度が相関し、pyridoxamine投与によるGlycer-AGEs生成阻害によってインスリン抵抗性が改善することを明らかにしている(143)。また、インスリン抵抗性肥満モデル Zucker fattyラットにおけるnateglinideとtelmisartanの併用療法

TAGEの多様な疾患への関与とその阻止

は、Glycer-AGEs-RAGE系の抑制を介してインスリン抵抗性を改善することが示されている(144)。

加えて、筆者らは、NASHと血中Glycer-AGEs量の関連について検討し、i) 血中Glycer-AGEsレベルは正常対照群や単純性脂肪肝患者に比してNASH患者において有意に高値を示すこと、ii) しかもIGTのないいわゆるNASHのみの時期に既に血中Glycer-AGEs量が高値を示し、肝臓内にGlycer-AGEsが蓄積していること、iii) 血中Glycer-AGEsレベルはインスリン抵抗性の指標であるhomeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) とは正相関し、一方、インスリン抵抗性を改善するアディポネクチンとは負の相関がみられること、iv) 脂質代謝異常を伴うNASH患者にatorvastatinを投与すると、治療6ヵ月後、12ヵ月後で有意に血中Glycer-AGEs量が改善することを明らかにした(145,146)。脂肪細胞においては、Glycer-AGEs-RAGE-ROS系を介したMCP-1やPAI-1などの悪玉アディポサイトカインの発現上昇と善玉アディポネクチンの発現抑制からインスリン抵抗性を引き起こすことが示されており、一方、azelinidipineとolmesartanの併用およびPEDF投与によりアディポネクチンの抑制が解除されることが明らかになっている(147-149)。すなわち、NASHの予防および治療の評価において、血中Glycer-AGEs量が有用なマーカーになり得ることが期待される。

さらに、筆者らは肝細胞内Glycer-AGEs生成とNASHの発症・進展との関連について検討し、i) Hep3B細胞にGlycer-AGEs前駆体のGLAを添加すると、細胞内Glycer-AGEs量の増加に伴う細胞死が観察されること、ii) 一方、AGの前処理によって細胞内Glycer-AGEs生成および細胞死が抑制されたことから、細胞内Glycer-AGEs生成が細胞死を引き起こすこと、iii) 細胞内Glycer-AGEs生成量の増加に伴ってGlycer-AGEs化蛋白質が細胞質から核に移行する様子が観察されること、iv) Glycer-AGEs化蛋白質として分子シャペロンのheat shock cognate 70 (Hsc70) が免疫化学的に同定され、Hsc70のGlycer-AGEs化に伴ってシャペロン活性が減少し、蛋白質の機能不全、肝細胞障害へと進展していくことを明らかにした(150)。加えてGLA添加によりCRPのmRNAが有意に増加し、AGの前処理によってコントロールレベルにまで回復したことから、肝細胞内Glycer-AGEs生成が炎症反応をも惹起することを明らかにしている。

一方、Hep3B細胞を用いて肝細胞癌におけるGlycer-AGEs-RAGEシグナルの影響について検討し、i) Glycer-AGEsは細胞増殖に影響を与えず、VEGFのmRNA発現および蛋白質量を有意に上昇させること、ii) Glycer-AGEsをHep3B細胞に作用して得られたconditioned medium (CM-Glycer-AGEs) は有意にヒト臍帯静脈内皮細胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) の増殖を増加させることを明らかにしている。さらに、CM-Glycer-AGEsは有意にHUVECの遊走および血管形成能を増加させることが示されている(151)。

以上の結果より、NASHの発症・進展においてはGlycer-

AGEs-RAGE系の関与が強く疑われると共に、砂糖/果糖ブドウ糖液糖や食事性AGEsの過剰摂取に伴う代謝異常などが原因で肝細胞内に過剰産生されたGLAは、肝細胞内蛋白質と速やかに反応してGlycer-AGEsを生成し、蛋白質の変性や機能障害を引き起こし、さらには炎症反応をも惹起して肝細胞死へと誘導し、肝細胞内/外で生成されるGlycer-AGEsの作用が相まってNASHの病態を引き起こすものと考えられる(図6)。

6) 不妊症との関連

現在、不妊症のヒトは230万人にのぼり、実際に不妊治療を受けている患者数は50万人を超えると推計されている。今や、日本における新生児の約40人に1人が体外受精で生まれた子供であるといわれている。悪しき生活習慣が種々の生活習慣病を引き起こすことは良く知られているが、ヒトは病気になる前にまず生殖機能を低下させ、自らの身を守っていると考えられる。不妊症の患者においても、FBGやHbA1c値が正常であるにもかかわらず、OGTTでは高率にIGTやDMを認めることが知られている。

加齢およびDM類縁疾患である多嚢胞性卵巣症候群 (polycystic ovaries syndrome, PCOS) は、高頻度の不妊原因として知られている。生殖補助医療技術 (assisted reproductive technology, ART) 反復不成功例で頻繁な加齢、ストレス、運動不足、肥満、不良睡眠などは、インスリン抵抗性症候群の重要な発生要因である。本症候群では糖/脂質代謝異常、酸化ストレス、RA系亢進によりAGEsの蓄積を生じ組織障害を加速することが考えられる。このように不妊患者においては、高頻度にインスリン抵抗性や耐糖能異常が存在していることが明らかになってきた。

筆者らはインスリン抵抗性や耐糖能異常と強い関連を持つ

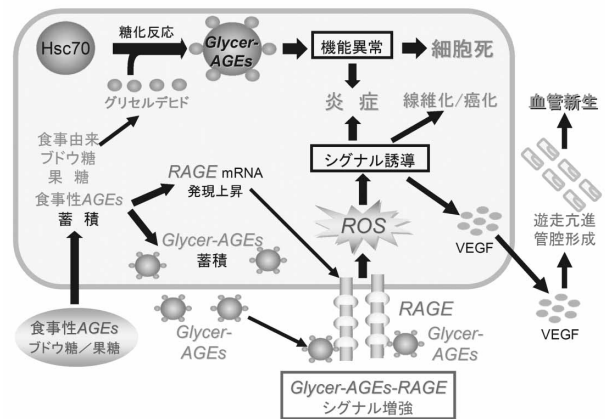


図6. NASHの発症・進展における肝細胞内/外で生成されるGlycer-AGEsの関与
HSC-70: 熱ショック蛋白質-70, Glycer-AGEs: グリセルアルデヒド由来AGEs, RAGE: AGEs受容体, ROS: 活性酸素種, VEGF: 血管内皮増殖因子

Glycer-AGEsに注目して血中Glycer-AGEsレベルと採卵数および継続妊娠率との関連を検討したところ、年齢に比例して両因子ともに低下し、年齢が若くても血中Glycer-AGEs量が高いと継続妊娠率は不良であることが示された。すなわち、血中Glycer-AGEs量がある一定のレベルを超えると継続妊娠率が低下することが明らかになった。また、血中Glycer-AGEs量はARTにおける卵胞発育、受精、胚発育、妊娠成否と良く相関し、Glycer-AGEsの蓄積は年齢やday-3-卵胞刺激ホルモン (follicle-stimulating hormone, FSH) と独立した新しいpoor responderの指標として有用であることが示唆された(152)。

このように、Glycer-AGEsが卵巣機能障害の原因として重要な役割を果たしており、Glycer-AGEsの蓄積とARTの治療成績の悪化には相関関係があることが明らかになった。すなわち、Glycer-AGEsは新たな卵巣機能障害の指標となり得るもので、これまで用いられていた指標とは異なり、治療可能な段階での早期診断に使えるという有用性がある。実際に妊娠できなかったpoor responderにsitagliptinを投与して再びARTを施行した結果、投与により血中Glycer-AGEsレベルが低下した群では、卵巣機能障害が改善し、継続妊娠率を大幅に増加させることが可能であることが示されている(論文投稿中)。このように、Glycer-AGEsを指標にした不妊治療は、卵巣機能障害の新しい治療戦略となり得ることが期待される。

8. Glycer-AGEsの多様な疾患への関与 - “toxic AGEs (TAGE)-RAGE病因説” -

筆者らのこれまでの研究成果を考え合わせると、生体内における各種AGEs生成反応は、蛋白質翻訳後修飾反応の一つとして非常に重要な生理的意義を担っているものと考えられる。本来、DNAの遺伝情報に従って翻訳された蛋白質は、糖鎖付加やリン酸化などの翻訳後修飾反応を経て種々の生理作用を担っていることが知られている。ところが、生体内において酸化ストレスやアルデヒド/カルボニル化合物の産生が増大した“酸化・カルボニルストレス”状態では、蛋白質がこれらの化合物と非酵素的に反応し、種々のAGEsが生成されるものと推察される。CML, pentosidine, pyrralineなど直接的な生理作用を示さないnon-toxic AGEsの生成は、化学反応性の高いアルデヒド/カルボニル化合物を蛋白質が積極的にトラップして無毒化するという、いわば生体防御反応として機能していると考えられる。CMLの最初の報告者であるAhmedらが、いみじくも“averting path”であると記載しているように、生体内での酸化・カルボニルストレス最終産物のほとんどがCML生成などへの抜け道を選択している可能性がある。これに対して糖代謝中間体由来するGlycer-AGEsは、RAGEとの結合を介して生活習慣病の発症・進展に直接関与していることが示されている。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を従来の広義のAGEsの概念と区別する意味合いで“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(図7)(20,21,28-30,118,119,153-159)。

9. TAGE-RAGE系を標的にした生活習慣病の予防および治療戦略

上述のごとく、TAGE-RAGE系はDM血管合併症のみならず、高血圧症、認知症、癌、NASH、不妊症などの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。したがって、TAGEの生成抑制、TAGE-RAGE相互作用の抑制、RAGEの発現調節や細胞内情報伝達系の抑制などが、生活習慣病の予防や治療に有効であると考えられる(30)。ここでは、特に身近な食生活習慣との観点からみたTAGE-RAGE系抑制による生活習慣病の予防および治療戦略について紹介する。

1) 食後高血糖改善

軽症DMやIGTでは、食後の血糖値の異常がしばしば観察される。そしてIGTの時期から既に動脈硬化症の進展が認められ、CVDや脳卒中による死亡率が高くなることが報告されている。近年、CerielloはDM患者において、ブドウ糖負荷や食事による急峻な食後血糖の上昇が、過剰な酸化ストレスの産生を促すことを明らかにした(160)。酸化ストレスの産生亢進は、血管細胞や単球、血小板といった血球細胞を活性化させ、様々な炎症性サイトカインや増殖因子の分泌を促して血栓傾向を引きおこし、動脈硬化症を発症・進展させることが予測される。

筆者らは、食後高血糖由来の酸化ストレスの発生源として、TAGE-RAGE系に注目して研究を進めている。おそらく、食事に伴う血糖の急激な増加が様々な蛋白質を糖化、変性させ、毒性の強いTAGEを生成するに至ると考えられる。最近、筆者らは生体内で生成される各種AGEsの中でも、特に糖代謝中間

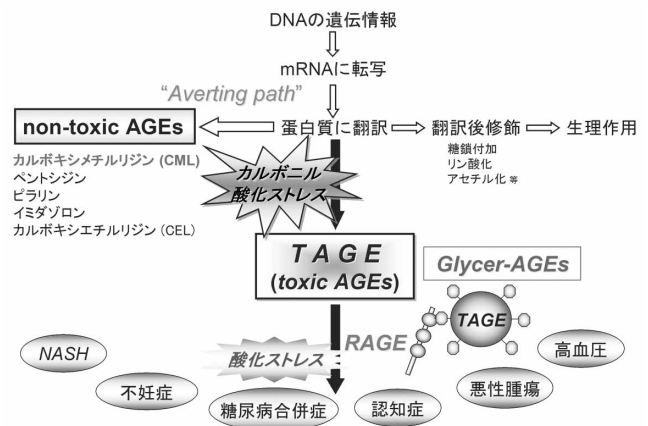


図7. 生活習慣病の発症・進展における“TAGE-RAGE病因説”
TAGE: 毒性AGEs, RAGE: AGEs受容体, NASH: 非アルコール性脂肪肝炎

TAGEの多様な疾患への関与とその阻止

体のGLAに由来するTAGEが食後の高血糖に伴って生成され、血管内皮細胞障害を招き、血栓傾向を惹起し得ることを明らかにした。2型DMモデルGoto-Kakizaki (GK) ラットを用いた制限給餌系において、HbA1cやGlc-AGEsの変動はみられないが、TAGEは食後の血糖変動に伴って生成することを見いだした(161)。実際に速効型インスリン分泌促進薬のnateglinide投与群では、血中TAGE量は有意に抑制されていた(161)。また、2型DM患者に α -グルコシダーゼ阻害薬のacarboseを投与すると、HbA1cの変動はみられないが、血中TAGEレベルが治療前に比べて有意に低下することも見いだした(162)。すなわち、TAGEの変動はHbA1cやGlc-AGEsの変動では十分に捉えられなかった食後血糖値の変動の影響を強く受けることから、食後血糖値の変動を反映するマーカーとしての有用性が期待される。

食後の血糖変動で危惧されるのは糖質の過剰摂取の問題であるが、2009年に米国心臓協会 (American Heart Association, AHA) から糖質 (砂糖や果糖ブドウ糖液糖) の摂取量に関する初のガイドライン (健康な生活の維持のため1日の糖質摂取量を男性は150 kcal (糖質量換算で37.5g) 以下、女性は100 kcal (糖質量換算で25.0g) 以下に抑えるべきである) が提示された(163)。また、2010年の厚生労働省「日本人の食事摂取基準」でも、高炭水化物摂取が高中性脂肪 (triglyceride, TG) 血症に関連していることが知られていることや高TG血症は循環器疾患の危険因子のひとつであり、MetSの診断基準項目のひとつでもあることから、炭水化物の過剰摂取には注意が必要であることが記載されている。

実際に、筆者らは飲料中の糖度を測定した結果、国内で市販されている多くの清涼飲料水などにAHAの提唱している基準を超える糖質が含まれていることが明らかになっている (論文投稿準備中)。すなわち、糖質含有量の多い清涼飲料水などの多飲習慣は、摂飲後の血糖上昇に付随して血中TAGEレベルの上昇を引き起こすことから、血管障害を発症・進展させることが危惧される。

2) 果糖過剰摂取制限

果糖はブドウ糖とともに単糖に分類されるが、ブドウ糖よりも血糖上昇作用は弱い反面血中TG上昇作用が強いなど、ブドウ糖とは生理作用が異なり、循環器疾患への好ましくない影響が危惧されている。欧米諸国では、砂糖や果糖ブドウ糖液糖などの甘味を補充するために添加する糖 (果糖を50%以上含む糖) を含む清涼飲料水の摂取と肥満との関連を示す報告が蓄積されてきており、世界保健機関 (World Health Organization, WHO) は甘味料として添加した糖の摂取量について総エネルギー摂取量の10%を超えないように推奨している。

このような状況のなか、2012年2月に「砂糖は煙草やアルコールと同様に健康に有害であるから、規制されてしかるべきである」と主張する論文がNature誌に掲載され、強い関心を集めた(164)。砂糖はこれまで、ややもするとempty calories (栄養価

はゼロに近いのに高カロリー) として扱われ、カロリー過剰の危険性のみが論じられてきた。しかし、最近では、高血圧症、脂質異常症、肝機能障害など、MetSに伴うほとんどすべての病態が砂糖の過剰摂取によってもたらされることが示されている。つい最近、果糖が膵細胞上の甘味受容体を活性化してインスリンを分泌させることが報告された(165)。果糖がこれまでインスリン分泌に関連があるとは考えられなかったが、今回の研究で、果糖とブドウ糖を同時に摂取するとより多くのインスリンが分泌され、膵臓への負担が増すことが明らかになってきた。また、視床下部AMP kinase (AMPK) は摂食調節に関与していることが知られていたが、最近、果糖が視床下部でのAMPKを活性化させ、摂食量を増加させることが報告された(166)。さらに、YangならびにKinoteらは最近、視床下部AMPKの活性化により肝糖新生が増加することを報告している(167,168)。

筆者らは、これまで非DM者においても血中TAGE量がインスリン抵抗性やLDLコレステロール (LDL-C) 量と有意に関連することを明らかにしてきた(169-171)。また、Hep3B細胞を高果糖条件下で培養すると、肝細胞内にTAGE化蛋白質が生成してくることや、高脂肪・高果糖食で飼育したラットの肝臓内においても複数のTAGE化蛋白質の蓄積を観察している (論文投稿中)。すなわち、果糖の過剰摂取が肝細胞内での果糖の代謝中間体であるGLAの生成量を増やし、これに付随して生体内でのTAGE生成を促進し、その結果として肥満やインスリン抵抗性、NASHなどの発症・進展を助長することが示唆される。したがって、砂糖や果糖ブドウ糖液糖の過剰摂取の習慣は、血中TAGEレベルの上昇を引き起こし、各組織におけるTAGE-RAGE系を増悪させ、生活習慣病の発症・進展につながるものが危惧される。実際にNASH患者においては、TAGEがHOMA-IRと正の相関を示す一方で、アディポネクチンレベルとは負の相関関係にあることが示されている(145,146)。

3) 食事性AGEsの吸着除去

AGEsは高血糖下や酸化ストレス下で内因性に産生されるだけでなく、外因性に飲食品中からも摂取される(172)。実際に、食品由来AGEs (実際はCML量を測定) の約10%が腸管から吸収され、そのうち約6~7%は生体内に2日以上残存することが報告されている(173)。

最近、Vlassaraらは、45歳以下と60歳以上の健常者の血中CML量を測定し、食物に含まれるCML量に対応して被験者の血中CML量が増加したことから、体内循環しているCMLの大部分は食品に由来しているとする結果を報告した(174)。同グループは、既に250種類の食品についてCML量を調査しており、脂肪を多く含む食品や肉類にCML含有量が多いことを明らかにしている(175)。これらの結果は、生体内におけるCML生成が脂質過酸化に依存することから考えれば、当然の結果といえるだろう。また、Coca-Colaとグルコースから調製した人工飲料を健常者と2型DM患者に飲ませたところ、両群とも摂取90分後に

血中CML量が増加することも報告している(176)。さらに、同グループは、食品中CML量が調理温度や時間に依存して増加することを示しているが、NagaiらはCMLがMaillard反応中間体のアマドリ化合物などから加熱やアルカリ処理によってartificial的に容易に変換されることを明らかにしている(177,178)。一方、筆者らは、同グループのCML測定方法にはサンプルの前処理に大きな問題点があり、CML量を大過剰に評価していることを実験的に追試/確認している。また、今日ではCMLは糖化ではなく、むしろ酸化ストレスのマーカーとして考えられるようになってきており、食事性AGEs量と疾患の関連を議論する際には、CMLは不適切なマーカーであるといえる。

最近、筆者らは市販飲食品について各種AGEs (Glc-AGEs, Fru-AGEs, TAGEおよびCML) 含有量を比較検討し、市販飲食品には多量のAGEs (主にGlc-AGEsとFru-AGEs) を含むものが多く存在することを明らかにした(論文投稿準備中)。実際に高Glc-AGEs含有飲料を正常ラットに経口投与し、TAGE-RAGE系への影響を検討した結果、ラット肝臓におけるRAGEやVEGF遺伝子の発現が増大し、肝臓でのGlc-AGEsおよびTAGEの蓄積が認められた(179)。すなわち、食事性AGEsがTAGE-RAGE系の相互作用を増強し、各種病態を悪化させることが危惧される。

これらのことより食事性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、実際に筆者らは、非DMの保腎期腎不全患者に経口吸着炭素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だし、これが尿毒症の進行を抑制し臓器保護効果を発揮している可能性を明らかにした(180)。さらに、kremezin投与前後の血清を用いて*in vitro*の実験を行うと、kremezin投与後の血清では、血管内皮細胞におけるRAGE, MCP-1, VCAM-1などの動脈硬化関連遺伝子の発現が抑制されていた(180)。また、筆者らは最近、“*uremic toxin*” 吸着能を有するkremezinが、実際に飲食品中に多く含まれるGlc-AGEsやFru-AGEsを吸着し得ることを見出した(181)。すなわち、kremezinは、腸管内において食事性AGEsの吸収を阻害することで、血中TAGEレベルを低下させ、生活習慣病の発症・進展を予防する可能性が考えられる。

加えて筆者らは、透析患者にリン結合性ポリマーの sevelamer/HClを高容量(4.5g/day)投与した結果、食事性AGEsの減少に引き続いて血中TAGE量が有意に減少し、それに伴ってCRPレベルも低下する傾向がみられることを明らかにしている(182)。さらについ最近、便秘を起こしにくい低容量(1.5g/day)投与においても血中TAGE量の低下や脂質の改善が認められることを示した(論文投稿準備中)。Sevelamer/HClは、単にリンを吸着するだけでなく、いわゆるpleiotropic作用(LDLコレステロールやCRPを低下させ、かつインスリン抵抗性も改善させることが報告(183,184)されている)により動脈硬化や血管石灰化の抑制など生命予後の改善につながることが想定されているが、これらの病態にもTAGE-RAGE系が強く関与していることがうかがえる。

食後吸収された糖質や食事性AGEsはまず肝臓で処理されるが、これらの過剰摂取は肝細胞内の代謝系を乱す結果、TAGE前駆体のGLAの生成が増大し肝細胞内や血中でのTAGEレベルが増加してTAGE-RAGE系を介した食後酸化ストレスの亢進からさらなるTAGE生成を招くという悪循環を引きおこし、血管障害を惹起することが想定される。すなわち、食事性AGEsの摂取制限や吸着除去と言う概念が、生活習慣病の発症・進展予防を考える上で、重要な理論のひとつであることを裏付けているものと思われる(185-187)。

10. 生体内TAGE生成経路の概略

以上の結果より、生体内で生成される各種AGEsの中でも、特にTAGEが生活習慣病の発症・進展における直接の病因となっていることが明らかになってきた。生体内におけるTAGEの生成経路としては、i) ブドウ糖の主代謝経路である解糖系の間体として生成するグリセルアルデヒド 3-リン酸が、非酵素的な脱リン酸化を受けてGLAが生成する経路、ii) 食事由来の果糖が、フルクトキナーゼ(fructokinase, FK) およびアルドラーゼB(両酵素は肝臓や腎臓などに存在)の作用により直接GLAが生成する経路、iii) 高血糖下で働くブドウ糖の副代謝経路であるソルビトール代謝系(赤血球、水晶体、末梢神経などに存在)で生成した果糖が、上記2種の酵素の関与によりGLAを生成する経路が考えられる。このようにして生成したGLAは分子内にリン酸基を有しないため、細胞膜を通過して細胞外に輸送、漏出し、細胞外の蛋白質と反応してTAGEを生成すると考えられる。したがって、生物作用の強力なTAGEは細胞内/外において生成することが推察される(図8)(20,21,28-30,119,133,158,188)。

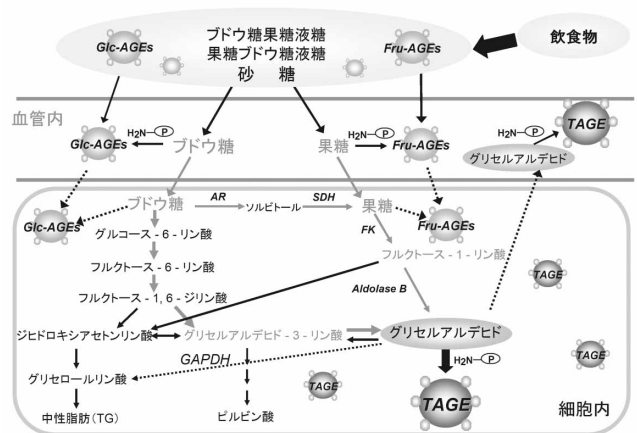


図8. 食事性AGEs / 糖質代謝とTAGE生成
TAGE: 毒性AGEs, Glc-AGEs: グルコース由来AGEs, Fru-AGEs: フルクトース由来AGEs, GAPDH: グリセルアルデヒド3-リン酸脱水素酵素, AR: アルドース還元酵素, SDH: ソルビトール脱水素酵素, FK: フルクトキナーゼ, H₂N-P: 蛋白質中の遊離のアミノ基

TAGEの多様な疾患への関与とその阻止

実際に筆者らは、免疫組織染色において、血管構成細胞、脳神経細胞、腫瘍細胞および間質、肝細胞などにTAGEの局在を確認している(91,123,128,145)。また、細胞外で生成したTAGEはRAGEを介して細胞内酸化ストレスを亢進し、解糖系key enzymeのGAPDHの活性低下や果糖代謝系key enzymeのFKの活性化を招き、細胞内GLAの生成量を増加させ、結果的に細胞内/外におけるTAGEの生成が促進されると考えられる。

したがって、高血糖下や果糖および食事性AGEsの過剰摂取などによるGLAの増加は、細胞内TAGE生成量の増大、GAPDHの活性低下/FKの活性亢進およびそれに起因するさらなるGLA生成量の増大、細胞内/外におけるTAGE生成の増加といった悪循環を引き起こし、各種疾患の発症・進展に強く関与していくことが危惧される。

11. バイオマーカーとしてのTAGE

血中のAGEsレベルは、2型DM患者において内皮機能障害の独立した危険因子であることが報告されている(189)。また、血中AGEsレベルが、女性の2型DMや非DM患者において18年後の心血管イベント死を予測する独立した因子であることも明らかにされた(190,191)。さらに、1型DM患者では、血中のAGEsレベルが左室拡張障害、血管の硬さと関連することも知られている(192)。しかしながら、これらの研究で使用された抗AGEs抗体は、Glc-AGEs-RNaseAを免疫原として得たウサギ抗血清(Glc-AGEsだけでなくCMLなどを認識する複数の抗体が共存している)が使用されており、どのAGEs構造が実際にこれらの病態と関連しているのかが明らかになっていない。

一方、1型DMにおいて、sRAGEレベルが他の危険因子とは独立して、将来の心血管イベントや死亡のリスクと関連するマーカーとなりうるということが報告されている(193)。また、近年、血中sRAGEやesRAGEが血中AGEsをデコイとして捕捉しているとの報告もみられるが、esRAGEも含めた血中総sRAGEのレベルは、循環中のTAGEをデコイとして捕捉できる濃度の1/数百~1/千程度しか存在しないことから(94)、sRAGEは組織のRAGEの発現亢進に伴って上昇し、血中TAGEとともに血管障害の程度を反映する新たなバイオマーカーとしての可能性も考えられる(194)。

これまで、筆者らは、各種病態と血中TAGEレベルとの関連について多数の論文を報告してきた。2型DM患者においては、血中のTAGEとsRAGEレベルが上昇し、これらがMCP-1などのケモカインレベルと相関すること(195)や、sRAGEが、血中TNF- α や可溶性VCAM-1レベルとも相関し、冠動脈疾患を合併したDM患者では、その上昇の程度が顕著であることを明らかにした(196)。また、非DM患者においても血中のTAGEとsRAGEレベルが相関し(197,198)、TAGEレベルと血栓マーカーであるPAI-1やフィブリノーゲンレベルとの間にも正の相関があることを見いだした(199,200)。さらに、非DM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(201-203)

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している(145,146,171,203)。加えて、筆者らは血中TAGEレベルと ^{18}F -fluorodeoxyglucose 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いだしており、TAGEが動脈硬化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(204)。健康者においても、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(205)。

また、筆者らは、血中TAGEレベルが治療の有効性を評価するマーカーとしても有用であることを見いだしている。i) 2型DM患者および非DMのCKD患者にatorvastatinを投与すると血中TAGEレベルが減少すること(206,207)や、血中TAGEとPEDFレベルが正の相関を示し、PEDFレベルがインスリン抵抗性のマーカーとして期待されること(208,209)、ii) NASH患者では、血糖コントロールレベルとは独立して血中TAGEレベルが上昇しており、単純性脂肪肝との鑑別に有用なマーカーとなり得ること(145)、iii) 脂質代謝異常を伴うNASH患者をatorvastatinで治療すると血中TAGE量の改善がみられること(146)、iv) CKD患者にkremezinやatorvastatinを投与すると血中TAGEレベルが有意に減少することを明らかにした(180,207)。さらに、筆者らは、TAGEが従来のAGEsと異なり食後高血糖のスパイクに伴って生成され、内皮細胞障害を招き血栓傾向を惹起し得ることを見いだしてきている(162)。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。

おわりに

辞書で“rage”を引くと、「些細なことから急に怒りを爆発させて切れた状態になること」とある。本来は神経の発生や分化、組織の修復などにかかわるHMGB-1(アンフォテリンとも呼ばれる)などの受容体として機能すべきRAGEが、現代の生活習慣の特徴である、食後高血糖や果糖過剰摂取、加熱調理したAGEsリッチな飲食品を頻繁に口にするといった些細なこと(?)から、生体内でのTAGE生成を招いて、TAGEの情報伝達を担う受容体へとシフトし、延々と続く激しい組織障害を媒介する受容体へと変貌していく様がこの言葉からうかがい知れる。

上で述べたように、血中TAGE量の変動は現代の生活習慣の特徴である過食、運動不足、糖質(砂糖や果糖ブドウ糖液糖)の過剰摂取、食事性AGEsの摂取過多が引き金となって生じるMetSやインスリン抵抗性、食後高血糖、脂質代謝異常、高血圧と強く関連している事が明らかになっている。筆者らが提唱している“TAGE-RAGE病因説”は、種々の疾患の予防から病気の発症・進展に強く関わっていることが明らかになってきて

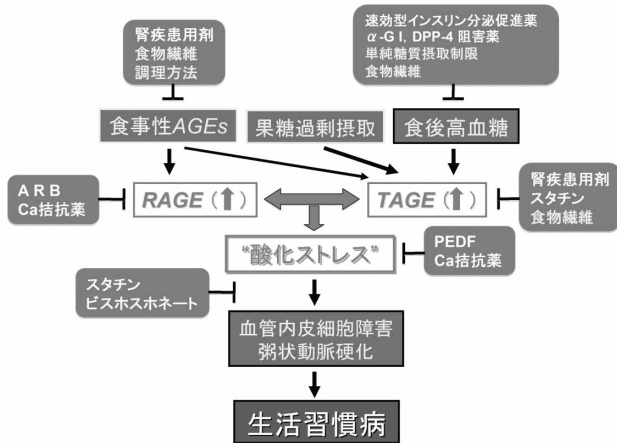


図9. 生活習慣病の発症・進展におけるTAGE-RAGE系の関与とその阻止

AGEs: 終末糖化産物, TAGE: 毒性AGEs, RAGE: AGEs受容体, α-GI: α-グルコシダーゼ阻害薬, DPP-4阻害薬: ジペプチジルペプチダーゼ阻害薬, ARB: アンジオテンシンIIタイプ1受容体拮抗薬, PEDF: 網膜色素上皮由来因子

おり、また血中TAGEレベルの評価は生活習慣病の予防、早期診断、治療の有効性を評価する有用なバイオマーカーとしての可能性も秘めているものと思われる。今後、臨床現場での“TAGE-RAGE病因説”の立証ならびにTAGE-RAGE系の阻止を標的とした新しい予防/治療法の確立が心待ちにされる(図9)。

本研究は、現久留米大学医学部糖尿病性血管合併症病態・治療学講座・山岸昌一教授、現広島国際大学薬学部生化学研究室・瀧野純一助教はじめ共同研究を遂行して頂きました多くの先生方、ならびに北陸大学大学院薬学研究科博士前期課程修了生(鈴木貴子、柳瀬由紀子、渡井孝幸、岩城実奈、下垣内徳子、呉雪剛、小林由佳、古野理美、村松充、白井ひかり、河上美穂子)および北陸大学薬学部生化学教室(1996年度~2004年度)/病態生理化学教室(2004年度~2009年度)/生命薬学講座臨床生理化学分野(2010年度)卒業生の協力により遂行されたものであり、ここに感謝致します。

また、本研究の遂行にあたり、文部科学省科学研究費(基盤(B)研究課題番号: 11557069, 13470197, 19300254, 22300264)、私立大学ベンチャー研究開発拠点整備事業、厚生労働省科学研究費、長寿科学振興財団、米国小児糖尿病財団、北陸産業活性化センターからの助成金のほか、多くの民間企業からの研究奨学寄付金などの補助を受けたことを記し、併せて感謝致します。

最後に、16年間にわたるTAGE研究の概要を金沢医科大学雑誌にまとめる機会を頂きました編集委員会の委員の方々に感謝致します。

文 献

1. Bucala R, Cerami A: Advanced glycosylation: chemistry, biology, and implications for diabetes and aging. *Adv Pharmacol* 1992; **23**: 1-34.
2. Vlassara H, Bucala R, Striker L: Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging. *Lab Invest* 1994; **70**: 138-51.
3. Brownlee M: Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Ann Rev Med* 1995; **46**: 223-34.
4. Takeuchi M, Makita Z: Alternative routes for the formation of

- immunochemically distinct advanced glycation end-products in vivo. *Curr Mol Med* 2001; **1**: 305-15.
5. 竹内正義: カルボキシメチルリジン. *臨床検査* 2005; **49**: 197-201.
6. Takeuchi M, Makita Z, Yanagisawa K et al: Detection of noncarboxymethyllysine and carboxymethyllysine advanced glycation end products (AGE) in serum of diabetic patients. *Mol Med* 1999; **5**: 393-405.
7. Takeuchi M, Makita Z, Bucala R et al: Immunological evidence that non-carboxymethyllysine advanced glycation end-products are produced from short chain sugars and dicarbonyl compounds in vivo. *Mol Med* 2000; **6**: 114-25.
8. Takeuchi M, Yanase Y, Matsuura N et al: Immunological detection of a novel advanced glycation end-product. *Mol Med* 2001; **7**: 783-91.
9. Takeuchi M, Iwaki M, Takino J et al: Immunological detection of fructose-derived advanced glycation end-products. *Lab Invest* 2010; **90**: 1117-27.
10. Miura J, Yamagishi S, Uchigata Y et al: Serum levels of non-carboxymethyllysine advanced glycation endproducts are correlated to severity of microvascular complications in patients with Type 1 diabetes. *J Diabetes Complications* 2003; **17**: 16-21.
11. Miura J, Uchigata Y, Yamamoto Y et al: AGE down-regulation of monocyte RAGE expression and its association with diabetic complications in type 1 diabetes. *J Diabetes Complications* 2004; **18**: 53-9.
12. Koga K, Yamagishi S, Okamoto T et al: Serum levels of glucose-derived advanced glycation end products are associated with the severity of diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients without renal dysfunction. *Int J Clin Pharmacol Res* 2002; **22**: 23-7.
13. Endo M, Yanagisawa K, Tuchida K et al: Increased levels of vascular endothelial growth factor and advanced glycation end products in aqueous humor of patients with diabetic retinopathy. *Horm Metab Res* 2001; **33**: 317-22.
14. Wada R, Nishizawa Y, Yagihashi N et al: Effect of OPB-9195, anti-glycation agent, on experimental diabetic neuropathy. *Eur J Clin Invest* 2001; **31**: 513-20.
15. Ohashi S, Abe H, Takahashi T et al: Advanced glycation end products increase collagen-specific chaperone protein in mouse diabetic nephropathy. *J Biol Chem* 2004; **279**: 19816-23.
16. Kikuchi S, Shinpo K, Ogata A et al: Detection of N epsilon-(carboxymethyl)lysine (CML) and non-CML advanced glycation end-products in the anterior horn of amyotrophic lateral sclerosis spinal cord. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2002; **3**: 63-8.
17. Kitamura M, Kitaichi N, Takeuchi M et al: Decrease in the glyceraldehyde derived advanced glycation end products in the sera of patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Br J Ophthalmol* 2005; **89**: 1407-9.
18. Schmidt AM, Yan SD, Yan SF et al: The biology of the receptor for advanced glycation end products and its ligands. *Biochim Biophys Acta* 2000; **1498**: 99-111.
19. Ramasamy R, Vannucci SJ, Yan SS et al: Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation. *Glycobiology* 2005; **15**: 16R-28R.
20. Takeuchi M, Yamagishi S: Possible involvement of advanced glycation end products (AGEs) in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des* 2008; **14**: 973-8.
21. Takeuchi M, Yamagishi S: Involvement of toxic AGEs (TAGE) in the pathogenesis of diabetic vascular complications and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2009; **16**: 845-58.
22. Vazzana N, Santilli F, Cucurullo C et al: Soluble forms of RAGE in internal medicine. *Intern Emerg Med* 2009; **4**: 389-401.
23. Fritz G: RAGE: a single receptor fits multiple ligands. *Trends Biochem Sci* 2011; **36**: 625-32.
24. Hegab Z, Gibbons S, Neyses L et al: Role of advanced glycation end products in cardiovascular disease. *World J Cardiol* 2012; **4**: 90-102.
25. Win MT, Yamamoto Y, Munesue S et al: Regulation of RAGE for attenuating progression of diabetic vascular complications. *Exp Diabetes Res* 2012; **2012**: 894605.
26. Kvarnhammar AM, Cardell LO: Pattern-recognition receptors in human eosinophils. *Immunology* 2012; **136**: 11-20.
27. Yonekura H, Yamamoto Y, Sakurai S et al: Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end-products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury. *Biochem J* 2003; **370**: 1097-109.
28. Sato T, Iwaki M, Shimogaito N et al: TAGE (toxic AGEs) theory in diabetic complications. *Curr Mol Med* 2006; **6**: 351-8.
29. Takeuchi M, Takino J, Yamagishi S: Involvement of TAGE-RAGE system in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *J Ophthalmol* 2010; **2010**: 170393.

TAGEの多様な疾患への関与とその阻止

30. Takeuchi M, Takino J, Yamagishi S: Involvement of the toxic AGEs (TAGE)-RAGE system in the pathogenesis of diabetic vascular complications: A novel therapeutic strategy. *Curr Drug Targets* 2010; **11**: 1468-82.
31. Yamamoto Y, Yonekura H, Watanabe T et al: Short-chain aldehyde-derived ligands for RAGE and their actions on endothelial cells. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; **77 Suppl 1**: S30-40.
32. Yamagishi S, Imaizumi T: Diabetic vascular complications: pathophysiology, biochemical basis and potential therapeutic strategy. *Curr Pharm Des* 2005; **11**: 2279-99.
33. Yamagishi S, Amano S, Inagaki Y et al: Advanced glycation end products-induced apoptosis and overexpression of vascular endothelial growth factor in bovine retinal pericytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **290**: 973-8.
34. Yamagishi S, Inagaki Y, Amano S et al: Pigment epithelium-derived factor protects cultured retinal pericytes from advanced glycation end product-induced injury through its antioxidant properties. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **296**: 877-82.
35. Yamagishi S, Amano S, Inagaki Y et al: Beraprost sodium, a prostaglandin I₂ analogue, protects against advanced glycation end products-induced injury in cultured retinal pericytes. *Mol Med* 2002; **8**: 546-50.
36. Amano S, Yamagishi S, Kato N et al: Sorbitol dehydrogenase overexpression potentiates glucose toxicity to cultured retinal pericytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **299**: 183-8.
37. Yamagishi S, Okamoto T, Amano S et al: Palmitate-induced apoptosis of microvascular endothelial cells and pericytes. *Mol Med* 2002; **8**: 179-84.
38. Yamagishi S, Amano S, Inagaki Y et al: Angiotensin II-type 1 receptor interaction upregulates vascular endothelial growth factor messenger RNA levels in retinal pericytes through intracellular reactive oxygen species generation. *Drugs Exp Clin Res* 2003; **29**: 75-80.
39. Yamagishi S, Takeuchi M, Matsui T et al: Angiotensin II augments advanced glycation end product-induced pericyte apoptosis through RAGE overexpression. *FEBS Lett* 2005; **579**: 4265-70.
40. Nakamura K, Yamagishi S, Nakamura Y et al: Telmisartan inhibits expression of a receptor for advanced glycation end products (RAGE) in angiotensin II-exposed endothelial cells and decrease serum levels of soluble RAGE in patients with essential hypertension. *Microvasc Res* 2005; **70**: 137-41.
41. Matsui T, Nakamura K, Takeuchi M et al: Telmisartan blocks advanced glycation end product (AGE)-induced plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene expression in endothelial cells via activation of peroxisome proliferator-activated receptor- (PPAR-). *Lett Drug Des Discov* 2008; **5**: 477-80.
42. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K et al: Telmisartan inhibits advanced glycation end products (AGEs)-elicited endothelial cell injury by suppressing AGE receptor (RAGE) expression via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *Protein Pept Lett* 2008; **15**: 850-3.
43. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K et al: Olmesartan blocks inflammatory reactions in endothelial cells evoked by advanced glycation end products by suppressing generation of reactive oxygen species. *Ophthalmic Res* 2008; **40**: 10-5.
44. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K et al: Olmesartan blocks advanced glycation end products (AGEs)-induced angiogenesis in vitro by suppressing receptor for AGEs (RAGE) expression. *Microvasc Res* 2008; **75**: 130-4.
45. Amano S, Yamagishi S, Inagaki Y et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits oxidative stress-induced apoptosis and dysfunction of cultured retinal pericytes. *Microvasc Res* 2005; **69**: 45-55.
46. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits advanced glycation end product-induced retinal vascular hyperpermeability by blocking reactive oxygen species-mediated vascular endothelial growth factor expression. *J Biol Chem* 2006; **281**: 20213-20.
47. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) blocks advanced glycation end product (AGE)-induced angiogenesis in vitro. *Horm Metab Res* 2007; **39**: 233-5.
48. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) prevents diabetes- or advanced glycation end products (AGE)-elicited retinal leukostasis. *Microvasc Res* 2006; **72**: 86-90.
49. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K et al: Pigment epithelium-derived factor suppresses expression of receptor for advanced glycation end products in the eye of diabetic rats. *Ophthalmic Res* 2007; **39**: 92-7.
50. Yamagishi S, Inagaki Y, Amano S et al: Up-regulation of vascular endothelial growth factor and down-regulation of pigment epithelium-derived factor messenger ribonucleic acid levels in leptin-exposed cultured retinal pericytes. *Int J Tissue React* 2002; **24**: 137-42.
51. Yamagishi S, Amano S, Inagaki Y et al: Pigment epithelium-derived factor inhibits leptin-induced angiogenesis by suppressing vascular endothelial growth factor gene expression through anti-oxidative properties. *Microvasc Res* 2003; **65**: 186-90.
52. Ojima A, Matsui T, Maeda S et al: Glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) inhibits signaling pathways of advanced glycation end products (AGEs) in endothelial cells via its anti-oxidative properties. *Horm Metab Res* 2012; **44**: 501-5.
53. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M et al: Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced up-regulation of VCAM-1 mRNA levels in endothelial cells by suppressing AGE receptor (RAGE) expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; **391**: 1405-8.
54. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M et al: Sitagliptin augments suppressive effects of GLP-1 on advanced glycation end product (AGE)-receptor axis in endothelial cells. *Horm Metab Res* 2011; **43**: 731-4.
55. Yokoi M, Yamagishi S, Takeuchi M et al: Elevations of AGE and vascular endothelial growth factor with decreased total antioxidant status in the vitreous fluid of diabetic patients with retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2005; **89**: 673-5.
56. Yokoi M, Yamagishi S, Saito A et al: Positive association of pigment epithelium-derived factor with total antioxidant capacity in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2007; **91**: 885-7.
57. Yokoi M, Yamagishi S, Takeuchi M et al: Positive correlation between vitreous levels of advanced glycation end products and vascular endothelial growth factor in patients with diabetic retinopathy sufficiently treated with photocoagulation. *Br J Ophthalmol* 2007; **91**: 397-8.
58. Yamagishi S, Inagaki Y, Okamoto T et al: Advanced glycation end product-induced apoptosis and overexpression of vascular endothelial growth factor and monocyte chemoattractant protein-1 in human cultured mesangial cells. *J Biol Chem* 2002; **277**: 20309-15.
59. Yamamoto Y, Kato I, Doi T et al: Development and prevention of advanced diabetic nephropathy in RAGE-overexpressing mice. *J Clin Invest* 2001; **108**: 261-8.
60. Yamamoto Y, Doi T, Kato I et al: Receptor for advanced glycation end products is a promising target of diabetic nephropathy. *Ann NY Acad Sci* 2005; **1043**: 562-6.
61. Myint KM, Yamamoto Y, Doi T et al: RAGE control of diabetic nephropathy in a mouse model: effects of RAGE gene disruption and administration of low molecular weight heparin. *Diabetes* 2006; **55**: 2510-22.
62. Shoji T, Koyama H, Morioka T et al: Receptor for advanced glycation end products is involved in impaired angiogenic response in diabetes. *Diabetes* 2006; **55**: 2245-55.
63. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui K: Potential utility of telmisartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker with peroxisome proliferator-activated receptor- (PPAR-)-modulating activity for the treatment of cardiometabolic disorders. *Curr Mol Med* 2007; **7**: 463-9.
64. Fukami K, Ueda S, Yamagishi S et al: AGEs activate mesangial TGF-beta-Smad signaling via an angiotensin II type I receptor interaction. *Kidney Int* 2004; **66**: 2137-47.
65. Matsui T, Yamagishi S, Ueda S et al: Telmisartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in mesangial cells through down-regulation of receptor for AGEs via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *J Int Med Res* 2007; **35**: 482-9.
66. Yamagishi S, Inagaki Y, Okamoto T et al: Advanced glycation end products inhibit de novo protein synthesis and induce TGF-beta overexpression in proximal tubular cells. *Kidney Int* 2003; **63**: 464-73.
67. Matsui T, Yamagishi S, Takeuchi M et al: Irbesartan inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced proximal tubular cell injury in vitro by suppressing receptor for AGEs (RAGE) expression. *Pharmacol Res* 2010; **61**: 34-9.
68. Matsui T, Nishino Y, Maeda S et al: Irbesartan inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced up-regulation of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) mRNA levels in glomerular endothelial cells. *Microvasc Res* 2011; **81**: 269-73.
69. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M et al: Beneficial effects of metformin and irbesartan on advanced glycation end products (AGEs)-RAGE-induced proximal tubular cell injury. *Pharmacol Res* 2012; **65**: 297-302.
70. Ishibashi Y, Yamagishi S, Matsui T et al: Pravastatin inhibits advanced

- glycation end products (AGEs)-induced proximal tubular cell apoptosis and injury by reducing receptor for AGEs (RAGE) level. *Metabolism* 2012; **61**: 1067-72.
71. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M et al: Metoformin inhibits advanced glycation end products (AGEs)-induced renal tubular cell injury by suppressing reactive oxygen species generation via reducing receptor for AGEs (RAGE) expression. *Horm Metab Res* 2012; **44**: 891-5.
 72. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T et al: Agents that block advanced glycation end product (AGE)-RAGE (receptor for AGEs)-oxidative stress system: a novel therapeutic strategy for diabetic vascular complications. *Expert Opin Investig Drugs* 2008; **17**: 983-96.
 73. Tsuchida K, Makita Z, Yamagishi S et al: Suppression of transforming growth factor beta and vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy in rats by a novel advanced glycation end product inhibitor, OPB-9195. *Diabetologia* 1999; **42**: 579-88.
 74. Miyoshi H, Taguchi T, Sugiura M et al: Aminoguanidine pyridoxal adduct is superior to aminoguanidine for preventing diabetic nephropathy in mice. *Horm Metab Res* 2002; **34**: 371-7.
 75. Yamagishi S, Koga K, Inagaki Y et al: Dilazep hydrochloride, an antiplatelet drug, prevents progression of diabetic nephropathy in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Drugs Exp Clin Res* 2002; **28**: 221-7.
 76. Higashimoto Y, Yamagishi S, Nakamura K et al: In vitro selection of DNA aptamers that block toxic effects of AGE on cultured retinal pericytes. *Microvasc Res* 2007; **74**: 65-9.
 77. Wang JJ, Zhang SX, Mott R et al: Salutary effect of pigment epithelium-derived factor in diabetic nephropathy: evidence for antifibrogenic activities. *Diabetes* 2006; **55**: 1678-85.
 78. Ide Y, Matsui T, Ishibashi Y et al: Pigment epithelium-derived factor inhibits advanced glycation end product-elicited mesangial cell damage by blocking NF-kappaB activation. *Microvasc Res* 2010; **80**: 227-32.
 79. Maeda S, Matsui T, Takeuchi M et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits proximal tubular cell injury in early diabetic nephropathy by suppressing advanced glycation end products (AGEs)-receptor (RAGE) axis. *Pharmacol Res* 2011; **63**: 241-8.
 80. Matsui T, Yamagishi S, Takeuchi M et al: Nifedipine, a calcium channel blocker, inhibits advanced glycation end products (AGE)-elicited mesangial cell damage by suppressing AGE receptor (RAGE) expression via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; **385**: 269-72.
 81. Matsui T, Yamagishi S, Takeuchi M et al: Nifedipine inhibits advanced glycation end products (AGEs) and their receptor (RAGE) interaction-mediated proximal tubular cell injury via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; **398**: 326-30.
 82. Ishibashi Y, Nishino Y, Matsui T et al: Glucagon-like peptide-1 suppresses advanced glycation end product (AGE)-induced monocyte chemoattractant protein-1 expression in mesangial cells by reducing AGE receptor level. *Metabolism* 2011; **60**: 1271-7.
 83. Okamoto T, Yamagishi S, Inagaki Y et al: Angiogenesis induced by advanced glycation end products and its prevention by cerivastatin. *FASEB J* 2002; **16**: 1928-30.
 84. Okamoto T, Yamagishi S, Inagaki Y et al: Incadronate disodium inhibits advanced glycation end products-induced angiogenesis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; **297**: 419-24.
 85. Yamagishi S, Ueda S, Matsui T et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) prevents advanced glycation end products (AGEs)-elicited endothelial nitric oxidase synthase (eNOS) reduction through its anti-oxidative properties. *Protein Pept Lett* 2007; **14**: 832-5.
 86. You K, Hirayama A, Ishizaki K et al: Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2-deficient mice. *Genes Cells* 2008; **13**: 1159-70.
 87. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M et al: Vardenafil, an inhibitor of phosphodiesterase-5, blocks advanced glycation end product (AGE)-induced up-regulation of monocyte chemoattractant protein-1 mRNA levels in endothelial cells by suppressing AGE receptor (RAGE) expression via elevation of cGMP. *Clin Exp Med* 2011; **11**: 131-5.
 88. Takenaka K, Yamagishi S, Matsui T et al: Role of advanced glycation end products (AGEs) in thrombogenic abnormalities in diabetes. *Curr Neurovasc Res* 2006; **3**: 73-7.
 89. Suga T, Iso T, Shimizu T et al: Activation of receptor for advanced glycation end products induces osteogenic differentiation of vascular smooth muscle cells. *J Atheroscler Thromb* 2011; **18**: 670-83.
 90. Ishibashi Y, Matsui T, Takeuchi M et al: Rosuvastatin blocks advanced glycation end products-elicited reduction of macrophage cholesterol efflux by suppressing NADPH oxidase activity via inhibition of geranylgeranylation of Rac-1. *Horm Metab Res* 2011; **43**: 619-24.
 91. Matsui T, Nishino Y, Takeuchi M et al: Vildagliptin blocks vascular injury in thoracic aorta of diabetic rats by suppressing advanced glycation end product-receptor axis. *Pharmacol Res* 2011; **63**: 383-8.
 92. Yamagishi S, Abe R, Inagaki Y et al: Minodronate, a new developed nitrogen-containing bisphosphonate, suppresses melanoma growth and improves survival in nude mice by blocking vascular endothelial growth factor signaling. *Am J Pathol* 2004; **165**: 1865-74.
 93. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K et al: Minodronate, a nitrogen-containing bisphosphonate, inhibits advanced glycation end product-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in endothelial cells by suppressing reactive oxygen species generation. *Int J Tissue React* 2005; **27**: 189-95.
 94. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K: Kinetics, role and therapeutic implications of endogenous soluble form of receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in diabetes. *Curr Drug Targets* 2007; **8**: 1138-43.
 95. Inagaki Y, Yamagishi S, Okamoto T et al: Pigment epithelium-derived factor prevents advanced glycation end products-induced monocyte chemoattractant protein-1 production in microvascular endothelial cells by suppressing intracellular reactive oxygen species generation. *Diabetologia* 2003; **46**: 284-7.
 96. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF): its potential therapeutic implication in diabetic vascular complications. *Curr Drug Targets* 2008; **9**: 1025-9.
 97. Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K: Atheroprotective properties of pigment epithelium-derived factor (PEDF) in cardiometabolic disorders. *Curr Pharm Des* 2009; **15**: 1027-33.
 98. Yamagishi S, Kikuchi S, Nakamura K et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) blocks angiotensin II-induced T cell proliferation by suppressing autocrine production of interleukin-2. *Med Chem* 2006; **2**: 265-9.
 99. Yamagishi S, Matsui T, Takenaka K et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) prevents platelet activation and aggregation in diabetic rats by blocking deleterious effects of advanced glycation end products (AGEs). *Diabetes Metab Res Rev* 2009; **25**: 266-71.
 100. Yamagishi S, Matsui T, Ueda S et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits diabetes- or advanced glycation end product (AGE)-induced platelet CD40 ligand overexpression in rats. *Int J Cardiol* 2010; **144**: 283-5.
 101. Nakamura K, Yamagishi S, Matsui T et al: Pigment epithelium-derived factor inhibits neointimal hyperplasia after vascular injury by blocking NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species generation. *Am J Pathol* 2007; **170**: 2159-70.
 102. Takenaka K, Yamagishi S, Matsui T et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) administration inhibits occlusive thrombus formation in rats: A possible participation of reduced intraplatelet PEDF in thrombosis of acute coronary syndromes. *Atherosclerosis* 2008; **197**: 25-33.
 103. Ueda S, Yamagishi S, Matsui T et al: Administration of pigment epithelium-derived factor inhibits left ventricular remodeling and improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction. *Am J Pathol* 2011; **178**: 591-8.
 104. Yamagishi S, Fukami K, Ueda S et al: Molecular mechanisms of diabetic nephropathy and its therapeutic intervention. *Curr Drug Targets* 2007; **8**: 952-9.
 105. Yamagishi S, Takeuchi M, Inoue H: Olmesartan medoxomil, a newly developed angiotensin II type 1 receptor antagonist, protects against renal damage in advanced glycation end product (AGE)-injected rats. *Drugs Exp Clin Res* 2005; **31**: 45-51.
 106. Koga K, Yamagishi S, Takeuchi M et al: CS-866, a new angiotensin II type 1 receptor antagonist, ameliorates glomerular anionic site loss and prevents progression of diabetic nephropathy in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Mol Med* 2002; **8**: 591-9.
 107. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T: Role of oxidative stress in the development of vascular injury and its therapeutic intervention by nifedipine. *Curr Med Chem* 2008; **15**: 172-7.
 108. Yamagishi S, Inagaki Y, Abe R et al: Nifedipine inhibits apoptotic cell death of cultured endothelial cells induced by tumor necrosis factor-alpha. *Drugs Exp Clin Res* 2003; **29**: 141-5.
 109. Yamagishi S, Takeuchi M: Nifedipine inhibits gene expression of receptor for advanced glycation end products (RAGE) in endothelial cells by suppressing reactive oxygen species generation. *Drugs Exp Clin Res* 2004; **30**: 169-75.

TAGEの多様な疾患への関与とその阻止

110. Yamagishi S, Takeuchi M: Nifedipine inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced leukocyte adhesion to endothelial cells by suppressing vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression. *Drugs Exp Clin Res* 2004; **30**: 163-8.
111. Yamagishi S, Takeuchi M: Nifedipine inhibits tumor necrosis factor-alpha-induced upregulation of monocyte chemoattractant protein-1 mRNA levels by suppressing CD40 expression in endothelial cells. *Drugs Exp Clin Res* 2005; **31**: 13-7.
112. Yamagishi S, Kikuchi S, Takenaka K et al: Blockade by nifedipine of advanced glycation end product-induced CD40-CD40 ligand interaction in endothelial cells. *Drugs Exp Clin Res* 2005; **31**: 221-6.
113. Matsui T, Yamagishi S, Nakamura K et al: Nifedipine, a calcium channel blocker, inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced expression of monocyte chemoattractant protein-1 in human cultured mesangial cells. *J Int Med Res* 2007; **35**: 107-12.
114. Matsui T, Takeuchi M, Yamagishi S: Nifedipine, a calcium channel blocker, inhibits inflammatory and fibrogenic gene expressions in advanced glycation end product (AGE)-exposed fibroblasts via mineralocorticoid receptor antagonistic activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; **396**: 566-70.
115. Matsui T, Takeuchi M, Yamagishi S: Involvement of aldosterone-mineralocorticoid receptor system in advanced glycation end product (AGE)-elicited plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression in diabetes. *Int J Cardiol* 2010; **145**: 566-7.
116. Yamagishi S, Takeuchi M, Inoue H: Renoprotective effects of azelnidipine, a dihydropyridine-based calcium antagonist in advanced glycation end product (AGE)-injected rats. *Int J Tissue React* 2005; **27**: 137-43.
117. Nakamura T, Sato E, Fujiwara N et al: Calcium channel blocker inhibition of AGE and RAGE axis limits renal injury in nondiabetic patients with stage I or II chronic kidney disease. *Clin Cardiol* 2011; **34**: 372-7.
118. Takeuchi M, Kikuchi S, Sasaki N et al: Involvement of advanced glycation end-products (AGEs) in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2004; **1**: 39-46.
119. Sato T, Shimogaito N, Wu X et al: Toxic advanced glycation end product (TAGE) theory in Alzheimer's disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen* 2006; **21**: 197-208.
120. Takeuchi M, Sato T, Takino J et al: Diagnostic utility of serum or cerebrospinal fluid levels of toxic advanced glycation end-products (TAGE) in early detection of Alzheimer's disease. *Med Hypotheses* 2007; **69**: 1358-66.
121. Takeuchi M, Bucala R, Suzuki T et al: Neurotoxicity of advanced glycation end-products for cultured cortical neurons. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; **59**: 1094-105.
122. Sasaki N, Toki S, Choei H et al: Immunohistochemical distribution of the receptor for advanced glycation end products in neurons and astrocytes in Alzheimer's disease. *Brain Res* 2001; **888**: 256-62.
123. Choei H, Sasaki N, Takeuchi M et al: Glycerinaldehyde-derived advanced glycation end products in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 2004; **108**: 189-93.
124. Ko SY, Lin YP, Lin YS et al: Advanced glycation end products enhance amyloid precursor protein expression by inducing reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med* 2010; **49**: 474-80.
125. Miyajima H, Osanai M, Chiba H et al: Glycerinaldehyde-derived advanced glycation end-products preferentially induce VEGF expression and reduce GDNF expression in human astrocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; **330**: 361-6.
126. Niiya Y, Abumiya T, Shichinohe H et al: Susceptibility of brain microvascular endothelial cells to advanced glycation end products-induced tissue factor upregulation is associated with intracellular reactive oxygen species. *Brain Res* 2006; **1108**: 179-87.
127. Niiya Y, Abumiya T, Yamagishi S et al: Advanced glycation end products increase permeability of brain microvascular endothelial cells through reactive oxygen species-induced vascular endothelial growth factor expression. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 2012; **21**: 293-8.
128. Abe R, Shimizu T, Sugawara H et al: Regulation of human melanoma growth and metastasis by AGE-AGE receptor interactions. *J Invest Dermatol* 2004; **122**: 461-7.
129. Abe R, Shimizu T, Yamagishi S et al: Overexpression of pigment epithelium-derived factor decreases angiogenesis and inhibits the growth of human malignant melanoma cells in vivo. *Am J Pathol* 2004; **164**: 1225-32.
130. Takino J, Yamagishi S, Takeuchi M: Cancer malignancy is enhanced by glycerinaldehyde-derived advanced glycation end-products. *J Oncol* 2010; **2010**: 739852.
131. Sakuraoka Y, Sawada T, Okada T et al: MK615 decreases RAGE expression and inhibits TAGE-induced proliferation in hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2010; **16**: 5334-41.
132. Hyogo H, Yamagishi S: Advanced glycation end products (AGEs) and their involvement in liver disease. *Curr Pharm Des* 2008; **14**: 969-72.
133. 竹内正義: AGEsと肝疾患. *Anti-aging Medicine* 2012; **8**: 55-61.
134. Nseir W, Nassar F, Assy N: Soft drinks consumption and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2010; **16**: 2579-88.
135. Nomura K, Yamanouchi T: The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem* 2012; **23**: 203-8.
136. Yilmaz Y: Review article: fructose in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; **35**: 1135-44.
137. Yoshida T, Yamagishi S, Nakamura K et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits advanced glycation end product (AGE)-induced C-reactive protein expression in hepatoma cells by suppressing Rac-1 activation. *FEBS Lett* 2006; **580**: 2788-96.
138. Yoshida T, Yamagishi S, Nakamura K et al: Telmisartan inhibits AGE-induced C-reactive protein production through downregulation of the receptor for AGE via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *Diabetologia* 2006; **49**: 3094-9.
139. Iwamoto K, Kanno K, Hyogo H et al: Advanced glycation end products enhance the proliferation and activation of hepatic stellate cells. *J Gastroenterol* 2008; **43**: 298-304.
140. Yoshida T, Yamagishi S, Nakamura K et al: Atorvastatin inhibits advanced glycation end products (AGE)-induced C-reactive expression in hepatoma cells by suppressing reactive oxygen species generation. *Vascular Dis Prevent* 2007; **4**: 213-6.
141. Yoshida T, Yamagishi S, Nakamura K et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) ameliorates advanced glycation end product (AGE)-induced hepatic insulin resistance in vitro by suppressing Rac-1 activation. *Horm Metab Res* 2008; **40**: 620-5.
142. Yoshida T, Yamagishi S, Matsui T et al: Telmisartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, inhibits advanced glycation end-product (AGE)-elicited hepatic insulin resistance via peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation. *J Int Med Res* 2008; **36**: 237-43.
143. Unoki-Kubota H, Yamagishi S, Takeuchi M et al: Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation end product (AGE) formation ameliorates insulin resistance in obese, type 2 diabetic mice. *Protein Pept Lett* 2010; **17**: 1177-81.
144. Miura K, Kitahara Y, Kajioka T et al: Combination therapy with nateglinide and telmisartan ameliorates insulin resistance in Zucker fatty rats by suppressing advanced glycation end product receptor axis. *Horm Metab Res* 2011; **43**: 226-8.
145. Hyogo H, Yamagishi S, Iwamoto K et al: Elevated levels of serum advanced glycation end-products in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; **22**: 1112-9.
146. Kimura Y, Hyogo H, Yamagishi S et al: Atorvastatin decreases serum levels of advanced glycation endproducts (AGEs) in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients with dyslipidemia: clinical usefulness of AGEs as a biomarker for the attenuation of NASH. *J Gastroenterol* 2010; **45**: 750-7.
147. Unoki H, Bujo H, Yamagishi S et al: Advanced glycation end products attenuate cellular insulin sensitivity by increasing the generation of intracellular reactive oxygen species in adipocytes. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; **76**: 236-44.
148. Maeda S, Matsui T, Takeuchi M et al: Co-treatment with azelnidipine and olmesartan inhibits advanced glycation end products (AGEs)-elicited down-regulation of adiponectin mRNA levels in cultured adipocytes partly via its anti-oxidative property. *Int J Cardiol* 2011; **146**: 264-6.
149. Maeda S, Matsui T, Takeuchi M et al: Pigment epithelium-derived factor (PEDF) blocks advanced glycation end products (AGEs)-RAGE-induced suppression of adiponectin mRNA level in adipocytes by inhibiting NADPH oxidase-mediated oxidative stress generation. *Int J Cardiol* 2011; **152**: 408-10.
150. Takino J, Kobayashi Y, Takeuchi M: The formation of intracellular glycerinaldehyde-derived advanced glycation end-products and cytotoxicity. *J Gastroenterol* 2010; **45**: 646-55.
151. Takino J, Yamagishi S, Takeuchi M: Glycer-AGEs-RAGE signaling enhances the angiogenic potential of HCC by upregulating VEGF expression. *World J Gastroenterol* 2012; **18**: 1781-8.
152. Jinno M, Takeuchi M, Watanabe A et al: Advanced glycation end-products accumulation compromises embryonic development and achievement of pregnancy by assisted reproductive technology. *Hum Reprod* 2011; **26**:

- 604-10.
153. Takeuchi M, Yamagishi S: TAGE (toxic AGEs) hypothesis in various chronic diseases. *Med Hypotheses* 2004; **63**: 449-52.
 154. 竹内正義, 岩城実奈: 生体内AGEsの生成過程, 今泉勉, 山岸昌一 (編), AGEs研究の最前線, 東京, メディカルレビュー社, 2004; 27-36.
 155. 竹内正義: 生活習慣病におけるTAGE (toxic AGEs) 病因説. 北陸大学紀要 2005; **28**: 33-48.
 156. 竹内正義, 佐藤隆, 下垣内徳子: Toxic AGEs - RAGE結合活性からみた考察 - . *血管医学* 2005; **6**: 7-15.
 157. 佐藤隆, 下垣内徳子, 竹内正義: 終末糖化産物AGEs. 内分泌・糖尿病科 2006; **22**: 101-9.
 158. 竹内正義, 佐藤隆, 瀧野純一ほか: AGEs (終末糖化産物) にはどんなものがあるか - 毒性終末糖化産物仮説. *生体の科学* 2007; **58**: 502-11.
 159. 竹内正義: Toxic advanced glycation end-products: TAGEの多様な疾患への関与. *日本薬理学会誌* 2012; **139**: 193-7.
 160. Ceriello A: Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat? *Diabetes* 2005; **54**: 1-7.
 161. Kitahara Y, Takeuchi M, Miura K et al: Glyceraldehyde-derived advanced glycation end products (AGEs): A novel biomarker of postprandial hyperglycemia in diabetic rats. *Clin Exp Med* 2008; **8**: 175-7.
 162. Tsunosue M, Mashiko N, Ohta Y et al: An α -glucosidase inhibitor, acarbose treatment decreases serum levels of glyceraldehyde-derived advanced glycation end products (AGEs) in patients with type 2 diabetes. *Clin Exp Med* 2010; **10**: 139-41.
 163. Jonson RK, Appel LJ, Brands M et al: Dietary sugars intake and cardiovascular health: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2009; **120**: 1011-20.
 164. Lustig RH, Schmidt LA, Brindis CD: The toxic truth about sugar. *Nature* 2012; **482**: 27-9.
 165. Kyriazis GA, Soundarapandian MM, Tyrberg B: Sweet taste receptor signaling in beta cells mediates fructose-induced potentiation of glucose-stimulated insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; **109**: E524-32.
 166. Cha SH, Wolfgang M, Tokutake Y et al: Differential effects of central fructose and glucose on hypothalamic malonyl-CoA and food intake. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 16871-5.
 167. Yang CS, Lam CK, Charfi M et al: Hypothalamic AMP-activated protein kinase regulates glucose production. *Diabetes* 2010; **59**: 2435-43.
 168. Kinote A, Faria JA, Roman EA et al: Fructose-induced hypothalamic AMPK activation stimulates hepatic PEPCK and gluconeogenesis due to increased corticosterone levels. *Endocrinology* 2012; **153**: 3633-45.
 169. Yamagishi S, Adachi H, Matsui T et al: Low-density lipoprotein levels are one of the independent determinants of circulating levels of advanced glycation end products in nondiabetic subjects. *Clin Cardiol* 2009; **32**: E12-5.
 170. Tahara N, Imaizumi T, Takeuchi M et al: Insulin resistance is an independent correlate of high serum levels of advanced glycation end products (AGEs) and low testosterone in non-diabetic men. *Oxid Med Cell Longev* 2010; **3**: 262-5.
 171. Tahara N, Yamagishi S, Matsui T et al: Serum levels of advanced glycation end products (AGEs) are independent correlates of insulin resistance in non-diabetic subjects. *Cardiovasc Ther* 2012; **30**: 42-8.
 172. Yamagishi S, Ueda S, Okuda S: Food-derived advanced glycation end products (AGEs): a novel therapeutic target for various disorders. *Curr Pharm Des* 2007; **13**: 2832-6.
 173. Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T et al: Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; **94**: 6474-9.
 174. Uribarri J, Cai W, Peppas M et al: Circulating glycotoxins and dietary advanced glycation endproducts: two links to inflammatory response, oxidative stress, and aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2007; **4**: 427-33.
 175. Goldberg T, Cai W, Peppas M et al: Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *J Am Diet Assoc* 2004; **104**: 1287-91.
 176. Uribarri J, Stirban A, Sander D et al: Single oral challenge by advanced glycation end products acutely impairs endothelial function in diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 2007; **30**: 2579-82.
 177. Nagai R, Ikeda K, Kawasaki Y et al: Conversion of Amadori product of Maillard reaction to N-(carboxymethyl)lysine in alkaline condition. *FEBS Lett* 1988; **425**: 355-60.
 178. Miki-Hayashi C, Nagai R, Miyazaki K et al: Conversion of Amadori products of Maillard reaction to N-(carboxymethyl)lysine by short-term heating: possible detection of artifacts by immunohistochemistry. *Lab Invest* 2002; **82**: 795-808.
 179. Sato T, Wu X, Shimogaito N et al: Effects of high-AGE beverage on RAGE and VEGF expressions in the liver and kidneys. *Eur J Nutr* 2009; **48**: 6-11.
 180. Ueda S, Yamagishi S, Takeuchi M et al: Oral adsorbent AST-120 decreases serum levels of AGEs in patients with chronic renal failure. *Mol Med* 2006; **12**: 180-4.
 181. 山岸昌一, 竹内正義: 糖尿病血管合併症における終末糖化産物 (AGEs) の関与とその阻止 - AGEsを標的としたクレメジンの新規血管障害保護作用. *血管医学* 2007; **8**: 95-100.
 182. 村本弘昭, 北田欽也, 武藤寿生ほか: 透析患者における血清終末糖化産物 (AGEs) 濃度 - セペラマー塩酸塩投与の効果 - . *透析会誌* 2011; **44**: 1015-21.
 183. Block GA, Spiegel DM, Ehrlich J et al: Effect of sevelamar and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int* 2005; **68**: 1815-24.
 184. Shantouf R, Budoff MJ, Ahmadi N et al: Effects of sevelamer and calcium-based phosphate binders on lipid and inflammatory markers in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2008; **28**: 275-9.
 185. 竹内正義, 古野理美, 小林由佳ほか: 食事性AGEsと未病. 未病と抗老化 2008; **17**: 32-9.
 186. 竹内正義: 生活習慣病におけるTAGE病因説と食事性AGEsのクロストーク. *Vitamembrane* 2010; **10**: 1-8.
 187. 竹内正義: 生活習慣病におけるToxic AGEs (TAGE)-RAGE系の関与とその阻止. *日本未病システム学会雑誌* 2011; **17**: 73-9.
 188. Takeuchi M, Yamagishi S: Alternative routes for the formation of glyceraldehyde-derived AGEs (TAGE) in vivo. *Med Hypotheses* 2004; **63**: 453-5.
 189. Tan KC, Chow WS, Ai VH et al: Advanced glycation end products and endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002; **25**: 1055-9.
 190. Kilhovd BK, Juutilainen A, Lehto S et al: Increased serum levels of advanced glycation endproducts predict total, cardiovascular and coronary mortality in women with type 2 diabetes: a population-based 18 year follow-up study. *Diabetologia* 2007; **50**: 1409-17.
 191. Kilhovd BK, Juutilainen A, Lehto S et al: High serum levels of advanced glycation end products predict increased coronary heart disease mortality in nondiabetic women but not in nondiabetic men: a population-based 18-year follow-up study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; **25**: 815-20.
 192. Berg TJ, Snorgaard O, Faber J et al: Serum levels of advanced glycation end products are associated with left ventricular diastolic function in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; **22**: 1186-90.
 193. Nin JW, Jorsal A, Ferreira I et al: Higher plasma soluble Receptor for Advanced Glycation End Products (sRAGE) levels are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in type 1 diabetes: a 12-year follow-up study. *Diabetes* 2010; **59**: 2027-32.
 194. 竹内正義, 瀧野純一, 山岸昌一: 血管障害のバイオマーカーとしてのAGEs, 可溶性RAGEの意義. *血管医学* 2010; **11**: 57-65.
 195. Nakamura K, Yamagishi S, Adachi H et al: Circulating advanced glycation end products (AGEs) and soluble form of receptor for AGEs (sRAGE) are independent determinants of serum monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) levels in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2008; **24**: 109-14.
 196. Nakamura K, Yamagishi S, Adachi H et al: Serum levels of soluble form of receptor for advanced glycation end products (sRAGE) are positively associated with circulating AGEs and soluble form of VCAM-1 in patients with type 2 diabetes. *Microvasc Res* 2008; **76**: 52-6.
 197. Yamagishi S, Adachi H, Nakamura K et al: Positive association between serum levels of advanced glycation end products and the soluble form of receptor for advanced glycation end products in nondiabetic subjects. *Metabolism* 2006; **55**: 1227-31.
 198. Nakamura K, Yamagishi S, Matsui T et al: Serum levels of soluble form of receptor for advanced glycation end products (sRAGE) are correlated with AGEs in both diabetic and non-diabetic subjects. *Clin Exp Med* 2007; **7**: 188-90.
 199. Enomoto M, Adachi H, Yamagishi S et al: Positive association of serum levels of advanced glycation end products with thrombogenic markers in humans. *Metabolism* 2006; **55**: 912-7.
 200. Yamagishi S, Adachi H, Takeuchi M et al: Serum level of advanced glycation end-products (AGEs) is an independent determinant of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in nondiabetic general population. *Horm Metab Res* 2007; **39**: 845-8.
 201. Nakamura T, Sato E, Fujiwara N et al: Circulating levels of advanced glycation end products (AGE) and interleukin-6 (IL-6) are independent determinants of serum asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in patients with septic shock. *Pharmacol Res* 2009; **60**: 515-8.
 202. Nakamura T, Sato E, Fujiwara N et al: Positive association of serum levels of advanced glycation end products and high mobility group box-1 with asymmetric dimethylarginine in nondiabetic chronic kidney disease patients. *Metabolism* 2009; **58**: 1624-8.

TAGEの多様な疾患への関与とその阻止

203. Tahara N, Yamagishi S, Tahara A et al: Adiponectin is inversely associated with ratio of serum levels of AGEs to sRAGE and vascular inflammation. *Int J Cardiol* 2012; **158**: 461-2.
204. Tahara N, Yamagishi S, Takeuchi M 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* 2012; **35**: 2618-25.
205. Ueda S, Yamagishi S, Matsui T 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* 2012; **30**: 249-54.
206. Jinnouchi Y, Yamagishi S, Takeuchi M et al: Atorvastatin decreases serum levels of advanced glycation end products (AGEs) in patients with type 2 diabetes. *Clin Exp Med* 2006; **6**: 191-3.
207. Nakamura T, Sato E, Fujiwara N et al: Atorvastatin reduces proteinuria in non-diabetic chronic kidney disease patients partly via lowering serum levels of advanced glycation end products (AGEs). *Oxid Med Cell Longev* 2010; **3**: 304-7.
208. Yamagishi S, Matsui T, Adachi H et al: Positive association of circulating level of advanced glycation end products (AGEs) with pigment epithelium-derived factor (PEDF) in a general population. *Pharmacol Res* 2010; **61**: 103-7.
209. Tahara N, Yamagishi S, Tahara A et al: Serum levels of pigment epithelium-derived factor, a novel marker of insulin resistance, are independently associated with fasting apolipoprotein B48 levels in humans. *Clin Biochem* 2012; **45**: 1404-8.

Involvement of the Toxic AGEs (TAGE)-RAGE System in the Development and Progression of the Life Style-Related Disease: - A Novel Therapeutic Strategy -

Masayoshi Takeuchi

Department of Advanced Medicine, Medical Research Institute, Kanazawa Medical University, Uchinada, Ishikawa, 920-0293, Japan

Continuous hyperglycemia is involved in the pathogenesis of diabetic micro- and macrovascular complications *via* various metabolic pathways, and numerous hyperglycemia-induced metabolic and hemodynamic conditions exist, including increased generation of various types of advanced glycation end-products (AGEs).

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 (NASH) and sterility. Therefore, the inhibition of TAGE formation, blockade of TAGE-RAGE interaction, and the suppression of RAGE expression or its downstream pathways are promising targets for therapeutic interventions against life style-related disease.

In this review, we discuss the pathophysiological role of the TAGE-RAGE system and related therapeutic interventions for preventing the development and progression of life style-related disease.

Key Words: advanced glycation end-products (AGEs), toxic AGEs (TAGE), receptor for AGEs (RAGE), TAGE-RAGE system, life style-related disease