

Original article

Evaluation of the glycative stress by non-invasive skin AGEs measurement devices.

Yuji Morita ^{1,2)}, Masayuki Yagi ²⁾, Kaori Ishizaki ²⁾, Wakako Takabe ²⁾, Takamaru Komatsu ³⁾, Momoe Nakazawa ¹⁾, Minako Matsushima ¹⁾, Tetsuro Urata ¹⁾, Yoshikazu Yonei ²⁾

1) Urata Clinic/SQOL Kanazawa, Kanazawa, Ishikawa, Japan

2) Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan

3) AGE laboratories Co., Ltd, Kyoto, Japan

Glycative Stress Research 2019; 6 (2): 092-102

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

非侵襲皮膚 AGEs 測定機による糖化ストレスの評価

森田祐二 ^{1,2)}、八木雅之 ²⁾、石崎 香 ²⁾、高部稚子 ²⁾、小松隆丸 ³⁾、

中澤百恵 ¹⁾、松島美奈子 ¹⁾、浦田哲郎 ¹⁾、米井嘉一 ²⁾

1) 浦田クリニックスクール金沢、石川県金沢市

2) 同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター、京都府京都市

3) 株式会社エージーイー研究所、京都府京都市

抄録

【目的】 本研究は複数存在する皮膚中 AGEs 測定機の糖化ストレス評価に対する適用性検証を目的に、20 歳以上 100 歳未満の健康な男女を対象として被験者を募集し、現在、日本国内で利用可能な非侵襲皮膚 AGEs 測定機 5 機種を使用して被験者の皮膚中 AGEs 量の測定値を比較検証した。さらに被験者の皮膚中 AGEs 量の測定と同時に、血液の酸化度 (oxidative stress; OS) と抗酸化力 (antioxidant power; AP) を測定し、酸化ストレスが皮膚 AGEs 測定値に及ぼす影響を検証した。

連絡先：教授 八木雅之
〒610-0321 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3
同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター／
糖化ストレス研究センター
電話 & FAX：0774-65-6394 メール：myagi@mail.doshisha.ac.jp
共著者：森田祐二 Morita Y, ymorita707@yahoo.co.jp ;
石崎 香 ko-sei12@mail.doshisha.ac.jp ; 高部稚子 wtakabe@mail.doshisha.ac.jp ;
小松隆丸 dezkyoto@gmail.com ; 中澤百恵 lac@hospy.jp ; 松島美奈子 kensa2-k@hospy.jp ;
浦田哲郎 tetsuro.u@hospy.jp ; 米井嘉一 yyonei@mail.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2019; 6 (2): 092-102
本論文を引用する際はこちを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

【方法】 本試験は20歳代から80歳代の健康な男女58名を被験者とした。皮膚AGEs測定機はAGE Reader su、AGE Reader mu、TruAge scanner、TruAge scanner mini、AGEs sensorの5機種を使用した。試験では5機種から得られた皮膚AGEs測定値の相関性を比較検証した。さらに試験では被験者から採血をおこない、血液の酸化度(oxidative stress; OS)と抗酸化力(antioxidant power; AP)を測定した。事前検査には血液学的検査、血液生化学一般検査を実施した。本研究は「人を対象とする研究」に関する倫理審査委員会の承認のもとに実施した。

【結果】 AGE Reader suによる同一被験者の右上腕部と右前腕部の皮膚AGEs測定値は、正の相関性を示した。被験者前腕の皮膚AGEs量をAGE Reader su、AGE Reader mu、TruAge scanner、TruAge scanner miniで測定した結果は、AGE Reader muを基準とした場合、全て正の相関性を示した。AGEs sensorで測定した左手中指のAGEs測定値は、AGE Reader muの測定値と相関を示さなかった。被験者の前腕皮膚AGEsをAGE Reader su、AGE Reader mu、TruAge scanner、TruAge scanner miniで測定した結果、測定値は被験者の年齢と相関を認めた。被験者血液のOSとAPは弱い負の相関性を示した。被験者のOS、APの測定値と被験者の年齢には相関性が認められなかった。AGE Reader mu、AGEs sensorによる皮膚AGEs測定値と血液のOS測定値に着目して被験者を区分すると、OSと皮膚AGEsが共に高値、OSまたは皮膚AGEsの一方が高値、OSと皮膚AGEsが共に低値な被験者群に区分することができた。

【結論】 現在、日本国内で使用されている主な皮膚AGEs測定機の5機種による皮膚AGEs測定値は、健康な日本人の糖化ストレス評価に有用であった。皮膚AGEsと同時に、血液のOSを測定することで、糖化ストレスに対する酸化ストレスの影響を被験者ごとに評価できる可能性があった。

KEY WORDS: 皮膚AGEs量測定機、測定値間差、糖化ストレス、酸化ストレス

はじめに

糖化ストレスはグルコースなどの還元糖やアルデヒド負荷に起因する生体ストレスと、その後の糖化最終生成物(advanced glycation end products; AGEs)の生成、蓄積に関わる影響を総合的に捉えた概念である¹⁾。AGEsにはペントシジン、カルボキシメチルリジン(N^{ϵ} -(carboxymethyl) lysine; CML)、クロスリンなど、様々な物質が存在する。AGEsが生成する経路は多数あり、ケトン、アルデヒドなど様々な糖化反応中間体が存在する²⁾。糖化ストレスによって生体内の蛋白はAGEs化すると、褐色化、蛍光性の獲得、蛋白架橋形成などの変化が起こる。またAGEsは細胞表面受容体であるRAGE(receptor for AGEs)などと結合し、シグナル伝達により細胞に炎症を惹起する³⁾。糖化ストレスによるAGEsの生成や蓄積は、蛋白に様々な組織や器官に生理的、物理的障害を及ぼす。このため糖化ストレスは老化や様々な疾患の進展要因になる。

糖化ストレスの影響を評価する方法には血中のAGEs濃度の測定がある⁴⁾。しかし現在、臨床現場で血中のAGEsを測定する汎用的な方法はない。また、様々なAGEsの測定意義に関する情報は少ない。近年、皮膚中AGEs由来蛍光強度を非侵襲で測定可能な測定機が複数開発され、臨床現場で利用可能になった⁵⁻¹⁰⁾。本測定機は皮膚に紫外線

を照射したときに、皮膚中に蓄積したAGEsが特有の蛍光を発する特性を利用した測定原理を有している。本測定は様々なAGEsのうち、蛍光性を有する物質の総量を測定している。しかし測定している蛍光性AGEsの特定はできていない。このため本測定原理による測定値は物質特異性に欠ける。また蛍光性を有する皮膚中AGEsの標準物質はなく、複数ある測定機の測定値校正が困難である。さらに皮膚AGEsの測定部位は前腕、上腕、指先などがあり、測定部位の違いによる測定値の意義の違いが不明である。しかし、これらの測定機を使った皮膚AGEs測定は非侵襲であること、1分以内で測定できること、機器が小型であることなどのメリットがある。

本研究では複数存在する皮膚中AGEs測定機の糖化ストレス評価への適用性検証を目的に、20歳以上100歳未満の健康な男女を対象として被験者を募集し、現在、日本国内で利用可能な皮膚AGEs量測定機5機種を使用して被験者の皮膚中AGEs蛍光強度の測定値を比較した。また本試験では糖化ストレスを加速する因子のひとつである酸化ストレスの影響を評価するために、被験者の皮膚中AGEs量の測定と同時に、血液の酸化度(oxidative stress; OS)と抗酸化力(antioxidant power; AP)を測定した¹¹⁾。

方法

対象

本研究は20歳以上100歳未満の健康な男女を対象とし、浦田クリニックスコール金沢に関係する人から被験者を募集した。本研究の試験は一般社団法人糖化ストレス研究会「人を対象とする研究」に関する倫理審査委員会での承認を得て実施した。本試験の被験者は、予め開催した本試験に関する試験説明会に参加した人で、本試験の参加を事前に文書で同意し、かつ以下の除外基準に抵触していない人とした。

- ① 試験実施時に、何らかの疾患を患い薬物治療を受けている人
- ② 試験実施から過去1ヶ月において、疾患治療を目的とした、薬物の服薬習慣がある人（頭痛、月経痛、感冒などの頓服歴は除く）
- ③ 肝、腎、心、肺、血液などの重篤な障害の既往歴・現病歴がある人
- ④ その他、試験責任医師が本試験の対象として不適当と判断した人

被験者には本試験内容を理解し、試験への参加を文書で同意し、かつ除外基準に抵触していない58名を組み込んだ。

試験デザイン

本試験は群内観察試験とした。被験者は検査日まで普段通りの生活習慣を継続し、自ら検査実施場所に来所し、全ての検査を受診した。検査は浦田クリニックスコール金沢（石川県金沢市）で、2018年3月に実施した。

身体計測

身体計測は、身長、体重、体脂肪率、体格指数（body mass index; BMI）とした。

血液検査

本試験では被験者から静脈採血した血液試料を用いて血液生化学検査を行った。検査項目は白血球数（WBC）、赤血球数（RBC）、ヘモグロビン（Hb）、ヘマトクリット（Ht）、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球血色素量（MCH）、平均赤血球血色素濃度（MCHC）、血小板（TP）、血液像（好中球：NEUTRO、リンパ球：LYMPHO、単球：MoC、好酸球：EOSINO、好塩基球：BASO）、総蛋白（TP）、アルブミン（ALB）、総ビリルビン（TB）、間接ビリルビン（IB）、アスパラギン酸トランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスペプチダーゼ（ALT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、乳酸脱水素酵素（LDH）、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ（ γ -GTP）、アミラーゼ（AMY）、総コレステロール（TC）、HDL-コレステロール（HDL-C）、LDL-コレステロール（LDL-C）、中性脂肪（TG）、尿素窒素（BUN）、クレアチニン（CRE）、推算糸球体濾過量

（eGFR）、尿酸（UA）、ナトリウム（Na）、カリウム（K）、クロール（Cl）、カルシウム（Ca）、血清鉄（Fe）、ヘモグロビンA1c（HbA1c [NGSP]）、インスリン（IRI）とした。血液生化学検査は株式会社LSIメディエンス（東京都千代田区）に依頼して測定した。

血液特殊検査には酸化度（oxidative stress; OS）、抗酸化力（antioxidant power; AP）を測定した。血液特殊検査はスポットケム i-Pack Oxystress test（アークレイ、京都）を使用し、検査実施施設で採血直後に測定した。

皮膚 AGEs 蛍光測定

本試験では皮膚 AGEs 由来蛍光の強度を非侵襲測定した。測定機器はAGE Reader su、AGE Reader mu（DiagnOptics, Groningen, Nederland）、TruAge scanner、TruAge scanner mini（Morinda, UT, USA）、AGEs sensor（Sharp, Osaka, Japan）の5機器を使用した（Fig.1）。測定部位はAGE Reader suが右上腕と前腕、AGE Reader mu、TruAge scanner、TruAge scanner miniが右前腕、AGEs sensorが左手手中指とした。

統計解析

各検査データは基本統計量（平均値、標準偏差）を算出した。データの解析は各皮膚 AGEs 測定機器で計測される皮膚 AGEs 測定値の相関性および血液特殊検査（OS、AP）と皮膚 AGEs 測定値の相関性とした。解析結果の検定は統計解析ソフト BellCurve for Excel（社会情報サービス、東京都新宿区）を使用し、ピアソンの積率相関係数を用いて相関性を評価した。相関性は $0.4 < |r| \leq 1.0$ を相関性あり、 $0.2 < |r| \leq 0.4$ を弱い相関性ありとした。統計解析結果は危険率5%未満を有意とし、10%未満を傾向ありとした。

倫理審査

本試験は、ヘルシンキ宣言（2013年WMAフォルタレザ総会で修正）および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（文部科学省、厚生労働省告示）を遵守した。本試験は「一般社団法人糖化ストレス研究会「人を対象とする研究」に関する倫理審査委員会」（東京都新宿区）にてヒト試験倫理委員会を開催し、試験の倫理性および妥当性について審議を行い、承認された（承認番号#糖ス倫2018第003号）。本試験については臨床試験事前登録を行った（UMIN # 000031331）。



AGE Reader su



TruAge scanner mini



AGE Reader mu



TruAge scanner



AGEs sencer

Fig. 1. Skin AGEs measuring device.

AGEs, advanced glycation end products.

結果

被験者背景

本試験の被験者 58 名は、血液生化学検査において全ての検査項目が日本臨床検査医学会の共用基準範囲外¹²⁾、かつ人間ドック学会判定区分 D (要治療)¹³⁾ に該当せず、全て健康な成人であった (Table 1, 2)。被験者 58 名の内訳は、男性 5 名、女性 53 名であった。被験者の年齢は、20 歳代 4 名、30 歳代 11 名、40 歳代 23 名、50 歳代 8 名、60 歳代 5 名、70 歳代 6 名、80 歳代 1 名で、平均年齢が 40.7 ± 11.0 歳 (平均値 \pm 標準偏差) であった。

皮膚 AGEs 測定における測定部位の比較

本測定では AGE Reader su を使用して、同一被験者の右上腕部と右前腕部の皮膚中 AGEs 測定値を比較した (Fig. 2) 本測定中に AGE Reader su の機器トラブルが発生したため、測定した被験者数は 40 名であった。同一被験者の上腕部と前腕部の測定値は正の相関性を示した ($y = 0.5876x + 0.7457$, $r = 0.744$, $n = 40$, $p < 0.01$)。一次回帰式の傾きは 0.5876 であり、上腕よりも前腕が高値に測定された。

Table 1. Subject background profile.

Inspection item	Unit	Mean	\pm	SD
Age	years	40.7	\pm	11.0
Body height	cm	159.4	\pm	5.7
Body weight	kg	51.4	\pm	6.3
Body fat	%	40.7	\pm	11.0
BMI	kg/m ²	20.2	\pm	1.9

Total subjects, n = 58 (male: 5, female: 53); BMI, body mass index; SD, standard deviation.

Table 2. Results of blood biochemistry and hemogram.

Inspection item	Unit	Reference Interval ¹⁾	Mean	±	SD
TP (total protein)	g/dL	6.6 - 8.1	7.3	±	0.4
TB (total bilirubin)	mg/dL	0.4 - 1.5	0.6	±	0.3
IB (indirect bilirubin)	mg/dL	—	0.4	±	0.2
AST (aspartate transaminase)	U/L	13 - 30	20.5	±	7.1
ALT (alanine transaminase)	U/L	male: 10 - 42 female: 7 - 23	18.0	±	14.7
ALP (alkaline phosphatase)	U/L	106 - 322	179.6	±	56.4
LDH (lactate dehydrogenase)	U/L	124 - 222	153.9	±	22.7
γ-GTP (γ-glutamyltransferase)	U/L	male: 13 - 64 female: 9 - 32	18.7	±	11.5
AMY (amylase)	U/L	44 - 132	88.3	±	23.9
CK (creatine kinase)	U/L	male: 59 - 248 female: 41 - 153	94.6	±	55.9
BUN (blood urea nitrogen)	mg/dL	8 - 20	13.2	±	3.2
CRE (creatinine)	mg/dL	male: 0.65 - 1.07 female: 0.46 - 0.79	0.6	±	0.1
eGFR (estimated glomerular filtration rate)	mL/min/1.73m ²	≥ 60.0 ²⁾	86.5	±	15.4
UA (uric acid)	mg/dL	male: 3.7 - 7.8 female: 2.6 - 5.5	4.3	±	0.9
HbA1c [NGSP]	%	4.9 - 6.0	5.5	±	0.2
IRI (immune reactive insulin)	μU/mL	—	10.7	±	11.6
TC (total cholesterol)	mg/dL	142 - 248	197.7	±	37.6
TG (triglyceride)	mg/dL	male: 40 - 234 female: 30 - 117	75.6	±	44.1
HDL-C (high-density lipoprotein cholesterol)	mg/dL	male: 38 - 90 female: 48 - 103	80.7	±	15.6
LDL-C (low-density lipoprotein cholesterol)	mg/dL	65 - 143	99.0	±	30.8
LDL-C/HDL-C ratio		—	1.3	±	0.5
Na (sodium)	mEq/L	138 - 145	140.3	±	1.4
K (potassium)	mEq/L	3.6 - 4.8	4.0	±	0.3
Cl (chloride)	mEq/L	101 - 108	102.9	±	1.7
Ca (calcium)	mg/dL	8.8 - 10.1	8.8	±	0.3
IP (inorganic phosphorus)	mg/dL	2.7 - 4.6	3.5	±	0.4
Fe (serum iron)	μg/dL	40 - 188	82.7	±	34.8
WBC (white blood cell count)	10 ³ /μL	3.3 - 8.6	6.1	±	1.5

RBC (red blood cell count)	$10^4/\mu\text{L}$	male: 4.35 - 5.55 female: 3.86 - 4.92	447.5 ± 38.4
Hb (hemoglobin)	g/dL	male: 13.7 - 16.8 female: 11.6 - 14.8	13.3 ± 1.5
Ht (hematocrit)	%	male: 40.7 - 50.1 female: 35.1 - 44.4	39.9 ± 4.0
MCV (mean corpuscular volume)	fL	83.6 - 98.2	89.3 ± 5.5
MCH (mean corpuscular hemoglobin)	pg	27.5 - 33.2	29.8 ± 2.3
MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration)	%	31.7 - 35.3	33.3 ± 1.0
PLT (platelet count)	$10^4/\mu\text{L}$	15.8 - 34.8	26.5 ± 5.4
Neutro (neutrophil)	%	—	60.8 ± 7.6
Lympho (lymphocyte)	%	—	31.1 ± 7.2
Mono (monocyte)	%	—	4.9 ± 1.5
Eosino (eosinophil)	%	—	2.5 ± 1.7
Baso (basophil)	%	—	0.7 ± 0.4
OS (oxidative stress)	mg/dL	—	28.3 ± 6.8
AP (antioxidant power)	mg/dL	—	2441.3 ± 237.6

1) Guideline JSLM2018 of a clinical laboratory test. 2) Criteria category (Revised the Japan Society of Ningen Dock on December 14, 2018). SD, standard deviation.

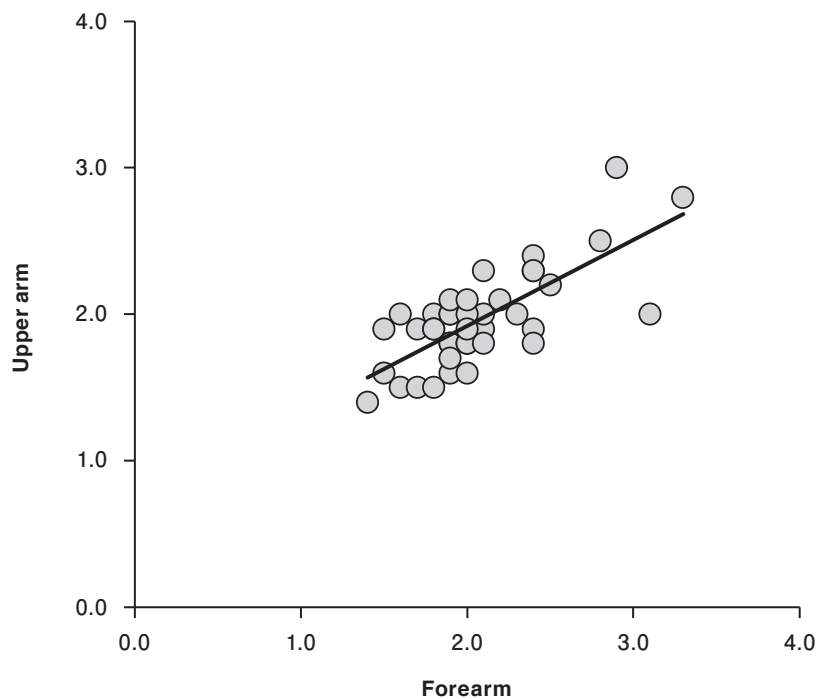


Fig. 2. Comparison of a measured region.

Device, AGE Reader su; Region, Right arm; correlation, $y = 0.5876x + 0.7457$, $n = 40$, $r = 0.744$, $p < 0.01$; Statistical analysis, Pearson product-moment correlation coefficient; AGE, advanced glycation end product.

測定機器間の皮膚 AGEs 測定値相関性

本測定では同一被験者を AGE Reader su、AGE Reader mu、TruAge scanner、TruAge scanner mini、AGEs sensor で測定した (Fig. 3)。測定部位は AGE Reader su、AGE Reader mu、TruAge scanner、TruAge scanner mini が右前腕部、AGEs sensor が左手中指とした。本測定中に TruAge scanner mini の機器トラブルが発生したため、本機器で測定した被験者数は 53 名であった。AGE Reader mu と AGE Reader su ($y = 0.8547x + 0.2546$, $r = 0.832$, $n = 40$, $p < 0.01$)、TruAge scanner ($y = 77.106x + 28.148$, $r = 0.959$, $n = 58$, $p < 0.01$)、TruAge scanner mini ($y = 66.782x + 49.118$, $r = 0.813$, $n = 53$, $p < 0.01$) の測定値は正の相関性を示した。一方、AGE Reader mu と AGEs sensor の測定値には相関性が認められなかった。

皮膚 AGEs 測定値と被験者の年齢の関係

本測定では各機器による皮膚 AGEs 測定値と被験者の年齢との相関性を評価した (Fig. 4)。皮膚 AGEs 測定値と被験者の年齢は AGE Reader su ($y = 0.0255x + 1.0523$, $r = 0.702$, $n = 40$, $p < 0.01$)、AGE Reader mu ($y = 0.0219x + 1.3238$, $r = 0.567$, $n = 58$, $p < 0.01$)、TruAge scanner ($y = 1.6773x + 130.6$, $r = 0.541$, $n = 58$, $p < 0.01$) で正の

相関性を示した。TruAge scanner mini の測定値は被験者の年齢と弱い相関性を認めた ($y = 1.0244x + 151.37$, $r = 0.370$, $n = 53$, $p < 0.01$)。一方、AGEs sensor の測定値と被験者の年齢には相関性が認められなかった。

皮膚 AGEs 測定値と血液の酸化度、抗酸化力の関係

本試験では糖化ストレスを加速する因子のひとつである酸化ストレスの影響を評価するために、血液の OS と AP を測定した。被験者の OS と AP は弱い負の相関性を示した ($y = -10.607x + 2741.3$, $r = 0.304$, $n = 58$, $p < 0.05$, Fig. 5)。被験者の OS、AP の測定値と被験者の年齢には相関性が認められなかった (データ未掲載)。さらに被験者血液の OS 測定値と AGE Reader mu、AGEs sensor による皮膚 AGEs 測定値との関係を評価した (Fig. 6)。測定値の相関図プロットを OS 測定平均値 (28.3 ± 6.8 mg/dL, $n = 58$)、AGE Reader mu 測定平均値 (2.2 ± 0.4 , $n = 58$)、AGEs sensor (0.47 ± 0.09 , $n = 58$) 測定平均値で区分すると、被験者は OS と皮膚 AGEs が共に高値、OS または皮膚 AGEs の一方が高値、OS と皮膚 AGEs が共に低値な被験者群に区分できた。各群内の被験者は AGE Reader mu と AGEs sensor で必ずしも一致しなかった。

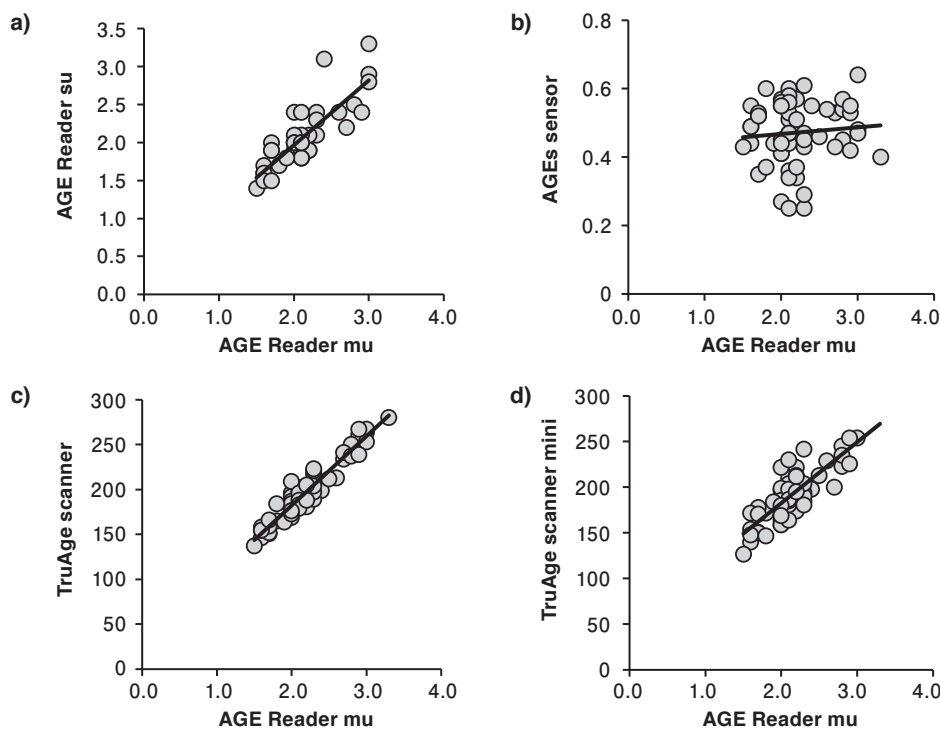


Fig. 3. Correlation of AGE Reader mu value and other device value.

Measured region, right forearm; Correlation of AGE Reader mu value, **a**) vs AGE Reader su: $y = 0.8547x + 0.2546$, $n = 40$, $r = 0.832$, $p < 0.01$, **b**) vs AGEs sensor: $y = 0.0192x + 0.4294$, $r = 0.089$, $n = 58$, **c**) vs TruAge scanner: $y = 77.106x + 28.148$, $r = 0.959$, $n = 58$, $p < 0.01$, **d**) vs TruAge scanner mini: $y = 66.782x + 49.118$, $r = 0.813$, $n = 53$, $p < 0.01$; Statistical analysis, Pearson product-moment correlation coefficient; AGEs, advanced glycation end products.

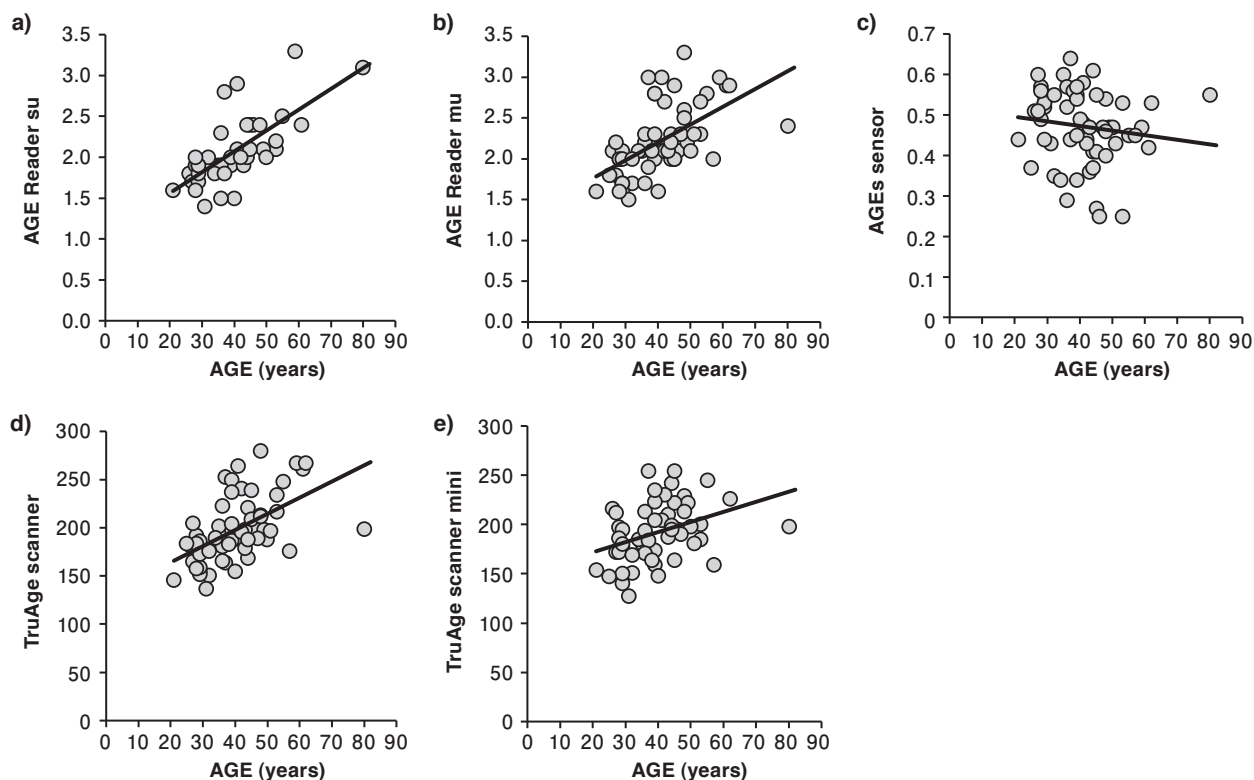


Fig. 4. Correlation of skin AGEs value and chronological age.

Measured region, right forearm; Correlation of chronological age, **a)** AGE Reader su: $y = 0.0255x + 1.0523$, $r = 0.702$, $n = 40$, $p < 0.01$, **b)** AGE reader mu: $y = 0.0219x + 1.3238$, $r = 0.567$, $n = 58$, $p < 0.01$, **c)** AGEs sensor: $y = -0.0011x + 0.5182$, $r = 0.137$, $n = 58$, **d)** TruAge scanner: $y = 1.6773x + 130.6$, $r = 0.541$, $n = 58$, $p < 0.01$, **e)** TruAge scanner mini: $y = 1.0244x + 151.37$, $r = 0.370$, $n = 53$; Statistical analysis, Pearson product-moment correlation coefficient; AGEs, advanced glycation end products.

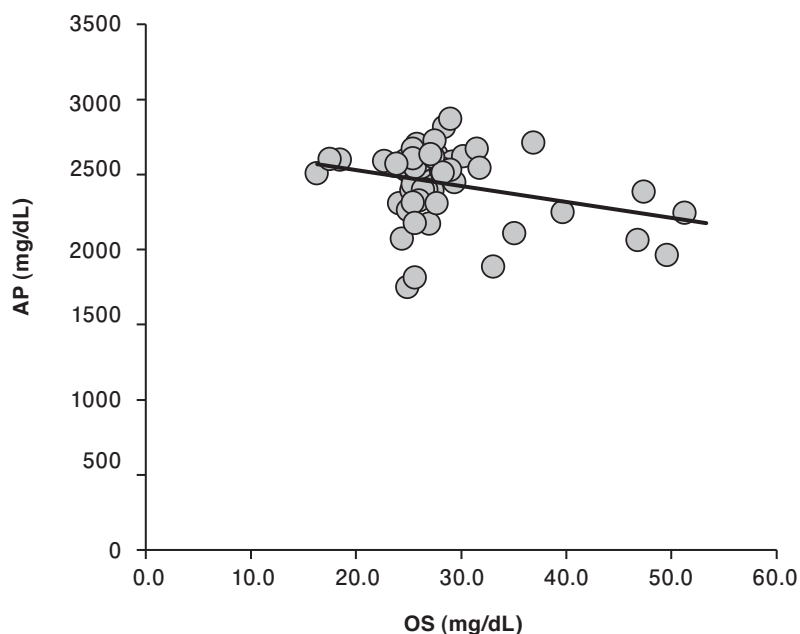


Fig. 5. Correlation of OS and AP.

Reagent, Spotchem i-Pack Oxystress test; Correlation, $y = -10.607x + 2741.3$, $r = 0.304$, $n = 58$, $p < 0.05$; Statistical analysis, Pearson product-moment correlation coefficient. OS, blood oxidative stress; AP, antioxidant power.

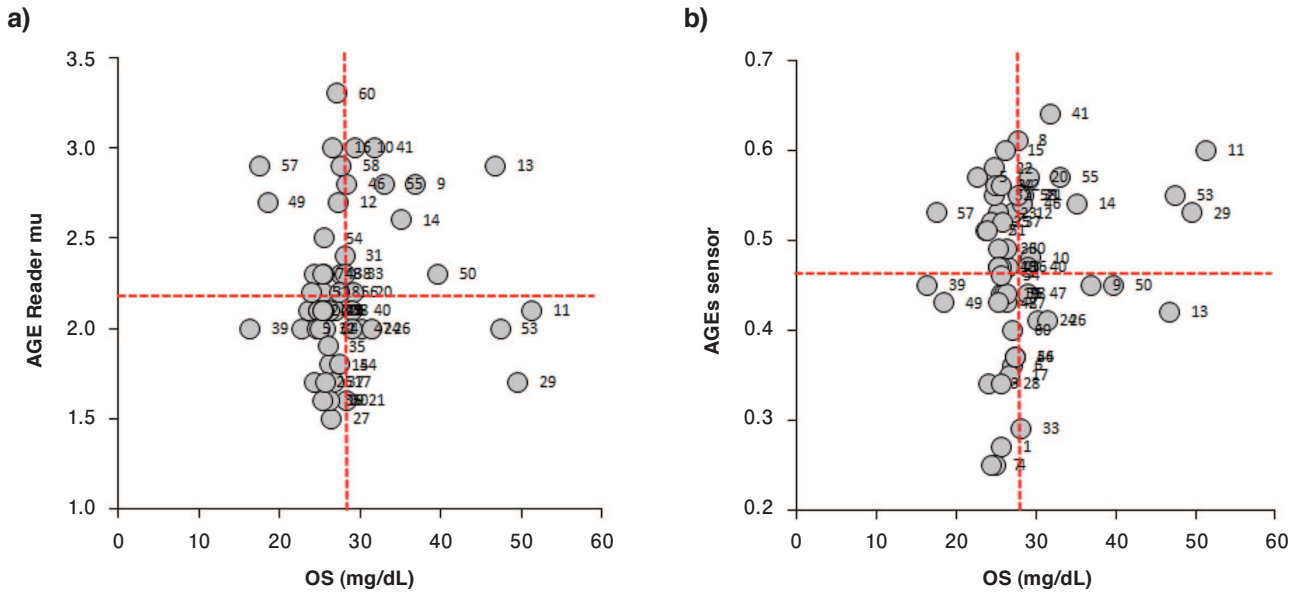


Fig. 6. Correlation of skin AGEs value and OS.

Red dotted line, Mean value (mean \pm SD), **a)** AGE Reader mu: 2.2 ± 0.4 , **b)** AGEs sensor: 0.47 ± 0.09 , OS: 28.3 ± 6.8 mg/dL; Number, Subject's ID; AGEs, advanced glycation end products; OS, blood oxidative stress; SD, standard deviation.

考察

皮膚 AGEs 測定機の測定値の違い

現在、日本国内で使用されている主な皮膚 AGEs 測定機は AGE Reader su、AGE Reader mu、TruAge scanner、TruAge scanner mini、AGEs sensor の 5 機種ある。各機器は皮膚に紫外線を照射し、AGEs 特有の蛍光（励起波長 370 nm、蛍光波長 440 nm）を測定することで、皮膚中の AGEs 蓄積量を測定する原理を有している。しかし各測定機の表示値は機器ごとに固有で、全て異なる。また既に報告されている皮膚 AGEs の測定部位は、前腕^{5, 8, 10}、上腕^{6, 7}、指先⁹がある。さらに現在、皮膚 AGEs 測定機器の校正に有用な標準物質はない。

本研究では 20 ~ 80 歳代の健康な男女被験者 58 名を対象に、現在、日本国内で使用されている 5 機種の皮膚 AGEs 測定機を使用して被験者の皮膚 AGEs 量を同時に測定し、糖化ストレス評価への適用性を検証した。この結果、AGE Reader mu と AGE Reader su、TruAge scanner、TruAge scanner mini の 4 機種を使用した前腕部の測定値は、いずれも正の相関性が認められた。しかし機器ごとに表示値が異なるため、回帰式の傾き、切片は機器の組み合わせごとに異なった。一方、AGE Reader mu と AGEs sensor との測定値には相関性が認められなかった。両測定機の皮膚 AGEs 測定原理は同じであるが、測定部位に右前腕 (AGE Reader mu) と左手中指 (AGEs sensor) の違いがある。測定値の違いには指先の毛細血管の多さ、メラニン色素の少なさ、角層、淡明層など表皮層の厚み¹⁴ など、皮膚組織の構造的差異が関与している可能性があった。

皮膚 AGEs の測定部位と意義

世界で初めて非侵襲で皮膚 AGEs 測定を可能にした機器は AGE Reader su である⁵。皮膚 AGEs の測定原理は皮膚に紫外線を照射したときに発生する AGEs 特有の蛍光（励起波長 370 nm、蛍光波長 440 nm）を測定するものである。AGEs 特有の蛍光を有する AGEs にはクロスリン¹⁵、ピロピリジン^{16, 17}、ベスパーリジン (vesperlisine)^{18, 19}などが報告されている。AGE Reader su による前腕部の皮膚 AGEs 測定値は、皮膚中の架橋性コラーゲンの AGEs 由来蛍光値およびペントシジン (pentosidine) 量と相関することが皮膚生検により検証されている⁵。また、AGE Reader su による前腕部の皮膚 AGEs 測定値は、糖尿病合併症^{20, 21}、動脈硬化²²、心血管障害²³、骨折²⁴、認知症^{25, 26}、皮膚老化²⁷などのリスク評価への有用性が検証されている。一方、皮膚蛍光の測定は被験者の皮膚色に影響を受ける²⁸。このため太陽光による紫外線暴露の影響を受けやすい前腕部の測定は、被験者の屋外での生活習慣に起因する測定トラブルを起こしやすい⁸。この影響を軽減するためには上腕部の測定が有用である⁶。健康な日本人被験者 780 名の皮膚上腕部 AGEs 量を AGE Reader su で測定した結果、皮膚 AGEs 量は加齢と共に増加し、飲酒、喫煙、睡眠時間の短さなどの生活習慣によって増加することが報告された⁷。同様の結果は健康な日本人被験者 10,946 名の皮膚前腕部 AGEs 量を TruAge scanner で測定した場合でも報告されている¹⁰。これらのことから前腕部または上腕部の皮膚 AGEs の測定値は、同様の意義を有する可能

性がある。一方、AGEs sensor の測定部位は左手中指である。指先の皮膚 AGEs の測定は前腕、上腕部よりもメラニンの影響を受けず、特に左手中指の測定が最も精度よく測定できるとされている⁹⁾。さらに、AGEs sensor の測定値は糖尿病患者が罹患している合併症の数と相関することが示されている。また AGEs sensor による指先の皮膚 AGEs 測定値は、血中の MG-H1 (methylglyoxal 5-hydroxy-5-methylimidazolones) 濃度と相関性を有する。

これらのことから、AGE Reader su、AGE Reader mu、TruAge scanner、TruAge scanner mini、AGEs sensor の 5 機種による皮膚 AGEs 測定は、測定部位が異なっても被験者の糖化ストレスを評価する上で意義があると考えられた。しかし前腕または上腕と、指先の皮膚 AGEs 測定値の意義には違いがある可能性があり、特に指先を測定する AGEs sensor の測定意義の検証にはデータの蓄積が必要である。

皮膚 AGEs と酸化ストレス

本試験では糖化ストレスを加速する因子のひとつとして酸化ストレス測定し、皮膚 AGEs 測定値との関係を検証した。検証には被験者血液の OS と AP を測定し¹¹⁾、AGE Reader mu および AGEs sensor の測定値と比較した。被験者血液の OS と AP には弱い負の相関性が認められたことから、体の酸化ストレスの上昇が抗酸化力の低下に関与する可能性があった。一方、被験者血液の OS と AP には、年齢と相関性が認められなかった（データ未掲載）。このため酸化ストレスは直近の生活習慣に影響を受けやすい可能性が考えられた。これらの結果は、血液の酸化度と抗酸化力が皮膚中 AGEs 量の観点からみた糖化ストレス測定値に影響を及ぼす主要因になっていことを示唆した。

臨床現場での皮膚 AGEs 測定

全被験者 (n = 58) の OS 測定平均値は 28.3 ± 6.8 mg/dL で 95% 信頼区間 (confidence interval; CI) が 1.8 であった。同様に AGE Reader mu の測定平均値は 2.2 ± 0.4 で 95% CI が 0.1 であった。また AGEs sensor の測定平均値は 0.47 ± 0.09 で 95% CI が 0.02 であった。これらの測定平均値を基準として、OS と AGE Reader または AGEs sensor の測定値相関図プロットを 4 エリアに分割したところ、被験者は酸化ストレス (OS) と糖化ストレス (AGE Reader または AGEs sensor) の両方が高い群、片方が高い群、両方が低い群に分類することができた。糖化ストレスと酸化ストレスは共に老化や疾患の危険因子である。糖化ストレスまたは酸化ストレスの片方が高い被験者を選別できたことは、老化や疾患の予防対策の重点課題を指導できる可能性があった²⁹⁾。

研究限界

本試験は、健康な日本人男女 58 名に対して、日本国内で使用されている主な 5 機種の皮膚 AGEs 測定機を使用して皮膚 AGEs 値を比較し、糖化ストレスの評価に対する適

用性を検証した。既に皮膚 AGEs 測定は前腕、上腕を測定部位とする機器を使用した報告が数多くある。本試験で使用した前腕、上腕を測定する 4 機種の測定値は、機種間の相関を有することから、既報の皮膚 AGEs 測定と同様の意義を有すると考えられた。一方、指先から皮膚 AGEs を測定する機器は、販売開始から 2 年しか経っておらず報告例が少ない。本試験では皮膚 AGEs を前腕、上腕で測定した値と、指先で測定した値が相関しないことを見出したが、測定意義の違いを明らかにしえなかった。

結論

現在、日本国内で使用されている主な皮膚 AGEs 測定機の 5 機種 (AGE Reader su、AGE Reader mu、TruAge scanner、TruAge scanner mini、AGEs sensor) を使った皮膚 AGEs 測定は、健康な日本人の糖化ストレス評価に有用であった。同時に血液の酸化度 (OS) を測定することは、臨床現場において糖化ストレスと酸化ストレスの影響を被験者ごとに評価することができるため、適切な対策を指導できる可能性がある。

謝辞

本研究は第 18 回日本抗加齢医学会総会 (2018 年 5 月 26 日、大阪) にて発表した。

利益相反申告

本研究で使用した皮膚 AGEs 測定機器は、AGE Reader mu をセリスタ株式会社 (東京都千代田区) から、TruAge scanner mini をモリダジャパン合同会社 (東京都新宿区) から無償貸与を受けた。スポットケム i-Pack Oxystress Test 試薬はアークレイマーケティング株式会社 (東京都新宿区) から無償提供を受けた。

参考文献

- 1) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photo-aging in skin. *Anti-Aging Med.* 2011; 8: 23-29.
- 2) Nagai R, Mori T, Yamamoto Y, et al. Significance of advanced glycation end products in aging-related disease. *Anti-Aging Med.* 2010; 7: 112-119.
- 3) Fukami K, Yamagishi S, Okuda S. Role of AGEs-RAGE system in cardiovascular disease. *Curr Pharm Des.* 2014; 20: 2395-2402.
- 4) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 3. The evaluation of glycative stress: Measurement of advanced glycation end products (AGEs). *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 53-57.
- 5) Meerwaldt R, Graaff R, Oomen PH, et al. Simple non-invasive assessment of advanced glycation endproduct accumulation. *Diabetologia.* 2004; 47: 1324-1330.
- 6) Nomoto K, Yagi M, Arita S, et al. A survey of fluorescence derived from advanced glycation end products in the skin of Japanese: Differences with age and measurement location. *Anti-Aging Med.* 2012; 9: 119-124.
- 7) Nomoto K, Yagi M, Arita S, et al. Skin accumulation of advanced glycation end products and lifestyle behaviors in Japanese. *Anti-Aging Med.* 2012; 9: 165-173.
- 8) Yamagishi S, Fukami K, Matsui T. Evaluation of tissue accumulation levels of advanced glycation end products by skin autofluorescence: A novel marker of vascular complications in high-risk patients for cardiovascular disease. *Int J Cardiol.* 2015; 185: 263-268.
- 9) Yamanaka M, Matsumura T, Ohno R, et al. Non-invasive measurement of skin autofluorescence to evaluate diabetic complications. *J Clin Biochem Nutr.* 2016; 58: 135-140.
- 10) Isami F, West BJ, Nakajima S, et al. Association of advanced glycation end products, evaluated by skin autofluorescence, with lifestyle habits in a general Japanese population. *J Int Med Res.* 2018; 46: 1043-1051.
- 11) Sato K, Yagi M, Yonei Y. A new method for measuring oxidative stress using blood samples. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 15-21.
- 12) Ichihara K, Yomamoto Y, Hotta T, et al. Collaborative derivation of reference intervals for major clinical laboratory tests in Japan. *Ann Clin Biochem.* 2016; 53(Pt 3): 347-356.
- 13) Japan Society of Ningen Dock, Criteria category (Revised on April 1, 2018). <https://www.ningen-dock.jp/en/other/inspection,2019/5/1>.
- 14) Alper M, Kavak A, Parlak AH, et al. Measurement of epidermal thickness in a patient with psoriasis by computer-supported image analysis. *Braz J Med Biol Res.* 2004; 37: 111-117.
- 15) Obayashi H, Nakano K, Shigeta H, et al. Formation of crossline as a fluorescent advanced glycation end product *in vitro* and *in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996; 226: 37-41.
- 16) Hayase F, Himura H, Asano M, et al. Identification of novel fluorescent pyrrolopyridinium compound formed from Maillard reaction of 3-deoxyglucosone and butylamine. *Biosci Biotech Biochem.* 1994; 58: 1936-1937.
- 17) Hayase F. Recent development of 3-deoxyosone related Maillard reaction products. *Food Sci Technol Res.* 2000; 6: 79-86.
- 18) Tessier F, Obrenovich M, Monnier VM. Structure and mechanism of formation of human lens fluorophore LM-1. *J Biol Chem.* 1999; 274: 20796-20804.
- 19) Nakamura N, Nakazawa Y, Ienaga K. Acid-stable fluorescent advanced glycation end products: Vesperlysines A, B, and C are formed as crosslinked products in the Maillard reaction between lysine or proteins with glucose. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 232: 227-230.
- 20) Hirano T, Iesato Y, Toriyama Y, et al. Correlation between diabetic retinopathy severity and elevated skin autofluorescence as a marker of advanced glycation end-product accumulation in type 2 diabetic patients. *J Diabetes Complications.* 2014; 28: 729-734.
- 21) Smita AJ, Gerrits EG. Skin autofluorescence as a measure of advanced glycation endproduct deposition: A novel risk marker in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010; 19: 527-533.
- 22) Temma J, Matsuhisa M, Horie T, et al. Non-invasive measurement of skin autofluorescence as a beneficial surrogate marker for atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *J Med Invest.* 2015; 62: 126-129.
- 23) de Vos LC, Mulder DJ, Smit AJ, Dullaart RP, et al. Skin autofluorescence is associated with 5-year mortality and cardiovascular events in patients with peripheral artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34: 933-938.
- 24) Momma H, Niu K, Kobayashi Y, et al. Skin advanced glycation end-product accumulation is negatively associated with calcaneal osteo-sono assessment index among non-diabetic adult Japanese men. *Osteoporos Int.* 2012; 23: 1673-1681.
- 25) Spauwen PJ, van Eupen MG, Köhler S, et al. Associations of advanced glycation end-products with cognitive functions in individuals with and without type 2 diabetes: The Maastricht study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015; 100: 951-960.
- 26) Igase M, Igase K. Cognitive impairment and glycative stress. *Glycative Stress Res.* 2018; 5: 45-49.
- 27) Corstjens H, Diciano D, Muizzuddin N, et al. Glycation associated skin autofluorescence and skin elasticity are related to chronological age and body mass index of healthy subjects. *Exp Gerontol.* 2008; 43: 663-667.
- 28) Ahdi M, Gerdes VE, Graaff R, et al. Skin autofluorescence and complications of diabetes: Does ethnic background or skin color matter? *Diabetes Technol Ther.* 2015; 17: 88-95.
- 29) Yonei Y, Takabe W. Aging assessment by Anti-Aging Medical Checkup. *Health Evaluation and Promotion.* 2015; 42: 459-464.