Glycative Stress Research
Online edition : ISSN 2188-3610
Print edition : ISSN 2188-3602
Received : October 29, 2019
Accepted : November 20, 2019
Published online : December 31, 2019
doi:10.24659/gsr.6.4_212

Review article

**Glycative stress and anti-aging: 14.
Regulation of Glycative stress. 2. Inhibition of the AGE production and accumulation**

Masayuki Yagi, Yoshikazu Yonei

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

Glycative Stress Research 2019; 6 (4): 212-218

（総説論文：日本語翻訳版）

糖化ストレスとアンチエイジング :14.
糖化ストレス対策　②AGEsの生成と蓄積の抑制

八木雅之、米井嘉一

同志社大学生命医科学部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

抄録

糖化ストレスの抑制を目的とした生活習慣や食習慣は抗糖化と呼ばれる。抗糖化の具体的な対策には食後高血糖の抑制、糖化反応の抑制、生成したAGEsの分解排泄などがある。生体中ではアミノ酸や蛋白と主にグルコースなどの還元糖が非酵素的に反応し、糖化蛋白を経て、糖化最終生成物（advanced glycation end products : AGEs）となって蓄積する。食品の加熱調理中にもAGEsが生成するため、高温加熱調理した食品の大量摂取は生体内AGEs蓄積量の増加に繋がる可能性がある。

蛋白の代謝によって血中に遊離したAGEsや摂取した加熱調理食品の消化によって腸管から吸収されたAGEsは腎臓で尿中に排泄される。このため腎機能が低下するとAGEsの生体内蓄積が亢進する。糖化ストレスや酸化ストレスは蛋白の異常化を促進する。異常蛋白は生体内での機能が低下し、細胞や組織に障害をおよぼす。通常、異常蛋白は蛋白分解酵素によって分解される。しかしAGEs化した蛋白は蛋白の架橋形成によって硬化しているため、分解されにくくなる。

天然物の糖化反応抑制作用は数多くの素材で報告されている。これらの作用は主に植物に含まれるポリフェノール類によるものと推定されている。生体中におけるAGEs生成経路は多経路でバイパスや分岐を伴い、さらに糖化と酸化反応が複雑に絡み合っている。このため生体中で有用な糖化反応抑制作用を得るには、複数の成分が同時に多経路を阻害する必要がある。

連絡先：教授　八木雅之
同志社大学大生命医科学部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
〒610-0394 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3
TEL＆FAX：0774-65-6394　E-mail：myagi@mail.doshisha.ac.jp
共著者：米井嘉一 yyonei@mail.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2019; 6 (4): 212-218
本論文を引用する際はこちらを引用してください。

蛋白のAGEs化に伴う架橋の分解作用物質には、*N*-phenacylthiazolium bromide（PTB）が知られている。PTBと同様の作用を有する植物成分は数多くの素材で報告されている。天然物のAGEs架橋の分解作用は、既に蓄積した生体内AGEsの分解排泄に寄与する可能性がある。

酸化蛋白質分解酵素（oxidized protein hydrolase: OPH）は生体組織中に広く存在しているセリンプロテアーゼの一種である。OPHは蛋白質のN末端アミノ酸および酸化・糖化修飾を受けた老化蛋白質の分解に作用する。ハーブ類や健康茶抽出液にはOPHの活性を促進するものがある。天然物によるOPHの活性増強は生体内AGEsの分解排泄促進に寄与する可能性がある。天然物の糖化反応抑制作用やAGEs分解排泄作用は、ヒト臨床試験でも検証されている。

KEY WORDS: 糖化反応抑制、AGEs架橋、酸化蛋白質分解酵素

1. はじめに：糖化ストレス対策

糖化ストレスの抑制を目的とした生活習慣や食習慣は抗糖化と呼ばれ[1]、食後高血糖の抑制、糖化反応の抑制、生成した糖化最終生成物（advanced glycation end products: AGEs）の分解排泄などがある。本稿では生体内におけるAGEsの生成と分解排泄のメカニズムおよび糖化反応抑制素材、AGEsの分解排泄素材が抗糖化に寄与する可能性について解説する。

2. 生体内の糖化反応経路

生体中ではアミノ酸や蛋白と主にグルコースなどの還元糖が非酵素的に反応し、シッフ塩基の形成を経てアマドリ転移によって糖化蛋白であるアマドリ化合物となり、不可逆的な物質になる。アマドリ化合物は3-デオキシグルコソン（3-deoxyglucosone: 3DG）、グリオキサール（glyoxal）、メチルグリオキサール（methylglyoxal）、グリセルアルデヒド（glyceraldehyde）、グルタルアルデヒド（glutaraldehyde）などのカルボニル化合物を中心とする中間体生成を経て、AGEsに至る。狭義の糖化反応はこれら一連の反応過程を意味する。

AGEsは血中のグルコースだけでなく、アルコール代謝や脂質酸化によって生成するアルデヒドやケトンと蛋白との間に生じるカルボニル化によっても生成する。このためAGEsには生成経路の異なる多種類の物質が存在する[2]。

AGEsには蛍光性と非蛍光性物質がある。ペントシジン（pentosidine）、クロスリン（crossline）、ピロピリジン（pyrropyridine）などは蛍光性を有するAGEsである。N^{ε}-(carboxymethyl)lysine（CML）、N^{ω}-(carboxymethyl) arginine（CMA）などは非蛍光性のAGEsである。またペントシジン、クロスリンなどは蛋白架橋性を有する。蛋白のAGEs化は組織の弾力性や柔軟性の低下をもたらす。AGEsは受容体であるRAGE（receptor for AGEs）と結合して細胞内シグナルを活性化し、炎症性サイトカインの生成を惹起する。このため生体中のAGEs生成や蓄積はさまざまな細胞や組織に障害を起こす。食品の加熱調理中にもAGEsが生成する。このため高温加熱調理した食品の大量摂取は食品の消化吸収に伴う生体内AGEs蓄積量の増加に繋がる可能性がある[3]。還元糖やアルデヒド負荷に起因する生体ストレスと、その後の反応を総合的に捉えた概念は糖化ストレスと呼ばれる。

3. 生体内におけるAGEsの分解排泄

蛋白の代謝によって血中に遊離したAGEsや摂取した加熱調理食品の消化によって腸管から吸収されたAGEsは腎臓で尿中に排泄される。腎臓の近位尿細管にはメガリン（megalin）と呼ばれる膜受容体が存在し、尿から濾過された低分子蛋白を再吸収する。血中のAGEsは腎臓でメガリンと結合後、細胞が細胞外の物質を取り込む作用であるエンドサイトーシスによって尿細管細胞に取り込まれる[4]。しかし大量のAGEsがメガリンに取り込まれると、細胞内小器官の一つであるリソソームでのAGEs分解が飽和し、尿細管細胞内にAGEsが蓄積する[5, 6]。このため腎機能が低下しAGEsの生体内蓄積が亢進する。

加齢に伴う神経系、免疫系、内分泌系の機能や細胞・組織機能の低下には、蛋白の異常化が重要な役割を果たしている。生体は蛋白の合成と分解を繰り返すことにより、細胞内で常に生じた異常蛋白を除去し、分解によって生じたアミノ酸を再利用して機能を維持している。しかし高齢な動物は、加齢に伴って細胞の蛋白合成能が低下し、代謝回転が遅くなる。さらに蛋白は加齢に伴うAGEs化の進行により分解されにくくなる。糖化ストレスや酸化ストレスは蛋白の異常化を促進する。異常蛋白は生体内での機能が低下し、細胞や組織に障害をおよぼす[7]。アルツハイマー病患者の脳に蓄積するβアミロイドは異常蛋白の一種で、神経細胞を障害し、記憶や学習機能などの神経機能を低下さ

せる。また、眼レンズ中のクリスタリン（crystalline）は加齢とともに変性し、凝集して濁り（異常蛋白化）、白内障の原因となる。さらにパーキンソン病などの神経変性疾患は構造変化した異常蛋白の蓄積によって発症する[8]。

通常、異常蛋白はプロテアソームと呼ばれる蛋白分解酵素によって分解される。プロテアソームには26S（分子量250万）と20S（分子量70万）の2種類がある。多くの異常蛋白は、ユビキチン化を受けたあと26Sプロテアソームによって分解される。また酸化蛋白は20Sプロテアソームでも分解される[8]。一方AGEs化した蛋白は蛋白の架橋形成によって硬化しているため、プロテアーゼによる分解を受けにくくなる[9]。

4. 天然物の *in vitro* 糖化反応抑制作用

糖化ストレス対策のひとつには糖化反応の抑制がある。天然物の糖化反応抑制作用はヒト血清アルブミン（human serum albumin: HSA）やコラーゲンなどの各種蛋白とグルコースの反応系に様々な素材の抽出物を添加し、反応液中の糖化反応中間体や各種AGEsの生成量値から算出した被験物質の IC_{50}（50％生成阻害濃度 : 50％ inhibitory concentration）で評価できる[10]。

糖化反応抑制作用の陽性対象としては糖化反応阻害剤であるアミノグアニジン（aminoguanidine）[11]が汎用される。本評価系による抗糖化作用は混合ハーブ[12]、紫菊花[13]、クマイザサ[14]、ハーブティー[15]、フルーツ[16]、野菜[17]、スパイス[18]、黒ガリンガル（black galangal）[19]など、数多くの素材で報告されている。

植物中の糖化反応抑制作用は主にポリフェノール類によるものと推定されている。糖化反応抑制作用物質にはケイヒ酸（cinnamic acid）や安息香酸（benzoic acid）類縁体などのフェノール酸（phenolic acid）、フラボノイド（flavonoids）（*Fig. 1*）、イソフラボン（isoflavones）、プロシアニジン（procyanidines）などがある[20]。

植物に含まれるポリフェノールの分布は進化や分類との関係が深く、化学的植物分類学の指標の一つになっている。分類学的に同じ科（family）または連（tribe）に属する植物には、類似構造のポリフェノールが含まれることが予測されている[21]。一方、生体中におけるAGEs生成経路は多経路でバイパスや分岐を伴い、さらに糖化と酸化反応が複雑に絡み合っている。このため生体中で有用な糖化反応抑制作用を得るには、複数の成分が同時に多経路を阻害する必要がある。糖化反応抑制作用を効果的に得るには、植物素材の選定や組み合わせる植物の分類学的な知見を考慮する必要がある。

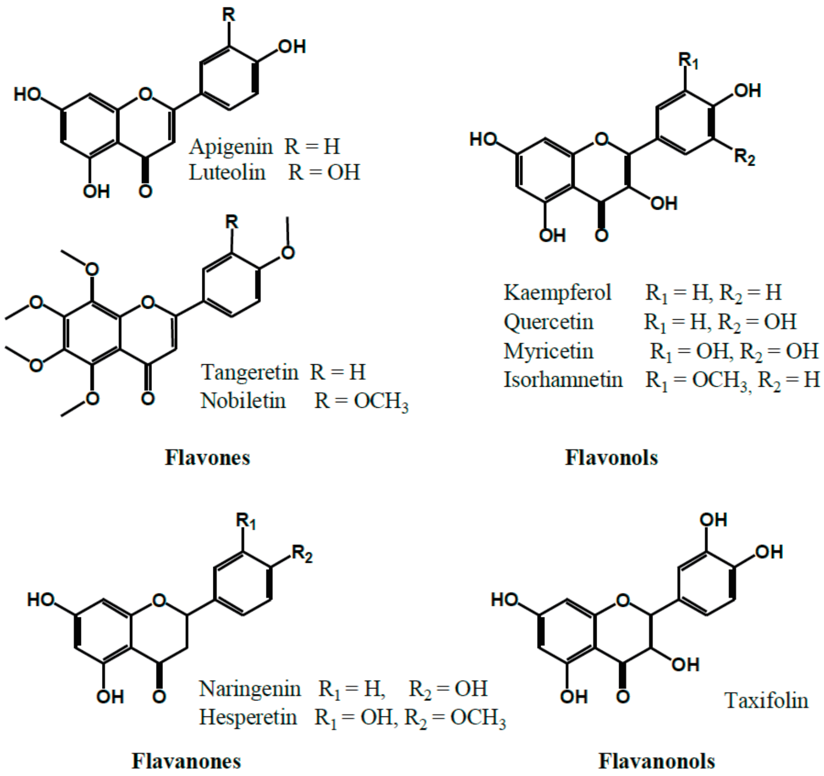

Fig. 1. **Common flavonoid in the plant**

The figure is adapted from Reference 20).

5. AGEs 架橋の分解作用物質

蛋白のAGEs化に伴う架橋（AGEs-derived crosslink）の分解作用物質には、*N*-phenacylthiazolium bromide（PTB）が知られている[22)]。PTBは、糖化ストレスによって生じたアマドリ化蛋白由来の蛋白架橋物質のαジケトン構造を認識してC−C結合を分解し、蛋白−蛋白架橋を分解する（***Fig. 2***）[23)]。この作用により血管内のAGEsの蓄積抑制、糖尿病性血管合併症の治療などに寄与する可能性が示唆されている。糖尿病ラットに4週間、PTBを10 mg/kgを経口投与した試験では、コラーゲンのAGEs架橋形成の抑制および血管のAGEs分解作用が認められた[24)]。さらにPTBの水溶性を高めた3-phenacyl-4,5-dimethylthiazorium chloride（ALT-711）を糖尿病ラットに投与した試験では、血管の硬化やAGEs蓄積抑制作用が認められた[25)]。ALT-711をヒトが8週間、210 mg/dayまたは420 mg/dayを経口摂取した臨床試験では、血管硬化、収縮期血圧の改善が報告されている[26, 27)]。これらの結果からPTBは「AGEs分解剤（AGE breaker）」と称されている。一方、PTBは糖尿病ラットの皮膚および尾コラーゲンのAGEs架橋の分解に効果がなかったとの報告がある[28)]。このためPTBの作用は懐疑的な見解もある。

PTBと同様の作用を有する植物成分には、ヨモギ（*Artemisia indica*）、ルイボス（*Aspalathus linearis*）、レンゲソウ（*Astragalus sinicus*）[29)]、ユズ（*Citrus junos*）[30)]、ザクロ（*Punica granatum*）[31)] ローズマリー（*Rosmarinus officinalis*）[32)] などが知られている。

ユズに含まれるモノテルペンアルコールの一種であるterpinen-4-olは、ヒドロペルオキシド（hydroperoxide）による求核置換反応の後、バイヤー・ビリガー酸化（Baeyer-Villiger oxidation）タイプの反応によるカルボン酸エステルの生成を経て、酸無水物の加水分解に至り、AGEs架橋の分解に作用していることが示されている[30)]。ザクロ果汁抽出物およびザクロ由来成分のAGEs架橋分解作用にはエラジタンニン（ellagitannins）のトリヒドロキシベンゼン（trihydroxybenzene）構造の関与が推定されている[31)]。これら天然物のAGEs架橋の分解作用は、既に蓄積した生体内AGEsの分解排泄に寄与する可能性がある。

6. 酸化蛋白分解酵素によるAGE分解作用

酸化蛋白質分解酵素（oxidized protein hydrolase: OPH）はセリンプロテアーゼの一種で、ブタ肝臓、ヒト血液、ラット脳など、生体組織中に広く存在している[33, 34)]。ヒト皮膚では角層中で存在が報告されている[35)]。OPHは蛋白のN

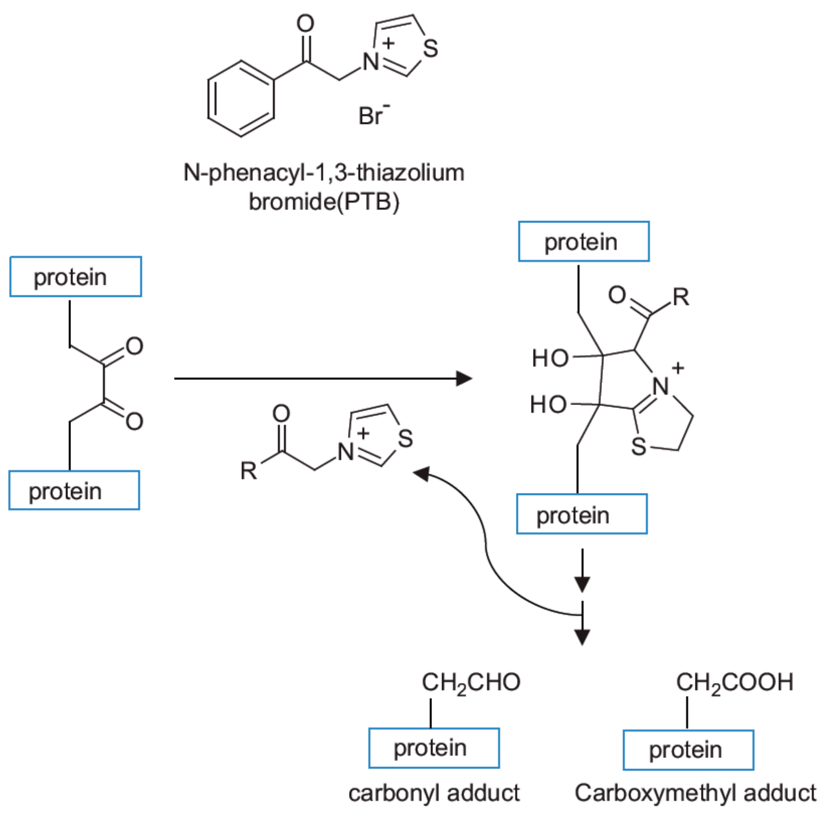

Fig. 2. **AGE breaking reaction mechanism of PTB**

The simplified reaction mechanism is referred to the dinucleophilic attack of the thiazolium ring toward the dicarbonyl AGE cross-link followed by internal rearrangement and hydrolysis. PTB, *N*-phenacylthiazolium bromide; AGE, advanced glycation end product. The figure is adapted from Reference 23).

末端アシル化アミノ酸を遊離する酵素であることから、アシルアミノ酸遊離酵素（acylamino-acid releasing enzyme: AARE）としても知られている。OPH は acyl 化以外にも formyl、acetyl、butyl、propyl 化された蛋白質の N 末端アミノ酸[36]および酸化・糖化修飾を受けた老化蛋白質の分解に作用する[37]。また OPH はプロテアソームと協調して老化蛋白質の分解に作用する[38]。糖尿病ラットでは血清中 OPH 活性が顕著に上昇し、血中カルボニル修飾蛋白量が低下している[39]。

OPH の活性に影響を与える天然物には茶、ハーブ、野菜類などの植物抽出物が知られている。ハーブ類や健康茶抽出液には OPH の活性を促進するものがある[40]。OPH は生体組織中に広く存在する糖化蛋白や AGEs を分解する作用を有する。このため天然物による OPH の活性増強は生体内 AGEs の分解排泄促進に寄与する可能性がある。

7. 糖化反応抑制作用および AGE 分解作用素材のヒトに対する作用検証

天然物の糖化反応抑制作用や AGEs 分解排泄作用は、ヒト臨床試験でも検証されている。糖化反応抑制素材は、これらの抽出エキスまたはこれらが含まれる食品を 8 ～ 12 週間摂取する試験において、血中 AGEs や皮膚中 AGEs の減少、皮膚弾力の上昇などが報告されている（***Table 1***）[41-53]。AGEs 分解作用はコラーゲンゲル－グルコース反応系モデルで生成した AGEs の架橋（AGE-crosslink）を分解する作用を有するヨモギ抽出物を含むエキスで検証されている。ヨモギエキスを配合した化粧水、乳液、クリームの 6 ヶ月間使用試験では、皮膚弾力および肌の黄味（b*）改善した[29]。天然物の抗糖化作用は *in vitro* 試験だけでなく、ヒトを対象とした臨床試験でも検証が進んでいる。

利益相反申告

本論文関して申告すべき利益相反は無い。

Table 1. Clinical study of antiglycative food

Test food [Reference]	Test period	Study design	Screening test	Subjects	Significant differences	Subgroup	Significant differences in the subgroup analysis
Supplement containing Silybum marianum extract [41]	12 weeks	Double-blind	Skin AGEs	Healthy women n = 56 41 - 69 years old	Skin viscoelasticity Wrinkle area rate	-	-
Water chestnut extract [42]	12 weeks	Double-blind	Skin AGEs	Healthy men and women n = 30 30 - 60 years old	HbA1c Blood pentosidine Skin elasticity	Women	HbA1c Blood pentosidine
Black vineger drink containing mangosteen pericarp extract [43]	12 weeks	Double-blind	Skin AGEs	Postmenopausal women n = 24 45 - 65 years old	Skin AGEs Skin viscoelasticity	-	-
Mixed herb extract [44]	12 weeks	Double-blind	Skin AGEs	Healthy women n = 24 40 - 65 years old	Melanin index Brown spots Skin color	Excluding the subjects suspected of having diabetes	Blood 3DG
Soymilk bevarage containing rice bran / rice bran oil [45]	12 weeks	Single-blind	HbA1c Skin AGEs	Healthy women n = 23 35 - 60 years old	Immunoreactive insulin Blood CML Glycation age	BMI > 25	Fasting plasma glucose Blood CML Skin viscoelasticity
Vineger beverage containing mixed herb extract [46]	12 weeks	Double-blind	Postprandial blood glucose Skin AGEs	Postmenopausal women n = 23 50 - 65 years old	No significant difference	Postprandial blood glucose > 150 mg/dL	Corneum CML
Mixed herb extract [47]	8 weeks	Double-blind	Fasting plasma glucose HbA1c	Pre-diabetes mellitus men and women n = 26 20 - 65 years old	No significant difference	Fasting plasma glucose HbA1c	Blood 3DG, CML
Food containing lingonberry extract and cherry bloosom extract [48]	12 weeks	Single-blind	Fasting plasma glucose HbA1c	Healthy men 30 - 65 years old postmenopausal women n = 30	Fasting plasma glucose Skin AGEs	-	-
Mangosteen pericarp extract [49]	12 weeks	Double-blind	-	Healthy women n = 40 25 - 59 years old	Skin moisture Arterial pressure	-	-
Mixed herb extract [50]	12 weeks	Open	-	Diabetes mellitus men and woman n = 7	Blood 3DG, CML Skin viscoelasticity	-	-
Supplement containing mixed herb extract and two crude drugs [51]	12 weeks	Open	-	Healthy men and women n = 8 Diabetes mellitus men and women n = 4	Skin AGEs	-	-
Mangosteen pericarp extract [52]	12 weeks	Open	-	Healthy women n = 11 32 - 48 years old	Blood pentosidine Skin AGEs Skin viscoelasticity Skin moisture	-	-
Pomegrante extract [53]	12 weeks	Open	-	postmenopausal women n = 10 30 - 65 years old	HbA1c Glycoalbumin Blood 3DG, pentosidine	-	-

参考文献

1) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 13. Regulation of glycative stress. 1. Postprandial blood glucose regulation. Glycative Stress Res. 2019; 6: 175-180.
2) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photo-aging in skin. Anti-Aging Med. 2011; 8: 23-29.
3) 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: 6474-6479.
4) Christensen EI, Birn H. Megalin and cubilin: Multi-functional endocytic receptors. Nat Rev Mol Cell Biol. 2002; 3: 256-266.
5) Miyata T, Ueda Y, Horie K, et al. Renal catabolism of advanced glycation end products: The fate of pentosidine. Kidney Int. 1998; 53: 416-422.
6) Gugliucci A, Bendayan M. Renal fate of circulating advanced glycated end products (AGE): Evidence for reabsorption and catabolism of AGE-peptides by renal proximal tubular cells. Diabetologia. 1996; 39: 149-160.
7) Goto S, Takahashi R, Kumiyama A, et al. Implications of protein degradation in aging. Ann N Y Acad Sci. 2001; 928: 54-64.
8) Carrard G, Bulteau AL, Petropoulos I, et al. Impairment of proteasome structure and function in aging. Int J Biochem Cell Biol. 2002; 34: 1461-1474.
9) Schnider SL, Kohn RR. Effects of age and diabetes mellitus on the solubility and nonenzymatic glucosylation of human skin collagen. J Clin Invest. 1981; 67: 1630-1635.
10) Hori M, Yagi M, Nomoto K, et al. Experimental models for advanced glycation end product formation using albumin, collagen, elastin, keratin and proteoglycan. Anti-Aging Med. 2012; 9: 125-134.
11) Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, et al. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. Science. 1986; 232(4758): 1629-1632.
12) Yonei Y, Yagi M, Hibino S, et al. Herbal extracts inhibit Maillard reaction, and reduce chronic diabetic complications risk in streptozotocin-induced diabetic rats. Anti-Aging Med. 2008; 5: 93-98.
13) Yagi M, Nomoto K, Hori M, et al. The effect of edible purple Chrysanthemum extract on advanced glycation end products generation in skin: A randomized controlled clinical trial and *in vitro* study. Anti-Aging Med. 2012; 9: 61-74.
14) 堀 未央，八木雅之，埜本慶太郎，他．クマイザサ（*Sasa senanensis* Rehder）の蛋白糖化最終生成物（AGEs）生成抑制作用の研究．同志社大学理工学研究報告．2011; 52: 61-67.
15) Hori M, Yagi M, Nomoto K, et al. Inhibition of advanced glycation end product formation by herbal teas and its relation to anti-skin aging. Anti-Aging Med. 2012; 9: 125-134.
16) Parengkuan P, Yagi M, Matsushima M, et al. Anti-glycation activity of various fruits. Anti-Aging Med. 2013; 10: 70-76.
17) Ishioka Y, Yagi M, Ogura M, et al. Antiglycation effect of various vegetables: Inhibition of advanced glycation end product formation in glucose and human serum albumin reaction system. Glycative Stress Res. 2015; 2: 22-34.
18) Moniruzzaman M, Parengkuan L, Yagi M, et al. Effect of proteins, sugars and extraction methods on the anti-glycation activity of spices. Glycative Stress Res. 2015; 2: 129-139.
19) Yagi M, Tateiwa Y, Inoue K, et al. Antiglycative effect of *Kaempferia parviflora* Wall. Ex. Baker (Zingiberaceae): Prevention of advanced glycation end product formation. Glycative Stress Res. 2018; 5: 163-170.
20) Odjakova M, Popova E, Sharif MA, et al. Plant-derived agents with anti-glycation activity. InTechOpen Glycosylation. 2012: 223-256.
21) Robards K, Antolovich M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. Analyst. 1997; 122: 11R-34R.
22) Vasan S, Zhang X, Zhang X, et al. An agent cleaving glucose-derived protein crosslinks *in vitro* and *in vivo*. Nature. 1996; 382(6588): 275-278.
23) Aldini G, Vistoli G, Stefek M, et al. Molecular strategies to prevent, inhibit, and degrade advanced glycoxidation and advanced lipoxidation end products. Free Radic Res. 2013; 47(Suppl 1): 93-137.
24) Cooper ME, Thallas V, Forbes J, et al. The cross-link breaker, *N*-phenacylthiazolium bromide prevents vascular advanced glycation end-product accumulation. Diabetologia. 2000; 43: 660-664.
25) Freidja ML, Vessières E, Toutain B, et al. AGEs breaking and antioxidant treatment improves endothelium-dependent dilation without effect on flow-mediated remodeling of resistance arteries in old Zucker diabetic rats. Cardiovasc Diabetol. 2014; 13: 55.
26) Bakris GL, Bank AJ, Kass DA, et al. Advanced glycation end-product cross-link breakers. A novel approach to cardiovascular pathologies related to the aging process. Am J Hypertens. 2004; 17: 23S-30S.
27) Kass DA, Shapiro EP, Kawaguchi M, et al. Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker. Circulation. 2001; 104: 1464-1470.
28) Yang S, Litchfield JE, Baynes JW, et al. AGE-breakers cleave model compounds, but do not break Maillard crosslinks in skin and tail collagen from diabetic rats. Arch Biochem Biophys. 2003; 412: 42-46.
29) 多田明弘. 抗糖化化粧品に関する天然成分の評価と素材選定. Cosmetic Stage. 2011; 5: 33-38.
30) Nagamatsu R, Mitsuhashi S, Shigetomi K, et al. Cleavage of α-dicarbonyl compounds by terpene hydroperoxide. Biosci Biotechnol Biochem. 2012; 76: 1904-1908.
31) Yagi M, Mitsuhashi R, Watanabe A, et al. Cleaving effect of pomegranate (*Punica granatum*) extract on crosslink derived from advanced glycation endproducts. Glycative Stress Res. 2015; 2: 58-66.
32) Jean D, Pouligon M, Dalle C, et al. Evaluation *in vitro* of AGE-crosslinks breaking ability of rosmarinic acid. Glycative Stress Res. 2015; 2: 204-207.
33) Mitta M, Miyagi M, Kato I, et al. Identification of the catalytic triad residues of porcine liver acylamino acid-releasing enzyme. J Biochem. 1998; 123: 924-931.
34) Fujino T, Ando K, Beppu M, et al. Enzymatic removal of oxidized protein aggregates from erythrocyte membranes. J Biochem. 2000; 127: 1081-1086.

35) Yagi M, Ishigami M, Mori R, et al. Reduction effect of oxidized protein hydrolase (OPH) on advanced glycation end products and OPH-like activity in human stratum corneum. Glycative Stress Res. 2017; 4: 184-191.
36) Krishna RG, Wold F. Specificity determinants of acylaminoacyl-peptide hydrolase. Protein Sci. 1992; 1: 582-589.
37) Fujino T, Tada T, Beppu M, et al. Purification and characterization of a serine protease in erythrocyte cytosol that is adherent to oxidized membranes and preferentially degrades proteins modified by oxidation and glycation. J Biochem. 1998; 124: 1077-1085.
38) Shimizu K, Kiuchi Y, Ando K, et al. Coordination of oxidized protein hydrolase and the proteasome in the clearance of cytotoxic denatured proteins. Biochem Biophys Res Commun. 2004; 324: 140-146.
39) Shimizu K, Ikegami-Kawai M, Takahashi T, et al. Increased oxidized protein hydrolase activity in serum and urine of diabetic rat models. Biol Pharm Bull. 2009; 32: 1632-1635.
40) 八木雅之, 石崎 香, 﨑山智恵子, 他. 糖化ストレスによる老化メカニズムの最新研究と製品開発への応用. Cosmetic Stage. 2019; 13: 9-15.
41) Ishii Y, Okada Y, Matsuoka S, et al. Effect of supplement containing *Silybum marianum* extract, soy extract, collagen peptide, bifidobacteria and apple extract on skin: A randomized placebo-controlled, double-blind, parallel group comparative clinical study. Glycative Stress Res. 2016; 3: 156-171.
42) Takeshita S, Ishioka Y, Uemura T, et al. Reducing effect of the long term intake of water chestnut (*Trapa bispinosa* Roxb.) pericap extract on glycative stress in the placebo-controlled double blinded clinical trial and *in vitro* inhibitory actions on low-density lipoprotein (LDL) glycation. Glycative Stress Res. 2017; 4: 299-316.
43) Takabe W, Yagi M, Ogura M, et al. Effect of mangosteen pericarp extract-containing black vinegar drink on skin quality through anti-glycative actions. Glycative Stress Res. 2017; 4: 158-171.
44) Kawai H, Shoshihara M, Kawakami H, et al. Anti-glycation and skin beautification properties from ingestion of mixed herb extract: A placebo-controlled, double-blind, randomized, parallel-group study. Glycative Stress Res. 2016; 3: 236-245.
45) Yonei Y, Yagi M, Hamada U, et al. A placebo-controlled, randomized, single-blind, parallel-group comparative study to evaluate the anti-glycation effect of a functional soymilk beverage supplemented with rice bran/rice bran oil. Glycative Stress Res. 2015; 2: 80-100.
46) Yagi M, Shimode A, Hamada U, et al. Evaluation of the anti-glycation effect and the safety of a vinegar beverage containing indigestible dextrin and a mixed herbal extract: A placebo-controlled, double-blind study. Glycative Stress Res. 2014; 1: 14-24.
47) Yonei Y, Miyazaki R, Takahashi Y, et al. Anti-glycation effect of mixed herbal extract in individuals with pre-diabetes mellitus: A double-blind, placebo-controlled, parallel group study. Anti-Aging Med. 2010; 7: 26-35.
48) Yonei Y, Yagi M, Ogura M, et al. Anti-glycation activity and safety of foods containing lingonberry extract and cherry blossom extract and chewable tablets containing citric acid and calcium: A placebo-controlled randomized single-blind parallel group comparative study. Anti-Aging Med. 2013; 10: 21-36.
49) Maejima K, Ohno R, Nagai R, et al. Effect of mangosteen pericarp extract on skin moisture and arterial stiffness: Placebo-controlled double-blinded randomized clinical trial. Glycative Stress Res. 2018; 5: 95-103.
50) Kubo M, Yagi M, Kawai H, et al. Anti-glycation effects of mixed-herb-extracts in diabetes and pre-diabetes. J Clin Biochem Nutr. 2008; 43(suppl.1): 66-69.
51) 田村隆朗, 八木雅之, 埜本慶太郎, 他. 混合ハーブ、抽出物と２つの生薬からなる新規ハーブ、混合物の抗糖化作用：短期および長期の影響. 同志社大学理工学研究報告. 2012; 52: 243-251.
52) Ohno R, Moroishi N, Sugawa H, et al. Mangosteen pericarp extract inhibits the formation of pentosidine and ameliorates skin elasticity. J Clin Biochem Nutr. 2015; 57: 27-32.
53) Yagi M, Parengkuan L, Sugimura H, et al. Anti-glycation effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) extract: An open clinical study. Glycative Stress Res. 2014; 1: 60-67.