

*Original article***Antiglycative effect of ferulic acid**Masayuki Yagi¹⁾, Chieko Sakiyama¹⁾, Toshio Kitaba²⁾, Hiroo Kondo²⁾,
A. N. M. Mamun-Or-Rashid^{1,3)}, Tanzima Tarannum Lucy^{1,3)}, Yoshikazu Yonei¹⁾

- 1) Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center,
Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan
- 2) Social welfare corporation KITABA society, Wakayama, Japan
- 3) Department of Environmental & Occupational Health, School of Public Health,
University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA

Glycative Stress Research 2022; 9 (4): 186-193
(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文：日本語翻訳版)

フェルラ酸の抗糖化作用八木雅之¹⁾、崎山智恵子¹⁾、北波利雄²⁾、近藤裕夫²⁾、Mamun-Or-Rashid A. N. M.^{1,3)}、
Lucy Tanzima Tarannum^{1,3)}、米井嘉一¹⁾

- 1) 同志社大学大学院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
- 2) 社会福祉法人きたば会
- 3) Department of Environmental & Occupational Health, School of Public Health, University of Pittsburgh

抄録

糖化ストレスは老化や糖尿病など様々な疾患の発症や進展要因のひとつである。糖化ストレスの抑制は抗糖化 (antiglycation) と呼ばれ、食後高血糖の抑制、終末糖化産物 (advanced glycation endproducts; AGEs) の生成抑制、AGEsの分解排泄などがある。AGEs生成抑制作用はハーブティー、野菜、フルーツなど、様々な食品素材に認められている。これらの素材のAGEs生成抑制作用物質にはフェノール化合物が数多く報告されている。フェルラ酸 (ferulic acid; FA) は米や小麦などの穀物、フルーツ、野菜など様々な食品素材に含まれるフェノール化合物の一種で、特に穀類の糠 (bran) に多く含まれる。FAは抗酸化、抗炎症作用を有することから糖尿病合併症や神経疾患の進展抑制に対する有用性が報告されている。体内では糖化スト

連絡先：教授 八木雅之
同志社大学大学院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：崎山智恵子 csakiyam@mail.doshisha.ac.jp; 北波利雄 t_kitaba@inforlive.com;
近藤裕夫 KONDO@KITABAKAI.org; Mamun-Or-Rashid ANM, anm541@pitt.edu;
Lucy TT, cygf2501@mail4.doshisha.ac.jp; 米井嘉一 yyonei@mail.doshisha.ac.jp

Glycative Stress Research 2022; 9 (4): 186-193
本論文を引用する際はこちらを引用してください。
(c) Society for Glycative Stress Research

レスにより多経路から多種類のAGEsが生成し、糖化する蛋白が多種類ある。また糖化による蛋白機能の低下には蛋白のAGEs化にともなう架橋形成が関与する。本研究では米糠から精製されたFAの抗糖化作用評価を目的に、ヒト血清アルブミン (human serum albumins; HSA)、コラーゲン、エラスチンの各蛋白糖化反応モデルを使用し、AGEs、糖化反応中間体、糖化による蛋白架橋形成抑制作用および酸化蛋白分解酵素 (oxidized protein hydrolase; OPH) 活性増強作用を検証した。FAは全ての糖化反応モデルにおいて蛍光性AGEs (fluorescent AGEs; F-AGEs) の生成を抑制した。FAはHSA-グルコース糖化反応モデルにおいてF-AGEs、ペントシジン、カルボキシメチルリジン、3-deoxyglucosone、glyoxalおよびmethylglyoxalの生成を抑制した。さらにFAはリゾチームの糖化による二量体 (dimer)、三量体 (trimer) の生成を抑制した。FAはOPH活性を1.6倍増強した。FAの様々な疾患に対する有用性には抗糖化作用も関与している可能性がある。

KEY WORDS: 終末糖化産物 (advanced glycation endproducts; AGEs)、AGEs 生成抑制、糖化蛋白架橋形成抑制、フェルラ酸

はじめに

糖化ストレスは老化や生活習慣病など様々な疾患の発症や進展要因のひとつである。糖化ストレスの抑制は抗糖化 (antiglycation) と呼ばれ、食後高血糖の抑制、終末糖化産物 (advanced glycation endproducts; AGEs) の生成抑制、AGEsの分解排泄などがある^{1,2)}。アミノグアニジン (aminoguanidine; AG) はAGEs生成抑制作用を有する^{3,4)}。しかしAGの摂取は貧血、肝障害、ビタミンB6欠乏症などの副作用がある。一方、茶、ハーブティー、野菜、フルーツなど、さまざまな食材にはAGEs生成抑制作用が報告されている⁵⁻⁷⁾。これらの素材に含まれるAGEs生成抑制作用成分にはchamaemeloside⁸⁾、luteolin⁹⁾、polymethoxy flavonoid^{10,11)}、cyanidin 3-O-galactoside¹²⁾、caffeoyl glucose¹³⁾、rhodanthone B¹⁴⁾、chlorogenic acid¹⁵⁾などのフェノール化合物が数多く報告されている。フェルラ酸 (ferulic acid; FA) は米、小麦などの穀物、フルーツ、野菜など様々な食品素材に含まれる成分で、穀類の糠 (bran) に多く含まれる¹⁶⁻¹⁹⁾。FAは抗酸化作用、抗炎症作用、抗菌作用を有する。FAはこれらの作用により神経疾患やアルツハイマー病²⁰⁾の進展予防、肥満や脂質異常の抑制^{21,22)}に関与する。一方、FAの抗糖化作用は牛血清アルブミン (bovine serum albumin; BSA) をモデル蛋白とした糖化反応モデルにおいて作用が検証されている²³⁾。体内の糖化反応は複雑多経路で、3-deoxyglucosone (3DG)、glyoxal (GO)、methylglyoxal (MGO) などさまざまな短鎖アルデヒドが糖化反応中間体として存在し、これらから生成するAGEsも多種類ある²⁴⁾。また体内には多種類の蛋白が存在する。このため抗糖化素材の評価は多種類の蛋白を使用し、糖化の反応経路が異なるAGEsに着目した生成抑制作用の検証が重要となる²⁵⁾。さらに糖化による蛋白機能の低下には蛋白のAGEs化にともなう架橋形成が関与する。本

研究では米糠から精製されたFAの抗糖化作用評価を目的に、ヒト血清アルブミン (human serum albumins; HSA)、コラーゲン、エラスチンを使用し、AGEs、糖化反応中間体、糖化による蛋白架橋形成抑制作用およびOPH活性増強作用を検証した。

材料と方法

試薬

使用した試薬は以下のメーカーから購入して使用した。ヒト血清アルブミン (human serum albumins; HSA, lyophilized powder, $\geq 96\%$, agarose gel electrophoresis)、メチルグリオキサール (methylglyoxal solution, 40% in H₂O; MGO) はSigma-Aldrich Japan (東京都目黒区)。牛皮由来コラーゲン Type I (collagen type I, bovine skin, pepsin-solubilized) はニッピ (東京都足立区)。豚血管由来P-エラスチン (elastin peptide: P-elastin) は日本ハム (大阪府大阪市)。リゾチーム塩酸塩 (卵白由来) (lysozyme, from Egg White) アミノグアニジン (aminoguanidine hydrochloride; AG)、2,3-ジアミノナフタレン (2,3-diaminonaphthalene; DAN)、グリオキサール (40% glyoxal solution; GO) は富士フィルム和光純薬工業 (大阪府大阪市)。3-デオキシグルコソン (3-deoxyglucosone; 3DG) は同仁化学研究所 (熊本県上益城郡)。CircuLex CML/N^e- (Carboxymethyl) Lysine) ELISA KitはMBL (愛知県名古屋)。Acetyl-alanine p-nitroanilide (AAPA) はBachem (Bubendorf, Switzerland)。oxidized protein hydrolase (OPH) はacylamino-acid releasing enzymeをタカラバイオ (滋賀県大津市)。その他の試薬は特級またはHPLCグレードのものを富士フィルム和光純薬工業またはナカライテスク (京都府京都市) から購入して使用した。

試料

試料は米糠から精製されたフェルラ酸 (ferulic acid; FA) (築野食品、和歌山県伊都郡) を使用した (Fig. 1)。

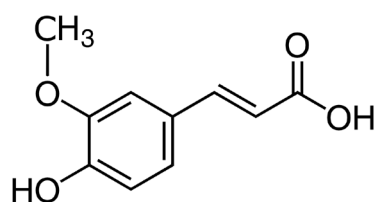


Fig. 1. Structure of ferulic acid.

蛋白 - グルコース糖化反応モデル

糖化反応抑制作用の検証は既報²⁶⁾を参考に蛋白-グルコース糖化反応モデルを使用した。反応液の組成は蛋白とグルコースを含む 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.4) 中に試料溶液を 1/10 量添加して作成した。蛋白とグルコース濃度は HSA 8.0 mg/mL とグルコース 0.2 mol/L、コラーゲン 1.2 mg/mL とグルコース 0.4 mol/L、エラスチン 6 mg/mL とグルコース 0.2 mol/L の組成とした。

糖化反応はリン酸緩衝液、蛋白溶液、グルコース溶液、試料溶液の全てを添加した溶液 (A)、A のグルコース溶液の代わりに精製水を添加した溶液 (B)、A の試料溶液の代わりに精製水を添加した溶液 (C)、C のグルコース溶液の代わりに精製水を添加した溶液 (D) を作成した。インキュベート条件は HSA-グルコース糖化反応モデルの場合 60°C で 40 時間、コラーゲンまたケラチン-グルコース糖化反応系の場合 60°C、10 日間とした。AGEs および糖化反応中間体量はインキュベート後の反応液中の濃度を測定した。糖化反応抑制作用のポジティブコントロール物質は糖化反応阻害剤である AG を使用した³⁾。

AGEs の測定

蛍光性 AGEs (F-AGEs) は既報²⁶⁾に従い、糖化反応液 200 μL を黒色のマイクロプレートに入れ、AGEs 由来蛍光 (励起波長 370 nm / 蛍光波長 440 nm) を測定した。ペントシジンは既報²⁷⁾に従い、糖化反応液と 6 N 塩酸を混合して 105°C で 18 時間加水分解後、HPLC により測定した。CML は糖化反応液を CircuLex CML/N^E-(Carboxymethyl) lysine ELISA Kit を使用して測定した。

糖化反応中間体の測定

糖化反応中間体は 3DG、GO、MGO を既報^{28,29)}に従い、糖化反応液を過塩素酸で除蛋白後、アルカリ条件下で DAN を添加してラベル化後、HPLC で測定した。

糖化反応抑制作用の算出

糖化反応抑制作用は既報²⁶⁾に従い、AGEs および糖化反応中間体の生成阻害率 (%) を次式によって算出した。

$$\text{生成阻害率 (\%)} = \{1 - (A - B) / (C - D)\} \times 100$$

さらに試料 3 濃度の生成阻害率から 50% 生成阻害濃度 (50% inhibitory concentration; IC₅₀; mg/mL) を算出した^{26,30)}。IC₅₀ は値が小さいほど糖化反応抑制作用が強いことを示している。

糖化蛋白架橋形成抑制作用

糖化蛋白架橋形成抑制作用は既報^{31,32)}を参考に、リゾチーム-グルコース糖化蛋白架橋モデルを使用した。反応液は 5 mg/mL リゾチームと 0.5 mol/L グルコースを含む 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.4) 中に試料溶液を 1/10 量添加して作成した。反応液はリン酸緩衝液、リゾチーム溶液、グルコース溶液、試料溶液の全てを添加した溶液 (A)、A のグルコース溶液の代わりに精製水を添加した溶液 (B)、A の試料溶液の代わりに試料溶解液を添加した溶液 (C)、C のグルコース溶液の代わりに精製水を添加した溶液 (D) を作成し、60°C で 40 時間インキュベートした。反応終了後の反応液は 3 kDa の限外ろ過膜 (Amicon Ultra-0.5 mL centrifugal filters Ultracel-3K; Merck, Darmstadt, Deutschland) を用いて遠心ろ過し、低分子物質を除去した。その後、反応液は 4-20% ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (Polyacrylamide gel electrophoresis: SDS-PAGE) に供した。泳動後のゲルは CBB Stain One (ナカライテスク) で染色し、泳動像を Phoros FX System (Bio-Rad) で画像化後、リゾチームの dimer (28.6 kDa)、trimer (42.9 kDa) のバンドの強度を ImageJ (NIH, Maryland, USA) で解析した。糖化蛋白架橋形成抑制作用のポジティブコントロール物質は AG を使用した。

蛋白架橋形成抑制率は以下の式に基づいて算出した。

$$\text{蛋白架橋形成抑制率 (\%)} = \{1 - (A - B) / (C - D)\} \times 100$$

A-D: 各反応液 SDS-PAGE ゲル染色像のリゾチーム dimer または trimer のバンド強度

OPH 活性増強作用の測定

OPH 活性増強作用は既報³³⁾に従い、試料溶液を 1/25 量添加した反応液 (0.1 mol/L Tris-塩酸 (pH 7.4)、2 mmol/L Acetyl-alanine *p*-nitroanilide (AAPA)、1 mU/mL OPH、試料抽出液) 250 μL を、37°C で 60 分間インキュベートし、OPH が AAPA を分解して遊離する *p*-nitroanilide (*p*NA) 量を 405 nm で吸光度測定した (S)。OPH 活性測定のリファレンス (Ref) には、試料溶液の代わりに水を反応液に添加して測定した (R)。OPH 活性化率 (%) は Ref の反応開始直後 (0 分) からの 30 分間に遊離生成した *p*NA 量を 100% として、以下の式で算出した。

$$\text{OPH 活性化率 (\%)} = \{(S_{30} - S_0) / (R_{30} - R_0)\} \times 100$$

S ; 試料溶液添加反応液のpNA濃度

R ; Ref 反応液のpNA濃度

30 ; 30分後

0 ; 反応開始直後 (0分)

統計解析

測定値は平均値 ± 標準偏差で示した。測定値の比較にはテューキーの多重比較検定 (Tukey's test) または t 検定を用いた。統計解析結果は危険率 5% 未満を有意とした。

結果

蛋白-グルコース糖化反応モデルに対する蛍光性 AGEs 生成抑制作用

FAのF-AGEs生成抑制作用はHSA、コラーゲン、エラスチンの各糖化蛋白モデルにおいて濃度依存性が認められた (Fig. 2)。FA濃度0.1 mg/mLにおけるF-AGEs生成抑制作用はHSA (阻害率: $52.7 \pm 1.4\%$)、コラーゲン ($44.5 \pm 0.8\%$)、エラスチン ($32.4 \pm 1.5\%$) の順に高値であった。同様に糖化反応阻害剤であるAGの作用はHSA ($79.6 \pm 0.2\%$)、エラスチン ($58.0 \pm 1.4\%$)、コラーゲン ($30.0 \pm 0.3\%$) の順に高値であった。反応濃度0.1 mg/mLにおけるFAのF-AGEs生成阻害率はAGに対してHSAが0.7倍、エラスチンが0.6倍で低値、コラーゲンが1.5倍高値であった。IC₅₀値はHSA、コラーゲン、エラスチンともに

フェルラ酸よりAGが低値で、フェルラ酸がAGに対して、HSAで2.0倍、コラーゲンで1.2倍、エラスチンで3.3倍の差異が認められた (Table 1)。

HSA-グルコース糖化反応モデルに対するAGEs および糖化反応中間体生成抑制作用

HSA-グルコース糖化反応モデルにおける0.3 mg/mL FAのF-AGEs、ペントシジン、CML、3DG、GOおよびMGO生成阻害作用を検証した (Table 2)。FAのAGEsおよび糖化反応中間体生成抑制作用はF-AGEs、ペントシジン、GO、MGO、3DG、CMLの順に強かった。一方、AGEsおよび糖化反応中間体はFAの生成抑制作用は検証した全ての項目においてAGよりも弱かった ($p < 0.05$) (ペントシジンは比較なし)。

糖化蛋白架橋形成抑制作用

FAとAGは試料濃度0.05 ~ 5.1 mmol/Lにおいてリゾチームのdimer、trimerの生成を濃度依存的に抑制した (Table 3, Fig. 3)。FAの蛋白架橋形成抑制率はAGと比較して1.5 mmol/Lにおいてdimerが0.2倍、trimerが0.5倍、5.1 mmol/Lにおいてdimerとtrimerともに0.5倍で、いずれも低値であった。

OPH活性増強作用

FAは試料濃度0.4 μg/mLにおいてRef (水)での活性を100としたとき、 166.2 ± 2.7 ($n = 3$)のOPH活性増強作用が認められた。

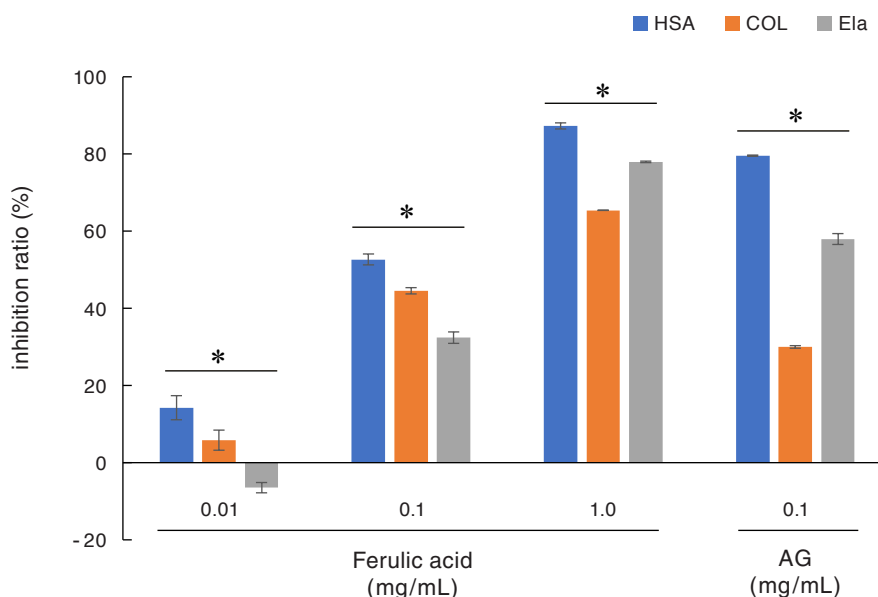


Fig. 2. Inhibitory activity of ferulic acid on F-AGE formation.

Results are expressed as mean ± SD, $n = 3$; * $p < 0.05$ by Tukey's test. HSA, human serum albumin; COL, collagen; Ela, elastin; AG, aminoguanidine; F-AGE, fluorescent advanced glycation endproduct; SD, standard deviation.

Table 1. Half inhibitory concentration (IC₅₀) on the protein-glucose glycation model.

Model protein	Ferulic acid (mg/mL)	Aminoguanidine ¹⁾ (mg/mL)
HSA	0.093	0.046
Collagen	0.242	0.201
Elastin	0.231	0.069

1) Positive control of glycation inhibitor. IC₅₀, 50% inhibitory concentration; HSA, human serum albumin.

Table 2. AGE inhibition ratio on the HSA-glucose glycation model

AGEs compound	Ferulic acid (%)	Aminoguanidine (%)
Fluorescent AGEs	70.6 ± 0.4 *	100.7 ± 0.1
Pentosidine	46.0 ± 0.2	—
CML	3.1 ± 1.1 *	65.1 ± 1.1
3DG	19.8 ± 1.0 *	86.7 ± 0.2
GO	48.1 ± 1.5 *	94.0 ± 1.2
MGO	35.8 ± 1.6 *	104.7 ± 1.5

Sample concentration, 0.3 mg/mL; mean ± SD, n = 3, *p < 0.05 vs aminoguanidine by Student's t test; Characteristic fluorescence (excitation/emission = 370/440 nm). AGE, advanced glycation endproduct; CML, N^ε-carboxymethyl lysine; 3DG, 3-deoxyglucosone; GO, glyoxal; MGO, methylglyoxal; HSA, Human serum albumin; SD, standard deviation.

Table 3. Inhibitory effect of ferulic acid and aminoguanidine on cross-linking formation in the lysozyme-glucose reaction model.

Polymerized lysozyme	Concentration (mmol/L)	Ferulic acid	Aminoguanidine
		Inhibition ratio (%)	Inhibition ratio (%)
Trimer	0.5	13.1 ± 9.0	39.4 ± 9.3 *
	1.5	36.8 ± 1.1	69.6 ± 8.0 **
	5.1	48.2 ± 2.1	90.3 ± 4.3 *
Dimer	0.5	-4.0 ± 3.7	12.4 ± 2.4 **
	1.5	5.8 ± 1.8	33.6 ± 2.9 **
	5.1	28.5 ± 2.0	53.9 ± 7.0 **

5 mg/mL lysozyme were incubated at 60 °C for 40 hours. SDS-PAGE was conducted using 4-20% acrylamide gels. Data are expressed as mean ± standard deviation, n = 3; Dimer, 28.6kDa; Trimer, 42.9kDa; *p < 0.05, ** p < 0.01 vs AG by t test.

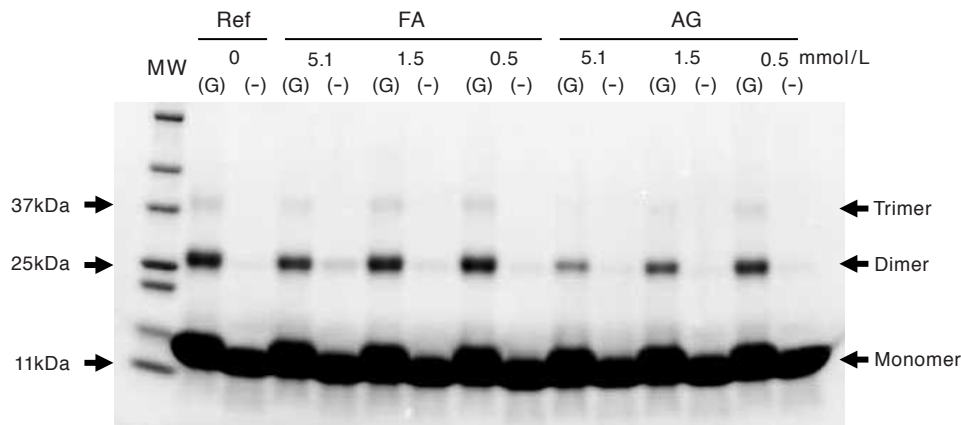


Fig. 3. Inhibitory effect of ferulic acid on cross-linking formation in the lysozyme-glucose reaction model.

5 mg/mL lysozyme were incubated at 60 °C for 40 hours. SDS-PAGE was conducted using 4-20% acrylamide gels. MW, molecular weight markers; Ref, incubation with 50% ethanol; FA, incubation with 0.1 mg/mL ferulic acid 50% ethanol solution; AG, incubation with aminoguanidine; (G), incubation with 0.5 mol/L glucose; (-), incubation without glucose; mmol/L, sample concentration.

考察

FAの糖化反応抑制作用

FAのF-AGEsとCML生成抑制作用はBSAをモデル蛋白としたグルコース、フルクトース、リボースの各糖化反応モデルで認められている²³⁾。本研究においてFAはHSA、コラーゲン、エラスチンをモデル蛋白とした糖化反応モデルにおいてF-AGEsの生成を抑制した。またFAはHSA-グルコース糖化反応モデルにおいてF-AGEs、ペントシジン、CML、3DG、GO、MGOの生成を抑制した。これらの結果は強弱があるものの、FAが生体組織中の様々な蛋白の糖化を抑制し、体内のAGEs蓄積を防ぐ可能性を示している。アルデヒドである3DG、GO、MGOの血中濃度の上昇は血管内皮細胞のアポトーシスを誘発する可能性がある³⁴⁾。血中アルデヒドの上昇は食後血糖値の上昇時にも起こる³⁵⁾。また血中3DGが100 nmol/L上昇すると、糖尿病性網膜症、腎症のリスクが約2倍高くなる²⁸⁾。このためFAのアルデヒド生成抑制作用は血管の老化や糖尿病合併症の進展抑制に関与する可能性がある。FAの糖尿病合併症に対する影響を検証した論文は多数ある³⁶⁾。STZ-糖尿病誘発ラットに対してFAを1日あたり100 mg/kg、8週間投与した試験では腎臓の糸球体(glomerular)容積の増大、硬化・線維化の改善に伴う腎機能改善が認められた³⁷⁾。2型糖尿病モデルラットに対して1日あたり10 mg/kgのFAを26から45週齢まで投与した試験では腎臓の糸球体基底膜の厚さ(glomerular basement membrane thickness)が減少し、糸球体容積とメサンギウム組織の増大により糖尿病性腎症治療効果が認められた³⁸⁾。これらの論文においてFAの有用性は主に抗酸化作用、抗炎症作用の関与が考察されている。本研究の結果からFAの糖尿病合併症の進展抑制に作用には糖化反応抑制作用も関係する可能性があった。FAは米、小麦などの穀物、フルーツ、野菜などの

食品に含まれ、小麦(wheat)、大麦(barley)、とうもろこし(corn)では100 gあたり500 mg以上含まれる¹⁹⁾。これらの穀物一食分あたりで摂取可能なFA量は20~150 mgと算出されている¹⁹⁾。米のAGEs生成抑制作用はスリランカ産米35品種の抽出物について検証され、赤米種が白米種よりも強い作用を有することが報告されている³⁹⁾。赤米のAGEs生成抑制作用は赤色素であるcyanidine-3-O-glucoside (C3G)の関与がある⁴⁰⁾。さらに黒米(black rice)、赤米(red rice)、玄米(brown rice)、白米(white rice)を含む米14品種にもAGEs生成抑制作用が報告されている⁴¹⁾。米の抽出液のAGEs生成抑制作用はC3Gを含まない玄米、白米にも認められ、その作用にポリフェノールの関与が推定されている⁴¹⁾。FAは主食となる穀類から摂取しやすい成分である。しかし穀類の大量摂取は糖質過剰となる可能性がある。糖化ストレスの強い状態における老化や疾病の進展抑制には精製されたFAを利用するか、穀類に含まれる炭水化物量に注意する必要がある。

糖化による蛋白変性保護作用

FAはてんかん(epilepsy)、うつ(depression)、虚血再灌流障害(ischemia-reperfusion injury)、アルツハイマー病(Alzheimer's disease; AD)、パーキンソン病(Parkinson's disease; PD)などの神経疾患に対する進展抑制作用が報告されている⁴²⁾。ADは酸化ストレス、ミトコンドリアの機能低下などが要因となる。このためADの治療や軽減には抗酸化成分が使用される。FAは植物の細胞壁に存在する抗酸化物質のひとつで、抗炎症作用とフリーラジカル消去を有する。FAはアミロイドβ(amyloid beta; Aβ)の凝集を抑制し蛋白の構造を維持する作用を有する⁴³⁾。またFAとその誘導体はAβの凝集と線維化を阻害する⁴⁴⁾。さらにFAはblood-brain barrier (BBB)を通過することも報告されている⁴⁵⁾。本研究でFAはリゾチームの糖化による蛋白

架橋形成に伴う重合を抑制し、糖化した蛋白を分解する作用を有するOPHの活性を増強することが明らかになった。これらの結果はFAが糖化による蛋白の構造変化を抑制し、蛋白の保護に作用する可能性を示している。糖化ストレスが強い状態にある糖尿病患者は非糖尿病患者と比べてADの有病率が高い⁴⁶⁾。AD患者の脳内AGEs量は健常者よりも3倍多い⁴⁷⁾。さらに皮膚AGEs蓄積量の多い人は軽度認知障害 (mild cognitive impairment; MCI) の出現率も高く、糖化ストレス亢進とAD発症との関連が推定されている⁴⁸⁾。このためFAの糖化による蛋白保護作用は糖化ストレスが強い状態にある糖尿病患者や高齢者の神経疾患の進展抑制に関与する可能性がある。

研究限界

本研究で検証されたFAの糖化反応抑制作用、糖化蛋白架橋抑制作用、OPH活性増強作用は *in vitro* での試験結果である。FAをヒトが継続摂取したときの有用性は更なる糖化抑制に着目した検証が必要である。

結語

FAはHSA、コラーゲン、エラスチンをモデル蛋白とした糖化反応系においてAGEs、糖化反応中間体生成および糖化による蛋白架橋を抑制し、OPH活性を増強した。FAの糖尿病合併症や神経疾患の進展抑制に対する有用性には抗糖化作用も関与している可能性がある。

利益相反申告

本研究の実施にあたり社会福祉法人きたば会より研究費の支援を受けた。FAは築野食品より提供を受けた。

謝辞

本研究を遂行するに当たり、公益財団法人 医食同源生薬研究財団 (Ishyoku-Dogen Research Foundation; <https://isyokudogen-fnd.jp/>) より広報支援を受けた。

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) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 1. What is glycative stress? *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 152-155.
- 3) Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, et al. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. *Science.* 1986; 232: 1629-1632.
- 4) Bolton WK, Cattran DC, Williams ME, et al. Randomized trial of an inhibitor of formation of advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol.* 2004; 24: 32-40.
- 5) Hori M, Yagi Y, 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: 135-148.
- 6) 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.
- 7) Parengkuan L, Yagi M, Matsushima M, et al. Anti-glycation activity of various fruits. *Anti-Aging Med.* 2013; 10: 70-76.
- 8) 八木雅之、松浦信康、米井嘉一. ローマカミツレに含まれる「カマメロサイド」のアンチエイジング医療における有用性. *Aromatopia* 2007; 16: 26-29.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) Nakata A, Koike Y, Matsui H, et al. Potent SIRT1 enzyme-stimulating and anti-glycation activity of polymethoxyflavonoids from *Kaempferia parviflora*. *Nat Prod Commun.* 2014; 9: 1291-1294.
- 12) Takabe W, Yamaguchi T, Hayashi H, et al. Identification of Antiglycative Compounds in Japanese Red Water Pepper (Red Leaf Variant of the *Persicaria hydropiper* Sprout). *Molecules.* 2018; 23: 2319.
- 13) Shimoda H, Nakamura S, Morioka M, et al. Effect of cinnamoyl and flavonol glucosides derived from cherry blossom flowers on the production of advanced glycation end products (AGEs) and AGE-induced fibroblast apoptosis. *Phytother. Res.* 2011; 25: 1328-1335.
- 14) 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.
- 15) Yagi M, Baba K, Sakiyama C, et al. Effects of varieties and cooking on the glycative stress inhibitory effect of eggplant. *Glycative Stress Res.* 2022; 9: 55-62.
- 16) Wu F, Yang N, Touré A, et al. Germinated brown rice and its role in human health. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013; 53: 451-463.
- 17) Perira C, Lourenço VM, Menezes R, et al. Rice compounds with impact on diabetes control. *Foods.* 2021; 10: 1992.

- 18) Ciulu M, Cádiz-Gurrea ML, Segura-Carretero A. Extraction and analysis of phenolic compounds in rice: A review. *Molecules*. 2018; 23: 2890.
- 19) Zhao Z, Moghadasian MH. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. *Food Chem*. 2008; 109: 691-702.
- 20) Stompor-Gorący M, Machaczka M. Recent advances in biological activity, new formulations and prodrugs of ferulic acid. *Int J Mol Sci*. 2021; 22: 12889.
- 21) Song Y, Wu T, Yang Q, et al. Ferulic acid alleviates the symptoms of diabetes in obese rats. *J Functional Foods*. 2014; 9: 141-147.
- 22) Balasubashini MS, Rukkumani R, Menon VP. Protective effects of ferulic acid on hyperlipidemic diabetic rats. *Acta Diabetol*. 2003; 40: 118-122.
- 23) Sompong W, Meeprom A, Cheng H, et al. A comparative study of ferulic acid on different monosaccharide-mediated protein glycation and oxidative damage in bovine serum albumin. *Molecules*. 2013; 18: 13886-13903.
- 24) 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: 845-858.
- 25) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 14. Glycative stress and anti-aging: 14. Regulation of Glycative stress. 2. Inhibition of the AGE production and accumulation. *Glycative Stress Res*. 2019; 6: 212-218.
- 26) 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.
- 27) Yagi M, Isshiki K, Takabe W, et al. Measurement of pentosidine in human plasma by the high performance liquid chromatography. *Glycative Stress Res*. 2018; 5: 119-128.
- 28) Kusunoki H, Miyata S, Ohara T, et al. Relation between serum 3-deoxyglucosone and development of diabetic microangiopathy. *Diabetes Care*. 2003; 26: 1889-1894.
- 29) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 2. The Evaluation of glycative stress: Measurement of blood glucose, glycated proteins and intermediates. *Glycative Stress Res*. 2016; 3: 205-209.
- 30) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging. 4: The evaluation of glycative stress: Evaluation for anti-glycative effect. *Glycative Stress Res*. 2017; 4: 87-92.
- 31) Perera HKI, Ranasinghe HASK. A simple method to detect plant based inhibitors of glycation induced protein cross-linking. *Asian J Med Sci*. 2015; 6: 28-33.
- 32) Perera HKI, Handuwalage CS. Analysis of glycation induced protein cross-linking inhibitory effects of some antidiabetic plants and spices. *BMC Complement Altern Med*. 2015; 15: 175.
- 33) Ishizaki K, Yagi M, Sakiyama C, et al., Influence on the oxidized protein hydrolase (OPH) activity of herbal tea extract. *Glycative Stress Res*. 2020; 7: 22-28.
- 34) 高橋恭兵, 立浪良介, 丹保好子. 血管内皮細胞におけるメチルグリオキサール誘導アポトーシス. *Yakugaku Zasshi*. 2008; 128: 1443-1448.
- 35) Maessen DE, Hanssen NM, Scheijen JL, et al. Post-glucose load plasma α -dicarbonyl concentrations are increased in individuals with impaired glucose metabolism and type 2 diabetes: The CODAM study. *Diabetes Care*. 2015; 38: 913-920.
- 36) Li X, Wu J, Xu F, et al. Use of ferulic acid in the management of diabetes mellitus and its complications. *Molecules*. 2022; 27: 6010
- 37) Qi M, Wang X, Xu H, et al. Protective effect of ferulic acid on STZ-induced diabetic nephropathy in rats. *Food Funct*. 2020; 11: 3706-3718.
- 38) Choi R, Kim BH, Naowaboot J, et al. Effects of ferulic acid on diabetic nephropathy in a rat model of type 2 diabetes. *Exp Mol Med*. 2011; 43: 676-683.
- 39) Premakumara GAS, Abeysekera WKSM, Ratnasooriya WD, et al. Antioxidant, anti-amylase, and anti-glycation potential of brans of some Sri Lankan traditional and improved rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *J Cereal Sci*. 58: 451-456.
- 40) Agustin AT, Safitri A, Fatchiyah F. An in silico approach reveals the potential function of cyanidin-3-o-glucoside of red rice in inhibiting the advanced glycation end products (AGEs)-receptor (RAGE) signaling pathway. *Acta Inform Med*. 2020; 28: 170-179.
- 41) Wickramasinghe UPP, Yagi M, Yonei Y. Anti-glycative effect and total phenolic content of rice water of different Japonica and Indica varieties. *Glycative Stress Res*. 2021; 8: 162-170.
- 42) Thapliyal S, Singh T, Handu S. et al, A review on potential footprints of ferulic acid for treatment of neurological disorders. *Neurochem Res*. 2021; 46: 1043-1057.
- 43) Sgarbossa A, Giacomazza D, Carlo M. Ferulic acid: A hope for Alzheimer's disease therapy from plants. *Nutrients*. 2015; 7: 5764-5782
- 44) Kolaj I, Yanfei Wang Y, Ye K, et al. Ferulic acid amide derivatives with varying inhibition of amyloid- β oligomerization and fibrillization. *Bioorg Med Chem*. 2021; 43: 116247.
- 45) Wu K, Wang Z, Liu D, et al. Pharmacokinetics, brain distribution, release and blood-brain barrier transport of Shunaoxin pills. *J Ethnopharmacol*. 2014; 151: 1133-1140.
- 46) Kimura R, Tomiyasu H, Takeuchi T, et al. Prevalence of Alzheimer's disease with diabetes in the Japanese population. *Psychogeriatrics*. 2008; 8: 73-78.
- 47) Vitek MP, Bhattacharya K, Glendening JM, et al. Advanced glycation end products contribute to amyloidosis in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994; 91: 4766-4770.
- 48) Igase M, Igase K. Cognitive impairment and glycative stress. *Glycative Stress Res*. 2018; 5: 45-49.