

Online edition: ISSN 2188-3610 Print edition: ISSN 2188-3602 Received: September 30, 2023 Accepted: October 20, 2023 Published online: December 31, 2023 doi:10.24659/gsr.10.4\_145

Original article

# Glycative stress: Molecular impacts and defense mechanisms

Yoshikazu Yonei 1), Masayuki Yagi 1), Kenji Sato 2), Mari Ogura 1,3)

- 1) Anti-Aging Medical Research Center / Glycative Stress Research Center, Graduate School of Life and Medical Sciences, Doshisha University, 1-3 TataraMiyakodani, Kyoto 610-0394, Japan
- 2) Division of Applied Biosciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto, Japan
- 3) Department of Food and Nutrition, Kyoto Bunkyo Junior College, Kyoto, Japan

Glycative Stress Research 2023; 10 (4): 145-158 (c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文:日本語翻訳版)

# 糖化ストレス:分子レベルの影響とその防御機構

米井嘉一1)、八木雅之1)、佐藤健司2)、小椋真理1,3)

- 1) 同志社大学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
- 2) 京都大学大学院農学研究科 応用生物科学
- 3) 京都文教短期大学食物栄養学科

### 抄録

糖化ストレスが身体の様々な領域に影響を及ぼし、ヒトの健康維持と加齢関連疾患の予防に深く関わるこ とが近年注目されている。糖化ストレスとは、還元糖、脂質、アルコールに由来する炭水化物由来アルデ ヒドや脂肪酸由来アルデヒドが生体内で過剰に生成する状態を意味する。これらのアルデヒドは細胞内外 の、さらには細胞内小器官の様々な物質(蛋白質、脂質、塩基)に分子レベルでの衝撃を与える。身体内 の蛋白質は非酵素的修飾を受け、異常蛋白質(カルボルニル化蛋白質、終末糖化産物 [advanced glycation endproducts: AGEs]) を生成、組織のみならず細胞内に貯留し、小胞体 (endoplasmic reticulum: ER) ストレ スは増加するため細胞機能は低下する。炎症性脂肪表面に発現した Receptor for AGEs (RAGE)にAGEsが結 合すると、炎症性サイトカイン生成が刺激され、炎症惹起の契機となる。身体はアルデヒドに対する防御とし て glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)、glyoxalase, aldehyde dehydrogenase (ALDH) を備 えているが、代謝の過程で補酵素 nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) を大量に消費する。その結果、 NADを必要とするミトコンドリア内のTCAサイクルが円滑に回らなくなり、フマル酸の上昇、重要な蛋白 (GAPDHやアディポネクチン)のサクシニル化が生じ、機能性蛋白の機能低下が惹起される。

連絡先: 教授 米井嘉一 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 〒610-0321 京都府京田辺市多々羅都谷 1-3

TEL&FAX: 0774-65-6394 e-mail: yyonei@mail.doshisha.ac.jp

共著者:八木雅之 myagi@mail.doshisha.ac.jp; 佐藤健司 sato.kenji.7x@kyoto-u.ac.jp; 小椋真理 m-ogura@po.kbu.ac.jp

本論文では、膵臓  $\beta$  細胞におけるインスリン分泌およびアルツハイマー型認知症(Alzheimer's dementia:AD)への糖化ストレスの関与について概説した。脳に豊富に存在する脂質過酸化を防ぐこと、アミロイド  $\beta$  やタウ蛋白の糖化修飾を防ぐことは重要です。抗糖化に関するさらなる広範な研究が行われ、より深い理解とより多くの参加が促進されることを願っています。 今後、抗糖化研究が深化して、多くの方々が理解し参画することで、実学として社会実装されることを切に望んでいる。

**KEY WORDS:** 糖化ストレス、炭水化物由来アルデヒド、脂肪酸由来アルデヒド、NAD、GAPDH、インスリン抵抗性、アミロイド $\beta$ クリアランス、メラトニン、運動抵抗性

### 1. はじめに

糖化ストレスとは、還元糖、脂質、アルコールに由来する様々なアルデヒドが生体内で過剰に生成する状態を意味する。これらのアルデヒドは様々な物質(蛋白質、脂質、塩基)に分子レベルでの衝撃を与える。蛋白質に対して反応すると、生体内でカルボルニル化蛋白や終末糖化産物(advanced glycation endproducts: AGEs)を生成、さらにRAGE(receptor for AGEs)に結合して炎症性サイトカイン産生し、退行性変化や組織障害を惹起する1-3)。本論文では、糖化ストレスの分子レベルでの影響とそれに対する防御機構について概説する。

### 2. 糖化ストレスの影響

### 2.1. 原因と機序

アルデヒド過剰生成を起こす要因として、大きく①血糖スパイク (糖尿病・耐糖能異常・インスリン抵抗性)、②高脂肪食 (high fat diet: HFD)、③過剰飲酒に分けられる。グルコースやフルクトースなどの還元糖は、99%以上が環状型を示すが、一部は開環して直鎖型となりアルデヒド基(-CHO) やケト基 (-C=O) が露出する。その結果、反応性が高まり、血糖スパイク時には連鎖反応的に多種類のアルデヒドが生成する (アルデヒドスパーク) 4-6)。

アルデヒドは反応性が高いため、蛋白質、脂質、DNA塩基と容易に反応を起こし、構造変化と機能変化を惹起する。飲酒によって生じるアセトアルデヒド (acetaldehyde: AA)、食後高血糖によって生じるグリセルアルデヒド (glyceraldehyde: GA)、3-デオキシグルコソン(3-deoxyglucosone: 3DG)、グリオキサール (glyoxal: GO)、メチルグリオキサール (methylglyoxal: MGO) は炭水化物由来アルデヒドである $^{70}$ 。脂質の酸化によって生じる脂肪酸由来アルデヒドにはマロンジアルデヒド (malondialdehyde: MDA)、ヒドロキシノネナール、アクロレイン (Acro)、MGO がある。MGO は

炭水化物と脂肪酸の両者から生成する。脂質が豊富な臓器や器官では脂肪酸由来アルデヒドが病態形成に深く関与している可能性がある。糖化ストレスによる分子レベルでの影響についてFig.1に示した。

#### 2.2. 高脂肪食 (HFD) と脂肪酸由来アルデヒド

HFD 投与マウスでは脂肪肝が形成され、酸化ストレスによる過酸化脂質の増加とシステインの低下が惹起される $^{8}$ )。さらに重要な事項は、肝におけるグリセルアルデヒド- $^{3}$ -リン酸脱水素酵素(glyceraldehyde- $^{3}$ -phosphate dehydrogenase: GAPDH)蛋白レベルが低下することである。GAPDHは、解糖系においてグリセルアルデヒド $^{3}$ -リン酸(glyceraldehyde- $^{3}$ -phosphate; G3P)にもう一つのリン酸基を与え、D- $^{1}$ -バスホスホグリセリン酸(D- $^{1}$ -バス・ビスホスホグリセリン酸(D- $^{1}$ -バス・ロットののののではである。GAPDHの活性低下により、血中のGAおよびMGOが増加することである $^{7}$ 。

酸化ストレスにより脂質が酸化されて過酸化脂質が生成 すると、同時に、脂肪酸由来アルデヒド生成が惹起され る 9-11)。アルデヒドは容易に細胞膜を通過し、肝細胞内に 移行し、さらにミトコンドリア内膜を透過する。蛋白質の カルボニル化、AGEs化、サクシニル化 (2SC化) 12-14) な ど非生理的翻訳後修飾を起こした異常蛋白質が増え、小 胞体 (endoplasmic reticulum: ER) ストレスが増加する。 AGEs が Kupffer 細胞やマクロファージに発現するRAGE に結合すると、AGEs/RAGEシグナルが活性化して炎症性 サイトカインが生成され、炎症反応が惹起される<sup>1)</sup>。AGEs/ RAGEシグナル活性化により、炎症性サイトカイン (IL-1 [interleukin 1], IL-6, TNF-α [tumor necrosis factor-α] など)、ケモカイン (MCP-1 [monocyte chemoattractant protein 1] など)、細胞接着因子 (ICAM-1 [intercellular adhesion molecule-1] など)、マトリックスメタロプロテアー ゼなどの様々な炎症関連因子の発現亢進を惹起される15,16)。 すなわち、単純性脂肪肝に炎症が加わることで、脂肪肝炎 に進行する機序が予測される。

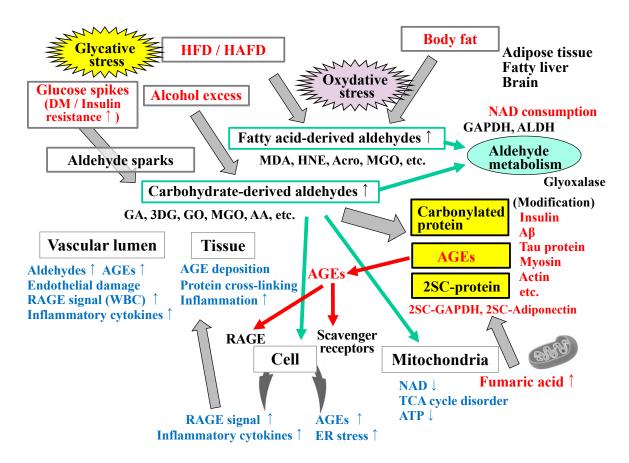


Fig. 1. Impacts of glycative stress.

HFD, high fat diet; HAFD, high animal-fat diet; DM. diabetes mellitus; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; GA, glyceraldehyde; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; ALDH, aldehyde dehydrogenase; MDA, malondialdehyde; HNE, hydroxynonenal; Acro, acrolein; MGO, methylglyoxal; 3DG, 3-deoxyglucosone; GO, glyoxal; AA, acetaldehyde; AGEs, advanced glycation endproducts; RAGE, Receptor for AGEs; WBC, white blood cell; Aβ, amyloid β; 2SC.S-(2-succinyl) cysteine; ER, endoplasmic reticulum; TCA, tricarboxylic acid.

RAGE に結合する AGEs リガンドはすべての分子種ではなく、 $N^{\epsilon}$ -(carboxymethyl) lysine (CML)、そしてGAおよびグリコールアルデヒドによって修飾されたものであることが明らかにされている $^{17}$ 。

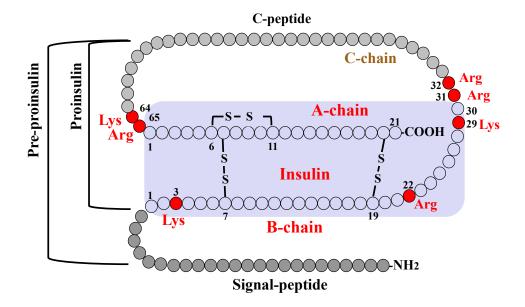
HFDの中でも、特に動物性脂肪の過剰摂取 (high animalfat diet: HAFD) が依存症の観点から近年注目されている。 HAFD は脂肪細胞由来ホルモンのレプチンの作用を減弱させ、レプチン抵抗性を惹起し、個体は減量困難な体質に変わる<sup>18-21)</sup>。食欲中枢視床下部においては、弓状核が主たる管制塔となってホルモン・自律神経系が担う食欲の恒常性維持を統御している。これはメタボリック・ハンガー調節系と呼ばれる。一方、HAFDは視床下部の炎症やERストレスを惹起し、メタボリック・ハンガー調節系の機能を麻痺させ、個体は必要な摂取カロリーを脳が正しく判断出来ない状態に陥る<sup>19)</sup>。個体は動物性脂肪を欲するようになるだけでなく、あたかも怠け者になったように運動を嫌うようになる。

HAFD投与マウスでは、視床下部に炎症惹起性の活性化 ミクログリアが短期間うちに浸潤し、脳のダメージと白血球 遊走が進行し、やがて脳が炎症状態に陥る<sup>20</sup>。脳組織に豊富に含まれる脂質は、酸化ストレスによって脂肪酸由来アルデヒド産生が亢進し、アルデヒド供給源となり、蛋白修飾を起こしやすくなり、その結果、脳神経細胞にERストレスを惹起するのではないかと、我々は推測している。

#### 3. 糖化ストレスの分子的影響

#### 3.1. インスリンへの影響

膵臓の β 細胞では、プレプロインスリン、プロインスリンを経て、インスリンが合成される (Fig.2)  $^{3)}$ 。プロインスリンは分泌顆粒内においてプロホルモン変換酵素(proprotein convertase)の作用により、インスリンB鎖とCペプチドをつなぐArg~31-Arg~32、ならびにCペプチドとA鎖をつなぐLys~64-Arg~65のC端側で切断される。次に、これら塩基性アミノ酸(Arg,Lys)はカルボキシペプチダーゼEの作用により取り除かれ、インスリンとCペプチドが作られる。糖化ストレス亢進時には、血中短鎖アルデヒドが増えてβ



*Fig. 2.* Insulin synthesis in pancreatic  $\beta$  cells.

The figure quoted from Reference 3. The values of IRI (immunoreactive insulin), which we usually use in clinical sites, are measured using antigenicity against specific parts of insulin peptide. Immunological cross-reactivity is shown. There are cross-reactions in proinsulin and intermediate products in biosynthesis systems, and the obtained measurement values do not represent only insulin.

細胞内に移行、アルデヒドがプロインスリンを攻撃して、カルボルニル化プロインスリンが生成する。アミノ基 $(-NH_2)$ を2個有するArg, Lysはカルボニル化修飾を受けやすく、切断部位に構造変化が生じた結果、カルボキシペプチダーゼ Eに対して抵抗性が生じ、インスリン生成量が低下する $^{22-27)}$ 。 $\beta$  細胞に貯蔵されたインスリンの一部は、N末端(Phe)や Arg, Lys 残基もアミノ基 $(-NH_2)$ が糖化修飾を受け糖化インスリンとなり、グルコース刺激により(非糖化)インスリンとともに分泌される $^{27)}$ 。

我々が臨床現場で通常用いるIRI (immunoreactive insulin) 値は、インスリンペプチド特定部位に対する抗原性を利用して測定しているので、免疫学的交叉反応性を示し、プロインスリンやインスリン生合成系の中間産物にも一部交差反応があり、得られる測定値はインスリンのみを表すものではない。

IRIには、インスリン(糖化・非糖化)、プロインスリン(糖化・非糖化)が含まれる。健常人の空腹時プロインスリン量は $0.05\sim0.4$  ng/mLで、IRI値に対する割合は $5\sim48\%$ である20。糖尿病患者ではインスリンの9%が糖化インスリンと報告されている20。糖化ストレス亢進時には、IRIの構成比が変化する。糖化インスリンの比率が増し、活性を有するインスリンは減少する。反対に、運動負荷などにより、糖化ストレスが軽減すれば、 $\beta$ 細胞内の糖化プロインスリンや糖化インスリンが減少して、その結果、インスリン生成量が増え、構成比は糖化インスリンが減り、インスリンの割合が増えると推測されている。Fig.3に糖化ストレス亢進時と改善時におけるIRIの変化を推測した模式図を示す20。身体運動により、IRIにおけるプロインスリンの比率が減り、IRI値が減少する。プロインスリン、イン

スリンにおける糖化修飾の比率が減る。その結果、IRI値が減るにも関わらず、インスリン活性が増加し、インスリン抵抗性が改善すると推測される。この仮説を証明するためには、IRIにおける糖化・非糖化のインスリン、プロインスリンを測定する必要がある。これは今後の課題である。

#### 3.2. アルツハイマー型認知症 (AD) への関与

AD患者脳の神経病理学的な特徴には、脳萎縮、老人斑、神経原線維変化がある。老人斑はA $\beta$ で構成される。A $\beta$ は約40個のアミノ酸で構成される分子量4,300~4,500のペプチド (A $\beta$ 40, A $\beta$ 42) である。A $\beta$ は $\beta$ -及び $\gamma$ -セクレターゼの働きによりアミロイド前駆体蛋白質 (amyloid-beta precursor protein: APP) から切り出される (*Fig. 4*) <sup>30)</sup>。

脳は脂質が豊富であるため、AD患者の脳では $A\beta$ 沈着部位には脂肪酸由来アルデヒド (AcroゃMGO) と結合した蛋白が認められる 31-41。

 $A\beta$ はグルコース存在下でアルデヒドと反応させると糖化しAGE化する (AGE-A $\beta$ )。 $A\beta$ のアミノ酸配列中には16と28番目にリジン残基 (Lys; K)、5番目にアルギニン残基 (Arg; R)を有し、これらのアミノ酸配列部位が糖化に関与している。また $A\beta$ はグルコース存在下でインキュベートすると凝集するため、 $AGE-A\beta$ が $A\beta$ の凝集を促進する「シード」として関与している可能性がある $^{42}$ )。

老人斑を有する前頭葉組織蛋白中のAGEs量は、健康な高齢者と比べてAD患者で3倍多いことが報告されている 43)。一方A $\beta$ -グルコース反応系に糖化反応阻害剤であるアミノグアニジンを添加して反応するとA $\beta$ の凝集形成が抑制された 43)。老人斑中にはペントシジン、ピラリン、CMLな

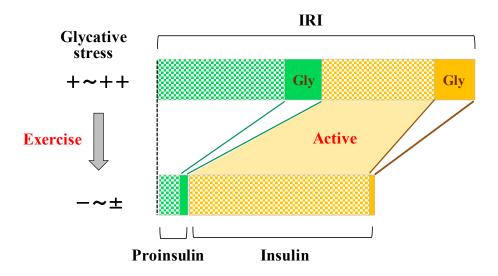
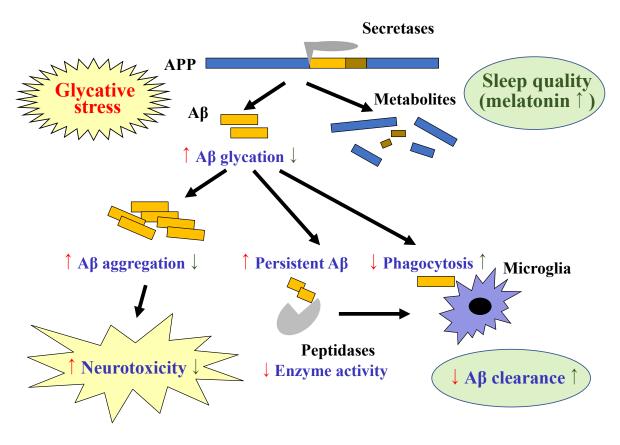


Fig.3. IRI compositional changes by exercise (speculated schematic).

If physical exercise decreases glycative stress, expectedly insulin action would increase despite the decrease in IRI. IRI, immune reactive insulin; Gly, glycated proinsulin or insulin. The figure quoted from Reference 29.



*Fig. 4.* Aβ cascade: Impacts of glycative stress and protection by sleep quality/melatonin. The figure based on data from Reference 30. Aβ, amyloid  $\beta$ ; APP, amyloid- $\beta$ precursor protein.

どのAGEsの存在が認められている $^{44,45}$ 。糖化によるA $\beta$ のAGE化は蛋白架橋の形成、A $\beta$ の凝集を促進する因子として関係する可能性がある。

AD患者の脳から得られたPHF中のタウ蛋白にはAGE 化がみられる。一方、非AD患者または認知症のない脳から得られた可溶性のタウ蛋白はAGE化がみられない。タウ蛋白のアミノ酸配列中には13個のリジン残基があり、このうち6個が糖化しているとの報告がある<sup>45</sup>。タウ蛋白の糖化部位は微小管との結合部位にあたるため、結合機能が障害される。糖化したタウ蛋白は活性酸素、IL-6などの酸化ストレスを誘導し、神経細胞機能にダメージを与える<sup>46</sup>)。

タウ蛋白の in vitro 実験系では、糖化したタウ蛋白が PHF 様の線維を形成するが糖化していないタウ蛋白は線維を形成しないことが示されている $^{47}$ 。 PHF中にはペントシジン、ピラリン、CMLなどのAGEsが認められる。糖化したタウ蛋白はAPPとA $\beta$ の生成を誘導する。細胞はタウ蛋白のリン酸化や糖化により細胞内輸送能が低下し、APPを細胞外に分泌できなくなる。その結果APPは細胞内に蓄積する。A $\beta$ やタウ蛋白の糖化はA $\beta$ の沈着・凝集に促進的に作用すると同時に、タウ蛋白の沈着を亢進する。

 $A\beta$ は、通常、脳内の遺物として短期間で分解、排出される  $(A\beta$ クリアランス)。しかし、酸化ストレスや糖化ストレスにより  $A\beta$ の構造が修飾され、異常な $A\beta$ が生成されると、

不溶性の線維を形成して沈着する $^{48,49}$ 。特に糖化ストレスによって蛋白同士が架橋形成されると、 $A\beta$  同士が結合して異常な $A\beta$ 重合体ができる。異常 $A\beta$ 重合体の形成は難分解性、神経毒性の増強、 $A\beta$ クリアランスの低下を惹起する。さらに、 $A\beta$ 排出されずに脳に蓄積され沈着すると、 $A\beta$ 老人斑 (アミロイド病理)を形成する。神経毒性の強い異常  $A\beta$ が、それまで健康な神経細胞の周囲にまとわりつくと、神経細胞にも影響を及ぼす。これが契機となって、微小管結合蛋白質の一つである夕ウ蛋白質が、細胞質中で線維化・凝集する神経原線維変化を形成する。その結果、脳の委縮が徐々に進み、アルツハイマー型認知症が進行する。これが「アミロイドカスケード仮説」に糖化ストレスを加味した概念である $^{50-52}$ 。この概念の中では $A\beta$ クリアランスの重要性が強調されている。

我々は、ミクログリアの初代培養細胞を用いて、ミクログリア貪食能への糖化ストレスと睡眠の質の影響について検証した (Fig.5) $^{30}$ )。糖化  $A\beta$ は MGO 処理により作成した。糖化ストレスによる分子レベルの衝撃の1例である。その結果、糖化  $A\beta$ に対しては貪食能が著明に低下することを見出した。対照的に、睡眠の質に関わるホルモンであるメラトニンを添加した結果、 $A\beta$ 貪食能が増強した。

 $A\beta$ カスケードにおいては、 $A\beta$ クリアランスの重要性が 近年高まっており、今回の発見は「糖化ストレスが $A\beta$ ク リアランスを低下させ、睡眠の質向上に伴うメラトニンが

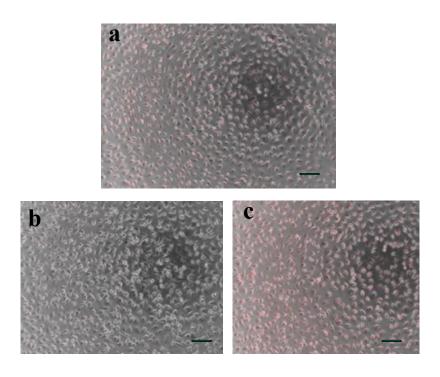


Fig. 5. Aβ phagocytosis by microglia: Fluorescence microscopy image.

a) A $\beta$  phagocytosis, b) Glycated-A $\beta$  phagocytosis, c) A $\beta$  phagocytosis with melatonin (100  $\mu$ M). Images (x 100) of cultured cells 10 days after seeding (8 days after addition of A $\beta$ ). The bar indicates 200  $\mu$ m. Fluorescence-labelled A $\beta$  (TAMRA-A $\beta$ , Cosmo Bio, Japan) and ratderived microglia primary culture cells (Cosmo Bio, Japan) were used. Red color portions indicate A $\beta$ -derived fluorescence uptaken by microglia. Note that A $\beta$  phagocytosis was inhibited by A $\beta$  glycation and accelerated by the addition of melatonin. Glycated-A $\beta$  was prepared by MGO treatment (10 mM, one day). Figures quoted from Reference 30. A $\beta$ , amyloid  $\beta$ ; MGO, methylglyoxal.

 $A\beta$ クリアランスを促進する」可能性を示唆する重要な所見である。さらに、糖化ストレスが $A\beta$ クリアランスを低下させる機序の一つが、糖化 $A\beta$ に対するミクログリア貪食の低下であることが示された。

### 4. 糖化ストレスに対する防御機構

#### 4.1. 防御機構

身体には糖化ストレスに対処する防御機構が備わっている。しかし、一度AGEsが生成されると、プロテアーゼやプロテオソームに対し難分解性を示すこと、多様性あるAGEsに対する個別対応が困難となることから、AGEsに対する分解・排除機構は決して強力ではない。セリンプロテアーゼの一種である酸化蛋白分解酵素(oxidized protein hydrolase: OPH)のAGEs分解活性が報告されている $^{53-55}$ )。OPH活性を強化する成分についても探索が行われている $^{56}$ )。 生体内ではアルデヒドの段階での防御が主体となっており、ALDH、glyoxalase、GAPDHがその代表である。

GAPDHは細胞質内蛋白の $10\% \sim 20\%$ を占めるほど大量に存在し、解糖系では、NADを補酵素として、グリセルアルデヒド 3- リン酸(glyceraldehyde-3-phosphate; G3P)を1,3-BPGに変換する $^{7,57}$ 。この反応には補酵素 NADからNADH (nicotinamide adenine dinucleotide) への還元反応から得られるエネルギーが必要である。

肝臓と腎臓は糖化ストレス防御の要であり、肝細胞、腎糸球体臓側上皮細胞(podocyte)にはGAPDHが特に多い。この酵素が阻害されると、細胞内外でGAが増加し、細胞壊死に陥り、アルデヒドに対する防御機能が低下し、血中GA濃度が上昇する(Fig.6)<sup>7)</sup>。GAPDH活性を高める成分の探索が始まっている。クロレラ抽出物のGAPDH活性増強作用が報告されている<sup>58)</sup>。

グリオキサラーゼ系は、還元型グルタチオン (reduced glutathione: GSH) の補助を受けて、MGOを乳酸に代謝する作用を有する。肝臓、腎臓に多く含まれ、糖化ストレス防御に重要である $^{59,60}$ )。

ALDHは19種のアイソザイムが知られ、ALDH2の発現量がもっとも多く、肝臓に多く含まれる<sup>61,62</sup>。ALDH2はアセトアルデヒドを酢酸に代謝するだけでなく、多種アルデヒドに対し解毒作用を有する。例えば、GAはグリセリン酸へ、グリコールアルデヒドはグリコール酸へ、MGOはピルビン酸へ代謝される。ALDH2活性は低活性型、中活性型、高活性型に分けられるが、高活性型者では糖化ストレス防御機能が強い。

我々は、血糖スパイクによりアルデヒドスパークが生じやすい人と生じにくい人が存在する現象に注目している。アルデヒドと反応しやすいアルデヒドトラップ物質が血中に多く存在すれば、アルデヒドが無害化されやすい。例えば、抗甲状腺剤チアマゾールによる肝障害発症機序にはGOの関与があり、GOトラップにより予防できる可能性

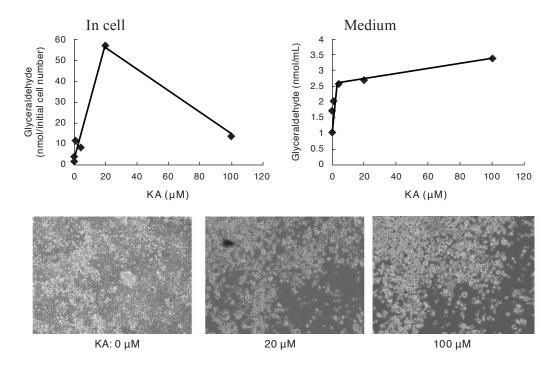


Fig. 6. Effect of KA on HCT116 cell intracellular and medium GA.

HCT116 cells (1 x  $10^5$ ) were inoculated on a 24 well plate and incubated in a high glucose DMEM medium containing antibiotics and 10% fetal bovine serum. KA was added to the medium one day after inoculation. Cells were harvested 7 days after inoculation and washed with the medium. Intracellular GA was extracted with 75% ethanol. The intracellular ( $\bf a$ ) and medium ( $\bf b$ ) GA was quantified by the method of Martin-Morales *et al.* (Reference 8). Cells after 6-day incubation with KA ( $\bf c$ : 0  $\mu$ M,  $\bf d$ : 20  $\mu$ M, and  $\bf e$ : 100  $\mu$ M) were photographed (lower). Figures quoted from Reference 7. KA, koningin acid; GA, glyceraldehyde.

がある。我々は血中のアミノ酸に注目し、「総アミノ酸濃度 の高値者ではアルデヒドスパークが生じにくい」のではな いかと仮説を抱き、検証を進めている。

#### 4.2. NADの関与

高血糖/高アルデヒド状態では、ミトコンドリアのTCA サイクル障害が起こり、フマル酸が増加、ペプチドを構成するシステインのチオール基 (-SH) がサクシニル化 (S-(2-succinyl) cysteine [2SC] formation) が惹起される  $^{12-14)}$ 。これは蛋白質の非生理的翻訳後修飾の一形態である。

ミトコンドリアでは、TCAサイクルの3箇所の反応でNADが関与している。高血糖/高アルデヒド状態では、アルデヒド代謝酵素のうちGAPDHとALDHが、NADを利用してアルデヒドを代謝するため、アルデヒド過剰時にはNAD不足に陥る。そのためサイクルが円滑に回転できなくなると考えられている。

サクシニル化蛋白の例として、2SC-GAPDH <sup>13,63)</sup>、2SC-アディポネクチン<sup>11)</sup>、2SC-heat shock protein (2SC-HSP) <sup>10)</sup>、kelch-like ECH-associated protein 1 (KEAP1) <sup>64)</sup>、ミトコドリアアコニターゼ(mitochondrial aconitase: ACO2) <sup>64)</sup>の報告があり、細胞内の代謝に大きな影響を与えることが明らかにされている。

TCAサイクル障害より2SC-GAPDHが形成されると、GA代謝活性が失われるため、血中のGA濃度が益々上昇する<sup>7,13,63)</sup>。このことは、糖化ストレスによる高アルデヒド状態を放置すると、GAPDH活性が低下して、さらにアルデヒドが増えるという悪循環サイクルが存在することを示している<sup>3)</sup>。

内臓脂肪では、TCAサイクル障害により2SC-アディポネクチン(3量体)が形成される。アディポネクチン(3量体)のCys-39 チオール基 (-SH)がサクシニル化すると、ジスルフィド結合が形成できず、膜透過性の高い6量体が形成されないため、高分子型アディポネクチン(6量体)の血中濃度が低下する<sup>11)</sup>。アディポネクチンはインスリン抵抗性を改善する作用があるが、糖化ストレスが強い時には血中アディポネクチン濃度が低下するため、インスリン抵抗性が亢進し、耐糖能が低下、益々糖化ストレスが増悪するという悪性サイクルを形成する。

以上の所見は、糖化ストレス起因性疾患の発症と進展防止のためには、早期の段階から糖化ストレス対策による介入が必要であることを示している。

我々は、基礎疾患のない閉経後女性17名(平均年齢55.0歳)を被検者とし、NADの前駆体である nicotinamide mononucleotide (NMN)300 mg/日を8週間、経口投与した臨床試験の経験がある。その結果、糖化ストレス関連指標はして、HbAlcと皮膚AGEs由来蛍光強度(skin autofluorescence: SAF)の有意な低下、高分子アディポネクチンの有意な増加を認めた<sup>65)</sup>。SAFはAGE Readerにて非侵襲的に測定した皮膚のAGEs由来と推定される蛍光強度であり、糖化ストレス指標としてしばしば用いられている<sup>66,67)</sup>。被験者は健常とはいえ、30歳の若年者に比べて、

代謝機能が衰えている。NMN補給により、ミトコンドリア内のNADが十分量に達しTCAサイクルの円滑化し、GAPDHやアディポネクチンのサクシニル化が緩和された可能性がある。NAD不足時には、NMNの補給が有効であることを示唆する所見である。

#### 4.3. 「睡眠の質」向上の意義

糖化ストレス対策は食事療法と運動療法、そして「睡眠の質」が鍵となる。食事療法は、段階別に①血糖スパイク抑制・アルデヒドトラップ、②AGEs生成抑制、③AGEs分解促進に分けられる。我々はこれらの作用を有する食材の効率的な摂取を推奨している。全カロリー摂取量の約60%を占める炭水化物については、全粒穀物の摂取を推奨している。玄米に含まれるγオリザノールの活用<sup>21,68-70)</sup>は、動物性脂肪依存症に対策として有効な可能性がある。

「睡眠の質」と耐糖能は双方向性に影響を及ぼし合う。糖化ストレスが強い糖尿病患者では約40%が睡眠障害を合併している。睡眠の質が低下した睡眠時無呼吸症候群(sleep apnea syndrome: SAS)では、肥満や糖尿病を合併する頻度が高い<sup>71)</sup>。糖化ストレス指標のSAFは睡眠時間の長短に影響を受け、睡眠時間の短い者ではSAF値の年齢推移が上方に偏移(シフト)する<sup>72)</sup>。糖化ストレスを軽減するためには、糖代謝異常と睡眠障害それぞれの予防と治療を並行して考慮することが重要である。

「睡眠の質」と耐糖能を結ぶ鍵として、近年もっとも注目されているのがメラトニンの糖代謝への作用である<sup>73)</sup>。メラトニンはAGEsの生成抑制作用を持たないが<sup>74)</sup>、AGEs分解促進作用を有する<sup>75)</sup>。前夜にメラトニンを服用すると翌朝の食後高血糖が緩和される。これらの総合作用により糖化ストレスが減少する。

メラトニンが糖脂質代謝を改善し、糖化ストレスを軽減する機序をFig.7にまとめた $^{76}$ 。

第一にメラトニンは抗酸化作用を有する<sup>77-87)</sup>。これは活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)を消去する直接作用と抗酸化酵素(例:superoxide dismutase (SOD), gluthatione peroxidase)の活性を上げる作用の両者に基づく<sup>88,89)</sup>。またN-acetyl-N-formyl-5-methoxykynuramine(AFMK)、N1-acetyl-5-methoxykynuramine(AMK)などの代謝産物も抗酸化作用を有する。

第二にメラトニンはAGEs 分解促進作用を有する $^{90}$ )。糖尿病など糖代謝異常時には膵島 $\beta$ 細胞のERストレスが亢進しインスリン分泌が低下する $^{91}$ )。AGEs は膵 $\beta$ 細胞内のERストレスを増大させ、インスリン産生、分泌を低下させる $^{92}$ )。AGEs が分解により減少すればERストレスが軽減されることにより、低下したインスリン分泌能が回復すると考えられる $^{93}$ )。

第三はホルモンを介した作用である。メラトニンは副腎皮質からの糖質コルチコイド (例: cortisol) 分泌を低下させる。糖質コルチコイドは蛋白異化の亢進及び糖新生を促すとともに、インスリン抵抗性を亢進させることで、高血糖が惹起される。糖質コルチコイド活性の95%をcortisol

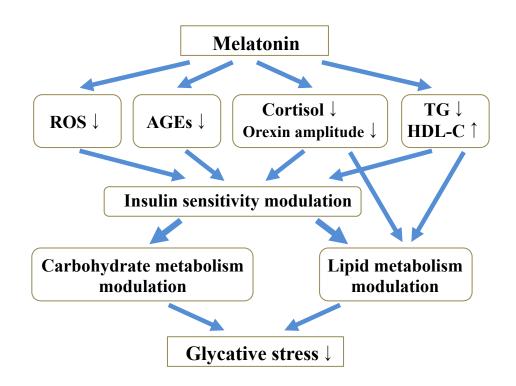


Fig. 7. Melatonin and glycative stress.

The figure quoted from Reference 77. ROS, reactive oxygen species; AGEs, advanced glycation endproducts; TG, triglyceride; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol.

が担うが脂質代謝に対する直接作用を有する。急性ストレスで分泌されるcortisolは脂質分解作用(lypolysis)を有し、糖質、脂質、アミノ酸のミトコンドリア利用を促進する。一方、cortisolの慢性的過剰状態では白色脂肪のPPAR $\gamma$ (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ )を抑制して脂肪蓄積を惹起する $^{94}$ )。

脳内ホルモンの一種オレキシンは覚醒作用を有し、夜間入眠中は低値を示し、明け方から昼間に分泌される(オレキシン振幅)。オレキシン分泌は血糖により影響を受け、低血糖で分泌促進、高血糖で分泌が抑制される95-97)。オレキシン振幅は加齢に伴い減少する。オレキシンと血糖変化は双方向性に影響しあうため、血糖変化を健常に保つためにはオレキシン振幅を保つことが大切である。メラトニンは夜間に亢進したオレキシン分泌を低下させることによりオレキシン振幅を回復させる。

第四はメラトニンの脂質代謝改善作用である。高脂血症を呈する実験動物ではメラトニン投与は中性脂肪 (triglyceride: TG)、低比重リポ蛋白コレステロール (lowdensity lipoprotein cholesterol: LDL-C)を低下させる作用があり、健常ラットでも高比重リポ蛋白コレステロール (high-density lipoprotein cholesterol: HDL-C) 上昇させる  $^{88-100}$ )。メラトニン投与によりインスリン抵抗性も改善することから一部はインスリン作用を介している。松果体切除ラットではメラトニン分泌が欠如して糖脂質代謝異常を示すことから  $^{101}$ )、糖脂質代謝の恒常性を保つためにメラトニ

ンは重要な役割を果たしていることがわかる。メラトニンを就寝前に摂取すると、翌朝の朝食後血糖上昇が緩和される<sup>76</sup>。

以上の4つのメラトニン作用経路を挙げたが、一部はイ ンスリン作用を介し、他は直接的に糖脂質代謝に作用する。 膵β細胞への作用は決して単純ではないが、糖尿病境界 域あるいは初期2型糖尿病といった高インスリン血症の状態 ではメラトニンは空腹時インスリンを低下させる1020。一方、 骨格筋ではインスリン作用が増強されグルコース取り込み が活発化し<sup>103,104)</sup>、 結果としてHOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance) は低下することか ら、インスリン抵抗性は軽減したと判断できる。また、酸 化ストレスや糖化ストレスが強い状態ではAGEs生成量が 増加し、膵β細胞ERストレスが増大し、インスリン生成と 分泌が低下する。このような状態では抗酸化作用及び抗 糖化作用 (AGEs分解促進)を有するメラトニンは膵 β 細胞 のインスリン分泌に補助的に作用する。メラトニン分泌低 下は2型糖尿病発症のリスク因子である1050。メラトニンは 褐色脂肪組織の肥大化と活性化にも関与しており1060、単に 糖脂質代謝のみならずエネルギー代謝全体の制御に関わっ ていると考えられる。

「睡眠の質」低下と概日リズムの乱れはAD発症のリスクを高める<sup>107</sup>。夜間入眠中に分泌されるメラトニンは抗酸化作用<sup>108</sup>と抗糖化作用(AGEs分解促進作用)<sup>90)</sup>を有し、入眠中の脳を酸化ストレスや糖化ストレスから保護する役割

を果たしている。メラトニンは $A\beta$ の生成抑制 $^{109}$ 、 $A\beta$ 凝集抑制 $^{110,111}$ 、神経毒性の緩和 $^{112,113}$ 、 $A\beta$ クリアランスの改善 $^{114}$ 、記憶力の維持 $^{115,116}$ といった作用の報告がある。メラトニンは、セクレターゼの発現制御ネットワークを調節することで、APPのプロセシングと $A\beta$ の生成を抑制的に作用する $^{109}$ 。これらのことから「睡眠の質」とADを結び付ける因子としてメラトニンが注目されている $^{117}$ 。従って、「睡眠の質」を改善してメラトニン分泌を高めるための生活指導はADの進展予防のため含めるべきである。

### 4.4.身体運動:

#### 糖化ストレスによる骨格筋への影響と運動抵抗性

身体運動は、2型糖尿病において、インスリン抵抗性の改善、耐糖能の改善、脂質代謝の改善が認められる。

筋細胞表面のインスリン受容体にインスリンが結合すると、細胞質内のglucose transporter 4 (GLUT4) が膜へ移行し(トランスロケーシン)、グルコースはGLUT4を介して細胞内に取り込まれる。骨格筋運動(ミオシンとアクチンのスライディング)が生じると、GLUT4の遺伝子発現が増加し、細胞内のGLUT4が増加する118)。インスリン刺激時に膜上GLUT4数が増えることで、グルコースの取り込み効率が高まる。これは運動によるインスリン抵抗性改善機序の一つである。糖化ストレス対策として極めて有効であることから、2型糖尿病の治療計画の一部として取り入れられている。

グルコースの約70%は骨格筋に取り込まれて利用される。しかし、通常の日常生活を送る者では年に1%ずつ筋量が減少する。その病的状態が筋委縮症(サルコペニア)である。一方、糖尿病患者で骨格筋量が保たれているのにもかかわらず、筋力が低下しているケースがある。これはダイナペニアと呼ばれる<sup>119-121</sup>。筋蛋白(ミオシン、アクチン)が糖化修飾して、筋収縮機能が障害されているからと考えられる。骨格筋機能を低下させる因子として、糖化ストレスが最近着目されている<sup>122</sup>。

血中CML値の上昇が筋力や歩行能力低下のリスク因子であることが報告されたのが最初である<sup>123-125</sup>。その後の中高齢者を対象にした多くの疫学調査によっても、血中AGEsやSAFの上昇が筋力や運動機能の低下と相関することが示されている。SAFが高値の若年者では全身持久力や筋力の低下が見られることから、糖化ストレスによる運動機能および骨格筋機能への影響は年齢に関係なく生じている可能性が指摘されている<sup>122,126,127</sup>。

AGEs蓄積による運動機能および骨格筋機能の低下が起こる要因としては、第一に、ミオシンやアクチン、トロポミオシンなどの筋収縮蛋白質自身が糖化修飾を受け収縮機能が低下してしまうことが挙げられる<sup>128-131</sup>)。また、細胞外マトリックス構造の変化やATPase活性の低下<sup>129,132</sup>)、運動神経伝達機能の低下<sup>133</sup>)が関与することも示唆されている。

マウスに通常の5倍程度のAGEsを含む食餌を16週間摂取させたところ、筋形成を促進する役割を持つ myogenic

factor 5 (Myf 5) および myogenic differentiation 1 (MyoD) の発現低下や、蛋白質合成を促進する役割を持つ insulinlike growth factor 1 (IGF-1) シグナル伝達の減弱が認められ、筋量の低下が生じた 134,135)。MGOをマウスに 20 週間摂取させた実験では、筋量低下に付随して炎症性サイトカインである IL- $1\beta$ や IL-6の遺伝子発現が増加することを確認しており、糖化ストレスは炎症性シグナルを介して蛋白質の異化作用を惹起する可能性が示唆された 1360。

運動の健康増進効果には個人差があり、特に、糖尿病患者や高齢者では個人差が見られ、5人に1人程度は十分な運動効果が得られにくいと言われている<sup>137-140</sup>)。糖化ストレスにより筋蛋白が糖化修飾されて、AGEsが蓄積した結果、骨格筋収縮機能を低下させるとともに、筋形成能が低下する。さらには「運動抵抗性 (exercise-resistance)」が生じる。これは運動による有益な効果が得られにくい状態を意味する<sup>122</sup>)。運動抵抗性が生じる前に、適度な運動習慣を始めることが重要である。

### 5. おわりに

糖化ストレスは頭から足の先まで身体の様々な領域に影 響を及ぼし、ヒトの健康維持と加齢関連疾患の予防に深く 関わる。糖化ストレス対策を実践するうえ重要である生活 習慣についても、食育(栄養・機能性食品・時間栄養学)・ 体育 (筋肉負荷運動・有酸素運送)・知育 (睡眠・ストレス 対策)のなかに重要なヒントが存在する。重要な点は、糖 化ストレスを放置すると悪性サイクルにより加齢関連疾患 の進展が助長されることであり、骨格筋へ影響により運動 抵抗性が惹起され、運動による効果を享受しにくくなるこ とである。ADを例にあげれば、進行したADの治療、現 状への復帰は困難である。酸化ストレスによる脳の脂質過 酸化を防ぎ、糖化ストレス対策の観点からAβの糖化を予防 するためには、身体運動に加えて、アルデヒド対策として の栄養療法、「睡眠の質」向上とメラトニンの意義につい て目を向けるべきであろう。今後、抗糖化研究が深化して、 多くの方々が理解し参画することで、実学として社会実装 されることを切に望んでいる。

## 研究助成

文部科学省より科学研究助成を受けた(JSPS KAKENHI #26350917, #17K01880, 20K11593)。

### 利益相反申告

該当なし。

### 参考文献

- 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.
- 2) Ichihashi M, Yagi M, Nomoto K, et al. Glycation stress and photoaging in skin. *Anti-Aging Med*. 2011; 8: 23-29.
- Yonei Y, Yagi M, Takabe W. Stop the "Vicious Cycle" induced by glycative stress. *Glycative Stress Res*. 2020; 7: 13-21.
- 4) Yonei Y, Yagi M, Takabe W. Glycative stress and sleep quality. Prime: *International Journal of Aesthetic & Anti-Ageing Med.* 2018; 8: 19-23.
- 5) Maessen DE, Hanssen NM, Scheijen JL, et al. Postglucose 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.
- 6) Yonei Y, Yagi M, Takabe W, et al. Skin aging: Oxidative stress and glycative stress. *Journal of Society Cosmetic Chemists Japan*. 2019; 53: 83-90. (in Japanese) https://www.jstage.jst.go.jp/article/sccj/53/2/53\_83/\_pdf
- Sato K, Zheng Y, Martin-Morales A, et al. Generation of short chain aldehydes and glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH). *Glycative Stress Res*. 2022; 9: 129-134.
- 8) Martin-Morales A, Arakawa T, Sato M, et al. Development of a method for quantitation of glyceraldehyde in various body compartments of rodents and humans. *J Agric Food Chem.* 2021; 69: 13246-13254.
- 9) Kato Y. The formation of lipid hydroperoxide-derived amide-type lysine adducts on proteins: A review of current knowledge. *Subcell Biochem.* 2014; 77: 21-39.
- 10) Sugiyama A, Sun J. Immunochemical detection of lipid hydroperoxide- and aldehyde-modified proteins in diseases. Subcell Biochem. 2014; 77: 115-25.
- 11) Takahashi R, Fujioka S, Oe T, et al. Stable isotope labeling by fatty acids in cell culture (SILFAC) coupled with isotope pattern dependent mass spectrometry for global screening of lipid hydroperoxide-mediated protein modifications. *J Proteomics*. 2017; 166: 101-114.
- 12) Nagai R, Brock JW, Blatnik M, et al. Succination of protein thiols during adipocyte maturation: A biomarker of mitochondrial stress. *J Biol Chem.* 2007; 282; 34219-34228.
- 13) Blatnik M, Thorpe SR, Baynes JW. Succination of proteins by fumarate: Mechanism of inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in diabetes. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1126: 272-275.
- 14) Frizzell N, Lima M, Baynes JW. Succination of proteins in diabetes. *Free Radic Res*. 2011; 45: 101-109.
- 15) Yamagishi Si, Yonekura H, Yamamoto Y, et al. Advanced glycation end products-driven angiogenesis in vitro. Induction of the growth and tube formation of human microvascular endothelial cells through autocrine vascular endothelial growth factor. J Biol Chem. 1997; 272; 8723-8730.
- 16) Tanaka N, Yonekura H, Yamagishi S, et al. The receptor for advanced glycation end products is induced by the glycation products themselves and tumor necrosis factoralpha through nuclear factor-kappa B, and by 17 betaestradiol through Sp-1 in human vascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 2000; 275; 25781-25900.

- 17) 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; S30–S40.
- 18) Epstein DH, Shaham Y. Cheesecake-eating rats and the question of food addiction. *Nat Neu-rosci*. 2010; 13: 529-531.
- 19) Kozuka C, Yabiku K, Sunagawa S, et al. Brown rice and its components, γ-oryzanol, attenuate the preference for high fat diet by decreasing hypothalamic endoplasmic reticulum stress in mice. *Diabetes*. 2012; 61: 3084-3093.
- 20) Schwartz M, Barush K. The resolution of neuro-inflammation in neuro-degeneration: Leukocyte recruitment via the choroid plexus. *EMBO J.* 2014; 33: 7-22.
- 21) Masuzaki H, Kozuka C, Yonamine M, et al. Brown rice-specific γ-oryzanol-based novel approach toward lifestyle-related dysfunction of brain and impaired glucose metabolism. *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 58-66.
- 22) McKillop AM, McCluskey JT, Boyd AC, et al. Production and characterization of specific antibodies for evaluation of glycated insulin in plasma and biological tissues. *J Endocrinol*. 2000; 167: 153-163.
- 23) Boyd AC, Abdel-Wahab YH, McKillop AM, et al. Impaired ability of glycated insulin to regulate plasma glucose and stimulate glucose transport and metabolism in mouse abdominal muscle. *Biochim Biophys Acta*. 2000; 1523: 128-134.
- 24) McKillop AM, Mooney MH, Harriott P, et al. Evaluation of glycated insulin in diabetic animals using immunocytochemistry and radioimmunoassay. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 286: 524-528.
- 25) Hunter SJ, Boyd AC, O'Harte FP, et al. Demonstration of glycated insulin in human diabetic plasma and de-creased biological activity assessed by euglycemic-hyperinsulinemic clamp technique in humans. *Diabetes*. 2003; 52: 492-498.
- 26) Lindsay JR, McKillop M., Mooney MH, et al. Effects of nateglinide on the secretion of glycated insulin and glucose tolerance in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2003; 61: 167-173.
- 27) McKillop AM, Lindsay JR, Au S, et al. Meal-dependent regulation of circulating glycated insulin in type 2 diabetic subjects. *Horm Metab Res.* 2006; 38: 94-97.
- 28) Imamura Y, Yokono K, Baba S. Blood proinsulin assay and its significance. *Japanese Journal of Clinical Chemistry*. 1980; 9: 370-377. (in Japanese) https://doi.org/10.14921/jscc1971b.9.4 370.
- 29) Zheng T, Yagi M, Ogura M, et al. Effects of exercise with ultra-soft rubber bands on glucose metabolism and endocrinology. *Glycative Stress Res*. 2022:9:206-220. https://doi.org/10.24659/gsr.9.4\_206
- 30) Yonei Y, Taira T, Otaka S, et al. Amyloid beta clearance and microglia: Effects of glycative stress and melatonin. *Glycative Stress Res.* 2022; 9: 135-145.
- 31) Kuhla B, Lüth HJ, Haferburg D, et al. Methylglyoxal, glyoxal, and their detoxification in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2005; 1043: 211-216.
- 32) Ahmed N, Ahmed U, Thornalley PJ, et al. Protein glycation, oxidation and nitration adduct residues and free adducts of cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease and link to cognitive impairment. *J Neurochem.* 2005; 92: 255-263.

- 33) Beeri MS, Moshier E, Schmeidler J, et al. Serum concentration of an inflammatory glycotoxin, methylglyoxal, is associated with increased cognitive decline in elderly individuals. *Mech Ageing Dev.* 2011; 132: 583-587.
- 34) Angeloni C, Zambonin L, Hrelia S. Role of methylglyoxal in Alzheimer's disease. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 238485.
- 35) Dang TN, Arseneault M, Murthy V, et al. Potential role of acrolein in neurodegeneration and in Alzheimer's disease. *Curr Mol Pharmacol*. 2010; 3: 66-78.
- 36) Waragai M, Yoshida M, Mizoi M, et al. Increased protein-conjugated acrolein and amyloid-β40/42 ratio in plasma of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2012; 32: 33-41.
- 37) Huang YJ, Jin MH, Pi RB, et al. Acrolein induces Alzheimer's disease-like pathologies *in vitro* and *in vivo*. *Toxicol Lett*. 2013; 217: 184-191.
- 38) Igarashi K, Yoshida M, Waragai M, et al. Evaluation of dementia by acrolein, amyloid-β and creatinine. *Clin Chim Acta*. 2015; 450: 56-63.
- 39) Tsou HH, Hsu WC, Fuh JL, et al. Alterations in acrolein metabolism contribute to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2018; 61: 571-580.
- 40) Chen C, Chen Y, Lu J, et al. Acrolein-conjugated proteomics in brains of adult C57BL/6 mice chronically exposed to acrolein and aged APP/PS1 transgenic AD mice. *Toxicol Lett*. 2021; 344: 11-17.
- 41) Chen C, Lu J, Peng W, et al. Acrolein, an endogenous aldehyde induces Alzheimer's disease-like pathologies in mice: A new sporadic AD animal model. *Pharmacol Res.* 2022; 175: 106003.
- 42) 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.
- 43) Smith MA, Taneda S, Richey PL, et al. Advanced Maillard reaction end products are associated with Alzheimer disease pathology. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994; 91: 5710-5714.
- 44) Horie K, Miyata T, Yasuda T, et al. Immunohistochemical localization of advanced glycation end products, pentosidine, and carboxymethyllysine in lipofuscin pigments of Alzheimer's isease and aged neurons. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 236: 327-332.
- **45**) Nacharaju P, Ko L, Yen SH. Characterization of in vitro glycation sites of tau. *J Neurochem*. 1997; 69: 1709-1719.
- 46) Yan SD, Chen X, Schmidt AM, et al. Glycated tau protein in Alzheimer disease: A mechanism for induction of oxidant stress. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994; 91: 7787-7791.
- 47) Ledesma MD, Bonay P, Colaço C, et al. Analysis of microtubule-associated protein tau glycation in paired helical filaments. *J Biol Chem.* 1994; 269: 21614-21619.
- 48) Nunomura A, Tamaoki T, Motohashi N, et al. The earliest stage of cognitive impairment in transition from normal aging to Alzheimer disease is marked by prominent RNA oxidation invulnerable neurons. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012; 71: 233-241.
- 49) Takeuchi M, Yamagishi S. Possible involvement of advanced glycation end products (AGEs) in thepathogenesis of Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des.* 2008; 14: 973-978.

- 50) Barage SH, Sonawane KD. Amyloid cascade hypothesis: Pathogenesis and therapeutic strategies in Alzheimer's disease. *Neuropeptides*. 2015; 52: 1-18.
- 51) Cline EN, Bicca MA, Viola KL, et al. The amyloid-β oligomer hypothesis: Beginning of the third decade. *J Alzheimers Dis*. 2018; 64: S567-S610.
- 52) Frisoni GB, Altomare D, Thal DR, et al. The probabilistic model of Alzheimer disease: The amyloid hypothesis revised. *Nat Rev Neurosci*. 2022; 23: 53-66.
- 53) 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.
- 54) 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.
- 55) Ishizaki K, Yagi M, Morita Y, et al. The relation of the OPH activity in the corneum, and skin AGEs. *Glycative* Stress Res. 2020; 7: 162-168.
- 56) Kawai H, Matsuo N, Yuasa E, et al. Investigation of herbal extracts that have both OPH activity enhancing action and AGE crosslink cleaving activity. *Glycative Stress Res.* 2021; 8: 39-44.
- 57) Harada N, Mitani T, Yamaji R. Moonlighting proteins. *The Journal of Japanese Biochemical Society*. 2015; 87: 279-285.(in Japanese) https://seikagaku.jbsoc.or.jp/10.14952/SEIKAGAKU. 2015.870279/data/index.html
- 58) Zheng Y, Martin-Morales A, Wang J, et al. Phenethylamine in chlorella alleviates high-fat diet-induced mouse liver damage by regulating generation of methylglyoxal. NPJ Sci Food. 2021; 5: 22.
- 59) Inagi R, Kumagai T, Fujita T, et al. The role of glyoxalase system in renal hypoxia. Adv Exp Med Biol. 2010; 662: 49-55.
- 60) Hirakawa Y, Inagi R. Glycative stress and its defense machinery glyoxalase 1 in renal pathogenesis. *Int J Mol Sci.* 2017; 18: 174.
- 61) Nakamura Y, Yokoyama H, Higuchi S, et al. Acetaldehyde accumulation suppresses Kupffer cell release of TNF-Alpha and modifies acute hepatic inflammation in rats. *J Gastroenterol*. 2004; 39: 140-147.
- 62) Matsumoto A, Thompson DC, Chen Y, et al. Roles of defective ALDH2 polymorphism on liver protection and cancer development. *Environ Health Prev Med*. 2016; 21: 395-402.
- 63) Blatnik M, Frizzell N, Thorpe SR, et al. Inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by fumarate in diabetes: Formation of S-(2-succinyl)cysteine, a novel chemical modification of protein and possible biomarker of mitochondrial stress. *Diabetes*. 2008; 57: 41-49.
- 64) Yang M, Ternette N, Su H, et al. The succinated proteome of FH-mutant tumours. *Metabolites*. 2014; 4: 640-654.
- 65) Morita Y, Izawa H, Hirano A, et al. Clinical evaluation of changes in biomarkers by oral intake of NMN. *Glycative Stress Res.* 2022; 9: 33-41.
- 66) Roorda MM. Therapeutic interventions against accumulation of advanced glycation end products (AGEs). *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 132-143.
- 67) Morita Y, Yagi M, Ishizaki K, et al. Evaluation of the glycative stress by non-invansive skin AGEs measurement devices. *Glycative Stress Res.* 2019; 6: 92-102.

- 68) Masuzaki H, Kozuka C, Okamoto S, et al. Brown rice-specific γ-oryzanol as a promising prophylactic avenue to protect against diabetes mellitus and obesity in humans. J Diabetes Investig. 2019; 10: 18-25.
- 69) Kozuka C, Yabiku K, Sunagawa S, et al. Brown rice and its component, γ-oryzanol, attenuate the preference for high-fat diet by decreasing hypothalamic endoplasmic reticulum stress in mice. *Diabetes*. 2012; 61: 3084-3093.
- 70) Masuzaki H, Fukuda K, Ogata M, et al. Safety and efficacy of nanoparticulated brown rice germ extract on reduction of body fat mass and improvement of fuel metabolism in both preobese and mild obese subjects without excess of visceral fat ac-cumulation. Glycative Stress Res. 2020; 7: 1-12.
- 71) Otake K, Sasanabe R, Hasegawa R, et al. Glucose intolerance in Japanese patients with obstructive sleep apnea. *Intern Med.* 2009; 48: 1863-1868.
- 72) 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.
- 73) Watanabe K, Katagiri S, Hattori A. Melatonin and glucose metabolism. *Glycative Stress Res*. 2020; 7: 105-109.
- 74) Moniruzzaman M, Takabe W, Yonei Y. Melatonin is not a carbonyl scavenger. *Glycative Stress Res*. 2016; 3: 1-4.
- 75) Takabe W, Mitsuhashi R, Parengkuan L, et al. Cleaving effect of melatonin on crosslinks in advanced glycation end products. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 38-43.
- 76) Ogura M, Okuda F, Hattori A, et al. Effect of melatonin intake on postprandial blood glucose in the breakfast. Glycative Stress Res. 2018; 5: 75-81.
- 77) Ogura M, Hattori A, Yagi M, et al. Effect of mats with "A Distinctive 4-Layer 3-Dimensional Structure" on sleep quality and nocturnal blood glucose: A crossover trial. *Glycative Stress Res.* 2019; 6: 49-63.
- 78) Tan DX, Chen LD, Poeggler B, et al. Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine J*. 1993; 1: 57-60.
- 79) Pieri C, Marra M, Moroni F, et al. Melatonin: A peroxyl radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci*. 1994; 55: PL271-PL276.
- 80) Cuzzocrea S, Zingarelli B, Gilad E, et al. Protective effect of melatonin in carrageenan-induced models of local inflammation: Relationship to its inhibitory effect on nitric oxide production and its peroxynitrite scavenging activity. *J Pineal Res.* 1997; 23: 106-116.
- 81) Okatani Y, Wakatsuki A, Kaneda C. Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. *J Pineal Res*. 2000; 28: 89-96.
- 82) Karslioglu I, Ertekin MV, Taysi S, et al. Radioprotective effects of melatonin on radiation-induced cataract. *J Radiat Res*. 2005; 46: 277-282.
- 83) Tütüncüler F, Eskiocak S, Başaran UN, et al. The protective role of melatonin in experimental hypoxic brain damage. *Pediatr Int*. 2005; 47: 434-439.
- 84) Zhang L, Wei W, Xu J, et al. Inhibitory effect of melatonin on diquat-induced lipid peroxidation *in vivo* as assessed by the measurement of F2-isoprostanes. *J Pineal Res*. 2006; 40: 326-331.
- 85) Guang LI, Gang HOU, Wei LU, et al. Melatonin protects mice with intermittent hypoxia from oxidative stress-induced pancreatic injury. *Sleep and Biological Rhythms*. 2011; 9: 78-85.

- 86) Ahmadiasl N, Banaei S, Alihemati A, et al. Effect of a combined treatment with erythropoietin and melatonin on renal ischemia reperfusion injury in male rats. *Clin Exp Nephrol*. 2014; 18: 855-864.
- 87) Motawi TK, Ahmed SA, Hamed MA, et al. Combination of melatonin and certain drugs for treatment of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetol Int.* 2016; 7: 413-424.
- 88) Özdem M, Kırzıoğlu FY, Yılmaz HR, et al. Antioxidant effects of melatonin in heart tissue after induction of experimental periodontitis in rats. *J Oral Sci.* 2017; 59: 23-29.
- 89) Yonei Y, Hattori A, Tsutsui K, et al. Effects of melatonin: Basics studies and clinical applications. *Anti-Aging Med*. 2010; 7: 85-91.
- 90) Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, et al. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress: A review. *J Biomed Sci*. 2000; 7: 444-458.
- 91) Takabe W, Mitsuhashi R, Parengkuan L, et al. Cleaving effect of melatonin on crosslinks in advanced glycation end products. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 38-43.
- 92) Masuzaki H, Kozuka C, Yonamine M, et al. Brown rice-specific γ-oryzanol-based novel approach toward lifestyle-related dysfunction of brain and impaired glucose metabolism. *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 58-66.
- 93) Park JH, Shim HM, Na AY, et al. Melatonin prevents pancreatic β-cell loss due to glucotoxicity: The relationship between oxidative stress and endoplasmic reticulum stress. *J Pineal Res.* 2014; 56: 143-153.
- 94) Shimabukuro M, Sata M, Yamakawa K, et al. Cortisol and lipid metabolism. The Lipid. 2012; 23: 35-41. (in Japanese) https://med.m-review.co.jp/article\_detail?article\_id= J0007 2301 0035-0041
- 95) Tsuneki H, Wada T, Sasaoka T. Role of orexin in the regulation of glucose homeostasis. *Acta Physiol (Oxf)*. 2010; 198: 335-348.
- 96) Tsuneki H, Wada T, Sasaoka T. Role of orexin in the central regulation of glucose and energy homeostasis. *Endocr J.* 2012; 59: 365-374.
- 97) Tsuneki H, Tokai E, Nakamura Y, et al. Hypothalamic orexin prevents hepatic insulin resistance via daily bidirectional regulation of auto-nomic nervous system in mice. *Diabetes*. 2015; 64: 459-470.
- 98) Nishida S, Segawa T, Murai I, et al. Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty-acid compositions in type 2 diabetic rats via the restoration of Delta-5 desaturase activity. *J Pineal Res*. 2002; 32: 26-33.
- 99) Hussain SA. Effect of melatonin on cholesterol absorption in rats. *J Pineal Res*. 2007; 42: 267-271.
- 100) Ríos-Lugo MJ, Cano P, Jiménez-Ortega V, et al. Melatonin effect on plasma adiponectin, leptin, insulin, glucose, triglycerides and cholesterol in normal and high fat-fed rats. J Pineal Res. 2010; 49: 342-348.
- 101) Nishida S, Sato R, Murai I, et al. Effect of pinealectomy on plasma levels of insulin and leptin and on hepatic lipids in type 2 diabetic rats. *J Pineal Res*. 2003; 35: 251-256.
- 102) Peschke E, Mühlbauer E, Musshoff U, et al. Receptor (MT[1]) mediated influence of melatonin on cAMP concentration and insulin secretion of rat insulinoma cells INS-1. J Pineal Res. 2002; 33: 63-71.

- 103) Ha E, Yim SV, Chung JH, et al. Melatonin stimulates glucose transport via insulin receptor substrate-1/phosphatidylinositol 3-kinase pathway in C2C12 murine skeletal muscle cells. *J Pineal Res*. 2006; 41: 67-72.
- 104) Quan X, Wang J, Liang C, et al. Melatonin inhibits tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in skeletal muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2015; 463: 1102-1107.
- 105) McMullan CJ, Schernhammer ES, Rimm EB, et al. Melatonin secretion and the incidence of type 2 diabetes. *JAMA*. 2013; 309: 1388-1396.
- 106) Tan DX, Manchester LC, Fuentes-Broto L, et al. Significance and ap-plication of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: Relation to hu-man obesity. Obes Rev. 2011; 12: 167-188.
- 107) Wu H, Dunnett S, Ho YS, et al. The role of sleep deprivation and circadian rhythm disruption as risk factors of Alzheimer's disease. Front Neuroendocrinol. 2019; 54: 100764.
- 108) Hardeland R, Pandi-Perumal SR. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: Actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. *Nutr Metab (Lond)*. 2005; 2: 22.
- 109) Shukla M, Govitrapong P, Boontem P, et al. Mechanisms of melatonin in alleviating Alzheimer's disease. *Curr Neuropharmacol*. 2017; 15: 1010-1031.
- 110) Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature*. 1995; 376: 775-778.
- 111) Balmik AA, Chinnathambi S. Multi-faceted role of melatonin in neuroprotection and amelioration of Tau aggregates in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2018; 62: 1481-1493.
- 112) Hoppe JB, Frozza RL, Horn AP, et al. Amyloid-beta neurotoxicity in organotypic culture is attenuated by melatonin: Involvement of GSK-3beta, tau and neuroinflammation. *J Pineal Res.* 2010; 48: 230-238.
- 113) Ionov M, Burchell V, Klajnert B, et al. Mechanism of neuroprotection of melatonin against beta-amyloid neurotoxicity. *Neuroscience*. 2011; 180: 229-237.
- 114) Pappolla MA, Matsubara E, Vidal R, et al. Melatonin treatment enhances Aβ lymphatic clearance in a transgenic mouse model of amyloidosis. *Curr Alzheimer Res*. 2018; 15: 637-642.
- 115) Ali T, Badshah H, Kim TH, Kim MO. Melatonin attenuates D-galactose-induced memory impairment, neuroinflammation and neurodegeneration via RAGE/NF-K B/JNK signaling pathway in aging mouse model. *J Pineal Res.* 2015; 58: 71-85.
- 116) Zhang S, Wang P, Ren L, et al. Protective effect of melatonin on soluble Aβ1-42-induced memory impairment, astrogliosis, and synaptic dysfunction via the Mu-sashi1/ Notch1/Hes1 signaling pathway in the rat hippocampus. Alzheimers Res Ther. 2016; 8: 40.
- 117) Li Y, Zhang J, Wan J, et al. Melatonin regulates Aβ production/clearance balance and Aβ neurotoxicity: A potential therapeutic molecule for Alzheimer's disease. *Biomed Pharmacother*. 2020; 132: 110887.
- 118) Hayashi T, Nakano M, Yonemitsu S. Development of a new exercise program based on the molecular mechanism of exercise-stimulated glucose metabolism. Descente Sports Science. 2001; 22: 31-40. (in Japanese) https://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/textiles/db/seeds/descente22\_04\_hayashi.pdf

- 119) Mori K, Murata S, Goda A, et al. Gait characteristics of dynapenia, sarcopenia, and presarcopenia in communitydwelling Japanese older women: A cross-sectional study. *Healthcare (Basel)*. 2022; 10: 1905.
- 120) Dowling L, Cuthbertson DJ, Walsh JS. Reduced muscle strength (dynapenia) in women with obesity confers a greater risk of falls and fractures in the UK Biobank. Obesity (Silver Spring). 2022 Dec 11.
- 121) Silva RR, Galvão LL, Martins GS, et al. Reallocation of time spent on sedentary behavior by time spent on physical activity reduces dynapenia in older adults: A prospective cohort study. Sao Paulo Med J. 2022: S1516-31802022005031295
- 122) Egawa T, Ogawa T, Yokokawa T, et al. Glycative stress and skeletal muscle dysfunctions: As an inducer of "Exercise-Resistance". *Glycative Stress Res*. 2022; 9: 199-205.
- 123) Dalal M, Ferrucci L, Sun K, et al. Elevated serum advanced glycation end products and poor grip strength in older community-dwelling women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009; 64: 132-137.
- 124) Semba RD, Bandinelli S, Sun K, et al. Relationship of an advanced glycation end product, plasma carboxymethyllysine, with slow walking speed in older adults: The InCHIANTI study. *Eur J Appl Physiol*. 2010; 108: 191-195.
- 125) Sun K, Semba RD, Fried LP, et al. Elevated serum carboxymethyl-lysine, an advanced glycation end product, predicts severe walking disability in older women: The Women's Health and Aging Study I. *J Aging Res.* 2012; 2012: 586385.
- 126) Köchli S, Endes K, Trinkler M, et al. Association of physical fitness with skin autofluorescence-derived advanced glycation end products in children. *Pediatr Res*. 2020; 87: 1106-1111.
- 127) Suzuki K, Yamasaki S, Miyashita M, et al. Role of advanced glycation end products in the longitudinal association between muscular strength and psychotic symptoms among adolescents. Schizophrenia (Heidelb). 2022; 8: 44.
- 128) Syrovy I, Hodny Z. In vitro non-enzymatic glycosylation of myofibrillar proteins. Int J Bio-chem. 1993; 25: 941-946.
- 129) Syrovy I. Glycation of myofibrillar proteins and ATPase activity after incubation with eleven sugars. *Physiol Res*. 1994; 43: 61-64.
- 130) Ramamurthy B, Höök P, Jones AD, et al. Changes in myosin structure and function in response to glycation. *FASEB J.* 2001; 15: 2415-2422.
- 131) Snow LM, Fugere NA, Thompson LV. Advanced glycation end-product accumulation and associated protein modification in type II skeletal muscle with aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007; 62: 1204-1210.
- 132) Haus JM, Carrithers JA, Trappe SW, et al. Collagen, cross-linking, and advanced glycation end products in aging human skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 2007; 103: 2068-2076.
- 133) Nishizawa Y, Wada R, Baba M, et al. Neuropathy induced by exogenously administered advanced glycation end-products in rats. *J Diabetes Investig*. 2010; 1: 40-49.
- 134) Egawa T, Tsuda S, Goto A, et al. Potential involvement of dietary advanced glycation end products in impairment of skeletal muscle growth and muscle contractile function in mice. *Br J Nutr*. 2017; 117: 21-29.

- 135) Egawa T, Ohno Y, Yokoyama S, et al. The effect of advanced glycation end products on cellular signaling molecules in skeletal muscle. *J Phys Fitness Sports Med*. 2018; 7: 229-238.
- 136) Egawa T, Ohno Y, Yokoyama S, et al. The protective effect of Brazilian propolis against glycation stress in mouse skeletal muscle. *Foods*. 2019; 8: 439.
- 137) Böhm A, Weigert C, Staiger H, et al. Exercise and diabetes: Relevance and causes for response variability. *Endocrine*. 2016; 51: 390-401.
- 138) Stephens NA, Sparks LM. Resistance to the beneficial effects of exercise in type 2 diabetes: Are some individuals programmed to fail? *J Clin Endocrinol Metab*. 2015; 100: 43-52.
- 139) Montero D, Lundby C. Refuting the myth of non-response to exercise training: 'Non-responders' do respond to higher dose of training. *J Physiol*. 2017; 595: 3377-3387.
- 140) Lavin KM, Roberts BM, Fry CS, et al. The importance of resistance exercise training to combat neuromuscular aging. *Physiology (Bethesda)*. 2019; 34: 112-122.