Glycative Stress Research

Online edition : ISSN 2188-3610
Print edition : ISSN 2188-3602
Received : August 20, 2023
Accepted : November 9, 2023
Published online : December 31, 2023
doi:10.24659/gsr.10.4_164

Original article

Effect of red wine on AGEs in blood

Shinichi Sugiura [1], Yumeno Iwata [1], Sae Hirano [1], Momoka Nagano [1], Saki Shimada [1], Mayako Uchida [1], Mika Asano [2], Hirotaka Akita [3]

1) Center for Clinical Pharmacy Education and Research, Faculty of Pharmacy, Doshisha Women's College of Liberal Arts, Kyoto, Japan
2) MS Dream Inc., Aichi, Japan
3) Department of Dermatology, Fujita Health University Bantane Hospital, Aichi, Japan

Glycative Stress Research 2023; 10 (4): 164-170
(c) Society for Glycative Stress Research

（原著論文：日本語翻訳版）

赤ワインの血中AGEsに対する影響

杉浦伸一 [1]、岩田夢乃 [1]、平野沙笑 [1]、永野百華 [1]、島田紗希 [1]、内田まやこ [1]、浅野美香 [2]、秋田浩孝 [3]

1) 同志社女子大学薬学部医療薬学科臨床薬学教育研究センター
2) MSドリーム株式会社
3) 藤田医科大学医学部医学科皮膚科学

抄録

［目的］基礎実験により、ブドウの品種、産地及び醸造方法の違いにより抗糖化作用が強いワインを選出し、そのワインを摂取することで、ヒト血中AGEs蓄積抑制効果に影響するかを明らかにすることを目的とした。
［方法］無作為割付非盲検交互試験では、対象はアルコール摂取が可能な20歳以上65歳未満の男女60名を対象とした。基礎研究では、ヒト血清アルブミン（HSA）- グルコース糖化モデルに各種ワインを添加し、蛍光AGEs産生量を測定することで糖化抑制効果を評価した。研究参加者には基礎研究で抗糖化作用が強く、ヒト比較試験用に入手可能なワインまたはミネラルウォーターのどちらか1種類を週に6日、1日125 mLずつ4週間継続して摂取させた。摂取前、摂取後の計4回、AGEsセンサーで体内のAGEs蓄積レベル及びストレス測定器（VM500）によるストレス値を測定した。また、AGEs蓄積に影響する生活に関するメールアンケートを毎週実施した。
［結果］摂取対象のワインは、アルコール13.5 mL/100 mLを含む赤ワイン（ラ・フォルジュ・エステイト ピノ・ノワール）を使用した。研究協力者は48名であった。アンケート結果の回答率が50％未満の9名及び測定会に1回以上欠席した6名を除外した。ワイン摂取群ではAGEs値の低下が見られ、ミネラルウォーター摂

連絡先：教授 杉浦伸一
同志社女子大学薬学部医療薬学科　臨床薬学教育研究センター
京都府京田辺市興戸
TEL：0774-65-8627 e-mail：ssugiura@dwc.doshisha.ac.jp
共著者：岩田夢乃 yume.hssk.y.y@gmail.com; 平野沙笑 ykk011@dwc.doshisha.ac.jp;
永野百華 hutakun023@gmail.com; 島田紗希 org_828@docomo.ne.jp;
内田まやこ m-uchida@dwc.doshisha.ac.jp; 浅野美香 info@msdream.co.jp;
秋田浩孝 hakita@fujita-hu.ac.jp.

Glycative Stress Research 2023; 10 (4): 164-170
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

取群ではAGEsの上昇が見られたが有意差はなかった（p = 0.16）。第2週～5週群（6月上旬～7月中旬）と第8週～11週群（7月下旬～9月上旬）の比較では、ワイン摂取前後のAGEs値は強い減少傾向が見られた（p = 0.06）。また女性は、ワイン摂取後のAGEsが低下する傾向を示した（p = 0.07）。投与時期と重ねて分析した結果、第8週～11週群の女性ではワインを摂取群のAGEsが有意に低下した（p = 0.02）。
［考察］ワイン摂取によりAGEsの蓄積抑制効果が示唆された。特に、日常的に日焼け止めを使用している女性では紫外線によるAGEsの影響が少なかったため、紫外線量がピークを迎える後半群においてAGEsの蓄積抑制効果が得られたと考えられた。

KEY WORDS： 終末糖化産物（advanced glycation end products: AGEs）、赤ワイン

背景

近年、老化を促進する要因の一つとして「糖化」が原因であると考えられている[1)]。糖化とは、体内におけるメイラード反応であり、食事などから摂取した余分な糖質が体内のタンパク質と結合し、最終的に終末糖化産物（AGEs）という老化の原因となる物質を生成する[2)]。これらAGEsは、体内で分解され難いため、肌の着色、コラーゲンタンパクの硬化による皺の形成や血管の硬化に影響を及ぼし様々な病気の原因と考えられている[3, 4)]。また、茶類[5)]、野菜[6)]、フルーツ[7)]およびヨーグルト[8)]などの食品は、この糖化反応を抑制することが報告されている。

このような生体内で起こる糖化反応を抑制する「抗糖化物質」は、日常生活の中で摂取されていている食品に含まれており、それらを効率よく摂取することで老化や病気の予防効果が期待できると考えられる。例えば、ワインは、ブドウの品種、産地及び醸造方法などの違いがあり、独特の味覚、香りや色の違いにより銘柄の特徴があるとともに、ワインにはポリフェノール等の抗酸化物質や抗糖化物質が含まれていることがわかっている。したがって、ワインの抗糖化作用を、ブドウの品種、産地及び醸造方法の違いにより検討し、AGEsの産生抑制効果で比較することで、抗糖化作用の強い銘柄を調査した。

本研究では、基礎実験により抗糖化作用の強いワインを特定し、その銘柄のワインを摂取することで、ヒト血中AGEs蓄積抑制効果に影響するかを明らかにすることを目的とした。

方法

基礎研究

一般的に入手可能なワインを選出（*Table 1*）し、ワインの抗糖化作用を測定した。抗糖化作用は、ヒト血清アルブミン（HSA）- グルコース糖化モデル[9)]に添加し、蛍光AGEs産生量を測定することで糖化抑制効果を評価した。陽性標準として、腎症、網膜症、神経障害に対する予防・進展抑制作用が報告されているAGEs産生阻害物質であるアミノグアニジン（AG）[10, 11)]を用いた。

臨床研究

試験デザイン

無作為割付非盲検交互試験（prospective crossover open-labeled randomized controlled trial）。

研究対象

20～65歳のアルコール摂取可能な男女60人を試験に組み入れた。アルコール不耐性またはアルコール摂取に悪影響を及ぼす基礎疾患を有する者は除外した。研究参加者の中で、報告書を希望した者には結果を報告した。研究参加者は、各参加者から同意書を入手した時点で、Microsoft Excelで生成された乱数を用いて2群に割り付けられた。

プロトコル

試験品として基礎研究の結果から選択した、AGEs産生抑制効果の強いワインを用い、対照品としてミネラルウォーター（Acqua Panna、トスカーナ、イタリア）125 mlを使用することとした。2つのグループの参加者は、赤ワインまたはミネラルウォーターを1日1回、週6日、4週間摂取させた（*Table 2*）。2週間のウォッシュアウト期間の後、赤ワインと水の割り当てを入れ替え、参加者は毎日125 mLを週6日、4週間摂取させた。最初の試験期間（第2週から第5週）は6月上旬から7月中旬まで、2回目の試験期間（第8週から第11週）は7月下旬から9月中旬までであった。

各試験の開始時と終了時に4回、AGEsセンサー（エア・ウォーター、バイオデザイン社、大阪）を用いて体内のAGEs蓄積量を測定した。また、疲労ストレスも同時にVM500（疲労科学研究所、横浜）で測定した。ストレスの比較は、VM500により、自律神経が乱れ交感神経が優位

Table 1. Profile of wine used in this research

ID	Color	Winery	Product name	Vintage	Alcohol % (v/v)
①	White	Domaines Paul Mas	Les Tannes en Occitanie Chardonnay 375	2019	13.3
②	Red	Domaines Paul Mas	Les Tannes en Occitanie Cabernet Sauvignon 375	2019	13.5
③	White	Domaines Paul Mas	Les Tannes en Occitanie Sauvignon Blanc	2019	12.1
④	Red	Domaines Paul Mas	Les Tannes en Occitanie Merlot	2019	13.6
⑤	Red	Domaines Paul Mas	Les Tannes en Occitanie Pinot Noir	2019	13.1
⑥	White	Domaines Paul Mas	La Forge Estate Unwooded Chardonnay	2019	13.5
⑦	White	Domaines Paul Mas	La Forge Estate Chardonnay	2019	13.0
⑧	White	Domaines Paul Mas	La Forge Estate Viognier	2019	13.8
⑨	White	Domaines Paul Mas	La Forge Estate Sauvignon Blanc	2018	12.4
⑩	Red	Domaines Paul Mas	La Forge Estate Cabernet Sauvignon	2019	13.8
⑪	Red	Domaines Paul Mas	La Forge Estate Merlot	2019	13.8
⑫	Red	Domaines Paul Mas	La Forge Estate Syrah	2019	13.8
⑬	Red	Domaines Paul Mas	La Forge Estate Pinot Noir	2019	13.5
⑭	Red	Shalauri Wine Cellars	Saperavi	2016	15.0
⑮	Red	Cantina Goretti	Montefalco Sagrantino	2015	14.2

Table 2. Schedule of clinical studies

	1 week	2 weeks	3 weeks	4 weeks	5 weeks	6 weeks	7 weeks	8 weeks	9 weeks	10 weeks	11 weeks
Drinking period		Drinking (4weeks) wine or mineral water				No drinking (2weeks)		Drinking (4weeks) wine or mineral water			
Questionnaire by email	Every Day										
Measurement session	(1) Measure				(2) Measure		(3) Measure			(4) Measure	

に活性化した群（ストレス群）と正常群に分けて評価した。

調査期間中、電子メールによるアンケートが実施された。アンケートは、睡眠の質と時間、中途覚醒の有無、朝食の頻度、食事の際に初めに何を食べるか、排便の有無、便の性状、試験ワイン以外のアルコール飲料の摂取の有無と日焼け対策について尋ねた。また、便秘は3日以上便が出ないことと定義した。分析では、指にマニキュアを塗っていた人や、アンケートの回答率が50％未満の人のデータは除外し、「摂取期間」「性別」「便通の状態」「ストレス度」という4つの観点から分析を行った。

データ分析

記述統計により、試験品または対照品の同一性間の関係を評価した。統計は、対応のあるノンパラメトリック検定（ウィルコクソンの符号付き順位和検定）を用いた。また、研究結果と便の状態、ストレスレベル、性別との関係も評価した。

倫理審査

本試験は、同志社女子大学倫理委員会の承認を得て実施した（#2020-18）。

結果

基礎研究

基礎研究において、ワインのAGEs産生抑制効果を測定した結果、今回測定した全ての赤ワインは5倍希釈しても標準物質であるアミノグアニジン（AG）よりAGEs産生抑制効果が強かった（*Fig. 1*）

原液では、⑩→⑬→⑭→⑮→⑫→⑪→②→④→⑤→③→⑨→⑧→⑥→⑦→①の順にAGEs産生抑制効果が強かった。5倍希釈液では、⑪→⑮→⑬→⑭→⑩→④→⑫→⑤→②→⑧→③→⑨→⑦→①→⑥の順に、25倍希釈では、⑮→②→⑬→⑭→④→⑩→⑫→⑪→⑦→③→⑤→①→⑧→⑨→⑥の順にAGEs産生抑制効果が強かった（赤ワインはアンダーバーで示した）。基礎研究の結果から、アルコールを13.5 mL/100 mL含む⑬の赤ワイン（ラ・フォルジュ・エステイト ピノ・ノワール）を臨床研究に用いることとした。摂取量は、AGの阻害効果のIC_{50}に基づいて、125 mLとした。ラ・フォルジュ・エステイト ピノ・ノワールのブドウ品種はピノ・ノワール、生産者はドメーヌ・ポール・マスで、フランスのラングドック・ルーション、カルカッソンヌ近郊のペセナスで1892年からブドウ栽培を営んでいる。

ヒト比較試験

研究協力者48名のうち、アンケート結果の回答率が50％未満の9名、測定会に1回以上欠席した6名を排除した。初回参加者48名のうち、調査票の質問への回答が50％未満であった9名と、少なくとも1回の測定セッションを欠席した6名を除外した。爪にマニキュアを塗っていた人はいなかった。研究参加者の状況をフローチャート（*Fig. 2*）に示した。

摂取期間による差

ワイン摂取前後の比較では、ワイン摂取群ではAGEs値が減少し、ミネラルウォーター摂取群ではAGEs値が増加したが、その差は有意ではなかった（$p = 0.16$）。AGEs値を試験群と対照群で比較すると、第2週から第5週（6月上旬～7月中旬）の第1試験期間ではAGEsは減少したが（$p = 0.06$, *Fig. 3*）、第2試験期間第8週（7月下旬）から第11週（9月上旬）ではほとんど差がなかった（$p = 0.39$, *Fig. 4*）。AGEsは20歳代、30歳代、60歳代で緩やかに増加したが、40歳代、50歳代では減少した（*Fig. 5*）。

性別による差

AGEsは一般的に喫煙や日光暴露によって増加するため、日頃から日焼け止めを使用している女性の方がAGEsの上昇が抑えられると仮定し、男女間でAGEsの変化を比較した。実際に、全ての女性は外出時に何らかの日焼け対策をしており、全ての男性は日焼け止め対策をしていなかった。男性では、全ての摂取期間において、ワイン摂取群とミネラルウォーター摂取群でAGEs値に差は見られなかった。一方、女性はワイン摂取後にAGEsが低下する傾向が見られた（$p = 0.07$）。さらに、摂取時期と重ねて分析すると、第8週から第11週（7月下旬～9月中旬）にかけてワインを摂取したグループの女性では、AGEsが優位に低かった（$p = 0.02$, *Fig. 6*）。

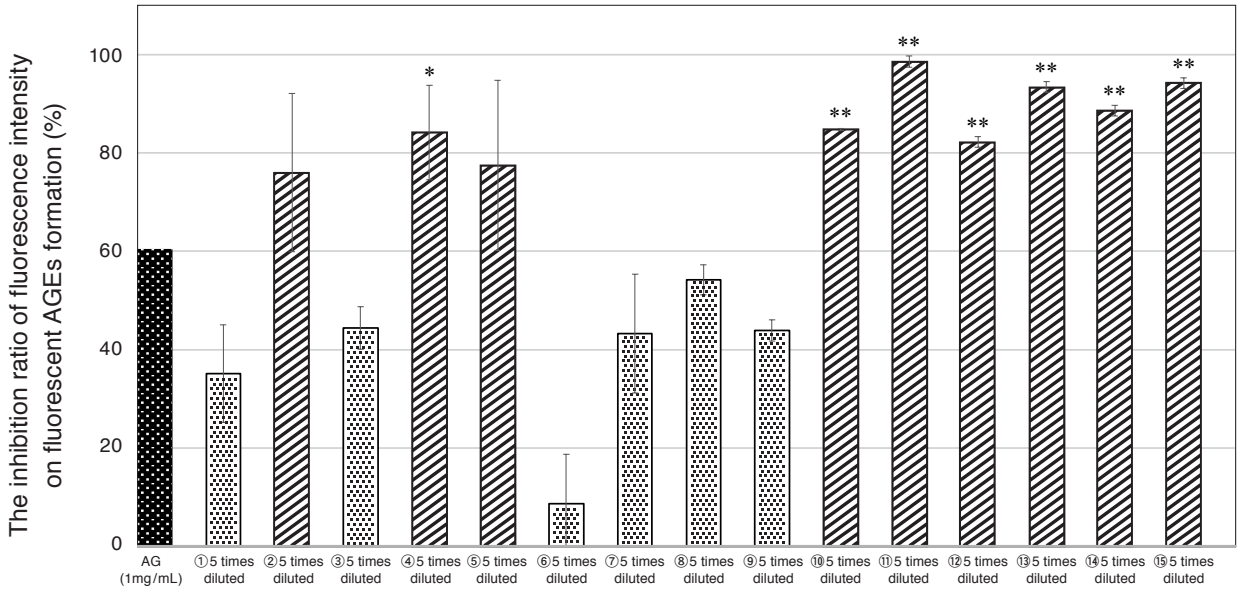

Fig. 1. **Differences in inhibitory effect on fluorescent AGEs formation between wine varieties.**

Fifteen variety of wines were used to determine the inhibitory effect of fluorescent AGEs formation. All data were shown as the mean ± SD, n = 3. *p < 0.05, **p < 0.01 vs. AG. AG, aminoguanidine; AGEs, advanced glycation end products; SD, standard deviation.

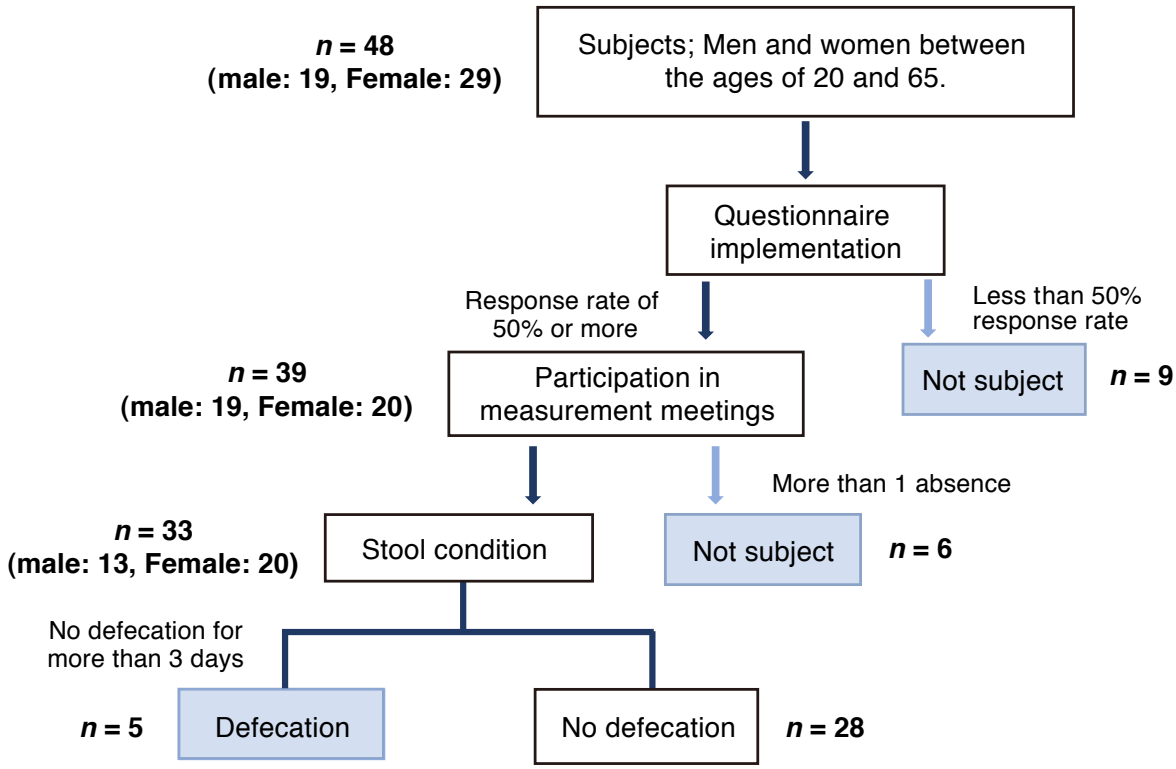

Fig. 2. **Flowchart of clinical research participants.**

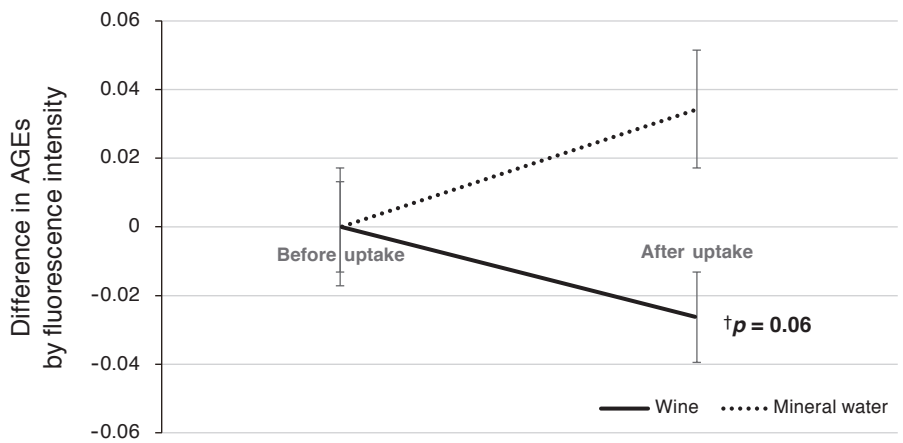

Fig. 3. **Difference in AGEs levels before and after intake (early June to mid-July).**

All data were shown as the mean ± SD, Wine: n = 16, Mineral water: n = 17. †p < 0.1 vs. mineral water. AGEs, advanced glycation end products; SD, standard deviation.

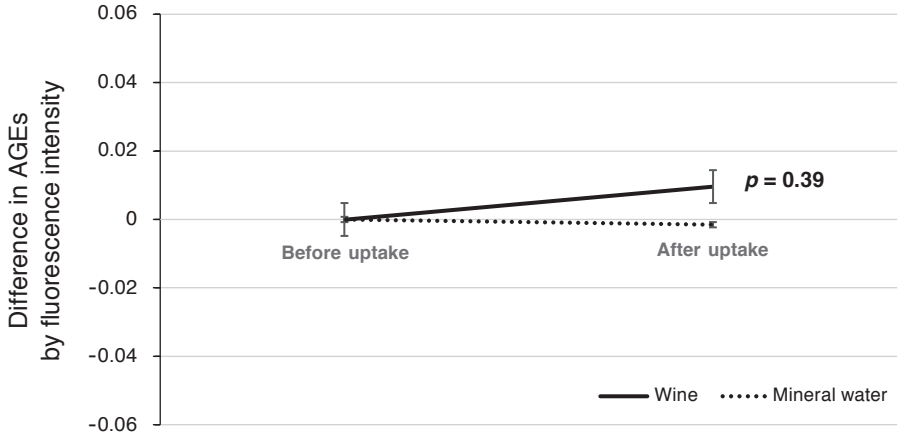

Fig.4. **Difference in AGEs levels before and after intake (late July to mid-September).**

All data were shown as the mean ± SD, Wine: n = 17, Mineral water: n = 16. AGEs, advanced glycation end products; SD, standard deviation.

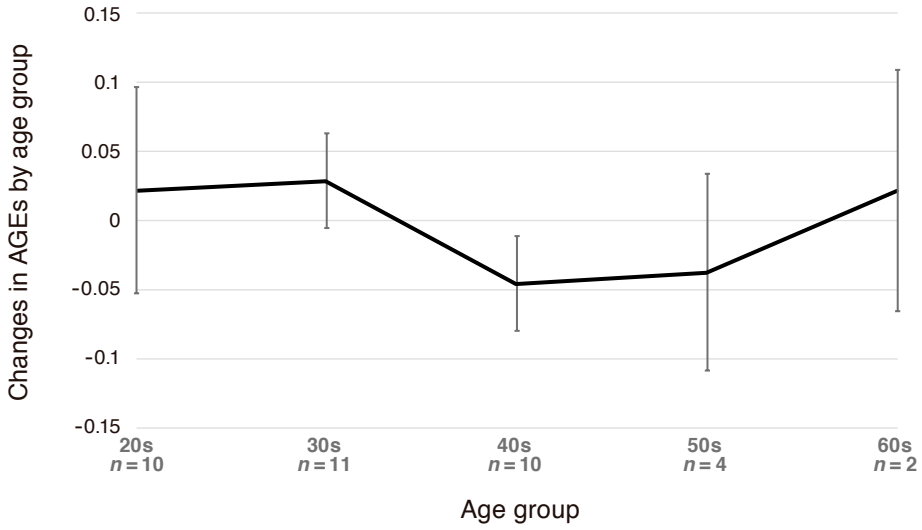

Fig.5. **Changes in AGEs by age group as a result of wine consumption.**

Data includes subjects who responded to less than 50 % of the questionnaires. All data were shown as the mean ± SD. AGEs, advanced glycation end products; SD, standard deviation.

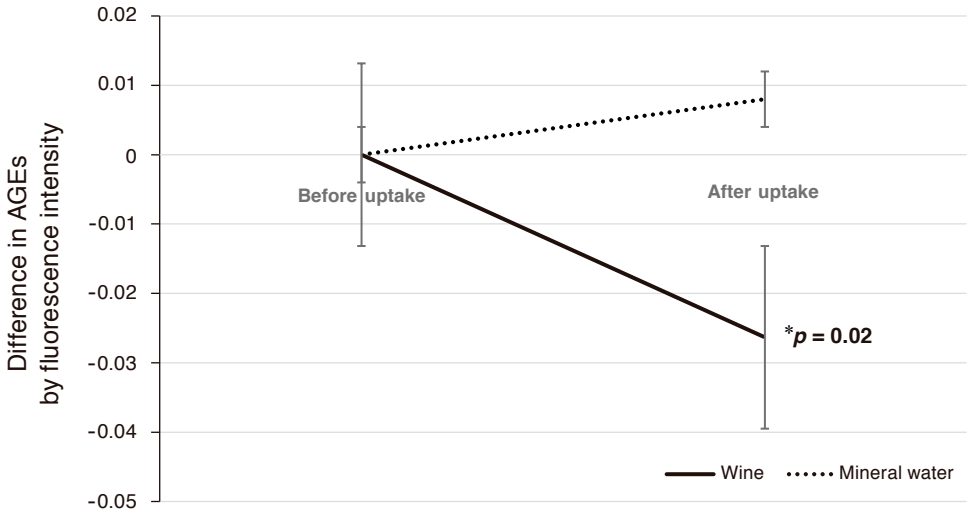

Fig.6. **Difference in AGEs levels before and after intake for women (late July to mid-September).**

All data were shown as the mean ± SD, Wine: n = 10, Mineral water: n = 10. *p < 0.05 vs. mineral water. AGEs, advanced glycation end products; SD, standard deviation.

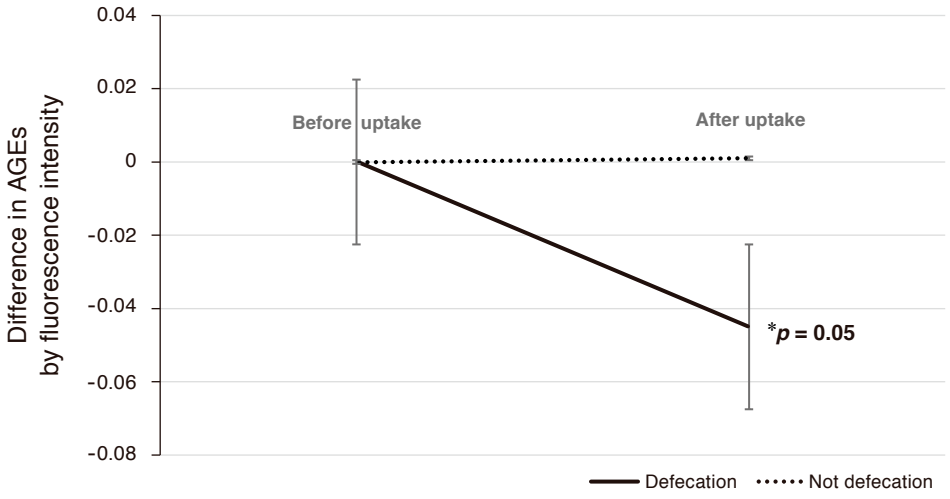

Fig. 7. **Changes in AGEs lowering between constipation and normal stool groups with wine consumption.**

All data were shown as the mean ± SD, Defecation: n = 28, Not defecation: n = 5. *p < 0.05 vs. not defecation.
AGEs, advanced glycation end products; SD, standard deviation.

便秘の影響

AGEsは消化管から吸収されるため、便秘群と正常便群のAGEs値の変化を比較した。AGEs値は便秘群で正常便群より有意に高かった。ワインの摂取による便秘群と正常便群のAGEsの減少を比較したところ、便秘群よりも正常便群の方がAGEsの減少が大きかった（p = 0.05, ***Fig. 7***）。

ストレス

ストレスは、VM500によって、自律神経が乱れ交感神経系が有意に活性化した群（ストレス群）と正常群の2つに分けて評価した。ストレスの反映と考えられる交感神経の活性化のレベルに応じて、個人を層別化した。ストレス群（n = 10）では、ワイン摂取後のAGEs値に有意差は見られなかった（p = 0.64）。正常群では、ワイン摂取後にAGEs値が減少する傾向がみられた（p = 0.06）。自律神経系が乱れたストレス群では、ワインのAGEs蓄積抑制効果が弱まる傾向がみられた。

考察

摂取時期によって、6月上旬から7月中旬のワイン摂取群ではAGEsが減少する傾向が見られたが、有意差はなく、7月下旬から9月中旬のワイン摂取群では変化がなかった。しかし、男女別に比較すると、7月下旬から9月上旬にかけてワインを摂取したグループでは、AGEsの減少が優勢であった。これは、6月上旬から7月中旬にかけては梅雨で曇りの日が多く、紫外線の影響を受けにくい時期であったこと、男女ともにワイン摂取によりAGEs値が低下する傾向がみられたことが原因と考えられる。また、7月下旬から8月中旬にかけては紫外線量がピークに達し、紫外線によるAGEsの増加が影響していると考えられた。男女の比較では、日焼けを気にせず日傘をさす習慣のない男性は女性よりワイン摂取の効果が低かったが、女性ではワイン摂取群でAGEsが有意に減少したことから、日常的に日焼け止めを使用していることがワインのAGEs増加抑制効果に影響したことが示唆された。このことは、日常的な日焼け止めの使用が、ワインのAGEs抑制効果に影響を与えた可能性を示唆している。

便秘群と正常便群の比較では、便秘群ではワイン摂取によるAGEsの減少は見られなかった。一般的に、AGEsは腸管から10％程度吸収されると考えられており、便秘による腸管からのAGEs吸収の増加が、ワインのAGEs上昇抑制効果に影響していると考えられた。また、便秘がAGEsの吸収を増加させることも示唆された。

高ストレス状態では交感神経が優位に活性化し、血糖値が上昇すると考えられている[12)]。血糖値の上昇はAGEsの増加につながることから、ストレスとワインによるAGEs増加抑制の関係を比較した。その結果、正常群ではワインを飲むとAGEsが減少する傾向が見られたが、ストレス群ではAGEsは変化しなかった。これは、ストレスがワインによるAGEs低下作用を阻害することを示している。つまり、ストレスが老化に影響することが示唆された。

利益相反申告

本研究における基礎研究は2019年に株式会社モトックスから同志社女子大学に提供された研究助成金により実施した。及び、2020年度同志社女子大学、個人研究助成金により施行された。また、本研究で用いたワインは、株式会社モトックスから提供された。

参考文献

1) Yagi M, Yonei Y. Glycative stress and anti-aging: 7. Glycative stress and skin aging., *Glycative Stress Res*., 2018; 5: 50-54.
2) Poulsen MW, Hedegaard RV, Andersen JM, et al. Advanced glycation end products in food and their effects on health. *Food Chem Toxicol*. 2013; 60: 10-37.
3) Verzijl N, DeGroot J, Oldehinkel E, et al. Age-related accumulation of Maillard reaction products in human articular cartilage collagen. *Biochem J*. 2000; 350: 381-387.
4) Guitton JD, Le Pape A, Sizaret PY, et al. Effects of in vitro N-glucosylation on type-I collagen fibrillogenesis. *Biosci Rep*. 1981; 1: 945-954.
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) Tanaka Y, Yagi M, Takabe W, et al. Anti-glycative effect of yogurt: Prevention of advanced glycation end product formation. *Glycative Stress Res*. 2017; 4: 25-31.
9) 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.
10) Brownlee M, Vlassara H, Kooney A, et al. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein crosslinking. *Science*. 1986; 232: 1629-1632.
11) 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.
12) Yitshak-Sade M, Mendelson N, Novack V. *et al*. The association between an increase in glucose levels and armed conflict-related stress. *Sci Rep*. 2020; 10: 1710.