

## AGEs による炎症関連疾患の増悪化と制御

森 秀治<sup>1,2)</sup>, 豊村 隆男<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 就実大学 薬学部, <sup>2)</sup> 就実大学大学院 医療薬学研究科

### Aggravation of inflammatory diseases by AGEs and its regulation

Shuji Mori<sup>1,2)</sup>, Takao Toyomura<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> School of Pharmacy, Shujitsu University

<sup>2)</sup> Graduate School of Clinical Pharmacy, Shujitsu University

(Received 30 October 2014; accepted 17 November 2014)

---

**Abstract:** Advanced glycation end products (AGEs) are the products of nonenzymatic glycation and oxidation of proteins. Endogenous AGEs stimulate the receptor for AGEs (RAGE) to exhibit potent proinflammatory effects, thus the formation and accumulation of AGEs has been implicated in the progression of several age-related diseases including diabetic complication, neurodegenerative disease, renal failure and lifestyle related diseases. Stimulation of RAGE by AGEs induces activation of some MAP kinases and formation of reactive oxygen species, leading to NF- $\kappa$ B activation. This review will give an overview of the most prominent AGE-RAGE cell signaling cascades, prevention of AGEs formation and the impact of AGEs during pathophysiological processes.

**Keywords:** advanced glycation end products; receptor for AGEs

---

#### AGEs とは

AGEs (終末糖化産物, advanced glycation end products) は, フルクトースやグルコースなどの還元糖 (あるいは糖代謝物) によるタンパク質への非酵素的糖化反応 (メイラード反応<sup>1)</sup>) によって生じる構造体の総称であり (図 1), 糖尿病合併症や動脈硬化などの様々な加齢関連疾患において生体内での AGEs 産生が有意に増大することが知られている. 最近になって, AGEs は糖尿病だけではなく認知症や神経変性疾患, 非アルコ

ール性脂肪性肝炎, 骨粗しょう症などの多くの疾患に関係していることも報告され<sup>2-4)</sup>, AGEs の病態生理学的意義に関する研究が活発に展開されている.

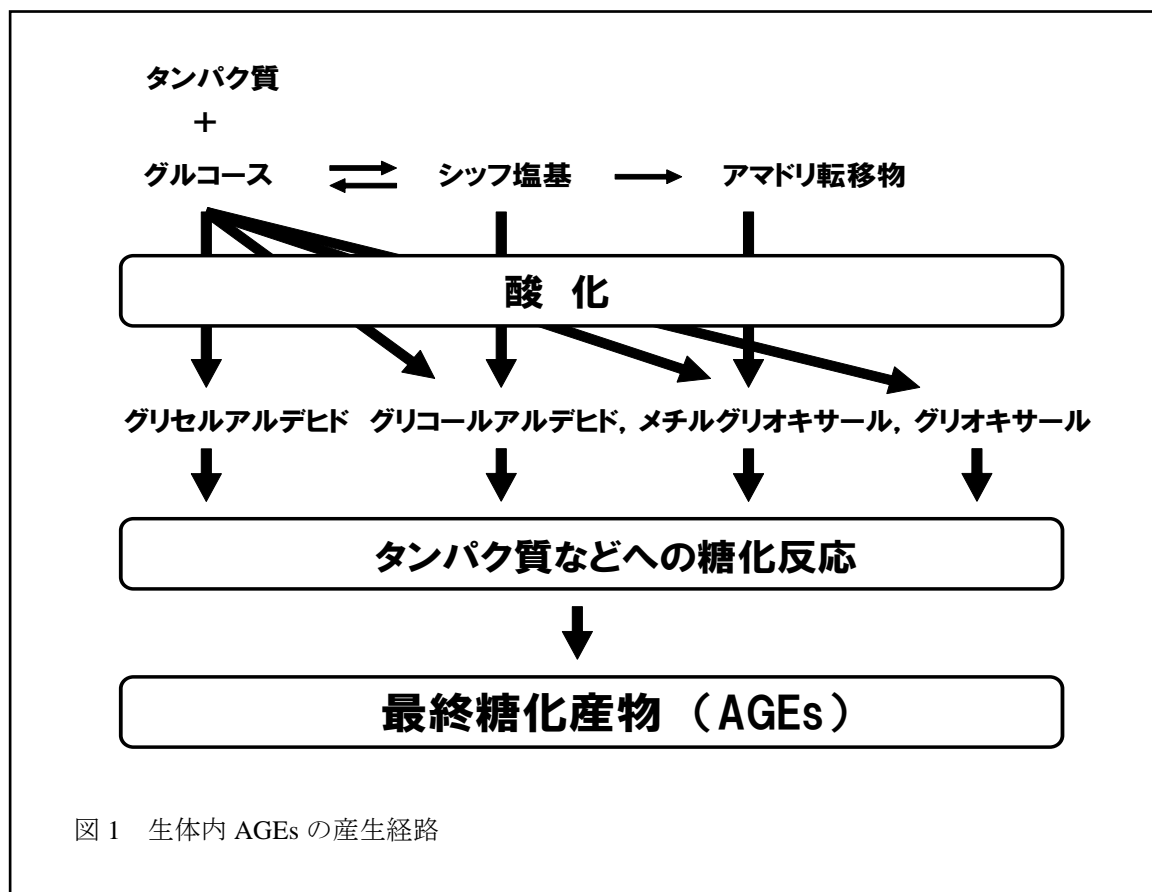
医療分野において AGEs ならびにメイラード反応の重要性が認識されることになった最初のきっかけは, 1975 年のヘモグロビンの糖化反応産物としての HbA1c の同定<sup>5)</sup> であり, その後の糖尿病重症度や加齢に伴う濃度変化と臨床検査マーカーとしての有用性に関する研究やグリコ

アルブミンの臨床応用研究<sup>6)</sup>へと引き継がれている。近年、還元糖のみならず糖代謝物がタンパク質と反応することによって、複数種の AGEs が生体内で生成することが報告され<sup>7)</sup>、これらは主に AGEs 受容体である RAGE (receptor for AGEs)<sup>8)</sup> を介してマクロファージや血管内皮細胞などを刺激し、様々なサイトカイン様活性を發揮することで組織リモデリングや炎症病態の形成に関与することが知られている。種々の生体内 AGEs の中でも、糖代謝物(グリセルアルデヒド, グリコールアルデヒド, メチルグリオキサール, グリオキサール)による糖化反応に基づいて生じた AGEs は、組織や細胞に対する障害性が強いいため Toxic AGEs<sup>7)</sup>と呼ばれる。

#### AGEs 刺激による細胞内情報伝達系

先に述べたように、AGEs に対する主たる細胞受容体として RAGE の存在が挙げられる。RAGE は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する

膜 1 回貫通型のパターン認識受容体の一つであり、AGEs 以外に炎症に関係の深い HMGB1 (high mobility group box-1) 分子やアルツハイマー型認知症に関係するアミロイドβタンパク質が RAGE を刺激することが知られている。RAGE を過剰発現させた糖尿病モデルマウスでは合併症の増悪化が認められ、逆に RAGE ノックアウトモデルでは病態進行が極めて遅いことが知られ、AGEs-RAGE 刺激を介した生体反応を制御することが炎症関連疾患の予防や治療にとって極めて重要であることが示唆されている<sup>9)</sup>。例えば、膵臓β細胞に RAGE を強制発現させたトランスジェニックマウスにおいて、β細胞破壊に伴う 1 型糖尿病の症状(アルブミン尿, 腎肥大, 糸球体肥大など)がコントロール動物に比較して RAGE 強制発現マウスでは重症化し、これらの症状は特異的アンチセンス DNA やリボザイムを用いて RAGE シグナルを遮断することによって軽減されることが証明されている<sup>9)</sup>。



AGEs による RAGE 刺激によって、細胞内では活性酸素産生系の活性化 (特に NAD(P)H オキシダーゼを介した活性化) による活性酸素種の産生誘導, 種々の MAP キナーゼ群の活性化, 低分子量 G タンパク質の活性化を介して, NF- $\kappa$ B を中心とした転写因子リン酸化が誘導され, 結果として炎症性サイトカイン (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  など), ケモカイン (MCP-1 など), 細胞接着因子 (ICAM-1, VCAM-1), マトリックスメタロプロテアーゼ, 血栓形成関連因子 (PAI-1), 組織因子 (TF), エンドセリンなどの様々な炎症関連因子の発現亢進が引き起こされる<sup>10)</sup> (図 2). また, このような AGEs 刺激に伴う細胞変化は, RAGE 機能をノックダウンすることによって有意に抑えられることも明らかとなっている. 更に, 別の情報伝達経路として AGEs による RAGE 刺激によって膜型マトリックスメタロプロテアーゼ (MT1-MMP) を介したガラニルガラニル基転移酵素 I (GGTase I) の活性化と, それに引き続く低分子量 G タンパク質 (Rac1, RhoA) の活性化が誘導され, 結果として NF- $\kappa$ B 活性化による

炎症誘導や NO 産生低下を引き起こすことも報告されている<sup>11)</sup> (図 3).

現在, RAGE にはいくつかのアイソフォームが存在することが知られており, 全長型 (V, C1, C2, 膜貫通, 細胞内ドメインから構成), N 末端欠損型 (C1, C2, 膜貫通, 細胞内ドメインから構成), 内在性分泌型 (V, C1, C2 ドメインから構成), 切断型 (V, C1, C2 ドメインから構成) に大別することができる<sup>12)</sup> (図 4). 前の 3 種は, ヒトでは第 6 番染色体短腕に位置する RAGE 遺伝子 (AGER) から選択的スプライシングによって作られるが, 最後の切断型は全長型 RAGE が細胞外でマトリックスメタロプロテアーゼなどのタンパク質分解酵素によってシェディングを受けることによって産生される<sup>12-14)</sup>. 全長型 RAGE は, 単球, マクロファージ, 神経細胞, 尿細管上皮細胞, メサンギウム細胞, 糸球体上皮細胞, 血管平滑筋細胞, 血管内皮細胞などに発現していることが明らかとなっており, AGEs や HMGB1 などをリガンドとすることから炎症反応や宿主防御反応への関与が示唆されているものの, 上記で

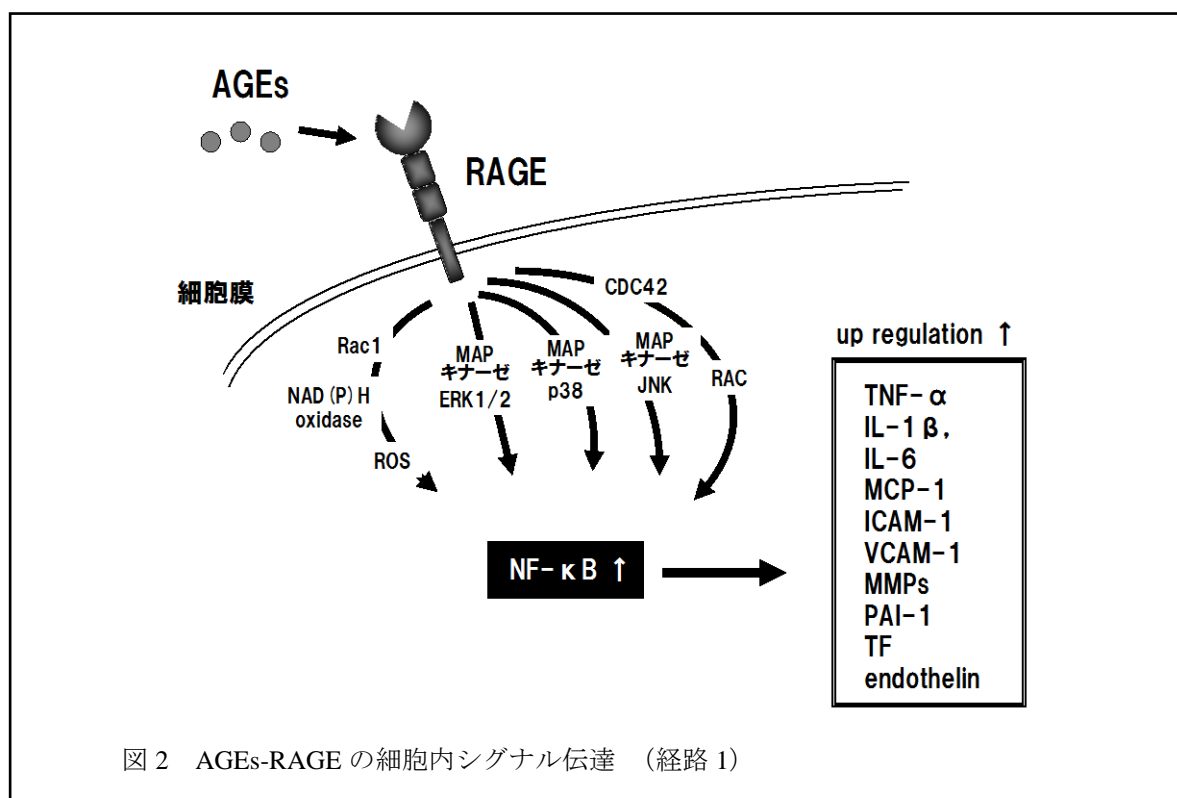


図 2 AGEs-RAGE の細胞内シグナル伝達 (経路 1)

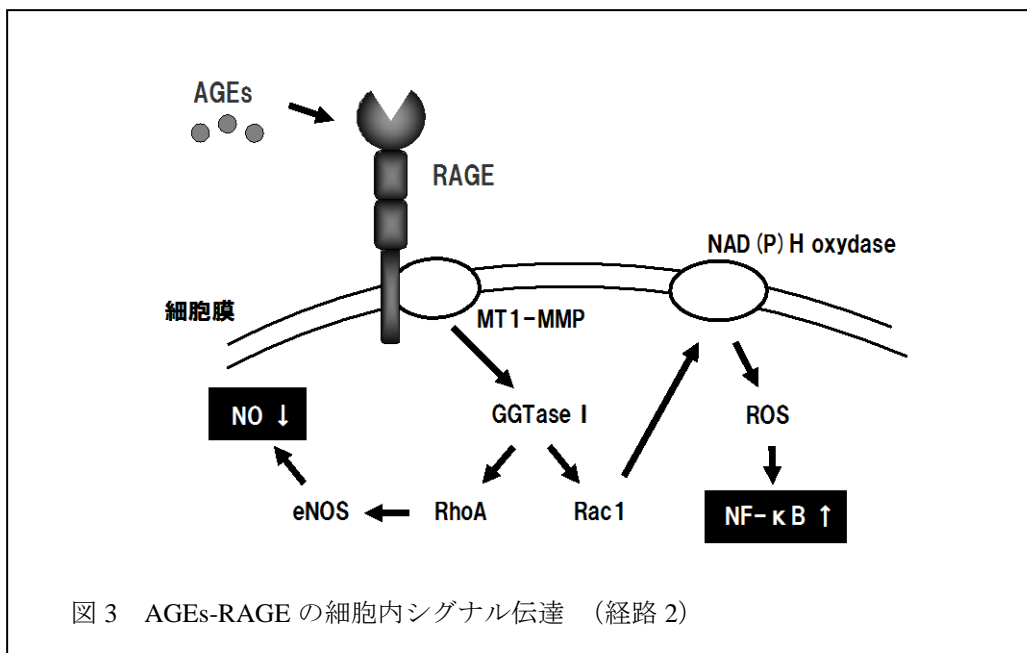


図3 AGEs-RAGEの細胞内シグナル伝達 (経路2)

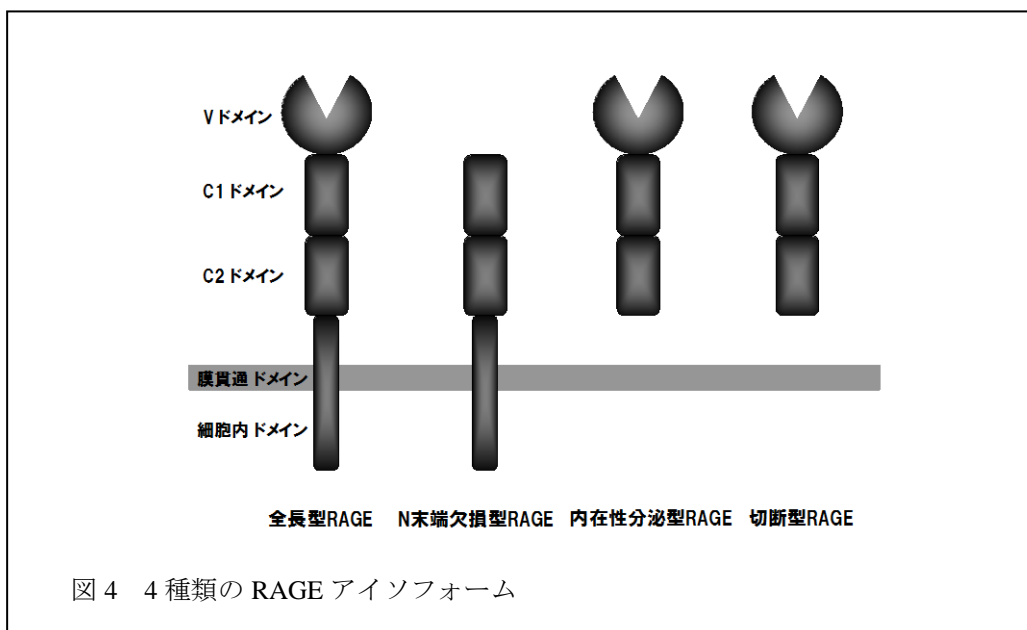


図4 4種類のRAGEアイソフォーム

示した RAGE アイソフォームそれぞれの病態生理学的役割, 病態局所での存在様式, アイソフォーム間の相互作用については不明な点が多く, 今後の研究進展に期待が持たれるところである.

一方, 生体内には糖化反応を惹起する一連の糖代謝物 (メチルグリオキサールなど) を消去し得る酵素反応系としてグリオキシラーゼ系が存在することが知られている<sup>15)</sup>. グリオキシラーゼ系はグリオキシラーゼ I および II (GLO1, GLO2) から構成され, GLO1 はメチルグリオキ

サルに対して還元型グルタチオンを転移し S-D-ラクトイルグルタチオンを生成する. 次に GLO2 が働いて, S-D-ラクトイルグルタチオンを無害の乳糖とグルタチオンに変換させる反応を触媒する (図 5). 最近になってグリオキシラーゼ活性の変化が様々な疾患病態 (不安様行動<sup>16-18)</sup>, 悪性腫瘍<sup>19)</sup>, アルツハイマー型認知症<sup>20)</sup>, 統合失調症<sup>21)</sup>など) の発症に深い関わりを示すことが示唆され, 新たな治療標的分子としての注目を集めている. 特に, これまで原因不明であった統

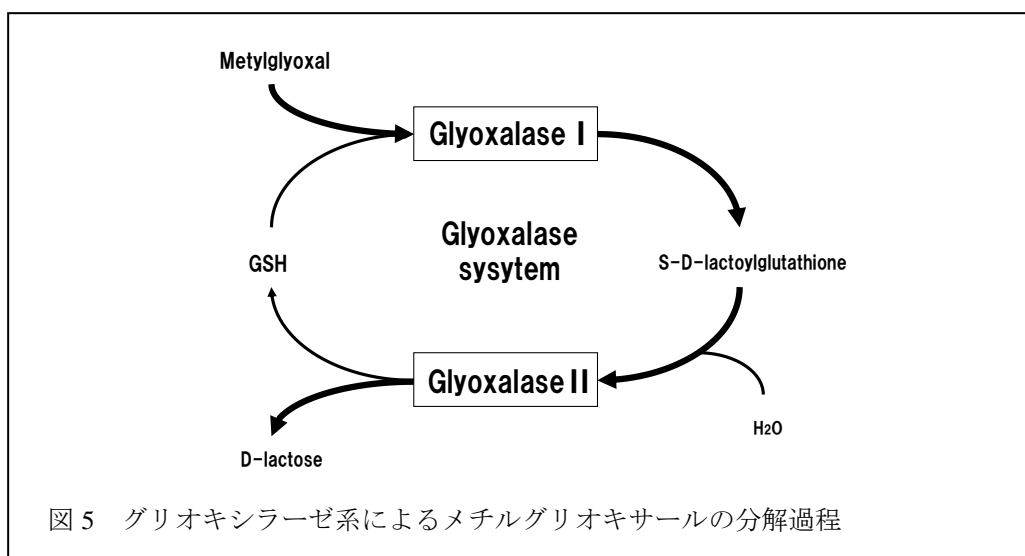


図5 グリオキシラーゼ系によるメチルグリオキサールの分解過程

合失調症の約2割の患者で AGEs 蓄積とビタミン B<sub>6</sub> 減少が同定され、これに GLO1 変異による機能低下が関連することが明らかになり、AGEs 産生抑制剤としての活性型ビタミン B<sub>6</sub> の投与が病態改善に結びつく可能性が示されていることも、たいへん興味深い知見である<sup>21)</sup>。

#### AGEs-RAGE 系を標的とした創薬の可能性

AGEs による RAGE 刺激は、炎症や酸化ストレスの亢進をもたらし、糖尿病合併症、動脈硬化などの生活習慣病をはじめとして神経変性疾患などの様々な病態の進行に深く関係していることが、これまでの多くの研究から示唆されており、AGEs-RAGE 情報伝達系を標的分子にして、これらの疾患病態の防止や治療を導こうとする創薬にも注目が集まっている。

AGEs-RAGE 系が関係する疾患に対する予防と治療のために、これまでに図6に示す方法論が提案されている。即ち、AGEs 生成の阻害、生成された AGEs 自体の選択的分解、細胞外での AGEs-RAGE 間シグナルの遮断などが考えられている。

AGEs に起因する疾患病態の制御を目的として、古くから AGEs の生成阻害薬の開発が行われており、糖化反応の進行にともなって生じるカルボ

ニル化合物を捕捉する形式の薬物(いわゆるカルボニル捕捉型)として、これまでにピリドキサミン<sup>22)</sup>やアミノグアニジン<sup>23)</sup>, ALT-946, OPB-9195, LR 化合物, ベンフォチアミン, TM-2002 が報告されている。一例を挙げれば、ストレプトゾトシン投与によって発症させた糖尿病モデルラットにおいて、ピリドキサミンの投与は皮膚コラーゲンのカルボキシメチルリジンやカルボキシエチルリジンの含量低下、血漿クレアチニン濃度、尿中アルブミン排泄量などを指標にした腎障害の改善作用をもたらすことが報告されている<sup>24)</sup>。加えて、ピリドキサミンによって網膜症の進行が有意に抑制(無細胞毛細血管数の減少、ラミニン発現低下など)されることも報告されている<sup>25)</sup>。

次に、生成した AGEs を選択的に分解する目的で N-phenacylthiazolium bromide が報告されている<sup>26)</sup>。N-phenacylthiazolium bromide は試験管内では AGEs を有意に減少させるものの、糖尿病ラットを用いた検討では AGEs によるコラーゲン架橋を切断することができなかったことより、糖化反応によって生じた複数種の AGEs を分解して AGE-RAGE 系シグナルを抑制することは現時点で困難であり、今後の改善がのぞまれるところである。

細胞外での AGEs-RAGE 間シグナルの遮断に

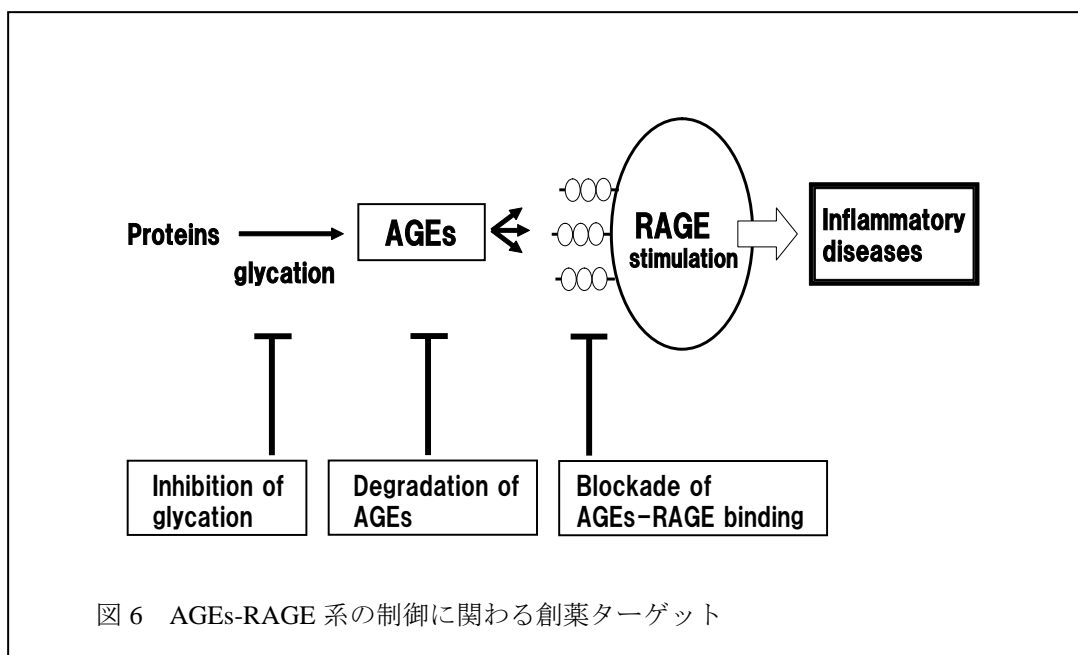


図6 AGEs-RAGE系の制御に関わる創薬ターゲット

関しては、抗 RAGE 抗体<sup>27)</sup>や可溶性 RAGE ドメイン<sup>28)</sup>を治療薬として用いた例が報告され、抗 RAGE 抗体の投与による糖尿病発症マウス (db/db マウス) における腎重量の減少、メサンギウム容量の減少、尿中アルブミン排泄の減少、クレアチニンクリアランスと糸球体基底膜の正常化が観察されている<sup>27)</sup>。また、ストレプトゾトシン誘導性糖尿病マウスにおいて可溶性 RAGE の投与は AGEs-RAGE 間の結合を抑え、動脈硬化容積の縮小、障害スコアの軽減、単核性食細胞の遊走抑制、MCP-1 発現低下、VCAM-1 発現低下、Cox-2 活性抑制、MMP-9 活性抑制、組織因子発現低下などを引き起こす<sup>28)</sup>。既に、我々は AGEs 以外の RAGE リガンドとして知られる HMGB1 に対する特異的中和抗体の開発に成功し、抗体投与が脳梗塞、脳外傷などの病態モデルに対して著効性を発揮することを明らかにしているが<sup>29,30)</sup>、上記の抗 RAGE 抗体や可溶性 RAGE ドメインによる治療効果の発見は、RAGE シグナルの遮断という観点から鑑みて、今後はより幅広い疾病領域 (例えば、糖尿病合併症や動脈硬化、ぜん息、アルツハイマー型認知症などの神経変性疾患) に対する治療効果の検討も視野に入れて研究を展開させて行く必要性を示唆するものと考

えられる。

#### おわりに

AGEs が関与する疾患病態を網羅的に概説し、その治療方策の現状について述べた。AGEs は、糖尿病のみならず、認知症や神経変性疾患、あるいは非アルコール性脂肪性肝炎や骨粗しょう症などの様々な疾患病態に関係していると考えられるため、その治療薬の開発は極めて適応範囲の広い応用性を持った新しい治療戦略へと発展する可能性を持つ。超高齢化社会を迎えた我が国において、AGEs 関連薬の開発は緊急を要する課題であり、今後の画期的新薬の創成に向けた研究が大いに期待される。

#### 引用文献

- 1) Maillard LC.: Action des acides amines sur les sucres : formation des melanoidines par voie methodique., *C R Hebd Seances Acad Sci*, 154 66-68 (1912).
- 2) Li J., Liu D., Sun L., Lu Y., Zhang Z.: Advanced glycation end products and neurodegenerative diseases: mechanisms and perspective., *J Neurol Sci*, 317 (1-2) 1-5 (2012)

- 3) Santos JC., Valentim IB., de Araujo OR., Ataíde Tda R., Goulart MO.: Development of nonalcoholic hepatopathy: contributions of oxidative stress and advanced glycation end products., *Int J Mol Sci*, 14 (10) 19846-19866 (2013)
- 4) Saito M., Marumo K.: Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus., *Osteoporos Int*, 21 (2) 195-214 (2010)
- 5) Bunn HF., Haney DN., Gabbay KH., Gallop PM.: Further identification of the nature and linkage of the carbohydrate in hemoglobin A1c., *Biochem Biophys Res Commun*, 67 (1) 103-109 (1975).
- 6) Kennedy AL, Merimee TJ.: Glycosylated serum protein and hemoglobin A1 levels to measure control of glycemia., *Ann Intern Med*, 95 (1) 56-58 (1981).
- 7) Takeuchi M., Yamagishi S.: TAGE (toxic AGEs) hypothesis in various chronic diseases., *Medical Hypotheses*, 63 449-452 (2004).
- 8) Schmidt AM., Vianna N., Gerlach M., Brett J., Ryan J., Kao J., Esposito C., Hegarty H., Hurley W., Clauss M., Wang F., Pan YE., Tsang TC., Stern D.: Isolation and characterization of two binding proteins for advanced glycosylation end products from bovine lung which are present on the endothelial cell surface., *J Biol Chem*, 267 (21) 14987-14997 (1992).
- 9) Yamamoto Y., Yamagishi S., Yonekura H., Doi T., Tsuji H., Kato I., Takasawa S., Okamoto H., Abedin J., Tanaka N., Sakurai S., Migita H., Unoki H., Wang H., Zenda T., Wu PS., Segawa Y., Higashide T., Kawasaki K., Yamamoto H.: Roles of the AGE-RAGE system in vascular injury in diabetes., *Ann NY Acad Sci*, 902 163-170 (2000).
- 10) Goldin A., Beckman JA., Schmidt AM., Creager MA.: Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury., *Circulation*, 114 (6) 597-605 (2006).
- 11) Kamioka M., Ishibashi T., Ohkawara H., Nagai R., Sugimoto K., Uekita H., Matsui T., Yamagishi S., Ando K., Sakamoto T., Sakamoto N., Takuwa Y., Wada I., Shiomi M., Maruyama Y., Takeishi Y.: Involvement of membrane type 1-matrix metalloproteinase (MT1-MMP) in RAGE activation signaling pathways., *J Cell Physiol*, 226 (6) 1554-1563 (2011).
- 12) González I., Romero J., Rodríguez BL., Pérez-Castro R., Rojas A.: The immunobiology of the receptor of advanced glycation end-products: trends and challenges., *Immunobiology*, 218 (5) 790-797 (2013).
- 13) Sakurai S., Yonekura H., Yamamoto Y., Watanabe T., Tanaka N., Li H., Rahman AK., Myint KM., Kim CH., Yamamoto H.: The AGE-RAGE system and diabetic nephropathy., *J Am Soc Nephrol*, 14 (8) S259-S263 (2003).
- 14) Raucci A., Cugusi S., Antonelli A., Barabino SM., Monti L., Bierhaus A., Reiss K., Saftig P., Bianchi ME.: A soluble form of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is produced by proteolytic cleavage of the membrane-bound form by the sheddase a disintegrin and metalloprotease 10 (ADAM10)., *FASEB J*, 22 (10) 3716-3727 (2008).
- 15) Thornalley PJ.: Glyoxalase I--structure, function and a critical role in the enzymatic defence against glycation., *Biochem Soc Trans*, 31 (Pt 6) 1343-1348 (2003).
- 16) Hovatta I., Tennant RS., Helton R., Marr RA., Singer O., Redwine JM., Ellison JA., Schadt EE., Verma IM., Lockhart DJ., Barlow C.: Glyoxalase 1 and glutathione reductase 1 regulate anxiety in mice., *Nature*, 438 (7068) 662-666 (2005).
- 17) Krömer SA., Kessler MS., Milfay D., Birg IN., Bunck M., Czibere L., Panhuysen M., Pütz B.,

- Deussing JM., Holsboer F., Landgraf R., Turck CW.: Identification of glyoxalase-I as a protein marker in a mouse model of extremes in trait anxiety., *J Neurosci*, 25 (17) 4375-4384 (2005).
- 18) Distler MG., Plant LD., Sokoloff G., Hawk AJ., Aneas I., Wuenschell GE., Termini J., Meredith SC., Nobrega MA., Palmer AA.: Glyoxalase 1 increases anxiety by reducing GABA<sub>A</sub> receptor agonist methylglyoxal., *J Clin Invest*, 122 (6) 2306-2315 (2012).
- 19) Thornalley PJ.: The glyoxalase system in health and disease., *Mol Aspects Med*, 14 (4) 287-371 (1993).
- 20) Chen F1., Wollmer MA., Hoerndli F., Münch G., Kuhla B., Rogaev EI., Tsolaki M., Papassotiropoulos A., Götz J.: Role for glyoxalase I in Alzheimer's disease., *Proc Natl Acad Sci USA*, 101 (20) 7687-7692 (2004).
- 21) Arai M., Yuzawa H., Nohara I., Ohnishi T., Obata N., Iwayama Y., Haga S., Toyota T., Ujike H., Arai M., Ichikawa T., Nishida A., Tanaka Y., Furukawa A., Aikawa Y., Kuroda O., Niizato K., Izawa R., Nakamura K., Mori N., Matsuzawa D., Hashimoto K., Iyo M., Sora I., Matsushita M., Okazaki Y., Yoshikawa T., Miyata T., Itokawa M.: Enhanced carbonyl stress in a subpopulation of schizophrenia., *Arch Gen Psychiatry*, 67 (6) 589-597 (2010).
- 22) Onorato JM., Jenkins AJ., Thorpe SR., Baynes JW.: Pyridoxamine, an inhibitor of advanced glycation reactions, also inhibits advanced lipoxidation reactions. Mechanism of action of pyridoxamine., *J Biol Chem*, 275 (28) 21177-21184 (2000).
- 23) Soulis T., Cooper ME., Vranes D., Bucala R., Jerums G.: Effects of aminoguanidine in preventing experimental diabetic nephropathy are related to the duration of treatment., *Kidney Int*, 50 (2) 627-634 (1996).
- 24) Degenhardt TP., Alderson NL., Arrington DD., Beattie RJ., Basgen JM., Steffes MW., Thorpe SR., Baynes JW.: Pyridoxamine inhibits early renal disease and dyslipidemia in the streptozotocin-diabetic rat., *Kidney Int*, 61 (3) 939-950 (2002).
- 25) Stitt A., Gardiner TA., Alderson NL., Canning P., Frizzell N., Duffy N., Boyle C., Januszewski AS., Chachich M., Baynes JW., Thorpe SR.: The AGE inhibitor pyridoxamine inhibits development of retinopathy in experimental diabetes., *Diabetes*, 51 (9) 2826-2832 (2002).
- 26) Oturai PS., Christensen M., Rolin B., Pedersen KE., Mortensen SB., Boel E.: Effects of advanced glycation end-product inhibition and cross-link breakage in diabetic rats., *Metabolism*, 49 (8) 996-1000 (2000).
- 27) Flyvbjerg A., Denner L., Schrijvers BF., Tilton RG., Mogensen TH., Paludan SR., Rasch R.: Long-term renal effects of a neutralizing RAGE antibody in obese type 2 diabetic mice., *Diabetes*, 53 (1) 166-172 (2004).
- 28) Kislinger T., Tanji N., Wendt T., Qu W., Lu Y., Ferran LJ Jr., Taguchi A., Olson K., Bucciarelli L., Goova M., Hofmann MA., Cataldegirmen G., D'Agati V., Pischetsrieder M., Stern DM., Schmidt AM.: Receptor for advanced glycation end products mediates inflammation and enhanced expression of tissue factor in vasculature of diabetic apolipoprotein E-null mice., *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21 (6) 905-910 (2001).
- 29) Liu K., Mori S., Takahashi HK., Tomono Y., Wake H., Kanke T., Sato Y., Hiraga N., Adachi N., Yoshino T., Nishibori M.: Anti-high mobility group box 1 monoclonal antibody ameliorates brain infarction induced by transient ischemia in rats., *FASEB J*, 21 (14) 3904-3916 (2007).
- 30) Okuma Y., Liu K., Wake H., Zhang J., Maruo T., Date I., Yoshino T., Ohtsuka A., Otani N., Tomura S., Shima K., Yamamoto Y., Yamamoto H.,



Takahashi HK., Mori S., Nishibori M.: Anti-high mobility group box-1 antibody therapy for traumatic brain injury., *Ann Neurol*, 72 (3) 373-384 (2012).