

厚生省科学研究費

長寿科学総合研究事業

糖尿病性合併症の治療法開発に関する研究

平成 11 年度 総括研究報告書

平成 11 年度 分担研究報告書

平成 12 年 3 月

主任研究者 牧田 善二

久留米大学医学部内分泌代謝内科教授

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

（総括）研究報告書

糖尿病性合併症の治療法開発に関する研究

主任研究者 牧田 善二 久留米大学医学部内分泌代謝内科教授

研究要旨： 本研究は、糖尿病治療で問題となっている合併症、特に糖尿病性腎症による血液透析患者数増加を阻止する新しい治療薬の開発を目指している。過去、約20年間の基礎的研究から、糖尿病で特徴的な「持続する高血糖状態」より形成される終末糖化産物（AGE）が合併症の重要な原因であることが解明されている。平成10年度の本研究遂行により AGE 構造体の中で主に lipid peroxidation で形成される CML より CML 以外の AGE を阻止が生体内で重要な役割を果たすことが確認された。本継続研究においては、糖尿病網膜症における CML と non-CML AGE の関与を血液中および前房水中の AGE を測定し、網膜症進展の主因と考えられる VEGF 値と比較し、その関与を検討した。さらに、血液中で形成される5種の新たな AGE を作成し、それらを特異的に認識する抗体を作成し、生体内での存在を検討した。また AGE 阻害剤（OPB-9195）との治療効果比較のため AGE 阻害剤以外の糖尿病性腎症治療薬として期待される、ACE 阻害剤および PKC- β 阻害剤を OLETF に同時に投与し、尿蛋白、病理学的変化、チャージバリアー、TGF- β 、VEGF への効果を検討し将来の治療法開発の基礎となる研究を行った。

分担研究者 竹内 正義 北陸大学薬学部生化学講座講師

A. 研究目的

我が国の糖尿病患者数は690万人に上り、40歳以上の1割が糖尿病に罹患しているとされており、新しい国民病と言える。合併症を抑え、QOLを向上するためには血糖制御の治療のみならず、糖尿病で血糖が上昇するとなぜ合併症が生ずるのかを科学的に解明し、その機序を阻止する治療法の開発が必須であると考えられる。言い換

えると、多少の高血糖状態が存在しても合併症を阻止出来る「合併症治療薬」無くしては、合併症を減らすことは出来ない。AGE は糖尿病合併症のみならず、アルツハイマー病や透析アミロイドーシス、老化などに深く関与することが明らかにされている。AGE は単一の物質ではなく、複数の構造物の総称である。近年 AGE の代表的物質 CML は糖化(glycation)ではなく、むしろ oxidation 反応から産生される物質と報告されている。本継続研究の目的として、CML 以外の AGE 物質の生体内の確認と、糖尿病合併症（特に網膜症）における関与を検討した。さらに、初期腎症には AGE 阻害剤の効果が弱いことを考慮し、AGE 阻害剤以外の治療薬との比較を、腎機能変化、腎病理学的変化の両面で研究することを目的とした。

B. 研究方法

異なった種類の AGE の生体内の存在の確認を以下の 5 種類で行った。
Glucose+protein→Amadori product→CML (以下 AGE1)。Glucose+protein→Amadori product→?→non-CMLAGE(以下 AGE2)。Methyglyoxal+protein→AGE (以下 AGE3)。Glyceraldehyde+protein→AGE (以下 AGE4)。Glycolaldehyde+protein→AGE (以下 AGE5)。各々の AGE を in vitro で作成し、さらに家兎に免疫して各 AGE を特異的に認識する抗体を作成した。各抗体の性状を競合阻害実験にて確認後、生体内での存在を糖尿病透析患者血液にて検討した。CML と non-CML AGE の糖尿病網膜症への関与を検討するため、網膜症の程度（正常、単純性、前増殖性、増殖性、光凝固治療群）に群分けし、血液中および房水中の CML と non-CML AGE 値、VEGF 値を比較した。AGE 阻害剤以外の初期腎症治療剤との比較のため AGE 阻害剤、ACE 阻害剤、PKC-β阻害剤の治療効果の比較を 2 型糖尿病の優れたモデルラットであり OLETF を用い行った。機能的変化への影響を尿タンパクで病理組織学的変化を PAS 染色で行った。チャージバリアーへの評価は電子顕微鏡を用いた polyethyleneimine 法にて腎基底膜の anionic site の変化で検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、動物実験および細胞を用いたもので、人に対する倫理的配慮は必要としない。動物実験のプロトコールは北海道大学の動物実験に関する指針に基づき、動物愛護上、不要の苦痛などを与えない配慮を講じた。

C. 研究結果

平成 11 年度の本研究の遂行により 以下の研究結果を得た。

1. AGE1~5 それぞれを特異的に認識する抗体を得た。この事実、これら 5 種の異

なった経路から産生された AGE は異なった構造物であることを示す。人血液中にもこれらの AGE の存在が確認され、量の比較では AGE4、AGE5 が多かった。この研究成果の一部は Mol Med 1999, 5:393-405 に報告し、さらに Mol Med 2000 に印刷中である。

2. 人の糖尿病網膜症の進展とともに房水中の non-CML AGE および VEGF 値は上昇し、互いに高い相関関係が認められた。房水中の CML と VEGF 値との間にも弱い相関があった。しかし血液中の AGE 値とは相関関係はなかった。房水中の non-CML AGE 上昇が VEGF の誘導の原因と推測された。この研究成果は投稿準備中である。
3. OLETF の初期腎症への尿タンパクへの効果は ACE 阻害剤が優れていた。PKC- β 阻害剤もかなりの治療効果を示したが AGE 阻害剤は非治療群（糖尿病）との間に差を認めなかった。光学顕微鏡での病理学的検討では、腎組織の硝子滴形成に対し AGE 阻害剤、PKC- β 阻害剤で有意の改善を認めたが、AGE 阻害剤では効果は確認されなかった。電子顕微鏡を用いた polyethyleneimine 法による腎基底膜の anionic site の変化では、AGE 阻害剤、PKC- β 阻害剤で改善が認められた。これらの事実は、特に初期腎症に対しては AGE 阻害剤、PKC- β 阻害剤の両者が有望な治療法であることを示唆する。この研究成果は投稿準備中である。

D. 考察

平成 11 年度の研究成果から、AGE は glucose からだけではなく Methyglyoxal や Glyceraldehyde などからも形成されることが明らかになった。さらにこれらの AGE は既報の CML などとは構造が互いに異なっており、人の血液中にも存在することが確認された。Methyglyoxal や Glyceraldehyde は反応性が高く生体内の AGE 形成の主要な経路になっている可能性が考えられた。さらに人の網膜症において房水中に non-CML AGE が存在し、網膜症の進展に対しては CML よりもむしろの non-CML AGE が重要であると考えられた。臨床的な事実として糖尿病性早期腎症の時期には糸球体過剰濾過(hyperfiltration)が存在することが知られている。過去の我々の研究では尿タンパクへの AGE 阻害剤 OPB-9195 効果は、後期腎症では有意であったが早期腎症では、期待されたほどの効果は得られなかった。初期腎症への糖尿病腎症治療の有効性を比較検討した今回の成績では、糸球体過剰濾過の改善が知られている ACE 阻害剤の効果が著しかった。しかし、血圧に影響を及ぼさない PKC- β 阻害剤にも治療効果を認め、初期腎症における PKC- β 活性上昇の重要性が示唆された。本研究遂行により、各種 AGE の毒性の差異を確認出来た。また糖尿病腎症治療においてはその

病期に応じた治療法選択が必要と考えられた。激増する糖尿病透析患者の阻止を目指し、新しい腎症治療法開発が期待される。

E. 結論

1. 生体内での AGE 形成には glucose 以外の short chain sugar や dicarbonylcompound が重要と考えられた。
2. 糖尿病網膜症進展には non-CML AGE の房水中の上昇が関与すると考えられた。
3. 初期腎症の進展阻止には ACE 阻害剤、PKC- β 阻害剤が有効であることが確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tsuchida. K, Makita. Z, Yamagishi. S, Atsumi. T, Obara. S, Miyoshi. H, Ishida. M, Ishikawa. S, Yasumura. K, Koike. T. Suppression of TGF- β and VEGF in diabetic nephropathy in rats by a novel AGE inhibitor, OPB-9195. *Diabetologia* 42:579-588, 1999
2. Takeuchi. M, Makita. Z, Yanagisawa. K, Kamada. Y, Koike. T. Detection of noncarboxymethyllysine and carboxymethyllysine advanced glycation end products in serum of diabetic patients. *Mol. Med.* 5:393-405, 1999
3. Kikuchi. S, Shinpo. K, Moriwaka. F, Makita. Z, Mayata. T, Tashiro. Neurotoxicity of Methylglyoxal and 3-Deoxyglucosone on cultured corticalneurons. Synergism between glycation and oxidative stress, possiblyinvolved in neurodegenerative diseases. *J Neurosci. Res.* 57:280-289, 1999
4. Yamauchi A, Takei I, Makita Z, Saruta T. Effects of aminoguanidine on diabetic nephropathy in the OLETF rat, *Obesity and NIDDM: Lessons from OLETF Rat*, K. Shima Editor. Elsevier Science B. V., 215-221, 1999
5. Takeuchi. M, Makita. Z, Richard Bucala, Takako Suzuki T, Koike T, Kameda Y. Immunological evidence that non-carboxymethyllysine advanced

glycation end-products are produced from short-chain sugars and dicarbonyl compounds in vivo. Mol. Med. in press, 2000

1. 牧田善二：糖化、KEY WORD 1998-2000 高脂血症・動脈硬化 134—135、1998
 7. 牧田善二：AGE、糖尿病学の進歩'99（日本糖尿病学会編）診断と治療社、東京、199—202、1999
 8. 曾根真由美、牧田善二：経口血糖降下薬二次無効へのアプローチ. 医学のあゆみ、188：516—517、1999
 9. 三好秀明、牧田善二：合併症治療薬剤とその将来. 今月の治療 7：26—30、1999
 10. 三好秀明、柳沢克之、牧田善二：壊疽. 治療 81：98—104、1999
2. 学会発表
1. Z. MAKITA, M. TAKEUCHI, Y. KAMADA, T. KOIKE: Possible Significance of Non-Carboxymethyllysine Advanced Glycation End-products in Serum of Type 2 Diabetic Patients. 34th annual meeting, Barcelona, Spain, 8-12 September 1998 (ヨーロッパ糖尿病学会)
 2. H. MIURA, Z. MAKITA, M. T. ITOH, M. WAKASA, T. KOIKE: Preparation of Monoclonal Antibodies Specific for CML and Non-CML AGE. 34th annual meeting, Barcelona, Spain, 8-12 September 1998 (ヨーロッパ糖尿病学会)
 3. 牧田善二、渥美敏也、土田健一、三好秀明、小原慎司、石田三紀子、曾根真由美、岡本珠美、小池隆夫：強化インスリン療法における低血糖に対しインスリン持続皮下注入療法を応用した対策. 第42回日本糖尿病学会年次学術総会. 公募ワークショップ2 インスリン療法における低血糖とその対策. 横浜. 1999年5月14日
 4. 牧田善二：AGE 阻害剤アミノグアニジン大規模臨床治験の成績—合併症治療薬への期待と現実—. 第42回日本糖尿病学会年次学術集会. 教育講演10. 横浜. 1999

年5月15日

5. 柳沢克之、入山祿郎、伊東智浩、吉岡成人、藤居賢、桜井光一、藤本辛男、牧田善二、小池隆夫：ミトコンドリア遺伝子 3394C→T 点変異、3423→T 点変異を有する一卵性双生児の糖尿病症例。第 42 回日本糖尿病学会年次学術集会。ポスター展示 1M01。横浜。1999 年 5 月 13 日
6. 石田三紀子、曾根真由美、岡本珠美、小原慎司、三好秀明、土田健一、牧田善二、小池隆夫：糖尿病網膜症における、房水血液中 VEGF、AGE、CML 濃度の検討。第 42 回日本糖尿病学会年次学術集会。口演 2 18。横浜。1999 年 5 月 14 日
7. 土田健一、牧田善二、遠藤三紀子、曾根真由美、小原慎司、三好秀明、渥美敏也、小池隆夫：糖尿病性腎症発症進展における TGF- β 、VEGF の関与、および AGE 阻害剤 (OPB-9195) の抑制効果についての検討。第 42 回日本糖尿病学会年次学術集会。口演 2 24。横浜。1999 年 5 月 14 日
8. 竹内正義、鈴木貴子、亀田幸彦、牧田善二、小池隆夫：糖尿病性腎不全透析患者における血中 AGE 分子種の解析。第 42 回日本糖尿病学会年次学術集会。口演 2 X07。横浜。1999 年 5 月 14 日
9. 中村桜子、河田哲也、石川伸太郎、立川哲也、飛田和貴、牧田善二、小池隆夫：OLETF ラット腎症における CML の蓄積と AGEs 生成阻害剤 (OPB-9195) による沈着抑制効果の検討。第 42 回日本糖尿病学会年次学術集会。口演 2X08。横浜。1999 年 5 月 14 日
10. 岡本珠美、渥美敏也、土田健一、三好秀明、小原慎司、遠藤三紀子、曾根真由美、牧田善二、小池隆夫、西平順：血管新生とマクロファージ遊走阻止因子 (Macrophage migration inhibitory factor) との関連についての検討。第 42 回日本糖尿病学会年次学術集会。口演 2X12。横浜。1999 年 5 月 14 日
11. MIKIKO ENDO, KEN-ICHI TSUCHIDA, MAYUMI SONE, SHINJI OBARA, HIDEAKI MIYOSHI, ZENJI MAKITA, TAKAO KOIKE: Increased Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Advanced Glycation Endproducts (AGEs) in the Aqueous Humor in Diabetic Retinopathy. Presidents Posters 0281. The 59th Scientific Session. California, USA. June 19-22 1999 (米国糖尿病学会)
1. ZENJI MAKITA, MASAYOSHI TAKEUCHI, KEN-ICHI TSUCHIDA, SINJI OBARA, HIDEAKI MIYOSHI, TAKAO KOIKE: Circulating Advanced Glycation Endproducts (AGEs) An Indicator Of Long-Term Glycemic Control. Published Only 1537. The 59th Scientific Session. California, USA. June 19-22

1999 (米国糖尿病学会)

- 1 3. SAKURAKO NAKAMURA, TETSUYA KAWATA, SHINTARO ISHIKAWA, TETSUYA TACHIKAWA, KAZUKI TOBITA, ZENJI MAKITA, TAKAO KOIKE: Prevention of CML Accumulation by A Novel Inhibitor of Advanced Glycation Ameliorates Nephropathy in Spontaneous Diabetic Rats. Published Only 1659. The 59th Scientific Session. California, USA. June 19-22 1999 (米国糖尿病学会)
- 1 4. KEN-ICHI TSUCHIDA, ZENJI MAKITA, TOSHIYA ATSUMI, HIDEAKI MIYOSHI, SHINJI OBARA, MIKIKO ENDO, MAYUMI SONE, TAKAO KOIKE: Suppression of TGF- β and VEGF in Diabetic Nephropathy in Rats by a Novel AGE Inhibitor, OPB-9195. Published Only 1675. The 59th Scientific Session. California, USA. June 19-22 1999 (米国糖尿病学会)
- 1 5. 遠藤三紀子、曾根真由美、小原慎司、三好秀明、岡本珠美、土田健一、牧田善二、小池隆夫：糖尿病網膜症における房水、血液中 VEGF, AGE, CML の検討. 第 33 回日本糖尿病学会北海道地方会. 口演 B18. 旭川. 1999 年 10 月 23 日
- 1 6. 土田健一、竹内正義、牧田善二、三好秀明、小原慎司、遠藤三紀子、曾根真由美、増田創、岡本珠美、小池隆夫：血液中に存在する AGE 物質の解析. 第 33 回日本糖尿病学会北海道地方会. 口演 A30. 旭川. 1999 年 10 月 23 日.
- 1 7. 西尾太郎、清野康生、遠藤三紀子、曾根真由美、増田創、小原慎司、三好秀明、土田健一、牧田善二、小池隆夫：生体肝移植後著明な高血糖を呈した一症例. 第 33 回日本糖尿病学会北海道地方会. 口演 A32. 旭川. 1999 年 10 月 23 日
- 1 8. Z. Makita, M. Takeuchi, Y. Kamada, and T. Koike: CIRCULATING ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS AS A MARKER OF LONG- TERM GLYCEMIC CONTROL AND DIABETIC NEPHROPATHY. 35th annual meeting, Brussels, Belgium, 28 September ~ 2 October 1998 (ヨーロッパ糖尿病学会)
- 1 9. 牧田善二：AGE 形成による糖尿病性慢性合併症の成立機序. 第 3 4 回糖尿病学の進歩. シンポジウム A-6 CSII 治療の現況と将来. 札幌. 2000 年 3 月 3 日

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）

（分担）研究報告書

糖尿病性合併症の治療法開発に関する研究

分担研究者 竹内 正義 北陸大学薬学部生化学講座講師

研究要旨： 糖尿病合併症の発症・進展に終末糖化産物（AGE）が重要な作用をなすとされている。AGE 構造体の内、CML と non-CML AGE を特異的に認識する抗体を作成し糖尿病における意義を解明した。また糖尿病網膜症においての CML と non-CML AGE の関与を血液中および房水中の AGE を測定し、網膜症進展の主因と考えられる VEGF 値と比較し、その関与を検討した。さらに、血液中で形成される5種の新たな AGE を作成し、それらを特異的に認識する抗体を作成し、生体内での存在を検討した。5種の AGE の神経細胞に対する毒性を比較検討した。本研究の遂行により糖尿病網膜症においては non-CML AGE がその進展に重要な働きをなすと考えられた。また生体内には異なった経路から形成される AGE が存在し、Glyceraldehyde 由来の AGE は神経細胞に対する毒性が強いことが判明した。

A. 研究目的

過去、約20年間の基礎的研究から、糖尿病で特徴的な「持続する高血糖状態」より形成される終末糖化産物(AGE)が合併症の重要な原因であることが解明されている。AGE は生体内でブドウ糖などの還元糖とタンパク質の非酵素的反応 (glycation) によって形成される。この AGE は単一の物質ではなく、複数の構造物の総称であり、近年、構造解析の研究が進んでいる。AGE の各種病態と治療法開発には AGE の測定が重要である。その測定には AGE を特異的に認識する抗体を用いた ELISA が用いられている。現在報告されている AGE は主に AGE 構造物の CML を主に認識することが明らかにされている。しかし AGE 構造体の中で主に lipid peroxidation で形成される CML より CML 以外の AGE を阻止が生体内で重要な役割を果すことが確認されており CML 以外の AGE を評価することが必要であるとされている。本分担研究においては、CML と CML 以外の AGE 構造体 (non-CML AGE) の糖尿病における重要

性を比較し、生体内の存在が確認されており non-CML AGE の形成経路として重要と考えられる glucose 以外の short chain sugar や dicarbonyl compound からの AGE を認識する抗体を作成し、その存在と病態への関与を糖尿病患者で検討することを目的とした。さらにこれらの構造体が糖尿病合併症以外のアルツハイマー病を始めとする神経変性疾患の原因となり得るか否かも検討した。

B. 研究方法

AGE を認識するポリクローナル抗体を既報の方法で作成し (J. Biol. Chem. 267:5133-5138, 1992)、CML を coupling させた affinity chromatography を用いて CML を認識する抗体と non-CML AGE を認識する抗体を分離した。両抗体の性状を競合 assay 法により比較し、糖尿病患者血清で、その存在を検討した。また CML および non-CML AGE の糖尿病における意義を、糖尿病網膜症で検討するとともに、HbA_{1c} や空腹時血糖値と比較した。さらに CML と異なった種類の AGE の生体内の存在の確認を以下の 5 種類で行った。Glucose+protein → Amadori product → CML (以下 AGE1)。Glucose+protein → Amadori product → ? → non-CMLAGE(以下 AGE2)。Methylglyoxal+protein → AGE (以下 AGE3)。Glyceraldehyde+protein → AGE (以下 AGE4)。Glycolaldehyde+protein → AGE (以下 AGE5)。各々の AGE を in vitro で作成し、さらに家兎に免疫して各 AGE を特異的に認識する抗体を作成した。各抗体の性状を競合阻害実験にて確認後、生体内での存在を糖尿病透析患者血液にて検討した。AGE1~5 の神経細胞障害性をラット海馬/大脳皮質神経細胞初代培養にて検討した。障害性の検討は MTT 還元 assay、LDH 活性、アポトーシスの検出 (DNA Ladder 検出など) で行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、主に動物実験および細胞を用いたもので、人に対する倫理的配慮は必要としない。患者からの採血に当たっては北海道大学の指針に添って患者への説明と同意を得て行った。動物実験のプロトコールは北海道大学の動物実験に関する指針に基づき、動物愛護上、不要の苦痛などを与えない配慮を講じた。

C. 研究結果

平成 11 年度の本研究の遂行により 以下の研究結果を得た。

1. non-CML AGE は糖尿病患者の 2ヶ月前の空腹時血糖値 ($r=0.498$, $p<0.0001$) HbA_{1c} 値($r=0.375$, $p=0.0019$)と有意な相関が認められたが CML 値とは相関が認

められなかった。

2. 糖尿病透析患者血清では4種の分子サイズの分画に CML および non-CML AGE (AGE2~5) の存在が確認された (200, 65, 1.15, 0.85 kD)。この研究成果の一部は Mol Med 1999, 5:393-405 に報告し、さらに Mol Med 2000 印刷中である。
3. AGE1~5 を、それぞれを特異的に認識する抗体を得た。この事実は、これら5種の異なった経路から産生された AGE は異なった構造物であることを示す。人血液中でもこれらの AGE の存在が確認され、量の比較では AGE4、AGE5 が多かった。この研究成果の一部は Mol Med 2000 印刷中である。
4. 人の糖尿病網膜症の進展とともに房水中の non-CML AGE および VEGF 値は上昇し、互いに高い相関関係が認められた。房水中の CML と VEGF 値の間にも弱い相関があった。しかし血液中の AGE 値とは相関関係はなかった。房水中の non-CML AGE 上昇が VEGF の誘導の原因と推測された。この研究成果は投稿準備中である。
5. AGE1~5 の神経細胞に対する毒性は AGE4 で強いことが確認された。この研究成果は投稿準備中である。

D. 考察

平成 11 年度の研究成果から、AGE の構造体の中で non-CML AGE が重要であると考えられた。non-CML AGE 測定は合併症の評価だけではなく、HbA_{1c} よりさらに長期の血糖コントロール指標として有用である可能性が示唆された。さらに人の網膜症において房水中に non-CML AGE が存在し、網膜症の進展に対しては CML よりもむしろの non-CML AGE が重要であると考えられた。AGE は glucose からだけではなく Methyglyoxal や Glyceraldehyde などからも形成されることが明らかになった。これらの AGE2~5 は既報の CML などとは構造が互いに異なっており、人の血液にも存在することが確認された。Methyglyoxal や Glyceraldehyde は反応性が高く生体内の AGE 形成の主要な経路になっている可能性が考えられた。AGE 阻害剤による糖尿病合併症やアルツハイマー病治療薬開発においては non-CML AGE 形成を阻止することが重要であり、生体内での、その測定法開発が必要である。また各種 AGE 構造体の中でも神経細胞に対する障害性が異なっている事実は、より選択性のある AGE 阻害剤開発が必要であることを示唆していると考えられた。

E. 結論

1. non-CML AGE が糖尿病合併症などに主因を成していると考えられた。この

non-CML AGE 形成には glucose 以外の short chain sugar や dicarbonylcompound が重要である。

2. Glyceraldehyde 由来の AGE (AGE4) が特に神経細胞に対する障害性が強い。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takeuchi. M, Makita. Z, Yanagisawa. K, Kamada. Y, Koike. T: Detection of noncarboxymethyllysine and carboxymethyllysine advanced glycation end products in serum of diabetic patients. *Mol. Med.* 5:393-405, 1999
2. Kikuchi. S, Shinpo. K, Moriwaka. F, Makita. Z, Mayata. T, Tashiro: Neurotoxicity of Methylglyoxal and 3-Deoxyglucosone on cultured corticalneurons. Synergism between glycation and oxidative stress, possiblyinvolved in neurodegenerative diseases. *J Neurosci. Res.* 57:280-289, 1999
3. Takeuchi. M, Makita. Z, Bucala. R, Suzuki. T, Koike. T, Kameda. Y: Immunological evidence that non-carboxymethyllysine advanced glycation end-products are produced from short-chain sugars and dicarbonyl compounds in vivo. *Mol. Med.* in press, 2000

3. 学会発表

1. Z. Makita, M. Takeuchi, Y. Kamada, and T. Koike: CIRCULATING ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS AS A MARKER OF LONG- TERM GLYCEMIC CONTROL AND DIABETIC NEPHROPATHY. 35th annual meeting, Brussels, Belgium, 28 September ~ 2 October 1998 (ヨーロッパ糖尿病学会)
2. 竹内正義、鈴木貴子、亀田幸彦、牧田善二、小池隆夫：糖尿病性腎不全透析患者における血中 AGE 分子種の解析。第 42 回日本糖尿病学会年次学術集会。口演 2 X07。横浜。1999 年 5 月 14 日
3. ZENJI MAKITA, MASAYOSHI TAKEUCHI, KEN-ICHI TSUCHIDA, SINJI OBARA, HIDEAKI MIYOSHI, TAKAO KOIKE: Circulating Advanced Glycation Endproducts (AGEs) An Indicator Of Long-Term Glycemic

Control. Published Only 1537. The 59th Scientific Session. California, USA.
June 19-22 1999 (米国糖尿病学会)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

19990208

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

「研究成果の刊行に関する一覧表」

Suppression of transforming growth factor beta and vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy in rats by a novel advanced glycation end product inhibitor, OPB-9195.

Tsuchida K, Makita Z, Yamagishi S, Atsumi T, Miyoshi H, Obara S, Ishida M, Ishikawa S, Yasumura K, Koike T
Diabetologia 1999 May ; 42(5) : 579-88

Neurotoxicity of methylglyoxal and 3-deoxyglucosone on cultured cortical neurons: synergism between glycation and oxidative stress, possibly involved in neurodegenerative diseases.

Kikuchi S, Shinpo K, Moriwaka F, Makita Z, Miyata T, Tashiro K
J Neurosci Res 1999 Jul 15 ; 57(2) : 280-9

ケース27 症例から診断・治療のコツを学ぶ. インスリンポンプ使用例
小原慎司、 牧田善二
掲載図書/雑誌. 掲載巻号、 掲載ページ、 出版年（不明）

Takeuchi. M, Makita. Z, Yanagisawa. K, Kamada. Y, Koike. T. Detection of noncarboxymethyllysine and carboxymethyllysine advanced glycation end products in serum of diabetic patients. Mol. Med. 5:393-405, 1999

Yamauchi A, Takei I, Makita Z, Saruta T. Effects of aminoguanidine on diabetic nephropathy in the OLETF rat, Obesity and NIDDM: Lessons from OLETF Rat, K. Shima Editor. Elsevier Science B. V., 215-221, 1999

牧田善二：糖化、KEY WORD 1998-2000 高脂血症・動脈硬化 134—135、1998

牧田善二：AGE、糖尿病学の進歩'99（日本糖尿病学会編）診断と治療社、東京、199—202、1999

曾根真由美、牧田善二：経口血糖降下薬二次無効へのアプローチ、医学のあゆみ、188：516—517、1999

三好秀明、柳沢克之、牧田善二：壊疽、治療 81：98—104、