

持久運動による若年期からの肥満予防— 糖化・酸化ストレスと最終糖化産物 (AGE) との関連

大阪市立大学 吉川 貴 仁
(共同研究者) 同 藤本 繁 夫
同 塩野 祐 也
同 中 雄 勇 人

Association of Advanced Glycation End-products (AGEs) in Blood with Amount of Body Fat, Glucose and Lipid Metabolism in Obese Young Subjects

by

Takahiro Yoshikawa, Shigeo Fujimoto,
Yuya Shiono, Hayato Nakao
Osaka City University Graduate School of Medicine

ABSTRACT

The present study was designed to investigate the association of serum advanced glycation end-products (AGEs) with body fat, glucose and lipid metabolism in obese young subjects and to examine the effects of instruction in improvement in diet and physical activity on the formation and accumulation of serum AGEs in 6 months. Forty-six young obese students (21 ± 3.0 yr, body weight: 83.2 ± 18.1 kg, BMI: 28.9 ± 5.4 kg/m², body fat: 23.5 ± 10.4 kg) were recruited into the present study. Serum total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, fasting glucose, insulin, adiponectin, leptin and reactive oxygen metabolite (ROMs) levels were determined in all participants. Insulin resistance was assessed using Homeostasis Model Assessment (HOMA) -index. AGEs (3-DG, Pentosidine, and CML) were also evaluated in plasma by immunoassay. Six months after instruction, the measurement was repeated. Positive correlations of serum CML levels with HOMA-index ($p=0.029$) and with reactive oxygen metabolite levels ($p=0.005$) were

observed. Six months after instruction, body weight, BMI, body fat, fasting glucose, plasma ROMs were significantly reduced in subjects who could be followed up (n=8). Especially, positive correlations of decrease in CML levels with decrease in %body fat (p=0.007) were observed. These data indicate the presence of formation of circulating AGEs associated with latent insulin resistance and systemic oxidative stress in young obese adolescents without evident diabetes. And, in an early stage of life in obese subjects, life style modification (healthy diet and exercise training) might result in reduction in circulating AGEs formation accompanied with improvement in body composition and insulin resistance, possibly leading to prevention of the development of arteriosclerosis.

要 旨

46名の若年肥満学生 (21 ± 3.0 歳, 体重: 83.2 ± 18.1kg, BMI: 28.9 ± 5.4 kg/m², 体脂肪量: 23.5 ± 10.4kg) に対して, Advanced glycation end-products (AGEs) 成分 (3-デオキシグルコソン (3-DG), ペントシジン, カルボキシメチルリジン (CML)) と, 体組成や糖脂質代謝, アディポサイトカイン (アディポネクチン, レプチン), 活性酸素との関連を検討した. さらに, 運動・栄養指導6ヶ月後の体組成の変化や AGEs 成分を含めた動脈硬化への影響について検討した. 血清 CML 濃度はインスリン感受性の指数や活性酸素量と正の相関を示した. 指導の6ヶ月後には, 体重, BMI, 体脂肪, 空腹時血糖, 活性酸素量に有意な減少が認められる一方, 血清 CML 濃度に関しては全体に減少傾向が認められた. また, 血清 CML 濃度の減少量と体脂肪率の減少程度との間に有意な相関を認めた (p=0.007). 以上より, 若年肥満者では, AGEs 成分がインスリン抵抗性や活性酸素量に応じて形成・蓄積される一方, 減量やインスリン抵抗性の改善に伴いその蓄積も軽減されることが示唆された.

緒 言

わが国では, 虚血性心疾患, 脳血管疾患などの

動脈硬化性疾患が死亡原因の第2位, 第3位にあり, 医療費や介護保険の財政に大きな負担となっている. その危険因子には加齢, 喫煙のほか, 肥満, 高血圧, 高脂血症, 糖尿病などがあり, 内臓肥満から由来するアディポサイトカインの分泌異常や糖化・酸化ストレスが, インスリン抵抗性や血管内皮に障害を及ぼすメカニズムが報告されている.

このような動脈硬化に関する研究のなかで, 最近, 糖尿病による動脈合併症に関与する重要な物質として, 3-デオキシグルコソン (3-DG), ペントシジン, カルボキシメチルリジン (CML), メチルグリオキサール (MG), メイラード反応物 X (MRX) などの Advanced glycation end product (以下, AGEs) が注目されてきている^{1,2)}. これらの物質群は, 還元糖 (グルコースやアルデヒド, ケトン体) とアミノ基 (タンパク質, 脂質, 核酸など) が非酵素的反応 (メイラード反応³⁾) を起こしてできるもので, 主に高血糖や酸化ストレスが関与し, 血管内皮や平滑筋組織などに徐々に蓄積される. その結果として動脈硬化が進展する過程が推測されている. 肥満では生体内に耐糖能異常・酸化ストレスのような条件が重なるため, これらの物質が蓄積するように働くと考えられる. 一方 AGEs 成分は内的環境のみならず, 牛乳の加熱殺菌やベーカリー製品, コーヒー焙煎など加熱

加工を経た食品の生成過程でも形成され、食事の際に体内に取り込まれる⁴⁾。動脈硬化と関連する AGEs 成分が、もし若年期から生体に蓄積され始めるならば、その個人の将来を考えると、すでに発病している患者群と同様（あるいはそれ以上に）深刻な問題になる。このような AGEs 蓄積予備群と予想される若年者を早期に発見して、運動と食事両面からその蓄積を防ぐことは動脈硬化進展の初期予防に重要である。

以上の学術的背景を元に、今回われわれは、腹部肥満者を中心に広く一般若年者を対象者として、AGEs 成分の生体内での形成・蓄積動態を含めた動脈硬化進展のプロセスを解析する。次に、これらの対象者に運動・栄養指導を行い、上記成分に関する変化と若年期以後の動脈硬化の進展に影響を与える可能性について検討した。

1. 方法

1.1 対象

対象は、大阪市立大学に所属する学生の中から、若年肥満者を中心に当大学保健管理センターでの運動指導・栄養指導を勧め、これを希望した46名（21 ± 3.0歳、体重：83.2 ± 18.1kg、BMI：28.9 ± 5.4kg/m²、体脂肪量：23.5 ± 10.4kg、男性38人、女性8人）である。肥満の判定は日本肥満学会の判定基準を用いて、BMI25.0kg/m²以上をもって肥満と判断した。本研究の対象には、高血圧、心疾患等の循環器疾患を有する者は含まれておらず、何らかの薬物療法を実施していないことも確認した。また、定期的な運動や喫煙習慣を有する者も除外した。全対象者に対して6ヶ月間の経過観察をするためにこの間2～3ヶ月ごとの来所を促したが、46名（男子38名、女子8名）のうち6ヶ月後まで確実に経過観察できたのはわずか8名（男子7名、女子1名）のみであった。経過観察できなかった理由の多くは、アルバイト・学業が忙しいので来所が難しいケースや連絡が取

れなくなるケースが大半であった。

本研究の内容は大阪市立大学医学研究科の倫理委員会の承認（承認番号：1135）を得ており、各対象者にも事前に検査の内容、プログラムの主旨、安全性について十分な説明を行った上で同意を得た。

1.2 指導・経過観察の流れ

1.2.1 測定項目

初めに、全対象者46名に対して身体組成・血液成分の測定を行った。身体組成（体重、BMI、体脂肪率、体脂肪量、筋肉量）を測定し、血清生化学成分（総コレステロール、HDLコレステロール、トリグリセリド、グルコース）、血清内分泌成分（インスリン、アディポネクチン、レプチン）、インスリン抵抗性（Homeostasis model assessment；HOMA 指数）、血清活性酸素濃度（d-ROM；diacron-reactive oxygen metabolites）および血清 AGEs 成分（3-DG、ペントシジン、CML）の検査を実施した。

身体組成の測定は12電極法を用いたインピーダンス法⁵⁾（In body3.0；Biospace）にて行った。血液成分検査のための採血は、前夜から12時間以上の絶食期間をおいて行った。採取した血液は3000rpm × 10分の遠心分離にして血清を取り出した後、直ちに-80℃で凍結保存した後に測定に供した。基本的な糖脂質代謝マーカーとして、空腹時血糖（電極法、JCA-BM12、JEOL.）、インスリン（RIA固相法、Insulin Riabeads II；Abbot Japan）、中性脂肪、総コレステロール（共に酵素法）、HDLコレステロール（直接法、日立7450自動分析装置、HITACHI）を測定した。また、空腹時のインスリンおよびグルコースレベルからインスリン抵抗性の指標である HOMA 指数を $\text{fasting plasma glucose (mg/dl)} \times \text{fasting plasma insulin } (\mu\text{U/ml}) / 405$ の式より算出した⁶⁾。さらに、HbA1c は全血を用いてラテックス凝集法に

より測定した。血液アディポサイトカインのマーカーとして、血清アディポネクチン、レプチン濃度をいずれも ELISA 法にて測定した。

血中の活性酸素は、生体内の活性酸素やフリーラジカルにより酸化反応を受けた脂質・タンパク質・アミノ酸・核酸などの総ヒドロキシペルオキシド群 (ROOH) の濃度を酸化呈色反応により測定することで評価した⁷⁾。一般成人の血清の d-ROM の基準値は、240 UCARR 以下である。

血液 AGEs のマーカーとして、血清 3-DG, CML, Pentosidine 濃度を測定した。血清 3-DG 濃度は、血清検体を 2,3-Diaminonaphthalene (DAN) と反応させ、生じた 3-DG-DAN 複合体を HPLC 法で測定した⁸⁾。また、血清 CML および Pentosidine 濃度は、Pentosidine, CML に対する特異的ポリクローナル抗体を用いた酵素免疫法で測定した^{9~11)}。なお、これまでの報告によると、一般成人の血清を同様の方法で測定した結果、AGEs 成分濃度の基準値は、3-DG が 3.76 ~ 18.14 ng/ml, CML が 2.65 ~ 6.23 μg/ml, Pentosidine が 24.1 ~ 113.7 pmol/ml である。

1. 2. 2 指導方法

運動指導は、当大学の運動生体医学教室に所属する、運動指導に精通した大学院生により行った。まず、各被験者はライフコーダー (スズケン) を 2 週間腰部に装着した。起床時から入浴時を除く就寝まで常に装着するように指示した。この観察期間中に蓄積されたデータから平均運動量 (kcal), 歩数, 総消費量 (kcal) を算出した。このデータをもとに各被験者に日常の運動量を増すように (目標歩数; 10,000 万歩, 目標運動量 300kcal) 指導した。

栄養指導は、栄養学に関する知識に通じた当大学保健管理センターの看護師により行われた。まず、被験者の学生に対して食事内容に関する日記を配り、3~7 日間にわたり具体的に摂取した食

事内容を記載してもらった。次に、そのデータを栄養解析ソフト (エクセル栄養君 Ver.4.0 (建帛社)) に入力し、各被験者の平均の一日栄養摂取量, 栄養素摂取比率, 食品群別摂取量などを求めた。その上で、摂取エネルギーの過多や摂取栄養素の偏りなどを把握して、それを是正するように各被験者に具体的な指導を行った。なお、食事成分中に存在する AGEs 成分は、種々の食品に広く存在し、学生に具体的な食事制限を行うのは困難であったため、今回の研究では AGEs 成分の摂取の制限に関する指導は行わなかった。

1. 2. 3 指導経過での評価

上記指導を導入した後は、特に呼び出しや中間評価はせず、日常の学生各自の自主的な努力にまかされた (図 1)。6 ヶ月後、被験者 46 名のうち确实

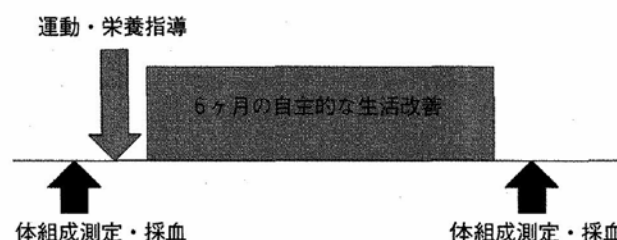


図 1 The scheme of the present study

に経過観察できた 8 名に対して、再度、上記の測定項目を評価し、指導後の経過に伴う各測定項目の変化について検討を加えた。

1. 3 統計処理

全ての値は平均±標準偏差で示した。指導前後の変化については paired-t test を用いて検討した。また、各パラメーター間の相関関係については Pearson's correlation coefficient test を用いた。いずれも $p < 0.05$ を有意とした。

2. 結果

2. 1 指導前評価

運動・栄養指導前の値を表 1a および 1b に示し

表1a Clinical and laboratory characteristics and simple regression analysis with serum CML levels

	Value	Simple regression	
		r	P
n	46		
Age (years)	21 ± 3	0.087	NS
Height (cm)	169.2 ± 7.5	-	-
Weight (kg)	83.2 ± 18.1	0.063	NS
BMI (kg/m ²)	28.9 ± 5.4	0.055	NS
Percentage of fat (%)	27.4 ± 8.0	0.059	NS
Fat mass (kg)	23.5 ± 10.4	0.063	NS
T-cho (mg/dl)	173.3 ± 32.2	0.099	NS
HDL-cho (mg/dl)	46.8 ± 12.3	0.123	NS
TG (mg/dl)	93.9 ± 38.0	0.254	NS
Glucose (mg/dl)	94.0 ± 12.3	0.105	NS
HbA1c (%)	4.7 ± 0.3	0.031	NS
Insulin (μU/ml)	10.4 ± 7.3	0.288	0.05
HOMA	2.5 ± 1.8	0.302	<0.05
Adiponectin (μg/ml)	7.1 ± 2.6	0.3	<0.05
Leptin (ng/ml)	8.3 ± 6.9	0.135	NS
d-ROM (UCARR)	241 ± 49.2	0.519	<0.001
3-DG (ng/ml)	15.0 ± 4.7	0.422	<0.01
Pentosidine (pmol/ml)	58.8 ± 13.4	0.089	NS
CML (μg/ml)	5.5 ± 1.9	-	-

Data are presented as mean ± SD, BMI; body mass index, T-cho; total cholesterol, TG; triglyceride, HDL-cho; high-density lipoprotein cholesterol, HOMA homeostasis model assessment, d-ROM; Derivatives of reactive oxygen metabolites, 3-DG; 3-deoxyglucosone, CML; carboxymethyllysine

表1b Multiple regression analysis between serum CML levels and other parameters (d-ROM, HOMA and 3-DG)

	Adjusted for daily steps	
	β	P
d-ROM (UCARR)	0.371	0.005
HOMA	0.274	0.029
3-DG (ng/ml)	-0.36	0.006

β : standardized partial regression coefficient

た。血清 AGEs 成分濃度は、3-DG は平均 15 ± 4.7ng/ml で、46 例中 14 例は上記基準値より高値を示した。血清 CML では、平均 5.5 ± 1.9 μg/ml で 9 例が上記基準値よりも高値を示したが、血清 Pentosidine は 58.8 ± 13.4pmol/ml と正常域にとどまった。血清 CML 濃度はインスリン、HOMA、アディポネクチン濃度、d-ROM および 3-DG 濃度と有意な相関を示した (表 1a)。これらの因子に関して重回帰分析を行ったところ、血清 CML 濃度には HOMA (p=0.029), d-ROM (p=0.005), 3DG (p=0.006) が関係していた (表 1b)。なお、

血清 Pentosidine や 3-DG 濃度はいずれの指標とも相関関係を認めなかった。

2. 2 6ヶ月の経過後評価

指導 6ヶ月後に再評価できた 8 名に関して解析を行った。6ヶ月の前後の各指標の変化を表 2 に

表 2 Changes in each measurement parameter of subjects during 6 months instruction

	Value		
	before	after	P
n	8		
Weight (kg)	86.3 ± 12.8	83.7 ± 11.2	<0.05
BMI (kg/m ²)	30.2 ± 3.6	29.3 ± 2.9	<0.05
Percentage of fat (%)	29.1 ± 6.1	27.9 ± 5.8	<0.05
Fat mass (kg)	25.2 ± 6.9	23.3 ± 5.6	<0.05
T-cho (mg/dl)	173.0 ± 25.4	173.1 ± 23.4	NS
HDL-cho (mg/dl)	46.3 ± 7.2	48.1 ± 9.9	NS
TG (mg/dl)	94.5 ± 29.6	91.9 ± 30.7	NS
Glucose (mg/dl)	96.8 ± 5.4	82.4 ± 5.3	<0.001
HbA1c (%)	4.8 ± 0.2	4.9 ± 0.2	NS
Insulin (μU/ml)	11.9 ± 8.6	8.6 ± 4.6	NS
HOMA	2.8 ± 2.1	1.7 ± 0.9	NS
Adiponectin (μg/ml)	6.1 ± 1.3	6.2 ± 1.3	NS
Leptin (ng/ml)	9.3 ± 4.3	8.6 ± 3.9	NS
d-ROM (UCARR)	266 ± 54.6	239 ± 46.8	<0.05
3-DG (ng/ml)	11.3 ± 2.0	11.7 ± 4.3	NS
Pentosidine (pmol/ml)	60.0 ± 18.5	49.0 ± 10.8	NS
CML (μg/ml)	6.5 ± 3.3	5.1 ± 1.4	NS

Age values are described as mean ± SD

示した。この 8 例に関して血清 AGEs 成分濃度は、CML 高値の 2 例を除き、いずれも基準値の範囲内であった。体重、BMI、体脂肪率、体脂肪量、空腹時血糖および d-ROM は改善傾向を示した。また、血清 AGEs 成分の変化に関しては、3-DG で増加 4 例/減少 4 例、Pentosidine で増加 3 例/減少 5 例、CML で増加 2 例/減少 6 例と全体に有意な変化を認めなかった (図 2a-2c)。一方、変化量間の相関を見ると、Δ体脂肪率と ΔCML には有意な相関を認めた (p=0.007) (図 3)。すなわち、体脂肪率の減少が大きいほど、CML 濃度がより低下した。

3. 考 察

若年肥満者の身体組成や糖脂質代謝と血清

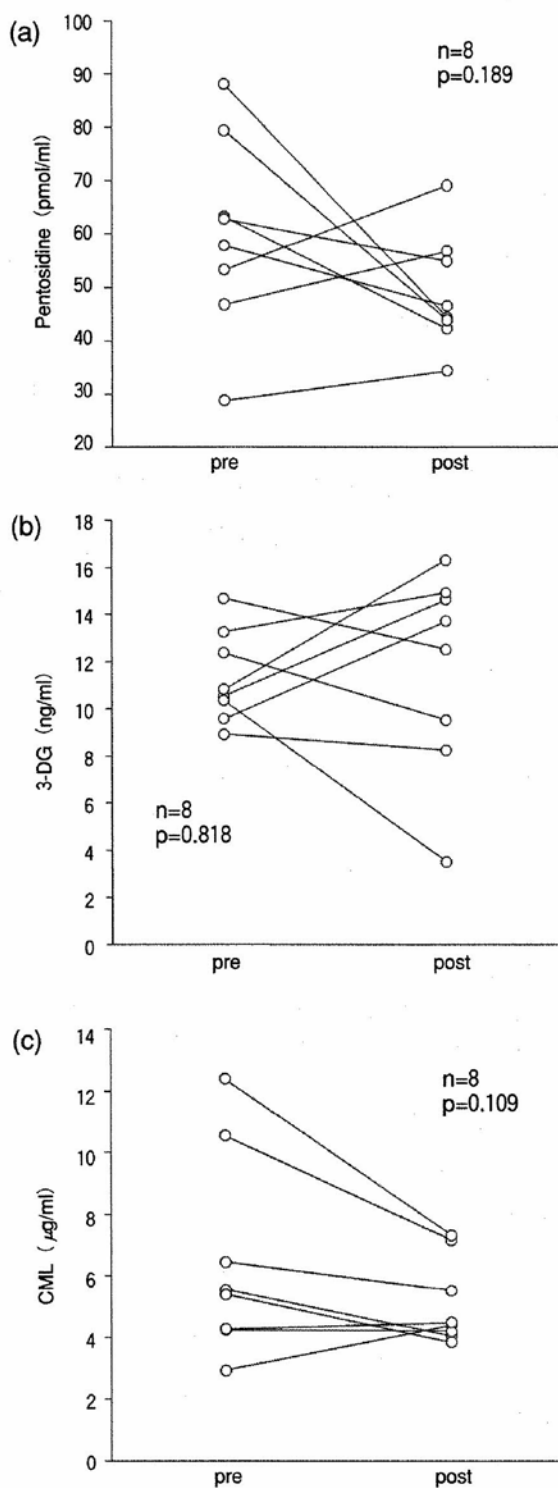


図2 Changes in serum Pentosidine (a), 3-DG (b) and CML (c) levels before and after 6 months instruction

AGEs成分の関連について、運動・栄養指導による変化を含めて検討し、以下の結果が得られた。まず、指導前では、血清AGEs成分の中でもCML濃度は、単回帰分析でインスリン濃度 ($p=0.05$) やHOMA指数 ($p<0.05$) などのインス

デサントスポーツ科学 Vol. 29

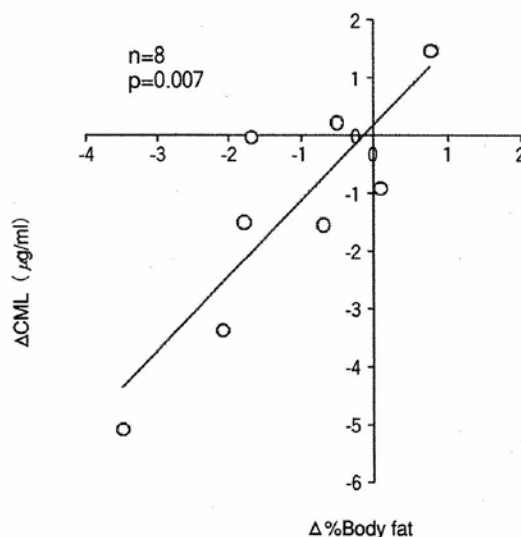


図3 Correlation between changes in serum CML levels and changes in % body fat mass in all subjects ($n=8$)

リン抵抗性の指標、アディポネクチン濃度 ($p<0.05$) や活性酸素 (d-ROM) ($p<0.001$) と正の相関を示した。次に、運動・栄養指導後の経過では、体重、BMI、体脂肪、空腹時血糖および活性酸素 (d-ROM) に有意な減少が認められたが、血清CMLに関しては減少する症例が相対的に多かった (CML ; $p=0.109$)。また、各指標の変化量で検討すると、血清CML濃度の低下量と体脂肪率の減少量の間有意な相関を認めた ($p=0.007$; 体脂肪率減少量)。

AGEs成分に関する研究はこれまで、進行性の糖尿病合併症に関するものが多く報告されてきている。血管合併症を有するような中高年の糖尿病患者において、高血糖や酸化ストレスが長年持続すると、これらのAGEs成分が組織や血液中に蓄積していくことは容易に想像される。しかし、若年の成人肥満者においてAGEs成分の検討がなされたことはわれわれの知る限りない。体内に存在するAGEs成分の蓄積は、内的な要因 (体内でのAGEs成分の新規形成) と外的な要因 (食事からのAGEs成分の摂取) から由来する。今回の結果から、糖尿病患者に限らず若年肥満者であっても、血清AGEs成分、特に血清CML値が高値の症例が認められ、さらにCMLの形成にはインスリン

抵抗性や酸化ストレスなどの身体の内的環境が影響していることが示された (表 1a,1b)。すなわち、若年肥満者では内的環境に応じて早期からすでに生体内の AGEs 成分形成に至る糖化・酸化反応が始まっている可能性が示唆された。

さらに、今回の運動・栄養指導導入による6ヶ月間の体重・体脂肪減少をはじめとする内的・外的環境の変化に伴って、生体内の AGEs 成分量が正常範囲内ではあるが減少する症例が認められ、さらには6ヶ月間の血清 CML 濃度の減少量に対して体脂肪の減少量と相関したことは、体脂肪のような内的環境の改善が大きいほどより血清 CML 形成・蓄積を減少させる可能性を示唆している。近年、肥満やメタボリック症候群の発症が若年化していることが報告されている。今回の結果は、運動と食事介入を行うことによりメタボリック症候群および血管合併症への進展を AGE 蓄積の観点から予防し得る可能性を示唆している。このような若年肥満者を対象にした予防医学の面でも大変興味深いと思われる。

本研究を始めるにあたり、大学生の中から肥満者を中心に当大学保健管理センターでの運動指導・栄養指導を呼びかけたところ、当初46例の参加があったが、その後6ヶ月間に正確に全データをフォローアップできたのは8例のみであった。対象者が観察期間に減少した理由としては、主にアルバイトや学業が忙しいことや、連絡がとれなくなることが大半であった。今回報告した体組成、糖脂質代謝および AGEs の変化に関する結果は、6ヶ月後の診察に来所した学生のデータのみを基にしたため、来所しなかった学生と比べて運動や栄養面でその改善度合いに差がある (来所した学生のほうが指導に対して熱心に取り組んだ) 可能性は否めない。

また、本研究では、普段の食品からの AGEs 成分の正確な定量が現状ではまだ困難なため栄養指導の中で食事内容の AGEs 成分の変更・回避は指

示しなかったこともあり、外的な要因の排除が個々の症例で一様ではなかった。今後、症例数を増やすことや食事内容の厳格なコントロールなどを行い、さらに詳細な検討が必要であると思われる。

今回の検討では CML, Pentosidine, 3-DG を測定したが、これまでにカルボキシエチルリジン (CEL), カルボキシメチルアルギニン (CMA), グリオキサール (GO), メチルグリオキサール (MG), イミダゾロン, ピラリン, クロスリンなどの多数の AGEs 関連分子が同定されている。これらの生体内での生成過程はいまだ不明な点も多いが、今回の研究と同様に糖化・酸化の過程が密接に関わっており、今回のような症例でも何らかの変化が生じている可能性はある。よって、今後これらの多くの分子群の若年肥満者における検討も必要であると思われる。

今回測定した AGEs 成分濃度は、血液中の種々のタンパク質分子構造内のアミノ残基に付加された AGEs 成分 (糖鎖) を定量したものだが、これらの成分は血液内のみならず血管および血管外組織中の細胞内外のタンパク質に付加されたり、多くの細胞表面に存在する AGEs 分子に特異的な受容体 (Receptor for AGEs (RAGE)¹²), スカベンジャー受容体クラス A (SR-A), CD36 など) に結合し細胞内にシグナルを伝達したりすることが報告されており、細胞内外の構成要素の機能に生化学的・生理学的な種々の影響を与えると考えられている。今回のような若年肥満者においてインスリン感受性の減少や活性酸素の増加を背景に認められる AGEs 蓄積が生体に何らかの影響をすでに与え始めているか (あるいは若年期はただ蓄積し始めているのみなのか)、今後の検討が必要である。また、生体内で形成されて一旦血液中に存在した AGEs 成分 (濃度) が減少するメカニズムに関しては、組織への蓄積や腎臓よりの排泄などが考えられるが、現在のところ AGEs 成分の詳し

い動態は、消化管からの吸収経路も含めてまだ不明な点も多い。今後の生化学的・生理学的な解明が待たれる。

4. まとめ

若年肥満者を対象に、血清中の AGEs 成分を身体組成や糖脂質代謝の関係について、運動・栄養指導による6ヶ月間の変化を含めて検討したところ、AGEs 成分の中でも血清 CML 濃度はインスリン感受性、アディポネクチン濃度や活性酸素量と相関し、指導により体脂肪量の減量に伴う血清 CML の体内蓄積の軽減が認められた。若年期からの肥満解消への取り組みが AGEs 蓄積軽減を通して将来への動脈硬化の予防に繋がりうる可能性が示唆された。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、研究助成を賜りました財団法人石本記念デサントスポーツ科学振興財団に厚くお礼を申し上げます。また、研究に快く参加して頂いた対象者の皆様、検査に協力して頂いた大阪市立大学大学院の上田真也さん、鈴木崇士さん、桂良寛さん、大阪市立大学保健管理センターの方々にも深謝いたします。

文 献

- 1) Brownlee M., Cerami A., Vlassara H. Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N. Engl. J. Med.*, 318: 1315-21 (1988)
- 2) Vlassara H., Bucala R., Striker L. Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging. *Lab. Invest.*, 70: 138-51 (1994)
- 3) Maillard L.C. Action des acides amines sur les sucres: formation des melanoidines par voie methodique. *C.R. Acad. Sci.*, 154: 66-8 (1912)
- 4) Kaanane A., Labuza T.P.. The Maillard reaction in foods. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 304: 301-27 (1989)
- 5) Segal K.R., Gutin B., Presta E., Wang J., Van Itallie T.B. Estimation of human body composition by electrical impedance methods: a comparative study. *J. Appl. Physiol.*, 58: 1565-71 (1985)
- 6) Matthews D.R., Hosker J.P., Rudenski A.S., Naylor B.A., Treacher D.F., Turner R.C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.*, 28: 412-9 (1985)
- 7) Cesarone M.R., Belcaro G., Carratelli M., Cornelli U., De Sanctis M.T., Incandela L., Barsotti A., Terranova R., Nicolaidis A. A simple test to monitor oxidative stress. *Int. Angiol.*, 18: 127-30 (1999)
- 8) Yamada H., Miyata S., Igaki N., Yatabe H., Miyauchi Y., Ohara T., Sakai M., Shoda H., Oimomi M., Kasuga M. Increase in 3-deoxyglucosone levels in diabetic rat plasma. Specific in vivo determination of intermediate in advanced Maillard reaction. *J. Biol. Chem.*, 269: 20275-80 (1994)
- 9) Taneda S., Monnier V.M. ELISA of pentosidine, an advanced glycation end product, in biological specimens. *Clin. Chem.*, Sep;40 (9) :1766-73 (1994)
- 10) Nagai R., Ikeda K., Higashi T., Sano H., Jinnouchi Y., Araki T., Horiuchi S. Hydroxyl radical mediates N epsilon- (carboxymethyl) lysine formation from Amadori product. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 234 : 167-72 (1997)
- 11) Takeuchi M., Makita Z., Yanagisawa K., Kameda Y., Koike T. Detection of noncarboxymethyllysine and carboxymethyllysine advanced glycation end products (AGE) in serum of diabetic patients. *Mol. Med.*, 5: 393-405 (1999)
- 12) Neeper M., Schmidt A.M., Brett J., Yan S.D., Wang F., Pan Y.C., Elliston K., Stern D., Shaw A. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J. Biol. Chem.*, 267:14998-5004 (1992)