

グリケーションと白内障

The relationship between cataracts and glycation

橋本浩隆^{1,2*}・新井清美²・筑田 眞²・小原喜隆³

Hiroataka HASHIMOTO^{1,2*}・Kiyomi ARAI²・Makoto CHIKUDA²・Yoshitaka OBARA³

【要約】 白内障とグリケーションの関連について、グリケーションにかかわる諸反応とともに筆者らの研究成績を含めて以下の6項目に分け概説した。①グリケーション概説および水晶体への関与、②グリケーションと抗酸化物質、③AGEによる架橋形成と抗グリケーション物質および自発蛍光、④ポリオール経路、非経路のフルクトースとグリケーション、⑤膜の変化とグリケーション、⑥水晶体周囲環境(体内)の変化とグリケーション、以上6項である。

今後、糖尿病合併症の病因・病態の解明がさらに進むことによって種々の発症要因が系統的に解明されれば、その経路を効率よく抑制することにより合併症を最小にできるようになる可能性がある。

【キーワード】 白内障、グリケーション、カルボニルストレス、終末糖化産物、脂質過酸化最終産物

【Abstract】 By referring to the various reactions involved in glycation, as well as our research findings, we give an overview in this article of the relationship between cataracts and glycation. We divide the topic into six sections: a summary of glycooxidation and its effects on the lens; glycooxidation and antioxidative substances; crosslink formation by advanced glycation endproducts (AGEs), anti-glycation substances, and autofluorescence; polyol pathway and glycation; changes occurring in the membrane and glycation, and; changes in the environment around the lens and glycation. If the various factors responsible for the development of diabetic complications were to be clarified through the elucidation of the etiology and pathology of those conditions, there is the potential that such complications could be minimized by effectively inhibiting the developmental pathways.

【Keywords】 Cataract, Glycation, Carbonyl stress, Advanced glycation endproducts, Advanced lipoxidation end products

緒言

白内障の原因として考えられている生化学的变化は、膜の異常、代謝異常、過酸化反応(酸化ストレス)によるものとして大別される。今回の主題となるグリケーションは糖尿病と関連が深い代謝経路の一つであるが、ポリオール代謝異常とともに酸化ストレスや膜の異常など相互に関与し、加齢変化との関係も大きいことが近年明らかとされている^{1,2)}。グリケーションにかかわる諸反応と

1 つくば橋本眼科 Tsukuba Hashimoto Optical Clinic
 2 獨協医科大学越谷病院眼科 Department of Ophthalmology, Koshigaya Hospital, Dokkyo University School of Medicine
 3 国際医療福祉大学視機能療法学科 Department of Orthoptics and Visual Science, International University of Health and Welfare

*別刷請求先: 305-0021 茨城県つくば市古来530
 つくば橋本眼科 橋本浩隆
 (2009年10月17日受理)

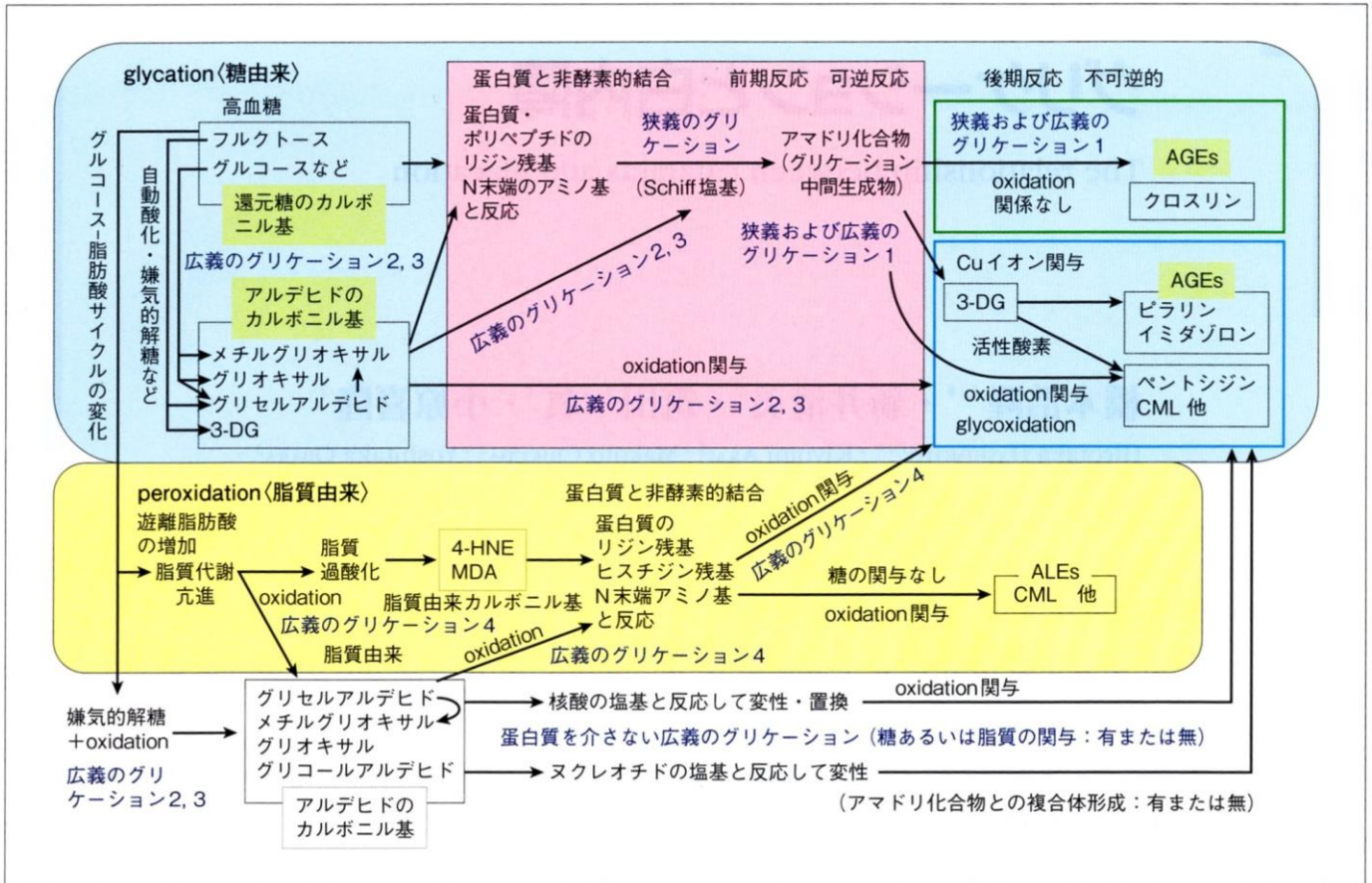


図1 生体内でのAGEs, ALEs形成過程<内因性カルボニルストレス>

ともに、白内障とグリケーションの関連について筆者らの研究成績を含め概説する。

1. グリケーション概説および水晶体への関与(図1,2)

1) 前期反応

グリケーション glycation は医学領域に先立って食品化学の領域にて1912年にフランスのMaillard(メイラード)が発表していることからMaillard反応とも呼ばれている。生体外でのグリケーション(外因性)のうち、食品中の代表的なグリケーション生成物質のチョコレートやビールの黄金色、肉や魚の加熱処理など高温化による蛋白質の変性・褐色化など独特な味、香り、色の変化をきたす反応がMaillard反応である。生体内でのグリケーション(内因性)は、体温が一定のため、温度変化は関与せず、血糖の濃度的関係やその(高血糖)持続時間が反応の誘引・促進因子となる。Maillard反応は、現在ではアミノカルボニル反応と同義とされており、グリケーションは、蛋白質の特定のアミノ基(リジン残基、N末端のアミノ基)と、還元糖などのカルボニル基(アルデヒド基

またはケト基)との間で酵素的反応を介さずに結合反応を起こす非酵素的糖化反応とも呼ばれている。

グリケーションの初期段階(前期反応)は、上述のように還元糖やその他の糖の分解で生じるカルボニル化合物のカルボニル基が、蛋白質の特定のアミノ基に非酵素的に結合し、Schiff塩基であるアルジミンを形成してアマドリ転換し、ケトアミンであるアマドリ化合物を形成するなどの一連の可逆的な反応で、それ以降の後期反応とは区別されている。

検査データとして臨床応用されているグリケーションの初期反応物質には、赤血球のヘモグロビンβ鎖のアミノ基がグリケーションされたグリコヘモグロビン(HbA_{1c}など)や、血清蛋白質のグリケーションであるフルクトサミンやグリコアルブミンなどの糖化蛋白質がよく知られている。糖と反応する蛋白質の生体内における存在期間の違いによって、血糖値を反映する期間がそれぞれ異なり、HbA_{1c}は1~3ヵ月、フルクトサミンやグリコアルブミンは1~2週間の血糖コントロール状況を反映する。我々のデータでは、白内障水晶体中のフルクトサミン(前期反応物質)値を糖尿病患者と非糖尿病患者で比較すると、

糖尿病患者で高い傾向(非糖尿病患者×1.24)があった。

2) 後期反応から AGEs (advanced glycation end products), ALEs (advanced lipoxidation end products)

糖尿病によって(正常な状態より)長期間高血糖に曝された蛋白質は、さらに脱水、転移反応を繰り返しながら架橋を形成し、非酵素的糖化反応の終末糖化産物(AGEs)に変化し、コラーゲンやレンズクリスタリンなど半減期が長い蛋白質に蓄積され組織の弾性や性質を変化させる(直接的障害)。図1のごとく AGEs の産生過程は、従来から述べられているこのようなグルコースやフルクトースなど還元糖のアルデヒド基による Maillard 反応全体を介する狭義のグリケーションから AGEs が産生される場合のほかに、広義のグリケーションとして Maillard 反応前期の反応中間体のアマドリ化合物などから短縮経路で AGEs が産生される場合(広義のグリケーション1)、Maillard 反応を介さない場合として以下の3経路の AGEs 前駆体があり、解糖系やフルクトース代謝の中間体(広義のグリケーション2)、還元糖の自動酸化から生成されるアルデヒドなど(広義のグリケーション3)、脂質の過酸化反応から生成されるアルデヒドなど(広義のグリケーション4)、これらが蛋白質に非酵素的に反応して AGEs を生成する場合も含めて広義のグリケーションが提唱されている³⁾。狭義、広義どちらのグリケーションも、蛋白質との反応部位はアルデヒド基(H-C=O)内部のカルボニル部分(C=O)であるため、このアミノカルボニル反応による AGEs の産生はカルボニルストレスとも呼ばれている⁴⁾。特に、2つのカルボニル基をもつジカルボニル化合物のうち、アルデヒド基とカルボニル基が隣接する化合物の α -オキソアルデヒドである、3-デオキシグルコソン(3-DG)、グリオキサール、メチルグリオキサール(MG)は反応性の高いアルデヒドで、カルボニルストレスを亢進させるといわれている。広義のグリケーション2に相当する解糖系由来のグリコールアルデヒド(GA)やグリセルアルデヒドなど、 α -ヒドロキシアルデヒドはカルボニル基と水酸基を有し、 α -オキソアルデヒドのジカルボニル化合物よりさらに蛋白質との反応性が高いとも報告されており^{5,6)}、グリセルアルデヒドなど三単糖の代謝からは oxidation 条件下(還元型グルタチオン(GSH)、NADPH、グリオキサラーゼ活性の低下時)では MG も産生される。特に嫌氣的解糖が進んでいる水晶体では、この広義のグリケーション2の影響は無視できない。

広義のグリケーション1のグリケーションの中間生成

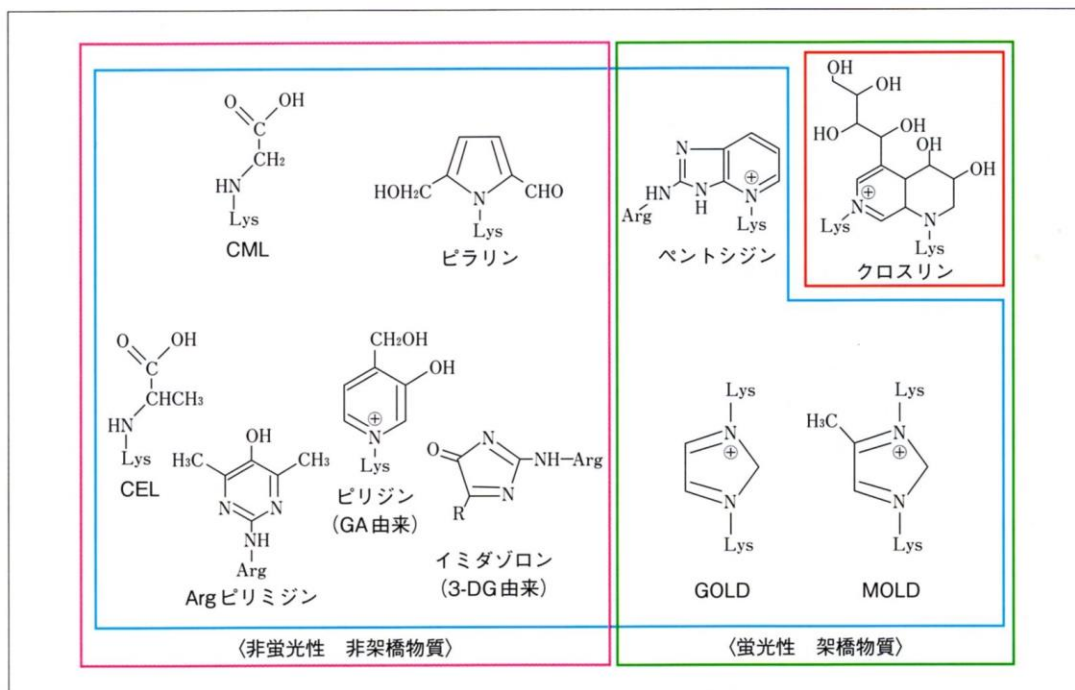
物のアマドリ化合物からの後期反応経路の代表的な一例として、3-DG が形成され、その3-DG が非酵素的に蛋白質と反応し、種々の AGEs が形成される。このアマドリ化合物からの3-DGの形成過程には Cu イオン存在下での過酸化反応(oxidation)が関与して進行するグリケーションであることが知られている。グリケーションに oxidation が関与する場合と関与しない場合があり、関与する場合を特別に glycoxidation (グリコキシデーション)という^{7,8)}。3-DG は、前述の広義のグリケーション3のアマドリ化合物を介さないグルコースやフルクトースなど還元糖の自動酸化によっても生成される。また、アマドリ化合物を分解して3-DGの産生を抑制するアマドリアーゼという酵素は、高血糖時に活性が抑制されることも知られている⁶⁾。その他の α -オキソアルデヒドのグリオキサールや MG なども、グルコースの自動酸化(広義のグリケーション3)からも生じる。特に MG は、糖尿病患者などでは oxidation 条件下の GSH、NADPH の不足時にはグリオキサラーゼによる D-乳酸への解毒が進みづらく、さらに MG はグリオキサラーゼ自身も不活化させるため、より解毒されづらくなる。これらのジカルボニル化合物が AGE 前駆体として反応し、アマドリ化合物を介さない広義のグリケーション2および3の AGEs 生成系があることも近年報告されている⁹⁾。この糖由来のジカルボニル化合物による AGE の形成は、過酸化反応が介在する glycoxidation で亢進するといわれている。

一方、広義のグリケーション4の脂質からは、糖を介さない系として、脂質過酸化過程およびその分解物など脂質過酸化由来のアルデヒドである4-ヒドロキシノネナール(HNE)やマロンジアルデヒド(MDA)、脂質代謝過程からグリセルアルデヒドや、そのグリセルアルデヒド代謝で産生される MG などや、脂質由来の有毒なアルデヒドであるカルボニル化合物が過酸化反応により形成され、さらなる過酸化反応で蛋白質との非酵素的な反応が亢進して全く糖を介さない脂質過酸化反応経路のみでも AGEs を産生し、その他、脂質過酸化最終産物(ALEs)の形成も促進される。MG、HNE、アクロレインなどはモノアミノキシダーゼ経路で酸化ストレス亢進により生成すると考えられており、そのため、このカルボニル化合物によるカルボニルストレスは、AGEs と ALEs の双方を産生し、直接、間接的に生体内で様々な障害を引き起こすと推察されている¹⁰⁾。過酸化脂質由来の HNE や MDA は、LDL との反応で酸化型 LDL を産生し、動脈硬化やその他様々な病変を引き起こすことが知られている(水晶体での反応については第6項で後述)。

図2 AGEとして提唱されている物質例

oxidation関与

oxidation関与なし



間接的な AGEs による細胞障害経路としては、AGEs は細胞表面の AGEs 特異的受容体 receptor for AGE (RAGE) に結合し、シグナル伝達経路を介して細胞内に活性酸素が発生し、細胞内酸化ストレスを増強させる¹¹⁾ ことなどが明らかにされており、ALEs も種々のシグナル伝達経路を介して AGEs と同様に細胞内の酸化還元システムの変化により間接的にアポトーシスを誘導するといわれている。また、広義のグリケーション 2 および 4 の GA やグリセルアルデヒドなど α -ヒドロキシアルデヒド由来の AGEs は、 α -オキソアルデヒドなどのジカルボニル化合物由来の AGEs より RAGE を介した生体毒性が強く、糖尿病網膜症や腎症などの発症・進展に関与しているとも考えられている⁵⁾。

近年、ヒトの白内障で RAGE の増加と DNA ダメージ、水晶体上皮細胞 (LEC) の増殖が相関することが示されており、間接的な AGEs による障害の影響が考えられている。また、DNA ダメージ、LEC の増殖は正常水晶体では加齢変化はみられないが、糖尿病白内障では遺伝的白内障に比べ有意に LEC が増殖していたことが報告され、動物眼での検討も行われている^{12,13)}。RAGE の関与により LEC の増殖の制御が糖尿病白内障では上手くいかなくなっており、慢性的にゆっくり進行する遺伝的白内障に比べ、急激にその変化をきたしているのではないかとの推察がある。

3) 生体内の AGEs

図 2 に生体での存在が確認されている AGE の一例を供覧する。AGE は、現在、「架橋物質で自発蛍光をもつもの」と、「非架橋物質で非蛍光性のもの」の 2 種類に大別されている⁹⁾。現段階で、生体内での存在が確認されている蛍光性架橋物質の AGE はペントシジン、クロスリン、グリオキサリジンダイマー (GOLD)、メチルグリオキサリジンダイマー (MOLD) などで、非蛍光性非架橋物質の AGE はカルボキシメチルリジン (CML)、カルボキシエチルリジン (CEL)、ピラリン、アルグピリミジン argpyrimidine、3-DG 由来イミダゾロン、GA 由来ピリジンなどである¹⁴⁾。

眼科領域においては眼組織への AGEs の蓄積は白内障をはじめとして各々の病態との関連が明らかにされている¹⁵⁾。我々は、AGEs の中で特にペントシジン pentosidine に着目し、生体眼組織や血清からの測定によりこれまでに研究を行ってきた^{1,16-18)}。このペントシジンは、褐色色素などの着色性を有し、自発蛍光をもっており、グリケーションの後期反応に過酸化反応が関与する glycoxidation の産物の AGE である⁸⁾。これに対し、クロスリンは同様に自発蛍光はあるものの後期反応に 3-DG を介さず、過酸化反応が関与しなくても進行することが知られているため、glycoxidation の AGE ではない。また、クロスリンは高熱強酸の加水分解で分解するのに対し、ペントシジンは強酸高熱による酸加水分解にも安定であ

るなどの違いがある。GOLD, MOLD は各々グリオキサル, メチルグリオキサル由来の2分子のリジンからなるAGE性架橋物質である。

非架橋性物質のAGEのCMLは、蛍光性をもたないが、形成過程に過酸化反応が関与し、酸加水分解にも安定である。CMLはglycooxidationによるAGEとして⁸⁾、アマドリ化合物やSchiff塩基の酸化分解(狭義および広義のグリケーション1)、グルコースの自動酸化や脂質過酸化によるグリオキサルを介した系(広義のグリケーション3および4)、その他、過酸化脂質とリジン残基との反応(図1, 糖の関与なしのALEs生成系)からも直接、比較的短時間で形成され¹⁹⁾、加齢に伴うヒト水晶体のクリスタリンでの蓄積が報告されている²⁰⁾。しかし近年、CMLは脂質過酸化由来の産生が主流でグリケーションの影響は少なく、糖化というよりは酸化ストレスのマーカ-との報告もなされている²¹⁾。糖尿病白内障では、加齢白内障以上にグリケーションも過酸化反応も進行している¹⁾ため、糖尿病白内障では加齢白内障以上にCMLが産生されていることが予想される。CELはMG由来のAGEで酸加水分解に安定であり、ヒト水晶体での加齢に伴う蓄積が知られている。ピラリンも蛍光性を有さないが、3-DG由来のAGEであるため、過酸化反応が関与するglycooxidationの産物であることが示唆されており、同様にヒト水晶体での加齢に伴う増加が指摘されている²²⁾。アルゲピリミジンはMG由来のAGEで、ヒト角膜での存在が示唆されている。イミダゾロンは3-DG由来のものが糖尿病患者や動脈硬化巣で確認されており、MG由来のものの生体内存在は未確認であるが、*in vitro*ではMG由来の主要なAGEであるため現在検討が進められている。GA由来ピリジンは、活性化リンパ球のミエロペルオキシダーゼにより産生されたGA由来のAGEで、動脈硬化巣の泡沫化マクロファージでの蓄積が報告されている²³⁾。近年、グリセルアルデヒド由来AGEsも同定され^{24,25)}、3つの α -ヒドロキシアルデヒド由来AGEsはすべてピリジニウム骨格を有していると報告されている。その他、最近新しいタイプのAGEとしてMRXも発見され、Maillard反応(狭義のグリケーションおよび広義のグリケーション1)を通してglycooxidationにより産生されることから、過酸化ストレスのマーカ-として注目されている²⁶⁾。構造が同定されているAGEは17種類といわれているが、それはAGE全体のほんの一部(数%)で、構造が判明していないAGEが多数あるといわれているため、今後のさらなる解明が期待されている。

グリケーション生成物質には生体中で産生される内因

性の他、外因性のものもあり、それらは腸管から吸収され、血中に移行する。近年では、AGEsのうち、実際に病気の原因となっているtoxic AGEsと、生体防御および生体に有用であると考えられているnon-toxic AGEs(メラノイジン、ペントシジン、ピラリン、CML、CEL、エチルリジンなど)の2種類に大別してAGEsをとらえた概念も提唱されている⁵⁾。特にメラノイジンは、味噌・醤油に含まれる抗酸化・抗変異原性物質で食品を美味しくし、生体のために有用に機能しているnon-toxic AGEsとしてよく知られている。しかし、上述のnon-toxic AGEsうちペントシジンは架橋性物質であるため、眼科領域以外ではnon-toxicと考えられていても、第3項に後述するように水晶体中に蓄積し、蛋白質の架橋形成が増加した場合には白内障の原因となってしまうため、水晶体ではtoxic AGEsである。また、第6項の2)に後述の硝子体でもペントシジンは、糖尿病網膜症などでVEGFや過酸化水素と関連することを我々は確認しており²⁷⁾、病態に悪影響を及ぼすと考えられているため、少なくとも眼科領域ではtoxic AGEsであると考えられる。このtoxic AGEsは、生体内で産生されるだけでなく、外因性に食品や糖衣錠・糖含有の医薬品・サプリメント、腹膜透析液などからAGEsあるいはAGEs前駆物質のグリケーション生成物、還元糖、アルデヒドなどが摂取される場合もあり、生体に害を及ぼす増悪因子の場合をグリコトキシンglycotoxinと呼んでいる。一部のグリコトキシンは、糖尿病患者で炎症反応惹起の可能性や糖尿病性腎症の進展に関与していると報告されている。また、Ungerらからは生活の欧米化に伴うエネルギー過多の、高血糖、高脂血症により「グルコース-脂肪酸サイクル」に変化が生じ、広義のグリケーション4の脂質過酸化由来のアルデヒドなどによるグリコトキシンだけでなく、脂肪毒性lipotoxicityについても提唱されており、高中性脂肪血症や高遊離脂肪酸(FFA)血症など遊離脂肪酸の増加とグルコース-脂肪酸サイクルの変化によるALEsの形成についても危険性が指摘されている²⁸⁾。

我々の検討結果では白内障水晶体には過酸化脂質が存在し、特に糖尿病白内障での増加が認められている¹⁾ため、広義のグリケーション4によりペントシジンなどAGEsの形成や、ALEsの形成が生じている可能性は大きく、今後、肥満やその他の生活習慣病との関係についても検討する所存である。

表1 糖尿病における水晶体の過酸化反応

	酸化関連物質	糖尿病患者	非糖尿病患者
消去系	Cu, Zn-SOD	4.9±3.7 (μg/lens)	4.0±2.3
	Superoxide scavenging 活性	42.20±36.89 (U/mg prot. lens)	68.25±25.72
	H ₂ O ₂ scavenging 活性	14.96±14.48 (U/lens)	29.87±24.62
	還元型グルタチオン	0.21±0.14 (nmol/lens)	0.32±0.20
	L-アスコルビン酸	0.0098±0.021 (mg/lens)	0.0323±0.0268
その他	Cu イオン	10.59±6.25 (μg/lens)	3.84±1.67

* : p<0.05, ** : p<0.01.

2. グリケーションと抗酸化物質(表1)

我々は水晶体中からペントシジンの測定を行ったが、ペントシジンの水晶体内蓄積は水晶体中でグリケーションと過酸化反応が進行したことを示している。

水晶体内のアンチオキシダント(抗酸化物質)は、SOD (superoxide dismutase)、カタラーゼ、L-アスコルビン酸、GSH、グルタチオンペルオキシダーゼ(Gpx)、グルタチオンリダクターゼ(GR)などが知られている。グルコースやフルクトースなどグリケーションを起こす還元糖も、オキシデーションの面からみればアンチオキシダントである。水晶体の水溶性蛋白質の30%を占める主要な構成蛋白質であるα-クリスタリンもストレス蛋白質(heat shock protein)の一種とされ、アンチオキシダントとして注目されている。

O₂⁻の消去酵素としてCu,Zn-SODが知られているが、Cu,Zn-SOD自体もグリケーションを起こす。我々の研究¹⁾で、Cu,Zn-SODの量と、SODのほか、GSHやL-アスコルビン酸などのsuperoxide消去能を示す低分子量還元物質の作用も含めたsuperoxide scavenging活性について、老人性白内障(非糖尿病患者)と糖尿病患者白内障の比較では、Cu,Zn-SOD量は糖尿病患者で多い(非糖尿病患者×1.23)が、superoxide scavenging活性は糖尿病患者に低い傾向(非糖尿病患者×0.618)があった。グリケーションされたCu,Zn-SODはCuを遊離し、活性中心を失ったSODは不活性となり、また、代謝されづらくなり、量は多くても活性値は低いという現象が起きる。遊離のCuイオンはH₂O₂と反応(Cu⁺+H₂O₂→Cu⁺⁺+OH⁻+HO[·])してヒドロキシルラジカルを生成し、過酸化反応を進行

するように作用し、さらに発生したラジカルによりSOD分子をも切除し、アスコルビン酸を酸化型に移行させ、その酸化還元サイクルに影響を与えることが知られている。Cuイオンは、糖尿病患者白内障で非糖尿病患者と比べ有意に増加している。近年、他施設からも糖尿病患者白内障では老人性白内障に比べ、水晶体中のCu,Zn-SODとカタラーゼの活性が有意に低く、過酸化脂質が有意に高値であったという、我々と同様の傾向を示す結果が報告されている²⁹⁾。

GSHはGPxの基質として、H₂O₂や過酸化脂質を還元してH₂Oや脂質アルコール(LOH)にする抗酸化作用がある。もちろん、GSHは単独でもO₂⁻消去に働き、GR、GpxなどとともNAD(P)H存在下でグルタチオンサイクルを形成し、アスコルビン酸サイクルにも関与して酸化型アスコルビン酸からの還元型のL-アスコルビン酸の再生にも寄与している。我々の白内障水晶体からの測定でも、糖尿病患者白内障でのGSHは老人性白内障と比べ(×0.677)減少している¹⁾。

また、蛋白質を介さない広義のグリケーション(図1、ヌクレオチドのグリケーション)として、グルコースによりGSH、酸化型グルタチオン(GSSG)共にグリケーションされてグルコース由来のアマドリ化合物の複合体を形成し、GRの低下やGpxの基質のGSHの低下がみられることが*in vitro*の系で報告されている³⁰⁾。その他、前述のグリオキサラーゼIによるジカルボニル化合物の消去にもGSHが必要である。一方、間接的ではあるが、GSHと同様のチオール物質である抗酸化薬のN-アセチルシステインでのAGEs-RAGE系の抑制が期待されている。

さらに、蛋白質を介さない広義のグリケーションの系

としては、核酸と還元糖やアルデヒドのカルボニル基との反応でもグリケーションが進行し（核酸のグリケーション）（図1）、グアノシンのアミノ基もグリケーションされるなど、AGEの形成がDNAの酸化障害に関与していることが示唆されており³¹⁾、核酸のリボースが関与したペントシジンの形成についても、以下に述べるアスコルビン酸とペントシジンの関係などととも検討されている。

L-アスコルビン酸は我々のデータで、糖尿病患者白内障で老人性白内障と比較し減少（非糖尿病患者×0.303）していた¹⁾。水晶体中での抗酸化作用の他、UVA照射時のAGEの分解³²⁾、などでも消費された結果と考えられる。グルコース由来のAGEによる低酸素下での光増感作用で、L-アスコルビン酸とトリプトファン³³⁾の分解、グルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PD）の不活性化が報告されている³³⁾。一方、L-アスコルビン酸自体も、グルコースやフルクトースと同様に還元糖の一種として、グリケーションに寄与し、ペントシジンを形成することも*in vitro*の系では知られている³⁴⁾。ペントシジンは前述のように褐色色素であり、初期段階の褐色白内障の大多数でみられる主要な水晶体蛋白質の修飾はアスコルビン酸修飾で、酸化型アスコルビン酸とAGE形成と水晶体の着色化との関連を推定した報告もある³⁵⁾。水晶体中には他の組織より高濃度のL-アスコルビン酸が含有されているが、糖尿病白内障では過酸化反応の進行により酸化型アスコルビン酸が高いことが予想されるため、筆者らが検出したペントシジンの形成過程にアスコルビン酸が関与していた可能性も考えられる。

抗酸化物質として食品に含まれる物質の中で、後述するクローブやオールスパイスのほか近年では、カレーなどに用いられるターメリックの黄色色素の主成分であるクルクミンがラットの糖尿病白内障の進行を抑制することや、緑茶や紅茶などのお茶類も過酸化脂質を1/10に低下させラットの糖尿病白内障を抑制したことが報告^{26,36)}されている。

3. AGEによる架橋形成と抗グリケーション物質および自発蛍光

水晶体は代謝回転が非常に遅い臓器であることから、架橋物質の蓄積が起りやすい部位である。そして、水晶体中にはマクロファージなどの消去系細胞は存在しないことから、AGEの代謝分解が起りにくい組織である。筆者らが測定したペントシジンなどのAGE性架橋物質の増加は、水溶性蛋白質同士の架橋形成により分子

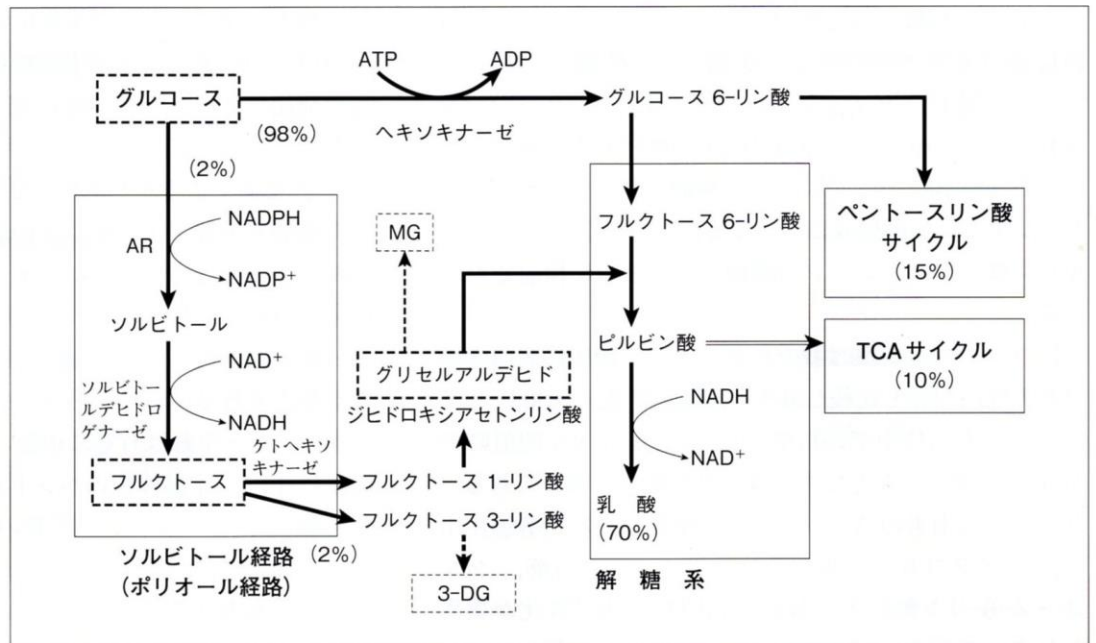
量を増大させて蛋白質の凝集化を誘引し、巨大な分子量の蛋白質の形成により不水溶性蛋白質を増加させて散乱光の増加をきたし、白内障の発生に関与してゆくと考えられる。ペントシジンはアルギニン由来の構造をもつAGE性架橋であるが、近年、ヒト水晶体中のクリスタリンの酸加水分解でアルギニンの脱炭素化の産物として、加齢に伴い糖化されたオルニチンが増加し、アルギニン由来のAGEが老化ヒト水晶体中で増加しているのではないかとの報告³⁷⁾や、非糖尿病でも加齢蛋白質のAGE化が報告されている³⁸⁾。我々の研究でも、水晶体中のペントシジンと年齢は有意に相関（ $r=0.59$, $p<0.05$ ）し、加齢に伴い、水晶体中のペントシジンが増加していることを確認している。MG誘発の α クリスタリンのグリケーションでは、糖化 α クリスタリンのAGE性架橋形成による凝集と散乱光の増加が実験的に証明されており、抗グリケーション複合物質のカルノシンの効果について報告されている³⁹⁾。

抗AGE物質であるiNOS (inducible nitric oxide synthase) 阻害剤のアミノグアニジンは、糖尿病モデルラットの血漿では3-DGの増加を抑制し⁴⁰⁾、水晶体では混濁時にみられるカルシウム濃度の上昇を抑制したと報告⁴¹⁾されており臨床試験も行われているが、有効な血中濃度維持に長期間高濃度の投与が必要であり、また、アミノグアニジンはカルボニル基と反応するため副作用が出やすい可能性がある。米国での2型糖尿病患者を対象としたアミノグアニジンの臨床試験は、作用効果が不明瞭として中止されており、欧州での早期腎症対象の検討も中止されている。一方、ハーブや香辛料のクローブやオールスパイスに含まれるクローブ3やピフロリン biflorin、ピメントールは、ペントシジンの形成を抑制する抗AGE物質で、強力なヒドロキシラジカル消去能をもつ⁴²⁾ため、今後、白内障抑制の食材およびサプリメントとして期待されている。その他、AGE形成阻害剤としてチアゾリジン誘導体や、3-DGを分解するケトアルデヒドデヒドロゲナーゼ、AGE形成後でも有効と考えられているAGE架橋を切断するPTB (N-phenacyl thiazolium bromide) などがある。カルボニルストレスに対しては、GSH存在下でのグリオキサラーゼIや、降圧剤のアングiotenシンII受容体拮抗薬、アングiotenシン変換酵素阻害薬のAGE形成抑制効果が検討されている⁴⁾が、水晶体レベルにおいては今後の検討課題である。

また、自発蛍光との関係については前述のとおり、AGEの物質には蛍光をもつものが多い（図2）。我々が水晶体から測定したペントシジンも自発蛍光をもつ着色

図3 水晶体のグルコース代謝経路

←: 一般代謝経路,
 ←-: 病的代謝経路,
 [---]: カルボニル化合物,
 MG: メチルグリオキサール,
 3-DG: 3-デオキシグルコン.



(褐色)色素物質であり、その形成過程に過酸化反応を伴うグリケーション (glycoxidation) が関与する。加齢および糖尿病白内障では水晶体の自発蛍光が増加することが知られており、ペントシジンもこの自発蛍光の増加と白内障の形成に大きく関与していると考えている。近年の研究では、1型糖尿病患者においてHbA_{1c}値と水晶体の蛍光は有意に相関 ($p < 0.0001$) することなども報告⁴³⁾されている。我々のデータでは、白内障水晶体中のペントシジン値を糖尿病患者と非糖尿病患者で比較すると、糖尿病患者で有意 (非糖尿病患者×1.75 : $p < 0.05$) に高値であった。そして、白内障水晶体の自発蛍光強度も、ペントシジンの波長 (Ex/Em : 335/385nm) での測定では糖尿病患者において強い傾向がみられた¹⁶⁾。他施設でも同様の検討が行われ、糖尿病白内障では老人性白内障に比べ、糖化水晶体蛋白質の量が有意に高く、AGE結合蛋白質の440nmの自発蛍光も有意に高いことが観察されている⁴⁴⁾。トリプトファンの酸化代謝由来の自発蛍光物質の一種である3-ヒドロキシキヌレニン (3-OHKN) は、糖鎖が結合した糖化3-OHKN修飾蛋白質が白内障水晶体中に存在し、グリケーション依存性の形成が報告⁴⁵⁾されている。水晶体におけるAGE性蛍光の存在は、白内障で酸化ストレスが生じていることを示し、glycoxidationの糖尿病白内障者での増加は、水晶体蛋白質の凝集と着色化および自発蛍光の変化に、密接な影響があると推察されている。

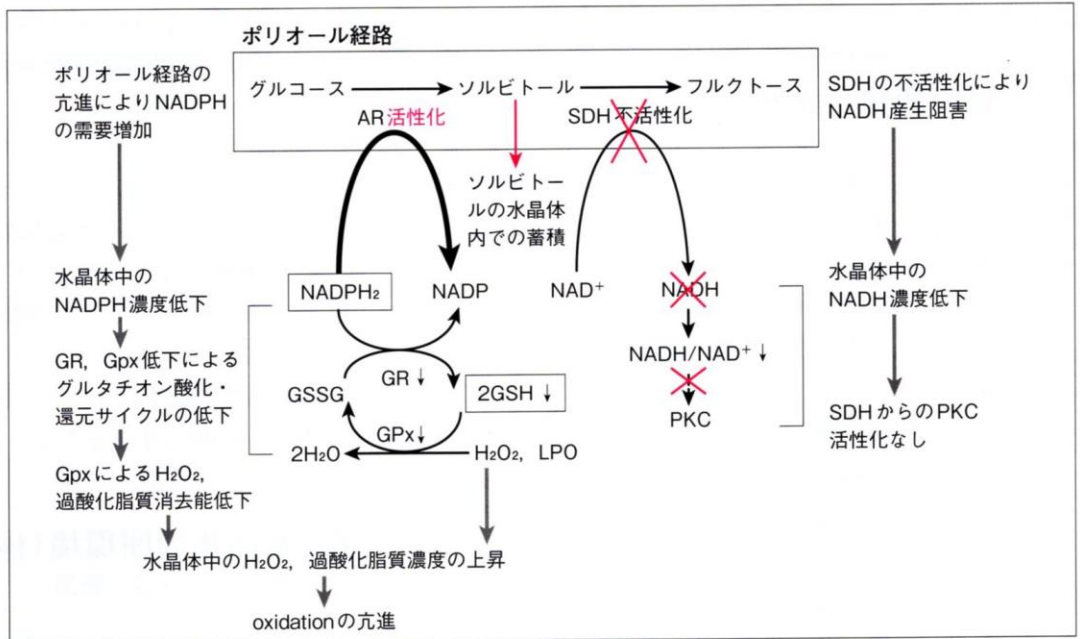
4. ポリオール経由、非経由のフルクトースとグリケーション(図3,4)

正常者の水晶体は約0.1mg/g湿重量の割合でグルコースを含み、約0.2mg/g/hrの速度でグルコースを消費することから、水晶体中のグルコースは約30分ごとに完全に置換されてゆく。正常な生理状態では、グルコースは解糖系によりヘキソキナーゼでリン酸化されて全体の約70%が代謝される(図3)。水晶体中のグルコースは血漿グルコース濃度に正比例しその約1/10程度の量であり、血漿から房水を経て水晶体中に移行したものである。

糖尿病のような非生理的状态では高グルコース濃度によりヘキソキナーゼが飽和状態となり、血漿グルコース濃度に伴い水晶体中のグルコース濃度も増加する。そのバイパスとしてポリオール経路が作動し、アルドースリダクターゼ (AR) が活性化するが、フルクトースが産生される手前のソルビトールデヒドロゲナーゼ (SDH) の不活性化によりソルビトールが水晶体中に蓄積し、水晶体の膨化と散乱光の増加を引き起こすことが知られている。ただSDHの不活性化によりソルビトールからフルクトースへの反応過程で産生されるNADHによるプロテインキナーゼC (PKC) 活性化の危険性は回避される。

AR活性化による悪影響として、水晶体中のNADPH濃度の低下によりグルタチオン酸化・還元サイクルが低下し、H₂O₂、過酸化脂質などの酸化ストレスが増加することも懸念されている。ARによるグルコースからソル

図4 ポリオール経路とグルタチオンサイクル
 AR: アルドースリダクターゼ, GPx: グルタチオンペルオキシダーゼ, GR: グルタチオンリダクターゼ, GSH: 還元型グルタチオン, GSSG: 酸化型グルタチオン, PKC: プロテインキナーゼC, SDH: ソルビトールデヒドロゲナーゼ, LPO: 過酸化脂質.



ピトールへの反応過程で NADPH が消費されるが、NADPH はグルタチオンサイクルの GR の補酵素として GSH の再生にも機能している。AR の活性化で NADPH 濃度が減少すると、GR の活性が低下して GSH の再生が減少し、GSH は Gpx の反応に必須のため Gpx 活性が低下し、Gpx による H₂O₂、過酸化脂質の消去能が低下して水晶体中の H₂O₂、過酸化脂質が増加し、H₂O₂ の半減期延長により HO[•] の発生する危険性も増すなど、oxidation の亢進という悪循環を引き起こすと考えられている。

しかし、ヒト水晶体ではマウスなど他の動物よりポリオール経路の最初の段階の AR 活性が非常に少ない⁴⁶⁾ ため、ポリオール経路は進みづらく、代謝されずに残ったグルコースの水晶体中の半減期がさらに延長され、過剰なグルコースによるグリケーションが進みやすいことが考えられる。

ポリオール経路の最終産物であるフルクトースはグルコースよりグリケーションを進行させる反応性が強く、そのフルクトースからフルクトース 3-リン酸を経て産生される 3-DG もグルコースよりグリケーションの反応性が強く、強力な活性酸素産生能をもっている。フルクトースは、主に肝臓で急速に取り込まれて代謝され、フルクトキナーゼによりフルクトース 1-リン酸を経て AGEs の産生誘引物質の一つであるグリセルアルデヒドや MG になる⁴⁷⁾。しかし、前述のごとくヒト水晶体では AR 活性が極端に低く⁴⁶⁾ さらに、SDH 不活性化によりフルクトースへの代謝が進みづらいため、ポリオール経路から

の内因性フルクトース由来のグリケーションは起こりづらい。したがって上記のポリオール経路由来の内因性アルデヒド、3-DG や MG などのカルボニル化合物による影響は少ないと考えられる。

しかし、ポリオール経路を経なくても、外因性のグリコトキシシン⁴⁸⁾ として食飲料中などに含有されているフルクトースが過酸化反応も進行している糖尿病の水晶体中に高濃度に取り込まれた場合は過酸化反応との相乗効果で glycooxidation が進みやすい環境にあり、ポリオール経路を介さないフルクトースから狭義のグリケーションによる AGEs の産生、あるいは広義のグリケーション 2 および 3 (図 1) により 3-DG、グリセルアルデヒドさらにグリセルアルデヒドから MG などカルボニル化合物が産生され、そこから AGEs が産生される危険性が考えられる。糖尿病患者の水晶体ではグルコースよりフルクトースのほうが多く、水晶体中のフルクトース 3-リン酸とフルクトース 3-リン酸由来の 3-DG の増加が、AGEs の形成を促進させ、蛋白質の褐色変性や白内障に関与しているとの仮説も述べられている⁴⁷⁾。

一方、近年、ヒトに類似させた水晶体中 AR 活性が低いマウスでの検証が始められ、ピルビン酸化合物が抗グリケーション効果と、GSH 減少に対する抗酸化効果を示し、糖尿病白内障の進行を阻止したとの、従来より臨床に一步近づいた検討がなされている⁴⁶⁾。このピルビン酸化合物の抗グリケーション効果と抗酸化効果は相関が見られたと報告されているため、抗 glycooxidation 剤として

有効性が期待される。

5. 膜の変化とグリケーション

水晶体では上皮細胞間および水晶体線維間で物質の移動がある。膜を構成する成分は脂質と蛋白質である。ヒト水晶体の脂質は主にリン脂質と中性脂肪から成り立っている。リポ蛋白質は膜の主要成分である脂質の供給源として重要であって、その変動は膜障害が起きていることを意味している。

ヒト水晶体には血液と同じようにCM (chylomicron), VLDL (very low density lipoprotein), LDL (low density lipoprotein), HDL (high density lipoprotein) のリポ蛋白質が存在し、我々は、膜の構造ならびに膜の輸送能力の指標としてリポ蛋白質の変化をグリケーションから検討している¹⁾。

リポ蛋白質の構造と機能を支配しているアポリポ蛋白質のうち、LDLの主要なアポリポ蛋白質はアポB-100である。老人性白内障と糖尿病者白内障におけるLDL画分中のグリケーションされたアポB-100のアポB-100総量に対する割合は、老人性白内障の5.6%に対し糖尿病者白内障では8.2%であり、糖尿病者白内障でグリケーション度合いが進んでいた。

また、水晶体において上皮細胞および皮質浅層にLDL受容体が存在し、白内障水晶体では正常水晶体にはみられない変性LDLの取り込みがあることも明らかにしている。グリケーションされたLDLが糖尿病者白内障で多いことは、糖尿病者ではLDL受容体による代謝機能が異常を来たしたことが原因と考えている。広義のグリケーション4(図1)の過酸化脂質由来のHNEやMDAとの反応で産生される酸化型LDLは、動脈硬化などではマクロファージのスカベンジャー受容体に取り込まれることが病態の進展に深く関与しており、近年、酸化型LDLの生成には銅イオンとアポB-100との結合による銅錯体が引き金となっている可能性が推定されている。水晶体には通常マクロファージは存在せず、スカベンジャー受容体の存在も明確ではないが、我々の研究では、糖尿病白内障では過酸化脂質、銅イオンが増加しており、水晶体中のoxidationが進行してLDLは過酸化を受けた状態にあり、また、グルタチオン-銅錯体も検出されている⁴⁹⁾ため、広義のグリケーション4の過酸化脂質由来のAGEs, ALEsも白内障の発症・進行に影響を与えた可能性が強いことが示唆されている。

その他、細胞膜での能動輸送によるイオン透過性を制

御しているNa,K-ATPaseの活性も過酸化反応やグリケーション、加齢により低下すると考えられている。Na,K-ATPaseの活性は、チロシンリン酸化酵素により制御されており、エンドセリン-1 elicitsのようなアゴニストによりG-結合蛋白質の受容体の活性化により変化するといわれている。水晶体の上皮細胞と線維細胞では、上皮細胞のほうがNa,K-ATPase活性が高く、ヒト白内障、他の動物における実験的白内障とも、白内障におけるNa,K-ATPase活性の変化が明らかであり、Na,K-ATPase活性の低下による水晶体でのNa⁺の異常な増加と、加齢白内障で生じる水晶体の皮質の不透明化の関連が報告されている⁵⁰⁾。

6. 水晶体周囲環境(体内)の変化とグリケーション(表2)

房水および硝子体は、水晶体の周囲環境として、構成成分および形態学的にも水晶体と密接な物質交流を行っている。グリケーションに関しても例外ではない。我々が測定を行ってきたペントシジンは架橋物質であるが、生体内には架橋を形成していないフリーのペントシジンも血漿や房水などにも存在する^{17,51)}。ペントシジンの分子量は379であるが、水晶体カプセルの透過性としては分子量300程度までが透過可能と考えられていることから、膜機能が保たれている水晶体では、ペントシジンが水晶体外からカプセルを透過して水晶体内に流入したことは考えにくい。しかし、ペントシジンそのものが水晶体中に流入しなくても、房水、硝子体中の還元糖やその他グリケーション中間産物などの流入や、膜機能が破綻し、カプセルの透過性も変化した場合には、房水、硝子体からの流入も考えられる。本項では、房水と硝子体のグリケーションに関しても言及する。

1) 房水の変化

房水は角膜や水晶体への栄養補給や老廃物の眼外排除などの重要な役割をもち、房水中のグルコースの値は血漿グルコースと同様に、糖尿病者では高い。フルクトサミン値も房水中のグルコースに連動するように糖尿病者で高値である。糖尿病者の房水中でフルクトサミン値が高いことや角膜内Descemet膜へのAGEs蓄積も報告^{52,53)}されていることから、糖尿病者では前房内でもグリケーションは進行している。しかし、AGEであるペントシジンは糖尿病者と非糖尿病者で差はみられない。房水中では通常血漿に比べ著しく低い蛋白質濃度が維持されているが、長期に存在し架橋を形成する蛋白質も当然含まれないために、ペントシジンなどAGEsの蓄積が行われな

表2 糖尿病におけるグリケーション関連物質の変化

	グリケーション関連物質	糖尿病患者	非糖尿病患者
水晶体	フルクトサミン	1.94±0.80 (μmol/lens)	1.57±0.69
	ペントシジン	169±101 (pmol/lens)	96.7±73.6
房水	フルクトサミン	6.90±2.52 (μmol/dL)	4.78±3.21
	ペントシジン	11.2±4.80 (pmol/mL)	11.1±7.90
硝子体	フルクトサミン	542±411 (pmol/vit)	74.3±85.3
	ペントシジン	106±56.1 (pmol/vit)	40.4±23.8

* : p<0.05, ** : p<0.01.

いことが考えられる。

ペントシジンの房水中での形態は、これらのことから架橋形成ではなくフリーであり、房水内で産生される可能性は極めて低いため、その存在自体には水晶体や虹彩などからの分解産物の能動輸送あるいは膜機能の破綻による漏出や血液房水柵を介しての進入が推察されるが、血液房水柵からの物質移動にも拡散や能動輸送があり、AGEsの移動についての詳細は不明である。

2) 硝子体の変化

硝子体は、以前は栄養の補給能力が低く眼内主要組織からの不要代謝産物のたまり場とも考えられていたが、近年、その重要性が見直されている。正常者の硝子体では水晶体と同様に無血管組織で、グルコース濃度は血漿の約半分に保たれ一定の流速で物質代謝が行われており、粘弾性をもつゲル様物質で構成され眼球の形態維持や眼圧維持、水分の保持と動態がコントロールされている。硝子体のL-アスコルビン酸濃度は房水に比べると少ないが、血漿より高く、還元型グルタチオンの濃度は血漿、房水に比べ非常に高値で、SOD、カタラーゼなどとともに、硝子体での抗酸化を担っていると考えられる。また、乳酸量が高いが、硝子体は網膜など毛細血管が存在する組織に比べて酸素分圧が非常に低値に保たれているため、嫌氣的解糖による代謝産物として乳酸濃度が高くなっているのではないかと推察される。

硝子体は、主として水、ヒアルロン酸、II・IX型コラーゲンから構成されているが、コラーゲンは細胞外マトリックスとして半減期が長いことからAGEsなどが蓄積しやすく、グリケーションの影響を受けやすい部位である¹⁸⁾。糖尿病患者の硝子体では、血液-硝子体柵 blood-vitreous barrier における透過性が亢進もしくは硝子体

出血により一時的に破綻していることから、還元糖やジカルボニル化合物などが流入しやすくなりグリケーションが加速される。また、増殖糖尿病網膜症では硝子体中の物質代謝の流れが、網膜から硝子体への逆流や滞留部分が生じることも報告されている⁵⁴⁾。我々のデータにおいても糖尿病患者の硝子体中のグルコース、フルクトサミン、ペントシジン値はすべて糖尿病患者で高く、硝子体でのグリケーションの進行は明らかであった。

糖尿病白内障の特徴的な混濁として後囊下混濁が知られているが、AGEの蓄積が前房側では起こりにくく硝子体側では活発であるということも、その原因の一つとして予想される。

また、AGEsは間接的障害としてRAGEを介して、VEGFの産生と血管新生や、プロスタサイクリン(PGI₂)の産生低下とプラスミノゲンアクチベーターインヒビター(PAI-I)の産生亢進により線溶能を低下させ血栓傾向により糖尿病微小血管症の発症進展を引き起こすことも知られており⁶⁾、虚血再灌流時のフリーラジカルの発生など、間接的ではあるが、網膜や硝子体での変化が水晶体に何らかの影響を与える可能性も考えられる。

おわりに

白内障とグリケーションという関係は、水晶体へのAGE蓄積が水晶体混濁につながるという単純なものではなく、多くの因子が複雑に関与している。グリケーションの反応前期と後期の反応物質、そして蛍光強度からみても糖尿病患者白内障ではグリケーションの進行は明らかであるが、糖尿病による白内障の発症要因には様々なものが考えられており、グリケーションはそのうちの

一因に過ぎない。また、AGEs すべてが毒性をもつのではなく、CML, CEL など一部の AGEs は、毒性が高いアルデヒドなどの化合物を捕捉してカルボニル基を平衡化し比較的安定な AGEs を形成することにより、急激な変化から対処するなどの生体防御としての機能も考えられ始めている⁵⁾。しかし、これらの比較的毒性が少ないと考えられた AGEs でも、代謝回転の非常に遅い水晶体で長期間蓄積した場合、本当に悪影響を及ぼさないかどうかは解明されていない。

その他、今回は詳しく触れなかったが、蛋白質を介さない系として核酸と還元糖や、ヌクレオチドと還元糖などでもグリケーションは進行し(図 1)、また過酸化反応も介して、AGEs の形成が DNA の変性などにも関与し、細胞増殖その他様々な反応を引き起こしていることが推察されている。

今後、糖尿病合併症の病因・病態の解明がさらに進むことによって種々の発症要因が系統的に解明されれば、その経路を効率よく制御することにより合併症を最小限にとどめることができるようになる可能性がある。しかし、これら合併症の成因とされる機序は、高血糖状態で初めて機能する経路ではなく、正常な状態でも働いている代謝の経路であるため、単純にこれらの経路を抑制・賦活化すればよいというものでもない。現段階としてグリケーションをはじめとする糖尿病合併症の予防には、適切な血糖コントロールを行うことによる根本的な代謝のバランス改善が最良である。

稿を終えるにあたり、獨協医科大学越谷病院眼科におけるペントシジン測定について指導と協力をしていただきました、浜松医科大学整形外科 高橋正哲先生、星野裕信先生に感謝を致します。

文献

- 1) 小原喜隆：第 99 回日本眼科学会総会 宿題報告 I 活性酸素・フリーラジカルと眼疾患 活性酸素・フリーラジカルと白内障。日眼会誌 99：1303-1341, 1996.
- 2) Sell DR, Monnier VM：Conversion of arginine into ornithine by advanced glycation in senescent human collagen and lens crystallins. *J Biol Chem* 279：54173-54184, 2004.
- 3) Nagai R, Matsumoto K, et al：Glycolaldehyde, a reactive intermediate for advanced glycation end products, plays an important role in the generation of an active ligand for the macrophage scavenger receptor. *Diabetes* 49：1714-1723, 2000.
- 4) 稲城玲子, 宮田敏男, 他：カルボニルストレスの病態生理学。 *Molecular Medicine* 40：178-184, 2003.
- 5) 竹内正義：生活習慣病における TAGE (toxic AGEs) 病因説。 *北陸大学紀要* 28：33-48, 2004.

- 6) 山岸昌一, 今泉 勉：糖尿病最小血管症とプロスタサイクリン。 *血管医学* 6：75-82, 2005.
- 7) Fu M-X, Knecht KJ, et al：Role of oxygen in cross-linking and chemical modification of collagen by glucose. *Diabetes* 41：42-48, 1992.
- 8) Fu M-X, Knecht KJ, et al：Glycation, glycooxidation, and cross-linking of collagen by glucose. Kinetics, mechanisms, and inhibition of late stages of the Maillard reaction. *Diabetes* 43：676-683, 1994.
- 9) 永井竜児, 小糸和香子, 他：メイラード反応。 *糖尿病* 48：403-406, 2005.
- 10) Miyata T, Sugiyama S, et al：Reactive carbonyl compounds related uremic toxicity ("carbonyl stress"). *Kidney Int Suppl* 78：S25-S31, 2001.
- 11) Yan SD, Schmidt AM, et al：Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Biol Chem* 269：9889-9897, 1994.
- 12) Hong SB, Lee KW, et al：Effect of advanced glycation end products on lens epithelial cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun*：275：53-59, 2000.
- 13) Bras ID, Colitz CM, et al：Evaluation of advanced glycation end-products in diabetic and inherited canine cataracts. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 245：249-257, 2007.
- 14) 宮崎公德：生体内蛋白糖化反応におけるクレアチニンの影響。 *Dojin* 106：1-10, 2003.
- 15) Lu M, Kuroki M, et al：Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression. *J Clin Invest* 101：1219-1224, 1998.
- 16) Hashimoto H, Arai K, et al：Pentosidine and autofluorescence in lenses of diabetic patients. *Jpn J Ophthalmol* 41：274-277, 1997.
- 17) 橋本浩隆：糖尿病者白内障と非酵素的糖化反応の関係。 *日眼会誌* 102：34-41, 1998.
- 18) Matsumoto Y, Takahashi M, et al：Levels of mature cross-links and advanced glycation end product cross-links in human vitreous. *Jpn J Ophthalmol* 46：510-517, 2002.
- 19) 永井竜児, 堀内正公：グリケーション I 糖尿病と酸化ストレス。 *Diabetes Frontier* 8：270-275, 1997.
- 20) Dunn JA, Patrick JS, et al：Oxidation of glycated proteins：Age-dependent accumulation of N-(carboxymethyl) lysine, in lens proteins. *Biochemistry* 28：9464-9468, 1989.
- 21) Takeuchi M, Makita Z：Alternative routes for the formation of immunochemically distinct advanced glycation end-products in vivo. *Curr Mol Med* 1：305-315, 2001.
- 22) Miyata S, Monnier V：Immunohistochemical detection of advanced glycosylation end products in diabetic tissues using monoclonal antibody to pyrraline. *J Clin Invest* 89：1102-1112, 1992.
- 23) Nagai R, Hayashi CM, et al：Identification in human atherosclerotic lesions of GA-pyridine, a novel structure derived from glycolaldehyde-modified proteins. *J Biol Chem* 277：48905-48912, 2002.
- 24) Usui T, Hayase F：Isolation and identification of the 3-hydroxy-5-hydroxymethyl-pyridinium compound as a novel advanced glycation end product on glyceraldehyde-related Maillard reaction. *Biosci Biotechnol Biochem* 67：930-932, 2003.

- 25) Tessier FJ, Monnier VM, et al : Triosidines : novel Maillard reaction products and cross-links from the reaction of triose sugars with lysine and arginine residues. *Biochem J* 369 : 705-719, 2003.
- 26) Osawa T, Kato Y : Protective role of antioxidative food factors in oxidative stress caused by hyperglycemia. *Ann NY Acad Sci* 1043 : 440-451, 2005.
- 27) 橋本浩隆, 新井清美, 他 : ヒト硝子体における血管内皮増殖因子 (VEGF) とペントシジンの関係. *日眼会誌* 102 : 442-446, 1998.
- 28) 堀田瑞夫, 倭 英司, 他 : 糖尿病と酸化ストレス. 谷口直之, 淀井淳司 (編) : 酸化ストレス・レドックスの生化学. 共立出版, 東京, 162-168, 2000.
- 29) Hashim Z, Zarina S : Antioxidant markers in human senile and diabetic cataractous lenses. *J Coll Physicians Surg Pak* 16 : 637-640, 2006.
- 30) Linetsky MD, Shipova EV, et al : Glucose-derived Amadori compounds of glutathione. *Biochim Biophys Acta* 1724 : 181-193, 2005.
- 31) Lee AT, DeSimone C, et al : Comparative analysis of DNA mutations in lacI transgenic mice with age. *FASEB J* 8 : 545-550, 1994.
- 32) Argirov OK, Lin B, et al : Phototransformations of advanced glycation end products in the human eye lens due to ultraviolet A light irradiation. *Ann NY Acad Sci* 1043 : 166-173, 2005.
- 33) Fuentealba D, Galvez M, et al : Photosensitizing activity of advanced glycation endproducts on tryptophan, glucose 6-phosphate dehydrogenase, human serum albumin and ascorbic acid evaluated at low oxygen pressure. *Photochem Photobiol* 83 : 563-569, 2007.
- 34) Nagaraj RH, Sell DR, et al : High correlation between pentosidine protein crosslinks and pigmentation implicates ascorbate oxidation in human lens senescence and cataractogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 : 10257-10261, 1991.
- 35) Cheng R, Feng Q, et al : LC-MS display of the total modified amino acids in cataract lens proteins and in lens proteins glycosylated by ascorbic acid in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1762 : 533-543, 2006.
- 36) Vinson JA, Zhang J : Black and green teas equally inhibit diabetic cataracts in a streptozotocin-induced rat model of diabetes. *J Agric Food Chem* 53 : 3710-3713, 2005.
- 37) Sell DR, Monnier VM : Conversion of arginine into ornithine by advanced glycation in senescent human collagen and lens crystallins. *J Biol Chem* 279 : 54173-54184, 2004.
- 38) Sell DR, Monnier VM : Ornithine is a novel amino acid and a marker of arginine damage by oxoaldehydes in senescent proteins. *Ann NY Acad Sci* 1043 : 118-128, 2005.
- 39) Seidler NW, Yeargans GS, et al : Carnosine disaggregates glycosylated alpha-crystalline : an in vitro study. *Arch Biochem Biophys* 427 : 110-115, 2004.
- 40) Yamada H, Miyata S, et al : Increase in 3-deoxyglucosone levels in diabetic rat plasma. Specific in vivo determination of intermediate in advanced Maillard reaction. *J Biol Chem* 269 : 20275-20280, 1994.
- 41) Inomata M, Hayashi M, et al : Involvement of inducible nitric oxide synthase in cataract formation in Shumiya cataract rat (SCR). *Curr Eye Res* 23 : 307-311, 2001.
- 42) Oya T, Osawa T, et al : Spice constituents scavenging free radicals and inhibiting pentosidine formation in a model system. *Biosci Biotech Biochem* 61 : 263-266, 1997.
- 43) Kessel L, Sander B, et al : Lens fluorescence and metabolic control in type 1 diabetic patients : a 14 year follow up study. *Br J Ophthalmol* 88 : 1169-1172, 2004.
- 44) Beranek M, Novakova D, et al : Glycation and advanced glycation end-products in laboratory experiments in vivo and vitro. *Acta Medica* 49 : 35-39, 2006.
- 45) Staniszewska MM, Nagaraj RH : 3-hydroxykynurenine-mediated modification of human lens proteins : structure determination of a major modification using a monoclonal antibody. *J Biol Chem* 280 : 22154-22164, 2005.
- 46) Hegde KR, Varma SD : Prevention of cataract by pyruvate in experimentally diabetic mice. *Mol Cell Biochem* 269 : 115-120, 2005.
- 47) 河崎孝弘, 山内俊一 : フルクトース毒性. *糖尿病* 48 : 419-421, 2005.
- 48) 臼井照幸, 渡辺寛人, 他 : 食品中のグリコトキシン. *糖尿病* 48 : 415-417, 2005.
- 49) Hayashi S, Tanaka Y, et al : Glutathione-Cu complex in cataractous lenses of the diabetics. *Biomed Res Trace Elements* 9 : 69-70, 1998.
- 50) Delamere NA, Tamiya S : Expression, regulation and function of Na,K-ATPase in the lens. *Prog Retin Eye Res* 23 : 593-615, 2004.
- 51) Takahashi M, Hoshino H, et al : Direct quantification of pentosidine in urine and serum by HPLC with column switching. *Clin Chem* 42 : 1439-1444, 1996.
- 52) Kaji Y, Amano S, et al : Advanced glycation end products in Descemet's membrane and their effect on corneal endothelial cell. *Curr Eye Res* 23 : 469-477, 2001.
- 53) Kaji Y, Usui T, et al : Advanced glycation end products in diabetic corneas. *IOVS* 41 : 362-368, 2000.
- 54) 筑田 眞, 小原喜隆, 他 : 各種病的状態における硝子体細胞の対応. 第2報 硝子体出血の晩期吸収過程について. *眼紀* 34 : 771-779, 1983.