

## 糖尿病における白内障の銅イオンと過酸化反応の関係

林 振 民

獨協医科大学越谷病院眼科

### 要 約

水晶体中の銅イオンは正常眼に比べ、白内障水晶体で増加していた。特に、糖尿病群白内障(以下、DM群)では非糖尿病群白内障(以下、非DM群)に比較して有意に増加していた。 $\text{Cu}^{2+}$ は $\text{Cu}^+$ に比べ、DM群白内障で著しく増加していた。また、白内障水晶体中の銅イオンは、蛋白質結合型よりも非結合型が多く存在していた。銅含有酵素であるCu, Zn-SOD(Cu, Zn-スーパーオキシドジスムターゼ)はDM群白内障で活性が低下しており、過酸化水素も増加していたため、フェントン様反応からの $\text{HO}^{\cdot}$

(ヒドロキシラジカル)の生成が考えられた。糖尿病では水晶体のグルコースが増加して、glycationを起こし、銅含有酵素から銅イオンを放出させ、水晶体中に銅イオンの増加をもたらす。その結果、活性酸素消去能を低下させ、過酸化脂質が増加して連鎖的に過酸化が亢進したと考えられた。(日眼会誌 100: 672-679, 1996)

キーワード: 糖尿病, 白内障, 銅イオン, 過酸化反応

## The Association between Copper Ions and Peroxidative Reaction in Diabetic Cataract

Jennmin Lin

Department of Ophthalmology, Koshigaya Hospital, Dokkyo University School of Medicine

### Abstract

The concentration of copper ions in cataractous lenses was higher than that in clear lenses. The concentration was significantly higher in the diabetic (DM) group than in the non-diabetic (control) group. Compared to  $\text{Cu}^+$ , the concentration of  $\text{Cu}^{2+}$  was significantly greater in the DM group. The concentration of protein-unconjugated copper ions was higher than that of protein-conjugated copper ions. I assume that in cataractous lenses of the DM group, decrease of the reactivity of copper-containing enzyme, Cu, Zn-SOD (Cu, Zn-superoxide dismutase), and increase of hydrogen peroxide lead to

generation of hydroxyl radicals from a Fenton-like reaction. In diabetes, the increase of lenticular glucose induced glycation and the release of copper ions from copper-containing enzyme, followed by the increase of lenticular copper ions. As a result, superoxide scavenging activity was reduced and peroxide lipid was increased. I assume this to be due to hyperactivity of the cascade of peroxidation. (J Jpn Ophthalmol Soc 100: 672-679, 1996)

Key words: Diabetes mellitus, Cataract, Copper ion, Peroxidation

## I 緒 言

微量元素が生体の生理機能の維持に不可欠であり、その変動が疾病の発症に関わっていることが注目されている。必須微量元素のうち、銅は生体内において種々の酵素と結合して、その活性や構造の安定性などに関与しており、疾病時には銅量が増加することが知られている<sup>1)</sup>。ストレプトゾトシンによる糖尿病ラットでは、血液、肝、腎、

十二指腸の銅含量が増加し<sup>2)~4)</sup>、そして糖尿病患者では、血液の銅含量が増加することが知られている<sup>5)6)</sup>。また、著者ら<sup>7)</sup>も糖尿病患者の水晶体と硝子体で銅含量が高いことを報告している。

今回、白内障水晶体の銅イオン量を蛋白質結合型と非結合型に分けて測定し、増加した銅イオンが水晶体の透明性維持に与える影響について、活性酸素の生成系と消去系の両面、そして過酸化反応への関与の観点から検討

別刷請求先: 343 埼玉県越谷市南越谷2-1-50 獨協医科大学越谷病院眼科 林 振民  
(平成8年1月30日受付, 平成8年5月9日改訂受理)

Reprint requests to: Jennmin Lin, M.D. Department of Ophthalmology, Koshigaya Hospital, Dokkyo University School of Medicine, 2-1-50 Minami-koshigaya, Koshigaya-shi, Saitama-ken 343, Japan

(Received January 30, 1996 and accepted in revised form May 9, 1996)

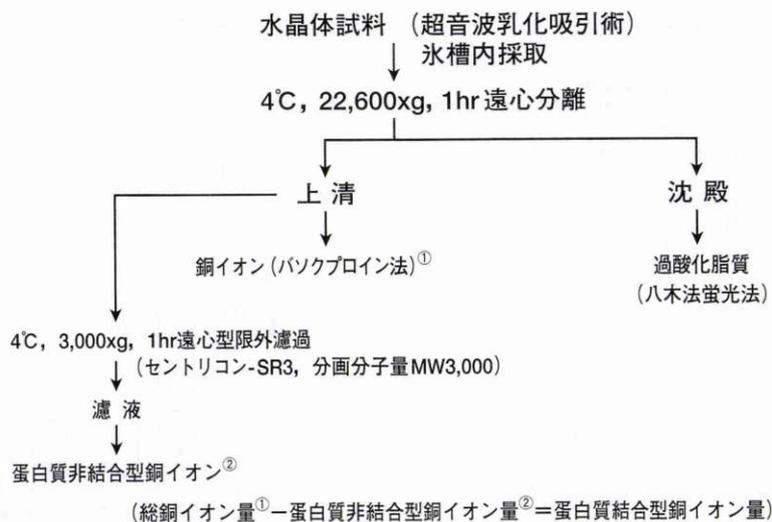


図1 水晶体試料採取方法。

した。

## II 対象と方法

### 1. 対象

#### 1) 水晶体

今回の研究では、嚢内摘出術によって摘出した脱臼水晶体(62歳, 外傷の既往1眼)を正常水晶体として使用した。

ヒト白内障は同程度の混濁で超音波乳化吸引術の適応となった糖尿病患者の白内障28眼(平均年齢68.1±9.7歳: 以下, DM群白内障)と老人性白内障32眼(平均年齢67.9±10.8歳: 以下, 非DM群白内障)を対象とした。成熟型白内障は今回は除外した。また、嚢内摘出術で摘出した老人性白内障2眼(平均年齢72.5±6.4歳)を対照とした。

なお、銅は脳では加齢により増加することが知られているので、その影響を除くため、高齢者(85歳以上)を対象から除いた。透析治療中の症例、高脂血症、腎症、高血圧、インスリン依存性糖尿病などのある症例は除いた。対象となった白内障患者には手術によって得た白内障水晶体および房水は研究に使用することを手術前に説明し、同意を得た。

#### 2) 血清、房水および硝子体

眼組織における銅イオン量を知るために、白内障手術で得られた水晶体と同一患者の血清および房水を採取した。また、硝子体は糖尿病網膜症(以下, DM群)の硝子体手術で得たものを材料とし、裂孔原性網膜剝離や外傷(以下, 非DM群)の手術で得た硝子体を対照とした。

### 2. 試料作製法

#### 1) 水晶体試料

嚢内摘出術で摘出した水晶体はイオン交換水でホモジネートした後、直ちにN<sub>2</sub>ガスを充填し、実験に供した。

水晶体試料は、超音波乳化吸引術で使用する装置の排

出液チューブを水槽内の容器に接続し、4°Cで全量採取後、直ちにN<sub>2</sub>ガスを充填し、実験に供した。

また、実験に使用する器具はすべて通常の器具用洗剤で十分に洗った後、酸性洗剤に一夜浸漬した。精製水でよく洗浄した後、乾燥させて密閉して直射日光の当たらない場所に保管し、極力汚染されないように努めた。

白内障水晶体の試料は、水晶体が白内障手術(超音波乳化吸引術)で破碎されて灌流液(オベガードMA®, 千寿製薬)とともに懸濁液となる。その懸濁液を22,600×g, 4°Cで1時間遠心し、上清は銅イオンと過酸化水素量、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)量、O<sub>2</sub><sup>-</sup> scavenging活性、glycated protein量の測定試料に、沈殿は過酸化脂質量測定に用いた(図1)。

#### 2) 血清、房水および硝子体試料

患者の採血は白内障手術前の早朝空腹時に実施した。7ml採血し、直ちに2,260×g, 4°Cで10分遠心して上清の血清を試料とし、N<sub>2</sub>ガスを充填し、実験に供した。房水の採取は白内障手術時に約100μl房水を採取し、N<sub>2</sub>ガスを充填した。

硝子体手術で切除、吸引した硝子体は水槽内のボトルに集め、直ちに2,260×g, 4°Cで30分遠心分離して手術時に混入した血液成分を除去した。次いで、その上清を22,600×g, 4°Cで1時間遠心分離を行って試料とした。硝子体手術時にはオベガードMA®(千寿製薬)を灌流液として使用した。

なお、測定時にこの灌流液をブランクとして、以下の実験を行った。

### 3. 銅イオン定量法

水晶体溶液の上清は蛋白質結合型銅イオンと非結合型銅イオンの双方を含んでおり、分画分子量3,000の遠心型限外濾過器のセントリコンSR-3で除蛋白質することにより得た濾液を蛋白質非結合型銅イオン量(以下, 非結合型)とした。総銅イオン量から非結合型を差し引いた値

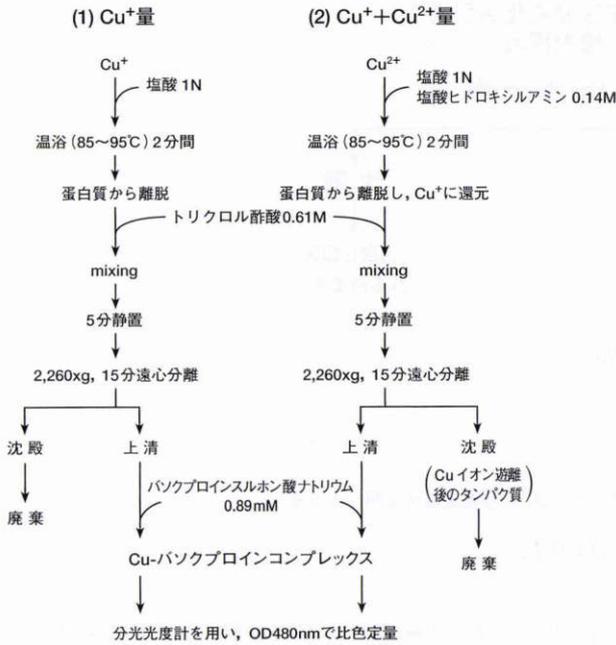


図2 銅イオン測定方法—バソクプロイン法。

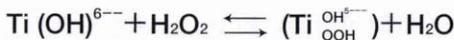


図3 過酸化水素測定法—チタン過酸化水素呈色法。

が蛋白質結合型銅イオン量(以下、結合型)である(図1)。セントリコンSR-3のメンブレンには微量のグリセリンが含まれているので、前処理として、メンブレンを含むリザーバー全体を密閉容器で脱イオン水に数時間浸漬後、セントリコン全体をキムワイプで包み、1回大きい遠心管に入れて2,260×g、2分遠心して脱水し、使用した。血清、房水、水晶体および硝子体の銅イオン量はバソクプロイン法<sup>8)</sup>で測定した。バソクプロイン法はバソクプロイン2 molとCu<sup>+</sup> 1 molが特異的に結合する反応で、塩酸ヒドロキシルアミンを付加してCu<sup>2+</sup>の測定を行う。Cu<sup>+</sup>とCu<sup>2+</sup>量の測定は既報<sup>8)</sup>に準じて行った(図2)。なお、本研究ではCu<sup>+</sup>とCu<sup>2+</sup>を加えた量を銅イオン量として表した。

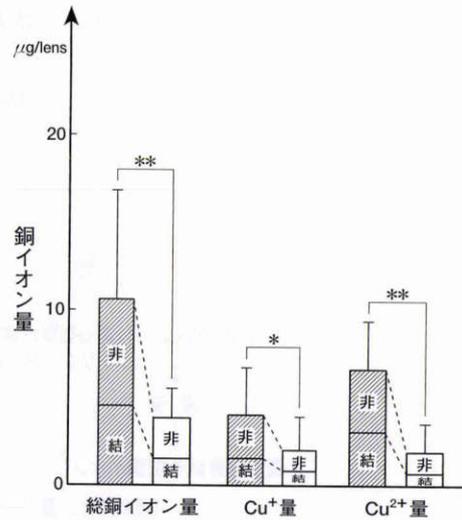


図4 ヒト白内障水晶体中銅イオンの蛋白質結合有無。  
 ■：糖尿病(DM)群白内障 □：非DM群白内障  
 結：蛋白質結合型銅イオン 非：蛋白質非結合型銅イオン \*：p<0.05 \*\*：p<0.01

4. 銅の組織染色法

組織中の銅の証明のためにロダニン法<sup>9)10)</sup>を用いた。水晶体を10%ホルマリン固定後、パラフィンに包埋し、水晶体の3~5μmの切片を作製し、脱パラフィン後、ロダニン染色液中に37°Cで24時間浸漬後、エタノール系列で脱水、キシロロール透徹後、パーマウントに封入した。

5. 過酸化反応関連物質測定法

過酸化水素量はチタン過酸化水素呈色法<sup>11)12)</sup>(図3)で、過酸化脂質量は八木法蛍光法<sup>13)</sup>で、Cu、Zn-SOD量はELISA(酵素標識免疫アッセイ)法<sup>14)</sup>で、O<sub>2</sub><sup>-</sup> scavenging活性はNBT(ニトロブルーテトラゾリウム)還元法<sup>14)</sup>で、そしてglycated protein量はフルクトサミン測定法<sup>15)</sup>で測定した。

なお、銅イオン量および過酸化反応関連物質については student t 検定で解析を行った。

III 結果

1. 白内障水晶体の銅イオン量

囊内摘出術で摘出した白内障水晶体をホモジネートした試料の銅イオン量は2.56±0.44 μg/lensで、超音波乳化吸引術で採取した試料の銅イオン量は3.84±1.67 μg/lensであった。試料作製時に極力汚染されないように細心の注意を払ったため、両方法に差はあまりなかった。銅イオン量は正常水晶体(脱白水晶体, 62歳)の0.51 μg/lensに比べ、白内障水晶体(3.84±1.67 μg/lens)では明らかに増加している。また、DM群白内障は10.59±6.25 μg/lens、非DM群白内障は3.84±1.67 μg/lensとDM群白内障で有意に増加していた(p<0.01)。Cu<sup>2+</sup>量はDM群白内障で6.59±2.65 μg/lens、非DM群白内障で1.89±1.64 μg/lens、Cu<sup>+</sup>量はDM群白内障で4.00±2.65 μg/lens、非DM群白内障で1.98±1.89 μg/lens

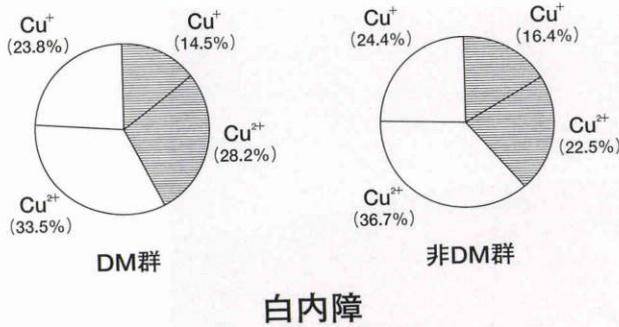


図 5 ヒト白内障水晶体の銅イオン組成。

■：蛋白質結合型銅イオン □：蛋白質非結合型銅イオン

lens であり、Cu<sup>+</sup>および Cu<sup>2+</sup>ともに DM 群白内障で有意に増加していた (Cu<sup>+</sup> : p<0.05, Cu<sup>2+</sup> : p<0.01)。

2. ヒト白内障水晶体の銅イオン組成 (図 4, 5, 表 1)

銅イオンの組成を蛋白質との結合の有無によって分類した。銅イオンは蛋白質結合型、非結合型ともに DM 群白内障で増加していた。その増加量は非結合型の Cu<sup>2+</sup>量が多く存在していた。蛋白質結合型と非結合型銅イオンの占める割合は、DM, 非 DM 群ともほぼ同じで、非結合型銅イオンが多く存在していた。

3. ヒト血清、房水および硝子体の銅イオン量 (表 2)

ヒト血清、房水および硝子体の銅イオン量は、DM 群が非 DM 群のそれぞれに比較して増加がみられた。

4. 白内障水晶体の銅染色

図 6 はロダニン法で、褐色の核白内障水晶体中の銅を染色したものである。白内障水晶体の上皮下と皮質浅層内に褐色に染まった銅が認められた。正常水晶体では、銅は染色されなかった。

5. ヒト白内障過酸化反応関連物質の変化 (図 7)

過酸化水素量は、DM 群白内障が 30.46±10.51 nmol/

lens で、非 DM 群白内障の 26.67±7.97 nmol/lens と比較して有意差はなかったが、増加傾向がみられた。

過酸化脂質量は、DM 群白内障が 8.3±3.7×10<sup>-2</sup>nmol マロンジアルデヒド (MDA)/lens で、非 DM 群白内障の 6.8±2.8×10<sup>-2</sup>nmol (MDA)/lens に比較して有意差はなかったが、やや増加していた。

Cu, Zn-SOD 量は、DM 群白内障が 8.3±1.4 μg/lens で、非 DM 群白内障の 10.2±3.5 μg/lens に比較して、DM 群白内障でやや減少していた。

O<sub>2</sub><sup>-</sup> scavenging 活性は、DM 群白内障が 42.20±36.89 U/mg lens protein で、非 DM 群白内障の 68.25±25.72 U/mg lens protein に比較して減少していた。

Glycated protein 量も DM 群白内障が 9.33±8.15 μmol/lens で、非 DM 群白内障の 7.55±5.47 μmol/lens に比較して有意差はなかったが、高い傾向がみられた。

IV 考 按

生体には生理機能を維持するために微量元素が存在する。そのうち、必須な微量元素には 15 種類があり、銅イオンもその一つである。銅イオンは過酸化水素と反応 (フェントン様反応)<sup>16)</sup>して過酸化反応に強く関与し、蛋白質、脂質、そして膜構造を破壊することから、水晶体の混濁化を進める因子の一つとして注目される。したがって、その変動を追究することは白内障の発生機序を知るうえで興味ある課題である。銅含有濃度の最も高い組織は肝臓と脳であり、脳は加齢とともに銅濃度が増加する唯一の組織であり、眼組織においては虹彩で非常に高濃度になる<sup>1)</sup>。糖尿病では血液の銅が増加している<sup>5)6)</sup>。ヒト白内障水晶体では、銅含有量が増加することが報告<sup>17)~20)</sup>されている。水晶体中の銅の存在部位を組織的に証明するためにロダニン法で染色してみると、透明水晶体では検出されなかったが、褐色の核白内障では明らかに銅が皮質浅層に沈着していることが確認できた。

表 1 ヒト白内障水晶体の銅イオンの組成  
—蛋白質との結合の有無により分類—

	(μg/lens)	Cu <sup>2+</sup> 量	Cu <sup>+</sup> 量	Cu <sup>+</sup> +Cu <sup>2+</sup> 量
DM 群	蛋白質結合型	3.18±2.74	1.64±1.15	4.20±2.84*
	蛋白質非結合型	3.77±3.23	2.69±1.87	7.78±7.11
非 DM 群	蛋白質結合型	1.07±0.94	0.78±0.73	1.84±1.52*
	蛋白質非結合型	1.75±1.11	1.16±0.83	2.82±0.98

DM 群：糖尿病群白内障，非 DM 群：非糖尿病群白内障 \* : p<0.05

表 2 ヒト血清、房水、水晶体および硝子体中銅イオン量

	血清 (μg/dl)	房水 (μg/dl)	水晶体 (μg/lens)	硝子体 (μg/vit)
DM 群	105.64±13.90	8.54	10.59±6.25**	26.11±18.79*
非 DM 群	102.43±8.38	7.65±1.07	3.84±1.67	9.71±7.77

\* : p<0.05 \*\*p<0.01

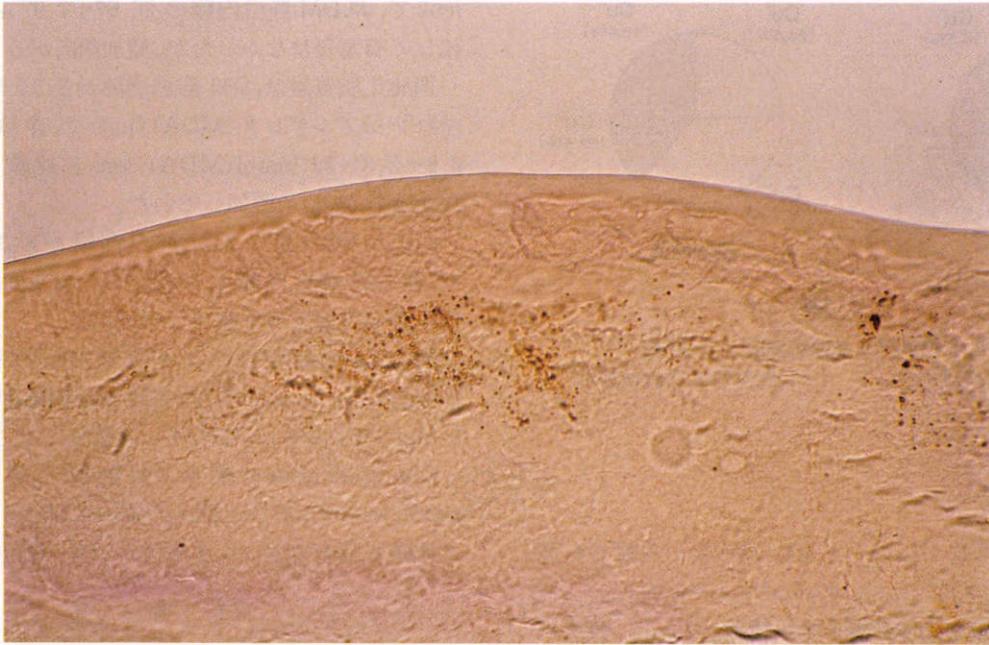


図6 ヒト白内障水晶体の銅染色—ロダニン法.

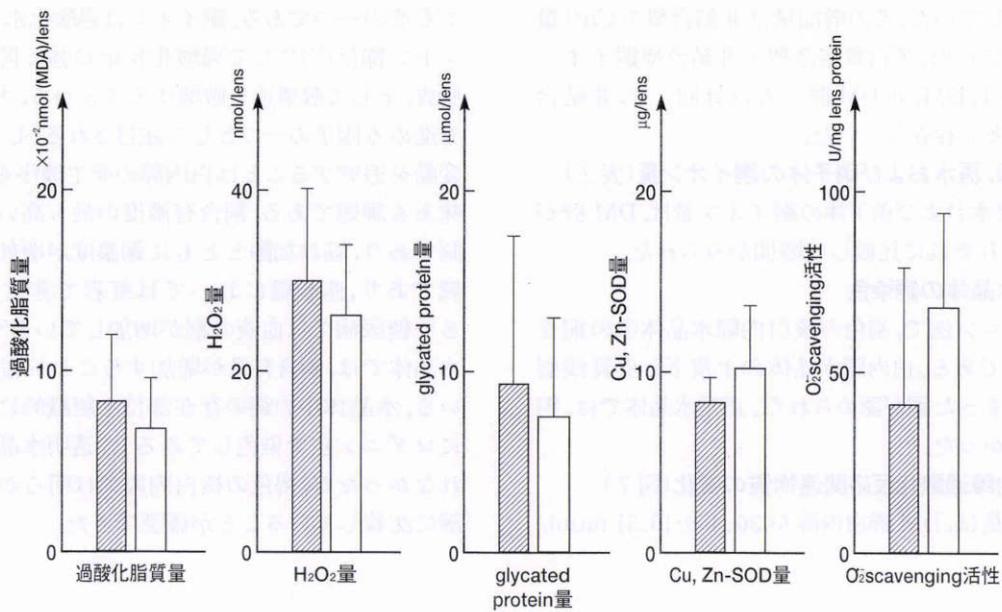


図7 ヒト白内障水晶体の過酸化反応関連物質.

■: DM 群白内障 □: 非DM 群白内障

正常水晶体(脱白水晶体, 62歳)における銅イオン量は, 我々の実験成績では  $0.51 \mu\text{g}/\text{lens}$  である. Ráczら<sup>17)</sup>が報告した正常水晶体(65歳)における銅量は原子吸光法で測定されたものであり, 我々とは実験方法が異なるが, 一水晶体当たりの含有量に換算すると  $0.045 \mu\text{g}/\text{lens}$  となる. それに比べ, 白内障水晶体中の銅イオン量は非DM群で  $3.84 \pm 1.60 \mu\text{g}/\text{lens}$  と透明水晶体に比べて明らかに増加しており, DM群では  $10.59 \pm 6.25 \mu\text{g}/\text{lens}$  と有意に増加していた. DM群白内障水晶体では,  $\text{Cu}^+$ および $\text{Cu}^{2+}$ の双方とも非DM群白内障に比較して有意に増加しており, その増加量は $\text{Cu}^{2+}$ で著しかった.

銅イオンの水晶体中における存在様式について, 蛋白質との結合の有無によって検討したところ, 白内障水晶体では蛋白質非結合型銅イオンが多く存在していた. 蛋白質非結合型銅イオンには遊離銅イオンやアミノ酸結合型, およびペプチド結合型銅イオンなど, 分子量3,000未満のものが含まれている. 白内障水晶体では, 銅含有酵素などの銅蛋白質から銅イオンの解離が進んでいることを意味する.

次に, DM群と非DM群白内障別の存在様式をみると, 結合型, 非結合型の割合は両白内障ともほぼ同じであるが, 量的にみるとDM群で両型の銅イオンが増加して

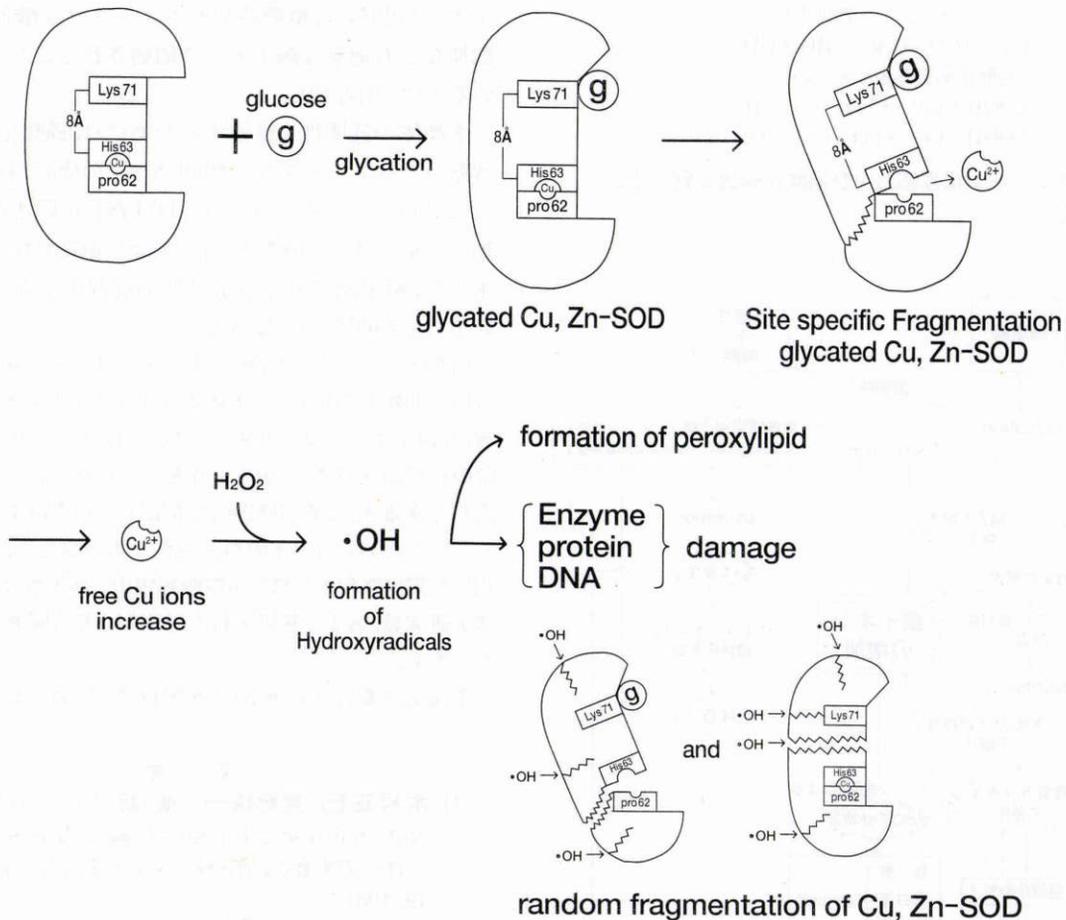


図 8 グリケーションによる Cu, Zn-SOD (Cu, Zn-スーパーオキシドジスムターゼ) から銅イオンの放出とラジカル生成過程 (谷口ら<sup>23)24)</sup> から改変).

いた。すなわち、DM 群白内障では非 DM 群白内障と比較して、結合型、非結合型銅イオンとも同じ割合で増加しているが、総銅イオン中の割合は非結合型が多く、約 57.3% を占めていることがわかった。

DM 群白内障水晶体で銅イオンが増加した原因として、現段階では次の二点が推察できる。第一には、糖尿病による血管透過性の亢進が起こり、血液房水柵の破壊によって血中で増加傾向にある銅イオンが房水に多量に移行して水晶体に蓄積すること。また、第二の原因として、銅含有酵素から銅イオンが放出されることが考えられる。

まず、第一に考えられる血管透過性の亢進については、元来、銅イオンが透過性を亢進させることが水晶体の培養実験から報告<sup>21)22)</sup>されている。糖尿病による血清中銅イオンのわずかな増加が長期間続いたことによって、房水や硝子体を介して水晶体への銅イオンの蓄積が起こった可能性が考えられる。

一方、増殖糖尿病網膜症 (DM 群) の硝子体の銅イオンは、増殖性硝子体網膜症や外傷性網膜剥離の硝子体 (非 DM 群) に比べ有意に増加していた。DM 群白内障で増加した銅イオンは硝子体の影響を多く受けていると思われた。

次に、第二の増加原因の銅含有酵素から銅イオンの放出についてであるが、眼組織にはチトクローム C オキシダーゼ、Cu, Zn-SOD、そしてチロシナーゼなどの銅含有酵素の存在が知られている<sup>1)</sup>。したがって、これらの酵素から銅イオンが何らかの原因で放出されることが考えられる。

糖尿病患者では過剰なグルコースにより、銅蛋白質にグリケーションが起こる。Cu, Zn-SOD のように立体的に 8Å 以内にヒスチジンが存在するリジンにグリケーションが起こると、そのヒスチジン残基でペプチド結合が切断され、ヒスチジン残基に配位していた Cu<sup>2+</sup> が遊離する<sup>23)24)</sup> (図 8)。遊離した Cu<sup>2+</sup> は電子を放出して容易に Cu<sup>+</sup> となるために、糖尿病状態では遊離銅イオンが増加したと考えられる。

遊離した Cu<sup>+</sup> は、DM 群で増加している過酸化水素とフェントン様反応を起こして、非常に反応性の高い HO<sup>•</sup> (ヒドロキシラジカル)<sup>16)25)</sup> を生成し、脂質、蛋白質、核酸と反応して過酸化脂質や蛋白質、核酸の変性を引き起こす<sup>26)</sup>。そして、HO<sup>•</sup> は Cu, Zn-SOD 自体も分解し<sup>23)24)</sup>、SOD 量のみならず、その活性も低下させて O<sub>2</sub><sup>-</sup> が発生しやすい状態を作り、過酸化反応の進行にさらに拍車をかけたと思われる。

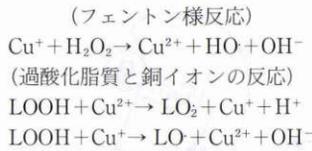


図9 フェントン様反応および過酸化脂質と銅イオンの反応。

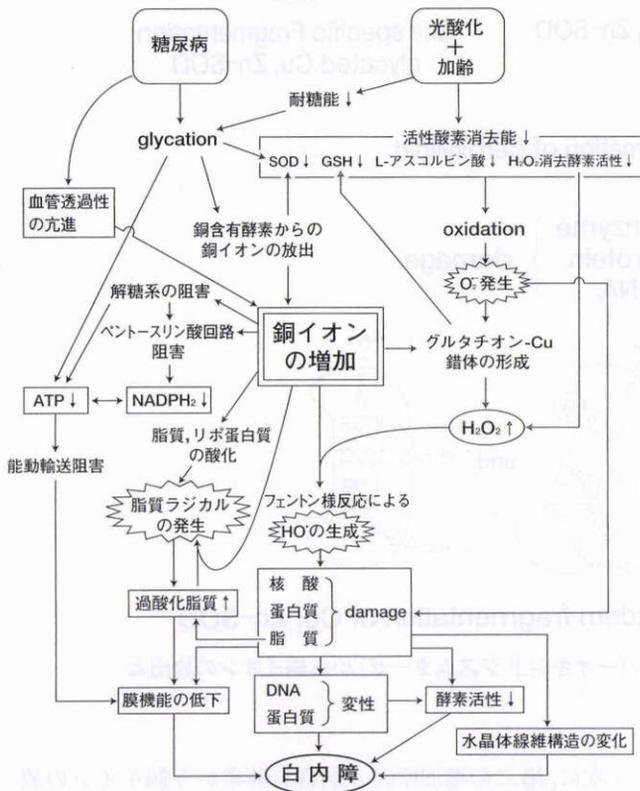


図10 銅イオンによる活性酸素と水晶体に与える影響。

Oxidation の産物である過酸化水素および過酸化脂質量を測定すると、DM 群白内障は非 DM 群白内障に比較して増加傾向があり、過酸化反応が進行していることが明らかとなった。DM 群白内障では、過剰なグルコース量が引き金となってグリケーションが進行した<sup>27)</sup>ために、この反応が加速したと思われる。一方、非 DM 群白内障の銅イオン量が透明水晶体よりも高かったのは、白内障水晶体では加齢その他の影響により、近紫外線照射による oxidation に対する防御能や耐糖能が低下していたため、徐々に水晶体への銅イオンの蓄積が起こったのではないかと推察している。また、銅イオンは図9のように、過酸化反応の産物である過酸化脂質と反応して脂質ラジカルを生成し、連鎖的に過酸化反応を進め、脂質の構成を乱して膜を破壊させ、膜機能の低下を招くことになる。

今回は銅イオンによるフェントン様反応、過酸化脂質の反応、そして過酸化消去機構のうち SOD の傷害に注目し、検討した。この他にも銅イオンは様々な反応を触媒する<sup>28)</sup>。例えば、アスコルビン酸ラジカルの生成にも銅

イオンが関与し、解糖系やペントースリン酸回路の酵素活性なども過剰な銅イオンで阻害されることが知られている<sup>1)29)~32)</sup>(図10)。

水晶体の透明性を維持するためには、過酸化消去能、解糖系とペントースリン酸回路などの機能が正常であることが必須である。そのため、DM 群白内障水晶体中で増加した銅イオンが過酸化消去能や糖質の代謝に異常を来して、糖尿病における水晶体の混濁化に強く影響していることが明らかとなった。

稿を終えるにあたり、銅イオンとグリケーションの関係について御教示賜りました大阪大学医学部生化学教室谷口直之教授、銅イオンの染色方法をお教えいただいた佐世保総合病院眼科平山善章先生、切片を作製していただいた白内障研究所石井康雄先生、嚢内摘出術で摘出した白内障水晶体を提供していただいた佐々木眼科医院佐々木秀樹先生、常に御指導頂いた獨協医科大学越谷病院眼科田中 寧先生ならびに新井清美研究員、および獨協医科大学眼科小原喜隆教授に深謝いたします。

本論文の要旨は第98回日本眼科学会総会において講演した。

文 献

- 1) 木村正巳, 荒記俊一, 他(訳): ヒトの銅代謝, National research council (編): 環境汚染物質の生体への影響12, 銅・鉄, 東京化学同人, 東京, 19-49, 1981.
- 2) Lau AL, Failla ML: Urinary excretion of zinc, copper, and iron in the streptozotocin-diabetic rat. J Nutr 114: 224-233, 1984.
- 3) Johnson WT, Evans GW: Effect of the interrelationship between dietary protein and minerals on tissue content of trace metals in streptozotocin-diabetic rats. J Nutr 114: 180-190, 1984.
- 4) Craft NE, Failla ML: Zinc, iron, and copper absorption in the streptozotocin-diabetic rat. Am J Physiol 244: E122-E128, 1983.
- 5) Walter RM Jr, Uriu-Hare JY, Olin KL, Oster MH, Anawalt BD, Critchfield JW, et al: Copper, zinc, manganese, and magnesium status and complications of diabetes mellitus. Diabetes Care 14: 1050-1056, 1991.
- 6) 糸川嘉則: 糖尿病と微量元素. Diabetes Frontier 3: 425-433, 1992.
- 7) 林 振民, 平野清美, 土屋寛芳, 田中 寧, 小原喜隆: 糖尿病における水晶体および硝子体の銅イオンの変動. 眼紀 45: 357-360, 1994.
- 8) 林 振民, 小原喜隆, 新井清美: 白内障と金属イオン. 清野 進, 他(監修): 糖尿病研究ストラテジー. 秀潤社, 東京, 281-285, 1995.
- 9) 浅野伍朗(編): 診断・研究のための病理技術詳解 2. 染色法. 藤田企画出版, 東京, 127-124, 1992.
- 10) 平山善章, 雨宮次生: ラット角膜における銅の組織化学的局在. 眼紀 41: 511-514, 1990.
- 11) Witerbourn CC, Garcia RC, Segal AW: Production of the superoxide adduct of myeloperoxidase (compound III) by stimulated human neutro-

- phils and its reactivity with hydrogen peroxide and chloride. *Biochem J* 228: 583-592, 1985.
- 12) **Patti PF, Bonet-Maury P**: Methode colorimetrique four le dosage de la catalase. *Bull Ste Chim Biol* 35: 1177-1180, 1953.
  - 13) 八木国夫: Thiobarbituric acid 蛍光法による血漿又は血清中の過酸化脂質の微量定量法. *ビタミン* 49: 403-405, 1975.
  - 14) 田中 寧, 平野清美, 土屋寛芳, 小原喜隆: 糖尿病性網膜症の硝子体 Cu,Zn-SOD 量. *眼紀* 43: 1111-1116, 1992.
  - 15) 倉八博之, 森寺邦三郎, 石原 隆, 早稲田則雄, 笠倉新平, 五十嵐哲也, 他: 糖尿病における血清フルクトサミン値の臨床的意義. *糖尿病* 30: 987-994, 1987.
  - 16) 小沢俊彦, 後藤浩美, 高沢文恵, 花木 昭: 銅 (II) 錯体と過酸化水素の反応によるヒドロキシルラジカルの生成. *日本化学会誌* 4: 459-465, 1988.
  - 17) **Rácz P, Ordogh M**: Investigations on trace elements in normal and senile cataractous lenses: Activation analysis of copper zinc, manganese, cobalt, rubidium, scandium and nickel. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 204: 67-72, 1977.
  - 18) **Balaji M, Sasikala K, Racindran T**: Copper levels in human mixed, nuclear brunescence, and posterior subcapsular cataract. *Br J Ophthalmol* 76: 668-669, 1992.
  - 19) **Rasi V, Costantini S, Moramarco A, Giordano R, Guistolisi R, Balacco Gabrieli C**: Inorganic element concentrations in cataractous human lenses. *Ann Ophthalmol* 24: 459-464, 1992.
  - 20) **Lakomaa EL, Eklund P**: Trace element analysis of human cataractous lenses by neutron activation analysis and atomic absorption spectrometry with special reference to pseudo-exfoliation of the lens capsule. *Ophthalmic Res* 10: 302-306, 1978.
  - 21) **Jacob TJC, Duncan C**: The role of divalent cations in controlling amphibian lens membrane permeability: The mechanisms of toxic cataracts. *Exp Eye Res* 36: 595-606, 1983.
  - 22) **Coulter JB III, Oliver SS, Whitener CM, Collie CJ, Engelke JA**: Toxic effects of copper on cultured rat lenses. *Exp Eye Res* 26: 547-554, 1978.
  - 23) 谷口直之: スーパーオキシドジスムターゼの構造, 機能および病態生化学. *生化学* 64: 1103-1115, 1992.
  - 24) **Ookawara T, Kawamura N, Kitakawa Y, Taniguchi N**: Site-specific and random fragmentation of Cu, Zn-superoxide dismutase by glycation reaction. *J Biol Chem* 267: 18505-18510, 1992.
  - 25) **Halliwell B, Gutteridge JMC**: Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview, Packer L, Glazer AN, *Methods in Enzymology*, 15, Academic Press, San Diego, 1990.
  - 26) 川西正祐: 金属イオンとオキシラジカル: とくに核酸に対する障害性について. *フォーラム・イン・ドージン* 4: 30-39, 1993.
  - 27) 小原喜隆: 白内障と活性酸素・フリーラジカル, 糖尿病性白内障, 活性酸素フリーラジカル 3: 450-456, 1992.
  - 28) **Halliwell B**: Oxidants and human disease: Some new concepts. *FASEBJ* 1: 358-364, 1987.
  - 29) **Awasthi YC, Miller SP, Arya DV, Srivastava SK**: The effect of copper on human and bovine lens and on human cultured lens epithelium enzymes. *Exp Eye Res* 21: 251-257, 1975.
  - 30) 野口範子: 血管とフリーラジカル. *Mebio* 11(4): 36-42, 1994.
  - 31) 三好清徳, 石津和彦, 田中 久: グルタチオン-銅 (II) 錯体と SOD 活性. 石津和彦, 他 (編): 磁気共鳴と医学 Vol 1. 日本医学館, 東京, 69-73, 1990.
  - 32) 小原喜隆: 病因 (白内障). 増田寛次郎 (編): 眼科学大系 2B, 水晶体. 中山書店, 東京, 113-126, 1993.