

## ヒト褐色白内障水晶体核部水溶性分画における遊離蛍光物質の同定

安藤佳奈子<sup>1)</sup>, 白尾 悦子<sup>1)</sup>, 岩口由香里<sup>1)</sup>, 白尾 裕<sup>1)</sup>, 井上 周<sup>2)</sup><sup>1)</sup>金沢大学医学部眼科学教室, <sup>2)</sup>ロート製薬生物臨床研究部

## 要 約

目 的: ①ヒト褐色白内障水晶体核に特に多く含まれ,  $\beta$ -グルコシドと推定される遊離蛍光物質(FI-Glc)と, 非褐色白内障水晶体核由来の低分子分画の長期インキュベーションで増加する未知の蛍光物質(FI-X)の異同を調べ, ②FI-Xの同定を試みた。

方 法: ①高速液体クロマトグラフィ(HPLC)でFI-GlcとFI-Xおよび両者の $\beta$ -グルコシダーゼ分解産物(アグリコン)を比較した。②i)FI-Xおよびそのアグリコンの質量分析を行った。ii)後者と等しい分子量であるキサントレン酸のHPLCおよび質量分析を行った。

結 果: ①FI-GlcとFI-Xの保持時間は一致し, 両者

の蛍光ピークはともに $\beta$ -グルコシダーゼ処理によって消失した。②i)FI-Xおよびそのアグリコンの分子量はそれぞれ367および205と推定された。ii)キサントレン酸のHPLCおよび質量分析の所見はFI-Xのアグリコンのそれらと一致した。

結 論: FI-XすなわちFI-Glcはキサントレン酸グルコシドである。(日眼会誌 104: 207-213, 2000)

キーワード: グルコシド, キサントレン酸, 質量分析, 蛍光物質, 白内障

## Identification of a Free Non-tryptophan Fluorophore in Water-soluble Fraction of Human Brunescant Cataractous Lens Nucleus

Kanako Ando<sup>1)</sup>, Etsuko Shirao<sup>1)</sup>, Yukari Iwakuchi<sup>1)</sup>, Yutaka Shirao<sup>1)</sup> and Amane Inoue<sup>2)</sup><sup>1)</sup>Department of Ophthalmology, Kanazawa University School of Medicine<sup>2)</sup>Research and Development, Rohto Pharmaceutical Co. Ltd.

## Abstract

**Purpose:** We previously reported that a unique free fluorophore (FI-Glc), presumably a  $\beta$ -glucoside, is particularly abundant in human brunescant cataractous lens nuclei. Our preliminary experiments indicated that incubation of low-molecular weight (MW) fraction of non-brunescant lens nuclei causes an increase in a particular fluorophore (FI-X). This study was undertaken to compare the FI-Glc with the FI-X and subsequently to identify the FI-X.

**Methods:** Experiment ① The purified FI-X and its  $\beta$ -glucosidase digest (aglycon) were compared with the FI-Glc and its aglycon, respectively, by high-performance liquid chromatography (HPLC). Experiment ② i) The FI-X and its aglycon were analysed by liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS). ii) Authentic xanthurenic acid was anal-

ysed by HPLC and LC/MS.

**Results:** Experiment ① The retention times of the FI-X and the FI-Glc exactly coincided. The fluorescence peaks of both disappeared after  $\beta$ -glucosidase treatment. Experiment ② i) LC/MS results suggested that the MWs of the FI-X and its aglycon were 367 and 205, respectively. ii) HPLC and LC/MS results for xanthurenic acid (MW=205) were exactly the same as those for the aglycon of the FI-X.

**Conclusions:** The FI-Glc and the FI-X are identical, and the FI-X (=FI-Glc) is a glucoside of xanthurenic acid. (J Jpn Ophthalmol Soc 104: 207-213, 2000)

Key words: Glucoside, Xanthurenic acid, Mass spectrometry, Fluorophore, Cataract

## I 緒 言

ヒト水晶体水溶性分画中には3種類の遊離の非トリプ

トファン蛍光物質[キヌレニン, 3-ヒドロキシキヌレニングルコシド(3HK-Glc),  $\alpha$ -deamino-3-OH-L-kynurenine-O- $\beta$ -D-glucoside(DHKN-Glc)]が存在する<sup>1)2)</sup>。

別刷請求先: 920-8640 金沢市宝町 13-1 金沢大学医学部眼科学教室 白尾 裕

(平成 11 年 7 月 2 日受付, 平成 11 年 9 月 22 日改訂受理)

Reprint requests to: Yutaka Shirao, M.D. Department of Ophthalmology, Kanazawa University School of Medicine, 13-1 Takara-machi, Kanazawa 920-8640, Japan

(Received July 2, 1999 and accepted in revised form September 22, 1999)

最近,岩瀬ら<sup>3)</sup>は褐色白内障の水晶体核(褐色核)は非褐色白内障の水晶体核(非褐色核)と比べてある種の蛍光物質を多く含み,この物質は3HK-GlcやDHKN-Glcと同様に $\beta$ -グルコシドであると推定されると報告した.この蛍光物質(FI-Glc)は褐色核に特異的に多いので,その性状の解明は核褐色化の原因究明に寄与すると期待される.しかし,褐色核中のFI-Glcは物質質量としては微量であり,かつ,近年の早期手術の傾向や超音波手術の普及により褐色核標本が減少したので,同定に必要な十分なFI-Glcを抽出するに足る褐色核を収集することは困難であった.ところが,我々は非褐色核から得られた低分子分画の37°Cにおける長期インキュベーション(静置)試料中に,高速液体クロマトグラフィ(HPLC)上FI-Glcと同様な保持時間にピークを有する一種の蛍光物質(FI-X)が著明に生成されることを発見した(未発表).本報では,FI-XとFI-Glcの異同の決定およびFI-Xの同定を試みた.

## II 材料および方法

### 1. 材 料

囊外摘出法で得られた老人性白内障水晶体核を材料とした.水晶体核(核)を使用することに関してすべての患者から同意を得た.核は白内障疫学研究班分類<sup>4)</sup>を参考にし,着色程度IおよびIIは非褐色,着色程度IVは褐色核と定義した.分析には非褐色核3個(各々71,72,76歳)および褐色核1個(76歳)を用い,FI-Xの精製には非褐色核10個(平均73歳)を用いた.恣意的な分類を避けるために着色程度III<sup>4)</sup>の核は除外した.核は-20°Cで保存し,使用時に解凍した.

### 2. 方 法

#### 1) 低分子分画の抽出

核1個当たり,20mMリン酸カリウム緩衝液(pH 5.6)1.5mlを加えて均一化し,10,000Gで10分間遠心後,上清を採取し,分画分子量10,000の限外濾過膜(マイクロコン-10,Amicon,Bedford,MA,米国)で濾過して得られた濾液を低分子分画と定義した.

#### 2) FI-Xの精製

無菌的に調整した非褐色核の低分子分画を滅菌したポリプロピレン製マイクロチューブに入れて密閉し,37°Cで約12週間静置した.その際,マイクロチューブ内のガスの置換や脱気は行わなかった.静置の後,マイクロチューブ内容をSep-Pak C18(日本ミリポアリミテッド)で濃縮し,まずHPLC条件②で,次に条件③(後記)で分離精製した.

#### 3) HPLC

システムコントローラー(SCL-6A,島津製作所)とポンプ2台(LC-6A,島津製作所)を用い,カラムおよび移動相には下記のHPLC条件①~③のいずれかを用い,室温で分析した.試料注入量は15 $\mu$ lとした.紫外線(UV)吸光度(波長350nm,SPD-6A,島津製作所)および蛍光

強度(励起波長350nm/蛍光波長440nm)をインテグレーター(C-R3AとC-R6A,島津製作所)に出力した.蛍光モニターとして,下記条件①,②にはRF-530(島津製作所)を用い,③にはRF-10A<sub>XL</sub>(島津製作所)を用いた.

i) 条件①:カラム,TSK-GEL ODS-80Ts(内径4.6mm $\times$ 全長15cm,東ソー).移動相溶媒A液,20mMリン酸緩衝液(pH 5.6):移動相溶媒B液,60%メタノール.流速,0.8ml/min.5分までA液単独,5~80分にかけてB液100%まで直線勾配. ii) 条件②:カラム,TSK-GEL Super ODS(内径4.6mm $\times$ 全長10cm,東ソー).移動相溶媒,HPLC条件①と同じ.流速,0.8ml/min.5分までA液単独,5~20分にかけてB液40%まで直線勾配,20分以降A液単独. iii) 条件③:カラム,条件②と同じ.移動相溶媒,20mM酢酸アンモニウム:アセトニトリル=97.5:2.5.流速,0.8ml/min.

4) 液体クロマトグラフィ/質量スペクトロメトリー(LC/MS)による分析

ポンプ(616,Waters Chromatography,Milford,MA,米国),コントローラー(600s,Waters Chromatography),カラム(TSK-GEL Super ODS,東ソー)および質量分析計(TSQ 7000,Finnigan MAT,San Jose,CA,米国)を用い,カラム温度は室温で以下の条件で行った.移動相,20mM酢酸アンモニウム:アセトニトリル=95:5:室温:流速,0.8ml/min.エレクトロスプレーイオン化法.キャピラリー先端温度,250°C:シースガス(窒素)圧,約4.9気圧:スプレー電圧,4.5kV:走査範囲,m/z=100~1,000.

#### 5) 実験1.静置下における蛍光物質量の経時的変化

3個の非褐色核から別々に作製された低分子分画を2)と同様の方法で37°Cで無菌的に静置し,3週間毎に9週まで,上記のHPLC条件①で分析した.

#### 6) 実験2.FI-XとFI-Glcの異同

褐色核の低分子分画(FI-Glcを含む)とFI-XをそれぞれHPLC条件②および③で分析し,FI-GlcとFI-Xの保持時間を比較した.また,褐色核の低分子分画とFI-Xに $\beta$ -グルコシダーゼ(Sigma,St Louis,MO,米国,0.1%v/v)を添加し,37°Cで2時間静置後HPLC条件②で分析した.

7) 実験3.FI-Xおよびその $\beta$ -グルコシダーゼ分解産物(アグリコン)の質量分析

LC/MSでFI-Xとそのアグリコンを分析した.FI-Xのアグリコンは,FI-Xに $\beta$ -グルコシダーゼ(0.1%v/v)を添加し,37°Cで1時間の静置後,分画分子量10,000の限外濾過膜(マイクロコン-10,Amicon)で濾過して $\beta$ -グルコシダーゼを除去して得た.

8) 実験4.FI-Xのアグリコンとキサンツレン酸との比較

実験3の結果で推定されたFI-Xのアグリコンの分子量に一致するトリプトファン代謝産物であるキサンツレ

ン酸(和光純薬)を, HPLC 条件②および LC/MS で分析した.

### III 結 果

**実験 1.** 静置下における FI-X および 3HK-Glc の経時的变化

静置後では UV 吸光クロマトグラム上, 23~28 分に新たな UV 吸光ピークが数本出現し(図 1 右上段), 蛍光クロマトグラムでは 26 分近傍に顕著なピークが現れた(図 1 右下段). 静置で増加するこの蛍光ピークの物質を FI-

X と呼ぶ(緒言参照). UV 吸光クロマトグラムで, 静置前に最も大きなピークとしてみられた保持時間 10 分近傍のピーク(図 1 左上↓)が静置後に著明に小さくなった(図 1 右上↓). 保持時間 10 分近傍の UV 吸光ピーク(図 1 左上↓, 右上↓)は,  $\beta$ -グルコシダーゼ添加により消失し, 3-ヒドロキシキヌレニン(3HK)の保持時間に等しい保持時間に新たなピークが出現すること(図略), および他の報告<sup>5)6)</sup>の逆相 HPLC を用いた低分子分画のクロマトグラムのパターンとの比較から, 3HK-Glc のピークであると判断した. 従来から, 3HK-Glc は非トリプトファ

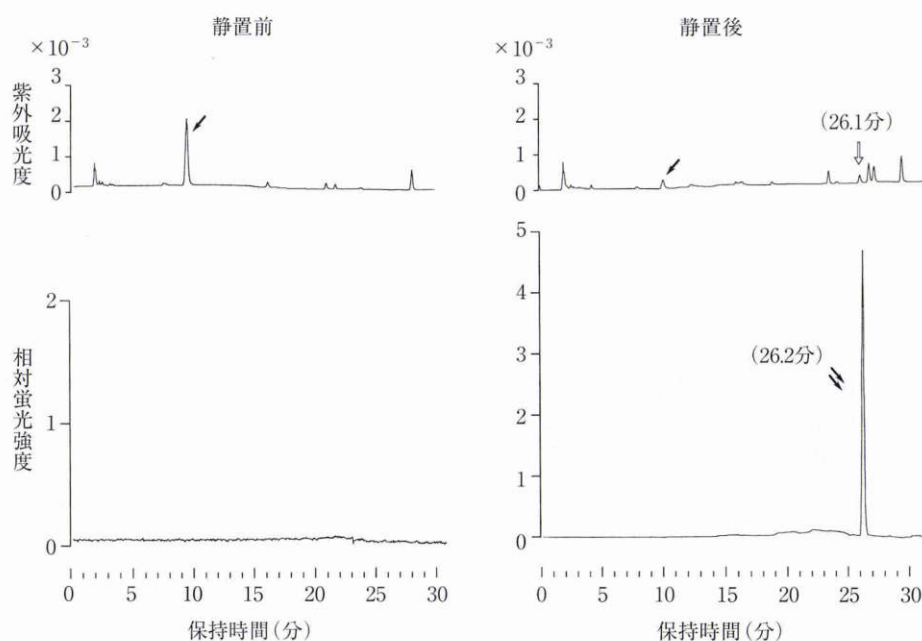


図 1 非褐色核から得られた低分子分画の静置前後のクロマトグラム.

左: 静置前, 右: 37°C で静置 9 週後. 上段: 紫外線(UV)吸光度, 下段: 蛍光強度. 静置前には蛍光のピークが全く検出されなかった(左下段)のに対し, 37°C 静置後には顕著な蛍光ピークが 26 分近傍に出現した(右下段). 高速液体クロマトグラフィ(HPLC)条件①使用(方法参照). 縦軸: 任意単位, 横軸: 時間(分). ただし, 蛍光強度は, 右図の縦軸は左図の 1/2 に縮小されている.

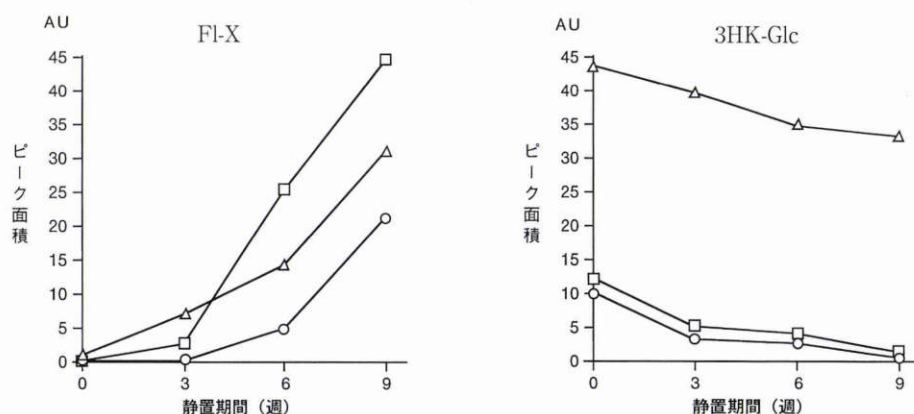


図 2 静置に伴う 3-ヒドロキシキヌレニングルコシド(3HK-Glc)と非褐色核由来の低分子分画の長期インキュベーションで増加する未知の蛍光物質(FI-X)の量の経時変化.

静置に伴って経時的に 3HK-Glc は減少し, FI-X は増加した. 各シンボルはそれぞれ別の 3 個の水晶核から得られた試料における結果を示す. 縦軸: arbitrary unit(AU)で表したピーク面積値, 横軸: 時間(週).

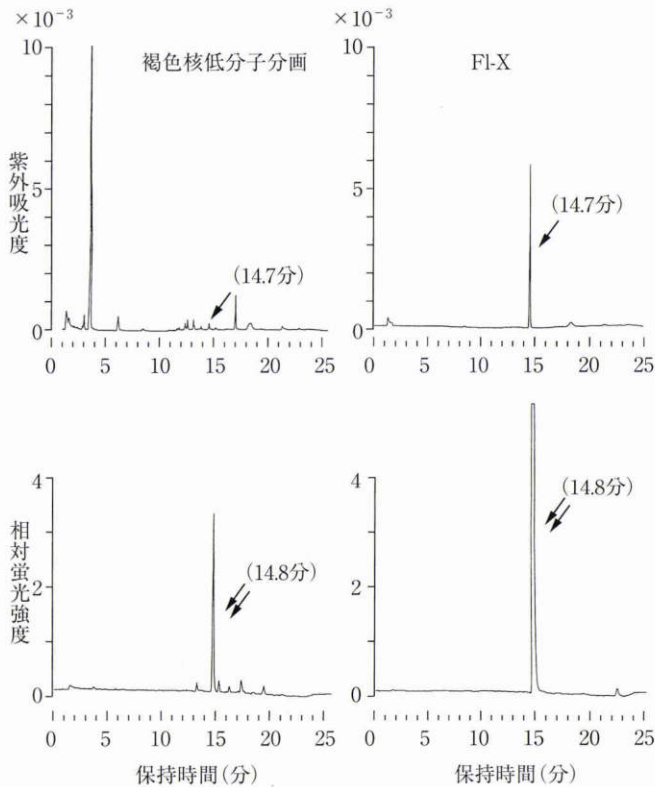


図3 褐色核から得られた低分子分画(褐色核に特異的な蛍光物質であるFI-Glcを含む,左)と,FI-X(右)のクロマトグラムの比較. HPLC条件②使用(方法参照). 上段:UV吸光度,下段:蛍光強度.FI-Xの蛍光ピーク(右下⇓)の保持時間(14.8分)はFI-Glcの蛍光ピークの保持時間(14.8分)と一致した(左下⇓).紫外吸光検出ではFI-Xのピークは14.7分にある(右上⇓),FI-Glcについては,対応すると思われる小さいピークが14.7分にあった(左上⇓).

ン蛍光物質として知られている<sup>1)</sup>が,このHPLC条件では蛍光ピークは観察されなかった(図1左下段)ので,3HK-GlcはUV吸光度に比し蛍光強度は弱いことが示された.それに対して,FI-Xでは26.2分に大きな蛍光ピークがみられた(図1右下⇓)のに対し,UV吸光検出では26.1分にFI-Xと思われる小さいピークがみられた(図1右上⇓)のみであったので,FI-XはUV吸光度に比して,非常に強い蛍光強度を有することがわかった.

調べた3個の水晶体すべてについて,静置中のFI-Xの蛍光ピーク面積は経時的に増加し,3HK-GlcのUV吸光ピーク面積は経時的に減少した(図2).

#### 実験2. FI-XとFI-Glcの異同

褐色核の低分子分画(FI-Glcを含む)とFI-Xを,HPLC条件②で分析した.FI-Glcの蛍光ピークは14.8分にある(図3左下⇓),FI-Xの蛍光ピークと一致した(図3右下⇓).FI-XのUV吸光ピークは14.7分にあったが(図3右上⇓),FI-Glcのそれは14.7分に小さくみられた(図3左上⇓).すなわち,FI-GlcもFI-Xと同様に,UV吸光度に比して非常に強い蛍光強度を有する.

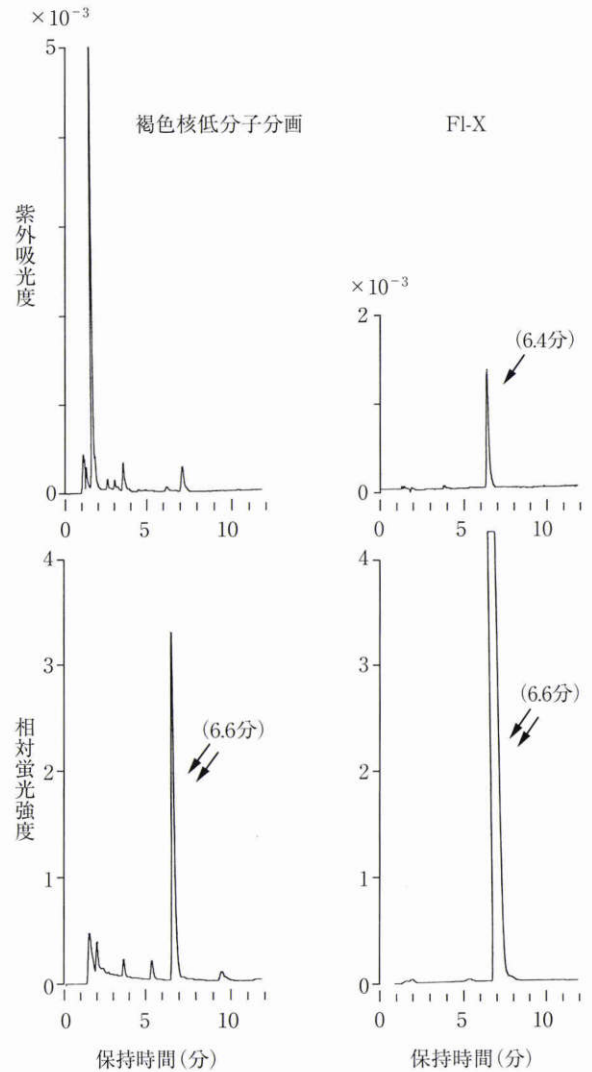


図4 褐色核から得られた低分子分画(FI-Glcを含む,左)と,FI-X(右)のクロマトグラムの比較. HPLC条件③使用(方法参照).

上段:UV吸光度,下段:蛍光強度.FI-Xの蛍光ピーク(右下⇓)の保持時間(6.6分)はFI-Glcの蛍光ピークの保持時間(6.6分)と一致した(左下⇓).

次に,上記のHPLC条件②で用いた試料と同一の試料をHPLC条件③で分析した.FI-Glcの蛍光ピーク(図4左下⇓)もFI-Xの蛍光ピーク(図4右下⇓)もともに6.6分にみられた.また,褐色核の低分子分画と,FI-Xを希釈して褐色核の低分子分画中のFI-Glcの濃度とほぼ等しくなるようにした試料を等量混合してHPLC②および③で分析したところ,いずれの条件下でも蛍光ピークは完全に1本に重なった(図略).

褐色核の低分子分画とFI-Xのβ-グルコシダーゼ処理では,β-グルコシダーゼ非処理時にはあったFI-Glcの蛍光ピーク(図3左下14.8分⇓)およびFI-Xの蛍光ピーク(図3右下14.8分⇓)は,いずれも消失した(図5左下⇓,右下⇓).β-グルコシダーゼ処理後には新たなピークが13.8分に出現した(図5右上⇓).

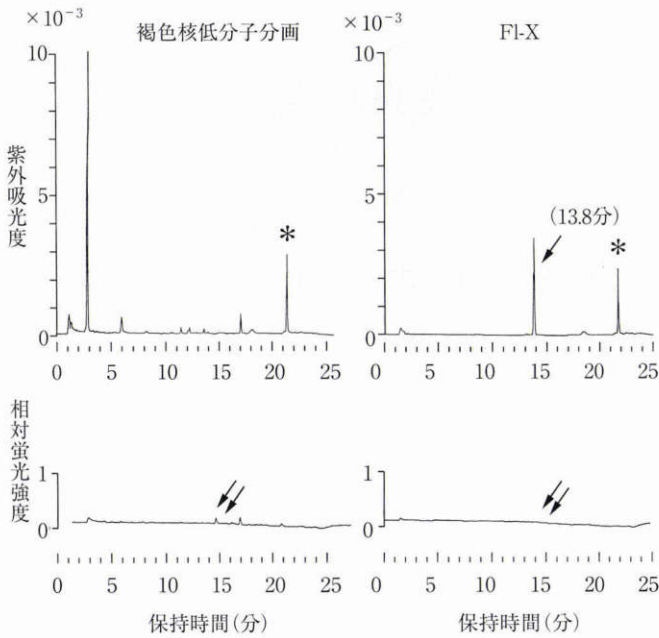


図5 褐色核から得られた低分子分画(FI-Glcを含む, 左)およびFI-X(右)の $\beta$ -グルコシダーゼ処理後のクロマトグラム。

上段: UV 吸光度, 下段: 蛍光強度. HPLC 条件②使用(方法参照). 21.8分のUV吸光ピーク(左上\*, 右上\*)は $\beta$ -グルコシダーゼ $\beta$ -グルコシダーゼ添加前にあったFI-Glc, FI-Xの14.8分の蛍光ピーク(図3左下 $\downarrow\downarrow$ , 図3右下 $\downarrow\downarrow$ 参照)はいずれも消失した(本図左下 $\downarrow\downarrow$ , 右下 $\downarrow\downarrow$ ).

### 実験3. FI-Xおよびその $\beta$ -グルコシダーゼによる分解産物(アグリコン)の質量分析

FI-Xの正イオン測定ではプロトン化分子が $m/z=368.2$ に(図6A), 負イオン測定では脱プロトン化分子が $m/z=366.0$ に検出された(図6B)ので, FI-Xの分子量は367である. FI-Xの分子量が367ならば, FI-Xのアグリコンの分子量は205である. LC/MSの正イオン測定でFI-Xのアグリコンのプロトン化分子が $m/z=206.1$ に検出されたので, FI-XのアグリコンおよびFI-Xの分子量はそれぞれ205, 367であると結論された。

**実験4.** FI-Xのアグリコンとキサントレン酸との比較標準物質のキサントレン酸(分子量=205)のUV吸光ピークは13.8分にみられ(図7上 $\downarrow$ ), 実験2で示したFI-XのアグリコンのUV吸光ピーク(図5右上 $\downarrow$ )と一致した. キサントレン酸の質量分析では, 正イオン測定でプロトン化分子が $m/z=206.1$ に検出され(図8 $\downarrow$ ), FI-Xのアグリコンのプロトン化分子の $m/z$ のピーク(図6C $\downarrow$ )と完全に一致した。

## IV 考 按

FI-XとFI-GlcはHPLCの2条件下のいずれでも蛍光ピークの保持時間が完全に一致し(図3, 4), いずれも $\beta$ -グルコシダーゼ処理によって加水分解されその蛍光ピー

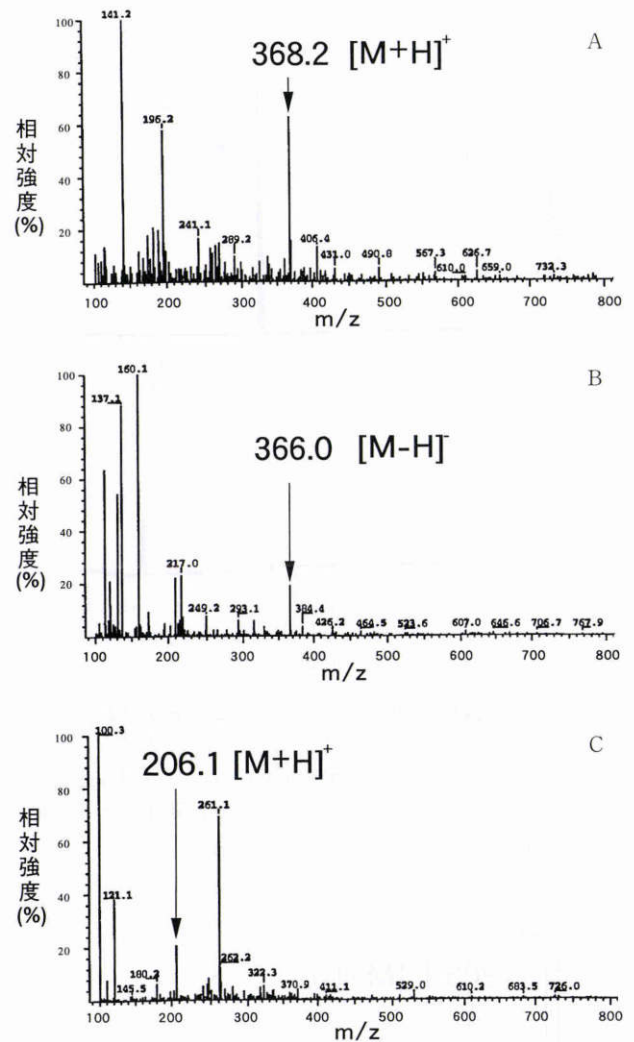


図6 FI-Xおよびそのアグリコンの液体クロマトグラフィ/質量スペクトロメトリー(LC/MS)によるマススペクトル。

A: FI-Xの正イオン測定, B: FI-Xの負イオン測定, C: FI-Xのアグリコンの正イオン測定. FI-Xについてはプロトン化分子が $m/z=368.2$ に(A $\downarrow$ ), 脱プロトン化分子が $m/z=366.0$ に検出された(B $\downarrow$ ), FI-Xのアグリコンについては, プロトン化分子が $m/z=206.1$ に検出された(C $\downarrow$ ).

クを失い(図5), かつ他のグルコシドと比べて蛍光の量子収率が有意に高い(図1右上 $\uparrow$ , 右下 $\downarrow\downarrow$ , 図3左上 $\downarrow$ , 左下 $\downarrow\downarrow$ )ことから, 両者は同一であると推定される. また, LC/MSおよびHPLCの結果から, FI-Xのアグリコンがキサントレン酸であることが証明され, FI-Xの分子量が367(実験3)であるから, FI-Xはキサントレン酸にグルコースが1分子 $\beta$ 結合したキサントレン酸グルコシド(XA-Glc)と結論される. すなわち, 褐色白内障水晶体で特異的に増加しているFI-Glc<sup>3)</sup>は, 非褐色水晶体の低分子分画(MW<10,000)を37°Cで静置することによって著明に増加するFI-Xと同一物質であることが確認され, FI-XがXA-Glcと同定されたことから, FI-GlcがXA-Glcであることがわかった。

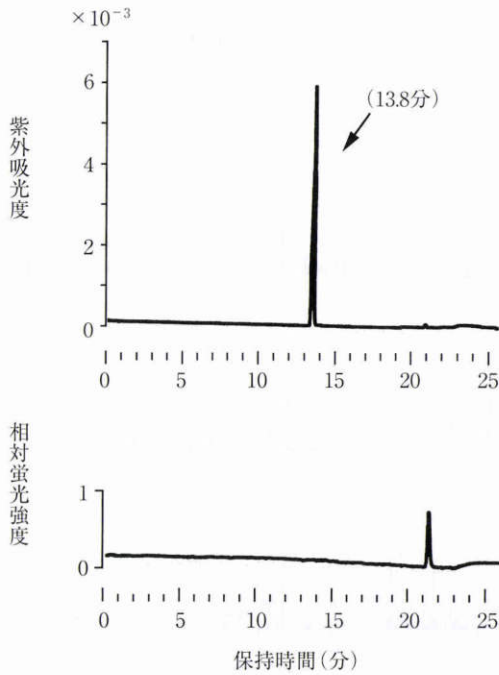


図7 純品キサントレン酸のクロマトグラム.

上段: UV 吸光度, 下段: 蛍光強度. HPLC 条件②使用 (方法参照). キサントレン酸の UV 吸光ピークは 13.8 分 (図 5 右上 ↓) にあり (上 ↓), Fl-X のアグリコンの UV 吸光ピーク (図 5 右上 ↓) の保持時間と一致した.

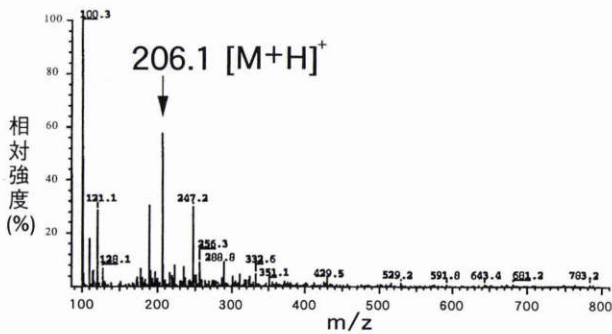
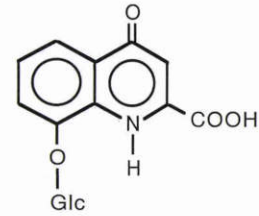


図8 純品キサントレン酸の LC/MS によるマスペクトル.

正イオン測定でプロトン化分子が  $m/z=206.1$  (↓) に検出された.

XA-Glc は, ハエ (*Drosophila melanogaster*) の eye color mutant に存在することが報告<sup>7)</sup>されているが, それ以外の動物における存在は我々が知る限り報告されていない. ハエの眼の XA-Glc は xanthurenic acid 8-O- $\beta$ -D-glucoside (図 9) であり, その生合成経路としては, 3HK からキサントレン酸を経て XA-Glc になる経路 (A) と, 3HK から 3HK-Glc を経て XA-Glc になる代謝経路 (B) が想定されている (図 10)<sup>8)</sup>.

非褐色水晶体の低分子分画を 37°C で静置することによって, 経時的に Fl-X (= XA-Glc) が増加し, 並行して 3HK-Glc が減少すること (図 1, 2) から, この間に 3HK-



xanthurenic acid 8-O- $\beta$ -D-glucoside

図9 キサントレン酸グルコシド (XA-Glc) の推定構造式.

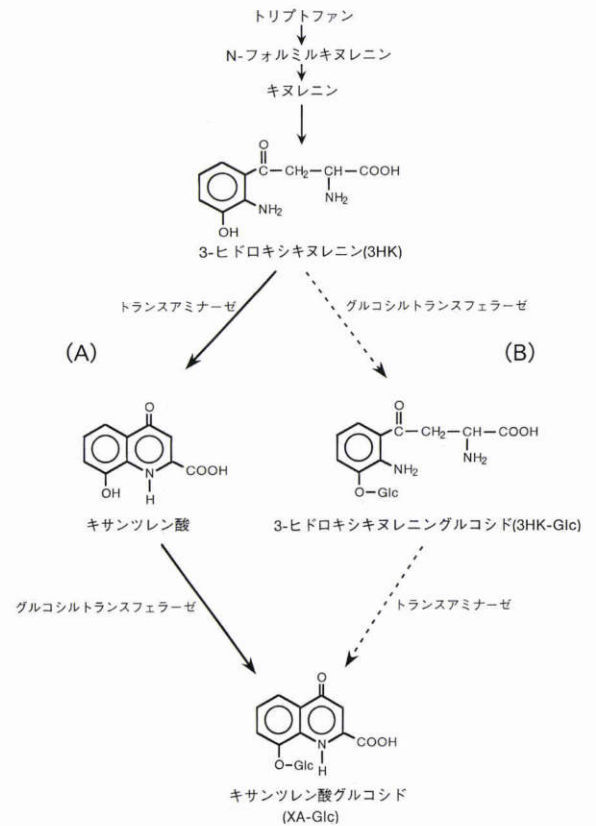


図10 *Drosophila melanogaster* の eye color mutant における XA-Glc の生合成経路 (文献 8 から改変).

Glc が脱アミノ化されて XA-Glc に変化したと推定される. 本報の試料は分子量 10,000 の限外濾過液なので, 上記の反応に酵素が関与するとは考えがたい.

褐色白内障における XA-Glc の由来に関しては, 褐色白内障においては還元型グルタチオンが減少していることが報告<sup>9)</sup>されているので, 長期静置において XA-Glc が生じたのと同じ経路で非酵素的に 3HK-Glc が脱アミノ化されて XA-Glc が生じた可能性が考えられる一方, 酵素を介した経路も考えられる (図 10, 経路 A, B). まず, 経路 A について考える. ヒト水晶体には微量ながら遊離の 3HK が存在し<sup>11)10)</sup>, 遊離のキサントレン酸自体の存在は報告されていないものの, キサントレン酸の酸化型であるオクソおよび 2オクソキサントレン酸が存在し<sup>11)</sup>, 老人性白内障水晶体でキサントレン酸トランスアミナーゼの活性が証明されている<sup>12)</sup>ので, 図 10 の経路

A の可能性は否定できない。次に、図 10 の経路 B について考える。3 HK-Glc は水晶体上皮細胞においてトリプトファン代謝によって常時作られ、水晶体中に貯留してから後嚢を透過して硝子体へ移行する<sup>6)</sup>ということから、褐色白内障水晶体では硝子体へ移行する前に 3 HK-Glc がトランスアミナーゼによって XA-Glc に変化するという可能性、すなわち図 10 の経路 B の可能性もある。

褐色白内障中の XA-Glc におけるグルコースとキサントレン酸の結合部位は明らかではないが、上述のように XA-Glc が 3 HK-Glc の代謝産物である可能性が高いことから、XA-Glc におけるグルコースの結合部位はキサントレン酸のキノリン環の 8 位の水酸基であり、すなわち褐色白内障中の XA-Glc は xanthurenic acid 8-O- $\beta$ -D-glucoside (図 9) であると推定される。

ヒト水晶体水溶性低分子分画中に含まれる非トリプトファン蛍光物質のうち、キヌレニン、3 HK-Glc, DHKN-Glc と核着色とは関連しないが、Fl-X (= XA-Glc) は核着色に関連する<sup>3)</sup>。水晶体内蛍光物質が光増感作用を介して核白内障を促すという説がある<sup>13)14)</sup>ことから、このことと XA-Glc が非褐色核に比べて褐色核で特異的に多く存在するというを勘案すれば、XA-Glc が光増感作用を発揮して核のタンパクの凝集などに関与している可能性が考えられる。

ご校閲いただきました金沢大学医学部眼科学教室河崎一夫教授に深謝いたします。

## 文 献

- 1) **van Heyningen R**: Assay of fluorescent glucosides in the human lens. *Exp Eye Res* 15: 121—126, 1973.
- 2) **Inoue A, Satoh K**: Identification of a fluorescent glucoside isolated from the protein-free extract of human lens. *Bioorg Med Chem Letters* 4: 2303—2306, 1994.
- 3) **岩瀬 剛, 白尾悦子, 白尾 裕, 松川 茂, 福田龍二**: ヒト褐色および非褐色白内障水晶体核部水溶性分画における遊離非トリプトファン蛍光物質の研究. *日眼会誌* 100: 369—375, 1996.
- 4) **佐々木一之, 柴田崇志, 尾羽沢大, 藤原隆明, 小暮文雄, 小原喜隆, 他**: 白内障分類試案. *日眼会誌* 93: 796—800, 1989.
- 5) **Dillon J**: Photolytic changes in lens proteins. *Curr Eye Res* 3: 145—150, 1984.
- 6) **Wood AM, Truscott RJW**: UV filters in human lenses: Tryptophan catabolism. *Exp Eye Res* 56: 317—325, 1993.
- 7) **Ferré J, Real MD, Ménsua JL, Jacobson KB**: Xanthurenic acid 8-O- $\beta$ -D-glucoside, a novel tryptophan metabolite in eye-color mutants of *Drosophila melanogaster*. *J Biol Chem* 265: 7509—7514, 1985.
- 8) **Real MD, Ferré J**: Biosynthesis of xanthurenic acid 8-O- $\beta$ -D-glucoside in *Drosophila*. Characterization of the xanthurenic acid: UDP-glucosyltransferase activity. *J Biol Chem* 265: 7407—7412, 1990.
- 9) **Lou MF, Dickerson JE, Tung WH, Wolfe JK, Chylack LT**: Correlation of nuclear color and opalescence with protein S-thiolation in human lenses. *Exp Eye Res* 68: 547—552, 1999.
- 10) **Wood AM, Truscott RJW**: Ultraviolet filter compounds in human lenses: 3-hydroxykynurenine glucoside formation. *Vision Res* 34: 1369—1374, 1994.
- 11) **Malina HZ, Martin XD**: Xanthurenic acid derivative formation in the lens is responsible for senile cataract in humans. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 234: 723—730, 1996.
- 12) **Malina HZ, Martin XD**: 3-hydroxykynurenine transamination leads to the formation of the fluorescent substances in human lenses. *Eur J Ophthalmol* 6: 250—256, 1996.
- 13) **van Heyningen R**: Photo-oxidation of lens proteins by sunlight in the presence of fluorescent derivatives of kynurenine, isolated from the human lens. *Exp Eye Res* 17: 137—147, 1973.
- 14) **Bando M, Mikuni I, Obazawa H**: Acceleration of calcium-induced aggregation of rat lens soluble protein by photosensitization with 8-methoxypsoralen and 3-hydroxy-L-kynurenine O- $\beta$ -glucoside. *Exp Eye Res* 34: 953—960, 1982.