

## ヒト核白内障水晶体の硬化における老化架橋アミノ酸

ヒスチジノアラニンの役割について (図3, 表2)

金山 貴子・宮 永 嘉 隆 (東京女子医科大学第2病院眼科)

堀 内 健 太 郎 (浜松医科大学化学)

藤 本 大 三 郎 (東京農工大学農学部農芸化学)

The Role of the Crosslinking Amino Acid, Histidinoalanine,  
in Human Nuclear Cataractous Lens

Takako Kanayama and Yoshitaka Miyanaga

*Department of Ophthalmology, Daini Hospital of Tokyo Women's Medical College*

Kentaro Horiuchi

*Department of Chemistry, Hamamatsu University School of Medicine*

Daisaburo Fujimoto

*Department of Agricultural and Biological Chemistry Tokyo Noko University*

## 要 約

老化架橋アミノ酸ヒスチジノアラニンは、ヒト核白内障蛋白の non-disulphide-covalent-crosslinks の1つである事が明らかになった。特に褐色白内障で高値であったことから、進行した核白内障の悪化に深く関与していると示唆された。(日眼 91: 118—121, 1987)

キーワード: ヒスチジノアラニン, 核白内障, 架橋アミノ酸

## Abstract

The crosslinks in aggregated high molecular proteins is thought to be one of the causes of human nuclear cataract. We studied crosslinking amino acid, Histidinoalanine, which was closely related to be hardness of connective tissue. The content of Histidinoalanine was measured by high performance liquid chromatography in various stages of human nuclear cataractous lens. The value of Histidinoalanine in normal nuclear lens was  $0.05 \pm 0.03 \text{ nmol/mg}$ . That in grades I and II (Pirie's classification) showed no change in comparison with that in normal lens. The content of Histidinoalanine in grades III (hazel brown) and IV (deep brown) was  $0.38 \pm 0.07$  ( $p < 0.01$ ),  $3.35 \pm 1.76$  ( $p < 0.01$ ), respectively. On the other hand, the content of Histidinoalanine in cortical cataractous lens and acute progressive milky white soft nucleas was  $0.05 \pm 0.01 \text{ nmol/mg}$ ,  $0.05 \text{ nmol/mg}$ , respectively. These studies suggest that Histidinoalanine is one of non-disulphide-covalent-crosslinks in human nuclear cataract, especially in advanced nuclear cataract. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 118—121, 1987)

Key words: Histidinoalanine, nuclear cataract, crosslinking amino acid

別刷請求先: 116 荒川区西尾久2-1-10 東京女子医大第二病院眼科 金山 貴子

Reprint requests to: Takako Kanayama, M.D. Tokyo Women's Medical College, Daini Hospital

2-1-10 Nishioku, Arakawa-Ku, Tokyo 116, Japan

(昭和61年8月4日受付) (Accepted August 4, 1986.)



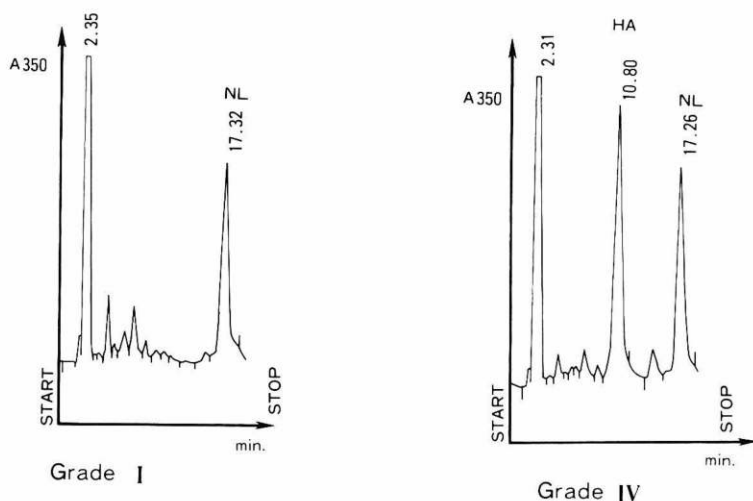


図1 ヒスチジノアラニンの高速液体クロマトグラム  
同一人物より摘出した grade の異なる左右水晶体核のクロマトグラム。(本文参照)  
HA=ヒスチジノアラニン, NL=ノルロイシン

トニトリル— $H_2O$  (1:1W/V) を用い、測定は350nmの吸収で行った<sup>9)</sup>。HAの定量は標準HAのピークの高さとの比較により求めた。

## 結 果

各検体におけるHA測定値を表2に示す。正常水晶体核のHA平均値は、 $0.05 \pm 0.03 \text{ nmol/mg}$  (表2)であり、すべて0.07以下であった。0, I, II群における平均値は、それぞれ $0.05 \pm 0.01$ ,  $0.06 \pm 0.03$ ,  $0.05 \pm 0.03$ であった。急速に進行した乳白色軟性白内障では、0.051であった。ところがIII群では、 $0.38 \pm 0.06$ と増加し、IV群に至っては $3.35 \pm 2.76$ と急増した。T testにて正常水晶体に対してIII群、IV群は $p < 0.01$ にて有意差を認めた。同一人物より摘出された、それぞれI群とIV群の左右水晶体のクロマトグラムを図1に示す。縦軸は、350nmの吸光度であり、横軸は、展開時間である。この測定法では、HAは約11分の部位に出現し、標準のノルロイシンは約17分の部位に出現した。左図はI群で、HAはほとんど認められなかった。右図はIV群で、約11分の部位に大きなHAのピークが認められた。

## 考 按

図2に示した様に、HAは2対の $\alpha$ -アミノ酸鎖を持ち、2本のポリペプチド鎖を架橋できる。HAは様々な結合組織に広く存在し、特に大動脈、肋軟骨等の硬化

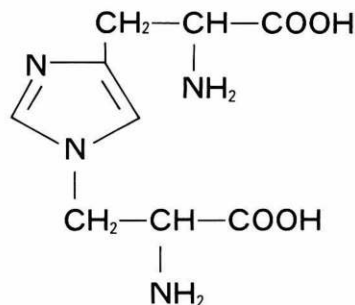


図2 ヒスチジノアラニンの構造

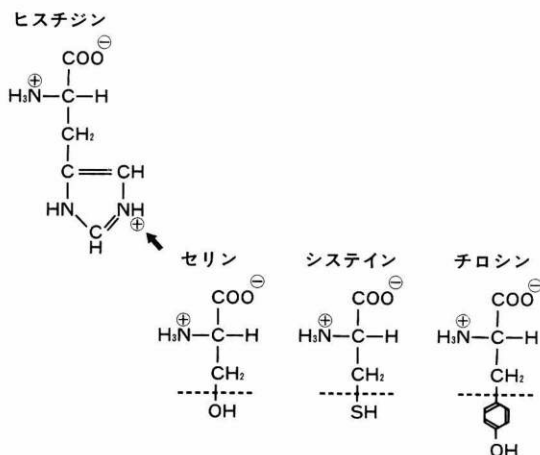


図3 ヒスチジノアラニンの予想される生成機構

に伴い著しく増加することが知られている<sup>9)10)</sup>。HA 生成機構に関しては、現在も不明であるが、図3の様に進むであろうと考えられている。即ち、ヒスチジンに近接して長期間セリンやシステイン、チロシン、あるいはそれらに関連したアミノ酸が存在していると、点線で示す部位で切れたデヒドロアラニン残基が生じ、それが矢印に示す部位でヒスチジンと反応することによってヒスチジノアラニンが生ずるであろうという考えである<sup>11)</sup>。この反応には恐らく酵素は関与せず、生理的条件下では非常にゆっくりとしか進行しない。従って代謝の遅い組織においてのみ、HA は顕著に見出されている。今回得られた結果、即ち、核白内障水晶体中から HA が有意に見出されたということは、従来の説を支持していると思われる。ただし、Pirie 分類で、III群以上のみ認められたということは、ほぼ連続的に進行すると今まで考えられてきた核白内障水晶体の変化において、Pirie 分類のII群とIII群との間に質的な変異点が存在するという可能性を示したのではないかと思われる。

着色現象との係わりで知られているのに、Maillard 反応がある。この、進行した核白内障水晶体、即ち褐色白内障水晶体においても、Maillard 反応が起こっていることが知られている<sup>12)</sup>。その際、Maillard 反応の生成物の多くは蛍光を有し、しかも可視領域に吸収を持っているが、この HA 自身は非蛍光性であり、また可視領域には吸収を持たないことから、着色には直接関与していない。しかし、HA の存在と着色との間に相関性が見られたということは、着色機構と HA 生成機構との間に共通の機構が存在する可能性があると考えられる。

稿を終えるにあたり、正常水晶体を提供していただきました順天堂大学眼科 金井 淳先生、女子医大第2病院病理 藤林真理子先生に深謝致します。

なお、本論文の要旨は、第90回日本眼科学会にて発表しました。

## References

- 1) **Harding JJ**: Disulphide crosslinked protein of high molecular weight in human cataractous

lens. *Exp Eye Res* 17: 377—383, 1973.

- 2) **Dilley KJ, Pirie A**: Changes to the protein of the human lens nucleus in cataract. *Exp Eye Res* 19: 59—72, 1974.
- 3) **Dillon J, Spector A, Nakanishi K**: Identification of  $\beta$ -carboline isolated from fluorescent human lens proteins. *Nature* 259: 422—423, 1976.
- 4) **Truscott RJW, Faull K, Augusteyn RC**: The identification of anthranilic acid in proteolytic digests of cataractous lens protein. *Ophthalmol Res* 9: 263—268, 1977.
- 5) **Garcia-Castineiras S, Dillon J, Spector A**: Non-tryptophan fluorescence associated with human lens protein: Apparent complexity and isolation of bityrosine and anthranilic acid. *Exp Eye Res* 26: 461—476, 1978.
- 6) **Lorand L, Hsu LKH, Siefring GE Jr, Refferty NS**: Lens transglutaminase and cataract formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 1356—1360, 1981.
- 7) **Fujimoto D, Hiramata M, Iwata T**: Histidinoalanine a new crosslinking amino acid, in calcified tissue collagen. *Biochem Biophys Res Commun* 104: 1102—1106, 1982.
- 8) **Pirie A**: Colour and solubility of the proteins of human cataract. *Invest Ophthalmol* 7: 634—650, 1968.
- 9) **Fujimoto D**: Aging and crosslinking in human aorta. *Biochem Biophys Res Commun* 109: 1264—1269, 1982.
- 10) **Fujimoto D**: Aging of human connective tissue: Increase in the content of a crosslinking amino acid, Histidinoalanine. *Biochem Int* 5: 743—746, 1982.
- 11) **Fujimoto D**: Formation of Histidinoalanine crosslinks in heated proteins. *Experientia* 40: 832—833, 1984.
- 12) **Monnier VM, Cerami A**: Detection of nonenzymatic browning products in the human lens. *Biochimica et Biophysica Acta* 760: 97—103, 1983.

(第90回日眼総会原著)