

老人性白内障水晶体の白内障誘起物質

—グルコース取り込み抑制について—(図4, 表6)

錦織 敏治・山本 寛次 (川崎医科大学眼科)
花房 路子・石 幸雄

Cataractogenic factor in human senile cataractous lens —Glucose transport inhibitors in the cataractous lens—

Toshiharu Nishikiori, Kakuji Yamamoto, Michiko Hanafusa and Yukio Seki

Department of Ophthalmology, Kawasaki Medical School

要 約

ヒト白内障水晶体低分子画分物質, サイトカラシン B, ならびにウァバインのグルコース取り込み抑制効果について検討し, 以下の結果を得た。1) ヒト白内障水晶体低分子画分物質は, 明らかにグルコース取り込み抑制効果を有していた。この効果は, Sephadex G-25 superfine で分画された画分 I, II で比較すると, 画分 I より画分 II でより大であった。2) 画分 I, II の物質は, ブタ正常水晶体 2 時間のインキュベーションでは, Na^+ , K^+ 含有量および Na^+ - K^+ -ATPase 活性に影響を及ぼさなかった。3) 本物質中のペプチドには, キヌレニン様の蛍光が認められた。4) 画分 I, II のタンパク質の分子量測定では, 画分 I は 20,000~17,000dalton のポリペプチドが主体を占めたのに対し, 画分 II では, 分子量 10,000dalton 以下のペプチドから構成されていた。5) サイトカラシン B は, 濃度依存的にブタ正常水晶体中へのグルコース輸送阻害効果を示した。また, 本物質は, Na^+ , K^+ の動態に影響を与えなかったことから, 水晶体には促進拡散のグルコース輸送が存在していることが明らかになった。6) ヒト白内障水晶体低分子画分中の物質もサイトカラシン B と同様の作用効果を示したことから, 本物質のグルコース取り込み抑制作用は, 水晶体中のグルコースのキャリアー・タンパクに対する阻害作用であると推測された。(日眼 91: 94-101, 1987)

キーワード: ヒト白内障水晶体, 低分子画分物質, グルコース, サイトカラシン B, 取り込み抑制

Abstract

Sugar transport inhibitors within the human senile cataractous lens were investigated by the radiolabelled sugar analogue 3-O-methyl-D-glucose (3-O-MG). The water soluble fraction below molecular weight 20,000 was separated into two fractions on a Sephadex G-25 column. Peaks I and II detected at 280nm were dissolved into Tyrode solution and then pig lens was incubated in Tyrodes solution with each dissolved fraction. The influx of 3-O-MG into the lens was measured by a liquid scintillation counter. 1) The influx of 3-O-MG into the lens was significantly reduced after incubation with the Peak II fraction. 2) Fractions with peaks I and II did not significantly influence Na^+ - K^+ -ATPase activity or Na^+ - K^+ level in the lens after two hours' incubation. 3) Polypeptides or oligopeptides found in the fractions with peaks I and II by high performance liquid chromatography consisted of kynurenine-like fluorescence (excitation 360nm/emission 440nm). 4) The molecular weight of the fraction with peaks I and II as examined by SDS-gel electrophoresis was 17,000-20,000 in peak I and below 10,000 in peak II. 5) The influx of 3-O-MG was also reduced in the presence of ouabain and

別刷請求先: 700 岡山市中山下 2-1-80 川崎医科大学附属川崎病院眼科 錦織 敏治

Reprint requests to: Toshiharu Nishikiori, M.D. Dept. of Ophthalmol. Kawasaki Medical School

2-1-80 Nakasange Okayama City, 700 Japan

(昭和61年7月11日受付) (Accepted July 11, 1986.)

cytochalasin B, but only in the case of the latter was there no concomitant change in lens sodium content. Therefore, substances within peak II, such as cytochalasin B, can be regarded as specific inhibitors of glucose after two hours' incubation. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91 : 94—101, 1987)

Key words : human senile cataractous lens, low molecular substance, glucose, cytochalasin B, transport inhibitor

I 緒 言

ヒト白内障水晶体中に白内障誘起物質が存在することは岩田ら¹⁾によって報告された。我々も、本物質の存在を確認する目的で、糖アルコールを指標として検討した結果、本物質はグルコースの輸送にも強く影響を及ぼす作用を有することを確認し報告した²⁾。

本実験では、本物質のグルコース輸送阻害作用を更に明らかにする目的で、¹⁴C-グルコースを用いて検討した。また、水晶体のグルコース輸送のメカニズムを明らかにする目的で、促進拡散系の阻害作用を有するサイトカラシンBと、能動輸送系の阻害作用を有するウァバインを用いて、水晶体のグルコース輸送メカニズムについて検討した。

ヒト白内障水晶体低分子画分物質中には、明らかにグルコース取り込み抑制物質が存在するとともに、水晶体のグルコース輸送は、主として促進拡散系に依存すると考えられる結果が得られたので報告する。

II 実験材料ならびに方法

1. 実験材料

ヒト白内障水晶体は川崎病院、津山中央病院、周桑病院で全摘出されたもので、-80°Cで冷凍保存したも

のを使用した。ヒト白内障水晶体中に存在するグルコース取り込み抑制物質の作用の確認にはブタ正常水晶体を用いた。ブタ水晶体は岡山市内の屠殺場にて得た眼球をただちに実験室にもち帰り使用した。なお、ブタ水晶体は湿重量400~450mgのものを本実験に供した。

2. 実験方法

1) グルコース取り込み抑制物質の分画

本物質の分画法については岩田ら¹⁾の方法に準じた。すなわち、ヒト白内障水晶体50~90個を5倍量の蒸留水でホモジナイズしたのち、40,000rpm (113,000×g) で30分間遠心分離を行ない、上清をmolecular sieve (Amicon CF-25) を用いて分子ふるいを行なった。得られた低分子画分をSephadex G-25, S・Fで再分画し、280nmの吸収で得たpeakを便宜上、画分I, IIとした(図1)。なお、これらの画分の濃度表現としては、必ずしも満足すべきものではないが、試料を酸加水分解した後、アミノ酸分析を行ない、便宜上総アミノ酸換算量として表記した。また、タンパク質の分子量の検討については、ポリアクリルアミド電気泳動で行った。条件は、15%ゲル、電極槽用緩衝液は0.1% SDSを含む0.025M トリス, 0.192M グリシン (pH 8.3) を用い、7mA で12時間泳動を行なった。

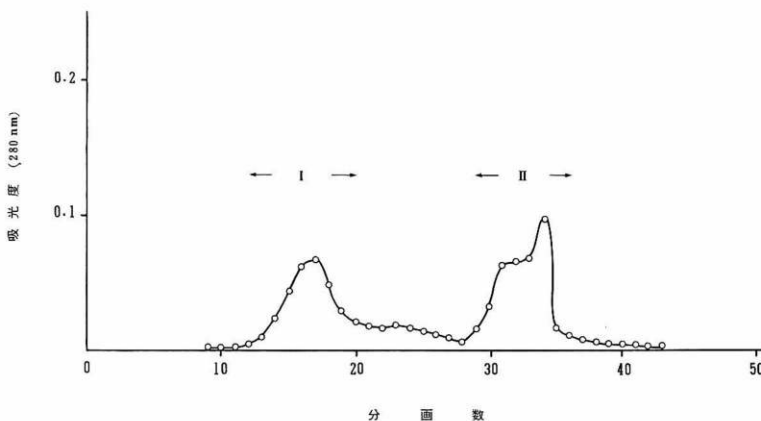


図1 ヒト白内障水晶体低分子画分のカラムクロマトグラフィー

2) グルコース取り込み抑制

画分 I, II を20 μ l Tyrode 液で溶解し, D-[1- 14 C] glucose (59mCi/m mol), [14 C]-3-0-methylglucose (55mCi/m mol) (Amersham) を最終濃度0.5 μ Ci/ml の割合で添加し, ブタ正常水晶体を2時間, 37 $^{\circ}$ C でインキュベーションした。この水晶体の表面をリンゲル液で洗滌したのち, さらに5分間インキュベーションして水晶体表面を洗った。この水晶体を80%エタノール4ml でホモゲナイズしたのち, 3,000rpm で5分間遠心分離し, 上清を減圧乾固した。この試料を0.01N H₂SO₄ 200 μ l で溶解し, 20,000rpm で5分間遠心したのち, 上清を高速液体クロマトグラム分析を行ない, グルコース, 乳酸の画分を液シンバイアルビンに手うけで分取した。グルコース, 乳酸の放射活性は Aloka (Liquid scintillation system LSC-700) で測定した。サイトカラシンB, ウァパインのグルコース取り込み抑制実験も, ヒト白内障水晶体低分子画分の方法と同様に行なった。しかし, サイトカラシンB は dimethylsulphoxide (DMSO) で溶解したのち, 最終濃度が 10^{-4} ~ 10^{-6} M になるよう Tyrode 液に20 μ l 添加した。DMSO 20 μ l を添加したものをコントロールとして用いた。

3) Na⁺-K⁺-ATPase 活性および Na⁺, K⁺ の測定

ヒト白内障水晶体低分子画分, サイトカラシンB, ウァパインを添加した Tyrode 液で, ブタ正常水晶体を2時間インキュベーションしたのち, 1ml の蒸留水を加え, テフロン・ホモゲナイザーでホモジネートした。この懸濁液0.1ml を反応液に加え, 37 $^{\circ}$ C で, 1時間インキュベーションしたのち, Na⁺-K⁺-ATPase 活性測定に用いた。本活性値は, 無機リン定量試薬ゲタミナーIP-S (協和メディクス) を用い, 波長550nm の吸光度で得られた値より測定した。Na⁺, K⁺ の測定は, Na⁺-K⁺-ATPase 活性に用いた残りの懸濁液に1ml の蒸留水を加え, 24,000rpm で30分間遠心分離を行ない, 上清を flame photometer (Instrumentation Laboratory Inc.) で測定した。

4) ヒト白内障水晶体低分子画分 I, II のペプチドの蛍光

ヒト白内障水晶体低分子画分中のペプチドの分離は液体クロマトグラム分析より行なった。カラムは Zorbax CN を用い, 流速1.0ml/min で行なった。ポンプは Waters (6000A) を, 検出器は島津波長可変 UV モニター(吸光度210nm)を用いた。溶出グラジエントは0.1%トリフルオロ酢酸で平衡化後, アセトニトリルを

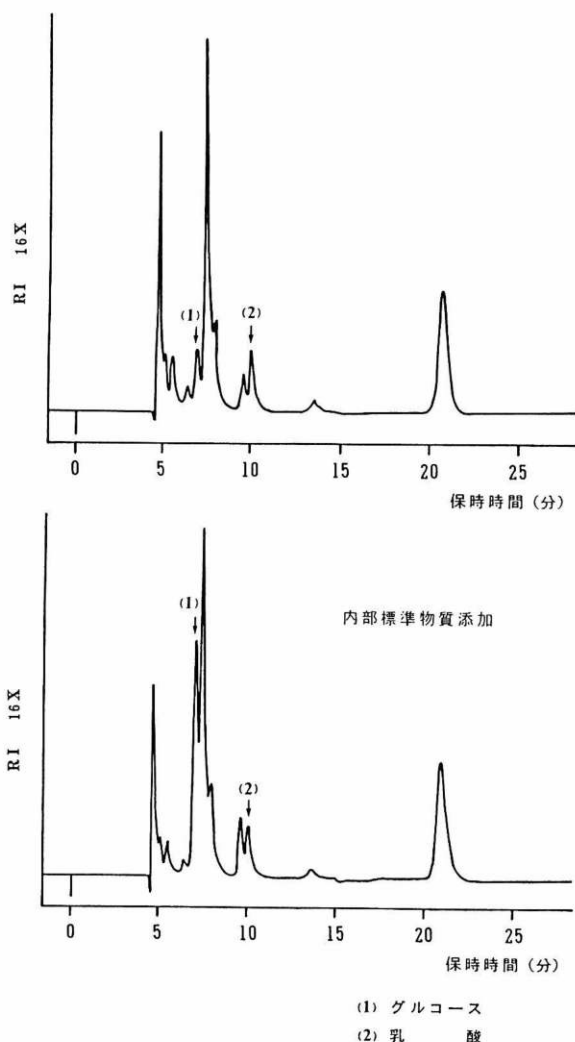


図2 グルコース, 乳酸の液体クロマトグラフィー

0%から50%まで直線状濃度分配で1時間で展開した。蛍光強度の測定は日立蛍光分光光度計(650-10S)を用い, excitation 360nm, emission 440nm の蛍光ピークとペプチドのピークを pantos (U-228) で同時記録した。

5) グルコース, 乳酸の液体クロマトグラフィー
ポンプは島津 (LC-4A) を, カラムは65 $^{\circ}$ C に保ち, Bio-Rad (HPX-87H, ϕ 300 \times 7.8mm) を, 検出器には島津 LC-4A 用示差屈折計検出器 (RID-2AS) を用いた。溶離液は0.01N H₂SO₄ を用い, 流速0.8ml/min で行なった。グルコース, 乳酸の液体クロマトグラフィーは図2に示したとおりである。

表1 ヒト白内障水晶体低分子分画物質のD-[1-¹⁴C] glucose 取り込み抑制効果

	D-[1- ¹⁴ C]glucose n mol/g lens wet weight			
	グルコース	効果 (%)	乳 酸	効果 (%)
Control	0.139±0.041	100	1.565±0.244	100
画分 I	0.034±0.013	24.4	0.988±0.513 N.S.	63
画分 II	0.036±0.090	25.9	0.308±0.094 *	19

mean±S.D. n=5 *p<0.1% N.S.:有意差なし
画分 I, 4.96μmol/ml 画分 II, 1.62μmol/ml (総アミノ酸換算)

表2 ヒト白内障水晶体低分子画分物質の [¹⁴C]-3-0-methylglucose 取り込み抑制効果

	[¹⁴ C]-3-0-Methylglucose n mol/g lens wet weight	効果(%)
Control	0.886±0.139 (0.760-1.102)	100
画分 I	0.653±0.120 * (0.474-0.788)	74
画分 II	0.348±0.039 *** (0.288-0.396)	39

mean±S.D n=5 * p<5% *** p<0.1%
画分 I 15.8μmol/ml 画分 II 5.0μmol/ml(総アミノ酸換算)
() 内の数字は測定値の範囲を示す

III 結 果

1) グルコース取り込み抑制

D-[1-¹⁴C] glucose (D-グルコース) の取り込み抑制の結果を表1に示した。D-グルコースを添加したメディアウムで、ブタ正常水晶体を2時間インキュベーションするとグルコースはほとんど乳酸に代謝された。乳酸生成量はコントロール群を100%とした場合、画分 I で63%画分 II では19%と、ヒト白内障水晶体低分子画分には、グルコース取り込み抑制物質が存在すると思われた。しかし、この結果は、グルコース取り込み抑制効果によるものか、グルコースの代謝抑制によるものか、いまひとつ不明である。この点に関して、グルコース輸送に対する水晶体内糖代謝の影響を除くため、非代謝糖である3-0-methylglucose (3-0MG) を輸送基質として用いたのが以下の実験である。ヒト白内障水晶体低分子画分の3-0MG 取り込み抑制効果の結果を表2に示した。表に示す如く、コントロール群での3-0MG の取り込みを100%とすると、画分 I では74%、画分 II では39%と、ヒト白内障水晶体の低分子画分物質は明らかなグルコース取り込み抑制効果を示した。しかも、取り込み抑制効果はD-グルコースと同

表3 Cytochalasin B, Ouabain の [¹⁴C]-3-0-methylglucose 取り込み抑制効果

	[¹⁴ C]-3-0-methylglucose n mol/g lens wet weight	効果(%)
control	0.901±0.076 (0.785-0.973)	100
Cytochalasin B		
10 ⁻⁴ M	0.265±0.049 *** (0.199-0.316)	29
10 ⁻⁵ M	0.464±0.090 *** (0.346-0.565)	51
10 ⁻⁶ M	0.756±0.097 * (0.785-0.973)	83
control	1.084±0.164 (0.864-1.270)	100
Ouabain		
10 ⁻³ M	0.754±0.169 ** (0.597-1.043)	69
10 ⁻⁴ M	0.870±0.178 N.S. (0.619-1.100)	80
10 ⁻⁵ M	0.935±0.091 N.S. (0.833-1.028)	86

mean±S.D. n=5. *p<5% **p<2%
***p<0.1% N.S.:有意差なし
() 内の数字は測定値の範囲を示す

様、画分 II で大であった。次に、細胞膜の糖輸送の担体に結合して、糖の輸送を阻害するサイトカラシン B³⁾および Na⁺-K⁺-ATPase に特異的な阻害剤であるウァバインのグルコース取り込み効果について検討した結果を表3に示した。10⁻⁴M 濃度のサイトカラシン B ではコントロール群に比べ3-0MG の取り込みは29%しかなく、10⁻⁵M 濃度でも51%の取り込み抑制作用を示した。このように、サイトカラシン B は糖の輸送阻害作用が強いが、一方、ウァバインの3-0MG の効果については、10⁻³M と高濃度では3-0MG の取り込み抑制作用を認めたものの、10⁻⁴M 濃度ではコントロール群との間に有意差は認められなかった。

2) Na⁺-K⁺-ATPase 活性に対する影響

岩田ら¹⁾によると、ヒト白内障水晶体低分子画分中には、Na⁺, K⁺輸送に対する阻害作用を有する物質が存在すると報告している。グルコース取り込み抑制と、陽イオンの挙動のいずれが、先行するの点について検討した結果が表4である。2時間のインキュベーションでは、ヒト白内障水晶体低分子画分 I, II, サイトカラシン B とも、Na⁺, K⁺含有量に対する影響は認められなかった。しかし、10⁻⁴M 濃度のウァバインは、水晶体中の Na⁺, K⁺輸送に対して作用効果が認められた。更に Na⁺-K⁺-ATPase に対する影響につい

表4 Cytochalasin B, Ouabain, ヒト白内障晶体低分子画分物質のNa⁺, K⁺含有量に対する影響

	Na ⁺	K ⁺
	mEq/kgH ₂ O lens	
Control(N=10)	18.4±5.9	94.7±12.5
Cytochalasin B		
10 ⁻⁶ M(N=10)	19.2±4.7	97.9±11.5
10 ⁻⁵ M(N=10)	19.5±4.6	87.5±9.9
10 ⁻⁴ M(N=10)	17.9±5.9	93.2±8.9
Control(N=5)	16.5±1.8	72.2±1.3
Ouabain		
10 ⁻⁶ M(N=5)	27.3±3.2 ^{**}	67.2±3.0 [*]
画分I(N=5)	19.7±5.0	76.7±6.4
画分II(N=5)	15.9±2.2	79.7±3.3

mean±S.D. ^{*}p<1.0% ^{**}p<0.1%

画分I, 2.2μmol/ml 画分II, 1.6μmol/ml(総アミノ酸換算)

表5 ヒト白内障晶体低分子画分物質のNa⁺-K⁺ATPase活性に対する影響

	μmol pi liberated/lens/hr/37°C		
	Total	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase as part of total(%)
Control	3.75±0.56 (3.24-4.36)	1.10±0.36 (0.81-1.53)	28.9±5.4
画分I	3.96±0.26 (3.77-4.41)	0.75±0.19 N.S. (0.50-0.97)	19.0±4.9
画分II	4.07±0.29 (3.75-4.46)	1.26±0.14 N.S. (1.07-1.43)	30.9±2.2

mean±S.D. n=5 N.S.:有意差なし

()内の数字は測定値の範囲を示す

画分I, 2.2μmol/ml 画分II, 1.6μmol/ml(総アミノ酸換算)

表6 Cytochalasin B, OuabainのNa⁺-K⁺-ATPase活性に対する影響

	μmol pi liberated/Lens/hr/37°C		
	Total	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase as part of the total(%)
Control	3.55±0.30 (3.03-3.77)	0.81±0.17 (0.50-0.91)	22.4±3.3
Cytochalasin B			
10 ⁻⁶ M	3.74±0.20 (3.44-3.96)	0.88±0.16NS (0.70-1.06)	23.3±3.3
10 ⁻⁵ M	3.17±0.44 (2.60-3.71)	0.79±0.17NS (0.53-0.95)	24.7±3.7
10 ⁻⁴ M	3.35±0.43 (2.63-3.69)	0.66±0.16NS (0.46-0.89)	19.6±3.8
Control	3.75±0.56	1.10±0.36	28.9±5.4
Ouabain			
10 ⁻⁶ M	2.42±0.14 (2.22-2.61)	0.32±0.19 [*] (0.12-0.59)	13.5±8.7

mean±S.D. n=5 ^{*}p<0.1% N.S.:有意差なし

()内の数字は測定値の範囲を示す

て検討してみると、ヒト白内障晶体の画分Iでは、コントロール群との間に有意差を認めなかったものの、活性低下傾向を示した(表5)。一方、サイトカリンB, ウァバインの本酵素に対する阻害効果について検討した結果を表6に示した。各濃度のサイトカラ

シンBとも、本酵素に対する阻害作用は認められなかったが、ウァバインは強い阻害作用を示した。これらの結果から、ヒト白内障晶体低分子画分I, IIは、サイトカリンBと同様の作用機序を有しているものと考えられた。

3) 低分子画分I, IIのペプチドの蛍光

ヒト白内障晶体低分子画分I, IIを高速液体クロマトグラフ分析を行ない、ペプチドの分離と同物質の蛍光強度(excitation 360nm/emission 440nm)について検討した結果を図3に示した。画分I, IIとも保持時間が20~30分の間のペプチドに強い蛍光が認められた。これらのペプチドはトリプトファン誘導体であるキヌレニン様物質を含有していることが示唆された。一方、ブタ正常水晶体低分子画分中には、画分I, IIともペプチドは認められたものの、ペプチドには蛍光は認められなかったことを確認している。

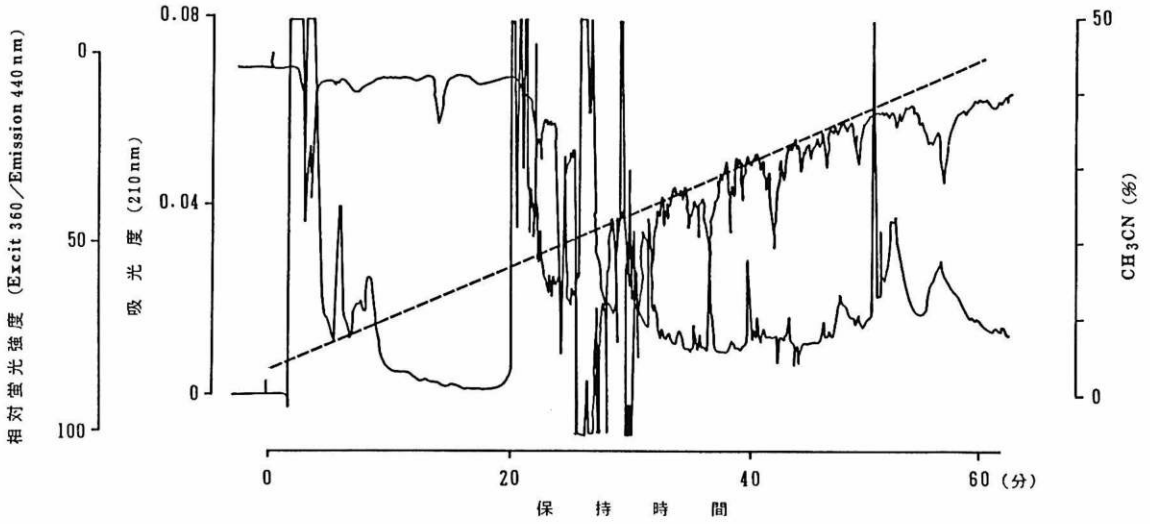
4) 低分子画分I, IIのペプチドの分子量測定

SDS-ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動法で、画分I, IIに含有されるペプチドの分子量を検討した結果を図4に示した。図に示した画分I, IIのペプチドは表2の3-0MG取り込み抑制実験に用いた試料の一部であるが、画分I(図中2, 3)には分子量20,000から17,000の間に強いバンドが認められ、分子量10,000程度に弱いバンドが認められた。しかし、画分II(図中4, 5)では試料を20μl, 30μl添加した両方ともに、分子量20,000のバンドはもとより、分子量10,000前後のペプチドのバンドも検出されなかった。このSDS-ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動の結果から、画分Iは分子量17,000~20,000のポリペプチドを主体としているのに対し、画分IIでは10,000以下の低分子のペプチドから構成されているものと推定された。

IV 考 按

本来、生体にはhomeostasisな働きがあり、白内障晶体中に、自ら白内障を進行する物質が存在することは生体防御の面から考えると、一見矛盾するようと思われる。しかし、岩田¹⁾は、ヒト白内障晶体低分子画分中にNa⁺/K⁺比を逆転させる物質が存在することを報告している。我々も彼らの報告した白内障誘起物質を確認するため、糖アルコールの面から検討した結果、本物質はグルコース取り込み抑制作用を有する可能性があることを報告した²⁾。しかし、本物質がグルコース取り込み抑制作用を有することを確認するためには、トレーサー法を用いた実験が必要である。そこ

画 分 I



画 分 II

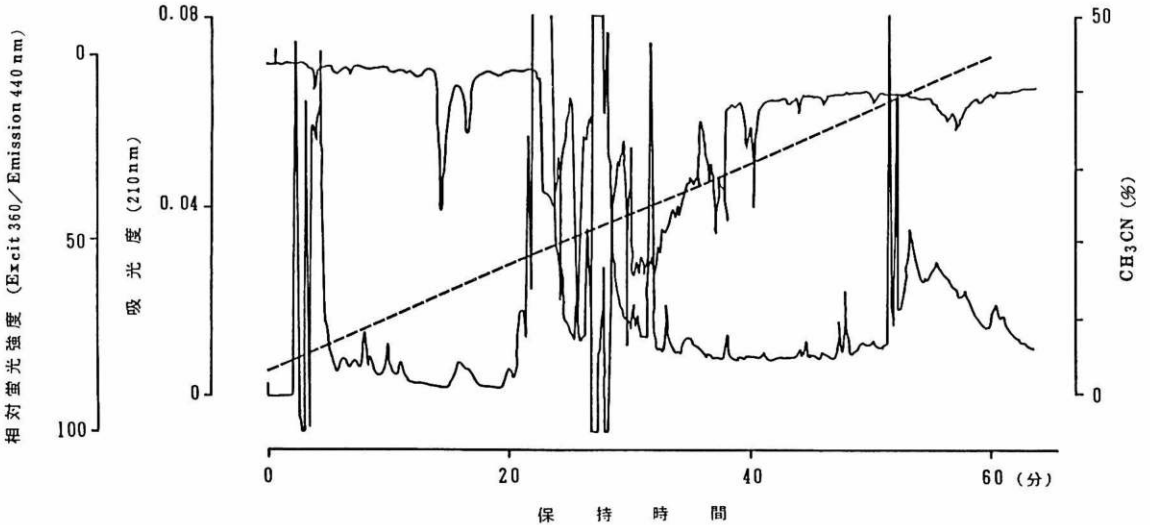


図3 ヒト白内障水晶体低分子分画中のペプチドの蛍光

で、本実験では輸送基質として、D-グルコース、3-0MGを用いて検討した。まず、D-グルコースを用いて検討したが、ブタ正常水晶体インキュベーション2時間後には、D-グルコースはほとんど代謝され、乳酸が生成された(表1)。水晶体内での糖代謝のturn overについては、ラベルしたグルコースは1時間で34%が⁴⁾、7時間ではほぼ100%が乳酸に代謝される⁵⁾との報告があり、本実験でも同様の結果が得られた。しかし、純

粋にグルコース輸送に対する効果を調べるには、水晶体内糖代謝の影響を除くため、非代謝糖である3-0MGを使用する必要がある⁶⁾。3-0MGを輸送基質として用いた結果もD-グルコースの結果と同様、ヒト白内障水晶体低分子分画(特にII)で、明らかな3-0MG輸送活性の低下を示した。D-グルコースから生成された乳酸量と、3-0MGの取り込まれた量とその抑制率において一致したことから画分I, IIの物質は、グルコースの代

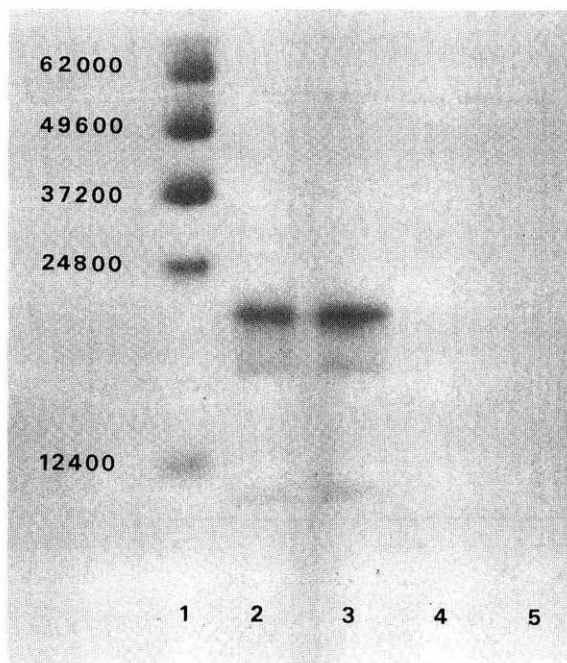


図4 ヒト白内障水晶体低分子画分I, IIのSDS-PAGEのパターン

1, マーカー・プロテイン, 2, 画分I (20 μ l), 3, 画分I (30 μ l), 4, 画分II (20 μ l), 5, 画分II (30 μ l), 2, 3, 4.96 μ mol/ml, 4, 5, 1.62 μ mol/ml (総アミノ酸換算)

謝抑制作用を有すると考えるよりも, 単に糖の輸送拮抗作用を有するものと推測された。岩田ら¹⁾によると, 本低分子画分(特にII)は Na^+ , K^+ , Ca^{2+} の動態に大きく関与することを指摘しているが, グルコースの動態も同様で, 画分IIにグルコース輸送拮抗作用物質の存在が確認された。しかし, プタ正常水晶体を2時間インキュベーションした後の Na^+ , K^+ および Na^+ - K^+ -ATPase 活性には, これらの低分子画分I, IIは影響をおよぼさず, 岩田ら¹⁾と異なる結果が得られた。この理由として, 本実験では, インキュベーション時間が2時間と短かったことと, 用いた水晶体がプタで, マウスとの種の違いによるものが考えられるが, 本実験では明らかにすることは出来なかった。次に, これらグルコース取り込み抑制作用を有するヒト白内障水晶体低分子画分の生化学的組成について検討した。SDS-ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動法を用いた分子量推定では, 画分Iには岩田ら¹⁾の報告と同様, 分子量20,000-17,000daltonのポリペプチドと10,000dalton程度のペプチドが存在した。しかし, 画分IIに

は, 画分Iで認められたペプチドは認められず, 少なくとも10,000dalton以下のペプチドから構成されているものと推測される。分子量の大きなポリペプチドが水晶体カプセルを透過することは不可能であることからすると, 画分IIでの物質はよりカプセル透過性の大きい物質(例えばオリゴペプチド)であると考えられる。事実, 画分Iに比べ画分IIでグルコース取り込み抑制効果が大きいということは, 本物質がより水晶体の膜表面に到達しやすい低分子物質であることを裏付けている。また, 画分I, IIの物質は糖質を含有しており, 糖ペプチドから構成されていることについては既に報告した²⁾。更に, 本研究において本物質の蛍光について検討した結果では, 360nmの励起光による440nmの蛍光が検出された。本蛍光は蛍光特性からキヌレニン, 3-ヒドロキシキヌレニンと考えられる⁷⁾⁸⁾。3-ヒドロキシキヌレニンは, 定性的にはヒト白内障水晶体中, 特に核型白内障水晶体の水不溶性画分に多く存在する⁷⁾。一方, 水可溶性画分にも本蛍光物質は存在している。これらのことから, ヒト白内障水晶体低分子画分中のキヌレニン様物質が, グルコース取り込み抑制作用を有していることは, 充分可能性があるものと考えられる。

一方, 水晶体におけるグルコース輸送の機構については, 統一した見解が得られていないのが現状である。しかし, 動物細胞を用いたグルコース輸送の解明には最近目覚ましいものがある。動物細胞におけるこの輸送系は, 主として促進拡散と能動輸送とに区別され, 両者とも, 細胞膜に存在する特異的な輸送担体であるキャリアー・タンパクによって輸送されるとされている⁹⁾¹⁰⁾。促進拡散系は, エネルギーを必要とせず, 線維芽細胞, 赤血球などの細胞に存在¹¹⁾し, 一方, 能動輸送では Na^+ 濃度に依存したエネルギー共役による輸送で, この輸送系は, 小腸上皮細胞, 尿細管上皮細胞の刷子縁膜に存在することが知られている¹⁰⁾¹²⁾。水晶体のグルコース輸送が前者に依存するか, 後者によるものかという点については, サイトカラシンB, ウェバインを用いて検討した。サイトカラシンBは細胞膜の糖輸送の担体(キャリアー・タンパク)に結合し, 糖の輸送を阻害する物質で, 糖の促進拡散効果をみる上で重要な薬物であり, 一方, ウェバインは Na^+ - K^+ -ATPaseの選択的阻害剤で, 糖の能動輸送系に影響を与える薬物である。プタ正常水晶体を用いたグルコース取り込み抑制実験では, サイトカラシンBは濃度依存的にグルコースの輸送を阻害したにもかかわらず,

Na⁺, K⁺の動態には影響を及ぼさなかった。一方、ウーバインは10⁻³Mと極めて高濃度では、グルコースの輸送阻害効果を示したが、同時により低濃度で、Na⁺, K⁺の動態にも影響を及ぼした。これらの事実から、少なくとも、ブタ正常水晶体では、水晶体からの内への細胞膜透過過程におけるグルコースの輸送は、主として促進拡散に依存しているものと考えられる。ヒト白内障水晶体低分子画分は、サイトカラシンBと同様、キャリアー・タンパクに結合して、糖の輸送を阻害したものと推測された。しかし、ヒト白内障水晶体の低分子画分物質のみが、グルコース輸送拮抗作用を有するものなのか、正常水晶体中にも拮抗物質が存在するのかわかるといふ点は、更に検討を要する課題である。仮に、正常水晶体中にもグルコース輸送拮抗物質が存在するとなれば、本物質はグルコース拮抗物質というよりも、グルコースの水晶体内への流入を調整する物質であるとも考えられるからである。

擱筆に当たり、御校閲いただいた藤原久子助教授に深謝します。また、本実験に協力していただいた中田敬一氏に感謝します。

文 献

- 1) 岩田修造, 竹鼻 真: ヒト白内障水晶体の生化学的研究(第4報). 白内障水晶体に存在する水晶体混濁誘引物質について. 日眼 84: 1541—1547, 1980.
- 2) 錦織敏治, 花房路子, 山本覚次: 老人性白内障水晶体の白内障誘起物質について. あたらしい眼科 2: 1462—1467, 1985.
- 3) 山田一夫: 動物細胞におけるグルコース輸送の調節(適応調節機構). 生化学 58: 34—40, 1986.
- 4) Kern HL, Ho CK: Localization and specificity of the transport system for sugars in the calf lens. Exp Eye Res 15: 751—765, 1973.
- 5) Wolfe JK, Gillis MK, Chylack LT Jr: Glucose metabolism in the calf lens. Exp Eye Res 40: 629—641, 1985.
- 6) Lucas VA, Duncan G: Specificity of glucose transport inhibitors in the frog lens. Exp Eye Res 37: 175—182, 1983.
- 7) 山本覚次, 錦織敏治, 栗本良子: 老人性核白内障の発症機序に関する3-ハイドロオキシキヌレニンの意義に就いて. 日眼 85: 880—889, 1981.
- 8) Van Heyningen R: Assay of fluorescent glucosides in the human lens. Exp Eye Res 15: 121—126, 1973.
- 9) Wheeler TJ, Hinkle PC: The glucose transporter of mammalian cells. Ann Rev Physiol 47: 503—517, 1985.
- 10) Semenza G, Kessler M, Hosang M, Weber J, Schmidt U: Biochemistry of the Na⁺, D-glucose cotransporter of the small intestinal brush-border membrane. The state of the art in 1984. Biochim Biophys Acta 779: 343—379, 1984.
- 11) Elbrink J, Bihler I: Membrane transport: Its relation to cellular metabolic rates. Science 188: 1177—1184, 1975.
- 12) Moran A, Turner RJ, Handler JS: Regulation of sodium-coupled glucose transport by glucose in a cultured epithelium. J Biol Chem 258: 15087—15090, 1983.