

ラット水晶体の含硫アミノ酸代謝

坂本 英世, 飯島 武, 佐藤 永雄

昭和大学医学部第2生化学教室

要 約

ラット培養水晶体を使用して, 放射性ロイシン, グリシン, シスチンあるいはメチオニンの全水晶体とその分画試料への取り込みに対する親電子試薬 (diethyl maleate DEM) の影響から, 水晶体における含硫アミノ酸の動態について検討した. 使用した放射性アミノ酸の全水晶体と分画試料への取り込みは, DEM 群でも対照群でもシスチン以外減少した. ただし, 対照群での減少は少なかった. シスチンの全水晶体への取り込みは DEM 群で減少するものの, 対照群では影響がなかった. 分画試料のタンパク質画分 (WIS, WS) へのシスチンの取り込みは, DEM 群で増加傾向を示すが, TCA 可溶性画分 (Sup: 除タンパク質水溶性画分) では減少した. DEM 群で, タンパク質画分 (WIS, WS) へのグリシンの取り込み減少とシスチンの取り込み増加は高分子量タンパク質形成に関係していると考えられた. また, シスチンの Sup への取り込み減少からグルタチオンの合成阻害が示唆された. (日眼会誌 96: 302-308, 1992)

キーワード: グルタチオン, 親電子試薬, ^{14}C -cystine, ^{35}S -methionine, 培養ラット水晶体

The Metabolism of Sulfur Containing Amino Acids in the Rat Lens

Hideyo Sakamoto, Takeru Iijima and Tsuneo Sato

Second Department of Biochemistry, School of Medicine, Showa University

Abstract

To determine the metabolism of sulfur containing amino acids in cultured rat lenses, the author studied the uptake and incorporation of radioactive amino acids (^3H -leucine, ^{14}C -glycine, ^{14}C -cystine and ^{35}S -methionine) into whole and fractions of the lens, and the effects of diethyl maleate (DEM), the inhibitions of glutathione (GSH) synthesis on them. The uptake and incorporation of radioactive amino acids with the exception of cystine into whole and fractions of the lens were decreased, especially in DEM-additive group. In DEM group, the uptake of cystine into whole lens was suppressed but that in control group was not. The incorporation of cystine into protein fraction (WIS, WS) were increased in DEM group. It was supposed that the decrease in the incorporation of glycine and the increase in that of cystine into protein fractions were related to the formation of high molecular weight proteins. It was also assumed that the decrease of the uptake of cystine into TCA soluble fraction was due to the inhibition of the synthesis of GSH. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 302-308, 1992)

Key words: Glutathione, Electrophilic agent, ^{14}C -Cystine, ^{35}S -Methionine, Cultured rat lens

別刷請求先: 142 品川区旗の台 1-5-8 昭和大学医学部第2生化学教室 飯島 武

(平成3年3月22日受付, 平成3年8月23日改訂受理)

Reprint requests to: Takeru Iijima, M.D. Second Department of Biochemistry, School of Medicine, Showa University, 1-5-8 Hatanodai, Shinagawa-ku 142, Japan

(Received March 22, 1991 and accepted in revised form August 23, 1991)

I 緒 言

水晶体の透明度の維持は水晶体の持つ主要な機能の一つである。この透明度維持にグルタチオン (γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine) が関与していることが、種々の実験的、遺伝的白内障の発生過程の研究から示されている^{1)~3)}。グルタチオンは水晶体内の重要な還元物質で、眼房水にはわずしか存在しないにもかかわらず、水晶体中に多量に存在することから水晶体において生合成されると考えられている⁴⁾⁵⁾。グルタチオンはグルタミン酸、システイン、グリシンから成るトリペプチドで、培養肝細胞における合成はシステインがその合成速度を調節していると言われている⁶⁾。水晶体は60%の水分を含み湿重量の1/3がタンパク質であり、遊離アミノ酸も眼房水に比べてその濃度が高く⁷⁾⁸⁾、水晶体上皮における能動的な輸送機構の存在が考えられる。グルタチオンの合成や、その構成アミノ酸の輸送・代謝が水晶体でどの様に行われるか興味もたれる。しかし水晶体におけるこれらのアミノ酸の輸送や代謝に関する研究は少なく^{9)~11)}、特にグルタチオン量の調節に重要な役割を担っていると考えられるシステインについてはReddyらが培養水晶体に加えるとグルタチオンに速やかに取り込まれ合成に使われると報告して以来研究されていない¹²⁾。

本研究は、ラット水晶体培養液にグルタチオン代謝に影響を与える親電子試薬 diethyl maleate (DEM)¹⁶⁾を加え、放射性アミノ酸のロイシン、グリシン、シスチンおよびメチオニンの水晶体と水晶体タンパク質への取り込みに対する影響から、グルタチオンの構成成分である含硫アミノ酸の輸送・代謝について考察した。

II 実験方法

本実験で使用した放射性化合物はグルタチオンの構成アミノ酸の¹⁴C-cystine (NEN 社製) と¹⁴C-glycine、シスチオニン経路のシステインの前駆体である³⁵S-methionine、疎水性不可欠アミノ酸の³H-leucine、およびDNA合成の指標として用いられている³H-thymidine (いずれも Amersham 社製) である。親電子試薬としては diethyl maleate (DEM, 和光純薬製) を使用した。

培養液¹³⁾は TC-199 medium (GIBCO 社製) に bicarbonate buffer pH 7.4, penicillin (250 units/ml), streptomycin (50 μ g/ml) を加え、5%CO₂/95%air 中で3時間通気攪拌後濾過殺菌し、血清無添加で用いた。

実験に使用した眼球は8週齢のウィスター系雄ラットより摘出した。既報¹⁴⁾の様に摘出した眼球より直ちに水晶体を網膜側から切り出し、培養液で5回洗浄後、プラスチックシャーレに移し、37°C、5%CO₂/95%air、飽和水蒸気のインキュベーターで培養した。長時間の培養では3日目ごとに medium の交換を行った。

対照群は medium のみで、実験群 (DEM 群) は 2 mM DEM を含む medium 中でそれぞれ 24・48・72 時間培養後、medium で5回洗浄し、放射性化合物を 0.25 μ Ci 加え、さらに3時間培養した。正常群は水晶体を培養しないで放射性物質を加えた medium に入れ、同様の取り込み実験を行った。

取り込み実験を行ったそれぞれの水晶体を PBS (pH=7.4) で洗浄後、水 (1.0 ml) でホモジネート後、遠心分離 (39,000 g, 20 分間) を行った。沈殿を WIS (water insoluble protein) として少量の水でバイアルに移し、Soluene-350 を加え室温で一晩放置して可溶化した。遠心上清は、10%トリクロロ酢酸の入ったチューブに取り、室温で15分間放置後、遠心分離 (1,000 g, 20 分間) を行い、沈殿を WS (water soluble protein) として WIS と同様に可溶化した。遠心上清は Sup (TCA soluble protein) として、その一部 0.5 ml をバイアルに移し、Soluene-350 で同様に可溶化した。それぞれの可溶化試料にシンチレーターを加え、液体シンチレーション・カウンターで放射活性を測定しカウントを DPM で示した¹⁵⁾。各分画試料 (WIS, WS, Sup) に取り込まれたカウントを合計して全水晶体への取り込みとした。1回の実験では14眼を用いて繰り返し3~4回の実験を行い、結果は平均値 ($\pm$ S.D) で示した。

III 結 果

DNA 合成 (ヌクレオシド輸送をも含めた) への DEM, TC-199 medium と培養経過時間の影響を知るため、³H-thymidine の全水晶体への取り込みを測定した。対照群では培養24時間後に正常群より少し減少するものの、その後の培養では正常群と変わらなかった。DEM 群では培養24時間後で正常群の約50%に減少するが、培養48・72時間後では、その取り込みは正常群近くまで回復した (表1)。

疎水性必須アミノ酸の³H-leucine の全水晶体への取り込みを正常群と比較すると、対照群では培養24時間後で約20%減少し、その後は培養時間の経過に伴って約10%づつ減少した。DEM 群では培養24時間後で

60%減少するが、その後の培養でも増減は見られなかった(表2)。

水晶体タンパク質分画 WIS への ^3H -leucine の取り込みは、対照群では培養時間の経過による差はないが、DEM 群では培養24時間後で正常群の半分以下に減少するが培養時間の経過に伴ってその後増加傾向を示した。Sup では、対照群で明らかな減少を示し、DEM 群では培養24時間後で正常群の約40%しか取り込まれなかった。48・72時間後では差はなく正常群の約34%の取り込みであった。WS について、対照群では培養24・48時間後では正常群より多く取り込まれたが、72時間後では正常群の値に戻った。DEM 群では WIS と同様の結果を示した(表2)。

^3H -Leucine の各分画への取り込みを比率で表わすと、対照群では WIS へ7~10%、WS へ11~20%であった。DEM 群では WIS へ6~9%、WS へ11~18%でタンパク質分画への取り込み比率は、培養時間の経過に伴って増加傾向が認められた(図1)。

表1 各培養時間における水晶体への ^3H -thymidine の取り込み (dpm/lens)

培養時間	0	24	48	72
DEM	-	+	-	+
Total	1184	583	921	901

培養時間0は培養しない水晶体の正常群への取り込み、DEM(-)はmediumのみでの培養の対照群、(+)はDEM群を示す。Totalは水晶体1個に取り込まれた全放射能を示す。

対照群の時間経過による、全水晶体への ^3H -leucine の取り込み減少は、主として Sup 分画への取り込みの減少によることが示された(表2, 図1)。

培養時間経過による ^{14}C -glycine の全水晶体への取り込みは、対照群では培養24時間後で36%に減少し、その後も約20%ずつ減少した。DEM 群では培養24時間後で正常群の14%まで急減し、その後の培養でも減

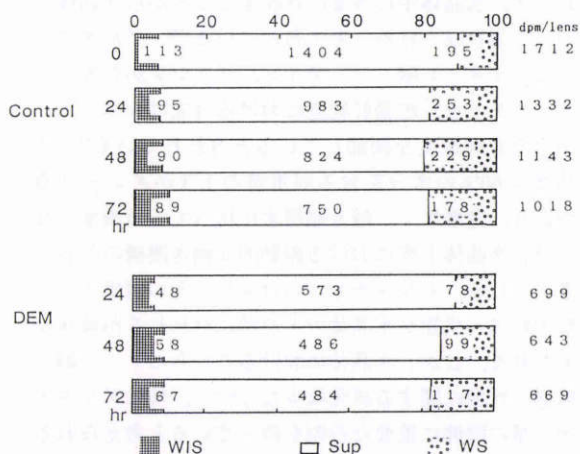


図1 各培養時間における水晶体分画試料への ^3H -leucine の取り込み比率(%), dpm/lens は水晶体1個の全放射能, グラフ内数値は水晶体1個の分画試料中の放射能を示し, グラフは全放射能に対する分画試料中の放射能の割合を示す。

WIS: water insoluble protein, Sup: TCA soluble protein, WS: water soluble protein. 0 hr は正常群を示す。

表2 各培養時間における水晶体への ^3H -leucine の取り込み (dpm/lens)

培養時間	0	24	48	72
DEM	-	+	-	+
WIS	113 (± 12.2)	48 (± 1.1)	95 (± 8.3)	58 (± 11.2)
Sup	1404 (± 265.6)	573 (± 47.2)	983 (± 81.2)	486 (± 53.2)
WS	195 (± 14.3)	78 (± 6.9)	253 (± 33.3)	99 (± 4.3)
Total	1712	699	1332	643

() は標準偏差

WIS: watar insoluble protein, Sup: TCA soluble protein, WS: water soluble protein, 培養時間0は正常水晶体への ^3H -leucine の取り込みを示し, 24・48・72は培養時間, DEM(-)は対照群, DEM(+)は実験群を示す。Totalは水晶体1個に取り込まれた全放射能を示す。

表 3 各培養時間における水晶体への¹⁴C-glycine の取り込み (dpm/lens)

培養時間	0		24		48		72	
DEM	—	+	—	+	—	+	—	+
WIS	155	26	71	16	35	18	37	
	(± 10.9)	(± 2.7)	(± 7.6)	(± 3.3)	(± 16.4)	(± 4.1)	(± 5.0)	
Sup	2467	329	1518	316	1110	289	615	
	(± 396.0)	(± 43.6)	(± 77.2)	(± 18.2)	(± 134.8)	(± 16.8)	(± 72.8)	
WS	268	36	197	27	91	11	82	
	(± 57.5)	(± 5.2)	(± 9.4)	(± 2.0)	(± 15.9)	(± 0.8)	(± 10.8)	
Total	2790	392	1786	359	1236	318	734	

略号は表 1, 2 と同様

少ししたままであった (表 3)。培養時間経過に伴う¹⁴C-glycine の各分画への取り込みは、WIS について対照群では培養 24 時間後で正常群の 45%，培養 48・72 時間後ではともに 23%まで減少した。DEM 群では培養 24 時間後で正常群の 16%，48・72 時間後ではともに正常群の 10%まで減少した。Sup への取り込みについて、対照群ではカウント数は異なるものの時間経過による減少率は WIS と同一であった。DEM 群では培養 24 時間後で正常群の 16%まで減少しその後も変わらなかった。WS への取り込みについて、対照群では培養 24 時間後で正常群に比較して 30%，48 時間で 67%，72 時間で 70%減少した。DEM では培養 24 時間後で正常群の 87%，48 時間以降では正常群の 90%以上の減少を示した (表 3)。

培養時間経過に伴う¹⁴C-glycine の各分画への取り込みを比率で表わすと、正常群と対照群では培養時間に関係なく WIS で 3～6%，WS で 7～12%であった。DEM 群の WIS では、培養時間に関係なく 4.5～6.5%であったが、WS では 24 時間培養で 9%，48 時間で 7%，72 時間で 3%と減少した (図 2)。

¹⁴C-cystine の全水晶体への取り込みは、培養 24・48 時間後では対照群が正常群より多い取り込みを示すが、72 時間では正常群とはほぼ同じ測定値まで戻った。DEM 群では培養 24 時間後で正常群の 60%まで減少するがその後徐々に増加し、培養 72 時間後では正常群の 74%まで回復した。WIS と WS 分画への取り込みは、対照群と正常群とで差は認められなかった。DEM 群では培養 24 時間後と 48 時間後とであまり差はないが、72 時間後では正常群の 2 倍以上に増加した (表 4)。

¹⁴C-cystine の各分画への取り込みを比率で表わすと、対照群は培養時間とは関係なく、正常群と同様に

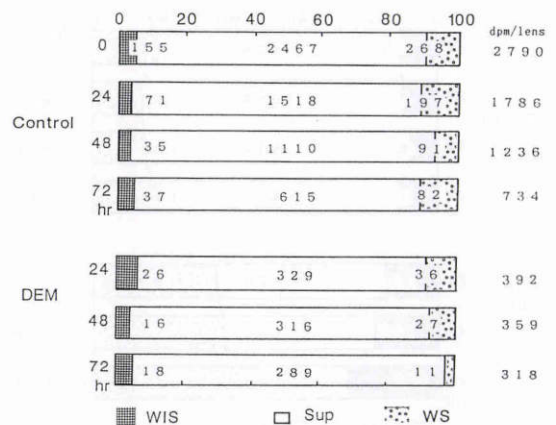


図 2 各培養時間における水晶体分画試料への¹⁴C-glycine の取り込み比率 (%). 他は図 1 と同様.

WIS で 8～10%，WS で 15～20%であるが、DEM 群の WIS では培養 24 時間後で 15%，48 時間後で 18%，72 時間後で 26%と増加し、WS も夫々 35%，38%，46%と増加した。逆に Sup への取り込みは培養時間の経過と共に減少した (図 3)。

シスタチオン経路の出発アミノ酸メチオニンの全水晶体への取り込みは対照群では培養 24 時間後で正常群の 1/2 以下に、72 時間後では 1/4 に減少した。DEM 群ではその低下は更に大きく、培養 24 時間後で 1/6 に、72 時間後では 1/10 に減少した。³⁵S-methionine の各分画への取り込みは全般的に減少したが、特に DEM 群の WIS と WS において著しいことが認められた (表 5)。

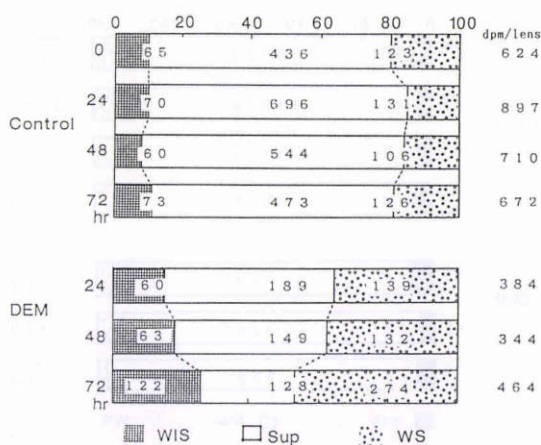
IV 考 按

本研究で用いた親電子試薬 diethyl maleate (DEM) をラット水晶体培養液に加えると水晶体の白濁とグル

表4 各培養時間における水晶体への ^{14}C -cystine の取り込み (dpm/lens)

培養時間	0		24		48		72	
DEM	—	+	—	+	—	+	—	+
WIS	65	60	70	63	60	122	73	
	(± 6.2)	(± 15.8)	(± 6.8)	(± 4.7)	(± 6.3)	(± 13.8)	(± 6.5)	
Sup	436	189	696	149	544	128	473	
	(± 54.0)	(± 23.6)	(± 144.8)	(± 16.0)	(± 57.7)	(± 4.3)	(± 72.1)	
WS	123	139	131	132	106	274	126	
	(± 8.0)	(± 32.7)	(± 28.4)	(± 23.9)	(± 15.3)	(± 14.6)	(± 12.0)	
Total	624	384	897	344	710	464	672	

略号は表1, 2と同様

図3 各培養時間における水晶体分画試料への ^{14}C -cystine の取り込み比率 (%). 他は図1と同様.表5 各培養時間における水晶体への ^{35}S -methionine の取り込み (dpm/lens)

培養時間	0		24		72	
DEM	—	+	—	+	—	+
WIS	727	39	169	33	123	
	(± 24.8)	(± 3.9)	(± 18.3)	(± 5.5)	(± 22.6)	
Sup	3550	750	1385	458	954	
	(± 348.8)	(± 62.0)	(± 99.2)	(± 4.9)	(± 106.4)	
WS	951	71	514	55	245	
	(± 87.6)	(± 5.7)	(± 86.4)	(± 6.0)	(± 48.7)	
Total	5228	860	2068	546	1322	

略号は表1, 2と同様

タチオンの減少が見られた¹⁶⁾. しかし, ^3H -thymidine の全水晶体への取り込みは, DEM 群で培養 24 時間後約 1/2 に減少するものの, 72 時間では正常群の 20% の減少である (表 1). このことより, 細胞 (上皮および

水晶体) の DNA 合成にかぎり DEM 培養による影響は少ないと考えられた.

使用した全放射性アミノ酸の対照群の全水晶体への取り込みは, シスチン以外は培養時間の経過と共に低下し, 白濁などの肉眼的変化は見られないものの, 培養という環境条件の違いによって影響を受けることが示された. DEM 群での取り込み低下は更に大きくなり, 環境の変化と合わせ DEM による影響が考えられた. これは DEM 自体の上皮細胞に対する影響より上皮細胞膜に影響を与え, 膜の輸送機能の低下を来したためか, 或いは, グルタチオン減少による膜の γ -glutamyl cycle への影響が考えられる. DEM 自体の水晶体上皮細胞への影響や, 酸化・還元状態での変化等については更に検討が必要であろう.

グリシンの取り込みは培養時間の影響を最も受け, 対照群において全水晶体への取り込みは, 72 時間後で正常群の約 1/4 となり, DEM 群でも著しく減少した (表 3). 特にタンパク質画分 (WIS, WS) への取り込みはほとんど認められなかった (図 1). 水晶体におけるグリシンの代謝については, 培養牛水晶体の研究でグリシンの 45% がグルタチオンに取り込まれる¹⁷⁾, 水晶体タンパク質へのグリシンの取り込みはセリンに変換された後に取り込まれる¹⁸⁾, 更にグリシンよりセリンの取り込みの方が多¹⁹⁾などの報告がある. 我々の実験結果はこれらの報告と矛盾するものではないが, 水晶体内におけるグリシン・セリンの変換については, 恐らくこの反応に関与すると思われる酵素 serine hydroxymethyltransferase の活性についての報告はなく, この点についてはなお検討を要する. DEM 群でのグリシン取り込みの著しい低下から (表 3) DEM による輸送系の何らかの障害, 或いはグルタチオンの減少による取り込み障害が考えられるが, グルタチオン

の合成材料でなく、不可欠アミノ酸であるロイシンの取り込みは、グリシンのような急激な減少は見られなかった。グリシンは不可欠アミノ酸ではあるがグルタチオンの構成アミノ酸であり、DEM添加培養水晶体のグルタチオンの早い減少(3時間で減少する。)などから¹⁶⁾、水晶体においてはグリシンがグルタチオン合成を律速している可能性も考えられた。

¹⁴C-cystineの対照群全水晶体及び分画試料への取り込みは、培養24時間後で僅かに増加するが他は正常群と殆ど変わらないことから、グルタチオン合成は減少するものの白内障になるほど大きく減少しないと考えられる。¹⁴C-glycineの対照群での全水晶体への取り込みも培養時間の経過に伴って段階的に減少した(表3)。また、Medium TC-199のみの培養でも時間の経過に伴う水晶体グルタチオンの緩やかな減少とも矛盾しない¹⁶⁾。

DEM群での¹⁴C-cystineの全水晶体への取り込み減少はタンパク質画分(WIS, WS)で変動がないため主にSupへの取り込み減少によると考えられる。グルタチオンは大部分(90%以上)は水溶性画分に存在するといわれている²⁰⁾。本実験のSupも除タンパク質水溶性画分であり、DEMによるグルタチオンの合成阻害が考えられる。DEM群のタンパク質画分(WIS, WS)への取り込みで、グリシンの減少とシスチンの増加は高分子量タンパク質の形成との関連が示唆された。白内障水晶体中には、高分子集塊を作るに十分なタンパク質-タンパク質ジスルフィド結合が含まれ、これらのジスルフィドはある変性条件下でジスルフィド交差結合を起こし高分子量タンパク質として分離される等の報告がある²¹⁾²²⁾。ジスルフィドであるシスチンが、ラット水晶体のタンパク質画分に多く取り込まれ、DEMによって高分子量タンパク質が形成されると考えられた。

ラット水晶体にはタウリンが高濃度に存在し、その濃度維持にはメチオニンの量が重要であり²³⁾、またラット松果体では¹⁴C-cystineからタウリンが合成される²⁴⁾と言われる。³⁵S-methionineの全水晶体への取り込みが、DEM群で1/6になり、¹⁴C-cystineの取り込みがタンパク質画分で多くなる結果や(表4)、ラット白内障水晶体でのタウリンの減少²⁵⁾等から、水晶体のタウリンがシスタチオン経路で作られると考えると、この経路のどこかで障害が起こり、シスチンが代謝されず、シスチンによるフィードバック機構によりメチオニンも取り込まれないと推論した。水晶体のタ

ウリンの役割についてはなお十分明らかではないが、心筋において低酸素時の細胞内Ca²⁺の増加を防止する報告等から²⁶⁾、水晶体においてもNa⁺・K⁺・Ca²⁺のイオン輸送やアミノ酸代謝に何か重要なかわりがあると考えられる。

この研究ではグルタチオンの構成アミノ酸の取り込みから、含硫アミノ酸の水晶体内での動態について考察したが、グルタチオンの合成系と再生系の酵素、シスタチオン経路に関与する酵素などの代謝機構や、水晶体膜機能に対するグルタチオンやDEMなどの影響の検討が必要と思われる。

文 献

- 1) Pirie A, Van Heynring R, Boag JW: Changes in lens during the formation x-ray cataract in rabbit. *Biochem J* 54: 682—683, 1953.
- 2) Pirie A: Pathology in the eye of the naphthalen-fed rabbit. *Exp Eye Res* 7: 354—357, 1968.
- 3) Iwata S, Kinoshita JH: Mechanism of development of hereditary cataract in mice. *Invest Ophthalmol* 10: 504—512, 1971.
- 4) Kinsey VE, Marrium FC: Studies on the crystallin lens II. Synthesis of glutathione in the normal and cataractous rabbit lens. *Arch Ophthalmol* 44: 370—380, 1950.
- 5) McMillan PJ, Ryerson SJ, Mortensen RA: The metabolism of lens glutathione studied with glycine-¹⁴C. *Arch Biochem Biophys* 81: 119—123, 1959.
- 6) Tateishi N, Higashi T, Shinya S, et al: Studies on the regulation of glutathione level in rat liver. *J Biochem* 75: 93—103, 1974.
- 7) Kleithi J, Mondel P: Eye lens nucleotides of different species of vertebrates. *Nature (London)* 205: 1114—1115, 1965.
- 8) 岩田修造: 目の生理・生化学。東京、廣川書店、29—35, 1985.
- 9) Harold LK: Accumulation of amino acid by calf lens. *Invest Ophthalmol* 1: 368—376, 1962.
- 10) Dardenne U, Kersten G: Presence and metabolism of amino acids in young and old lenses. *Exp Eye Res* 1: 415—421, 1962.
- 11) Kinsey VE, Reddy DV: Studies on the crystalline lens X. Transport of amino acid. *Invest Ophthalmol* 2: 229—236, 1963.
- 12) Reddy VN, Varma SD, Chakrapani B: Transport and metabolism of glutathione in the lens. *Exp Eye Res* 16: 105—114, 1973.

- 13) **Obazawa H, Merola LO, Kinoshita JH**: The effects of xylose on the isolated lens. *Invest Ophthalmol* 13: 204—209, 1974.
- 14) 飯島 武, 佐藤永雄, 吉川十三夫, 他: ラット水晶体におけるグルタチオン合成阻害とアミノ酸輸送. *あたらしい眼科* 4: 1602—1604, 1987.
- 15) **Povel NP**: Liquid scintillation counting of RNA: A simple procedure for extraction from sucrose gradients. *Anal Biochem* 38: 364—373, 1970.
- 16) 飯島 武, 坂本英世, 佐藤永雄: 親電子試薬による In Vitro ラット白内障の試み. *あたらしい眼科* 7: 564—568, 1990.
- 17) **Waley SG**: Metabolism of amino acids in the lens. *Biochem J* 91: 576—583, 1964.
- 18) **Merriam FC, Kinsey VE**: Studies on the crystalline lens. *AMA Arch Ophthalmol* 44: 651—658, 1956.
- 19) **Trayhurn R, Heyningen RV**: The metabolism of amino acids in the bovine lens. *Biochem J* 136: 67—75, 1973.
- 20) **Truscott RJW, Augusteyn RC**: The state of sulfhydryl groups in normal and cataractous human lenses. *Exp Eye Res* 25: 139—148, 1977.
- 21) **Harding JJ**: The nature and origin of the urea-insoluble protein of human lens. *Exp Eye Res* 13: 33—40, 1972.
- 22) **Harding JJ**: Disulphid cross-linked protein of high molecular weight in human cataractous lens. *Exp Eye Res* 17: 377—383, 1973.
- 23) **Kelpna G, Mathur RL**: Studies on synthesis and uptake of taurine rat lens in vitro. *Exp Eye Res* 37: 385—391, 1983.
- 24) **Ebels I, Benson B, Larsen BR**: Biosynthesis of taurine by rat pineals in vitro. *J Neural Transm* 48: 101—117, 1980.
- 25) 荻野總夫, 吉川富夫, 坂本英世, 他: ICR ラット水晶体の組織学的, 生化学的検討. (1) ICR ラット水晶体の Taurine, ATP, γ -GTP の検討. *日本白内障学会誌* 1: 29—32, 1989.
- 26) **Takahara K, Azuma J, Awata N, et al**: Taurine's possible protective role in age-dependent response to calcium paradox. *Life Sci* 37: 1705—1710, 1985.