

水晶体囊緑内障の落屑物質における糖残基の電子顕微鏡組織化学的研究

甘利 富士夫

信州大学医学部眼科学教室

要 約

水晶体囊緑内障の水晶体および線維柱帯における落屑物質の糖残基の性質を調べるために、16種類のレクチン(PNA, RCA 60 および 120, ABA, DBA, SBA, ConA, LCA, WGA, DSA, PHA-E₄ および L₄, UEA-I, Lotus, MAM, SSA)を用いて、電子顕微鏡組織化学的に観察した。その結果、水晶体囊表面と線維柱帯の落屑物質は糖残基の性質が一致し、 β -galactose, α -mannose, N-acetyl-D-glucosamine およびシアル酸残基の存在が示唆された。また、落屑物質中の微細線維、水晶体囊内の

linear densities(LD)と放射状細線維, zonular lamellaも同様の染色性を呈し、落屑物質と関連があることが示唆された。さらにレクチンを用いて落屑物質の検索、同定を行うことが可能であることが示された。(日眼会誌 98:38-46, 1994)

キーワード：レクチン、電子顕微鏡組織化学、落屑物質、糖残基

Lectin Electron Microscopic Histochemistry of Exfoliative Material from Capsular Glaucoma

Fujio Amari

Department of Ophthalmology, Shinshu University School of Medicine

Abstract

Exfoliative material of capsular glaucoma was studied by electron microscopic lectin histochemistry using sixteen kinds of lectin; PNA, RCA60 and 120, ABA, DBA, SBA, ConA, LCA, WGA, DSA, PHA-E₄ and L₄, UEA-I, Lotus, MAM, and SSA. The results indicated that sugar residues in exfoliative material on the lens and trabecular meshwork have the same characteristics, i.e., they contain glycoconjugates with sugar residues of β -galactosyl, α -mannosyl, N-acetyl-D-glucosaminyl, and terminal sialic acid. The lectin staining pattern of microfibrils in exfoliative material, radially oriented

fibrils and linear densities in the lens capsule, and zonular lamella was also similar to that of exfoliative material, and suggested their close association with exfoliative material. These results also indicated that lectin can be employed in the detection and identification of exfoliative material in various tissues. (J Jpn Ophthalmol Soc 98:38-46, 1994)

Key words: Lectin, Electron microscopic histochemistry, Exfoliative material, Sugar residues

I 緒 言

水晶体囊緑内障は落屑症候群に伴った緑内障である。落屑症候群では虹彩、水晶体、線維柱帯、毛様体、毛様小帯¹⁾、結膜²⁾、後毛様動脈周囲³⁾、皮膚⁴⁾などに落屑物質の沈着がみられる。高率に緑内障を合併⁵⁾するため落屑症候群の臨床的意義は高いが、落屑物質の起源、性質は

未だ明確に示されていない。

レクチンは特異的に糖と相互作用するタンパク質あるいは糖タンパク質で、免疫学的産物と異なる。当初、数種類の植物から抽出されていたが、近年、細菌、真菌、軟体動物、魚類の血清、哺乳動物の組織からも発見され、糖鎖生物学の進歩とともに広く応用されている⁶⁾。

これまでレクチンによる落屑物質の研究についてはあ

別刷請求先：390 長野県松本市旭3-1-1 信州大学医学部眼科学教室 甘利富士夫
(平成5年6月14日受付, 平成5年7月28日改訂受理)

Reprint requests to: Fujio Amari, M.D. Department of Ophthalmology, Shinshu University School of Medicine,
3-1-1 Asahi, Matsumoto-shi, Nagano-ken 390, Japan

(Received June 14, 1993 and accepted in revised form July 28, 1993)

まり報告されておらず、しかもそのすべては光学顕微鏡(光顕)レベルの研究である。一方、落屑物質は組織化学的染色によりアルシアンブルーおよびルテニウムレッドに親和性をもつ酸性ムコ多糖⁷⁾⁸⁾、PAS陽性の中性多糖⁹⁾を含むことが示されているものの、具体的な成分の多くは不明である。よって、レクチンの特異的な糖鎖結合性を利用して落屑物質の成分を研究することを試みた。特に、落屑物質を構成する線維成分は微細構造であるため、レクチンの局在部位の判定においては電子顕微鏡(電顕)レベルでの研究が必要と考えられた。そこで今回、筆者はコロイド金電顕レクチン組織化学により、水晶体囊緑内障の水晶体および線維柱帯の落屑物質における糖残基について調べた。

II 実験方法

1. 試料の作製

対象は、臨床的に水晶体囊緑内障と診断され、信州大学附属病院眼科で眼手術を行った10例11眼とした。8例については線維柱帯切除術を、2例については線維柱帯切除術および水晶体囊内摘出術を行うことを十分に説明し、患者の同意を得た後、手術を施行し、10例11眼の線維柱帯組織片、2例2眼の水晶体組織を得た(表1)。Rothら¹⁰⁾¹¹⁾とUsudaら¹²⁾の方法に従い、まず試料を手術室ですぐに4%パラホルムアルデヒドおよび0.1%グルタルアルデヒドを含んだ0.1M 磷酸緩衝溶液(pH 7.4)に入れ、4℃で24時間固定した。次に、0.1M リジンおよび0.15M 塩化ナトリウムを含む0.1M 磷酸緩衝溶液(pH 7.4)を用い20分毎に3回洗浄し、-20℃で一連の上昇エタノール系列で脱水し、ロビクリルK4M (Chemische Werke Lowi GmbH & Co. Germany)にて低温包埋を行い、-20℃で48時間紫外線重合し試料のブロックを作製した。試料をトリミングした後、厚さ0.1μmの超薄切片を超マイクローム(Ultratome EIII, LKB Sweden)とダイヤモンドナイフ(Diatome Swiss)を用いて作製し、ホルンパール液(応用工業 東京)で支持膜処理したニッケルグリッドメッシュ(Polysciences INC. Warrington PA USA)に載せた。比較のため、手術およびアイバンクから得た3眼の落屑物質のない水晶体と線維柱帯を同様に処理し、観察した。

2. レクチン染色

染色はRoth¹⁰⁾とHsuら¹³⁾の方法に従った。切片を載せたグリッドを5mg/mlの牛血清アルブミン(和光純薬工業 大阪)を含む0.05M トリス塩酸緩衝溶液(pH 7.5)で1時間処理した後、16種類のビオチン標識レクチン

表1 対象とした水晶体囊緑内障症例

症例	年齢	性別	術前眼圧 (mmHg)	C/D比	視野 (湖崎分類)	術式
1	67	男性	28	1.0	Vb	右)Trab
2	70	男性	38	0.9	IV	右)Trab
3	78	男性	38	0.8	IV	右)Trab
4	79	男性	60	1.0	VI	左)Trab+ICCE
5	87	男性	33	0.7	IIIb	右)Trab+ECCE
			32	0.8	IIIb	左)Trab+ECCE
6	81	女性	28	0.9	IV	左)Trab+ICCE
7	83	女性	55	1.0	VI	左)Trab
8	76	女性	46	0.8	IV	左)Trab
9	67	男性	30	0.8	IIIb	左)Trab
10	67	男性	32	0.9	IV	左)Trab

Trab: trabeculectomy, ICCE: intracapsular cataract extraction, ECCE: extracapsular cataract extraction
C/D比: 陥凹乳頭径比

表2 使用したレクチンと糖特異性⁶⁾¹⁵⁾⁻²⁰⁾

レクチン	起 源	糖 特 異 性
PNA	Arachis hypogaea	Galβ 1-3 GalNAc>α および βGal
RCA 60(Ricin)	Ricinus communis	Galβ 1-3 GalNAc, Galβ 1-4 GlcNAc
RCA 120	Ricinus communis	Galβ 1-4 GlcNAc>βGal>αGal
ABA	Agaricus bisporus	Galβ 1-3 GalNAc
DBA	Dolichos biflorus	GalNAcα 1-3 GalNAc>αGalNAc
SBA	Glycine max	α および βGalNAc>α および βGal
ConA	Canavalia ensiformis	αMan>αGlc>GlcNAc
LCA	Lens culinaris	αMan>αGlc>GlcNAc
WGA	Triticum vulgare	GlcNAc(β 1-4 GlcNAc) ₁₋₂ >βGlcNAc
DSA	Datura stramonium	GlcNAc(β 1-4 GlcNAc) ₁₋₃ =Galβ 1-4 GlcNAc
PHA-E ₄	Phaseolus vulgaris	bisecting GlcNAc
PHA-L ₄	Phaseolus vulgaris	α-Manを持つ複合型糖ペプチド
UEA-I	Ulex europaeus	αL-Fuc
Lotus	Lotus tetragonolobus	αL-Fuc>L-Fucα 1-2 Galβ 1-4 GlcNAc
MAM	Maackia amurensis	Siaα 2-3 Gal
SSA	Sambucus sieboldiana	Sia 2-6 Gal/GalNAc>Siaα 2-3 Gal/GalNAc

Gal: galactose, GalNAc: N-acetyl-D-galactosamine, Glc: glucose, GlcNAc: N-acetyl-D-glucosamine, Man: mannose, Fuc: fucose, Sia: sialic acid

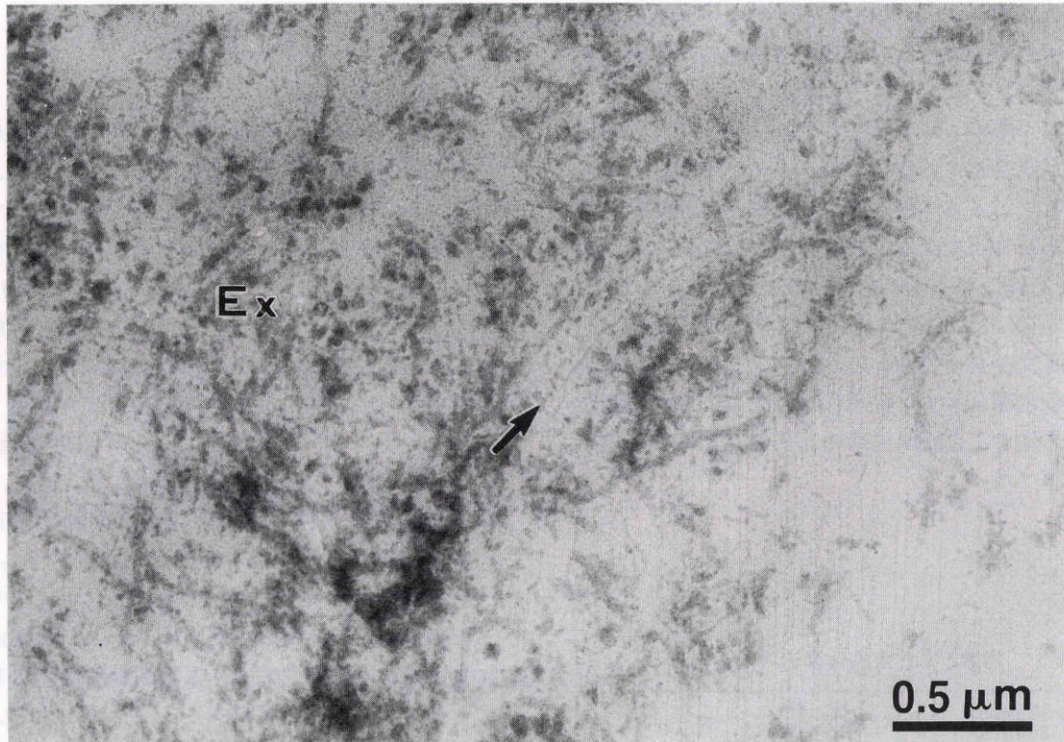


図1A 水晶体表面の落屑物質の電子顕微鏡写真。

落屑物質 (Ex) の直径は 30~40 nm で、長さは不定である。直径約 10 nm の微細線維 (矢印) がみられる。

液；ピーナツレクチン (PNA)、ヒマメレクチン (RCA 60 および 120)、マッシュルームレクチン (ABA)、ドリコスマレクチン (DBA)、ダイズレクチン (SBA)、タチナタマレクチン (ConA)、レンズマレクチン (LCA)、小麦胚芽レクチン (WGA)、チョウセンアサガオレクチン (DSA)、インゲンマレクチン (PHA-E₄ および L₄)、ハリエンシダレクチン (UEA-I)、ミヤコグサレクチン (Lotus)、イヌエンジュレクチン (MAM)、ニホンニワトコレクチン (SSA) (表 2) (生化学工業) の 20 倍希釈液 (50 μg/ml) に移し、4℃ 湿室中で翌朝まで染色した。その後、0.05 M トリス塩酸緩衝溶液 (pH 7.5) にて 15 分洗浄し、15 nm コロイド金標識ストレプトアビジン (Amersham UK) の 30 倍希釈液で 2 時間室温で染色し、再び 0.05 M トリス塩酸緩衝溶液 (pH 7.5) で 15 分洗浄した。酢酸ウラニルとクエン酸鉛で電子染色した後、日立 HS-9 透過型電子顕微鏡 (加速電圧 75 kV) で観察した。

陰性の対照染色としては一次抗体にそれぞれの阻害糖を加えた染色と、レクチン液を除いた染色を行い、陽性の対照染色は今回陰性となったレクチンによる腎、大腸の杯細胞の染色を用いた。

III 結 果

落屑物質は水晶体囊の表面、線維柱層板間および層板内に小さな塊として観察された。水晶体囊表面の落屑物質は、主として直径 30~40 nm で 20~25 nm の周期帯を

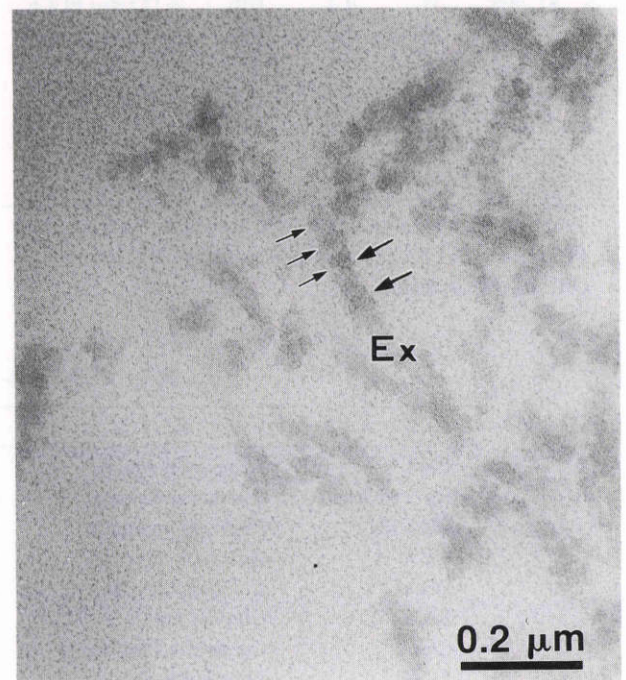


図1B 同部の落屑物質の強拡大電子顕微鏡写真
落屑物質 (Ex) には約 25 nm の周期帯 (細い矢印) と約 50 nm の大周期帯 (太い矢印) がみられる。

もった細線維から成り、40~50 nm の大周期帯も時に認められた。さらに、その間に直径約 10 nm の微細線維が少数みられた (図 1 A, B)。水晶体前囊の赤道部に近い部分では、水晶体上皮から垂直または放射状に向かった

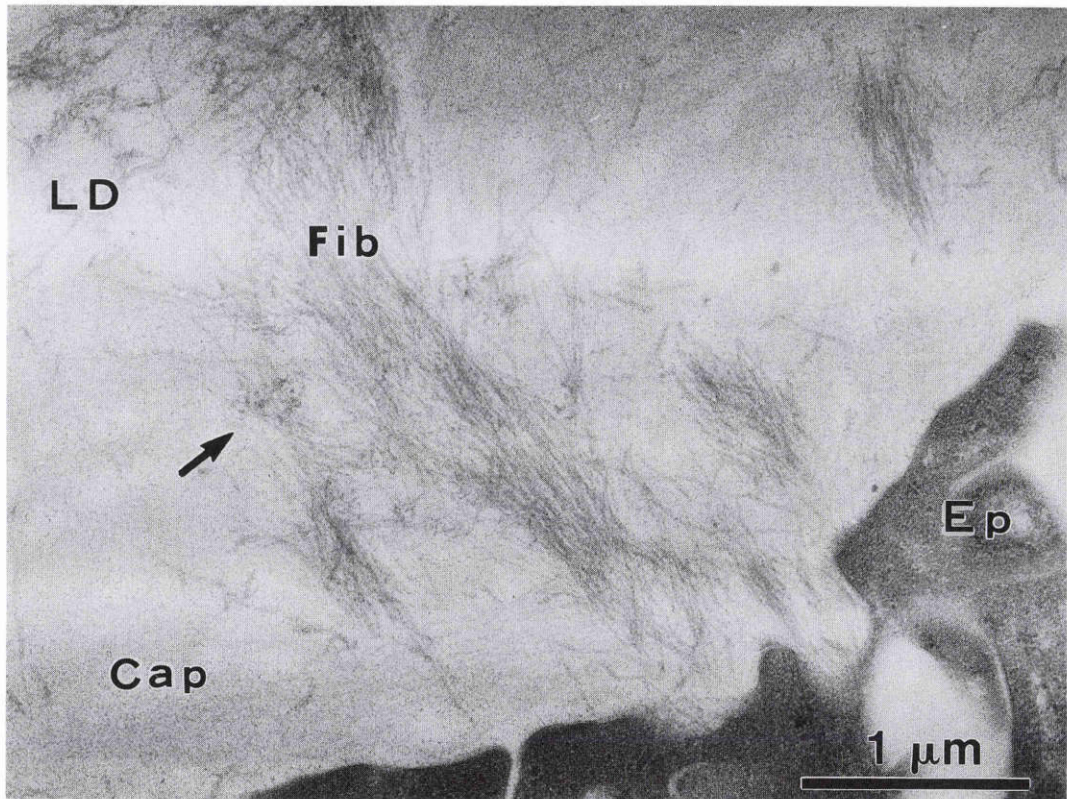


図 2 水晶体前囊中間周辺部の電子顕微鏡写真。

水晶体上皮 (Ep) に陥凹がみられ、そこから放射状細線維 (Fib) が広がっている。放射状細線維と LD の接触 (矢印) がみられる。Cap: 水晶体囊

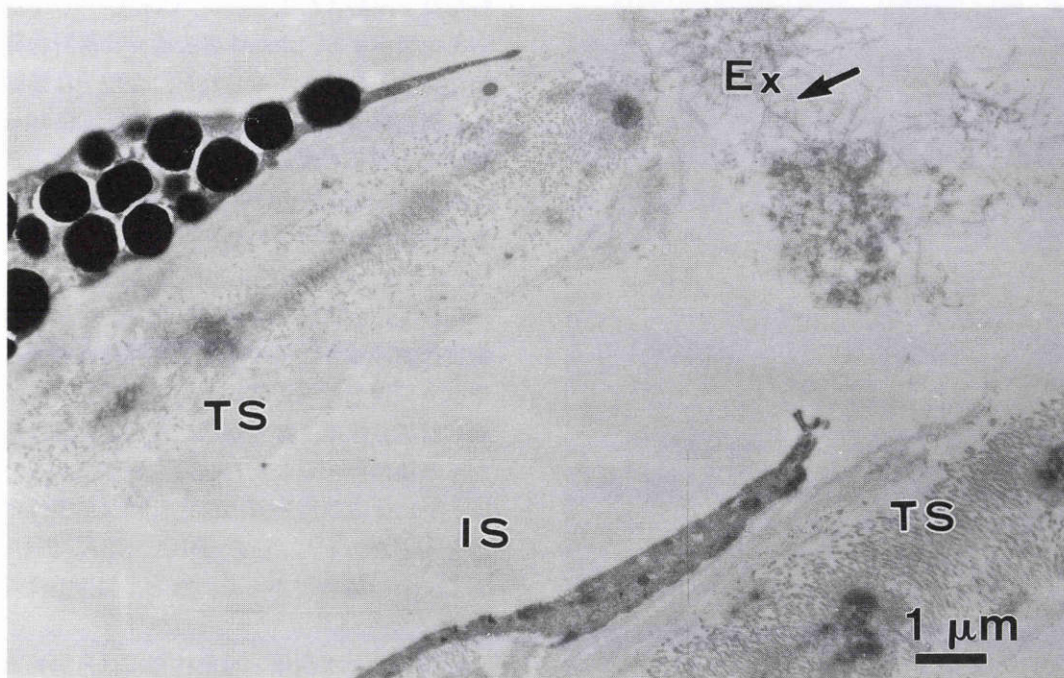


図 3 線維柱層板間の落屑物質の電子顕微鏡写真。

落屑物質は図 1 と同様に直径 30~40 nm で、微細線維 (矢印) も認められる。Ex: 落屑物質 TS: 線維柱層板 IS: 線維柱間隙

直径 10~15 nm の細線維の束が認められた。時に上皮細胞に溝をつくり、そこから放射状に向かった細線維の塊としてみられた。また、長軸が水晶体上皮に平行な紡錘

形の、linear densities (LD) が認められた。数か所で、この LD と放射状細線維が接触している像が認められた (図 2)。線維柱帯においても落屑物質の形態はほぼ同様

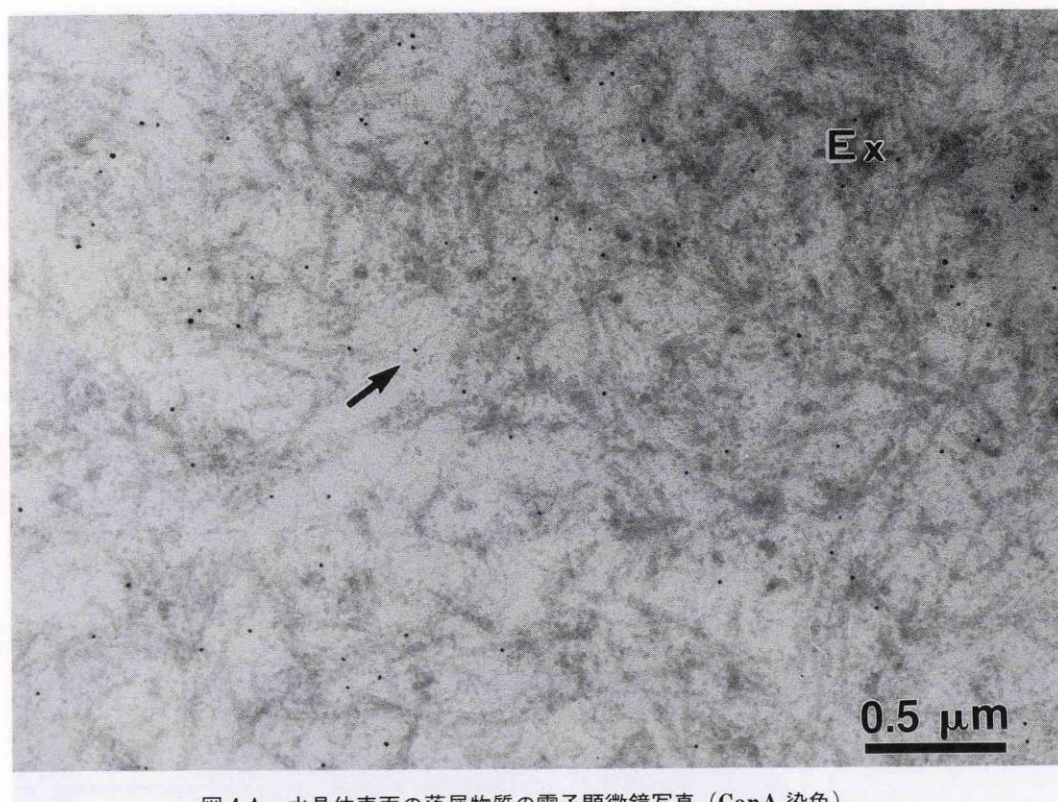


図4A 水晶体表面の落屑物質の電子顕微鏡写真 (ConA 染色).
直径約 10 nm の微細線維にも金粒子が局在している (矢印). Ex: 落屑物質

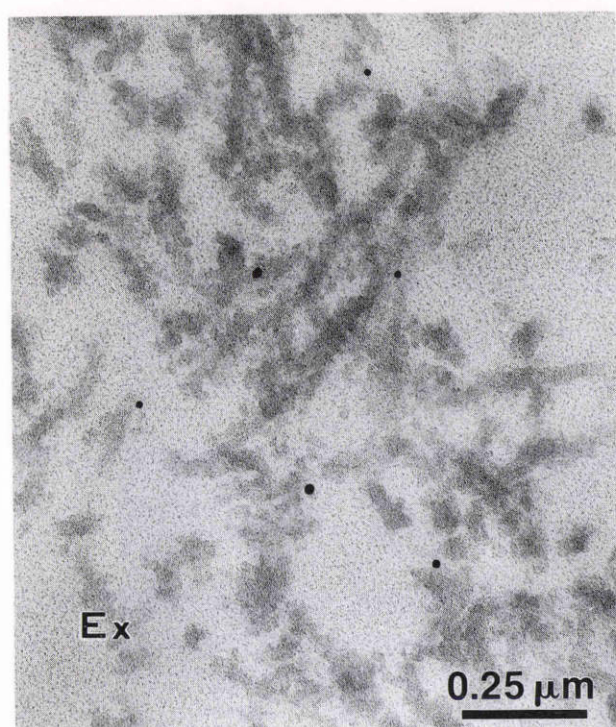


図4B 同部の落屑物質の強拡大電子顕微鏡写真 (ConA 染色).
金粒子は落屑物質 (Ex) の周辺部に多い.

で、微細線維もみられた (図3).

染色結果を表3に示した. 染色の程度に差はあったが, PNA, RCA 60 および 120, ABA, ConA, LCA, WGA,

DSA, PHA-E₄, MAM, SSA の 11 種類のレクチンに落屑物質との結合がみられた. ConA, WGA の代表的染色結果を図示する. 水晶体囊表面では落屑物質に対し明らかな金粒子の局在がみられた. 金粒子は細線維の中心よりも周辺部に多く分布していた. 直径約 10 nm の微細線維にも金粒子の局在がみられた (図4A, B). Zonular lamella には同程度からやや少数が観察された (図5). 水晶体囊には金粒子の局在はなかったが, 水晶体囊内のLDおよび放射状細線維には水晶体囊表面の細線維とほぼ同程度の金粒子が認められた (図6). 線維柱帯の落屑物質における金粒子の分布も水晶体囊表面と同程度で, やはり細線維の周辺部に多かった (図7). 落屑物質に隣接した膠原線維, 弾性線維, 長周期線維は落屑物質と異なった染色性を示した (表3). 表3に示したように各レクチンによる落屑物質の染色性には, 部位による違いはほとんどなかった. 一方, DBA, SBA, PHA-L₄, UEA-I と Lotus は陰性であった. なお, 個体差はみられなかった.

対照症例の水晶体と線維柱帯には落屑物質はみられなかった. 水晶体囊にはLDも含めて染色はほとんど認められなかったが, zonular lamella は落屑症候群と同様に染まった. 線維柱帯では膠原線維, 弾性線維, 長周期線維が水晶体囊緑内障症例のこれらの線維と同様に染色された. 各レクチンの阻害糖を用いた陰性対照染色においては, 染色反応は陰性になるか, 反応は明らかに減弱した. レクチン液を除いた際には, 染色反応は陰性となっ

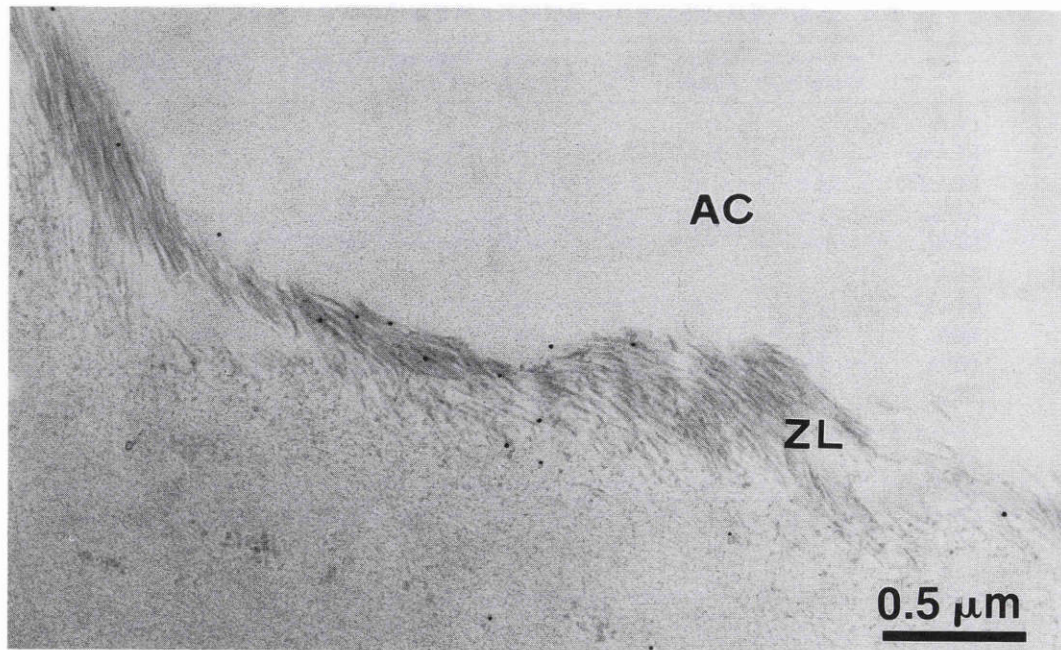


図 5 Zonular lamella の電子顕微鏡写真 (WGA 染色).
ZL: zonular lamella AC: 前房

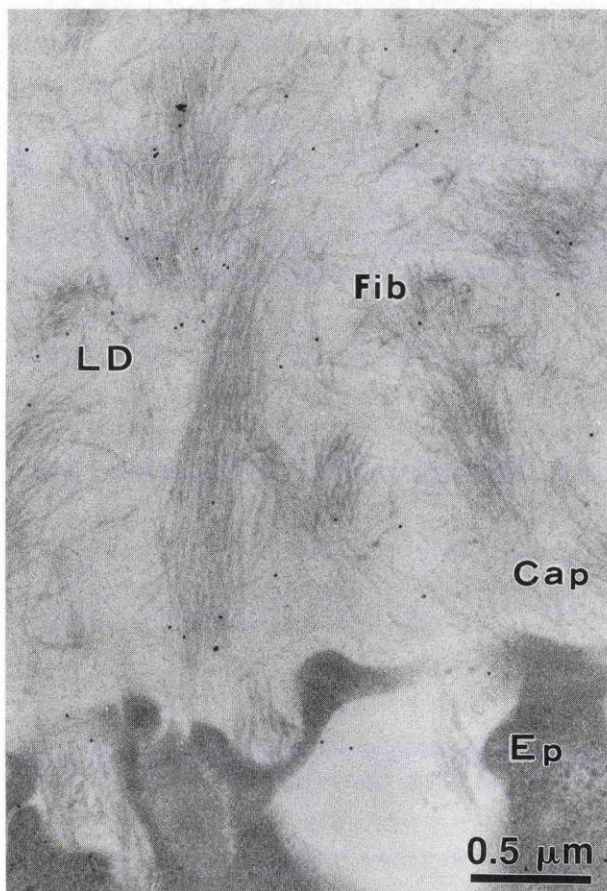


図 6 水晶体前囊中間周辺部の電子顕微鏡写真 (ConA 染色).
放射状細線維 (Fib) と LD の両者に同程度の金粒子の局在が認められる. Cap: 水晶体囊 Ep: 水晶体上皮

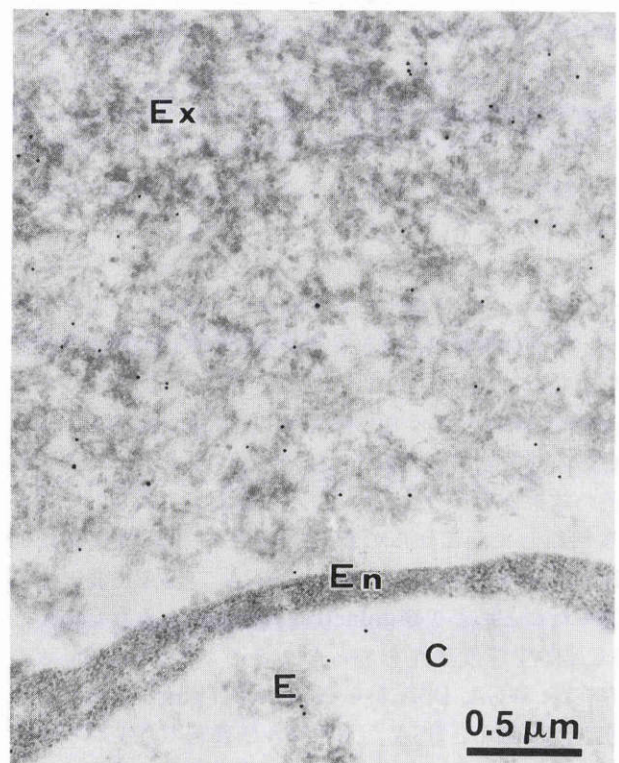


図 7 線維柱層板間の落屑物質の電子顕微鏡写真 (ConA 染色).
金粒子は落屑物質 (Ex) の周辺部に多い, 膠原線維 (C) と弾性線維 (E) にも金粒子の局在がみられる. EN: 層板内皮細胞

表3 水晶体囊緑内障における落屑物質と隣接組織のレクチン染色性

	水晶体表面 の落屑物質	放射状 細線維	LD	Zonular lamella	線維柱帯の 落屑物質	膠原 線維	弾性 線維	長周期 線維
PNA	1+	1+	1+	1+	1+	1+	-	-
RCA 60	2+	2+	2+	1+	2+	-	-	-
RCA 120	2+	2+	2+	2+	2+	1+	-	-
ABA	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
DBA	-	-	-	-	-	-	-	-
SBA	-	-	-	-	-	-	-	-
ConA	2+	2+	2+	2+	2+	1+	1+	1+
LCA	2+	2+	2+	1+	2+	1+	-	-
WGA	2+	2+	2+	2+	2+	1+	-	-
DSA	2+	2+	2+	1+	2+	1+	1+	1+
PHA-E 4	3+	3+	3+	1+	3+	1+	-	-
PHA-L 4	-	-	-	-	-	1+	-	-
UEA-I	-	-	-	-	-	-	-	-
Lotus	-	-	-	-	-	-	-	-
MAM	2+	2+	2+	1+	2+	1+	-	-
SSA	1+	1+	1+	-	1+	1+	-	-

た。また、所見が陰性であった DBA, SBA, UEA-I, Lotus においては、陽性対照として腎臓、大腸の杯細胞で染色性を示すことが確認された。

IV 考 按

レクチンは赤血球を凝集させるタンパク質として、1888年、Stillmark⁶⁾により発見された。糖の発見や研究に有用で精製が容易であることなどから、近年、細胞組織化学、細胞の分化、神経細胞経路、細菌の種類の研究などに広く応用され、糖鎖生物学の発展とともに生物学や医学の研究上重要な役割を担うようになってきた。現在、多数のレクチンがこれらの研究に用いられているが、その糖結合特異性を利用して、細胞表面の構造や機能の解明に役立っている。

落屑物質は電顕観察から直径 17~58 nm で、25~35 nm と 50 nm の 2 種類の周期性をもつ線維状の物質であり、水晶体囊表面と線維柱帯の落屑物質は両者の超微形態が共通していると報告されている¹⁴⁾。今回の観察でも落屑物質はこのような形態を呈し、水晶体囊表面と線維柱帯の落屑物質の形態はほぼ一致していた。レクチン染色の結果とそれぞれのレクチンの糖結合特異性^{6)15)~20)}から判断して、これらの部位に存在する落屑物質には RCA 60, RCA 120 で中等度、PNA, ABA で弱陽性であったことにより β -galactose の存在が、また ConA と LCA が中等度陽性であったことにより α -mannose の存在が、WGA, DSA から N-acetyl-D-glucosamine の存在が、MAM と SSA からシアル酸残基の存在が示された。したがって、本研究では水晶体囊表面の落屑物質と線維柱帯の落屑物質は、形態学的に同じ構造をもつだけでなく、レクチン染色で示される糖残基の性質も一致することが明らかとなった。

Ringvold ら²¹⁾は落屑物質の細線維がさらに微細線維

に分枝している電顕写真から、細線維は直径 8~10 nm の微細線維から構成されるとした。本研究では分枝は観察されなかったが、落屑物質の間に直径約 10 nm の微細線維がみられ、落屑物質と同様の染色性を示した。

Bertelsen ら²²⁾は放射状細線維が水晶体上皮細胞から分泌されているようにみえる電顕写真を報告し、落屑物質は水晶体上皮から産生されるとした。今回の研究でも電顕写真で直径 10~15 nm の放射状細線維が水晶体上皮から分泌されるように観察され、さらに落屑物質と同様の染色性を示した。

LD は発生源や性質は不明だが、通常、長軸が水晶体上皮に平行な微細顆粒の集合体で水晶体前囊中間周辺部に多く、落屑症候群や加齢とともに数が増し、落屑物質あるいは毛様小帯と関連があるとする説もある²³⁾。今回、落屑症候群の LD は落屑物質と zonular lamella の染色性と類似していた。一方、対照症例の LD には染色性が認められず、落屑症候群では LD の糖鎖構造が変化する可能性が示唆された。

Zonular lamella は水晶体囊における毛様小帯の侵入部である²⁴⁾。Garner ら²⁵⁾と Streeten ら⁹⁾はアルデヒド-フクシン、オルセインなどによる組織化学特殊染色で落屑物質と毛様小帯の染色性が類似していたことを報告した。今回のレクチン染色においても落屑物質と毛様小帯の一部である zonular lamella は類似していた。以上のように超微形態あるいは組織化学的染色から、その類似性が推定されてきた 5 種類の線維状構造物、すなわち水晶体囊緑内障における落屑物質の細線維、微細線維、水晶体囊内の放射状細線維、LD、さらに zonular lamella の間の糖残基の相同性が本研究により確認された。

一方、水晶体囊緑内障の線維柱帯における膠原線維、弾性線維、長周期線維には落屑物質と異なった染色がみられたが、対照症例のそれぞれの線維の染色性とは一致

していた。よって、落屑症候群ではこれらの線維の糖鎖構造は正常眼と同一であることが示された。

これまでに落屑物質のレクチン染色性については、Streeten²⁶⁾とHietanen²⁷⁾の光学顕微鏡(光顕)による報告がある。その結果は今回のものと類似していたが、いくつかの相違点がみられた。Streeten²⁶⁾はUEA-Iが強陽性でConAが弱陰性から陰性、Hietanen²⁷⁾はSBAが中等度陽性であったとした。ところが、本研究ではConAは中等度陽性で、UEA-IとSBAは陰性であった。染色に用いるレクチンの標識法には各種あるが、Streeten²⁶⁾はペルオキシンダーゼと結合したレクチンを使用しており、一方、Hietanen²⁷⁾は筆者と同様にビオチン標識レクチンを用いて、その染色特異性の高さを論じている。また、筆者は標本作製にあたって低温包埋した樹脂切片を用いている。一般的に樹脂包埋標本においては、熱処理を行うよりは低温重合を行う方が感度の良い染色結果が得られるといわれている¹¹⁾。また、Panjwani²⁸⁾はパラフィン包埋における組織の熱処理がレクチンの染色性に変化を生じさせると指摘している。これらの標本作製と染色試薬の違いが、異なった結果を生じさせた主因と考えられた。

落屑症候群は、これまで眼内に限局した症候群と考えられていたが、最近、眼周組織や皮膚さらには肺、心臓、肝臓などの全身諸臓器に落屑物質様細線維が存在することが報告され²⁹⁾³⁰⁾、落屑症候群は全身的な症候群ではないかと考えられ始めた。本研究で用いた方法およびそれにより得られた落屑物質の糖残基の知見は、今後眼内と眼外の落屑物質の異同を研究するうえで、また眼外にその存在を検索するための有用な手段となり得ると考えられる。

本論文の要旨は第97回日本眼科学会総会において発表した。

稿を終えるにあたり、本研究に際し御指導と論文の御校閲を頂いた瀬川雄三教授に深謝致します。また、実験の御指導を頂いた本学第一解剖学教室白田信光助教授ならびに同教室員各位に感謝致します。

文 献

- 1) Theobald G: Pseudo-exfoliation of the lens capsule. *Am J Ophthalmol* 37: 1-12, 1954.
- 2) Ringvold A: Electron microscopy of the limbal conjunctiva in eyes with pseudo-exfoliation syndrome (PE syndrome). *Virchows Arch Abt A Path Anat* 355: 275-283, 1972.
- 3) Eagle RC, Font RL, Fine BS: The basement membrane exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 97: 510-515, 1979.
- 4) 杉野拓平: 落屑症候群患者の皮膚にみられた落屑物質について。日眼会誌 94: 856-869, 1990.
- 5) 和佐野利記子, 猪俣 孟, 田原昭彦, 岩崎雅行, 池田正人: 落屑症候群 (Exfoliation syndrome) と緑内障の関係。眼紀 35: 2702-2707, 1984.
- 6) Sharon N, Lis H: Lectins. Chapman and Hall, London, 1989.
- 7) Davanger M, Pedersen OO: Pseudo-exfoliation material on the anterior lens surface demonstration and examination of an interfibrillar ground substance. *Acta Ophthalmol* 53: 3-18, 1975.
- 8) 瀬川雄三: 流出抵抗物質としてのアミロイド並びに Pseudo-exfoliation (PE) 細線維。眼臨 70: 951-954, 1976.
- 9) Streeten BW, Dark AJ, Barnes CW: Pseudoexfoliative material and oxytalan fibers. *Exp Eye Res* 38: 523-531, 1984.
- 10) Roth J: Application of lectin-gold complexes for electron microscopic localization of glycoconjugates on thin sections. *J Histochem Cytochem* 31: 987-999, 1983.
- 11) Roth J, Bendayan M, Carlemalm E, Villiger W, Garavito M: Enhancement of structural preservation and immunocytochemical staining in low temperature embedded pancreatic tissue. *J Histochem Cytochem* 29: 663-671, 1981.
- 12) Usuda N, Usman MI, Reddy MK, Hashimoto T, Reddy JK, Rao MS: Immunocytochemical localization of urate oxidase, fatty acyl-CoA oxidase, and catalase in bovine kidney peroxisomes. *J Histochem Cytochem* 36: 253-258, 1988.
- 13) Hsu S, Raine L, Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (abc) in immunoperoxidase techniques. *J Histochem Cytochem* 29: 577-580, 1981.
- 14) Dark AJ, Streeten BW: Pseudoexfoliation syndrome. In: Garner A, et al (Eds): Pathobiology of Ocular Disease. MerceL Dekker Inc, New York, 1303-1320, 1982.
- 15) Goldstein IJ, Porez RD: Isolation, physicochemical characterization and carbohydrate-binding specificity of lectins. In: Liener FE, et al (Eds): The Lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine. Academic Press, Orlando, 35, 1986.
- 16) Spicer SS, Schulte BA: Diversity of cell glycoconjugates shown histochemistry: A perspective. *J Histochem Cytochem* 40: 1-38, 1992.
- 17) Baenziger JU, Fiete D: Structural determinants of ricinus communis agglutinin and toxin specificity for oligosaccharides. *J Biol Chem* 254: 9795-9799, 1979.
- 18) Kaifu R, Osawa T: Synthesis of o-β-d-galactopyranosyl 1,3-o-(2-acetamido-2-deoxy-α-β-d-galactopyranosyl)-n-tosyl-L-serine and their interaction with d-galactose-binding lectins. *Carbohydr Res* 69: 79-88, 1979.
- 19) Wang WC, Cummings RD: The immobilized leucoagglutinin from the seeds of maackia amurensis binds with high affinity to complex-type asn-linked oligo-saccharides containing terminal sialic acid-linked α-2,3 to penultimate galactose residues. *J Biol Chem* 263: 4576-4585, 1988.

- 20) **Shibuya N, Tazaki K, Song Z, Tarr GE, Goldstein IJ, Peumans WJ**: A comparative study of bark lectins from three elderberry (*sambucus*) species. *J Biochem* 106: 1098—1103, 1989.
- 21) **Ringvold A, Husby G**: Pseudo-exfoliation material—an amyloid-like substance. *Exp Eye Res* 17: 289—299, 1973.
- 22) **Bertelsen TI, Drablos PS, Flood PR**: The so-called senile exfoliation (pseudoexfoliation) of the anterior lens capsule, a product of the lens epithelium. *Fibrillographia epitheliocapsularis*. *Acta Ophthalmol* 42: 1096—1113, 1964.
- 23) **Marshall GE, Konstas AG, Bechrakis NE**: An immunoelectron microscope study of the aged human lens capsule. *Exp Eye Res* 54: 393—401, 1992.
- 24) **Streeten BW**: Zonular apparatus. In: **Jakobiec FA** (Ed): *Ocular Anatomy, Embryology, and Teratology*. Harper & Row publishers, Philadelphia 331—353, 1975.
- 25) **Garner A, Alexander RA**: Pseudoexfoliative disease: Histochemical evidence of an affinity with zonular fibers. *Br J Ophthalmol* 68: 574—580, 1984.
- 26) **Streeten BW, Gibson SA, Li ZY**: Lectin binding to pseudoexfoliative material and the ocular zonules. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 1516—1521, 1986.
- 27) **Hietanen J, Tarkkanen A**: Glycoconjugates in exfoliation syndrome a lectin histochemical study of the ciliary body and lens. *Acta Ophthalmol* 67: 288—294, 1989.
- 28) **Panjwani N, Rodrigues M, Free K, Krachmer JH, Albert D, Baum J**: Lectin receptors of amyloid in corneas with lattice dystrophy. *Arch Ophthalmol* 105: 688—691, 1987.
- 29) **Schlotzer-Schrehardt UM, Koca MR, Naumann GOH, Volkholz H**: Pseudoexfoliation syndrome ocular manifestation of a systemic disorder? *Arch Ophthalmol* 110: 1752—1756, 1992.
- 30) **Streeten BW, Li ZY, Wallace RN, Eagle RC, Keshgegian AA**: Pseudoexfoliative fibrillography in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol* 110: 1757—1762, 1992.