

Review article

Aging of the crystalline lens from the viewpoint of anti-glycation and anti-oxidation.

Eri Kubo

Department of Ophthalmology, Kanazawa Medical University, Ishikawa, Japan

Glycative Stress Research 2020; 7 (4): 283-286
(c) Society for Glycative Stress Research

(総説論文：日本語翻訳版)

抗糖化、抗酸化からみた水晶体の老化

久保江理

金沢医科大学 眼科学講座

抄録

老視や加齢白内障は、紫外線、喫煙、薬物等が危険因子とされている。これらは酸化ストレスや糖化ストレスを生じ、水晶体の蛋白のジスルフィド結合 (S-S 結合) 形成、凝集・変性、核の硬化を誘発し、老視や白内障を誘発する。よって、抗酸化治療、抗糖化治療は、白内障及び老視の予防・抑制効果が期待できる。我々は、抗酸化作用のある lutein (LU) と抗糖化作用のあるトウビシエキス (*Trapa bispinosa* Roxb.: TBE) の経口投与によって、遺伝白内障モデルである Shumiya Cataract Rat (SCR) の白内障進行を遅延させ、水晶体上皮細胞の内因性の抗酸化蛋白 peroxiredoxin 6 (Prdx6) と catalase 発現を上昇させることを明らかにした。よって、抗酸化、抗糖化サプリメントの摂取により、水晶体のみならず、全身の酸化、糖化ストレスを減少させ、内因性抗酸化蛋白を上昇させることは、白内障予防に有効である。

KEY WORDS: 白内障、糖化ストレス、酸化ストレス、ルテイン、トウビシ (*Trapa bispinosa* Roxb)

1. はじめに

白内障は、世界の失明原因の第一位であり、その罹患率は2020年までに50%まで上昇すると推定されている¹⁾。白内障は、加齢、紫外線 (ultra violet: UV)、放射線、炎症、糖尿病、喫煙、ステロイド使用、強度近視などが原因とされている。蛋白のターンオーバーがほとんどない水晶体は、加齢による外因性、内因性の酸化ストレス、糖化ストレスの蓄積により水晶体混濁を生じる^{2,3)}。フリーラジカルや活性酸素といった酸化ストレスは、生体内で細胞障害、蛋白変性などを起こすことが知られている。よって、白内障予防には、体内や眼内におけるこれらストレスを減少させるという目的で種々のサプリメントやフィトケミカル、食品の抗白内障効果が研究されている⁴⁾。本稿では、酸化ストレス、糖化ストレスと加齢白内障発症メカニズムについて及びルテイン (lutein: LU)、トウビシエキス (*Trapa bispinosa* Roxb extract: TBE) による白内障予防について我々の研究結果を概説する。

2. 加齢におけるクリスタリン蛋白の変化と機能

ヒトの水晶体の蛋白質の約90%は、 α 、 β 、 γ -クリスタリンであり、水晶体の透明性維持およびレンズとしての屈折の役割を担っている。水晶体の透明性維持のためには、クリスタリン蛋白質特有の立体構造を正しく形成する必要があるが、その立体構造が正しくとれるように助けるために分子シャペロンが存在している。 α -クリスタリンにはそのシャペロン活性があり、部分的に変性した α 、 β 、 γ -クリスタリンや他の蛋白質の凝集を抑制し、水晶体の透明性に寄与している⁵⁾。加齢や紫外線など様々なストレスにより、蛋白の酸化、糖化、脱アミド化、異性化などの翻訳後修飾により α -クリスタリンの構造変化が生じるとその分子シャペロンとしての機能が低下する。その結果、 β 、 γ -クリスタリンが、大きな粒子となり異常凝集し、不溶性蛋白質に変化し、水晶体における光の散乱や線維の膨化・液化などを生じ白内障が進行する。水晶体中では蛋白質の代謝はほぼないため、白内障を予防するためには、 α -クリスタリン蛋白質の構造を正常に保ち、シャペロン機能を維持し、凝集体形成を抑制することが必要である。

クリスタリンなど蛋白質の構成アミノ酸の一つであるトリプトファンは280 nmのUVB領域に吸収極大を持っていることから紫外線による影響を受ける。トリプトファンはUVBを吸収し、kynurenineとなり、kynurenineはさらに酸化されると3-hydroxykynurenineなどのkynurenine誘導体となる。この誘導体はUVAを吸収し、その光エネルギーを活性酸素の形で放出することで蛋白質中のアミノ酸を分解し、蛋白質の構造変化を誘発する⁶⁾。

日本で承認されている抗白内障点眼薬であるピレノキシンは、トリプトファンからN'-ホルミルキヌレニンへの光酸化過程を抑制することや、キノイド物質による細胞膜機能障害作用を競合的に阻害して、水晶体の透明性を維持させる作用があると報告されている。ピレノキシンの白内障抑制効果には科学的根拠がないという報告もあるが⁷⁾、初期の混濁面積が10%以下の皮質白内障にピレノキシンを使用した場合、有意な白内障抑制効果があったという報告もなされており⁸⁾、白内障の程度やタイプを考慮して治療薬を選択する必要がある。

3. 酸化ストレスと白内障

加齢により生じたフリーラジカルや活性酸素といった酸化ストレスは、水晶体蛋白の酸化を生じ、蛋白とグルタチオン (glutathione: GSH) のジスルフィド結合 (S-S結合) 形成を生じ、酸化型グルタチオンに変化する。透明な水晶体では高レベルのGSHが維持されているが、加齢により、外側の皮質領域に比べて水晶体核部でのGSHレベルは低下し、それによって水晶体核がフリーラジカルなどの有害な影響にさらされる。このGSHの減少は、水晶体抗酸化能の減少、酸化ストレスの亢進、蛋白同士のS-S結合形成、蛋白のmisfolding、凝集、不溶化を促進し、白内障を発症する^{9,10)}。水晶体内には、抗酸化酵素といわれるsuperoxide dismutase (SOD)、catalase、peroxiredoxin 6 (Prdx6)、thioredoxin や glutathione peroxidase (GPX) などの蛋白が存在し、酸化ストレスを消去している。水晶体には、その他にもフリーラジカル捕捉物質として、ビタミンEやアスコルビン酸が存在する。加齢によりこれら抗酸化物の減少、活性低下によって、活性酸素や酸化ストレスが上昇し、水晶体蛋白の凝集が促進される。よって白内障予防のためには、紫外線暴露の予防や血糖の維持などによる酸化ストレスの発生予防と、内因性の抗酸化蛋白の維持および外因性に抗酸化物を投与することによる酸化ストレスの消去、抑制が必要である。

4. 加齢白内障と糖化ストレス

加齢により水晶体蛋白の糖化が生じていることが報告されている¹¹⁾。水晶体の蛋白は還元糖と反応して、カルボニル化合物の生成を経て、終末糖化産物 (advanced glycation endproduct: AGE) の形成を生じやすい。AGEは、加齢により水晶体に蓄積するが、白内障の水晶体においてはより多く蓄積している。AGEは、水晶体においてhigh molecular weight aggregation of crystallineの形成をもたらす、水晶体混濁を誘発する。AGEは、糖由来に産生されることが知られているが、それ以外にも水晶体のトリプトファン酸化生成物であるキヌレニンが紫外線照射

によりAGE合成を調節することが知られている¹¹⁾。さらに、紫外線により生じた水晶体中のアスコルビン酸の酸化が、AGE産生を誘導し、それが光増感物質となり、水晶体における活性酸素、酸化ストレスを誘導することも報告されている (Fig. 1)¹¹⁾。よって、加齢白内障予防には、酸化ストレスの抑制のみならず糖化ストレスの抑制も重要である。

5. ルテインとヒシ (トウビシ) による白内障予防

緑色の葉野菜に含まれるLUとゼアキサントシン (zeaxanthin: ZEA) は、網膜外層において光を吸収し脂質の過酸化を抑制することで、水晶体を保護する脂質ベースの抗酸化剤である。過去の、大規模疫学調査において、LU摂取により核白内障有病率が減少することが報告されており^{12, 13)}、また、7つのコホート研究をメタ解析したCuiらの報告、および14のコホート研究のメタ解析結果によると、LUとZEAの同時摂取群において、統計学的に有意な核白内障の予防効果があるという結果であった^{14, 15)}。LUやZEAは、体内で産生はできないため食事やサプリメントより摂取する必要がある。LUを多く含む食品には、ケール、パプリカ、ホウレンソウ、パセリなどの緑黄色野菜であるが、食習慣によっては食事から十分量を摂取することが難しい場合がある。また、AREDS2 (Rep#4) では、食事によるLUとZEAの摂取量が一番低い群においては、それらのサプリメント摂取により白内

障手術率が減少していたと報告しており¹⁶⁾、さらに血清中のLUとZEAレベルが低いと核白内障のリスクが増加するという、メタ解析の結果も報告されている¹⁷⁾。よって、LU、ZEAはヒトの加齢白内障の予防効果が期待されているサプリメントである。

近年、LUと抗糖化作用のあるthe peel extract of water chestnut (*Trapa bispinosa* Roxb.) (TBE) が、糖尿病ラットモデルにおいて糖白内障の遅延効果があるという結果が報告された¹⁸⁾。生化学的にはTBEによるAGEs生成抑制作用¹⁹⁾、AGEs架橋切断促進作用¹⁹⁾、 α -クリスタリン糖化モデルにおける糖化反応抑制作用²⁰⁾といった抗糖化作用が報告されている。我々は、ラノステロール合成酵素の突然変異により約66%に白内障を発症する遺伝性白内障モデルラットであるSCR (Shumiya Cataract Rat) を使用し、LUとTBE投与による白内障予防効果および水晶体の抗酸化遺伝子の発現誘導効果を報告した²¹⁾。6週齢の白内障発症予定のSCR (Cat+) および白内障を発症しないSCR (Cat-) に、LU + TBEまたはControlのサフラワー油を経口給餌針で4週間投与、または、6週齢のSCR (Cat+) に、LU、TBE、LU + TBEを含む固形飼料、標準固形飼料 (Control) を3週間自由摂取させた。結果として、9-10週齢のSCR (Cat+) では水晶体混濁が出現したが、Control群やTBEのみまたはLUのみ投与群と比較してLU + TBE投与群の水晶体混濁は有意に軽度であった。本研究結果より、SCRにおいて、LU + TBEの同時投与は白内障の発症を遅らせることが明らかになった。さらに、LU + TBEの同時投与は、水晶体上皮細胞のPrdx6やcatalaseといった抗酸化遺伝子の発現を誘導できること

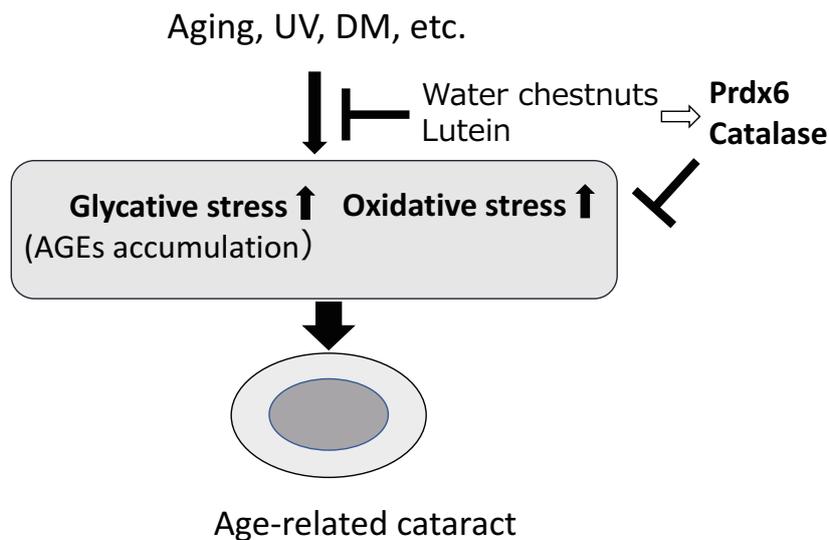


Fig. 1. Mechanism of cataract suppression by LU and TBE.

Due to aging, UV rays, DM, oxidative stress and glycative stress in the crystalline lens increase, and a cataract develops. LU and TBE directly suppress these stresses; furthermore, they suppress oxidative stress in the lens by inducing the endogenous antioxidant proteins Prdx6 and catalase. LU, lutein; TBE, water chestnuts (*Trapa bispinosa* Roxb.) extract; UV, ultraviolet; DM, diabetes mellitus; AGEs, advanced glycation endproducts.

を *in vivo* および *in vitro* で証明した。LU または TBE の単独投与に比べ LU + TBE の同時投与のほうが、白内障進行抑制効果や抗酸化遺伝子の発現誘導効果が強かったことから、LU の抗酸化作用と、TBE の抗糖化作用が相乗効果を生じたことにより、抗白内障効果を示す可能性が推測される (Fig. 1)。よって、LU + TBE は抗白内障サプリメントとしても効果が期待できるが、今後、LU + TBE のヒト加齢白内障での予防効果について大規模疫学研究での調査する必要があると考える。

6. 他の抗酸化サプリメントと白内障予防

ビタミン C やビタミン A、ビタミン E、βカロチンなどは、フリーラジカルスカベンジャーとして酸化ストレスを除去するため、抗酸化サプリメントとして服用者が多い。ビタミン C の摂取と白内障予防効果に関する 15 のコホート研究では、8 つの研究ではビタミン C の摂取は、白内障リスクを減少させるようであったが、7 つの研究結果は有意なリスク減少は見られないという報告であった。総合すると、核、皮質、後囊下すべてのタイプの白内障で、有意な白内障予防効果を示したという結果であった²²⁾。しかし、高容量 (1,000 mg) のビタミン C 摂取は、酸化促進剤となり、白内障リスクを上昇させるという報告²²⁾ や、高容量のビタミン E やビタミン B の摂取が白内障リスクを増加させるという報告などもある^{23, 24)} ため、ビタミンの過剰摂取量には注意が必要である。つまり、抗酸化ビタ

ミンの作用は、体内の酸化ストレスレベルによって異なることを示唆しており、過剰な酸化ストレスがない人に非選択的に投与しても、効果はほとんどないか、逆にリスクを上昇させる可能性が考えられる。

そのほかにも、抗酸化能を持つ食品ファクターは多数あり、白内障予防効果が動物実験レベルで報告されている。ポリフェノールの 1 種で抗酸化作用や抗炎症効果のあるレスベラトールや抗酸化作用のあるクルクミン、カロチノイドの 1 種であるアスタキサンチンにも白内障抑制効果があることが、動物実験や細胞レベルの研究により明らかになっている²⁵⁻²⁷⁾。

7. おわりに

白内障は、水晶体のみならず全身の老化、酸化ストレス糖化と関係している。抗酸化、抗糖化サプリメントで水晶体のみならず、全身の栄養状態を改善することで白内障予防になりうる。今後、食習慣の改善は第一であるが、不足分を補うという形でサプリメントの摂取も考慮するとよいかもしれない。

利益相反申告

本研究は参天製薬株式会社 (大阪) より支援を受けて行われた。

参考文献

- 1) Mathew MC, Ervin AM, Tao J, et al. Antioxidant vitamin supplementation for preventing and slowing the progression of age-related cataract. *Cochrane Database Cochrane Database Syst Rev.* 2012; 6(6): CD004567.
- 2) Spector A. Oxidative stress-induced cataract: Mechanism of action. *FASEB J.* 1995; 9: 1173-1182.
- 3) Spector A. Review: Oxidative stress and disease. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2000; 16: 193-201.
- 4) Chiu CJ, Taylor, A. Nutritional antioxidants and age-related cataract and maculopathy. *Exp Eye Res.* 2007; 84: 229-245.
- 5) Bloemendal H, de Jong W, Jaenicke R, et al. Ageing and vision: Structure, stability and function of lens crystallins. *Prog Biophys Mol Biol.* 2004; 86: 407-485.
- 6) Mizdrak J, Hains PG, Truscott RJ, et al. Tryptophan-derived ultraviolet filter compounds covalently bound to lens proteins are photosensitizers of oxidative damage. *Free Radic Biol Med.* 2008; 44: 1108-1119.
- 7) 炭木信博. 薬物療法の適応. 白内障診療ガイドライン (日本白内障学会編集). *日本白内障学会誌.* 2004; 16 (Supple.): 23-25.
- 8) Kociejcki J, Zalecki K, Wasiewicz-Rager J, et al. Evaluation of effectiveness of Catalin eyedrops in patients with presenile and senile cataract. *Klin Oczna.* 2004; 106: 778-782. (in Polish)
- 9) Lou MF. Redox regulation in lens. *Prog Retin Eye Res.* 2003; 22: 657-682.
- 10) Truscott, RJW. Age-related nuclear cataract-oxidation is the key. *Exp Eye Res.* 2005; 80: 709-725.
- 11) Nagaraj RH, Linetsky M, Stitt AW. The pathogenic role of Maillard reaction in the aging eye. *Amino Acids.* 2012; 42: 1205-1220.
- 12) Moeller SM, Volland R, Tinker L, et al. Associations between age-related nuclear cataract and lutein and zeaxanthin in the diet and serum in the Carotenoids in the Age-Related Eye Disease Study, an Ancillary Study of the Women's Health Initiative. *Arch Ophthalmol.* 2008; 126: 354-364.

- 13) Vu HT, Robman L, Hodge A, et al. Lutein and zeaxanthin and the risk of cataract: The Melbourne visual impairment project. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47: 3783-3786.
- 14) Cui YH, Jing CX, Pan HW. Association of blood antioxidants and vitamins with risk of age-related cataract: A meta-analysis of observational studies. *Am J Clin Nutr.* 2013; 98: 778-786.
- 15) Sideri O, Tsaousis KT, Li HJ, et al. The potential role of nutrition on lens pathology: A systematic review and meta-analysis. *Surv Ophthalmol.* 2019; 64: 668-678.
- 16) The Age-Related Eye Disease Study 2 (AREDS2) Research Group. Lutein/Zeaxanthin for the treatment of age-related cataract AREDS2 randomized trial Report No. 4. *JAMA Ophthalmol.* 2013; 131: 843-850.
- 17) Liu XH, Yu RB, Liu R, et al. Association between lutein and zeaxanthin status and the risk of cataract: A meta-analysis. *Nutrients.* 2014; 6: 452-465.
- 18) Kinoshita H, Sugawa T, Nanri R, et al. *Trapa bispinosa* Roxb. and lutein ameliorate cataract in type 1 diabetic rats. *J Clin Biochem Nutr.* 2020; 66: 8-14.
- 19) Takeshita S, Yagi M, Uemura T, et al. Peel extract of water chestnut (*Trapa bispinosa* Roxb.) inhibits glycation, degrades α -dicarbonyl compound, and breaks advanced glycation end product crosslinks. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 72-79.
- 20) Uemura T, Takeshita S, Yamada M. The effectiveness of the peel extract of water chestnut (*Trapa bispinosa* Roxb.) in an α -crystallin glycation model with glyoxal. *Glycative Stress Res.* 2017; 4: 104-108.
- 21) Ishida H, Shibata T, Kubo E, et al. Lutein plus water chestnut (*Trapa bispinosa* Roxb.) extract inhibits the development of cataracts and induces antioxidant gene expression in lens epithelial cells. *Biomed Res Int.* 2020; 2020: 9204620.
- 22) Rautiainen S, Lindblad BE, Morgenstern R, et al. Vitamin C supplements and the risk of age-related cataract: A population-based prospective cohort study in women. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91: 487-493.
- 23) Selin JZ, Lindblad BE, Bottai M, et al. High-dose B-vitamin supplements and risk for age-related cataract: A population-based prospective study of men and women. *Br J Nutr.* 2017; 118: 154-160.
- 24) Ferrigno L, Aldiger R, Rosmini F, et al.: Italian-American Cataract Study Group. Associations between plasma levels of vitamins and cataract in the Italian-American Clinical Trial of Nutritional Supplements and Age-Related Cataract (CTNS): CTNS Report #2. *Ophthalmic Epidemiol.* 2005; 12: 71-80.
- 25) Goutham G, Manikandan R, Beulaja M, et al. A focus on resveratrol and ocular problems, especially cataract: From chemistry to medical uses and clinical relevance. *Biomed Pharmacother.* 2017; 86: 232-241.
- 26) Ishikawa S, Hashizume K, Nishigori H, et al. Effect of astaxanthin on cataract formation induced by glucocorticoids in the chick embryo. *Curr Eye Res.* 2015; 40: 535-540.
- 27) Raman T, Ramar M, Arumugam M, et al. Cytoprotective mechanism of action of curcumin against cataract. *Pharmacol Rep.* 2016; 68: 561-569.