

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09996

研究課題名(和文)常在細菌叢と性ホルモンによるマイボーム腺脂質代謝制御機構及び眼表面疾患病態の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the pathogenesis of the ocular surface diseases associated with meibomian gland lipids, commensal bacteria and sex steroid hormones

研究代表者

鈴木 智 (Suzuki, Tomo)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・客員講師

研究者番号：30613236

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：マイボーム腺分泌脂(meibum)の常在細菌叢の網羅的解析と網羅的脂質分析を行った。健康者では、加齢に伴い細菌の多様性が低下し、Cutibacterium acnesの相対存在量が有意に低下することが明らかとなった。また、若年と比較し、高齢者とマイボーム腺機能不全(MGD)患者では、meibumの非極性脂質が有意に低下し、極性脂質が有意に増加して、「ぼやける」等見え方の「質」に関連する自覚症状との相関を認めた($p<0.05$)。以上より、加齢に伴うmeibumの脂質組成、細菌叢の変化が、眼表面の恒常性、視機能に影響している可能性を証明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢に伴うマイボーム腺機能の低下(MGD)は、ドライアイや眼表面炎症性疾患の発症につながるだけでなく、視機能低下等の自覚症状にも影響している。その原因となりうるmeibumの質的变化について、脂質組成と細菌叢の両面から加齢性変化を明らかにでき、今後の新規治療法の開発につながると思われる。

研究成果の概要(英文)：We performed comprehensive lipid analysis as well as microbiome analysis of Meibomian gland secretion(meibum) collected from the subjects incidental detailed clinical findings. The microbiome analysis showed that with aging, the bacterial flora of healthy individuals decreased in the diversity with a significant decrease in the relative abundance of Cutibacterium acnes. Lipidomic analysis showed significant decrease of the non-polar lipids (NPL) and significant increase of polar lipids (PL) in healthy elderly and patients with meibomian gland dysfunction (MGD) compared to healthy young subjects, which resulted in subjective symptoms related to the "quality" of vision ($p<0.05$). These results suggest that age-related changes in lipid composition and bacterial flora of the meibum may affect ocular surface homeostasis, which in turn may affect visual function.

研究分野：眼科

キーワード：マイボーム腺 マイボーム腺機能不全 マイボーム腺炎 ドライアイ マイクロバイオーム 脂質分析

1. 研究開始当初の背景

眼瞼に存在するマイボーム腺は、特異に分化したホロクリン腺であり、眼表面粘膜上皮を保護する涙液層への脂質分泌を主たる役割としている。したがって、マイボーム腺分泌脂(meibum)は眼表面の恒常性維持に必須であり、眼表面疾患の病態とも密接な関わりがある。マイボーム腺機能不全 (Meibomian gland dysfunction: MGD) は、「さまざまな原因によってマイボーム腺の機能がびまん性に異常をきたした状態」を指し、蒸発亢進型ドライアイ (推定患者数 500 万人) の原因の約 6 割を占めるとされている。その多くを占める閉塞性 MGD では、マイボーム腺からの meibum の粘度上昇と固形化が生じ、meibum の質的・量的な変化が認められる。この変化には、マイボーム腺内における脂質生合成経路とその meibum に対する、性ホルモンと加齢、マイボーム腺内の常在細菌叢等の関与が推測される。また、MGD に炎症を伴ったマイボーム腺炎は、難治性眼表面炎症性疾患 (マイボーム腺炎角結膜上皮症、眼瞼角結膜炎、酒さ性眼瞼角結膜炎、フリクテン性角結膜炎等) と密接に関係しており、腺内の常在細菌叢の変化、細菌が有する lipid lipase の関与が考えられ、我々はマイボーム腺炎をコントロールすることが眼表面炎症の沈静化にも必須であることを提唱してきた。我々は、上述の臨床的課題からリバーシ・トランスレーショナル研究を模索し、過去 6 年間の基盤研究 C (25462727, 16K11295) による予備研究結果を踏まえて、以下のような学術的「問い」を持つに至った。

- ① 性ホルモンと加齢は、ヒトマイボーム腺からの meibum の生合成経路に大きく関与しているのではないかと。さらに、マイボーム腺内常在細菌叢の変化により、酸化ストレス等などが加味されて meibum の質的变化が生じるのではないかと。
- ② 若年女性に認められるマイボーム腺炎には *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) が密接に関係している可能性が高く、*C. acnes* の亜種が病態に大きく関与しているのではないかと。
- ③ マイボーム腺炎を生じる細菌が加齢に伴い *C. acnes* から *Staphylococcus epidermidis* に変化するものは、加齢に伴う常在細菌叢と自然免疫の変化によるものではないかと。

2. 研究の目的

「常在細菌叢と性ホルモンによるマイボーム腺脂質代謝制御機構及び眼表面疾患病態の解明」を目的とする。詳細な臨床所見を付帯する被検者から採取した同一の meibum サンプルを用いて、meibum の網羅的脂質分析と常在細菌叢のマイクロバイームによる網羅的解析を行い、マイボーム腺脂質代謝制御機構を解明する。さらに、マイボーム腺機能不全 (MGD) 患者の脂質とマイクロバイームの分析結果から、MGD に伴う眼表面疾患 (マイボーム腺機能不全に伴う蒸発亢進型ドライアイとマイボーム腺炎に関連する眼表面炎症性疾患) の病態を解明し、新規治療法の開発戦略に繋げる。

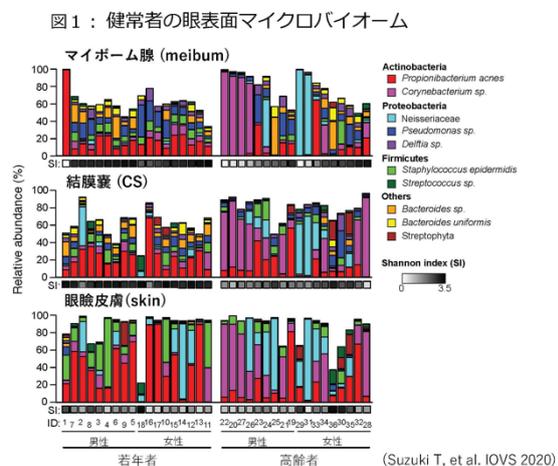
3. 研究の方法

- 1) 健康な 30 代女性 6 例の月経周期を 6 つの phase に分けて meibum を採取した。Age-match させた 30 代男性、60 代男性および女性各 6 例についても meibum を採取し、ガスクロマトグラフ質量分析 (GC-MS) にて脂肪酸 (FA) の組成を分析し、結果を主成分分析 (PCA) にて解析した。

- 2) 眼・皮膚疾患の無い健常な男女 36 例 (20-35 歳の男女各 6 例、60-70 歳の男女各 6 例) を対象に 16SRNA シーケンスを用いて同一眼の眼瞼皮膚、結膜嚢、マイボーム腺の細菌叢について網羅的に検討した。
- 3) meibum の加齢に伴う脂質組成の変化について、アジア人 (日本人) と白人 (米国人) の健常者の若年者 (29 ± 5 歳、21 例) 及び高齢者 (68 ± 7 歳、29 例) の片眼から meibum を採取し、米国の共同研究者とともに HPLC-MS を用いて網羅的な脂質分析を行い、比較検討を行った。
- 4) ラード (豚脂) 様の特異な meibum 所見を有した MGD 症例について、meibum を採取し、HPLC-MS を用いた脂質分析を行った。
- 5) meibum の脂質組成と客観的な臨床所見、自覚症状の関係について、健常者 24 例 (20-35 歳の男女各 6 例、60-70 歳の男女各 6 例) およびマイボーム腺機能不全(MGD)患者について検討した。
- 6) 霰粒腫 227 症例の年齢、性別を検討するとともに、摘出症例について、HE 染色と *C. acnes* 特異的モノクローナル抗体を用いた免疫組織化学染色を施行し、霰粒腫の肉芽腫形成に対する *C. acnes* の関与について検討した。

4. 研究成果

- 1) meibumのFA組成は月経周期とともに変化し、特に排卵前 (エストロゲン濃度の上昇時期) に、パルミチン酸やステアリン酸等の飽和脂肪酸が有意に増加し、オレイン酸等の一価不飽和脂肪酸が有意に減少した。Age-matchさせた30代男性、60-70歳の男女では脂肪酸組成は30代女性の黄体期の組成と同様であった。
- 2) 若年者では、マイボーム腺の細菌叢は、結膜嚢と酷似していたが、高齢者では、結膜嚢細菌叢は皮膚と酷似していた。3箇所 (眼瞼皮膚、結膜嚢、マイボーム腺) 全てにおいて、若年者では *C. acnes* の相対存在量が高いが、高齢者では、その存在量が有意に低下し、特に *Corynebacterium sp* や *Neisseria* 属などの相対存在量が増える個体が多くなり、若年者に比べ高齢者では細菌の多様性が有意に低下することが明らかとなった。性差は明らかではなかった。(図1)

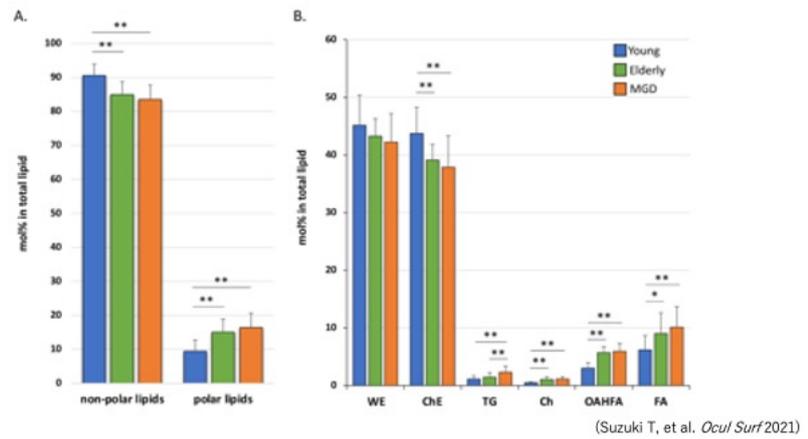


- 3) ドライアイやMGDを認めない健常なアジア人 (日本人) と白人 (米国人) では、meibum の脂質組成は、人種に伴う有意な差は認められないことを発見した。
- 4) 全身的な脂質代謝異常は伴わないが、meibumに高TG・低WEの脂質組成を認める過去に報告のない特異なMGD症例であると確認し、High triglycerides-low waxes syndromeと命名した。
- 5) 若年者と比較し、高齢者とMGD患者では、コレステロールエステル(CE)などの非極性脂質が優位に低下し、コレステロール(Ch)、O-acyl-omega-hydroxy fatty acid(OAHFA)、遊離脂肪酸(FFA)などの極性脂質が優位に増加していた。トリグリセリドのみMGD患者で優

位に増加していた。

「ぼやける」等見え方の「質」に関連する自覚症状が、極性脂質と正の、非極性脂質と負の相関を認めた($p < 0.05$)。MGDや加齢に伴う脂質組成変化が自覚症状に影響していること発見した。(図2)

図2: Meibum脂質組成は加齢、MGDで変化する



- 6) 40歳以下では女性の症例数が男性より有意に多かったが ($p=0.014$)、41歳以上では性差は認めなかった ($p=0.14$)。免疫染色により肉芽腫内に、*C. acnes* 抗体陽性所見を認め、霰粒腫の病因に *C. acnes* が関与しているということを世界で初めて明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Suzuki T, Sutani T, Nakai H, Shirahige K, Kinoshita S.	4. 巻 61
2. 論文標題 The microbiome of the meibum and ocular surface in healthy subjects.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Invest Ophthalmol Vis Sci.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.61.2.18.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Dekio I, Sakamoto M, Suzuki T, Yuki M, Kinoshita S, Murakami Y, Ohkuma M.	4. 巻 70
2. 論文標題 Cutibacterium modestum sp. nov., isolated from meibum of human meibomian glands, and emended descriptions of Cutibacterium granulosum and Cutibacterium namnetense.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Syst Evol Microbiol	6. 最初と最後の頁 2457-2462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/ijsem.0.004058.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Butovich IA, Suzuki T, Wojtowicz J, Bhat N, Yukseil S.	4. 巻 10
2. 論文標題 Comprehensive profiling of Asian and Caucasian meibomian gland secretions reveals similar lipidomic signatures regardless of ethnicity.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-71259-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Butovich IA, Suzuki T.	4. 巻 199
2. 論文標題 Delineating a novel metabolic high triglycerides-low waxes syndrome that affects lipid homeostasis in meibomian and sebaceous glands.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Exp Eye Res	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exer.2020.108189	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Suzuki T, Fujiwara S, Kinoshita S, Butovich IA.	4. 巻 60
2. 論文標題 Cyclic change of fatty acid composition in meibum during the menstrual cycle.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Invest Ophthalmol Vis Sci.	6. 最初と最後の頁 1724-1733
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.18-26390.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 中井浩子、杉立有弥、鈴木 智	4. 巻 36
2. 論文標題 生後2ヶ月の乳児に生じた多発霰粒腫の一例.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 あたらしい眼科	6. 最初と最後の頁 407-410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Butovich IA, Suzuki T.	4. 巻 62
2. 論文標題 Effects of aging on human meibum.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Invest Ophthalmol Vis Sci.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.62.12.23.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 9.Dekio I, Okuda KI, Nishida M, Hamada-Tsutsumi S, Suzuki T, Kinoshita S, Tamura H, Ohnuma K, Murakami Y, Kinjo Y, Asahina A.	4. 巻 9
2. 論文標題 Common Features and Intra-Species Variation of Cutibacterium modestum Strains, and Emended Description of the Species.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms9112343.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki T, Kitazawa K, Cho Y, Yoshida M, Okumura T, Sato A, Kinoshita S.	4. 巻 -
2. 論文標題 Alteration in meibum lipid composition and subjective symptoms due to aging and meibomian gland dysfunction.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ocul Surf	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtos.2021.10.003.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki T, Katsuki N, Tsutumi R, Uchida K, Ohashi K, Eishi Y, Kinoshita S.	4. 巻 24
2. 論文標題 Reconsidering the pathogenesis of chalazion.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ocul Surf	6. 最初と最後の頁 31-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtos.2021.12.010.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 鈴木 智、須谷尚史、白髭克彦、中井浩子、木下茂、Igor Butovich .
2. 発表標題 マイボーム腺常在細菌叢とmeibumの脂質組成との関連についての一考察 .
3. 学会等名 第124回日本眼科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 智、須谷尚史、白髭克彦、木下茂.
2. 発表標題 眼表面マイクロバイオームの加齢性変化についての検討 .
3. 学会等名 第20回日本抗加齢医学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 智, Igor Butovich.
2. 発表標題 特異な脂質組成を示したマイボーム腺機能不全の一症例.
3. 学会等名 第74回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 智
2. 発表標題 マイボーム腺の構造と役割.
3. 学会等名 第44回日本眼科手術学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 智、江石義信、内田圭介、篠宮克彦、木下 茂.
2. 発表標題 霰粒腫の病態とPropionibacterium acnesの関連についての考察.
3. 学会等名 角膜カンファランス2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Suzuki T, Sutani T, Nakai H, Shirahige K, Kinoshita S.
2. 発表標題 Human microbiome of eyelid skin, conjunctival sac, and meibum of the meibomian gland.
3. 学会等名 ARVO Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Butovich IA, Bhat N, Wilkerson A, McMahon A, Suzuki T, Kinoshita S, Wojtowicz JC.
2. 発表標題 Establishing the baselines for genomic and lipidomic analyses of Meibomian glands of humans and experimental animals.
3. 学会等名 ARVO Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 智、北澤耕司、張祐子、佐藤惇志、埴原鉦行、奥村 隆、近 亮、木下茂。
2. 発表標題 加齢およびマイボーム腺機能不全によるマイボーム腺脂質組成の変化。
3. 学会等名 第123回日本眼科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 北澤耕司、張 佑子、鈴木 智、吉田雅貴、奥村 隆、近 亮、木下 茂。
2. 発表標題 マイボーム腺機能不全患者のマイボーム脂質と眼疲労との関連性。
3. 学会等名 第123回日本眼科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 智。
2. 発表標題 Inflamed obstructive meibomian gland dysfunction causes ocular surface inflammation.
3. 学会等名 第13回箱根ドライアイクラブ
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 智、藤原 賢、木下 茂 .
2. 発表標題 マイボーム腺の月経周期に関わる生理的变化に基づくマイボーム腺機能不全への一考察 .
3. 学会等名 第73回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 智、須谷尚史、中井浩子、白鬚克彦、木下 茂 .
2. 発表標題 マイボーム腺のマイクロバイオームの加齢性変化についての考察 .
3. 学会等名 角膜カンファランス2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堤 亮太、鈴木 智、後藤 周、川端真理子、曾田里奈、小泉 閑
2. 発表標題 過去5年間に経験した霰粒腫206例の臨床的特徴についての考察 .
3. 学会等名 角膜カンファランス2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 智
2. 発表標題 マイボーム腺に関連した角結膜疾患 .
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 智
2. 発表標題 ヒトのmeibumの組成と眼表面の関係.
3. 学会等名 第14回箱根ドライアイクラブ
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 智、出来尾 格、坂本光央、雪 真弘、大熊盛也、村上義之、木下 茂
2. 発表標題 マイボーム腺炎角結膜上皮症から分離した新種Cutibacterium modestumについての考察.
3. 学会等名 フォーサム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 智、江石義信、内田佳介、篠宮克彦、藤原 賢、木下 茂.
2. 発表標題 霰粒腫の病因についての考察.
3. 学会等名 第75回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 智、Butovich A. Igor .
2. 発表標題 加齢に伴うmeibumの脂質組成の 変化についての検討
3. 学会等名 角膜カンファランス2022
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	須谷 尚史 (Sutani Takashi) (30401524)	東京大学・定量生命科学研究所・准教授 (12601)	
研究分担者	白髭 克彦 (Shirahige Katsuhiko) (90273854)	東京大学・定量生命科学研究所・教授 (12601)	
研究分担者	出来尾 格 (Dekio Itaru) (80338128)	東京慈恵会医科大学・医学部・講師 (32651)	
研究分担者	木下 茂 (Kinoshita Shigeru) (30116024)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (24303)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
米国	UT Southwestern Medical Center		