

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462648

研究課題名(和文) 活性型ビタミンD3外用製剤のマイボーム腺機能不全(MGD)治療への応用

研究課題名(英文) Clinical safety and efficacy of vitamin D3 analog ointment for treatment of obstructive meibomian gland dysfunction

研究代表者

有田 玲子(Arita, Reiko)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師(非常勤)

研究者番号：00338120

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：マイボーム腺機能不全(MGD)はドライアイの主因であり、患者数が多いにもかかわらず有効な治療法が確立されていない。我々は、活性型ビタミンD3がMGDの治療薬になるかどうかを研究の目的とした。動物実験において、活性型ビタミンD3の眼瞼塗布治療が眼球や眼周囲組織、全身臓器における副作用を起こさないこと、MGD動物モデルでMGDの改善を誘導することが明らかとなった。また、臨床応用を行い、MGD患者におけるMGDの病変の改善をきたすことを証明した。活性型ビタミンD3はMGDの治療法となりうることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Meibomian gland dysfunction(MGD) is a one of the causative conditions of dry eye diseases. We investigated the safety and efficacy of active-form of vitamin D3 (aVitD3) for MGD. Investigations with MGD model animals revealed that application of aVitD3 was not caused any adverse effects on eye balls or other organs. Also, the application of aVitD3 on eyelid in MGD model mouse revealed the improvement of MGD. Furthermore, we applied aVitD3 onto MGD patients, revealing that aVitD3 improved clinical parameters in MGD patients. The application of aVitD3 is one of the treatment regimens for MGD.

研究分野：眼科学

キーワード：ドライアイ マイボーム腺機能不全 活性型ビタミンD3

1. 研究開始当初の背景

(1)マイボーム腺は涙液の油層を分泌し、涙液の蒸発を抑制している。マイボーム腺機能不全(MGD)はドライアイ全体の約86%をしめており (Lemp et al., Cornea, 2012, 図1)、長期にわたり患者の Quality of Life を低下させる疾患である。しかし現段階では対症療法のみで根本的な治療法がない。今後日本が迎える超高齢化社会において、ますます増加する MGD の根本治療法として、発症機序のキープクターである“過角化”は治療のターゲットになりうると考えた。最近では、私たちの開発した非侵襲的マイボグラフィーによってマイボーム腺の形態変化が非侵襲的に観察できる (図2) ようになったため、治療効果の判定も非侵襲的に可能である。

(2)活性型ビタミン D3 外用薬は表皮細胞に対する増殖抑制作用、分化誘導作用、サイトカイン分泌抑制作用をもち、乾癬に有効であることが分かっている。また、現在、痤瘡(ニキビ)への有用性も検討されている。MGD は痤瘡と同様の発症機序と考えられており、マイボ

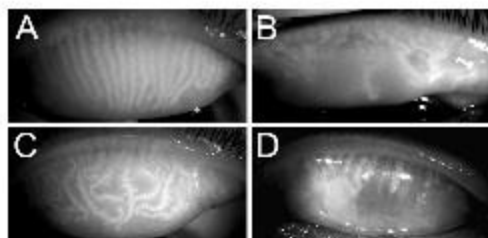


図2. マイボグラフィーを用いたマイボーム腺の観察。A: 正常者, B: コンタクトレンズ着用者, C: アレルギー性結膜炎, D: MGD

ーム腺の開口部は皮膚に存在している。解剖学的特徴、病態などを考慮すると、慢性炎症と過角化を抑制するビタミン D3 を MGD 治療に応用できると考えた。(図3)

2. 研究の目的

有病率の高い慢性疾患であるドライアイの原因の一つであるマイボーム腺機能不全 (MGD) の治療法は確立しておらず、その開発は急務である。本研究では、活性型ビタミン D3 の表皮細胞に対する増殖抑制作用、分化誘導作用、サイトカイン分泌抑制作用に着目し、  
(1) MGD モデル動物に対し活性型ビタミン D3

を投与し、慢性炎症、導管上皮過角化を抑制することを示す。  
(2) 医師主導型臨床治験を行い、正常ヒトにおける安全性を確認する。  
(3) 二重盲検法で MGD 患者において活性型ビタミン D3 の用量依存性の効果を示す。



図3. 活性型ビタミンD3がMGDにおける慢性炎症や過角化を抑制できる可能性がある。

本研究を通じ、活性型ビタミン D3 を MGD の新規治療法として確立することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 研究分担者が作成した MGD モデルマウス

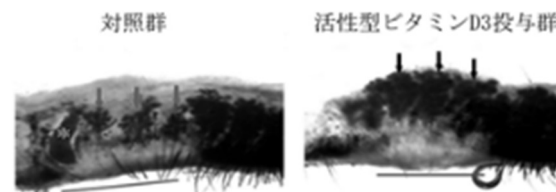


図4. MGDモデルマウスにおける活性型ビタミンD3眼軟膏塗布効果

(C57BL6系マウスのマイボーム腺開口部を焼灼したもの)を活性型ビタミン D3 軟膏塗布群、対照群の2群にわけて、マイボーム腺領域を定量した。対照群に比べ活性型ビタミン D3 軟膏塗布群ではマイボーム腺の消失が有意に抑制されていた(図4)。今後、さらに正常マウスで活性型ビタミン D3 軟膏の角結膜に対する安全性を顕微鏡下、組織学的に確認する。

(2) MGD モデルマウスでの有効性の検討をする。上記 MGD モデルマウスを用い、1日2回週5日×2ヵ月間薬剤を塗布、対照群と活性型ビタミン D3 軟膏塗布群とでマイボーム腺率を定量化する。

上記動物実験でのデータをもとに医師主導型臨床治験を行う。

(3) ヒト正常眼に対し、活性型ビタミン D3 軟膏を1日2回上下眼瞼 (マイボーム腺開口

部周囲)に塗布し、スリットランプで角結膜上皮障害の有無、眼瞼に対するアレルギー反応の有無を確認する。

(4)ヒト MGD 眼に対し、**活性型ビタミン D3 軟膏の有効性**を確認する。自覚症状の改善度の問診、スリットランプで眼瞼縁異常所見の観察、マイボグラフィでマイボーム腺領域の定量比較、共焦点顕微鏡で炎症所見の観察を行う。

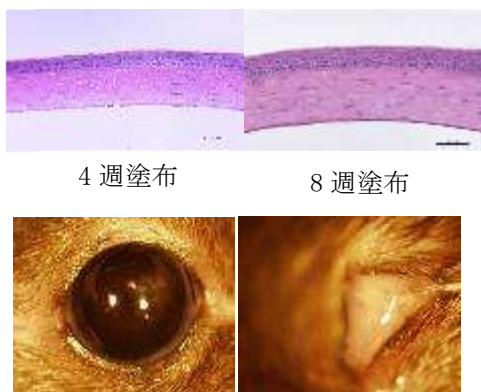
	開始前	2週間後	4週間後	8週間後
眼瞼縁所見の観察	○	○	○	○
TBUT	○	○	○	○
涙液メニスカス測定	○	○	○	○
角結膜上皮障害スコア	○	○	○	○
マイボーム腺分泌脂グレード	○	○	○	○
シルマー検査	○			○
マイボスコア	○	○	○	○
マイボーム腺面積	○	○	○	○
共焦点顕微鏡検査	○			○

#### 4. 研究成果

##### (1) 正常マウスにおける安全性の検討

正常マウスにおける活性型ビタミン D3 軟膏を4週間、8週間それぞれ1日2回週5日塗布したのち、角結膜に対する安全性の顕微鏡下、組織学的検討を行った。

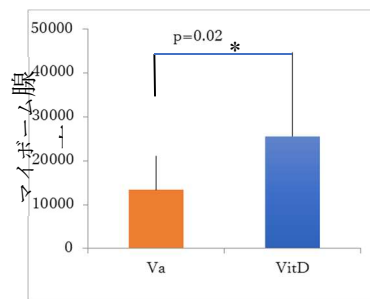
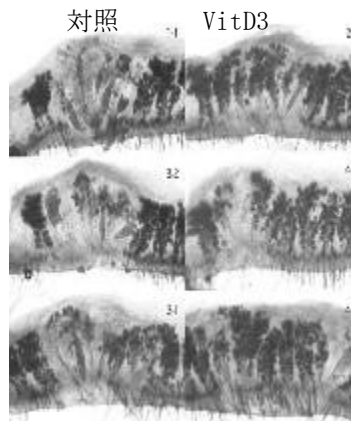
下記図のように、いずれにおいても角膜、結膜において組織学的、顕微鏡的に異常を認めなかった。



##### (2) MGD モデルマウスでの有効性の検討

1日2回週5日×2ヵ月間薬剤を塗布、対照群(左)と活性型ビタミン D3 軟膏塗布群(右)

とでマイボーム腺を観察し、マイボーム腺領域率を定量化したところ有意にマイボーム腺の改善を認めた。

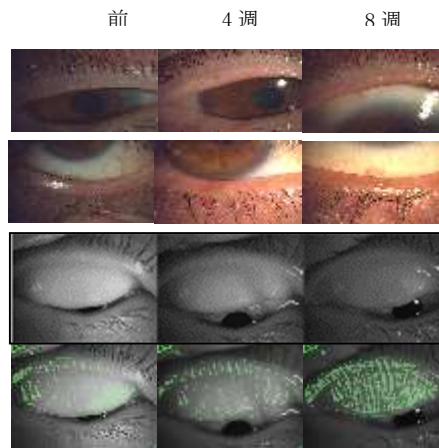


##### (3) ヒト正常眼に対する安全性の検討

正常眼 6 名 12 眼中、塗布 4 週後に 1 眼で軽度の眼瞼発赤所見が見られた(中断後 24 時間以内に自然治癒)。接触性眼瞼炎と考えられる。これは皮膚科において活性型 VD3 軟膏を処方したときの副作用発生率とほぼ同程度である。角結膜、涙液所見には異常を認めなかった。

##### (4) ヒト MGD 眼に対する有効性の検討

以下に代表症例を示す。マイボーム腺開口部の閉塞、角化の改善、マイボーム腺領域の増加を認めた。



8名12眼のMGD患者に8週塗布したのち、マイボーム腺率、マイボーム腺開口部の閉塞、角化所見、血管拡張、涙液安定性、角結膜上皮障害、マイボーム腺脂において有意に改善を認めた（下記表）。

	4週	8週
マイボーム腺率	0.271	0.02
閉塞、角化	0.07	<0.001
不整	0.597	0.597
血管拡張	0.02	0.02
MCJ移動	0.633	0.197
涙液安定性	0.163	0.03
角結膜上皮障害	0.519	0.011
マイボーム腺脂	0.105	0.02
シルマー値	0.548	0.974

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計4件）

- ① Arita R, Kawashima M, Ito M, et al. Clinical safety and efficacy of vitamin D3 analog ointment for treatment of obstructive meibomian gland dysfunction. BMC Ophthalmol. In press, 査読あり
- ② Arita R, Morishige N, Fujii T, et al. Tear Interferometric Patterns Reflect Clinical Tear Dynamics in Dry Eye Patients. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2016;57(8):3928-34, 査読あり
- ③ Arita R, Minoura I, Morishige N, et al. Development of Definitive and Reliable Grading Scales for Meibomian Gland Dysfunction. Am J Ophthalmol. 2016;169:125-37, 査読あり
- ④ Arita R, Mori N, Shirakawa R, et al. Linoleic acid content of human meibum is associated with telangiectasia and plugging of gland orifices in

meibomian gland dysfunction. Exp Eye Res. 2016;145:359-62, 査読あり

- ⑤ Jin K: Active-type Vitamin D3 Attenuates Fulguration-induced Meibomian Gland Dysfunction of Mice. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 2015, **56**(ARVO E-Abstract):2159846. 査読あり

〔学会発表〕（計3件）

- ① Reiko Arita, Motoko Kawashima, Masataka Ito, Kazuo Tsubota. Clinical Safety and Efficacy of Vitamin D3 Analog Ointment for Treatment of Obstructive Meibomian Gland Dysfunction. Asia Cornea Society, 2016年12月09日、ウォーカーヒル（韓国ソウル市）
- ② Jin K, Arita R, Kawashima M, Ito M, Tsubota K: Active-type Vitamin D3 Attenuates Fulguration-induced Meibomian Gland Dysfunction of Mice. The Association for Research in Vision and Ophthalmology 2015年4月29日、コロラドコンベンションセンター（アメリカ、コロラド州、デンバー）
- ① 有田玲子、川島素子、伊藤正孝、坪田一男、 活性型ビタミンD3外用製剤のマイボーム腺機能不全への安全性、有用性の検討、第68回日本臨床眼科学会（2014年11月3日）、神戸ポートピアホテル（兵庫県神戸市）

○出願状況（計3件）

- ① 名称：マイボーム腺機能不全の処置剤  
発明者：有田玲子、坪田一男、伊藤正孝  
権利者：同上  
種類：特許  
番号：PCT/JP2014/067099  
出願年月日：2014/06/27  
国内外の別：EPC

- ② 名称：Agent for treating Meibomian

gland dysfunction  
発明者：Reiko ARITA、Kazuo TSUBOTA、  
Masataka ITO  
権利者：同上  
種類：特許  
番号：722806  
出願年月日：2015/12/28  
国内外の別：アメリカ

③ 名称：Agent for treating Meibomian  
gland dysfunction  
発明者：Reiko ARITA、Kazuo TSUBOTA、  
Masataka ITO  
権利者：同上  
種類：特許  
番号：1418800. 6  
出願年月日：2016/01/27  
国内外の別：ヨーロッパ

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

有田 玲子 (ARITA, Reiko)  
慶應義塾大学・医学部・講師 (非常勤)  
研究者番号：00338120

### (2) 研究分担者

川島 素子 (KAWASHIMA, Motoko)  
慶應義塾大学・医学部・特任講師  
研究者番号：00327610

### (3) 連携研究者

伊藤 正孝 (ITO, Masataka)  
防衛医科大学校・医学教育部医学科進学過程  
曜日専門課程、動物実験施設、共同利用  
研究・再生発生学・准教授  
研究者番号：30534896

### (4) 研究協力者

井上 佐智子 (INOUE, Sachiko)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号：50338125