

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月19日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11295

研究課題名（和文）マイボーム腺脂質、常在細菌叢、性ホルモンの関係する眼表面疾患の病態解明

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） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：健康な30歳代および60歳代の男女各6例とマイボーム腺機能不全（MGD）患者10例のマイボーム腺分泌脂（meibum）を採取し、ガスクロマトグラフィー質量分析法（GC-MS）で解析し、その結果の主成分分析を行ったところ、PC1（寄与率81.0%）で、30代女性の月経周期前半とその他（30代女性月経周期後半、30代男性、60代男性、60代女性）の2群に分類された。meibumの脂肪酸組成は若年女性の排卵前に有意に変化し、類似の変化がMGDでも見られる傾向にあった。このことから、meibumの脂質生合成の経路に性ホルモン等が関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ドライアイの原因の約6割を占めると言われるMGDであるが、未だその病因は明らかではない。健常者では若年女性のみ、月経周期に伴い（特にエストロゲン濃度が高くなる時期に）meibumの脂肪酸組成が有意に変化し、同様の脂肪酸組成の変化が閉塞性MGD患者にもみられることから、マイボーム腺における脂質生合成（"meibogenesis"）に性ホルモンが関与し、女性におけるMGDの発症、ひいては蒸発亢進型ドライアイの発症に関与している可能性があると考えられた。今後、MGDおよびドライアイの新規治療法への開発へと繋がられる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Meibomian gland secretions (meibum) of 6 healthy males and females of 30s and 60s and 10 patients with meibomian gland dysfunction (MGD) were collected and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). As a result of principal component analysis (PCA), 36 samples were classified into two groups on PC1 (contribution rate: 81.0%). One consisted of the first half of the menstrual cycle of women in 30s, in which the lipid component of meibum seemed to have changed, and another consisted of the latter half of the menstrual cycle of them as well as men in 30s, men and women in 60s. The fatty acid composition of meibum significantly changed before ovulation. It was suggested that sex hormones influence on the lipid biosynthesis pathway of meibum.

研究分野：医歯薬学

キーワード：マイボーム腺 マイボーム腺機能不全 性ホルモン 脂質分析 ドライアイ

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ドライアイが、中高齢者、特に更年期以降の女性に多く見られること、女性ホルモン補充療法とともに悪化すること、若年者においても女性が男性よりも蒸発亢進型ドライアイを生じやすいことなどから、性ホルモンがドライアイの病態形成と密接に関係していると想像される。しかし、その本質的な病態はいまだ不明であり、治療にも応用できていない。そこで、性ホルモンが特に関係していると考えられるマイボーム腺と眼表面上皮について細胞生物学的な観点から検討し、蒸発亢進型ドライアイならびに閉塞性マイボーム腺機能不全に対する新規治療法を開発することが強く望まれる。申請者らは、2000年にエストロゲン受容体が角膜上皮細胞に発現していることを世界で始めて報告して以降、性ホルモンが角結膜上皮、マイボーム腺、主涙腺における遺伝子発現に深く関わっていることを動物実験とヒト不死化角膜上皮細胞を用いて示してきた。また、臨床的に若年女性(特に思春期)に高頻度に生じる難治性眼表面炎症性疾患にマイボーム腺内での *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)の増殖が関係することを世界で初めて報告し、「マイボーム腺炎角結膜上皮症(meibomitis-related keratoconjunctivitis; MRKC)」という新しい疾患概念を提唱し、さらに酒さ性角結膜炎、フリクテン性角結膜炎、眼瞼角結膜炎の systemic review からこれら4疾患を一つの clinical entity と捉えられることを報告し、マイボーム腺と眼表面を一つのユニットとして捉えるコンセプト“MOS: meibomian glands and ocular surface)を提唱するに至った。このような背景をもとに、申請者は当該研究計画を提案するに至った。

### 2. 研究の目的

マイボーム腺脂質、常在細菌叢、性ホルモンによる眼表面の制御機構を明確にし、マイボーム腺機能不全(MGD)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、新規治療法を開発することである。

### 3. 研究の方法

#### I. Meibumの脂肪酸組成に及ぼす性ホルモンの関与についての検討

- 1) 健常な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。および男性、60代男性および女性各6例にのマイボーム腺分泌脂(meibum)を採取し、ガスクロマトグラフ質量分析(GC-MS)にて脂肪酸組成を分析し、結果を主成分分析(PCA)にて解析した。30代女性は、月経周期を6つのphaseに分けてmeibumを採取した。
- 2) 健常な30代男性、60代男性および女性各6例にのmeibumを採取し、GC-MSにて脂肪酸組成を分析し、結果をPCA解析した。
- 3) 閉塞性MGD患者10例についてもmeibumを採取し、同様に、GC-MSで脂肪酸を分析し、結果をPCA解析した。

#### II. 加齢に伴うMRKCの病態の変化についての検討

- 4) 高齢者14例と若年者35例のMRKCの病態を比較する。具体的には、性別、片眼性か両眼性か、角膜所見(結節性細胞浸潤、血管侵入の有無等)、meibumの細菌培養の結果について比較した。

#### III. MRKCの発症に関する*P. acnes*の亜種についての検討

- 5) MRKC患者のmeibumから分離された *Propionibacterium acnes* について Matrix-associated laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)により ribosomal protein の profile について検討した

#### 4. 研究成果

1) PCA 分析の結果、30 代女性の試料は、第一主成分(PC1)(寄与率 81.0%)で、月経周期前半および月経周期後半の2群に分類された。PC1 に寄与している化合物は、正の相関では C16:0、C18:0 であり、負の相関では C18:1n1 であった。

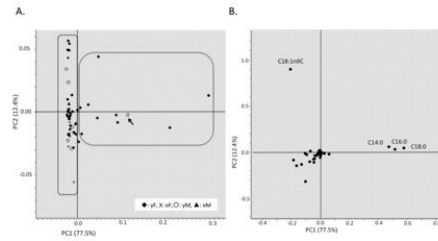


Figure 6

2) 30 代女性の脂肪酸組成の結果と合わせて 0 代男性および女性の脂肪酸分析結果を PCA 分析を行ったところ、健常者の試料は、PC1(寄与率 75.5%)

で、30 代女性の月経周期前半(第1群)および 30 代女性の月経周期後半とともに 60 代男性および女性(第2群)の2群に分類された。PC1 に寄与している化合物は、正の相関では C16:0、C18:0 であり、負の相関では C18:1n1 であった。

3) MGD 患者 24 例の脂肪酸組成は、age-match させた健常者とは明らかに脂肪酸組成が異なっていた。PCA の結果、第一主成分(PC1)で試料は 2 群に分類された。PC1 における寄与率は 73.6%と非常に高い値を示した。なお、PC1 に強く寄与している化合物は、正の相関では C16:0、C18:0 であり、負の相関では ai-C23:0 であった。

	高齢者	非フリクテン型	フリクテン型
症例数	14	12	23
平均年齢(歳)	69.1	55.1	57.9
女性(%)	57.1	83.3	87.0
両眼性(%)	71.4	83.3	71.1
角膜上皮障害			
結節性細胞浸潤(%)	0	0	100
SPK(%)	100	100	NA
NV(%)	26.7	16.7	100
meibum 培養結果(%)			
<i>P. acnes</i>	54.5	57.1	60.0
<i>S. epidermidis</i>	35.7	42.9	5.0
<i>P. acnes</i> + <i>S. api</i>	7.1	14.3	5.0
内服抗生薬	CAM, MINO	CFPN-PI	CFPN-PI, CAM

CAM: クラリスロマイシン, MINO: ミノマイシン, CFPN-PI: セフトラキサムピロキシリン

4) 若年者の MRKC と比較し、高齢者の MRKC では、性差が無く、片眼性の症例が約半数を占めていた。角膜所見は結節性細胞浸潤は無く、点状表層角膜症(SPK)であった。Meibum の細菌培養結果では、*P. acnes* のみならず *S. epidermidis* も検出された。*S. epidermidis* に感受性の良い抗菌薬内服治療により MRKC を治療することが出来た。

5) 7 例の MRKC のうち、3 例で IA1、2 例で IA2/IB、2 例で II が検出された。健常者では、2 例で IA1、1 例で IA2/IB であった。MRKC フリクテン型のマイボーム腺炎から検出された *P. acnes* は特定の亜種ではなく 2 種類が検出され、健常者との間にも差異を認めなかった。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)(すべて査読あり)

1. Suzuki T. Inflamed obstructive meibomian gland dysfunction causes ocular surface inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 59; DES94-DES101, 2018.
2. 鈴木 智, 横井則彦, 木下 茂. 高齢者におけるマイボーム腺炎角結膜上皮症の臨床像. *あたらしい眼科* 35(3); 389-394, 2018.
3. Suzuki T., Minami Y., Komuro A., Yokoi N., Kinoshita S. Meibomian gland physiology in pre- and postmenopausal women. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 58; 763-771, 2017.
4. 佐々木美帆, 鎌田さや花, 木下 茂, 鈴木 智. 眼瞼温電法の眼瞼および涙液層に対する効果の検討. *あたらしい眼科* 34(1); 101-105, 2017.

[学会発表](計 17 件)

1. 鈴木 智, 須谷尚史, 中井浩子, 白鬚克彦, 木下 茂. 眼瞼皮膚、結膜嚢、マイボーム腺のマイクロバイオーム. 角膜カンファランス 2019. 平成 31 年 2 月 9 日、ウェスティン都ホテル.(京都)
2. 鈴木 智, 藤原 賢, 木下 茂. マイボーム分泌脂の脂質組成に影響する脂肪酸の検討. 第

- 72 回日本臨床眼科学会. 平成 30 年 10 月 13 日、東京国際フォーラム。(東京都)
3. 鈴木 智、出来尾格、木下 茂. マイボーム腺炎角結膜上皮症と *Propionibacterium acnes* の亜種についての考察. フォーサム 2018. 平成 30 年 7 月 15 日、京王プラザホテル(東京都)
  4. Suzuki T, Fujiwara S, Kinoshita S. Cyclic change of fatty acid composition in the meibum of premenopausal women. ARVO2018 2018.4.30. Honolulu, Hawaii, U.S.A.
  5. 鈴木 智. 見過ごしやすいドライアイのリスク因子 マイボーム腺炎角結膜上皮症. 第 122 回日本眼科学会総会. サブスペシャルティーサンデー平成 30 年 4 月 22 日、東京国際フォーラム、(東京都)
  6. 鈴木 智、藤原 賢、木下 茂. マイボーム腺機能不全の meibum 組成に影響する脂肪酸. 第 122 回日本眼科学会総会. 平成 30 年 4 月 19 日、東京国際フォーラム。(東京都)
  7. 鈴木 智、横井則彦、木下 茂. 高齢者における SPK とマイボーム腺炎角結膜上皮症. 角膜カンファランス 2018、平成 30 年 2 月 17 日、グランドプリンスホテル広島(広島).
  8. 中井浩子、杉立有弥、鈴木 智. 生後 2 ヶ月の乳児に生じた多発霰粒腫の一例. 角膜カンファランス 2018、平成 30 年 2 月 15 日、グランドプリンスホテル広島(広島).
  9. 鈴木 智、山本順寛、前川恵美、永瀬 翠、木下 茂. マイボーム腺機能不全の meibum に含有される過酸化脂質の検討. 第 71 回日本臨床眼科学会. 東京国際フォーラム. 平成 29 年 10 月 14 日(東京都)
  10. 鈴木 智、前田一洋、外園千恵、木下 茂. 高齢者におけるマイボーム腺起炎菌の薬剤感受性. フォーサム 2017. 平成 29 年 7 月 13 日、大阪国際会議場(大阪府、大阪市)
  11. Suzuki T, Maeda K, Sotozono S, Kinoshita S. Bacterial flora of the meibum in elderly patients with meibomian gland dysfunction. ARVO2017 2017.5.10. Baltimore, Maryland, U.S.A.
  12. 鈴木 智、藤原 賢、木下 茂. マイボーム腺機能不全における meibum の脂肪酸組成. 第 121 回日本眼科学会総会. 東京国際フォーラム. 平成 29 年 4 月 6 日(東京都)
  13. 鈴木 智、横井則彦、木下 茂. 高齢者におけるマイボーム腺炎角結膜上皮症の病態の考察. 角膜カンファランス 2017、平成 29 年 2 月 16 日、アクロス福岡(福岡、福岡市).
  14. 鈴木 智、前田一洋、外園千恵、木下 茂. 高齢者のマイボーム腺炎におけるマイボーム腺内細菌叢の関与. 第 70 回日本臨床眼科学会、平成 28 年 11 月 3 日、国立京都国際会館(京都府、京都市)
  15. Suzuki T, Eishi Y, Uchida K, Shinomiya K, Fujiwara S, Kinoshita S. The role of *Propionibacterium acnes* in the pathogenesis of a chalazion. ARVO2016 2016.5.5. Seattle, Washington, U.S.A.
  16. 鈴木 智、江石 義信、内田 圭介、篠宮 克彦、藤原 賢、木下 茂. 霰粒腫の病因における *Propionibacterium acnes* の関与についての考察. 第 120 回日本眼科学会総会、平成 28 年 4 月 7 日、仙台国際センター・東北百周年記念会館(宮城県、仙台市)
  17. 鈴木 智、手良向聡、木下 茂. MOS 関連炎症性疾患の類似性の検討. 角膜カンファランス 2016、平成 28 年 2 月 18 日、軽井沢プリンスホテル ウエスト(長野県、軽井沢市).

(図書)(計 9 件)

1. 鈴木 智. I- -C3. 角膜フリクテン. 眼科疾患最新の治療 2019-2021. (大橋裕一、村上晶、編集)南江堂. 東京. 139-140. 2019.3.25.発行
2. 鈴木 智. IV. 感染症、眼瞼、ドライアイ Q16. 閉塞性マイボーム腺機能不全について教える

てください。加齢性疾患への対応 Q&A あたらしい眼科 35(臨増):301-304, 2018

3. 鈴木 智. 17-8 霰粒腫. P1252-1253. 1336 専門家による私の治療 2017-18 年度版. (猿田享男、北村惣一郎 監修)日本医事新報社. 東京. 2017.7.28 発行
4. 鈴木 智. フリクテン性角結膜炎.p218-220. 眼科診療ビジュアルラーニング1 角膜、結膜. (井上幸次 編)中山書店. 東京. 2017.6.15 発行
5. 鈴木 智. 眼瞼・結膜セミナー 25. マイボーム腺炎角結膜上皮症とは? あたらしい眼科 34(4):525-526, 2017.
6. 鈴木 智. 特集オキュラーサーフェスの新知見 3. マイボーム腺炎. 眼科 59(7): 701-705, 2017.
7. 鈴木 智. Q2. まぶたが腫れて、膿をもっているようです.どのように対処したらよいでしょうか. 眼科救急 Q&A III. 3. 眼瞼・眼窩 あたらしい眼科 34(臨増):1709-1712, 2017.
8. 鈴木 智. マイボーム腺炎角膜上皮症(フリクテン型、非フリクテン型). p61-62. 一目でわかる眼疾患の見分け方 上巻 角結膜疾患、緑内障. (井上幸次、山本哲也、大路正人、門之園一明 編)メジカルビュー社、東京、2016.4.1 発行
9. 鈴木 智. 結膜フリクテン p295-296. 角膜フリクテン p343-344.カタル性角膜潰瘍 p344-345. 今日の眼疾患治療指針(大路正人、後藤浩、山田昌和、野田徹 編)医学書院. 東京、2016.10.15 発行

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年:  
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年:  
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

・研究分担者氏名:木下 茂

ローマ字氏名:Kinoshita Shigeru

所属研究機関名:京都府立医科大学

部局名:医学研究科

職名:教授

研究者番号:30116024

- ・研究分担者氏名: 出来尾 格  
ローマ字氏名: Dekio Itaru  
所属研究機関名: 東京女子医科大学  
部局名: 医学部  
職名: 講師  
研究者番号: 80338128
- ・研究分担者氏名: 山本 順寛  
ローマ字氏名: Yamamoto Yorihiro  
所属研究機関名: 東京工業大学  
部局名: 応用生物学  
職名: 教授  
研究者番号: 60134475  
(削除: 2018年2月6日)

(2)研究協力者

- ・ 研究協力者氏名: 永原 武一郎  
ローマ字氏名: Nagahara Takeichirou
- ・ 研究協力者氏名: 前田 一洋  
ローマ字氏名: Maeda Kazuhiro

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。