

検査名：Lipid chemistry

記入者氏名：山田昌和

検査の目的：脂質分析による疾患バイオマーカーの探索

検査法：マイボーム腺分泌物の脂質組成を様々な生化学的手法を用いて分析する

検査に必要なもの：生化学的分析機器

これまでの報告の結果：

マイボーム腺は外分泌腺であり、組織学的には皮脂腺とほぼ同一である。マイボーム腺機能不全の原因が何であるにせよ、マイボーム腺に生じる変化はマイボーム腺分泌物に表れるはずであり、マイボーム腺分泌物の変化は眼表面の環境に何らかの変化をもたらすはずである。従って、マイボーム腺分泌物の変化を分析することは、病態の解析、診断、治療の評価につながる可能性がある。このような考え方に基づいて、マイボーム腺分泌物、特に脂質成分の分析が行われている。

分析方法としては、薄層クロマトグラフィ、ガスクロマトグラフィ、高速液体クロマトグラフィなどの手法が用いられてきたが、最近では質量分析計を用いた分析が試みられている。質量分析計の導入によって、物質の同定精度が向上したと考えられるが、従来の結果と相反する結果も報告されており、この分野は混沌とした状況にある。これは個体から採取できる脂質が微量であり、その分析方法、特に極性脂質の分析法に問題が多いためである。

この分野の第一人者は McCulley と Shine であり、約 20 年前から今日まで数多くの論文を発表している。Phosphatidic acid などの極性脂質が涙液減少症と関係すること、脂漏性眼瞼炎と oleic acid の増加が関係していること、慢性眼瞼炎ではコレステロールとそのエステルが必ず検出されるが、正常者では検出される場合とされない場合があることなどが報告されているが、いずれも診断的価値は少ない。また、McCulley らは 2007 年の報告で初めて、質量分析計 (API MS と HPLC API MS) を用いたマイボーム腺脂質の解析結果を報告しているが、この報告結果は従来の彼らの分析結果と大きく異なる部分があり、従来の報告の信頼性が問われる状態になっている。

もう 1 つの問題点は、マイボーム腺脂質と涙液中脂質との関係である。マイボーム腺脂質の成分と涙液脂質の成分が異なることは 1999 年に Tiffany らが GLC の分析結果から指摘している。McCulley らも前述の 2007 年の報告のなかで、マイボーム腺脂質からリン脂質などの極性脂質が同定できなかったことから、「涙液脂質の由来として、非極性脂質はマイボーム腺からとしても、極性脂質に関しては別の由来を想定する必要がある」と述べている。別の由来の最有力候補は涙腺であり、涙液にはリポカリンなどの脂質キャリア蛋白が含まれており、極性脂質に関しては涙腺から分泌されている可能性がある。MGD では涙

液中リポカリン濃度が低下していること、臨床的重症度と相関することを Yamada らは報告している。

MALDI-TOF-MS, ESI-MS などの手法を用いた涙液中脂質の網羅的解析が Ham らによって行われているが、その結果には疑問符のつく部分があり、まだ十分確立された結果はでていない。

検査の variation

薄層クロマトグラフィ、ガスクロマトグラフィ、高速液体クロマトグラフィ、質量分析計、および高速液体クロマトグラフィと質量分析計の組み合わせ

Repeatability : 不明

Sensitivity : 不明

Specificity : 不明

検査の問題点 : これまでの結果の報告を参照

問題点への解決策

微量な脂質を網羅的に分析する方法の確立と標準化が望まれる。おそらく、高速液体クロマトグラフィと質量分析計 (ESI-MS が最適と思われる) の組み合わせによる分析が現状では最も優れた方法と思われるが、分析条件などは標準化されたものがない。

確立された方法で、涙液中脂質とマイボーム腺脂質との違い、正常と MGD との涙液中脂質の違い、正常と MGD とのマイボーム腺脂質の違い、がそれぞれ詳細に分析される必要がある。

文献

Dougherty JM, McCulley JP. Bacterial lipases and chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1986;27:486-91.

Dougherty JM, Osgood JK, McCulley JP: The role of wax and sterol esters in chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sc.* 1991;32:1932-7

McCulley JP, Dougherty JM, Deneau DG. Classification of chronic blepharitis. *Ophthalmology* 1982;89:1173-80.

Shine WE, McCulley JP. The role of wax ester fatty alcohols in chronic blepharitis.

Invest Ophthalmol Vis Sci

1993;34:3515-21.

Shine WE, McCulley JP: Keratoconjunctivitis sicca associated with meibomian secretion polar lipid abnormality.

Arch Ophthalmol 1998;116:849-52.

Shine WE, McCulley JP: Association of meibum oleic acid with meibomian seborrhea. *Cornea*

2000;19:72-4.

Shine WE, McCulley JP. Keratoconjunctivitis sicca associated with meibomian secretion polar lipid abnormality.

Arch Ophthalmol 1998;116:849-52.

Butowich I, Uchiyama E, McCulley JP. Lipids of human meibum: mass-spectrometric analysis and structural elucidation. *J Lipid Res* 2007;48:2220-35.

Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM, Yokoi N, Voon LW. Functional aspect of the tear film lipid layer. *Exp Eye Res* 2004;78:347-60.

Nagyova B, Tiffany JM. Components responsible for the surface tension of human tears. *Curr Eye Res* 1999;19:4-11.

Yamada M, Mochizuki H, Kawai M, Tsubota K, Bryce TJ. Decreased tear lipocalin concentration in patients with meibomian gland dysfunction. *Br J Ophthalmol*. 2005;89:803-5.

Yamada M, Mochizuki H, Kawashima M, Hata S. Phospholipids and Their Degrading Enzyme in Tears of Soft Contact Lens Wearers. *Cornea* 2006;25:S68-S72.

Mochizuki H, Yamada M, Hatou S, Kawashima M, Hata S. Deposition of Lipid, Protein, and Secretory Phospholipase A₂ on Hydrophilic Contact Lenses. *Eye Contact Lens* 2008;34:46-9.

Ham BM, Cole RB, Jacob JT. Identification and comparison of the polar phospholipids in normal and dry eye rabbit tears by MALDI-TOF mass spectrometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3330-8.

Ham BM, Jacob JT, Cole RB. MALDI-TOF MS of phosphorylated lipids in biological fluids using immobilized metal affinity chromatography and solid ionic crystal matrix. *Anal Chem* 2005;77:4439-47.