博士論文

ヒトマイボーム腺の形態および組織学的検討

白川　理香

目次

要旨 1

序文 2

第 1 章　覚醒下での小児のマイボーム腺観察 12

背景 13

方法 14

結果 17

考察 21

第 2 章　全身麻酔下での小児のマイボーム腺およびマイボーム腺開口部観察 25

背景 26

方法 26

結果 28

考察 32

第 3 章　マイボーム腺開口部 2 重配列に関する機能的・組織学的検討 35

背景 36

方法 38

Ⅰ．成人男性の検査 39

Ⅱ．成人男性の追加検査 41

Ⅲ．成人女性の検査 44

Ⅳ．小児全身麻酔下での二重配列の頻度測定 44

Ⅴ．献体眼瞼組織での観察 44

結果 45

Ⅰ．成人男性検査 45

Ⅱ．成人男性追加検査 48

Ⅲ．成人女性の検査 49

Ⅳ．小児全身麻酔下での二重配列の頻度測定 51

Ⅴ．献体眼瞼組織での観察 52

結果のまとめ 57

考察 58

結語 66

謝辞 67

参考文献 68

要旨

本研究では我々のグループの開発した非侵襲的マイボグラフィーを用いヒトマイボーム腺を詳細に観察し組織学的検討も加え、マイボーム腺の構造について新知見を得た。今まで詳細な観察が不可能であった小児の生体内のマイボーム腺を観察し、その本数、開口部数が成人のマイボーム腺と比較して差がなく、マイボーム腺の本数や瞼板に対する分布範囲は出生後増加しないことを明らかにした。また、マイボーム腺開口部が二列に並ぶ所見が上眼瞼のみに男女とも約 30%の頻度で認められ、正常な機能を有する開口部配列の亜型と考えられること、その構造は眼瞼縁にジグザグに並んだ開口部が一対一に中心導管につながっていることを明らかにした。

序文

＊涙の歴史　～涙は世界最小の海～

動物は水の中で生まれ、水の中で進化してきた。進化の過程で一部の動物が陸に上がり、陸上で生活するようになった。陸上に上がった脊椎動物がまっさきに取り組まなければならなかったのは“乾燥対策”であった。眼球の表面を覆う角膜は、乾燥すると白濁してしまう。それを防ぐために、陸に棲む脊椎動物の眼球には、さまざまな副眼器が備わっている。乾燥対策用の副眼器のひとつが「眼瞼（まぶた）」である。陸上に上がった眼球は、眼瞼のカバーで覆われるだけではなく、自力で水分補給をする仕組みも発達させた。そのための代表的な副眼器がマイボーム腺、涙腺などの「眼窩腺」である[1]。そして涙が太古の海の代わりに我々の眼を常に潤しているのである。ゆえに涙は「世界最小の海」ともいわれる。

＊涙液の構造

涙液は油層と液層（ムチン層と水層）からなっており、それぞれバランスを保つことで涙液の安定性を保っている（図 序-1.）。

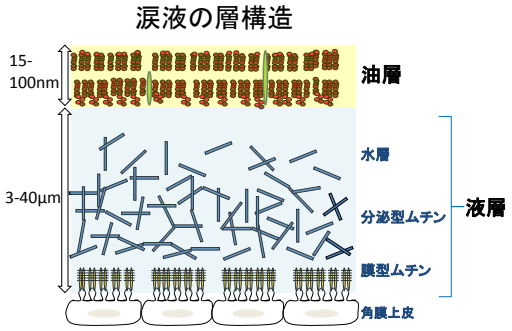


図 序-1. 涙液の層構造

涙液の油層の構成成分はマイボーム腺から分泌され、以下の重要な機能がある。

- 涙液の蒸発を防ぐ
- 感染を防ぐ
- 涙液の表面張力を下げ、水分を涙液層に引き込み、涙液層を厚くする
- 睡眠時の眼瞼縁間の蓋になる
- なめらかな眼表面をつくる
- 涙液の伸展性と安定性を増す

油層の障害は涙液の蒸発を亢進させ、涙液産生量が正常であってもドライアイ症状を引き起こす[2]。

＊ドライアイとは

ドライアイとは、本邦において 2006 年にドライアイ研究会により、「様々な要因による涙液および角結膜上皮の慢性疾患であり、眼不快感や視機能異常を伴う」と定義されている[3]。分類として涙液減少型と蒸発亢進型の 2 つに大別されており、涙液減少型はシェーグレン症候群とそれ以外、蒸発亢進型はマイボーム腺機能不全に代表される内因性の要因およびコンタクトレンズ装用などの外因性の要因によって起こる。最近の疫学調査で、ドライアイ全体の約 86%はマイボーム腺機能が低下することによっておきることが明らかになった[4]。

ドライアイは近年 visual display terminal(VDT) 作業の増加や室内環境の変化に

より患者数が増加している疾患である。有病率は世界的には 5%から 34%と幅があり、年齢とともに増加する [5]。日本では山村部の 40 歳以上を対象とした質問票による疫学調査でドライアイの診断を受けているもの、あるいは眼乾燥感、異物感の症状のあるものは男性で 12.5%、女性で 21.6%であった [6]。VDT 作業を行うオフィスワーカー672 人を対象とした調査では眼科検査を施行しておりドライアイ確定例は男性で 8%、女性で 18.7%、ドライアイ疑い例は男性で 52.1%、女性で 57.8%[7] と高頻度である。

＊ドライアイの影響、コスト

ドライアイが失明や恒久的な視力低下を引きおこすことは多くないが、患者の生活の質(QOL: quality-of- life)を著しく低下させる。疾病が患者の生活に与える相対的影響(relative impact)を定量する正式な方法は Utility assessment というもので、スケール 0 から 1 の連続変数であり、0 は最悪の QOL（＝死）で 1 は最高の QOL（＝完全な健康）で表される。Schiffman らは中等度のドライアイの utility は 0.81、重症のドライアイでは 0.72 であると報告している [8]。クラスⅢ/Ⅳの狭心症が 0.71[9] であり、広く健康障害と認識されているのに対し、ドライアイの影響はそれと同等にもかかわらず、まだ一般には認知されていない。

また、ドライアイにかかるコストについては薬剤コストが 32,000±21,675 円/年、診察(clinical)コストが 16,318±9,961 円/年、涙点プラグ治療を含んだ合計コストが

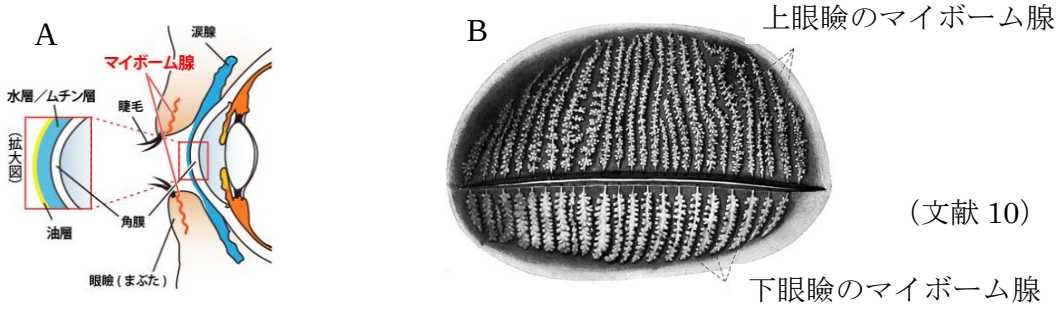
52,467±38,052 円にも上るという報告がある[10]。ドライアイ罹患による年間生産性損失は一人あたり総生産で 6160USD、賃金で 1178USD[11] という報告もあり甚大な損失である。

このように、ドライアイは命や視力を脅かすものではないが、その罹患率の高さ、生産性の高い年齢層の罹患者の多さ、QOL 低下、コストの面から重要性が高い。先述したとおり、マイボーム腺機能不全がドライアイの主病因になっているのにもかかわらず、マイボーム腺の正常所見や発生、成長については明らかになっていない点が多く、ヒトマイボーム腺の基礎的理解を深めることが有効な治療法開発の一助になり得ると考えられる。

＊マイボーム腺とは

マイボーム腺は瞼板腺とも呼ばれる上下眼瞼内にある毛根を伴わない独立皮脂腺で、上眼瞼に 30－40 本、下眼瞼に 20－30 本存在し、眼瞼縁に向かって垂直に一列に並び、瞼板の全層を占める[12]。開口部は睫毛より後方で、粘膜皮膚移行部の僅かに前方に開口しており[13]、眼瞼縁及び眼表面に脂を分泌している。個々の腺の長さは上眼瞼中央で 5.5mm、下眼瞼で 2mm と言われており、上眼瞼の方が 2 倍以上組織としてのボリュームがある[12]（図 序-2. A,B）。

図 序-2. A, B. マイボーム腺の構造



（文献 10）

組織像：マイボーム腺は腺房、小導管、中心導管、排出導管の 4 つからなる [12]。腺房は脂質を含む多数の腺細胞からなり、球状で腺房の直径は 150－200 μm である。腺房の基底には一層に並んだ基底細胞が見られ、脂質を合成しながら求心性に分化・成熟していき、最内層の細胞は変性し全分泌(horocrine)で脂質を分泌する。小導管は腺房から中心導管への移行部(介在部)である。数層の重層扁平上皮からなる。中心導管は角化型重層扁平上皮で、皮膚の表皮とほぼ同様の分化を示す。内空は 100 - 150 μm である。瞼縁のマイボーム腺開口部に近い導管は排出導管と呼ばれ、近傍には Riolan 筋と呼ばれる横紋筋が存在する。導管開口部の上皮は皮膚の表皮であり、開口部より後方に表皮と結膜上皮の境界である粘膜皮膚移行部が存在する。マイボーム腺の周囲は瞼板の密なコラーゲン線維や線維芽細胞、リンパ腔、神経網、毛細血管網等に囲まれている。神経支配は主に副交感神経（コリン作動性線維）である。その他に交感神経や三叉神経の支配もある [14]（図 序-3, 4.）。

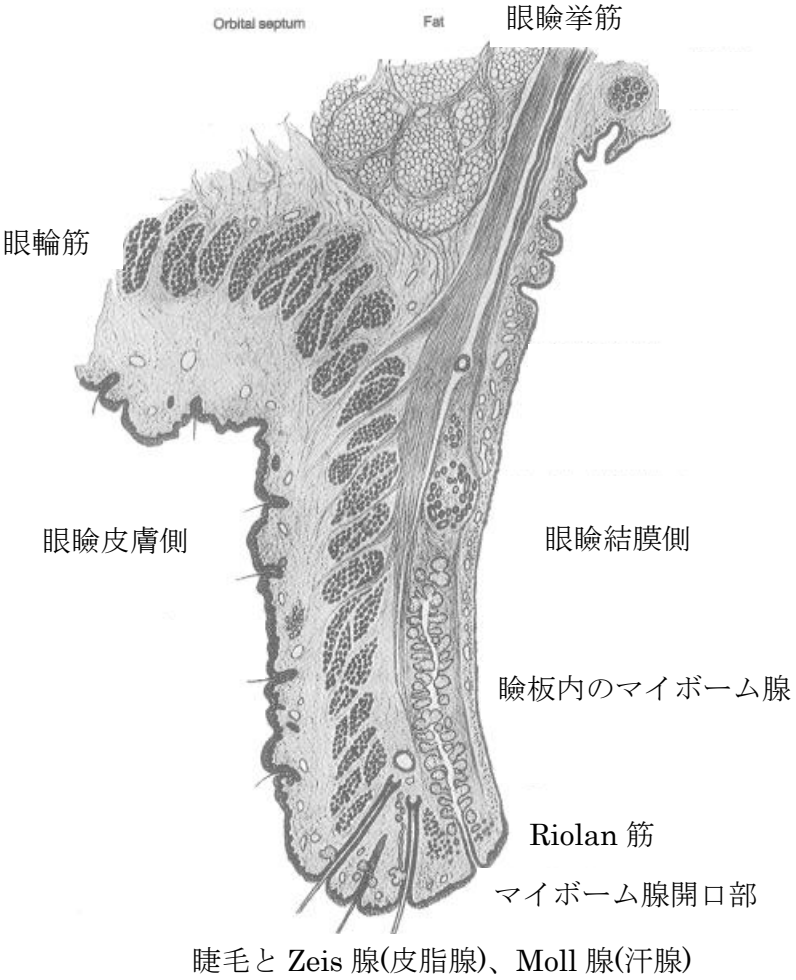


図 序-3. 上眼瞼矢状断組織像（文献 13）

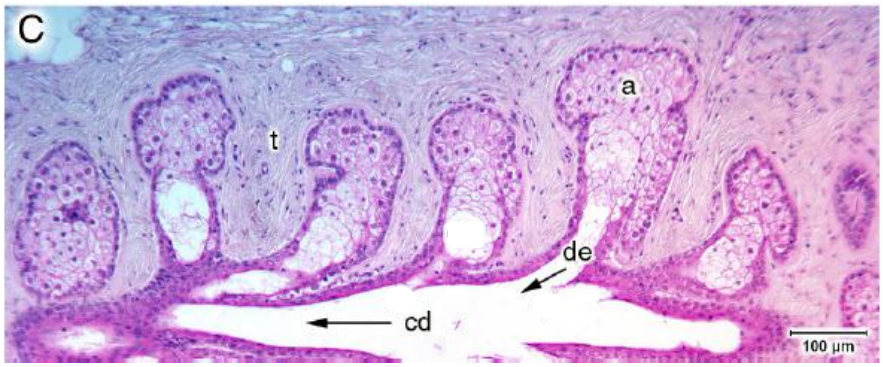


図 序-4.マイボーム腺の組織像(HE 染色)
a: 腺房
de:小導管
cd: 中心導管
t: 瞼板
矢印:マイバムの流出方向
（文献 10）

マイボーム腺という名前の由来は、Heinrich Meibom the younger(1638-1700, Germany)が 1666 年に初めて眼瞼内の瞼板腺について詳細に記載し、それが後にマイボーム腺と呼ばれるようになった [12]。またマイボーム腺の分泌物は皮脂腺

(sebaceous gland)から分泌される sebum とは組成が異なり、1981 年 Nicolaides らによりマイバム meibum と名付けられた[15]。

＊マイボグラフィーとは

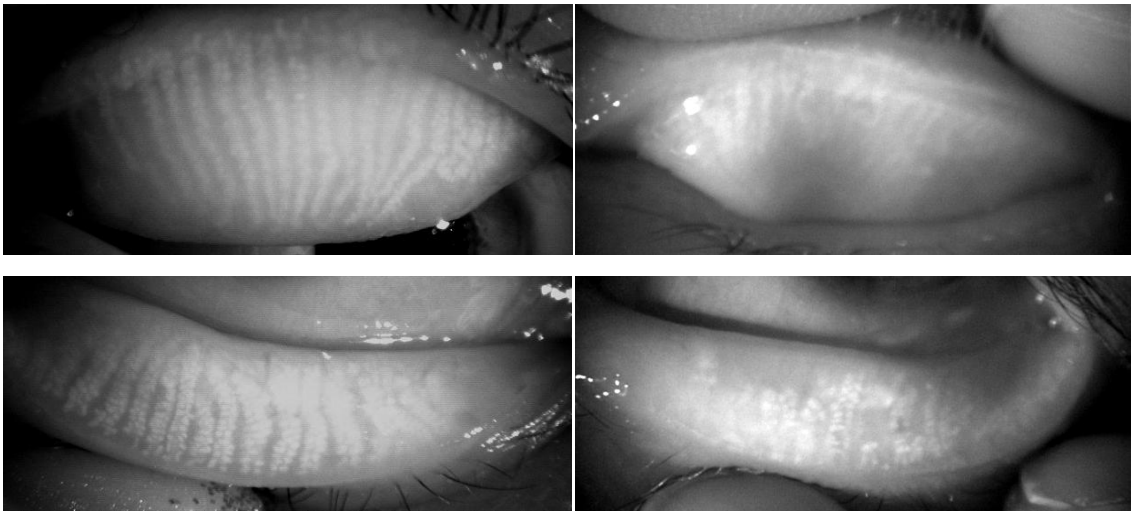
ヒト生体内のマイボーム腺を観察する試みは 1970 年代からなされており[16]、硝子体手術用の光源を用いたもの、赤外光を用いたもの等が開発されたが光源プローブを眼瞼に直接接触するもので観察範囲が一部分に限られ、疼痛や不快感があり、普及しなかった。2008 年に有田らが開発した非侵襲的マイボグラフィー[17]（ノンコンタクトマイボグラフィー、トプコン社）は細隙灯顕微鏡に小型赤外線 CCD カメラと赤外線透過フィルターを搭載したもので、非侵襲的に眼瞼全体のマイボーム腺を観察でき、マイボーム腺に関連する臨床研究のブレイクスルーとなった（図 序-5.）。さらに 2012 年には携帯式のペン型マイボグラフィー[18]（マイボペン、ジャパンフォーカス社)が開発され、細隙灯顕微鏡に顔を乗せられない患者や乳幼児のマイボーム腺の観察も可能となった[19]（図 序-6.）。正常眼と閉塞性マイボーム腺機能不全のマイボグラフィー画像を図 序-7.に示す。

図 序-5. ノンコンタクトマイボグラフィーDC4 (トプコン社)
スリットランプに赤外線透過フィルターと赤外線 CCD カメラを付属させている。眼表面診察の一連の流れのなかにマイボーム腺形態観察を組み込むことが可能。

図 序-6. マイボペン(JFC 社)
赤外線LED光源とCMOSカメラよりなる。120 g と軽量でポケットに入るサイズ。

図 序-7. 正常眼と閉塞性マイボーム腺機能不全のマイボグラフィー画像

上眼瞼は翻転し、下眼瞼は下方に引いて眼瞼結膜を露出させて撮影している。



正常眼のマイボグラフィー画像
(29 才女性右眼)
白く写っているのがマイボーム腺腺房。上下瞼板全体に分布するブドウの房状の腺房からなるマイボーム腺が観察できる。

閉塞型マイボーム腺機能不全のマイボグラフィー画像
(78 才男性右眼)
マイボーム腺の脱落、短縮、途絶、腺房の濃淡のまだら化を認める。

非侵襲的マイボグラフィーを用いた今までの研究で、加齢によりマイボーム腺の消失面積が大きくなること[17]、閉塞性マイボーム腺機能不全で正常眼と比べ有意に脱落、短縮、屈曲、拡張などの所見がみられること[20]、コンタクトレンズ装用眼のマイボーム腺は、正常眼と比べ有意に短縮していること[21]、通年性アレルギー性結膜炎のマイボーム腺は正常眼と比べ有意に屈曲が多いこと[22]、抗緑内障点眼薬長期点眼患者のマイボーム腺は有意に脱落が多いこと[23]、眼部放射線治療後や線維柱帯切除術(緑内障手術)後にマイボーム腺の萎縮・脱落が認められること[24]、顆粒状角膜ジストロフィ type2 で脱落が多いこと[25]、霰粒腫では低反射、脂腺癌では高反射に描出されること[26]等が明らかになった。

このように疾患眼のマイボグラフィー所見については様々な報告がでてきているが、正常のヒトマイボーム腺所見についての体系的な報告はごくわずかである[17]。とくに乳幼児のマイボーム腺がどのようで成長により変化するのかどうかはよくわかっていない。そこで今回我々は正常の小児及び成人のヒトマイボーム腺を詳細に観察した。またその過程でマイボーム腺開口部の配列に亜型があることを再発見したのでその臨床所見および組織学的特徴を研究した。

第 1 章では覚醒下でマイボペンを用いて小児のマイボーム腺の形態を明らかにし、第 2 章では全身麻酔下で小児のマイボーム腺本数、開口部数をより詳細に測定し成人と比較した。さらに第 3 章ではマイボーム腺開口部二重配列について

その頻度を測定し、臨床所見および組織学的所見を開口部が一列のものと比較した。

本研究の目的は以下の二点である。

1. 今まで観察されたことのない乳児を含めた小児の生体内マイボーム腺を非侵襲的マイボグラフィーおよび細隙灯顕微鏡を用いて詳細に観察し、成人と比較し成長による変化を検討すること。

2. 今回再発見されたマイボーム腺開口部二重配列の臨床所見および献体眼瞼組織の組織学的特徴を精査し、その発生機序を解明すること。

第 1 章

覚醒下での小児のマイボーム腺観察

背景：

乳児はときに一分近く瞬目せずにじっとものを見つめることがあるが、これにはかなりの涙液の安定性が必要である[27]。Isenberg らは interference fringe biomicroscopy を用いて乳児の涙液油層と涙液の安定性を調査し、出生後６カ月は涙液油層が成人のそれより厚く、涙液の安定性が高いことを発見した[27]。他にも小児は成人に比べ涙液破綻時間が長く、涙液安定性が高いことが基礎および臨床研究で報告されている[27-29]。マイボーム腺は涙液の油層を供給し、涙液の安定性を保つのに重要な役割をしているが、小児と成人のマイボーム腺形態を比較した報告はない。

また、成長によりマイボーム腺の本数が増えたり、瞼板に対する長さが伸びたりするのか否かも分かっていない。マイボーム腺は皮脂腺の特殊形であり、皮膚の皮脂腺と違い毛を伴わない。皮脂腺は毛包脂腺系（pilosebaceous system）の一部で毛根を伴っており、生後毛根の数は増えない[30, 31]ことが分かっているため、皮脂腺の数も生後は増えないと考えられる。マイボーム腺が皮脂腺の特殊形でありその発生[32]や生理[12]が皮脂腺と著しく類似していることを鑑みると、マイボーム腺も生後は増えないのではないかと推測されるが、実際に小児のマイボーム腺本数を測定した報告はない。

今まで正常小児の生体内のマイボーム腺を観察した報告は我々のグループから

の２報[17, 18]のみで、特に２歳以下のものはない。その原因として子供が小さすぎて細隙灯顕微鏡に顔を乗せてじっとしていられず、そのような小さな子を観察できる装置がなかったからであった。2007 年に我々のグループが開発したモバイルペン型マイボグラフィー[18]によって乳児のマイボーム腺の観察が可能になった。さらに、このシステムは一度に眼瞼全体の撮影ができるため、写ったマイボーム腺の本数を数えることも可能である。

本研究の目的は今まで観察が困難であった小児のマイボーム腺を生体内で観察し、その形態を成人と比較することである。

方法：

本研究は横断的観察研究で、対象は成人群、小児群とも健常者ボランティアで何らかの眼症状、アレルギー性結膜炎、全身合併症のあるもの、コンタクトレンズ装用歴、眼手術歴のある眼は除外した。小児群は 0 歳から 12 歳とした。成人群は加齢性のマイボーム腺形態変化が 40 歳以降に起こることが多いため、20 歳から 39 歳とした。参加者全員から本人ならびに未成年の場合は保護者のインフォームドコンセント取得している。東京大学医学部倫理委員会の承認を受けた臨床研究であり（No.3760）、ヘルシンキ宣言を遵守している。

検査は以のような流れで行った。

1. 本人・保護者の同意取得

2. 眼瞼の横幅を測定（mm）

3. 半暗室で座位または臥位でマイボペン®を用いマイボーム腺動画撮影（図 1-1.）

4. 動画の記録から、マイボスコア（0-6、後述）とマイボーム腺本数を測定

5. マイボーム腺密度を本数（本）/ 眼瞼横幅（mm）として算定

図 1-1. マイボペン撮影風景

眼瞼横幅は内眼角から外眼角までの水平距離を定規で測定した。

マイボーム腺撮影は上眼瞼を翻転し、下眼瞼は下方に引いて眼瞼結膜を露出させて行った。

マイボーム腺本数は眼瞼縁まで達している中心導管の本数を撮影したマイボペンの動画を見ながら数えた。マイボーム腺の脱落面積により 0 から 3 まで 4 段階にグレード分類[17]した（マイボスコア、グレード 0：脱落なし、グレード 1：脱落範囲が全体の 3 分の 1 未満、グレード 2：脱落範囲が 3 分の 1 以上 3 分の 2 未満、グレード 3：脱落範囲が 3 分の 2 以上）。上下のマイボスコアを足したものが 1 眼のマイボスコア（0－6）となる（図 1-2.）。

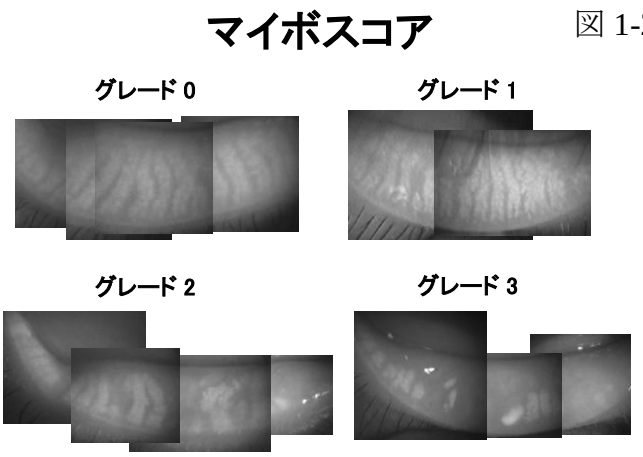


図 1-2. マイボスコア

Arita R et al. Ophthalmology 115 : 911-915, 2008.

原則的に右眼のデータを使用したが、右眼に手術歴やコンタクト装用歴のある場合左眼のデータを用いた。すべての検査は熟練した検者(RS)が行った。年齢と各因子との相関についてはスピアマンの相関解析で解析した。性差や小児群と成人群での各因子の比較にはマンーホイットニーの U テストを用いて解析した。P 値が 0.05 未満の場合、統計学的有意差ありと判定した。データは平均±標準偏差として表記した。

結果：

小児群は 78 人 78 眼（男児 30 人、女児 48 人、生後 1 カ月～12 歳、平均年齢 4.1 ±3.4 歳）、成人群は 25 人 25 眼（男性 11 人、女性 14 人、24～39 歳、平均年齢 31.3 ±4.8 歳）であった。小児群の年齢内訳は以下の通りである（表 1-1.）。

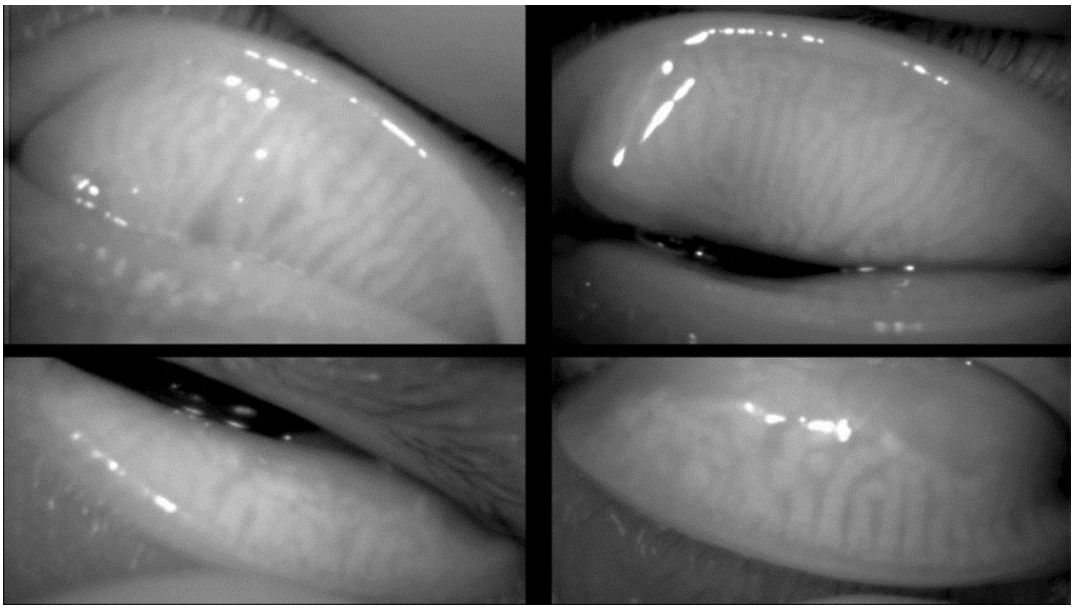
表 1-1. 小児群の年齢内訳

年齢(歳)	男児	女児	合計
0	6	9	15
1-3	6	16	22
4-6	11	11	22
7-9	5	7	12
10-12	2	5	7
合計	30	48	78

下眼瞼のマイボグラフィーは全症例で撮影可能だった。上眼瞼については 3 カ月から 3 歳の乳幼児 13 人で本人による検査拒否や上眼瞼翻転不能のため撮影不可能であった。代表的マイボグラフィー画像を図 1-3.に示す。撮影時間は上下眼瞼とも 1 分以内であった。検査による合併症はなかった。

図 1-3. マイボペンで観察した小児マイボーム腺像

形態的に成人と同様なマイボーム腺が瞼板全体に分布している。



生後 1 カ月男児左眼 上：上眼瞼 下：下眼瞼	1 歳男児左眼 上：上眼瞼 下：下眼瞼

表 1-2. に小児群と成人群の眼瞼横幅、合計マイボスコア、マイボーム腺本数、マイボーム腺密度を示す。

表 1-2. 小児群と成人群の眼瞼横幅、合計マイボスコア、マイボーム腺本数、マイボーム腺密度の比較

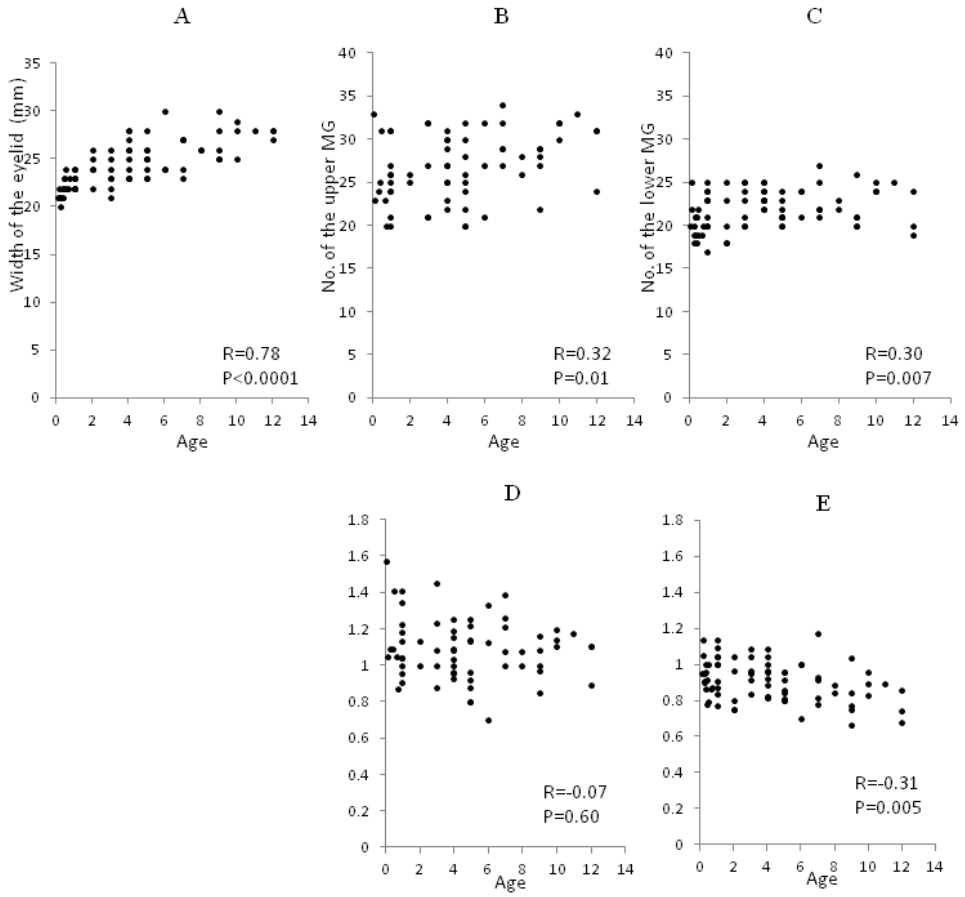
	眼瞼横幅 (mm)	合計マイボスコア	上眼瞼 MG 本数	下眼瞼 MG 本数	上眼瞼 MG 密度	下眼瞼 MG 密度
小児群 (n=78)	24.4 ± 2.4	0.10 ± 0.31	26.9 ± 3.9	22.0 ± 2.2	1.09 ± 0.17	0.91 ± 0.11
成人群 (n=25)	27.9 ± 1.6	0.48 ± 0.59	28.1 ± 2.7	24.4 ± 2.6	1.01 ± 0.12	0.88 ± 0.10
P 値	<0.0001*	0.0001*	0.22	<0.0001*	0.03*	0.45

MG = meibomian glands　マイボーム腺

眼瞼横幅は成人群で小児群より有意に大きかった。合計マイボスコアも成人群では小児群より有意に大きかった。上眼瞼のマイボーム腺本数は小児群、成人群で有意差はなかったが、下眼瞼では成人群のほうが有意に多かった。上眼瞼のマイボーム腺密度は小児群のほうが成人群より有意に高かったが、下眼瞼においては有意差を認めなかった。

小児群内での年齢と眼瞼横幅、マイボーム腺数、マイボーム腺密度の散布図を図 1-4.に示す。

図 1-4. 小児群内での年齢と眼瞼横幅、マイボーム腺数、マイボーム腺密度の散布図



・眼瞼横幅は 0 歳から 12 歳まで年齢に応じて増加した（A）。

・マイボーム腺本数は上下眼瞼とも年齢と弱く正の相関があった（B、C）。

・マイボーム腺密度と年齢は上眼瞼では有意な相関は認めず（D）、下眼瞼では負の相関を認めた（E）。

小児群と成人群両方で、眼瞼横幅、マイボーム腺本数、密度に性差は認められなかった。小児群内で男児の方が女児よりマイボスコアが高かった（P=0.003）。3 歳以下の全例（n=37）でマイボスコアが 0 であった。小児群では 8 例（男児 7 人、

女児 1 人）がマイボスコア 1 であった。成人群ではマイボスコアに性差を認めなかった。

考察：

ヒトのマイボーム腺は生後、数が増えたり長さが伸びたりするのか、出生時に完成形なのか未完成なのか、小児のマイボーム腺を非侵襲的に観察できる機器がなかったため、分かっていなかった。マイボペンは非侵襲的で持ち運び可能であり、どのような体位でもマイボーム腺を観察することができるため、特に乳幼児の診察に有用である。光源に赤外光を用いているため、被検者はまぶしくなく、焦点距離は約 10mm のため、直接眼瞼に触れることはない。このスタディで生後 1 カ月の乳児でも上下の瞼板全体にマイボーム腺が分布し、形態的に完全であることが観察できた。

＊マイボーム腺の発生

マイボーム腺の発生についてはマウス[33]やヒト[32, 34]で研究されてきた。Byun らはヒトの胎芽・胎児の上眼瞼の発生について調査しているが、胎生第 18 週で明確なマイボーム腺が存在し、第 20 週で枝分かれし、第 28 週までに瞼板の半分まで伸び、第 32 週で 3 分の 2 になり、第 36 週までには瞼板のほぼ全体に達することを報告した[35]。我々の今回の報告はこのマイボーム腺は出生時に形態的に完全であるという所見と一致した。

＊マイボスコアについて

小児群では成人群と比較して有意にマイボスコアが低かった。3 歳以下の 37 人全員のマイボスコアが 0 であることは、マイボーム腺の短縮や脱落等の形態学的変化が全く起きていないということである。今回の我々の検討でヒトのマイボーム腺は出生時に完全型であり、成長・加齢と共に徐々に脱落、短縮していくことが示唆された。今回の成人群は 40 歳以下の若年者であったが、高齢者のマイボーム腺も観察した既報でもマイボスコアと年齢に相関がみられている [17]。

＊年齢とマイボーム腺本数の関係

本研究では下眼瞼のマイボーム腺本数は成人群の方が小児群よりも有意に多いという結果であった。マイボグラフィーを撮影する時、眼瞼は完全に翻転されている必要がある。しかし、小児の場合、眼瞼の翻転が不完全で、両端のマイボーム腺を観察するのが困難な場合がある。このため小児群ではマイボーム腺本数は過小評価されている可能性がある。年齢が低ければ低いほど観察時に動いてしまうので、過小評価の可能性は高くなる。小児群において上下のマイボーム腺本数と年齢に弱い相関を認めたがこの相関は年齢が小さいほど過小評価が大きいためと考えられる。

＊年齢とマイボーム腺密度の関係

本研究では下眼瞼のマイボーム腺密度と年齢に負の相関が認められた。年齢が

若いほどマイボーム腺密度が高いということになる。乳幼児の涙液油層は成人よりずっと厚いことが分かっている[27]。この理由としては、乳幼児では瞼裂が小さく、露出している眼表面が少ないこと[29]、マイバムの生体生理学的特徴が優れていること[36]、小児であっても成人と同等のマイバム分泌量があること[36]が提唱されている。本研究で明らかとなった、小児での高いマイボーム腺密度は小児の油層が厚い原因の一つになり得ると考えられた。

＊眼瞼横幅について

以前の日本の学童を対象にしたスタディでは、眼瞼裂の横幅は 7 歳で 21.7±1.3mm、14 歳で 23.2±1.2mm であった[37]。アジア人の成人は男性で 27.0±1.8mm、女性で 26.8±1.7mm であった[38]。白人の横断的コホート研究では 12 歳女性で 23.7±1.3mm、25 歳女性で 26.7±1.8mm、12 歳男性で 23.8±1.9mm、25 歳男性で 27.2±2.4mm であった[39]。我々の結果は既報よりもやや大きいが、測定方法の違いによるものと考えられる。

本研究の限界として、非侵襲的なマイボペンの検査であっても小児は検査中じっとしていられないので完全なマイボーム腺観察は困難であり、両端のマイボーム腺が描出されていない可能性があること、また、覚醒下の小児ではマイボーム腺開口部の数をカウント出来ないことが挙げられる。これらの点を解決するために、第 2 章で全身麻酔下での小児のマイボーム腺観察を行うこととした。

まとめると、本章で 0 から 12 歳の小児のマイボーム腺をモバイルペン型マイボグラフィーで観察し成人と比較した。生後 1 カ月の乳児を含めた小児で、上下の瞼板全体に分布する、形態的に完全なマイボーム腺を観察することができた。

第 2 章

全身麻酔下での小児のマイボーム腺およびマイボーム腺開口部観察

背景：

前章で、覚醒下の小児 76 人のマイボペン画像より、ヒトマイボーム腺は少なくとも乳児期には既に成人同様に完成されていることが分かった。研究の限界として、覚醒下では小児は動いてしまい両端のマイボーム腺がよく撮影できず、実際より本数が少なく評価されていた可能性があった。また、開口部数のカウントは覚醒下の小児では困難であり今まで評価できていなかった。

今回、全身麻酔下で斜視手術を受ける小児のマイボーム腺とその開口部数を測定しマイボーム腺観察を行い、成人群と比較し、マイボーム腺は成長により変化するのか否かを検討した。

方法：

対象

小児群は東京大学医学部附属病院眼科で全身麻酔下に斜視手術を受ける 15 歳以下の小児で全身疾患や眼瞼の異常を伴わないもの、成人群は眼既往歴、眼症状のない 20 歳から 35 歳の男女健常者ボランティア。参加者全員から本人ならびに未成年の場合は保護者のインフォームドコンセントを取得した。東京大学医学部倫理委員会の承認を受けた臨床研究であり（No.3760）、ヘルシンキ宣言を遵守している。

検査

小児群は手術室で全身麻酔導入後、術野消毒前に、成人群は眼科外来で以下の流れでおこなった。

1. 眼瞼横幅の測定（mm）
2. 上下マイボーム腺開口部数測定（小児群は仰臥位で手持ち式細隙灯顕微鏡：ハンドスリット、成人群は座位で細隙灯顕微鏡を使用）
3. 非侵襲的マイボグラフィー撮影（小児群はマイボペン、成人群は細隙灯取りつけ型マイボグラフィーBG4 を使用）（図 2-1.）
4. 画像を見返し、上下マイボスコア（0-6）とマイボーム腺本数を記録

図 2-1. 検査風景

左：ハンドスリットを用いた小児の観察、中央：マイボペンを用いた小児の観察、右：細隙灯顕微鏡およびマイボグラフィーBM4 を用いた成人の観察

原則的に右眼のデータを使用した。すべての検査は熟練した検者（RS）が行った。小児群と成人群での各因子の比較にはマンーホイットニーの U テストを用いて解析した。P 値が 0.05 未満の場合、統計学的有意差ありと判定した。データは平均±標準偏差として表記した。

結果：

小児群 26 人 26 眼（男児 13 人、女児 13 人、年齢 1-13 歳、平均 6.7±3.1 歳）、成人群 30 人 30 眼（男性 15 人、女性 15 人、年齢 21-35 歳、平均 29.1±3.4 歳）の検査を行った。小児群の年齢内訳を以下に示す（表 2-1.）。

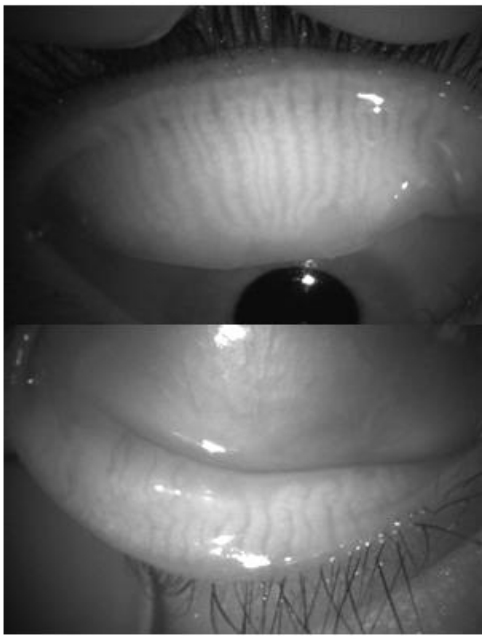
表 2-1. 小児群の年齢内訳

年齢(歳)	男児	女児	合計
0	0	0	0
1-3	1	2	3
4-6	7	6	13
7-9	3	2	5
10-13	2	3	5
合計	13	13	26

小児群全例でマイボペンとハンドスリットによる上下眼瞼のマイボーム腺観察が可能であった。撮影時間は上下眼瞼とも 1 分以内であった。検査による合併症はなかった。

小児と成人の代表例マイボグラフィー画像を図に示す（図 2-2）。

図 2-2. 小児と成人の代表例マイボグラフィー



1 歳女児、右眼 （マイボペンで撮影） 眼瞼横幅 24mm, マイボスコア:上 0、下 0 マイボーム腺本数：上 32、下 23 開口部数: 上 33、下 23	27 歳女性、右眼 （BG4 で撮影） 眼瞼横幅: 27mm, マイボスコア: 上 0、下 0 マイボーム腺本数：上 34、下 27 開口部数: 上 34、下 27

小児群と成人群の眼瞼横幅、マイボスコア、上下マイボーム腺開口部数、上下マイボーム腺本数の比較を表 2-2 に示す。

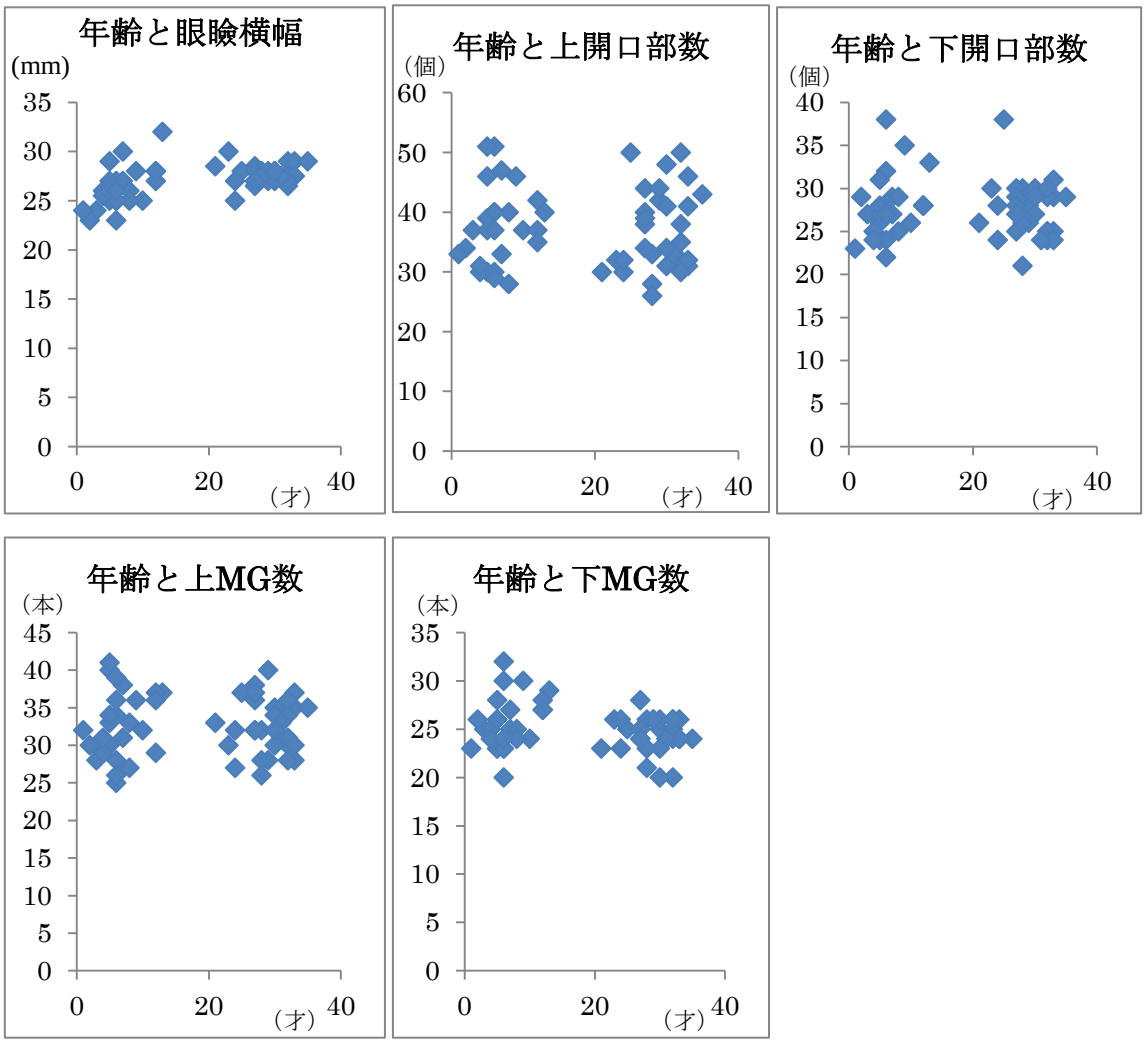
表 2-2. 小児群と成人群の眼瞼横幅、マイボスコア、上下マイボーム腺開口部数、上下マイボーム腺本数の比較

	眼瞼横幅 (mm)	合計 マイボ スコア (0-6)	上眼瞼 開口部数	下眼瞼 開口部数	上眼瞼 MG 本数	下眼瞼 MG 本数
小児群 (n=26)	26.3 ±2.1	0.42 ±0.64	37.7 ±6.7	27.8 ±3.7	32.8 ±4.4	25.7 ±2.7
成人群 (n=30)	27.6 ±0.9	1.06 ±1.25	36.9 ±6.7	27.5 ±3.2	32.5 ±3.2	24.4 ±1.8
P 値	0.0006*	0.041*	0.72	0.85	0.88	0.14

小児群は成人群と比較し眼瞼横幅が有意に小さいが、上下開口部数、上下マイボーム腺本数には有意差を認めなかった。 マイボスコアは小児群より成人群の方が有意に大きかった。全例においてマイボーム腺本数は開口部数より少ないか同数であった。

小児群、成人群全体での年齢と眼瞼横幅、上下マイボーム腺開口部個数、上下マイボーム腺本数の散布図を図 2-3.に示す。

図 2-3. 年齢と眼瞼横幅、上下マイボーム腺開口部個数、上下マイボーム腺本数の散布図



＊マイボーム腺開口部二重配列の再認識

開口部をカウントし詳細に観察している際に、成人群においても小児群においても上眼瞼の一部または広範囲に図 2-4.右のように開口部が一列でなく、ジグザグに二列に並ぶ症例を複数認めた。

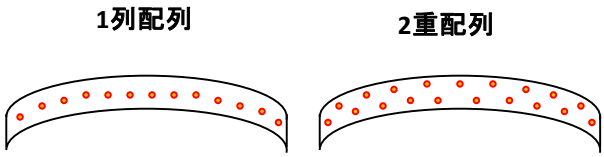


図 2-4. 開口部の配列

考察：

＊成長による変化

マイボーム腺の本数、開口部数、瞼板に対する分布範囲は出生時から成人同様であり、出生後に本数が増えたり、範囲が広くなったりはしないことが分かった。それに対し、眼瞼幅は成長につれて拡大するので、眼表面あたりのマイボーム腺密度は成長につれ減少すると考えられる。これが、小児の涙液破綻時間が成人より長い原因の一つと考えられる。

＊マイボーム腺本数について

古典的な教科書にはマイボーム腺は一列に並び、上眼瞼には 30~40 本、下眼瞼には 20~30 本存在する [40] と記載されている。別の解剖学教科書には上眼瞼に約 25 本、下眼瞼に約 20 本 [13] という記載がある。我々の結果では本数は前者と一致しているが、今回 2 列に並ぶものも認めた点が異なる。

本章でのマイボーム腺本数は小児群、成人群ともに第一章の結果より多くなっている。この理由は、小児については全身麻酔下で眼瞼翻転を完全に行うことが出来たため、成人については細隙灯顕微鏡取りつけ型マイボグラフィーを用いた撮影で、より明瞭にマイボーム腺が確認できたためと考えられた。ペン型と細隙

灯取りつけ型のマイボグラフィー画像を比較した既報では画像を白黒に 2 値化し瞼板あたりのマイボーム腺の割合を算出して比較し、両者に有意差はないとしている [18] が、本研究ではマイボーム腺本数のカウントをしており、細隙灯取りつけ型では赤外光の量を調整出来るのでマイボーム腺がより明瞭に確認しやすかった可能性がある。マイボグラフィーによるマイボーム腺本数測定は装置の性能の向上で変化し得るもので絶対的指標にするには正確性に欠ける可能性が示唆された。よって厳密にはマイボペンで撮影した小児のマイボーム腺本数と BM4 で撮影した成人のそれを比較することは適切ではないかもしれない。一方、細隙灯顕微鏡によって直接カウントした開口部数は検者の慣れが必要だが、同一検者が行う限り正確性は比較的保たれると考えられる。今回マイボーム腺本数と開口部数の両者とも小児群―成人群間で有意差を認められなかったので、結果に矛盾はないと考えられる。

＊開口部数と中心導管・マイボーム腺数の関係

本研究では全例、マイボーム腺本数は開口部数と同数かそれより少ない値となっている。中心導管・腺房がマイボグラフィーでは描出されていないのか、開口部だけあり中心導管・腺房が存在しないマイボーム腺があるのか、開口部が複数で中心導管・腺房がひとつになるものがあるのか？開口部と中心導管、腺房へとつながる解剖学的構造について疑問が生じ、第 3 章で組織像を検討することとし

た。開口部数と中心導管が一対一の関係であれば、本章での結果の小児－成人間で開口部数に有意差がないことで、マイボーム腺本数も有意差がないことをより強固に証明できると考えられる。

＊マイボーム腺開口部二重配列について

本研究で上眼瞼の一部から広範囲にかけて、開口部がジグザグに 2 列に並ぶ所見を認め、我々はこれをマイボーム腺開口部二重配列と名付けた。日常診療でもたまに認められる所見で眼科臨床医であれば皆遭遇していると思われるが、今まであまり注目されていなかった。それが先天性か、後天的なものか、正常所見なのか、異常所見なのかはっきり分かっていない。第 3 章で文献調査の上、頻度調査、機能的検査、組織学的観察および発生学的検討を行うこととした。

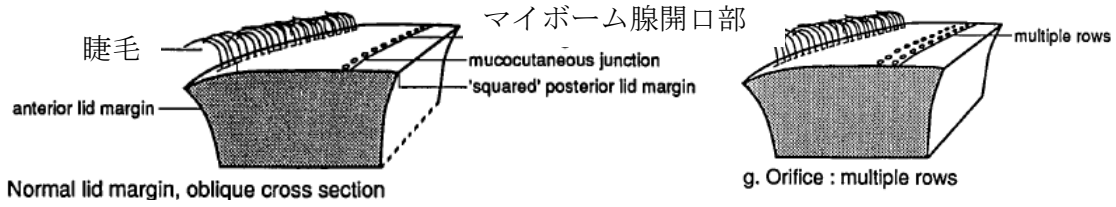
第３章

マイボーム腺開口部二重配列に関する機能的・組織学的検討

背景：

前章でマイボーム腺開口部の詳細な観察を行う過程で、開口部が 2 列に並ぶ所見が健常者の小児にも成人にも少なからず存在することを発見した。既報では 1979 年に McCord らが Congenital Euryblepharon（eury = wide, blepharon = eyelid, 下眼瞼の外側が垂れ下がる先天奇形）の症例 3 例の所見を詳細に報告した中で、1 例に”double row of meibomian gland orifices”を認めたという記載がある [41]。また 1992 年 Hykin と Bron が 5 歳から 87 歳の正常眼 80 例の眼瞼縁所見を細隙灯顕微鏡で観察した論文中に、マイボーム腺開口部が複数列に並んでいる所見”multiple rows”について記載（図 3-1.）している [42] が、二論文とも二重配列の形態や各種涙液パラメータに対する影響についての詳細な記載はなく、臨床的意義についての検討はされていない。

図 3‐1. 正常眼瞼縁と Multiple rows の模試図



正常眼瞼縁、斜断面　　開口部：複数列

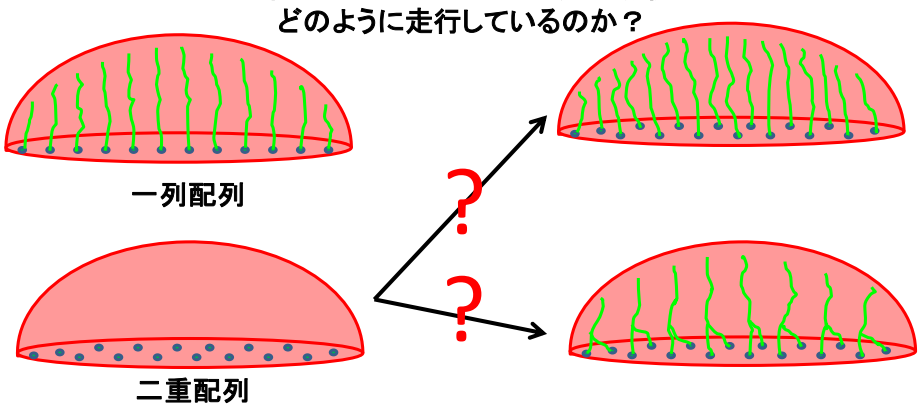
Hykin PG, Bron AJ. Age-related morphological changes in lid margin and meibomian gland anatomy. Cornea 1992 Jul;11(4):334-42.

二重配列の発生機序として以下のような仮説を立てた。「胎生期に瞼板厚の厚い

個体において上皮の陥入点がジグザグに二列に並ぶことで形成される。」これを証明するために、眼瞼厚を測る試みを行った。胎生期の瞼板厚を測るのは不可能のため、成人での眼瞼厚を測定する装置を作成し、一列群と二重配列群で差を認めるか検討した。

また、前章でマイボグラフィーを用いてカウントしたマイボーム腺本数は全例で開口部数と同数かそれより少ない値となっているが、開口部と中心導管の関係は一対一になっているのか否か？開口部だけで中心導管や腺房がないものがあるのか？さらに、開口部二重配列のマイボーム腺は瞼板内でどのように走行しているのか、それぞれ 1 本の主導管につながり終末部まで達し密集しているのか、それとも二つの主導管が合流してひとつの終末部になっているのか、実際の構造は分かっていない。密集している場合、密な結合組織である瞼板組織の中にマイボーム腺が 2 列に並ぶ空間的余裕はあるのか？等の組織・解剖学的疑問が生じた（図 3-2.）。

図 3-2. **開口部二重配列のマイボーム腺は瞼板内でどのように走行しているのか？**



そこで本章で解剖献体の眼瞼組織を観察し、開口部が一列の眼瞼と二重配列の眼瞼の組織標本を作成し、マイボーム腺の構造を明らかにした。

これまで眼瞼およびマイボーム腺の組織像については廣瀬[43]、小幡[44, 45]、Knop[12]らが報告している。小幡らの研究では剖検例から得た 88 例の瞼板組織を観察し、病的変化の出現頻度と年齢および性との関係について検討している[45]が、切除範囲が上眼瞼中央部の瞼板組織3mm×3mmの矢状断のみで腺房と中心導管に焦点を絞っているため、眼瞼縁の開口部から中心導管、腺房への連続性は明らかになっていない。他の報告も矢状断のみの観察で、眼瞼縁の開口部から水平断でマイボーム腺を追跡しているのは本研究が初めてと思われる。

本研究の目的は、マイボーム腺開口部二重配列の頻度を健常者小児、成人、高齢者それぞれにおいて調査すること、二重配列群と一列群での涙液パラメータや眼瞼厚の比較を行うこと、そして組織像で開口部と中心導管との関係を明らかにし、二重配列の構造を明らかにすることである。更に、二重配列の発生機序について考察した。

方法：

本研究は横断的観察研究で、東京大学医学部倫理委員会の承認を受けており（No.3760）、ヘルシンキ宣言を遵守している。また防衛医科大学校再生発生学講

座伊藤正孝准教授との共同研究である。

Ⅰ．成人男性の検査

対象は眼症状、眼既往歴、眼手術歴のない 20 歳から 35 歳の男性健常者ボランティア。同意書を取得後、以下の順に検査を行った。

1. 細隙灯顕微鏡検査、涙液関連パラメータ測定

   上下マイボーム腺開口部数測定(個) 、眼瞼横幅(mm)、フルオレセイン染色スコア*1(0-9)、涙液破綻時間*2(BUT, 秒)、シルマーテストⅠ法*3 (mm)、マイボーム腺分泌脂圧出スコア*4(0-3)、涙液メニスカス高*5(mm)の測定。

2. マイボグラフィー撮影

   細隙灯取りつけ型マイボグラフィーBG4 または DC4 を使用

3. マイボグラフィー画像レビュー

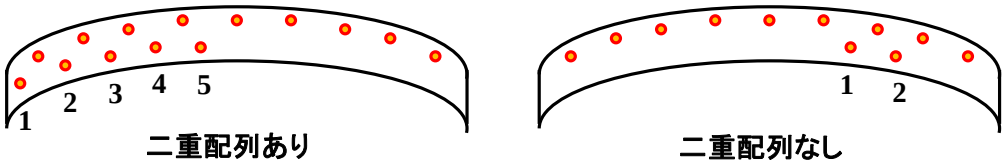
   上下マイボスコア(上 0-3、下 0-3、合計 0-6、第 1 章で詳述)とマイボーム腺本数(本)を記録

4. 開口部二重配列の有無判定

開口部二重配列の定義として、細隙灯顕微鏡下の観察で開口部が 5 個以上連続して 2 列に並んでいる所見を認めた場合、二重配列ありとした。2,3 個のみの連続だと明確に二重配列と確認するのが困難であり、明らかな二重配列のもののみを

組み入れるという観点から 5 個以上の連続とした（図 3-3.）。

図 3-3.二重配列の判定の仕方



＊用語解説＊

＊1. フルオレセイン染色スコア：

角結膜を鼻側結膜、角膜、耳側結膜の 3 つに分類し、それぞれを 0 - 3 点、合計 9 点満点で評価を行う方法[3]でドライアイ研究会が推奨している（図 3-4.）。

図 3-4.フルオルセイン染色スコアのエリア分類

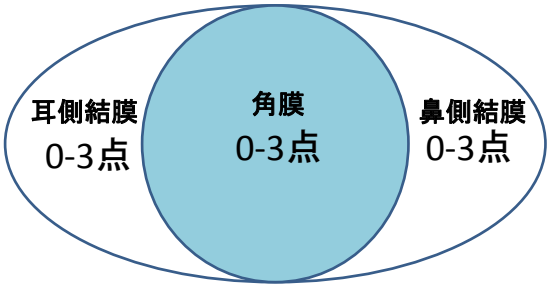


図 3-5.シルマーテスト

＊2. 涙液破綻時間(Tear film breakup time: BUT)：

涙液の安定性を評価する方法で、フルオレセイン染色後開瞼してから開瞼の持続によって角膜上に涙液のないドライスポットが出現するまでの時間。正常では 10 秒以上で、5 秒以下は異常とされる。3 回測定して平均値を用いた。

＊3. シルマーテスト I 法：

5×43mm の濾紙の一端を少し折り曲げ、下眼瞼外側に挟み 5 分間閉瞼し、涙が濾

紙の濾紙にしみこんだ長さ(mm)を測定する(図)。10mm 以上が正常、5mm 以下で涙液分泌低下と判断される（図 3-5.）。

＊4. マイボーム腺分泌脂(マイバム)圧出スコア：

上眼瞼中央部を圧迫してマイボーム腺開口部から圧出されるマイバムについて、圧出のされやすさと性状を評価しグレード分類(0-3)したもの[46]。

Grade 0：透明なマイバムが容易に圧出される。

Grade 1：混濁したマイバムが弱い圧迫で圧出される。

Grade 2：混濁したマイバムが中等度の圧迫で圧出される。

Grade 3：強い圧迫でもマイバムが分泌されない。

＊5. 涙液メニスカス高：

上下眼瞼と角結膜の間にできる涙液の溜まりを涙液メニスカスといい、ここに眼表面での涙液の 90%以上が貯留しており[47]その高さは涙液量を反映していると考えられている。細隙灯顕微鏡の接眼レンズに目盛をつけ、下眼瞼の涙液メニスカスの高さを目視で測定し倍率から mm に換算する。正常値は約 0.2mm 程度である。

Ⅱ．成人男性の追加検査

開口部が一列に並ぶ群(一列群)と二重に並ぶ群(二重配列群)に対して後日追加検査として以下の検査を行った。検査が後日になった理由は検査機械(ケラトグラフ 5M®)が新たに導入されたため、および新たに検査機器(眼瞼厚測定器)を自作した

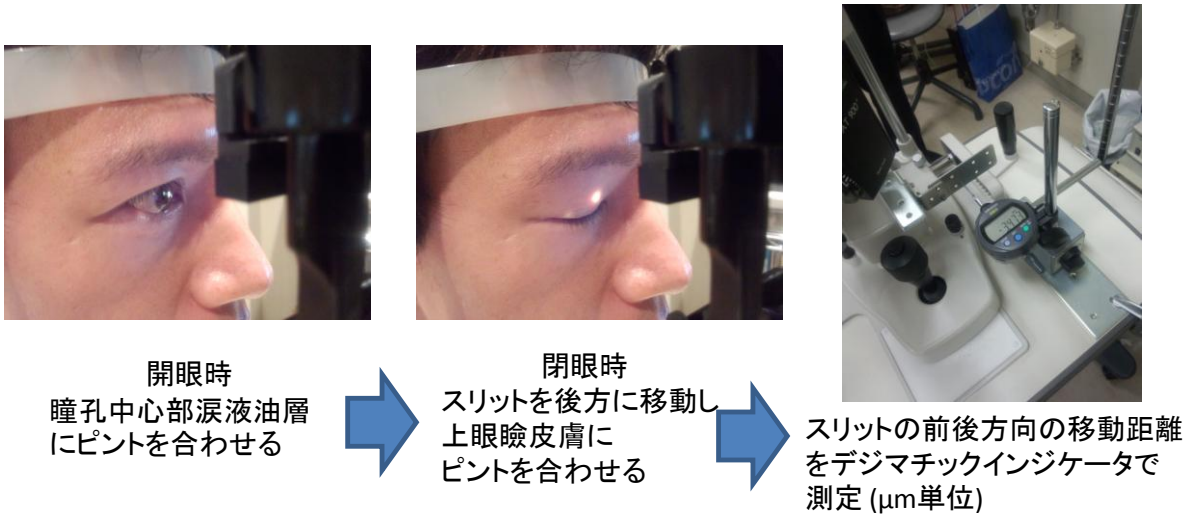
ためである。

1. オクルス　ケラトグラ 5M®(Oculus 社、米国)を用いた涙液メニスカス高*6、非侵襲的涙液層破綻時間(NIKBUT: Non Invasive Keratograph Break-Up Time)*7 の測定

2. 眼瞼厚測定器による眼瞼厚測定

   デジマチックインジケータ(ID-C112XB)、スタンド(7010-10)、アクセサリー(超硬ニードル測定子 21AAA258)(ミツトヨ株式会社、神奈川)を用いて図 3-6.のような器械を作成した（制作協力トプコン社)。3 回測定して平均値を用いた。

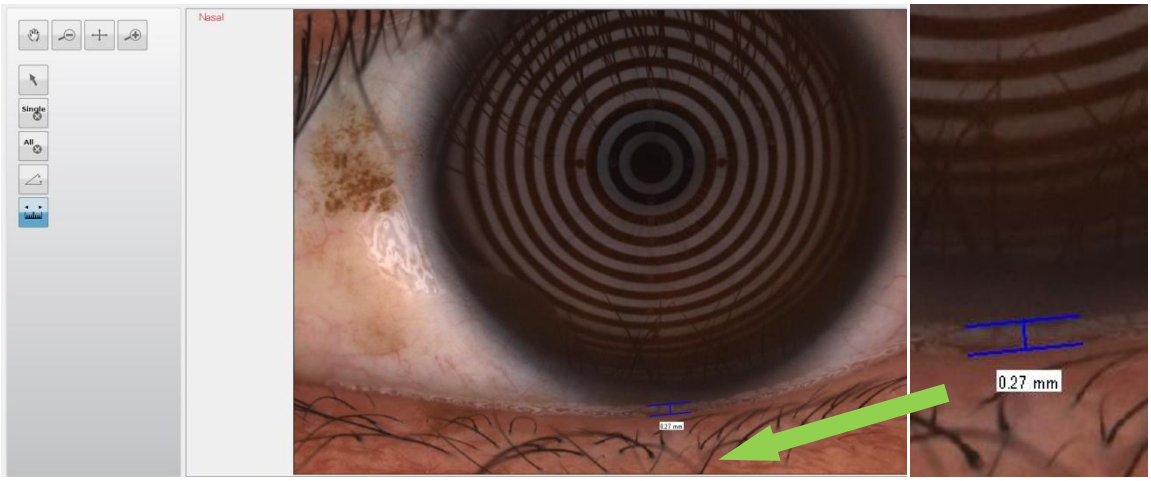
図 3-6. 眼瞼厚測定器



＊6. 涙液メニスカス高

眼表面の高解像度画像を撮影し、付属のソフトウェアのスケールツールを用い、涙液メニスカス高を測定した（図 3-7.)。

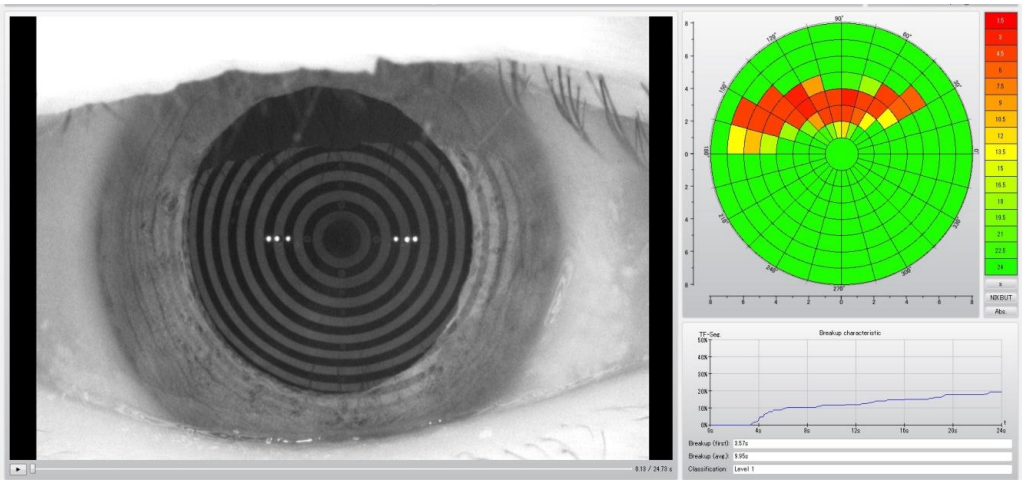
図 3-7. ケラトグラフ 5M を用いた涙液メニスカス高測定



＊7. NIKBUT (Non Invasive Keratograph Break-Up Time)

プラチドリング(同心円状の照明)が角膜上の涙液に写りこみ、この歪みを基に涙液の蒸発を検出する（図 3-8.）。First NIKBUT : 最初の蒸発を検出した時間(秒)、average NIKBUT : 蒸発までにかかった平均時間(秒)、開瞼時間(測定開始から瞬目まで、最長 24 秒) それぞれ 3 回ずつ測定し平均値を用いた。

図 3-8. ケラトグラフ 5M を用いた NIKBUT 測定



Ⅲ．成人女性の検査

対象は眼症状、眼既往歴、眼手術歴のない 20 歳から 35 歳の女性健常者ボランティア。眼瞼横幅(mm)、上下マイボーム腺開口部数の測定、二重配列の有無判定、マイボグラフィー撮影、マイボスコア(0-6)測定を行った。マイボーム腺は性ホルモンの影響を多大に受けており[48-53]、女性ではマイボーム腺の生理学的機能が月経周期に伴い変化する[54, 55]という報告があるため、涙液関連パラメータの比較は行わなかった。

Ⅳ．小児全身麻酔下での二重配列の頻度測定

Ⅱ章で述べた小児全身麻酔例での開口部二重配列の頻度を調べた。成人同様、開口部が 5 個以上連続して 2 列に並んでいる所見を認めた場合二重配列ありとした。

Ⅴ．献体眼瞼組織での観察

対象は平成 25 年度防衛医科大学校解剖学実習に供された献体の眼瞼組織。防衛医科大学校再生発生学講座伊藤正孝准教授との共同研究であり、組織の採取・観察は同校で行った。解剖献体の眼瞼を切り出し、実体顕微鏡下でマイボーム腺開口部を観察しながらマーキングペンでマーキングし撮影後、二重配列の有無を判定した。その後眼瞼組織のパラフィンブロックを作成し、滑走式ミクロトーム(REM-710、大和光機)を用いて上眼瞼の下縁より 5μm 厚の水平断切片を作成し、

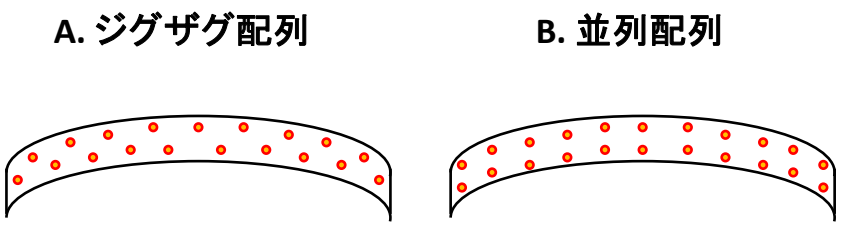
10 枚ごとに最後の 1 切片を採取した。HE 染色後に光学顕微鏡で観察し 1 枚おきに撮影して、100μm 間隔の連続切片の組織像を得た。

結果：

Ⅰ.成人男性の検査

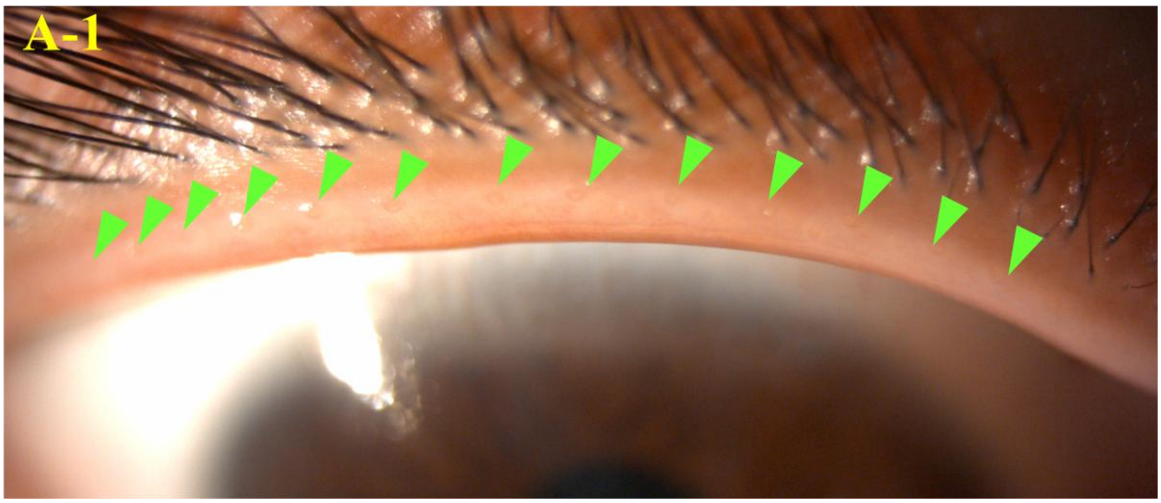
56 人 56 眼(21 歳～35 歳、平均 28.7±3.2 歳)を検査した。56 眼中 18 眼(32%)の上眼瞼に開口部二重配列を認めた。下眼瞼に二重配列を認める症例はなかった。二重配列の分布範囲は 18 眼中、上眼瞼の 3 分の 2 以上の広範囲に及ぶものが 6 眼(33%)、耳側のみが 3 眼、中央のみが 2 眼、鼻側のみが 2 眼、耳側と鼻側両方にあるものが 5 眼であった。二重配列の部分の開口部は全例で図 3-9. A のようにジグザグに配置しており、図 3-9.B のように並列するものは認めなかった。

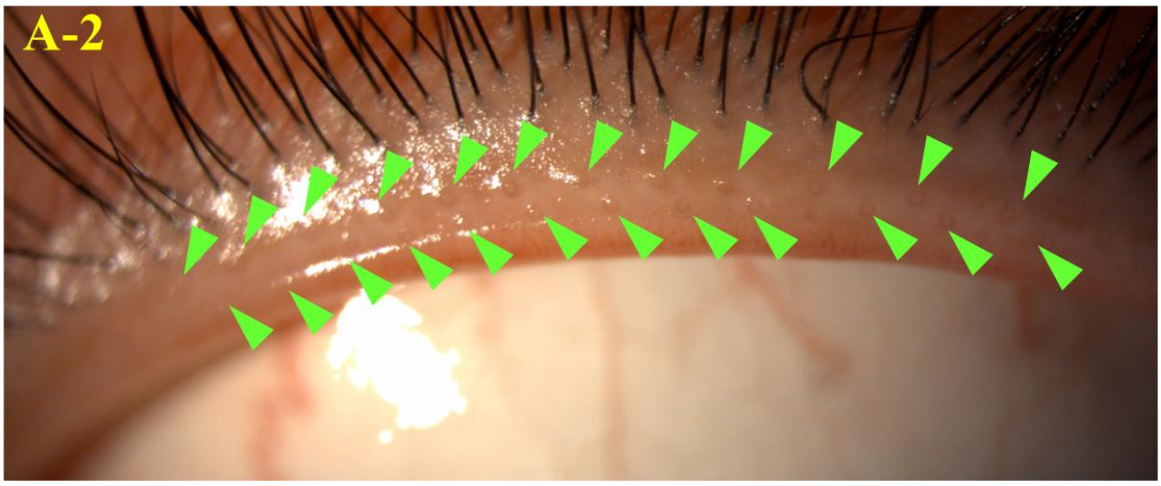
図 3-9 開口部二重配列の模試図

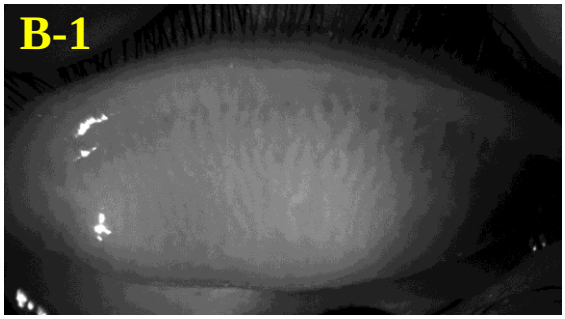


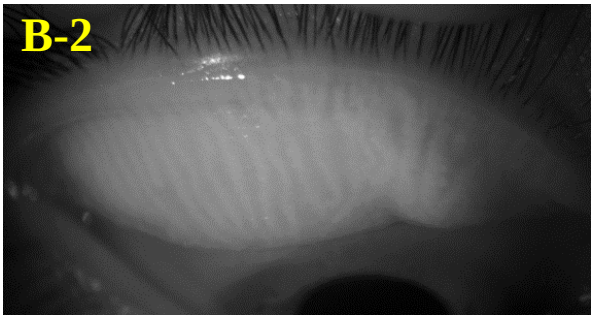
一列群と二重配列群の代表例を図 3-10.に示す。

図 3-10. 成人：開口部 1 列と二重配列の代表例（矢頭：マイボーム腺開口部）









1. 開口部一列 27 歳男性 右眼上眼瞼 (A-1 カラー、B-1 マイボグラフィー) 眼瞼横：30mm, マイボスコア：上 0、下 0 開口部数：上 34、下 27 マイボーム腺本数：上 26、下 27	2. 開口部二重配列　　範囲:耳側 3/4 32 歳男性 左眼上眼瞼 (A-2 カラー、B-2 マイボグラフィー) 眼瞼横：28mm, マイボスコア：上 0、下 0 開口部数：上 55、下 31 マイボーム腺本数：上 48、下 26

開口部一列群と二重配列群の涙液パラメータの比較を表 3-1.に示す。

表 3-1. 成人男性一列群と二重配列群の涙液パラメータ比較

一列群と二重配列群の比較

	一列群 (n=38)	二重配列群 (n=18)	p値
年齢	28.8±3.1	28.3±3.5	0.650
眼瞼幅(mm)	27.9±1.1	28.3±0.8	0.161
マイボスコア合計	0.84±0.97	0.72±1.07	0.457
上開口部数	36.0±5.3	46.4±4.8	<0.0001*
下開口部数	28.3±3.4	29.0±2.5	0.22
上マイボーム腺本数	29.9±3.4	34.7±5.9	0.035*
下マイボーム腺本数	24.6±1.9	25.7±1.4	0.0529
BUT(秒)	5.1±2.4	6.59±3.0	0.076
角膜上皮障害(0-3)	0.24±0.43	0.17±0.38	0.562
シルマー(mm)	16.9±11.9	22.5±12.9	0.0854
圧出スコア(0-3)	0.16±0.42	0.06±0.24	0.395
メニスカス高(mm)	0.28±0.13	0.33±0.18	0.484

（マンーホイットニー検定）

二重配列群では一列群より有意に上眼瞼開口部数と上マイボーム腺本数が多かった。二重配列群のほう一列群より BUT が長く、シルマー値が大きい傾向が認められたが、統計学的有意差には至らなかった。

Ⅱ．成人男性の追加検査

一列群 10 人と二重配列群 13 人を検査した。一列群と二重配列群の比較では全項目で有意差を認めなかった（表 3-2.）。

表 3-2. 成人男性追加検査一列群と二重配列群の比較

追加検査:一列群と二重配列群の比較

	一列群（n=10）	二重配列群（n=13）	p値
年齢	31.0±2.8	29.5±3.8	0.416
NIKBUT first (秒)	10.2±5.3	10.6±4.9	0.780
NIKBUT ave（秒）	13.0±5.3	14.6±5.0	0.369
開瞼時間（秒）	17.9±6.1	18.1±5.3	0.951
メニスカス高（mm）	0.26±0.06	0.27±0.06	0.511
眼瞼厚（mm）	1.96±0.54	1.97±0.57	0.877

（マンーホイットニー検定）

Ⅲ．成人女性の検査

30 人 30 眼(22 歳～34 歳、平均 28.6±3.6 歳)を検査した。30 眼中 9 眼(30%)の上眼瞼に開口部二重配列を認めた。下眼瞼に二重配列を認める症例はなかった。二重配列の分布範囲は 9 眼中、上眼瞼の 3 分の 2 以上の広範囲に及ぶものが 2 眼(22%)、耳側のみが 2 眼(22%)、中央のみが 1 眼(11%)、鼻側のみ 0 眼、耳側と鼻側両方にあるもの 4 眼(44%)であった。二重配列の部分の開口部は全例でジグザグに配置していた。

女性一列群 21 眼と二重配列群 9 眼の比較では二重配列の方が一列群より有意に上眼瞼の開口部数が多かった（表 3-3.）。

表 3-3. 成人女性一列群と二列群の比較

成人女性：一列群と二重配列群の比較

	一列群 (n=21)	二重配列群 (n=9)	p値
年齢	28.1±3.4	29.6±4.2	0.219
眼瞼横幅(mm)	27.3±0.8	27.5±0.8	0.526
マイボスコア合計	0.75±0.91	1.22±1.56	0.479
上開口部数	33.2±3.7	41.4±4.3	0.0002*
下開口部数	25.7±2.7	27.3±3.5	0.2

（マンーホイットニー検定）

成人男性 58 眼と成人女性 30 眼の比較では男性群のほうが女性群より眼瞼横幅が大きく、上下開口部数が多かった。二重配列の頻度は男性 32.1%、女性 30.0%で有意差を認めなかった（表 3-4.）。成人男女全体での二重配列の頻度は 86 眼中 27 眼の 31.4%であった。

表 3-4. 成人男女の比較

成人男女の比較

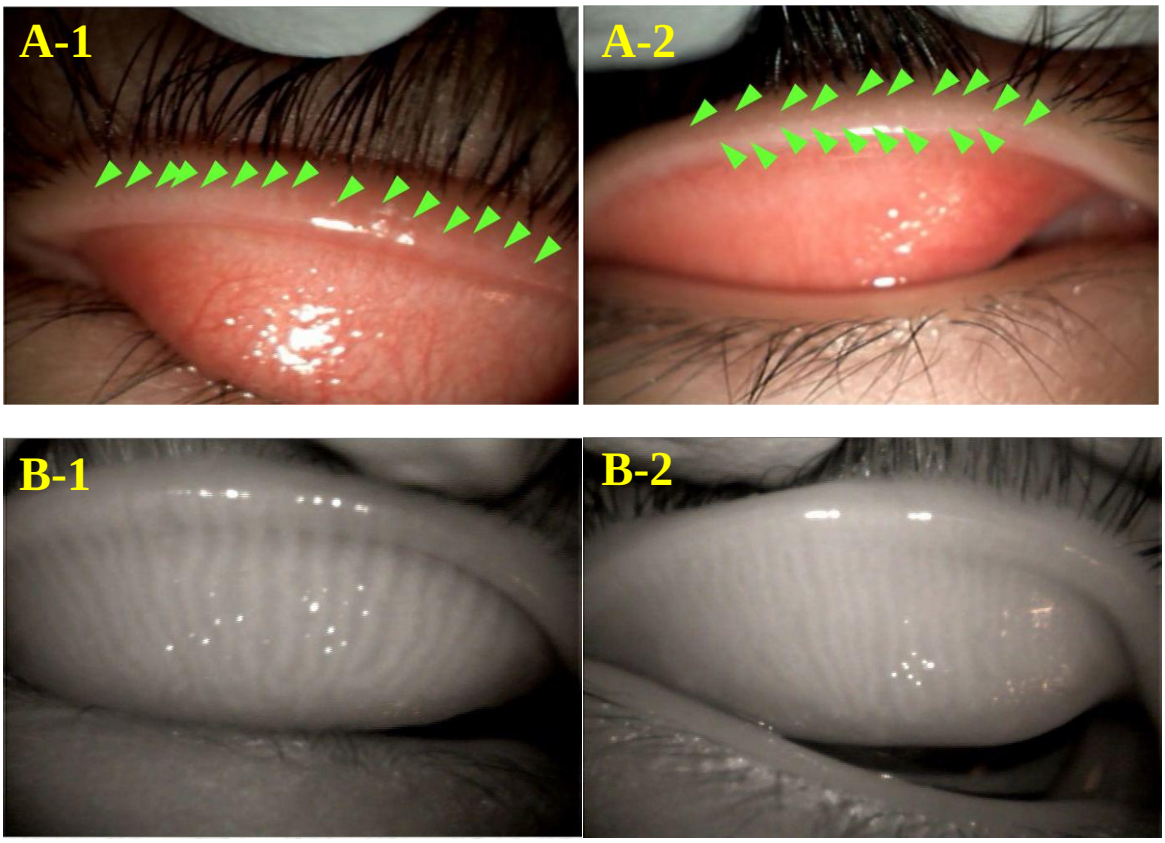
	男性群 (n=56)	女性群 (n=30)	p値
年齢	28.7±3.2	28.6±3.6	0.996
眼瞼横幅(mm)	28.1±1.1	27.3±0.8	0.0019*
マイボスコア合計	0.80±0.99	0.89±1.14	0.736
上開口部数	39.3±7.1	35.7±5.4	0.0265*
下開口部数	28.5±3.1	26.2±2.7	0.0008*
二重配列頻度	32.1%	30.0%	0.84

（二重配列頻度のみカイ2乗検定、その他マンーホイットニー検定）

Ⅳ．小児全身麻酔下での二重配列の頻度測定

第 2 章で全身麻酔下検査を行った小児 26 人(男児 13 人、女児 13 人)中、8 人(男児 5 人、女児 3 人)(男児 38.5%、女児 23.1%、全体 30.7%)に二重配列を認めた。マイボペンで撮影した小児の一列および二重配列の代表的写真を図 3-11.に示す。

図 3-11. 小児：開口部 1 列と二重配列の代表例



開口部一列	二重配列
6 歳女児 右眼上眼瞼	5 歳女児 右眼上眼瞼
(A-1 カラー、B-1 マイボグラフィー)	(A-1 カラー、B-1 マイボグラフィー)
眼瞼横：27mm,	眼瞼横：26mm,
マイボスコア：上 0、下 0	マイボスコア：上 0、下 0
開口部数：上 30、下 27	開口部数：上 51、下 31
マイボーム腺本数：上 25、下 23	マイボーム腺本数：上 41、下 26

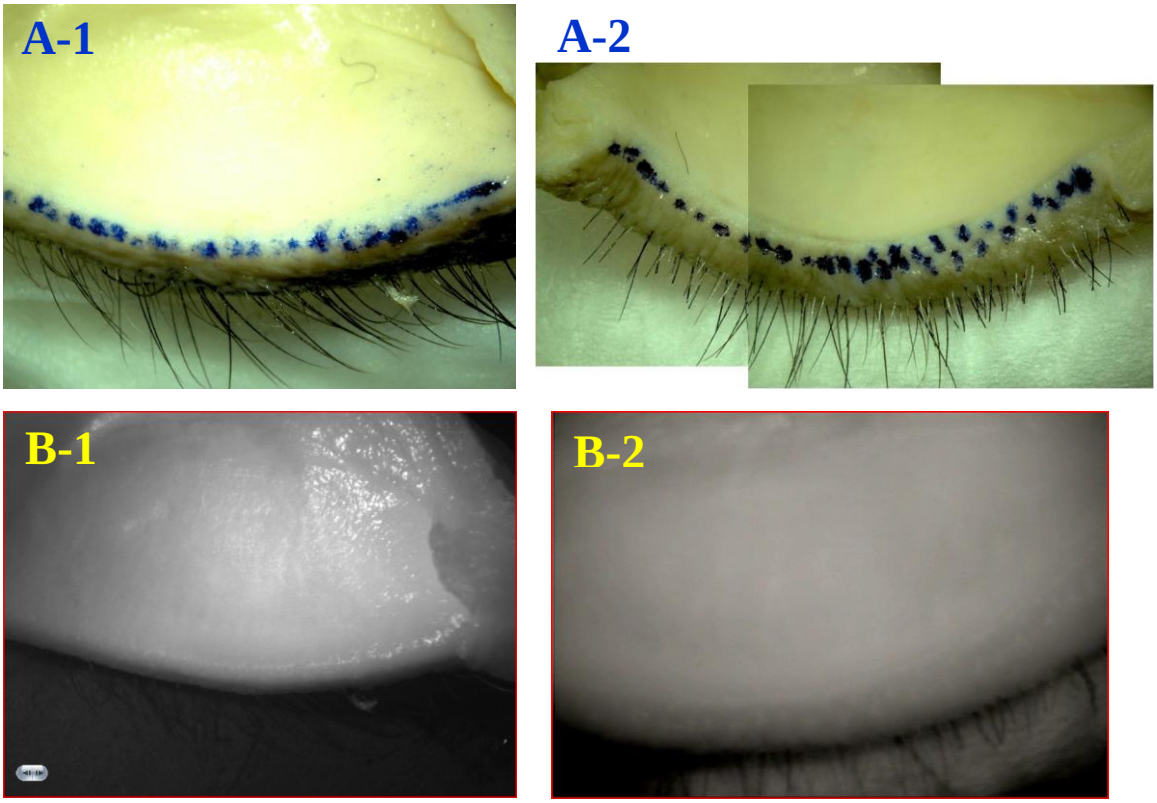
V．献体眼瞼組織での観察

13 人、13 眼の眼瞼を観察した。(年齢 69～98 歳、性別男性 8 眼、女性 5 眼)

二重配列を認めたのは 4 眼瞼(男性 4 眼、女性 0 眼)(男性 50%、女性 0%、全体 30.8%)

であった。一列群と二重配列群の代表例を図 3-12.に示す。

図 3-12 献体眼瞼組織：開口部 1 列と二重配列の代表例



開口部一列	二重配列
73 歳男性 右眼上眼瞼（834）	86 歳男性 右眼上眼瞼（15R）
A-1 実体顕微鏡	A-1 実体顕微鏡
開口部にマーキング	開口部にマーキング
B-1 マイボペン画像	B-1 マイボペン画像

実体顕微鏡下にマイボーム腺開口部が確認できた。マイボペン画像はホルマリン

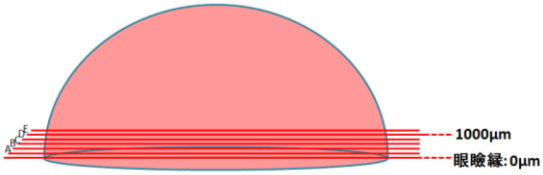
固定後の組織は全体的に硬化し白濁してマイボーム腺の確認は困難であった。

開口部一列と二重配列の代表例の連続切片像をそれぞれ図3-13.と図3-14に示す。

開口部一列
73歳男性 右眼上眼瞼

HE染色
眼瞼縁より水平断　毎200μm

A: 眼瞼縁から400μm
B: 眼瞼縁から600μm
C: 眼瞼縁から800μm
D: 眼瞼縁から1000μm
E: 眼瞼縁から1200μm



模式図:眼瞼縁から200μm毎の水平断

凡例
1-10：開口部から連結している
　　マイボーム腺中心導管
＊：眼輪筋
矢：眼瞼結膜
矢頭：眼瞼皮膚
Ac：マイボーム腺腺房
Mo：Moll腺
　（睫毛に付属するアポクリン腺）

中心導管の位置は眼瞼結膜より約500μm
中心導管と中心導管の間隔は600-800μm

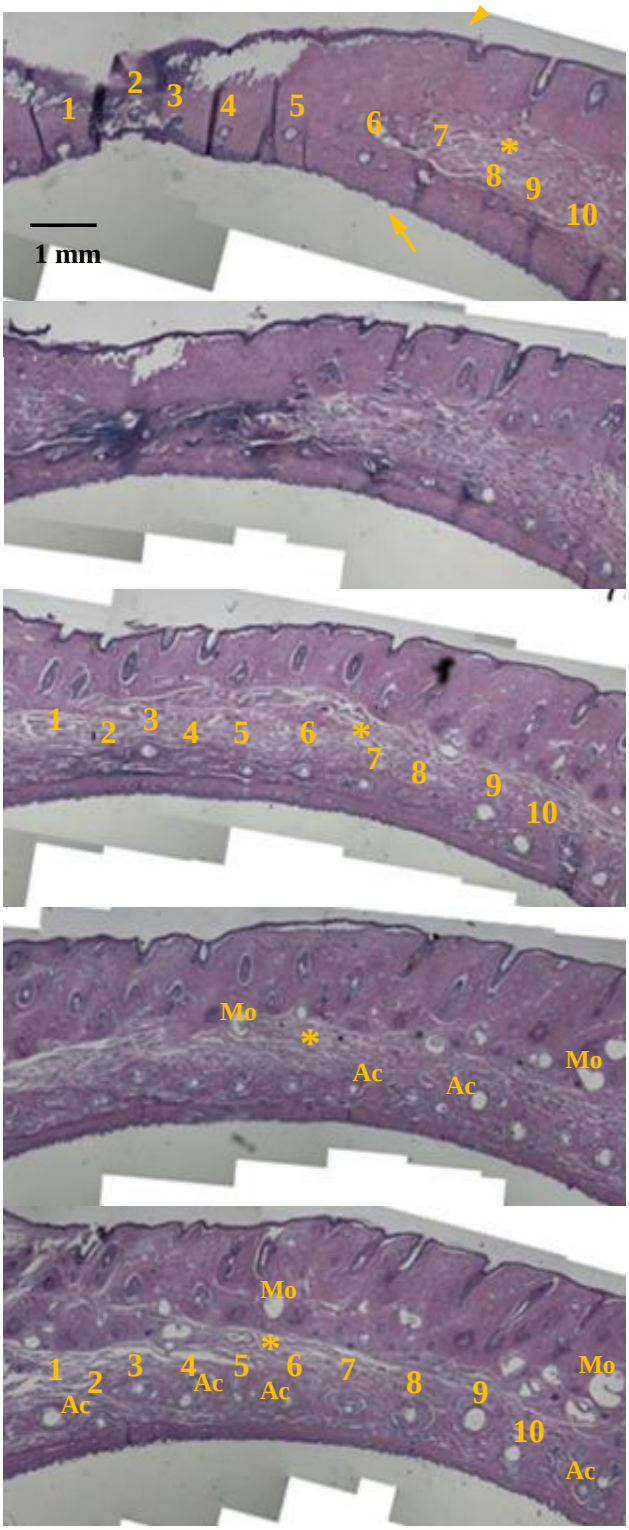
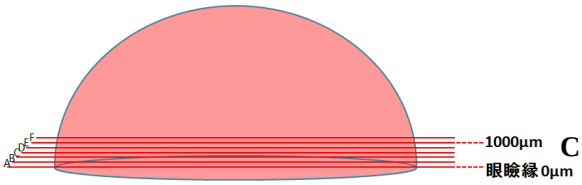


図 3-14. 開口部二重配列の連続切片

二重配列
86歳男性 右眼上眼瞼

HE染色
眼瞼縁より水平断　毎200μm

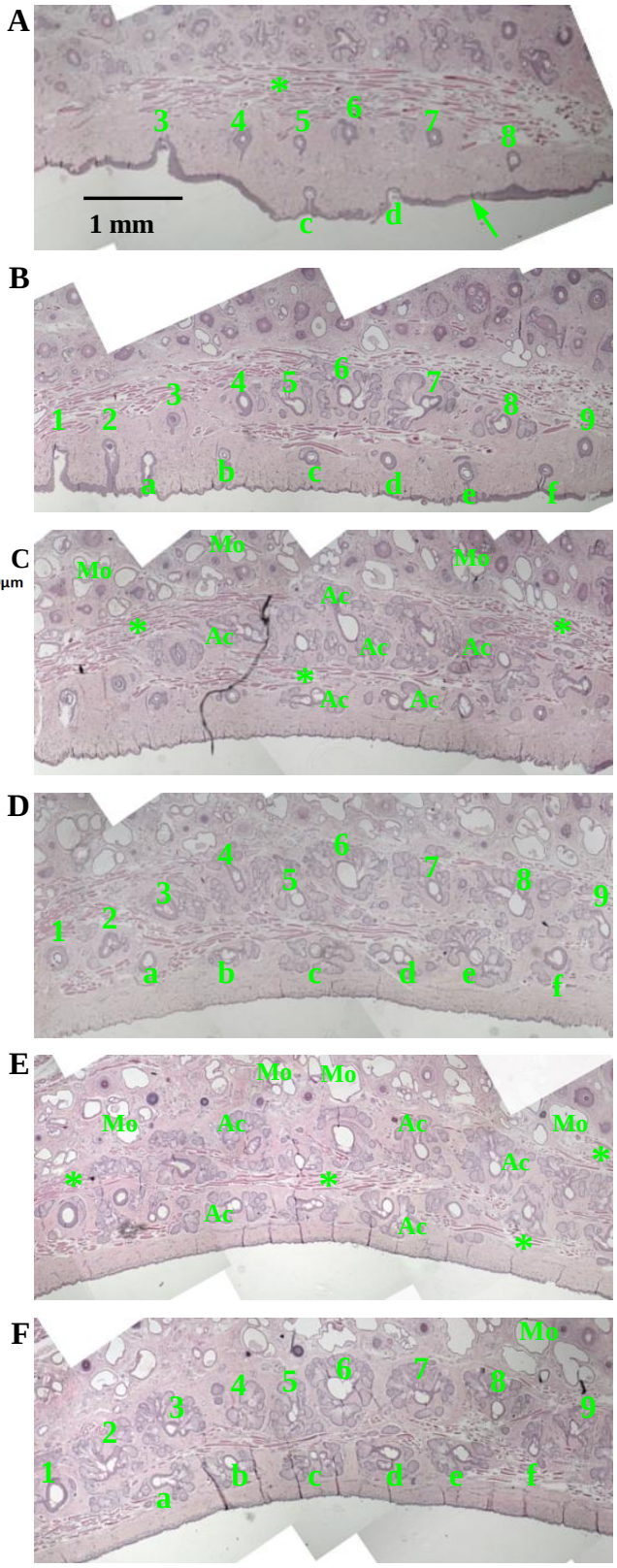
A: 眼瞼縁から200μm
B: 眼瞼縁から400μm
C: 眼瞼縁から600μm
D: 眼瞼縁から800μm
E: 眼瞼縁から1000μm
F: 眼瞼縁から1200μm



模式図：眼瞼縁から200μm毎の水平断

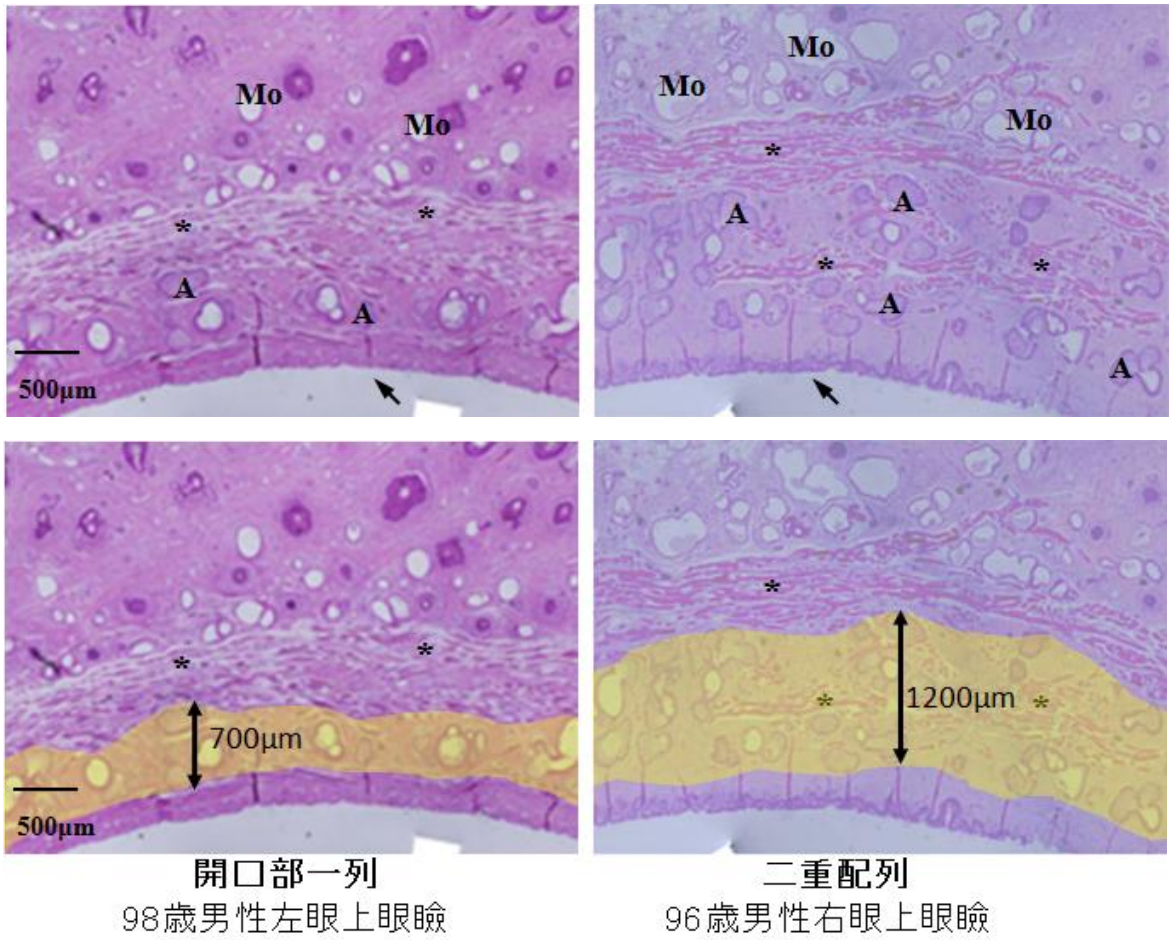
凡例
矢：眼瞼結膜
1-9：深列のマイボーム腺中心導管
a-f ：浅列のマイボーム腺中心導管
＊：眼輪筋
Ac：マイボーム腺腺房
Mo：Moll腺
（睫毛に付属するアポクリン腺）

中心導管の位置は
浅列で眼瞼結膜より約430μm
深列で眼瞼結膜より900-950μm
中心導管と中心導管の間隔は600-800μm



二重配列の例では終末部は二列に並んでおり、開口部が一列の例では終末部は一列であった。一列群も二重配列群も開口部から最初の腺房までの距離 400-600μm であった。一列配列では眼輪筋層はマイボーム腺より皮膚側に走行するのに対し、二重配列では瞼板が厚く発達しており、眼輪筋層はマイボーム腺の間を交錯して走行していた（図 3-15.）。

図 3-15. 開口部一列と二重配列の組織像（拡大）



眼瞼縁より 1000μm 上方の水平断 HE 染色
＊：眼輪筋
A：マイボーム腺腺房
矢：眼瞼結膜
Mo：Moll 腺（睫毛に付属するアポクリン腺）
：瞼板

結果のまとめ

1. すべての年齢群で二重配列は上眼瞼のみに存在しジグザグに配置しており、下眼瞼には二重配列は認められなかった。

2. 各年齢群における開口部二重配列の頻度は表 3-5.のとおりであり、成人男性と成人女性の二重配列の頻度には有意差を認めなかった。

表 3-5. 各年齢群の二重配列の頻度

	二重配列の頻度		二重配列の頻度
小児男性	5/13 (38.5%)	**小児全体**	8/26 (30.7%)
小児女性	3/13 (23.1%)		
成人男性	18/56 (32.1%)	**成人全体**	27/86 (31.4%)
成人女性	9/30 (30.0%)		
高齢者男性	4/8 (50.0%)	**高齢者全体**	4/13 (30.8%)
高齢者女性	0/5 (0%)		

3. 成人において男性群は女性群よりも有意に眼瞼横幅が大きく、上下開口部数が多かった。また二重配列群は一列群よりも有意に上眼瞼開口部数が多かった。

4. 組織像では開口部二重配列は終末部も二列に並んでいた。開口部が一列のものも終末部は一列であった。

5. 開口部と中心導管の関係は一対一で、開口部－排出導管－中心導管－小導管－複数の腺房と連続していた。一列でも二重配列でも中心導管が途中で二股に分かれたり、合流したりはしないことが確認できた。

考察：

＊二重配列の分布範囲、頻度について

小児、成人、高齢者でも頻度が同程度であることから二重配列は先天性のもので、出生後に変化することはないと考えられる。本研究では二重配列は全例上眼瞼のみに認められたが､既報では 0-10 歳の 10 眼中 1 眼､41－50 歳の 10 眼中 1 眼、全体で 80 眼中 2 眼に下眼瞼に multiple rows を認めた [42] という記載がある。また上眼瞼の二重配列の分布範囲は内側 3 分の 1 と外側 3 分の 2 の間の範囲に認めるという記載があるが、本研究では上眼瞼の二重配列の分布範囲は様々で、特に眼瞼の鼻側・中央・耳側どの範囲に多いという偏りは認めなかった。頻度について既報では上眼瞼において各年代 10 眼中、0－10 歳で 8 眼、11－20 歳で 4 眼、21－30 歳で 4 眼、31－40 歳で 2 眼、41－50 歳で 1 眼、51 - 60 歳で 3 眼、61－70 歳で 2 眼､70 歳以上で 1 眼と高齢になるにつれ頻度は低下しているが､本研究では小児、成人、高齢者ともほぼ同頻度であった。これらの差異の原因の一つは既報では multiple rows の定義が明記されておらず､今回定めた定義と異なる可能性が高いためと考えられる。Multiple rows という記載であるが、著者の Bron 先生に問い合わせたところ二重のみで、3 列、4 列などは認めなかったとのコメントであった。本研究でも 3 列以上になる例は認めなかった。

本研究で下眼瞼に二重配列を認めなかった理由は、上下眼瞼の形態の違いによ

ると考えられる。正常眼の上眼瞼の瞼板は半円型をしているが、下眼瞼では帯状で小さい。瞼板内に存在するマイボーム腺も上眼瞼の方が長く、太く発達しており 2 倍以上腺組織としてのボリュームがある [12]。下眼瞼の瞼板は小さくマイボーム腺が二重に並ぶ余地がないと考えられる。

＊性差について

成人において男性群のほうが女性群よりも有意に眼瞼横幅が大きく、上下開口部数が多かった。眼瞼横幅については第一章でもふれたとおり、既報でも男性の方が女性より大きい報告 [38, 39, 56] が複数あり、今回の結果と一致している。マイボーム腺開口部数を男女比較した報告は今までにない。

二重配列の頻度の性差については成人では男性群(32.1%)と女性群(30.0%)に有意差は認められなかった。このことから二重配列は性別に関係なく一定頻度で認められるといえる。小児群と高齢者群については男性群の方が女性群より頻度が高かったが、症例数が少ないため正確な評価は困難であると考えられる。

＊二重配列の機能的・臨床的意義について

約 30%と比較的高頻度に認め、一列群と比較し各種涙液パラメータに有意差がないことから、開口部二重配列はただちに病的変化と言えるものではなく、むしろ正常な機能を有する腺の配列に関する解剖学的変異の一つと考えられる。

上眼瞼のマイボーム腺開口部数が多いと分泌されるマイバムの量が増え、涙液油

層が厚くなり、涙液安定性の指標である BUT が長くなるのではないかと推測されたが、今回統計学的有意差は得られなかった。その理由としては以下の 2 点が考えられる。①すべての開口部が同時にマイバムを分泌しているのではなく、分泌を休止しているものもあるため。活動期（分泌あり）の腺の割合は個体、部位により差があり 25-65%と報告されている[12]。涙液水層と油層のバランスを適切に保つ、恒常性維持機構が存在していると推測される。②BUT を規定している要素は油層の厚みだけでなく、涙液のムチン層や水層や上皮細胞の状態にも影響を受けている[12]から。」

統計学的有意差は出なかったが二重配列群のほうでシルマー値が大きく、BUT が長い傾向があり、ドライアイになりにくいという可能性はある。また、開口部数が多いことでマイボーム腺機能不全やマイボーム腺炎などの疾患になりにくいのか、逆になりやすいかどうかは不明である。これらの疾患での二重配列の頻度を調べ比較することで検討出来ると考えられ、今後の課題としたい。

＊開口部と主導管・腺房の関係、及びマイボグラフィー所見について

組織標本の水平連続切片の観察で、開口部は 1 対 1 の対応で中心導管につながり、その先に複数の腺房が連なっていることが明らかになった。2 章で述べたとおり、マイボグラフィーに写ったマイボーム腺の本数をカウントした「マイボーム腺本数」は開口部数と一致せず、開口部数より少ない例が多い。これは一部のマ

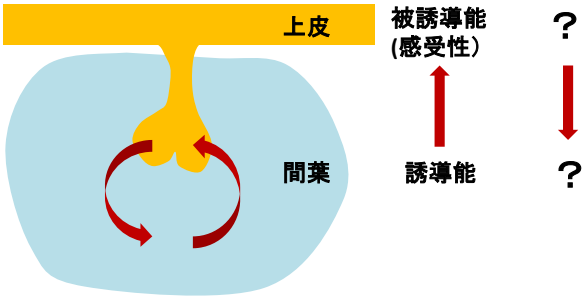
イボーム腺は眼瞼結膜側から深い場所に存在し、赤外光が吸収されてしまい描出されていないためと考えられる。特に開口部二重配列では、マイボーム腺が前後に交互に並んでいるので、奥のマイボーム腺は描出されていない可能性がある。またマイボグラフィーの性能の向上で本数の評価が変化し得る。よって健常者においては細隙灯顕微鏡によって直接カウントした開口部数の方が正確な本数を反映していると考えられる。

＊マイボーム腺の発生、二重配列の発生機序

二重配列の発生機序を考察する前に、眼瞼・マイボーム腺の発生について理解する必要がある。まず胎生第 6 週までに発生中の角膜のすぐ頭側と尾側に、間葉の芯をもつ表皮外胚葉の小さなひだが現れ眼瞼原基となる。上下の眼瞼原基は急速に成長して互いに近づき、第 8 週までに接触して癒合する [57]。第 9 週には間葉細胞が睫毛の毛根、その付属器、瞼板、眼輪筋の原基を作るために凝集する。第 12 週には睫毛毛根が皮膚直下に認められ、眼窩内の眼輪筋も形成される。第 14 週に睫毛、皮脂腺、汗腺が認められ、間葉細胞が凝集し瞼板原基が作られる。第 16 週で瞼板が明遼になり、第 18 週でマイボーム腺がはっきりし瞼板に陥入していく。第 20 週で上下眼瞼は分離しマイボーム腺の分枝が始まり、第 24 週で分枝が進み、第 28 週で瞼板の半分まで伸展し、第 32 週で瞼板の 3 分の 2 に、第 36 週で瞼板のほぼ全体に伸びる [35]。

ここで、マイボーム腺開口部の発生機序に注目する。そもそも皮膚付属器を含む表皮外胚葉に由来する多くの構造物の発生メカニズムは、**上皮間葉相互作用（epithelial-mesenchymal interaction）**に依存する。まず外胚葉プラコード（原基）ができ、引き続いて、その下層にある間葉組織で細胞の凝集が起こり、上皮が真皮に向かって陥入する[58]（図 3-16.）。この陥入点が開口部になると考えられる。

図 3-16. 上皮間葉相互作用の模式図

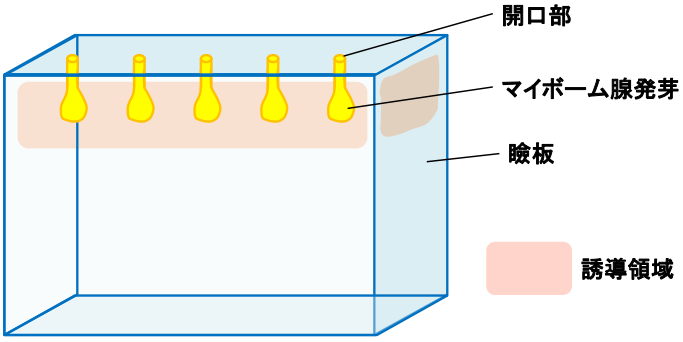


間葉から放出される因子は組織により異なり、それにより上皮細胞は様々な細胞に分化し、器官形成がおきる。マウス涙腺の発生では FGF10（fibroblast growth factor 10）が涙腺の上皮周囲の間葉で発現し、涙腺の発芽と分枝の誘導因子となっている[59-61]。また、ニワトリの胃腺分化に必要な間葉因子は BMP2（bone morphogenic protein 2）であることが分かっている[62, 63]。

マイボーム腺発生においては瞼板が誘導母体の間葉組織であり、マイボーム腺上皮の陥入伸展、腺房細胞への分化には瞼板が不可欠と考えられる。瞼板の形態はその名の通り板状であり、その側面（眼瞼縁）に接する上皮から垂直方向に腺

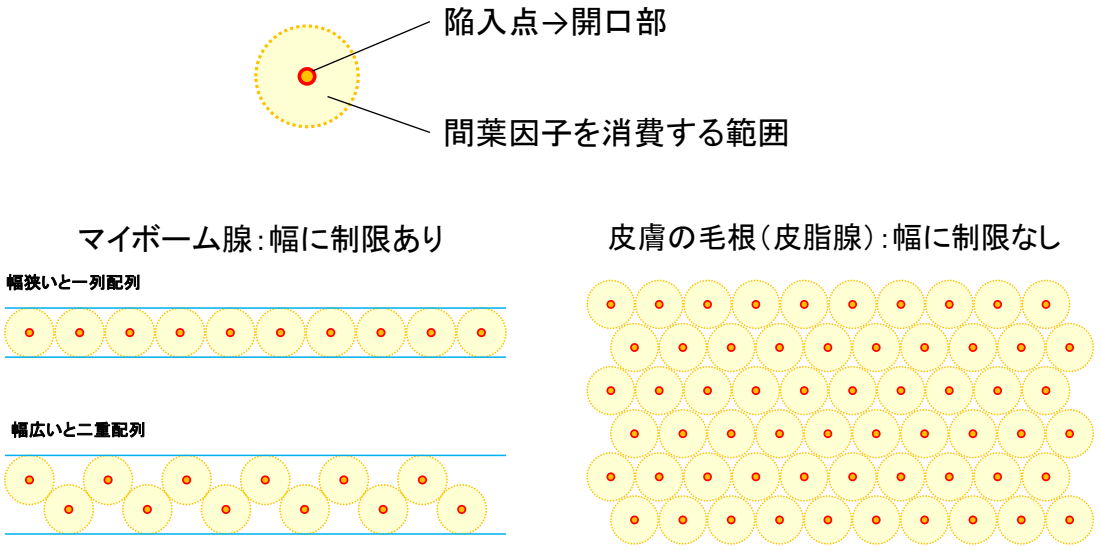
の発芽が起こるという特徴がある（図 3-17.）。よって、発生するマイボーム腺発芽の個数は瞼板の上皮直下部分の体積に依存し、瞼板が形成されマイボーム腺上皮が陥入する第 16－18 週頃に瞼板のこの部分が大きければマイボーム腺の陥入数は多いと考えられる。

図 3-17. マイボーム腺上皮発芽の模式図



マイボーム腺の発芽は上皮下の間葉である瞼板から分泌される間葉因子（成長因子）の誘導によって生じるので、瞼板の厚さが薄いと等間隔に陥入点が生じ開口部は一列になる。一方、瞼板の厚さが厚いと一定の間隔をあけて最も効率よく陥入点が生じるのは開口部がジグザグの場合であり、これが二重配列になると考えられる。これに対して、例えば、一般の皮膚に存在する毛根付属の皮脂腺の場合は平面的な広がりが大きい（皮下には真皮が広がっている）ので一面に等間隔に分布する（図 3-18）。今回の観察で二重配列は全例でジグザグの分布をしており、2 列が並列に並ぶものは認めなかった理由はこのためと考えられる。

図 3-18. マイボーム腺、皮脂腺の分布模式図



以上のことから、我々は二重配列の生成機序として以下のような仮説を立てた。「胎生期に瞼板厚の厚い個体において上皮の陥入点がジグザグに二列に並ぶことで形成される。」しかし、今回成人の角膜中央部での眼瞼厚測定をした結果は、一列群―二重配列群間に有意差を認めなかった。この理由としては以下の二点が考えられる。①この測定法では眼瞼の皮膚や脂肪、眼球結膜と眼瞼結膜のスペース、眼瞼結膜も含まれているので純粋な瞼板厚を反映していない可能性があるため。②今回成人での測定を行ったが、二重配列が形成されるのは胎生期と考えられ、成人になっても瞼板が厚いという特徴が保存されるかは不明であるから。

胎生期の瞼板の厚みを出生後に測ることは不可能のため我々の仮説を直接証明することは不可能である。しかし、高齢者の眼瞼パラフィン切片の組織像においても二重配列の瞼板は一列のそれより厚く発達しており、眼輪筋が二重配列の間

に入り込むような所見も認めていることから、少なくとも瞼板の厚みと二重配列の有無には関連があると考えられる。

まとめ

本章で健常者におけるマイボーム腺開口部二重配列の頻度は各年代を通じて約30%であることが分かった。一列群と二重配列群の涙液関連パラメータに有意差は認めず、二重配列は正常な機能を有する腺の配列に関する解剖学的変異の一つと考えられた。二重配列の構造は眼瞼縁にジグザグに並んだ開口部が一対一に中心導管につながりその末梢に腺房が連なっており、途中で合流することはないことが分かった。二重配列の発生機序については「胎生期に瞼板厚の厚い個体において上皮の陥入点がジグザグに二列に並ぶことで形成される。」と推測される。

結語

本研究ではヒトマイボーム腺の形態を我々のグループが開発した非侵襲的マイボグラフィーを用い詳細に観察し組織学的検討も加え、ヒトマイボーム腺の構造について理解を深めた。今まで詳細な観察が不可能であった小児の生体内のマイボーム腺を観察し新知見を得た。また、マイボーム腺開口部二重配列について詳細に観察し、今まで不明であった頻度や構造を明らかにした。

第 1 章では、覚醒下の小児のマイボーム腺をモバイルペン型マイボグラフィーで観察し、生後一ヶ月の乳児でもマイボーム腺が形態的に完全であることを明らかにした。

第 2 章では、全身麻酔下の小児のマイボーム腺を観察し、マイボーム腺本数、開口部数が成人のそれと比較して有意差がなく、マイボーム腺の本数や瞼板に対する分布範囲は出生後増加しないことを明らかにした。

第 3 章ではマイボーム腺開口部二重配列が上眼瞼のみに約 30%の頻度で認められ、正常な機能を有する開口部所見のバリエーションと考えられることと、その構造が眼瞼縁にジグザグに並んだ開口部が一対一に中心導管につながっていることを明らかにした。二重配列の発生機序については今回観察した所見と他臓器の発生に関する文献的検討から「胎生期に瞼板厚の厚い個体において上皮の陥入点がジグザグに二列に並ぶことで形成される。」と考えられた。

謝辞

本研究の機会を与えて下さり、5 年間に渡り始終御懇意なる御指導、御鞭撻を賜った井上眼科病院　天野史郎先生、指導教官として貴重なご指導を賜った東京大学大学院医学系研究科　外科学専攻　感覚運動機能医学講座　眼科学　加藤聡准教授に謹んで感謝の意を表します。

本研究を進めるにあたり貴重な御指導と御協力を頂いた伊藤医院　有田玲子先生、株式会社トプコン　野老英光様、石原睦隆様に深謝致します。

また共同研究を快く引き受けて下さり、貴重な御指導、甚大なるご協力を賜った防衛医科大学校　再生発生学講座　伊藤正孝准教授に心より感謝申し上げます。

最後に、本研究に際して数々の御助言、御協力を頂きました東京大学大学院医学系研究科　眼科学教室第 3 研究室の横尾誠一先生、島伸行先生を始め、御指導頂きました皆様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

1. 岩堀 修明. *図解・感覚器の進化　原始動物からヒトへ　水中から陸上へ*. 東京: 講談社; 2011.

2. Foulks GN, Lemp MA. Meibomian gland dysfuntion and seborrhea. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (eds), *Cornea*: Elsevier; 2011:407-414.

3. 島崎 潤. 2006 年ドライアイ診断基準. *あたらしい眼科* 2007;24:181-184.

4. Lemp MA, Crews LA, Bron AJ, Foulks GN, Sullivan BD. Distribution of aqueous-deficient and evaporative dry eye in a clinic-based patient cohort: a retrospective study. *Cornea* 2012;31:472-478.

5. Bron AJ, Tomlinson A, Foulks GN, et al. Rethinking dry eye disease: a perspective on clinical implications. *Ocul Surf* 2014;12:S1-31.

6. Uchino M, Nishiwaki Y, Michikawa T, et al. Prevalence and risk factors of dry eye disease in Japan: Koumi study. *Ophthalmology* 2011;118:2361-2367.

7. Uchino M, Yokoi N, Uchino Y, et al. Prevalence of dry eye disease and its risk factors in visual display terminal users: the Osaka study. *Am J Ophthalmol* 2013;156:759-766.

8. Schiffman RM, Walt JG, Jacobsen G, Doyle JJ, Lebovics G, Sumner W. Utility assessment among patients with dry eye disease. *Ophthalmology* 2003;110:1412-1419.

9. Harris RA, Nease RF. The importance of patient preferences for comorbidities in cost-effectiveness analyses. *J Health Econ* 1997;16:113-119.

10. Mizuno Y, Yamada M, Shigeyasu C. Annual direct cost of dry eye in Japan. *Clin Ophthalmol* 2012;6:755-760.

11. Uchino M, Uchino Y, Dogru M, et al. Dry eye disease and work productivity loss in visual display users: the Osaka study. *Am J Ophthalmol* 2014;157:294-300.

12. Knop E, Knop N, Millar T, Obata H, Sullivan DA. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1938-1978.

13. Bron A, Tripathi D, Tripathi B. The ocular appendages: eyelids, conjunctiva and lacrimal apparatus. *Wolff's anatomy of the eye and orbit.* London: Chapman & Hall Medical; 1997:30-47.

14. 小幡 博人. マイボーム腺の機能と構造. In: 横井 則彦 (ed), *専門医のための眼科診療クオリファイ 19 ドライアイスペシャリストへの道.* 東京: 中山書店; 2013:24-29.

15. Nicolaides N, Kaitaranta JK, Rawdah TN, Macy JI, Boswell FM, Smith RE. Meibomian gland studies: comparison of steer and human lipids. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1981;20:522-536.

16. Molinari JF, Tapie R. Color photography of meibomian glands. *Am J Optom Physiol Opt* 1982;59:758-759.

17. Arita R, Itoh K, Inoue K, Amano S. Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population. *Ophthalmology* 2008;115:911-915.

18. Arita R, Itoh K, Maeda S, Maeda K, Amano S. A Newly Developed Noninvasive and Mobile Pen-Shaped Meibography System. *Cornea* 2012;32:242-7.

19. 白川 理香, 有田 玲子. マイボグラフィーについて教えてください. *あたらしい眼科* 2013;30:159-161.

20. Arita R, Itoh K, Maeda S, et al. Proposed diagnostic criteria for obstructive meibomian gland dysfunction. *Ophthalmology* 2009;116:2058-2063.e2051.

21. Arita R, Itoh K, Inoue K, Kuchiba A, Yamaguchi T, Amano S. Contact lens wear is associated with decrease of meibomian glands. *Ophthalmology* 2009;116:379-384.

22. Arita R, Itoh K, Maeda S, et al. Meibomian gland duct distortion in patients with perennial allergic conjunctivitis. *Cornea* 2010;29:858-860.

23. Arita R, Itoh K, Maeda S, et al. Effects of long-term topical anti-glaucoma medications on meibomian glands. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012;250:1181-1185.

24. Sagara H, Sekiryu T, Noji H, Ogasawara M, Sugano Y, Horikiri H. Meibomian gland loss due to trabeculectomy. *Jpn J Ophthalmol* 2014;58:334-341.

25. Sakimoto T. Granular corneal dystrophy type 2 is associated with morphological abnormalities of meibomian glands. *Br J Ophthalmol* 2014.

26. Nemoto Y, Arita R, Mizota A, Sasajima Y. Differentiation between chalazion and sebaceous carcinoma by noninvasive meibography. *Clin Ophthalmol* 2014;8:1869-1875.

27. Isenberg SJ, Del Signore M, Chen A, Wei J, Guillon JP. The lipid layer and stability of the preocular tear film in newborns and infants. *Ophthalmology* 2003;110:1408-1411.

28. Lawrenson JG, Murphy PJ, Esmaeelpour M. The neonatal tear film. *Cont Lens Anterior Eye* 2003;26:197-202.

29. Lawrenson JG, Birhah R, Murphy PJ. Tear-film lipid layer morphology and corneal sensation in the development of blinking in neonates and infants. *J Anat* 2005;206:265-270.

30. Kirkpatrick WNA, Miller MC, Nanchahal J. Skin and its appendages. In: Standring S (ed), *Gray's Anatomy.* Oxford, UK: Elsevier; 2008:145-164.

31. McGrath JA, Uitto J. Anatomy and Organization of Human Skin. In: Burns T, Breathnach S, Cox N (eds), *Rook's Textbook of Dermatology.* West Sussex, UK: Wiley-Blackwell; 2010:1-5.

32. Andersen H, Ehlers N, Matthiessen ME. Histochemistry and development of the human eyelids. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1965;43:642-668.

33. Nien CJ, Massei S, Lin G, et al. The development of meibomian glands in mice. *Mol Vis* 2010;16:1132-1140.

34. Andersen H, Ehlers N, Matthiessen ME, Claesson MH. Histochemistry and development of the human eyelids. II. A cytochemical and electron microscopical study. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1967;45:288-293.

35. Byun TH, Kim JT, Park HW, Kim WK. Timetable for upper eyelid development in staged human embryos and fetuses. *Anat Rec (Hoboken)* 2011;294:789-796.

36. Kaercher T, Möbius D, Welt R. Biophysical behaviour of the infant Meibomian lipid layer. *Int Ophthalmol* 1994;18:15-19.

37. Tanabe C, Nakamura Y, Kakisu Y. Nihonjin no ganken no keitai to doukoukankyori tono kankei. [Relationship between the Morphology of the eyelid and interpupillary distance in Japanese. First report (age 7 to 14)]. *Ganka Rinsho Ihou [in Japanese]* 1983;77:1572-1575.

38. Park DH, Choi WS, Yoon SH, Song CH. Anthropometry of asian eyelids by age. *Plast Reconstr Surg* 2008;121:1405-1413.

39. van den Bosch WA, Leenders I, Mulder P. Topographic anatomy of the eyelids, and the effects of sex and age. *Br J Ophthalmol* 1999;83:347-352.

40. Duke-Elder S. The anatomy of the visial system. *System of Ophthalmology.* London: Henry Kimpton; 1961:519.

41. McCord CD, Chappell J, Pollard ZF. Congenital euryblepharon. *Ann Ophthalmol* 1979;11:1217-1224.

42. Hykin PG, Bron AJ. Age-related morphological changes in lid margin and meibomian gland anatomy. *Cornea* 1992;11:334-342.

43. Hirose K. On some new findings concerning anatomy and pathology of the Japanese eyelid. *Nippon Ganka Gakkai Zassi* 1957;61:2017-2038.

44. Obata H, Horiuchi H, Miyata K, Tsuru T, Machinami R. [Histopathological study of the meibomian glands in 72 autopsy cases]. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi* 1994;98:765-771.

45. Obata H. Anatomy and histopathology of human meibomian gland. *Cornea* 2002;21:S70-74.

46. Shimazaki J, Goto E, Ono M, Shimmura S, Tsubota K. Meibomian gland dysfunction in patients with Sjögren syndrome. *Ophthalmology* 1998;105:1485-1488.

47. 小島 隆司. スリットランプ検査. In: 坪田 一男 (ed), *オキュラーサフェスのすべて*. 東京: 文光堂; 2005:35-39.

48. Mathers WD, Dolney AM, Kraemer D. The effect of hormone replacement therapy on the symptoms and physiologic parameters of dry eye. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:1017-1022.

49. Schaumberg DA, Buring JE, Sullivan DA, Dana MR. Hormone replacement therapy and dry eye syndrome. *JAMA* 2001;286:2114-2119.

50. Suzuki T, Schirra F, Richards SM, et al. Estrogen's and progesterone's impact on gene expression in the mouse lacrimal gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:158-168.

51. Wickham LA, Gao J, Toda I, Rocha EM, Ono M, Sullivan DA. Identification of androgen, estrogen and progesterone receptor mRNAs in the eye. *Acta Ophthalmol Scand* 2000;78:146-153.

52. Mathers WD, Stovall D, Lane JA, Zimmerman MB, Johnson S. Menopause and tear function: the influence of prolactin and sex hormones on human tear production. *Cornea* 1998;17:353-358.

53. Suzuki T. Hormonal Regulation of Meibomian Gland. *Atarashii Ganka* 2011;28:1099-1102.

54. 鈴木 智. マイボーム腺の月経周期による生理学的変化. *第32回角膜カンファランス*. 東京; 2008:44.

55. 鈴木 智. 月経周期に伴うマイボーム腺分泌脂の脂肪酸組成の変化. *第 67 回日本臨床眼科学会*. 横浜; 2013:153.

56. 田淵 昭雄. 眼の形態学的・機能的発達. *眼科学大系*. 東京: 金原出版株式会社; 1990:31-57.

57. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis PH. Development of the Ears and Eyes. *Larsen's Human Embryology*: Churshill Livingstone; 2009:583- 616.

58. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. Development of the skin and its derivatives. *Lasen's Human Embryology*: Churchill Livingstone; 2009:193-216.

59. Govindarajan V, Ito M, Makarenkova HP, Lang RA, Overbeek PA. Endogenous and ectopic gland induction by FGF-10. *Dev Biol* 2000;225:188-200.

60. Makarenkova HP, Ito M, Govindarajan V, et al. FGF10 is an inducer and Pax6 a competence factor for lacrimal gland development. *Development* 2000;127:2563-2572.

61. 伊藤 正孝. 総説涙腺の形態と機能. *Frontiers in Dry Eye* 2012;7:34-43.

62. Narita T, Saitoh K, Kameda T, et al. BMPs are necessary for stomach gland formation in the chicken embryo: a study using virally induced BMP-2 and Noggin expression. *Development* 2000;127:981-988.

63. Fukuda K, Kimura W, Yasugi S. Epithelial-mesenchymal interaciton during the development of stomach and intestine. *Tanpakushitsu kakusan kouso* 2007;52:126-132.