

氏 名	江 州 欣 彦
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	甲第 539 号
学位授与年月日	平成 30 年 3 月 19 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	好酸球性中耳炎における難聴進行の機序の解明
論文審査委員	(委員長) 教授 西 野 宏
	(委 員) 教授 伊 藤 真 人 教授 高 橋 將 文

論文内容の要旨

1 研究目的

近年、アレルギー疾患や好酸球に関わる疾患が多臓器に渡り指摘されている。成人発症の気管支喘息に伴う難治性の中耳炎において、中耳への好酸球浸潤が指摘され、好酸球性中耳炎の概念が提唱された。好酸球性中耳炎は 2004 年に全国疫学調査が行われ 2011 年に診断基準が示され、気管支喘息や好酸球性副鼻腔炎などの好酸球気道炎症に合併する難治性中耳炎として知られるようになった。

好酸球性中耳炎は好酸球を含む膠状の耳漏を認め炎症が遷延し、副腎皮質ステロイドの鼓室内投与を行っても、鼓膜穿孔が残存したりや難聴改善の乏しい症例が存在し課題も多い。好酸球性中耳炎の難聴進行例においては以下のような特徴がある。1) 外耳道にまで進展する中耳粘膜肥厚、2) 感音難聴の進行。以上の点を踏まえ、本研究では粘膜肥厚に着目した好酸球性中耳炎の重症度分類を提唱し解析を行った。

Periostin は好酸球疾患の組織肥厚に関わる重要なタンパク質であり、気道の上皮細胞や線維芽細胞、血管内皮細胞より産生される。気管支喘息に対するゲノム解析にて最も発現を認めたタンパクの一つであり、好酸球性疾患の粘膜肥厚や肉芽形成における働きが指摘されている。本研究では血清及び中耳粘膜に発現する Periostin に着目し解析を行った。

2 研究方法

本研究は好酸球性中耳炎における粘膜肥厚と難聴進行の関係について自治医科大学附属さいたま医療センターにて臨床研究『好酸球性中耳炎における難聴進行機序の解明』（臨床研究 第 14-94 号）に基づいて行った。

1) 対象は 68 例 136 耳(女性 38 人, 男性 30 人; 平均年齢 56.1 32-80 歳)。粘膜肥厚による重症度 Grade 分類(下記)を用い、聴力・骨導閾値上昇・感染・鼓膜穿孔について解析を行った。

<粘膜肥厚による重症度 Grade 分類>

Grade1 (G1) : 中耳粘膜の肥厚が殆どみられない

Grade2 (G2) : 中耳粘膜がみられるが中鼓室内に局限している

Grade3 (G3) : 中耳粘膜が鼓膜を越え外耳道側へ進展している

2) 対象は14耳 (G1: 4耳、G2: 6耳、G3: 4耳)。好酸球性中耳炎の中耳粘膜の組織学的検討およびperiostinの発現について解析を行った。経外耳道的に中耳粘膜を採取し4%ホルマリン固定した。パラフィン包埋し5 mmに切片を作成した。各サンプルは脱パラフィンしたのちそれぞれH&E染色及び1:2000倍に希釈した抗Periostin抗体(ab14041)を用い染色した。染色はENVISION+/HRP (DAB) kit system (Dako Cytomation, Glostrup, Denmark)を用いた。組織の評価にはBiozero BZ-X700 microscope (Keyence)を用い、BZ-H3C software color extractionにて組織中のPeriostin発現面積割合を算出した。

3 研究成果

好酸球性中耳炎において、粘膜肥厚に着目した重症度 Grade 分類は病勢評価及び治療方針を決定する上で有効であると考えられる。136耳の解析において、G3はG1、G2と比較し気導閾値が高く (G2 - G1; $P < 0.001$, G3 - G1; $P < 0.001$)、同様に骨導閾値もまたG3はG1、G2と比較し高い事が示された (G2 - G1; $P = 0.043$, G3 - G1; $P < 0.001$, G3 - G2; $P < 0.001$)。好酸球性中耳炎において、長期に観察された56耳中12耳 (21.4%) に15dB以上の骨導閾値上昇を認めた。骨導閾値上昇群は骨導維持群と比較し優位に粘膜肥厚を認めていた。また、粘膜肥厚を有する症例は優位に感音難聴を来していた (logrank 検定: $P=0.018$)。

粘膜肥厚病態を有した症例では細菌感染を伴うことが多いため、菌種別に感染リスク及び感音難聴発生リスクを解析した。中耳感染の病原体は *S. aureus*、CNS、緑膿菌、MRSA、真菌の順に多い結果となった。上記についてCOXハザード解析を行ったところ、緑膿菌に感染例はハザード比8.39にて優位に感音難聴を来していることが示された。また生存回帰曲線にて緑膿菌感染を来した症例は、同菌の感染が無かった症例と比較し優位に感音難聴を生じていた (logrank 検定: $P < 0.001$)。

粘膜肥厚病態と鼓膜穿孔について解析した結果、対象の54%に鼓膜穿孔を認め、一象限を超える穿孔)以上の穿孔を認めた症例はG1で11/59(18.6%)、G2で11/33(33.3%)、G3では6/8(75%)であった。中耳粘膜肥厚が進行した症例では穿孔が大きい傾向にあった。

治療法としてG1では鼓膜形成が有効であり、G3では経外耳道的粘膜除去術が有効であった。

中耳粘膜の組織を解析した結果、PeriostinはG1では粘膜基底膜直下に染色像を認め、G2では肥厚した基底膜に、G3では粘膜固有層まで進展した高度な沈着を認めた。Periostinの分布を面積比はG1-G2 ($P=0.042$)、G1-G3 ($P < 0.001$)にてそれぞれ有意差を認めた。G3において粘膜固有層に発現していたPeriostinは固有層の微小血管周囲によく発現していた。

4 考察

粘膜肥厚が進行すると難聴が進行していた。粘膜肥厚及び緑膿菌感染は感音難聴発生のリスク因子と考えられた。中耳粘膜の肥厚病態が大きな鼓膜穿孔の残存にかかわることも示され、中耳の感染リスクを上昇させると考えられる。

中耳粘膜肥厚はGradeが進行するほどPeriostinの発現し、組織のリモデリングが生じていると考えられた。中耳粘膜におけるPeriostinの発現分布と治療抵抗性について検討した結果、G3ではPeriostinは基底膜のみならず固有層に広範に発現しており、副腎皮質ステロイドの治療に反応しなかった。G1.2ではPeriostinは基底膜周囲にのみ発現しており、線維芽細胞由来Periostin

と考えられる。線維芽細胞由来の Periostin は副腎皮質ステロイドにより発現が抑制される。しかし、G3 のような肥厚した中耳粘膜の固有層に発現する血管内皮細胞由来の Periostin による炎症サイクルは副腎皮質ステロイドには反応せず、結果、副腎皮質ステロイドに対する治療抵抗性が獲得されると考えられた。

5 結論

本研究において好酸球性中耳炎において、粘膜肥厚病態を Grade 分類し評価することは治療方針を決定する上で重要だと考えられた。粘膜肥厚が進展すればするほど気導及び骨導聴力は悪化する。粘膜肥厚病態の G3 への進行や緑膿菌感染は感音難聴のリスクと考えられる。Periostin は中耳のリモデリングに作用し鼓膜穿孔の残存や局所治療の反応性と関連があることが示唆された。

G1 では副腎皮質ステロイドの鼓室内投与は有効であった。また、治療中に生じた鼓膜穿孔に対する鼓膜形成術も有効である。G2 は鼓膜穿孔のコントロールは困難であり好酸球性炎症の慎重なコントロールが必要である。感染を伴い炎症が増悪する症例や内耳障害が生じる症例が存在するが、副腎皮質ステロイドの局所及び全身投与は有効である。G3 では中耳粘膜固有層に Periostin の沈着を認め、副腎皮質ステロイド治療に抵抗する。難聴の進行を食い止めるためには、肥厚粘膜を外科的に減量し炎症の増悪因子である Periostin を減量させることが必要である。好酸球性中耳炎において、感音難聴は不可逆的難聴であり、難聴進行の抑制と好酸球性中耳炎の根治治療のためには更なる治療法の研究が必要である。

論文審査の結果の要旨

慢性中耳炎の新しい概念である好酸球性中耳炎について研究がまとめられた。新しい概念であるため、その臨床経過と治療成績および病理学的検討は未だ十分にされていない背景がある。本論文では68例136耳について検討されており、これだけの症例数をまとめた研究は初めてであり学問的意義は高いと考えられた。

本論文では1：中耳粘膜肥厚の程度と気骨導閾値の上昇に相関関係が認められること、2：緑膿菌感染が聴力増悪に関与していること、3：厚く肥厚した粘膜および肉芽では全体に Periostin の発現が強いことが明らかにされた。発現状態よりこの Periostin は血管内皮細胞より産生された可能性が指摘された。血管内皮細胞で産生された Periostin によるステロイド抵抗性の現象が他の疾患で報告されていることより、好酸球性中耳炎のステロイド抵抗性を示す一つの理由と考察された。最後に病状とその治療方針についてまとめられた。粘膜肥厚が軽微な症例はステロイド鼓室内投与と鼓膜形成術、粘膜肥厚が中程度の症例ではステロイド全身投与、粘膜肥厚が高度で肉芽形成を伴う症例には抗菌薬併用のステロイド全身投与および経外耳道的肉芽除去術の治療方針が推奨された。

当初提出された論文では1：統計学的解析方法が明記されていない部位があること、2：実験手技が具体的に記載されていない部位があること、3：組織の写真にスケールまたは倍率が記載されていないこと、4：図そのものが見にくい点が指摘された。以上のように論文作成の基本的な事項が不十分であった。しかしながら指摘後に改定された論文では、研究目的・方法・結果が明確にわかりやすく記載された。

本学位論文の内容は好酸球性中耳炎の病態の一部を解明したに過ぎない。Periostin 発現の解釈もさらに検討する必要はある。しかしながら新しい疾患概念である好酸球性中耳炎の病態の一部を整理して明らかにし、また病状に応じた病態を考察した上で病状別に治療方針を模索したことは、今後の医療の進歩に多大な影響を与えると判断された。医学博士授与に十分値する論文と審査委員全員一致して判断をした。

最終試験の結果の要旨

新しい疾患概念のため既知の疾患との鑑別がまず重要である。好酸球性多発血管炎性肉芽腫症および好酸球性増多症との鑑別について質問されたが適確に答えられた。次に臨床症状と鼓膜所見の解析について質問がされた。好酸球性中耳炎の臨床症状とその鼓膜所見を用いて、好酸球性中耳炎の病状とその病態が的確に答えられた。中耳腔の粘膜肥厚が厚くなるほど耳漏の程度と難聴の程度が強く、治療に抵抗を示すことが説明された。特に緑膿菌感染を合併すると感音難聴を生じることが説明された。続いて鼓室肉芽の病理所見について説明がされた。粘膜肥厚および肉芽が厚いほど好酸球性中耳炎の病期は進行し、Periostin の発現が強くなることを明らかにした。発現状態よりこの Periostin は血管内皮細胞より産生された可能性を指摘し、進行した病期の好酸球性中耳炎がステロイド抵抗性を示す理由の一つとして考察された。この Periostin の発現の状態について質問がされ概ね適切に答えられたが、その発現意義はさらなる検討が必要とされた。

本試験においては以下の点が明らかにされた。1：鼓室粘膜肥厚の程度が強いと聴力低下をきたすこと、2：鼓室粘膜肥厚に緑膿菌感染が加わると骨導閾値が上昇し難聴の程度が高度になること、3：鼓室粘膜肥厚が強度になるとステロイド治療に抵抗性を示すこと、4：肥厚が強度の鼓室粘膜の間質に Periostin の発現がびまん性に認められること、5：組織学的検討より前記 Periostin は血管内皮細胞由来であり、ステロイド抵抗性の理由になること、6：以上の結果より鼓室粘膜肥厚および肉芽が強度の好酸球性中耳炎は経外耳道的肉芽除去術を施行後に全身ステロイド投与と抗菌薬投与が適切である事を明らかにした。

試験中落ち着いた態度で真摯に質問に答えていた。また現時点での本研究結果の限界を理解し将来の展望も発表された。研究に対する考えおよび最終試験中の態度は医学博士授与に十分値すると審査委員全員一致して判断をした。