

表 題 好酸球性中耳炎の病態解明

論文の区分 博士課程

著 者 名 増田 麻里亜

担当指導教員氏名 吉田 尚弘 教授

所 属 自治医科大学大学院医学研究科
専攻 地域医療学系
専攻分野 総合医学
専攻科 外科系総合医学

2020年1月10日申請の学位論文

目次

略語一覧	1
第 1 章 はじめに	2
第 2 章 好酸球性中耳炎における感染	
A 感音難聴のリスク因子	5
2-1. 目的	
2-2. 研究デザイン	
2-3. 対象と方法	
2-4. 結果	
2-5. 考察	
B 耳漏中の好中球遊走と難聴	10
2-6. 目的	
2-7. 研究デザイン	
2-8. 対象と方法	
2-9. 結果	
2-10. 考察	
C 感染のリスク因子	13
2-11. 目的	
2-12. 研究デザイン	
2-13. 対象と方法	
2-14. 結果	
2-15. 考察	

D 鼓膜穿孔	15
2-16. 目的	
2-17. 研究デザイン	
2-18. 対象と方法	
2-19. 結果	
2-20. 考察	
E 耳漏と鼻汁の細菌培養検査	20
2-21. 目的	
2-22. 研究デザイン	
2-23. 対象と方法	
2-24. 結果	
2-25. 考察	
F 中耳洗浄液および血清中の IL-5、IL-8 測定	24
2-26. 目的	
2-27. 研究デザイン	
2-28. 対象と方法	
2-29. 結果	
2-30. 考察	
G 感染と中耳貯留液中のサイトカイン	26
2-31. 目的	
2-32. 研究デザイン	
2-33. 対象と方法	
2-34. 結果	
2-35. 考察	

第 3 章 好酸球性中耳炎の治療	
A 鼓膜穿孔とステロイド鼓室内投与	30
3-1. 目的	
3-2. 研究デザイン	
3-3. 対象と方法	
3-4. 結果	
3-5. 考察	
B 分子標的薬と中耳粘膜の病理	33
3-6. 目的	
3-7. 研究デザイン	
3-8. 対象と方法	
3-9. 結果	
3-10. 考察	
第 4 章 今後の展望	38
謝辞	40
引用文献	41

略語一覧

ANOVA : One way analysis of variance
bFGF : basic fibroblast growth factor
CNS : coagulase negative Staphylococcus
G-CSF : granulocyte-colony stimulating factor
GM-CSF : granulocyte macrophage-colony stimulating factor
IFN : Interferon
IgE : Immunoglobulin E
IL: Interleukin
IP-10 : interferon-inducible protein-10
NS : Not significant
MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1
MIP : Macrophage Inflammatory Proteins
MRSA : Methicillin-resistant Staphylococcus aureus
TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α
RANTES : Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted
PDGF-BB : Platelet-derived growth factor-BB
Ps. aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa (緑膿菌)
S. aureus : Staphylococcus aureus (黄色ブドウ球菌)
TGF- β : Transforming growth factor- β
VEGF : Vascular endothelial growth factor

第 1 章 はじめに

近年、好酸球性中耳炎や ANCA 関連血管炎性中耳炎の存在が明らかになり、難治性中耳炎として知られるようになった。これらの多くでは骨導閾値の上昇する感音難聴が引き起こされることがあり、治療に難渋する。感音難聴は好酸球性炎症や感染などの因子、血管炎などの因子が複雑に関連して引き起こされると考えられているが、その病態の多くはまだ解明されていない。今研究では、難治性中耳炎の一つである好酸球性中耳炎に注目した。

1993 年頃より、気管支喘息に合併した難治性中耳炎症例が報告されるようになった。その後、森中らによって好酸球を含む粘稠な貯留液を有する難治性滲出性中耳炎が報告された[1]。1997 年に富岡らは 7 症例をまとめて報告し、中耳貯留液に著明な好酸球浸潤を認める中耳炎に好酸球性中耳炎“eosinophilic otitis media”という名称を提昌した[2]。2011 年になって、飯野らにより診断基準が提案された（表 1）[3]。好酸球性中耳炎は治療法として、副腎皮質ステロイドの鼓室内注入が有効とされており[4]、病状の安定しない場合は全身投与を行う。しかし、一部の症例では経過中に細菌感染を伴い、炎症が増悪する。感染が生じた場合には抗菌薬の全身または局所投与を行うが、耳漏のコントロールが困難となる症例が多く、感音難聴を生じる症例がある。好酸球性中耳炎においては、主として中耳貯留液中に好酸球が見られ、膠状となる耳漏が特徴であるが、感染を伴うと耳漏の性状が漿液性に変化する（図 1）。中耳内での好中

（表 1）好酸球性中耳炎診断基準

大項目

好酸球優位な中耳貯留液が存在する滲出液中耳炎／慢性中耳炎

小項目

- 1) 膠状の中耳貯留液
- 2) 中耳炎に対する従来の治療に抵抗
- 3) 気管支喘息の合併
- 4) 鼻茸の合併

確実例：大項目＋小項目 2 つ以上

除外例：好酸球性多発血管炎性肉芽腫症・好酸球増多症候群

(Iino ら、*Auris Nasus Larynx*, 2011) [3]

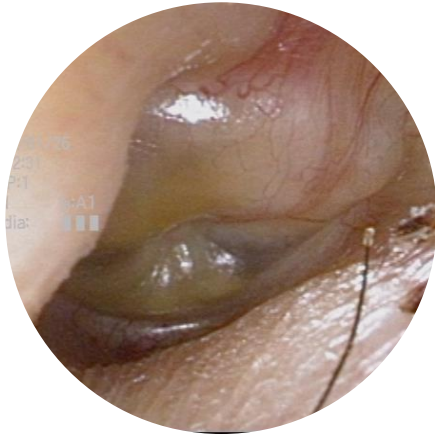
球炎症が耳漏の性状を変化させ、感音難聴を進行、重症化させる可能性が考えられた。

本研究では、感染に注目して好酸球性中耳炎症例を解析し、感染と関連のある因子につき検討を追加した。研究は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）および臨床研究『難治性中耳炎の中耳貯留液の解析』（臨床研究 第18-019号）に基づいて行った。

(図1) 感染による耳漏の変化

<鼓膜所見>

非感染耳

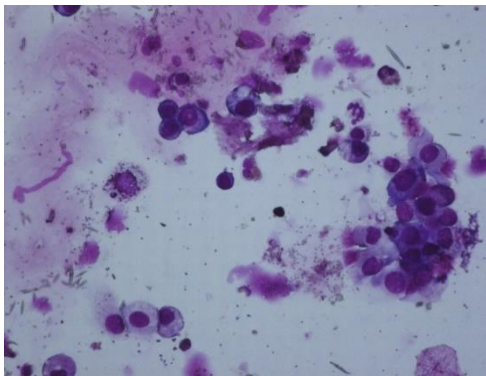


感染耳

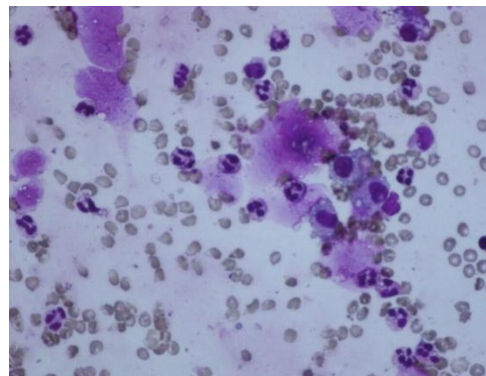


<耳漏細胞診所見>

非感染耳



感染耳



上段に実際の好酸球性中耳炎の非感染耳と感染耳の鼓膜所見を示した。非感染耳では、耳漏は黄色膠状が中耳内に貯留している。感染耳では、耳漏は混濁漿液性に変化している。

下段は好酸球性中耳炎の非感染耳と感染耳の耳漏細胞診の所見である。白血球分画は非感染耳では好中球6%、リンパ球14%、好酸球38%であり、感染耳では好中球69%、リンパ球8.5%、好酸球0.5%であった。

第2章 好酸球性中耳炎における感染

A 感音難聴のリスク因子

2-1. 目的

好酸球性中耳炎では経過中に感音難聴を進行し、患者のQOLを著しく低下させることがある。このような感音難聴をきたす因子を検討するため、好酸球性中耳炎患者の臨床的特徴について解析を行った。

2-2. 研究デザイン 縦断研究 後ろ向き研究

2-3. 対象と方法

対象 2012年から2018年までの7年間に、自治医科大学附属さいたま医療センターにて両側好酸球性中耳炎と診断されて治療を受けた72人144耳、男性32人、女性40人、年齢34-83歳（平均±標準偏差：57.8±4.7歳）、観察期間5-163カ月（中央値：52.5カ月）

方法 対象の臨床的特徴を評価し、骨導聴力との関連を解析した。

対象は1-3カ月に1度の外来通院をしており、中耳貯留液を認める際には副腎皮質ステロイド（トリアムシノロンアセトニド）の鼓室内投与や内服が行われ、感染合併時には抗菌薬の内服投与や外用が行われた。

聴力レベルの評価には純音聴力検査（AA-H1; RION、東京、日本）を使用した。骨導閾値は会話領域3分法（500, 1000, 2000 Hz）を用いて表記した。また、骨導閾値が40dBを越えるものを感音難聴とした。

評価を行った臨床的特徴は、性別、肥満、コントロール不良の糖尿病、コントロール不良の気管支喘息、副鼻腔根本術（ESS）の既往、副腎皮質ステロイドの内服、中耳粘膜肥厚、感染、耳漏と鼻汁の細菌培養検査の一致の9項目である。BMIが30 kg/m²よりも大きいものを肥満とした。初診時および外来経過観察中に血液検査を行っており、今研究期間最終の血液検査データを使用した。HbA1c>6.5%のものをコントロール不良の糖尿病と判断した。呼吸機能検査は、スパイロメトリー（CHESTAC-8900; CHEST M. I.、東京、日本）を使用して評価した。一秒率が70%に満たないものをコントロール不良の気管支喘息と判断した。

中耳粘膜の肥厚は、好酸球性中耳炎の重症度分類にならい[5]、中耳粘膜の肥厚がわずかのもの (Grade1)、肥厚は認めるものの中耳内にとどまるもの (Grade2)、肥厚が強く粘膜が鼓膜を越えているもの (Grade3) の3段階に分類した (図2)。今研究では、Grade2以上のものを中耳粘膜肥厚ありと判断した。

(図2) 粘膜肥厚の Grade 分類



(Iino ら、*Otol Neurotol*, 2012) [5]

対象は初診時および再診時に混濁漿液性耳漏や膿性鼻汁が観察されるときなど感染が考えられる毎に耳漏および鼻汁の細菌培養検査を提出した。検査において、検体の採取は綿棒型のスワブ (Copan Diagnostics, Murrieta, CA) を使用して行われ、採取された耳漏はトリプトンソイ 5%ヒツジ血液寒天培地、チョコレート II 培地、デオキシコール酸塩-硫化水素-ラクトース (DHL) 培地、卵黄加マンニット食塩培地 (MSEY)、MRSA-CI 培地 (Kyokuto Pharmaceutical Industrial, Tokyo, Japan) は 35°Cにて 48 時間、サブロー寒天培地は常温で 2 週間培養した。トリプトンソイ 5%ヒツジ血液寒天培地、チョコレート II 培地は 5.6%二酸化炭素下にて培養された。同定された細菌、真菌のうち常在菌以外が同定されたものを起炎菌と判断し、起炎菌が同定されたものを感染ありと定義した。統計学的解析には統計ソフト R (R Development Core Team, Vienna, Austria) を使用した。同定された検体が 2 検体以下であった少数同定の菌種は解析から除外した。

対象には、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)または臨床研究『難治性中耳炎の中耳貯留液の解析』(臨床研究 第 18-019 号)についての説明を行い、書面にて同意を得た。

2-4. 結果

表 2 に対象の臨床的特徴を示した。観察期間中に感音難聴を認めたのは 144 耳中 18 耳であり、感染があったのは 144 耳中 61 耳だった。中耳粘膜肥厚は、Grade1 が 122 耳 (84.7%)、Grade2 が 17 耳 (11.8%)、Grade3 が 5 耳 (3.5%) であり、中耳粘膜肥厚ありと判断したのは 22 耳 (15.3%) だった。

ロジスティック解析による感音難聴と臨床的特徴との関連は表 3 のようになった。コントロール不良の糖尿病 ($p=0.0486$) と感染 ($p=0.0169$) および中耳粘膜肥厚 ($p=0.00115$) が感音難聴と有意差をもって関連していると示された。それぞれのオッズ比は順に 5.22 倍、7.13 倍、8.35 倍であり、感音難聴のリスク因子と考えられた。

(表 2) 好酸球性中耳炎の臨床的特徴

N=72	
性別 (男:女)	32:40
年齢 (歳)	57.8±4.7
一秒率 (%)	64.7±11.2
BMI (kg/m ²)	23.7±4.7
HbA1c (%)	6.7±6.1

今回対象とした好酸球性中耳炎 72 人の臨床的特徴をまとめた。値は性別を除き、平均±標準偏差を示している。

2-5. 考察

好酸球性中耳炎の感音難聴のリスクについての検討では、感音難聴と関連する因子として、コントロール不良の糖尿病、中耳粘膜肥厚、感染があることが示された。感音難聴と糖尿病については、かねてより関連性が指摘されており、血管条の毛細管肥厚などが原因と考えられている[6]。また当院の江洲らの臨床研究により、好酸球性中耳炎において中耳粘膜肥厚は感音難聴進行のリスクであることはすでに報告されている[7]。

(表3) 感音難聴のリスク因子

ロジスティック回帰分析 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

	オッズ比	p 値	95%信頼区間
性別	0.346	0.152	0.0807–1.48
肥満	1.53	0.541	0.394–5.91
コントロール不良の 糖尿病	5.22	0.0486 *	1.01–27.0
コントロール不良の 気管支喘息	0.928	0.920	0.219–3.93
ESS の既往	1.14	0.836	0.323–4.04
ステロイド内服	0.546	0.497	0.0953–3.13
中耳粘膜肥厚	8.35	0.00115 **	2.32–30.0
感染	7.13	0.0169 *	1.42–35.7
耳漏と鼻汁の 細菌培養検査の一致	0.234	0.0771	0.0469–1.17

肥満 : BMI > 30 kg/m²、コントロール不良の糖尿病 : HbA1c > 6.5%、コント

ロール不良の気管支喘息 : 一秒率 < 70%

対象とした好酸球性中耳炎 144 耳の感音難聴のリスクを臨床的特徴 9 因子について解析した。コントロール不良の糖尿病、中耳粘膜肥厚、感染の 3 因子において、有意差をもって感音難聴をきたしやすいことが示された。

感染が好酸球性中耳炎の経過を不良とすることについては、実際の臨床の現場でも経験することが少なくない。今までの報告では、中耳貯留液中のサイトカインを測定した研究では、好酸球性中耳炎の中耳炎症には好酸球と好中球が関与していることが示唆されている [8]。また、Iino らは慢性中耳炎と比較して、好酸球性中耳炎は高音難聴と重度難聴とをきたしやすいことを示した上で、感音難聴の悪化を防ぐためには、好酸球性炎症と細菌感染の管理が必須であると述べている [9]。昨今では、好酸球性気道炎症である気管支喘息のフェノタイプ分類において、Green らが好中球炎症に言及する報告をしている [10]。Green らは、正常コントロール 34 人と症候性喘息の成人 259 人における、副腎皮質ステロイド吸入治療前後の下気道炎症を、誘発痰を用いて非侵襲的に評価した。その結果、正常範囲よりも高い好中球数と正常範囲内にとどまる好酸球数を伴った 60 人の患者のサブグループでは、治療後の症状改善が有意に少なかった。こ

れにより、好酸球性炎症に好中球炎症が付随して生じている症例では喘息のコントロールが難しいことが示唆されており、中耳での好酸球性炎症である好酸球性中耳炎についても同様の結果が得られる可能性がある。好酸球性中耳炎は、病態の本質と考えられる好酸球性炎症に注目しやすいが、感染による好中球炎症に着目することで新たな病態や治療戦略の発見につながるのではないかと考えられた。

B 耳漏中の好中球遊走と難聴

2-6. 目的

感染に着目して好酸球性中耳炎の予後を考える上で、感染によって生じる好中球遊走に着目した。耳漏中の好中球遊走と感音難聴との間に関連がないか解析を行った。

2-7. 研究デザイン 縦断研究 後ろ向き研究

2-8. 対象と方法

対象 観察1年以上を経過した好酸球性中耳炎患者 45 人 59 耳

方法 経過観察のための来院時に認めた耳漏を顕微鏡下で観察し、血球数の計測を行った。計測は倍率 x400 のもとで、200 カウントで行った。

採取した耳漏検体中の好酸球と好中球の割合の比較により、1)白血球分画において好中球が好酸球よりも10%以上多いもの(好酸球<好中球)、2)好酸球と好中球の差が10%未満のもの(好酸球=好中球)、3)好酸球が好中球よりも10%以上多いもの(好酸球>好中球)の3段階に分類した。病態により耳漏中の好酸球と好中球の白血球分画は変化し、血管透過性が亢進して耳漏の生じた中耳では耳漏と血清中の白血球分画が類似する可能性も考えられるため、血清中の白血球分画の基準値(40≦好中球≦70(%), 2≦好酸球≦5(%))に準じて、好酸球と好中球の遊走の程度を評価し、3段階に分類した。

骨導閾値は第2章Aの項に記載した方法に準じて、会話領域3分法で評価し、骨導閾値が40dB以上のものを感音難聴と定義した。

対象には、臨床研究『難治性中耳炎の中耳貯留液の解析』(臨床研究 第18-019号)についての説明を行い、書面にて同意を得た。

2-9. 結果

耳漏中の好酸球と好中球の遊走の程度と感音難聴との関連は表4の通りである。耳漏中の好酸球と好中球遊走のどちらが有意であるかの検討では、好酸球、好中球のいずれの遊走が勝っていてもそれと骨導聴力との関連は示されなかった。好酸球、好中球それぞれの遊走の程度で解析すると、好酸球の割合が2%未満の群と2%以上5%以下の群、5%より多い群との間に骨導聴力に関連は認め

(表4) 好酸球と好中球の遊走の程度と感音難聴

フィッシャーの正確確率検定 * : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$

	感音難聴なし	感音難聴あり		
N=	50	9		
好酸球 < 好中球	32	8] $p=0.663$]	$p=0.320$
好酸球 = 好中球	10	1		
好酸球 > 好中球	8	0		
<hr/>				
	感音難聴なし	感音難聴あり		
N=	50	9		
$0 \leq$ 好酸球 < 2 (%)	12	4] $p=0.427$]	$p=0.336$
$2 \leq$ 好酸球 \leq 5 (%)	25	4		
$5 <$ 好酸球 (%)	13	1		
<hr/>				
	感音難聴なし	感音難聴あり		
N=	50	9		
$0 \leq$ 好中球 < 40 (%)	24	0] $p=0.00840^{**}$]	$p=0.0219^*$
$40 \leq$ 好中球 \leq 70 (%)	8	4		
$70 <$ 好中球 (%)	18	5		

対象とした好酸球性中耳炎 59 耳より採取した耳漏中の白血球分画と感音難聴との関連を解析した。好酸球と好中球のどちらが優位であるか、および好酸球の割合に対しては、感音難聴は関連を示さなかった。好中球の割合が増加すると感音難聴はきたしやすいたことが示された。

なかった (それぞれ $p=0.427$ 、 0.336)。耳漏中の好中球の割合では、好中球の割合が 40%未満の群と 40%以上 70%以下の群、70%より多い群との比較で有意差をもって骨導聴力との関連が示された (それぞれ $p=0.0084$ 、 0.0219)。

2-10. 考察

中耳の感染が内耳へ波及し、内耳炎から感音難聴をきたすという報告はあり、その機序について検討がされてきた。現在、中耳炎症が正円窓を経由して内耳に波及して内耳細胞障害が生じるとする説が広く認められている[10]。炎症の過程において正円窓膜の透過性が亢進することによってこの内耳の細胞障害は

生じる[11]とされており、実際に側頭骨病理標本においても、中耳感染のある症例で正円窓膜が浮腫を起こして好中球を含む白血球浸潤を認めるのが観察されている (Schuknecht' s Pathology of the Ear. Third Edition. p. 291 Figure 5. 20)。

本研究では、好酸球性中耳炎において耳漏中の好酸球および好中球の遊走と感音難聴の関連を検討した。好酸球遊走については、好中球遊走と比較した有意性においても、好酸球遊走の亢進の単独の要素としても、感音難聴には関連しないことが分かった。それに対して、好中球遊走の亢進は感音難聴をきたしやすいという結果であった。これは、好酸球性気道炎症である気管支喘息のフェノタイプ分類において、好酸球性炎症に好中球炎症が付随して生じている症例では喘息のコントロールが難しいとう報告[12]に矛盾しない結果である。好酸球性中耳炎をコントロールする上では、好酸球性炎症だけでなく、細菌感染により生じる好中球遊走が重要な要素となることが示唆された。

C 感染のリスク因子

2-11. 目的

好酸球性中耳炎の感音難聴を進行させるリスクとなる感染について考える。感染と関連のある臨床的特徴を検索する。

2-12. 研究デザイン 縦断研究 後ろ向き研究

2-13. 対象と方法

対象 2012年から2018年までの7年間に、自治医科大学附属さいたま医療センターにて両側好酸球性中耳炎と診断されて治療を受けた72人144耳、男性32人、女性40人、年齢34-83歳（平均±標準偏差：57.8±4.7歳）

方法 リスク因子としての評価を行ったのは、性別、肥満、コントロール不良の糖尿病、コントロール不良の気管支喘息、副鼻腔根本術（ESS）の既往、鼓膜穿孔、中耳粘膜肥厚、耳漏と鼻汁の細菌培養検査の一致の8項目である。感染、肥満、コントロール不良の糖尿病、コントロール不良の気管支喘息については、第2章Aの項に記載した定義に準じて判断した。副腎皮質ステロイド鼓室内投与は、1年に4回以上のものを高頻度とした

鼓膜穿孔は視診にて鼓膜に穿孔を認めるものとし、副腎皮質ステロイドの鼓室内投与によって生じたと考えられる小穿孔は除外した。除外した小穿孔は、いずれも閉鎖まで3カ月はかからなかったものである。

対象には、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）または臨床研究『難治性中耳炎の中耳貯留液の解析』（臨床研究 第18-019号）についての説明を行い、書面にて同意を得た。

2-14. 結果

感染と有意差をもって関連が示されたのは、鼓膜穿孔（ $p<0.01$ ）と耳と鼻の細菌培養検査結果の一致（ $p<0.0001$ ）の2項目だった（表5）。それぞれのオッズ比は6.24、43.4であった。

(表5) 感染のリスク因子

ロジスティック回帰分析 ** $p < 0.001$

	オッズ比	p 値	95%信頼区間
性別	0.624	0.474	0.190-2.16
肥満	0.849	0.808	0.228-3.17
コントロール不良の 糖尿病	0.735	0.730	0.128-4.23
コントロール不良の 気管支喘息	2.88	0.0810	0.877-9.48
ESS の既往	0.772	0.675	0.230-2.59
鼓膜穿孔	6.24	$< 0.001^{**}$	1.94-20.1
中耳粘膜肥厚	3.90	0.107	0.746-20.4
耳漏と鼻汁の 細菌培養検査の一致	43.4	$< 0.001^{**}$	12.8-148

肥満 : BMI $> 30 \text{ kg/m}^2$ 、コントロール不良の糖尿病 : HbA1c $> 6.5\%$ 、コント

ロール不良の気管支喘息 : 一秒率 $< 70\%$

対象とした好酸球性中耳炎 144 耳の感染のリスクを臨床的特徴 8 因子について解析した。鼓膜穿孔と耳漏と鼻汁の細菌培養検査の一致の 2 因子において、有意差をもって感染をきたしやすいことが示された。

2-15. 考察

結果より、鼓膜穿孔と耳漏と鼻汁の細菌培養検査結果の一致の 2 項目が感染のリスクとして有意な結果であった。

穿孔により感染が経外耳道的に引き起こされるようになる可能性が示唆される。一方で、感染によって穿孔が生じやすくなっているという点も同様に想起され、穿孔の前後での感染についての追加の検討が必要と考えられた。

耳漏と鼻汁の細菌培養検査結果の一致は経耳管感染を示唆した。好酸球性中耳炎患者に耳管機能検査を行うと耳管開放時間の延長を有する症例が多い、すなわち好酸球性中耳炎患者は耳管開放傾向にある症例が多いと報告されている [13]。耳管開放症の患者には自声強聴や耳閉感などの自覚症状を、鼻すすりをするすることで耳管を閉塞させて軽快させていることが多い [14]。耳管開放のある症例は耳管開放のない症例に比べて、鼻すすりにより耳管経由に感染が生じやすくなっている可能性もある。

D 鼓膜穿孔

2-16. 目的

鼓膜穿孔の有無とその大きさおよび穿孔前後の感染の有無を調べることで、鼓膜穿孔と感染との関連を検討する。また、鼓膜穿孔と骨導聴力についても調べることで、鼓膜穿孔と感音難聴との関連も検討する。

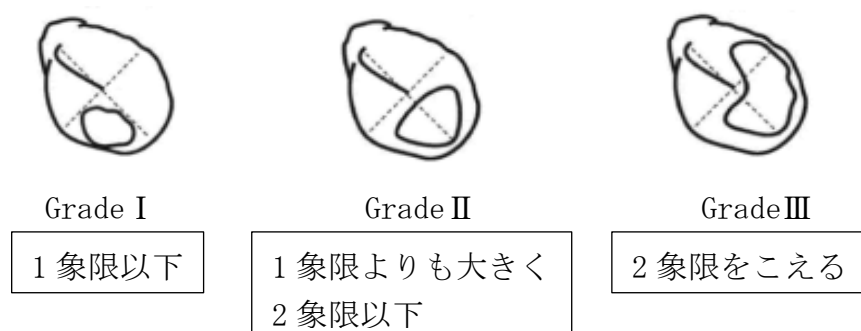
2-17. 研究デザイン 縦断研究 後ろ向き研究

2-18. 対象と方法

対象 2012年から2018年までの7年間に、自治医科大学附属さいたま医療センターにて両側好酸球性中耳炎と診断されて治療を受けた72人144耳、男性32人、女性40人、年齢34-83歳（平均±標準偏差：57.8±4.7歳）

方法 観察開始時および観察終了時の穿孔の有無、穿孔の大きさ、観察期間中の感染の有無を検索した。また、観察開始時に穿孔がなかった群について、観察期間中に穿孔を生じなかった群、観察期間中に穿孔を生じた群の穿孔前後の感染率についても解析した。対象は1-3カ月に1度の外来通院をし、中耳貯留液を認める際には鼓膜穿刺により副腎皮質ステロイド（トリアムシノロンアセトニド）の鼓室内投与を行った。感染、穿孔の定義については第2章Aの項の記載に準じた。穿孔の大きさは吉川の分類[15]に基づいて、穿孔が1象限以下の穿孔をGrade I、1象限よりも大きく2象限以下の穿孔をGrade II、2象限をこえる穿孔をGrade IIIとして、3段階に分類した（図3）。

(図3) 鼓膜穿孔の大きさの分類(吉川の分類)



(吉川ら、耳鼻臨床、1985) [15]

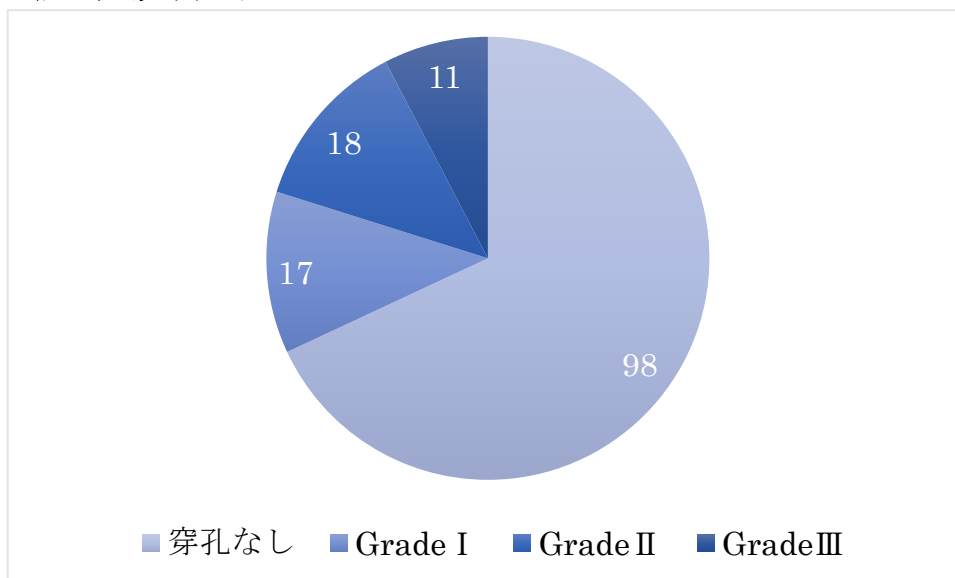
また、観察終了時の聴力検査の結果をもとに、穿孔の有無および穿孔の大きさと骨導聴力との関連を解析した。

対象には、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）もしくは臨床研究『難治性中耳炎の中耳貯留液の解析』（臨床研究 第 18-019 号）についての説明を行い、書面にて同意を得た。

2-19. 結果

144 耳中、観察開始時に穿孔のなかったのは 98 耳 (68.1%)、穿孔のある耳は Grade I が 17 耳 (11.8%)、Grade II が 18 耳 (12.5%)、Grade III が 11 耳 (7.6%) であった (図 4)。観察終了時に穿孔があったのは、144 耳中 67 耳 (46.5%) だった。穿孔がある耳で感染を生じたのは 67 耳中 48 耳 (62.3%) であり、穿孔がない耳で感染を生じた 77 耳中 13 耳 (16.9%) と比較して、有意に感染が生じていた ($p < 0.001$)。

(図 4) 観察開始時の穿孔とその大きさ



(全 144 耳)

好酸球性中耳炎 144 耳の観察開始時の穿孔の大きさを吉川の分類に基づいた Grade I、Grade II、Grade III の 3 段階に分類した。穿孔なしおよび穿孔の大きさ別の穿孔ありの好酸球性中耳炎耳の数をグラフに表した。穿孔のあった耳は 144 耳中 46 耳であり、全体の 32.0% を占めた。

また、観察開始時に穿孔のなかった98耳において、期間中に穿孔を生じなかったのは82耳(83.7%)であり、うち感染を生じたのは20.7%(82耳中17耳)であった。期間中に穿孔を生じた16耳(16.3%)では、穿孔前に感染があったのが2耳(12.5%)、穿孔後に感染があったのが6耳(37.5%)であった(表5)。穿孔の大きさと感染についての検討では、Grade Iでは17耳中11耳、Grade IIでは18耳中16耳、Grade IIIでは11耳中全てで感染を認めた(表6)。

(表5) 穿孔と感染率

	穿孔なし	穿孔あり (N=16)	
	(N=82)	穿孔前	穿孔後
感染あり	17	2	6
感染なし	65	14	10
感染率(%)	20.7	12.5	37.5

観察開始時に穿孔のなかった98耳について、感染を生じた耳数を計測した。穿孔なしの群では観察期間中に感染があった耳、観察期間中に穿孔を生じた群では穿孔前と穿孔後の2期に分けて感染があった耳数を計測した。感染率は、経過中に穿孔が生じた耳の穿孔前、穿孔なし、経過中に穿孔が生じた耳の穿孔後の順に上昇を示した。

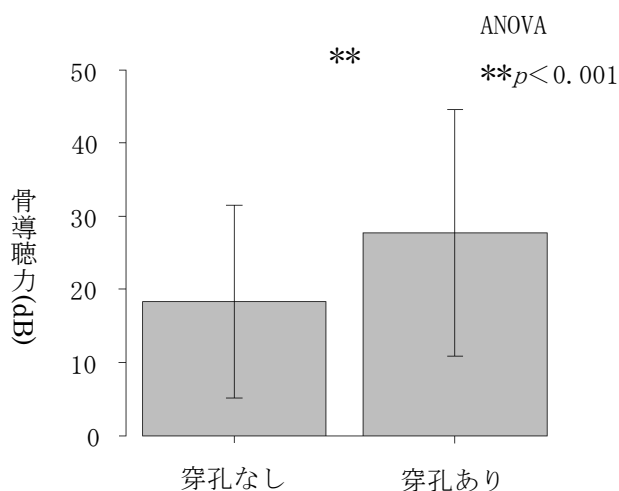
(表6) 穿孔の大きさと感染

	Grade I	Grade II	Grade III
N=	17	18	11
感染あり	11	16	11
感染率(%)	67.4	88.9	100

観察開始時に穿孔のあった46耳について、観察開始時の穿孔の大きさ別に感染があった耳数を計測した。感染率は穿孔が大きくなるにつれて上昇を示した。

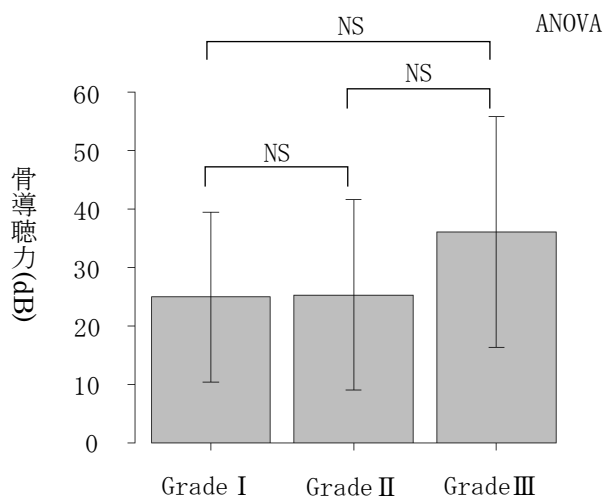
骨導聴力での検討では、穿孔がある群での骨導平均聴力±標準偏差は27.7±16.9dB、穿孔がない群での骨導平均聴力±標準偏差は18.3±13.2dBであり、穿孔のある群は穿孔のない群に対して、有意に骨導閾値上昇をきたしていた($p < 0.001$) (図5)。また、穿孔の大きさのGrade別では、骨導平均聴力±標準偏差はGrade I、II、IIIの順に、24.9±14.5dB、25.3±16.3dB、36.1±19.7dBであったが、これらの間には統計学的有意差は示されなかった(図6)。

(図5) 穿孔の有無と骨導閾値



好酸球性中耳炎 144 耳において、観察開始時に穿孔のなかった群（穿孔なし、98 耳）と穿孔のあった群（穿孔あり、46 耳）の 2 群に分け、骨導閾値と関連があるか検討した。穿孔があると骨導閾値が高値を示した。

(図6) 穿孔の大きさと骨導閾値



観察開始時に穿孔のあった 46 耳を穿孔の大きさごとに 3 群（Grade I 17 耳、Grade II 18 耳、Grade III 11 耳）に分け、骨導閾値と関連があるか検討した。穿孔の大きさと骨導閾値には関連は示されなかった。

2-20. 考察

穿孔のある耳とない耳での比較からは、穿孔があると感染しやすいことが確

かめられた。穿孔と感染との関連が、感染によって穿孔が生じやすくなっているのか、穿孔により感染が経外耳道的に引き起こされるようになるのかについては、今回の検討では検体少数のため統計学的な検討は出来なかった。しかし、感染の確率は穿孔のないままの群、経過中に穿孔が生じた耳の穿孔前の群および穿孔後の群の感染率をみると、経過中に穿孔が生じた耳の穿孔前の群と穿孔のないままの群とでは、むしろ穿孔を生じない群の方が感染率は高くなっていた。これは穿孔が生じた群では、穿孔の前後で観察期間を二分しているため、穿孔が生じなかった群よりも観察期間が短かったことが原因として考えられる。また、穿孔が生じなかった群よりも経過中に穿孔が生じた耳の穿孔後の群の方が感染率は高くなっている。このことより、感染によって穿孔が生じやすくなっているということよりも、穿孔により感染が経外耳道的に引き起こされるようになるという要素がより影響を与えている可能性が考えられた。

また、穿孔の大きさが大きくなると感染率は上昇した。今回の検討では検体少数のため統計学的な検討は出来なかったが、穿孔が大きくなると感染を生じやすくなる可能性が考えられるが、穿孔の大きさと骨導閾値には統計学上有意な関連性は示されなかった。

E 耳漏と鼻汁の細菌培養検査

2-21. 目的

耳漏と鼻汁から同定された菌種から、好酸球性中耳炎の感音難聴進行に関連する菌種、機序を検討する。

2-22. 研究デザイン 縦断研究 後ろ向き研究

2-23. 対象と方法

対象 2012年から2018年までの7年間に、自治医科大学附属さいたま医療センターにて両側好酸球性中耳炎と診断されて治療を受けた72人144耳、男性32人、女性40人、年齢34-83歳（平均±標準偏差：57.8±4.7歳）

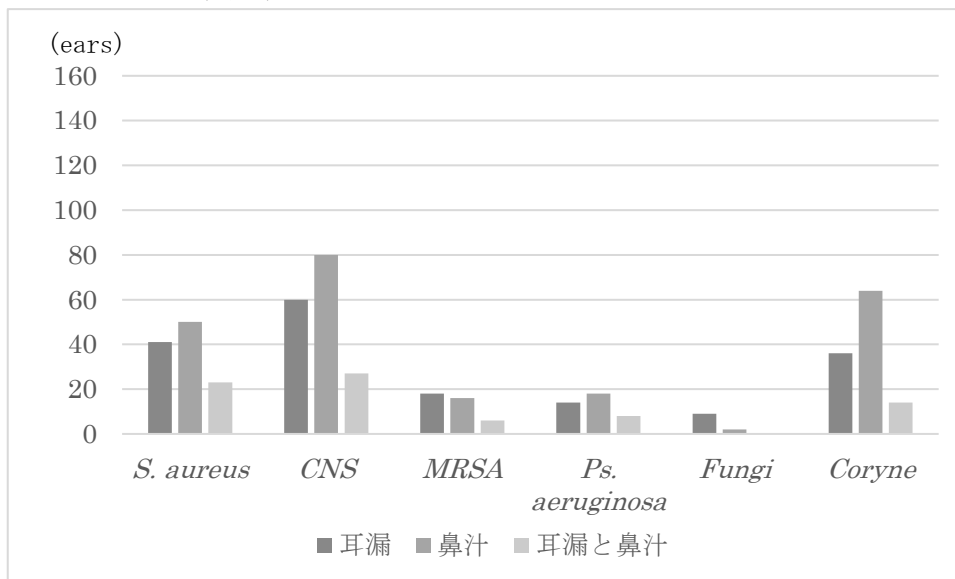
方法 細菌培養検査の方法については第2章Aの項の記載に準じた。

対象には、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）または臨床研究『難治性中耳炎の中耳貯留液の解析』（臨床研究 第18-019号）についての説明を行い、書面にて同意を得た。

2-24. 結果

好酸球性中耳炎144耳の耳漏の細菌培養検査で同定された菌は、次の6菌種であった。黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)、*methicillin - resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*、緑膿菌 (*Ps. aeruginosa*)、真菌 (Fungi)、*coagulase negative Staphylococcus (CNS)*、*Coryne bacterium (Coryne)*。実際に同定された菌種とそののべ数を図7に示す。真菌で同定されたのは、*Candida parapsilosis* 4耳、*Candida albicans* 2耳、*Aspergillus terreus* 3耳であったが、それぞれが少数であったため、これら3種をまとめて真菌9耳として扱った。インフルエンザ菌や肺炎球菌、モラキセラ・カタラーリスなども同定されたが、いずれも同定されたのは2検体以下であり、今回の解析からは除外した。

(図 7) 細菌培養検査で同定された菌種



好酸球性中耳炎患者 72 人 144 耳の耳漏および鼻汁の細菌培養検査により同定された菌種ののべの同定数をグラフに示す。同定数が 2 検体以下の菌種は除外すると、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)、*methicillin - resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)、緑膿菌 (*Ps. aeruginosa*)、真菌 (Fungi)、*coagulase negative Staphylococcus* (CNS)、*Coryne bacterium* (Coryne) の 6 菌種が同定された。それぞれの菌種に対し、左から順に耳漏からの同定数、鼻汁からの同定数、耳漏と鼻汁で一致して同定された数を示している。

(表 7) 耳漏から同定された菌種と骨導閾値

t 検定 ** $p < 0.001$

骨導閾値 (dB)	耳漏		
	培養で検出あり	培養で検出なし	p 値
<i>S. aureus</i>	24.6 ± 18.4	20.0 ± 13.4	0.0965
MRSA	26.9 ± 19.9	20.5 ± 14.1	0.0955
<i>Ps. aeruginosa</i>	37.4 ± 19.2	19.6 ± 13.5	<0.001**
Fungi	29.1 ± 14.4	20.8 ± 15.0	0.111
CNS	26.9 ± 18.6	17.3 ± 10.3	<0.001**
Coryne	28.4 ± 19.1	19.0 ± 12.6	<0.001**

耳漏から同定された 6 菌種に対して、骨導閾値との関連を解析した。緑膿菌、CNS、Coryne の 3 菌種において骨導閾値との関連が示された。

値は平均 ± 標準偏差を示している。

(表 8) 鼻汁から同定された菌種と骨導閾値

t 検定 * $p < 0.01$ ** $p < 0.001$

骨導閾値 (dB)	鼻汁		
	培養で検出あり	培養で検出なし	p 値
<i>S. aureus</i>	18.0 ± 12.9	23.1 ± 15.8	0.0547
<i>MRSA</i>	26.1 ± 19.4	20.7 ± 14.4	0.183
<i>Ps. aeruginosa</i>	29.8 ± 18.9	20.1 ± 14.1	0.0100*
Fungi	65.8 ± 10.6	20.7 ± 14.1	<0.001**
<i>CNS</i>	21.5 ± 15.2	21.2 ± 15.0	0.908
<i>Coryne</i>	21.3 ± 16.1	21.2 ± 15.0	0.999

鼻汁から同定された 6 菌種に対して、骨導閾値との関連を解析した。緑膿菌、真菌の 2 菌種において骨導閾値との関連が示された。

値は平均 ± 標準偏差を示している。

144 耳中、耳と鼻の細菌培養検査結果が一致したのは 52 耳であった。6 菌種それぞれの耳漏および鼻汁検体での同定の有無と骨導閾値との関連を解析した。耳漏で同定された菌種では、緑膿菌、CNS、Coryne の 3 菌種で有意差をもって骨導閾値との関連が示された (いずれも $p < 0.001$) (表 7)。鼻汁で同定された菌種では緑膿菌と真菌が有意差をもって骨導閾値との関連が示された (それぞれ $p < 0.01$ 、 $p < 0.001$) (表 8)。

2-25. 考察

耳漏の菌種についての検討結果を考えると、感音難聴と関連を示したのは、緑膿菌、CNS、Coryne の 3 菌種であった。そのうち、CNS、Coryne はまれには中耳炎を引き起こす可能性もあるが、外耳道の常在菌と考えられるため、感染の起炎菌としては緑膿菌に注目する必要がある。緑膿菌は抗菌薬への耐性があることで知られ、実際に今回同定された 14 耳の薬剤耐性をみても耐性の多いことが確認できる (表 9)。そのため、一度感染すると感染、炎症は遷延化し、長期にわたる好中球炎症が感音難聴の引き金となると考えられる。

鼻汁の菌種と感音難聴についての検討では、緑膿菌と真菌に関連が示された。最近では、鼻汁の細菌培養検査結果が肺炎のスクリーニングとなるとの報告 [16] もあり、耳管が開放傾向となる好酸球性中耳炎において、鼻汁培養の結果

が中耳感染のスクリーニングにできる可能性がある。緑膿菌は耳漏の細菌培養検査の結果からも感音難聴との関連は示されており、鼻汁培養にて緑膿菌が同定された際には、好酸球性中耳炎コントロールのためにも中耳の感染に注意する必要がある。鼻汁からの真菌同定が感音難聴と関連したが、今回の検討で鼻汁から真菌が同定されたのは2耳1人のみであり、この結果によって鼻汁中の真菌が感音難聴と関連していると結論するにはサンプル数が不足していると考えられ、今後のサンプル数を増やすことが必要と考えられた。

(表9) 緑膿菌の抗菌薬耐性

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
PIPC	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	I
TAZ/PIPC	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	I
CAZ	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CFPM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AZT	S	S	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S
IPM/CS	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
MEPM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R
MINO	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
GM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R
AMK	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R
CPFX	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I
LVFX	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	I	I	I
ST	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

(全14検体)

PIPC: Piperacillin, TAZ/PIPC: Tazobactam/Piperacillin, CAZ: ceftazidime, CFPM: cefepime, AZT: aztreonam, IPM/CS: imipenem/cilastatin, MEPM: meropenem, MINO: minocycline, GM: gentamicin, AMK: amikacin, CPFX: , LVFX: levofloxacin, ST: sulfamethoxazole/trimethoprim

R: resistant, S: susceptible, I: intermediate

対象とした好酸球性中耳炎144耳中、14耳で緑膿菌が同定された。これら14耳より同定された緑膿菌の薬剤耐性を示した。

F 中耳貯留液および血清中の IL-5、IL-8 測定

2-26. 目的

中耳貯留液および血清中の IL-5、IL-8 を測定することで、病態を評価する上でのサイトカインの測定に適した検体を探る。

2-27. 研究デザイン 症例対象研究

2-28. 対象と方法

対象 好酸球中耳炎 20 耳 17 人

方法 外来診察時に中耳貯留液を認めた際に中耳洗浄液および血液を採取した。いずれの検体の採取も、ステロイドの鼓室内投与や抗菌薬の内服、外用などの加療を行う前に行い、同治療を以前に施行していた症例は、前回の治療より 4 週間以上の期間を空けて採取を行った。

血液は採取後、血清のみを -20°C で保存し、測定時に室温で解凍した。中耳洗浄液は中耳貯留液に生理食塩水 0.3 mL を加えて採取した。採取後は -20°C で保存し、室温で解凍の上、生理食塩水 2.7 mL で希釈（10 倍希釈）、攪拌し、遠心分離（3400 rpm、7 分、 4°C ）によって生じた上澄を採取した。上澄は測定時まで再び -20°C で保存し、測定時に室温で解凍した。

IL-5、IL-8 の測定はタンパク質定量 ELISA 吸光プレートリーダー（プレートリーダー-Emax、Molecular Devices Japan、東京、日本）を使用して、ELISA 法により行った。

対象には、臨床研究『難治性中耳炎の中耳貯留液の解析』（臨床研究 第 18-019 号）についての説明を行い、書面にて同意を得た。

2-29. 結果

測定の結果、測定感度を下回った検体は、中耳貯留液 20 検体の測定では IL-5 で 14 検体、IL-8 は 5 検体であり、血清 17 検体の測定では IL-5 で 16 検体、IL-8 は 14 検体であった。また、血清で IL-5 が測定できた 1 検体の中耳貯留液では IL-5 測定結果が測定感度を下回った。IL-8 が中耳貯留液と血清でともに測定感度を下回った検体は 1 検体のみであった。

2-30. 考察

血清の測定では、IL-5は17検体中1検体(5.9%)、IL-8は17検体中3検体(17.6%)のみでしか計測できず、ほとんどが測定感度を下回った。中耳貯留液で測定可能であったのはIL-5で20検体中6検体(30.0%)、IL-8は20検体中15検体(75.0%)であり、血清よりも中耳貯留液から測定することで測定限界が広がることが示された。また、中耳貯留液はさらに希釈濃度を変えることで測定感度を下回る検体を減らすことも可能と考えられるが、耳漏検体の採取に当たり今回以上に希釈濃度を引き上げることは困難であるため、測定に使用したELISA法では測定に限界があると考えられた。

IL-5は血清、耳漏ともに計測下限値を下回る検体が多数であった。IL-5を血清中で計測できた検体は2検体あったが、同症例の耳漏の検体の測定ではいずれも測定感度を下回っていた。そのため、血清および耳漏中のIL-5の結果には明らかな相関は示すことはできなかった。今回の測定ではいずれも測定感度限界値に近い数値の測定となったため、測定値に生じる誤差も大きくなったと考えられ、今後、測定方法を変更する必要があると考えられた。

G 感染と中耳貯留液中のサイトカイン

2-31. 目的

中耳貯留液中のサイトカインを多項目、網羅的に解析することにより、感染によって中耳に生じている病態を検索する。

2-32. 研究デザイン 症例対象研究

2-33. 対象と方法

対象 観察1年以上を経過した好酸球性中耳炎 41 人 60 耳

方法 中耳貯留液のサイトカイン 27 項目を測定した。

検体 60 耳中 40 耳は臨床的に感染を認める時点で、残りの 20 耳は感染がないと判断される時点で採取を行った。いずれの検体の採取も、副腎皮質ステロイド（トリアムシノロンアセトニド）の鼓室内投与や抗菌薬の内服、外用などの加療を行う前に行い、同治療を以前に施行していた症例は、前回の治療より 4 週間以上の期間を空けて採取を行った。

中耳に貯留した貯留液を鼓膜穿孔のある症例は穿孔から、穿孔のない症例は鼓膜穿刺により採取した。0.3mL の生理食塩水で洗浄し、洗浄液全てを回収して検体とした。検体はさらに 2.7mL の生理食塩水で 10 倍に希釈し、遠心分離をかけた上澄み液を採取した。採取後、上澄み液は測定まで -20°C の下で保存した。Bio-Plex™ Human Cytokine 27-Plex パネル (Bio-Rad Laboratories、Hercules、CA、USA) を使用して、製造業者の説明書に従い、上澄み液を複数のサイトカインについてアッセイした。測定したサイトカインは以下の 27 項目である。

interleukin (IL)-1b, IL-1ra, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, eotaxin, basic fibroblast growth factor (bFGF), granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), granulocyte macrophage-colony stimulating factor (GM-CSF), Interferon (IFN)-g, interferon-inducible protein-10 (IP-10), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), Macrophage Inflammatory Proteins (MIP) -1a, MIP-1b, platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB), regulated upon activation, normal T expressed and secreted (RANTES) , TNF-a, vascular endothelial growth factor (VEGF)。

対象には、臨床研究『難治性中耳炎の中耳貯留液の解析』（臨床研究 第 18-019 号）についての説明を行い、書面にて同意を得た。

2-34. 結果

測定された 27 のサイトカインの濃度を感染のある群と感染のない群で比較をした結果が表 10 である。IL-10, bFGF の 2 つのサイトカインは感染と正の相関（順に $p=0.0148$, 0.0476 ）を、IL-5, eotaxin, IFN-g, MCP-1 の 4 つのサイトカインは感染と負の相関（順に $p=0.0186$, 0.0362 , 0.0123 , 0.0426 ）を示した（表 10）。

2-35. 考察

感染のある群では IL-10, bFGF の 2 つのサイトカインが高値を示し、IL-5, eotaxin, IFN-g, MCP-1 の 4 つのサイトカインが低値となる結果となった。

まず、感染と正の相関を示した 2 つのサイトカインについて考える。IL-10 は抗炎症性サイトカインとしての作用を持つ[17]。また、bFGF は線維芽細胞増殖因子で血管新生による創傷治癒を行う[18]。今回の検討では感染の定義を、耳漏の細胞培養検査で起炎菌が確認されたことのあるものとしている。そのため、今回のサイトカインの測定では、感染に対する抗炎症作用が発現している状態や、感染による創傷の治癒段階を評価しているということができ、矛盾のない結果と考えられる。

次いで、負の相関を示した 4 つのサイトカインについても考える。IFN-g は細胞障害性 T 細胞 (CTL)、マクロファージ、NK 細胞の活性化など免疫応答促進に働き、白血球による炎症を強化する作用をもつ[19]。MCP-1 は単球遊走の亢進、および活性化因子であり、また好塩基球による化学伝達物質の遊離促進、T 細胞走化性活性を引き上げる[20]。これらは感染によって増加すると考えられるが、感染の経過中にむしろ減少を示すことがあるとわかった。これは好酸球性中耳炎に特徴的な病態である可能性があり、コントロールを用いた更なる検討を要する。さらに、IL-5 と eotaxin は好酸球遊走に作用するサイトカインであり、ヒト化抗 IL-5 モノクローナル抗体は気管支喘息の治療薬としても使用されている[21][22]。滲出性中耳炎と好酸球性中耳炎の耳漏のサイトカインを比較した Uchimizu らの報告でも、IL-5, eotaxin はいずれも好酸球炎症の中核をなすサイトカインであると言及されている[8]。これらのサイトカインが感染と負の相

(表 10) 感染と中耳貯留液中のサイトカイン

t 検定 * $p < 0.05$

サイトカイン濃度 (pg/ml)	感染あり N=40	感染なし N=20	p 値
IL-1b	3308.3 ± 4978.0	1064.3 ± 2822.3	0.0670
IL-1ra	2044.1 ± 2859.0	1637.9 ± 2086.7	0.575
IL-2	50.910 ± 25.524	45.970 ± 29.549	0.505
IL-4	27.843 ± 14.676	32.380 ± 30.733	0.440
IL-5	31.290 ± 56.681	233.27 ± 525.98	0.0186*
IL-6	1141.9 ± 2240.6	1059.4 ± 2559.8	0.898
IL-7	21.933 ± 14.151	23.360 ± 17.828	0.737
IL-8	3466.9 ± 2384.7	2613.6 ± 2795.7	0.223
IL-9	223.48 ± 205.56	216.56 ± 292.46	0.916
IL-10	53.715 ± 35.102	32.775 ± 17.284	0.0148*
IL-12	48.803 ± 41.715	37.170 ± 42.844	0.317
IL-13	26.228 ± 31.803	105.81 ± 269.97	0.0688
IL-15	73.600 ± 36.456	67.925 ± 41.527	0.589
IL-17	76.400 ± 45.061	76.285 ± 65.107	0.994
eotaxin	44.420 ± 41.602	148.17 ± 302.91	0.0362*
bFGF	56.833 ± 33.606	38.675 ± 30.956	0.0476*
G-CSF	968.88 ± 1402.6	1296.3 ± 1921.2	0.455
GM-CSF	258.66 ± 226.43	162.37 ± 213.87	0.119
IFN-g	41.538 ± 40.719	109.25 ± 156.61	0.0123*
IP-10	1393.59 ± 3491.0	1476.4 ± 1993.2	0.922
MCP-1	420.50 ± 1112.9	2418.3 ± 4801.4	0.0426*
MIP-1a	1490.1 ± 3377.3	2641.5 ± 4770.8	0.284
MIP-1b	4536.8 ± 3854.6	4334.9 ± 5434.7	0.869
PDGF-BB	87.748 ± 119.94	72.680 ± 83.277	0.617
RANTES	133.08 ± 287.84	157.07 ± 244.52	0.751
TNF-a	91.338 ± 150.92	51.420 ± 80.458	0.274
VEGF	595.98 ± 717.1374	382.72 ± 739.64	0.287

好酸球性中耳炎 60 耳の中耳貯留液中のサイトカイン 27 項目を測定した結果を示す。

IL-10, bFGF の 2 つは感染と正の相関を、IL-5, eotaxin, IFN-g, MCP-1 の 4 つは感染と負の相関を示した。

値は平均 ± 標準偏差を示している。

関を示すことは、本来の病態としての好酸球の遊走が、感染によって好中球遊走に置き換わることが考えられる。

好酸球性中耳炎では慢性中耳炎と比較して重度感音難聴をきたしやすいことが報告されている[9]。好酸球性中耳炎は治療として副腎皮質ステロイドの内服や鼓室内投与を行い、また穿孔を生じる症例も多い。副腎皮質ステロイドの投与による易感染性は、慢性中耳炎と比較して好酸球性中耳炎の感染のリスクを高める。好酸球性炎症による内耳障害に加えて、感染による内耳障害によって感音難聴が生じうる[10]ため、好酸球性中耳炎は好酸球性炎症だけでなく、感染の観点からも、慢性中耳炎より感音難聴をきたしやすい病態にあると考えられる。

第 3 章 好酸球性中耳炎の治療

A 鼓膜穿孔とステロイド鼓室内投与

3-1. 目的

現在、治療として副腎皮質ステロイド（トリアムシノロンアセトニド）の鼓室内投与が用いられている。しかし、投与箇所から鼓膜穿孔が生じるという経験をすることは少なくなく、その関連を統計学的に検討する。

3-2. 研究デザイン 縦断研究 後ろ向き研究

3-3. 対象と方法

対象 観察開始時に鼓膜穿孔を生じていなかった 98 耳

方法 副腎皮質ステロイドの鼓室内投与の頻度を 1 年の投与回数で計測した。副腎皮質ステロイド鼓室内投与の頻度が 1 年に 4 回未満である群と 4 回以上である群に分けた。これら 2 群の穿孔までの期間について生存曲線を描いてその関連を検討した。

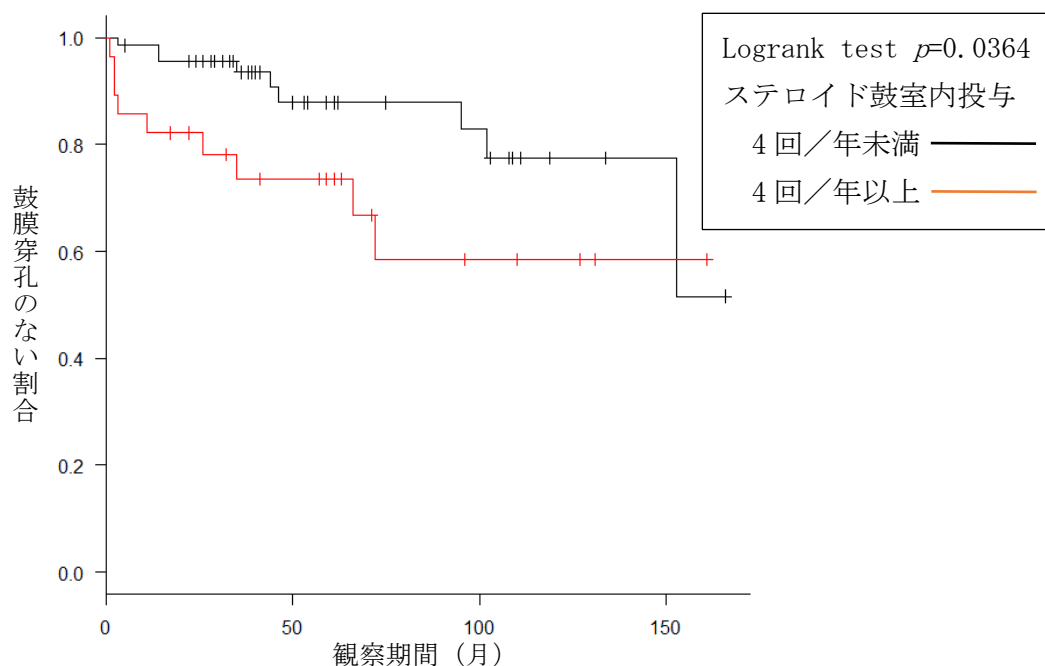
1 年に満たない観察期間での副腎皮質ステロイドの鼓室内投与の頻度の計測では、観察期間の月数と投与回数から想定される 1 年の投与回数を使用した。

対象には、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）または臨床研究『難治性中耳炎の中耳貯留液の解析』（臨床研究 第 18-019 号）についての説明を行い、書面にて同意を得た。

3-4. 結果

観察開始時に穿孔を認めなかった 98 耳の中で 16 耳（16.3%）が観察期間中に鼓膜穿孔を生じていた。また、副腎皮質ステロイド鼓室内投与の頻度が 1 年に 4 回未満である群は 68 耳（69.4%）、4 回以上である群は 30 耳（30.6%）であった。副腎皮質ステロイド鼓室内治療の頻度についての検討を行うと、投与回数が年間 4 回以上であった場合において有意（ $p=0.0364$ ）に鼓膜穿孔を生じることが示された（図 8）。

(図 8) ステロイド鼓室内投与の頻度と鼓膜穿孔



ステロイド鼓室内投与の頻度と鼓膜穿孔が起こるまでの期間について log rank 検定を行った。観察開始時に鼓膜穿孔のなかった好酸球性中耳炎 98 耳をステロイド鼓室内投与が年に 4 回未満の群と年に 4 回以上の群に分類した。これら 2 群の鼓膜穿孔までの期間を生存曲線にひくと、ステロイド鼓室内投与の頻度が年に 4 回以上の群で鼓膜穿孔が発生する可能性が有意に高いことが明らかになった ($p=0.0364$)。

3-5. 考察

副腎皮質ステロイド鼓室内投与という治療法は、好酸球性中耳炎だけでなく、難聴、耳鳴、めまいに対する治療としても広く知られている[23]。これらの治療において、副腎皮質ステロイド鼓室内投与によって鼓膜穿孔が生じやすくなることについては、以前より多くの検討が行われている[24][25]。Spandow らのラットを対象とした研究では、Hydrocortisone と滅菌水を鼓室内投与した際に、Hydrocortisone の方が穿孔閉鎖までの期間が遷延し、穿孔閉鎖率が低値となるとの報告もある[26]。いずれの報告も、投与のために鼓膜換気チューブを留置することは穿孔のリスクを引き上げるとしており、より低侵襲な投与が推奨されている。

副腎皮質ステロイド鼓室内投与は、好酸球性中耳炎にとって有効な治療と言えるが、それにより鼓膜穿孔をきたし、感染を生じやすくしうると考えられる。

しかし、鼓膜穿孔のリスクと考えると必要時に副腎皮質ステロイド鼓室内投与を避けると、中耳内の好酸球性炎症がコントロールを失い、粘膜肥厚や肉芽の形成、多量の中耳貯留液により鼓膜は中耳側からの圧力を得るため、結果として鼓膜穿孔をきたすこととなる。そのため、より低侵襲に適切な頻度での副腎皮質ステロイド鼓室内投与を行うことが求められる。現在、当院では鼓膜切開による副腎皮質ステロイド投与は通常は行っていない。穿孔のない耳への投与には23G針を使用して行っており、前回穿刺した箇所とはずらして穿刺をするようにしている。穿刺部位については鼓膜前方とし、耳管方向に副腎皮質ステロイドを投与できるようにしている。また、中耳貯留液の除去のために鼓膜切開を要する場合には、副腎皮質ステロイド投与は同時には行わないなどの工夫を行っている。なお、この穿刺による副腎皮質ステロイドの鼓室内投与は、穿孔を生じにくくするだけでなく、副腎皮質ステロイドの外耳道側への流出を防ぎ、鼓室内に副腎皮質ステロイドを保持することで薬剤効果を高め、また、外耳道真菌症を防ぐことにもつながる可能性があると考えている。

B 中耳粘膜の病理

3-6. 目的

好酸球性中耳炎の経過中の中耳生検組織を観察することで、好酸球遊走の程度を経時的および中耳内の部位別に判断する。また、重症気管支喘息に対する分子標的治療薬が中耳の好酸球性炎症に与える影響を検索する。

3-7. 研究デザイン 症例報告

3-8. 対象と方法

対象 好酸球性中耳炎の診断で重度難聴をきたし、人工内耳植込術を施行した2例

方法 経過中および手術時に中耳粘膜を生検し、その結果を症例別、時系列、採取部位で比較した。

症例1：73歳女性。当院受診10年前に両側急性中耳炎に罹患し、その後、両側滲出性中耳炎となり、鼓膜切開を施行した。鼓膜換気チューブ留置を2度受けたが、5年で自然脱落し、以降、耳漏が続いていた。近医にて通院加療は行っていたものの、難聴が進行して肉芽のコントロールもつかないため、当院紹介となり、好酸球性中耳炎の診断となった。48歳のときに気管支喘息を発症しており、副腎皮質ステロイド吸入、モンテルカストの内服でコントロール良好である。

症例2：59歳男性。当院初診1年前に他院で好酸球性中耳炎の診断を受け、診断後はトリアムシノロンアセトニドの鼓室内投与および副腎皮質ステロイドの全身投与を行っていた。糖尿病、高血圧があり、慢性副鼻腔炎では手術を3回受けていた。21歳で気管支喘息を発症し、重積発作のため入院を繰り返していた。

対象には、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）についての説明を行い、書面にて同意を得た。

3-9. 結果

症例1は好酸球性中耳炎の診断以降、1-2カ月に1度のトリアムシノロンアセトニド鼓室内投与を続けていた。初診後1年の間に2回、肉芽・感染コントロ

ール目的に入院をした。副腎皮質ステロイドの内服は、肉芽増悪時の3回のみだった。初診後3年6カ月の時点で、左耳の人工内耳植込術を施行した。中耳粘膜の生検は、初診時および手術時の2回行った。

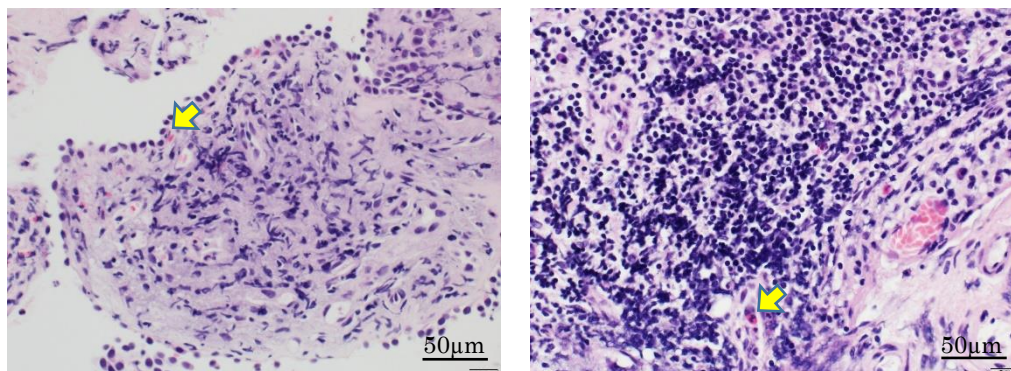
症例2は初診後2年目より呼吸器内科から気管支喘息のためにステロイドの内服が継続された。肉芽増悪時には、副腎皮質ステロイドは追加内服した。経過中一度、感染コントロール目的に入院をした。初診後10年の時点で、重症喘息に対して、ヒト化抗IL-5モノクローナル抗体であるメポリズマブ（ヌーカラ[®]）を開始した。3カ月使用後にヒト化抗IL-5受容体 α モノクローナル抗体であるベンラリズマブ（ファセンラ[®]）に薬剤を変更し、変更後6カ月の時点で、左耳の人工内耳植込術を施行した。中耳粘膜の生検は、初診時、メポリズマブ開始直前、手術時（メポリズマブ開始後9カ月）の3回施行した。

生検した粘膜の好酸球数を比較した。観察開始時の鼓室粘膜の好酸球数を比較すると、症例2では症例1に比べて好酸球が多くみられた。経時的な比較では、症例1（図9-1）の初診時と手術時、症例2（図9-2）の初診時と分子標的治療薬使用前でいずれも鼓室粘膜中の好酸球数は増加を認めた。また、症例2についてみてみると、分子標的治療薬前と分子標的治療薬開始後2年8カ月にあたる手術時には、手術時の鼓室粘膜中の好酸球に減少を認めた。

手術時の粘膜については、採取部位についても比較検討を行った（図10-1, 2）。症例1、2ともに、乳突蜂巢と鼓室の粘膜との比較では乳突蜂巢の粘膜でより多くの好酸球を認めた。

(図 9-1) 鼓室粘膜 (時系列での比較)

症例 1



観察開始時

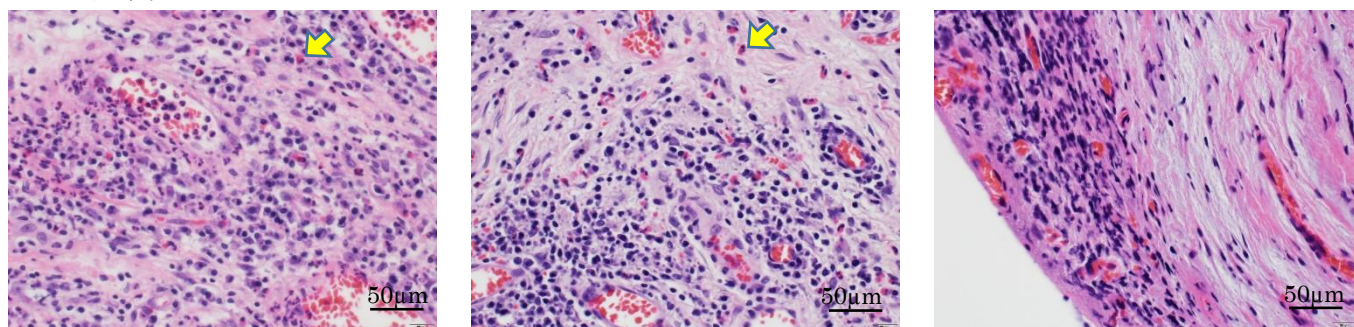
手術時

矢印：好酸球

症例 1 の観察開始時と手術時の鼓室粘膜の病理組織を示す。1 視野当たりの好酸球数は、経時的にわずかに増加した。

(図 9-2) 鼓室粘膜 (時系列での比較)

症例 2



観察開始時

分子標的治療薬開始前

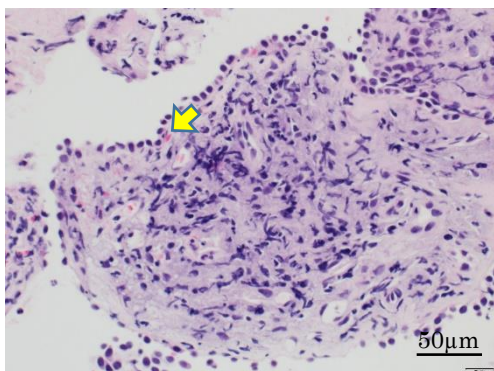
手術時

矢印：好酸球

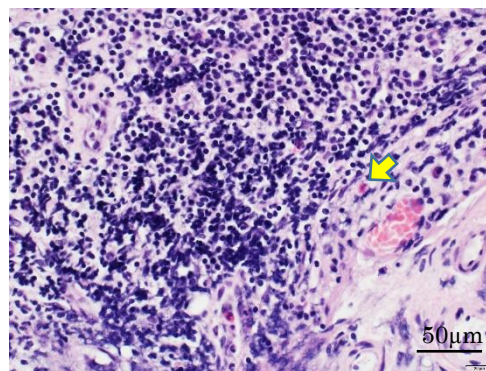
症例 2 の観察開始時と分子標的治療薬開始前（観察開始後 10 年）、手術時（分子標的治療薬開始後 9 カ月）の鼓室粘膜の病理組織を示す。初診時と分子標的治療薬開始前で比較すると好酸球は増加を認めた。分子標的治療薬開始前と手術時では 1 視野当たりの好酸球は顕著に減少していた。

(図 10-1) 手術時の病理 (採取部位での比較)

症例 1



鼓室粘膜



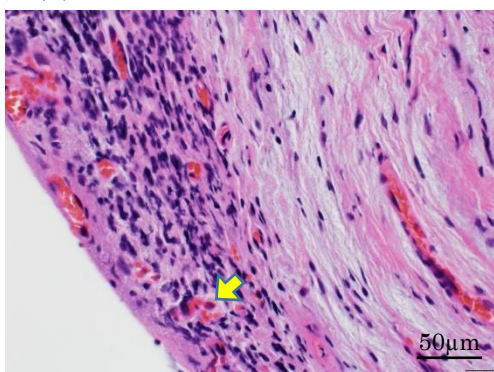
乳突蜂巣粘膜

矢印：好酸球

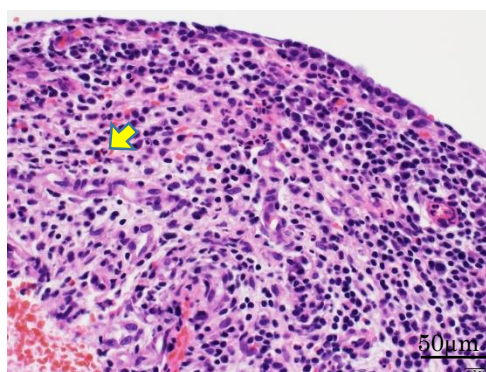
症例 1 手術時の鼓室粘膜と乳突蜂巣粘膜の病理組織を示す。乳突蜂巣粘膜は鼓室粘膜に比較して、好酸球数が多かった。

(図 10-2) 手術時の病理 (採取部位での比較)

症例 2



鼓室粘膜



乳突蜂巣粘膜

矢印：好酸球

症例 2 手術時の鼓室粘膜と乳突蜂巣粘膜の病理組織を示す。乳突蜂巣粘膜は鼓室粘膜に比較して、好酸球数が多かった。

3-10. 考察

分子標的治療薬使用の適応となるような重症喘息の症例 (症例 2) では、喘息のコントロールが良好な例 (症例 1) と比較して中耳粘膜に好酸球が多くみられ、中耳と気道の好酸球炎症には関連がある可能性が考えられた。経時的な比較で

は、好酸球性中耳炎で感音難聴が進行する経過不良例では、経過中に粘膜中の好酸球数が増加することが分かった。これらにより、中耳粘膜中の好酸球数は病態の重症度を測るのに有用であると考えられた。

分子標的治療薬の使用により、鼓室粘膜中の好酸球は減少を認め、分子標的治療薬は副腎皮質ステロイド単独ではコントロールできていなかった粘膜中の好酸球数を減少させたと言える。本邦では、重症気管支喘息に対する治療として、2012年にはヒト化抗IgEモノクローナル抗体であるオマリズマブ(ゾレア®)が、2016年にはヒト化抗IL-5モノクローナル抗体であるメポリズマブ(ヌーカラ®)、さらに2018年にはヒト化抗IL-5受容体 α モノクローナル抗体であるベンラリズマブ(ファセンラ®)が使用されるようになった。これらの分子標的治療薬が、好酸球性中耳炎にも有効であるかについての検討についても、オマリズマブ [27][28]、メポリズマブ [29]、ベンラリズマブ [30] において報告されてきており、今回の鼓室粘膜での好酸球遊走が分子標的治療薬の使用によって抑制されたという結果はそれらを裏付けるものであった。

今まで好酸球性中耳炎では、中耳粘膜にIgE陽性細胞が局在すること [31] や、発症例では耳管開放の症例が多いこと [13] が明らかにされ、貯留液中にブドウ球菌のエンテロトキシンや真菌などに対する特異的IgE抗体が存在することも報告されている [32]。これらより、好酸球性炎症を惹起する物質が耳管を経由して容易に中耳に侵入し、耳管から中耳粘膜にかけて好酸球が浸潤し発症すると考えられている [33]。好酸球が浸潤する経路から考えると、鼓室粘膜の方が乳突蜂巣粘膜よりも好酸球浸潤が強いと推測されるが、今回の採取部位で比較結果は乳突蜂巣粘膜により多くの好酸球を認めた。検討した症例は発症後長期の治療経過を有するものであり、この結果からは好酸球性炎症が乳突蜂巣で遷延しやすい可能性があり、また副腎皮質ステロイドの鼓室内投与は中耳粘膜に局所的な効果をもたらしている可能性が考えられた。

好酸球性中耳炎における分子標的治療薬の効果については、分子標的治療薬は効果があると結論した報告 [27-30] においても、効果のあった症例と効果のなかった症例が存在している。このように好酸球性中耳炎における分子標的治療薬の効果には症例により個体差がある。中耳粘膜に局所的な効果をもたらすと考えられる副腎皮質ステロイドの鼓室内投与が標準治療であり、分子標的治療薬治療はそれに追加しうる治療選択肢の一つとして捉えるのが適切であると考ええる。

第 4 章 今後の展望

近年、好酸球性中耳炎の病態については、様々な視点からの報告があがってきている。しかし、まだ十分な病態メカニズムの解明がなされたとはいえず、病気分類やそれに基づいた治療法の選択などは示されていない。本研究では、好酸球性中耳炎の難聴の進行やリスク因子を検討した。その中で、好酸球性中耳炎の経過中に生じる感染が、感音難聴を進行させるリスクとなることを明らかにし、また耳漏中の好中球遊走が亢進していると感音難聴をきたしやすいことを示した。中耳の感染は正円窓を経由して内耳に波及して内耳細胞障害が生じ[10]、炎症の過程において正円窓膜の透過性が亢進することによってこの内耳の細胞障害は生じる[11]と報告されている。好酸球性中耳炎の臨床経過を見る上で、どうしても病態の主体と考えられる好酸球性炎症に注目しがちであるが、合併する感染を軽視することはできず、感染時の対応なども議論されることが必要である。また、感染との関連を検討するために中耳貯留液中のサイトカインを網羅的に測定した。この手法は、対象や検体採取時の病状などを変えることで、さらなる好酸球性中耳炎の病態についての解析が可能となると考えられる。

治療の観点からは、従来の副腎皮質ステロイド（トリアムシノロンアセトニド）の鼓室内投与や内服投与が現在でも行われており、その効果が認められている。しかし、本研究により、副腎皮質ステロイド鼓室内投与が鼓膜穿孔を残存させる誘因となりうることが示された。このことから鼓膜穿孔のリスクと考えて必要時に副腎皮質ステロイド鼓室内投与を避けると、中耳内の好酸球性炎症がコントロールを失い、粘膜肥厚や肉芽の形成、多量の中耳貯留液により鼓膜は中耳側からの圧力を得るため、結果として鼓膜穿孔をきたすこととなる。そのため、耳漏を認める際には副腎皮質ステロイド鼓室内投与を行うべきであるが、その投与はより低侵襲に行うことが求められる。鼓膜切開ではなく穿刺針を用いた鼓膜穿刺による投与、穿刺部位の移動などの工夫や、鼓膜切開を要する場合には、副腎皮質ステロイド投与は同時には行わないなどの工夫が考えられる。それでも穿孔が残存してしまう穿刺部位については、鼓膜穿孔のための鼓膜形成術や鼓室形成術が有効である。外科的介入による鼓膜穿孔の閉鎖が予後に与える影響については、現在、本講座にて検討を行っているところである。

また、好酸球性気道炎症を病態とする気管支喘息では、重症例に対する分子標的治療薬が開発され、使用されるようになった。それに伴い、分子標的治療薬使用による好酸球性中耳炎への有効性も報告されてきている[27-30]。しかし、現時点では分子標的治療薬の好酸球性中耳炎における適応を議論できるほどの検討はなされておらず、今後の新規の報告、議論の活性化が期待される。

本研究室ではまた、好酸球性中耳炎モデル動物の作製を試みている。モデル動物の作製及び解析は、好酸球性中耳炎における病態の解明と新規治療の模索において重要であると考えられる。現在、卵白アルブミン感作後、下気道への抗原曝露による作製される喘息モデルマウスから着想し、鼻腔や中耳への抗原曝露、薬剤投与を繰り返すことが可能な経乳突洞的反復感作モデルマウスを作製している。引き続き本研究を継続し、好酸球性中耳炎における病態の解明と新規治療の確立に努めたい。

謝辞

本研究を進めるにあたり、自治医科大学附属さいたま医療センター耳鼻咽喉科 吉田尚弘教授、飯野ゆき子名誉教授に丁寧にご指導いただきました。深く感謝致します。

また、実験方法の取得及び研究を共に進めさせていただきました自治医科大学附属さいたま医療センター循環器病医学研究所の研究スタッフの皆様に心より御礼申し上げます。

参考文献

- [1] Morinaka S. Allergic otitis media with gelatinous mucoid fluid containing eosinophils. *Otolaryngol Head Neck Surg* 114: 665-668, 1996
- [2] Tomioka S, Kobayashi T, Takasaka T. Intractable otitis media in patients with bronchial asthma (eosinophilic otitis media). In: Sanna M, editor. *Cholesteatoma and Mastoid Surgery*. Rome: *CIC Edizioni Internazionali* 851-853, 1997
- [3] Iino Y, Tomioka-Matsutani S, Matsubara A, Nakagawa T, Nonaka M. Diagnostic criteria of eosinophilic otitis media, a newly recognized middle ear disease. *Auris Nasus Larynx* 38: 456-461, 2011
- [4] Iino Y, Nagamine H, Kakizaki K, Komiya T, Katano H, Saruya S, Kodera K. Effectiveness of instillation of triamcinolone acetonide into the middle ear for eosinophilic otitis media associated with bronchial asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 97: 761-766, 2006
- [5] Iino Y, Hara M, Hasegawa M, Matsuzawa S, Shinnabe A, Kanazawa H, Yoshida N. Clinical Efficacy of Anti-IgE Therapy for Eosinophilic Otitis Media. *Otol Neurotol* 33: 1218-1224, 2012
- [6] Akinpelu O, Ibrahim F, Waissbluth S, Daniel S. Histopathologic Changes in the Cochlea Associated With Diabetes Mellitus—A Review. *Otol Neurotol* 35: 764-774, 2014
- [7] Esu Y, Iino Y, Masuda M, Kanazawa H, Yoshida N. Proposal of a Treatment Strategy for Eosinophilic Otitis Media Based on Middle Ear Condition. *Otol Neurotol* 39: e671-e678, 2018

- [8] Uchimizu H, Matsuwaki Y, Kato M, Otori N, Kojima H. Eosinophil-derived neurotoxin, elastase, and cytokine profile in effusion from eosinophilic otitis media. *Allergol Int* 64: 518–523, 2015
- [9] Iino Y, Usubuchi H, Kodama K, Takizawa K, Kanazawa T, Ohta Y. Bone conduction hearing level in patients with eosinophilic otitis media associated with bronchial asthma. *Otol Neurotol* 29: 949–952, 2008
- [10] Cook RD, Postma DS, Brinson GM, Prazma J, Pillsbury HC. Cytotoxic changes in hair cells secondary to pneumococcal middle-ear infection. *J Otolaryngol* 28: 325–331, 1999
- [11] Engel F, Blatz R, Schliebs R, Palmer M, Bhakdi S. Bacterial cytolysin perturbs round window membrane permeability barrier in vivo: Possible cause of sensorineural hearing loss in acute otitis media. *Infect Immun* 66: 343–346, 1998
- [12] Green RH, Brightling CE, Woltmann G, Parker D, Wardlaw AJ, Pavord ID. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax* 57: 875–879, 2002
- [13] Iino Y, Kakizaki K, Saruya S, Katano T, Koderu K, Ohta K. Eustachian tubal function in patients with eosinophilic otitis media associated with bronchial asthma evaluated by sonotubometry. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 132: 1109–1114, 2006
- [14] Ward BK1, Ashry Y, Poe DS. Patulous Eustachian Tube Dysfunction: Patient Demographics and Comorbidities. *Otol Neurotol* 38: 1362–1369, 2017
- [15] 吉川兼人, 瀧本勲, 石神寛通. 外傷性鼓膜穿孔症例の検討. *耳鼻臨床* 78: 1293–1301, 1985

- [16] Smith MN, Brotherton AL, Lusardi K, Tan CA, Hammond DA. Systematic Review of the Clinical Utility of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Nasal Screening for MRSA Pneumonia. *Ann Pharmacother* 53: 627–638, 2019
- [17] Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest* 117: 1162–1172, 2000
- [18] Okuyama M, Yajima M, Nishimura T, Ikeda H, Nishimori T. General pharmacology of recombinant human basic fibroblast growth factor. *Arzneimittelforschung* 46: 727–739, 1996;
- [19] Schroder K1, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA. Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions. *J Leukoc Biol* 75: 163–89, 2004
- [20] Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview *J Interferon Cytokine Res* 29: 313–326, 2009
- [21] Nair P, Pizzichini MM, Kjarsgaard M, Inman MD, Efthimiadis A, Pizzichini E, Harqreave FE, O'Byrne PM. Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. *N Engl J Med* 360: 985–993, 2009
- [22] Haldar P, Brightling CE, Hargadon B, Gupta S, Monterio W, Sousa A, Marshall RP, Bradding P, Green RH, Wardlaw AJ, Pavord ID. Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med* 360: 973–984, 2009
- [23] Sakata E, Kitago Y, Murata Y, Teramoto K. Treatment of Meniere's disease. Middle ear infusion with lidocaine and steroid solution. *Auris Nasus Larynx* 13: 79–89, 1986

- [24] Rutt AL, Hawkshaw MJ, Sataloff RT. Incidence of tympanic membrane perforation after intratympanic steroid treatment through myringotomy tubes. *Ear Nose Throat J* 90: e21-e27, 2011
- [25] Jackson LE, Silverstein H. Chemical perfusion of the inner ear. *Otolaryngol Clin North Am* 35: 639-653, 2002
- [26] Spandow O, Hellstrom S, Schmidt SH. Hydrocortisone delay of tissue rapaire of experimental tympanic membrane perforations. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 99: 647-653, 1990
- [27] Iino Y, Hara M, Hasegawa M, Matsuzawa S, Shinnabe A, Kanazawa H, Yoshida N. Effect of omalizumab on biomarkers in middle ear effusion in patients with eosinophilic otitis media. *Acta Otolaryngol* 134: 36-72, 2014
- [28] Iino Y, Hara M, Hasegawa M, Matsuzawa S, Shinnabe A, Kanazawa H, Yoshida N. Clinical efficacy of anti-IgE therapy for eosinophilic otitis media. *Otol Neurotol* 33:1218-1224, 2012
- [29] Iino Y, Takahashi E, Ida S, Kikuchi S. Clinical efficacy of anti-IL-5 monoclonal antibody mepolizumab in the treatment of eosinophilic otitis media. *Auris Nasus Larynx* 46: 196-203, 2019
- [30] Chow K, Cosetti MK. Use of IL-5 Inhibitor Benralizumab as a Novel Therapy for Eosinophilic Otitis Media: Clinical Capsule and Review of Literature. *Otol Neurotol* 41: e238-e240, 2020
- [31] Iino Y, Nagamine H, Yabe T, Matsutani S. Eosinophils are activated in middle ear mucosa and middle ear effusion of patients with intractable otitis media associated with bronchial asthma. *Clin Exp Allergy* 31: 1135-1143, 2001

[32] Kanazawa H, Yoshida N, Shinnabe A, Iino Y. Antigen-specific IgE in middle ear effusion of patients with eosinophilic otitis media. *Ann Allergy Asthma Immunol* 113: 88-92, 2014

[33] 松原 篤. 好酸球性中耳炎の診断と治療. *Otol Jpn* 27: 199-203, 2007