

氏名	増田麻里亜
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第601号
学位授与年月日	令和2年3月16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	好酸球性中耳炎の病態解明
論文審査委員	(委員長) 教授 伊藤 真人 (委員) 教授 西野 宏 准教授 長嶋 孝夫

## 論文内容の要旨

### 1 研究目的

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、難治性中耳炎の原因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、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。本研究では、難治性中耳炎の一つである好酸球性中耳炎についての病態解明、感音難聴進行のリスクである感染に注目して解析を行い、感染と関連のある因子について検討を追加した。

### 2 研究方法

両側好酸球性中耳炎と診断された 72 人 144 耳を対象として、感音難聴のリスク因子、感染のリスク因子を解析した。対象には、血液検査、鼻腔および中耳の細菌培養検査、呼吸機能検査を施行し、臨床学的特徴を評価した。好酸球性中耳炎 59 耳からは耳漏の細胞診を行い、好酸球および好中球の遊走を評価し、感音難聴との関連を検討した。また、好酸球性中耳炎 60 耳の中耳貯留液中のサイトカインを Bio-Plex™ Human Cytokine 27-Plex パネルを使用して測定し、感染による耳漏中のサイトカインの変化を検討した。また、重度難聴をきたして人工内耳植込術を施行した好酸球性中耳炎 2 耳について、生検した中耳粘膜の病理組織学的評価を行った。

### 3 研究成果

好酸球性中耳炎における感音難聴のリスク因子は、糖尿病、中耳粘膜肥厚、鼓膜穿孔の 3 因子であった。耳漏中の好酸球と好中球遊走と感音難聴の検討では、好酸球遊走は骨導聴力と関連を示さなかったが、好中球遊走が多いと骨導閾値は有意に上昇した。好酸球性中耳炎における感染のリスク因子は、穿孔と耳漏と鼻汁の細菌培養検査結果の一致の 2 因子だった。鼓膜穿孔について検討すると、穿孔耳は非穿孔耳に比べ有意に感染が生じていた。また、穿孔と感音難聴の検討では、穿孔群は有意に骨導閾値上昇をきたしていた。耳漏と鼻汁の細菌培養検査の結果についての検討では、耳漏で同定された菌種としては緑膿菌、*coagulase negative Staphylococcus* (CNS)、*Coryne bacterium* (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。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。中耳貯留液中の

サイトカインを測定すると、interleukin (IL)-10, basic fibroblastic growth factor (bFGF) は感染と正の相関を、IL-5, eotaxin, Interferon (IFN)-g, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) は感染と負の相関を示した。好酸球性中耳炎の治療として行われるステロイドの鼓室内投与の頻度と鼓膜穿孔との関連を解析すると、年 4 回以上の鼓室内投与は穿孔までの期間に有意な影響を与えていた。人工内耳植込術を施行した重度難聴耳の生検病理では、重症気管支喘息を伴う症例に好酸球が多くみられた。また、経時的な比較では、2 耳とも経過観察中に鼓室粘膜中の好酸球数は増加を認め、分子標的薬を使用した 1 耳では、分子標的薬前後で鼓室粘膜中好酸球の減少を認めた。組織採取部位での比較では、乳突蜂巣の粘膜が鼓室粘膜よりも多くの好酸球を認めた。

#### 4 考察

好酸球性中耳炎の感音難聴と関連する因子として、糖尿病、中耳粘膜肥厚、感染が挙げられた。好酸球性中耳炎の耳漏中の白血球分画をみると、好酸球遊走の程度は感音難聴に関連しないが、好中球遊走が強いと感音難聴をきたしやすいことが分かった。これは好酸球性中耳炎をコントロールする上で、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を示している。

感染のリスクについては、鼓膜穿孔と耳と鼻の細菌培養検査結果の一致が感染と関連を持つことが示された。穿孔の有無での比較からは、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からは、感染によって穿孔が生じやすくなる、もしくは穿孔により感染が経外耳道的に引き起こされることが示唆される。

耳と鼻の細菌培養検査結果の一致は、好酸球性中耳炎患者耳管開放傾向を示す点からも耳管經由での感染が起きることが想起される。耳漏の菌種で感音難聴と関連を示したのは、緑膿菌、CNS、Coryne であったが、CNS、Coryne は常在菌であり、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り、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。鼻汁の菌種では、緑膿菌と真菌が感音難聴と関連を示した。鼻汁細菌培養検査が肺炎のスクリーニングになるとの報告 (Smith ら、Ann Pharmacother、2019) もあり、耳管が開放傾向となる好酸球性中耳炎では、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。鼻汁培養で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。真菌については、同定数が 1 人 2 耳と少数であり、検体数を増やした再検討を要すると考えられた。

中耳貯留液中のサイトカインの測定では、感染群と非感染群とを比較すると、IL-10, bFGF の 2 つのサイトカインは感染と正の相関を、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を示した。IL-10 は抗炎症性サイトカインであり、basic FGF 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ことから、感染による創傷の治癒段階を評価していると言える。また、IFN-g は免疫応答促進に働き、白血球による炎症強化の作用があり、MCP-1 は単球遊走の亢進や好塩基球による化学伝達物質の遊離促進、T 細胞走化性活性も引き上げる。これらは感染時に増加すると考えられるが、本検討のように感染が生じて期間のあいた耳漏ではむしろ減少しているとわかった。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、いずれも好酸球炎症の中核をなす。これらが感染と負の相関を示すことは、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。また、感染によって感

音難聴が進行することを考慮すると、感染で好酸球性炎症が抑えられても、好中球遊走を含む感染で生じる病態が結果として感音難聴を進行させると考えられる。

好酸球性中耳炎治療のためのステロイド鼓室内投与も頻度が多いと穿孔を生じやすくなるということが示された。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。しかし、必要時に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て鼓膜穿孔をきたす。より低侵襲に適切な頻度でのステロイド鼓室内投与を行う必要性が示唆された。

中耳の病理組織の検討では、重症喘息を伴う症例で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関連があることが考えられた。本検討のような重度難聴をきたす経過不良例では、経過中に粘膜中の好酸球数が増加しており、中耳粘膜中の好酸球数は病態の重症度を示すと考えられた。また、分子標的薬の使用で鼓室粘膜中の好酸球は減少しており、分子標的薬は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。採取部位で比較すると、乳突蜂巢粘膜により多くの好酸球を認めた。好酸球が浸潤する経路から考えると、鼓室粘膜に好酸球浸潤が強いと推測されたが、今回検討したのは発症後長期の治療経過を有する症例であり、好酸球性炎症が乳突蜂巢で遷延しやすい可能性、またステロイドの鼓室内投与が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。

## 5 結論

好酸球性中耳炎において感音難聴を進行させうる感染のリスクとして、鼓膜穿孔と耳漏と鼻汁の細菌検査結果の一致がある。ステロイド鼓室内治療によっても鼓膜穿孔は生じやすくなるため、投与頻度が適切であるか見直し、より低侵襲な投与方法を心がける必要がある。また、緑膿菌は感音難聴のリスクとなるが、鼻汁の培養で同定されただけでも注意が必要である。

## 論文審査の結果の要旨

稀な疾患である好酸球性中耳炎について、単一施設の症例を多数集積して、その背景を検討した研究である。好酸球性中耳炎は本邦において疾患概念がはじめて提唱され診断基準が作成された、難治性の経過をたどる稀な疾患である。中耳炎を主体とした疾患ではあるが、好酸球性中耳炎の一部の症例では、経過中に急激で激しい感音難聴が進行し患者の QOL を著しく低下させることがあることが知られていた。申請者は、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ている。特に、感音難聴の進行がみられる好酸球性中耳炎症例において、従来原因として考えられていた好酸球性炎症の波及による内耳炎以外にも、ある種の細菌の重感染が関与している可能性に着目して、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いても検討を行った。

申請者は、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）において、主として後ろ向き縦断研究を行った。好酸球性中耳炎は稀な疾患であるため、これまでまとまった症例

数の報告が少なく、その病態や合併する感音難聴の原因やリスクファクターについては不明な点が多かったことから、単一施設における 144 耳の検証はこの疾患の全体像を把握するための一助となる研究である。申請者は、好酸球性中耳炎における感音難聴のリスク因子、耳漏中の好中球遊走と難聴の関係、細菌感染のリスク因子、鼓膜穿孔と感染との関係、耳漏と鼻汁の細菌培養検査結果と感音難聴の関係、中耳貯留液および血清中の IL-5、IL-8 との関係、中耳細菌感染と中耳貯留液中のサイトカインの関係、鼓膜穿孔とステロイド鼓室内投与の関係、中耳粘膜の好酸球遊走との関連など、これまでほとんど知見のなかった分野において多岐にわたる検討を行っていることは評価できる。

一方で、研究デザイン（後ろ向き縦断研究）による制限から、耳漏検体の採取タイミングや回数などは一定ではなく、検出された細菌培養結果や、好酸球、好中球の遊走能に関する一部データにはバイアスが加わっている可能性が否定できない。また、中耳貯留液および血清中の IL-5、IL-8 測定は症例対象研究であるが、中耳貯留液 20 検体、血清 17 検体のみと症例数が少なく、各症例 1 回のみでの採取検体であるとともに、検体採取のタイミングも一定ではないことから、確定的で定量的な傾向を示すことができる結果とは言いがたい部分もある。

しかしながら、これらの研究デザインや計画からくる不確実性要素を考慮しても、稀な疾患である好酸球性中耳炎に対して、本研究で得られた多くのデータは貴重なものであり、学位論文として相応しいものと判断した。今回の研究で示唆された、持続する細菌感染と感音難聴の因果関係については、今後更なる検証により確認していくことが望まれる。

増田氏は、論文を現在投稿中であり、学位論文に関する審査委員の指摘にたいして丁寧に対応しており、最終的にかなり改善された論文を提出している。

以上の理由から、全審査委員が一致して、学位論文として相応しいものと判断した。

## 最終試験の結果の要旨

好酸球性中耳炎症例を多数集積して、その背景を検討した研究である。好酸球性中耳炎は本邦において疾患概念が提唱され、診断基準が作成されたものであり、難治な経過をたどる稀な疾患の一つである。好酸球性中耳炎の一部の症例では、経過中に急激で激しい感音難聴が進行し患者の QOL を著しく低下させることがあることが知られていた。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ている。申請者は感音難聴の進行がみられる好酸球性中耳炎症例において、従来原因として考えられていた好酸球性炎症の波及による内耳炎以外にも、ある種の細菌の重感染が関与している可能性に着目して、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行った。

その結果、好酸球性中耳炎の経過中に生じる細菌感染が、感音難聴を進行させるリスクとなることを示し、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ている。好酸球性中耳炎の臨床経過を見る上で、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、合併する細菌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と結論づけている。

最終試験では、申請者に対して、本研究の着想に至った背景と仮説、その仮説に答えるために研究に用いた材料・方法の妥当性と限界、得られた結果と解釈、及び考察について発表、口頭試

問を実施した。それらに関する質問に対して適切に答え、研究全般及び関連情報について十分に理解していることが確認された。本学位論文は、目的と結果が明瞭であることから、学位研究としてふさわしく、諮問の結果は合格と判定した。