

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592537

研究課題名(和文)好酸球性中耳炎モデルを用いた好酸球性中耳炎の病態解明と治療法の開発

研究課題名(英文)An elucidation of pathological condition and development new treatment strategy for eosinophilic otitis media using animal model.

研究代表者

松原 篤(Matsubara, Atsushi)

弘前大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10260407

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、我々が最近になり開発した好酸球性中耳炎モデル動物を用いて好酸球性中耳炎の病態について調査を行った。まず、腹腔に卵白アルブミンを注入し全身感作させ、引き続き中耳に7日間、14日間、28日間卵白アルブミンの注入を行った。その結果、7日目で内耳に少数の好酸球浸潤が観察されたが内耳形態は保たれていた。さらに、中耳への卵白アルブミンの注入期間を長くするほど、内耳への好酸球浸潤数は増加し、蝸牛の形態障害も悪化していることが観察された。以上より、中耳の好酸球性炎症が長く続ることにより、内耳障害も進行し高度の難聴を来すものと思われた。

研究成果の概要(英文)：We investigated the pathological condition of eosinophilic otitis media (EOM) using animal model which we recently constructed. We constructed the animal model of EOM by intraperitoneal injection of ovalbumine (OVA) and subsequently intratympanic injection of OVA was performed for 7 days, 14 days, and 28 days. Infiltrating cells and the inner ear damage were examined by histological study. In the inner ear, a few eosinophils were seen in the inner ear and morphology was cochlea are well observed. As the periods of intratympanic injection of OVA to the middle ear became longer, the marked eosinophil infiltration in the perilymphatic space was observed. Moreover severe morphological damage of the organ of Corti was observed in the 28-day antigen stimulation side. These results indicated that eosinophilic inflammation occurred in the inner ear and caused profound hearing loss.

研究分野：医歯薬学

キーワード：好酸球性中耳炎 動物モデル

1. 研究開始当初の背景

好酸球性中耳炎は、好酸球浸潤が著明なニカワ状の中耳貯留液を特徴とする難治性の中耳炎である。治療が適切に行われなかった場合には難聴が進行することが明らかとなっているが、病態の解明は未だに進んでいないのが現状である。

一方、我々の施設では最近になり、多数の好酸球が中耳粘膜に浸潤するモデル動物の作成に成功したが、内耳の研究は未だに進んでいなかったのが現状であった。

2. 研究の目的

我々が最近になり作成した好酸球性中耳炎モデルを使用して、好酸球性中耳炎の難聴の病態を解明し、難聴に対する治療法を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) モデル動物作成

モデル動物の作製にはモルモットを用いた。卵白アルブミン (OVA) を用いて腹腔内投与による全身感作の後、刺激側として右側の中耳内に OVA を、左側にコントロールとして生理食塩水を、1 週、2 週、4 週にわたり連日局所投与した。

(2) 切片作成

深麻酔後に側頭骨を摘出し、ホルマリンにて固定後に脱灰を行った。パラフィンに包埋後に 3 μm の切片を作成した。

(3) 染色

H-E 染色を行い、蝸牛に形態および好酸球浸潤について検討した。

また、気管支喘息ではリモデリング関与する細胞外分泌蛋白の periostin や、好酸球遊走に関与する Rantes や Eotaxin の局在について免疫組織学的に検討した。

4. 研究成果

(1) 内耳所見

OVA 投与 1 週間モデルでは、外リンパの鼓室階にごく少数の好酸球浸潤が認められたが (図 1)、コルチ器の形態は比較的良く保たれていた (図 2)。また、血管条の血管は拡張している印象であった。

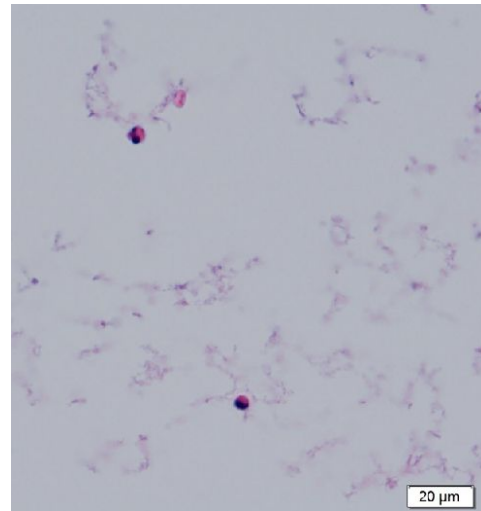


図 1 OVA 投与 1 週間モデル：鼓室階
ごく少数の好酸球浸潤が認められる。

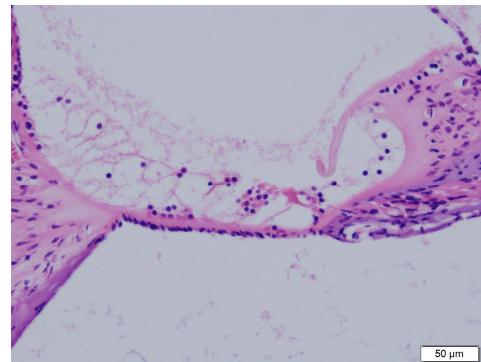


図 2 OVA 投与 1 週間モデル：コルチ器
内毛細胞および外有毛細胞ともに形態は
良く温存されている。

OVA 注入の期間が長くなると好酸球浸潤の程度が強くなり、OVA 2 週間投与モデルでは鼓室階と前庭階に好酸球やマクロファージの浸潤が目立つようになった。OVA 4 週間投与モデルでは、鼓室階と前庭階に多数の好酸球、形質細胞、マクロファージの浸潤が認められるようになり、さらに基底版の血管の断裂やコルチ器に強い障害が観察され (図 3)、

高度な難聴を来していることが推測された。

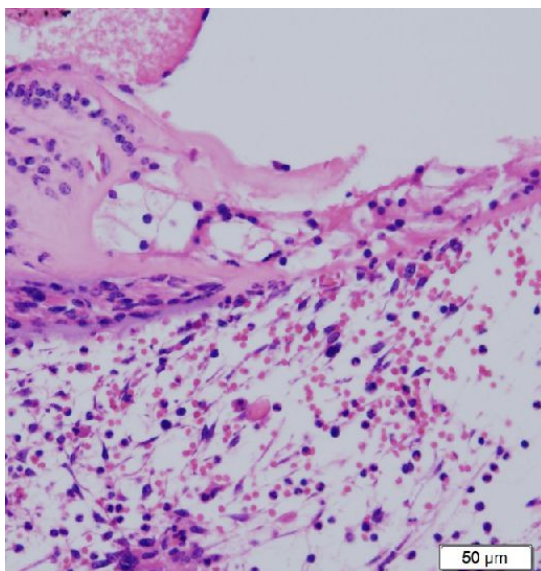


図3 OVA投与4週間モデル：コルチ器基板の断裂、コルチ器の強い障害、および好酸球などの炎症細胞の外リンパ腔への著明な浸潤が認められる。

モデルの作成方法については、2012年に英文で公表した（Nishizawa H, Matsubara A, et al., The role of periostin in eosinophilic otitis media. ACTA Oto-larungologica 2012）。

また、内耳所見については、2014年に英文で公表した（Matsubara A, et al., An experimental study of inner ear injury in an animal model for eosinophilic otitis media. ACTA Oto-larungologica 2014）。

（2）側頭骨所見

側頭骨においては、OVA刺激が長期にわたるほど新生骨の造成が認められ、骨の厚さを測定すると有意に肥厚していることが明らかとなった。（図4）

また新生骨の周囲には多数の骨芽細胞の増殖と、その周囲にはperiostinの強い染色が認められた（図5）。以上より、periostinは好酸球性中耳炎において、好酸球性中耳炎の粘膜肥厚のみならず、骨化性の病変にも、関与することが示唆された。

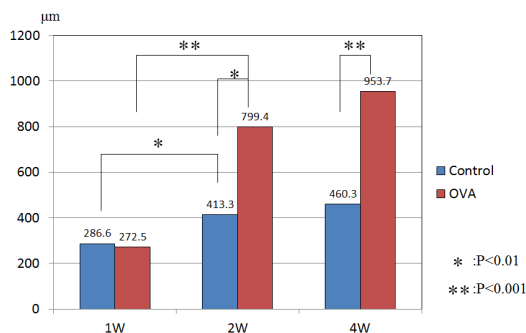


図4 OVA投与期間と側頭骨骨壁の厚さの比較：OVA投与側では有意な肥厚が認められる。

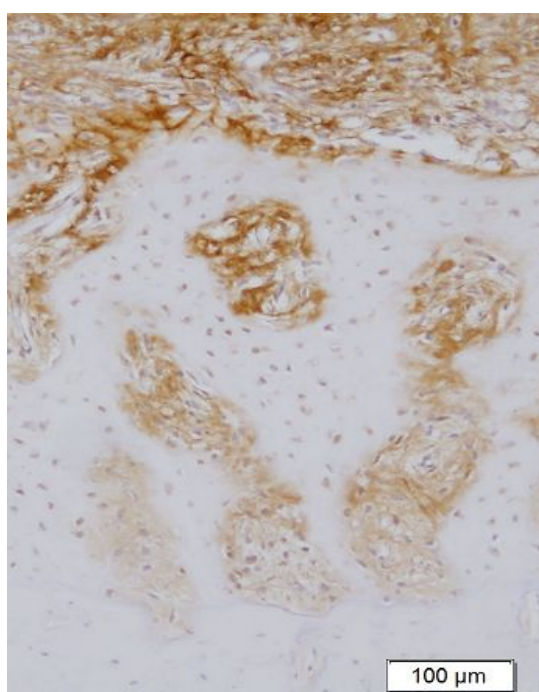


図5 OVA投与2週間モデルにおける側頭骨新生骨周囲にperiostinの陽性所見が認められる。

（第23回日本耳科学会で発表、現在投稿準備中）

（3）好酸球遊走因子に関する所見

中耳粘膜および内耳にもRantesやEotaxinのも陽性所見が得られ、現在発表準備中）である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

Nishizawa H, Matsubara A, et al., The role of periostin in eosinophilic otitis media. ACTA Oto-larungologica 2012.

Matsubara A, et al., An experimental study of inner ear injury in an animal model for eosinophilic otitis media. ACTA Oto-larungologica 2014.

松原 篤. 好酸球関連疾患診療 NAVI 好酸球性中耳炎. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 2012.

松原 篤, 他. 好酸球性中耳炎における内耳障害. Otol Jpn 2014.

松原 篤. 好酸球性中耳炎の診断. 耳鼻臨床 2014.

松原 篤. 見落としやすい耳鼻咽喉科疾患 好酸球性中耳炎

[学会発表](計7件)

松原 篤, 他. 好酸球性中耳炎における内耳障害. 第22回日本耳科学会公募パネルディスカッション.

平成24年10月4-6日、名古屋.

松原 篤, 他. モデル動物による好酸球性中耳炎の内耳病態の検討. 第31回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会.

平成25年2月7-9日、倉敷.

松原 篤. 好酸球性中耳炎の病態-めまいの合併は?- . 第72回日本めまい平衡医学会ランチョンセミナー.

平成25年11月14-15日、大阪.

松原 篤, 他. 好酸球性中耳炎の聴覚器障害. 第63回日本アレルギー学会.

平成25年11月28-30日、東京.

松原 篤, 他. 好酸球性中耳炎モデルにおける側頭骨の骨新生. 第32回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会.

平成26年2月6-8日、徳島.

松原 篤, 他. 好酸球性中耳炎の病態形成における periostin の関わり. 第115回日本耳鼻咽喉科学会.

平成26年5月15-17日、福岡.

Kudo N, Matsubara A, et al, Cochlear lesion of the animal model of eosinophilic otitis media. Inner ear biology workshop 2014 in Kyoto. 2014. 11. 1-4, Kyoto.

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

松原 篤 (MATSUBARA ATSUSHI)
弘前大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 10260407

(2)研究分担者

南場 淳司 (NAMBA ATSUSHI)
弘前大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 50361027

佐々木 亮 (SASAKI AKIRA)
弘前大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 20451479

(3)研究協力者

工藤 直美 (KUDO NAOMI)
弘前大学・大学院医学研究科・大学院生