

令和元年6月20日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11169

研究課題名(和文)好酸球性中耳炎の内耳病態に関する多角的研究

研究課題名(英文)Multilateral study on the pathophysiology of eosinophilia otitis media

研究代表者

松原 篤 (Matsubara, Atsushi)

弘前大学・医学研究科・教授

研究者番号：10260407

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：われわれは、好酸球性中耳炎モデル動物モルモットを用いて好酸球遊走因子として知られるエオタキシンの中耳粘膜における局在を明らかにした。また、アレルギー性炎症のマスタースイッチであるTSLPについても、耳管および耳管周囲の粘膜に陽性所見を確認し、好酸球性中耳炎の病態として、耳管經由でアレルゲンや真菌などに由来するプロテアーゼが耳管上皮を刺激することにより、TSLPなどの上皮性サイトカインが誘導されて、中耳粘膜に好酸球を誘導することが示唆された。

その他にも、青森県内の耳鼻咽喉科医を対象として好酸球性中耳炎の疫学研究を行い、10万人あたりの好酸球性中耳炎の有病率は7.8人であることが推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性中耳炎の病態を解明することは、治療法の立案のためにも重要なことである。今回の検討により、中耳粘膜への好酸球浸潤のメカニズムの一端を解明出来たことは、学術的および臨床的にも有意義な研究結果であった。

また、好酸球性中耳炎の疫学調査からは過去の報告以上に多数の患者が存在していることが推測され、社会的な意義も大変に大きい研究結果が得られたものと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated the localization of eotaxin, which is known as eosinophil migration factor, in the middle ear mucosa using the eosinophil otitis media model animal which was newly constructed in our department. In addition, the localization of TSLP (thymic stromal lymphopoietin), a master switch for allergic inflammation, was also investigated. TSLP positive findings were confirmed in the membrane around the eustachian tube. These results suggested that epithelial cytokine such as TSLP, which was derived from the membrane around the eustachian tube by stimulation of the protease from allergens and fungi and so on, induced the eosinophils infiltration in the middle ear mucosa.

In addition, we conducted an epidemiological study of eosinophilic otitis media for otolaryngologists in Aomori Prefecture, and the prevalence of eosinophilic otitis media per 100,000 people was estimated to be 7.8.

研究分野：医歯薬学

キーワード：好酸球性中耳炎 エオタキシン 上皮性サイトカイン TSLP 治療 疫学 有病率

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19（共通）

1．研究開始当初の背景

好酸球性中耳炎は中耳貯留液の著明な好酸球浸潤を特徴とする難治性の中耳炎である。疫学的に気管支喘息などのアレルギー性疾患を高率に合併し、適切な治療が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。

われわれは、これまでに好酸球性中耳炎モデル動物を新たに作成して、病態の解明を進めてきたが、局所への好酸球浸潤の詳細なメカニズムや中耳炎発症のメカニズムに関しては未解明な部分が多いのが現状であった。

2．研究の目的

基礎的研究としては、中耳炎発症や中耳局所への好酸球浸潤の詳細なメカニズムを解明することを第一の目的とする。また臨床的には、疫学調査により正確な有病率に調査を行い、有効な治療を明らかにすることを目的とする。

3．研究の方法

（1）モデル動物を用いた基礎的研究

卵白アルブミン（OVA）を用いて、全身感作ならびに中耳の局所刺激により好酸球性中耳炎モデル動物を作成する。このモデルの中耳粘膜において、好酸球遊走因子として知られるエオタキシンならびに RANTES の局在や、アレルギー性炎症発症のトリガーである TSLP (thymic stromal lymphopoietin) などの上皮性サイトカインの局在を明らかにする。また RT-PCR により TSLP 発現の変動を明らかにする。

（2）中耳炎組織を用いた基礎的研究

好酸球性中耳炎の症例を用いて、好酸球由来の組織障害性タンパクである MBP(major basic protein)や TSLP の局在を明らかにして中耳炎の病態を明らかにする。

（3）臨床調査

青森県の全耳鼻咽喉科医院ならびに病院の耳鼻咽喉科を対象に好酸球性中耳炎の疫学調査を行い、正確な有病率を明らかにする。

当院で治療中の好酸球性中耳炎患者を対象に後方視的なカルテチェックにより、好酸球性中耳炎に有効な治療法を検討する。

4．研究成果

（1）モデル動物における基礎的研究

モデル動物の中耳粘膜には、抗原刺激が長期にわたるほどエオタキシン（Eotaxin-3）陽性の細胞数が増加し粘膜への浸潤好酸球数も増加していた。同様に RANTES の陽性反応も認められた。（図1，2：文献）

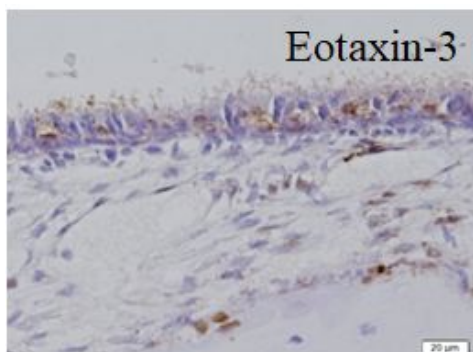


図1 モデル動物の中耳粘膜における Eotaxin-3陽性反応

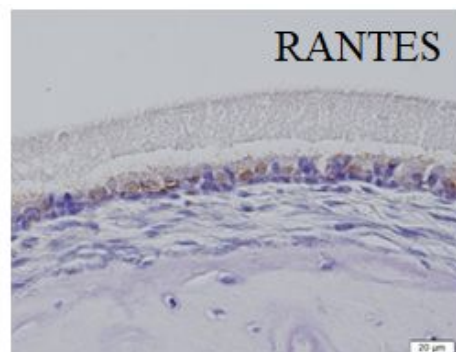


図2 モデル動物の中耳粘膜における RANTES陽性反応

また、TSLP についても、陽性細胞が耳管および中耳粘膜では耳管周囲の粘膜に認められた（図3：文献 ）。RT-PCR による解析でも TSLP mRNA の発現が確認された（図4：文献 ）。

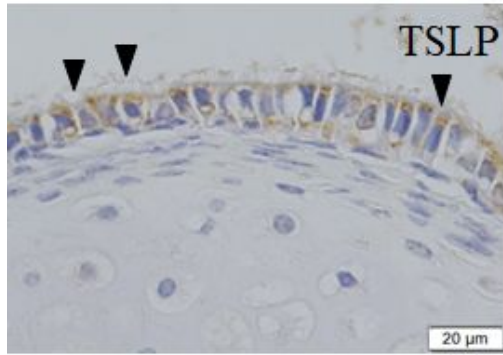


図3 モデル動物の耳管周囲粘膜における TSLP陽性反応
陽性反応は耳管周囲で強く、耳管からの距離が大きくなるにつれて陽性反応が弱かった。

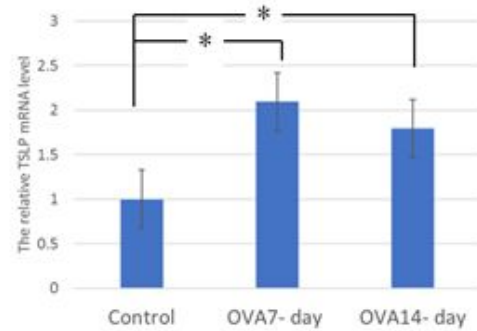


図4 OVA刺激週別のTSLP mRNAの発現
TSLP mRNAの発現はコントロール測に比し刺激1週目から有意な上昇が認められた。

以上より、耳管経由でアレルギー炎症に関わる物質が中耳に進入し、TSLP が誘導されるのを契機として、エオタキシンや RANTES が発現し結果として、好酸球浸潤にいたることが推測された。

（2）中耳炎症例における MBP と TSLP の検討

外来を受診した好酸球性中耳炎の患者から生検により得られた組織において、好酸球由来の組織障害性タンパクである MBP の局在を検討したところ、粘膜下に浸潤する好酸球（矢頭）だけでなく上皮の管腔側にも沈着する陽性反応（矢印）が認められ（図5：文献 ）、好酸球から放出された組織障害性タンパクが、上皮障害の要因となりうることが示唆された。また、TSLP の陽性反応は耳管周囲の組織が得られた中耳炎症例でも確認され（矢印）、モデル動物による検討と同様に、中耳炎の発症には耳管が重要な働きを行っていることが示唆された。

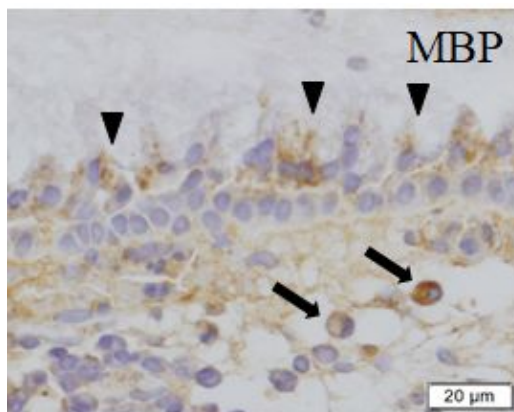


図5 中耳炎症例の中耳粘膜におけるMBP 陽性反応

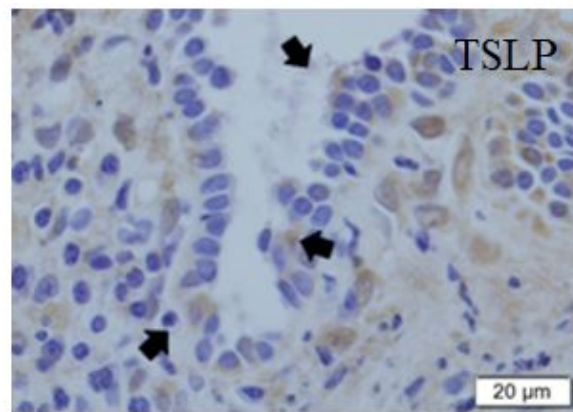


図6 中耳炎症例の中耳粘膜におけるTSLP 陽性反応

現在、TSLP 以外の上皮性サイトカインである IL-33 の局在や、抗原の取り込みや Th2 リンパ球の調節を担う樹状細胞の局在も確認しており、英文にて投稿準備中の段階である。

（3）臨床調査

青森県内の総合病院、開業医院の耳鼻咽喉科医を対象として、好酸球性中耳炎の患者数、発症年齢などのアンケート調査を実施した。その結果、青森県における好酸球性中耳炎の有病率

が10万人あたり7.8名と推測され、過去の報告よりもかなり発症頻度が高い疾患であることが示唆された。発症年齢に関しては従来の報告同様に40歳代から60歳代の成人に多く認められていた。この結果は、第67回日本アレルギー学会にて発表し、現在は英文にて投稿準備中の段階である。

また、当科にて治療が行われて好酸球性中耳炎患者を対象として、投薬内容と治療効果について検討を行ったところ、コントローラーとしての抗ロイコトリエン薬、好酸球抑制効果のある第二世代抗ヒスタミン薬、および抗PDE(Phosphodiesterase)阻害薬のイブジラストの併用により、リリーパーとして用いられるトリアムシノロンの鼓室内投与の使用回数が減少しており、適切な疾患管理に役立つことが期待された。この内容については、2019年の日本耳鼻咽喉科学会総会において教育セミナーで公表したところ投稿依頼があり、日本語にて投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計9件)

Tomoya Miura, Atsushi Matsubara, Naomi Kudo, et al. The expression of thymic stromal lymphopoietin in patients and animal models with eosinophilic otitis media. ACTA Oto-laryngologica, 2018. (査読有)

松原 篤. 好酸球性中耳炎. アレルギー, 2018. (査読なし)

Atsushi Matsubara, Junko Takahata, Tomoya Miura, Naomi Kudo. Treatment for Eosinophilic otitis media. J Clin Cell Immunol 9 : 1, 2018. (査読なし)

松原 篤. 好酸球性中耳炎の治療. 耳鼻咽喉科免疫アレルギー, 35 : 257-260, 2017. (査読なし)

松原 篤. 好酸球性中耳炎の診断と治療. Otology Japan 27:199-203, 2017. (査読なし)

Naomi Kudo, Atsushi Matsubara, et al. Immunohistological analysis of eotaxin and RANTES in the model animal of eosinophilic otitis media. ACTA Oto-laryngologica 137 : 476-481, 2017. (査読有)

松原 篤、他 好酸球性中耳炎と気管支喘息 MB-Entoni 197 : 29-33 2016. (査読なし)

松原 篤、他 好酸球性中耳炎・副鼻腔炎. 特集：気管支喘息.IV 合併症・並存症を有する気管支喘息. 日本臨牀 74:1717-1720 2016. (査読なし)

松原 篤. 好酸球性中耳炎. 耳鼻咽喉科処方マニュアル 6.好酸球関連. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 88 : 212-213, 2016. (査読なし)

〔学会発表〕(計8件)

松原 篤、他. 好酸球性中耳炎と細菌感染. 第6回日本耳鼻咽喉科感染症・エアロゾル学会. 2018年9月8-9日(金沢)

Atsushi Matsubara, Junko Takahata, Tomoya Miura, Naomi Kudo. Pathology and Treatment of eosinophilic otitis media. (invited) Cell 2018, 8/17-18 シンガポール

高畑淳子、松原 篤. 青森県における好酸球性中耳炎に関する疫学調査. 第67回日本アレルギー学会. 2018年6月22-24日(千葉)

Tomoya Miura, Atsushi Matsubara, et al. The expression of thymic stromal lymphopoietin in eosinophilic otitis media. ARO 41st annual midwinter meeting 2018, 2/9-14 サンディエゴ

三浦智也、松原 篤、工藤直美、西澤尚徳. 好酸球性中耳炎におけるTSLPの役割. 第27回日本耳科学会. 2017年11月22-24日(横浜)

松原 篤. 好酸球性中耳炎 第3回総合アレルギー講習会. 2016年12月17 - 18日(横浜)

松原 篤. 好酸球性中耳炎 診断と治療. 第26回日本耳科学会 Key note lecture. 2016年10月6 - 8日(長野)

松原 篤、三浦智也、西澤尚徳、高畑淳子. 好酸球性副鼻腔炎および好酸球性中耳炎の病態. 第65回日本アレルギー学会：シンポジウム、2016年6月17 - 19日(東京).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：佐々木 亮
ローマ字氏名：SASAKI AKIRA
所属研究機関名：弘前大学
部局名：大学院医学研究科
職名：准教授
研究者番号(8桁)：20451479

研究分担者氏名：高畑 淳子
ローマ字氏名：TAKAHATA JYUNKO
所属研究機関名：弘前大学
部局名：医学部附属病院
職名：講師
研究者番号(8桁)：60568898

研究分担者氏名：工藤 直美
ローマ字氏名：KUDO NAOMI
所属研究機関名：弘前大学
部局名：医学部附属病院
職名：助教

研究者番号(8桁): 30770143

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 三浦 智也

ローマ字氏名: MIURA TOMOYA

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。