

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592539

研究課題名(和文) 耳管腺の分泌機構の解明とその制御 = 難治性中耳疾患の治療戦略 =

研究課題名(英文) Secretory mechanism of the submucosal glands in the eustachian tube and its regulation

研究代表者

大島 猛史 (OSHIMA, Takeshi)

日本大学・医学部・教授

研究者番号：40241608

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：中耳・耳管粘膜の分泌制御は中耳炎発症機序の解明、そして、その治療および予防戦略に重要である。本研究では、組織学的に粘膜下に豊富な耳管腺の存在を確認した。さらに、耳管組織の初代培養を行い、豊富な分泌顆粒をもつ耳管腺房細胞を分離できた。耳管組織では水チャネルであるアクアポリンの発現を認め、耳管腺分泌に関与していることが示唆された。また、臨床的には耳管開放症を診断するために、耳管開放症(疑い例を含む)301耳でインピーダンス法の波形を解析し、TTAG波形と比較検討し3タイプの波形を耳管閉鎖不全の所見として提示することができた。

研究成果の概要(英文)：The secretory mechanism in the middle ear and tuba mucosa has crucial roles in strategies of the treatment and prevention of otitis media. In the present study, submucosal tubal glands could be identified. Primary culture could reveal the expression of aquaporin in the gland cells, suggesting of the significance of the secretion mechanism of the gland. In 301 ears suffering from patulous eustachian tube, the tubal function test was performed. Three types of the impedance wave forms could be revealed as the positive finding indicative of patulous eustachian tube.

研究分野：医学

キーワード：耳管腺 耳管機能 耳管開放症

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 正常な耳管機能は中耳の生理機能の維持に必須である。耳管粘膜には分泌機能があり、分泌される粘液には高分子糖タンパクであるムチン、界面活性作用を持つサーファクタントタンパク質などが含まれていることが知られている。

(2) 耳管は嚥下時などに瞬間的に開く状態が正常であるが、耳管開放症は開放状態が持続することによりさまざまな症状を呈する。最大の原因はいぼで、耳管周囲の軟部組織の減少に伴う耳管内腔開大であるが、粘膜表面の粘液層の破壊も関与することが示唆されている。実際、分泌低下のある高齢者、シェーグレン症候群ではその耳管分泌の低下が耳管開放症の発症に関与している可能性も考慮される。

(3) 耳管機能検査として耳管鼓室気流動態法 (TTAG 法) は耳管閉鎖不全を検出するのに優れた方法であり、耳管開放症の所見が間欠的に発現することを考慮しても約 70% の陽性率を示す。しかし、臨床的にはその機能が搭載された機種は十分に普及していない。それを補完する方法としてインピーダンス法があるが、その波形についてはこれまで明確な診断基準がなかった。

### 2. 研究の目的

(1) 耳管組織から耳管腺を単離し、培養を行う。In vitro で耳管腺の細胞の機能を明らかにする。

(2) 耳管分泌の障害が及ぼす影響を臨床的に明らかにする。

### 3. 研究の方法

(1) ラットを麻酔下に 4% パラフォルムアルデヒドで還流固定し、頭部を EDTA で脱会後にパラフィン切片を作製した。ヘマトキシリンエオシン染色、PAS アルシアンブルー染色、蛍光抗体法を行った。

(2) ラットを麻酔下に断頭し、顕微鏡下に耳管粘膜を採取した。一時培養を行い、耳管腺細胞を単離した。PAS アルシアンブルー染色を行った。

(3) 耳管開放症 (疑い例を含む) 301 耳でインピーダンス法の波形を解析し、TTAG 波形と比較検討した。

(4) 413 名の耳管開放症「確実例」および「疑い例」を対象にして耳管開放症の成因、背景を検討するために疫学調査を行った。

### 4. 研究成果

(1) ラット耳管組織切片で粘膜下に豊富な耳管腺組織を確認することができた。PAS アル

シアンブルー染色で豊富な粘液産生を示唆した (図 1)。さらに蛍光抗体法により水チャネルであるアクアポリン 5 が耳管腺細胞に局在することが明らかとなった (図 2)。

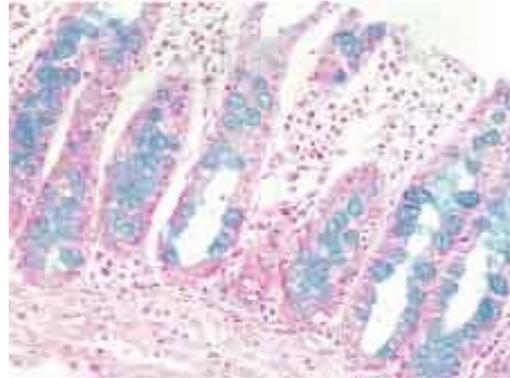


図 1 耳管粘膜下の腺組織



図 2 耳管腺におけるアクアポリンの発現

(2) ラット耳管組織から耳管粘膜を単離し、初代培養を行った。繊維芽細胞の混入がみられ (図 3)、耳管腺細胞による単層培養はできなかったが、PAS アルシアンブルー染色にて豊富な分泌顆粒を持つ耳管腺細胞を確認することができた (図 4)。

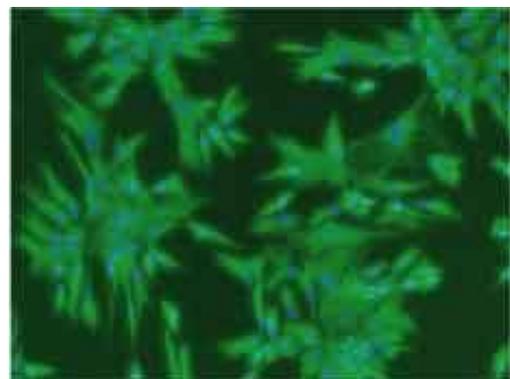


図 3 培養細胞のビメンチンの発現



図4 培養中の耳管腺細胞

(3) 耳管機能検査の一つであるインピーダンス法の耳管開放症における有用性を明らかにするためにすでに評価法の確立しているTTAG法と対比したところ、耳管開放症の要請波形と思われる波形を3種類同定することができた。それぞれ、逆位相型(図5)、同位相型(図6)、下方スパイク型(図7)とした。

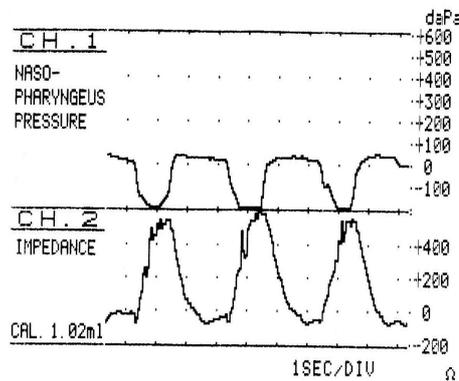


図5 逆位相型(インピーダンス法)

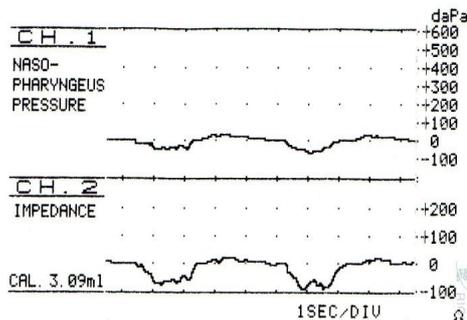


図6 同位相型(インピーダンス法)

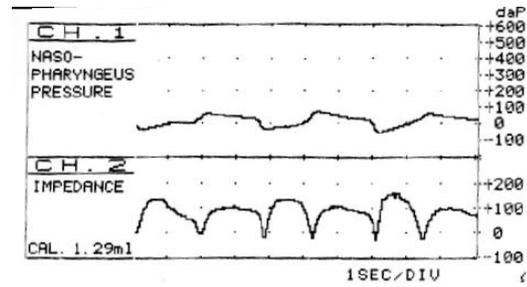


図7 下方スパイク型(インピーダンス法)

(4) 耳管開放症「確実例」および「疑い例」413名の体型は、やせ127名(30.1%)、普通体重252名(61.6%)、肥満1度31名(7.8%)、肥満2度3名(0.7%)、肥満3度および4度は0名であった。BMI平均は20.3+3.2、うち男性184名のBMIは21.1+3.5、女性229名のBMIは19.6+2.8であった。BMI最大値は34.1で、心疾患に伴う体重減少が誘因と考えられた。BMIの最小値は11.1であった。耳管開放症の発症に体重減少が関与することを強く示唆するが、耳管分泌などその他の因子も示唆された。

#### 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5件)

Yamauchi D, Yamazaki M, Ohta J, Kadowaki S, Nomura K, Hidaka H, Oshima T, Kawase T, Katori Y. Closure technique for labyrinthine fistula by “underwater” endoscopic ear surgery. **Laryngoscope** 査読有 124(11):2616-1618, 2014. DOI: 10.1002/lary.24785

Oshima H, Ikeda R, Nomura K, Yamazaki M, Hidaka H, Katori Y, Oshima T, Kawase T, Kobayashi T. Change in endocochlear potential during experimental insertion of simulated cochlear implant electrode in the guinea pig. **Otol Neurotol** 査読有 35:234-240, 2014. DOI: 10.1097/MAO.0b013e3182a36018

大島猛史、耳管通気、耳鼻咽喉科・頭頸部外科、査読なし、85:254-257, 2013

菊地俊晶、小林俊光、大島猛史、高田生織、大島英敏、池田怜吉、川瀬哲明、耳管開放症診断における音響耳管法(sonotubometry)の問題点 高い偽陽性率と検査法の位置づけ、**Otology Japan** 査読有 23:193-197, 2013 URL: ci.nii.ac.jp/naid/130005065188

Ikeda R, Kobayashi T, Kawase T, Oshima T, Sato T. Risk factors for deterioration of bone conduction hearing in cases of labyrinthine fistula caused by middle ear cholesteatoma **Ann Otol Rhinol Laryngol** 査読有 121: 162-167, 2012. URL:

〔学会発表〕(計 11 件)

大島猛史、耳管開放症の臨床、第 15 回 Auditory Neuroscience Meeting、2015 年 3 月 14 日、南海スイスホテル、(大阪府・大阪市)

大島猛史、耳管開放症の臨床、第 30 回城北・埼玉南部耳鼻咽喉科学術集会、2015 年 2 月 12 日、京王プラザホテル(東京都・豊島区)

菊地俊晶、大島猛史、他、耳管開放症(確実例及び疑い例)の BMI の検討、第 158 回日耳鼻宮城県地方部会、2014 年 12 月 6 日、仙台市医師会館(宮城県・仙台市)

大島英敏、大島猛史、他、弛緩部型中耳真珠腫における開放耳管の合併率、第 24 回日本耳科学会、2014 年 10 月 16 日、朱鷺メッセ(新潟県・新潟市)

菊地俊晶、大島猛史、他、耳管開放症患者の BMI の検討、第 24 回日本耳科学会、2014 年 10 月 16 日、朱鷺メッセ(新潟県・新潟市)

大島猛史、外耳道後壁削除型・乳突開放型鼓室形成術、第 24 回日本耳科学会、2014 年 10 月 16 日、朱鷺メッセ(新潟県・新潟市)

大島英敏、大島猛史、他、弛緩部型中耳真珠腫における開放耳管の合併率、第 62 回日耳鼻東北連合学会、2014 年 7 月 19 日、盛岡グランドホテル(岩手県・盛岡市)

Oshima H, Oshima T, et al. Ototoxic effect of daptomycin applied to the guinea pig middle ear, 37th ARO Annual Meeting, 2014/2/21, San Diego (USA)

大島猛史、耳管疾患における内視鏡の応用、第 22 回日本耳科学会、2012 年 10 月 24 日、名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

大島猛史、耳管開放症、第 74 回日本耳鼻咽喉科臨床学会、2012 年 7 月 5 日、東京ドームホテル(東京都・文京区)

Oshima T, Eustachian tube plugging by Kobayashi's PET plug, 9<sup>th</sup> International Conference on Cholesteatoma and Ear Surgery, 2012/6/3, (長崎県・長崎市)

〔図書〕(計 3 件)

大島猛史、全日本病院出版会、ENTONI No.179 診断・治療に必要な耳鼻咽喉科臨床検査、2015 年、77-84

大島猛史、中山書店、耳鼻咽喉科早わかり漢方薬処方ガイド、2014 年、46-51

大島猛史、中山書店、臨床フロンティア「耳鼻咽喉科最新薬物療法マニュアル」、2014 年、290-292

〔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 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大島 猛史(Oshima, Takeshi)

日本大学・医学部・教授

研究者番号: 40241608

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし