

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	感覚統合科学領域耳鼻咽喉・頭頸部外科学教育研究分野 氏名 工藤 直美
(論文題目) Immunohistological Analysis of Eotaxin and RANTES in the Model Animal of Eosinophilic Otitis Media (好酸球性中耳炎モデル動物における Eotaxin と RANTES の免疫組織学的分析)	
(内容の要旨) <p>背景</p> <p>好酸球性中耳炎は、好酸球に富む粘稠な中耳貯留液を特徴とする難治性中耳炎である。本疾患においては、適切な治療が行われないと感音難聴が進行することが明らかとなっており、聾にいたった症例も経験されている。</p> <p>感音難聴の原因を究明し、その的確な治療を行うためには、内耳病態の詳細な解明が望まれるが、臨床症例を用いた研究には倫理的な限界がある。本研究では、中耳に著明に好酸球が浸潤したモデル動物を用いて、好酸球遊走因子である Eotaxin と RANTES について、免疫組織学的な検討を行った。</p> <p>対象と方法</p> <p>卵白アルブミン（以下 OVA）を刺激抗原として用いた。腹腔内投与による全身感作の後、右鼓室内に経鼓膜的に OVA を連日投与し、好酸球性中耳炎モデル動物を作成した。左鼓室内には生理食塩水を投与し、コントロールとした。投与日数により 7 日間刺激、14 日間刺激、28 日間刺激の 3 群とした。それぞれ、OVA 最終投与日に側頭骨を摘出し、それらの標本に対し、HE 染色による組織学的検討、および抗 Eotaxin 抗体、抗 RANTES 抗体を用いて免疫組織学的な検討を行った。統計学的解析としては、中耳粘膜における各々の陽性細胞数を、一検体当たり 5 カ所で計数し、単位面積 0.01mm²あたりの平均値として算出した。</p> <p>結果</p> <p>組織学的な検討では、7 日間 OVA 刺激を行ったモデルにおいて、ごく少数ながら鼓室階に好酸球の浸潤が観察された。14 日間、28 日間と OVA 刺激の期間が長くなるほど鼓室階に浸潤する好酸球は増加し、28 日間刺激を行ったモデルではコルチ器や血管条および基底板の形態学的破壊も伴っていた。</p> <p>免疫組織学的検討では、7 日間刺激側、14 日間刺激側の中耳粘膜における Eotaxin、RANTES 陽性細胞数は、コントロール側に比し有意に増加していた。さらに、7 日間刺激側と 14 日間刺激側との比較では、Eotaxin、RANTES とともに 14 日間刺激側において有意に陽性細胞数が増加していた。一方で、14 日間刺激側と 28 日間刺激側の比較では、Eotaxin、RANTES とともに、陽性細胞数に有意な差は認められなかった。</p> <p>内耳の鼓室階においては明らかな Eotaxin、RANTES の陽性所見は認められなかった。</p>	

考察

OVA 刺激の期間が長くなるにつれて内耳への好酸球浸潤、内耳構造の破壊が顕著となり、中耳粘膜における Eotaxin と RANTES の発現もそれに伴い増加していた。しかし、Eotaxin と RANTES の陽性細胞数は、14 日刺激までは有意に増加したが、14 日刺激側と 28 日刺激側を比較すると有意な増加は見られなかった。

われわれの検討では、中耳粘膜における好酸球浸潤は 7 日間刺激ではコントロール側と有意差はみられないものの、14 日間刺激以降では、コントロール側よりも有意に増加し、さらに 14 日間刺激よりも 28 日間刺激で好酸球数が有意に増加していた。このことから、抗原刺激によって、まず Eotaxin や RANTES 陽性の細胞が出現し、好酸球遊走に関与することが考えられる。その増加は 14 日間ごろまでをピークとして、その後は持続的にこれらの好酸球遊走因子が分泌されることで、さらなる好酸球遊走が促されている可能性が示唆された。

一方、鼓室階では Eotaxin や RANTES の陽性所見は認められなかったにもかかわらず 7 日間 OVA 刺激を行ったモデルで好酸球浸潤が認められている。現状において詳細なメカニズムは不明であるが、蝸牛の形態がほとんど正常に維持されていることから、中耳粘膜から分泌された Eotaxin や RANTES が正円窓膜を通過して鼓室階に移行し、好酸球浸潤に関与した可能性が考えられた。