

原 著

小児滲出性中耳炎での Endotoxin, Leukotriene の関与

立 花 文 寿

徳島大学医学部耳鼻咽喉科学教室 (主任:小池靖夫教授)

(平成9年4月23日受付)

小児滲出性中耳炎(以下 OME と略す)でのエンドトキシン, ロイコトリエン(以下 LT と略す)の関わりを検討するために, 小児 OME 症例の中耳貯留液を採取し, エンドスペー法によりエンドトキシン濃度を, またラジオイミューアセイにより LT 濃度を測定した。その結果, エンドトキシンについては, OME の早期の段階で中耳腔に多量に存在すること, 中耳腔でのエンドトキシンの濃度は副鼻腔炎の程度に影響されることが考えられた。次に中耳貯留液中でのエンドトキシンと LT の関係については, エンドトキシン濃度と LTC₄濃度, エンドトキシン濃度と LTD₄と LTE₄の合計濃度のそれぞれの間に関連を認められた。さらに LT については, 中耳貯留液の粘稠度の亢進に関わっていること, また OME 非再発群よりも再発群で LT 濃度が高く, 抗 LT 剤の投与により中耳貯留液中の LT 濃度の低下と OME の再発率の低下が認められたことから, LT は OME の再発に関わっていることが考えられた。

滲出性中耳炎(以下 OME と略す)の成因については, 従来より耳管機能不全説¹⁻²⁾, 感染・炎症説³⁾, 免疫複合体説⁴⁾等が唱えられており, 未だ明確には解明されていないが, 感染とそれに伴う炎症が, OME の病態の中心であると考えられるようになってきた。

Senturia, et al.³⁾は, OME 発症における感染・炎症説を主張したが, 論文発表当時は, OME の中耳貯留液は無菌であると考えられていたため, 多くの研究者の支持を得るには至らなかった⁵⁾。しかしその後, Liu, et al.⁶⁾, Kokko⁷⁾, Heary, et al.⁸⁾が, OME の中耳貯留液中から細菌を検出したと報告し, 細菌培養陽性例の中ではインフルエンザ菌が最多を占めたとする報告^{7,9,10)}がなされるようになり, OME の発症や遷延化の課程において, 細菌感染, 殊にグラム陰性桿菌であるインフルエンザ菌が重要な役割を果たしていると考えられるようになってき

た。さらに, DeMaria, et al.¹¹⁾や Iino, et al.¹²⁾, 嶽ら¹³⁾が, OME の中耳貯留液中にグラム陰性桿菌の菌体成分であるエンドトキシンが存在することを報告し, OME とエンドトキシンの関わりが注目されるようになったが, 未だ解明されていない点も多い。

一方, プロスタグランジン(以下 PG と略す)やロイコトリエン(以下 LT と略す)に代表されるアラキドン酸代謝産物は, アレルギー性の炎症のみならず, 非アレルギー性の炎症にも関わりのある重要なケミカルメディエーターとされており, OME の中耳貯留液からも検出されたとする報告¹⁴⁾や, OME との関わりについての報告¹⁵⁻¹⁶⁾がなされてはいるが, OME での LT の果たす役割について十分に検討されているとは言いがたい。また Brodsky, et al.¹⁷⁾は, OME 中耳貯留液を採取し, 同一検体でアラキドン酸代謝産物の濃度の測定と細菌培養を行った結果として, OME での LT の産生には細菌感染が関わっていることを示唆したが, OME でのエンドトキシンと LT の関係については, 未だに検討されていない。

そこで著者は,

- ①小児 OME 症例の中耳貯留液中のエンドトキシン濃度を測定し, OME でのエンドトキシンの果たす役割について検討すること。
- ②同一検体でエンドトキシンと LT の両方の濃度を測定し, OME でのエンドトキシンと LT の関係について検討すること。
- ③小児 OME 症例の中耳貯留液中の LT 濃度を測定して OME での LT の果たす役割を検討し, さらに抗 LT 作用を有する薬剤であるオキサトミドの投与により, 中耳貯留液中の LT 濃度がどのように変化し, また LT 濃度の変化が OME にどう影響するのかについて検討すること。

以上の項目につき定量的検討を行った。

方 法

1 対象

OME 未治療症例38例44耳（3歳0ヶ月から12歳8ヶ月，平均年齢：5歳4ヶ月）を対象として中耳貯留液を採取し，エンドトキシン濃度，LT濃度を測定した。その内訳は，エンドトキシン濃度のみを測定した症例が6例8耳，LTD₄とLTE₄の合計（以下LTD₄+LTE₄とする）濃度のみを測定した症例が7例8耳であった。またLTC₄濃度とLTD₄+LTE₄濃度の両方を測定した症例が2例2耳，エンドトキシン濃度とLTC₄濃度の両方を測定した症例が3例3耳，エンドトキシン濃度とLTD₄+LTE₄濃度の両方を測定した症例が9例9耳，さらにエンドトキシンとLTC₄濃度，LTD₄+LTE₄濃度の3つを測定した症例が11例14耳であった。

さらにオキサトミドを8週間投与した後に中耳貯留液を採取した症例23例32耳（2歳2ヶ月から8歳9ヶ月，平均年齢：4歳6ヶ月）をオキサトミド投与群とし，OME 未治療例29例33耳の対照群（3歳2ヶ月から12歳8ヶ月，平均年齢：5歳5ヶ月）との間で，LTD₄+LTE₄濃度を比較検討した。

2 測定方法

2・1 エンドトキシン濃度の測定

鼓膜切開を実施した際に Juhn Tym-Tap (Xomed-Treace 社製) を用いて中耳貯留液を採取し，滅菌蒸留水 3 ml に溶解した後，エンドトキシンの測定まで -80℃ で保存した。

エンドトキシンの測定は，エンドトキシン定量キットであるエンドスッペク-SP テスト（生化学工業社製）を用いたエンドスペシー法にて実施した。測定操作については，まず保存しておいた検体を遠心分離し，上清と沈査に分離した。次いで上清から阻害因子を除去するために過塩素酸を加え攪拌し，インキュベーション，遠心分離の後，水酸化ナトリウムを加え主反応の前の前処理を行った。主反応については，緩衝液に引き続いて主剤を加えインキュベーションし，ジアゾ試薬を加えた後に吸光度を測定し，検量曲線よりエンドトキシン量を求めた。尚，今回測定に用いたエンドスッペク-SP テストの検出限界は，0.6 pg/ml である。またエンドトキシンの濃度の算出については，検体中の蛋白量を Lowry 法により測定し，エンドトキシン量を蛋白量で除して得られた値をエンドトキシン濃度（単位：pg/mgTP）とした。

2・2 LT濃度の測定

鼓膜切開を実施した際に Juhn Tym-Tap を用いて中耳貯留液を採取し，メタノール 1.5 ml に溶解した後，LT の測定まで -80℃ で保存した。

LT の測定の際には，酢酸エチルを加え攪拌遠心し，上清と沈査に分離した。次いで上清に石油エーテルを加えて遠心した後に下層を採取し，これに酢酸緩衝液を加え Bond Elut C8 ミニカラム (Varian 社製) に充填し蒸留水で洗浄した後，メタノールにて LTC₄，LTD₄ および LTE₄ をまとめて溶出乾固した。これを高速液体クロマトグラフィー（以下 HPLC と略す）の移動層 [メタノール/蒸留水/酢酸 = 65/35/1，pH 5.6，流速 1 ml/min.] に再溶解し，NOVA-PAK C-18 カラム (Waters 社製) を用いた逆相 HPLC で，LTC₄，LTD₄ および LTE₄ に分離した。次いで各分画を採取したが，LTD₄ と LTE₄ の分画が一部重なるため LTD₄ 分画と LTE₄ 分画をまとめて採取し，ラジオイミュノアッセイ（以下 RIA と略す）に供した。LTC₄ の量の測定には，LTC₄ Specific RIA キット (Amersham 社製) を使用し，LTD₄ および LTE₄ の量の測定には，LTD₄ とも交差する LTE₄ RIA 系である Peptidyl LT RIA キット (NEN-DuPont 社製) を使用し，LTD₄+LTE₄ 量を測定した。尚，RIA キットの検出限界は，LTC₄ Specific RIA キットが 40 pg/ml であり，Peptidyl LT RIA キットは 50 pg/ml であった。また LT の濃度の算出についても，エンドトキシンの場合と同様に，検体中の蛋白量を Lowry 法により測定し，LT 量を蛋白量で除して得られた値を LT 濃度（単位：pg/mgTP）とした。

3 検討項目

3・1 OME とエンドトキシン

OME でのエンドトキシンの関わりを検討するため，顕微鏡下に鼓膜切開を実施し，中耳貯留液を吸引する際の粘稠度に基づき，中耳貯留液を seromucoid type と mucoid type に大別し，中耳貯留液の粘稠度とエンドトキシンの濃度の関係を検討した。次に鼓膜切開孔閉鎖後，1ヶ月以内に中耳貯留液の再貯留を認めた症例を再発ありとし，OME の再発とエンドトキシン濃度の関係を検討した。さらに副鼻腔炎合併症例については，副鼻腔炎の程度と中耳貯留液中のエンドトキシン濃度の関係を検討するために，鼻内所見および X 線所見から，副鼻腔炎の程度を高度，中等度，軽度の3段階に分類し，高度の副鼻腔炎を合併する症例と，軽度もしくは中等度の副鼻腔炎を合併する症例との間で，エンドトキシンの濃度

を比較した。尚、ここでの高度の副鼻腔炎とは、鼻内所見で多量の膿性鼻汁もしくは後鼻漏を認め、かつX線所見で上顎洞全体に陰影を認めるものとした。

3・2 OMEでのエンドトキシンとLTの関係

中耳貯留液中でのエンドトキシンとLTの関係を検討するために、同一検体でエンドトキシン濃度とLTC₄濃度、LTD₄+LTE₄濃度を測定し、エンドトキシン濃度とLTC₄濃度、エンドトキシン濃度とLTD₄+LTE₄濃度それぞれの間での相関を求めた。

3・3 OMEとLT

OMEでのLTの関わりを検討するため、顕微鏡下に鼓膜切開を実施し、中耳貯留液を吸引する際の粘稠度に基づき、中耳貯留液をseromucoid typeとmucoid typeに大別し、中耳貯留液の粘稠度とLTD₄+LTE₄濃度の関係を比較検討した。次に鼓膜切開閉鎖後、1ヶ月以内に中耳貯留液の再貯留を認めた症例を再発ありとし、OMEの再発とLTD₄+LTE₄濃度の関係を検討した。さらにオキサトミド投与群と未治療の対照群との間で、LTD₄+LTE₄濃度およびOMEの再発率を比較検討した。

4 統計的検定

有意差の検討には、Mann-Whitney検定、 χ^2 検定を用い、相関の検討には、Spearmanの順位相関係数 r_s を利用した。

結 果

1 OMEとエンドトキシン

中耳貯留液の粘稠度とエンドトキシン濃度との関係については、seromucoid群では 115.5 ± 238.1 pg/mgTP、mucoid群では 8.1 ± 20.5 pg/mgTPであり、両群の間に有意差 ($p < 0.05$) を認めた (Fig. 1)。次にOMEの再発の有無とエンドトキシン濃度との関係については、再発ありの群では 78.8 ± 210.5 pg/mgTP、再発なしの群では 13.5 ± 30.3 pg/mgTPであり、再発ありの群で平均濃度は高くなっていたが、この差は統計学的に有意なものではなかった (Fig. 2)。副鼻腔炎とエンドトキシン濃度との関係については、高度の副鼻腔炎を合併する症例では 91.4 ± 215.2 pg/mgTP、軽度もしくは中等度の副鼻腔炎を合併する症例では 14.1 ± 43.9 pg/mgTPであり、両群の間に有意差 ($p < 0.05$) を認めた (Fig. 3)。

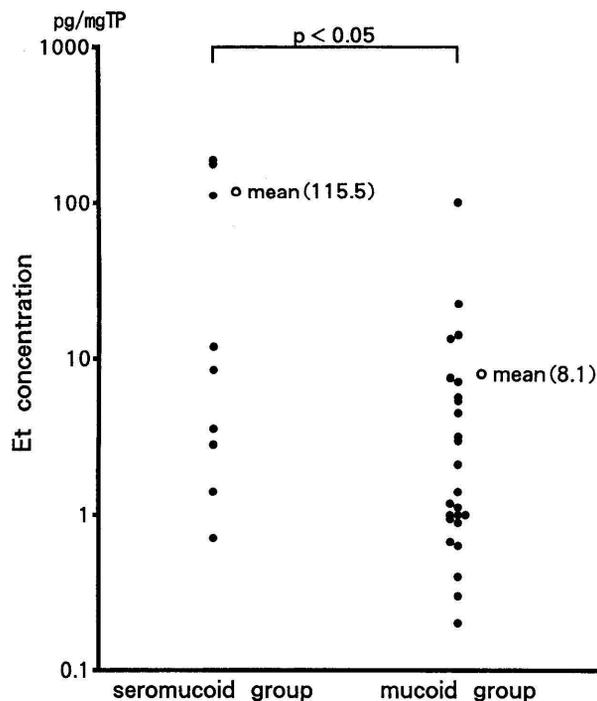


Fig. 1 Correlation between media ear effusion (MEE) property and endotoxin (Et) concentration.
Abscissa : MEE property.
Ordinate : Et concentration (logarithmic scale).
● : Et concentration in each effusion.
○ : Mean Et concentration.

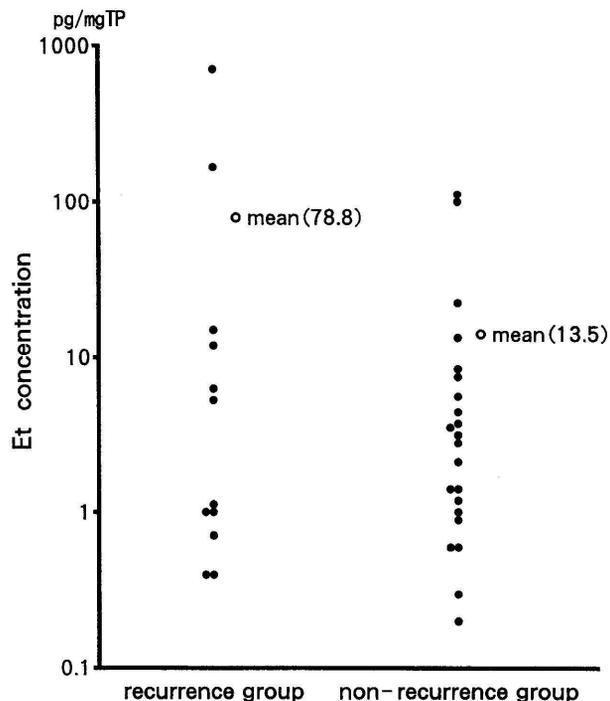


Fig. 2 Correlation between recurrence of otitis media with effusion (MEE) and endotoxin (Et) concentration.
Abscissa : OME recurrence or non-recurrence.
Ordinate : Et concentration (logarithmic scale).
● : Et concentration in each effusion.
○ : Mean Et concentration.

2 OMEでのエンドトキシンとLTの関係

中耳貯留液中のエンドトキシン濃度とLTC₄濃度の間には、正の相関 (Spearmanの順位相関係数 $r_s = 0.58$, $p < 0.05$) を認めた (Fig.4)。また、中耳貯留液中のエンドトキシン濃度とLTD₄+LTE₄濃度の間でも、正の相関 (Spearmanの順位相関係数 $r_s = 0.44$, $p < 0.05$) を認めた (Fig. 5)。

3 OMEとLT

中耳貯留液の粘稠度とLTD₄+LTE₄濃度との関係については、seromucoid群では 20.4 ± 12.4 pg/mgTP, mucoid群では 10.5 ± 6.4 pg/mgTPであり、両群の間で有意差 ($p < 0.01$) を認めた (Fig.6)。次にOMEの再発の有無とLTD₄+LTE₄濃度との関係については、再発ありの群では 16.6 ± 7.4 pg/mgTP, 再発なしの群では 12.8 ± 12.0 pg/mgTPであり、両群の間で有意差 ($p < 0.05$) を認めた (Fig.7)。またオキサトミド投与群と対照群との間でLT濃度を比較すると、LTD₄+LTE₄濃度はオキサトミド投与群では 9.4 ± 6.5 pg/mgTP, 対照群では 14.4 ± 10.3 pg/mgTPであり、両群の間で有意差 ($p < 0.05$) を認めた (Fig.8)。またオキサトミド投与群と対照群の間でOMEの再発率を比較すると、オキサトミド投与群では18.8%, 対照群は36.4%であり、オキサトミド投与群でのOMEの再発率は対照群のほぼ半分であったが、この差は統計学的に有意なものではなかった (Table)。

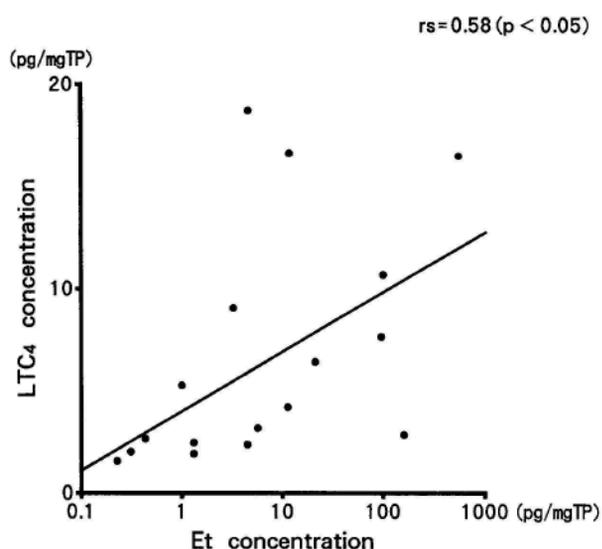


Fig. 4 Correlation between endotoxin (Et) concentration and LTC₄ concentration.
Abscissa : Et concentration (logarithmic scale).
Ordinate : LTC₄ concentration.

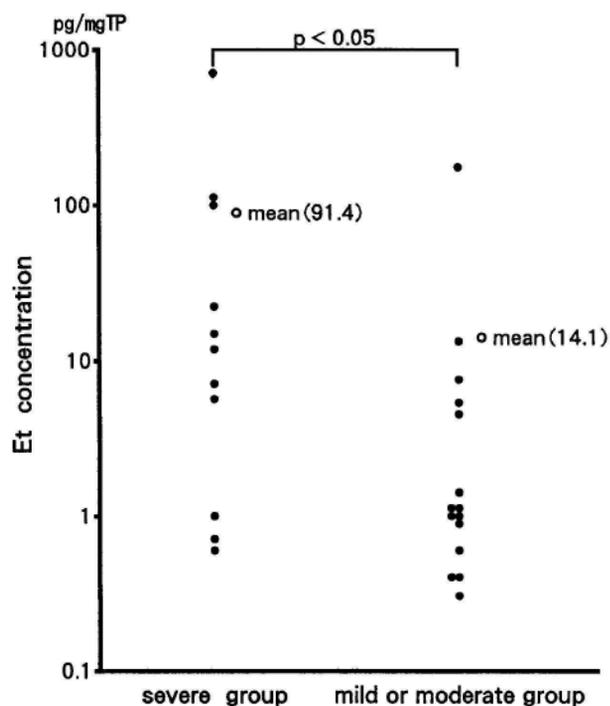


Fig. 3 Correlation between the severity of paranasal sinusitis and endotoxin (Et) concentration.
Abscissa : severity of paranasal sinusitis.
Ordinate : Et concentration (logarithmic scale).
● : Et concentration in each effusion.
○ : Mean Et concentration.

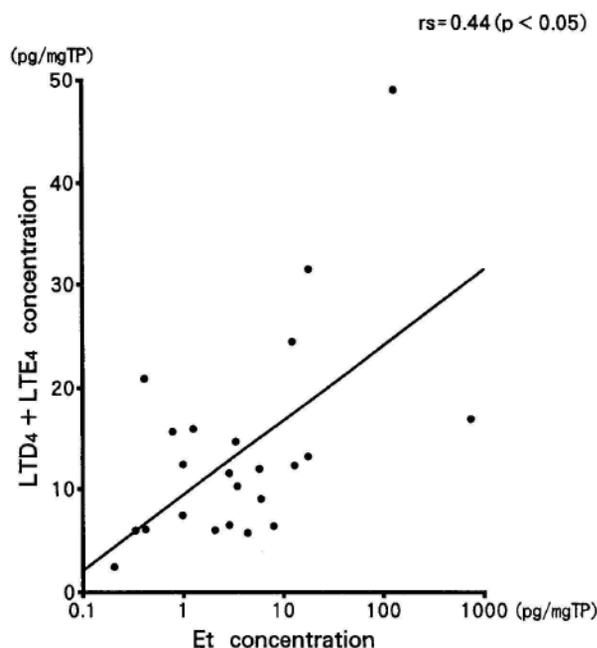


Fig. 5 Correlation between endotoxin (Et) concentration and LTD₄+LTE₄ concentration.
Abscissa : Et concentration (logarithmic scale).
Ordinate : LTC₄+LTE₄ concentration.

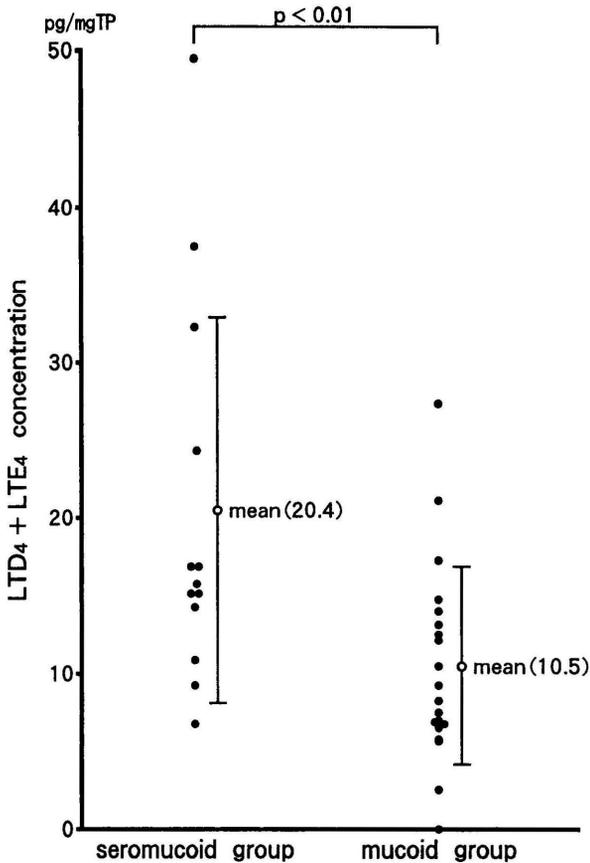


Fig. 6 Correlation between middle ear effusion (MEE) property and LTD_4+LTE_4 concentration.
 Abscissa : MEE property.
 Ordinate : LTD_4+LTE_4 concentration.
 ● : LTD_4+LTE_4 concentration in each effusion.
 ○ : Mean \pm standard deviation of LTD_4+LTE_4 concentration.

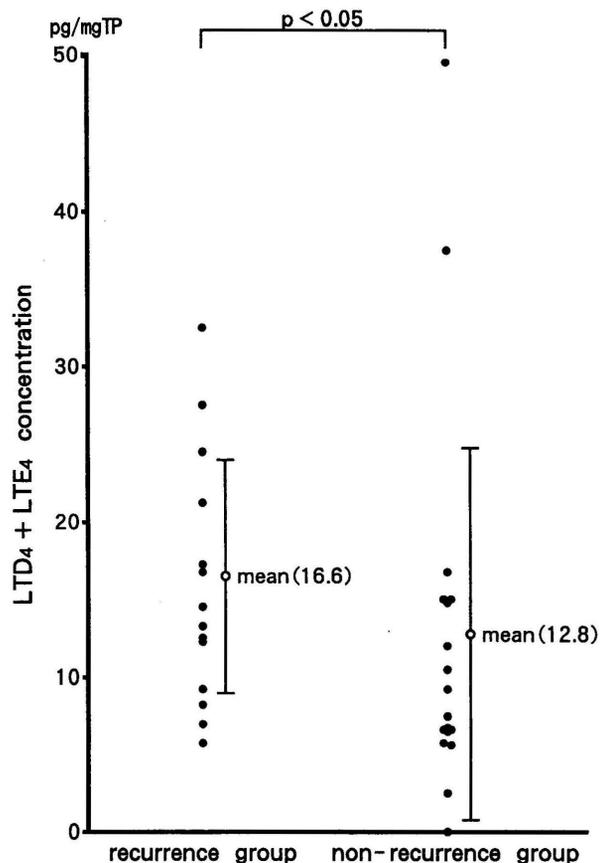


Fig. 7 Correlation between recurrence of otitis media with effusion (OME) and LTD_4+LTE_4 concentration.
 Abscissa : OME recurrence or non-recurrence.
 Ordinate : LTD_4+LTE_4 concentration.
 ● : LTD_4+LTE_4 concentration in each effusion.
 ○ : Mean \pm standard deviation of LTD_4+LTE_4 concentration.

考 察

1 OME とエンドトキシン

嶽ら¹³⁾は、2歳から84歳までの OME 患者から得られた中耳貯留液を mucooid type と serous type に大別し、トキシカラー法にてエンドトキシンの濃度を比較検討しているが、今回の研究では3歳0ヶ月から12歳8ヶ月までの小児症例を対象としたため、serous type の症例は存在しなかったため、seromuroid type と mucooid type に分けて検討を行った。その結果、mucooid 群より seromuroid 群でエンドトキシン濃度は有意に高かった。OME を病期からみると、漿液性中耳炎は比較的急性期の病変であり、粘液性中耳炎はいわば慢性期の病変である¹⁸⁾とされており、実際の診療の場でも小児 OME 症例の場合、OME 発症からの時間経過の長いもの程、中耳貯留液の粘調度が増しているように思われる。今回の研究でも mucooid

群よりも早期の病態であると考えられる seromuroid 群の方で、エンドトキシン濃度が高かったことから考えると、エンドトキシンは、OME の慢性期よりも OME の比較的早い時期に中耳腔に多量に存在し、OME の発症や成立の過程に深く関わっていることが推察された。

また李¹⁹⁾はモルモットの中耳腔にエンドトキシンを注入し、OME を惹起した後に中耳粘膜を採取して光学顕微鏡下に観察しているが、その所見からエンドトキシンにより粘膜上皮下の血管内皮細胞が直接障害される可能性が示唆されたとしている。また川田²⁰⁾はモルモットの中耳腔にエンドトキシンを注入した場合、低濃度では中耳粘膜の変化は軽度であったが、高濃度では中耳腔に貯留液や高度の粘膜肥厚を認めたと報告しており、エンドトキシンが直接的かつ濃度依存性の中耳粘膜に障害を与えることが考えられる。今回の研究では中耳粘膜の組織学的検討を行っていないので断定はできないが、エンド

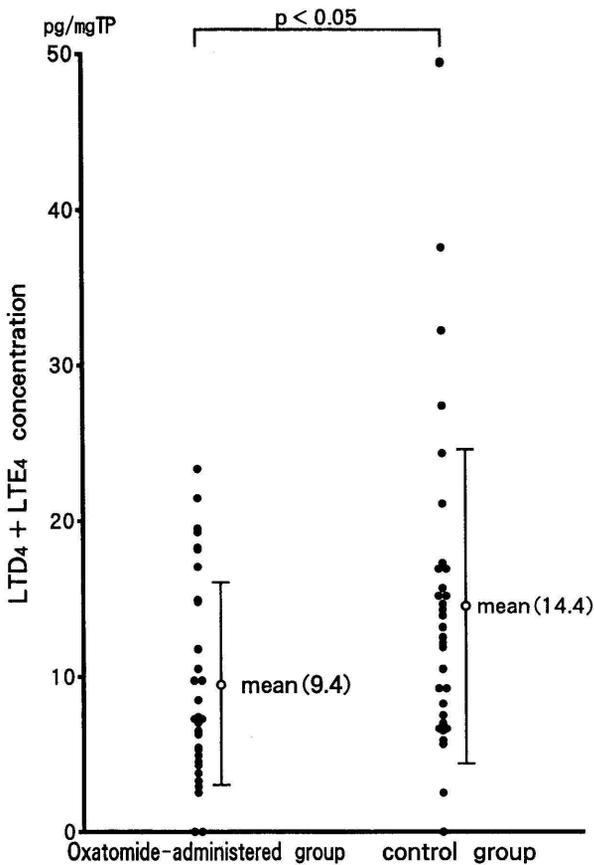


Fig. 8 Correlation between Oxatomide administration and LTD₄+LTE₄ concentration.
 Abscissa : Oxatomide administration or no administration.
 Ordinate : LTD₄+LTE₄ concentration.
 ● : LTD₄+LTE₄ concentration in each effusion.
 ⊙ : Mean ± standard deviation of LTD₄+LTE₄ concentration.

Table Correlation between Oxatomide administration and recurrence of otitis media with effusion (OME). The incidence of OME recurrence in the Oxatomide-administered group was about a half of that in the control group, but without significant difference by χ^2 test.

	Oxatomide-administered group (n=32)	control group (n=33)
recurrence	6	12
non-recurrence	26	21
incidence of OME recurrence	18.8 %	36.4 %

トキシンの平均濃度は有意差は認めないものの再発なしの群より再発ありの群で高くなっており、エンドトキシン濃度が高い程中耳粘膜に加わる障害の程度が強くなり、中耳粘膜の修復が遅れる結果、OMEが再発し易くなる可能性があると考えられた。

OMEと副鼻腔炎の関係については、鼻・副鼻腔炎の

合併はOMEの約80%に認められ、OMEの病勢は鼻・副鼻腔炎の病勢と一致すること²¹⁾が確認されている。また野村²²⁾は慢性OME患者の鼻汁菌検査を行い、その88%からグラム陰性桿菌であるインフルエンザ菌が検出され、小児のOMEは鼻・副鼻腔炎と関連が強いと報告している。今回の検討でもエンドトキシン濃度は、軽度もしくは中等度の副鼻腔炎を合併する症例より高度の副鼻腔炎を合併する症例で有意に高く、中耳腔へのエンドトキシンの供給源の一つとして副鼻腔炎が重要であることが推察される。このことから、副鼻腔炎が改善されないと、鼓膜切開で中耳腔からエンドトキシンを排除したとしても、新たにエンドトキシンが中耳腔に供給され、OMEが容易に再発することも考えられる。よってOMEに副鼻腔炎を合併している場合は、まず副鼻腔炎の沈静化を図った後に鼓膜切開を行うことが望ましいと思われる。

2 OMEでのエンドトキシンとLTの関係

エンドトキシンとLTの関係について、Bremm, et al.²³⁾は、ヒト多核白血球を用いた *in vitro* の研究で、エンドトキシンの刺激によりヒト多核白血球から LTC₄や LTD₄が産生されることを報告し、また榎本²⁴⁾のラットを用いた実験的OMEモデルでも、鼓室内へのエンドトキシンの注入によりアラキドン酸代謝産物が産生されており、LTの産生にはエンドトキシンが何らかの役割を果たしていることが考えられる。

そこで今回、エンドトキシンとLTの関係を検討した結果、エンドトキシン濃度と LTC₄濃度、エンドトキシン濃度と LTD₄+LTE₄濃度のいずれの間にも有意の相関を認めたが、その相関係数はそれぞれ0.58, 0.44と必ずしも強い相関ではなかった。この理由として、OME発症から中耳貯留液採取までの期間が各症例で若干の違いがあること、LTは細胞における個々のメディエーター遊離能の差により1000倍以上の個人差が生じる場合がある²⁵⁾こと、比較的短時間に LTC₄は LTD₄さらに LTE₄へと代謝される²⁶⁾ことから、中耳貯留液の採取から凍結保存までの間に代謝されたことも考えられ、これらのことが影響しエンドトキシン濃度とLT濃度の間に必ずしも強い相関が得られなかった可能性もあると思われる。

一方、エンドトキシン刺激とLT産生の間にはサイトカインが介在しているとする報告もある。守²⁷⁾はエンドトキシンの刺激により、主として単球・マクロファージを中心とした種々の細胞からサイトカインが遊離される

とともに補体が活性化され、これによりアラキドン酸代謝の亢進が惹起されるとしている。また細胞膜リン脂質からのアラキドン酸の遊離にはホスホリパーゼ A₂の活性化が必要であるが、Redl, et al.²⁸⁾は実験的エンドトキシン血症でホスホリパーゼ A₂活性値の上昇を認めたことから、アラキドン酸代謝の亢進がうかがえると、またホスホリパーゼ A₂活性値の上昇は、エンドトキシンの直接作用の他に、エンドトキシンによって誘導される腫瘍壊死因子や、腫瘍壊死因子によって誘導されるインターロイキン1やインターロイキン6と関連するとしており、エンドトキシン刺激とLT産生の間に様々なサイトカインが介在するために、エンドトキシンとLTの間に必ずしも強い相関が得られなかったことも考えられる。今後の課題として各種のサイトカインとエンドトキシン、LTの関係を分析することがOMEの発症や遷延化の過程を解明する上で重要であると考えられた。

3 OMEとLT

LTC₄, LTD₄, LTE₄はペプチドLTと総称され、血管内皮細胞の間隙を開くことによる血管透過性亢進、粘液分泌の亢進、粘液クリアランスの低下等の薬理作用を持つとされている。それらの中でLTD₄は最も強力なペプチドLTであるが、一方、LTC₄には現在対応する受容体が存在せず、活性型であるLTD₄の前駆体としての意味をもつとされており、またLTE₄はの作用はLTD₄の1/10~1/100であり、LTD₄からLTE₄への変換は酵素的不活化過程と考えられている²⁹⁾。今回の研究では、HPLC後のLTD₄とLTE₄の分画が一部重なることから、LTD₄とLTE₄の分画の両方を採取しRIAにてLTD₄とLTE₄をまとめて測定した。しかしLTD₄とLTE₄の薬理作用の差や、HPLC後の分画はLTE₄に比べてLTD₄が大きかったことから、LTD₄+LTE₄濃度は主としてLTD₄の濃度を反映していると考えられる。OMEとLTの関わりについて、Jung, et al.は、中耳貯留液中のアラキドン酸代謝産物を測定した結果から、OMEの中耳貯留液中ではcyclooxygenase系代謝産物よりlipoxygenase系代謝産物の方が、炎症反応をより強く引き起こすのではないかと推論¹⁵⁾し、さらには、チンチラの中耳腔にLTC₄, PGE₂, LTC₄とPGE₂, アラキドン酸を注入し、OMEを惹起し分析を行った結果、OMEはLTC₄とPGE₂を注入した群で最も多く発症し、また中耳粘膜の炎症反応はLTC₄を注入した場合に最も強かったことから、OMEではcyclooxygenase系代謝産物よりもlipoxygenase系代謝

産物が、より重要な役割を果たしているのではないかと報告¹⁶⁾している。また岸保ら³⁰⁾は、チンチラの鼓室内にLTC₄, LTD₄, PGE₂を注入した後、経時的にABRを測定した結果、LTC₄, LTD₄を注入した場合にABRの有意な閾値の上昇を認め、またLTD₄では閾値上昇の期間が長かったことから、LTC₄, LTD₄は中耳腔において貯留液の停滞をもたらす、特にLTD₄ではその作用がより強いのではないかと報告している。

今回の研究では、中耳貯留液をその性状によりseromucoid typeとmucoid typeに大別し、LTD₄+LTE₄濃度を比較した。前述したごとく、一般的にseromucoid typeはmucoid typeよりも早期の病態であると考えられるが、mucoid群よりOME発症からの時間経過が短いと考えられるseromucoid群で、LTD₄+LTE₄濃度は有意に高値であった。このことからLTがOMEの初期の段階で中耳腔により多く存在するため、閉鎖腔となった中耳腔内で粘液の凝縮が起こる結果、粘稠度の高い中耳貯留液が形成される可能性があると考えられた。

次にOMEの再発とLTの関わりについて考えてみたい。岸保ら³⁰⁾は、モルモットの耳管粘膜を採取しチャンバー内で培養の後、LTC₄, LTD₄, PGE₂を暴露させ耳管粘膜の線毛活性を測定した結果、LTC₄, LTD₄を暴露させた場合に線毛活性が低下し、LTC₄よりもLTD₄で線毛活性の低下の割合が大きかったことを報告している。またJung, et al.¹⁶⁾は、PGE₂, LTC₄, PGE₂とLTC₄, アラキドン酸をチンチラの鼓室内に注入しOMEを惹起した後、中耳粘膜を組織学的に検索した結果、LTC₄を注入した場合に中耳粘膜の炎症の程度が最も強かったと報告しているが、LTC₄は比較的短時間にLTD₄に代謝される²⁶⁾ことから、この結果にはLTC₄だけでなくLTD₄も関与していることも考えられる。これらの報告から、中耳腔で産生されたLTが耳管粘膜線毛運動を低下させ、LTを含む貯留液の排泄が遅れるとともに新たに産生されるLTが蓄積されることでLT濃度が高くなり、さらに中耳粘膜がLTに長期間曝される結果、炎症が中耳粘膜に持続的に加わりOMEが遷延化する可能性がある。また岸保ら³⁰⁾によると、LTC₄, LTD₄は耳管粘膜線毛活性を濃度依存性に低下させたとしており、LTの濃度が高い程、LTの中耳粘膜に及ぼす障害はより強くなることが考えられる。今回の研究では、再発なしの群より再発ありの群でLTD₄+LTE₄濃度は有意に高値であったが、LTの濃度が高いと中耳粘膜に加わる障害の程度が強くなり、鼓膜切開を実施し中耳貯留液を排泄した後も中耳粘膜の治癒

過程が遅れ、その結果 OME の再発に至ることが考えられる。以上のような機序で、LT は OME の再発に関わっている可能性があると思われた。

さらに、オキサトミドの投与による中耳貯留液中の LT の濃度の変化や OME の再発率に及ぼす影響を検討した。田中ら³¹⁾はチンチラを用いた OME モデルにオキサトミドを投与し、中耳貯留液中の LT の濃度と OME の改善状況について報告しているが、オキサトミドの投与により LTD₄濃度は低下し、また OME の治癒までの期間が短縮されたと報告している。今回の検討でもオキサトミド投与群は非投与群に比べて LTD₄+LTE₄濃度は有意に低下しており、また有意差は認めなかったものの OME の再発率もほぼ半分に低下していた。オキサトミドは LT に対する拮抗作用および LT 合成酵素 (5-lipoxygenase) の阻害作用を有する薬剤であり、中耳腔での LT の濃度の低下は、オキサトミドの投与により中耳腔での LT の産生が抑制された結果であると考えられるが、LT の産生を抑制することで OME の再発率も低下したことから、LT が OME の再発に関与していることが考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました徳島大学医学部耳鼻咽喉科学教室小池靖夫教授、ならびに御助言を賜りました石谷保夫前助教授に深謝致します。また様々な御助力を賜りました協和発酵工業株式会社の皆様にも深謝致します。

本論文の要旨は、第 5 回日本耳科学会学術講演会 (平成 7 年 10 月 14 日: 東京)、ならびに第 6 回日本耳科学会学術講演会 (平成 8 年 10 月 19 日: 東京) において発表した。

文 献

- Nuutinen, J., Kärjä, J. and Karjalainen, P. : Measurement of mucociliary function of the eustachian tube. *Arch. Otolaryngol.*, 109 : 669-672, 1983
- Bluestone, C.D. : Eustachian tube function : Physiology, Pathophysiology, and role of allergy in pathogenesis of otitis media. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 72 : 242-251, 1983
- Senturia, B.H., Gessert, C.F., Carr, C.D. and Baumann, E.S. : Studies concerned with tubotympanitis. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 67 : 440-467, 1958
- Veltri, R.W. and Sprinkle, P.M. : Secretory otitis media ; An immune complex disease. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 85 (suppl. 25) : 135-139, 1976
- 茂木五郎 : 滲出性中耳炎の成因. *JOHNS*, 1 : 617-624, 1985
- Liu, Y.S., Lim, D.J., Lang, R.W. and Brick, H.G. : Chronic middle ear effusions ; immunochemical and bacteriological investigations. *Arch. Otolaryngol.*, 101 : 278-286, 1975
- Kokko, E. : Chronic secretory otitis media in children ; A clinical study. *Acta. Otolaryngol.*, (suppl. 327) : 7-44, 1976
- Healy, G.B. and Teele, D.W. : The microbiology of chronic middle ear effusions in children. *Laryngoscope*, 87 : 1472-1478, 1977
- Lim, D.J., Lewis, D.M., Schram, J.L. and Brick, H.G. : Antibiotic-resistant bacteria in otitis media with effusion. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 89 (suppl. 1 68) : 278-280, 1980
- Palva, T., Lehtinen, T. and Virtanen, H. : Immune complexes in the middle ear fluid and adenoid tissue in chronic secretory otitis media. *Acta. Otolaryngol.*, 95 : 539-543, 1983
- DeMaria, T.F., Prior, R.B., Briggs, B.R., Lim, D.J., et al. : Endotoxin in middle-ear effusions from patients with chronic otitis media with effusion. *J. Clin. Microbiol.*, 20 : 15-17, 1984
- Iino, Y., Kaneko, Y. and Takasaka, T. : Endotoxin in middle ear effusions tested with *Limulus* assay. *Acta. Otolaryngol.* (Stockh.), 100 : 42-50, 1985
- 嶽 良博, 中西 博, 楠本健夫, 神人 崇他 : 滲出性中耳炎とエンドトキシン. *耳鼻臨床*, 78 : 577-581, 1985
- Jung, T.T.K. : Prostaglandins, leukotrienes, and other arachidonic acid metabolites in the pathogenesis of otitis media. *Laryngoscope*, 98 : 980-993, 1988
- Jung, T.T.K. and Juhn, S.K. : Prostaglandins and other arachidonic acid metabolites in the middle ear fluids. *Auris · Nasus · Larynx* (Tokyo), 12 (suppl. 1) : 148-150, 1985
- Jung, T.T.K., Park, Y.M., Schlund, D., Weeks, D., et al. : Effect of prostaglandin, leukotrien, and arachidonic acid on experimental otitis media with effusion in

- chinchilas. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 99 : 28-32, 1990
- 17 Brodsky, L., Faden, H., Bernstein, J., Stanievich, J., et al. : Arachidonic acid metabolites in middle ear effusions of children. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 100 : 589-592, 1991
- 18 平出文久 : 滲出性中耳炎の病理. *JOHNS*, 1 : 605-609, 1985
- 19 李 政次 : 実験的滲出性中耳炎での中耳粘膜の血管変化に関する形態学的研究. *耳展*, 36 : 424-436, 1993
- 20 川田育二 : エンドトキシンによる聴覚障害に関する実験的研究 - その二 局所投与による聴覚障害 -. *耳鼻臨床*, 補61 : 14-19, 1993
- 21 本庄 巖 : 滲出性中耳炎の正しい取り扱い. 金原出版, 東京, 1993, pp. 17-28
- 22 野村隆彦 : 小児慢性滲出性中耳炎における細菌感染の役割. *耳鼻臨床*, 78 (増2) : 1204-1213, 1985
- 23 Bremm, K.D., König, W., Spur, B., Crea, A., et al. : Generation of slow-reacting substance (leukotrienes) by endotoxin and lipid A from human polymorphonuclear granulocytes. *Immunology*, 53 : 299-305, 1984
- 24 榎本冬樹, 市川銀一郎, 長岡 功, 山下辰久 他 : ラット実験的滲出性中耳炎中のアラキドン酸代謝産物の変動. *日耳鼻*, 98 : 959-967, 1995
- 25 MacGlashan, Jr. D.W., Peters, S.P., Warner, J., Lichtenstein, L.M., et al. : Characteristics of human basophil sulfidopeptide leukotriene release : releasability defined as ability of the basophil to respond to dimeric cross-links. *J. Immunol.*, 136 : 2231-2339, 1986
- 26 七条通孝, 海老澤元宏, 三浦克志, 田知本 寛 他 : 好塩基球からのロイコトリエンの産生. *アレルギーの領域*, 2 : 759-763, 1995
- 27 守 且孝 : ケミカルメディエーターの産生とその役割. *エンドトキシン ; 新しい治療・診断・検査* (中野昌康, 小玉正智 編), 講談社, 東京, 1995, pp. 128-133
- 28 Redl, H., Schlag, G., SchieBer, A. and Davies, J. : Tumor necrosis factor is a mediator of phospholipase release during bacteremia in baboons. *Am. J. Physiol.*, 264 : H2119-H2123, 1993
- 29 本田善一郎 : ロイコトリエンの測定. *アレルギーの領域*, 2 : 1451-1454, 1995
- 30 岸保鉄也, 霜村真一, 久松健一, 中澤 勉 他 : ロイコトリエン C₄, D₄及びプロスタグランジン E₂ の耳管粘液線毛輸送能に与える影響. *Otol. Jpn.*, 4 : 90-94, 1994
- 31 田中隆博, 堀 文彦, 金田規嗣, 川内秀之 他 : 実験的滲出性中耳炎におけるオキサトミドの効果. *耳鼻免疫アレルギー*, 8 (2) : 20-21, 1990

The role of endotoxin and leukotriene on otitis media with effusion in children
Fumitoshi Tachibana

Department of Otolaryngology, School of Medicine, The University of Tokushima, Tokushima
(Director : Prof. Yasuo Koike)

SUMMARY

The endotoxin (Et) and the leukotriene (LT) concentrations in middle ear effusion (MEE) from children suffering from otitis media with effusion (OME) were measured to investigate the correlation between OME and Et/LT.

Significant correlation was noted between the Et concentration and the LTC₄ concentration, and also between the Et concentration and the LTD₄+LTE₄ concentration in MEE ($p < 0.05$).

In the correlation with MEE property, the Et concentration was significantly higher in the seromucoid group (early stage of OME) than in the mucoid group ($p < 0.05$). As regards the correlation with paranasal sinusitis, the Et concentration in MEE was significantly higher in the group complicated with severe paranasal sinusitis than in the group complicated with mild or moderate paranasal sinusitis ($p < 0.05$).

In the correlation with MEE property, the LTD₄+LTE₄ concentration in the seromucoid group (early stage of OME) was significantly higher than in the mucoid group ($p < 0.01$). As regards the correlation with OME recurrence, the LTD₄+LTE₄ concentration in MEE in the recurrence group was significantly higher than in the non-recurrence group ($p < 0.05$). The LTD₄+LTE₄ concentration in MEE was significantly lower in the group administered Oxatomide having anti-LT effect (the Oxatomide-administered group) than in the control group ($p < 0.05$), and the incidence of OME recurrence in the Oxatomide-administered group (18.8%) was almost a half of that in the control group (36.4%).

The above results indicated more Et existence in the middle ear cavity at the early stage of OME and the correlation between its concentration and the severity of paranasal sinusitis and also more LT existence in the middle ear cavity at the early stage of OME and its involvement in the recurrence of OME.

Key words : otitis media with effusion (OME), middle ear effusion (MEE), endotoxin (Et), leukotriene (LT)