

論文の内容の要旨

論文題目 小児急性中耳炎における中耳貯留液中の病原微生物と予後

氏名 篠上雅信

[研究目的]

急性中耳炎（AOM）は小児に好発し、外来で抗生剤投与されることの多い疾患のひとつである。しかし、抗生剤投与にもかかわらず、再燃や反復、数週間から数カ月間中耳滲出液が持続することもよく経験される。この中耳炎難治化の原因として、耐性菌についてよく問題にされているが、一方でウイルスがAOMの原因となり、AOMの予後になんらかの影響をおよぼしていることを示唆する報告も多くされてきている。

本来中耳は無菌状態であるが、上気道のウイルス感染、アレルギーなどに伴う線毛機能の低下や宿主の免疫能の低下により、ウイルスや鼻咽腔の細菌叢が増殖し、これらが経耳管的に中耳に侵入すると、中耳に感染が起こる。中耳においては、これらの微生物の侵入に対して特異的、非特異的免疫防御により抵抗し、病原微生物の増殖能が防御能を上回ればAOMが発症する。本研究ではAOMの中

耳貯留液に存在する病原微生物に注目した。

AOM 患者から検出される病原微生物は、肺炎球菌、インフルエンザ菌などの細菌のほか、インフルエンザウイルス、respiratory syncytial virus(RSV)、アデノウイルスなどの呼吸器ウイルスが知られている。さらに、最近の報告によると、herpes simplex virus (HSV), cytomegalovirus (CMV)などのヘルペスウイルスも検出されている。しかし、これらのヘルペスウイルスが AOM の中耳貯留液にどのくらいの頻度で検出されるのかは明らかでなく、また、どのような役割を果たしているのかも明らかではない。

よって、本研究では、4種類のヘルペスウイルス科ウイルスゲノム、10種類の呼吸器ウイルスゲノム、3大 AOM 起炎菌（肺炎球菌、インフルエンザ菌、モラクセラカタラーリス）のゲノムを検索し、中耳貯留液中のこれらの病原微生物の有無と AOM の予後との関係を明らかにした。

[研究方法]

I 患者と検体の採取方法

1999年10月から2000年3月に日本赤十字社医療センター耳鼻科を受診した5ヶ月から6才までの AOM 患者において、初診時鼓膜切開により中耳液を採取できた73人73耳を対象とした。中耳検体の採取にあたっては、文書及び口頭による説明のあと、患者の両親からインフォームドコンセントを得た。

II - 1 ヘルペスウイルス科ウイルス DNA 同定のための Multiplex Nested PCR 法

中耳貯留液より DNA を抽出し Multiplex Nested PCR 法により HSV、CMV、EBV、varicella-zoster virus (VZV)の4種類のヘルペスウイルスを検索した。

II - 2 呼吸器ウイルス RNA 同定のための Multiplex Nested RT-PCR 法

中耳貯留液より total RNA を抽出し、呼吸器ウイルスを A 群(パラインフルエンザウイルス1型、2型、3型、ライノウイルス、アデノウイルス)、B 群(インフルエンザウイルス A 型(H1N1), A 型(H3N2), B 型、RS ウイルス A 型、B 型)にわけ、Multiplex Nested PCR 法により検索した。

II-3 細菌 DNA 同定のための Multiplex PCR 法

インフルエンザ菌、肺炎球菌、モラキセラカタラーリスについて、Hendolin らの方法にしたがい Multiplex PCR 法によるゲノムの検索を行った。

II-4 臨床経過の評価について

①治癒：治療開始後 2 週間の時点で貯留液が消失し、鼓膜所見が完全に正常化した症例、②遷延する中耳貯留液：治療開始後 1 ヶ月時点で中耳貯留液が認められた症例、③反復性中耳炎：6 ヶ月以内に AOM の再発を 3 回以上繰り返した症例、④滲出性中耳炎：急性症状や急性の所見がなく 3 ヶ月以上中耳貯留液をみとめられた症例、以上の 4 項目を予後の評価の指標とした。

II-5 統計学的方法

統計学的方法として、Fisher の直接確率計算法 と χ^2 test を用いた。p-value が 0.05 未満を有意とした。

[結果]

1、ヘルペスウイルス科ウイルス DNA は 16 検体(22%)に、呼吸器ウイルス RNA は 35 検体(48%)に、細菌 DNA は 51 検体(70%)に検出された。呼吸器ウイルス RNA か細菌 DNA が検出された例は 64 例(88%)であった。呼吸器ウイルス RNA も細菌 DNA も検出されなかった症例は 9 例あり、このうちヘルペスウイルス科ウイルス DNA が検出された症例は 2 例のみであった。

2、治癒、滲出性中耳炎への移行率、反復性中耳炎の発症率、治療後 1 ヶ月時点の中耳貯留液の残存率を、ヘルペスウイルス科ウイルスゲノム、呼吸器ウイルス

ゲノム、細菌ゲノムの有無によって、差があるかどうか検索した。それぞれ全ての群で治癒、反復性中耳炎の発症、治療後1ヶ月時点での中耳貯留液の残存の3群については、有意差はなかったが、ヘルペスウイルス科ウイルス DNA が認められた群においてのみ、滲出性中耳炎への移行率が有意に高かった。

[考察とまとめ]

AOMの原因として、貯留液中に呼吸器ウイルスゲノムか細菌ゲノムが検出された例は64例(88%)であり、これらが大部分のAOMの病原微生物となっていることがわかる。ヘルペスウイルス科ウイルスのみ検出された症例は2例(2.7%)と低く、ヘルペスウイルス科ウイルスがAOMの起炎微生物となっている可能性は低いものと考えられた。

AOMの予後において、治癒、反復化、貯留液の遷延化については、ヘルペスウイルス群、呼吸器ウイルス群、細菌群において有意差は認められなかったが、滲出性中耳炎への移行のみ、ヘルペスウイルス群において有意に高かった。このことは、ヘルペスウイルスが耳管や中耳の上皮細胞に直接ダメージを与え耳管機能不全をひき起こしていること、もしくは、滲出性中耳炎を引き起こしやすい状態においてヘルペスウイルスが再活性化しやすいことなどが可能性として考えられる。

また、従来滲出性中耳炎の中耳貯留液は無菌性のものが多いとされてきたが、近年のPCR法による解析の結果、肺炎球菌、インフルエンザ菌、モラキセラカタラーリスのAOM3大起炎菌のDNAが60-80%に検出されることが報告され、滲出性中耳炎の病態には中耳炎の起炎菌が深くかかわっていることが注目されている。もし、中耳貯留液におけるヘルペスウイルス科ウイルスDNA陽性が、中耳における免疫防御反応の低下を反映しているとする、こうした症例においては、急性感染の状態を過ぎたあとに、細菌が宿主の免疫力で排除されずに静菌的に中耳に存在し、滲出性中耳炎を引き起こす原因になっている可能性が示唆された。