





学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・ 	第307号	氏名	藤田佳吾
審査委員会委員	主査氏名	西園晃 	
	副査氏名	川本文彦 	
	副査氏名	樋口安典 	
<p>論文題目： Prognostic impact of phosphorylcholine expression in nontypable <i>Haemophilus influenzae</i> in otitis media with effusion</p> <p>論文掲載誌名： Acta Oto-Laryngologica</p> <p>論文要旨</p> <p>無莢膜型インフルエンザ菌の菌体外膜の主要な成分であるリポオリゴ糖 (LOS) は多様な生理活性を認め、無莢膜型インフルエンザ菌 LOS は、位相変異により phosphorylcholine (ChoP) を epitope に表出し、これが気道粘膜上皮への定着および浸潤に関与していることが報告されている。今回、滲出性中耳炎に罹患した小児を対象として、鼻咽腔よりインフルエンザ菌を分離し、その位相変異と滲出性中耳炎の病態との関係について検討した。</p> <p>1992年4月から2003年5月までの期間に、大分大学医学部付属病院耳鼻咽喉科外来を受診し、臨床症状、検査および鼓膜所見より滲出性中耳炎と診断した小児を対象とし、細菌検査用スワブを用いて鼻咽腔よりインフルエンザ菌と分離・同定できた40例について検討した。同定できたインフルエンザ菌は全て無莢膜型であり、その ChoP 表出の有無についてはコロニー免疫ブロット分析で、ChoP 表出のレベルに応じた染色性の相違により3群(強陽性、弱陽性、陰性)に分類して、中耳貯留液の性状などを含めた中耳炎の臨床所見および臨床経過との比較検討を行った。また、各群菌の定着能について CCL20.2 細胞株を用いた定着能評価および走査型電子顕微鏡を用いた観察を行った。</p> <p>分離された40例は、位相変異に伴う ChoP 表出の分類で、強陽性例が20例、弱陽性5例、陰性15例、全体の63%が ChoP 表出を認めたが、平均年齢、性別、菌検施行時の施行時期などの因子に関しては各群間で有意差は認めなかった。また、治療法や合併症の有無に関しても有意差は無かった。滲出性中耳炎の平均罹患期間に関しては、ChoP 強陽性群では他2群よりも有意に長く、中耳貯留液の性状と ChoP 表出の程度では、陽性群では粘性貯留液の傾向を、陰性群では漿液性貯留液の傾向を認めた。また ChoP 強陽性群では陰性群に比べて有意に定着率が高かったが、弱陽性群とは有意差は認めなかった。走査型電子顕微鏡によるインフルエンザ菌の細胞表面への菌定着像でも、ChoP 強陽性群での定着率の増加を観察でき、無莢膜型インフルエンザ菌の菌体外膜上に ChoP を含む LOS が発現することが、滲出性中耳炎の遷延化・難治化の重要な要因の1つであると考えられた。</p> <p>これまで ChoP は肺炎球菌のリポタイコ酸や糖脂質といった細胞壁の構成成分の1つであり、細菌の気道粘膜上皮への定着および浸潤に関与するといわれてきた。インフルエンザ菌の位相変異と病原性の関連については過去にも報告があるが、実際の臨床例、特に滲出性中耳炎については全く検討されていない。今回、我々は滲出性中耳炎に罹患した小児の鼻咽腔よりインフルエンザ菌を分離し、その位相変異について検討を行った。検出された無莢膜型インフルエンザ菌のうち、ChoP 陽性率が63%であり、ChoP 陽性例においては明らかに中耳炎の罹患期間の遷延化を認めた。また、ChoP 陽性例では粘稠な中耳貯留液が多い傾向にあった。その原因として、ChoP 表出に伴うインフルエンザ菌の細胞表面の定着性の亢進によるものと推察された。</p> <p>本論文はインフルエンザ菌体外膜における ChoP 発現が滲出性中耳炎の難治化の要因の1つとして考えられることを明らかにし、本疾患の予防・治療に有益な情報を今後提供することが期待されたため、審査員の合議により学位論文に値すると判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 藤田 佳吾

論 文 題 目

Prognostic impact of phosphorylcholine expression in nontypeable Haemophilus influenzae in otitis media with effusion

(無莢膜型インフルエンザ菌における phosphorylcholine 表出と滲出性中耳炎の予後への影響)

要 旨

<目的>

無莢膜型インフルエンザ菌の菌体外膜の主要な成分であるリポオリゴ糖 (LOS) は多様な生理活性を認め、無莢膜型インフルエンザ菌の LOS において位相変異により phosphorylcholine (ChoP) を epitope に表出することが近年報告されている。近年、LOS の位相変異が気道粘膜上皮への定着および浸潤に関与していることが報告されている。今回、我々は滲出性中耳炎に罹患した小児を対象として、鼻咽腔よりインフルエンザ菌を分離し、その位相変異について検討した。また、位相変異と滲出性中耳炎の病態との関係についても検討した。

<研究対象及び方法>

1992年4月から2003年5月までの期間に、太分大学医学部附属病院耳鼻咽喉科外来を受診し、臨床症状、検査および鼓膜所見より滲出性中耳炎と診断した小児を対象とし、細菌検査用スワブを用いて鼻咽腔より細菌を分離しインフルエンザ菌を同定した40症例について検討した。同定したインフルエンザ

菌は各種抗血清を用いてタイピングを行い無莢膜型と判定した。無莢膜型インフルエンザ菌の ChoP 表出の有無についてはコロニー免疫プロット分析を行い、ChoP 表出のレベルに応じた染色性の相違により 3 群（強陽性、弱陽性、陰性）に分類して、中耳貯留液の性状などを含めた中耳炎の臨床所見および臨床経過との比較検討を行った。また、各群の無莢膜型インフルエンザ菌の定着能について CCL20.2 細胞株を用いた定着能評価および走査型電子顕微鏡を用いた観察を行った。

<結果>

無莢膜型インフルエンザ菌を分離できた 40 人について、位相変異に伴う ChoP 表出の程度を基にした分類では ChoP 強陽性例は 20 人、弱陽性例は 5 人、陰性例は 15 人であり、全体の 63% が ChoP 表出を認めた。平均年齢、性別、菌検施行時の施行時期といった因子に関して ChoP 強陽性群、弱陽性群、陰性群の間で有意差は認めなかった。また、治療法や合併症（鼻アレルギーや慢性副鼻腔炎など）の有無に関しても各群間での有意差は認めなかった。滲出性中耳炎の平均罹患期間に関しては、ChoP 強陽性群では他の 2 群よりも有意に長いことがわかった。中耳貯留液の性状と ChoP 表出の程度の関係を検討したところ、ChoP 陽性群では粘性貯留液の傾向を、陰性群では漿液性貯留液の傾向を認めた。

CCL20.2 細胞株を用いた定着実験においても ChoP 表出と無莢膜型インフルエンザ菌の定着率に関しては、ChoP 強陽性群では ChoP 陰性群に比べて有意に定着率が高かったが、弱陽性群とは有意差は認めなかった。走査型電子顕微鏡によるインフルエンザ菌の細胞表面への菌定着像でも、ChoP 強陽性群での定着率の増加を観察できた。

<考察>

従来、ChoP は肺炎球菌のリボタイコ酸や糖脂質といった細胞壁の構成成分の 1 つであり、細菌の気道粘膜上皮への定着および浸潤に関与するといわれている。インフルエンザ菌の位相変異と病原性との関連については過去にも報告はあるが、実際の臨床の場で、特に滲出性中耳炎については全く検討されていない。今回、我々は滲出性中耳炎に罹患した小児の鼻咽腔よりインフルエンザ菌を分離し、その位相変異について検討を行った。検出された無莢膜型インフルエンザ菌のうち、ChoP 陽性率が 63% であり、ChoP 陽性例においては明らかに中耳炎の罹患期間の遷延化を認めた。また、ChoP 陽性例では粘稠な中耳貯留液が多い傾向にあった。その原因として、ChoP 表出に伴うインフルエンザ菌の細胞表面の定着性の亢進によるものと推察された。このことから、インフルエンザ菌体外膜における ChoP 発現が滲

