

子が何であるか今後の検討課題である。

## 好酸球性中耳炎の治療

ステロイドの鼓室内投与が基本であり、注入したステロイドが一定期間鼓室粘膜に浸潤することが必要である。その点から、ステロイドは水性懸濁液であり半減期の長いトリアムシノロンアセトニド(ケナコルト®)鼓室内注入を行い、聴力保存の点からも有用な結果が出ている<sup>15)</sup>。このほか、ステロイドの内服、ヘパリン耳浴、抗アレルギー薬投与などが用いられる<sup>16)</sup>。

### 1. 鼓膜穿孔のない症例(滲出性中耳炎型)

鼓膜穿孔のない滲出性中耳炎型では鼓膜切開を行いその中耳貯留液を吸引除去する。スピッツ管を連結した吸引管を用いて中耳貯留液を採取、あるいは粘稠な液では鉗子を用いてゲル状の中耳貯留物を丁寧に除去しホルマリン固定後、HE染色を行う。やや漿液性の貯留液は綿棒、23Gのカテラン針をつけた1mlの注射器で採取しスライドガラスに塗布後、ハンセン染色することにより好酸球の存在を検査することもできる。感染が加わると大穿孔となるので注意する。

中耳貯留液は粘稠で鼓膜チューブを留置してもすぐに閉塞してしまうこと、後に穿孔を残すことがあり基本的には挿入しない。

鼓膜切開後の切開孔はキチン膜をはり早期に閉鎖させるようにする。鼓膜麻酔液を用いた後に鼓膜切開と同時にトリアムシノロンアセトニドを注入すると、鼓膜に大穿孔を生ずることがあるので同時には行わないことが多い。1~2週間後の再診時に、鼓膜穿孔が閉鎖していればトリアムシノロンアセトニドを鼓室内注入する。さらに、pneumatic otoscopeを用いて逆通気する。

### 2. 鼓膜穿孔のある症例(慢性穿孔性中耳炎型)

耳漏を伴う場合細菌検査を行い、起因菌を同定する。黄色ブドウ球菌、緑膿菌、MRSAが多く、感受性のある経口ニューキノロン系抗菌薬が選択されることが多いが、MRSAにはバンコマイシン®、ザイボックス®などの点滴治療が必要となる。

感染をコントロールしたのち、中耳粘膜の状態を確認し、粘膜の浮腫が軽度の場合はトリアムシノロンアセトニドを鼓室内より逆通気する。1ヶ月に1回経過観察し粘稠な貯留液があれば除去後鼓室内投与を行う。

中耳粘膜の高度肥厚例、肉芽増殖例では肉芽、肥厚粘膜を丁寧に除去し薬剤注入用のスペースをつくる。粘膜の肥厚が高度の場合、内服ステロイド、プレドニゾロンを20mgから減量投与(20mg/日を1週間内服さらに10mg/日を1週間内服)して、注入するスペースができればトリアムシノロンアセトニドの鼓室内投与を行う。鼓膜穿孔があり、長期間乾燥時である場合は、鼓室形成術により鼓膜穿孔を閉鎖し、感染のリスクを減らし、トリアムシノロンアセトニドの鼓室内注入後漏出ししない状態にすることも有用である。その際には、術後にステロイドの全身投与を併用する。

炎症、感染の増悪による聴力閾値上昇時には積極的にステロイドの全身投与し、聾への進行を防ぐことが必要である。

## おわりに

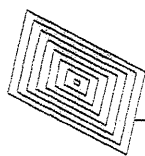
好酸球性中耳炎と副鼻腔炎の両疾患合併した症例の臨床像の報告は多い<sup>17)18)</sup>。自験例でも80%に好酸球性中耳炎と副鼻腔炎の合併がある。患者の症状出現を時系列に検討すると、好酸球性副鼻腔炎発症後に好酸球性中耳炎を生ずる症例は多くはないが、好酸球性中耳炎を発症して初診するときには高率に副鼻腔炎を合併している。また、好酸球性中耳炎・副鼻腔炎両者の合併した症例では、内視鏡下副鼻腔手術後に中耳炎の病態が悪化するとの報告がある<sup>19)</sup>。

好酸球性副鼻腔炎、中耳炎ともに好酸球遊走、活性化に関わる因子が進入することを契機として好酸球炎症が引き起こされている。その組織所見や好酸球関連のメディエーターの発現の程度が類似していることから基本的には共通の病態であると推定される。好酸球遊走を引き起こす部位、細胞またそのトリガーが何であるのか、粘膜の変化

がいかにして生ずるのか，最近開発された抗IgE抗体(オマリズマブ®)がどの程度効果を示すのか，疾患の本態が今後明らかになっていくことを期待したい。

#### 参考文献

- 1) Tomioka S, Yuasa R, et al : Intractable otitis media in cases with bronchial asthma. Mogi G, et al (ed) : 183-186, Recent advances in otitis media, Proceedings of the second extraordinary international symposium on recent advances in otitis media. Kugler publications, Amsterdam/New York, 1993.
- 2) Morinaka S : Allergic otitis media with gelatinous mucoid fluid containing eosinophils. Otolaryngol Head Neck Surg, **114** : 665-668, 1996.
- 3) Tomioka S, Kobayashi T, et al : Intractable otitis media in patients with bronchial asthma (eosinophilic otitis media). Sanna M (ed) : 851-853, Cholesteatoma and Mastoid Surgery. CIC Edizioni Internazionali, Rome, 1997.
- 4) Derlacki EL : Aural manifestations of allergy. Ann Otol Rhinol Laryngol, **61** : 179-188, 1952.
- 5) Derlacki EL, Shambaugh GE Jr : Allergic management of some common ear conditions. Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol, **57** : 304-312, 1953.
- 6) Shambough GE : Pathology and clinical course of inflammation of the middle ear : 182-184, Surgery of the ear. 2nd ed. WB Saunders. Philadelphia, 1967.
- 7) 鈴木秀明, 松谷幸子, 川瀬哲明ほか : 好酸球性中耳炎全国疫学調査. Otol Jpn, **14** : 112-117, 2004.
- 8) Iino Y, Tomioka-Matsutani S, Matsubara A, et al : Diagnostic criteria of eosinophilic otitis media, a newly recognized middle ear disease. Auris Nasus Larynx, **38** : 456-461, 2011.  
好酸球性中耳炎の診断基準を本邦より新たに提唱した論文。
- 9) Iino Y, Usubuchi H, Kodama K, et al : Bone conduction hearing level in patients with eosinophilic otitis media associated with bronchial asthma. Otol Neurotol, **29** : 949-952, 2008.
- 10) Nakagawa T, Matsubara A, Shiratsuchi H, et al : Intractable otitis media with eosinophils ; Importance of diagnosis and validity of treatment for hearing preservation. ORL, **68** : 118-122, 2006.
- 11) Iino Y, Kakizaki K, Saruya S, et al : Eustachian tubal function in patients with eosinophilic otitis media associated with bronchial asthma evaluated by sonotubometry. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, **132** : 1109-1114, 2006.  
好酸球性中耳炎群では耳管機能検査を行うと，耳管開放時間の延長を有している症例が多い。
- 12) Iino Y, Nagamine H, Yabe T, et al : Eosinophils are activated in middle ear mucosa and middle ear effusion of patients with intractable otitis media associated with bronchial asthma. Clin Exp Allergy, **31** : 1135-1143, 2001.
- 13) Nonaka M, Fukumoto A, Ozu C, et al : IL-5 and eotaxin levels in middle ear effusion and blood from asthmatics with otitis media with effusion. Acta Otolaryngol, **123** : 383-387, 2003.
- 14) Iino Y, Kakizaki K, Katano H, et al : Eosinophil chemoattractants in middle ear patients with eosinophilic otitis media. Clin Exp Allergy, **35** : 1370-1376, 2005.  
中耳貯留液には好酸球浸潤に関連するIL-5, eotaxin, ECPなどが血清よりも高値を示す。
- 15) Iino Y, Nagamine H, Kakizaki K, et al : Effectiveness of instillation of triamcinolone acetate into middle ear for eosinophilic otitis media associated with bronchial asthma. Ann Allergy Asthma Immunol, **97** : 761-766, 2006.  
好酸球性中耳炎に対してトリアムシノロンアセトニド(ケナコルト)の鼓室内注入は聴力保存の点からも有用な結果を示した。
- 16) 松原 篤 : 好酸球性中耳炎の最新治療. JOHNS, **24** : 71-75, 2008.
- 17) 春名眞一, 吉川 衛, 鴻 信義ほか : 好酸球性副鼻腔炎と好酸球性中耳炎の関連性について. 耳展, **46** : 472-480, 2003.
- 18) 河野敏朗, 石戸谷淳一, 佃 守 : 好酸球性中耳炎に合併する副鼻腔炎について. 耳鼻臨床, **100** : 715-724, 2007.
- 19) 松谷幸子 : 鼻・副鼻腔手術後に発症した好酸球性中耳炎. アレルギーの臨床, **23** : 78-81, 2003.



連載

アレルギーに関する画像とその解説 — 7 —

## 好酸球性副鼻腔炎の CT 画像

Ishitoya Junichi

石戸谷 淳一 \*<sup>1)</sup>

Shiono Osamu

塩野 理 \*<sup>2)</sup>

Sakuma Yasunori

佐久間 康徳 \*<sup>3)</sup>

\*横浜市立大学附属市民総合医療センター耳鼻咽喉科 <sup>1)</sup> 教授 <sup>2)</sup> 助教 <sup>3)</sup> 講師

好酸球性副鼻腔炎はその治療法や予後が従来型の慢性副鼻腔炎とは異なるので、外来診療の初期に的確に診断されなければならない。臨床的には早期からの嗅覚障害と両側多発性鼻茸を呈することが特徴である。それらの所見を反映する CT 画像所見は、“篩骨洞優位な高度の副鼻腔陰影”に加えて、“特に後部篩骨洞と嗅裂陰影が高度”である。これらの CT 画像所見と末梢血好酸球増多所見は好酸球性副鼻腔炎の臨床診断に有用である。

### □□ はじめに

好酸球性副鼻腔炎という名称が一般化し始めたのは最近のことである。従来型の慢性副鼻腔炎は膿性の鼻汁・後鼻漏を特徴とし、かつては蓄膿症とも称され完治が難しい疾患であった。その慢性副鼻腔炎の治療に大きな転機が訪れたのは 1990 年頃である。慢性副鼻腔炎治療に 14 員環マクロライド系抗生物質の少量長期投与（マクロライド療法）と内視鏡を用いた内視鏡下副鼻腔手術（endoscopic sinus surgery；ESS）が導入されると、治療成績は飛躍的に向上して多くの慢性副鼻腔炎症例が“治癒”するようになった。一方でこれらの新しい治療法を用いても難治な慢性副鼻腔炎が次第に注目されるようになり、鼻茸中に著明な好酸球浸潤がみられることから、2001 年に好酸球性副鼻腔炎という名称が提唱された<sup>1)</sup>。

このように、好酸球性副鼻腔炎はマクロライド療法や ESS を用いても易再発性の難治性副鼻腔

炎として臨床的に確立されてきた疾患概念であるが、病因・病態については不明な点が多く、いまだに日本鼻科学会や日本耳鼻咽喉科学会としての好酸球性副鼻腔炎の定義や診断基準は定められてはいない。一方、好酸球性副鼻腔炎の臨床的特徴や診断・治療に関してはコンセンサスが得られつつあり、特に好酸球性副鼻腔炎の鼻内所見や副鼻腔の CT 画像所見は特徴的であり、臨床診断に重要である。

本稿で対象とする“好酸球性副鼻腔炎”は、慢性副鼻腔炎の一般的治療であるマクロライド療法や ESS を行っても易再発性で難治であり、再発鼻茸に全身性ステロイドが著効する好酸球性副鼻腔炎典型例を指す。なお、以前より好酸球性炎症を特徴とする慢性副鼻腔炎・鼻茸が慢性副鼻腔炎の多くを占める欧米の慢性副鼻腔炎の細分類は、単に鼻茸があるか（chronic rhinosinusitis with nasal polyps；CRSwNP）、ないか（chronic rhinosinusitis without nasal polyp；CRSSNP）の分類



表1 好酸球性副鼻腔炎の臨床的特徴(従来型の慢性副鼻腔炎との比較)

	好酸球性副鼻腔炎	従来型の慢性副鼻腔炎 (非好酸球性副鼻腔炎)
症状	早期より嗅覚障害、鼻閉など	鼻汁、後鼻漏、鼻閉など
鼻内所見	粘稠性鼻汁、多発性鼻茸	膿性鼻汁、中鼻道鼻茸
画像所見(副鼻腔増大)	初期には篩骨洞優位	初期には上顎洞優位
血液所見	好酸球増多	特になし
経過	経過中に症状を示す症例が多い	少ない
成人発症の非アレルギー型	成人発症の非アレルギー型が多い	少ない
アスピリン喘息	アスピリン喘息、Churg-Strauss 症候群	
マクロライド療法	効果は不明	有効
全身性ステロイド	再発例に著効	効果は不明
術後の鼻茸再発	高率	少ない
鼻茸の組織学的所見	著明な好酸球浸潤、リンパ球浸潤、基底膜肥厚	リンパ球浸潤、鼻腺の増生

好酸球副鼻腔炎は上記のような従来型の慢性副鼻腔炎とは異なる多くの臨床的特徴を呈する。

(文献5より)

であり<sup>2), 3)</sup>、鼻茸を有する慢性副鼻腔炎病態が多様な日本とは事情が異なっているため、欧米の基準をそのまま用いることはできない。

以下本稿では、かつては慢性化膿性副鼻腔炎などと呼ばれていた従来型の慢性副鼻腔炎(以下、従来型の慢性副鼻腔炎)と好酸球性副鼻腔炎の臨床的特徴を比較し、これらの鑑別診断に重要なCT画像所見の特徴を概説する。

**慢性副鼻腔炎の多様性と**  
  **好酸球性副鼻腔炎の特徴**

慢性副鼻腔炎は鼻漏、後鼻漏、鼻閉、嗅覚障害などの鼻症状が3カ月間以上継続し、画像検査で副鼻腔に陰影を認める場合に診断され<sup>4)</sup>、鼻内所見として鼻茸や粘膜浮腫がみられる。従来型の慢性副鼻腔炎(蓄膿症、慢性化膿性副鼻腔炎、感染性副鼻腔炎などとも呼称されている)と好酸球性副鼻腔炎の臨床的特徴を表1に比較して示した<sup>5)</sup>。好酸球性副鼻腔炎の約2/3は喘息に併発し、マクロライド療法は無効で、術後に易再発性であり

再発鼻茸には経口ステロイドが著効する。また、好酸球性副鼻腔炎患者は末梢血好酸球増多を示す症例が多い。このように好酸球性副鼻腔炎は従来型の慢性副鼻腔炎とは異なる臨床像を示すが、詳細は他の総説を参照されたい<sup>6)~8)</sup>。

従来型の慢性副鼻腔炎の病因としては、鼻腔の外側に位置する中鼻道が狭窄・閉塞することが重要とされている。中鼻道は下鼻甲介と中鼻甲介の間の狭い空間であり、上顎洞、前篩骨洞、前頭洞が開口している(図1)。鼻中隔彎曲などの鼻腔形態の異常(個々の個体のバリエーション)、反復する感染やアレルギー性鼻炎による鼻粘膜浮腫などによりこの中鼻道に狭窄・閉塞が生じると、副鼻腔(上顎洞、前篩骨洞、前頭洞)から鼻腔へのドレナージが障害され、これらの副鼻腔に慢性炎症が生じる。中でも上顎洞が最も障害されやすく、鼻茸は中鼻道に生じやすい(図2 a)。これに対して、好酸球性副鼻腔炎の鼻茸は中鼻甲介の外側(中鼻道)のみならず中鼻甲介の内側(嗅裂)にも生じる(図2 b)。すなわち、好酸球性副鼻腔炎の鼻

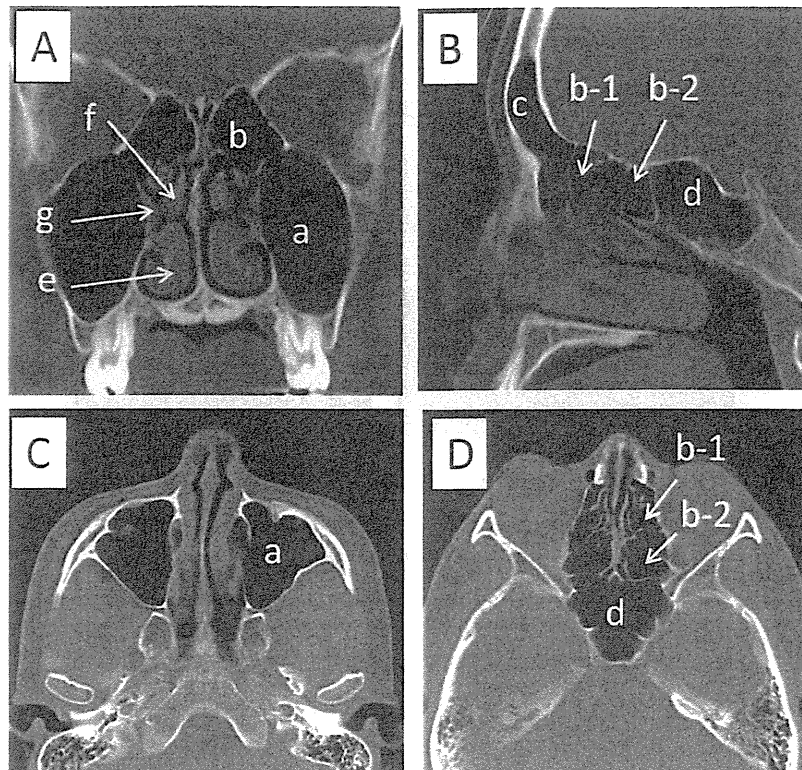


図1 正常副鼻腔のCT画像

A：前頭断，B：矢状断，C，D：軸位断

a：上顎洞，b：篩骨洞（b-1：前篩骨洞，b-2：後篩骨洞），c：前頭洞，d：蝶形骨洞，e：下鼻甲介，f：中鼻甲介，g：中鼻道。

解剖学的に上顎洞，篩骨洞，前頭洞，蝶形骨洞の4つの副鼻腔があり，副鼻腔炎の評価には3方向（軸位断，前頭断，矢状断）のCT画像が有用である。下鼻甲介と中鼻甲介の間の中鼻道は狭いので，種々の炎症等で狭窄すると上顎洞や前篩骨洞から鼻腔へのドレナージが障害される。（筆者提供）

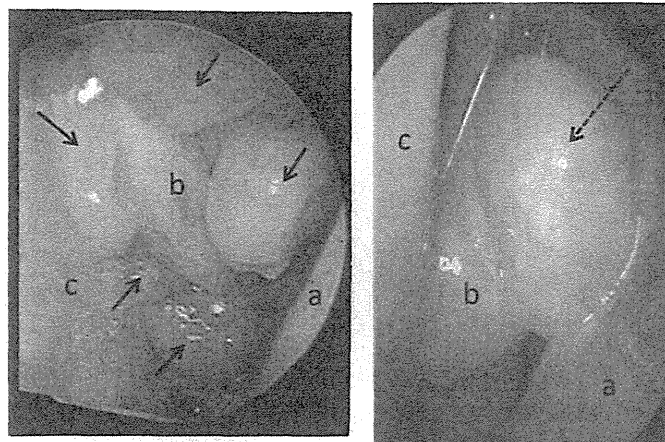
内所見の特徴は，中鼻道のみならず中鼻甲介内側の嗅裂粘膜にも浮腫性変化が見られ，鼻茸が中鼻甲介の内外に多発性に生じ，かつ両側性に見られることである。このため好酸球性副鼻腔炎では嗅覚障害を早期から訴える症例が多く，嗅覚障害は好酸球性副鼻腔炎の特徴的な臨床症状の1つである。

アレルギー性鼻炎を合併する慢性副鼻腔炎も，その鼻茸に好酸球浸潤が見られることから好酸球性副鼻腔炎と混同されることがある。しかし，ア

レルギー性鼻炎を合併する慢性副鼻腔炎の多くはマクロライド療法やアレルギー性鼻炎に対する治療で術後経過は良好であり，鼻茸中に好酸球性浸潤が見られるのみでは好酸球性副鼻腔炎とはいえない。そこで我々は鼻茸を伴う両側性の慢性副鼻腔炎を表2のように臨床的に区別している。

正常副鼻腔および慢性副鼻腔炎の  
  CT画像所見

副鼻腔は左右に4つ存在する（前頭洞，上顎洞，



好酸球性副鼻腔炎

非好酸球性副鼻腔炎  
(従来型)

図2 好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎の鼻内所見

a : 下鼻甲介, b : 中鼻甲介, c : 鼻中隔

非好酸球性副鼻腔炎では中鼻道に鼻茸(?)が見られるのに対し, 好酸球性副鼻腔炎は中鼻甲介周囲に多発性の鼻茸(↑)が見られる。

(筆者提供)

篩骨洞, 蝶形骨洞)。CT 画像所見の読影には通常の軸位断と前頭断に加え矢状断の情報も有効である。特に内視鏡下副鼻腔手術の際には実際的な情報が矢状断画像から得られる。図1に正常副鼻腔のCT画像を示した。前頭断画像と矢状断画像は再構成像である。個々の副鼻腔の評価には軸位断画像から基本的な情報が得られる。さらに, 前頭断画像は上顎洞と篩骨洞の陰影の比較が容易であり, 嗅裂の評価が可能で好酸球性副鼻腔炎の診断に用いられる。また, 矢状断画像は前篩骨洞と後篩骨洞の比較に有用である。

前述のように, 従来型の慢性副鼻腔炎の発症には中鼻道の狭窄が重要であり, 上顎洞から鼻腔へのドレナージが障害されると上顎洞に粘膜肥厚や液貯留が見られる。さらには, 同じく中鼻道に開口している前篩骨洞や前頭洞にも病変を生じ, また鼻茸が形成されると中鼻道にも陰影を呈するようになる(図3)。もちろん, さらに病変が進行す

表2 鼻茸を有する慢性副鼻腔炎の臨床的分類(案)

(1) 好酸球性副鼻腔炎

- ・アレルギー性鼻炎を合併する症例もある
- ・アスピリン喘息を含む

(2) 非好酸球性副鼻腔炎

- a) 通年性アレルギー性鼻炎合併例
- b) 通年性アレルギー性鼻炎非合併例
  - ・従来型の副鼻腔炎(蓄膿症タイプ)
  - ・化膿性, 好中球性または感染性副鼻腔炎

病態の相異にもとづいて, 我々は慢性副鼻腔炎の細分類を上記のように提案している。 (筆者作成)

ると後篩骨洞や蝶形骨洞にも粘膜肥厚を生じて汎副鼻腔陰影を呈するようになる。

慢性副鼻腔炎の病態を考える上で篩骨洞陰影と上顎洞陰影を比較することが重要であることは, CT検査が一般化する前に単純X線画像で副鼻腔炎を診断していた頃から筆者らは提唱してきた<sup>9)</sup>。すなわち従来型の慢性副鼻腔炎の初期の副

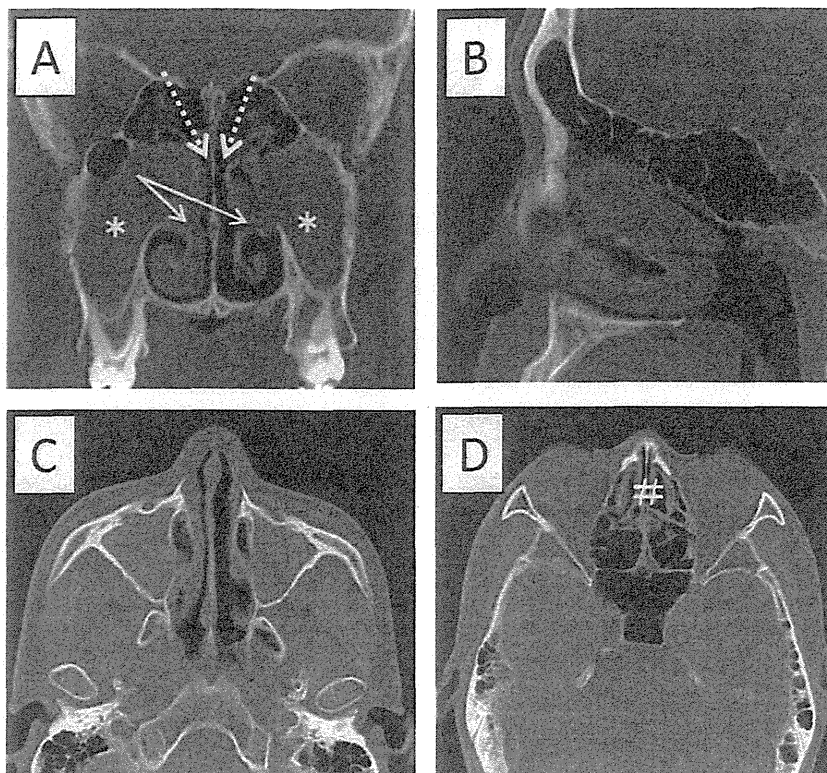


図3 非好酸球性副鼻腔炎(従来型)のCT画像

上顎洞にびまん性陰影(\*)が見られるが、篩骨洞は前篩骨洞(#)に軽度な陰影が見られるのみである(上顎洞優位な副鼻腔陰影)。中鼻道(↑)に鼻茸があるが中鼻甲介内側(↑)に陰影はない。(筆者提供)

鼻腔陰影は、篩骨洞陰影と上顎洞陰影を比較すると上顎洞陰影の程度が強いのが特徴であり“上顎洞優位な副鼻腔陰影”である。一方、喘息を合併する慢性副鼻腔炎では“篩骨洞優位な副鼻腔陰影”を示した。非好酸球性副鼻腔炎であっても通年性アレルギー性鼻炎を合併する慢性副鼻腔炎は早期より前篩骨洞に陰影を生じるので、“篩骨洞優位な副鼻腔陰影”を呈することになる(図4)。喘息患者はアレルギー性鼻炎を合併することが多いので、喘息に合併する慢性副鼻腔炎では“篩骨洞優位な副鼻腔陰影”を示す症例が多い。しかし、喘息に合併する慢性副鼻腔炎の約半数は好酸球性副鼻腔炎とはいえず、好酸球性副鼻腔炎は“篩骨洞優位”な

副鼻腔陰影を示す慢性副鼻腔炎の中からさらに鑑別する必要がある。

好酸球性副鼻腔炎のCT画像所見

上述のように“篩骨洞優位”な副鼻腔陰影が必ずしも好酸球性副鼻腔炎を示すわけではないので、好酸球性副鼻腔炎とそれ以外の非好酸球性副鼻腔炎のCT画像所見を詳細に検討する必要がある。CT画像による副鼻腔陰影の評価には一般的にLund-Mackay grading system (Lund-Mackey分類)が用いられているが<sup>4)</sup>、好酸球性副鼻腔炎では嗅裂病変が特徴の1つであることから、我々はLund-Mackey分類にさらに嗅裂陰影の評価を加

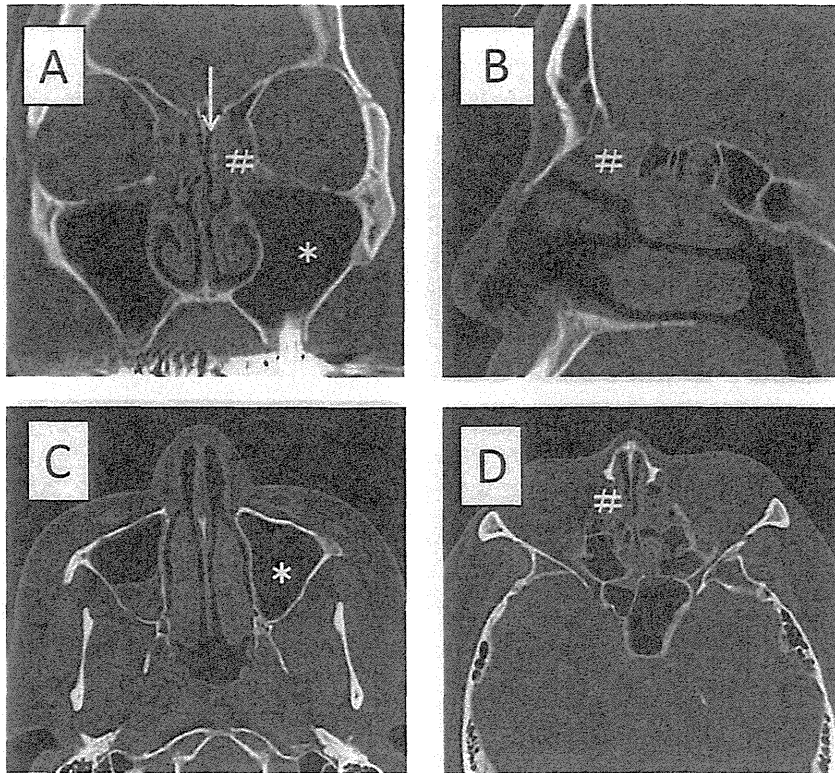


図4 非好酸球性副鼻腔炎（アレルギー性鼻炎合併）の CT 画像

篩骨洞（#）に陰影が見られるが、上顎洞陰影（\*）は軽微である（篩骨洞優位な副鼻腔陰影）。篩骨洞陰影は損篩骨洞に強く後部篩骨洞は軽度である。嗅裂陰影（↑）は軽微である。（筆者提供）

えた独自の評価法（Lund-Mackey 分類の変法）で検討した。対象は内視鏡下副鼻腔手術を施行し術後成績が明らかな両側性慢性副鼻腔炎症例で、好酸球性副鼻腔炎とそれ以外の非好酸球性副鼻腔炎に分類し各副鼻腔陰影スコアをロジスティック解析を用いて調べた（表3）<sup>10)</sup>。その結果、好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎の上顎洞以外の篩骨洞、前頭洞、蝶形骨洞の CT スコアで有意差が見られ、好酸球性副鼻腔炎の陰影が高度であった。また、嗅裂陰影も有意に好酸球性副鼻腔炎が高度であった。これら有意差が見られた各副鼻腔陰影の中で、オッズ比が特に高かったのは後部篩骨洞、総篩骨洞（前・後篩骨洞の和）と嗅裂陰影で

あった。すなわち、好酸球性副鼻腔炎の CT 画像所見の特徴は“篩骨洞優位な高度な副鼻腔陰影”に加え“後部篩骨洞と嗅裂にも高度な陰影”が見られることであり（図5）、この結果は好酸球性副鼻腔炎の病態をよく反映していると考えられる。図2に示したように、好酸球性副鼻腔炎の鼻茸が中鼻道の内・外側に多発性に生じるということは、上顎洞や前篩骨洞に加えて後篩骨洞や嗅裂にも病変を生じていることを意味し、上記の特徴的な CT 画像所見を一致する。

一方、好酸球性副鼻腔炎と似た“篩骨洞優位”な副鼻腔陰影を呈するアレルギー性鼻炎に合併する非好酸球性副鼻腔炎の場合には、前篩骨洞陰影が





連載・アレルギーに関する画像とその解説(7)

表3 好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎のCT所見の相違(ロジスティック解析:オッズ比)

CT所見 (Lund-Mackey staging system)	オッズ比	95% CI		p value
		Lower	Upper	
上顎洞 score	1.13	0.57	2.26	0.729
前篩骨洞 score	3.27	1.37	7.79	0.007
後篩骨洞 score	8.52	3.28	22.13	< 0.0001
蝶形骨洞 score	2.53	1.473	4.34	0.001
前頭洞 score	1.99	1.15	3.43	0.014
中鼻道自然孔ルート score	1.28	0.77	2.13	0.333
嗅裂 score*	5.21	2.83	9.61	< 0.001
総篩骨洞 score	9.46	3.23	27.69	< 0.0001

\*: Lund-Mackey 分類に準じて嗅裂陰影を評価

好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎のCT画像を比較すると、多くのスコアで有意差がみられた。すなわち、好酸球性副鼻腔炎の鑑別診断には副鼻腔CT画像所見が有用である。(文献10より改変)

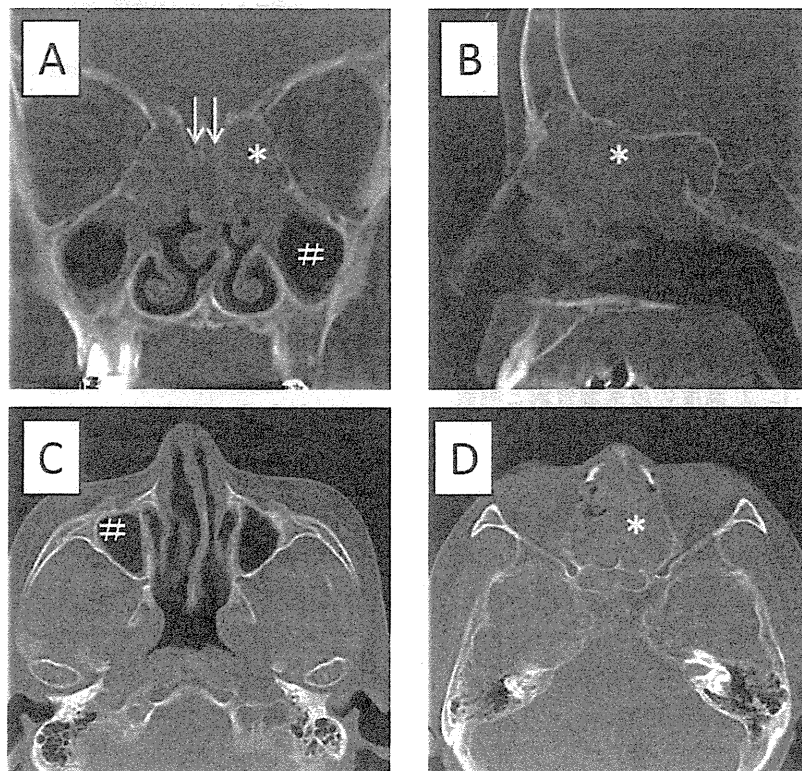


図5 好酸球性副鼻腔炎のCT画像

前篩骨洞のみならず後篩骨洞にもびまん性陰影(\*)が見られるが、上顎洞陰影(#)は軽微である(篩骨洞優位な副鼻腔陰影)。さらに蝶形骨洞にもびまん性陰影が見られる。嗅裂陰影(↑)も高度である。(筆者提供)



高度であっても後篩骨洞陰影や嗅裂陰影は軽度であることが多い<sup>11)</sup>。この点で単にアレルギー性鼻炎を合併した非好酸球性副鼻腔炎と好酸球性副鼻腔炎は CT 画像所見上でも鑑別される。



### 好酸球性副鼻腔炎の臨床診断

前述のように好酸球性副鼻腔炎のもっとも顕著な特徴は鼻茸中への著名な好酸球浸潤と術後の易再発性である。しかし、これらの特徴はいずれも術後所見であり、外来診療における臨床診断には用いられない。そこで、我々は他覚的な臨床的特徴から好酸球性副鼻腔炎を外来診療で診断する指針を検討した。その結果、①末梢血好酸球増多(正常範囲以上)、②後篩骨洞陰影が左右合計で2以上、③嗅裂陰影が左右合計で2以上、の3項目を満たせば感度0.85、特異度0.92で好酸球性副鼻腔炎(典型例)が診断できることを報告した<sup>10)</sup>。このように、上記の臨床診断指針のうち2つがCT所見であることは、外来診療における好酸球性副鼻腔炎の診断においてCT画像所見が極めて重要であることを示している。

換言すると、好酸球性副鼻腔炎典型例の特徴的なCT画像所見は、①篩骨洞有意で高度の副鼻腔陰影であり、さらに②高度の後部篩骨洞と嗅裂陰影である。

### 文 献

- 1) 春名眞一, 鴻 信義, 柳 清ほか: 好酸球性副鼻腔炎 (Eosinophilic Sinusitis). 耳鼻咽喉科展望 44: 195-201, 2001.
- 2) Fokkens W, Lund V, Mullol J: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. Rhinol Suppl: 1-136, 2007.
- 3) Meltzer EO, Hamilos DL, Hadley JA et al: Rhinosinusitis: establishing definitions for clinical research and patient care. J Allergy Clin Immunol 114: 155-212, 2004.
- 4) 日本鼻科学会 編: 副鼻腔炎診療の手引き. 2007, 金原出版, 東京.
- 5) 石戸谷淳一: 好酸球性副鼻腔炎. 日本耳鼻咽喉科学会会報 111: 712-715, 2008.
- 6) Ishitoya J, Sakuma Y, Tsukuda M: Eosinophilic chronic rhinosinusitis in Japan. Allergol Int 59: 239-245, 2010.
- 7) 石戸谷淳一, 佐久間康徳: 好酸球性副鼻腔炎と好酸球性中耳炎. アレルギー 60: 535-546, 2011.
- 8) 石戸谷淳一, 佐久間康徳, 塩野 理ほか: 好酸球性副鼻腔炎の病態. 臨床免疫・アレルギー科 55: 429-434, 2011.
- 9) 石戸谷淳一, 小口直彦, 王 娜亜ほか: 異なった下気道病変に合併する慢性副鼻腔炎の臨床的特徴. 日本耳鼻咽喉科学会会報 99: 675-680, 1996.
- 10) Sakuma Y, Ishitoya J, Komatsu M et al: New clinical diagnostic criteria for eosinophilic chronic rhinosinusitis. Auris Nasus Larynx 38: 583-588, 2011.
- 11) 石戸谷淳一, 小松正規, 佃 守: アレルギー性鼻炎と慢性副鼻腔炎・鼻茸. MB ENT 90: 13-19, 2008.



## 好酸球性副鼻腔炎における診断基準の論点

石戸谷 淳一, 佐久間 康徳, 塩野 理

横浜市立大学附属市民総合医療センター・耳鼻咽喉科

### (1) はじめに

好酸球性副鼻腔炎は14員環マクロライド系抗生物質の少量長期投与（マクロライド療法）や内視鏡下副鼻腔手術（Endoscopic Sinus Surgery: ESS）に抵抗する難治性の慢性副鼻腔炎として注目され、鼻茸中に著明な好酸球浸潤がみられることから好酸球性副鼻腔炎という名称が提唱された<sup>1)</sup>。そして2002年には、森山がこの好酸球性副鼻腔炎の臨床的特徴を11項目にまとめて解説した（表1）<sup>2)</sup>。その11項目の中でも臨床上最も問題になるのは「術後の易再発性」であり、その再発した鼻茸が経口ステロイド治療によく反応して縮小・消失することが特徴的である。

かつては蓄膿症とも称され、膿性の鼻汁・後鼻漏を特徴とした従来型の慢性副鼻腔炎はESSとマクロライド療法の併用によりほぼ“治癒”するのに対し、好酸球性副鼻腔炎はマクロライド療法の効果が期待できないので漫然とマクロライド療法を続けるべきではない。すなわち、好酸球性副鼻腔炎は外来診療の早期から従来型の慢性副鼻腔炎とは鑑別されなければならない。

表1 好酸球性副鼻腔炎の臨床像（文献2より改変）

- ・成人、両側罹患で多発性浮腫状の鼻茸
- ・中鼻甲付付近（中鼻道、嗅裂）の病変が強く、下鼻甲介は所見が少ない。したがって嗅覚障害例が多い。
- ・粘稠性分泌物（ニカワ状、多数の好酸球）の貯留
- ・鼻アレルギー（I型）の関与が少なくIgE値（特異、非特異）は様々
- ・喘息（非アトピー）、アスピリン喘息に伴うことが多い
- ・血中好酸球の増多、血中・鼻粘膜ECP濃度が高値
- ・篩骨洞病変が中心だが、汎副鼻腔病変例も多い
- ・上皮化に活性化好酸球浸潤、粘膜下の浮腫性変化、上皮細胞の剥離と分泌細胞の増加
- ・治療とくに手術治療に抵抗性（鼻茸の易再発、治療不全例）
- ・ステロイドの全身投与が有効（局所ステロイドは無効）
- ・喘息合併例では鼻内所見の軽快・増悪は喘息の象徴にはほぼ一致

### (2) 好酸球性副鼻腔炎の診断への様々なアプローチ

#### 1) 鼻茸組織の浸潤好酸球

好酸球性副鼻腔炎の組織学的特徴は鼻茸中の著明な好酸球浸潤である。しかし、アレルギー性鼻炎を合併した慢性副鼻腔炎の鼻茸にも好酸球浸潤がみられ、浸潤好酸球の存在のみでは好酸球性副鼻腔炎の診断はできない。また、鼻茸組織中の浸潤好酸球の分布は一様ではなく、同じ検体でも部位によって好酸球数は異なるし、同一患者から採取した鼻茸でも検体が異なれば好酸球浸潤の程度も異なる。さらに、鼻茸検体の採取は通常手術時行われるので外来診療での治療法選択には役立たない。

一方、我々の手術症例の検討では、ほとんどの好酸球性副鼻腔炎典型例（後述）の鼻茸中には400倍の一視野中に350個以上の好酸球浸潤がみられた<sup>3)</sup>。手術後に好酸球性副鼻腔炎の診断を再検討する場合には有用な情報である。

#### 2) 喘息合併の有無

好酸球性副鼻腔炎例の多くが喘息を合併し、特に成人発症の非アトピー型喘息に合併することが多い。しかし、我々の手術例の検討では、好酸球性副鼻腔炎典型例の65%は喘息を合併していたが35%は喘息非合併例であった。また、喘息に合併した慢性副鼻腔炎の55%は好酸球性副鼻腔炎典型例であった<sup>4)</sup>。すなわち、喘息を合併した慢性副鼻腔炎は好酸球性副鼻腔炎の場合が多いが、必ずしも喘息を合併した慢性副鼻腔炎が好酸球性副鼻腔炎典型例ではない。すなわち、喘息の合併は好酸球性副鼻腔炎の診断に参考にはなるが、そのみでは好酸球性副鼻腔炎と診断できない。

### (3) 外来診療での好酸球性副鼻腔炎の診断に有用な臨床所見

好酸球性副鼻腔炎は決して珍しい疾患ではなく、治療法も従来型の慢性副鼻腔炎とは異なるので、一般の外来診療で診断される必要がある。我々は好酸球性副鼻腔炎の臨床診断を考える上で、まず好酸球性副鼻腔炎の典型例を以下のように定義した<sup>5)</sup>。すなわち、①鼻茸を有する両側性副鼻腔炎であり、②CT画像で高度な副鼻腔陰

表2 好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎の臨床所見の相違 (ロジスティック解析) (文献5より改変)

Clinical findings	Odds Ratio	95% CI		p value
		Lower	Upper	
末梢血好酸球数 (%)	1.49	1.28	1.72	<0.001
血清IgE (1/100)	1.00	0.95	1.05	0.449
喘息 (1)	5.92	2.53	13.86	<0.001
<b>CT findings (Lund-Mackey staging system)</b>				
上顎洞score	1.13	0.57	2.26	0.729
前篩骨洞score	3.27	1.37	7.79	0.007
後篩骨洞score	8.52	3.28	22.13	<.0001
蝶形骨洞score	2.53	1.473	4.34	0.001
前頭洞score	1.99	1.15	3.43	0.014
OMC	1.28	0.77	2.13	0.333
嗅裂score*	5.21	2.83	9.61	<0.001
総篩骨洞score	9.46	3.23	27.69	<.0001
E/M ratio	2.28	0.88	5.91	0.086
PE/AE ratio	25.60	3.13	190.92	<0.001

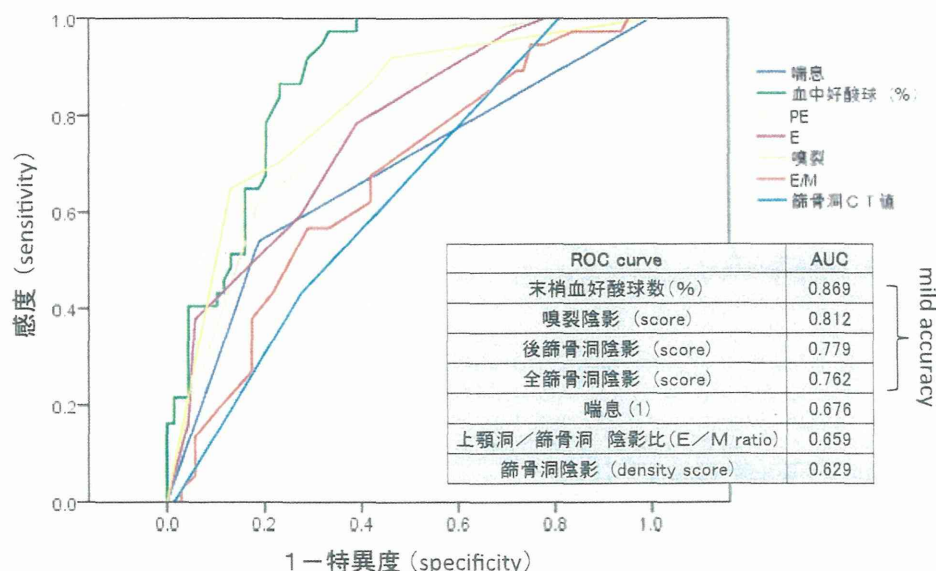


図1 好酸球性副鼻腔炎の診断に有用な各予測因子の比較 (ROC解析) (文献5より改変)

影を示しかつ上顎洞に比べ篩骨洞陰影が高度であり、③末梢血好酸球増多がある症例で、④ESS後に鼻茸の易再発性がみられかつ経口ステロイドが再発鼻茸に著効した症例とした。そして、ESSを施行した鼻茸を有する両側慢性副鼻腔炎症例を対象に、好酸球性副鼻腔炎典型例とそれ以外の非好酸球性副鼻腔炎に分けて臨床的特徴を検討した。

CT画像による副鼻腔陰影の評価には一般的にLund-Mackey分類が用いられているが、好酸球性副鼻腔炎では嗅裂病変が特徴の一つであることから、我々はさらに嗅裂陰影の評価を加えた独自の評価法で検討した。その結果、好酸球性副鼻腔炎と非好酸球性副鼻腔炎では上顎洞以外の篩骨洞、前頭洞、蝶形骨洞のCTスコアで有意差が見られ、好酸球性副鼻腔炎の陰影が高度であった。

表3 臨床所見の組合せによる好酸球性副鼻腔炎診断の感度と特異度 (文献5より改変)

臨床所見	cut off	感度	特異度
末梢血好酸球 (%)	>6% (正常範囲を超える増多)		
後篩骨洞陰影 (score)	≥1	0.846	0.923
嗅裂陰影 (score) *	≥1		

また、嗅裂陰影も有意に好酸球性副鼻腔炎で高度であった。これら有意差がみられた各副鼻腔陰影の中で、オッズ比が特に高かったのは後部篩骨洞、総篩骨洞（前・後篩骨洞の和）と嗅裂陰影であった（表2）。すなわち、好酸球性副鼻腔炎のCT画像所見の特徴は“篩骨洞優位な高度な副鼻腔陰影”に加え“後部篩骨洞と嗅裂にも高度な陰影”が見られることであり、この結果は好酸球性副鼻腔炎の病態をよく反映していると考えられる<sup>7)</sup>。血液検査では好酸球数が非好酸球性副鼻腔炎に比べて好酸球性副鼻腔炎で有意に高値であった。また、喘息の合併も好酸球性副鼻腔炎で有意に多かった。

これら有意差がみられた臨床項目の臨床診断における有用性を調べるためにROC解析を行った（図1）。その結果、中等度以上の正確さを示す指標は末梢血好酸球数、嗅裂陰影スコア、後部篩骨洞陰影スコア、総篩骨洞スコアの順であった。これらのうち、診断の感度・特異度を高めるために上位3項目を組み合わせて、各々のカットオフ値を変えて検討した結果、表3の基準を用いると感度0.85、特異度0.92と高率に好酸球性副鼻腔炎典型例を診断できた。このように好酸球性副鼻腔炎典型例を手術前に日常的な臨床検査結果から診断できる可能性が示唆された<sup>6)</sup>。

(4) 好酸球性副鼻腔炎の診断基準作成に向けて

上述のように一般外来における日常的な検査所見（CT画像所見と血液検査）のみで好酸球性副鼻腔炎典型例のおおよその診断は可能である。さらに、多発性鼻茸、比較的早期からの嗅覚障害、喘息の合併など、その他の好酸球性副鼻腔炎に特報的な臨床情報を考慮すれば好酸球性副鼻腔炎典型例の臨床診断は比較的容易と考える。そして、術後の易再発性と再発鼻茸が経口ステロイドによく反応して消退する所見が得られれば診断は確定する（表4）。

今後は、好酸球性副鼻腔炎典型例とは診断できないが、明かな好酸球性炎症がみられ従来型の慢性副鼻腔炎とは異なるタイプやアレルギー性鼻炎に伴う慢性副鼻腔炎重症例などをどのように鑑別・分類するかが課題であろう。好酸球性副鼻腔炎典型例の診断を統一した後、それらの病態の基礎的研究からも好酸球性副鼻腔炎の定義や慢性副鼻腔炎の細分類に役立つ指標が見いだされることが期待される。

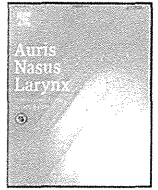
参考文献

- 1) 春名眞一, 鴻 信義, 柳 清, 他: 好酸球性副鼻腔炎 (Eosinophilic Sinusitis). 耳鼻咽喉科展望 2001; 44: 195-201.
- 2) 森山 寛: 好酸球性副鼻腔炎. 日本耳鼻咽喉科学会専門医通信 2002; 8-9.
- 3) 石戸谷淳一: 好酸球性副鼻腔炎の診断. MB ENT 2009; 6-11.

表4 好酸球性副鼻腔炎診断の実際 (文献6より改変)

(1) 臨床症状	・一般的な慢性副鼻腔炎の症状 ・早期からの嗅覚障害
(2) 鼻所見	・両側性の多発性鼻茸 (nasal polyposis) ・粘稠性鼻汁
(3) 臨床検査 (感度 = 0.846, 特異度 = 0.923)	・末梢血液検査 (好酸球増多) ・CT所見 (後部篩骨洞score ≥ 1, 嗅裂 ≥ 1) } 客観的指標
〈術前〉(4) 喘息の合併 (参考)	・成人発症の非アトピー型が多い
↑	
↓	
〈術後〉(5) 組織学的所見 (参考)	・鼻茸中の浸潤好酸球数 (典型例 > 350個 in × 400 field)
(6) 術後経過	・易再発性 ・再発に対する経口ステロイドが著効

- 4) 石戸谷淳一, 佐久間康徳 : 好酸球性副鼻腔炎と好酸球性中耳炎. アレルギー 2011 ; 60 : 535-546.
- 5) 石戸谷淳一 : 好酸球性副鼻腔炎. 日本耳鼻咽喉科学会会報 2008 ; 111 : 712-715.
- 6) Sakuma Y, Ishitoya J, Komatsu M, et al : New clinical diagnostic criteria for eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Auris Nasus Larynx* 2011 ; 38 : 583-588.
- 7) Ishitoya J, Sakuma Y, Tsukuda M : Eosinophilic chronic rhinosinusitis in Japan. *Allergol Int* 2010 ; 59 : 239-245.



## Increased exhaled nitric oxide and its oxidation metabolism in eosinophilic chronic rhinosinusitis

Sachio Takeno<sup>\*</sup>, Takayuki Taruya, Tsutomu Ueda, Noriaki Noda, Katsuhiro Hirakawa

Department of Otolaryngology, Head and Neck Surgery, Division of Clinical Medical Science, Programs for Applied Biomedicine, Graduate School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, Hiroshima, Japan

### ARTICLE INFO

**Article history:**  
Received 30 September 2012  
Accepted 4 February 2013  
Available online xxx

**Keywords:**  
Chronic rhinosinusitis  
Eosinophils  
Interleukin-5  
Nitric oxide  
Nitric oxide synthase  
Nitrotyrosine

### ABSTRACT

**Objective:** Monitoring of fractional concentrations of exhaled nitric oxide (FeNO) has become a reliable marker of inflammation in human nose and paranasal sinuses. However, it is still unknown to what extent nasal NO levels contribute to the pathology of chronic rhinosinusitis (CRS). In the present study, we aimed to examine FeNO levels and the underlying mechanism of NO production and metabolism in patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis (ECRS) and non-ECRS.

**Methods:** Thirty-three untreated ECRS patients, 16 non-ECRS patients, and 38 normal subjects were enrolled in this cross-sectional study of FeNO levels. Oral and nasal FeNO levels were measured before treatment using an electrochemical NO analyzer (NObreath<sup>®</sup>) with a nose adaptor. The mRNA expression of three nitric oxide synthase (NOS) isoforms, interleukin-5 (IL-5), and transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) in the ethmoid sinus mucosa and nasal polyps were analyzed by real-time PCR. Immunohistological localization of inducible NOS (iNOS) and nitrotyrosine (NT), a marker for oxidized NO metabolites, was also examined.

**Results:** ECRS patients showed significantly higher oral FeNO levels compared to non-ECRS patients and normal subjects (mean values, 47.6, 13.5, and 15.3 ppb, respectively). Nasal FeNO levels of the non-ECRS patients (30.5 ppb) were significantly lower than those of the ECRS patients (53.9 ppb) and normal subjects (45.5 ppb). Positive correlations existed between the blood eosinophil percentage and FeNO levels in ECRS patients. Histologically, ECRS patients showed higher eosinophil accumulation in the ethmoid mucosa than non-ECRS patients (103.1 vs. 16.3 cells/HPF). Real-time PCR analysis showed significant upregulation of iNOS and IL-5 mRNA expression in the ethmoid mucosa of the ECRS patients compared to those of non-ECRS patients. Positive iNOS immunoreactivity was observed in ciliated epithelial cells, submucosal glands and associated inflammatory cells in both groups. NT immunoreactivity was detected in the epithelium and around inflammatory cells. Intense NT staining was colocalized with eosinophil accumulation and ECRS patients showed significantly higher rates of NT-positive cells than non-ECRS patients.

**Conclusion:** A combination of oral and nasal FeNO measurement is a valid marker for the classification and definition of different CRS subtypes in Japan. Higher levels of oral and nasal FeNO in ECRS patients may reflect the persistence of eosinophilic inflammation in sinus mucosa with concomitant iNOS upregulation and accompanying deposition of oxidized NO metabolites.

© 2013 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Nitric oxide (NO) has been proposed to have a variety of roles in the human nose and paranasal sinuses relevant to airway defense mechanisms, as well as being an inflammatory mediator [1,2]. The standardization of measuring techniques by the

American Thoracic Society/European Respiratory Society has opened the way for the collection of comparable airway NO data in normal subjects and those with disease states [3,4]. Because the human paranasal sinuses are a major source of intrinsic NO production, the monitoring of fractional concentrations of exhaled NO (FeNO) in nasal airways can be a reliable marker of sinus inflammation [5–7]. Nasal NO levels are reported to be decreased in most patients with chronic rhinosinusitis (CRS); however, some contradictions still remain in the findings pertinent to classification of CRS types. In addition, it is still unclear to what extent nasal NO levels contribute to CRS pathology [8–10].

<sup>\*</sup> Corresponding author at: Department of Otolaryngology, Hiroshima University School of Medicine, Kasumi 1-2-3, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan.  
Tel.: +81 82 257 5252; fax: +81 82 257 5254.

E-mail address: [takeno@hiroshima-u.ac.jp](mailto:takeno@hiroshima-u.ac.jp) (S. Takeno).

In the present study, we assessed the oral and nasal FeNO levels in a population of normal subjects, patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis (ECRS), and non-eosinophilic CRS (non-ECRS) patients. In Japan, ECRS has been proposed as a subtype of CRS with an intractable clinical course accompanied by the infiltration of numerous activated eosinophils into the paranasal sinus mucosa [11–13]. Eosinophil infiltration is commonly accompanied with histological abnormalities such as fibrosis, thickening of the basement membrane, and epithelial detachment. While the clinical characteristics of ECRS are apparently different from those of non-ECRS, a clear definition that can be used to differentiate each subtype has yet to be established.

We also compared NO production and metabolism pathways of paranasal sinus mucosa between ECRS and non-ECRS patients. The mRNA expressions of three nitric oxide synthase (NOS) isoforms, interleukin-5 (IL-5), and transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ) were quantitatively analyzed by real-time PCR. The localization of inducible NOS (iNOS) and nitrotyrosine (NT), a marker for oxidized NO metabolites, was immunohistologically examined. There is so far limited information available for FeNO levels in CRS patients in Japan. We found that measurement of oral and nasal FeNO levels was useful in differentiating ECRS from non-ECRS based on the distinctly augmented NO metabolism that underlies ECRS.

## 2. Patients and methods

### 2.1. Nitric oxide measurements

Thirty-three ECRS and 16 non-ECRS patients were included in the cross-sectional study of FeNO measurements. Thirty-eight age-matched normal volunteers served as controls. The diagnosis of ECRS was based on clinical symptoms, endoscopic findings, and CT scanning, in accordance with preliminary criteria proposed at the clinical symposium of the 35th Annual Meeting of the Japan Rhinologic Society in 2006 [12]. All patients showed multiple nasal polyps bilaterally, characteristic mucus secretion with high viscosity, and dominant opacification of the ethmoid sinus by CT scanning. Three patients in the non-ECRS group showed a solitary nasal polyp unilaterally without clinical features compatible with ECRS. None of the patients had received topical or systemic steroids for at least 4 weeks before the visit. Patients who had undergone previous sinus surgery were excluded. The CT images were subjected to radiological grading using the Lund-Mackay system [14]. Total sinus scores were calculated bilaterally (range, 0–24). In addition, the E/M ratio (ratio of the averaged ethmoid cells to the maxillary sinus scores) and the PE/AE ratio (ratio of the posterior ethmoid to the anterior ethmoid scores) were calculated as described elsewhere [15].

Oral and nasal FeNO levels were measured before treatment using a handheld electrochemical analyzer (NObreath<sup>®</sup>, Bedfont Scientific Ltd., Rochester, UK) according to ATS/ERS guidelines [3,16]. For oral FeNO measurements, subjects were advised to exhale for 16 s at a flow rate of 50 mL/s through a mouthpiece. For nasal FeNO measurements, subjects were instructed to exhale transnasally with their mouth closed into a nose adaptor as described elsewhere [17]. Each measurement was performed in triplicate, and the mean value was used for analysis.

### 2.2. RT-PCR analysis

Ethmoid sinus and nasal polyp specimens were obtained from 18 ECRS and 14 non-ECRS patients who chose surgical therapy and underwent endoscopic sinus surgery. At the time of the surgery, the specimens were divided and either immersed in RNA later<sup>™</sup> solution (Ambion, Austin, TX) for real-time RT-PCR, or, alternatively, fixed in 4% paraformaldehyde for immunohistochemistry.

Quantitative PCR analysis was performed on the ABI Prisms 7300 system (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Cellular RNA was isolated using RNeasy mini kits (Qiagen, Valencia, CA). Total RNA was then reverse-transcribed to cDNA using a High Capacity RNA-to-cDNA kit (Applied Biosystems) according to the instructions supplied by the manufacturer. Gene expression was measured on a real-time PCR system using TaqMan Gene Expression Assays.

PCR primers specific for neuronal NOS (nNOS or NOS1; Hs00167223\_m1), iNOS (NOS2; Hs01075529\_m1), endothelial NOS (eNOS or NOS3; Hs01574659\_m1), IL-5 (Hs00174200\_m1), and TGF- $\beta$ , (Hs99999918\_m1) were used. Primers for GAPDH (Hs99999905\_m1) were used as a reference. PCR cycles were run in triplicate for each sample. Amplifications of the PCR products were quantified by the number of cycles and the results were analyzed using the comparative cycle threshold (Ct) method ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ). The Ct values for target genes were normalized to the value of GAPDH by calculating the change in Ct ( $\Delta Ct$ ). Ct values of 34 or higher were considered as the lowest limit of detection. The quantities of target gene expression were presented as relative rates compared with the expression of the reference gene GAPDH (ratio: target gene/GAPDH expression).

### 2.3. Immunohistochemistry

Primary antibodies used were anti-human iNOS mouse monoclonal antibody (clone 2D2-B2; R&D Systems, Minneapolis, MN) and anti-nitrotyrosine mouse monoclonal antibody (clone 39B6; Santa Cruz, CA). Immunostaining was carried out on 5- $\mu$ m-thick cryostat sections using mucosal specimens from the same patients as described in Histo VT One (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) at 70 °C for 40 min. The slides were then incubated overnight at 4 °C with the primary antibodies. Color development was performed using the streptavidin-biotin amplification technique (ChemMate EnVision kit; Dako, Glostrup, Denmark). Peroxidase activity was visualized by the diaminobenzidine solution. Sections were counterstained with Mayer's hematoxylin. Control specimens developed without the primary antibody were used to verify that nonspecific binding was not detectable. Consecutive sections were stained with hematoxylin-eosin (HE) in order to view the mucosal pathology and to assess the degree of eosinophil infiltration.

We carried out semi-quantitative analysis to compare the immunohistological distribution of NT-positive cells in the submucosal layer between the groups. Cell counts were made in five fields at a magnification of 400 from randomly selected sections blind to the clinical diagnosis. The study protocol was approved by the Institutional Review Board at the Hiroshima University School of Medicine and written informed consent was obtained from all patients.

### 2.4. Data analysis

For multiple comparisons, screening of data for differences was first carried out using ANOVA. If the analysis gave a significant result, further comparison was done by the Mann-Whitney *U* test for between-group analysis. Correlation coefficients were calculated by the Spearman method. *P* values < 0.05 were considered to indicate statistical significance.

## 3. Results

### 3.1. Comparison of FeNO levels between non-ECRS and ECRS patients

The clinical characteristics of the study population are summarized in Table 1. A significant difference between the non-ECRS and the ECRS groups was found in the baseline data of



**Table 1**  
Background and baseline characteristics of the study population.

	Non-ECRS patients	ECRS patients
Number	16	33
Age	59.7 (22-74)	57.7 (32-77)
Asthma	0	18**
Blood eosinophils (%)	2.7 (0.2-8.9)	8.5 (2-18)**
CT score	10.3 (4-21)	15.3 (7-24)**
E/M ratio	0.56 (0-1.5)	1.45 (0.75-2)**
PE/AE ratio	0.41 (0-1.25)	0.91 (0.5-1.5)**

Data are shown as mean with ranges in parenthesis.

\*\*  $P < 0.01$ : significant difference compared with the other group.

proportion of asthma and blood eosinophils. In addition, the ECRS patients showed significantly higher CT scores, E/M ratios, and PE/AE ratios, indicating that opacification of the ethmoid sinus was more severe than that of maxillary sinus in this group.

Fig. 1 shows the values of oral and nasal FeNO at pretreatment in each group. The mean oral FeNO levels were 15.3 ppb in normal subjects, 13.5 ppb in non-ECRS patients, and 47.6 ppb in ECRS patients. The ECRS patients showed significantly higher oral FeNO levels compared to those in the other two groups. The mean nasal FeNO levels were 45.5 ppb in normal subjects, 30.5 ppb in non-ECRS patients, and 53.9 ppb in ECRS patients. Compared with the normal group and ECRS group, the non-ECRS patients showed significantly lower nasal FeNO levels. There was no significant difference in nasal FeNO levels between the control group and the ECRS group. Fig. 2 shows the correlation between blood eosinophils and FeNO levels ECRS patients. We found positive correlations between the blood eosinophil percentage and FeNO levels in ECRS patients, with the coefficient being higher for nasal FeNO than for oral FeNO ( $r = 0.604$  vs.  $r = 0.309$ ).

**3.2. Real-time RT-PCR analysis**

Quantitative real-time PCR was conducted to assess mRNA levels of the three NOS isoforms, IL-5 and TGF- $\beta$  in the ethmoid sinus mucosa (Fig. 3). The ECRS patients showed significant upregulation of iNOS and IL-5 mRNA expression compared to the

non-ECRS patients. There was no significant difference in eNOS and TGF- $\beta$  mRNA levels between the groups. As for nNOS mRNA expression, about half of the specimens in both groups were judged as being below the limit of detection. Nasal polyps in the ECRS patients showed profiles similar to ethmoid sinus mucosa in the same subjects, with the latter having higher levels of iNOS and IL-5 mRNA expression.

**3.3. Immunohistological findings**

As expected, ECRS patients showed intense inflammatory cell infiltration dominated by eosinophils in their ethmoid mucosa and nasal polyps on conventional histological examination. The mean density of eosinophil accumulation in the ethmoid mucosa for the ECRS group was significantly higher than that of the non-ECRS group (103.1 vs. 16.3 cells/HPF,  $**P < 0.01$ ). Figs. 4 and 5 show representative immunohistological images of the distribution of iNOS- and NT-positive cells in the ethmoid sinus mucosa. Positive iNOS immunoreactivity was mainly localized to ciliated epithelial cells, submucosal glands and associated inflammatory cells in both groups. The degree of epithelial iNOS staining appeared identical in both groups. However, patients in the ECRS group tended to reveal strong iNOS staining of inflammatory cells throughout the submucosal area, with eosinophils being predominant.

NT immunoreactivity was detected in the surface epithelium and particularly around inflammatory cells. Intense NT staining was observed in the submucosal layer of ECRS patients (Fig. 4d). Fig. 6 summarizes the density of NT-positive cells in the submucosal layer for each group. The ECRS patients showed significantly higher rates of NT-positive cells compared to the non-ECRS patients (57.8 vs. 17.7 cells/HPF,  $**P < 0.01$ ). We found an intimate relationship between the degree of NT deposition and eosinophil accumulation.

**4. Discussion**

Based on the accumulation of evidence so far, there is intimate, not yet fully understood, relation between inflammatory conditions and nitric oxide levels in the human nose and paranasal

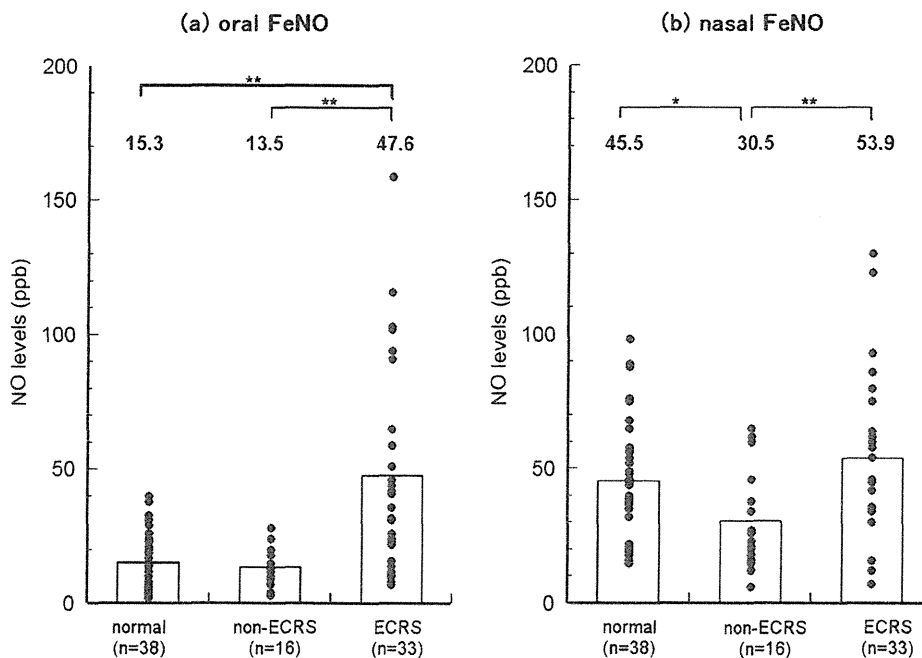


Fig. 1. (a) Oral FeNO and (b) nasal FeNO levels in normal subjects, non-ECRS patients, and ECRS patients. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; FeNO = fractional exhaled nitric oxide.

Please cite this article in press as: Takeno S, et al. Increased exhaled nitric oxide and its oxidation metabolism in eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Auris Nasus Larynx* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.anl.2013.02.001>

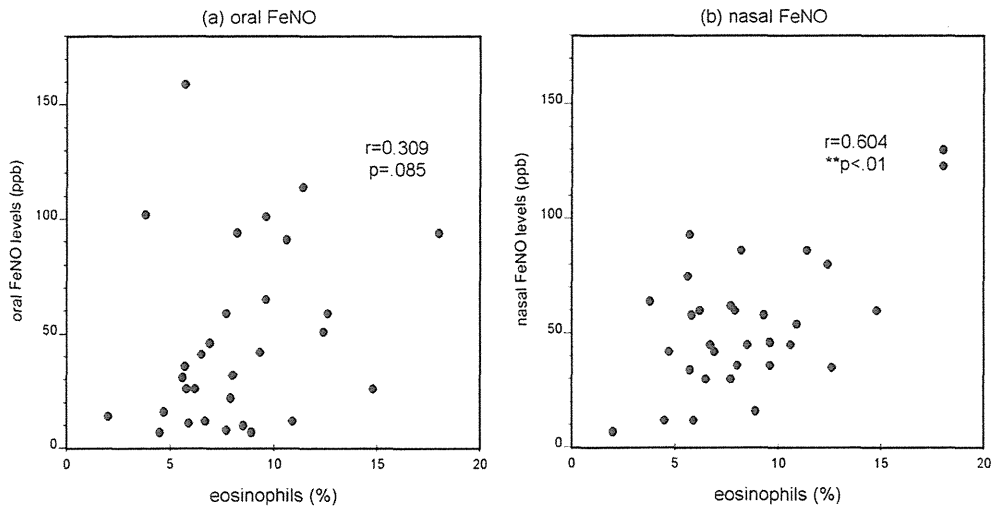


Fig. 2. Correlation between the blood eosinophil percentage and (a) oral FeNO levels and (b) nasal FeNO levels in ECRS patients ( $n = 33$ ).

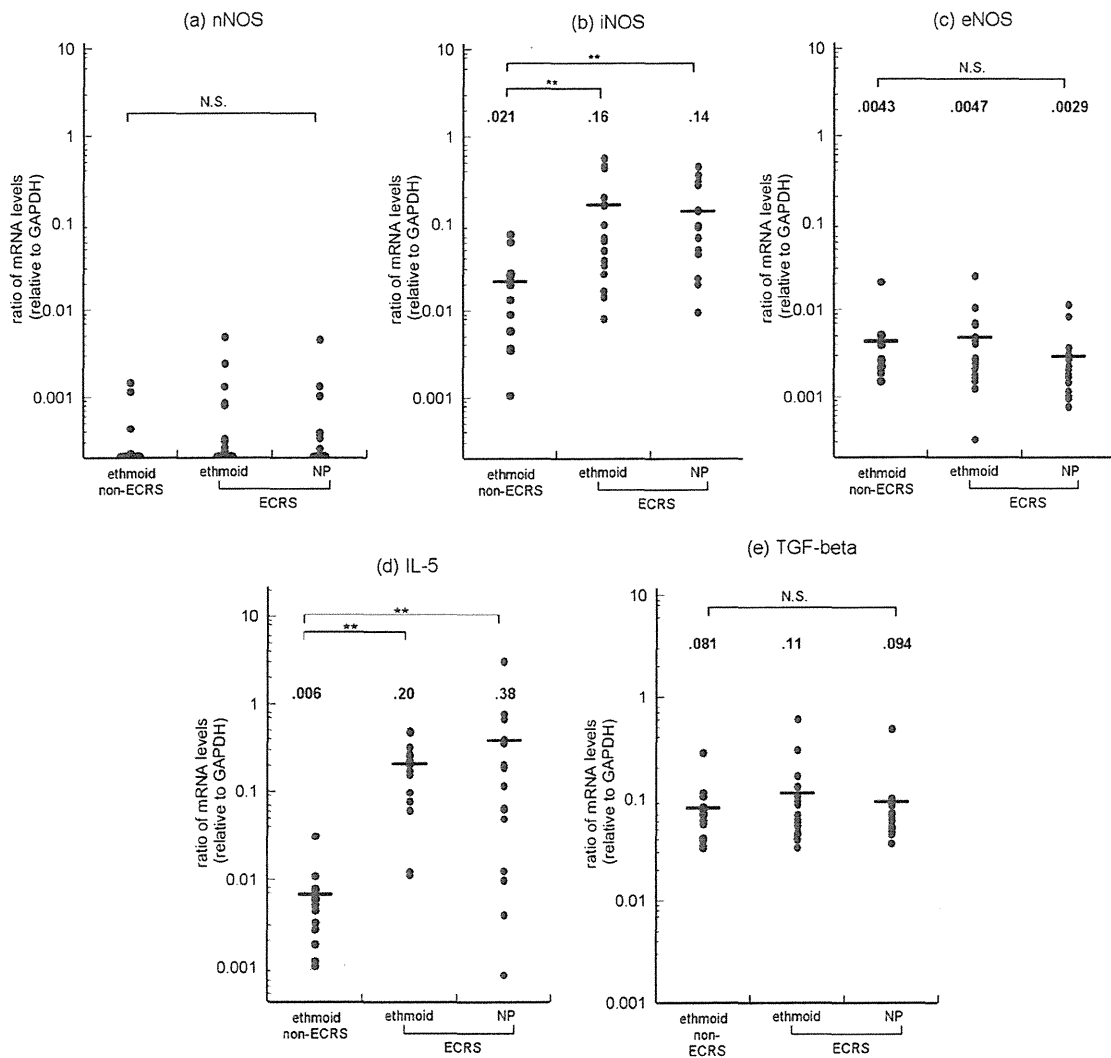


Fig. 3. Comparison of mRNA expression in ethmoid sinus mucosa from non-ECRS and ECRS patients and in nasal polyps from ECRS patients by real-time RT-PCR. The mRNA levels of (a) nNOS (NOS1), (b) iNOS (NOS2), (c) eNOS (NOS3), (d) IL-5, and (e) TGF- $\beta$  are expressed as ratios relative to GAPDH. Bars indicate mean values. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ .

Please cite this article in press as: Takeno S, et al. Increased exhaled nitric oxide and its oxidation metabolism in eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Auris Nasus Larynx* (2013). <http://dx.doi.org/10.1016/j.anl.2013.02.001>

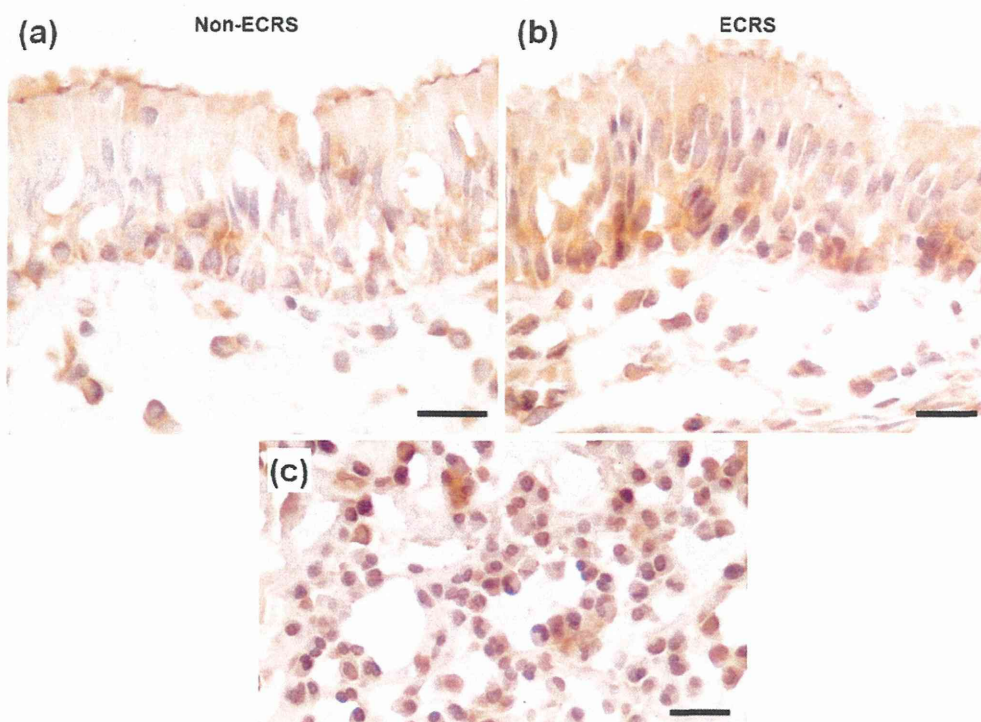


Fig. 4. Immunohistological photographs of iNOS expression in the ethmoid sinus mucosa from (a) a non-ECRS patient and (b) an ECRS patient. (c) Note that iNOS-positive inflammatory cells are scattered predominantly in the submucosal layer of the ECRS patient. Scale bar = 20  $\mu$ m.

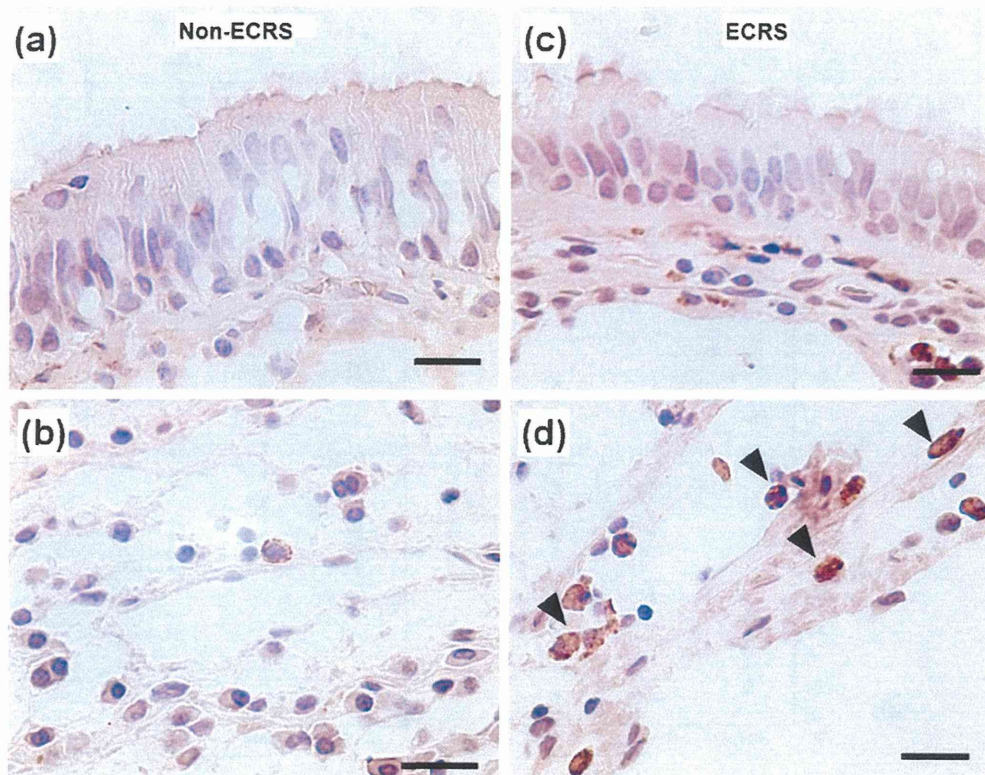


Fig. 5. Immunohistological photographs of 3-nitrotyrosine expression in the ethmoid sinus mucosa from (a and b) a non-ECRS patient and (c and d) an ECRS patient. (d) Note that 3NT-positive inflammatory cells are scattered predominantly in the submucosa of the ECRS patient (arrowheads). Scale bar = 20  $\mu$ m.

Please cite this article in press as: Takeno S, et al. Increased exhaled nitric oxide and its oxidation metabolism in eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Auris Nasus Larynx* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.anl.2013.02.001>

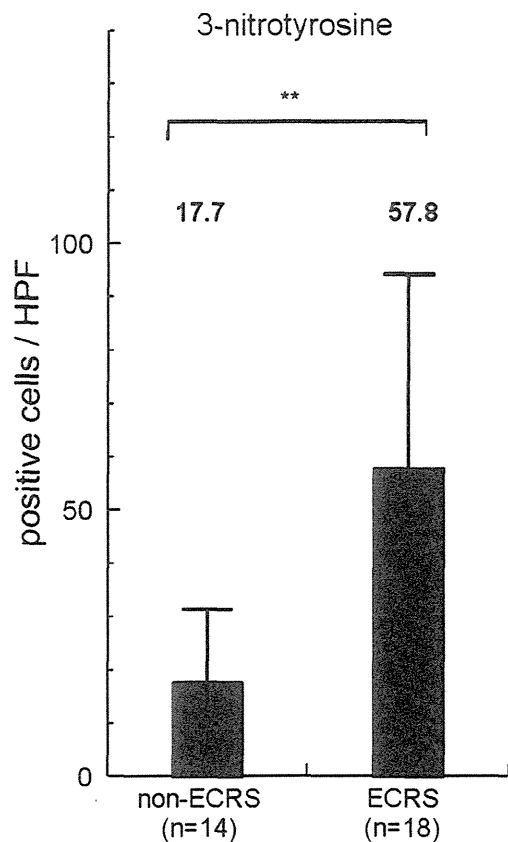


Fig. 6. Comparison of the density of NT-positive cells in the subepithelial layer of the ethmoid mucosa between the groups. Each column and bar indicates the mean  $\pm$  SEM. \*\* $P < 0.01$ .

sinuses [1,2,9]. We hypothesize that FeNO is a valid marker for CRS and that measurement of the FeNO level might be useful in distinguishing ECRS patients from non-ECRS patients. Relatively high levels of oral and nasal FeNO detected in ECRS patients would reflect the persistence of mucosal eosinophilic inflammation with concomitant upregulation of iNOS mRNA.

Several reports have indicated that nasal FeNO tends to decrease in patients with acute and chronic sinusitis, due to hampered ventilation of gaseous NO through occluded sinus ostia and increased NO absorption by inflamed sinus mucosa [8,18,19]. Arnal et al. [20] reported that nasal NO levels in CRS patients were inversely correlated with the extent of sinus opacification detected on CT scans. It has been also shown that nasal NO increased significantly as a consequence of medical or surgical therapies of CRS, thus suggesting that treatment may result in recovery of normal NO production by the ciliated epithelium [19,21]. In the present study, significantly lower nasal FeNO levels were found in untreated non-ECRS patients than in normal subjects, whereas no significant difference was observed in the ECRS patients. The unchanged nasal FeNO levels in ECRS patients despite occluded sinus ventilation might be in part related to increased NO production in the inflamed paranasal sinus mucosa.

ECRS is a clinical entity of intractable chronic sinus inflammation accompanied by numerous infiltrations of activated eosinophils [11–13]. The phenotype of ECRS corresponds to chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP) in Europe and the United States [22]. Since the treatment strategy of ECRS differs from that of non-ECRS, diagnostic criteria that can differentiate ECRS from non-ECRS before surgery or that can be used in outpatient clinics are highly desirable. Recently, Sakuma et al. [15]

reported that a set of three clinical findings of blood eosinophilia, asthma complications, and CT image score assessment could differentiate ECRS from non-ECRS with high accuracy in regular outpatient clinics. The clinical background of the present study population (Table 1) is in line with their proposal. The higher prevalence of bronchial asthma in ECRS patients was associated with significantly increased oral FeNO levels. In addition, the degree of blood eosinophilia significantly correlated with nasal FeNO levels in these patients. The interpretation of the relation between upper and lower airway function based on FeNO level in CRS patients is a topic that deserves further attention [20,23].

We agree that FeNO measurement alone cannot be a definite parameter for the classification of ECRS. The 2011 ATS/ERS guidelines recommend the use of cut points rather than reference values when interpreting FeNO levels [4]. The distribution of oral FeNO in an unselected population has been reported to be skewed to the right and the upper limit of "normal" ranges from 27 to 57 ppb. Shaw et al. proposed that the optimum cut point for a clinically significant oral FeNO was set as 26 ppb [24]. In the present study, 31 out of 38 normal subjects showed oral FeNO levels less than 26 ppb (specificity rate 81.5%), and 22 out of 33 ECRS patients showed levels more than 26 ppb (sensitivity rate 66.6%). Of the 22 ECRS patients, 14 patients had a clinical history of bronchial asthma but 8 patients had no asthmatic symptoms despite high oral FeNO levels. Based on the results, we argue that FeNO levels may be used to support the diagnosis of ECRS in combination with other subjective and objective factors.

ECRS patients showed increased iNOS and IL-5 mRNA expression as compared with non-ECRS patients. On the other hand, mRNA levels for constitutive NOS isoforms appeared to be unchanged. It is well known that iNOS expression is stimulated by pro-inflammatory mediators and bacterial products such as lipopolysaccharides. The immunohistological results indicate that iNOS activities both by the ciliary epithelium and by the submucosal inflammatory cells are responsible for dominant NO production in the paranasal sinuses. The epithelial iNOS expression seems to be crucial for maintaining the mucociliary clearance system [5,25]. We assume that in ECRS patients, iNOS expression in epithelial cells may be unchanged or decrease, but NO production by iNOS derived from inflammatory cells increases significantly. It should be noted that excess secretions and thick aqueous mucosal lining by inflammation may inhibit diffusion of gaseous NO into the air-filled nasal cavity, similar to the case in suppurative lung conditions [26]. No significant difference in TGF- $\beta$  mRNA levels was observed between the groups. TGF- $\beta$  plays a pivotal role in the airway remodeling process through promoting the synthesis of extracellular matrices. In western countries, patients with CRSsNP show higher levels of TGF- $\beta$ , whereas CRSwNP is characterized by a predominant Th2-biased profile with high IL-5 levels [27]. There is so far limited information on the cytokine expression pattern between ECRS and CRSwNP patients [28]. Further studies are required to explain the contrasting TGF- $\beta$  expression among the CRS subtypes in Japan.

Nitrotyrosine, a marker for inflammation, is formed in the presence of active oxidized NO metabolites. Because NT is a stable product of multiple pathways such as the formation of peroxy-nitrite, it can be used as a useful determinant of NO-dependent damage in vivo [29]. In the present study, NT expression was significantly upregulated in the sinus mucosa from ECRS patients associated with intense eosinophil accumulation. Bernardes et al. [30] reported that NT staining was immunohistologically more evident in biopsies from sinusitis patients than in healthy mucosa. They also found that positive NT expression was largely confined to eosinophils in the area featuring epithelial disruption. Naraghi et al. [25] reported that NO metabolite levels of sinus lavage fluid in CRS patients were significantly higher than those in healthy

Please cite this article in press as: Takeno S, et al. Increased exhaled nitric oxide and its oxidation metabolism in eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Auris Nasus Larynx* (2013), <http://dx.doi.org/10.1016/j.anl.2013.02.001>