小児滲出性中耳炎における中耳貯留液の細胞学的研究

札幌医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任：形浦昭克教授）

染 川 幸 裕，山 中 昇

A CYTOLOGICAL STUDY OF EFFUSIONS IN CHILDREN WITH OTITIS MEDIA WITH EFFUSION

YUKIHIRO SOMEKAWA, M. D. and NOBORU YAMANAKA, M. D.

Department of Otolaryngology, Sapporo Medical College, Sapporo

A cytological analysis in 330 samples of middle ear effusions (MEEs) from the children with otitis media with effusion (OME) was performed with the use of cytocentrifuge method. May-Giemsa stained smears were classified into five types on the bases of the inflammatory cellular patterns, i. e., neutrophil dominant type (N), mononuclear cell dominant type (M), mixed type (Mix), mucous and cellular remnant type (M. CR), and too few cells type (FC). And the cellular types such classified were compared with their clinical data in order to obtain the definitive information about the inflammatory state and process in the middle ear cavity (MIC). The results were as follows:

- 1) A large discrepancy was observed between the global appearance and cytological findings of the MEEs.
- 2) In acute group OME, almost sixty per cent of the MEEs showed (N) type smears. In chronic group, the percentage of (N) type smears were decreased to 23.5% and (M) type, (Mix) type, (M. CR) type, and (FC) type smears were increased to 18.5%, 14.5%, 31.2% and 12.4%, respectively.
- 3) On the other hand, in chronic group MEEs of cases who had a recent episode of acute exaservation showed (N) type smears in 55.6%.
- 4) Long term examination of smears in each case revealed the presence of continuous changes in the cytological patterns.

From the results described above, the cytological analysis of MEEs may be one of the useful breakthrough in order to clarify the mechanism of chronicity of OME.

Key words: 滲出性中耳炎, 中耳貯留液, 細胞診

A89—0054—22111

I はじめに

滲出性中耳炎は小児耳鼻咽喉科領域において頻回に遭遇し、かつ難治な経過をたどることも稀有ではない疾患のひとつである。その病態解明の目的で、我々はヒト中耳貯留液を用いた研究¹⁾²⁾を行ってきたが、この際、対象症例の中耳腔内における炎症状態を正確に把握することの重要性を痛感した。しかし、炎症状態の指標として、臨床症状は、滲出性中耳炎では明瞭でない場合が多く、また中耳貯留液の肉眼的性状からは、

詳細な分析ができない難点があった。ところで、中耳貯留液中の細胞成分は、中耳粘膜からの滲出物であり、その内容に中耳腔の炎症状態が十分映されるとする報告^{3)~8)}も多い。このため、今回、中耳貯留液の細胞診像と臨床経過とを照合することにより、小児滲出性中耳炎遷延化症例の中耳腔内における炎症状態の分析を、試みたので報告する。

年齢	症例数	%	
0～2	5	1.5	
3～4	10	3.1	
5～6	64	19.5	
7～8	166	50.7	
8～9	66	20.1	
10～11	13	4.0	
13～14	6	1.8	
Total 330例		平均年齢 (6.6±1.9)	

図1 年齢分布

図2 発症時期

※の期間が4週間未満の場合はA点を発症時期とし、4週間以上の場合はB点を発症時期とした。

II 研究方法

1. 研究対象

札幌医科大学耳鼻咽喉科において、臨床経過および鼓膜所見から渗出性中耳炎と診断され、治療の過程で、鼓膜切開あるいはチューブ留置術を施行した症例330耳を対象とした。図1に対象症例3歳から14歳までの年齢分布を示した。

2. 臨床経過分類

中耳貯留液採取・細胞診に至るまでの臨床経過を、1983年の国際基準に基づいて、急性(発症後21日以内)、悪急性(発症後22日～8週以内)、および慢性(発症後9週以上経過)の3者に分類した。さらに、慢性症例において、経過中に耳漏や耳痛などの急性炎症症状を有した場合を、急性増悪例として留意した。なお中耳貯留液採取にあたり、その肉眼的性状による分類⁹⁾

(化膿性、粘液性、そして漿液性)、および耳鏡から見た鼓膜の状態(発赤、腫脹の状況を、－、＋、++の3段階に分類)を併記した。

3. 発症時期および治癒判定基準

臨床経過を分類するにあたり、発症時期は原則として、中耳貯留液の出現時とした。一方、経過観察中、4週間以上、鼓膜所見および tympanogram が正常であった症例は、臨床的に治癒と判断した。また、治療継続中の症例は、図2に示した基準に基づいて発症時期を判定した。すなわち、治療に基づく鼓膜穿孔の閉鎖後、再度貯留液が発生するまでの期間(図2、※印)が4週以上の場合は、臨床的に一旦治癒したものと判断し、新たな貯留液出現時(図2、B点)を発症時期とした。一方、再度貯留液が出現するまでの期間(※印)が4週間に満たない場合は、最初の貯留液出現時を発症時期と判断した(図2、A点)。

4. 細胞診

無菌的に採取した中耳貯留液を、リン酸緩衝食塩水(phosphate buffered saline solution, PBS)にて5倍希釈し十分攪拌した後、その一部を Lim³⁾、山口ら¹⁰⁾の方法と同様に cytocentrifuge 法(サクラ・オートスミア CF-12 SBを使用)にて塗抹標本を作成し、May-Giemsa 染色を施し、鏡検した。

5. 細胞診の分類

得られた細胞診像を、炎症細胞を中心に、以下の5型に分類した。すなわち、1) 好中球優位型 (Neutrophil Dominant, N型): 構成細胞の6割以上が好中球で占められているもの(写真1, A)。2) 単核球優位型 (Mononuclear Cell Dominant, M型): 6割以上の細胞がリンパ球やマクロファージなどの単核球系細胞で占められているもの(写真1, B, C, D, E)。3) 混合型 (Mix型): 好中球と単核球系細胞がほぼ同程度混在しており、N型とM型の中間を呈するもの(写真1, F, G)。粘液・細胞残渣型 (Mucoid and Cellular Remnant, M.CR型): 豊富な粘液の中に、融解細胞や残渣を認めるのみで、炎症細胞をほとんど認めず、あってもわずかなもの(写真1, H, I)。そして5) 有形成分をほとんど認めないもの (Too Few Cells, FC型)(写真1, J, K)である。なお1)～3)の分類は Palva¹¹⁾ (1980)の方法を参考にした。

また、高倍率下に、塗抹標本中の細菌集落の有無を検索した(写真1, L, M, N)。

図3 中耳貯留液の肉眼的性状と細胞診

図4 鼓膜所見と細胞診

図5 細菌と細胞診

III 結 果

1. 貯留液の肉眼的性状と細胞診

対象330例中、66耳に化膿性の中耳貯留液を認めたが、これらの症例は細胞診でもN型が57.6%と、優位を占めた。一方、残り264耳は粘液型や漿液型に分類されたが、これらの細胞診では、さまざまな型が含まれており、一定した傾向は認められなかった(図3)。

2. 鼓膜所見と細胞診

鼓膜発赤・腫脹(一)群のように、耳鏡所見では、明らかな特徴を認めない症例も、細胞診では、多彩な型が観察された。一方、鼓膜発赤・腫脹を有した群でも、N型が46.8%と優位であったが、残り53.2%には、Mix型11.7%、M型12.6%、M.CR型16.2%、そしてFC型12.6%と、多彩な型が含まれていた(図4)。

3. 細菌と細胞診

細菌培養を行った79例中、10例(12.6%)に、培養が陽性であった。一方、鏡検下の検索では、写真1(L, M, N)に示す明らかな細菌集落を16例に観察したが、68例は塗抹標本中に細菌集落は観察しなかった。次に、細菌培養および鏡検による細菌陽性群と陰性群の細胞診を比較した。細菌培養陽性群では、N型およびMix型の占める割合が、60%および30%と、培養陰性群の25%および14%に比べて高率であった。同様に、鏡検下に細菌集落を認めた群における細胞診でも、N型およびMix型の頻度が、37.5%および25.0%と、細菌集落を認めなかった群に比べ、高率であった(図5)。

4. 臨床分類と細胞診

臨床経過から、急性、亜急性、そして慢性に分類された群における細胞診を、図6に示した。急性群では、N型が60%を占めたが、長期化するにつれ減少し、亜急性群では30.1%、そして慢性群全体では23.5%となった。しかし、慢性群のなかでも、急性増悪を有した27例の細胞診では、N型は55.6%を占め、急性群とほ

図6 臨床分類と細胞診

図7 慢性群12症例の経時的細胞診

写真 1

写真 1

写真 1

- A : N 型
- B--E : M 型
- C : 好中球残渣と単核球
- D : 単核球内の貪食顆粒
- E : 多核巨細胞＋単核球＋好中球残渣
- F, G : Mix 型
- F : マクロファージ＋リンパ球＋好中球
- G : 多核巨細胞＋マクロファージ＋好中球
- H, I : M. CR 型
- J, K : FC 型
- J : 亜急性群症例
- K : 発生直後症例
- L--N : 細菌集落 (矢印)

写真 2

写真 3

写真 2 図 7 症例 1 における細胞診像の変化.

初回の細胞診では、好中球、リンパ球、そしてマクロファージなどが混在して Mix 型を呈し (A)、また所々に細菌集落も観察した (A' 矢印)。その後、急性増悪症例があり、細胞診は N 型に変化した (B)。4 週後、好中球由来残渣および粘液成分が主体となった (C)。再度急性増悪症例が出現し、細胞診は再び N 型を呈したが (D)、2 週後、M. CR 型へと変化した (E)。

写真 3 図 7 症例 8 における経時的細胞診像の推移.

初回の細胞診では単核球系細胞が主体で、組織崩壊物を貪食している組織球も認められた (A)。急性増悪後には、N 型を呈したが (B)、3 週後の細胞診では、多核白血球由来残渣および単核球系細胞が主体であった (C)。この時点でチューブ留置術を施行したが、離脱後再び中耳貯留液を認め、細胞診は M. CR 型を呈した (D)。

は同様の頻度を占めた。一方、N型とは対照的に、M型およびM.CR型は、長期化するに従い増加傾向を示した。すなわち、急性群では、M型およびM.CR型の頻度が、9.1%および12.1%であったのに対し、慢性群では、それぞれ18.5%および31.2%を占めるに至った。Mix型は、急性、亜急性、そして慢性各群を通して、その頻度に大きな変動は認めなかった。FC型は、急性群の6.1%、慢性群の12.4%と比べ、亜急性群では27.8%と、特に高率であった。

5. 個々の慢性群症例における細胞診

慢性群12症例個々の、経時的な細胞診を図7に示した。どの症例も、経過中に細胞診像の変化が観察された。このうち特にM型およびM.CR型は頻回に観察され、経過中の細胞診の4割以上を占めた。N型も、時々観察されたが、とりわけ急性増悪を示した後には、高頻度に観察された（急性増悪8例中、6例がN型を示した）。しかし、急性増悪によりN型の細胞診像を呈した後も、M型やM.CR型にもどる傾向が強く、12例中、9例で、M型、M.CR型→N型→M型、M.CR型のパターンがみられた。なお、図7の症例1および症例8の細胞診像の変遷を、写真2および写真3に掲げた。

IV 考 察

炎症反応の病理組織学的所見から、変性炎、滲出炎、増殖炎、そして特異性炎症といった分類が広く用いられている。さらに林は炎症反応をひとつの状態(state)ではなく、過程(process)としてとらえる必要性を述べ、炎症反応の基本的な経過を、(1)液性滲出、(2)白血球の遊走と浸潤、その他の細胞（リンパ球、マクロファージ等）浸潤、次いで(3)肉芽の形成、結合組織の増殖、細胞の再生、そして血管の新生と要約している¹¹⁾¹²⁾。

このような炎症の経過に伴う炎症局所および炎症細胞の形態学的な変化は、中耳腔における炎症実験モデルともよく合致する¹³⁾¹⁴⁾。Juhn¹³⁾らは、チンチラの中腔内へ *streptococcus pneumoniae* を注入し、中耳粘膜および粘膜下層の状態の経時的変化を観察した。その結果、注入7日目頃には、浮腫、血管の拡張、そして多核白血球の増加が顕著となり、次いで単核球系細胞が増加し始め、これらは注入2～3週頃に最大となる。その後、粘膜下に線維様物質を認め、6週頃には、ほぼ正常な状態に回復してくる。一方、粘膜面では注入後、早期に metaplasia や hyperplasia が発生し、その後、上皮の分泌能が長期間亢進した状況を報告している。

今回、我々は小児滲出性中耳炎症例の、中耳腔内における炎症状態を、経鼓膜的に採取した中耳貯留液の細胞診から推測することを試みた。そこで細胞診像を、基本的炎症経過に特徴的な細胞形態を考慮して、好中球優位(N)型、単核球優位(M)型、混合(Mix)型、粘液・細胞残渣(M.CR)型、そして(FC)型の5型に分類した。その結果、中耳貯留液の肉眼的性状や鼓膜所見からは鑑別され得なかった様々な炎症状態が、細胞診所見から推察された。

N型細胞診が急性炎症反応を反映している状況は、急性群症例の60%がN型細胞診を示した成績からも推察される。一般に末梢組織中の好中球は、細胞分裂を行うだけの余命はないと考えられる¹⁵⁾。従って、N型貯留液のように、好中球が多数存在する場合は、そのturn overが活発である状況が考えられ、中耳腔内における好中球催引物質の存在が推測される。Lim³⁾、Juhn¹³⁾らは好中球が豊富な中耳貯留液において、しばしば細菌培養が陽性であったと報告しており、今回の検索においても、細菌培養陽性例や鏡検下に細菌集落を観察した症例では、N型が圧倒的に多い結果が得られた。このことからN型貯留液においては、細菌菌体成分および菌体と抗体の複合物などが、好中球催引物質として作用している可能性が示唆された¹⁶⁾。一方、中耳粘膜への好中球の遊走、さらに中耳腔への好中球の遊出という生体の防御反応は、同時に好中球から遊離される生物学的活性物質により中耳粘膜障害を引き起こす可能性も考えられ、粘膜障害因子としての一面も考慮する必要があると思われる。今回の集計では、N型に反映される急性の炎症反応が、慢性群でも依然として23.5%の症例に認められ、このことから、遷延化した経過中にも急性炎症がしばしば中耳腔内で反復している状況が推察された。

単核球系細胞が主体を占めるM型貯留液には、さらにいくつかの亜型が存在した。すなわち、崩壊好中球と単核球が混在し、好中球浸潤が一段落した後の単核球系細胞の浸潤を窺わせるものや¹⁷⁾¹⁸⁾、組織崩壊物の貪食像(写真1.Dおよび写真3.A)や多核巨細胞の存在から、中耳腔における増殖性あるいは肉芽腫性の病変を窺わせるもの(写真1.EおよびG)などである¹⁷⁾。

Mix型からは、好中球浸潤に続く単核球系細胞浸潤への移行時期を反映したものか、あるいは慢性期の肉芽腫性病変の状況下に、再燃性に好中球浸潤が加わった場合¹⁸⁾(写真1.G)などが推察された。

M.CR型は、先の動物モデル¹³⁾において、中耳粘膜下

の反応は一段落したもの、粘膜における分泌細胞の増加、分泌亢進の状況と一致していると推察された。

また、FC型からは、急性炎症発生直後で生体がまだ炎症細胞浸潤を開始する以前の状態、あるいは、中耳腔内の炎症が終焉期にあるものの、耳管機能の回復が不十分なため、中耳腔内に貯留液が残っている状況などが推察された。また今回の集計で、FC型が、亜急性群では27.5%と急増したのに対し、長期化した慢性群では逆に12.4%に減少した成績は、中耳腔内の炎症反応の予後を考えるうえで興味ある結果と思われた。

このように、細胞診から中耳腔内の粘膜病変をある程度推測することが可能と考えられ、表1に、各々の細胞診型とそれから推測される中耳粘膜病変との関係をまとめた。

表1 細胞診から予想される中耳粘膜病変

N型	： 滲出性炎
M型	： 滲出性炎の終末増殖炎 肉芽形成
Mix型	： 滲出性炎から増殖炎への移行時期
M.CR型	： 中耳粘膜の分泌細胞の増加・分泌亢進
FC型	： 炎症の初期（炎症細胞浸潤前）炎症の終焉期

さらに、細胞診の立場から、慢性経過症例における中耳腔内の炎症動態を考察すると、図7の12症例に観察されたごとく、長期経過に基づく障害から、中耳粘膜は、M型およびM.CR型に反映されるような、慢性増殖性炎・肉芽形成状態および分泌亢進状態に変化しつつあるが、同時に、N型に示されるような滲出性炎症反応も、しばしば、反復・再燃し、これに伴う組織障害が、中耳粘膜の修復治癒過程をさらに遅らせ、悪循環を繰り返しているように思われる。

このような中耳腔内における反復感染の要因として、形浦¹⁹⁾は、副鼻腔炎や感染性アデノイドなど、鼻咽腔における、急性および慢性炎症の存在を指摘しており、またYamanaka^{20,21)}らも、滲出性中耳炎合併患児における、扁桃およびアデノイドのリンパ球の代謝活性(spontaneous DNA synthesis)の検索から、この見解を支持している。従って、N型を反復するような症例では、中耳腔内に侵襲した抗原による、粘膜障害防止の意味から、貯留液の積極的な排除が重要と考えられるが、同時に、鼻咽腔に対する加療も、不可欠で

あると思われる。このことは、著者らによる滲出性中耳炎患児の治療成績の集計において、治癒群の60%以上の症例で、鼻症状（鼻漏、後鼻漏）の改善と共に中耳炎の治癒が認められた成績²²⁾からも支持される。一方、M型やM.CR型が持続する症例では、肉芽腫様病変や分泌亢進など、中耳粘膜の高度な障害状況が推察され、換気チューブ留置を含めた、中耳腔および鼻咽腔への、粘り強い対応が必要と思われる。

このように、中耳貯留液の細胞診は、その構成成分を注意深く観察することで、貯留液採取時の中耳粘膜の状態やそれに至る経過も推測が可能と考えられる。従って、本法は、滲出性中耳炎の病態解明の研究のみならず、その治療に関しても、多くの情報を提供する有用な手段であると思われる。

V ま と め

中耳貯留液細胞診を用い、小児滲出性中耳炎症例330耳における中耳腔内の炎症状態を、細胞診の観点から検討した。その結果、

1. 鼓膜所見および中耳貯留液の肉眼的性状と細胞診像との間には、大きな相違が認められた。
2. 急性群に分類された症例の約60%は、好中球を中心とした滲出性炎症反応が主体であったのに対し、慢性群では様々な炎症状態の存在が示された。
3. 慢性群同一症例の経時的な細胞診の観察から、中耳腔内の炎症状態は絶えず変化している状況が推察された。

以上より、中耳貯留液細胞診は、貯留液の肉眼的性状や鼓膜所見からは得られなかった詳細な炎症状態の把握が可能であり、中耳貯留液を用いた、滲出性中耳炎病態解明へのひとつの有用な手段であると思われる。

参 考 文 献

- 1) 染川幸裕 他：小児滲出性中耳炎の遷延化因子に関する研究：その1 好中球機能。Ear Reserch Japan 14: 21-23, 1983.
- 2) 山中 昇 他：小児滲出性中耳炎の遷延化因子に関する研究：その2 免疫複合体。Ear Research Japan 14: 24-26, 1983.
- 3) Lim DJ et al: Otitis media with effusion: cytological and microbiological correlates. Arch Otolaryngol 105: 404-412, 1979.
- 4) Bryan MP and Bryan WTK: The use of aural cytology in the diagnosis of various inflammations and malignant tumors. Acta Cytologica 14, 411-

- 417, 1970.
- 5) Bryan MP and Bryan WTK: Cytologic and immunologic response revealed in middle ear effusions, *Ann Otol Rhinol Laryngol* 85 (supple 25): 238-244, 1976.
- 6) Palva T et al: Protein and cellular pattern of glue ear secretions. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 85 (supple 25): 103-109, 1976.
- 7) Palva T et al: Lymphocyte morphology in middle ear effusions. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 89 (supple 68): 143-146, 1980.
- 8) Senturia BH et al: Studies concerned with tubotympanitis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 67: 440-467, 1958.
- 9) Senturia BH et al: Report of the AdHoc committee on definition and classification of otitis media with effusion. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 89 (supple 68): 3-4, 1980.
- 10) 山口龍二 他: 小児滲出性中耳炎における中耳貯留液中の多核・合胞細胞の意義. *耳喉* 53: 1047-1049, 1981.
- 11) 林 秀男: 炎症—その発生と抑制の機構について. *日病会誌* 56: 37-63, 1967.
- 12) 林 秀男: 炎症反応, 第1章 炎症の概念, 林 秀男, 山村雄一 他編: 炎症学叢書1, 医学書院, 東京, 1976, 12-16頁.
- 13) Juhn SK et al: Pathogenesis of otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 86: 481-492, 1977.
- 14) Hussen B and Lim DJ: Experimental middle ear effusions: an immunofluorescent study. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 83: 334-342, 1974.
- 15) Walter JB and Israel MS: Blood Grouping and Blood Transfusion, Chapt. 53 in Walter JB and Israel MS (ed): *General Pathology*, 2nd Edition. Churchill, London, 1965, pp. 975-976.
- 16) 山中 昇 他: 小児滲出性中耳炎の病態に関する免疫学的研究: 中耳貯留液の免疫複合体. *日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー研究会誌* 2(1): 45-53, 1984.
- 17) Walter JB and Israel MS: Chronic Inflammation, Chapt. 11 in Walter JB and Israel MS (ed): *General Pathology*, 2nd Edition. Chuechill, London, 1965, pp. 185-186.
- 18) 渡辺洋望: 炎症反応, 第7章 炎症と結合組織, 林 秀男, 山村雄一 他編: 炎症学叢書1, 医学書院, 東京, 1976, 246-247頁.
- 19) 形浦昭克: 反復性中耳炎とその治療. *臨床と研究* 57: 185-189, 1980.
- 20) Yamanaka N et al: Spontaneous DNA synthesis in tonsillar lymphocytes and its clinical implications. *Acta Otolaryngol* 96: 181-187, 1983.
- 21) Yamanaka N et al: Spontaneous DNA synthesis in adenoid lymphocytes of patients with otitis media with effusion. *Acta Otolaryngol*: in press.
- 22) 染川幸裕 他: 小児滲出性中耳炎におけるチューブ治療とその遠隔成績. *日耳鼻* 88: 261-266, 1985.
-
- 稿を終わるに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師形浦昭克教授に深謝いたします。さらに、本研究に際し御助言を賜りました、検査診断部成松英明助教授、ならびに微生物学教室前川静枝助教授に深謝いたします。また御協力頂きました教室員各位に謝意を表します。
- 本論文の要旨の一部は、第85回日本耳鼻咽喉科学会総会、および国際滲出性中耳炎シンポジウム・京都において発表した。
- 本研究の一部は、昭和58年度文部省科学研究補助金(課題番号58771144)を受けて行われた。
-
- (原稿受付 昭和60. 8.15日急載)
- 別刷請求先 〒060 札幌市中央区南1条西16丁目
札幌医科大学耳鼻咽喉科学教室 染川 幸裕