ブタ中耳粘膜の電子顕微鏡的観察 —— 正常例 ——

新潟大学医学部耳鼻咽喉科学教室（主任：中野雄一教授）

能 登 弘 毅

ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATIONS OF THE PORCINE MIDDLE EAR —— NORMAL CASES ——

KOUKI NOTO, M.D

Department of Otolaryngology, Niigata University School of Medicine, Niigata

Pigs are frequently used in basic studies of the middle ear because they have a middle ear air cell system which resembles the human mastoid air cell system. However, the morphology of epithelial cells of the middle ear of pigs has not been thoroughly studied. In this study, the morphological features of the mucosal epithelium of the normal porcine middle ear from juveniles to adults were investigated by scanning and transmission electron microscopy. The features were compared with the mucosal epithelium of the human middle ear.

Macroscopic observation of the resected middle ears showed all normal.

The mucoepithelial cells of the normal porcine middle ear consisted of ciliated cells, non-ciliated cells, secretory cells and basal cells.

Ciliated cells were distributed most densely in the Eustachian tube and tube orifice of the middle ear cleft, decreasing in number towards the air cell system, where no ciliated cells were found. The distribution of secretory cells was similar to that of ciliated cells, while non-ciliated cells distributed conversely.

Ciliated cells of juvenile pigs had 40 to 100 cilia 5 to 6 μ in length and 0.2 to 0.3 μ in thickness and microvilli on the cell surface. On the other hand, pigs 4 weeks old or older, had ciliated cells with 80 to 100 cilia 5 to 8 μ in length and 0.3 to 0.4 μ in thickness. Younger pigs had a smaller range of ciliated cell distribution. The range increased with growth, and rapidly expanded by 2 weeks after birth; then the expansion slowed down to 4 weeks, when the distribution was similar that in maturity.

Comparison of the results with mucoepithelial cells of the human middle ear revealed that the mucoepithelial cells of the middle ear in pigs are similar to those of human on the basis of the basic structure of mucoepithelial cells, morphology of individual cells and cell distribution of humans. These features make them suitable experimental animals for basic studies of the middle ear.

The findings that ciliated cells of juvenile pigs have smaller, shorter and fewer cilia with a narrower range of distribution than those of adult pigs show the morphological immaturity of these cells in juvenile pigs. Because mucoepithelial cells of the porcine middle ear are morphologically similar to those in humans, morphological immaturity of ciliated cells should be considered one of the factors contributing to increased susceptibility otitis media in children.

I 結 言

ブタはヒト乳突蜂巣に類似した蜂巣状の中耳骨胞を有しており、生直後からほぼ成熟期に達する生後6カ月までの发育過程¹⁾を観察できることから、中耳の基礎的研究に用いられている²⁾³⁾。しかし、耳管、鼓室を含めた中耳の上皮細胞形態についての研究は十分ではない。そこで、正常なブタ中耳粘膜上皮の形態を走査型および透過型電子顕微鏡にて観察し、ヒト中耳粘膜

上皮と比較検討した。

II 材料および方法

健康な雑種のブタ（雄親：ランドレース種とハンプシャー種の雑種，雌親：デユロック種）の無処置耳18耳を用いた。生直後（生後約5時間）、1週、2週、3週、4週、2カ月、4カ月、6カ月にて側頭骨を摘出し、耳管、鼓室、蜂巣部より標本を採取した。

図1 中耳骨胞の发育過程

a : 生直後, b : 生後1週, c : 生後2週, d : 生後3週

e : 生後4週, f : 生後2カ月, g : 生後4カ月, h : 生後6カ月

TC : 鼓室 ACS : 含気蜂巣

図2 中耳粘膜上皮細胞の構成（生後2週の鼓室粘膜）

C：線毛細胞 NC：無線毛細胞
SC：分泌細胞 BC：基底細胞

図3 生直後の鼓室における線毛細胞

図4 生後2カ月の鼓室における線毛細胞
生直後の線毛細胞（図3）と比較すると、線毛は長く、太く、数も多くなっていた。

標本は断頭後3時間以内に2.5%グルタルアルデヒドにて固定，1%オスミウム酸にて後固定を行った。上昇アルコール系列で脱水した後，走査型電子顕微鏡（SEM）用試料は酢酸イソアミルで置換し，臨界点乾燥，金蒸着を行った。透過型電子顕微鏡（TEM）用試料はプロピレンオキサイドにて置換，Epok812にて包埋し超薄切片を作製した後，ウランと鉛で二重染色した。観察には日立製S430型走査型電子顕微鏡と日立製H800型およびHS9型透過型電子顕微鏡を用いた。

III 結 果

摘出した中耳を肉眼的に観察すると鼓膜はすべて正常であり，含気蜂巣発育も良好で，鼓室および蜂巣部には貯留液や粘膜肥厚などの炎症所見はみられなかった（図1）。

1. 上皮細胞の構成

線毛細胞，無線毛細胞，分泌細胞が基底細胞上に配列しており，これらの細胞は生直後から認められた（図2）。

1) 線毛細胞

生直後から生後3週までの線毛細胞は，線毛の長さ

図5 生後2カ月の耳管における無線毛細胞

図6 生後2カ月の耳管における分泌細胞
(矢印)

5～6 μ ，太さ0.2～0.3 μ ，線毛数40～100本であった(図3)。また，細胞の表面には微絨毛もみられた。これに対し，生後4週以後では線毛細胞の長さ5～8 μ ，太さ0.3～0.4 μ となっており，線毛数も80～100本認められた(図4)。線毛細胞密度の高い所では線毛数も多い傾向にあった。

2) 無線毛細胞

無線毛細胞は表面に微絨毛をもち，境界が比較的明瞭な類円形または多角形の敷石状を呈しており，SEMによる観察では分泌細胞との鑑別が困難なことがあった。生直後と生後6カ月の無線毛細胞には形態的な変

化はほとんど観察されなかった(図5)。

3) 分泌細胞

表面的な形態はその活動期により異なり，SEMでは無線毛細胞と区別のつきにくいものから，分泌顆粒を放出しているものまでさまざまな活動期の細胞が混在していた(図6)。分泌顆粒には明るい顆粒と暗い顆粒があり，細胞によりどちらか一方のみをもつものと，両者をもつものがあった(図7)。分泌様式については分泌顆粒を個々に放出するものと，数個から数十個まとめて放出するものがあったが，後者が多く観察された(図8)。

図7 耳管における分泌細胞の形態（生後2カ月）
明るい分泌顆粒（a）と暗い分泌顆粒（b）があり、どちらか一方または両方をもつ分泌細胞が認められた。

図8 分泌細胞には、分泌顆粒を個々に放出する細胞（a）と十数個まとめて放出する細胞（b）が認められた（生後2週の耳管）。

分泌細胞も生直後と生後6カ月ではその形態に大きな差はなかった。

2. 上皮細胞の分布

線毛細胞は耳管および耳管鼓室口を中心に高密度に分布していた(図9)。特に耳管鼓室口付近では線毛は整然と分布しており、耳管咽頭口へ向かう方向性もみとめられた(図10)。しかし、耳管鼓室口から蜂巣部へ向かうにつれて線毛細胞は徐々に減少し、蜂巣部では線毛細胞はまったく認められなかった。

分泌細胞も線毛細胞と同様の分布傾向を示していたが、無線毛細胞は線毛細胞、分泌細胞とは逆の分布傾

向を示していた。

耳管および耳管鼓室口付近では円柱細胞が多いが鼓室内でも蜂巣部に近づくほど立方細胞が多くなっていた。蜂巣部では線毛細胞や分泌細胞は認められず、無線毛細胞のみで、しかも扁平で境界明瞭な多角形を呈するものが多かった(図11)。

3. 幼若例と成熟例の比較

基本的な細胞の構成と分布傾向については生直後と生後6カ月では変化はなかった。

今回の観察で最も顕著な変化がみられたものは線毛細胞で、先に述べた線毛細胞個々の形態の他に細胞の分布にも相違があった。すなわち、線毛細胞は耳管および耳管鼓室口に高密度に分布していたが、幼若なもののほどその分布範囲は狭くなっていた。生直後では線毛細胞は耳管鼓室口付近および耳管天蓋にのみ高密度に分布し、それ以外の部位ではまばらであった。生後2週までに線毛細胞の分布範囲は急速に広がり、その後はゆるやかとなり生後4週では生後6カ月例とほぼ同様の分布状態を示していた(図12)。

無線毛細胞の形態、分布状態には成長に伴う変化はみられなかった。

図9 成熟例における線毛細胞の分布

Aはブタ中耳の略図。

EAC: 外耳道 ED: 鼓膜 OC:

耳小骨 TC: 鼓室 ET: 耳管

ACS: 含気蜂巣

Bに成熟例の線毛細胞の分布を示す。

IV 考 察

このたび観察を行ったブタの含気蜂巣発育は良好で、栗田⁴⁾の報告した正常例と同様であり、中耳各部位の肉眼的、組織学的所見とあわせて、すべて正常例で

図10 耳管では線毛細胞は高密度に分布しており、咽頭側へ向かう方向性も認められた(生後2カ月)。

図11 中耳各部位における粘膜上皮細胞の形態
1 : 耳管 2 : 鼓室 3 : 含気蜂巢 (SEM, TEM 生後4週)

あるといえる。ヒト中耳粘膜上皮細胞の形態については、これまでの報告によると、その基本構造は線毛細胞，無線毛細胞，分泌細胞，基底細胞からなる多列線毛上皮である^{5)~6)}。

線毛細胞の形態は部位により若干の差はあるが、長さ $5\sim7\mu$ の線毛を150~200本もっている⁹⁾。また、耳

管に最も高密度に分布し、蜂巢部に向かい漸減しているが、蜂巢部にも少数の線毛細胞が認められている⁶⁾⁹⁾¹⁰⁾。

分泌細胞は線毛細胞と同様の分布を示し¹¹⁾¹²⁾，分泌顆粒には明るい顆粒と暗い顆粒があり，細胞によりどちらか一方あるいは両方に分泌顆粒をもつとされてい

図12 生直後から生後2週までの線毛細胞分布の変化
生直後(A)は成熟例(図9)と比較して分布範囲が狭く、
耳管鼓室口および耳管天蓋を中心に分布し、生後2週(B)までに急
速な広がりをみせる。

る¹³⁾。無線毛細胞は線毛細胞、分泌細胞とは逆の分布をしており、蜂巣部では扁平は数石状を呈している⁷⁾⁹⁾。

今回観察した結果を、以上のようなヒト中耳粘膜上皮細胞の形態と比較すると、ブタでは蜂巣部に線毛細胞が存在しないという点をのぞけば、粘膜上皮細胞の基本構造、個々の細胞の形態、細胞の分布傾向において多くの類似点が認められた。すなわち、基底細胞上に線毛細胞、無線毛細胞、分泌細胞が配列し線毛細胞からは多数の線毛が管腔側にのびている。さらに、線毛細胞、分泌細胞は耳管に最も高密度に分布し、含気蜂巣に向かうに従い減少していた。

これらに加え、個体差が少なく短期間で発育する含気蜂巣を有する点も含めて、ブタは中耳の基礎研究に適した実験動物であるといえる。

生後4週以前の幼若例の線毛細胞は、成熟例に比較して線毛は細く、短く、数も少なかった。さらに線毛細胞の分布範囲も狭く、これらは幼若例における線毛細胞の形態学的未熟性を示すものと思われた。従って幼若期に発生した炎症は、成熟例の場合よりも高度となり、しかも遷延すると考えられる。

幼小児における中耳炎の易罹患性要因として免疫学的未熟性、耳管の解剖学的未熟性などがあげられる¹⁴⁾。ヒト中耳線毛細胞の成長に伴う形態学的変化に関する報告はないがブタの中耳粘膜上皮細胞はヒトのそれと多くの類似点があり、幼若例では線毛細胞に形態学的未熟性がみとめられるという今回の研究結果から、臨床的にも線毛細胞の形態学的未熟性が幼小児の中耳炎易罹患性の要因のひとつとして関与する可能性が示唆された。

V ま と め

- 1) ブタ中耳粘膜の上皮細胞形態を幼若期から成熟期にいたるまで走査型および透過型電子顕微鏡を用いて観察した。
- 2) 正常ブタ中耳粘膜上皮細胞の構成は、線毛細胞、無線毛細胞、分泌細胞、基底細胞からなっていた。その形態はヒトの中耳粘膜上皮細胞ときわめて類似し、細胞の分布傾向もほぼ同様であった。ブタは中耳の基礎的研究に適した実験動物といえる。
- 3) 幼若期においては、線毛細胞の形態、分布範囲に未熟性がみられた。
- 4) 線毛細胞の形態学的未熟性が幼小児における中耳炎易罹患性の要因のひとつと考えられた。

参 考 文 献

- 1) Ikarashi H, Nakano Y: The effect of chronic middle ear inflammation on the pneumatization of the tympanic bulla in pigs. *Acta Otolaryngol* (Stockh) 104: 130-137, 1987.
- 2) Ikarashi H, Nakano Y: Relation between the onset of chronic middle ear inflammation and the development of the middle ear air cell system. *ORL* 50: 306-312, 1988.
- 3) Furugouri K, Kawabata A, Kusuhara S: Growth of lim bone in pigs. *Jpn J zootech Sci* 52: 297-307, 1981.
- 4) 栗田吉栄: 中耳蜂巣発育の実験的研究(Ⅰ)中耳蜂巣の構成。日耳鼻 59: 549-558, 1956.
- 5) Lim DJ, Hussel B: Human Middle Ear Epithelium. An Ultrastructural and Cytochemical Study. *Arch*

- Otolaryngol 89: 835-849, 1969.
- 6) Kawabata I, Paparella MM: Ultrastructure of normal human middle ear mucosa. Ann Otol 78: 125-137, 1969.
 - 7) Henzer E: Ultrastructure of the normal mucosa in the human middle ear mastoid cavities and eustachian tube. Ann Otol 79: 1143-1157, 1970.
 - 8) Shimada T, Lim DJ: Distribution of ciliated cells in the human middle ear. Electron and light microscopic observations. Ann Otol 81: 203-211, 1972.
 - 9) 川端五十鈴, 野村恭也: ヒト乳突部粘膜について一走査電顕的観察一. 耳喉 51: 91-97, 1979.
 - 10) 星野知之, 鈴木淳一: 乳突洞・上鼓室のドレナージ解剖学的考察一. 耳喉 49: 477-483, 1977.
 - 11) Tos M, Bak-Pedersen K: Goblet cell population in the pathological middle ear and eustachian tube of children and adults. Ann Otol 86: 209-218, 1977.
 - 12) Bak-Pedersen K, Tos M: Distribution and density of goblet cells in the normal adult human middle ear. Ann Otol 82: 240-248, 1973.
 - 13) Lim DJ, Shimada T: Secretory Activity of Normal Middle Ear Epithelium. Ann Otol 80: 319-329, 1971.
 - 14) 河本和友 他編: 滲出性中耳炎. 医学教育出版社, 東京, 1985, 32-35 頁, 61-64 頁.
-
- (1991年 3 月 6 日受稿 1992年 1 月 9 日受理 急載)
別刷請求先 〒010 秋田市中通1-4-36
秋田赤十字病院耳鼻咽喉科 能登弘毅