

ブタ中耳粘膜の電子顕微鏡的観察 ——炎症例——

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 —— INFLAMMATORY CHANGES ——

KOUKI NOTO, M. D.

Department of Otolaryngology, Niigata University School of Medicine, Niigata

In previous studies, the morphology of the mucoepithelial cells of the middle ear of normal pigs has been found to be similar to that of humans. In this study, otitis media was induced in 18 ears by transcanal injection of glycerin into the middle ear cleft and morphological changes were investigated by scanning and transmission electron microscopy.

The mucoepithelial cells of the inflamed porcine middle ear consisted of ciliated cells, non-ciliated cells, secretory cells and basal cells, and the distribution of these cells was similar to that of normal cases.

In the inflamed Eustachian tube and middle ear cleft, the epithelial cells were detached, the intracellular junctions ruptured and there was subepithelial thickening in some places. In addition, the cilia were detached or deformed irregularly. On the other hand, ciliated cells, bulging non-ciliated cells, secretory cells and columnar cells were increased in numbers. These features suggested that the muco-ciliary system of the inflamed ears had been stimulated.

In the air cell system, however, there were signs of mucoepithelial cell injury, but no evidence suggesting that the muco-ciliary system had been stimulated as in the Eustachian tube or middle ear cleft.

The inflammatory changes in the mucoepithelial cells in the Eustachian tube and middle ear cleft gradually returned to normal but in the air cell system, the changes were persistent. Moreover, the signs of mucoepithelial cell injury remained longer when inflammation occurred at a younger age.

These results suggest that inflammation involving the air cell system, where there is no muco-ciliary system, is prolonged more readily than in the Eustachian tube or middle ear cleft, which have a muco-ciliary system. These findings correlated well with the clinical findings that we commonly see during middle ear surgery, that is the existence of granulation tissue and subepithelial thickening in the mastoid air cell system in spite of slight inflammatory changes in the middle ear cleft and ear drum. This results from the disparity in muco-ciliary function due to differences in cell distribution between the Eustachian tube, middle ear cleft and air cell system.

Because of the morphological similarity between pigs and humans, the morphological immaturity of ciliated cells demonstrated in previous studies is considered to be one of the factors contributing to the comparative prolongation of otitis media in children.

Key words: 中耳慢性炎症, 上皮細胞, 実験的研究, ブタ, 電顕的観察

A95—0576—22010

I 緒 言

電子顕微鏡による観察から、正常のブタ中耳粘膜上皮細胞は、細胞の形態、細胞の分布傾向ともヒトのそれにきわめて類似していることが分かった。しかし幼若例においては線毛細胞の形態、分布範囲から機能の未熟性が推測された¹⁾。

そこで、今回は同じくブタを用いて実験的に惹起させた炎症耳の中耳粘膜上皮細胞の形態の変化を走査型および透過型電子顕微鏡を用いて観察した。

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ブシャー種の雑種，雌親：デュロック種）18耳を用い、グリセリンを鼓室内へ注入して中耳炎を発症させた。すなわち、外耳道より注射針を挿入して鼓膜穿孔を形成し、穿孔部を針状硬性鏡にて確認した後、鼓室内へグリセリンを2ml注入した。炎症を確実に惹起させるため、注入回数は1週間間隔で2ないし3回とし、側頭骨の摘出時期、グリセリン注入の時期により次の5群に分類した。

I群（4耳）：生後1週からグリセリンを注入し、生後1カ月で側頭骨を摘出した。

II群（2耳）：生後1週からグリセリンを注入し、生後2カ月で側頭骨を摘出した。

III群（6耳）：生後1週からグリセリンを注入し、生後4カ月で側頭骨を摘出した。

IV群（2耳）：生後1週からグリセリンを注入し、生後6カ月で側頭骨を摘出した。

V群（4耳）：生後3カ月からグリセリンを注入し、生後4カ月で側頭骨を摘出した。

I群からIV群は炎症発生後の経時的变化を、V群は炎症の発生時期の相違による変化を観察することを目的とした。

標本はいずれも耳管、鼓室、蜂巢部より採取し、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シドにて置換、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。



図1 含気蜂巢の発育抑制と膿瘍形成（I群）
矢印は小膿瘍を示す。

III 結 果

摘出標本の肉眼的観察では全例で含気蜂巢の発育は抑制されており、I群の2耳に鼓膜穿孔が認められた。I群、II群、V群の鼓室内には粘膿性分泌液が充満しており（図1）、III群、IV群の鼓室にも少量ではあるが膿性分泌液が貯留していた。

上皮細胞の構成としては、基底細胞上に線毛細胞、無線毛細胞、分泌細胞が配列しており、線毛細胞は耳管および耳管鼓室口に最も高密度に分布し、蜂巢部に向かうに従って漸減していた。このような上皮細胞の種類、分布傾向はすべての炎症耳においてほぼ同様であった。

I群：耳管および鼓室では上皮細胞の剝離や細胞間結合の離開、上皮下結合組織の肥厚、立方細胞の円柱化が認められた（図2）。線毛細胞では線毛の癒合、脱落や水泡形成、線毛長の不均一がみられ、細胞数も増加していた。正常例において認められた線毛の耳管鼓室口へ向かう方向性¹⁾は消失していた（図3）。また、

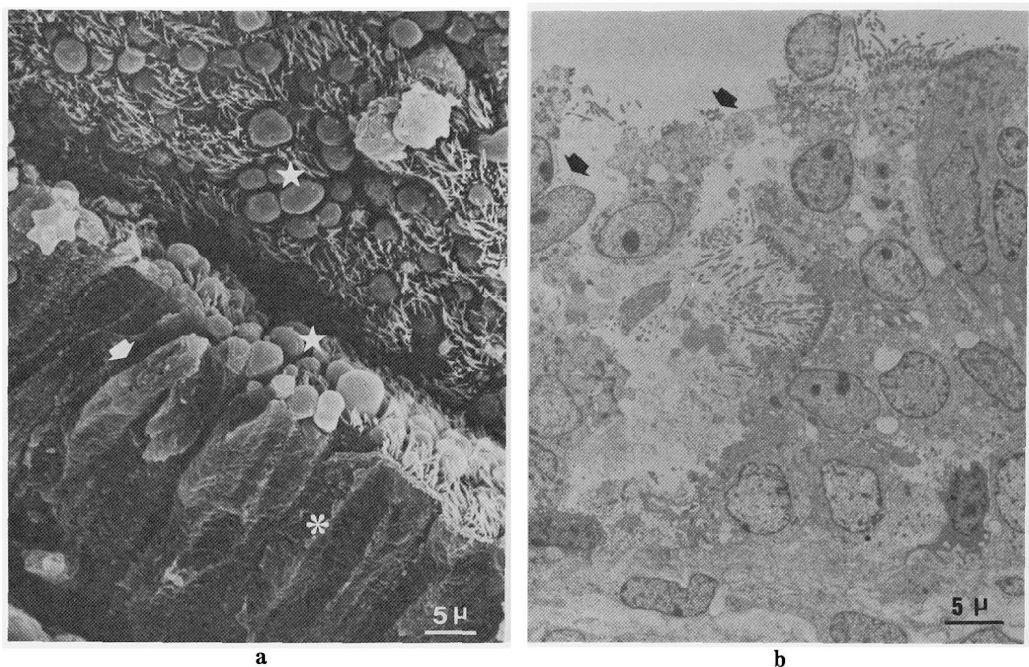


図2 耳管（I群）
上皮細胞の剝離（*），脱落（→），分泌の亢進（★）がみられる。
a: SEM b: TEM

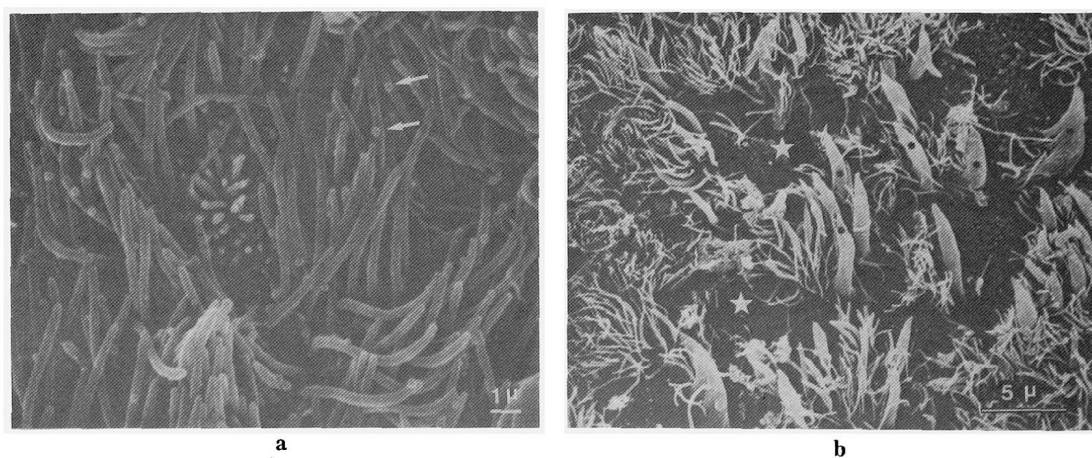


図3 耳管（I群）
a: 線毛の方向性は失われ，水疱形成（→）も認められる。
b: 障害の強い部分では線毛は脱落（★），癒合している（*）

分泌細胞も増加し，表面が膨隆した無線毛細胞も出現していた（図4）。

蜂巢部では，上皮細胞の剝離や上皮下結合組織の肥厚が認められ，ごくわずかではあるが，線毛細胞や表面の膨隆した無線毛細胞も出現していた。しかし，細

胞の円柱化や分泌細胞は認められなかった（図5）。

II群：耳管，鼓室では線毛細胞，顕微鏡細胞の増加や上皮細胞の円柱化はI群と同様に認められ，線毛の方向性も失われていたが，上皮細胞の剝離などの障害所見は軽減していた（図6）。蜂巢部の所見はI群と同

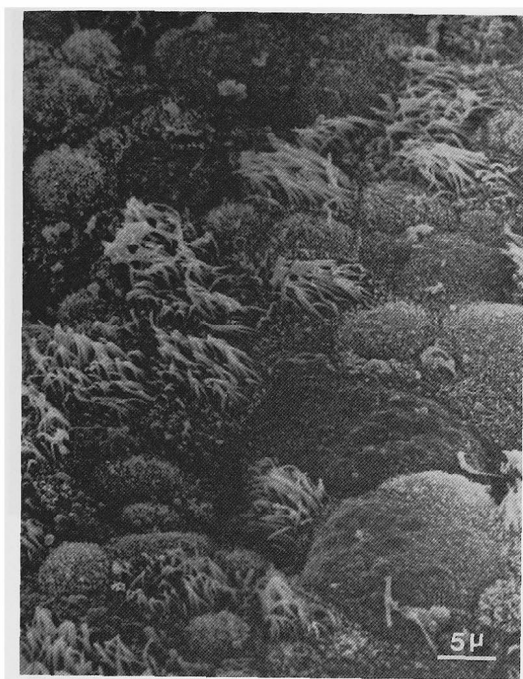


図4 鼓室（Ⅰ群）

障害を受けた線毛細胞と、表面の膨隆した無線毛細胞がみられる。

様であった（図7）。

Ⅲ群：耳管，鼓室では上皮細胞の障害所見はほとんどみられなくなり，ほぼ正常化していた（図8）。これに対して蜂巢部には上皮細胞の剝離などの障害が残る，上皮結合組織も肥厚していた（図9）。

Ⅳ群：耳管，鼓室の上皮細胞は正常化していたが，（図10），蜂巢部ではⅢ群と同程度の障害所見が残っていた。

Ⅴ群：耳管，鼓室では上皮細胞の一部が剝離し，細胞間結合の離開，細胞の円柱化，線毛の方向性の消失などがみられた（図11）。蜂巢部では上皮細胞の剝離や，表面の膨隆した無線毛細胞がみられ，上皮結合組織も肥厚していた（図12）。本群を標本摘出時期が同じⅢ群と比較すると，炎症の発症時期と経過が異なるⅢ群では炎症発生からの経過が長いにもかかわらず，蜂巢部上皮細胞の障害は同程度であった。しかし，炎症発生から側頭骨摘出までの期間がほぼ同じⅠ群と比較すると，Ⅴ群の耳管，鼓室粘膜上皮細胞の障害は明らかに軽度であった。

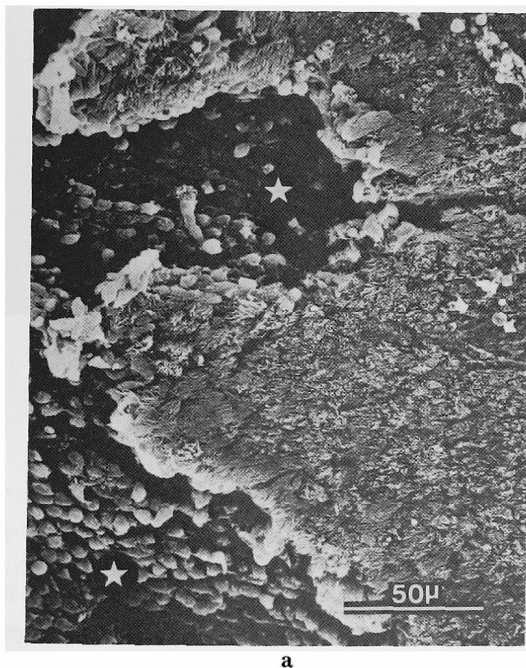


図6 耳管および鼓室（Ⅱ群）

a：耳管

上皮細胞の剝離が残存している（★）。

b：鼓室

線毛細胞数が増加し，線毛の脱落（＊）も少なくなっている。

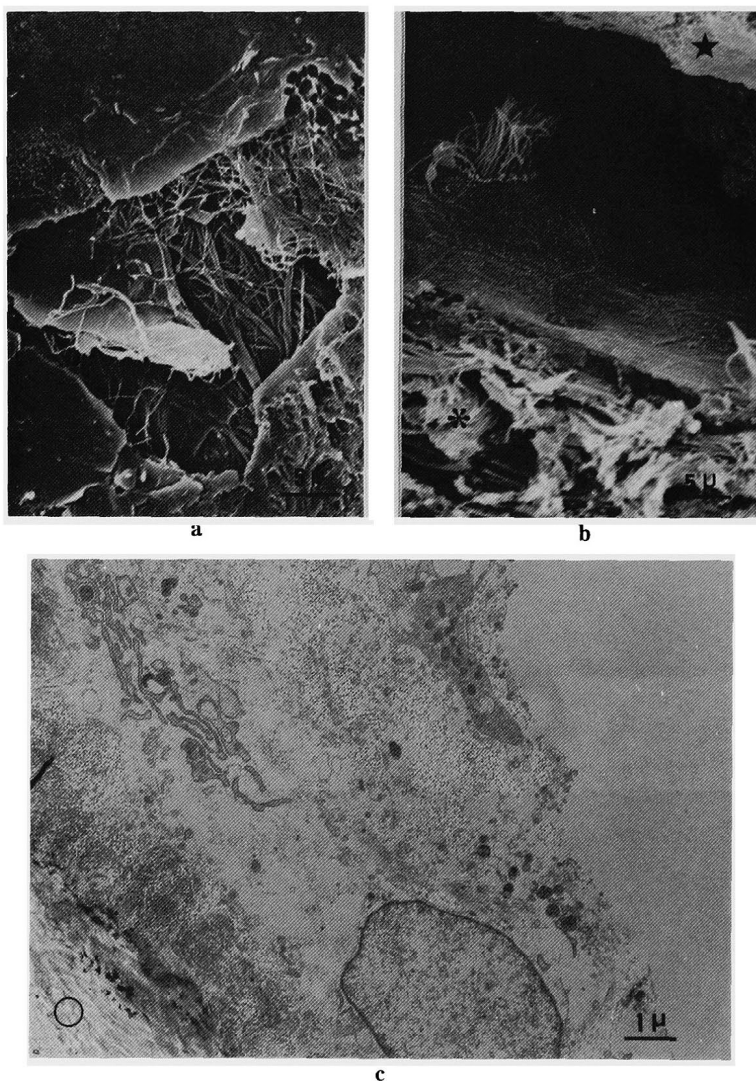


図5 蜂巢部（I群）

上皮細胞の剥離（a），上皮結合組織の肥厚（*）がみられ，きわめて少数の線毛細胞も出現している（b）．上皮細胞の円柱化は認められない（c）．

a, b: SEM c: TEM ★: 炎症性産物
○: 骨梁

IV 考 察

中耳慢性炎症を発生させるためにグリセリンを用いたが，グリセリンはその粘性と線毛運動障害作用により中耳炎を惹起するといわれる²⁾．事実，本実験でも全例に中耳慢性炎症状態が出現した．

これまでのヒトやブタ以外の動物の観察によれば，

中耳粘膜に炎症性刺激が加わると，上皮細胞は多列円柱化または重層扁平化するとともに，線毛細胞や無線毛細胞は変性，脱落し，一方では線毛細胞や顕微鏡細胞の増生などの所見が報告されている^{3)~6)}．しかし多くは鼓室粘膜を観察したもので，耳管や含気蜂巢などの粘膜を観察し，鼓室と比較したものは少ない．本実

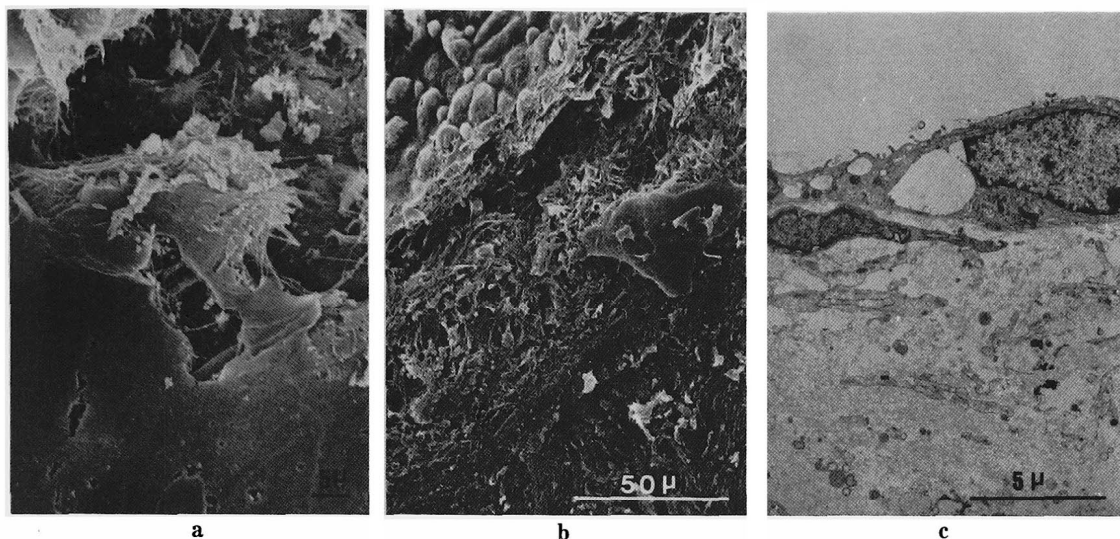


図7 蜂巢部（Ⅱ群）

a: 上皮細胞の剥離

b, c: 上皮結合組織の肥厚

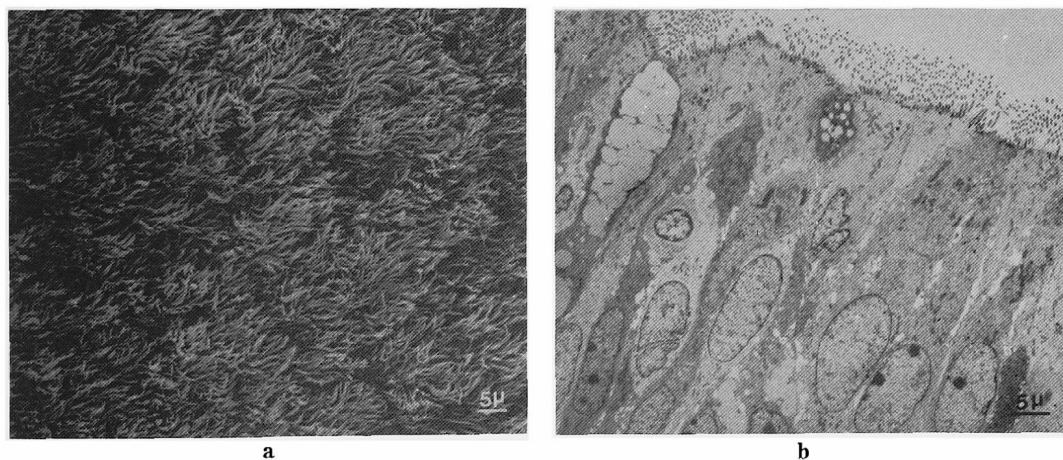


図8 耳管（Ⅲ群）

耳管、鼓室の上皮細胞形態はほぼ正常化している。

a: SEM b: TEM

験では耳管、鼓室、含気蜂巢の粘膜炎症所見を炎症発生後の経時的变化とともに観察、検討した。

炎症耳でみられる中耳の線毛細胞や分泌細胞の増加、上皮細胞の円柱化などは炎症性産物や滲出液の排除、さらには中耳の感染防御に関与した反応であるといわれている³⁾⁴⁾⁶⁾。本実験においても耳管、鼓室では上皮細胞の剥離や細胞間結合の離断、線毛の脱落や癒合、線毛長の不均一などの炎症による障害がみられる一方で、線毛細胞や分泌細胞の増加、上皮細胞の円柱化な

どの所見がすでにⅠ群より認められた。しかし炎症による上皮細胞の障害所見は、炎症発生からの経過が長くなるほど軽減しており、Ⅲ群においてはほぼ正常化していた。これは耳管および鼓室に増生した線毛細胞や顕微鏡細胞などが、炎症産物を排除し、障害上皮細胞の修復とともに正常化したものと考えられる。

これに対し蜂巢部では全群とも上皮細胞の障害が残存していた。すなわち、Ⅳ群でも障害が残ったということは、蜂巢部の上皮細胞障害は長期間残留するとい

える。これはブタ蜂巢部の粘膜にはもともと線毛細胞や分泌細胞がなく¹⁾、炎症を排除しようとする能力に欠けるためと思われた。このため、逆にひとたび炎症が蜂巢部に及ぶと修復が遅れ、耳管や鼓室の障害が回復した後も炎症は遷延し、上皮細胞や上皮結合組織に障害を長期間残すものであろう。

臨床的にも鼓膜がほぼ正常であるにもかかわらず、耳X線上乳突蜂巢に発育の抑制や陰影が認められたり、手術時に鼓膜、鼓室の病変が軽度であるのに、乳突蜂巢の病変が高度な症例に遭遇することがある。ヒト蜂巢部の線毛細胞と分泌細胞に関しては報告により若干の差はあるが、その数は耳管や鼓室よりも著しく

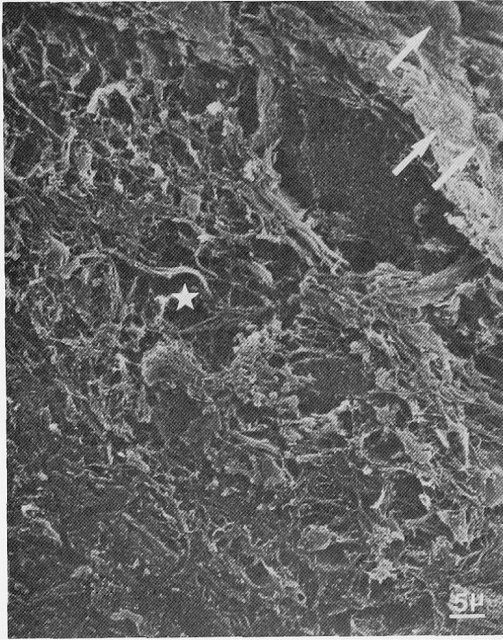


図9 蜂巢部（Ⅲ群）
少数の表面が膨隆した無線毛細胞（→）と
上皮下結合組織の肥厚（★）が残っている。

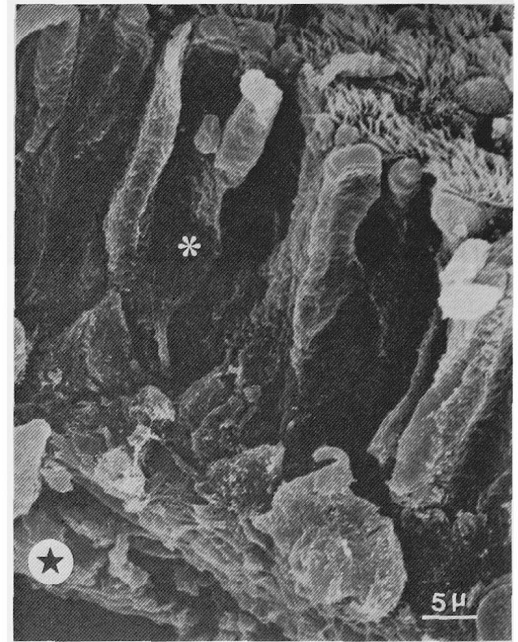
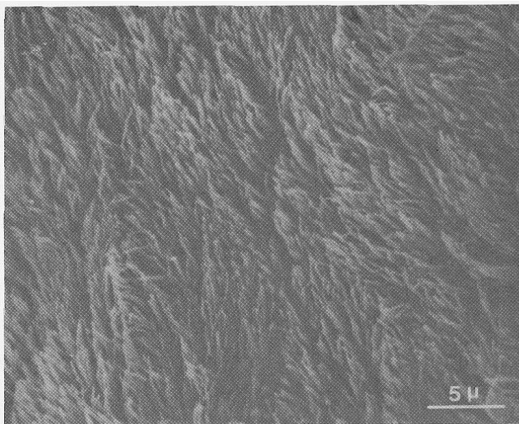
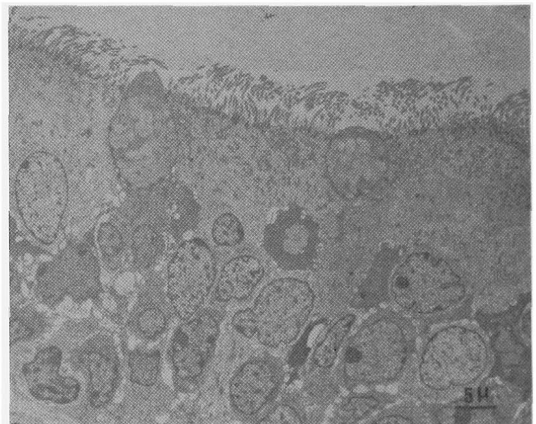


図11 耳管（Ⅴ群）
細胞の円柱化（*）や上皮下結合組織の肥
厚（★）がみられる。



a



b

図10 耳管（Ⅳ群）
耳管、鼓室の上皮細胞は障害を残さず正常化している。
a: SEM b: TEM

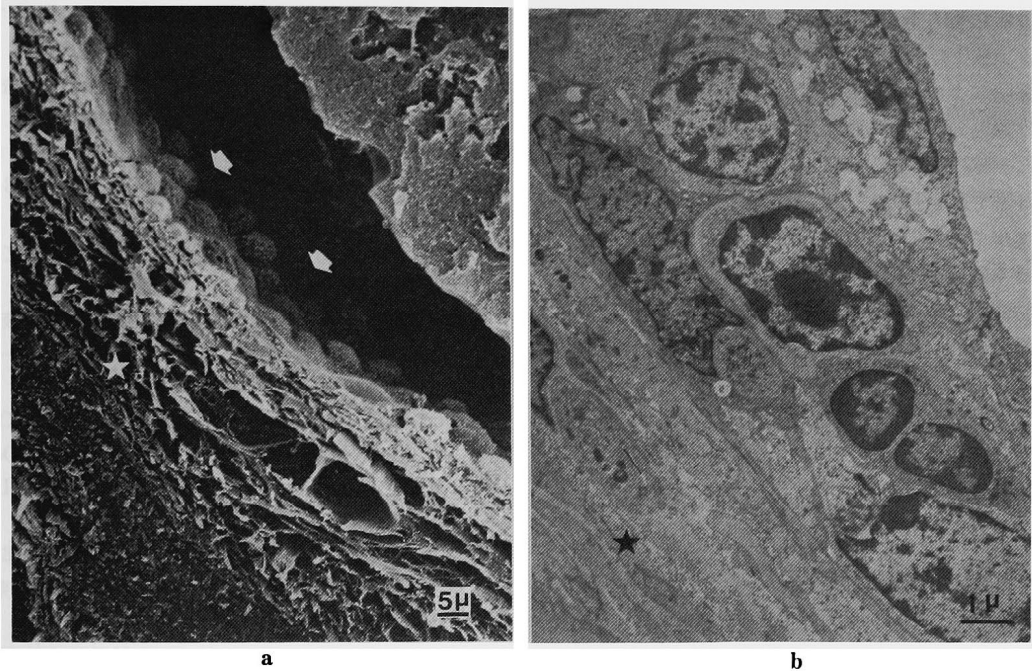


図12 蜂巢部（V群）

軽度膨隆した上皮細胞（→）と上皮下結合組織の肥厚（★）が認められる。
a: SEM b: TEM

少ない⁷⁾⁸⁾⁹⁾。このような所見はブタのそれときわめて類似しており、蜂巢部では粘液線毛系の作用が耳管、鼓室に比べて極端に低下しているため、蜂巢部にのみ炎症性変化が残存して病変が遷延するものと思われる。

炎症発生の時期が異なるⅢ群とⅤ群を比較すると、Ⅲ群は炎症の発生時期が早期であり、かつ炎症発生からの経過が長いにもかかわらず、蜂巢部上皮細胞の障害は同程度であった。すなわち炎症の発生時期が早期であるほど蜂巢部上皮細胞の障害は長く残るといえる。また、炎症発生から側頭骨摘出までの期間がほぼ同じⅠ群とⅤ群を比較すると、耳管、鼓室、蜂巢部上皮細胞の障害程度はいずれも早期に炎症を発生させたⅠ群に強く認められた。炎症の発生時期が早いほど高度な炎症が生じ、含気蜂巢の発育はより強く抑制されることはすでに実験的に証明されている¹⁰⁾。正常例の観察では、生後3週間以前の幼若期の線毛細胞には形態学的な未熟性が示唆されており¹⁾、Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ群ではこのような幼若期に炎症の発生がみられたため、炎症産物を排除する能力が乏しく、蜂巢部に炎症が波及、遷延する結果となったのであろう。一方、形態学的に成熟した線毛細胞をもつⅤ群では、耳管、鼓室にお

ける活発な粘液線毛系の作用により炎症産物はすみやかに排除され、蜂巢部への炎症波及はⅠ、Ⅱ、Ⅲ群ほど強くはなく、蜂巢上皮の障害は軽度であったと考えられる。

幼若期には中耳炎に罹患しやすく、かつ幼若期に罹患した中耳炎は反復、遷延化しやすいといわれている¹¹⁾。線毛細胞の形態が未熟な時期に生じた炎症は本実験でも遷延化することが示された。ヒトとブタの蜂巢構造や中耳粘膜上皮細胞の形態、分布がきわめて類似していること¹⁾を考慮すると、臨床例での幼小児の中耳炎の遷延化の要因のひとつに正常例で述べた線毛細胞の形態的未熟性および蜂巢への炎症波及が関与しているものと思われた。

V. ま と め

1. ブタ鼓室内へ外耳道よりグリセリンを注入して中耳炎を発症させ、注入後の中耳粘膜上皮細胞の変化を走査型および透過型電子顕微鏡を用いて観察した。
2. 炎症耳のブタ中耳粘膜上皮細胞の構成は、基本的には正常耳と同様で、線毛細胞、無線毛細胞、分泌細胞が基底細胞上に配列していた。

3. 炎症による上皮細胞の変化として、上皮細胞の剝離、上皮下結合組織の肥厚、立方細胞の円柱化、線毛細胞および分泌細胞の増加が観察されたが、一方では線毛の癒合、脱落、方向性の消失、表面の膨隆した無線毛細胞の出現などが観察された。
4. 耳管や鼓室における上皮細胞の炎症性変化は炎症発生からの経過とともに消退したが、蜂巢部の障害は長く残存していた。
5. 粘液線毛系をもたない蜂巢部では、炎症を排除する能力に乏しく、蜂巢部にまで及んだ炎症は容易に遷延する思われた。
6. ヒトおよびブタ中耳粘膜上皮細胞の形態学的類似性から、幼小児中耳炎の遷延化に線毛細胞の形態学的未熟性が関与するものと思われた。

参 考 文 献

- 1) 能登弘毅：ブタ中耳粘膜の電子顕微鏡的観察－正常例一。日耳鼻 95：567-575, 1992.
- 2) 富樫孝一：中耳真珠腫の成因に関する実験的研究。新潟医学会雑誌 97：466-476, 1983.
- 3) Zechner G, Tarkkanen J, Holopainen E: Histomorphological and Histochemical Studies of Chronically Infected Middle Ear Mucous Membrane. Ann Otol 77: 54-65, 1968.
- 4) Lim DJ, Klainer A: Cellular Reactions in Acute Otitis Media-Scanning and Transmission Electron Microscopy. Laryngoscope 81: 1772-1786, 1971.
- 5) Tos M, Bak-Pederson K: Goblet cell Population in

the Pathological Middle Ear and Eustachian Tube of Children and Adults. Ann Otol 86: 209-218, 1977.

- 6) 川端五十鈴：鼓膜穿孔後の中耳粘膜の変化－走査電顕による観察一。耳鼻と臨床 23: 609-617, 1977.
- 7) Shimada T, Lim D J: Distribution of Ciliated Cells in the Human Middle Ear. Ann Otol 81: 203-211, 1972.
- 8) 川端五十鈴, 野村恭也：ヒト乳突部粘膜について－走査電顕的観察一。耳喉 51: 91-97, 1979.
- 9) 北村達也：各種の中耳慢性炎症病態における粘液産生細胞の消長－乳突腔粘膜, 鼓室粘膜を中心として－。耳展 34: 補 6: 519-538, 1991.
- 10) 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.
- 11) 大内 仁, 中野雄一 編：臨床耳鼻咽喉科頭頸部外科全書 2-A 耳〔臨床①〕。金原出版株式会社, 東京, 1986, 163-165頁。

稿を終わるに臨み、ご指導とご校閲を賜りました恩師中野雄一教授に深甚なる謝意を表します。また本研究に終始直接ご指導いただきました五十嵐文雄講師に心から感謝いたします。

なお、この論文の要旨は第34, 36, 37, 38回日本基礎耳科学会において発表した。

(1992年1月5日受稿 1992年2月12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