鼓室成形術における中耳粘膜の 再生に関する電顕的観察

湯本 英二・柳原 尚明

Regenerated Human Middle Ear Mucosa in Tympanoplasty: An Electron Microscopic Investigation

Eiji Yumoto

Naoaki Yanagihara

(Ehime Univ.)

Using scanning and transmission electron microscopes, human middle ear mucosae, 6 normal, 3 with chronic inflammation, 11 obtained during second stage tympanoplasty were investigated with respect to regeneration of the mucosa. The normal mastoid mucosa was lined with a layer of non-ciliated and ciliated cells which were tightly connected by desmosomes. The ciliated cells were scattered in the non-ciliated cells. The area occupied by the ciliated cells measured less than 6%. In the mastoid with chronic inflammation, ciliated cells disappeared or decreased in number. The epithelia showed metaplasia into the stratified squamous epithelium. Exposure and rupture of the basement membrane were often observed. The mucosae obtained during the second stage tympanoplasty carried out six months or more after the first operation showed: 1) Almost normal mucosa regenerated where the inflammation had cleared and the aerated tympanic cavity was reconstructed. 2) Even if there was a residue of small cholesteatoma, the mucosa regenerated normally where the inflammation had subsided. 3) The epithelium regenerating after removal of granulation showed a closer proximity to the normal than that after removal of cholesteatoma. 4) The middle ear epithelium was in the process of regeneration and differentiation six months after the first operation.

は じ め に

正常の中耳粘膜の電顕的研究²⁾¹⁰⁾¹⁴⁾, 慢性中耳炎の中耳粘膜の電顕病理学的研究¹⁾⁴⁾¹¹⁾¹²⁾¹⁵⁾の報告は近年数多くなされているが, ヒトの中耳粘膜の再生に関する電顕的研究は殆ど行われていない。

鼓室成形術の基礎理論, 手術手技については膨大な研究がなされてるが, 中耳の炎症病巣を清掃した後の粘膜の再生過程に関する知見は乏しい。鼓室成形術を更に発展し, その成績を一層向上せしめるには, 病変清掃後の粘膜の治癒, 再生についての知識が必要不可欠であると考え, 正常中耳粘膜と, 段階的鼓室成形術¹⁸⁾の際に採取した中耳粘膜を, 主に走査型電子顕微鏡で観察し, 両者を比較検討し, 中耳粘膜の再生に関して知見を得たので報告する。

観察の対象 と方法

正常中耳粘膜は前庭神経切断術（1耳）、顔面神経減荷術（3耳）、内リンパのう開放術（1耳）、経迷路聴神経腫瘍摘出術（1耳）を行った際に採取した。採取部位は乳突蜂巢および乳突洞である。これと比較すべき段階的鼓室成形術時の中耳粘膜は、第1回手術時のものは3耳、第2回手術時のものは11耳から採取した。採取部位は乳突洞、上鼓室、耳管口、および鼓膜である。

観察の対象とした症例は男性7名、女性11名で、年齢は1.8才から55才にわたる。表1に病態別の年齢分布を示した。段階的鼓室成形術は真珠腫再形成の可能性がある場合、病変が高度で除去が困難な場合、病巣除去により広範な創面が鼓室に生ずる場合などに適応された。第2回手術は初回手術より6ヶ月以上を経過し、形成された鼓膜の上皮化、鼓室内の炎症治癒を待って行われた。

試料は採取後、ただちに生理食塩水で洗浄した後、4%グルタルアルデヒドで前固定し、4%オスミウム酸で後固定を行い、エタノール

表1

年齢	慢性炎症耳		非炎症耳	計
	肉芽性	真珠腫		
0～9		1	2	3
10～19	1			1
20～29	2	2		4
30～39	1	1	1	4
40～49	3	1	1	5
50～59			2	2
計	7	5	6	18耳

上昇系列で脱水した。次いで酢酸イソアミルで置換し、液体炭酸ガスを用いて臨界点乾燥した試料表面に、カーボンと金を二重蒸着し、走査型電子顕微鏡（日立S-310、以下SEMと略）で観察した。試料の一部はエタノール系列で脱水した後、酸化プロピレンで置換し、Epon812に包埋した。超薄切片を作製し、酢酸ウランとクエン酸鉛とで二重染色し、透過型電子顕微鏡（日立HS-9、以下TEMと略）で観察した。

観 察 の 結 果

1. 正常の乳突洞、乳突蜂巢の粘膜

正常乳突蜂巢および乳突洞は扁平な上皮にすきまなくおおわれ、この上皮は微細絨毛をもつ無絨毛細胞と絨毛細胞の2種類の細胞より成る。個々の細胞の形は一定せず、不正多角形を呈している。無絨毛細胞はその自由表面に多数の微細絨毛をもち、細胞辺縁部の微細絨毛は他部に比較して大きく密であるので細胞境界部がよくわかる(図1)。細胞表面には分泌物を想わせる所見は認められない。上皮細胞は互いにデスマゾームで結合し、基底膜をすきまなくおおっている。上皮下組織は主に膠原線維と線維細胞から成る結合組織であり、血管・神経に乏しい(図2)。絨毛細胞は孤立性に散在し、細胞表面の一端にのみ絨毛を有している。絨毛細胞の

図1

自由表面は周囲の無絨毛細胞よりやや低い位置にある(図1)。耳管の絨毛細胞は円柱状を呈するが、乳突蜂巢の絨毛細胞は扁平ないしは立方状である。

2. 第1段階手術時採取した粘膜

慢性炎症耳の乳突蜂巣および洞粘膜では、上皮の重層扁平化生、繊毛の消失（図3）、上皮細胞の脱落と基底膜の露出や断裂が認められ、上皮下結合組織への炎症細胞浸潤がみられる（図4）。SEM 強拡張像では隣接する上皮細胞

胞間の結合を保つため、互に微細纖毛様の突起を伸しているのが観察された（図5）。

図2

図4

図3

図5

図6 左a, 右b

3. 第2段階手術時に採取した粘膜

図6aは真珠腫例の乳突洞の再生粘膜で、上皮の再生は完了している。図6bはその強拡大である。一層の上皮がすきまなく配列し細胞表面は微細絨毛でおおわれ、絨毛細胞が散在している。また、再生した上皮細胞は正常乳突粘膜に比して立方上皮に近いドーム型の形態を示し、上皮細胞間の結合が密でない。この症例は図7に示す如く第2回手術時には炎症が完全に終傾し、鼓室の含気化が良好であったが、鼓室

洞に皮様のう腫様の真珠腫が形成されていた。

図8は形成された真珠腫と再生粘膜の関係を示したTEM像である。図9は真珠腫例の再生した上鼓室粘膜である。細胞表面には微細絨毛がなく、上皮細胞間の結合が疎で離開している。この症例は第1回手術後、形成された鼓膜が順調に上皮化し全く異常を認めなかった。それにもかかわらず、第2回手術時に、鼓室の含気化は不良で、鼓室内の炎症性の肉芽遺残と顔面神経陥凹に小真珠腫を認めた。図10は肉芽性中耳炎症例の再生乳突洞粘膜である。上皮細胞は正常の形態に比してなお立方状であるが図6に示した粘膜に比較すると明らかに正常に近い。上皮細胞間の結合も図6に示した粘膜より密である。自由表面は微細絨毛のみで絨毛はみられなかった。この症例は第2回手術時に鼓室の含気化が良好で、鼓室内の炎症は完全に終息していた。

図7 第2段階手術時の鼓室の粘膜所見

図8

図9

図10

図11

図11は第2回手術時に採取した再生粘膜で纖毛の発生過程を示すものである。左は cytila,

右は growing cilium に相当すると考えられる。また、左図では粘液分泌像がみられる。

考

モルモット、ネコ、リスザルとヒトの中耳粘膜上皮の構成は本質的に同一であり、それらの電顕的観察は 1960年代後半から行われ³⁾⁸⁾¹⁴⁾、中耳粘膜は本質的に気道粘膜の延長であることが知られている。SEMによる気道粘膜の研究は動物やヒトで盛んに行われ、鼻腔粘膜や気管粘膜の興味ある表面構造が報告されている⁶⁾。SEMを用いて気道粘膜を観察する主な目的は、上皮細胞の自由表面の観察、とりわけ纖毛の形態の観察にある。また、SEMでは、TEMよりもはるかに広範囲の粘膜の表面構造を、同時に観察できるという利点があり、再生中耳粘膜の観察に適している。

Lim⁹⁾ らは、モルモット耳管粘膜は、纖毛細胞・杯細胞・基底細胞・無纖毛細胞から成るとし、杯細胞と暗調顆粒をもつ分泌細胞の2種の分泌細胞を観察した。Kawabata⁵⁾ らはヒトの鼓室岬角粘膜を透過電顕で観察し、纖毛細胞・無纖毛細胞・基底細胞の3種の細胞成分を見いだした。Lim⁹⁾ らはヒト鼓室粘膜を観察して、纖毛細胞・無纖毛細胞・基底細胞に加えて杯細胞と明調顆粒の多い分泌細胞の2種の分泌細胞を報告した。Hentzer²⁾ は、ヒトの耳管・耳管口周辺・岬角・上鼓室および乳突蜂巣の粘膜を

按

TEMで観察し、1) 分泌顆粒のない無纖毛細胞、2) 分泌顆粒をもつ無纖毛細胞、3) 纖毛細胞、中間細胞、5) 基底細胞、の5種類の細胞に分類し、以下の様に述べた。すなわち、鼓室、耳管口周辺および岬角の粘膜は重層上皮で、上記1)～5)のすべての細胞成分から構成され、上鼓室の粘膜は1～3層から成り、中間細胞以外の4種の細胞より成り、乳突蜂巣の粘膜はただ1層から成り、纖毛細胞と分泌顆粒のない無纖毛細胞の2種の細胞のみで構成され、纖毛細胞は常に1個だけが孤立性に散在した。

われわれのみた乳突蜂巣および乳突洞粘膜のSEMおよびTEM像では、1) 扁平な1層の上皮より成り、無纖毛細胞と纖毛細胞とから成る。2) 無纖毛細胞は多数の微細絨毛を有し、細胞辺縁部では他部より大きく密である(図1)。3) 纖毛細胞は孤立性に散在し、纖毛に加えて微細絨毛をも有している。4) 上皮細胞はデスモゾームで結合している(図2)などの所見が認められた。川端⁷⁾ らはヒト乳突部粘膜をSEMで観察し、乳突部の纖毛細胞には、纖毛が密生し束状をなして細胞表細から派生する気道上皮型と、細長い帯状の部分から派生し纖毛の数も少

ない乳突型の2種があり、乳突型が大部分を占めると報告した。われわれの観察では、彼のいう気道上皮型の繊毛細胞がむしろ多く認められた。また、繊毛細胞が全体に占める割合はたかだか5~6%迄であった。Shimadaら¹⁷⁾はヒト中耳粘膜の繊毛細胞の分布について研究し、1)下鼓室から耳管口、2)上鼓室から耳管口、3)岬角から耳管口へと連なる繊毛細胞の3つの経路があると報告し、中耳粘膜の防御機構の1つではないかと考察した。Lim¹⁰⁾らは、ヒト中耳粘膜の分泌細胞の分布は繊毛細胞の分布にほぼ等しいと報告した。さらに、粘液層と繊毛運動による排泄系を mucociliary system としてとらえ、局所分泌型免疫グロブリン、ライソザイムなどの分泌酵素、リン脂質から成る界面活性剤などと同様な、局所の中耳粘膜防御機構の1つとして重要な働きをしていると考えた¹³⁾。しかし、ヒト乳突部の正常の粘膜では繊毛細胞は散在性に分布し、粘液層の形成にあずかる分泌細胞も乏しいので、この粘膜が気道にみられるような異物排泄機能を果しているのか疑わしい、とする報告もあり⁷⁾、中耳粘膜に分布する繊毛の働きについては今後の検討が必要と考える。

Lim¹¹⁾らは、病原菌をモルモット中耳に接種すると、繊毛の機能低下がおこり、1週間後には繊毛と分泌細胞が増加することを報告した。中井¹⁵⁾は慢性中耳炎肉芽をTEMで観察し、他

部における炎症性肉芽と本質的に差はないとしたが、炎症の初期像から進行像までいろんな時期の炎症像の混在していることを指摘した。

Bremond¹⁾らはヒト正常中耳粘膜と炎症耳粘膜をTEMで観察し、炎症耳粘膜の病変を次の3種に分類した。

1) 亜急性変化：上皮細胞と基底膜はほぼ正常で、上皮結合組織に炎症細胞浸潤、血管拡張、浮腫がみられる。

2) 慢性変化：分泌細胞と繊毛細胞が減少し、上皮細胞の配列が乱れる。基底膜の肥厚、二重化、断裂がおこる。上皮結合組織では多核球が減少し、リンパ球・形質細胞が増加する。また線維細胞と膠原線維が増加する。

3) 硬化性変化：分泌細胞は全く消失する。上皮細胞の自由表面から微細絨毛が消失する。一方、上皮細胞間に間隙を生じ、その間隙を微細絨毛によって埋めることがある(図5)。基底膜の変化はさらに高度となる。上皮結合組織では線維細胞と膠原線維が大部分を占める。われわれの観察した粘膜病変(図3, 4, 5)は上皮の重層扁平化生、繊毛の消失、さらに基底膜の露出、および断裂、上皮結合組織への炎症細胞浸潤などである。これらの所見はBremondらの分類によれば慢性ないし硬化性変化に相当すると考えられる。

鼓室成形術を第1回の手術で完了するか、段

表2

第1回手術時所見	第2回手術時所見	第2回手術時採取した粘膜の電顕所見
肉芽性炎症 (7)	含気化良好で炎症は終熄 (7)	ほぼ正常(図11) 上皮細胞間の結合が真珠腫症に較べ密である。
真珠腫症 (5)	含気化悪く肉芽の遺残あり。 限局性の真珠腫形成 (1)	慢性炎症所見(図10)
	含気化良好で炎症は終熄。 限局性の真珠腫形成 (1)	上皮は立方状で上皮細胞間の結合が密でない (図7, 図8)
	含気化良好で炎症は終熄真珠腫形成なし (3)	ほぼ正常(図12左)

() 内数字は症例数を示す。

階的に行うかは初回手術時の所見により決定される。段階的に行う場合は、1) 鼓室粘膜病変の程度、2) 耳小骨連鎖の状態、3) 真珠腫再発の可能性、などが考慮されるが¹⁸⁾、これはあくまで臨床的目安であって、より厳密には、残存中耳粘膜が治癒し粘膜の再生が起ころうのか、また、どのような粘膜がいつ再生するのか、などについての知見に基づいて決定されるべきである。しかし、ヒトにおける中耳粘膜の再生についての研究は少なく、鼓室成形術の適応を粘膜の再生という見地から論じることとは不可能である。われわれが本研究を意図した由縁である。段階的鼓室成形術の際に採取した粘膜の電顕所見と手術時所見を対比すると表2のようになる。肉芽性炎症であった7耳は全例とも第2回手術時に炎症は消失し、その粘膜の電顕所見はほぼ正常であった(図10)。真珠腫症であった5耳のうち、1耳は第2回手術時になお肉芽の遺残があり、また限局性に真珠腫が形成されていた。この症例の粘膜は電顕的にも慢性炎症像を呈した(図9)。他の一耳では、炎症は終熄していたが、限局性真珠腫の形成を認めた(図7)。この症例の粘膜は、上皮が立方状を示し、上皮細胞の結合が疎であった(図6a, b)。他の3耳では、第2回手術時に炎症は終熄し、真珠腫の形成もなかった。これらの症例の粘膜は電顕的にもほぼ正常であった(図11左)。

少数例であるが、以上の結果は次の様に要約される。

1) 肉芽性炎では、第2回手術時に含気化良好で炎症が終熄しておれば、ほぼ粘膜は電顕的に見ても正常に近く、再生している。

2) 真珠腫症では、真珠腫の再発または遺残

により第2回手術時に真珠腫の形成が見られても、炎症が消退し、含気化良好であれば、1)の場合に較べると不完全ではあるが正常に近い粘膜の再生がある。

3) 真珠腫症で第2回手術時に含気化不良で、炎症の遺残があれば、粘膜の再生は不良である。

粘膜の再生という立場からいうと、肉芽性炎では再生は良好で、真珠腫の場合には、再生を阻害する因子がある事が示唆される。耳管機能、骨破壊、骨炎の存在、起炎菌の種類などがその因子となりうるものと想像される。

図11左は *cytophila*, 右は *growing cilium* に相当し、いずれも繊毛の発生過程と考えられる。大畑¹⁹⁾らは成犬を用いて実験的に気管端々吻合を行い、約9週間で吻合部粘膜は完全に正常に復したと報告している。しかし、図11に示す如く、中耳炎粘膜の場合は6ヶ月以上を経過してもなお上皮の再生・分化が進行しており、鼓室成形術後の粘膜の再生の完成迄には実験条件におけるよりはるかに長期間を要するものと考えられる。鼓室成形術によって炎症が終熄した後、再生粘膜がどの程度まで正常に近づくのか、また、いつまで正常化が続くのか、などの問題については今後の検討が必要である。川端²⁰⁾らは外傷性顔面神経麻痺の減圧術の際に得られた乳突部粘膜では正常の粘膜に比較して繊毛細胞の数が増加していると報告している。本研究ではほぼ正常粘膜が再生しているにもかかわらず全く繊毛の見出せない症例があり、炎症の有無以外にどのような要因が繊毛の発生を制御しているのかなどについても今後の研究を要する点が少ない。

ま と め

非炎症耳の手術の際に採取した正常中耳粘膜と段階的鼓室成形術の際に採取した中耳粘膜をSEM, TEMにより観察し、正常乳突蜂巣粘膜および慢性炎症耳の粘膜の所見を記載した。第2回手術時の再生粘膜の所見を述べ、鼓室成形術における粘膜再生の意義について論じた。

参 考 文 献

- 1) Bremond, G., and Coquin, A. : Ultrastructure of normal and pathological middle ear mucosa. *J. Laryng. Otol.* 86 : 457~472, 1972.
- 2) Hentzer, E. : Ultrastructure of the normal mucosa in the human middle ear, mastoid cavities, and eustachian tube. *Ann. Otol.* 79 : 1143~1157, 1970.
- 3) Hiraide, F., and Paparella, M. M. : Histochemical characteristics of normal middle ear mucosa. *Acta Otolaryng.* 74 : 45~56, 1972.
- 4) 池田昌生 : 真珠腫上皮の電子顕微鏡的観察. *日耳鼻* 78 : 84~91, 1968.
- 5) Kawabata, I., and Paparella, M. M. : Ultrastructure of normal human middle ear mucosa. *Ann. Otol.*, 67 : 125~137, 1969.
- 6) 川端五十銃, 依田勝 : 気管上皮の纖毛発生について一走査電顕的観察. *耳鼻臨床* 51 : 977~987, 1974.
- 7) 川端五十銃, 野村恭也 : ヒト乳突部粘膜について一走査電顕的観察. *耳喉* 63 : 91~97, 1979.
- 8) Lim, D.J., and Paparella, M. M. : Ultrastructure of the eustachian tube and middle ear mucosa in the guinea pig. *Acta Otolaryng.* 89 : 425~444, 1967.
- 9) Lim, D.J., and Hussl, B. : Human middle ear epithelium. *Arch. Otolaryngol.* 89 : 57~71, 1969.
- 10) Lim, D.J., and Shimada, T. : Secretory activity of normal middle ear epithelium. *Ann. Otol.* 80 : 319~329, 1971.
- 11) Lim, D.J., and Klainer, A. : Cellular reactions in acute otitis media—Scanning and transmission electronmicroscopy. *Laryngoscope* 81 : 1772~1786, 1971.
- 12) Lim, D.J., and Saunders, W. H. : Acquired cholesteatoma. *Ann. Otol.* 81 : 2~12, 1972.
- 13) Lim, C. J. : Functional morphology of the lining membrane of the middle ear and eustachian tube. *Ann. Otol.* 83 : Suppl. 11, 5~26, 1974.
- 14) 前田昇一 : 中耳粘膜上皮の発生学的研究—電子顕微鏡による—. *日耳鼻* 79 : 568~578, 1976.
- 15) 中井義明 : 慢性中耳炎肉芽の電子顕微鏡的研究. *耳喉* 37 : 199~207, 1965.
- 16) 大畑正昭, 他 : 気管・気管支端々吻合に関する実験的研究—とくに吻合部の超微構造について. *気食会報* 30 : 41~46, 1979.
- 17) Shimada, T., and Lim, D.J. : Distribution of ciliated cells in the human middle ear. *Ann. Otol.* 81 : 203~215, 1972.
- 18) 柳原尚明, 他 : 段階的鼓室成形術の検討. *耳鼻臨床* 69 : 311~316, 1976.

原稿到着 : 昭和54年6月21日
 別刷請求先 : 柳原尚明
 〒791-02 愛媛県温泉郡重信町
 愛媛大学医学部耳鼻咽喉科学教室