

고양이에서 유발된 장액성중이염시 중이점막의 미세구조에 관한 연구*

박 순일, 윤 강목, 심 상열
(연세대학교 원주대학 의학부 이비인후과)

Ultrastructure of the tympanic mucosa in experimentally produced serous otitis media

Soon Il Park, M. D., Kang Mook Yoon, M. D. and Sang Yul Shim, M. D.
Department of Otolaryngology, Wonju School of Medical Science,
Yonsei University

Abstract

Serous otitis media is closely related with auditory tube function, but its etiology and pathogenesis are not clearly defined yet. So we tried to prove the theory of hydrops ex vacuo via the experimental study with cats by means of obstructing the pharyngeal orifice of the auditory tube and observe the serial changes in tympanic mucosa through light and electron microscopy.

The results are as follows;

1. We confirmed the production of serous otitis media with auditory tube obstruction and have a new understanding of auditory tube function in middle ear aeration.
2. The effusion in serous otitis media was produced from the next day of experiment and increased till the fourteenth day, but decreased after the spontaneous perforation of ear drum.
3. Through the light microscopy, we observed the increasement of the secretory cells including goblet cells, epithelial hyperplasia, capillary proliferation and invasion of inflammatory cells.
4. Through the elctron microscopy, we observed the protrusion of secretory cells, blebs in cilia, loss of cilia, increasement of vesicles, vacuoles and dense bodies in ciliated cells and invasion of inflammatory cells.

With above results, we concluded that aeration through auditory tube is the most important factor in serous otitis media and presumed the effusion was secreted by secretory cells.

I. 서 론

장액성중이염이 실험동물에서 이관폐쇄 후 저류액을 확인함으로써 증명된 (Holmgren, 1940; Reiner, 1969; Proud, 1970) 이래 본 증에 대한 기초 및 임상학적인 연구업적이 많이 발표되어왔고 또한 중이 및

이관기능에 대한 관심의 증진과 전자현미경의 발달로 이들의 미세구조에 대한 병리조직학적인 연구를 하여 병인규명에 힘쓰는 동시에 치료면에 있어서도 많은 발전을 이루어 왔으나 아직도 병인과 저류액의 근원에 대해서는 규명되어야할 부분이 많은 실정이다.

* 본 논문은 1981년도 문교부 학술연구조성비지원으로 이루어진 것임.

Politzer (1869) 가 최초로 장액성중이염을 보고한이

래로 많은 학자에 의해서 그 병인이 연구되어 왔으나 그 중에서도 Politzer, Zaufal 및 Bezold(1894)에 의해서 주장된 보공수중설(Fydrops ex vacuo theory)이 가장 인정받고 있으며 이는 어떤 원인이던 이관협착으로 인하여 중이강내에 음압이 형성되어 저류액이 형성된다는 학설이다. 이관협착의 원인으로서는 Robinson 및 Nicholas등(1951)은 림파관폐쇄를 들고 있으며 이 밖에도 Suehs(1956) 및 Senturie등(1958)은 감염설을, Jordan(1949), Derlacki(1957) 및 Draper(1967)는 알레르기설을 주장하였고 Paparella(1973)는 이들을 종합하여 인두편도증식증, 구개열, 비인강의 중앙·압력상해·염증, 항생제남용, 알레르기등 모두가 원인이 될수 있다고 하였다.

저류액의 생성원인에 대해서 Suehs(1956)는 모세혈관투과성의 증가로 혈청이 유출되는 결과라고 하였으며 이것을 Tönder등(1971)이 여지전기영동법, 번역전기영동법, 디스크전기영동법으로써 증명하였다. 있으나 최근에 와서 Lim등(1970), Tos등(1972, 1975)은 이관 및 중이점막에 증식된 점액선에서 저류액이 분비된다고 주장하고 있다.

이러한 현재 상황에서 저자들은 고양이에서 이관의 인두측 개구부를 폐쇄하여 실험적으로 장액성중이염을 유발시킨 후 중이강점막의 병리조직학적 변화를 광학 및 전자현미경으로 관찰함으로써 저류액의 근원을 추정하고 병인을 규명하고자 본 연구를 시행하였다.

II. 실험재료 및 방법

A. 실험재료

수술현미경(Zeiss) 검사상 고막소견이 정상이고 체중 2.0~3.5kg의 한국산 고양이 40마리(80耳)를 암수 구별없이 선택하여 대조군 13마리(26耳), 실험군 27마리(54耳)로 나누어서 실험하였다.

B. 실험방법

실험전에 모든 고양이를 10~15일간 일정하게 조절된 환경하에서 사육한 후 이들을 대조군과 실험군으로 나누어서 실험에 사용하였다.

먼저 대조군은 Seconal 20mg/kg를 전족부에 정맥주사하여 마취한 후 수술현미경하에서 이관주의 정상중이점막을 채취하여 검경하였다.

또한 실험군도 대조군과 같은 방법으로 마취시켜서 고양이를 앙위와로 고정하고 연구개 중앙부를 약 1cm정도 종절개하여 이관의 인두측 개구부를 노출

시킨 다음 먼저 2×3×2mm의 silastic block 2개와 이어서 2×3×2mm의 Gelfoam(absorbable gelatin sponge) 2개를 이관내로 보충 삽입하고 다시 이관의 인두측 개구부를 전기소작하여 완전 폐쇄시킨 후에 연구개를 봉합하여 장액성중이염의 유발을 시도하였다. 그 후 1,3,5,7,10,14,21,35 및 60일에 각각 3마리(6耳)씩 희생시켜 중이점막을 채취, 검경함으로써 실험적 장액성중이염에 따른 중이점막의 시기별 병변을 관찰하였다. 한편 이관폐쇄술후에는 창상감염을 예방하기 위하여 앰피실린 100mg/kg을 2일간 근육주사하였다.

채취된 중이점막은 이를 2군으로 나누어서 일부는 10% formalin 용액에서 24시간 고정시킨후 paraffin으로 포매 절편하여 통상적인 Hematoxylin-eosin 염색과 PAS염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰하였으며 나머지 일부는 전자현미경 검사를 위해서 3% glutaldehyde(0.1M phosphate buffer, pH 7.4)용액에서 전고정하고 다시 1% osmium(tetroxide)(0.1M phosphate buffe, pH 7.4)용액에서 재고정하였으며 이어서 이를 배수 alcohol로 탈수시켜 Epon812로 포매하여 초박절편을 만들어서 uranyl acetate와 lead citrate로 복염색한 후 Hitachi 500형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

III. 실험성적

A. 수술현미경적 소견

수술현미경을 이용한 6배의 확대시야에서 관찰된 소견은 실험군에서 제 3일까지는 고막내함이 보였고 제 5일부터는 중이강내 저류액에 따른 고막팽윤이 관

Table 1. Operating Microscopic Findings

Days	Drum	Mucosal hypertrophy	Fluid amount
1	R	—	±
3	R	+	+
5	B	+	++
7	B	++	+++
10	B	++	+++
14	B	+++	+++
21	B	++	+++
35	P	+	+
60	P	—	—

R;retracted, B;bulging, P;perforated, —;none, ±;minimal, +;mild, ++;moderate, +++;severe

찰되었다. 이관의 인두측 개구부 폐쇄술후 제 1일에 최초의 저류액이 확인되어 점차 증가되는 경향을 보였으며 제35일부터는 고막의 자가천공에 따라 저류액이 급격히 감소하여 제60일에는 전혀 저류액이 관찰되지 않았다. 중이점막은 제 3일부터 비후를 보이기 시작해 제14일에 가장 심하였으며 고막의 자가천공이후에는 정상으로 돌아가는 모습을 보였다. (Fig. 1)

B. 광학현미경적 소견

(1) 상피세포의 소견

세포증식은 정상대조군에 비해 실험군에서는 제 7일부터 세포증식이 나타나기 시작하여 제14일에 가장 심하였으며 (Fig. 1), 고막의 자가천공이후에는 감소하는 경향을 보였다. 배세포 (goblet cell)의 증식은 제 3일부터 나타나기 시작해서 제14일에 가장 많은 증식상 (Fig. 1)을 나타내어 이를 PAS염색을 하여 (Fig. 2) 점액함유를 확인하였다 (Table 2)

(2) 점막하층 소견

혈관증식은 제14일 (Fig. 3)에 가장 많았으며 염증세포의 침윤은 초기에는 호중구침윤이 증가되어 제 7일과 제10일 (Fig. 3)에 가장 심하였으나 제21일 이후에는 만성염증세포가 나타나기 시작하여 제35일 이후 (Fig. 4)에는 호중구는 관찰되지 않았다. 또한 정상대조군에서는 볼수 없었던 섬유화는 제7일부터 나타나기 시작하여 고막의 자가천공이후에는 현저한 섬유화현상 (Fig. 4)이 관찰되었다. (Table 2)

C. 전자현미경적 소견

전자현미경으로는 중이점막을 덮고있는 상피세포의 변화를 관찰하였으며 특히 상피세포내의 미세구조의 변화, 과립형성, 섬모의 변화 및 염증세포침윤 등을 주대상으로 하였다.

(1) 정상대조군

정상대조군의 섬모 상피세포는 (Fig. 5) 난원형의 핵과 세포질내에서 다수의 미토콘드리아, 리보솜, 조면소포체 및 공포등이 관찰되는 한편 세포표면에는 섬모가 규칙적으로 배열되어 있었으며 또한 이들 사이사이에는 미세융모가 분포되어있고 세포와 세포사이에는 tight junction에 의해서 밀착되어 있었다. 배세포들은 섬모가 없는 세포 (non-ciliated cell)들로서 세포질내에는 다수의 세포기관이 잘 발달되어 있었으며 분비과립이 다수 관찰되었다.

(2) 실험군

배세포등의 분비세포에서 세포질의 돌출현상이 이 관폐쇄술 시행후 제 3일에 나타나기 시작하여 제10일에는 가장 현저하였으며 (Fig. 6) 섬모의 수포현상 및 소실 역시 제 3일부터 관찰되었다. (Fig. 7) 섬모원주상피세포 세포질내 소공포 및 대공포는 제3일부터 증가되기 시작하여 제 5일부터 제14일까지 가장 증가된 상태로 나타났고 (Fig. 8) dense body 역시 제 3일부터 증가하기 시작하였다. (Fig. 9) 상피세포층내로의 염증세포 침윤도 제 3일부터 관찰되기 시작하여 제10일에 가장 많은 수의 염증세포침윤을 (Fig. 10) 관찰할 수 있었다. (Table 3)

Table 2. Light Microscopic Findings

Days	Epithelial hyoerplasia	Goblet cell No.	Capillary proliferation	Inflammatory cells		Fibrosis
				degree	cell type	
1	—	±	+	+	P	—
3	—	+	+	++	P	—
5	—	+	+	+++	P	—
7	±	++	++	+++	P	±
10	+	++	++	+++	P	+
14	+++	+++	+++	++	P	+
21	++	++	++	++	P & R	+
35	+	+	+	+	R	+
60	—	±	±	±	R	++

V;ventilation tube, P;polymorpholeukocyte, R;chronic inflammatory cell,
—;none, ±;minimal, +;mild, ++;moderate, +++;severe

Table 3. Electron Microscopic Findings

Days	Secretary cell		Ciliated cell			Cilia		Infl. cell
	granule	protrusion	vesicle	vacuole	dense boey	bled	destruction	infiltration
Control	++	-	+	+	+	-	-	-
1	++	-	+	+	+	-	-	-
3	+	+	++	++	++	++	+	+
5	+	++	+++	+++	++	++	+	++
7	+	++	+++	+++	++	++	+	++
10	++	+++	+++	+++	++	++	+	+++
14	+	++	++	+++	+	+	+	++
21	+	++	++	+++	+	+	+	+
35	+	+	+	++	++	+	-	+
60	++	+	+	++	++	-	-	-

V:ventilation tube, -:none, +;mild, ++:moderate, +++:severe

IV. 총괄 및 고안

장액성중이염은 중이카타르(middle ear catarrh), 삼출성중이염(otitis media exudativa), 단순성중이염(otitis media simplex), 중이수종(hydrotyimpanum), 알레르기성중이염(allergic otitis media), glue ear, otitis media with effusion 등 많은 명칭으로 불리워지며 최근 유소아 난청에 대한 관심의 증진과 Impedance 청력검사등의 진단방법의 발달로 급격히 증가하는 추세를 보이고 있다. 그러나 병인에 대해서 많은 학설이 있으며 그 중에서는 Politzer, Zaufal 및 Bezold(1894)에 의해 주창된 補空水腫說(hydrops ex vacuo theory)이 가장 인정을 받고있고 구개범장근(tensor veli palatini muscle)에 의해 개폐되는(Honjo 등, 1979, 1980) 이관의 기능저하가 근본원인이라고 믿어지고 있다. Holmgren(1940), Reiner(1969) 및 Proud(1970)등에 의해서 증명된 이 보공수종설을 저자들은 실험동물로서 고양이를 사용하여 이관의 인두측 개구부를 폐쇄시켜 술후 제 1일부터 저류액을 확인함으로써 이관폐쇄가 장액성중이염의 주요 원인을 재인식하였으며 Bluestone 등(1972)은 방사선불투과색소를 사용하여 156명의 장액성 중이염 환자에서 이관기능을 조사하여 이관이 폐쇄된 군이 40%, 비정상적인 이관신전성을 보인군이 26%, 두가지병변을 다 보인군이 26%로서 92%에서 비정상적인 이관기능을 보인다고 주장하였다.

실험동물에서 이관을 폐쇄시켜 장액성중이염을 유발하는 실험은 많은 학자들에 의해 시도되었으며 이관을 폐쇄시키는 방법으로 이관결찰, 전기소작, 이관적출, 이관의 인두측 또는 중이강측 개구부를 이물로 폐쇄시키는등 여러가지 방법을 사용하였다. 본 실험에서는 이상의 여러가지 방법중 Sade(1959) 등의 이관의 인두측 개구부를 전기소작하는 방법을 이용하였으며 이관폐쇄를 보다 더욱 확실하게 하고자 silastic block을 이관에 먼저 삽입한 후에 전기소작을 시행하였다.

이관폐쇄로 장액성중이염이 유발되는 기전을 Senturia 등(1962)은 중이점막의 감염으로 인한 염증성변으로 인하여 저류액이 형성된다고 주장하였으나 대부분의 학자들은 중이강내 음압으로 인한 중이점막의 염증성반응으로 추측하고 있다.

정상중이점막에서 Schwarzbart(1958)는 점액분비세포를 관찰할 수 없다 하였으나 Hussl 등(1969)은 guinea pig의 정상중이점막에서 dark-granulated cell, intermediate cell 및 배세포(goblet cell)를 관찰하였으며 Bak-Pederson 등(1973)은 정상중이점막에서 PAS-alcian blue whole-mount method로서 배세포의 존재를 확인하였다. 배세포는 단세포선으로서 점액을 분비하고 구형이며 핵은 기저부에 있고 소구(stoma)는 상피세포 표면에 있으며 점액과립을 만드는 Golgi체가 바로 핵옆에 있다고 하였다. 이러한 관찰은 Lim 등(1971), Tos 등(1971)에 의해 보충되었으

며 저자들의 정상대조군(Fig. 1, Fig. 6)에서도 이 와 동등한 구조의 점액분비세포를 확인할 수 있었다.

실험적으로 유발시킨 장액성중이염에서는 이러한 점액분비세포의 증가가 관찰됨으로써(Lim등, 1970, 1971, 1972; Möller등 1981) 장액성중이염 저류액의 근원이 점액분비세포로 추정되고 있다. Lim등(1971)은 73명의 장액성중이염환자에서 75개의 생검을 시행하여 결체조직비후, 점액분비세포의 증가, 상피세포의 증식 등을 관찰하였으며 저류액의 점액성인 경우와 장액성인 경우로 나누어 점액성 저류액인 경우에는 점액분비세포의 증가와 점액분비세포내 점액과립을, 장액성저류액인 경우에는 조직부종과 림파구의 침윤이 특징적인 소견이라고 발표한 바 있다.

저자들의 실험결과를 분석하여보면 광학 현미경적 소견에서 배세포등의 분비세포의 증가, 상피세포의 증식, 혈관의 증식 및 염증세포의 침윤이 관찰되어 Sade(1959) 등의 결과와 일치하고 전자현미경상에서는 분비세포에서 세포질의 돌출현상의 관찰로 저류액이 증식된 분비세포의 기능항진으로 인한 것이라는 추정과 섬모의 소실 및 수포현상, 섬모원주상피세포내의 소공포 및 대공포 형성의 증가와 dense body의 증가현상이 관찰됨으로써 이관폐쇄로 인한 장액성중이염시는 상피세포의 변형이 초래된다는 사실을 확인하였다. 또한 염증세포의 침윤은 이관폐쇄로 인해 염증반응이 생긴 것으로 추정되며 Siirala(1956) 등의 결과와 비교하면 염증반응이 이관폐쇄로 인한 중이강내 음압으로 인한 것으로 사료된다.

이상의 연구 결과를 종합해 보면 장액성 중이염은 이관기능의 저하가 가장 큰 원인으로 추정되며 저류액의 근원은 점액분비세포를 추정된 바 장액성 중이염의 여러가지 치료방법 중 경고막적 중이내 튜브유치술이 가장 효과적일 것으로 생각된다.

V. 결 론

고양이에서 이관의 인두측 개구부를 폐쇄시킨 장액성중이염의 유발실험을 통하여 보공수종설을 증명하는 동시에 시기별 중이강 점막의 병리조직학적 변화를 광학 및 전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 이관폐쇄로 장액성중이염이 유발됨을 확인하였으며 이관을 통한 중이강 통기의 중요성을 재인식하였다.
2. 장액성중이염에서 보게되는 저류액은 이관폐

쇄 익일부터 생기기 시작하여 제14일에 가장 많은 양이 삼출되었으며 고막의 자가천공이후에는 급격히 감소하는 경향을 보였다.

3. 광학현미경적으로는 배세포등의 분비세포의 증가, 상피세포의 증식, 혈관의 증식 및 염증세포의 침윤이 관찰되었다.

4. 전자현미경으로 분비세포 세포질의 돌출현상, 섬모의 소실 및 수포현상, 섬모원주상피세포에서 소공포, 대공포 및 dense body의 증가, 염증세포의 침윤이 관찰되었다.

이상의 소견들을 종합한바 이관폐쇄로 인한 중이강내 통기장애가 장액성중이염의 주요 원인을 확인하였으며 저류액의 생성은 배세포등 점액분비세포가 그 근원임을 알 수 있었다. 따라서 장액성 중이염의 치료는 경고막적중이내 튜브유치술이 가장 좋은 치료방법으로 사료된다.

References

- Bak-Pedersen K. and Tos M.: Distribution and density of goblet cells in the normal adult human middle ear. *Ann. Otol.* 82:240-246, 1973.
- Bluestone C.D., Paradise J.L. and Berry Q.C.: Physiology of the eustachian tube in the pathogenesis and management of middle ear effusions. *Laryngoscope* 82:1654-1670, 1972.
- Derlacki E.L.: Allergy of the middle ear. *Trans. Amer. Acad. of Ophthal and Otolaryngol* 61:91-96, 1957.
- Draper W.L.: Secretory otitis media in children: A study of 540 children. *Laryngoscope* 77:636-653, 1967.
- Holmgren L.: Experimental tubal occlusion. *Acta. Otolaryngol* 28: 587-592, 1940.
- Honjo I., Okazaki N. and Kumazawa T.: Experimental study of the eustachian tube function with regard to its related muscles. *Acta. Otolaryngol* 87:84-89, 1979.
- Honjo I., Okazaki N. and Kimazawa T.: Cineangiographic analysis of eustachian tube function, experimental study. *Ann. of Otol. Rhinol and Laryngol* 89:276-278, 1980.
- Hussl B. and Lim D.J.: Secretory cells in the middle ear mucosa of the Guinea pig. *Arch. Otolaryng* 89:33-41, 1969.

- Jordan R.: Chronic secretory otitis media. *Laryngoscope* 59:1002-1215, 1949.
- Lim D. and Hussel B.: Tympanic mucosa after tubal obstruction. *Arch. Otolaryng* 91:585-593, 1970.
- Lim D.J. and Shimada T.: Secretory activity of normal middle ear epithelium. Scanning and transmission electron microscopic observations. *Ann. Otol.* 80:319-329, 1971.
- Lim D.J. and Brick H.: Ultrastructure of the middle ear mucosa in serous otitis media. *Ann. Otol* 80:838-853, 1971.
- Lim D.J., Viall J., Birck H. and Pierre R.S.: The morphological basis for understanding middle ear effusions. An electron microscopic, cytochemical and autoradiographic investigation. *Laryngoscope* 82:1625-1642, 1972.
- Moller P. and Dalen H.: Ultrastructure of the middle ear mucosa in secretory otitis media. *Acta. Otolaryngol* 91:95-110, 1981.
- Paparella M.M., Shumrick D.A.: *Otolaryngology Vol. 2*, Philadelphia, W.B. Saunders, 1973.
- Politzer A.: *Diseases of the ear*. Lea Brothers and Company, Philadelphia, Pa., 1894.
- Proud G.O. and Odoi H.: Effects of eustachian tube ligation. *Ann. Otol* 79:30-32, 1970.
- Reiner C.E. and Pulec J.L.: Experimental production of serous otitis media. *Ann. Otol.* 78:880-887, 1969.
- Robinson J.M. and Nicholas H.D.: Catarrhal otitis media with effusion. *South Med. Jour.* 44:777-789, 1951.
- Sade J., Carr C.D. and Senturia B.H.: Middle ear effusions produced experimentally in dogs: I. Microscopic and bacteriologic findings. *Ann. Otol* 68:1017-1027, 1959.
- Schwarzbart A.: A reappraisal of the clinical and morphological classification of the tympanic space and the eustachian tube. *Ann. Otol.* 67:241-245, 1958.
- Senturia B.H., Carr C.D. and Ahlvin R.C.: Middle ear effusion: Pathologic changes of the mucoperiosteum in the experimental animal. *ann. Otol* 71:532-547, 1962.
- Senturia B.H., Gessert C.F. et al.: Studies concerned with tubotympanitis. *Ann. Otol. Rhinol Laryngol* 67:440-467, 1958.
- Siirala U. and Lahikainen E.A.: Some observations on the bacteriostatic effect of the exudate in otitis media. *Acta. Otolaryngol Suppl.* 100, 1952.
- Suehs O.W.: Chronic secretory otitis media; etiology, diagnosis and treatment. *J. Med. Assn. Ga.* 45:499-506, 1956.
- Tonder O. and Gundersen T.: Nature of fluid in serous otitis media. *Arch. Otolaryng* 93:473-478, 1971.
- Tos M. and Bak-Pedersen K.: Secretory otitis; Histopathology and goblet cell density in the eustachian tube and middle ear in children. *J of Laryng and Otol* 85:475-485, 1971.
- Tos M. and Bak-Pedersen K.: The pathogenesis of chronic secretory otitis media. *Arch Otolaryng* 95:511-521, 1972.
- Tos M. and Bak-Pedersen K.: Density of goblet cells in chronic secretory otitis media; Findings in a biopsy material. *Laryngoscope* 85:377-383, 1975.

Figure Legends

- Fig. 1. Fourteen days after auditory tube obstruction: Epithelial hyperplasia & increasement of goblet cells were noted. (H-E Stain, X400)
- Fig. 2. PAS Stain of goblet cell: Mucus in goblet cell was stained. (PAS Stain X400)
- Fig. 3. Seven days after auditory tube obstruction: Capillary dilatation and congestion was noted. Acute inflammatory cell infiltration was also shown. (H. E Stain X400)
- Fig. 4. Thirtyfive days after auditory tube obstruction: In submucosa, chronic inflammatory cell infiltration and fibrosis were noted. (H-E Stain, X400)
- Fig. 5. Electron microscopic finding of control group. Ciliated columnar cell and nonciliated secretory cell were noted. Nu: Nucleus Ci: Cilia, G: granule (X8000)

- Fig. 6. Ten days after auditory tube obstruction: Cytoplasmic protrusion from secretory cell was noted. (X 7500)
- Fig. 7. Seven days after auditory tubal obstruction: Destruction and bleb(B) formation in cilia were noted. (X 12500)
- Fig. 8. Five days after auditory tube obstruction: Vesicles(Ve) & Vacuoles(Va) in ciliated cell were noted. (X 25000)
- Fig. 9. Thirty-five days after auditory tube obstruction: Increase of dense bodies (D) in cytoplasm was noted. (X 6000)
- Fig. 10. Ten days after auditory tube obstruction: Polymorpholeukocyte(PMN) infiltration into epithelial cells was noted. (X 6000)



