

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19370101

研究課題名（和文） 胎児期におけるニホンザル全身骨格構造の3次元成長変化

研究課題名（英文） Prenatal ontogeny of skeletal structures in the Japanese macaque

研究代表者

萩原 直道 (OGIHARA NAOMICHI)

慶應義塾大学・理工学部・専任講師

研究者番号：70324605

研究成果の概要（和文）：

本研究では、ニホンザル胎児標本の骨格構造を、CT を用いて非破壊的に観察し、その3次元成長パターンを定量的に分析した。具体的には、頭蓋骨、四肢骨のプロポーション、および踵骨の骨梁構造の成長変化の分析を行い、ニホンザル二亜種の間認められている頭蓋の形態変異の発生機序など、ニホンザル骨格系の形態的特徴の形成メカニズムを明らかにした。こうして得られたニホンザル胎児期の詳細な成長軌跡は、霊長類骨格系の形作りのメカニズムを探る上で重要な基礎データとなる。

研究成果の概要（英文）：

This study aimed to clarify three-dimensional ontogenetic patterns of skeletal structures in the Japanese macaque (*Macaca fuscata*) during prenatal period based on computed tomography. Specifically, we quantitatively investigated ontogeny of craniofacial shape, limb proportion, and calcaneal trabecular structure to explore the process and mechanisms of morphogenesis in the Japanese macaque. Such quantitative descriptions of prenatal growth patterns provide firm basis for understanding mechanisms of morphogenetic divergence among primates.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	4,250,000	1,275,000	5,525,000
2008年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
年度			
総計	10,150,000	3,045,000	13,195,000

研究分野：自然人類学・生体力学

科研費の分科・細目：人類学・自然人類学

キーワード：成長，形態形成，解剖学，進化，頭蓋，身体プロポーション，骨梁

1. 研究開始当初の背景

種固有の形態的特徴は、個体の成長パターンが時空間的に修正されることによって発現すると考えられている（例えば、Zollikofer

and Ponce de Leon, 2004）。そのため、ヒトを含めた霊長類の個体発達のプロセスを記述し、比較する研究が国内外を問わず数多く行われてきた。しかし、種固有の形態的特徴

は、出生時にはほぼ明瞭に現れていることが、特に頭蓋の分析により近年明らかとなってきた（例えば、Richtsmeier et al., 1993）。したがって、種間の違いが何に起因して、どのように生まれたかを明らかにするためには、胎児期における形態的特徴の成長パターンを詳細に明らかにすることが重要な意味を持つことになる。

胎児期における個体発達パターンを記述する試みは、ヒトにおいては多く存在する。ところが、ヒト以外の霊長類については、あまり行われてこなかった。これは主に、ヒト以外の霊長類の胎児標本が、世界的にも非常に希少であることに起因する。しかし、(財)日本モンキーセンターには、過去 50 年にわたり収集された、ニホンザル胎児の液浸標本が、多数良好な状態で保管されていることが分かった。京都大学霊長類研究所にも類似の胎児標本のコレクションは存在せず、また我が国固有のニホンザルの胎児標本が、国外にある可能性はほぼ皆無であることから、本コレクションは世界的にも非常に重要なものであると考えられる。しかし、本コレクションを用いた形態学的研究は、現在まで全く行われてこなかった。

2. 研究の目的

本研究では、(財)日本モンキーセンター所蔵のニホンザル胎児標本を、X線CT装置を用いて非破壊的に観察し、その骨格構造の3次元成長パターンを横断的に定量化することをおして、ニホンザル骨格系の形態的特徴の形成メカニズムを明らかにすることを試みる。具体的には、霊長類の種特異的な特徴が大きく表れている(1)頭部形態、(2)身体プロポーション、(3)踵骨の海綿骨骨梁構造、の胎児期における成長変化に着目し分析を行った。

3. 研究の方法

本研究では、京都大学自然人類学研究室に設置されているメディカルCT（東芝メディカル・TSX-002A/4I）とマイクロCT（コムスキャンテクノ・ScanXmate A080S）を用いて、(財)日本モンキーセンター所蔵のニホンザル二亜種（ホンダザル・ヤクシマザル）の胎児液浸標本計 36 個体の積層断層像を撮影し、その頭蓋骨および全身骨格の3次元形状データを取得した（図1,2）。標本は、妊娠週令（体サイズ）の分布が偏らないようなるべくバランスよく選択した。メディカルCTの撮像条件は、管電圧 120 kV、管電流 100 mA、スライス厚 1.0 mm とし、断面画像はピクセルサイズ 0.2-0.3 mm、画像間隔 0.2 mm で再構成を行った。マイクロCTの撮像条件は、管電圧 80 kV、管電流 125 μ A とし、ボクセルサイズ 0.069-0.10 mm で再構成を

行った。

そして医用画像処理ソフトウェア（Analyze 6.0, Mayo Clinic, USA）を用いて各頭蓋骨の詳細な3次元立体モデルを構築した。このモデルを3次元形状処理ソフトウェア（RapidForm 2004, Inus Technology, Korea）に読み込み、解剖学的特徴点の3次元座標のデジタイズを行った。

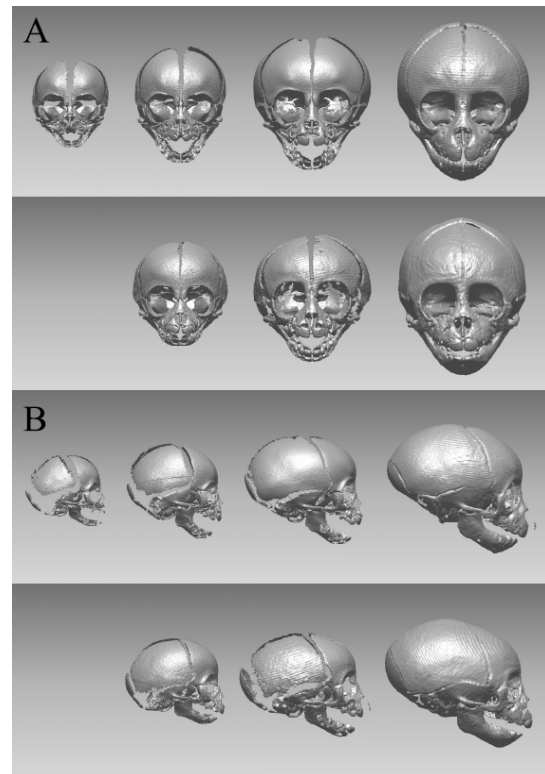


図1 胎児期におけるニホンザル頭蓋骨形態の成長変化。(A)ホンダザル。(B)ヤクザル。

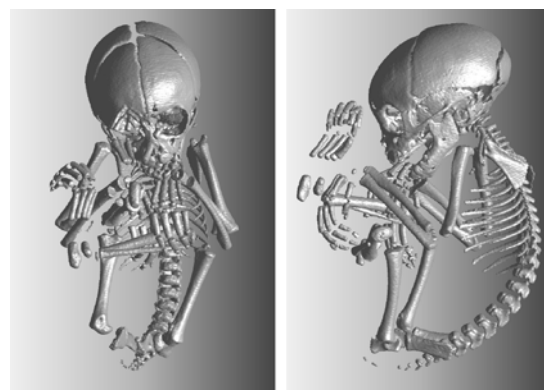


図2 ニホンザル胎児の全身骨格形状。

(1) 頭部形態

頭蓋骨の成長変化については、頭蓋骨上に定義した計 68 点の解剖学的特徴点の3次元座標を計測し、その座標データから3次元幾何測定学的手法を用いて胎児期の成長に伴

う形態変異の分析を行った。3次元幾何測定的手法とは、形態の成長変化を特徴点座標の3次元的な運動として捉え、その主成分を統計学的な手法を用いて抽出することによって、形態変異の傾向と特徴を定量的に明らかにする手法である。本研究ではこの手法に基づく形態分析を Morphologica 2.3.1 を用いて行った。このソフトウェアは、重心サイズにより座標値をサイズで正規化し、一般化 Procrustes 法により各標本のレジストレーションを行うことで形状以外の変異成分を数理的に取り除く。そして各標本の平均形状からの変位を主成分分析することによって形状の変異傾向を検出し、さらに特徴点を結ぶワイヤフレームの変形により視覚化することを可能とする。

本研究では、ホンダザル 18 個体、ヤクザル 14 個体の計 32 個体を対象として頭蓋の成長変化の分析を行い、系統的に近縁な二亜種の間認められている頭蓋の形態変異の形成機序を明らかにすることを試みた。

(2) 身体プロポーション

身体プロポーションについては、取得した骨端点の座標から上腕骨長、橈骨長、大腿骨長、脛骨長を測定し、橈骨上腕骨示数 (= 橈骨長 ÷ 上腕骨長)、脛骨大腿骨示数 (= 脛骨長 ÷ 大腿骨長)、肢間指数 (= (上腕骨 + 橈骨長) ÷ (大腿骨 + 脛骨)) を算出した。これら示数の胎児期における成長変化を比較し、移動様式と密接に関係する身体プロポーションの発現機序を明らかにすることを試みた。

(3) 踵骨の海綿骨骨梁構造

海綿骨骨梁構造の成長変化は、標本を破壊せずに高解像度での撮影が可能な足部踵骨を対象として分析を行った。骨内部構造は成体でも観察例がない。そのためここでは上述の液浸標本の胎児期中期の 4 個体に加え、胎児期後期から成体までの晒骨標本 48 個体 (京都大学霊長類研究所所蔵) の計 52 個体の踵骨を用いて分析を行った。まず、CT 積層断層像データから踵骨結節部と後距骨関節部の矢状断面と横断面を切り出し、各部位での骨の分布、骨梁の配列について定質的な観察を行った (図 3)。撮影にはマイクロ CT を用い、解像度は 0.020-0.054 mm である。

また、各々の部位における海綿骨容積密度、骨梁数、骨梁径、異方性を、骨梁構造解析ソフトウェア Quant3D を用いて算出した。さらに外殻の皮質骨厚を ImageJ を用いて計測した。これらの計測値と成長段階との関係を示す荷重回帰曲線を求め、骨構造の成長変化を評価した。

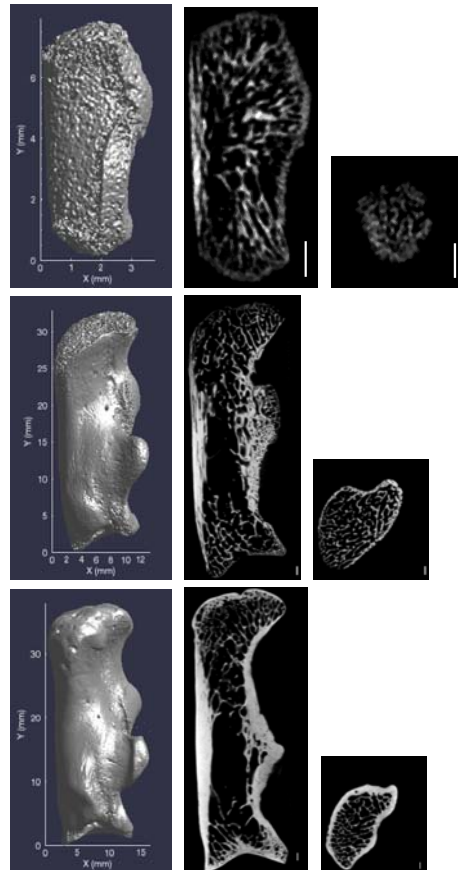


図 3 ニホンザルの踵骨の成長変化。上段-胎児; 中段-後期アカンボウ期 (歩行獲得直後); 下段-成体。左から CT 画像から構築した踵骨外形形状 (内側観)、結節部の中央を通る矢状断面、同横断面を示す。

4. 研究成果

(1) 頭蓋骨の成長変化

図 4 に主成分分析の結果を、主成分得点の散布図として示す。分析の結果、第一主成分 (PC1) のみ各標本の成長段階を表す重心サイズと相関することが明らかとなった。このため重心サイズと第一主成分得点の二亜種の回帰直線の差を検定した結果、両者に有意な差は存在しない、すなわちニホンザル二亜種の胎児期における頭蓋の成長パターンは、基本的には一致していることが明らかとなった (図 5)。胎児期におけるニホンザル二亜種に共通な頭蓋骨成長パターンを図 6 に示す。

他方、第二主成分 (PC2) は二亜種間で有意な差が存在した。ホンダザルに比べヤクザルは狭い眼窩、高いイニオン、長い吻部を持つが、こうした二亜種間に見られる頭蓋骨の形態的差異は、胎児期の比較的早い時期に形成され、それが保持されて成体における頭蓋形態の亜種間差を作っていることが明らかとなった。

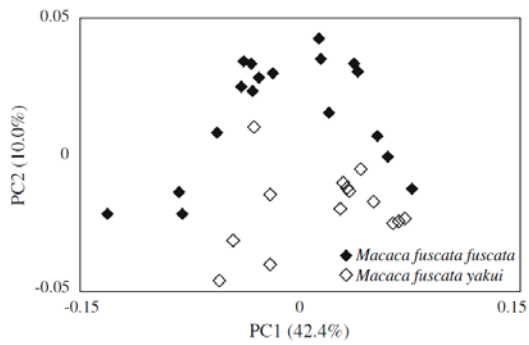


図 4 主成分分析の結果. ◆ホンドザル, ◇ヤクザル.

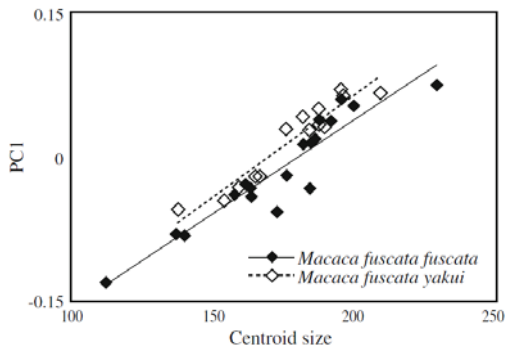


図 5 重心サイズと第一主成分得点の関係. ◆ホンドザル, ◇ヤクザル.

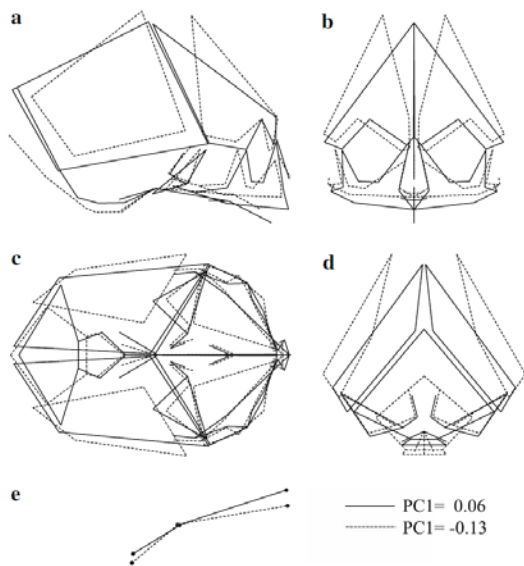


図 6 胎児期におけるニホンザル頭蓋骨の成長変化(a-d). eは頭蓋底角の成長変化を示している.

(2) 身体プロポーションの成長変化

図 7 に、胎児期における肢間示数、橈骨上腕骨示数、脛骨大腿骨示数の成長変化を示す。ここでは各標本の成長段階を示す体サイズの指標として、biparietal diameter を用いた分析の結果、肢間示数は成長とともに減少し、

1 に近づくことが明らかとなった。また、橈骨上腕骨示数と脛骨大腿骨示数は成長とともに増大することを明らかにした。これは、ニホンザルは胎児期において、成長が進むにつれて、前肢より後肢が、上腕より前腕が、大腿より下腿が長くなることを示している。

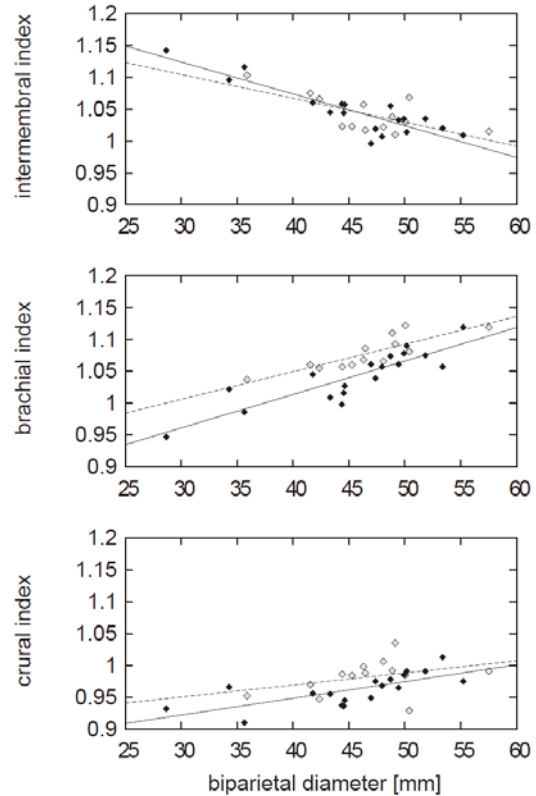


図 7 胎児期における身体プロポーションの成長変化. 上から肢間示数、橈骨上腕骨示数、脛骨大腿骨示数の成長変化を示す. ◆ホンドザル, ◇ヤクザル.

(3) 踵骨骨梁構造の成長変化

図 8 に、胎児期から成体までの踵骨の骨梁構造の成長変化を示す。ここではその一例として骨梁構造の等方性、海綿骨容積密度、皮質骨厚の成長変化を、対数変換した各標本の推定年齢に対してプロットしたものを示している。

本研究から、ニホンザル踵骨の骨梁配列は胎児期に形成が始まり、新生児期までは短い骨梁が異方的に棒状に連続していくことがわかった。また、成体のような骨梁配列の完成は、歩行の獲得の時期(6 ヶ月)とほぼ一致することが明らかとなった。さらに、骨量の変化は骨梁ネットワークの変化よりも長く続き、皮質骨の増加は骨梁径の増加よりも更に後に起きており、骨量の変化は活動レベルの変化や体サイズ、筋サイズの変化と対応していると考えられた。

ニホンザルでみられた骨構造の成長変化の順番は、先行研究の観察例と比較した結果、他の哺乳類のそれとおおよそ一致した。具体

的には、海綿骨容積密度、骨梁数、骨梁径は歩行獲得時までに急激に変化し、骨梁配列の完成時期と歩行獲得時期が近いという共通の傾向があった。骨梁配列はそれが発達する空間があれば、胎児期でも発達する。したがって遺伝的な制御や解剖学的な制約の存在が示唆される。

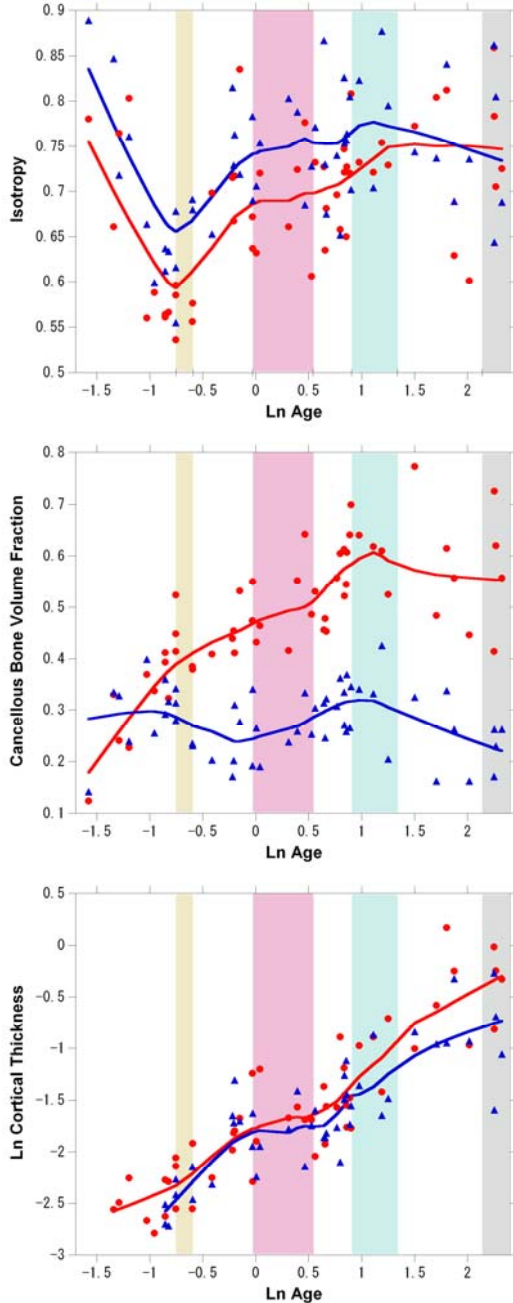


図 8 胎児期から成体までの踵骨構造の成長変化。上から骨梁構造の等方性（異方性の逆数）、海綿骨容積密度、皮質骨厚の成長変化を示す。横軸は対数スケールの年齢。●後距骨関節部、▲結節部。

(4) データベースの構築

得られたニホンザル胎児期の詳細な成長軌跡は、霊長類骨格系の形作りのメカニズム

を探る上で重要な基礎データとなる。そのため本研究で用いたニホンザル胎児標本の CT 画像、それを元に構築した骨格立体モデル、標本の属性データを整理してまとめた 3 次元デジタルアトラス（データベース）を作成し、閲覧可能な状態とした（図 9）。

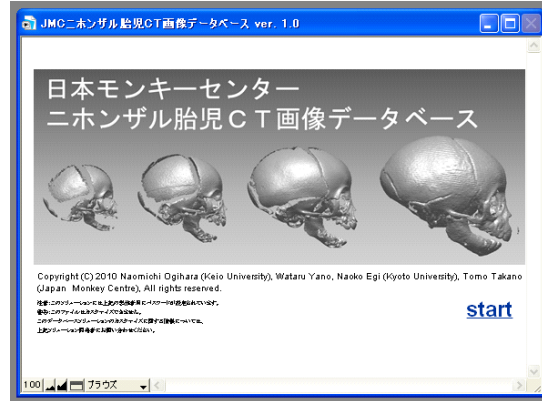


図 9 日本モンキーセンターニホンザル胎児 CT 画像データベースの起動画面。

今後、本研究によってはじめて明らかとなった、ニホンザルの胎児期における成長データを、他の霊長類のそれと対比することをおして、霊長類の形態形成メカニズムの普遍性と多様性を考察していきたいと考えている。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 3 件）

1. Yano, W., Egi, N., Takano, T., Ogihara, N.: Prenatal ontogeny of subspecific variation in the craniofacial morphology of the Japanese macaque (*Macaca fuscata*), *Primates* (2010, in press) 査読有
2. Miura, T., Perlyn, C.A., Kinboshi, M., Ogihara, N., Kobayashi-Miura, M., Morriss-Kay, G.M., Shiota, K.: Mechanism of skull suture maintenance and interdigitation, *Journal of Anatomy*, Vol. 215, pp.642–655, (2009) 査読有
3. Morimoto, N., Ogihara, N., Katayama, K., Shiota, K.: Three-dimensional ontogenetic shape changes in the human cranium during the fetal period, *Journal of Anatomy*, Vol. 212, pp. 627-635, (2008) 査読有

〔学会発表〕（計 11 件）

1. Egi, N., Ogihara, N., Yano, W.: Growth

- change of calcaneal internal structure in Japanese macaques: correlations with locomotor development, 79th Annual Meeting of the American Association of Physical Anthropologists, Albuquerque, USA, (Apr 17, 2010)
2. Egi, N., Nakatsukasa, M., Ogihara, N.: Does internal structure of limb bone articulations correlate with locomotor behavior? observations on the distal humeri of primates and carnivorans, Society of Vertebrate Paleontology 69th Annual Meeting, Bristol, UK, (Sept 23, 2009)
 3. 江木直子, 荻原直道, 矢野 航: ニホンザル踵骨内部構造の成長変化: 運動行動発達との相関, 第 25 回日本霊長類学会大会, 各務原市, (Jul 18, 2009)
 4. 江木直子, 荻原直道, 矢野 航: 骨構造形成と運動行動発達は相関するか? -ニホンザル踵骨内部構造の成長変化の例-, 古生物学会年会, 千葉市, (Jun 26, 2009)
 5. Egi, N., Ogihara, N., Yano, W.: Ontogenetic change of internal structure in macaque calcaneum, 78th Annual Meeting of the American Association of Physical Anthropologists, Chicago, USA, (Apr 2, 2009)
 6. Yano, W., Egi, N., Takano, T., Ogihara, N.: Subspecific variation in prenatal craniofacial growth pattern in the Japanese macaque (*Macaca fuscata*), 78th Annual Meeting of the American Association of Physical Anthropologists, Chicago, USA, (Apr 2, 2009)
 7. Yano, W., Egi, N., Takano, T., Ogihara, N.: Prenatal craniofacial shape changes of two subspecies of the Japanese monkey (*Macaca fuscata*), The 2nd International Symposium of the Global COE project "from Genome to Ecosystem", Kyoto, Japan, (Nov 21, 2008)
 8. 江木直子, 荻原直道, 矢野 航: ニホンザル踵骨内部構造の胎児期から幼児期における成長変化, 第 62 回日本人類学会大会, 名古屋市, (Nov 2, 2008)
 9. 矢野航, 江木直子, 高野智, 荻原直道: 胎児期におけるニホンザル頭蓋形態の 3 次元成長変化, 第 24 回日本霊長類学会大会, 目黒区, (Jul 5, 2008)
 10. Yano, W., Egi, N., Takano, T., Ogihara, N.: Prenatal ontogeny of the craniofacial morphology in two subspecies of the Japanese monkey (*Macaca fuscata*), The 1st International Symposium of the Global COE project "from Genome to Ecosystem", Kyoto, Japan, (Mar 19, 2008)
 11. Egi, N. Internal structure of distal humeral articulation in carnivorans, Society for Integrative and Comparative Biology 2008 Annual Meeting, San Antonio, USA, (Jan 2, 2008)
- [その他]
日本モンキーセンターニホンザル胎児 CT 画像データベース(DVD)
6. 研究組織
 - (1)研究代表者
荻原 直道 (OGIHARA NAOMICHI)
慶應義塾大学・理工学部・専任講師
研究者番号: 70324605
 - (2)研究分担者
江木 直子 (EGI NAOKO)
京都大学・霊長類研究所・助教
研究者番号: 80432334
高野 智 (TAKANO TOMO)
(財)日本モンキーセンター・部局なし・主任学芸員
研究者番号: 90370197
 - (3)連携研究者
該当なし