

平成 21 年 5 月 11 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590180  
 研究課題名（和文） ヒト胎児聴覚器に於ける間葉等の融解に伴う腔形成のマイクロCT による4次元解析  
 研究課題名（英文） Fourth dimensional analysis of the formation of the human fetal tympanic cavity followed by dissolution of mesenchymal cells observed by micro-CT.  
 研究代表者  
 芝田 高志（SHIBATA TAKASHI）  
 東京女子医科大学・医学部・助教  
 研究者番号：70222031

## 研究成果の概要：

成人の中耳は、鼓膜の振動を内耳に伝える耳小骨や神経、血管を除けば空洞(腔)である。ところが、胎児期初期では中胚葉由来の間葉で完全に満たされており、成長と共に間葉が消滅し腔が形成される。従来、この腔は一方的に耳管から内胚葉由来の嚢(袋)が侵入することで形成されると説明されてきた[1-2]。鼓膜が内・中・外胚葉の3層構造を呈するのそのためと考えられている[3]。しかし、本研究では、耳管のみならず鼓膜側からも腔が始め、両者が合流して中耳腔が形成されることを、高解像度のCTにより明らかにした。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,600,000	780,000	3,380,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・解剖学一般(含組織学・発生学)

キーワード：鼓室(中耳) ヒト胎児、間葉、腔(pouch, 嚢) 個体発生、マイクロCT、超高解像度CT、ポリウムレンダリング

## 1. 研究開始当初の背景

胎児期に間葉で満たされている中耳では、耳管からの嚢の侵入により中耳腔が形成され、外耳道栓で閉じている外耳道では外耳孔側から腔ができ、内耳に関しては膜迷路の形成後に膜内骨化により骨迷路が形成されると言われている。しかしながら、

マイクロCT(超高分解能X線断層撮影装置)を用いた申請者の予備的な研究によれば、中耳腔は鼓膜内面からも拡張されており、外耳道は鼓膜面から融解、内耳に関しては膜迷路と骨迷路の両者が成長していることが示唆されていた(図1)[4]。硬組織と軟組織が複雑に混在する聴覚・平

衡器の腔の形態形成を 4 次元的に明らかにするためには、非破壊的なデータ収集が要求される。ところが、医用画像機器の空間分解能では不十分であるため、マイクロ CT ( $\mu$ -CT) を用いた連続断層像の取得が不可欠である。

個体発生の研究に於て、腔の形態形成に着目した例は非常に少ないものの、合目的性の発現にあたり重要な意味を持っており、腔の形態形成を明らかにすることは重要な意義がある。

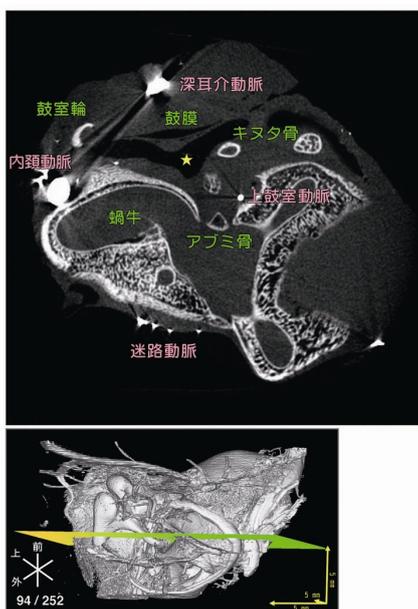


図 1  $\mu$ -CT によるヒト胎児の聴覚器の断層像 [4]。中耳は間葉で満たされているが、鼓膜の鼓室側に腔が観察される (\*)。これは耳管から侵入する腔とは独立しているように示唆された。外耳道栓と鼓膜の外耳道側にも腔が観察される。

## 2. 研究の目的

胎生 10 週頃のヒト胎児の鼓室 (中耳) は間葉で満たされているが、成長と共に内胚葉の第一咽頭嚢由来の嚢 (pouch, saccus) の耳管からの侵入により間葉が融解し鼓室腔が形成、嚢同志が接触した境界領域に粘膜ヒダが形成されると言われてきた [1-2]。一方、我々の予備実験からは、耳管方向の

みならず鼓膜内面からの融解も起きていることが示唆されていた (図 1) [4]。粘膜ヒダは耳小骨の筋、血管、神経などを包む他、感染波及を防止するなどの合目的性を持っており、あるいは真珠腫生成との関連の指摘もあり、解剖学的及び臨床的にも意義深い。従って、本研究では、 $\mu$ -CT による連続断層撮影を行い、立体再構築画像に基づく側頭骨錐体の 4 次元的解析により、この間葉の融解過程 (腔の形態形成) の解明を目的としている。

## 3. 研究の方法

[胎児]: 推定週齢 13 週から 25.5 週のホルマリン固定ヒト死産胎児標本 9 胎を対象とした。

[ $\mu$ -CT]: 理論空間分解能  $72.7 \times 72.7 \times 58 \mu\text{m} \sim 110 \times 110 \times 80 \mu\text{m}$  (標本の直径による) の頭頸部の連続断層撮影を行った。得られた連続断層画像から、目的とする含気部 (鼓室腔と耳管腔) を同定し、その領域のコントラストを明瞭にした。

[立体画像再構築]: ポリウムレンダリングソフトウェア (64 bit 処理対応 VG Studio MAX) およびサーフェスレンダリングソフトウェア (Rhino) 、3D-CAD ソフトウェア (Inventor Professional) 等を用いて立体画像再構築と腔の体積の算出を行った。なお、鼓膜の内側から発生する腔は黄緑色で、耳管より侵入する腔 (口腔、鼻腔、咽頭と耳管、喉頭) は黄色で示した。ポリウムレンダリングに於ける頭蓋骨の閾値と透過度は、腔との関係がわかるように設定した。頭蓋冠と頸椎に関しては、腔の形態の観察を妨げないよう

に画像から除去した。

#### 4. 研究成果

18週胎児の頭蓋底下面(外側面)方向および背側から眺めた立体再構築画像を図2に示す。腔のみ抽出し、形成の様子をまとめたものを図3に示す。

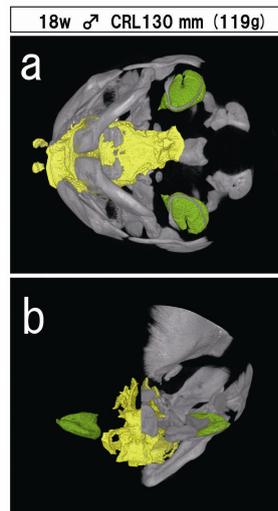


図2  $\mu$ -CTによるヒト胎児の鼓室腔と耳管腔形成の関係。

18週胎児の頭蓋底下面(外側面)方向(a)および背側から眺めた(b)ポリウムレンダリング立体再構築画像。鼓室腔:黄緑。咽頭・鼻腔・口腔・耳管腔:黄色。

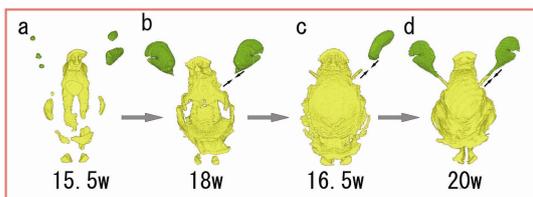


図3  $\mu$ -CTによるヒト胎児の鼓室腔の形成。まず初めに、鼓膜内面に腔ができる(aの黄緑)。次いで、咽頭から耳管に向かって腔ができ始め成長する(b,cの黄色の矢印部)。鼓膜内面から成長し始めた腔が耳管鼓室口から耳管に侵入する(bの黄緑色の矢印部)。最後に耳管内で両者が交通する。

この結果から、

(1) 従来、上咽頭の耳管から嚢が鼓室の間葉に侵入し、鼓室の腔が形成されるとされて来たが、しかし、初めに鼓膜に接した鼓室側に独立した腔が形成され(黄

緑色) 同時期か引続いて耳管咽頭口から鼓室口に向かって腔が形成され(黄色)、耳管鼓室口付近で両者が合流すること。

(2) 頭蓋骨の骨化と異なり、腔化はタイムスケジュールが厳密に定められておらず時間的広がりを持ち、個体差が大きいこと。などが明らかとなった。

推定胎齢に対する左右の鼓室腔の体積の関係を図4に示す。偏差が大きいため1次式(単調増加)で近似したところ、左右とも傾きと切片が類似しており、ほぼ同一の体積を持つことがわかる。

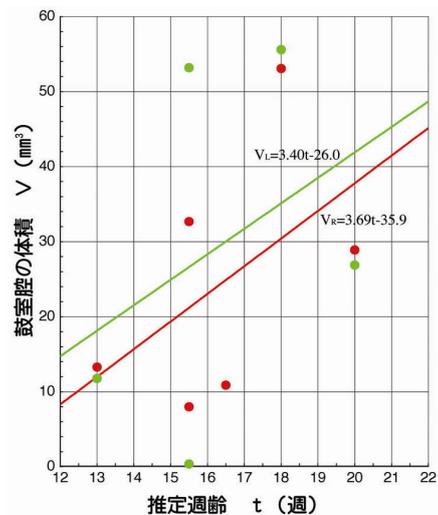


図4 推定胎齢に対する左右の鼓室腔の体積の関係。

左: 緑。右: 赤。

中耳腔の形態形成に関して、Proctor は、「耳管からの内胚葉性上皮組織の能動的な侵入により、受動的な間葉の吸収が生じ形成される」と考えている[2]。逆に、清水は、切片標本の観察から「血管性因子の関与と間葉組織自体の変性により間葉は退縮・吸収

され、結果的に内胚葉性上皮組織の侵入を補助することで形成される」と説明している[5]。

また、安達らはセロイジン連続切片標本による立体画像再構築から「耳管から侵入する腔 (pouch) は、Proctor らの言うように自発的には 4 つの嚢 (Saccus) には分岐せずに、鼓膜張筋腱、鼓索神経、耳小骨や付属の靭帯によって、受動的に分岐する。嚢同志の接触により粘膜ヒダが形成されるのではなく、将来的に接触する部位に事前にヒダが形成される」と報告している[6]。能動的か受動的かは別としても、いずれの報告に於ても、中耳腔の形成は内胚葉性上皮組織の進入と関係があるとされてきたが、本研究では、必ずしもそうではなく、鼓膜の鼓室側に独立した腔が初めに形成されることを示した。

比較解剖学的には、「魚類の浮袋が中耳と密接な関係がある」という指摘もあり[7]、中耳腔の形態形成の解明は大変、興味深く、今後の更なる研究が期待される。

#### 参考文献

[1] St. Kubik: Mittelohr. In Rauber/Kopsch : Anatomie des Menschen Lehrbuch und Atlas Band III Nervensystem Sinnesorgane. Thieme, New York 1987 (pp.581-604).

[2] B. Proctor: The development of the middle ear spaces. In Surgical Anatomy of the Ear and Temporal Bone. Thieme, New York 1989 (pp.66-85).

[3] W.J. Larsen: Development of the ears. In Human Embryology. 3rd eds. Churchill Livingstone, New York 2001 (pp.391-398).

[4] 芝田高志, 松本寿美子, 高山幹子, 石井哲夫, 阿岸鉄三, 永野貞子. 超高分解能

XCT の連続断層像に基づくアブミ骨周辺の血管および間葉軟組織の光造形による立体モデル(第 105 回日本解剖学会全国学術集会) 解剖学雑誌 75 (1) 2000 (79).

[5] 清水佐和道. ヒト胎児中耳腔の発生について 妊娠 16 週より妊娠 36 週の観察標本より . 耳展 30 (2) 1987 (37-56).

[6] 安達裕一郎, 森満 保. コンピュータ三次元再構築法によるヒト鼓室腔の発生特に耳管上陥凹の発生 . 耳鼻 42(補 2) 1996 (778-791).

[7] 大久保 仁. 中耳腔は何処から来たか? In 中耳腔換気の生理学. 総合医学社, 東京 1994 (pp.135-148).

#### 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)

[学会発表](計 2 件)

- 1) 芝田高志. X 線マイクロ CT を用いた骨格発生の解析と今後の計測法の展開(第 114 回日本解剖学会総会・全国学術集会. 解剖学雑誌 84 巻 Supplement p.101, 2009.
- 2) 芝田高志, 松本寿美子, 佐々木 宏. ヒト胎児中耳に於ける間葉の融解に伴う腔形成のマイクロ CT による 4 次元的解析(第 113 回日本解剖学会総会・全国学術集会). 解剖学雑誌 83 巻 Supplement p.233, 2008.

#### 6 . 研究組織

##### (1) 研究代表者

芝田高志 (SHIBATA TAKASHI)  
東京女子医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 70222031

##### (2) 研究分担者

なし

(3)連携研究者  
なし