

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22736

研究課題名（和文）拡散テンソルイメージング法を応用したヒト胎児の胸壁、腹壁、横隔膜の形態形成解析

研究課題名（英文）Analysis of diaphragm morphogenesis in the human fetus using diffusion tensor imaging

研究代表者

金橋 徹（Kanahashi, Toru）

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：90875999

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：ヒト胚子期から胎児期初期における腹壁、横隔膜等といった、体の「隔たり」を構成する部位の形成過程について明らかにするため、ヒト胎児標本35例のT1強調画像（T1W）、拡散テンソル画像（DTI）を用いて形成過程を解析した。画像解析ソフトを用いて、T1Wから作成した三次元再構成像し、形の変化を観察するだけでなく、DTIから作成したTractographyを用いて、内部を構成する筋、膠原線維の走行の描出も検討し、成長に伴う線維走行の変化についても明らかにすることができた。本研究は、ヒト胎児期初期の上記部位の形態形成について新たな知見を加えることで正常な発生プロセスの解明に寄与すると考える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト胚子期から胎児期初期における胸壁や腹壁、横隔膜等の体の「隔たり」を構成する器官の筋線維や膠原線維がどのように発達していくのか、に関して詳細に解明されていない。近年、進歩を遂げている出生前の画像診断分野では、正常なヒト発生についての知見が求められている。当該部位で発生する先天異常（横隔膜ヘルニアや腹壁破裂等）の原因を明らかにするためにも、正常について理解することは重要である。従って、ヒト胎児期初期の横隔膜、腹壁の形態形成の特徴を明らかにした本知見は、正常な発生プロセスの解明に寄与し、さらに胎児診断学への応用や治療技術向上への貢献が期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to analyze the fiber architecture of the developing diaphragm and rectus abdominis in the human fetus. Thirty-five human fetuses were analyzed using T1-weighted imaging (T1W) and diffusion tensor-magnetic resonance imaging (DTI) scans obtained using a 7-T MR system. The diaphragm and rectus abdominis were reconstructed using three-dimensional images based on T1W and DTI fiber tractography. We revealed qualitative changes in the muscular and tendon sites that comprise the diaphragm and rectus abdominis during embryonic and early-fetal periods. This study provides information on normal human diaphragm and rectus abdominis development for fetal medicine and could aid in the understanding of congenital anomalies in the future.

研究分野：胎児・新生児医学

キーワード：ヒト胎児 拡散テンソル画像 腹壁 横隔膜 形態形成

### 1. 研究開始当初の背景

ヒト胚子期や胎児期において、腹側や背側の体表・体壁の発生に異常があると、腹壁破裂や臍帯ヘルニア、横隔膜ヘルニア、総排泄腔外反、二分脊椎等が起こる。上記疾患における胎児超音波診断や新生児に対する外科治療や術式は確立されている一方で、腹壁や横隔膜、神経管等といった、いわば体の「隔たり」を構成する部位における正常な形態形成過程については、胚子期における組織学的な解析が一部あるのみで、特に胎児期以降については、得られる標本の希少性や、標本が大きくなり、構造が複雑になる等の問題から、組織学的解析のみで各器官の形態形成を捉えることが困難になり、未だ十分に解析されていない。

近年、MRI は詳細な立体情報を得るだけでなく、線維の方向により水分子の拡散のしやすさが異なる、拡散異方性を利用した拡散テンソル画像 (Diffusion tensor imaging, DTI) が開発されている。DTI から拡散異方性の程度を定量的に測定し、線維方向を 3 次的に観察することが可能となった。そこで、本研究はヒト胎児標本を用いて、DTI を応用した胸壁や腹壁、横隔膜における筋線維や膠原線維の走行や、膜状構造の形態形成過程を 3 次的に解析することを試みた。

### 2. 研究の目的

T1 強調画像 (T1W)、DTI データを用いて、ヒト胚子期及び胎児期初期における筋線維や膠原線維に着目した、胸壁、腹壁、横隔膜の形態形成過程の特徴を明らかにする。

### 3. 研究の方法

[対象] 京都大学大学院医学研究科附属先天異常標本解析センター保有の Carnegie stage (CS) 16 ~ 23 のヒト胚子 15 例、島根大学医学部解剖学講座保有のヒト胎児 (頭殿長 Crown-rump length [CRL] 34-88mm) 20 例を対象とした。全例において、外見及び内部構造に異常は認められなかった。

[方法] 7-T MR system (BioSpec 70/20 USR, Bruker BioSpin MRI GmbH) を用いて、対象標本の T1W、DTI を取得した。画像データから画像解析ソフト Amira (BioSpec 70/20 USR; Bruker BioSpin MRI GmbH, Ettlingen, Germany) を用いて、腹壁、腹壁、横隔膜を抽出した後、三次元再構成及び Tractography を作成し形態観察を行った。Tractography は DSI Studio (<http://dsistudio.labsolver.org>) を用いて表示し、線維走行について観察を行った。

### 4. 研究成果

腹壁：主に腹直筋と錐体筋に着目して解析を行った。

胎児期初期に該当する 14 体 (CRL 40-88mm) の T1W および DTI 撮像データを用いた。

#### 腹直筋 腱画の検出とその分類

T1W や三次元立体像では腹直筋を確認できたが、腱画らしき構造は検出できず、腹直筋と白線の境界も判断することができなかった。腹直筋下部が上部より厚みがあることを確認できた。Fractional Anisotropy value (FA 値) を元にした Tractography を作成した。FA 値は、プロトンのランダムな運動 (拡散) の形状を表したものであり、0 は等方性、1 に近づくほど異方性が高いことを示す [1]。腹直筋を FA 値で mapping すると、腱画と思われる部分では FA 値が低く、腹直筋の筋腹では FA 値が高かった。DTI 解析によって腱画が検出できたので、これをもとに各個体の腱画の形状と個数を検討した。腹直筋をまっすぐ完全に横断する 型、腹直筋の横断が不完全な 型、型と型に属さない型の 3 つに分類できた (図 1)。

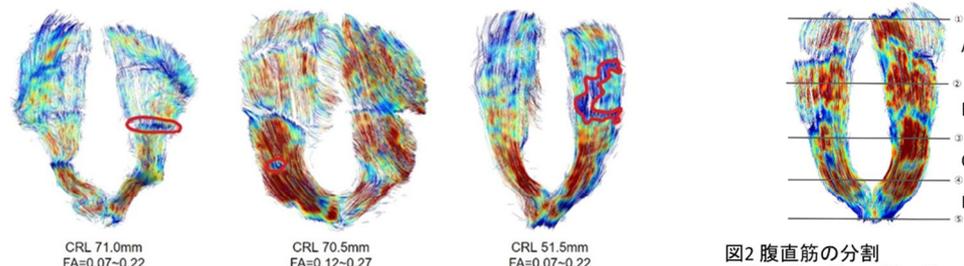


図1. 腱画の形状の分類

左：(頭殿長 71.0mm) 中：(頭殿長 70.5mm) 右：(頭殿長 51.5mm)  
赤線で囲っているのが腱画である。左から順に I、II、III 型の例である。

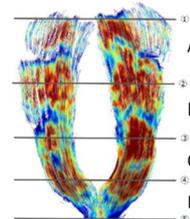


図2 腹直筋の分割

区間A: ①~② 区間B: ②~③  
区間C: ③~④ 区間D: ④~⑤

①腹直筋上端 ②腹直筋上端と臍帯輪上端  
③中間臍帯輪上端 ④臍帯輪下端  
⑤腹直筋下端

腹直筋を A~D の 4 区間に分け、それぞれで腱画の存在を確認し (図 2)、それぞれの領域における腱画の存在割合も算出した (表 1)。腹直筋を完全に横断しきらない不完全な型はすべて領域 C、つまり臍帯輪の高さで見られた。先行研究 [2]においても不完全な腱画は腹直筋下方で見られることが多いとされており、これは今回の結果と一致していた。型は合計で 3 つ存在しており、すべて左腹直筋で見られたものの、異なる領域で見られた。また、全体的にみると腹直筋下部では不完全な腱画の存在や、あるいは腱画が見えない個体がみられた。

表1. 腱画の位置と形状のまとめ

| Sample IDCRL(mm) | 右    |      |      |      |   | 左   |      |      |      |   |   |
|------------------|------|------|------|------|---|-----|------|------|------|---|---|
|                  | A    | B    | C    | D    | 計 | A   | B    | C    | D    | 計 |   |
| F3254            | 45.8 | I    | -    | II   | - | 2   | I    | -    | II   | - | 2 |
| F2224            | 46.0 | I    | I    | I    | - | 3   | I    | I    | I    | - | 3 |
| F2371            | 48.5 | I    | I    | -    | - | 2   | I    | -    | I    | - | 2 |
| F2424            | 48.5 | I    | I    | I    | - | 3   | I    | I    | I    | I | 4 |
| F1485            | 50.0 | I    | I    | II   | I | 4   | I    | I    | III  | - | 3 |
| F2396            | 51.5 | I    | I    | -    | - | 2   | I    | III  | -    | - | 2 |
| 33087            | 58.7 | I    | I    | II   | - | 3   | III  | I    | II   | - | 3 |
| F2983            | 67.3 | I    | I    | I    | I | 4   | I    | I    | II   | I | 4 |
| F2133            | 69.5 | I    | I    | I    | I | 4   | I    | I    | I    | I | 4 |
| F2240            | 70.5 | I    | I    | II   | - | 3   | I    | I    | I    | - | 3 |
| F2248            | 71.0 | I    | -    | I    | - | 2   | I    | -    | I    | - | 2 |
| F2373            | 71.0 | I    | I    | I    | I | 4   | I    | I    | I    | I | 4 |
| 37304            | 87.5 | I    | I    | I    | I | 4   | I    | I    | I    | I | 4 |
| 腱画存在割合(%)        | 100  | 84.6 | 84.6 | 38.5 |   | 100 | 76.9 | 92.3 | 38.5 |   |   |

### 形態計測

腹直筋の形態計測を行い、上部と下部での形態的な違いが腱画の発生発達に関連しているかどうかについて検討した。臍帯輪上端を境界とし、腹直筋の全長と上部、下部それぞれの長さを計測した (図 3)。腹直筋全長は胎児の成長に伴って伸長していくことがわかった。しかし、腹直筋全長に対する上部の比率は、CRL 46-88mm の範囲において、成長により変化しないことが分かったため、腹直筋上部と下部の成長速度は腱画の発生に関連がないと考えられた。

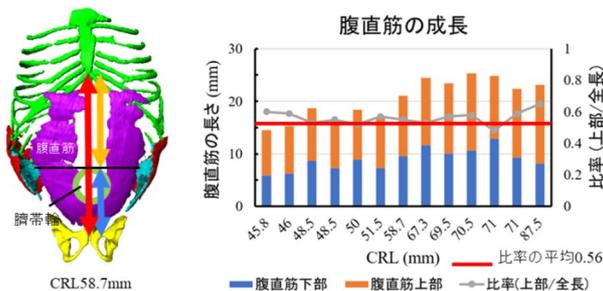


図3. 腹直筋上部と下部での成長度合い

腹直筋上部と下部それぞれの中点で幅と厚みを計測した (図 4)。腹直筋の幅は、胎児の成長に伴って広くなり、すべての個体において上部の方が下部より広いことがわかった。厚みについて、この段階では成長とともに厚みが増すとは考えにくく、個体差であると考えられた。ただしすべての個体において下部の方が上部より厚いことがわかった。

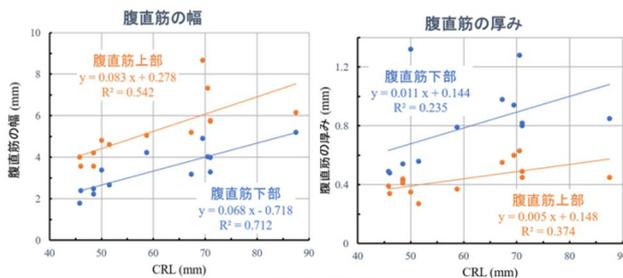


図4. 腹直筋の幅と厚み

表 1 で示した腹直筋の 4 つの領域における腱画の存在割合は、A;100%、B;80.7%、C; 88.4%、D;35.8%であった。この割合と腹直筋下部が上部に比べて厚みがあったことから、厚みがあることで完全な腱画の発生が妨げられているのではないかと考えられた。

### 錐体筋

T1W における錐体筋が見られる場合と見られない場合を図 5 に示す。T1W から明確な錐体筋の存在を確認できた個体は 14 体中 10 体 (71.4%) であった。日本人の成人を対象にした錐体筋の存在割合が 94-95%であるという先行研究 [3]の結果よりも低い結果であった。この存在割合の差は、観察時期や検出方法の違い、また、本検討で用いた MRI の解像度が影響していると思われる。

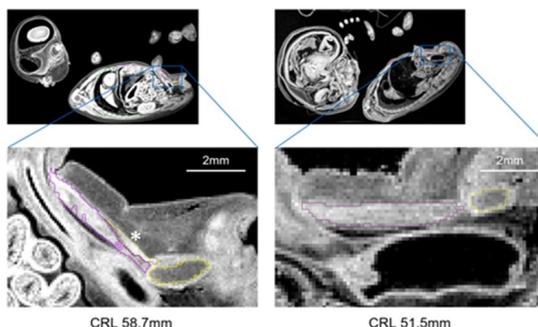


図5. 錐体筋の観察(T1W) 矢状面断面  
左: 錐体筋が検出できる(\*). 右: 錐体筋は検出できない。

### 横隔膜

CS16~23 のヒト胚子 15 例、CRL 34-88mm のヒト胎児 20 例の T1W および DTI データを用いた。

### 胸腹膜管の閉鎖

CS16 では横中隔は観察されたが、胸腹膜は観察されなかった。肝臓の上部にのみ存在する板を横中隔と判断し、横中隔は低信号で、辺縁がやや不明瞭な状態で観察された。T1W および DTI よりも高解像度の位相コントラスト X 線 CT 画像も追加し、CS16-20 における胸腹膜管の閉鎖について観察した (表 2)。CS16 と CS17 の全個体及び、CS18 の 1 体を除く 5 体で左右の

胸腹膜管が観察された。CS18 の 1 体は右側のみ閉鎖していることが確認された。CS19 では、5 体のうち 4 体は両側とも閉鎖していたが、1 体は左側が閉鎖していなかった。CS20 では全個体で左右両方の閉鎖が確認された。CRL や週数に基づいた閉鎖時期が報告されているが [4,5]、我々は今回、CS に基づいた閉鎖時期を新たに提示した。過去の報告において、CRL20mm 付近で多くが閉鎖すると記載されているが、本結果も閉鎖時期が大きく異なることはなかった。

| CS | 頭殿長 (mm) | n | 閉鎖がみられた標本数 (閉鎖率 %) |         |
|----|----------|---|--------------------|---------|
|    |          |   | 左                  | 右       |
| 16 | 8-10     | 5 | 0 (0)              | 0 (0)   |
| 17 | 10-16    | 9 | 0 (0)              | 0 (0)   |
| 18 | 12-18    | 6 | 0 (0)              | 1 (17)  |
| 19 | 13-18    | 5 | 4 (90)             | 5 (100) |
| 20 | 16-19    | 7 | 7 (100)            | 7 (100) |

### 横隔膜の位置変化

脊椎を基準にした横隔膜の相対的な位置の変化を観察した。横隔膜は CS16 (CRL8mm) から CS19 (CRL16mm) の間に急速に下降し、この結果は以前に報告されたものと一致した [6]。CRL34mm 以降は、頭側部は第 6 胸椎付近、尾側部は第 3 腰椎付近に位置しており、胎児期初期の横隔膜は、既に成人とほぼ同じ高さに位置することがわかった (図 6)。また、CRL16mm から CRL70mm までは右側が左側より頭側にある傾向がみられた。

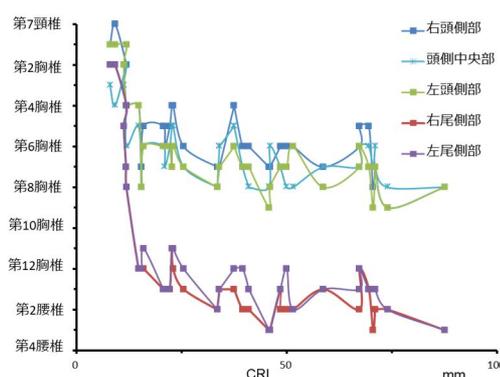


図6. 脊椎を基準にした横隔膜の位置の推移

### 横隔膜の厚みの変化

Amira を用いて、横隔膜の厚みの変化を評価した。横隔膜の厚さは CS16 (CRL8mm) から CRL41mm までほぼ一様 (0.15-0.2mm) であった。CRL46mm から食道裂孔付近で増加し始め、この肥厚は大動脈裂孔付近へと広がっていた (図 7)。その他の腰椎部、肋骨部は CRL50mm 以降、胸骨部は CRL71mm 以降に厚みを増した。内側中央部、左右の横隔膜ドーム部分の厚さは成長とともに増加しなかった。この厚みが増加しない中央部の形態は、成人の腱中心と類似していた。

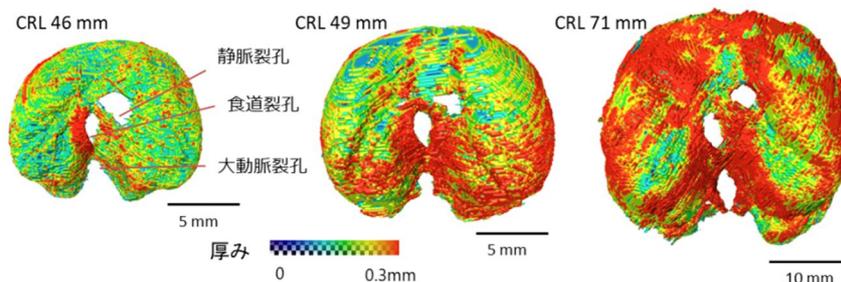


図7. 横隔膜 厚みの変化

### Tractography

CS16 では繊維走行は不明瞭であり、FA 値が全体的に低かった (FA: 0.05-0.08)。Tractography では横中隔、食道間膜、胸腹膜の境界を識別できなかった。腰椎部では、CS19 以降、食道裂孔を囲む左脚、右脚からの線維走行が観察された (図 8)。右脚左脚からの線維走行パターンが 3 種類あることを確認したが、成人を対象とした肉眼解剖でも複数の線維走行パターンがあることが報告されている [7,8]。今回観察された 3 つのパターンは全て過去に報告されたものと同一であった。最も多くの個体で観察された Type1 は、成人でも最もよく見られるパターンであると言われているが、我々の結果と過去の報告では、その割合に違いがみられた。この違いは、サンプル数や評価方法の違いだけでなく、観察対象が成人と胎児で異なること

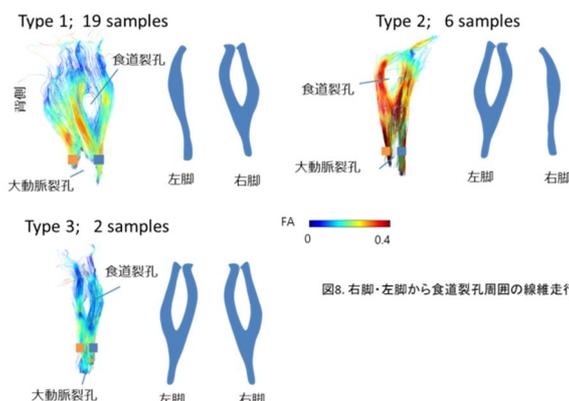


図8. 右脚・左脚から食道裂孔周囲の線維走行

が影響していると考えられる。

食道裂孔から動脈裂孔周囲における肥厚した部位では、他の部位より FA 値が高かった (FA:0.4)。CRL46mm 以降では、その他の肥厚部 (腰椎部、肋骨部、胸骨部) の線維走行も、成長に伴い明瞭に観察され、他の部位よりも相対的に FA 値が高くなる傾向があった。しかし、厚みが増していない中央部や左右のドーム部では、FA 値が低く、繊維数も少なく、繊維の向きに個体差が見られた (図 9)。

腰椎部、肋骨部、胸骨部は解剖学的に筋性部とされており [9]、また、CRL18mm から筋芽細胞が確認され、筋線維が発達する部位であることが知られている [4]。FA 値と厚みの増加は筋線維の発達と関連していることが示唆されるが、この関係を明らかにするためには、さらなる検討が必要である。Wells (1954) [4]は、CRL 31 mm に primitive な腱中心が形成され、CRL 67 mm までに明確な構造を持つようになることを述べている。本検討結果から、腱の発達が Tractography に反映されるまでに若干のタイムラグがあるかもしれないが、CRL88mm までの腱中心と腰椎部、肋骨部、胸骨部の連続的な形成過程の変化を明らかにすることができた。また、胎児期初期の横隔膜の構造は成長が進むにつれて、成人の横隔膜と似た構造に近づくことが示された。

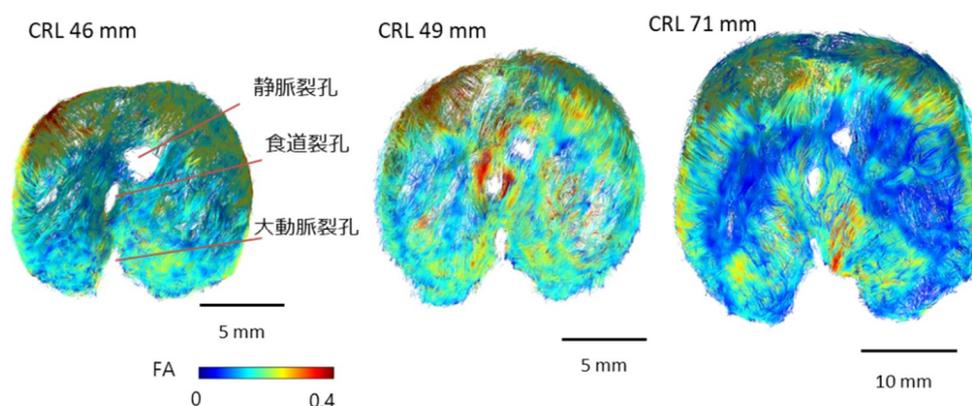


図9. 横隔膜 Tractography

#### 参考文献

1. Basser, P.J. & Pierpaoli, C. (1996) Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson B*, 111, 209-219.
2. 高石敏. (1957) 日本人の腹直筋および上・下腹壁動脈について. *日医大誌*. 24(10), 29(711)-56(738)
3. Mori M. (1964) STATISTICS ON THE MUSCULATURE OF THE JAPANESE. *Okajimas Folia Anat Jpn*, 40, 195-300
4. Wells, L.J. (1954) Development of the human diaphragm and pleural sacs. *Contribut Embryol*, 236, 109-134.
5. Botha, G.S. (1959) Organogenesis and growth of the gastroesophageal region in man. *Anat Rec*, 133, 219-239.
6. Müller, F. & O'Rahilly, R. (1986) Somitic-vertebral correlation and vertebral levels in the human embryo. *Am J Anat*, 177, 3-19.
7. Collis, J.L., Kelly, T.D. & Wiley, A.M. (1954) Anatomy of the crura of the diaphragm and the surgery of hiatus hernia. *Thorax*, 9, 175-189
8. Costa, M.M. & Pires-Neto, M.A. (2004) Anatomical investigation of the esophageal and aortic hiatuses: physiologic, clinical and surgical considerations. *Anat Sci Int*, 79, 21-31.
9. Drake, R., Wayne, V.A. & Adam, W.M.M. (2016) Gray's anatomy for students. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, p. 161-167.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

|   |                  |
|---|------------------|
| 1. 著者名<br>Yosuke Kumano, Sayaka Tanaka, Rino Sakamoto, Toru Kanahashi, Hirohiko Imai, Akio Yoneyama, Shigehito Yamada, Tetsuya Takakuwa | 4. 巻<br>in press |
| 2. 論文標題<br>Upper arm posture during human embryonic and fetal development   | 5. 発行年<br>2021年  |
| 3. 雑誌名<br>The Anatomical Record   | 6. 最初と最後の頁<br>-  |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1002/ar.24796   | 査読の有無<br>有       |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-        |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>金橋 徹、今井宏彦、大谷浩、高桑徹也               |
| 2. 発表標題<br>拡散テンソルイメージングを応用したヒト胎児の横隔膜形成過程の解析 |
| 3. 学会等名<br>第61回日本先天異常学会学術集会                 |
| 4. 発表年<br>2021年                             |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>金橋 徹、今井宏彦、大谷浩、山田重人、高桑徹也                      |
| 2. 発表標題<br>拡散テンソルイメージングを応用したヒト胚子期末から胎児期初期における横隔膜形成過程の解析 |
| 3. 学会等名<br>第127回日本解剖学会総会・全国学術集会                         |
| 4. 発表年<br>2022年   |

|                                       |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>岩佐結生、金橋徹、今井宏彦、大谷浩、高桑徹也     |
| 2. 発表標題<br>MRIを用いたヒト胎児の腹直筋・錐体筋形成過程の解析 |
| 3. 学会等名<br>第127回日本解剖学会総会・全国学術集会       |
| 4. 発表年<br>2022年                       |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|  | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|