論 説

内耳のコンピュータ三次元再構築

—その形態と計測について—

高 木 明

Computer-aided 3-D Reconstruction of the Inner Ear and Its Measurement

Akira Takagi
(Kyoto University)

The advantages of the computer-aided three-dimensional (3-D) reconstruction of the inner ear structures are as follows,

- 1) 3-D visualization of the shapes of those structures from histologic sections,
- 2) ability to measure the fine structures of the inner ear from 3-D images.

To study the inner ear structures, it is necessary to make histological sections for examination under the microscope. Such processing, however, destroys the spatial relationships of inner ear structures that are very important for the evaluation of inner ear function. Furthermore, the quantitative measurement of those structures is not possible from histological sections because the appearance of the two dimensional structures in those sections varies considerably according to cutting angle. The computer-aided 3-D reconstruction method is necessary for the quantitative studies of the temporal bone.

In this paper, the necessity of this method is discussed, and the technique of 3-D reconstruction is described. Some representative examples are presented, and the problems and prospects are discussed.

Key words: computer-aided 3-D reconstruction, temporal bone histopathology, measurement

はじめに

近年、形態の立体構造解析の分野においてコンピュータによる三次元再構築法の利用が散見されるようになってきたが、このめざす所が必ずしも明確にはされていないように思われる。コンピュータという言葉が即、新しい仕事、という意味合いでなくなってきた現在、この分野

での必要欠くべからざる道具として位置付けを考えてみたい。本稿では内耳形態学へのコンピュータの応用に的を絞って述べ、具体例を二、三示したい。なお、これらの研究はPittsburgh大学耳鼻咽喉科の側頭骨病理研究室（山藤 勇教授主宰）にて、同研究室の側頭骨標本を用いて行なわれた。

コンピュータ利用の目的について

コンピュータ・グラフィックスの形態学への応用の利点として大きく次の2点を挙げることができる。

①通常的手段では捉えがたい立体的構造をイメージ化できること、

②通常的手段では困難である定量的計測が可能になること。

①に関しては、さらに構造物を通常不可能な視点から捉えることができる、とか教育上有用である、とかの付随するメリットを追加して挙げることができる。別の観点からさらに言及すれば次のようなことも言える。ある形態の正確なイメージを得るという事は、我々の優れたパターン認識力を持ってして、その構造物に対する「機能」に関して様々な類推を働かす事ができ、新たな評価を加えることが可能になる、という漠然としているが、極めて重要なメリットがある。イメージの質も現在では質感まで考慮されたりリアルなサーフェスモデルまでパソコンレベルで可能となり、処理時間を問題にしなければほぼ満足のいく像が得られるようになっていく。

②に関しては補足を要する。まず、二次元切片標本は大抵の場合計測に供せられるべきものでなく、計測を目的とする場合、三次元再構築が不可欠であることの説明をしたい。例えば図1に示すような立方体の直交するA、Bの面を想定した場合、この両平面のなす角度は上面に平行な面で切られる限り直角であるが、もし、45度斜めに切れたとするとその角度は60度となる。長さの計測に関しても同様のことが言える。このことは、立体構造物の計測に関して、この構造物がどう切られたかの情報を得ないかぎり、その切片である二次元平面上の計測は無意味であることを示している。このcuttingの方向を知るには一旦、これらの切片を連続的に三次元再構築してみるより他にない。そして、目的とする構造物に対し、どう切られたかを吟味のうえ、計測すべきである。身近な例では、斜めに切れ

たソーセージの断面からだけでは、決して本来の太さ、あるいは、形状がわからないのと同様である。しかしながら、これに類する誤りは側頭骨病理（形態学）の分野にとどまらず、CT検査に代表されるような断層写真の評価の際にも結構散見される。実際問題として、生体では、複数の構造物に対して同時に計測しやすい角度で切られるということは有り得ないので、結局、コンピュータで三次元再構築したものをコンピュータの絵のなかで三次元的に測定する他ない。

ところが、計測に関しては、一般にコンピュータを用いれば、即、定量的な仕事ができる様に考えられがちであるが、コンピュータのイメージを用いての任意の計測は後に述べるようにソフトウェアで工夫するとはいえ、実際の所、さほどたやすくはない。それはコンピュータの三次元イメージが実際はモニター上に投影された二次元像に過ぎないからである。将来、三次元投影装置および三次元指示装置が一般に使用可能になれば真にその計測が容易なものとなるであろうが、現時点では、まだ非常に限られた分野での研究室レベルでの装置としてしか存在しないようである。それ故、①で得られるリアルな像を即、計測に結びつけることが難しい。むしろ計測のためには、ワイヤーフレームモデルのほうが情報の減少が少ない分有利と思われる。加えて、ここではハードウェア上の制限、および入力簡易化、および演算時間の短縮のため

図1 直交する平面を斜め45°に切るとその断面でのなす角度は60°となる。

ワイヤーフレームモデルで解析がなされている。

側頭骨病理(内耳形態学)の特殊性について

耳(特に内耳)の形態を論じる時、古くより、側頭骨の薄切連続標本をもってなされることが多い。その理由として内耳の感覚器は側頭骨という硬い骨に包埋され、かつ、その観察には顕微鏡を要するほどに小さく、脆弱であるということが挙げられる。これらの理由から、固定、脱灰、包埋、薄切、染色といった手段を経て、透過光のもとで光学的に拡大され、観察に供せられる。そして、多くの知見がこの方法で先人達によってもたらされてきた。ところが、この方法には、一つの欠点がある。内耳の各器官の空間的配置あるいは相互関係を把握し難くなるということである。内耳は三次元平面を代表するかの様な三つの半規管をはじめ、蝸牛にみられる精妙な空間的な螺旋等から成り立っている。前庭器においては、その空間的配置が即、機能と結びついている。今日まで、これらの空間的計測がほとんどなされていない理由はとりもなおさず光学的拡大(薄切が必要)と三次元計測という要請が両立しないためである。窮余の策として、例えば Corvera ら¹⁾が行なった様に、切片の光学的拡大を元に、人間の手の及ぶ大きさの三次元的模型を再構築し、改めて、分度器なりスケールをそこにあてるという方法もとられている。大変な労力である。又、例えば、蝸牛の長さに関して言えば、その螺旋板をいくつかの小部分に切りだし、その小部分を平面と見做して、顕微鏡下でマイクロメーターを用いてそれぞれを計測し、その合計で長さを求めるという手段がとられたりする。これも又、大変な労力であると共に、その破壊的作業中、常に、微小組織片の逸失といった危惧がつきまとう。結局、これらの方法は到底、普遍化できるものではなかった。ここにコンピュータを用いることによって、新たな方法が可能となる。つまり、従来の組織切片標本を生かしつつ、その上で、比較的容易に三次元的な形態の把握及び計測も行なえるようになった。

標本作成に関する留意点

採取側頭骨に対し、固定、脱灰、セロイジン包埋までの作業は全く従来と同じである。三次元構築では、第三の軸(Z軸)に対する情報がX、Y軸の平面情報と等しく重要であるので、正確な厚みの情報と各切片の上下の切片に対する位置決めのための情報が必要である。前者に対しては、切片作成者の正確な厚みに関する記録付け等が必要となる。つまり、厚さを標本の状況に応じて変更したときは、それを記録し、又、不良な切片に対しても決して、それを破棄しないことなどである。また、日を替えて、引きつづき同一標本を cutting する際、cutting table への標本の置き方が微妙に違うことがあるので、細心の注意が必要である。できれば、同一日に一気に sectioning を行なった方がよい。後者の各切片の位置決めに関してはいわゆる reference line を cutting の前のブロック標本に入れることによって解決される(図2)。今の所、この line は、側頭骨部に隣接するセロイジン部分にマジックインキと注射針とで付けられている。これらの line は、それぞれ cutting 面に垂直である事が肝要である。切片標本内の reference point を図3に示す。この方法は不用意に側頭骨内の重要な部分に損傷を与えないというメリットはあるものの、reference point の見易さ及び安定性という点から言えば、適切な器

図2 側頭骨セロイジンブロックにマジックマーカーインキで reference line を割面に垂直、かつ互いに平行につける。

械がそろえば、辺縁の骨の部分に reference line (hole) を作成する方が良いと思われる。これらの2つ以上の reference points を参考に、各切片相互間の位置決めがなされる。この作業を行なう上で、標本に、シワ或いは裂目等があることは、致命的であるので、cutting あるいは mounting の際には、細心の注意が要求される。これらのトラブルを避けるため切片の厚さを通常の標本よりやや厚めに25ミクロンから30ミクロン程度とすることもある。

コンピュータの入力に関して

ここではコンピュータとして NEC のパーソナルコンピュータ 98-XL² (XA) [数値演算プロセッサ付き]を用い、display monitor は1120×750 pixels の高解像度のものをもちいた。計測には必要な各ポイントをモニター上の図を参考にしながらもとめるので、精度の上から、高解像度のものがよい。なお、ここに用いたソフトウ

図3 完成した薄切標本の reference point を示す。

図4 装置概観。右方にデジタイザー、プロッターを置く。

ェアは著者が内耳の定量的計測を目的として開発したものをを用いた。装置の概観を図4に示す。

昨今のコンピュータ及びその周辺機器の状況からすれば、直接にビデオカメラからの標本の入力が可能ではあるが、残念ながら、情報の自動的な取捨選択あるいはパターン認識といった機能は、未だ、我々の扱う病理組織標本に関しては、できないに等しいので、必要な情報のみを人間が判断して、入力してやったほうがメモリーの消費も少なく効率的かつ正確であるように思われる。この際、ビデオのモニター上でトレースするという方法もあるが上下の標本の位置決めということを考慮すると、画用紙なりにスケッチした方が融通がきく。組織標本のスケッチのためには、標本のガラススライドを直接、35 mm スライドプロジェクターで投影拡大し、必要な部分を reference point と共に画用紙上にスケッチするのが实际的と思われる。コンピュータ用のデータはこれらの画用紙の reference point を用いて、予め機械的に入力しやすいように上下関係を揃えたうえで、一枚ずつデジタイザー上で、その必要な部分のみをトレースすることによって入力される。この際、標本の厚みも同時に入力する。

コンピュータでの処理

コンピュータは入力された三次元データをもとに、数学的に、回転、拡大縮小、移動等の演算処理を行い、二次元である TV モニターの画面上に透視法（遠近法）でその像を三次元的に再構築する。従って、ここでの像の現われ方は画角（カメラのレンズの mm 数に対応する）あるいは視点の位置等によっても異なる。計測のためには、この二次元像を参考にしながら、目的とする空間のある一点が digitizer のカーソルによって指示される必要がある。カーソルはデジタイザーの平面を X-Y 平面と想定して動くので、X-Y 平面上の動きは容易であるが、Z 方向に関しては、ボタンによる面の深さの切り替えということとで達成される。このカーソルも当然、透視法の原則に従って動きが規定されるが、

実際問題として、どの深さの面を動いているか、画面上に示される必要がある。このプログラムでは、カーソルが動いている平面上の図形部分が濃い赤で示されることによって、カーソルのアクセス可能部分が示されると同時に、カーソルの深さがモニター上で数字で表示される(図5)。場合によっては、複数の方向から図形を観察したのち、初めて目的とする点が指示可能となることもある。もちろん x, y, z の座標値を見ながらの図形部分以外の任意の点のアクセスも可能である。何れにせよ、このような操作で、モニター上の像を参考にしながら、空間の任意の点が指示できれば、距離、角度(線対線分、線対平面、平面对平面)が数学的に空間の中で計算される。表面積(曲面)に関しても、適切にその辺縁の点さえとれば、近似値を求め得る。体積に関してはやや手法が異なるものの容易に求められる。次にいくつか例を示す。

具体例

＜例1＞ 左耳の蝸牛および前庭系の耳骨包、顔面神経、内頸動脈を外側よりみる(図6)。顔面神経の側頭骨内走行の初学者への説明はなかなか難しいが、この図を例えば図7の様に上

図5 蝸牛の長さを蝸牛回転頂部より計測中の図を示す。緑が基底膜を示し、同時に柱細胞の結合部もプロットしてある。白線はそれらを順に結びながら計測を進めていることを示す。ここまでの白線の長さは7.51 mmと示されている。また、一部基底膜部分が赤で描かれているが、これら赤色の部分は同一平面上にあり、かつ、カーソルはこの平面と同じ面上にあることを示す。

方より見た図と比較することによって理解がかなり容易となる。

＜例2＞ 蝸牛に関する一連の図を示す。蝸牛殻を上方より見る(図8)。螺旋の大きさと高さの関係が容易に把握できる。次に、基底膜部

図6 左耳の内耳骨包、顔面神経(黄)、内頸動脈(赤)を外側より見る。顔面神経と水平半規管、蝸牛との関連がよく判る。

図7 図6と同じ標本を上方より見る。顔面神経膝部の形状が理解し易い。

図8 右蝸牛殻を上方より見る。桃色部は正円窓膜である。

のみを描出し、前方より見る(図9). hook portion のカーブの理解が容易である. さらに、これら蝸牛殻、基板を合成し、蝸牛軸方向に基底回転側より見る(図10). これらの図より蝸牛の立体構造が容易に把握でき、特に hook portion の形状が従来の二次元的な Schuknecht の蝸牛の Graphic Reconstruction²⁾ 法によるものとかなり異なることが理解できる(図11). 参考までに実際のヒトの削開側頭骨標本で hook portion の形状を図12に示す. 鉤部が決して下向きでないことはコンピュータの図に示されるのと同様である.

蝸牛の長さの計測は図5の白線に示されるよ

図9 右耳蝸牛基底膜部を前方より見る. 鉤部の屈曲の仕方がよく判る.

図10 図8と図9を合成したものを蝸牛の基底回転側より見る.

うに深さの異なる切片の基底膜上の内外柱細胞の結合部を順にプロットしていくことによってなされる. コンピュータによる測定値と Schuknecht の方法による測定値との差を図11左に示した. それぞれ, 36.7 mm と 30.8 mm でかなりの差を認めるが, この差は主として Schuknecht の方法では標本の cutting angle のずれを修正できない事による³⁾.

<例3> 図13に上方より見た前庭, 半規管を示す. 前半規管がねじれていること, 水平半規管が他の半規管に比べ, やや小さいことがよく判る. また, 同時に卵形囊斑及び球形囊斑の前庭における位置を示した. これを方向を変え

図11 上段に Schuknecht の Graphic Reconstruction 法による図を示し、下段にコンピュータによる蝸牛のいわゆる正面像, 側面像を示す. 上段の図にはかなりの歪みがあることが判る. 図中, 左に両者の方法による蝸牛の長さを示した. 16%の誤差がある.

図12 ヒト側頭骨削開標本での実際の蝸牛鉤部の向きを示す. 蝸牛軸に対して下向きになることはない.

て前方外側から見ると (図14), それぞれ elliptical recess, spherical recess との関連を含めて, その相互関係がよく把握できる。

次に, これらの平衡斑のなす角度を計測してみる。図15に実際にこの三次元再構築に供した切片標本を示す。一見この標本から直接, 二つの平衡斑のなす角度を計れそうであるが, 先に図1で説明したように, それは必ずしも両者の面のなす真の角度を示す訳ではないので, 改めて2つの平衡斑のみ三次元的にコンピュータに描かせた図を用いて計測することとなる (図16)。それぞれの平衡斑上にその平面を代表するように三点を取って, 面を定義し両者の面のなす角度を数学的にコンピュータに求めさせ

る。この例においては垂直よりもかなり小さく 68.2° であった⁴⁾。

このようにコンピュータを用いることによって今まで把握できなかったような形態のイメージを容易に得ることができ, また, およそ形態学に必要なパラメータは比較的容易に求めることができるようになった。

今後の課題および展望

コンピュータを利用した三次元再構築法による形態解析において標本取り扱いに関し重要な点は,

- ①ひずみのない質のよい薄切標本を得ること
- ②切片の厚みが正確であること
- ③上下の切片の重ね合わせが正確であること

図13 右耳前庭系を上方より見る。前庭内に赤で卵形囊斑, 緑で球形囊斑を示す。この方向からは卵形囊斑を上面より見ることとなり, 前方から後方へ向かうその概観がよく判る。

図15 再構築に用いた実際の組織切片標本を示す。
Sm: Saccular macula, Um: Utricular macula

図14 図13の像を回転し, 前外側方向より見る。卵形囊斑の主たる平面が外側半規管と平行な面にあることが判る。球形囊斑がそれに対し, ほぼ垂直に近い形で球形窩にあることがよく判る。

図16 卵形囊斑(赤), 球形囊斑(緑)のそれぞれにその面を代表するように3点を取り, 面を定義の上, それらの面のなす角度を求めた。これらの様子を2つの異なる方向から示した。

の三点である。

側頭骨病理標本に関して言えば、その包埋材料としてセロイジンが用いられることが多く、これは大型切片標本には優れた包埋材料であるが、安定したアーティファクトのない良質な切片を得るのは必ずしも容易ではない。三次元再構築のためには、従前のように、数枚に一枚良質の切片がえられればよいというのではなく、全ての標本が、均質に良好でなければならない。切片の断裂あるいはシワを避けるために標本の厚みを増すことも考えられるが、このことは本来の細胞レベルでの病理学的観察を困難にする。新たな包埋材料の検討及び cutting 技術の見直しも考慮されるべきであろう。

次に、標本の上下の重ね合わせの問題に関しては、標本の大きさに応じて、ともかく reference line を付ければ解決できるのであるが意外に苦勞する。例えば、側頭骨内にドリリングをする際、ドリルが細すぎると刺入が途中で彎曲したりするし、また太すぎると重要組織の損傷の怖れも考えなければならない。細胞レベルに近い構造物の再構築をめざす際には新たなマーキング法の開発が必要と思われる。ただ、現時点では、このマーキング (reference line) の問題より、①のいかに歪みのない標本を得るか、ということの方が先決問題であろうという気がしている。というのも、質のよい連続切片では、複数の構造物に着目して切片の上下関係を合わせれば、必ずしも reference points に頼らずとも、まずうまく重ね合わせが可能であるからである。

上記の三条件を満たしたとしても、次に常に問題にされるのがコンピュータへの入力方法に関してである。現在のところ、よほどコントラストのはっきりした構造物でない限り、ビデオ入力による情報の取捨選択は不可能なので、最終的には用手法を除くことができない。これは生物標本を扱うかぎり将来的にも完全な自動入

力になることは難しいと思われる。面倒といえば面倒な作業であるが代替手段がないので止むを得ない。ちなみに現在、CT 画像からの三次元再構築が容易にできるようになってきたが、高分解能 CT と呼ばれるものの分解能は 0.5 mm 前後であって内耳への応用はその骨包にかぎったとしても未だ粗すぎて不十分である。また、軟部組織に適すると考えられる MRI においては目下 CT ほどの分解能は得られない。内耳のような微小組織の立体構造解析に関しては当分、本稿のような手段を取らざるをえない、と思われる。

コンピュータによる三次元再構築法は人間の意外に貧弱な空間認知力、あるいは、空間構成力を補ってくれるものであり、加えて、人間の得意とするパターン認識力に働きかけてくれるものである。コンピュータの益々の発展とともに今後さらに活用されるべき手法と思われる。

参考文献

- 1) Corvera J, Hallpike CS and Schuster EHJ : A new method for the anatomical reconstruction of the human macular planes. *Acta Otolaryngol* **49** : 4~16, 1958.
- 2) Schuknecht HF : Technique for study of cochlear function and pathology in experimental animals. *Arch Otolaryngol* **58** : 377~397, 1953.
- 3) Takagi A and Sando I : Computer-aided three-dimensional reconstruction; a method of measuring temporal bone structures including the length of the cochlea. *Ann Otol Laryngol* **98** : 515~522, 1989.
- 4) Takagi A and Sando I : Computer-aided three-dimensional reconstruction and measurement of the vestibular end-organs. *Otolaryngol Head Neck Surg* **98** : 195~202, 1988.

(別刷請求先: 高木 明
〒606 京都市左京区聖護院川原町54
京都大学医学部耳鼻咽喉科学教室)