原 著

ヒト球形嚢斑形態の3次元計測 (第1報)

長沼 英明¹⁾・Robert I Kohut²⁾・Jai H Ryu²⁾・岡本 牧人¹⁾徳増 厚二¹⁾・藤野 明人¹⁾・星野 功¹⁾

Three-Dimensional Measurement of the Human Saccular Macula

Hideaki Naganuma¹⁾, Robert I Kohut²⁾, Jai H Ryu²⁾, Makito Okamoto¹⁾,
Koji Tokumasu¹⁾, Akito Fujino¹⁾, Isao Hoshino¹⁾¹⁾ *Department of Otorhinolaryngology, Kitasato University School of Medicine*²⁾ *Department of Otolaryngology, Wake Forest University School of Medicine,
Medical Center Boulevard, Winston Salem, USA*

Morphological aspects of the vestibular end-organs, especially the otolith organs should be considered three-dimensionally when the functions of these organs are discussed. In this study, the saccular maculae and the other parts of the vestibular end-organs, from serial sections of human temporal bone which was sectioned horizontally at a thickness of 20 μm , were reconstructed three-dimensionally using a computer with 3-D software (Ashlar Vellum 3D). Every fifth section was stained with hematoxylin and eosin from the level of the lateral semicircular canal ampulla to the posterior semicircular canal ampulla, while every tenth section was stained in the other portion. When the saccular maculae were presented in temporal bone sections, coordinating markers were placed every 100 μm , and triangles were drawn using those markers on the surface of the saccular maculae. A total of five hundred and twenty-two triangles were constructed on the entire surface area of the saccular maculae. Using data from measurement of those triangles, the equations of each plane of the triangle and the angles between each triangle and each standard plane (the sagittal, horizontal and frontal planes) in the stereotaxic coordinate system were developed and calculations solved. The median, maximums and minimums of the angle were (27.2° , 66.5° , 1°), (71.5° , 89.9° , 33.9°) and (76.2° , 89.9° , 46.9°), respectively. The above results were based on the measurements of one temporal bone specimen. There are probably some variations among temporal bones, and we plan to reconfirm the above findings using at least three additional temporal bone specimens in the future.

This study is supported in part by NIH/NIDCD Grant DC00589 and the Japan Foundation for Aging and Health.

Key words: vestibular endo-organ, otolith organ, three dimensional measurement

¹⁾ 北里大学医学部耳鼻咽喉科学教室

²⁾ ウェークフォレスト大学医学部耳鼻咽喉科学教室

はじめに

内耳前庭器には頭部の位置や頭部に加わる直線加速度を感じる二対の耳石器がある。その中で耳石器の平衡斑は大きく分けて耳石膜、有毛細胞、支持細胞、神経終末より構成されている。耳石膜は比重 2.71 (Carlstrom, 1953)¹⁾ の炭酸カルシウム結晶を含むため、周囲の内リンパの比重 1.003 より重く、重力や直線加速度によって有毛細胞の上を移動し、これが耳石器への刺激となる。したがって耳石器への有効な刺激は平衡斑に対して、接線方向の力²⁾³⁾ であると考えられている。

一方、耳石器の機能検査は同じ内耳前庭器である半規管の機能検査に比べると臨床的に行われていないのは、耳石器への刺激方法が広く一般に確立していないことが理由の 1 つであると考えられ、その原因として耳石器平衡斑の頭蓋内での方向と 3 次元形態の十分な計測がなされていないことがあげられる。

そこで本研究では、耳石器機能検査の確立へ向けての足がかりとしてヒト耳石器球形囊斑の 3 次元形態を計測し、頭蓋内での方向性を検討した。

対 象

米国ノースカロライナ州 Wake Forest University School of Medicine 耳鼻咽喉科、側頭骨研究室によって採取された、耳に奇形の認めないヒト側頭骨 1 耳(左耳)を使用した。

方 法

従来から行われている一般的な方法を用いて水平方向に厚さ 20 μm のセロイジン連続切片を作製した。耳石器の存在する部分は 5 切片に 1 切片、その他の部分は 10 切片に 1 切片を H.E. 染色して観察、計測した。

各切片を 14 倍に拡大投影し、アセテートフィルムに写し取りデジタイザーを用いてパーソナルコンピュータ、Power Macintosh 7100/66AV (Apple 社製) に入力した。3 次元再構築は、薄切前のブロックに開けておいた 3 つの平行な $\phi 0.7$ mm の穴をリファレンスポイントとして、3 次元構築ソフトウェア、Vellum 3D (アシュラー社) を用いて行った (図 1)。

球形囊斑の 3 次元解析を行う方法は以下のごとく行った。まず、球形囊斑は各スライスでは、曲線として表されているが、その曲線上に 100 μm ごとに、球形囊斑が存在するスライス全てにおいてマークをつけた (図 2)。

次に図 3 のごとく隣り合ったマークを直線で結び、三角形を作図した。その時、各辺の作成方法は、その合計の長さが最も短くなるようにした。最終的に、この側頭骨標本では球形囊斑の表面は、522 個の三角形によって区画された。

次に Reid stereotaxic coordinate system (Blanks, et al, 1975)⁴⁾ によって求められた外側半規管平面の方程式 (左耳) $0.365x - 0.158y - 0.905z = 0$: (a) と後半規管平面の方程式 (左耳) $0.757x + 0.561y + 0.327z = 0$: (b) (図 4) と本側

図 1 3 次元再構築された前庭器 (矢印は前方を示す)

図2 100 μm ごとにマークをつけた球形囊斑

球形囊斑は各スライスでは、曲線として表されているが、その曲線上に 100 μm ごとに、球形囊斑が存在するスライス全てにおいてマークをつけた。

図3 多数の三角形で表された球形囊斑

隣り合ったマークを頂点とする三角形を作図し、球形囊斑を多数の三角形で表した。その時、各辺の作成方法は、その合計の長さが最も短くなるようにした。

頭骨標本における薄切面を基準面とした場合の外側半規管平面の方程式：(c)と後半規管平面の方程式：(d)より本側頭骨における基準平面の方程式を導いた。すなわち、方程式 (a) が方程式 (c) に、また方程式 (b) が方程式 (d) にそれぞれ対応するものとして、本側頭骨における Reid horizontal plane (以下 horizontal plane と呼ぶ)、Reid sagittal plane (以下 sagittal plane と呼ぶ)、

Reid frontal plane (以下 frontal plane と呼ぶ)を導いた。そして、前述の三角形の各々の平面の方程式を求め、これら3つの基準面との間の角度を全て測定した。

結 果

まず、末梢前庭器の中で球形囊斑が存在する位置を示す (図1-3)。球形囊斑の3次的形態は平面ではなく、楕円体面の一部のごとくの曲面で

図4 Reid stereotaxic coordinate system (Blanks, et al, 1975) によって求められた半規管平面の方程式
これらの半規管平面の方程式を用いて本側頭骨における基準平面を求めた。

図5 3次元再構築された前庭器（後方から見た図）
球形嚢斑の3次元形態は平面ではなく、楕円体面に類似した局面であった（矢印は前方を示す）。

あることがわかる。

また、球形嚢斑を構成する522個の三角形の平面と各基準面との間の角度を図5-7のごとく、ヒストグラムで示す。sagittal plane と各三角形の平面との角度は、中央値 27.2°, 最大 66.5°, 最小 1.0°, horizontal plane と各三角形の平面との角度は中央値 71.5°, 最大 89.9°, 最小 33.9°, また frontal plane と各三角形の平面との角度は

中央値 76.2°, 最大 89.9°, 最小 46.9° であった。

考 察

耳石器は、直線加速度を感知する器官である。平衡斑上の耳石膜のズレの方向によって加わった直線加速度の方向を感知すると考えた場合²⁾³⁾、平衡斑の3次元形態と、頭部基準面と平衡斑との3次元位置関係を正確に測定しておくことは、今

図6 sagittal plane と各三角形の平面との角度

三角形は 1° から 66.46° に分布し、約 27° で交叉している三角形が多かった。ヒストグラム下端の数字は各階級の度数を示す。

図7 horizontal plane と各三角形の平面との角度

三角形は 33.87° から 89.89° に分布し、約 71° で交叉している三角形が多かった。ヒストグラム下端の数字は各階級の度数を示す。

後耳石器に有効な刺激を加えるためには不可欠で、耳石器機能検査を確立していく上で重要な足がかりとなると考えられる。

しかし、現在まで耳石器、平衡斑の3次元形態を詳しく測定した報告は少ない^{5)~7)}。本研究では、pilot study として1耳のヒトセロイジン側頭骨連続切片をコンピュータを用いて再構築することによって球形囊斑の3次元形態を計測した。

計測にあたって、Blanks らの Reid stereotaxic coordinate system によって求められた3つの半規管平面の average equation より、本側頭骨における基準面を導いた。実際の基準面との間にある誤差は Blanks らの論文における半規管平面と基準面との間の角度の95%信頼度の幅が 3.7°~8.2°であるため、同程度の信頼度の幅が存在する可能性がある。この仮定に基づいて考察した。

図8 frontal plane と各三角形の平面との角度

三角形は 46.91° から 89.90° に分布し、約 76° で交叉している三角形が多かった。ヒストグラム下端の数字は各階級の度数を示す。

まず球形囊全体像をみると、ヒト内耳球形囊斑は、楕円体面に類似した曲面であることが確認された。

図5-7からわかるように球形囊斑は sagittal plane に対しては 35° 以下で交叉する小三角形が 74% を占めることから sagittal plane に平行な平面内での直線加速度が主な刺激となると考えられるが、horizontal plane や frontal plane に対しては 60° 以上で交叉している小三角形が各々 79%、85% を占め、このことから左右方向の直線加速度は有効な刺激になりにくいと考えられた。

しかし球形囊斑を構成する小三角形の面は sagittal plane に対して 66.5°-1.0° の範囲に、horizontal plane に対して 89.9°-33.9° の範囲に、そして frontal plane に対して 89.9°-46.9° の範囲に分布しており、球形囊斑は一つ又は数個の平面から構成されている⁵⁾のではなく、全体として楕円体面に類似した曲面になっていることが確認された。球形囊斑が曲面であることは、頭部に加えられた直線加速度によって生じた耳石膜と有毛細胞とのズレが耳石器への刺激と考えた場合、球形囊斑に対する有効な直線加速度刺激の方向に、より広い範囲が想定されることになる。

平衡斑には striola があり、球形囊斑では striola を境として Kinocilium は相反するように、ま

た卵形囊では相対するよう並び、striola が彎曲していることで、種々の方向の直線加速度を感じることができるが、これに加えて、耳石器平衡斑の3次元形態も重要な役割を果たしている可能性も存在する。

Szentagothai⁸⁾ は犬の一侧卵形囊斑の各部を機械的に刺激し、垂直や回旋の異なる眼球運動を観察した。Fluur, Mellstrom ら⁹⁾¹⁰⁾ は猫の卵形囊斑、球形囊斑を部分的に電気刺激し、刺激部位によって異なる共同、非共同の眼球運動を観察した。この中で共同眼球運動のうち卵形囊斑の刺激では水平性、垂直性、回旋性の各眼球運動が認められ、球形囊斑の刺激では垂直性、回旋性の眼球運動を観察している。一方 Suzuki ら¹¹⁾, Tokumasa ら¹²⁾ は、current spreading が発生しないようにして、猫の一侧卵形囊神経の電気刺激で、刺激反対側への回旋性眼球運動とわずかな水平・垂直の眼球運動を観察した。ここで卵形囊神経を刺激しているということは卵形囊斑全体が刺激された状態と同様であると考えられ、部分的に刺激した場合⁹⁾¹⁰⁾ と斑全体を刺激した場合¹¹⁾¹²⁾ とでは生じる眼球運動に差がある可能性があり耳石器平衡斑の3次元形態を解析する意味は深い。

これまで耳石器機能検査として直線加速度刺激で誘発される代償性眼球運動として parallel

swing test¹³⁾¹⁴⁾, sinusoidal linear acceleration¹⁵⁾¹⁶⁾などが報告されているが、現在までのところその刺激方法は十分確立されておらず、また左右の耳石器を個別に刺激する方法も存在していない。

今後、対象耳数を増やし平衡斑の3次元形態をより明らかにし、その3次元形態が耳石器への有効な刺激方法の確立に利用できるものと考えている。

最後にヒト側頭骨セロイジン組織作製中に生じると考えられる組織収縮については今後の研究課題としたい。

本研究は NIDCD/NIH Grant DC-00589, 日本長寿科学振興財団からの研究費の支給を受けて行われたものである。組織切片作製にあたり御協力を頂いた Ms. Joan Schnute に感謝します。

文 献

- 1) Carlstrom D, Engstrom H, Hjonth S: Electronmicroscopic and X-ray diffraction studies of statoconia. *Laryngoscope* 63: 1052-1057, 1953
- 2) 徳増厚二: 耳石器の機能と病態. 神研の進歩 25: 380-392, 1981
- 3) Precht W: The physiology of the vestibular nuclei: Hand book of sensory physiology. Vol VI/1 Vestibular system. part 1. In ed Kornhuber HH. pp 353-416, Springer-Verlag, Berlin, 1974
- 4) Blanks RHI, Curthoys IS, Markham CH: Planar Relationships of The Semicircular Canals in Man. *Acta Otolaryngol* 80: 185-196, 1975
- 5) 佐々木寛: 耳石器官の基礎と臨床. 耳鼻16補 2: 73-123, 1970
- 6) Takagi A, Sando I: Computer-aided three-dimensional reconstruction and measurement of the vestibular end-organs. *Otolaryngol Head Neck Surg* 88: 195-202, 1988
- 7) Igarashi M: Dimensional study of the vestibular apparatus. *Laryngoscope* 77: 1806-1817, 1967
- 8) Szentagothai J: Pathway and synaptic articulation patterns connecting vestibular receptors and oculomotor nuclei in the oculomotor system. pp 205-233, Harper and Row (Hoeber), New York, 1964
- 9) Fluor E, Mellstrom A: Saccular stimulation and oculomotor reaction. *Laryngoscope* 80: 1713-1721, 1970
- 10) Fluor E, Mellstrom A: Utricular stimulation and oculomotor reaction. *Laryngoscope* 80: 1701-1712, 1970
- 11) Suzuki J, Tokumasu K, Goto K: Eye movements from single utricular nerve stimulation in the cat. *Acta Otolaryngol* 68: 350-362, 1969
- 12) Tokumasu K, Suzuki J, Goto K: A study of the current spread on electric stimulation of the individual utricular and ampullary nerves. *Acta Otolaryngol* 71: 313-318, 1971
- 13) Bles W, Kapteyn TS: Separate recording of the movement of the human eyes during parallel swing tests. *Acta Otolaryngol* 75: 6-9, 1973
- 14) Walsh EG: Role of the vestibular apparatus in the perception of motion on a parallel swing. *J Physiol* 155: 506-513, 1961
- 15) Jones GM, Rolph R, Downing GH: Comparison of subjective and oculomotor responses to sinusoidal vertical linear acceleration. *Acta Otolaryngol* 90: 431-440, 1990
- 16) 藤野明人: 正弦波直線加速度刺激による代償性眼球運動の研究—健常人の耳石器眼反射の周波数特性と耳石器の機能的極性—. 耳鼻16補 90: 335-347, 1987

(原稿到着: 平成9年12月26日
別刷請求先: 長沼英明
〒228-8555 神奈川県相模原市北里1-15-1
北里大学医学部耳鼻咽喉科学教室)