

in brainstem of sudden infant death syndrome victims”

【参考文献】

- 1) Biondo, B., Magagnin, S., Bruni, B., Cazzullo, A., Tosi, D. and Maturri, L., Glial and neuronal alterations in the nucleus tractus solitarii of sudden infant death syndrome victims, *Acta Neuropathol (Berl)*, 108 (2004) 309-18.
- 2) Kadhim, H., Kahn, A. and Sebire, G., Distinct cytokine profile in SIDS brain: a common denominator in a multifactorial syndrome? *Neurology*, 61 (2003) 1256-9.
- 3) Sawaguchi, T., Patricia, F., Kadhim, H., Groswasser, J., Sottiaux, M., Nishida, H. and Kahn, A., Clinicopathological correlation between brainstem gliosis using GFAP as a marker and sleep apnea in the sudden infant death syndrome, *Early Hum Dev*, 75 Suppl (2003) S3-11.
- 4) Urade, Y. and Eguchi, N., Lipocalin-type and hematopoietic prostaglandin D synthases as a novel example of functional convergence, *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 68-69 (2002) 375-82.

図 1

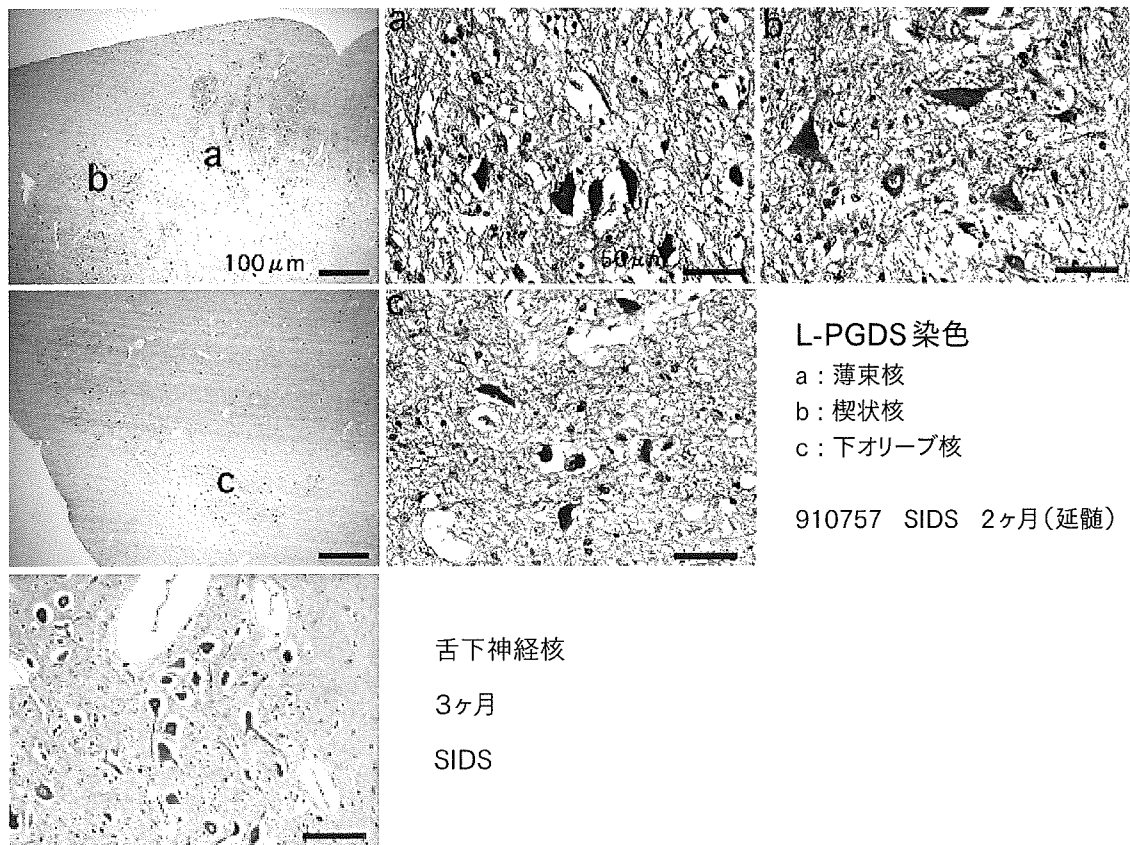


表1

<i>SIDS</i>		L-PGDS	CD68	GFAP	HIF-1	p53
A91-57	(I)	(-)	(-~+)	(+)	(+++)	(+++)
A96-4	(I)	(+)	(-~+)	(-~+)	(++)	(+++)
A97-67	(I)	(++)	(-)	(-~+)	(++)	(+++)
A91-7	(II)	(++)	(-)	(+)	(+)	(-)
A93-80	(II)	(++)	(+)	(++)	(+++)	(+)

<i>Control</i>		L-PGDS	CD68	GFAP	HIF-1	p53
A94-68	水頭症、横隔膜ヘルニア	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)
A97-73	congenital myotonic dystrophy	(+)	(-)	(-)	(++)	(-)
A99-71	心筋症・脳奇形	(+)	(+)	(++)	(++)	(-)
A02-04	肺出血	(+)	(++)	(+++)	(++)	(-)

SIDSにおける睡眠・呼吸循環調節機構の発達神経病理学的研究： 脳幹における抑制系イオンチャネルの発達

分担研究者：

高嶋 幸男（国際医療福祉大学大学院教授）

研究協力者：

金海 武志（福岡大学小児科）

小沢 愉理（東邦大学医学部新生児学教室）

【研究要旨】

SIDSは年齢依存性の症候群である。その病態として、SIDS児脳には慢性低酸素症や発達未熟性があり、呼吸調節や心臓循環調節の異常、あるいは覚醒反応の低下の基盤となると考えられた。最近、乳児突然死の遺伝的素因に関する研究が活発であり、心臓ではチャンネル関連の異常が注目される。今回、乳児期の年齢依存性でてんかん関連遺伝子であるGABAトランスポーターGAT-1、カリウムチャンネルKCNQ2および3の発達の発現を検討した。胎児期後半から乳児期には、チャンネルの発達変動の激しい時期があり、この時期には、機能的に不安定であり、呼吸循環調節の機能異常が起こりやすいと考えられた。

【研究目的】

最近、SIDSの成因として、遺伝的素因に関する研究が活発である。セロトニン受容体遺伝子、セロトニン・トランスポーター遺伝子の関与が報告され{1}、また、突然死遺伝子の異常として、QT延長症候群のSCN5AやKCNQ1が報告

されて、チャンネル関連の異常が注目される。SIDSは年齢依存性に発生するが、けいれん発作にも年齢依存性のものがあり、新生児痙攣では電位依存性カリウムチャンネルのKCNQ2、KCNQ3遺伝子異常が分かり、乳児重症ミオクロニーてんかんではクロライドイオンチャンネル内

臓型であるGABAA受容体サブユニットの遺伝子異常が報告されているが、両者は共に抑制系のイオンチャンネルであり、チャンネル病として注目される。チャンネル異常がSIDSの病態に関与している可能性があり、チャンネル病としての観点から検討を開始した。今回は、抑制系神経伝達物質に関してはGABAの合成酵素であるGADとトランスポーターであるGAT-1について、また、電位依存性カリウムチャンネルに関してはKCNQ2サブユニットとKCNQ3サブユニットについて検討した。

【研究方法】

対象は、胎児から成人までの病変のない剖検脳20例である。方法は、延髄をホルマリンまたはパラホルムアルデヒドに固定し、パラフィン包埋した切片を用いて、抗GAT-1抗体、抗GAD抗体、抗KCNQ3抗体と抗KCNQ2抗体を用いた免疫組織化学的染色を行った。延髄の各部位、特に舌下神経核、迷走神経背側核・弧束核、網様体、下オリーブ核におけるGABAトランスポーター、カリウムチャンネルの発現を発達的に検討した。剖検・研究のインフォームドコンセントあり。

【研究結果】

1) GADでは、舌下神経核、迷走神経背側核・弧束核、網様体、下オリーブ核の各部位とも神経細胞胞体では、

在胎20週から発現し、特に下オリーブ核では出生後でも強い発現が認められた。

2) GATでは、舌下神経核、迷走神経背側核・弧束核、網様体、下オリーブ核の各部位とも神経細胞胞体では、在胎29週から発現していた。迷走神経背側核や弧束核では、在胎40週から学童期までに減弱していたが、それ以後発現は消失していた。それに対し、下オリーブ核では在胎40週前から発現が減弱し、出生後には消失していた。

3) KCNQ2では、舌下神経核、迷走神経背側核・弧束核、網様体、下オリーブ核の各部位とも神経細胞胞体では、在胎29週から発現し、在胎40週以降には陰性であった。

4) KCNQ3では、神経細胞胞体は、在胎20週ですでに発現しており、40週以降には減弱した。

【考察】

SIDSは1歳以下、特に2~4ヶ月の乳児の睡眠中におこることが多いという特徴をもっている。このことは睡眠中の呼吸循環の調節にかかわる中枢の発達機構に決定的な発生機序があることを示唆している[2]。

1) 延髄の神経細胞胞体のGAT-1、KCNQ2、KCNQ3の発現は胎児期後半に認められ、生後には、Q2は消失し、GAT-1、

Q3は減弱していた。胎児期後半から生後には、これらのチャンネルの発現は変動していた。

- 2) GAD、GAT-1の発現では、下オリーブ核とそれ以外の神経核において、発現の変化が異なっていた。小脳プルキンエ細胞と下オリーブ核神経細胞の成熟と関連していると考えられた。
- 3) GABA作動性神経細胞は胎児期後半の早期から、既に発現し、生後も持続していたが、GABAトランスポーターやカリウムチャンネルは胎児期後半から乳児期に、発達の変動が激しく、この時期には、機能的に不安定であり、呼吸循環調節などの機能異常が起こりやすいことと関連すると考えられた。
- 4) 従来検索したカテコラミン、セロトニンなどの神経伝達物質では、SIDS群に低下し、未熟性ないし未発達が考えられたが、SIDSが年齢依存性であるという特徴を考えると、抑制系のGABAのトランスポーターやカリウムチャンネルの発達変動は興味深い。今後、SIDSの発生要因追求として、SIDSと正常児の発現を対比したい。更に、GABAA受容体も年齢依存性発作の遺伝子の一つであり、脳幹におけるGABAA受容体の発現の発達的变化なども、検討したい。

【結 論】

延髄の神経細胞体のGAT-1、KCNQ2、KCNQ3の発現は胎児期後半から生後に変動していた。GABAトランスポーターやカリウムチャンネルの発達の変動が激しい、この時期には、機能的に不安定で、呼吸循環調節などの機能異常が起こりやすいと考えられる。

【参考文献】

- 1) Narita N, Narita M, Takashima S, Nakayama M, Nagai T, Okado N: Serotonin transporter gene variation is a risk factor for sudden infant death syndrome in the Japanese population. *Pediatrics* 107:690-692, 2001
- 2) Ozawa Y, Okado N: Alternation of serotonergic receptors in the brainstems of human patients with respiratory disorders. *Neuropediatrics* 33:142-149, 2002.
- 3) Nishida H, Takashima S: Quantification of trace elements in the brain of SIDS victims. *Forensic Sci Int.* 2002;130 Suppl:63.
- 4) Ozawa Y, Takashima S: Developmental neurotransmitter pathology in the brainstem of sudden infant death syndrome: a review and sleep position. *Forensic Sci Int.* 2002;130 Suppl:53.
- 5) Ozawa Y, Takashima S, Tada H:

- Alpha2-adrenergic receptor subtype alterations in the brainstem in the sudden infant death syndrome. *Early Hum Dev* 75:Suppl:S129-38, 2003.
- 6) Ozawa Y, Takashima S, Tada H: α 2-adrenergic ceptor subtype alterations in the brainstem in the sudden infant death syndrome. *Pathophysiology* 10:229-234, 2004.
- 新生児医療から見たSIDS, 第50回未熟児新生児学会, 名古屋, 12.4, 2005.
- 4) 高嶋幸男, 小沢愉理, 小保内俊雅: 乳児突然死症候群の病理: 神経伝達機構の発達異常を中心に, 第50回未熟児新生児学会, 名古屋, 12.4, 2005.

【研究発表】

1. 論文発表

- 1) 小沢愉理, 高嶋幸男, 多田 裕.: SIDSの病因における脳病理からアプローチ, *日本SIDS学会誌* 5:38-44, 2005.
- 2) 小沢愉理, 高嶋幸男: 乳幼児突然死症候群, 有田秀穂編: 呼吸の事典, 朝倉書店, 東京, pp. 313-324, 2005.

2. 学会発表

- 1) 金海武志, 高嶋幸男, 廣瀬伸一, 岩崎 宏, 満留昭久, KCNQ2のヒト脳における年齢依存性発現, 第47回日本小児神経学会, 熊本, 5.20, 2005
- 2) 糸数直哉, 高嶋幸男, 長田陽一, 柴原哲太郎, 松石豊次郎, 橋本武夫, 花井敏男, 曳野俊治: 電子記録カードを用いた療育システムと障害予防: 頭部画像, 第31回重症心身障害学会, 東京, 9.25, 2005.
- 3) 戸苺 創, 高嶋幸男(シンポジウム):

SIDSにおける代謝状態のメタボロームによる検索

分担研究者：

的場 梁次（大阪大学大学院医学系研究科社会医学専攻法医学講座）

研究協力者：

林 義之（大阪大学大学院医学系研究科社会医学専攻法医学講座）

黒木 尚長（大阪大学大学院医学系研究科社会医学専攻法医学講座）

【研究要旨】

乳幼児突然死症候群(SIDS)の発生頻度が腹臥位睡眠に高いことが疫学上明らかになり、その要因の一つに睡眠時無呼吸からの覚醒反応が遅れることが示唆されている。従って、そのリスクを考えれば腹臥位睡眠は育児法としてはすすめられないことが世界的な常識となっており、ここ最近まではSudden Unexpected Death in Infancy (SUDI)の剖検例において肉眼的および病理組織学的に他に明らかな器質的疾患が見出せない場合、SIDSと鼻口腔閉塞などによる窒息死との鑑別に焦点が向けられてきた。同様に当教室に於いても2歳未満児SUDI解剖例を集め、解剖所見の種々に関して疫学的調査を行い、特に、溢血点、心臓内血液、臓器鬱血など、いわゆる窒息死の所見に焦点を合わせ死因究明を行ってきた。ただし、一部の先天代謝異常症(糖新生系異常症、脂肪酸 β 酸化異常症、有機酸代謝異常症などの一部)では生来元気に過ごしいた乳児が一見SIDS様の症状で急死することが知られてきている。窒息因子のみならず、これら代謝異常症による急性代謝毒性因子を検出することがSIDSの本態解明に大きく寄与すると考えられる。

【研究目的】

近年、鼻口腔閉塞などによる窒息死との鑑別を中心として、乳幼児突然死症候群の病態の解明に焦点が向けられてきて

おり、窒息死の所見を中心に乳幼児突然死症候群の特徴が検討されてきた。ただし、先天性代謝異常の一部では乳幼児突然死症候群様の発症形態をとるものが

あるため、各種代謝物質濃度が死因および剖検所見・死体検案所見とどのように関係するかを調査することがSIDSの本態解明に大きく寄与するものと考えられる。そこで今回、窒息因子のみならず、各代謝因子にも焦点をあて、死因および死体検案所見・剖検所見との相関を調査する目的で研究を行った。

【研究方法】

最近7年間に当教室で解剖された症例のうち、Sudden Unexpected Death in Infancy (SUDI) を含めた小児(10歳未満児)の剖検例68例について尿および血液中の代謝物質(有機酸・アミノ酸・糖類・アミン類など)をGC/MSを用いて分析し、死体検案所見・剖検所見の諸項目間との相関関係を調査した。調査対象の中には、以下のような症例が含まれていた。

SIDS:12例 肺炎:5例 その他感染症:8例 焼死:7例 CO中毒:3例 窒息:24例(舌根沈下、鼻口部閉塞、他殺、誤嚥、嬰兒の羊水吸引、溺水)失血死(刺殺):2例 頭部外傷:6例 不詳:1例

「ウレアーゼ処理凍結乾固法」(血液および尿中の代謝物質を測定するにあたり、抽出方法としては、尿中有機酸等の抽出方法として注目されている抽出方法であり、簡便でかつ同方法を用いると有機酸のみならず、アミノ酸、糖類、アミ

ン類、核酸なども同時に測定できるので、一度の分析でより広い領域の多種類の疾患をスクリーニングできる)を応用して、以下のような方法で行った。

検体(血液・尿)100 μ lにウレアーゼ1mg加え37°Cで30分間反応させる(※)



内部標準物質(4 μ g/ml 3-phenyl-propyl-amine (PPA)水溶液)1mlを添加後、エタノール0.9mlを加えて1分間遠心し除タンパクする



上清を減圧濃縮乾固する



10%トリメチルクロロシラン含有BSTFA(N,O-ビス(トリメチルシリル)トリフルオロアセトアミド)を100 μ l加え、80°Cで30分間反応させTMS化(誘導体化の一種)



アセトン900 μ lで希釈後、試料1 μ lをGC/MS(島津QP2010)に注入し、スプリットモード(10:1)で分析(カラムはDB-5MSを使用、昇温条件は100°C(4分保持)-4°C/min-280°C(10分保持))

(※)ウレアーゼ処理は尿中の尿素を分解するためのものであるため、血液の分析の場合この操作は省略した。

【研究結果】

尿や血液を用い、いくつかの症例について分析を行った(図1)。その結果をもとに窒息死の症例のみで明らかに高くなったピークについて、QP2010の分析プログラムに内蔵されているデータベースを検索したところ、このピークは乳酸(TMS化)の可能性が高いと考えられた。乳酸の標準品を入手して乳酸水溶液を作成し、同様の抽出作業を行った後GC/MSで分析を行ったところ、保持時間、マススペクトルとも非常に似たものであることから、このピークがTMS化された乳酸であることが証明された(図2)。次に、SIDSと窒息死の症例を比較したところ、以下のような結果となった。SIDSの症例で尿が残っているものが少なかったため、血液を用いて分析を行ったところ、窒息死では乳酸のピークが高く、SIDSでは乳酸のピークは低かった(図3)。従って、窒息死では乳酸が高値を示す可能性が示唆されたため、血液の残っていた症例について簡易測定器(アークレイ社の「ラクテート・プロ」)を用いて血中の乳酸値を測定し、以下のような項目(細分158項目)の死体検案所見・剖検所見との相関を調べることにした。(乳酸値は「表1」のとおりである)。統計処理としては、統計ソフト「SPSS」を用いて、図4のような式で表されるPearsonの相関係数 r および t 値を求め、この t が自由度 $n-2$ の t 分布に従うことを

利用して、相関係数の有意性を判定した。

- 死亡時状況(体位・鼻口圧迫・発見時刻など)
- 解剖までの死後経過時間
- 背景(出生時体重・既往症・栄養状況・発達など)
- 死体所見(身長・体重・死斑・損傷・顔面の色調・口唇、四肢のチアノーゼなど)
- 諸臓器所見：重量・血量・溢血点(眼瞼結膜、口腔粘膜、横隔膜、胸膜、心臓、肺、腎盂、喉頭蓋、頭皮下)
- 心臓血の流動性および性状
- 粘膜の性状(鼻腔、口腔、腎盂、咽頭、喉頭、気管、食道)
- 気管、食道、胃、腸の内容物
- 脳浮腫、肺浮腫の有無
- 腔水症(胸水)の有無

乳酸値との相関関係を見た結果、 $p < 0.05$ で有意な因子としては、以下のようなものがあった。

- 鼻口の圧迫状況の有無($p=0.017$, $n=24$): 圧迫が有る症例ほど乳酸値が高い。
- 顔の色調($p=0.043$, $n=46$): 鬱血状であるほど乳酸値が高い。
- 心臓血色調($p=0.001$, $n=59$): 暗赤色調が強いほど乳酸値が高い。
- 心臓血流量($p=0.033$, $n=48$): 流量

が多いほど乳酸値が高い。

- 溢血点：口腔粘膜(p=0.025, n=31) 胸膜(p=0.036, n=4) 心臓(p=0.048, n=65) 肺(p=0.018, n=63); 溢血点が多いほど乳酸値が高い。
- 腎重量(p=0.041, n=66)：重量が重いほど乳酸値が高い。
- 尿量(p=0.049, n=27)：尿量が多いほど乳酸値が高い。
- 胃内容量(p=0.007, n=36)：胃内容が多いほど乳酸値が高い。
- 気管粘膜蒼白調(p=0.0002, n=45)：粘膜が蒼白調であるほど乳酸値が高い。

【考 察】

p<0.05で有意な因子としてあげられた項目のうち、鼻口の圧迫状況の有無、暗赤色心臓血、粘膜・臓器の溢血点は一般的に窒息死を疑う所見である。これらと乳酸値が相関関係を持つということは、乳酸が窒息死を反映する所見である可能性を示唆しており、今後のさらなる検討が必要であると考えられる。

今回、死因別に乳酸値を比較しても、幅広い値をとっており有意差が認められなかった。その一方で、所見ごとに乳酸値の相関関係を調べた場合には有意に相関が見られる項目があったということは、同様の所見があっても異なる死因が決定されている現状がうかがえる。鼻口腔閉塞による窒息とSIDSの鑑別をはじ

めとして、死体検案所見および剖検所見の中の単一の項目のみから死因を鑑別することはほぼ不可能であり、状況および剖検所見の複数の項目を総合的に判断することが重要であることはいうまでもない。よって、乳酸値が窒息死を反映する項目のひとつであることがわかれば、死因決定の助けとして多いに役立つであろう。しかしながら、今回得られた結果のみで乳酸が窒息死を反映する所見であるということを断定することはできない。諸臓器の鬱血・溢血点・暗赤色流動性の血液が一般的に窒息死の所見として知られているが、これらは窒息死に特異的なものではなく、多くの急性死で認められ、SIDSでも見られうるものである。逆に、窒息死の場合であってもこれらの所見が見られないこともある。従って、今後はSIDSと、窒息死はじめその他死因の症例について検索し、まずは新たな異常代謝物質の発見を目指したい。異常代謝物質とSIDSに何らかの関連性が見つかれば、さらに乳酸とこれら異常代謝物質濃度との相関の検討を行い、これまでの症例をさらに見直すことで、SIDSや窒息死における代謝状態の特徴を考察し、剖検所見では証拠を得がたい窒息死とSIDSの鑑別における乳酸の有用性を含め、SIDSの病態的特徴をより理解することができるものと考えられる。又、もし乳酸が鑑別に有用であることがわかれば、今回用いた簡易測定器を用いて、死

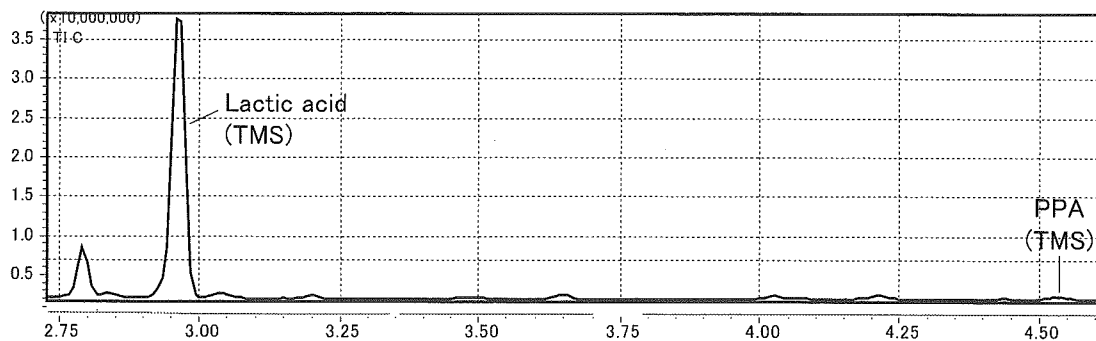
因決定の助けとして簡便に用いることができるであろう。

【参考文献】

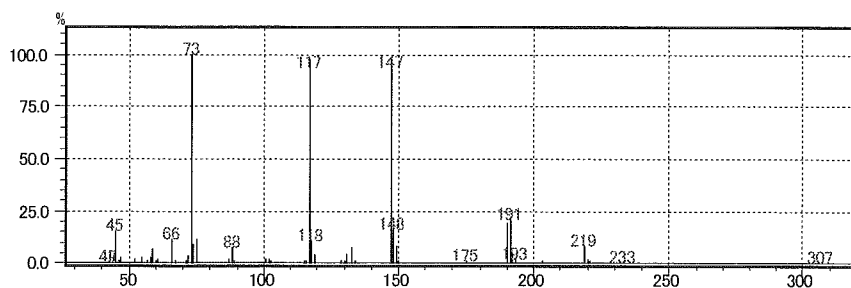
- 1) Matoba R.: A study on how to increase the sudden infant death syndrome (SIDS) autopsy rate. Forensic Sci Int. 2002 Sep 14;130 Suppl:S104-8
- 2) Butterworth J, Tennant MC.: Sudden infant death syndrome: pH and lactate in brain. Biochem Soc Trans. 1990 Jun;18(3):439-40.
- 3) 乳幼児突然死症候群(SIDS) (総説). Author: 住田亮(金沢大学 医学部 小児科), Source: 小児保健いしかわ(1347-5444)11号 Page14-19(1999.03)
- 4) 法医解剖例から見た乳幼児突然死症候群(SIDS)と窒息(原著論文). Author: 西克治(滋賀医科大学 法医学講座), Source: 法医病理(1341-5395) 5巻 Page83-86(1999.06)
- 5) **【SIDS最前線】**SIDSをめぐる生理学的研究の現状と未来. Author: 加藤稲子(名古屋市立大学 小児科学 教室), 戸莉創, Source: 日本SIDS学会雑誌(1346-1680)2巻1号 Page85-88(2002.02)

図 1

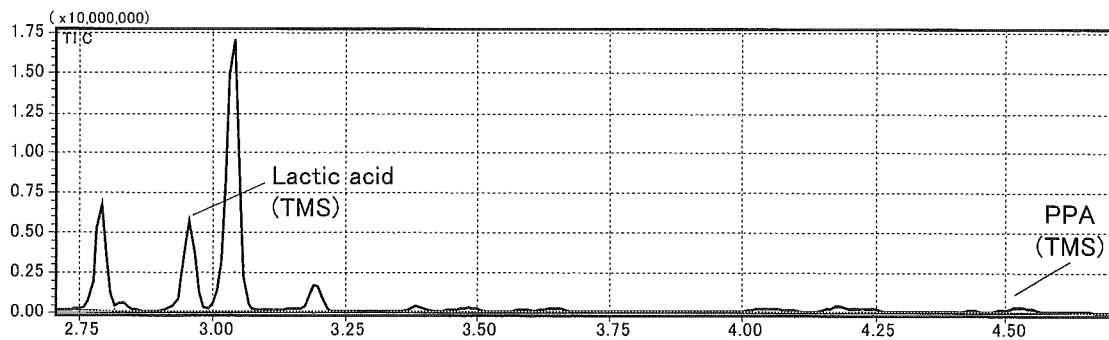
(TIC) 8ヶ月・窒息死(鼻口部閉塞);尿試料



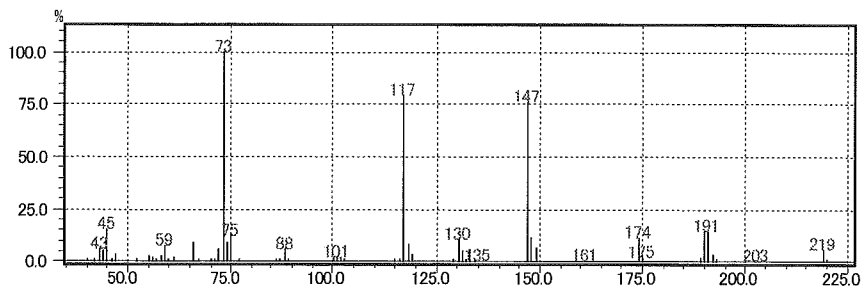
保持時間: [2.958]
(マススペクトル)



(TIC) 7歳・失血死;尿試料



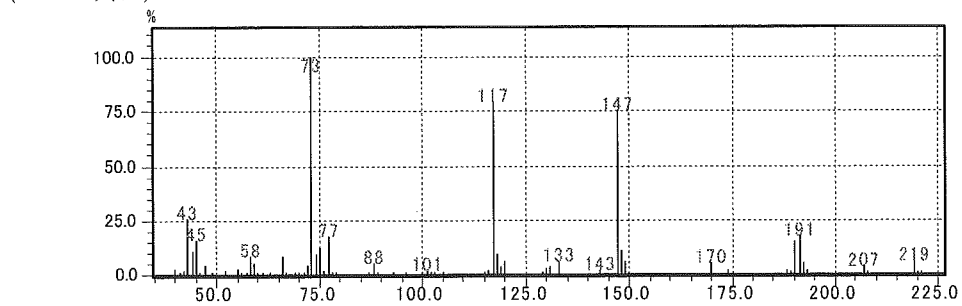
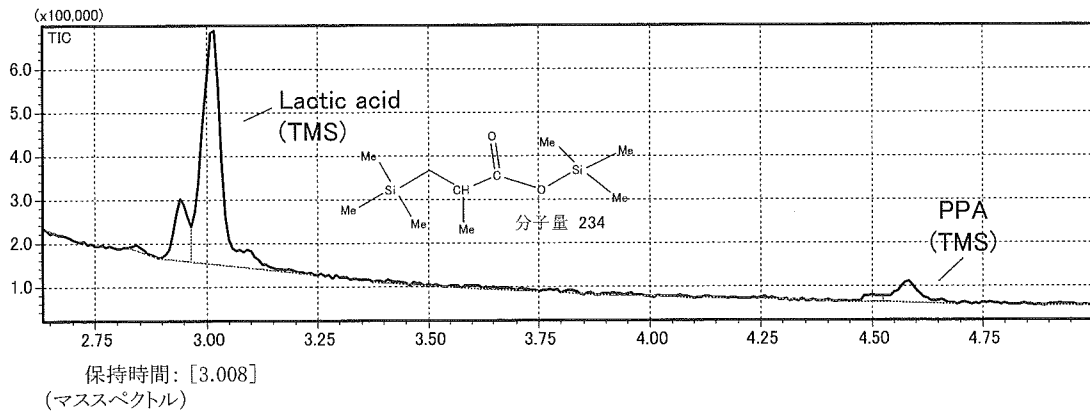
保持時間: [2.958]
(マススペクトル)



*いくつかの死因で比較検討し、窒息死の症例で明らかに高くなったピークについて、QP2010の分析プログラムに内蔵されているデータベースを検索した結果、このピークは乳酸(TMS化)である可能性が高いと考えられた

図2

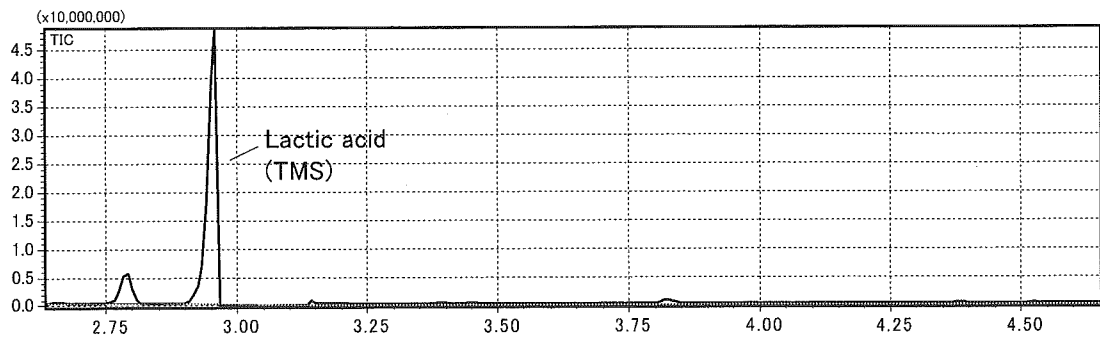
(TIC) 乳酸標準品水溶液



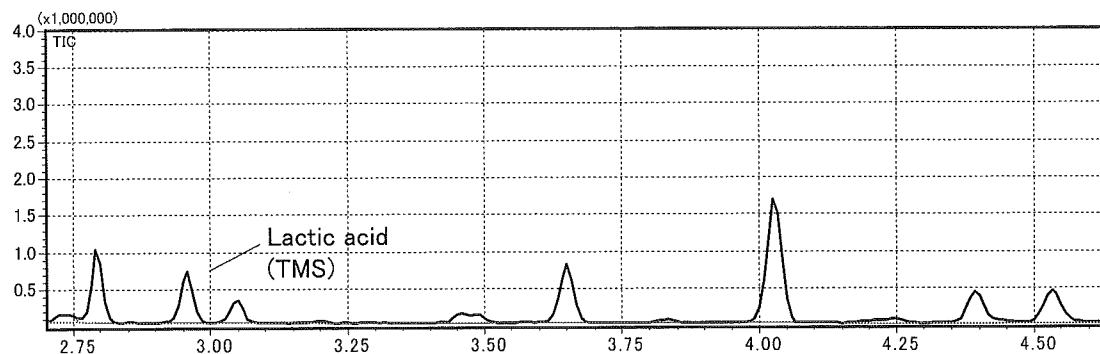
* 乳酸の標準品を入手して乳酸水溶液を作成後、GC/MSで分析を行ったところ、保持時間、マススペクトルとも非常に類似しており、このピークがTMS化された乳酸であることが証明された

図3

(TIC) 8ヶ月・窒息死(鼻口部閉塞); 血液試料



(TIC) 3ヶ月・SIDS; 血液試料



* 窒息死の症例とSIDSの症例とを比較すると明らかに前者の方が血液中乳酸値が高値を示している。

図4 Pearsonの相関係数

$$r = \frac{\text{変数 } X \text{ と変数 } Y \text{ の共分散}}{\text{変数 } X \text{ の標準偏差} \times \text{変数 } Y \text{ の標準偏差}}$$

$$= \frac{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2} \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (Y_i - \bar{Y})^2}}$$

$$t_0 = \frac{|r| \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$

* Pearsonの相関係数rおよびt値を求め、このtが自由度n-2のt分布に従うことを利用して、相関係数の有意性を判定した

表1

年齢	日齢	性別	死因	乳酸値
0	98日	女性	SIDS	1.6
0	167日	女性	SIDS	2.9
0	104日	男性	SIDS	3.4
0	97日	女性	SIDS	3.7
0	219日	女性	SIDS	4.7
0	244日	男性	SIDS	4.7
0	50日	女性	SIDS	13.4
0	257日	男性	SIDS	16.4
0	87日	女性	SIDS	16.6
0	175日	男性	SIDS	19.6
0	64日	女性	SIDS	21.8
0	38日	男性	SIDSの疑い	21.1
1	1歳3ヶ月	男性	肺炎	2.4
0	289日	男性	肺炎	3.3
0	78日	女性	肺炎	12.2
0	252日	男性	肺炎	23.4
1	1歳8ヶ月	女性	その他感染症	2.8
0	206日	男性	その他感染症	3.2
0	3ヶ月	男性	その他感染症	15.3
1	467日	女性	その他感染症	16.3
0	134日	女性	その他感染症	17.7
3	3歳3ヶ月	男性	その他感染症	20
1	1歳7ヶ月	男性	その他感染症	20.6
0	218日	男性	その他感染症	23.4
4	4歳2ヶ月	男性	焼死	3
3	3歳2ヶ月	男性	焼死	8.4
2		女性	焼死	19
7	7歳6ヶ月	男性	焼死	21.1
0	7日	女性	焼死	21.6
2		女性	焼死	21.7
7	7歳3ヶ月	男性	焼死	23.4
9		女性	CO中毒	19.2
4		男性	CO中毒	20.3
7		女性	CO中毒	23.3

年齢	日齢	性別	死因	乳酸値
0	76日	女性	窒息	1.8
1	623日	女性	窒息	3.4
0	216日	女性	窒息	3.8
0		女性	窒息	4.2
0	248日	男性	窒息	6.1
0	295日	男性	窒息	6.7
0	343日	女性	窒息	7.7
0	35日	男性	窒息	9.8
0	60日	男性	窒息	10
0	嬰兒	男性	窒息	10.3
0	364日	男性	窒息	10.7
0	231日	女性	窒息	14.6
0	8ヶ月	女性	窒息	14.6
0	216日	女性	窒息	16.4
9	9歳6ヶ月	男性	窒息	16.4
2	2歳4ヶ月	男性	窒息	17.1
0	210日	女性	窒息	21
0	嬰兒	男性	窒息	21.8
0	76日	男性	窒息	22.1
0	76日	男性	窒息	22.1
0	9日	男性	窒息	23.4
0	64日	男性	窒息	23.4
0	嬰兒	男性	窒息	23.4
2	2歳7ヶ月	女性	窒息	23.4
2	2歳9ヶ月	男性	窒息	23.4
2	2歳7ヶ月	男性	失血死	8.4
0	38日	女性	失血死	20.4
0	161日	男性	頭部外傷	3.1
2	2歳4ヶ月	女性	頭部外傷	6.1
6	6歳1ヶ月	女性	頭部外傷	18.2
3	3歳2ヶ月	女性	頭部外傷	21.9
1	22ヶ月	男性	頭部外傷	23.4
0	233日	男性	頭部外傷	23.4
0	135日	女性	不詳	15.6

※乳酸値の単位は (mmol/l)

乳児肺高血圧症と SIDS との関連について

分担研究者：

北島 博之（大阪府立母子保健総合医療センター新生児科部長）

【研究要旨】

乳幼児突然死症候群児 (SIDS) の死亡には、一般的な乳幼児の病死に見られない特徴が3つある。1)心停止までの時間が早い。2)呼吸停止後の心肺蘇生に非常に反応が悪い。3)終末無呼吸前の「あえぎ」がほとんど見られない。これらが真であるなら呼吸循環生理からは、SIDSの死亡原因は呼吸にあるのではなく、心臓原性の特に肺高血圧に起因する心停止が最も考えやすい。この観点から、自験例や過去の報告を見直すと、まさにこのことを示唆している事例が多い。ただ、この病態に至る原因は全く不明である。そこでわれわれは、致死的な乳児肺高血圧症児とSIDS児の共通点を検討している。今回は、細胞外マトリックスの一成分であるテネイシンCの血清中濃度を測定したところ、一般乳児に比べ、致死肺高血圧症乳児とSIDS児において高値をとった。このことは、乳児肺高血圧症の病態がSIDS児の背景に存在することを示唆している。

【研究目的】

乳幼児突然死症候群児 (SIDS) の死亡には、一般的な新生児・乳児の病死に見られない特徴が3つある。①心停止までの時間が早い(多くは5分以内と言われている)。②呼吸停止後の心肺蘇生に対し、非常に反応が悪い。③終末無呼吸前の最後の「あえぎ」が見られない。この3つの事実はお互いに関連しているが、一

般の新生児・乳児の死によく立ち会っているわれわれ新生児科医には、納得のできない事象である。なぜなら、例えば無脳症児の終末時を観察していると、初期無呼吸・終末無呼吸となりその後の心拍の停止までには十分以上かかる。胎内でのジストレスにより心拍停止した新生児あるいは、仮死出生のため搬送依頼を受け到着時に心停止していた新生児でも心

肺蘇生を行うと、心拍は再開することが多い。しかし、SIDS児の場合には、蘇生が困難なほどに心停止後の時間経過が長いのだろうか。

また、動物の実験系で対象動物の呼吸中に低酸素状態に置くと、初期無呼吸が起こりその後「あえぎ」(gasp)に変化し、そして終末無呼吸になり死亡にいたる。この「あえぎ」の最初に空気呼吸に戻すと、肺に大きな病変がない限り、大きな「あえぎ」により再度酸素化されて、心拍が上昇し改善してゆく。¹⁾ ヒトの新生児でも低酸素状態に置かれていた仮死児があえぐ中で、十分な酸素供給をされると、急速に心拍が改善されてゆくことは通常良く経験する。ところが、SIDS児では、周囲にいる人(家族や保育士など)が見の大きな「あえぎ」に気付いていない、むしろ児が大きな「あえぎ」をしなかった可能性がある。その顕著な例として、日本では母親が添い寝をしてその腕枕の中で眠るように死んでいったという症例がある。²⁾ また乳幼児突然死研究財団の調査した713例のうち3例は両親の腕の中で死亡していた。³⁾ もう一つ、乳幼児の死亡でSIDS児の死亡状況によく似ているのは、心奇形のない酸素療法を必要としている肺高血圧症のダウン症の乳児や慢性肺疾患で肺高血圧予防のために酸素療法をしている早期産児の場合である。1994年の大阪の在宅酸素療法児のアンケート調査によると、13施設

のうち3施設から8例の報告があり、6ヶ月のダウン症児2名(心奇形なしとASDが各1名)と超早期産児の慢性肺疾患児3名(筋緊張性ジストロフィー1歳1名、脳性麻痺・精神発達遅滞の2歳の2名)が自宅あるいは病院外来で突然死をしていた。全例に上気道炎あるいは肺炎を認めた。⁴⁾ テネイシンCはサブユニット(分子量190~250KD)6本の6量体で存在し、間質細胞によってつくられる糖タンパクの一つである。細胞を取り囲み形態形成や細胞分化、増殖、移動など細胞の機能と密接に関係している。我々は、致死性乳児肺高血圧症患児血清中のテネイシンCが高値である事を見出した。これは、M Rabinovitchらの提唱している「テネイシンCのフラグメントがアネキシンIIを介して動脈血管内皮細胞周囲の平滑筋細胞増殖し肺高血圧を作るその機序」⁵⁾が、肺高血圧症児のデータからも推測される。今回はSIDSの病因の背景に肺高血圧症が潜在化しているかどうかをテネイシンCの血清濃度を調べることで比較検討する。

【研究方法】

大阪府立母子保健総合医療センターに受診した新生児・乳幼児33名と乳児肺高血圧症のために死亡した10名の生存中の血清と、乳幼児突然死症候群(SIDS)の血清11検体を用いた。また死後変化を調べるために、ALTEを発症し蘇生に

より部分的に回復したが、生後28日で死亡した児の、死亡3時間後と死後18時間の血清を用いた。

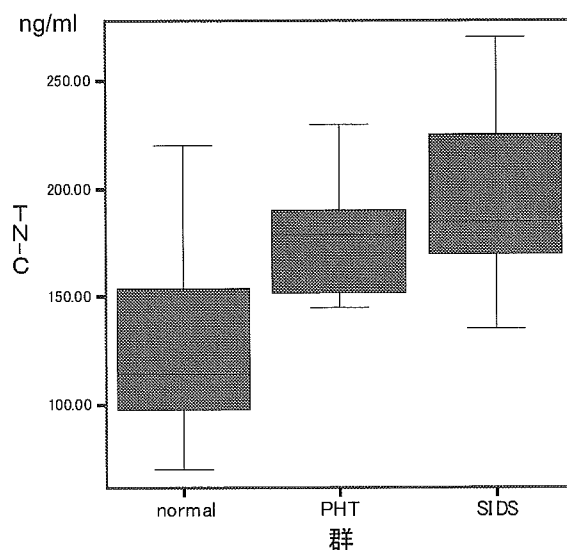
血清テネイシンCの測定は、以下のように行った。抗ヒトテネイシン C (19C4) マウス IgG抗体でコートされたウェルに標準液、10倍、場合により20倍に希釈した検体を100 μ lずつ分注し、37度で一時間放置した。血清中テネイシンCを捕捉し、その後、7回洗浄しペルオキシターゼで標識された抗ヒトテネイシン (4F10) ネズミ抗体を100 μ lずつ分注した。その後、6度で30分反応させ、洗浄9回の後、TMB基質100 μ lを分注し暗室に室温30分放置した。その後、停止液100 μ lを入れ、450nmで測定した。

【研究結果】

さらに死後の変化を調べるために、36週で出生し生後18時間でALTEを起こした女児について、生後28日で死亡した。この児について死亡後3時間と18時間で血清を分離し2点の測定を行った。3時間で0.1ng/ml,18時間では136ng/mlと上昇していたため、死亡後遺体は霊安室の冷蔵庫に保存されていても、約10ng/ml/時間の上昇がある可能性が考えられた。

【考 察】

テネイシンCは、これら細胞接着活性および抗-細胞接着活性以外にも細胞増殖促進、血球凝集能、T細胞の免疫抑制などの機能が報告されている。テネイシンCは、発現の時期と組織部位が限られているという大きな特色をもってお



	疾患	症例数	平均月齢	テネイシンC (ng/ml)	p-value
1	一般外来乳児	33	12.2 \pm 9.0	126 \pm 7	
2	致死的乳児肺高血圧症	10	10.3 \pm 9.3	177 \pm 8	1vs 2 p=0.000
3	SIDS児	11	3 (2例) 以外不明	196 \pm 12	1vs 3 p=0.000

り、成人ではごくわずかにしか発現していないが、胎児や新生児では強い発現が認められ、また成人でも癌、炎症、創傷治癒・再生過程、性周期における組織変化、組織の境界形成などの際に発現が強く誘導される。一言でいえば「組織が動いているとき」、それががんや胎児、炎症など何か動きがあればテネイシンCは現れる。テネイシンCを誘導する物質としてはトランスフォーミング成長因子(TGF- β)、塩基性フィブロblast成長因子(bFGF)、インターロイキン1(IL-1)、プロゲステロン、アンギオテンシンIIなどが知られている。

血管内皮細胞周辺に存在するテネイシンCは血清酵素 elastase などにより切断され血中に増加する。その後アネキシンIIを介して内皮細胞にシグナルを送り、周囲の平滑筋細胞を増殖させることにより、二次的に肺高血圧症がひきおこされる。^{6)、7)、8)} 今回の結果からは致死性乳児肺高血圧症児においてテネイシンCは明らかに高い異常値をとっているが、SIDS児については死後の変化を1例の死亡児で検討させてもらった結果、これは死後変化の一部として高値をとっているだけかもしれない。SIDS児の血清分離の詳細が不明なために、その評価ができないでいる。今後は、SIDS児の血清分離の詳細を含めて評価したい。

【結 論】

今回の検討から、乳児肺高血圧症児において血清テネイシンC濃度は上昇していることが明らかになった。しかしこれら重症の肺高血圧症児と同様にSIDSに隠されているかもしれない潜在的な肺高血圧症でも生前に高値をとるとは限らない。ただ死後早期に血清分離が行われれば、血清によるSIDS診断の一助になるかもしれないことと、SIDSの機序を解明する大きな手立てになる可能性もある。血清テネイシンCの血清濃度については今後のさらなる検討が望まれる。

【参考文献】

- 1) Jacobi MS, Thach BT: Effect of maturation on spontaneous recovery from hypoxic apnea by gasping. J Appl Physiol 66:2384-90,1989.
- 2) SIDS家族の会：もう一度抱きしめたい。赤ちゃんの死を乗り越えるために。メディカ出版、p108-9,1997.
- 3) J・ゴールディング、S・リメリック、A・マクファーレン：乳幼児突然死症候群、中里ピニングトン訳、戸刈創監訳。メディカ出版、p186-7,1995.
- 4) 北島博之、田中祥介、原達幸、水野久子ほか6名：大阪における「小児在宅酸素療法」の実態調査。小児の在宅医療システムに関する研究報告書(平成6年度)大阪府医師会勤務医部会 小児の在宅システム検討委員会

p30-7,1995.

- 5) Chung C Y, Erickson H P : Cell Surface Annexin II Is a High Affinity Receptor for the Alternatively Spliced Segment of Tenascin-C. The Journal of Cell Biology. 126 : 539 – 548, 1994.
- 6) Rabinovitch M : Complete reversal of fatal pulmonary hypertension in rats by a serine elastase inhibitor. NATURE MEDICINE. 6 : 698 – 702, 2000.
- 7) Jones P L, Rabinovitch M et al : Tenascin-C Proliferation and Subendothelial Fibronectin in Progressive Pulmonary Vascular Disease. American Journal of Pathology. 150 : 1349 – 1358, 1997.
- 8) Jones P L, Rabinovitch M et al : Regulation of Tenascin-C, a Vascular Smooth Muscle Cell Survival Factor that the α β Integrin to Promote Epidermal Growth Factor Receptor Phosphorylation and Growth : The Journal of Cell Biology. 139 : 279 – 293, 1997.

【研究発表】

特になし。

乳幼児突然死症候群 (SIDS) に関わるグリア細胞と 脳内サイトカイン・ストームの研究

分担研究者：

横田 俊平（横浜市立大学大学院医学研究発生生育小児医療学）

研究協力者：

西巻 滋（横浜市立大学医学部小児科）

伊藤 秀一（横浜市立大学医学部市民総合医療センター小児科）

【研究要旨】

SIDSを脳内の炎症の視点から解析することとした。中枢神経系は神経組織、血管系が機能的には主たる組織であるが、この間隙を埋めるようにグリア細胞が存在する。グリア細胞にはオリゴデンドログリア、ミクログリア、アストロサイトの3種が存在するが、とくにアストロサイトは足枝の一部が脳内血管に接合して脳血管門を形成している。またグリア細胞は免疫学的にはマクロファージ系細胞に由来することから、活性化するとNOや種々の炎症性サイトカインを産出することが知られている。SIDSとはこのアストロサイトの活性化により炎症性サイトカインの過剰状態が現出し、呼吸中枢の抑制が起こると作業仮説を構築した。そこでSIDSのさまざまな剖検組織について、免疫組織学的な検索を行うため、今年度はSIDSの症例数を蓄積することに主眼を置いた。その間、炎症性サイトカインの免疫染色法を確立した。同時に、血清・髄液のサイトカインのマイクロビーズとFACSを用いた測定法を確立した。剖検組織の提供はインフォームドコンセントの下に承諾書を戴いている。剖検症例は横浜観察医学研究所稲村クリニック（稲村啓二博士）にて行政解剖されたものである。