

表 11 解剖による診断分類の有用性は (複数回答可)

—結果の数字は全て%表示—

	全体				小児科				救急部				病理部				法医学			
	子どもH		大学		大学分院		一般H		大学分院		一般H		子どもH		大学分院		一般H		大学	
①再認識できて有用	69.6	92.3	78.1	65.5	68.7	66.7	62.4	83.3	78.6	74.4	57.9									
②家族説明に有用	34.1	15.4	46.3	50.0	39.3	11.1	40.0	0	14.3	22.7	10.5									
③警察への説明が楽になった	19.3	23.1	14.6	15.5	18.7	22.2	25.5	0	7.1	17.1	26.3									
④解剖の承諾が得られやすい	23.7	15.4	24.4	25.5	29.1	11.1	29.7	0	21.4	12.8	5.3									
⑤今ままでおりで有用性はない	4.5	7.7	2.4	0	4.3	0	5.5	0	0	4.7	10.5									
⑥分類や文章に異論がある	0.7	0	2.4	0	0.5	0	0	0	0	1.4	0									
⑦その他	4.7	0	2.4	5.0	4.0	11.1	3.0	0	7.1	7.1	10.5									

表 12 問診チェックリストの有用性は (複数回答可)

—結果の数字は全て%表示—

	全体				小児科				救急部				病理部				法医学			
	子どもH		大学		大学分院		一般H		大学分院		一般H		子どもH		大学分院		一般H		大学	
①問診漏れが無くなり有用	77.5	84.6	87.8	70.0	87.4	77.8	75.2	50.0	64.3	64.5	47.4									
②看護師も問診可能で有用	47.9	30.8	39.0	30.0	52.1	33.3	60.0	33.3	14.3	42.2	10.5									
③家族の協力が得やすい	26.1	7.7	26.8	20.0	30.7	22.2	29.7	0	21.4	18.5	21.0									
④カルテ保存に有用	42.9	53.8	46.3	30.0	54.5	55.6	40.6	50.0	14.3	28.0	10.5									
⑤法医・病理依頼時のサマリー	34.9	38.5	29.3	10.0	31.3	22.2	26.7	33.3	57.1	49.8	36.8									
⑥情報の均一化で有用	8.4	0	19.5	10.0	7.2	0	8.5	0	14.1	8.5	15.8									
⑦内容的に余り有用でない	0.6	0	0	0	0.3	0	0.6	0	7.1	1.0	0									
⑧使いにくく有用でない	0.5	7.7	0	0	0.3	0	1.2	0	0	0	0									
⑨その他	5.3	0	7.3	5.0	5.6	11.1	4.8	0	7.1	4.3	15.8									

表 13-① その他の意見

手引き・チェックリストは使用しているか (使用するつもりか) ?

・病理医ですで使用しません (一般病院-病理)

手引き・チェックリストは有用か?

・折角の手引きなので、小児科学会の HP などを使ってもっとアピールすべきでは? 当院の如く、現場には下りてきていない施設もあるのでは? (一般病院-救急)

定義・概念の有用性は

- ・ SIDS 診断では、鼻口部閉塞の状況や虐待を疑わせる外傷・画像所見や付添い人の言動が無いことを前提とし、外因や他者の寄与を完全に除外し、かつ他に死因となるべき内因性疾患がない場合に限って診断することとする。これらの除外ができないと感じた場合には、死因を「不詳」とすることもやむをえない (大学病院-法医)
- ・鑑別は除外診断ではないのか? (大学病院-法医)
- ・鑑別診断で「1つの疾患単位」とされているのが良く理解できない (大学分院-病理)
- ・ SIDS を単一疾患単位とするのは如何か? と考えている (大学病院-法医)
- ・ SIDS 症例の剖検に出会っていない (大学分院-病理)
- ・乳幼児と云いながら、原則 1 歳未満は? (一般病院-小児)
- ・病名がどうして「症候群」なのだろうか? (一般病院-小児)
- ・「診断」と「解剖」の項のつながりが不明瞭で困る、解剖ができずに診断も不可なら、全て警察に届けることで OK か? その旨の家族への説明方法を具体的に例を示して欲しい (一般病院-小児)

表 13-② その他の意見

診断フローチャートの有用性は

- ・行政解剖 or 承諾解剖のパスも入れるべき (子ども病院・小児)
- ・異常死か否かの判定を心肺停止の次くらいに位置づけるべき (大学病院・小児)
- ・現実との乖離が大きい (大学病院・法医) ・法医解剖はしてくれず、病理解剖は同意が得られず、絵に描いた餅！ (一般病院・小児)
- ・突然死の原因を病理解剖から判定できることは殆どない (大学分院・病理)
- ・法医解剖は裁判所の命令がないとできない、病死か不明だが、事件性のない場合には行政解剖となる (一般病院・小児)
- ・国庫負担で行なわれる司法検視と自治体負担の行政検視、又は司法解剖、行政解剖が一体となって記述されている (一般病院・小児)
- ・行政解剖が抜けているのは意図的ですか？ (一般病院・小児)
- ・搬入&現場⇒死因究明⇒病死 であっても警察に届け出る必要があると思います (一般病院・小児)
- ・電子カルテに取り込んで必要時に使用できるようにしたが、緊急の時に有用と思う (一般病院・小児)
- ・小児科医以外の医師への説明に役立つ (一般病院・救急)
- ・解剖の承諾を得られたことがないので診断できない (一般病院・救急)
- ・「SIDS」を「原因不明の突然死」とすべき (一般病院・病理)
- ・解剖前の検視でどうやうやって病死と異常死を決めるのか判らない (一般病院・病理)
- ・突然死は外因が明らかになっても全例警察に届けるのか？ (一般病院・病理)
- ・警察への届出基準が曖昧、もつと明確にして欲しい (一般病院・病理)
- ・警察の介入がまちなのでこの通りには行かない (一般病院・病理)
- ・どこからが異常死で警察に届けるべきなのか、解剖は法医と病理のどちらが行なうのか、などの判断基準を記載しておいて欲しい (一般病院・病理)
- ・病理解剖の適応基準が曖昧であるので明確にして欲しい (一般病院・病理)
- ・乳幼児の心肺停止⇒乳幼児の心肺停止、発生状況、死因究明⇒死因究明の手順、と記載し、それぞれ別枠で囲む (一般病院・病理)
- ・診断の手引き、チェックリスト、診断基準、重要用語が類似していて危険 (一般病院・病理)
- ・「死因の究明」の部分は具体的に「血液検査」や「画像診断」とした方が良いでしょうか？ (一般病院・病理)
- ・病理側の負担は変わらない (一般病院・病理)

表 13-③ その他の意見

解剖による診断分類の有用性は

- ・ 診断の手引きとの矛盾 (大学病院・法医)
- ・ I と IV との判別ラインが難しい (大学病院・法医)
- ・ I と IV a の差異が不明 (一般病院・病理)
- ・ IV ? (一般病院・病理)
- ・ Ia の説明で肉眼的所見に限定してよいのか? ⇒ 例えば肉眼的には判りにくい Sepsis もある (一般病院・病理)
- ・ Ib と IV a の判断は病理解剖のみでは困難ではないでしょうか? (一般病院・病理)
- ・ 世相の影響で、病理解剖に回って行く症例が少ないのが残念 (一般病院・病理) ・ 未だに確定診断を下すのは難しい (一般病院・病理)
- ・ 解剖でとりわけ通常より詳しく検索することなどあるでしょうか? (ex 脳、心) (一般病院・病理)
- ・ 解剖の標準マニュアルを作成、配布して欲しい (一般病院・病理) ・ 特別 SIDS を病理学的に診断できるとは思えない (大学分院・病理)
- ・ 解剖時の具体的な観察のポイントの見落としの起きている点などの注意事項があっても良いかと思えます (一般病院・病理)
- ・ 除外診断ではないと D.D のところがあります (大学分院・病理)
- ・ 診断自体が極めて困難で、除外診断である (大学分院・病理) ・ 病死と外因死の鑑別ができない (IV a) (一般病院・小児)
- ・ 解剖の承諾が得にくいことやシステマの不備が先行している (大学病院・小児) ・ 病理解剖を優先すべきである (一般病院・小児)
- ・ 司法解剖の結果は「原因不明」の診断名に戻ってきたが、「原因不明」=「SIDS」ではないのでしょうか? (一般病院・小児)
- ・ 司法・行政解剖の結果が病院・主治医に届く体制を確立してください (一般病院・小児) × 3
(これらのフィードバックは SIDS の理解や対策が進む上で大切なことと思う)
- ・ 解剖の承諾が難しいし、法医解剖の同意が家族から得られなかったことも一度も無い (一般病院・小児)
- ・ 解剖の承諾を得られないので診断できない (一般病院・救急) × 2
- ・ SIDS は原因不明の乳児突然死ですが、元気な赤ちゃんが原因不明で吐乳し詰まらせた場合、剖検でミルクによる窒息死となるのでしょうか? 嘔吐の原因があるのですが、それが判っていない、それが真の SIDS の原因ですが、見かけ上、ミルクによる窒息死となるのでしょうか? そうなると真の SIDS の原因は判らないと思いますが、如何でしょうか? (一般病院・小児)
- ・ 頭部の解剖がされないなど不備の場合には IV としななければならぬか? (一般病院・小児)
- ・ 解剖が無い場合、「不詳死」として処理することに警察関係の同意は得ていますか? 現場では問題になりそうです! (一般病院・救急)
- ・ 解剖も含めて全ての原因追求を行なってもなお原因不明の死なのに、解剖の項に、「原因不明の・・・」と判断されたら、と先に結果を言うのは変! 「が疑われたら」とすべき (一般病院・病理)

表 13-④ その他の意見

問診チェックリストの有用性は

- ・病態解明には有用だが、実際の現場では項目が多すぎる (大学病院-小児) ・死亡時の体重測定と記載が欲しい (一般病院-小児)
- ・印象項目が 2 つあり、客観性や根拠が不明瞭となるが記載医師が後日家族からクレームなどで不利益を被ることはないか? (一般病院-小児) ×3
- ・症例を経験したことはないが、悲しみとパニックの家人から事務的にここまでチェックできるのですか? (一般病院-小児) ×3
- ・リサーチに適していると思うが、臨床現場ではやや煩雑 (一般病院-小児)
- ・細かすぎて時間がかかり、緊急用ではない、こんなにゆっくりに問診できない! (一般病院-小児) ×2
- ・チェック項目が多すぎる、家族の協力が得られない (一般病院-救急) ×6
- ・電子カルテに載せられない (一般病院-小児) ×2 ・電子カルテに対応していない (一般病院-救急)
- ・電子カルテに取り込んで皆がいつでも使用できるようにした (一般病院-小児)
- ・死亡児の検査は費用などのために無理がある (一般病院-小児)
- ・心電図所見 (QT 延長症候群があるはずだが) の記載場所が無い (一般病院-小児)
- ・心拍再開までの時間の項は ALTE も含むものでしょうか? (一般病院-小児)
- ・現病歴・既往歴が不十分 (一般病院-小児)
- ・手引き/診断チェックリストはインターネットからダウンロードできるようにすべき (一般病院-小児)
- ・目の前では記入しにくい項目 (態度など) があり、上下か左右で折ればもっと便利 (一般病院-小児)
- ・聴きにくいところがあり、全ては埋められない (一般病院-病理)
- ・病因解明の糸口になるかもしれない (一般病院-病理)
- ・SIDS 症例に逢ったことなく過ぎてきました、こういう症例は経験が少ないため、こういうチェックリストができていいと思います。
(一般病院-病理)
- ・救急隊用、家族用、医療者用と分けて、作成した方が利用時の問題が少ないと思う (一般病院-病理)
- ・誰がどの時点で行なうかが問題、家族が率直に答えてくれるか不明 (一般病院-病理)

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金（子どもの家庭総合研究事業）

分担研究課題 **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**

分担研究者名、所属 高嶋幸男（柳川療育センター・国際医療福祉大学大学院）、

研究協力者名、所属 小沢愉理（東邦大学医学部新生児科）

金海武志（福岡大学小児科）

要旨

乳幼児突然死症候群(SIDS)は睡眠時に発生するために、覚醒反応の異常が注目される。NREM から覚醒への移行調節に関与するヒスタミン H1 受容体(H1R)の発達と SIDS における異常を検討した。H1R は胎児期から、脳幹と大脳に、広範に認められたが、迷走神経背側核に比較的強く、特に、生後 1 ヶ月以内の新生児期に強かった。その後、減弱し、成人では更に弱かった。H1R は、SIDS とコントロールで発現の差はなかった。SIDS では、カテコラミンやセロトニン神経細胞の減弱と同じく、抑制系 GABA 神経細胞の低下が認められ、睡眠時の突然死の機序として、神経伝達物質の発達の異常の関与が重視される。神経伝達物質の発達異常の成因を更に追求する必要がある。

A. 研究目的

SIDS の特徴は、1) 年齢依存性、2) 睡眠中の突然死、3) 原因は不明であるが、心・肺停止の発生、4) 素因と誘因:素因に遺伝、形成異常、慢性低酸素症、神経系発達遅滞などであり、誘因に、うつ伏せ寝、感染などがある。新生児・乳幼児の突然死には多くの原因があるが、SIDS には特徴があるために、睡眠覚醒と呼吸循環調節に関与する中枢の発達と異常を明らかにし、突然死の機序を解明し、予防法を開発する。中枢神経系、特に、脳幹の神経伝達物質の発達と SIDS の関係について検討し、SIDS では、カテコラミンとセロトニン神経細胞が少なく、それらの受容体も低下していることが多いと報告してきた。また、昨年度は、SIDS では、カテコラミンやセロトニン神経細胞の減弱と同じく、抑制系 GABA 神経細胞の発現は減弱していた。

突然死の機序として、神経伝達物質の発達の異常が重視されるが、更に、睡眠覚醒の発達と突然死との関連を検討するために、覚醒に関与するヒスタミン H1 受容体(H1R)の発達と SIDS における異常を検討した。

B. 研究対象・方法

胎児から成人まで、コントロール 23 名、SIDS 16 名を対象とした（剖検研究のインフォームドコンセントあり）。コントロールは胎児から成人までの剖検例で、神経病理学的に異常のないものである。各剖検例は 24 時間以内に行われたものを用いた。コントロールと SIDS 例の脳幹、基底核および大脳皮質において、H1R 抗体を用いて、免疫組織化学的に染色し、その発現を発達的に検討した。

また、コントロールと SIDS 例の脳幹に関して、神経伝達物質抑制系である GABA の合成酵素 glutamic

acid decarboxylase (GAD)、GABA トランスポーター(GAT-1)と GABA 受容体 $\alpha 1$, $\gamma 2$ に関する免疫組織化学的結果と比較検討した。

免疫組織化学的染色の評価は、0 : 陰性 (陽性細胞がない)、1 : 軽度 (強拡大の視野で陽性細胞が数個)、2 : 中等度 (陽性細胞が 50%未満)、3 : 強度 (陽性細胞が 50%以上) とし、胎児から成人までの発達と、新生児から 1 歳までの SIDS とコントロール症例における発現程度を比較検討した。

C. 研究結果

1) ヒスタミン H1 受容体 (H1R)

H1R の発現は、胎生 22 週の胎児期から、延髄から大脳まで、広範に認められたが、迷走神経背側核に比較的強く、特に、生後 1 ヶ月以内の新生児期に強かった。その後、減弱し、成人では更に弱かった。SIDS 症例でも、H1R の発現は新生児期に、且つ広範に強い例があったが、同年齢のコントロールと比較して、明らかな差はなかった。

Table 1. Immunohistochemical expression of histamine H1 receptor (H1R)

Controls	Medulla oblongata				Cerebrum		
	Hypoglossal	Dorsal	Reticular	Olive	Putamen	Thalamus	Cortex
22~24 GW	1~2	2	1	2	0~1	1~2	1~2
29-34 GW	1~2	2	2	2	2	2	0~1
1 - 7 D	1~2	2~3	2	2	1~2	2	1~2
2 - 4 W	1~2	2~3	1~2	2	1~2	2	1~2
2 - 8 M	1	1~2	0~1	0~1	1~2	2	1
1- 12 Y	1	1~2	1	1	2	1~2	1
46- 63 Y	0~2	0~1	0~1	0~1	0~1	0	0~1
SIDS							
1 - 5 D	1~3	2~3	1~3	1~3	2	1~2	1
2 - 4 W	1~3	2~3	2~3	1~3	1	1	1
2 - 8 M	1~2	1~2	1~2	1~2	1~2	1~2	1~2

D; days, W; weeks, M; months, Y; years

0 ; negative、1 ; mild、2 ; moderate (<50%)、3 ; marked (>50%)

2) 抑制系神経伝達物質の発達と異常

GAD は、延髄の迷走神経背側核、弧束核や網様体などにおける、胎児

期早期から発現し、乳児初期にやや増強し、幼児期から減弱した。SIDS では、GAD の発現は著明に減弱していた (平成 18 年度報告)。

GAT-1 は、下オリブ核部や後索核などによく発現し、迷走神経背側核には軽度に発現し、乳児初期に強く認められた。SIDS では、同年齢のコントロールと比較して差はなかった。

GABAA 受容体 $\alpha 1$ と $\gamma 2$ の発現は、胎児期初期から発現し、成人まで変わらなかった。SIDS では、同年齢のコントロールと比較して差はなかった（一部平成 18 年度報告）。

Table.2. Immunohistochemical expression of GAD, GABAA receptor alpha 1, gamma 2, and GAT-1 in the dorsal nucleus of vagal nucleus of SIDS and controls

	GAD ≥ 2	GABAAR		GAT-1 ≥ 1
		$\alpha 1$ ≥ 3	$\gamma 2$ ≥ 3	
Controls	66.7	87.5	87.5	42.8
SIDS	8.3	66.7	44.4	11.1 %

% shows the rate of more immunoreactivity than 2 or 3 / the number of cases
0 ; negative、1 ; mild、2 ; moderate (<50%)、3 ; marked (>50%)

D. 考察

ヒスタミン (HA) 神経は tuberomammillary histaminergic system にあり、脳の広範な部位に投射する。HA 神経は H1R を介して、睡眠覚醒調節に重要な働きを有し、前脳基底部、青班核ノルアドレナリン神経、背側縫線核セロトニン神経からの入力も受ける。睡眠時における活動抑制は主に VLPO からの GABA によってコントロールされている。H1R は広範に分布し、特に、視床下部や辺縁系に多く、覚醒に関与する働きをもつと考えられている。H1R ノックアウトマウスの研究によると、H1R は NREM から覚醒への移行調節に関与するという (Huang ら)。

ヒト脳における H1R 発現は胎児期から広範に観察され、延髄、基底核、

視床および大脳皮質における年齢依存性発現の相違は認められなかったが、迷走神経背側核に比較的強く、特に、新生児期に強い例があった。また、新生児期に強く発現する傾向は、SIDS 症例でも、認められたが、H1R 発現には SIDS 例と同年齢のコントロールと比較して、明らかな差はなかった。

GABA は抑制性のアミノ酸伝達物質であり、その活性は神経終末や周囲のアストロサイトに取り込まれることにより終了する。グルタミン酸の興奮を抑制する他に trophic な作用が報告されている。受容体にはイオン透過型の GABA-A 受容体、代謝調節型の GABA-B 受容体がある。GABA-A 受容体は陰イオン選択制チャンネル型で、特に Cl⁻に対する透過性が増し、

チャンネルが開くと過分極を起こし抑制的に働く。GABA とその受容体およびトランスポーターは新生児期から乳児期に著しい発達的变化を示し、その遺伝子異常には年齢依存性の発作性疾患がある (Kanaumi ら)。SIDS は年齢依存性で乳児早期に多いが、生後に変動する GABA_A 受容体 $\alpha 1$ と $\gamma 2$ の発現には、SIDS とコントロールとで差はなかった。GAT-1 の発現は SIDS でやや低い傾向にあるものの、コントロールと有意の差はなかった。

腹外側視索前野 (ventrolateral preoptic area, VLPO) には睡眠時に特異的に活動が高まる神経群があり、そこから GABA 含有神経線維が結節乳頭核や脳幹の縫線核や延髄の腹外側部、青斑核にも投射している。GAD は、SIDS 例で減少していたが、これはカテコラミンやセロトニンの減少と関連していると考えられる。これらの神経伝達物質の減少は覚醒に関与するヒスタミン作動性神経とも関連しており (Passani ら)、呼吸循環のみならず、睡眠覚醒の機構に影響すると考えられ、更に追求したい。

E. 結論

NREM から覚醒への移行調節に関与する H1R は、SIDS とコントロールで差がなかった。SIDS では、カテコラミンやセロトニン神経細胞の減弱と同じく、抑制系 GABA 神経細胞の低下が認められた。突然死の機序として、神経伝達物質の発達の異常が重

視される。それらの発達異常は呼吸循環・睡眠覚醒に関与しており、神経伝達物質異常の成因を更に追求する必要がある。

F. 今後の課題

1) 病態解明から予防への学際的研究体制の確立

2) リスクの予知

Chronic hypoxia の診断

神経伝達物質異常の診断

生化学、遺伝子多型、機

能画像

機能テスト

3) 診断から予防

リスクを持つもののモニター

文献

1) Kanaumi T, Takashima S, Iwasaki H, Mitsudome A, Hirose S: Developmental changes in the expression of GABA_A receptor alpha 1 and gamma 2 subunits in human temporal lobe, hippocampus and basal ganglia: An implication for consideration on age-related epilepsy. *Epilepsy Res* 71:47-53, 2006.

2) Huang ZL, Mochizuki T, Qu WH, Hong ZY, Watanabe T, Urade Y, Hayaishi O: Altered sleep-awake characteristics and lack of arousal response to H3 receptor antagonist in histamine H1 receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103:4687-92, 2006.

3) Passani MB, Giannoni P, Bucherelli C, Baldi E, Blandina P: Histamine in the brain: beyond sleep and memory. *Biochem Pharmacol* 73:1113-22, 2007.

F. 研究発表

1) 国内 (口頭発表、原著論文による発表、その他) の主なもの

原著論文

1. 小沢愉理、金海武志、高嶋幸男：脳幹の神経伝達の発達と SIDS、日本 SIDS 学会雑誌 7:7-12, 2007.

口頭発表

1. 小沢愉理、金海武志、高嶋幸男：脳幹の神経伝達の発達と SIDS、第 13 回 SIDS 学会、3.17,2007.

2) 海外（口頭発表、原著論文による発表、その他）の主なもの

原著論文

1. Kanaumi T, Takashima S, Iwasaki H, Mitsudome A, Hirose S: Developmental changes in KCNQ2 and KCNQ3 expression in human brain: Possible contribution to the age-dependent etiology of benign familial neonatal convulsions. *Brain Dev*, in press.

2. Okoshi Y, Mizuguchi M, Itoh M, Oka A, Takashima S: Altered nestin expression in the cerebrum with periventricular leukomalacia. *Pediatr Neurol* 36:170-174, 2007.

平成 19 年度厚生労働省科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

「乳幼児突然死症候群(SIDS)における科学的根拠に基づいた病態解明および臨床対応と予防法の開発に関する研究」

分担研究課題（中山雅弘）：SIDS 剖検脳および対照脳における脳症関連病変 (Clasmatodendrosis)の解析

研究要旨： インフルエンザ脳症において、H. E. 標本において顕著な所見が見出せない症例においても、GFAP 染色において、アストロサイトの突起の変性・ドット状の断裂 (Clasmatodendrosis)が見られることを報告した (Nakayama et al IAP, 2004)。

これらの結果を踏まえ、原因不明の突然死症例においても、アストロサイトの病変が存在するか否かを検討することにより病変の理解の一助になると考え、研究を行った。

非急死例 58 例の解析結果では、12 例 (20.7%) において、Clasmatodendrosis の所見が得られた。急死群 31 例の検討では、疾患を有する急死群の中に数例の陽性所見が見られた。典型的な SIDS 群では、ほとんどが陰性であった。

非突然死の群や症候性の突然死の中で、Clasmatodendrosis の所見が観察された。感染症の関連が多いことは、サイトカインの関与の可能性が窺われる。突然死症例において、感染症などが関連する症候性の突然死と SIDS 典型症例の病理的な鑑別法の一助になることが確認された。

研究協力者

木本哲人、松岡圭子、桑江優子

大阪府立母子保健総合医療センター検査科

A. 研究目的

インフルエンザ脳症において、壊死性脳症の形をとるもの、あるいは全般的な浮腫以外に H. E. 標本において顕著な所見が見出せない症例においても、GFAP

染色において、アストロサイトの突起の変性・ドット状の断裂 (Clasmatodendrosis)が見られることを報告した (Nakayama et al IAP, 2004)。症例の分布では、典型的な脳症の症状のな

い急死症例においてもアストロサイトの病変は存在する。これらの病変は、脳内における高サイトカインの状態と関連することも示唆されている。

これらの結果を踏まえ、原因不明の突然死症例においても、アストロサイトの病変が存在するか否かを検討することにより病変の理解の一助になると考え、研究を行った。

B. 研究方法

大阪府立母子保健総合医療センター検査科において剖検された脳(1981-2007)から、SIDS 11例、SIDS以外の急死 20例、種々の疾患を有する非急死 58例を抽出した。

上記の症例群の脳・小脳等において、アストログリアの検出のために、GFAPの免疫組織化学染色を行った。臨床経過や転帰との関連での解析を行った。

C. 研究結果

非急死例 58例の解析結果では、12例(20.7%)において、Clasmatodendrosisの所見が得られた。内訳は、感染症 5例(敗血症疑い 2例、ヘルペス 1例、インフルエンザ肺炎 1例、ウイルス関連 HPS 1例)、ウイルソン・ミキティー症候群 2例、筋緊張性ジストロフィー 2例、不明肝障害 1例、脳梗塞 1例、アーノルド・キアリ奇形 1例であった(表 1)。

一方、重症仮死例や、代謝異常では Clasmatodendrosis の所見が全く見られなかった。

急死群 31例の検討では、疾患を有す

る急死群の中に数例の陽性所見が見られた(図 1)。典型的な SIDS 群では、ほとんどが陰性であった(表 2)。

D. 考察

乳幼児突然死症候群(SIDS)診断の手引き(改訂第 2 版)において、以下の記載が見られる。

SIDS と脳症との鑑別-----「び慢性に脳腫脹が認められる場合、脳症や外傷性脳腫脹などと鑑別する必要がある。

Reye 症候群やインフルエンザ等による脳症との鑑別では、アストロサイトの染色(glial fibrillary acidic protein; GFAP の免疫組織化学染色)が有用なことが多い。脳症の場合、アストロサイトは通常の線維状構造が破壊され、clasmatodendrosis と呼ばれる特有の顆粒状の構造を示す。典型的な SIDS 症例では、clasmatodendrosis の所見は認められない。」

今回の結果は上記の記載を確認することになった。非突然死の群や症候性の突然死の中で、かなりの症例に Clasmatodendrosis の所見が観察された。感染症の関連が多いことなどは以前に検討したインフルエンザ脳炎との関連においても、サイトカインの関与の可能性が窺われる。ウイルソン・ミキティー症候群や筋緊張性ジストロフィー症においては、強い clasmatodendrosis の所見が見られたことより、病態生理にサイトカインが関与している可能性も示唆される。又、突然死症例において、感染症などが関連する症候性の突然死と SIDS 典型症例の病理的な鑑別法の一助になるこ

とが確認された。

E. 学会発表・論文

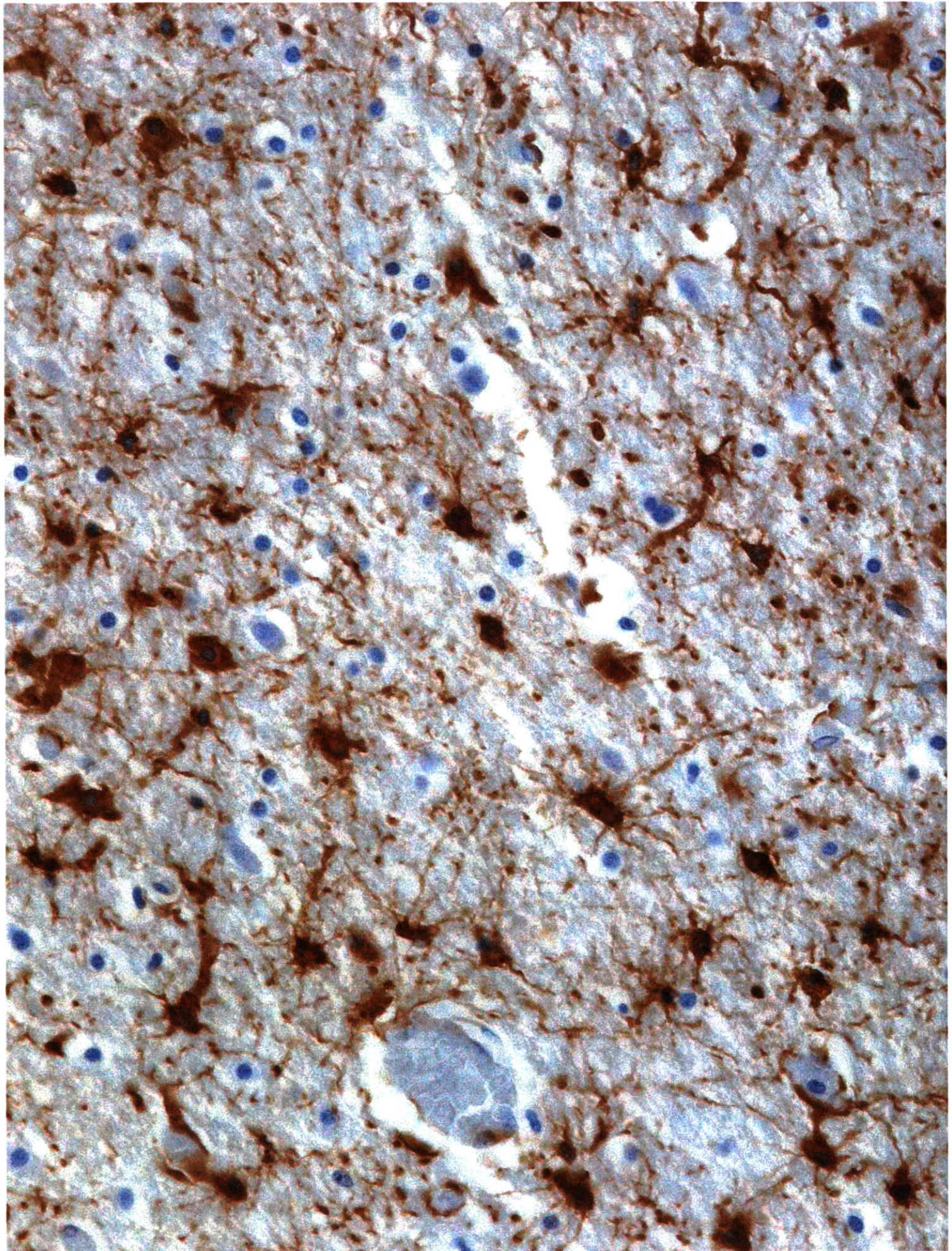
1. Taniguchi H, Mohri I, Okabe-Arahoru H, Aritake K, Wada K, Kanekiyo T, Narumiya S, Nakayama M, Ozono K, Urade Y, Taniike M. Prostaglandin D2 Protects Neonatal Mouse Brain from Hypoxic Ischemic Injury. *The Journal of Neuroscience* 2007; 27: 4303-4312
2. Taniguchi H, Mohri I, Okabe-Arahoru H, Kanekiyo T, Kagitani-Shimono K, Wada K, Urade Y, Nakayama M, Ozono K, Taniike M. Early induction of neuronal lipocalin-type prostaglandin D synthase after hypoxic-ischemic injury in developing brains. *Neuroscience Letters* 2007; 420: 39-44
3. 中山雅弘. 誤嚥とSIDS: 鑑別の問題点 *チャイルドヘルス* 2007; 10: 180
4. 中山雅弘, 桑江優子, 竹島俊一, 濱中拓郎, 末原則幸. 母子感染の胎盤病理所見と防御能 *日本臨牀(増刊号 3)* 2007; 65: 500-507
5. 中山雅弘, 胎児・新生児の病理—胎児新生児の疾患の特徴、胎内環境が関連する奇形性病変、解剖方法論等— *病理と臨床* 2007; 25: 10-16
6. 桑江優子, 松岡圭子, 南条浩輝, 北島博之, 中山雅弘. 原因不明の重症新生児仮死後、経過中に肝不全を発症した日齢44乳児の解剖例. 第59回関西小児病理研究会 2008.1.12 大阪市
7. 中山雅弘, 木本哲人, 松岡圭子, 桑江優子. 種々の小児疾患剖検脳における脳症関連病変 (Clasmatodendrosis) の解析. 第59回関西小児病理研究会 2008.1.12 大阪市
8. 和田芳郎, 望月成隆, 高橋伸方, 細川真一, 南條浩輝, 杉本佳乃, 西澤和子, 白石淳, 佐野博之, 平野慎也, 北島博之, 福井温, 末原則幸, 桑江優子, 中山雅弘, 和田芳直, 吉田周美, 石崎由美子. トランス脂肪酸が胎児発育その他に及ぼす影響について *日本周産期・新生児医学会 周産期学シンポジウム* 2008.1 東京都

表1-非急死例におけるClasmatodendrosis陽性例

症例	疾患名	疾患分類	部位1	結果1	部位2	結果2
1	肺炎?	慢性肺炎?	51 大脳	1	54 延髄	2
2	Wilson-Mikity	慢性肺炎	52 小脳	1	56 大脳	1
3	Herpes	感染症	53 小脳	1	54 大脳	1
4	Sepsis	感染症	55 大脳	1	56 橋	1
5	MyoD	筋疾患	54 小脳	2	59 大脳	2
6	脳梗塞	不明心筋炎	53 大脳	1	58 小脳	1
7	Arnold, chiari	感染症?	52 小脳	2	56 大脳	2
8	MyoD	筋疾患	56 小脳	2	62 大脳	2
9	HPS?	脳症?	53 小脳	1	55 大脳	1
10	Wilson-Mikity	慢性肺炎	54 小脳	1	58 大脳	1
11	不明肝障害	劇症肝炎?	51 小脳	2	54 大脳	1
12	influenza	感染症	51 小脳	1	63 大脳	1

表2-突然死症例におけるGFAP染色結果

症例	疾患(臨床)	疾患(病理)	部位1	結果1	部位2	結果2	部位3	結果3
1	突然死	脳症?	51 大脳	陽性	54 延髄	強陽性	53 大脳	陽性
2	突然死	感染症?	56 小脳	陽性	59 大脳	陽性	56 大脳	陽性
3	SIDS	SIDS	53 小脳	陰性	54 大脳	陰性	52 延髄	陰性
4	SIDS	SIDS	55 大脳	陰性	56 小脳	陰性		
5	突然死	川崎病	延髄	陽性	53 大脳	陽性	51 延髄	陰性
6	Hirschsprung	腸炎	52 小脳	陽性	51 大脳	陰性		
7	SIDS?	新生児SIDS	53 延髄	陰性	58 小脳	陽性		
8	突然死	EFE	53 大脳	陽性	60 大脳	陰性		
9	SIDS	SIDS	51 橋	陰性	56 大脳	陰性		
10	誤嚥?	DiGeorge	54 小脳	陰性	56 大脳	陰性		
11	SIDS	SIDS	52 橋	陰性	53 小脳	陰性	55 橋	陰性
12	SIDS?	新生児SIDS	54 大脳	陰性	56 小脳	陰性	56 延髄	陰性
13	SIDS	SIDS	51 大脳	陰性	54 橋	陰性	57 大脳	陰性
14	SIDS	SIDS	53 小脳	陰性	56 大脳	陰性	58 大脳	陰性
15	SIDS	SIDS	54 延髄	陰性	56 大脳	陰性		
16	誤嚥?	誤嚥?	51 大脳	陽性?	54 小脳	陰性		
17	突然死	脳性麻痺	54 小脳	陽性	56 大脳	陰性	58 大脳	陰性
18	突然死	脳梗塞	52 橋	陰性	56 大脳	陰性	55 延髄	陰性
19	突然死	虚血性脳症	53 大脳	陽性	58 小脳	陽性		
20	突然死	肺炎	52 大脳	陰性	54 延髄	陰性	55 大脳	陰性
21	SIDS	SIDS	51 小脳	陰性	54 中脳	陰性		
22	突然死	Hirschsprung	53 小脳	陽性	54 大脳	陽性		
23	突然死	Neglect	53 小脳	陰性	54 大脳	陰性		
24	突然死	骨奇形	54 小脳	陰性	61 大脳	陰性		
25	突然死	ミルク誤嚥	54 大脳	陰性				
26	突然死	肺炎	56 小脳	陰性	66 大脳	陰性		
27	突然死	外傷	51 大脳	陰性	56 小脳	陰性		
28	突然死	脳性麻痺	54 小脳	陰性	58 大脳	陰性		
29	突然死	新生児SIDS	51 小脳	陽性	60 大脳	陽性	52 延髄	陰性
30	突然死	骨奇形	51 小脳	陰性	57 大脳	陰性		
31	突然死	心室中隔欠損	52 大脳	陰性	57 小脳	陰性		



平成 17 年度厚生労働科学研究補助金（子ども家庭総合研究事業）
「乳幼児突然死症候群(SIDS)における科学的根拠に基づいた
病態解明および予防法の開発に関する研究」平成 19 年度報告書

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)の死亡原因の一として、潜在性の肺高血圧症を考え、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きた。これまでに細胞外マトリックスの一成分であるテネイン C の血清中濃度が一般乳児に比べ、致死肺高血圧症乳児とSIDS児において高値を呈することを報告し、さらに致死乳児肺高血圧症児とSIDS児に血清リウマチ因子の陽性所見が高頻度に見られ、前者においては、血清EセレクトインとKL-6濃度が高頻度に高く、後者SIDS児においてはリウマチ因子陰性例でEセレクトインが高いという所見を報告した。リウマチ因子と肺高血圧症の関連について示唆する報告は出ていないが、Eセレクトイン上昇は、血管内皮細胞障害を示唆するものであり、テネインC高値と共に、重要な意味を持つ。以上のことから、乳児肺高血圧症の病態が一部のSIDS児の背景に存在することを示唆している。

一方、血清リウマチ因子の抗原にあたるヒトIgG Fc部分がある種のレトロウイルスのエンベロップ蛋白の構造が似ているという報告があり、すでにわれわれは正常乳児血清中には通常検出されるヒト内因性レトロウイルスのエンベロップに対するIgM抗体が致死肺高血圧症児とSIDS児には検出されないと報告しているが、このウイルスのゲノムあるいはそれに由来する蛋白がヒトとくに新生児・乳児に存在するのかどうかを検討した。

8名の超低出生体重児の臍帯血清(2~4ml)を10万gで超遠心して得たペレットを、シヨ糖密度勾配法で分画した画分の逆転写酵素活性を測定した。比重1.020のあたりに、活性を見出したので、その分画を集めて、免疫沈降反応をclone4-1のgagとenvに対する抗体を用いて行なうと、50Kにenv蛋白を思わせる反応が出た。一方、12名の極低出生体重児の臍帯血清各々2mlを用いて、同様の処理をした10万gのペレット画分から、RNAを抽出し、オリゴdTセルロースを用いて精製し、ノザンプロットを行なった。Clone4-1のgagとenvのDNAプローブを用いて染色すると、950残基くらいのサイズのRNAが5人以上から検出できた。以上から、早産児の血清中には、clone4-1のenv蛋白とgagのゲノムが存在することが推測された。

研究協力者

中山雅弘 大阪府立母子保健総合医療センター 検査科部長

宮野章 同上 検査科 技師

望月成隆 同 新生児科 医員

柳原格 同 研究所 免疫部門部長

湯通堂 満寿男 大阪大学微生物病研究所

丸山直記 東京都老人研究所

A. 研究目的

乳幼児突然死症候群(SIDS)児の死亡には、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。一般的に乳幼児の死亡において、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。

われわれがこれまでに経験したこれらの致死的な肺高血圧症児とSIDS児の近似性については、①細胞外マトリックスの成分であるテネイシン C の血清中濃度が一般乳児に比べ、致死肺高血圧症乳児とSIDS児において高値を呈すること、②致死乳児肺高血圧症児とSIDS児に血清リウマチ因子の陽性所見が高頻度に見られ、前者においては、血清 E セレクチンと KL-6 濃度が高頻度に高く、後者 SIDS 児においてはリウマチ因子陰性例で E セレクチンが高値であるという所見を見出した。つまり E セレクチン上昇は、血管内皮細胞障害を示唆するものであり、テネイシン C 高値と共に、重要な意味を持つ。

一方、血清リウマチ因子の抗原にあたるヒト IgG Fc 部分がある種のレトロウイルスのエンベロップ蛋白の構造が似ているという報告があり、すでにわれわれは正常乳児血清中には通常検出されるヒト内因性レトロウイルスのエンベロップに対する IgM 抗体が致死肺高血圧症児と SIDS 児には検出されないと報告しているが 1)、このウイルスのゲノムあるいはそれに由来する蛋白がヒトとくに新生児・乳児に存在するのかどうかを検討した。

B. 研究方法 と結果

1. 早産児血清中のレトロウイルスの存在について

1982 年に Mondel らにより、正常胎児血液中にレトロウイルス様粒子の存在と、胎児各組織の逆転写酵素 (Reverse transcriptase :RT) 活性が報告された。2) 彼

らの方法に従って、大阪府立母子保健総合医療センターに入院した超早産児 8 名の臍帯血清を 10 万 g で超遠心し、その沈渣を再度シヨ糖密度勾配 (10-60%) の超遠心で分画した。図2に示すように Mondel らのデータに近似した比重 1.200 付近の画分に、最も強い RT 活性をみとめた。これは Mondal らの報告で、胎児血清中のウイルス様粒子由来の RT 活性の peak と一致した (図2)。

2. 早産児血中のレトロウイルス由来の蛋白の同定

上記の RT 活性の高い画分 B と C を集めて、蔗糖をセファデックスカラムで除去し濃縮したのち、この B と C を合わせた画分を SDS-PAGE を行なった。

次いで研究協力者である東京都老人研究所の丸山直記先生により作製された以下の抗血清を使用して免疫沈降反応を行なった。バキュロウイルス遺伝子に clone4-1 (図2) の env と gag のそれぞれの遺伝子を組み込ませて特異蛋白を作り、抗 env 抗体 (env 蛋白を用いて家兎に抗血清を作製: 抗 SU41B) と抗 gag 抗体 (gag 蛋白を用いてヤギに作らせた抗血清: 抗 CA41B) が作られた。免疫沈降は、そのおのおのの抗体を用いて、行なった所、約 50K 付近の蛋白が env 蛋白であると考えられた。(図3)

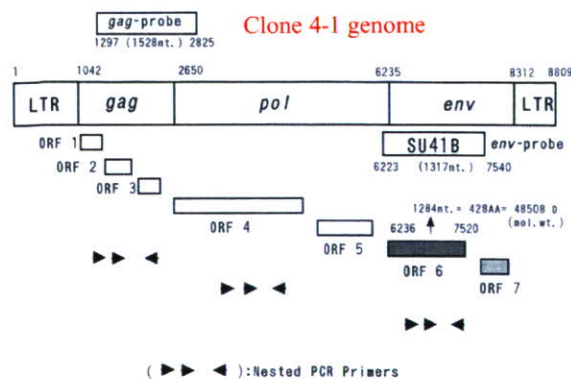


図 1. Clone4-1 の遺伝子構造

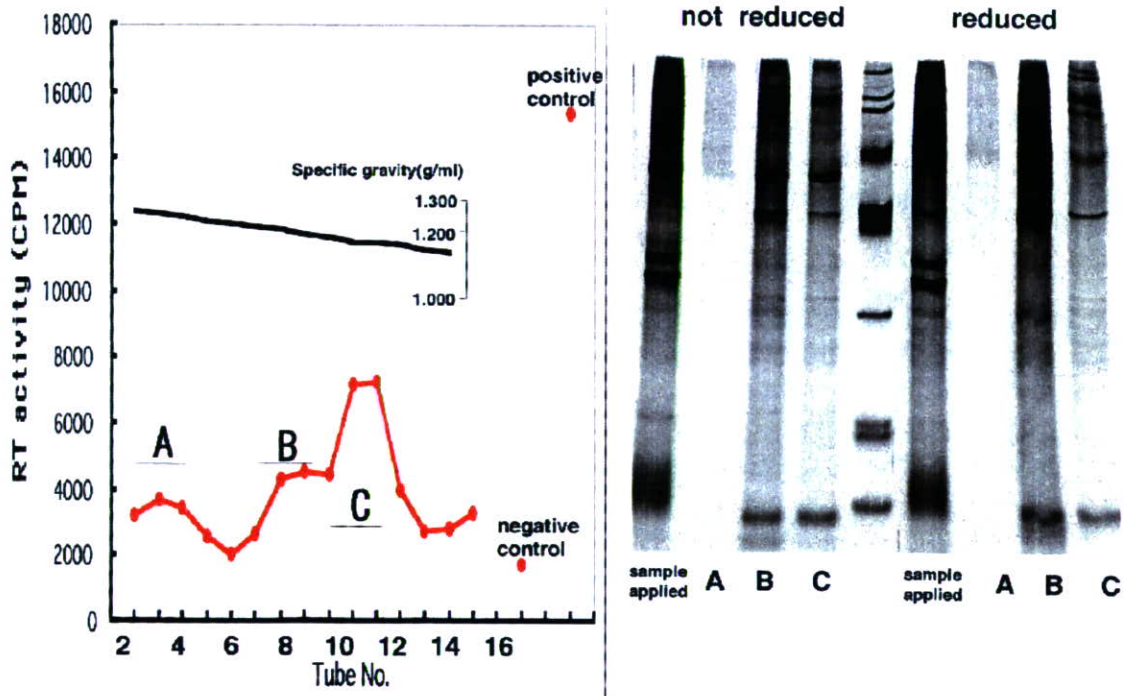


図2. 早産児臍帯血漿を10万Gで超遠心した沈殿物をショ糖密度勾配法で分画し、逆転写酵素活性(左図)とSDS-PAGE(右図)パターンを示した。

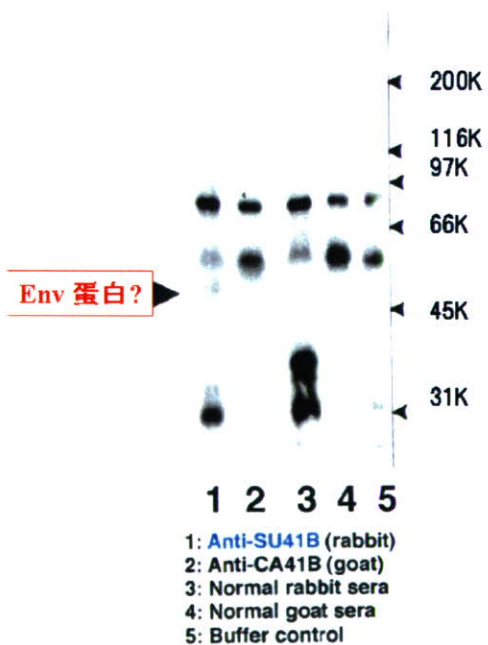


図3.免疫沈降法による clone4-1 の env 蛋白

3. 早産児血中のレトロウイルス由来のゲノムの同定

一方、12名の極低出生体重児の臍帯血清各々2mlを用いて、上記と同様の処理をした10万gのペレット画分から、RNAを抽出し、オリゴdTセルロースを用いて精製し、ノザンプロットを行なった。Clone4-1のgagとenvのDNAプローブを用いて染色すると、950残基くらいのサイズのRNAが5人以上から検出できた。以上から、早産児の血清中には、clone4-1のenv蛋白とgagのゲノムが存在することが推測された。(図4)

Clone4-1 gag probeを用いたNorthern blotting(1)

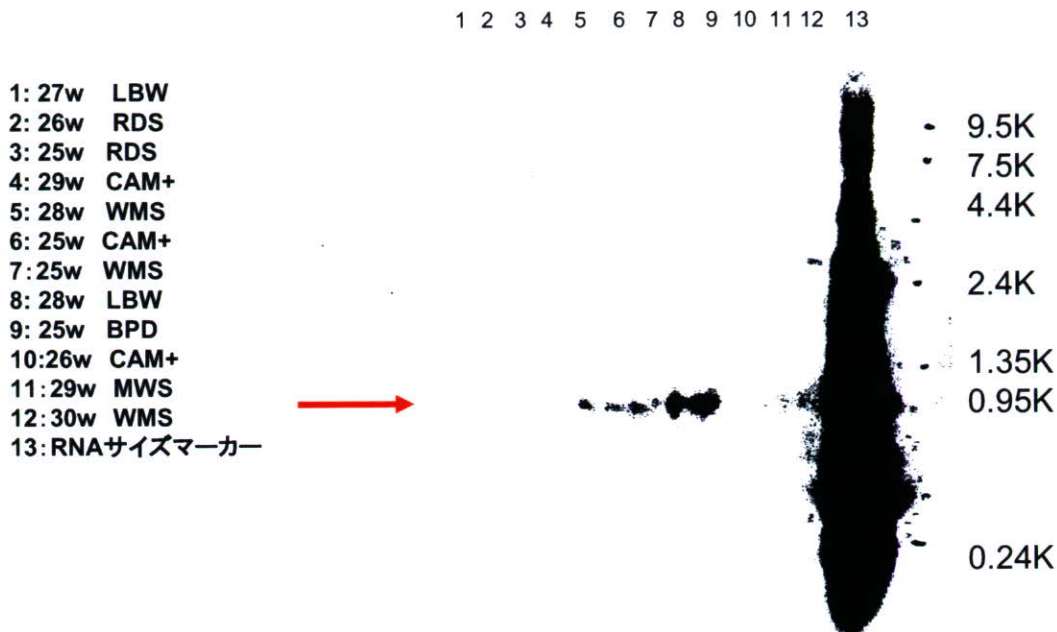


図4. VLBW 臍帯血漿の超遠心分画から抽出した RNA のノザーンブロットパターン

C. 結論

今回は、早産児血清中における内因性のレトロウイルスとくに clone4-1 の存在が示された。それはウイルス粒子由来と思われる画分での逆転写酵素活性の存在と、それに由来すると思われる envelope 蛋白、そして個々の極低出生体重児の臍帯血清から RNA を抽出し oligo-dT セルロースによる精製、そしてノザーン・ブロットにおける gag-probe との結合が証明されたことから、少なくとも clone4-1 の gag genome は粒子の中に存在している可能性が高いことが判明した。これらの事実は、今回初めて明らかになったものであり、今後は他の研究室でも追加実験されて再確認される必要がある。

D. 考察

内因性のレトロウイルスとは、元来ひとの染色体上に乗っているトランスポゾンであり、それが、転写されてウイルス粒子となって胎児の血中を流れていると考えられる。しかし免疫監視機構により自己の蛋白として認識されるため、その envelope 蛋白に対する抗体が

胎児期に作られることは考えにくい。一方我々が 2003 年に報告しているように、正常新生児においてこれらの抗体が産生され、SIDS 児においては産生されていないとするなら、まだ胎児期の如く抗原過剰の状態にあるのかもしれない。つまりそれに対する抗体が産生されない個体は、まだ胎児期にあると考えられ、SIDS 児においてこれらの抗原過剰状態などが証明されれば、新たな病態解明が進むかもしれない。

最近、ERV-E (Endogenous Retrovirus-E) の LTR モチーフが、ヒトエンドセリンレセプターB の胎盤における DNA レベルのメチレーションを強く抑制することで、翻訳が特異的に進んでいることが判明した。Clone4-1 は ERV-E のグループに属するウイルスと考えられており、同じくこのような LTR モチーフの働きが、エンドセリンレセプターB の血管内皮細胞上での増勢に作用しているとするなら、肺高血圧症の原因を作っているのかもしれない。今後の研究成果が待たれる。