

頻度が高かったのに対して、健康乳児では Cortical Arousal 発現前の SpO2 値は 100%である頻度が高かった。

これまでの研究にて、SIDS 症例では健康乳児に比較して Cortical arousal の頻度が低く、Subcortical activation の頻度が高いことを報告してきた。つまり SIDS 症例においては覚醒反応が皮質下(脳幹部)で起こるものの皮質にまで到達しない可能性を報告した。

これらのことから SIDS 症例においては動脈血酸素飽和度の低下が著しい場合にのみ覚醒反応が皮質に到達することが示唆された。

これまでに SIDS の病態と関連して、病理組織学的研究から脳幹部のグリオーシス、低形成、apoptosis などが報告されており、またノルアドレナリン、セロトニン、ドパミン、コリン、ヒスタミンなどの神経伝達物質およびレセプターの機能異常なども示唆されており、これらの異常が覚醒反応異常に関与することが示唆されている。また、妊娠中の喫煙(ニコチン暴露)によっても覚醒反応が減弱することが報告されている。このような変化が乳児における覚醒反応の発達異常あるいは機能異常を引き起こし、SIDS を発症する可能性が考えられている。

今回の検討で SIDS 症例では Cortical arousal 発現前の SpO2 値が低かったことから、健康乳児に比較して酸素飽和度がより低い値に低下した場合にのみ覚

醒反応が皮質に到達するのではないかと考えられた。つまり、SIDS 発症には覚醒反応に関連する何らかの中枢神経系異常あるいは自己蘇生メカニズムの異常が原因として関与している可能性が示唆された。

#### E. 参考文献

1. Hunt CE, Brouillette RT. 1987 Sudden infant death syndrome: 1987 perspective. *J Pediatr.* 110:669-678
2. McNamara F, Wulbrand H, Thach BT. 1998. Characteristics of the infant arousal response. *J. Appl. Physiol.* 85:2314-2321.
3. McNamara F, Lijowska A, Thach BT. 2002 Spontaneous arousal activity in infants during NREM and REM sleep. *J Physiol* 538.1:263-269
4. Kato I, Groswasser J, Franco P, Scaillet S, Kelmanon I, Togari H, Kahn A. 2001. Developmental characteristics of apnea in infants who succumb to sudden infant death syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 164:1464-1469.
5. Franco P, Groswasser J, Hassid S, Lanquart JP, Scaillet S, Kahn A. 1999. Prenatal exposure to cigarettes is associated with decreased arousal propensity in infants. *J. Pediatr.* 135:34-8.
6. Kato I, Franco P, Groswasser J, Scaillet S, Kelmanson I, Togari H, Kahn A. 2003. Incomplete arousal processes in infants who were victims of sudden death. *Am J*

F. 研究発表

1. Kato I, Franco P, Scaillet S, Groswasser J, Togari H, Kahn A. Characteristics of Arousals in SIDS victims. The 9<sup>th</sup> SIDS International Conference, June 1-4, 2006, Yokohama
2. Kato I, Franco P, Scaillet S, Groswasser J, Togari H, Kahn A. Evaluation of heart rate before and during spontaneous arousals in future SIDS victims. The 9<sup>th</sup> SIDS International Conference, June 1-4, 2006, Yokohama
3. Saito N, Hayano J, Kato I, Togari H,

Autonomic neural mechanisms of nonnutritive-sucking-related tachycardia. The 9<sup>th</sup> SIDS International Conference, June 1-4, 2006, Yokohama

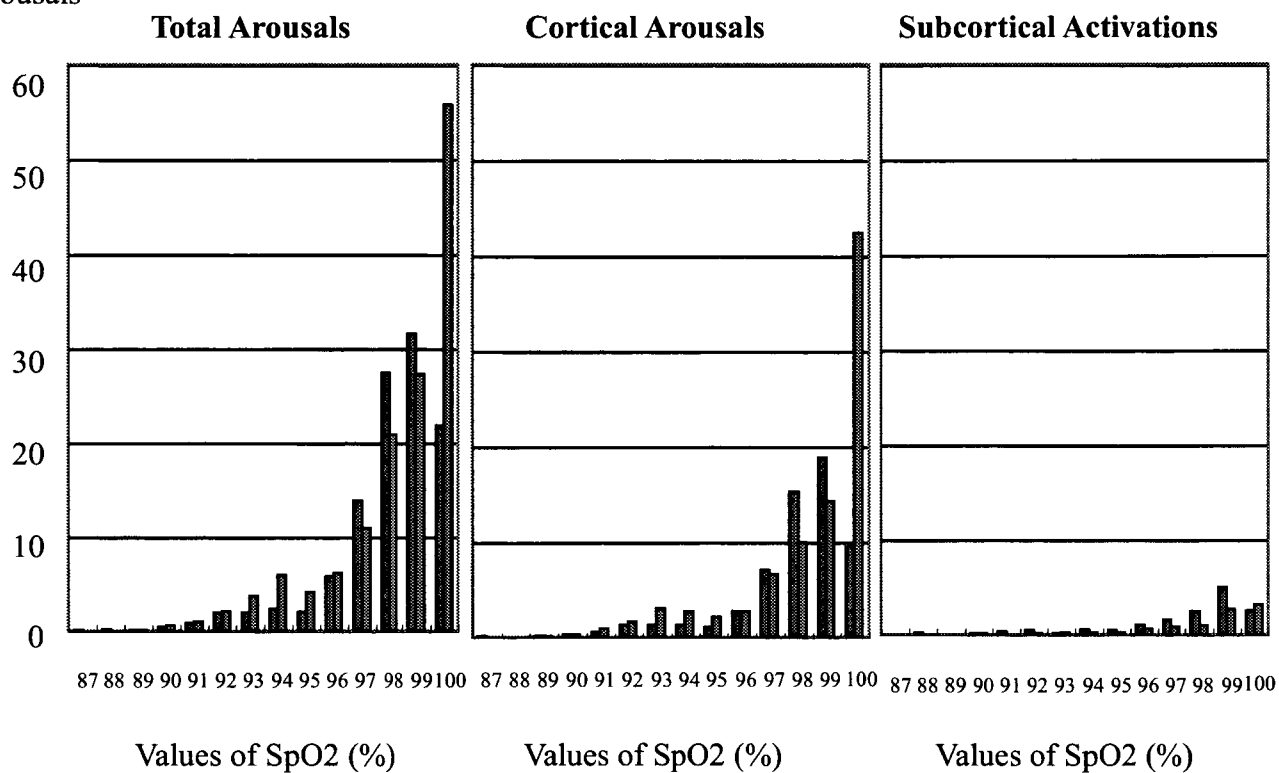
4. Fukuda S, Mizuno K, Kakita H, Saito N, Kato I, Suzuki S, Togari H. Hemodynamics of the vertebral arteries in the premature infants complicated with frequent apnea. The 9<sup>th</sup> SIDS International Conference, June 1-4, 2006, Yokohama

表1 覚醒反応発現前の SpO2 値

OXYGEN SATURATION VALUES (%)	SIDS INFANTS	CONTROL INFANTS	P (SIDS vs. CONTROL)
Total Sleep			
Total Arousals	98.1+/-1.9 98 (87-100)	98.2+/-2.1 99 (89-100)	<0.001
Cortical arousals	98.0+/-2.0 98 (87-100)	98.4+/-2.2 99 (89-100)	<0.001
Subcortical activations	98.0+/-2.2 99 (88-100)	98.4+/-1.9 99 (90-100)	.041
REM sleep			
Total Arousals	98.0+/-1.9 98 (87-100)	98.2+/-2.2 99 (89-100)	<0.001
Cortical arousals	98.0+/-2.0 98 (87-100)	98.4+/-2.3 99 (89-100)	<0.001
Subcortical activations	97.7+/-2.5 99 (88-100)	98.4+/-2.0 99 (90-100)	.009
NREM sleep			
Total Arousals	98.4+/-1.8 99 (90-100)	98.2+/-1.9 99 (90-100)	NS
Cortical arousals	98.2+/-2.3 99 (90-100)	98.3+/-2.0 99 (90-100)	NS
Subcortical activations	98.9+/-0.8 99 (97-100)	98.5+/-1.7 99 (90-100)	NS

図1:REM 睡眠期における覚醒反応前の SpO2 分布  
(red bar: SIDS, blue bar: control infants )

Number of  
arousals



平成 17~19 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

SIDS は、睡眠時に起こり、年齢依存性であるために、脳幹の神経伝達物質の発達と異常を追求し、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。神経伝達の抑制系である GABA 系とカリウムチャンネル、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。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。カリウムイオンチャンネル KCNQ2 と 3 には、SIDS とコントロールで発現の差は認められなかった。H1R でも、SIDS とコントロールで差はなかった。SIDS では、カテコラミンやセロトニン神経細胞の減弱と共に、抑制系 GABA 神経細胞の低下が認められ、睡眠時の SIDS の発生機序には、これらの発達異常の関与が重視される。更に原因を更に追求する必要がある。

今後の課題として、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生化学的診断、遺伝子多型や機能画像の診断、機能テスト）、3) 診断から予防へは、リスクを持つもののモニターなどが考えられる。

### 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、予防法を開発することを目的とする。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。

突然死は年齢依存性に発生するために、抑制系の GABA とカリウムイオンチャンネルの発達と異常を検討し、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、SIDS16 名の剖検脳を対象とした（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脳で、神経病理学的に異常のないものである。SIDS の呼吸循環調節の異常を明らかにするために、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 glutaric acid decarboxylase (GAD) とそのトランスポーター (GAT) や受容体 GABAA 受容体  $\alpha 1$ ,  $\gamma 2$  に関して、免疫組織化学的に検討した。また、年齢依存性発達を示すイオンチャネル病を考慮して、悩に局在するカリウムイオンチャネル KCNQ2 と KCNQ3 についても、免疫組織化学的染色を行い、脳幹、特に網様体、迷走神経背側核・弧側核、舌下神経核、下オリーブ核における発現の発達を検索し、コントロールと SIDS 例とで比較検討した。更に、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。

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、新生児から 1 歳までの SIDS とコントロール症例における程度を比較検討した。

### C. 研究結果

#### 1) 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いて、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。

GAT-1 は、下オリー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 (表 1)。

#### 2) イオンチャネル発達と異常

KCNQ2 の正常発現は、延髄の迷走神経背側核、弧束核および網様体では、在胎 29 週より認められ、生後には減弱し、1 歳以降には認められなかった。SIDS 例では、KCNQ2 の発現は、陰性の例が多く、減弱していると考えられた。

KCNQ3 の正常発現は、延髄の迷走神経背側核、弧束核および網様体では、胎児期早期から認められ、乳児期にはやや増強し、幼児期以降には減弱または陰性であった。SIDS でも、KCNQ3 の発現は認められ、コントロールとの差はみられなかった (表 2)。

#### 3) 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（表3）。

#### D. 考察

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<sup>-</sup>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 GABAA 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。

SIDS の遺伝子の異常としてイオンチャンネル関連遺伝子の異常があげられ、QT 延長症候群の SCN5A や KCNQ1 が報告されている。熱性痙攣では、ナトリウムチャンネル  $\beta 1$  サブユニットの SCN1B 遺伝子異常が報告され、新生児痙攣のカリウムチャンネルでは、KCNQ2, KCNQ3 遺伝子異常が報告されており、年齢依存性の機能異常として注目される。イオン透過型の受容体における異常が 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も検討する価値がある。しかし、KCNQ2 と KCNQ3 には、SIDS

例において、発現異常はなかった。他のチャンネルやサブユニットを追求してみる必要がある。

ヒスタミン神経 (HA) 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、青斑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。

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

に關与するヒスタミン作動性神経とも關連しており(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。

今後の課題として、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、遺伝子多型や機能画像の診断、神経機能テスト、3) 診断から予防: リスクを持つもののモニター、などが考えられる。

#### E. 結論

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。年齢依存性に変動する KCNQ2、KCNQ3 および NREM から覚醒への移行調節に關与する H1R は、SIDS とコントロールで差がなかった。しかし、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、神経伝達物質の発達異常は呼吸循環・睡眠覚醒に關与しており、その機序と成因を更に追求する必要がある。

#### 参考文献

1. Kanaumi T, Takashima S, Iwasaki H, Mitsudome A, Hirose S: Developmental changes in the expression of GABAA receptor alpha 1

and gamma 2 subunits in human temporal lobe, hippocampus and basal ganglia: An implication for consideration on age-related epilepsy. *Epilepsy Research* 71:47-53, 2006.

2. 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.

3. 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.

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



表 1. 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	<u>GABAAR</u>		GAT-1
		$\alpha$ 1	$\gamma$ 2	
	$\geq 2$	$\geq 3$	$\geq 3$	$\geq 1$
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

表 2. Immunohistochemical expression of KCNQ2 and KCNQ3 in the dorsal nucleus of vagal nucleus.

	KCNQ2	KCNQ3
	<1+	<+
Controls	75.0	42.9
SIDS	83.3	28.6%

% shows the incidence of weak immunoreactivity less than + or ++

表 3. Immunohistochemical expression of histamine H1 receptor (H1R)

	Medulla oblongata				Cerebrum		
	Hypoglossal	Dorsal	Reticular	Olive	Putamen	Thalamus	Cortex
<b>Controls</b>							
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
<b>SIDS</b>							
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%)

#### 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、高嶋幸男：乳幼児突然死症候群病院病態論：中枢神経系、母子保健情報 53:58-62, 2006.

2. 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. Kanaumi T, Takashima S, Hirose S, Iwasaki H, Mitsudome A: Development of KCNQ2 and KCN3 in human brains, consideration on age-related epilepsy. 第 48 回日本小児神経学会、東京、6.2, 2006

2. 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 the expression of GABAA receptor alpha 1 and gamma 2 subunits in human temporal lobe, hippocampus and basal ganglia: An implication for consideration on age-related epilepsy. *Epilepsy Research* 71:47-53, 2006.

2. 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.

3. 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.

□頭発表

1. Ozawa Y, Takashima S: Developmental abnormalities of neurotransmitters in SIDS, 9th SIDS International Conference, June 4, Yokohama, 2006.

2. Kanaumi T, Takashima S, Iwasaki H, Hirose S, Mitsudome A: Development of GABA(A) receptor alpha1 and GAMMA2 subunit in human temporal lobe, hippocampus and basal ganglia. 10th International Child Neurology Congress, Montreal, June 11-16, 2006.

平成 17-19 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）：乳幼児突然死症候群（SIDS）診断の手引き（改訂第 2 版）作製および SIDS 剖検脳におけるプロスタグランジン D<sub>2</sub> 合成酵素の発現と脳症関連病変(Clasmatodendrosis)の解析

分担研究者

大阪府立母子保健総合医療センター検査科 中山雅弘

研究協力者

木本哲人 1、松岡圭子、桑江優子、中川聡 2、青木康博 3、加藤稲子 4、齋藤一之 5、高嶋幸男 6、戸莉創 4、的場梁次 7、小保内俊雅 8、北島博之 1、小林庸次 9、仁志田博司 8、武内康雄 10、山南貞夫 11、谷口英俊 12 毛利育子 13 和田和子 12 黒木尚長 14 的場梁次 14 裏出良博 15 大藺恵一 12 谷池雅子 13

大阪府立母子保健総合医療センター検査科 1、国立成育医療センター手術集中治療部 2、岩手医科大学法医学教室 3、名古屋市立大学小児科 4、埼玉医科大学法医学教室 5、柳川療育センター6、大阪大学法医学教室 7、東京女子医大総合医療センター8、大阪市立総合医療センター病理部 9、岐阜医大法医学教室 10、川口市立医療センター新生児科 11 大阪大学大学院医学系研究科小児科 12 大阪大学 子どものこころの分子制御機構研究センター環境関連分子解析部門 13 大阪大学医学系研究科法医学教室 14 大阪バイオサイエンス研究所分子行動生物学部門 15

**研究要旨**：初年度は、乳幼児突然死症候群（SIDS）診断の手引きの改訂を行った。1995 年に乳幼児突然死症候群（Sudden Infant Death Syndrome; SIDS）の研究会（現：日本 SIDS 学会）の発足とともに SIDS 症例検討会が全国規模で開催されるようになり、臨床・病理・法医といった異なる分野の専門家が症例検討委員会において共通症例の討議を重ねながらできあがったものが、「SIDS 診断の手引き」であった。その後、時代の経過とともに、問題点が明らかとなり、改訂版のための検討を行った。改訂の要点は、次の 2 点であった。

1. SIDS の診断には剖検が必須であり、剖検を行わないものを「SIDS」または「SIDS の疑い」と診断してはいけない。
2. SIDS の発症年齢を原則として1歳未満とする。

改訂作業と別に、SIDS の脳病変の解析を行った。プロスタグランジン  $D_2$  (PGD<sub>2</sub>) は中枢神経で最も多いプロスタグランジンであり、末梢での炎症作用に関与している。本研究では SIDS 剖検脳におけるリポカリン型 PGD<sub>2</sub> 合成酵素 (L-PGDS) の発現を解析した。脳幹部の神経核に特異的に L-PGDS が染色されていることを確認した。さらに、in situ Hybridization により L-PGDS の発現が確認され、先行するイベントにより早期に発現が誘導されている可能性が示唆された。

又、脳症関連病変が SIDS の剖検の腕で認められるかの検討を行った、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) が見られることを以前に報告した (Nakayama et al IAP, 2004)。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 SIDS 病態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。

## A. 研究目的

SIDS 診断の手引きの改訂作業においては、1995 年に乳幼児突然死症候群 (Sudden Infant Death Syndrome; SIDS) の研究会 (現: 日本 SIDS 学会) の発足とともに SIDS 症例検討会が全国規模で開催されるようになり、その中で SIDS に対する基本的な考え方や分類において各専門家の間にも共通の認識が乏しく、日本全国で SIDS にかかわる医療関係者に SIDS

の診断・理解・解釈に関して相当の隔たりがあることが推察された。そこで、臨床・病理・法医といった異なる分野の専門家が症例検討委員会において共通症例の討議を重ねながらできあがったものが、「SIDS 診断の手引き」であった。その後、時代の経過とともに、問題点が明らかとなり、今回、改訂版のための検討を行った。

プロスタグランジンの研究におい

ては、PGD<sub>2</sub>は中枢神経で最も多いプロスタグランジンであり、最も強力な内因性の睡眠誘導物質である。末梢組織においては気管支喘息の炎症反応のメディエーターとして働くことが知られている。近年我々は、遺伝性脱髄や低酸素性虚血性脳症等、病態に炎症機転の関与が考えられている神経疾患モデルにおいて PGD<sub>2</sub> とその関連分子が病変特異的に発現していることと PGD<sub>2</sub> がアストログリアを活性化することを確認した。SIDS 脳においてもマイクログリアの活性化と炎症性サイトカインの関与およびアストログリオシスの存在が報告されている。当研究は SIDS 脳における PGD<sub>2</sub> 関連分子の発現を解析することにより SIDS の病態形成における PGD<sub>2</sub> の役割を解明することを目的とした。

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

SIDS 診断の手引きの改訂を行うにあたり、SIDS 診断基準検討委員会を構成した。人選は、2001 年版の研究者、SIDS 学会評議員の中で、小児科、救急医学、法医学、病理学の各領域から数名選択することとした。委員会・幹事会を数回開催し、ほぼ全面改訂がなされた。

プロスタグランジンの研究においては、リポカリン型 PGD<sub>2</sub> 合成酵素(PGDS)(Urade and Eguchi, 2002)の免疫染色を行い、SIDS 脳とコントロール脳において大脳および脳幹における発現部位と程度を詳細に解析した。また GFAP 染色と CD68 染色によりアストログリア、マイクログリアの活性化との関係を検討し、同時にストレス蛋白として HIF-1 $\alpha$ 、アポトーシス関連分子として p53 や caspase3 の免疫染色結果との関連性を比較した。

脳症関連病変(Clasmatodendrosis)の解析では、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。これら症例群の大脳・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

今回の改訂版の新しい分類案のみを結果として示す。

乳幼児突然死の死亡分類（死因および死亡の種類の分類）

- I. 乳幼児突然死症候群（SIDS）
  - 剖検必須
  - la. 典型的 SIDS
  - lb. la 以外の SIDS
- II. 既知の疾患による病死
- III. 外因死
- IV. 分類不能の乳幼児突然死
  - IVa. 剖検施行症例
  - IVb. 剖検非施行症例

プロスタグランジンの研究においては、SIDS 剖検脳の脳幹のニューロンにリポカリン型 PGDS(L-PGDS)の強い発現が確認された。大脳皮質ニューロンの一部にも染色されたが、その発現は弱かった。染色性は Non-SIDS コントロール症例の脳での染色よりも強くみられた。部位別の検討では、背側では内側部に染色性の差が認められた。L-PGDS の染色性はマイクログリアの活性化やアストログリオシスの程度、アポトーシス関連分子陽性細胞数とは無関係であった。In situ Hybridization で L-PGDS の発現は刺激により誘導されたものであることが確認された。

脳症関連病変(Clasmatodendrosis)の

解析では、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 HPS1 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。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。典型的な SIDS 群では、ほとんどが陰性であった。

### D. 考察

2001 年版の「診断の手引き」では、「剖検率が低いわが国の現状を考慮して暫定的に」剖検非施行例にたいしても「SIDS の疑い」と診断する分類を設けた。しかし、SIDS の診断のためには剖検が必須であるという考えから、本改訂では、剖検なしで「SIDS」や「SIDS の疑い」と診断すべきではないとした。

また、SIDS の発症年齢を「2 歳未満」と定義したが、生後 1 年以上の乳幼児急死においては SIDS の頻度がまれであり、SIDS と病態が異なる可能性を考え、年齢の定義を「1 歳未満」と改訂した。わが国での年齢の定義を 1 歳未満とすることは欧米の年齢的な定義と合致し、SIDS に関

する研究における国際比較がこれまでよりも容易に行える。

平成17年3月に厚労省より提示された「乳幼児突然死症候群（SIDS）に関するガイドラインに沿った形での改訂も加えた。

プロスタグランジンの研究においては、低酸素虚血脳において、L-PGDS が受傷早期にニューロン特異的に発現していることを確認している。本研究においても同様のニューロン特異的な発現の増強が認められており、低酸素虚血刺激によりL-PGDS の発現が誘導されたことが *in situ* Hybridization にて確認された。また、この発現誘導はアストログリオーシスやアポトーシスが起る以前の比較的早期の段階に起きていると考えられ、これはSIDSの病因を解明する上で重要な知見である。

脳症関連病変(Clasmatodendrosis)の解析では、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。ウイルスン・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

1. Takeuchi M, Nakayama M. Pathological Assessment of Fetal Death. The 9<sup>th</sup> SIDS International conference 2006.6 横浜市 一般演題
2. Nakayama M, Kimoto A, Ino Y, Hamana K. Diagnostic Approach to SIDS from The Pathology of Medulla. The 9<sup>th</sup> SIDS International conference 2006.6 横浜市 シンポジウム
3. Taniguchi H, Mohri I, Kimoto A, Kanekiyo T, Matsuoka K, Wada K, Urade Y, Ozono K, Nakayama M, Taniike M. Lipocalin-Type Prostaglandin D Synthase Localizes Specifically to Neurons in Brainstem of Sudden Infant Death Syndrome Victims. The 9<sup>th</sup> SIDS International conference 2006.6 横浜市 一般演題
4. 中山雅弘 SIDS 診断の手引き改訂の骨子について 第12回日本SIDS学会総会 2006年3月、神戸
5. 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
6. 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



7.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

題点 チャイルドヘルス 2007; 10: 180

6.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

7.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

#### F. 発表論文

1.中山雅弘、日本 SIDS 学会診断基準検討委員会編 乳幼児突然死医症候群（SIDS）診断の手引き 改訂第 2 版 日本 SIDS 学会雑誌 2006 ; 6 : 73-97

2.中山雅弘 乳幼児突然死医症候群（SIDS）と感染症 母子保健情報 2006 ; 53 : 34-38

3.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

4.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

5.中山雅弘. 誤嚥と SIDS: 鑑別の問

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」総合研究報告書

## 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。平成 17 年度に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、致死性肺高血圧症乳児とSIDS児において高値を呈することを報告し、平成 18 年度に致死性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。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。

次いで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ープ蛋白の構造が似ているという報告があり、われわれは正常乳児血清中には通常検出されるヒト内在性レトロウイルスのエンベロープに対するIgM抗体が致死性肺高血圧症児と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、ショ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、ノザンブロットを行なった。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。このことから早産児の臍帯血清中には、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。今後は SIDS 児の血液での検討を進めたい。

### 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による肺高血圧症の子どもたちの死亡状況である。そこで、この致死性的肺高血圧症児とSIDS児の比較検討を行うことを目的とした。

一方、生理学的に肺高血圧症の状態にあるのは、胎児である。なぜ胎児期には肺高血圧状態に置かれているのかその原因を探る。かつて我々は、正常乳児が血清中に持っているある内在性レトロウイルスのエンヴェロップ抗体をSIDSの患者が持っていないという事実を報告した。ウイルスの遺伝子が実際にどのように発現されているのかを検討した。

#### I. 血清テネイシンC濃度に関して

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。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。またテネイシン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。

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引き起こされる。1)、2)、3) 平成17年度の研究で、我々は、致死性的乳児肺高血圧症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」4)が、肺高血圧症児のデータからも推測される。

#### II. 血清中のテネイシンC、リユーマチ因子・可溶性トランスフェリン受容体・Eセレクトリン・KL6抗原などの含有量について

致死性的乳児肺高血圧症児において、血清リユーマチ因子の陽性所見がしばしばみられている(我々の未報告データ)。また、同症例においては、可溶性トランスフェリン受容体・Eセレクトリン・KL6抗原量の増加も見られることが多い。この乳児致死性的肺高血圧症児とSIDS児においてその背景を比較するために、血清におけるテネイシンC・リユーマチ因子・可溶性トランスフェリン受容体・Eセレクトリン・KL6抗原量を測定し比較検討した。

#### III. 内在性レトロウイルスの新生児・乳児期における存在について

さらに、リユーマチ因子陽性の児が双方に多いことから、血清リユー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もあり、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在性レトロウイルスのエンベロップに対するIgM抗体が致死性的肺高血圧症児とSIDS児には検出されないと報告しているが5)、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。

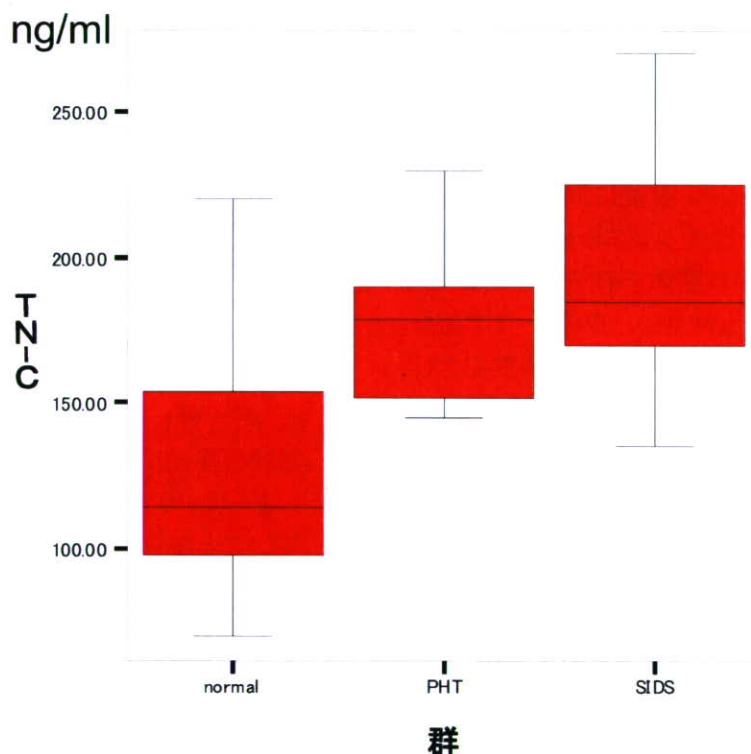
## B. 研究方法 と結果

### I. 血清テネイシン C 濃度に関して

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 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  $\mu$ 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 C マウス抗体を100  $\mu$ 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  $\mu$ l を分注し暗室に室温30分放置した。その後、停止液100  $\mu$ l を入れ、450nm で測定した。



	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±9.0	126±7	
2	致死的乳児肺高血圧症	10	10.3±9.3	177±8	1vs 2 p=0.000
3	SIDS児	11	3 (2例)以外不明	196±12	1vs 3 p=0.000