

2. Takashima S, Itoh M, Oka A: A history of our understanding of cerebral vascular development and pathogenesis of perinatal brain damage over the past 30 years, and further prospective. *Seminars in Pediatric Neurology* 16:226-36, 2009.

厚生労働科学研究補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤）
「乳幼児突然死症候群(SIDS)における病態解明と臨床的対応および
予防法開発とその普及啓発に関する研究」

平成 20・21・22 年度分担研究総合報告書

SIDS の遺伝的危険因子

研究分担者 成田正明（三重大学大学院医学系研究科・発生再生医学）

研究要旨

SIDS 発症の危険因子としてうつぶせ寝、父母の喫煙、非母乳保育などが報告されているが、より生物学的な危険因子、特に遺伝的危険因子は知られていなかった。研究分担者は SIDS の遺伝的危険因子としてセロトニントランスポーター(5HTT) 遺伝子多型を発見した(Narita, et al., Pediatrics, 2001)。我々の発見以降、我々の報告を指示する報告が欧米から相次いでいる。

SIDS 発症に遺伝的危険因子が存在するという発見は、生後早期の genetic screening で危険因子群を見つけ出すことで、SIDS 発症を減少させることにつながる。

A. 研究目的

我が国における SIDS による年間死亡数は、「国民衛生の動向」（厚生省の指標 増刊）によれば平成 9 年には 538 人であったが徐々に減少し平成 19 年には 158 人であったが、20 年には 168 人になっている¹⁾。しかしながら乳児の死因の第 3 位を占め、依然高い位置を占め続けており、深刻である。近年は SIDS が医療事故や虐待の隠れみのとされることも多く、これは SIDS の原因が不明であることによるものであり、SIDS の原因解明は社会的にも喫緊の課題である。

我が国の乳幼児突然死症候群の定義は変遷の後、現在は平成 14 年来の厚生労働省研究班により策定された定義、即ち「それまでの健康状態及び既往歴からその死亡が予測できず、しかも死亡状況調査及び解剖検査によってもその原因が特定されない、原則として 1 歳未満の児に突然の死をもたらした症候群」、が用いられている²⁾。この定義は、SIDS はなんらかの病因を有する疾患であるにもかかわらず、形態学的に診断に結びつく所見が認められない、という立場に基づく³⁾。即ち SIDS

診断には客観的指標がなく現在のところ除外診断とならざるを得ず、それだけに確定診断に至るには死亡状況や、生前の様々な危険因子の有無などが極めて有用な情報となるため、危険因子の探索は重要な意味をもつ。

これまでの研究により SIDS 発症の危険因子としてうつぶせ寝、父母の喫煙、非母乳保育などが危険因子として明らかになっているが⁴⁾、その他、低出生体重、母親が若年齢、子宮内発育障害、なども指摘されてきた⁵⁾。

研究分担者の成田らは SIDS の遺伝的危険因子（セロトニントランスポーター遺伝子多型）を、世界に先駆けて報告した⁶⁾。即ち、セロトニントランスポーター遺伝子多型の長いアリルは SIDS の遺伝的危険因子であることを発見した。同胞例の発症・家系研究などから SIDS 発症において遺伝的素因が存在することについてはこれまで指摘されてきたが、我々の報告まで明らかにされてきていなかった。現在考えられている SIDS の病態は、「睡眠時の無呼吸からの回復が遅れる、覚醒反応の異常」であり、それゆえ延髄呼吸

中枢を調節している神経伝達物質セロトニン系の異常が指摘されてきたが、そのセロトニン活性はセロトニントランスポーター(5HTT)という膜蛋白に調節されており、5HTT 遺伝子多型を SIDS 患者とコントロールで検討した。すなわち 5HTT 遺伝子のプロモーター領域には繰り返し配列の数により S, L, XL というアレルの多型が存在し、どの多型を持っているかの保持者分布の割合は、セロトニン関連疾患であるうつ病や不安神経症などと関連することがわかっていた⁷⁾が、研究分担者成田正明は SIDS 患者でも同様の検索を行ない、L アレルと XL アレル (このアレルは日本人にはほとんど見られない⁸⁾) の出現頻度がコントロールに比しそれぞれ 1.8 倍、11.2 倍に増加していることを見出した。この発見は、SIDS の発症には一部遺伝的因子が関与すること、発症前の生後早期にこの多型を予め検索しておくことで発症危険因子群を見つけることができる点、など意義が大きい。このデータは米国の研究者らによって追試されている⁹⁾。

3 年間の研究では、SIDS の遺伝的危険因子について、我々の報告以降の世界の動向を調査するとともに、その遺伝的因子の生物学的背景・裏付けについて明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

平成 20 年度

吸気中の炭酸ガス濃度変化に対してラット延髄呼吸中枢のセロトニンがどのように変化するかを調べるため、脳内(延髄呼吸中枢)に半透膜からなるプローブを刺入、細胞外液を回収して回収液中のセロトニン濃度を測定した(微量透析法=マイクロダイアリシス)。

平成 21 年度

in vitro でのセロトニントランスポーター(5HTT) 遺伝子プロモーター領域のアレルによる転写活性の違いの解明

これまで Lesch ら(J. Neurochem. 66, 2621, 1996)によりプロモーター領域に存在する L アレルは S アレルに比し転写活性が高くなることが報告されているが、その詳細は不明である。また SIDS 症例に著明に集積している XL アレルの機能については全く分かっていない。これまでの報告では L アレルは S アレルに比し約 2 倍の転写活性があるとされる。この結果はさらに中枢神経系の細胞、特にセロトニン神経核の縫線核細胞株を用いて確認する必要がある。また XL アレルについてはその下流遺伝子への転写に与える影響はまったくわかっていない。そこで in vitro でのセロトニントランスポーター(5HTT) 遺伝子プロモーター領域のアレルによる転写活性の違いの解明するため、転写活性測定実験を行うための系の構築を試みた。神経細胞膜上に存在する 5HTT は細胞外セロトニン(活性化セロトニンとされている)を細胞内に取り込む作用がある。in vivo でも L アレルや XL アレルで転写活性が増し下流遺伝子(5HTT)の発現が増加すれば、細胞外セロトニンが細胞内に取り込まれる働きがより活発になり、即ち細胞外(活性化)セロトニンが減り SIDS が発症するという発症機序が考えられ、従来の SIDS セロトニン説を論理的に説明できることになり意義が大きい。

平成 22 年度

SIDS の遺伝的因子に関連した文献を、med line などを用い、系統的に検索した。

C. 研究結果

平成 20 年度

生きたラットを用いてプローブの刺入を行い、マイクロダイアリシス法により細胞外液の回収を行いリアルタイムで脳内セロトニン濃度を測定する系を確立し

た。

平成21年度

上記研究方法に沿い、アレル鑄型を準備し、培養細胞での発現実験を構築中である。

平成22年度

表1にこれまでに報告されたSIDS発症に関連するとされる遺伝的因子を列挙した^{10) 11)}。表に挙げた遺伝子以外にもまだ多くの遺伝子の報告がある。

セロトニン関連遺伝子として我々の発見したセロトニントランスポーター遺伝子のプロモーター領域の多型がある。我々の発見の後、欧米の他の研究者より、他の人種についても同様の結果が認められるとの報告が相次いだ。最近否定的な論文も出ている。これについては後述する。

セロトニントランスポーター遺伝子には上述のプロモーター領域以外にも、イントロン2領域にVNTR(variable number of tandem repeat)が存在し、この領域のリピート数とSIDS患者での関連の報告が文献12¹²⁾である。SCN5A、NOS1APなどQT延長症候群に関連する遺伝子^{13) 14) 15)}、PHOX2a、RET、ECE1、TLX3、EN1など胎生期の自律神経系の初期発生に関わる遺伝子群¹⁶⁾、補体C4A、C4B、IL-10遺伝子多型など免疫系に関与する遺伝子群^{17) 18)}などがある。

表2には2001年に我々が報告したのちの、欧米諸国からの報告をまとめてある。2001年の日本人における我々の報告の後、Caucasian, African-American, Italian, Norwegianの人種において我々と同様の結果が得られていると報告されてきた^{9) 19) 20)}。最近になり、“関連はない”とするデータも報告されるようになった^{21) 22)}。これら結果の一部 discrepancy は以下のようにも考えられる。表からもわかるようにセロトニントランスポーター遺伝子のプロモーター領域の多型のアレル(S

やL)のdistribution(分布)は、人種により大きく異なっていることは以前からよく知られており、表に示したSIDS検索の際に用いられたコントロール(人種matched)のアレル分布もおおむねこれまでの報告と一致している。我々の用いたコントロールもSアレル86%、Lアレル14%と、これまでの日本人のコントロールでの比率とおおむね一致する²³⁾。セロトニントランスポーター遺伝子多型とSIDSとの関連性の強さは、あるいは人種間異なるのかもしれない。我々の統計値(Fisher's exact testでは $p=0.006$)であったが、有意差があっても他の人種では p 値は高い。いずれにしても少なくとも日本人においてはLやXLなど長いアレルはSIDS発症の遺伝的危険因子であるといえる。

D. 考察

現在考えられているSIDSの病態は、「睡眠時の無呼吸からの回復が遅れる、覚醒反応の異常」であり、それゆえ延髄呼吸中枢を調節している神経伝達物質セロトニン系の異常が指摘されてきた。これまでのSIDS研究ではセロトニン系の異常として、SIDS患児脳でのセロトニン性シナプスの減少、セロトニン2A受容体の延髄での分布異常などがあるが、いずれも間接的なデータに過ぎなかった。5HTT発現の異常がセロトニン値を変化させSIDSを発症させるのではないかというセロトニン関与の解明を一步踏み込んだ形で取り組むもうとしている点に学術的特色がある。またSIDS発症における遺伝的因子はそれまでは否定的であったが、我々の報告及び米国からの追試により遺伝的因子の関与が初めて明らかにされ、それをもとに病態解明を目指すことができる。特に日本人において著明な有意差を認めることは、日本人においてSIDS発症機序になんらかのvulnerabilityが存在する可能性がある。なにより、客観的な遺伝的

危険因子が明らかになったことで、SIDS 発症阻止、予防法解明にもつながり得る点で意義が大きい。

しかしながら上述のようにSIDSの遺伝的危険因子が明らかになったとはいえ、表1に示したどの遺伝子にせよ、それを保持することでSIDSが必ず発症するわけではなくあくまでも危険因子である。後述のように本多型は他の多型と異なり

“機能的”な多型であり、どの多型を保持するかによってセロトニン活性が変わる可能性がある点で興味深い。遺伝的危険因子保持群と分かった場合、SIDSの好発年齢である1歳ころまで例えば心拍モニターを装着するなどして慎重に観察することで予防も可能である。Genetic screeningなどの社会的コンセンサスが得られれば予防も夢ではない。

セロトニントランスポーター遺伝子のプロモーター領域の多型は他の多型と異なり“機能的”な多型である。即ち、プロモーター領域にどのアリルを取るかによって下流遺伝子の転写活性が異なること、即ちプロモーター領域のLアリルはSアリルに比し下流遺伝子の転写活性が約2倍になると報告している²⁴⁾。これは培養細胞を用いたin vitroでの実験結果であるが、in vivoでも同様の機序が存在している可能性が十分想定され、下流遺伝子即ちセロトニントランスポーターの発現がLアリル保持者では大きいことになる。膜蛋白セロトニントランスポーターはシナプス間隙にある細胞外セロトニン(=活性型セロトニン)を細胞内に取り込みセロトニンの作用・働きを終わらせる(=terminateさせる)働きがある。Lアリルを持ちセロトニントランスポーター発現がもしこの仮説通り増加しその結果細胞外セロトニン、即ち活性型セロトニンが結果的に減少することになれば、呼吸中枢の調節作用のあるセロトニン活性の低下は例えばCO₂に対する反応性の低下につながり、

「LアリルはSIDSの危険因子である」という仮説の理論的な説明できることになる。

しかしながらアリルによる転写活性の違いは必ずしも一貫しているわけではない。また実験に用いる細胞株によっても結果がまちまちである²⁵⁾。またSakaiらの提唱するようにセロトニントランスポーターのアリルの種類はS, L, XLだけでなくさらに細かく細分類すべきという²⁶⁾。さらにはこれらの細胞生物学的データがin vivoでどこまで有用かの確認はなされていない。今後はin vitroでのデータをより確固たるものにするとともに、in vivoでのデータを集積する必要がある。

以上のようにアリルの違いによる転写活性の違いにはいまだ一貫しているデータがあるとは言えない。しかしながらL, S, XLのアリル頻度が、少なくとも日本人でSIDS発症に有意に関連している。またプロモーター領域に存在するこの多型がなんらかの転写調節を行っているのも間違いないと考えられる。アリルの違いが生体、特に呼吸に与える影響について、科学的な裏付けが必要である。

E. 結論

日本人において、セロトニントランスポーター遺伝子多型の長いアリルはSIDSの遺伝的危険因子である。

参考文献

- 1) 厚生統計協会編：国民衛生の動向（厚生指標 増刊）vol157(9). 2010/2011
- 2) 厚生労働省研究班編：乳幼児突然死症候群(SIDS)に関するガイドライン。子ども家庭総合研究事業「乳幼児突然死症候群(SIDS)のためのガイドライン作成及びその予防と発症率軽減に関する研究」平成14~16年総合研究報告書。2005年3月、23-26.
- 3) 乳幼児突然死症候群(SIDS)における病態解明と臨床的対応及び予防法開発

- とその普及啓発に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金平成20年度総括・分担研究報告書. 2009年3月
- 4) 厚生労働省ホームページ. 乳幼児突然死症候群(SIDS)をなくすために.
<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kodomo/sids.html>
- 5) 仁志田博司編: SIDSの手引—厚生省心身障害研究報告のまとめと文献リスト. 東京医学社. 1993年8月
- 6) N. Narita, M. Narita, S. Takashima, M. Nakayama, et al., Serotonin transporter gene variation is a risk factor for sudden infant death syndrome in Japanese population. *Pediatrics* 2001; 107: 690-692.
- 7) K. P. Lesch, D. Bengel, A. Heils, S. Z. Sabol, et al., Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science* 1996; 274(5292): 1527-1531.
- 8) S. J. W. Delbruck, B. Wendel, I. Grunewald, T. Samder, et al., A novel allelic variant of the human serotonin transporter gene regulatory polymorphism. *Cytogenet Cell Genet* 1997; 79: 214-220.
- 9) D. E. Weese-Mayer, E. M. Berry-Kravis, B. S. Maher, J. M. Silvestri, et al., Sudden infant death syndrome: Association with a promoter polymorphism of the serotonin transporter gene. *American Journal of Medical Genetics* 2003; 117: 268-274
- 10) S. H. Opdal, T. O. Rognum, Gene variants predisposing to SIDS: current knowledge. *Forensic Sci Med Pathol*, 2010 on line
- 11) R. Y. Moon, R. S. C. Horne, F. R. Hauck. Sudden infant death syndrome. *Lancet* 2007; 370: 1578-1587.
- 12) D. E. Weese-Mayer, L. Zhou, E. M. Berry-Kravis, B. S. Maher, et al., Association of the serotonin transporter gene with sudden infant death syndrome; a haplotype analysis. *American Journal of Medical Genetics* 2003; 122A: 238-245.
- 13) L. D. Plant, P. N. Bowers, Q. Liu, et al. A common cardiac sodium channel variant associated with sudden infant death in African Americans, SCN5A S1103Y. *J Clin Invest* 2006; 116: 430-35.
- 14) M. J. Ackerman, B. L. Siu, W. Q. Sturmer, et al. Postmortem molecular analysis of SCN5A defects in sudden infant death syndrome. *JAMA* 2001; 286: 2264-2269.
- 15) M. Osawa, R. Kimura, I. Hasegawa, N. Mukasa, F. Sato. SNP association and sequence analysis of the NOS1AP gene in SIDS. *Legal Medicine* 2009; 11: S307-S308.
- 16) D. E. Weese-Mayer, E. M. Berry-Kravis, L. Zhou, B. S. Maher, et al., Sudden infant death syndrome: case-control frequency differences at genes pertinent to early autonomic nervous system embryologic development. *Pediatric Research* 2004; 56(3): 391-395
- 17) M. Korachi, V. Pravica, A. J. Barson, I. V. Hutchinson, D. B. Drucker, Interleukin 10 genotype as a risk factor for sudden infant death syndrome: determination of IL-10 genotype from wax-embedded postmortem samples. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2004; 42: 125-129.
- 18) C. C. Blackwell, S. M. Moscovis, Gordon AE, et al., Ethnicity, infection and sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2004; 42: 53-65.

- 19) F.N.Marzano, M.Maldini, L. Filonzi, A.M.Lavezzi, et al., Genes regulating the serotonin metabolic pathway in the brain stem and their role in the etiopathogenesis of the sudden infant death syndrome. *Genomics* 2008; 91(6): 485-491.
- 20) S.H.Opdal, Å.Vege, T.O.Rognum. Serotonin transporter gene variation in sudden infant death syndrome. *Acta Paediatrica* 2008; 97: 861-865
- 21) C.Haas, J.Braun, W. Bar, C.Bartsch. No association of serotonin transporter gene variation with sudden infant death syndrome (SIDS) in Caucasians. *Legal Medicine* 2009; 11: S210-S212.
- 22) D.S.Paterson, K.D.Rivera, K.G. Broadbelt, F.L. Trachtenberg, et al., Lack of association of the serotonin transporter polymorphism with the sudden infant death syndrome in the San Diego Dataset. *Pediatric Research* 2010; 68(5): 409-413.
- 23) F.Murakami, T. Shimomura, K.Kotani, S. Ikawa, E.Nanba, K.Adachi. Anxiety traits associated with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory lesion in the Japanese. *J Hum Genet* 1999; 44: 15-17.
- 24) A.Heils, A.Teufel, S.Petri, G.Stober, et al., Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *Journal of Neurochemistry* 1996; 66: 2621-2624.
- 25) K.Sakai, C.Hasegawa, M.Okura, O.Morikawa, et al., Novel variants of murine serotonin transporter mRNA and the promoter activity of its upstream site. *Neuroscience Letters* 2003; 342: 175-178.
- 26) K.Sakai, M.Nakamura, S.Ueno, A.Sano, et al., The silencer activity of the novel human serotonin transporter linked polymorphic regions. *Neuroscience Letters* 2002; 327: 13-16.

F. 研究発表

成田正明 「乳幼児突然死症候群とセロトニン」 毎日メディカルジャーナル 6(8), 448, 2010.

成田正明 「遺伝子多型とSIDS」 第17回日本SIDS・乳幼児突然死予防学会シンポジウム, 2011年3月4-5日、出雲市

表1 これまでに報告された SIDS 発症に関連するとされる遺伝的因子（一部）
（文献 10, 11 より）

遺伝子名	掲載論文	備考
セロトニントランスポーター遺伝子多型（プロモーター領域）	N Narita, et al., <i>Pediatrics</i> , 107: 690, 2001 ⁶⁾	遺伝的因子の最初の報告。
同遺伝子イントロン 2 の VNTR	DE Weese-Mayer, et al., <i>American Journal of Medical Genetics</i> 122A:238-245, 2003 ¹²⁾	セロトニントランスポーター遺伝子のイントロン 2 の VNTR (variable number of tandem repeat)
SCN5A、NOS1AP(nitric oxide synthase 1 adaptor protein)	Plant LD, et al. <i>J Clin Invest</i> 116: 430-35.2006 ¹³⁾ Ackerman MJ, et al. <i>JAMA</i> 286: 2264-69; 2001 ¹⁴⁾ M Osawa, et al., <i>Legal Medicine</i> 11 S307-S308: 2009 ¹⁵⁾	QT 延長症候群との関連)
PHOX2a, RET, ECE1, TLX3, EN1	DE Weese-Mayer, et al., <i>Pediatric Research</i> 56(3); 391-395: 2004 ¹⁶⁾	胎生期の自律神経系の初期発生に関わる遺伝子群
補体 C4A, C4B、IL-10 遺伝子多型	Korachi M, et al., <i>FEMS Immunol Med Microbiol.</i> 42:125-29: 2004 ¹⁷⁾ Blackwell CC, et al., <i>FEMS Immunol Med Microbiol.</i> 42: 53-65: 2004 ¹⁸⁾	免疫系に関与

表2 SIDSとセロトニントランスポーター遺伝子多型に関する報告

文献	対象(人種、人数など)	control			SIDS			p値
		S	L	XL	S	L	XL	
N Narita, et al., Pediatrics, 107; 690, 2001 ⁶⁾	Japanese control 115 人, SIDS 27 人	86%	14%	0.4%	72%	22%	6%	0.006 (Fisher's exact test)
DB Weese-Mayer et al., Am J Med Genet 117 A; 268, 2003 ⁹⁾	Caucasian control 44 人, SIDS 44 人	53%	47%		36%	64%		0.023
	African American control 43 人 SIDS 43 人	25%	61%		17%	83%		0.071
Marzano, et al., Genomics, 91; 485, 2008 ¹⁹⁾	Italian control 150 人 SIDS 20 人	57%	43%		20%	80%		<0.001
Opdal, Vege, Rognum, Acta Paediatrica, 97; 861, 2008 ²⁰⁾	Norwegian control 163 人 SIDS 243 人	47%	54%		40%	60%		0.05
Paterson, Hannah Kinney Pediatric Research, 68; 409, 2010 ²²⁾	Caucasian control 100 人, SIDS 94 人	47%	53%		42%	58%		なし
	African American control 7 人 SIDS 19 人	36%	64%		37%	63%		なし
	Hispanic control 23 人 SIDS 46 人	43%	57%		59%	41%		なし
	アジア人については 検体不足で検討できていない。							
Haas, et al., Legal medicine 11, S210-S212: 2009. ²¹⁾	Caucasian (from Switzerland) control 58 人 SIDS 145 人	42%	59%		47%	53%		なし

解説

乳幼児突然死症候群(SIDS)とセロトニン

成田 正明 三重大学大学院医学系研究科発生再生医学教授

乳幼児突然死症候群(SIDS)は、既往歴のない乳幼児が何の予兆もなく突然死亡する疾患である。「国民衛生の動向(厚生統計協会発行)」によれば、わが国のSIDSによる年間死亡数は、1997(平成9)年には538人であったが、徐々に減少し2005(平成17)年には196人になっている。しかしながら、乳児(0歳)に限ってみると死亡数は174人であり、死因の第3位と、高い位置を占めている。うつぶせ寝・父母の喫煙・非母乳保育——などが危険因子として明らかになっている。原因は不明であるものの、国内外の基礎研究により、睡眠時の無呼吸からの回復の遅延とされ、それゆえ延髄呼吸中枢に投射する神経伝達物質セロトニンの異常が指摘されてきていたが、直接的な証明はなされてきてはいなかった。

今回、著者のDuncanらは、SIDS 41例、対照群(原因不明で急死した児7例、長期の低酸素性虚血性疾患で死亡した児5例)を対象に剖検を行い、採取した延髄縫線核(セロトニン神経の起始核)組織を用いて、セロトニン系物質の活性を分子レベルで分析した。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によるセロトニンおよびその代謝産物の測定、合成酵素であるトリプトファン水酸化酵素(TPH2)の発現レベル、およびセロトニン受容体結合能をSIDS群と対照群で比較した結果、SIDS症例では同部位でのセロトニン値およびTPH2発現の低下を認めたと報告している。これらの結果から、SIDS発症には延髄セロトニン、TPH2低下がかかわっており、これまで言われてきた延髄セロトニン機能不全説を支持するものであると結論付けており、ヒト延髄検体を用

いた直接的な方法で低セロトニンを証明したことは画期的といえる。

しかしながら、著者らも認めているように、本研究にはいくつかの潜在的な問題があげられる。死後脳からの検体採取の時間的問題、セロトニンの活性を議論するにはセロトニンの細胞内外の局在区別が必要である点、対照群の選び方・検体採取法については、今後も検討が必要であることは間違いない。

今回の研究の前提となっている「SIDSセロトニン仮説」は従来から提唱されていたものの、いずれも間接的な証明にすぎなかった。そのような状況で、SIDSセロトニン仮説を不動のものにしたといえるのは、筆者、成田らの研究¹と考えている。同研究では、セロトニン発現調節蛋白であるセロトニントランスポーター遺伝子の多型を調べたところ、SIDS群では特殊なアレルを多く有することが判明した。SIDSの発症にセロトニンが関与することを明らかにしただけでなく、遺伝的因子も関与することを証明した報告である。日本発の世界で初めて報告されたこの知見は、その後世界的にも追試で証明されている。

厚生労働省研究班(子ども家庭総合研究事業乳幼児突然死症候群[SIDS]における病態解明と臨床的対応および予防法開発とその普及啓発に関する研究班)では筆者も分担者として参画し、引き続きSIDSの原因を究明するための研究を進めている。

1. Narita N, et al. Serotonin transporter gene variation is a risk factor for sudden infant death syndrome in Japanese population. *Pediatrics* 2001;107:690-692.

厚生労働科学研究補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤）
「乳幼児突然死症候群(SIDS)における病態解明と臨床的対応および
予防法開発とその普及啓発に関する研究」

平成 20・21・22 年度分担研究総合報告書

最近 3 年間の SIDS および ALTE 様症状を示した患者の代謝解析

研究分担者 山口清次（島根大学小児科）
研究協力者 長谷川(小村)有紀（島根大学小児科）
山田健治（島根大学小児科）
小林弘典（島根大学小児科）
虫本雄一（島根大学小児科）

研究要旨

先天代謝異常症と乳幼児突然死症候群（SIDS）および乳幼児突発性危急事態（ALTE）との関連について明らかにするため、2008 年 1 月～2010 年 12 月の 3 年間に島根大学に代謝解析を依頼された SIDS（または乳幼児突然死）および ALTE 症例の代謝プロフィールを検討した。代謝解析を行われた患者は SIDS（または突然死）56 例、ALTE 114 例の計 170 例であった。SIDS（または突然死）56 例のうち、病歴から発熱などの前駆症状があった症例が 28 例、ワクチン接種後 1 例で、窒息が疑われた症例が 5 例あった。GC/MS による尿中有機酸分析やタンデムマスによるアシルカルニチン分析により、メチルマロン酸血症とβケトチオラーゼ欠損症がそれぞれ 1 例ずつ発見された。その他に中鎖アシル CoA 脱水素酵素（MCAD）欠損症疑いと、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症疑いがそれぞれ 1 例、および VLCAD 欠損症/グルタル酸血症 2 型疑いが 1 例認められた。これらの症例では高アンモニア血症や低血糖などを示しており、SIDS/ALTE 症例には代謝異常スクリーニングが必要なことを示唆する。その他にセレウス菌による食中毒で死亡した症例でβ酸化障害を示唆する所見のみられた症例もあった。このような何らかの毒素によって代謝障害を起こすこともある。SIDS/ALTE 様症状をきたす症例の鑑別あるいは病態解明のためにも、代謝スクリーニングを念頭に置く必要がある。

A. 研究目的

先天代謝異常症の一部にはふだんは正常の生活をしていながら、感染や長期間の飢餓などのストレスを契機に突然死などを起こす疾患がある。特に脂肪酸代謝異常症である中鎖アシル-CoA 脱水素酵素（MCAD）欠損症は、SIDS や Reye 症候群に類似した症状で発症ことが有名である。MCAD 欠損症はタンデムマス検査で簡単に診断ができる。このため最近欧米を中心にタンデムマスを導入した新生児マस्क

リーニングが普及しつつある。しかし我が国では、タンデムマスなどの検査が十分に普及しているとはいえず、このような代謝異常症を鑑別しないまま、SIDS や ALTE と診断されて済まされている症例が少なくないと思われる。

SIDS/ALTE 症例と先天代謝異常症との関連について明らかにするため、SIDS、突然死、または ALTE を理由に代謝スクリーニングを依頼された症例について検討した。

B. 研究方法

2008年1月～2010年12月の間に、SIDS、突然死もしくはALTEと診断され、島根大学に代謝解析を依頼された症例について、代謝所見を後方視的に検討した。また病歴などから、一般検査で代謝疾患を疑わせる所見の有無についても検討した。

C. 研究結果

対象は170症例であった。内訳は表1に示すように、SIDS（または突然死）と診断された症例が56例、ALTEと診断された症例が114例であった。

SIDS（または突然死）症例では、前駆症状として発熱がみられた症例が56例中28例（50%）、ワクチン接種歴があったものが1例認められた。ALTE症例では、発熱・嘔吐などの前駆症状があった症例が114例中24例（21%）あった。この結果はSIDS（または突然死）/ALTEの発症に何らかの感染が契機になる可能性が高い。周囲の状況から窒息が疑われた症例は全170例中5例あった。その他、後日、脳出血など器質的な疾患が確認された症例が170例2例にみられた（表1）。

SIDS（突然死）/ALTE症例のうち、先天代謝異常が疑われるような検査所見を示した症例は以下のとおりであった：低血糖 31例（SIDS 8例、ALTE 23例）、高アンモニア血症 50例（SIDS 22例、ALTE 28例）、肝機能障害 65例（SIDS 24例、ALTE 41例）およびCK高値 42例（SIDS 18例、ALTE 24例）（表1）。しかし、これらの検査していない症例が、それぞれ13例、35例、21例、38例と、全症例数の8～22%を占めていた。臨床検査値の傾向を検討する上での偏りが大きかった。

全170症例のうち、GC/MSによる尿中有機酸分析を行った症例が120例、タンデムマスによるアシルカルニチン分析が98例であった。両方の検査が行われたのは170例50例（29%）のみであった（表2）。

これらの分析により、メチルマロン酸血症とβケトチオラーゼ欠損症がそれぞれ1例ずつ発見された。

またMCAD欠損症疑いとVLCAD欠損症疑いが1例ずつ、およびVLCAD欠損症もしくはGA2が疑われる症例が1例あった。疑い症例は尿および血液以外の試料がなく、遺伝子解析や酵素活性などの確定診断ができなかった。

また、急性期の検体の代謝解析で脂肪酸代謝異常を強く疑われた兄弟例があったが、最終的にセレウス菌による食中毒と判明した症例があった。この菌が産生する毒素はβ酸化を抑制する可能性があり、病体を検討するうえでも質量分析が有用であった。

D. 考察と結論

今回、3年間に島根大学で代謝解析を行った症例については、主治医がSIDS（または突然死）/ALTEと診断した症例以外に、発見時にCPAでそのまま死亡した症例や予想外に急激な全身状態の悪化、呼吸・心停止のみられた症例をすべて抽出した。このため、これまでの主治医の診断をもとにしていたデータに比べ、今回検討した症例数は多くなっている。

注目すべき点として、SIDS（突然死）/ALTE症例のうち、発熱・嘔吐など感染と思われる前駆症状が52/170例（31%）に認められたことがあげられる。これらの中からメチルマロン酸血症やβケトチオラーゼ欠損症といった先天性有機酸代謝異常症例が発見された。SIDS（突然死）/ALTEの症例の背景にこれらの代謝異常をもっている症例があることを示す。

このような有機酸または脂肪酸代謝異常では、臨床検査でしばしば低血糖やアンモニア高値、CK高値などを認めるため、鑑別に有用である。しかしこれらの検査が行われていない症例が10-20%に認められており、ルチンに検査するように広く啓発する必要がある。

またGC/MS分析やタンデムマス分析によって、突然死の原因となる代謝異常症が隠れている可能性がある。突然死・ALTEの症例に遭遇した時には、GC/MSまたはタンデムマス検査などの代謝スクリーニングを念頭に置くべきである。これらの分析では分析可能な疾患に得意分野があるので、できる限り両方を行う必要がある。検体は少量の尿と血液（ま

たは血液ろ紙) だけですむ。しかし、今回検討した症例のうち、両方の質量分析が行われたのは28%であった。また代謝異常を疑われたが、確定診断に至らなかった症例もある。突然死症例では尿などの検体採取が困難なこともあるが、正しく診断することは、子供を失った家族がその過程を理解・納得するために重要である。また同胞スクリーニングにもつながることを考えると、できるだけ様々な試料を保存すべきである。SIDS 症例を後方視的にタンデムマス検査したところ、その約4%に脂肪酸代謝異常の所見が見られたという Bole ら (1998 年) の報告もある (表3)。

また、セレウス菌による食中毒による突然死例で代謝プロフィールから脂肪酸代謝異常症が強く疑われた症例があった。2007 年以前に同様の症例を経験していたため、病歴と代謝解析データからセレウス菌による食中毒と最終診断した。このように細菌毒素や他の環境因子などによって代謝不全を生じる病態もありうる。このような場合でも代謝スクリーニングは診断のステップの重要な手段である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Purevsuren J, Hasegawa Y, Kobayashi H, Endo M, Yamaguchi S: Urinary organic metabolite screening of children with influenza-associated encephalopathy for inborn errors of metabolism using GC/MS. *Brain & Develop* 30: 520-526, 2008.
- 2) 四本由郁, 長谷川有紀, 山口清次, 安達昌功: インフルエンザ脳症の発症を機に発見されたビタミン B₁₂ 反応型メチルマロン酸血症の 3 歳男児例. *小児科診療* 71(4): 726-729, 2008 (4 月)
- 3) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Li H, Fukuda S, Shigematsu Y, Fukao T, Yamaguchi S: A novel molecular aspect of Japanese patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD): c.449-452delCTGA is a common mutation in Japanese patients with MCADD. *Molecular Genetics and Metabolism* 96(2): 77-79, 2009 (February)
- 4) Korematsu S, Kosugi Y, Kumamoto T, Yamaguchi S, Izumi T: Novel mutation of early, perinatal-onset, myopathic-type very-long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Pediatric Neurology* 41(2): 151-153, 2009 (August)
- 5) Purevsuren J, Fukao T, Hasegawa Y, Kobayashi H, Li H, Mushimoto Y, Fukuda S, Yamaguchi S: Clinical and molecular aspects of Japanese patients with mitochondrial trifunctional protein deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* 98(4): 372-377, 2009 (December)
- 6) Mushimoto Y, Hasegawa Y, Kobayashi H, Li H, Purevsuren J, Nakamura I, Taketani T, Fukuda S, Yamaguchi S: Enzymatic evaluation of glutaric acidemia type 1 by an in vitro probe assay of acycarnitine profiling using fibroblasts and electrospray ionization /tandem mass spectrometry (MS/MS). *Journal of Chromatography B* 877: 2648-2651, 2009 (July)
- 7) 四本由郁, 長谷川有紀, 小林弘典, 内田由里, 山口清次, 石川順一, 塩見正司: 脂肪酸代謝障害の所見を示したセレウス菌食中毒に伴う急性脳症の 5 歳例. *日本小児科学会雑誌* 113(1): 75-78, 2009 (1 月)
- 8) 山口清次: 新生児突然死の予防: タンデムマスによる早期発見. *日本周産期・新生児医学会雑誌* 45(4): 973-976, 2009 (12 月)
- 9) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 坂本 修, 大浦敏博, 山口清次: 経過中血液ろ紙分析でカットオフ値を下回った極長鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症の 2 例: 血清分析の必要性. *日本マス・スクリーニング学会誌* 19(3): 255-259, 2009 (12 月)
- 10) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 李 紅, 福田誠司, 近藤陽一, 脇口 宏, 藤枝幹也, 高杉尚志, 山口 結, 吉良龍太郎, 原 寿郎, 山口清次: 中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症日本

- 人 5 症例の発症形態の検討. 日本小児科学会雑誌 113(12): 1800-1804, 2009 (12 月)
- 11) Tsuburaya R, Sakamoto O, Arai N, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamaguchi S, Shigematsu Y, Takayanagi M, Ohura T, Tsuchiya S: Molecular analysis of a presymptomatic case of carnitine palmitoyl transferase I (CPT I) deficiency detected by tandem mass spectrometry newborn screening in Japan. *Brain & Development* 32: 409-411, 2010 (May)
 - 12) Li H, Fukuda S, Hasegawa Y, Kobayashi H, Purevsuren J, Mushimoto Y, Yamaguchi S: Effect of heat stress and bezafibrate on mitochondrial β -oxidation: Comparison between cultured cells from normal and mitochondrial fatty acid oxidation disorder children using in vitro probe acylcarnitine profiling assay. *Brain & Development* 32: 362-370, 2010 (May)
 - 13) Endo M, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Yotsumoto Y, Mushimoto Y, Li H, Purevsuren J, Yamaguchi S: In vitro probe acylcarnitine profiling assay using cultured fibroblasts and electrospray ionization tandem mass spectrometry predicts severity of patients with glutaric aciduria type2. *Journal of Chromatography B* 878: 1673-1676, 2010 (Jun)
 - 14) Hori T, Fukao T, Kobayashi H, Teramoto T, Takayanagi M, Hasegawa Y, Yasuno T, Yamaguchi S, Kondo N: Carnitine palmitoyltransferase 2 deficiency: the time-course of blood and urinary acylcarnitine levels during initial L-carnitine supplementation. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine* 221(3): 191-195, 2010 (Jun)
 - 15) Li H, Fukuda S, Hasegawa Y, Kobayashi H, Purevsuren J, Mushimoto Y, Yamaguchi S: Heat Stress Deteriorates Mitochondrial β -Oxidation of Long-chain Fatty Acids in Cultured Fibroblasts with Fatty Acid β -Oxidation Disorders. *Journal of Chromatography B* 878(20): 1669-1672, 2010 (Jun)
 - 16) Kawana S, Nakagawa K, Hasegawa Y, Yamaguchi S: Simple and rapid analytical method for detection of amino acids in blood using blood spot on filter paper, fast-GC/MS and isotope dilution technique. *Journal of Chromatography B* 878: 3113-3118, 2010 (November)
 - 17) 長谷川有紀, 山口清次: 新生児突然死の原因と予防. *産婦人科治療* 100(増刊): 793-796, 2010 (4 月)
 - 18) 山口清次: 新生児マススクリーニングの新技術: タンデムマス法について. *日産婦医会報* 5月号: 8-9, 2010 (5 月)
 - 19) 栗野宏之, 八木麻理子, 起塚庸, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 坂本修, 大浦敏博, 竹島泰弘, 松尾雅文: 幼児期に繰り返す嘔吐発作で発症したメチルマロン酸血症の同胞例. *日本小児科学会雑誌* 114(6): 961-965, 2010 (6 月)
 - 20) 小林弘典: 新生児拡大マススクリーニングータンデムマス法. *小児科臨床* 63(10): 2063-2069, 2010 (10 月)
 - 21) 小林弘典, 山口清次: タンデムマスによる新生児マススクリーニング. *小児科* 51(12): 1697-1703, 2010 (11 月)
 - 22) 北川照男, 松田一郎, 大和田操, 岡野善行, 大浦敏博, 青木菊麿, 山口清次, 高柳正樹, 重松陽介: タンデムマス法による新生児マススクリーニングで見つかる有機酸・脂肪酸代謝異常症の理解のために. *特殊ミルク情報* 46: 34-43, 2010 (11 月)
 - 23) Fujihara J, Hasegawa M, Kanai R, Agusa T, Iwata H, Tanabe S, Yasuda T, Yamaguchi S, Takeshita H: 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine and arsenic compounds in urine and serum of a 4-year-old child suffering from acute promyelocytic leukemia during treatment with arsenic trioxide. *Forensic Toxicology* 29(1): 65-68, 2011 (January)

- 24) Yamamoto T, Tanaka H, Kobayashi H, Okamura K, Tanaka T, Emoto Y, Sugimoto K, Nakatome M, Sakai N, Kuroki H, Yamaguchi S, Matoba R.: Retrospective review of Japanese sudden unexpected death in infancy: The importance of metabolic autopsy and expanded newborn screening.. *Molecular Genetics and Metabolism*, 2011
- 25) 久保田一生, 深尾敏幸, 堀 友博, 小林弘典, 船戸道徳, 長谷川有紀, 山口清次, 近藤直実: CPT2 欠損症: 生後 12 時間後からの血液ろ紙, 血清のアシルカルニチンプロファイルの経時的変化. *日本小児科学会雑誌*, 2011 (印刷中)
2. 学会発表
- 1) Yamaguchi S: Newborn screening in Japan: introduction of tandem mass spectrometry and diagnostic supports. *SCL International Symposium, Seoul, September 2008*
- 2) 吉川陽子, 長谷川由紀, 遠藤 充, 山田健治, 小林弘典, 山口清次: 非典型的な発症形態を示した有機酸・脂肪酸代謝異常症例の検討. 第 111 回日本小児科学会学術集会. 東京, 2008 年 4 月
- 3) 虫本雄一, 長谷川有紀, 遠藤 充, 小林弘典, 山口清次: ビオチン欠乏症による 2 次性マルチプルカルボキシラーゼ欠損症 7 例の検討. 第 111 回日本小児科学会学術集会. 東京, 2008 年 4 月
- 4) 李 紅, 遠藤 充, 小林弘典, 長谷川有紀, 福田誠司, 山口清次: Bezafibrate and heat stress alter the β -oxidation capacity in VLCAD deficiency. 第 111 回日本小児科学会学術集会. 東京, 2008 年 4 月
- 5) 山口清次, 虫本雄一, 吉川陽子, 四本由郁, 小林弘典: 有機酸・脂肪酸代謝異常症の新生児期発症例の臨床所見と予後. 第 44 回日本周産期・新生児医学会総会. 横浜, 2008 年 7 月
- 6) 長谷川有紀, 小林弘典, 虫本雄一, 山田健治, 山口清次: 有機酸・脂肪酸代謝異常症の自然歴について. 第 35 回日本マス・スクリーニング学会・第 30 回技術部会. 松江, 2008 年 8 月
- 7) 山口清次: 新生児突然死の予防: タンデムマス導入による早期発見. 第 45 回日本周産期・新生児医学会総会・学術集会 教育講演. 名古屋, 2009 年 7 月
- 8) 李 紅, 小林弘典, 長谷川有紀, プレブスレンジャミヤン, 虫本雄一, 山口清次: 高温環境における脂肪酸代謝異常患者のアシルカルニチンプロファイル変化. 第 34 回日本医用マススペクトル学会年会. 大阪, 2009 年 9 月
- 9) 長谷川有紀, 虫本雄一, 小林弘典, 山口清次: 有機酸・脂肪酸代謝異常症における新生児期発症患者の臨床像. 第 51 回日本先天代謝異常学会. 東京, 2009 年 11 月
- 10) Yamaguchi S: Heat Stress and Acute Encephalopathy in Childhood due to Inherited Organic and Fatty Acid Disorders. *International Symposium on Epilepsy in Neurometabolic Diseases. Taipei, Taiwan, March 2010*
- 11) Mushimoto Y, Hasegawa Y, Kobayashi H, Li H, Purevsuren J, Fukuda S, Yamaguchi S: Clinical and genetic investigation of 12 Japan cases of glutaric acidemia type1. *The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. Fukuoka, March 2010*
- 12) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Li H, Mushimoto Y, Yamaguchi S: Developed diagnostic method for carnitine cycle disorders using in vitro acylcarnitine probe assay. *The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases. Fukuoka, March 2010*
- 13) Yamaguchi S: Pediatric emergency and inborn metabolic diseases. *The 1st Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases, Seminnar. Fukuoka, March 2010*
- 14) Yamaguchi S, Li H, Purevsuren J, Mushimoto Y,

- Kobayashi H, Hasegawa Y, Fukuda S: Effect of heat stress and bezafibrate on mitochondrial fatty acid oxidation(FAO) in FAO disorders:evaluation by in vitro probe acylcarnitine assay. Society for the study of inborn errors of metabolism. Istanbul, August 2010
- 15) Purevsuren J, Hasegawa Y, Kobayashi H, Mushimoto Y, Fukuda S, Yamaguchi S: Toxic effect of cereulide of bacillus cereus on mitochondrial fatty acid oxidation. 第 52 回日本先天代謝異常学会. 大阪, October 2010
 - 16) Yamaguchi S: Pediatric emergency and nutritionally treatable inborn errors of metabolism. 7th Asia-pacific regional meeting of the international society for neonatal screening, Lecture. Indonesia, October 2010
 - 17) Yamaguchi S: Organic acidemia and its treatment in JAPAN. 7th Asia-pacific regional meeting of the international society for neonatal screening, Symposium. Indonesia, October 2010
 - 18) 八木麻理子, 栗野宏之, 辻雅弘, 但馬剛, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次, 竹島泰弘, 松尾雅文: 幼児期より筋痛を繰り返し、横紋筋融解症を契機に診断に至った三頭酵素欠損症の一例. 第 47 回日本小児神経学会近畿地方会. 大津, 2010 年 2 月
 - 19) 塩田光隆, 齊藤景子, 西田仁, 熊倉啓, 水本洋, 吉岡孝和, 羽田敦子, 虫本雄一, 山口清次, 奏大資: 死亡例も認めたセレウス菌による嘔吐型食中毒の 3 症例. 第 113 回日本小児科学会. 岩手, 2010 年 4 月
 - 20) 山口清次: 小児突然死を引き起こすような代謝異常とタンデムマスによる予防. 第 2 回こども急性疾患学寄附講座「こどもの救急医療のこれから」 講演. 神戸, 2010 年 6 月
 - 21) 重松陽介, 畑郁江, 但馬剛, 長谷川有紀, 武田良淳, 大竹明: 乳幼児突然死例の剖検時採取胆汁中アシルカルニチン分析. 第 35 回日本医用マススペクトル学会年会. 名古屋, 2010 年 9 月
 - 22) 重松陽介, 畑郁江, 但馬剛, 長谷川有紀, 山口清次, 大竹明: 死亡例胆汁アシルカルニチン分析による脂肪酸・有機酸代謝異常症化学診断の試み. 第 52 回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2010 年 10 月
 - 23) 星野正也, 大竹明, 日笠山絢香, 山崎太郎, 山内秀雄, 雨宮伸, 増谷聡, 重松陽介, 長谷川有紀, 山口清次: 胆汁のタンデムマス分析で診断のついた脂肪酸代謝異常症の 2 突然死例. 第 52 回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2010 年 10 月
 - 24) 美根潤, 岸和子, 大石橋絢子, 三原綾, 南憲明, 竹谷健, 安田謙二, 金井理恵, 瀬島斉, 山口清次: 急性脳症及び蘇生後脳症における低体温療法開始後の脳波の経時的変化. 第 62 回中国四国小児科学会. 広島, 2010 年 10 月
 - 25) 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, 伊藤由香, 江角豊美, 富田奈奈, 園山京子, 青砥仁泉, 信藤真理子, 角森正信, 石原隆範, 田中央吾, 山口清次: 島根県における自治体主導のタンデムマス・スクリーニング. 第 19 回中国・四国小児保健学会. 広島, 2010 年 10 月
 - 26) Purevsuren J, 長谷川有紀, 山口清次: Acute encephalopathy due to emetic toxin bacillus cereus and mitochondrial fatty acid oxidation disturbance. 第 42 回日本小児感染症学会. 仙台, 2010 年 11 月
 - 27) 山口清次: 小児救急で発見される代謝異常: タンデムマス・スクリーニングの臨床的意義. 第 59 回日本小児科学会佐賀地方会 特別講演. 佐賀, 2010 年 12 月

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表 1. 2008-10 年に SIDS/ALTE と診断された 170 症例の臨床所見

臨床所見	計	窒息?	前駆症状 (発熱)	ワクチン 接種後	低血糖	肝機能 障害	高 NH ₃	高 CK
突然死・SIDS	56	5	28	1	8	24	22	18
ALTE	114		24		23	41	28	24

※数字は、オーバーラップあり。

表 2. 2010 年に質量分析を行われた SIDS/ALTE 症例

スクリーニング検査	診断または疑われた疾患
GC/MS 分析 (120 例)	メチルマロン酸血症 1 例
	MCAD 欠損症 (疑い) 1 例
タンデムマス分析 (98 例)	β ケトチオラーゼ欠損症 1 例
	VLCAD 欠損症 (疑い) 1 例
	VLCAD 欠損症 or GA2 (疑い) 1 例
計	5 例

※ GC/MS とタンデムマス両方が行われた症例は、50/170 例 (29%)

表 3. 剖検例の後方視的研究の過去の報告 (Bole ら、1998)

SIDS 全体 (広義も含む)	23/358 例 (6.4%)
狭義の SIDS	14/313 例 (4.4%)
感染に引き続く乳幼児の突然死	9/45 例 (20.0%)

厚生労働科学研究補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤）
「乳幼児突然死症候群(SIDS)における病態解明と臨床的対応および
予防法開発とその普及啓発に関する研究」

平成 20・21・22 年度分担研究総合報告書

乳幼児突然死症候群(SIDS)症例における呼吸、循環関連遺伝子内の
多型解析並びにその倫理的問題

研究分担者 的場梁次

(大阪大学大学院医学系研究科予防環境医学専攻社会環境医学講座法医学教室)

研究協力者 中留真人 (藤田保健衛生大学医学部法医学講座)

山本琢磨

(大阪大学大学院医学系研究科予防環境医学専攻社会環境医学講座法医学教室)

研究要旨

乳幼児に突然死を引き起こす疾患には、各種の遺伝子異常が関与するものも考えられている。心臓においては不整脈死との因果関係が示唆されているほか、突然死例には代謝異常症が隠れている可能性も示されてきた。そこで我々は3年間の研究期間のうち、前半の2年間は不整脈との関連を、後半の1年間は代謝異常症の観点から乳幼児突然死症例を検討した。これらと並行し、解剖試料の統合的な保管、解析を可能にするため、大阪府監察医事務所において倫理委員会を設置する予定である。

ヒトナトリウムイオンチャンネルをコードしている SCN5A 遺伝子は、心筋に発現する心筋ナトリウムチャンネル病の原因遺伝子である。我々は、SCN5A 蛋白発現に関与する転写調節領域に存在する6箇所の SNP (C-1418T, T-1062C, T-847G, -835insGC, T-834C, C287T) について、乳幼児突然死症候群(SIDS)を含む原因不明の突然死との関連を検討した。その結果、6箇所の SNP の組み合わせによるディプロタイプは全部で38通り検出され、その出現頻度を比較した結果、4番目に出現頻度の多かったディプロタイプ D(Dip.D): CTG-TC/CCG-TC 型が突然死群において有意に高かった。このことから、この型を有する個体は、たとえエクソン内に変異が存在しなくても、mRNA 転写活性に影響を与え、その結果ナトリウムチャンネルの機能異常につながる可能性が示唆された。さらに、転写調節領域内のディプロタイプが、明らかな異常所見の無い原因不明の突然死の遺伝子診断マーカーとして利用できる可能性も示唆された。

次に、当教室で行われた過去の乳幼児突然死30症例に対し、脂肪酸代謝異常症の観点からレトロスペクティブに検討を行った。肝臓脂肪染色、タンデムマスによるアシルカルニチン解析(島根大学山口先生)、DNA 解析を行った。30例中3例に脂肪染色が陽性であった。これらのうち2例はアシルカルニチン分析により長鎖脂肪酸代謝異常が疑われた。さらに DNA 解析を行ったところ、このうち1例が carnitine palmitoyltransferase 2 欠損症と診断できた。乳幼児の突然死症例では代謝異常症の関与するものも含まれるため、十分な検討が必要である。

1. 不整脈からみた乳幼児突然死症例

A. 研究目的

ナトリウムイオンチャンネルは、神経・筋などの興奮性細胞の細胞膜に存在する細胞電位依存性のタンパク質分子であり、カリウムイオンチャンネルと共に、活動電位の発生並びに情報の伝播を担っている。ヒトのナトリウムイオンチャンネルは、SCN5A-11Aの α サブユニット遺伝子とSCN1B-SCN3Bの β サブユニット遺伝子から構成され¹⁾、その中のSCN5A遺伝子は、心筋に発現する心筋ナトリウムチャンネル病の原因遺伝子であることが判明している²⁾。このSCN5A遺伝子は、心筋の電氣的興奮に重要な役割を果たしていることから、SCN5A遺伝子内の変異と、心電図のQT間隔延長と突然死を惹起する血管障害によって特徴付けられるQT延長症候群との関連^{3),4)}、さらに、心室頻拍及び心室細動が頻発し突然死を来たすBrugada症候群との関連⁵⁾⁻⁷⁾を示唆する報告が近年なされている。

そこで今回我々は、SCN5A蛋白発現に関与する転写調節領域⁸⁾に存在する6箇所のSNP(C-1418T, T-1062C, T-847G, -835insGC, T-834C, C287T)に着目し、PCR-RFLP法及びダイレクトシーケンス法にて型判定を行い、乳幼児突然死症候群(SIDS)を含む原因不明の突然死との関連を検討した。

B. 研究方法

(1)試料

インフォームドコンセントによって同意を得た、健常者112名(男性70名、女性42名、年齢0-60歳、mean=40 \pm 15 years)の血液から抽出したDNAと、大阪大学法医学教室にて司法解剖にふされた原因不明の突然死症例70名(SIDS症例20名:男性10名、女性10名、年齢2-12ヶ月、mean=8 \pm 2 months、及び大人の突然死症例50名:男性35名、

女性15名、年齢20-60歳、mean=41 \pm 13 years)の血液から抽出したDNAをPCRの鋳型として用いた。DNA抽出は、PureLink GenomicDNA MiniKit (Invitrogen)を用いて行った。

(2)SCN5A遺伝子エクソン内変異の検索

SCN5A遺伝子の各エクソン内について、突然変異の存在の有無を、PCR増幅後シーケンス法にて検索した。

(3)多型検出

SCN5A遺伝子転写調節領域内の多型(Fig.1)検出法は、Bezzinaら⁹⁾の報告に準じた。C-1418T及びT-1062C多型の検出は、PCR-RFLP法にて型判定し、残りの4箇所の多型検出は、シーケンス法にて型判定を行った。

(4)統計学的解析

6箇所の多型における遺伝子型の出現頻度、及びそれらで構成されるディプロタイプの出現頻度について、分布に差があるか否かを検定するため、カイ2乗検定ならびにOdds Ratio, 95%CIを用いて有意差の有無を検討した。

C. 研究結果

サンプル全てのSCN5A遺伝子エクソン内には、突然変異は認められなかった。

C-1418T, T-1062C, T-847G, -835insGC, T-834C, C287T多型の遺伝子型出現頻度において、健常者群と突然死群間に有意差は認められなかった(Table 1)。一方、その組み合わせによるディプロタイプは全部で38通り検出され、その出現頻度を比較した結果、4番目に出現頻度の多かったディプロタイプD(Dip.D): CTG-TC/CCG-TC型が突然死群において有意に高かった(Table 2)。SIDS症例に関しては、1例のみからこの型が検出された。

D. 考察

Bezzina ら⁹⁾の報告では、プロモーター領域内の6箇所が多型で構成されるハプロタイプ B (HapB) が mRNA 転写活性低下と関連があることを、培養心筋細胞を用いた実験で証明している。この HapB は今回我々が検出したディプロタイプ D (Dip.D): CTG-TC/CCG-TC 型と多型部位が1箇所異なるものの、非常に類似性が高いことが判明した。このことから、この型を有する個体は、たとえエクソン内に変異が存在しなくても、mRNA 転写活性に影響を与え、その結果ナトリウムチャネルの機能異常につながる可能性が示唆された。一方、SIDS 症例に関しては、20例中1例のみこのディプロタイプ D が検出されたものの、今後さらに症例数を増やして検討する必要がある。また、このディプロタイプ D が、直接心機能異常（不整脈等）につながるか否かは現在不明であるが、エクソン内に変異が存在しない場合には、転写調節領域内のディプロタイプが、明らかな異常所見の無い原因不明の突然死の遺伝子診断マーカーとして、利用できる可能性も示唆された。

参考文献

- 1) Dhar MJ, Chen C, Rivolta I, et al.: Characterization of sodium channel alpha- and beta-subunits in rat and mouse cardiac myocytes. *Circulation*, 103: 1303-1310, 2001.
- 2) Chen Q, Kirsch GE, Zhang D, et al.: Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature*, 392: 293-296, 1998.
- 3) Moric-Janiszewska E, Markiewicz-Loskot G, Loskot M, et al.: Challenges of diagnosis of long-QT syndrome in children. *Pacing Clin Electrophysiol*, 30: 1168-1170, 2007.
- 4) Horie M, Itoh H: Disorders of cardiac repolarization -long QT and short QT syndromes-. *Circ J, Suppl A*:

A50-A53, 2007.

- 5) Antzelevitch C, Brugada P, Borggrefe M, et al.: Brugada syndrome: report of the second consensus conference. *Heart Rhythm*, 2: 429-440, 2005.
- 6) Clancy CE, Wehrens XHT: Mutation-specific effects of lidocaine in Brugada syndrome. *Int J Cardiol*, 121: 249-252, 2007.
- 7) Koopmann TT, Beekman L, Alders M, et al.: Exclusion of multiple candidate genes and large genomic rearrangements in SCN5A in a Dutch Brugada syndrome cohort. *Heart Rhythm*, 4: 752-755, 2007.
- 8) Yang P, Kupersmidt S, Roden DM: Cloning and initial characterization of the human cardiac sodium channel (SCN5A) promoter. *Cardiovascular Research*, 61: 56-65, 2004.
- 9) Bezzina CR, Shimizu W, Yang P, et al.: Common sodium channel promoter haplotype in Asian subjects underlies variability in cardiac conduction. *Circulation*, 113: 338-344, 2006.

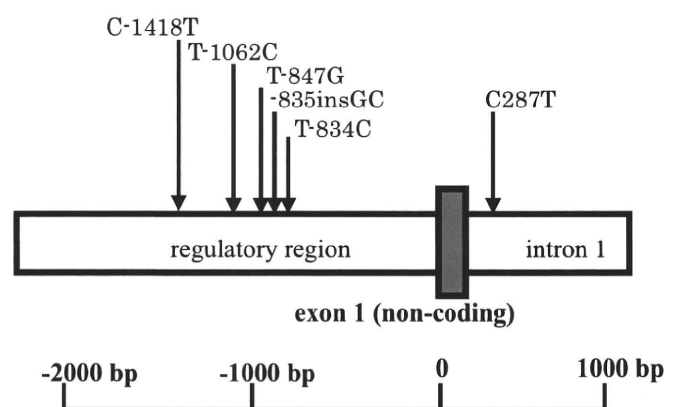


Fig.1. The SCN5A regulatory region including 2.2 kb upstream of exon 1, exon 1 (which is 173 bp and non-coding), and the proximal 439 bp of intron 1. Six major nucleotide variations are indicated.