

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）

「乳幼児突然死症候群(SIDS)および乳幼児突発性危急事態（ALTE）の病態解明
および予防法開発に向けた複数領域専門家による統合的研究」

乳幼児突然死症候群・乳幼児突発性危急事態の遺伝的因子に関する研究

SIDS の遺伝的危険因子及び遺伝的危険因子から考えた SIDS 発症機構の解明

研究分担者名；成田正明

所属；三重大学大学院医学系研究科・発生再生医学・教授

研究協力者；大河原剛

所属；三重大学大学院医学系研究科・発生再生医学・助教

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、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。これは SIDS 発症に遺伝的危険因子が存在するという発見のみならず、SIDS 発症に神経伝達物質セロトニンが関与することを示したものと言える。遺伝的危険因子は発症決定因子ではないが、様々な他の危険因子と組み合わせることにより、より発症の危険の高い群の発見につながる。

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²⁾。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⁾¹²⁾。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（図 1）。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も指摘されてきたが、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 というアリルの多型が存在し、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に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 アリルと XL アリル（このアリ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。



図 1 SIDS 患者ではセロトニントランスポーターの遺伝子多型の特殊なアリル（長いアリル）を持つ頻度が有意に高かった

上述のように SIDS に遺伝的危険因子が存在することに加え、妊娠中の母親の喫煙もまた SIDS 発症の危険性を高めることが知られており、これらのことは SIDS 発症に胎生期に由来する原因が存在することを示唆する¹⁰⁾。また SIDS 発症には、呼吸を調節する神経伝達物質セロトニンの異常の関与が知られてきた。神経伝達物質セロトニンは他の神経系よりも早くから発生を開始するが、これらのことは胎生期の様々なイベント（遺伝的因子、妊娠中の喫煙）がセロトニン神経の初期発生を乱してしまう可能性がある。

今回の研究では SIDS 発症の遺伝的因子の動向、文献調査とともに、胎生期のセロトニン神経の初期発生を乱してしまう要因として“胎生期のウイルス感染”を取り上げ、poly I:C (polyribocytidilic acid=合成二本鎖 RNA) を投与することで確立されているウイルス感染モデル¹¹⁾を用いた解

析を行ってみた。

B. 研究方法

胎生期のウイルス感染モデル(polyI:C 投与)によるセロトニン初期発生

妊娠9日目および10日目のWistar系妊娠ラットに、PBSに溶解した10 mg/kgのpoly I:Cを注射器で腹腔内に投与した。対照群としては、妊娠9日目および10日目に溶媒であるPBSを同量、腹腔内に投与したWistar系妊娠ラットを用いた。これらの妊娠ラットは、抗5-HT抗体による免疫染色に用いる場合は、胎生15日目までそのまま妊娠を継続させて実験に用いた。

胎生15日目の胎仔神経管の抗5-HT抗体を用いた免疫染色を行った。即ち、poly I:C投与群、対照群ともに各3匹の妊娠ラットから胎生15日目の胎仔を取り出し頭殿長(CRL)を測定した後、神経管の展開標本の作製を行った。作成した展開標本は、抗5-HT抗体(Invitrogen)を用いて免疫染色を行い(poly I:C投与群;n=26, 対照群;n=34)、Olympus BX50顕微鏡で写真撮影後、吻側縫線核におけるセロトニン神経細胞の細胞数の計測を行った。

方法-2 文献調査

SIDS発症の遺伝的因子の動向、文献調査

C. 研究結果

C 研究結果-1 胎生期のウイルス感染モデル(polyI:C 投与)によるセロトニン初期発生の異常

胎生15日目の胎仔の神経管の展開標本を作製し、抗5-HT抗体で免疫染色を行った後、吻側縫線核のセロトニン神経細胞の数を計測した。その結果、対照群では吻側縫

線核のセロトニン神経細胞の数が 222.9 ± 34.8 であったのに対し、poly I:C投与群では 259.2 ± 26.5 と統計的に有意な($p=0.00024$)細胞数の増加が観察された(図2)。

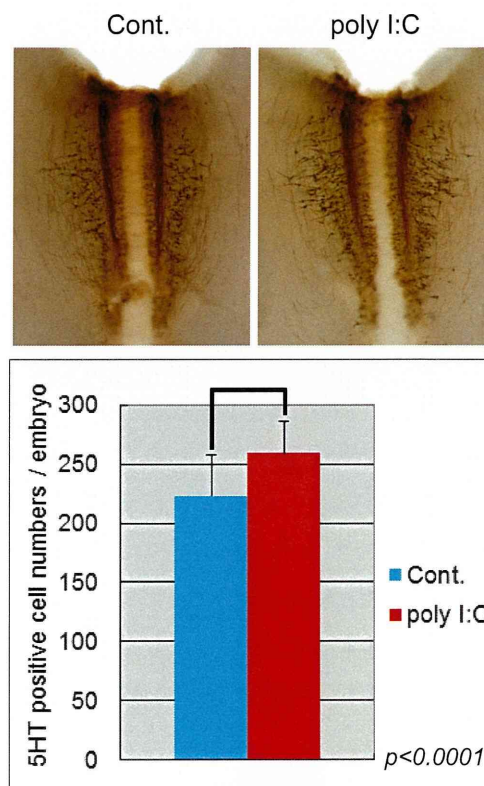


図2 胎生15日目の胎仔の吻側縫線核のセロトニン神経細胞の数

C 研究結果-2 文献調査

表1には2001年に我々が報告したものの、欧米諸国からの報告をまとめている。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⁾²²⁾²³⁾。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²⁴⁾²⁵⁾。

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リル (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) のアリ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 アリル 86%、L アリル 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²⁷⁾。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 など長いアリルは SIDS 発症の遺伝的危険因子であるといえる。

表 2 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 (文献 17, 18 より)。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。

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 13 である。SCN5A、NOS1AP など QT 延長症候群に関連する遺伝子^{14) 15)}、PHOX2a, RET, ECE1, 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^{20) 21)} などがある。

D. 考察

胎生期のウイルス感染モデル (polyI:C 投与) でセロトニン初期発生の異常を認めた。polyI:C は polyribocytidilic acid = 合成二本鎖 RNA であり、ウイルス感染モデルとして用いられている。私どものこれまでの研究でセロトニン神経の初期発生において、ラットでは胎生 9-10 日目が最も critical であることを明らかにしてきた。そこで今回の実験でもラット妊娠 9-10 日目に polyI:C を投与し、胎生 15 日目のセロトニン神経の初期発生をコントロールと比較したところ、polyI:C 投与群、即ち胎内感染モデル群でセロトニン神経細胞数が有意に多かった。この時期の細胞数の「増多」していることはセロトニン神経の初期発生が順調に進んでいるとは到底考えられず、出生後のセロトニン神経の発達がどうなっているか長期的な検討が必要である。SIDS 発症には様々な危険因子が知られているなかで、“胎内感染” は知られていない。今後の研究で“胎内感染” もまた SIDS の危険因子になり得るか検討する必要があると思われる。またウイルス侵入による様々なサイトカイン反応を考慮すると、胎生期の妊婦の予防接種もまた危険因子になり得るか検討が必要である。

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歩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 (図 3)。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。

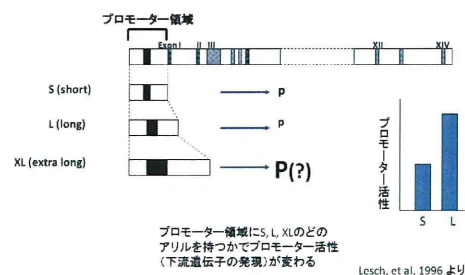
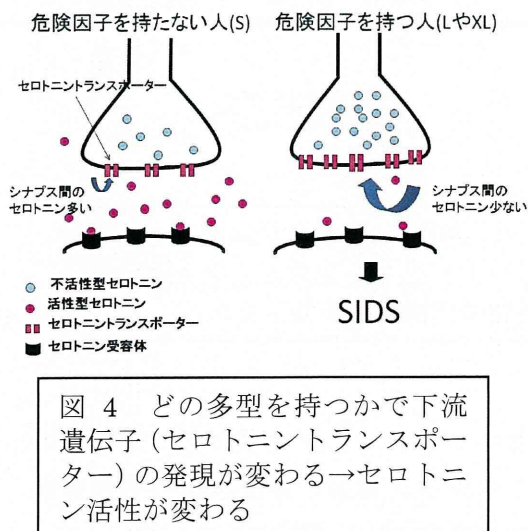


図 3 SIDS の遺伝的危険因子であるセロトニントランスポーター遺伝子多型は“機能的多型”である

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レ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 アレルは S アレ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²⁷⁾。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 アレ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 アレ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(図4)。



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²⁸⁾。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²⁹⁾³⁰⁾。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。

そのためには、マイクロダイアリス法などを用いて、生きたラットでのリアルタイムでの脳内セロトニン濃度を測定する系を確立し、SIDS が発症しうる様々な状況(吸気高炭酸ガス下など)を再現し、確認していく必要がある。

E. 結論

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) Naoko Narita, Masaaki Narita, Sachio Takashima, Masahiro Nakayama, Toshiro Nagai, Nobuo Okado. Serotonin transporter gene variation is a risk factor for sudden infant death syndrome in Japanese population. *Pediatrics* 2001; 107: 690-692.
- 7) Klaus-Peter Lesch, Dietmar Bengel, Armin Heils, Sue Z. Sabol, Benjamin D. Greenberg, Susanne Petri, Jonathan Benjamin, Cremens R. Muller, Dean H Mamer, Dennis L. Murphy. 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, D Morris-Rosendahl, M. A. Crocq, W. H. Berettini, M. R. Hoche. A novel allelic variant of the human serotonin transporter gene regulatory polymorphism. *Cytogenet Cell Genet* 1997; 79: 214-220.
- 9) Debra E. Weese-Mayer, Elizabeth M. Berry-Kravis, Brion S. Maher, Jean M. Silvestri, Mark E. Curran, Mary L. Marazita. Sudden infant death syndrome: Association with a promoter polymorphism of the serotonin transporter gene *American Journal of Medical Genetics* 2003 117; 268-274
- 10) Hannah C. Kinney, Kevin G. Broadbelt, Robin L. Haynes, Ingvar J. Rognum, David S. Paterson The serotonergic anatomy of the developing human medulla oblongata: Implications for pediatric disorders of homeostasis Review Article. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 41(4), 182-199, 2011
- 11) Misako Matsumoto, Tsukasa Seya. TLR3: Interferon induction by double-stranded RNA including poly (I:C) *Advanced Drug Delivery Reviews* 60; 805-812: 2008
- 12) 成田正明 遺伝的危険因子から見たSIDS. *日本SIDS・乳幼児突然死予防学会雑誌* 11(1)8-12, 2011
- 13) Debra E. Weese-Mayer, Lili Zhou, Elizabeth M. Berry-Kravis, Brion S. Maher, Jean M. Silvestri, Mary L. Marazita. Association of the serotonin transporter gene with sudden infant death syndrome; a haplotype analysis *American Journal of Medical Genetics* 122A:238-245 (2003)
- 14) Ackerman MJ, Siu BL, Sturner WQ, et al. Postmortem molecular analysis of SCN5A defects in sudden infant death syndrome. *JAMA* 2001; 286: 2264-69.
- 15) Plant LD, Bowers PN, Liu Q, 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.
- 16) DE Weese-Mayer, EM Berry-Kravis, L Zhou, BS Maher, ME Curran, JM Silvestri, ML Marazita. Sudden infant death syndrome: case-control frequency differences at genes pertinent to early autonomic nervous system embryologic

- development. *Pediatric Research* 56(3); 391-395: 2004
- 17) SH Opdal, TO Rognum. Gene variants predisposing to SIDS: current knowledge *Forensic Sci Med Pathol*, 2010 on line
- 18) RY Moon, RSC Horne, FR Hauck. Sudden infant death syndrome *Lancet*; 370: 1578-1587: 2007
- 19) Motoki Osawa, Ryousuke Kimura, Iwao Hasegawa, Nahoko Mukasa, Fumiko Sato. SNP association and sequence analysis of the NOS1AP gene in SIDS. *Legal Medicine* 11 S307-S308: 2009
- 20) Blackwell CC, Moscovis SM, Gordon AE, et al. Ethnicity, infection and sudden infant death syndrome. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 42: 53-65: 2004
- 21) Korachi M, Pravica V, Barson AJ, Hutchinson IV, Drucker DB. 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.* 42:125-29: 2004.
- 22) Francesco Nonnis Marzano, Milena Maldini, Laura Filonzi, Anna Maria Lavezzi, Stefano Parmigiani, Cinzia Magnani, Giulio Bevilacqua, Luigi Maturri Genes regulating the serotonin metabolic pathway in the brain stem and their role in the etiopathogenesis of the sudden infant death syndrome *Original Research Article Genomics*, 91(6) 485-491, 2008
- 23) Siri Hauge Opdal, Åshild Vege, Torleiv Ole Rognum. Serotonin transporter gene variation in sudden infant death syndrome. *Acta Paediatrica* 97; 861-865: 2008
- 24) David S Paterson, Keith D. Rivera, Kevin G. Broadbelt, Felicia L Trachtenberg, Richard A. Bell Veal, Ingrid A. Holm, Elisabeth A. Haas, Christina Stanley, Henry F. Krous, Hannah C. Kinney, Kyriacos Markianos. Lack of association of the serotonin transporter polymorphism with the sudden infant death syndrome in the San Diego Dataset. *Pediatric Research* 68(5); 409-413: 2010
- 25) 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* 11; S210-S212: 2009.
- 26) 成田奈緒子、成田正明、永井敏郎
小児の突然死の原因
日本医事新報 2005; 4235: 90-92.
- 27) 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* 44; 15-17: 1999.
- 28) Armin Heils, Andreas Teufel, Susanne Petri, Gerald Stober, Peter Riederer, Dietmar Bengel, K-P Lesch. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *Journal of Neurochemistry* 1996; 66: 2621-2624.
- 29) Kazuo Sakai, Chie Hasegawa, Mutsumi Okura, Osamu Morikawa, Takehiko Ueyama,

Yasuhito Shirai, Norio Sakai, Naoaki Saito. Novel variants of murine serotonin transporter mRNA and the promoter activity of its upstream site.

Neuroscience Letters 2003; 342: 175-178.

30) Kazuo Sakai, Masayuki Nakamura, Shu-ichi Ueno, Akira Sano, Norio Sakai, Yasuhito Shirai, Naoaki Saito.

The silencer activity of the novel human serotonin transporter linked polymorphic regions.

Neuroscience Letters 2002; 327: 13-16

G. 研究発表

1. 論文

1, 成田正明 遺伝的危険因子から見た SIDS 日本 SIDS・乳幼児突然死予防学会雑誌 11(1)8-12, 2011

2. その他

NHK テレビ “視点論点” 「乳幼児突然死の予防に向けて」 2012 年 1 月 23 日放映

<http://www.nhk.or.jp/kaisetsu-blog/400/107166.html>

表1 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	
Narita, et al., Pediatrics 2001 ⁶⁾	Japanese control 115 人, SIDS 27 人	86%	14%	0.4%	72%	22%	6%	0.006
DB Weese- Mayer et al., Am J Med Genet 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, 2008 ²²⁾	Italian control 150 人 SIDS 20 人	57%	43%		20%	80%		<0.001
Opdal, Vege, Rognum, Acta Pediatric, 2008 ²³⁾	Norwegian control 163 人 SIDS 243 人	47%	54%		40%	60%		0.05
Paterson, Hannah Kinney Pediatric Research, 2010 ²⁴⁾	Caucasian control 100 人, SIDS 94 人	47%	53%		42%	58%		有意差なし
	African American control 7 人 SIDS 19 人	36%	64%		37%	63%		有意差なし
	Hispanic control 23 人 SIDS 46 人	43%	57%		59%	41%		有意差なし
	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 ²⁵⁾	Caucasian (from Switzerland) control 58 人 SIDS 145 人	42%	59%		47%	53%		有意差なし

表2 表1以外でSIDS発症に関連すると報告されたその他の遺伝的因子(一部)
(文献17, 18より)

・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 (繰り返し数)	DE Weese-Mayer, et al., American Journal of Medical Genetics 122A:238-245, 2003 ¹³⁾	
・SCN5A(Naチャンネル)、 ・NOS1AP (NO合成酵素1アダプター蛋白)	Ackerman MJ, et al. JAMA 286: 2264-69; 2001 ¹⁴⁾ Plant LD, et al. J Clin Invest 116: 430-35.2006 ¹⁵⁾ 、M Osawa, et al., Legal Medicine 11 S307-S308: 2009 ¹⁹⁾	QT延長症候群との関連?
・PHOX2a, RET, ECE1, TLX3, EN1	DE Weese-Mayer, et al., Pediatric Research 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	Blackwell CC, et al., FEMS Immunol Med Microbiol. 42: 53-65: 2004 ²⁰⁾ Korachi M, et al., FEMS Immunol Med Microbiol. 42:125-29: 2004 ²¹⁾	免疫系に関与

平成 23 年度厚生労働科学費補助金(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業)
「乳幼児突然死症候群(SIDS)および乳幼児突発性危急事態 (ALTE) の病態解明
および予防法開発に向けた複数領域専門家による総合的研究

乳幼児突然死症候群における組織バンク構築と新生児期の濾紙血・尿・胎盤を
利用した予防開発研究

新生児マススクリーニング検査結果の解析と予後調査

研究分担者：中山雅弘 大阪府立母子保健総合医療センター 検査科

研究要旨

大阪府下においては、2007 年よりタンデムマスによる新生児代謝異常スクリーニング検査を施行している。同意を得た上で実施するパイロット研究であったが、受診率はほぼ 100%であった。5 年間のデータの解析を行った。8600 人に 1 人の発見頻度であり、地域のコホート研究としても有用な結果である。詳細な予後調査は今後施行予定である。

研究協力者

稲岡一考 (大阪府立母子保健総合医療センター検査科)

木本哲人 (大阪府立母子保健総合医療センター検査科)

A. 研究目的

SIDS の原因に関しては、慢性低酸素症・脳幹部神経伝達物質の異常・覚醒反応の低下を含めた脳機能異常・循環系調節異常など様々な異常が示唆されているが、未だ解明に至らず国内外の専門家によってその原因究明にむけた研究がなされている。突然死の中では、以前より代謝異常症が一定程度含まれているといわれ、その頻度は 10%程度と考えられている。

タンデム・マス法を利用した新しい

代謝異常スクリーニング体制による成果が大阪府では 5 年間の蓄積があり、それらの結果と突然死の関連の検討から突然死の予防がどの程度可能かを目的としてこの研究を行った。

B. 研究方法

大阪府立母子保健総合医療センターでは、2007 年よりタンデムマス分析装置を用いた新しいアミノ酸代謝異常症・有機酸代謝異常症・脂肪酸β酸化異常症のパイロットスタディを施行している。2011 年 3 月、「一次対象 19 疾患については、早期に実施するのが適当である」との厚生労働省母子保健課長通達が、各都道府県・政令市母子保健主管部局長宛に出されるに至った。大阪府では、更に 6 疾患のアミノ酸代謝異常症・有機酸代謝異常症・

脂肪酸 β 酸化異常症を加え、合計 25 疾患のパイロットスタディを実施してきた。対象疾患とその疾患頻度を表 1 に示す。表では、一次対象疾患のうち、先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎過形成症、ガラクトース血症の 3 疾患を除いている。当該疾患は当センターで全例スクリーニングチェックを行い、要精密検査者は大阪府下の主要な施設での精検が施行され、その結果が当科に報告される。大阪府の協議会でその結果が詳細報告され年次集計とされる。今回は更にその結果を再検討し解析資料とした。

C. 研究結果

2007年から2011年度の大阪府下(大阪市を除く)のタンデムマス法における発見患者数を表示する(表 2)。一次対象疾患として、メチルマロン酸血症が 6 例、プロピオン酸血症が 5 例など合計 22 例発見されている。メチルマロン酸血症の 1 例は新生児早期に死亡している。二次対象疾患としては、シトリン欠損症が 8 例、全身性カルニチン欠乏症が 3 例、グルタル酸血症が 2 例など 14 例見られた。

現段階報告での重症例を示す。メチルマロン酸血症の 1 例が高アンモニア血症で死亡し、CPT II 欠損症の 1 例がアシドーシスとショック状態に陥り、シトルリン血症の 1 例が意識障害・高アンモニア血症となり、複合カルボキシラーゼ欠損症の 1 例は脳室拡大・無呼吸発作を呈し、メチルクロトニルグリシン尿症の 1 例で高アンモニア血

症・低血糖症が見られた。

発見患者の総数を年度別に出生数とともにその頻度を見たのが表 3 である。年度により変動はあるものの 5 年間の集計としては、8632 人に 1 例の発見頻度であった。

D. 考察

マススクリーニング事業は、これまでのクレチン症やアミノ酸代謝異常を中心とする慢性疾患中心の時代から、最近になって、副腎過形成が追加され、更にタンデムマス検査法導入で、有機酸・脂肪酸代謝異常が加わることになり、急性症状を伴う疾患や突然死との関連が重要な問題となってきている。

大阪府では、2007年5月より、タンデムマス法を用いた有機酸代謝等の新生児スクリーニングを行っている。受検者は最近ではほぼ 100%近くとなっている。このような観点から、地域内における突然死との関連においても重要な検査となっており、突然死症例とスクリーニング結果との照合なども重要な課題になると考えられる。現段階の報告でも、36 例中 5 例が重症例であり、そのうち 1 例が死亡している。メチルマロン酸血症やプロピオン酸血症や MCAD 欠損症などは乳幼児期に死に至る可能性のある疾患であり、それらを比較的多く発見できていることより乳幼児の死亡予防へのつながるものと考えられる。乳児死亡における代謝異常症の頻度・役割などをみるためには、詳細な予後調査を行う

ことが必要である。

E. 結論、参考文献

大阪府下においては、2007年よりタンドেমマスによる新生児代謝異常スクリーニング検査を施行した。同意を得た上で実施するパイロット研究であったが、受診率はほぼ100%であった。5年間のデータの解析を行った。36例の症例が発見され、出生8600人に1人の発見頻度であり、地域のコホート研究としても有用な結果であった。

F. 健康危険情報

特別の記載項目なし。

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Baba S、Noda H、Nakayama M、Waguri M、Mitsuda N、Iso H. Risk factors of early spontaneous abortions among Japanese: a matched case-control study Human Reproduction 2011; 26: 466-472
2. Kanayama N、Inori J、Ishibashi-Ueda H、Takeuchi M、Nakayama M、Kimura S、Matsuda Y、Yoshimatsu J. Maternal death analysis from the Japanese autopsy registry for recent 16years: significance of amniotic fluid embolism Obstetrics and Gynaecology Research 2011; 37: 58-63
3. Ohata Y、Arahoru H、Namba N、Kitaoka T、Hirai H、Wada K、Nakayama M、Michigami T、Imura A、Nabeshima Y、Yamazaki Y、Ozono K. Circulating Levels of Soluble α -Klotho Are Markedly Elevated in Human Umbilical Cord Blood J Clin Endocrinol Metab 2001; 96: E943-E947
4. Kubota A、Shiraisi J、Kawahara H、Okuyama H、Yoneda A、Nakai H、Nara K、Kitajima H、Fujiwara M、Kuwae Y、Nakayama M. Meconium-related ileus in extremely low-birthweight neonates: Etiological considerations from histology and radiology. Pediatrics International 2011; 53: 887-891
5. 中山雅弘、木本哲人、植田初江. 羊水塞栓症における肺・子宮での組織および免疫組織学的検討産科と婦人科 2011; 78: 178-185
6. 宮野章、中山雅弘. 妊婦における抗 SS-A60-kDa avidity 抗体に関する研究 臨床病理 2011; 59: 219-225
7. 中山雅弘. 早剥の胎盤病理 臨床婦人科産科 2011; 65: 1364-1370
8. 中山雅弘、桑江優子、松岡圭子. 胎盤病理からみた FGR,IUFD

産科と婦人科 2011; 78: 664～
670

2) 学会発表

1. 若狭朋子、新宅雅幸、中山雅弘.
子宮型羊水栓症における胎児成分
検出法の特異性についての検討
第 100 回日本病理学会
2011.4.28～30 横浜市 一般演
題
2. 中山雅弘、橘真紀子、松岡圭子、
桑江優子. IUGR と胎盤病理
第 11 回新生児栄養フォーラム
2011.6.25～26 千里市 シンポジ
ウム
3. 中山雅弘、松岡圭子. 染色体
異常症の胎児死亡例の解析 —
NT、hygroma の病理・発生—
第 51 回日本先天異常学会学術集
会 2011.7.22～24 東京都 シ
ンポジウム
4. 宮野章、中山雅弘. 児に房室
ブロックを伴った母親における
52-kDa SSA/Ro p200 peptide に対
する免疫反応 第 58 回日本臨
床検査学会学術集会 2011.11.17
～20 岡山市 一般演題

H. 知的財産権 なし

新生児スクリーニング対象疾患

一次対象疾患

- | | |
|--|----------------|
| [1] 先天性甲状腺機能低下症 (CH) | (約 3 千に 1 人) |
| [2] 先天性副腎過形成症 (CAH) | (約 2 万人に 1 人) |
| [3] ガラクトース血症 | (約 3 万人に 1 人) |
| [4] フェニルケトン尿症 (PKU) | (約 6 万人に 1 人) |
| [5] メープルシロップ尿症 (MSUD) | (約 50 万人に 1 人) |
| [6] ホモシチン尿症 (HCU) | (約 80 万人に 1 人) |
| [7] シトルリン血症 I 型 (CTLN1) | (非常に希な疾患) |
| [8] アルギニノコハク酸尿症 | (約 20 万人に 1 人) |
| [9] メチルマロン酸尿症 (MMA) | (約 11 万人に 1 人) |
| [10] プロピオン酸血症 (PA) | (約 4 万人に 1 人) |
| [11] イソ吉草酸血症 (IVA) | (約 40 万人に 1 人) |
| [12] メチルクロトニルグリシン尿症 (3MCCD) | (約 13 万人に 1 人) |
| [13] ヒドロキシメチルグルタル酸尿症 (HMG) | (非常に希な疾患) |
| [14] 複合カルボキシル欠損症 (MCD) | (約 40 万人に 1 人) |
| [15] グルタル酸尿症 I 型 (GA1) | (約 20 万人に 1 人) |
| [16] 中鎖アシル CoA 脱水素酵素(MCAD)欠損症 | (約 13 万人に 1 人) |
| [17] 極長鎖アシル CoA 脱水素酵素(VLCAD)欠損症 | (約 20 万人に 1 人) |
| [18] 長鎖ヒドロキシアシル CoA 脱水素酵素(LCHAD)欠損症/三頭酵素(TFP)欠損症 (希) | |
| [19] カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ - I (CPT-I)欠損症 | (約 27 万人に 1 人) |

二次対象疾患

- | | |
|--|----------------|
| [1] シリン欠損症 (CTR2) | (約 9 万人に 1 人) |
| [2] 3-ケトチオラーゼ欠損症 (T2) | (非常に希な疾患) |
| [3] カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ - II (CPT-II)欠損症 | (約 30 万人に 1 人) |
| [4] カルニチンアシルカルニチントランスロカーゼ (TRANS)欠損症 | (非常に希な疾患) |
| [5] 全身性カルニチン欠乏症 | (約 20 万人に 1 人) |
| [6] グルタル酸尿症 II 型 | (約 16 万人に 1 人) |

表2 タンデムマス発見症例（大阪府）

	代謝	グループ		H19	H20	H21	H22	H23	合計
1	アミノ酸	1次疾患	フェニルケトン尿症	1	0	0	1	0	2
2	アミノ酸	1次疾患	メーブルシロップ尿症	0	0	0	1	0	1
3	アミノ酸	1次疾患	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	2	2
4	アミノ酸	1次疾患	シトルリン血症	0	1	0	0	0	1
5	アミノ酸	1次疾患	アルギノコハク酸血症	0	0	0	0	0	0
6	アミノ酸	2次疾患	シトリン欠損症	0	4	2	1	1	8
7	有機酸	1次疾患	メチルマロン酸血症	0	1	3	0	2	6
8	有機酸	1次疾患	プロピオン酸血症	0	2	1	1	1	5
9	有機酸	2次疾患	3ケトチオラーゼ欠損症	0	0	0	0	0	0
10	有機酸	1次疾患	イソ吉草酸血症	0	0	0	0	0	0
11	有機酸	1次疾患	メチルクロトニルグリシン尿症	0	0	0	0	1	1
12	有機酸	1次疾患	HMG血症	0	0	0	0	0	0
13	有機酸	1次疾患	複合カルボキシラーゼ欠損症	0	0	0	1	0	1
14	有機酸	1次疾患	グルタル酸血症 I 型	0	0	0	0	0	0
15	脂肪酸	1次疾患	MCAD欠損症	0	0	0	2	0	2
16	脂肪酸	1次疾患	VLCAD欠損症	0	0	1	0	0	1
17	脂肪酸	1次疾患	TFP (LCHAD) 欠損症	0	0	0	0	0	0
18	脂肪酸	1次疾患	CPT I 欠損症	0	0	0	0	0	0
19	脂肪酸	2次疾患	CPT II 欠損症	1	0	0	0	0	1
20	脂肪酸	2次疾患	TRANS欠損症	0	0	0	0	0	0
21	脂肪酸	2次疾患	全身性カルニチン欠乏症	2	1	0	0	0	3
22	脂肪酸	2次疾患	グルタル酸血症 II 型	1	1	0	0	0	2
			小 計	5	10	7	7	7	36

表3 タンデムマス頻度

年度	平成19年度	平成20年度	平成21年度	平成22年度	平成23年度	合計
検査数	54509	54028	52631	51774	43177	310754
患児	5	10	7	7	7	36
発生頻度	1/10902	1/5403	1/7519	1/7396	1/6168	1/8632

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）

「乳幼児突然死症候群 (SIDS) および乳幼児突発性危急事態 (ALTE) の病態解明
および予防法開発に向けた複数領域専門家による統合的研究」

「乳幼児突然死症候群・乳幼児突発性危急事態の予防法開発に関する研究」

乳幼児突発性危急事態の実態調査

分担研究者： 中川 聡

国立成育医療研究センター病院手術集中治療部

研究協力者： 上田理誉、野村 理、前川貴伸

国立成育医療研究センター病院総合診療部

乳幼児突発性危急事態 (apparent life-threatening events; ALTE) の臨床像を明らかにするために、2002 年 3 月から 2011 年 12 月までの期間に国立成育医療研究センター病院の救急センターで ALTE の仮診断を得た患者に対して、主訴、理学所見、検査、退院時診断、反復の有無などに関して、後方視的に検討を行った。当該期間中に 113 人の症例を得た。そのうち 105 例 (93%) が入院した。15 例が何らかの基礎疾患を有していた。主訴としては、顔面蒼白 90 例 (80%)、筋力低下 49 例 (43%)、無呼吸 37 例 (33%) が上位を占めた。観察者が手足や背部の刺激を行った例は 57 例 (50%) であった。退院時診断は、胃食道逆流 30 例 (27%)、気道感染症 15 例 (13%)、無呼吸 14 例 (12%) だった。確定診断に至らなかった症例は 16 例 (14%) であった。イベント反復例は 43 例 (38%) だった。

長期的な予後に関しては今回は調査できなかった。長期予後について、今後検討する必要がある。

A. 研究目的

乳幼児突発性危急事態 (apparent life-threatening events; ALTE) は米国 National Institute of Health により「児が死亡するのではないかと観察者に思わしめるような無呼吸、チアノーゼ、顔面蒼白、筋緊張低下、窒息などのエピソード」として提唱されている。生命予後の良好な病態であるとの認識が一般的である一方で、一部の患者にてんかんや精神発達遅滞を合併することが指摘される (1) など ALTE の予後については不明な点が多い。今回、ALTE 症例の臨床像を明らかにするために

国立成育医療研究センター病院で管理をした症例を検討した。

B. 研究方法

対象は、当院救急センターで ALTE と診断した症例 (2002 年 3 月 1 日～2011 年 12 月)。方法は、診療録を用いた後方視的検討。月齢、周産期情報、主訴、イベント反復の有無、イベント時の観察者の対応、理学所見や検査、最終診断などに関して検討を行った。

C. 研究結果

113 例（男児 56 例、女児 57 例、受診時平均週齢 10.3）が ALTE と診断をされ、うち 105 例（93%）が入院した。15 例（13%）が何らかの基礎疾患を有していた（早産を除く）。出生体重が 2500 グラム未満は 19 例（17%）、在胎週数が 36 週以下の症例は

表：救急外来あるいは入院中に行った検査

項目	人数	異常値を示した人数	異常値の陽性率 (%)
脈拍数・呼吸数	113	8	7
体温	113	0	0
CBC・生化学	108	27	25
心電図	107	7	7
胸部 X 線	107	21	20
血液ガス	106	15	14
血液培養	86	2	2
頭部 CT	72	5	7
RSV 迅速抗原検査	69	5	7
脳波	58	12	21
心エコー	56	13	23
Nocturnal pulse oximetry	42	9	9
消化管造影	28	19	68
髄液	20	0	0
pH モニタリング	21	8	38
タンデムマス	19	0	0
百日咳抗体価 / PCR	16	1	6

9 症例（8%）だった。

主訴は顔面蒼白 90 例（80%）、筋力低下 49 例（43%）、無呼吸 37 例（33%）、チア

ノーゼ 29（26%）（のべ人数）であった。観察者が手足や背部の刺激を行った例は 57 例（50%）であった。入院中に行った検査は表を参照。退院時診断は、胃食道逆流 30 例（27%）、気道感染症 15 例（13%）、無呼吸 14 例（12%）だった。確定診断に至らなかった症例は 16 例（14%）であった。イベント反復例は 43 例（38%）だった。パルス・オキシメータを用いたホームモニタリングを行った症例は 5 例であった（2）。

D. 考察

今回行った検討は、対象患者が 100 名以上であり、国内からの発表としては最大規模の検討の一つである。その中で、ALTE と認識される病態は、発症週齢、主訴、退院時診断などにおいては、海外からの報告と同様の傾向が認められた（3）。ALTE 症例に対しては、当院では、担当医による患者の評価の結果を重視し、その後の検査を行った。その結果、呼吸数・脈拍数・体温などのバイタルサインに関連する指標、CBC・生化学といった基本的な血液検査、心電図、胸部 X 線写真、血液ガスを施行した症例が多かった。

今回の検討では、ALTE の長期的な予後に関しては検討できていない。米国からの報告では、ALTE の 4.9% の患者でてんかんや精神発達遅滞などの神経学的な症状を呈し、そういった神経症状を呈した患者での後の死亡例があったことが報告されている

（1）。さらに、11% の患者で虐待の被害者であったと報告している（1）。今後、ALTE の長期的な予後に関しても焦点を当てた研究が本邦でも求められる。

E. 結論

ALTE で医療機関を受診する週齢や退院時診断は過去の報告と同様であった。今回の検討では予後に関してまでは追及ができなかった。今後は、予後についても検討を行う必要がある。

参考文献

1. Bonkowsky JL, et al. Death, child abuse, and adverse neurological outcome of infants after an apparent life-threatening event. *Pediatrics* 2008; 122:125-131.
2. 宮坂勝之. 「乳幼児突然死症候群の診断のためのガイドライン作成およびその予防と発症率軽減に関する研究」 2003 年度厚生労働科学研究坂上班報告書.
3. Semmekrot BA, et al. Surveillance study of apparent life-threatening events (ALTE) in the Netherlands. *Eur J Pediatr* 2010; 169:229-236.

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし