

平成 25 年 11 月吉日

平成25年度厚生労働科学研究「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」研究班

主任研究者 戸荻 創 (名古屋市立大学学長)

厚労省 SIDS 研究班 WG (市川光太郎、中川聡、加藤稲子、岩崎志穂)

調査責任者 市川光太郎 (北九州市立八幡病院小児救急センター)

《連絡先》 質問に対するご不明な点の連絡はFAXでお願いいたします

北九州市立八幡病院小児救急センター 市川光太郎

FAX 093-662-1796

乳児期の睡眠環境の理想像



乳幼児突然死症候群(SIDS)とは、それまで元気だった赤ちゃんが、事故や窒息ではなく、眠っている間に突然、死亡してしまう病気です。

乳児時期の睡眠環境の意識調査・実態調査

※あてはまるところの□に、☑をいれてください。

- 1) 今回の健診内容 □3-4か月健診 □7-8か月健診 □10か月健診 □1.6歳健診
 2) 養育者の年齢層 □10代 □20代 □30代 □40代 □50代 □60代以上
 3) 今回、健診受診のお子さんは □1人目 □2人目 □3人目 □4人目 □5人目
 4) 養育環境について

①妊娠中から現在までの、喫煙・飲酒・薬物摂取は？

A) 喫煙 □ している (本/日) □ していない

B) 飲酒

□ している (毎日、ほぼ毎日、() 日/週 → 量は？日本酒換算 合/日)

日本酒に換算した飲酒量の目安

ビール	大ビン1本	1.3合	焼酎25度 (110mL)	1.0合
"	500mL缶	1.0合	ウイスキーダブル1杯 (60mL)	1.0合
"	350mL缶	0.8合	ワイン2杯 (240mL)	1.0合

□ していない

C)薬物 (ここで聞く薬物とは、睡眠薬、鎮静薬、抗精神薬、抗けいれん薬などのことです。)

□ している (を から /日) □ していない

②赤ちゃんの周りでの喫煙 (父親、その他の家族含め)

□ している □ していない

③栄養法

□ 母乳のみ □ 母乳・人工乳混合 (か月まで母乳のみ) □ 人工乳のみ

④おしゃぶり

□ 使用している (か月から) □ 使用していない

⑤部屋の温度

□ 常に気を配って注意して適温にしている □ 余り気にせず、自然に任せている

⑥衣類に関して

□ 普段から厚着である □ 丁度良いくらいにしている □ 普段から薄着である

⑦気温と衣類に関して

□ 気温に応じて対応している □ 余り細かな対応はしていない

5) 睡眠環境について

①睡眠場所に関して

- 赤ちゃん用ベッド (布団) を必ず使用している
 □ 大人の布団を代用している
 □ ソファ、長椅子など寝た場所で寝させることが多い

②寝具に関して (複数回答可)

- 子どもの寝具は固めのものを使用している
 □ 柔らかくてフカフカするものを使用している

→◇敷布団のみ ◇敷布団も掛け布団ともに ◇掛け布団のみ

平成25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」

分担研究報告書

両親における乳幼児突然死症候群の認知度

分担研究者：横田俊平（横浜市立大学大学院医学研究科発生成育小児医療学教授）

研究協力者：岩崎志穂（横浜市立大学附属市民総合医療センター総合周産期母子医療センター）

【要旨】

乳幼児突然死症候群（SIDS）の予防に対しては適切な保育環境が重要であることより、養育者であるご両親の存在が大きい。平成19年度は一施設での調査だったため、今回は横浜市立大学附属病院および横浜市立大学附属市民総合医療センターの2施設で出産を控えたご両親を対象にSIDSの認知度に関するアンケートを行い2施設の比較検討を行った。両親学級への参加者のうちアンケートへ回答のあったのは402名（父68名、母334名）。SIDSについては全体の約75.0%が「知っている」と答えた。母親は約80%が「知っている」と答えたのに対し父は約60%と差があり、2施設での差異は認められなかった。その他のアンケート項目でも2施設の違いはなく、同様の傾向を示した。また、平成19年度と今回の比較を行ったところ、情報源として1位はテレビで同じであったが、平成19年度で2位であった新聞が減少し、インターネットが2位に浮上していた。情報源が変化している可能性があり、今後の啓発活動の参考にしたい。

【目的】

乳幼児突然死症候群(SIDS)に関して平成16年度厚生労働省研究班が公表したガイドラインの中で「SIDSの大半は、最も社会的に脆弱な生後6ヵ月未満の乳児であり、またその発症に保育環境が関与するところから、適切な保育環境が重要であること、母親や父親、その家族の存在が大きいこと、などを一般社会に啓発していくことが重要である」と述べられている¹⁾。我々は平成19年度にこれから出産を控えたご両親へのアンケートを行い一般社会におけるSIDSの認知度の実態調査および啓発活動に向けた研究を行った。この中でご両親の76.5%がSIDSを知っていると答えたが、詳細についての知識にはばらつきがある事、公共機関で作成した資料よりもテレビ、雑誌、新聞

から知識を得ている割合が高い事が判明した²⁾。前回の調査は一施設からの報告であったため、今回は研究者が所属する横浜市立大学附属の2病院においてご両親に対して同時期にアンケート調査を行い、横浜内での地域差の有無を調べ、併せて平成19年度との比較も行った。

【対象および方法】

対象は平成25年6月から平成24年12月までに横浜市立大学附属病院（附属病院）および横浜市立大学附属市民総合医療センター（センター）で分娩前に行われた両親学級への参加者421名。SIDSに関するアンケートを行った。回収数は横浜市立大学附属病院201名（父54名、母147名）、横浜市立大学附属市民総合医療センター201名（父

14名、母187名)、合計402名で、回収率95.5%であった。祖母5名からも回答があったが、今回は結果から除外した。

【結果】

1. 乳幼児突然死症候群(SIDS)という言葉をご存知ですか。(図1)

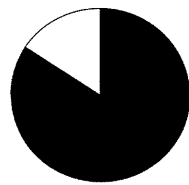
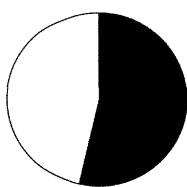
附属病院

知っている 153: 76.1%
(父 29: 60%、母 124: 84.4%)
知らない 48: 23.9%
(父 25: 40%、母 23: 15.6%)

センター

知っている 155: 77.1%
(父 8: 57.1%、母 147: 78.6%)
知らない 46: 22.9%
(父 6: 42.9%、母 40: 21.4%)

附属病院



センター

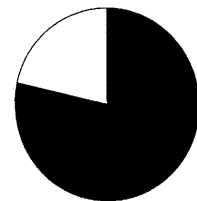
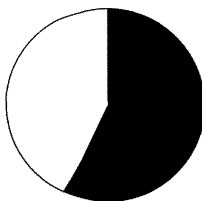


図1

「知っている」答えた方(308名)には2番以降の質問にすべて答えていただき「知らない」と答えた方には2~6番をとばし7番に答えていただいた。

2. 乳幼児突然死症候群についてどこで知りましたか?(複数回答可)(図2)

附属病院 センター

	(名)	(名)
テレビ	104	93
インターネット	25	26
新聞	24	15
雑誌	16	13
母子手帳	15	12
知り合いから	8	11
ラジオ	1	1
第一子の出産時	1	0
どこで知ったか忘れた	14	14

(名)

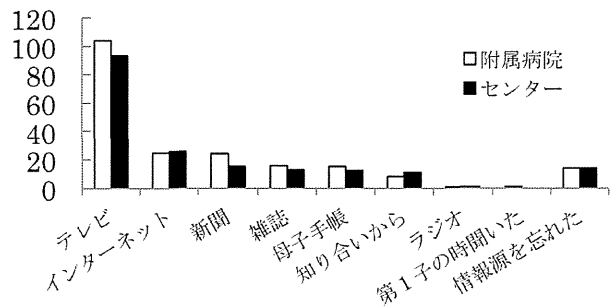


図2

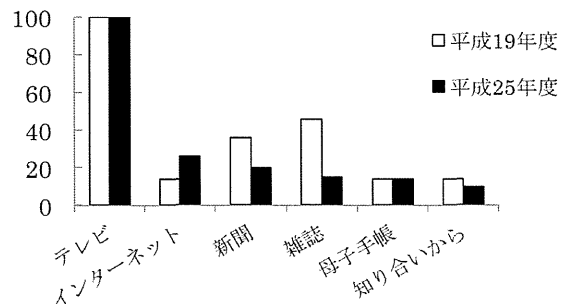


図3

「テレビで情報を得た」を100とした時の他の情報源の割合を平成19年度と今回の2病院合計のデータとで比較した。(図3)

3. 乳幼児突然死症候群が0歳児の死亡原因の3位であることをご存知ですか。(図4)

	附属病院 (名)	センター (名)
知っている	29	32
知らない	124	123

4. 乳幼児突然死症候群がおきやすいのは生後2から6ヶ月であることをご存知ですか。(図4)

	附属病院 (名)	センター (名)
知っている	45	38
知らない	106	116
無回答	2	1

5. 乳幼児突然死症候群と窒息は違う事をご存知ですか？(図4)

	附属病院 (名)	センター (名)
知っている	85	79
知らない	67	76
無回答	1	0

6. 危険因子について知っていますか(図4)

	附属病院 (名)	センター (名)
知っている	115	120
知らない	36	35
無回答	2	0

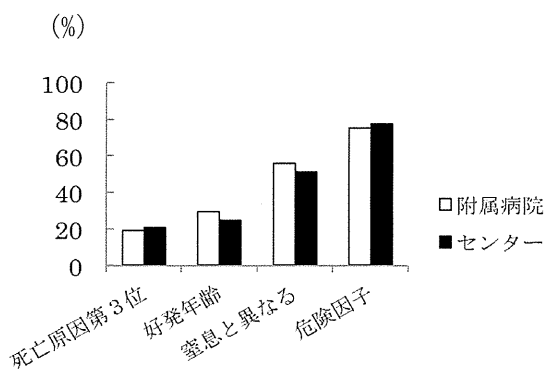


図4

7. 乳幼児突然死症候群の危険因子として知っているものにマルを付けてください。(6.の設問で「知っている」と答えられた方235名対象、複数可)(図5)

	附属病院 (名)	センター (名)
うつぶせ寝	107	113
父親の喫煙	42	51
母親の喫煙	46	55
母乳で育てない	21	22

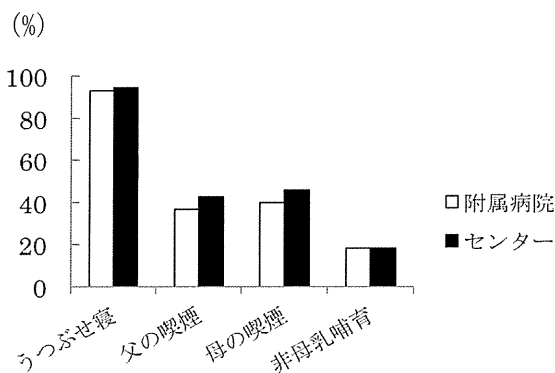


図5

情報源以外の結果は平成19年度と大きな差異を認めなかった。

【考察】

前回の調査は横浜市立大学附属病院のみで施行したアンケート結果であったので、今回は研究者が所属する2施設の比較を行った。対象とした横浜市立大学附属病院は横浜と横須賀の市境に位置し、横浜市立大学附属市民総合医療センターは横浜の中心地に位置する。背景となる患者層が異なる可能性があるが、SIDSを知っている割合、父と母の認知度の割合、情報源としているものの順位、SIDSに関する詳細等アンケートのほぼ全ての質問に関して大きな差異は認められなかった。

今回施行したアンケート結果を平成19年

度に施行したものと比較すると、情報源以外の項目では大きな変化はなかった。情報源に関してはテレビが群を抜いて1位であることは前回と同様であったが平成19年度に2位であった新聞が減り、今回はインターネットが増加していた。時代による情報源の推移を参考にしながらの啓発活動が必要かもしれない。

今回は検討から除外したが、今回初めて両親学級に祖母の参加があった。女性の雇用が増えるにつれて、保育所とともに祖父母が子育てに参加する割合が増えてくる事が予想される。ご両親のみではなく、子育てに参加する祖父母への教育も考慮すべきであるかもしれない。

【参考文献】

- 1) 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）の診断のためのガイドラインの作成およびその予防と発症率軽減に関する研究」平成14年度～16年度総合研究報告書. 2005年3月、23-26
- 2) 厚生労働省研究班編：乳幼児突然死症候群（SIDS）の発症と予防に対する普及啓発に関する研究. 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臨床対応と予防法の開発に関する研究」平成19年度総括・分担研究報告書. 2008年3月、84-87

平成25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」

分担研究報告書

乳幼児突発性危急事態（ALTE）を反復する症例の臨床像

研究分担者：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、前川貴信

（国立成育医療研究センター病院 総合診療部）

研究要旨

乳幼児突発性危急事態（apparent life threatening events; ALTE）の症状を反復する症例の臨床像を明らかにすることを目的に、2002 から 2011 年までの期間に ALTE の診断をされ、その後、症状を反復した患者に対して、診療録を用いた後方視的検討を行った。当該期間中に ALTE と診断された患者は 112 例で、そのうち入院後に症状を反復したのは 19 例（17%）であった。反復症例の 79%で入院後 5 日以内に症状の反復をみたが、一方で、26%の症例では 1 か月以上経過した遠隔期に症状を反復した。ALTE を反復した症例全例で、「顔面蒼白」が発症に気づかれた症状であった。また、反復例の約 40%で感冒症状を呈しており、さらに、約 30%が救急受診時に蘇生トリアージに分類されていた。

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 (NIH) により「児が死亡するのではないかと観察者に思わせるような無呼吸、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。また、本研究班では、ALTE を「呼吸の異常、皮膚色の変化、筋緊張の異常、意識状態の変化のうち 1 つ以上が突然発症し、児が死亡するのではないかと観察者に思わせるエピソードで、回復のための刺激の手段・強弱の有無、および原因の有無を問わない徴候とする」と定義している。本分担研究では、ALTE の臨床像を明らかにすることを目的に行っているが、今回は、その中の ALTE

を反復した症例の臨床像を解析した。

B. 研究方法

対象は、2002 年 3 月から 2011 年 12 月までに当院救急センターを受診した乳児（生後 12 か月未満）で、ALTE と診断（NIH 定義を使用）された症例のうち、当院入院後（これには、入院中と退院後を含む）に ALTE のエピソードを反復したものとした。方法は、診療録を用いた後方視的検討。反復症例と反復しなかった症例の臨床的特徴を比較した。

本研究においては、その結果から個人が特定されないように配慮した。

C. 研究結果

当該期間に ALTE と診断された患者数は

112 人であった。そのうち、19 人 (17%) が ALTE のエピソードを反復した。16 人は入院中に ALTE を反復したが、そのうち 15 人は退院後に症状の反復は認めなかった。一方、入院中には ALTE を呈しなかったものの、退院後に ALTE を反復した症例が 3 例あった。

反復例 19 例中、男児は 11 例、低出生体重児は 5 例、早産児は 2 例、発症時の月齢が 2 か月未満は 11 例、基礎疾患ありが 1 例、体重増加不良 1 例、母乳単独栄養は 5 例だった。反復例におけるこれらの頻度は、非反復例とは統計学的に有意差がなかった。

反復例での ALTE に気づかれた症状としては、顔面蒼白 (100%)、筋緊張低下 (63%)、呼吸障害 (47%)、全身チアノーゼ (42%) の順に多かった。「顔面蒼白」の反復例での頻度は、非反復例にくらべて有意に高かった (100% vs. 75%, $P < 0.05$)。また、救急センター受診時に感冒症状を呈していた患者の頻度は、反復例が非反復例に比べて高かった (42% vs. 14%, $p < 0.01$)。

救急センターで蘇生トリアージとして分類された患者の頻度は、反復例で非反復例よりも高かった (29% vs. 7%, $P < 0.05$)。

多変量解析では、発症時の症状としての顔面蒼白と救急センター受診時の蘇生トリアージが、ALTE 症状の反復を予測する因子として同定された。

反復例の退院時診断としては、気道感染が 5 例、胃食道逆流症が 3 例、無呼吸発作が 3 例、憤怒痙攣が 3 例、痙攣が 1 例だった。これらの診断の頻度は、非反復例のそれとは、有意差がなかった。

ALTE 症状の反復時期としては、全体の 79% で入院 5 日以内に症状を反復したが、一方で、26% の患者では 1 か月以上経過した遠隔期に症状の反復を見た。

当該期間に経験した ALTE の 112 症例中 1 例が死亡したが、この死亡例は、入院中

に ALTE 症状を反復した症例だった。

D. 考察

ALTE 症状を入院中、あるいは退院後に反復した症例は、全体の 17% だった。多くは入院後 5 日以内に症状を反復したものの、約 4 分の 1 の症例で 1 か月以降の遠隔期に症状を反復した。本研究の対象期間では 112 症例が ALTE と診断され、そのうち 1 例が追跡中に死亡したが、この 1 症例は反復症例群に含まれていた。

ALTE を反復した症例全例で、顔面蒼白を発症時に呈した。また、反復例の約 40% で、感冒症状を呈しており、また約 30% が救急センターの受診時に蘇生トリアージに分類されていた。

多変量解析では、発症時の顔面蒼白と救急センター受診時の蘇生トリアージが、その後の症状反復の予測因子として同定された。

ALTE についてのまとまった報告は、国内からはあまりなく、本研究は、本邦における ALTE の臨床的特徴を示すものとして注目される。また、症状を反復した ALTE 症例の臨床的特徴は、国内外でも明らかになっておらず、本研究によって、症状を反復する症例の特徴が明らかになった。ALTE の乳児例で、発症時に顔面蒼白の症状を呈する患者、また、救急センター受診時に蘇生トリアージと分類される患者では、その後症状を反復する可能性が高い。

E. 結論

ALTE 症例の約 20% で入院後に ALTE 症状を反復した。また、発症時の症状としての顔面蒼白と救急センター受診時の蘇生トリアージが、入院後に ALTE の症状を反復する予測因子として同定された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

平成25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」

分担研究報告書

乳幼児突然死症候群における病態解明に関する睡眠呼吸生理学的研究

研究分担者：加藤稲子（埼玉医科大学総合医療センター総合周産期母子医療センター）

高嶋幸男（国際医療福祉大学大学院医療福祉学研究所）

研究協力者：モハメド フセイン

（埼玉医科大学総合医療センター総合周産期母子医療センター）

乳幼児突然死症候群の病態について、病理組織学的所見から睡眠中の覚醒反応との関連が示唆されており、SIDS 症例における覚醒反応異常の原因として自律神経系調節の異常が考えられている。これまでに SIDS 発症例では睡眠中の覚醒反応の頻度が低く、特に皮質覚醒の頻度が低いことから、SIDS 症例においては覚醒反応の発達プロセスの異常が存在する可能性を示唆してきた。また SIDS 症例においては自律神経系調節の異常が報告されており、覚醒反応の発現異常の因子として注目されている。今回、心拍変動解析を用いて、SIDS 症例における覚醒反応異常と自律神経系調節異常の関連を検討し、自律神経系調節の異常から SIDS リスク因子と SIDS 発症予測について検討した。

A. 研究目的

乳幼児突然死症候群の病態としては、組織学的所見から脳幹部グリオーシスなどが報告されており、特に脳幹部の呼吸循環調節中枢における神経伝達物質に関与する神経細胞の未熟性、受容体およびトランスポーターの異常などを示唆する所見が認められている。これらの所見から、睡眠中の覚醒反応の発現が SIDS 発症に関与する可能性が示唆されている。

SIDS 症例における覚醒反応については、SIDS 発症前のポリグラフ検査から、REM 睡眠期の覚醒反応の発現頻度が低いこと、特に皮質での覚醒反応の頻度が低いこと、また皮質下覚醒は SIDS 症例で増加してい

ることを報告してきた（図1）。

今回、覚醒反応と心拍変動解析による自律神経系調節異常の相関関係を解析することにより、SIDS 発症リスクの予測として有用な指標となりうるかどうかを検討した。

B. 研究方法

ブリュッセル自由大学附属小児病院との共同研究にて、同病院にてポリグラフ検査を受けた乳児のポリグラフデータから、ポリグラフ検査数日～数週で SIDS を発症して死亡した児と検査後の生後1年まで健康に過ごした正常乳児のデータを抽出し、心拍変動解析を行った。周期性変動は高速フーリエ変換を用いて、非周期性変動は

Detrended Fluctuation Analysis を用いて、終夜ポリグラフデータから抽出した心拍数について検討した。SIDS 症例 15 例のデータと性別、在胎週数、検査時の月齢、普段の寝かせ方などを一致させて健康乳児のコントロール 15 例を抽出した。

また、SIDS 症例における心拍変動解析の結果をこれまでに解析した SIDS 症例での覚醒反応の頻度と比較検討を行った。

C. 研究結果

SIDS 症例 15 例とコントロール 15 例は、それぞれ男児 5 例、女児 10 例であった。通常の寝かせ方はいずれのグループも仰向け 9 例、うつぶせ 6 例であった。全睡眠時間、動睡眠・静睡眠時間は両グループで有意差を認めなかった。(表 1)

心拍変動解析では、N-N 間隔(正常の R-R 間隔)の平均値(Mean NN)および N-N 間隔の標準偏差(SDNN)には有意差を認めなかった。1 心拍毎の N-N 間隔の差の自乗の平均値の平方根 (RMSSD) は SIDS 症例で有意に上昇していた。また、心拍数の非線形解析 (Detrended Fluctuation Analysis) では、短期的なゆらぎで自律神経系、呼吸の影響による心拍変動の特性を表すと言われている $DFA_{\alpha 1}$ が SIDS 症例で有意に低下していた。長期的なゆらぎで体液性調節、体温などのゆっくりした調節系による心拍変動の特性を表すと言われている $DFA_{\alpha 2}$ には有意差を認めなかった (表 2)。

これまでに SIDS 症例では REM 期の皮質覚醒の頻度が低く、皮質下覚醒の頻度が低かったことを報告してきた。今回の心拍変動解析の結果とこれまでの覚醒反応の頻度との相関関係を検討した。

SIDS 症例において、REM 期の覚醒反応と $DFA_{\alpha 1}$ 値に相関関係を認めた (表 3)。

D. 考察

心拍変動の非線形解析において、 $DFA_{\alpha 1}$ は自律神経系や呼吸の影響による心拍変動の特性を表しており、 $DFA_{\alpha 2}$ は体液性調節や体液移動、体温などのゆっくりした調節系の影響による心拍変動の特性を表していると考えられている。

SIDS 症例においては SIDS 発症以前のポリグラフデータの解析から、 $DFA_{\alpha 1}$ が有意に減少していた。 $DFA_{\alpha 1}$ の減少は成人における心筋梗塞後の予後指標あるいは心臓突然死の予測因子として注目されており、SIDS 発症の予測因子となる可能性が示唆される。

今回、覚醒反応の頻度と $DFA_{\alpha 1}$ に相関関係を認めたことから、 $DFA_{\alpha 1}$ の解析を行うことで、SIDS 発症リスク予測の可能性が示唆されたが、今後、皮質覚醒および皮質下覚醒との相関、各睡眠期での相関関係など、より詳細な検討が必要と思われた。

E. 結論

SIDS 症例において、発症以前のポリグラフデータから睡眠中の覚醒反応の頻度と心拍変動解析結果に相関を認めた。このことから、心拍変動解析により SIDS 発症リスク予測の可能性が示唆された。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 対象症例

Mean ± SD	SIDS victims	Controls	p	
Number of Infants	15	15		
Gender (F / M)	5 / 10	5 / 10		
Postnatal Age (wks)	11.8 ± 3.0	11.7 ± 3.1	NS	
Usual Sleep Position(S/P)	9 / 6	9 / 6		
Sleep Duration (min.)	Total Sleep	391.9 ± 49.4	417.2 ± 49.7	NS
	Active Sleep	223.2 ± 24.9	229.6 ± 50.9	NS
	Quiet Sleep	168.6 ± 39.5	186.9 ± 23.1	NS
Sleep Stage (%)	Active Sleep	57.3 ± 6.1	54.5 ± 7.3	NS
	Quiet Sleep	42.6 ± 6.1	45.2 ± 7.1	NS
Recording Time (min.)	515.4 ± 22.9	534.8 ± 15.1	0.027	
Sleep Efficiency (%)	76.0 ± 9.2	78.0 ± 9.5	NS	

図 1 SIDS 症例での覚醒反応頻度

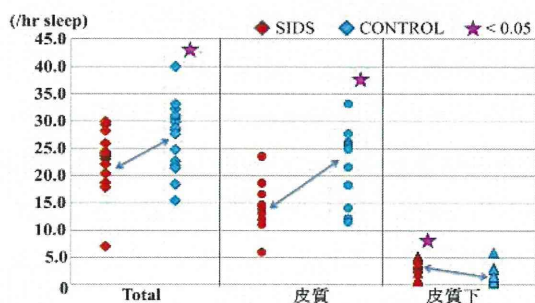


表 2 SIDS 症例における非線形解析

	SIDS	CONTROL	p
Mean NN (ms)	457.9±30.9	468.2±36.9	NS
SDNN (ms)	56.8±9.3	49.3±15.1	NS
RMSSD (ms)	43.1±9.7	22.7±7.2	<0.001
DFA:α1	0.7±0.1	1.1±0.1	<0.001
DFA:α2	1.0±0.1	1.0±0.1	NS
LF	5.7±0.6	5.6±0.7	NS
HF	5.0±0.5	4.6±0.8	NS

表 3 覚醒反応の頻度と DFA の相関

		Total arousal	Arousal REM	Arousal NREM
DFA α 1	相関係数	.444	.649**	.167
	有意確率	.097	.009	.552
DFA α 2	相関係数	.309	.239	.358
	有意確率	.097	.203	.052

平成25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」

分担研究報告書

遺伝的危険因子から考えた SIDS 発症機構の解明

分担研究者：三重大学大学院医学系研究科 教授 成田正明

研究協力者：三重大学大学院医学系研究科 講師 大河原剛

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。研究分担者の成田は 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事実に他ならない。すなわち SIDS 発症には上述のうつぶせ寝、父母の喫煙、非母乳保育など生後の危険因子が知られているが、胎生期に起因する危険因子も存在することになる。事実、妊娠中の父母の喫煙も危険因子の一つである。本研究では、胎生期に起因する因子として胎内感染に着目した。一昨年度は胎生期の poly I:C (polyriboinosinic:polyribocytidylic acid=合成二本鎖 RNA)投与によるウイルス感染モデルでセロトニン神経の分化発生異常を報告した。昨年度は胎内ウイルス感染モデルを用いて生後の脳内のセロトニン含量が poly I:C 投与日依存的に変動することを報告した。今年度は、セロトニン神経の分化成熟を妨げることが明らかとなった先天性ウイルス感染モデルにおいては、感染でセロトニンの分化誘導因子(SHH, FGF8, Pet-1, ほか)の発現への影響までは確認できなかったこと、及び先天性ウイルス感染は、生後の脳（線条体）ドーパミン濃度には影響を与えなかったことを明らかにした。

先天性ウイルス感染は、これまでの報告では SIDS 発症危険因子とはされていないが、妊娠中のウイルス感染が生後の脳セロトニン濃度まで変化させているということは、先天性ウイルス感染はセロトニンの正常な分化成熟に影響を与え、SIDS の危険因子となっている可能性がある。

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。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あり、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⁾。

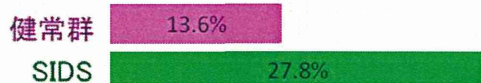


図1 SIDS 患者ではセロトニントランスポーターの遺伝子多型の特殊なアリル（長いアリル）を持つ頻度が有意に高かった⁶⁾

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⁾⁷⁾。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と関連することがわかっていた⁸⁾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⁹⁾10)）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。

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¹¹⁾。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 (polyriboinosinic:polyribocytidylic 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¹²⁾を用いた解析を行ってみた。

B. 研究方法

1) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた成体ラット脳のモノアミンとその代謝物の測定

胎内感染による生まれてきた児のセロトニン系とドーパミン系への影響を調べるために、妊娠 10 日目の Wistar 系ラットに、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、溶媒である PBS を同量、腹腔内に投与した Wistar 系ラットを用いた。生まれた雄の仔ラットが生後 50 日目になった時点で、海馬と線条体を取り出し、HPLC (エイコム HTEC-500) によりモノアミンとその代謝物含量の測定を行った。今回の実験では、両群ともに 2 匹の母親ラットを用いた。雌のラットのセロトニン含量は性周期により

増減することが知られているため、今回の実験では雄ラットのみを用いた。

2) 胎内感染がセロトニン神経細胞の分化・発達に与える影響の解析

昨年度ラット妊娠 9-10 日目に poly I: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、poly I: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とから、セロトニン神経細胞の分化・発達に関与する遺伝子の解析を定量的 PCR と whole mount *in situ* hybridization 法を用いて行った。実験に用いた胎仔は、妊娠 9 日目の Wistar ラットに、PBS に溶解した 10 mg/kg の poly I:C を腹腔内投与し、胎生 12 日目で帝王切開により取り出した。対照群は、溶媒である PBS を同量、腹腔内投与した。リアルタイム PCR は下記のように行った。胎生 12 日目の胎仔頭部から TRIzol Reagent を用いて、total RNA を回収し、cDNA の合成を行った。Applied Biosystems 社製 Step One Real-Time PCR Systems を使い、タカラバイオ社の SYBR Premix EX Taq II を使用したインターカレーター法により定量的 PCR を行った。PCR の反応条件は、反応液を 95°C 10 分で酵素の活性化を行った後に、95°C 15 秒の熱変性、60°C 60 秒のアニーリングと伸長反応を 40 サイクル行った。結果の解析は、比較 Ct 法を用いて行った。本研究で使用した primer の配列を表 1 に記す。whole mount *in situ* hybridization に関しては、胎生 12 日目の胎仔を 4% パラフォルムアルデヒド (PFA) で固定し、10 µg/ml Proteinase K で 37°C, 30 分間処理した。プレハイブリダイゼーションを行った後、

Digoxigenin でラベルした *shh* または *Fgf8* プローブを加え 70°C で一晩インキュベートした。翌日、洗浄を行った後、Anti-Digoxigenin-AP Fab fragments と反応させ、4-nitroblue tetrazolium chloride (NBT) 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate (BCIP) を用いて発色を行った。今回の実験に用いたプローブの部位は下記の通りである。ラット *Shh* (2052-3331; GenBank accession no. AF030355) ラット *Fgf8* (34-560; GenBank accession no. AB079113)。

C. 研究結果

1) HPLC を用いた成体ラット脳のモノアミンとその代謝物の測定

胎内感染による児のセロトニン系とドーパミン系への影響を調べるために、妊娠 10 日目の Wistar 系ラットに、10 mg/kg の poly I:C を腹腔内投与し、生まれた雄の仔ラットが生後 50 日目になった時点で、海馬と線条体のモノアミン量を HPLC により測定した。その結果、対照群の海馬 1 グラム当たりのセロトニン含量が 196.6 ± 40.2 ng であったのに対して、poly I:C 投与群では 109.3 ± 51.7 ng と統計的に有意な ($p < 0.01$) セロトニン含量の減少が観察された (表 2)。しかし、海馬におけるセロトニンの代謝産物である 5-HIAA 含量には両群間で差が見られなかった (表 2)。一方、ドーパミンやその代謝産物である DOPAC, HVA は海馬では検出できなかった (表 2)。同様に線条体におけるセロトニン、ドーパミン、それらの代謝産物の測定を行ったところ、両群間で違いが見られなかった (表 2)。

2) 胎内感染がセロトニン神経細胞の分

化・発達に必要な遺伝子発現に与える影響 (定量的 PCR を用いた解析)

昨年度ラット妊娠 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とから、セロトニン神経細胞の分化・発達に必要な遺伝子の発現量を定量的 PCR で測定した。その結果、今回調べた 4 つの遺伝子 (*shh*, *Fgf8*, *Gata2*, *Pet-1*) の発現量は両群間で差が見られなかった (図 1A)。

3) 胎内感染がセロトニン神経細胞の分化・発達に必要な遺伝子発現に与える影響 (whole mount *in situ* hybridization を用いた解析)

polyI:C の投与、即ち妊娠中のウイルス感染によりセロトニン神経細胞の分化に必要な遺伝子の発現パターンに違いが見られるのか調べる為に、胎生 12 日目の polyI:C 投与群とコントロール群の胎仔を用いて whole mount *in situ* hybridization を行った。その結果、両群間で *shh*, *Fgf8* の局在に違いが見られなかった (図 1B)。

D. 考察

私たちは SIDS の遺伝的因子を報告してきた¹²⁾。胎生期のセロトニン神経への影響を調べるため、昨年度までに私たちは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 polyriboinosinic:polyribocytidylic 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。昨年度ラット妊娠 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「増加」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。

本年度、私たちは胎生期のウイルス感染モデルにおいて、生後 50 日の脳セロトニン含量が変動することを見出した。このことは胎生期のウイルス感染が、昨年度認めた胎内での影響だけでなく、生後の脳セロトニン活性にまで影響を及ぼし続けることを示しており、このことは SIDS 発症にセロトニンが関与していることを考え合わせると胎内感染もまた SIDS の発症危険因子となる可能性を示唆している。さらに生後の脳セロトニン値の変動は poly I:C 投与時期、即ち妊娠中のウイルス感染時期に依存して変化する（減少する）ことを見出した。このことは胎内感染がセロトニン神経の成熟に与える影響を調べる上でたいへん参考となる因子である。また E19 や生後 (P10) の poly I:C 投与では P50 での脳セロトニン濃度に影響を与えてはいなかった。P5 投与

では若干の影響はあるものの、妊娠後期や生後では合い今日は少ないと思われるが今後さらに追加の解析が必要である。

実は予備実験で私たちは、polyI:C 投与群、即ち胎内感染モデル群で、polyI:C 投与、即ち感染 4 時間後で胎仔頭部のサイトカイン (IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IFN- γ) が上昇することを定量的 PCR で見出している。このことはヒト SIDS 児ではセロトニン活性の低下に加え、髄液中のサイトカイン上昇の報告¹³⁾があることも考え合わせると興味深い。

胎内感染、あるいは妊婦へのワクチン接種は現状では SIDS 発症危険因子とは規定されていないが、今後その可能性についても検討したい。

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。

以上のように SIDS 発症には、うつぶせ寝、暖め過ぎなど生後の因子だけでなく、遺伝的因子も存在する。今回の私たちの結果は、SIDS 予防のためには胎生期の因子にも目を向ける必要があることを示している。

E. 結論

SIDS 発症には遺伝的危険因子など、胎生期の因子も関与する。胎内感染モデルを用いた解析では、胎生期のウイルス感染で、胎生期のセロトニン初期発生の異常のほか、生後の脳セロトニン値も影響を受ける。

参考文献

- 1)厚生統計協会編：国民衛生の動向（厚生
の指標 増刊）vol57(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) 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

8) Klaus-Peter Lesch, Dietmar Bengel,
Armin Heils, Sue Z. Sabol, Benjamin D.
Greenberg, Susanne Petri, Jonathan
Benjamin, Cremens R. Muller, Dean H
Mammer, Dennis L. Murphy. Association
of anxiety-related traits with a
polymorphism in the serotonin
transporter gene regulatory region.
Science 1996; 274(5292): 1527-1531.

9) 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.

10) 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

11) 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

12) Misako Matsumoto, Tsukasa Seya. TLR3: Interferon induction by double-stranded RNA including poly (I:C) Advanced Drug Delivery Reviews 60; 805-812; 2008

13) MMT Vennemann, B Fracasso, T Fracasso, et al., Cytokines and sudden infant death International Journal of Legal Medicine 126(2); 279-284; 2012

F. 研究発表

第 40 回日本小児神経学会東海地方会 特別講演 基礎研究から見た小児神経疾患の病態—臨床への応用を目指して
平成 26 年 1 月 25 日名古屋

第 20 回日本 SIDS・乳幼児突然死予防学会 教育講演 「セロトニンと SIDS」 平成 26 年 3 月 7, 8 日大宮 (予定)