

表 1 本研究に用いたプライマー配列

遺伝子		配列
<i>Shh</i>	Forward	5'-AGCTTCGAGTGAAGTGGGGC-3'
	Reverse	5'-GTCCCTGTCAGACGTGGTGA-3'
<i>FGF8</i>	Forward	5'-CGCAAAGCTCATTGTGGTGA-3'
	Reverse	5'-ACACGCAGTCCTGCCTTTG-3'
<i>GATA2</i>	Forward	5'-AGCCTTGTGCCGCCATTAC-3'
	Reverse	5'-ACCTGTCCATTTTGCTCTCCA-3'
<i>Pet1</i>	Forward	5'-TCCCACGACCTACTCAAAC-3'
	Reverse	5'-AGGGATGGACAACAGCAGAG-3'
<i>GAPDH</i>	Forward	5'-CAAGTTCAACGGCACAGTCAAG-3'
	Reverse	5'-ACATACTCAGCACCAGCATCAC-3'

表 2 poly I:C 投与群とコントロール群の生後 50 日目におけるモノアミン含量

モノアミン含量 (ng/g weight)	群	海馬	線条体
5-HT	control	196.6±40.2	133.8±34.9
	poly I:C	109.3±51.7*	139.7±47.6
5-HIAA	control	307.2±24.5	273.0±46.1
	poly I:C	314.8±39.6	241.6±77.9
DA	control	N.D.	1295.3±391.3
	poly I:C	N.D.	1147.1±596.2
DOPAC	control	N.D.	802.8±88.9
	poly I:C	N.D.	855.4±142.8
HVA	control	N.D.	345.4±49.3
	poly I:C	N.D.	338.6±58.1

妊娠 10 日目のラットに 10 mg/kg の poly I:C を投与し、生後 50 日目に HPLC により海馬と線条体のモノアミンとその代謝産物の量を測定した。

N.D.: 検出限界以下。\* $p < 0.01$ 。

A

gene	control	poly I:C
<i>Shh</i>	1.00±0.03	0.94±0.08
<i>Fgf8</i>	1.00±0.03	1.03±0.11
<i>Gata2</i>	1.00±0.12	1.00±0.11
<i>Pet-1</i>	1.00±0.03	1.01±0.29

B

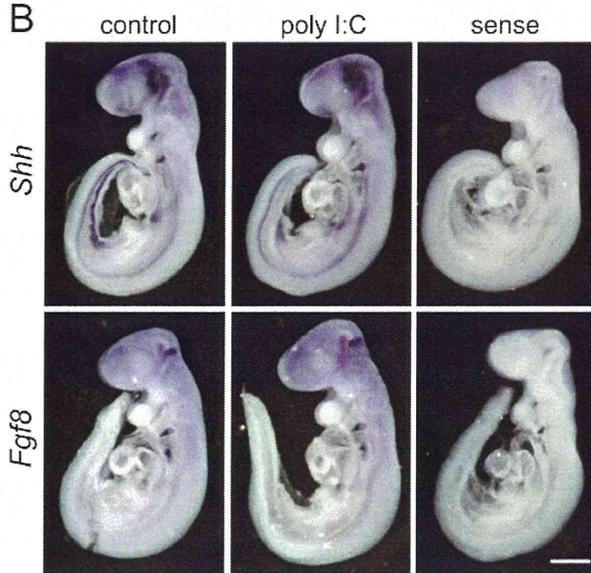


Fig. 2

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・乳幼児突発性危急事態における代謝病態に関する研究

研究分担者：山口清次（島根大学医学部教授）

研究要旨

乳幼児突然死症候群（SIDS）または乳幼児突発性危急事態（ALTE）様症状で発症した先天代謝異常症の臨床症状と生化学的特徴を検討した。対象は、2004年6月～2013年12月の間、島根大学に代謝解析を依頼された SIDS 167例、ALTE 196例であった。そのうち先天代謝異常と診断した症例は SIDS で3例（CPT2欠損症2例、MCAD 欠損症1例）、ALTE で8例（メチルマロン酸血症4例、尿素サイクル異常症2例、TFP 欠損症1例、グルタル酸血症2型1例）あった。

先天代謝異常症以外に、児童虐待の疑われる症例に遭遇した。GC/MS による有機酸分析で、大量の馬尿酸が検出された症例について病歴を検討したところ、トルエン中毒、並びに虐待が疑われた。

SIDS、または ALTE 症例に遭遇した時、有機酸分析、アシルカルニチン分析等を行う意義は大きい。すぐに検査できなくても血液と尿検体を保存しておくなど代謝スクリーニングへの配慮が必要である。

研究協力者

高橋知男（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）  
長谷川有紀（島根大学小児科）

A. 研究目的

先天代謝異常症の一部には、普段と変わらない生活をしていながら、何らかのストレスが加わった時、SIDS または ALTE 様の発症形態をとる疾患がある。代表的な疾患として糖原病や有機酸・脂肪酸代謝異常などがあり、その機序は低血糖や急性代謝不全による異常代謝産物の急性毒性と考えられている。これらは発症前に診断できれば、予防できる疾患が少なくない。島根大学小児科では GC/MS とタンデムマス分析による有機酸・脂肪酸代謝の診断を行っている。SIDS、ALTE 様症状を主訴に全国か

ら有機酸・脂肪酸分析を依頼された症例をまとめる。

また先天代謝異常症の他にも、GC/MS による異常代謝産物の分析から、有機溶剤への暴露も推測できる可能性がある。有機溶剤中毒の重症例は意識障害など ALTE と似た症状で発症する。今回、意識障害やアシドーシスからトルエン中毒と診断し、児童虐待が疑われた症例に遭遇したので併せて提示する。

B. 研究方法

2004年6月～2013年12月に島根大学医学部小児科で GC/MS による尿中有機酸分析、またはタンデムマスによるアシルカルニチン分析を依頼された以下の患者を対象として検討した。

- ①日齢 7～3 歳未満の患児。
- ②受診機関において SIDS、ALTE と診断、

または病歴から疑われた症例。

これに該当する症例をピックアップし、そのうち有機酸・脂肪酸代謝異常症と診断した症例の現病歴、既往歴、家族歴、一般検査所見について後方視的に検討した。

### C. 研究結果

1) SIDS または ALTE 症例から発見される代謝異常症

該当する患者は 363 症例であった。内訳は、SIDS は 167 例、ALTE は 196 例あり、その中で先天代謝異常と診断した症例は SIDS で 3 例 (CPT2 欠損症 2 例、MCAD 欠損症 1 例)、ALTE で 8 例 (メチルマロン酸血症 4 例、尿素サイクル異常症 2 例、TFP 欠損症 1 例、グルタル酸血症 2 型 1 例) あった (表 1)。

表 1. 確定診断した症例

症例	年齢	性別	臨床診断	診断方法		最終診断名
				GC/MS	MS/MS	
1	7日	女	ALTE	○	○	MMA
2	8日	女	ALTE	○	○	OTC欠損症
3	8日	女	ALTE	○	○	シトルリン血症
4	1ヶ月	男	ALTE	○	○	TFP欠損症
5	4ヶ月	女	ALTE	○	○	グルタル酸尿症2型
6	8ヶ月	男	ALTE	○	○	MMA
7	9ヶ月	男	SIDS	○	○	CPT2欠損症
8	1歳0ヶ月	女	SIDS	○	○	CPT2欠損症
9	1歳8ヶ月	女	ALTE	○	○	MMA
10	1歳8ヶ月	男	SIDS	○	○	MCAD欠損症
11	1歳10ヶ月	男	ALTE	○	○	MMA

MMA, メチルマロン酸血症; OTC, オルニチントランスカルバミラーゼ; TFP, 三頭酵素; CPT, カルニチンパルニトイル基転移酵素; MCAD, 中鎖アシル-CoA 脱水素酵素欠損症

2) 最近遭遇した症例

症例 1 (CPT2 欠損症)

9ヶ月男児。健診で肥満を指摘されていた(4ヶ月 11kg、9ヶ月 12kg)。発熱が夜から出現し、翌日にインフルエンザ A と診断されタミフルを開始した。18時から浅呼吸、CPA となり、蘇生を試みるも 19時 50分に死亡した。血液検査で肝機能異常、高 CK 血症、低血糖があり、また GC/MS で非ケトン性ジカルボン酸の増加、MS/MS で C16、C18:1 などの長鎖アシルニチンの上昇を認めた。遺伝子検査で 520G>A(E174K) homo があり、CPT2 欠損症と診断した。

症例 2 (児童虐待の疑われた症例)

9ヶ月男児。妊娠分娩歴に異常なし。発育発達歴に特記事項無し。入院当日 21時まで元気だった。23時過ぎ、呼吸が荒く顔色不良、意識障害があり受診。血液検査で代謝性アシドーシス、高乳酸血症、肝機能障害、腎機能障害 (Crea 1.9) があつた。入院後 6時間で全身状態は安定した。尿中有機酸分析で、図 1 に示すように馬尿酸の著明な増加を認めた。父は塗装工であるが、病歴聴取によって家庭内 DV が判明し、児のトルエン中毒が疑われた。

### D. 考察と結論

1982年に SIDS やライ症候群に類似した症状で発症する、ミトコンドリア B 酸化異常症の

MCAD 欠損症が発見された。これを機に、SIDS の一部には先天代謝異常症特に脂肪酸代謝異常などが隠れていると考えられるようになった。1998年のBoleらの報告によると、「狭義のSIDS」と診断された症例の4.4%に脂肪酸代謝が含まれていた。また前駆症状として感染などのあったSIDS症例では20%に代謝異常症が発見された。我々の検討では、SIDSとALTEの症例全体のうち代謝異常が同定できたのは363例中11例(3.0%)であった。

有機溶剤は、油やロウ、樹脂、ゴム、塗料など水に溶けないものを溶かす有機化合物で、揮発しやすく工業的な用途に使われるものである。その中でもトルエンおよびキシレンは塗料や接着剤の溶剤として大量に使用されるが、一方でシンナ

ー中毒等の悪用例もある。急性中毒では頭痛やめまい、嘔気を起こし、重症例では意識障害や死に至る。尿中有機酸分析で、これらに暴露された患者を特定できる可能性も示された(図1)。このことはからもSIDS、ALTEに遭遇した際に代謝スクリーニングを行うことの有用性を示す。

今年度発見されたCPT2欠損症は、食事間隔などの生活指導や、カルニチン投与などによって、突然死等の発症の予防できることが少なくない。タンデムマス法による新生児マススクリーニングが平成26年度から全国で実施されるようになり、SIDS様症状で発症する先天代謝異常の早期発見、発症予防が期待されている。

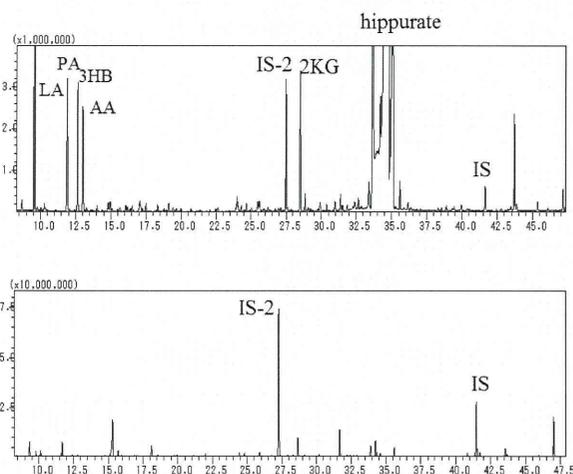
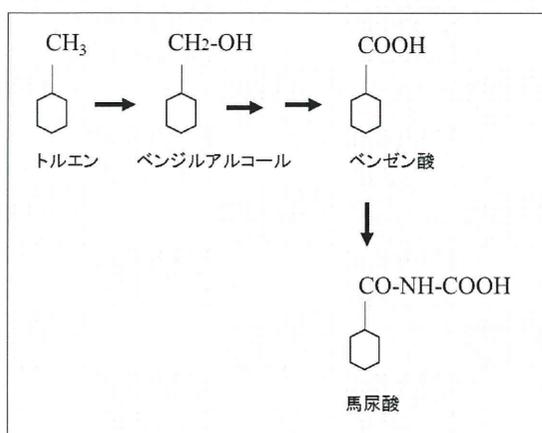


図1. トルエンの代謝産物である馬尿酸と、GC/MSによる馬尿酸の検出

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ihara K, Yoshino M, Hoshina T, Harada N, Kojima-Ishii K, Makimura M, Hasegawa Y, Watanabe Y, Yamaguchi S, Hara T: Coagulopathy in patients with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency in remission state: A previously unrecognized complication. *Pediatrics* 131(1): e327-30, 2013 (January)
- 2) Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamada K, Takahashi T, Takayanagi M, Fukao T, Fukuda S, Yamaguchi S: Intracellular in vitro probe acylcarnitine assay for identifying deficiencies of carnitine transporter and carnitine palmitoyltransferase-1. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405(4): 1345-1351, 2013 (February)
- 3) Yamaguchi S, Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Taketani T, Fukuda S, Fukao T, Shigematsu Y: Expanded newborn mass screening with MS/MS and medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in Japan. *日本マス・スクリーニング学会誌* 23(3): 270-276, 2013 (12月)
- 4) 山口清次: MS 解析による代謝障害の診断. *分子消化器病* 10(1): 72-78, 2013 (1月)
- 5) 山口清次: 新生児スクリーニングの新時代 ; タンデムマス法の導入. *日本周産期・新生児医学会雑誌* 48(4): 827-829, 2013 (1月)
- 6) 山田健治, 長谷川有紀, 吉川陽子, 高橋知男, 小林弘典, 虫本雄一, Jamiyan Purevsuren, 山口清次: 成人後に診断された有機酸・脂肪

- 酸代謝異常症の臨床的検討. 臨床神経学 53(3): 191-195, 2013 (3月)
- 7) 山口清次: タンデムマスを用いた新生児マスキリーニングによる先天代謝異常症の早期診断. 小児科臨床 66(2): 193-198, 2013 (2月)
  - 8) 高橋知男, 山田健治, 虫本雄一, 小林弘典, 長谷川有紀, ジャミヤン・プレブスレン, 坂本修, 大浦敏博, 山口清次: 新生児マスキリーニングで発見された軽症型プロピオン酸血症: 有機酸とアシルカルニチンの推移. 日本マス・スキリーニング学会誌 23(1): 61-67, 2013
  - 9) 山口清次: タンデムマスと新生児マスキリーニング. 小児科診療 UP-to-DATE ラジオNIKKEI 放送内容集 1: 42-47, 2013 (5月)
  - 10) 山口清次: 小児科領域におけるタンデムマスとGC/MSの臨床応用: 最近の進歩. 臨床病理 61(9): 817-824, 2013 (9月)
2. 学会発表
- 1) Kobayashi H, Yamada K, Hasegawa Y, Takahashi T, Minohata T, Yamaguchi S: Rapid analysis of orotic acid in dried blood spots using liquid chromatography – tandem mass spectrometry (MS/MS). MSACL (Mass Spectrometry Applications to the Clinical Lab) 2013. San Diego, USA, February 2013
  - 2) Yamaguchi S: GC-MS for diagnosis of Organic Acidurias. International Conference on Inborn Errors of Metabolism 2013 講演. New Delhi, India, April 2013
  - 3) Yamaguchi S: Fatty acid oxidation defects. International Conference on Inborn Errors of Metabolism 2013 講演. New Delhi, India, April 2013
  - 4) Yamaguchi S, Purevsuren J, Hasegawa Y, Kobayashi H, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Fukao T, Shigematsu Y, Fukuda S: Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency and newborn screening in Japan. 2013 Joint Meeting of the Newborn Screening and Genetic Testing Symposium (NBS&GTS) and the International Society for Neonatal Screening (ISNS). Atlanta, USA, May 2013
  - 5) Yamaguchi S: Diagnosis and treatment of mitochondrial fatty acid oxidation defects. The Second Forum of International Translational Medicine of Clinical Genetics in Beijing - Development and Application of Genetic Technology 講演. Beijing, China, August 2013
  - 6) Yamada K, Kobayashi H, Takahashi T, Hasegawa Y, Purevsuren J, Fukuda S, Ito M, Yamaguchi S: Responsiveness of bezafibrate for neonatal onset form of glutaric acidemia type II: comparison with milder form using in vitro probe assay. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
  - 7) Yamaguchi S, Yamada K, Kobayashi H, Takahashi T, Hasegawa Y, Purevsuren J, Ohkubo T, Watanabe M, Tsunemi T, Ishii A, Takuma H, Tamaoka A, Shigematsu Y, Fukuda S: Two Japanese cases of adult onset myopathic form of glutaric acidemia type II. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism. Barcelona, September 2013
  - 8) Yamaguchi S: A new treatment option for mitochondrial fatty acid oxidation defects: Bezafibrate, a PPAR agonist. 12th Asian Oceanian Congress on Child Neurology. Riyadh, Saudi Arabia, September 2013
  - 9) Yamada K, Kobayashi H, Takahashi T, Hasegawa Y, Yamaguchi S: Effect and toxicity of high-dose bezafibrate on mitochondrial fatty acid oxidation in cultured cells. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013
  - 10) Hasegawa Y, Kobayashi H, Yamada K, Takahashi T, Yamaguchi S: Selective screening for organic acidemias by urinary organic acids analysis using GC/MS in Asian countries. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Chiba, November 2013

- 11) Yamaguchi S: Screening, diagnosis, and treatment of organic and fatty acid disorders. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD), The 55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD) Educational lecture. Chiba, November 2013
- 12) 山田健治, 小林弘典, 高橋知男, 長谷川有紀, 中村信, 山口清次: シベレスタット (エラスポール®) 投与中のピバロイルカルニチン上昇の検討. 第 116 回日本小児科学会. 広島, 2013 年 4 月
- 13) 小林弘典, 箕畑俊和, 山田健治, 長谷川有紀, 高橋知男, 三淵浩, 中村公俊, 遠藤文夫, 山口清次: タンデムマス法によるオルニチントランスカルバミラーゼ (OTC) 欠損症スクリーニングの可能性に関する検討. 第 40 回日本マス・スクリーニング学会. 大阪, 2013 年 8 月
- 14) 桑原優, 岡本典子, 城賀本敏弘, 元木崇裕, 寺岡いづみ, 中野威史, 林正俊, 小林弘典, 山口清次: 突然死したカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ (CPT2) 欠損症の 9 カ月男児例. 第 40 回日本マス・スクリーニング学会. 大阪, 2013 年 8 月
- 15) 高橋知男, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: SIDS, ALTE 様症状で発症し先天代謝異常症と判明した 10 例の検討. 第 40 回日本マス・スクリーニング学会. 大阪, 2013 年 8 月
- 16) 小林弘典, 箕畑俊和, 山田健治, 高橋知男, 長谷川有紀, 山口清次: ろ紙血を用いた普及型 LC/MS/MS による副腎ステロイド分析の検討. 第 38 回日本医用マススペクトル学会年会. 神戸, 2013 年 9 月
- 17) 高橋知男, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: サリチル酸の  $\beta$  酸化に及ぼす影響: in vitro probe assay による評価. 第 38 回日本医用マススペクトル学会年会. 神戸, 2013 年 9 月
- 18) 高橋知男, 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 山口清次: SIDS, ALTE 様症状で発症し先天代謝異常症と判明した 10 例の検討. 第 65 回中国四国小児科学会. 米子, 2013 年 11 月
- 19) 山田健治, 小林弘典, 高橋知男, 長谷川有紀, 山口清次: グルタル酸血症 2 型の 2 例に対するベザフィブラートの治療経験. 第 27 回日本小児脂質研究会. 福井, 2013 年 11 月
- 20) 山田健治, 小林弘典, 長谷川有紀, 中村信, 立石浩, 山口清次: 新生児タンデムマス・スクリーニングでイソ吉草酸血症の診断マーカーが偽陽性を示した 2 例: シベレスタット投与例と母体への抗菌薬投与例. 第 58 回日本未熟児新生児学会. 金沢, 2013 年 11,12 月

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

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

小児突然死の病理診断(先天性代謝異常、特にミトコンドリア病についての検討)

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：

まず、当科の肝臓バイオプシーなどの診断結果から、明らかなミトコンドリア病において、詳細に肝臓の脂肪変性を検討した。次いで、当科でこれまで検索した突然死症例を同様に検討した。SIDSは34例、SUDは35例であった。これらの中で、肝臓に脂肪変性ありとされていた症例でかつ、肝臓の新たな染色が出来るようにパラフィンブロックが保存されていた例は10例であった。これらの例につき、細胞内脂肪膜の adipophilin に対する免疫染色を行った。結果は4例にミトコンドリア病に類似する微小な脂肪変性所見を認めた。

研究協力者

小西暁子、木本哲人（大阪府立母子保健総合医療センター検査科）

の免疫染色を行い、以前に原因不明の突然死とされていた剖検例の再検討を行った。今回の研究は今後の剖検診断の精度向上に必要であり、また過去の症例検索においても診断の再評価に役立つと考える。

A. 研究目的

乳幼児突然死の原因として代謝異常症によるものが10-15%程度存在すると言われている。近年、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で脂肪酸や有機酸代謝異常症に関しては診断可能となってきた。しかし、ミトコンドリア異常症に関しては、血液濾紙などによるスクリーニングはなされておらず、死亡症例においても通常の病理解剖では診断が困難である。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。

今回、剖検症例において、肝臓の脂肪膜

B. 研究方法

大阪府立母子保健総合医療センター（以下当センター）の病理検査室では、1981年の開所以来病理検体がすべてコンピュータ登録されている。その中で、今回、肝生検および剖検例の中でミトコンドリア病と確定診断されていた症例を再検索した。ミトコンドリア病確定例は7例であった。保存されていたブロックより、アディポフィリンの免疫染色を行い、ミトコンドリア病における肝細胞の脂肪沈着の形状・程度を検討した。抗体は、プロゲン社の抗ヒト相同マウスアディポイリンモノクローナ

ル抗体(Clone125, Progen biotechnik)を利用した。

次いで、当センターの30年間における突然死剖検症例の解析を行った。当科でこれまで検索した突然死症例の内訳はSIDS34例、SUD35例であった。これらの中で、肝臓に脂肪変性ありとされていた症例で肝臓のアディポフィリン染色が出来るようにパラフィンブロックが保存されていた例は10例であった。

### C. 研究結果

ミトコンドリア病確定例は7例であった。7例の臨床歴、診断、肝生検組織のアディポフィリン染色の結果を表1に示す。肝生検（あるいは剖検）時の年齢は、3ヶ月から9歳であった。臨床徴候も、消化器症状、脳症、肝障害など多岐にわたる。診断は酵素診断を基本としたが、一部は臨床所見と検査所見のみの例も含めている。肝臓の病理所見では、肝硬変を2例に認めた。組織所見では、小脂肪滴が多数認められる例がほとんどであった。大脂肪滴が混在する例も見られたが、大脂肪滴が優位である症例は認めなかった。複数の生検を行っている例では、治療前は、小脂肪滴と大脂肪滴の混在であり（図1、2）、治療後では小脂肪滴優位の脂肪化が見られた（図3、4）。

突然死症例（SIDS34例、SUD35例）で、脂肪変性あり（詳細不明）とされていた症例の肝組織でアディポフィリン染色施行した10症例の結果を表2に示す。症例3、4、5、7では、小脂肪滴優位の顕著な脂肪化が認められた。突然死症例全体では年齢は、生後4日から12歳であるが、小脂肪滴優位の症例はいずれも、1歳未満であった。

診断は、4例中2例にSIDSと診断されていた。解剖所見では、4例とも心肥大が認められていた。

### D. 考察

肝臓は脂肪代謝の中心臓器で、正常でも、2.4-8.2g/100g湿重量の死亡成分を含む。肝臓の脂肪成分の増加は、①脂肪組織からの脂肪酸の動員増加、②肝細胞内での脂肪合成の増加、③脂肪の酸化の低下、④肝細胞からの脂肪放出低下などにより起こる。肝組織における脂肪肝の病理所見として、脂肪が細胞質の大部分を占め、核の偏在が認められるものを大滴性脂肪肝（macrovesicular steatosis）といい、微細な脂肪滴が膜周囲から細胞全体にびまん性に認められるものを小滴性脂肪肝（microvesicular steatosis）と呼ぶ。前者は、慢性鬱血、低酸素血症、アルコール性、非アルコール性など多くの脂肪肝で見られる。後者は、代謝性疾患とくにReye症候群や脂肪酸代謝異常症に特徴的な脂肪肝とされている。脂肪酸代謝異常症では、脂肪酸酸化異常症や今回検討したミトコンドリア病も小滴性の脂肪肝であるとされている。脂肪化の組織像については、一般的には、H.E.染色に加えて、Sudan IIIやOil-Red O染色などが用いられる。H.E.染色では、空泡変性やグリコーゲンなどの鑑別がつかないことも多く、確定診断とは言えない。Sudan IIIやOil-Red O染色はフォルマリン固定後に凍結標本を作成して染色を行うもので、パラフィン包埋後の標本では染色できない。作成された標本でも脂肪かどうかの確定はできるが、細胞内の分布状態の観察には適していない。今回採

用したアディポフィリンは、細胞内の脂肪滴を形成する膜に発現する抗原に対応するもので、しかもパラフィン切片での免疫染色が可能な抗体である。今回は、当センターに保管されていたパラフィンブロックからの再検討を行った。Sudan IIIやOil-Red O染色は適応できなかった。H.E.染色では、大脂肪滴はともかく、小脂肪滴では診断困難例が大多数であった。これに対して、アディポフィリン染色では、小脂肪滴の肝細胞内での分布状態などの分析にも十分に対応可能であった。

今回、肝生検と剖検肝において、ミトコンドリア病の肝組織を中心に再検索した。ほとんど小脂肪滴優位の脂肪肝であった。大脂肪滴を合併している例も見られ、症状が進行すれば、大脂肪滴に移行する可能性も考えられる。複数の肝生検を施行された症例で、治療後に、H.E.染色ではほとんど脂肪化が認めがたい例においてもアディポフィリン染色において、明瞭に観察された。ミトコンドリア病以外の肝病変では、鬱血性の脂肪化、非アルコール性肝炎(NASH)、ウイルソン病等では中脂肪滴から大脂肪滴であり鑑別が可能と考える。脂肪酸酸化異常症やその他の肝病変など、更に多くの例での小脂肪化組織の検討が必要である。

突然死症例(SIDS34例、SUD35例)で、脂肪変性あり(詳細不明)とされていた症例の肝組織でアディポフィリン染色を施行した。10症例のうち4例に小脂肪滴優位の顕著な脂肪化が認められた。今回は、以前に脂肪変性が疑われていた例からの検討であったため、高頻度に代謝異常症が疑われる肝臓の小滴性脂肪肝を見出した

が、前述したミトコンドリア病などにおけるH.E.標本とアディポフィリン染色との相違を考慮すると脂肪変性が診断されなかった突然死症例にも小滴性脂肪肝が発見される可能性もある。肝臓に小脂肪滴が存在し、SIDSと鑑別が困難な疾患として、ミトコンドリア病のほかに、脂肪酸酸化異常症がある。中でも、中鎖アシルCoAデヒドロゲナーゼ欠損症(MCAD)とカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼII欠損症(CPT II)が有力である。ミトコンドリア病は、従来強調されている筋肉症状が前景に立つ比較的軽傷例は年長児発症例に多いが、乳児期発症例は症状が多彩で、重篤症例が多く、脳筋症状に加えて、消化器・肝症状や心筋症状が特徴とされる。ミトコンドリア呼吸鎖異常症(MRCD)と称される。突然死の中にも含まれていると思われるが、診断の困難性もあり、詳細な解析は行われていない。一方、脂肪酸酸化異常症は、近年、出生時のマス・スクリーニングの対称疾患に指定され、今後は早期発見・治療が可能となることが期待される。剖検例からの今回の検索では、これらを鑑別することはできないが、代謝疾患による突然死であった可能性は極めて高い。中でもミトコンドリア病は出生5000人に1人と言われ、他の疾患よりも頻度が高く、また、剖検でも、心肥大の合併が診断されており、可能性が強いと考える。診断は、4例中2例にSIDSと診断されていた。今後は、突然死の診断に際して、肝臓のアディポフィリン染色を活用し、疑わしい例に関しては確定診断を行うという方針が重要と考えられる。

## E. 参考文献

Heid HW, Moll R, Schwetlick I et al  
Adipophilin is a specific marker of lipid  
accumulation in diverse cell types and diseases.  
Cell Tissue Res 1998;294:309-321

五十嵐隆、高柳正樹編 見逃せない先天代謝異常症 中山書店、東京、2010

Skladal D et al Minimum birth prevalence of  
mitochondrial respiratory chain disorders in  
children. Brain 2003;126:1905-12

## F. 結論

突然死剖検症例において、肝臓の脂肪膜の免疫染色を行い、剖検例の再検討を行った。SIDS と診断されていた症例の中でも代謝異常症の可能性が強く示唆される症例があった。今回の研究は今後の剖検診断の精度向上に必要であり、また過去の症例検索においても診断の再評価に役立つと考える。

## G. 健康危険情報

特記すべきものなし。

## H. 研究発表

### 1) 論文発表・著書

1. Shigeta N, Ozaki K, Hori K, Ito K, Nakayama M, Nakahira K, Yanagihara I. An *Arthrobacter* spp. Bacteremia Leading to Fetal Death and Maternal Disseminated Intravascular Coagulation. Fetal and Pediatric Pathology. 2013 ; 32 : 25~31
2. Kakigano A, Mimura K, Tanagawa T, Nakayama M, Kanayama T, Fujita S, Kinugasa-Tanigucji Y, Endo M,

Tomimatsu M, Kimura T. Imbalance of angiogenic factors and avascular edematous cystic villi in a trisomy 13 pregnancy: A case report. Placenta. 2013

3. Kubota A, Mochizuki N, Shiraishi J, Nakayama M, Kawahara H, Yoneda A, Tazuke Y, Goda T, Nakahata K, Sano H, Hirano S, Kitajima H. Parenteral-nutrition-associated liver disease after intestinal perforation in extremely low-birthweight infants: Consequent lethal portal hypertension. Pediatrics International. 2013 ; 55 : 39~43
4. Yoshida M, Matsuoka K, Nakazawa A, Yoshida M, Inoue T, Kishimoto H, Nakayama M, Takaba E, Hamazaki M, Yokoyama S, Horie H, Tanaka M, Gomi K, Ohama Y, Kigasawa H, Kitano Y, Uchida H, Kanamori Y, Iwanaka T, Tanaka Y. Sacrococcygeal yolk sac tumor developing after teratoma: A clinicopathological study of pediatric sacrococcygeal germ cell tumors and a proposal of the pathogenesis of sacrococcygeal yolk sac tumors. Journal of Pediatric Surgery. 2013 ; 48 : 776~781
5. Umeda S, Kawahara H, Yoneda A, Tazuke Y, Tani G, Ishii T, Goda T, Hirano K, Ikeda K, Ida S, Nakayama M, Kubota A, Fukuzawa M. Impact of cow's milk allergy on enterocolitis associated with Hirschsprung's disease. Pediatr Surg Int 2013;29:1159~1163
6. Saka R, Okuyama H, Uchida K,

- Nakahira K、Sasaki T、Nose S、Nakayama M、Fukuzawa M、Yanagihara I. The expression of surfactant proteins A and D in the intestines and pancreas of murine fetuses. Open Journal of pediatrics 2014
7. 中山雅弘、竹島清美、入江明美、桑江優子、松岡圭子、米田光宏、井上雅美、河敬世. 大阪府における1歳半神経芽腫スクリーニング —6ヶ月マスから1歳半マスへの経緯と発見症例について—. 大阪府立母子保健総合医療センター雑誌. 2013 ; 28
  8. 中山雅弘. 病理学的視点からみた糖尿病母体の胎盤・児に与える影響. 「妊娠と糖尿病」母児管理のエッセンス. 株式会社金芳堂. 2013 53~59
  9. 中山雅弘. 女性生殖器(胎盤). 器官病理学 改訂14版. 南山堂. 700~709
  10. 中山雅弘. 小児期の臓器重量および心臓の計測値について. 子ども計測ハンドブック. 朝倉書房. 173~181
- 2) 学会発表
1. 大塚泰史、佐々木健介、城崎幸介、東本健、岡本伸彦、窪田昭男、中山雅弘、吉浦孝一郎、福島英伸. シスチン尿症を伴うゲノムワイド父性片親性ダイソミー症例の遺伝子解析. 第48回日本小児腎臓病学会. 2013.6.18~29 徳島 一般演題
  2. 玉井圭、西原正泰、平田克弥、白石淳、平野慎也、中山雅弘、藤村正哲、北島博之. 学齢期検診における超低出生体重児の体力検査~呼吸機能検査との関連も踏まえて~. 第49回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会. 2013.7.14~16 横浜市 一般演題
  3. 文一恵、西原正泰、白石淳、平野慎也、中山雅弘、藤村正哲、北島博之. 超低出生体重児の学齢期における腎機能と周産期因子について. 第49回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会. 2013.7.14~16 横浜市 一般演題
  4. 竹内真、中山雅弘、石井桂介、光田信明. 胎児死亡したダウン症候群・一過性骨髄異常増殖症の病理学的検討. 第49回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会. 2013.7.14~16 横浜市 一般演題
  5. 白石淳、北島博之、窪田昭男、中山雅弘. 組織所見に基づく超低出生体重児における消化管穿孔の再分類の試み. 第49回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会. 2013.7.14~16 横浜市 一般演題
  6. 平野勝久、窪田昭男、中山雅弘、川原央好、米田光宏、田附裕子、谷岳人、合田太郎. 新生児消化管疾患における静脈栄養に伴う肝障害に関する検討. 第49回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会. 2013.7.14~16 横浜市 一般演題
  7. 柿ヶ野藍子、味村和哉、金川武司、中山雅弘、金山智子、藤田聡子、谷口友基子、遠藤誠之、富松拓治、木村正. 母体血精中の angiogenic imbalance と胎盤の avascular edematous cystic villi を認めたトリソ

ミー13 合併妊娠. 第 49 回日本周産期・新生児医学会総会および学術集会. 2013.7.14～16 横浜市 ポスター

8. 副島英伸、東元健、八木ひとみ、青木早織、鮫島梓、斎藤滋、夫律子、中山雅弘、坂口勲、大場隆、片渕秀隆. 11p15 インプリントドメインのメチル化異常を認めた間葉性異形成胎盤の 1 例. 第 20 回出生前診断研究会 2013.9 鹿児島 一般演題

I. 知的財産権 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の病態解明のための組織バンク構築に関する倫理的研究**

分担研究者：平野慎也（大阪府立母子保健総合医療センター 新生児科）

研究要旨

乳幼児突然死症候群の病態解明のための組織バンク構築に関する倫理的研究を行うに当たり、乳幼児突然死症候群症例の組織検体の提供および研究の同意取得という点につき、1. 剖検の同意 2. 組織検体の保存・利用にあたっての“包括同意” 3. 試料の提供（組織バンクへの提供）の3点から検討整理してきた。同意説明文書に記載すべき内容を確認整理し、文書案を作成してきた。組織バンクについては大阪府監察医事務所において倫理審査委員会の設立等の体制整備に着手し、準備できた。米国 NICHD の Brain and Tissue Bank、フロリダ The SUID Tissue Project の関係者と tissue bank 設立に向けての情報交換をおこない、わが国での体制整備の参考とした。

A. 研究目的

乳幼児突然死症候群（SIDS）病態解明のための組織バンク構築に当たり、組織の提供と保存およびその利用（研究）にあたっては、まず SIDS の特殊性と個人情報の扱いについて十分に配慮されなければならない。同時に死因解明のための解剖検査、病態解明のための組織提供と保存および、研究への利用にあたっては倫理的妥当性の確保、任意性の担保、善意の尊重、匿名性の確保（個人情報の保護）、研究の透明性を保証しなければならない。

組織バンクは、提供組織の保存とその利用（研究）がその機能の主な部分であるが、まず倫理的な側面から、特に SIDS として死亡の診断がなされた乳幼児（代諾者）からの組織保護、提供、研究利用へのインフォームド・コンセントに関して、検討してきたことに基づき、文書案を作成してきた。また SIDS の現状を調査し、現実に即したものであるかどうかを検討する。

国内外を問わず既存の組織バンクについて情報を収集する。

B. 研究方法

わが国の既存の倫理指針等を参照し 1. 剖検の同意 2. 組織検体の保存・利用にあたっての“包括同意” 3. 試料の提供（組織バンクへの提供）の3点から、インフォームド・コンセントに関する部分を参照し、検討した。さらに関連の学会からの指針等をふまえて同意説明文書に記載すべき内容を確認し、組織バンクについては、東京都監察医務院を参考に大阪監察医事務所を含めて体制整備をおこなってきた。組織バンクの情報収集は電子メール等にて行った。

C. 研究結果

○インフォームド・コンセント

SIDS として死亡の診断がなされた乳幼児（代諾者）からの組織保護、提供、研究

利用へのインフォームド・コンセントに関しては、1. 診断のための解剖に関するもの2. SIDSの病態解明のための(試料提供および利用に関するもの(包括同意)の2つを含む必要がある。

○SIDS組織バンクの構築について

SIDS組織バンク構築の様式については、2つの場合が考えられる。

1. 試料を収集する機関を一カ所に設立し、その機関で管理する場合。

2. 既存の機関でそれぞれ保存・管理し、それらの機関をネットワーク化することにより中央部門(データセンター)でそのデータのみ(状況を)管理する場合。

どちらにしても、細部にわたってその組織の構成、(規定の作成)、倫理委員会の設置(規定)が必要である。

大阪府監察医事務所、大阪府立母子保健総合医療センター検査科、大阪大学大学院医学研究科法医学教室にてネットワーク型組織バンクのモデルとして、大阪府監察医事務所内の倫理委員会設立の必要性を踏まえ設置要項、運営要綱等を作成し具体的な取り組みも開始した。

○ SIDSの現状

大阪においては行政解剖の乳幼児例はほとんどないに等しい。SIDSが疑われる例でも乳児虐待ではないかと判断され、犯罪性を問われることが多く、乳幼児の場合は警察の判断にて行政解剖から司法解剖へと移行している。大阪府監察医事務所と連携しての組織バンクは、準備は整ったので機能させていくことが重要である。

○ 海外の組織バンク

米国 NICHD (国立小児保健研究機構) ; 1991年から The Eunice Kennedy

Shriver NICHD Brain and tissue bank (<http://medschool.umaruland.edu/BTBank/>)が University of Maryland school of medicine の下で設立されている。これは donation という形のバンクで “Tissue Donation Offers New Hope & Life to Future Generations” というフレーズとともにオープンにされている。

The SUID Tissue Project ;

米国フロリダにおけるプロジェクトで、SUID(Sudden Unexpected Infant Death)のケースでの研究を推進するために行われている。米国 SIDS institute とフロリダ州の Medical Examiner 事務所とが共同で行っている pilot study は、

- 研究のための組織の提供のための同意取得
- 通常の解剖検査に基づいた組織の採取
- NICHD 組織バンクでの組織の保存の3つの大きな部分で構成されている。

今回はこのプロジェクトに関わる担当者として電子メールでのやり取りを行い、情報を収集した。

このプロジェクトでは、

- SUIDのケースと同様に1歳未満の死亡症例の組織も対照のケースとして提供を受けている
- 組織は定められた方法で NICHD Brain and Tissue Bank に輸送し保存される。状況調査は解剖検査の結果もデータベース化される。
- 組織は以下の9種; 脳脊髄液、血液、肺、心臓、心室、腎臓、肝臓、胸腺、脳)
- Medical officer事務所を日常的に訪れ、ケースがあれば、研究用の組織

提供について家族に説明し、NICHD Bank が同意取得にうかがう

- ・ Medical examiner の検視ではすべての組織が提供されない場合もある。などであった。

#### ○ RRN

Research Resource Network

国立精神・神経医療研究センターが中心となった、ブレインバンクに準ずる組織で、神経・筋疾患政策医療ネットワーク産科病院が個々の施設に凍結保存していた剖検病理検体をデータベース登録したものである。

研究使用の同意書の標準化と改訂の継続、組織保存プロトコルの作成、疾患分類の作成、内部での病理診断コンサルテーション、などのシステム整備をかさね、参加各病院が共通の水準で脳検体を保存している。

#### C. 考察

乳幼児突然死症候群の解剖検査と試料保存とその利用に関する説明書を作成してきたが SIDS 組織バンクの規定（提供の手続き、方法、提供後の状態、情報の公開（結果の開示について）など、また研究利用の倫理審査をおこなうための委員会の設立も並行して行わなければならない。また SIDS 提供検体利用計画書、個人情報保護の規定、情報の公開（組織利用、研究等の同意説明に関するもの、ホームページの作成等）の方法等について細微にわたりさらに準備していく必要がある。大阪の現状では、乳幼児の死亡については警察の判断で行政解剖を回避し司法解剖へと移行することが多くなってきている。行政解剖の推進を提言するとともに、

各大学医学部の法医学教室間で行われている研究目的の検体の授受等のネットワークへの参加の働きかけが必要ではないかと思われる。組織バンクは、我が国においては、米国とは違った文化的な背景を考慮すると自発的な donation に基づく試料の、その収集、保管は難しいと考えられる。また法令等で規制する形での組織バンク設立の機は熟していない。やはり RNN のような各機関での検体を利用するネットワークの形の組織バンクが現実的化もしれない。

今回は米国 NICHD の The Eunice Kennedy Shriver NICHD Brain and tissue bank と関係のある、The SUID Tissue Project の関係者と情報交換することができた。1. 研究のための組織の提供のための同意取得 2. 通常の解剖検査に基づいた組織の採取 3. NICHD 組織バンクでの組織の保存の 3 つの大きな部分より成り立っていた。2. に関しては大阪においては警察の判断にて行政解剖から司法解剖へと移行している現状がある。組織バンクに提供してもらうというより、むしろ 1 歳未満の死亡症例、司法解剖例は大学の法医学教室がほとんどであろうが、そういったケースがあれば、こちらからご家族にアプローチし説明させていただくという積極的な姿勢も必要であるかもしれない。death scene investigation の一環である問診表、チェック票リストの利用など、SIDS/SUID 登録システムの構築も同時に考えていかななくてはならない。

#### E. 結論

乳児突然死症候群の病態解明のための組織バンク構築に関する倫理的研究を行

うに当たり、特に剖検組織検体の提供および研究の同意取得という点につき、既存の倫理指針等を参照し、1. 検体の保存、利用にあたっての“包括同意” 2. 他の機関等からの試料の提供（組織バンクへの提供） 3. 剖検の同意の3点から検討、説明・同意文書に記載すべき項目について整理し、同意説明文書（案）を作成してきた。

組織バンクを構築するにあたり、また研究利用の倫理審査をおこなうための委員会の設置と整備も不可欠であり、具体的には大阪府監察医事務所においてネットワーク型組織バンクのモデル構築に取り組み始めたが、大阪においては SIDS が疑われる例でも乳児虐待ではないかと判断され、犯罪性を問われることが多く、乳幼児の場合は警察の判断にて行政解剖から司法解剖へと移行しているため、大阪府監察医事務所と連携しての組織バンクはなかなか機能していかない現実がみられた。今後組織バンクとしてのあり方として、米国の物理的に一元化されたシステムも参考にしつつ、SIDS 登録システムとともに研究目的の検体の授受のネットワーク構築、参加も検討されるべきである。

#### F. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Yamada K, Takahashi T, Takayanagi M, Fukao T, Fukuda S, Yamaguchi S	Intracellular in vitro probe acylcarnitine assay for identifying deficiencies of carnitine transporter and carnitine palmitoyltransferase-1	Analytical and Bioanalytical Chemistry	405(4)	1345-1351	2013
Yamaguchi S, Purevsuren J, Kobayashi H, Hasegawa Y, Mushimoto Y, Yamada K, Takahashi T, Furui M, Taketani T, Fukuda S, Fukao T, Shigematsu Y	Expanded newborn mass screening with MS/MS and medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in Japan	日本マススク リーニング学 会誌	23(3)	270-276	2013
山口清次	MS 解析による代謝障害 の診断	分子消化器病	10(1)	72-78	2013
山口清次	新生児スクリーニングの 新時代；タンデムマス法 の導入	日本周産期・新 生児医学会雑 誌	48(4)	827-829	2013
山口清次	タンデムマスを用いた新 生児マススクリーニング による先天代謝異常症の 早期診断	小児科臨床	66(2)	193-198	2013
高橋知男, 山田健 治, 虫本雄一, 小 林弘典, 長谷川有 紀, ジャミヤン・プ レブスレン, 坂本 修, 大浦敏博, 山 口清次	新生児マススクリーニン グで発見された軽症型プ ロピオン酸血症：有機 酸とアシルカルニチンの 推移	日本マス・スク リーニング学 会誌	23(1)	61-67	2013
山口清次	タンデムマスと新生児マ ススクリーニング	小児科診療 UP-to-DATE ラジオ NIKKEI 放送 内容集	1	42-47	2013
山口清次	小児科領域におけるタン デムマスと GC/MS の臨 床応用：最近の進歩	臨床病理	61(9)	817-824	2013

#### IV. 研究成果の刊行物・別冊