

「乳幼児突然死症候群 (SIDS) および乳幼児突発性危急事態 (ALTE) の病態解明等と死亡数減少のための研究」

分担研究報告書

分担研究課題：乳幼児の突然死に対する網羅的遺伝子解析

研究分担者：山本琢磨（長崎大学大学院医歯薬総合研究科法医学分野）

研究要旨

これまでに代謝疾患の観点から乳幼児突然死を解析してきた。とくに遺伝子変異に着目し、近年は次世代シーケンサーを活用した網羅的一括遺伝子解析を行い、乳幼児突然死における遺伝子変異を報告してきた。一方、次世代シーケンサーによって、多くの症例に多数の遺伝子変異が検出され、単に「変異がある」ことが「死因」となりうるわけではないことも多々報告されている。今回、4 例の突然死およびその家系に対し、次世代シーケンサーを用い網羅的遺伝子解析を行った。1 例に過去に不整脈との関連の報告のあった変異が認められ、この変異はともに母由来であった。しかし母親の安静時心電図を施行したが正常であった。もう 1 例に不整脈と関連のある変異が認められたが、健康な両親由来であった。死後の解析を行うことは当然必要であるが、遺伝子解析を行った際には単に変異があったのではなく、さらにその意義まで踏み込んで検索してこそ意味のあるものとなるを考える。

A. 研究目的

我々はこれまでに、代謝疾患、とくに脂肪酸代謝異常症・ミトコンドリア呼吸鎖異常症の観点から乳幼児突然死を解析してきた¹⁾²⁾。なかでも遺伝子変異に着目し、遺伝子解析を行うことで初めて確定診断できた症例を多々経験した。近年は次世代シーケンサーを活用した網羅的一括遺伝子解析を行い、乳幼児突然死における遺伝子変異を報告してきた³⁾。

一方、次世代シーケンサーの登場によって、多くの症例に多数の遺伝子変異が検出されるようになった。それに伴い、単に「変異がある」ことが「死因」となりうるわけではないことも多々報告されてきた。

今回、乳幼児突然死における遺伝子解析を行ううえで、突然死症例だけでなくその家族の遺伝子解析もあわせて行うことで、疾患原因となりうる変異の有無を検討した。

B. 対象と方法

長崎大学法医学教室で行われた乳幼児突然死の解剖症例で、家族内解析の同意が得られた 4 例を対象とした(表 1)。

表 1：対象症例

Case	Sex	Age
1	Female	3 month
2	Male	5 month
3	Female	3 month
4	Female	3 month

解剖時あるいは解剖後に家族へ口頭で説明、文書にて同意を得た。突然死症例は解剖時に採取した血液より、両親は口腔内細胞より遺伝子を抽出し、次世代シーケンサー (Miseq, Illumina) を用い、網羅的遺伝子解析を行った。(Case2 は家族の次世代解析実施できず)

対象遺伝子は、代謝疾患・不整脈疾患をは

じめ、既知疾患関連遺伝子約 5000 遺伝子 (Illumina, Trusight One パネル)とした。

解析は Illumina 社 Variant studio を用い、検出された変異はサンガー法を用いて確認した。

なお、本研究は長崎大学の倫理委員会の承諾を得て行った。

C. 研究結果

約 5000 遺伝子の遺伝子解析を行ったところ、1 症例あたり総変異数 7768 カ所、Indel 数 372 カ所が検出された。

家族の遺伝子解析をあわせて行ったところ、1 症例あたり de novo 変異 74 遺伝子、劣性遺伝疾患変異 25 遺伝子が認められた。

心臓不整脈疾患関連遺伝子では、Case1 に *KCNH2* 遺伝子・*KCNE1* 遺伝子の変異、Case2 に *KCNQ1* 遺伝子・*KCNE3* 遺伝子の変異が認められた(表 2)。

表 2：検出遺伝子変異

Case	Gene	Heredity
1	<i>KCNH2</i>	Maternal
1	<i>KCNE1</i>	Maternal
2	<i>KCNQ1</i>	Both
2	<i>KCNE3</i>	Maternal

代謝疾患関連遺伝子変異は認められなかった。

心臓不整脈疾患関連変異が認められた Case1・Case2 に対し、さらなる解析を行った。

Case1 では、過去に不整脈との関連の報告のあった変異が認められた。家族の遺伝子解析の結果、この 2 カ所の変異はともに母由来であった。母親の安静時心電図を施行したところは正常であり、また母親に症状はなかった。潜在性に不整脈を持っている可能性も考え、運動負荷心電図検査を行ったが、正常であった。現在、経過観察中である。

Case2 では、過去に不整脈との関連の報告のあった変異が認められた。家族の遺伝子解析の結果、うち 1 つは両親由来、うち 1 つは母由来であった。両親ともに現在無症状であり、これ以上の検索は希望されなかった。

D. 考察

近年、次世代シーケンサーの登場等で遺伝子解析が時間・費用ともに手軽に行えるようになってきた。この手法は死後の解析にも応用され、その有用性が報告されている。しかし、対象遺伝子が増えるとともに検出される変異も多くなり、その解釈も困難となることも予想される。

今回突然死 4 症例に対し、本人ならびに家族の遺伝子解析を行った。うち Case3, 4 の 2 症例は病因となる不整脈・代謝疾患関連変異は認められなかった。Case1 では不整脈との関連が過去に報告のある変異が認められ、遺伝学的には不整脈も疑われた。しかし、同じ変異を持つ母親に対する心電図検索を行ったところ異常は認められず、逆に疾患との関連は否定的であった。Case2 でも同様に、突然死症例に認められた遺伝子変異は健康な母親にも認められたため、疾患との関連は積極的には指摘し得なかった。

原因不明の突然死症例に対し死後の検索を行うことは当然必要である。遺伝性疾患の場合、家族内発症も高頻度に認められることから、予防へ向け、可能な限り遺伝子解析を行うことも望まれるが、遺伝子解析を行った際には単に変異があっただけでなく、さらにその意義まで踏み込んで検索してこそ意味のあるものとなると考える。関係各科との連携体制を整え、詳細に検討することが必要であると考えられる。

E. 参考文献

- 1) [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, *Mol Genet Metab* 102:399-406, 2011
- 2) [Yamamoto T](#), Emoto Y, Murayama K, Tanaka H, Kuriu Y, Ohtake A, Matoba R. Metabolic autopsy with postmortem cultured fibroblasts in sudden unexpected death in infancy: Diagnosis of mitochondrial respiratory chain disorders, *Mol Genet Metab* 106:474-477, 2012
- 3) [Yamamoto T](#), Mishima H, Mizukami H,

Fukahori Y, Umehara T, Murase T, Kobayashi M, Mori S, Nagai T, Fukunaga T, Yamaguchi S, Yoshiura K, Ikematsu K. Metabolic autopsy with next generation sequencing in sudden unexpected death in infancy: Postmortem diagnosis of fatty acid oxidation disorders, Mol Genet Metab Reports :26-32, 2015

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

山本琢磨、梅原敬弘、大島友希、村瀬壮彦、池松和哉、死から生への還元—Metabolic autopsyを用いた突然死解明—、日本 SIDS 学会、16(1)、15-19、2016

2. 学会発表

1) 山本琢磨、梅原敬弘、大島友希、村瀬壮彦、池松和哉 死から生への還元 -Metabolic autopsy を用いた突然死解明-、第 22 回日本 SIDS・乳幼児突然死予防学会 2016 年

2) 松永綾子、千葉文子、伏見拓矢、田鹿牧子、志村優、市本景子、村山圭、堀江弘、山本琢磨、岡崎康司、大竹明、高柳正樹 乳幼児突然死の原因としての先天代謝異常症—診断ネットワークの構築—、第 22 回日本 SIDS・乳幼児突然死予防学会 2016 年

3) Takumi Osaki, Takuma Yamamoto, Takehiko Murase, Takahiro Umehara, Kazuya Ikematsu Genetic analysis of inherited metabolic diseases in sudden unexpected death in infancy by next-generation sequencing, 2016 International academy of legal medicine

4) 山本琢磨、石川泰輔、大島友希、安倍優樹、村瀬壮彦、梅原敬弘、蒔田直昌、池松和哉 乳幼児の突然死に対し家系介入を行った 1 症例—遺伝子解析はどこまで行うべきか、第 100 次日本法医学会学術全国集会 2016 年

5) Takumi Osaki, Takuma Yamamoto, Yuki Oshima, Yuki Abe, Takehiko Murase, Takahiro Umehara, Kazuya Ikematsu Next-Generation Sequencing for Inherited Metabolic Disease in

Sudden Unexpected Death in Infancy, 第 100 次日本法医学会学術全国集会 2016 年

6) 山本琢磨、村瀬壮彦、池松和哉 乳幼児突然死に対する Metabolic Autopsy と網羅的遺伝子解析—避けられる死を目指して—、第 30 回日本小児救急医学会学術集会 2016 年

7) 山本琢磨、大島友希、松末綾、梅原敬弘、村瀬壮彦、安倍優樹、久保真一、池松和哉 突然死に対する新生児マススクリーニング対象疾患遺伝子の網羅的検索、第 66 回日本法医学会九州地方会 2016 年

8) 松永綾子、村山圭、田鹿牧子、志村優、伏見拓矢、千葉文子、猪口剛、山本琢磨、岡崎康司、大竹明 乳児・小児突然死におけるミトコンドリア呼吸鎖異常症—法医学教室との連携の利点と課題—、第 58 回日本先天代謝異常学会 2016 年

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし