

令和元年度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事業（健やか次世代育成総合研究事業）

「乳幼児突然死症候群(SIDS)を含む睡眠中の乳幼児死亡を予防するための効果的な施策に関する研究」

分担研究報告書

分担研究課題 : SIDS の遺伝的因子、先天的因子に関する研究
分担研究者 : 成田正明（三重大学大学院医学系研究科 教授）
研究協力者 : 大河原剛（三重大学大学院医学系研究科 講師）

研究要旨

乳幼児突然死症候群(SIDS)は、乳幼児が何の予兆、既往歴もないまま睡眠中に突然死亡する疾患である。その発症には危険因子があり、うつぶせ寝や父母の喫煙、温めすぎ、人工栄養などが明らかにされてきた。これらの危険因子の多くは「生後の」即ち後天的なものである。これまでうつぶせ寝を避けるなどの啓発活動、安全対策で発症数の激減を見たものの、近年はその発症は相対的に横ばいになってきており、SIDS を完全に撲滅するには、うつぶせ寝を避けるなどだけでなく、「先天的」な危険因子の軽減も見据えなければならない。

研究分担者はSIDSの遺伝的危険因子を世界に先駆けて発見した(Narita, et al., Pediatrics, 2001)。遺伝的因子は先天的因子の一つでもあり、SIDS 発症には胎生期に起因する危険因子も存在することを示す。さらに最近、研究分担者らは、妊娠中のウイルス感染は生後のセロトニン神経の正常な発達に影響を与えることを論文報告した(Maternal viral infection during pregnancy impairs development of fetal serotonergic neurons, Brain and Development, 37:88-93;2015)。このことは生後の呼吸調節を司るセロトニン神経の正常な発達は、妊娠中からも影響を受けていることを示唆する。

本研究では、SIDS の遺伝的因子、先天的因子に関する研究を行った。初年度はSIDSの先天的因子についての検索、2年目は先天的因子がどのようにSIDSの発症に関連するかの機序について、3年目は先天的因子保持の動物モデルを作成しSIDSの病態解明と予防を目指した。初年度は、先天的因子が生後のSIDS発症にどの程度普遍的に存在しているか、の検討を行った。その結果、内毒素であるLPS (lipopolysaccharide = リポ多糖) を生後に投与する実験で、LPS投与後24時間の生存率は、妊娠中にpolyriboinosinic:polyribocytidylic acid (poly I:C = 合成二本鎖RNA) を投与された群、即ち妊娠中のウイルス感染モデル群で有意に低下しており、このことは先天的なウイルス感染状態を有する状態では、生後の細菌感染に脆弱であることが示唆された。2年目は生化学的データを収集した。生化学データには変動は認められたものの、初年度で得られたLPS投与による「生存率の低下」を説明できるほどの違いとは言えなかった。3年目は妊娠中にpoly I:Cを投与された母親から産まれた仔の橋・延髄で遺伝子発現変動が見られたことを発見した。以上の所見は、先天的なウイルス感染状態を有する状態は生後SIDSを引き起こしうる病態を惹起させるものであり、SIDSを完全に撲滅するにはうつぶせ寝を避けるなどだけでなく、「先天的」な危険因子の軽減も見据えなければならないことを示唆する。

A. 研究目的

乳幼児突然死症候群(SIDS)は、乳幼児が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および解剖検査によってもその原因が同定されない、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と定義される(厚生労働省 SIDS 研究班、2012年10月)。その発症には危険因子があり、うつぶせ寝や父母の喫煙、温めすぎ、人工栄養などが明らかにされてきた。これらの危険因子の多くは「生後の」即ち後天的なものである。

これまでうつぶせ寝を避けるなどの啓発活動、安全対策で米国では1992年以降、SIDS 発症数の激減を見た。1992-1996年にSIDS 発症数が38%減少した¹⁾ものの、近年はその発症は、激減期に比べれば、相対的に横ばいになってきており、このことは「先天的」な危険因子も軽視できないのではないかと思われる²⁾。

我が国における SIDS による年間死亡数は、平成9年には538人であったが徐々に減少し平成26年には146人、平成27年には96人となっている³⁾。しかしながら本症の根絶のためには、基礎研究を推進させることで SIDS の病因を明らかにし病態の全貌を解明する以外にない。

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⁴⁾⁵⁾。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。

この発見は、遺伝的因子は先天的因子の一つでもあり、SIDS 発症には胎生期に起因する危険因子も存在すること、

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、など意義が大きく、本論文の引用回数は117と、世界でも研究者間で最も頻繁に引用されている論文の一つである。

さらに最近、研究分担者らは、妊娠中のウイルス感染は生後のセロトニン神経の正常な発達に影響を与えることを論文報告した⁶⁾。このことは生後の呼吸調節を司るセロトニン神経の正常な発達は、妊娠中からも影響を受けていることを示唆する。

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⁵⁾、これらは主に“生後の”危険因子であった。一方、上述の遺伝的危険因子、妊娠中の喫煙などの因子は、“生前の”危険因子といえる。これらのことは SIDS 発症には胎生期に由来する原因も存在することを強く示唆する。

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。

研究分担者は最近、妊娠中のウイルス感染は、生後のセロトニン神経の正常な発達に影響を与える、という論文を発表した⁵⁾。動物実験においてでのデータではあるが、このことは生後のセロトニン神経の正常な発達は妊娠中からも影響を受けていることを示唆する。

lipopolysaccharide (LPS)はグラム陰性菌の菌体成分であり、内毒素として知られ、

成体に作用するとサイトカインなどの放出を介して敗血症など重篤な作用を引き起こす。従ってLPSは生体にこれを投与することにより、細菌感染のモデル状態を惹起することができ、研究にもしばしば用いられている。

本研究では3年間の間に初年度はSIDSの先天性因子についての検索、2年目は先天性因子がどうSIDSの発症に関連するかの機序、3年目は先天性因子保持の動物モデルを作成しSIDSの病態解明と予防を目指す。初年度は、先天性因子が生後のSIDS発症にどの程度普遍的に存在しているか、をウイルス感染モデル状態としての polyribonucleosinic:polyribocytidylic acid (poly I:C、=合成二本鎖RNA)及び細菌感染モデル状態としてのLPSを用いた実験により検討した。その結果、内毒素であるLPSを生後に投与する実験で、LPS投与後24時間の生存率は、妊娠中にpoly I:Cを投与された群、即ち妊娠中のウイルス感染モデル群で有意に低下しており、このことは先天性なウイルス感染状態を有する状態では、生後の細菌感染に脆弱であることが示唆された。2年目はこの時の生化学的データを収集し比較検討し、3年目は妊娠中のウイルス感染が産まれてきた仔の呼吸中枢の遺伝子発現に影響を与えるのか解析した。

B. 研究方法

ウイルス感染モデル動物は、poly I:Cの投与で行った。妊娠10日目のラットに、phosphate buffered saline(PBS)に溶解した10 mg/kgのpoly I:C、または対照として溶媒(PBS)のみを注射器で腹腔内に投与し、そのまま妊娠を継続させ出産させた。母

ラットに仔ラットを養育させ、生後12日目に、poly I:C投与母体から生まれた仔ラット、及びpoly I:C非投与母体から生まれた仔ラットの橋・延髄を摘出、Nippiバイオマッシャーで粉碎し、Trizol ReagentによりRNAを抽出、業者委託でDNAマイクロアレイ(Agilent, SurePrint G3 Rat GE 8 × 60 K Ver 2.0)解析を行った。その結果1709スポットがpoly I:C群で2倍以上の上昇、945スポットがpoly I:C群で2倍以上の低下がみられた。それを遺伝子機能のグループ別に解析したものが表である(遺伝子オントロジー解析)。

C. 研究結果

変動のあった遺伝子についてグループ別に列挙した(表 遺伝子オントロジー解析)。poly I:C投与群、即ち先天性ウイルス感染モデル群では、特に膜貫通型シグナル受容体の遺伝子グループに変動があった。

D. 考察

初年度の研究で研究分担者らは、生後12日目のLPS投与後24時間の生存率は、妊娠中にpoly I:C投与された群、即ち妊娠中のウイルス感染モデル群で有意に低下していた。このことは先天性なウイルス感染状態を有する状態では、生後の細菌感染に脆弱であることを示唆したが、2年目の研究で生化学データを比較したが大きな違いはなかった。3年目に得られた遺伝子変動は先天性ウイルス感染で呼吸中枢のある橋・延髄に大きな影響があることを意味する。

初年度に報告したように、生後12日目のLPS投与後の生存率が妊娠中にウイルス感染したモデルラット群で有意に低下してい

たことは、先天的なウイルス感染状態を有する状態では、生後の細菌感染に脆弱であることを示唆することになり、ヒトにおいても SIDS 発症の一つの因子になりうる。従って、妊娠中のウイルス感染予防対策は一層重要になってくる。ワクチン接種が有用と考えられるが、特に妊娠中の接種となると、生ワクチンによるウイルスの胎児への直接影響だけでなく、ワクチンに含まれるチメロサル(= 有機水銀)などの防腐剤の影響も懸念され、安全性の確立が急務である。

先天的なウイルス感染状態を有する状態では、生後の細菌感染に脆弱であることが示唆されることから、SIDS 予防の方策の一つとして、特に妊娠中にウイルス感染があったことが明らかな場合は、生後の児への一層の監視が望ましいことにもなる。いまだ安全性などに議論が残るものの民間で取り入れが進んでいるとされる所謂「ベビーモニター」の活用も有用かもしれない。

冒頭に述べたように、うつぶせ寝を避けるなどの啓発活動、安全対策で米国では 1992 年以降、SIDS 発症数の激減を見た。1992-1996 年に SIDS 発症数が 38% 減少した¹⁾ものの、近年はその発症は、激減期に比べれば、相対的に横ばいになってきており、このことは「先天的」な危険因子も軽視できないのではないかと思われる²⁾。

研究分担者は、研究分担者が研究代表者として研究を率いてきた厚生労働科学研究「妊娠中の化学物質による、子どもの行動・情動への影響評価に関する臨床的・基礎的・疫学的研究」で、妊娠中の化学物質ばく露が、生後のセロトニン神経系・情動系へ与える影響を調べてきた⁷⁾⁸⁾。また平

成 29 年 3 月には三重県津市にて第 23 回日本 SIDS・乳幼児突然死予防学会総会(会長 三重大学成田正明)を開催し議論を重ねてきた⁹⁾。SIDS に関する総説¹⁰⁾でも記してあるように、今後はこれらの結果も有機的に応用し有用な結論を導きたい。

E. 結論

SIDS 発症を考える上で「先天的」な危険因子も軽視できないと思われる。

参考文献

- 1) Richard D. Goldstein, Felicia L. Trachtenberg, Mary Ann Sens, Brian J. Harty, Hannah C. Kinney. Overall Postneonatal Mortality and Rates of SIDS Pediatrics; 2016: 137(1), e20152298
- 2) Rachel Y. Moon, Fern R. Hauck. SIDS Risk: It's More Than Just the Sleep Environment Pediatrics; 2016: 137(1), e20153665
- 3) 厚生労働省ホームページ <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kodomo/sids.html>
- 4) 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.
- 5) 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
- 6) Maternal viral infection during

pregnancy impairs development of fetal serotonergic neurons

Takeshi Ohkawara, Takashi Katsuyama, Michiru Ida-Eto, Naoko Narita, Masaaki Narita

Brain and Development, 37:88-93;2015

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

7) 「乳幼児突然死症候群(SIDS)を含む睡眠中の乳幼児死亡を予防するための効果的な施策に関する研究」平成 26-28 年度 厚生労働科学研究費補助金 総合研究報告書

3. その他

なし

8) 「妊娠中の化学物質による、子どもの行動・情動への影響評価に関する臨床的・基礎的・疫学的研究」厚生労働科学研究費補助金 平成 24-26 年度 総合研究報告書
主任研究者 成田正明

9) 第 23 回日本 SIDS・乳幼児突然死予防学会総会抄録集

10) 遺伝と乳幼児突然死症候群遺伝
-ALTE の新概念 BRUE も含め
成田正明、江藤みちる、大河原剛、中川聡、成田奈緒子 小児科臨床70(2) 159-166, 2017

F. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

表 先天性ウイルス感染モデルで有意に上昇がみられた遺伝子グループ (遺伝子オントロジー解析による)
(p 値の低い順 = 有意度が高い順 = に列挙)

遺伝子グループ名 (和名は理解のための参考用に記載)	修正済みの p 値
transmembrane signaling receptor activity 膜貫通型シグナル受容体活性グループ	3.83E-07

先天性ウイルス感染モデルで有意に低下がみられた遺伝子グループ (遺伝子オントロジー解析による) (p 値の低い順 = 有意度が高い順 = に列挙)

遺伝子グループ名 (和名は理解のための参考用に記載)	修正済みの p 値
G-protein coupled receptor signaling pathway G プロテイン共役型受容体シグナル伝達経路に関わるグループ (上昇グループとは別の)	1.54E-06
signaling receptor activity シグナル受容体活性グループ	1.57E-06
molecular transducer activity 分子トランスデューサー活性グループ	1.57E-06
transmembrane signaling receptor activity 膜貫通型シグナル受容体活性グループ	4.53E-06