

厚生科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）
分担研究報告書

乳幼児突然死症候群（SIDS）の生理学および病理学的研究 - Glial Fibrillary Acidic Protein（GFAP）の免疫組織化学により推定される低酸素性負荷及び無呼吸及びSIDSの関係

分担研究者 澤口聡子 東京女子医科大学医学部法医学教室助教授
高嶋幸男（国立精神神経センター武蔵病院臨床検査部）
戸苅 創（名古屋市立大学医学部小児科）
研究協力者 加藤稲子（名古屋市立大学医学部小児科）
Andre Kahn, Hazim Kadhim, Patricia Franco, Martine Sottiaux, Jose Groswasser
（Brussels Free University Pediatric Children Hospital Reine Fabiola）
小林槇雄（東京女子医科大学医学部第一病理学教室）
清水悟（東京女子医科大学医学部公衆衛生学教室）

研究要旨 ベルギーブリュッセル自由大学において約27000例の健康乳幼児にpolysomnographyを用いた生理学解析がなされた。このうちの死亡例計33例は、27例の乳幼児突然死症候群（SIDS）とその他の死因による6例を含み、これらについては児の死亡前にprospectiveに生理学解析がなされたことになる。この33例について、児の死亡後に病理解剖ブロックをretrospectiveに収集し、病理学的に解析した。生理学解析データから無呼吸の種類・頻度・長さを、病理学的データから、anti glial fibrillary acidic protein (GFAP) antibodyによって免疫組織化学的に脳幹のreactive astrocyteを解析定量化したデータを抽出した。生理学データと病理学的データを症例毎にリンケージさせ、各々の生理学データを従属変数とし、各々の病理学的データおよびSIDSであるかないかを独立変数として、分散共分散分析を行った。その結果、生理学的な無呼吸に対して、GFAP陽性Astrocyteによって示された低酸素性負荷およびSIDSであるかないかの双方が、共に、有意に、影響を及ぼしているという結果は得られなかった。以上より、今回の解析結果は、従来提唱されてきたSIDSの無呼吸仮説を、積極的に支持するものではなかった。

A.研究目的

Sudden Infant Death Syndrome(SIDS)については、疫学的・生理学的・病理学的な各々の視点から別個にその原因究明がなされてきた。が、その原因は今だ解明されておらず、各分野を統合した研究が必要な時期にある。既に、疫学的研究の成果を反映した生理学的研究は行われているが(1,2)、その他の統合研究は行われていない。今回の本報告は、SIDS及び対照事例を対象とし、生理学解析結果と病理学的解析結果とを症例毎にリンケージした、統合研究である。既に、SIDS事例30例を対象としpolysomnographyにより記録されたprospective case-control studyの

結果が報告されている(3)。現在では、この30事例に更に追加事例がつけ加えられている。これらの生理学的にprospectiveに解析されたSIDS事例およびその対照事例について、その病理ブロックをretrospectiveに収集し、免疫組織化学的に解析した。生理学及び病理学的な双方の解析結果は各々定量化され、症例毎にリンケージした。今回の報告における生理学解析結果と病理学的な解析結果との直接的な統合は、このようにして可能となった。

現在SIDSの病因論として、無呼吸説(4)がみなおされ、覚醒反応説(5)が提唱されている。即ち、無呼吸そのものがSIDSの病因となるのではなく、

無呼吸からの覚醒過程に不全があることが SIDS の病因であるとされるようになった。しかし、現時点では、無呼吸説も覚醒反応説も確証されたものでなく、仮説の閾を超えない。また、“無呼吸”という現象と“覚醒”という現象は無関係ではありえず、相互に関連する。そこで、今回の本報告では、生理学的解析結果として無呼吸に関連する情報を抽出し、病理学的解析結果として脳幹の覚醒経路と覚醒関連部位において低酸素負荷を可視化した情報を抽出し、双方の定量化された結果について関連性の有無を探ることとした。

無呼吸についての生理学的データと GFAP 陽性アストロサイトについての病理学的データ相互の相関関係については、既に昨年度の研究報告書において報告済みであるので、今回は更に SIDS であるかないかという視点からの前二者との関連性を報告する。

B. 研究方法

SIDS 例 27 例対照例 6 例を含む計 33 例について、prospective に polysomnography が施行され、以下の項目が測定された。

- 1) 閉塞性無呼吸の頻度 (回/時) と長さ (秒)
- 2) 中枢性無呼吸の頻度 (回/時) と長さ (秒)

これら 33 例について、retrospective に脳幹の病理ブロックが収集され、anti Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) antibody (DAKO) を用いた免疫組織化学が施行された。

病理学的所見の定量化は、顕微鏡の 40 倍視野において、各測定部位から各 5 視野を選択し、GFAP 染色陽性の反応性アストロサイトを manual counting して、行った。測定は、以下の部位について行った。即ち、中脳における中心灰白質・背側縫線核・青斑核、橋における網様体・上中心核・大縫線核・青斑核、延髄における迷走神経背側核・孤束核・網様体・不確縫線核・大縫線核・中心延髄核・疑核である。定量化にあたり、橋における上中心核・大縫線核、延髄における不確縫線核・大縫線核は各々一つの群とし

て取り扱った。

生理学的解析による定量値を従属変数とし、病理学的解析による定量値と SIDS であるかないかを独立変数として、分散共分散分析を行った。

C. 研究結果

生理学的解析結果および病理学的解析結果について、各々の項目の平均値・標準偏差・合計値・最小値・最大値、及び病理学的解析結果と生理学的解析結果の相関係数およびその検定結果 (p-value) は、昨年度報告書に示した(6)。

生理学的解析による定量値を従属変数とし、病理学的解析による定量値と SIDS であるかないかを独立変数として施行した、分散共分散分析の結果、生理学的な無呼吸に対して、各検索部位の GFAP 陽性 Astrocyte 数および SIDS であるかないかの双方が、共に有意に、影響を及ぼしているという結果は、いずれの検索部位においても得られなかった。

D. 考察

reactive astrocyte の増加は、一般に様々な原因によりもたらされ、非特異的所見と解釈されるが、低酸素性虚血性変化の指標としても有効である。この為、無呼吸による低酸素性虚血性変化の指標としても reactive astrocyte 数を利用することが可能である。GFAP は astrocyte 全般の指標であり、GFAP 陽性 reactive astrocyte を判定することで、低酸素性負荷の間接的定量化が容易となる。

昨年度報告した通り、閉塞性無呼吸の長さとして延髄網様体における reactive astrocyte 数は有意な相関性が認められた ($p=0.043$)。しかし、今年度の解析において、この相関性に関して SIDS であるかないかという事実は有意な影響を及ぼしていなかった。又、その他のいずれの検索部位においても、生理学的な無呼吸に対して、GFAP 陽性 Astrocyte によって示された低酸素性負荷および SIDS であるかないかの双方が、共に、有意に、影響を及ぼしているという結果は得られなかつ

た。

対照例 6 例の死因は、心血管系奇形・敗血症等いずれも何らかの程度で低酸素状態を招くことが予想されるものであり、厳密な対照としてふさわしくないことが事前に想定された。今回、既に確認された生理学的データと病理学的データとの相関に対して、SIDS 児であることによる有意な影響が得られなかった背景には、この対照群の不適切性存在する。しかし、本研究においてはここで得られた以外に、prospective に生理的に解析された対照事例を得ることは不可能であった。

また、本研究では無呼吸による低酸素性負荷が病理組織学的な変化をおこすことを前提としている。しかし、無呼吸とは本来数秒間という非常に短い時間のできごとであり、このような超短期間の刺激が反復するということだけで器質的な変化を起こし得るかということにも疑問の余地がある。

以上より、今回の解析結果は、従来提唱されてきた SIDS の無呼吸仮説及び覚醒反応説を、積極的に支持するものではないと思われる。

E . 結論

生理学的な無呼吸に対して、GFAP 陽性 Astrocyte によって示された低酸素性負荷および SIDS であるかないかの双方が、共に有意に、影響を及ぼしているという結果は得られなかった。今回の解析結果は、従来提唱されてきた SIDS の無呼吸仮説及び覚醒反応説を、積極的に支持するものではなかった。

F . 研究発表

1.論文発表

澤口聡子、澤口彰子、Patricia Franco、Martine Sattiaux、Jose Groswasser、Hazim Kadhim、Andre Kahn、Klara Toro、加藤稲子、戸苅創、高嶋幸男 . 欧米の SIDS . 小児科診療 63:416-418,2000

2.学会発表

Sawaguchi T. The potential relationship between

apneas, apoptosis & brainstem plasticity. The sixth SIDS International Conference.Conference Handbook for the Sixth SIDS International Conference. p.47. 2000
Sawaguchi T. The moebius strip and the sudden death of an infant during sleep. The sixth SIDS International Conference. Conference Handbook for the Sixth SIDS International Conference. p.121. 2000

文献

1. Kahn A, Groswasser J, Sottiaux M, Rebuffat E, Franco P, Dramaix M. Prone and supine body position and sleep characteristics in infants. Pediatrics 91:1112-1115, 1993.
2. Franco P, Groswasser J, Hassid S, Lanquart JP, Scaillet S, Kahn A. Prenatal exposure to cigarettes is associated with decreased arousal propensity in infants. J Pediatr 135:34-38,1999.
3. Kahn A, Groswasser J, Rebuffat E. Sleep and cardiorespiratory characteristics of infant death: A prospective case-control study. Sleep 15:287-292,1992.
4. Steinschneider A. Prolonged apnea and the sudden infant death syndrome, clinical and laboratory observations. Pediatrics 50:646-654, 1972.
5. Mcculloch K, Brouillette RT, Guzzetta AJ. Arousal responses in near-miss sudden infant death: A prospective case-control study. Sleep 15:287-292, 1982.
- 6.澤口聡子、Andre Kahn、高嶋幸男、戸苅創、加藤稲子、Hazim Kaghim、Patricia Franco、Martine Sottiaux、Jose Groswasser、小林槇雄、清水悟 . 乳幼児突然死症候群(SIDS)の生理学的および病理学的研究 - Glial Fibrillary Acidic Protein(GFAP) の免疫組織化学により推測される低酸素性負荷と無呼吸との相関性.平成10年度厚生科学研究(子ども家庭総合研究事業)報告書 第 4/6 主任研究者澤口彰子 pp.354-359, 1999.