

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睡眠時体位の関係

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）
小林慎雄（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 を用いた生理学的解析がなされた。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。生理学的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。生理学的データと病理学的データを症例毎にリンケージさせ、各々の生理学的データを従属変数とし、各々の病理学的データおよびうつぶせ寝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、うつぶせ寝は閉塞性無呼吸の長さや中枢性無呼吸の頻度に有意に影響すること、うつぶせ寝と中脳背側縫線核の GFAP 陽性 reactive astrocyte 数は閉塞性無呼吸の長さと共に有意に影響すること ($P < 0.01$) が示された。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の背景即ち覚醒経路の低酸素負荷に対する fragility を、間接的に反映し描写したものとみなすことができる。

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、生理学的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、これまでの SIDS に関する疫学的研究成果を反映させた、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。生理学的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的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、今回は更にうつぶせ寝であったかなかったかという視点から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うつぶせ寝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うつぶせ寝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、うつぶせ寝は閉塞性無呼吸の長さと同中枢性無呼吸の頻度に有意に影響すること、うつぶせ寝と中脳背側縫線核の GFAP 陽性 reactive astrocyte 数は閉塞性無呼吸の長さと共に有意に影響すること(P<0.01)、うつぶせ寝と中脳中心灰白質の GFAP 陽性 reactive astrocyte 数は閉塞性無呼吸の長さと共に影響すること(P<0.1)が示された。

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。

うつぶせ寝は疫学的に SIDS のリスクファクターの一つであるとされ、欧米においてはうつぶせ寝キャンペーンの施行に伴ってうつぶせ寝が減少し、更に SIDS の発症率が 30%-90%減少したことが報告されている(7,8,9)。また、うつぶせ寝にした健康乳幼児では音に対する覚醒閾値が上昇することその他循環系や呼吸系の変化があることも報告されている(10,11)。しかし、うつぶせ寝と睡

眠時無呼吸との関連についてはこれまでに報告がなく、又、うつぶせ寝によって病理組織学的に可視化されるような器質的变化がもたらされるかどうかについても未だ報告がなかった。

最終的に SIDS でなくなった乳児の死亡前に prospective に記録したデータを解析し、SIDS 児の生存中には、正常の乳児と比較して、中枢性無呼吸の時間が長いこと、閉塞性無呼吸や混合型無呼吸の頻度が多いことが報告されている(3,12)。今回の分散共分散分析の結果、うつぶせ寝は閉塞性無呼吸の長さや中枢性無呼吸の頻度に有意に影響することが示された。双方の結果より、SIDS 児の無呼吸に関連する体質素因が、うつぶせ寝によって加重される結果、死を引き起こすという無呼吸仮説が間接的に支持することが可能となる。即ち、本来、閉塞性呼吸の頻度が高いという SIDS 児の体質素因が、うつぶせ寝にすることによって、頻度の多い閉塞性呼吸の長さが長くなるという二重の負荷を受け助長されることになる。同様に、本来、中枢性無呼吸の時間が長いという SIDS 児の素因が、うつぶせ寝にすることによって、長さの長い中枢性無呼吸の頻度も多くなるという結果が招かれることが予想される。よって、SIDS 児をうつぶせ寝にすることにより、閉塞性無呼吸・中枢性無呼吸の双方がその頻度も増加し長さも延長するという結果になり、児の死亡につながるのではない。

又、今回の解析結果では、うつぶせ寝と中脳背側縫線核の GFAP 陽性 reactive astrocyte 数は閉塞性無呼吸の長さと共に有意に影響すること ($P<0.01$)、うつぶせ寝と中脳中心灰白質の GFAP 陽性 reactive astrocyte 数は閉塞性無呼吸の長さと共に影響すること ($P<0.1$) が示された。これらの二重相関が、覚醒経路それもその一部においてのみ認められたことは極めて興味深い。縫線核群において、背側縫線核からは上行性神経繊維がおこる。特に中脳から橋上部に存在する背側縫線核から脚橋被蓋部に主な入力があり、この経路は覚醒過程において重要である。また、中脳中心灰白質は、網様体から直接投射を受け、内臓性覚醒反射の遂

行に重要な役割をはたすことが知られている。中脳中心灰白質からも脚橋被蓋部に主な入力があり、背側縫線核からの経路と同様、この経路は覚醒過程において重要である。以上から、覚醒経路の入力系における低酸素負荷に対する fragility が示唆されるように思われる。

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、直接支持するものではない。しかし、SIDS のリスクファクターとして認識されるうつぶせ寝と睡眠時低酸素状態との関連性を示唆し、更に一部の覚醒経路が低酸素負荷に対して fragil であることを示唆している。この意味において、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の背景即ち覚醒経路の低酸素負荷に対する fragility を、間接的に反映し描写したものとみなすことができる。

E . 結論

うつぶせ寝は閉塞性無呼吸の長さや中枢性無呼吸の頻度に有意に影響すること、うつぶせ寝と中脳背側縫線核の GFAP 陽性 reactive astrocyte 数は閉塞性無呼吸の長さと共に有意に影響すること ($P<0.01$)、うつぶせ寝と中脳中心灰白質の GFAP 陽性 reactive astrocyte 数は閉塞性無呼吸の長さと共に有意に影響すること ($P<0.1$) が示された。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、直接支持するものではない。しかし、SIDS のリスクファクターとして認識されるうつぶせ寝と睡眠時低酸素状態との関連性を示唆し、更に一部の覚醒経路が低酸素負荷に対して fragil であることを示唆している。この意味において、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の背景即ち覚醒経路の低酸素負荷に対する fragility を、間接的に反映し描写したものとみなすことができる。

本研究において、SIDS の病因仮説の基礎研究として、疫学・生理学・病理学の3分野が初めて統合されたことになる。

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, Kahn A et al. Apnea and neural apoptosis in arousal pathway. The VIIIth ESPID (European Society for the Study and Prevention of Infant Death) Conference. Jerusalem 5.30-64, 1999

Sawaguchi T et al. The potential relationship between apneas, apoptosis & brainstem plasticity. The sixth SIDS International Conference. Conference Handbook for the Sixth SIDS International Conference. Auckland p.47.2000

Sawaguchi T et al. 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. Auckland 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, 1992.

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)の生理学の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.

7. Britt T Skadberg, Inge Morild, Trond Markestad. Abandoning prone sleeping:effect on the risk of sudden infant death syndrome. *J Pediatr* 132:340-343, 1998.

8. Willinger M, Hoffman JH, Wu KT, Hou JR, Kessler RC, Ward SL, Keens TG, Corwin MJ. Factors associated with the transition to nonprone sleep position of infants in the United States:the National Infant Sleep Position Study. *JAMA*, 280:329-335, 1998.

9. Malloy MH. Effectively delivering the massage on infant sleep position. *JAMA*, 280:373-374, 1998.

10. Franco P, Groswasser J, Sottiaux M, Broadfield E, Kahn A. Prone sleeping and decreased cardiorespiratory responses to auditory stimulation in healthy infants. *Pediatrics*, 97:174-178, 1996.

11. Franco P, Pardou A, Hassid S, Lurquin P, Kahn A. Auditory arousal thresholds are higher when infants sleep in the prone position. *J Pediatr*, 132:240-243, 1998.

12. Kahn A, Blum D, Rebuffat E. Polysomnographic studies of infants who subsequently died of sudden infant death syndrome. *Pediatrics*, 82:721-727, 1988