

平成 21 年 6 月 19 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19790756

研究課題名（和文） 乳幼児突然死症候群の病態解明

研究課題名（英文） Determination of the cause of Sudden Infant Death Syndrome

研究代表者

小田切 徹州 (OTAGIRI TESSHU)

山形大学・医学部・医員

研究者番号：30400550

研究成果の概要：

日本人の乳幼児突然死症候群 42 症例を対象とし、遺伝性不整脈である QT 延長症候群の主要原因遺伝子について解析し、4 症例(約 10%)に計 5 つの遺伝子異常を検出した。変異イオンチャネルの機能解析では 2 つの変異イオンチャネルにおいて正常イオンチャネルと有意に異なる電気生理学的特性を示した。5 つの遺伝子変異は 150 人の正常対照に検出されず、いずれの変異も突然死の原因となる可能性が考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	0	1,700,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・胎児・新生児医学

キーワード：乳幼児突然死症候群，QT 延長症候群，遺伝性不整脈，イオンチャネル，ブルガダ症候群

1. 研究開始当初の背景

乳幼児突然死症候群は、それまでの健康状態およ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である。従来、リスク因子として妊婦および養育者の喫煙、非母乳保育、うつぶせ寝などが挙げられており、世界各国でこれらのリスクを軽減する運動が展開され大きな成果を挙げている。しかし今なお日本での発症頻度は

おおよそ出生 4,000 人に 1 人と推定されており、乳児期死亡原因の第 3 位をしめている。原因に関しては、睡眠に随伴した覚醒反応の低下を含めた脳機能の異常、先天性代謝異常症の存在、感染症、慢性的低酸素症の存在など環境因子と遺伝的素因の関与が考えられているが、未だ解明に至らず、国内外でその原因究明と予防法の確立にむけた研究がなされている。

循環の異常については、1998 年に乳幼児突然死症候群のリスク因子として心電図での QT

時間延長が挙げられたことをきっかけに (Schwartz et al. NewEng J Med 1998)、QT 延長症候群関連遺伝子や致死性不整脈をきたす遺伝子異常が注目され報告もなされているが、多くは症例報告もしくは一遺伝子を解析したもので、乳幼児突然死症候群への関与についてはより網羅的な研究結果の蓄積が求められている。本症候群には、民族差があること、致死性不整脈として有名なブルガダ症候群が日本人に多いことなどから、日本人症例を対象とした系統的な解析が必要と考える。

2. 研究の目的

本研究の目的は乳幼児突然死症候群の病態を解明することである。本症候群には多因子の関与が考えられるが、生後1年未満に死をもたらすことなどから何らかの先天的素因の関与が疑われる。特に、私たちの研究室では呼吸および循環機能に注目し解析を進めている。

今回、乳幼児突然死症候群の日本人犠牲者の剖検組織を用いて、遺伝性不整脈である QT 延長症候群やブルガダ症候群の主要原因遺伝子を調べ、両症候群の関与の程度を明らかにする。多数の剖検組織を解析することにより、遺伝子異常の種類や頻度を明らかに出来る。これらの遺伝子はいずれも心筋イオンチャンネルをコードしており、検出された変異については、発現実験、機能解析を行いイオンチャンネルの電気生理学的特性を調べる。本研究により、日本人の乳幼児突然死症例において、QT 延長症候群やブルガダ症候群の遺伝子異常の関与が明らかにされるものとする。

3. 研究の方法

(1) 法医学教室に協力を依頼し、乳幼児突然死症候群により死亡した症例の検体を集めて、ゲノム DNA を抽出する。大阪大学、山形大学、東海大学および岩手医科大学の法医学教室の協力により、約 50 症例分離した。

(2) 心筋イオンチャンネル遺伝子(KCNQ1、KCNH2、SCN5A)の翻訳領域とイントロン-エクソン境界部位を PCR 法により増幅し、遺伝子異常のスクリーニングは Denaturing High Performance Liquid Chromatography(DHPLC) 法を用いて行う。

(3) DHPLC 法により変異が示唆された DNA 断片については、塩基配列を決定する。正常人 100 人を対照として、変異が多型か否かを調べる。確認された変異については、コンピュータにより系統発生上の位置づけ、および構

造状の変化について予測解析する。疎水性の変化、二次構造の変化、系統発生的な位置づけも確認する。

(4) 病因と考えられる変異が確認されれば、検体提供元の法医学者と相談し、ご家族の承諾が得られれば家族の検索も行き、遺伝関係を調べる。

(5) 部位特異的変異導入法の原理を利用して、病因と考えられる変異遺伝子を発現ベクターに導入する。

(6) 変異を導入した cDNA から in vitro 転写により cRNA を作製する。cDNA や cRNA をカエルの卵細胞や哺乳動物細胞において発現させ、パッチクランプ法など電気生理学的チャネル電流測定を行う。正常および変異チャネルの電気生理学的特性を比較し、遺伝子変異が心臓の電気活動に及ぼす影響について検討する。

4. 研究成果

乳幼児突然死症候群は疫学的に頻度が高く、医学的にも社会的にも本態の解明は必要である。家族の精神的な負担、過失責任問題など社会的影響も大きいにも拘わらず、医学的な解明は未だ遅れているのが現状である。

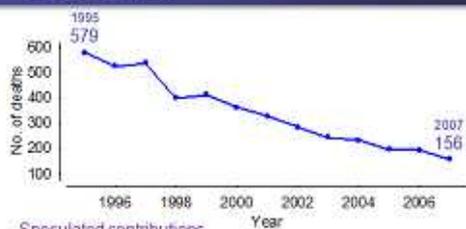
今回、循環の異常については、SIDS 症例 42 例中、その 9.5%にあたる 4 症例に心筋イオンチャンネル遺伝子の異常を検出した。解析した 3 つのイオンチャンネル遺伝子は致死性の不整脈を起こす QT 延長症候群や Brugada 症候群などの遺伝性不整脈の原因遺伝子とされており、これらの遺伝子における異常はすなわち突然死の原因となり得る。

変異イオンチャンネルの機能解析では、SCN5A -F1705S および KCNH2 -T895M の変異イオンチャンネルにおいて正常イオンチャンネルと有意に異なる電気生理学的特性を示したものの、他の 3 つの変異イオンチャンネルでは正常対照との著しい差は認められなかった。しかしながら、これら 3 つの遺伝子変異は 150 人の正常対照に検出されなかったこと、変異部位の DNA 塩基配列が異なる種でも比較的保存性が高いことから、突然死の原因である可能性は十分にあると考えられた。そのうち、KCNQ1 K598R はスプライス部位の近傍に生じたミスセンス変異であり、この変異がスプライス異常を生じる可能性がある。また、SCN5A F532C は成人の不整脈症例での報告があり、この変異が SIDS の原因にもなり得ると考えられた。

うつぶせ寝を避けるキャンペーンにより、犠牲者は減少してきており、環境因子の関与による症例は減少していくものと考えられる。一方、遺伝的素因による犠牲者の相対的割合は増加していくことが予測される。遺伝的素因が明らかにされれば、乳幼児突然死の予防

に役立てられるだけでなく、リスクをもつ家族の生命を守ることにのみならず、その社会的影響は大きいと考える。多因子の関与が疑われる本症候群の病態解明には多角的なアプローチから得られる知見の蓄積が必要である。

SIDS in Japan



Speculated contributions



結果 (1)

Table 1. Compendium of identified mutations

case No.	Gene	Exon	Variant	Location
case-62	KCNQ1	15	K598R [*]	C - terminus
case-9 [†]	KCNH2	11	T895M [*]	C - terminus
	SCN5A	18	G1084S [*]	II S6 - III S1
case-40	SCN5A	28	F1705S [*]	IV S5 - IV S6
case-63	SCN5A	12	F532C	I S6 - II S1

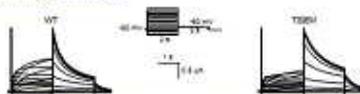
^{*} Novel mutations

[†] Compound heterozygosity with KCN2-T895M and SCN5A-G1084S

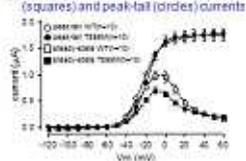
SIDS 42例中、その9.5%にあたる4症例に計5つの遺伝子変異を検出した。

Characteristics of WT and T895M KCNH2 currents (1)

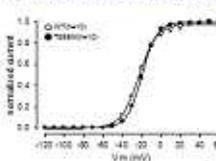
A Representative current traces



B The average amplitudes of steady-state (squares) and peak-tail (circles) currents

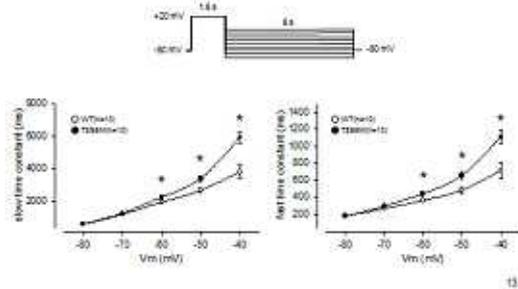


C Voltage dependence of activation



Characteristics of WT and T895M KCNH2 currents (2)

D Deactivation kinetics of WT and T895M KCNH2 channels

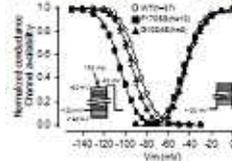


Characteristics of WT, G1084S and F1705S SCN5A currents

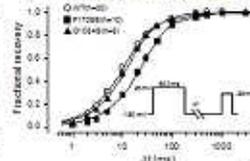
A Representative whole-cell current traces



B (inactivation) (activation)



C (recovery from inactivation)



考察 (1)

Genetic Variants	Functional effect	Notes
KCNQ1-K598R	[no difference]	Splicing mutation (?)
KCNH2-T895M [*]	Accelerated inactivation Impaired deactivation	
SCN5A-G1084S [*]	Loss of function	G1084 is not a conserved aminoacid residue
SCN5A-F1705S	Loss of function	
SCN5A-F532C	[no difference]	Previously detected in two adults with arrhythmia

^{*} Both variants were detected in one case

• いずれの変異も正常対照150人に検出されなかった。

• 変異部位のDNA塩基配列が、SCN5A-G1084を除いて異種間でも比較的保存性が高い。

→ 突然死の原因となる可能性がある

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1件)

小田切徹州 他7名

“ Cardiac Ion Channel Gene Mutations in Sudden Infant Death Syndrome ”
Pediatric Research Nov;64(5):482-487,
(2008) 査読有

[学会発表](計 2件)

小田切徹州

乳幼児突然死症候群における心筋細胞イオンチャンネル遺伝子異常
第44回日本小児循環器学会総会・学術集会 2008.7.2~4 郡山市・ホテルハマツ

小田切徹州

乳幼児突然死症候群における心筋細胞イオンチャンネル異常について
第111回日本小児科学会学術集会
2008.4.25~27 東京国際フォーラム

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

[その他]

6. 研究組織

(1)研究代表者

小田切徹州 (OTAGIRI TESSHU)

山形大学・医学部・医員

研究者番号:30400550

(2)研究分担者

(3)連携研究者