

# 乳児ボツリヌス症と乳幼児突然死症候群

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-05-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 阿松, 翔, Amatsu, Sho メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24517/00062393">https://doi.org/10.24517/00062393</a>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



## 【総説】

## 乳児ボツリヌス症と乳幼児突然死症候群

阿 松 翔

金沢大学医薬保健研究域医学系 法医学

## Infant botulism and sudden infant death syndrome

Sho Amatsu

## 1. はじめに

乳児ボツリヌス症は、生後1年未満の乳児の腸管内にボツリヌス菌が定着し、ボツリヌス毒素を産生することによって発症する感染症である。本毒素は全身の筋肉の弛緩性麻痺、および重篤な場合は呼吸停止を引き起こす。厚生労働省が公表した2019年人口動態統計によると、本邦における2019年の生後1歳未満の乳児死亡数は1748人であり、出生1,000人に対する乳児死亡率は1.9であった<sup>1)</sup>。その内訳として、乳児死亡原因の1位は先天奇形、変形及び染色体異常 (34.9%)、2位は周産期に特異的な呼吸障害及び心血管障害 (14.3%)、3位は不慮の事故 (4.7%)、そして4位は乳幼児突然死症候群 (4.3%) であった。諸外国では、乳幼児突然死症候群の一部 (~19%) からボツリヌス菌またはボツリヌス毒素が分離されており、乳児ボツリヌス症との関連が指摘されている<sup>2)4)</sup>。

本総説では、乳児ボツリヌス症と乳幼児突然死症候群の関係についての情報をまとめるとともに、ボツリヌス菌およびボツリヌス毒素の検出方法について紹介したい。

## 2. ボツリヌス菌

ボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) は耐熱性の芽胞を形成する偏性嫌気性グラム陽性桿菌である。本菌は芽胞の状態では土壌や海、川、湖などの泥砂中に広く存在する。酸化還元電位、温度やpHなど周囲の環境因子が増殖に適した状態に置かれると、芽胞は発芽し増殖する。ボツリヌス菌および類縁菌は、弛緩性麻痺を引き起こすボツリヌス神経毒素 (BoNT: botulinum neurotoxin) を産生する<sup>5)</sup>。本菌は産生する毒素によってA-G型の7つの血清型に分類される。A, B, EおよびF型はヒトにボツリヌス中毒を引き起こし、Cおよび

D型は哺乳動物や鳥類に中毒を引き起こす。BoNTは150 kDaのタンパク質毒素であり、菌が産生するタンパク質分解性の菌体外酵素や宿主の消化酵素によって、50 kDaの軽鎖と100 kDaの重鎖に開裂し、活性化される。BoNTは、コリン作動性の末梢神経に重鎖を介して結合し、細胞内にエンドサイトーシスした後、細胞質へ移行した軽鎖がメタロプロテアーゼ活性によってSNARE (soluble NSF attachment protein receptor) タンパク質を切断する。神経細胞におけるSNARE複合体の形成はシナプス小胞とシナプス前膜の融合を駆動し、小胞内容物が細胞外へ開口放出される。BoNTによるSNAREタンパク質の切断は開口放出を阻害し、興奮性神経伝達物質アセチルコリンの遊離を阻害することによって筋肉の弛緩性麻痺を引き起こす。

## 3. ボツリヌス中毒

ボツリヌス中毒は、食餌性ボツリヌス症、乳児ボツリヌス症、成人腸管ボツリヌス症および創傷ボツリヌス症の4つの症型に分類される。食餌性ボツリヌス症は、汚染食品中でボツリヌス菌が増殖し、産生された毒素を経口摂取することにより発症する。ボツリヌス菌は偏性嫌気性菌であり、真空包装食品や手作りのソーセージ、瓶詰や缶詰などを原因食品として集団食中毒事例が発生している。本邦では、からし蓮根やあずきぱっとうの真空包みや、魚と野菜を米麴に漬けて発酵させるいずし (飯寿司) などを原因食品とした事例が挙げられる。乳児ボツリヌス症と成人腸管ボツリヌス症は、ボツリヌス菌芽胞が混入した食品を経口摂取することにより発症する。健康な成人は、ボツリヌス菌芽胞を経口摂取しても腸管内に菌が定着しないため、ボツリヌス症を発症しない。しかし、腸内細菌叢の未成熟な乳児または抗生物質の投与や外科手術によって腸内細菌叢が乱れた成人の腸管内では、ボ

ツリヌス菌芽胞が発芽・増殖し、毒素を産生する。創傷ボツリヌス症は、傷口にボツリヌス菌が感染することにより発症する。

#### 4. 乳児ボツリヌス症

ボツリヌス菌は、乳児期の限定された期間に感染しやすいことが知られている。マウスをモデルとした実験系により、本菌の腸管定着には腸内細菌が重要な働きを担うことが明らかにされている<sup>6,7)</sup>。健康な成人の腸管内には1,000種類を超える細菌が100兆個以上定着しており、複雑な細菌叢（腸内フローラ）を形成している。離乳期までの新生児の腸管内では、ビフィズス菌が優勢な腸内フローラが形成されており、離乳食の摂食に従い成人と類似した腸内フローラが形成される<sup>8,9)</sup>。乳児ボツリヌス症は、生後3週から6ヶ月の乳児が発症することが多い<sup>10)</sup>。つまり、この期間の未成熟な腸内フローラは、ボツリヌス菌の腸管定着を阻害できないため、感染が可能であることが示唆されている<sup>7)</sup>。乳児ボツリヌス症の感染源の1つとして、蜂蜜が特定されており、1歳未満の乳児に対して蜂蜜を与えないように厚生労働省が注意喚起を行っている（<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzendu/0000161404.pdf>）。

#### 5. 乳児ボツリヌス症の症状と治療

症状としては、便秘、哺乳力の低下、泣き声の低下、筋緊張低下（フロッピーインファント）や嚥下困難などを呈し、進行すると呼吸不全を起こし死亡する<sup>10)</sup>。乳児ボツリヌス症の治療は主に呼吸管理であり、ウマ抗毒素血清や抗菌剤を使用することは少ない。ウマ抗毒素血清は、早期投与により高い治療効果が現れるが、血清病の危険性がある。アメリカでは、ヒト抗毒素免疫グロブリン製剤BabyBIG<sup>®</sup>が承認されており、乳児ボツリヌス症の患児の回復を早め入院期間を短縮するのに大きな効果があることが報告されている<sup>11)</sup>。

食餌性ボツリヌス症と比較して、乳児ボツリヌス症の致死率は約3%と低い。食餌性ボツリヌス症では、毒素は小腸から効率よく吸収される<sup>5)</sup>。一方で、乳児ボツリヌス症では、盲腸から結腸で発芽・増殖した菌が毒素を産生し、血中へ移行する毒素量は少ないと考えられている。乳児ボツリヌス症では、大腸で他の菌やウイルスの混合感染した場合、または盲腸で産生された毒素により回腸-盲腸弁が麻痺をきたし、毒素が回腸へ逆流した場合などは大量の毒素が吸収され、突然死を引き起こすと考えられている<sup>12)</sup>。

#### 6. 乳幼児突然死症候群 (SIDS)

厚生労働省SIDS研究班が作製した「乳幼児突然死症候群 (SIDS) 診断ガイドライン (第2版)」([http://www.mhlw.go.jp/bunya/kodomo/sids\\_guideline.html](http://www.mhlw.go.jp/bunya/kodomo/sids_guideline.html))によると、乳幼児突然死症候群 (SIDS: sudden infant death syndrome) は、「それまでの健康状態および既往歴から死亡が予測できず、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。SIDSは生後2ヶ月から6ヶ月の乳児が多く、乳児ボツリヌス症の発症年齢の分布とよく一致する<sup>10)</sup>。SIDSの原因は不明だが、睡眠中に突然死状態で発見されるケースが多く、うつぶせ寝が危険因子として重要視されている。アメリカでは、SIDSを未然に防ぐ目的として、乳児のあおむけ寝を推奨する「Back to Sleep」キャンペーン（現在は「Safe to Sleep」キャンペーン）の開始後、SIDSの発症数が半数以下まで減少した。本邦では、厚生労働省が毎年11月をSIDSの対策強化月間に定めており、SIDSの発症リスクを低くする3つのポイントとして(1)1歳になるまで、寝かせる時はあおむけに寝かせること、(2)できるだけ母乳で育てることおよび(3)保護者等はたばこをやめることを挙げて啓蒙活動を実施している。イギリスでは、突然死した乳児の血液、脳脊髄液、肺および脾臓から細菌培養を行った結果、感染症以外の死因（非感染性死因）が特定された症例211例中19例（9%）で黄色ブドウ球菌 (*Streptococcus aureus*)、3例（1%）で大腸菌 (*Echerichia coli*) が検出された一方で、SIDSと診断された症例1,628例中262例（16%）で黄色ブドウ球菌、93例（6%）で大腸菌が検出されており、それぞれの差は有意であると報告された<sup>13)</sup>。以上のように、因果関係は不明だが、SIDSの原因の1つとして細菌感染の関与が示唆されている。

#### 7. 乳児の突然死と乳児ボツリヌス症

乳児ボツリヌス症では、前駆症状なしに呼吸不全を引き起こし死亡する例がある。諸外国では、原因不明の乳児突然死と乳児ボツリヌス症の関与が示唆されている。アメリカでは、SIDSと診断された211例中9例（4.3%）<sup>2)</sup>、スイスでは59例中9例（15%）<sup>3)</sup>およびドイツでは57例中11例（19%）<sup>4)</sup>からボツリヌス菌またはボツリヌス毒素が検出された。乳児ボツリヌス症の死亡率が低いこと、また中毒を発症していない乳児の糞便から、一時的にボツリヌス菌および毒素が検出された例がある<sup>14)</sup>ことから、検体からのボツリヌス菌またはボツリヌス毒素の検出されたことによる乳児ボツリヌス

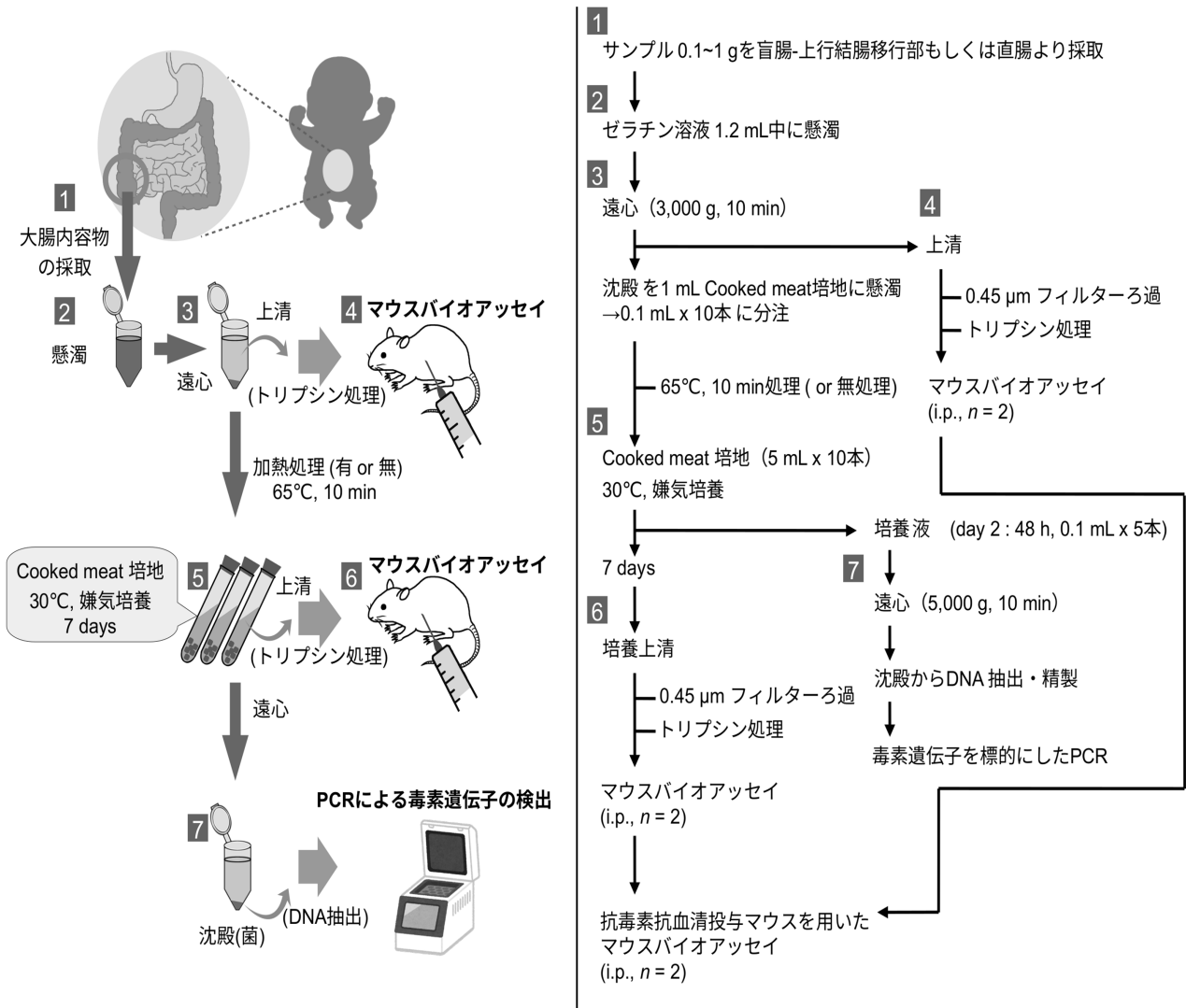


図1. 糞便サンプルからのボツリヌス菌およびボツリヌス毒素の検出方法

(1,2) 盲腸から上行結腸移行部もしくは直腸から 0.1 ~ 1.0 g の糞便を回収し、ゼラチン溶液に懸濁する。(3,4) 遠心後、懸濁上清を 0.45 μm フィルターでろ過し、トリプシンで毒素を活性化する。活性化上清をマウスに腹腔内投与し、ボツリヌス症の発症および致死を観察する。(5) (3) の沈殿をクックドミート培地に懸濁する。加熱処理群は、菌の発芽を促進するために、65°C で 10 分間加熱する。加熱処理群と無処理群をクックドミート培地に添加し、30°C で 7 日間嫌気培養する。(6) 培養上清を 0.45 μm フィルターでろ過し、トリプシンで毒素を活性化する。活性化上清をマウスに腹腔内投与し、ボツリヌス症の発症および致死を観察する。(7) 培養液から DNA を抽出し、ボツリヌス毒素遺伝子を標的にした PCR を行う。(4,7) マウスバイオアッセイで陽性の場合、抗毒素抗血清を投与したマウスで再度マウスバイオアッセイを行う。



症の診断と乳児突然死の死因との直接的な因果関係の考察には慎重な議論が必要である。本邦ではこれまでに、SIDSと診断された症例からボツリヌス菌およびボツリヌス毒素が検出された報告はない。一方で、本邦ではSIDSと乳児ボツリヌス症の関連について着目した調査は行われておらず、本邦における原因不明の乳児突然死と乳児ボツリヌス症の関与は不明である。

## 8. ボツリヌス菌および毒素の検出

ボツリヌス菌およびボツリヌス毒素の検出方法は、国立感染症研究所がボツリヌス病原体検査マニュアル (<http://niid.go.jp/niid/images/lab-manual/botulism121207.pdf>) を公開している。上記資料を参考に改変を加えた筆者らのプロトコールを図1に示す。

1g程度の糞便および血清を採取後、糞便は保存容器内の空気を窒素ガスで置換し、解析を開始するまで-80℃で保存する。糞便をゼラチン溶液に懸濁し、上清を回収する。ボツリヌス毒素を活性化するために上清をトリプシン処理する。希釈した活性化上清をマウスに腹腔内投与し、ボツリヌス中毒の発症および抗毒素血清を用いた中和試験によってボツリヌス毒素の有無を検出する(マウスバイオアッセイ)。クックドミート培地を用いて解析サンプルから増菌培養を行う。65℃で10分間加熱処理することで芽胞の発芽を促進し、非芽胞形成菌の増殖を抑制する。30℃で7日間嫌気培養した培養液上清を前処理し、上記のマウスバイオアッセイにより毒素の有無を検出する。また、核酸抽出キットを用いて培養液からDNAを精製し、PCR法によりボツリヌス毒素遺伝子を検出する。ボツリヌス毒素遺伝子の中には、実際には毒素を産生しないサイレント遺伝子が存在しており、PCR法の陽性だけではなくマウスバイオアッセイを用いた毒素産生の確認が必須である。血清はトリプシン処理や希釈せず、マウスバイオアッセイに供する。

上記検査マニュアルによると、食餌性ボツリヌス症の診断に際して、弛緩性の麻痺をとともう臨床所見とともに「患者の喫食した残りの食品、又は同一ロットの製品から、ボツリヌス毒素又はボツリヌス菌が検出された場合」には、糞便または血清から毒素が検出されない場合でもボツリヌス食中毒と診断する。また、ボツリヌス症の診断に際して、糞便からボツリヌス毒素が検出されても、ボツリヌス菌が分離できない事例もあることから、臨床所見とともに「糞便、血清中或いは創傷部等の患者材料からボツリヌス毒素が検出された場合」や「抗毒素治療が施され顕著な治療効果が認められた場合」にはボツリヌス症として診断する

ことが提唱されている。ボツリヌス菌およびボツリヌス毒素は感染症法で特定二種病原体に指定されており、保管・使用は厚生労働省にあらかじめ申請し許可を受けなければならない。金沢大学では、医薬保健研究域医学系細菌学講座にボツリヌス菌およびボツリヌス毒素を保管・使用する特定病原体等取扱施設が設置されている。また、ボツリヌス症は四類感染症に指定されており、診断後は直ちに管轄保健所への届出が必要になる。届出については厚生労働省の「感染症法に基づく医師および獣医師の届出について」(<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01-04-32.html>)を参照されたい。

## 9. おわりに

乳児ボツリヌス症は、アメリカでは年間100例程度の報告があるが、本邦では年間1-2例程度の稀な感染症である。日本とアメリカで発生件数が大きく異なる要因として、食文化や生活様式の違い、または各国の環境中に存在するボツリヌス菌の種類(血清型)や量が異なることが考えられる。乳児ボツリヌス症のほとんどはA型菌とB型菌に起因する。アメリカの土壌からはA型菌とB型菌が多く検出され<sup>15)</sup>、日本の土壌からはC型菌とE型菌のみが検出される<sup>16)</sup>。本邦では、乳児ボツリヌス症の発生件数は少ないため本症に対する医師の臨床経験が少ない。また、SIDS診断ガイドラインで指定されている迅速診断キットはインフルエンザウイルス、RSウイルス、ロタウイルス、ヒトメタニューモウイルス、アデノウイルス、ノロウイルスやA群レンサ球菌(GAS: group A streptococcus)を対象にしているが、ボツリヌス菌は含まれていない。以上のことから筆者らは、本邦における乳児突然死の中に見逃された乳児ボツリヌス症が含まれていると考えており、その調査研究を行うために本学の法医学講座と細菌学講座を中心に連携した研究体制を構築している。今後、調査研究を進めていくことにより本邦における突然死に含まれる乳児ボツリヌス症の実態を明らかにしていきたい。

## 謝 辞

本総説の執筆にあたり、ご指導承りました金沢大学医薬保健研究域医学系法医学 塚正彦教授に深謝いたします。また、ご指導承りました金沢大学医薬保健研究域医学系細菌学 藤永由佳子教授および松村拓大講師、東京都健康安全研究センター 門間千枝博士、国立感染症研究所 岩城正昭博士に感謝の意を表

します。最後に、執筆の機会を与えてくださいました金沢大学十全医学会誌編集委員長の杉山和久教授ならびに関係者の方々に厚く御礼申し上げます。

### 参 考 文 献

- 1) 厚生労働省「令和元年(2019)人口動態統計(確定数)の概況」(<http://mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/kakutei19/index.html>)
- 2) Arnon SS, Midura TF, Damus K, Wood RM, Chin J. Intestinal infection and toxin production by *Clostridium botulinum* as one cause of sudden infant death syndrome. *Lancet* 311: 1273-1277, 1978
- 3) Sonnabend OAR, Sonnabend WFF, Krech U, Molz G, Sigris T. Continuous microbiological and pathological study of 70 sudden and unexpected infant deaths: Toxigenic intestinal *Clostridium botulinum* infection in 9 cases of sudden infant death syndrome. *Lancet* 325: 237-241, 1985
- 4) Böhnel H, Behrens S, Loch P, Lube K, Gessler F. Is there a link between infant botulism and sudden infant death? Bacteriological results obtained in central Germany. *Eur J Pediatr* 160: 623-628, 2001
- 5) Schiavo G, Matteoli M, Montecucco C. Neurotoxins Affecting Neuroexocytosis. *Physiol Rev* 80: 717-766, 2000
- 6) Moberg LJ, Sugiyama H. Microbial ecological basis of infant botulism as studied with germfree mice. *Infect Immun* 25: 653-657, 1979
- 7) Wells CL, Sugiyama H, Bland SE. Resistance of mice with limited intestinal flora to enteric colonization by *Clostridium botulinum*. *J Infect Dis* 146: 791-796, 1982
- 8) Backhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, Li Y, Xia Y, Xie H, Zhong H, Khan MT, Zhang J, Li J, Xiao L, Al-Aama J, Zhang D, Lee YS, Kotowska D, Colding C, Tremaroli V, Yin Y, Bergman S, Xu X, Madsen L, Kristiansen K, Dahlgren J, Wang J. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host Microbe* 17: 690-703, 2015
- 9) Gosalbes MJ, Llop S, Valles Y, Moya A, Ballester F, Francino MP. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin Exp allergy* 43: 198-211, 2013
- 10) Arnon SS. Infant botulism. *Ann Rev Med* 31: 541-560, 1980
- 11) Arnon SS, Schechter R, Maslanka SE, Jewell NP, Hatheway CL. Human botulism immune globulin for the treatment of infant botulism. *N Engl J Med* 354: 462-471, 2006
- 12) Peterson DR, Eklund MW, Chinn NM. The sudden infant death syndrome and infant botulism. *Rev Infect Dis* 1: 630-636, 1979
- 13) Weber MA, Klein NJ, Hartley JC, Lock PE, Malone M, Sebire NJ. Infection and sudden unexpected death in infancy: a systematic retrospective case review. *Lancet* 31: 1848-1853, 2008
- 14) Arnon SS, Chin J. The clinical spectrum of infant botulism. *Rev Infect Dis* 1: 614-624, 1979
- 15) Koepke R, Sobel J, Arnon SS. Global occurrence of infant botulism, 1976-2006. *Pediatrics* 122: e73, 2007
- 16) 中村信一. ボツリヌス菌の疫学. 日本食品微生物学会雑誌 23: 1-5, 2006