

図2. 全ゲノム情報を用いた *E.coli* O111 SNP 系統解析

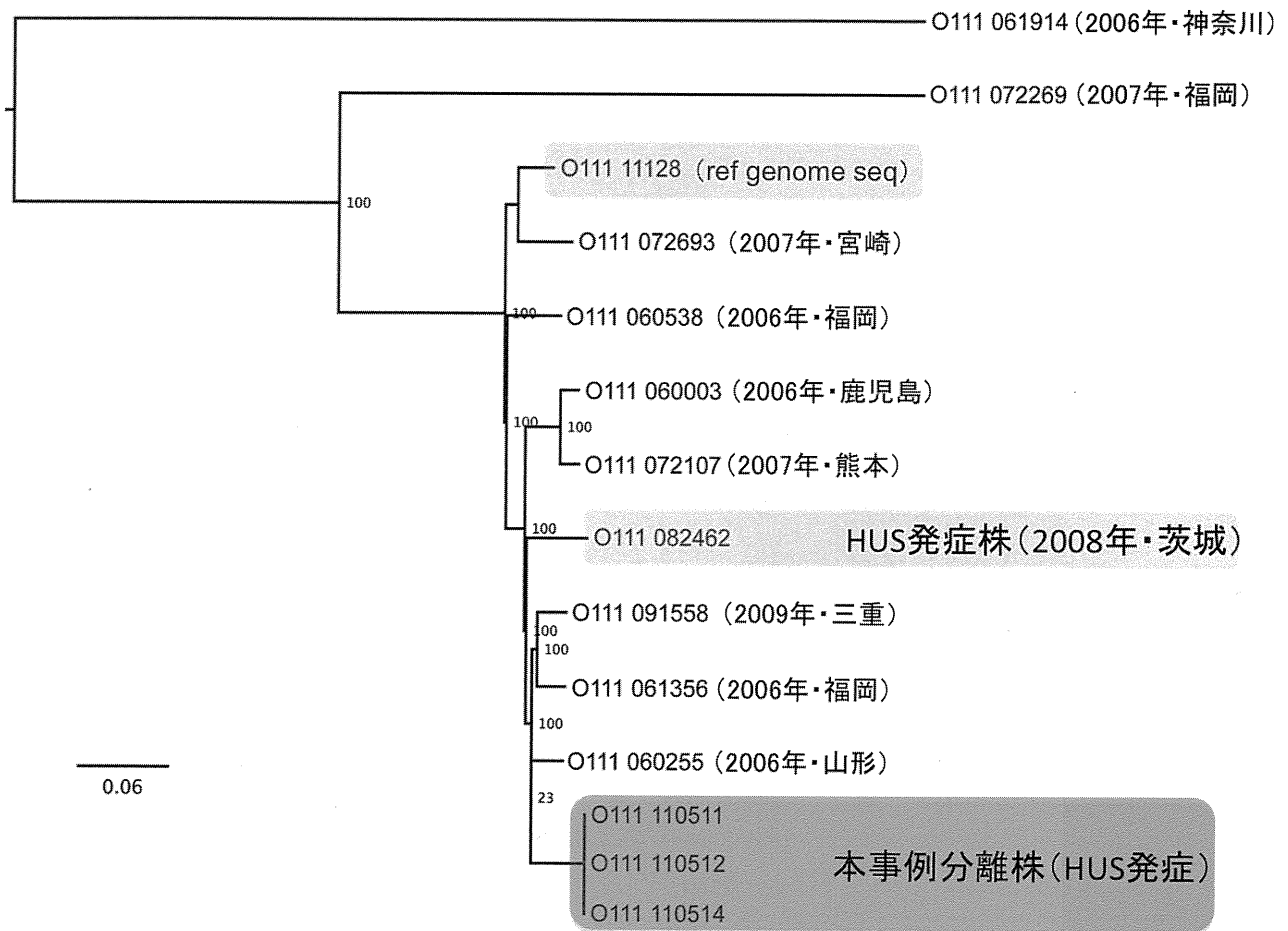


図3. 本事例分離株110511および110512のファージ挿入推定箇所

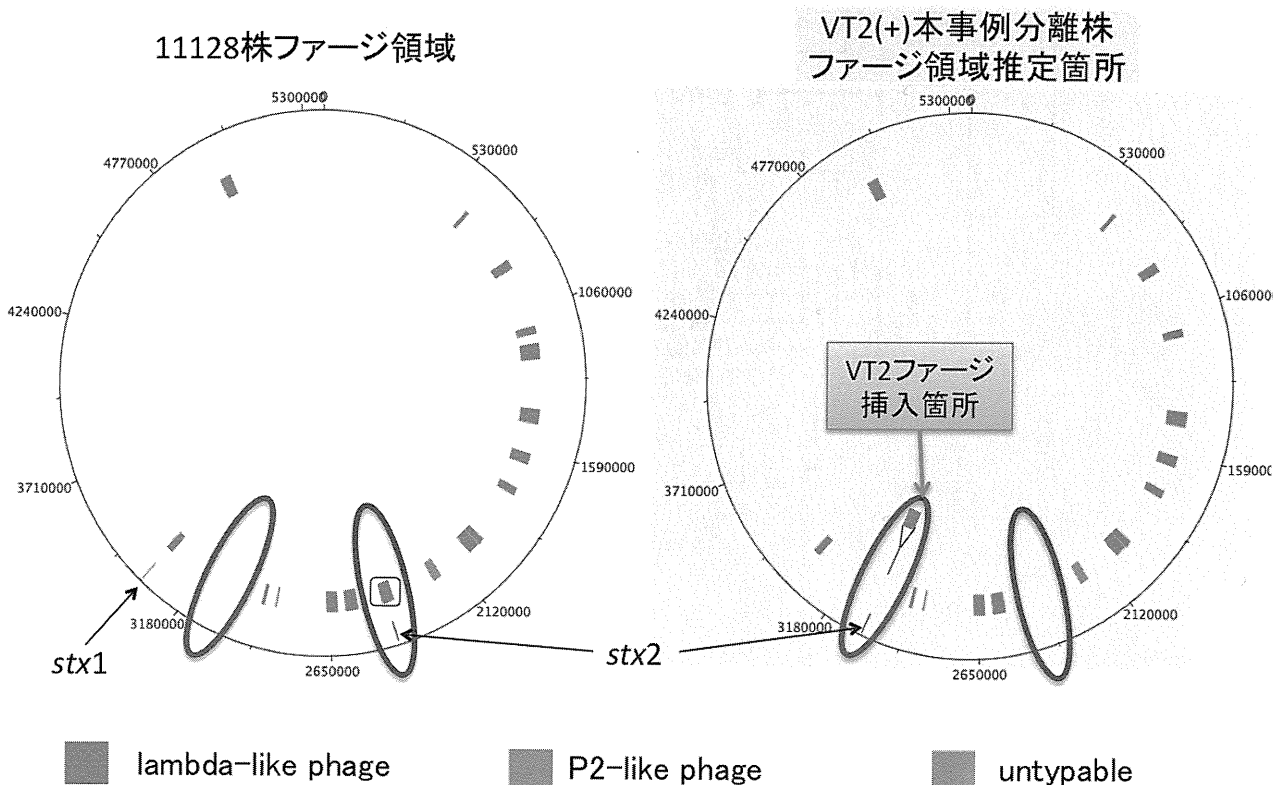


表5 O111分離株のargWのファージ挿入の有無

	Strain name	Integration of prophage at <i>argW</i>	VT1	VT2
本事例株 (HUS)	110511	+	-	+
	110512	+	-	+
	110514	-	-	-
HUS発症株 (2008年・茨城)	091558	-	+	-
	082426	+	+	+
	072693	-	+	-
	072269	+	+	+
	071207	+	+	+
	061914	-	+	-
	061356	+	-	+
	060538	-	+	-
	060255	+	+	+
	060003	+	-	+
	11128 (ref genome seq)	-	+	+

図4. EHEC O111および O157のゲノム比較

外輪から番号を付与し、中心に O157 TW14359 の ORF 情報を図示している。濃淡が薄くなる程、TW14359 の ORF への相同性が低くなる。

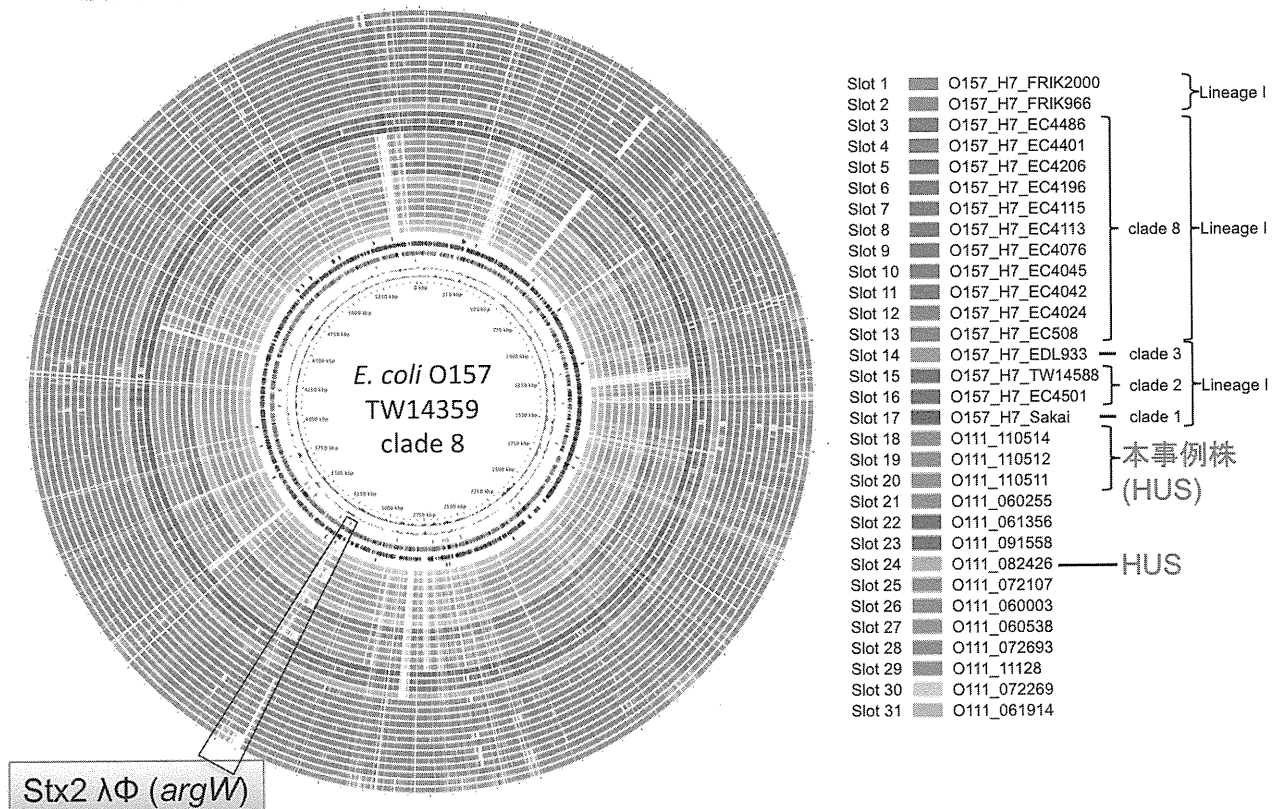


図5. 本事例分離株110512の完全長プラスミド pEBS512-1の模式図

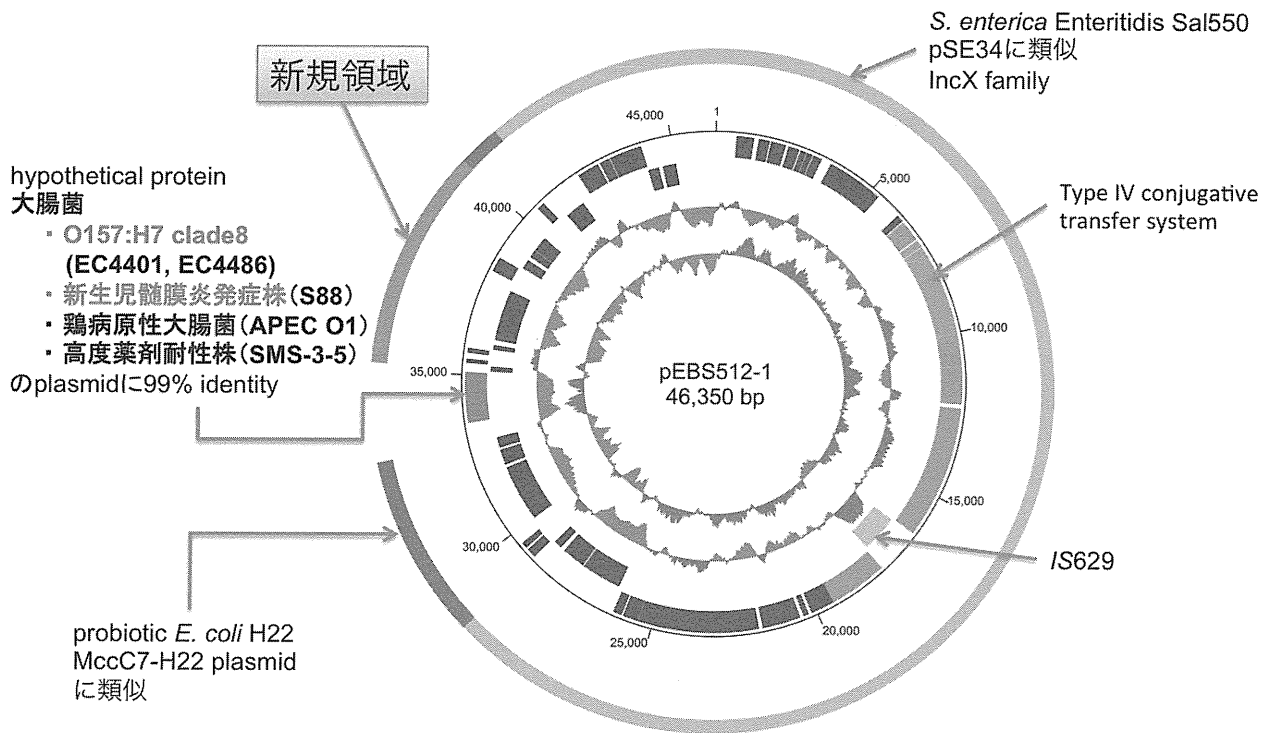


図6. 本事例分離株110512の完全長プラスミド pEBS512-2および pEBS512-1の模式図

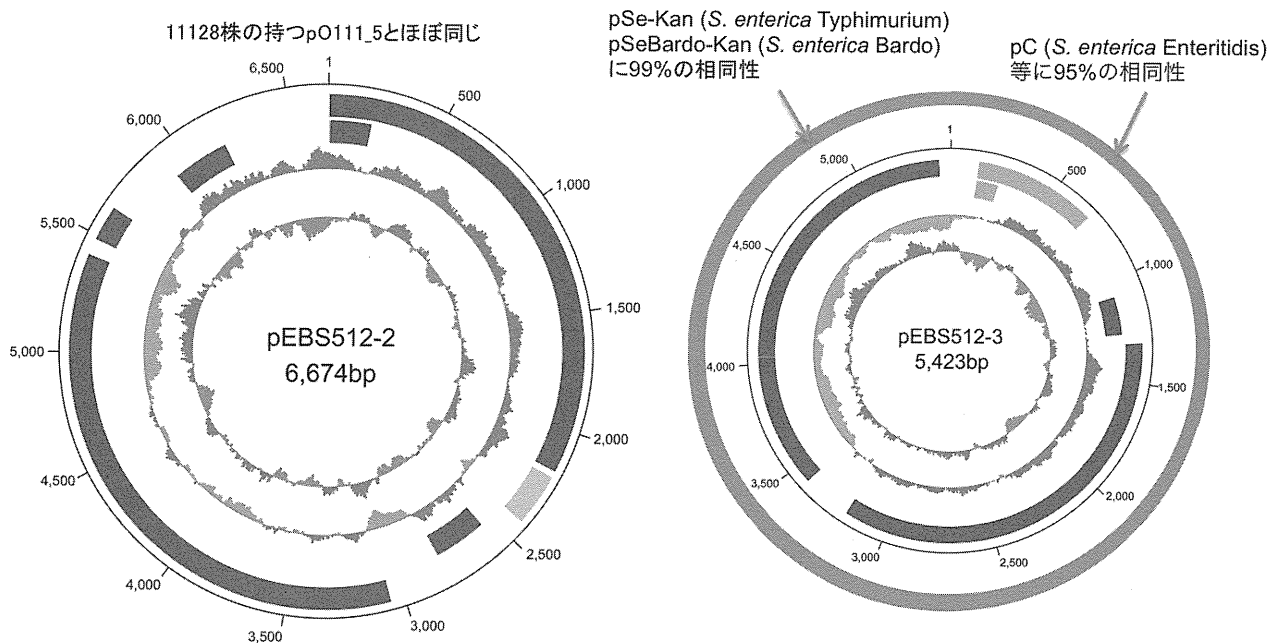


表6 O111分離株のplasmidの有無

	<i>E. coli</i> O111 str.	pEBS512-1	pEBS512-2	pEBS512-3
えびす (HUS)	110511	+	+	+
	110512	+	+	+
	110514	+	+	+
HUS発症株 (2008年・茨城)	091558	-	-	-
	082426	-	-	-
	072693	-	-	-
	072269	partial	-	-
	071207	-	-	-
	061914	-	partial	-
	061356	-	+	-
	060538	-	-	-
	060255	partial	-	-
	060003	-	-	-
	11128 (ref genome seq)	-	+	-

図7. 本事例患者および成人健常者糞便の網羅解読解析結果および細菌叢解析

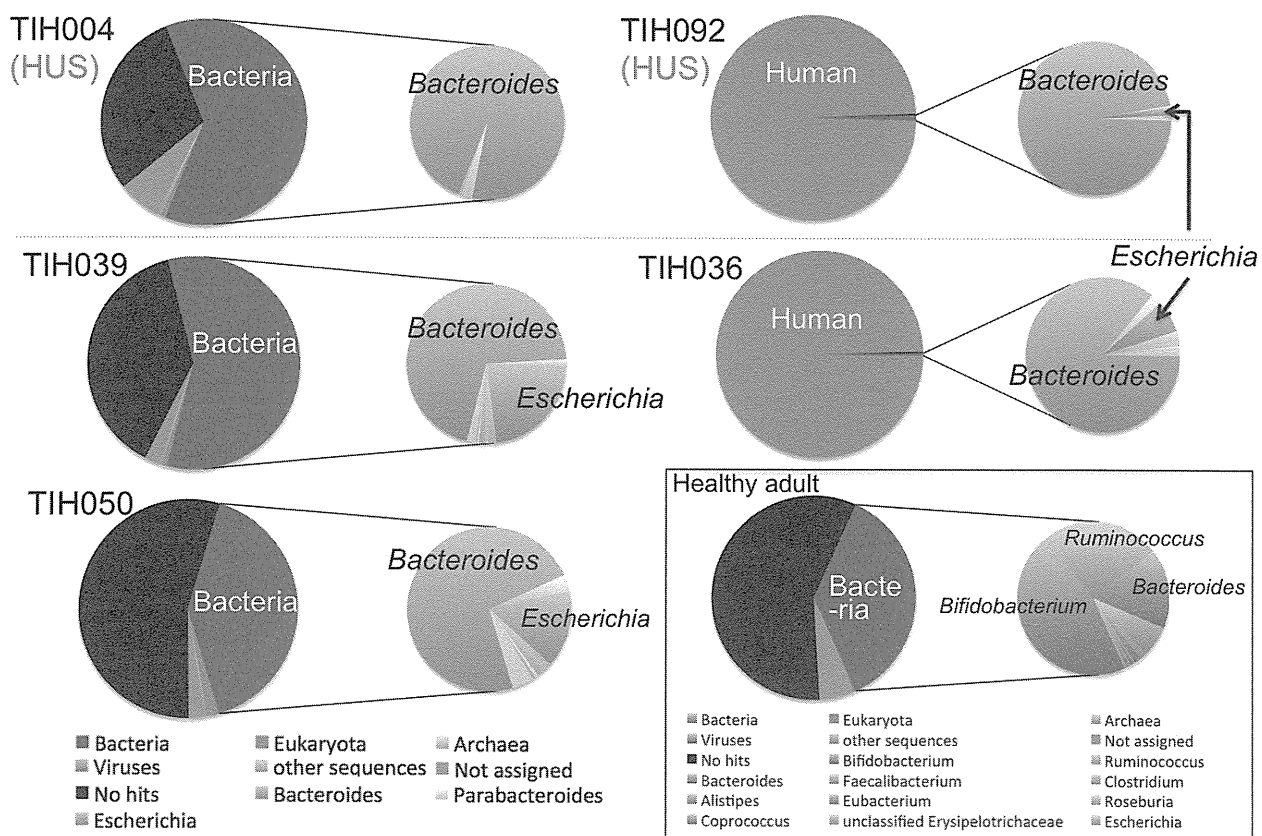
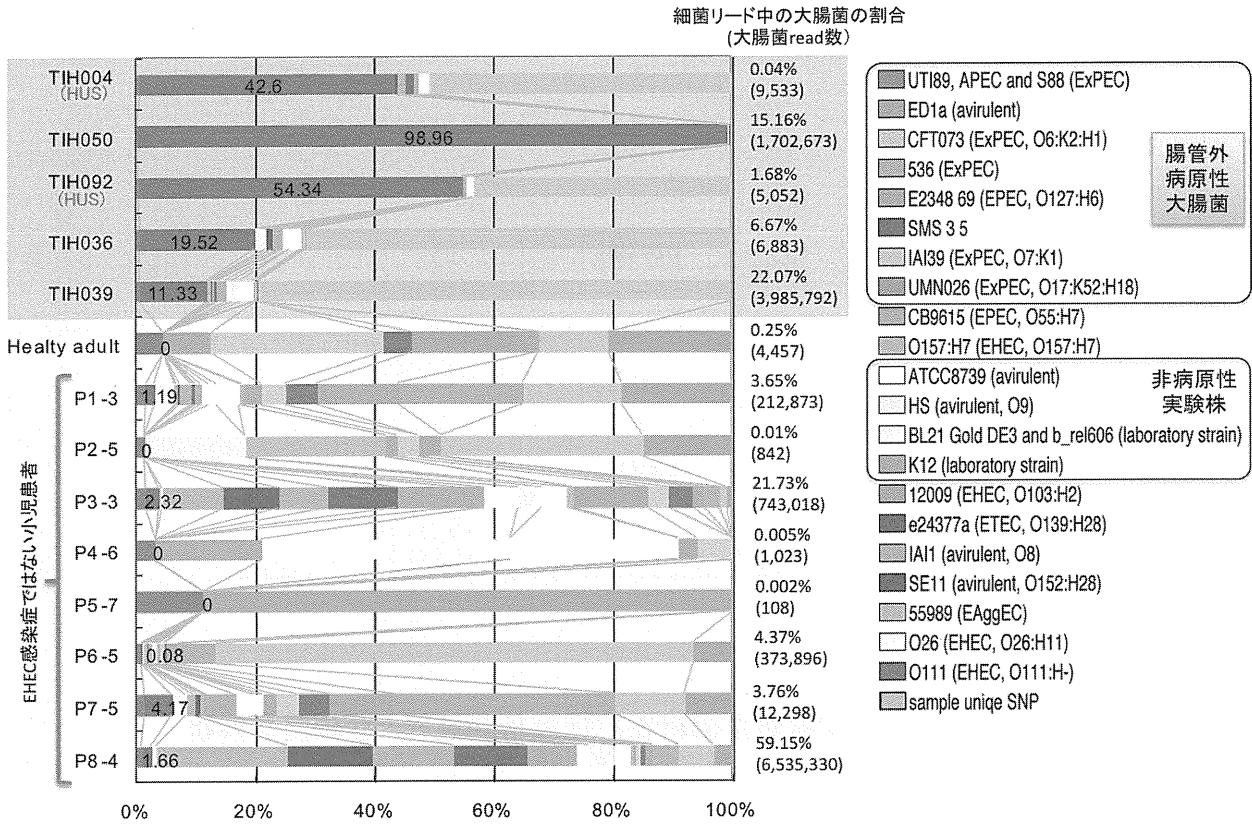


図8. 各検体糞便中の存在比率

棒グラフ中の数字は、O111の系統に含まれる大腸菌の割合を示す。



重症例の概括と成人例の臨床像の解析

研究協力者 石田陽一 富山市立富山市民病院

研究要旨 2011年4月から5月にかけて富山県を中心に発生した腸管出血性大腸菌(EHEC) O-111 アウトブレイクにおける HUS 合併症例の臨床像を検討した。便検査あるいは血清抗体で EHEC O-111 が検出された確定例は 85 例であった。HUS 発症が 34 例 (40.0%)、死亡が 5 例 (5.6%) と重症化が高頻度であった。メーリングリストを開設して治療経過などを情報共有したことにより、ステロイドパルス療法などの血管炎や抗サイトカイン療法を意識した治療が選択される傾向があった。EHEC 感染症では HUS 発症等の重症化を早期に探知して脳症発症に備えることが重要と考えられた。

A. 研究目的

2011年4月から5月にかけて富山県を中心に発生した腸管出血性大腸菌(EHEC)O-111 アウトブレイクにおける溶血性尿毒症性症候群 (HUS) 合併症例の臨床像を明らかにすることにより、今後の症例への対処方法に役立てる。

B. 研究方法

臨床情報は HUS 合併症例入院施設への調査票記入依頼とチャートレビューによりデータを収集した。なお、本研究において HUS の定義は、小児腎臓病学会ガイドライン・厚生労働省「一次、二次医療機関のための腸管出血性大腸菌 (O157 等) 感染症治療の手引き (改訂版)」における血栓性微小血管炎 (血栓性血小板減少性血管炎) による急性腎不全を原則としたが、急速に進行する重症例が多かったことから早期探知を目的として 2011 年のドイツの O-104 アウトブレイクにおける HUS の Clinical criteria を参考に血小板減少を $150,000\text{cells}/\text{mm}^3$ 以下とした定義も用いて検討した。

また、急性脳症の定義は、中枢神経症状を伴い、画像所見または脳波所見にて異常を認めたものとした。

(倫理面への配慮)

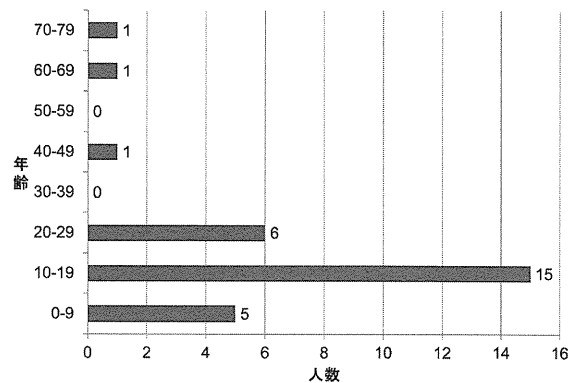
個人情報特定できないように、ファイルは暗号化して管理し、最終的には連結不可能匿名化して保管する。

C. 研究結果

2011年4月に焼き肉チェーン店での喫食者に集団食中毒が発生した。便検査あるいは血清抗体で EHEC O-111 が検出された確定例は 85 例であった。

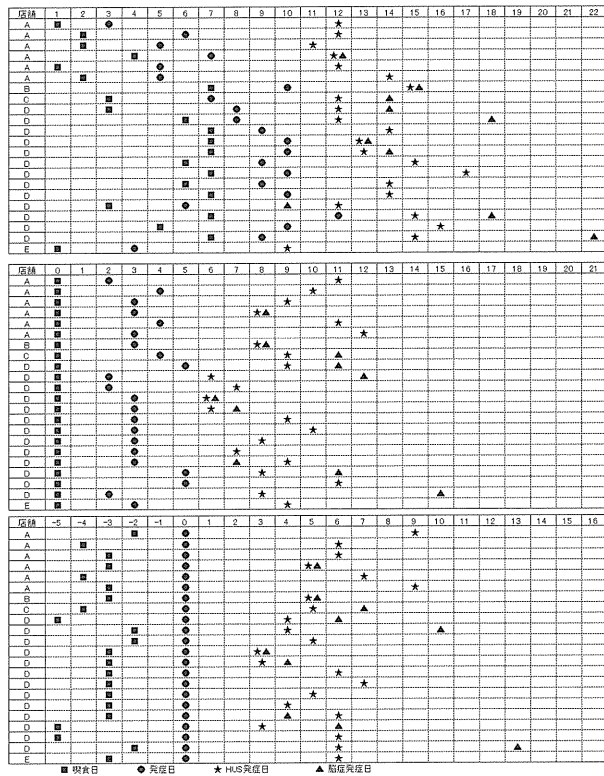
主治医が HUS と判断し症例定義にも合致した症例は 32 例 (37.6%)、主治医は HUS と判断していなかったが症例定義を満たしていた症例を加えると 34 例 (40.0%) であった。年齢は 1 歳から 70 歳で 10 代が多かった。15 歳以上の成人例は 24 例であった。

HUS合併症例の年齢分布



85 例中脳症は 17 例 (20.0%) で、HUS 34 例の 50% に発症していた。成人例は 10 例であった。

下図は主治医が HUS と診断した成人 22 例の発症経過を焼き肉店舗毎に図示したものである。上段はカレンダー表示で並べたもので、中段は喫食日を 0 日として並べたもので、下段は発症日を 0 日として並べたものである。■は喫食日、●は発症日、★は HUS 発症日、▲は脳症発症日を示している。成人では潜伏期間はほぼ一定であるが、発症から HUS にいたるまでの期間にはバラツキがみられた。



85 例中死亡は 5 例(5.9%)で、HUS34 例の 14.7%であった。死因は脳症で、年齢は 6・6・14・43・70 歳であった。70 歳の症例は関節リウマチ・糖尿病の基礎疾患があったが、それ以外には基礎疾患はなかった。脳症発症から死亡まで 1・3・5・5・133 日で、133 日の症例も脳症発症当日から意識障害・全身けいれんで気管内挿管が施行され長期間の人工呼吸器管理後に亡くなられたものであり、5 例とも極めて急速な経過であった。今回の O-111 アウトブレイクでは重症化が顕著であり、重症例が相次いだ段階で関係者間のメーリングリストを開設して治療経過などを情報共有した。

HUS34 例の細菌学的診断結果では、便培養陰性の血清診断が 13 例、O-111 培養陽性 21 例中 17 例が VT2 陽性で、VT1 陽性は 1 例も無かった。O-157 やノロウイルスの混合感染が見られた。下痢・嘔吐以外には鎮痛・鎮静を要するほどの強い腹痛と臓器浮腫・腔水症を呈する症例が目立った。腹部 CT では上行結腸から左半結腸にまで及ぶ結腸壁肥厚を呈する例があった。発病から HUS 発症までの平均期間は 5.1 日(成人 5.5 日)であった。

最初の抗菌薬は FOM が多かったが、成人では LVFX・CPFX・CTRX・CTM・CMZ・CEZ も使用されていた。成人 HUS の 24 例で血液浄化療法が 14 例(CHDF6 例、HD5 例、PDF2 例、PMX4 例、PE6 例)で行われた。また、パルス療法を含むステロイド投与が 5 例で行われた。他にも、メシル酸ナファモスタットやトロンボモジュリン α な

ど積極的治療も目立った。成人 HUS 診断時の Cr は平均 1.9mg/dl、最高 5.0mg/dl で、14 例中 6 例が RIFLE 分類の risk から injury で血液浄化療法が開始されていた。

HUS34 例中、脳症が HUS と同日あるいは翌日に発症したものは 11 例であり、死亡 5 例中では 4 例が HUS と同日あるいは翌日に発症していた。脳症は HUS の経過中に合併するのではなく並行して発症する印象であった。HUS 発症時に Hb<10.0g/dl は 6 例のみであり、脳症発症時で Hb<10.0g/dl は 5 例のみであった。したがって、溶血性貧血を認めて HUS の確定を待っているのは脳症への対応が遅れる可能性がある。今回の食中毒では入院時の白血球数が 4,500~28,700 (平均 14,948) cells/mm³、CRP が 0.14~9.06 (平均 2.6) mg/dl、体温が 36.3~38.6 (平均 37.3) °C と全身の炎症反応が強く、特に脳症発症時には白血球数が 9,600~58,990 (平均 26,086) cells/mm³、CRP が 1.09~19.09 (平均 9.1) mg/dl、体温が 37.1~39.5 (平均 38.1) °C と高熱を呈する症例が多かった。

発熱の影響を考慮する必要があるが HUS 発症直前に尿蛋白定性が陽性となる症例が見られた。

D. 考察

今回の集団食中毒では重症例が多く、進行も急速であり、救命のためには積極的な治療介入が必要であった。HUS による腎障害や血球減少は致命的なものではなかったが、HUS 発症と相前後して脳症を発症して全身状態が悪化する症例が多く HUS をより早期から探知して治療介入を検討することが重要と考えられた。HUS の診断基準では Hb の低下を待っているのは対応が遅れる可能性がある。血小板数の基準を含めて検討が必要と考えられた。また、クリニックの段階で HUS 発症を探知できれば入院の基準が明確にできる。尿蛋白定性はクリニックでも可能な検査であり、早期探知の指標になり得るか検討の価値があると思われる。発熱や炎症反応亢進があり、メーリングリストでステロイドパルス療法の有用性が示唆されたこともあり、脳症のみならず HUS 発症の段階から、治療が血管炎や抗サイトカイン療法を意識していたものになっていたと推察された。

E. 結論

今回の EHEC アウトブレイクは従来報告より重症化率が高く進行も急速な症例が多かった。EHEC 感染症では劇症化に留意するとともに、アウトブレイク発生を認知した段階で行政および地域の医療機関で情報共有してステロイドパルスや血液浄化療法を積極的に行うか否かの判断を行うことの有用性が示された。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

平成 24 年 6 月、日本透析医学会総会（予定）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

小児例における臨床像の解析

研究分担者 宮脇利男 富山大学医学部小児科
研究協力者 種市尋宙 (富山大学小児科・助教)

研究要旨 本事例における集団感染は、本邦においてこれまでに経験したことのない重症度の高さで拡大した。その原因としては急性脳症の多発が挙げられる。小児は特に重症度が高かったため、その全体像の評価を主治医アンケートにて行った。小児患者は 20 例あった。罹患年齢の偏りはなく、臨床症状が強いほど、溶血性尿毒症症候群への進展のリスクとなっていた。便培養からは O111 が全体の 75% で検出されていた。小児患者のうち、溶血性尿毒症症候群合併症例は 10 例 (50%)、急性脳症合併例は 8 例 (40%) であった。小児死亡例は 3 例 (15%) であった。情報共有後から、メチルプレドニソルブ療法、急性血液浄化療法などの積極的な治療を開始し、その後は新たな死亡例が出ることはなかった。現在のわが国における医療レベルを考えると、腸管出血性大腸菌感染症のさらなる予後改善を目指す場合、HUS のみならず急性脳症に対する介入方法についての検討を行っていく必要があることを本事例は示していると思われる。

A. 研究目的

2011 年 4 月末から 5 月にかけて富山を中心に起きた焼肉チェーン店集団食中毒事例は、181 人の食中毒患者報告があり、最終的に 5 人の命を失う結果となった。その中でも、3 人の小児が犠牲となり、その要因として、これまで国内では経験したことのない腸管出血性大腸菌感染症 (以下 EHEC) による急性脳症の多数発生が認められた。また、溶血性尿毒症症候群 (以下 HUS) の発症率も異常に高く、各医療機関において、多くの混乱を起こした。本研究では小児例の解析を行い、本事例の全体像を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

地域ネットワークにより危急状態と判断し、立ち上げた EHEC 緊急メーリングリストで得た情報をもとに、大阪、仙台など他地域を含めて今回の焼肉チェーン店に関連した小児感染例を管理した施設を対象として、主に平成 23 年 7 月の時点で臨床アンケートを配布した。また、富山県内については、小児科のある全総合病院に対して、当該店にて喫食し、消化器症状を訴えて受診した患者の有無について確認を行った。各施設に臨床アンケートを郵送し、個別の症例について主治医に回答していただいた。

なお、本研究において溶血性尿毒症症候群の定義は、小児腎臓病学会ガイドラインに準拠した。また、急性脳症の定義は、中枢神経症状を伴い、画像所見または脳波所見にて異常を認めたものとした。

(倫理面への配慮)

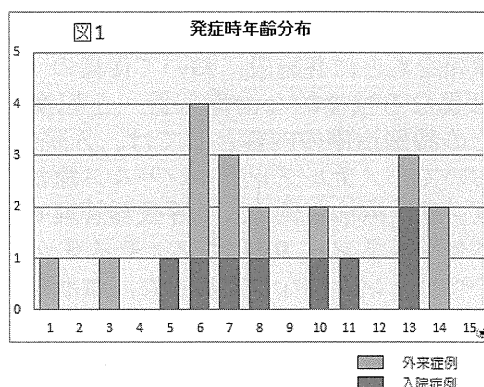
個人が特定できないように匿名でアンケートを実施し、アンケートで得た情報は電子ファイル化した。さらに個人情報のファイルは暗号化して管理した。

C. 研究結果

本事例において主治医が診断した 15 歳以下の小児患者数は 20 名であった。

原因とされるユッケの喫食は、20 例中 19 例で認められた。喫食量については、一口程度というごく少量の症例を少なくとも 4 例認めたが、一方で一人前以上と大量に摂取した症例もあり、かなり症例毎の幅があった。

図 1 に示すように各年代にて発症しており、入院例、外来例を比較しても年齢の偏りは認めなかった。入院症例は 20 例中 12 例であった。性差について、男児 11 例、女児 9 例と明らかな違いは認めなかった。



初診時の臨床症状について HUS 発症の有無で分けて比較を行った (表 1)。HUS 発症例はいずれの症状においても非発症例より割合が高かったが、特に腹痛、血便においては、大きな差異を認めた。また、HUS 発症群では、半数の症例が発熱をきたしていた。

表1 初診時臨床症状

	non HUS	HUS
症例数	10	10
発熱 (%)	3 (30)	5 (50)
下痢 (%)	7 (70)	10 (100)
腹痛 (%)	4 (40)	10 (100)
血便 (%)	2 (20)	9 (90)
嘔気/嘔吐 (%)	3 (30)	7 (70)
倦怠感 (%)	2 (20)	7 (70)

便培養の結果について、小児 20 例のうち、15 例 (75%) において O111 が検出された。その他に O157 も検出されており、O111 と O157 の重複感染例も 3 例に認められていた。また、ベロ毒素 (以下 VT) の検出について、20 例中 5 例で VT 陰性であり、いずれも O111 VT(-)群であった。その中の 1 例が HUS および脳症を合併した死亡症例であった。O111 VT2(+)が検出された群において、最も HUS が発症しており、重症度も高い傾向にあった。

経過中における中枢神経症状の合併は、20 例中 8 例 (40%) と高い割合で認められていた。これらに対して、全例で画像検査が行われており、CT, MRI 上では、両側対称性病変が視床外側や被殻およびその外側の白質に認められるという特徴があった。

抗菌剤の投与については、20 例中 18 例にて経過中に何らかの抗菌剤が投与されていた。主に投与されていた抗菌剤は、FOM が 14 例と全体の 7 割で使用されていた。

本事例においては、アウトブレイク当初、死亡例、重症例が相次いだことから、地域ネットワークの情報をもとに各施設において従来の HUS 管理とは異なる積極的な治療方針へと転換していた。その特殊治療の内容としては、入院症例 12 例において、メチルプレドニンパルス療法 7 例、γグロブリン療法 7 例、人工呼吸器管理 6 例、トロンボモジュリン α 9 例、ナファモスタット 6 例、低分子ヘパリン 5 例などであった。血液浄化療法に関しては、持続血液濾過透析 (CHDF) 8 例、血液透析 (HD) 3 例、plasma dia filtration(PDF) 3 例が行われており、エンドトキシン吸着療法

(PMX-DHP) も 5 例に行われていた。

転帰に関しては、小児において死亡は 3 例、いずれも死因は急性脳症であり、HUS 管理に関連した死亡例はなかった。後遺症としては、現時点で判明しているものは、軽度腎機能障害 (軽度蛋白尿) が 2 例のみであった。

D. 考察

今回の小児例において、原因とされているユッケの喫食量は様々であった。一口程度とごく少量しか摂取していないにも関わらず、HUS, 脳症を合併した症例がある一方で、半分から 1 人以上食べたが軽い下痢、腹痛で治癒した症例もある。重症化の要因として、ベロ毒素の量が議論されているが、培養結果や喫食量から単独で説明できるものではないと思われた。腸管内で毒素産生が特異的に増幅するような環境がある場合は、その限りではなくなるが、現段階では、腸管内で EHEC が異常増殖し、毒素を多量に放出するような特異的な環境、条件についての報告は見あたらない。

臨床症状について、初診時に血便、腹痛の強い症例では、HUS へ進展するリスクが高く、これまでの報告と違いはない。一方、これまでの EHEC 感染症では、あまり前面に出ないとされていたが、4 割の患児が初診時から 37.5 度以上の発熱を認めており、入院症例の半数近くが 38.5 度以上の高熱を示し、全身性の炎症が病態として目立っていた。そしてこれらは特に中枢神経系において顕著であり、急性脳症の合併例が HUS 発症例の 80% と、驚くべき高い割合で発症していた。これまで、急性脳症、中枢神経症状の合併例が多いとされた EHEC 集団感染の報告はいくつか認められるが、ここまで高い数字で急性脳症を合併する報告はなく、本事例がいかにか特異的であったかが示されている。脳症例における画像所見については、ほとんどの症例において、共通した所見を呈していた。両側対称性病変であることがその特徴であることから全身性の病態が疑われる。従来 EHEC 感染に関連する脳症で言われていたベロ毒素による直接障害や血管内皮障害による梗塞は、主に局所型を説明する病態であり、本事例の多発したびまん性脳腫脹を呈する脳症の病態を説明する上では困難な点がある。インフルエンザ脳症の一病型として言われている「高サイトカイン血症に基づく脳症」という病態が基盤にあると考えられる。その根拠として、臨床的に発熱が強かったことや、血液検査で白血球数・CRP などの炎症関連マーカーの上昇、サイトカインプロファイル解析による炎症性サイトカインの上昇や剖検例において、血管透過性亢進に基づく血管周囲の間隙が脳組織全体の血管に強く認められたことなどが挙げられる。

これらから、EHEC 感染症における病態は、従来言われてきたベロ毒素の血管内皮障害に基づく臓器障害とは別に、感染症本来の全身性炎症という病態も同時に進行し、過去に散見される脳症合併例には、少なからず同様の病態が起きていたものと推測される。

そして、それらへの治療介入として、今回は多くの特殊治療が試みられたが、その中でも特記すべきはメチルプレドニンパルス療法と思われる。小児死亡例3例には投与される機会がなかったが、積極的な治療へ方針を転換した後に、各施設が本治療法を行い、投与された脳症例は全例生存し、後遺症は認められていない。本事例の脳症の病態をサイトカインストームと考えると、メチルプレドニンパルス療法の効果は病態制御として理解出来るものであり、結果として臨床上的効果も各施設で感じられていた。また、同様に生存者と死亡者を分けた可能性のある治療法としては、CHDF を主とした血液浄化療法やトロンボモジュリン製剤が挙げられる。死亡症例に対してはこれらの治療を施行できなかつた。いずれも病態からは抗炎症作用、炎症性サイトカインの制御に働いた可能性を考えるが、それらについては現在も検討中である。

その他の治療法に関しては、各施設で特殊治療が行われており、その効果に関して今後も種々の検討が必要と考えられる。

現在、本研究班において、富山県内の各病院を中心に感染者の臨床データを収集し、本事例の大規模な実態調査を行っている。今後は、これらのデータを元に、多くの事実が判明していくことと思われる。

E. 結論

日本小児腎臓病学会が示した「腸管出血性大腸菌感染症に伴う溶血性尿毒症症候群の診断・治療のガイドライン」により EHEC 感染症及び HUS の管理は全国各地で共有され、予後の改善に大いに役だってきたと思われる。そして、現在のわが国における医療レベルを考えると、EHEC 感染症における死亡の主な原因として、HUS ではなく急性脳症合併が最大のリスク因子となっている。予後のさらなる改善を目指す場合、初診時から腎症のみならず脳症に対する注意を払うとともに、脳症診断事例に対しては、メチルプレドニンパルス療法をはじめとした特殊治療による早期介入を行う必要があると思われた。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
 - 1) 種市尋宙,若杉雅浩,奥寺 敬,太田六車 崇,住田亮 ユッケ摂食による腸管出血性大腸菌集団感染に起因した急性脳症多発例への対応. 第39回日本救急医学会 2011,10,18-20 東京.
 - 2) 種市尋宙 腸管出血性大腸菌(EHEC)集団感染に起因した急性脳症多発例への対応～枠組みを越えた連携の重要性～ 第11回北陸小児救急・集中治療研究会 2011, 5, 14 金沢.
 - 3) 種市尋宙 腸管出血性大腸菌(EHEC)集団感染に起因した急性脳症多発例への対応～枠組みを越えた連携の重要性～ 第15回腸管出血性大腸菌感染症研究会 2011,7,15-16 大阪.
 - 4) 種市尋宙 腸管出血性大腸菌(EHEC)感染による急性壊死性脳症の画像所見 第26回日本小児科学会富山地方会 2011,7,10 高岡.
 - 5) 八木信一, 宮一志, 種市尋宙 腸管出血性大腸菌 O-111 ウイルス感染に認められた急性壊死性脳症の画像所見の推移について 平成23年富山県で認められた O-111 関連脳症の特異な画像所見を診断するために 第26回日本小児科学会富山地方会 2011,7,10 高岡.
 - 6) 野村恵子, 堀江貞志, 種市尋宙, 宮脇利男, 松倉裕喜 腸管出血性大腸菌 O-111 ステロイドパルス療法を行った HUS の1例 第26回日本小児科学会富山地方会 2011,7,10 高岡.
 - 7) 金兼弘和 教育講演 腸管出血性大腸菌 O111 の集団発生から学んだこと 第43回日本小児感染症学会 2011, 10, 29-30 岡山.
 - 8) 金兼弘和 腸管出血性大腸菌の outbreak から学んだこと 第16回 SRL 感染症フォーラム 2011, 12, 17 東京.
 - 9) 種市尋宙: 腸管出血性大腸菌 O-111 集団感染症で起きていたこと. 第5回小児集中治療研究会, 2012,3,8 筑波.
 - 10) 種市尋宙 腸管出血性大腸菌 O-111 集団感染の臨床像 第51回感染性腸炎研究会 2012,3,10 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

O111 感染とサイトカインプロファイル動態

研究協力者 清水正樹、谷内江昭宏、黒田文人（金沢大学医薬保健研究域医学系小児科）

研究要旨 EHEC 感染症における HUS を含む重症合併症に対する早期診断、病勢評価法を確立するため、EHEC O111 集団発生事例の患者 13 例、当科で治療を行った EHEC O157 感染症 8 例について、血清中の neopterin, IL-6, IL-8, TNF- α , sTNFR1, sTNFR2 濃度を ELISA 法で測定し、既知の重症化予測因子と比較検討した。炎症性サイトカインは出血性腸炎（HC）時には増加せず、重症例では HUS 発症後ごく短時間に急速に増加することが判明した。重症例では末梢血の白血球数および血清 LDH 値の HC から HUS までの変化率が有意に高かった。これらの結果から HUS の重症化には炎症性サイトカインが深く関与し、重症化病態は HUS 発症後急速に完成すると思われた。HC から HUS 発症までに白血球数や LDH が上昇する症例では重症化が予測され、早期の治療介入を要すると思われた。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌感染症に伴う溶血性尿毒症症候群(D+HUS)の病態には、炎症性サイトカインが関与している報告が散見されるが、経時的な動態や臨床症状との関連など不明な点も多い。今回我々は、EHEC 感染症におけるサイトカイン動態を明らかにするとともに、サイトカインプロファイルが重症度の評価や病勢のモニタリングに有用であるかを検討した。

B. 研究方法

EHEC O111 集団発生事例の患者 13 例、当科で治療を行った EHEC O157 感染症 8 例について、血清中の neopterin, IL-6, IL-8, TNF- α , sTNFR1, sTNFR2 濃度を ELISA 法で測定し、臨床症状や重症化予測因子として知られる検査所見（白血球数、CRP、総蛋白、Na、ALT、LDH）と比較検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は金沢大学医学部倫理委員会で承認を得た。

C. 研究結果

21 例のうち 15 例（O111 感染症 11 例、O157 感染症 4 例）は脳症や透析治療を必要とするような重症例だった。軽症例 6 例中 2 例は O111 感染症、4 例は O157 感染症だった。重症例では有意に HUS 発症時に炎症性サイトカインが高値だった。経時的な観察からは、これらの血清サイトカイン濃度は、出血性腸炎（HC）時には増加せず、重症例では HUS 発症後ごく短時間に急速に増加することが判明した。重症例では末梢血の白血球数および血清 LDH 値の HC から HUS までの変化率が有意に高かった。

D. 考察

これらの結果から HUS の重症化には炎症性サイトカインが深く関与し、重症化病態は HUS 発症後急速に完成すると思われた。HC から HUS 発症までに白血球数や LDH が上昇する症例では重症化が予測され、早期の治療介入を要すると思われた。

E. 結論

サイトカインプロファイルは病勢把握、治療効果判定に有用な指標となると思われた。

F. 健康危険情報

とくになし

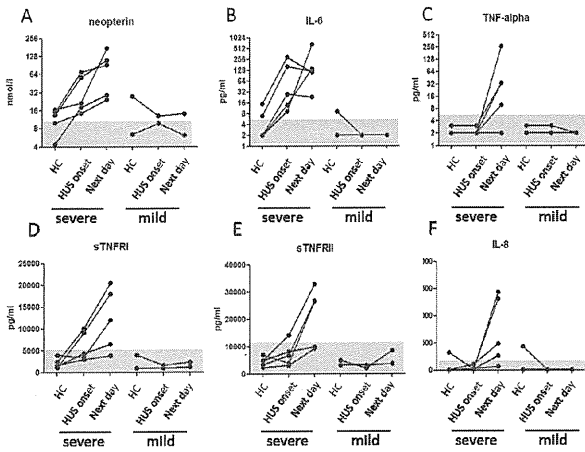
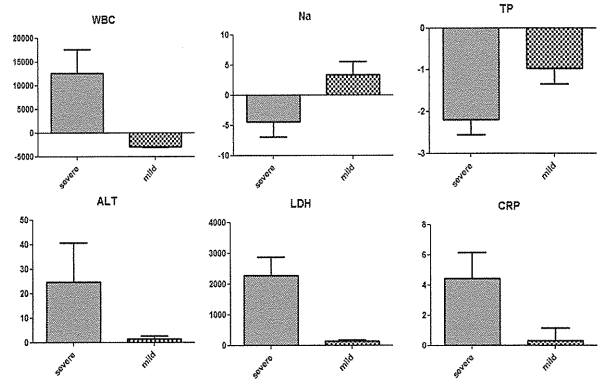
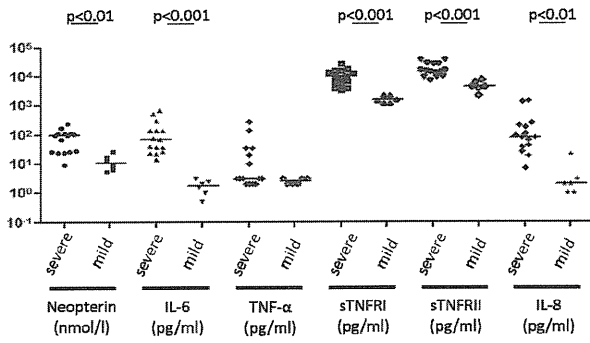
G. 研究発表

1. 論文発表
投稿中。
2. 学会発表
 - 1) 清水正樹、黒田文人、谷内江昭宏 腸管出血性大腸菌感染症に続発した溶血性尿毒症症候群におけるサイトカイン動態解析 第 43 回日本小児感染症学会総会 2011 岡山市
 - 2) 黒田文人、坂下なつみ、前田有香、池野郁、榊原康久、清水正樹、谷内江昭宏 EHEC 関連脳症におけるタウ蛋白の検討 第 43 回日本小児感染症学会総会 2011 岡山市
 - 3) 東馬智子、坂下なつみ、黒田文人、清水正樹、榊原康久、和田泰三、谷内江昭宏 志賀毒素（Stx）検出のための高感度フローサイトメトリー法の開発 第 43 回日本小児感染症学会総会 2011 岡山市
 - 4) 清水正樹、坂下なつみ、松永貴弘、藤木俊

寛、榊原康久、中山祐子、黒田文人、谷口巧、谷内江昭宏 Plasma Dia-Filtration が有効であった急性脳症を合併した腸管出血性大腸菌感染後溶血性尿毒症症候群の一例 第11回石川腎不全合併症研究会 2011 金沢市

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況



EHEC 脳症：画像カンファレンス報告

研究協力者 田中朋美、野村恵子、種市尋宙、宮脇利男（富山大学小児科）
伊藤実香（富山大学産婦人科）
中川裕康（富山市民病院小児科）
山田恵子（砺波総合病院小児科）
黒田文人（金沢大学小児科）
高梨潤一（亀田メディカルセンター小児科）
奥村彰久（順天堂大学小児科）
水口 雅（東京大学小児科）

研究要旨 今回の腸管出血性大腸菌（EHEC）/O111 感染による集団食中毒に伴い、多くの患者で HUS を発症し、さらに急性脳症の合併例が数多くみられた。急性脳症患者では、意識障害や痙攣、せん妄などの様々な神経学的症状が認められ、重症例においては HUS 発症の早期に脳症を合併していた。今回の重症化の原因を探る上でのひとつの手がかりとして、EHEC 脳症 10 症例の頭部画像所見について検討した。CT や MRI において、大多数の症例で両側対称性の視床病変が認められており、さらに両側被殻やその外側の白質病変を認める症例も複数あり、これらは今回の急性脳症の特徴的な所見と考えられた。また MRI 結果より、この局所病変の病態に関して、血管性浮腫と細胞性浮腫の異なった病態の存在が示唆された。びまん性の脳浮腫をきたした例は予後不良であり、その進行をいかに食い止めることができるかが今後の検討課題と考えられた。

A. 研究目的

今回の集団感染においては、EHEC/O111 感染に伴う急性脳症の合併率がこれまでに類を見ないほど高く、さらに重篤な症例も多かった。

脳症症例の頭部画像所見の特徴をとらえることで、重症化の原因を探る上でのひとつの手がかりとしたい。

B. 研究方法

2011 年 12 月 7 日、富山大学附属病院において「EHEC/O111 感染に伴う急性脳症 放射線画像カンファレンス」を開催した。

富山県内の 3 施設（富山大学、富山市民病院、砺波総合病院）、および金沢大学の計 4 施設から、10 例の脳症症例の提示があった。

10 症例の内訳は、年齢；小児（1～14 歳）6 例、成人（21 歳～70 歳）4 例、性別；男性 4 例、女性 6 例、転帰；生存 6 例（うち 1 例は後遺症あり）、死亡 4 例（小児 2 例、成人 2 例）であった。

（倫理面への配慮）

個人が特定されないよう配慮した。

C. 研究結果

画像カンファレンスで提示された 10 症例のうち、特徴的所見を呈した 5 症例について提示する。

① 10～14 歳

喫食 2 日後に泥状便あり、8 日後に HUS を発症。HUS 発症 2 日目よりせん妄を認めた。翌日頭部 MRI を施行したところ、両側視床に高信号領域を認めた。

10～14 歳
(HUS 発症 3 日目)

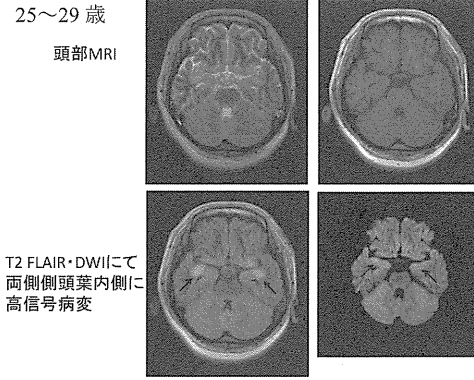
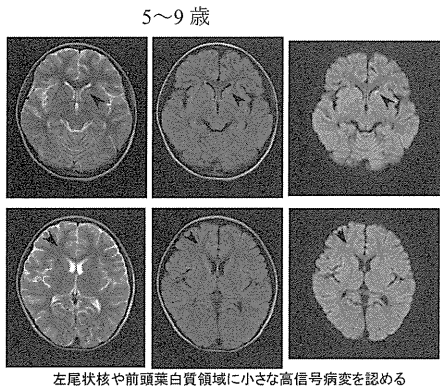


両側視床に高信号領域を認める

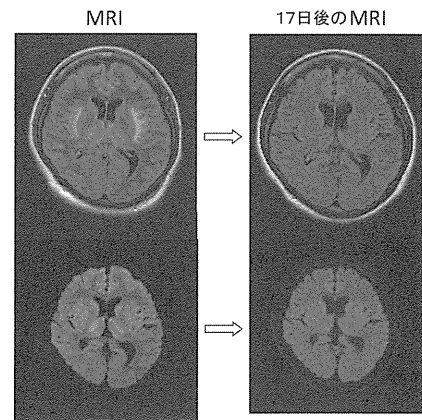
② 5～9 歳

喫食 5 日後より腹痛、下痢を認め、8 日後に HUS を発症した。他の重症例の経験を踏まえ、発症早期よりステロイドパルス療法を開始していた。パルス療法 3 日目に傾眠が見られ脳波を施行するも、異常はなかった。傾眠を認めて

から 8 日目に施行した頭部 MRI では、左尾状核や左前頭葉白質に小さな高信号病変をきたしており、微小血管障害と考えられた。

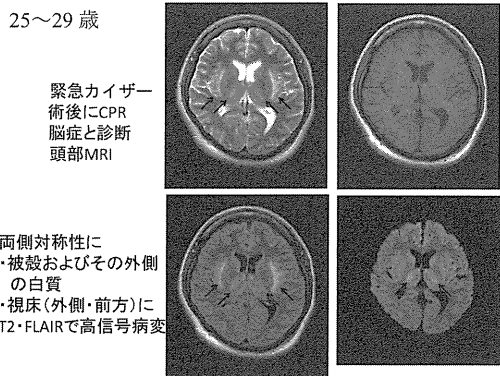


なお、17 日後に施行した頭部 MRI では、上記の視床・被殻病変等は消退していた。



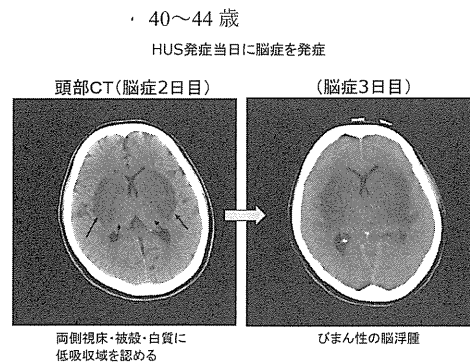
③25～29 歳

喫食 3 日後に下痢を認め、5 日後に胎児機能不全、母体 DIC となり、緊急帝王切開にて出産。術後自室にて CPA となり蘇生。帝王切開 2 日後より 1 日 1 回の全身痙攣を認めるようになり、頭部 CT にて脳浮腫あり、急性脳症と診断。脳症発症から 1 週間後の MRI にて、両側被殻・白質・視床(外側・前方)・側頭葉において T2,FLAIR で高信号病変を認めた。



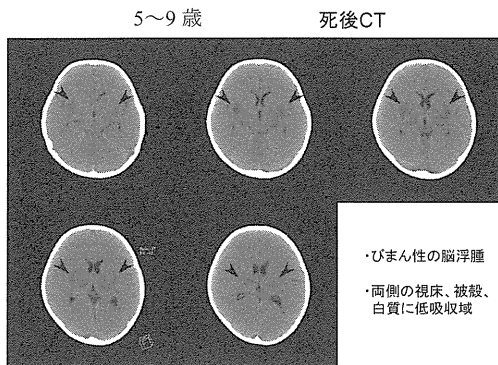
④40～44 歳

喫食 4 日後に血便あり、6 日後に HUS 発症。同日より軽度の意識混濁を認め、脳症が疑われた。翌日昏睡となり頭部 CT を施行したところ、両側対称性に視床・被殻・白質に低吸収域を認めた。その後ショックとなり、翌日の CT では脳全体の高度の浮腫が認められ、3 日後に永眠された。



⑤ 5～9 歳

喫食4日後に血便あり、6日後にHUSを発症。翌日、痙攣重積および意識障害を認めた。頭部CTでは明らかな異常所見はなし。翌朝、突然頻脈となったのち心停止となり、蘇生に反応せず永眠された。CTではびまん性の脳浮腫があり、さらに両側視床・被殻・白質の低吸収域が認められた。



<10 症例の経過・画像所見を踏まえて>

- ・ 重症例は、HUS 発症から急性脳症発症までの日数が非常に短い。(HUS 発症当日～翌日)
- ・ 脳症発症時の神経学的症状としては、痙攣や意識障害、せん妄など様々であった。
- ・ 画像所見の特徴として；
 - ① 多くの症例において左右対称性の視床(特に外側・前方)の病変が認められた。(CTにて低吸収域、MRI ; T2,T2 FLAIR,DWIにて高信号領域)
 - ② 左右対称性の被殻やその外側の白質病変が、複数の症例で確認されている。なおMRI所見からは、被殻・白質病変は血管性浮腫と推測され、視床病変は細胞性浮腫であることが示唆された。
 - ③ 10 症例中 2 症例で両側側頭葉病変を認めた。1 例のみ計算や記憶障害といった後遺症がみられた。
 - ④ 1 例は微小血管障害のみで、軽症例であった。
 - ⑤ 局所病変のみの症例では、経過中に病変の消退傾向を認めた。
 - ⑥ MRI の T1 強調画像で異常所見を認めた報告例はなく、出血性変化をきたした症例はなかった。
 - ⑦ びまん性の脳浮腫をきたした症例は、予後不良であった。

D. 考察

急性脳症 10 症例の画像について検討したところ、重症例(死亡例)・軽症例(生存例)を問わず、大多数の症例において両側対称性の視床病変が認められたことが、今回の脳症の大きな特徴と考えられる。また、両側被殻や白質病変も複数の症例で認められていた。頭部MRI画像からは、視床病変は細胞性浮腫によるもので、被殻や白質病変は血管性浮腫であることが推測され、異なった病態が存在するのではないかと考えられた。

また、初期に視床病変が生じ、その部位のみに病変が局限する場合は重症化には至らないが、その後びまん性の脳浮腫まで進行する症例では予後不良となることが示唆され、この重症化をどのように食い止めるかが今後の検討課題と考えられた。

今回の画像所見は、典型的なANE(急性壊死性脳症)とは似て非なるものであるが、広義のANEとして捉えることができる。近年、HUSで両側の視床病変をきたす報告もなされてきており、今回の症例においてもANEの病態と共通点があるものと思われた。

脳症の分類としては、微小血管病変のみの1例を除いて大半が「全般型」と捉えられる。

(微小血管病変の症例は「局所型」に分類される)

多くの症例で両側性に基底核・視床病変をきたしたことは、ANE発症における病態と同様にサイトカインストームの関与が考えられる。

E. 結論

今回のEHEC/O111感染に関連した急性脳症において、重症度や神経学的症状の種類を問わず、多くの症例で両側視床病変が認められ、共通した病変を有していたことが確認された。

病態としては、高サイトカイン血症の関与があると推測され、治療方針を考える上で重要なポイントと考えられた。

F. 健康危険情報

とくになし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

3. その他

なし

O111 感染後死亡剖検例の検討

研究協力者 西田尚樹、畑 由紀子（富山大学大学院医学薬学研究部法医学講座）

笹原正清、石井陽子、濱島 丈、申 杰

（富山大学大学院医学薬学研究部病理病態学講座）

研究要旨 病原性大腸菌 O111 感染後に死亡した 3 剖検例の病理学的所見について検討した。死亡に至った所見として急性脳症が最も重要と考えられ、1 例では視床、2 例では大脳基底核を中心に血液脳関門（BBB）破綻によったと考えられる神経細胞変性および周囲白質の高度浮腫が認められた。全身に DIC によったと考えられる多発微小血栓が認められ、腸管には急性期と考えられる出血性腸炎が認められた。

A. 研究目的

病原性大腸菌感染後の死亡例の報告は限られており、剖検例の報告はさらに極めて限られていると考えられる。今回我々が経験した 3 剖検例につき、その肉眼、病理組織学的所見について検討を行った。

B. 研究方法

本報告書作成時点で検索が完了したのは、急性期に死亡した 3 症例である。症例 1 は男性幼児で病理解剖、症例 2, 3 は 40 代～70 代の女性で法理解剖が行われた。発症から死亡までの期間は、症例 1 が約 6 日、症例 2, 3 が約 10 日である。症例の臨床症状はほぼ一致しており、焼き肉店でユッケを食した後、2-3 日後に腹痛、嘔吐、下痢等の消化器症状が発症後、急激な経過で溶血性尿毒症候群、急性脳症を発症した後死亡したものである。なお 4 例目の剖検例として 10 代男性の法理解剖が行われている。この症例は症例 1-3 と同時期に発症後約半年の経過を経て死亡したもので、死亡後法理解剖が行われており、現在検索続行中である。

（倫理面への配慮）

病理解剖に関しては遺族の承諾を得ている。

C. 研究結果

症例 1-3 の剖検所見は一部を除きほぼ同様の所見を呈していた。

1. 中枢神経

脳は各例ともに浮腫によって高度に腫脹し、脳回の平低化、脳溝の不明瞭化が認められ、全例に脳ヘルニアが認められた。割面では側脳室の狭小化が高度で、白質に高度の浮腫を伴う軟化が認め

られた。出血は認められない。ヘルニア形成部では、より高度に軟化が進行していた。

病理組織学的には、症例 1 で視床、症例 2, 3 では淡蒼球、被殻に最も高度の浮腫状変化を認め、組織の粗鬆化が高度であった。また、症例 2, 3 では周囲側頭葉白質に浮腫によったと考えられる高度髄鞘淡明化が認められる。炎症細胞浸潤は認められない。浮腫状変化が高度であった視床、大脳基底核（以下、基底核）では、顕微鏡的微小梗塞が特に症例 1 で多発していた。症例 1 では脳幹の少数の小動脈、症例 2, 3 では脳内各所の小動脈内にフィブリン血栓が認められ、症例 1 の視床では内皮細胞の消失があり、症例 2 の基底核では内皮細胞の核の一部が腫大していた。抗フィブリンノーゲン抗体による免疫染色では、血管周囲腔にフィブリンノーゲン陽性の析出物が確認される。症例 1 の視床、症例 2, 3 の基底核では、神経細胞の核の濃縮、細胞質の好酸性変性がびまん性に認められ、低酸素ないし虚血性と考えられる細胞変性像であった。このような神経細胞変性は大脳皮質にも観察されるが、その程度は視床や基底核より弱かった。髄鞘淡明化が認められた視床、基底核周囲の白質には、微小な軟化巣が少数認められる。また抗 ss-DNA 抗体陽性の apoptotic change を呈するオリゴデンドロサイトが認められ、その陽性細胞出現頻度は病変の強い中心灰白質から遠ざかるに連れて減少し、前頭葉、後頭葉では非常に少ない。加えてアストロサイトの突起が断片化する clasmatodendrosis が多数認められる。小脳では、プルキンエ細胞の脱落、残存細胞の変性が認められる。脳幹は浮腫以外には明らかな異常所見は認めない。

症例 2, 3 では、硬膜静脈洞内血栓と下垂体に梗塞と考えられる出血壊死がそれぞれ認められた。

2. 腎臓

肉眼的にはうっ血が高度であること以外には明らかな異常はなく、皮質と髄質の境界も明瞭であった。組織学的には糸球体内毛細血管内に多数のフィブリン血栓が認められる。既存構築に顕著な破綻はないが、近位尿細管上皮に、好酸性変性、内腔への剥離、脱落が認められる。

3. 消化管

症例1では、大腸ほぼ全体、症例2では盲腸から上行結腸、症例3では盲腸から横行結腸右半付近まで、粘膜面の出血、肥厚を伴った壊死が認められる。各例に穿孔はない。腸間膜に多発点状出血が認められる。胃、小腸には明らかな病変はない。組織学的には粘膜からほぼ腸管全層におよぶ出血が認められ、粘膜面では広く壊死に陥る。炎症細胞は好中球主体で、壊死物質を貪食したと考えられる組織球も多数出現する。また、巣状に幼稚な繊維化が認められる。PAS染色で少数の球菌が確認される。

4. その他

全例で血性腹水、肝臓の小葉中心性肝壊死が認められた。循環器系には明らかな異常は認められない。左右肺には高度のうっ血が認められた。

D. 考察

前項で述べた本3例の剖検所見はほぼ近似しており、短期間で死亡の転帰を取った O111 感染後死亡例の形態学的特徴を反映しているものと考えられる。剖検所見上、死亡に至った最大の要因は急性脳症であるものと考えられ、高度の脳腫脹によるヘルニアの進行に伴う呼吸、循環抑制が発生したことが不幸な転機と関連した可能性が強く考えられる。症例2, 3においては、脳静脈血栓症、下垂体梗塞がそれぞれ認められているが、これらも脳浮腫による環流障害に起因したと考えられ、終末期の病態進行に関与したものと考えられる。

中枢神経の組織学的特徴は症例1では視床、症例2, 3では基底核を中心とする神経細胞の変性と周囲白質に認められた高度の浮腫であり、いずれの症例においても炎症細胞浸潤や組織修復像は伴っていない。神経細胞の変性所見の形態はいわゆる低酸素脳症の所見と同一であることから、O111感染による急性脳症の所見と2次的に出現したと考えられる低酸素脳症に伴う変化を極力鑑別する必要があるが、本3例においては、症例1では視床、症例2, 3では基底核における浮腫状変化が最も高度であり、神経細胞の変性は大腦皮質や小脳、海馬など、低酸素脳症で早期に神経細

胞の変性、脱落が生じる部位の変性所見を上回る程度で進行していた。従って脳症病変の首座は症例1では視床、症例2, 3では基底核であるものと考えられる。

浮腫状変化が高度であった視床、基底核においては、血管周囲腔に血漿成分の析出が確認され、症例1では視床の小動脈で内皮細胞の消失が認められていることから、血液脳関門 (BBB) の破綻があったことが示唆される。さらに基底核周囲の白質には、アストロサイトの *clasmotodendrosis*, オリゴデンドロサイトのアポトーシスが観察されており、さらにこのような変化は視床や基底核から離れた部位の白質でその出現頻度が減じていた。よって本例においては視床、基底核の BBB の破綻から周辺部に病変が進行したことが強く推察される。病原性大腸菌感染後脳症においては、菌体外毒素が脳内血管に沈着することから血管壁が傷害されることにより血管透過性が亢進することが、脳障害の中心的な病態である可能性が示唆されている。この際、BBBからは毒素、多量の血漿成分の漏出が起きることが予想されるが、今回の剖検例においては、漏出したのが毒素自体なのか、血漿成分なのかという点に関しては検証し得ず、今後の課題として残った。

病原性大腸菌感染後脳症の報告は限られているが、その画像所見として、対称性の視床ないし基底核の低吸収域の出現や白質浮腫が報告されている。今回検討された症例1では視床、症例2, 3では基底核がその病変首座であり、本脳症における BBB の破綻部には個体差がある可能性が考えられる。今回の剖検例の検索において病初期における白質病変の出現部位は、高度浮腫状変化が出現した病変の部位に依存することが示唆されているが、時間経過を経るに従い脳浮腫の進行や *thrombotic microangiopathy* に伴う循環不全が加わることによって、その病理像はより複雑になっていくことが推察される。なお、*thrombotic microangiopathy* に関しては、脳症特異的所見として理解する向きもあるようだが、本3例には後述のように全身性に小動脈内血栓を認めることから、DICの一所見である可能性も十分に考えられる。

腎糸球体内には多数のフィブリン血栓が認められ、さらに腸管を始めとした内臓器の小動脈内に多数の血栓が認められた。病理組織学的には典型的な DIC の像と考えられる。病原性大腸菌感染後には、溶血性尿毒症症候群 (HUS) が出現することが広く知られている。HUS の腎臓組織像として特異的な像は明らかになっていないと考えられるが、検索する限り糸球体に明らかな病変は確認されていない。ただし、今後毒素の沈着等の所見が明らかになる可能性は考えられる。各例に認め

た近位尿管上皮の変性は、循環不全に伴う急性尿管壊死の所見と考えられる。

大腸は急性炎症を伴う出血性腸炎で、重度の感染性腸炎の所見であると考えられる。高度の出血壊死巣周囲には組織修復像が始まっており、発症後からの経過日数に合致した組織像であるものと考えられる。

死亡例と回復例の対比がなしえないことから、本3例の脳症がなぜ重篤化し死亡の転機を取ったのかということに関して検証することは現時点では困難であるが、多数の治癒例が存在することから、毒素に関する感受性、毒素レセプターの量的、質的個体差などの検証も必要である可能性が示唆される。

E. 結論

3 剖検例いずれも死亡の転機をとった責任病変として、高度の脳浮腫を主たる所見とする急性脳症が重要な所見であると考えられた。中枢神経系の主たる剖検所見として、1 例では視床、2 例では基底核において BBB の破綻による高度変性に加え周囲白質に高度の浮腫を認めた。また DIC によったと考えられる全身諸臓器の多発微小血栓、大腸の出血性腸炎が認められた。

F. 健康危険情報

とくになし

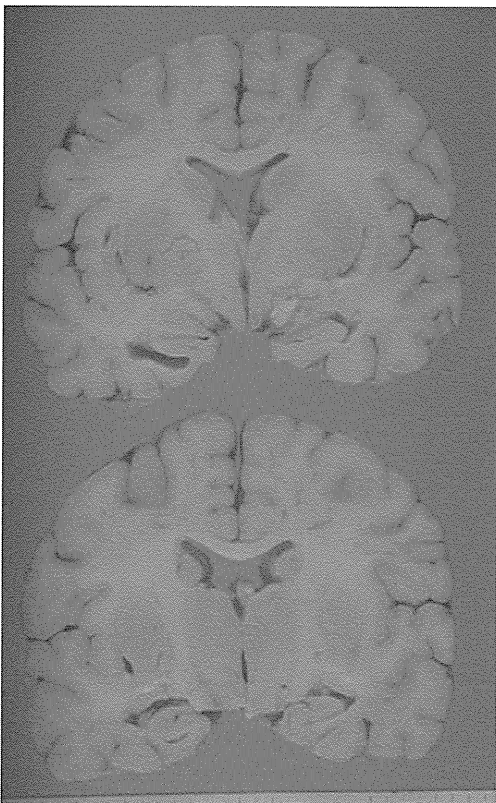


図 1. 大脳肉眼像
被殻、淡蒼球に軟化を認める。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 西田尚樹、畑 由紀子、木下耕史 病原性大腸菌 O111 感染後に発症した急性脳症 東北神経病理研究会 2011,10 秋田
- 2) 濱島 丈、石井陽子、申 杰、堀江貞志、野村恵子、種市尋宙、笹原正清 腸管出血性大腸菌感染後に急性壊死性脳症を来した 1 剖検例 第 57 回日本病理学会秋期特別総会 2011,11 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

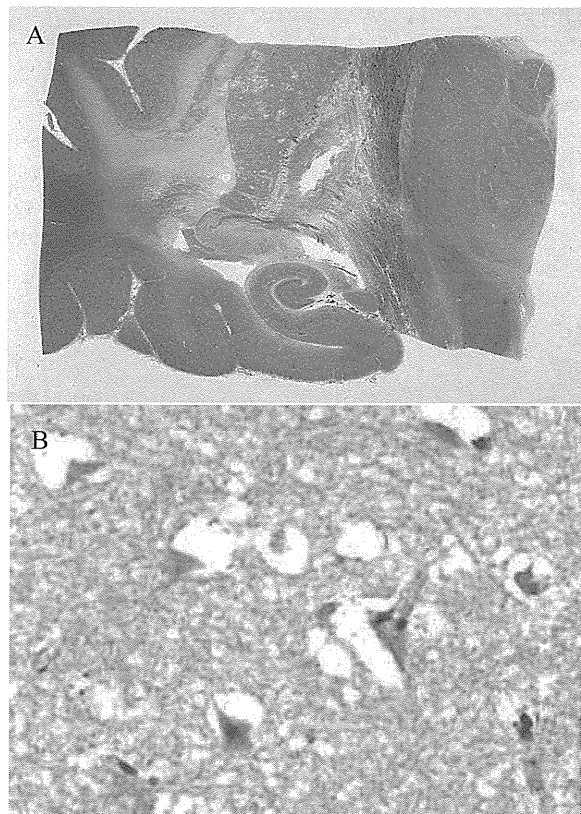


図 2. 大脳組織像 (LFB-HE 染色)

A: 被殻、淡蒼球を含むルーペ像。白質の髄鞘淡明化は被殻に接した部分でより強い。

B: 淡蒼球強拡大。神経細胞に高度の変性を認める