

せざるを得なかったという²⁾。

一方で、原因の解明については大きく遅れをとってしまった。流行がピークを迎える5月20日になり、地方行政局からの要請でようやくロベルト・コッホ研究所が現地入りし調査を開始し、5月24日にWHOにアウトブレイクの報告をした。しかし、感染源の特定は難航し、スペイン産のキュウリなどが原因と疑われ、消費者の買い控えや大量廃棄を招いた。原因の食物が数種類に絞り込まれたのは、流行のピークをすでに過ぎ、終息に向かいつつある6月10日であった。ロベルト・コッホ研究所 (RKI)、ドイツ連邦リスクアセスメント研究 (BfR)、ドイツ消費者保護および食品安全庁 (BVL) が共同声明を発表した。疫学調査およびフードチェーンの追跡調査の結果、豆および種子のスプラウト類 (フェヌグリーク、緑豆、レンズマメ、アズキ、アルファルファなど) が媒介食品として絞り込まれ、これらの食品の摂取を禁止する勧告がなされた。真の原因が公表されたのは、最後の患者が発生した7月7日の2日前の7月5日であった。2009年12月にエジプトから輸入された15トンのフェヌグリークの種子が汚染されていたため、水耕栽培時に爆発的にスプラウトの汚染が拡大し、それが栽培工場から大量に市場に出荷されたことが原因であった。日本ではフェヌグリークはなじみが少ないが、女性ホルモン分泌作用があり美容によいため、欧州では女性に好まれている。そのため、集団感染初期は若年女性 (平均31歳) に感染者が多く発生し、その後は感染者から健常人への感染パターンも増加し、終盤には患者の男女比はほぼ均等になった。最終的に、感染者は68%女性、85%が18歳以上の成人となった。一般的にEHEC感染症の潜伏期は3~5日程度であるが、今回の感染では潜伏期の中央値が8日であり、摂取した食品の想起を困難にさせ原因究明に時間を要した。またEUという国境のない環境が、他国への感染拡大を助長させた。そして、2011年7月26日にRKIは、ドイツ国内の3カ月に及ぶアウトブレイクの終息を宣言した。

最終的には、ECDC (European Center for Disease Prevention and Control) の発表によれば、ドイツ国内での感染者は3,842例、HUS 855例 (22%)、死亡53例 (消化管尖孔など18例、HUS 35例; HUS患者の4%) となった。小児患者は全体の2%にすぎなかった。また、そのほかのEU 14カ国と渡航によるアメリカ、カナダでの感染者はEHEC 137例、HUS 54例、死亡1例であった。この集団感染の特徴は、HUSの発症率が高かったこと (従来報告は5~10%: 日本では3~4%)、脳症が多く発生したこと、重症の経過をとる患者が多く死亡率が高かったこと、子どもがあまり好まない生野菜が原因であるため成人が感染の中心であったことなどが従来と異なっていた³⁾。

わが国ではEHECの感染の多くは、レバーやユッケなどの汚染された牛肉に由来することが多いと考えられているが、実は牛肉はやや例外的な感染源である。世界的にはEHECによる集団感染のほとんどは、汚染された水や野菜が原因のことが多い (表1)。堺市の集団感染でもカイワレ大根が感染源と疑われたが、水耕栽培の現場から菌の証明はできず、風評被害を受けた生産者は国との裁判で勝利した。しかし、後日カイワレ大根の種子のDNA検索を行ったところ、O157によるアメリカ産のカイワレ大根の種子の汚染の経歴が発見されたという。そのため、堺市の大規模集団感染も今回の欧州の感染パターンと同様であったことは否定できない。今回のドイツの集団感染からわかるように、大規模な集団感染は汚染された水 (飲用水、プール、井戸) や生野菜 (種も含む) により生じることが多いのである。一方、牛肉の場合は、EHECを保菌する感染源であるウシは1頭単位であるために、集団感染の規模は小さいのである。EHECは、risk from farm to forkの感染症である。

欧州で発生した新たな病原性大腸菌 O104 : H4 の特徴

今回の欧州集団感染の起因菌であった病原性大

1. 腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *E. coli*: EPEC)
2歳以下(特に乳児)に感染多く、発展途上国では乳幼児下痢症の原因。細胞に接着する特性をもつ。
2. 腸管組織侵入性大腸菌(enteroinvasive *E. coli*: EIEC)
大腸上皮細胞のなかに侵入。大腸・直腸に潰瘍性炎症を起こし重症な大腸炎になる。
3. 腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli*: ETEC)
腸管内で毒素産生。大規模な食中毒、海外旅行者下痢症の原因となることが多い。
4. 腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *E. coli*: EHEC)
一般には EPEC に似た接着作用で大腸に定着し、さらにベロ毒素も産生。
5. 腸管凝集接着性大腸菌 (enteroaggregative *E. coli*: EAggEC)
1987年にチリの子小児下痢症患者から発見。最も新しい種類の病原性大腸菌。EAggECはヒト培養細胞表面以外に培養容器にも強力的に接着する特徴がある。南米やアフリカ、東南アジアなどの発展途上国の小児の持続性下痢症から多く検出。さらに AIDS 患者の感染症としても問題になっている。

腸菌 O104:H4 は従来の菌と異なる点がきわめて多かった。本菌の血清型は O104:H4 で、ベロ毒素は VT1 (STX1) 陰性、VT2 (STX2a) 陽性であった。O157 をはじめとするベロ毒素を産生する HUS をきたす病原性大腸菌は、腸管出血性大腸菌 (EHEC) に分類されている。しかし、今回の O104:H4 は EHEC ではなく、1980年代後半に発見された腸管凝集接着性大腸菌 (enteroaggregative *E. coli*: EAggEC) に分類される菌であった。表 2 に病原性大腸菌の分類を示す。今回の大規模感染をきたした O104:H4 は、EHEC に陽性である腸粘膜接着因子である intimin (*eae*) と溶血素である hemolysin (*ehx*) がともに陰性であるが、EAggEC がもつ凝集性付着線毛の転写制御因子が陽性であったことから、EAggEC に分類された。EAggEC は、1987年に Nataro らがチリの子小児下痢症患者から発見した最も新しいタイプの病原大腸菌である。南米やアフリカ、東南アジアなどの発展途上国の小児の持続性下痢症 (2週間以上が多い) から多く検出され、旅行者が海外で感染

することも増加してきた。さらに近年では、AIDS 患者の感染症としても問題になっている。

さらに、驚くべきことには、O104でVT2を産生する菌株は、2010年までに世界でもわずか8株のみの報告にすぎず、そのうちEAggECは4株しか報告されていなかった。そのため、このような表舞台に出ることのなかった菌株が突然大規模集団感染を引き起こすとは、誰も予想しなかったのである。加えて、本菌はペニシリンやセファロスポリンに抵抗性を示す extended spectrum beta (β) lactamase (ESBL) 産生の薬剤耐性をも獲得していた。このように O104:H4 は新たな形質を多数獲得していた。ちなみに、流行地では本菌を保菌する家畜がいなかったことが後の調査で判明し、O104:H4 は元来その地域に潜伏していた菌ではなかったことも推定された。

また、本菌に感染した患者では 22%もの HUS が発生した。その理由は明らかではないが、EAggEC は *in vitro* では、HEp-2 細胞への付着性試験で細胞表面および培養容器上に連鎖状、積みレンガ構造様の凝集付着像を示し、ヒトの培養細胞に強力的に付着する。またブイオンを含む培養液では、培養液表面に菌膜 (clump) を形成する。そのため、腸管の一定の表面積当たりの菌量が多くなった可能性も考えられている。しかし、これは現象論からの仮説であり、今後の解明が待たれる。

IV 欧州の大規模集団感染における HUS への治療選択の特徴

現時点で、HUS に対する治療は支持療法が基本であり、介入的治療で有効性のエビデンスが示されているものは少ない。HUS 発症前もしくは初期の積極的な等張性輸液製剤の投与が、その後の乏尿・無尿の危険性を低下させるという報告程度である⁴⁾。しかし、突然の大規模集団感染で次々 HUS 患者が発生する状況下で、何らかの介入治療をしなければと考えるのは医師の性である。今回の集団感染においてドイツで頻用された治療は、血漿交換療法とエクリズマブであった。ちなみに、

これらの治療には有効性のエビデンスはない。しかし、German Society of Nephrology は、大規模集団感染の初段階で血漿交換療法を推奨した。その推奨にあたり、American Society for Apheresis のガイドラインが参考にされた。しかし、そのガイドラインの内容は、典型的 HUS への血漿交換療法には高いエビデンスはないが (type II -3), 積極的に推奨する (Grade 1C) という、やや矛盾したものであった⁵⁾。さらに、補体因子の C5 に対するモノクローナル抗体であるエクリズマブも多くの患者に使用された。それは、EHEC による脳症を合併した O157:H7 重症による HUS の小児患者 3 人にエクリズマブを投与したところ、きわめて有効であったというフランスからの症例報告が、この大規模集団感染の直前に New England Journal of Medicine 誌に発表されたためである⁶⁾。さらに、この論文を基に EHEC に対するエクリズマブの open label の臨床試験も予定されていた。折しもそのタイミングで大規模集団感染が発生したため、各施設が 2 週間程度の期間で倫理委員会の承認を得て、エクリズマブの前方視的試験を含む投与が一斉に開始された。

また、今回の集団感染では、1 施設のみで強力な抗菌薬の多剤併用療法が実施されたが、他施設では抗菌薬を使用していなかった。ただし、エクリズマブを使用した患者には、肺炎球菌への感染予防に azithromycin が併用されていた。このようにして、ドイツでは支持療法に加え、血漿交換やエクリズマブのようなエビデンスの確立されていない治療が大多数の HUS 患者に行われた。それは、堺市での大規模集団感染の際にわれわれが、多数の患者に血漿交換を施行したことと同様であった。

17 HUS に対する治療とその有効性の検証

集団感染の発生から 1 年が過ぎ、これらの治療についての有効性の評価が報告され始めた。最も多数例の報告を以下に示す⁷⁾。対象は、ドイツ北部の 23 病院の 298 人の HUS 患者。性別は男性

86 名、女性 212 名、年齢の中央値は 46 歳。ただし、本来は HUS 患者 395 人であるが、企業治験の対象としてエクリズマブを使用した 97 人は除外された。HUS 診断日は平均 6 病日目、診断日までの下痢の持続期間は平均 9.3 日。ICU 入室は 52%、呼吸器管理は 18%、透析は 54%に行われ、平均 10 日間実施され、さらに退院時に 13 人に、最終観察時に 5 人が血液透析を継続中であった。神経学的合併症は 48% (痙攣 12%) にみられた。7 名が穿孔による腸管切除をし、HUS 発症初日の発生が多かった。治療内容は、保存的治療のみ (n=46)、血漿交換のみ (n=185)、血漿交換+エクリズマブ (n=66)、エクリズマブのみ (n=1) であった。死亡は 4% (12 人: 平均 69 歳 (24~86 歳)) であった。

1. 血漿交換

血漿交換は合計 251 人 (84%) に実施された (平均 6.8 病日に開始し、平均 7.6 日間)。174 名は実施前に PSL 50 mg が投与され、197 名は血小板投与後に血漿交換を行った。3 施設 (54 名) では血漿交換は 3~5 回に限定されたが、ほかの 20 施設は血小板が 10 万に上昇するまで実施された。血漿交換を実施した 251 人と、未実施の 47 人について生命予後を比較した。死亡は血漿交換あり群では 8 人 (3%) で、血漿交換なし群では死亡が 4 人 (9%) であったが、両群に統計学的な有意差はなかった。また血漿交換なし群の死亡のうち、2 名は重症腸炎で穿孔 (うち 1 名は腸炎治療拒否)、1 名は HUS から回復後に誤嚥性肺炎が原因であったため、純粋に HUS による死亡ではない。一方、血漿交換群では重症例が多かった。血漿交換なし群とあり群では、神経症状は各 21% と 53%、エクリズマブ使用は各 2% と 26%、透析は各 13% と 61% であり、単純な比較を困難にしていた。さらに、血漿交換あり群となし群の患者について、血清 LDH・血清 Cr・血小板などの変化を線形モデルで比較したが、血漿交換によるこれらの検査指標の早期改善の有効性はなかった。したがって、血漿交換の有用性はないと判断され

た。

2. エクリズマブ

エクリズマブについては、企業治験の97人を除外し、合計67名が解析された。その67名中66名は血漿交換を併用していた。エクリズマブ使用患者67名と重症度が同程度のエクリズマブ非使用患者(65名)について、生命予後、血清LDH・血清Cr・血小板などの変動を比較した。死亡は、エクリズマブ非使用群5人(8%)、使用群3人(5%)で有意差はなかった。エクリズマブ開始後も、神経症状出現が21%、痙攣が6%、透析導入18%、呼吸器導入が10%の患者に出現したが、これらの頻度においても対照群との有意差はなかった。さらに、血漿交換あり群となし群の患者について、血清LDH・血清Cr・血小板などの変化を一般線形モデルで比較した。しかし、エクリズマブによるこれらの指標の早期改善の有効性は見出されなかった。したがって、エクリズマブの有用性はないと判断された。しかし、現在、生存例における神経学的後遺症や腎機能などの遠隔期での評価が開始されており、その結果が注目されている。

実は、現在もフランスの臨床現場では、ペロ毒素(志賀毒素)による重症HUSに対してエクリズマブが投与されることが少なくないようである。確かに今回のO104では、エクリズマブ投与のタイミングもさまざまであったため、有効性の評価は困難である。今後、ペロ毒素によるHUSに対する有効性評価のためには、対象をO157:H7によるHUSに限定し、適切な試験デザインをもつ前向き試験を行うべきである。

3. ステロイド薬

また、血漿交換は251人(84%)に実施されたが、アナフィラキシーの防止のために174名に、血漿交換実施前にPSL 50mg投与(PSL併用)が投与されていた。このPSL使用群について、PSL非使用群との間で前記と同様の比較をしたが、PSL投与群における優位性は示されなかった。

4. 抗菌薬

HUSに対する抗菌薬の使用は、大腸菌の殺菌に伴う志賀毒素の放出による症状の悪化や志賀毒素をコードするバクテリオファージの放出による周囲の細菌へのファージの感染を起こすために、原則的には推奨されていない。しかし、1981~2001年までに報告された臨床研究を対象としたメタ解析では、抗菌薬投与はHUS発症率に影響を与えないとされ、ランダム化比較試験により検証すべきと結論されている⁸⁾。今回の大規模集団感染では、1病院でのみメロペナム、セフェピム、リファキシミンの3剤併用投与がなされた。その結果、抗菌薬使用群では、便培養陽性期間は、 22.6 ± 11.3 日(非使用)と 14.8 ± 10.6 日(使用)($p < 0.001$)と短縮した。また、痙攣の頻度も、非使用群15%(36名)、使用群2%(1名)($p = 0.03$)と抗菌薬使用群で少なかった。さらに死亡は、非使用群5.2%、使用群0%($p = 0.029$)と抗菌薬使用群で著明に少なかった。また、抗菌薬使用群では消化管手術例はいなかった。したがって抗菌薬投与は有意に生命予後と合併症を減少させたことになる。しかし、O104:H4がESBL産生菌であったこと、EAggECであったことの特異性と本結果との関係については、さらなる検討が必要であろう。

5. 小児における報告

今回の大規模集団感染での、小児HUS患者90人に限定した報告では、67人は透析療法を含む支持療法のみで治療され、積極的治療は10名が血漿交換療法、6名がエクリズマブのみ、7名がこの両者を実施された。死亡は1名(1.1%)と、成人に比較し頻度が低かった。透析は67名(74%)に実施された。最終的には、3名がCKDステージ3、4で、1名が末期腎不全で慢性透析となった。神経学的合併症は急性期には23名に生じたが、後遺症は4名であった⁹⁾。

おわりに

これまでの国内外のEHECの集団感染におけ

る血清型は、O157 がほとんどを占めていた。しかし、2011 年の北陸地方を中心とした O111 の集団感染、さらに同年のドイツを中心とした欧州における EAggEC O104 : H4 による大規模集団感染では、HUS の発生頻度が高く、重篤な患者が多数発生した。このように、われわれは HUS の原因菌の特徴が変わりつつある時代に突入しつつあるのかもしれない。今後、非 O157 : H7 あるいは非 EHEC による大規模集団感染が再度発生し、多数の患者が HUS を発症する可能性は少ない。そのため、今回の欧州と日本の 2 つの集団感染を契機に、わが国でも EHEC による HUS のガイドラインの改定作業が開始された。2013 年内に新たなガイドラインが刊行される予定である。

文 献

- 1) Frank C, Werber D, Cramer JP, et al ; HUS Investigation Team : Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104 : H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med* 10 (365) : 1771-1780, 2011
- 2) Kemper MJ : Outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by *E. coli* O104 : H4 in Germany : a pediatric perspective. *Pediatr Nephrol* 27 : 161-164, 2012
- 3) Final Report-EHEC/HUS O104 : H4 outbreak, September 2011 Final presentation and evaluation of epidemiological findings in the EHEC O104 : H4 Outbreak Germany, 2011 (http://www.rki.de/EN/Home/EHEC_final_report.html)
- 4) Hickey CA, Beattie TJ, Cowieson J, et al : Early volume expansion during diarrhea and relative nephroprotection during subsequent hemolytic uremic syndrome. *JAMA* 165 : 884-889, 2012
- 5) Szczepiorkoski ZM, Winters JL, Bandarenko N, et al ; Apheresis Applications Committee of the American Society for Apheresis : Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice—evidence-based approach from the Apheresis Applications Committee of the American Society for Apheresis. *J Clin Apher* 25 : 83-177, 2010
- 6) Lapeyraque AL, Malina M, Fremaux-Bacchi V, et al : Eculizumab in severe Shiga-toxin-associated HUS. *N Engl J Med* 364 : 2561-2563, 2011
- 7) Menne J, Nitschke M, Stingle R, et al : Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104 : H4 induced haemolytic uraemic syndrome : case-control study. *BMJ* 345 : e4565, 2012
- 8) Safdar N, Said A, Gangnon RE, et al : Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157 : H7 enteritis : a meta-analysis. *JAMA* 288 : 996-1001, 2002
- 9) Loos S, Ahlenstiel T, Kranz B, et al : An outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104 : H4 hemolytic uremic syndrome in Germany : presentation and short-term outcome in children. *Clin Infect Dis* 55 : 753-759, 2012

* * *

分子標的療法がもたらす腎臓疾患治療の未来

伊藤 秀一

(受付日:平成 25 年 1 月 25 日 採用日:平成 25 年 1 月 29 日)

要 旨

近年, 分子標的療法はリウマチ性疾患や悪性腫瘍疾患への新たな治療法として急速に開発と臨床応用が進み, 多くの疾患予後を劇的に改善させ始めた。腎臓疾患においても生物学的製剤を主とする分子標的療法がいくつかの疾患の治療に導入され始めている。代表例として, 小児難治性ネフローゼ症候群, ANCA 関連血管炎, 膜性腎症へのリツキシマブ, 非典型溶血性尿毒症症候群へのエクリズマブ, ループス腎炎へのベリムマブ等が挙げられる。また腎移植においてはバシリキシマブが拒絶反応の防止に, リツキシマブが ABO 不適合移植の脱感作療法に使用されている。今後, 新たな分子標的療法が腎臓疾患の治療に続々と導入され, 治療における大きなパラダイムシフトを迎える可能性が高い。しかし, その一方で従来の免疫抑制薬では経験しない致死的な副作用もあるため, 使用に当たっては適応基準の設定が必要となるであろう。

はじめに

21 世紀の幕開けとともに, 分子標的療法の時代が到来した。分子標的療法とは特定の分子を標的とし, その機能を抑制あるいは制御することで疾患を治療する方法であり, 主に低分子化合物とモノクローナル抗体の 2 種類に分類される。従来の多くの薬剤も何らかの標的分子を持つが, 分子標的治療は創薬や治療法の開発の段階から特定の分子を標的として定めている点が異なっている。表 1 に従来の免疫抑制・化学療法薬と分子標的薬の差について示した。また, 分子標的療法は, knockout mouse や transgenic mouse などを含む, 動物実験モデルによりその有効性が実証され, 臨床開発されたものも多く, いわ

ゆる“bench to bed”の薬剤である。近年, モノクローナル抗体が, 難治性腎臓疾患の治療にも導入され始めた。本稿では, 自施設での小児難治性ネフローゼ症候群へのリツキシマブ療法の使用経験を中心に腎臓疾患の治療におけるモノクローナル抗体療法の最新知見を概説する。

1. リツキシマブ

1) 小児難治性ネフローゼ症候群

リツキシマブのネフローゼ症候群への有効性の最初の報告は偶然の産物によるものであった。2 歳発症のステロイド依存性ネフローゼ症候群(steroid dependent nephrotic syndrome: 以下 SDNS)男児が, 治療抵抗性の特発性血小板減少性紫斑病(ITP)を発症し, ITP の治療のためにリツキシマブを投与したところ, ITP の改善に加えてネフローゼが再発しなくなり, 長期の寛解を維持できたという Benz らの報告が最初である¹⁾。2 番目の報告は生体腎移植後に巣状性分節性糸球体硬化症(FSGS)の再発をきたした男児が, EB ウイルスによる移植後リンパ増殖性疾患(PTLD)を併発し, その治療にリツキシマブを投与したところ, PTL D の治癒とともにネフローゼも寛解したという報告である²⁾。その後, 当センターを含む国内 5 施設で pilot 研究が行われ, 小児期発症難治性 SDNS へのリツキシマブ療法の再発防止およびステロイド減量効果が確認された³⁾。さらに平成 20 年 9 月より, 小児期発症難治性 SDNS へのリツキシマブ療法の承認取得を目標とし, 社団法人日本医師会治験促進センターの支援する治験推進研究事業として, 小児期発症難治性 SDNS に対するリツキシマブ 4 回投与の有効性, 安全性および薬物動態を検討する医師主導治験(主任研究者: 飯島一誠)が実施された。この治験は, リツキシマブ

Key words: 分子標的療法 / モノクローナル抗体 /
リツキシマブ / ネフローゼ症候群 / 小児 /
腎疾患

国立成育医療研究センター腎臓・リウマチ・膠原病科
(〒157-8535 東京都世田谷区大蔵2-10-1)

表1 分子標的薬と従来の免疫抑制・化学療法薬の違い

従来の免疫抑制・化学療法薬	分子標的薬
・開発段階で標的分子不明	・有望な標的分子の選択
・培養細胞系で効果スクリーニング	・in vitro アッセイ系でスクリーニング
・作用機序は後から解明	・in silico スクリーニング併用
・天然化合物やその誘導体(半合成)が多い	・少ない副作用を期待
・正常細胞にも毒性・副作用(有害事象)可能性は前提	・化学療法薬には見られない新たな副作用

in silico スクリーニング：多数の化合物の構造情報が登録されたデータベースを用い、コンピュータ上で特定の分子と化合物の結合を立体構造に基づきシミュレーションし、活性の見込まれる化合物をスクリーニングする方法。

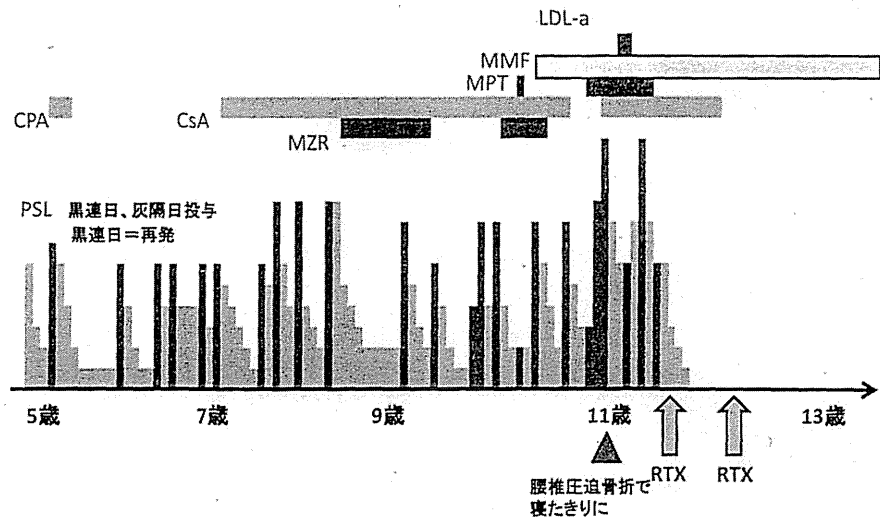


図1 症例1の臨床経過(文献4を引用・改変)

PSL：プレドニゾン、CPA：シクロホスファミド、CsA：シクロスポリン、MMF：ミコフェノール酸モフェチル、LDL-a：LDL吸着療法、MPT：ステロイドパルス療法、RTX：リツキシマブ、文献6を改変

375 mg/m²(最大 500 mg)もしくはプラセボを週1回4週連続投与し、その後ステロイド薬と免疫抑制薬をプロトコルに従い減量中止し、その後1年間経過観察する臨床治験である。すでに治験が終了し、プラセボ群との比較で有意な再発抑制効果が認められたため、今後の適応承認が期待されている。また、後述するがシクロスポリンやステロイドパルス療法等の治療でも寛解導入困難な小児ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群(SRNS)においても一部の症例でも、リツキシマブの併用により寛解導入が可能となる。

ここで、リツキシマブの有効性を物語る2症例を提示する。

【症例1】12歳女児 SDNS

5歳発症のSDNS(微小変化群)。ステロイド薬への反

応性は良いが、ステロイド薬の減量困難で12歳時までステロイド薬からの離脱は一度もなかった。各種免疫抑制薬(シクロホスファミド、シクロスポリン、ミゾリビン、ミコフェノール酸モフェチル)、ステロイドパルス療法、LDLアフェレーシスなどでもステロイドからの離脱は不可能であった。11歳時に自宅で食事中に突然腰椎の圧迫骨折をきたし倒れこみ、以後は寝たきりになり前医に長期入院となった。また、医療者との関係も悪化し、精神的にも不安定な状態が持続していた。12歳時に当センター紹介となる。転院後、保護者に適応外使用の同意取得後にリツキシマブを単回投与し(375 mg/m²)、その後ステロイド薬を2か月程度で中止し得た(図1)。以後、ネフローゼの再発防止のため、末梢血B細胞の回復時(初回投与後5か月)にリツキシマブを再投与した。リハビリ

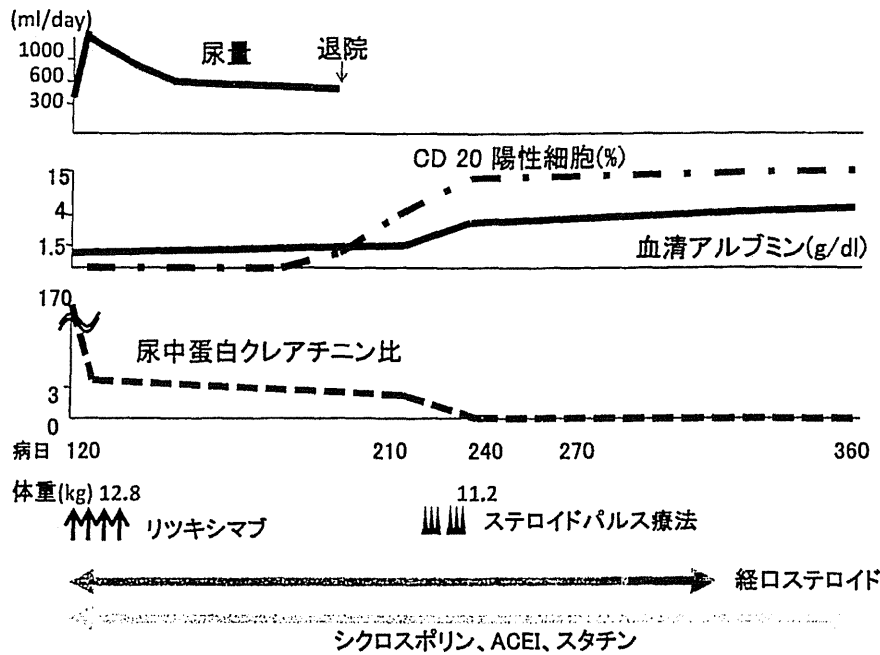


図2 症例2の臨床経過(文献5を引用・改変)

により投与後1年で独歩可能となり、現在は中学校に復学している⁴⁾。

【症例2】3歳男児 SRNS(FSGS)

2歳時にSRNSを発症し、腎生検でcollapsing FSGSと診断された。ステロイドパルス療法、シクロスポリン、血漿交換療法等も無効で、連日のアルブミン投与を必要とした。保護者に適応外使用の同意取得後、発症4か月時にリツキシマブ(375 mg/m²/週×4回)を投与した。2回目の投与終了後から急速に利尿が得られ、4回の終了時点には不完全寛解状態となり、発症前体重に回復した。末梢血CD20陽性細胞はリツキシマブ投与2か月後に回復し始めた。一方で蛋白尿の減少は緩徐に持続したため、発症7か月時にステロイドパルス療法を再度試みたところ、尿蛋白が陰性化しついに寛解に至った(図2)。その後、再発が時々あるもののステロイド反応性となり、シクロスポリンと少量のプレドニゾンにて管理し得ている⁵⁾。ここではリツキシマブが著効した典型的な2症例を提示したが、このようにリツキシマブの追加により予後を改善しうる症例は一定数存在する。

私たちは2010年に小児難治性ネフローゼ症候群に対するリツキシマブ療法の使用実態調査を行った⁶⁾。その結果、調査表を送付した141施設中の14施設から合計74名への使用が報告された(治験症例は除外)。74名の内訳は、リツキシマブ投与時に、SDNSが52名(70%)、非ステロイド

依存性の頻回再発型(FRNS)が3名(4%)、SRNSが19名(26%)名であった。全例難治性であり、リツキシマブ前に、シクロスポリンは73名に、ミゾリピンは47名に、シクロホスファミドは32名に、ミコフェノール酸モフェチルは26名に、ステロイドパルス療法は47名に使用され、さらに血漿交換療法が12名、LDLアフェレーシス療法も8名に実施されていた。さらに、25名はSRNSの既往を持ち、前述のように19名はリツキシマブ投与時にSRNSであった。フォローアップ不可能な2名を除外したSDNS/FRNSの53名中41名(53名が対象)(77%)がリツキシマブによりステロイド薬の中止に成功し、フォローアップ不可能な2名を除外したSRNSの17名中5名で完全寛解しステロイド薬を中止しえた(リツキシマブ無効でステロイドも中止した2例は除外)(図3、4)。また、SDNS/FRNSのうち25名は発症以来一度もステロイド薬の中止ができなかったが、そのうちの16名でリツキシマブにより初めてステロイド薬を中止しえた(図5)。また、SDNS/FRNSの53名中17名でリツキシマブによりシクロスポリンも中止しえた。このようにリツキシマブのステロイド薬の減量中止効果は極めて強力であった(図3)。しかし、SDNS/FRNSの28名が再発した(51%)。興味深いことに、再発しなかった症例の多くはリツキシマブ後も免疫抑制薬を後療法として継続していた(図6)。さらにSRNSの患児では、リツキシマブの併用により6名が完

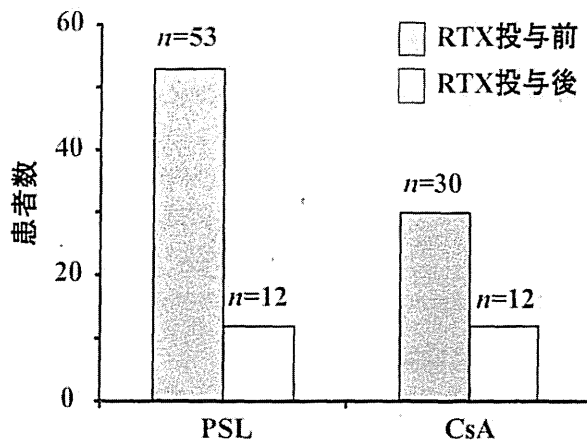


図3 ステロイド依存性/頻回再発型ネフローゼ症候群における RTX 前後の治療
PSL：プレドニゾロン，RTX：リツキシマブ，文献6を改変

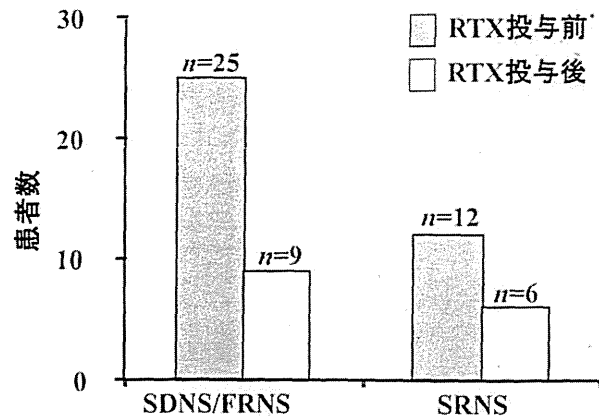


図5 発症以来ステロイド薬の中止歴のない患者の RTX 後の PSL の使用状況
SDNS/FRNS：ステロイド依存性/頻回再発型ネフローゼ症候群，SRNS：ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群，文献6を改変

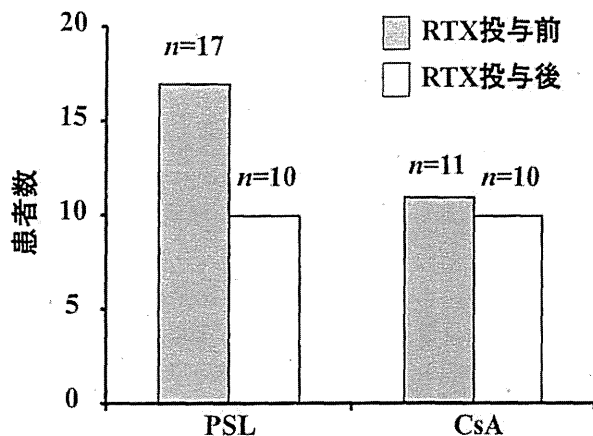


図4 ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群における RTX 前後の治療
PSL：プレドニゾロン，CsA：シクロスポリン，RTX：リツキシマブ，文献6を改変

全寛解に至り，他の6名も部分寛解を達成した。私たちが冒頭に述べたような，難治性のSRNSへのリツキシマブの著効例の経験があるが，リツキシマブ投与後もステロイドパルス療法や免疫抑制薬を継続することがSRNSの寛解導入に必要であるとの印象を持っている⁵⁾⁷⁾。しかし，より今後多くの症例を対象とした臨床試験によりリツキシマブのSRNSへの有効性と使用法の検討が必要である。また，SDNSに対しては，リツキシマブ投与後にも免疫抑制薬を後療法として継続することが再発の減少に必要であるため推奨する⁸⁾⁹⁾。

本調査での重篤な有害事象は敗血症1名，無顆粒球症2名であった。リツキシマブ療法のもっとも多い副作用は，投与後24時間以内に発現する投与時副反応である。投与後3時間以内に過敏症やアレルギー反応に類似した発熱，悪寒，頭痛，かゆみ，発疹，咳，血管浮腫，多汗，めまい，倦怠感などを認めることが多い。対症療法や投与速度の緩徐化などが稀に必要な場合もあるが，通常は経過観察のみで改善することが多い。当センターでの経験では，咽頭痛や咳嗽などの呼吸器症状が約2/3を占めており，重篤な症状の経験はなく全例で投与完了できた¹⁰⁾。

また，機序不明であるが，比較的頻度が高い副作用(発生5%程度)として好中球減少症がある。私たちは，これまで7名(リツキシマブ投与のネフローゼ患者の3.9%に発生)の無顆粒球症を経験しているが，発現時期は49-161日(中央値57日)とB細胞枯渇期間中であり，全例発熱に伴い発見されたが，全例抗菌薬やG-CSFで速やかに軽快した。さらにリツキシマブには，間質性肺炎¹¹⁾，進行性多巣性白質脳症，肝炎ウイルス感染者における劇症肝炎，重症のカリニ肺炎などの，発生頻度は低いものの，これまで使用されてきた免疫抑制薬では経験しない致死的な合併症もある。私たちは，リツキシマブ投与後に，本来CTや胸部単純撮影でびまん性のすりガラス状陰影を特徴とするカリニ肺炎が，結節状の多発性肉芽腫像を形成したSDNSの患者を経験した¹²⁾。このように，リツキシマブによるB細胞の除去が本来と異なった感染症像をもたらすこともあり注意を要する。このよ

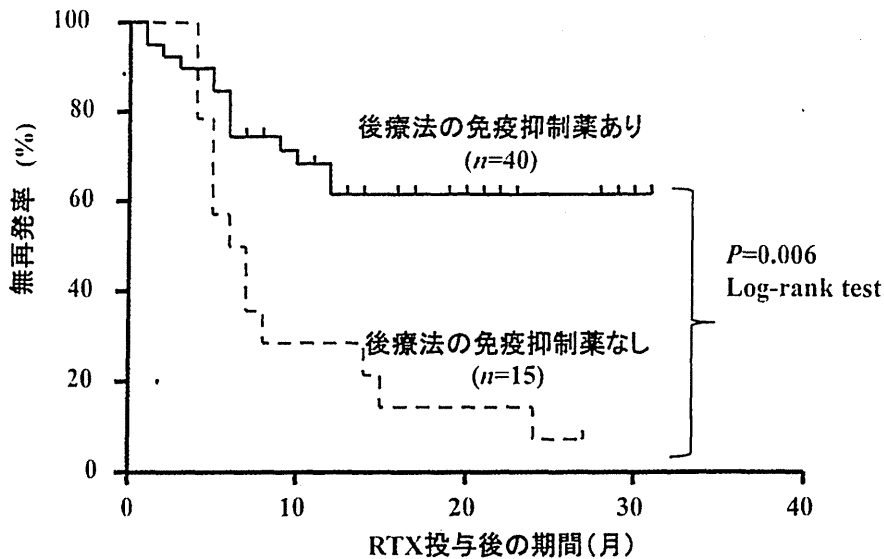


図6 RTX投与後の後療法としての免疫抑制薬の再発防止効果
PSL: プレドニゾロン, RTX: リツキシマブ, 文献6を改変

うな重篤な副作用もあるため、リツキシマブの容易な使用が危惧されるため、将来的には適切な使用基準の設定が必要であろう。

2) その他の疾患へのリツキシマブの臨床応用

① ANCA 関連血管炎

これまで ANCA 関連血管炎に対するリツキシマブについて、2つの大規模な RCT (RAVE study と RITUXVAS study) が行われた¹³⁾¹⁴⁾。RAVE study は 197 名の成人の ANCA 関連血管炎患者を対象に寛解導入療法としてリツキシマブの安全性と有効性をシクロホスファミドと比較した RCT である。その結果は、リツキシマブは寛解導入療法として経口シクロホスファミドと同等の効果があり、再燃例に対しては、シクロホスファミドよりも優れているというものであった。また、RITUXVAS study は腎障害を有した ANCA 関連血管炎の成人患者 44 名を対象とした寛解導入療法としてリツキシマブとシクロホスファミド大量療法 (IVCY) の比較試験である。結果は、リツキシマブは、IVCY+アザチオプリン群と比較して寛解導入率は同等で、重篤な副作用も変わらないというものであった。また、他の多くの非ランダム化試験でも、ほとんどの症例で部分寛解または完全寛解が得られている。これらの結果をもとに 2011 年 4 月に FDA は本症への適応を承認している。ちなみに、わが国では、適応外使用であるが「ANCA 関連血管炎の診療ガイドライン」では、リツキシマブは難治症例や従来の治療薬が禁忌のた

め使用できない場合の治療法の一つに挙げられている。わが国でも厚生労働省の医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議の第 2 回要望募集に要望薬として提出されており、成人においては平成 25 年 1 月 31 日に保険適応となった。

② ABO 不適合腎移植に対するリツキシマブ投与

ABO 不適合腎移植では、抗 A 抗 B 抗体による抗体関連型急性拒絶反応による移植腎の喪失を防ぐことが最大の課題である。近年、移植の前処置に脱感作療法としてリツキシマブを使用することで、脾臓摘出術なしで ABO 不適合腎移植を行うことが可能となった。2002 年、澤田らは A 型から O 型への ABO 不適合腎移植において抗 A 抗体が高値で移植不可能と思われた症例に対して、リツキシマブと抗体除去療法、脾臓摘出術を併用し腎移植を成功させた¹⁵⁾。2003 年には Tydén らが、脾臓摘出術を行わずに、移植 4 週間前にリツキシマブ 375 mg/m² を投与し、抗体除去療法と免疫グロブリン投与を併用し、ABO 不適合腎移植を成功させた¹⁶⁾。本邦でも 2004 年に Saito らがリツキシマブを投与し、脾臓摘出術を併用しない ABO 不適合腎移植を報告した¹⁷⁾。以降、わが国でも ABO 不適合腎移植には、リツキシマブを使用し脾臓摘出術を施行しない施設がほとんどになった。現在の脱感作療法は、移植手術 2~4 週間前から低用量のカルシニューリン阻害薬、核酸代謝拮抗薬、ステロイド薬を開始し、移植 1~2 週間前にリツキシマブを投与する。また抗

CD25 抗体であるバシリキシマブも移植当日と移植後4日目に投与する。脱感作療法でのリツキシマブの投与量は施設間差が大きいが、35~50 mg/m²以上の投与量がB細胞の枯渇に必要と報告されている。こちらも現在、わが国でも厚生労働省の医療上の必要性の高い未承認薬・適応外薬検討会議の第2回要望募集に要望薬として提出されており、今後は保険収載の可能性が極めて高い。

上記の疾患以外に難治性膜性腎症¹⁸⁾⁻²⁰⁾、小児の全身性エリテマトーデス²¹⁾等に対する有効例の報告も多い。

2. エクリズマブ

溶血性尿毒症症候群のうち、非典型溶血性尿毒症症候群 (atypical hemolytic uremic syndrome; aHUS) の占める割合は5~10%程度である。本症は年齢に関係なく、家族性にとくに散発性に発生し、半数が発症後1年程度で慢性腎不全となり予後不良である。さらに脳梗塞や心不全などの臓器障害も生じる。1998年にWarwickerらがH因子のヘテロ変異によるaHUSを報告して以来、本症の原因が補体第二経路を介した過度な補体の活性化であることが明らかになり、現在ではH因子、I因子、MCP、トロンボモジュリンの loss or decreased function mutation のヘテロ変異とB因子とC3の gain of function mutation のヘテロ変異や、さらに疾患感受性SNP(H因子のY402Hなど)もaHUSの原因として知られている²²⁾²³⁾。Warwickerらの報告した変異H因子は、糸球体糸状の血管内皮への結合力低下、血小板への結合低下による血小板凝集促進、血小板からの組織因子を表出した微小顆粒の放出により、血管内凝固が促進される変異であった²³⁾。エクリズマブはC5に対するヒト化モノクローナル抗体で、C5に結合しC5のC5aとC5bへの分離を阻止し、補体の最終産物であるmembrane attack complex(MAC)の形成を阻止し補体第二経路の活性化を抑制する。FDAは2011年9月に本剤をaHUSに対しての適応を承認した。

適応承認にあたり参考とされた、成人、青年期のaHUS患者計37例を対象としたシングルアームの2つの前方視的試験と小児患者19例と成人患者11例による1つの後方視的研究のいずれの試験においても、エクリズマブにより血液検査指標(血小板、LDH)の改善が76~90%の患者で認められ、80~87%の患者で新たな再発を防止した。さらに腎機能も改善させ、一部の血漿交換療法が無効であった患者では透析療法の離脱が可能になった。副作用は上気道感染や下痢などで重篤なものはない²⁴⁾⁻²⁶⁾。さらに、aHUS患者の腎移植後の再発予防効果の報告も多い²⁷⁾⁻³¹⁾。現在試験が進行しており、わが

国でもaHUSに使用可能となることが期待されている。しかし、本剤は大変に高価な薬剤であり、どの程度の再発頻度や重症度のaHUSを対象に使用するかという点では今後の検討が必要である。

3. ベリムマブ

全身性エリテマトーデス(SLE)に対する新規治療法として、これまで様々な生物学的製剤の試験が行われてきた。なかでも、リツキシマブの臨床試験はもっとも注目を集めていた。しかし、米国で行われた第III相試験「EXPLORER試験」では、明らかな効果を示すことができず、さらに米国でループス腎炎を対象に、リツキシマブと免疫抑制薬の併用効果をみた第III相試験「LUNAR試験」も、効果不十分と判定され失敗に終わってしまった³²⁾³³⁾。試験に失敗した理由は、腎症と中枢神経症状を除外するなどの登録症例の問題、プロトコルデザインの問題、有効性を評価する「BILAG index」の問題などが挙げられている。この2つの試験の失敗により、本来であればかなり有効と考えられるリツキシマブがSLEへの適応の取得に失敗した。これらの失敗は、試験を企画するうえで、どのような対象を、どのような評価法で、何をエンドポイントに据えるかという基本的事項の重要性を物語っている。実際、フランスから小児SLE患者136名へのリツキシマブの有効性の報告もあり、再度SLEに対するリツキシマブの試験が検討されることを願ってやまない²¹⁾。さらに、ヒト化抗CD20抗体「オクレリズマブ」、ヒト型CD20抗体「オフアツズマブ」についても、難治性SLEを対象とした臨床試験が中止に追い込まれ、相次ぐ第III相試験の失敗でSLEに対する生物学的製剤の治療の撤退ムードが広がっていた。

ところが、昨年ベリムマブ(belimumab, BENLYSTA[®])が米食品医薬品局(FDA)から承認された。FDAが承認したSLE治療薬は、1955年の抗マラリア薬hydroxychloroquine以来であり、実に56年ぶりの新たな承認薬となった。B-lymphocyte stimulator(BLyS)はTNFファミリー分子で、B細胞の生存を助け、成熟を促し、抗体産生を増強する刺激因子である。ベリムマブは抗BLySモノクローナル抗体であり、BLySのB細胞表面の受容体への結合を阻害し、自己反応性B細胞を含むB細胞の生存の阻害と免疫グロブリン産生プラズマ細胞への分化を抑制する。今回の承認の根拠となったのは、中等度の活動性を有するSLEに対してベリムマブを免疫抑制剤に追加し、その効果を判定した2つのphase IIIの試験での有効性である³⁴⁾。SLEの活動性(SELENA-SLEDAI)スコア

6以上の成人患者を、ベリムマブ1 mg/kg群、10 mg/kg群、プラセボ群(免疫抑制薬を用いた標準療法)に割り付け、主要エンドポイントはSELENA-SLEDAI活動性スコアの4ポイント以上低下などで判定した52週目の反応率とした。865例(1 mg/kg群288例、10 mg/kg群290例、プラセボ群287例)が解析対象となり、52週目の反応率はプラセボ群の44%に対し、1 mg/kg群が51%[オッズ比(OR)1.55, P=0.0129]、10 mg/kg群が58%(OR 1.83, P=0.0006)と有意差があり、重症の再発もベリムマブ群では有意に少なかった。しかし、この2試験は、主要エンドポイントがSELENA-SLEDAI活動性スコアの4ポイント以上低下と控えめの設定にされており、またB細胞標的療法を受けたことがある患者やシクロホスファミド静脈内投与歴のある患者、腎臓や中枢神経系にSLEが発現している患者は除外されていた。たしかに、ベリムマブ群では重篤な再燃も少なく、ステロイドが減量できた患者もいたが、免疫抑制薬併用下の結果であり、しかもプラセボ群と比べてベリムマブ群の方が治験開始時の疾患活動性が低かったという問題がある。すなわち、今回の承認がベリムマブの重症のSLEへの単独効果の確立を意味するものではない。副作用についても、ベリムマブ群ではプラセボ群と比べて死亡数が多く、重度感染症の報告も多い結果であった。今後の症例の蓄積により、どのような症例にどのようなタイミングで使用すべきかの検討が必要である。

4. TNF- α 阻害薬によるネフローゼ症候群治療の可能性

私たちはネフローゼ症候群発症後に若年性特発性関節炎を発症し、その治療に用いたTNF- α 阻害薬であるエタネルセプトがネフローゼ症候群をも長期寛解させた症例を経験した³⁵⁾。ネフローゼ症候群に対するTNF- α 阻害薬の効果はこれまでに私たちの経験を含め4例の報告がある³⁵⁾⁻³⁸⁾。またTNF- α の β 3インテグリンの活性化を介した上皮細胞の細胞骨格への障害作用や係蹄への細胞接着を障害する作用を持つことも判明した³⁸⁾。今後、TNF- α 阻害薬のネフローゼ症候群治療薬としての可能性について研究が期待される。

おわりに

分子標的療法は、knockout mouseやtransgenic mouseなどを含む、動物実験モデルによりその有効性が実証され、臨床開発されたものも多く、いわゆる“bench to bed”の薬剤である。本稿で述べたように、分子標的療法であるモノクローナル抗体を用いた腎臓疾患治療のパラダイム

シフトは着実に進んでおり、多くの疾患の予後を改善させてゆくことは想像に難くない。その一方で、これらの薬剤には従来の免疫抑制薬では経験することが稀な副作用も多く、その使用に際しては十分な注意が必要である。

しかし、分子標的療法は疾患の病態生理に興味深い新事実をもたらすことも多い。その例としてリツキシマブの有効性が明らかになった小児特発性ネフローゼ症候群がある。すなわち、リツキシマブは、“knockout mouse”ならぬ“knockout disease”の状態を作りだし、Bリンパ球を含む免疫系が本症の病態に重要な鍵を握っているということを間接的に示したのである。このように分子標的療法は、“bed to bench”で病態解明に新たな知見をも与えるのである。

今後も新たなモノクローナル抗体製剤が次々と開発されることであろう。さらに、慢性関節リウマチで有効性が証明され臨床応用され始めたJAK阻害薬(トファチニブ)等のシグナル伝達阻害薬等の新たな分子標的療法も登場し始めた。今後、分子標的療法のターゲットは細胞内シグナルにも移行してゆくことであろう。しかし、筆者としてはネフローゼ因子の発見、さらにその阻害薬の開発と臨床応用が腎疾患治療における分子標的療法に期待される最大の目標の一つと考えている。近い未来にそのような治療法が開発されることを願って止まない。

文 献

- 1) Benz K, Dötsch J, Rascher W, Stachel D: Change of the course of steroid-dependent nephrotic syndrome after rituximab therapy. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 794-797.
- 2) Nozu K, Iijima K, Fujisawa M, Nakagawa A, Yoshikawa N, Matsuo M: Rituximab treatment for posttransplant lymphoproliferative disorder (PTLD) induces complete remission of recurrent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2005; 20: 1660-1663.
- 3) Kamei K, Ito S, Nozu K, Fujinaga S, Nakayama M, Sako M, Saito M, Yoneko M, Iijima K: Single dose of rituximab for refractory steroid-dependent nephrotic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 1321-1328.
- 4) 小椋雅夫, 亀井宏一, 堤 品子, 野田俊輔, 佐藤 舞, 藤丸拓也, 石川智朗, 宇田川智宏, 伊藤秀一: 難治性ネフローゼ症候群におけるリツキシマブの恩恵—骨合併症の見地から—. *日小児腎臓病会誌* 2011; 24: 31-35.
- 5) Kaito H, Kamei K, Kikuchi E, Ogura M, Matsuoka K, Nagata M, Iijima K, Ito S: Successful treatment of collapsing focal segmental glomerulosclerosis with a combination of rituximab, steroids and ciclosporin. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 957-959.
- 6) Ito S, Kamei K, Ogura M, Udagawa T, Fujinaga S, Saito M, Sako M, Iijima K: Survey of rituximab treatment for childhood-onset refractory nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013; 28: 257-264.
- 7) Nakayama M, Kamei K, Nozu K, Matsuoka K, Nakagawa A, Sako M, Iijima K: Rituximab for refractory focal segmental glomerulosclerosis. *Pediatr Nephrol* 2008; 23: 481-485.

- 8) Ito S, Kamei K, Ogura M, Sato M, Fujimaru T, Ishikawa T, Udagawa T, Iijima K: Maintenance therapy with mycophenolate mofetil after rituximab in pediatric patients with steroid-dependent nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2011; 26: 1823-1828.
- 9) Fujinaga S, Hirano D, Nishizaki N, Kamei K, Ito S, Ohtomo Y, Shimizu T, Kaneko K: Single infusion of rituximab for persistent steroid-dependent minimal-change nephritic syndrome after long-term cyclosporine. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 539-544.
- 10) Kamei K, Ito S, Iijima K: Severe respiratory adverse events associated with rituximab infusion. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 1193.
- 11) Chaumais MC, Garnier A, Chalard F, Peuchmaur M, Dauger S, Jacqz-Agrain E, Deschênes G: Fatal pulmonary fibrosis after rituximab administration. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 1753-1755.
- 12) Sato M, Ito S, Ogura M, Kamei K, Miyairi I, Miyata I, Higuchi M, Matsuoka K: Atypical *Pneumocystis jirovecii* pneumonia with multiple nodular granulomas after rituximab for refractory nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013; 28: 145-149.
- 13) Stone JH, Merkel PA, Spiera R, Seo P, Langford CA, Hoffman GS, Kallenberg CG, St Clair EW, Turkiewicz A, Tchao NK, Webber L, Ding L, Sejsmundo LP, Mieras K, Weitzenkamp D, Ikle D, Seyfert-Margolis V, Mueller M, Brunetta P, Allen NB, Fervenza FC, Geetha D, Keogh KA, Kissin EY, Monach PA, Peikert T, Stegeman C, Ytterberg SR, Specks U; RAVE-ITN Research Group: Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363: 221-232.
- 14) Jones RB, Tervaert JW, Hauser T, Luqmani R, Morgan MD, Peh CA, Savage CO, Segelmark M, Tesar V, van Paassen P, Walsh D, Walsh M, Westman K, Jayne DR; European Vasculitis Study Group: Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *N Engl J Med* 2010; 363: 211-220.
- 15) Sawada T, Fuchinoue S, Teraoka S: Successful A1-to-O ABO-incompatible kidney transplantation after a preconditioning regimen consisting of anti-CD20 monoclonal antibody infusions, splenectomy, and double-filtration plasmapheresis. *Transplantation* 2002; 74: 1207-1210.
- 16) Tydén G, Kumlien G, Fehrman I: Successful ABO-incompatible kidney transplantations without splenectomy using antigen-specific immunoadsorption and rituximab. *Transplantation* 2003; 76: 730-731.
- 17) Saito K, Nakagawa Y, Suwa M, Kumagai N, Tanikawa T, Nishiyama T, Ueno M, Gejyo F, Nishi S, Takahashi K: Pinpoint targeted immunosuppression: anti-CD20/MMF desensitization with anti-CD25 in successful ABO-incompatible kidney transplantation without splenectomy. *Xenotransplantation* 2006; 13: 111-117.
- 18) Bombach AS, Derebail VK, McGregor JG, Kshirsagar AV, Falk RJ, Nachman PH: Rituximab therapy for membranous nephropathy: a systematic review. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 734-744.
- 19) Fervenza FC, Abraham RS, Erickson SB, Irazabal MV, Eirin A, Specks U, Nachman PH, Bergstralh EJ, Leung N, Cosio FG, Hogan MC, Dillon JJ, Hickson LJ, Li X, Cattran DC; Mayo Nephrology Collaborative Group: Rituximab therapy in idiopathic membranous nephropathy: a 2-year study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 2188-2198.
- 20) Ruggenti P, Cravedi P, Chianca A, Perna A, Ruggiero B, Gaspari F, Rambaldi A, Marasà M, Remuzzi G: Rituximab in idiopathic membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23: 1416-1425.
- 21) Terrier B, Amoura Z, Ravaud P, Hachulla E, Jouenne R, Combe B, Bonnet C, Cacoub P, Cantagrel A, de Bandt M, Fain O, Fautrel B, Gaudin P, Godeau B, Harlé JR, Hot A, Kahn JE, Lambotte O, Larroche C, Léone J, Meyer O, Pallot-Prades B, Pertuiset E, Quartier P, Schaerverbeke T, Sibilia J, Somogyi A, Soubrier M, Vignon E, Bader-Meunier B, Mariette X, Gottenberg JE: Club *Rhumatismes et Inflammation*: Safety and efficacy of rituximab in systemic lupus erythematosus: results from 136 patients from the French Autoimmunity and Rituximab registry. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 2458-2466.
- 22) Warwicker P, Goodship TH, Donne RL, Pirson Y, Nicholls A, Ward RM, Turnpenny P, Goodship JA: Genetic studies into inherited and sporadic hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 1998; 53: 836-844.
- 23) Kavanagh D, Goodship T: Genetics and complement in atypical HUS. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 2431-2442.
- 24) Loirat C, Babu S, Furman R, Sheerin N, Cohen D, Gaber O, et al: Eculizumab Efficacy and Safety in Patients With Atypical Hemolytic Uremic Syndrome (aHUS) Resistant to Plasma Exchange/Infusion [poster]. Presented at the 16th Congress of European Hematology Association (EHA), 2011. London, UK.
- 25) Loirat C, Muus P, Legendre C, Douglas K, Hourmant M, Delmas Y, et al: A Phase II Study of Eculizumab in Patients With Atypical Hemolytic Uremic Syndrome Receiving Chronic Plasma Exchange/Infusion [poster]. Presented at the 16th Congress of European Hematology Association (EHA), 2011. London, UK.
- 26) Soliris (eculizumab) [Prescribing information. Cheshire, CT: Alexion Pharmaceuticals; 2012.
- 27) Dorresteijn EM, van de Kar NC, Cransberg K: Eculizumab as rescue therapy for atypical hemolytic uremic syndrome with normal platelet count. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 1193-1195.
- 28) Zimmerhackl LB, Hofer J, Cortina G, Mark W, Würzner R, Jungraithmayr TC, Khursigara G, Kliche KO, Radauer W: Prophylactic eculizumab after renal transplantation in atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Engl J Med* 2010; 362: 1746-1748.
- 29) Weitz M, Amon O, Bassler D, Koenigsrainer A, Nadalin S: Prophylactic eculizumab prior to kidney transplantation for atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2011; 26: 1325-1329.
- 30) Al-Akash SI, Almond PS, Savell VH, Gharaybeh SI, Hogue C: Eculizumab induces long-term remission in recurrent post-transplant HUS associated with C3 gene mutation. *Pediatr Nephrol* 2011; 26: 613-619.
- 31) Zuber J, Le Quintrec M, Krid S, Bertoye C, Gueutin V, Lahoche A, Heyne N, Ardissino G, Chatelet V, Noël LH, Hourmant M, Niaudet P, Frémeaux-Bacchi V, Rondeau E, Legendre C, Loirat C; French Study Group for Atypical HUS: Eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome recurrence in renal transplantation. *Am J Transplant* 2012; 12: 3337-3354.
- 32) Merrill JT, Neuwelt CM, Wallace DJ, Shanahan JC, Latinis KM, Oates JC, Utset TO, Gordon C, Isenberg DA, Hsieh HJ, Zhang D, Brunetta PG: Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial. *Arthritis Rheum* 2010; 62: 222-233.
- 33) Rovin BH, Furie R, Latinis K, Looney RJ, Fervenza FC, Sanchez-Guerrero J, Maciucia R, Zhang D, Garg JP, Brunetta P, Appel G; LUNAR Investigator Group: Efficacy and safety of rituximab in patients with active proliferative lupus nephritis: the Lupus Nephritis Assessment with Rituximab study. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 1215-1226.

- 34) Navarra SV, Guzmán RM, Gallacher AE, Hall S, Levy RA, Jimenez RE, Li EK, Thomas M, Kim HY, León MG, Tanasescu C, Nasonov E, Lan JL, Pineda L, Zhong ZJ, Freimuth W, Petri MA; BLISS-52 Study Group: Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2011; 377: 721–731.
- 35) Ito S, Tsutsumi A, Harada T, Inaba A, Fujinaga S, Kamei K: Long-term remission of nephrotic syndrome with etanercept for concomitant juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Nephrol* 2010; 25: 2175–2177.
- 36) Raveh D, Shemesh O, Ashkenazi YJ, Winkler R, Barak V: Tumor necrosis factor- α blocking agent as a treatment for nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 1281–1284.
- 37) Leroy S, Guignon V, Bruckner D, Emal-Aglae V, Deschênes G, Bensman A, Ulinski T: Successful anti-TNF α treatment in a child with posttransplant recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Transplant* 2009; 9: 858–861.
- 38) Bitzan M, Babayeva S, Vasudevan A, Goodyer P, Torban E: TNF α pathway blockade ameliorates toxic effects of FSGS plasma on podocyte cytoskeleton and $\beta 3$ integrin activation. *Pediatr Nephrol* 2012; 27: 2217–2226.

Molecular targeted therapy as new options for childhood kidney diseases

Shuichi Ito

Division of Nephrology and Rheumatology, National Center for Child Health and Development

Targeted therapy including monoclonal antibodies and small molecules are promising option against intractable autoimmune disease and malignancy. Recently, targeted therapy has started to improve the clinical outcome of many refractory renal diseases. For instance, rituximab for refractory childhood-onset nephrotic syndrome, ANCA related disorders, membranous nephropathy and ABO-incompatible renal transplantation, eculizumab for atypical hemolytic uremic syndrome and belimumab for systemic lupus erythematosus are clinically available. In the future, we will undergo a paradigm shift of treatment strategy for renal diseases. Meanwhile, we have to pay attention to life-threatening adverse effects of targeted therapy which we have never experienced in existing immunosuppressants.

Key words: Molecular-targeted therapy, monoclonal antibody, nephrotic syndrome, children, rituximab, kidney disease

Neurology®

Clinical and radiologic features of encephalopathy during 2011 *E coli* O111 outbreak in Japan

Jun-ichi Takanashi, Hiromichi Taneichi, Takako Misaki, et al.

Neurology published online January 17, 2014

DOI 10.1212/WNL.0000000000000120

This information is current as of January 17, 2014

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:
<http://www.neurology.org/content/early/2014/01/17/WNL.0000000000000120.full.html>

Neurology® is the official journal of the American Academy of Neurology. Published continuously since 1951, it is now a weekly with 48 issues per year. Copyright © 2014 American Academy of Neurology. All rights reserved. Print ISSN: 0028-3878. Online ISSN: 1526-632X.



Clinical and radiologic features of encephalopathy during 2011 *E coli* O111 outbreak in Japan



Jun-ichi Takanashi, MD,
PhD
Hiromichi Taneichi, MD,
PhD
Takako Misaki, MD
Yuichiro Yahata, PhD,
MPH
Akihisa Okumura, MD,
PhD
Yoh-ichi Ishida, MD,
PhD
Toshio Miyawaki, MD,
PhD
Nobuhiko Okabe, MD,
PhD
Tetsutaro Sata, MD, PhD
Masashi Mizuguchi, MD,
PhD

Correspondence to
Dr. Takanashi:
jtaka44@hotmail.co.jp

ABSTRACT

Objective: To elucidate the clinical and radiologic features and analyze factors associated with neurologic outcomes of encephalopathy secondary to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O111.

Methods: We reviewed medical records and neuroimaging in 22 patients with neurologic symptoms among 86 with STEC O111 infection.

Results: Twenty-one (6 males and 15 females, 10 children and 11 adults) of the 22 patients were diagnosed with encephalopathy. All patients with encephalopathy also presented with hemolytic-uremic syndrome. Five patients died, from day 1 to 6 months (days 1–5 in 4 patients), due to progressive encephalopathy with severe cerebral edema observed in neuroimaging (4 patients). Fifteen of the 16 surviving patients clinically recovered completely. Statistical analysis revealed differences between patients with poor (n = 6) and good (n = 15) outcomes in the interval from hemolytic-uremic syndrome presentation to encephalopathy, creatinine levels, and the methylprednisolone administration ratio.

Conclusion: We note a high incidence of encephalopathy in the Toyama STEC O111 outbreak. All fatal cases resulted from progressive encephalopathy. Methylprednisolone pulse therapy represents a possible therapeutic choice.

Classification of evidence: This study provides Class III evidence that methylprednisolone pulse therapy increases the probability of a good outcome for patients with encephalopathy associated with STEC O111. *Neurology*® 2014;82:1–9

GLOSSARY

ADC = apparent diffusion coefficient; **Gb3** = globotriaosylceramide; **HUS** = hemolytic-uremic syndrome; **IL-1 β** = interleukin-1 β ; **IVIg** = IV immunoglobulin; **mPSL** = methylprednisolone; **STEC** = Shiga toxin-producing *Escherichia coli*; **Stx** = Shiga toxin; **TNF- α** = tumor necrosis factor- α .

Diarrhea-associated hemolytic-uremic syndrome (HUS) is a complication in 6% to 9% of patients infected with Shiga toxin (Stx)-producing *Escherichia coli* (STEC), and approximately 15% of those are younger than 10 years.¹ CNS involvement occurs in some patients with STEC-HUS and may be predictive of poor outcomes.^{2,3} Renal lesions in HUS are characterized by thrombotic microangiopathy; however, the pathogenesis of the CNS involvement is not well understood.⁴

Although the STEC O157 serotype is the most prevalent, other strains also cause outbreaks, as in the case of the STEC O104 in northern Germany and O111 in Oklahoma.^{5–7} From April to May 2011, a STEC O111 outbreak occurred predominantly in Toyama Prefecture, Japan, among persons who had eaten raw meat at several branches of a barbecue restaurant chain; the outbreak included a high frequency of severe complications. Thirty-four of the 86 patients with STEC O111 infection (40%) in this particular outbreak had STEC-HUS; in those 34 patients, we encountered patients with severe encephalopathy, which sometimes resulted in brain

Supplemental data at
www.neurology.org

From the Department of Pediatrics (J.-i.T.), Kameda Medical Center, Kamogawa; Department of Pediatrics (H.T., T. Miyawaki), University of Toyama; Infectious Disease Surveillance Center (T. Misaki, Y.Y., N.O.), National Institute of Infectious Diseases, Tokyo; Department of Pediatrics (A.O.), Juntendo University Faculty of Medicine, Tokyo; Department of Nephrology (Y.-i.I.), Toyama City Hospital, Toyama; Toyama Institute of Health (T.S.), Toyama; Department of Developmental Medical Sciences (M.M.), Graduate School of Medicine, the University of Tokyo, Japan. Go to Neurology.org for full disclosures. Funding information and disclosures deemed relevant by the authors, if any, are provided at the end of the article.

herniation and death. Herein, we report the clinical and radiologic features of STEC O111-encephalopathy and suggest the efficacy of methylprednisolone (mPSL) pulse therapy.

METHODS Primary research question and classification of evidence. We conducted a retrospective review of 21 patients with STEC O111-encephalopathy, and analyzed factors associated with their neurologic outcomes. We sought Class III evidence for increasing the probability of a good outcome.

Definitions. For our purposes, we defined STEC O111 infection as illness in a person who visited one of the branches of the implicated barbecue restaurant chain, had at least one gastrointestinal symptom, and positive bacterial cultures of stool samples or sera for anti-*E coli* O111 antibody by microagglutination assay. Gastrointestinal symptoms included diarrhea, bloody stools, abdominal pain, and vomiting. Diagnosis of HUS required findings of thrombocytopenia, hemolytic anemia, and acute renal dysfunction (hematuria, proteinuria, or an elevated creatinine level).⁸ Diagnosis of encephalopathy was defined as acute onset of impaired consciousness lasting more than 12 hours, often associated with seizures or delirious behavior, according to the guidelines for influenza encephalopathy.⁹ We defined the day of encephalopathy onset as day 0.

Patients. In Toyama and other prefectures in Japan between late April and early May 2011, 86 patients (21 children [15 years or younger], 65 adults [older than 15 years]) with STEC O111 infection were identified, of whom 34 (40%, 11 children and 23 adults) had HUS. We retrospectively collected clinical and radiologic information on 22 patients with neurologic manifestations associated with the STEC O111 infection, and reviewed neuroimaging results (CT and MRI) and reports for these patients, including information on symptoms, clinical diagnosis, treatments, laboratory data, and outcome (monitored until at least 1 year after the encephalopathy). We classified patients with encephalopathy (n = 21) into the poor outcome group (patients who died or had neurologic sequelae) (n = 6) and those with complete recovery (n = 15) into the good outcome group.

Clinical features of 4 patients (including 3 patients who died) with STEC O111-encephalopathy (none of whom had mPSL therapy), and the serum cytokine profiles of 14 patients with STEC O111-HUS (8 patients with encephalopathy) were previously reported.^{8,10}

Statistics. We compared the good and poor outcome groups using the Welch test with the following variables: age of patient; the interval from ingestion of contaminated food to enteritis, from enteritis to HUS, and from HUS to encephalopathy; as well as laboratory data (the highest or lowest values during acute HUS and encephalopathy), including white blood cell, hemoglobin, platelet, aspartate aminotransferase, creatinine, and C-reactive protein data. We performed Fisher exact test for the following variables: sex; brain lesions in the basal ganglia and thalamus; and therapies, including hemodialysis, plasma exchange, polymyxin-B immobilized column direct hemoperfusion, thrombomodulin, mPSL, and IV immunoglobulin (IVIg). We used SPSS software (version 20; IBM Corp., Armonk, NY) for statistical analyses and set $p < 0.05$ as statistically significant. In addition, we calculated 95% confidence intervals of the data for patients with poor and good outcomes. Because of the small sample size, we did not use adjustments by multivariate analysis.

Standard protocol approvals, registrations, and patient consents. Institutional Review Boards of the Kameda Medical Center and the National Institute of Infectious Diseases approved this study.

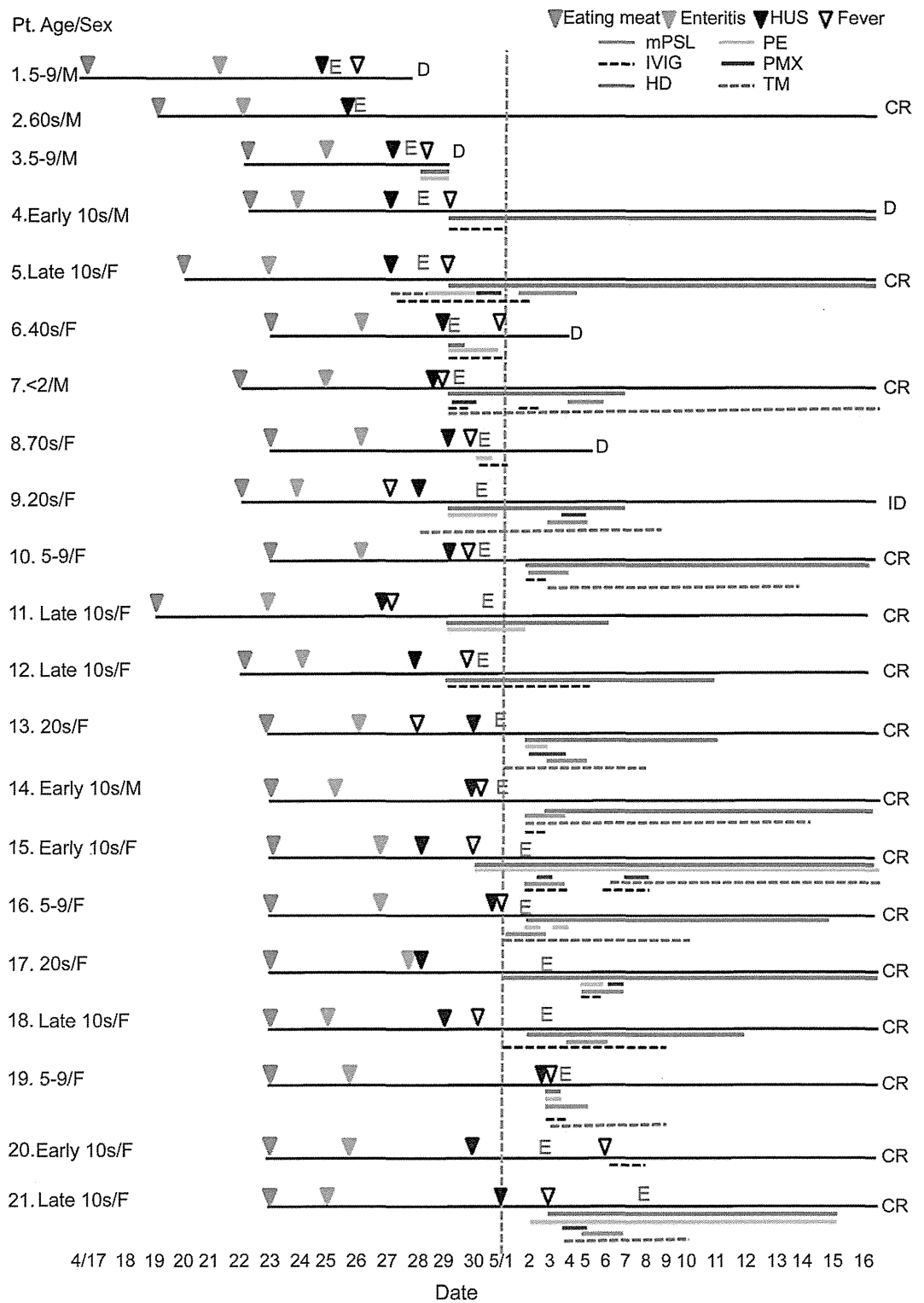
RESULTS Twenty-one of the 22 patients with neurologic symptoms showed encephalopathy, and the remaining patient had idiopathic intracranial hypertension. Figure 1 and table 1 show clinical symptoms and courses. All of the 21 patients with STEC O111-encephalopathy also presented with HUS. Ten of 11 children and 11 of 23 adults with STEC O111-HUS had encephalopathy. All 21 patients had eaten raw meat on days -7 to -15 (April 17-23, 2011) and developed gastrointestinal symptoms on days -3 to -13. The diagnosis of HUS was made on days 0 to -7.

Therapy included blood purification, such as hemodialysis (n = 17), plasma exchange (n = 12), polymyxin-B immobilized column direct hemoperfusion (n = 7), and thrombomodulin treatment (n = 10), in addition to fluid and electrolyte management, red blood cell or platelet transfusion, and antihypertensive agents in most patients. Treatments for encephalopathy, which were introduced to improve possible hypercytokinemia after May 1, 2011, included mPSL (n = 12, 11 receiving pulse therapy [30 mg/kg × 3 days]), IVIg (n = 13), and brain hypothermia in one. We did not observe any obvious side effects from mPSL therapy. Six patients had a poor outcome, 5 died on day 1 to 6 months (days 1-5 in 4 patients) due to progressive encephalopathy, and another previously healthy patient had persistent intellectual disability. Fifteen patients recovered completely. None exhibited hypoglycemia during the course of encephalopathy. Renal function recovered to almost normal in the 16 surviving patients.

Both MRI and CT were performed in 11 patients, only MRI in 5, and only CT in 5 (figure 2; table e-1 on the *Neurology*[®] Web site at www.neurology.org). In 4 of the 5 patients who died, CNS lesions rapidly progressed within 2 days, leading to severe cerebral edema (figure 2, A-C) and finally death. Neuroimaging studies revealed no parenchymal lesions in 6 patients, and those in the other 15 patients revealed the following: 1) symmetrical lesions in the thalamus (most often in the lateral thalamus, figure 2, A-E and H) on days 0 to 7 in 12, including 4 patients who died; 2) the basal ganglia (putamen or globus pallidus) (figure 2, C-E and G) on days 0 to 7 in 10 (including 5 patients who died); 3) external capsule (figure 2, D, E, G, and H) on days 0 to 7 in 9 (including 5 patients who died); and 4) dorsal brainstem or cerebellum (figure 2F) on days 0 to 10 in 6 (including 3 patients who died).

Follow-up MRI in 7 patients performed later than day 28 showed mild cerebral atrophy (figure 2, I and J) in 4. We found no residual lesions in the thalamus on follow-up. We noted decreased apparent diffusion coefficient (ADC) values in the lateral thalamus (figure 2, E and H) in 4 patients scanned before or on day 7,

Figure 1 Clinical courses of 21 patients with STEC O111-encephalopathy from April 17 to May 16, 2011



< 2 = younger than 2 years; 5-9 = 5-9 years; early 10s = 10-15 years; late 10s = 16-19 years; 20s = 20-29 years; 40s = 40-49 years; 60s = 60-69 years; 70s = 70-79 years. The blue line indicates May 1, 2011, when we started to use mPSL and IVIg therapy for the treatment of encephalopathy. CR = complete recovery; D = dead; E = encephalopathy; HD = hemodialysis; HUS = hemolytic-uremic syndrome; ID = intellectual disability; IVIg = IV immunoglobulin; mPSL = methylprednisolone; PE = plasma exchange; PMX = polymyxin-B immobilized column direct hemoperfusion; Pt. = patient; STEC = Shiga toxin-producing *Escherichia coli*; TM = thrombotic microangiopathy.

Table 1 Clinical symptoms and outcomes in 21 patients with STEC O111-encephalopathy

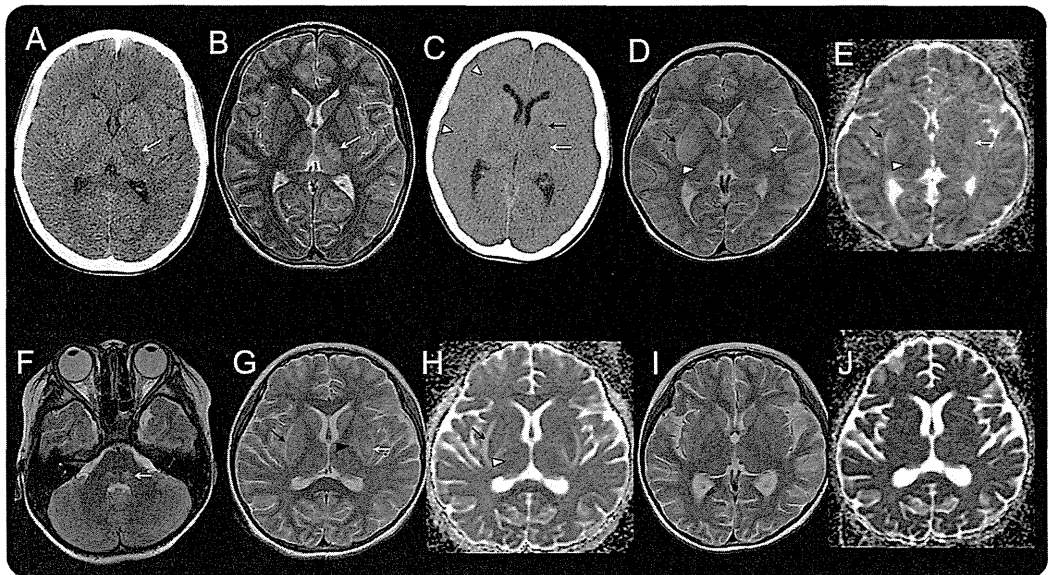
		Seizure	Consciousness disturbance	Delirium	Intubation	Others	Outcome		
							CR	ID	Died
Children, ≤15 y	n = 10	5	8	6	6		7	0	3
	Male (n = 5)	4	4	2	4	Myoclonus (n = 1)	2	0	3
	Female (n = 5)	1	4	4	2	Tremor (n = 1), aphasia (n = 1)	5	0	0
Adults, >15 y	n = 11	4	7	8	6		8	1	2
	Male (n = 1)	0	1	1	0		1	0	0
	Female (n = 10)	4	6	7	6	Tremor (n = 2), aphasia (n = 1)	7	1	2
All ages	n = 21	9	15	14	12		15	1	5
	Male (n = 6)	4	5	3	4		3	0	3
	Female (n = 15)	5	10	11	8		12	1	2

Abbreviations: CR = complete recovery; ID = intellectual disability; STEC = Shiga toxin-producing *Escherichia coli*.

and normal or increased values in 3 patients after day 7. However, ADCs in the putamen and external capsule (figure 2, E and H) were normal or increased in 3 patients examined on days 2, 6, 7, and 10. Lastly, we noted spotty lesions in the white matter or basal ganglia (figure 2G) suggesting lacunar infarctions in 5 patients on days 6 to 27.

Statistical analysis revealed differences between patients with poor and good outcomes in the interval from HUS to encephalopathy, the creatinine level, and the mPSL administration ratio (table 2). The characteristics of study patients showed no significant difference between patients with and without mPSL (table 3).

Figure 2 Neuroimaging of patients 4 and 10



CT images of patient 4 who died in 6 months show low density lesions in the lateral thalamus on day 1 (A, arrow). T2-weighted image on day 1 shows T2 prolongation in the thalamus (B, arrow). CT on day 2 (C) reveals cerebral edema with low density lesions in the cerebral white matter (arrowheads), thalamus (white arrow), and globus pallidus (black arrow). T2-weighted image of patient 10 (who subsequently recovered completely) on day 2 (D) shows bilateral T2 prolongation in the putamen (white arrow), external capsule (black arrow), and lateral thalamus (arrowhead). The apparent diffusion coefficient (ADC) map on day 2 (E) shows increased diffusion in the putamen (white arrow) and external capsule (black arrow) and reduced diffusion in the thalamus (arrowhead). At the level of the middle cerebellar peduncles, the T2-weighted image on day 2 (F) shows T2 prolongation in the dorsal midpons (arrow). The T2-weighted image on day 6 (G) shows high signal lesions in the bilateral external (black arrow) and internal capsules with lesions in the putamen (white arrow) and thalamus decreased in size and intensity and a new lesion in the left globus pallidus (black arrowhead). The ADC map on day 6 (H) shows increased diffusion in the external capsule (black arrow) and reduced diffusion in the thalamus (arrowhead). The T2-weighted image (I) and ADC map at 2 months (J) show mild atrophy with no abnormal signal lesion.

Table 2 Comparison of patients with poor and good outcomes

	All patients (n = 21)	Poor outcome (n = 6)	95% CI	Good outcome (n = 15)	95% CI	p Value
Age, y	20.3 ± 17.9	27.5 ± 25.1	1.1-53.9	17.5 ± 14.2	9.6-25.3	NS
Sex, M	6 (28.6)	3 (50.0)	11.8-88.2	3 (20.0)	4.3-48.1	NS
Ingestion to enteritis, d	3.0 ± 0.8	2.8 ± 0.8	2.0-3.6	3.1 ± 0.9	2.6-3.6	NS
Enteritis to HUS, d	3.7 ± 1.5	3.2 ± 0.8	2.4-4.0	3.9 ± 1.7	2.9-4.8	NS
HUS to encephalopathy, d	1.8 ± 1.9	0.8 ± 0.8	0-1.6	2.2 ± 2.1	1.0-3.4	<0.05
Therapies						
HD	17 (81.0)	4 (66.7)	22.3-95.7	13 (86.7)	59.5-98.3	NS
PE	12 (57.1)	4 (66.7)	22.3-95.7	8 (53.3)	26.6-78.7	NS
PMX	7 (33.3)	1 (16.7)	0.4-64.1	6 (40.0)	16.3-67.7	NS
TM	10 (46.7)	1 (16.7)	0.4-64.1	9 (60.0)	32.3-83.7	NS
mPSL	12 (57.1)	1 (16.7)	0.4-64.1	11 (73.3)	44.9-92.2	<0.05
IVIg	13 (61.9)	3 (50.0)	11.8-88.2	10 (66.7)	44.9-92.2	NS
Laboratory values						
WBC, ×1,000/μL	39.8 ± 18.7	41.0 ± 11.5	29.0-53.2	39.2 ± 21.2	27.5-51.0	NS
Hb, g/dL	6.6 ± 1.7	7.5 ± 2.7	4.6-10.3	6.2 ± 1.0	5.7-6.7	NS
PLT, ×10,000/μL	1.9 ± 1.4	2.0 ± 0.8	1.2-2.8	1.9 ± 1.7	1.0-2.8	NS
AST, IU/L	144 ± 86	215 ± 117	93.2-338.4	116 ± 53	86.8-145.1	NS
Creatinine, mg/dL	4.4 ± 2.9	7.9 ± 2.8	4.9-10.9	3.0 ± 1.5	2.1-3.8	<0.01
CRP, mg/dL	14.8 ± 9.6	16.1 ± 9.1	6.6-25.7	14.2 ± 9.9	8.7-19.7	NS
Basal ganglia lesion	10 (47.6)	5 (83.3)	35.9-99.6	5 (33.3)	11.8-61.6	NS
Thalamus lesion	12 (57.1)	5 (83.3)	35.9-99.6	7 (46.7)	21.3-73.4	NS

Abbreviations: AST = aspartate aminotransferase; CI = confidence interval; CRP = C-reactive protein; Hb = hemoglobin; HD = hemodialysis; HUS = hemolytic-uremic syndrome; IVIg = IV immunoglobulin; mPSL = methylprednisolone; NS = not significant; PE = plasma exchange; PLT = platelets; PMX = polymyxin-B immobilized column direct hemoperfusion; TM = thrombomodulin; WBC = white blood cells. Data are presented as mean ± SD or n (%).

DISCUSSION The most important findings in this case series are as follows: 1) we observed a high incidence of encephalopathy in STEC O111-HUS patients (21/34), especially in children (10/11), progressively leading to death in 5 patients, but to complete recovery in almost all surviving patients; 2) mPSL pulse therapy was potentially effective for encephalopathy; 3) neuroimaging showed marked cerebral edema in patients who died; and 4) more severe renal dysfunction led to a more severe neurologic outcome.

The most prevalent STEC serotype, STEC O157 infection, caused HUS in 6.3% and death in 0.6% (4.6% of STEC O157-HUS cases) of reported cases.¹¹ According to a recent large study in France, the frequency of neurologic involvement in patients with STEC-HUS is approximately 3%, and neurologic complications lead to death in 17% of those affected.³ The STEC O104 outbreak in northern Germany in 2011 was characterized by a large number of patients with HUS (22%) and neurologic symptoms (26% of children, and 48% of adult patients with HUS)^{6,7,12,13}; however, the mortality rates were 4.2% for patients

with STEC O104-HUS, and 1.4% for all patients,⁷ similar to those reported for STEC O157. The STEC O111 outbreak in Oklahoma in 2008 was also characterized by high frequencies of HUS (16.7%) and neurologic symptoms (46% of patients with HUS) but relatively low fatality rates, specifically 3.8% for patients with STEC O104-HUS, and 0.6% for all patients.⁵ Compared with these data, the STEC O111 outbreak in Toyama was characterized by a high frequency of HUS (40%), encephalopathy in 62% for STEC O111-HUS, and death in 24%, 15%, and 5.8% for encephalopathy, HUS, and all patients, respectively.

We postulate 3 possible pathologic mechanisms for neurologic complications in STEC infection: direct Stx injury, inflammatory CNS responses, and neurotoxicity due to uremia. Stxs bind to globotriaosylceramide (Gb3), the receptor expressed on the surface of endothelial cells and neurons,¹⁴ are internalized through receptor-mediated endocytosis, and inhibit protein synthesis through interaction with the 60S ribosomal subunit thereby inducing apoptotic cell death.^{15,16} Indicative of endothelial cell injury, the