

Autophagy. Infect Immun, 82, 4899-908.
2) NAGASAWA, S., OGURA, K., TSUTSUKI, H., SAITOH, H., MOSS, J., IWASE, H., NODA, M. & YAHIRO, K. 2014. Uptake of Shiga-toxigenic Escherichia coli SubAB by HeLa cells requires an actin- and lipid raft-dependent pathway. Cell Microbiol, 16, 1582-601.

2. 学会発表

1) 「腸管出血性大腸菌の産生する SubAB の細胞障害機構の解明」
第61回トキシシンポジウム2014. 9. 3-5.
八尋 錦之助、野田 公俊

2) 「腸管出血性大腸菌の産生する Subtilase cytotoxin (SubAB) はアクチン及び脂質ラフト依存的に細胞内に取り込まれる」(若手奨励賞受賞)
第61回トキシシンポジウム2014. 9. 3-5.
永澤明佳、小倉康平、津木博康、岩瀬 博

太郎、野田 公俊八尋錦之助、

3) 「腸管出血性大腸菌の産生する Subtilase cytotoxin の細胞侵入機構の解析」
第 97 回日本細菌学会関東支部総会
2014.10.30-31.

永澤 明佳, 八尋 錦之助, 齋藤 久子²⁾,
岩瀬 博太郎, 野田 公俊

4) 「Shiga-toxigenic Escherichia coli produced SubAB enters via lipid-raft- and an actin-dependent endocytosis in HeLa cells.」

49th U.S.-Japan Conference on Cholera and Other Enteric Bacterial Infections

□Jan.14. 2015. Gainesville, FL, USA. □

Kinnosuke Yahiro, Sayaka Nagasawa, Kohei Ogura, Hiroyasu Tsutsuki, Hisako Saitoh, Hirotao Iwase, Masatoshi Noda

H. 知的財産権の出願・登録状況
無し

重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原因子及び診療の標準化に関する研究 分担課題 幼若無菌 BALB/cA マウスを用いた腸管出血性大腸菌の病原性の 評価法に関する研究

研究分担者 桑原 知巳（香川大学医学部・分子微生物学・教授）
研究協力者 今大路 治之（香川大学医学部・分子微生物学・助教）

研究要旨

この研究では、近年増加傾向にある non-O157 EHEC の中で、富山県や福井県で集団食中毒を起こした菌株 (Ty-1) を含む O111 血清型を中心に、Stx の産生を誘導する生体内因子を検索するとともに、菌株間でのヒト白血球活性化能の違いを調べ、EHEC に対する炎症反応の強さが個人間でどの程度異なるのかを調べた。3 mM 過酸化水素を添加して静置培養を行うと、全ての菌株で Stx2 量が増加した。以上から、感染部位に集積した好中球などの炎症細胞が産生する過酸化水素などの活性酸素種が、EHEC 感染による大腸粘膜での炎症を誘導し Stx2 産生を促すことで組織傷害を増強する可能性が示唆された。そこで、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)を用いた EHEC 感染モデルを検討した。すると、Ty-1 株を接種後、滅菌水道水を与えたマウスでは大腸粘膜および腎組織にはほとんど組織障害を認めず、一方、Ty-1 株を接種後、2% DSS を飲料水として与えると、大腸粘膜の著しい破壊と腎臓における顕著な急性尿細管壊死を示す尿細管の拡張が認められた。以上から、大腸局所の炎症反応の強弱が Stx2 産生量に影響し、重症化への移行に重要な因子となると考えられた。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌 (EHEC) の志賀毒素 (Stx) 産生量は好氣的培養条件で多く、過酸化水素などの酸化ストレス時にも Stx 産生量が増加することが報告されている。腸管における炎症惹起性が強い EHEC では腸管上皮細胞やマクロファージから TNF- α 、IL-8 やケモカイン等の分泌を強く誘導し、感染局所に好中球を多数集積させると考えられる。その結果、好中球より産生される活性酸素種 (過酸化水素など) が多量の Stx 産生を誘導するのではないかと仮説を立て、本年度は、(i) 内因性誘導因子による Stx 産生量の増加の有無、(ii) マクロファージや好中球の活性化能の評価を行い、これらが EHEC 各菌株の病原性を評価する上で有用なファクターとなり得るか検討した。

B. 研究方法

1. 使用菌株

本研究で使用した腸管出血性大腸菌 (EHEC) の血清型は O157:H7 (KU1 および Sakai)、O111:H8 (Ty-1 および Ty-3) および O111:HNM (NIID6~13) である。Ty-3 株は Ty-1 株から *stx2* ファージが脱落した Stx 非産生株である。

2. EHEC 菌体成分による THP-1 細胞からの TNF- α 産生誘導

ヒト単球由来 THP-1 細胞を 10% のウシ胎児血清 (FBS) を含む RPMI1640 培地で 5×10^5 cells/ml に調整後、1 ml ずつ 24 well plate に分注した。THP-1 細胞を CO₂ インキュベーター (37°C、5% CO₂) で 1 時間培養した後、各 EHEC の超音波破碎物を 10 μ l ずつ添加して、さらに 24 時間培養した。培養液を回収して遠心し (2,000 rpm、5 分、4°C)、上清を回収した。回収した上清中の TNF- α を、Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go! (e-bioscience) を用いた ELISA

法で定量した。測定方法はメーカーが推奨するプロトコールに従った。

3. ヒト白血球の調整

赤血球溶解試薬である Vitalyse (BioE) 30 ml にヘパリン処理をした全血 3 ml を加え、室温で 30 分間振盪した。遠心後 (500 g、2 分、室温)、沈殿を 2 ml の PBS で洗浄し、再度遠心した (500 g、2 分、室温)。沈殿を 0.75 ml の PBS で懸濁し、チュルク液 (Merck KGaA) で 10 倍希釈して白血球数を測定した。白血球懸濁液の一部を遠心し (2,000 rpm、2 分、4°C)、0.5~1.0 ml の PBS に再懸濁後、フローサイトメーター (Merck Milipore) を用いて FACS 解析を行い、白血球が分画できていることを確認した。

4. EHEC 菌体成分に対するヒト白血球の反応性の比較

上記で分画したヒト白血球を、10%の自己血清を含む DMEM 培地を用いて細胞数が 5×10^5 cells/ml になるように調整した。細胞数を調整した白血球を 0.2 ml ずつ、96 well plate に分注し、CO₂ インキュベーター (37°C、5% CO₂) で 1 時間培養した。その後、50 倍希釈した各 EHEC の菌体超音波破碎物をそれぞれ 2 μ l ずつ添加し、さらに CO₂ インキュベーター内で 24 時間培養した。24 時間後に回収した培養液を遠心し (2,000 rpm、2 分、4°C)、上清中の TNF- α を、Human TNF alpha ELISA Ready-SET-Go! (e-Bioscience) を用いた ELISA 法で定量した。測定方法はメーカーが推奨するプロトコールに従った。

5. DSS モデルマウスの作製

15 匹の 4~6 週齢の雄性 BALB/c A 無菌マウスのうち、10 匹に EHEC Ty-1 株 (O111:H8) の菌液 0.2 ml (4.88×10^8 CFU/ml) をゾンデで経口接種した。残りの 5 匹には Ty-1 株の *stx2* ファージ脱落株である Ty-3 株の菌液 0.2 ml (4.5×10^8 CFU/ml) をゾンデで経口接種した。マウスは無菌エアが供給されたビニールアイソレーター内で飼育し、放射線滅菌飼料および滅菌水は自由摂取とした。菌液接種 0、3 および 7 日後に自然排出便を採取し、各マウス腸管における各菌株の増殖状態を BHI 寒天培地を用いた標準寒天平板法で調べた。接種 1 週間後に 5 匹の Ty-1 株接種マウスおよび 5 匹の Ty-3 株接種マウスについては、滅菌水に代えて、フィルター滅菌した 2% デキストラン硫酸ナトリウム水溶液 (2% DSS) を飲料水として与えた。マウスは毎日血便の有無や生存状況を観察した。2% DSS 投与 1 週間後にすべてのマウスを犠死させ、左側腎臓と大腸を摘出し、中性ホルマリンで固定

後、HE 標本を作製した。また、大腸内容物を回収し、PBS で 0.1 g/ml になるよう PBS で懸濁した。懸濁液中の生存大腸菌数を BHI 寒天培地を用いた標準寒天平板法で測定するとともに、懸濁液を遠心後 (12,000 rpm、5 分、室温)、上清中の Stx2 量を VTEC-RPLA (デンカ生研) を使用して逆受身ラテックス凝集反応により測定した。

倫理面への配慮

動物実験については動物愛護の観点から必要最低限のマウスを使用し、実験計画については事前に香川大学動物実験委員会の審査を受け、承認を受けた上で実験を行った。ヒト血液を用いる実験については、香川大学医学部臨床研究倫理委員会の審査を受け、承認を受けた上で実施した。検体提供者には書面を用いた十分なインフォームドコンセントを行い、検体提供に関する同意を取得している。

C. 研究結果

1. 過酸化水素感受性と炎症誘導能に基づく

EHEC 菌株の分類

本研究で用いた EHEC 各菌株を、THP-1 細胞からの TNF- α 産生誘導能と過酸化水素暴露時の Stx2 の増加率によって 4 つのグループ (I~IV) に分類した。THP-1 細胞からの TNF- α 産生誘導能が高く、過酸化水素暴露後の Stx2 産生量の増加率が高いグループ II には、HUS が事例から分離された菌株 4 株のうち 3 株が含まれていた。酸化ストレスによる Stx2 産生増加率と炎症誘導能は O111 血清型 EHEC の病原性を評価する上での重要なパラメーターと考えられた。

2. EHEC 菌体成分によるヒト白血球の刺激

健常成人 10 名から 10 ml の末梢血を採血し、白血球を分画した。分画した白血球に EHEC の超音波破碎物を作用させ、白血球より産生された TNF- α 量を ELISA 法によって測定した。EHEC に対する炎症応答は、個人間で大きな差異が認められた。また、同一個人でも各 EHEC 菌株に対する反応性に大きな違いが認められた。したがって、酸化ストレスにより Stx2 産生量が増加する EHEC 株が、その菌株に対する炎症応答が高い宿主に感染した場合、大腸における強い炎症反応の結果生じた組織中の活性酸素種が EHEC からの Stx2 の産生を増加させることにより重症化に至る可能性がある。

3. デキストラン硫酸ナトリウム投与マウスでの EHEC の病原性の評価

デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) をマウスに飲水させると、潰瘍性大腸炎に類似の炎症病変を大腸に引き起こすことができるため、潰瘍性大腸炎のマウスモデル作製によく使用される。これまでの結果から、炎症による酸化ストレスが EHEC からの Stx2 産生を増強させる可能性が示唆されることから、DSS モデルマウスでの EHEC の病原性を評価した。15 匹の 4-6 週齢の雄性 BALB/c A 無菌マウスのうち、10 匹に Ty-1 株の菌液 (4.88×10^8 CFU/ml) を 0.2 ml、ゾンデで経口接種した。残りの 5 匹には Ty-1 株の *stx2* フェージ脱落株である Ty-3 株の菌液 (4.5×10^8 CFU/ml) を 0.2 ml、ゾンデで経口接種した。Ty-1 株接種マウスでは接種 3 日後に 1 匹死亡した。菌液接種 7 日後に、Ty-1 株接種マウスの 5 匹と Ty-3 株接種マウス 5 匹に 2% DSS を飲料水として与え、残りの Ty-1 株接種マウス 4 匹には滅菌水道水を継続して与えて、さらに 7 日間観察した。Ty-1 株接種マウスは 2% DSS 投与 3 日後から血便が顕著になり、図 10 に示すように、2% DSS 投与 6 日後に 5 匹全てが死亡した。一方、滅菌水道水を投与した Ty-1 株接種マウスは 4 匹すべて生存した。Ty-3 株接種マウスでは軽度の血便を認めたものの、2% DSS 投与により死亡したマウスはいなかった。試験期間中における便中生菌数は 3 群間で大きな差を認めなかった。

死亡時もしくは 2% DSS 投与 7 日後に大腸と左側腎臓を摘出し、中性ホルマリンで固定後、HE 標本を作製した。大腸粘膜では Ty-1 株接種マウスに滅菌水道水を投与したマウスでは大腸粘膜の炎症性変化はほとんど認められなかったが、2% DSS を与えたマウスの大腸粘膜組織は顕著に傷害されていた。Ty-3 株接種マウスでは、2% DSS 投与による軽度の大腸粘膜傷害が認められるのみであった。腎組織では、2% DSS を投与した Ty-1 株接種マウスでは急性尿細管壊死を示す尿細管の顕著な拡張が認められたが、他の 2 群のマウスでは明らかな病理学的変化を認めなかった。Ty-1 株を接種後 3 日、7 日および 14 日 (2% DSS 投与 Ty-1 接種マウスでは 13 日後) に採取したマウス糞便中の Stx2 量を逆受身ラテックス凝集反応により測定した。その結果、Stx2 量については 3 群間で差は認められなかった。

D. 考察

現在の腸管出血性大腸菌感染症において問題となっている O157 以外の血清型についてそ

の病原性を比較できるマウスモデルは未だ開発されていない。本研究において、2011 年 4-5 月に発生した焼肉チェーン店の食材を原因とする O111 血清型腸管出血性大腸菌の集団感染事例より分離された Ty-1 株は幼若無菌マウスに接種してもマウスの死亡率は 10%であった。この株による集団感染事例では、HUS の合併率が 20%と高く、5 人の死亡例を出しているが、単に幼若無菌マウスに経口接種するのみでは、その病原性を評価できていないと考えられる。本研究で、Ty-1 株の Stx2 産生量に及ぼす培養条件を *in vitro* で検討したところ、LB 培地よりも CAYE 培地での Stx2 産生量が高く、また、静置培養に比べ振盪培養で著しく Stx 産生量が増加した。この結果から、腸管内での栄養素の利用状況や酸化還元電位が *stx2* 遺伝子の発現に影響を及ぼす要因であると考えられた。事実、3 mM の過酸化水素暴露により、本研究で用いたすべての腸管出血性大腸菌株で Stx2 産生量が増加した。感染局所における過酸化水素などの活性酸素種の産生源は感染部位に集積したマクロファージや好中球などの炎症細胞であり、腸管出血性大腸菌感染による大腸粘膜での炎症誘導が Stx2 産生を促し、組織傷害を増強すると考えられる。したがって、炎症細胞を強く活性化してより多くの ROS を産生させ、かつ、酸化ストレスによる Stx2 産生誘導の起こりやすい株が高病原性としてのポテンシャルを持っているのではないかと考えている。ヒト単球由来の THP-1 細胞を様々な腸管出血性大腸菌の超音波破砕物で刺激した場合、THP-1 細胞から誘導される TNF- α 量が菌株によって大きな差が認められ、これは我々の仮説を支持する所見と考えている。そこで、3 mM 過酸化水素による Stx2 増加率と THP-1 細胞からの TNF- α 誘導能の 2 つのファクターで各腸管出血性大腸菌株を分類すると、両ファクターともに高値のグループに重症化事例から分離された菌株が多く集積した。したがって Stx2 産生に関する酸化ストレス感受性と炎症惹起能の 2 つの要因が重症化のメカニズムを解明する上でのキーワードと考えている。

腸管出血性大腸菌の集団感染事例では急性脳症による死亡例から無症状保菌者まで、その症状は患者により様々である。この個人間での症状の差異を説明するため、本研究で使用した腸管出血性大腸菌の超音波破砕物で健常人 10 人より採取分画した白血球で刺激した。その結果、菌株によって各個人の炎症細胞の反応性は大きく異なっていた。例えば Ty-1 と Sakai 株の

TNF- α 誘導性は比較的 low、対して、KU1, NIID9 および Ty-3 株の TNF- α 誘導性は比較的高かった。Ty-3 株は Ty-1 株から *stx2* フェージが脱落した株であり、Ty-1 と Ty-3 株の TNF- α 誘導性の違いの原因は不明だが、*stx2* フェージ領域にコードされたタンパク質に免疫修飾作用が存在するのかもしれない。また、各菌株に対する反応性は個人間でも差が大きく、健常者#5 から採取した白血球は調べたどの菌株による刺激でも TNF- α の産生量は低く、健常者#6 から採取した白血球は、どの菌株による刺激でも TNF- α の産生量は比較的高かった。これらの結果から、特定の腸管出血性大腸菌株に対する炎症反応性の高い個体が、その菌株の感染を受けた場合、大腸粘膜における強い炎症反応により多くの ROS が産生することが予測される。その菌株が ROS によって Stx2 産生量が著しく促進する株である場合、大腸内 Stx2 量が著しく増加し、重症化するのではないかと考えている。今後、腸管出血性大腸菌の集団感染時において、原因菌株に対する感染者の炎症反応および過酸化水素による原因菌株の Stx2 産生量の増加率と患者の症状の相関性を調べることにより、これらが重症化の予測因子として有用か否かを検証することが重要である。

上記のような考えに立ち、マウスにおいて大腸粘膜に炎症を惹起し、大腸に定着した腸管出血性大腸菌に酸化ストレスを与えることにより、病原性のポテンシャルを評価できるのではないかと考え、潰瘍性大腸炎のモデルマウス作製によく使用されるデキストラン硫酸ナトリウムを用いた腸管出血性大腸菌感染モデルを検討した。その結果、Ty-1 株を感染させたマウスを通常の滅菌水道水で飼育すると大腸粘膜および腎組織にはほとんど組織障害を認めず、一方、Ty-1 株を感染させたマウスの 2% DSS を飲料水として投与すると、大腸粘膜の著しい破壊と腎臓における顕著な急性尿細管壊死を示す尿細管の拡張が認められた。対照として Ty-3

株を定着させたマウスを 2% DSS で処理した場合、軽度の大腸粘膜の障害を認めるのみであった。これらの結果は、大腸局所の炎症反応の強弱が Stx2 産生量に影響し、重症化への移行に関与する重要なファクターであることを示唆している。今後、DSS の濃度調整により、マウス死亡率、Stx2 産生誘導性をコントロールできるようになれば、O157 のみならず、マウスでは病原性の評価が困難であった O111 血清型のような O157 以外の腸管出血性大腸菌の病原性の評価のための有用な動物モデルになると考えられる。

E. 結論

本研究で開発した DSS 処理腸管出血性大腸菌感染モデルマウスは、EHEC 重症感染例の治療法の開発や重症化リスク評価法の開発など、EHEC 感染症の研究ツールとして有用である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

内田景子、今大路治之、堀内功典、岡崎勝一郎、綿引正則、大西真、桑原知巳「腸管出血性大腸菌の志賀毒素産生性と酸化ストレス」第 37 回日本分子生物学会年会、2014 年 11 月 25 日 - 27 日、横浜。

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。 |

重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原因子及び診療の標準化に関する研究 分担課題 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインの作成

- 分担研究者：**五十嵐隆（国立成育医療研究センター理事長・総長）
齋藤昭彦（新潟大学医学部小児科教授）
伊藤秀一（横浜市立大学いがくぶ小児科教授）
幡谷浩史（東京都立小児総合医療センター総合診療部部長）
水口 雅（東京大学大学院医学系研究科国際保健学教授）
森島恒雄（労働者健康福祉機構岡山ろうさい病院病院長）
- 研究協力者：**大西健児（東京都立墨東病院感染症科部長）
川村尚久（大阪労災病院小児科部長）
北山浩嗣（静岡県立こども病院腎臓科医長）
芦田 明（大阪医科大学小児科講師）
要 伸也（杏林大学医学部第一内科教授）
種市尋宙（富山大学医学部小児科助教）
佐古まゆみ（国立成育医療研究センター臨床試験推進室室長）
Julian Tang（国立成育医療研究センター研究所研究員）
- 査読委員：**服部元史（東京女子医科大学腎臓総合医療センター腎臓小児科教授）
本田雅敬（東京都立小児総合医療センター副院長）
石倉健司（東京都立小児総合医療センター腎臓内科医長）
小林信秋（認定NPO法人難病のこども支援全国ネットワーク代表）

研究要旨

この研究では、Evidence Based Medicine に基づく溶血性尿毒症症候群(HUS)の診断・治療ガイドラインを 2013 年度に作成し、書籍として公表すると共に、英語版を作成し日本腎臓学会英文誌 Clinical Experimental Nephrology 誌に公表した。本ガイドラインは Minds のガイドライン作成基準に則った溶血性尿毒症症候群の診断・治療に関するわが国発のガイドラインで、Minds のホームページにも公表された。さらに、HUS による死亡患者調査表を作成し、倫理委員会の承認を得、伊藤秀一分担研究者の行った調査を支援した。

- A. 研究目的
以下の 4 点を目的とする。
- 1) Evidence Based Medicien (EBM)に基づく溶血性尿毒症症候群 (HUS)の診断・治療ガイドライン（日本語版）を書籍として刊行する。
 - 2) 同ガイドラインを Minds のホームページに公表する。
 - 3) 英語版を作成し、雑誌に公表し、世界に発信する。
 - 4) 昨年度に本研究班が作成し、国立成育医療研究センターの倫理委員会にて承認された HUS による死亡患者調査を支援する。
- B. 研究方法
- 1) 班会議を平成 26 年 6 月 10 日に開催した。さらに、幹事会を 3 回開催した。
 - 2) 班員および研究協力者の共同作業により、Minds のガイドライン作成基準を遵守した溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインを作成した。さらに、英語版を作成した。

3) 平成 25 年度に作成した HUS による死亡患者調査表を用い、国立成育医療研究センター倫理委員会にて承認された「溶血性尿毒症症候群による死亡事例調査」を、伊藤秀一分担研究者が中心となって 604 施設に配布した。該当例ありとの御返事を戴いた施設に二次調査を実施した。この調査実施を支援した。

倫理面への配慮

HUS による死亡患者調査の実施にあたっては、研究実施前の昨年度に国立成育医療研究センターの倫理委員会にて承認を受けた。個人情報 の匿名化、データ分析の方法など、倫理面での格段の配慮をした。

C. 研究結果

- 1) Minds のガイドライン作成基準を遵守した溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインを平成 26 年 5 月 13 日に Minds のホームページに掲載した (Minds ガイドラインセンター: http://minds.jcqh.or.jp/n/medical_user_main.php)。さらに、東京医学社より書籍として出版した (資料 1)。
- 2) 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインの英語版を日本腎臓学会英文誌である Clinical Experimental Nephrology の 2014 年第 4 号に掲載した (資料 2)。
- 3) 「溶血性尿毒症症候群による死亡事例調査」の研究結果については、伊藤秀一分担研究者が別の分担研究報告書に報告した。

D. 考察

本研究班が作成した本ガイドラインは Minds のガイドライン作成基準に則った溶血性尿毒症症候群の診断・治療に関するわが国発のガイドラインであり、わが国の HUS 患者の診断・治療の標準化に大いに貢献することが期待される。さらに、同ガイドラインの英語版も世界の最新のエビデンスを反映しており、世界的にも極めて大きな貢献を果たした。

E. 結論

Minds のガイドライン作成基準に則った溶血性尿毒症症候群の診断・治療に関するわが国発のガイドラインの日本語版と英語版を作成した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Igarashi T, Ito S, Sako M, Saitoh A, Hataya H, Mizuguchi M, Morishima T, Ohnishi K, Kawamura N, Kitayama H, Ashida A, Kaname S, Taneichi H, Tang J, Ohnishi M, Study group for establishing guidelines for the diagnosis and therapy of hemolytic uremic syndrome: Guidelines for the management and investigation of hemolytic uremic syndrome. Clin Exp Nephrol 18:525-557, 2014
- 2) 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン作成班班員 (総括責任者: 五十嵐 隆): 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン、東京医学社、東京、2014
- 3) Hattori M, Sako M, Kaneko T, Ashida A, Matsunaga A, Igarashi T, Itami N, Ohta T, Gotoh Y, Satomura K, Honda M, Igarashi T: End-stage renal disease in Japanese children: a nationwide survey during 2005-2011. Clin Exp Nephrol 2014 (in press)
- 4) Sawai T, Nangaku M, Ashida A, Fujimaru R, Hataya H, Hidaka Y, Kaname S, Okada H, Sato W, Yasuda T, Yoshida Y, Fujimura Y, Hattori M, Kagami S: Diagnostic criteria for atypical hemolytic uremic syndrome proposed by the Joint Committee of the Japanese Society of Nephrology and the Japan Pediatric Society. Clin Exp Nephrol 18:4-9, 2014
- 5) Sawai T, Nangaku M, Ashida A, Fujimaru R, Hataya H, Hidaka Y, Kaname S, Okada H, Sato W, Yasuda T, Yoshida Y, Fujimura Y, Hattori M, Kagami S: Diagnostic criteria for atypical hemolytic uremic syndrome proposed by the Joint Committee of the Japanese Society of Nephrology and the Japan Pediatric Society. Pediatr Int 56: 1-5, 2014
- 6) 芦田 明、玉井 浩: 溶血性尿毒症症候群 (典型的/非典型的) . 小児内科 46: 209-213, 2014
- 7) 芦田 明、玉井 浩: 補体調節因子異常による非典型溶血性尿毒症症候群 (aHUS) . 小児科診療 77: 771-777, 2014
- 8) 芦田 明、玉井 浩: エクリズマブ : aHUS. 腎と透析 76: 77-80, 2014
- 9) 芦田 明、玉井 浩: 典型的 HUS. 日本血栓止血学会雑誌 25: 706-712, 2014
- 10) 芦田 明、玉井 浩: 非典型溶血性尿毒症症候群. 日本アフェレシス学会雑誌 34: 40-47, 2014
- 11) 芦田 明、玉井 浩: aHUS とアフェレシス. 日本アフェレシス学会雑誌 34: 40-47, 2014
- 12) 北山 浩嗣・和田 尚弘: 新生児・小児の敗

血症に対するエンドトキシン吸着療法 (PMX-DHP) . 日本アフエレシス学会雑誌 34: 2015 (in press)

13) 種市 尋宙, 六車 崇, 太田 邦雄, 小西 道雄, 奥村 彰久, 高梨 潤一, 水口 雅, 宮脇 利男: 腸管出血性大腸菌 O111 集団感染における危機対応, 日本小児科学会雑誌 118: 1103-1108, 2014

14) 種市 尋宙: 腸管出血性大腸菌 O111 集団感染における小児重症例の特徴とその対策. 小児科 55:1017-1025, 2014

15) 種市 尋宙 腸管出血性大腸菌 O111 の治療: 集団感染から学ぶもの. 感染症内科 2: 195-202, 2014

16) 種市 尋宙: 腸管出血性大腸菌感染症による急性脳症の病態と治療戦略 Neuroinfection, 2015 (in press)

17) Shimizu M, Kuroda M, Inoue N, Konishi M, Igarashi N, Taneichi H, Kanegane H, Ito M, Saito S, Yachie A: Extensive serum biomarker analysis in patients with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111-induced hemolytic-uremic syndrome. Cytokine 66:1-6, 2014

18) Takanashi J, Taneichi H, Misaki T, Yahata Y, Okumura A, Ishida Y, Miyawaki T, Okabe N, Sata T, Mizuguchi M: Clinical and radiologic features of encephalopathy during 2011 *E coli* O111 outbreak in Japan. Neurology 82: 564-572, 2014

2. 学会発表

1) Igarashi T: New guidelines for the management and investigation of hemolytic uremic syndrome. The 12th Japan-Korea Nephrology Seminar 2014, Kobe, April 19, 2014

2) Ashida A, Yamamoto D, Yoshida Y, Matsumoto M, Miyata T, Hattori M, Fujimura Y, Tamai H. Molecular effects of four mutations identified in the D3 region of thrombomodulin in patients with atypical hemolytic uremic syndrome. Kidney Week 2014, American Society of Nephrology, Philadelphia, USA, November 13, 2014

3) 芦田 明、山本大助、吉田瑠子、範 新萍、松本雅則、宮田敏行、藤村吉博、玉井 浩: 非典型 HUS の原因として日本人で同定された補体因子 C3 遺伝子異常の分子構造学的解析. 第 117 回日本小児科学会 名古屋 2014 年 4 月 11 日

4) 久富隆太郎、熊谷雄介、上田博章、大西 真、宮田敏行、藤村吉博、芦田 明、藤丸季可: 非典型溶血性尿毒症症候群 3 例の臨床的検討

第 49 回日本小児腎臓病学会 秋田 2014 年 6 月 5 日

5) 芦田 明、玉井 浩: 非典型溶血性尿毒症症候群におけるアフエレシス治療. 第 35 回日本アフエレシス学会ワークショップ 3 東京 2014 年 9 月 27 日

6) 芦田 明、玉井 浩: 急性腎不全を発症する胃腸炎. 第 62 回幡多小児疾患研究会 特別講演 高知 2014 年 8 月 23 日

7) 芦田 明、玉井 浩: 溶血性尿毒症症候群の診断と治療. 高知大学 DC セミナー 高知 2014 年 8 月 22 日

8) 芦田 明、玉井 浩: aHUS の治療. 第 62 回日本輸血細胞治療学会総会 総会長シンポジウム 奈良 2014 年 5 月 16 日

9) 芦田 明、玉井 浩: 溶血性尿毒症症候群 第 47 回日本臨床腎移植学会 特別ワークショップ「腎移植と原病再発」 奈良 2014 年 3 月 13 日

10) 芦田 明、玉井 浩: 溶血性尿毒症症候群の診断と治療. 第 24 回東北小児腎臓病研究会 特別講演 福島 2014 年 3 月 15 日

11) 塩田勉、北山浩嗣、和田尚弘、山田昌由、鵜野裕一、村田乃理子: 安倍川花火大会で発生した O-157 による HUS 5 症例の検討、小児科静岡地方会、静岡、2014 年 11 月 2 日

12) 塩田勉、北山浩嗣、和田尚弘、山田昌由、鵜野裕一、村田乃理子: 当院で加療を行った HUS 5 症例の検討、静岡小児救命救急研究会、静岡、2015 年 1 月 18 日

13) 種市 尋宙 「腸管出血性大腸菌 O111 集団感染における危機対応と IT の活用」日本旅行医学会 第 7 回東京大会 東京 2014 年 11 月 16 日

14) 種市 尋宙 「腸管出血性大腸菌感染症による急性脳症の病態と治療戦略」第 19 回日本神経感染症学会総会学術集会 第 26 回日本神経免疫学会学術集会シンポジウム 希少神経感染症 金沢 2014 年 9 月 4 日

15) 種市 尋宙 腸管出血性大腸菌感染症における臨床症状とバイタルサインの検討 第 46 回日本小児感染症学会 東京 2014 年 10 月 18 日

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 |

重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原因子及び診療の標準化に関する研究
分担課題 腸管出血性大腸菌感染に対する治療に関する研究

研究分担者 齋藤昭彦（新潟大学大学院医歯学総合研究科小児科学分野）

研究要旨

本研究は、溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン作成にあたり、特に、腸管出血性大腸菌感染症に対する治療ガイドラインを作成することにある。昨年度は、腸管出血性大腸菌感染症に対する治療に関するクリニカルクエスチョンを設定し、エビデンスレベルを付けたガイドラインを作成した。本年度は、完成したガイドラインの英訳を行った。

A. 研究目的

- 1) エビデンスレベルを入れた、腸管出血性大腸菌（EHEC）感染に対する治療ガイドラインを作成する。
- 2) 作成されたガイドラインに対する外部評価に対する対応を行う。
- 3) 完成したガイドラインに対する英語訳を作成する。

B. 研究方法

- 1) EHEC の治療に関するクリニカルクエスチョンを設定し、キーワードを設定、そして、キーワードに関連する文献を網羅的・系統的に検索した（データベース：PubMed, 医中誌, 検索対象期間：1992年1月 - 2012年8月）。その後、エビデンスレベルごとに文献を分け、ガイドラインの作成を行う。
- 2) 完成したガイドラインに対する外部評価（作成に関与していない小児の腎臓専門医による査読, 日本小児腎臓病学会会員を対象としたパブリックコメント）を受け、これらに対する意見に対し、回答を作成する。
- 3) 完成したガイドラインを英訳する。

C. 研究結果、考察

1. 概念、定義

- 1) 使用したキーワードは、PubMed において 749 件、医中誌 52 件検出された。その中から、14 の文献を引用し、以下の 3 つを作成した。

①EHEC の治療

腸管出血性大腸菌（EHEC）感染に対する抗菌薬の使用と溶血性尿毒症症候群（HUS）の発症に関しては一定の結論はない。

患者の家族等の保菌者に対しては、感染拡大予防を目的として抗菌薬投与を考慮する。（推奨グレードなし）

②止痢薬

止痢薬は HUS 発症の危険因子であるため、小児の EHEC 感染患者に投与しない。（推奨グレード D）

③EHEC 感染症患者に対する病院内での感染対策

EHEC による急性下痢症の入院患者には、感染に対する通常の標準予防策に加え、便培養陰性が連続して 2 回確認されるまで、接触感染予防策が推奨される。（推奨グレード B）

- 2) 完成したガイドラインに対する外部評価を

受け、これらに対する意見に対し、回答を作成した。

3) 完成したガイドラインを英訳した。

本年度は、完成されたガイドラインを英語訳した。英語訳したので、今度、このガイドラインが日本国内だけでなく、海外でも使用され、その検証と再評価が期待される。

D. 結論

EHEC に対する治療ガイドラインの英訳版を作成した。今後、このガイドラインの継続的な検証と評価が必要である。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 齋藤昭彦 EHEC 感染症の治療. 五十嵐隆

(総括) 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン, 東京医学社, 東京, 2014, pp. 7-8.

2) Igarashi T, Ito S, Sako M, Saitoh A, Hataya H, Mizuguchi M, Morishima T, Ohnishi K, Kawamura N, Kitayama H, Ashida A, Kaname S, Taneichi H, Tang J, Ohnishi M. Study group for establishing guidelines for the diagnosis and therapy of hemolytic uremic syndrome. Treatment of STEC infection. *Clinical and Experimental Nephrology* 2014; 18: 529-30.

2. 学会発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

なし。

分担課題 志賀毒素産生性大腸菌による溶血性尿毒症症候群による 小児死亡例の全国調査

分担研究者：伊藤秀一
横浜市立大学 大学院医学研究科 発生成育小児医療学 教授

研究要旨

溶血性尿毒症症候群（HUS）は志賀毒素産生性腸菌（STEC）感染者の約1-10%に発症し、1/4-1/3の患者が中枢神経症状を呈し、急性期死亡率は約2-10%である。わが国では年間100名程のSTEC-HUS患者が発生し年に数名が死亡する。しかし、これまで小児死亡例の疫学調査はなく、その実態は不明であった。今回、わが国における志賀毒素産生性大腸菌による溶血性尿毒症症候群により死亡した小児患者の実態調査を実施した。2000年以降のSTEC-HUSによる死亡18名報告された。下痢から死亡までの日数の中央値は7.5日、HUS発症から死亡までは中央値3日と急激な経過が特徴であった。一方、経過中に抗菌薬の使用患者では、下痢から死亡までは、中央値8日、一方、非使用患者のそれは4日(4-5日)と有意に短かった ($p=0.047$)。

A. 研究目的

溶血性尿毒症症候群（HUS）は志賀毒素産生性大腸菌（STEC）感染者の約1-10%に発症し、20-60%の患者が急性腎傷害を合併し、1/4-1/3の患者が中枢神経症状を呈し、急性期死亡率は約2-10%である。死因は中枢神経合併症や消化管穿孔が多い。わが国では年間100名程のSTEC-HUS患者が発生し年に数名が死亡する。しかし、これまで小児死亡例の疫学調査はなく、その実態は不明であった。

今回、わが国における志賀毒素産生性大腸菌による溶血性尿毒症症候群により死亡した小児患者の実態調査を実施し、その死因、経過、治療について解析した。さらに生命予後改善のために介入可能な方策がないか検討した。

B. 研究方法

2000年以降にSTEC-HUSで死亡した15歳以下の小児について、全国の小児科医常勤有床施設（886施設）を対象に筆記式調査（一次調査は患者の有無、二次調査は詳細調査）を実施し結果を解析した。平成25年度にHUSによる死亡患者調査表を作成し、国立成育医療研究センター倫理委員会に

て全国調査の疫学研究の承認を得た。一次調査票の返信率は667施設（75.3%）であった。一次調査で該当ありとの回答を得た21症例について二次調査票を再送し、うち非典型HUSや重複例を除外し最終的に18人の二次調査の結果を得た。年齢、大腸菌の血清型、感染経路、死因、死亡までの経過、臨床検査値、治療内容等について調査・解析した。さらに死亡前に介入可能な方法がないかを考察した。

倫理面への配慮

HUSによる死亡患者調査の実施にあたっては、研究実施前の昨年度に国立成育医療研究センターの倫理委員会にて承認を受けた。疫学研究の倫理指針に基づき、個人情報との連結可能匿名化等を行った。

C. 研究結果

18名（M11,F7）の死亡例の報告があり、年齢中央値4.0歳（2.2-14.5歳）、同体重13.5kg（10.7-47kg）であった。原因食物は牛肉4例（ユッケ3、BBQ1）で他は不明。O抗原型はO157（n=10）、O111（n=4）、O26（n=2）、不明（n=2）。

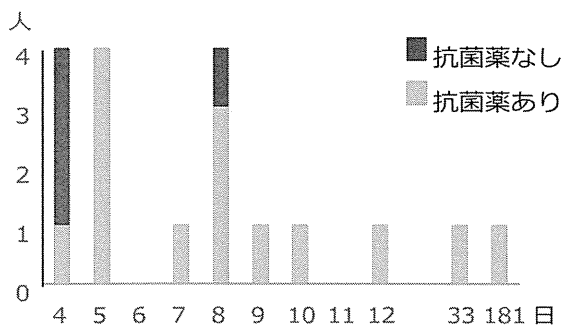
HUS 発症時/その後の経過中の症状と頻度は、腎 18/18、消化器 18/17、循環器 2/14、血液 17/18、発熱 10/14、乏尿 11/18、血尿 12/13、蛋白尿 11/12、下痢 17/19、嘔吐 9/13、腹痛 9/16、血便 16/17
心不全 1/6、低血圧 1/9 不整脈 0/5、痙攣 6/18、意識障害 8/14、頭痛 0/1、溶血性貧血 11/16、血小板減少 18/18、WBC 増多 15/15 であった。

下痢から死亡までの日数の中央値は 7.5 日 (4-181 日)。下痢から HUS 発症までは中央値 3 日 (2 日 4 名、3 日 3 名)。また、HUS 発症から死亡までは中央値 3 日 (2 日 5 名、3 日 5 名、4 日で 6 名) であり、多くの患者が急激な経過を示している患者が多かった。死因は脳症(n=12)、脳症+心不全 (n=1)、心不全 (n=4)、腎不全 (n=1)であった。心不全合併のうちの 2 名は、HUS 発症 1 日後死亡が 2 名見られ一部の心合併症患者の急激な経過が示唆された。

HUS への介入治療は血漿交換 5 名、血漿輸注 4 名、血液透析 7 名、腹膜透析 3 名、低体温 2 名、バルビタール持続 3 名、ナファモスタット 14 名、抗菌薬 14 名 (うち 2 剤併用は 5 名、10 名は FOM +/- 他剤)。透析は 10 名に留まり、腎機能の進行以前に脳症、心不全などで死亡する患者の反映と考えられた。

一方、興味深い事に、下痢から死亡までの日数の中央値は 7.5 日 (4-181 日) であったが、経過中に抗菌薬の使用患者 (n=14) では、下痢から死亡までは、中央値 8 日 (4-181 日)、一方、非使用患者 (n=4) では 4 日 (4-5 日) と有意に短かった (p = 0.047, Mann-Whitney)。

図 1. 下痢から死亡までの日数



また、HUS 発症後 3 日未満の死亡 8 名と 3 日以後の死亡 10 名の間には HUS 診断時の血液・生化学的検査には有意差を認めなかった。

D. 考察

STEC-HUS 患者あるいは STEC 感染者に対しての抗菌薬の使用は HUS の発症増加や重症化をきたす可能性があるとして一方 HUS の予防効果や軽症化の報告もあり、その有効性については過去に行われたメタアナリシスやシステムティックレビューにおいても一定の結論が出ていない。しかし本調査

においては、抗菌薬を使用した患者のほうが、死亡までの時間を稼げる可能性があり、その間にステロイドパルス療法などで介入することにより、生命予後を改善させうる可能性があるかもしれない。

E. 結論

2000 年以降の SETC-HUS による死亡 18 名について解析した。下痢から死亡までの日数の中央値は 7.5 日、HUS 発症から死亡までは中央値 3 日と急激な経過が特徴であった。一方、経過中に抗菌薬の使用患者では、下痢から死亡までは、中央値 8 日、一方、非使用患者のそれは 4 日 (4-5 日) と有意に短かった (p=0.047)。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Igarashi T, Ito S, Sako M, Saitoh A, Hataya H, Mizuguchi M, Morishima T, Ohnishi K, Kawamura N, Kitayama H, Ashida A, Kaname S, Taneichi H, Tang J, Ohnishi M; Study group for establishing guidelines for the diagnosis and therapy of hemolytic uremic syndrome: Guidelines for the management and investigation of hemolytic uremic syndrome. Clin Exp Nephrol 18:525-557, 2014
- 2) 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン作成班班員 (総括責任者: 五十嵐 隆): 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン、東京医学社、東京、2014
- 3) Hattori M, Sako M, Kaneko T, Ashida A, Matsunaga A, Igarashi T, Itami N, Ohta T, Gotoh Y, Satomura K, Honda M, Igarashi T: End-stage renal disease in Japanese children: a nationwide survey during 2005-2011. Clin Exp Nephrol 2014 (in press)
- 4) 伊藤秀一. HUS up to date 欧州における大規模集団感染を中心に. 日本小児腎不全学会雑誌 ; 33 : 16-19 2013
- 5) 伊藤秀一, 志賀毒産生性大腸菌による HUS の治療; 日本腎臓病学会 TTP/HUS/aHUS ; 56 (7) : 1075-81 日本腎臓病学会雑誌 2014

2. 学会発表

- 1) Masaki Fuyama, Masaki Takahaahi, Shuichi Ito et al.: Efficacy of cyclophosphamide and mizoribine combination therapy against steroid dependent nephrotic syndrome; ACPN New Delhi (India) 4-6 Dec. 2014
- 2) Masaki Takahashi, Koichi Kamei, Shuichi Ito, et al.: Analysis of risk factors for a cyclosporine nephrotoxicity in children with idiopathic nephrotic syndrome; ACPN New Delhi (India) 4-6 Dec. 2014
- 3) Koichi Kamei, Isao Miyairi, Shuichi Ito, et al.: Prospective trial of attenuated live vaccines in children

receiving immunosuppressants; ACPN New
Delhi(India) 4-6 Dec.2014

- 4) 伊藤 秀一:ステロイド抵抗性ネフローゼ症候群
に対する他施設臨床試験;日本小児科学会総会・学
術集会 4月11-13 名古屋(愛知)2014
- 5) 伊藤 秀一: HUSRevisited;4月11-13日 名古屋(愛
知)2014

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

重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原因子及び診療の標準化に関する研究 分担課題 「溶血性尿毒症症候群の診断・治療」に関する研究

研究分担者 幡谷 浩史 （東京都立小児総合医療センター総合診療科医長）
研究協力者 原田 涼子 （東京都立小児総合医療センター腎臓内科）

研究要旨

溶血性尿毒症症候群(HUS)は乳幼児期に末期腎不全に陥る原因疾患の中でも主要な疾患の一つである。また、乳幼児期の腎代替療法の主体は腹膜透析である。2008年1月から2012年12月末までに腹膜透析療法を開始した15歳以下の小児は6人(1.2人/年, 3.2%)だった。過去30年の腹膜透析全国調査(PDレジストリー)と比較して、新規末期腎不全におけるHUSの頻度は変化を認めない。

A. 研究目的

腎機能の回復が見込めない末期腎不全のために腎代替療法を必要とした溶血性尿毒症症候群(HUS)の症例数と頻度について、腎代替療法として腹膜透析療法を開始した症例のPDレジストリーから把握する。

B. 研究方法

小児期腹膜透析療法は高度な特殊療法であることから、限られた施設で管理されていることが多い。そのため、以下の施設を対象とした。

1) 2012年におこなわれた日本小児腎臓学会統計調査委員会・末期腎不全調査小委員会による「本邦小児末期腎不全新規発症患者の実態把握のための調査研究」により、過去6年間に末期腎不全と診断され、かつ腎代替療法の開始時点で20歳未満の患者を有する施設。施設名簿は、日本小児腎臓病学会倫理委員会に名簿申請をおこなう。

2) 今までに日本小児PD・HD研究会に腹膜透析患者の登録がある施設。

上記施設の中で、慢性腹膜透析療法を新たに導入した16歳未満の患者について本研究の対象とした。

連結可能匿名化を用いて、retrospective cohortの手法による腹膜透析療法に関するレジストリー調査を行った。

倫理面への配慮

連結可能匿名化により、個人情報保護される。また、本研究は当院倫理委員会により審議され承認(24-84)された。

C. 研究結果

研究対象期間：2008年1月～2012年末

1) 腹膜透析導入症例：

187症例（男性95，女性92）

2) 原因疾患：

低形成・異形成腎（68症例，36.4%）、ネフロン癆（20症例，10.7%）など、先天性腎尿路奇形(CAKUT)が過半数を占めた。後天性では巣状分節性糸球体硬化症（28症例，15.0%）が最多で、HUSは（6症例，3.2%）だった。

3) HUS症例の腹膜透析導入年齢：

1歳1症例，2歳1症例，5歳2症例
10歳1症例，15歳1症例

であり、乳幼児期に腹膜透析を導入した症例が2/3を占めた。

- 4) HUS の末期腎不全発症率の経年的変化：
日本小児 PD・HD 研究会のレジストリーによる、腹膜透析導入症例数と HUS の発症数の変遷を以下に示す。
- ～1987 年 250 症例中 8 症例 (3.2%)
 - ～1997 年 595 症例中 16 症例 (2.7%)
 - ～2007 年 510 症例中 10 症例 (2.0%)
 - ～2012 年 187 症例中 6 症例 (3.2%)

D. 考察

新たに透析を導入した症例における HUS の頻度は、過去 30 年以上に及ぶ全国のレジストリーと比較して、年代ごとに変化が見られなかった。

原因疾患の分類は、日本透析医学会の分類に合わせて作成されているため、HUS の中に typical と atypical が含まれるという本調査の限界を有し、正確な頻度を求めることはできない。しかし、atypical HUS の新たな治療法 (eculizumab) は治験が開始されたところであり、同疾患の著明な予後改善は本調査中には見られていない。したがって、typical と atypical の比率が大きく変化することは考えにくく、typical HUS が新規発症末期腎不全における頻度はほぼ一定と考えられる。

E. 結論

新規に腹膜透析を開始する症例に占める HUS の頻度は 2-3% であり、頻度に大きな変化は認めない。

F. 健康危険情報

本研究に伴う健康危険情報は、特に認めない。

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) Hataya H, Honda M, Wada N, Uemura O, Satomura K, Kaku Y, on behalf of the Japanese Society of Pediatric Dialysis (JSPeD). Registry on chronic pediatric peritoneal dialysis patients in Japan. 15th Congress of the International Society for Peritoneal Dialysis. Madrid, 2014/09/09

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

重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原因子及び診療の標準化に関する研究
分担課題 腸管出血性大腸菌感染症に併発する脳症の研究

研究分担者 水口 雅 （東京大学大学院医学系研究科・
発達医科学・教授）

研究協力者 種市 尋宙 （富山大学医学部附属病院・
小児科・助教）

研究要旨

腸管出血性大腸菌感染症に併発する脳症について、文献レビューを行った。脳症の臨床像は、年代とともに変貌していること、本研究班を含む近年の研究により新たな治療の可能性が示唆されていることが明らかとなった。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌（enterohemorrhagic *Escherichia coli*, 以下 EHEC）感染症における死亡の大部分は併発する脳症に起因する。その病態を正しく認識し、診断・治療を向上することが求められる。

す以前に脳症を発症して死亡した例も少数ながら報告されている。

また HUS 症例の少数は脳梗塞を合併することがある。発症時期は HUS の急性期から回復期まで、梗塞の規模もラクナ梗塞から大梗塞までさまざまであり、しばしば出血をともなう。

B. 研究方法

EHEC 感染に併発する脳症に関する国内外の文献（表 1）をレビューした。

2. 疫学

EHEC 感染に併発する HUS 症例の 5～30%に脳症が合併する。小児は成人より HUS や脳症の合併率が高い。集団発症例における HUS や脳症の合併率は事例ごとに異なる。なお 2011 年の富山県を中心とした焼肉チェーン店での O111:H8 集団食中毒事例では、出血性大腸炎における HUS 合併率（40%）、HUS における脳症合併率（62%）と致死率（15%）がいずれも従来の報告よりずっと高いことが特徴的であった。

C. 研究結果、考察

1. 概念、定義

出血性大腸炎に続発する溶血性尿毒症症候群（hemolytic uremic syndrome、以下 HUS）の多くは O157:H7 に代表される EHEC 感染を原因として生じる。HUS と相前後して意識障害を呈し、その程度が強く（おおよそ Japan Coma Scale で II-10 以上、Glasgow Coma Scale で 13 点以下）、持続が長い（おおよそ 24 時間以上）場合に、急性脳症と診断される。脳症の発症時期は、HUS 発症後数日以内が多いが、HUS の診断基準を満た

3. 病因

EHEC は志賀毒素（旧名：ベロ毒素）産生性大腸菌（Shiga toxin producing *E. coli*）と

同義語である。汚染された食材または患者の糞便中の EHEC が経口感染する。すなわち食中毒と伝染病の両方がある。汚染された井戸水を介した集団感染事例もある。

わが国の患者から検出された EHEC は O157:H7 が約 8 割を占めるが、O26:H11/-、O111:H-、O128:H2 など他の血清型も検出されている。

4. 病態

腸管で増殖した EHEC の産生した志賀毒素 (1 型ないし 2 型) が体内に吸収され、HUS や脳症を惹起する。志賀毒素は蛋白合成の阻害により毒性を発揮する。毒素による脳血管の機能障害は、透過性の亢進により脳浮腫を生じる。血管の器質的病変は thrombotic microangiopathy と呼ばれ、梗塞・出血の原因となる。さらに、脳実質に漏出した志賀毒素による神経組織の直接障害も加味されている。また近年、炎症性サイトカインが脳症の病態形成に重要な役割を演ずることが指摘された。

5. 診断

EHEC 感染症の診断には細菌学的方法と免疫学的方法がある。糞便を材料とする検査は大腸炎急性期の診断に用いられる。迅速診断には糞便中の O157 菌体抗原や志賀毒素の検出が、確定診断には菌の培養・分離と志賀毒素産生性試験が用いられる。血清を対象とした検査は便中の EHEC が消失した後の HUS や脳症の症例における診断の補助になる。

脳症の診断は臨床的に、神経学的所見と頭部画像所見にもとづいてなされる。神経症状は、症例により多彩である。脳症はほとんどの場合 HUS 急性期に発症し、発作 (全身ないし部分痙攣)、意識障害 (傾眠、幻覚から昏睡まで)、片麻痺、除脳姿勢などを呈する。このうち前二者は半数以上の症例で認められる。検査としては頭部画像 (CT ないし MRI) と脳波が有用である。頭部 CT/MRI は軽症例では異常なしであるが、重症例では両側対称性深部灰白質病変 (大脳基底核または視床) とび

まん性脳浮腫をしばしば呈する (図 1)。脳波検査は軽症例でも基礎波の異常 (徐波化) を、重症例ではその程度が強まるとともに発作性異常波も認める。

片麻痺、皮質盲、失語、不随意運動などの局所症状が見られた際は、脳梗塞の合併を疑う。確定診断は頭部画像検査 (MRI ないし CT) による。無症候性のラクナ梗塞が画像検査で偶然見つかることも稀でない。

6. 治療と予後

脳症は HUS 死亡例の約半数における直接死因となっており、出血性大腸炎の最も重篤な合併症である。全般型で最も警戒すべき症状は痙攣重積であり、これはバルビツール剤の持続点滴療法などの集中治療の対象となる。特異的治療法として有効性の確立したものはないが、2011 年の富山における O111 集団感染事例では、脳症に対する副腎皮質ステロイドの有効性が示唆された。

D. 結論

EHEC 感染症に併発する脳症の臨床像は、年代とともに変貌している。近年の研究により新たな治療の可能性が示唆された。

E. 健康危険情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Takanashi J, Taneichi H, Misaki T,

Yahata Y, Okumura A, Ishida Y, Tanaka

T, Miyawaki T, Okabe N, Mizuguchi M.

Clinical and radiological features of

encephalopathy during 2011 *E. coli* O111

outbreak in Japan. *Neurology* 2014;

82(7): 564-572.

2) 種市尋宙, 六車崇, 太田邦雄, 小西道雄,

住田亮, 奥村彰久, 高梨潤一, 水口雅, 宮

脇利男. 腸管出血性大腸菌 O111 集団感染

における危機対応. *日本小児科学会雑誌*

2014; 118(7): 1103-1108.

3) Igarashi T, Ito S, Sako M, Saitoh A,

Hataya H, Mizuguchi M, Morishima T, Ohnishi K, Kawamura N, Kitayama H, Ashida A, Kaname S, Taneichi H, Tang J, Ohnishi M; Study group for establishing guidelines for the diagnosis and therapy of hemolytic uremic syndrome. Guidelines for the management and investigation of hemolytic uremic syndrome. Clinical and Experimental Nephrology 2014; 18(4): 525-557.

4) 水口雅. 脳症の診断. 五十嵐隆 (総括) 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン, 東京医学社, 東京, 2014, pp. 20-24.

5) 水口雅. EHEC 感染症による脳症の治療. 五十嵐隆 (総括) 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン, 東京医学社, 東京, 2014, pp. 50-56.

2. 学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
なし。

図1 出血性大腸炎に併発した急性脳症の頭部 CT 所見 (参考文献 16)

8歳の女兒。EHEC O-157 感染による出血性大腸炎の第5病日に HUS と脳症を発症した。翌日の頭部 CT では脳のびまん性浮腫が著明で、両側の視床と被殻、橋被蓋に対称性低吸収域があり、第三・第四脳室は狭小化していた。第10病日に死亡した

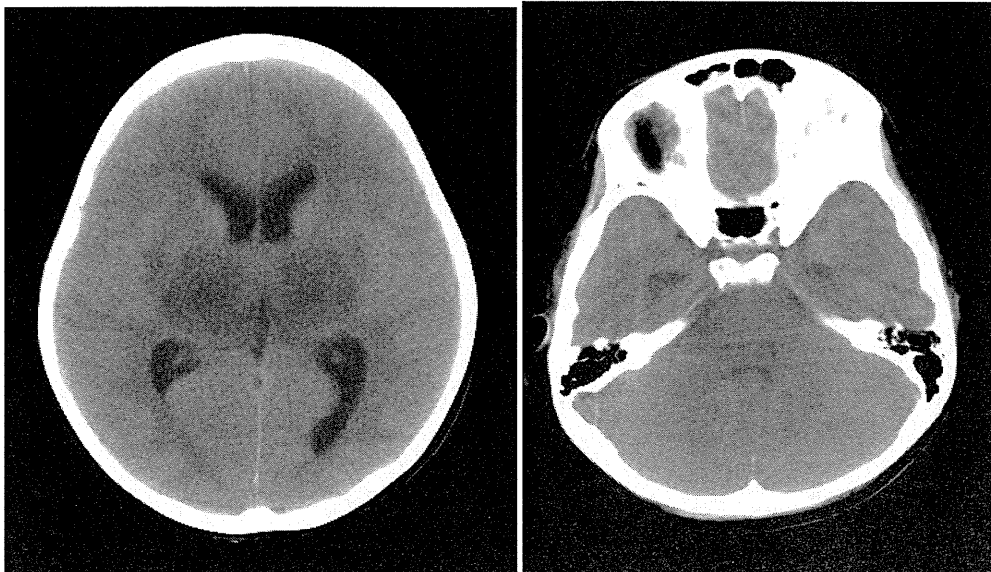


表1 参考文献

- 1) 赤司俊二ほか：浦和市における病原大腸菌による出血性大腸炎の臨床像。小児科学会誌 95:2607-2615, 1991.
- 2) Crisp DE, et al: Hemorrhagic cerebral infarction in the hemolytic-uremic syndrome. J Pediatr 99:273-276, 1981.
- 3) DiMario FJ, et al: Lacunar infarction of the basal ganglia as a complication of hemolytic-uremic syndrome. Clin Pediatr 26:586-590, 1987.
- 4) Trevathan E, Dooling E: Large thrombotic strokes in hemolytic-uremic syndrome. J Pediatr 111:863-866, 1987.
- 5) 佐多徹太郎（編）：EHEC/O111 食中毒事例における疫学・細菌学・臨床的研究。厚生労働科学特別研究事業 平成 23 年度総括・分担研究報告書, 2012.
- 6) 甲斐明美ほか：わが国における Vero 毒素産生性大腸菌の分離状況。臨床微生物 23:827-834, 1996.
- 7) 水口 雅：腸管出血性大腸菌感染症に併発する脳症。臨床微生物 23 : 863-867, 1996.
- 8) Mizuguchi M, et al: Neuronal and vascular pathology produced by verocytotoxin 2 in the rabbit central nervous system. Acta Neuropathol 91:254-262, 1996.
- 9) Shiraishi M, et al: Soluble tumor necrosis factor receptor 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hemolytic uremic syndrome with encephalopathy. J Neuroimmunol. 196:147-152, 2008.
- 10) Shimizu M, et al. Cytokine profiles of patients with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111-induced hemolytic-uremic syndrome. Cytokine 60:694-700, 2012.
- 11) 甲斐明美：腸管出血性大腸菌感染症の細菌学的、免疫学的診断法。小児内科 30:751- 755, 1998.
- 12) 水口 雅：腸管出血性大腸菌感染による中枢神経合併症の治療。小児内科 30:777-780, 1998.
- 13) Siegler RL: Spectrum of extrarenal involvement in postdiarrheal hemolytic-uremic syndrome. J Pediatr 125:511-518, 1994.
- 14) Sheth KJ, et al: Neurologic involvement in hemolytic-uremic syndrome. Ann Neurol 19:90-93, 1986.
- 15) Bale CP, et al: CNS manifestations of the hemolytic-uremic syndrome. Am J Dis Child 134:869-872, 1980.
- 16) 柳澤敦広ほか：溶血性尿毒症症候群に併発した急性壊死性脳症。小児腎臓病学会誌 22:161-165, 2009.
- 17) 古瀬昭夫：腸管出血性大腸菌による溶血性尿毒症症候群の中枢神経症状合併例の解析。小児科学会誌 110:919-925, 2006.
- 18) Dhuna A, et al: EEG and seizures in children with hemolytic-uremic syndrome. Epilepsia 33:482-486, 1992.

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Iyoda S, Manning SD, Seto K, Kimata K, Isobe J, Etoh Y, Ichihara S, Migita Y, Ogata K, Honda M, Kubota T, Kawano K, Matsumoto K, Kudaka J, Asai N, Yabata J, Tominaga K, Terajima J, Morita-Ishihara T, Izumiya H, Ogura Y, Saitoh T, Iguchi A, Kobayashi H, Hara-Kudo Y, and Ohnishi M, EHEC Working Group in Japan	Phylogenetic clades 6 and 8 of enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O157:H7 with particular <i>stx</i> subtypes are more frequently found in isolates from hemolytic uremic syndrome patients than from asymptomatic carriers.	Paul E. Sax	Open Forum Infectious Diseases	Oxford University Press	USA	2014	1 (2): first published online July 18, 2014.
溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン作成班班員総括責任者五十嵐 隆	溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン	五十嵐 隆	溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン	東京医学社	東京	2014	1-92
水口雅.	脳症の診断.	五十嵐隆(総括)	溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン	東京医学社	東京	2014	20-24