

3. Deficiency of ADAMTS13

ADAMTS13 deficiency consists of two types, congenital type (Upshaw-Schulman syndrome) and acquired type due to its inhibitor, anti-ADAMTS13 antibody. A marked decrease of ADAMTS13 activity to a level of less than 5 % has been demonstrated in 60–90 % of patients with TTP. Therefore, patients with congenital or acquired TTP should be diagnosed and ruled by measuring the activity of ADAMTS13 and its inhibitor.

4. Cobalamine metabolism abnormality

Inborn error of cobalamine C metabolism is a rare cause of HUS, especially in young infants (less than 6 months of age). The diagnosis is suggested by a marked increase of homocysteine and a decrease of methionine demonstrated by plasma amino acid chromatography.

5. Recessive mutation in diacylglycerol kinase ϵ (DGKE) gene

Mutations in diacylglycerol kinase ϵ (DGKE) gene were identified using exome sequencing in four patients with aHUS [g]. Most patients with DGKE gene mutation presented with aHUS in the first year of life show episodes of relapse before 5 years of age. It was reported that 13 (27 %) of 49 patients with aHUS in the first year of life had DGKE gene mutations and that three of six familial disease kindreds had these mutations. Affected individuals present with aHUS in the first year of life have persistent hypertension, hematuria and proteinuria (sometimes in the nephrotic range), and commonly show progression to CKD stage 4 and 5 by the second decade of life. Therefore, DGKE gene mutations should be suspected if characteristic symptoms such as hypertension, hematuria and proteinuria occur after recovery from aHUS attacks, and that there are no pathogenic mutations in known aHUS-related genes or antibodies against CFH.

6. HIV infection

Definitive diagnosis is performed by serological test for anti-HIV antibody.

7. Others

Definitive diagnosis is performed with various examinations including serological examinations for anti-nuclear antibody and anti-phospholipid antibody.

5.2 Treatment of aHUS

Treatment of aHUS includes supportive therapy for control of overall body conditions and specific therapy for the causative disease. [Grade of Recommendation: B]

(1) Pneumococcal-associated aHUS

Plasma therapy, including plasma exchange and plasma infusion with fresh frozen plasma, should be avoided in therapy for pneumococcal-associated HUS as plasma (which contains natural IgM-class antibodies against Thomsen-Friedenreich antigen) may aggravate hemolysis. It is preferable to transfuse washed RBC or platelets. [Grade of Recommendation: D]

(2) aHUS associated with complement dysregulation and other abnormalities

The guideline indicates that plasma therapy, including plasma exchange and plasma infusion, should be started as soon as possible at diagnosis of aHUS (excluding cobalamine metabolism disorder and pneumococcal-associated HUS). [Grade of Recommendation: C1]

Patients diagnosed with aHUS (based on the diagnostic criteria proposed by the Joint Committee of the Japanese Society of Nephrology and the Japanese Society of Pediatrics) should be treated with eculizumab. [Grade of Recommendation: C1]

Living-related donor transplantation should not be performed in patients with end-stage renal disease (ESRD) due to aHUS. [Grade of Recommendation: C2]

Preventive plasma therapy should be performed in the perioperative period for patients with ESRD due to aHUS undergoing cadaveric unrelated renal transplantation. [Grade of Recommendation: C1]

Prophylactic eculizumab administration in the perioperative period is acceptable for patients with ESRD due to aHUS and undergoing cadaveric unrelated renal transplantation. [Grade of Recommendation: C1]

Table 13 Classification of aHUS (excluding TTP due to ADAM-TS13 deficiency)

1. Advanced Etiology
(i) Infection induced
<i>Streptococcus pneumoniae</i> infection
(ii) Disorders of complement regulation
Genetic disorders of complement regulation: complement factor H (CFH), complement factor I (CFI), membrane cofactor protein (MCP, CD46), C3, complement factor B (CFB), thrombomodulin
Acquired disorders of complement regulation: auto-antibody
(iii) Defective cobalamine metabolism
(iv) DGKE mutation
(v) Quinine induced
2. Clinical associations
(i) HIV
(ii) Malignancy, cancer chemotherapy, ionizing radiation
(iii) Transplantation, Immunosuppressant use
(iv) Pregnancy: HELLP syndrome
(v) Autoimmune disease, collagen disease
(vi) Others

Comments

As described in Sect. 5.1, aHUS has several etiologies that can affect presentation, management and outcome. Supportive care including dialysis and various type of intensive care to control patient's general conditions is important, as is the case for STEC-associated HUS. Specific therapy is needed for various etiologies. Therefore, we have described the importance of supportive care for treatment of patients with aHUS in the opening statement of this guideline.

1. Pneumococci-associated aHUS

Children with pneumococci-associated HUS are usually younger at presentation and show a more severe course than those with STEC-associated HUS. The mortality rate of pneumococci-associated HUS in the acute phase has been reported to be 12.5 % [c], and 26 % [l]. It has been reported that 10.1 % [c], with 8 % of patients develop end-stage renal disease [l]. These rates are between two to three times higher than those for STEC-associated HUS. As for the pathophysiology of pneumococci-associated HUS, it has been proposed that neuraminidase, produced by pneumococci, cleaves *N*-acetyl neuraminic acid from the cell surface of erythrocytes, platelets, and glomerular endothelial cells, exposing the Thomsen–Friedenreich antigen. The latter is identified by a natural IgM antibody as a normal plasma constituent that initiates the cascade of events leading to HUS. Transfusion of plasma products containing anti-Thomsen–Friedenreich IgM antibodies further accelerates hemolysis, and such cases have been

documented [2, 3]. The reported morbidity rate of CKD or end-stage renal disease is significantly lower in patients treated with washed blood products than in those treated with unwashed products [1]. These circumstances dictate that plasma therapy, including plasma infusion and plasma exchange with fresh frozen plasma, should not be performed in patients with pneumococci-associated HUS. Washed blood products should be used for blood transfusion and filler in the dialysis circuit for infant dialysis.

2. aHUS associated with complement dysregulation and other abnormalities

The guideline recommends that daily plasma therapy, including plasma exchange and plasma infusion, should be started at the point of diagnosis of aHUS (excluding cobalamine metabolism disorder for which vitamin B12 supplementation is the established therapy) [d, h]. Plasma exchange is commonly undertaken daily using 1.5–2 plasma volume per session, employing fresh frozen plasma. Plasma exchange is more efficient than plasma infusion, as the former supplies a large amount of normal complement regulatory protein, avoids any risk of volume overload, and removes fluid-phase causative agents (such as abnormal complement regulatory proteins, anti-CFH antibodies, inflammatory cytokines, and other triggers of platelet hyperaggregability) [f, h]. The results of a case series study suggested that the response to short-term plasma therapy varies according to genotype [j, k, 4, 5]. Patients with CFH mutations have the poorest prognosis. On the other hand, patients with MCP mutations have the best short-term prognosis, with 90 % of such patients reported to survive and remain dialysis-free in the long term [4]. Therefore, in patients with MCP mutations, plasma therapy does not affect outcome. This is consistent with the fact that MCP is not a circulating complement regulatory protein.

In the patients with mutations in genes for complement proteins and their regulators, the outcome of kidney transplantation is poor; overall risk of aHUS recurrence after kidney transplantation is about 50 %, and the risk of graft loss occurs in 80–90 % of patients with recurrence [l–n, 6]. The outcomes of kidney transplantation vary according to the type of mutated gene, being poor in patients with CFH, complement factor I (CFI), C3 mutations. In contrast, kidney graft outcome is reportedly favorable, and disease recurrence rates are low in patients with MCP mutations, due to the fact that MCP is a transmembrane protein and that kidney grafts show normal expression of MCP [6]. The efficacies and benefits of plasma therapy in the perioperative period have been reported in some case series, with the purpose of preventing aHUS recurrence after kidney transplantation [l–n]. Therefore, preventive perioperative plasma therapy is recommended when

performing kidney transplantation for patients with complement-associated HUS. These data, together with the higher rates of disease recurrence, suggest that living kidney transplantation is not recommended for patients with mutations of CFH, CFI, complement factor B (CFB) and C3. In particular, living-related kidney transplantation is contraindicated, as a living-related donor may be a carrier of mutations and may be at risk of developing de novo aHUS after kidney donation.

As CFH, CFI, CFB and C3 are synthesized in the liver or liver-kidney, combined transplantation has been proposed as a logical curative intervention for severe complement-associated HUS in patients harboring mutations of those complement proteins. There have been over 10 combined liver-kidney transplants [o, p, 7–12], and a few successful cases have been reported [10–12]. However, as data on patient outcome are limited, it is not possible to draw reliable conclusions on this type of transplantation.

Mutations of complement protein components of the alternative complement pathway, including CFH, CFI and MCP, have been reported in many cases of aHUS [f]. The proposed pathological mechanism for the development of HUS is uninhibited continuous activation of the alternative pathway, resulting in the formation of membrane attack complex (MAC, C5–9). Eculizumab, a recombinant monoclonal humanized IgG antibody that targets C5, blocks the cleavage of C5a–C5b, ultimately preventing generation of the proinflammatory peptide C5b, and the cytotoxic MAC. Therefore, eculizumab blocks the complement terminal pathway. Two prospective single-arm studies involving adult patients, and one retrospective study involving pediatric patients, have been performed to investigate the efficacy of eculizumab for aHUS [q]. In the autumn of 2011, the use of eculizumab for treatment of aHUS was approved in the USA and Europe based on the results of these studies [q]. Many reports have described the efficacy of eculizumab for patients with plasma therapy-resistant aHUS [13–15], and its long-term preventive effect against aHUS recurrence after kidney transplantation [16–20]. These reports suggest that eculizumab may be highly beneficial for patients with aHUS and also for prevention of aHUS recurrence after kidney transplantation. However, blockade of the complement terminal pathway by eculizumab increases the risk of infection by encapsulated bacteria, including *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* type B, and *Streptococcus pneumoniae*. In particular, *Neisseria meningitidis* infection is life-threatening. Patients must be vaccinated against it at least 2 weeks before being treated with eculizumab. If this is not possible, adequate antibiotics, including ciprofloxacin, should be administered prophylactically [r]. Moreover, in children, it should be ascertained if they have been vaccinated

Table 14 Dosing recommendation of eculizumab for the patients with aHUS

Patient age and body weight	Induction	Maintenance
18 years and older	900 mg weekly for the first 4 weeks	1200 mg at week 5; then 1200 mg every 2 weeks
Less than 18 years		
40 kg and over	900 mg weekly \times 4 doses	1200 mg at week 5; then 1200 mg every 2 weeks
30 kg to less than 40 kg	600 mg weekly \times 2 doses	900 mg at week 3; then 900 mg every 2 weeks
20 kg to less than 30 kg	600 mg weekly \times 2 doses	600 mg at week 3; then 600 mg every 2 weeks
10 kg to less than 20 kg	600 mg weekly \times 1 dose	300 mg at week 2; then 300 mg every 2 weeks
5 kg to less than 10 kg	300 mg weekly \times 1 dose	300 mg at week 2; then 300 mg every 3 weeks

against *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type B. If not, such vaccination ought to be considered [s]. In Japan, the use of eculizumab for treatment of thrombotic microangiopathy due to aHUS was approved in September 2013. Accurate diagnosis of aHUS is important before initiating treatment with eculizumab, as stated in the packaging insert for the agent: “Examine carefully the appropriateness of eculizumab administration and start the medication based on sufficient understanding of its efficacy and safety” and “Appropriate diagnosis based on diagnostic criteria established by the Joint Committee of the Japanese Society of Nephrology and the Japanese Society of Pediatrics is necessary for use of eculizumab” [s]. With regard to these guidelines, Tables 14 and 15 show the recommended dosages and regimens stated in the packaging insert [s].

Treatment with eculizumab is highly effective for patients who depend on or resist to plasma exchange, as well as for those whose risks of plasma exchange outweigh the benefits (e.g. allergic reaction to plasma products, technical difficulties in achieving vascular access). For these patients, treatment with eculizumab may become a first line strategy in Japan, just as it has been reported in the USA and Europe [t]. So far, however, only three cases have been examined in a clinical trial and only a handful of cases have been treated with eculizumab through private importation in Japan. Since the efficacy and safety of treatment with eculizumab for Japanese aHUS patients is still unclear, we have decided on a recommendation grade of C1 for treatment with eculizumab. The treatment protocol for aHUS and preventive therapy protocol for disease recurrence after kidney transplantation may change once treatment experience with eculizumab has been accumulated.

Table 15 Supplemental dose of eculizumab after plasma exchange/plasma infusion

	Most recent eculizumab dose	Supplemental eculizumab dose	Timing of supplemental eculizumab dose
Plasma exchange	300 mg	300 mg per plasma exchange session	Within 60 min after each plasma exchange
	600 mg and over	600 mg per plasma exchange session	
Fresh frozen Plasma infusion	300 mg and over	300 mg per fresh frozen plasma infusion session	60 min prior to fresh frozen plasma infusion session

Eculizumab may be partially lost from plasma due to plasma exchange, and fresh frozen plasma includes complement factor 5 (C5). Therefore, eculizumab supplementations within 60 min after each plasma exchange session or at 60 min before fresh frozen plasma infusion should be considered (dosage shown in Table 15). As the supplemental dose of eculizumab is estimated on the basis of simulation results, it is necessary to observe patients carefully post eculizumab supplementation

In 2013, mutations in the gene coding for DGKE were reported as a cause of aHUS [f]. It is not obvious whether complement activation has a role in patients with DGKE mutations, because DKGE encodes an intracellular enzyme. Moreover, two patients with DGKE mutations have been reported to show recurrent aHUS while receiving anticomplement therapy including eculizumab and plasma infusion. To date, two allografts have survived for 2 years. In three cases of cadaveric kidney transplantation, the patients survived for 4 years. One allograft failed after 6 years due to chronic rejection. It is notable that there were no cases of aHUS recurrence. Additionally, DKGE mutations have been reported to cause membrane proliferative glomerulonephritis with thrombotic microangiopathy [t]. Further analysis is necessary to clarify the pathogenesis and clinical course of aHUS in patients with DGKE mutations.

Supplementary articles

- Kagami S, et al. Diagnostic criteria of atypical hemolytic uremic syndrome. *Nihon Jinzo Gakkai Shi*. 2013;55:91–93.
- Besbas N, et al. A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders. *Kidney Int*. 2006;70:423–431.
- Copelovitch L, et al. Streptococcus pneumonia-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2008;23:1951–1956.
- Ariceta G, et al. Guideline for the investigation and initial therapy of diarrhea-negative hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2009;24:687–696.
- Sánchez-Corral P, et al. Functional analysis in serum from atypical hemolytic uremic syndrome patients reveals impaired

- protection of host cells associated with mutations with factor H. *Mol Immunol*. 2004;41:81–84.
- Loirat C, et al. Atypical hemolytic uremic syndrome. *Orphanet J Rare Dis*. 2011;6:60–89.
- Lemaire M, F et al. Recessive mutations in *DKGE* cause atypical hemolytic uremic syndrome. *Nat. Genet*. 2013;45:531–536.
- Taylor CM, et al. On behalf of a working party from the Renal Association, the British Committee for Standards in Haematology and the British Transplantation Society: Clinical Practice Guidelines for the management of atypical haemolytic uraemic syndrome in the United Kingdom. *Br J Haematol*. 2009;148:37–47.
- Loirat C, et al. Plasmatherapy in atypical hemolytic uremic syndrome. *Semin Thrombo Hemost*. 2010;36:673–681.
- Noris M, et al. Atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Eng J Med*. 2009;361:1676–1687.
- Loirat C, et al. Complement and the atypical hemolytic syndrome in children. *Pediatr Nephrol*. 2008;23:1957–1972.
- Bresin E, et al. Outcome of renal transplantation in patients with Non-Shiga-Toxin associated hemolytic uremic syndrome: prognostic significance of background. *Clin J Am Nephrol*. 2006;1:88–89.
- Loirat C, et al. Hemolytic uremic syndrome recurrence after renal transplantation. *Pediatr Transpl*. 2008;12:619–629.
- Noris M, et al. Thrombotic microangiopathy after kidney transplantation. *Am J Transpl*. 2010;10:1517–1523.
- Sánchez-Coral P, et al. Advances in understanding the aetiology of atypical haemolytic syndrome. *Br J Haematol*. 2010;150:529–542.
- Saland JM, et al. Liver-kidney transplantation to cure atypical hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20:940–949.
- UpToDate: Atypical hemolytic uremic syndrome in children. (Accessed on April 17, 2012)
- Schmidtko J, et al. Treatment of atypical hemolytic uremic syndrome and thrombotic microangiopathies: A focus on eculizumab. *Am J Kidney Dis*. 2013;61:289–299.
- Soliris® (eculizumab) Concentrated solution for intravenous infusion. Japanese Package Insert.
- Ozaltin F, et al. DGKE variants cause a glomerular microangiopathy that mimics membranoproliferative GN. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24:377–384.

Acknowledgments These guidelines were supported by Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Health, Labor and Welfare of Japan (Research fund for emerging and re-emerging infections including new types of influenza infection; Study group for pathological factors in severe form of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections and the generalization of therapy. # H24-Shinkou-Ippan-012, head: Makoto Ohnishi).

References

1 Diagnosis and treatment of Shiga toxin producing *Escherichia coli* infection

1.1 Diagnosis of Shiga toxin producing *Escherichia coli* infection

- Saito T, et al. Reported cases of hemorrhagic uremic syndrome associated with EHEC infection in 2008–NESID. *IASR* 2009;30:122–123. [in Japanese] (level 5)

2. Komiya N, et al. Reported cases of hemorrhagic uremic syndrome associated with EHEC infection in 2008-NESID. IASR. 2010;31:170–172. [in Japanese] (level 5)
 3. Saito T, et al. Reported cases of hemorrhagic uremic syndrome associated with EHEC infection in 2010-NESID. IASR 2011;32:141–143. [in Japanese] (level 5)
 4. Saito T, et al. Reported cases of hemorrhagic uremic syndrome associated with EHEC infection in 2011-NESID. IASR. 2012;33:128–130. [in Japanese] (level 5)
 5. Kamioka I, et al. Risk factors for developing severe clinical course in HUS patients: a national survey in Japan. *Pediatr Int.* 2008;50:441–446. (level 4)
- 1.2 Treatment of STEC infection
1. Safdar N, et al. Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 enteritis: a meta-analysis. *JAMA.* 2002;288:996–1001. (level 2)
 2. Proulx F, et al. Randomized, controlled trial of antibiotic therapy for *Escherichia coli* O157:H7 enteritis. *J Pediatr.* 1992;121:299–303. (level 2)
 3. Menne J, et al. EHEC-HUS consortium: Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. *BMJ.* 2012;345:e4565. (level 4)
 4. Smith KE, et al. Antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157 infection and the risk of hemolytic uremic syndrome, Minnesota. *Pediatr Infect Dis J.* 2012;31:37–41. (level 4)
 5. Wong CS, et al. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *N Engl J Med.* 2000;342:1930–1936. (level 4)
 6. Wong CS, et al. Risk factors for the hemolytic uremic syndrome in children infected with *Escherichia coli* O157:H7: a multi-variable analysis. *Clin Infect Dis.* 2012;55:33–41. (level 4)
 7. Dundas S, et al. The central Scotland *Escherichia coli* O157:H7 outbreak: risk factors for the hemolytic uremic syndrome and death among hospitalized patients. *Clin Infect Dis.* 2001;33:923–931. (level 4)
 8. Shiomi M, et al. Effect of early oral fluoroquinolones in hemorrhagic colitis due to *Escherichia coli* O157:H7. *Pediatr Int.* 1999;41:228–232. (level 4)
 9. Ikeda K, et al. Effect of early fosfomycin treatment on prevention of hemolytic uremic syndrome accompanying *Escherichia coli* O157:H7 infection. *Clin Nephrol.* 1999;52:357–362. (level 4)
 10. Bell BP, et al. Predictors of hemolytic uremic syndrome in children during a large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections. *Pediatrics.* 1997;100:E12. (level 4)
 11. Cimolai N, et al. A continuing assessment of risk factors for the development of *Escherichia coli* O157:H7-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin Nephrol.* 1994;42:85–89. (level 4)
 12. Cimolai N, et al. Risk factors for the central nervous system manifestations of gastroenteritis-associated hemolytic-uremic syndrome. *Pediatrics.* 1992;90:616–621. (level 4)
- 2 Diagnosis of HUS
- 2.1 Diagnosis procedure
1. Kawamura N, et al. Risk factors for the development of *Escherichia coli* O157: H7 associated with hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Int.* 1999;41:218–222. (level 4)
 2. Kamioka I, et al. Japanese Society for Pediatric Nephrology: Risk factors for developing severe clinical course in HUS patients: a national survey in Japan. *Pediatr Int.* 2008;50:441–446. (level 4)
 3. Oakes RS, et al. Predictors of fatality in postdiarrheal hemolytic uremic syndrome. *Pediatrics.* 2006;117:1656–1662. (level 4)
- 2.2 Assessment of acute kidney injury (AKI)
1. Kamioka I, et al. Japanese Society for Pediatric Nephrology. Risk factors for developing severe clinical course in HUS patients: a national survey in Japan. *Pediatr Int.* 2008;50:441–446. (level 4)
 2. Gerber A, et al. Clinical course and the role of shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in the hemolytic-uremic syndrome in pediatric patients, 1997–2000, in Germany and Austria: a prospective study. *J Infect Dis.* 2002;15:493–500. (level 4)
 3. Balestracci A, et al. Dehydration at admission increased the need for dialysis in hemolytic uremic syndrome children. *Pediatr Nephrol.* 2012;27:1407–1410. (level 4)
 4. Hickey CA, et al. Early volume expansion during diarrhea and relative nephroprotection during subsequent hemolytic uremic syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2011;165:884–889. (level 4)
- 2.3 Diagnosis of encephalopathy
1. Gasser C, et al. Haemolytisch-uraemische syndrome: Bilaterale nierenrindennekrosen bei akuten erworbenen haemolytischen anaemien. *Schweiz Med Wochenschr.* 1955;85:905–909. (level 5)
 2. Akashi S, et al. An outbreak of *Escherichia coli* associated colitis in a kindergarten. Committee for epidemiological study of epidemic diarrhea due to pathogenic *E. coli* in a kindergarten, Saitama, Japan. *J Jpn Pediatr Soc.* 1991;95:2607–2615. [in Japanese] (level 5)
 3. Siegler RL. Spectrum of extrarenal involvement in postdiarrheal hemolytic-uremic syndrome. *J Pediatr.* 1994;125:511–518. (level 5)
 4. Furuse A. Clinical analysis of the cases complicated with central nervous system involvement in diarrhea associated hemolytic uremic syndrome. *J Jpn Pediatr Soc.* 2006;110:919–925. [in Japanese] (level 5)
 5. Sheth KJ, et al. Neurologic involvement in hemolytic-uremic syndrome. *Ann Neurol.* 1986;19:90–93. (level 5)
 6. Bale CP, et al. CNS manifestations of the hemolytic-uremic syndrome. *Am J Dis Child.* 1980;134:869–872. (level 5)
 7. Theobald I, et al. Central nervous system involvement in hemolytic uremic syndrome (HUS)—a retrospective analysis of cerebral CT and MRI studies. *Clin Nephrol.* 2001;56:S3–8. (level 5)
 8. Steinborn M, et al. CT and MRI in haemolytic uraemic syndrome with central nervous system involvement: distribution of lesions and prognostic value of imaging findings. *Pediatr Radiol.* 2004;34:805–810. (level 5)
 9. Donnerstag F, et al. Patterns in early diffusion-weighted MRI in children with haemolytic uraemic syndrome and CNS involvement. *Eur Radiol.* 2012;22:506–513. (level 5)
 10. Dhuna A, et al. EEG and seizures in children with hemolytic-uremic syndrome. *Epilepsia.* 1992;33:482–486. (level 5)
 11. Shiraishi M, et al. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hemolytic uremic syndrome with encephalopathy. *J Neuroimmunol.* 2008;196:147–152. (level 4)
 12. Shimizu M, et al. Cytokine profiles of patients with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111-induced hemolytic-uremic syndrome. *Cytokine.* 2012;60:694–700. (level 4)
 13. Crisp DE, et al. Hemorrhagic cerebral infarction in the hemolytic-uremic syndrome. *J Pediatr.* 1981;99:273–276. (level 5)
 14. DiMario FJ, et al. Lacunar infarction of the basal ganglia as a complication of hemolytic-uremic syndrome. *Clin Pediatr.* 1987;26:586–590. (level 5)

- 2.4 Acute-phase extrarenal complication (excluding encephalopathy)
1. Spinale JM, et al. Long-term outcomes of Shiga toxin hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2013 Jan 4. [Epub ahead of print]. (level 4)
 2. Habib R, et al. Hemolytic-uremic syndrome in children and arterial hypertension. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 1981;74:37–43. (level 5)
 3. Siegler RL, et al. Hemolytic-uremic syndrome in adolescents. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1997;151:165–169. (level 4)
 4. Friedland JA, et al. *Escherichia coli* O157: H7-associated hemolytic-uremic syndrome: Value of colonic color Doppler sonography. *Pediatr Radiol.* 1995;25:S65–S67. (level 5)
 5. Bernard A, et al. Digestive manifestations in hemolytic uremic syndrome in children. *Arch Pediatr.* 1996;3:533–540. (level 4)
 6. Yoden A. Echographic significance in gastrointestinal disease. *Jp J Pediatric Medicine.* 1999;31:1700–1707. [in Japanese]. (level 5)
 7. Crabbe DCG, et al. Gastrointestinal complications of the haemolytic uraemic syndrome. *J Roy Soc Med.* 1990;83:773–775. (level 5)
 8. de Buys Roessingh AS, et al. Gastrointestinal complications of post-diarrheal hemolytic uremic syndrome. *Eur J Pediatr Surg.* 2007;17:328–334. (level 4)
 9. Brandt JR, et al. Cholelithiasis following *Escherichia coli* O157: H7-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1998;12:222–225. (level 4)
 10. Nagita A, et al. Report on nine cases of gallbladder calculus disease. *J Jpn Pediatric Society.* 1993;97:2140–2144. [in Japanese] (level 5)
 11. Yamazaki T, et al. Case Report of Two-year-old Boy with Bile-duct Stones Associated with Hemolytic Uremic Syndrome. *J Jpn Pediatric Society.* 1996;103:865–868. [in Japanese] (level 5)
 12. Spizirri FD, et al. Childhood hemolytic uremic syndrome in Argentina: Long-term follow-up and prognostic features. *Pediatr Nephrol.* 1997;11:156–160. (level 4)
 13. Poulton J, et al. Dilated cardiomyopathy associated with haemolytic uraemic syndrome. *Br Heart J.* 1987;57:181–183. (level 5)
 14. Mohammed J, et al. Cardiac tamponade in diarrhea-positive haemolytic uraemic syndrome. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:679–681. (level 5)
 15. Askiti V, et al. Troponin I levels in a hemolytic uremic syndrome patient with severe cardiac failure. *Pediatr Nephrol.* 2004;19:345–348. (level 5)
 16. Abu-Arafah I, et al. Myocarditis and haemolytic uraemic syndrome. *Arch Dis Child.* 1995;72:46–47. (level 5)
5. Weil BR, et al. Bleeding risk for surgical dialysis procedures in children with hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2010;25:1693–1698. (level 4)
- 3.2 Antihypertensive therapy
1. Spinale JM, et al. Long-term outcomes of Shiga toxin hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2013 Jan 4. [Epub ahead of print]. (level 4)
- 3.3 Renal replacement therapy
1. Bagshaw SM, et al. Dialysis Disequilibrium Syndrome: brain death following hemodialysis for metabolic acidosis and acute renal failure—a case report. *BMC Nephrol.* 2004;9:5–9. (level 5)
- 3.4 Plasma exchange therapy
1. Dundas S, et al. Effectiveness of therapeutic plasma exchange in the 1996 Lanarkshire *Escherichia coli* O157:H7 outbreak. *Lancet.* 1999;354:1327–1330. (level 5)
 2. Menne J, et al. Validation of treatment strategies for entero-haemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case–control study. *BMJ.* 2012;345:e4565. (level 5)
 3. Yagi K et al. Clinical experience of E. coli O-157-related hemolytic uremic syndrome. *J Jpn Soc Peiatr Nephrol.* 1997;10:209–213. [in Japanese] (level 5)
- 3.5 Antithrombotic therapy for HUS
1. Diekmann L: Treatment of the hemolytic-uremic syndrome with streptokinase and heparin (author's transl). *Klin padiatr.* 1980;192:430–435. (level 4)
 2. Loirat C, et al. Treatment of childhood hemolytic-uremic syndrome with urokinase. Cooperative controlled trial. *Arch Fr Pediatr.* 1984;41:15–19. (level 4)
 3. Van Damme-Lombaarts R, et al. Heparin plus dipyridamole in childhood hemolytic-uremic syndrome: a prospective, randomized study. *J Pediatr.* 1988;113:913–918. (level 2)
 4. O'Regan S, et al. Aspirin and dipyridamole therapy in the hemolytic-uremic syndrome. *J Pediatr.* 1980;97:473–476. (level 4)
 5. Asaga T, et al: A case of thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome coincident with disseminated intravascular coagulation caused by abdominal hysterectomy. *J Jpn Soc Intensive Care Med.* 2008;15:339–340. [in Japanese] (level 5)
 6. Kaneda M, et al. Treatment of hemolytic uremic syndrome with recombinant thrombomodulin. *Thrombosis Medicine.* 2012;2:198–202. [in Japanese] (level 5)
- 3.6 Treatment of encephalopathy associated with STEC infection
1. Robson WL, et al. Causes of death in hemolytic uremic syndrome. *Child Nephrol Urol.* 1991;11:228–233. (level 5)
 2. Kahn SI, et al. Spontaneous recovery of the hemolytic uremic syndrome with prolonged renal and neurological manifestations. *Nephron.* 1982;32:188–191. (level 5)
 3. Steel BT, et al. Recovery from prolonged coma in hemolytic uremic syndrome. *J Pediatr.* 1983;102:402–404. (level 5)
 4. Siegler RL. Spectrum of extrarenal involvement in postdiarrheal hemolytic-uremic syndrome. *J Pediatr.* 1994;125:511–518. (level 5)
 5. Perez N, et al. Steroids in the hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1998;12:101–104. (level 4)
 6. Shimizu M, et al. Cytokine profiles of patients with entero-hemorrhagic *Escherichia coli* O111-induced hemolytic-uremic syndrome. *Cytokine.* 2012;60:694–700. (level 4)
 7. Shiraiishi M, et al. Soluble tumor necrosis factor receptor 1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hemolytic uremic syndrome with encephalopathy. *J Neuroimmunol.* 2008;196:147–152. (level 4)
- 3 Treatment of HUS
- 3.1 Fluid therapy and blood transfusion
1. Ake JA, et al. Relative nephroprotection during *Escherichia coli* O157:H7 infections: Association with intravenous volume expansion. *Pediatrics.* 2005;115:e673–80. (level 4)
 2. Hickey CA, et al. Early volume expansion during diarrhea and relative nephroprotection during subsequent hemolytic uremic syndrome. *JAMA* 2012;165:884–889. (level 4)
 3. Balestracci A, et al. Dehydration at admission increased the need for dialysis in hemolytic uremic syndrome children. *Pediatr Nephrol.* 2012;27:1407–1410. (level 4)
 4. Pape L, et al. Early erythropoietin reduced the need for red blood cell transfusion in childhood hemolytic uremic syndrome: a randomized prospective pilot trial. *Pediatr Nephrol.* 2009;24:1061–1064. (level 2)

8. Yanagisawa A, et al. [Hemolytic uremic syndrome complicated by acute childhood necrotizing encephalopathy]. *J Jpn Soc Pediatr Nephrol.* 2009;22:161–165., in Japanese. (level 5)
 9. Dundas S, et al. Effectiveness of therapeutic plasma exchange in the 1996 Lanarkshire *Escherichia coli* O157:H7 outbreak. *Lancet.* 1999;354:1327–1330. (level 5)
 10. Nathanson S, et al. Acute neurological involvement in diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:1218–1228. (level 4)
 11. Colic E, et al. Management of an acute outbreak of diarrhoea-associated haemolytic uraemic syndrome with early plasma exchange in adults from southern Denmark: an observational study. *Lancet.* 2011;378:1089–1093. (level 4)
 12. Lapeyraque AL, et al. Eculizumab in severe Shiga-toxin-associated HUS. *N Engl J Med.* 2011;364:2561–2563. (level 5)
 13. Menne J, et al. STEC-HUS consortium. Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. *Br Med J.* 2012;345:e4598. (level 4)
 14. Honda T, et al. A novel strategy for hemolytic uremic syndrome: successful treatment with thrombomodulin α . *Pediatrics.* 2013;131:e928–33. (level 5)
- 3.7 Renal sequelae of HUS
1. Gerber A, et al. Clinical course and the role of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in the hemolytic-uremic syndrome in pediatric patients, 1997–2000, in Germany and Austria: a prospective study. *J Infect Dis.* 2002;186:493–500. (level 4)
 2. Kamioka I, et al. Japanese Society for Pediatric Nephrology: Risk factors for developing severe clinical course in HUS patients: a national survey in Japan. *Pediatr Int.* 2008;50:441–446 (level 4)
 3. Oakes RS, et al. Predictors of fatality in postdiarrheal hemolytic uremic syndrome. *Pediatrics.* 2006;117:1656–1662. (level 4)
 4. Spinale JM, et al. Long-term outcomes of Shiga toxin hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2013 Jan 4. [Epub ahead of print]
 5. Garg AX, et al. Long-term renal prognosis of diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *JAMA.* 2003;290:1360–1370. (level 4)
 6. Garg AX, et al. Microalbuminuria three years after recovery from *Escherichia coli* O157 hemolytic uremic syndrome due to municipal water contamination. *Kidney Int.* 2005;67:1476–1482. (level 4)
 7. Sharma AP, et al. Chronic renal disease is more prevalent in patients with hemolytic uremic syndrome who had a positive history of diarrhea. *Kidney Int.* 2010;78:598–604. (level 4)
 8. Siegler RL, et al. Long-term outcome and prognostic indicators in the hemolytic-uremic syndrome. *J Pediatr.* 1991;118:195–200. (level 4)
 9. Fitzpatrick MM, et al. Long term renal outcome of childhood haemolytic uraemic syndrome. *BMJ.* 1991;303:489–492. (level 4)
 10. Small G, et al. Hemolytic uremic syndrome: defining the need for long-term follow-up. *Clin Nephrol.* 1999;52:352–356. (level 4)
 11. Kelles A, et al. Childhood haemolytic uraemic syndrome: long-term outcome and prognostic features. *Eur J Pediatr.* 1994;153:38–42. (level 4)
 12. Spizzirri FD, et al. Childhood hemolytic uremic syndrome in Argentina: long-term follow-up and prognostic features. *Pediatr Nephrol.* 1997;11:156–160. (level 4)
 13. Gagnadoux MF, et al. Long-term (15–25 years) outcome of childhood hemolytic-uremic syndrome. *Clin Nephrol.* 1996;46:39–41. (level 4)
 14. Hüséman D, et al. Long-term prognosis of hemolytic uremic syndrome and effective renal plasma flow. *Pediatr Nephrol.* 1999;13:672–677. (level 4)
 15. Oakes RS, et al. Duration of oliguria and anuria as predictors of chronic renal-related sequelae in post-diarrheal hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 2008;23:1303–1308. (level 4)
 16. Cobeniás CJ, et al. Long-term follow-up of Argentinean patients with hemolytic uremic syndrome who had not undergone dialysis. *Pediatr Nephrol.* 2007;22:1343–1347. (level 4)
 17. Garg AX, et al. Absence of renal sequelae after childhood *Escherichia coli* O157:H7 gastroenteritis. *Kidney Int.* 2006;70:807–812. (level 4)
- 3.8 Extra-renal sequelae in patients with HUS
1. Crabbe DCG, et al. Gastrointestinal complications of the haemolytic uraemic syndrome. *J Roy Soc Med.* 1990;83:773–775. (level 5)
 2. Brandt JR, et al. Cholelithiasis following *Escherichia coli* O157:H7-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol.* 1988;12:222–225. (level 5)
 3. Suri RS, et al. Relationship between *Escherichia coli* O157:H7 and diabetes mellitus. *Kidney Int Suppl.* 2009;112:S44–S46. (level 4)
 4. Suri RS, et al. Diabetes during diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* 2005;28:2556–2562. (level 4)
 5. Nathanson S, et al. Acute neurological involvement in diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:1218–1228. (level 5)
 6. Brasher C, et al. The hemolytic-uremic syndrome. *West J Med.* 1981;134:193–197. (level 5)
 7. Sheth KJ, et al. Neurological involvement in hemolytic-uremic syndrome. *Ann Neurol.* 1986;19:90–93. (level 4)
 8. Schlieper A, et al. Sequelae of hemolytic uremic syndrome. *Arch Dis Child.* 1992;67:930–934. (level 4)
 9. Schlieper A, et al. Neuropsychological sequelae of haemolytic uraemic syndrome. Investigators of the HUS Cognitive Study. *Arch Dis Child.* 1999;80:214–220. (level 4)
 10. Poulton J, et al. Dilated cardiomyopathy associated with haemolytic uraemic syndrome. *Br Heart J.* 1987;57:181–183. (level 5)
 11. Mohammed J, et al. Cardiac tamponade in diarrhea-positive haemolytic uraemic syndrome. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:679–681. (level 5)
 12. Askiti V, et al. Troponin I levels in a hemolytic uremic syndrome patient with severe cardiac failure. *Pediatr Nephrol.* 2004;19:345–348. (level 5)
- 4 Diagnosis and treatment of HUS in adults
- 4.1 Diagnosis and treatment of HUS in adults
1. Melnyk AMS, et al. Adult hemolytic-uremic syndrome: a review of 37 cases. *Arch Intern Med.* 1995;155:2077–2084. (level 4)
 2. Tostivint I, et al. Adult haemolytic and uraemic syndrome: causes and prognostic factors in the last decade. *Nephrol Dial Transplant.* 2002;17:1228–1234. (level 4)
 3. George JN: The thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndromes: overview of pathogenesis (Experience of the Oklahoma TTP-HUS Registry, 1989–2007). *Kidney Int.* 2009;75:S8–S10. (level 4)
 4. Schieppati A, et al. Renal function at hospital admission as a prognosis factor in adult hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 1992;2:1640–1644. (level 4)
 5. Bell WR, et al. Improved survival in thrombotic thrombocytopenic purpura-hemolytic uremic syndrome. Clinical experience in 108 patients. *N Engl J Med.* 1991;325:398–403. (level 4)

6. von Baeyer H: Plasmapheresis in thrombotic microangiopathy-associated syndromes: review of outcome data derived from clinical trials and open studies. *Ther Apher*. 2002;6:320–328. (level 4)
 7. Brunskill SJ, et al. A systematic review of randomized controlled trials for plasma exchange in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfus Med*. 2007;17:17–35. (level 1)
 8. Forzley BR, et al. Treating TTP/HUS with plasma exchange: a single centre's 25-year experience. *Br J Haematol*. 2008;143:100–106. (level 5)
 9. Clark WF: Thrombotic microangiopathy: current knowledge and outcomes with plasma exchange. *Semin Dial*. 2012;25:214–219. (level 4)
 - 10 Swisher KK, et al. Clinical outcomes after platelet transfusions in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion*. 2009;49:873–887. (level 4)
- 4.2 Diagnosis and treatment of STEC-associated HUS in adults
1. Karpac CA, et al. Sporadic bloody diarrhoea-associated thrombotic thrombocytopenic purpura-haemolytic uraemic syndrome: an adult and paediatric comparison. *Br J Haematol*. 2008;141:696–707. (level 4)
 2. Frank C, et al. HUS Investigation Team. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia Coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Eng J Med*. 2011;365:1771–1780. (level 4)
 3. Dundas S, et al. The Central Scotland *Escherichia coli* O157:H7 outbreak: risk factors for the hemolytic uremic syndrome and death among hospitalized patients. *Clin Infect Dis*. 2001;33:923–931. (level 4)
 4. Karmali MA, et al. Age-specific frequencies of antibodies to *Escherichia coli* verocytotoxins (Shiga toxins) 1 and 2 among urban and rural populations in southern Ontario. *J Infect Dis*. 2003;188:1724–1729. (level 4)
 5. Dundas S, et al. Effectiveness of therapeutic plasma exchange in the 1996 Lanarkshire *Escherichia coli* O157:H7 outbreak. *Lancet*. 1999;354:1327–1330. (level 4)
 6. Colic E, et al. Management of an acute outbreak of diarrhoea-associated haemolytic uraemic syndrome with early plasma exchange in adults from southern Denmark: an observational study. *Lancet*. 2011;378:1089–1093. (level 5)
 7. Menne J, et al. EHEC–HUS consortium. Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case–control study. *Br Med J*. 2012;345:e4598. (level 4)
 8. Greinacher A, et al. Treatment of severe neurological deficits with IgG depletion through immunoadsorption in patients with *Escherichia coli* O104:H4-associated haemolytic uraemic syndrome: a prospective trial. *Lancet*. 2011;378:1166–1173. (level 4)
 9. Nitschke M, et al. Association between azithromycin therapy and duration of bacterial shedding among patients with Shiga toxin-producing enteroaggregative *Escherichia coli* O104:H4. *JAMA*. 2012;307:1046–1052. (level 4)
 10. Lapeyraque AL, et al. Eculizumab in severe Shiga-toxin-associated HUS. *N Engl J Med*. 2011;364:2561–2563. (level 5)
 2. McGraw ME, et al. Haemolytic uremic syndrome and the Thomsen-Friedenreich antigen. *Pediatr Nephrol*. 1989;3:135–139. (level 5)
 3. Gilbert RD, et al. Streptococcus pneumonia-associated hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;17:530–532. (level 5)
 4. Noris M, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5:1844–1859. (level 4)
 5. Remuzzi G, et al. Combined kidney and liver transplantation for familial haemolytic uremic syndrome. *Lancet*. 2002;359:1671–1672. (level 5)
 6. Noris M, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5:1844–1859. (level 4)
 7. Remuzzi G, et al. Hemolytic uremic syndrome: a fatal outcome after kidney and liver transplantation performed to correct factor H gene mutation. *Am J Transplant*. 2005;5:1146–1150. (level 5)
 8. Remuzzi G, et al. Hemolytic uremic syndrome: a fatal outcome after kidney and liver transplantation performed to correct factor H gene mutation. *Am J Transplant*. 2005;5:1146–1150. (level 5)
 9. Cheong HI, et al. Attempted treatment of factor H deficiency by liver transplantation. *Pediatr Nephrol*. 2004;19:454–458. (level 5)
 10. Saland JM, et al. Favorable long-term outcome after liver-kidney transplant for recurrent hemolytic uremic syndrome associated with a factor H mutation. *Am J Transplant*. 2006;6:1948–1952. (level 5)
 11. Jalanko H, et al. Successful liver-kidney transplantation in two children with aHUS caused by a mutation in complement factor H. *Am J Transplant*. 2008;8:8216–221. (level 5)
 12. Saland JM, et al. Successful split liver-kidney transplant for factor H associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4:201–206. (level 5)
 13. Gruppo RA, et al. Eculizumab for congenital atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Eng J Med*. 2009;360:544–546. (level 5)
 14. Nürnberg J, et al. Eculizumab for atypical hemolytic-uremic syndrome. *N Eng J Med*. 2009;360:542–544 (level 5)
 15. Ohanian M, et al. Eculizumab safety reverses neurologic impairment and eliminates need for dialysis in severe atypical hemolytic uremic syndrome. *Clin Pharmacol*. 2011;3:5–12. (level 5)
 16. Dorresteijn EM, et al. Eculizumab as rescue therapy for atypical hemolytic uremic syndrome with normal platelet count. *Pediatr Nephrol*. 2012;27:1193–1195. (level 5)
 17. Zimmerhackl LBHofer J, et al. Prophylactic eculizumab after renal transplantation in atypical hemolytic uremic syndrome. *N Eng J Med*. 2010;362:1746–1748. (level 5)
 18. Weitz M, et al. Prophylactic eculizumab prior to kidney transplantation for atypical hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2011;26:1325–1329. (level 5)
 19. Al-Akash SI, et al. Eculizumab induces long-term remission in recurrent post-transplant HUS associated with C3 gene mutation. *Pediatr Nephrol*. 2011;26:613–619. (level 5)
 20. Zuber J, et al. for the French Study Group for atypical HUS: Eculizumab for atypical haemolytic uremic syndrome recurrence in renal transplantation. *Am J Transplant*. 2012;12:3337–3354. (level 5)

5 Diagnosis and treatment of atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS)

5.2 Treatment of aHUS

1. Krysan DJ, et al. Renal transplantation after streptococcus pneumonia-associated hemolytic uremic syndrome. *Am J Kidney Dis*. 2001;37:e15. (level 5)

P-NS-17

Mammalian target of rapamycin complex 2 signaling pathway regulates transient receptor potential cation channel 6 in podocytes

Fangrui Ding, Xuejuan Li, Xiaoyan Zhang, Yanqin Zhang, Baihong Li, Jie Ding (corresponding)
Department of Pediatrics, Peking University First Hospital, Beijing, China

Objectives: Transient receptor potential cation channel protein 6 (TRPC6) is a member of nonselective cation channels. Abnormal expression and gain of function of TRPC6 were involved in the pathogenesis of hereditary and nonhereditary forms of renal diseases. Although underlying molecular mechanisms of this remain poorly understood, recent research found that there were many cell signaling pathways involved in regulating the expression and function of TRPC6. The purpose of our study is to examine the effect of distinct Mammalian Target of Rapamycin complex (mTORC1 or mTORC2) signaling pathway on TRPC6 in podocytes.

Methods: We applied both pharmacological inhibitors of mTOR and siRNA specific for component of mTOR to explore mTOR signaling to regulate TRPC6 in podocytes. Podocytes were exposed to rapamycin, an inhibitor of mTORC1 signaling pathway, and ku0063794, a dual inhibitor of mTORC1 and mTORC2. In addition, using specific siRNA knocked down the component of mTORC1 raptor and the component of mTORC2 rictor. By using real-time reverse transcription PCR and western blotting, mRNA and protein expression of TRPC6 were examined. Also, fluorescence calcium imaging was used to study the function of TRPC6 in podocytes.

Results: Rapamycin have no effect on both mRNA and protein expression levels of TRPC6 in different time points and concentrations. Ku0063794 could down-regulate mRNA and protein of TRPC6 in podocytes. In addition, ku0063794, but not rapamycin suppressed TRPC6-dependent calcium influx into intracellular. Furthermore, knockdown of raptor didn't change TRPC6 protein expression and TRPC6-dependent calcium influx into podocytes, while knockdown of rictor suppressed the TRPC6 protein expression and TRPC6-dependent calcium influx into podocytes.

Conclusions: These findings indicate that mTORC2 signaling pathway regulates TRPC6 in podocytes, while mTORC1 signaling pathway may have no effect on TRPC6.

P-NS-18

Efficacy of cyclophosphamide and mizoribine combination therapy against steroid dependent nephrotic syndrome

Masaki Fuyama, Masaki Takahashi, Ken Saida, Hiroyuki Machida, Mai Sato, Masao Ogura, Koichi Kamei, Shuichi Ito
Department of Nephrology and Rheumatology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

Objective: Cyclophosphamide (CPA) significantly reduces the number of relapses in patients with steroid dependent nephrotic syndrome (SDNS) and/or frequent relapsing nephrotic syndrome (FRNS). However, patients with SDNS are likely to experience relapse within 1 or 2 years after CPA. Additionally, a safe cumulative dose should be considered in the clinical setting because of gonadal toxicity and carcinogenicity. Therefore, use of CPA for 8–12 weeks (2–2.5 mg/kg) is permitted once in a patient's life time. To elicit better efficacy of CPA, we previously proposed combined therapy, CPA followed by mizoribine (MZR) as a maintenance therapy. In this study, we evaluated this therapy's efficacy in 11 patients with SDNS.

Methods: Medical records of 11 SDNS patients (2 males, 9 females) treated with CPA followed by MZR (9.8 [7.9–11.4] mg/kg/day) were retrospectively examined. MZR was initiated from the day after the last CPA treatment. We evaluated their clinical course and efficacy of the combined therapy.

Results: Renal pathology was minimal change disease in all patients. The median age of onset was 3.6 years (1.5–6.8 years). The median age at CPA treatment was 9 years (7.2–12.7 years). The median follow up was 37 months (21–62 months). The median accumulated dose of CPA was 152 mg/kg (111–170 mg/kg). Eight (74%) patients had a present or previous history of cyclosporine (CsA) treatment. Seven of 11 (64%) patients were free from relapse during the observation period. Among 4 patients who relapsed, 2 restarted CsA or PSL because of recurrence of SDNS. However, another 2 patients did not return to SDNS. The annual incidence of relapse was significantly decreased (before vs after: 3.5 ± 1.0 vs 0.4 ± 0.7 times/year, $p=0.005$). Leukopenia ($n=1$) & mumps ($n=1$) were experienced, but properly treated.

Conclusions: Previous studies show that 2-yr relapse-free survival in SDNS patients treated with CPA is <40%. A total of 64% of patients achieved 2-yr relapse-free survival in our study. MZR after CPA might maintain immunosuppression and decrease disease activity, and prevent further relapse. Although prospective randomized trials are required, CPA combined with MZR might be a good and safe option against SDNS.

P-NS-19

Viral persistence in respiratory syncytial virus nephropathy in rats-probably a main mechanism of immune disorder in minimal change nephrotic syndrome

Yan-Nan Guo, Zheng Wang, Jin Wu

Pediatric Department of West China Second University Hospital, Sichuan University, Chengdu, China

Objective: To find a probable mechanism of immune disorder in RSV nephropathy in rats which resemble human MCNS.

Methods: 1. RSV mRNAs (G, F, M2, NS1, NS2) and proteins (G and F) were detected with fluorogenic quantitative RT-PCR and indirect immunofluorescence assay (IFA) to find the evidence of viral persistence. 2. DC-SIGN mRNA and protein were detected with RT-PCR and IFA to find the trend of its change. 3. IL-12/10 and CD4/CD8 were measured by ELISA and flow cytometry

using B-Mode ultrasound imaging of right and left common carotid arteries and carotid bulbs. Tx with metabolic syndrome (MS) were identified as those with ≥ 3 of the following criteria: HbA1c >5.6 or fasting glucose >100 , BP >90 th percentile, central obesity (WC ≥ 95 th percentile), HDL <5 th percentile, TG > 95 th percentile. CIMT of Tx recipients were compared to 24 healthy pediatric controls using Wilcoxon rank sum analysis.

Results: Study group was comprised of 28 pediatric kidney Tx recipients (8 obese, 20 lean), age 13.1 ± 0.75 years, 59.2% AA. Controls were 24 healthy children of similar age and race. CIMT of Tx was greater compared to healthy controls (0.47 ± 0.002 vs. 0.46 ± 0.001 , $p=0.05$). CIMT of AA Tx was greater than AA controls (0.49 ± 0.002 vs. 0.47 ± 0.002 , $p=0.000$). Mean CIMT of Tx group improved over time from 0.47 ± 0.002 mm at baseline to 0.46 ± 0.002 mm at 18 months ($p=0.01$) and 0.44 ± 0.003 mm ($p=0.000$) at 30 months post-Tx. Obese Tx had greater CIMT than lean Tx (0.48 ± 0.004 vs. 0.46 ± 0.002 , $p=0.001$). Tx with MS had greater CIMT than those without MS (0.49 ± 0.004 vs. 0.46 ± 0.002 mm, $p=0.000$). AA Tx had greater CIMT vs. non-AA Tx (0.49 ± 0.002 vs. 0.43 ± 0.001 , $p=0.000$).

Conclusions: Pediatric kidney Tx recipients carry increased CV risk, particularly those with MS, obesity and AA race. This is the first study to demonstrate that AA have higher CIMT compared with non-AA pediatric Tx recipients. Further studies are needed to investigate strategies for decreasing CIMT after kidney Tx, particularly in higher risk groups.

O-TRA-2

Prospective trial of attenuated live vaccines in children receiving immunosuppressants

Koichi Kamei¹, Isao Miyairi², Mai Sato¹, Masao Ogura¹, Reiko Ito³, Toyochiro Kudo³, Katsuhiro Arai⁴, Shuichi Ito¹

¹Department of Nephrology and Rheumatology, ²Department of Infectious Diseases, ³Department of Hepatology and ⁴Department of Gastroenterology, National Center for Child Health and Development

Background: Live vaccines are generally contraindicated in patients receiving immunosuppressants. However, viral infections such as measles and chicken pox occasionally result in serious complications in immunocompromised children, and are sometimes fatal. We have previously reported the results of a retrospective study of 50 live vaccinations in children receiving immunosuppressants in ACPN 2011. Thereafter, we conducted a further prospective study.

Methods: Patients receiving immunosuppressants who showed negative or borderline antibody titers against measles, rubella, chicken pox and/or mumps, were enrolled. They had to show normal cellular and humoral immunity (CD4 ≥ 500 /mm³, normal lymphocyte blast transformation by phytohemagglutinin and serum IgG ≥ 300 mg/dl) for enrollment. The IgG antibody titers against these viruses were measured by enzyme immunoassay, defined as <2.0 , negative; 2.0 – 3.9 , borderline; ≥ 4.0 , positive. We monitored the antibody titer at 2 months and 1 year after vaccination. Adverse events were also monitored. This study was approved by the ethical committee in our center and we obtained written informed consent from all parents.

Results: A total of 107 vaccinations were given in 66 patients (41 boys; 47 with nephrotic syndrome, 9 inflammatory bowel disease, 5 collagen disease, 3 kidney transplantation, and 1 each with IgA nephropathy & autoimmune hepatitis). Calcineurin inhibitors were used in 29 patients (27%), antimetabolic agents in 47 (44%) and both in 31 (29%) at vaccination. Low doses of steroids were used in 18 patients (17%). Measles–rubella, measles, varicella and mumps vaccines were administered in 32, 2, 48 and 25 patients, respectively. The overall seropositivity rate was 70% (measles 88%, rubella 100%, varicella 60%, and mumps 40%) 2 months after vaccination. In 57 patients who achieved seropositivity, 41 (72%) had positive antibody titers 1-yr after vaccination. 87% patients with antibody titer ≥ 10 at 2-months had persistent positive antibody titers at 1 year, compared with 42% of patients with titer <10.0 ($p=0.001$). Eight patients (7%) showed vaccine-related adverse events, including one with varicella–vaccine-related events, and two with relapse of nephrotic syndrome. However, these adverse events were not critical.

Conclusion: Immunization with attenuated live vaccines was relatively safe even in children receiving immunosuppressants. However, more clinical data are necessary to establish the efficacy and safety.

O-TUB-1

Clinical and genetic features of Chinese patients with Dent's disease

Yanqin Zhang, Fang Wang, Jie Ding*, Hongwen Zhang, Yong Yao

Peking University First Hospital, Beijing, China

Objectives: Dent disease is an X-linked recessive renal tubulopathy, associated with mutations in either CLCN5 (Dent disease 1) or OCRL (Dent disease 2). However, few studies on Dent disease of Chinese patients have been reported. The aim of this study was to analyze the clinical and genetic features of patients with Dent disease in China.

Methods: We analyzed mutations in CLCN5 gene and OCRL gene and clinical phenotype and laboratory data of 9 unrelated Chinese patients with Dent disease.

Results: Of 9 unrelated patients with Dent disease, 7 possessed mutations in CLCN5 (Dent-1), of which 6 were novel mutations; 2 patients showed mutations in OCRL (Dent-2), one of which were novel. Two patients had de novo mutations. Low-molecular-weight (LMW) proteinuria and hypercalciuria were found in all the 9 patients. Six patients showed nephrocalcinosis. In addition, three patients did renal biopsy and the pathological changes were mesangial proliferative glomerulonephritis, IgA nephropathy with thin basement membrane disease and minimal change glomerulopathy, respectively. Two patients with mutations in OCRL showed no mental retardation.

and calcineurin inhibitors within 3 months. Statistical analysis was performed using Mann-Whitney U test and receiver-operating curve (ROC) analysis.

Results: CD19+ subset was significantly decreased in all patients post-rituximab ($11.57\pm 1.36\%$ vs $0.23\pm 0.06\%$, $p<0.001$). Nine (60%) patients achieved complete response with 7/9 (78%) eventually relapsing (duration of remission: 262-484 days). All patients who relapsed had B-cell recovery. Amongst the various immunological subsets, ICOS+CD8+CD3+ and FAS+ICOS+CD8+ cells at day 0 were predictive of relapse within 300 days of rituximab therapy ($R<300$). Mean ICOS+CD8+CD3+ of $R<300$ group was $1.24\pm 0.37\%$ compared to $0.15\pm 0.06\%$ in non- $R<300$ group ($p=0.04$), whereas mean FAS+ICOS+CD8+ of $R<300$ group was $0.70\pm 0.06\%$ compared to $0.14\pm 0.06\%$ in non- $R<300$ group ($p=0.037$). ROC analysis revealed an area under curve of 1.00 (95% CI: 1.00-1.00, $p=0.027$) for both markers. Using a threshold subset value of $>0.64\%$ for ICOS+CD8+CD3+ and $>0.52\%$ for FAS+ICOS+CD8+ cells yielded a sensitivity and specificity of 1 for predicting relapse within 300 days of rituximab therapy for both markers.

Conclusions: Our study illustrated the potential utilization of ICOS+CD8+CD3+ and FAS+ICOS+CD8+ as predictive markers of relapse within 300 days of rituximab therapy, possibly providing a guide for further rituximab dosing following B-cell recovery but prior to clinical relapse.

P-NS-2

Analysis of risk factors for cyclosporine nephrotoxicity in children with idiopathic nephrotic syndrome

Masaki Takahashi¹, Koichi Kamei¹, Masaki Fuyama¹, Ken Saida¹, Zentaro Kiuchi¹, Mai Sato¹, Masao Ogura¹, Kentaro Matsuoka², Shuichi Ito¹

¹Department of Nephrology and Rheumatology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

²Department of Pathology, National Center for Child Health and Development, Tokyo, Japan

Objective: Cyclosporine (CsA) is a well-established treatment for steroid-dependent nephrotic syndrome (SDNS) and steroid-resistant nephrotic syndrome (SRNS), with high-grade evidence. However, chronic CsA nephrotoxicity (CsAN), including tubulointerstitial and vascular lesions is a major concern, especially with long-term use. Previous reports suggest that it is related to long-term CsA administration, frequent relapses during CsA treatment, and higher CsA trough levels, but it has seldom been assessed in large numbers of patients. We evaluated the risk factors for CsAN in children with idiopathic NS receiving CsA treatment.

Methods: We retrospectively evaluated medical records and renal pathology of 83 patients (56 male and 27 female) with idiopathic NS who were treated with long-term CsA for >6 months (mean 34.8 months, range 8–128 months) and underwent biopsy between January 2005 and January 2014 at our institute. Thirty-six patients started CsA because of SRNS, but all of them had become steroid sensitive at the last observation. CsA treatment was continued without intermission until biopsy in all patients. CsAN was defined as the presence of tubulointerstitial lesions and/or CsA-associated arteriolar hyalinosis. We evaluated the risk factors for CsAN with regard to 11 clinical and laboratory factors (sex, age of NS onset, age at biopsy, histological findings, past history of SRNS, duration of NS, number of relapses, duration of CsA treatment, number of relapses on CsA treatment, 2-hour CsA concentration (C2), and angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) or angiotensin II receptor blocker (ARB) treatment for >6 months, by univariate and multivariate analysis.

Results: CsA-associated arteriopathy was observed in 34 patients (41%) and tubulointerstitial lesions in 31 patients (37%). Sex, age at renal biopsy, duration of NS, duration of CsA treatment, number of relapse on CsA treatment and use of ACEIs/ARBs were positively associated with CsA associated arteriopathy by univariate analysis and only use of ACEIs/ARBs was independent risk factor by multivariate analysis [$p=0.03$, odds ratio (OR): 5.45, 95% CI: 1.2-28.0]. On the other hand, age at biopsy, histological findings, CsA C2 and use of ACEIs/ARBs were positively associated with tubulointerstitial lesion by univariate analysis and CsA C2 (>502.1 ng/ml, $p=0.003$, OR: 22.73, 95% CI: 2.7-533.6) and age at biopsy (>9.9 years, $p=0.04$, OR: 14.37, 95% CI, 1.1-588.0) were independent risk factors by multivariate analysis.

Conclusions: The use of ACEIs/ARBs, C2 and age at biopsy were independent, significant risk factors for CsAN in children with NS. Combination treatment with CsA and ACEI/ARB should be avoided if possible.

P-NS-3

HRM as a screening tool to detect variants in wilms tumor 1 (WT1) gene in children with steroid resistant nephrotic syndrome

Annes Siji¹, Ambily Vasudevan¹, Divya K. Babu¹, Kishore Phadke², Anil Vasudevan^{1,2}

¹St. John's Research Institute, Bengaluru, India ²St. John's Medical College Hospital, Bengaluru, India

Objective: The objective of the study was to determine if real-time polymerase chain reaction and high resolution melt (HRM) curve analysis could be used as a screening tool to identify for variants in the Wilms's tumor 1 (WT1) gene in comparison to DNA Sanger sequencing.

Methods: HRM assay for the analysis of exons 8 and 9 of the WT1 gene were designed, and optimized. Stringent criteria were employed for primer designing in order to enable reproducible detection of variants within the amplicon. HRM analysis for exons 8

◇教育セミナー 2◇

HUS up to date
～欧州における大規模集団感染を中心に～

国立成育医療研究センター 腎臓・リウマチ・膠原病科

伊藤秀一

はじめに

ここ数年、溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome, HUS) が再度注目を浴びている。腸管出血性大腸菌 (EHEC) による HUS については、2011年にわが国での O111 とドイツでの O104:H4 による集団感染が発生した。ドイツを中心とした集団感染は、従来の EHEC ではなく、腸管凝集接着性大腸菌 (Enteroaggregative *E. coli*, EAaggEC) O104:H4 という人類が未経験の血清型の大腸菌によるものであり、多くの HUS 患者と死亡者が発生した。また、非典型 HUS (atypical HUS; aHUS) については、病因として補体関連タンパクの異常が次々と明らかにされ、さらに画期的な治療薬であるエクリズマブが登場した。本稿では、欧州における集団感染を中心に、病原性大腸菌による HUS の現状について概説する。

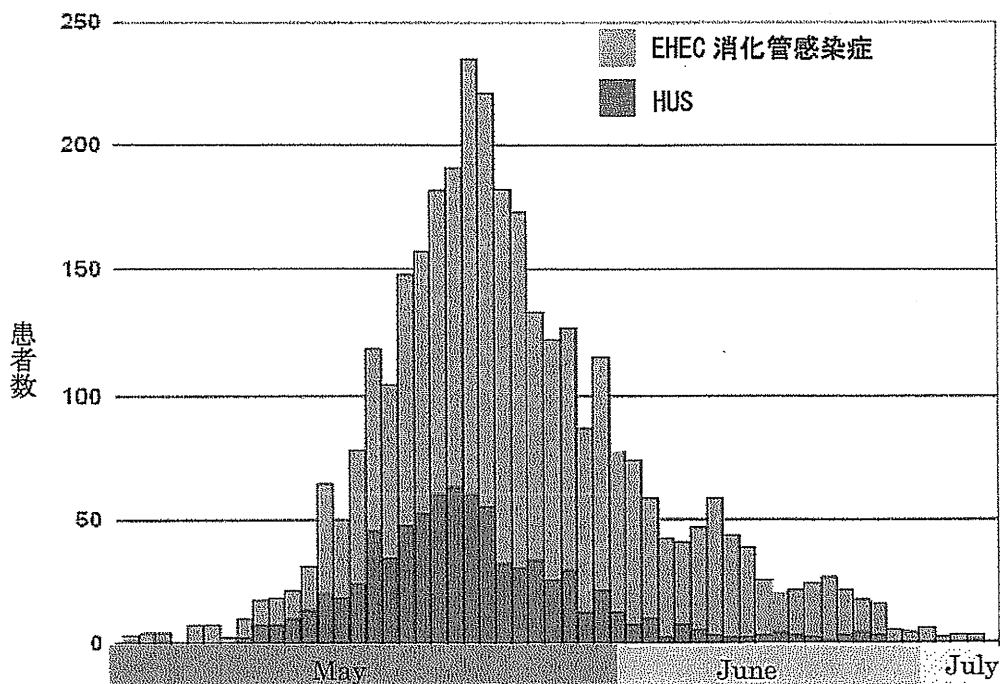
1. 2011年の欧州と日本における集団感染について

2011年春、二つの病原性大腸菌感染症による HUS の集団感染が発生した。日本では4～5月にかけて、富山県を中心とする焼き肉レストランのユッケによる集団感染が発生し、大きな社会問題となった。この富山県を中心とした腸管出血性大腸菌 O111:H8 の集団感染では、成人を中心に約180人

が感染し、34人が HUS (19%) を発症、うち21人が脳症を発症し (HUS のうち62%)、5名が死亡 (HUS の15%) した。本集団感染では、HUS の発症率が高かったこと (従来の報告は5～10%:日本3～4%)、脳症が多く発生したこと、重症の経過を取り死亡率が高かったこと、生食肉が原因であるため成人が感染の中心であったこと等が従来と異なった特徴であった。

時を同じくして、ドイツを中心にヨーロッパでは、O104:H4 の大規模集団感染が発生した。2011年5月1日にドイツ北部で第1例目が発生し、またたく間に北ドイツから欧州15か国に感染が拡大した。5月22～23日にはピークに達し200人以上の患者が発生している (図1)¹⁾。今回の感染では HUS の発生が約20%にも達したために、小児病院では小児患者を収容できず、多数の患者を成人施設に依頼せざるをえなかったという現場の混乱は想像に難くない²⁾。

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日には WHO にアウトブレイクの報告をした。しかし、感染原因の特定は難航し、スペイン産のキュウリなどが原因ではと疑われ、消費者の買い控えや大量廃棄を招いた。いくつかの原因に絞り込まれたのは、流行のピークをすでに過ぎ、感染が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



文献1を改変

図1 ドイツにおける O104:H4 大規模集団感染の推移

表1 病原性大腸菌による大規模集団感染

場所	年	患者数	HUS患者数	死者数	起原因	経路	PubMed
USA	Mar-92	700	45	3	O157:H7	hamburger at fast food restaurants	7933395
Japan	1995	9492	121	3	O157:H7	radish sprouts	10221032
Scotland	1996	633	2	0	O157:H7	sewage drinking water	8885663
Scotland	1996	512	>22	17	O157:H7	meat from one shop	11467789
USA, NY	1999	1000	>11	2	O157:H7	well water	10506035
Canada	2000	2300	27	7	O157:H7	drinking water	12638998
Canada	2001	521	22	2	O157:H7	minced beef and caribou	7747090
Japan	2011	181	34	5	O111:H8	raw beef	-
Germany	2011	4321	852	51	O104:H4	sprouts	21693628

表2 病原性大腸菌の分類と特徴

- 腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *E. coli*, EPEC)
2歳以下 (とくに乳児) での感染が多く、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。
- 腸管組織侵入性大腸菌 (enteroinvasive *E. coli*, EIEC)
大腸上皮細胞の中に侵入。大腸・直腸に潰瘍性炎症を起こし重症な大腸炎になる。
- 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。
- 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。
- 腸管凝集接着性大腸菌 (Enteraggative *E-coli* EAggEC)
1987年にチリの小児下痢症患者から発見。最も新しい種類病原大腸菌。EAggEC はヒト培養細胞表面以外に培養容器にも強力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。

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, アルファルファ等) が媒介食品と絞込まれ, これらの食品を摂取しないように注意喚起された。最後の患者が発生した7月7日の直前の7月5日になり, ようやくその原因が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と判明し, その事実が正式に発表された。2011年7月26日にロベルトコッホ研究所は, ドイツ国内のアウトブレイクの終息を宣言した。

今回の集団感染の原因は, サラダなどで使用されるフェヌグリークというスプラウトの種が汚染され, 水耕栽培時に爆発的に汚染が拡大し, そのスプラウトが出荷されたのであった。フェヌグリークは日本で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良いため, 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) に多く発生し, その後は感染者から健康人への感染パターンが増加し, 終盤には男女比はほぼ均等になっている (図1)。最終的に, 感染者は68%が女性, 85%が18歳以上の成人であった。一般的に腸管出血性大腸菌感染症の潜伏期間は3~5日程度である。しかし, 今回の感染では, 潜伏期間の中央値が8日であり, 多くの感染者で摂取した食品の想起を困難にさせたため, 原因究明にも時間を要した。また EU という国境のない環境が他国への感染の拡大を助長した。

最終的には, ECDC (European Center for Disease Preven-

tion 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 の4%) となった。小児患者は全体の2%に過ぎなかった。また, その他の 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3~4%), 脳症が多く発生したこと, 重症の経過を取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等が従来と異なっていた³⁾。

2011年の日本とドイツの集団感染では, 感染源となった食物の性質から成人が多かった。しかし, もし小児においてこれらの病原性大腸菌感染症が生じた場合, 小児では HUS が重症化しやすいため, 死亡率がさらに増加した可能性は高い。わが国では HUS は, 牛肉に関連した病原性大腸菌感染症に由来すると考えられているが誤りである。世界的には病原性大腸菌感染症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少なくない (表1)。

堺市の集団感染では, 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出来ず, 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, アメリカ産種子に O157 に感染した経歴が発見されたという。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や野菜で生じることが多いのである。

2. 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腸菌 O104 : H4 は従来の菌と異なる点が極めて多かった。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。さらに、この菌は病原性大腸菌の中でも、腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *E. coli*, 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) であった。本菌は、EHEC が通常も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 が持つ凝集性付着線毛の転写制御因子が陽性であることから、EAggEC と判定された。EAggEC は、1987年に Nataro らがチリの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) から多く検出される。近年では AIDS 患者の感染症としても問題になっている。表 2 に病原性大腸菌の分類を示す。

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 株のみの報告に過ぎず、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が、突然大規模集団感染を引き起こすとは予想しえなかったのである。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、後の調査で、流行地では本菌を保菌する家畜がいなかったことから、元来その地域に潜伏していた菌ではないことが判明した。どのような経路で本菌が誕生したのか興味深いことである。

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に付着する。またブイオンを含む培養液では、養液表面に菌膜 (chump) を形成する。そのため、腸管の一定の表面積あ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。

3. 欧州における大規模集団感染での HUS の対する治療選択

HUS に対する治療は支持療法が基本とされている。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発生する重症 HUS 患者の前で、何らかの介入治療をしな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る。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。その推奨は American Society for Apheresis のガイドラインを参考にしたものである。しかし、そのガイドラインは、典型的 HUS への血漿交換療法は

高いエビデンスレベルはないが (type II-3)、積極的に推奨する (Grade 1C) という矛盾した内容である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が多く患者に使用された。それは、EHEC による脳症を合併した重症 HUS の小児 3 人に対してエクリズマブが使用され、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発表されたためである。さらに、この論文をもとに EHEC に対するエクリズマブの Open label の臨床試験が予定されていた。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、実各施設が 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治療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、一施設のみで強力な抗菌薬の多剤併用療法を実施したが、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。

4. 行われた HUS に対する治療とその有効性の検証

感染から 1 年が経過し、これらの治療についての有効性の評価が報告されはじめた。最も多数例の報告を以下に示す⁶⁾。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、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% におこなわれ、平均 10 日間実施され、さらに退院時に 13 人、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%) に見られた。7 名が尖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 8% [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 名は実施前にプレドニゾロン (PSL) 50mg 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、他の 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ところ、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、一般線形モデルで

比較したが、血漿交換によるこれらの指標の早期改善の有効性は見いだされなかった。

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%、痙攣出現が6%、透析導入18%、呼吸器導入が10%あり、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が、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いだされなかった。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。

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 50 mg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⁷⁾。

今回の大規模集団感染では、一病院でのみ、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なかった。O104:H4がESBL産生菌であったこと、EAggECであったことと本結果との関係については今後の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た。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(71%)に実施された。最終的には、3名がCKDステージ3もしくは4、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⁸⁾。

5. 終わりに

今回の欧州での病原性大腸菌の大規模集団感染は、予想も

しない形で変異した病原菌との厳しい戦いであった。血漿交換療法、エクリズマブ、ステロイド等による積極的介入がなされたが、後方視的検討で生命予後に差を認めた治療は抗菌薬のみであった。大規模集団感染の前にドイツ人医師達が何かをしないではいられなかった事実は、私たちが堺市の大規模集団感染の際に血漿交換を多くの患者に行ったことを想起させる。しかし、これらの挑戦的治療によりもたらされた情報は、今後のHUSへの治療戦略を考える上で決して無駄にはならない。いまだに、HUSの死亡例の多くは脳症が原因である。今後は2011年の富山県を中心とした集団感染で脳症患者に多用され、その生命予後・神経学的予後を改善させた可能性があるメチルプレドニゾロンパルス療法などの可能性を検討する必要がある。日本でも再び病原性大腸菌の大規模集団感染が発生する可能性は否定できない。今回の欧州と日本の2つの集団感染を契機に、わが国でも腸管出血性大腸菌による溶血性尿毒症症候群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の発行が予定されている。

文 献

- 1) Frank C, Werber D, Cramer JP, Askar M, Faber M, an der Heiden M, Bernard H, Fruth A, Prager R, Spode A, Wadl M, Zoufaly A, Jordan S, Kemper MJ, Follin P, Müller L, King LA, Rosner B, Buchholz U, Stark K, Krause G. : HUS Investigation Team. Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104: H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med.* 2011 10; 365:1771-1780
- 2) Kemper MJ. : Outbreak of hemolytic uremic syndrome caused by *E. coli* O104: H4 in Germany: a pediatric perspective. *Pediatr Nephrol.* 2012 27: 161-164.
- 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) Safdar N, Said A, Gangnon RE, Maki DG. : Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157: H7 enteritis: a meta-analysis. *JAMA* 2002, 288: 996-1001.
- 5) Szczepiorkowski ZM, Winters JL, Bandarenko N, Kim HC, Linenberger ML, Marques MB, Sarode R, Schwartz J, Weinstein R, Shaz BH: 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.* 2010, 25: 83-177.
- 6) Menne J, Nitschke M, Stinglele R, Abu-Tair M, Beneke J, Bramstedt J, et al. : Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104: H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. *BMJ* 2012, 345: e 4565.
- 7) Loos S, Ahlenstiel T, Kranz B, Staude H, Pape L, Hürtel C, Vester U, Buchtala L, Benz K, Hoppe B, Beringer O, Krause M, Müller D, Pohl M, Lemke J, Hillebrand G, Kreuzer M, König J, Wigger M, Konrad M, Haffner D, Oh J, Kemper MJ. : 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.* 2012 55: 753-759.

志賀毒素産生性大腸菌による HUS の治療

Evidence based treatment for Shiga-toxin-producing *E. coli* related hemolytic uremic syndrome

伊藤 秀一

Shuichi ITO

はじめに

わが国では毎年4,000人以上の志賀毒素産生性大腸菌(Shiga-toxin-producing *E. coli*: STEC)の感染者が発生し、うち2,000人以上が消化器症状を主とする有症状患者であり、さらに例年100人弱が溶血性尿毒症症候群(hemolytic uremic syndrome: HUS)を発症している(図)。さらに1996年の堺市の大規模集団感染を筆頭に、現在でも小中規模の集団感染が継続的に発生している。STECによるHUSは急性腎傷害(acute kidney injury: AKI)や脳症により予後不良な経過をとることも多く、治療法の確立が強く望まれる疾患であるが、基本的には保存的治療により急性期を乗り切ることが重要である。しかし、HUSは患者数が少ない急性疾患であり、大規模なランダム化比較試験などに基づくエビデンスレベルの高い治療法は確立されていない。しかし、近年、予後を改善しうる可能性がある治療法が報告され始めた。2013年に世界初のエビデンスに基づいた「HUSの診断・治療ガイドライン」(以下、本ガイドライン)がわが国で発行され、今後は英訳版も刊行される予定である。本ガイドラインは、STEC感染症の診断と治療、STECによるHUSの診断と治療、STECによるHUSの後遺症、さらに成人HUSおよび非典型HUSの診断と治療など、HUSに関連するほぼすべての項目が網羅され、さらに臨床現場での使いやすさにも配慮されている。

本稿では、STECによるHUSの治療のエビデンスについて本ガイドラインを基に概説する。本稿を読むにあたり、実際のガイドラインもご参照いただければ幸いである。

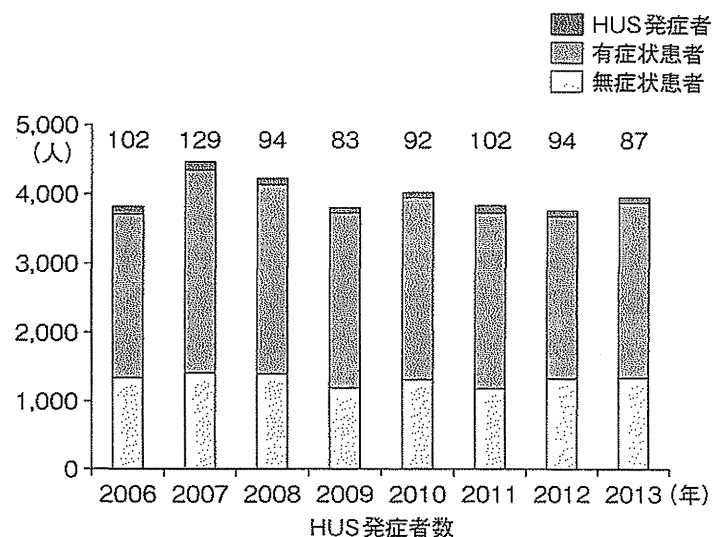


図 STEC 感染患者数の推移

HUSの診断・治療ガイドラインの作成の背景と目的

日本小児腎臓病学会は「腸管出血性大腸菌感染に伴うHUSの診断・治療のガイドライン」を、1996年の大阪府堺市における世界最大のSTECの大規模集団感染の直後に作成し、2000年その一部を改訂した。しかし、2011年に発生した国内外の2つの集団感染を契機に、ガイドラインの改訂の重要性が再認識された。それらは、富山県を中心としたユッケ肉によるO111:H8とO157:H7の混合集団感染と、ドイツを中心として欧州で発生したスプラウトによるO104:H4の大規模集団感染である。富山の集団感染では34例がHUSに罹患し5例が死亡した¹⁾。欧州の大規模集団感染は、ドイツ国内の感染者は3,842例、HUS 855例(22%)、死亡53例(消化管穿孔など18例、HUS 35例; HUSの4%)であ

り、さらに他の EU14 カ国と米国、カナダにおいても渡航による感染者 137 例、HUS 54 例、死亡 1 例という過去最悪の被害をもたらした。ドイツの集団感染の特徴は、HUS の発症率が 22 % と異常に高かったこと(わが国の平均は 3~4 %)、脳症患者が多く発生したこと、重症の患者が多く死亡率が高かったこと、子供達あまり口にしないうすプラウトが原因であり、小児患者が全体の 2 % と少なかったことなどが従来と異なる点であった²⁾。

欧州の集団感染の原因となった O104:H4 は、典型的 STEC である腸管出血性大腸菌とは異なった種類に分類される、腸管凝集接着性大腸菌(enteroaggregative *E. coli*)という大腸菌であった。本菌は腸管凝集接着性大腸菌が志賀毒素産生性を獲得したもので、さらに多剤耐性の ESBL (extended spectrum beta(β)lactamase)の特徴をも併せ持っていた。腸管凝集接着性大腸菌は、1987 年にチリの小児下痢症患者から発見された新しい病原大腸菌であり、南米、アフリカ、東南アジアなどの持続性下痢症の小児から検出されることが多く、旅行者の感染症としても増加している。しかし、驚くべきことには、O104:H4 で志賀毒素を産生する大腸菌は、2010 年まで世界でわずか 8 株の報告しかなく、さらに腸管凝集接着性大腸菌は 4 株のみであった。このようなきわめて稀な菌株が、人類史上最悪の大規模集団感染を引き起こすとは予想外の事態であった。本菌に感染した患者における HUS の発症率は 22 % と異常に高かった。その理由として、腸管凝集接着性大腸菌は、培養細胞への付着性試験で細胞表面および培養容器上に積みレングのように集積して付着する性質を持つため、腸管の一定表面積当たりの毒素量が多くなった可能性が指摘されているが、今後の解明が待たれている²⁾。これらの 2 事例を契機に、国内外で新たに公表された HUS に関するエビデンスを収集・評価し、日常診療の支援ツールを提供し、医療の標準化・均てん化、安全性の向上に寄与することを目的に、2013 年に新たなガイドラインが刊行された。

STEC 感染症への抗菌薬の使用と HUS の発症予防効果

STEC 感染患者への抗菌薬投与が HUS の発症を予防するかについては、現在まで一定の結論は出ていない。抗菌薬により HUS の発症が増加するという結果と減少するという結果の両方が存在する。抗菌薬投与によって、菌体から毒素や志賀毒素プラスミドを保有する病原性ファージが放出される可能性があり、米国の感染性胃腸炎のガイドラ

インでは推奨されていない^{3,4)}。O157:H7 感染患者を対象とした複数のコホート研究では、抗菌薬投与群(ペニシリン系、セファロスポリン系、キノロン系薬剤、ST 合剤など)は非投与群と比較して HUS 発症率が高かったことが報告されている⁵⁾。一方、わが国における後方視的検討では、STEC による集団感染の際に下痢発症早期に抗菌薬、特にホスホマイシンが使用された患者群では、抗菌薬の非使用患者群に比べ HUS の発症率が低かった⁶⁾。さらに、2011 年の欧州の O104:H4 感染患者における症例対照研究では、多剤の抗菌薬投与群は非投与群と比較して、痙攣の発生率、外科的介入率、死亡率が低く、便中の細菌の残存日数も短く、抗菌薬投与群の予後が優れていた⁷⁾。しかし O104:H4 は、前述のように腸管凝集接着性大腸菌かつ ESBL 産生菌という特殊な特性を持つため、単純に O157:H7 感染症との比較は困難な可能性がある。しかし、過去の臨床研究を対象としたメタ解析では、抗菌薬投与は HUS 発症率に良い影響も悪い影響も与えないとされ、適切にデザインされたランダム化比較試験により検証すべきとされている⁸⁾。さらに、STEC 感染症患者に対する抗菌薬使用群と非使用群の HUS 発生頻度を比較した別のランダム化比較試験でも、2 群間に有意差は見出せなかった⁹⁾。しかしながら、海外と国内では抗菌薬投与の種類や適応などが異なるため、単純な比較は困難である。抗菌薬の HUS 発症の予防効果については今後の更なる検証が必要な事項であり、今回のガイドラインでは「推奨グレード該当せず」とした。

一方、止痢薬について、下痢を止めることにより毒素の排出が減少し、HUS 発症の危険因子となるため、STEC 感染患者には投与すべきでない。ただし、乳酸菌などの整腸剤はこれに含まれない。

輸液・輸血療法

1. 輸液療法

STEC 感染者の約 1~10 % は下痢の出現後 4~10 日に HUS を発症する。HUS 発症者の 20~60 % が透析療法を必要とする AKI を合併する。また、中枢神経症状を合併する割合はおおよそ 10 % 前後だが、報告により 5~30 % 以上と幅がある。わが国の全国調査では、EHEC による HUS を発症した患児 132 例中、乏尿・無尿が 47 %、透析導入は 27 % に認められた¹⁰⁾。前述のように、STEC 感染症への抗菌薬の使用は HUS の発症を予防しえない可能性が高い。一方、HUS で最も問題となるのは AKI と中枢神経症状であるが、近年、STEC 感染症の初期の輸液療法を行うことで、

が必要になる可能性が高いため、小児の血液浄化療法が実施可能な施設で診療すべきとした。また透析療法は、腹膜透析(peritoneal dialysis: PD)、間欠的血液透析(intermittent hemodialysis: IHD)、持続的腎代替療法(continuous renal replacement therapy: CRRT)のなかから選択する。ただし、PD、IHD、CRRTの3つのうちどの方法が最も有効であるかを比較した報告はない。さらに、脳症を合併するAKI患者には持続的血液濾過透析(continuous hemodiafiltration: CHDF)、または24時間PDを選択する。KDIGOのAKI診療ガイドラインでは、急性脳障害、頭蓋内圧を上昇させる疾患、全般的に脳浮腫を伴ったAKI患者には、間欠的腎代替療法(intermittent renal replacement therapy: IRR)よりも血液脳実質間の溶質不均衡、脳浮腫、低血圧をきたしにくい持続的透析療法(CHDFあるいは24時間PD)が推奨されている¹⁶⁾。一方、AKIが主な適応の場合は持続的血液透析(continuous hemodialysis: CHD)やIHDを選択する。また、循環動態が不安定な状態では、CHDよりCHDFのほうが循環動態を安定することが多く好まれる。ちなみに、わが国の小児HUS患者への血液浄化療法は、PDよりもCRRTのほうがはるかに多く行われている。

STEC 感染症による脳症の治療

現在までSTECに伴うHUS脳症への特異的な治療法は確立されていない。HUS脳症への治療法は、過去にランダム化比較試験が行われていないため、エビデンスレベルの高い治療法はない。しかしながら、基本的にはインフルエンザウイルスなどのウイルス感染症に伴う急性脳症と類似の治療戦略でよいと考えられている。脳症の急性期治療の基本は、全身管理の強化である。輸液、薬物療法、透析療法、呼吸器管理などで呼吸・循環を安定化させる。また、動脈血二酸化炭素分圧は正常域に維持する。過水・脱水を避け、必要に応じCRRTやPDなどの循環動態への影響の少ない透析療法で体液異常を補正する。

さらに、中枢神経症状への治療として、頭蓋内圧降下療法による脳浮腫の治療、抗痙攣薬による発作(痙攣)の治療を行う。痙攣は、抗痙攣薬の静注を基本とする。ベンゾジアゼピン系薬剤(ジアゼパム、ミダゾラム)で抑制可能な患者が多いが、痙攣が群発または重積し、バルビツール系薬剤(チオペンタール)の大量静注療法を要する難治例も一部にある。抗痙攣薬は、血中濃度をモニタリングしながら投与する。また、低ナトリウム血症を含む電解質異常や低血糖による痙攣にも注意する。頭蓋内圧亢進に対しては、鎮

静と高浸透圧療法(濃グリセリン・果糖)を行う。マンニトールは腎排泄性の薬物であること、AKIを増悪する危険性があることから、HUSを伴う脳症に対して推奨しない。重症例では頭蓋内圧モニタリングを考慮する。高体温がある場合は冷却して解熱を図る。

一方、STECによる脳症は予後不良のことが少なくないため、いくつかの特異的治療が試みられてきた。本ガイドラインでは、メチルプレドニゾンパルス療法(MPT)、さらには血漿交換療法について言及した。HUS脳症に対するステロイド薬の効果を検討した報告は少なく、無効であるという報告も多い。しかし、2011年の富山県でのO111集団感染の際に、MPTが多数の患者に行われた¹⁷⁾。21例のHUS脳症患者においてMPTが施行された12例のうち、1例が神経学的後遺症を残したが全員生存した(表2)。一方、MPTを施行されなかった9例中5例が死亡した。後遺症がなかった15例の予後良好群と死亡5例と後遺症例1例を含む予後不良群6例との比較では、HUS発症から脳症発症までの期間(予後良好群 vs 予後不良群: 1.8 ± 1.9 日 vs 0.8 ± 0.8 日, $p < 0.05$)、血清Cr値(予後良好群 vs 予後不良群: 4.4 ± 2.9 mg/dL vs 7.9 ± 2.8 mg/dL, $p < 0.01$)、MPTの有無(予後良好群 vs 予後不良群: 12例 vs 1例, $p < 0.05$)の3項目について両群間で有意差がみられた。しかし、多くの患者において、血漿交換療法(12例)、ポリミキシンB固定化血液灌流カラム(PMX-DHP)(7例)、トロンボモジュリン(10例)、免疫グロブリン(13例)などの多種類の治療が併用されていたため、治療の相乗効果の可能性もあり、MPT単独の治療効果が証明されたわけではない¹⁷⁾。さらに、死亡例のうち4例は急激に進行した重症患者であり、早期にMPTが導入されても救命しえなかった可能性もある。しかし、HUS脳症は予後不良であることが少なくなく、現時点では確立した治療法がないため、エビデンスは不十分ではあるが、神経学的・生命学的予後が不良と推定される脳症患者に対しては、安全性を確認のうえでMPTの施行を検討してもよいと考えられる。なお、本ガイドライン作成時はMPTの効果についてのTakanashiら¹⁷⁾の論文の出版前であり、MPTへの「推奨グレード該当せず」としたが、現在では「科学的根拠はないが、行うよう勧められる(C1)」程度のエビデンスレベルを与えてもよいと考えられる。しかしながら、同療法については治療経験の蓄積と詳細な予後の解析が求められる重要な課題であり、今後のレジストリーなどによる患者集積、ランダム化比較試験による評価などが必要である。

HUS脳症に対する血漿交換療法の有効性については、少

表 2 富山における O111 による HUS 患者 21 例の予後の比較

	全患者 21 例 (%)	予後不良群 6 例 (%)	95 % CI	予後良好群 15 例 (%)	95 % CI	p 値
患者背景・臨床経過						
年齢(歳)	20.3±17.9	27.5±25.1	1.1~53.9	17.5±14.2	9.6~25.3	NS
男性	6(28.6)	3(50.0)	11.8~88.2	3(20.0)	4.3~48.1	NS
胃腸炎発症までの期間(日)	3.0±0.8	2.8±0.8	2.0~3.6	3.1±0.9	2.6~3.6	NS
胃腸炎発症から HUS 発症までの期間(日)	3.7±1.5	3.2±0.8	2.4~4.0	3.9±1.7	2.9~4.8	NS
HUS 発症から 脳症発症までの期間(日)	1.8±1.9	0.8±0.8	0~1.6	2.2±2.1	1.0~3.4	<0.05
治療						
血液透析	17(81.0)	4(66.7)	22.3~95.7	13(86.7)	59.5~98.3	NS
血漿交換	12(57.1)	4(66.7)	22.3~95.7	8(53.3)	26.6~78.7	NS
PMX-DHP	7(33.3)	1(16.7)	0.4~64.1	6(40.0)	16.3~67.7	NS
トロンボモジュリン	10(46.7)	1(16.7)	0.4~64.1	9(60.0)	32.3~83.7	NS
ステロイドパルス療法	12(57.1)	1(16.7)	0.4~64.1	11(73.3)	44.9~92.2	<0.05
免疫グロブリン	13(61.9)	3(50.0)	11.8~88.2	10(66.7)	44.9~92.2	NS
臨床検査						
白血球数(×1,000/ μ L)	39.8±18.7	41.0±11.5	29.0~53.1	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
血小板(×10,000/ μ L)	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
血清 Cr(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
頭部画像検査						
基底核病変	10(47.6)	5(83.3)	35.9~99.6	5(33.3)	11.8~61.6	NS
視床病変	12(57.1)	5(83.3)	35.9~99.6	7(46.7)	21.3~73.4	NS

*死亡 5 例, 後遺症 1 例

PMX-DHP: ポリミキシン B 固定化血液灌流カラム

(文献 17 を引用, 改変)

数例での後方視的検討にとどまり, 有効という報告も無効という報告もある。また, ドイツの O104:H4 大規模集団感染時には多くの HUS 患者に血漿交換が行われたが, 後にその効果がないことが報告された⁷⁾。しかし, 臨床現場では重症の脳症例には行われることも多く, 過去の報告のように有効性を実感する症例も存在する^{18,19)}。したがって本ガイドラインでは, 有効性を示すエビデンスは未確立だが, 重症患者には安全性を確認のうえ, 血漿交換療法を検討してもよいとの位置づけにした。ただし, 本ガイドラインでは, HUS 脳症に対する血漿交換療法は, 「推奨グレード該当せず」とした。なお, 同療法については, 十分な治療経験を持つ施設で, 溢水の予防のために血液透析療法を併用することが望ましい。

O104 による血漿交換が無効であった重症の中脳神経症状を呈した成人 HUS 患者において, 免疫吸着と IgG 補充を組み合わせた治療法が著明な改善効果を示したという報

告がある²⁰⁾。少数例での検討にとどまり更なる評価が必要であるが, 重篤な副作用が少ないと考えられ, 中枢神経症状を伴う重症 HUS 患者には実施を考慮してもよいかもしれない。

抗 C5 モノクローナル抗体のエクリズマブ(ソリリス[®])は, 非典型 HUS に対する特効薬であるが, ドイツの O104:H4 大規模集団感染において多数の患者に試験的に使用された。しかし, 後方視的コホート研究ではエクリズマブの有効性は証明されなかった⁷⁾。また, リコンビナントトロンボモジュリン(リコモジュリン[®])については, 有効性を示唆するわが国からの症例報告があるが, 少数例の検討であり, 今後の前方視的な検討が必要である²¹⁾。

HUS の腎後遺症

HUS は急性期の治療が重要な疾患であるが, 長期的な後

遺症についての配慮も必要である。HUS 患者の約 40% は急性期に無尿を呈し、その約 40~60% が急性期に透析療法を必要とする。急性期に透析療法を必要とした患者のほとんどは透析療法から離脱するが、長期的な腎後遺症として、アルブミン尿、蛋白尿、腎機能低下、高血圧などが問題となる。1950 年から 2001 年までに発表された 49 論文 3,476 例のメタ解析では、HUS 患者の長期予後は、死亡 9%、末期腎不全 3% であった。1 年以上経過観察しえた生存者 2,372 例の 25% が腎後遺症を合併し、その内訳は腎機能障害 15.8%、蛋白尿 15%、高血圧 10% であった(重複回答)²²⁾。以上より、HUS 患者の長期的腎予後は必ずしも良好ではなく、患者に応じた経過観察が必要である。

本ガイドラインにおいては、HUS による AKI を合併した患者の経過観察の目安は、1) 急性期に透析をした患者と無尿期間が 7 日以上 HUS 患者では少なくとも 15 年間。2) 2 歳未満で急性期血清 Cr の最高値が 1.5 mg/dL 以上の HUS 患者では少なくとも 15 年間。3) 経過観察中にアルブミン尿、蛋白尿、腎機能低下、高血圧などの腎後遺症を合併した HUS 患者は生涯。4) 上記以外の HUS 患者は腎後遺症がなければ発症後 5 年間とした。さらに HUS 患者では、消化管後遺症(胆石、慢性膵炎、大腸狭窄など)、糖尿病、神経学的後遺症、認知行動障害、循環器系後遺症などの腎機能障害以外の障害が残ることがある。そのため、治癒後も最低限 5 年間は定期的に経過観察すべきである。また、特定の障害が残存した場合には成人への移行を含めた長期にわたる適切な対応が必要である。

おわりに

2013 年に発表された HUS の診療・治療ガイドラインを軸に STEC による HUS の治療の要点について概説した。STEC による HUS に関する治療のエビデンスはまだ不足しているのが実情であるが、STEC 感染初期からの積極的な輸液療法や HUS 脳症へのステロイドパルス療法などが本症の予後を改善させる可能性が示された。しかし、今後の更なるエビデンスの蓄積による HUS の治療法の確立と予後の改善が求められている。

最後に、本ガイドラインの作成メンバー全員に深謝いたします。

利益相反自己申告：講演料(アレクシオンファーマ)

文献

1. 種市尋宙. 血栓性微小血管症(TMA:TTP/HUS)の最新知見国内事例. 腎と透析 2013; 74: 1077-1082.
2. 大西 真, 伊豫田 淳, 三戸部治郎, 寺嶋 淳. ドイツを中心とした EAagg-EHEC O104:H4 による大規模集団事例. IASR 2012; 33: 131-132.
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-sp/2118-related-articles/related-articles-387/2041-dj387e.html>
3. Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, Hennessy T, Griffin PM, DuPont H, Sack RB, Tarr P, Neill M, Nachamkin I, Reller LB, Osterholm MT, Bennis ML, Pickering LK; Infectious Diseases Society of America: Practice guidelines for the management of infectious diarrhea. Clin Infect Dis 2001; 32: 331-351.
4. Thielman NM, Guerrant RL. Clinical practice: Acute infectious diarrhea. N Engl J Med 2004; 350: 38-47.
5. Shiomi M, Togawa M, Fujita K, Murata R. Effect of early oral fluoroquinolones in hemorrhagic colitis due to *Escherichia coli* O157:H7. Pediatr Int 1999; 41: 228-232.
6. Ikeda K, Ida O, Kimoto K, Takatorige T, Nakanishi N, Tatara K. Effect of early fosfomycin treatment on prevention of hemolytic uremic syndrome accompanying *Escherichia coli* O157:H7 infection. Clin Nephrol 1999; 52: 357-362.
7. Menne J, Nitschke M, Stingle R, Abu-Tair M, Beneke J, Bramstedt J, Bramstedt J, Bremer JP, Brunkhorst R, Busch V, Dengler R, Deuschl G, Fellermann K, Fickenscher H, Gerigk C, Goettsche A, Greeve J, Hafer C, Hagenmüller F, Haller H, Herget-Rosenthal S, Hertenstein B, Hofmann C, Lang M, Kielstein JT, Klostermeier UC, Knobloch J, Kuehbacher M, Kunzendorf U, Lehnert H, Manns MP, Menne TF, Meyer TN, Michael C, Münte T, Neumann-Grutzeck C, Nuernberger J, Pavenstaedt H, Ramazan L, Renders L, Repenthin J, Ries W, Rohr A, Rump LC, Samuelsson O, Sayk F, Schmidt BM, Schnatter S, Schöcklmann H, Schreiber S, von Seydewitz CU, Steinhoff J, Stracke S, Suerbaum S, van de Loo A, Vishedyk M, Weissenborn K, Wellhöner P, Wiesner M, Zeissig S, Büning J, Schiffer M, Kuehbacher T. EHEC-HUS consortium: Validation of treatment strategies for enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 induced haemolytic uraemic syndrome: case-control study. BMJ 2012; 345: e4565.
8. Safdar N, Said A, Gangnon RE, Maki DG. Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 enteritis: a meta-analysis. JAMA 2002; 288: 996-1001.
9. Proulx F, Turgeon JP, Delage G, Lafleur L, Chicoine L. Randomized, controlled trial of antibiotic therapy for *Escherichia coli* O157:H7 enteritis. J Pediatr 1992; 121: 299-303.
10. Kamioka I, Yoshiya K, Satomura K, Kaito H, Fujita T, Iijima K, Nakanishi K, Yoshikawa N, Nozu K, Matsuo M; Japanese Society for Pediatric Nephrology. Risk factors for developing severe clinical course in HUS patients: a national survey in Japan. Pediatr Int 2008; 50: 441-446.