

た。LB 培地での培養液に MMC を添加した場合、振盪培養時の Stx2 量は静置培養時に比べ、Ty-1 株で 400~4000 倍に増加し、KU1 株では 25~100 倍、Sakai 株では 32~50 倍に増加した。さらに、CAYE 培地を用いたときには、Ty-1 株で 16~80 倍、KU1 株では 4~8 倍、Sakai 株では 16~64 倍増加した。MMC を添加することで EHEC からの Stx2 産生量が増加するが、MMC による Stx2 産生誘導は振盪培養により増強することから、好氣的環境が Stx2 の産生誘導をより促進すると考えられた。また、Ty-1 株と Sakai 株は、MMC と酸化ストレスによって *stx2* フェージの誘導が起こりやすい菌株と考えられる。

3) Stx2 産生におよぼす過酸化水素の影響

MMC は *stx* フェージを強力に誘導するが、MMC は生体内に存在しないことから、生理的条件下での *stx* フェージの誘導因子ではない。好氣的条件下において Stx2 産生量が増加することから、EHEC 感染時の炎症に伴う酸化ストレスが、*stx* フェージの産生誘導に重要な役割を果たしていると考えられる。O111 血清型 EHEC の Stx2 産生量に対する酸化ストレスの影響を評価するために、炎症細胞によって産生される過酸化水素を LB 培地での EHEC 培養液に添加し、Stx2 量を VTEC-RPLA kit により測定した。その結果、3 mM の過酸化水素を添加すると Stx2 を産生する全ての菌株で、Stx2 産生量が増加した。また、CAYE 培地で静置培養をした菌液に 3 mM の過酸化水素を添加すると、非添加の場合と比較して、Stx2 産生量は Ty-1 株で 4 倍、KU1 株で 2 倍、Sakai 株で 4 倍に増加した。さらに、3 mM の過酸化水素添加により、NIID6 株で 40 倍、NIID7 株で 5 倍、NIID8 株で 20 倍、NIID9 株で 5 倍、NIID10 株と NIID11 株、NIID12 株、NIID13 株ではそれぞれ 20 倍に Stx2 量が増加した。調べた全ての EHEC 菌株において、過酸化水素による Stx2 産生促進作用が認められた。興味深いことに、過酸化水素による Stx2 産生促進作用の程度には、菌株間で大きな違いが認められた。

4) 定量的 PCR 法による *stx2* 転写量の比較

EHEC 各菌株の CAYE 培地での培養液に過酸化水素をそれぞれ終濃度が 3 mM になるように添加し、添加 3 時間後に total RNA を抽出した。過酸化水素添加時と非添加時における各菌株の *stx2* 遺伝子の発現量を定量的 PCR 法によって測定した。その結果、過酸化水素の添加により、*stx2* の発現量が増加することが転写レベルでも確認できた。過酸化水素添加により、*stx2*

の発現量が Ty-1 株で 31.1 倍、KU1 株で 1.54 倍、Sakai 株では 1.8 倍増加した。また、過酸化水素添加により、NIID6 株では 7.5 倍、NIID7 株では 8.15 倍、NIID8 株では 6.14 倍、NIID9 株では 1.78 倍、NIID10 株では 2.83 倍、NIID11 株では 5.68 倍、NIID12 株では 2.87 倍、NIID13 株では 4.98 倍 *stx2* の発現量が増加した。過酸化水素添加による *stx2* の発現量の増加は Ty-1 株で最も高かった。

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

これまでの実験結果から、過酸化水素による酸化ストレスは EHEC の Stx2 産生を促す内因性因子と考えられた。重要な点は、EHEC 各菌株間で Stx2 産生に関する過酸化水素感受性が異なることである。過酸化水素は活性化されたマクロファージや好中球などの炎症細胞から産生される。したがって、Stx2 産生に関する過酸化水素感受性の高い菌株がマクロファージや好中球を強く活性化した場合、大腸内において大量の Stx2 が産生されることが予想される。そこで、EHEC 各菌株間においてマクロファージや好中球の活性化能に差があるか否かを調べた。ヒト単球由来の THP-1 細胞に、EHEC 各菌株の超音波破砕物をそれぞれ添加し、培養上清中に産生された TNF- α 量を ELISA 法によって測定した。その結果、NIID8~13 株は他の菌株に比べて THP-1 細胞からの TNF- α の産生誘導能が高かった。一方、Ty-3 株と Nissle 1917 株で刺激した場合、THP-1 細胞からの TNF- α 産生量は低値であった。以上の結果から、EHEC 各菌株間において、マクロファージの活性化能には差異が存在すると考えられた。

3. 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。

4. 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 の超音波破砕物を作用させ、白血球より産生された TNF- α 量を ELISA 法によって測定した。LB

培地と MMC を添加した LB 培地は、バックグラウンド測定のために使用した。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。

1-5. 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

腸管出血性大腸菌は先進国における重要な食中毒起因病原体であり、食品を介した大規模な集団感染から家族内や幼稚園などの集団感染の場において、糞口感染による二次的なヒト-ヒト感染も起こしうる。腸管出血性大腸菌の重要かつ特徴的な点は、微小血管傷害に起因する溶血性貧血、血小板減少、腎不全を主徴とする溶血性尿毒症と呼ばれる重篤な合併症が存在することである。出血性大腸炎を発症した患者の 2-8% に溶血性尿毒症症候群が合併するが、特に小児や高齢者のリスクが高い。溶血性症候群に加え、脳症を発症した重症例では死亡率も高い。わが国での腸管出血性大腸菌感染症の発生数は年間 3,000-4,000 例である。腸管出血性大腸菌は家畜、特にウシの腸管に保菌されている場合が多く、原因食材としては肉類が多い。特に、肝臓 (レバー) の生食などは感染のリスクが高く、平成 24 年 7 月 1 日からは牛レバーの生食としての販売・提供が禁止された。しかしながら、腸管出血性大腸菌による食中毒事例は減少していない。

腸管出血性大腸菌食中毒事例では血清型 O157 が 60-70% を占め、次いで O26、O111 と続く。近年、O157 血清型以外の腸管出血性大腸菌による感染事例が増加しており、重症化率が高い事例も報告されている。その例として 2011 年に発生したドイツの O104:H4 血清型 (患者数 3,922 人、HUS 発生率 20%、死者 47 人) や 2011 年 4~5 月に本邦の富山県や福井県で発生した O111: H8 血清型 (患者数 181 人、HUS 発生率 20%、死者 5 人) が挙げられる。このような重症化例の増加の背景は明らかではないが、食品中での増殖力の高い菌株や腸管内での毒素産生量が高い株の出現など、菌側の病原性の変化が一つの要因と考えられる。そのため、様々な集団事例から分離された腸管出血性大腸菌の次世代シーケンサーを用いた比較ゲノム解析が行われているが、重症化に関わる細菌側の病原因子の確定には至っていない。すな

わち、重症化の背景には、宿主側の免疫応答や腸内フローラ機能の変化など複雑な要因が関わっていると考えられている。事実、溶血性尿毒症症候群や急性脳症を合併した症例では TNF- α や IL-6 などの炎症性サイトカインの血中レベルが高いことが知られており、腸管出血性大腸菌感染症の重症化の予測には菌側の要因のみでなく、宿主側の重症化因子も併せて考える必要がある。

感染症の発症病理や治療法の開発には個々の病原体について動物モデルが欠かせない。特に扱いやすいマウスモデルが望まれる。腸管出血性大腸菌に関する感染マウスモデルはいくつか報告されており、抗菌薬により腸内フローラを減少させて腸管出血性大腸菌の定着を促進するモデル、*stx* フェージの誘導物質である Mitomycin C を腹腔内に投与し、腸管内での Stx 産生量を増加させる方法や Stx が血中へ移行しやすい腸上皮細胞間タイトジャンクションの未熟な幼若無菌マウスを用いるモデルなどが報告されている。これらは多くの場合、病原性の高い O157 血清型を用いたモデルであり、また、接種菌としては Stx 産生量の高い強毒株を使用したモデルが多い。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ェ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、これは我々の考えを一部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ではないかと考えている。

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、重症化すると予測される。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。

こ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り、やはり、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ファクターであると考えている。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重症 EHEC 感染例に対する治療法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多大な貢献が期待できる。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takami H, Taniguchi T, Moriya Y, Kuwahara T, Kanehisa M, Goto S. Evaluation method for the potential functionome harbored in the genome and metagenome. BMC Genomics, 13, 699, 2012
- 2) Wakimoto S, Nakayama-Imaohji H, Ichimura M, Morita H, Hirakawa H, Hayashi T, Yasutomo K, Kuwahara T. PhoB regulates the survival of *Bacteroides fragilis* in peritoneal abscesses. PLoS One, 8, e53829, 2013.

2. 学会発表

- 1) 今大路治之、堀内功典、桑原知巳. 腸管内常在菌が *Clostridium difficile* の病原性に与える影響. 腸管内における宿主微生物間相互作用に関わる分子の検索。第 83 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、大阪、2013 年 11 月。
- 2) 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。

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興研究事業研究事業
（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）

平成 24-6 年度 分担研究報告書

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长）

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

腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染や溶血性尿毒症症候群 (HUS) の診療・研究に造詣の深い日本小児腎臓病学会、日本腎臓病学会、日本小児神経学会、日本小児感染症学会、日本感染症学会などの学会に所属する臨床家・研究者と臨床治験の専門家などから構成される研究班を組織し、エビデンスに基づく診療ガイドラインとして必要な条件を満たし Minds のガイドライン作成基準に準拠した HUS 診断・治療ガイドライン（日本語版、英語版）をわが国で初めて作成した。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) は下痢原性大腸菌の一つで、人の腸管に感染し胃腸炎や下痢症を引き起こす。EHECは志賀毒素(Shiga toxin: STXあるいはペロ毒素 Verotoxin: VTとも呼ばれる) を産生するため志賀毒素産生性大腸菌 (Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: STEC) あるいはペロ毒素産生性大腸菌

(Verotoxin-producing *Escherichia coli*: VTEC) とも呼ばれる。EHECはO抗原 (大腸菌の細胞壁を構成する糖脂質抗原) として約180種類、H抗原 (大腸菌の鞭毛を構成する蛋白質抗原) として約70種類の血清型に分類される。わが国ではEHEC感染症は一年を通して発生するが、夏期に多く発生する。最近数年間は年間4,000名前後の患者の届け出がある。

EHEC感染症の一部は下痢出現後4 - 10日に溶血性貧血、血小板減少、急性腎傷害 (急性腎不全) を3主徴とする溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS) を引き起こす。HUS患者の3割程度が中枢神経症状を合併し、重篤な急性脳症を呈し多場合、死亡することが少なくない。

EHEC感染に伴うHUSの診断・治療のガイドラインは日本小児腎臓病学会が平成12年6月に改訂し公表している。その後、本症の重篤な合併症である急性脳症の治療法について進歩が見られ、さらにEHEC感染が起因しない非典型HUSの病院・病態・治療法が解明されている。

これまでに公表されたHUS及び atypical HUSに関する内外のエビデンスを踏まえ、Mindsのガイドライン作成基準に準拠したHUS診断・治療ガイドライン (日本語版、英語版) を作成する事を研究目的とした。

B. 研究方法

日本小児腎臓病学会、日本腎臓病学会、日本小児神経学会、日本小児感染症学会、日本感染症学会などの学会に所属し、EHEC や HUS に造詣の深い臨床家・研究者と、臨床治験の専門家からなる14名からなる研究班を組織した。さらに、学識研究者や患者さんの代表4名に外部評価委員 (査読委員) として参画戴いた。

PubMed と医中誌をデータベースとして用い、1998年1月から2012年8月までに刊行された論文を、臨床クエスチョンに関連するキーワードを設定して検索した。HUSに関するエビデンスレベルの高い文献は少ないため、検索対象期間以外の文献やエビデンスレベルの低い論文でも、临床上重要と考える文献を選択することとした。エビデンスレベル (レベル1-6) を基準とし、ステートメントとその推奨レベル (グレードA-D) を作成した。推奨グレードは、エビデンスレベルだけでなく、国内における診療状況も鑑みて決定した。

本ガイドラインでは、各章の冒頭にステートメントとその推奨グレードと

を記載し、その後解説の中で背景にあるエビデンスを記載するスタイルとした。なお、易学や診断の分野で治療分野の推奨グレードになじまないものや治療分野でも現時点で評価の定まっていないものについては、推奨グレードを該当せずとした。

班員によって作成された本ガイドライン（案）を外務評価委員（査読委員）4名から評価を戴いた。その後、日本小児科学会、日本腎臓学会、日本小児腎臓病学会のホームページ上で公開し、各学会員からパブリックコメントを戴いた。これらのコメントをガイドライン作成班員で協議し、適切に対応し、ガイドラインに盛り込んだ。

C. 研究結果

- 1) エビデンスに基づき、Minds のガイドライン作成基準を遵守した HUS 診断・治療ガイドライン（日本語版、英語版）を作成した。日本語版は単行本（東京医学社）として刊行した（資料 1）。英語版は日本腎臓学会の機関誌である英文誌 *Clinical Experimental Nephrology* の 2014 年第 4 号に掲載した（資料 2）。
- 2) 同ガイドライン作成にあたっては、日本小児科学会、日本腎臓学会、日本小児腎臓病学会のホームページに案を提示し、パブリックコメントを募り、各学会員の御意見を反映した。
- 3) 作成した同ガイドラインは上記 3 学会の会委員向けホームページ（日本小児科学会：https://www.jpeds.or.jp/modules/members/index.php?content_id=36、日本腎臓学

会：http://www.jsn.or.jp/topics/news/_2622.php、日本小児腎臓病学会：http://www.jspn.jp/file/pdf/20140618_guideline.pdf）に掲載すると共に、Minds のホームページ（Minds ガイドラインセンター：http://minds.jcqhc.or.jp/n/medical_user_main.php）にも掲載した。

D. 考察

本ガイドラインはエビデンスに基づくだけでなく、Minds のガイドライン作成基準を遵守したわが国で初めての HUS の診断・治療ガイドラインである。日本語版だけでなく、英語版を作成することにより、世界への発信し国際貢献を果たすことができた。

E. 結論

EHES 菌や HUS に造詣の深い日本小児腎臓病学会、日本腎臓病学会、日本小児神経学会、日本小児感染症学会、日本感染症学会などの学会に所属する臨床家・研究者と臨床治験の専門家など 14 名から構成される研究班を組織し、エビデンスに基づくだけでなく、Minds のガイドライン作成基準を遵守したわが国で初めての HUS の診断・治療ガイドライン（日本語版、英語版）を作成した。

F. 研究発表

<研究分担者>

五十嵐 隆

1. 論文発表

- 1) 五十嵐 隆:小児腎疾患診療のポイント、腎臓内科レジデントマニュアル改訂第6版、pp 449-471、診断と治療社、東京、2012
 - 2) 五十嵐隆:小中高生への感染症予防教育を充実して戴きたい。学校保健研究 55: 91, 2013
 - 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. Clin Exp Nephrol 18:525-557, 2014
 - 4) 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
 - 5) 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)
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
- <研究協力者>
- 大西健児
1. 論文発表
 - 1) Ohnishi K, Nakamura- Uchiyama F: Does levofloxacin induce hemolytic uremic syndrome in patients infected with verotoxin-producing *Escherichia coli* O157 infection? Jap J Infect Dis 65: 442-443, 2012
 - 2) 大西健児:腸管出血性大腸菌. pp 295-298. 最新・感染症治療指針 後藤元(監修), 医薬ジャーナル社 2012
 - 3) 大西健児: 感染性胃腸炎, 食中毒. pp 1767-1769. 内科学 (門脇 孝, 永井良三), 西村書店 2012
 - 4) 大西健児: 腸管出血性大腸菌起因性溶血性尿毒症症候群. 内科 109 (増大号): 1435-1436, 2012
 - 5) 大西健児: 人畜共通感染症、小野寺昭一編、感染症内科学、pp89-93、丸善出版、東京、2014
 - 6) 大西健児: 腸管出血性大腸菌、後藤元編、最新・感染症治療指針、pp295-298、医薬ジャーナル、東京、2013
 - 7) 大西健児: 感染性腸炎. 感染症道場 2: 4-8, 2013
 - 8) 細田智弘、大西健児: 腸管感染症・食中毒. 日本臨床新領域別症候群シリーズ 25: 311-316, 2013
 - 9) 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

北山浩嗣

1. 論文発表

- 1) 北山浩嗣、和田尚弘、山田昌由、鵜野裕一、深山雄大、上原正嗣: 新生児、小児で行ったPMX-DHPとCRRT施行症例の%FOに関わる臨床的検討、エンドトキシン血症救命治療研究会誌 16: 111-114、2012
- 2) 北山浩嗣、和田尚弘、山田昌由、鵜野裕一、深山雄大、坂本喜三郎、小野安生、大崎真樹: ECMO症例に対する急性血液浄化療法、日本小児腎不全学会雑誌 32: 236、2012
- 3) 鵜野裕一、和田尚弘、北山浩嗣、山田昌由、深山雄大: 多彩な経過をたどった atypical HUS の 1 例、日本小児腎不全学会雑誌 32: 286-288、2012
- 4) 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
- 5) 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) . 日本アフェレーシス学会雑誌 34: 2015 (in press)

2. 学会発表

- 1) 北山浩嗣、和田尚弘、山田昌由、鵜野裕一、長野智那、植田育也、川崎達也、高木義弘、金子理奈子: 高 Na 透析液による急性血液浄化を必要とした急性脳症に対する高浸透圧療法の留意点、第 34 回日本小児腎不全学会、淡路島、
2012 年 9 月 13 日
- 2) 北山浩嗣、和田尚弘、山田昌由、鵜野裕一、深山雄大、上原正嗣: AKI に対する急性血液浄化の適応に関わる%FOの小児と新生児の違い、第 47 回日本小児腎臓病学会、東京、2012 年 6 月 29 日
- 3) 北山浩嗣: AKI の急性期から慢性期までの輸液、研修医のための輸液セミナー2012、東京、2012 年 8 月 26 日
- 4) Kitayama H, Wada N, Yamada M, Uno Y, Nagano C: Clinical study of 77 pediatric and neonatal patients who were performed extracorporeal membrane oxygenation with CRRT, USA, Cincinnati, September 28, 2012
- 5) 北山浩嗣、和田尚弘、中澤祐介、田中靖彦: 新生児敗血症に対する新しい PMX-01R による PMX-DHP、第 33 回日本アフェレーシス学会、長崎、2012 年 11 月 8 日
- 6) 北山浩嗣: 低 Na 血症を合併した AKI に対する急性血液浄化療法施行に関わる留意、第 35 回日本小児腎不全学会学術集会、福島、2013 年 10 月 25 日

- 7) 塩田勉、北山浩嗣、和田尚弘、山田昌由、鶴野裕一、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
- 8) 塩田勉、北山浩嗣、和田尚弘、山田昌由、鶴野裕一、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

芦田 明

1. 論文発表

- 1) 芦田 明、玉井 浩：溶血性尿毒症症候群（ベロ毒素関連）腎と透析 72 増刊号 腎疾患治療マニュアル 2012-2013, pp315-318, 東京医学社、東京、2012
- 2) 芦田 明、玉井 浩：非典型的溶血性尿毒症症候群（Atypical HUS）. 腎臓 35: 39-44、2012
- 3) 芦田 明、玉井 浩：HUS, TTP 非典型 HUS, TTP の治療 腎疾患治療のエビデンス第 2 版, pp168-171, 小林正貴、南学正臣、吉村吾志夫編、文光堂、東京、2012
- 4) 芦田 明、玉井 浩：溶血性尿毒症症候群. 日児誌 117: 1-10, 2013
- 5) Fan X, Yoshida Y, Honda S, Matsumoto M, Sawada Y, Hattori M, Hisanaga S, Hiwa R, Nakamura F, Tomomori M, Miyagawa S, Fujimaru R, Yamada H, Sawai T, Ikeda Y, Iwata N, Uemura O, Matsukura E, Aizawa Y, Harada H, Wada H, Ishikawa E, Ashida A, Nangaku M, Miyata T, Fujimura Y. Analysis of genetic and predisposing factors in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. Mol Immunol 54: 238-246, 2013
- 6) 芦田 明、玉井 浩：溶血性尿毒症症候群. 日本小児科学会雑誌 117: 1-10, 2013
- 7) 芦田 明、玉井 浩：非定型的溶血性尿毒症症候群. 小児内科 45: 1075-1076, 2013
- 8) 芦田 明、玉井 浩：補体制御異常症と HUS. 腎と透析 74: 1098-1102, 2013
- 9) 芦田 明、余田 篤、白数明彦、井上敬介、中倉兵庫、松村英樹、玉井浩：腹部超音波検査にて EHEC O157 感染症を疑い経過観察中に溶血性尿毒症症候群を発症した 1 男児例. 日本小児腎不全学会雑誌 33:193-195, 2013
- 10) 芦田 明、吉田瑤子、範 新萍、松本雅則、服部元史、宮田敏行、藤村吉博：Atypical HUS における補体制御異常症診断システムの構築と腎移植. 日本臨床腎移植学会雑誌 1: 39-44, 2013
- 11) 芦田 明、玉井 浩：エクリズマブ：aHUS. 腎と透析 76: 77-81, 2013
- 12) 非典型溶血性尿毒症症候群診断基準作成委員会（香美祥二、岡田浩一、要 伸也、佐藤和一、南学正臣、安田 隆、服部元史、芦田 明、幡谷浩史、日高義彦、澤井俊宏、藤丸季可、藤村吉博、吉田瑤子）：非典型溶血性尿毒症症候群 診断基準、日本腎臓学会誌 55:91-93, 2013

- 13) 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
- 14) 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
- 15) 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
- 16) 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
- 17) 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
- 18) 芦田 明、玉井 浩: エクリズマブ : aHUS. 腎と透析 76: 77-80, 2014
- 19) 芦田 明、玉井 浩: 典型的 HUS. 日本血栓止血学会雑誌 25: 706-712, 2014
- 20) 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
- 21) 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
2. 学会発表
- 1) 吉田瑤子、藤村吉博、松本雅則、早川正樹、芦田 明、澤田勇吾、服部元史、服部益治、範 新萍、宮田敏行 : 本邦における atypical HUS (aHUS) の患者登録と解析状況. 第 115 回日本小児科学会, 福岡, 2012 年 4 月 21 日
- 2) 芦田 明 : HUS 診断と治療に関する最新の知見 atypical HUS 治療. 第 47 回日本小児腎臓病学会シンポジウム, 東京, 2012 年 6 月 29 日
- 3) 範 新萍、本田繁則、宮田敏行、吉田瑤子、澤田勇吾、服部元史、日和良介、中村文彦、藤丸季可、岩田直之、上村 治、松隈英治、会沢佳昭、原田 浩、石川英二、和田英夫、松本雅則、芦田明、南学正臣、藤村吉博 : 日本人の非典型溶血性尿毒症症候群患者 10 名の遺伝子解析、第 49 回補体シンポジウム, 大阪, 2012 年 8 月 25 日
- 4) 芦田 明、余田 篤、白数明彦、井上敬介、中倉兵庫、松村英樹、玉井 浩 : 腹部超音波検査にて EHEC 感染症を疑い

- 経過観察中に溶血性尿毒症症候群を発症した1男児例. 第34回日本小児腎不全学会, 淡路島, 2012年9月14日
- 5) 芦田 明, 余田 篤, 白数明彦, 井上 敬介, 中倉兵庫, 松村英樹, 玉井 浩: 腹部超音波検査にて溶血性尿毒症症候群発症の予測は可能か?-便培養にて EHEC 陰性であった HUS の1例を通じて-. 第44回日本小児感染症学会, 北九州, 2012年11月25日
- 6) Ashida A, Yamamoto D, Yoshida Y, Xiping F, Matsumoto M, Miyata T, Hattori M, Fujimura Y, Tamai H. Molecular effects of three mutations identified in complement C3 in Japanese patients with atypical hemolytic uremic syndrome. American Society of Nephrology 2013, Atlanta, 米国, 2013年11月9日
- 7) 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
- 8) 芦田 明, 山本大助, 吉田瑤子, 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
- 9) 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
- 10) 芦田 明, 玉井 浩: 非典型溶血性尿毒症症候群におけるアフェレシス治療. 第35回日本アフェレシス学会ワークショップ3 東京 2014年9月27日
- 11) 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
- 12) 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
- 13) 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
- 14) 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
- 15) 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

要 伸也

1. 論文発表

- 1) 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, 2013
- 2) 香美祥二, 岡田浩一, 要 伸也, 佐藤和一, 南学 正臣, 安田 隆, 服部元史, 芦田 明, 幡谷浩史, 日高義彦, 澤井俊宏, 藤丸季可, 藤村吉博, 吉田瑤子: 非典型溶血性尿毒症症候群 診断基準、日本腎臓学会誌 55: 91-93, 2013
 - 3) 要 伸也: 血液関連非典型的 HUS、腎と透析 74: 1131-1135, 2013
 - 4) 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
 - 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
2. 学会発表
- 1) 宮澤さやか、清水英樹、軽部美穂、中島瑛理子、高橋孝幸、窪田紗也花、早川 哲、下山田博明、駒形嘉紀、要 伸也、有村義宏、山田 明: ステロイド治療のみで改善した SLE に伴う TTP の一例. 第 43 回日本腎臓学会東部学術大会、東京、2013 年 10 月 11 日
- 川村尚久
1. 論文発表
 - 1) 川村尚久: 3 歳女兒、腹痛、血便、顔色不良、日経メディカル 9: 1-2, 2013
 - 2) 川村尚久: 小児領域における患者転院時の感染症対策のポイント、INFECTION CONTROL 23: 150-153, 2013
 - 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. Clin Exp Nephrol 18:525-557, 2014
- 種市尋宙
1. 論文発表
 - 1) 種市尋宙: 富山 EHEC/O111 アウトブレイクからみたりコンビナントトロンボモジュリン製剤における可能性 Tromb Med 2: 412-416, 2012

- 2) 種市尋宙: 血栓性微小血管症 (TMA:TTP/HUS)の最新知見: TMAと脳症の問題. 腎と透析 74: 1063-8, 2013
 - 3) 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 74: 1087-90, 2013
 - 4) 種市尋宙, 小西道雄, 五十嵐登, 金田 尚, 松倉裕喜, 小倉一将, 黒田文人, 谷内江昭宏, 宮脇利男: 富山を中心とした腸管出血性大腸菌 O111 集団感染. 日本小児科学会雑誌 117: 1409-15, 2013
 - 5) 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
 - 6) 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
 - 7) 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) 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
 - 2) 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
 - 3) 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
- 佐古まゆみ
1. 論文発表
 - 1) 伊藤秀一、佐古まゆみ、斉藤真梨、佐藤 舞、藤丸拓也、小椋雅夫、亀井宏一: わが国の小児急性血液浄化療法の実態調査 日本小児腎不全学会雑誌 32: 231-232, 2012
 - 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: Guidelines for the management and investigation of hemolytic uremic syndrome. Clin Exp

Nephrol 18:525-557, 2014

2. 学会発表

- 1) 伊藤秀一、小椋雅夫、亀井宏一、斉藤 真梨、佐古まゆみ：わが国の小児急性腎傷害への急性血液浄化療法の実態調査 第 55 回日本腎臓学会学術総会，神奈川，2012 年 6 月 2 日
- 2) 伊藤秀一、荒木義則、稲垣徹史、池住 洋平、藤永周一郎、和田尚弘、山田拓司、田中亮二郎、大田敏之、馬場晴久、亀井宏一、斉藤真梨、佐古まゆみ：わが国における小児急性血液浄化療法 その実態と予後因子の解析 第 47 回日本小児腎臓病学会，東京，2012 年 6 月 29 日
- 3) 佐古まゆみ、、中村秀文，吉川 徳茂：小児・希少疾病における臨床試験・治験の実情、問題点、取り組み 小児腎領域における臨床試験・医師主導治験とその支援・実施体制 第 33 回日本臨床薬理学会学術総会 2012 年 8 月 16 日

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当せず。

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

腸管出血性大腸菌感染症に対する治療は、特にその抗菌薬の使用に関しては、一定の見解が得られていない。本研究班では、最新のエビデンスに基づいた腸管出血性大腸菌感染症に対する治療のガイドラインを作成、刊行、そして英語訳を作成した。今後、このガイドラインの臨床の現場での実践とその後のガイドラインの検証が期待される。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌感染症に対する治療は、特にその抗菌薬の使用に関しては、一定の見解が得られていない。本研究班では最新のエビデンスに基づく腸管出血性大腸菌感染症に対する治療を標準化するために、ガイドラインを作成することをその目的とする。

B. 研究方法

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）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班(大西班)の中に、HUS 診断治療ガイドライン作成研究班が設置された。そして、2012-2013 年にクリニカルクエスチョンを設定し、キーワードを設定、キーワードに関連する文献を検索し、推奨文が作成された。また、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、一部修正を行い、ガイドラインを作成した。そして2014年に、完成したガイドラインを英語訳した。

C. 研究結果、考察

腸管出血性大腸菌感染症に対する治療について別紙のガイドラインが平成 26 年度に刊行された。また、英語版も英文誌に発表され、当初の研究班の目的が達成された。

D. 結論

本研究班の成果の1つとして、腸管出血性大腸菌感染症に対する治療ガイドラインが作成された。今後、このガイドラインの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の 診断・治療ガイドラインの作成と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。今回、エビデンスに基づく診療ガイドラインとして必要な条件を満たしたわが国で初めてのHUS診断・治療ガイドラインを作成し、平成25年に発表した。さらに、英語版ガイドラインも平成26年に発表した。さらに平成27年度には、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ため、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。その結果、2000年以降のSETC-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

1. HUS の診断・治療のガイドラインの作成

1996年の大阪府堺市での世界最大の腸管出血性大腸菌（enterohemorrhagic *Escherichia coli* : EHEC）いわゆる志賀毒素産生性大腸菌

（Shiga-toxin-producing *E. coli* :STEC）の集団感染を期に、日本小児腎臓病学会は「腸管出血性大腸菌感染に伴う溶血性尿毒症症候群(HUS)の診断・治療のガイドライン」を作成し、2000年に一部を改訂した。

しかし、2011年に富山県を中心とした O111 による集団感染、さらに欧州でのドイツを中心とした O104:H4 による大規模集団感染が発生し、HUS による多数の死者が発生した。欧州の集団感染の菌は従来の EHEC とは異なり、志賀毒素産生性と ESBL 産生性の両方の特徴を有する腸管凝集接着性大腸菌（enteroaggregative *E. coli*）O104:H4 であった。本菌による集団感染は過去にはなく、今後このような新たな大腸菌による集団感染が危惧されている。これらの集団感染を機に、新たな HUS の診断・治療ガイドラインの作成が喫緊の課題となった。

前ガイドラインの改訂以来、STEC による HUS

の病態のさらなる解明や治療法に関するいくつかの成果が得られ、さらに非典型 HUS の病因・病態の解明と治療法に関する劇的な進歩がみられた。そこで、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ために、本ガイドラインが作成された。本ガイドラインは、日本小児腎臓病学会、日本腎臓病学会、日本小児神経学会、日本小児感染症学会、日本感染症学会などの関連学会に所属する臨床家・研究者が作成した。

これまでに公表されたHUSに関する内外のエビデンスを踏まえ、aHUSを含めたHUSの診断・治療のガイドラインをMindsに準拠し作成する事を研究目的とした。また、本邦からのガイドラインを海外に発信するべく、英語版のガイドラインの作成を目標とした。

2. 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

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

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。そこで、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

1. HUS の診断・治療のガイドラインの作成
分担研究者 五十嵐 隆報告書を参照

2. 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

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、個人情報連結可能匿名化等を行った。

C. 研究結果

1. HUS の診断・治療のガイドラインの作成
①HUS診断・治療ガイドラインを完成させ、平成25年11月に、日本小児腎臓病学会、日本腎臓病学会、日本小児科学会のホームページに公表した。公表までに合計5回の会議を開催した。
②本ガイドラインを書籍として出版した。
③本ガイドラインの英語版の作成を進め平成27年度中に公表した。

2. 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

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)。

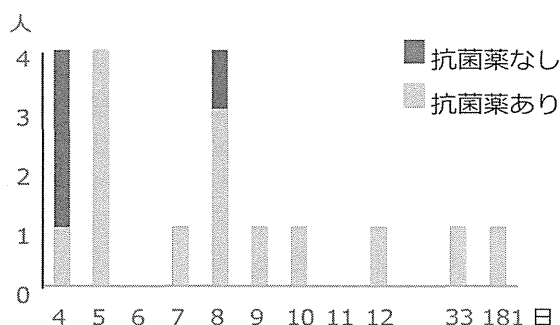
HUS発症時/その後の経過中の症状と頻度は、腎18/18、消化器18/17、循環器2/14、血液17/18、発熱10/14、乏尿11/18、血尿12/13、蛋白尿11/12、下痢17/19、嘔吐9/13、腹痛9/16、血便16/17、心不全1/6、低血圧1/9、不整脈0/5、痙攣6/18、意識障害8/14、頭痛0/1、溶血性貧血11/16、血小板減少18/18、WBC増多15/15であった。

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 日後の死亡 10 名の間に 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

HUS の診断・治療ガイドラインを発表した。今後、本ガイドラインの有効性についての評価が必要である。しかし、作成にあたり、実際には HUS に関するエビデンスは不足しているのが実情であり、さらなるエビデンスの蓄積も不可欠である。

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されている一方で 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マ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

HUS の診断・治療ガイドラインを発表した。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
- 6) 伊藤秀一: 分子標的療法がもたらす腎臓疾患治療の未来. 日本小児腎臓病学会雑誌 2013 : 26 : 43-51

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: HUS Revisited; 4月11-13日 名古屋(愛知)2014
- 6) 伊藤秀一, 五十嵐隆: 小児腎疾患の最新の診断・治療ガイドライン典型的溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン: 作成の拝啓と概略 第116回日本小児科学会学術集会 4月19日 広島, 2013.

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