

国際医療福祉大学審査学位論文（博士）

大学院薬学研究科博士課程

医療関連感染における MRSA 感染症とその治療  
～抗 MRSA 薬の適正使用に関する研究～

2020年度

医療・生命薬学専攻

西 圭史



要旨

医療関連感染症の中でも、カテーテル関連血流感染症（Catheter-Related Bloodstream Infection : CRBSI）は、発症すれば予後に非常に影響を与える可能性があり適正治療が必要である。CRBSI の治療においては、カテーテル抜去後に原因菌に感受性を示す抗菌薬投与が必要であるが、抗菌薬の不適正な投与が行われる症例がある。また、CRBSI の治療に用いるリネゾリド（Linezolid : LZD）は、有効性が期待できる反面、血小板減少症や低ナトリウム血症等の重篤な有害事象を発症する可能性がある。本研究結果より、CRBSI 治療において、カテーテル抜去に加えて原因菌に感受性を示す抗菌薬投与が、その後の菌血症再発を防止できることを示した。加えて、ラットおよび細胞を用いて血小板減少症が起こるメカニズムを解明し、さらに臨床において LZD 投与患者が低ナトリウム血症を発症するリスク因子を見出した。本研究は CRBSI における治療の適正化と LZD 投与後の血小板減少症や低ナトリウム血症の予防のため安全な抗菌薬療法に寄与し、その適正使用につながると考える。

キーワード：カテーテル関連血流感染症、リネゾリド、血小板減少症、低ナトリウム血症、  
適正使用

## **MRSA infection and treatment in healthcare-associated infection**

~ Study on appropriate use of anti-MRSA drug ~

12R3003 Yoshifumi Nishi

### **Abstract**

In healthcare-associated infections, catheter-related bloodstream infections (CRBSI), if developed, may have a serious impact on the prognosis and need appropriate use antimicrobial. In the treatment of CRBSI, administration of an antimicrobial that is susceptible to detected bacteria is needed after removal of the catheter, but there are cases in which an antimicrobial not administered or a resistance antimicrobial is administered.

Linezolid (LZD), which is used to treat CRBSI, is expected to be effective, but it causes serious adverse events such as thrombocytopenia and hyponatremia. From the results of our study, it was investigated that in CRBSI treatment, administration of an antimicrobial that is susceptible to detected bacteria after catheter removal may prevent subsequent recurrence of bloodstream infections.

In addition, we clarified the mechanism of thrombocytopenia using rats and cells, and found a risk factor for developing hyponatremia in patients receiving LZD in clinical practice. Therefore our study contributes to safety antimicrobial therapy for the optimization of treatment in CRBSI and prevention of thrombocytopenia and hyponatremia after LZD administration, and is considered to lead to its appropriate use.

Keywords: catheter-related bloodstream infections, linezolid, thrombocytopenia, hyponatremia, appropriate use

## 目次

緒言	1
第1章	
カテーテル関連血流感染に対する抗菌薬適正使用がその後の菌血症再発に及ぼす影響	
1.1 背景および目的	6
1.2 方法	8
1.3 結果	14
1.4 考察	29
2章	
LZD が引き起こす血小板減少の基礎的メカニズムの解明	
2.1 背景および目的	32
2.2 材料および方法	34
2.3 結果	39
2.4 考察	43
3章	
LZD 投与により生じる低ナトリウム血症と血中濃度との関連性の探求	
3.1 背景および目的	48
3.2 方法	49
3.3 結果	52
3.4 考察	60
総括	63
出版目録	65
謝辞	66
引用文献	68



## 緒言

医療機関で発生する感染症は医療関連感染症と呼ばれる。カテーテル関連血流感染症（Catheter-Related Bloodstream Infection：以下 CRBSI）、人工呼吸器関連肺炎（ventilator associated pneumonia：VAP）、カテーテル関連尿路感染症（catheter-associated urinary tract infection：CAUTI）、手術部位感染（Surgical site infection：SSI）、*Clostridioides difficile* 感染症などが含まれ、これらの感染症が生じると個々の患者に与える影響だけではなく医療機関においても、社会的、経済的な負担を強いることになる。

図 1 に医療関連感染症の発生頻度を示す。この中で CRBSI は、発生頻度は約 10%と報告されている<sup>1)</sup>。

# 医療関連感染症

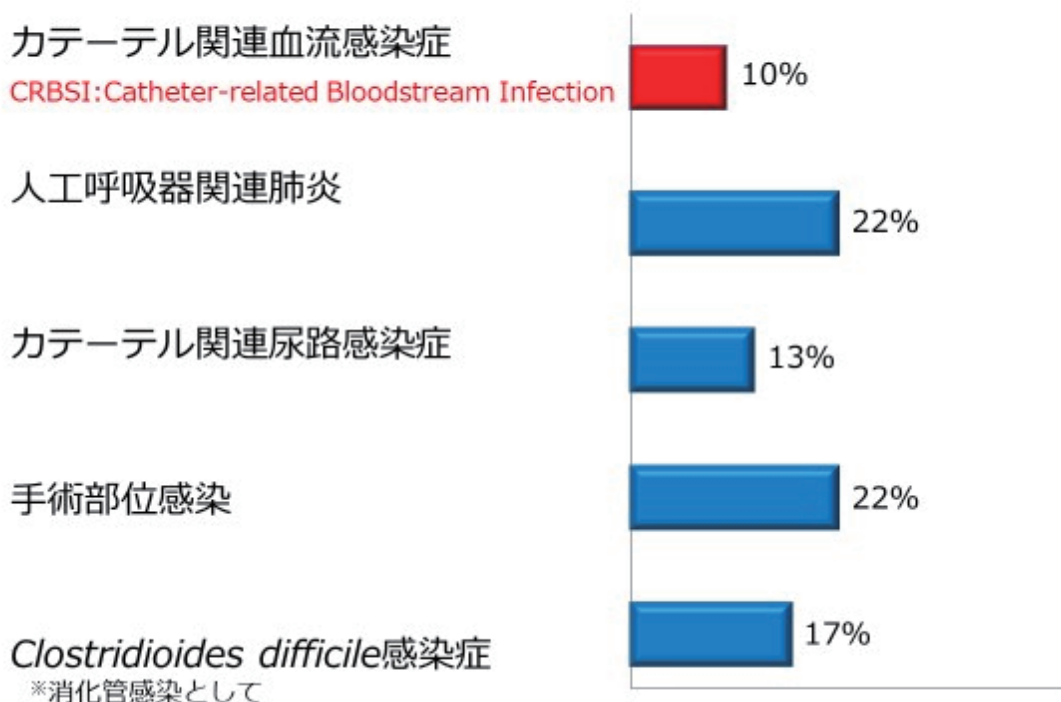


図 1. 各医療関連感染の発生頻度<sup>1)</sup>

CRBSI は中心静脈カテーテル（以下：カテ）留置患者に生じる感染症であり，発生頻度が低いものの予後にも影響を与える可能性があるため，臨床では大きな問題と考えられている．そのため CRBSI に対しては，できる限り，正確な診断と発症した際の適正な治療が望まれる．さらにカテ留置が多い集中治療室（Intensive care unit : ICU）だけでなく，高カロリー輸液による経静脈的栄養療法施行患者にも生じるため，全入院病棟での感染管理が必要となる．現状での国内における CRBSI 感染率は，1.5～2.1/1000 catheter-days と報告されている<sup>2)</sup>．この感染率を他国と比較すると米国からの報告では心臓外科 ICU0.8/1000 catheter-days，内科 ICU1.1～1.2/1000 catheter-days，外傷 ICU1.4/1000 catheter-days であり，病棟の特性により単純比較はできないが，我が国の感染率は高いと考えられる．一方，43 の発展途上国における感染率は 4.9/1000 catheter-days との報告があり<sup>3)</sup>，発展途上国ほどは高くない現状である．

CRBSI のガイドラインでは，診断は血管を穿刺し採取した血液から検出した微生物とカテから採取した血液から検出した微生物が一致することとされている．その治療は，カテの抜去に加えて検出された原因菌に効果を示す抗菌薬の投与が推奨することを前提に以下の事項が推奨されている<sup>4)</sup>．

23. バンコマイシン（vancomycin : 以下 VCM）は，MRSA の頻度が高い医療環境では経験的治療として投与する（A・II）．
24. リネゾリド（linezolid : 以下 LZD）はエンピリック治療で使用すべきではない（A・I）．
78. 黄色ブドウ球菌による CRBSI においては，可能な限りカテを抜去し 4-6 週間の抗菌薬投与を行うべきである（B・II）．

また，CRBSI の原因菌は，コアグララーゼ非産生ブドウ球菌（Coagulase negative Staphylococcus : 以下 CNS），黄色ブドウ球菌，腸球菌の順とされ<sup>5)</sup>，国内のガイドラインにおいては，これらの原因菌に有効な抗菌薬として VCM に代表される抗 MRSA 薬の使用が推奨されている<sup>6)</sup>（図 2）．



疾患		第一選択薬	代替薬
呼吸器感染症	(肺炎, 肺膿瘍, 膿胸)	LZD (A-I) VCM (A-I) TEIC (A-II)	ABK (B-II)
	(気道感染症)	TEIC (B-II) LZD (B-II)	VCM (C-II)
菌血症		DAP (A-I) VCM (A-I)	ABK (B-II) TEIC (B-II) LZD (B-II)
感染性心内膜炎		DAP (A-I) VCM (A-I)	TEIC (B-II) ABK (B-II) LZD (B-II)
皮膚・軟部組織感染症	(深在性皮膚感染症, 慢性膿皮症)	DAP (A-I) LZD (A-I) TZD (A-I) VCM (A-I)	TEIC (B-II) ABK (B-II)
	(外傷・熱傷および手術創の二次感染)	VCM (A-I) LZD (A-I) TZD (A-I) DAP (A-I)	TEIC (B-II) ABK (B-II)
	(びらん・潰瘍の二次感染)	DAP (A-I) TZD (A-I) VCM (A-I) LZD (A-I)	TEIC (B-II) ABK (B-II)

□は保険適応を有するもの

図 2. MRSA 感染症の治療ガイドライン改訂版 2019 における菌血症時の推奨治療薬<sup>6)</sup>

このように CRBSI の治療に関して、様々なガイドラインではカテ抜去に加え、原因菌に有効な抗菌薬の投与が必要とされている。しかし自施設における感染症治療への支援を行っている際に、実臨床では以下の問題点に直面した。すなわち

- ・同一患者が血流感染を繰り返す。
- ・カテ抜去のみの治療症例がある。
- ・カテ抜去後の検出菌に感受性がない抗菌薬が投与されている。

といったことが散見された。我々は、これらの問題点の改善と、ガイドラインに準じた治療がなされることが予後の改善に影響を及ぼすと考えた。また菌血症時に投与する抗 MRSA 薬の選択においてガイドライン<sup>6)</sup>での第一選択薬は VCM であるが、腎機能障害やレッドマンシンドロームなどの有害事象が生じた場合は投与中止をせざるを得ない。この場合の代替薬としてテイコプラニンやダプトマイシン、アルベカシンが推奨されている。しかしながら、テイコプラニンでは MRSA が中枢神経に波及して髄膜炎を併発する状況では髄液移

行が期待できない<sup>7)</sup>ため選択されない。またダプトマイシンも同様に髄液移行が期待できない<sup>8)</sup>ことに加えて、MRSA 肺炎においては、ダプトマイシンが肺胞サーファクタントにより分解されるため無効<sup>9)</sup>となり選択されない。アミノグリコシド系薬のアルベカシンについては、肺炎には効果が期待できない<sup>10)</sup>ことに加え、有害事象の腎障害や聴力障害<sup>11,12)</sup>への懸念、さらに TDM が必要であり、血中濃度を管理する場合にはトラフ値だけでなくピーク値の測定が必要となり選択されることが非常に少ない<sup>11,13)</sup>。これらの理由により MRSA を含む黄色ブドウ球菌が引き起こすことが多い CRBSI を含む菌血症を疑う状況においては、第二選択薬とされる LZD が投与される。

LZD の特徴を図 3 に示す。

長所	短所
リボソーム (50S) に作用することで蛋白合成過程の開始段階に作用し、 <b>既存抗菌薬と交叉耐性を示さない</b>	作用が静菌的である
分子量が小さいため <b>経口投与が可能</b> でありバイオアベイラビティは約100%	後発品においても薬価が高い 点滴 7730円 錠剤 5732.6円
非酵素的酸化反応により代謝されるため <b>腎障害時に用法用量を調整する必要なし</b>	腎障害時の血中濃度上昇による <b>血小板減少が報告されている</b>
髄液、筋肉、唾液、骨、炎症性水泡といった部位への移行性に優れる	血小板減少、低ナトリウム血症以外に味覚消失、舌変色が生じる

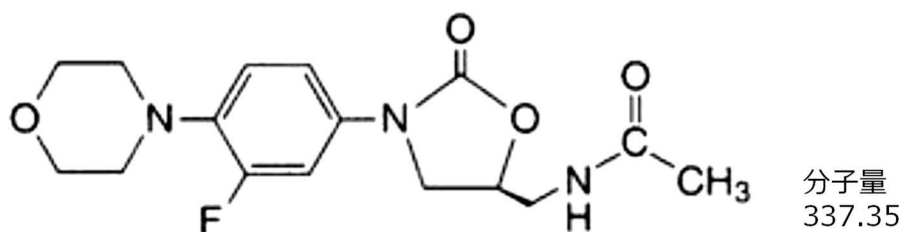


図 3. LZD の特徴

LZD は既存の抗菌薬と交叉耐性を示さないこと、剤型として錠剤が存在しバイオアベイラビリティが約 100%であること、加えて腎機能障害時に用法用量の調節が不要であり、他の抗 MRSA 薬に必要な薬物血中濃度モニタリング (Therapeutic Drug Monitoring : 以下

TDM) が不要であることがメリットとなり汎用されることが期待された。しかし血小板減少症を初め種々の有害事象が生じることが報告されており、使用時に躊躇する状況がある<sup>14)</sup>。この有害事象の中でも重篤である血小板減少症が生じるメカニズムが明らかであるならば、予防や対応が可能となり得るが、現状ではそのメカニズムの解明に至っていない。さらに近年、低ナトリウム血症を引き起こす報告も散見されてきている<sup>15,16)</sup>。低ナトリウム血症は、血清ナトリウム値の減少だけにとどまらず、意識障害や痙攣を伴うために見過ごせない有害事象である。そこで我々は、

- ①CRBSI における抗菌薬の適正使用がその後の菌血症再発に及ぼす影響の解析
- ②菌血症を含む CRBSI 時に第二選択薬として用いられる LZD が引き起こす血小板減少について基礎的メカニズムの解明
- ③LZD 投与時に生じる臨床的に重要な低ナトリウム血症について血中濃度との関係性調査を行い、選択肢の限られる抗 MRSA 薬の中で LZD の安全な使用を推進するための研究

を行った。

# 1 章 カテーテル関連血流感染に対する抗菌薬適正使用が

## その後の菌血症再発に及ぼす影響

### 1. 背景および目的

入院患者には治療のための様々なデバイスが挿入されるが、その中でもカテは血流感染の発生のリスクが最も高い<sup>17)</sup>。カテが挿入されている患者に発熱が見られた場合、まずはカテーテル関連血流感染 (Catheter-Related Bloodstream Infection : 以下 CRBSI) を疑いカテ抜去が可能か、次に菌血症を起こしうる菌を想定した抗菌薬投与の検討がなされる。米国では米国感染症学会 (Infectious Diseases Society of America : IDSA) から 2001 年に CRBSI の診断と治療に関するガイドライン<sup>4)</sup> が出されており、2009 年には改訂版<sup>18)</sup> が出されている。このガイドライン中には、カテ抜去後に検出菌に感受性のある抗菌薬を 7~14 日間、検出菌が MRSA であった場合は最低でも 14 日間の抗菌薬投与、感染性心内膜炎や化膿性関節炎においては 4 週間以上の抗菌薬投与が推奨されている。Jensen<sup>19)</sup> が行った市中及び院内発症の黄色ブドウ球菌感染症症例 278 人を対象にした報告では、治療を受けた 235 人のうち、感染部位がカテや人工呼吸器と同定された 211 人で、実際に感染源を抜去できた場合とできなかった場合とでは抜去できた場合の死亡率が低く (抜去できた : 7% , 抜去できない : 46%,  $p=0.001$ ) , 再発率も低い (抜去できた : 8% , 抜去できない : 31% ,  $p=0.04$ ) 。

さらに治療期間が 14 日未満と 14 日以上 of 症例間の死亡率は、14 日以上の十分な投与期間で治療された場合の死亡率が低く (14 日未満 : 23% , 14 日以上 : 4% ,  $p<0.001$ ) , 抗菌薬の投与量に関しても 1 日投与量が少ない場合の死亡リスク因子は OR 3.7 (1.3-11.1,  $p=0.02$ ) だったとされている。しかし Kim ら<sup>20)</sup> の報告では不十分な治療を行っても、30 日間の死亡率とは関連がないとの結果もあり、さらに CRBSI の「up to date」には、CNS の菌血症についてはランダム化比較試験 (Randomized Controlled Trial : 以下 RCT) がないためカテ抜去後に発熱や菌血症が持続しなければ抗菌薬は投与しないと記載されており<sup>21)</sup>、

諸外国の見解が一致していない。

また、本邦では菅原ら<sup>22)</sup>の閉鎖式中心静脈カテーテルの交換頻度についてや、一戸ら<sup>23)</sup>の血流感染防止マニュアル作成前後での CRBSI 感染率のサーベイランスに関する報告など散見されるが、治療や菌血症再発といった予後についての報告は少ない。

米国感染症学会の「CRBSI の診断と治療に関するガイドライン<sup>4)</sup>」では、カテ抜去後に検出菌に感受性のある抗菌薬を適正期間投与することが推奨されている。一方、本邦においては、CRBSI の治療に関してのガイドラインは整備されておらず、臨床で経験的に治療がおこなわれているのが現状である。また、臨床現場における CRBSI 治療の現状は精査されておらず、CRBSI の再発に関する研究は十分に行われていない。

そこで、本章では、CRBSI 症例に関する検出菌および抗菌薬の適正使用状況を詳細に解析することで、CRBSI の適正な治療と CRBSI の再発防止の一助となることを目的とし以下を検討した。

- ・杏林大学医学部付属病院における CRBSI 症例について、検出された菌の状況および投与された抗菌薬についての調査。
- ・CRBSI 症例について、カテ抜去のみ群、検出菌に対し感受性のある抗菌薬が投与された群、感受性のない抗菌薬が投与された群の 3 群に分け、これら群間における、その後の菌血症再発率に差があるかの検討。
- ・検出菌に対し感受性のある抗菌薬が投与された群に関して、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* 以下 : MRSA) および MRSA 以外の菌が検出された症例に対して抗菌薬の投与状況について精査し、MRSA 菌血症の再発に係わる要因についての検討。

## 2. 方法

### 2. 1 期間と対照

杏林大学医学部附属病院において 2008 年 1 月 1 日から 2009 年 12 月 31 日までに血液培養（以下：血培）が陽性になった症例を対象とした。また，（表 1）に 2008 年時の杏林大学医学部附属病院の施設概要を示す。

表 1. 杏林大学医学部付属病院の概要および標榜診療科

杏林大学医学部付属病院の概要		杏林大学医学部付属病院の感染対策チームの概要		
許可病床数(床)	1153	職種	人数	資格等
外来患者数(人)(平成22年度統計)	2260	医師(ICD*)	2	専任 1 兼任 1
入院患者数(人)(平成22年度統計)	848	看護師(CNIC*)	3	専従 2 兼任 1
診療科		検査技師	2	専任 1 兼任 1
内科(診療科)	11	薬剤師	2	専任 1 兼任 1 専任:BCICPS* 兼任:BCPIC* 1
外科(診療科)	14	抗菌薬適正使用に関する介入の概要(月～金)		
内科・外科以外(診療科)	6	抗MRSA薬使用患者に対するラウンド		
中央診療部門(センター・室)	11	血液培養陽性患者の内, BCICPSが介入必要と判断した患者に対するラウンド		
中央診療部門(部・室)	9	ICD infection control doctor インфекションコントロールドクター		
職員数(平成23年4月1日現在)		CNIC Certified Nurse Infection Control 感染管理認定看護師		
医師(人)	310	BCICPS Board Certified Infection Control Pharmacy Specialist 感染制御専門薬剤師		
看護師(人)	1377	BCPIC Board Certified Pharmacist in Infection Control 感染制御認定薬剤師		
薬剤師(人)	46			

内科 呼吸器内科, リウマチ膠原病内科, 腎臓内科, 神経内科, 循環器内科, 血液内科  
消化器内科, 糖尿病・内分泌・代謝内科, 感染症科, 高齢診療科, 腫瘍内科

外科 消化器・一般外科, 呼吸器・甲状腺外科, 乳腺外科, 小児外科, 脳神経外科, 心臓血管外科, 整形外科, 形成外科・美容外科, 泌尿器科, 眼科(アイセンター)耳鼻咽喉科・頭頸科, 顎口腔外科, 産・婦人科, 救急科

内科・外科以外

精神神経科, 小児科, 皮膚科, 放射線科, 麻酔科(ペインクリニック)  
リハビリテーション科

中央部門(センター・室)

高度救命救急センター, 臓器・組織移植センター, 熱傷センター, 総合周産期母子医療センター, 腎・透析センター, 集中治療室, 健康医学センター, がんセンター, 脳卒中センター, もの忘れセンター, 造血細胞治療センター

中央部門(部・室)

病院病理部, 検査部, 手術部(中央・外来), 医療器材滅菌室, 臨床工学室  
放射線部, 内視鏡室, リハビリテーション室, 薬剤部

## 2. 2 対象の取り込み基準

血培採取と血培時における抗菌薬の投与および選択，カテ抜去について感染対策チーム（Infection Control Team：以下 ICT）の介入がなかった症例のうち，少なくとも1セットの血培陽性に加え，下記基準のいずれかに合致した場合を対象とした。

- ①血培の前後1日以内に抜去されたカテ先端培養から血培と同一菌が分離された場合
- ②別の1セット以上の血培からも同一菌が分離され，肺炎など他の感染症を除外できた場合

また①，②については当院の ICT 医師と臨床的な判断を加味して CRBSI を判断した。

## 2. 3 検討方法

カテ抜去のみの群（以下，カテ抜去群），分離菌に対し感受性のある抗菌薬が投与された群（Susceptibility：以下，S 群），および感受性のない抗菌薬が投与された群（Resistance：以下，R 群）の3群に分け，これらの群間において，その後の菌血症再発率（各群の再発症例数/各群の全症例数）に差があるかについて検討した。

## 2. 4 感受性試験の方法

細菌の同定及び感受性試験は BD-Phoenix™100（日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）PMIC/ID-74 パネルを用いた。

## 2. 5 用語の定義

<再発>

1 回目の血培から菌が分離された後，カテ抜去や抗菌薬が開始され解熱など全身状態の改善を認め開始した抗菌薬が中止となったが，その後に同一入院期間中に採取した血培から，再度 1 回目の血培と感受性が同一の菌が分離された場合を再発とした。ただし，抗菌薬投与中に死亡，または改善が認められる前に退院した場合は除外した。

<同一菌>

血培で分離された分離菌の感受性結果が同じ場合を同一菌とした。なお感受性は米国臨床検査標準協議会（Clinical and Laboratory Standards Institute：以下 CLSI）に準拠した。



#### <感受性のある抗菌薬>

分離菌の感受性結果にて、感性（Susceptibility）の抗菌薬が投与された場合を感受性のある抗菌薬とした。なお感受性は CLSI に準拠した。

#### <感受性のない抗菌薬>

分離菌の感受性結果にて、耐性（Resistance）の抗菌薬が投与された場合を感受性のない抗菌薬とした。なお感受性は CLSI に準拠した。

## 2. 6 データの収集

当院 ICT による血液培養陽性者ラウンド記録と富士通オーダーリングシステムより以下の項目について後方視的に抽出した。

- 1) 調査期間中の患者の血培時の体温、および直近の WBC, CRP, 及び栄養状態の指標としての体重
- 2) 血培からの検出菌とその菌の感受性.
- 3) 投与された抗菌薬の用法・用量と投与期間.

血中濃度を測定できない抗 MRSA 薬以外の抗菌薬の投与量比較には、各抗菌薬の力価が異なるため、1 日投与量に投与日数を乗じた総投与量を世界保健機関（World Health Organization : WHO）が提唱する defined daily dose（以下、DDD）で除した値を総投与量/DDD として比較の指標とした（表 2）。

表 2. 投与された各抗菌薬の DDD

抗菌薬	DDD(g/日)
シプロフロキサシン	0.5
スルバクタム/アンピシリン	2
セファゾリン	3
セフェピム	2
セフォゾプラン	4
セフォタックス	4
セフォチアム	4
セフトジジム	4
セフトリアキソン	2
セフメタゾール	4
タゾバクタム/ピペラシリン	14
ドリペネム	1.5
ビアペネム	1.2
ピペラシリン	14
ホスフルコナゾール	0.2
ポリコナゾール	0.4
ミカファンギン	0.1
メロペネム	2
L - アムホテリシンB	0.035

4) バンコマイシン (VCM) およびテイコプラニン (TEIC) 血中濃度.

VCM, TEIC 共に投与初日を第 1 日とし, 原則として投与開始 3~4 日目 (投与開始 48 ~98 時間後) の投与開始直前に採血したポイントをトラフ値とした. 測定は当院薬剤部にて実施した. TDxFLx アナライザー (アボットジャパン株式会社) を使用し, 測定試薬には蛍光偏光免疫測定法 (FPIA 法) を用いた TDx™-バンコマイシン「アボット」 (アボットジャパン株式会社) およびタゴシッド TDM キット (免疫生物研究所) により測定した.

2. 7 統計解析

各群間において記述統計を行い, その結果をふまえ各群の患者背景の比較には Steel-Dwass 法を用い, 各群の再発率の比較には  $\chi^2$  検定, 各群の投与日数の比較には Mann-Whitney の U 検定を用いて推測統計した.

## 2. 8 倫理上の配慮

本研究は、杏林大学医学部臨床疫学研究審査委員会の承認（H24-148）および国際医療福祉大学倫理審査委員会の承認（12-257）を受けた。

### 3. 結果

対象の取り込み基準に合致した 293 症例を、カテ抜去群 30 症例, R 群 93 症例, S 群 170 症例に分けた. 全 293 症例および, 3 群間での検討結果を以下に述べる.

#### 3. 1. 全症例における解析

##### 1) 全症例における患者背景

全 293 症例において, 年齢 71.0 (60.0-80.0) 歳, 体重 51.0 (49.3-52.5) kg, 男女比は 180 : 113 であった (表 3).

表 3. 各群における患者背景

	症例数	年齢(歳)	体重 ( kg )	男	女
全体	293	71.0 ( 60.0-80.0 )	51.0 ( 49.3-52.5 )	180	113
カテ抜去群	30	70.0 ( 47.0-76.8 )	47.5 (40.0-57.4)	17	13
R群	93	71.0 (62.0-82.0)	54.0 (43.4-61.7)	59	34
S群	170	73.0 (59.3-80.0)	51.0 (43.6-62.0)	104	66

Median(IQR) Steel-Dwass test

また、CRP、WBC と体温は、それぞれ 5.0 (2.1-10.0) mg/dL, 8.3 (5.3-11.6) ×10<sup>3</sup>/μL, 39.0 (38.3-39.6) °Cであった (表 4).

表 4. 各群における血培時の臨床検査値と体温

	CRP (mg/dL)	WBC (×10 <sup>3</sup> /μL)	BT (°C)
全体	5.0 (2.1-10.0)	8.3 (5.3-11.6)	39.0 (38.3-39.6)
カテ抜去群	2.8 (1.6-4.9)	6.1 (4.7-8.3)	38.7 (37.9-38.9)
R群	4.6 (1.7-8.9) **	8.5 (5.2-11.4) **	38.9 (38.3-39.4) *
S群	6.1 (2.7-11.2)	8.6 (6.3-12.5)	39.2 (38.5-39.8)

Median (IQR)    Mann-Whitney U-test    \* p<0.05    \*\* p<0.05

2) 全症例における検出菌の割合

図 1 に全体の検出菌の割合を示す。

グラム染色性で分類すると陽性球菌が61%と半数以上を占めており、次に陰性桿菌26.2%、次いで陽性桿菌3.1%およびCandida属9.5%であった。

菌(種)別に分類するとMRSA13.3%、Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus (以下:MSSA)5.1%、メチシリン耐性表皮ブドウ球菌(Methicillin-resistant coagulase negative staphylococci 以下:MRCNS)30.7%、メチシリン感受性表皮ブドウ球菌6.5%、Enterococcus faecalis4.1%、Enterococcus faecium0.7%、Enterococcus属0.7%、Bacillus ssp2.4%、Corynebacterium gram positive Rod0.7%、glucose-nonfermentative gram negative rods7.8%、Enterobacteriaceae属18.4%、Candida albicans6.1%、non-albicans Candida3.4%であった。

抗 MRSA 薬にのみ感受性を示す MRSA, MRCNS, *E.faecium* の割合は全体で 45.4%.

と約半数を占めた.

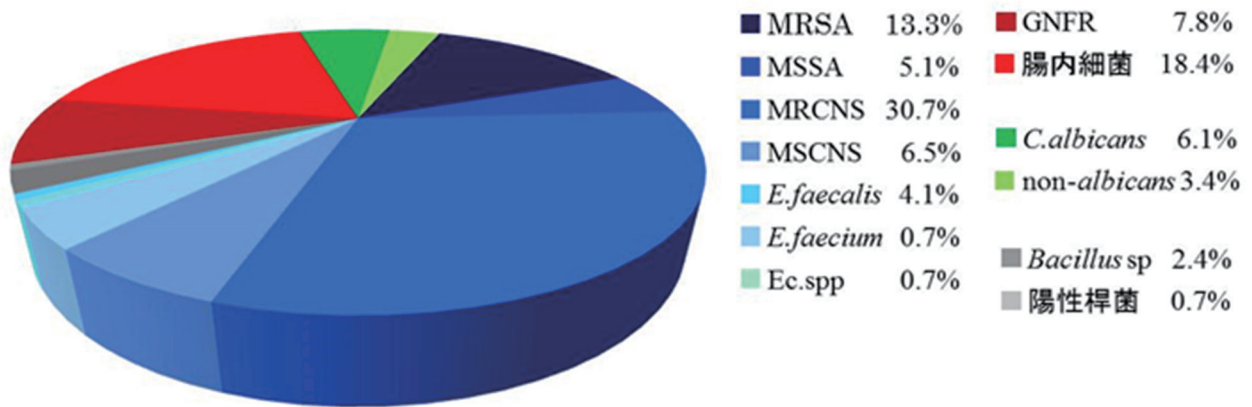


図 1. 全体の検出菌の割合

MRSA : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

MSSA : Methicillin- sensitive *Staphylococcus aureus*

MRCNS : Methicillin-resistant coagulase negative Staphylococci

MSCNS : Methicillin- sensitive coagulase negative Staphylococci

*E.faecalis* : *Enterococcus.faecalis*

*E.faecium* : *Enterococcus.faecium*

*Ec spp* : *Enterococcus* species

GNFR : glucose-nonfermentative gram negative rods

*C. albican* : *Candida albicans*

non-*albicans* : non-*albicans Candida*

*Bacillus* sp : *Bacillus* species

### 3. 2. 群別における解析

#### 1) 群別解析における各群の患者背景

カテ抜去群において、それぞれ 70.0 (47.0-76.8) 歳, 47.5 (40.0-57.4) kg, 男女比は 17 : 13 であった. R 群においては、71.0 (62.0-82.0) 歳, 54.0 (43.4-61.7) kg, 男女比は 59 : 34, S 群においては、73.0 (59.3-80.0) 歳, 51.0 (43.6-62.0) kg, 男 : 女 = 104 : 66 であり、各群間では全項目において有意差はなかった (表 3).

各群の CRP, WBC と体温はカテ抜去群で, それぞれ 2.8 (1.6-4.9) mg/dL, 6.1 (4.7-8.3)  $\times 10^3/\mu\text{L}$ , 38.7 (37.9-38.9) °C, R 群では 4.6 (1.7-8.9) mg/dL, 8.5 (5.2-11.4)  $\times 10^3/\mu\text{L}$ , 38.9 (38.3-39.4) °C, S 群では 6.1 (2.7-11.2) mg/dL, 8.6 (6.3-12.5)  $\times 10^3/\mu\text{L}$ , 39.2 (38.5-39.8) °C であった.

R 群と S 群では, カテ抜去群に比して血培時の CRP, WBC が共に有意に高値であった. また, 体温についてはカテ抜去群と R 群において R 群が有意に高値であった (表 4).

## 2) 群別解析における各群の検出菌の割合

図 2 に各群の検出菌の割合を示す.

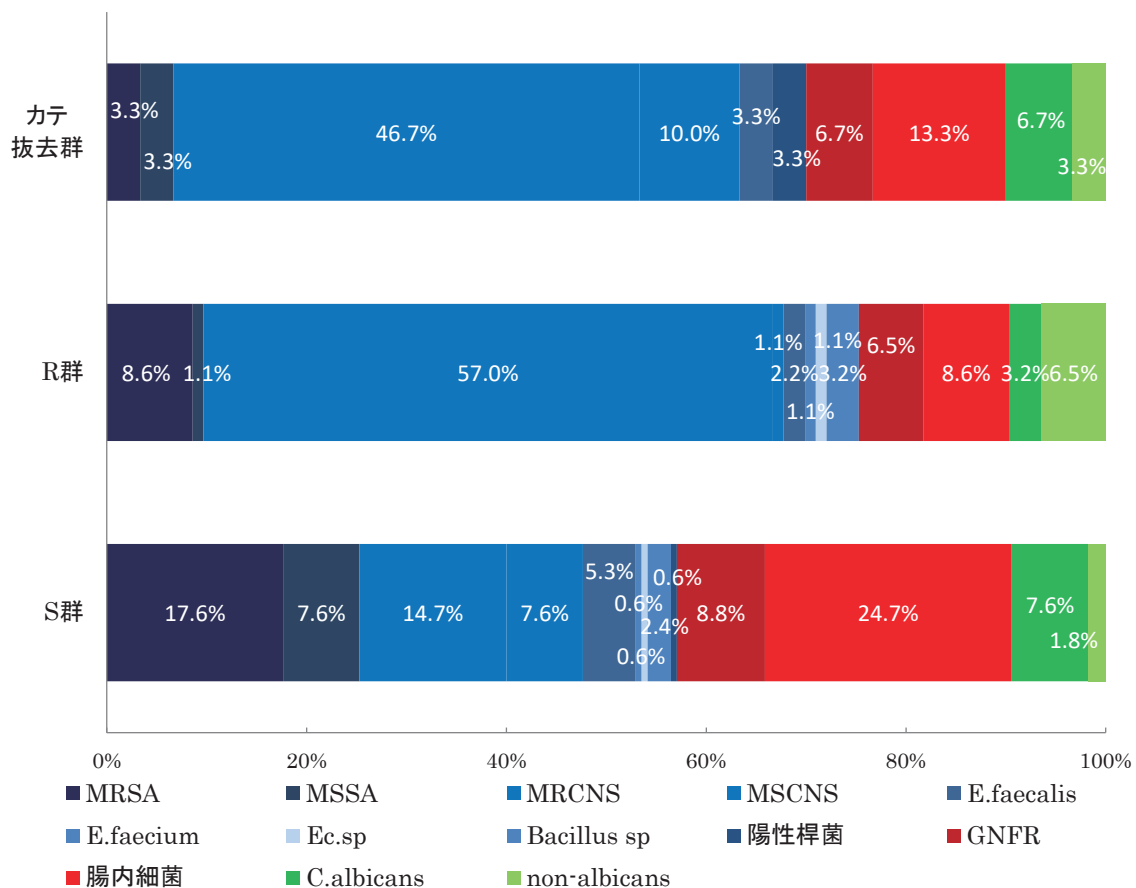


図 2. 群別解析における各群の検出菌の割合

グラム染色性で分類すると、各群において陽性球菌が約 60%を占め以下、全体での検出菌の割合とほぼ同様の割合を示した。

菌（種）別に分類しても、各群での検出菌の割合は全体でみた検出菌の割合と、ほぼ同様の傾向を示した。

### 3) R 群における検出菌と投与された抗菌薬の種類を検討

表 5 に、R 群において検出菌に対して、投与された抗菌薬を系統名で示す。

本来、下記に示した抗菌薬は検出菌に対して耐性を示すため、感受性検査結果が判明後に感性を示す抗菌薬に変更されるべき抗菌薬であるが、継続投与となっていた抗菌薬である。

**表 5. R 群における検出菌と投与された抗菌薬の種類を検討**

検出菌（種）	抗菌薬（系統）	薬剤数	検出菌（種）	抗菌薬（系統）	薬剤数
MRSA	カルバペネム系	2	<i>Bacillus</i> 属	ペニシリン系	2
	ペニシリン系	3		セフェム系	1
	セフェム系	2			
	ニューキノロン系	1			
MRCNS	セフェム系	27	陰性桿菌	セフェム系	8
	ペニシリン系	10		ペニシリン系	3
	カルバペネム系	9		カルバペネム系	2
	ニューキノロン系	5		グリコペプチド系	1
	アミノグリコシド系	1			
	抗真菌薬	1			
	βラクタム系52/61剤 (85%)		検出菌（種）	抗菌薬（系統）	薬剤数
			<i>Candida</i> 属	カルバペネム系	3
MSSA	カルバペネム系	1		抗MRSA薬	3
MSCNS	ペニシリン系	1		抗真菌薬	1
				リンコマイシン系	1
				セフェム系	1
腸球菌属	セフェム系	2			
	カルバペネム系	1			
	ST合剤	1			



検出された陽性球菌の中で MRSA と MRCNS に対し感受性を示さないピバペネムを含むカルバペネム系抗菌薬が 11 症例，ペニシリン系抗菌薬 13 症例，セフェム系抗菌薬 29 症例，パズフロキサシンを含むニューキノロン系 6 症例，アミノグリコシド系抗菌薬のアミカシン 1 症例および抗真菌薬のフルコナゾール 1 症例であった。また， $\beta$ ラクタム系抗菌薬が 61 症例中 52 症例（85.0%）に投与されていた。また腸球菌属に対しては，自然耐性のため感受性を示さないセフェム系抗菌薬（スルバクタム/セフォペラゾン，セファゾリン）および ST 合剤が各 1 症例ずつ投与され，さらに基準に用いた CLSI カテゴリーのないカルバペネム系抗菌薬のメロペネムが 1 症例に投与されていた。

陽性桿菌の *Bacillus* 属に対してはペニシリン系抗菌薬 2 症例およびセフェム系抗菌薬のセフトリアキソン 1 症例が投与されていた。

陰性桿菌に対してはセフェム系抗菌薬 8 症例，ペニシリン系抗菌薬 3 症例，カルバペネム系抗菌薬 2 症例およびグリコペプチド系抗 MRSA 抗菌薬のテイコプラニン 1 症例が投与されていた。

*Candida* 属に対しては，カルバペネム系抗菌薬 3 症例，抗 MRSA 薬 3 症例，抗真菌薬のフルコナゾール 1 症例，リンコマイシン系抗菌薬のクリンダマイシン 1 症例およびセフェム系抗菌薬のセフォチアム 1 症例が投与されていた。

#### 4) 群別解析における 3 群間での CRBSI 再発率の比較

図 3 に，3 群間における再発率の比較を示す。カテ抜去群での再発率は 36.7%（11 症例/30 症例），R 群では 24.7%（23 症例/93 症例）および S 群では 14.1%（24 症例/170 症例）であった。

S 群と比して R 群の再発率は有意に高く相対危険度（Relative Risk：以下 RR），1.8; 95% 信頼区間（Confidence interval：以下 CI），1.03-2.93;  $p=0.031$ ），S 群と比しカテ抜去群でも再発率は有意に高かった。（RR, 2.6; 95% CI, 1.43-4.73;  $p=0.004$ ）。

また再発までの期間（平均）はカテ抜去群で 18.0 日，R 群で 24.9 日，S 群で 34.2 日であったが，3 群間には有意差はなかった。

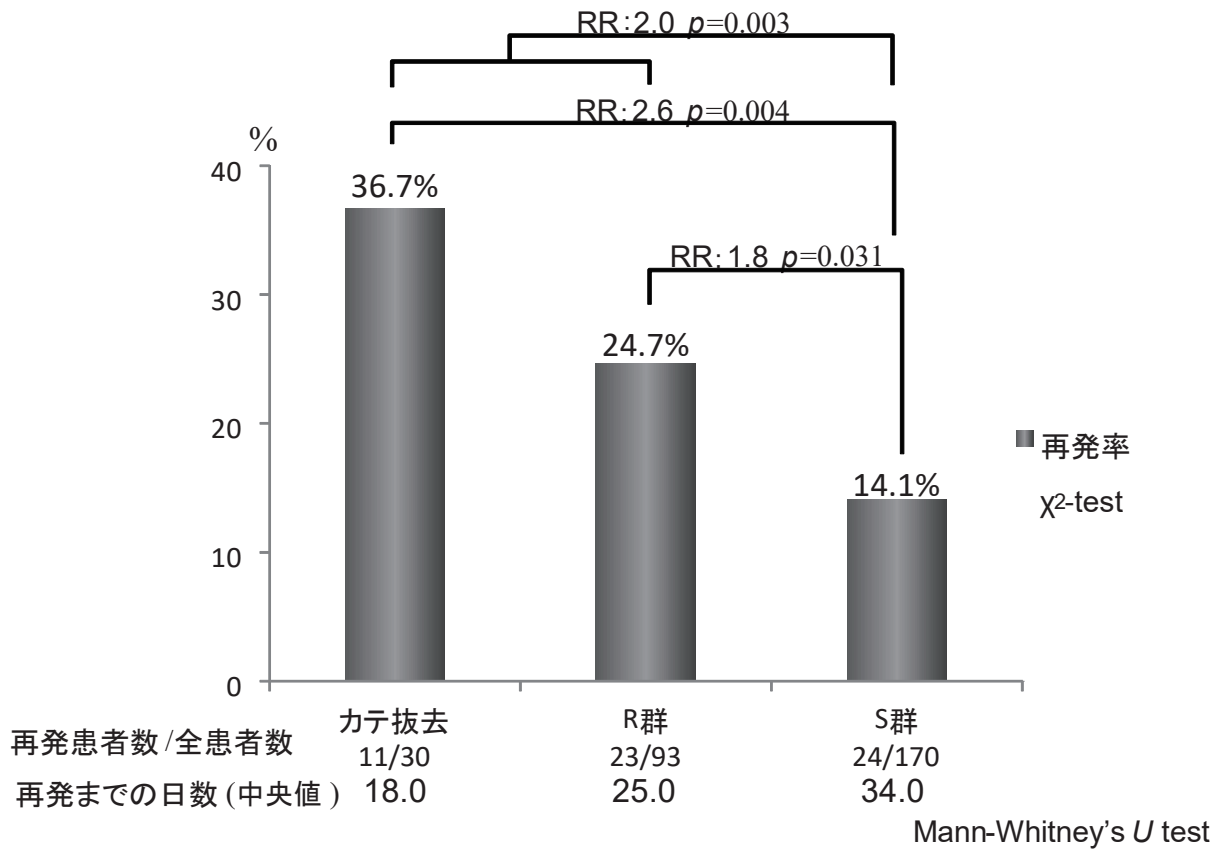


図 3. 3 群間における再発率の比較

### 3. 3. S群における再発要因の検討

#### 1) 全 MRSA 検出例

再発あり 6 症例，再発なし 24 症例を比較した結果，年齢，投与期間は，再発あり群において 76.5 (66.3-77.0) 歳および 8.0 (5.0-8.0) 日，再発なし群において，76.0 (71.2-79.5) 歳，8.5 (6.0-10.8) 日であった。投与期間が 14 日未満と 14 日以上の比較においては，再発あり群で 6 症例 vs 0 症例，再発なし群において，20 症例 vs 4 症例であった。どの項目についても有意差はなかったが，再発した症例はすべて 14 日未満の症例であった (表 6)。

表 6. 全 MRSA 症例についての検討

	症例数	年齢(歳)	投与期間(日)	14日未満 vs 14日以上(例)
再発あり	6	76.5 (66.3-77.0)	8.0 (5.0-8.0)	6 vs 0
再発なし	24	76.0 (71.2-79.5)	8.5 (6.0-10.8)	20 vs 4
<i>p</i> value		0.62	0.09	—

Median(IQR) Mann-Whitney *U*-test

2) MRSA に対して VCM が投与された症例

再発あり 3 症例，再発なし 14 症例を比較した結果，年齢，投与期間，血中濃度，投与期間が 14 日未満と 14 以上の検討は，再発あり群において 63.0 (56.0-72.5) 歳，4.0 (2.5-6.0) 日，11.5 (11.3-11.7)  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，3 症例 vs 0 症例．再発なし群においては，それぞれ 77.0 (73.5-79.5) 歳，8.5 (6.5-10.0) 日，17.7 (8.3-22.2)  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，13 症例 vs 1 症例であった．年齢と投与期間，血中濃度に関しては有意差はなかったが投与期間については再発なしと再発ありを比して，約 2 倍再発なしが長期間および高い血中濃度であった．また，再発した症例はすべて 14 日未満の症例であった (表 7)．

表 7. MRSA に対して VCM が投与された症例についての検討

	症例数	年齢(歳)	投与期間(日)	血中濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	14日未満 vs 14日以上(例)
再発あり	2	73.0	13.0	38.5	2 vs 0
再発なし	8	67.0 (57.0-85.0)	11.0 (3.0-15.5)	17.4 (10.3-18.9)	6 vs 2
<i>p</i> value		0.41	0.52	0.51	—

Median(IQR) Mann-Whitney *U*-test

### 3) MRSA に対して TEIC が投与された症例

再発あり 2 症例, 再発なし 8 症例を比較した結果, 年齢, 投与期間, 血中濃度, 投与期間が 14 日未満と 14 以上の検討は, 再発あり群において 76.5 歳, 9.0 日, 36.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 2 症例 vs 0 症例. 再発なし群においては, それぞれ 75.0 (68.0-77.0) 歳, 8.0 (6.5-12.8) 日, 11.6 (6.6-14.0)  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 6 症例 vs 2 症例であった. 年齢と投与期間, 血中濃度に関しては有意差はなかった. また, 再発した症例はすべて 14 日未満の症例であった (表 8).

**表 8. MRSA に対して TEIC が投与された症例についての検討**

	症例数	年齢(歳)	投与期間(日)	血中濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	14日未満 vs 14日以上(例)
再発あり	2	73.0	13.0	38.5	2 vs 0
再発なし	8	67.0 (57.0-85.0)	11.0 (3.0-15.5)	17.4 (10.3-18.9)	6 vs 2
<i>p</i> value		0.41	0.52	0.51	—

\_\_\_\_\_
 Median(IQR)    Mann-Whitney *U*-test

4) TEIC 投与全症例

再発あり 5 症例, 再発なし 21 症例を比較した結果, 年齢, 投与期間, 血中濃度の検討は, 再発あり群において 76.0 (69.0-76.0) 歳, 10.0 (8.0-10.0) 日, 11.2 (9.5-14.0) µg/mL. 再発なし群においては, それぞれ 75.0 (58.0-82.0) 歳, 11.0 (7.0-18.0) 日, 11.6 (8.5-17.1) µg/mL であった. 年齢と投与期間, 血中濃度に関しては有意差はなかった (表 9).

表 9. TEIC 投与全症例に対する検討

	症例数	年齢(歳)	投与期間(日)	血中濃度 (µg/mL )
再発あり	5	76.0 (69.0-76.0)	10.0 (8.0-10.0)	11.2 (9.5-14.0)
再発なし	21	75.0 (58.0-82.0)	11.0 (7.0-18.0)	11.6 (8.5-17.1)
<i>p</i> value		0.62	0.59	0.69

Median(IQR) Mann-Whitney *U*-test

5) MRSA 以外のブドウ球菌検出例

再発あり 5 症例，再発なし 46 症例を比較した結果，年齢，投与期間，総投与量/DDD の検討は，再発あり群において 66.0 (43.0-69.0) 歳，10.0 (6.0-12.0) 日，7.2 (6.1-11.2)．再発なし群においては，それぞれ 67.5 (56.0-76.0) 歳，7.5 (5.0-11.0) 日，8.8 (7.1-14.2) であった．年齢と投与期間，総投与量/DDD に関して有意差はなかった (表 10)．

表 10. MRSA 以外のブドウ球菌のについての検討

	症例数	年齢(歳)	投与期間(日)	総投与量/DDD
再発あり	5	66.0 (43.0-69.0)	10.0 (6.0-12.0)	7.2 (6.1-11.2)
再発なし	46	67.5 (56.0-76.0)	7.5 (5.0-11.0)	8.8 (7.1-14.2)
<i>p</i> value		0.35	0.91	0.65
		Median(IQR)	Mann-Whitney <i>U</i> -test	

6) 腸球菌検出例

再発あり 2 症例, 再発なし 7 症例を比較した結果, 年齢, 投与期間, 総投与量/DDD の検討は, 再発あり群において 73.0 歳, 13.0 日, 12.0. 再発なし群においては, それぞれ 67.0 (57.0-85.0) 歳, 11.0 (3.0-15.5) 日, 7.8 (6.3-12.4) であった. 年齢と投与期間, 総投与量/DDD に関して有意差はなかった (表 11).

表 11. 腸球菌についての検討

	症例数	年齢(歳)	投与期間(日)	総投与量/DDD
再発あり	2	73.0	13.0	12.0
再発なし	7	67.0 (57.0-85.0)	11.0 (3.0-15.5)	7.8 (6.3-12.4)
<i>p</i> value		0.62	0.12	0.62

Median(IQR) Mann-Whitney *U*-test



7) 陰性桿菌検出例

再発あり群 8 症例，再発なし群 47 症例を比較した．年齢，投与期間，総投与量/DDD の検討は，再発あり群において 54.5 (43.8-66.8) 歳，7.0 (4.0-9.0) 日，6.9 (5.8-12.2) であり，再発なし群においては，それぞれ 75.5 (57.3-82.0) 歳，8.2 (5.0-11.0) 日，6.8 (5.1-11.2) であった．どの項目についても有意差はなかった．(表 12)．

表 12. 陰性桿菌についての検討

	症例数	年齢(歳)	投与期間(日)	総投与量/DDD
再発あり	8	54.5 (43.8-66.8)	7.0 (4.0-9.0)	6.9 (5.8-12.2)
再発なし	47	75.5 (57.3-82.0)	8.2 (5.0-11.0)	6.8 (5.1-11.2)
<i>p</i> value		0.45	0.45	0.97

Median(IQR) Mann-Whitney *U*-test

8) Candida 属検出例

再発あり 3 症例，再発なし 13 症例を比較した．年齢，投与期間，総投与量/DDD の検討は，再発あり群において 86.0 (84.0-89.5) 歳，4.0 (3.0-7.5) 日，5.2 (5.0-5.8)．再発なし群においては，それぞれ 73.0 (59.0-80.0) 歳，9.0 (4.0-14.0) 日，2.5 (2.1-16.2) であった．年齢に関して再発ありが，再発なしに比して有意に高齢 ( $p=0.04$ ) であった．また，投与期間については再発なしが，再発ありに比して約 2 倍長期間であり，総投与量/DDD については約 1/2 であったがいずれも有意差はなかった (表 13)．

表 13. Candida 属についての検討

	症例数	年齢(歳)	投与期間(日)	総投与量/DDD
再発あり	3	86.0 (84.0-89.5)	4.0 (3.0-7.5)	5.2 (5.0-5.8)
再発なし	13	73.0 (59.0-80.0)	9.0 (4.0-14.0)	2.5 (2.1-16.2)
<i>p</i> value		0.04	0.28	0.72
			Median(IQR)	Mann-Whitney <i>U</i> -test

#### 4. 考察

本章において、CRBSI における抗菌薬適正使用について検討した。患者が発熱を呈し CRBSI を疑い血培採取後は、可及的速やかに検出される菌を想定した抗菌薬の投与が死亡率を下げると報告<sup>24)</sup>されており、検出される菌の割合を知ることは予後を左右する要因である。当院における調査期間中の血培からの検出菌の割合は、全体の中で陽性球菌が 61.1% を占め、またメチシリン耐性ブドウ球菌の検出される割合は全体の中で 44.7%であった。厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業（Japan Nosocomial Infections Surveillance : 以下 JANIS）2010 年（1~12 月）における血液検体分離菌報告<sup>25)</sup>では陽性球菌の割合は 37.4%、メチシリン耐性ブドウ球菌の検出される割合は 23.3%と報告されている。

研究対象施設において、陽性球菌およびメチシリン耐性ブドウ球菌の検出される割合が高く、検出菌の分離同定や感受性結果を待たずして最大限に効果を示す可能性がある抗菌薬として抗 MRSA 薬の投与は必須と考えられる。

さらに検出菌が分離同定され感受性結果が得られれば、この結果に基づき抗菌薬を変更することも予後の改善につながるとされている<sup>26)</sup>。本研究においては、感受性を示さない抗菌薬が投与された群の中で、メチシリン耐性ブドウ球菌が検出された 61 症例に対し、感受性を示さないβラクタム系抗菌薬が投与されていた症例が 52 症例（85%）あり、CRBSI に対する抗菌薬の適正使用として、まず抗 MRSA 薬投与の重要性を啓発する必要があると考えられる。

本研究から、検出菌に対して感受性のある抗菌薬を投与することが、その後の菌血症再発率を有意に低下させ、感受性のない抗菌薬を投与されることにより菌血症再発のリスクは 1.8 倍高くなることが示された。また臨床においては、カテ抜去のみで解熱が見られるなど全身状態の改善が見られれば抗菌薬を投与せず経過観察される症例も見受けられるが、感受性のある抗菌薬を投与された群とカテ抜去のみの群を比較すると、菌血症再発のリスクはカテ抜去のみを行った群が 2.6 倍高く、感受性のある抗菌薬が投与される必要があるこ

とが示唆された。

さらに Jensen ら<sup>19)</sup> は、感染部位が挿入されているカテなどの場合、感染部位を除去しないことが死亡のリスク因子であると報告しており、このことからカテ抜去に加えて感受性のある抗菌薬の投与が必要と考えられる。

さらに本研究において感受性のある抗菌薬が投与されたにもかかわらず、菌血症の再発を認めた症例があり、この要因についても検討した。

投与期間と投与量および抗 MRSA 薬については投与量と相関する血中濃度について調査を行ったがこれらの違いが再発に影響を及ぼすかを明らかにすることはできなかった。しかしながら、MRSA 検出例において、再発した症例の抗菌薬投与期間は全て 14 日未満であり、またグラム陰性桿菌と Candida 属において投与期間が長いことが再発抑止につながる可能性があると考えられる。この結果は Jensen らの報告<sup>19)</sup> によるカテ抜去に加え、十分な期間の抗菌薬投与が死亡リスクを下げるとする結論と同様であり、今後は開始した抗菌薬をいつまで投与すべきかを提言することが、菌血症再発防止に寄与するものと考えられる。

さらに、投与量については、MRSA が検出され TEIC が投与された症例において再発した症例の平均 TEIC 血中濃度が高かったが、これは 1 症例が、低体重の高齢者で腎不全患者も有していた症例に対して TEIC が過量投与されたため、血中濃度が治療域を大きく超えた症例が影響していると考えられる。MRSA に対する VCM 投与症例での検討においては、VCM の十分な血中濃度が菌血症再発防止に寄与できると考えられた。また MRSA の治療には十分量での治療が必要であることは、PK-PD を考慮した抗菌薬投与が治療失敗の低下や入院期間短縮が可能とする Scaglione らの報告<sup>27)</sup> から明らかであり、投与期間に加え血中濃度を規定する投与量についても重要である。

Ammerlaan ら<sup>28)</sup> は MRSA による菌血症のリスクは高い死亡率につながると報告している。今回の検討では様々な理由でカテ抜去を行わなかったが、臨床的に CRBSI と判断さ

れた症例も対象として検討した。Jensen らの報告<sup>19)</sup>からもカテ抜去の重要性は明らかであり、今回の研究ではカテ抜去の有無による解析は行うことができなかったが、可能な限りカテを抜去することを推奨すると共に、感受性のある抗菌薬を十分量、十分な期間の投与が推奨されていること<sup>4)</sup>を今後の院内での CRBSI に対する抗菌薬適正使用として推奨していく必要があると考えられた。

本研究には以下の研究の限界が存在する。まず、後ろ向き研究でありランダム化されていない。また、S 群における再発要因の検討の中では症例数が少ないにもかかわらず統計解析を行った。加えて、本調査では、菌血症の再発を調査する期間を同一入院期間中と設定したが、退院後に別施設に菌血症にて加療を受けていた場合においては追跡できておらず、この点において、さらに検討を加える必要が考えられる。

これらの研究の限界を踏まえ今後の展望として本研究結果をもとに、日常業務において研究対象施設における抗菌薬の適正使用が促進され、菌血症再発症例が減少することに寄与できると考える。さらに、十分量の抗菌薬を投与することで生じる副作用の頻度を含めた適正使用に加え、カテ挿入時と挿入中の刺入部管理などを含めたサーベイランスも行い、カテ挿入中の患者に対する安全な管理を検討することを加え CRBSI の減少につながるよう活動を続けていきたい。

本研究では、CRBSI における抗菌薬の適正使用がその後の菌血症再発率を低下させることを明らかにした研究であり、結論として以下が挙げられる。

①CRBSI において、検出される頻度が高い菌種は陽性球菌であり、それらの感受性を考慮すれば抗 MRSA 薬の投与が必要と考えられる。

②CRBSI において、感受性のある抗菌薬投与が再発率を下げる。

抗 MRSA 薬の投与については推奨される投与期間に加え、有効血中濃度での治療が望まれる。

③抗 MRSA 薬の投与期間は 14 日間以上で再発を抑止できる可能性がある。

## 2章 LZD に起因する血小板減少の基礎的メカニズムの解明

### 1. 背景および目的

オキサゾリジノン系抗菌薬である LZD は、バンコマイシン耐性腸球菌（vancomycin resistant enterococci : 以下 VRE）および MRSA に対して高い効果を示す。

MRSA 感染症の治療ガイドライン改訂版 2019<sup>29)</sup> において、第一選択薬は VCM であるが、VCM による有害事象が生じる場合には、第二選択薬である LZD が推奨されている。

LZD は、リボソーム 50S サブユニットに結合し、70S 開始複合体の形成を阻害する<sup>30)</sup>。この特徴的な作用機序のために LZD は既存の抗菌薬との交差耐性を示さないと考えられる。さらに、LZD は、分布容積が大きく、血流の乏しい組織（例えば、気管支肺胞洗浄液、炎症性流体、骨、脂肪、筋肉、および脳脊髄液）への組織移行も良く、治療効果を期待することができるため、深部感染症治療の選択肢となる<sup>31-34)</sup>。さらに、LZD のバイオアベイラビリティは約 100%であり<sup>35)</sup>、静脈内投与から経口投与への切替えだけでなく、腎機能が低下した患者や腎代替療法施行中の患者においても同量を投与することが可能とされている<sup>36)</sup>。

これらの特徴は、LZD の長所として挙げられているが、短所としては作用が静菌的であり、血小板減少、ヘモグロビン、ヘマトクリット等の低下だけでなく汎血球減少が生じる場合があり、さらに胃腸障害や味覚異常や舌の変色、視神経症といった有害事象を引き起こすことがインタビューフォームにも記載<sup>36)</sup>されている。

この中でも、血小板減少症の発生率は特に高く（7.4～64.7%）<sup>37-42)</sup>、この症状は病態として出血傾向となる感染症をさらに増悪させることになり LZD による投与中止につながる可能性がある<sup>43,44)</sup>。

臨床試験においては、LZD 誘発性血小板減少症は、28 日間を超えて投与した場合に生じると報告されているが、最近では LZD の投与期間は 14 日以上でも生じることが報告されている<sup>45,46)</sup>。また腎排泄型薬物ではないにも関わらず、腎機能障害を有する患者において

は LZD の消失遅延が生じるとされ<sup>39,40,47</sup>，さらに多変量解析において慢性肝疾患患者は肝疾患を有さない患者と比較して 2.05 倍の血小板減少のリスクになることが報告されている<sup>48,49</sup>。

血小板減少症の主な要因は，血小板の消費／破壊の亢進または血小板産生の減少という 2 つのメカニズムに分類されると考えられる。例えば，ゲムシタビン，シスプラチン，カルボプラチンなどの抗がん薬は，骨髄抑制により血小板の産生を減少させる<sup>50</sup>。一方，ヘパリンやキニーネは血小板減少症を引き起こすことが知られているが，このメカニズムは血小板の破壊亢進によることが報告されている<sup>51,52</sup>。また，ヘパリン起因性血小板減少症（Heparin-Induced Thrombocytopenia：以下 HIT）が知られているが，この成因は，ヘパリンが血小板と結合して形成される複合体と，これに対する抗体による自己免疫反応により生じるとされている。

LZD が血小板に対する抗体産生に関わる免疫反応を引き起こすことを示した報告はほとんどなく，血小板減少症が HIT のような機序で起こることは考えにくい<sup>53</sup>。

また LZD は骨髄抑制を引き起こすことが知られているが，汎血球減少症よりも血小板減少症が生じることが多いため，造血幹細胞から前駆細胞への分化過程に影響するのではなく，その下流の分化過程である前巨核球から巨核球さらに血小板へと分化する過程への影響が考えられる。LZD 誘発性血小板減少症が発症する詳細な要因は不明であるが，血小板減少は血小板の消費／破壊または産生に影響を及ぼすことにより血小板減少を引き起こす可能性があることから，本研究では，LZD 誘発性血小板減少のメカニズムを明らかにするため，LZD による血小板の消費／破壊と産生に及ぼす影響について精査した。本章ではラット多血小板血漿（platelet-rich plasma：以下 PRP）を用いて直接的に血小板への細胞傷害性を定量し，さらに LZD による血小板産生への影響をヒト赤白血球系／巨核球系株化細胞を用いて検討した。

## 2. 材料および方法

### 2.1 材料

LZD, メナジオン (menadione : 以下 MEN), およびホルボール 12-ミリステート 13-アセテート (phorbol 12-myristate 13-acetate : 以下 PMA) は Sigma 社 (セントルイス, ミズーリ州, 米国) から, パノビノスタット (panobinostat : 以下 PAN) は LC ラボ (マサチューセッツ州ウォーバーン, 米国) から購入した. ポリクローナルウサギ抗ミオシン軽鎖 2 (Polyclonal rabbit anti-myosin light chain 2 : 以下 MLC2), ポリクローナルウサギ抗リン酸化 MLC2, およびヤギ抗ウサギ免疫グロブリン G (immunoglobulin G : 以下 IgG), 西洋ワサビペルオキシダーゼ (horseradish peroxidase : HRP) 結合抗体は, Cell Signaling Technology (Danvers, MA, U.S.A.) から購入した. 細胞毒性検出キットおよびセルカウティングキット-8 (Cell Counting Kit-8 : 以下 CCK-8) は, それぞれ Roche Diagnostic Corp (スイス, バーゼル) および (株) 同仁化学研究所 (熊本, 日本), から購入した. ISOGEN は (株) ニッポンジーン (東京, 日本) から購入した. 高容量 cDNA 合成キットと PowerSYBR Green PCR Master Mix は, Applied Biosystems (Waltham, MA, U.S.A.) から購入した. Pierce BCA Protein Assay キットとプライマーは, Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, U.S.A.) から購入した. 他の試薬は, 市販されている特級試薬を用いた.

### 2.2 実験動物

8 週齢の Wistar - ST 系雄性ラットを日本エスエルシー (浜松, 日本) から購入した. ラットは, 飼料および水を自由摂取下, 12 時間毎に暗/明所の条件で 1 週間の予備飼育後に用いた. 本研究は, 国際医療福祉大学の実験動物管理使用委員会によって承認を得た. (平成 26 年 14106)



### 2.3 ラット多血小板血漿 (platelet-rich plasma : PRP) の調製

PRP は、先行研究の変法を用いた<sup>54,55)</sup>。ラットをジエチルエーテルで麻酔下、3.8%クエン酸ナトリウムを採血量の 10%添加したシリンジを用いて、腹部大静脈から採血した。採血した血液を 150×g で 15 分間室温で遠心分離し、上清を PRP として得た。PRP は懸濁バッファー[134 mM NaCl, 2.9 mM KCl, 1.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 10.0 mM 2-[4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-イル]エタンスルホン酸 (HEPES), 5.0 mM グルコース, 12.0 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.34 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.3%ウシ血清アルブミン (pH 7.4)]で 40 倍に希釈し、血小板濃度を 7.4×10<sup>6</sup>/mL に調整した。

### 2.4 血小板から漏出した乳酸デヒドロゲナーゼ (Lactate Dehydrogenase : LDH) の測定

LZD の細胞毒性は、血小板からの LDH の放出を測定することにより同定した。40 倍に希釈した PRP を 0~200 μM の LZD または 40 μM MEN (ポジティブコントロール) を用いて、37°C で 4 時間、酸化損傷により血小板を部分的破壊しこれらをサンプルとした<sup>54,55)</sup>。血小板からの LDH 漏出は、細胞毒性検出キットを用い、製品の添付文書に従い測定した。

100 μL の各サンプルを 100 μL のキット反応液に加え、室温で 10 分間インキュベートし混合物とした。攪拌後、50 μL の停止液を添加し、マイクロプレートリーダー (SH-1000 ラボ;コロナエレクトリック株式会社, ひたちなか, 日本) を使用して 490 nm で各混合物の吸光度を測定した。総 LDH 活性は、PRP 溶解液を攪拌することで破壊した血小板を用い、各薬剤による毒性は総 LDH 活性を 100%とした値として示した。

### 2.5 細胞培養

ヒト赤白血病細胞株 (human erythroleukemia cell line : 以下 HEL 細胞) およびヒト巨核芽球細胞株 (human Chronic myelogenous leukemia : 以下 MEG-01 細胞) は、国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 JCRB 細胞バンク (大阪, 日本) から購入した。

細胞は、10%ウシ胎児血清 (fetal bovine serum : FBS), 10000 U/mL ペニシリンおよび 10000  $\mu\text{g/mL}$  ストレプトマイシンを含む RPMI-1640 培地で、加湿 5%CO<sub>2</sub> インキュベーター内で 37°C で培養した。

## 2.6 細胞増殖アッセイ

HEL および MEG-01 細胞を 96 well のプレートに  $5 \times 10^3$  cell/well で播種し、0~400  $\mu\text{M}$  の LZD を添加し 3 日間培養した。培養後、10  $\mu\text{L}$  の Cell Counting Kit-8 を各 well に加えた。次に、プレートを 37°C で 2 時間インキュベートし、マイクロプレートリーダーを使用して 450 nm での各 well の吸光度を測定した。

## 2.7 細胞分化と全 RNA 抽出

HEL および MEG-01 細胞の巨核球分化に対する LZD の効果を評価するために糖タンパク質 (glycoprotein : GP) IIIa の mRNA 発現レベルを測定した。

HEL および MEG-01 細胞を 60 mm dish に各々  $1 \times 10^6$  および  $5 \times 10^5$  cell/dish の濃度で播種した。次に、細胞を 10 nM PMA および 0~200  $\mu\text{M}$  LZD で 3 日間処理し、ISOGEN 試薬を使用し定法に従って全 RNA を抽出した。得られた溶液をトリス-エチレンジアミン四酢酸 (EDTA) バッファーで 50 倍希釈し、Gene QuantPro 分光光度計 (Amersham Biosciences, リトルチャルフォント, 英国) を使用して 260 および 280 nm での吸光度を測定して RNA の純度と濃度 (ng / $\mu\text{L}$ ) を算出した。

## 2.8 リアルタイム逆転写 (RT) -PCR

大容量 cDNA 合成キットを用いて 1  $\mu\text{g}$  の全 RNA から cDNA を合成し、EDTA バッファーで 20 倍に希釈した。GPIIIa およびグリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase : 以下 GAPDH) の mRNA 発現レベルは、

以下のプライマーを使用して測定した.

GPIIIa Forward プライマー : 5-TGG TCC TGC TCT CAG TGA TG-3,

GPIIIa Reverse プライマー : 5-GAA TTC TTT TCG GTC GTG GA-3

GAPDH Forward プライマー : 5-GAA GGT GAA GGT CGG AGT C-3

GAPDH Reverse プライマー : 5-GAA GAT GGT GAT GGG ATTTTC-3

PCR 反応は 96 well PCR プレートを用い, 反応液を Power SYBR Green PCR Master Mix 12.5  $\mu$ L, 各プライマー (5 pmol / $\mu$ L) 1.5  $\mu$ L, cDNA 2  $\mu$ L, および 7.5  $\mu$ L nuclease free water を用いて調製した. サーマルサイクラーを変性は 95°C 15 秒間, アニーリングは 56°C 15 秒間, 伸長は 72°C 30 秒間の条件に設定し 40 サイクルの PCR を行った. 増幅産物の蛍光強度を, 7300 sequence detection system software (Applied Biosystems) を用いて確認した. GPIIIa mRNA 値を GAPDH を用いて補正した.

## 2.9 ウェスタンブロット分析

MEG-01 細胞を 0~200  $\mu$ M LZD または 20 nM PAN (ポジティブコントロール) <sup>56)</sup> で 24 時間処理し, Bishton ら <sup>56)</sup> が用いた方法に従って全タンパク質を抽出した. 細胞をリン酸緩衝液で洗浄し, 生理食塩液 (PBS) を加え, プロテアーゼおよびホスファターゼ阻害剤を含む TritonX 溶解バッファー[20 mM Tris (pH 7.4), 135 mM NaCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM エチレンジグリコール四酢酸 (EGTA), 10%グリセロール, および 1%Triton X-100] に氷上で 30 分間懸濁して溶解した. 次に, 溶解物を 4°C 12000 $\times$ g で 15 分間で遠心分離し, 上清を回収した. タンパク質濃度は, BSA を標準として Pierce BCA ProteinAssay キットを使用して測定した. タンパク質は, Laemmli 法により, 15%ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) によって分離し <sup>57)</sup>, 電気泳動によりポリフッ化ビニリデン (polyvinylidene fluoride : PVDF) 膜に転写した.

次いで 0.1%Tween 20 , 2%BSA を含むトリス緩衝生理食塩液 (TBS-Tween) と室温で 1

時間インキュベートすることにより膜をブロックし、一次抗体として 2%BSA TBS-Tween で希釈したリン酸化 MLC (500 倍希釈) または全 MLC (1000 倍希釈) を 4°Cで一晩インキュベートした。

TBS Tween で洗浄後、膜を二次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗ウサギ IgG と室温で 1 時間インキュベートした。TBS-Tween で再度洗浄後、膜を強化化学発光 (enhanced chemiluminescence : ECL) と検出試薬とともにインキュベートし、ChemiDoc XRS デバイス (Bio-Rad, Hercules, CA, U.S.A.) を使用して可視化した。バンド強度は、Quantity One ソフトウェア (Bio-Rad) を使用して分析した。

## 2.10 統計分析

結果は、平均±標準偏差 (SD) または標準誤差 (SE) として示した。多重比較の Dunnett's test により有意性を解析した。有意水準は全てにおいて  $p < 0.05$  とした。

### 3. 結果

#### 3.1 LZD による血小板への細胞毒性作用

図 1 にラット PRP 中の血小板から漏出される LDH に対する LZD の影響を示す。実際、未処理コントロール群では、100%溶解群と比較して約 5%の LDH 活性を示した。MEN (ポジティブコントロール) 処理は完全な血小板の破壊を示したが、LZD 添加群ではいずれの LZD 濃度においても、PRP からの LD 漏出を誘発せず、LZD は血小板に対して細胞毒性を示さなかった。

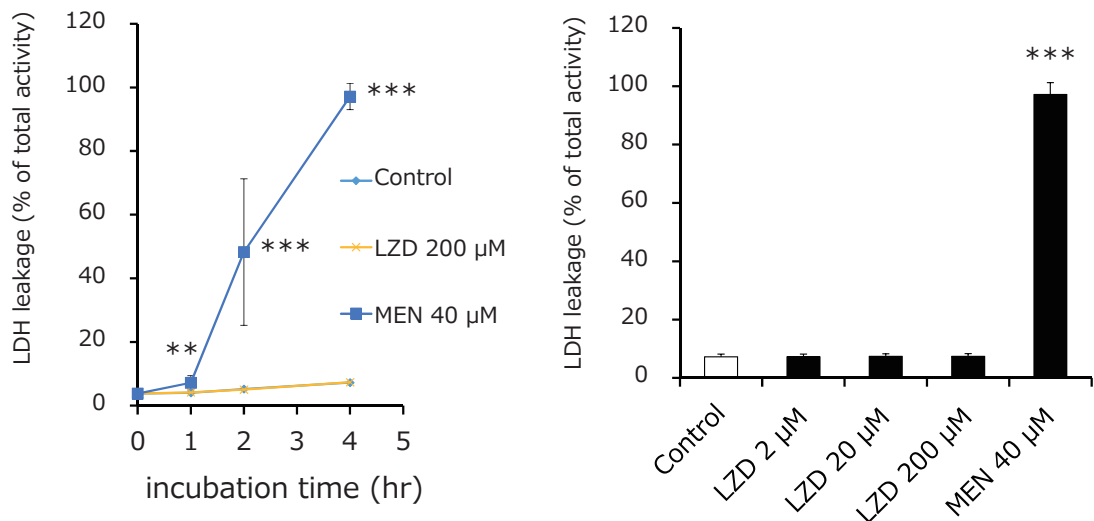


図 1. ラット PRP 中の血小板から漏出される LDH に対する LZD の影響

左図: 血小板に対する LZD の処理時間の影響 \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  (vs Control)

右図: 血小板に対する LZD の処理濃度の影響 (4 時間後) \*\*\* $p < 0.001$  (vs Control)

PRP は、LZD (2~200 μM) および MEN を添加後 4 時間反応させた。

MEN 40 μM はポジティブコントロール。

ラット 5 匹を用いて 5 回行った検討結果を mean ± SE を示した。

### 3.2 LZD による HEL および MEG-01 細胞増殖への影響

図 2 に HEL および MEG-01 細胞の増殖に対する LZD の影響を示す。HEL に LZD を添加しても HEL の増殖は阻害されず、HEL は用量依存的増加を示し、高用量 (200  $\mu$ M) の LZD に曝露された HEL は、対照群と比較して増殖が 90% 増加した。同様に MEG-01 細胞に LZD を添加すると、LZD は用量依存的に MEG-01 細胞の増加を示し、高用量 (200  $\mu$ M) の LZD に曝露された細胞は、対照群と比較して増殖が 50% 増加した。

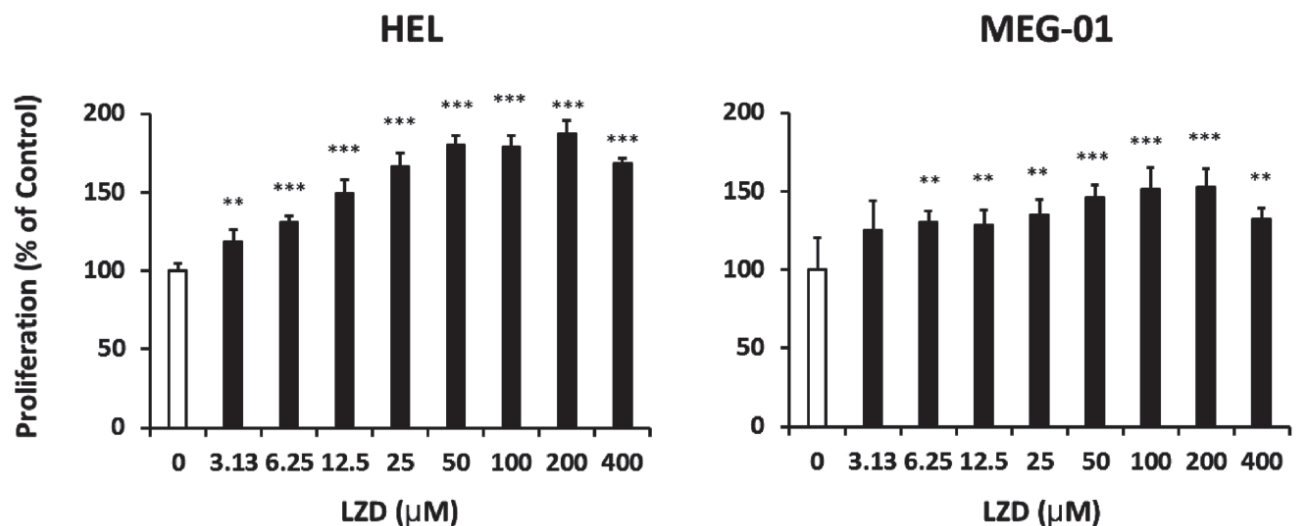


図 2. HEL および MEG-01 細胞の増殖に対する LZD の影響

HEL および MEG-01 細胞は、LZD (2~400  $\mu$ M) を添加後 3 日間培養させた。

5 回行った検討結果を  $\text{mean} \pm \text{SE}$  を示した。\*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$  (vs Control)

### 3.3 LZD による HEL および MEG-01 細胞分化への影響

図 3 に HEL および MEG-01 細胞の巨核球分化に対する LZD の影響を示す。

PMA 処理を施した分化群は、未分化コントロール群と比較して、HEL および MEG-01 細胞の両方において有意に分化マーカーである GPIIIa mRNA 発現量を増加させた。同様に、各濃度の LZD 処理群においても GPIIIa 発現量は増加を示し、GPIIIa 発現量は PMA 処理群と有意差を示さなかった。また GPIIIa 発現量は LZD 濃度に影響を受けなかった。

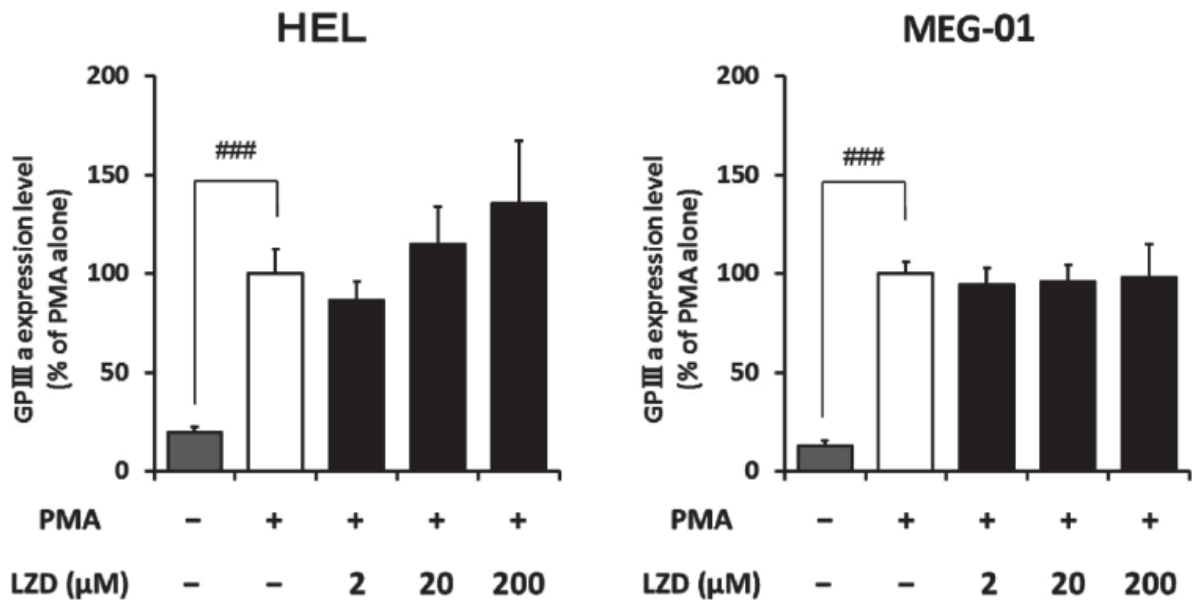


図 3. HEL および MEG-01 細胞の巨核球分化に対する LZD の影響

HEL および MEG-01 細胞に、PMA 10 nM および LZD (2~200 μM) をそれぞれ添加し、3 日間培養させた。

4 回行った検討結果を mean ± SE を示した。###  $p < 0.001$  (vs Control)

### 3.4 LZD による MEG-01 細胞上の MLC2 のリン酸化への影響

図 4 に MEG-01 細胞における MLC2 のリン酸化に対する LZD の影響を示す。巨核球を含む MEG-01 細胞を用いて前血小板の分化に対する LZD の影響を検討するために、MLC2 リン酸化レベルを、ウエスタンブロット分析により測定した。PAN は、MEG-01 細胞の MLC2 リン酸化を有意に増加させると報告されており、ポジティブコントロールとして用いた<sup>56)</sup>。LZD による処理は MLC2 リン酸化の用量依存的な増加を示し、高濃度(200  $\mu$ M) LZD に曝露された細胞は、PAN 処理されたコントロール細胞と同様のレベルの MLC2 リン酸化を示した。さらに、20  $\mu$ M の LZD 処理は、MLC2 リン酸化に統計学な増加をもたらさなかったが、200  $\mu$ M 群ではリン酸化が有意に増加した。

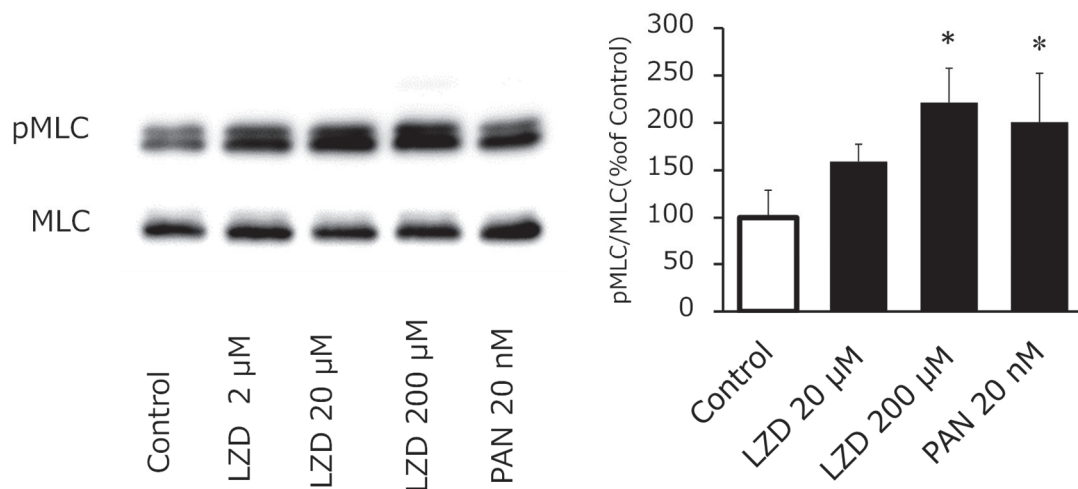


図 4. MEG-01 細胞における MLC2 のリン酸化に対する LZD の影響

MEG-01 細胞は、LZD (2~200  $\mu$ M) を添加後 24 時間反応させた。

PAN 20 nM 処理細胞をポジティブコントロールに用いた。

3 回行った検討結果を mean  $\pm$  SE を示した。\* $p$ <0.05 (vs Control)

MLC : Myosin Light Chain ミオシン軽鎖

pMLC : phosphate Myosin Light Chain リン酸化ミオシン軽鎖



#### 4. 考察

血小板は、造血幹細胞 (hematopoietic stem cells : 以下 HSC) から種々の生物学的過程を経て生成される<sup>58,59)</sup>。HSC から分化して骨髓系共通前駆細胞 (common myeloid progenitor : 以下 CMP) となり、CMP は顆粒球と単球の前駆細胞である顆粒球・マクロファージ前駆細胞 (granulocyte-macrophage progenitor : 以下 GMP) と巨核球と赤芽球の前駆細胞である巨核球・赤芽球前駆細胞 (megakaryocyte-erythrocyte progenitor : 以下 MEP) へ分化する。次に、MEP は巨核球コロニー形成細胞 (megakaryocyte-colony-forming unit : 以下 Meg-CFU) と赤芽球バースト形成細胞 (burst-forming unit-erythroid : 以下 BFU-E) に分化する。Meg-CFU は、さらに細胞分裂を伴わない核内分裂と細胞質の成熟を繰り返し巨核球へと成熟し、前血小板を形成し、その後最終的に血小板として放出される<sup>60)</sup> (図 5)。

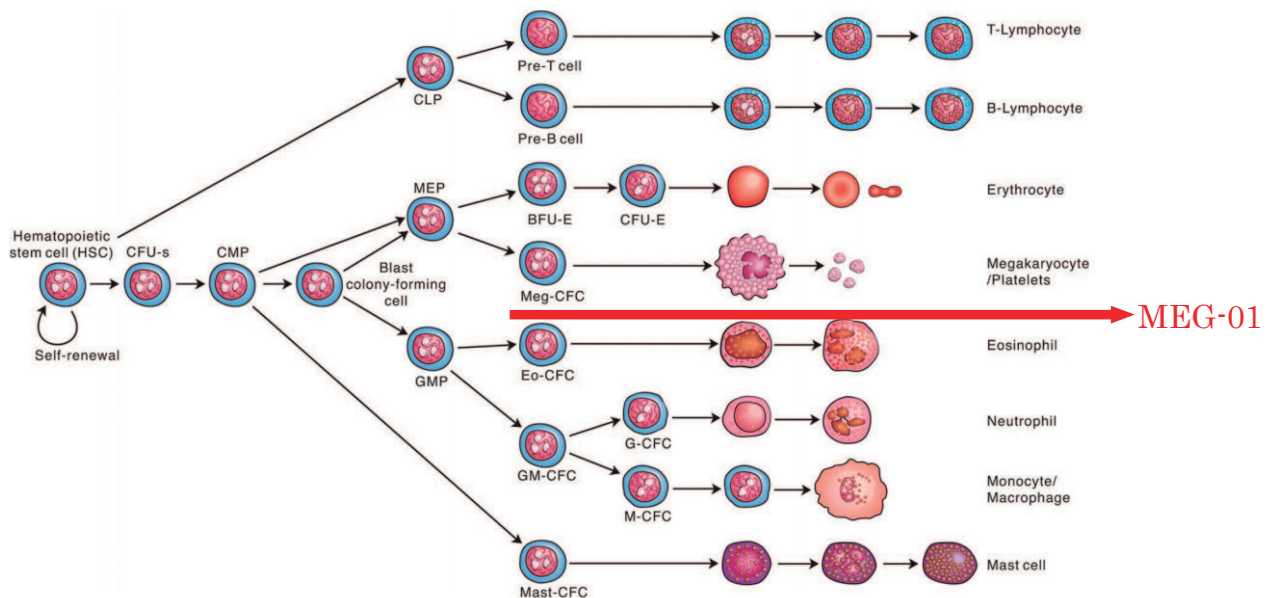


図 5. 造血幹細胞から血小板への分化過程<sup>60)</sup>

この過程での巨核球細胞株を MEG-01 と称しヒト巨核球細胞株で最初に報告された細胞株である<sup>61)</sup>。放出された血小板は血液中を 7~10 日間循環し、肝臓と脾臓にトラップされる<sup>62,63)</sup>。血小板数は、産生と破壊の調節過程により維持され、血小板の消費/破壊の亢進または産生の減少は血小板減少症の発症をもたらす。したがって、LZD 誘発血小板減少症のメカニズムは、この影響の一方または両方が要因と考えられる。

まず、血小板に対する LZD の細胞毒性効果を明らかにするために、ラット PRP を各濃度の LZD に曝露し、LDH 漏出レベルを測定することで細胞毒性を評価した。血漿には通常少量の LDH が含まれている。LDH は、さまざまな組織または造血細胞から自然に放出され、ベースラインレベルの LDH 活性をもたらす。臨床では、VRE および MRSA 感染症の患者に LZD 1 回 600 mg を 1 日 2 回で投与する。健常人ボランティアにおけるこの用法用量による定常状態での最高血漿濃度（以下 Cmax）は約 60 μM であった<sup>64)</sup>。しかしながら、同様の用法用量を用いた腎機能障害患者では、Cmax が 200 μM に達し、血小板減少症を発症したことが報告されている<sup>47)</sup>。このことから、本検討では、200 μM の LZD 濃度を用いて検討した。しかし、この濃度においても LZD は血小板に対して細胞毒性を示さず（図 1）、臨床において LZD を用いたとしても血小板破壊を促進しないことが示された。

次に、HEL および MEG-01 細胞株を用いて、血小板産生過程の中間段階である赤白血病/巨核芽球細胞の *in vitro* における増殖および分化に対する LZD の影響を検討した。

先行研究では、HEL が PMA またはヘミン処理により巨核球と赤血球細胞への分化に誘導されることが示された<sup>65,66)</sup>。したがって、HEL 細胞は BFU-E / M の起源細胞である。

一方、分化過程で生成された MEG-01 細胞中の前巨核球は、PMA で処理すると巨核球への分化を誘導され、血小板様粒子へと生成される<sup>67)</sup>。HEL および MEG-01 細胞への PMA を介した分化は、巨核球マーカー GPIIIa の発現レベルの増加を伴う。特に、LZD 曝露時に両方の細胞株の増殖は LZD 濃度に依存して増加することが観察された（図 2）。このことから LZD は HEL および MEG-01 細胞の増殖を促進する PMA の作用に影響を及ぼさない、

すなわち、この過程が血小板減少の要因ではなく、むしろ増殖を促進することが示された。

一方、PMA のみで処理した細胞と LZD および PMA で同時処理した HEL および MEG-01 細胞の GPIIIa mRNA 発現レベルに有意差はなく（図 3）、LZD がこれらの細胞株の分化に影響を与えないことが示された。したがって、この結果から、LZD 誘発性血小板減少症は、血小板産生中の BFU-E/M および巨核芽細胞の増殖/分化の障害によるものではないことを示唆している。

最後に、血小板産生過程の最終段階である血小板放出に対する LZD の影響を検討した。いくつかの報告により、前血小板形成が Rho/Rho 関連プロテインキナーゼ (ROCK) 経路によって調節され、MLC2 がこの過程に重要な役割を果たしていることが示唆されている<sup>56,68</sup>。Rho は低分子量 GTP 結合タンパク質であり、アクチン細胞骨格の再編成を介し、細胞運動・接着・細胞質分裂など多くの細胞反応の調節分子として機能している。

また Rho は、他の GTP 結合タンパク質と同様に刺激に応答して、活性型 (GTP 結合型) となり下流の分子に情報を伝達するなど、細胞内において多岐にわたる細胞反応を調節に寄与している<sup>69,70</sup>。

さらに Rho グアノシン 5-トリホスファターゼ (guanosine triphosphatase: 以下 GTPase) ファミリータンパクによって調節されている MLC2 のリン酸化とその活性制御因子 (RhoA, Cdc42, Rac1, PAK1, ROCK1 など) は、前血小板の放出に関する過程の最も重要な調節因子であり<sup>56,58</sup>、MLC2 リン酸化の増加により血小板放出が抑制される<sup>71</sup>（図 6）。

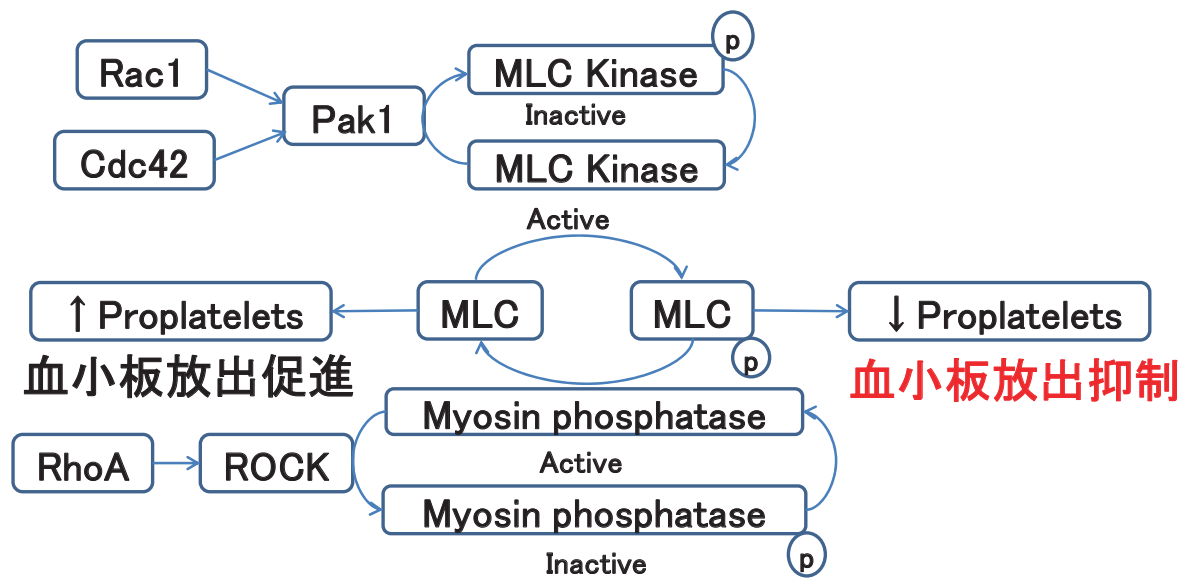


図 6. 血小板放出にかかわるタンパク質群の様式図<sup>71)</sup> ~Rho GTPase family~

Rac : Ras (Rat sarcoma) -related C3 botulinum toxin substrate

Cdc42 : cell division cycle42

Pak : P21-Activated Kinase

MLC : Myosin Light Chain

ROCK : Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase

Rho : Ras homologous

一方、PAN は、血液がんの治療に使用されるヒストンデアセチラーゼ阻害薬である。この薬剤の主な有害事象は、MLC2 リン酸化の増加による血小板放出の抑制に起因する血小板減少症の誘発である<sup>56)</sup>。本研究では PAN をポジティブコントロールに用いてウェスタンブロット法により、MEG-01 細胞における MLC2 リン酸化に対する LZD 処理の影響を評価した。Bishton MJ らの報告<sup>56)</sup>と同様に MLC2 リン酸化は PAN の存在下で促進された (図 4)。LZD 処理は、PAN 処理と同様に MLC2 リン酸化の用量依存的な増加をもたらした。200  $\mu$ M の LZD で処理された細胞は、対照群と比較して MLC2 リン酸化が 3.1 倍増加した。この結果は、LZD が PAN と同様に MLC2 リン酸化の増加を介して血小板放出を抑制することにより血小板減少症を誘発することを示唆している。LZD は優れた組織移行性

を示し、LZD の骨や筋肉への分布は投与後 20 分でそれぞれ 60%と 94%とされている<sup>32)</sup>。一方、小松らは投与後 0.33 時間で、ウサギの骨髄と腸腰筋への LZD 移行率はそれぞれ 88%と 84%と報告している<sup>72)</sup>。さらに、LZD 濃度は、中枢神経系感染症の患者の血漿中よりも脳脊髄液が 1.6 倍高い濃度を示すとされている<sup>31)</sup>。これらの報告に基づき、LZD は骨髄に速やかに分布し、投与後に血漿とほぼ同じ濃度となると考えられる。

この骨髄における LZD 濃度の上昇によって MLC リン酸化を増加させることが血小板産生を阻害すると予測された。実際、我々は、MLC リン酸化が有意に生じる LZD の濃度は 200  $\mu\text{M}$  であることを示した。ただし、有意ではないものの 20  $\mu\text{M}$  の LZD 濃度でもこの現象は確認された。この濃度は 6.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の血中濃度に相当し LZD 錠 600 mg を 12 時間間隔で反復投与した場合の  $C_{\text{max}}$  21.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  より低い濃度であり、平均最低血中濃度  $C_{\text{min}}$  6.15  $\mu\text{g}/\text{mL}$  と同等であり、常用量で投与をする場合にも血小板減少症が発症することを念頭に置くべき結果である。

MEG-01 細胞中における MLC2 リン酸化を増加させる LZD の作用機序は明らかではない。しかしながら、いくつかの報告から考察すると、巨核球は、LZD の取り込みを介する有機陰イオン輸送体ポリペプチド (OATP) 2B1,<sup>73)</sup> を発現している可能性がある<sup>74)</sup>。細胞内 LZD は、PAN と同様にチューブリンのアセチル化を誘導するか<sup>75)</sup>、Cdc42, Rac1, および RhoA のタンパク質発現を低下させる可能性が考えられる<sup>56)</sup>。また、MLC リン酸化の増加を引き起こす細胞内信号伝達経路には、MLC キナーゼを介した Cdc42 / Rac1 / PAK 経路、およびミオシンホスファターゼを介した Rho / Rock 経路が含まれている<sup>56,58)</sup>。MEG-01 細胞における LZD の作用機序とこれらの経路の関係性についての今後のさらなる研究は、LZD 誘発性血小板減少症の解明に必要と考えられる。

結論として、本検討で示された結果は、LZD は直接血小板破壊に影響を及ぼさないことを示し、むしろ、血小板産生プロセスの最終過程である成熟巨核球からの血小板放出の抑制を介して血小板減少症を誘発していると考えられる。

### 3 章 LZD 投与に起因する低ナトリウム血症と血中濃度との関連性の探求

#### 1. 背景および目的

LZD の抗菌活性や作用機序，適応菌種および剤型の特徴は 2 章で述べたとおりである。薬物動態に関する特徴としては，LZD の血漿タンパク結合率は約 20-30%，消失半減期は 4.0-10.0 時間であり<sup>76,77)</sup> 主に非酵素的酸化反応によって不活化され，投与された LZD の約 30%が未変化体として尿中に排泄されることが知られている<sup>79)</sup>。これまでの報告では，腎機能，年齢，体重，および持続的腎代替療法（continuous renal replacement therapy：以下 CRRT）が LZD クリアランスに有意影響を与えることが示されている<sup>76,78-82)</sup>。

LZD の添付文書では，成人に対する用法用量は 1 回 600 mg を 12 時間間隔で投与し，体重や腎機能といった患者間の要因に基づく用法用量の調節は必要ないとされている。しかし，近年，LZD 誘発性血小板減少症および臨床的有効性は LZD の血中濃度に依存するため，用法用量の調節と TDM の必要性について多くの議論がなされてきた<sup>79,83-90)</sup>。

一方 LZD の代表的な有害事象は血小板減少症であるが，複数の低ナトリウム血症の発症に関する研究も報告されている<sup>91-93)</sup>。田中らは LZD が投与された患者 61 人のうち 11 人（18%）で低ナトリウム血症が生じたことを報告し，さらに LZD 誘発性低ナトリウム血症のリスク因子としてカリウム保持性利尿薬の併用と LZD 初回投与前の CRP 値が高値であることを挙げている<sup>91)</sup>。しかし，現在まで低ナトリウム血症の発症と LZD の薬物曝露量との関係は評価されていない<sup>91-93)</sup>。したがって，本章では，以下に示す低ナトリウム血症に影響する LZD の薬物動態学的特徴を評価することを目的とした。

- ① LZD による治療中の低ナトリウム血症発症率の評価
- ② 低ナトリウム血症における LZD 曝露のリスクおよびリスクに関わる患者背景の関連性の評価

## 2. 方法

### 2.1 患者およびデータ収集

LZD の血中濃度を含む臨床検査値は、富山大学附属病院（富山，日本）および杏林大学病院（東京，日本）において 2013 年 3 月 1 日から 2018 年 4 月 30 日の期間に対象となる入院患者から電子診療録を用いて後方視的に収集した。この研究では、LZD を投与した患者のうち、血液、喀痰、皮膚および軟部組織から検出された MRSA を含むグラム陽性球菌が検出された患者を対象とした。全患者数は 139 人であり、以下の 2 つの条件を満たした患者データを分析のために用いた。

- (1) 血清ナトリウム値が、初回 LZD 投与前の 7 日以内に得られた。
- (2) LZD 投与中に複数回の血清 LZD 濃度およびナトリウム値が得られた。

解析対象から除外した条件は、小児患者 (<12 歳)、CRRT を受けていた患者、および LZD の初回投与前の血清ナトリウム値が 130 mmol/L 以下とした。血清ナトリウム値などの情報は、ルーチンの採血項目データから得た。

### 2.2 LZD 濃度の測定

LZD 濃度の測定方法は、先行研究の方法に準じて行った<sup>94)</sup>。患者から採取した血清サンプルを冷凍庫 (-80°C) に保存し、高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography :以下 HPLC) システム (島津製作所, 京都, 日本) を使用して総 LZD 濃度を測定した。高速液体クロマトグラフィー装置は、CBM-20 lite Controller (島津製作所, 京都, 日本), LC-20 AT Pump (島津製作所, 京都, 日本), SIL-20 AC Autosampler (島津製作所, 京都, 日本), CTO-10 (島津製作所, 京都, 日本) AS VP Oven (島津製作所, 京都, 日本) および SPD-20 A UV Detector (島津製作所, 京都, 日本) を使用した。LZD 原末 (CAS 番号; 165800033) はトロントリサーチケミカルズ社から購入した。また使用した全試薬は市販されている特級試薬を用いた。Centrifree Ultrafiltration device



(Merck Millipore Ltd.Cork, アイルランド) を使用して, 200  $\mu$ L の血清サンプルを遠心分離した. このサンプルは, 同量の acetonitrile を添加し, 14,000 g $\times$ 5 分間遠心分離で除タンパクを行った. 50  $\mu$ L の上清を HPLC システムに注入した. カラムは, Cadenza 5CD-C-18 (5  $\mu$ m, 150 $\times$ 4.6 mm; Imtakt Corporation, 京都, 日本) を使用し, 移動相には phosphoric acid, methanol および 2 g/L 1-heptane sulfonic acid 水溶液を体積比 (1:30:69) で混合した溶液に, 10 mol/L の sodium hydroxide を加えて pH が 5 になるように調整した溶液を用いた. カラムオープン内温度は 40 $^{\circ}$  C とした.

流速 1.0 mL/min でアイソクラティック溶出を行い, UV 検出器により波長 254 nm における吸光度を測定した. 本測定は, 絶対検量線法を用いて行った. 検量線は 0.1~50  $\mu$ g/mL の濃度範囲で直線的で, 定量下限 (LLOQ) は 0.1 mg/L (変動係数 CV < 5.0 %) の条件で測定を行った.

(LZD 粉末試料を 2 mg 秤量し, 超純水 2 mL に溶解した (1000  $\mu$ g/mL). 段階希釈により, 0.5 - 250  $\mu$ g/mL の LZD 水溶液を得た. LZD 水溶液 20  $\mu$ L を drug-free のヒト血清 80  $\mu$ L に最終濃度が 0.1 - 50  $\mu$ g/mL となるように添加し, LZD 検量線用試料を得た.

### 2.3 LZD 誘発低ナトリウム血症の定義と血中濃度時間曲線下面積 (AUC<sub>0-12</sub>) の推定 :

LZD 誘発低ナトリウム血症を, LZD 投与以降の血清ナトリウム値が < 130 mmol/L となった場合と定義した<sup>95)</sup>. 低ナトリウム血症発症における LZD 血中濃度-時間曲線下面積 (Area under the curve : 以下 AUC<sub>0-12</sub> : ) と投与開始から低ナトリウム血症発症までの累積 AUC, 低ナトリウム血症発症との関連性を評価する際に共変量となる患者背景として, LZD 投与後の血清ナトリウム値の最低値, 年齢, 体重, アルブミン値, アラニンアミノトランスフェラーゼ値, アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ値, 血中尿素窒素値, 血清クレアチニン値, C 反応性タンパク質値, および LZD の投与前血清ナトリウム値を評価した.



LZD の個体クリアランス (CL<sub>i</sub>) は、既報の母集団薬物動態モデル<sup>76)</sup>を用い、母集団平均値を事前分布とした経験的ベイズ法 (NONMEM MAXEVAL = 0 オプションを使用) により推定した。AUC<sub>0-12</sub>は、算出された CL<sub>i</sub> と 1 回投与量より式 1 を用いて算出した。

$$AUC_{0-12}(mg \cdot h/L) = \frac{Dose(mg)}{CL_i(L/h)} \quad \text{式 1}$$

## 2.4 統計分析と解析ソフト：

全解析において、統計解析に用いた共変量となる患者背景について多重共線性の影響を事前に確認した。すべての統計解析とグラフは、R ver3.6.3 を用いた。投与前および投与後の血清ナトリウム値の最低値は Wilcoxon signed-rank 検定を用い評価した。低ナトリウム血症に及ぼす LZD 曝露と患者背景の影響は、Shapiro-Wilk 検定により正規性を確認後、Mann-Whitney's U 検定により評価した。有意水準は  $p < 0.05$  とした。

患者個々のクリアランス値は、NONMEM ver 7.4.3 (ICON Development Solutions, メリーランド, 米国) を使用して推定した。

## 2.5 倫理上の配慮

本研究は、富山大学倫理審査委員会 (承認番号 : R2012133 改訂), 国際医療福祉大学 (承認番号 : 12-257) および杏林大学医学部附属病院 (承認番号 : 553) の承認を得て、ヘルシンキ宣言に準拠して実施した。対象となる患者には研究に関する文書を用いた情報提供を行い同意を取得した。患者のプライバシーと個人情報を尊重して研究を行った。

### 3. 結果

#### 3.1 低ナトリウム血症の発症率

139 人の患者中，89 人が条件を満たし，その臨床検査値を含む患者背景を（表 1）に，除外対象となった患者 50 人の背景を（表 2）に示す。

表 1. 対象患者の患者背景

	Number	Median	Observation interval	
			Lower 2.5%	Upper 97.5%
Total patients for the target of analysis	89			
Male	51			
Female	38			
Linezolid serum concentration (mg/L)	521	9.8	0.9	38.0
Baseline serum sodium level (mEq/L)		138	131	149
Nadir serum sodium level (mEq/L)		135	123	141
Age (year)		69	26	87
Body weight (kg)		54.4	33.6	85.1
Total protein (g/dL)		6.3	4.6	8.5
Albumin (g/dL)		2.7	1.5	4.5
Pottasium (mmol/L)		4.2	3	5.6
Chloride (mmol/L)		102	93	112
Alanine aminotransferase (IU/L)		20	5	176
Aspartate aminotransferase (IU/L)		24	10	185
Blood urea nitrogen (mg/dL)		18.0	7.0	92.6
Serum creatinine (mg/dL)		0.67	0.29	3.81
C-reactive protein (mg/dL)		3.44	0.02	30.52
White blood cell (/ $\mu$ L)		7,830	3,396	26,172
Red blood cell (/ $\mu$ L)		3,410,000	2,206,000	5,618,000
Hemoglobin (g/dL)		10.3	7.0	16.8
Hematocrit (%)		31.0	20.2	50.7
Platelet (/ $\mu$ L)		211,000	8,0400	52,3200

Age : 年齢 (年), Body weight : 体重 (kg), Albumin : アルブミン (g/dL) Alanine aminotransferase : アラニンアミノトランスフェラーゼ (IU/L), Aspartate aminotransferase : アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (IU/L), Blood urea nitrogen : 血中尿素窒素 (mg/dL), Serum creatinine : 血清クレアチニン (mg/dL), C-reactive protein : C 反応性タンパク質 (mg/dL), White blood sell : 白血球 (/ $\mu$ L),

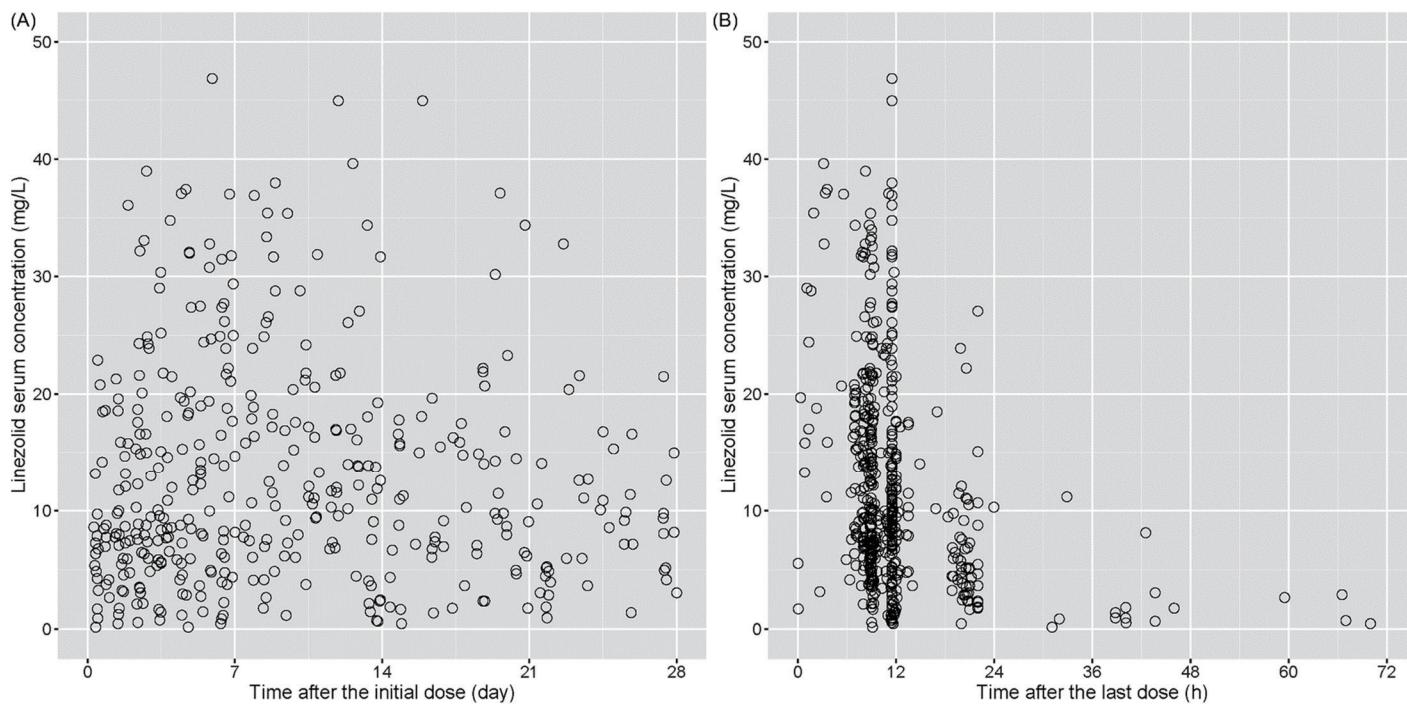
Red blood cell : 赤血球 ( $\mu\text{L}$ ), Hemoglobin : ヘモグロビン (g/dL), Hematocrit : ヘマトクリット (%), Platelet : ( $\mu\text{L}$ )

表 2. 除外した患者 50 人の詳細

Breakdown of 50 patients exclude from the analysis	N
Patient who received Continuous renal replacement therapy	17
Initial sodium value was lower or equal 130 mmol/L	14
Pediatric patient (<12 years old)	10
No serum sodium level was obtained within 7 days before the initial linezolid administration	5
Serum linezolid concentration or sodium level was missing during the treatment	4

得られた LZD 血中濃度は 521 ポイントであり, その濃度の中央値 [95%CI] は, 9.8 mg/L [0.9–38.0 mg/L] であった.

図 1 に LZD 初回投与から採血までの日数と血中濃度の関係 (A), および直近の投与から採血までの時間と血中濃度の関係 (B) を示す.



**図 1. 採血時間の評価 (n = 521)**

- (A) 初回投与から採血までの日数と血中濃度の関係
- (B) 直近の投与から採血までの時間と血中濃度の関係

LZD 初回投与から採血までの日数は 0~28 日と多様であった. また、直近の投与から採血までの時間はほとんどが 6 時間以降, すなわち消失相であったため患者個々のクリアランスを推定するために適切なタイミングであると考えられた. このため LZD の AUC の算出には個々の患者のクリアランスを用いて推定した.

図 2 に全投与前および投与後血清ナトリウム値の最低値を示す。

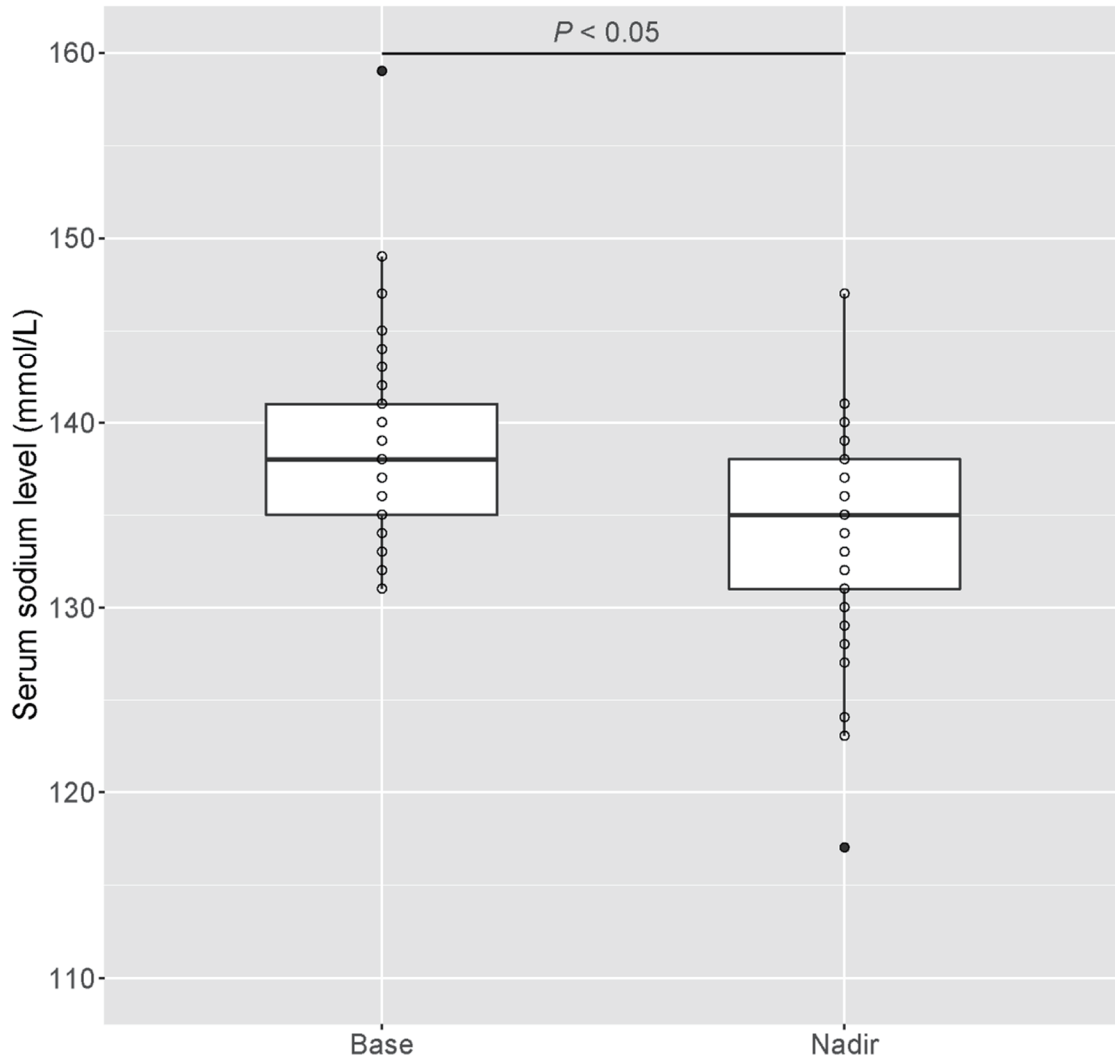


図 2. 89 人の患者の投与前値 (Base) および最低値の血清ナトリウムレベル (Nadir)

○ (95%信頼区間内) と ● (95%信頼区間を超える) は, 投与前と投与後耐低値の血清ナトリウム値を表す。

Wilcoxon signed-rank test,  $p < 0.05$

血清ナトリウム値は、LZD 投与前値と投与後の最下点値の間で有意に低下していた ( $p < 0.05$ ).

LZD 投与後の血清ナトリウム値の最低値が 130 mmol/L 以下となる低ナトリウム血症の発症は、89 人の患者のうち 21 人 (23.6%) で観察された.

低ナトリウム血症が生じた患者 ( $n=21$ ) と生じなかった患者 ( $n=68$ ) の投与前と投与後の最下点の血清ナトリウム値の比較を図 3 に示す. 両群とも、最下点の血清ナトリウム値は投与前のそれと比して有意に低値となっていた ( $p < 0.05$ ).

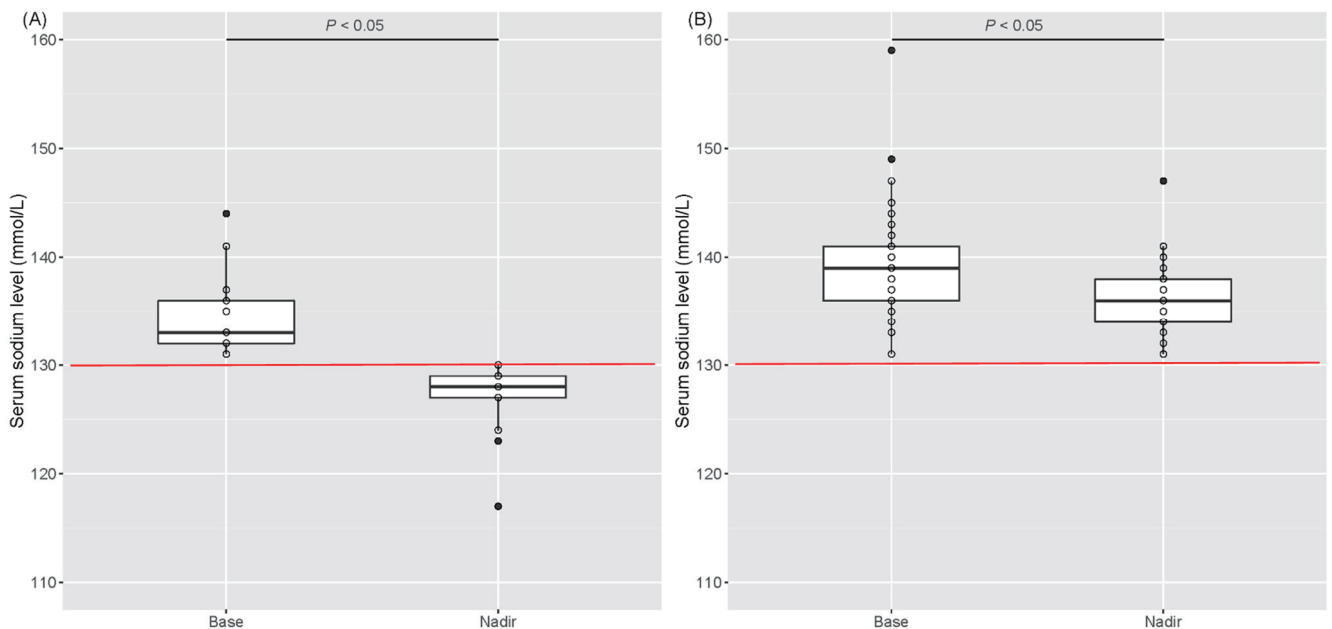


図 3. LZD 投与前後における血清ナトリウム値の変化

(A) 低ナトリウム血症を生じた患者 ( $n=21$ ) の LZD 投与前後の血清ナトリウム値

(B) 低ナトリウム血症を生じなかった患者 ( $n=68$ ) の LZD 投与前後の血清ナトリウム値

○ (95%信頼区間内) と ● (95%信頼区間を超える) は、投与前と投与後耐低値の血清ナトリウム値を表す.

Wilcoxon signed-rank test,  $p < 0.05$

### 3.2 LZD 曝露の影響と低ナトリウム血症を生じた患者の背景：

事前確認した共変量となる患者背景に関する多重共線性の影響において、LZD 曝露と低ナトリウム血症を発症した患者の患者背景には多くの相関関係が観察された (date not shown) ため、多重共線性を排除し、単変量解析を行った。表 3 に、低ナトリウム血症発症患者と非発症患者の LZD の AUC<sub>0-12</sub>、累積 AUC、年齢、体重、アルブミン値、アラニンアミノトランスフェラーゼ値、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ値、血中尿素窒素値、血清クレアチニン値、CRP 値を比較した結果を示す。AUC<sub>0-12</sub>、累積 AUC、および年齢は、いずれも低ナトリウム血症発症患者で有意 ( $p < 0.05$ ) に高値であった。一方、投与前血清ナトリウム値は低ナトリウム血症発症患者で有意 ( $p < 0.05$ ) に低値であった。

表 3. 低 Na 血症の発症における LZD 曝露と患者背景の評価

Item	With hyponatremia (n = 21)		Without hyponatremia (n = 68)		P-value
	Median	Confidence interval (Lower 2.5%, Upper 97.5%)	Median	Confidence interval (Lower 2.5%, Upper 97.5%)	
AUC <sub>0-12</sub> (mg·h/L) <sup>a)</sup>	295.8	(94.1, 823.3)	174.3	(54.3, 572.7)	< 0.05
Accumulated AUC <sup>a)</sup>	7693.1	(753.9, 18,673.6)	2257.9	(116.6, 13,393.1)	< 0.05
Baseline serum sodium level (mEq/L)	133	(131, 143)	139	(131, 149)	< 0.05
Age (year) <sup>a)</sup>	75	(65, 89)	68	(24, 86)	< 0.05
Body weight (kg) <sup>a)</sup>	50.0	(34.1, 70.9)	55.4	(36.9, 92.7)	0.25
Albumin (g/dL) <sup>a)</sup>	2.4	(1.5, 3.6)	2.7	(1.6, 4.2)	0.21
Alanine aminotransferase (IU/L) <sup>a)</sup>	25	(4, 151)	27	(7, 128)	0.92
Aspartate aminotransferase (IU/L) <sup>a)</sup>	27	(13, 198)	22	(10, 164)	0.96
Blood urea nitrogen (mg/dL) <sup>a)</sup>	14.0	(5.8, 115.5)	18.0	(7.0, 62.3)	0.52
Serum creatinine (mg/dL) <sup>a)</sup>	0.60	(0.23, 5.01)	0.67	(0.29, 2.55)	0.64
C-reactive protein (mg/dL) <sup>a)</sup>	2.73	(0.06, 10.09)	2.16	(0.02, 21.35)	0.90

Accumulated AUC : 累積 AUC, Age : 年齢 (年), Body weight : 体重 (kg), Albumin : アルブミン (g/dL), Alanine aminotransferase : アラニンアミノトランスフェラーゼ (IU/L), Aspartate aminotransferase : アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (IU/L), Blood urea nitrogen : 血中尿素窒素 (mg/dL), Serum creatinine : 血清クレアチニン (mg/dL), C-reactive protein : C 反応性タンパク質 (mg/dL)

a) LZD 投与後の血清ナトリウム値の最低値のときの値



図 4 に、LZD 投与後の血清ナトリウム値と  $AUC_{0-12}$  の相関関係を示す。これらの相関係数 ( $r$ ) は  $-0.2$  であった。

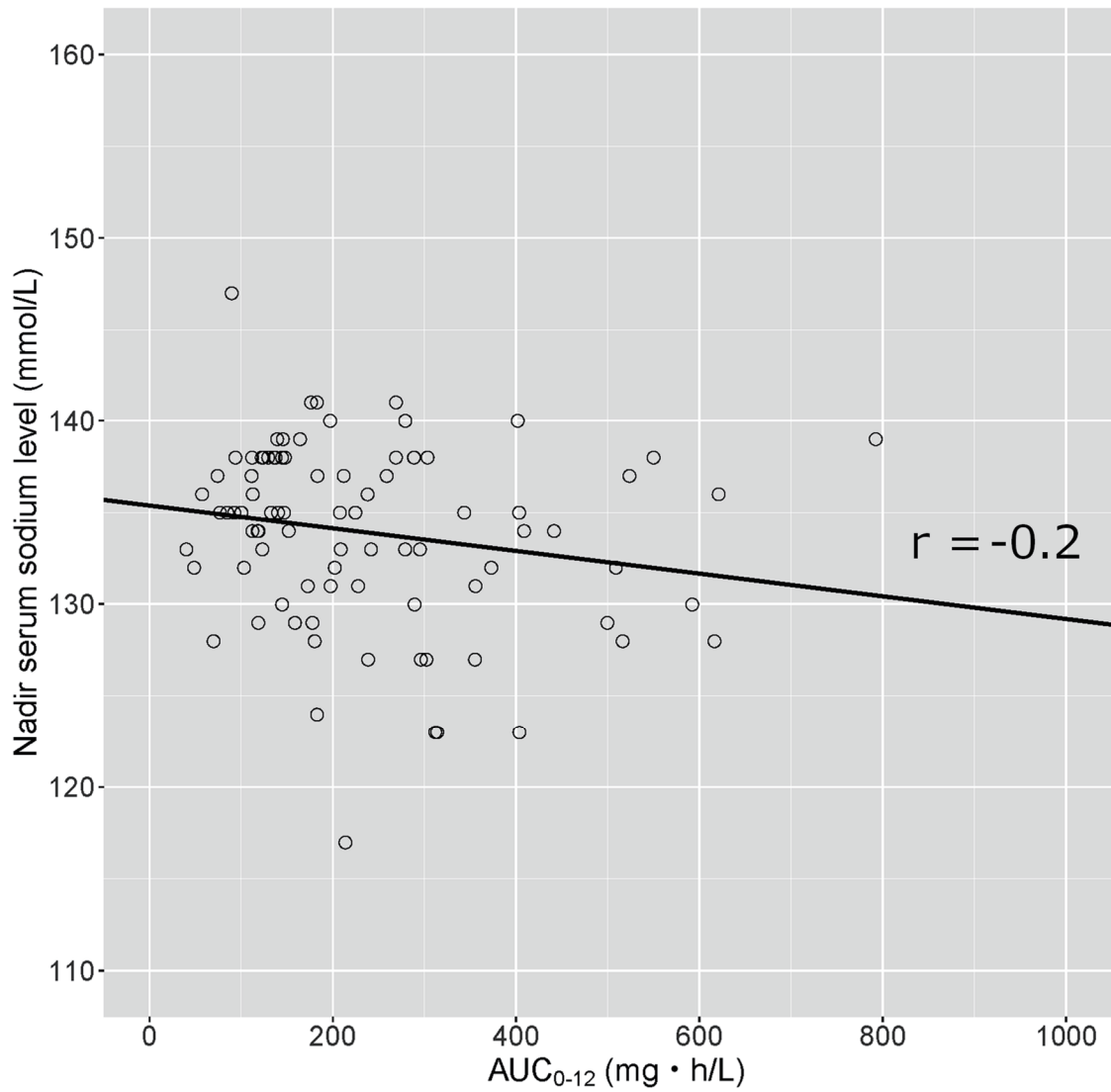


図 4. LZD の  $AUC_{0-12}$  と血清ナトリウム値の相関

○は観測値を表す。

#### 4. 考察

LZD 投与中に生じる低ナトリウム血症が報告されているが、LZD 曝露と低ナトリウム血症との関連性は明らかにされていない。本研究では、LZD を投与された患者の LZD 血中濃度を測定し、低ナトリウム血症のリスクに対する LZD 曝露の影響を統計学的に評価した。本研究で用いた LZD 血中濃度の測定用検体は、患者のルーチンで行われた臨床検査の残余検体を使用した遡及的分析であり、LZD 血中濃度測定に用いた血液は様々な時間で採血がされた (図 1)。したがって、一般的に TDM で用いられるトラフ値を用いることができないため、測定した LZD 血中濃度の代替指標となる薬物動態パラメータを検討した。採血時間は患者間で異なっていたが、ほとんどの検体は、患者個々のクリアランスを推定するために適切な採血時間である消失相すなわち、LZD 血中濃度を測定した時間の直近の投与から 6 時間以上経過した時点で採取された (図 1 (B))。そこで、一般に TDM で用いられるピークやトラフ値ではなく、測定結果に基づいて経験ベイズ法により患者毎に算出したクリアランスから推定した  $AUC_{0-12}$  および累積 AUC を使用した。

低ナトリウム血症はそれ自体が単独で発症する疾患ではなく、水分調節の機能異常を伴う併存疾患によって生じる合併症である<sup>95)</sup>。低ナトリウム血症を生じる一般的な要因は、不適切な水分調節、利尿薬の使用、多飲、副腎不全、循環血液量減少、心不全、および肝硬変等が要因とされる<sup>95,96)</sup>。低ナトリウム血症の成因は、循環血液量、血清浸透圧、尿中ナトリウム濃度によって分類され、そのアセスメントは分類によって異なる<sup>96,97)</sup>。

本研究で対象とした 89 人の患者のいずれも、低ナトリウム血症が生じても LZD による治療を中止はされず、血清ナトリウム値の低下が著しい症例においては、ナトリウム補充を始めとする薬物治療でナトリウム値は補正され LZD 投与を継続した。また、LZD に起因する低ナトリウム血症発症のメカニズムが不明なため、血清ナトリウム値の低下率ではなく投与後の血清ナトリウム値により低ナトリウム血症を定義した。

本研究の対象者は、MRSA を含むグラム陽性球菌による感染症に対して LZD を投与した

患者であり、さまざまな背景を有していた（表 1）。しかし、疾患の重症度や合併症の有無を考慮した詳細な検討を行うことができなかった。そのため、LZD 誘発低ナトリウム血症のリスク因子として、基本的な患者背景（年齢と体重）、多くの入院患者でルーチンにモニターされている全血球数と血液生化学検査値、および投与前の血清ナトリウム値を評価した。

LZD 投与前の血清ナトリウム値と LZD 投与後の血清ナトリウム値の最低値は有意に異なっており、LZD 誘発低ナトリウム血症の発症率は 23.6%（21/89 例）であった。図 2 に示すように、投与前血清ナトリウム濃度が 160 mmol/L の患者が見られたが、外れ値として扱い再解析をした結果においても、同様な結果が得られた（date not shown）。

さらに、低ナトリウム血症が生じた患者の  $AUC_{0-12}$  は生じなかった患者の  $AUC_{0-12}$  と比較して有意に高値であった。これらの結果から、血清ナトリウム値の変化は LZD 曝露により影響を受けることが示唆された。ただし、 $AUC_{0-12}$  と血清ナトリウム値の最低値は、弱い相関（ $r = -0.2$ ）しか示さなかった。

したがって、投与後の血清ナトリウム値は LZD 投与により変化はするものの、リネズリド曝露に基づいた変化を予測することは困難である。また年齢と投与前の血清ナトリウム値の低値も低ナトリウム血症のリスク因子として検出された。前述のように、低ナトリウム血症はさまざまな要因によって生じる可能性がある。高齢患者の多様な背景が、低ナトリウム血症のリスク因子として年齢を検出した要因であると考えられた。さらに、低体重の患者は、LZD 曝露が増加することにより、低ナトリウム血症を発症する可能性が高いことが示唆された。本研究では、低ナトリウム血症は、投与前後の血清ナトリウム値の比率の変化ではなく絶対値としての血清ナトリウム値を用いて評価したため、投与前ナトリウム値が重要な危険因子として特定されたことは妥当な結果であり、投与前の血清ナトリウム値が低い患者は、LZD 誘発性低ナトリウム血症を発症する可能性が高い結果となった。

本研究においては研究の限界が存在する。第一に、併用投与された薬剤の影響について、

これらのデータを得ることができなかつたため、評価ができなかつた。また低ナトリウム血症が利尿薬によって誘発されるとする報告があり<sup>95)</sup>、田中らは、LZD 投与中の低ナトリウム血症発症のリスク因子としてカリウム保持性利尿薬の併用を報告しているが<sup>91)</sup>、LZD 誘発低ナトリウム血症の詳細なメカニズムは不明なままであり、さらなる研究での検証が必要である。第二に、本研究の解析において、139 人の患者から 50 人に及ぶ患者を除外した。その理由として、12 歳未満の小児患者では、推奨される用法用量が成人と異なるため除外したこと、加えて、CRRT を受けている患者を除外したことが考えられる。LZD の特徴として患者の腎機能によらず用法用量の調整は不要とされているが、CRRT に代表される腎代替療法を受けている患者の LZD 血中濃度は上昇することが報告<sup>78,80)</sup>されており、今回、この影響による低ナトリウム血症発症の評価を行うことができなかった。

本研究では、LZD 曝露 ( $AUC_{0-12}$  および累積 AUC)、投与前の血清ナトリウム値、および年齢が低ナトリウム血症のリスク因子として特定された。高齢患者に対して LZD を投与すると AUC が高値となる可能性があり、その結果、重篤な低ナトリウム血症に関連する有害事象が誘発される可能性があることを示した。

我々は本検討において、LZD 投与中、特に高齢者および LZD 投与前の血清ナトリウム濃度が低い患者においては、さらなる血清ナトリウム値の低下を未然に防ぐため定期的なモニタリングが望ましいことを示した。

## 総括

CRBSI の治療においては、カテ抜去に加えて感受性のある抗菌薬を投与することが、菌血症の再発リスクを低減することが示された。現在、自施設における感染症診療の支援時に本検討の結果を踏まえて CRBSI 症例に対するアセスメント、すなわち、最も注意を払うべき MRSA による CRBSI であれば、カテ抜去の提案に加えて血液から検出された MRSA の血液培養の陰性化を確認し、陰性化した日から最低 14 日間のバンコマイシンなどの適切な抗菌薬投与、さらに経過中の患者の容態やバンコマイシン濃度の管理を実行しており、今後のアウトカムの改善を目指して活動を継続すべきであると考ええる。

また、LZD 誘発血小板減少のリスク、すなわち巨核球系細胞の増殖や MLC のリン酸化について詳細に検討することが LZD 誘発血小板減少のメカニズムの解明につながる可能性がある。本有害事象の原因として、LZD の代謝物による影響も考えられているが、未報告であり考察の域を脱していない。LZD の安全性について多角的な視点から検討することが結果として有害事象の低減および予防に寄与できると考えられる。

加えて、LZD を投与する場合は、LZD 曝露量、年齢、治療前血清ナトリウム値を評価することで、低ナトリウム血症の発現を低減できる可能性が示された。さらに LZD に起因する低ナトリウム血症の機序を解明できれば、一層の LZD の血中濃度測定の重要性が高まると考えられる。現状、自施設における LZD の血中濃度測定はルーチンで行っていないが、今回検討した低ナトリウム血症や血小板減少症だけでなく他の有害事象と LZD 曝露による影響についても検討することは必要であり、業務の一環としての LZD 血中濃度の測定の導入を検討したい。

最後に本研究の結語として、菌血症治療は原因菌に感受性のある抗菌薬投与が必要である。特に CRBSI において、血液培養からは抗 MRSA 薬の投与を要する検出菌が多くみられ、カテ抜去に加えて VCM の投与が推奨される。しかし VCM が投与できない状況では代替薬として LZD を選択する場合がある。本研究は LZD 投与における LZD 誘発血小板減

少や低ナトリウム血症の予防のため安全な抗菌薬療法にも寄与し，その適正使用につながると考える．

## 出版目録

本論文は、次の論文を基礎とするものである。

1. 西 圭史, 中村 貴枝子, 高橋 陽子, 種岡 貴子, 佐野 彰彦, 小林 治, 河合 伸, 池田 俊也, 操 華子, 山田 治美. カテーテル関連血流感染に対する抗菌薬適正使用がその後の菌血症再発に及ぼす影響. 日本環境感染学会誌. 2015; 30(1): 7-13.
2. Tajima M, Kato Y, Matsumoto J, Hirokawa I, Suzuki M, Takashio Y, Yamamoto M, Nishi Y, Yamada H. Linezolid-Induced Thrombocytopenia Is Caused by Suppression of Platelet Production via Phosphorylation of Myosin Light Chain 2. Biol Pharm Bull. 2016; 39(11): 1846-1851.
3. Nishi Y, Ogami C, Tsuji Y, Kawasuji H, Yamada H, Kawai S, Sakamaki I, To H, Yamamoto Y. Evaluation of the relationship between linezolid exposure and hyponatremia. J Infect Chemother. 2020 Sep 12:S1341-321X(20)30310-X. doi: 10.1016/j.jiac.2020.08.017.

## 謝辞

本研究の遂行にあたり、終始御懇篤な御指導、御鞭撻を賜り、また本論文の御校閲をいただきました国際医療福祉大学大学院薬学研究科教授 山田治美先生に深く感謝しますとともに、謹んで厚く御礼申し上げます。本研究の遂行にあたり、修士過程において御指導、御鞭撻を賜りました現国際医療福祉大学大学院医学研究科公衆衛生学専攻教授 池田俊也先生、現静岡県立大学看護学部・大学院看護学研究科教授 操 華子先生に深く感謝しますとともに、謹んで厚く御礼申し上げます。

LZD 投与に起因する低ナトリウム血症と血中濃度との関連性の探求に関する研究および論文作成において、研究のテーマや LZD の測定また研究内容の精査など多岐に渡り的確なご助言と御指導御鞭撻を賜りました日本大学薬学部薬学研究センター次長教授 辻 泰弘先生に深く感謝しますとともに、謹んで厚く御礼申し上げます。

LZD に起因する血小板減少の基礎的メカニズムの解明に関する研究の作成において、研究テーマなど多岐に渡りご助言と的確な御指導御鞭撻を賜りました昭和大学薬学部基礎医療薬学講座薬物動態学部門 田島正教先生に深く感謝しますとともに、謹んで厚く御礼申し上げます。

そして本研究だけでなく私の感染制御へ関りの基となる ICT 活動において、終始御指導、ご鞭撻をいただきました杏林大学医学部付属病院感染科教授 河合 伸先生に深く感謝しますとともに、謹んで厚く御礼申し上げます。

最後に本研究の遂行および本論文の作成を陰で支えてくれた家族に心から感謝します。



## 主査・副査名

本学位論文の審査は国際医療福祉大学大学院薬学研究科で指名された下記の審査委員により行われた

主査 国際医療福祉大学三田病院 薬剤部 部長／薬学部・薬学研究科教授 中村 裕義

副査 国際医療福祉大学薬学部・薬学研究科 教授 倉本 敬二

副査 国際医療福祉大学薬学部・薬学研究科 准教授 清水 貴壽

文献引用

- 1) Magill SS, Jonathan R Edwards, Wendy Bamberg, et al. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections. *N Engl J Med.* 2014; 370: 1198-1208.
- 2) 日本環境感染学会 JHAIS 委員会：医療器具関連感染サーベイランス部門サーベイランス結果報告書(ICU・急性期一般病棟部門)2009年4月～2018年12月データサマリー CLABSI\_CAUTI\_VAP,2016年7月～2018年12月データ VAE . [http://www.kankyokansen.org/uploads/uploads/files/jsipc/jhais\\_device-CLABSI\\_CAUTI\\_VAP%202018.12.pdf](http://www.kankyokansen.org/uploads/uploads/files/jsipc/jhais_device-CLABSI_CAUTI_VAP%202018.12.pdf) (2020年12月27日閲覧)
- 3) VICTOR DR, HAIL MA, AMANI AE, et al. International Nosocomial Infection Control Consortium report, data summary of 50 countries for 2010-2015: Device-associated module. *Am J Infect Control.*2016;44:1495-1504.
- 4) Mermel LA, Farr BM, Sherertz RJ, Raad II, et al. Guidelines for the management of intravascular catheter-related infections. *Clin Infect Dis.* 2001; ;32: 1249-72.
- 5) Lindsey M. Weiner, MPH, Amy K. Webb, MPH, CHES, et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2016; 37: 1288-1301.
- 6) MRSA 感染症の治療ガイドライン作成委員会:MRSA 感染症の治療ガイドライン-改訂版-2019,2019.
- 7) Wilson AP: Clinical pharmacokinetics of teicoplanin. *Clin Pharmacokinet* 2000; 39: 167-83.
- 8) Gerber P, Stucki A, Acosta F, Cottagnoud M, Cottagnoud P: Daptomycin is more efficacious than vancomycin against a methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in experimental meningitis. *Antimicrob Chemother* 2006; 57: 720-3.

- 9) Silverman J A, Mortin L I, Vanpraagh A D, Li T, Alder J: Inhibition of daptomycin by pulmonary surfactant: in vitro modeling and clinical impact. *J Infect Dis* 2005; 191: 2149-52.
- 10) 吉田俊昭, 山本真志, 大石和徳, 他 : 新アミノ配糖体系抗生物質 HBK の基礎的・臨床的研究。 *Chemotherapy* 1986; 34(S-1): 332-43.
- 11) Matsumoto T, Hanaki H, Kimura T, et al: Clinical efficacy and safety of arbekacin sulfate in patients with MRSA sepsis or pneumonia: a multi-institutional study. *J Infect Chemother* 2013; 19: 128-37.
- 12) 山嵜達也 : ミトコンドリア遺伝子異常と内耳障害. *耳鼻臨床* 2011; 104: 533-40.
- 13) Ariano R E, Zelenitsky S A, Kassum D A: Aminoglycoside-induced vestibular injury: maintaining a sense of balance. *Ann Pharmacother* 2008; 42: 1282-9.
- 14) Sasaki T, Takane H, Ogawa K, et al: Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of linezolid and a hematologic side effect, thrombocytopenia, in Japanese patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 1867-73.
- 15) Maha A A, Laila CA. A case of Linezolid-Associated Hyponatremia in a Saudi Patient. *Esba Biomed J Sci & Tech Res.*2019; 17.
- 16) Sumeet V. K, Singhania MD, Linezolid - induced rare triad of hypoglycemia, bone marrow suppression and hyponatremia in elderly. *J Clin Pharm Ther.* 2020; 45: 376-378.
- 17) O'Grady NP, Alexander M, Dellinger EP, Gerberding JL, et al : Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *MMWR Recomm Rep.* 2002; 51: 1-29.

- 18) Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, et al. Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter - Related Infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis :2009. 49 (1) . 1-45.
- 19) Jensen AG, Wachmann CH, Espersen F, Scheibel J.et al. Treatment and outcome of Staphylococcus aureus bacteremia: a prospective study of 278 cases. Arch Intern Med. 2002; 162: 25-32.
- 20) Kim SH, Park WB, Lee KD, Kang CI,et al. Outcome of inappropriate initial antimicrobial treatment in patients with methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteraemia. J Antimicrob Chemother. 2004; 54: 489-97.
- 21) reference literature in the Internet.[http://www.uptodate.com/contents/treatment-of-intravascular-catheter-related-infections?source=search\\_result&search=CRBSI&selectedTitle=1%7E31#H11](http://www.uptodate.com/contents/treatment-of-intravascular-catheter-related-infections?source=search_result&search=CRBSI&selectedTitle=1%7E31#H11)
- 22) 菅原香織, 吉田昌子, 後藤亜希子, 福田侑子,他. ICU における開放式輸液ルート交換時期の検証 中心静脈カテーテル関連血流感染サーベイランスからの評価日本看護学会論文集, 成人看護 I ; 39, 63-65 ; 2009.03
- 23) 一戸真由美, 石田憲英, 横山千尋, 栗山陽子, 他. 感染制御チーム その現状と役割 北海道がんセンターの血管留置カテーテル関連感染対策改善の効果. 医療. 2007 ; 6; 404-409.

- 24) Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* 2006; 34: 1589-96.
- 25) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業.  
[http://www.nih-janis.jp/report/open\\_report/2010/3/1/ken\\_Open\\_Report\\_201000.pdf](http://www.nih-janis.jp/report/open_report/2010/3/1/ken_Open_Report_201000.pdf)  
#search='JANIS 2010 年 血液検体' (2011 年 1 月 1 日閲覧)
- 26) Kollef MH, Morrow LE, Niederman MS, Leeper KV, et al. Clinical characteristics and treatment patterns among patients with ventilator-associated pneumonia. *Chest.* 2006; 129: 1210-8.
- 27) Scaglione F. Can PK/PD be used in everyday clinical practice. *Int J Antimicrob Agents.* 2002; 19; 349-53.
- 28) Ammerlaan H, Seifert H, Harbarth S, Brun-Buisson C, et al. Adequacy of antimicrobial treatment and outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia in 9 Western European countries. *Clin Infect Dis.* 2009; 49; 997-1005.
- 29) MRSA 感染症の治療ガイドライン作成委員会, “MRSA 感染症の治療ガイドライン”, 改訂版 2019, 公益社団法人日本化学療法学会・一般社団法人日本感染症学会, 東京, 2019.

- 30) Shinabarger D. Mechanism of action of the oxazolidinone antibacterial agents. *Expert Opin. Investig. Drugs.*1999; 8; 1195-1202.
- 31) Conte JE Jr, Golden JA, Kipps J, Zurlinden E. Intrapulmonary pharmacokinetics of linezolid. *Antimicrob. Agents Chemother.*2002; 46, 1475-1480.
- 32) Villani P, Regazzi MB, Marubbi F, et al. Cerebrospinal fluid linezolid concentrations in postneurosurgical central nervous system infections. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2002; 46, 936-937.
- 33) Lovering AM, Zhang J, Bannister GC, et al. Penetration of linezolid into bone, fat, muscle and haematoma of patients undergoing routine hip replacement. *J. Antimicrob. Chemother.*2002; 50, 73-77.
- 34) Gee T, Ellis R, Marshall G, Andrews J, et al. Pharmacokinetics and tissue penetration of linezolid following multiple oral doses. *Antimicrob. Agents Chemother.*2001; 45, 1843-1846.
- 35) Welshman IR, Sisson TA, Jungbluth GL, et al, Hopkins NK. Linezolid absolute bioavailability and the effect of food on oral bioavailability. *Biopharm. Drug Dispos.*2001; 22, 91-97.

- 36) ザイボックス®インタビューフォーム 2020年3月改定版(第16版)ファイザー株式会社
- 37) Xerri O, Lemaire B, Nasser G, Rousseau-Huvey B, Labetoulle M, Rousseau A.  
Severe linezolid-induced toxic optic neuropathy. *J Fr Ophtalmol.* 2015 ;38: e55-8.
- 38) Birmingham MC, Rayner CR, Meagher AK, et al. Linezolid for the treatment of multidrug-resistant, Gram-positive infections: experience from a compassionate-use program. *Clin. Infect. Dis.* 2003; 36, 159-168.
- 39) Takahashi Y, Takesue Y, Nakajima K, et al. Risk factors associated with the development of thrombocytopenia in patients who received linezolid therapy. *J. Infect. Chemother.* 2011; 17, 382-387.
- 40) Nukui Y, Hatakeyama S, Okamoto K, et al. High plasma linezolid concentration and impaired renal function affect development of linezolid-induced thrombocytopenia. *J. Antimicrob. Chemother.* 2013; 68, 2128-2133.
- 41) Pea F, Viale P, Cojutti P, et al. Therapeutic drug monitoring may improve safety outcomes of long-term treatment with linezolid in adult patients. *J. Antimicrob. Chemother.* 2012; 67, 2034-2042.
- 42) Lin YH, Wu VC, Tsai IJ, et al. High frequency of linezolid-associated thrombocytopenia among patients with renal insufficiency. *Int. J. Antimicrob.* 2006; 28, 345-351.

- 43) Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al: The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA* 315:801-810, 2016.
- 44) Asakura H. Classifying types of disseminated intravascular coagulation: clinical and animal models *Journal of Intensive Care*. 2014; 2:20.
- 45) Attassi K, Hershberger E, Alam R, et al. Thrombocytopenia associated with linezolid therapy. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 34, 695-698.
- 46) Grau S, Morales-Molina JA, Mateu-de Antonio J, Marín-Casino M, Alvarez-Lerma F. Linezolid: low pre-treatment platelet values could increase the risk of thrombocytopenia. *J. Antimicrob. Chemother*, 2005; 56, 440-441.
- 47) Tsuji Y, Hiraki Y, Matsumoto K, et al. Thrombocytopenia and anemia caused by a persistent high linezolid concentration in patients with renal dysfunction. *J. Infect. Chemother*. 2011; 17, 70-75.
- 48) Ikuta S, Tanimura K, Yasui C, et al. Chronic liver disease increases the risk of linezolid-related thrombocytopenia in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected patients after digestive surgery. *J. Infect. Chemother*. 2011; 17, 388-391.



- 49) Sasaki T, Takane H, Ogawa K, et al. Population pharmacokinetic and pharmacodynamics analysis of linezolid and a hematologic side effect, thrombocytopenia, in Japanese patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011; 55, 1867-1873.
- 50) Hitron A, Steinke D, Sutphin S, et al. Incidence and risk factors of clinically significant chemotherapy-induced thrombocytopenia in patients with solid tumors. *J. Oncol. Pharm. Pract.* 2011; 17; 312-319.
- 51) Visentin GP, Liu CY. Drug-induced thrombocytopenia. *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 21, 2007; 685-696.
- 52) Aster RH, Curtis BR, McFarland JG, et al. Drug-induced immune thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis, and management. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 7; 911-918.
- 53) Gowthami M Arepally, Thomas L Ortel. Clinical practice. Heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med.* 2006; 24; 809-17.
- 54) Kim KA, Lee JY, Park KS, et al. Mechanism of menadione-induced cytotoxicity in rat platelets. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1996; 138; 12-19.
- 55) Cho YS, Kim MJ, Lee JY, et al. The role of thiols in protecting against simultaneous toxicity of menadione to platelet plasma and intracellular membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997; 280: 1335-1340.

- 56) Bishton MJ, Harrison SJ, Martin BP, et al. Deciphering the molecular and biologic processes that mediate histone deacetylase inhibitor-induced thrombocytopenia. *Blood*. 2011; 117; 3658-3668.
- 57) Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 9227; 680-685.
- 58) Séverin S, Ghevaert C, Mazharian A. The mitogen-activated protein kinase signaling pathways: role in Megakaryocyte differentiation. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8; 17-26.
- 59) Chen S, Su Y, Wang J. ROS-mediated platelet generation: a microenvironment-dependent manner for Megakaryocyte proliferation, differentiation, and maturation. *Cell Death Dis.* 2013; 4; e722.
- 60) STEM CELLS 2007;25:2390 –2395 [www.StemCells.com](http://www.StemCells.com).  
<https://stemcellsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1634/stemcells.2007-0544>  
(2016年1月1日閲覧)
- 61) M Ogura, Y Morishima, R Ohno, et al. Establishment of a novel human megakaryoblastic leukemia cell line, MEG-01, with positive Philadelphia chromosome. *Blood*. 1985; 66; 1384-92.
- 62) Leeksma CH, Cohen JA. Determination of the life of human blood platelets using labelled diisopropylfluorophosphate. *Nature*, 1955;175; 552-553.

- 63) George JN. Platelets. *Lancet*. 2000; 355; 1531-1539.
- 64) MacGowan AP. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of linezolid in healthy volunteers and patients with Gram-positive infections. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003;51: (Suppl. 2), ii17-ii25.
- 65) Hong Y, Martin JF, Vainchenker W, et al. Inhibition of protein kinase C suppresses megakaryocytic differentiation and stimulates erythroid differentiation in HEL cells. *Blood*. 1996; 87; 123-131.
- 66) Dai W, Murphy MJ Jr. Downregulation of GATA-1 expression during phorbol myristate acetate-induced megakaryocytic differentiation of human erythroleukemia cells. *Blood*. 1993; 81; 1214-1221.
- 67) Takeuchi K, Satoh M, Kuno H, Yoshida T, Kondo H, Takeuchi M. Platelet-like particle formation in the human megakaryoblastic leukaemia cell lines, MEG-01 and MEG-01s. *Br. J. Haematol*, 1998; 100; 436-444.
- 68) Chang Y, Auradé F, Larbret F, et al. Proplatelet formation is regulated by the Rho/ROCK pathway. *Blood*. 2007; 109; 4229-4236.
- 69) Kishi K, Sasaki T, Kurida S, et al. Regulation of cytoplasmic division of *Xenopus* embryo by rho p21 and its inhibitory GDP/GTP exchange protein(RhoGDI). *J Cell Bio*. 1993; 120; 1187-95.

- 70) Mabuchi I, Hamaguchi Y, Fujimoto H, et al. A rho-like protein is involved in the organisation of the contractile ring in dividing sand dollar eggs. *Zygote*. 1993; 1; 325-31.
- 71) Mark J, Simon J, Benjamin P, et al. Deciphering the molecular and biologic processes that mediate histone deacetylase inhibitor-induced thrombocytopenia. *BLOOD*. 2011; 117; 3658-3668.
- 72) Komatsu M, Takahata M, Sugawara M, et al. Penetration of linezolid into rabbit intervertebral discs and surrounding tissues. *Eur. Spine J*. 2010;19; 2149-2155 .
- 73) Niessen J, Jedlitschky G, Grube M, et al. Human platelets express organic anion-transporting peptide 2B1, an uptake transporter for atorvastatin. *Drug Metab. Dispos*. 2009; 37; 1129-1137.
- 74) Parvez MM, Jung JA, Shin HJ, et al. Characterization of 22 antituberculosis drugs for inhibitory interaction potential on organic anionic transporter polypeptide (OATP)-mediated uptake. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2016; 60; 3096-3105.
- 75) Iancu-Rubin C, Gajzer D, Mosoyan G, R. Panobinostat (LBH589)-induced acetylation of tubulin impairs Megakaryocyte maturation and platelet formation. *Exp. Hematol*, 2012; 40; 564-574.

- 76) Tsuji Y, Holford NHG, Kasai H, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of linezolid-induced thrombocytopenia in hospitalized patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2017; 83: 1758-72.
- 77) Hashemian SMR, Farhadi T, Ganjparvar M. Linezolid: a review of its properties, function, and use in critical care. *Drug Des Devel Ther.* 2018; 12: 1759-67.
- 78) Ide T, Takesue Y, Ikawa K, et al. Population pharmacokinetics/pharmacodynamics of linezolid in sepsis patients with and without continuous renal replacement therapy. *Int J Antimicrob Agents.* 2018; 51: 745-51.
- 79) MacGowan AP. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of linezolid in healthy volunteers and patients with Gram-positive infections. *J Antimicrob Chemother.* 2003; 51 Suppl 2:ii17-25.
- 80) Matsumoto K, Shigemi A, Takeshita A, et al. Analysis of thrombocytopenic effects and population pharmacokinetics of linezolid: a dosage strategy according to the trough concentration target and renal function in adult patients. *Int J Antimicrob Agents.* 2014; 44: 242-7.
- 81) Boak LM, Rayner CR, Grayson ML, et al. Clinical population pharmacokinetics and toxicodynamics of linezolid. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58: 2334-43.

- 82) Meagher AK, Forrest A, Rayner CR, et al. Population pharmacokinetics of linezolid in patients treated in a compassionate-use program. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2003; 47: 548-53.
- 83) Cattaneo D, Alffenaar JW, Neely M. Drug monitoring and individual dose optimization of antimicrobial drugs: oxazolidinones. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2016; 12: 533-44.
- 84) Aattasi K, Hershberger E, Alam R, et al. Thrombocytopenia associated with linezolid therapy. *Clin Infect Dis*. 2002; 34: 695-8.
- 85) Hanai Y, Matsuo K, Ogawa M, et al. A retrospective study of the risk factors for linezolid-induced thrombocytopenia and anemia. *J Infect Chemother*. 2016; 22: 536-42.
- 86) Sasaki T, Takane H, Ogawa K, et al. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of linezolid and a hematologic side effect, thrombocytopenia, in Japanese patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011; 55: 1867-73.
- 87) Li Y, Xu W. Efficacy and safety of linezolid compared with other treatments for skin and soft tissue infections: a meta-analysis. *Biosci Rep*. 2018; 38. 10.

- 88) Pea F, Cojutti PG, Baraldo M. A 10-year experience of therapeutic drug monitoring (TDM) of linezolid in a hospital-wide population of patients receiving conventional dosing: Is there enough evidence for suggesting TDM in the majority of patients? *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2017; 121: 303-8.
- 89) Tsuji Y, Tashiro M, Ashizawa N, et al. Treatment of mediastinitis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a renal dysfunction patient undergoing adjustments to the linezolid dose. *Intern Med.* 2015; 54: 235-9.
- 90) Cattaneo D, Gervasoni C, Cozzi V, Castoldi S, Baldelli S, Clementi E. Therapeutic drug management of linezolid: a missed opportunity for clinicians? *Int J Antimicrob Agents.* 2016; 48: 728-31.
- 91) Tanaka R, Suzuki Y, Y. T, Iwao M, et al. A retrospective analysis of risk factors for linezolid-associated hyponatremia in Japanese patients. *Biol Pharm Bull.* 2016; 39: 1968-73.
- 92) Singhania SVK, Shenoy S, Kapoor D. Linezolid-induced rare triad of hypoglycaemia, bone marrow suppression and hyponatraemia in elderly. *J Clin Pharm Ther.* 2020; 45: 376-8.
- 93) Ioannou P, Stavroulaki M, Mavrikaki V, et al. A case of severe hyponatremia due to linezolid-induced SIADH. *J Clin Pharm Ther.* 2018; 43: 434-6.

- 94) Ogami C, Tsuji Y, To H, Yamamoto Y. Pharmacokinetics, toxicity and clinical efficacy of linezolid in Japanese pediatric patients. *J Infect Chemother.* 2019; 25: 979-86.
- 95) Hoorn E, Zietse R. Diagnosis and treatment of hyponatremia: Compilation of the guidelines. *J Am Soc Nephrol.* 2017; 28: 1340-9.
- 96) Spasovski G, Vanholder R, Allolio B, et al. Clinical practice guideline on diagnosis and treatment of hyponatraemia. *Nephrol Dial Transplant.* 2014; 29 Suppl 2:i1-i39.
- 97) Verbalis JG, Goldsmith SR, Greenberg A, et al. Diagnosis, evaluation, and treatment of hyponatremia: expert panel recommendations. *Am J Med.* 2013; 126(10 Suppl 1):S1-42.