

れも、前述したようにGCPにおいて各「自ら治験を実施する者」があたかも一つの製薬企業と同等に扱われ、多施設共同試験を想定した記載でないことが原因であると筆者は思っている。今後、提出する側、される側の手間を減らすべく、事態の改善されることを願う。なお、行政文書たる治験届の作成は医師自身が行えるような単純なものではないので、手慣れた人材を雇用するか、何らかの形で委託するべきである。

3. 治験の実施

個々の施設における治験の実施は企業試験と特に変わることはない。実施計画書に沿って被験者を組み入れ、治験を実施する点は同じである。医師主導治験において治験実施期間中に注意すべきは、安全性情報の取り扱いやモニタリング、データマネジメントといった、企業治験では医師には見えない中央事務局的作業の数々である。特に安全性情報については、規制当局報告義務に該当する場合、7日報告、15日報告といった報告期限があり、守らないとGCP違反にあたり治験の質そのものが著しく低下するおそれがある。また、自ら治験を実施する者には、当該治験のみならず、治験薬に関連する安全性情報を広く収集する義務があり(GCP第26条の6)、あらかじめ治験薬提供者と安全性情報の提供を受けるための契約を結んでおく必要がある。

企業治験を受託して、治験中にモニターの訪問を受けた医師は多いであろうが、自らモニターを指揮して治験の品質管理を行った経験のある医師はあまりいないだろう。国内では臨床研究の品質管理という概念がほとんどなく、治験のモニターにしても「カルテと症例報告書をつきあわせて内容を確認する人」といった程度の認識かもしれない。一方、米国ではNIHが臨床研究に対してリスクレベルに応じたモニタリングポリシーを定めている³⁾。内容は、介入を伴う臨床研究において、研究者が試験の進捗を管理すること、独立したモニタリング担当者をもって有害事象などに関するモニタリングを実施すること、トランスレーショナルリサーチのようなリスクの高い研究については、独立データ安全性評価委員会(Data and Safety Monitoring Board)を設置することなど

である。臨床研究のデータの品質管理と被験者保護の観点から最低限必要な内容であり、薬事法の規制のかからない臨床研究においては、国内でも有用かつ実行可能であろう。

国内の治験では、規制当局がデータの信頼性の担保を強く要請することもあって、カルテなどの原資料と症例報告書の内容の整合性のチェックのため、モニタリングといえれば施設でのカルテ閲覧などの活動が中心になる。医師主導治験の場合は、それに加えて「自ら治験を実施する者」が作成・管理する各種文書に不整合がないか、実施計画書改訂の版管理が行われ、全て保存してあるか、各種手順書が作成され、それに則って業務が実施されているか、安全性情報の収集と評価が適切に実施できる体制をとっているか、多施設共同試験の場合に全ての「自ら治験を実施する者」が必要な情報を入力し、適切に処理判断しているか、治験の運営管理がGCPの規制を遵守して適正に行われているかをチェックし、問題があれば治験実施中に改善しなければならぬ。

データマネジメントという言葉も、医師にとつてはまだ一般的ではないと思われる。臨床研究(特に多施設共同)を実施したことがある人のなかには、症例報告書の記載に、いかにデータの欠落や記載ミスなどが多いかを実感された人も多いと思う。例えば、100例の症例報告書を集めたとしても、項目ごとにデータの欠落や記載ミス、不整合、また記載者ごとに異なる記載方法や検査値の単位間違いなどが、少なくとも数%、項目によっては10%以上あることもある。このままでは、データに「ゴミ」が混じった状態で、解析しても“garbage in, garbage out”、すなわち「ゴミの混じったデータからはゴミのような結果しか出てこない」ということになってしまう。このような事態を防ぐために、症例報告書およびデータベースの作成からデータ収集、データベースへの入力という一連の流れのなかで、欠落データを減少させ、記載ミスや不整合を防ぎ、起こってしまったミスを発見して修正するといった活動を行って、データベースの品質を高め、ひいては正しい研究成果を導くのがデータマネジメントである。治験

ではモニタリングやデータマネジメントによってデータの品質管理を行うことが義務づけられており、専門性の高いCROに委託すべき業務である。治験ほどの頑健さを要求しないとしても、全ての臨床研究においてデータの品質管理という概念を持って実施することが今後重要になってくると思われる。

4. 治験の終了

企業治験では、症例登録期間が終了し、登録症例のフォローアップが終わり症例報告書を提出し終えたら、「この治験は終わった」と一息つけるが、医師主導治験では、それからさらにいろいろな作業が待っている。まず、前述のデータマネジメント活動の一環として、症例報告書に記載されたデータの中で欠測、記載漏れ、記載ミス、不整合などを再度確認し修正(データクリーニング)していかなければならない。また、実施計画書の記載によっては、独立した評価委員会や症例検討会の開催など、事前に決められた手順に沿って有効性、安全性に関連する重要な所見について客観的なチェックを実施し、得られたデータの信頼性を担保するという作業が発生する。それら一連の手順が終わればデータ固定をして、あらかじめ作成していた詳細な解析計画書に沿って統計解析を実施する。このころに、治験終了届も出さなければならない。解析結果を基に、総括報告書を作成するが、薬事法関連規則に適合した形式で作成しなければならない(「治験の総括報告書の構成と内容に関するガイドライン」平成8年5月1日薬審第335号)ので、医師個人が書くのは困難である。最後に、治験に関連した各種文書をGCPで定められた期間、保存しなければならない。保存に際しては、十分な安全管理体制が求められるため、保存場所についてもあらかじめ検討し、医師個人ではなく、施設として保存すべきであろう。

おわりに—医師主導治験の先にあるもの

「医師主導治験の考え方」というタイトルで書

き始めたが、実際には「やり方」がほとんどなくなってしまった。そもそも、医師主導治験は別に目新しいものではなく、長年の間、医師の目の前で製薬企業が実施していたこと、その一部だけを医師に委託されていた治験の全体がようやく医師の目の前に現れ、手をつけることが可能になったという、ただそれだけの話である。しかし、いざ治験を実施してみようと思ったときに、ほとんどの医師は、自分の知識のなさに愕然とするのではないだろうか。それは、医師がいままで自らが治療で使う医薬品、医療機器などの開発に無関心であったことの現れではないかと筆者は思っている。医師主導治験は、医師自身が、自らの治療法となるべきよりよい医薬品・医療機器などを、主体的に手に入れるための方法の一つである。治験は、医薬品・医療機器などが開発され、承認され医師の手に届くまでの一つのステップにすぎない。しかし、そのステップはトランスレーショナルリサーチと同じ、ベンチサイドからベッドサイドまでのライン上にある⁴⁾。治験は、医療技術開発の一つの雛形であり、体系化された方法論に基づいた手法である。医師が新しい医療技術を安全かつ有効にベッドサイドに届ける方法論を身につけていくことで、医療レベルをさらに向上させることが、医師主導治験の真の目標ではないだろうか。

文献

- 1) 日本製薬工業協会ホームページ「研究開発Q&A」
http://www.jpma.or.jp/med_qa/kk40/kk40.htm
- 2) Manolio TM(丸 章子訳): 観察研究と臨床試験—デザインと実施—。NIH 臨床研究の基本と実際(John I Gallin 編, 井村裕夫監修, 竹内正弘, 藤原康弘, 渡辺享監訳), 丸善出版事業部, 東京, pp 169-187, 2004
- 3) NIH POLICY FOR DATA AND SAFETY MONITORING <http://grants2.nih.gov/grants/guide/notice-files/not98-084.html>
- 4) 藤原康弘: トランスレーショナル・リサーチの体制整備—医師主導治験を例として、臨床薬理に基づく医薬品開発戦略(杉山雄一, 津谷喜一郎編), 広川書店, 東京, pp 293-308, 2006

医師主導型臨床研究・治験とはなにか

Investigator-initiated clinical trials——What should they be carried out?



山本 晴子

Haruko YAMAMOTO

国立循環器病センター臨床研究開発部

◎治験とは、薬事法の下で医薬品などの承認申請のための資料作成を目的として、事前に規制当局に届け出たうえで実施される臨床試験である。平成14年度(2002)の薬事法改正において医師も治験の届出を行うことが可能になり、医師主導治験が実施できることとなったが、現状ではさまざまな困難を抱えている。一方、わが国においては、医師が主体的に実施する治験以外の臨床試験の実施も順調とはいえない。治験ではカバーできない臨床現場のニーズを満たすためには、臨床研究、とくに臨床試験の実施を進める体制整備が不可欠である。

Key word 医師主導治験, 臨床試験, GCP

臨床研究とはなにか。アメリカ医科大学協会(American Association Medical Colleges : AAMC)では臨床研究(clinical research)を、「ヒトの疾患の理解、疾病の予防および治療、ならびに健康増進のために不可欠な知識を創出するための、医学、保健学研究の一部である。臨床研究には、患者とのコミュニケーション、臨床検体やデータに基づく診断、さらに人口集団を対象とした一連の研究が含まれ、これらのそれぞれのカテゴリーにおいて病態生理、トランスレーショナル研究、臨床知識、疾患の早期発見、疾患の診断と“自然史”、臨床試験を含む治療的介入、予防と健康増進、行動研究、健康行政研究、疫学、地域社会ベースの研究、保険種別ベースの研究などがある」と定義している¹⁾。つまり臨床研究とは、ヒトの健康にかかわる広大な領域において行われる研究を指す。このように広い範囲の臨床研究のなかで、治療的介入を行い、その介入方法の有効性および安全性を検討する研究が臨床試験 Clinical trial である。

本稿では広大な範囲を指す“臨床研究”ではなく、“治験”とほぼ同等の意味の“臨床試験”につ

いて説明を加える。また、対象となる介入方法は医薬品のみならず、医療機器やその他の医療技術一般であるが、わかりやすい対象として、とくに断らないかぎりには医薬品に関する治験、臨床試験について書くこととする。

治験とはなにか

わが国では“臨床試験”と“治験”が異なる試験のカテゴリーであるかのように認識されているが、“治験”および“臨床試験”に相当する英語は同じ(clinical trial)であり、試験の目的やスポンサーの違いなどによって区別されるだけである。

では“治験”とはなにか。薬事法第2条第7項には、“この法律で「治験」とは第十四条第三項(同条第七項、第十九条の二第四項及び第二十三条において準用する場合を含む。)の規定により提出すべき資料のうち臨床試験の試験成績に関する資料の収集を目的とする試験の実施をいう”とある。また第80条の2には、“治験の依頼をしようとする者又は自ら治験を実施しようとする者は、あらかじめ、厚生労働省令で定めるところにより、厚

表 1 「自ら治験を実施しようとする者」が作成すべき業務手順書等
(GCP 第 15 条の 2)

1. 治験実施計画書
2. 治験薬概要書
3. 説明文書(第 15 条の 6)
4. モニタリングの実施に関する手順書
5. 監査の実施に関する計画書及び業務手順書
6. 治験薬の管理に関する手順書
7. 副作用情報等収集などの業務に関する手順書
8. 総括報告書の作成及び記録の保存などの業務に関する手順書

ここに示した以外にも多大な文書、手順書類の作成に加え、実施体制の構築なども、治験実施前に行う必要がある。

生労働大臣に治験の計画を届け出なければならない”とある。つまり医薬品、医療機器などの承認申請を目的として計画され、事前に厚生労働省に届けだされた臨床試験のみが治験である。逆に、この条件を満たさないものは、治験ではない“自主”臨床試験である。また、“治験”の実施には薬事法関連法規制が適用される。

医師主導治験とはなにか

1. 医師主導治験の誕生

平成 14 年(2002)の薬事法改正において薬事法第 80 条の 2 に、“治験の依頼をしようとする者又は自ら治験を実施しようとする者は、あらかじめ、厚生労働省令で定めるところにより、厚生労働大臣に治験の計画を届け出なければならない”と記載された。この“自ら治験を実施しようとする者”(治験が開始された後は“自ら治験を実施する者”)が、すなわち医師であり、この言葉があらたに追加されたことにより、医師自らが治験を計画し、厚生労働大臣に届け出ることを許され、医師主導治験が可能となった。

2. 医師主導治験の現状

医師主導治験の実施には資金と治験薬を調達しなければならない。多くの場合、製薬企業などから治験薬の提供を受けることになるが、このとき治験薬だけでなく、その医薬品に関する各種製剤試験結果、非臨床試験の結果、毒性に関するデータ、いさまでに実施された治験の結果など、治験薬概要書を作成するために必要な情報の提供も受ける必要がある。また、当該治験実施中に治験薬提供者と自ら治験を実施する者との間で安全性に

関する情報を提供しあえる体制を構築しなければならない。資金については、1本の治験には最低でも数億から十億程度の額が必要となるため、高額の研究費を準備する必要がある。そのうえで、製薬企業が治験において行う活動のほとんどを“自ら治験を実施する者”である医師が単独で実施しなければならない。例として“自ら治験を実施する者”が準備しなければならない主要な文書を表 1 に掲げる。

実際に数本の医師主導治験が計画・実施された段階で、いくつもの制度上の問題点が指摘され、そのうち数点は検討の末、改善された(例:安全性情報のうち、海外の安全性情報を治験薬提供者から入手した場合、重篤なものについては規制当局への報告義務があったが、これが免除された)。しかし、大きな問題がいくつも残っている。たとえば、被験者への補償体制である。企業が治験を実施する場合は治験補償保険に入り、万一補償案件が発生した場合は当該保険で拠出し、保険で払えない部分は企業自身が支払うなどの対応をとっている。しかし、医師主導治験では日本医師会治験促進センターが準備した治験補償保険以外はなく、この保険の内容も死亡または重篤な後遺症が残った場合のみ補償が受けられるという内容である。他の研究費の枠組みで医師主導治験を実施する場合は現状では補償体制の準備が困難であろう。また、企業の治験の場合、治験期間中のすべての検査・画像診断料と同種同効薬の費用は保険外併用療養費として企業が全額負担している。医師主導治験では検査・画像診断料を保険請求することが認められたが、同種同効薬についてはいぜ

ん保険請求できない。全額研究費で負担することになると計画によっては莫大な支出が生じる。このように、いままで企業が負担していた責務をそのまま“自ら治験を実施する者”たる医師に負わせることが、企業と医師というまったく性格も規模も異なる二者を同等として扱うことであり、実施可能性の面から困難であることは明らかである。医師主導治験普及の観点から、さらなる制度改正が実施されることを望みたい。

3. 医師主導治験の意義

医薬品の開発には長い時間と膨大な資金が必要である。新規物質の探索・作製からはじまり、物理化学的研究、各種薬効薬理の検討、動物実験による有効性・安全性の検討などを十分に行い、有効かつ安全であると思われる候補物質のみが臨床での検討段階、すなわち治験に進むことができる。治験ではまず健康人(抗癌剤など特殊な薬物では当初から患者)を対象とした第Ⅰ相試験を実施して、有効量と目される投与量の数倍量までの安全性を確認する。その後、第Ⅱ相試験で有効量の探索を行い、第Ⅲ相試験でその検証を行う。そのほかに特殊な患者群における安全性、長期投与が予定される薬剤では長期投与による安全性など、実地医療で使用されるさまざまな状況に応じてデータが収集される。新規物質の作製から治験実施前までに5~8年、治験に3~7年がかかるといわれ、無事承認され、市販される薬剤は、生成された新規物質の1/5,000~1/6,000といわれている²⁾。

必然的に、医薬品開発には膨大な資金が投入され、製薬企業は無事市販に至った薬剤で利潤をあげ、開発資金を回収し、つぎの医薬品開発を進めなければならない。一方、患者が極端に少ない疾患、既存の医薬品であって薬価が非常に低い場合など、治験に投下する資金を回収できないと企業が判断する場合がある。この場合、当然のことながら製薬企業の開発意欲は乏しくなり、治療がなかなか臨床現場に届かないという事態が起こりうる。厚生労働省はこうした医薬品開発の停滞を解消するため、“適応外使用に係る医療用医薬品の取扱いについて”(平成11年2月1日研第4号医薬審第104号)という通知を発出して、国内で広く適応外使用として使用されている医薬品に対して

は、治験を実施しなくても承認申請ができる道を用意するなどしてきた。しかし、医薬品開発の主導権が製薬企業のみになされている状況では、開発意欲と現場のニーズが合致しない状況はけっして解消されない。

医師主導治験は医師に治験の実施を可能にすることで、臨床現場のニーズを臨床開発の流れに直接反映させることができる制度として登場した。つまり医師主導治験は製薬企業に依存せず、医師自身が臨床ニーズに合わせた治療法を獲得する手段のひとつである。

“医師主導型”臨床試験

“医師主導型治験”という言葉が世に出た影響からか、“医師主導型臨床試験”という言葉もまた頻用されるようになったが、この言葉に違和感を覚えるのは著者だけであろうか。本来、臨床研究は医師が主体的に実施するものであり、“医師主導”でない臨床研究は存在しないはずである。日本の医師がいままでいかに臨床研究に力を注いでこなかったかという事実が、この“医師主導型臨床試験”という言葉を生んでいるのではないか。

1. 治験との違い

ここで、“治験”と治験以外の“臨床試験”の違いを確認しておこう。“治験”はさきにも書いたように、医薬品などの承認申請の資料作成のために行われる臨床試験であって、厚生労働大臣に事前の届出を行ったものとされている。つまり“治験”は、①承認申請することを目的とし、②事前に規制当局に届け出てから実施され、③実施にあたっては薬事法の規制を守らなければならないが、さらに、④承認申請資料として認められるのは治験のデータのみである。つまり、いかに良質な臨床試験を行って、それが世界的に評価され、国際的一流雑誌に掲載されたとしても、その結果をもって当該医薬品の承認を得ることはできない(さきに紹介した適応外使用の通知を利用すれば別)。

2. 臨床試験の意義

治験以外の臨床試験の意義はなにか。それは承認申請にとらわれず、臨床現場のニーズや疑問を医師が主体となって解決する手段であろう。とくに、製薬企業が興味を払わない領域における新規

治療の開拓(たとえば薬価の安い古い医薬品の適応外使用など)、複数の治療の組合せによる治療効果の向上の検討、稀少疾病に対する治療法の開発など、企業では実施しにくい分野や、すぐに治験にとりかかれない状況では、医師自らが試験を実施し世に示さなければ、医療技術のさらなる開発は望めない。トランスレーショナル研究も従来の治験の枠組みでは実施しにくい分野のひとつであり、医師が主体となって進めていかなければならない。

もうひとつ、社会的意義が高く、製薬企業任せにしている分野が第Ⅳ相試験である。承認された薬剤が治験とは比較にならない大規模の人数に対して使用されたときに、治験で推測されたのと同様以上の有効性がみられるのか、あらたな安全性上の問題が出現しないのかといった検討は製薬企業任せにすべきではなく、中立的な立場での検証が欠かせない³⁾。近年、アメリカでは承認された薬剤の実に5%が市場から撤退するというデータも示されている。最近でも、rofecoxibというCOX-2阻害薬が心血管リスクを増大させることが大規模臨床試験(効能拡大目的で製薬企業が実施)で明らかになり、市場から撤退したことは記憶に新しい。承認された新しい医薬品は臨床現場が評価しなければならないのである。

3. 実施上の問題点

わが国において“医師主導型”臨床試験の実施を困難にしている問題点はさまざまであるが、ひとつには日本の医療保険システムのなかで研究的診療の位置づけが不明確であり、事実上“混合診療”となり実施が困難であることがあげられる。同様の社会保険システムを採用している欧米諸国では、医療保険と研究的診療が並存した形で行われている。わが国でもこの点についてのシステムの改善が望まれる。

また、医師に対する臨床研究方法論に関する教育が不十分であること、また臨床研究の補助人材が希薄であることなども問題となっている。とくに、わが国では生物統計やデータマネジメントといった、臨床試験を科学的に計画し、その品質を管理するための手法と人材が決定的に欠落してい

る。この分野を早急に補強しなければ、わが国の臨床試験の結果に対する信頼性を担保し、国際的に高い評価を得ることは今後ますます困難となっていくと思われる。厚生労働省が作成し、平成19年度(2007)より開始される“次期治験活性化5カ年計画”では、治験のみならず臨床研究全般の発展をめざしてさまざまなインフラ整備が提言された。これらが実現することで、臨床研究が効率的に実施されることを願う。

おわりに

医薬品を含め、新規医療技術が臨床現場に届くということは、規格化され、製品化されて全国各地でも使用できる状態であり、製薬企業などの産業界の活動があつてこそ実現可能となる。そのための医師と製薬企業の連携は欠かせない。しかし、産業界に任せているのは解決できない重要な問題を発見し、解決していく手法を医師はもっておかなければならない。臨床研究には時間と手間がかかり、思うようにコントロールできず、進まず、なかなか結果がでない。しかし、だからといって海外からの“舶来品”データに頼ってばかりでは、わが国に本当に必要な医療技術を選択し、開発し、活用する技術が失われてしまうのではないか。これからは、産業界と協力しつつ進める領域、国際データを取り入れる領域、国内で独自に実施する領域というふうに、幅広い臨床研究の実施についてより戦略的に考え進めていくべき時期ではないであろうか。

最後に、わが国の患者を守り、より有効で安全な医療技術を開発・向上させるのは日本の医師の役割であることを確認しつつ、この稿の終わりとしたい。

文献/URL

- 1) Gallon, J. I. (清水千佳子, 渡辺 亨訳): 臨床研究の歴史的展望. NIH 臨床研究の基本と実際 (Gallon, J. I. 編, 井村裕夫監修, 竹内正弘・他監訳, 丸善出版事業部, 2004, pp.1-10).
- 2) 日本製薬工業協会ホームページ「研究開発 Q & A」. http://www.jpma.or.jp/med_qa/kk40/kk40.htm
- 3) Vlahakes, G. J.: The value of phase 4 clinical testing. *N. Engl. J. Med.*, 354: 413-415, 2006.

Heparin-Induced Thrombocytopenia Clinical Studies and the Efficacy of Argatroban in Japan

Shigeki Miyata, M.D., Ph.D.,¹ Haruko Yamamoto, M.D., Ph.D.,²
Masataka Kamei, M.D., Ph.D.,³ Takeshi Nakatani, M.D., Ph.D.,^{4,5}
Junjiro Kobayashi, M.D., Ph.D.,⁴ Tetsu Tsuji, M.T.,⁶
Kazuo Minematsu, M.D., Ph.D.,⁷ and Hitonobu Tomoike, M.D., Ph.D.⁸

ABSTRACT

Immune-mediated heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is a life-threatening side effect of heparin therapy. HIT has been better recognized in Japan since April 2006 when prescribing information on heparin was revised to include HIT. Diagnosis and treatment of HIT in Japan, however, are still problematic because Japanese regulators have not yet approved any laboratory tests or pharmacological intervention for HIT, especially in patients with acute HIT who require surgery with cardiopulmonary bypass (CPB). We report on three specific cases anticoagulated with argatroban for CPB showing the difficulty of anticoagulation management. We review several retrospective studies and a multicenter, prospective cohort study that suggest a lower incidence of HIT in Japan than what is diagnosed in Western countries. This may be due to ethnic factors and/or different clinical practices. We conducted a multicenter, nonrandomized, open-label trial showing the efficacy and safety of argatroban when carefully dosed. From this study we describe a Japanese strategy to diagnose and treat HIT that may be of value elsewhere.

KEYWORDS: Heparin-induced thrombocytopenia, Japanese population, direct thrombin inhibitor, argatroban

An anticoagulant turns procoagulant. Thrombocytopenia is associated with thrombosis but not hemorrhage. These are the fundamental paradoxes of heparin-induced thrombocytopenia (HIT), an immune-mediated, life-threatening side effect of heparin therapy.¹⁻³ Many articles address the pathology,⁴⁻⁷

diagnosis,⁸⁻¹³ incidence,¹⁴⁻¹⁷ and treatment^{1,18,19} of HIT in various clinical situations, mainly in Western countries. Here we describe how we currently diagnose and treat HIT in Japan, with the goal of continuously improving patients' outcomes in Japan and abroad.

¹Division of Transfusion Medicine and the Departments of ²Clinical Research and Development, ³Anesthesiology, ⁴Cardiovascular Surgery, ⁵Organ Transplantation, ⁶Clinical Chemistry, ⁷the Cerebrovascular Division, Department of Medicine, and ⁸the Department of Internal Medicine, National Cardiovascular Center, Suita, Osaka, Japan.

Address for correspondence and reprint requests: Shigeki Miyata, M.D., Ph.D., Division of Transfusion Medicine, National Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishirodai, Suita-city, Osaka 565-8565,

Japan (e-mail: smiyata@hsp.ncvc.go.jp).

Landmarks in Anti-Thrombin Drug Development: The Argatroban Story; Guest Editors, Jeanine M. Walenga, Ph.D., Henri Bounameaux, M.D., and Yasuo Ikeda, M.D.

Semin Thromb Hemost 2008;34(suppl 1):37-47. Copyright © 2008 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Tel: +1(212) 584-4662. DOI 10.1055/s-0028-1086080. ISSN 0094-6176.

CLINICAL SITUATIONS FOR HEPARIN-INDUCED THROMBOCYTOPENIA IN JAPAN

Unfractionated heparin (UFH) is still the most frequently used parenteral anticoagulant in Japan for the following reasons. Low molecular weight heparin is approved by Japanese regulators only for hemodialysis and disseminated intravascular coagulation (DIC). Argatroban is the only direct thrombin inhibitor approved by Japanese regulators for stroke, arteriosclerosis obliterans, thromboangiitis obliterans, and hemodialysis of patients with antithrombin deficiency. But argatroban is not approved for heparin-induced thrombocytopenia (HIT). Other direct thrombin inhibitors (e.g., lepirudin and bivalirudin) are not available in Japan because they are not approved for any indication. Danaparoid sodium and fondaparinux are factor Xa inhibitors approved in Japan for DIC (danaparoid) and the prevention of venous thromboembolism (VTE) in patients undergoing major hip and knee surgery (fondaparinux). Fondaparinux was only approved in April 2007. Thus UFH has been widely administered for anticoagulation in cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass (CPB) and percutaneous coronary intervention (PCI), thromboprophylaxis for the high-risk patients of VTE, and other indications (e.g., hemodialysis, DIC).

Annually in Japan, ~200,000 patients suffer from acute coronary syndrome, and 130,000 patients undergo PCI. In addition, ~40,000 patients undergo cardiovascular surgery, and 30,000 patients begin hemodialysis. Thus at least 200,000 Japanese patients are anticoagulated with UFH every year.

Recognition of HIT as an immune-mediated, life-threatening side effect of heparin therapy has probably improved in Japan since manufacturers' prescribing information (package insert) on heparin was revised to include HIT in April 2006. Yet many physicians in Japan report no experience diagnosing or treating HIT, raising the possibility that physicians often overlook HIT. Diagnosis and treatment may also be impaired by the fact that Japanese regulators have not yet approved either a diagnostic test for HIT or a pharmacological intervention. It may also be that the prevalence of HIT is lower in Japan than in Western countries.

Irrespective of incidence or prevalence, HIT is life threatening, especially when unrecognized or untreated.^{1,8,20} Therefore we have conducted several retrospective studies at a single institution and a multicenter, prospective cohort study to clarify the incidence and profile of HIT in Japan.²¹ In addition, we have conducted a multicenter, nonrandomized, open-label trial to evaluate the efficacy and safety of argatroban, a direct thrombin inhibitor, in Japanese patients with HIT.²² Based on these results, we will seek to establish Japanese guidelines for the diagnosis and treatment of HIT.

HEPARIN-INDUCED THROMBOCYTOPENIA IN OUR INSTITUTION

The National Cardiovascular Center in Osaka, Japan, is one of the leading institutes for cardiovascular diseases in the country. We perform ~1300 cardiovascular surgeries and 900 PCI procedures each year, making our hospital one of the most frequent users of UFH in Japan. However, none of our patients was diagnosed with HIT before 2001, when a sentinel event provoked the attention of our staff, as described later.

An 81-year-old woman with atrial fibrillation was admitted for cardioembolic stroke of the right middle cerebral artery. Intravenous UFH administration (10,000 U/day) was started 4 days after admission. Seven days after the start of UFH, her platelet count suddenly dropped from 175 to $37 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Fig. 1). Two days later, she suffered from right lower limb arterial thrombosis, ultimately resulting in limb amputation, with hypercoagulable state, low fibrinogen: 1.3 g/L (reference interval, 1.5 to 3.4), elevated thrombin-antithrombin complex: >60 $\mu\text{g/L}$ (reference interval, <2), and fibrin/fibrinogen degradation products: 109 $\mu\text{g/mL}$ (reference interval, <5). Nevertheless, the administration of UFH continued for a total of 14 days because her physicians attributed these symptoms to DIC and did not consider HIT in the differential diagnosis. Finally UFH was stopped and replaced with argatroban, resulting in a rapid recovery of her platelet count. The diagnosis of HIT was supported by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) positive for antiplatelet factor 4/heparin antibodies (anti-PF4/heparin antibodies). We did not perform any functional assay for HIT. The recently developed 4 T's scoring system to determine the pretest probability of HIT,^{9,13,23} if applied to this case, yields the top score of 8, indicating a very high probability of HIT.

Confronted with this shocking case of an anticoagulant turned procoagulant, we acknowledged the fundamental paradox of HIT and proceeded to investigate the clinical profile of HIT in Japan.

ARGATROBAN ANTICOAGULANT MANAGEMENT FOR CARDIOPULMONARY BYPASS IN PATIENTS WITH ACUTE HEPARIN-INDUCED THROMBOCYTOPENIA

Alternative anticoagulant therapy is strongly recommended for acute HIT cases^{1,20,24,25} because HIT is associated with a high frequency of thrombosis despite discontinuation of heparin. The initial rate of thrombosis is ~6% per day over the first 1 to 2 days,²⁴ and the incidence of new thromboembolism falls as soon as an alternative anticoagulant is initiated.²⁶

However, alternative anticoagulants, especially those that have no antidote and/or have a long half-life, can cause severe complications such as serious

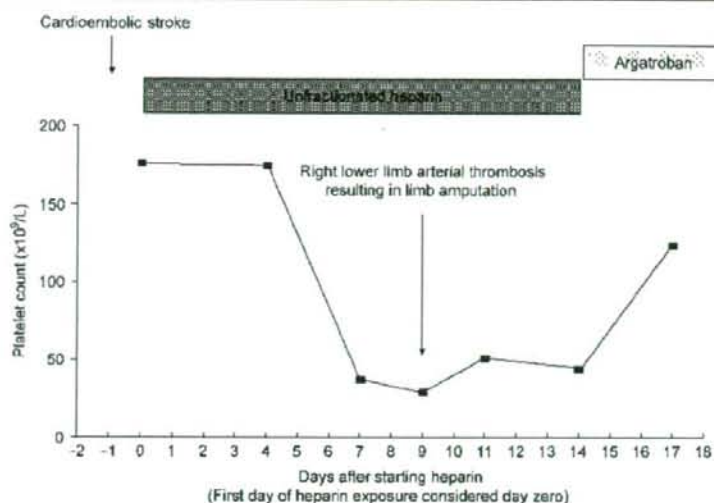


Figure 1 The first case diagnosed as heparin-induced thrombocytopenia (HIT) in our institute: An 81-year-old woman who was treated with unfractionated heparin (UFH) for cardioembolic stroke developed thrombocytopenia with hypercoagulable state 7 days after starting heparin. Her physicians initially made a diagnosis of disseminated intravascular coagulation and continued UFH administration, leading to arterial thrombosis of her right lower limb. Finally UHF was replaced with argatroban, resulting in a rapid recovery of her platelet count. The diagnosis of HIT was supported by the presence of antiplatelet factor 4/heparin antibodies.

bleeding²⁷⁻³⁰ and adverse drug reactions,³¹ especially in critically ill patients. Alternative anticoagulation for acute HIT is especially problematic in cases that require cardiovascular surgery with CPB²⁷ for which heparin is the only well-established anticoagulant. Trials using danaparoid, approved only for DIC in Japan, were reported for such cases. In some reports, this anticoagulant led to life-threatening bleeding^{27,30} due to danaparoid's long plasma elimination half-life (20 hours) and lack of point-of-care testing for danaparoid such as the activated clotting time (ACT).

In contrast, argatroban may have an advantage because it has a much shorter plasma half-life (40 to 50 minutes) and it can be monitored by the ACT. On this basis, we considered argatroban as the alternative anticoagulant for patients with acute HIT who required surgery with CPB. Reports of anticoagulation with argatroban are sporadic³²⁻³⁵ and variable with regard to dosing and management in this clinical indication. We describe our dosing and management techniques for CPB with argatroban as follows.

Cardiopulmonary Bypass Patients 1 and 2

A 47-year-old man was transferred to our hospital with dilated cardiomyopathy (DCM) requiring an intra-aortic balloon pump (IABP). Eight days after initiation of heparin therapy for IABP, he developed thrombocytopenia with arterial line occlusion. His platelet count normalized within 5 days of starting

argatroban as an alternative anticoagulant (Fig. 2, left panel).

Shortly thereafter, another patient with DCM, a 23-year-old woman, was admitted for catheter ablation for ventricular tachycardia. Emergency surgery using CPB was performed for removal of the atrial thrombosis that was discovered during the procedure of catheter ablation. Heparin was continued thereafter. Her platelet count dropped to 67,000/ μ L 5 days after the initiation of postoperative heparin therapy. Her platelet count also recovered soon after the administration of argatroban (Fig. 2, right panel).

The diagnosis of HIT was supported in both cases by the detection of plasma anti-PF4/heparin antibodies by ELISA. Both patients ultimately had end-stage heart failure requiring the implantation of a left ventricular assist device (LVAD) bridging to heart transplantation. After approval from the ethics committee with their informed consent, their LVAD implantations were performed using argatroban as an anticoagulant for CPB. Standard anesthetic and surgical techniques were performed except for anticoagulant management for CPB. Non-heparin-bonded circuits were used.

In both cases, argatroban was administered via a central venous line at a dose of 0.1 to 0.3 mg/kg followed by a continuous infusion at 5 to 25 μ g/kg/minute to achieve a target ACT of \geq 480 seconds before the commencement of CPB (Figs. 3A and 4A). Additionally, 0.05 mg/kg of argatroban was added to the CPB apparatus priming solutions. During CPB, argatroban

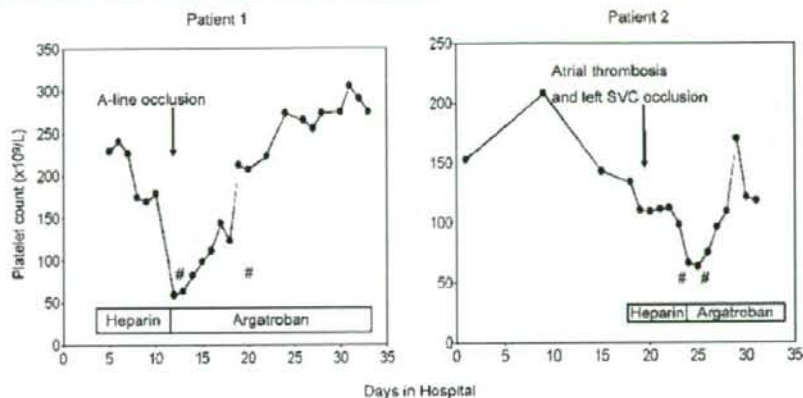


Figure 2 Clinical course in two patients with dilated cardiomyopathy leading to the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. Patient 1, a 47-year-old man, developed thrombocytopenia with arterial line occlusion 8 days after initiation of unfractionated heparin (UFH) therapy for an intra-aortic balloon pump (left panel). Patient 2, a 23-year-old woman, underwent emergency surgery for the removal of an atrial thrombosis. She received postoperative thromboprophylaxis with UFH and developed thrombocytopenia 5 days after the initiation of thromboprophylaxis (right panel). Their platelet counts recovered soon after the administration of argatroban. #, Positive anti-PF4/heparin antibodies detected by an enzyme-linked immunosorbent assay; SVC, superior vena cava.

was also delivered through the sampling line into a venous reservoir and via a stopcock prior to the oxygenator to ensure a target ACT value > 480 seconds. The ACT was monitored periodically and an additional 0.05 to 0.3 mg/kg of argatroban was administered or the continuous infusion rate of argatroban was adjusted as needed. To prevent blood clot formation, the retention time of blood in the surgical field was minimized. Argatroban was stopped at the termination of CPB.

The ACT during CPB ranged from 544 to > 999 seconds (Figs. 3B and 4B). The ACT had returned to the control level in 12 or 7 hours after CPB, respectively (Figs. 3C and 4C). Continuous argatroban therapy was restarted for LVAD anticoagulation on the first postoperative day (POD). Total postoperative bleeding was 975 and 1197 mL, respectively. The postoperative course was uneventful in both patients.

The concentration of argatroban was measured by a liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. Good linear relationships between argatroban concentrations and ACT were observed before ($r = 0.94$) and after ($r = 0.90$) CPB (Fig. 5). However, no relationship was found during CPB ($r = 0.81$; $p = 0.192$) due to ACT values exceeding the detection limit (999 seconds) at argatroban concentrations > 6.5 $\mu\text{g/mL}$ and because few measurements ($n = 4$) were made. The minimal argatroban concentration during CPB was 3.9 $\mu\text{g/mL}$, suggesting that the safe level of argatroban during CPB appears to be > 3.9 $\mu\text{g/mL}$.

The regression line slope during and after CPB was unexpectedly steeper than that before CPB, indicating that argatroban had a much stronger anticoagulant effect

on the ACT during and after CPB as compared with that before CPB, probably due to CPB-associated hemodilution, hypothermia, and consumptive coagulopathy. This may relate to the difficulty of ACT control during and after CPB, a cause of prolonged bleeding, which was also shown in another report.³⁵ No blood clot was observed either in the oxygenator or the arterial line filter in both cases, as examined by electron microscopy. This result, together with the fact that ACT values exceeded the detection limit at the end of CPB in both patients (Figs. 3B and 4B), suggests that the lower amount of argatroban at the end of CPB may be sufficient for the appropriate management of LVAD implantation during CPB than what was used in our two cases.

Both patients had successful heart transplants using UFH as an anticoagulant for CPB after their anti-PF4/heparin antibodies became negative.

Cardiopulmonary Bypass Patient 3

We encountered one fatality, suspected of having acute HIT, after open-heart surgery with CPB anticoagulated by argatroban. A 72-year-old man underwent aortic valve replacement with coronary artery bypass grafting with CPB anticoagulated by UFH. Immediately after surgery, he suffered from heart failure and renal dysfunction, requiring open chest interventions, catecholamine support including epinephrine infusion, and continuous hemodiafiltration (CHDF). Platelet counts from 30,000 to 60,000/ μL persisted during CHDF, for which UFH was administered until POD 11, despite multiple platelet concentrate transfusions.

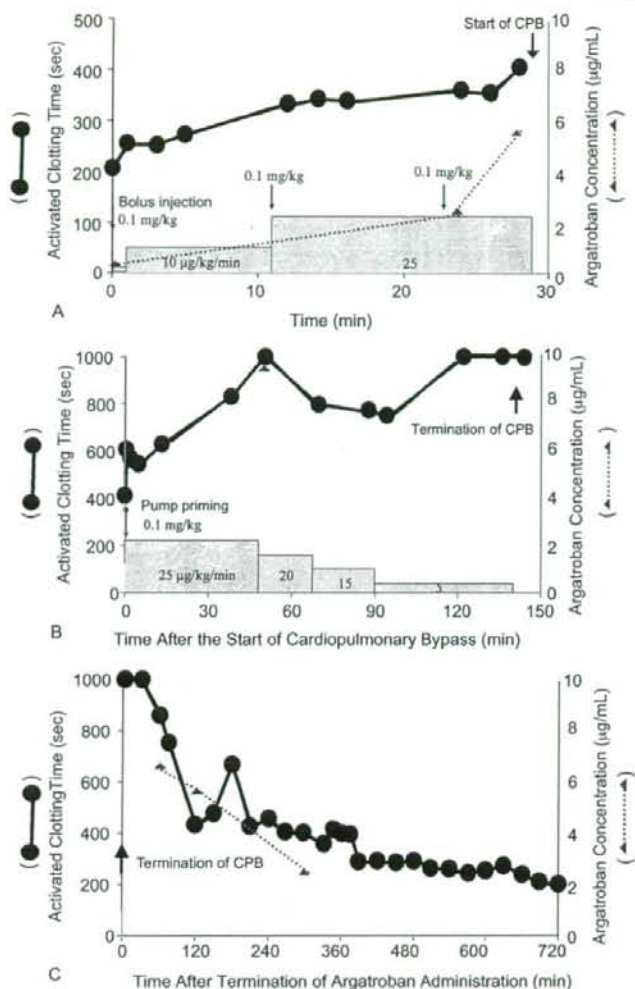


Figure 3 Serial changes in the dose of argatroban, activated clotting time (ACT), and plasma argatroban concentration (A) before, (B) during, and (C) after cardiopulmonary bypass (CPB) for the implantation of a left ventricular assisted device in Patient 1 with acute heparin-induced thrombocytopenia (see details in Fig. 2). (A) Argatroban was administered at a dose of 0.1/kg followed by a continuous infusion at 5 to 25 µg/kg/minute to achieve a target ACT of ≥ 480 seconds before the commencement of CPB. (B) The ACT was monitored periodically and an additional 0.1 mg/kg of argatroban was administered for pump priming. The continuous infusion rate of argatroban was gradually reduced, monitoring ACT to maintain ≥ 480 seconds, and argatroban was stopped at the termination of CPB. (C) The ACT returned to the control level 12 hours after CPB.

Within 2 days after discontinuing CHDF and UFH, his platelet count increased to $\sim 90,000/\mu\text{L}$. The result of ELISA showed positive anti-PF4/heparin antibodies on POD 11.

Soon after this event, the patient required an urgent reoperation for re-aortic valve replacement with CPB due to severe perivalvular aortic regurgitation. The evolution of his platelet count following the first surgery was atypical. The common biphasic pattern,¹⁷ in which CPB-induced thrombocytopenia recovers before HIT

evolves, was not observed in this patient, and because CHDF itself can provoke a continuously low platelet count, a diagnosis of HIT was not obvious. However, the relatively high level of anti-PF4/heparin antibodies (> 1.0 optical density)³⁶ persuaded us to use argatroban as an anticoagulant for CPB.

Following argatroban as an anticoagulant during CPB, plasma exchange after CPB was used in an attempt to remove argatroban from the blood, but this procedure was abandoned because of circulatory instability.

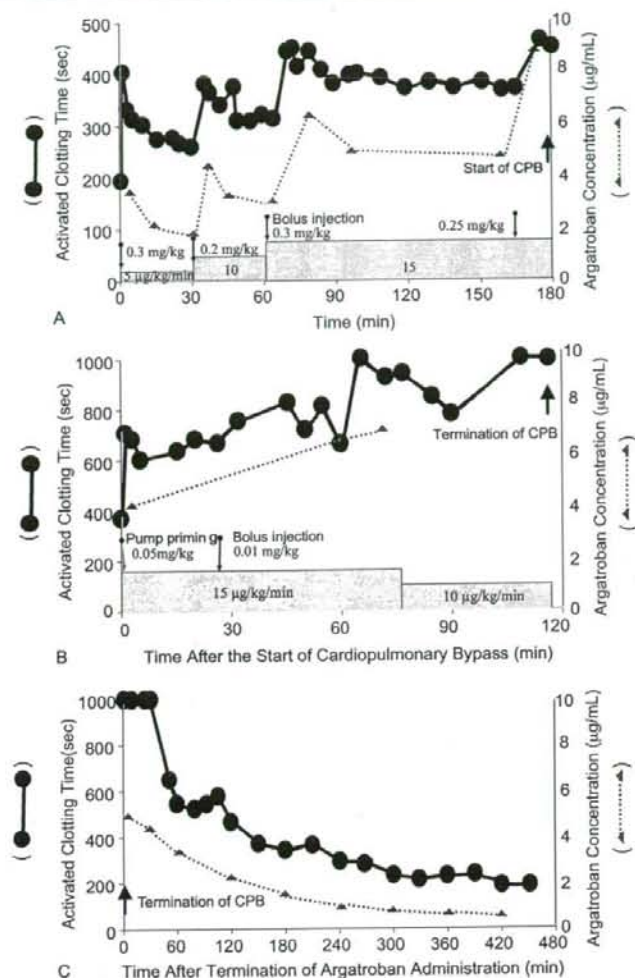


Figure 4 Serial changes in the dose of argatroban, activated clotting time (ACT), and plasma argatroban concentration (A) before, (B) during, and (C) after cardiopulmonary bypass (CPB) for the implantation of a left ventricular assisted device in Patient 2 with acute heparin-induced thrombocytopenia (see details in Fig. 2). (A) The same strategy was used as described in Figure 3 with minor modifications: increased dose of bolus injections (0.2 to 0.3 mg/kg) and reduced continuous dose (5 to 15 µg/kg/minute) before the commencement of CPB attempting to avoid overshooting of ACT. (B) But the ACT reached > 999 at the end of surgery. (C) The ACT returned to the control level 7 hours after CPB.

Unfortunately, the patient died of myocardial dysfunction, sustained ventricular tachycardia/ventricular fibrillation, and bleeding including focal subarachnoid hemorrhage 1 day after the reoperation. In this case, the control of ACT was much more difficult as compared with the two cases described earlier because the patient required repeated CPB management and percutaneous cardiopulmonary support after CPB.

Through these events, we recognize that the use of argatroban during CPB is promising, but further modifications of technique, especially anticoagulation

monitoring, should evolve. Bivalirudin has shown promise as an anticoagulant for CPB in patients with acute HIT, and the strategy of bivalirudin anticoagulation for CPB has been reported.³⁷⁻⁴¹ However, bivalirudin is not available in Japan. We now recommend that cardiovascular surgery requiring systemic anticoagulation with or without CPB for acute HIT patients should be postponed as long as possible until the patient's anti-PF4/heparin antibody level becomes negative.^{10,42,43} In addition, a careful diagnostic workup for HIT, as described later, should be followed.

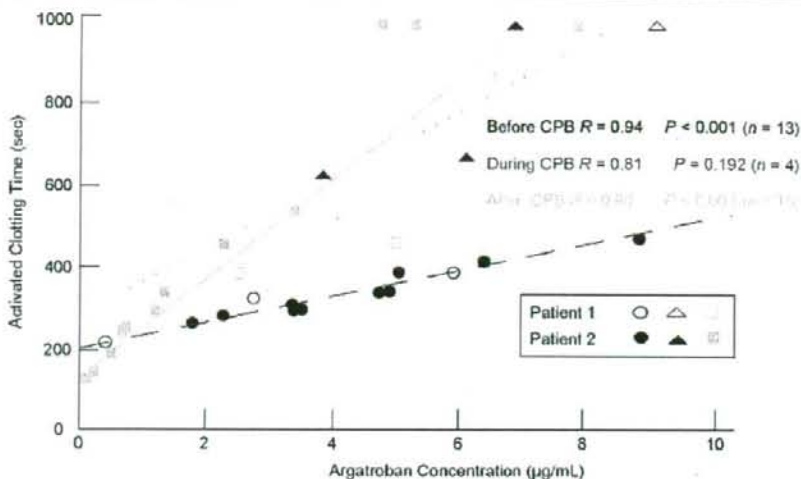


Figure 5 Relationship between activated clotting time (ACT) and plasma argatroban concentration. Plasma argatroban concentrations were assessed by a liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry periodically throughout the surgeries of Patient 1 (open marks) and Patient 2 (closed marks) (see details in Figs. 3 and 4). Good linear relationships between plasma argatroban concentrations and ACT were observed before ($r=0.94$, $p<0.001$; \circ and \bullet) and after ($r=0.90$, $p<0.001$; \square and \blacksquare) cardiopulmonary bypass (CPB). No relationship was found during CPB ($r=0.81$, $p=0.192$; Δ and \blacktriangle) due to ACT values exceeding the detection limit (999 seconds) at argatroban concentrations >6.5 $\mu\text{g/mL}$ and few measurements ($n=4$). Note that the slope of the regression line during and after CPB was steeper than that before CPB.

INCIDENCE OF HEPARIN-INDUCED THROMBOCYTOPENIA IN THE JAPANESE POPULATION

HIT is a clinicopathological syndrome. Thus the definitions of both clinical diagnosis and serological tests are very important and may profoundly influence the reported incidence of HIT.^{12,14,36,44} ELISA for detecting anti-PF4/heparin antibodies is now popular in Japan, but no functional assay using washed platelets has been established with high quality control. Thus we must diagnose HIT through a combination of clinical pretest probability (e.g., the 4 T's scoring system) and ELISA results. Overdiagnosis arising from the low specificity of this approach is a distinct possibility.^{14,44}

Previous reports in Western countries have indicated that the incidence of HIT is ~ 1 to 3% in cardiac surgery patients where UFH is used for routine post-operative prophylaxis.^{14,17,45,46} But routine heparin prophylaxis is not common in Japan in this patient population. However, acute ischemic stroke patients frequently receive UFH therapy, despite the lack of supporting evidence. We have conducted retrospective studies at our institute and a multicenter, prospective cohort study to determine the incidence of HIT in these clinical settings.

Among cardiovascular surgery or acute ischemic stroke patients who were treated with UFH, we have retrospectively investigated those who were clinically suspected of having HIT during the last several years.

A commercially available ELISA (Asserachrom HPIA; Diagnostica Stago; Asnières, France) assay was used to screen HIT patients. Clinically suspected HIT patients were evaluated by ¹⁴C-serotonin release assay (SRA), kindly performed by Prof. Walenga and her colleagues at Loyola University Medical Center (Maywood, IL), to confirm the HIT diagnosis.

We have also conducted a multicenter, prospective cohort study to determine the incidence and profile of HIT in patients undergoing cardiovascular surgery or PCI.²¹ Patients scheduled to undergo cardiovascular surgery ($n=1,444$) or PCI ($n=110$) were enrolled between November 2004 and December 2005 at 11 institutions. We followed the patients for 30 days after surgery or PCI and examined the patients' history, demographic data, changes in platelet count, and timing and period of heparin administration including heparin flush, complications, thromboembolism, and death. We took blood samples before, 7 days after, and 14 days after the surgery or PCI to test for HIT antibodies. The diagnosis of HIT was confirmed by SRA, kindly performed by Prof. Warkentin and his colleagues at the Coagulation Laboratory, McMaster University (Hamilton, ON, Canada).

Because the reports of these studies are not yet published, we cannot cite them in detail. However, our preliminary data suggest that the incidence of HIT in the Japanese population appears to be lower (e.g., by about one order of magnitude in patients undergoing

cardiovascular surgery) than those reported in Western countries. Ethnic factors and/or different clinical practices (e.g., routine heparin prophylaxis after the surgery is not common in Japan) may contribute to the low apparent incidence of HIT in the Japanese population.

CLINICAL TRIAL ON THE EFFICACY AND SAFETY OF ARGATROBAN IN JAPANESE PATIENTS WITH HEPARIN-INDUCED THROMBOCYTOPENIA

To overcome our problem that no drug for HIT treatment has been approved by Japanese regulators, we have

conducted a multicenter, nonrandomized, open-label trial at 20 institutions to evaluate the efficacy and safety of argatroban in patients with HIT.²² The same protocol as used in ARG-911⁴⁷ with minor modifications was followed; in particular, a reduced initial dosage of argatroban was used.

In our institution, we had used the same initial dose (2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$ in patients with normal liver function and 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$ in those with hepatic impairment) as recommended in the United States by manufacturers' prescribing information. With this dosing regimen, we encountered serious bleeding with rapid increase of activated partial thromboplastin time (aPTT)

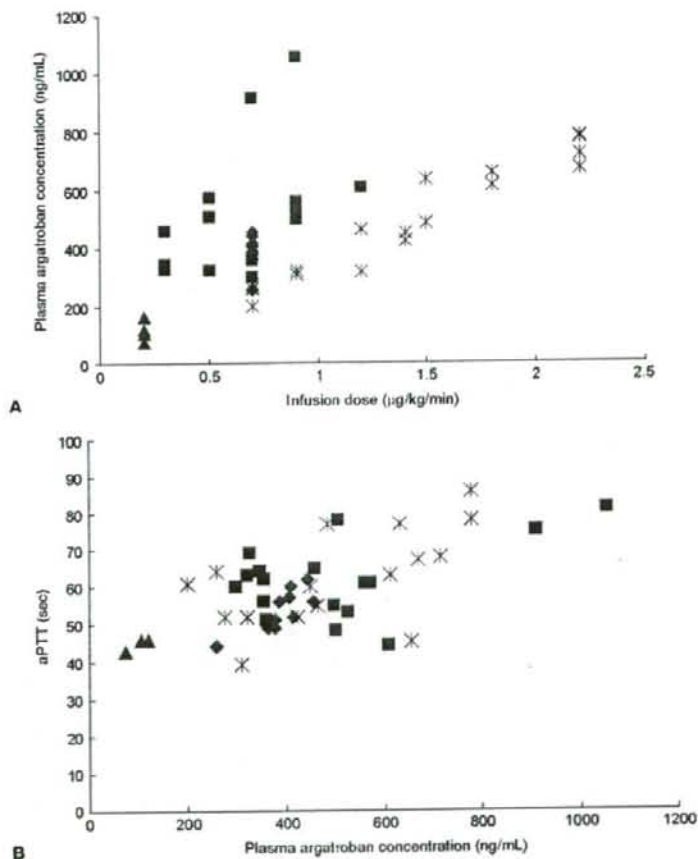


Figure 6 Relationships of argatroban dose or activated partial thromboplastin time (aPTT) versus plasma argatroban concentration. Plasma argatroban concentrations were examined in four patients as a substudy in the multicenter, nonrandomized, open-label trial to evaluate the efficacy and safety of argatroban in patients with heparin-induced thrombocytopenia. The initial dosages of argatroban were 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$ in three patients (■, ◆, ●) with normal liver function and 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$ in one patient (▲) with a risk factor for bleeding, respectively. These doses are about a third the initial dose recommended by the manufacturer in the United States and Europe. (A) However, almost all infusion doses (even < 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$) increased the plasma argatroban concentration to > 200 ng/mL, sufficient to keep the aPTT within the target range (B), except in one patient (▲) whose argatroban therapy was terminated due to intracranial hemorrhage before his aPTT prolonged to the target range. (B) Plasma argatroban concentrations showed a good correlation with the values of aPTT ($r = 0.62$).

beyond the target range in several postcardiovascular surgery patients.²⁹ Moreover, several reports from the United States²⁸ and Germany^{48,49} have suggested that a lower starting dose of argatroban may be sufficient and safe for effective anticoagulation, especially in critically ill patients.

Thus, in our protocol, initial dosing of argatroban was reduced to 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$ in patients with normal liver function and 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$ in those with hepatic impairment or a risk factor for bleeding. This was about a third the initial dose recommended by the manufacturer in the United States and Europe. However, the aPTT was targeted in the same range (1.5 to 3 times baseline aPTT). For patients with a risk factor for bleeding, 1.5 to 2 times baseline aPTT was recommended.

Thereafter, 8 patients were enrolled between July 2005 and September 2006. Among them, two patients who had a documented history of positive anti-PF4/heparin antibodies and required anticoagulation therapy were enrolled even in the absence of thrombocytopenia (defined as a platelet count $< 100,000/\mu\text{L}$ or $> 50\%$ reduction in count after heparin therapy with no explanation other than HIT) at enrollment.

The total number of enrolled patients was much smaller than expected, consistent with the results of other clinical research showing a low incidence of HIT in Japan as described earlier. Argatroban was initiated at a dose of 0.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$ in 5 patients and 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$ in 3 patients. Even using these lower initial doses, the aPTT was prolonged to the target range (1.5 to 3 times baseline aPTT value) within ~ 2 hours of initiation of infusion in 6 patients (75%). The primary endpoint (composite of death, amputation of extremities, and new thrombosis) occurred in one patient (posterior tibial artery thrombosis). Thrombocytopenia was resolved in 33% of patients within 3 days after starting argatroban treatment and in 83% of patients during treatment. Two patients who had a documented history of positive HIT antibodies in the absence of thrombocytopenia at enrollment were excluded from the analysis of thrombocytopenia resolution.

One major hemorrhagic event (intracranial hemorrhage) with symptomatic epilepsy without neurological deficit occurred in the patient with a platelet count of $3,000/\mu\text{L}$ 2 days after starting therapy. The administration of argatroban was promptly terminated in this patient. Minor hemorrhagic events occurred in two patients.

Concomitant with this clinical trial, plasma argatroban concentrations were examined in four patients as a substudy. Almost all infusion doses (even $< 1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{minute}$) increased the plasma argatroban concentration properly (Fig. 6A), sufficient to maintain the aPTT within the target range (Fig. 6B). The exception was one patient who had an intracranial hemorrhage as

described earlier and whose argatroban therapy was terminated before his aPTT prolonged to the target range. Plasma argatroban concentrations showed a good correlation with the values of the aPTT ($r = 0.62$), as shown in Fig. 6B.

The results of our clinical trial appear to be compatible with those of the ARG-911 trial,⁴⁷ although the total number of enrolled patients in our trial is too small for statistical analysis. Argatroban seems to be effective and safe for the treatment of HIT but requires careful consideration of the initial dosage. Based on the results of our trial, two pharmaceutical companies are now submitting an application to the Japanese regulators for approval of argatroban to treat patients with HIT.

CONCLUSIONS

Immune-mediated heparin-induced thrombocytopenia is a life-threatening side effect of heparin therapy. Although it appears that the incidence of HIT is lower in Japan than in Western countries, the serious morbidity and mortality profile of HIT warrants our continued attention. In acute HIT, cardiovascular surgery using CPB should be postponed as long as possible until the patient's anti-PF4/heparin antibody test becomes negative and UHF can be used as the CPB anticoagulant. For acute HIT patients who require immediate surgery with CPB, the risk/benefit profile of argatroban anticoagulation should be carefully considered. Argatroban appears to be effective and safe for treatment of Japanese HIT patients when properly dosed. Our dosing schedule is safe and effective at lower doses than those recommended elsewhere. These results should be considered in other demographic settings.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Prof. Jeanine M. Walenga and her colleagues at Loyola University Medical Center (Maywood, IL, USA) and Prof. Theodore E. Warkentin and his colleagues at the Coagulation Laboratory, McMaster University (Hamilton, ON, Canada) for their contributions to perform the ^{14}C -serotonin release assay and other assays showing us the "real" patients with HIT. We also thank all of our Japanese investigators of the Argatroban Trial on HIT (especially Drs. Kazuhiro Myojin at National Hospital Organization Hokkaido Cancer Center, Tomoki Shimokawa at Sakakibara Heart Institute, Norikazu Yamada at Mie University Hospital, and Yutaka Ohkita at Kobe University Hospital for their efforts to enroll patients) and the investigators of the multicenter, prospective cohort study to clarify the incidence and profile of HIT. Finally, we thank Dr. Kenneth E. Nollet (Fukushima Medical University) for his editorial assistance.

We received support from a Research Grant for Cardiovascular Diseases (15C-1) from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare, a Health Labour Sciences Research Grant from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Center for Clinical Trial in Japan Medical Association, and a Grant-in-Aid from the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation (NIBIO) of Japan.

DISCLOSURES

Shigeki Miyata and Haruko Yamamoto have research grants from Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation.

REFERENCES

- Warkentin TE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: recognition, treatment, and prevention: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004;126:311S-337S
- Arepally GM, Ortel TL. Clinical practice. Heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med* 2006;355:809-817
- Warkentin TE. Drug-induced immune-mediated thrombocytopenia—from purpura to thrombosis. *N Engl J Med* 2007; 356:891-893
- Amiral J, Bridey F, Dreyfus M, et al. Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1992; 68:95-96
- Rauova L, Poncz M, McKenzie SE, et al. Ultralarge complexes of PF4 and heparin are central to the pathogenesis of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2005;105:131-138
- Rauova L, Zhai L, Kowalska MA, Arepally GM, Cines DB, Poncz M. Role of platelet surface PF4 antigenic complexes in heparin-induced thrombocytopenia pathogenesis: diagnostic and therapeutic implications. *Blood* 2006;107:2346-2353
- Suvarna S, Rauova L, McCracken EK, et al. PF4/heparin complexes are T cell-dependent antigens. *Blood* 2005;106: 929-931
- Greinacher A, Farner B, Kroll H, Kohlmann T, Warkentin TE, Eichler P. Clinical features of heparin-induced thrombocytopenia including risk factors for thrombosis. A retrospective analysis of 408 patients. *Thromb Haemost* 2005;94: 132-135
- Warkentin TE, Heddle NM. Laboratory diagnosis of immune heparin-induced thrombocytopenia. *Curr Hematol Rep* 2003;2:148-157
- Warkentin TE, Kelton JG. Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med* 2001;344:1286-1292
- Warkentin TE, Kelton JG. Delayed-onset heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. *Ann Intern Med* 2001; 135:502-506
- Warkentin TE, Roberts RS, Hirsh J, Kelton JG. An improved definition of immune heparin-induced thrombocytopenia in postoperative orthopedic patients. *Arch Intern Med* 2003;163:2518-2524
- Lo GK, Juhl D, Warkentin TE, Sigouin CS, Eichler P, Greinacher A. Evaluation of pretest clinical score (4 T's) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in two clinical settings. *J Thromb Haemost* 2006;4:759-765
- Warkentin TE, Sheppard JA, Horsewood P, Simpson PJ, Moore JC, Kelton JG. Impact of the patient population on the risk for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2000; 96:1703-1708
- Martel N, Lee J, Wells PS. Risk for heparin-induced thrombocytopenia with unfractionated and low-molecular-weight heparin thromboprophylaxis: a meta-analysis. *Blood* 2005;106:2710-2715
- Francis JL, Palmer GJ III, Morooso R, Drexler A. Comparison of bovine and porcine heparin in heparin antibody formation after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2003;75:17-22
- Pouplard C, May MA, Regina S, Marchand M, Fuscuardi J, Guel Y. Changes in platelet count after cardiac surgery can effectively predict the development of pathogenic heparin-dependent antibodies. *Br J Haematol* 2005;128:837-841
- Warkentin TE, Elavathil LJ, Hayward CP, Johnston MA, Russett JI, Kelton JG. The pathogenesis of venous limb gangrene associated with heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Intern Med* 1997;127:804-812
- Magnani HN. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT): an overview of 230 patients treated with Orgaran (Org 10172). *Thromb Haemost* 1993;70:554-561
- Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med* 1996;101:502-507
- Available at www.clinicaltrials.gov (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00198575)
- Available at www.clinicaltrials.gov (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00198588)
- Pouplard C, Gueret P, Fouassier M, et al. Prospective evaluation of the '4T's' score and particle gel immunoassay specific to heparin/PF4 for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2007;5:1373-1379
- Greinacher A, Eichler P, Lubenow N, Kwasy H, Luz M. Heparin-induced thrombocytopenia with thromboembolic complications: meta-analysis of 2 prospective trials to assess the value of parenteral treatment with lepirudin and its therapeutic aPTT range. *Blood* 2000;96:846-851
- Chong BH, Berndt MC. Heparin-induced thrombocytopenia. *Blut* 1989;58:53-57
- Greinacher A, Volpel H, Janssens U, et al. Recombinant hirudin (lepirudin) provides safe and effective anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia: a prospective study. *Circulation* 1999;99:73-80
- Christiansen S, Jahn UR, Meyer J, et al. Anticoagulative management of patients requiring left ventricular assist device implantation and suffering from heparin-induced thrombocytopenia type II. *Ann Thorac Surg* 2000;69:774-777
- Reichert MG, MacGregor DA, Kincaid EH, Dolinski SY. Excessive argatroban anticoagulation for heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Pharmacother* 2003;37:652-654
- Ichikawa M, Oue M, Okamoto A, et al. A case of heparin-induced thrombocytopenia associated with unexpected excessive argatroban anticoagulation after abdominal aortic aneurysm resection. *Masui* 2006;55:188-192
- Magnani HN, Gallus A. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT). A report of 1,478 clinical outcomes of patients treated with danaparoid (Orgaran) from 1982 to mid-2004. *Thromb Haemost* 2006;95:967-981

31. Eichler P, Friesen HJ, Lubenow N, Jaeger B, Greinacher A. Antihirudin antibodies in patients with heparin-induced thrombocytopenia treated with lepirudin: incidence, effects on aPTT, and clinical relevance. *Blood* 2000;96:2373-2378
32. Kawada T, Kitagawa H, Hoson M, Okada Y, Shiomura J. Clinical application of argatroban as an alternative anticoagulant for extracorporeal circulation. *Hematol Oncol Clin North Am* 2000;14:445-457
33. Furukawa K, Ohteki H, Hirahara K, Narita Y, Koga S. The use of argatroban as an anticoagulant for cardiopulmonary bypass in cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001;122:1255-1256
34. Edwards JT, Hamby JK, Worrall NK. Successful use of argatroban as a heparin substitute during cardiopulmonary bypass: heparin-induced thrombocytopenia in a high-risk cardiac surgical patient. *Ann Thorac Surg* 2003;75:1622-1624
35. Gasparovic H, Nathan NS, Fitzgerald D, Aranki SF. Severe argatroban-induced coagulopathy in a patient with a history of heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Thorac Surg* 2004;78:e89-e91
36. Zwicker JJ, Uhl L, Huang WY, Shaz BH, Bauer KA. Thrombosis and ELISA optical density values in hospitalized patients with heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2004;2:2133-2137
37. Koster A, Spiess B, Chew DP, et al. Effectiveness of bivalirudin as a replacement for heparin during cardiopulmonary bypass in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Am J Cardiol* 2004;93:356-359
38. Koster A, Dyke CM, Aldea G, et al. Bivalirudin during cardiopulmonary bypass in patients with previous or acute heparin-induced thrombocytopenia and heparin antibodies: results of the CHOOSE-ON trial. *Ann Thorac Surg* 2007;83:572-577
39. Koster A, Yeter R, Buz S, et al. Assessment of hemostatic activation during cardiopulmonary bypass for coronary artery bypass grafting with bivalirudin: results of a pilot study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;129:1391-1394
40. Veale JJ, McCarthy HM, Palmer G, Dyke CM. Use of bivalirudin as an anticoagulant during cardiopulmonary bypass. *J Extra Corpor Technol* 2005;37:296-302
41. Zucker ML, Koster A, Prats J, Laduca FM. Sensitivity of a modified ACT test to levels of bivalirudin used during cardiac surgery. *J Extra Corpor Technol* 2005;37:364-368
42. Potzsch B, Klovekorn WP, Madlener K. Use of heparin during cardiopulmonary bypass in patients with a history of heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med* 2000;343:515
43. Selleng S, Lubenow N, Wollert HG, Mullejans B, Greinacher A. Emergency cardiopulmonary bypass in a bilaterally nephrectomized patient with a history of heparin-induced thrombocytopenia: successful reexposure to heparin. *Ann Thorac Surg* 2001;71:1041-1042
44. Verma AK, Levine M, Shalansky SJ, Carter CJ, Kelton JG. Frequency of heparin-induced thrombocytopenia in critical care patients. *Pharmacotherapy* 2003;23:745-753
45. Warkentin TE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia and cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2003;76:2121-2131
46. Pouplard C, May MA, Iochmann S, et al. Antibodies to platelet factor 4-heparin after cardiopulmonary bypass in patients anticoagulated with unfractionated heparin or a low-molecular-weight heparin: clinical implications for heparin-induced thrombocytopenia. *Circulation* 1999;99:2530-2536
47. Lewis BE, Wallis DE, Berkowitz SD, et al. Argatroban anticoagulant therapy in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Circulation* 2001;103:1838-1843
48. Koster A, Buz S, Hetzer R, Kuppe H, Breddin K, Harder S. Anticoagulation with argatroban in patients with heparin-induced thrombocytopenia antibodies after cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass: first results from the ARG-E03 trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006;132:699-700
49. Beiderlinden M, Treschan TA, Grolinger K, Peters J. Argatroban anticoagulation in critically ill patients. *Ann Pharmacother* 2007;41:749-754

抗血栓薬の抵抗性と遺伝子

宮田茂樹¹、宮田敏行²、嘉田晃子³、山本晴子⁴、長束一行⁵

MIYATA Shigeki, MIYATA Toshiyuki, KADA Akiko, YAMAMOTO Haruko, NAGATSUKA Kazuyuki
 国立循環器病センター ¹輸血管理室, ²研究所病因部, ³臨床研究センター, ⁴臨床研究開発部, ⁵内科脳血管部門

ワルファリンの必要投与量に、その標的酵素であるビタミン K エポキシド還元酵素や代謝酵素の遺伝子多型が関与していることが指摘されている。また、抗血小板薬が投与されているが、それらの血小板機能抑制効果が低い（抵抗性）患者群の存在が指摘され、抵抗性を示す患者群は、抗血小板薬感受性を示す患者群と比較して、心血管イベントの発生頻度が増加するとの報告が相ついでいる。一因として、標的蛋白や代謝酵素の遺伝子多型の関与も指摘されている。今後、患者個々に適した薬剤や、投与量を決定しようとする試み、すなわち個別化医療に結びつく可能性がある。

Key Words

抗血栓薬、ワルファリン投与量、アスピリン抵抗性、クロピドグレル抵抗性、遺伝子多型

はじめに

不安定粥腫の破綻を契機として形成される動脈血栓症を、アテローム血栓症としてとらえ、脳梗塞や心筋梗塞などを包括した概念として検討することが提唱されている。生活水準の向上による高齢化や生活習慣病の蔓延により、アテローム血栓症の克服が、ますます重要なテーマとなっている。実際、世界保健機構（WHO）の報告では、アテローム血栓症は世界の死因の約 3 割を占める人類最大の疾患となっている。アテローム血栓症に対する最も基本的な薬物療法が、抗血小板療法である。また、高齢化に伴う心房細動などにより血流が鬱滞し、それに内皮機能障害を伴うことによって発症する心原性脳梗塞の予防、また、弁置換術後患者、とくに機械弁を用い

た場合には、抗凝固療法は不可欠となる。しかしながらこれら薬物による抗血栓療法は、出血など重篤な副作用を引き起こす可能性があり、最大限に効果的かつ副作用を抑制できる治療方法の選択が、重要課題となっている。

そのために、これら抗血栓薬について、患者個々に適した薬剤や、その投与量を決定しようとする試み、逆に、患者に適さない薬剤や投与量の抽出（いわゆる抵抗性の定義）をおこなおうとする試みがなされており、今後、テーラーメイド（個別化）医療に結びつく可能性がある。

本稿では、現時点で最も代表的な抗凝固薬であるワルファリン、抗血小板薬であるアスピリンならびにクロピドグレルについて、遺伝子多型の情報も含めた個別化医療に向けた検討について、その概要を述べる。

表① 日本人のアレル頻度を用いた VKORC1/CYP2C9 遺伝型の推定 (国産でタイピングした頻度をもとに計算した)

ワルファリン	CYP2C9	VKORC1			
		genotype frequency	多い Non-A/ Non-A	少ない Non-A/A	A/A
		0.936	0.008	0.164	0.828
多い	*1/*1	0.936	0.008	0.154	0.775
	*1/*3	0.063	0.001	0.010	0.052
少ない	*3/*3	0.001	0.000	0.000	0.000

日本人の 78%は VKORC1 A と CYP2C9 野生型をもつ
 日本人の 5%は VKORC1 A と CYP2C9 *1/*3をもつ
 日本人の 15%は VKORC1 ヘテロと CYP2C9 野生型をもつ

1 ワルファリン投与量の個人差にかかわる遺伝子多型

近年、ファーマコゲノミクスが目ざされ、個別化医療という言葉も現実味を帯びてきている。個人に適した治療を目指した研究が進められ、とくに遺伝子型にもとづいた薬物療法の選択や投薬量の調整がおこなわれようとしている。このファーマコゲノミクスの最先端をいくのがワルファリンと遺伝子型の研究である。

ワルファリン投与患者では、その効果を PT-INR (Prothrombin Time-International Normalized Ratio: プロトロンビン時間-国際標準化比) などでモニタリングしながら投与量を調節し、治療をおこなっている。しかしながら、その投与量は、各個人によってかなりのばらつきがある。ワルファリンの代謝酵素である CYP2C9 の遺伝子多型がワルファリン反応性の個人差を説明するものとして以前から報告されていた。しかし、白人より少量のワルファリンでコントロールできる傾向にある日本人は、CYP2C9 の活性を下げる多型の頻度が白人より少ないことから、CYP2C9 だけではワルファリンの反応性がうまく説明できなかった。

2004 年に、二つのグループがワルファリンの標的酵素であるビタミン K エポキシド還元酵素 (vitamin K epoxide reductase complex subunit 1: VKORC1) をクローニングした。多型解析から、本酵素の多型がきわめて強くワルファリン必要量と関連することが明らかとなった。多くの研究から、ワルファリンの個人差の約 30%が

VKORC1 多型、約 10%が CYP2C9 多型、約 15%が年齢、性別、併用薬などで説明される。しかし、なお残りの 45%程度は、これらの因子では説明できていない¹⁾。

日本人における抗凝固作用は白人にくらべ少量のワルファリンで維持される傾向にある。この一因として、白人の VKORC1 遺伝子では、酵素活性の高いアレルの頻度が日本人にくらべて高いので、VKORC1 蛋白質が多く発現し、その活性を阻害するためには、多くのワルファリンが必要であると考えられる。表①に日本人の VKORC1 と CYP2C9 の遺伝子多型頻度を示した。ワルファリン量は両遺伝子の多型の組み合わせで影響を受けるが、日本人の約 78%は同一の遺伝子型 (VKORC1 A/A と CYP2C9 *1/*1) を保有している。このことより、日本人のワルファリン維持量の個人差は比較的少ないと推定される。しかし、頻度は低い (約 1%) ながらも、大量のワルファリンを必要とする日本人 (VKORC1 Non-A/Non-A と CYP2C9 *1/*1) もいる (表①)。反対に、きわめてまれであるが、VKORC1 A/A と CYP2C9 *3/*3 の保有者は、少ないワルファリン量で維持できると考えられる。こういった患者では、過剰投与により出血が起こらないように十分な注意が必要であると思われる²⁾。

206 名のワルファリン導入時において、ファーマコゲノミクス (PG) を用いて遺伝子情報により投与量を決定する方法と従来法を比較検討し、3 ヶ月間 PT-INR をフォローした報告がある³⁾。これによると、PG 法はワルファリン量の変更が少なく、その変更量も小幅だった。しかし、PT-INR が治療域をはずれるケースは PG 法

30.7%、従来法 33.1% で二つの方法に差はみられなかった。ワルファリン導入時に遺伝型の情報を有効に用いることを目指した論文が発表された。297名のワルファリン導入時の PT-INR を調べ、PT-INR がはじめて治療域に入るまでの日数を遺伝型に分けて調べたところ、VKORC1 多型がこの日数に大きく影響を与え、CYP2C9 多型は影響しなかった⁴⁾。治療域に入るまでの平均日数は、Non-A/Non-A 型 15 日、Non-A/A 型 11 日、A/A 型 7 日であり、A/A 型の患者は有意に治療域への移行が早かった。日本人には Non-A/Non-A 型は 1% しかみられず、日本人の 80% は A/A 型であるので、日本人は治療域への移行が容易である患者が多いことになる。ワルファリン初回導入時のワルファリン量を推定するアルゴリズムが公開されており (<http://www.warfarindosing.org>)、また投与 3 日後に投与量を補正するアルゴリズムも発表されている⁵⁾。

今後、ワルファリンの個人の反応性にかかわる遺伝子型を、臨床的に有効に應用する試みが増加してくるものと思われる。われわれも、「ワルファリン至適用量に対する遺伝子多型と食事の影響の検討：The Study on the Contribution of Genetic Factors or Dietary Vitamin K Intake to Individual Warfarin Dosage (Godward Study)」を開始し、わが国におけるワルファリンの個別化医療実施可能性について、検討をおこなっている。

2 | アスピリン抵抗性 (aspirin-resistance)

アスピリンは、心筋梗塞や脳梗塞などのアテローム血栓症の予防薬として、最も多用されている抗血小板薬である。血栓症のハイリスク患者をランダムに割り付けた試験のメタアナリシスでは、アスピリン投与群 (29,652 名) の 2 年間の追跡期間中のイベント (心筋梗塞、脳梗塞、致死性血管傷害) 発生率は 12.9% であり、非投与群 (29,743 名) では 16.0% であったと報告されている⁶⁾。したがって、この差である 3.1% がアスピリンの二次イベントの発症抑制効果と考えられる。このように、大規模なメタアナリシスにより、その有効性が示されているものの、この結果から、アスピリンを服用しても、ハイリスク患者の 8 人に 1 人 (12.9%) は 2 年間でイベントを再発していることとなる。発症の原因としていくつか

表② 検査学的アスピリン抵抗性の頻度 (42 の研究のメタ解析)
(Hovens MM *et al* 2007⁷⁾ より引用)

	修正前 % (95% CI)	修正後 % (95% CI)
全体	23.8 (19.5~28.0)	27.1 (21.5~32.6)
測定法		
PFA-100	28.1 (22.2~33.9)	29.0 (23.1~34.8)
RPFA	18.9 (12.1~25.8)	26.2 (18.6~33.9)
LTA	15.4 (7.8~23.0)	21.3 (15.1~27.5)
Rest	35.0 (6.0~64.0)	31.8 (21.6~42.0)
対象疾患		
CAD	22.4 (17.5~27.4)	22.9 (17.0~28.7)
Stroke	26.0 (16.3~35.7)	32.1 (22.4~41.8)
Rest	27.3 (9.5~45.1)	26.3 (16.5~36.0)
用量		
≤100 mg	27.1 (18.7~35.6)	35.6 (28.1~43.2)
101~299 mg	29.6 (21.8~37.5)	28.2 (20.9~35.6)
≥300 mg	21.7 (11.8~31.7)	18.6 (11.3~26.0)
Unknown	19.8 (10.7~28.9)	25.8 (16.2~35.4)

アスピリンレジスタンスの測定に使用された測定法、対象疾患、用量に分けてアスピリンレジスタンスの頻度を求めた。PFA-100 と RPFA は、測定に用いた機種 (本文参照)。LTA: 血小板凝集能の測定法。95% CI: 95%信頼区間
*測定法、対象疾患、用量で補正した

の要因が考えられるが、その一因として、アスピリンに代表される抗血小板薬はワルファリンとは異なり、モニタリングをおこなわず、一定量で投与されることが多いため、アスピリンの効果に個人差が認められることが指摘されている。これらアスピリンの効果血小板凝集能やトロンボキサン代謝産物量などを用いて評価し、アスピリンを服用しているにもかかわらず、血小板機能抑制効果が弱い患者群をアスピリン抵抗性 (aspirin-resistance) と定義し、その頻度や意義について検討した報告が増加している。実際、さまざまな *in vitro* もしくは *ex vivo* 測定系を用いて評価しアスピリン抵抗性を定義した、いわゆる検査学的アスピリン抵抗性の頻度に関して、42 の試験を集めておこなわれたメタアナリシスの結果が報告されている⁷⁾。表②にその結果を示した。用いられた血小板機能評価法は、ざり応力下での血小板凝集能を測定する PFA-100、フィブリノーゲンが固相化された使い捨てタイプのカートリッジを用いる rapid platelet functional assay (RPFA)、古典的な血小板凝集法 (LTA) などである。メタアナリシスの結果では、これらの測定法