

# Hyoid Bone Compression–Induced Repetitive Occlusion and Recanalization of the Internal Carotid Artery in a Patient With Ipsilateral Brain and Retinal Ischemia

**A** 61-YEAR-OLD MAN presented with aphasia and right hemiparesis. Severe stenosis of the left internal carotid artery (ICA) was found 2 years previously when he presented with left retinal arterial branch occlusion. Brain magnetic resonance angiography, carotid ultrasonography (US), and cerebral angiography confirmed that the stenosis had progressed to asymptomatic occlusion 1 year before admission (**Figure 1A**). Brain computed tomography revealed an ischemic lesion in the left basal ganglia (**Figure 2A**). However, the left

compression, suspected before surgery, was not observed, the operative procedure was changed from carotid endarterectomy to adhesiotomy from the circumferential tissues and patch formation of the left ICA. The hyoid bone removal was given up because of the technical difficulty. A pathological examination of the arterial wall tissue showed only fibrotic change. The left ICA remained patent after surgery. Antiplatelet therapy, started before surgery, was continued. The patient recovered without sequelae and was discharged on day 41.

## COMMENT

This is the first article describing frequent occlusion and recanalization of a nonatherothrombotic ICA caused by the hyoid bone, confirmed by neuroimaging. To our knowledge, 2 articles<sup>1,2</sup> have described stroke and/or transient ischemic attack in the presence of ICA compression by the hyoid bone, but neither identified a direct relationship between the ICA compression and ischemia. Carotid US and helical computed tomography were useful for diagnosis in our patient. Hyoid bone compression should be recognized as a rare cause of ICA stenosis.

Mayumi Mori, MD  
Haruko Yamamoto, MD, PhD  
Masatoshi Koga, MD, PhD  
Hideki Okatsu, MD  
Yuji Shono, MD  
Kazunori Toyoda, MD, PhD  
Kenji Fukuda, MD  
Koji Iihara, MD, PhD  
Naoki Yamada, MD, PhD  
Kazuo Minematsu, MD, PhD

Accepted for Publication: October 5, 2010.

Author Affiliations: Departments of

Cerebrovascular Medicine (Drs Mori, Yamamoto, Koga, Okatsu, Shono, Toyoda, and Minematsu), Cerebrovascular Surgery (Drs Fukuda and Iihara), and Radiology and Nuclear Medicine (Dr Yamada), National Cerebral and Cardiovascular Center, Osaka, Japan.

**Correspondence:** Dr Yamamoto, Department of Cerebrovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan (harukoya@hsp.ncvc.go.jp).

**Author Contributions:** *Study concept and design:* Mori and Yamamoto. *Acquisition of data:* Mori, Koga, Shono, Fukuda, Yamada, and Minematsu. *Analysis and interpretation of data:* Mori, Yamamoto, Okatsu, Toyoda, and Iihara. *Drafting of the manuscript:* Mori, Yamamoto, and Yamada. *Critical revision of the manuscript for important intellectual content:* Yamamoto, Koga, Okatsu, Shono, Toyoda, Fukuda, Iihara, and Minematsu. *Obtained funding:* Minematsu. *Administrative, technical, and material support:* Mori, Yamamoto, Koga, Okatsu, Shono, Toyoda, Fukuda, Iihara, and Yamada. *Study supervision:* Minematsu.

**Financial Disclosure:** None reported.

**Funding/Support:** This study was supported by Grants-in-Aid (H21-Junkanki-Ippan-017; Dr Minematsu, Chief Investigator) from the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan.

**Online-Only Material:** The video is available at <http://www.archneurology.com>.

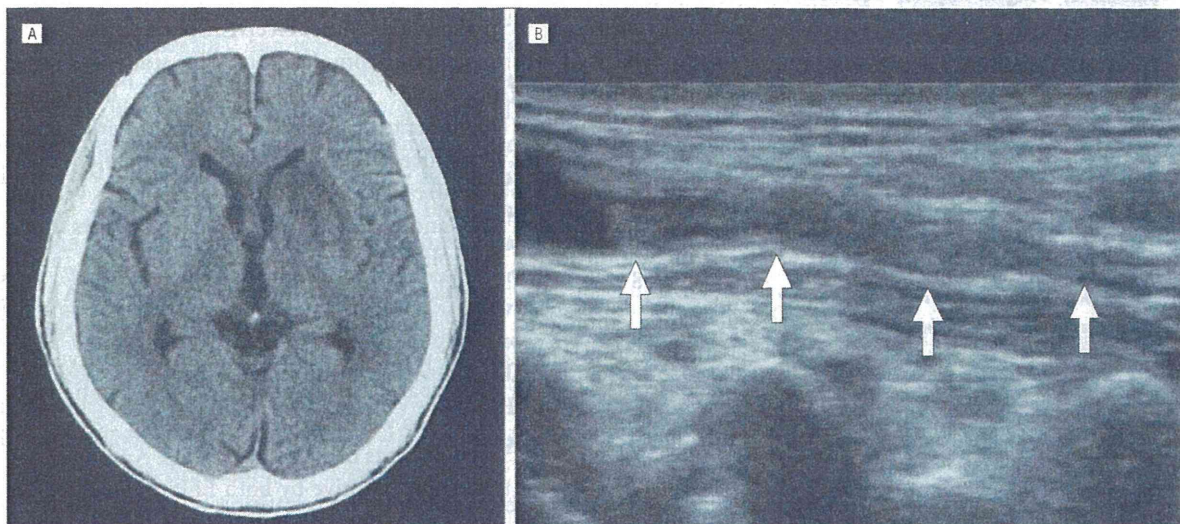
## REFERENCES

1. Abdelaziz OS, Ogilvy CS, Lev M. Is there a potential role for hyoid bone compression in pathogenesis of carotid artery stenosis? *Surg Neurol*. 1999; 51(6):650-653.
2. Kölbl T, Holst J, Lindh M, Mätzsch T. Carotid artery entrapment by the hyoid bone. *J Vasc Surg*. 2008;48(4):1022-1024.

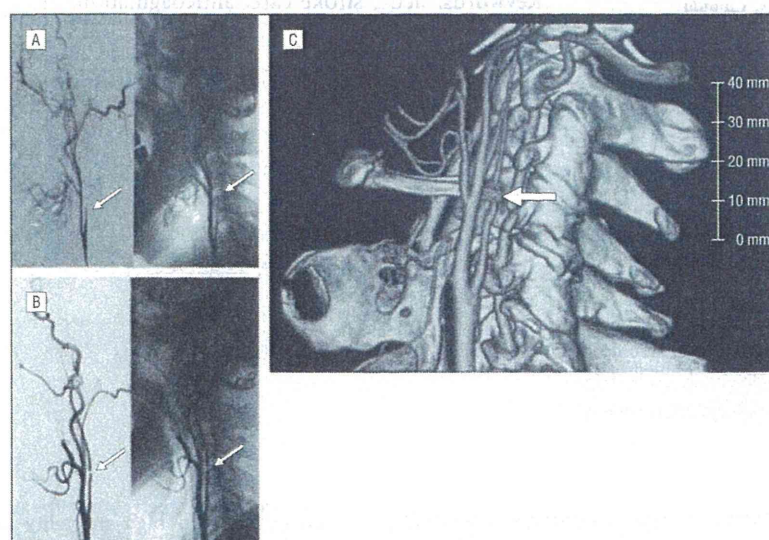


Video available online at [www.archneurology.com](http://www.archneurology.com)

ICA images were confusing; brain magnetic resonance angiography on day 7 indicated left ICA recanalization, whereas carotid US immediately after magnetic resonance angiography showed ICA occlusion with an intraluminal thrombuslike entity (**Figure 2B**). Cerebral angiography showed recanalization with severe segmental stenosis on day 13 (**Figure 1B**); the occlusion revealed by magnetic resonance angiography on day 18 was recanalized according to carotid US 1 hour later. Carotid US on day 20 initially detected left ICA flow in the supine position that gradually diminished with an intraluminal thrombuslike entity appearing over a period of 20 minutes. Flow was suddenly visualized again after the patient sat up (video; <http://www.archneurology.com>). The left greater horn of the hyoid bone seemed to compress the narrowest segment of the ICA from behind (video), confirmed by helical computed tomography (**Figure 1C**). Because secondary atherosclerosis at the site of



**Figure 1.** Imaging findings on admission. A, Brain computed tomography shows an ischemic lesion in the left basal ganglia. B, Carotid ultrasound shows a thrombuslike entity in left internal carotid artery.



**Figure 2.** Imaging findings of the left internal carotid artery and hyoid bone. Cerebral angiography showed occlusion of the internal carotid artery 1 year before admission (A), recanalized, with severe segmental stenosis on day 13 (B). C, Helical computed tomography shows the greater horn of hyoid bone compressing the narrowest segment of the left internal carotid artery from behind.

## Prospective multicentre cohort study of heparin-induced thrombocytopenia in acute ischaemic stroke patients

Hiroyuki Kawano,<sup>1,2</sup> Haruko Yamamoto,<sup>3</sup> Shigeki Miyata,<sup>4</sup> Manabu Izumi,<sup>5</sup> Teruyuki Hirano,<sup>2</sup> Naomi Toratani,<sup>6</sup> Isami Kakutani,<sup>4</sup> Jo-Ann I. Sheppard,<sup>7</sup> Theodore E. Warkentin,<sup>7</sup> Akiko Kada,<sup>3</sup> Shoichiro Sato,<sup>6</sup> Sadahisa Okamoto,<sup>2</sup> Kazuyuki Nagatsuka,<sup>6</sup> Hiroaki Naritomi,<sup>6</sup> Kazunori Toyoda,<sup>6</sup> Makoto Uchino<sup>2</sup> and Kazuo Minematsu<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Department of Cerebrovascular Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Centre, Suita, Osaka, <sup>2</sup>Department of Neurology, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University, Kumamoto, <sup>3</sup>Department of Advanced Medical Technology Development, National Cerebral and Cardiovascular Centre, <sup>4</sup>Divisions of Clinical Laboratory and Transfusion Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Centre, Suita, Osaka, <sup>5</sup>Division of Cardiology, Department of Internal Medicine, Research Institute for Brain and Blood Vessels Akita, Akita, <sup>6</sup>Department of Neurology, National Cerebral and Cardiovascular Centre, Suita, Osaka, Japan, and <sup>7</sup>Department of Pathology and Molecular Medicine, McMaster University, Hamilton, ON, Canada

### Summary

Acute ischaemic stroke patients sometimes receive heparin for treatment and/or prophylaxis of thromboembolic complications. This study was designed to elucidate the incidence and clinical features of heparin-induced thrombocytopenia (HIT) in acute stroke patients treated with heparin. We conducted a prospective multicentre cohort study of 267 patients who were admitted to three stroke centres within 7 d after stroke onset. We examined clinical data until discharge and collected blood samples on days 1 and 14 of hospitalization to test anti-platelet factor 4/heparin antibodies (anti-PF4/H Abs) using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); platelet-activating antibodies were identified by serotonin-release assay (SRA). Patients with a 4Ts score  $\geq 4$  points, positive-ELISA, and positive-SRA were diagnosed as definite HIT. Heparin was administered to 172 patients (64.4%: heparin group). Anti-PF4/H Abs were detected by ELISA in 22 cases (12.8%) in the heparin group. Seven patients had 4Ts  $\geq 4$  points. Among them, three patients (1.7% overall) were also positive by both ELISA and SRA. National Institutes of Health Stroke Scale score on admission was high (range, 16–23) and in-hospital mortality was very high (66.7%) in definite HIT patients. In this study, the incidence of definite HIT in acute ischaemic stroke patients treated with heparin was 1.7% (95% confidence interval: 0.4–5.0). The clinical severity and outcome of definite HIT were unfavourable.

**Keywords:** acute stroke care, anticoagulation, heparin, platelet, thrombocytopenia.

Received 10 March 2011; accepted for publication 15 May 2011

Correspondence: Haruko Yamamoto, Department of Advanced Medical Technology Development, National Cerebral and Cardiovascular Centre, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan.

E-mail: harukoya@hsp.ncvc.go.jp

Re-use of this article is permitted in accordance with the Terms and Conditions set out at [http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen\\_Terms](http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms)

Immune-mediated heparin-induced thrombocytopenia (HIT), which is caused by platelet-activating IgG antibodies that recognize platelet factor 4 bound to heparin (anti-PF4/heparin Abs), is a relatively common side effect of heparin therapy and presents a strong risk factor for thromboembolic events

associated with high mortality and morbidity (Warkentin, 2007a). Prospective studies in Western countries have shown that the prevalence of HIT is 0.3–5% of patients treated with unfractionated heparin (UFH), which varies depending on the clinical settings (Warkentin *et al*, 1995, 2000; Kappers-Klunne

First published online 14 June 2011  
doi:10.1111/j.1365-2141.2011.08775.x

© 2011 Blackwell Publishing Ltd, *British Journal of Haematology*, 154, 378–386

*et al*, 1997). Thrombotic complications occur in approximately one-third to one-half of HIT patients (Warkentin, 2007a). On the other hand, some studies of UFH therapy for acute stroke reported no cases of HIT (Toth & Voll, 2002; Camerlingo *et al*, 2005). To elucidate the prevalence of HIT in acute ischaemic stroke patients who were treated with heparin, we organized a prospective multicentre cohort study that included systematic collection of blood for detection of the antibodies that cause HIT.

Some clinical guidelines do not recommend prescribing heparin in acute ischaemic stroke, and others recommend it mainly for the prevention of deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE) (Albers *et al*, 2004; Cardiovascular Disease Educational and Research Trust, 2006; Adams *et al*, 2007). At the participating stroke centres in our study, in addition to the prevention of DVT and PE, UFH is given during the acute phase of ischaemic stroke to the following: patients with emboligenic heart disease or superimposed thrombi on the carotid plaque to prevent embolic complications; patients with particular stroke aetiologies, including cerebral arterial dissection and vasculitis; and patients with embolic stroke of unknown origin until the presence of heart disease is excluded by the results of prolonged electrocardiography and transesophageal echocardiography (Caplan, 2003).

In a previous study of 137 stroke patients who were treated with UFH, 21 patients (15.3%) developed thrombocytopenia ( $\geq 40\%$  fall in platelet counts) during or after heparin therapy, and five of these 21 patients had an additional ischaemic stroke (Ramirez-Lassepas *et al*, 1984). A recent study of 200 neurological patients treated with UFH for at least 5 d, including 102 patients with cerebrovascular disorders, demonstrated that 41 patients (20.5%) had anti-PF4/heparin Abs and 5 (2.5%) developed HIT, when the serological diagnosis was made from the presence of antibodies detected by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Harbrecht *et al*, 2004).

Only a few studies have investigated the prevalence of HIT in acute stroke patients receiving UFH, especially in the Asian population (Kawano *et al*, 2008). In our previous retrospective report of acute ischaemic stroke patients who were treated with UFH, 0.5% of the patients developed HIT diagnosed by both the clinical scoring systems and the serological assays, including  $^{14}\text{C}$ -serotonin release assay (SRA) (Kawano *et al*, 2008). However, our retrospective study assessing the prevalence of HIT was limited by the fact that antibodies were not assayed in all patients. This limitation may cause an under diagnosis of HIT.

Thus, we performed this prospective multicentre cohort study in 267 patients to determine a more accurate incidence of HIT in patients with acute ischaemic stroke and to elucidate the clinical features of HIT.

## Methods

### Study design

A prospective multicentre cohort study.

### Subjects and settings

This study was conducted in three Japanese stroke centres at the then National Cardiovascular Centre (currently the National Cerebral and Cardiovascular Centre, Osaka), Research Institute for Brain and Blood Vessels Akita (Akita), and Kumamoto University (Kumamoto). Between October 2006 and May 2007, all consecutive patients who met the following criteria were enrolled. Eligible patients were 20 years of age or older and admitted within 7 d after the onset of acute ischaemic stroke, including cerebral infarction and transient ischaemic attack. Patients were excluded for any of the following: (i) active infectious endocarditis, (ii) urgent neurosurgery or cardiovascular surgery would be required, (iii) chronic thrombocytopenia (defined as a platelet count  $< 100 \times 10^9/\text{l}$  for more than 30 d), (iv) haematopoietic malignancy and (v) an ongoing need for an anticancer-drug treatment. The study was approved by the research ethics committee of each centre. Heparin therapy was provided to a number of patients depending on the physician's decision (mainly considering the type of stroke and/or the patient's clinical status as described in the Introduction.)

### Evaluation

The following patient characteristics were obtained: age, sex, height, body weight, body-mass index, modified Rankin Scale (mRS) score (van Swieten *et al*, 1988) before stroke onset, vascular risk factors (hypertension, diabetes mellitus, dyslipidaemia, current and past smoking habits, drinking habit, including occasional drinking), past history (autoimmune disease, haemodialysis, renal dysfunction, angina, myocardial infarction, cerebral infarction, transient ischaemic attack, pulmonary thromboembolism, extremity gangrene, amputation of an extremity, angiography, heparin exposure, surgical procedure and HIT), platelet counts, antiplatelet/anticoagulant drug use and blood transfusions. The timing and period of heparin administration (including heparin flushes), changes in platelet count, and alternative anticoagulant therapy for HIT (if given) were also examined. Other risk factors for stroke, such as emboligenic heart diseases including atrial fibrillation, were assessed based on the criteria from the Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) study (Adams *et al*, 1993). Based on the neurological, radiological, cardiological and haematological profiles, the stroke subtype was determined according to the TOAST subtype classification system by a consensus of stroke neurologists. The neurological severity of each patient was assessed by an experienced stroke neurologist according to the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score (Lyden *et al*, 1994) on admission and discharge, and at 3 months after onset. Patient global outcome was also assessed with mRS (van Swieten *et al*, 1988).

*Clinical evaluation.* The clinical probability of HIT was assessed using the 4Ts scoring system (Warkentin & Hedde, 2003), which is composed of four clinical features that are

given scores of 0, 1, or 2; magnitude of thrombocytopenia; timing of platelet count fall (in relation to heparin therapy); thrombosis or other sequelae; and presence of other explanations for thrombocytopenia. The case reports of the patients, filled out by their physicians, were assessed independently in a blinded fashion by the external Data Assessment Committee, which consisted of two stroke neurologists, according to the 4Ts scoring system after the patient follow-up was completed. If the judgment was not concordant between the two stroke neurologists, they discussed the cases to reach a final consensus and decision. Based on the 4Ts score, the estimated pretest probabilities of HIT were categorized into three groups: low (0–3), intermediate (4–5) and high (6–8) scores. We diagnosed the patients with an intermediate or a high score as 'potential HIT' and those with a low score as 'clinical non-HIT'. These objective assessments for the clinical probability of HIT were done after the patient follow-up was completed as described above, so that no results influenced clinical management. Therefore, some patients were ultimately diagnosed as HIT even though the physicians in charge did not suspect HIT as described in details in the Results section.

**Serological evaluation.** Blood samples were collected from all patients on the first (to the third) and 14th ( $\pm 4$ ) hospital days to be tested for anti-PF4/heparin Abs using ELISA (Asserachrom HPIA; Diagnostica Stago, Asnieres, France). The assays were performed in a blinded fashion after patient follow-up was completed. ELISA was performed according to the manufacturer's instructions. The titres of the samples were expressed as values of optical density (OD). The result was considered positive when the titre was greater than the cut-off value, which was determined using the reference control for each kit. To confirm the diagnosis of HIT, SRA was measured for all patients with a positive ELISA and/or  $\geq 4$  points in the 4Ts scoring system ( $n = 29$ ). In addition, samples from 39 patients selected randomly from among all the patients were tested by SRA as a control. Samples were measured as described elsewhere at the Platelet Immunology Laboratory, McMaster University (Hamilton, ON, Canada) blinded to all clinical, platelet count and serological data (Warkentin *et al*, 1992). Any sample that produced  $\geq 10\%$  mean serotonin release with  $< 10\%$  release in the presence of high heparin (at a final concentration of 100 u/ml) and the anti-Fc $\gamma$ RIIa monoclonal antibody (IV.3) was considered SRA-positive.

### Diagnosis

Based on the results of both the 4Ts clinical score and the serological assays, patients were categorized into four groups as follows: (i) definite HIT (4Ts score  $\geq 4$  points with positive results in both ELISA and SRA), (ii) possible HIT (4Ts score  $\geq 4$  points with positive result in either ELISA or SRA) and (iii) clinically suspected HIT (4Ts score  $\geq 4$  points with negative results in both ELISA and SRA), seropositive status (4Ts score

$< 4$  points with positive in both ELISA and SRA). The remaining patients were categorized as HIT unlikely.

### Statistical analysis

The variables between the groups of patients treated with and without heparin were compared using Fisher's exact test and the Wilcoxon test. For NIHSS, the change, NIHSS score at discharge minus that at admission, was also determined. Statistical analyses were performed using SAS software version 9.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

## Results

### Patient characteristics

A total of 267 patients (mean age 71.7 years; 66.2% men), who were admitted to three stroke centres within 7 d after stroke onset during a 6-month period, were enrolled. Intravenous UFH was administered to 172 patients (64.4%: heparin group) (Fig 1). Male gender, atrial fibrillation, previous ischaemic heart disease, history of surgery using UFH, and history of intra-arterial catheter procedures were significantly more common in patients treated with than without UFH (Table IA). In regard to stroke subtype, large artery atherosclerosis and cardioembolism were more frequent in patients treated with UFH, and small vessel occlusion was more frequent in those without UFH treatment. There was no significant difference in the history of antiplatelet drug use before admission between the patients treated with (66 cases, 38.4%) and without UFH (32 cases, 33.7%) ( $P = 0.508$ ) (Table IA). Both the NIHSS score at discharge (median, 2 vs. 1,  $P = 0.020$ ) and mRS at 3 months after stroke onset (median, 2 vs. 1,  $P < 0.001$ ) were higher in patients treated with UFH (Table IB).

### The incidence of HIT

Anti-PF4/heparin Abs were detected at any time point in 22 patients (12.8%) in the heparin group and in 3 (3.2%) of 95 patients who did not receive intravenous UFH respectively (Fig 1), and the difference was significant ( $P = 0.008$ ). Seven patients (4.1%) were diagnosed as having potential HIT according to the 4Ts score ( $\geq 4$  points). All seven patients had intermediate scores. Among them, three showed positive results in both ELISA and SRA, to give an incidence of definite HIT of 1.7% [95% confidence interval (CI): 0.4–5.0]. Possible HIT, clinically suspected HIT, and seropositive status were 0%, 2.3% ( $n = 4$ ), and 2.3% ( $n = 4$ ), respectively (Fig 1). Of the 95 patients with a positive ELISA who did not receive heparin within 3 months before admission and/or during hospitalization, three were SRA-negative. The OD values of anti-PF4/heparin Abs detected by ELISA seemed a little higher in definite HIT patients than the seropositive status group, although statistical analysis was not performed because of the



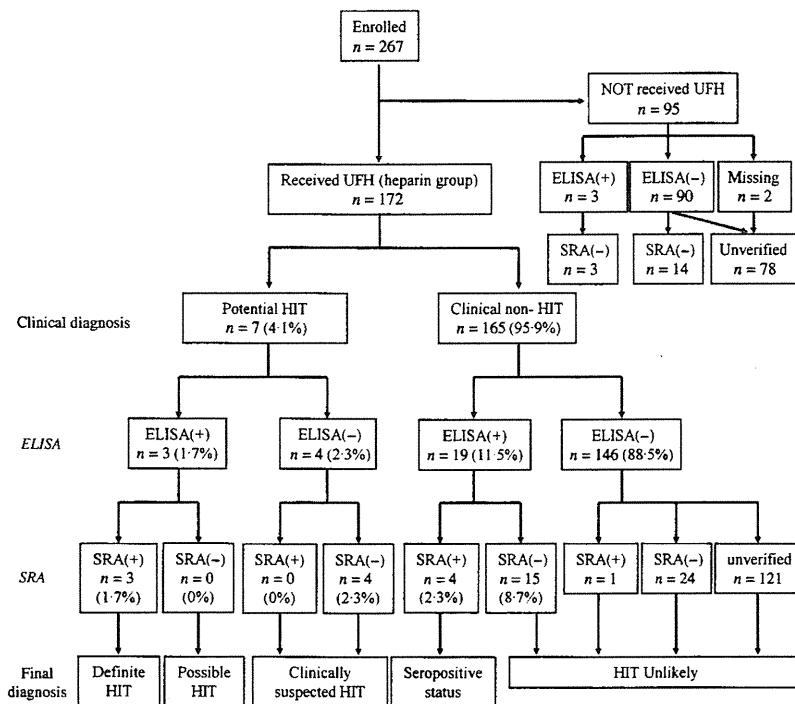


Fig 1. Flow chart for diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. HIT, heparin-induced thrombocytopenia; UFH, unfractionated heparin; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; SRA, serotonin-release assay.

small sample size (Table II). OD values in ELISA did not correlate with the mean percentage release in SRA (Fig 2). However, the proportion of samples with positive-SRA to those with negative-SRA was greater in the samples with  $\geq 1.5$  OD value in ELISA as compared to those with  $< 1.5$  OD value. The prevalence of positive-ELISA was not significantly different between patients who received UFH for five or more days (15.9%) and for  $< 5$  d (11.4%).

#### Clinical course and the treatment of definite HIT patients

Only one (Case 3) of three definite HIT patients was suspected of having HIT by the treating physician. This patient had atrial fibrillation and an infarct in the right anterior and middle cerebral arteries. The admission NIHSS score was 17 (Table II). The patient's platelet count decreased from  $156$  to  $99 \times 10^9/l$  (approximately a 37% fall) in the typical HIT window (5–10 d) and recovered to  $227 \times 10^9/l$  soon after stopping heparin administration on day 7 due to the suspicion of HIT. The patient had a further fall in platelet count, from  $227$  to  $99 \times 10^9/l$  (approximately a 56% fall), after day 10 with a high OD value (2.086) in ELISA and a weak positive SRA (11% release) (Table II). The patient died due to deterioration from an underlying stroke. The very weak SRA, which was performed during the second platelet count fall, argues somewhat against this patient having HIT. However, HIT antibodies sometimes become weaker very quickly (Warkentin & Kelton, 2001; Greinacher *et al*, 2009), and so

it is possible that the SRA would have been stronger during the first platelet count fall.

The other two patients (Cases 1 and 2) that ultimately met the criteria for definite HIT in this study were not suspected of having HIT by their physicians. One patient (Case 1) experienced a stroke of other determined aetiology due to arterial dissection in the intracranial left vertebral artery. The admission NIHSS score was 23 (Table II). The patient had bilateral cerebellar and brain stem infarcts. UFH was administered for 7 d, and UFH flushes for intravascular catheter were continued for an additional 4 d. The patient showed a 52.0% decrease in platelet count, from  $331$  to  $107 \times 10^9/l$ , that began on day 5 of heparin with relatively high values in SRA (63.9% release) and ELISA (2.271 OD value) (Table II). Death occurred from stroke on day 11. The other patient (Case 2) with a previous history of recent transient ischaemic attacks had a cardioembolic stroke due to atrial fibrillation 9 d after urgent hemiarth replacement due to aortic dissection. The admission NIHSS score was 16. The patient's platelet count declined from  $436$  to  $286 \times 10^9/l$  (a drop of approximately 34%) during the typical HIT window of days 5–10 with relatively high values in SRA (51.6% release) and ELISA (1.725 OD value); although the platelet count evolution may be explained by a platelet count profile of post-cardiovascular surgery with cardiopulmonary bypass overshooting around postoperative day 14 and returning gradually to the baseline (Table II). The patient was dependent at discharge and at 3-month follow-up.

Table 1. (A) Demographic data of patients treated or not with unfractionated heparin (UFH) and (B) clinical data of patients treated or not with UFH.

	With UFH (n = 172; 64.4%)	Without UFH (n = 95; 35.6%)	P-value
(A)			
Age (years), median (range)	71 (23–98)	73 (42–93)	0.515
Male gender (%)	122 (70.9)	53 (55.8)	0.015
Weight (kg)	60.1 ± 12.2	59.4 ± 11.6	0.673
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.3 ± 3.8	23.4 ± 3.7	0.936
HTN (%)	133 (77.3)	74 (77.9)	1.000
DM (%)	55 (32.0)	30 (31.6)	1.000
CRF (%)	17 (9.9)	5 (5.3)	0.247
HD (%)	3 (1.7)	0 (0)	0.555
Atrial fibrillation (%)	59 (34.3)	11 (11.6)	<0.001
Smoking (%)	78 (45.3)	37 (38.9)	0.303
Drinking (≥2 cups) (%)	49 (28.5)	21 (22.1)	0.249
Previous IHD (%)	33 (19.2)	5 (5.3)	0.002
Previous CVD (%)	51 (29.7)	28 (29.5)	1.000
Previous PTE (%)	0	0	–
Previous DVT (%)	4 (2.3)	1 (1.1)	0.658
History of heparin use within 3 months (%)	6 (3.5)	0 (0)	0.180
History of surgery using heparin	33 (19.2)	3 (3.2)	<0.001
History of intra-arterial catheter procedure (%)	43 (25.0)	8 (8.4)	<0.001
History of warfarin use (%)	18 (10.5)	5 (5.3)	0.176
History of antiplatelet agency use (%)	66 (38.4)	32 (33.7)	0.508
Stroke subtype			
TIA (%)	9 (5.2)	20 (21.1)	<0.001
Stroke (%)	163 (94.8)	75 (78.9)	
LAA (%)	38 (23.3)	5 (6.7)	
CE (%)	64 (39.3)	5 (6.7)	<0.001
SV (%)	26 (16.0)	48 (64.0)	
OT + UD (%)	35 (21.5)	17 (22.7)	
Platelet count (×10 <sup>9</sup> /l)	222 (103–583)	230 (119–483)	0.670
NIHSS score on admission, median (range)	5 (0–32)	3 (0–20)	<0.001
(B)			
Treatment during the hospital stay			
Warfarin use (%)	70 (40.7)	9 (9.5)	<0.001
Antiplatelet agency use (%)	105 (61.0)	84 (88.4)	<0.001
Cessation of heparin (%)	142 (82.6)	0	<0.001
Alternative anticoagulation (%)	67 (39.0)	37 (38.9)	1.000
Intra-arterial catheter procedure during the hospital stay (%)	70 (40.7)	0 (0)	<0.001
Surgery with heparin use during the hospital stay	7 (4.1)	0 (0)	0.053
Thromboembolic vents or death			
Recurrence of ischaemic stroke	12 (7.0)	2 (2.1)	
Thromboembolic events during catheter	4 (2.3)	0	
Other thromboembolism	7 (4.1)	2 (2.1)	
React of heparin infusion	1 (0.6)	0	
Death	5 (2.9)	0	
NIHSS score at discharge, median (range)	2 (0–42)	1 (0–20)	–
NIHSS change, discharge-admission (range)	–2 (–21 to 19)	–1 (–8 to 9)	0.020
mRS at discharge, mean (median)	2 (0–6)	1 (0–5)	0.002
mRS at 3 months, median (range)	2 (0–6)	1 (0–5)	<0.001

BMI, body mass index; HTN, hypertension; DM, diabetes mellitus; CRF, chronic renal failure; HD, haemodialysis; IHD, ischaemic heart disease; CVD, cerebrovascular disease; PTE, pulmonary thromboembolism; DVT, deep vein thrombosis; TIA, transient ischaemic attack; LAA, large artery atherosclerosis; CE, cardioembolism; SV, small vessel occlusion; OT, stroke with alternative aetiology; UD, stroke of undetermined aetiology; UFH, unfractionated heparin; NIHSS, National Institutes of Health Stroke Scale; mRS, modified Rankin scale.

Table II. Clinical features of HIT patients.

Pt	Age (years)	Gender	Past history	Stroke subtype	4Ts score	ELISA (OD)	SRA (mean % release)	Platelet count ( $\times 10^9/l$ )	Duration of UFH (day)	Duration of UFH up to the day of platelet nadir, days	Thrombotic complication	NIHSS on admission	mRS on discharge	
Definite HIT														
1	62	Male	CI, HTN	Other	4	+(2.271)	+(63.9)	331	107	11	7	None	23	Dead
2	64	Female	CI, HTN, AF	CE	5	+(1.725)	+(51.6)	436	286	18	10	None	16	4
3	88	Female	AF	CE	5	+(2.086)	+(11.0)	156	99	7	15	None	17	Dead
Clinically suspected HIT														
4	67	Male	HTN, DM, AF, CRF	CE	4	-(0.138)	-( $<1$ )	281	210	14	7	DVT	7	4
5	82	Male	CI, HTN, AF	CR	4	-(0.052)	-( $<1$ )	137	27	1	4	None	10	4
6	66	Male	MI, HTN	CE	4	-(0.102)	-( $<1$ )	583	225	13	17	None	12	1
7	69	Female	HTN, AF	CE	5	-(0.091)	-( $<1$ )	297	120	23	6	RI	7	4
Seropositive status														
8	70	Female	HTN, AF	CE	0	+(1.666)*	+(53.2)	141	123	4	NA†	None	13	2
9	59	Female	HTN, AF, AID	CE	0	+(1.505)	+(76.8)	163	158	18	NA†	None	15	4
10	87	Male	IHD, HTN, AF	CE	0	+(0.977)	+(13.3)	200	150	13	NA†	None	8	5
11	90	Female	HTN, AF	CE	2	+(2.378)	+(28.8)	235	210	9	NA†	IHD	29	5

ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; SRA, serotonin-release assay; OD, optical density; CI, cerebral infarction; IHD, ischaemic heart disease; HTN, hypertension; DM, diabetes mellitus; AF, atrial fibrillation; CRF, chronic renal failure; MI, myocardial infarction within 4 weeks; AID, autoimmune disease; RI, renal infarction; DVT, deep vein thrombosis; other, stroke of other determined aetiology; CE, cardioembolism; NA, not applicable.

\*ELISA was negative (OD: 0.079) in the sample drawn 7 d after admission, when SRA was positive. ELISA was positive (OD: 1.666) in the sample obtained 1 week later.

†Patient did not demonstrate thrombocytopenia.



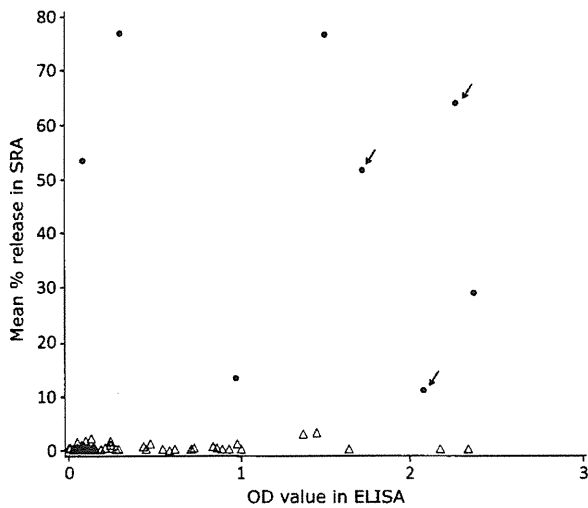


Fig 2. The correlation of optical density (OD) values for anti-platelet factor 4/heparin antibodies detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and mean percentage release by serotonin-release assay (SRA). These values showed poor correlation. Arrows indicate the data points of the three patients who met the criteria for definite HIT. ●, SRA-positive cases, including one patient classed as 'HIT unlikely': OD = 0.298, and mean percentage release = 76.74; △, SRA-negative cases.

None of the patients in this study met the diagnosis of rapid or delayed onset HIT. None of the patients classified as definite HIT received treatment with alternative anticoagulants, such as thrombin inhibitors, nor did the patients develop additional thromboembolic events.

## Discussion

HIT should be recognized as a clinicopathological syndrome because none of the currently available HIT diagnostic tools have sufficient sensitivity and specificity to be used as the primary or only tool to diagnose HIT. Thus, both clinical and serological diagnoses are crucial. In this prospective study, clinical probability was assessed using the 4Ts scoring system, which is a popular method, by two independent stroke neurologists who were blinded from the results of serological assays. As a result, 4.1% of the acute stroke patients treated with heparin were suspected clinically of having HIT with  $\geq 4$  points in the 4Ts scoring system. Among them, 1.7% (95% CI: 0.4–5.0) had platelet activating antibodies against the complexes of PF4 and heparin detected by ELISA and SRA, supporting the diagnosis of definite HIT. All of these definite HIT patients had intermediate scores in the 4Ts as well as four clinically suspected HIT cases, as shown in Table II. Thus, it was very difficult to distinguish HIT patients from non-HIT patients through clinical information alone. This may possible explain why only one among three definite HIT cases was suspected of having HIT by the treating physicians.

Our results were similar to those reported in other studies of patients with ischaemic stroke (Ramirez-Lassepas *et al*, 1984; Harbrecht *et al*, 2004) and the frequency of definite HIT was

less than in surgical patients (Kappers-Klunne *et al*, 1997; Warkentin, 2007b). For two of the three definite HIT patients reported here, one had a possible alternative aetiology that could explain her platelet count fall (Case 2) and the other had a weak positive-SRA (Case 1) as described in detail in the Result section. Thus, we cannot exclude the possibility that these two patients might not have had HIT. If we exclude these patients, the incidence of HIT could be as low as 0.6%. However, this result was compatible with our previous retrospective study of the same patient population (the incidence of HIT was 0.5%) (Kawano *et al*, 2008). Therefore, we can conclude that the incidence of HIT in acute stroke patients treated with UFH seems to be approximately 0.5–1.7%. These results emphasize that HIT diagnosis should be considered in the management of acute ischaemic stroke.

Another major finding was that the clinical severity and outcome of acute stroke patients who were diagnosed as having definite HIT were unfavourable. In particular, the in-hospital mortality of definite HIT was very high (66.7%). Previous reports also indicated that mortality was high in HIT patients (Warkentin *et al*, 1995, 2000; Kappers-Klunne *et al*, 1997). The present study is unique in that initial neurological severity and clinical outcomes of stroke patients with HIT were determined. The NIHSS score on admission (median, 17) in definite HIT was quite high, and the outcome at 90 d was poor. However, the poor outcome of those patients appeared to be mainly due to the severity of the initial stroke rather than HIT. Although clinical severity and outcome of patients treated with UFH were unfavourable compared to those without UFH, the patients with UFH intrinsically might be at high risk of thromboembolic complications because those patients more frequently had systemic atherosclerotic changes or embolic sources. In fact, stroke subtypes were distributed differently between patients with and without UFH in our study. Hoh *et al* (2005) reported significantly less favourable outcomes, including new thromboembolic episodes and deaths in patients with subarachnoid haemorrhage who developed HIT compared to those without HIT. They found that more patients with HIT showed a poorer Fisher Grade than those without HIT, although the diagnosis of HIT was based on clinical criteria, and serological examinations were not mandatory in the study (Hoh *et al*, 2005). It should be considered that serious neurological conditions might be vulnerable to HIT.

In the present study, four of 165 clinical non-HIT patients were positive by both ELISA and SRA. None of these patients demonstrated thrombocytopenia, nor did they die. A thromboembolic event occurred in one patient who developed an ischaemic heart event. Previous reports suggested that high OD values in ELISA and/or strong-positive SRA results were associated with a high degree of diagnostic accuracy for HIT (Warkentin *et al*, 1995, 2008; Lo *et al*, 2007). However, despite high OD values ( $\geq 1.5$  units) in ELISA (Cases 8, 9, 11) or strong-positive ( $\geq 50\%$  serotonin release) SRA results (Cases 8, 9), these patients did not develop HIT (Table II). One of the clinical non-HIT patients was ELISA-negative but SRA-positive and did not

develop any thrombocytopenia, thromboembolic event, or death. Furthermore, three of 95 patients without UFH were positive only by ELISA. In the present study, we blindly evaluated anti-PF4/heparin Abs in all clinical HIT and clinical non-HIT patients. Even if the results of anti-PF4/heparin Abs were positive, all patients with positive results would not always demonstrate HIT, and some of the positive results might not be pathological findings. Therefore, we should be aware of false negative and false positive results in both serological tests, and that diagnosis by the detection of anti-PF4/heparin Abs alone (even with a high OD value in ELISA and/or a strong-positive SRA result) can result in an overdiagnosis of HIT.

This study had some limitations. First, none of the patients underwent venous ultrasound; therefore, subclinical DVT, which is the typical thrombotic complication associated with HIT, may have been underdiagnosed. Second, the dose of UFH could be a determinant for the occurrence of HIT, as stoichiometrically optimal ratios of PF4:heparin influence immunization (Greinacher *et al*, 2008; Warkentin *et al*, 2010). However, in the present study, the dose and blood levels of UFH were not investigated.

In conclusion, the incidence of definite HIT in acute ischaemic stroke patients treated with UFH was 1.7% (95% CI: 0.4–5.0). HIT should be recognized as a clinicopathological syndrome in which both the clinical profile consistent with HIT and the results of serological tests should be carefully considered for HIT diagnosis. The clinical severity and outcome of acute stroke patients who were diagnosed as having definite HIT were unfavourable.

### Author contribution

The study concept and design by H. Kawano, H. Yamamoto, S. Miyata, M. Izumi, and T. Hirano; writing by H. Kawano, H. Yamamoto, and S. Miyata; data collection by H. Kawano, H. Yamamoto, N. Toratani, M. Izumi, and T. Hirano; blinded independent assessments of the 4Ts score by S. Sato and S. Okamoto; ELISA assay by S. Miyata and I. Kakutani; SRA assay by Jo-AI. Sheppard and TE. Warkentin; analysis and interpretation of data by H. Kawano, H. Yamamoto, S. Miyata, and A. Kada; drafting of the manuscript by H. Kawano, H. Yamamoto, and S. Miyata; critical revision of the manuscript for important intellectual content by K. Toyoda, K. Nagatsuka, H. Naritomi, TE. Warkentin, and K. Minematsu; study supervision by M. Uchino and K. Minematsu.

### Source of funding

Grant from the Bayer Scholarship for Cardiovascular Research, Japan Cardiovascular Research Foundation. Health and Labour Sciences Research Grant from the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare (Research on Clinical Trials' Infrastructure Development). Grant-in-Aid from the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation of Japan (06-51).

### Disclosures

Dr Izumi, Dr Toratani, MT. Kakutani, MPH. Kada, Dr Sato, and Dr Okamoto report no disclosure. Dr Kawano received honoraria from Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd., for scientific lecture. Dr Yamamoto served on a scientific advisory board on Behlinger-Ingelheim, Data and Safety Monitoring Board of JASAP, scientific consultant for submission for drug of approval Mitsubishi Welfarma Co. Ltd, and received research grants as chief investigator from Grants-in-Aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan; H18-Rinken-Wakate-005; and Grants-in-Aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan; H19-Tokubetsu-Shitei-033, The Bayer Scholarship for Cardiovascular Research, Japan Cardiovascular Research Foundation, and Pfizer Health Research Foundation. Dr Miyata serves on the editorial advisory board for *Japanese Journal of Transfusion and Cell Therapy*, and *Japanese Journal of Thrombosis and Hemostasis*, received speaker's honoraria from Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd., Daiich Sankyo Co. Ltd., Sanofi Aventis, and GlaxoSmithKline, received research grants from Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd. and Daiichi Sankyo Co., Ltd, and research support from Grants-in-Aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan (15C-1, 17C-7, H21-Iyaku-Ippan-005), Grant-in-Aid from the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation of Japan (06-51). Dr Hirano served as a imaging reading panel of J-ACT II sponsored by Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd. and Kyowa Hakko Kirin corporation, and received a research grant from The Ministry of Education and Science of Japan Scientific Research grant-in-aid, 50346996 as principle investigator. BSc. Sheppard supported from Heart and Stroke Foundation of Ontario – HSFO, T6157, for Research Assistant. Dr Warkentin receive royalties from publishing of Book: Heparin-Induced Thrombocytopenia; Publisher: Informa Healthcare USA, 2007, served as a scientific consultant for Canyon Pharmaceuticals; GTI Inc.: GlaxoSmithKline; Paringenix, served as a speaker's bureaus of GlaxoSmithKline; Pfizer Canada; Sanofi-Aventis, research supports form GlaxoSmithKline, GTI Inc, Heart and Stroke Foundation of Ontario; principal investigator; Grant Number T6157; and Heart and Stroke Foundation of Ontario grants NA6221 and T6763; co-investigator. Dr Nagatsuka received speaker's honoraria from Tanabe Mitsubishi Co. Ltd, Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd, Daiichi-Sankyo Pharmaceutical Co. Ltd, Pfizer Japan Co. Ltd, research supports from Lundbeck Inc., Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd, and Ministry of Health, Labour and Welfare, H22-Junkanki-Ippan-006, 2010. Dr Naritomi received speaker's honoraria from Mitsubishi Tanabe Co. Ltd, Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd, Kyorin Pharmaceutical Co. Ltd, and Kowa Co. Ltd. Dr Toyoda serves as an assistant editor of *Stroke*, received research grants from Grants-in-Aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan; 20-Junkanki-Ippan-019; Chief investigator. Dr Uchino received honoraria from Mitsubishi Tanabe Pharma

Co. Ltd, Sanofi-aventis, Daiichi-Sankyo Co. Ltd., for scientific lecture, and received a research grant from Japanese Ministry of Education, Science, Sports and Culture/Grant-in aid for Scientific Research, 20591003, and Gene therapy of Duchenne muscular dystrophy. Dr Minematsu serves on the editorial boards of *Cerebrovascular Diseases*, the *International Journal of Stroke*, and the *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*

and receives research support from Asteras Pharma Inc., Takeda Pharmaceutical Co. Ltd., Sanofi-Aventis, Lundbeck Inc., Mitsubishi Tanabe Pharma Co. Ltd., Kyowa Hakko Kirin Pharma, Inc., Hitachi Medical Corporation, MHLM, Japan, Research Grants for Cardiovascular Diseases, Grant-in-Aid, and the Foundation for Biomedical Research and Innovation, and honoraria from Daiichi Sankyo Co., Ltd.

## References

- Adams, Jr, H.P., Bendixen, B.H., Kappelle, L.J., Biller, J., Love, B.B., Gordon, D.L. & Marsh, III, E.E. (1993) Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke*, **24**, 35–41.
- Adams, Jr, H.P., del Zoppo, G., Alberts, M.J., Bhatt, D.L., Brass, L., Furlan, A., Grubb, R.L., Higashida, R.T., Jauch, E.C., Kidwell, C., Lyden, P.D., Morgenstern, L.B., Qureshi, A.I., Rosenwasser, R.H., Scott, P.A., Wijdicks, E.F. & American Heart Association; American Stroke Association Stroke Council; Clinical Cardiology Council; Cardiovascular Radiology and Intervention Council; Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups. (2007) Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for neurologists. *Stroke*, **38**, 1655–1711.
- Albers, G.W., Amarencu, P., Easton, J.D., Sacco, R.L. & Philip Teal, P. (2004) Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*, **126**, 483S–512S.
- Camerlingo, M., Salvi, P., Belloni, G., Gamba, T., Cesana, B.M. & Mamoli, A. (2005) Intravenous heparin started within the first 3 hours after onset of symptoms as a treatment for acute nonlacunar hemispheric cerebral infarctions. *Stroke*, **36**, 2415–2420.
- Caplan, L.R. (2003) Resolved: heparin may be useful in selected patients with brain ischemia. *Stroke*, **34**, 230–231.
- Cardiovascular Disease Educational and Research Trust; Cyprus Cardiovascular Disease Educational and Research Trust; European Venous Forum; International Surgical Thrombosis Forum; International Union of Angiology; Union Internationale de Phlébologie. (2006) Prevention and treatment of venous thromboembolism. International Consensus Statement (guidelines according to scientific evidence). *International Angiology*, **25**, 101–161.
- Greinacher, A., Alban, S., Omer-Adam, M.A., Weitschies, W. & Warkentin, T.E. (2008) Heparin-induced thrombocytopenia: a stoichiometry-based model to explain the differing immunogenicities of unfractionated heparin, low-molecular-weight heparin, and fondaparinux in different clinical settings. *Thrombosis Research*, **122**, 211–220.
- Greinacher, A., Kohlmann, T., Strobel, U., Sheppard, J.I. & Warkentin, T.E. (2009) The temporal profile of the anti-PF4/heparin immune response. *Blood*, **113**, 4970–4976.
- Harbrecht, U., Bastians, B., Kredteck, A., Hanfland, P., Klockgether, T. & Pohl, C. (2004) Heparin-induced thrombocytopenia in neurologic disease treated with unfractionated heparin. *Neurology*, **62**, 657–659.
- Hoh, B.L., Aghi, M., Pryor, J.C. & Ogilvy, C.S. (2005) Heparin-induced thrombocytopenia Type II in subarachnoid hemorrhage patients: incidence and complications. *Neurosurgery*, **57**, 243–248.
- Kappers-Klunne, M.C., Boon, D.M., Hop, W.C., Michiels, J.J., Stibbe, J., van der Zwaan, C., Koudstaal, P.J. & van Vliet, H.H. (1997) Heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis: a prospective analysis of the incidence in patients with heart and cerebrovascular diseases. *British Journal of Haematology*, **96**, 442–446.
- Kawano, H., Toyoda, K., Miyata, S., Yamamoto, H., Okamoto, A., Kakutani, I., Walenga, J.M., Naritomi, H. & Minematsu, K. (2008) Heparin-induced thrombocytopenia: a serious complication of heparin therapy for acute stroke. *Cerebrovascular Diseases*, **26**, 641–649.
- Lo, G.K., Sigouin, C.S. & Warkentin, T.E. (2007) What is the potential for overdiagnosis of heparin-induced thrombocytopenia? *American Journal of Hematology*, **82**, 1037–1043.
- Lyden, P., Brott, T., Tilley, B., Welch, K.M., Mascha, E.J., Levine, S., Haley, E.C., Grotta, J. & Marler, J. (1994) Improved reliability of the NIH Stroke Scale using video training. *Stroke*, **25**, 2220–2226.
- Ramirez-Lassepas, M., Cipolle, R.J., Rodvold, K.A., Seifert, R.D., Strand, L., Taddeini, L. & Cusulos, M. (1984) Heparin-induced thrombocytopenia in patients with cerebrovascular ischemic disease. *Neurology*, **34**, 736–740.
- van Swieten, J.C., Koudstaal, P.J., Visser, M.C., Schouten, H.J. & van Gijn, J. (1988) Interobserver agreement for the assessment of handicap in stroke patients. *Stroke*, **19**, 604–607.
- Toth, C. & Voll, C. (2002) Validation of a weight-based nomogram for the use of intravenous heparin in transient ischemic attack or stroke. *Stroke*, **33**, 670–674.
- Warkentin, T.E. (2007a) Clinical picture of heparin-induced thrombocytopenia. In: *Heparin-Induced Thrombocytopenia*, 4th edn. (eds by T.E. Warkentin & A. Greinacher), pp. 21–66. Informa Healthcare USA, New York.
- Warkentin, T.E. (2007b) Frequency of heparin-induced thrombocytopenia. In: *Heparin-Induced Thrombocytopenia*, 4th edn. (eds by T.E. Warkentin & A. Greinacher), pp. 67–116. Informa Healthcare USA, New York.
- Warkentin, T.E. & Heddle, N.M. (2003) Laboratory diagnosis of immune heparin-induced thrombocytopenia. *Current Hematology Reports*, **2**, 148–157.
- Warkentin, T.E. & Kelton, J.G. (2001) Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. *New England Journal of Medicine*, **344**, 1286–1292.
- Warkentin, T.E., Hayward, C.P., Smith, C.A., Kelly, P.M. & Kelton, J.G. (1992) Determinants of donor platelet variability when testing for heparin-induced thrombocytopenia. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, **120**, 371–379.
- Warkentin, T.E., Levine, M.N., Hirsh, J., Horsewood, P., Roberts, R.S., Gent, M. & Kelton, J.G. (1995) Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *New England Journal of Medicine*, **332**, 1330–1335.
- Warkentin, T.E., Sheppard, J.A., Horsewood, P., Simpson, P.J., Moore, J.C. & Kelton, J.G. (2000) Impact of the patient population on the risk for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*, **96**, 1703–1708.
- Warkentin, T.E., Sheppard, J.I., Moore, J.C., Sigouin, C.S. & Kelton, J.G. (2008) Quantitative interpretation of optical density measurements using PF4-dependent enzyme-immunoassays. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **6**, 1304–1312.
- Warkentin, T.E., Cook, R.J., Marder, V.J. & Greinacher, A. (2010) Anti-PF4/heparin antibody formation post-orthopedic surgery thromboprophylaxis: the role of non-drug risk factors and evidence for a stoichiometry-based model of immunization. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, **8**, 504–512.

## 脳梗塞とヘパリン起因性血小板減少症

山本 晴子<sup>1)\*</sup> 宮田 茂樹<sup>2)</sup>

要旨：ヘパリン起因性血小板減少症(HIT)は、血小板減少を特徴とする免疫的機序による症候群で、発症頻度は低いものの、ヘパリン投与に合併して多彩な血栓・塞栓症をひきおこす重篤な疾患である。急性期脳梗塞治療の現場では、様々な血管内治療の開発にともない大量のヘパリンが使用される局面が増加しつつあり、HITについての知識が求められている。急性期脳梗塞におけるHIT発症割合に関する報告はきわめて少ない。われわれの施設での後ろ向き調査では、HITの発生割合は0.5%と推測された。さらに多施設共同前向き調査の結果では1.7%であった。HITを発症したばあいの予後は不良であるため、HITがうたがわれたばあいには早急に治療を開始すべきである。

(臨床神経 2011;51:316-320)

Key words：ヘパリン起因性血小板減少症、脳梗塞、血栓塞栓症

## ヘパリン起因性血小板減少症 (HIT) とは

ヘパリン起因性血小板減少症 (heparin-induced thrombocytopenia: HIT) は、出血に次いで多くみられるヘパリンの副作用である。臨床的特徴としては、ヘパリン投与開始後5日から14日の間に血小板減少として発症する。診断が遅れたり、適切な治療がおこなわれなければ、血小板減少を呈した患者の1/3から1/2に血栓塞栓症をともない、血栓塞栓症をともなった患者における死亡率は5~20%といわれている。HITにともなう血栓塞栓症は、動脈系(脳梗塞、四肢虚血、心筋梗塞など)よりも静脈系(深部静脈血栓症、肺塞栓症)に多くみられる。また、ヘパリン投与の原因となった血栓が存在する部位に新たな血栓ができたり、血管内カテーテル留置などで障害を受けた血管に血栓症がおきやすいことが指摘されている。透析その他の体外循環装置をもちいる患者では、回路内凝血として発症することも多い。

HITの病因は、投与されたヘパリンが活性化された血小板から放出された血小板第4因子(PF4)と複合体をつくり、その際にPF4の構造変化がおこって従来は存在しない抗原性を提示することで、その複合体に対する抗体(抗血小板第4因子(PF4)-ヘパリン複合体抗体:抗PF4/ヘパリン抗体)が体内で産生されることによる。その抗体の一部に、血小板や単球、血管内皮を活性化するものがあり(いわゆる「HIT抗体」)、その結果としてトロンビンの過剰産生を招いて動脈系の血栓塞栓症を誘発するものと推定されている。HITに気づ

いてヘパリンの投与を中止したばあいでも、抗PF4/ヘパリン抗体が体内に残存している間は血栓塞栓症を発症する危険性が継続する。ヘパリン中止後、約100日間は抗PF4/ヘパリン抗体は体内に残存し<sup>1)</sup>、この間を無治療で放置すると約1カ月以内に半数の患者で血栓症が発症したとの報告がある<sup>2)</sup>。一方で、抗PF4/ヘパリン抗体が一旦消失した患者に再度ヘパリンを投与したばあいに必ずしもHITを発症するとはかぎらず、ヘパリンの再投与が可能であるとの報告が増加しており、他の自己免疫疾患とことなる病態をとることでも注目されている。最近、PF4が微生物に付着してphagocytosisを強める役割を本来的に有しており、ヘパリンとの複合体に

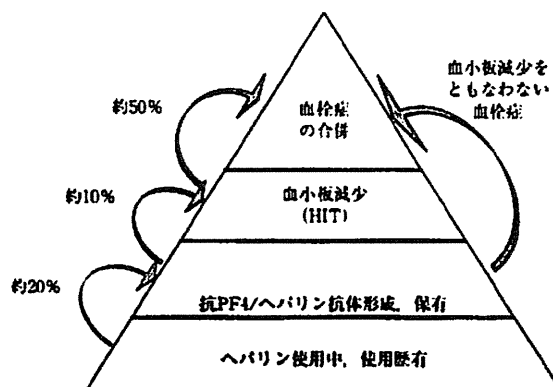


Fig. 1 HITの発症様式：氷山モデル。

\*Corresponding author: 独立行政法人国立循環器病研究センター研究開発基盤センター先進医療・治験推進部〔〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1〕

<sup>1)</sup>独立行政法人国立循環器病研究センター研究開発基盤センター先進医療・治験推進部

<sup>2)</sup>独立行政法人国立循環器病研究センター病院輸血管理室

(受付日: 2011年1月31日)

Table 1 HIT の血清学的診断法.

1. Functional assays
1) 洗浄血小板をもちいる方法
① Serotonin release assay (※1)
② Heparin-induced platelet activation
③ Platelet microparticle assay
2) クエン酸 Na 採血による多血小板血漿をもちいる方法
① Platelet aggregation test
② Annexin V-binding assay
2. Antigen assays (※2)
1) 血小板第 4 因子—ヘパリン複合体を標的とした酵素結合免疫測定法 (EIA)
2) 血小板第 4 因子—スルホン化ポリビニル複合体を標的とした酵素結合免疫測定法 (EIA)
3) Interleukin-8, neutrophil-activation peptide-2などを標的とした測定系

※1: Serotonin release assay は世界でゴールドスタンダードといわれているが、国内実施施設がない  
 ※2: EIA は感度が多いが、negative predictive value は高い

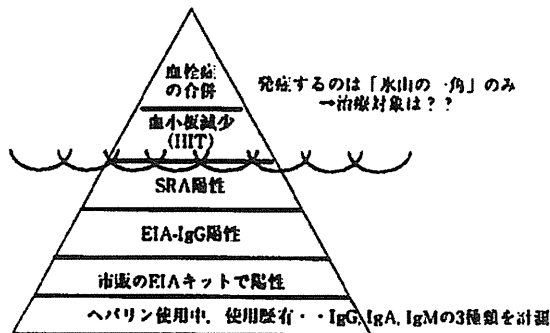


Fig. 2 抗体検査結果と HIT 診断：氷山の一角.

対する抗体が産生されるのは、その原始的な微生物に対する防御システムの misdirection であるとの研究結果も報告される<sup>7)</sup>など、HIT が、よく知られた抗原抗体反応とはことなる免疫学的システムと関連している可能性も示唆されている。

### HIT の診断

色々な意味において、HIT の診断は難しい。まず、どの段階を臨床疾患として診断すべきかの線引きが難しい。HIT の発症様式は氷山モデルとして説明されることが多い (Fig. 1) が、Table 1 に示したような各種検査をおこなっても、抗 PF4/ヘパリン抗体を形成・保有した患者全員が発症するわけではない。この理由の一つとして、Fig. 2 の如く、検出された抗 PF4/ヘパリン抗体の中で、血小板減少や血栓形成の誘因となるいわゆる HIT 抗体を保持する患者は一部に過ぎないことが挙げられる。現在、血清学的検査の gold standard とされている serotonin release assay (SRA) であっても、陽性患者が 100% 臨床症状をきたすわけではない。つまり、血清学的検査単独の結果のみで HIT の確定診断はできない。現状では、ヘパリンの暴露歴や臨床症状と血清学的検査結果を合わせて診断する必要がある。このとき、臨床的 HITらしさについて Table 2 のようなスコアリングシステム<sup>8)</sup>における点

数の検討や、酵素結合免疫測定法 (EIA) の陰性結果などを持ちいて、まずは HIT でないと思われる患者の鑑別が重要である。とくに、次項で述べる pseudo-HIT は、HIT とは逆に治療にヘパリンが奏功するばあが多いとの報告があり、治療方針決定のために迅速な診断が必要である。

診断の難しさのもう一つの原因は、抗 PF4/ヘパリン抗体計測実施の困難さである。研究者の間では、SRA が現時点において、臨床的 HIT 診断において感度、特異度のバランスがもっともすぐれた gold standard と認識されているが、検査結果を安定した品質で提供可能な検査施設は、世界中でもかなり数が限られているのが実状である。国内では、放射性同位元素をもちいる検査であることもあり、SRA を実施している検査施設は存在しない (2011 年 1 月現在)。EIA は市販キットが入手可能であるが、保健適応がない (2011 年 1 月現在) こともあって、検査会社に依頼してもかなりの日数と費用がかかる。HIT は気づいた時点で治療を開始するかどうかの判断を必要とする緊急的疾患であり、HIT を強くうたがった時点で、即時に治療開始しなければ予後不良となる可能性があるため、数日間も待たされては実用的とはいえない。この状況に対応するため、独立行政法人国立循環器病研究センターでは、輸血管理室が外部機関の依頼に応じて EIA による抗 PF4/ヘパリン抗体検査を無償で実施しており、可能な限り検体到着後 24 時間以内に結果を返している (平日到着のみ受け取り可能)。

### Pseudo-HIT について

前章に記載したように、HIT であるという診断を下すにはいくつかの困難があるのだが、最近、臨床的に HIT に類似した症候を示す病態があることが知られてきている。これは pseudo-HIT と呼ばれ、HIT と同様にヘパリン使用開始後 5~14 日に血小板減少をきたすが、HIT 抗体は陰性となる<sup>9)</sup>。Table 3 のような疾患で見られることが多い。

われわれが経験した pseudo-HIT の一例を示す。56 歳男性が、突然の左片麻痺と意識障害のために当院に入院した。頭部

Table 2 臨床診断：4T'sスコア<sup>9)</sup>

	2点	1点	0点
血小板減少	50%を超えた低下 (最低値が2万 $\mu$ 以上)	30～50%の減少 (または手術による50%以上の減少), または最低値が1万～1.9万 $\mu$	30%未満の減少, または最低値が1万 $\mu$ 以下
発症時期	投与後5～10日の明確な発症, または過去30日以内のヘパリン投与歴がある場合の1日以内の発症	投与後5～10日の不明確な発症, または過去31～100日以内のヘパリン投与歴がある場合の1日以内の発症, または10日以降の血小板減少	今回のヘパリン投与による4日以内の発症
続発症	新たな血栓症の発症, 皮膚壊死, ヘパリン投与時の急性全身反応	血栓症の進行または再発, 皮膚発赤, 血栓症の疑い, 無症状DVT	なし
他の原因	明らかに血小板減少の原因が他に存在しない	他に疑わしい血小板減少の原因がある	他に明確な血小板減少の原因がある

※スコア合計: 0～3: HITの可能性低い (5%未満)  
4～5: 中等度の可能性  
6～8: HITの可能性高い (80%)

Table 3 Pseudo-HITの主な原因疾患<sup>3)</sup>

・ 線癌: 特に mucin 産生腫瘍
・ 肺癌
・ 糖尿病性ケトアシドーシス
・ 抗リン脂質抗体症候群
・ 血栓溶解療法
・ 敗血症に伴う電解質異常
・ 感染性心内膜炎

MRIでは右中大脳動脈領域に広範な梗塞をきたしていた。入院中の検査により肺に adenocarcinoma が発見され、肺癌にともなう非細菌性血栓性心内膜炎による心原性脳塞栓の診断で、再発予防のために未分画ヘパリンの投与を開始した。下肢静脈エコーにて両下肢に深部静脈血栓症、肺血流シンチでは両肺野に血流欠損をみとめ、さらに投与開始27日(ワルファリン併用中)には血小板数が約30%低下したため、HITをうたがいがアルゴトロバンの投与を開始した。しかし、抗PF4/ヘパリン抗体(EIA)が陰性だったため、アルゴトロバン投与を中止しヘパリンを再開したところ、その2日後に脳梗塞を再発した。その後も急性心筋梗塞、下肢急性動脈閉塞、脳梗塞(再発2回目)、両側腎動脈塞栓症など多彩な血栓塞栓症をおこしたのち、入院3カ月後に死亡した。1回目の脳梗塞再発時の抗PF4/ヘパリン抗体(EIA)は陽性だったため、最後までHITをうたがいが続けたが、出血傾向を呈したためにアルゴトロバンも使用できなくなった末の死亡であった。しかし、後日海外施設に依頼してEIA検査時の検体でSRAを検査したところ、2時点とも陰性で、最終的にpseudo-HITと確定診断した。ちなみに4T'sスコアは6点であった。

後から振り返れば、ヘパリン投与継続中にも血小板数が回復したり、ヘパリン中止後に血小板数が減少したりと、必ずしもヘパリン使用と血小板数の変化が相関していなかったり、アルゴトロバン投与後の血小板数の回復が思わしくなかったり、HITとは相反する状況がみとめられた症例であった。担癌患者における血栓症はTrousseau症候群として知られているが、血小板数減少などの症候がHITと類似することがある。自験例ではヘパリン投与でも血栓症を多発したが、

pseudo-HITをおこす病態ではヘパリンが有益な治療である可能性があるため、HITとの鑑別が重要となる。

### HITの治療について

HITの治療の第1段階は、うたがった時点ですべてのヘパリン投与を中止することである。さらに、HIT抗体発現期間中は血栓塞栓症の発症の恐れがあるため、血栓症の有無にかかわらず代替となる抗凝固療法を実施する。海外の治療ガイドライン<sup>6)</sup>にはTable 4に示すような抗凝固薬が推奨されているが、アルゴトロバン以外は国内未承認または適応外である。血小板数が未回復の状況でワルファリンを投与したところ、下肢末梢に重篤な静脈虚血をきたして切断にいたったとの報告が散見されたことから、HIT患者へのワルファリン投与は、血小板数が回復するまでは投与禁忌とされている。また、HITがうたがわれた時点でワルファリンがすでに投与されている患者では、ビタミンK投与によるリバースが推奨されている。アルゴトロバンからワルファリンへの移行時には、血小板数が15万 $\mu$ 以上に回復してからワルファリン投与を開始し、血小板数が安定しPT-INRが治療域に達するまで最低5日間は2剤を併用した上で、アルゴトロバンを中止する。アルゴトロバン投与中はPT-INRが見かけ上延長するため、アルゴトロバン中止後にPT-INRを再検し、治療域を下回ったばあいはアルゴトロバンを再開してワルファリンの投与量調整を続ける。ブタ由来ヘパリンよりウシ由来ヘパリンの方がHITをおこしやすい<sup>7)</sup>、低分子ヘパリンより未分画ヘパリンの方がHITをおこしやすい<sup>8)</sup>など、ヘパリン製剤によりHITの発症頻度に差があることが報告されてはいるが、一旦HITを発症したら、製剤の違いを問わず、ヘパリン投与は禁忌である。また、更なる血栓塞栓症を誘発する恐れがあるため、また、HITでは血小板数減少があっても出血症状を呈することはまれであるため、予防的血小板輸血は避けるべきである(活動性の出血があるばあいを除く)。

Table 4 HIT 治療薬.

	アルゴトロバン 合成トロンビン阻害薬	ダナバロイド 低分子量の glycosaminoglycans	レビルジン 遺伝子組み換えヒルジン	ファンダパリヌクス 合成 pentasaccharide
薬効	選択的抗トロンビン薬	Xa 阻害薬	選択的抗トロンビン薬	Xa 阻害薬
分子量	506	約 6,000	6,979	1,728
半減期				
( 正常人 腎機能障害 肝機能障害	40 分	25 時間	90 分	17 時間
	不安	延長	延長	延長
拮抗薬	なし	なし	なし	なし
モニタリング	aPTT (ACT)	抗 Xa 活性	aPTT, Ecarin 凝固時間 (ECT)	抗 Xa 活性
HIT 抗体との交叉反応性	0%	約 10% (in vivo では非常に少ない)	0%	≠ 0%
抗体誘導	なし	なし	アナフィラキシーショック などの報告	なし

脳梗塞と HIT

急性期脳梗塞治療の現場では、ヘパリンは治療に不可欠な薬剤として頻繁に使用される。また、様々な血管内治療の開発にとともに、大量のヘパリンが使用される局面が増加しつつあり、ヘパリンの副作用としての HIT についての知識が不可欠となってきている。一方、HIT 患者の 3~8% が脳卒中を発症したという報告<sup>9,10)</sup>もあるなど、急性期脳梗塞の中には、HIT の血栓塞栓症の合併症として発症しているばあいも考えられ、知らずにヘパリンを投与することで症状が増悪するばあいもありえる。そのため、脳卒中診療をおこなう中で HIT を知り、うたがう姿勢が非常に重要となる。脳梗塞患者における HIT としてわれわれの施設が経験した一例として、体外循環を使用する心臓外科手術を受けた 9 日後に突然左片麻痺をきたした症例を紹介する。発症後直ちに緊急脳血管造影検査を施行し、右中大脳動脈の閉塞を確認後、機械的血栓破砕を試みるも再開通をえず、手技を続けるうちに異常のなかった右前大脳動脈の血管腔内に血栓が出現、血管閉塞にいたった。当時、心臓外科手術症例における HIT の発生に関する前向き観察研究がおこなわれていたことから、本例は偶然手術前後に抗 PF4/heparin 抗体検査を実施しており、手術前後および脳梗塞発症時も抗 PF4/heparin 抗体は陽性であり、術後に抗体価が上昇していた。そのため、HIT と診断してアルゴトロバンの投与を開始した。当初の右中大脳動脈領域梗塞に加えて、脳血管造影検査後に右前大脳動脈領域にも梗塞巣が拡大したものの、幸い臨床症状の軽快をみて無事退院にいたった。本例では、脳梗塞発症以前に、心疾患の診断・治療のためにヘパリンの投与を数回にわたって受けており、脳梗塞の発症に HIT が関与している可能性をうたがってかかるべき症例であったと思われる<sup>11)</sup>。急性期脳梗塞患者における HIT の発生率については、世界的にみても報告が非常に少ないが、急性脳卒中患者の 6.6% に HIT を発症したとする報告<sup>12)</sup>や、未分画ヘパリンを使用した脳卒中患者の約 30% で抗 PF4/heparin 抗体が検出されたとする報告<sup>13)</sup>など、比較的高頻度の報告がみられる。一方、われわれの施設で実施した後

向き調査では、0.5% と低頻度であった<sup>14)</sup>。そこでわれわれは 2006 年 10 月から 2007 年 3 月にかけて発症 1 週間以内に入院した脳梗塞患者を対象とした前向き観察研究をおこなった。入院直後、2 週間後、および退院時に抗 PF4/heparin 抗体を測定し、血小板数の推移、4Ts スコア、ヘパリン投与歴、入院後のヘパリン使用状況、血栓塞栓症の発症の有無などを前向きに調査した。その結果、ヘパリンが使用された 172 例中 22 例 (12.8%) で抗 PF4/heparin 抗体が陽性であったが、そのうち臨床的に HIT と診断された症例は 3 例のみ (1.7%) であった。この結果は、氷山モデルでも示された。ヘパリンが使用された患者の約 20% に抗 PF4/heparin 抗体が形成され、さらに抗 PF4/heparin 抗体が形成された患者の約 10% で HIT (血小板減少) を発症するというモデルと大きな相違はない。つまり、脳梗塞患者における HIT の発症は一般的頻度にくらべて決して低くはないと考えられる。脳梗塞患者に対してヘパリンを使用する際には、つねに HIT 発症の可能性を念頭におく必要がある。とくに、血栓除去に使用可能な医療機器が承認されてきているため、脳梗塞発症急性期に血管内治療をおこなう局面が今後ますます増加すると思われることから、HIT に関する知識、とくに緊急時の対応に関する知識は脳卒中をみる臨床医にとって不可欠となると考えられる。

なお、前述したように、独立行政法人国立循環器病研究センター輸血管理室では、抗 PF4/heparin 抗体 (EIA) の測定をふくめた総合的な HIT に関するコンサルテーションサービスを無償で提供している。そのかわり、相談を受けた症例については、可能なかぎりデータベースへの登録およびアルゴトロバンをもちいた症例は市販後調査 (全例調査) への協力をお願いしている。ヘパリンを使用するかぎり、HIT は少ない頻度ではあっても必ず出現するため、国内の HIT 症例を可能なかぎり集積することで、HIT の診断および治療の向上につなげていきたい。

文 献

1) Warkentin TE, Kelton JG. Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. N Engl J Med 2001;344:1286-1292.



- 2) Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med* 1996;101:502-507.
- 3) Krauel K, Potschke C, Weber C, et al. Platelet factor 4 binds to bacteria inducing antibodies cross-reacting with the major antigen in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2010 Oct 19. online prepublished.
- 4) Lo GK, Juhl D, Warkentin TE, et al. 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.
- 5) Warkentin TE. Pseudo-heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin TE, Greinacher A, editors. *Heparin-induced thrombocytopenia*. 4th ed. New York: Informa Healthcare; 2007. p. 261-282.
- 6) Warkentin TE, Greinacher A, Koster A, et al. Treatment and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th ed). *Chest* 2008;133:340S-380S.
- 7) Ahmad S. Heparin-induced thrombocytopenia: impact of bovine versus porcine heparin in HIT pathogenesis. *Front Biosci* 2007;12:3312-3320.
- 8) 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.
- 9) LaMonte MP, Brown PM, Hursting MJ. Stroke in patients with heparin-induced thrombocytopenia and the effect of argatroban therapy. *Crit Care Med* 2004;32:976-980.
- 10) Pohl C, Harbrecht U, Greinacher A, et al. Neurologic complications in immune-mediated heparin-induced thrombocytopenia. *Neurology* 2000;54:1240-1245.
- 11) Kawano H, Toyoda K, Kuwashiro T, et al. Thrombus formation during cerebrovascular catheterization in heparin-induced thrombocytopenia. *Neurology* 2006;67:361-362.
- 12) Ramirez-Lassepas M, Cipolle RJ, Rodvold KA, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients with cerebrovascular ischemic disease. *Neurology* 1984;34:736-740.
- 13) Harbrecht U, Bastians B, Kredteck A, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in neurologic disease treated with unfractionated heparin. *Neurology* 2004;62:657-659.
- 14) Kawano H, Toyoda K, Miyata S, et al. Heparin-Induced Thrombocytopenia: A Serious Complication of Heparin Therapy for Acute Stroke. *Cerebrovasc Dis* 2008;26:641-649.

#### Abstract

#### Ischemic stroke and heparin-induced thrombocytopenia

Haruko Yamamoto, M.D., Ph.D.<sup>1</sup> and Shigeki Miyata, M.D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Advanced Medical Technology Development, Research and Development Initiative Center

<sup>2</sup>Section of Transfusion Medicine, National Cerebral and Cardiovascular Center

Immune-mediated heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is a rare but serious side effect of heparin therapy which presents various thromboembolic events associated with high mortality and morbidity. There have been few reports about the prevalence of HIT in acute ischemic stroke, which our retrospective study and a multi-center prospective cohort study respectively estimated as 0.5% and 1.7% of unfractionated heparin-treated acute ischemic stroke patients. Once the onset of HIT is suspected, its therapy should be started immediately because treatment delay of HIT will bring a poor outcome. Stroke physicians should be aware of HIT, as heparin use will become increased more than ever in clinical practice with the development of new intravascular treatment techniques.

(*Clin Neurol* 2011;51:316-320)

**Key words:** heparin-induced thrombocytopenia, ischemic stroke, thromboembolism

## 提 案

## 神経疾患における公的研究費による大規模多施設共同試験実施システム構築の必要性：米国の cooperative group の仕組みより

山本 晴子<sup>1)\*</sup> 峰松 一夫<sup>2)</sup>

**要旨：**臨床研究の中でも、規模の大きな多施設共同臨床試験を効率よく実施するためには、十分な人材と資金をふくむ支援組織基盤の整備が必須である。現在、日本国内では支援体制の不備のために、多施設共同臨床試験の実施が困難な状況にある。一方、米国は1980年代より臨床試験実施のための基盤整備に公的資金を投入し続けており、世界的なモデルともいえる組織作りをおこなってきた。そのひとつが cooperative group の仕組みで、臨床現場からのアイデアをうまく取り込んで臨床試験を計画し、信頼性の高い試験を効率よく実施することができる。日本でも同様のグループはあるものの、一部の疾患領域にかぎられているため、普及の努力が必要と思われる。

(臨床神経 2011;51:612-616)

Key words: 臨床研究, 多施設共同試験, データマネジメント

### 1. はじめに

大規模多施設共同試験による新規治療法の開拓は、現在の医療を進歩させる大きな武器である。とくに、臨床現場で実感されている問題点を明らかにするためには、臨床医自らがアイデアを提案し、研究計画の作成や研究実施に関与し、その結果を公表するという一連の行為をおこなう必要がある。民間企業の協力をえた臨床試験は、比較的臨床医の負担が少なく済むため、歓迎されがちだが、反面、企業の意向がみえ隠れし、たとえ関係者の善意と科学的興味によっておこなわれたとしても、結果的に当該企業に利益を誘導するだけで終わることも少なくない。民間企業の経済力は医療を進歩させる大きな推進力ではあるが、それだけに依存しては、進歩の方向性がバランスを失いかねない。医療全体の健全な進歩のためには、公的資金による大規模臨床試験の実施は重要な意味をもつ。

しかし、我が国では、伝統的な基礎研究重視の影響からか、ライフサイエンスの振興が叫ばれる現在においてもなお、臨床研究に関する教育、人材、資材、資金のすべてが不足している。多くの臨床医にとって、大規模多施設共同試験の実施は、たとえ公的資金がえられたとしても、効果的な方法もわからず、どこに人材や資材があるのかもわからないといった状況であろう。厚生労働省は、治験と自主臨床研究の振興のために平成19年3月に「治験活性化5カ年計画」を策定し、全国10

カ所の中核病院と30カ所（平成23年度より20カ所に削減）の拠点医療機関を選定した<sup>1)</sup>。これら40施設（平成23年度より30施設）と、文部科学省が策定した「橋渡し研究支援推進プログラム」<sup>2)</sup>で選定された7拠点（9施設）が、臨床研究やトランスレーショナル研究を円滑かつ効果的に実施するための支援基盤整備をおこなっているところである。しかし、これらの施設も人材育成や資材整備などを独自でおこなわざるをえず、実際にはうまく整備が進まない施設も多いと聞く。また計画終了後の組織の継続については運営経費もふくめて当該施設に一任されているため、今後長期的に維持できるかどうか不透明な状況が続いている。

大規模臨床試験の実施体制については、世界でも米国が抜きんできている。米国立保健研究所（NIH）が莫大な予算を様々な疾患領域の臨床研究に配分しているが、ただ研究者に配分するだけでなく、早くも1980年代から臨床研究の実施基盤たる人材育成や施設整備に注目し、膨大な資金と労力をつぎ込んできた。ライフサイエンスにおける米国の圧倒的地位は、単に世界中のエリートを集めたからだけではなく、長年にわたる支援基盤整備の地道な努力に負うところも大きいといえよう。日本における臨床研究の実施体制は、米国から20年以上遅れた状態にいるわけで、この遅れは簡単に取りもどせるものではない。しかし、逆にいえば、先頭に立つもの知恵を借用、いや活用することはできる。

筆者は、サウスカロライナ医科大学生物統計学講座の Yuko Y. Palesch 教授を介して、米国における急性期神経疾患

\*Corresponding author: 国立循環器病研究センター研究開発基盤センター先進医療・治験推進部（〒565-8565 大阪府吹田市藤白台5-7-1）

<sup>1)</sup>国立循環器病研究センター研究開発基盤センター先進医療・治験推進部

<sup>2)</sup>国立循環器病研究センター病院

（受付日：2011年4月7日）

Table 1 NETT Network のハブ施設 (文献5より改変).

· Emory University
· Henry Ford Hospital
· Medical College of Wisconsin
· New York Presbyterian Hospital
· Oregon Health and Science University
· Stanford University Medical Center
· Temple University
· University of Arizona
· University of California, San Francisco
· University of Cincinnati
· University of Kentucky
· University of Maryland
· University of Minnesota
· University of Pennsylvania
· University of Texas Medical School at Houston
· Virginia Commonwealth University
· Wayne State University

の大規模臨床試験を計画実施する研究グループのことであり、また Palesch 教授の主宰するデータセンターを訪問調査する機会をえた。そこから NIH から公的研究費だけで維持されているアカデミックな研究グループで、急性期神経疾患領域における複数の臨床試験を効果的、効率的に実施する数々の仕組みの一端を知ることができた。今回、この仕組みを国内で紹介することで、我が国の神経内科領域における臨床研究実施体制の今後のあり方を考えるひとつのヒントになるのではないかと考えた。

## 2. 米国の cooperative group とは

あらかじめ複数の施設がグループを組み、そのグループの中で多施設共同臨床試験を実施する cooperative group は、がん領域を中心に発達した仕組みである。たとえば、米国最大の cooperative group である SWOG (Southeast Oncology Group) は日本の cooperative group の草分けの JCOG のお手本となった歴史あるグループである<sup>3)</sup>。また、婦人科がんの特化したグループである GOG (Gynecologic Oncology Group) は、米国生まれであるが、今では日本や韓国といったアジアの施設も参加する世界最大規模の国際的研究組織に成長している<sup>4)</sup>。Cooperative group の特徴は、臨床試験毎に参加施設を募るのではなく、あらかじめある疾患領域の専門性が高い複数の医療機関が参加し、さらに運営委員会やプロトコル審査委員会など各種組織を整備して、グループ内で臨床試験のアイデアを募り、研究実施計画を作成するところから自律的におこなうところである。臨床試験の準備から実施にかけての人材育成や組織作りをグループ内でおこない維持するため、グループを形成するまでは大変だが、いったん形成してしまえば当該疾患領域の臨床試験をより効率的に実施できる。また、グループ内に生物統計家が主宰するデータセンターが整備され、計画・準備段階から生物統計家やデータマネー

ジャーが関与するため、データの正確性、信頼性の高い研究が実施できる。また、疾患特異性を考慮した試験計画の立案も可能となる。これらの米国発の cooperative group のほとんどは、NIH 傘下の国立がん研究所 (National Cancer Institute : NCI) からの公的研究費を主要な資金源として活動している。NCI は単に研究実施資金を提供するだけではなく、cooperative group の構成にデータセンターなどの支援組織や独立データ安全性モニタリング委員会など、臨床試験の品質(データの正確性、信頼性など)の向上と被験者保護の仕掛けを組み込み、多施設共同試験の実施モデルを形成してきたといえよう。

## 3. 急性期神経疾患の大規模臨床試験グループ：NETT Network

米国においても、がん以外の領域では cooperative group の活躍はあまり聞かれなかったが、最近、同じく NIH 傘下の国立神経疾患脳卒中研究所 (National Institute of Neurological Diseases and Stroke : NINDS) がスポンサーとなって、急性期神経疾患の臨床試験をおこなう Neurological Emergencies Treatment Trials (NETT) Network という cooperative group が活動している<sup>5)</sup>。主任研究者はミシガン大学救急医療科の Bill Barsan、分担研究者として、同じミシガン大学やカリフォルニア大学サンフランシスコ校、シンシナティ大学の研究者が参加しているが、これらの施設をふくめた全米 17 施設が地域のハブ施設として登録され (Table 1)、それぞれのハブ施設がさらに周辺の地域病院 (スポーク) を数施設抱えるという、ハブアンドスポーク型と呼ばれるネットワークを形成している。また、ネットワーク内に臨床コーディネーティングセンター (clinical coordinating center : CCC) と統計データマネジメントセンター (statistical & data management center : SDMC) の 2 つのセンターがネットワークを支える支援基盤として機能している。NETT Network の組織図を Fig. 1 に示す。また、NETT Network が実施している臨床試験 (2011 年 2 月現在) を Table 2 に示すが、急性期脳血管障害や頭部外傷など、従来から臨床試験の実施が困難な疾患を対象としていることが伺える。

## 4. Cooperative group を支える組織体制と資金

### 4-1. 臨床コーディネーティングセンター (clinical coordinating center : CCC)

Fig. 1 の組織図の中で、CCC と SDMC は日本の研究者にはあまりなじみがないと思われる。NETT Network のホームページでは、CCC の役割について次のように記載している。

- ・参加施設及びその施設のスタッフの募集と維持
- ・研究者、研究コーディネーターやその他のスタッフの教育と訓練
- ・臨床研究プロセスの質の向上
- ・重要な治療上の疑問を解決し NETT Network の能力を

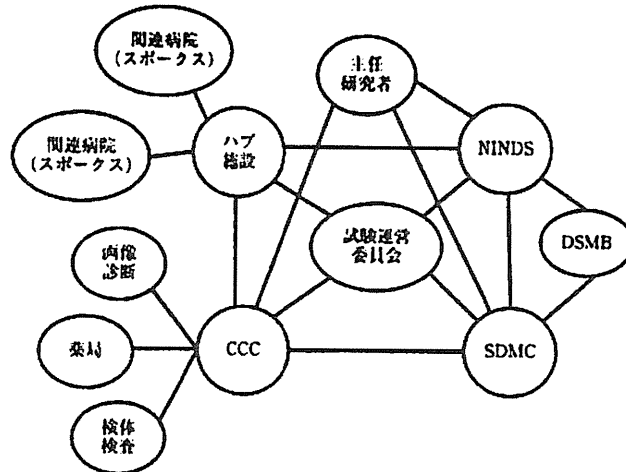


Fig. 1 NETT Network の組織図 (文献5より改変).

CCC : クリニカルコーディネーティングセンター

DSMB : 独立データ安全性モニタリング委員会

NINDS : 国立神経疾患脳卒中研究所

SDMC : 統計データマネジメントセンター

Table 2 NETT Network が実施中の臨床試験の例

<b>RAMPART (Rapid Anticonvulsant Medication Prior to Arrival Trial)</b>	
✓	発症重積状態の患者への抗痙攣剤の病院到着前投与におけるミダゾラム (筋肉内投与) のロラゼパム (静脈内投与) に対する非劣等性試験
✓	実薬対照二重盲検ランダム化比較試験
✓	予定症例数 800 例 (2011 年 1 月被験者登録完了)
<b>ProTECT (Progesterone for Traumatic Brain Injury : Experimental Clinical Treatment)</b>	
✓	中等度から重度の頭部外傷患者への受傷 4 時間以内のプロゲステロン静脈内投与開始および 96 時間投与の予後改善効果の検討
✓	プラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験
✓	予定症例数 1,140 例 (2011 年 7 月現在被験者登録期間中)
<b>POINT (Platelet-Oriented Inhibition in New TIA and Minor Ischemic Stroke)</b>	
✓	低用量アスピリン服用中の TIA または軽症脳梗塞患者における発症 12 時間以内のクロピドグレル 75mg/日の虚血性血管イベント低減効果の検討
✓	プラセボ対照二重盲検ランダム化比較試験
✓	予定症例数 4,150 例 (2011 年 7 月現在被験者登録期間中)

示す第 III 相臨床試験 (注 : 検証的試験と同義) の準備と実行

具体的には、参加施設候補の施設要件の確認 (施設の倫理審査委員会が米国保健省被験者保護局に登録されているか、研究者は臨床研究の実施経験が豊富か、各試験で規定されている治療や検査が実施可能かなど)、各施設の予定登録被験者数の確認、各施設の研究責任医師の履歴書収集、必要書類の NINDS への提出、さらに具体的な研究実施手順の確認と施設スタッフの教育、試験薬の配布方法の決定と施設での試験薬の保管方法の確認や教育、研究費の管理と経理など、臨床試験の準備から実施における実務全般を担当する。研究開始前のキックオフミーティングなど各種会合の開催準備や運営なども CCC が担当する。研究実施中には、各施設での被験者登録状況を把握し、進まない施設についてその原因の検索と解決に向けた取り組みなどもこなす。実際には 1 名から 2 名の

プロジェクトマネージャーが、これらの実務をこなしているようである。要約すると、CCC は臨床試験の準備から実施について、主任研究者の補佐役であり、主任研究者と参加施設のつなぎ役であると同時に、研究の実務的主体である。

4.2. 統計データマネジメントセンター (statistical & data management center : SDMC)

CCC が参加施設に関する様々な作業をおこなうのに対し、SDMC はデータに関するあらゆる作業をおこなう。SDMC は、その名前通り生物統計家とデータマネージャーが働く部門である。計画立案の段階で生物統計家が参加するのはもちろんだが、研究計画が作成されれば、計画で決められたデータをもれなく正確に収集するための症例報告書を作成し、症例報告書と合致した構造のデータベースを設計しなければならない。ほとんどの大規模多施設共同試験ではインターネット

上で症例報告書を入力する電子的症例報告書 (electric case report form : eCRF) が使用されるが、NETT Network のSDMCであるサウスカロライナ医科大学生物統計学講座データセンターの Data Coordinating Unit (DCU) では、4名のプログラマーが独自の臨床試験データシステムを構築しており、そのなかでeCRFや自動割付プログラムなどを提供している。さらに、eCRFの記載マニュアルを作成し、参加施設でeCRFを入力するスタッフに入力方法を教育する。研究が開始されてからは、eCRFのデータのチェックをおこない、データに関する疑義の問い合わせや修正依頼、データ収集に関する施設からの問い合わせへの対応など、データの正確性と信頼性の向上に関する様々な活動(データマネジメント)をおこなう。研究終了後は、すべてのデータに関する疑義照会と修正(データクリーニングといわれる)を終了したのち、データを固定し、統計解析のためのデータセットを出力する。研究計画段階から終了にいたる全経過においてこのようなデータマネジメント活動をおこなうことは、日本では治験に特有と思われるが、世界的には、治験であってもなくても臨床試験ではおこなわれるのが当然である。

#### 4.3. 研究資金について

NETT Network は NINDS の研究費によって運営されている。NINDS は cooperative group に対して U01 というカテゴリーの研究費を提供している。U01 では、CCC と SDMC の両方を主任研究者 (primary investigator : PI) として、個別に研究費を提供する。R01 というカテゴリーの研究費も臨床試験に使われるが、CCC のみが PI となり、SDMC は CCC からデータマネジメントを委託される形になるため、単施設試験や小規模の多施設共同試験で利用されることが多いようである。研究費は概ね5年単位で提供され、cooperative group 内の運営委員会がグループ内で実施する研究計画を決定する。また、各試験に参加する施設は、R01 カテゴリーの研究費を NINDS から受け取って研究実施費用にあてる。Pal-esch 教授によれば、NETT Network の SDMC として NINDS から直接研究費として年間約30万ドルが提供され、さらに間接経費として直接研究費の47.5%をサウスカロライナ医科大学が NINDS から受け取っているとのことであった。サウスカロライナ医科大学の DCU は、NETT Network だけでなく、他のいくつかの大規模臨床試験の SDMC としても活動している。DCU には、生物統計家5名、データマネージャー5名、プログラマー4名、プロジェクトマネージャー2名の合計16名で構成されている(2010年10月訪問当時)。このうちいわゆる大学の常勤職員は2名のみで、他の14名は日本ではいうところの非常勤職員であり、彼らの人件費や DCU の運営経費はすべて NINDS からの研究費でまかなわれている。Pal-esch 教授によれば、サウスカロライナ医科大学の DCU のように公的研究費で運営されるデータセンターは、全米に8カ所あるとのことであった。循環器系の臨床研究で名高いデューク大学のデータセンターは、企業とも提携して企業主体の臨床試験も多く実施しているが、彼女によれば、アカデミックなデータセンターとしては、デューク大学はむしろ特

殊な例であるようである。NETT Network の臨床試験でも、企業に試験薬を提供してもらうなどの協力関係はもつもの、研究の運営に企業の意向が入れないというところで一線を画しているようであった。また、cooperative group の CCC と SDMC がことなる大学に設置されている理由については、NINDS の意向であり、PI とデータセンターを分離することでデータの信頼性を保つ意味が大きいとのことであった。

#### 5. おわりに

新しい医療技術が生まれてから臨床現場で一般に使用されるようになるまでには、長い年月と様々な人の努力と貢献が必要である。このプロセスの前半部分は基礎研究が担っているが、中盤を過ぎてゴールにいたるためには臨床研究をおこなわなければならない。医療技術の最終提供者は通常民間企業であるため、開発には営利性評価が常につきまとう。とくに昨今は臨床研究の実施にかかる経費が膨大であるため、市場性の低い医療技術の開発が進みにくいという問題がある。また、臨床研究の実施主体である医師・医療機関は、医療技術の開発者で同時に提供者でもある民間企業に対して潜在的に利益相反の関係である。このことは、お互いの役割から考えて当然でもあるが、新規医療技術の開発段階において、時として問題となる。

市場性の高い技術はほうっておいても民間の資金が流入し、様々な研究者が先を争って開発を進めるが、難病や稀少疾患、救急医療分野は、華やかな開発の狭間に取り残されがちである。これらの領域では従来から治療手段が少ないため、新規治療の必要性はむしろ高い。こういった医療技術開発にかかわる事情を考えると、公的研究費による臨床研究は重要な意味合いを有する。民間の活力を阻害するのではなく、民間任せでは開発が進まない分野に対して、公的機関が重点的に後押しすることが必要である。米国は20年以上前からこのような臨床研究の特性を認識し、様々な推進方法を組み出し、体制を整備し、さらに医学の進歩に合わせて改良してきた。その結果、民間資本を活用した世界規模の多施設共同臨床試験を実施する一方で、cooperative group の枠組みを始めとした公的資金主体の臨床研究を進めている。現在、医薬品をはじめとした様々な新規医療技術がアメリカにおいて発展し、製品化されるのは、これまでの歴史を考えれば当然の結果であるといえよう。本稿で紹介した NETT Network が実施中の臨床試験は、痙攣重積、頭部外傷、脳卒中急性期など、いずれも民間企業による実施が困難で、営利性に乏しい分野でもあるため、米国でも臨床開発が困難な領域であろう。むしろ、医療現場の状況を熟知している医療の専門家がチームを組んで、良費で実施可能な研究計画を立てて自律的におこなう方が実際的なのではないかと、しかし、臨床研究を実施するためには医療の専門家だけではできず、統計家、データマネージャー、CRC など臨床研究の専門家と支援チームが必要である。医学専門家のチームと臨床研究専門家のチームとをうまくマッチングし、双方に研究費を充てるというやり方は、実際的かつ効率的