

B. 研究方法

ヘパリンが最も多く使用される疾患群である、整形外科患者（人工股関節形成術ならびに人工膝関節形成術）症例を登録し、患者全員に対して抗 PF4/ヘパリン抗体測定を実施することで、本邦における HIT の実態、発症リスクを把握する多施設共同前向き観察研究を実施している。今回これらの結果をもとに、解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究では、既に実施施設の倫理委員会の承認を受け、患者同意を得た上で実施された多施設共同前向き観察研究のデータをシステムティックにレビューした。これらのデータは既に匿名化された上で、解析なされており、患者が特定される情報を含んでおらず、人権擁護上、患者に不利益、危険性を及ぼすことは考えられない。

C. 研究結果

待機的人工股関節形成術、人工膝関節形成術の患者（計 2,182 症例）に対しての結果を解析した。術後深部静脈血栓症（DVT）、肺塞栓症（PE）予防のために、未分画ヘパリン（105 症例）、低分子量ヘパリン（405 症例）、フォンダパリヌクス（617 症例）が投与され、残りの大多数は理学療法によって術後管理された。術後 10 日目前後に全ての症例で、ELISA により抗 PF4/ヘパリン抗体が測定され、また、ドップラーエコーを用いて DVT の有無について検索された。

抗 PF4/ヘパリン抗体は、術前 25 症例（1.1%）、術後 263 症例（12.1%）で陽性となった。深部静脈血栓症（DVT）は、術後 424 症例で検出された。多変量解析の結果、女性（adjusted odds ratio: 2.9, 95%CI: 1.7-5.0）、人工膝関節形成術（1.8, 1.3-2.5）、プットポンプの使用（2.3, 1.5-3.6）、and 弾性ストッキングの使用（0.46, 0.33-0.65）が、抗 PF4/ヘパリン抗体産生に影響を与えていることが明らかとなった。

興味深いことに OD 値が 1.0 を超えている患者で、DVT 発症が有意に多かった（Odds ratio 2.3, 95%CI 1.3-4.0）。（XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 26, 2011 で発表）

したがって、ELISA において、cutoff 値を OD 値

として従来の 0.4-0.5 の範囲に設定するよりも、より高い OD 値（例えば 1.0）と設定することで、臨床的に意味のある抗体が検出できる可能性が示唆された。現在さらに検討を加えている。

D. 考察

今回、初めて本邦において、整形外科領域において、抗 PF4/ヘパリン抗体に影響を与える因子を明らかにできた。HIT は、いったん発症すると適切な診断、治療を行わなければ 50%以上の患者で、血栓塞栓症を発症し、血栓症による死亡は約 5%程度であると報告されている。したがって、HIT の発症予防が HIT 治療上の重要ポイントの一つである。その意味で、今回の大規模研究から、抗 PF4/ヘパリン抗体の産生に関与する因子が特定できたことは重要な意味がある。特に術後血栓予防のための理学療法が抗体産生に独立して関与している点は大変興味深い。これらをさらに解析し、高リスク患者を同定すること、また、HIT 発症を回避しうる術後血栓予防法を確立するための情報を提供することを継続して進めていきたい。また、待機的人工股関節形成術、人工膝関節形成術の術後患者の 12.1%で抗 PF4/ヘパリン抗体の産生が確認された。この頻度は海外から報告されている頻度と大差なく、この領域において、本邦においても HIT が臨床的問題となる可能性があることが示唆された。特に、ELISA 法による抗 PF4/ヘパリン抗体の測定で、OD 値が 1.0 を超えている患者で、DVT 発症が有意に多かったことは、整形外科領域における DVT 発症に、抗 PF4/ヘパリン抗体が何らかの形で関与している可能性が示唆される。臨床的 HIT 発症の病因として働く以外に、抗 PF4/ヘパリン抗体は、待機的人工股関節形成術、人工膝関節形成術の術後患者の morbidity に何らかの形で関与している可能性があり、今後さらに検討すべき重要な課題であると考えられた。

E. 結論

整形外科領域（待機的人工股関節形成術、人工膝関節形成術の術後患者）における抗 PF4/ヘパリン抗体産生に関与するいくつかのリスク因子を同定した。今後 HIT 発症予防につながる重要な情報となると考えられる。また、ELISA 法による抗

PF4/ヘパリン抗体の測定で、OD 値が 1.0 を超えている患者で、DVT 発症が有意に多かったことで、抗 PF4/ヘパリン抗体は、待機的人工股関節形成術、人工膝関節形成術の術後患者の morbidity に何らかの形で関与している可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

- ① Kiyoshi Migita, Shigeki Miyata, Seiji Bito, Mashio Nakamura, Masanobu Saito, Yuichiro Nakayama, Hiroyuki Akimoto, Tomohiro Matsushita, Shigeru Yamada, Itaru Furuichi, Yoshihiro Sasazaki, Takaaki Tanaka, Mamoru Yoshida, Hironori Kaneko, Isao Abe, Takatomo Mine, Kazuhiko Ihara, Shigeyuki Kuratsu, Masataka Kamei, Satoru Motokawa. Seroconversion of anti-PF4/heparin antibodies and its association with deep vein thrombosis in orthopedic surgery patients receiving various thromboprophylaxis methods. XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, Japan, July 26, 2011.
- ② Masataka Kamei, Kiyoshi Migita, Takefumi Torigoshi, Youjirou Matsuoka, Shigeki Miyata, Satoru Motokawa. The Effect of anesthetic technique on seroconversion of anti-PF4/heparin antibodies in total knee arthroplasty. American Society of Anesthesiologists 2011 Annual Meeting. Chicago, Illinois, USA. October 19, 2011

③ 第 38 回日本股関節学会

2011.10.7 鹿児島市

「人工関節置換術後の静脈血栓塞栓症に対する予防法と D-Dimer の検討」

④ 第 56 回日本リウマチ学会

2012.4.28 東京

「関節リウマチ患者の人工関節置換術後の静脈血栓塞栓症の発症と出血リスク」

⑤ 第 85 回日本整形外科学会（予定）

2012.5.20 京都市

「人工関節置換術後の静脈血栓塞栓症に対する fondaparinux の予防効果」

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究補助金
難治性疾患克服研究事業
分担研究報告書

循環器疾患領域におけるヘパリン起因性血小板減少症の診断基準確立のための検討

研究分担者 伊藤 智範 岩手医科大学 循環器医療センター 講師・CCU 室長

研究要旨

当センターおよび関連施設で経験したヘパリン起因性血小板減少症(HIT)の検討を行い、診断基準の妥当性を検証した。当研究班が提唱する診断基準との照合では、経験した3例のうち2例はヘパリン投与から5日程度で血小板数低下を認めていること、1万/mm³を切る症例はなく、おおむね診断基準による血小板数でも妥当と考えられた。また、研究班が提唱するTAT、PF1+2、SFMCや、D-dimer、FDPなどの補助診断マーカーについてはデータがなく検討はできなかった。当センターおよび関連施設で経験したヘパリン起因性血小板減少症(HIT)と考えられた症例では、おおむね研究班が提唱する診断基準に合致するものであった。補助診断マーカーについては、今後データを集積して、検討を要する。

A. 研究目的

当センターおよび関連施設で経験したヘパリン起因性血小板減少症(HIT)の検討を行い、診断基準の妥当性を検証すること。

B. 研究方法

当施設・関連施設で経験した循環器領域とくに急性冠症候群でのHIT症例3例を検証して、現在作成中の診断基準での妥当性を検証する。

(倫理面への配慮)

とくになし。

C. 研究結果

症例1: 80歳代男性。右冠動脈へのステント留置に成功。ヘパリンを静注して、持続点滴。血小板数が約8万/mm³まで低下。ヘパリン中止によって血小板数は回復。慢性期造影でヘパリンを静

注しCAGを施行。ステント留置部に血栓像がみられ、血小板数が急激に低下。アルガトロバン持続点滴により回復。アルガトロバン使用して6ヵ月後に実施した再CAGでは、血栓像はなく血小板数も低下なし。

症例2: 60歳代男性。緊急PCIで、左前下行枝近位部へのステント留置に成功。ヘパリンを使用しながらIABPで管理。血小板数が40万/mm³から20万/mm³以下へ低下。第7病日に亜急性ステント血栓症による左主幹部閉塞を発症。ヘパリンを中止しアルガトロバン点滴静注を開始後血小板数は回復。PF4/ヘパリン抗体陽性。

症例3: 透析中の60歳代女性。左前下行枝へ緊急PCIを試みたがステント留置困難。血小板減少と血液浄化回路内血栓形成、およびPF4/ヘパリン抗体陽性からHITと診断。左主幹部を含む多枝病変で、慢性期に抗体陰性を確認後、人工心肺中のみヘパリン投与下にCABG施行。術後は血小板

減少および血栓症を起こさずに良好に経過。PF4/ヘパリン抗体の産生は抑制され陰性化。

血小板数の低下については、症例1では、20万/mm³から約8万/mm³まで、症例2では40万/mm³から最低7万/mm³まで、症例3でも20万/mm³から7万/mm³まで低下していたが、5万以下になる例はなかった。

3症例とも血清学的診断として主にELISA法で行っていた。当時の検査体制では、ELISA法のOD値を知ることは重要視されておらず、データは不明であった。症例3では、3カ月後に国立循環器病研究センターでセロトニンアッセイでの抗体値を測定しており、抗体陰性を確認して、ヘパリン使用下に冠動脈バイパス手術を実施した。抗体産生をきたさずに順調に成功した。この例からHIT抗体は陰性化することが確認されれば、ヘパリンの再投与が可能であることが確認された。

当研究班が提唱する診断基準との照合では、3例のうち、症例1が投与早期に血小板低下をきたしており、また血栓症を起こさなかったことから、II型よりはI型の可能性が考えられるかもしれない。そのほかの2例は、ヘパリン投与から5日程度で血小板数低下を認めていること、1万を切る症例はなく、おおむね診断基準による血小板数でも妥当と考えられた。また、ほかの要因については、体外循環などの血管内留置医療器具を用いていた症例があったことから、血小板数低下の要因に挙げられるため、HITをマスクする可能性があり、注意が必要と考えられる。逆に言えば、血管内留置医療器具が使用されていても、HITを否定できない。

また、研究班が提唱するTAT、PF1+2、SFMCや、D-dimer、FDPなどの補助診断マーカーについてはデータがなく検討はできなかった。

D. 考察

HITの診断には統一された診断基準がないの

が実情である。通常は、臨床的診断としてヘパリン投与中ないし投与後に、血小板数が前値の50%以下ないし10万/mm³以下へ低下して、その他に血小板数低下の原因がない場合に診断される。除外診断となることが少なくないため、最近ではスコアリングシステムも提唱されている。Warkentinらは、4Tsスコアリングシステムを提案している。0-3点の低スコアでは、HITの可能性は5%未満であるが、6-8点の高スコアでは、80%以上の確率とされている。また、4-5点の中スコア症例では、血清学的診断と組み合わせて、最終的に判断することが望ましいと考えられている。しかし、過剰診断も問題であり、ヘパリン以外の薬剤（例えばバンコマイシンなど）による血小板減少症、感染症によるDIC、cancer-associated thrombocytopenia and/or thrombosisなど、HIT以外の原因の存在の検索を行ない、それらを除外しておく必要がある。

一般に血小板減少が生じたときには、DICや薬剤性を原因として考えることが少なくない。しかし、ヘパリンの使用率が高い循環器などの領域では、HITの可能性をさらに鑑別していくことも重要である。2008年に発表された米国胸部内科医学会(ACCP)のHIT診療ガイドラン(第8版)でも、ヘパリン投与中の例での経時的な血小板数のモニタリングを推奨しており、さらに投与終了後2週間以内ないし、投与開始後5-14日までの間に50%以上の血小板減少や血栓塞栓を生じた例では、積極的にHITの鑑別をするよう推奨している。

本研究班では、診断精度をより高めるため、補助診断としてTAT、PF1+2、SFMCや、D-dimer、FDPなどのマーカーにより過凝固状態にあるかどうか、ならびにその推移を検討することを考案した。しかし、今回の当施設での症例ではほとんどデータがなかった。これまで補助診断マーカーには明示されたものがなく、今後それを診断基準

として確定していくことも必要であると思われる。

HIT の発症様式には、4 種類の様式が知られている。われわれが報告した 3 例は、いずれも通常発症型と考えられた。通常発症型は、ヘパリン投与から 5-10 日で発症し、約 7 割がこの形式をとるとされている。また血栓塞栓症は、内科疾患では主に静脈血栓症が多いとされている。しかし、この 3 例では治療した冠動脈に生じた例が 2 例で、うち 1 例は亜急性ステント血栓症の発症様式であった。一方、静脈側の血栓形成と考えられた血液浄化回路内血栓で診断に至ったのは、症例 3 のみであった。

この 3 例のアルガトロバンによる治療は、本邦での医師主導型治験で推奨された用量 (0.7 μ g/kg/min.) を用いた。これにより、APTT を 2.0 倍前後にコントロール可能で、いずれも問題となる出血はきたさなかった。さらに症例 3 では、慢性期に PF4/ヘパリン抗体陰性を確認して、冠動脈バイパス手術を実施した。これまで HIT へのヘパリンの再投与は、原則禁忌とされていた。243 例の HIT 症例を検討した Warkentin らは、PF4/ヘパリン抗体は平均 50-85 日で陰性化し、永久的な免疫認識機構 (immune memory) がないことを報告した。また、最近 Potzsch らは、人工心肺を用いたバイパス手術でも、PF4/ヘパリン抗体陰性を確認すればヘパリン使用下に手術可能であることを明らかにした。Warkentin らは、HIT 症例で人工心肺を用いる手術を実施する場合のアルゴリズムを提唱している。今回われわれもこれに準じて、PF4/ヘパリン抗体陰性を確認し、術中のみヘパリンを用いてバイパス手術を行った。一方、PF4/ヘパリン抗体が陰性化するまで手術を待てない症例では、選択的抗トロンビン薬を用いて手術を実施することが可能である。しかし、中和薬がないため出血のリスクが高まることを考慮して実施する必要がある。

症例 1 では、血栓塞栓症のイベントがなかった

ものの、初期の血小板減少の時点で、HIT を考慮するべきであった。心筋シンチでのヘパリンロック、ならびにその後の冠動脈造影をヘパリン静注で行って、結果的に血小板減少が再現されたことから、初めて HIT を疑うことになった。発症様式がヘパリン投与後から比較的早く、顕性の血栓症がなかったことから、非免疫学的機序による I 型の可能性が高いものと思われる。症例 3 では、アルガトロバンを使用してから、血小板の回復が遅延していたが、スワングアンツカテーテル抜去後に速やかに血小板数が回復した。この要因として、用いていたスワングアンツカテーテルがヘパリンコーティング製品であったことが影響していたと考えられた。ヘパリンの投与を避けるだけでなく、ヘパリンでコーティングされた医療器具も念密に検証して、使用しない配慮も重要である。

E. 結論

当センターおよび関連施設で経験したヘパリン起因性血小板減少症 (HIT) と考えられた症例では、おおむね研究班が提唱する診断基準に合致するものであった。補助診断マーカーについては、今後データを集積して、検討を要する。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Goto I, Itoh T, Kimura T, Fusazaki T, Matsui H, Sugawara S, Komuro K, Nakamura M. Morphological and quantitative analysis of vascular wall and neo-intimal hyperplasia after coronary stenting: Comparison of bare metal and sirolimus-eluting stents using optical coherence tomography. *Circ J* 2011; 75:1633-1640.

2. 学会発表

Ishikawa Y, Itoh T, Fusazaki T, Satoh M,

Kimura T, Komuro K, Goto I, Onodera M, Matsui H, Sugawara S, Nakamura M. Does Effects of Coronary Plaque Volume Reduction and Clinical Outcome Differ between Atorvastatin and Rosuvastatin? 第20回日本心血管インターベンション治療学会総会;2011;大阪.

Fusazaki T, Itoh T, Matsui H, Sugawara S, Ishikawa Y, Komuro K, Nakajima S, Goto I, Nakamura M. A case of very late stent thrombosis related with allergic and inflammatory reaction after paclitaxel eluting stent 第20回日本心血管インターベンション治療学会総会;2011;大阪.

Komuro K, Fusazaki T, Itoh T, Matsui H, Sugawara S, Ishikawa Y, Nakajima S, Goto I, Nakamura M. Evaluation of late in-stent restenosis cases after a few years later of bare metal stent implantation by optical coherence tomography 第20回日本心血管インターベンション治療学会総会;2011;大阪.

上田寛修、伊藤智範、中島悟史、石川 有、小室堅太郎、肥田頼彦、肥田親彦、松井宏樹、房崎哲也、中村元行 東日本大震災後に当センターへ収容した急性冠症候群の検討 第59回日本心臓病学会;2011;神戸.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

分担研究報告書

心臓血管外科患者におけるヘパリン起因性血小板減少症疑い症例の検討

研究分担者 宮城直人 東京医科歯科大学医学部 心臓血管外科 助教

研究要旨：ヘパリンは心臓血管外科手術、特に人工心肺使用手術において必要不可欠の抗凝固薬であり、心臓血管外科術後症例は、ヘパリン起因性血小板減少症 (Immune heparin-induced thrombocytopenia: HIT) 発症の高リスク群であることが指摘されている。HIT は、適切な診断、治療を行わなければ、発症患者の約 50%が動静脈血栓塞栓症を来し、約 5%が死に至るとされる。抗凝固薬ヘパリン投与が、血小板第 4 因子(PF4)の構造変化を誘導し、新たな抗原性を提示する。それを認識する抗体 (抗 PF4/ヘパリン抗体) が産生され、その一部(HIT 抗体)は、血小板、単球、血管内皮を刺激、活性化する能力を有するため、トロンビンの過剰産生を促し、血小板減少、血栓塞栓症を来すと推定される。

心臓血管外科術後においては、HIT 以外に、人工心肺や対外循環による血小板活性化、消費、心不全、感染症、播種性血管内凝固症候群 (DIC : disseminated intravascular coagulation)、ヘパリン以外の薬剤 (例えばバンコマイシンなどの抗生剤) など、血小板減少を来す原因が多数存在する。また、術後血栓塞栓症の合併も少なくない。したがって、術後の血小板減少や血栓塞栓症の発症について、HIT の診断を臨床的に下すのは容易ではない。

今回、当院において HIT が疑われた 5 症例について、その血清学的診断も加えて詳細に検討することで、HIT 症例の臨床的特徴を検討した。

結果として、重要なものを次に示す。(1) 心臓血管外科患者では HIT 以外に、人工心肺や対外循環による血小板活性化、消費、心不全、感染症、播種性血管内凝固症候群 (DIC : disseminated intravascular coagulation)、ヘパリン以外の薬剤 (例えばバンコマイシンなどの抗生剤) など、血小板減少を来す原因が多数存在するため、慎重に臨床的診断を行う (2) antigen assay (ELISA 法) に依存した HIT 診断は、過剰診断を招く可能性が高い (3) 慎重に臨床的診断を行うとともに、免疫学的測定法 (antigen assay) と機能的測定方法 (functional assay) を合わせて検討することが重要

この結果に基づき、診断感度を保ちながら、より特異度を向上させる HIT 診断基準についての案について検討している。今後、この診断基準の妥当性をさらに検討し、関係学会と連携しながら、診断基準を確定させ、患者予後改善に貢献していく。

A. 研究目的

ヘパリンは心臓血管外科手術、特に人工心肺使用手術において必要不可欠の抗凝固薬であり、心臓血管外科術後症例は、ヘパリン起因性血小板減少症 (Immune heparin-induced thrombocytopenia: HIT) 発症の高リスク群であることが指摘されている。HIT は、適切な診断、治療を行わなければ、発症患者の約 50%が動静脈血栓塞栓症を来し、

約 5%が死に至るとされるヘパリンの重篤な副作用である。抗凝固薬ヘパリン投与が、血小板第 4 因子(PF4)の構造変化を誘導し、新たな抗原性を提示する。それを認識する抗体 (抗 PF4/ヘパリン抗体) が産生され、その一部(HIT 抗体)は、血小板、単球、血管内皮を刺激、活性化する能力を有するため、トロンビンの過剰産生を促し、血小板減少、血栓塞栓症を来すと推定される。

しかしながら、心臓血管外科術後においては、HIT 以外に、人工心肺や対外循環による血小板活性化、消費、心不全、感染症、播種性血管内凝固症候群 (DIC: disseminated intravascular coagulation)、ヘパリン以外の薬剤 (例えばバンコマイシンなどの抗生剤) など、血小板減少を来す原因が多数存在する。また、原疾患などに関係する術後血栓塞栓症の合併も少なくない。したがって、術後の血小板減少や血栓塞栓症の発症について、HIT の診断を臨床的に下すのは容易ではない。

そこで、当院にて HIT が臨床的に疑われた症例についてその血清学的診断も加えて詳細に検討することで、HIT 症例の臨床的特徴を検討した。

B. 研究方法

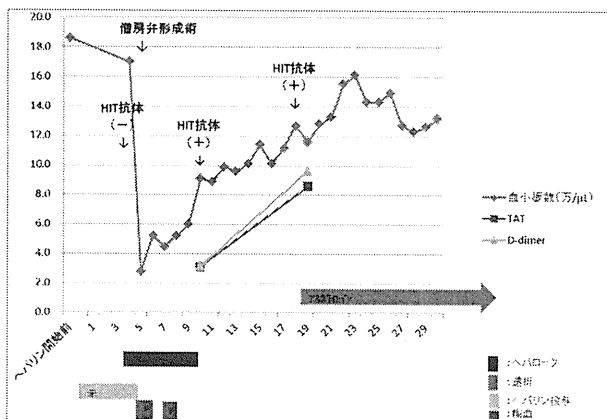
当院において、HIT が臨床的に疑われ、国立循環器病研究センターが中心となって実施しているヘパリン起因性血小板減少症の全国登録調査に登録した症例について、その血清学的診断も加えて詳細に検討した。

(倫理面への配慮)

本研究では、国立循環器病研究センターの倫理委員会にて承認され、実施されているヘパリン起因性血小板減少症の全国登録調査に、登録された症例について検討した。これらのデータは既に匿名化された上で、解析なされており、患者が特定される情報を含んでおらず、人権擁護上、患者に不利益、危険性を及ぼすことは考えられない。

C. 研究結果

(症例 1)



僧房弁狭窄症に対して、僧房弁形成術を実施。発作性心房細動を認め、術前からワルファリンを服用していたため、術前 5 日前からヘパリンに切り替

えていた。術中、人工心肺の抗凝固としてヘパリンを使用し、術後ヘパリンフラッシュが継続された。

血小板数は、術中に $28,000/\mu\text{L}$ まで低下したが、その後、徐々に改善していった。術中、術直後に行われた、血小板輸血は、投与効果は芳しくなかった。術翌日に、右内頸動脈領域に多発脳梗塞が認められ、術中の高度の血小板数低下ならびに、術後 4 日目から、A-line や末梢ルートが異常に閉塞するなどの病態が認められたため、HIT が疑われた。

血清学的検査結果は、ELISA 法 (抗 PF4/ヘパリン IgG/A/M 検出) では、術前陰性 (OD 値 0.121)、術後 14 日目では、強陽性 (OD 値 1.967) であった。一方、術後 14 日目の検体で、ELISA 法で、抗 PF4/ヘパリン IgG のみを測定した場合は、OD 値は、0.458 と cutoff ぎりぎりの陽性でそれほど高くなかった。Functional assay (activation assay) では、ヘパリン未添加、ヘパリン 0.1U/ml, 100U/ml のいずれでも洗浄血小板を活性化されるも、抗 Fc γ RII 抗体で活性化が抑制される傾向にあった。この、Functional assay の結果は、HIT に典型的ではなく、systemic lupus erythematosus, high titer HLA class I alloantibodies やそれ以外の血小板活性化させ得る抗体の存在が示唆される。実際、本症例は、非常に強い HLA class I 抗体 (99.5%) を保持していることが判明した。

ELISA 法 (抗 PF4/ヘパリン IgG/A/M 検出) で強陽性の結果であったが、実際は、術後血小板減少が典型的でなく、ヘパリンフラッシュ投与中も継時的に増加している臨床経過も合わせて、Functional assay で HIT に典型的でない結果であったことから、HIT ではない可能性が高いことが判明した。

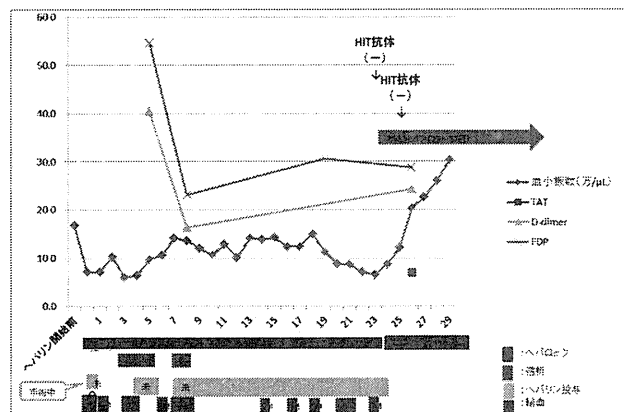
また、本症例では、ELISA 法 (抗 PF4/ヘパリン IgG/A/M 検出) が陰性化した後、ヘパリン使用し人工心肺を用いた手術が施行されたが、術後抗体の上昇は認められなかった。

(症例 2)

2 年前に急性大動脈解離のため弓部置換術施行された。その際に、術後著明な血小板減少を認め、ヘパリン中止後速やかに血小板数の改善が認められており、HIT の可能性が示唆された。下行大

動脈以下に残存解離があり、胸腹部瘤が著明に拡大してきたため、再手術となった。術前に、ELISA法（抗 PF4/ヘパリン IgG/A/M 検出）が陰性（OD 値 0.057）であることを確認した後、下行大動脈置換術を人工心肺使用下に手術が施行された。術後 5 日目に一旦上昇していた血小板が 55,000/μL まで低下し、下肢急性動脈閉塞を発症した。HIT が疑われたが、術後 5 日目、6 日目の抗 PF4/ヘパリン IgG/A/M は陰性であり（OD 値 0.127; 0.231）、HIT の関与の可能性は低いと考えられた。術前から腸骨動脈の狭窄があり、術後の一般的な過凝固状態による血栓形成が示唆された。またかなり水分をドライサイドに管理していたための血液濃縮の影響したのではないかと考えられた。

(症例 3)



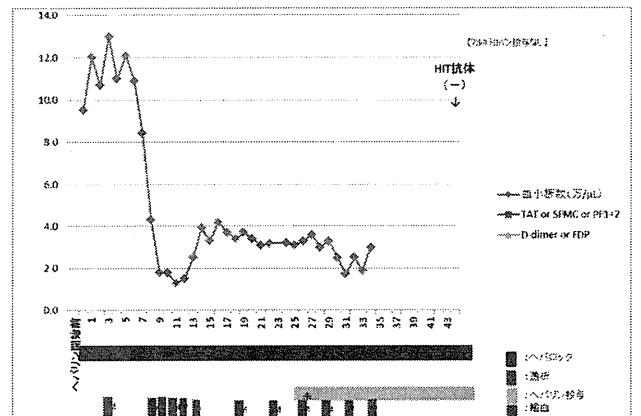
劇症型心筋炎で補助人工心臓による加療を受けていたが、心機能回復したため、補助人工取り外しを行った。術後低拍出状態が持続したため、術後 6 日目に再度補助人工心臓の装着術が行われた。再手術の術後 14 日目から血小板数の低下が認められ、薬剤起因性血小板減少症が疑われた。再手術の術後 16 日後、突然、酸素化が悪化し、肺梗塞が疑われた。HIT である可能性を考え、ヘパリン中止、アルガトロバンで抗凝固された。直後に測定された ELISA 法（抗 PF4/ヘパリン IgG/A/M）では、陰性（OD 値 0.317）、抗 PF4/ヘパリン IgG のみでは、弱陽性（OD 値 0.427）であり、HIT は考えにくく、薬剤起因性血小板減少症（ザイボックス）であった可能性が高い。

(症例 4)

CABG 術後患者。術後 1 か月後肺炎を併発。腎不全合併し、術後 40 日目から CHDF をヘパリンによる抗凝固で開始、離脱困難となった。その後血小板数の減少が激しく、頻回の血小板輸血がな

れている。明らかな血栓塞栓症は認められなかった。血小板減少が持続するため、HIT が疑われ、ヘパリン投与が中止された。直後に測定された ELISA 法（抗 PF4/ヘパリン IgG/A/M）では、陰性（OD 値 0.060）、抗 PF4/ヘパリン IgG のみでも、陰性（OD 値 0.032）であり、発症時期が HIT としてはかなり遅いことも合わせて、HIT である可能性はかなり低いと考えられた。

(症例 5)



以前より、抗リン脂質抗体症候群が指摘されている患者。人工弁感染性心内膜炎の加療中に心内血栓を認め、その後脳梗塞され、ヘパリン投与開始。血小板減少が進行するため、HIT が疑われた。血小板数は、ヘパリンを中止、血小板輸血を控えることで、改善傾向となった。測定された ELISA 法（抗 PF4/ヘパリン IgG/A/M）では、陰性（OD 値 0.020）、抗 PF4/ヘパリン IgG のみでも、陰性（OD 値 0.033）であり、敗血症、感染性心内膜炎等が存在したことから、HIT である可能性は低いと考えられた。

D. 考察

今回、当院にて心臓血管外科患者で、HIT が疑われた 5 症例について、詳細に検討を行った。前述したように、心臓血管外科患者では、HIT 以外に、人工心肺や対外循環による血小板活性化、消費、心不全、感染症、播種性血管内凝固症候群（DIC : disseminated intravascular coagulation）、ヘパリン以外の薬剤（例えばバンコマイシンなどの抗生剤）など、血小板減少を来す原因が多数存在する。今回の 5 症例もヘパリン投与に関係して血小板減少や血栓塞栓症を来したため、HIT が疑われたが、実際に HIT と確定診断できた症例はなか

った。血小板減少や血栓塞栓症の原因は、強い HLA class I 抗体、術前から腸骨動脈の狭窄があり、術後の一般的な過凝固状態による血栓形成、薬剤起因性血小板減少症、CHDF ならびに感染症、敗血症（感染性心内膜炎）と多岐に及んでいる。したがって、心臓血管外科に関連する症例で、HIT 診断の困難さを改めて実感した。特に、症例 1 では ELISA 法（抗 PF4/ヘパリン IgG/A/M）では強陽性、症例 3 では、ELISA 法（抗 PF4/ヘパリン IgG のみ）で弱陽性を示しており、antigen assay (ELISA 法) に依存した HIT 診断は、過剰診断を招く可能性が高いことが示唆された。臨床的診断を注意深く行う（HIT 以外の原因を注意深く検討する）とともに、antigen assay のみでなく、機能的測定法（functional assay）を合わせて評価を行い、最終診断を行う必要が示唆された。

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

E. 結論

心臓血管外科術後患者では、HIT 以外に、人工心肺や対外循環による血小板活性化、消費、心不全、感染症、播種性血管内凝固症候群（DIC：disseminated intravascular coagulation）、ヘパリン以外の薬剤（例えばバンコマイシンなどの抗生剤）など、血小板減少を来す原因が多数存在するため、慎重に臨床的診断を行うとともに、免疫学的測定法（antigen assay）と機能的測定方法（functional assay）を合わせて検討することが重要であると思われた。antigen assay (ELISA 法) に依存した HIT 診断は、過剰診断を招く可能性が高いことに注意が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

厚生労働科学研究補助金
難治性疾患克服研究事業
分担研究報告書

急性期脳卒中領域におけるヘパリン起因性血小板減少症の診断基準確立のための研究

研究分担者 河野浩之 済生会熊本病院脳卒中センター神経内科医員

研究要旨：急性期虚血性脳卒中患者の治療および血栓塞栓症合併症の予防のためにしばしばヘパリンが投与される。ヘパリンの重要な副作用として HIT (heparin-induced thrombocytopenia) が知られているが、日本における急性期脳卒中患者の HIT 発症頻度と臨床特性を明らかにするため、多施設前向きコホート研究を実施した。対象は脳梗塞急性期患者 267 例である。研究デザインは多施設共同プロスペクティブコホート研究で行った。未分画ヘパリン投与患者 (172 例) の血小板減少症を 4T's スコアリングシステムで評価した。また、全対象例の入院 1 日目および 14 日目の抗 PF4/ヘパリン抗体 (HIT 抗体) を ELISA によって測定し、ELISA 陽性または 4T's ≥ 4 点の場合には ^{14}C -serotonin release assay (SRA) による抗体活性を測定し、4T's スコアリングシステムと血清学的評価から HIT を診断した。HIT の発症率：HIT 抗体陽性例は、未分画ヘパリン (UFH) 投与群で 12.8% (22/172)、UFH 非投与群で 3.2% (3/95) と、UFH 投与群で有意に高かった ($p=0.008$, Fisher's exact test)。4T's スコアより臨床的 HIT 疑い例と診断された症例は 4.1% (7/172) で、そのうち ELISA と SRA の両方が陽性であった HIT 確定診断例は 1.7% (3/172, 95%信頼区間 0.4-5.0) であった。HIT 確定診断例の特徴と転帰：登録時 NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) が 17~23 点と高値で脳梗塞重症度が高く、院内死亡率も 66.7% (2/3 例) と高かった。

A. 研究目的

ヘパリン起因性血小板減少症の発症頻度は欧米からの報告では 0.3-5%程度といわれている。急性期虚血性脳卒中患者の治療および血栓塞栓症合併症の予防のためにしばしばヘパリン点滴が行われるものの、HIT の発症頻度は本邦での正確なデータはなかった。そこで、日本における急性期脳卒中患者の HIT 発症頻度と臨床特性を明らかにするため、多施設前向きコホート研究を行った。

B. 研究方法

対象は発症 7 日以内の急性期脳梗塞症例である。未分画ヘパリン (UFH) 投与患者を調査した。臨床的評価システムとして汎用されている 4T's スコアリングシステムを用いた。4T's スコアリング法の評価は、独立した臨床評価委員会で評価した。また、全対象例の入院 1 日目および 14 日目の抗 PF4/ヘパリン抗体 (HIT 抗体) を ELISA によって測定し、ELISA 陽性または 4T's ≥ 4 点の場合には ^{14}C -serotonin release assay (SRA) による抗体活性を測定した。SRA は血小板を強く活性化させる能力を持つかどうかを測定する functional

assay のひとつである。4T's スコア ≥ 4 点かつ ELISA 陽性かつ SRA 陽性の場合を HIT 確定診断とした。

(倫理面への配慮)

本研究では、実施施設の倫理委員会の承認を受け、患者同意を得た上で実施された多施設共同前向き観察研究を行った。これらのデータは匿名化された上で、解析なされており、患者が特定される情報を含んでおらず、人権擁護上、患者に不利益、危険性を及ぼすことは考えられない。

C. 研究結果

急性脳梗塞発症後 7 日以内の 267 症例が、多施設共同前向き研究として登録され、そのうち 172 症例に未分画ヘパリンが投与された。ELISA 法では 12.8%の症例 (22/172) が抗体陽性となった。

HIT の発症率：HIT 抗体陽性例は、未分画ヘパリン (UFH) 投与群で 12.8% (22/172)、UFH 非投与群で 3.2% (3/95) と、UFH 投与群で有意に高かった ($p=0.008$, Fisher's exact test)。4T's スコアより臨床的 HIT 疑い例と診断された症例は 4.1% (7/172) で、そのうち ELISA と SRA の両方が陽性であった HIT 確定診断例は 1.7% (3/172、95%信頼区間 0.4-5.0) であった。HIT 確定診断例の特徴と転帰：登録時 NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) が 17~23 点と高値で脳梗塞重症度が高く、2 例が脳梗塞により入院中に死亡し、院内死亡率も 66.7% (2/3 例) と高かった。

D. 考察

今回の研究から、急性期脳梗塞患者における HIT の発症頻度は 1.7% (95%CI: 0.4-5.0) であることが明らかとなった。この数値は過去の報告と同等であり、脳梗塞患者においても HIT は稀な合併症ではないといえる。HIT 確定診断例は脳梗塞重症度が高く、入院中の死亡率が高かったことから、原疾患の重症度は HIT になりやすさと関連があるかもしれない。HIT 確定診断例の 4T's スコアは中等度スコアであり、高スコアだけでなく中等度スコ

アでも HIT を疑う必要がある。抗体検査には偽陽性、偽陰性があることから、HIT の診断は、4T's スコアと血清学的診断と両者を組み合わせて行うべきと考える。

E. 結論

本邦においても急性期脳梗塞における HIT の発症は稀ではないことが明らかとなった。内科的治療に用いるヘパリンにおいても欧米と同等の HIT 発症の可能性があり、ヘパリン使用時の注意が必要である。また、HIT 診断には臨床的診断と血清学的診断を組み合わせることが重要と思われる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

1. Kawano H, Yamamoto H, Miyata S, Izumi M, Hirano T, Toratani N, Kakutani I, Sheppard JA, Warkentin TE, Kada A, Sato S, Okamoto S, Nagatsuka K, Naritomi H, Toyoda K, Uchino M, Minematsu K. Prospective multicentre cohort study of heparin-induced thrombocytopenia in acute ischaemic stroke patients. *Br J Haematol.* 154:378-386, 2011.

学会発表

1. 河野浩之. 急性期脳梗塞におけるヘパリン起因性血小板減少症～発症頻度と転帰～. (ランチョンセミナー) 第 36 回日本脳卒中学会総会

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究補助金
難治性疾患克服研究事業
分担研究報告書

ヘパリン起因性血小板減少症の診断基準確立に関する研究

研究分担者 松下 正 名古屋大学医学部附属病院輸血部教授

研究要旨

本分担研究では、本邦における HIT の発症割合ならびにその実態を把握するための一次資料を作成することを目的とした。当院において血小板減少により HIT が疑われた 13 例についてその血小板数変化、HIT 抗体の有無を検討し、2 名に HIT 抗体陽性を見た。また特徴的な臨床症状を有し、HIT が血小板減少症の原因と診断できた。

A. 研究目的

ヘパリン起因性血小板減少症（Immune heparin-induced thrombocytopenia: HIT）は、適切な診断、治療を行わなければ、発症患者の約 5% が死に至るとされる。抗 PF4/ヘパリン抗体が誘導される患者は多数存在するが発症はごく一部である、一過性にのみ存在するなど、特異的な病態を呈し、未だ不明な部分が多い。

本分担研究では、本邦における HIT の発症割合ならびにその実態を把握するための一次資料を作成することを目的とした。

B. 研究方法

分担研究者所属施設においてヘパリンが最も多

く使用される疾患群である、心臓血管外科、脳梗塞患者、整形外科患者症例のうち、他に説明の出来ない血小板減少症患者全員に対して抗 PF4/ヘパリン抗体測定を実施することで、HIT の発症割合ならびにその実態を把握するための一次資料を作成した。

（倫理面への配慮）

患者検体は匿名化し、分担者施設の対照表にて連結可能としたあと、測定施設に送付した。

C. 研究結果

当院において血小板減少により HIT が疑われた 13 例についてその血小板数変化、HIT 抗体の有無を以下の表にまとめた。

依頼日	年齢	性別	基礎疾患	診断前血小板数	HIT を疑うまでの日数	HIT を疑った日の血小板数	HIT 抗体	血小板減少の診断/疑診
2010/4/14	85	F	ERCP 後膵炎	18.9	20	2.6	-	DIC
2010/7/12	69	M	補助人工心臓設置	20.7		13.4	-	多臓器不全
2010/7/14	85	M	間質性肺炎	23.8	2	6.1	-	DIC
2010/9/6	70	M	僧帽弁置換術	6.6	6	2.2	-	DIC
2010/9/27	56	F	脳死肝移植	10.8	10	3.3	-	DIC
2010/10/25	76	M	膵頭十二指腸切除	10	5	8000	-	AITP

2011/6/9	76	M	胆嚢癌	24.3	10	6.4	-	不詳
2011/6/30	77	F	心筋梗塞	13.5	2	4.3	-	不詳
2011/7/13	75	F	右総腸骨動脈仮性動脈瘤	19.5	6	6.6	-	DIC
2011/8/31	85	F	腹部大動脈瘤	13.8	5	5.8	-	DIC
2011/10/3	87	M	ANCA 関連血管炎+ダイアライザー凝血	14.6	8	3.5	+	HIT
2011/10/24	65	M	炎症性腸疾患+敗血症	NT	NT	NT	-	DIC
2012/229	50	F	大動脈壁在血栓	24	5	5	+	HIT

D. 考察

ヘパリン投与開始から 5 日目-14 日目に血小板減少や、血栓塞栓症を発症した患者 13 名のうち 2 名が HIT と診断された。しかし HIT を最初に疑った時点で、血小板数が 1 万/ μ L 以下の症例は、HIT である可能性が低く、免疫学的血小板減少症であった。また HIT と診断された 2 例では TAT、SFMC、FDP が著明に上昇していたが、positive predictive value となるまでには至らないと考えられた。

E. 結論

血小板減少の Time course だけでは診断根拠としては不十分であり、特異的な症状、HIT 抗体が決め手になると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

1. Successful fertility management of a patient with factor V deficiency: planned transfusion of fresh frozen plasma under infertility treatment. Iwase A, Goto M, Manabe S, Hirokawa W, Kobayashi H, Nakahara T, Takikawa S, Kotani T, Sumigama S, Tsuda H, Nakayama T, Suzuki N, Matsushita T,

Kikkawa F. Fertil Steril. 2011

May;95(6):2124. e5-7

2. Pitavastatin-induced angiogenesis and arteriogenesis is mediated by Notch1 in a murine hindlimb ischemia model without induction of VEGF. Kikuchi R, Takeshita K, Uchida Y, Kondo M, Cheng XW, Nakayama T, Yamamoto K, Matsushita T, Liao JK, Murohara T. Lab Invest. 2011 May;91(5):691-703.
3. Virus-associated hemophagocytic syndrome caused by pandemic swine-origin influenza A (H1N1) in a patient after unrelated bone marrow transplantation. Katsumi A, Nishida T, Murata M, Terakura S, Shimada K, Saito S, Kobayashi M, Kodaira A, Shibata S, Oda I, Yagi T, Kiyoi H, Matsushita T, Kojima T, Naoe T. J Clin Exp Hematop. 2011;51(1):63-5.
4. A novel ENG mutation causing impaired co-translational processing of endoglin associated with hereditary hemorrhagic telangiectasia. Suzuki A, Nakashima D, Miyawaki Y, Fujita J, Maki A, Fujimori Y, Takagi A, Murate T, Teranishi M, Matsushita T, Saito H, Kojima T. Thromb Res. 2012 Feb 29. [Epub ahead of print]
5. Stress Augments Insulin Resistance and Prothrombotic State: Role of Visceral Adipose-Derived Monocyte Chemoattractant

Protein-1. Uchida Y, Takeshita K, Yamamoto K, Kikuchi R, Nakayama T, Nomura M, Cheng XW, Egashira K, Matsushita T, Nakamura H, Murohara T. Diabetes. 2012 Mar 6. [Epub ahead of print]

学会発表

1. R702C Mutation of the MYH9 Gene causes great changes in blood cell and other organs in mice model. Nobuaki Suzuki. 第73回日本血液学会学術集会 2011年10月15日 名古屋国際会議場
2. 凝固障害に対する補充療法 松下正 第18回日本輸血・細胞治療学会秋季シンポジウム 2011年10月21日 埼玉県県民健康センター

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業
分担研究報告書

HIT 抗体定量化を目指した機能的測定法 (functional assay) 確立のための研究

研究分担者 宮田敏行 国立循環器病研究センター 分子病態部 部長
研究代表者 宮田茂樹 国立循環器病研究センター 輸血管理室 医長
研究協力者 前田琢磨 国立循環器病研究センター 麻酔科 医員

研究要旨：ヘパリン起因性血小板減少症 (Immune heparin-induced thrombocytopenia: HIT) は、抗凝固薬ヘパリンが血栓塞栓症を誘発するという臨床的に逆説的な病態を呈するため、しばしば見逃され、過少診断される。適切な診断、治療を行わなければ、発症患者の約 50%が動静脈血栓塞栓症を来し、約 5%が死に至るとされる。抗凝固薬ヘパリン投与が、血小板第 4 因子(PF4)の構造変化を誘導し、新たな抗原性を提示する。それを認識する抗体 (抗 PF4/ヘパリン抗体) が産生され、その一部(HIT 抗体)は、血小板、単球、血管内皮を刺激、活性化する能力を有するため、トロンビンの過剰産生を促し、血小板減少、血栓塞栓症を来すと推定される。2006 年 4 月にヘパリンの添付文書が改訂され、その後、治療薬アルガトロバン (選択的抗トロンビン薬) が薬事承認され、本邦においても急速にその認知が進んでいる。

しかし、現時点で HIT を単独で診断できる、高い感度、特異度を持った診断方法がないために、しばしばその診断が混乱し、特に過剰診断が問題となりつつある。現在、本邦において、ELISA 法を用いた抗 PF4/ヘパリン抗体の検出が一般的に行われているが、その特異度の低さより、偽陽性率が大変高く、HIT の過剰診断が、本邦のみならず海外においても大きな臨床上的問題となっている。

今回我々は、この問題を解決すべく、より特異度にすぐれた機能的測定法 (functional assay)、すなわち患者血清中の抗 PF4/ヘパリン抗体が洗浄血小板を活性化しうるかどうかを判定する方法を確立すべく、その最適測定法を検討した。

結果として、活性化された血小板から放出される血小板由来 microparticle をフローサイトメトリーにて定量化する方法を開発した。HIT 抗体に感度を持った適切な健常人ドナーを選択し洗浄血小板を作成し、患者検体に含まれるトロンビンを不活化するなどの前処置を行い、陽性コントロール、弱陽性のコントロールを含んだクオリティーコントロールを行ったうえで、様々なヘパリン濃度下で産生される血小板由来 microparticle を測定することで、患者検体に含まれる HIT 抗体が検出可能であると考えられる。今後さらに検討を加え、その最適 cutoff 値などの詳細について検討し、最終的に感度、特異度に優れた HIT 抗体測定方法の確立を目指す。

A. 研究目的

ヘパリン起因性血小板減少症 (Immune heparin-induced thrombocytopenia: HIT) は、抗凝固薬ヘパリンが血栓塞栓症を誘発するという臨床的に逆説的な病態を呈するため、しばしば見逃され、過少診断される。適切な診断、治療を行わな

ければ、発症患者の約 50%が動静脈血栓塞栓症を来し、約 5%が死に至るとされる。抗凝固薬ヘパリン投与が、血小板第 4 因子(PF4)の構造変化を誘導し、新たな抗原性を提示する。それを認識する抗体 (抗 PF4/ヘパリン抗体) が産生され、その一部(HIT 抗体)は、血小板、単球、血管内皮を刺

激、活性化する能力を有するため、トロンビンの過剰産生を促し、血小板減少、血栓塞栓症を来すと推定される。2006年4月にヘパリンの添付文書が改訂され、その後、治療薬アルガトロバン（選択的抗トロンビン薬）が薬事承認され、本邦においても急速にその認知が進んでいる。

他の自己免疫疾患と異なり発症が早い、抗体が誘導される患者は多数存在するが発症はごく一部である、HIT抗体は一過性にのみ存在するなど、特異的な病態を呈し、発症のメカニズム、リスク因子など、未だ不明な部分が多い。したがって、現時点でHITを単独で診断できる、高い感度、特異度を持った診断方法がないために、しばしばその診断が混乱し、特に現在、世界的に過剰診断が問題となりつつある。HITはclinicopathologic syndromeであることを認識し、臨床的診断と血清学的診断を組み合わせ的確に診断することが必要である。また、現在普及しつつあるELISA法による抗PF4/ヘパリン抗体の測定は、感度が高くnegative predictive valueに優れるものの、特異度が低く、偽陽性となる割合が非常に高いため、抗PF4/heparin抗体の検出に過度に依存したHIT診断は、多くの過剰診断につながる。より特異度の高い診断方法の確立の重要性が世界的にも指摘されている。

今回我々は、この問題を解決すべく、より特異度にすぐれた機能的測定法（functional assay）、すなわち患者血清中の抗PF4/ヘパリン抗体が洗浄血小板を活性化しうるかどうかを判定する方法を確立すべく、その最適測定法を検討した。

B. 研究方法

研究の目的を説明し、同意を得た本研究の、研究者ならびに研究協力者から採血をおこない適切な洗浄血小板作成方法を検討した。

次に、HIT抗体の代わりに、トロンビンを洗浄血小板に添加することにより、血小板を活性化させ、血小板から放出されるmicroparticleを、フローサイトメトリーで定量化するための最適なゲーティング方法などの測定方法を検討した。

今後、国立循環器病研究センター倫理委員会の承認を得て実施しているヘパリン起因性血小板減少症の全国登録調査に登録された症例で、HIT

抗体測定依頼があった症例について詳細なHIT抗体検出条件ならびにcutoff値などの検討を行う予定である。

（倫理面への配慮）

本研究は、国立循環器病研究センター倫理委員会の承認を得て実施しているヘパリン起因性血小板減少症の全国登録調査に登録された症例について検討検討を実施する予定であり、データは匿名化された上で登録されることとなり、解析結果は、患者が特定される情報を含んでおらず、人権擁護上、患者に不利益、危険性を及ぼすことは考えられない。

C. 研究結果

健常人から作成した血小板富血漿（PRP）を、アピラーゼ（ADPスカベンジャー）を添加した、pH 6.2のCalcium & Albumin Free Tyrode's bufferで洗浄することで、血小板を活性化させることなく、測定に堪えうる洗浄血小板を作成できることが判明した。

上記作成した洗浄血小板をトロンビンを添加することで活性化させた。活性化された血小板から放出されるmicroparticleをFITCでラベルした抗GP Ib抗体で標識することで、Forward scatterとfluorescenceでプロットすることで、血小板とmicroparticleが分離され、microparticleが定量できる条件を最適化できた。

今後、上記条件で作成した健常人由来の洗浄血小板と、患者血清を混合し、様々な濃度でヘパリンを添加する実験系を用い、国立循環器病研究センター倫理委員会の承認を得て実施しているヘパリン起因性血小板減少症の全国登録調査に登録された症例で、HIT抗体測定依頼があった症例について詳細なHIT抗体検出条件ならびにcutoff値などの検討を行い、感度ならびに特異度に優れたHIT診断のための機能的測定方法（functional assay）の確立を目指す。

D. 考察

ヘパリン起因性血小板減少症（Immune heparin-induced thrombocytopenia: HIT）は、免疫学的機序により、ヘパリン投与が血小板減少を招き、しかしながら、出血ではなく血栓塞栓症（動静脈

いずれにも)を高率に合併する重篤な疾患である。抗凝固薬であるヘパリンが凝固薬に変貌するという臨床的に逆説的な病態は、理解されにくく、しばしば見逃される。一方、ヘパリンは手術周術期、感染症による敗血症、血栓塞栓症合併患者など、重篤な患者で用いられることが多いため、血小板減少を来すことは少なくないが、HITはそれら血小板減少のごく一部の原因に過ぎない。しかし、HITを臨床情報のみで診断することは困難であるため、しばしば、他の原因による血小板減少症をHITと過剰診断されることも、深刻な問題となっている。HITでは、ヘパリン投与によって誘導されたHIT抗体が、トロンビンの過剰産生を招き、過凝固状態を来し血栓塞栓症を合併する。このため、すべてのヘパリンを中止し、抗トロンビン剤の投与を開始することが、治療のfirst lineとなる。しかし、この治療の変更は、患者に大きな影響を及ぼしかねない。特に、HIT以外の原因(たとえば、バンコマイシンなど他の薬剤、敗血症によるDIC)による血小板減少症では、もともと出血傾向を有するために、HITと誤って抗トロンビン剤の投与を開始すると、頭蓋内出血など重篤な出血合併症を来しかねない。また、HIT疑い患者の急性期に人工心肺使用手術などヘパリンが必須となる治療を受ける際に、ヘパリン使用可能かどうかは、患者予後を大きく左右する問題となる。

したがって、本研究において、より特異度の高いHIT抗体の測定方法、すなわち患者血清中の抗PF4/ヘパリン抗体が洗浄血小板を活性化しうるかどうかを判定する機能的測定方法(functional assay)法を確立することは、HIT過剰診断を防ぐ有力な手段となり、ヘパリン投与患者における予後改善に大きく貢献することが期待できる。

E. 結論

本邦で、現在普及しつつあるELISA法による抗PF4/ヘパリン抗体の測定は、感度が高くnegative predictive valueに優れるものの、特異度が低く、偽陽性となる割合が非常に高いため、抗PF4/heparin抗体の検出に過度に依存したHIT診断は、多くの過剰診断につながることで問題となっている。この問題の解決のために、本研究で、高

い特異度を持ったHIT抗体の測定方法、すなわち患者血清中の抗PF4/ヘパリン抗体が洗浄血小板を活性化しうるかどうかを判定する機能的測定方法(functional assay)として、洗浄血小板から放出されるmicroparticleを定量化する方法を開発した。今後さらに検討を加え、最終的に感度、特異度に優れたHIT抗体測定方法の確立を目指す。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

K. Kokame, T. Sakata, Y. Kokubo, T. Miyata: von Willebrand factor-to-ADAMTS13 ratio increases with age in a Japanese population. *J Thromb Haemost*, 9(7), 1426-1428, 2011.

S. Kameda, T. Sakata, Y. Kokubo, M. Mitsuguro, A. Okamoto, M. Sano, T. Miyata: Association of platelet aggregation with lipid levels in the Japanese population: the Suita study. *J Atheroscler Thromb*, 18(7), 560-567, 2011.

K. Kokame, Y. Kokubo, T. Miyata: Polymorphisms and mutations of *ADAMTS13* in the Japanese population and estimation of the number of patients with Upshaw-Schulman syndrome. *J Thromb Haemost*, 9(8), 1654-1656, 2011.

学会発表

Kokame Koichi, Kokubo Yoshihiro, Miyata Toshiyuki, Estimation of the number of individuals with a congenital ADAMTS13 deficiency in Japan, XXIII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, Kyoto, July 23-28・2011

Toshiyuki Miyata, Thrombotic thrombocytopenic purpura and ADAMTS13, 3rd SIRIC-NCVC Joint Symposium, November 11, 2011, Seoul, Korea.

宮田敏行、小亀浩市、秋山正志、武田壮一、坂野

史明、ADAMTS13 研究の最先端、シンポジウム6
血栓止血学・血管生物学の最近の進歩、第73回
日本血液学会学術集会、2011年10月14-16日、
名古屋市

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究補助金
難治性疾患克服研究事業
分担研究報告書

ヘパリン起因性血小板減少症の診断方法に関する検討

研究分担者 村田 満 慶応義塾大学医学部 臨床検査医学 教授
研究協力者 森木 隆典

研究要旨

ヘパリン起因性血小板減少症 (HIT) は、ヘパリンの重大な副作用であり、血小板減少と血栓形成を特徴とする。免疫複合体により血小板が活性化され、さらに凝固亢進状態が引き起こされる。適切な治療を行わないと、四肢切断や死にいたる場合があり、早期診断、早期治療が患者の予後を大きく左右する。HIT の病因は PF4/ヘパリン複合体に対する抗体 (HIT 抗体) の産生であり、HIT 抗体の検出は HIT を確定診断していく上で有用な指標となる。HIT 抗体の測定方法としては、機能的測定法と免疫学的測定法の 2 法があるが、ここでは免疫学的測定法の改善を目標に、患者血中に見いだされる HIT 抗体のエピトープの詳細解析と、エピトープごとの抗体価の定量的測定法の確立を目指す。また HIT における血栓症の発症には個体差が見られるが、個体差を評価すべく血栓形成能の新規測定法の基礎的検討を行った。前者は今後の簡易測定キットなどの開発への応用が期待されることから、HIT の特異的かつ迅速な診断に貢献すると考えられる。

A. 研究目的

本研究の目的は診断感度を保ちながら、より特異度を向上させる HIT 診断基準についての案をまとめることである。特異度の高い HIT 抗体の測定方法を確立する上で患者血清中の HIT 抗体の詳細な解析は重要である。HIT 抗体は、ある程度長期にわたって血液中に安定的に存在すると予想されるため、その特異性が期待されるとともに ELISA などにより臨床実用的に測定することが可能である。また同様に抗体を有しても HIT を発症するには個体差があり、このメカニズムについての知見は蓄積されてはいるものの不明な点も少なくない。ここでは個体の血栓形成能を測定する新たな検査シス

テムについての基礎的検討を行う。

B. 研究方法

同意を得て血液サンプルを採取し、新規血栓形成能評価法である T-TAS (マイクロチップ型フローチャンバーシステム) を用いて血栓形成能を測定するとともに、従来行われてきた凝固能や血小板機能検査等と比較して T-TAS 測定値との関連を解析する。また HIT 抗体のエピトープ別の抗体価測定はファージディスプレイ法によりエピトープ解析を施行した上で行う。エピトープを決定したあと各エピトープに対応するペプチド等を用いた RIA 法を検討する。

(倫理面への配慮) 本研究はヒト由来試