

○ 臨床検査アップデート93 ○ Up date

# ヘパリン起因性血小板減少症の診断・治療を変える 新規臨床検査

A novel clinical test that changes the management of  
heparin-induced thrombocytopenia

やす もと あつ し  
安本 篤史  
Atsushi YASUMOTO

## はじめに

ヘパリンは血栓症の予防や治療、回路や動静脈ラインの閉塞予防など、その扱いやすさと安価なことから広く用いられる抗凝固薬である。ヘパリン投与中は過剰投与による出血合併症に注意し、ヘパリン投与中にも関わらず血栓症が発症または増悪した際はヘパリンの過少投与を疑う。しかし、奇異な部位（脳静脈血栓症や内臓静脈血栓症など）での血栓症や血小板減少を伴う場合、ヘパリン起因性血小板減少症 (heparin-induced thrombocytopenia: HIT) を疑って適切な対応をしないと、高率に血栓症を増悪させ、致死率も高い。HIT の診断のために必須となる血清学的検査にはいくつかの問題があるため、より有用な検査法が求められている。2023 年 5 月 1 日に、新規臨床検査としてイムノクロマト試薬を用

いた HIT-IgG 抗体検出法が保険収載された。本稿では HIT の診断とその問題点を整理し、イムノクロマト法と従来法との相違点について概説していく。

## I. HITの病態と診断

### 1. HIT の病態

HIT の病態の概略を図 1 に示す。陽性荷電を帯びたヘパリンが投与されると、陰性荷電の血小板第 4 因子 (platelet factor 4: PF4) と結合し、複合体を形成する。ヘパリンと PF4 が一定の濃度で混ざり合うと PF4 が構造変化を起こして開裂し、抗原決定基が露出する。ヘパリン/PF4 複合体は B 細胞によって認識されて、ヘパリン/PF4 複合体抗体が産生され、HIT 抗体と呼ばれている<sup>1)</sup>。ヘパリン/PF4 複合体と HIT 抗体の免疫複合体は、血小板膜上 FcγRIIA

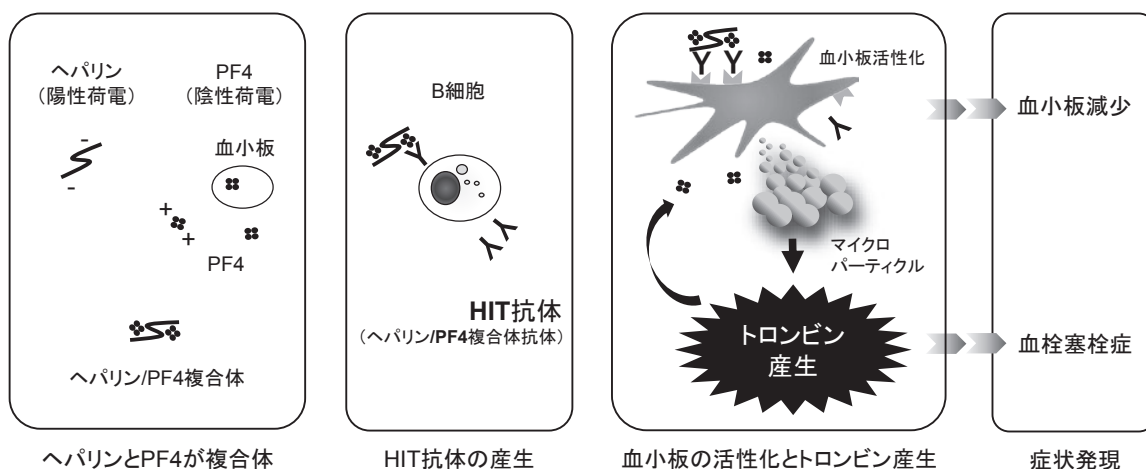


図 1 HIT の病態

HIT, ヘパリン起因性血小板減少症; PF4, 血小板第 4 因子

に結合して血小板を活性化し、消費性に血小板減少を引き起こす。また、活性化血小板からは血小板由来マイクロパーティクルの放出を促し、トロンビンが過剰に産生され、その結果、血栓塞栓症を引き起こす<sup>2)</sup>。

## 2. HIT の診断

HIT の診断は HIT を疑うことから始まる。HIT を疑ったら臨床的に HIT らしいかを評価し、続いて免疫学的測定を用いて HIT 抗体の有無を評価する。HIT 抗体が検出されれば、HIT 抗体が血小板活性化能を有しているかを検査して確定診断へと至る(図 2)。

### 1) 臨床的診断

HIT スクリーニングでは血小板数をフォローする

ことが推奨されており、ヘパリンを投与する前に基本となる血小板数を測定し、経時的変化をフォローする。HIT の可能性があれば、4Ts スコアを用いて HIT らしさをスコアリングする(表 1)<sup>3)</sup>。3 点以下であれば HIT は否定的であるため除外して他の鑑別を考える。一方、4 点以上の場合、HIT の可能性があるので、HIT 抗体検査を行っていく。

### 2) 免疫学的測定法

免疫学的測定法とは保険収載されている抗ヘパリン/PF4 複合体検査(HIT 抗体検査)であり、HIT 抗体の有無を測定する定性検査である。表 2 に示すようにラテックス凝集免疫比濁法(latex agglutination turbidimetric immunoassay: LIA)と化学発光免疫測定法(chemiluminescent immunoassay: CLIA)、酵素免疫測定法(enzyme-linked immuno-

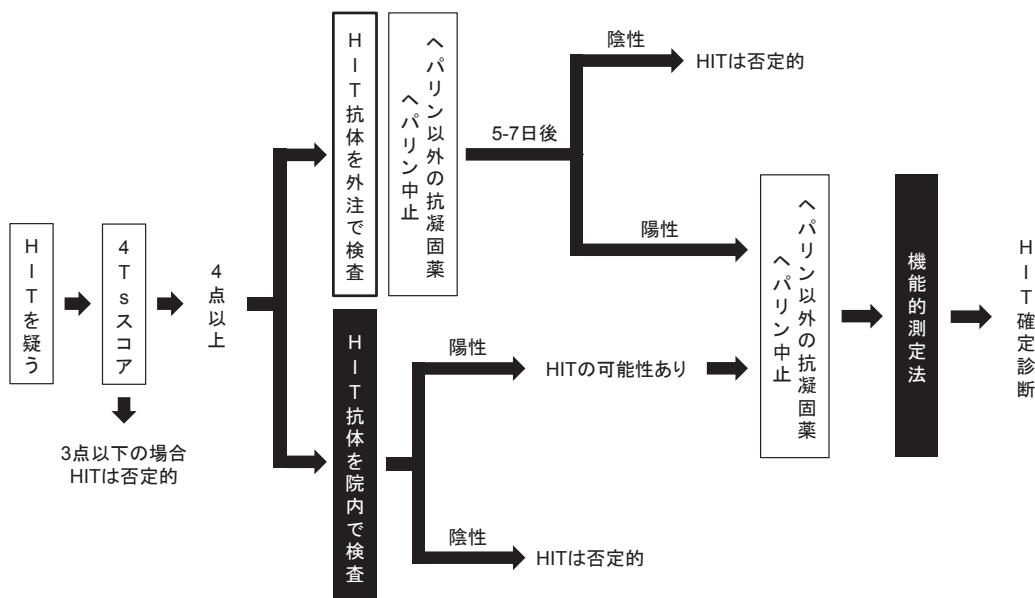


図 2 HIT の診断・治療アプローチ

表 1 4Ts スコア

	2点	1点	0点
血小板減少	50%以上の低下 $20 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 以上	30-50%の低下 $10-19 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 以上	30%未満の低下 $10 \times 10^3 / \mu\text{L}$ 未満
血小板減少の時期	投与後5-10日の明確な発症。もしくは過去30日以内のヘパリン投与歴がある場合の1日以内の血小板減少	投与後5-10日の血小板低下だが明確でない(例えば血小板数不明)。または過去31日から100日以内にヘパリンの投与歴がある場合の1日以内の血小板低下もしくは10日以降の血小板減少	最近のヘパリン投与歴がなく4日以内の血小板減少
血栓症や続発症	新たな血栓症の発症。皮膚壊死。ヘパリン急速投与時の急性全身反応	血栓症の進行や再発。ヘパリン投与部位の皮膚発赤。血栓症の疑い。無症候性上肢深部静脈血栓症	なし
血小板減少の他の原因	HIT以外の明らかな原因がない	他に疑わしい原因がある	明確な原因が他にある

0日=ヘパリン投与初日。血小板低下が始まった日を血小板減少発症日と考える。

(文献3より転載)

表 2 HIT 抗体の免疫学的測定法

測定法	測定 アイソザイム	本邦での 測定	保険収載	試料	測定時間	測定感度	特徴
ラテックス凝集免疫比濁法 (LIA)	IgG/IgA/IgM	○	○	血漿	30分	>95%	自動分析装置で測定可能
化学発光免疫測定法 (CLIA)	IgG/IgA/IgM	×	○	血漿/血清	30分	>95%	自動分析装置で測定可能 IgGは特異度が高い
	IgG	○	○	血漿			
酵素免疫測定法 (ELISA)	IgG/IgA/IgM	×	×	血漿/血清	3-4時間	>99%	海外、国内の研究室での実施実績 はあり、海外では標準的検査法で ある。国内では研究として測定は 可能である
	IgG	△	×	血漿/血清			
イムノクロマト法 (ICA)	IgG	○	○	血漿/血清	15分	データ なし	2023年5月1日に保険収載されたが 実臨床データに乏しい

sorbent assay: ELISA)、イムノクロマト法 (immunochromatography assay: ICA) がある (表 2)。いずれの免疫学的測定法も簡便で迅速に行うことができ、感度が高いため陰性の場合、99%の確率で HIT を否定できるが、特異度が低いため陽性であっても HIT と確定することはできない。そのため HIT 抗体が陽性の場合、確定診断のためには機能的測定法を行う必要がある (図 2)。

### 3) 機能的測定法

機能的測定法は患者検体中に含まれている HIT 抗体に、血小板活性化能があるかどうかを測定する方法である。その測定原理を図 3 に示す。機能的測定法で準備するものは、HIT 抗体への感受性が高い健常者ドナーの洗浄血小板と、患者血清または血漿とヘパリンである。まず初めに、患者血清または血漿に含まれているトロンビンが血小板を活性化させてしまうことがあるため、56℃ 30 分で熱処理することでトロンビンを完全に失活させる。熱処理後の患者検体と洗浄血小板を混合し、そこにヘパリン

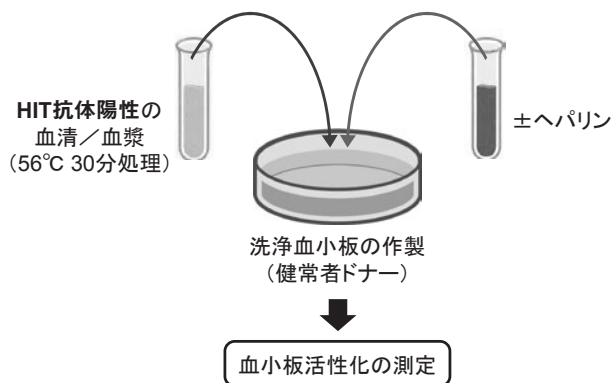


図 3 機能的測定法の測定原理

健常者から採血後、洗浄血小板を作製し、そこに熱処理した HIT 抗体含有の血清または血漿を添加する。ヘパリンによる刺激により血小板が活性化するかどうかを測定する。

を添加することで血小板が活性化するかどうかを評価する<sup>4)</sup>。活性化血小板の測定方法は、セロトニンを測定するセロトニン放出試験がゴールドスタンダードと言われているが<sup>5)</sup>、測定機関で習熟された方法でも良い。例えば、血小板凝集能を測定する方法やフローサイトメトリーで測定する方法などが行われている。

## II. HITの診断における問題点と対策

### 1. 非典型的 HIT の診断には 4Ts スコアの感度が低い

ヘパリンが投与されている場合は HIT を疑いやすいが、ヘパリン以外が原因で発症する非典型的な HIT については見逃されている可能性がある。図 1 で示したように、陽性荷電を帯びたヘパリンと PF4 が結合することで HIT 抗体が誘導されているが、PF4 はヘパリン以外の陽性荷電を帯びた物質と結合して、HIT 抗体に類似した抗体を誘導することが知られている。重症外傷時や手術時に放出される DNA や RNA、細菌感染時の細胞壁成分、ワクチン接種後のワクチン成分 (COVID-19 に対するアデノウイルスベクターワクチンなど) であり、それらが原因の場合、4Ts スコアでは評価できず、直接 HIT 抗体検査を行う。原因不明の血小板減少や奇異な部位の血栓症を認めた際は、これらの非典型的 HIT を疑い、HIT 抗体検査を行うべきであるが、ワクチン接種後については ELISA 以外の方法では偽陰性になることが知られているため、ELISA を用いた検査が必要である<sup>6)</sup>。ただし、ELISA は本邦では保険収載されておらず、臨床研究で測定している北海道

大学にご相談いただきたい。

## 2. 免疫学的測定法は偽陽性が多い

HIT 抗体検査で偽陽性になる理由はいくつかある。一つ目は、HIT 抗体はヘパリン投与後だけでなく、外傷や感染時にも産生されるため約 5-7% の健常者からも検出される<sup>7)</sup>。そのような HIT 抗体には血小板活性化能がなく、結果として血小板減少やそれに引き続く血栓塞栓症を起ささない。二つ目は、HIT 抗体はヘパリン投与 5-10 日後に IgG、IgA、IgM が同時に急速に産生されるが、IgG のみが血小板活性化に参与しており、IgA や IgM 抗体は HIT の病態には参与していないため、HIT-IgG 抗体のみを検出することが重要である<sup>8)</sup>。LIA は IgG/IgA/IgM を同時に測りこむため特異度が低く、特異的 IgG を検出する CLIA-IgG や ELISA-IgG が優れており、新規検査である ICA も IgG を特異的に検出するため、その有用性が期待されている。

ただし、この免疫学的測定法では特異度 100% に近づけるのは難しく、確実な診断のためには機能的測定法を行うことが推奨される。HIT 抗体のサンプルには血漿、血清どちらでも可能で、用いる血小板は健常者から採取する。患者血小板はすでに生体内で過剰に活性化されているため検査に用いることは難しく、また HIT であれば血小板減少も起きているため採血量が多くなる。健常者の血小板採取で特に注意しなければいけないことは、HIT 抗体への感受性である。詳しくは不明な点も多いが、HIT 抗体への感受性が低い血小板を用いて機能的測定法を行うと偽陰性になってしまうため、事前に感受性を調べておく必要がある。その点も含めて、機能的測定法は高い精度管理が必要であり、実施施設が限られている<sup>4)</sup>。

## 3. HIT 抗体検査は多くの施設では院内で測定されていない

LIA や CLIA は自動分析装置で測定が可能であることから、各施設で測定可能でおよそ 30 分で結果が得られるが、実際に測定している施設は少ない。ヘパリンを使用する施設は多い一方で、HIT 発症自体が少ないことから、単施設のみで運用するには経済的な損失が大きく、外注になることが多い。図 2 で示すように HIT 抗体検査を外注で検査する場合、

検査結果が得られるまでの 5-7 日の間、血栓塞栓症の発症を抑制するためにヘパリンを中止して、ヘパリン以外の抗凝固薬を投与することが推奨されている。これは、ヘパリン中止だけではトロンビン活性を抑制できず、1 日あたり約 6% の割合で血栓塞栓症が発症してしまうという報告に基づいている<sup>9)</sup>。もし HIT 抗体検査が陰性であれば、ヘパリン以外の抗凝固薬を再び中止としてヘパリンに戻すが、患者および家族への説明、薬剤変更など多くの労力を割くことになる。HIT 抗体検査が院内で測定できれば、結果をみてからヘパリンの継続や中止を考慮しても遅くないため、一時的に薬剤を変更する必要はなくなる。ICA は特別な機器を必要とせず、15 分で結果が出るため、その有用性は高い。

## III. HIT 抗体の新規臨床検査・イムノクロマト法

### 1. 測定原理

免疫クロマトグラフィーを原理としている。HIT-IgG 抗体を含む患者検体を、図 4 に示す添加部に滴下すると、金コロイド感作抗ヒト IgG 抗体と免疫複合体を形成して、毛細管現象によりメンブレン上を移動し、メンブレン上のリコンビナント PF4/ヘパリン複合体と結合、判定ライン上に赤いラインが検出される。コントロールとして検体滴下部には金コロイド感作ニワトリ IgY 抗体が含まれており、コ

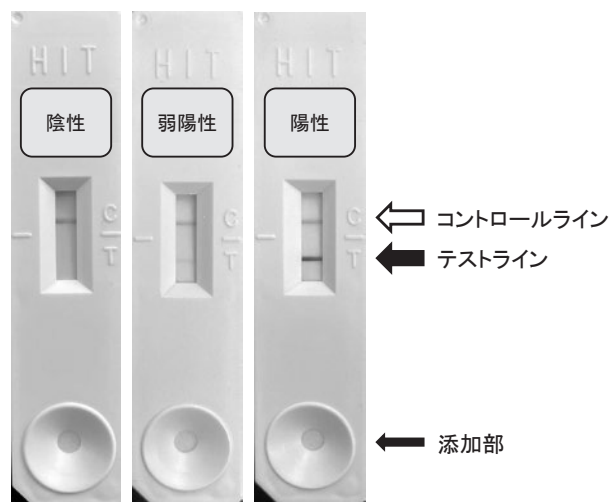


図 4 イムノクロマト法

専用の検体希釈液で希釈された患者検体を添加部に滴下 15 分後にテストラインに赤いバンドが出現するかどうかで判定する。陰性、弱陽性、陽性例を提示する。

(図 4 は巻末にカラーで掲載しています)



ントロールライン上の抗ニワトリ IgY 抗体と反応し、コントロールライン上に赤いラインが検出される。実際には患者血清または血漿 10  $\mu$ L を専用の検体希釈液 2 mL と混合し、混合液 100  $\mu$ L を添加部に滴下し 15 分後に目視で判定する。陰性 (図 4 左) ではコントロールラインでのみ赤いバンドを認め、弱陽性 (図 4 中) ではわずかに赤いバンドを認め、陽性 (図 4 右) ではコントロールラインとテストラインとで明瞭に赤いバンドを認める。

## 2. 結果の判定

目視判定でテストラインに赤いバンドを認めなければ陰性と判定する。

## 3. 実臨床での利用

ICA は本邦で開発され、2023 年 5 月 1 日に保険収載された新規検査法である。これまで実臨床検体を用いた大規模な臨床研究が行われていないため、エビデンスはまだ十分ではないが、既存の試薬 (LIA、CLIA-IgG) との非劣性は示されている。現在、機能的測定法と合わせた前向き臨床研究が進行中であり、その結果が待たれる。

この検査法は特別な機器を用いず目視で判定できるため、ヘパリンを用いる透析クリニックのような小規模な病院から大学病院まで、幅広く用いることができる。検体処理のための遠心分離機と 10  $\mu$ L と 100  $\mu$ L を量り取るピペットは必要であるが、それがあればどこでも 15 分で検査が可能である。その迅速性から、一時的にヘパリンを中止することなく HIT の判定ができる点は大きい。

## おわりに

HIT 抗体検査は感度が高く除外診断に優れた検査である。HIT らしい患者に対して確定診断として行

うよりも、少しでも HIT を疑えば積極的に測定を行い除外していくことこそ、検査の性能が十分に発揮される。イムノクロマト法は簡便にどの施設でも行うことができる検査であり、従来の検査法と比べて遜色ない性能である。この HIT 抗体検査により一人でも多く HIT の見逃しを回避できれば幸いである。

## 文 献

- 1) Zheng Y, Yu M, Podd A, et al. Critical role for mouse marginal zone B cells in PF4/heparin antibody production. *Blood* 2013; **121** (17): 3484-3492.
- 2) Arepally GM, Mayer IM. Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia stimulate monocytic cells to express tissue factor and secrete interleukin-8. *Blood* 2001; **98** (4): 1252-1254.
- 3) 矢富裕, 家子正裕, 伊藤隆史, 他. ヘパリン起因性血小板減少症の診断・治療ガイドライン. *血栓止血誌*. 2021; **32** (6): 737-782.
- 4) Tardy B, Lecompte T, Mullier F, et al. Detection of platelet-activating antibodies associated with heparin-induced thrombocytopenia. *J Clin Med* 2020; **9** (4): 1226.
- 5) Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med* 1995; **332** (20): 1330-1335.
- 6) Platten S, Bartlett A, MacCallum P, et al. Evaluation of laboratory assays for anti-Platelet Factor 4 antibodies after ChAdOx1 nCoV-19 vaccination. *J Thromb Haemost* 2021; **19** (8): 2007-2013.
- 7) Rzymiski P, Perek B, Flisiak R. Thrombotic Thrombocytopenia after COVID-19 Vaccination: In Search of the Underlying Mechanism. *Vaccines* 2021; **9** (6): 559.
- 8) Sun L, Gimotty PA, Lakshmanan S, et al. Diagnostic accuracy of rapid immunoassays for heparin-induced thrombocytopenia. A systematic review and meta-analysis. *Thromb Haemost* 2016; **115** (5): 1044-1055.
- 9) Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med* 1996; **101** (5): 502-507.

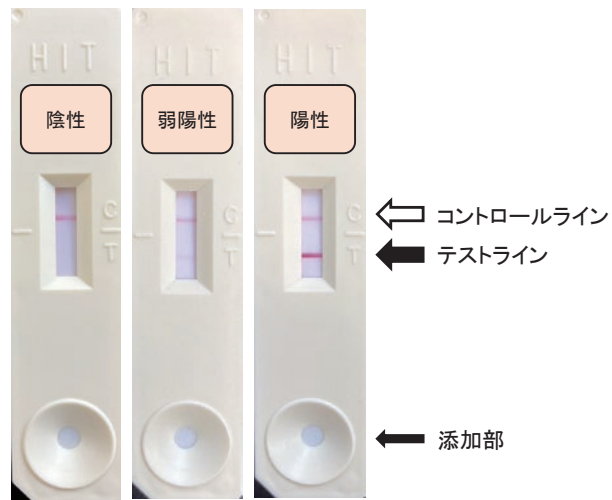


図4 イムノクロマト法

専用の検体希釈液で希釈された患者検体を添加部に滴下15分後にテストラインに赤いバンドが出現するかどうかで判定する。陰性、弱陽性、陽性例を提示する。