◆ 総 説 ◆

ヘパリン起因性血小板減少症における血小板第 4 因子(PF4)/ポリアニオンを用いた抗 PF4/ヘパリン複合体抗体測定 of 臨床的意義

松尾 武文*

Implication of enzyme immunoassays using platelet factor 4 (PF4) / polyanion complexes as antigen for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia

Takefumi MATSUO*

Key words: heparin-induced thrombocytopenia, ELISA, PF4/polyanion complexes, optical density, overdiagnosis

1. はじめに

ヘパリン起因性血小板減少症 (HIT) は、免疫機序を介して起こるヘパリンの重篤な副作用である。血小板第 4 因子 (PF4)/ヘパリン複合体を抗原として産生される抗体 (以下 HIT 抗体と略) が、HIT の病因として考えられている。しかし、ヘパリン使用により HIT 抗体が産生された患者のごく少数例が HIT を発症する。日常的に用いられている HIT 抗体の検出法として、HIT 抗体の存在の有無を知る酵素免疫測定法 (ELISA) がある。ELISA では非病因性の HIT 抗体を含めて検出する欠点があるので、病因性をもつ HIT 抗体 (血小板活性化 IgG 因子) の検出に特化した方法である ^{14}C セロトニン放出試験が確認診断に用いられている。血小板活性化 IgG 因子を直接検出する ^{14}C セロトニン放出試験は、HIT 診断の gold standard であるが本邦で実施できない。この点をふまえて、4T's スコアリングを用いた臨床評価と ELISA による血清学的診断の併用による臨床診断が行われている¹⁾。本邦で用いられている HIT 抗体測定用の ELISA キットは、基質として PF4/ヘパリン (またはポリアニオン) が用いられており、二次抗体の標識抗体としてアルカリホスファターゼ (ペルオキシダーゼ) 標識ヤ

ギ抗ヒト IgG/A/M 抗体が使用されている。また、標識抗体に抗ヒト IgG 抗体を用いて HIT-IgG 抗体を測定できる ELISA も開発されている。

今回、発色系の標識物として化学発光物質を用いた化学発光免疫測定法 (ヒモスアイエルアキュスター HIT-Ab_(PF4-H) とヒモスアイエルアキュスター HIT-IgG_(PF4-H)) と、ラテックス粒子凝集の濁度をみるラテックス免疫比濁法 (ヒモスアイエル HIT-Ab_(PF4-H) の 3 種 (以下総称して IL-HIT と略) の検査試薬が中医協の議をへて平成 24 年 9 月 1 日付で保険適応が承認された。その特徴は、24 時間検査依頼の即時対応可能であること、測定時間が 30 分以内であること、の 2 点であるが、測定には専用の大型自動分析装置が必要となる。しかし、IL-HIT に関する公表論文は PubMed で 3 編^{2)・4)} と国際血拴止血学会 (ISTH) の発表抄録 1 篇を含めて僅か 4 篇が検索できたのみであり、いずれも現在市販の HIT 抗体検査薬との比較試験で、IL-HIT の診断的特性に言及した論文はなかった。

IL-HIT に用いられている抗原は、PF4/ヘパリン複合体ではなく米国 GTI 製の HIT 抗体測定試薬 (PF4 Enhanced[®] と PF4 IgGTM) に使用されている PF4/ポリアニオン複合体である。使用されているポリアニオンはヘパリンと類似の硫酸残基

*兵庫県立淡路病院 [〒 656-0013 洲本市下加茂 1-6-6]

Hyogo Prefectural Awaji Hospital [1-6-6, Shimogamo, Sumoto 656-0013, Japan]

Tel: 0799-22-1200 e-mail: tak-matsuo@deluxe.ocn.ne.jp

受付日: 2012 年 11 月 5 日, 受理日: 2013 年 6 月 2 日

表1 GTI-ELISAの吸光度(OD)と¹⁴Cセロトニン放出試験(SRA)の関係*

GTI-ELISA (OD)	<0.4	0.4-1.0	1.0-1.5	1.5-2.0	>2.0
SRA 陽性確率 (%)	0	5	25	50	90
SRA 陰性確率 (%)	100	95	75	50	10
血栓合併確率 (%)	—	15	20	30	50

*文献7)の図の数値データを表1に引用

を並列的にもち、その負荷電によりPF4と結合し、PF4の構造変化により新生抗原基が発現する。ヒモスアイエルアキュサターHIT-Ab_(PF4-H)とヒモスアイエル HIT-Ab_(PF4-H)の特性は、同一抗原を使用しているGTIのPF4 Enhanced[®](GTI-ELISAと略)⁵⁾に相当し、ヒモスアイエルアキュサターHIT-IgG_(PF4-H)はGTIのPF4 IgGTMと同じ特性をもつことになる。従って、1994年以降の両試薬のエビデンスを理解することによって、IL-HITの特徴を知ることができる。

2. PF4/ポリアニオンをもつGTI-ELISAの定量的評価

GTI-ELISAの感度はよいが、特異度は劣る。この欠点を除外するために吸光度(OD)の直接読み取り値を評価する方法が用いられている。ODの読み取り値が増加するとHITの可能性が高くなることが知られるようになった⁶⁾。さらにODの読み取り値を<0.4, 0.4-1.0, 1.0-1.5, 1.5-2.0, >2.0の5段階に分類すると、0.4-1.0の範囲の読み取り値では、HITの確認テストである¹⁴Cセロトニン放出試験の陽性率は5%以下と極めて低い。この範囲に得られたOD値は陽性であっても偽陽性率が高いので、HIT診断に対するエビデンスとはならない。OD値が1.5-2.0の範囲では¹⁴Cセロトニン放出試験の陽性確率は約50%、そしてOD値2.0以上であれば約90%の確率で¹⁴Cセロトニン放出試験が陽性と予測できる。すなわち、¹⁴Cセロトニン放出試験によって検出されるHITの病因である血小板活性化IgG因子は、GTI-ELISAのOD値からある程度推定することができる。たとえば、ODが1.0-1.5の範囲を示すHIT疑い症例でも、¹⁴Cセロトニン放出試験の陽性率が50%に及ばないことから、OD値をもって直ちにHITを推定することは難しい。

GTI-ELISAのOD値から、HITの病因となるHIT抗体と非病因性のHIT抗体を完全に識別できない。しかし、臨床サイドに有用な情報を与える点からも、ELISAの結果を単に陽性と陰性の二者択一方式ではなく読み取り値(OD)で報告することが求められている。そして、ELISA陽性で¹⁴Cセロトニン放出試験陰性の確率はODの上昇と共に低下しており、偽陽性の割合も低下するので非HITをHITとして見誤るリスクは減少する⁷⁾(表1)。しかし、IL-HIT(ラテックス免疫比濁法)の測定結果は任意単位(U/mL)で表記されているが、現在のところその表記単位の定量的意義についてのエビデンスはまったくないので、陽性と陰性の択一的判定にたよらざるをえない点は改善を要する。

市販のELISAには企業標準品として陽性と陰性のコントロールが添付されており、それを用いたカットオフ値が設定されている。HIT抗体の定量化測定のための標準品として、マウスをヒトPF4/ヘパリン複合体で感作して得られた抗ヒトPF4/ヘパリン複合体マウスモノクローナルIgG抗体がある。このモノクローナル抗体を標準品として、ELISAに導入することにより、HIT-IgG抗体を重量単位として測定することができる。定性から定量化への第一歩といえる方法も開発されている⁸⁾。

3. PF4/ポリアニオンを抗原とするELISAの過剰診断の実態

HITの病因はヘパリンにより誘導される血小板活性化IgG因子の出現によるが、ELISAでは非病因性のHIT抗体も併せて測定されるので、過剰診断が起こる。本邦においても過剰診断の問題は注目されており、全国の心臓血管外科症例を対象にした1,429名のコホート研究でも、PF4/

ヘパリンを使用した ELISA による陽性率は、術後 7 日目で約 20%，14 日目では実に約 40% に認められている。この内に臨床的 HIT は 32 名で、 ^{14}C セロトニン放出試験で陽性の HIT 確認例は僅か 2 名である⁹⁾。このように高感度 ELISA 陽性の結果のみで HIT を診断すれば、膨大な過剰診断患者群を医原性に作ることになる。例えば ELISA 陽性であっても、 ^{14}C セロトニン放出試験が陰性であれば、HIT が血小板減少の一義的な原因にはならない¹⁰⁾。

HIT の臨床診断基準として、ヘパリンと関連する血小板減少 ($>50\%$)、その減少のタイミング (5~10 日)、血小板減少に HIT 以外の原因はないと定義されている。しかし、HIT 以外の減少の原因疾患として、72 時間以内の術後状態、敗血症などの感染症、20 日以内の化学療法や放射線療法、HIT と関連しない DIC、薬剤による免疫性血小板減少など様々がある。臨床現場での非 HIT 由来の血小板減少の除外作業が困難である点も HIT の過剰診断の原因となり、HIT と考え不要で無意味な検査や治療を招くことになる。特に外科系 ICU では複数の原因で血小板減少が合併し、また重症な患者ほど血小板減少が発症するので、血小板減少の原因を、HIT として見誤ると当然偽陽性率が高くなる。104 名の ICU 入室者のうち ELISA 陽性であるが、 ^{14}C セロトニン放出試験の陰性が 84 名 (81%) と高率に認められている¹¹⁾。また、血小板数が $15 \times 10^3/\mu\text{L}$ 以下もしくはヘパリン使用前値より 50% 以下で PF4/ヘパリンを用いた ELISA で陽性例を 'HIT 疑い' と定義し、OD と血栓合併の関係をみると、OD が 3.0 以上上昇にすると、血栓合併率は 48% にも達する点をふまえて、OD の読み取り値を評価することが求められる。ELISA の OD の絶対値を知ることが、血小板活性化 IgG 因子の存在が予測できるとされている¹²⁾。同様に、HIT 疑い例の観察で、OD が 1.27 以上になると、30 日以内に血栓非合併 HIT 例からの血栓合併率が倍増するとの報告がある¹³⁾。

それにもかかわらず、過剰診断が発生するのは血小板減少が 30% 未満にもかかわらず HIT の検査を依頼することに始まる。続いて、ELISA の結果が単に陽性との理由で HIT と診断し、ヘパ

図1 ELISA 陽性の結果により長期にわたり HIT としての治療、後日の ^{14}C セロトニン放出試験で陰性と判明。LMWH (低分子ヘパリン)、NM (メシル酸ナファモスタット)、ARG (アルガトロバン)

リンを中止しアルガトロバンの治療を開始することにある。図1は、血小板減少が 30% 未満であるが、ELISA 陽性との報告で HIT として治療された例である。OD 値は 0.55 (カットオフ 0.4) で陽性と判定されている。OD の定量的評価法を適応すると、OD 値が 0.4-1.0 の範囲に属するので、 ^{14}C セロトニン放出試験陽性の確率は 5% 位と低いので、HIT の診断はほぼ否定的である (表1)。本例は、後日実施した ^{14}C セロトニン放出試験で陰性と判明し、ELISA 陽性は非病因性の HIT 抗体よると結論された。単なる ELISA 陽性例でも HIT として治療されると、ヘパリンの中止とアルガトロバンの使用によるコストの増大、現場での医療や看護の複雑性が増すなどの損失につながることになる。

そのため、ヘパリン使用が必須の透析において、ELISA の定性結果を組み入れたれた HIT 診断アルゴリズムが開発されている。臨床症状としての血小板数減少数 ($\leq 15 \times 10^3/\mu\text{L}$)、減少率 ($\geq 30\%$)、減少の出現のタイミング (7~30 日)、透析回路内凝血の発生と ELISA 陽性の 4 項目を組み合わせることで、 ^{14}C セロトニン放出試験の陽性率が 92.3% に上昇している。このように、臨床症状と ELISA の定性結果を組み合わせることにより透析 HIT の診断精度が向上し、過剰診断の回避案も提案されている¹⁴⁾。

4. HIT-IgG 抗体測定に特化した ELISA の有用性

HIT-IgG 分画には直接 HIT の病因となる血小

血小板活性化 IgG 因子が含まれているので、ELISA の特異度を向上する目的で HIT-IgG に特化した測定が行われている。HIT-IgG-ELISA は、HIT-IgA 抗体、HIT-IgM 抗体を含まないため感度はよく、特異度は OD が 1.0 以上では HIT-IgG/A/M 抗体測定よりよくなる。そして、HIT-IgG 測定の診断特異性は ^{14}C セロトニン放出試験 (SRA) の次に高く、 $\text{SRA} > \text{HIT-IgG} > \text{HIT-IgG/A/M} > \text{HIT-IgM} > \text{HIT-IgA}$ 測定の順に低くなっている。このため HIT-IgG の測定は、IgA、IgM を計り込む IgG/A/M 抗体測定法よりも特異度はよく、HIT 診断により有用とされている¹⁵⁾。

また、HIT の臨床評価によく用いられている 4T's スコア法では、血小板減少が $>50\%$ で最低値が $2 \text{ 万}/\mu\text{L}$ 以上 (2 点)、血小板減少のタイミングがヘパリン投与開始後 5~10 日目、もしくは過去 30 日以内にヘパリンの投与歴がある場合の 1 日以内の発症 (2 点)、血栓の新生 (2 点)、他に原因のない血小板減少 (2 点) の 4 項目の合計点で、4 点以上の得点で HIT の確率が高い。ヘパリン以外に血小板減少の原因があるなどで、3 点以下の得点では HIT が鑑別診断から除外できるとされている。そして、4T's スコアが 4 点以上であれば、HIT-IgG の OD の上昇と並行して HIT である確率が高くなることから、両者を併用することで HIT 診断の確率は高くなる¹⁶⁾。しかし、HIT-IgG/A/M 法と比較した 5 編の論文のメタアナリシスでは HIT-IgG 法のほうが偽陽性率は少ないにもかかわらず、まず感度のよい HIT-IgG/A/M の測定がスクリーニングテストとして勧められている¹⁷⁾。

また、GTI-ELISA で吸光度が >1.0 と高値を認め、HIT-IgG が有意の増加を認めたにもかかわらず、 ^{14}C セロトニン放出試験は陰性のため血小板活性化 IgG 因子を証明することができなかった HIT 疑い透析例を示す (図 2)。本例はヘパリンの抗凝固作用の不足と体外循環回路による血小板活性化があいまって、血小板減少と回路内凝血を招いたと推定された。本例のように ELISA で HIT 抗体が陽性 ($\text{OD} > 1.0$) であっても、血小板活性化 IgG 因子の存在を証明できなければ非 HIT に分類され、HIT の過剰診断例として取

図 2 ヘパリンに起因すると思われる血小板減少と GTI-ELISA 陽性を根拠に HIT と診断治療、メシル酸ナフエモスタット (NM) で改善するも ELISA 陽性が持続し、後日に実施した複数回の ^{14}C セロトニン放出試験が陰性のため最終的に非 HIT 例と判明

り扱われる。そして、本症例のように ELISA で HIT-IgG 抗体が検出されても、すべての例が HIT を発症する病因性 IgG を含んでいるとはかぎらない。また、ELISA 陽性で ^{14}C セロトニン放出試験の陰性例からの HIT の発症はないことも、非 HIT として取り扱われる理由となっている¹⁰⁾。

しかし、HIT-IgG/A/M 測定に含まれる IgA 抗体、IgM 抗体の病因性については古くから議論がある。HIT-IgG 分画を欠く HIT-IgA と HIT-IgM 両者または単独陽性例での HIT 発症が 12 例の報告されている¹⁸⁾。しかし、HIT-IgA と IgM 抗体は PF4/ヘパリン複合体とは結合するが、血小板の $\text{Fc}\gamma\text{RIIA}$ 受容体とは結合能はなく、HIT 特有の血小板減少やトロンビン生成は起こらないため、その病因性については疑問視されている¹⁹⁾。755 例の HIT 抗体検査で、IgA、IgM のみの HIT 抗体形成が 10 例にみられ、9 例は敗血症、肺炎、悪性腫瘍、肝硬変で、血小板減少の原因が HIT ではなく基礎疾患由来と推測されている。現時点で、IgA 抗体、IgM 抗体で HIT が起こらないとするエビデンスはないが、IgA と IgM 抗体を測りこむことによって、かえって偽陽性率が上昇し過剰診断を招くとのジレンマもある²⁰⁾。

HIT-IgG 抗体の測定は HIT 診断に対して合理的なアプローチ方法ではある。また、HIT-IgG ELISA の特異度の改善により、HIT-IgG が高値であれば、臨床症状と ^{14}C セロトニン放出試験の

表2 HITの除外診断を目的とした迅速性酵素免疫測定検査

商品名 [®]	測定方法	使用抗原	測定時間	文献
		検出抗体		
ID-H/PF4-PaGIA	ゲル粒子免疫測定	PF4/ヘパリン IgG 抗体	15 分	24, 25
Technozym HIT IgG ELISA	酵素免疫測定法	PF4/ポリアニオン IgG 抗体	70 分	26
Milenia	イムノクロマト法	PF4/ポリアニオン IgG 抗体	10 分	27
ヒーモスアイエル HIT-Ab _(PF4-H) [*]	ラテックス免疫比濁法	PF4/ポリアニオン IgG/A/M 抗体	15 分	3
ヒーモスアイエル アキュスターHIT-Ab _(PF4-H) [*]	化学発光免疫測定法	PF4/ポリアニオン IgG/A/M 抗体	30 分	2, 4
ヒーモスアイエル アキュスターHIT-IgG _(PF4-H) [*]	化学発光免疫測定法	PF4/ポリアニオン IgG 抗体	30 分	

*保険収載品目

結果をよりよく反映することも示されているが、HIT-IgG 測定の臨床現場での利用にはさらなるエビデンスの集積が必要である²¹⁾。今後のより鋭敏に血小板活性化 IgG 因子の存在を反映できる HIT-IgG ELISA の開発に期待したい。

5. HIT 抗体測定の簡便化と迅速化の意義

HIT 抗体の迅速測定を目的として開発された製品は現在 6 種がある (表 2)。その内 5 種が GTI 社の PF4/ポリアニオン複合体を抗原として使用している。PF4/ポリアニオン複合体と HIT 抗体の反応は急速で、約 10 分後には固相担体、すなわちウエル、磁性粒子、ラテックス、イムノクロマトメンブレンとの結合は終了する。この段階までの反応時間は、測定方法間に差はない。従来のアルカリホスファターゼ/PNPP 発色系に比較して、例えば磁性粒子を用いるヒーモスアイエルアキュスター測定系では、急速洗浄と即時性化学発光物質を採用して 2 次反応時間の短縮が図られている。従って、抗原として PF4/ポリアニオンを用いる限り、得られた結果の臨床的意義は原法の GTI-ELISA と同じである。いずれも定性検査であるため、陰性であれば HIT の除外診断には有効である。同様に、IL-HIT の結果が単に陽性であるとの根拠からのみで、HIT の診断が確定することには決してならない。

IL-HIT は 24 時間緊急対応が可能であるが、陽性結果を根拠に HIT としての迅速かつ適切な処置の判断はできない。4T's で評価した HIT 疑い患者の 90% は HIT 抗体陰性で HIT は除外できるが、残りの 10% の症例についてはヘパリンの中止と代替の抗凝固薬を開始するまえに、臨床症状の再検討と HIT 確認検査とが求められている³⁾。

厚労省から公表された IL-HIT の特異度に関係するデータをみると、ヒーモスアイエル HIT-Ab_(PF4-H) ラテックス免疫比濁法の特異度は 100%、アキュスターHIT-Ab_(PF4-H) とアキュスター HIT-IgG_(PF4-H) ともに特異度は 100% である²²⁾。理論的に特異度 100% の診断試薬であれば、HIT 診断に際して ¹⁴C セロトニン放出試験などの機能的測定法による確認検査は不要となる。しかし、IL-HIT の英文取説では、弱陽性結果では血小板活性化 IgG 因子を含まない可能性の指摘があり、強陽性でも HIT のリスクが高いことのみの指摘にとどまっている。そして、HIT の診断確定には機能検査による確認が推奨されている。

HIT 疑いの患者の IL-HIT の陽性者には、血小板活性化 IgG 因子をもつ HIT とそれを持たない非 HIT の両者が含まれている (表 3)。非 HIT 群の ¹⁴C セロトニン放出試験は陰性であるが、HIT-Ab_(PF4-H) は全例陽性である。同様に、HIT-IgG_(PF4-H) の測定では ¹⁴C セロトニン放出試

表3 ヒーモスアイエルアキュスターによるELISA陽性、¹⁴Cセロトニン放出試験(SRA)陰性の非HIT症例の検出状況²³⁾

	HIT	非 HIT	
症例数	10	16	53
ELISA	陽性	陽性	陰性
SRA	陽性	陰性	陰性
HIT-Ab _(PF4-H) 陽性率	100%	100%	7.5%
HIT-IgG _(PF4-H) 陽性率	80%	56%	0%

験が陰性にもかかわらず、約60%近くが陽性である。IL-HITの測定結果には偽陽性が含まれていることから、HIT診断に対する特異度は100%ではない²³⁾。また、カットオフ値を通常の1.0U/mLから5.0U/mLに5倍することによって、陰性予測値を落とすことなく特異度を91%に改善することも示されているが、十分な根拠のないカットオフの変更は臨床現場にストレスを与えることになる⁴⁾。従って、IL-HITの陽性結果を得たとしても、従前どおりの¹⁴Cセロトニン放出試験などの機能的測定法による確認が必要となるのは述べるまでもない。

6. まとめ

IL-HITの測定に用いられている抗原はPF4/ポリアニオン複合体で、GTI社のHIT抗体測定試薬と同一であり、いずれもPF4/ポリアニオン複合体に免疫的に結合する免疫グロブリン抗体量を測定している。日常臨床ではIgG抗体に特化したELISAを用いるのがよいのか、IgG/A/Mの全HIT抗体を測定するELISAが良いのかの十分なエビデンスはない。しかし両者のELISAを同時に施行する臨床的意義は見当たらない。

HITの臨床評価として4T'sスコアリングシステムが臨床現場で用いられている。血小板数、減少率とそのタイミングのスコア評価に併せて、血小板減少の原因がHIT以外ないことが求められている。ヘパリン治療中の患者の血小板減少の原因を探索することには、HITか非HITの判定を左右することになるので慎重に行う。評価点が低

スコア(0-3)であれば、HITは除外できる可能性が高く、HIT抗体検査の必要性は薄く、臨床的にHITの可能性について再検討する必要がある。また、4T'sスコアが高点数であっても、IL-HITやELISAの結果が陰性であれば、HITは100%近く除外できる点が共通認識となりつつある。

本邦において、ELISAによって得られた陽性結果がヘパリン惹起性血小板凝集法により確認されている施設もあるが、血小板活性化Ig因子の検出の国際的基準となっている¹⁴Cセロトニン放出試験が日常的に実施できない現状では、血清学的にHITと確認することは難しい。

このため、ELISA陽性例の中から、血小板活性化Ig因子を持たない非HIT例を除外することは簡単にはできない。そこで、ELISA陽性のみを根拠としたHITの過剰診断の弊害を軽減するために、OD値による定量的解析法の普及が進んでいるので、ELISAの検査結果にOD値を記載することが求められている。同様にIL-HITにおける偽陽性率の弊害を減少させるためには、ELISAのOD値によって示されたように、発光強度の絶対値による測定結果の臨床的評価法の開発が強く望まれる。

Disclosure of Conflict of Interest

The author indicated no potential conflict of interest.

文 献

- 宮田茂樹：ヘパリン起因性血小板減少症における最新の知見。血栓止血誌 **23** : 362-374, 2012.
- Legnani C, Cini M, Pili, Boggian O, Frascaro M, Palareti G : Evaluation of a new automated panel of assays for the detection of anti-PF4/heparin antibodies in patients suspected of having heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* **104** : 402-409, 2010.
- Davidson SJ, Ortel TL, Smith LJ : Performance of a new, rapid, automated immunoassay for the detection of anti-platelet factor 4/heparin complex antibodies. *Blood Coagul Fibrinolysis* **22** : 340-344, 2011.
- Van Hoecke, Devreese K : Evaluation of two new automated chemiluminescent assays (Hemosil® AcuStar HIT-IgG and Hemosil® AcuStar HIT-Ab) for the detection of heparin-induced antibodies in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Int J Lab Hematol* **34** : 410-416, 2012.
- Shaheed G, Malkovska V, Mendoza J, Patel M, Rees J, Wesley R, Merryman P, Horne M : PF4 ENHANCED assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in complex medical and surgical patients. *Crit Care Med* **35** : 1784-1785, 2007.
- Weiss BM, Shumway NM, Howard RS, Ketchum LK, Reid TJ : Optical density values correlate with the clinical probability of

- heparin induced thrombocytopenia. *J Thromb Thrombolysis* **26** : 243-247, 2008.
- 7) Warkentin TE : Optical densities reduced odds of heparin-induced thrombocytopenia over-diagnosis. *Am J Med* : **125** : 3-4, 2012.
- 8) Matsuo T, Wanaka K, Miyasita K, Prechel M, Walenga JM : Clinical evaluation of acute systemic reaction and detection of IgG antibodies against PF4/heparin complexes in hemodialysis patients. *Thromb Res* **129** : 474-478, 2012.
- 9) 宮田茂樹 : 本邦における HIT 治療指針, 診断指針の策定に向けて. *血栓止血誌* **19** : 550-551, 2008.
- 10) Lo GK, Sigouin CS, Warkentin TE : What is the potential for overdiagnosis of heparin-induced thrombocytopenia? *Am J Hematol* **82** : 1037-1043, 2007.
- 11) Berry CB, Tcheriantchouk O, Ley EJ, Salim A, Mirocha J, Martin-Stone S, Stolpner D, Margulies D : Overdiagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in surgical ICU patients. *J Am Coll Surg* **213** : 10-18, 2011.
- 12) Baroletti S, Hurwitz S, Conti NA, Fanikos J, Piazza G, Goldhaber SZ : Thrombosis in suspected heparin-induced thrombocytopenia occurs more often with high antibody levels. *Am J Med* **125** : 44-49, 2012.
- 13) Altuntas F, Matevosyan K, Burner J, Shen YM, Sarode R : Higher optical density of an antigen assay predicts thrombosis in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Eur J Haematol* **80** : 429-435, 2008.
- 14) Matsuo T, Wanaka K, Walenga JM : Evaluation of circuit and AV fistula clotting and detection of anti-PF4/heparin complex antibodies in hemodialysis patients suspected of having heparin-induced thrombocytopenia. *Clin Appl Thromb Hemost* **19** : 73-78, 2013.
- 15) Warkentin TE, Sheppard JA, Moore JC, Moore KM, Sigouin CS, Kelton JG : Laboratory testing for the antibodies that cause heparin-induced thrombocytopenia : how much class do we need? *J Lab Clin Med* **146** : 341-346, 2005.
- 16) Bakchoul T, Giptner A, Najaoui A, Bein G, Santoso S, Sachs UJH : Prospective evaluation of PF4/heparin immunoassays for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* **7** : 1260-1265, 2009.
- 17) Cuker A, Ortel TL : ASH evidence-based guidelines : is the IgG specific anti-PF4/heparin ELISA superior to the polyspecific ELISA in the laboratory diagnosis of HIT? *Hematology Am Soc Hematol Educ. Program* : 250-252, 2009.
- 18) Amiral J, Wolf M, Fischer AM, Boyer-Neumann C, Vissac AM, Meyer D : Pathogenicity of IgA and/or IgM antibodies to heparin-PF4 complexes in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Br J Haematol* **92** : 645-659, 1996.
- 19) Stribling WK, Slaughter TF, Houle TT, Sane DC : Beyond the platelet count : heparin antibodies as independent risk predictors. *Am Heart J* **153** : 900-906, 2007.
- 20) Juhl D, Eichler P, Lubenow N, Strobel U, Wessel A, Greinacher A : Incidence and clinical significance of anti-PF4/heparin antibodies of the IgG, IgM, and IgA class in 755 consecutive patient samples referred for diagnostic testing for heparin-induced thrombocytopenia. *Eur J Haematol* **76** : 420-426, 2006.
- 21) McFarland J, Lochowicz A, Aster R, Chappell B, Curtis B : Improving the specificity of the PF4 ELISA in diagnosing heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Hematol* **87** : 776-778, 2012.
- 22) 厚労省 229 回中央社会保険医療協議会総会 資料総-4, 臨床検査の保険適応について, 24.8.22.
- 23) Faraudo S, Martinez A, Morcillo S, Robert F, Katerchi A, Barry RG, Elalamy I : New automated chemiluminescent anti-heparin-PF4 immunoassay : analytical performance in hit suspected patients. *ISTH Cong.* 2009. (abs.PP-WE-768)
- 24) Warkentin TE, Sheppard JI, Raschke R, Greinacher A : Performance characteristics of a rapid assay for anti-PF4/heparin antibodies : the particle immunofiltration assay. *J Thromb Haemost* **5** : 2308-2310, 2007.
- 25) Nellen V, Sulzer I, Barizzi G, Lammle B, Alberio L : Raoid exclusion of heparin-induced thrombocytopenia : a single-center experience with 1291 patients. *Haematologica* **97** : 89-97, 2012.
- 26) Wagner L, Geiter S, Graf M, Vetr H, Siegemund A : Evaluation of a fast ELISA assay for measuring HIT IgG antibodies. *ISTH Cong.* 2011. (abs. P-MO-066)
- 27) Kolde HJ, Dostatni R, Mauracher S : Rapid and simple IgG specific test for the exclusion of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Clin Chem Lab Med* **49** : 2065-2068, 2011.