症例報告

Functional assay の陰性化を待ち、ヘパリン再投与が可能になった ヘパリン起因性血小板減少症 (heparin-induced thrombocytopenia) 既往血液透析の 1 症例

乾 恵美^{1,2,4} 小宮山 豊¹ 山原 英樹² 河野 啓子²
前田 琢磨³ 宮田 茂樹³ 柴原 伸久⁴

¹関西医科大学附属滝井病院臨床検査医学科 ²関西医科大学附属滝井病院透析センター

³国立循環器病研究センター輸血管理室 ⁴北辰会有澤総合病院泌尿器科

キーワード：ヘパリン起因性血小板減少症，血液透析，ヘパリン再投与，functional assay，antigen assay
〈要旨〉

70 歳台男性。薬剤性急性腎障害にて透析を行い腎機能の回復を待ったが，回復せず維持透析となった。ヘパリン透析開始後，回路凝固，血小板減少を認め，antigen assay にて抗 platelet factor 4 (PF4)/ヘパリン抗体陽性を認めた。ヘパリン起因性血小板減少症 (heparin-induced thrombocytopenia : HIT) と診断し，アルガトロバン透析に変更した。Antigen assay 陰性化確認後，ヘパリン透析を再開すると，再び回路凝固，血小板減少を生じた。Functional assay を施行した結果，ヘパリン依存性血小板活性化能を認め，HIT 再燃と診断した。Functional assay の陰性化を待ち，全経過として 11 か月後ヘパリン透析を再開したところ，HIT 再燃を認めなかった。透析領域で，HIT 既往患者へのヘパリン再投与の是非およびその時期についてはコンセンサスがない。本症例のように antigen assay による抗 PF4/ヘパリン抗体陰性化のみでは，HIT 再燃を防止できない可能性がある。HIT の診断ならびにヘパリンの再投与の確認には慎重を要し，血小板活性化能を検出する functional assay が有用と考えられた。

Successful heparin re-exposure in a case of heparin-induced thrombocytopenia after a negative result in a functional assay

Emi Inui^{1,2,4}, Yutaka Komiyama¹, Hideki Yamahara², Keiko Kono², Takuma Maeda³, Shigeki Miyata³, Nobuhisa Shibahara⁴

¹Kansai Medical University Takii Hospital, Department of Clinical Sciences and Laboratory Medicine; ²Kansai Medical University Takii Hospital, Hemodialysis Center; ³National Cerebral and Cardiovascular Center, Division of Transfusion Medicine; ⁴Arisawa General Hospital, Department of Urology

Keywords : heparin-induced thrombocytopenia, hemodialysis, readministration of heparin, antigenic assay, functional assay

〈Abstract〉

A septuagenarian man underwent hemodialysis with heparin for acute renal failure due to drug-induced nephropathy. During the early stages of the hemodialysis, coagulation of the dialyzer and a reduction in the patient's platelet count were observed. As an antigenic assay (an enzyme immunoassay, EIA) produced a positive result for anti-platelet factor 4 (PF4)/heparin antibody, we switched the patient from heparin to argatroban treatment. Several months after the start of hemodialysis, we confirmed that the patient was negative for the anti-PF4/heparin antibody using an EIA and so tried to restart the heparin treatment. However, blood coagulation in the dialyzer and a reduction in the patient's platelet count were seen again. Although a further EIA confirmed the previous negative result, the patient's clinical findings were indicative of platelet activation. Therefore, we decided to perform a functional assay for heparin-induced thrombocytopenia (HIT) antibody by analyzing the

乾 恵美 医療法人北辰会有澤総合病院 〒573-1195 大阪府枚方市中宮東之町 12-14

Emi Inui Tel : 072-847-2606 Fax : 072-849-9855

〔受付日：2015 年 10 月 6 日，受理日：2016 年 2 月 2 日〕

microparticles released from washed platelets using flow cytometry. As a result, we diagnosed the patient with relapsed HIT. About 11 months later, we tried to restart hemodialysis with heparin after confirming that the patient was negative for HIT antibody using the functional assay. This attempt was successful. There is no consensus about the pros and cons of heparin readministration and the optimal timing of such treatment in the field of dialysis. A negative result during an EIA assay for anti-PF4/heparin antibody might not be sufficient to prevent HIT relapse, as was found in this case, which demonstrates the importance of functional assays for HIT antibody.

緒 言

ヘパリン起因性血小板減少症（heparin-induced thrombocytopenia：HIT）は、ヘパリンが原因で発症する自己免疫疾患であり、透析医学の分野においては HIT 既往患者におけるヘパリン再投与の可否およびタイミングは未だに議論がある。

HIT を診断する血清学的検査には抗 platelet factor 4（PF4）/ヘパリン抗体を測定する antigen assay とヘパリン依存性に血小板を活性化させる能力をもつ、いわゆる HIT 抗体の存在を観察する functional assay の 2 つがあるが、今回 antigen assay で抗 PF4/ヘパリン抗体の陰性化を確認したものの、functional assay にてヘパリン依存性に血小板活性化能が認められ、ヘパリン再投与に苦慮した症例を経験したので報告する。

I. 症 例

症例：70 歳台、男性。

主訴：呼吸困難。

現病歴：X 年 1 月末、近医で上気道炎に対して内服薬（エピナスチン塩酸塩、総合感冒薬、カフコデ、レボフロキサシン水和物）を処方され、その後呼吸困難を認めたため、同年 2 月上旬に当院に紹介された。胸部画像検査にて右肺炎、肺うっ血と採血上、炎症反応陽性と腎機能障害を認め、緊急入院となった。

既往歴：特記すべきことなし。

家族歴：特記すべきことなし。

入院時現症：身長 167 cm。体重 68.1 kg。体温 36.9℃、血圧 169/106 mmHg、脈拍 95/分、整、SpO₂：95%（room air）、眼瞼結膜は蒼白なし、眼球結膜は黄染なし、咽頭発赤なし、頸部リンパ節触知せず、胸部は心雑音聴取せず、呼吸音清明、腹部圧痛なし、両側下腿浮腫あり。

入院時検査所見（表 1）：BUN 80 mg/dL、Cr 12.9 mg/dL、Hb 10.5 g/dL、WBC 14,100/ μ L、Plt 56.3 万/ μ L、CRP 9.6 mg/dL と腎機能障害と貧血、炎症所見な

表 1 入院時採血結果

WBC	14,100	↑/ μ L	Alb	3.2	↓ g/dL
RBC	319 万	↓/ μ L	GOT	23	U/L
Hb	10.5	↓ g/dL	GPT	10	U/L
Plt	56.3 万	↑/ μ L	ALP	246	U/L
BUN	80	↑ mg/dL	Ca	8.7	mg/dL
Cr	12.86	↑ mg/dL	P	6.1	↑ mg/dL
Na	138	mEq/L	CRP	9.577	↑ mg/dL
K	5.6	↑ mEq/L	BNP	1,031.0	↑ pg/mL
Cl	101	mEq/L	TSAT	36	%
UA	10.5	↑ mg/dL	Ferritin	415.4	↑ ng/mL

らびに、血小板の増多を認めた。

入院経過：入院当日、右内頸静脈に短期型バスキュラーカテーテルを留置し、血液透析を導入した。なお、入院後の精査にて腎前性ならびに腎後性腎不全、そして腎性腎不全のうちでも糖尿病、膠原病、血管炎症候群による腎不全は採血、検尿上否定的であった。医療機関に通院歴がなく仔細は不明であるが、高血圧ならびに腎臓超音波検査上、腎実質の菲薄化を認めたため、もともと何らかの腎機能障害があり、急性増悪したものと考えられた。肺炎の治療と透析を行い全身状態の改善を図ったが、3 週間を経過しても、尿量、腎機能の回復を全く認めなかった。腎実質の菲薄化を認めていたため腎生検は行わず、そのまま維持透析となった。なお、腫瘍マーカーや画像検査では悪性病変を認めなかった。

なお、シャント手術は第 23 病日に施行したが、手術当日にシャント音ならびにスリルの減弱を認め、最終的にシャントは閉塞した。2 回目の手術は第 34 病日に行われ、現在もそのシャントは開存している。

透析導入時、抗凝固剤はメシル酸ナファモスタットを使用し、出血傾向がないことを確認したうえで第 24 病日の 13 回目の透析より、APTT 値をモニターしながら、未分画ヘパリンを使用した。未分画ヘパリン投与開始日から、透析回路内凝固、残血を認めた。回路凝固が APTT 値の延びが不十分であったことや、脱血不良のためと考えていたため、むしろヘパリンの使用量を増やして経過観察を行っていた。透析前採血にて血小板 18.6 万（第 24 病日）→15.8 万（第 27 病日）

図 1 HIT 発症時の血小板数と抗凝固剤の推移

図 2 初回ヘパリン再投与時の血小板数と抗凝固剤の推移

→15.7 万（第 33 病日）→8.8 万（第 36 病日）となり（図 1）、4 T's スコアリングシステムによる HIT 臨床診断に従うと計 8 点中 7 点となり、ここで HIT を疑った¹⁾。そこで、第 36 病日～第 38 病日の 3 日間、アルガトロバンの持続点滴（60 mg/日）を施行し、血小板数は回復した（8.8 万/μL→20.7 万/μL）。同時に維持透析の抗凝固薬もアルガトロバン（開始時 10 mg、持続 10 mg/時）に切り替えた。GTI 社の EIA（enzyme immunoassay）法を用いた antigen assay による抗 PF4/ヘパリン抗体測定を行った結果、抗 PF4/ヘパリン抗体 total（IgG/A/M）型（カットオフ値 0.4）、IgG 型（カットオフ値 0.4）とともに陽性を示し、臨床症状とも合わせて HIT と診断した（表 2）。3 か月後の 6 月に抗 PF4/ヘパリン抗体を再測定したが、total（IgG/A/M）型、IgG 型とも陽性であったため、アルガトロバンによる維持透析を継続した。7 か月後の 10 月には抗 PF4/ヘパリン抗体価が total（IgG/A/M）型、IgG 型ともカットオフ値を下回ったため、10 月 Y 日、透析時の未分画ヘパリン投与を再開した。しかしながら、未分画ヘパリン投与を再開した透析時より回路内の残

血、凝固ならびに血小板の減少を認めたため、臨床的に HIT の再燃を疑い、透析にはアルガトロバンを再度用いた（図 2）。また、ヘパリンによる血小板活性化能を精査するために、これまでの保存検体を用いて、functional assay の測定を行った。

洗浄血小板を用いた functional assay の測定結果では、3、6、10 月のすべての検体において、ヘパリン依存性に血小板活性化能が認められた（表 2）。なお、同時に他社（Stago 社）の antigen assay による抗 PF4/ヘパリン抗体 total 型（IgG/A/M）の測定を行ったが、すべての検体で陰性であった。

同年 11 月に GTI 社のキットを用いた antigen assay ならびに functional assay を施行したところ、いずれも陰性結果が得られたものの、抗 PF4/ヘパリン抗体 total（IgG/A/M）型がカットオフ値に近かった²⁾。そこで、1 か月後の 12 月、2 か月後の翌 X+1 年の 1 月に重ねて検査を行い、連続して陰性結果を確認したうえで（表 2）、同年 2 月 Z 日にヘパリン透析の再開を試みた。回路凝固、残血もなく、血小板の減少も認めなかった。ヘパリン再使用による抗体の再上昇のないこ

表 2 antigen assay と functional assay の推移

		X 年 3 月◆	6 月	10 月◆◆	11 月	12 月	X+1 年 1 月	2 月 Z 日◆◆◆	Z 日から 5 日目	Z 日から 14 日目	Z 日から 6 週間目
Antigen assay (GTI 社) *cut off 値 0.4	Total* (IgG/A/M)	1.10	0.83	0.34	0.39	0.20	0.18	—	—	—	—
	IgG*	0.79	0.46	0.16	0.16	0.11	0.11	0.10	0.09	0.09	0.11
Functional assay	陽性：+ 陰性：-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

◆HIT 発症時 ◆◆ヘパリン再開直前（その後、再休止） ◆◆◆ヘパリン再々開始直前

とを確認すべく、ヘパリン透析再開直前、5 日後、14 日後、6 週間後にも抗 PF4/ヘパリン抗体 IgG 型測定と同時に functional assay を行った。いずれの日の検体も両者結果は陰性であった（表 2）。初回の HIT 発症から 17 か月経過した現在でもヘパリン透析を施行しているが、HIT の再発を認めていない。

II. 考 察

透析の領域における HIT は導入期に発症することが多い。抗凝固剤にヘパリンを使用した透析で感作される以外にも、短期型バスキュラーカテーテル挿入時や、カテーテルのヘパリンロックで感作される報告もみられる³⁾。本症例も、ヘパリン透析開始直後に回路凝固を認めたことから、おそらくバスキュラーカテーテル挿入時やカテーテルのヘパリンロック時に感作されたものと思われる。入院時の血小板が炎症反応で高値（56.3 万/ μ L）であったのが、緩徐に減少（ヘパリン透析開始直前 18.6 万/ μ L）しており、炎症反応の軽快と HIT 発症の両方が原因であったのかもしれない。ヘパリンに曝露後、5～14 日目から HIT 抗体が産生され、血小板の減少を認めるとされるが、血液透析の場合、透析が隔日であり、次の透析時には血小板数が回復していることも多く、血小板減少の発見のタイミングが遅くなる可能性がある⁴⁾。よって透析回路内の血液凝固、残血は血栓症が体外に目で見える形で生じていると捉え、好発時期、疾患の特徴をよく理解し、4 T's スコアリングシステムによる HIT 臨床診断を念頭においた日常的な観察が必要と思われる^{5,6)}。現時点では、HIT を単独で確定診断し得る検査手法は存在しない。したがって、臨床的診断と以下に述べるような血清学的診断法を組み合わせる実施し、HIT を clinico-pathologic syndrome として最終診断する必要がある。

Antigen assay には、ラテックス凝集法、化学発光免疫測定法、EIA 法がある。2012 年 9 月よりラテックス凝集法、化学発光免疫測定法が保険適応として認められたが、当院では、引用文献が多く、最も実績のあ

る EIA 法を用いている。Antigen assay は偽陽性が多いとされてきたが、臨床的にあまり意義がないとされる IgM, IgA 型を IgG 型とともに測定してしまうことが一因と考えられ、IgG 型のみ測定するキットが出たことによって偽陽性率は改善されてきている^{2,7)}。今回、われわれの症例では、2 社の antigen assay のキット間で全く異なった結果となった。解離する原因は十分に解明されていないが、抗体認識部位の違いや固相化抗原の違いが示唆されている⁸⁾。

Functional assay には、セロトニン放出試験、マイクロパーティクル法などがあげられ、本法による HIT 抗体の検証は特異度が高い⁹⁾。現在わが国で実施可能なのは、今回用いたマイクロパーティクル法のみであり、海外におけるセロトニン放出試験に匹敵する特異度と感度をもつ。現時点では、国立循環器病研究センターのみ実施されている検査である。活性化された血小板はより小型化し、蛍光度が低いマイクロパーティクルを放出することにより、フローサイトメトリー上は、4 等分されたうちの左上の区域にシフトする。全体の血小板のうち、この区域に分布した血小板数を platelet activating index (PAI) として表し、10% 以上を陽性とする¹⁰⁾。

今回、antigen assay と functional assay の結果の乖離が起こった原因として、ひとつには antigen assay のカットオフ値の問題があげられる。さらには、血小板減少を起こす、いわゆる HIT 抗体が、現在市販化されている antigen assay で測定し得る抗 PF4/ヘパリン抗体のみではなく、interleukin-8, neutrophil-activating peptide-2 に対する抗体が存在することである¹¹⁾。当初 GTI 社製 antigen assay が functional assay とともに陽性、その後 antigen assay 陰性となった時点で functional assay が陽性を示した事実より、本症例では HIT の発症に抗 PF4/ヘパリン抗体に加えて、interleukin-8, neutrophil-activating peptide-2 などに対する抗体の関与が示唆される。

以上のことから、HIT 既往透析患者へのヘパリンの再投与については、antigen assay による抗 PF4/ヘパ

リン抗体の陰性化のみならず、ヘパリンによる抗体を介した血小板の活性化を測定する functional assay の陰性化を確認することが必要と考えられる。

結 語

今回、antigen assay による抗 PF4/ヘパリン抗体は陰性であるが、functional assay でヘパリン依存性に血小板活性化能が認められた HIT 再発症例を経験した。

心臓血管外科領域において、HIT 抗体が陰性であれば、少なくとも手術中の未分画ヘパリンの再投与が可能であるというコンセンサスが得られつつある^{12,13)}。しかしながら、透析など心臓血管外科領域以外においては、HIT 既往患者におけるヘパリン再投与の是非は未だに議論のあるところである。一般的にはヘパリンの再投与の目安として antigen assay による診断法が用いられている。しかし本症例のように、antigen assay による抗 PF4/ヘパリン抗体の陰性化のみでは不十分な症例が存在する。一旦再開すると頻回にヘパリンに曝露される透析患者においてはさらに慎重な態度が望ましく、より感度・特異度に優れた functional assay の結果に基づく判断が必要と考える。

文献

- 1) Lo GK, Juhl D, Warkentin TE, Sigouin CS, Eichler P, Greinacher A. Evaluation of pretest clinical score (4 T's) for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia in two clinical settings. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 759-65.
- 2) 小宮山豊. ～凝固線溶系～用語解説 (第4回) ヘパリン起因性血小板減少症 (HIT). *Thrombosis Medicine* 2012; 2: 171-4.
- 3) 宮富良穂, 稲山えみ, 永倉一武, 他. 当院で経験した血液透析患者に合併したヘパリン起因性血小板減少症 (heparin-induced thrombocytopenia: HIT). *透析会誌* 2013; 46: 1075-81.
- 4) 松尾武文, 和中敬子. 血液透析とヘパリン起因性血小板減少症 (HIT). *血栓と循環* 2008; 16: 333-7.
- 5) Pouplard C, Gueret P, Fouassier M, et al. Prospective evaluation of the '4Ts' score and particle gel immunoassay specific to heparin/PF4 for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1373-9.
- 6) 宮田茂樹. 血栓症ハイリスク因子としてのヘパリン起因性血小板減少症—診断と治療, 最近の進歩—. *Therapeutic Research* 2009; 30: 1087-96.
- 7) 松尾武文. 透析患者のヘパリン起因性血小板減少症に対する酵素免疫測定法による抗 PF4/ヘパリン複合体抗体 (HIT 抗体) 測定の現況と問題点. *透析会誌* 2012; 45: 1117-24.
- 8) 吉賀正亨, 小宮山豊, 松本宙士, 他. ラテックス凝集法と EIA 法で血小板第4因子-ヘパリン複合体抗体の測定結果に乖離を生じたヘパリン起因性血小板減少症の1例. *臨床病理* 2014; 62: 1047-51.
- 9) Warkentin TE, Sheppard JA, Horsewood P, Simpson PJ, Moore JC, Kelton JG. Impact of the patient population on the risk for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2000; 96: 1703-8.
- 10) Maeda T, Noguchi T, Saito S, et al. Impact of heparin-induced thrombocytopenia on acute coronary artery thrombosis in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Thromb Haemost* 2014; 112: 624-6.
- 11) 宮田茂樹. 【循環器疾患の早期発見の最前線】血栓性疾患 ヘパリン起因性血小板減少症 (Heparin-induced thrombocytopenia: HIT). *Modern Physician* 2006; 26: 825-30.
- 12) 宮田茂樹, 山本晴子. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Thrombosis and Circulation* 2008; 16: 193-9.
- 13) 宮田茂樹. 【血栓症治療ガイドライン up-to-date】その他 (薬剤, 検査, 腎臓, 糖尿病等) ヘパリン起因性血小板減少症 (heparin-induced thrombocytopenia: HIT) の治療と予防に関するエビデンスに基づく米国胸部専門医学会 (ACCP) ガイドライン第9版. *血栓と循環* 2014; 22: 233-6.