

光干渉断層計による冠動脈内血栓性状識別に ついての検討

大江健太郎 藪下博史 筑後孝章¹ 林孝浩 伊藤浩行¹
宮崎俊一

近畿大学医学部内科学教室 (循環器内科部門) ¹近畿大学医学部病理学教室

抄 録

不安定プラークの破綻後に生じる冠動脈内の血栓形成が急性冠症候群の発症に重要な役割を果たすと考えられている。現在まで光干渉断層計 (optical coherence tomography ; OCT) を用いた血栓性状識別に関する報告は少ない。本研究では、吸引カテーテルから得られた病理学的に性状評価できた冠動脈内吸引物と比較することによって、OCT の in vitro での冠動脈内血栓性状識別能を評価した。急性冠症候群患者50例から得られた冠動脈内吸引物、計200標本を対象とし、病理診断を基準として、白色血栓、赤色血栓、黄色血栓に分類した。標本を診断基準作成用セット (n=30) と血栓性状識別能判定用セット (n=170) に分け、診断基準作成用セットから各血栓の OCT 診断基準を作成した。白色血栓はシグナル減衰特性の乏しい内部が比較的均一な高シグナルセグメント、赤色血栓は減衰特性が強く、内部が不均一な低シグナルセグメント、黄色血栓は減衰特性が中等度で徐々にシグナルが減衰するシグナルセグメントを有し、内部に高シグナル粒状～線状影を伴うものとした。血栓性状識別能判定用セットに前述の OCT 診断基準を適用し、OCT の血栓性状識別能を前向きに求めると、感度・特異度は白色血栓；83%・98%，赤色血栓；95%・93%，黄色血栓；97%・94% (全体一致率 $\kappa=0.84$) であった。我々が考案した血栓性状識別に関する OCT の診断基準を用いることによって、OCT は高い血栓性状識別能を示した。

Key words : 冠動脈, 不安定プラーク, 急性冠症候群, 血栓, 光干渉断層計

緒 言

急性冠症候群 (acute coronary syndrome ; ACS) の大部分はプラーク破裂やプラークびらんから急性の冠動脈内血栓が惹起され顕在化すると考えられている。また、不安定プラークが破綻し微小血栓形成が生じる時期から臨床的に ACS が発症する時期までに、数日から数週間の時間があると報告されている^{1,2}。プラーク破綻後に生じる血栓を検出し、その血栓性状を評価することは、顕在化した ACS の責任病変の診断のみならず、破綻した不安定プラークを ACS が顕在化する前に同定するという意味においても重要であると考えられる。

現在臨床の場で汎用されている血管内超音波 (intravascular ultrasound ; IVUS) は血栓の同定能が高くなく、最も血栓の検出能が高いと言われる血管内視鏡も、定量評価が不可能であること、血管内

の観察視野が限られることなどの限界がある。

一方、血管内光干渉断層計 (intravascular optical coherence tomography ; OCT) は、生体内において高解像度で冠動脈内の断層像を描出することが可能な画像診断装置である^{3,4}。その高度な画像分解能からこれまで臨床的に観察不可能とされていた菲薄化した線維性被膜の同定も可能であったとの報告もある^{5,6}。

本研究では吸引カテーテルで得られた血栓を病理像と比較して OCT の血栓性状識別に関する診断能に関して in vitro で検討を行った。

方 法

1) 対象

近畿大学医学部循環器内科に入院し、2005年4月から2008年4月までに ACS の診断で血栓吸引療法を施行した患者50症例から得られた冠動脈内吸引物

を対象とした。事前に全ての患者もしくは家族に手技の意義、危険性、合併症と、近畿大学医学部倫理委員会により認可された研究であることを十分に説明し、文書での同意を得た。

2) 冠動脈造影検査および冠動脈内血栓吸引療法

X線撮影装置はX線高電圧装置 KXO-100G (東芝)、天井走行式Cアーム型保持装置 CAS-8000 (東芝)、デジタルフルオログラフィ装置 DFP-2000A (東芝)、X-RAY TELEVISION CAMERA MTV-32D (東芝) を用いた。

全ての患者に対し、カテーテル検査室への出棟時に、アスピリン243 mg を咀嚼服用させ、ヘパリン5,000単位を静脈内投与した。経静脈的血栓溶解療法は1症例に対してのみに施行した。冠動脈造影検査は右または左大腿動脈を穿刺し、シースイントロデュースー挿入後、Judkins カテーテルを用いて行った。冠動脈造影検査前にヘパリン5,000単位を静脈内投与し、硝酸イソソルビド (ニトロール®:エーザイ) を0.5-2.0 mg ずつ左右冠動脈内に投与後、造影剤 (iopromide 350) 5.0-8.0 ml を手動注入することで左右冠動脈造影を施行した。冠動脈造影上、責任冠動脈に血栓の存在が疑われる完全閉塞や亜閉塞病変、潰瘍性病変、造影希薄部分がみられた症例に対して血栓吸引療法を施行した。

血栓吸引カテーテルは4.5 Fr Nipro TVAC カテーテル (Nipro Corporation, Osaka, Japan)、4.8F Goodtec Rebirth カテーテル (Goodman Co., Ltd., Aichi, Japan)、もしくはThrombuster II 7Fr (Kaneka Medix Corporation, Osaka, Japan) のいずれかを使用した。吸引術施行直前にヘパリン5,000単位を追加静脈内投与した。その後7Frのガイドカテーテルを冠動脈に挿入し、対象冠動脈の標的病変の遠位側末梢まで0.014インチのガイドワイヤーを透視下で進め、そのガイドワイヤーに沿って慎重に標的冠動脈病変の近位側まで吸引カテーテルを進めた。吸引カテーテルに専用シリンジで陰圧をかけながら緩徐に責任病変を通過させて血栓吸引を行ったのちに血栓吸引カテーテルを抜去し、同手技を二回行った。この際血栓吸引カテーテルが冠動脈責任病変を通過しない際は1.5~2.0 mm のバルーンカテーテルを用い低圧で前拡張を行った。血栓吸引後、経皮的冠動脈インターベンション (percutaneous coronary intervention: PCI) を施行した。吸引された冠動脈内容物は速やかにリン酸緩衝液に移し4°Cで保存した。

3) OCT 装置および in vitro での観察手技

血栓吸引療法施行終了後24時間以内に OCT による摘出血栓の観察を in vitro で行った。

OCT システムは M2 OCT システム (Light Lab Imaging, Inc, Westford, Massachusetts, U.S.A) を、OCT カテーテルは OCT Image Wire (Light Lab Imaging, Inc, Westford, Massachusetts, U.S.A.) を使用した。OCT 像は8.4フレーム/秒でグレースケールルックアップテーブルに描出し、M2 OCT システムにデジタル保存した。保存した画像はオフライン解析のために記録可能なコンパクトディスクに保存し、M2 OCT システムを用いて画像解析を行った。本検討における光源は、中心波長が1300 nm、波長幅36 nm であり、同軸性画像分解能は20 μm であった。

OCT による観察の直前に吸引した保存内容物はリン酸緩衝液内で37°Cに加温したのち、シャーレ内で、それぞれ OCT Image Wire を用い手動で前面、後面それぞれに近赤外線を照射して観察を行った。さらに自動牽引装置を使用し1.0 mm/秒の一定速度で OCT による連続断面の観察を行った。OCT による検体の観察部位は近赤外線に付随した可視光線 (レーザーダイオード、中心波長635 nm) でモニターし、正確な OCT 像と病理像の登録のため OCT 観察部位をインク (Triangle Biomedical Sciences, Durham, NC, U.S.A.) を用いマーキングを行った。血栓が微小な場合は血栓の長軸の中央部分で観察を行った。OCT による観察のあとデジタルカメラを用い標本のマクロ像をデジタル記録した。

4) 病理組織学的検査

OCT による観察終了後、標本は10%ホルマリン緩衝液で固定し、48時間後にパラフィン包埋を行った。マーキングした観察対象部位もしくは血栓の長軸上の中央部分を中心に4 μm の厚さで切片化したのち、ヘマトキシリン・エオジン (hematoxylin and eosin; H&E) 染色とリンタングステン酸ヘマトキシリン (phosphotungstic acid-hematoxylin; PTAH) 染色を行った。マクロファージの存在を視

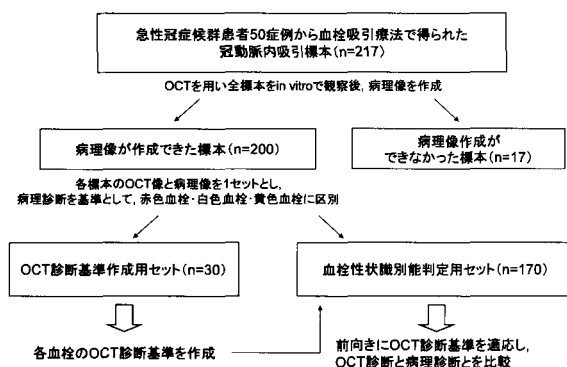


図1 OCT 診断基準作成から血栓性状識別にいたるまでのフローチャート
OCT: optical coherence tomography.

覚化するため抗ヒトマクロファージ・マウスモノクローナル抗体免疫染色 mouse anti-human CD68 monoclonal antibody (Dako Corporation, Carpinteria, California, U.S.A.) も行った。

5) OCT 診断基準作成法について

図1に示すように、ACS 患者50症例から得られた冠動脈内吸引物、計217標本のうち、200標本の OCT 像と病理像のセットを作成した。17標本の吸引内容物は検体が小さすぎるため病理像作成までにいたらず、除外した。

OCT 像と病理像のセットを、病理診断を基準として、白色血栓、赤色血栓、脂質内容物を含有した血栓に分類した後、診断基準作成用セット (n=30, 白色血栓11例、赤色血栓11例、脂質内容物を含有した血栓8例) と血栓性状識別能判定用セット (n=170) に振り分けた⁷。

診断基準作成用セットは、吸引内容物を白色血栓、赤色血栓、脂質内容物を含有した血栓のそれぞれに対する OCT 診断基準を確立するために使用した。また血栓の色調と病理組織学所見との関係は、日本心血管内視鏡学会による診断基準で規定される血栓性状別に、白色血栓、赤色血栓、黄色血栓に分類して OCT 診断を作成した。すなわち“黄色血栓もしくは褐色血栓”に相当する脂質内容物を含有した血栓 (以下、黄色血栓と記述) は、破綻した脂質性プラークのプラーク成分が吸引されたものとし、病理組織学上はマクロファージや泡沫細胞、コレステロール結晶、微小石灰化、細胞外マトリックスで構成されるものとした。また病理組織学上、白色血栓は血小板とフィブリンで構成され、赤色血栓は赤血球で構成されるものとした。

OCT 診断基準は OCT 像と前記の病理像のそれぞれを対比し、OCT の輝度、シグナル減弱度の光学的特性の血栓別特徴を視覚的に検討して考案した。

6) OCT 血栓性状識別能について

血栓性状識別能判定用セットの OCT 像を病理組織学的診断結果を伏せられた独立した OCT 検者2名に割り当て、一検体につき白色血栓・赤色血栓・黄色血栓のうちのいずれか一つの診断を求めるよう促した。両者の結果を比較して OCT の検者間一致率を求めた。両者の診断結果が異なった場合は、両者が協議し統一した診断結果を出し、OCT 診断として病理診断と対比した。

一方で OCT の診断結果を伏せられた一名の病理検者に対しても、血栓性状識別能判定用セットの病理像を割り当て、一検体につき白色血栓、赤色血栓、黄色血栓のうちのいずれか一つの診断を求めるよう促し、病理診断として OCT 診断と対比した。

7) 統計学的分析

冠動脈内吸引物である血栓の病理診断を基準とし、OCT 診断基準から求めた血栓に対する正確性を算出した。病理と OCT による診断能の一致性と OCT の検者間一致率は χ test により算出した⁸。数値変数は平均±標準偏差で示した。

結 果

1) 患者背景 (表1)

患者50症例の内訳は男性42例、女性8例、平均66.8±9.8歳、急性心筋梗塞45例(発症から血栓吸引まで27.0±53.9時間)、不安定狭心症5例であった。

表1 患者背景

症例数	50
年齢 (歳)	66.8±9.8
性別 (男)	42 (84.0%)
冠危険因子	
糖尿病	14 (28.0%)
高血圧症	36 (72.0%)
高脂血症	26 (52.0%)
喫煙	34 (68.0%)
肥満	16 (32.0%)
臨床診断	
急性心筋梗塞	45 (90.0%)
発症から血栓吸引まで (時間)	27.0±53.9
不安定狭心症	5 (10.0%)
観察血管	
右冠動脈	20 (40.0%)
左冠動脈前下行枝	19 (38.0%)
左冠動脈回旋枝	9 (18.0%)
バイパスグラフト	2 (4.0%)

表2 各血栓に対する OCT 診断基準

病理診断	OCT 所見
白色血栓	シグナル減衰特性の弱い、内部が比較的一様な高シグナルセグメントとして観察される。
赤色血栓	内部の優勢な赤血球部分は不均一な低シグナルセグメントとして観察され、その周囲のフィブリン部分は均一な高シグナルセグメントとして観察される。その境界部分でシグナル減衰特性が高度である
黄色血栓	シグナル減衰特性が中等度で、徐々にシグナルが減衰する境界不明瞭なセグメントとして観察される。内部にマクロファージやコレステロール結晶が存在する場合は高シグナルな粒状もしくは線状影を認める。

OCT : optical coherence tomography.

全ての患者は血栓吸引療法に引き続きステント留置術、もしくはバルーン形成術のいずれか、もしくは両方のPCIが施行された。

2) OCT 診断基準 (表 2)

診断基準作成用セットから白色血栓、赤色血栓、黄色血栓のそれぞれに特徴的な OCT 像の特徴を考察した。病理組織学的に証明された白色血栓 (図 2

A) は、OCT で図 2 B のようにシグナル減衰特性が弱く、標本内部が比較的均一な高シグナルセグメントとした。赤色血栓 (図 3 A) は、OCT 上図 3 B の如く表層のフィブリン部分が均一な高シグナルセグメントを示し、内部の赤血球部分は不均一な低シグナルセグメントで、かつその境界部分でシグナル減衰特性が高度であるものとした。破綻した脂質内容

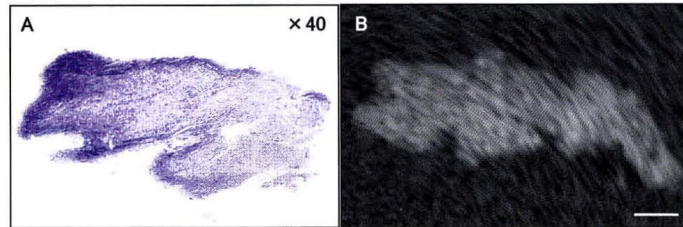


図 2 診断基準作成用セット内の白色血栓の典型的 OCT 像と対応する病理像
A : 病理組織像。リンタングステン酸ヘマトキシリン染色, ×40倍。
B : 対応する OCT 像, シグナル減衰特性の乏しい, 内部が比較的均一の高シグナルセグメントとして描出される。スケールバーは250 μm を示す。
OCT : optical coherence tomography.

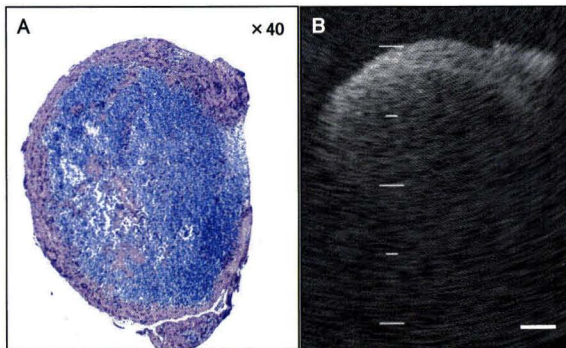


図 3 診断基準作成用セット内の赤色血栓の典型的 OCT 像と対応する病理像
A : 赤色血栓の病理組織像。リンタングステン酸ヘマトキシリン染色, ×40倍。
B : 同一赤色血栓の OCT 像, シグナル減衰特性が強く, 表層のフィブリン部分は高シグナルセグメントとして描出され, 内部の赤血球優位な部分は低シグナルセグメントとして描出される。スケールバーは250 μm を示す。
OCT : optical coherence tomography.

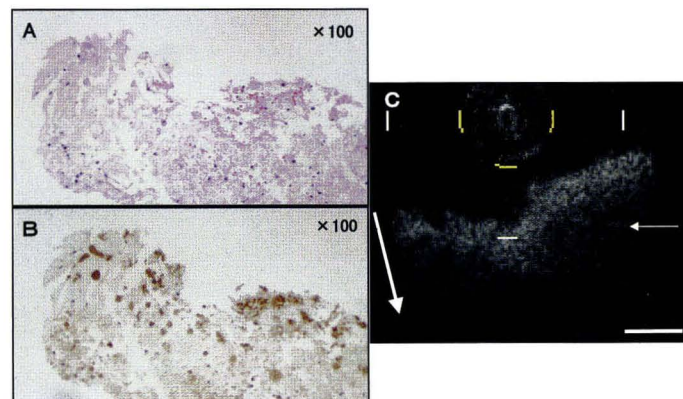


図 4 診断基準作成用内の黄色血栓の典型的 OCT 像と対応する病理像
A : 崩壊した脂質内容物である黄色血栓の病理組織像。内部にコレステロール結晶を認める。ヘマトキシリン・エオジン染色, ×100倍
B : 同一黄色血栓の病理組織像, CD68 陽性のマクロファージが血栓表層に観察される。抗ヒトマクロファージ・マウスモノクローナル抗体免疫染色, ×100倍。
C : 同一黄色血栓の OCT 像。徐々にシグナルが減衰する境界不明瞭なセグメントとして描出される (太い矢印の方向へ減衰)。内部にさらに高シグナルな粒状・線状影を認める (細い矢印)。スケールバーは250 μm を示す。
OCT : optical coherence tomography.

表3 OCT診断結果と病理診断結果の比較

OCT診断結果	病理診断結果			合計
	白色血栓	赤色血栓	黄色血栓	
白色血栓	62	2	0	64
赤色血栓	6	62	1	69
黄色血栓	7	1	29	37
合計	75	65	30	170

OCT : optical coherence tomography.

表4 OCT診断基準の血栓識別能

	感度	特異度	陽性的中率	陰性的中率
白色血栓	83	98	97	87
赤色血栓	95	93	90	97
黄色血栓	97	94	78	99

数値は%。OCT : optical coherence tomography.

物を含有した黄色血栓 (図4 A, 図4 B) は, OCT では, 図4 Cのごとくシグナル減衰特性が中等度で, 徐々にシグナルが減衰するシグナルセグメントの内部にさらに高シグナルな粒状~線状影を伴うものとした。

3) 病理診断に対する OCT 診断基準の血栓識別能
考案した OCT 診断基準と病理組織学的に確認された血栓性状との比較を表3に, この結果に基づく OCT の感度・特異度・陽性的中率・陰性的中率を表4に示した。

また OCT による検者間一致率は $\kappa=0.86$ であった。

考 察

本検討で OCT による冠動脈内血栓性状識別能はじめて明らかになった。また, 本研究で考案した OCT 診断基準を用いることによって, OCT は高い感度と特異度を持って血栓性状の識別が可能であることが示された。

Tearneyらは *in vitro* における OCT と病理像との対比で線維性被膜内の OCT シグナルのばらつきとマクロファージの集積度に相関があったことを明らかにしている。Jangら⁵は57例の冠動脈疾患患者において OCT は安全に施行可能, かつ *in vivo* における動脈硬化プラークの性状識別に有効であったと述べている。ただしこの報告で興味深いことは, 冠動脈内血栓の頻度が ACS 症例と安定狭心症例で差がなかったとしている点である。この結果の要因の一つとして OCT による血栓に関する診断基準が確立していないことが, ACS 症例における血栓の出現頻度の過小評価につながったのではないかと推察される。これまでの OCT を用いた血栓性状識別に関

する検討では Kume ら⁹が35例の血栓を *in vitro* で解析し, 赤色血栓と白色血栓では OCT シグナル強度の減衰率が異なっていたことを報告している。また家兎動脈硬化バルーン障害モデルで作成した6例の頸動脈血栓全てで OCT による同定が可能であったとする報告がある¹⁰。この検討では血栓は全て赤色血栓のみで, OCT による血栓の診断基準は血管表面から血管内へ逸脱する構造物かつ血管壁側は低シグナルセグメントで, 内腔側は高シグナルセグメントとしており, 今回我々が基準に挙げた赤色血栓の診断基準に類似していた。また粥腫内容を被覆する線維性被膜が破裂を起こし血管内に飛散した脂質内容物を含有している血栓, いわゆる黄色血栓の診断基準は脂質性プラークの脂質プール部分の特性に合致した⁷。以上のような過去知見と比較して, 我々の作成した各血栓性状識別に関する診断基準は妥当と思われる。

一方, 病理診断と OCT 診断が一致しない標本もみられた。OCT 上赤色血栓, もしくは黄色血栓の偽陽性例の多くは白色血栓とそれぞれの混合血栓内に混在する赤血球成分や脂質成分を OCT 検者が陽性に取り, 結果として赤色血栓, あるいは黄色血栓と診断したものである。その結果, OCT の白色血栓の陰性的中率が低くなった。本検討では臨床で得られた冠動脈内吸引物を検体として用いているため純粋な赤色血栓は少なく, 混合血栓であっても占有率から赤色, 白色, 黄色血栓のうちいずれかの診断をした。このため, 各検者間に血栓成分を判断する閾値の差異が生じ, OCT 診断に不一致例が生じたものと思われる。また赤色血栓や黄色血栓の偽陽性例では, それぞれ表層の赤血球成分や脂質内容物が存在し, その背側にある優勢な他成分をその表層成分のシグナル減衰特性のため秘匿してしまった結果, 誤診断した可能性もある。血栓の下に存在する不安定プラークの観察に関しては血管内視鏡と同様今後の OCT の課題である。

本研究の限界について

本研究の問題点として, 第一に50例の急性冠症候群患者から得られた吸引物であり, 比較的少数例の検討に相当することが挙げられる。しかし, 合計217標本の冠動脈内吸引物から今回の検討が行われており OCT の血栓性状識別能を判定する上で基準数は満たしていると判断している。

また本検討の検体が血栓吸引カテーテルを用いて得られた *in vitro* の血栓もしくは脂質内容物という点に問題があるかもしれない。すなわち, 本検討では吸引から OCT 像撮影まで24時間以内の標本を採用しているが, 吸引された時点から軽度の組織変化

が生じている可能性は否定できない。

今回の検討の目的が冠動脈内吸引物を用いた OCT による血栓性状識別能の *in vitro* での評価であったことから、冠動脈プラークと血栓の識別に関する診断能は行っていない。血栓と血栓下に存在する破綻した不安定プラークの検出はその病変の不安定性を評価するうえで重要である。しかし、OCT では赤色血栓や破裂し飛散した脂質内容物の持つシグナル減衰特性から、その下部に存在する大量のプラークの識別や評価は困難と推察される。

最後に病理像を作成する上で全体のうち7.8%に相当する17個の吸引内容物がその検体の微小さのため病理像作成までに至らず、バイアスが生じている可能性がある。

謝 辞

本稿を終えるにあたり本研究に御協力を頂いた近畿大学医学部内科学教室循環器内科部門の諸先生に深く感謝申し上げます。

本研究の要旨は第55回米国心臓病会議年次総会（2006年3月14日、アトランタ）、第70回日本循環器学会総会（2006年3月26日名古屋）、第20回血管内視鏡学会（2006年10月7日、東京）、第54回日本心臓病学会総会（2006年9月27日、鹿児島）において発表した。

文 献

- Henriques de Gouveia R, van der Wal AC, van der Loos CM, Becker AE (2002) Sudden unexpected death in young adults. Discrepancies between initiation of acute plaque complications and the onset of acute coronary death. *Eur Heart J* 23: 1433-1440
- Ojio S, Takatsu H, Tanaka T, Ueno K, Yokoya K, Matsubara T, Suzuki T, Watanabe S, Morita N, Kawasaki M, Nagano T, Nishio I, Sakai K, Nishigaki K, Takemura G, Noda T, Minatoguchi S, Fujiwara H (2000) Considerable time from the onset of plaque rupture and/or thrombi until the onset of acute myocardial infarction in humans: coronary angiographic findings within 1 week before the onset of infarction. *Circulation* 102: 2063-2069
- Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, Hee MR, Flotte T, Gregory K, Puliafito CA, et al. (1991) Optical coherence tomography. *Science* 254: 1178-1181
- Tearney GJ, Brezinski ME, Bouma BE, Boppart SA, Pitris C, Southern JF, Fujimoto JG (1997) In vivo endoscopic optical biopsy with optical coherence tomography. *Science* 276: 2037-2039
- Jang IK, Tearney GJ, MacNeill B, Takano M, Moselowski F, Iftima N, Shishkov M, Houser S, Aretz HT, Halpern EF, Bouma BE (2005) In vivo characterization of coronary atherosclerotic plaque by use of optical coherence tomography. *Circulation* 111: 1551-1555
- Takano M, Jang IK, Inami S, Yamamoto M, Murakami D, Okamatsu K, Seimiya K, Ohba T, Mizuno K (2008) In vivo comparison of optical coherence tomography and angiography for the evaluation of coronary plaque characteristics. *Am J Cardiol* 101: 471-476
- Yabushita H, Bouma BE, Houser SL, Aretz HT, Jang IK, Schlendorf KH, Kauffman CR, Shishkov M, Kang DH, Halpern EF, Tearney GJ (2002) Characterization of human atherosclerosis by optical coherence tomography. *Circulation* 106: 1640-1645
- Landis JR, Koch GG (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33: 159-174
- Kume T, Akasaka T, Kawamoto T, Ogasawara Y, Watanabe N, Toyota E, Neishi Y, Sukmawan R, Sada-hira Y, Yoshida K (2006) Assessment of coronary arterial thrombus by optical coherence tomography. *Am J Cardiol* 97: 1713-1717
- Meng L, Lv B, Zhang S, Yv B (2008) In vivo optical coherence tomography of experimental thrombosis in a rabbit carotid model. *Heart* 94: 777-780