

光学相干断层成像技术评价动脉粥样硬化斑块纤维帽的结构特征

田峰, 陈韵岱, 王晶, 张弢, 杨俊杰

(中国人民解放军总医院心内科, 北京市 100853)

[关键词] 动脉粥样硬化; 光学相干断层成像; 纤维帽; 视频密度

[摘要] **目的** 应用光学相干断层成像(OCT)技术评价动脉粥样硬化斑块纤维帽厚度及其结构特征。**方法** 24只雄性新西兰大白兔,应用球囊拉伤加高脂饲养的方法制作动脉粥样硬化模型,动物随机分为两组:治疗组($n=12$)和对照组($n=12$)。对照组给予高脂饲料喂养,共22周;治疗组前10周给予高脂饲料喂养,后12周改为普通饲料喂养同时给予阿托伐他汀 $2\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。应用OCT评价血管管腔面积、管腔偏心指数、斑块纤维帽厚度及视频密度。22周处死动物后取靶血管行HE染色。**结果** 24只动物在第10周末OCT检查可见动脉粥样硬化斑块。第22周时治疗组管腔面积显著大于对照组($2.07\pm 0.48\text{ mm}^2$ 比 $1.50\pm 0.52\text{ mm}^2$, $P=0.016$),管腔偏心指数小于对照组($18.74\%\pm 9.28\%$ 比 $27.35\%\pm 7.21\%$, $P=0.025$)。对照组斑块纤维帽厚度小于治疗组,但无统计学差异($70.00\pm 26.08\text{ }\mu\text{m}$ 比 $94.55\pm 29.79\text{ }\mu\text{m}$, $P=0.053$)。分析OCT图像的视频密度显示,22周时对照组斑块纤维帽视频密度显著低于治疗组(49.7 ± 7.5 比 59.4 ± 4.3 , $P=0.004$),相关性分析显示斑块纤维帽视频密度与细胞数量存在线性关系($R=0.706$, $P=0.001$)。**结论** OCT能精确评价动脉粥样硬化斑块纤维帽厚度变化,图像视频密度可用于反应斑块纤维帽结构特征。

[中图分类号] R81

[文献标识码] A

Assessing the Characteristics of Fibrous-cap of Atherosclerosis Plaque by Optical Coherence Tomography

TIAN Feng, CHEN Yun-Dai, WANG Jing, ZHANG Tao, and YANG Jun-Jie

(Department of Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Optical Coherence Tomography; Fibrous Cap; Video Density

[ABSTRACT] **Aim** To assess the fibrous cap change during atherosclerosis development and statin treatment.

Methods Atherosclerosis model in rabbits were acquired by balloon catheter injury and cholesterol supplemented diet, animals were divided into two groups: treatment group [$n=12$, atorvastatin $2\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ for 12 weeks] and control group ($n=12$). OCT was used to evaluate the fibrous cap of plaque. The target vessel was examined by pathology, and HE dye was needed. The datum of video density of fibrous cap and cell counts were analysed. **Results** The lumen area in treatment group was significantly larger than that in control group ($2.07\pm 0.48\text{ mm}^2$ vs $1.50\pm 0.52\text{ mm}^2$, $P=0.016$), the thickness of fibrous cap in treatment group was significantly thicker than that in control group ($94.55\pm 29.79\text{ }\mu\text{m}$ vs $70.00\pm 26.08\text{ }\mu\text{m}$, $P=0.053$), the video density of fibrous cap in control group was lower compared with treatment group (49.7 ± 7.5 vs 59.4 ± 4.3 , $P=0.004$), and the video density of fibrous cap was linear with cell counts in fibrous cap ($R=0.706$, $P=0.001$). **Conclusions** OCT is accurate to assess the thickness of fibrous cap. The characteristics of fibrous cap can be shown by the video density of OCT imaging.

动脉粥样硬化斑块由纤维帽和脂质核组成,纤维帽作为脂质核与血液的分隔屏障,是影响斑块稳定性的重要因素。任何降低斑块纤维帽厚度或改

变其基质成分(或比例)使其抗血流机械强度减弱的因素都可增加斑块的不稳定性,因此评价斑块纤维帽厚度及结构特征对于评价斑块稳定性有重要意

[收稿日期] 2013-02-06

[作者简介] 田峰,博士,研究方向为冠心病基础、冠心病介入治疗,E-mail为 tianf327@126.com。通讯作者陈韵岱,主任医师,教授,博士生导师,E-mail为 cyundai@medmail.com.cn。

义。病理学研究发现破裂斑块纤维帽的平均厚度为 $23 \pm 19 \mu\text{m}$, 其中 95% 的纤维帽厚度 $\leq 65 \mu\text{m}$, 因此纤维帽厚度 $< 65 \mu\text{m}$ 被认为是不稳定性斑块的主要特征之一^[1,2]。以往鉴于检测方法的限制不能在体评价动脉粥样硬化斑块纤维帽厚度和结构特征, 光学相干断层成像 (optical coherence tomography, OCT) 是一种新型的以光学为基础的成像方式, 其分辨率为 $3 \sim 20 \mu\text{m}$, 是目前分辨率最高的腔内成像技术, 可以清晰地显示动脉粥样硬化斑块纤维帽厚度及结构特征^[3,4], 也被称为“体内的组织学显微镜”, 是在体评价斑块纤维帽特征的理想工具。本研究拟应用 OCT 在体评价动脉粥样硬化斑块纤维帽的结构特征以及阿托伐他汀治疗对斑块纤维帽的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

新西兰大白兔 24 只, 雄性, 体重 $2.0 \sim 2.5 \text{ kg}$ 。将动物顺序编号标记并随机分成两组: 治疗组 ($n = 12$) 和对照组 ($n = 12$)。对照组给予高脂饲料喂养, 共 22 周; 治疗组前 10 周给予高脂饲料喂养, 后 12 周改为普通饲料喂养同时给予 $2 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 阿托伐他汀 (立普妥, 每片 20 mg , 辉瑞公司)。

1.2 动脉粥样硬化模型的制作

称取兔体重, 1% 戊巴比妥钠以 $1 \text{ mL}/\text{kg}$ 腹腔注射麻醉动物, 将动物固定于兔专用实验手术台上。剪去左侧颈部体毛, 消毒铺巾, 在无菌条件下于左侧颈总动脉搏动明显处切开皮肤, 分离皮下组织及肌肉, 钝性分离左侧颈总动脉, 直视下穿刺颈总动脉, 穿刺成功后置入 5F 动脉鞘管。在体表超声引导下将 PTCA 导丝送达股动脉远端。血管段选择为肾动脉水平到髂动脉分叉处。送入 $3.0 \text{ mm} \times 15 \text{ mm}$ 球囊定位于髂动脉分叉处, 以 10 atm 扩张球囊后缓慢回拉球囊到肾动脉水平, 重复 3 次, 制作球囊拉伤模型。退出球囊及导丝, 拔出鞘管, 应用手术缝线分别结扎穿刺点近远端, 随后缝合手术切口。术后每天肌内注射青霉素 40 万单位, 共 3 天。术后开始给予高脂饲料 (含 1% 胆固醇, 2% 猪油, 10% 蛋黄) 喂养, 每日给予 200 g 饲料, 饲养 10 周以制作动脉粥样硬化斑块模型。

1.3 OCT 检查方法及图像分析

所有动物均进行 3 次 OCT 检查, 检查的时间点分别为球囊拉伤前、高脂饲养 10 周及 22 周研究结束时。将 PTCA 导丝送达股动脉水平, 循导丝将阻

断球囊送达髂动脉, 随后撤出 PTCA 导丝, 经阻断球囊导管中心腔将成像导丝送达股动脉, 成像点定位在髂动脉远心端, 后撤阻断球囊导管到肾动脉水平, 低压压力泵与阻断球囊导管连接后以 $0.5 \sim 0.7 \text{ atm}$ 扩张阻断球囊导管以阻断血流, 同时通过阻断球囊导管中心腔以 $1 \text{ mL}/\text{s}$ 的速度注射肝素化生理盐水, OCT 成像清晰后开始自动回撤导丝并记录。成像导丝以 $1.5 \text{ mm}/\text{s}$ 速度自动回撤, 每次成像的血管长度 45 mm 。OCT 影像资料刻光盘进行备份。应用 Light Lab 公司提供的 OCT 图像分析和测量软件进行分析。分析动脉粥样硬化斑块性质, 测量斑块纤维帽厚度。正常血管段测量靶血管直径、管腔面积; 动脉粥样硬化血管分析包括: 管腔直径 (包括长径和短径)、管腔偏心指数、狭窄段管腔面积、近段参考管腔面积、管腔狭窄程度。校正 OCT 成像本底一致后截取斑块不同层面的 OCT 图像, 应用 Image-Pro Plus 图像分析软件 (美国 Media Cybernetics 公司) 分析斑块纤维帽的视频密度。

1.4 病理学检查

处死动物后取髂动脉-肾动脉段血管, 生理盐水冲洗后在 OCT 指引下截取以动脉血管狭窄最重处为中心上下各 10 mm 的血管段, 浸泡在 1% 福尔马林溶液中送病理学检查。每隔 2 mm 切片, 标本行 HE 染色。将病理切片与 OCT 影像进行比对, 找出同一斑块同一位置处相对应的病理切片与 OCT 图像进行分析。

1.5 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 来表示, 组间比较应用 t 检验, 计数资料组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析采用直线相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功制作兔动脉粥样硬化模型

球囊拉伤并高脂饲养 10 周后两组 28 只兔行 OCT 检查, 髂动脉-肾动脉水平均可见动脉粥样硬化斑块形成及不同程度的管腔狭窄, 斑块性质为纤维脂质斑块。治疗组与对照组相比管腔面积、管腔偏心指数无统计学差异。第 22 周时治疗组管腔面积显著大于对照组, 管腔偏心指数显著小于对照组。治疗组 22 周时的管腔面积比 10 周时减小但没有统计学差异, 管腔偏心指数亦没有显著变化, 提示治疗组动脉粥样硬化斑块相对稳定; 对照组 22 周时管腔面积比 10 周时显著减小 ($P = 0.002$), 管腔偏心指数增大但没有统计学差异, 提示对照组动脉粥样

硬化斑块在进展(表 1 和图 1)。

2.2 动脉粥样硬化斑块纤维帽厚度的变化

球囊拉伤并高脂饲养 10 周治疗组与对照组斑块纤维帽厚度无统计学差异,第 22 周时治疗组斑块纤维帽厚度大于对照组,但无统计学差异。治疗组 22 周时斑块纤维帽厚度较 10 周时减小但没有统计学差异,对照组 22 周时斑块纤维帽厚度较 10 周时显著减小($P=0.036$,表 1)。以斑块纤维帽厚度 $\leq 65 \mu\text{m}$ 为标准定义易损斑块,治疗后治疗组易损斑块数是 1 个,对照组为 6 个,两组相比有统计学差异($P<0.001$)。

表 1. 动脉粥样硬化斑块的形态变化

Table 1. Morphological changes of atherosclerotic plaques

项目	10 周($n=11$)	22 周($n=11$)	P 值
管腔面积(mm^2)			
阿托伐他汀组	2.45 ± 0.63	2.07 ± 0.48	0.125
对照组	2.42 ± 0.65	1.50 ± 0.52	0.002
管腔偏心指数			
阿托伐他汀组	$17.36\% \pm 6.06\%$	$18.74\% \pm 9.28\%$	0.685
对照组	$22.92\% \pm 10.67\%$	$27.35\% \pm 7.21\%$	0.268
纤维帽厚度(μm)			
阿托伐他汀组	108.18 ± 23.16	94.55 ± 29.79	0.245
对照组	100.0 ± 35.78	70.0 ± 26.08	0.036

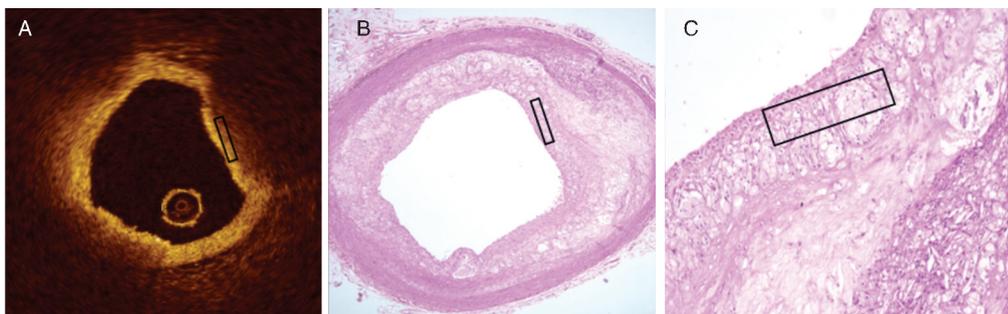


图 2. OCT 与病理对照及感兴趣区面积计数细胞数 A 为斑块纤维帽的视频密度分析区(黑色框),B 为病理切片斑块同一位置的细胞计数($\times 4$ 倍,黑色框),C 为病理切片斑块同一位置的细胞计数($\times 10$ 倍,黑色框)

Figure 2. Counting cell number of OCT, pathology and the region of interest area

3 讨论

本研究应用球囊拉伤加高脂饲养的方法成功制作了动脉粥样硬化斑块模型,OCT 检查均为脂质斑块。研究中复制了继续高脂饲养模拟动脉粥样硬化继续进展和给予阿托伐他汀及普通饲料饲养模拟稳定动脉粥样硬化斑块的病理过程。动脉粥样硬化的进展在影像学上表现为斑块脂质核心的

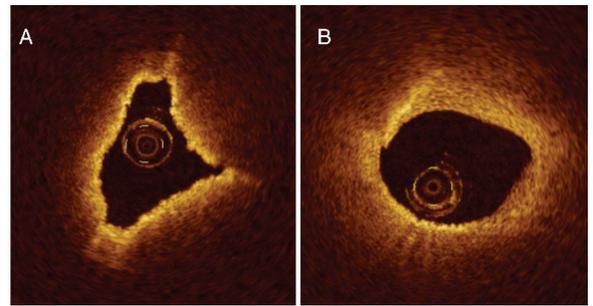


图 1. 22 周时动脉粥样硬化斑块的光学相干断层扫描(OCT)图像 A 为对照组,B 为治疗组。

Figure 1. OCT images of atherosclerotic plaques at 22 weeks

2.3 斑块纤维帽视频密度

与正常血管内膜相比,动脉粥样硬化斑块纤维帽的视频密度显著低于正常血管内膜(57.6 ± 6.3 比 71.2 ± 4.9 , $P<0.001$),以斑块纤维帽 $500 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ 的面积区域计数细胞数,结果显示斑块纤维帽的细胞数少于正常血管内膜,差异有显著性(38.6 ± 6.4 比 46.4 ± 5.6 , $P=0.003$)。22 周时治疗组斑块纤维帽视频密度显著高于对照组(59.4 ± 4.3 比 49.7 ± 7.5 , $P=0.004$),细胞数亦高于对照组,但没有统计学差异(41.6 ± 9.0 比 37.9 ± 3.8 , $P=0.276$;图 2)。相关性分析显示斑块纤维帽视频密度与细胞数量存在线性关系($R=0.706$, $P=0.001$),回归方程为 $Y(\text{视频密度})=0.87 \times \text{细胞数量} + 26.24$ 。

增大、纤维帽变薄以及血管重构等,对血管管腔造成的影像表现为管腔狭窄程度加重以及血管管腔几何形态的改变,管腔几何形态的改变可用管腔偏心指数来反应。研究中应用 OCT 测量靶血管节段的管腔面积、管腔偏心指数,发现对照组的管腔面积及管腔偏心指数不断变化,提示动脉粥样硬化是不断进展的;而治疗组给予阿托伐他汀治疗同时给予普通饲料饲养,去除了动脉粥样硬化的相关因

素,血管管腔面积和管腔偏心指数变化不明显,提示动脉粥样硬化进程被有效抑制,斑块向稳定的方向发展。OCT是目前分辨率最高的腔内成像技术,可以清晰显示斑块的性质并可观察到斑块中巨噬细胞,但由于其穿透性较低,不能显示斑块的全部轮廓,但可以清晰显现血管管腔及斑块表面特征。本研究中通过对OCT图像的分析,计算靶血管段的管腔狭窄程度及管腔偏心指数来反应动脉粥样硬化斑块的进展情况,弥补了OCT不能反映斑块整体轮廓的不足。

动脉粥样硬化斑块纤维帽作为脂质核与血液的分隔屏障,是影响斑块稳定性的重要因素。任何降低斑块纤维帽厚度或改变其基质成分(或比例)使其抗血流机械强度减弱的因素都可增加斑块的不稳定性。研究中对照组随着动脉粥样硬化的进展斑块纤维帽逐渐变薄,给予阿托伐他汀治疗后斑块纤维帽的厚度相对稳定,临床试验已经证实他汀类药物可以稳定动脉粥样硬化斑块,降低斑块负荷和炎症水平,对于治疗效果的评价采用了IVUS,尚缺乏应用OCT评价他汀治疗对于斑块纤维帽厚度变化的研究资料。他汀稳定斑块理论上应该增加了斑块纤维帽的厚度,降低斑块及纤维帽内的炎症反应。纤维帽的完整性及对破裂的抵抗力主要靠细胞外基质来维持,其中最主要的是基质中的胶原纤维,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)在调节细胞外基质的合成与降解的动态平衡方面发挥重要作用。研究表明MMP的激活导致斑块纤维帽中的胶原降解,显著降低斑块纤维帽抵抗血流应力的作用,最终导致斑块破裂^[5-7]。MMP升高与斑块纤维帽变薄、不稳定型心绞痛及急性心肌梗死的发生密切相关^[8,9]。MMP的表达使细胞外胶原纤维不断分解,纤维帽变薄,对外力的抵抗作用降低,斑块趋于不稳定和破裂^[10-12],他汀治疗可以抑制斑块内MMP-2表达^[13]。Takarada等^[14]应用OCT观察了急性心肌梗死患者给予他汀治疗后斑块纤维帽的变化,结果表明他汀治疗9个月后斑块纤维帽厚度较对照组明显变厚。本研究中应用OCT观察到了动脉粥样硬化进展和治疗后稳定斑块过程中斑块纤维帽的厚度变化,发现在对照组有更多薄纤维帽的动脉粥样硬化斑块,提示斑块纤维帽在斑块稳定性中发挥重要作用,而OCT是一种准确的评价技术,可在体动态评价斑块纤维帽的厚度变化。研究中发现治疗组斑块纤维帽厚度较治疗前有降低,但没有统计学差异,这种降低可能是应用阿托伐他汀治疗的早期,在药物还没有发挥有效

作用之前斑块进展造成的,另外他汀对斑块纤维帽的结构性改善需要较长时间,而我们的观察时间偏短。

视频密度分析是一种常用的图像分析方法,广泛应用于免疫组化、组织灌注超声影像等的医学图像分析处理。能否应用视频密度来反映OCT图像中斑块纤维帽的结构和功能情况尚无研究。Nadkarni等^[15]应用偏振感光OCT观察了动脉粥样硬化斑块内的胶原含量以及平滑肌细胞数量,其检测结果与病理学对照,结果显示光的双向折射与斑块中胶原含量和平滑肌数量成正相关,应用偏振光感OCT可以检测斑块内胶原和平滑肌细胞来评价斑块稳定性。Giattina等^[16]应用偏振感光OCT检测斑块内胶原含量亦得出了相似的结果。我们应用的OCT成像系统是时域OCT,它利用近红外线光源实现对不同深度组织扫描成像。OCT成像后分析正常血管段及动脉粥样硬化斑块的图像视频密度,发现正常血管内膜视频密度显著高于斑块纤维帽。对检测的斑块纤维帽视频密度与纤维帽细胞数进行相关性分析,结果显示纤维帽视频密度与纤维帽中的细胞数成正相关,该结果与应用偏振感光OCT的检测结果一致。治疗后斑块纤维帽厚度增加,纤维帽内细胞数增加,而对照组斑块不断进展,斑块纤维帽内细胞数减少,分析纤维帽视频密度变化,结果也显示治疗组纤维帽视频密度显著高于对照组。以上结果提示应用视频密度评价斑块纤维帽的结构特征是可行的,该结果使OCT能够提供更多评价斑块纤维帽的信息,斑块纤维帽的视频密度可作为一个新指标来反映斑块的稳定与否,提高识别动脉粥样硬化斑块易损性的能力。

[参考文献]

- [1] Kolodgie FD, Virmani R, Burke AP, et al. Pathological assessments of the vulnerable human coronary plaque[J]. Heart, 2004, 90: 1 385-391.
- [2] Virmani R, Burke AP, Farb A, et al. Pathology of unstable plaque[J]. Prog Cardiovasc Dis, 2002, 44: 349-356.
- [3] Jang IK, Tearney GJ, MacNeill B, et al. In vivo characterization of coronary atherosclerotic plaque by use of optical coherence tomography[J]. Circulation, 2005, 111: 1 551-555.
- [4] Yabushita H, Bouma BE, Houser SL, et al. Characterization of human atherosclerosis by optical coherence tomography[J]. Circulation, 2002, 106: 1 640-645.
- [5] Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading ac-

- tivity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques [J]. *J Clin Invest*, 1994, 94: 2 493-503.
- [6] Shah PK, Falk E, Badimon JJ, et al. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques: potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture[J]. *Circulation*, 1995, 92: 1 565-569.
- [7] Aikawa M, Rabkin E, Okada Y, et al. Lipid lowering by diet reduces matrix metalloproteinase activity and increases collagen content of rabbit atheroma: a potential mechanism of lesion stabilization [J]. *Circulation*, 1998, 97: 2 433-444.
- [8] Chow AK, Cena J, Schulz R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature[J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 152 (2): 189-205.
- [9] Kuge Y, Takai N, Ishino S, et al. Distribution profiles of membrane type 1 matrix metalloproteinase, matrix metalloproteinase 2 and cyclooxygenase 2 in rabbit atherosclerosis: comparison with plaque instability analysis[J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30 (9): 1 634-640.
- [10] Sukhova GK, Schonbeck U, Rabkin E, et al. Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases 1 and 3 in vulnerable human atheromatous plaques[J]. *Circulation*, 1999, 99 (19): 2 503-509.
- [11] Loftus IM, Naylor AR, Goodall S, et al. Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques: A potential role in acute plaque disruption [J]. *Stroke*, 2000, 31 (1): 40-47.
- [12] Papalambros E, Sigala F, Georgopoulos S, et al. Vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase 9 expression in human carotid atherosclerotic plaques: Relationship with plaque destabilization via neovascularization [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2004, 18 (2): 160-165.
- [13] Crisby M, Nordin-Fredriksson G, Shah PK, et al. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: Implications for plaque stabilization[J]. *Circulation*, 2001, 103: 926-933.
- [14] Takarada S, Imanishi T, Kubo T, et al. Effect of statin therapy on coronary fibrous-cap thickness in patients with acute coronary syndrome: Assessment by optical coherence tomography study[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 202 (2): 491-497.
- [15] Nadkarni SK, Pierce MC, Park BH, et al. Measurement of collagen and smooth muscle cell content in atherosclerotic plaques using polarization-sensitive optical coherence tomography[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49 (13): 1 474-481.
- [16] Giattina SD, Courtney BK, Herz PR, et al. Assessment of coronary plaque collagen with polarization sensitive optical coherence tomography (PS-OCT)[J]. *Int J Cardiol*, 2006, 107 (3): 400-409.

(此文编辑 文玉珊)