

1) テクニカルノート

2) ピオクタニンを使用した簡便な術中プラーク視認法（ピオクタニン法）

Pyoktanin Blue Method for staining Fractured plaques

3) 西堂創 保谷克巳 久ヶ澤一葉 岩上貴幸 宮本伸哉 村上 峰子

4) 1 帝京大学ちば総合医療センター 脳神経外科

5) 帝京大学ちば総合医療センター 脳神経外科

〒299-0111 千葉県市原市姉崎 3426-3

0436-62-1211, 0436-62-1357 (Fax)

haj.nish@gmail.com

6) Technical Note

Pyoktanin Blue Method for staining Fractured plaques

Hajime NISHIDO, Katsumi HOYA, Kazuha KUGASAWA, Takayuki

IWAKAMI, Shinya MIYAMOTO, Mineko MURAKAMI

Teikyo University Chiba Medical Center, Department of Neurosurgery

3426-3 Anesaki, Ichihara, Chiba, 299-0111

0436-62-1211, 0436-62-1357 (Fax)

haj.nish@gmail.com

7) Key word: Carotid Stent

8) 宣言『本論文を, 日本脳神経血管内治療学会機関誌「脳神経血管内治療」』に投稿するにあたり, 筆頭著者, 共著者によって, 国内外の他雑誌に掲載ないし投稿されていないことを誓約致します.』

和文要旨：

目的：頸動脈ステント留置術（CAS）において頸動脈狭窄部拡張時に発生する破砕プラークの捕捉と回収は重要である。我々は GuardWire Temporary Occlusion and Aspiration System を用いた CAS 時に発生する破砕プラークの視認性を向上し回収を容易にする方法を開発したので報告する。

方法：デブリスをフィルター内で 1% ピオクタニンブルー溶液を用いて染色した。染色前後のフィルターを肉眼的に比較し、プラークの視認性を評価した。また、顕微鏡下にピオクタニン染色物がプラークであるかを判定した。

結果：デブリスが染色され、視認性は向上した。顕微鏡下に染色物はプラークであることが確認された。

結論：本法は破砕プラークの見逃しを減らす手段として非常に有効であると考えられた。

英語要旨：

Objective: To improve the safety of carotid artery stenting (CAS), reducing the risk of perioperative ischemic complications is mandatory. To achieve this, embolic protection devices (EPD) are being used in the majority of the procedure. With the GuardWire Temporary Occlusion and Aspiration System EPD, complete evacuation of the plaque debris before deflating the occlusion balloon is important to avoid cerebral thromboembolism. We report a novel method to stain the debris on the filter device to enhance the visualization

of the retrieved debris so as to facilitate complete removal of the thromboembolic source.

Methods: The filter devices were immersed with 0.5ml of 1% pyoktanin solution for 5 seconds and irrigated with saline during the CAS procedure. The pre-stained and stained filters were compared for the visibility of the debris.

Results: The pyoktanin staining enhanced the visualization of minute debris captured on the filter that was not well recognized before the staining.

Conclusion: This simple technique was effective in improving the visualization of the evacuated plaque debris and may decrease distal embolism caused by previously unrecognized debris.

目的：

Carotid endarterectomy (CEA) 高リスク患者に対する内頸動脈狭窄病変治療法として Carotid artery stenting (CAS) の非劣性が証明されたが、同時に CAS は CEA に比して周術期虚血性合併症のリスクが有意に高いことも指摘された。⁽¹⁾ このため、CAS の安全性向上のためには、いかに周術期虚血性合併症を減少させるかが課題である。その一つとして、狭窄病変拡張時に発生する破砕プラークの捕獲と回収は重要であると考えられる。破砕プラークをより完全に捕獲することで虚血性合併症の発生を減少しうると推察される。

今回、我々は GuardWire Temporary Occlusion and Aspiration System (Medtronic, Santa Rosa, California, USA) を用いた CAS 手技中に、

狭窄病変拡張時に発生した破砕プラークの視認性を向上させ、プラーク回収を容易にする方法を開発したので報告する。

標準的なバルーン型遠位プロテクションデバイスである GuardWire Temporary Occlusion and Aspiration System を用いた CAS 手技では、病変部の拡張、ステント留置などの操作前に病変より遠位母血管内でバルーンを拡張させ脳血管への順行性血流を一時遮断する。遮断中に病変部の操作で発生した破砕プラークは血液と一緒に回収し、付属のフィルターデバイス（セルストレイナ）で濾過を行う。これを繰り返し行うことで血管内にプラーク片の残存がないことを確認し、遮断を解除して順行性血流を再開させる。⁽²⁾ ここでの問題点は破砕されたプラーク片の視認性である。破砕プラークの視認性は必ずしも容易ではない。その要因として、破砕プラークに微細なものが含まれる点、プラークは白色調のためフィルターとのコントラストが不良な点、フィルター内には多くの泡沫が発生する点が挙げられる。我々はこれらの問題点を解決するため、ピオクタニンを使用し、捕獲回収したプラークを染色する方法を開発したので報告する。

方法：

プラークを濾過したフィルターに滅菌された 1%ピオクタニンブルー溶液（関東化学株式会社、東京）を 0.5ml ほど滴下し、フィルター面上に一様に広げ、プラークの染色を約 5 秒間行う。その後生理食塩水でフィルター内の洗浄を行う。プラークの有無を肉眼的に確認する。（以下、ピオクタニン法）。また、ピオクタニンで染色された固形片が実際にプラークであるかを顕微鏡で観察した。

結果：

白色で視認不良の微細なプラークはピオクタニンブルー溶液で染色された (Figure 1)。実体顕微鏡にて染色を受けたものが実際にプラークであることを確認し、肉眼的所見と矛盾はなかった (Figure 2)。フィルター上の微細な泡沫は染色されないため、プラークと泡沫との鑑別は容易であった。

考察：

理論的には GuardWire Temporary Occlusion and Aspiration System を用いた CAS においては血流遮断時にほぼ全ての破砕プラークの脳血管への迷入を防ぐことが可能である。さらに GuardWire はフィルターデバイスと異なり、破砕プラークを完全に回収したことを確認できるという利点がある。一方で血流遮断解除の際にはプラークの残存があった場合、それら全てが脳血管に迷入する危険がある。したがって、破砕プラークの完全な吸引は GuardWire Temporary Occlusion and Aspiration System を用いた場合、虚血性合併症を回避する意味で極めて重要である。しかしながら、血液の至適な回収量についての一定な基準はない。我々はフィルターに捕獲される破砕プラークが確認されなくなることを基準としているが、前述のように破砕プラークの確認は必ずしも容易ではない。そこで、われわれは破砕プラークの視認性を向上させる手段としてピオクタニン法を考案し、非常に有効であった。他のプラーク染色法に関しては、これまで術後に回収されたプラークを病理学的に詳細評価した報告⁽³⁾はあるが、本法のように術中にデブリスの染色を行い肉眼的にその

存在の有無を評価した論文は我々の渉猟し得た範囲にはない。ピオクタニンがその他の染色液と比べて優れているのは、①滅菌されており清潔操作で可能な点、②短時間で可能な点である。標準的な手技に追加される操作はピオクタニン溶液の滴下のみで簡便であり、短時間で施行可能なため、本法を行うことで追加される遮断時間の延長はごく僅かで済む。またこれまで脳血管バイパス術などで使用した場合においてもピオクタニンの毒性に起因する合併症は報告されておらず、万が一体内へ微量なピオクタニン溶液の混入が起きても危険性は高くないと考えられる。

ピオクタニンの濃度に関して、消化器内視鏡領域では0.03-0.05%濃度で使用されている。⁽⁴⁾⁽⁵⁾ それらと比較すると今回我々が用いた1%濃度は高濃度である。我々は0.1%濃度溶液で染色を行い肉眼的にデブリスが確認されなかった検体を用いて改めて1%濃度溶液を使用しデブリスが視認された例を経験した。さらに高度である6%濃度溶液を使用した場合、1%濃度溶液のものと肉眼的差異が得られず、1%濃度溶液を採用している。本法ではピオクタニン染色後に短時間で生理食塩水での洗浄を行っているため、1%濃度以上の比較的高濃度溶液が適していると考えられるが、最適濃度に関しては、今後のさらなる検討が必要である。

ピオクタニンはトリフェニルメタン系色素であり、塩化メチルロザニン、クリスタルバイオレットとも呼ばれる。一般的にはグラム染色の試薬、消化器内視鏡領域、褥瘡治療に用いられている。ピオクタニンはタンパクと結合して染色効果を示す。⁽⁶⁾ 本研究においては実体顕微鏡を用いてデブリスの確認を行った際に、染色効果が得られていないプラークは認められなかった。プラークの主な構成成分であるフィブリン、血小板、コラーゲン、平滑筋、毛細血管⁽⁷⁾などは染色効果が得られる

と考えられるが、プラーク塊の表層にタンパク成分が乏しいカルシウム塊やコレステロールには染色効果は得られない可能性がある。また、フィルター上で捕獲され、視認できるプラークはストラットサイズ(40 μ m)より大きい固形物のみであり、本法で可視化できないデブリスも理論上は存在することに留意する必要がある。

これまで当院で2012年1月から2015年10月までの間にGuardwireを使用したCASは28件であった(ピオクタニン法導入前16件、導入後は12件)。全症例で臨床上的周術期虚血性合併症は認められなかったが、術後患側に新たなdiffusion weighted image 高信号域が検出されたものは、ピオクタニン法導入前は23%(6/16例)に対して、ピオクタニン法導入後は0%(0/12例)であり有意に減少した(p=0.016, Chi-square法)。その理由として、ピオクタニン法を導入以前の吸引回数は20mlx3-6回であったが、導入後は20mlx8-9回と増加しており、より確実なプラークの捕獲と回収が影響した可能性がある。本法を行うことでCAS時における虚血性合併症の発生頻度を減少させられるかどうかをより明確に結論付けるためには今後の症例蓄積が必要であるが、現時点では明らかな破砕プラークの見逃しを減らす手段として非常に有効と考えている。

結語：

GuardWire Temporary Occlusion and Aspiration System を用いた CAS における、破砕プラークの視認性を簡便に向上させるピオクタニン法を呈示した。本法は破砕プラークの描出手段として非常に有効であると考えられた。

利益相反開示：

筆頭著者および共著者全員が利益相反はない。

文献：

- (1) Brott TG, Hobson RW 2nd, Howard G, et al. Stenting versus endarterectomy for treatment of carotid-artery stenosis. *N Engl J Med.* 2010 Jul 1; 363(1): 11-23.
- (2) Henry M, Polydorou A, Henry I, et al. Carotid angioplasty under cerebral protection with the percusurge guardwire system. *J Interv Cardiol.* 2004Aug;17(4):233-43.
- (3) 林健太郎、堀江信貴、森川実、他 頰動脈ステント留置術中に回収されたデブリスの同定：頰動脈内膜剥離術病理標本と対比して. *Journal of Neuroendovascular Therapy* 2011 5: 99-105.
- (4) Ohata K, Misaka R, Ito T, et al. Novel Endoscopic Technique for the Diagnosis of Early Gastric Cancer:Endoscopy with Crystal Violet Staining. *Digestion* 2011 84:60-61.
- (5) Amano Y, Kushiya Y, Ishihara S, et al. Crystal Violet Chromoendoscopy with Mucosal Pit pattern Diagnosis is Useful for Surveillance of Short-Segment Barrett's Esophagus. *Am J Gastroenterol* 2005 100:21-26.

- (6) Santhanalakshmi J, Balaji S Binding studies of crystal violet on proteins. Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects 2001 186:173-177
- (7) Piñero P, González A, Martínez E, et al. Volume and composition of emboli in neuroprotected stenting of the carotid artery. AJNR 2009 30:473-478.

図表の説明：

Figure 1

Image A demonstrating unstained plaque debris on the filter.

Image B demonstrating that pyoktanin staining has visualized previously unrecognized minute plaque debris captured on the same filter.

Figure 2

Magnified image of the filter demonstrating plaque debris stained with pyoktanin (x 40).

Fig. 1

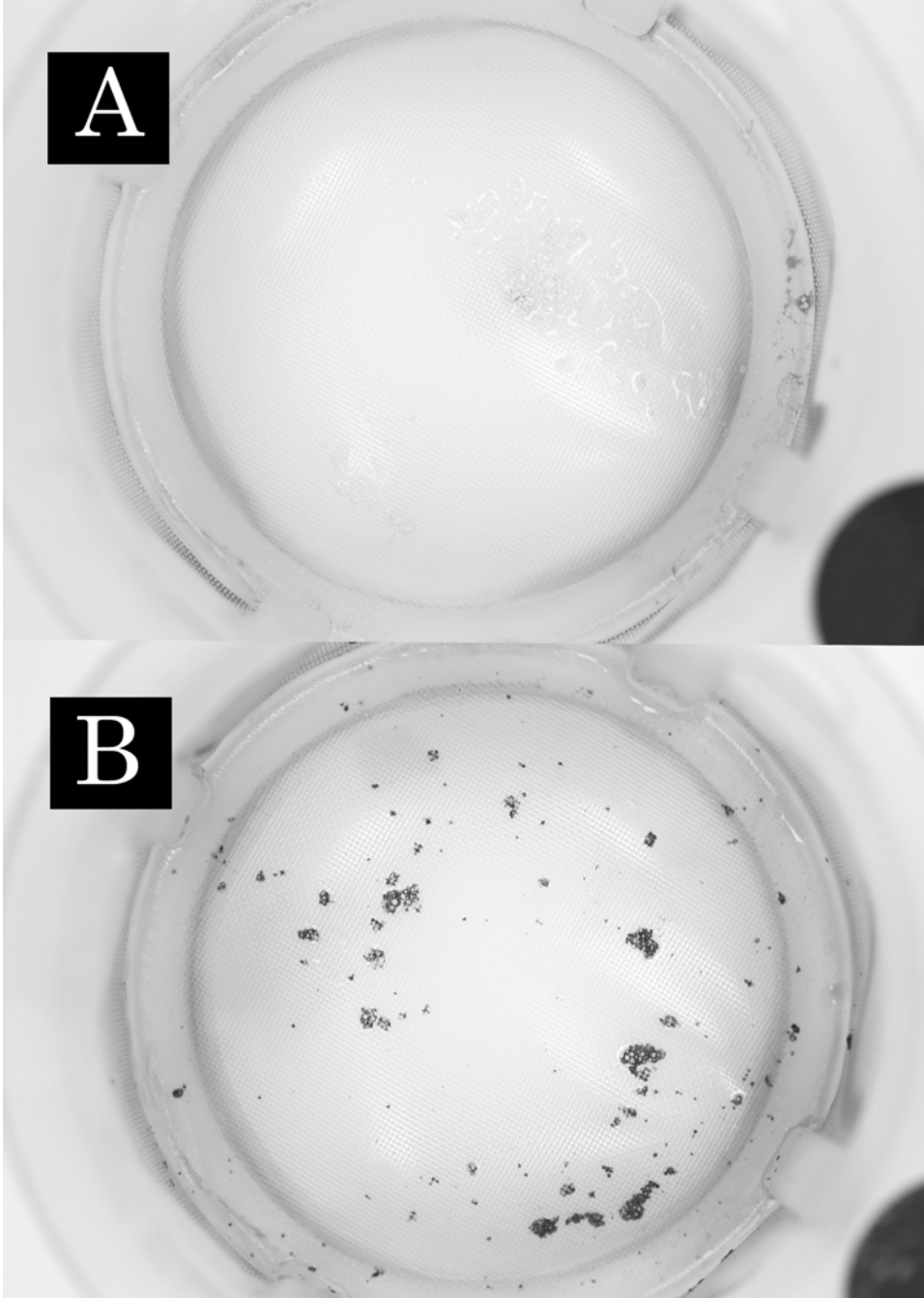


Fig. 2

