

纳米碳注射法示踪结肠癌前哨淋巴结的临床价值

韩博, 杨健, 杨诚

青岛市中心医院胃肠外科, 山东 青岛 266042

摘要: **目的** 评价纳米碳注射法示踪前哨淋巴结(SLN)对结肠癌淋巴结转移状况判断的价值及对手术的指导意义。**方法** 将青岛市中心医院胃肠外科于2013年3月至2016年3月间收治的行根治性切除术的51例结肠癌患者作为实验组(开腹或腹腔镜手术),于术前行结肠镜下将纳米碳示踪剂1 ml(50 mg)分4~6个点注射于原发肿瘤周围正常黏膜下进行SLN标记显像,手术中分别记录染色SLN数目及未染色淋巴结数目,术前行病理学检查;选取同期行根治性切除手术中未进行纳米碳示踪剂标记的结肠癌患者60例作为对照组。**结果** 实验组51例通过注射纳米碳共清扫淋巴结1 065枚,平均每例20.9枚,SLN检出率100%,其中获取纳米碳染色淋巴结412枚,平均每例8.1枚,黑染度为38.7%,发现有淋巴结转移者27例,共发现转移淋巴结192枚,平均每例7.1枚,其中纳米碳染色转移淋巴结63枚,黑染度为32.8%。平均每例获取淋巴结总数和转移淋巴结数目上两组差异有统计学意义(P 均 <0.05)。SLN示踪对结肠癌区域淋巴结转移状况预测的灵敏度为77.8%,准确率为88.2%,特异性100%,假阴性率为22.2%。**结论** SLN基本可代表区域淋巴结转移状况,通过纳米碳示踪SLN检测,能明显提高结肠癌根治术的淋巴结清扫数量,提高肿瘤淋巴结转移的检出率,且可以发现肿瘤异常淋巴引流,同时提高术后病理学分期的准确性。对于指导手术切除范围以及指导术后治疗等方面具有重要意义。

关键词: 纳米碳;放射性示踪剂;前哨淋巴结,活组织检查;结肠肿瘤

中图分类号: R 735.3⁺5 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2017)08-1018-04

Clinical value of carbon nanoparticles injection for tracing sentinel lymph nodes of colon cancer

HAN Bo, YANG Jian, YANG Cheng

Department of Gastrointestinal Surgery, Qingdao Central Hospital, Qingdao, Shandong 266042, China

Abstract: Objective To evaluate the value of tracing sentinel lymph nodes (SLN) labeled by injecting carbon nanoparticle(CNP) to judge status of lymph node metastasis of colon cancer and provide guiding significance for operation.

Methods A total of 51 patients with colon cancer undergoing radical resection(laparoscopy or laparoscopic operation) in gastrointestinal department of Qingdao central hospital from March 2013 to March 2016 were selected as experimental group in which 1 ml(50 mg) of CNP tracer was injected into the normal submucosal sites of 4-6 points around the primary tumor under colonoscopy before operation for labeling and imaging of SLN. The numbers of stained SLN and unstained lymph nodes were respectively recorded during operation, and pathological examination was performed after operation. Sixty colon cancer patients undergoing radical resection without labeling of CNP tracer at the same period were served as control group.

Results In experimental group, 1 065 lymph nodes with CNP injection were removed with an average of 20.9 lymph nodes per case, and the detection rate of SLN was 100%. Among the removed lymph nodes, 412 lymph nodes were stained by CNP with an average of 8.1 per case, and the black staining rate was 38.7%. Out of 192 metastatic lymph nodes found in 27 cases with an average of 7.1 per case, 63 were stained by CNP. The black staining rate was 32.8%. There were statistical differences in the average number of obtained lymph nodes and metastatic lymph nodes in each case between two groups(all $P < 0.05$). The sensitivity, accuracy, specificity and false negative rate of SLN tracing for prediction of regional lymph node metastasis in colon cancer were 77.8%, 88.2%, 100% and 22.2% respectively. **Conclusions** SLN can basically reflect the status of regional lymph node metastasis. CNP tracing SLN can significantly increase the detection rate of tumor metastatic lymph nodes and the number of lymph nodes dissected in radical resection of colon cancer, reveal the abnormal lymphatic drainage and improve the accuracy of postoperative pathological staging. So it is of great significance in guiding the resection range of operation and the postoperative treatment.

Key words: Carbon nano-particle; Radioactive tracers; Sentinel lymph node, biopsy; Colon cancer

淋巴结转移是结肠癌的主要转移途径之一,也是判断结肠癌分期的重要构成。术中淋巴结清除的彻底与否,可以影响结肠癌患者的预后,也是患者术后选择辅助治疗方案的主要依据。前哨淋巴结(sentinel lymph node, SLN)通常指的是原发肿瘤经淋巴管引流的第一个或数个淋巴结。对结肠癌患者 SLN 活检是否能使患者受益一直存在争议^[1-3]。现有的淋巴结检出技术不能够发现微小转移,因此影响了结肠癌患者 TNM 分期的准确性、治疗方案的制定和患者预后的判断。本研究对 2013 年 3 月至 2016 年 3 月在本医院胃肠外科行手术治疗的 111 例结肠癌患者的临床资料进行回顾性分析,探讨纳米炭注射法示踪前哨淋巴结对结肠癌淋巴结转移状况判断的价值及对手术的指导意义。

1 资料与方法

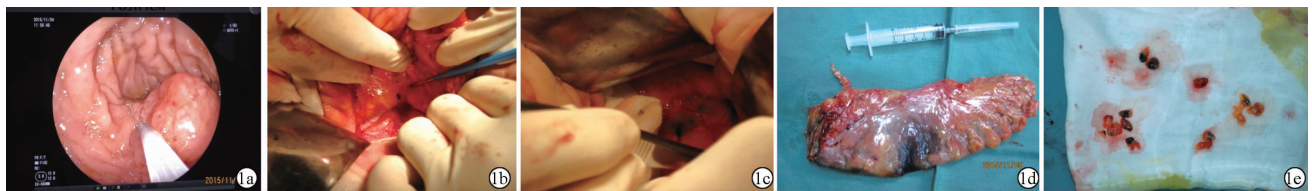
1.1 入组标准 (1)结肠原发肿瘤;(2)术前未进行化疗、放疗;(3)有明确病理学诊断;(4)肿瘤术中完整切除;(5)排除家族性息肉病性结肠癌;(6)排除克隆氏病、溃疡性结肠炎恶变;(7)有完整的临床及随访资料。

1.2 检测方法 将本院胃肠外科于 2013 年 3 月至

2016 年 3 月收治的 51 例结肠癌患者作为实验组,于术前在结肠镜下将纳米碳示踪剂(卡纳琳,重庆莱美药业股份有限公司)1 ml(50 mg)分 4~6 个点注射于原发肿瘤周围正常黏膜下进行 SLN 标记显像(图 1a)。随后行开腹或腹腔镜手术。选取同期未进行纳米碳示踪剂标记的行根治性切除手术的结肠癌患者 60 例作为对照组。实验组手术中分辨被染色的淋巴管,按黑染淋巴管的走向追寻取得第 1~4 个黑染的淋巴结,即为 SLN(图 1b、1c)。分别做标记。然后行标准的结肠癌根治术,清扫区域各站淋巴结。手术后对切除标本进行解剖(图 1d、1e)。记录黑染及未黑染淋巴结的数目。对照组仅行标准的结肠癌根治术。术后解剖标本并统计清扫的淋巴结数量,与实验组进行比较。

1.3 病理学检查 所有手术切除的淋巴结及标本送病理学检查。常规 HE 染色检测所有淋巴结;对常规病理检测阴性者进行免疫组化检测。分别记录纳米碳染色及未染色淋巴结数目。纳米碳染色淋巴结的病理图片中可见黑染颗粒(图 2)。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,计量资料采用 *t* 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。



注:1a:结肠镜下标记 SLN;1b、1c:术中分辨淋巴管及切除;1d、1e:切除标本及解剖。

图 1 前哨淋巴结标记、手术过程及切除标本

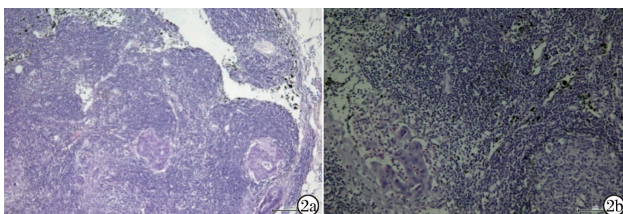


图 2 结肠癌 SLN 病理图(HE 染色, $\times 100$)

2 结果

实验组 51 例患者通过注射纳米碳共清扫淋巴结 1 065 枚,平均每例 20.9 枚。实验组患者均检出纳米碳染色淋巴结,SLN 检出率 100%;获取纳米碳染色淋巴结 412 枚,平均每例 8.1 枚,黑染度为 38.7%;发现有淋巴结转移者 27 例,共发现转移淋巴结 192 枚,平均每例 7.1 枚,其中纳米碳染色转移淋巴结 63 枚,

黑染度为 32.8%。对照组患者 60 例,共清扫淋巴结 781 枚,平均每例 13.0 枚;发现淋巴结转移者 35 例,共检出转移淋巴结 74 枚,平均每例 2.1 枚。两组进行统计学对比,实验组在平均每例获取淋巴结总数和转移淋巴结数目上与对照组比较差异有统计学意义(20.9 枚 vs 13.0 枚, $P < 0.01$; 7.1 枚 vs 2.1 枚, $P < 0.05$)。

实验组 51 例 SLN 中发现有转移者 27 例,其中 4 例转移淋巴结仅限于 SLN 中;SLN 未发现有转移者 24 例,其中 SLN 真阴性者 6 例。根据美国 Louisville 大学的 SLN 活检技术评价标准^[4]:SLN 对区域淋巴结转移状况预测的灵敏度为 77.8%,准确率为 88.2%,特异性 100%,假阴性率为 22.2%,阴性预测值为 80.0%。进一步分析,本实验组中共有 16 例 T₄

期的患者,如果剔除这些 T₄ 期的患者,T 分期在 T₁ ~ T₃ 的患者 SLN 对区域淋巴结转移状况预测的灵敏度及准确性更高,假阴性率更低。

本实验组中还发现异常淋巴引流,3 例患者 SLN 定位超出了原定的常规手术切除范围,其中 1 例降结肠癌患者,SLN 定位发现其位于髂内动脉旁,另外 1 例横结肠肝区结肠癌患者的 SLN 定位显示位于小肠系膜根部,后依照定位显示在术中扩大了淋巴结清扫范围,将所有定位出的 SLN 及区域淋巴结完整地清扫。术后病理检查证实了这些异常淋巴结已发生转移。

3 讨论

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,占胃肠道肿瘤的第二位。治疗方法以外科手术作为首选。据报道施行根治性切除术的结肠癌病例,伴淋巴结转移者约占 45.3%^[5]。有淋巴结转移患者的 5 年生存率比无淋巴结转移患者明显降低^[6]。结肠癌患者的预后很大程度上与淋巴结转移有相关性,也与手术中淋巴结清扫的数量有关。另外淋巴结转移与否和转移数目的多少也是结肠癌患者术后是否需要辅助治疗的主要依据^[7]。因此怎样准确的评估结肠癌患者区域淋巴结转移状况,从而制定合理的个体化治疗方案非常重要。而 SLN 活检技术的发展为术中判断区域淋巴结中是否含有转移灶淋巴结提供了一种较准确的方法^[8]。但是对结肠癌患者 SLN 活检是否能使患者受益一直存在争议。大多数学者的研究证明,SLN 检测在结肠癌的应用有较高的可靠性和准确性,假阴性率可以控制在合理的水平,能明显提高结肠癌患者淋巴结转移的检出率,提高肿瘤分期的准确性^[9-10]。特别是对于 T 分期在 T₁ ~ T₃ 的患者 SLN 对区域淋巴结转移状况预测的灵敏度及准确性更高,假阴性率更低。本研究的结果得出相似的结论。实验组在获取淋巴结总数和转移淋巴结数目上明显高于对照组,两者差异有统计学意义。本实验中,SLN 对区域淋巴结转移状况预测的灵敏度为 77.8%,准确率为 88.2%,特异性 100%,提示 SLN 检测在结肠癌的应用有较高的可靠性和准确性。而假阴性率为 22.2%,提示假阴性率可以控制在较低水平。

本研究采用纳米碳混悬注射液为淋巴结示踪剂,此试剂是一种先进的生物染料制剂,近年来被广泛应用于乳腺癌、甲状腺癌、胃癌、结肠癌等肿瘤的淋巴结示踪。其能够示踪淋巴结的原理在于其具有高度的淋巴系统趋向性,其团粒直径平均为 150 nm,注射到肿瘤局部组织后,由于巨噬细胞具有吞噬异物的

特性,这种炭粒被巨噬细胞吞噬。同时,由于毛细血管和毛细淋巴管内皮细胞间隙的差异,纳米碳不能进入血管,而能迅速进入淋巴管,滞留聚集到淋巴结,使淋巴结染成黑色,达到示踪淋巴结的目的^[11]。

结肠癌 SLN 定位检测的临床意义在于:(1)更准确地判断结肠癌淋巴结转移状况,提高术后病理分期的准确性。本组的研究结果证实,通过纳米碳示踪 SLN 检测,实验组结肠癌患者手术中在获取淋巴结总数和转移淋巴结数目上明显高于对照组,两者差异存在统计学意义。因此行 SLN 检测的患者有可能通过收获更多的淋巴结,检测出传统病理方法未能发现的淋巴结,并发现其中的转移淋巴结从而获得更准确的 N 分期,这与文献报道的 SLN 检测可以使得 10% ~ 30% 的 I 和 II 期患者的分期调整为 III 期,从而接受相应的辅助治疗,改善患者的预后相符合^[11]。本组研究中结肠癌的 SLN 检出成功率为 100%。SLN 对区域淋巴结转移状况预测的灵敏度为 77.8%,假阴性率为 22.2%,阴性预测值为 80.0%。特别是如果剔除实验组中的 T₄ 期的患者,T 分期在 T₁ ~ T₃ 的患者 SLN 对区域淋巴结转移状况预测的灵敏度及准确性更高,假阴性率更低。本研究结果提示,SLN 检测在结肠癌手术中的应用有较高的可靠性和准确性,假阴性率可以控制在合理的水平,可以较准确地反映结肠癌区域淋巴结转移情况。提高术后病理分期的准确性。以便制订合理的后续治疗方案,提高治愈率。并有利于更准确的评估预后。(2)手术中发现异常淋巴引流途径,可以指导并校正手术切除的范围。Paramo 等^[12]指出由于结肠周围解剖复杂,血液供应及淋巴组织丰富,变异较多,约 2% ~ 14% 的结肠癌患者存在异常淋巴引流,即指在常规手术切除范围之外发现异位的 SLN,而这些异位引流的淋巴结亦可以是肿瘤阳性转移的淋巴结,如果按照传统的手术方式,仅仅切除原发肿瘤周围常规转移途径的淋巴结,则很可能遗漏由异常淋巴引流所致的肿瘤转移的淋巴结,从而达不到手术根治的目的^[13]。越来越多的报道指出,异常淋巴引流是导致结肠癌术后复发率较高的一个不可忽视的因素,通过 SLN 示踪定位技术可以发现异常淋巴引流方式,从而可以在术中修正手术切除范围,避免遗漏转移的异位淋巴结,提高根治的可靠性,降低术后的复发率。本研究实验组中发现 3 例患者 SLN 定位超出了原定的常规手术切除范围,其中 1 例降结肠癌患者,SLN 定位发现其位于髂内动脉旁。另外 1 例横结肠肝区结肠癌患者的 SLN 示踪定位显示位于小肠系膜根部,后在手术中依照 SLN 定位显示,扩大了淋巴结清扫范围,将所有定位出的

SLN 及区域淋巴结完整地清扫。术后病理检查证实淋巴结已发生了转移。(3)同腹腔镜手术相结合,有利于微创手术的发展。近些年,随着腹腔镜手术的开展,越来越多的结肠肿瘤手术通过腹腔镜手术完成并取得了满意的疗效。SLN 示踪定位对于腹腔镜手术中判断区域淋巴结状态、能否镜下切除等方面具有重要意义。同时,随着影像学技术的进步和内镜镜检查技术的发展,特别是超声内镜检查的逐渐普及,早期结肠肿瘤的发现率逐年增加。对于早期结肠肿瘤,特别是浸润范围小而 SLN 示踪阴性的患者,系膜动脉根部、腔静脉附近等距离肿瘤较远且部位危险的淋巴组织或许可以不进行彻底清扫^[14]。将 SLN 示踪技术应用于腹腔镜下结肠癌手术,对于区域淋巴结清扫,指导下切除范围,尽量避免广泛清扫导致的神经损伤、器官功能障碍等并发症有重要意义^[15]。本实验组有 23 例手术通过腹腔镜完成,手术中在获取淋巴结总数和转移淋巴结数目上明显高于对照组。SLN 示踪技术与腹腔镜下结肠癌手术相结合,能更清晰显示出区域淋巴结的位置,在判断手术切除范围方面起到了指导作用。

综上所述,通过纳米碳示踪 SLN 检测,能明显提高结肠癌根治术的淋巴结清扫数量,提高肿瘤淋巴结转移的检出率,且可以发现肿瘤异常淋巴引流,提高术后病理学分期的准确性。对于指导手术,特别是指导腹腔镜手术切除范围以及指导术后治疗等方面具有重要意义。

参考文献

[1] van der Zaag ES, Buskens CJ, Kooij N, et al. Improving staging accuracy in colon and rectal cancer by sentinel lymph node mapping: a comparative study [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2009, 35 (10): 1065 - 1070.

[2] Nicholl M, Bilchik AJ. Is routine use of sentinel node biopsy justified in colon cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(1): 1 - 3.

[3] Cahill RA, Bembenek A, Sirop S, et al. Sentinel node biopsy for the individualization of surgical strategy for cure of early-stage colon cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2009, 16(8): 2170 - 2180.

[4] 张保宁, 白月奎, 陈国际, 等. 乳腺癌前哨淋巴结活检的临床意义 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2000, 22(5): 395 - 397.

[5] 殷志韬, 孙纪元, 吴威, 等. 直肠癌淋巴结转移影响因素的临床研究 [J]. *中国实用外科杂志*, 2004, 24(3): 161 - 163.

[6] Waters GS, Geisinger KR, Garske DD, et al. Sentinel lymphnode mapping for carcinoma of the colon: a pilot study [J]. *Am Surg*, 2000, 66(10): 943 - 945.

[7] Albayrak Y, Oren D, Gündoğdu C, et al. Intraoperative sentinel lymph node mapping in patients with colon cancer; study of 38 cases [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2011, 22(3): 286 - 292.

[8] de Haas RJ, Wicherts DA, Hobbelenk MG, et al. Sentinel lymph node mapping in colon cancer; current status [J]. *Ann Surg Oncol*, 2007, 14(3): 1070 - 1080.

[9] Saha S, Seghal R, Patel M, et al. A multicenter trial of sentinel lymph node mapping in colorectal cancer: prognostic implications for nodal staging and recurrence [J]. *Am J Surg*, 2006, 191(3): 305 - 310.

[10] 彭亦凡, 姚云峰, 王林, 等. 纳米碳示踪剂标记前哨淋巴结在结肠癌根治术中的应用 [J]. *中华普通外科杂志*, 2013, 28(6): 409 - 412.

[11] Hao RT, Chen J, Zhao LH, et al. Sentinel lymph node biopsy using carbon nanoparticles for Chinese patients with papillary thyroid microcarcinoma [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2012, 38(8): 718 - 724.

[12] Paramo JC, Summerall J, Wilson C, et al. Intraoperative sentinel lymph node mapping in patients with colon cancer [J]. *Am J Surg*, 2001, 182(1): 40 - 43.

[13] 闫鸿涛, 李国新. 前哨淋巴结检测技术在结直肠癌中的应用和意义 [J]. *医学临床研究*, 2006, 23(8): 1278 - 1281.

[14] 高兴华, 雷畅, 郑春宁. 结直肠癌前哨淋巴结研究进展 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2010, 17(7): 555 - 558.

[15] 李宏武, 张弘彬, 姚红, 等. 前哨淋巴结活检术在结直肠癌中的应用研究 [J]. *现代肿瘤医学*, 2007, 15(10): 1450 - 1451.

收稿日期: 2017 - 02 - 08 修回日期: 2017 - 03 - 12 编辑: 王国品