

· 论 著 ·

羟丁基壳聚糖作为吲哚菁绿药物载体在胸腔镜肺小结节手术定位中的应用

许罡, 汪栋, 朱道龙, 刘瀚, 胡超越

南京大学医学院附属泰康仙林鼓楼医院胸外科, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 探讨在胸腔镜肺小结节手术定位中应用羟丁基壳聚糖作为吲哚菁绿药物载体的临床效果。**方法** 回顾性分析2022年1月至2022年10月泰康仙林鼓楼医院40例行胸腔镜肺小结节术前定位患者的临床资料。采用羟丁基壳聚糖药载吲哚菁绿定位的20例为A组,单纯以吲哚菁绿定位的20例为B组,比较两组定位成功率、定位时间、手术切除时间、并发症发生率。**结果** A组20个结节均定位成功;B组2个结节定位失败,均为胸腔污染,致B组手术切除时间长于A组[(42.30±23.75) min vs (21.25±4.39) min, $t=3.898, P<0.05$];两组定位时间、胸痛评分及并发症(肺内出血、气胸)发生率差异无统计学意义($P>0.05$),两组均无血胸、咯血发生。**结论** 羟丁基壳聚糖药载吲哚菁绿比单用吲哚菁绿在胸腔镜肺小结节手术定位中成功率更高,且结节手术切除时间短,安全性良好。

关键词: 吲哚菁绿; 羟丁基壳聚糖; 肺结节; 近红外荧光胸腔镜手术; 胸腔镜; 穿刺定位

中图分类号: R655.3 R445.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2023)08-1143-05

Application of hydroxybutyl chitosan as indocyanine green drug carrier in thoracoscopic pulmonary nodule localization

XU Gang, WANG Dong, ZHU Daolong, LIU Han, HU Chaoyue

Department of Thoracic Surgery, Affiliated Taikang Xianlin Drum Tower Hospital,

Medical School of Nanjing University, Nanjing, Jiangsu 210023, China

Corresponding author: WANG Dong, E-mail: Wangdong_nj001@126.com

Abstract: **Objective** To investigate the clinical application efficacy of hydroxybutyl chitosan as indocyanine green drug carrier in thoracoscopic pulmonary nodule localization. **Methods** The clinical data of 40 patients received preoperative thoracoscopic pulmonary nodule localization in Taikang Xianlin Drum Tower Hospital from January 2022 to October 2022 was retrospectively analyzed. Among them, 20 cases using hydroxybutyl chitosan drug loaded indocyanine green localization were selected as group A, while 20 cases using indocyanine green localization alone were selected as group B. The localization success rate, localization time, surgical resection time, and the incidence of complications were compared between the two groups. **Results** All 20 nodules in group A were successfully localized, 2 nodules in group B failed to localize due to pleural contamination, resulting in a longer surgical resection time in group B compared to group A [(42.30±23.75) min vs (21.25±4.39) min, $t=3.898, P<0.05$]. There was no statistically significant difference in localization time, chest pain score, and incidence of complications (pulmonary hemorrhage, pneumothorax) between two groups ($P>0.05$). There was no occurrence of hemothorax or hemoptysis in both groups. **Conclusion** Compared with indocyanine green alone, hydroxybutyl chitosan drug loaded indocyanine green has a higher success rate and shorter surgical resection time in pulmonary nodule localization prior to video-assisted thoracoscopic surgery, with good safety.

Keywords: Indocyanine green; Hydroxybutyl chitosan; Pulmonary nodule; Near-infrared fluorescence thoracoscopy; Thoracoscopy; Puncture location

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2023.08.006

基金项目: 南京市卫生科技发展专项资金项目(ykk20230)

通信作者: 汪栋, E-mail: Wangdong_nj001@126.com

出版日期: 2023-08-20

Fund program: Nanjing Health Science and Technology Development Special Fund Project (ykk20230)

由于低剂量螺旋 CT 的广泛应用以及广大群众体检意识的增强,越来越多的肺小结节被发现,其中的高危结节手术治疗效果好,但这部分结节的术前精准定位对于手术治疗至关重要。应用吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)定位,有不受肺本身颜色影响的优势,但如果定位进针过浅或注射量过多,容易出现胸腔污染及扩散,最终定位失败。笔者使用羟丁基壳聚糖(hydroxybutyl chitosan, HBC)作为 ICG 的药物溶解载体,使其成为不流动的凝胶状态,减少组织内扩散、胸腔内流动,延长吸收时间,易于确定定位点,提高定位成功率,取得了良好的临床效果。现采用回顾性研究方法,对 2022 年 1 月至 10 月 20 例使用 HBC 药载 ICG 行胸腔镜肺小结节手术前定位,与同期 20 例单纯 ICG 术前定位的患者进行比较,探讨临床应用效果。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性分析 2022 年 1 月至 10 月在泰康仙林鼓楼医院因肺小结节行胸腔镜切除术,并需术前定位的 40 例患者的临床资料。肺小结节入组标准:结节小于 2 cm,内缘距离肺表面 2 cm 以内,磨玻璃成分大于 50%。以采用 HBC 药载 ICG 定位的 20 例为 A 组,单纯以 ICG 定位的 20 例为 B 组,两组基线资料对比差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。本研究已通过泰康仙林鼓楼医院伦理委员会审查(项目伦审编号:LS20200822)。

1.2 方法

1.2.1 设备和药物 ICG(25 mg/支,医创药业有限责任公司,丹东),羟丁基壳聚糖(0.5 mL/支,惠众国际医疗器械有限公司,北京),GE 256 排螺旋 CT(通用电气医疗集团,美国),内窥镜荧光腔镜系统(FLI-20A,诺源医疗器械有限公司,南京),CT 定位纸(宁创医疗设备有限公司,南京),穿刺定位针(0.7 mm×10 mm,康德莱医疗器械股份有限公司,温州)。

1.2.2 术前穿刺定位过程 患者于术前 2 h 内至 CT 室定位,定位前分别将低温(0℃)液体状态下的 HBC 0.1 mL 及使用灭菌注射用水稀释为 2.5 mg/mL 的 ICG 0.05 mL,前后抽至 1 mL 空针内混合,放置于保温箱内,内置冰块,温度控制在 0℃左右。根据结节位置选择仰卧位、侧卧位或俯卧位。皮肤处粘贴 CT 定位纸,根据 CT 图像显示情况,确定皮肤穿刺点位

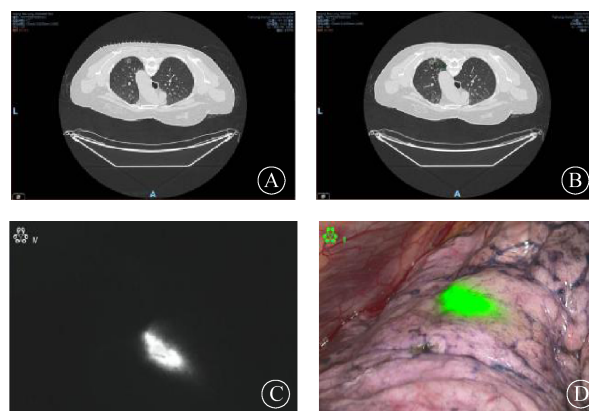
置、角度及进针深度,优先选择垂直进针,不穿过肺小结节(图 1)。常规 0.5%碘伏消毒后铺巾,10 mL 10%利多卡因行局部浸润麻醉后,使用带有肝素帽的穿刺定位针穿刺至结节旁 1.0 cm 内,针尖距离肺表面深度控制在 1.0~2.0 cm,如果过浅容易出现 ICG 胸腔污染导致定位失败,如果过深会导致 ICG 不能显影,再次 CT 扫描确定针尖位置是否满意,如位置不满意,调整至位置满意(图 1B)。从保温箱内取出 HBC 药载 ICG 的 1 mL 针管,去除肝素帽连接穿刺定位针回抽无血液及气体,注射后拔针,穿刺点覆盖无菌敷料。复查 CT 观察是否有气胸、血胸、肺内出血等并发症发生,并观察是否有胸痛、咯血等症状,然后推至手术室进行手术。

表 1 两组临床资料比较 ($n=20$)

Tab. 1 Comparison of clinical data between two groups ($n=20$)

项目	A 组	B 组	t/χ^2 值	P 值
年龄(岁) ^a	52.70±10.30	56.50±11.20	1.117	0.271
性别(例)				
男	5	7	0.476	0.490
女	15	13		
结节位置(例)				
左上肺叶	5	7	0.958	0.812
左下肺叶	2	3		
右上肺叶	7	5		
右下肺叶	6	5		
结节直径(mm) ^a	0.98±0.26	1.07±0.27	1.073	0.290
病灶中心距离肺表面距离(mm) ^a	1.05±0.52	0.74±0.50	1.921	0.062

注:^a数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。



注:A,定位 CT 图像,确定进针点、角度、深度;B,穿刺后 CT,确定针尖位置是否满意,尤其关注进针深度,不宜太深及太浅;C,术中荧光模式显示定位点;D,术中融合光模式显示定位点。

图 1 定位和穿刺的 CT 影像及术中荧光、融合光定位点显示情况

Fig. 1 CT images of localization and puncture, as well as display of localization points of intraoperative fluorescence and fusion light

1.2.3 手术过程 评估胸痛等不适症状后开始麻醉,双腔气管插管,健侧卧位,单肺通气。经患侧腋前线第四肋间取3.0 cm切口行单孔近红外荧光胸腔镜手术。荧光模式下确定定位点(图1C、图1D),根据定位点与结节位置关系,使用直线切割闭合器行楔形切除术;如定位失败,根据胸部CT显示的结节位置行扩大楔形切除或肺段切除。取出切除标本确认结节位置并缝线标记后送快速病理检查;如为浸润性腺癌,则改为肺段切除或肺叶切除。

1.2.4 观察指标 术中不能通过定位确定结节位置判定为定位失败。穿刺并发症包括CT上可见的气胸、血胸、肺内出血以及咯血症状,穿刺后胸痛程度采用视觉模拟评分法(visual analogue score, VAS)。定位时间为患者上床开始扫描至最后扫描结束时间。手术切除时间为开始切皮至标本取出并标记完成时间。

1.3 统计学方法 采用SPSS 24.0软件处理数据。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组比较采用独立样本 t 检验。计数资料用例表示,采用 χ^2 检验及Fisher精确概率法比较。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

A组20个结节均定位成功;B组2个结节定位失败,均为胸腔污染,根据术前胸部CT影像确定结节位置后行扩大的楔形切除,1例首次切除未找到结节后改行肺段切除。手术时间由于B组2例定位失败,导致手术切除时间较A组明显延长($P<0.01$)。两组定位时间差异无统计学意义($P>0.05$);两组均无血胸、咯血发生,气胸、肺内出血发生率差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

表2 两组定位结果比较 ($n=20$)

Tab. 2 Comparison of localization results between two groups ($n=20$)

观察指标	A组	B组	χ^2/t 值	P 值
定位成功(例)	20	18	0.526	0.468
定位时间(min) ^a	16.0±8.7	15.3±10.8	0.225	0.823
体位(例)				
平卧位	7	8		
侧卧位	6	7	0.477	0.788
俯卧位	7	5		
再次进针(例)	1	0		1.000 ^b
肺内出血(例)	2	3	0	1.000
气胸(例)	1	2	0	1.000
胸痛VAS(分) ^a	0.65±0.58	0.75±0.63	0.522	0.605
手术切除时间(min) ^a	21.25±4.39	42.30±23.75	3.898	<0.001

注:^a数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示;^b采用Fisher精确概率法。

3 讨论

2020年肺癌新增病例220万,死亡人数180万,分别占确诊癌症的11.4%,癌症死亡人数的18.0%^[1]。对高危人群进行低剂量螺旋CT筛查,有助于早期发现肺癌,降低肺癌的死亡率^[2],可以使男性死亡率降低24%,女性死亡率降低33%^[3]。体检筛查提高了肺部周围小结节的检出率,但由于这部分结节较小以及含有磨玻璃成分,无法在腔镜下单凭肉眼或器械感触,所以需要在术前定位标记这些结节^[4]。精准定位后的精准切除既可保证足够切缘,又不过多切除肺组织,并能缩短手术时间,避免术中因探查和确定结节位置而产生的反复牵拉夹持等操作。有研究发现术中反复探查、牵拉、夹持肺组织有可能会增加肿瘤转移的风险^[5]。

目前临床上有很多肺小结节的术前定位技术,但各有其优缺点^[6]。最早的定位方法是使用Hookwire穿刺针定位,有报道称,其并发症发生率高,气胸发生率52.0%(53/102),移位脱落发生率15.7%(16/102),肺内出血发生率47.1%(48/102)^[7],容易引起移位、脱落,且由于是金属丝穿出体外,会有明显的不适以及疼痛感^[8],甚至有空气栓塞的报道^[9]。另外还有使用弹簧圈定位的方法,虽然气胸、移位的发生率降低,但价格昂贵^[10-11]。带线锚钩是针对肺结节定位的专门产品,定位牢靠,不易移位,有报道发现,其气胸发生率24.5%(36/147),肺内出血发生率12.2%(18/147)^[12],并存在锚钩残留肺内的严重情况,定位后锚钩不能脱离体内,所以定位后不能终止手术。

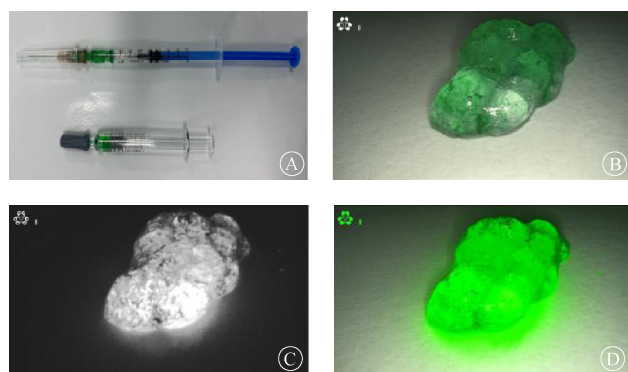
除上述的金属材料定位外,还有液体材料注射定位法,这类方法无脱钩风险,无需耗材,并且定位针更细,创伤及疼痛明显减轻,并发症发生率低。亚甲蓝是最简单的方法,但定位在明显碳末沉积的肺表面则难于识别,并且扩散快^[13]。注射用医用胶不易扩散和移位^[14],且术中可感知,但由于 α -氰基丙烯酸正丁酯具有刺激性气味,可引起刺激性咳嗽,而导致医用胶移位^[15]。

ICG是一种无辐射荧光造影剂,是一种安全、使用方便的可溶性染料,可与组织或血液中的蛋白结合产生荧光,是目前唯一被美国食品和药物管理局(FDA)批准的近红外荧光造影剂^[16]。ICG配合近红外荧光腔镜系统越来越多的应用于胸外科手术中荧光成像(intraoperative fluorescence imaging, IFI)^[17-18],尤其在亚肺叶段间平面的判断上具有快速、清晰的优

势^[19]。在拥有近红外荧光腔镜系统的医院,可以使用 ICG 作为胸腔镜肺小结节手术前定位的染色药物,因其具有不受肺本身颜色的影响^[20],不影响病理科医生进行 HE 染色及诊断^[21],术中定位点显示非常清晰的优点。且目前的证据表明,ICG 是非常有效和安全的^[22]。但单纯 ICG 定位也有其缺点,由于是液体状态,如果定位过浅或注射量过多时容易出现胸腔污染及扩散导致定位失败,有报道称单纯的 ICG 定位总成功率为 97.6%,有 2.4% 的 ICG 标记为假阴性。有研究将 ICG 与其他定位技术,如定位钩和其他染料(碘油、亚甲蓝)混合使用,但仍无法完全克服 ICG 定位的缺点^[23-24]。

HBC 是将壳聚糖主链上较活泼的 C₂-NH₂ 和 C₆-OH 引入亲水性羟丁基,改变了壳聚糖的物理性质,使其具有温敏性,温度变化可出现液态和凝胶状态的可逆转换。低温下液体状态,具有流动性,方便与 ICG 融合(图 2A),温度升高后,转变为不流动的凝胶状态(图 2B、图 2C、图 2D),不流失,还增强其黏附力,可以更精准的定位,易于确认定位点,并降低其胸腔溢出导致的胸腔污染。凝胶状态在电镜下表现为三维立体结构,且富含细微孔洞,所以在结构上适合作为药物载体,延长吸收、扩散的时间,减少 ICG 在邻近组织的扩散,延长术前定位与手术的时间间隔,并且具有止血作用,减少局部出血,封堵创口,可以减少穿刺后气胸和肺内出血的发生^[25]。

本研究发现,HBC 作为 ICG 溶解载体后,由于减少了胸腔内污染,提高了定位的成功率,进而缩短了手术切除的时间,穿刺并发症的发生率为 15.0% (3/20),所发生的小气胸或小肺内出血的病例无需进一步干预,无血胸,胸痛轻微,无咯血、呼吸困难等



注:A 为液体状态的 HBC;B、C、D 分别为融合后凝胶状态自然光下、荧光下和融合光下所见。

图 2 液体状态的 HBC 与 ICG 及其融合后的凝胶状态
Fig. 2 HBC and ICG in liquid state and their gel state after fusion

症状。最初担心凝胶状态不易通过针头推出,但实际应用中发现,在常温状态下,即使 1 mL 空针的皮试针头也能顺利推出。HBC 与浓度为 2.5 mg/mL ICG 混合比例为 1.0 : 0.5,定位针深度控制在 1.0~2.0 cm,注射量控制在 0.05~0.1 mL。

综上所述,HBC 作为 ICG 溶解载体在肺小结节手术定位中能提高定位成功率,缩短手术时间,安全性好。但本研究为回顾性研究,且样本数少,未来可通过大样本随机对照研究进一步确定其安全性及有效性。

利益冲突 无

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] National Lung Screening Trial Research Team. Lung cancer incidence and mortality with extended follow-up in the national lung screening trial[J]. J Thorac Oncol, 2019, 14(10): 1732-1742.
- [3] de Koning HJ, van der Aalst CM, de Jong PA, et al. Reduced lung-cancer mortality with volume CT screening in a randomized trial[J]. N Engl J Med, 2020, 382(6): 503-513.
- [4] Matsutani N, Sawabata N, Yamaguchi M, et al. Does lung cancer surgery cause circulating tumor cells? A multicenter, prospective study[J]. J Thorac Dis, 2017, 9(8): 2419-2426.
- [5] Zaman M, Bilal H, Woo CY, et al. In patients undergoing video-assisted thoracoscopic surgery excision, what is the best way to locate a subcentimetre solitary pulmonary nodule in order to achieve successful excision? [J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2012, 15(2): 266-272.
- [6] 陈学瑜,赵广垠,徐敬慈,等.102例CT引导下术前Hookwire定位肺部结节的临床分析[J].中国胸心血管外科临床杂志,2022,29(1):56-61.
Chen XY, Zhao GY, Xu JC, et al. Clinical analysis of CT-guided preoperative Hookwire localization of pulmonary nodules in 102 patients[J]. Chin J Clin Thorac Cardiovasc Surg, 2022, 29(1): 56-61.
- [7] Iguchi T, Hiraki T, Matsui Y, et al. Short hookwire placement under imaging guidance before thoracic surgery: a review[J]. Diagn Interv Imaging, 2018, 99(10): 591-597.
- [8] Sakiyama S, Kondo K, Matsuoka H, et al. Fatal air embolism during computed tomography-guided pulmonary marking with a hook-type marker [J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2003, 126(4): 1207-1209.
- [9] Asamura H, Kondo H, Naruke T, et al. Computed tomography-guided coil injection and thoracoscopic pulmonary resection under roentgenographic fluoroscopy[J]. Ann Thorac Surg, 1994, 58(5): 1542-1544.
- [10] Su TH, Fan YF, Jin L, et al. CT-guided localization of small pulmonary nodules using adjacent microcoil implantation prior to video-

- assisted thoracoscopic surgical resection[J]. *Eur Radiol*, 2015, 25(9): 2627-2633.
- [11] 温焕舜,孙宏亮,马千里,等.CT引导下微弹簧圈与带线锚钩定位应用于肺结节胸腔镜手术的回顾性队列研究[J].*中国胸心血管外科临床杂志*,2022,29(1):50-55.
- Wen HS, Sun HL, Ma QL, et al. Pulmonary nodules localization via microcoil and anchor with scaled suture guided by CT in thoracoscopic surgery: a retrospective cohort study[J]. *Chin J Clin Thorac Cardiovasc Surg*, 2022, 29(1): 50-55.
- [12] Lin CY, Chang CC, Huang LT, et al. Computed tomography-guided methylene blue localization: single vs. multiple lung nodules [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8:661956.
- [13] 单立梅,翟荣,吴泽宇,等.术前CT引导下氰基丙烯酸酯联合亚甲蓝定位肺小结节的临床应用[J].*中国临床研究*,2022,35(4):503-506, 511.
- Shan LM, Zhai R, Wu ZY, et al. Preoperative CT-guided localization of small pulmonary nodules with cyanoacrylate and methylene blue[J]. *Chin J Clin Res*, 2022, 35(4): 503-506, 511.
- [14] 钱坤,张毅,魏博华,等.吲哚菁绿联合医用胶在胸腔镜下肺小结节手术定位中的应用[J].*中国微创外科杂志*,2020,20(9):818-821.
- Qian K, Zhang Y, Wei BH, et al. Application of indocyanine green combined with medical glue in the localization of small pulmonary nodules in video-assisted thoracoscopic surgery[J]. *Chin J Minim Invasive Surg*, 2020, 20(9): 818-821.
- [15] Majlesara A, Golriz M, Hafezi M, et al. Indocyanine green fluorescence imaging in hepatobiliary surgery[J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2017, 17: 208-215.
- [16] Newton AD, Predina JD, Nie SM, et al. Intraoperative fluorescence imaging in thoracic surgery [J]. *J Surg Oncol*, 2018, 118(2): 344-355.
- [17] Saji H, Okada M, Tsuboi M, et al. Segmentectomy versus lobectomy in small-sized peripheral non-small-cell lung cancer (JCOG0802/WJOG4607L): a multicentre, open-label, phase 3, randomised, controlled, non-inferiority trial[J]. *Lancet*, 2022, 399(10335): 1607-1617.
- [18] Misaki N, Chang SS, Igai H, et al. New clinically applicable method for visualizing adjacent lung segments using an infrared thoracoscopy system[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2010, 140(4): 752-756.
- [19] 曹剑,王志伟,丁宁,等.吲哚菁绿在胸腔镜肺小结节手术定位中的应用价值[J].*中国医学科学院学报*,2021,43(4):558-562.
- Cao J, Wang ZW, Ding N, et al. Application value of indocyanine green in the localization of small pulmonary nodules in video-assisted thoracoscopic surgery [J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2021, 43(4): 558-562.
- [20] Tarumi S, Misaki N, Kasai Y, et al. Clinical trial of video-assisted thoracoscopic segmentectomy using infrared thoracoscopy with indocyanine green [J]. *Eur J Cardio Thorac Surg*, 2014, 46(1): 112-115.
- [21] Gkikas A, Lampridis S, Patrini D, et al. How effective is indocyanine green (ICG) in localization of malignant pulmonary nodules? A systematic review and meta-analysis [J]. *Front Surg*, 2022, 9:967897.
- [22] Allen L, Chan S, Thung KH. Pre-operative CT localization for patients with subsolid opacities expecting video-assisted thoracoscopic surgery-single center experience of fluorescent iodized emulsion and hook-wire localization technique [J]. *Br J Radiol*, 2020, 93(1109): 20190938.
- [23] Rho J, Lee JW, Quan YH, et al. Fluorescent and iodized emulsion for preoperative localization of pulmonary nodules [J]. *Ann Surg*, 2019, 273(5): 989-996.
- [24] 尹刚,陈汇浩,郭兴锋,等.温敏性壳聚糖止血膜的止血作用及体内降解吸收[J].*中国组织工程研究*,2014,18(34):5461-5465.
- Yin G, Chen HH, Guo XF, et al. Hemostasis and *in vivo* degradation of thermosensitive chitosan hemostatic film[J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2014, 18(34): 5461-5465.

收稿日期:2023-03-29 修回日期:2023-05-15 编辑:石嘉莹