

内镜下注射标记纳米碳在进展期结直肠癌治疗中的应用研究

王蓉 詹红丽 李达周 李海涛 余砾 王雯

福建医科大学福总临床医学院 厦门大学附属东方医院 联勤保障部队第九〇〇
医院消化内科,福州 350025

通信作者,王雯,Email:wangwenfj@163.com



扫码阅读电子版

【摘要】目的 探讨内镜下注射标记纳米碳在进展期结直肠癌治疗中的应用。**方法** 采用随机对照研究方法。病例纳入标准:(1)年龄>18岁首次发现并且肠镜及活检病理证实为结直肠癌患者;(2)进展期结直肠癌(术前TNM分期为T₃或N₁以上)、局部无法切除、M₁期同时性转移灶可切除并同意行新辅助治疗的患者;(3)进展期结直肠癌(T₃或N₁以上分期)、同时性转移灶不可切除或不同意行外科手术而选择放疗的患者。排除既往腹部外科手术史和放疗史者、急需手术或内镜支架置入治疗者以及严重过敏体质者。根据以上标准,前瞻性纳入2016年1月至2017年12月期间在联勤保障部队第九〇〇医院消化内科确诊为进展期结直肠癌的患者共120例;采用随机数字表法分为纳米碳标记组和非标记组。纳米碳标记组均于放疗前1~7d内进行标记,病灶标记点位置:(1)若肠镜能顺利通过者,在肿瘤口侧、肛侧旁开1cm处分别予相对两侧肠壁注射4个点;(2)若肠腔严重狭窄、肠镜无法通过者,仅在距肿瘤肛侧的1cm处予四象限行4个点的注射。每个注射点注射0.1ml纳米碳原液,并依据病灶纳米碳黑染范围测量病灶大小。放疗治疗8周后评估患者的疗效,经评估为可行外科手术的患者于放疗结束后6周手术,比较两组术中探查病灶时间、手术时间、术中出血量、远端切缘距病灶长度、保肛率、首次切缘阳性率等术中和术后情况。经评估为无手术指征的患者中,放疗有效者继续原方案化疗,治疗无效则更换化疗方案,半年后最终评估疗效[参照修订版RECIST指南(1.1版)]。**结果** 有3例患者脱落本试验,最终共有117例患者纳入本研究。纳米碳标记组59例,非标记组58例,两组患者基线资料的比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。所有患者术前放疗不良反应较轻,通过对症处理后均能耐受,所有患者未因不良反应而中断治疗。纳米碳标记组所有患者均未出现发热、腹痛、腹胀、便血等不适。被标记后的肠黏膜均黑染清晰。评估为有手术指征的患者共77例,其中纳米碳标记组39例(纳米碳标记组_{可手术}),非标记组38例(非标记组_{可手术});两组基线资料的比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);无手术指征继续放疗的患者共40例,其中纳米碳标记组20例(纳米碳标记组_{非手术}),非标记组20例(非标记组_{非手术});两组基线资料的比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。纳米碳标记组_{可手术}术中均能够轻易快速地在直肠浆膜面发现黑染的纳米碳标记点,被标记的肠段均未发现明显的水肿、坏死、脓肿等。与非标记组_{可手术}相比,纳米碳标记组_{可手术}术中探查病灶时间[(3.4±1.4)min比(11.8±3.4)min, $t=-14.07, P<0.001$]和总手术时间更短[(155.7±44.5)min比(177.2±30.2)min, $t=-2.48, P=0.015$],术中出血量更少[(101.3±36.7)ml比(120.2±38.2)ml, $t=-2.22, P=0.029$],远端切缘距病灶长度更短[(3.7±1.0)cm比(4.6±1.7)cm, $t=-2.20, P=0.034$],差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);保肛率相对较高[66.7%(16/24)比45.5%(10/22), $\chi^2=2.10, P=0.234$],首次切缘阳性率较低[0比4.5%(1/22), $\chi^2=0.62, P=0.480$],但差异未达到统计学意义(均 $P>0.05$)。两组术后肿瘤分化程度及术后病理TNM分期的差异均无统计学意义。经评估为无手术指征的患者,半年后再次评估放疗疗效,纳米碳标记组_{非手术}完全缓解(CR)者1例,部分缓解(PR)者8例,疾病稳定(SD)者10例,疾病进展(PD)者1例,疾病好转率45.0%(9/20);非标记组_{非手术}CR者0例,PR者6例,SD者11例,PD者3例,疾病好转率30.0%(6/20);两组疾病好转率的差异均无统计学意义($P=0.514$)。**结论** 内镜下注射纳米碳标记法用于结直肠肿瘤定位安全可靠,能够辅助新辅助治疗下行手术时快速探查病灶,精准地进行切除,明显缩短手术时间,减少手术创伤;能辅助肠镜精确测量放疗前后病灶大小,增加评估疗效的手段,以指导后续治疗方案;值得临床推广应用。

【关键词】 结直肠肿瘤; 内镜标记; 纳米碳; 新辅助治疗; 放疗

基金项目:福建省社会发展引导性(重点)项目(2018Y0066)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2020.01.010

Application of endoscopic tattooing with carbon nanoparticlet in the treatment for advanced colorectal cancer

Wang Rong, Zhan Hongli, Li Dazhou, Li Haitao, Yu Li, Wang Wen

Department of Gastroenterology, 900 Hospital of the Joint Logistics Team; Fuzong Clinical Medical College, Fujian Medical University; Xiamen University Eastern Hospital, Fuzhou 350025, China

Corresponding author: Wang Wen, Email:wangwenfj@163.com

【Abstract】 Objective To explore the application of endoscopic tattooing with carbon nanoparticles in the treatment of advanced colorectal cancer (ACRC). **Methods** A randomized controlled study was used. Inclusion criteria: (1) age more than 18 years old, and colorectal cancer was found for the first time and confirmed by colonoscopy and biopsy; (2) advanced colorectal cancer (preoperative TNM stage of T3/N1 or above, local unresectable lesion, M1 stage and simultaneously resectable metastatic lesion), and patients agreed to receive neoadjuvant therapy; (3) advanced colorectal cancer (TNM stage of T3/N1 or above) with simultaneous unresectable metastatic lesion, and patients refused operation and consented to chemoradiotherapy. Patients with previous abdominal surgery history, radiotherapy and chemotherapy history, urgent need for surgery or endoscopic stent placement and those with severe allergic constitution were excluded. Based on the above criteria, 120 patients diagnosed with ACRC in No.900 Hospital of the Joint Logistics Team from January 2016 to December 2017 were prospectively enrolled and randomly divided into tattoo group and non-tattoo group by random number table method. Tattoo group were tattooed within 1 - 7 days before chemoradiotherapy. The labeling location of the lesions: (1) if the colonoscopy could pass smoothly, 4 points were injected into the intestinal wall of the both opposite sides 1 cm cephalad and caudad of the tumor; (2) if the colorectal cavity was severely narrow and the colonoscopy could not pass, only 4 points were injected in 4 quadrants at 1 cm caudad of the tumor. Each injection point was injected with 0.1 ml carbon nanoparticles, and the size of the tumor was measured according to the range of carbon nanoparticles staining. The efficacy was evaluated after 8 weeks of chemoradiotherapy. Patients who were defined to be suitable for operation underwent operation 6 weeks after chemoradiotherapy. The following parameters were compared between two groups: lesion identification time, operation time, blood loss, distance from lesion to distal margin, the rate of first positive margin and the rate of anal sphincter preservation (rectal cancer). Among patients who had been evaluated as having no indication for surgery, those who were effective in chemoradiotherapy continued to receive chemotherapy in the original regimen; if the treatment failed, the chemotherapy regimen was replaced, and the efficacy was finally evaluated after six months [referring to the revised RECIST guidelines (version 1.1)]. **Results** Three patients withdrew from this study, and 117 patients were enrolled in this study finally, including 59 cases in tattoo group and 58 cases in the non-tattoo group. There were no significant differences in baseline data between two groups (all $P>0.05$). All the patients had slight adverse reactions of radiotherapy and chemotherapy before operation, and could tolerate after symptomatic management without interruption of treatment. All the patients in the tattoo group had no discomfort such as fever, abdominal pain, abdominal distention, hematochezia, etc. and the intestinal mucosa could be seen clearly with black staining after being tattooed. A total of 77 patients were evaluated with surgical indications, including 39 cases in the tattoo group (tattoo-operable) and 38 cases in the non-tattoo group (non-tattoo-operable). There were no significant differences in baseline data between the two groups (all $P>0.05$). Forty patients without operation indications continued chemoradiotherapy, including 20 cases in tattoo group (tattoo - inoperable) and 20 cases in non-tattoo group (non-tattoo - inoperable), whose differences in baseline data between the two groups were not significant as well (all $P>0.05$). No obvious edema, necrosis or abscess were found in the tattooed segments and the black spots could be seen quickly and clearly on the serosa of rectum in tattoo-operable patients. As compared to non-tattoo group, tattoo group had significantly shorter lesion identification time [(3.4 ± 1.4) minutes vs. (11.8 ± 3.4) minutes, $t=-14.07, P<0.001$], shorter operation time [(155.7 ± 44.5) minutes vs. (177.2 ± 30.2) minutes, $t=-2.48, P=0.015$], less blood loss [(101.3 ± 36.7) ml vs. (120.2 ± 38.2) ml, $t=-2.22, P=0.029$], shorter distance

from lesion to distal margin [(3.7±1.0) cm vs. (4.6±1.7) cm, $t=-2.20, P=0.034$], while tattoo group had slightly higher rate of anal sphincter preservation [66.7%(16/24) vs. 45.5%(10/22), $\chi^2=2.10, P=0.234$] and lower rate of first positive resection margin [0 vs. 4.5%(1/22), $\chi^2=0.62, P=0.480$], but their differences were not significant. There were no significant differences in the degree of tumor differentiation and TNM stage between two groups. Patients without operative indication were evaluated for efficacy of chemoradiotherapy again after half a year. One case of complete response (CR), 8 of partial response (PR), 10 of stable disease (SD) and 1 of progressive disease (PD) were found and the improvement rate was 45.0% (9/20) in tattoo-inoperable patients. No case of CR, 6 of PR, 11 of SD and 3 of PD were found and the improvement rate was 30.0% (6/20) in non-tattoo-inoperable patients. There was no significant difference in the improvement rate between the two groups ($P=0.514$). **Conclusions** Endoscopic tattooing with carbon nanoparticles injection is safe and reliable for colorectal tumor positioning. It can assist rapid detection of lesions during surgery after neoadjuvant treatment, perform accurate resection, significantly shorten the operation time and reduce surgical trauma; can assist colonoscopy accurately to measure the size of the lesions before and after chemoradiotherapy, and increase the means of assessing the efficacy to guide the follow-up treatment plan. This technique is worth clinical promotion and application.

【Key words】 Colorectal neoplasms; Endoscopic tattooing; Carbon nanoparticles; Neoadjuvant therapy; Chemoradiotherapy

Fund program : Guiding (Key) Project of Social Development in Fujian Province (2018Y0066)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2020.01.010

结直肠癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,其发病率呈逐年升高趋势,死亡率居于癌症前5位^[1]。手术治疗是其首选治疗方案^[2]。研究显示,新辅助放化疗可以不同程度地减轻肿瘤负荷,使原发肿瘤或转移病灶缩小,降低肿瘤分期,尤其对于局部不可切除的患者,新辅助治疗后可能变为R₀切除,降低肿瘤的复发率^[3]。但由于治疗后病灶明显缩小甚至消失,术中可能面临对原发病灶无法精准定位的难题。部分因同时性转移灶不可切除、全身情况差而无法耐受手术或不同意手术治疗的进展期结直肠癌患者,可以选择放化疗治疗延长生存期^[4]。国际上常用的评价放化疗后肿瘤退缩程度的方法包括实体瘤疗效评价标准(WHO标准)和实体瘤评价标准(response evaluation criteria in solid tumor, RECIST)均有其局限性,前者以治疗前后肿瘤的双径乘积进行比较,不适合空腔脏器肿瘤,后者为单径测量,不适合非外周生长型肿瘤^[5-6]。因此,位于空腔脏器的结直肠癌疗效评价仍然欠精准。目前临床常用影像学方法对结直肠癌的转移灶如肝转移及淋巴结转移灶进行评估,但对原发灶并无精确测量方法。

本中心前期研究表明,纳米碳用于肠道病变定位安全有效^[7-8]。欧洲消化内镜协会2017年指南中建议,对结直肠息肉行内镜下治疗或外科手术病变位置予无菌碳悬浮颗粒进行标记,以利于内镜复查或外科手术中对病灶的准确快速寻找^[9]。

因此,本研究于进展期结直肠癌患者放化疗

前,在病灶边界行纳米碳标记范围,以期复查时能依据病灶纳米碳黑染范围精确测量病灶大小,间接评估放化疗效果,以指导下一步治疗方案,并探讨内镜下注射标记对于放化疗8周后被评估为可手术切除病例的后续手术精准切除价值。

资料与方法

一、研究对象

采用随机对照研究方法。病例纳入标准:(1)年龄>18岁、首次发现并且肠镜及活检病理证实为结直肠癌患者;(2)进展期结直肠癌(术前TNM分期为T₃或N₁以上)、局部无法切除、M₁期同时性转移灶可切除并同意行新辅助治疗的患者;(3)进展期结直肠癌(T₃或N₁以上分期)、同时性转移灶不可切除或不同意行外科手术而选择放化疗的患者。排除标准:(1)既往腹部外科手术史;(2)治疗之前已经进行过化学治疗、放射治疗的患者;(3)存在肠梗阻、肠穿孔等急需手术或内镜支架置入治疗的患者;(4)严重过敏体质的患者。

根据以上标准,前瞻性纳入2016年1月至2017年12月期间在解放军联勤保障部队第九〇〇医院确诊为进展期结直肠癌的120例患者;采用随机数字表法分为纳米碳标记组和非标记组,每组各60例。治疗8周后评估患者的放化疗疗效,并对患者能否行手术治疗进行评估,经评估为无手术指征的患者,半年后再次评估放化疗疗效。本研究通过医

院伦理委员会审核批准(编号:2015024),所有患者签署知情同意书。

二、内镜标记方法

1. 标记试剂:纳米碳混悬液(商品名:卡纳琳,重庆莱美药业股份有限公司;浓度:0.25 mg/0.5 ml)。本研究所有纳米碳试剂均使用原液,无需加入生理盐水或蒸馏水等配制。

2. 设备:内镜注射针(nm-200U-0423,日本奥林巴斯公司),全数字化彩色超声诊断仪(Hi Vision AVIUS,日本日立公司),超声内镜(EG-3270UK,频率 7.5~12 MHz 可调节,日本宾得公司),电子结肠镜(CF-Q260AI,日本奥林巴斯公司)。

3. 标记方法:纳米碳标记组均于放化疗前 1~7 d 内进行标记,常规进行肠道准备,行结肠镜检查,寻找肿瘤病灶。病灶标记点位置:(1)若肠镜能顺利通过者,在肿瘤口侧、肛侧旁开 1 cm 处分别予相对两侧肠壁注射 4 个点;(2)若肠腔严重狭窄、肠镜无法通过者,仅在距肿瘤肛侧的 1 cm 处予四象限行 4 个点的注射。每个注射点以 45°角进针刺入黏膜下层后注入 0.5 ml 生理盐水,使黏膜隆起。随后,更换已抽取纳米碳的注射针注射 0.1 ml 纳米碳原液,拔出注射针。

三、治疗方案

直肠癌病例:均行同步放化疗方案:(1)放疗为传统分割(长程)方案:三维适形放疗,原发肿瘤高危复发区域和区域淋巴引流区进行照射。原发肿瘤高危复发区域和区域淋巴引流区采用肿瘤剂量(dose of tumor, DT)45 Gy,每次 1.8 Gy,共 25 次,肿瘤病灶局部追加照射至 DT 50.4 Gy,共 28 次。每周连续照射 5 d。(2)化疗方案为:卡培他滨 825 mg/m²,每天两次口服,与放疗同步。

结肠癌病例:均行 CapeOX 方案化疗:奥沙利铂 130 mg/m² 静脉滴注 1 d,卡培他滨 1 000 mg/m²,每天两次口服,1~14 d,每 3 周重复。

放化疗 8 周后,经内镜、腹部磁共振(MRI)检查等评估放化疗疗效,评估为可手术切除患者再行后续手术治疗。首次评估为无法手术但治疗有效患者,继续当前化疗方案,半年后再次评估;若首次评估为疾病进展则更改化疗方案为 IROX 方案:奥沙利铂 85 mg/m² 静脉滴注 1 d,伊立替康 200 mg/m² 静脉滴注 1 d(>30~90 min),每 3 周重复。治疗期间出现放化疗不良反应给予对症处理,每个放化疗周期前后化验血常规、肝肾功能、癌胚抗原(CEA)、糖类

抗原(CA)199、尿常规及便常规等。

四、放化疗疗效评价及手术指征

疗效评价参照修订版 RECIST 指南(1.1 版)标准^[6]:(1)目标病灶的评价:完全缓解(complete response, CR)为所有靶病灶消失,无新病灶出现,且肿瘤标志物正常,至少维持 4 周;部分缓解(partial response, PR)为靶病灶最大径之和减少≥30%,至少维持 4 周;疾病稳定(stable disease, SD)为靶病灶最大径之和缩小未达 PR,或增大未达疾病进展(progressive disease, PD);PD 为靶病灶最大径之和至少增加≥20%,或出现新病灶。(2)非目标病灶的评价:CR 为所有非目标病灶消失和肿瘤标志物水平正常;SD 为一个或多个非目标病灶和(或)肿瘤标志物高于正常持续存在;PD 为出现一个或多个新病灶或(和)存在非目标病灶进展。疾病好转定义为 CR+PR。

手术指征的判断:根据欧洲肿瘤内科学会(European Society for Medical Oncology, ESMO)直肠癌临床实践指南^[10]及美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)结肠直肠癌指南^[11]。

五、统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件包进行统计学分析。对计量资料先进行正态分布检测,符合正态分布者用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本 *t* 检验进行比较;计数资料采用例(%)表示,根据条件不同分别使用连续校正 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

结 果

一、研究对象的一般资料

有 2 例患者于外院行手术治疗,1 例患者因经济原因中途放弃治疗而脱落本试验,最终共有 117 例患者纳入本研究。纳米碳标记组 59 例,非标记组 58 例,两组患者基线资料的比较,差异均无统计学意义(均 *P*>0.05)。见表 1。所有患者术前放化疗不良反应较轻微,通过对症处理后均能耐受,无 1 例患者因不良反应而中断治疗。

二、内镜标记结果及复查结果

纳米碳标记组患者均未出现发热、腹痛、腹胀、便血等不适。被标记后的肠黏膜均黑染清晰,典型内镜图片见图 1,其中有 4 例出现了肠腔内的纳米碳染料少量漏渗,但均不影响染料的注射及观察。接

表1 纳米碳标记组与非标记组两组结直肠癌患者
基线资料的比较

基线资料	纳米碳标记组(59例)	非标记组(58例)	统计值	P值
性别[例(%)]			$\chi^2=0.07$	0.792
男	37(62.7)	35(60.3)		
女	22(37.3)	23(39.7)		
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	59.8 \pm 10.8	62.4 \pm 9.5	$t=-1.40$	0.163
体质指数(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	23.8 \pm 3.3	22.9 \pm 3.5	$t=1.40$	0.176
基础疾病[例(%)]				
高血压	7(11.9)	9(15.5)	$\chi^2=0.33$	0.565
2型糖尿病	14(23.7)	7(12.1)	$\chi^2=2.70$	0.100
肿瘤分布[例(%)]			$\chi^2=0.21$	0.649
升结肠	4(6.8)	3(5.2)		
横结肠	6(10.2)	5(8.6)		
降结肠	4(6.8)	5(8.6)		
乙状结肠	11(18.6)	14(24.1)		
直肠	34(57.6)	31(53.4)		
治疗前肿瘤cT分期[例(%)]			$\chi^2=0.46$	0.500
cT ₃	44(74.6)	40(69.0)		
cT ₄	15(25.4)	18(31.0)		
治疗前肿瘤cN分期[例(%)]			$\chi^2=0.69$	0.406
cN ₀	21(35.6)	25(43.1)		
cN+	38(64.4)	33(56.9)		

受放化疗8周后,纳米标记组肠镜复查时均可根据黏膜黑染快速找到原病灶位置,5例患者病灶增大,结合影像学及血CEA评估为PD,均更改化疗方案。剩余患者中,CR者6例,见图2;PR者18例,见图3;

SD者30例。未标记组结合肠镜、影像学及血CEA结果等,共有2例评估为PD,且均更改化疗方案,其中CR者4例,PR者19例,SD者33例。在所有PD病例中,其血CEA、CA199均不同程度升高。

评估为有手术指征的患者共77例,其中纳米碳标记组39例(纳米碳标记组_{可手术}),非标记组38例(非标记组_{可手术});两组基线资料的比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);无手术指征继续放化疗的患者共40例,其中纳米碳标记组20例(纳米碳标记组_{非手术}),非标记组20例(非标记组_{非手术});两组基线资料的比较,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。见表2。

三、行手术治疗的术中情况及其比较

所有行纳米碳标记的39例手术患者(纳米碳标记组_{可手术}),术中均能够轻易快速地在直肠浆膜面发现黑染的纳米碳标记点,典型病例术中图片见图4。其中,有2例在腹膜表面及肠系膜处观察到不影响视野暴露及手术操作的散在斑点状黑染,考虑因纳米碳染料的透壁注射所致,见图5。所有患者术中均未见腹膜粘连、腹腔内渗液,被标记的肠段均未发现明显的水肿、坏死、脓肿等。

纳米碳标记组_{可手术}共24例直肠癌患者,其中16例进行保肛手术(其中8例经新辅助治疗后病灶消失),8例虽然经新辅助治疗仍无法保肛。非标记组_{可手术}的22例直肠癌患者中有10例保肛(其中4例

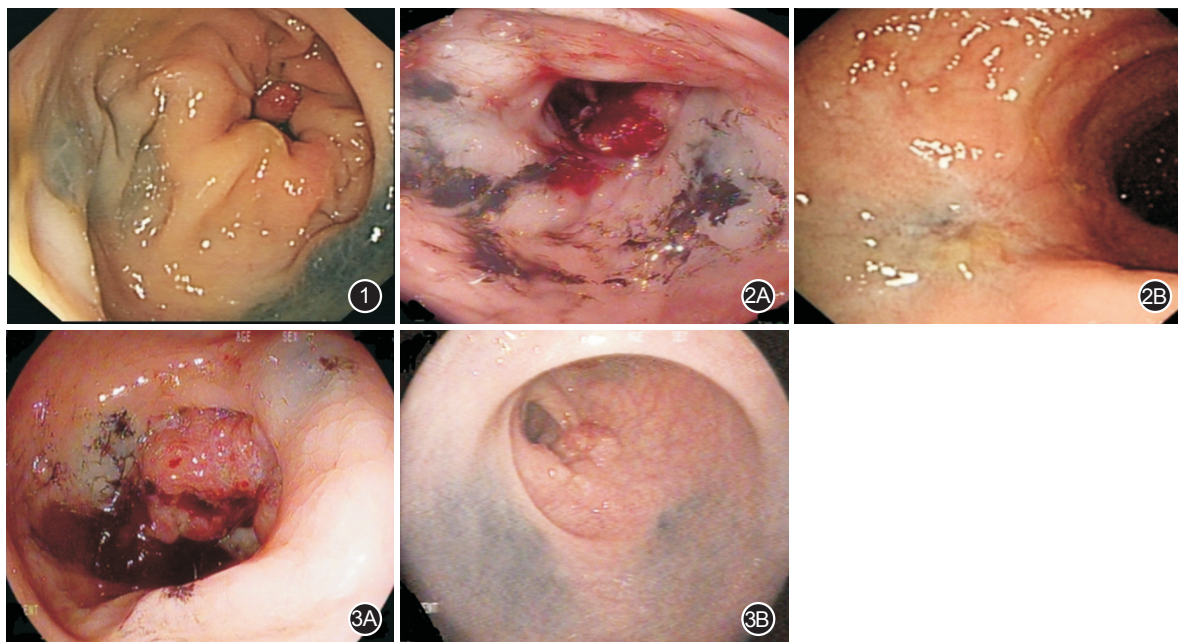


图1 纳米碳标记后肠黏膜黑染清晰 图2 典型放化疗后完全缓解病例的内镜下纳米碳标记及复查图片 2A.放化疗前纳米碳标记;2B.8周后肿瘤消失 图3 典型放化疗后部分缓解病例的内镜下纳米碳标记及复查图片 3A.放化疗前纳米碳标记;3B.8周后肿瘤缩小

经新辅助治疗后病灶消失,这4例中有2例术中无法找到病灶行术中肠镜检查,1例因手术范围不确定切缘阳性而追加手术);另12例虽然经新辅助治疗,仍无法保肛。

与非标记组_{可手术}相比,纳米碳标记组_{可手术}术中探查病灶时间和总手术时间更短,术中出血量更少,远端切缘距病灶长度更短,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);保肛率相对较高,首次切缘阳性率较低,但差异均未达到统计学意义(均 $P>0.05$)。见表3。

所有患者最终术后标本经病理证实均无残留的肿瘤细胞。术后病理情况见表3。

四、无手术指征患者的疗效评估比较

经评估为无手术指征的患者,半年后再次评估放化疗疗效,纳米碳标记组非手术CR者1例,PR者8例,SD者10例,PD者1例,疾病好转率45.0%(9/20);非标记组非手术CR者0例,PR者6例,SD者11例,PD者3例,疾病好转率30.0%(6/20);两组疾病好转率差异无统计学意义($P=0.514$)。

表2 放化疗后有手术指征以及无手术指征结直肠癌患者纳米碳标记组与非标记组基线资料的比较

临床资料	放化疗后有手术指征				放化疗后无手术指征			
	纳米碳标记组 _{可手术} (39例)	非标记组 _{可手术} (38例)	统计值	P值	纳米碳标记组 _{非手术} (20例)	非标记组 _{非手术} (20例)	统计值	P值
性别[例(%)]			$\chi^2=0.10$	0.747			$\chi^2=0.00$	1.000
男	27(69.2)	25(65.8)			10(50.0)	10(50.0)		
女	12(30.8)	13(34.2)			10(50.0)	10(50.0)		
年龄(岁, $\bar{x}\pm s$)	56.2±10.1	59.2±8.0	$t=-1.44$	0.153	68.5±9.4	66.7±8.8	$t=0.63$	0.534
体质指数(kg/m ² , $\bar{x}\pm s$)	23.2±3.4	22.0±2.9	$t=1.63$	0.107	24.8±2.9	24.5±4.2	$t=0.26$	0.799
基础疾病[例(%)]	8(20.5)	6(15.8)			13(65.0)	10(50.0)		
高血压	3(7.7)	5(13.2)	$\chi^2=0.62$	0.432	4(20.0)	4(20.0)	$\chi^2=0.00$	1.000
2型糖尿病	5(12.8)	2(5.3)	$\chi^2=1.33$	0.249	9(45.0)	5(25.0)	$\chi^2=1.76$	0.185
肿瘤分布[例(%)]			$\chi^2=0.11$	0.744			$\chi^2=0.10$	0.751
升结肠+横结肠	5(12.8)	4(10.5)			3(15.0)	4(20.0)		
降结肠	3(7.7)	5(13.2)			2(10.0)	3(15.0)		
乙状结肠	7(17.9)	7(18.4)			5(25.0)	9(45.0)		
直肠	24(61.5)	22(57.9)			10(50.0)	9(45.0)		

注:TNM分期采用美国癌症联合委员会(AJCC)第7版分期

表3 放化疗后有手术指征的结直肠癌患者纳米碳标记组与非标记组术中情况的比较

术中及术后情况	纳米碳标记组 _{可手术} (39例)	非标记组 _{可手术} (38例)	统计值	P值
术中探查病灶时间(min, $\bar{x}\pm s$)	3.4±1.4	11.8±3.4	$t=-14.07$	<0.001
总手术时间(min, $\bar{x}\pm s$)	155.7±44.5	177.2±30.2	$t=-2.48$	0.015
术中出血量(ml, $\bar{x}\pm s$)	101.3±36.7	120.2±38.2	$t=-2.22$	0.029
远端切缘距病灶长度(cm, $\bar{x}\pm s$)	3.7±1.0	4.6±1.7	$t=-2.20$	0.034
保肛率[例(%)]	66.7(16/24)	45.5(10/22)	$\chi^2=2.10$	0.234
首次切缘阳性率[例(%)]	0(0/24)	4.5(1/22)	$\chi^2=0.62$	0.480
肿瘤分化程度[例(%)]			$\chi^2=0.48$	0.785
高	3(7.7)	2(5.3)		
中	26(66.7)	28(73.7)		
低	10(25.6)	8(21.0)		
术后肿瘤TNM分期[例(%)]			$\chi^2=1.49$	0.915
T ₀ N ₀ M ₀	5(12.8)	3(7.9)		
T ₁₋₂ N ₀ M ₀	14(35.9)	15(39.5)		
T ₃ N ₀ M ₀	4(10.3)	3(7.9)		
T ₃ N ₁ M ₀	10(25.6)	8(21.0)		
T ₄ N ₀ M ₀	4(10.3)	6(15.8)		
T ₄ N ₁ M ₀	2(5.1)	3(7.9)		

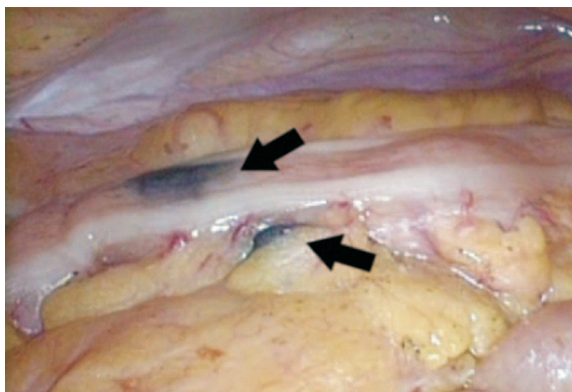


图4 腹腔镜下可见清晰纳米碳标记点(黑色箭头所示)

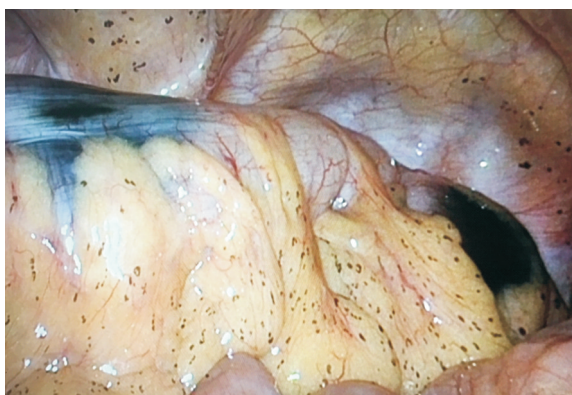


图5 腹腔镜下可见清晰纳米碳标记点及散在不影响手术的斑点状黑染

讨 论

降期后肿瘤的定位对于外科手术是一项很大的挑战。近年来,有文献相继报道因肿瘤的错误定位,导致手术误切、术后切缘阳性甚至腹腔镜手术改为开腹手术的案例,其主要原因是由于腹腔镜手术医生无法直接接触肠壁,对于未侵犯浆膜层肿瘤不易直接观察感知;并且由于结肠的蠕动移位及肠镜检查时结肠短缩,即使开腹手术有时仅根据术前肠镜报告仍可导致定位错误^[12-13]。因此,这部分降期患者手术时无法确定原发肿瘤部位,仍需要根据术前内镜标记行病灶定位。

目前常用的肠道定位方法有术中肠镜、金属夹联合腹部平片、钡剂灌肠造影、内镜下染料注射等定位,但都存在一定的缺点。术中肠镜检查不仅麻烦,延长手术时间,并且继发性结肠和小肠充气会干扰腹腔镜手术的操作视野,这将增加手术时间及感染风险^[14]。金属夹定位易脱落、时间短,且腹腔镜手术时浆膜外不易观察,加上肠道的蠕动性,即使术前使用金属夹定位结合腹部平片,同样存在定位不准情况^[15]。而肠腔完全狭窄、肿瘤较小亦影响

着CT结肠成像、气钡双重造影的实施及准确率^[16]。内镜下注射标记定位方法的众多染料中,印度墨水的制备及成分较为复杂,标记时可能出现不良反应的发生^[17]。SPOT染料定位清楚且无明显并发症^[18-19],但未在我国上市亦不能广泛使用。有研究报道,吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)用于结直肠癌术前定位时,发现在9 d或更长时间内其染色越来越弱甚至消失,且腹腔镜手术时,需要使用近红外发光二极管光源系统才能清晰可见 ICG 标记点^[20-21]。其他染料包括亚甲蓝靛胭脂、甲苯胺蓝、苏木精及异硫蓝等染料,大部分维持时间均不超过24 h^[22]。纳米碳混悬液是近年来研究较多的注射染料之一,其作为新型的淋巴结示踪剂,广泛应用于乳腺癌、甲状腺癌等手术定位及淋巴结示踪,对确定前哨淋巴结、改善淋巴结清扫具有重要意义^[23-24]。因其具有较好的组织渗透性、滞留性以及明显的黑染效果,本研究团队前期研究表明,纳米碳标记胃肠道病灶具有保留时间长(最长达1年以上)、不良反应轻微、操作简便以及术前黏膜下注射后能帮助术者迅速找到病灶等优点^[7-8]。

本研究纳入的病例中,治疗前评估为新辅助治疗病例78例,经2周期化疗后有1例病例评估为PD而选择继续辅助化疗。在新辅助治疗后行外科手术切除的患者中,本研究发现,与非标记组_{可手术}相比,纳米碳标记组_{可手术}术中探查病灶时间和总手术时间更短,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。由于纳米碳标记组_{可手术}外科手术能快速准确地找到纳米碳标记点,从而能够精确切除肠段范围,尤其是对于新辅助治疗后 T_3 以上分期降为 T_2 及以下分期的病例。而非标记组_{可手术}病理完全缓解患者外科手术时,需不断翻找肠段致使探查病灶时间延长,并且该组有1例患者术中肠镜辅助手术切除,1例患者因病灶缩小勉强行保肛手术,导致术中冰冻病理示手术切缘阳性而追加肠段切除,造成手术时间延长,手术创伤增大。有研究对结直肠癌行纳米碳标记定位后直接手术,其结果与本试验类似^[25]。因此,内镜下纳米碳标记可使术者快速寻找病灶时间,缩短总手术时间。

本研究结果显示,与非标记组_{可手术}相比,纳米碳标记组_{可手术}术中出血量更少($P = 0.029$),差异有统计学意义。由于结直肠癌患者行纳米碳标记定位后可避免不必要的结肠牵引及肿瘤细胞的脱落,术者可根据内镜标记点直观地对病灶进行分离、切除,

可明显减少出血量及缩短切除肠段。而未标记组由于对肿瘤位置的不确定,以至于术中游离血管增多。Arteaga-González 等^[26]也发现内镜标记可缩短手术时间及出血量,未标记病例失血量的增加可能与手术难度增大及手术时间的延长有关。因此,内镜下纳米碳标记可减少术中出血量及手术创伤。

对于行低位前切除直肠癌患者,保留肛门对患者术后生活质量的提高更具优势,因此,远端切缘选择是决定手术效果关键。本研究结果显示,对中低位直肠癌患者新辅助治疗后,纳米碳标记组_{可手术}无切缘阳性病例,而非标记组_{可手术}出现 1 例术中冰冻病理示切缘阳性而追加手术导致无法保肛,两组首次切缘阳性率差异虽未能达到统计学意义($P=0.480$),但考虑可能与样本量少或手术方式有关,纳米碳标记后无切缘阳性病例,可明显减少切缘阳性风险。本研究纳米碳标记组_{可手术}的保肛手术病例更多,保肛率高于非标记组_{可手术},但差异无统计学意义($P=0.234$),考虑可能与纳入样本量不足有关。本研究中非标记组_{可手术}因肿瘤病灶不明显而仅根据术前肠镜报告选择大段肠段切除,其远端切缘距离病灶长度明显大于纳米碳标记组_{可手术},差异有统计学意义($P=0.034$),与 Zhang 等^[27]研究结果一致。由此提示,从精准手术切除角度来看,标记后可明显缩短远端切缘距肿瘤距离,减少首次手术切缘阳性情况,手术精确度更高,手术创伤更小。

对于进展期结直肠癌患者,放化疗的疗效评估对指导下一步的治疗方案十分重要。本研究发现,纳米碳标记组内镜复查时共发现 5 例病灶增大,结合腹部 CT、MRI、血 CEA 等指标整体评估为 PD 而更改化疗方案,而非标记组内镜复查时仅发现 1 例病灶明显增大,共有 2 例评估为 PD 而更改化疗方案。经评估为无手术指征的患者如肿瘤无进展则继续当前放疗方案,半年后再次评估放化疗疗效,两组间疾病好转(CR+PR)率纳米碳标记组_{非手术}高于非标记组_{非手术}(45.0% 比 30.0%, $P=0.514$),但差异无统计学意义。这可能与纳入样本量不足或两组间肠段分布不同有关,也提示局部观察原发病灶并不能代替影像学等检查。但本研究中纳米碳标记组患者内镜复查均可见清晰黑色斑块,经过测量纳米碳标记点与病灶边界可准确评估原发病灶大小,当发现肿瘤进展者则更改后续化疗方案。而非标记组部分病例内镜复查时内镜医生只能主观评估而无法精

准测量原发病灶大小,尤其部分原发病灶增大而转移灶无明显变化患者,未行标记将无法获取原发病灶变化以至于无法精确评估放化疗效果,一般继续沿用原方案治疗。提示,纳米碳标记可以适当缩短内镜复查时间,辅助肠镜精准测量病灶大小,可提高疗效评估准确性,指导下一步治疗方案,进一步提高放化疗效果。

本研究尚存在不足之处,本组病例因患者肿瘤临床分期、肿瘤部位及手术方式不尽相同,个体差异亦在所难免,后期研究应该对肿瘤临床分期分层,并且结肠癌与直肠癌单独研究且手术方法进行统一。本研究样本量的不足以及研究人群来自单中心,可能影响到结果的普遍性,需要多中心大样本研究证实。

综上,内镜下注射纳米碳标记法用于肠道肿瘤定位安全可靠,能辅助肠镜精确测量放化疗前后病灶大小,增加评估疗效的手段以指导后续治疗方案;该方法能帮助新辅助治疗后、手术时快速探查病灶,精准地进行切除,明显缩短手术时间及减少手术创伤,值得临床推广。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 中国抗癌协会大肠癌专业委员会中国结直肠癌早诊筛查策略制订专家组. 中国结直肠癌早诊筛查策略专家共识[J]. 中华胃肠外科杂志, 2018, 21(10): 1081-1086. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2018.10.001.
- [2] van der Sijp MP, Bastiaannet E, Mesker WE, et al. Differences between colon and rectal cancer in complications, short-term survival and recurrences[J]. Int J Colorectal Dis, 2016, 31(10): 1683-1691. DOI: 10.1007/s00384-016-2633-3.
- [3] Schuhmacher C, Fink U, Siewert JR. Preoperative downstaging in advanced stomach carcinoma. Wishful thinking or reality[J]. Zentralblatt für Chirurgie, 2000, 125(4): 333-340.
- [4] 刘克杰, 郑勇斌, 童仕伦, 等. 贝伐单抗联合化疗治疗进展期转移性结直肠癌临床观察[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2011, 20(10): 900-903. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2011.10.008.
- [5] Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, et al. Reporting results of cancer treatment [J]. Cancer, 1981, 47(1): 207-214. DOI: 10.1002/1097-0142(19810101)47.
- [6] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) [J]. Eur J Cancer, 2009, 45: 228-247. DOI: 10.1016/j.ejca.2008.10.026.
- [7] Wang W, Wang R, Wang Y, et al. Preoperative colonic lesion localization with charcoal nanoparticle tattooing for laparoscopic colorectal surgery[J]. J Biomed Nanotechnol, 2013, 9(12): 2123-

2125. DOI:10.1166/jbn.2013.1767.
- [8] Wang R, Wang Y, Li D, et al. Application of carbon nanoparticles to mark locations for re-inspection after colonic polypectomy [J]. *Surg Endosc*, 2016, 30(4):1530-1533. DOI: 10.1007/s00464-015-4367-7.
- [9] Ferlitsch M, Moss A, Hassan C, et al. Colorectal polypectomy and endoscopic mucosal resection (EMR): European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline [J]. *Endoscopy*, 2017, 49(3):270-297. DOI:10.1055/s-0043-102569.
- [10] Glimelius B, Tiret E, Cervantes A, et al. Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [J]. *Anna Oncol*, 2013, 24 suppl 6:vi81-vi88. DOI:10.1093/annonc/mdp132.
- [11] National Comprehensive Cancer Network. Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®): 2017 Guidelines [EB/OL]. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/default.aspx.
- [12] Piscatelli N, Hyman N, Osler T. Localizing colorectal cancer by colonoscopy [J]. *Arch Surg*, 2005, 140(10):932-935. DOI: 10.1001/archsurg.140.10.932.
- [13] Kim JH, Kim WH, Kim TI, et al. Incomplete colonoscopy in patients with occlusive colorectal cancer: usefulness of CT colonography according to tumor location [J]. *Yonsei Med J*, 2007, 48(6):934-941. DOI:10.3349/ymj.2007.48.6.934.
- [14] Kim SH, Milsom JW, Church JM, et al. Perioperative tumor localization for laparoscopic colorectal surgery [J]. *Surg Endosc*, 1997, 11(10):1013-1016. DOI:10.1007/s004649900514.
- [15] Ohdaira T, Konishi F, Nagai H, et al. Intraoperative localization of colorectal tumors in the early stages using a marking clip detector system [J]. *Dis Colon Rectum*, 1999, 42(10):1353-1355. DOI:10.1007/BF02234230.
- [16] Rockey DC, Paulson E, Niedzwiecki D, et al. Analysis of air contrast barium enema, computed tomographic colonography, and colonoscopy: prospective comparison [J]. *Lancet*, 2005, 365(9456):305-311. DOI:10.1016/S0140-6736(05)17784-8.
- [17] Park JW, Sohn DK, Hong CW, et al. The usefulness of preoperative colonoscopic tattooing using a saline test injection method with prepackaged sterile India ink for localization in laparoscopic colorectal surgery [J]. *Surg Endosc*, 2008, 22(2):501-505. DOI:10.1007/s00464-007-9495-2.
- [18] Askin MP, Waye JD, Fiedler L, et al. Tattoo of colonic neoplasms in 113 patients with a new sterile carbon compound [J]. *Gastrointest Endosc*, 2002, 56(3):339-342. DOI:10.1067/mge.2002.126905.
- [19] Saleh A, Ihedioha U, Babu B, et al. Audit of preoperative localization of tumor with tattoo for patients undergoing laparoscopic colorectal surgery [J]. *Scott Med J*, 2015, 61(3):78. DOI:10.1177/0036933015597170.
- [20] Miyoshi N, Ohue M, Noura S, et al. Surgical usefulness of indocyanine green as an alternative to India ink for endoscopic marking [J]. *Surg Endosc*, 2009, 23(2):347-351. DOI:10.1007/s00464-008-9938-4.
- [21] Nagata J, Fukunaga Y, Akiyoshi T, et al. Colonic marking with near-infrared, light-emitting, diode-activated indocyanine green for laparoscopic colorectal surgery [J]. *Dis Colon Rectum*, 2016, 59(2):e14-e18. DOI:10.1097/DCR.0000000000000542.
- [22] Hammond DC, Lane FR, Welk RA, et al. Endoscopic tattooing of the colon. An experimental study [J]. *Am Surg*, 1989, 55(7):457-461. DOI:10.1097/00000478-198907000-00011.
- [23] Du J, Zhang Y, Jia M, et al. Evaluation of the tracing effect of carbon nanoparticle and carbon nanoparticle - epirubicin suspension in axillary lymph node dissection for breast cancer treatment [J]. *World J Surg Oncol*, 2016, 14(1):1-8. DOI:10.1186/s12957-016-0925-2.
- [24] Jiang Y, Lin N, Huang S, et al. Tracking nonpalpable breast cancer for breast-conserving surgery with carbon nanoparticles: implication in tumor location and lymph node dissection [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(10):e605. DOI:10.1097/MD.0000000000000605.
- [25] 余砾. 纳米碳标记法对结直肠癌腹腔镜手术的辅助价值 [D]. 福州:福建医科大学, 2015.
- [26] Arteaga-González I, Martín-Malagón A, Fernández EM, et al. The use of preoperative endoscopic tattooing in laparoscopic colorectal cancer surgery for endoscopically advanced tumors: a prospective comparative clinical study [J]. *World J Surg*, 2006, 30(4):605-611. DOI:10.1007/s00268-005-0473-3.
- [27] Zhang XM, Liang JW, Wang Z, et al. Effect of preoperative injection of carbon nanoparticle suspension on the outcomes of selected patients with mid-low rectal cancer [J]. *Chin J Cancer*, 2016, 35:33. DOI:10.1186/s40880-016-0097-z.

(收稿日期:2018-11-01)

(本文编辑:王静)

本文引用格式

王蓉,詹红丽,李达周,等. 内镜下注射标记纳米碳在进展期结直肠癌治疗中的应用研究 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2020, 23(1):56-64. DOI:10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2020.01.010.