

· 专家述评 ·

共聚焦激光显微内镜——诊断消化系疾病的新“武器”

杨 敏, 陈东风[△]

(第三军医大学大坪医院消化内科, 重庆 400042)

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.001

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)14-1353-03



陈东风

共聚焦激光显微内镜(confocal laser endomicroscopy, CLE)是目前国际上崭新的内镜成像技术,是传统电子内窥镜和微型共聚焦激光扫描显微镜整合的产物。由于其即时的虚拟组织学成像加检测功能,能在内镜检查的同时,对消化系统黏膜层活细胞及亚细胞进行检查,获得放大1 000倍的内镜图像,可观测组织的微观结构变化,有助于靶向活检,可显著提高早期肿瘤的发现率,常被誉为“光

活检”或“光学切片”。现就CLE对消化系统疾病的诊断价值作一阐述。

1 CLE的工作原理

CLE是指将一微型共聚焦激光扫描显微镜整合于传统电子内窥镜镜头端而成,具有一镜双用的功能,其成像原理为发自激光器的激光束经过扩束透镜、物镜会聚于物镜的焦点上,由激光束激发的被检组织中所含荧光物质即产生不同方向的荧光,其中一部分荧光经物镜、聚焦透镜聚于聚焦物镜的焦点处,在此处通过针孔被监测器所接收^[1-4]。在成像过程中针孔的作用至关重要,孔径的大小决定图像的对比度和分辨率。

检查时,在对比剂的作用下,将CLE头端紧贴在被检黏膜上,发射至组织表面的氦离子激光激发波长为488 nm,最大激光输出功率小于或等于1 mW。可进行全分辨率的激光断层扫描,内镜放大倍数可达1 000倍,分辨率为0.7 μm,表面下Z轴范围为0~250 μm。共聚焦图像的扫描速度为0.8帧/秒(1 024×1 024像素)或116帧/秒(1 024×512像素)。

2 荧光对比剂的应用

进行CLE检查时,必须使用对比剂来增强黏膜的对比度,以使成像对比鲜明。现在尚无需对比剂就能进行检查的CLE类型。目前在人体组织内可用的对比剂有荧光素钠(10%,5~10 mL,静脉注射)、盐酸吡啶黄(0.02%,5~10 mL,成像前30 s局部喷洒)等。荧光素钠是一价廉、无致突变作用的荧光对比剂,静脉应用荧光素钠后20 s内即可成像,其作用可持续30 min。荧光素钠不能穿过黏膜上皮细胞的类脂膜与细胞核的酸性物质结合,上皮细胞核和杯状细胞不染色,故不能清楚显示细胞核,而上皮细胞、血管及固有膜结缔组织基质的分辨率较高,使结缔组织和微循环系统产生强烈对比,这一特性有助于CLE辨认柱状上皮细胞、杯状细胞和隐窝结构^[2]。使用荧光素钠前先行皮试(用0.9%氯化钠将0.25 mL荧光素

钠稀释至5 mL静脉缓慢注射,注射后观察15 min),若无恶心、呕吐、皮疹等过敏现象方可应用。使用荧光素钠后会出现一过性皮肤/尿液发黄,24 h内完全排泄。

盐酸吡啶黄可以穿过上皮细胞的类脂膜与细胞核的酸性物质结合,其作用仅限于黏膜表层(自黏膜表面向下50~100 μm),可与细胞核和细胞质内的DNA/RNA结合并染色,使细胞核和细胞质染色,对高度不典型增生及早期肿瘤组织病灶的检测极为适宜。但其有极轻微的致突变活性,故临床应用盐酸吡啶黄时需谨慎。

3 对消化道疾病等的诊断价值

3.1 CLE对上消化道疾病的诊断价值

3.1.1 Barrett食管及早期食管腺癌 CLE在食管疾病应用最早的是诊断Barrett食管及其相关腺癌。由于杯状细胞和肿瘤细胞在共聚焦图像中有其特异的形状,故其诊断优势非常显著,其敏感性和准确性都很高^[5-6]。CLE检查时,高度不典型增生与非不典型增生的Barrett食管上皮的组织超微结构完全不同,而由Barrett食管衍生的早期食管腺癌组织的共聚焦图像更有其独特性,食管腺癌组织中含有异型细胞的不规则上皮及原有的正常基底膜缺失这一高特异性,使得CLE对食管腺癌诊断的敏感性和准确性都高达90%以上^[7-9]。目前有研究发现,在CLE下可以发现非弥漫性反流病(NERD)的微观改变,亦进行内镜下诊断NERD^[6]。因此,CLE对Barrett食管/食管腺癌/NERD的早期诊断具有重要价值。

3.1.2 胃癌前病变及早期胃癌 胃癌是世界上最常见的恶性肿瘤。我国胃癌年死亡数和新发患者数均占世界首位。根据胃癌发生模式理论,胃癌前病变包括胃黏膜萎缩,胃黏膜肠上皮化生和上皮内瘤变等。CLE在早期胃癌的诊断价值已被多项研究证实。

癌前病变的病理组织学特征是胃黏膜的上皮内瘤变及含有杯状细胞的肠化生上皮,而早期胃癌的病理学特点是细胞结构异常、染色质凝聚和核质比例增大,二者的共聚焦图像完全不同。共聚焦图像可清晰显示胃癌病灶中不规则细胞结构和血管异常分布的特征性改变,如正常胃黏膜的微血管结构呈蜂窝状或螺旋形,规则分布于胃小凹周围,而胃癌病灶中则显示出过多口径不一,形状各异或呈树枝样的微血管结构^[10-11]。此外,CLE可在内镜检查的同时进行实时模拟组织学检查,可对黏膜粗糙部位进行检查并靶向活检,更易于检出黏膜内早期癌。Deinert等^[12]对内镜下切除的早期胃癌黏膜体外涂抹0.05%吡啶黄后用图像分析软件计算其核面积,显示胃癌尤其是分化型胃癌黏膜细胞核面积明显高于正常黏膜,提示吡啶黄进行细胞核染色效果好,并且可以依据共聚焦图像和细胞核面积诊断早期胃癌。CLE可作为高危人群早期胃癌筛选的一种新手段,CLE的靶向活检技术对胃癌的防治具有重要意义。

3.1.3 幽门螺杆菌(Hp)感染检测 Kiesslich等^[13]和Wang

[△] 通讯作者, Tel: (023)63857741; E-mail: chendf1981@126.com.

等^[14]先后分别报道在体内直接观察到 Hp。经吡啶黄染色行共聚焦激光显微内镜检查,可观测 Hp 的滋生情况。诊断 Hp 的标准:(1)直接征象,白色斑点,可清楚地观察到包括菌体形状和鞭毛的特征性形态,是 Hp 菌体被吡啶黄着色后的表现;(2)间接征象,中性粒细胞的出现和隐窝脓肿的形成。同时与胃黏膜活检组织所进行的尿素酶试验、组织学检查及细菌培养对比研究发现,CLE 对 Hp 诊断的准确率高达 100%^[15]。共聚焦显微内镜为 Hp 检测提供了一种简便有效的方法,将来可能成为临床常规检查。

3.1.4 乳糜泻检测及胃黏膜相关淋巴瘤 乳糜泻的组织学特点是小肠绒毛萎缩和隐窝增生。共聚焦显微内镜对十二指肠隐窝增生诊断的敏感性、特异性和准确率分别为 93%、79%及 85%,对绒毛萎缩的诊断率分别为 68%、92%、87%。在这些标准的基础上,对乳糜泻诊断的敏感性、特异性和准确率分别为 100%、75%及 80%。CLE 对胃黏膜相关淋巴瘤的诊断在进一步研究中。

3.2 对下消化道疾病的诊断价值

3.2.1 早期结肠直肠癌 CLE 可轻易地辨认细胞和微血管结构,分析结肠隐窝的结构和杯状细胞的分布。CLE 检查发现,正常结肠隐窝分布规律,呈圆形、杯状细胞数量正常、隐窝开口呈圆形或椭圆形。经结肠镜亚甲蓝染色确诊的结肠黏膜局限性病变再行 CLE 检查后发现,上皮内瘤样变和结肠癌的隐窝呈管状、绒毛状,隐窝结构不规则,杯状细胞减少或缺失^[16]。这种快速的优化诊断对于临床内镜下治疗有重要的意义,如肿瘤组织的内镜黏膜切除术等。Kiesslich 等^[17]研究表明,共聚焦图像对上皮内瘤样变和结肠癌诊断的敏感性和特异性分别为 97.4%和 99.4%,准确性也为 99.2%,提示 CLE 对结肠癌的普查具有重要意义,为进行实时活细胞组织学诊断的新型工具,对临床早期肿瘤的检出有重要价值。

3.2.2 溃疡性结肠炎 临床上应用共聚焦显微内镜联合色素内镜对溃疡性结肠炎及其上皮内瘤样变进行早期诊断。共聚焦图像显示正常结肠黏膜的隐窝开口规则,呈圆形,隐窝被均匀上皮细胞所覆盖,杯状细胞分布正常,而溃疡性结肠炎的肠黏膜隐窝开口呈星形或隐窝局部聚集,杯状细胞减少^[18]。Kiesslich 等^[19]对 41 例临床反复发作的溃疡性结肠炎患者进行共聚焦显微内镜及色素内镜检查,诊断上皮内瘤样变的敏感性、特异性、准确率分别为 94.4%、95.6%及 99.3%,并且对炎症病变的预测准确率较高,提示应用 CLE 对溃疡性结肠炎的随访观察有助于结肠癌的早期诊断。

3.2.3 胶原性结肠炎 胶原性结肠炎病理学特征为结肠贴邻基底膜的上皮下胶原层弥漫性增厚,可超过正常基底膜厚度的 2~20 倍。静脉应用荧光素钠后的共聚焦图像可清晰显示上皮下胶原带增厚,并能清楚分辨正常结肠黏膜与受侵袭结肠黏膜的超微组织结构^[20],CLE 的上述特性无疑为胶原性结肠炎的诊断提供了一种新思路,也有助于提高靶向病理活检的阳性率。

3.3 在其他疾病中的应用 随着 CLE 的发展,在其他领域也得到了应用。Thong 等^[21]将 CLE 应用于口腔的恶性肿瘤诊断,结果显示,通过 CLE 结合 5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)及荧光素,可以显示正常组织及病变组织的形态学差异,CLE 有望成为无创的诊断口腔恶性肿瘤的新手段。另有研究表明,共聚焦扫描图像能高清晰度地显示肝脏的炎性细胞浸润、脂肪变性、胆管扩张、肝细胞周围纤维化以及血流灌注异常等特性。此外,还可清晰显示肿瘤血管、肝转移灶和胰岛细胞等微观变化^[22-23]。共聚焦图像快速高清晰度地辨认正常和病变组织的

细胞、亚细胞及分子结构的特性有望在不久的将来实现腹腔实时分子诊断。

4 临床应用展望

CLE 作为一项崭露头角的新型诊断工具,其出现具有深远的意义。它标志着内镜检查从表层走向深层,从宏观走向微观,从形态学迈向组织学的质变。CLE 所特有的“光活检”优势,将有望部分取代传统的病理活检,而进行靶向活检可有效降低活检次数,快速高效地实施消化系统肿瘤的早期诊断。

尽管 CLE 的发展前景十分乐观,但由于该技术尚处于探索阶段,仍有很多不足需要解决。由于 CLE 的硬性部件较普通内镜长、弯曲角度小,故操控性不如常规内镜;共聚焦图像质量也是影响组织学诊断的重要原因;目前使用的荧光对比剂、氩激光束的穿透性及共聚焦扫描显微镜的分辨率等仍有诸多缺陷;临床应用时间较短,研究资料较少,特异性分子靶向探针及分子靶向治疗有待进一步探索。但随着光学显微镜技术/激光扫描技术和生物计算机图像处理技术及相关技术的进一步完善与结合,及法国 MRT 公司的小探头式 CLE 使用更为灵便,相信 CLE 在消化道疾病的诊治方面将发挥更重要的作用。

参考文献:

- [1] Smith C, Ogilvie J, McClelland L. Confocal laser endomicroscopy: in vivo endoscopic tissue analysis[J]. Gastroenterol Nurs, 2008, 31: 366-369.
- [2] Nguyen NQ, Leong RW. Current application of confocal endomicroscopy in gastrointestinal disorders[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2008, 23: 1483-1491.
- [3] Hoffman A, Goetz M, Vieth M, et al. Confocal laser endomicroscopy: technical status and current indications[J]. Endoscopy, 2006, 38: 1275-1283.
- [4] Li Z, Yu T, et al. Confocal laser endomicroscopy for in vivo diagnosis of gastric intraepithelial neoplasia: a feasibility study[J]. Gastrointest Endosc, 2010, 72: 1146-1153.
- [5] Canto MI. Endomicroscopy of Barrett's Esophagus[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2010, 39: 759-769.
- [6] Hatlebakk JG. Endoscopy in gastro-oesophageal reflux disease[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2010, 24: 775-786.
- [7] Gaddam S, Sharma P. Advances in endoscopic diagnosis and treatment of Barrett's esophagus[J]. J Dig Dis, 2010, 11: 323-333.
- [8] Wang KK, Okoro N, Prasad G, et al. Endoscopic evaluation and advanced imaging of Barrett's esophagus[J]. Gastrointest Endosc Clin N Am, 2011, 21: 39-51.
- [9] Goetz M, Hoffman A, Gal le PR, et al. Confocal laser endomicroscopy: new approach to the early diagnosis of tumors of the esophagus and stomach[J]. Future Oncol, 2006, 2: 469-476.
- [10] Gheorghie C, Iacob R, Dumbrava M, et al. Confocal laser endomicroscopy and ultrasound endoscopy during the same endoscopic session for diagnosis and staging of gastric neoplastic lesions[J]. Chirurgia (Bucur), 2009, 104: 17-24.
- [11] Li CQ, Li YQ. Endomicroscopy of intestinal metaplasia and gastric cancer[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2010, 39: 785-796.

- [12] Deinert K, Kiesslich R, Vieth M, et al. In-vivo microvascular imaging of early squamous-cell cancer of the esophagus by confocal laser endomicroscopy[J]. *Endoscopy*, 2007, 39:366-368.
- [13] Kiesslich R, Goetz M, Burg J, et al. Diagnosing Helicobacter pylori in vivo by confocal laser endoscopy[J]. *Gastroenterology*, 2005, 128:2119-2123.
- [14] Wang P, Ji R, Yu T, et al. Classification of histological severity of Helicobacter pylori-associated gastritis by confocal laser endomicroscopy [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16:5203-5210.
- [15] Ji R, Li YQ, Gu XM, et al. Confocal laser endomicroscopy for diagnosis of Helicobacter pylori infection: a prospective study [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 25: 700-705.
- [16] Sanduleanu S, Driessen A, Gomez-Garcia E, et al. In vivo diagnosis and classification of colorectal neoplasia by chromoendoscopy-guided confocal laser endomicroscopy [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2010, 8:371-378.
- [17] Kiesslich R, Goetz M, Vieth M, et al. Technology insight: confocal laser endoscopy for in vivo diagnosis of colorectal cancer[J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2007, 4:480-490.
- [18] Gheonea DI, Saftoiu A, Ciurea T, et al. Confocal laser endomicroscopy of the colon[J]. *J Gastrointest Liver Dis*, 2010, 19:207-211.
- [19] Kiesslich R, Goetz M, Lammersdorf K, et al. Chromoscopy-guided endomicroscopy increases the diagnostic yield of intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis[J]. *Astroenterology*, 2007, 132:874-882.
- [20] Smith RR, Ragput A. Mucosal tears on endoscopic insufflation resulting in perforation: an interesting presentation of collagenous colitis[J]. *J Am Coll Surg*, 2007, 205:725.
- [21] Thong PS, Olivo M, Kho KW, et al. Laser confocal endomicroscopy as a novel technique for fluorescence diagnostic imaging of the oral cavity[J]. *J Biomed Opt*, 2007, 12(1):014007.
- [22] Goetz M, Vieth M, Kanzler S, et al. In vivo confocal laser laparoscopy allows real time subsurface microscopy in animal models of liver disease [J]. *J Hepatol*, 2008, 48: 91-97.
- [23] Becker V, Wallace MB, Fockens P, et al. Needle-based confocal endomicroscopy for in vivo histology of intra-abdominal organs: first results in a porcine model (with videos)[J]. *Gastrointest Endosc*, 2010, 71:1260-1266.
- [24] Foersch S, Kiesslich R, Waldner MJ, et al. Molecular imaging of VEGF in gastrointestinal cancer in vivo using confocal laser endomicroscopy[J]. *Gut*, 2010, 59:1046-1055.
- [25] Moussata D, Goetz M, Gloeckner A, et al. Confocal laser endomicroscopy is a new imaging modality for recognition of intramucosal bacteria in inflammatory bowel disease in vivo[J]. *Gut*, 2011, 60:26-33.

(收稿日期:2011-01-08)

• 短篇及病例报道 •

胆石性肠梗阻延误诊治 1 例

邓小明¹, 邱寒², 孙海¹, 张丰深¹

(1. 解放军第三二四医院肝胆外科, 重庆 400020; 2. 重庆市监狱医院外科 400061)

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.002

文献标识码:C

文章编号:1671-8348(2011)14-1355-01

胆石性肠梗阻为胆系结石少见并发症,是一种特殊类型的肠梗阻,临床罕见,早期不易确诊,延误诊治可导致死亡。现将临床所见 1 例报道如下。

1 临床资料

患者,女,63岁,因“剑突下疼痛不适 2 d”在院外就诊,腹部 B 超提示胆囊多发结石、胆囊炎,给予补液、解痉对症治疗 7 d 无缓解,且感疼痛加重、全腹胀痛,伴恶心、呕吐,肛门停止排便、排气 1 d,遂到解放军第三二四医院就诊。查体:T 35.8℃,P 150 次/分,R 30 次/分,BP 65/30 mm Hg,急性痛苦病容,神志淡漠,严重脱水貌,大汗淋漓、烦躁不安,四肢湿冷,腹部呈对称性膨隆,全腹压痛、反跳痛、肌紧张,尤以左下腹为著,未扪及包块,Murphy 征阴性,肝浊音界尚存,肠鸣音未闻及。辅助检查:WBC $29.4 \times 10^9/L$,N 0.942,L 0.034,Hb 186 g/L,Hct 0.542;血淀粉酶 102 U/L,尿常规酮体(++++)。复查 B 超提示胆囊内透光差,胆囊颈部探及 1 枚 2.5 cm×2.0 cm 强回声光团伴声影。左下腹穿刺抽出约 2 mL 黄色浑浊液体,WBC 1~5 个/HP,含脓细胞,穿刺液淀粉酶 684 U/L。初步诊断:中毒性休克,急性弥漫性腹膜炎,空腔脏器穿孔? 积极抗休

克、抗感染同时术前准备,急诊行剖腹探查术,术中见腹腔内有 200 mL 血浆样渗出,距回盲部 100 cm 处小肠内有一鸡蛋大小结石嵌顿,局部肠壁血液循环欠佳;近段回肠极度扩张、充血、水肿,胆囊体部与十二指肠球部粘连形成内瘘,胆囊大小约 7.0 cm×5.0 cm×4.0 cm,壁厚,充血、水肿明显,颈部扪及一枚 2.5 cm×2.0 cm×1.5 cm 结石,胆总管约 0.5 cm,色淡蓝,小肠、结肠未寻及穿孔。遂于结石嵌顿近端肠系膜对侧纵形切开肠壁,取出一褐色椭圆形胆固醇结石,大小约 6.0 cm×6.0 cm×5.0 cm,梗阻肠腔减压后间断缝合关闭,同时行胆囊切除、十二指肠瘘口修补、腹腔冲洗引流术。术后第 7 天并发切口感染、部分裂开,延期缝合后痊愈出院。随访 2 年无不适。

2 讨论

胆石性肠梗阻为胆石病的少见并发症,其发病率占全部肠梗阻的 1%~4%,占 65 岁以上老年人非绞窄性肠梗阻的 25% 左右^[1]。女性发病率高于男性,与女性胆石病发病率较高有关。因症状隐匿多变,术前确诊率仅为 31%~48%,病死率达 15%~18%^[2]。腹部平片胆道积气、肠腔内阳性结石有助于术前确诊,复查 B 超比胆囊结石大小、数目亦(下转第 1369 页)