

## ·专题·荧光成像技术在小儿外科的应用·

## 吲哚菁绿近红外荧光显像在儿童肝母细胞瘤手术中的应用初探



全文二维码



开放科学码

施 佳 程千千 武志祥 吕 凡

**【摘要】 目的** 吲哚菁绿(Indocyanine green, ICG)能够在肝癌组织中特异性聚集,已作为非特异性荧光探针用于精准肝脏外科手术中肿瘤病灶成像。但其在儿童肝母细胞瘤中的应用尚处于起步阶段。本文拟探讨 ICG 近红外荧光成像技术在儿童肝母细胞瘤病灶识别、切缘判断中的应用潜力。**方法** 收集 2019 年 12 月至 2021 年 5 月在上海交通大学医学院附属新华医院行 ICG 近红外荧光术中实时导航手术的 6 例肝母细胞瘤患者临床影像资料(肿瘤大小及位置)和病理数据。所有病例均以 0.5 mg/kg 的剂量于术前 45 ~ 72 h 静脉注射 ICG,并在术中使用 ICG 近红外荧光成像系统观察肿瘤病灶及手术切缘。**结果** 6 例 HB 患者中,单发肿瘤病灶 5 例,多发肿瘤病灶(系术后肝内复发)1 例。肿瘤中位直径为 7.5 cm(1 ~ 10 cm)。肿瘤距离肝脏包膜最近距离为 0 ~ 15 mm。5 例进行了右肝肿瘤解剖性切除术,1 例行不规则肝肿瘤切除术。术中可观察到与正常肝组织相比,肝肿瘤显示出绿色荧光。肿瘤切除后,切缘处无荧光显像,与切缘病理检查结果相符合。所有病例均未观察到与 ICG 注射有关的不良事件。**结论** 术中 ICG 近红外荧光成像可用于判断肝母细胞瘤病灶位置,判断肿瘤切缘是否干净,对肿瘤切除手术具有一定的导航作用。ICG 注射的合适时机以及对肿瘤病灶检测的敏感性,还有待通过更多病例的经验积累之后进一步研究和阐明。

**【关键词】** 荧光染料;吲哚菁绿;诊断显像;肝肿瘤/外科学

**【中图分类号】** R917.76 R445.9 R735.7 R726.1

**Application of near-infrared Indocyanine Green fluorescence imaging in the Surgery of Childhood Hep-**

**atoblastoma.** Shi Jia, Cheng Qianqian, Wu Zhixiang, Lü Fan. Department of Pediatric General Surgery, Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200092, China. Corresponding author: Lü Fan, Email: lvfan@xinhumed.com.cn

**【Abstract】 Objective** Indocyanine green (ICG) has been used for intraoperative real-time navigation in precise liver surgery as it can specifically accumulate in liver cancer tissues. This article explored the application of near-infrared fluorescence imaging with ICG for identifying intraoperative lesions and defining tumor margins for childhood hepatoblastoma (HB). **Methods** The clinical data of 6 children with HB undergoing ICG fluorescence-guided surgery from December 2019 to May 2021 was respectively reviewed. ICG at a 0.5 mg/kg body weight dose was injected intravenously to all patients 45 ~ 72 hours before the operation. The ICG near-infrared fluorescence imaging system was applied to observe the tumor lesions and resection margins during the operation. **Results** Of the 6 patients, 5 were presented with single lesion and 1 with multiple lesions (recurrent after surgery). The median tumor diameter was 7.5 cm (1 ~ 10 cm) and the distance between the tumor and liver capsule was 0 to 15 mm. 5 children underwent radical resection of right liver tumor while 1 underwent irregular liver tumor resection. Fluorescence was detected in all liver lesions, and absent at the surgical margin af-

DOI:10.12260/lcxewkzz.2021.10.004

**基金项目:**国家自然科学基金(编号:81874234);苏州市临床医学专家团队引进项目(编号:SZYJTD201706);上海市市级医院新兴前沿技术联合攻关项目(编号:SHDC12018123);上海市生物医药领域科技支撑项目(编号:18401931800);上海市转化医学协同创新中心项目(编号:TM201809)

**作者单位:**上海交通大学医学院附属新华医院儿普外科(上海市, 200092)

**通信作者:**吕凡, Email: lvfan@xinhumed.com.cn

ter the operation, which is consistent with the pathological examination. No adverse events related to ICG injection were observed. **Conclusion** Real-time ICG fluorescence imaging technique during hepatectomy can help to define the resection margin of HB and scattered metastatic lesions in the liver. Whereas the appropriate timing of ICG injection and imaging limitation on the tumor's depth and size require to be further studied and clarified.

**【Key words】** Fluorescent Dyes; Indocyanine Green; Diagnostic Imaging; Liver Neoplasms/SU

肝母细胞瘤 (hepatoblastoma, HB) 是儿童最常见的肝脏恶性肿瘤, 占 5 岁以下儿童原发性肝脏恶性肿瘤的 90% 以上<sup>[1,2]</sup>。HB 起病隐匿, 早期多无症状, 主要治疗方法包括化学疗法、手术切除和肝移植, 总体存活率约 80%<sup>[3]</sup>。手术切除肿瘤是肝母细胞瘤治疗的基础。无法手术切除或有残留病灶的患者预后相对较差<sup>[3,4]</sup>。手术中主要通过超声检查、肉眼观察和组织触诊来确定肿瘤位置以及切除范围, 在肿瘤边界的确定、肝内可疑转移灶的识别方面仍存在不足, 容易造成漏检, 从而影响患者预后<sup>[5]</sup>。

荧光染料吲哚菁绿 (indocyanine green, ICG) 能够在肝肿瘤组织中特异性聚集, 可被特定波长的光波照射后激发出荧光, 通过光学影像设备成像形成光学影像, 使肿瘤组织与正常组织形成强烈的荧光对比。ICG 技术已被证实是非常敏感的肝癌术中病灶实时检测、显像的手段, 有文献报道其已作为一种术中导航工具用于精准肝脏肿瘤外科手术, 但在儿童肝母细胞瘤中的应用尚处于起步阶段, 报道例数较少<sup>[6-8]</sup>。本研究旨在探索 ICG 介导的近红外荧光成像技术在儿童肝母细胞瘤识别及切缘界定中的应用, 评估 ICG 近红外荧光成像引导肝母细胞瘤切除手术的潜力。

## 材料与方法

### 一、临床资料

收集 2019 年 12 月至 2021 年 5 月由上海交通大学医学院附属新华医院收治的 6 例 HB 患者作为研究对象, 所有患者在 ICG 导航下完成手术。收集患儿流行病学数据, 包括性别、年龄、术前治疗情况及手术方式等; CT 影像数据, 包括 PRETEXT 分期、

肿瘤大小等; 术前吲哚菁绿注射时间和剂量; 术后病理检查结果等。6 例 HB 患者中, 男 5 例, 女 1 例, 中位年龄 1 岁, 年龄范围 5 个月至 6 岁。术前肝功能、凝血功能均无异常。5 例均在术前接受 2~3 个疗程的新辅助化疗; 1 例在外院行手术治疗, 术后接受了 4 个疗程化疗后发现肝内多发病灶。5 例为单发肿瘤病灶, 1 例为多发肿瘤病灶 (系术后化疗后肝内复发)。肿瘤分期: 2 例为 PRETEXT II 期, 3 例为 PRETEXT III 期, 1 例为 PRETEXT IV 期。6 例均无远处转移。使用术前计算机断层扫描 (CT) 图像 (最小切片间隔: 0.5 mm) 测量肿瘤最大径和距肝表面的肿瘤深度, 肿瘤直径 1~10 cm, 肿瘤距离肝脏包膜距离 0~15 mm。6 例患儿术中均使用 ICG 近红外荧光成像系统进行肿瘤病灶定位。5 例行右肝肿瘤解剖性切除术, 1 例肝内多发、复发肿瘤患者行不规则肝肿瘤切除术。

研究入组患儿监护人均签署知情同意书, 同意将其在本院诊治期间或以后的病程中与健康相关的信息应用于将来的研究。本院伦理委员会评估了本研究的设计与执行过程, 符合医学伦理规范准则。

### 二、ICG 注射方法及手术过程

ICG 注射剂为粉剂, 单支剂量 25 mg, 配套灭菌注射用水 10 mL。用配套灭菌注射用水溶解 ICG 粉剂后, 按 0.5 mg/kg 剂量于术前 45~72 h 静脉注射, 注射前无需皮试。术中使用 10 mm 内窥镜 ICG 近红外荧光成像系统 (欧谱曼迪 OPTO-CAM2100, 激发光 805 nm, 反馈荧光成像 835 nm) 观察荧光反射情况, 摄像头距离观察部位 10~20 cm。该系统的摄像头单元通过监视器可以可视化肉眼不可见的近红外光线。6 例 ICG 摄像头系统下观察到可疑荧光病灶, 5 例显示出强烈的荧光 (图 1A, 1B, 1D),

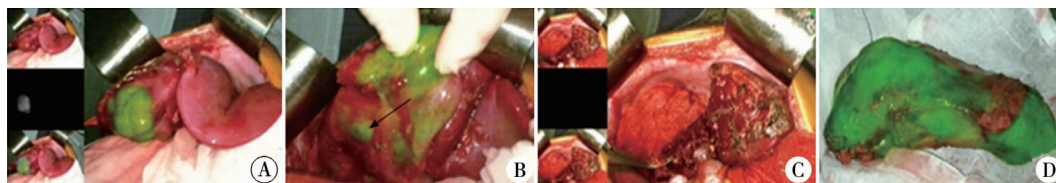


图 1 ICG 术中成像图 注 A: 肝母细胞瘤病灶 ICG 荧光显像; B: 肝母细胞瘤肝内转移病灶 ICG 荧光显像; C: 肿瘤切缘处无 ICG 荧光显像; D: 切除标本 ICG 荧光显像

**Fig. 1** ICG intraoperative fluorescence imaging A. Imaging of hepatoblastoma lesions; B. Imaging of intrahepatic metastases of hepatoblastoma; C. No imaging at the tumor margin; D. Imaging of excised lesions

1 例显示荧光强度稍弱。肿瘤切除后,使用 ICG 摄像机检查手术标本和切除部位是否存在荧光反射。对所有切除标本及手术切缘进行病理检查,以明确肝母细胞瘤的诊断及手术切缘情况。

## 结 果

### 一、手术结果

所有患者对 0.5 mg/kg 的吲哚菁绿注射剂耐受

良好,无恶心、发烧、休克等与 ICG 注射相关不良事件。平均手术时间( $150 \pm 31$ ) min。术中所有患者获得荧光显像,在伪彩模式下,注射间隔时间在 60 h 以内的患者荧光强度强于 60 h 以后注射的患者,注射 ICG 72 h 后荧光显示强度最弱。肿瘤切除后肝脏切缘面未检测到荧光(图 1C),病理检查结果提示切缘为阴性。病理检查结果提示:上皮型 HB 5 例,混合型 HB 1 例。6 例患者临床资料、结果见表 1。

表 1 应用 ICG 术中导航显像病例的一般资料、使用方法、术中显示情况、病理类型及并发症情况

Table 1 Basic profile, application approach, intraoperative imaging, pathological classification and complication of patients undergoing navigation surgery with ICG fluorescent imaging

病例	性别	年龄	PRETEXT 分期	ICG 剂量 (mg/kg)	ICG 提前注射时间(h)	肿瘤位置	肿瘤直径 (cm)	肿瘤距离肝脏包膜距离 (mm)	显示效果	病理类型	ICG 注射并发症
1	男	1 岁	IV	0.5	45	多发	1~2.7	0	良好	上皮型	无
2	女	5 月龄	III	0.5	45	肝右叶	7	5	良好	上皮型	无
3	男	6 岁	III	0.5	69	肝右叶	8	10	良好	上皮型	无
4	男	1 岁	III	0.5	65	肝右叶	4.5	15	良好	混合型	无
5	男	1 岁	II	0.5	48	肝右叶	10	0	良好	上皮型	无
6	男	1 岁	II	0.5	72	肝右叶	8	5	荧光稍弱	上皮型	无

### 二、肿瘤边界界定

术前影像学检查提示 6 例肝脏肿瘤中位直径为 7.5 cm(范围 1~10 cm),肿瘤距离最近肝脏包膜的中位距离为 5 mm(范围 0~15 mm)。术中所有患者获得 ICG 荧光显像,病变组织与正常肝组织荧光显像分界清晰,显像范围与术前影像学检查一致。5 例根据术前影像学检查和术中 ICG 荧光显像导航行解剖性肝段切除术,肿瘤切除后复测切缘 ICG 荧光均为阴性,与术后病理检查切缘结果一致。

### 三、肝内转移灶界定

1 例患者为右半肝切除术后肝内多发复发转移病灶,病灶距离肝包膜 0~15 mm,直径 1~2.7 cm,病灶在术中 ICG 荧光显像导航系统中均获得良好显示,根据荧光范围切除病灶,但术后 1 个月复查 CT 发现肝内残余 1 处肿瘤病灶。

## 讨 论

吲哚菁绿是临床最成熟、应用最广的非特异性近红外荧光探针,也是食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)认证唯一可用于临床的荧光探针。ICG 由静脉注入体内后,立刻和血浆蛋白结合,随血液循环迅速分布到全身血管内,被肝细胞选择性高效率摄取,以游离形式排泄到胆汁中,经胆道入肠,随粪便排出体外。ICG 不参与体内

化学反应,无肠肝循环(进入肠管的 ICG 不再吸收入血),无淋巴逆流,也不从肾脏等其它肝外脏器排泄,毒性小,是一种非常安全的药物<sup>[9]</sup>。目前 ICG 成像主要应用于视网膜血管造影和肝脏功能测定,也用于多种成人肿瘤的术中实时显像<sup>[7]</sup>;具有可以活体成像,操作简单,无放射性损伤的优点<sup>[8,10]</sup>。

ICG 的注射剂量和给药时机对获得理想的成像效果至关重要。肿瘤细胞和肝细胞都可吸收 ICG,但排出时间不同。如果注射 ICG 和手术时间间隔过短,正常肝组织不能充分排出 ICG,可出现弥漫性的假阳性显影。在成人肝细胞癌中,多数文献建议在肝肿瘤手术之前 2~3 d 给予 ICG 注射,以减少正常肝脏组织的背景荧光,获得理想的病灶与肝脏的荧光对比。成人肝癌手术推荐 ICG 注射安全剂量为 0.5 mg/kg,已有文献报道儿童肝母细胞瘤也采用此剂量<sup>[8,11,12]</sup>。本组病例于手术前 45~72 h 注射 ICG,均获得较好的荧光显像,但成像荧光强度、对比度不一。注射 ICG 72 h 后荧光显示强度最弱。这可能是由于成人肝癌的数据显示 ICG 显像效果与肝脏功能的好坏有关。而儿童 HB 患者肝功能多正常,且儿童和成人肝脏储备功能、代谢能力可能存在不同,这就导致适合成人的 ICG 注射剂量可能不能在儿童肝母细胞瘤中获得最理想的显像效果。也有文献对肝母细胞瘤患者 ICG 注射剂量和时间进行了初步的改变尝试<sup>[13]</sup>。但制定适合儿童 HB



的 ICG 剂量和注射时机还有待进一步大样本的研究和验证。

在不同分化程度的肝细胞癌组织中, ICG 的近红外荧光显像强度是不同的。分化良好的肝细胞癌组织在切面上表现出强烈的荧光, 而对于分化较差的肝细胞癌组织则相反。有文献认为, 这是因为分化良好的肝细胞癌组织吸收 ICG, 但是肿瘤组织形态或功能异常, ICG 的胆汁排泄受到损害, 导致 ICG 在肿瘤组织内聚集。相反, 低分化的肝癌和转移性肝癌不吸收 ICG, 导致成像呈低荧光强度<sup>[11,14]</sup>。本组病例中 ICG 在 HB 组织的原发灶和肝内转移灶均表现为强烈荧光, 和肿瘤的病理类型无关, 与文献报道一致<sup>[15,16]</sup>。肿瘤切除后, 观察切缘是否有荧光发出, 可以协助判断切缘是否干净。本组病例中 ICG 在切缘无荧光显像, 与术中冷冻病理报告切缘阴性的结果相符合。已有文献报道使用 ICG 术中实时荧光成像可发现下腔静脉周围的残留 HB 肿瘤<sup>[15,16]</sup>。故 ICG 术中近红外荧光成像可以用于确认切缘是否存在残留肿瘤。

有文献报道, ICG 术中荧光成像可检测出直径 1 mm 以下的肝母细胞瘤肺部转移肿瘤, 但即使切除所有显像的病灶, 术后不久肺部又出现了复发性肿瘤<sup>[17]</sup>。这说明 ICG 近红外荧光成像对微小肿瘤病灶的检测尚存在局限性。本组病例数较少, 肿瘤直径较大, 无法判断出 ICG 近红外荧光成像可以检测到最小直径为多少的 HB 肿瘤病灶。此外, ICG 近红外荧光成像对较深 (>10 mm) 肝肿瘤结节的灵敏度较低, 这与近红外荧光的物理特性相关, ICG 发射的荧光组织穿透仅约 10 mm, 无法看到位于肝脏深处的肿瘤<sup>[6]</sup>。本研究中, 1 例肝内多发转移病灶的患者根据荧光显像导航切除病灶, 术后 1 个月复查 CT 发现肝内残余病灶。这提示针对肝内多发病灶的 ICG 导航肿瘤切除术可能会遗漏微小肿瘤病灶。

总之, ICG 术中近红外荧光成像在判断 HB 肿瘤切缘, 辅助确认肝内转移病灶方面, 具有一定的价值。ICG 注射的合适时机以及对肿瘤检测的敏感性, 还有待通过更多病例的经验积累来进一步的研究和阐明。

## 参考文献

- 1 Ranganathan S, Lopez-Terrada D, Alaggio R. Hepatoblastoma and Pediatric Hepatocellular Carcinoma: An Update [J]. *Pediatr Dev Pathol*, 2020, 23 (2) : 79-95. DOI: 10.1177/1093526619875228.
- 2 Meyers R, Hiyama E, Czauderna P, et al. Liver Tumors in Pediatric Patients [J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2021, 30 (2) : 253-274. DOI: 10.1016/j.soc.2020.11.006.
- 3 袁晓军. 儿童肝母细胞瘤多学科诊疗专家共识 (CCCG-HB-2016) [J]. *中华小儿外科杂志*, 2017, 38 (10) : 733-739. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3006.2017.10.003.
- 4 陈芝雪, 董瑞. 肝母细胞瘤多学科治疗方案的研究进展 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2020, 19 (5) : 398-403. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2020.05.005.
- 5 Handgraaf HJM, Boogerd LSF, Höppener DJ, et al. Long-term follow-up after near-infrared fluorescence-guided resection of colorectal liver metastases: A retrospective multicenter analysis [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2017, 43 (8) : 1463-1471. DOI: 10.1016/j.ejso.2017.04.016.
- 6 Purich K, Dang JT, Poonja A, et al. Intraoperative fluorescence imaging with indocyanine green in hepatic resection for malignancy: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies [J]. *Surg Endosc*, 2020, 34 (7) : 2891-2903. DOI: 10.1007/s00464-020-07543-2.
- 7 Reinhart MB, Huntington CR, Blair LJ, et al. Indocyanine Green: Historical Context, Current Applications, and Future Considerations [J]. *Surg Innov*, 2016, 23 (2) : 166-175. DOI: 10.1177/1553350615604053.
- 8 姚伟, 董岩然, 李凯, 等. 吲哚菁绿荧光显像技术在肝母细胞瘤精准切除手术中的应用 [J]. *临床小儿外科杂志*, 2019, 18 (2) : 107-111. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2019.02.008.
- 9 Egloff-Juras C, Bezdtnaya L, Dolivet G, et al. NIR fluorescence-guided tumor surgery: new strategies for the use of indocyanine green [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14 : 7823-7838. DOI: 10.2147/IJN.S207486.
- 10 Paraboschi I, De Coppi P, Stoyanov D, et al. Fluorescence imaging in pediatric surgery: State-of-the-art and future perspectives [J]. *J Pediatr Surg*, 2021, 56 (4) : 655-662. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2020.08.004.
- 11 Nakaseko Y, Ishizawa T, Saiura A. Fluorescence-guided sur-

- gery for liver tumors[J]. J Surg Oncol, 2018, 118(2):324-331. DOI:10.1002/jso.25128.
- 12 Ishizawa T, Saiura A, Kokudo N. Clinical application of indocyanine green-fluorescence imaging during hepatectomy [J]. Hepatobiliary Surg Nutr, 2016, 5(4):322-328. DOI: 10.21037/hbsn.2015.10.01.
- 13 Yamada Y, Ohno M, Fujino A, et al. Fluorescence-Guided Surgery for Hepatoblastoma with Indocyanine Green [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(8):1215. DOI:10.3390/cancers11081215.
- 14 方驰华, 梁洪波, 迟崇巍, 等. 吲哚菁绿介导的近红外光技术在微小肝脏肿瘤识别、切缘界定和精准手术导航的应用[J]. 中华外科杂志, 2016, 54(6):444-450. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2016.06.011.
- Fang CH, Liang HB, Chi CW, et al. Application of indocyanine green-fluorescent imaging technique in planning resection line and real-time surgical navigation in small hepatocellular carcinoma [J]. Chin J Surg, 2016, 54(6):444-450. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2016.06.011.
- 15 Yamamichi T, Oue T, Yonekura T, et al. Clinical application of indocyanine green (ICG) fluorescent imaging of hepatoblastoma [J]. J Pediatr Surg, 2015, 50(5):833-836. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2015.01.014.
- 16 Souzaki R, Kawakubo N, Matsuura T, et al. Navigation surgery using indocyanine green fluorescent imaging for hepatoblastoma patients [J]. Pediatr Surg Int, 2019, 35(5):551-557. DOI:10.1007/s00383-019-04458-5.
- 17 Kitagawa N, Shinkai M, Mochizuki K, et al. Navigation using indocyanine green fluorescence imaging for hepatoblastoma pulmonary metastases surgery [J]. Pediatr Surg Int, 2015, 31(4):407-411. DOI:10.1007/s00383-015-3679-y.
- (收稿日期:2021-04-27)

**本文引用格式:**施佳,程千千,武志祥,等. 吲哚菁绿近红外荧光显像在儿童肝母细胞瘤手术中的应用初探[J]. 临床小儿外科杂志, 2021, 20(10):916-920. DOI: 10.12260/lcxewkzz.2021.10.004.

**Citing this article as:** Shi J, Cheng QQ, Wu ZX, et al. Application of near-infrared Indocyanine Green fluorescence imaging in the Surgery of Childhood Hepatoblastoma [J]. J Clin Ped Sur, 2021, 20(10):916-920. DOI: 10.12260/lcxewkzz.2021.10.004.

## 投稿前形式审查

本刊为月刊,每月下旬出版,欢迎广大作者踊跃投稿,投稿前请做好以下形式审查,并请附单位推荐信、授权书、伦理审查材料、基金项目材料。本刊唯一投稿网址:www.jcps2002.com。编辑部地址:湖南省长沙市梓园路86号(湖南省儿童医院内),临床小儿外科杂志编辑部,稿件查询电话:0731-85356896, Email: china\_jcps@sina.com。

1. 文稿是否为可编辑的 doc 或者 docx 文件格式,不接收 PDF 文件。
2. 是否有中英文文题、中英文摘要(中英文含义一致)及 3~8 个中英文对应的关键词。是否有所有作者中英文全名及作者单位中英文名称,具体要求详见稿约。
3. 图表:是否在正文相应段落之后,是否按文中出现次序连续编码,图表标题是否翻译成英文。表格是否三线表(表题列于表格上方,表中说明标注于表的下方)。每幅图的下方是否列出图题和说明,是否另附清晰度良好的原始图片(TIF 格式,分辨率 400 pdi,1 个图 1 个文件存储,以图题为文件名,不接收截图或扫描图)。图片是否经过精挑细选,具科学性与说服力。
4. 参考文献是否标引格式规范、要素齐全,中文文献是否中英文双语著录,是否适当引用本刊相关文献,参考文献标引格式详见稿约。

本刊编辑部