

## ·专题·荧光成像技术在小儿外科的应用·

利用近红外-吲哚菁绿成像系统判断  
急性肠缺血模型缺血肠段的实验研究

全文二维码



开放科学码

潘力迦<sup>1</sup> 吴晔明<sup>1</sup> 王 奕<sup>1</sup> 侯光辉<sup>2</sup>

**【摘要】 目的** 近红外-吲哚菁绿(near infrared-indocyanine green, NIR-ICG)成像系统可通过吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)示踪血液流动情况,有望应用于肠管血运状况的评估。本研究利用犬动物模型模拟急性肠管血液循环障碍,以此评估 NIR-ICG 成像系统在手术中检测缺血肠段的价值。

**方法** 无损夹闭实验犬的一段空肠或回肠系膜,并阻断其间分布的所有空肠动静脉与回肠动静脉分支,建立急性肠缺血模型。静脉注射 ICG,追踪实验犬不同时间点肠段显影强度变化,利用系统自带软件进行实时半定量分析。**结果** 建立急性肠缺血模型后注射 ICG (1 mg/kg)并等待 1 min 后,缺血肠段没有显影,但周围正常肠段已经清晰成像,定义正常肠段荧光强度为 100%,缺血肠段荧光强度为 0%;3 min 后缺血肠段荧光强度为 0%。显影后建立再灌注损伤模型;定义 0 min 时荧光强度为 100%,120 min 后再灌注损伤肠段荧光强度为 20.3%,而周围正常肠段荧光强度下降为 0%。**结论** 利用 NIR-ICG 成像系统可快速分辨出缺血肠段,为术中判断肠段缺血提供了一种客观、准确的新方法。

**【关键词】** 荧光染料;吲哚菁绿;诊断显像;急性肠缺血;再灌注损伤;动物模型

**【中图分类号】** R917.76 R574 R445.9

**Application of near infrared-indocyanine green imaging system for judging ischemic intestinal segment in a canine model of acute intestinal ischemia.** Pan Lijia<sup>1</sup>, Wu Yeming<sup>1</sup>, Wang Yi<sup>1</sup>, Hou Guanghui<sup>2</sup>. 1. Department of Pediatric Surgery, Affiliated Xinhua Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, 200092, China; 2. Guangdong OptoMedic Technologies Inc, Guangzhou 528200, China. Corresponding author: Wu Yeming, Email: wuyeming@xinhumed.com.cn

**【Abstract】 Objective** To apply near infrared-indocyanine green (NIR-ICG) imaging system can assess intestinal blood supply through tracing blood flow with indocyanine green (ICG) in a canine model of acute intestinal blood supply disorder. **Methods** An acute ischemic intestinal model was established by non-destructively clamping a section of canine jejunal/ileal mesentery and blocking all relevant branches of jejunal and ileal blood vessels. After an intravenous injection of ICG, the changes of intestinal fluorescent intensity were tracked at different timepoints and the system's software was utilized for real-time semi-quantitative analysis. **Results** ICG 1 mg/kg was injected after modeling. After 1 min, ischemic intestine remained invisible while adjoining normal intestine was distinctly visualized. Fluorescent intensity of normal intestine was defined as 100% and ischemic intestine as 0%. After 3 min, fluorescent intensity of ischemic intestine was still 0%. Then reperfusion injury model was established with an injection of ICG fluorescent intensity was defined as 100% at 0 min. After 120 min, fluorescent intensity of injured intestinal segment declined to 20.3% while adjoining normal intestinal segment dropped to 0%. **Conclusion** Capable of distinguishing ischemic intestinal segments quickly, NIR-ICG imaging system provides an objective and accurate new tool for judging intestinal ischemia during

DOI:10.12260/lxewkzz.2021.10.006

**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:**1.上海交通大学医学院附属新华医院儿外科(上海市,200092);2.广东欧谱曼迪科技有限公司(广东省广州市,528200)

**通信作者:**吴晔明,Email: wuyeming@xinhumed.com.cn

surgery.

**【Key words】** Fluorescent Dyes; Indocyanine Green; Diagnostic Imaging; Acute Intestinal Ischemia; Reperfusion Injury; Animal Model

儿童急性肠套叠、肠扭转均可引起肠管缺血,若不能通过保守治疗复位,则需急诊手术治疗。传统上对缺血肠段的判断主要依靠术中观察肠壁色泽、肠管收缩力等,如术者经验不足极易导致误判。近年来,腹腔镜剖腹探查术因创伤小等优点而受到欢迎,但手术过程中术者缺乏触觉反馈,仅依靠视觉信息作出判断,存在一定的主观性。近红外-吲哚菁绿(near infrared-indocyanine green, NIR-ICG)荧光成像技术显示出较大优势。1954 年,吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)首次被美国食品和药物管理局批准应用于临床,可用于心输出量检测和肝功能评估<sup>[1]</sup>。与蛋白结合的 ICG 在近红外光照射下发出的荧光峰值约在 840 nm,几乎不会被周围组织吸收,因此可以穿透组织而被检测到<sup>[2]</sup>。由于这一特性,NIR-ICG 成像系统被广泛应用于外科手术,极大地提高了手术的安全性和准确性<sup>[3]</sup>。但是,NIR-ICG 在小儿外科领域的应用尚未推广,本研究利用犬模型模拟急性肠道血液循环障碍,旨在评估 NIR-ICG 成像系统用于术中检测缺血肠段的价值。

## 材料与方法

### 一、实验药物及动物模型

静脉麻醉药物舒泰 50(法国维克有限公司,250 mg/盒),注射用灭菌水稀释为 50 mg/mL;ICG(丹东医创药业有限公司,25 mg/支),注射用灭菌水稀释为 0.25 mg/mL。

实验动物为雄性 10 月龄比格犬,体重 10 kg。动物来源于上海交通大学农学院教学实验实习厂,于上海交通大学医学院附属新华医院动物实验部手术室进行本实验。由于犬的体型与幼儿相似,麻醉用药及手术操作更加接近临床实际情况,因此选择犬构建动物模型开展本项目研究。动物模型构建方法如下:

1. 急性肠缺血模型:暴露、游离犬的一段空肠或回肠,无损夹闭此肠段上的系膜 5 min,阻断其间分布的所有空肠动静脉与回肠动静脉分支,外周静脉注射 ICG 1 mg/kg 一次,等待 1 min、3 min 后分别对肠段进行成像拍摄,并将此缺血肠段的荧光强度与周围正常肠段的荧光强度进行对比。

2. 再灌注损伤模型:暴露、游离犬的一段空肠或回肠,先外周静脉注射 ICG 1 mg/kg 一次,等待约 1 min 达到全身平衡后对肠段进行成像拍摄。以上述方法无损夹闭肠系膜 10 min 后松开,等待 120 min 后再次拍摄,并对比缺血肠段的荧光强度。

### 三、图像采集和半定量方法

术中使用 NIR-ICG 荧光成像腹腔镜系统(欧谱曼迪科技有限公司),光源类型为激光,波长 805 nm,感光波长 820 ~ 880 nm。以机械臂固定成像摄像头,置于肠管斜上方约 1 m 高度,调整适当焦距。本实验使用了 3 种成像方式,包括白光模式、荧光模式和对比模式(整合模式),所有模式皆可自由切换。在荧光模式下,拍摄所得图像荧光强度可利用系统自带软件进行实时半定量分析:由操作者在荧幕上勾画出 1 cm × 1 cm 的闭合区域作为测量框,系统将自动对所选区域的荧光强度进行分析。在急性肠缺血模型中,待周围正常肠段显影后,于正常肠段荧光显影明显处勾画一个测量框进行测量,将此区域的荧光强度定义为 100%,然后将测量框复制到缺血肠段处进行测量,测得缺血肠段处的数值(即为相对荧光强度)。在再灌注损伤模型中,肠段先显影后再进行缺血处理,此时勾画出 1 cm × 1 cm 闭合区域作为测量框,测得缺血肠段的荧光强度均为 100%,待血供再灌注 120 min 后再次测量此处的荧光强度及周围正常肠段的荧光强度并进行对比。

## 结 果

### 一、ICG 在缺血肠段显影受阻

无损夹闭局部肠段的系膜,并结扎靠近该肠段的动脉弓(图 1A 箭头所指处为靠近肠段的动脉弓),使得局部肠段缺血 5 min,白光模式下可见缺血肠段相对正常肠段的色泽开始变深(图 1A)。此时经外周静脉注射 ICG 1 mg/kg 等待 1 min,在荧光模式下可见正常肠段显影,而缺血肠段显影受阻,正常肠段与缺血肠段边界清晰可见,定义此时的正常肠段荧光强度为 100%,则缺血肠段的荧光强度为 0%(图 1B)。3 min 后再次测量缺血肠段的荧光强度仍为 0%(图 1C)。

### 二、ICG 在缺血再灌注损伤后的肠段中滞留

待 ICG 从肠段中代谢完毕后,再次经外周静脉注射 ICG (1 mg/kg),等待 1 min,选择一段正常肠段,在荧光模式下可见显影良好(图 2A)。无损夹闭此肠段的系膜并结扎靠近该肠段的动脉弓,使局部肠段缺血 10 min,白光模式下可见缺血肠段色泽明显变深,荧光模式下缺血肠段和正常肠段显影无

显著区别,定义此时缺血肠段的荧光强度为 100%。松开系膜使血液再灌注肠段 120 min,白光模式下再灌注损伤的肠段与周围正常肠段无显著区别,但荧光模式下可见缺血再灌注损伤后的肠道中有 ICG 滞留,其荧光强度为 20.3%,而周围正常肠段荧光强度下降为 0%(图 2B)。



图1 ICG在缺血肠段显影受阻 A:缺血5 min后,白光模式下缺血肠段和正常肠段的色泽差异; B:缺血5 min后,荧光模式下缺血肠段和正常肠段的显影差异; C:缺血8 min后,荧光模式下缺血肠段和正常肠段的显影差异

Fig.1 Failed ICG imaging in ischemic intestine

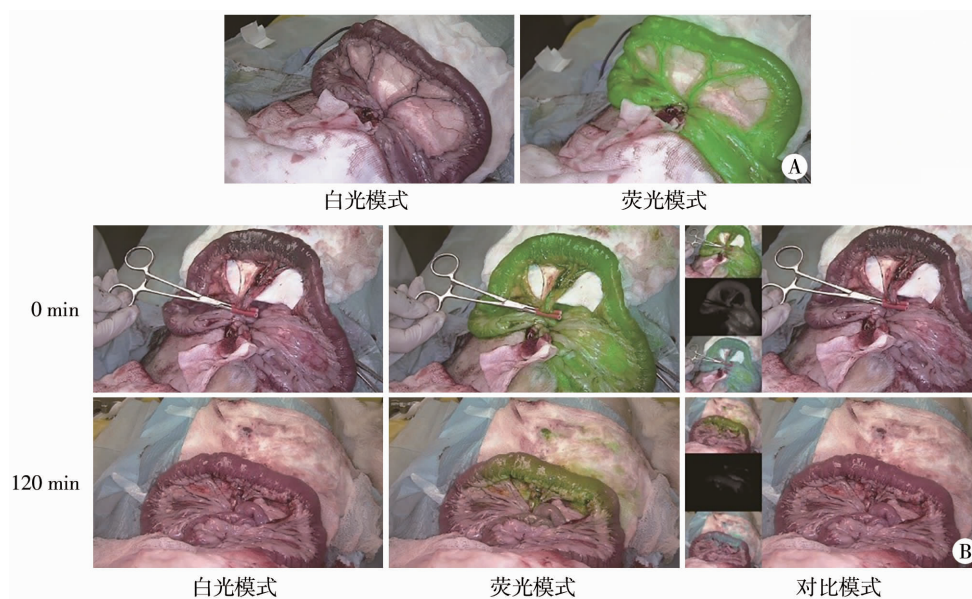


图2 ICG在缺血再灌注损伤后的肠段中滞留 A:静脉注射 ICG 并等待 1 min 后,正常肠段的白光模式下色泽及对应的荧光模式下显影; B:令此肠段缺血 10 min,在白光模式,荧光模式及对比模式下拍摄;再灌注血液 120 min 后再次在白光模式,荧光模式及对比模式下拍摄

Fig.2 ICG retention in reperfusion injured intestinal segment

## 讨论

ICG 通过静脉注射方式进入人体后可立即与血浆蛋白结合,并迅速分布于血液循环系统和淋巴回流系统。近红外光(波长 700 ~ 900 nm)的组织穿透性大,而其组织本底荧光强度小,因此可以得到最佳对比度,在影像学定位和诊断中具有广泛的应用前景<sup>[4]</sup>。ICG 在前哨淋巴结定位、血管造影、胆管造影等方面,较传统影像学技术具有更加精准、容易辨识的优点<sup>[5-8]</sup>。在外科手术中,NIR-ICG 成像系统让以三维可视化为代表的数字医学成为可能,基

于 ICG 成像的多模式影像技术实现了精准外科手术操作,预示了真正意义上的虚拟现实医学的到来<sup>[9]</sup>。目前,NIR-ICG 成像系统已经广泛应用在肿瘤精准切除、乳房重建、肝叶切除等外科手术中<sup>[10-13]</sup>。

在儿外科领域,姚伟等<sup>[14]</sup>利用 ICG 对 8 例肝母细胞瘤患者的肿瘤部位和切除范围进行精准评估,全部实现了 RO 切除,显示出 ICG 荧光显影技术在确定肿瘤边界和完整切除中的重要价值。此外,利用三维 CT 重建联合 ICG 荧光显影技术,能够在腹腔镜手术中清晰显示病变胆管扩张位置和毗邻动静脉及分支情况,有效避免因术中副损伤而导致的



并发症<sup>[15]</sup>。显然,术中合理应用 ICG 显影技术能有效提高手术质量,减少手术时间,提高手术的安全性,符合精准医疗的未来趋势。

ICG 进入血液后分布迅速,且由于不参与肠肝循环,进入肠管的 ICG 不再吸收入血,是术中判断肠管微灌注的新型技术。肠管血供情况将直接影响吻合口的愈合,因此,这一技术目前已被应用于手术中评估结直肠吻合口的微灌注情况,可在儿童先天性巨结肠重建手术中起指导作用<sup>[16]</sup>。有系统性评价研究认为术中评估肠道吻合口的灌注情况十分重要,在方法学上已经从单纯基本的机械通畅性测试向内窥镜可视化技术过渡,NIR-ICG 成像是未来发展的方向<sup>[17]</sup>。然而,肠管吻合术是否成功主要依赖术者的手术技术,NIR-ICG 成像虽然可作为一种补救措施,相对于传统肉眼判断在敏感性上有很大优势,但不够经济实用,尚不能大规模应用。利用 ICG 判断急性缺血肠段,相对而言更有临床应用前景。ICG 在血管造影中速度很快,这使它成为一种简便快捷的术中诊断工具,在急诊手术中可以快速定位缺血肠段。

本研究结果证实 ICG 在静脉注射 1 min 后即可在正常肠管中快速显影,而缺血肠段显影受阻,且二者边界清晰,可以作为切除缺血肠段范围的确切依据。相对于注射 1% 普鲁卡因后观察肠管是否恢复活性的传统方法,ICG 显影具有灵敏、高效的特点,术者无需额外时间等待。更重要的是,ICG 显影为术中判断缺血再灌注损伤肠段提供了一种便捷的方法,术中部分缺血肠段虽然重新得到了血供,但可能已经出现了不可逆损伤。本研究中,缺血后再灌注的肠管能够恢复正常色泽,但真实血供已经不如周围正常肠段,因此 ICG 滞留在这些可能受损的肠段中。显然,缺血再灌注损伤模型直接显示了血供不良的肠管,这是术者凭借肉眼和经验无法判断的。滞留在肠段中的 ICG 显影强度或许预示了肠段受损的严重程度,但还需要进一步研究来确定显影强度、缺血与再灌注损伤时间之间的关系。总之,利用 ICG 显影或将在判断可能存在肠管缺血的急诊手术中发挥巨大作用。

ICG 导致的不良反应少见,其在临床使用多年而不良反应发生率低于 0.01%,且其分布迅速,是术中理想的诊断用染料药物<sup>[18]</sup>。利用 NIR-ICG 成像系统判断肠管缺血,特别是对荧光强度的实时分析,可以得到一个半定量的荧光数值,为术中判断肠管缺血程度提供了客观的指标。在本研究中,实

验犬正常肠管的荧光强度在 120 min 之后与缺血再灌注损伤肠管的荧光强度会产生肉眼可见的分界线,或许可以根据再灌注损伤肠管和周围正常肠管之间荧光强度的差异来区分判断分界线。总之,作为一种前沿的术中成像诊断技术,NIR-ICG 成像系统有望成为儿外科医师的“第六感”,提高精准外科手术的成功率。

## 参考文献

- 1 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.
- 2 Landsman ML, Kwant G, Mook GA, et al. Light-absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green [J]. *J Appl Physiol*, 1976, 40 (4): 575–583. DOI: 10.1152/jappl.1976.40.4.575.
- 3 van Manen L, Handgraaf HJM, Diana M, et al. A practical guide for the use of indocyanine green and methylene blue in fluorescence-guided abdominal surgery [J]. *J Surg Oncol*, 2018, 118 (2): 283–300. DOI: 10.1002/jso.25105.
- 4 Egloff-Juras C, Bezdetnaya 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.
- 5 van der Vorst JR, Schaafsma BE, Verbeek FP, et al. Randomized comparison of near-infrared fluorescence imaging using indocyanine green and 99 (m) technetium with or without patent blue for the sentinel lymph node procedure in breast cancer patients [J]. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19 (13): 4104–4111. DOI: 10.1245/s10434-012-2466-4.
- 6 Jia Y, Bailey ST, Hwang TS, et al. Quantitative optical coherence tomography angiography of vascular abnormalities in the living human eye [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112 (18): E2395–E2402. DOI: 10.1073/pnas.1500185112.
- 7 Woitzik J, Horn P, Vajkoczy P, et al. Intraoperative control of extracranial-intracranial bypass patency by near-infrared indocyanine green videoangiography [J]. *J Neurosurg*, 2005, 102 (4): 692–698. DOI: 10.3171/jns.2005.102.4.0692.
- 8 Ishizawa T, Tamura S, Masuda K, et al. Intraoperative fluorescent cholangiography using indocyanine green: a biliary road map for safe surgery [J]. *J Am Coll Surg*, 2009, 208 (1): e1–e4. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.09.024.
- 9 张鹏, 祝文, 方驰华, 等. 多模影像技术在解剖性肝切除手术导航中应用价值研究 [J]. *中国实用外科杂志*, 2019, 39 (5): 480–486. DOI: 10.19538/j.cjps.issn1005-2208.

2019. 05. 19.
- Zhang P, Zhu W, Fang CH, et al. Application of multimode imaging technology in real-time navigation during anatomical liver resections[J]. Chin J Clin Pract Sur, 2019, 39(5): 480-486. DOI: 10. 19538/j. cjps. issn. 1005-2208. 2019. 05. 19.
- 10 Nguyen QT, Tsien RY. Fluorescence-guided surgery with live molecular navigation; a new cutting edge[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(9): 653-662. DOI: 10. 1038/nrc3566.
- 11 Griffiths M, Chae MP, Rozen WM. Indocyanine green-based fluorescent angiography in breast reconstruction[J]. Gland Surg, 2016, 5(2): 133-149. DOI: 10. 3978/j. issn. 2227-684X. 2016. 02. 01.
- 12 Aoki T, Yasuda D, Shimizu Y, et al. Image-guided liver mapping using fluorescence navigation system with indocyanine green for anatomical hepatic resection[J]. World J Surg, 2008, 32(8): 1763-1767. DOI: 10. 1007/s00268-008-9620-y.
- 13 Kawaguchi Y, Nomura Y, Nagai M, et al. Liver transection using indocyanine green fluorescence imaging and hepatic vein clamping[J]. Br J Surg, 2017, 104(7): 898-906. DOI: 10. 1002/bjs. 10499.
- 14 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.
- Yao W, Dong KR, Li K, et al. Application of indocyanine green fluorescent imagine technique during precise hepatectomy for hepatoblastoma[J]. J Clin Ped Sur, 2019, 18(2): 107-111. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6353. 2019. 02. 008.
- 15 袁妙贤, 尹强, 季春宜, 等. 三维 CT 重建联合 ICG 荧光染色技术在腹腔镜先天性胆管扩张症根治术中的应用[J]. 临床小儿外科杂志, 2020, 19(7): 614-618. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6353. 2020. 07. 010.
- Yuan MX, Yin Q, Ji CY, et al. Application of three-dimensional computed tomography reconstruction plus indocyanine green fluorescent staining technique during radical laparoscopy for congenital biliary dilatation[J]. J Clin Ped Sur, 2020, 19(7): 614-618. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6353. 2020. 07. 010.
- 16 Rentea RM, Halleran DR, Ahmad H, et al. Preliminary use of indocyanine green fluorescence angiography and value in predicting the vascular supply of tissues needed to perform cloacal, anorectal malformation, and Hirschsprung reconstructions[J]. Eur J Pediatr Surg, 2020, 30(6): 505-511. DOI: 10. 1055/s-0039-1700548.
- 17 Nachiappan S, Askari A, Currie A, et al. Intraoperative assessment of colorectal anastomotic integrity: a systematic review[J]. Surg Endosc, 2014, 28(9): 2513-2530. DOI: 10. 1007/s00464-014-3520-z.
- 18 Garski TR, Staller BJ, Hepner G, et al. Adverse reactions after administration of indocyanine green[J]. JAMA, 1978, 240(7): 635. DOI: 10. 1001/jama. 240. 7. 635b.

(收稿日期: 2021-02-22)

**本文引用格式:** 潘力迦, 吴晔明, 王奕, 等. 利用近红外-吲哚菁绿成像系统判断急性肠缺血模型缺血肠段的实验研究[J]. 临床小儿外科杂志, 2021, 20(10): 925-929. DOI: 10. 12260/lxewkzz. 2021. 10. 006.

**Citing this article as:** Pan LJ, Wu YM, Wang Y, et al. Application of near infrared-indocyanine green imaging system for judging ischemic intestinal segment in a canine model of acute intestinal ischemia[J]. J Clin Ped Sur, 2021, 20(10): 925-929. DOI: 10. 12260/lxewkzz. 2021. 10. 006.

## 本刊报道范围

①对小儿外科疾病诊疗策略、研究方向、技术方法以及基础理论研究的现状与目标的见解、建议或发展思路; ②小儿外科各专业临床诊疗实践、手术运用以及相关基础与实验研究成果; ③小儿外科各专业疾病诊疗指南、专家共识、指南解读; ④小儿微创外科、腔镜内镜技术以及机器人手术的临床应用; ⑤小儿外科新技术、新器械、新方法、新手术、新靶标、新诊断、新模型、新预测、新试验的介绍与探讨(欢迎提供手术或方法视频); ⑥小儿外科疾病流行病学调查、随访评价、预后评估以及康复经验; ⑦小儿外科疾病诊治的临床多中心研究方案、系统综述、meta 分析; ⑧针对小儿外科理论与实践意义重大或认识分歧较多的问题展开的学术争鸣与讨论; ⑨复杂疑难危重罕见病例报道、病例讨论、文献复习; ⑩一些经典或者创新手术演示(欢迎提供视频资料); ⑪小儿外科相关专业理论与实践的研究进展及研究成果; ⑫针对学术文献或学术讨论中概念、观点、方法、结果、结论的思考与评价。

本刊编辑部