

## . 综 述 .

## 荧光显像技术在脑肿瘤切除术中的应用现状与展望

孙连杰 综述 杨小鹏 审校

【关键词】 荧光显像;脑肿瘤;切除术

【文章编号】 1009-153X(2020)05-0328-03

【文献标志码】 A

【中国图书资料分类号】 R 739.41; R 651.1\*1

目前,恶性胶质瘤主要采用显微手术切除肿瘤为主,结合放疗、化疗等综合治疗。手术最大范围地切除肿瘤是影响颅内肿瘤病人无进展生存期和总生存期的重要且独立的影响指标之一<sup>[1]</sup>。新技术有助于最大范围地安全切除脑肿瘤。本文就荧光显像技术在脑肿瘤切除术中的应用现状与展望进行综述。

## 1 神经外科常用的荧光染料

荧光素钠(fluorescein sodium, FLS)、 $\delta$ -氨基- $\gamma$ -酮戊酸(5-Aminolevulinic Acid, 5-ALA)和吲哚菁绿(Indocyanine green, ICG)为目前神经外科使用较多的荧光染料。其他荧光染料(包括吖啶橙、吖啶黄碱、溴甲酚紫和磺基罗丹明 101)已用于肺、胃肠道或妇科手术中,但尚未直接在人类颅脑手术中使用。

## 2 FLS

**2.1 FLS 的特性** FLS 染色的荧光机制是 FLS 经静脉给药后透过被肿瘤破坏的血脑屏障(blood brain barrier, BBB)在肿瘤细胞外间质中聚集,成为 BBB 受损区域的标志,以帮助外科医生实现增强肿瘤区域的全切除<sup>[2]</sup>。FLS 荧光所观察到的肿瘤边界与术前 MRI 增强边界有很好的相关性。与 FLS 荧光机制不同,5-ALA 是一种细胞内代谢的前体药物,可选择性地积聚于肿瘤细胞内,而 FLS 与肿瘤细胞之间没有特殊的相互作用。

**2.2 FLS 在脑肿瘤手术中的应用** 1948 年,FLS 首次被应用于脑胶质瘤手术中<sup>[3]</sup>。影响 FLS 渗透的重要因素是 BBB 的破坏,其他如 FLS 的给药剂量和时间、术前放疗和化疗、脑肿胀等<sup>[4]</sup>。在 2013 年以前,文献

报道的 FLS 多为高剂量(15~20 mg/kg)肉眼指导肿瘤切除,这可能与 Pentero 900 荧光显微镜尚未应用于临床有关。高剂量 FLS 并不会造成任何永久性的不良影响,而且巩膜、皮肤和尿液的黄染色可在大约 24 h 内消失。在 2013 年以后,文献报道的 FLS 多为低剂量(5~10 mg/kg)或小剂量(3~5 mg/kg)联合装有 YELLOW 560 nm 滤色镜的 OPMI Pentero 900 荧光显微镜辅助下切除颅内恶性肿瘤,这种辅助技术通常是安全和有效的<sup>[5]</sup>。FLS 的注射时间有麻醉诱导后、硬脑膜切开前和临时静脉注射三种时机<sup>[4]</sup>。高剂量 FLS 在胶质瘤组织中聚集后肉眼可观察到肿瘤的荧光染色强度的差异。Bo 等<sup>[6]</sup>研究显示术中应用 FLS 可显著提高全切除率,而且无进展生存期显著延长。Shinoda 等<sup>[7]</sup>报道,注射高剂量 FLS 后,在肉眼观下总切除成功率为 84.4%,占术中所有可见黄染色病人的 100%。Koc 等<sup>[8]</sup>研究显示,FLS 组(47 例)与非 FLS 组(33 例)中位生存期分别为 43.9 周与 41.8 周,两组生存期差异无统计学意义,但切除程度对中位生存期有较大影响,即部分切除后生存期为 34.3 周和全切除后生存期为 46.5 周,使用 FLS 引导肿瘤切除可显著提高肿瘤的全切除率(83 vs. 55%)。FLS (3 mg/kg)联合 Pentero 900 荧光显微镜在肿瘤切除术中可获得最佳荧光效果,敏感性和特异性分别为 79%和 100%<sup>[9]</sup>。2016 年 2 月,Hamamcioglu 等<sup>[10]</sup>报道 23 例高级别胶质瘤和 7 例转移性肿瘤,麻醉诱导后给予 FLS(2~4 mg/kg),用 YELLOW 560 nm 滤色镜对脑组织和肿瘤组织进行鉴别,在 30 例手术中有 29 例发现 FLS 有助于肿瘤的分界,其中 23 例为全切除,而 4 例为次全切除,其余 2 例为部分切除。

## 3 5-ALA

**3.1 5-ALA 的特性** 5-ALA 是经过 ALA 脱水酶及一系列酶促作用,生成具有强光敏性的原卟啉 IX(protoporphyrin IX, PpIX)。PpIX 可在肿瘤细胞中积累,

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2020.05.025

作者单位:830000 乌鲁木齐,新疆维吾尔自治区人民医院神经外科(孙连杰、杨小鹏)

通讯作者:杨小鹏, E-mail: yxp9972@sina.com

在 405 nm 附近吸收光谱带中的光子,然后发射波长约 630 nm 的低能光子,通过装有发射滤光片的手术显微镜,观察到的两条光带(450 nm/570 nm),属于肉眼可见光谱,被认为是紫蓝色的背景和“粉红到红色”的荧光<sup>[11]</sup>。

3.2 5-ALA 在脑肿瘤手术中的应用 麻醉诱导前 3 h 口服 5-ALA (10 mg/kg), PpIX 显影的高峰期可满足术中所需,给药 9 h 后荧光逐渐消失。因不同脑肿瘤对 BBB 破坏的程度不同,摄取的外源性 5-ALA 的量有所差别。WHO 分级 I、II 级胶质瘤或对正常脑组织浸润较少的脑肿瘤术中可能无法显示 5-ALA 荧光,从而使其灵敏度大大降低。为了提高 5-ALA 荧光显像的灵敏度, Ishihara 等<sup>[12]</sup>对 6 例 5-ALA 诱导的 PpIX 荧光组织进行荧光发射光谱的定量测定,并根据光谱荧光强度与组织学特征的相关性,能检测 BBB 破坏程度低的肿瘤,从而提高 5-ALA 显像的灵敏度。Valdes 等<sup>[13]</sup>认为采用定量荧光测量检测方法测量的 PpIX 的浓度具有诊断意义,荧光组织 PpIX 浓度显著高于非可见荧光组织,对肿瘤的诊断准确率在 90% 以上。5-ALA 荧光辅助下胶质瘤切除可提高肿瘤切除范围及无进展生存期<sup>[14,15]</sup>。

4 ICG

4.1 ICG 的特性 ICG 是一种分子量大小为 744.96 Da 的水溶性小分子,激发波长约为 780 nm,在 700~850 nm 范围内发出荧光,可通过激发光的照射脑肿瘤组织显示绿色荧光。ICG 经静脉注射后可迅速与血浆蛋白结合,并被肝脏所清除。使用浓度在 5~25 mg,所观察到的荧光持续时间有限,在 10 min 左右出现峰值。

4.2 ICG 在脑肿瘤手术中的应用 ICG 荧光视频血管造影已被广泛应用于评估血管通畅程度。在白光手术显微镜的视野内,荧光视频血管造影的叠加可以实时评估手术期间血管内的血流情况。该技术可提高术者在复杂神经血管手术中的决策水平。Kala 等<sup>[16]</sup>表明,ICG 能够对大鼠颅脑胶质瘤模型染色,显示肿瘤组织血流量的增加以及周围脑循环发生的病理改变,实现染色肿瘤的边界和病理对比。2015 年, Inoue 等<sup>[17]</sup>报道内窥镜 ICG 显像,以帮助显示侵袭蝶窦的肿瘤及经蝶窦手术中视神经和正常垂体组织血流的测定。ICG 还可进一步应用于乳突切除术中面神经的显示,乳突切除作为乙状窦前入路、岩前入路或经迷路入路的关键步骤,先将面神经管钻至纸片薄后,再经中心静脉导管注入 ICG,神经滋养血管的

血管因此突显出来,通过面神经的走形,促进内耳道的开放以及肿瘤的暴露,可减少医源性面神经功能障碍<sup>[18]</sup>。

5 其他荧光染料

溴甲酚紫、吖啶橙和吖啶黄,可用于通过共聚焦显微镜对脑肿瘤组织进行体外快速诊断。类似荧光染料的肿瘤靶向剂烷基磷胆碱 CLR1501 和 CLR1502,能特异性地吸附到肿瘤细胞,在特定波长的光照下发出荧光。CLR1501、CLR1502 和 5-ALA 被注射到胶质细胞瘤和胶质母细胞瘤的小鼠身上,然后通过激光共聚焦显微镜,IVIS 光谱成像系统或者近红外荧光的成像系统检测小鼠的脑组织,结果发现 CLR1501 的荧光效果与 5-ALA 染料相似,而近红外的 CLR1502 染料的荧光效果比 5-ALA 更好<sup>[19]</sup>。

5.1 分子探针 高亲和力的分子探针的制备和应用是分子影像学研究的重点。分子探针是指配体或抗体等与同位素、荧光素或顺磁性原子特异性结合,产生可探测的信号,这些信号经适当的扩增放大后,利用高分辨率的成像系统即可检测到这些信号的改变,从而间接反映分子或基因的信息。不同分子探针具有以下几种共同特点<sup>[20]</sup>:①能够参与人体内正常生理代谢、免疫或受体结合、基因表达等,并不会对人体造成任何伤害。②能够透过体内许多生理屏障,如血脑屏障、血管壁、细胞膜等。③与靶分子具有高灵敏度和特异性的结合。分子探针根据探针的特异性可分为靶向性探针和可激活探针。纳米抗体是一类单变量域的能够特异性结合的靶向性探针,具有体积小、易透过血脑屏障、半衰期长、与肿瘤结合特异性高的优点<sup>[21]</sup>。靶向性探针的主要缺点是不均匀的被动分布和非特异性结合。双标记纳米探针被设计用来解决这个限制,具有超顺磁性和荧光特性,达到术前影像与术中显像的统一,从而提高对肿瘤边界判断的准确性,为肿瘤边缘的获取提供新的途径<sup>[22]</sup>。

总之,5-ALA 引导脑肿瘤手术可以提高肿瘤切除率,FLS 引导下的肿瘤切除已成为一种替代方法,ICG 对血管肿瘤(如血管母细胞瘤)有很好的应用前景。虽然分子靶向探针具有吸引力和技术先进,但与现有的 5-ALA 和 FLS 相比,用于荧光导向切除术的优势和成本还有待提高。术中荧光显像技术可以帮助术者最大限度地切除肿瘤组织,但外科手术的进步无疑将伴随着神经外科医生所面临的挑战、机遇与思考。

## 【参考文献】

- [1] Aizer AA, Bi WL, Kandola MS, *et al.* Extent of resection and overall survival for patients with atypical and malignant meningioma [J]. *Cancer*, 2016, 121(24): 4376-4381.
- [2] Diaz RJ, Dios RR, Hattab EM, *et al.* Study of the biodistribution of fluorescein in glioma-infiltrated mouse brain and histopathological correlation of intraoperative findings in high-grade gliomas resected under fluorescein fluorescence guidance [J]. *J Neurosurg*, 2015, 122(6): 1-10.
- [3] Moore GE, Peyton WT. The clinical use of fluorescein in neurosurgery, the localization of brain tumors [J]. *J Neurosurg*, 1948, 5(4): 392-398.
- [4] Stummer W. Factors confounding fluorescein-guided malignant glioma resections: edema bulk flow, dose, timing, and now: imaging hardware [J]? *Acta Neurochir (Wien)*, 2016, 158(2): 327-328.
- [5] Acerbi F, Broggi M, Eoli M, *et al.* Fluorescein-guided surgery for grade IV gliomas with a dedicated filter on the surgical microscope: preliminary results in 12 cases [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2013, 155(7): 1277-1286.
- [6] Bo C, Wang H, Ge P, *et al.* Gross total resection of glioma with the intraoperative fluorescence-guidance of fluorescein sodium [J]. *Int J Med Sci*, 2012, 9(8): 708-714.
- [7] Shinoda J, Yano H, Yoshimura S, *et al.* Fluorescence-guided resection of glioblastoma multiforme by using high-dose fluorescein sodium: technical note [J]. *J Neurosurg*, 2003, 99(3): 597-603.
- [8] Koc K, Anik I, Cabuk B, *et al.* Fluorescein sodium-guided surgery in glioblastoma multiforme: a prospective evaluation [J]. *Br J Neurosurg*, 2008, 22(1): 99-103.
- [9] Rey-Dios R, Hattab EM, Cohen-Gadol AA. Use of intraoperative fluorescein sodium fluorescence to improve the accuracy of tissue diagnosis during stereotactic needle biopsy of high-grade gliomas [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2014, 156(6): 1071-1075.
- [10] Hamamcioglu MK, Akçakaya MO, Göker B, *et al.* The use of the YELLOW 560 nm surgical microscope filter for sodium fluorescein-guided resection of brain tumors: our preliminary results in a series of 28 patients [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2016, 143: 39-45.
- [11] Kaneko S, Kaneko S. Fluorescence-guided resection of malignant glioma with 5-ALA [J]. *Int J Biomed Imaging*, 2016, 2016(11): 1-11.
- [12] Ishihara R, Katayama Y, Watanabe T, *et al.* Quantitative spectroscopic analysis of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX fluorescence intensity in diffusely infiltrating astrocytomas [J]. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2007, 47(2): 53-57.
- [13] Valdés PA, Jacobs V, Harris BT, *et al.* Quantitative fluorescence using 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX biomarker as a surgical adjunct in low-grade glioma surgery [J]. *J Neurosurg*, 2015, 123(3): 771-780.
- [14] Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, *et al.* Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial [J]. *Lancet Oncol*, 2006, 7(5): 392-401.
- [15] Potapov AA, Goryaynov SA, Okhlopkov VA, *et al.* Clinical guidelines for the use of intraoperative fluorescence diagnosis in brain tumor surgery [J]. *Zh Vopr Neirokhir Im N N Burdenko*, 2015, 79(5): 91-101.
- [16] Kala M. Indocyanine green/ICG/staining and demarcation of tumor margins in a rat glioma model [J]. *Surg Neurol*, 1994, 42(6): 552-554.
- [17] Inoue A, Ohnishi T, Kohno S, *et al.* Usefulness of an image fusion model using three-dimensional CT and MRI with indocyanine green fluorescence endoscopy as a multimodal assistant system in endoscopic transsphenoidal surgery [J]. *Int J Endocrinol*, 2015, 2015(2): 694273.
- [18] Chen SC, Wang MC, Wang WH, *et al.* Fluorescence-assisted visualization of facial nerve during mastoidectomy: a novel technique for preventing iatrogenic facial paralysis [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2015, 42(2): 113-118.
- [19] Kyle IS, Paul AC, Ray RZ, *et al.* Fluorescent cancer-selective alkylphosphocholine analogs for intraoperative glioma detection [J]. *Neurosurgery*, 2015, 76(2): 115-124.
- [20] Meng X, Yang Y, Zhou L, *et al.* Dual-responsive molecular probe for tumor targeted imaging and photodynamic therapy [J]. *Theranostics*, 2017, 7(7): 1781-1794.
- [21] 尚文婷, 田捷. 纳米探针在肿瘤诊疗中的研究进展[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2017, 37(11): 726-729.
- [22] 尚文婷, 田捷. 多模态分子探针: 从基础研究到临床应用[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2017, 37(11): 677-679.

(2018-09-13 收稿, 2018-12-05 修回)