

吲哚菁绿联合亚甲蓝在甲状腺微小乳头状癌前哨淋巴结活检中的应用*

王彬彬¹ 姚廷敬¹ 周锐¹ 李煊赫¹

[摘要] 目的:探讨吲哚菁绿联合亚甲蓝注射在甲状腺微小乳头状癌前哨淋巴结活检术中的应用。方法:将 90 例甲状腺微小乳头状癌(PTMC)患者随机分为 A 组和 B 组,每组 45 例。A 组运用吲哚菁绿联合亚甲蓝注射检测淋巴结,B 组只用蓝染法,在荧光探测仪下发光或首先蓝染的淋巴结认定为前哨淋巴结(SLNs),SLNs 切除后,统一行中央区淋巴结清扫。术后比较两组的病理及围手术期情况。结果:A 组和 B 组平均检测出 SLNs 2.93 枚和 2.17 枚,检测出中央区淋巴结 4.51 枚和 3.89 枚,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组的灵敏度、准确度、假阴性率差异无统计学意义($P > 0.05$),但 A 组灵敏度、准确度高于 B 组,假阴性率低于 B 组。两组患者术中出血量、喉返神经麻痹发生率、术后引流量、淋巴漏发生率差异无统计学意义($P > 0.05$),A 组手术时间长于 B 组($P < 0.05$),A 组术后暂时性甲状旁腺功能减退少于 B 组($P < 0.05$)。结论:在甲状腺癌 SLNs 活检中,吲哚菁绿荧光法联合亚甲蓝安全可行,对甲状旁腺功能的保护具有临床意义。

[关键词] 甲状腺肿瘤;前哨淋巴结;吲哚菁绿;亚甲蓝

DOI: 10.13201/j.issn.2096-7993.2021.06.013

[中图分类号] R736.1 [文献标志码] A

Clinical feasibility of imaging with indocyanine green combined with methylene blue for sentinel lymph node identification in papillary thyroid microcarcinoma

WANG Binbin YAO Tingjing ZHOU Rui LI Xuanhe

(Department of Oncological Surgery, the First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu, 233004, China)

Corresponding author: WANG Binbin, E-mail: wangbinyyx@163.com

Abstract Objective: To explore the value of indocyanine green(ICG) combined with methylene blue in the identification of sentinel lymph nodes(SLNs) in patients diagnosed with papillary thyroid microcarcinoma(PTMC).

Methods: Ninety patients were enrolled and were randomized into group A and group B with 45 patients in each group. ICG combined with methylene blue were injected into the thyroid in group A, and only methylene blue were injected into thyroid in group B. Blue-stained or fluorescent nodes observed using near-infrared fluorescence imaging systems were defined as SLNs. After SLNs were removed, central lymph nodes(CLNs) dissection was completed in both groups. The pathological data and postoperative outcomes were compared between two groups.

Results: There were significantly more SLNs(2.93/2.17) and CLNs(4.51/3.89) were dissected in group A than in group B($P < 0.05$). There were no significant differences in sensitivity, accuracy and the false-negative rate according the SLNs in two groups($P > 0.05$), but group A has higher sensitivity and accuracy rates, and lower false-negative rate. There were no significant differences in the amount of blood loss, the amount of lymphatic drainage, and incidence of hoarseness and lymphatic leakage in two groups($P > 0.05$). In group A, the operating time was longer, and the rate of hypoparathyroidism was lower($P < 0.05$). **Conclusion:** Sentinel lymph nodes biopsy using ICG combined with methylene blue is feasible and safe for SLNs identification in PTMC patients. It is also clinically significant for the parathyroid gland protection.

Key words thyroid neoplasms; sentinel lymph nodes; indocyanine green; methylene blue

甲状腺癌是目前增长较快的内分泌恶性肿瘤之一,发病率高,预后较好。甲状腺乳头状癌是最常见的病理类型,占总体的 84%~90%,其中甲状腺微小乳头状癌(PTMC)约占新发甲状腺癌的 50%^[1],其定义为甲状腺癌病灶≤1 cm。手术切除

是 PTMC 最重要且首选的治疗手段,在术后石蜡病理检查中,中央区淋巴结(CLNs)的转移率为 20%~50%^[2],侧颈淋巴结转移小于 10%,因此充分的 CLNs 清扫可减少 PTMC 的复发,提高预后并为其术后分期提供充分的淋巴结评估。但清扫往往带来甲状旁腺的功能减退、喉返神经麻痹、淋巴漏等术后并发症,为解决这一问题,有学者提出了前哨淋巴结(sentinel lymph nodes, SLNs)活检术。SLNs 是涉及恶性肿瘤转移的第一站淋巴结,

*基金项目:蚌埠医学院自然科学基金面上项目(No: BYKY1880)

¹蚌埠医学院第一附属医院肿瘤外科(安徽蚌埠,233004)
通信作者:王彬彬,E-mail:wangbinyyx@163.com

一般为良性,可避免不必要的扩大清扫,进而减少手术并发症^[3]。SLNs 活检的方法主要有染料法,核素法,以及最新的超顺磁氧化铁法或几种方法联合应用^[4]。蓝染法是染料法的一种,已广泛应用于各种肿瘤的 SLNs 活检中。吲哚菁绿是一种特殊的荧光示踪剂,可被近红外荧光成像系统相机探测到^[5]。利用这种特性发展出来的近红外荧光成像是一种新的成像方式,可以对手术操作实时导航,已广泛应用于肝脏、胃肠道手术,监测吻合口是否完整及血供情况,检测肿瘤的部位及范围。吲哚菁绿在甲状腺癌中的应用大多是血管内注射,以定位甲状旁腺^[6],在甲状腺乳头状癌 SLNs 的定位及检出的研究较少,本研究主要是评价吲哚菁绿荧光法联合蓝染法在 PTMC 手术 SLNs 活检中的应用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集蚌埠医学院第一附属医院肿瘤外科 PTMC 患者 90 例,术前或术中均经病理学明确诊断。入组标准:①术前细针穿刺明确病理或根据术中冷冻检测结果确定为 PTMC;②颈部淋巴结临床阴性(体检未触及肿大淋巴结,彩超提示无淋巴结肿大或淋巴结结构正常);③无其他严重的器质性疾病。排除标准:①有颈部手术史及放化疗史;②合并其余部位的肿瘤;③有吲哚菁绿或亚甲蓝过敏史;④病理结果排除 PTMC 或肿瘤直径大于 1 cm。

90 例患者随机分为 2 组,每组 45 例。吲哚菁绿联合亚甲蓝组(A 组)45 例,男 8 例,女 37 例;年龄(46.0±8.3)岁;肿瘤大小(6.4±2.2)mm;肿瘤位于上极 10 例,中极 18 例,下极 17 例。亚甲蓝组(B 组)45 例,男 10 例,女 35 例;年龄(45.6±8.1)岁;肿瘤大小(6.1±2.3)mm;肿瘤位于上极 8 例,中极 15 例,下极 22 例。两组患者的性别、年龄、肿瘤大小、肿瘤部位、手术方式的选择差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 试剂

注射用吲哚菁绿(瑞度),每支 25 mg;亚甲蓝注射液,每支 20 mg(2 mL)。

1.3 方法

A 组行单侧腺叶+CLNs 清扫 35 例,行双侧甲状腺全切或次全切除+CLNs 清扫 10 例;B 组行单侧腺叶+CLNs 清扫 29 例,行双侧甲状腺全切或次全切除+CLNs 清扫 16 例。所有患者均经开放性切口进行手术,由同一组医师完成手术操作。在胸骨上两横指做横切口(沿皮纹),颈阔肌下游离皮瓣,暴露并分离颈白线,将带状肌分离并拉开,暴露甲状腺,为减少甲状腺周围淋巴管的损害,在注射吲哚菁绿或亚甲蓝之前暂不解剖甲状腺的侧方及后方。A 组用 1 mL 注射器分别抽取吲哚菁绿

和亚甲蓝,在肿瘤边缘多点注射,电刀封闭穿刺点,防止荧光剂及染料外泄,5 min 后开始手术解剖。关闭无影灯,由荧光探测仪检测出第一个发出荧光的淋巴结。在中央区,SLNs 定义为发出荧光或者蓝染的第一组淋巴结。SLNs 被移除后,进一步行 CLNs 清扫。B 组仅在甲状腺肿瘤边缘注射亚甲蓝悬液。5 min 后,将染色为蓝色的淋巴结切除送检,进一步行 CLNs 清扫(图 1)。所有切除的甲状腺组织及淋巴结均经石蜡病理再次确定。

1.4 统计学方法

以 $\bar{x} \pm s$ 表示连续数据,卡方检验用来检验分类数据,连续变量比较采用独立样本 t 检验。采用 SPSS 23.0(IBM SPSS Statistics 23.0) 进行统计分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。灵敏度(%)=真阳性病例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%,检出率(%)=检出 SLNs 例数/总例数×100%,准确度(%)=真阳性和真阴性的病例数之和/总例数×100%,假阴性率(%)=假阴性例数/(假阴性例数+真阳性例数)×100%。

2 结果

2.1 两组 SLNs 及 CLNs 检出枚数的比较

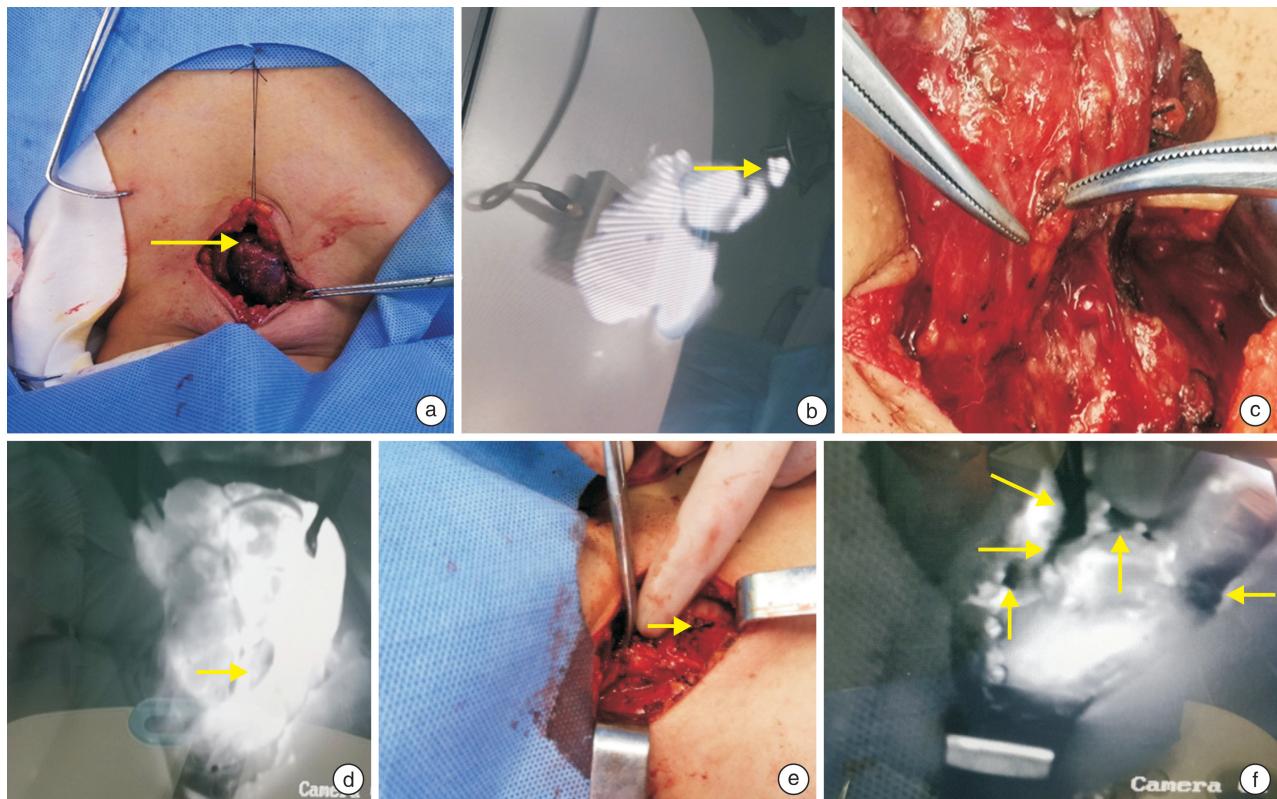
90 例患者共分离、检出 SLNs 230 枚,其中 A 组检测出 132 枚(平均每人 2.93 枚),B 组检测出 98 枚(平均每人 2.17 枚);两组共检出 CLNs 378 枚,其中 A 组和 B 组分别为 203 枚(平均每人 4.51 枚)和 175 枚(平均每人 3.89 枚)。A 组 SLNs 及 CLNs 检出枚数多于 B 组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 两组患者 SLNs 检出指标的比较

A 组 43 例(95.6%)检出 SLNs,其中检出 1 枚 2 例,2 枚 11 例,3 枚 15 例,4 枚 12 例,5 枚 3 例;43 例检出 SLNs 的患者中,SLNs 阳性 13 例,术后石蜡病理均阳性,SLNs 阴性 30 例,术后 1 例在 CLNs 中检出转移。B 组 36 例(80.0%)检出 SLNs,其中检出 1 枚 3 例,2 枚 13 例,3 枚 14 例,4 枚 4 例,5 枚 1 例,6 枚 1 例;36 例检出 SLNs 的患者中,SLNs 阳性 11 例,术后石蜡病理均阳性,SLNs 阴性 25 例,术后 2 例在 CLNs 中检出转移。A 组的 SLNs 检出率高于 B 组,差异有统计学意义($P<0.05$);A 组 SLNs 检出的准确度、灵敏度均高于 B 组,假阴性率低于 B 组,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 围手术期情况

两组患者围手术期情况见表 3。A 组手术时间长于 B 组,差异有统计学意义($P<0.05$);A 组 2 例、B 组 9 例术后出现暂时性甲状旁腺功能减退,差异有统计学意义($P<0.05$)。



a: 亚甲蓝示踪 SLNs; b: 吲哚菁绿示踪 SLNs(与图 a 为同一枚淋巴结); c: 亚甲蓝负显影的下位甲状旁腺(血管钳处); d: 吲哚菁绿显影的下位甲状旁腺(与图 c 为同一枚甲状旁腺); e: 标本切除后的上、下位甲状旁腺(血管钳所指为上位甲状旁腺,箭头所指为下位甲状旁腺); f: 标本切除后的术腔(横箭头分别代表上、下甲状旁腺,纵箭头代表上、下极结扎线,斜箭头代表血管钳);图 e,f 为同一术腔。

图 1 甲状腺 SLNs 活检术中所见

表 1 A 组和 B 组淋巴结检出情况比较 枚

组别	SLNs	CLNs
A 组	2.9±1.0	4.5±1.3
B 组	2.2±0.9	3.9±1.4
t	3.68	2.19
P	0.01	0.03

表 2 A 组和 B 组 SLNs 检出指标的比较 %

组别	例数	SLNs 检出率	灵敏度	准确度	假阴性率
A 组	45	95.6	92.9	97.7	7.1
B 组	45	80.0	84.6	94.4	15.4
χ^2		5.075	0.464	0.506	0.464
P		0.024	0.496	0.450	0.496

表 3 两组患者围手术期情况

围手术期指标	A 组	B 组	χ^2/t	P
手术时间/min	131.1±25.2	120.8±22.6	2.040	0.044
术中出血量/mL	14.5±7.9	13.2±5.5	0.960	0.340
喉返神经麻痹/例				
暂时	4	1	0.146	0.167
永久	0	0		
引流量/mL	103.8±30.9	101.3±24.6	0.438	0.662
淋巴漏/例	2	1	0.345	0.557
暂时性甲状旁腺功能减退/例	2	9	5.070	0.024

3 讨论

颈部淋巴结转移与分化型甲状腺癌的局部复发和分期有着密切的关系,淋巴结的手术方式包括淋巴结切取活检、摘除、择区淋巴结清扫及改良颈淋巴结清扫术^[7]。PTMC 一般直径小于 1 cm,由

于高分辨率彩超及细针穿刺的应用,其发病率明显升高^[8]。临床体检没有发现或超声及影像学检查显示无淋巴结转移的 PTMC 患者,是否应行预防性淋巴结清扫及清扫范围尚无统一结论,大部分手术医师根据主观判断及影像学检查决定是否行预

防性 CLNs 清扫^[9],因此手术结果有很多的不确定性。SLN 是恶性肿瘤转移的第一站淋巴结,根据其特性发展而来的 SLNs 活检在乳腺癌及恶性黑色素瘤手术中已经成为常规手术操作。

为探索 SLNs 活检是否可以作为颈淋巴结清扫的代替方案,用于颈淋巴结的诊断及指导手术^[10],很多学者进行了相关研究。Kelemen 等^[11]描述了 SLNs 活检在甲状腺癌中的首次应用,13 例甲状腺癌患者中有 12 例发现了 SLNs,其中 5 例 SLNs 阳性,这 5 例患者仅进行了中央区颈淋巴结廓清术,其中 2 例患者的 SLNs 是唯一的肿瘤浸润淋巴结。这是首次证明甲状腺癌中 SLNs 活检的可行性。Gelmini 等^[12]在甲状腺癌中将蓝染法和淋巴结闪烁成像技术运用于 SLNs 活检时,发现单用蓝染法敏感性、特异性和假阴性率分别为 88.0%、99.4% 和 3.8%,联合应用两种方法优于单用蓝染法。杜国能等^[13]在分化型甲状腺癌中行 SLNs 活检发现,术中 SLNs 的阳性率为 15.9% (10/63),石蜡病理阳性率为 19.0% (12/63),差异无统计学意义,而且 CLNs 清扫术获取淋巴结石蜡病理阳性率为 7.9% (5/63),且都为 SLNs 活检阳性患者。因此,SLNs 在甲状腺癌中具有可行性,且可以指导 CLNs 清扫术的实施,并且指导术后的治疗随访^[14]。

SLNs 的示踪方法有多种,核素法准确率较高,但因为需注射放射性元素,对医师及患者存在辐射,且需要特殊的探测仪器,和核医学科医师配合,增加了手术时间,因此临床应用率不高^[15]。最新的超顺磁氧化铁法示踪的 SLNs 活检术已经在甲状腺癌中应用,表现出良好的评估甲状腺癌分期和 SLNs 的作用,但此种方法尚不能大规模临床应用^[16]。染料法作为常用的 SLNs 活检方法,操作简单、经济效益好、临床实用性强。汪春绘等^[17]用染料对甲状腺癌进行淋巴结示踪时发现,在染料的对比下可以更好地区分脂肪组织、甲状腺、甲状旁腺,从而提高手术的清扫效率,减少术后并发症的发生。在各类染料中又以亚甲蓝(蓝染法)^[18]经济效益最好,且临床可获取度高,但染料法若操作不当可造成甲状腺及周围组织染色,增大 SLNs 活检难度,并造成不必要的手术副损伤^[19]。Liu 等^[20]在甲状腺癌的 SLNs 活检中发现,亚甲蓝能很好地显影 SLNs,其敏感度(93.75%)及准确度(85.42%)均较高,但其手术副损伤概率高,限制了其临床广泛应用。吲哚菁绿是一种新型的造影剂,注射到肿瘤周围后,可被巨噬细胞吞噬,进而聚集到淋巴结,因为与血浆蛋白结合后,在 820 nm 的近红外光照射下可发出荧光,通过特殊的探测仪,可动态、实时监测淋巴液的流动及聚集,因此淋巴结的检出准确率高,已广泛应用于肝脏、胃肠道手术,其在甲状腺

癌中的应用尚处于探索阶段^[21]。

本文主要研究吲哚菁绿荧光法联合蓝染法在 PTMC 患者 SLNs 活检中是否具有可行性。首先这两种药物临床应用广泛,价格便宜,不增加手术费用,因此具有临床可行性;其次亚甲蓝作为染料已广泛用于恶性肿瘤的 SLNs 活检,当其注射到甲状腺实质后,可沿淋巴管聚集于淋巴结,将相应的淋巴结蓝染而易于辨认^[22]。当肿瘤较大时,部分淋巴管可能会被阻断而影响染色^[23]。PTMC 肿瘤较小,淋巴管阻塞的可能性也较小,这可能是本研究淋巴结检出率较以往研究平均值高的原因。针对染料外泄会影响喉返神经、甲状旁腺及淋巴结的辨认,造成不必要的副损伤^[24],吲哚菁绿示踪的荧光法可补充蓝染法组织蓝染的不足,本研究发现单用蓝染法的 SLNs 和 CLNs 识别与检出均少于联合法。

本研究发现吲哚菁绿联合亚甲蓝的 A 组与单用亚甲蓝的 B 组相比,SLNs 的检出枚数、检出率及 CLNs 的检出枚数均较高,差异有统计学意义,在准确度、假阴性率、灵敏度方面虽然差异无统计学意义,但 A 组均优于 B 组;但两种淋巴结检出方法联合应用增加了手术时间,这可能与术中要操作近红外探测仪有关。两组术中出血量、术后引流量、术后喉返神经麻痹的发生率无明显差别。在 PTMC 的 SLNs 活检中,联合法的优势可能在甲状旁腺的识别和保护中,单用蓝染法,甲状旁腺的识别率低,术后暂时性甲状旁腺功能减退发生率高;而联合应用,甲状旁腺的识别可不受术野血染及染料外泄的干扰,在双重显影下能有效识别淋巴结,并通过负显影显示甲状旁腺。其次,联合法在切除标本及清扫淋巴结后,可对术腔再次进行荧光探测仪照射,一般能发现保护的甲状旁腺(图 1g)。如果未发现甲状旁腺,可再次对标本进行探测,对标本中无荧光显影的组织进行术中冷冻检测,如果证实为甲状旁腺组织,可在术中进行甲状旁腺移植,这可能是联合法术后甲状旁腺功能减退发生较少的另外一个原因。

参考文献

- [1] 罗晓,李安华.甲状腺微小乳头状癌的管理:现状与争议[J].中华医学超声杂志(电子版),2019,16(1):6-10.
- [2] 马小开,黄建康,朱博,等.228 例甲状腺微小乳头状癌临床特征及颈部淋巴结转移危险因素分析[J].中国癌症杂志,2019,29(8):590-594.
- [3] Kulcsar M, Canovas NS, Araujo-Neto V, et al. New method of sentinel lymph node biopsy in transoral robotic surgery for oropharyngeal squamous cell carcinoma[J]. Clinics (Sao Paulo), 2018, 73 (suppl 1): e550s.
- [4] Baena Fustegueras JA, González FH, Calderó SG, et

- al. Magnetic detection of sentinel lymph node in papillary thyroid carcinoma: The MAGIC-PAT study results[J]. Eur J Surg Oncol, 2019, 45(7): 1175-1181.
- [5] Valente SA, Al-Hilli Z, Radford DM, et al. Near Infrared Fluorescent Lymph Node Mapping with Indocyanine Green in Breast Cancer Patients: A Prospective Trial[J]. J Am Coll Surg, 2019, 228(4): 672-678.
- [6] Ladurner R, Sommerey S, Arabi NA, et al. Intraoperative near-infrared autofluorescence imaging of parathyroid glands[J]. Surg Endosc, 2017, 31(8): 3140-3145.
- [7] Wang TS, Sosa JA. Thyroid surgery for differentiated thyroid cancer-recent advances and future directions [J]. Nat Rev Endocrinol, 2018, 14(11): 670-683.
- [8] Lim H, Devesa SS, Sosa JA, et al. Trends in Thyroid Cancer Incidence and Mortality in the United States, 1974-2013[J]. JAMA, 2017, 317(13): 1338-1348.
- [9] Gambardella C, Patrone R, Di Capua F, et al. The role of prophylactic central compartment lymph node dissection in elderly patients with differentiated thyroid cancer:a multicentric study[J]. BMC Surg, 2019, 18 (Suppl 1): 110.
- [10] Albers MB, Nordenström E, Wohlfahrt J, et al. Sentinel Lymph Node Biopsy in Thyroid Cancer[J]. World J Surg, 2020, 44(1): 142-147.
- [11] Kelemen PR, Van Herle AJ, Giuliano AE. Sentinel lymphadenectomy in thyroid malignant neoplasms [J]. Arch Surg, 1998, 133(3): 288-292.
- [12] Gelmini R, Campanelli M, Cabry F, et al. Role of sentinel node in differentiated thyroid cancer: a prospective study comparing patent blue injection technique, lymphoscintigraphy and the combined technique[J]. J Endocrinol Invest, 2018, 41(3): 363-370.
- [13] 杜国能,肖玉根,檀谊洪,等.纳米碳在分化型甲状腺癌术中前哨淋巴结活检的临床研究[J].包头医学院学报,2018,34(4):8-9,38.
- [14] Jozaghi Y, Richardson K, Anand S, et al. Frozen section analysis and sentinel lymph node biopsy in well differentiated thyroid cancer[J]. J Otolaryngol Head Neck Surg, 2013, 42: 48.
- [15] Rauch P, Merlin JL, Leufflen L, et al. Limited effectiveness of patent blue dye in addition to isotope scanning for identification of sentinel lymph nodes: Cross-sectional real-life study in 1024 breast cancer patients [J]. Int J Surg, 2016, 33 Pt A: 177-181.
- [16] Rios A, Rodriguez JM, Ibañez N, et al. Detection of the sentinel node using a magnetic tracer in thyroid cancer. A technical pilot study[J]. Cir Esp, 2019, 97(3): 169-174.
- [17] 汪春绘,王小琴,刘良发.纳米炭混悬液在甲状腺乳头状癌术中的应用研究[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2020,34(2):165-169.
- [18] 双羽,李超,黄永望.前哨淋巴结检测在头颈部肿瘤中的研究进展[J].中国眼耳鼻喉科杂志,2015,15(1): 61-64.
- [19] Garau LM, Rubello D, Ferretti A, et al. Sentinel lymph node biopsy in small papillary thyroid cancer. A review on novel surgical techniques [J]. Endocrine, 2018, 62(2): 340-350.
- [20] Liu F, Zhu Y, Qian Y, et al. Recognition of sentinel lymph nodes in patients with papillary thyroid cancer by nano-carbon and methylene blue[J]. Pak J Med Sci, 2017, 33(6): 1485-1489.
- [21] Zhang X, Shen YP, Li JG, et al. Clinical feasibility of imaging with indocyanine green combined with carbon nanoparticles for sentinel lymph node identification in papillary thyroid microcarcinoma[J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(36): e16935.
- [22] 陈杰,周晓红,李真华,等.利用纳米碳与亚甲蓝示踪甲状腺乳头状癌前哨淋巴结的对比研究[J].中华细胞与干细胞杂志(电子版),2017,7(1):7-11.
- [23] 黄璐,李超,蔡永聪,等.术中甲状旁腺识别与保护技术的研究进展[J].中华全科医师杂志,2019,18(1): 78-81.
- [24] 金辉,宋晓丹.纳米碳及亚甲蓝在甲状腺癌手术中的应用[J].江苏医药,2017,43(2):144-145.

(收稿日期:2020-10-14)