

## 中文摘要

### 吲哚菁绿荧光显像技术 在腹腔镜肝癌根治性切除术中的临床价值研究

#### 背景:

肝癌目前我国已经成为最常见的恶性肿瘤之一，其在发病率、死亡率等方面均处于世界前列，目前肝癌患者的首选仍然是手术切除，其中根治性切除对于患者术后长期生存起着关键性作用，但是，目前肝癌患者术后5年生存率仅为18%，因此增加肿瘤根治性切除率尤为重要。随着医疗可视化技术的兴起，对于术中肿瘤的可视化追踪相关研究更加深入，其中吲哚菁绿是重要代表之一，因其具有荧光特性，近年来在肝外胆道识别、术中肝脏肿瘤实时定位以及切除肝段的预切线标记等方面取得了重要突破，但仍然处于探索阶段。本文将从手术出血量、手术时间、住院时间、肝门阻断时间、术后ALT、AST恢复术前水平时间、以及切缘情况等几个方面与常规腹腔镜肝癌切除术相比，探究其在腹腔镜根治性切除中的临床价值。

#### 目的:

本次研究旨在对比应用ICG荧光显像技术在腹腔镜肝癌切除术中实施导航与传统腹腔镜下肝癌切除术在手术时长、出血量、住院时间、切缘情况、肝门阻断时间、术后ALT、AST恢复术前水平时间等相关指标的比较，从而评价ICG荧光显像技术在腹腔镜下肝癌根治性切除术中应用的安全性、有效性等。

#### 资料与方法:

收集了2018年6月至2022年12月于我院行腹腔镜下肝癌切除术并术后病理证实为原发肝细胞肝癌的患者，根据纳入标准及排除标准，共收集术中应用ICG荧光腹腔镜40例加入实验组，同时随机抽取同时期常规行腹腔镜下行肝癌切除术患者共72例作为对照组。

首先对已经入组的病历进行一般资料及观察指标的比较，包括性别、年龄、肿瘤数目、肿瘤直径大小、Child分级、评分、是否合并肝硬化等，观察指标包括手术时长、术中出血量、住院时间、切缘情况、肝门阻断时间、术后ALT、AST恢复术前水平时间等，其中计量资料采用独立性t检验进行组间均数的比

较，计数资料采用 $\chi^2$ 检验进行频数间的比较，随后进行两组数据的倾向性评分匹配（分配比例为1:1邻近匹配），在匹配后共纳入病例数为74例。实验组37例，对照组37例。在进行倾向性评分匹配后，再次对一般资料及观察指标进行比较，最后得出结论。

#### 结果：

本研究共纳入112例患者，其中实验组40例，对照组72例。两组患者均成功实施手术，两组患者术前一般资料：性别：实验组男性30例，占比75.00%，女性10例，占比25.00%，对照组男性55例，占比76.39%，女性17例，占比23.61%， $P>0.05$ ；年龄：实验组（60.38±10.48）岁，常规组（61.65±10.18）岁， $P>0.05$ ；合并肝硬化：实验组35例，占比87.50%，对照组56例，占比77.78%， $P>0.05$ ；肿瘤最大直径：实验组（2.83±1.92）cm，对照组（3.05±1.57）cm， $P>0.05$ ；肿瘤数目：实验组（1.75±0.38）个，对照组（1.13±0.39）个， $P>0.05$ ；Child分级：实验组A级38例，占比95.00%，B级2例，占比5.00%，对照组A级63例，占比87.50%，B级9例，占比12.50%， $P>0.05$ ；Child评分：实验组（5.18±0.50）分，对照组（5.15±0.49）分，以上数据均无统计学差异。

两组病例资料观察指标的比较：住院时间：实验组（16.15±3.59）d，对照组（17.2±3.47）d， $P>0.05$ ；手术时间：实验组（3.62±1.60）h，对照组（3.70±1.46）h， $P>0.05$ ；术中出血量：实验组（203±101.33）ml，对照组（200.42±99.72）ml， $P>0.05$ ；术后ALT恢复术前水平时间：实验组（5.68±1.69）d，对照组（5.89±1.59）d， $P>0.05$ ，以上两组数据均差异无统计学意义，但肝门阻断时间：实验组（18.45±25.35）min，略少于对照组（25.65±26.70）min， $P<0.05$ ，差异具有统计学意义；最小切缘：实验组（1.10±0.33）cm高于对照组（0.82±0.32）cm， $P<0.05$ ，差异具有统计学意义；术后AST恢复术前水平时间：实验组（5.42±1.32）d显著小于对照组（6.15±1.68）d， $P<0.05$ ，具有统计学差异。

在进行倾向性评分匹配后，术中出血量，手术时间，住院时间等方面，实验组与对照组差异不具统计学意义（ $P>0.05$ ），但切缘情况（肿瘤最短切缘 $\geq 1$ cm定义为宽切缘）比较中，实验组切缘宽度（1.16±0.32）cm显著高于对照组（0.83±0.28）cm，同时肝门阻断时间（18.15±25.35）min少于对照组

(23.70±20.70) min, 以及实验组术后AST恢复术前水平时间(5.32±1.59) d 小于对照组(6.54±1.48) d, 以上数据对比差异具有统计学意义(P<0.05)。

结论:

1.相较于常规腹腔镜下肝癌切除术, ICG荧光显像技术有效减少了肝门阻断时长, 并缩短了术后肝功能恢复时长, 提高了手术的安全性;

2.ICG荧光显像技术有助于术中肿瘤实时导航, 肝断面确定, 以及保留足够宽的切缘, 提高了手术的根治性;

关键词:

吲哚菁绿, 腹腔镜, 肝癌, 根治性切除

## **Abstract**

### Clinical value of indocyanine green fluorescence imaging in laparoscopic curative resection of liver cancer

#### Background.

Liver cancer has now become one of the most common malignant tumors in China, and its morbidity and mortality rates are among the highest in the world. At present, the first choice for liver cancer patients is still surgical resection, among which curative resection plays a key role in patients' long-term survival after surgery. However, the current 5-year survival rate of liver cancer patients after surgery is only 18%, so it is especially important to increase the rate of curative resection of tumors. With the rise of medical visualization technology, research related to the visualization of intraoperative tumor tracking has become more in-depth, of which indocyanine green is one of the important representatives. Because of its fluorescent properties, it has made important breakthroughs in recent years in extrahepatic biliary tract identification, real-time intraoperative liver tumor localization and pre-cut line marking of resected liver segments, but it is still in the exploration stage. In this paper, we will discuss its clinical value in laparoscopic curative resection of hepatocellular carcinoma compared with regular laparoscopic hepatectomy in terms of surgical bleeding, operative time, hospital stay, duration of hepatic portal blocks, postoperative ALT and AST recovery time to preoperative levels, and resection margin condition.

#### Objective.

The purpose of this study was to compare the application of ICG fluorescence imaging technique in laparoscopic hepatectomy for performing navigation with traditional laparoscopic hepatectomy in terms of operative time, bleeding, hospital stay, resection margin condition, duration of hepatic portal blocks, and postoperative ALT and AST recovery time to preoperative levels, so as to evaluate the application of ICG fluorescence imaging technique in laparoscopic curative hepatectomy for hepatocellular carcinoma in terms of safety, effectiveness, etc.

#### Materials and methods:

Patients who underwent laparoscopic resection of hepatocellular carcinoma in

our hospital from June 2018 to December 2022 and were pathologically confirmed as HCC after surgery were collected, and a total of 40 cases of intraoperative application of ICG fluorescence laparoscopy were collected to join the text group according to the inclusion and exclusion criteria, while a total of 72 patients who underwent conventional laparoscopic resection of hepatocellular carcinoma in the same period were randomly selected as the control group.

Firstly, the medical records already enrolled in the group were compared for general data and observation indexes, including gender, age, number of tumors, size of tumor diameter, Child classification, score, whether combined with cirrhosis, etc. The observation indexes included operation duration, intraoperative bleeding, hospital stay, cutting edge condition, duration of hepatic portal blocks, postoperative ALT and AST recovery time to preoperative level, etc. Subsequently, the propensity of the data of the two groups was propensity score matching (the allocation ratio was 1:1 adjacent matching), and the total number of cases included after matching was 74. There were 37 cases in the experimental group and 37 cases in the control group. After propensity score matching was performed, general information and observation indexes were compared again, and finally conclusions were drawn.

#### Results:

A total of 112 patients were included in this study, including 40 patients in the experimental group and 72 patients in the control group. The two groups of patients were successfully operated, preoperative general data of the two groups: gender: 30 males (75.00%) and 10 females (25.00%) in the experimental group, 55 males (76.39%) and 17 females (23.61%) in the control group,  $P > 0.05$ ; age:  $(60.38 \pm 10.48)$  years in the test group,  $(61.65 \pm 10.18)$  years in the conventional group,  $P > 0.05$ ; combined cirrhosis: 35 cases (87.50%) in the experimental group, 56 cases (77.78%) in the control group,  $P > 0.05$ ; maximum tumor diameter:  $(2.83 \pm 1.92)$  cm in the test group,  $(3.05 \pm 1.57)$  cm in the control group,  $P > 0.05$ ; tumor number:  $(1.75 \pm 0.38)$  in the test group,  $(1.13 \pm 0.39)$  in the control group,  $P > 0.05$ . Child classification: 38 cases of class A in the test group, accounting for 95.00%, 2 cases of class B, accounting for 5.00%; 63 cases of class A in the control group, accounting for 87.50%, 9 cases of class B, accounting for 12.50%,  $P > 0.05$ ; Child score:  $(5.18 \pm 0.50)$  points in the experimental group,  $(5.15 \pm 0.49)$  points in the control group, and there was no statistical difference in the above data. Comparison of observation indicators of data

between the two groups: hospital stay: test group ( $16.15 \pm 3.59$ ) d, control group ( $17.2 \pm 3.47$ ) d,  $P > 0.05$ ; operation time: test group ( $3.62 \pm 1.60$ ) h, control group ( $3.70 \pm 1.46$ ) h,  $P > 0.05$ ; intraoperative blood loss: test group ( $203 \pm 101.33$ ) ml, control group ( $200.42 \pm 99.72$ ) ml,  $P > 0.05$ ; postoperative ALT recovery preoperative level time: test group ( $5.68 \pm 1.69$ ) d, control group ( $5.89 \pm 1.59$ ) d,  $P > 0.05$ , the above two groups of data were not significantly different, but the duration of hepatic portal blocks: test group ( $18.45 \pm 25.35$ ) min slightly less than the control group ( $23.70 \pm 20.70$ ) min,  $P < 0.05$ , the difference was statistically significant; minimum resection margin: test group ( $1.10 \pm 0.33$ ) cm higher than the control group ( $0.82 \pm 0.32$ ) cm,  $P < 0.05$ , the difference was statistically significant; Postoperative AST recovery time: ( $5.42 \pm 1.32$ ) d in test group was significantly shorter than ( $6.15 \pm 1.68$ ) d in control group,  $P < 0.05$ , and the difference had statistical significance. After propensity score matching, the differences between the experimental group and the control group were not statistically significant ( $P > 0.05$ ) in terms of intraoperative bleeding, operative time, and hospital stay, but in the comparison of the resection margin situation (the shortest tumor resection margin  $\geq 1$  cm was defined as wide resection margin), the resection margin width in the experimental group ( $1.16 \pm 0.32$ ) cm was significantly higher than that in the control group ( $0.83 \pm 0.28$ ) cm, while the The duration of hepatic portal blocks in the experimental group ( $18.15 \pm 25.35$ ) min was less than that in the control group ( $23.70 \pm 20.70$ ) min, as well as the time to restore the preoperative level of AST in the experimental group ( $5.32 \pm 1.59$ ) was less than that in the control group ( $6.54 \pm 1.48$ ), and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ).

Conclusion::

Compared with conventional laparoscopic resection of liver cancer, ICG fluorescence imaging technique effectively reduces the duration of hepatic portal block, shortens the postoperative liver function recovery time, and improves the safety of surgery; ICG fluorescence imaging technique is helpful for intraoperative real-time tumor navigation, liver section determination, and preservation of sufficiently wide resection margin, improving the radicality of surgery.

Keywords:

indocyanine green, laparoscopy, liver cancer, curative resection

# 目录

中文摘要 .....	I
Abstract .....	IV
中英文缩略词表 .....	I
第 1 章 绪论 .....	1
第 2 章 综述 .....	4
2.1 研究背景 .....	4
2.2 吲哚菁绿的特性及作用机制 .....	4
2.3 吲哚菁绿（ICG）在腹腔镜下肝癌切除术中的应用 .....	5
2.3.1 ICG染色方法 .....	5
2.3.2 肝癌显影及微小肝癌的侦测 .....	6
2.3.3 在确定半肝界线中的应用 .....	7
2.3.4 引导解剖性肝切除 .....	8
2.3.5 术中确定有无胆道损伤及胆漏 .....	9
2.4 总结 .....	10
第 3 章 材料与方法 .....	11
3.1 研究目的 .....	11
3.2 研究对象 .....	11
3.3 纳入标准、排除标准与拟纳入观察指标 .....	11
3.3.1 纳入标准 .....	11
3.3.2 排除标准 .....	11
3.3.3 拟纳入观察指标 .....	12
3.5 研究方法 .....	12
3.5.1 试剂与成像仪器设备 .....	12
3.5.2 手术方法 .....	12

3.4.1 统计学方法 .....	14
第 4 章 结果 .....	15
4.1 病人基本情况对比 .....	15
4.2 两组患者术中及术后相关指标对比 .....	16
4.3 倾向性评分匹配 .....	16
4.4 倾向性评分匹配后两组患者术中及术后相关指标对比 ..	17
第 5 章 讨论 .....	19
5.1 倾向性评分匹配(PSM) .....	19
5.2 有效提高手术安全性 .....	20
5.3 有效提高手术根治性 .....	21
5.4 研究局限性与不足 .....	22
第 6 章 结论 .....	24
参考文献 .....	25
作者简介 .....	31
致谢 .....	32

## 中英文缩略词表

英文缩写	英文全称	中文全称
ICG	Indocyanine green	吲哚菁绿
ICG-FI	Indocyanine green fluorescence imaging	吲哚菁绿荧光显像技术
HCC	Hepatocellular carcinoma	肝细胞癌
ICC	Intrahepatic cholangiocarcinoma	肝内胆管细胞癌
cHCC-CCA	Combined Hepatocellular cholangiocarcinoma	混合性肝癌
ALT	Alanine aminotransferase	谷丙转氨酶
AST	Aspartate aminotransferase	谷草转氨酶
PSM	Propensity score matching	倾向评分匹配
LH	Laparoscopic hepatectomy	腹腔镜肝切除术
ICG R15	Indocyanine green rate 15	吲哚菁绿15分钟滞留率
ALH	Anatomic laparoscopic hepatectomy	腹腔镜解剖性肝切除术
FNH	Focal nodular hyperplasia	肝脏局灶性结节增生
IRI	Ischemia reperfusion injury	缺血-再灌注损伤

## 第1章 绪论

原发性肝癌在目前全球十分常见，是严重威胁人类生命安全的恶性肿瘤之一，每年世界范围内有许多患者发生原发性肝癌，并且患者发病率正在逐年的提升<sup>[1]</sup>，其中我国肝癌的发病率在所有恶性肿瘤中位居第四位，同时也是第二位肿瘤致死的病因，在全世界同样处于较高水平<sup>[2]</sup>。根据肝癌的病理分型，分为肝细胞肝癌（hepatocellular carcinoma,HCC）、肝内胆管细胞癌（intrahepatic cholangiocarcinoma,ICC）及混合性肝癌（Combined Hepatocellular-cholangiocarcinoma,cHCC-CCA），其中HCC组成最多，约占75%-85%。2020年，HCC的全球新发和死亡病例数分别为90.5万和83.0万<sup>[3]</sup>，其中将近50%的病例发生在我国<sup>[4]</sup>，因此，肝癌在我国的情况十分严峻，时刻威胁着国人的身体健康。HCC的治疗十分复杂，在20世纪80年代以前，外科切除、放射治疗及全身化疗被称为治疗肝癌的“三驾马车”，其中尤其是外科切除，几乎是决定肝癌患者是否具有较长生存期的主要希望所在，目前，行肝癌的手术切除仍然是肝癌患者实现长期生存最重要的方法之一，尤其是对于肝功能储备良好的患者<sup>[5]</sup>。随着科技的发展，精准医学和智能数字医疗设备等观念和仪器被更多医生和患者接受，随着腹腔镜技术的崛起，对于肝脏肿瘤，腹腔镜肝切除术(laparoscopic hepatectomy,LH)逐渐成为主流方法，在1991年，Reich<sup>[6]</sup>等人第一次完成3例腹腔镜下肝脏良性肿瘤切除术，打开了腹腔镜肝脏手术的新纪元，在此3年之后，我国周伟平教授等在完成了24例肝囊肿开窗引流及肝活检术的基础上，报道了我国首例腹腔镜肝叶切除术<sup>[7]</sup>，开创了我国腹腔镜肝切除术的新时代，腹腔镜技术越来越多的用于治疗肝脏良性及恶性肿瘤。随着腹腔镜技术的发展，目前开腹可完成的肝脏手术，腹腔镜下基本均可以完成，Ciria等对464篇英文文献进行复习及分析，其中涉及到超过9000例腹腔镜肝脏手术，结果显示，相比开腹手术，腹腔镜肝脏手术短期效果更好，例如不会增加死亡率，短期并发症更少，住院时间更短，术中出血量更少等<sup>[8]</sup>。2022年，原发性肝癌诊疗指南中指出，LH因其相较于传统开腹手术，具有创伤性小、术后恢复速度快及精细解剖等显著优势，肿瘤学效果评价中，其在经过选择的患者中与开腹肝切除术相当<sup>[9]</sup>。在腹腔镜技术的发展过程中，外科医生遇到许多困难和挑战，其中之一是腹腔镜可视性有限，操作空间有限，2D视觉的同时缺乏触感，失去了传统手术对肿瘤最直观的触觉，

由于手术操作器械的影响,使一些术前难以检查的微小病变、肿瘤微小卫星灶等难以切除,同时满足肿瘤学意义上完全切除肿瘤这一基本原则,获得无癌阴性切缘(R0切除),同时保留的肝脏体积具有足够代偿功能的,然而目前肝癌切除术后5年复发率仍高达40%~70%<sup>[10]</sup>,严重影响了患者的术后生存期,因此对肿瘤的完全识别、观察肿瘤与肝内各管道的关系、时刻保证足够的切缘显得尤为重要以及具有一定挑战性。在影响术后肿瘤复发的临床手术因素中,关键主要集中在手术切缘及术中出血及输血量等两个方面,而在手术切缘方面,国内外很多学者对此进行了研究,陈孝平院士报道了在收集了1996-2006年患者数据<sup>[11]</sup>,共2102例患者,其3年、5年生存率分别为58.8%、38.7%,在进行分层分析后,发现切缘大于1.0cm的患者生存率优于其他患者。韩国学者Lee SG等人2007年报道平均肿瘤直径在 $13.3\pm 3.0$ cm的100例肝切除术后患者<sup>[12]</sup>,其3年、5年的生存率分别为44%、31%,研究发现切缘小于1.0cm是复发的高危因素之一。我国学者倪俊生等同样指出,不论肿瘤位置、手术方式如何,以切缘为本,是提高患者预后及远期生存的关键<sup>[13]</sup>,并且认为,单发的原发性肝癌,切缘能满足1.0cm以上,便认为是R0切除。因此,为了提高肝脏手术切缘,肝脏肿瘤可视化提供了新的方法。

吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)荧光显像技术已经应用于腹腔镜肝切除术中,为识别肝癌、确定肿瘤预切线,精确切除肿瘤提供了可行的方法和途径。通过术前或术中注射ICG,在术中可以实时识别肝脏肿瘤的位置和边界线,可以帮助术者及时的监测断肝平面,高效并且准确的切除肿瘤,截至目前,吲哚菁绿荧光显像技术(indocyanine green fluorescence imaging, ICG-FI)在临床上的应用具有近60年的历史,应用领域广泛,如淋巴结活检、肿瘤定位、神经外科、视网膜血管造影、心脏外科、精准肝切除等<sup>[14-17]</sup>。在1954年,美国食品和药物管理局(FDA)首次批准了ICG在人体中的使用,此后在肝胆外科评估肝功能及肝脏有效血流等一直是其主要作用,直到2006年,日本外科医生团队使用ICG-FI进行肝脏及胆管结构进行可视化研究,ICG在肝胆外科的进一步应用才被发掘,2009年,ICG作为一种荧光显影剂第一次应用在腹腔镜胆囊切除术中<sup>[18]</sup>,术者在术前注射ICG,通过胆汁排泄,使得胆道系统在术中得以显现,术中便能更快速及准确地识别胆道。同年, Ishizawa研究团队首次报道在肝癌切除术中实现ICG实时导航,并指出ICG荧光成像可能成为腹腔镜肝切除术中识别肝癌不可或缺的手段<sup>[19]</sup>。随着腹腔镜技术及ICG-FI技术的发展, Inoue等<sup>[20]</sup>将术中荧光图像与常规腹腔镜图

像同时呈现在屏幕上，使得目标肝段及肿瘤显影更加清晰，解剖性肝切除更加准确。目前ICG的在肝胆手术中的应用更加广泛，做到了肝脏肿瘤的可视化。由于肝脏血供丰富，肿瘤的肝内转移最为常见，早期转移往往难以发现，尤其是癌旁肝脏组织，既往学者认为，肝脏肿瘤较为安全的切缘在2cm左右，但鉴于我国肝癌患者多有不同程度的肝硬化，一味的增加切缘的宽度，无疑对剩余肝脏的代偿功能造成破坏，因此，在保证切缘阴性的情况下，最大限度的保留正常的肝组织，最大程度上保留剩余肝脏的代偿能力，是提高手术安全性及延长患者术后生存期的关键。Oura等<sup>[21]</sup>运用ICG的特性在腹腔镜手术时确定了肝脏的切缘。2008年董家鸿教授提出了“精准肝切除理念”<sup>[22]</sup>，精准医学时代下的ICG-IF技术也在与时俱进的发展中，本研究通过对比腹腔镜下应用ICG-FI技术行肝切除术与常规腹腔镜下肝切除术，探讨荧光腹腔镜在治疗原发性肝癌中的特点，在术中情况、切缘情况的方面的优势。

## 第2章 综述

吲哚菁绿（ICG）在腹腔镜下肝癌切除术中的应用进展

### 2.1 研究背景

我国是肝癌大国，全世界近半数以上的肝癌发病及病死病例发生在中国，肝癌患者的首选治疗方式仍然是根治切除术，目前术后5年复发率仍处于较高水平，是因为存在肿瘤的非根治性切除、微小癌灶的难以识别及漏诊等问题。近年来由于医疗水平的发展，以及医学技术更加精准化等原因，肝切除外科理念来到了以“精准”为特征的新时代，其目的是为了追求最小的创伤侵袭、最大的脏器保护、并获得最佳的康复效果。LH在20世纪90年代首次应用于肝癌外科治疗以来，技术逐渐趋于成熟，LH治疗肝癌的安全性及有效性已经得到广泛的验证，但相对于常规开腹手术，更小的操作空间、更长的学习曲线等给外科医生带来更多的挑战。术中肿瘤及肝段或肝平面的快速准确识别、安全的切缘距离、功能性及解剖性切除等在LH中同样重要，其中肿瘤的完整切除、足够安全的切缘距离成为讨论焦点<sup>[23]</sup>。

在光学成像手段快速进步的时代背景下，分子影像学，尤其是光学成像手段在普通外科手术中的应用已经十分普遍。其中，吲哚菁绿是一种目前应用广泛的近红外荧光染料。腹腔镜下ICG荧光染色，在肿瘤定位，肝段平面的显示，微小病灶的发现及肿瘤大致分期等方面发挥了独特的作用，但仍处于探索阶段。

### 2.2 吲哚菁绿的特性及作用机制

ICG，深蓝绿色的染料，由三碘碘化物构成，安全无毒性，可在红外线下感光，在pH6.5的水溶液中可重构，其化学特性为有机水溶性阴离子，可静脉注射应用于人体中器官和组织的染色，通过静脉注射到达人体后，肝脏可快速摄取游离的ICG，其中96%的游离ICG可被肝脏摄取，循环系统中的ICG被肝脏摄取后，在Disse间隙表面的有机阴离子转运多肽（OATP1B1/3以及钠离子/牛磺胆酸盐转运蛋白多肽（NTCP）帮助下转运至肝细胞内部，可经多药耐药蛋白分子（MDR3）的介导排泄至胆道<sup>[24]</sup>，ICG在体内15分钟后即有97%自血液排出，ICG既不参与体内化学反应，也不经肠肝循环、无淋巴逆流、不从肾等其他肝

外脏器排泄<sup>[25,26]</sup>，最终ICG随胆汁排泄至肠，以粪便的形式排出体外。当ICG和肝细胞和胆管细胞中的白蛋白和脂蛋白结合后，可被波长750-810nm的近红外光照射时，ICG本身因受到激发所释放出波长为840nm左右的近红外光，这种红外光远离血红蛋白（<600nm）和水（>900nm）的吸收光谱，因此几乎不会被水和蛋白质所吸收，同时可以被ICG荧光显像系统接收后，可在显像设备中显示。但由于ICG释放的红外光穿透力较弱，距离肝表面>1.0cm的深部的荧光不能被采集<sup>[27]</sup>。

病变的肝细胞和正常的肝细胞同样具有摄取ICG的能力，但是其排泄ICG的功能受损，使得ICG在病变肝细胞中蓄积，因此，由于ICG在两种细胞中的排泄速度不一，导致病变细胞呈现荧光。荧光成像分为三个类型：完全型荧光、部分型荧光、边缘型荧光（见图2.1<sup>[28]</sup>），由于有机阴离子转运多肽等转运分子表达水平的不同，每种病理分型和分化程度，有着各自的荧光形态，其中肿瘤切面均匀的荧光显影代表着高分化的HCC，而环状荧光则代表着低分化HCC、ICC、结肠肝转移灶<sup>[29]</sup>。

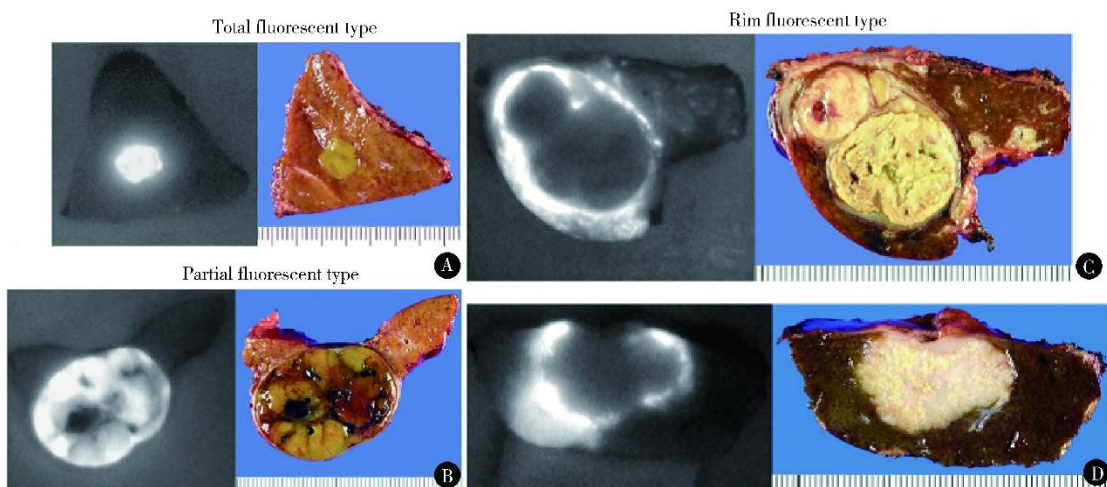


图2.1: 肝癌中ICG荧光成像的类型<sup>[28]</sup>: A: 完全型荧光; B: 部分型荧光; C: 边缘型荧光（低分化HCC）; D: 边缘型荧光（结肠癌肝转移）

## 2.3 吲哚菁绿（ICG）在腹腔镜下肝癌切除术中的应用

### 2.3.1 ICG染色方法

ICG荧光染色在LH中的染色方法目前可大致分为正向染色法和反向染色法，

正染色法：术中在腔镜超声或其他手段帮助下，找到预切除肝段的门静脉分支，使用细针穿刺门静脉分支注射ICG溶液，此时预切除的肝段进行荧光显影，此方法由于需进行腹腔镜下细针穿刺，需要相对熟练的镜下操作能力，难度较高，但荧光显像信号明显，有益于术中导航；反染色法：解剖预切除肝段的门静脉分支，结扎切断，后经外周静脉注射ICG溶液，ICG经外周循环后会蓄积在保留肝脏中，使其荧光显影，由于ICG需经过外周循环，所以保留肝脏荧光信号较正染色法荧光信号弱，但无需镜下难度操作，整体难度较低。

根据给药时机的不同，又分为术前给药和术中给药。术前给药：根据手术目标及患者肝硬化程度，术前数天通过外周静脉注射ICG溶液，手术时，正常功能肝细胞已将ICG代谢完成，而不显示荧光，肿瘤细胞内存在ICG的蓄积，从而显示荧光，术中应用荧光收集系统便可观察肿瘤显影，可用于肿瘤的识别及边界确认，术前给药时间可依据专家共识推荐时间（见表2.1<sup>[30]</sup>）；术中给药：术中给药多用于目标肝段或肝叶切除，根据术中正染和反染的不同，分为术中目标肝段或肝叶门静脉分支镜下注射ICG溶液（正染色），以及结扎目标肝段或肝叶门静脉分支后，经外周静脉注射ICG溶液（反染色）。

目的	时间	用法	剂量
肿瘤的认识与定位	术前 2~4 d	IV	0.05~0.5 mg/kg
	明显肝硬化 5~10 d		
明确肿瘤边界	术前 2~4 d	IV	0.05~0.5 mg/kg
	明显肝硬化: 5~10 d		
检测残余肝脏	术前 2~4 d	IV	0.05~0.5 mg/kg
	明显肝硬化: 5~10 d		
肝分段(反向染色法)	术中	IV	1.0 mL( 2.5 mg/mL)
肝分段(正向染色法)	术中	PV	5 mL( 0.025~0.05 mg/mL)
划定肝预切线( NAH)	术中	IV	0.05~0.50 mg/kg
划定肝预切线( AH)	术中	IV/PV	0.05~0.50 mg/kg/0.1~0.2 mL( 2.5 mg/mL)
胆管成像	术中	IV/PV	1 mL( 2.5 mg/mL)
活体肝移植( 切取供肝)	术中	PV/IV	0.1~0.2 mL( 2.5 mg/mL) /1 mL( 2.5 mg/mL)
活体肝移植( 胆道重建)	术中	经胆囊管	2.0 mL( 2.5 mg/mL)
活体肝移植( 血管重建)	术中	IV	1.5 mL( 2.5 mg/mL)
检查胆漏	术中	经胆管	5~10 mL( 0.025~0.25 mg/mL)

**表2.1: ICG临床应用使用标准<sup>[30]</sup>**

注：IV：经外周静脉注射；PV：经目标肝段门静脉注射；NAH：非解剖性肝切除；AH：解剖性肝切除

### 2.3.2 肝癌显影及微小肝癌的侦测

肝癌组织内存在分化不全的假性腺体或假小叶，导致同正常肝组织细胞对ICG的代谢速率不同，而产生荧光，及ICG分泌进入胆管后，肿瘤会压迫周围组织导致周围小胆管梗阻畸形，ICG会蓄积于此，从而产生了可侦测的荧光，此

为肿瘤能有荧光显像的基础。术前患者静脉注射ICG，术中直径最小2mm的小肝癌及直径最小1.5mm的肝转移癌可被荧光显像采集系统所识别<sup>[31]</sup>。目前在临床上术前肿瘤的检出及定位主要是应用多普勒脏器超声、MRI、CT、等检查，术中肿瘤定位主要依据术中超声、肉眼观察及扪诊等传统手段，对于肿瘤切除范围，则多采用肝脏缺血线、重要解剖标志等确定，但这些方法在非外生性生长的肿瘤边界确定、卫星灶在的识别、尤其是微小病灶（直径<10mm）的识别等方面存在不足，极易造成漏诊，这也是造成肝癌患者术后复发率高的原因之一，而ICG荧光显像技术作为一种光分子影像手术导航技术，可以清晰的显示肿瘤位置，在术中为术者实施精准手术提供帮助<sup>[32]</sup>，增加了肿瘤检出率，补充了常规检查的不足。

然而，ICG的假阳性率也是一个需要面对的问题。有研究<sup>[33]</sup>显示，肝硬化结节、肝脏表面微小囊肿、肝脏局灶性结节增生（focal nodular hyperplasia, FNH）同样会出现荧光显像，可能是由于肝小叶的结构紊乱，肝细胞的功能受到不同程度的影响<sup>[34]</sup>，ICG的结合蛋白之一——配体蛋白在受到损坏的肝细胞再生区表达丰富，导致胆汁排泄障碍及ICG滞留，因此，各中心阳性检出率不一，Kaibori M等研究结果显示在ICG荧光显像下，肿瘤的阳性检出率为96.0%<sup>[35]</sup>，国内学者张亚敏<sup>[16]</sup>等研究发现其阳性率为91%，刘兵<sup>[36]</sup>等在包含24例患者的研究中发现荧光显像的13例疑似病灶中，只有3例为癌，余为肝硬化结节、异型增生、肝组织炎性改变等。总体阳性检出率相差较大，可能与各中心给药时间、方式及剂量不同，或术者判断荧光显像的疑似病灶的标准不同所致，但在识别微小病灶，肿瘤显像等方面仍具有重大意义。

### 2.3.3 在确定半肝界线中的应用

在1888年以前，外科医生以镰状韧带为界将肝脏分为左右两叶,直到1888年，Rex通过分析肝脏分叶剂门静脉分支情况，提出以上分叶情况的不合理性，1897年，James Cantlie通过研究发现，镰状韧带并不能从功能上将肝脏分为左右两叶，提出用Cantlie线划分左右半肝，即从胆囊底部到下腔静脉的连线平面，使切开肝脏后，两侧的肝脏重量相近。从此Cantlie线沿用至今。但是，由于解剖差异等原因，人体左右肝脏分界线并非直线，所以在进行半肝切除时，若按照Cantlie线进行切除，则会保留或者多切除一部分肝脏，而为了尽可能多的保留正常的肝组织，保证剩余肝脏的代偿能力，降低围术期肝衰竭的风险，

则需要更准确描述左右半肝分界线的方法，在应用ICG进行半肝染色时发现，多数的Cantlie线为驼峰状、地图状等不规则走向的形态，同时，ICG半肝染色会使得整个肝脏切面显现荧光，使外科医生可以全程实时观察切面变化，并及时做出调整，因此，根据ICG半肝染色，个体化确定半肝界线更为精准，为外科医生在传统的阻断半肝血流观察缺血线法、沿肝中静脉切除法等方法之外，增加了一种指引切除路线的“路标”，辅助实时导航手术，同时亦减少了因肝脏阻断及贴近肝中静脉带来的肝脏缺血再灌注损伤及肝静脉破裂出血等风险。

### 2.3.4 引导解剖性肝切除

LH分为腹腔镜解剖性肝切除术（anatomic laparoscopic hepatectomy,ALH）和腹腔镜非解剖性肝切除术，在 Makuuchi教授<sup>[37]</sup>第一次提出解剖性肝段（叶）切除术以来，由于其可以阻断目标肝段（叶）入肝及出肝血流，同时阻断了肝癌细胞通过门静脉分支的侵袭和随门静脉血流向肝段扩散这一主要转移途径，因而减少了术中出血及术后肿瘤转移的风险，降低了术后肿瘤的复发率，延长了患者术后无瘤生存期<sup>[38]</sup>，同时使剩余肝脏的结构和功能获得最大限度的保留，减少术后肝衰风险，使患者预后得到有效改善，逐渐得到外科医生的推广。但由于镜下操作空间较小，肿瘤位置不同，显露的难易程度也不同，同时肝脏具有丰富的血供，内部具有复杂的脉管结构，使解剖肝实质过程中常因出现难以控制的出血及显露困难，而中转开腹，因此，ALH难度较高，学习曲线较长。Makuuchi教授总结了ALH的手术要点：通过肝段的染色确定并标记预切线；通过以确定的预切线向标志肝静脉的路径进行肝实质的离断；结扎肝蒂时，在目前肝段的门静脉根部进行离断，而不是在远端门静脉<sup>[39]</sup>。因此，精确的肝段边界标记显得格外重要，传统ALH通过缺血线在目标肝段标记预切线，但同显示半肝界线相同，只能在肝脏表面显示的缺血线，并不能在肝断面同时显示，因此，传统ALH切缘的不确定性增加了切缘阳性的风险<sup>[23]</sup>。另外肝段染色方法目前常用的有门静脉穿刺美蓝染色法，但由于其染色时间短，易洗脱等缺点逐渐被ICG荧光染色所取代。在Inoue等的研究中发现，通过ICG-FI手段进行解剖性肝切除时，可以获得明显的染色边界以及持久的染色，相较于门静脉穿刺美蓝染色法，优势更加显著，且成功率更高，可达98.5%，而传统的缺血线肝段标记方法仅为41.7%<sup>[20]</sup>。因此ICG-FI可以清晰的显示肝段界限，同时显示肿瘤位置，为术者提供实时导航支持，使肿瘤的切除更加安全和完整。

### 2.3.5 术中确定有无胆道损伤及胆漏

国际肝脏外科学组（International study group of liver surgery, ISGLS）指出目前腹腔镜肝切除术后主要的并发症有腹腔出血、胆漏及肝衰竭等<sup>[40,41]</sup>，其中，胆漏为较常见并发症之一。ISGLS将术后胆漏定义为：肝胆手术后引流液的胆红素浓度为血清胆红素的3倍。近年来，由于围手术期相关治疗的快速发展及对手术适应症的严格把控，显著降低了术后胆漏的死亡率，然而术后胆漏的发生率（3.1%-28.0%）的下降并不显著<sup>[42]</sup>。胆漏发生时，胆汁将流出正常胆管结构之外，进入腹腔，形成腹腔粘连，造成积液感染、脓肿形成等，同时有研究发现，胆漏可以促进胆管恶性肿瘤的发生、发展<sup>[43]</sup>，以及损害肝功能抑制肝细胞再生<sup>[44]</sup>，严重影响手术预后及患者的长期生存。肝切除术后胆漏的主要原因有以下几种：未闭合的微小胆管未被发现、胆管未完全结扎或结扎后再次开放，术中未发现的医源性胆管损伤、术后胆管结扎缝线或结扎夹脱落、T管拔出过早、胆肠吻合口瘘等<sup>[45]</sup>，其中术中及时发现胆管漏及胆道损伤，并及时修复尤为重要。

目前有研究发现胆漏实验可及时发现术中胆漏及胆道损伤，是预防术后胆漏的安全有效的方式<sup>[46]</sup>。一般较常用的方法有白纱实验、胆道充气实验、胆道内注射生理盐水、美蓝实验等<sup>[47]</sup>，但各种方法各有利弊，检测效果也有所参差，为避免以上方法的各种弊端，1996年，荧光胆道造影被引入，近年来，荧光胆道造影技术逐渐成熟，ICG-FI在胆道造影中的应用也逐渐增多<sup>[48,49]</sup>。目前术中ICG荧光胆道显影大致分为排泄性胆道显影及胆管直接造影，排泄性胆道显影是直接经外周静脉注射ICG溶液，经肝细胞自然摄取及排泄至肝内胆管，从而识别胆漏，但肝断面荧光浸染现象导致胆漏识别率较低，因此，临床上大多采用胆管内直接注射ICG溶液使胆管显影，夹闭胆总管后，将稀释的ICG溶液经胆囊管注入胆道内，既避免了ICG浓度过高，染料染色周围组织，影响手术视野等，同时亦可以在荧光腹腔镜下识别胆漏点，使胆漏的识别更加精准，Masaki等<sup>[49]</sup>在肝切除术中使用ICG-FI技术探测42例（实验组）肝断面的荧光情况，其中25例肝断面胆管闭合不充分，术中及时缝合或结扎闭合，对照组50例中，5例术后发生胆漏，实验组无胆漏发生，并指出ICG荧光胆管造影具有预防肝切除术后胆漏的潜力。

## 2.4 总结

在“精准医学”的时代背景下，ICG-FI技术在肝脏外科中的作用愈来愈显著，已成为外科医生有利的助手，在肿瘤的显影及微小肝癌的检测、半肝及肝段边界的染色显影、胆漏及胆道损伤的检测等方面扮演着越来越重要的角色，同时也为肝脏外科的诊疗提供了全新的思路，但在染色效果、染色方法、探测深度等方面仍需更加全面的探索。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/856110050123010052>