

DOI: 10.12235/E20220243

文章编号: 1007-1989 (2023) 04-0080-06

临床研究

细胞内镜系统在消化道黏膜病变诊断中的应用初探*

程思乐¹, 金杭斌¹, 沈红璋¹, 楼奇峰¹, 郇通², 张筱凤¹

(浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院 1.消化内科;
2.病理科, 浙江 杭州 310006)

摘要: **目的** 初步研究细胞内镜 (EC) 系统在消化道黏膜病变诊断中的应用。**方法** 对消化道黏膜病变先使用 EC 诊断, 再行大体组织病理学诊断, 判断内镜诊断与病理诊断是否相符。**结果** 所选病例 EC 诊断与大体组织病理学结果均一致。**结论** EC 可达到组织病理学诊断效果, 但其应用价值、具体评价体系和应用范围尚需进一步研究。

关键词: 消化道黏膜; 细胞内镜; 内镜诊断; 病理诊断; 早癌

中图分类号: R735

Application of endocytoscopy system in diagnosis of gastrointestinal mucosal lesions*

Si-le Cheng¹, Hang-bin Jin¹, Hong-zhang Shen¹, Qi-feng Lou¹, Tong Huan², Xiao-feng Zhang¹

(1. Department of Digestive Diseases; 2. Department of Pathology, the First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310006, China)

Abstract: Objective To study the application of endocytoscopy (EC) system in diagnosis of gastrointestinal mucosal lesions. **Methods** The digestive tract mucosal lesions were first diagnosed by EC, and then by gross histopathology. Whether the endoscopic diagnosis was consistent with the pathological diagnosis was compared. **Results** The results of EC were consistent with those of gross histopathology. **Conclusion** EC can achieve the effect of histopathological diagnosis, but its application value, specific evaluation system and application scope need to be further studied.

Keywords: gastrointestinal mucosal; endocytoscopy; endoscopic diagnosis; pathological diagnosis; early cancer

消化道肿瘤是临床上常见的恶性肿瘤, 早诊断和早治疗能够有效降低死亡率, 提高患者生存质量, 在肿瘤诊治中具有重要意义。目前, 内镜检查, 特别是放大内镜检查, 已经广泛应用于消化道早期肿瘤的诊

断中。细胞内镜 (endocytoscopy, EC) 是一种具有超高分辨率和放大能力的内镜, 可以观察黏膜结构, 同时实现了对细胞的实时观察, 具有判断细胞及细胞核异常的能力, 拥有替代传统组织病理活检的潜力。目

收稿日期: 2022-04-27

* 基金项目: 浙江省卫生健康科技计划 (No: 2022KY934)

[通信作者] 张筱凤, E-mail: 837837@zju.edu.cn

前,国内关于EC实际应用的研究较少,为进一步明确其在消化道黏膜病变诊断中的价值,本院引进了最新的EC系统,并进行了初步应用研究。现报道如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择本院收治的消化道病变患者2例。年龄58和62岁,均为男性。本研究经杭州市第一人民医院医疗技术临床应用及科研伦理委员会审批通过。

1.1.1 病例1 老年患者,62岁,男,因“上腹部胀痛半个月余”就诊。外院胃镜提示:胃窦黏膜隆起。病理提示:(幽门前区后壁)黏膜慢性活动性炎,部分腺体考虑低级别异型增生。

1.1.2 病例2 中年患者,58岁,男,因“排便习惯改变1年余”入院。肠镜提示:结肠距肛门50 cm黏膜隆起病变,大小1.5 cm×2.0 cm。病理提示:黏膜上皮腺瘤样增生伴中-重度异型增生。

1.2 设备与器械

CV-290内镜主机系统、GIF-H290EC胃镜、CF-H290ECI肠镜、喷洒导管、20 mL注射器、黑帽、胶布、1%亚甲蓝、0.05%结晶紫、生理盐水、西甲硅油和链霉菌蛋白酶等。

1.3 术前准备

术前停用抗凝药物和抗血小板药物1周。完善血常规、凝血功能、肝功能和肾功能等检查,请麻醉科会诊评估无痛内镜耐受情况,排除麻醉禁忌证。完善各类术前谈话并签字。

1.4 检查方法

1.4.1 常规及放大观察 与既往操作相同,内镜带黑帽常规进镜观察,小幅度调节变焦拨杆,即可实现100倍放大,用放大内镜及窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)观察后,恢复至非放大白光状态。

1.4.2 冲洗 反复冲洗目标黏膜,用西甲硅油与链霉菌蛋白酶去除黏膜表面黏液,冲洗完成后,吸引多余的积液,避免稀释染色液。

1.4.3 染色 用0.05%结晶紫10 mL和1%亚甲蓝1 mL混合,配制染色液共11 mL,利用喷洒导管,按单次剂量1至2 mL喷洒病变黏膜及周围正常黏膜。染色约1 min,吸除多余的染色剂。如果1至2 min后染色效果仍不充分,可再次进行染色操作。

1.4.4 EC观察 随着时间的推移,染色剂逐步进入细胞质,使细胞核难以观察。因此,染色后1~5 min为EC的最佳观察时间。因放大倍数较大,逐步放大易致目标病变丢失,可直接将镜头抵近目标黏膜,固定后,调节至最大倍率(约500倍)进行EC观察。

1.5 观察指标

检查完成后常规复苏观察,观察有无过敏、腹痛、头晕和胸闷等临床表现。

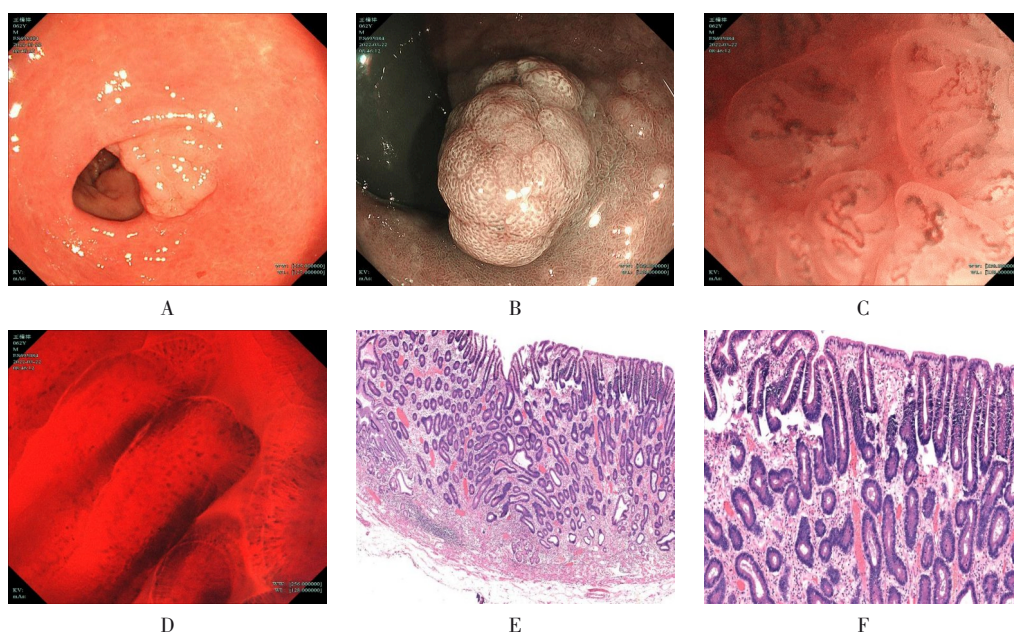
2 结果

2.1 病例1

EC观察见微结构排列紊乱,形状不规则,管腔宽度不同,细胞核深染,考虑为中度异型增生,进一步行内镜黏膜下剥离术。术后病理示:轻-中度异型增生,部分中度异型增生,周围黏膜轻-中度萎缩性胃炎伴轻度肠上皮化生。免疫组化结果示:黏蛋白5AC(-),黏蛋白6(-),黏蛋白2(+),CD10(+),p53弱(+), β -Catenin(膜+),MLH1(+),Ki-67(+),60%,特染:PAS少量(+)。见图1。

2.2 病例2

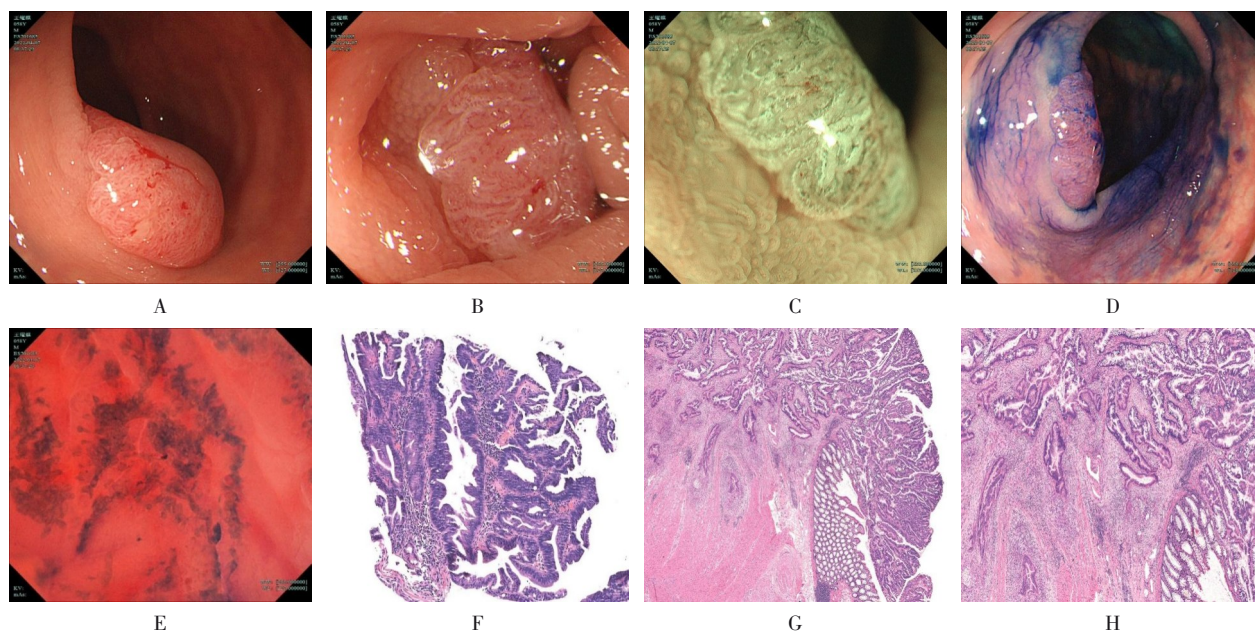
EC下见微结构紊乱,形状不规则,细胞核深染,血管扩张排列走行不规则,考虑为浸润性癌,请胃肠外科会诊,并与患者及家属反复沟通后,行外科手术,术后病理提示:中分化腺癌。见图2。



A: 普通白光内镜; B: NBI弱放大; C: NBI放大; D: EC; E: 病理学检查 (HE × 40); F: 病理学检查 (HE × 100)

图1 病例1内镜下所示与病理表现

Fig.1 Endoscopic and pathological manifestation of case 1



A: 普通白光内镜; B: 白光放大; C: NBI放大; D: 普通染色; E: EC; F: 活检标本病理学检查 (HE × 100); G: 大体标本病理学检查 (HE × 20); H: 大体标本病理学检查 (HE × 40)

图2 病例2内镜下所示与病理表现

Fig.2 Endoscopic and pathological manifestation of case 2

3 讨论

3.1 EC的现状

1979年HAMOU^[1]最早报道了用高倍显微宫腔镜观察到子宫黏膜的显微结构,为直接观察活体细胞奠定了理论基础。EC最早在2003年被提出,其是一种具有超高分辨率和放大能力的内镜,可以观察细胞水平,发现细胞和细胞核的异常,具有替代常规组织病理活检的潜力^[2]。EC可以在内镜检查时不进行物理活检,实现“实时病理学检查”,推动了治疗决策^[3]。EC主要通过细胞、微结构和微血管对黏膜性质进行判定。细胞结构的细节常通过吸收性染料对黏膜预染色来实现,NBI可以帮助观察微血管及微结构。最新的GIF-H290EC/CF-H290ECI EC系统可以放大到520倍,从而达到对细胞核和细胞质等的超微观察。

3.2 EC的常用染色剂

为了使显微观察的差异度增加,EC的观察需要像病理阅片一样,对组织黏膜进行染色。常用的染色剂包括:亚甲蓝、甲苯胺蓝和结晶紫等。KODASHIMA等^[4]进行了一项离体动物研究,对比了不同品类、不同浓度的染料及曝光时间对图像质量的影响,结果表明:在强化黏液去除后,使用亚甲蓝和甲苯胺蓝有助于获得高质量的图像。食管内用1%亚甲蓝染色,胃和结肠用0.25%甲苯胺蓝染色60s后,可获得内镜观察的最佳条件,这在人体标本中得到了证实^[4]。有研究^[5]表明,利用结晶紫联合亚甲蓝混合染色,胞浆和腺管构造会更清晰,尽管有报道^[6-7]称亚甲蓝有损伤DNA的风险,但低浓度使用并无致癌性。本研究中,选用了结晶紫联合亚甲蓝的方案,取得了较好的染色效果。在胃内染色时,出现了着色困难的情况,予以西甲硅油及链霉菌蛋白酶反复冲洗后,成功染色。

3.3 处理放大内镜对焦困难的经验

放大内镜观察一直是难度较大的技术。由于胃肠道蠕动、呼吸和操作者自身控镜能力的影响,在放大过程中容易丢失目标区域,难以对焦。对此,笔者的经验是:①将目标区域调整至12点钟方向,这样在放大操作时更容易固定角度;②通过中指或无名指固定角度旋钮,用拇指操作变焦拨杆,这样可以在固定内镜角度的同时,操作变焦拨杆,以减少角度的变化;③通常在放大操作时,会在内镜抵近病变的同时,调整变焦拨杆,而EC的放大倍数极大,在观察

时,客观环境对观察的影响更大,可以在接触黏膜后,再调整至最大放大倍数,这样容易固定位置,更易于聚焦观察;④充分利用黑帽辅助观察。EC观察目标区域,特别是食管和胃等难以操作的部位时,将物镜侧压低并倾斜,使物镜露出,以便能够与目标部位进行接触,以此对目标部位进行固定,从而获得稳定的视野。同时,黑帽可在导光束和黏膜之间产生间隙,有助于提高采光量,从而得到更加明亮的画面。

3.4 EC的临床应用

3.4.1 食管病变的诊断 EC最早应用于食管病变的诊断中。1997年KUBO等^[8]用超高放大内镜观察到了正常的食管黏膜细胞。一项前瞻性研究^[9]表明,EC可以在食管检查中,提供足以进行病理诊断的高质量图像,并且病理学家对癌性病变的诊断率很高,可用于食管浅表鳞状细胞癌和高级别上皮内瘤变的诊断。

3.4.2 胃黏膜良恶性的诊断 EC已广泛应用于胃黏膜良恶性的诊断中。SATO等^[10]将非肿瘤性胃黏膜分为4型:1型为正常胃黏膜,细胞结构完整,细胞核大小均匀,染色差;2型为慢性胃炎,存在染色良好的隐窝、浸润细胞和碎片;3型为萎缩性胃炎,乳头由于萎缩性变化,而在外观上变成分叶状,形状和大小不规则,边界更加明显,失去光滑的轮廓,常可见浸润细胞和坏死组织;4型乳头变得更小,边缘更锐利,杯状细胞在其他完全染色的上皮层中,被识别为圆形透明点。有文献^[11-12]分析了早期胃癌的EC下表现,其表现为微结构排列紊乱,形状不规则,管腔宽度不同,大而细长,边缘粗糙,或管状结构完全消失;细胞核深染,假复层,核超染,核密度和核异型增加。一项列入82个病灶的研究^[13]表明,通过EC获得组织学信息是可行的,其对胃癌的敏感性、特异性、阳性预测值和阴性预测值分别为86%、100%、100%和94%。还有文献^[14-15]报道,EC在诊断胃印戒细胞癌和胃淋巴瘤方面效果明确。由于胃的蠕动,在放大超高倍数后,获得的图片质量相对较差,这在一定程度上限制了EC在胃检查方面的应用。笔者在实际操作中发现,胃内检查的难度明显大于肠道,为了减少消化道蠕动,笔者在术中加用了山莨菪碱,取得了一定的效果。有文献^[12]报道,利用EC联合结晶紫与亚甲蓝混合染色,获得高质量图片的比例可超过80%。

3.4.3 结直肠病变的诊断 结直肠病变是EC应用最广泛的领域,其在结直肠肿瘤的病理诊断中有高度准确的诊断性能^[16]。KUDO等^[17]提出了一种简明的结直肠病变EC分类方案:EC1a/EC1b为非肿瘤性病变,EC可见腺腔圆形/锯齿状,细胞核小,圆形且淡染;EC2为不典型增生,EC可见腺腔狭缝状光滑腔,细胞核梭形或类圆形,核质比逐渐升高;EC3a为黏膜内癌-黏膜下轻度浸润癌,EC可见腺腔粗糙不规则,细胞核类圆形且浓染,核质比高;EC3b为黏膜下高度浸润癌,EC可见腺腔模糊或无法识别,细胞核不规则且浓染,炎性细胞浸润。该分类方案区分肿瘤和非肿瘤病变的敏感性为100.0%,特异性为100.0% ($P < 0.05$);区分浸润性黏膜下癌与其他肿瘤病变的敏感性为90.1%,特异性为99.2% ($P < 0.05$)。另外一项研究^[18]对EC下血管分型模式进行了比较,将EC下微血管的外观排列进行如下分型:EC-V1为非肿瘤,血管几乎不可见;EC-V2为肿瘤,血管轻度扩张,排列走行规则;EC-V3为浸润癌,血管扩张粗细不均,排列走行不规则;EC-V1模式诊断增生性息肉的敏感性、特异性和准确性分别为95.5%、99.4%和99.0%,而EC-V3模式诊断浸润性癌的敏感性、特异性和准确性分别为74.6%、97.2%和88.6%。

3.4.4 炎性肠病的诊断 鉴于EC强大的实时组织学检查能力,其在炎性肠病患者的诊断和监测方面亦有应用。有研究^[19]将EC评分系统应用于溃疡性结肠炎患者,通过评估隐窝之间的形状、距离和浅表微血管的可见性来评估炎症程度,发现EC结果与组织病理学分级有很强的相关性,且在不同研究者之间显示出很高的可重复性 ($\kappa = 0.79$)。

3.4.5 病理诊断 EC的光学活检在一定程度上达到了病理组织学的效果。给部分患者,如:口服抗凝药物和抗血小板药物等不适宜进行组织活检的患者,提供了新的选择。但另一方面,由于EC放大倍数高、操作难度大和判读要求高的特点,为EC的推广带来了一定的难度。近年来,随着计算机技术的发展,人工智能 (artificial intelligence, AI) 辅助医学判读的技术越来越成熟。MORI等^[20]的研究表明, AI技术能够有效应用于肠道病变的诊断中,特别是对于直肠乙状结肠息肉 (≤ 5 mm),其敏感性为93.3%,特异性为95.2%。一项关于AI辅助病理诊断的研究^[21]表明, AI辅助病理诊断,有望在多方面改变病理诊断

工作,给病理诊断带来更多便利,从而提高病理医师的工作效率,降低漏诊率和误诊率,实现精准医疗。因此,未来有可能通过AI技术,提高EC诊断的准确性,降低推广难度,促进EC更广泛地应用于临床。

3.5 EC的技术特点

在技术层面,传统的放大内镜结合NBI在观察黏膜时,需要使用透明帽,而EC在观察黏膜时,内镜尖端与黏膜接触,可以直接近距离观察目标病变,而无需透明帽。这样可以有效地避免呼吸运动对内镜操作的影响,同时,减少黏膜的损失,也更容易获得高清的图片^[22]。在对胃癌的诊断上,有研究^[23]表明,传统放大内镜联合NBI与EC联合NBI效果相当,而EC的操作更易掌握,即使没有专业培训,也能完成操作。

综上所述,本研究的2例患者应用EC均取得了良好的诊断效果,但目前,EC在我国的使用报道还较少,国外对于EC的研究也仅局限于少部分亚洲国家,其应用价值及具体的评价体系,还有待进一步的研究证实。EC的图片诊断难度较大,需要大量的判读培训,才能进行推广, AI技术能在一定程度上促进其发展。

参 考 文 献 :

- [1] HAMOU J. Microendoscopy and contact endoscopy[J]. Brevet Francais, 1979, 79: 4168.
- [2] SUMIYAMA K. Past and current trends in endoscopic diagnosis for early stage gastric cancer in Japan[J]. Gastric Cancer, 2017, 20(Suppl 1): 20-27.
- [3] INOUE H, KUDO S E, SHIOKAWA A. Technology insight: laser-scanning confocal microscopy and endocytoscopy for cellular observation of the gastrointestinal tract[J]. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol, 2005, 2(1): 31-37.
- [4] KODASHIMA S, FUJISHIRO M, TAKUBO K, et al. Ex-vivo study of high-magnification chromoendoscopy in the gastrointestinal tract to determine the optimal staining conditions for endocytoscopy[J]. Endoscopy, 2006, 38(11): 1115-1121.
- [5] OLLIVER J R, WILD C P, SAHAY P, et al. Chromoendoscopy with methylene blue and associated DNA damage in Barrett's oesophagus[J]. Lancet, 2003, 362(9381): 373-374.
- [6] INOUE H, YOKOYAMA A, KUDO S E. Ultrahigh magnifying endoscopy: development of CM double staining for endocytoscopy and its safety[J]. Nihon Rinsho, 2010, 68(7): 1247-1252.

- [7] REPICI A, CISCATO C, WALLACE M, et al. Evaluation of genotoxicity related to oral methylene blue chromoendoscopy[J]. *Endoscopy*, 2018, 50(10): 1027-1032.
- [8] KUBO K, FUJINO M A. Ultra-high magnification endoscopy of the normal esophageal mucosa[J]. *Gastrointest Endosc*, 1997, 46(1): 96-97.
- [9] MORITA S, GODA K, YANO T, et al. Multicenter prospective in vivo study of an endocytoscope system (ECS) for superficial esophageal cancer[J]. *J Gastroenterol*, 2021, 56(9): 808-813.
- [10] SATO H, INOUE H, HAYEE B H, et al. In vivo histopathology using endocytoscopy for non-neoplastic changes in the gastric mucosa: a prospective pilot study (with video) [J]. *Gastrointest Endosc*, 2015, 81(4): 875-881.
- [11] ABAD M R A, SHIMAMURA Y, FUJIYOSHI Y, et al. Endocytoscopy: technology and clinical application in upper gastrointestinal tract[J]. *Transl Gastroenterol Hepatol*, 2020, 5: 28.
- [12] ABAD M R A, INOUE H, IKEDA H, et al. Utilizing fourth-generation endocytoscopy and the 'enlarged nuclear sign' for in vivo diagnosis of early gastric cancer[J]. *Endosc Int Open*, 2019, 7(8): e1002-e1007.
- [13] KAISE M, OHKURA Y, IIZUKA T, et al. Endocytoscopy is a promising modality with high diagnostic accuracy for gastric cancer[J]. *Endoscopy*, 2015, 47(1): 19-25.
- [14] FASOLI A, PUGLIESE V, FURNARI M, et al. Signet ring cell carcinoma of the stomach: correlation between endocytoscopy and histology[J]. *Endoscopy*, 2009, 41 Suppl 2: e65-e66.
- [15] ISOMOTO H, MATSUSHIMA K, HAYASHI T, et al. Endocytoscopic findings of lymphomas of the stomach[J]. *BMC Gastroenterol*, 2013, 13: 174.
- [16] MISAWA M, KUDO S E, TAKASHINA Y, et al. Clinical efficacy of endocytoscopy for gastrointestinal endoscopy[J]. *Clin Endosc*, 2021, 54(4): 455-463.
- [17] KUDO S E, WAKAMURA K, IKEHARA N, et al. Diagnosis of colorectal lesions with a novel endocytoscopic classification-a pilot study[J]. *Endoscopy*, 2011, 43(10): 869-875.
- [18] KUDO S E, MISAWA M, WADA Y, et al. Endocytoscopic microvasculature evaluation is a reliable new diagnostic method for colorectal lesions (with video)[J]. *Gastrointest Endosc*, 2015, 82(5): 912-923.
- [19] BESSHO R, KANAI T, HOSOE N, et al. Correlation between endocytoscopy and conventional histopathology in microstructural features of ulcerative colitis[J]. *J Gastroenterol*, 2011, 46(10): 1197-1202.
- [20] MORI Y, KUDO S E, EAST J E, et al. Cost savings in colonoscopy with artificial intelligence-aided polyp diagnosis: an add-on analysis of a clinical trial (with video) [J]. *Gastrointest Endosc*, 2020, 92(4): 905-911.
- [21] 沈晓涵, 杜祥. 人工智能在病理诊断领域中的应用[J]. *肿瘤防治研究*, 2020, 47(7): 487-491.
- [21] SHEN X H, DU X. Application of artificial intelligence in pathological diagnosis[J]. *Cancer Research on Prevention and Treatment*, 2020, 47(7): 487-491. Chinese
- [22] HORIUUCHI Y, HIRASAWA T, ISHIZUKA N, et al. Diagnostic performance in gastric cancer is higher using endocytoscopy with narrow-band imaging than using magnifying endoscopy with narrow-band imaging[J]. *Gastric Cancer*, 2021, 24(2): 417-427.
- [23] HORIUUCHI Y, HIRASAWA T, ISHIZUKA N, et al. Evaluation of microvascular patterns alone using endocytoscopy with narrow-band imaging for diagnosing gastric cancer[J]. *Digestion*, 2022, 103(2): 159-168.

(彭薇 编辑)

本文引用格式:

程思乐, 金杭斌, 沈红璋, 等. 细胞内镜系统在消化道黏膜病变诊断中的应用初探[J]. *中国内镜杂志*, 2023, 29(4): 80-85.

CHENG S L, JIN H B, SHEN H Z, et al. Application of endocytoscopy system in diagnosis of gastrointestinal mucosal lesions[J]. *China Journal of Endoscopy*, 2023, 29(4): 80-85. Chinese