

近红外荧光法联合美蓝染料法在早期乳腺癌 SLNB 中的应用

侯丁丁 康骅 王亚军 赵菁 李开富 韩婧

【摘要】 目的 探讨近红外荧光法联合美蓝染料法在早期乳腺癌前哨淋巴结活组织检查 (SLNB) 中的应用价值。**方法** 应用近红外荧光法和美蓝染料法对 141 例临床腋窝淋巴结检查阴性的早期原发性乳腺癌患者行 SLNB, 记录单用近红外荧光法或美蓝染料法以及联合 2 种方法检出前哨淋巴结 (SLN) 的数目和检出率, 比较联合法检出的 SLN 术中冰冻病理检查与术后石蜡病理检查结果, 分析 BMI 对近红外荧光法检出 SLN 情况的影响。**结果** 141 例中近红外荧光法检出 SLN (2.78 ± 1.28) 枚/人, 优于美蓝染料法检出的 (2.29 ± 1.31) 枚/人 ($t=4.640, P<0.01$), 两者检出率比较差异有统计学意义 ($\chi^2=4.083, P=0.039$); 联合法检出 SLN (3.11 ± 1.30) 枚/人, 优于美蓝染料法 ($t=10.360, P<0.01$), 两者检出率比较差异有统计学意义 ($\chi^2=8.100, P=0.002$)。联合法检出的 140 例 SLN 术中冰冻病理检查与术后石蜡病理检查阳性率比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.250, P=0.625$)。BMI ≥ 24 kg/m² 者共 86 例 (61.0%), 近红外荧光法中共 3 例未测出发荧光的 SLN, 而 BMI < 24 kg/m² 者的近红外荧光法 SLN 检出率为 100%。**结论** 近红外荧光法联合美蓝染料法可提高 SLN 的检出率和检出数目, 提高 SLNB 的准确性, 但如何提高肥胖患者的检出率是值得进一步研究的问题。

【关键词】 乳腺癌; 前哨淋巴结; 前哨淋巴结活组织检查; 近红外荧光法; 美蓝染料法

Application of near-infrared fluorescent method combined with methylene blue method in sentinel lymph node biopsy for early breast cancer Hou Dingding, Kang Hua, Wang Yajun, Zhao Jing, Li Kaifu, Han Jing. Department of General Surgery, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China Corresponding author, Kang Hua, E-mail: kanghua@xwh.ccmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the clinical value of near-infrared fluorescent method combined with methylene blue method for sentinel lymph node biopsy (SLNB) in patients with early breast cancer. **Methods** In total, 141 patients diagnosed with early primary breast cancer who were negative for armpit lymph node examination received SLNB by near-infrared fluorescent method combined with methylene blue method. The quantity and detection rate of sentinel lymph node (SLN) by near-infrared fluorescent method or methylene blue method alone and combined application of two methods were recorded. Pathological examination of intraoperative frozen sections and postoperative paraffin-embedded sections were compared, evaluate the effect of BMI upon the detection results of SLN by near-infrared fluorescent method. **Results** The mean quantity of SLN detected by near-infrared fluorescent method was (2.78 ± 1.28), significantly higher compared with (2.29 ± 1.31) by methylene blue method ($t=4.640, P<0.01$). The detection rate of SLN significantly differed between two methods ($\chi^2=4.083, P=0.039$). The average quantity of SLN detected by combined methods was (3.11 ± 1.30), significantly higher than that detected by methylene blue method alone ($t=10.360, P<0.01$). The detection rate of SLN also significantly differed between two approaches ($\chi^2=8.100, P=0.002$). For the SLN detected by the combined methods in 140 cases, the positive rate between intraoperative frozen sections and postoperative paraffin-embedded sections did not significantly differ ($\chi^2=0.250, P=0.625$). For 86 patients with BMI ≥ 24 kg/m², SLN was not detected in 3 cases by near-infrared fluorescent method alone, whereas the detection rate was up to 100% for those with BMI < 24 kg/m². **Conclusion** Com-

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2017.12.008

基金项目: 北京卫生系统高层次卫生技术人才学科带头人培养项目 (2011-2-28); 高等学校博士学科点专项科研基金资助课题 (博导类, 20111107110001)

作者单位: 100053 北京, 首都医科大学宣武医院普外科

通讯作者, 康骅, E-mail: kanghua@xwh.ccmu.edu.cn

bined application of near-infrared fluorescent method and methylene blue method can enhance the detection rate and quantity of SLN and increase the accuracy of SLNB. However, how to enhance the detection rate of SLN for obese patients remains to be investigated.

【Key words】 Breast cancer; Sentinel lymph node; Sentinel lymph node biopsy;
Near-infrared fluorescent method; Methylene blue method

目前乳腺癌前哨淋巴结活组织检查(SLNB)的标准方法包括美蓝染料法、放射性核素法及两者的联合,其中联合法具有最佳的检出率和特异性,已成为西方国家临床常规方法^[1]。但我国尚无批准的商品化核素示踪剂,加之核素法具有放射性辐射、价格昂贵、需特殊的检测设备等,导致该法的应用在国内受到诸多限制^[2]。近年来有文献报道近红外荧光法具有较高敏感性与特异性,且具有操作简单、无放射性、价格低廉等优点^[3]。结合以上背景,为探讨适合国内广泛开展并能提高早期乳腺癌 SLNB 检出率的方法,从 2013 年 8 月至 2017 年 3 月,笔者联合应用近红外荧光法和美蓝染料法对我院普外科乳腺病区某个治疗小组收治的早期乳腺癌患者进行了 SLNB,分析了该法对 SLNB 的应用价值,以为同行提供参考依据。

对象与方法

一、研究对象

1. 试验设计

我院普外科乳腺病区某个治疗小组在 2013 年 8 月至 2017 年 3 月共收治 141 例早期原发性乳腺癌患者,术前均经粗针穿刺活组织检查(活检)确诊。141 例中男 3 例、女 138 例,年龄(57.8 ± 12.9)岁, BMI(25.1 ± 3.9) kg/m²。141 例均符合以下标准,纳入标准:①经活检病理诊断为原发性乳腺癌;②临床分期为 cTisN0M0、cT1-2N0M0,即早期乳腺癌,或经新辅助化学治疗降期至 cT1-2N0M0;③临床腋窝淋巴结检查阴性^[4-5]。排除标准:①炎性乳腺癌;②对示踪剂过敏;③临床触诊或者影像学检查提示腋窝淋巴结阳性;④腋窝手术史及放射史;⑤妊娠哺乳期乳腺癌;⑥有远处转移^[6]。本研究经我院医学伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

二、方 法

对每例患者均采用近红外荧光示踪法和美蓝染料法进行 SLNB,并将采用不同方法识别的 SLN 进行分组以便进行患者的自身对照,其中仅由近红外荧光法识别的前哨淋巴结(SLN)为近红外荧光组,

仅由美蓝染料法识别的 SLN 为美蓝染料法组,由美蓝染料法联合近红外荧光法识别的 SLN 为联合法组。对行 SLNB 后发现 SLN 转移者,则在行乳腺手术后进一步行腋窝淋巴结清扫术(ALND),无转移者则不再行 ALND。

1. 仪器和试剂

SLNB 荧光探测系统(南京产);亚甲蓝注射液(即美蓝注射液,2 ml,每瓶 20 mg,济川产);注射用吲哚菁绿(10 ml,每瓶 25 mg,辽宁产)。

2. 示踪剂注射方法及部位

亚甲蓝注射液注射方法:术前 5~10 min 用皮试针在肿瘤表面及乳晕周围 3 点(12 点、4 点、7 点)的皮内注射亚甲蓝,注射量约 1 ml,示踪剂注射后均按摩 5 min 左右。注射用吲哚菁绿注射方法:术前 5 min 用皮试针在肿块表面及乳晕周围 4 点(12 点、3 点、6 点及 9 点)的皮内注射浓度为 0.03% 的吲哚菁绿(具体配制方法为用 1 ml 皮试针抽取原液 0.1~0.15 ml,继续抽取无菌注射用水稀释至 1.0 ml),注射量约 0.5~1.0 ml。

3. 操作方法

操作方法如下:①按照以上方法及部位注射美蓝和吲哚菁绿示踪剂,5 min 后关闭无影灯,使用红外观测相机成像系统可见由注射部位至腋窝显示荧光的淋巴管,在荧光消失的皮肤处作标记;②在腋窝部顺皮纹方向做 3~5 cm 切口,切开皮肤及皮下组织,采用钝性分离和电刀缓慢切割相结合,寻找蓝染的淋巴管,循蓝染的淋巴管方向,同时通过红外观测相机成像系统找到显示荧光的 SLN;③将蓝染或者显示荧光的 SLN 取出;④再次通过荧光探测系统观察腋窝术区,切除能发出荧光的淋巴结;⑤记录 2 种方法各自检出 SLN 的数目、大小;⑥将活检的 SLN 送快速冰冻和石蜡病理检查,病理检查显示 SLN 转移阳性者,进一步行 ALND,阴性者不再行 ALND;⑦乳腺病灶具体术式视病情行单纯腺体切除术、局部扩大切除术或乳腺腺体切除一期乳房假体置入术等。

4. SLN 及 SLN 转移阳性判断标准

①近红外荧光法检出的 SLN 为单纯有荧光或

者既有荧光又有蓝染的淋巴结；②美蓝染料法检出的 SLN 为单纯有蓝染或者既有蓝染又有荧光的淋巴结^[7]。满足以上条件之一的均为 SLN。通常将 SLN 转移状态分为宏转移、微转移及孤立肿瘤细胞 (ITC) 转移。鉴于有 ITC 转移的患者即使不接受腋窝治疗其腋窝复发率也不会升高，通常将有 ITC 转移的 SLN 视为 SLN 转移阴性，而将宏转移和微转移的 SLN 视为 SLN 转移阳性^[8]。

三、统计学处理

用 SPSS 19.0 处理数据，2 组率的比较运用配对 χ^2 检验，计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用配对 t 检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、美蓝染料法、近红外荧光法及联合法 SLNB 结果比较

141 例 SLNB 情况见表 1，其中近红外荧光法检出 SLN (2.78 ± 1.28) 枚/人，优于美蓝染料法检出的 (2.29 ± 1.31) 枚/人 ($t = 4.640$, $P < 0.01$)，两者检出率比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 4.083$, $P = 0.039$)；联合法检出 SLN (3.11 ± 1.30) 枚/人，优于美蓝染料法 ($t = 10.360$, $P < 0.01$)，两者检出率比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 8.100$, $P = 0.002$)。美蓝染料法与近红外荧光法示踪的 SLN 见图 1。141 例中行单纯腺体切除术 55 例、局部扩大切除术 69 例、乳腺腺体切除一期乳房假体置入术 14 例、乳腺腺体切除一期乳房扩张器置入术 3 例。

表 1 114 例 SLNB 检出淋巴结情况			
项 目	联合法	美蓝法	荧光法
检出例数	140	130	138
检出率 (%)	99.3	92.2	97.9
检出 SLN 平均数 (枚/人)	3.11 ± 1.30	2.29 ± 1.31	2.78 ± 1.28
检出 SLN 总数 (枚)	439	323	392

二、术后临床病理资料

术后病理分期以 I 期 (55 例, 39.0%) 和 II 期 (68 例, 48.2%) 为主；以非特殊性浸润性癌 (98 例, 69.5%) 最多见，其次为导管原位癌 (15 例, 10.6%)；雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR)、人表皮生长因子受体-2 (HER-2) 为阳性者分别占 85.1% (120 例)、72.3% (102 例)、16.3% (23 例)；癌细胞增殖指数 Ki-67 ≥ 14% 为 107 例

(75.9%)。

三、联合法检出的 140 例 SLN 术中冰冻病理检查与术后石蜡病理检查的比较

联合法检出的 140 例 SLN 术中冰冻病理检查示阳性为 28 例、阴性为 112 例，术后石蜡病理检查示 1 例为假阳性，3 例为假阴性，两者阳性率比较差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.250$, $P = 0.625$)，见表 2。

表 2 140 例 SLN 术中冰冻病理检查与术后石蜡病理检查的比较			
冰冻病理检查	石蜡病理检查		合 计
	阳性 (例)	阴性 (例)	
阳性 (例)	27	1	28
阴性 (例)	3	109	112
合 计	30	110	140

四、超体质量和肥胖患者的 SLNB 近红外荧光法检查情况

BMI ≥ 24 kg/m² 者共 86 例 (61.0%)，近红外荧光法中共 3 例未测出发荧光的 SLN，而 BMI < 24 kg/m² 者的近红外荧光法检出率为 100%。

五、不良反应

所有患者注射美蓝和吲哚菁绿示踪剂后在围手术期均未出现过过敏反应，部分患者术后出现皮肤绿染、坏死等并发症，均给予了对症处理。

讨 论

目前美蓝染料法、放射性核素法及两者的联合方法均为临床腋窝淋巴结阴性早期乳腺癌 SLNB 的标准方法。在本研究中，单独近红外荧光法在 SLN 的检出率和检出数上均优于单独美蓝染料法。与 Sugie 等^[9]报道的近红外荧光法较美蓝染料法更具有优势的结论相似 (检出率 99% vs. 78%, $P < 0.001$)。

目前在国内尚无法于临床大规模推广放射性核素，借鉴放射性核素法和美蓝染料法的联合应用可获得更佳的临床价值，为进一步提高检出率和准确性，我们统计了联合应用近红外荧光法和美蓝染料法进行 SLNB 的结果，发现无论是在检出率还是识别 SLN 平均数上，联合法均优于单独美蓝染料法，这与国内曹迎明等^[10]的报道结果相似 [两者检出率 98.1% vs. 93.4%, $P = 0.09$ ；识别 SLN 平均数 (3.1 ± 1.4) 枚/人 vs. (2.4 ± 1.2) 枚/人, $P = 0.001$]；国外也有学者报道，联合应用近红外荧

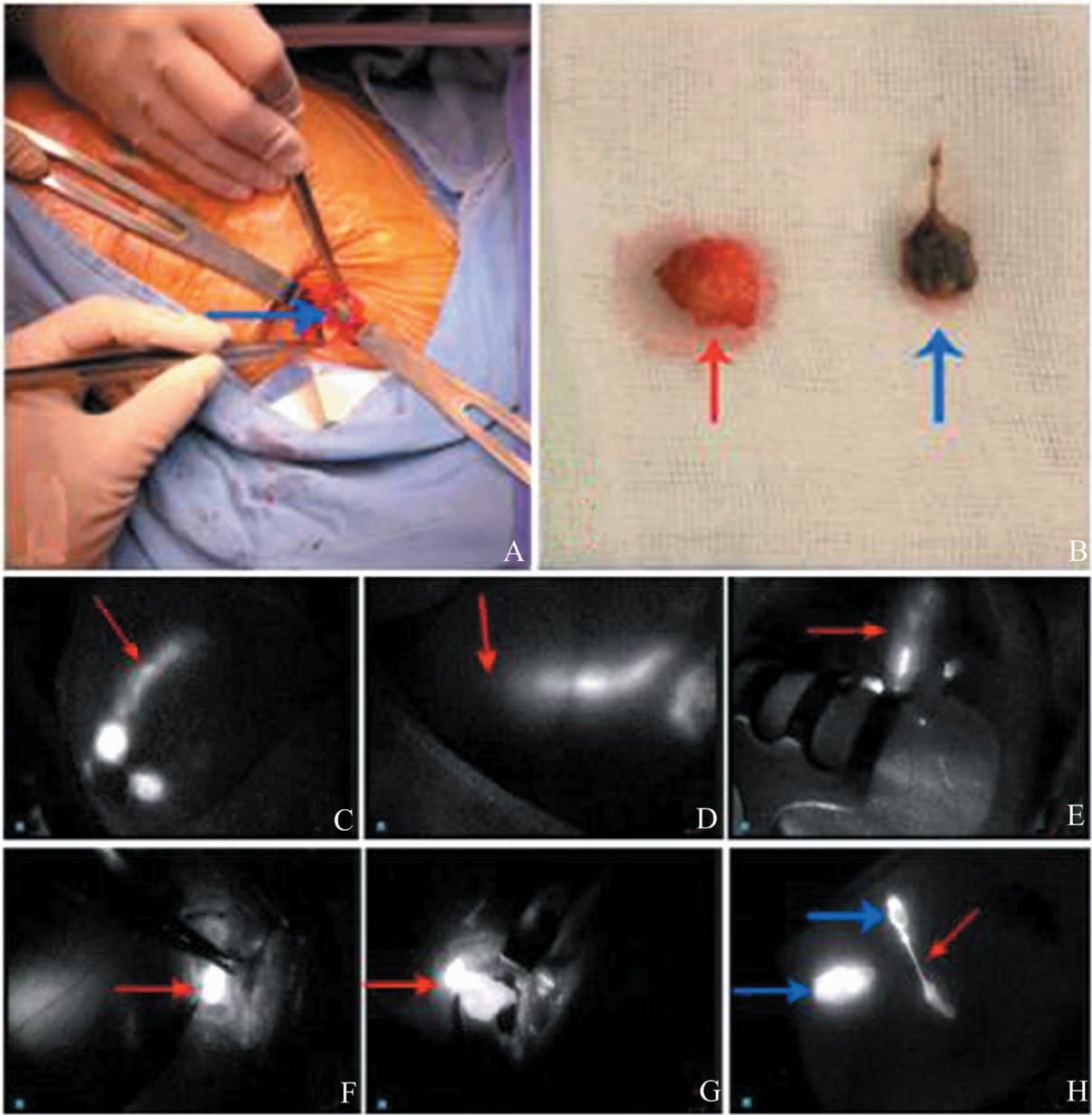


图1 美蓝染料法与近红外荧光法示踪的 SLN

A、B：美蓝染料法，A 中蓝箭头示蓝染的 SLN，B 中蓝箭头示切除的蓝染的 SLN 及部分淋巴导管，红箭头示非蓝染的 SLN；C ~ H：近红外荧光法，C 示从乳晕周围注射吲哚菁绿部位走向腋窝的一条荧光显像的淋巴管，D 示淋巴管荧光显像的末端在靠近腋窝处消失，E 示在淋巴管荧光显像末端处切开皮肤再次显示出发荧光的淋巴管，F 示未切除时荧光显像的 SLN，G 示切除的荧光显像的 SLN，H 中蓝箭头示切除的 SLN，红箭头示与 SLN 相连的淋巴管

光法和美蓝染料法检出 SLN 的检出率明显高于单独应用美蓝染料法 (100% vs. 95.7%， $P = 0.0037$)，故推荐在无放射性核素示踪的医院优选近红外荧光法和美蓝染料法的联合方法以进行 SLNB^[11]。

有研究显示，切除 1、2、3 个 SLN 其预测腋窝淋巴结转移的准确性分别为 88.6%、96.2%、100%，理论上，切除越多的 SLN 预测腋窝淋巴结转移的准确性越高，但切除过多的 SLN 可能会加

重患者术后淋巴水肿等并发症的程度^[12]。Ban 等^[13]建议 SLNB 的个数以 3 ~ 4 枚最佳，既能获得较满意的准确性 (96.5% ~ 100%)，又能降低假阴性率 (0% ~ 11.1%)。本研究结果显示，联合法识别 SLN 的总数及平均数均优于单独美蓝染料法，因此联合法较单独美蓝染料法的准确性更高。

在 SLNB 过程中需注意患者的 BMI、术中冰冻病理检查与术后石蜡病理检查、新辅助化学治疗等对检查结果的影响。肥胖会增加 SLN 精确定位难

度, 荧光透过脂肪组织时更易于衰减, 而且衰减的程度与 BMI 相关, 超过皮下 1 cm 的荧光信号不易被检测到, 本研究结果显示, 超体质量和肥胖患者采用近红外荧光法时有 3 例未能检出发荧光的 SLN, 而对于 BMI < 24 kg/m² 的患者均能检出发荧光的 SLN, 因此对于超体质量和肥胖的患者, 联合应用近红外荧光法和美蓝染料法更显重要。对比术中冰冻病理检查与术后石蜡病理检查的结果显示, 尽管前者假阴性 3 例、假阳性 1 例, 但两者阳性率比较差异无统计学意义, 提示术中冰冻病理检查对 SLN 的病理状态具有较好的预测价值, 可较准确判断腋窝淋巴结状态。此外对于腋窝淋巴结阴性的乳腺癌患者, 若在术前接受了新辅助化学治疗, 虽然该治疗会改变淋巴回流途径, 但并未改变 SLN 的位置, 因此对于接受了新辅助化学治疗后的腋窝淋巴结仍为阴性的乳腺癌, SLNB 亦是可行的^[14]。

本研究结果显示, 在国内缺乏推广放射性核素法的条件下, 在采用美蓝染料法的基础上联用近红外荧光法可提高 SLNB 的 SLN 检出率和检出数目, 并提高其准确性, 该联合法适用于临床腋窝淋巴结阴性早期乳腺癌的 SLNB。

参 考 文 献

- [1] Verbeek FP, Troyan SL, Mieog JS, Liefers GJ, Moffitt LA, Rosenberg M, Hirshfield-Bartek J, Gioux S, van de Velde CJ, Vahrmeijer AL, Frangioni JV. Near-infrared fluorescence sentinel lymph node mapping in breast cancer: a multicenter experience. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 143 (2): 333-342.
- [2] 侯丁丁, 康骅. 近红外荧光在乳腺癌前哨淋巴结活检中的应用现状. *临床外科杂志*, 2016, 24 (9): 719-721.
- [3] Toh U, Iwakuma N, Mishima M, Okabe M, Nakagawa S, Akagi Y. Navigation surgery for intraoperative sentinel lymph node detection using Indocyanine green (ICG) fluorescence real-time imaging in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, 153 (2): 337-344.
- [4] Guo W, Zhang L, Ji J, Gao W, Liu J, Tong M. Breast cancer sentinel lymph node mapping using near-infrared guided indocyanine green in comparison with blue dye. *Tumour Biol*, 2014,

35 (4): 3073-3078.

- [5] Mastrangelo S, McMasters K, Ajkay N. Surgical management of the axilla in breast cancer. *Am Surg*, 2016, 82 (6): 475-486.
- [6] Gherghe M, Bordea C, Blidaru A. Sentinel lymph node biopsy (SLNB) vs. axillary lymph node dissection (ALND) in the current surgical treatment of early stage breast cancer. *J Med Life*, 2015, 8 (2): 176-180.
- [7] Inoue T, Nishi T, Nakano Y. Axillary lymph node recurrence after sentinel lymph node biopsy performed using a combination of indocyanine green fluorescence and the blue dye method in early breast cancer. *Breast Cancer*, 2016, 23 (2): 295-300.
- [8] Naidoo K, Pinder SE. Micro- and macro-metastasis in the axillary lymph node: a review. *Surgeon*, 2017, 15 (2): 76-82.
- [9] Sugie T, Sawada T, Tagaya N, Kinoshita T, Yamagami K, Suwa H, Ikeda T, Yoshimura K, Niimi M, Shimizu A, Toi M. Comparison of the indocyanine green fluorescence and blue dye methods in detection of sentinel lymph nodes in early-stage breast cancer. *Ann Surg Oncol*, 2013, 20 (7): 2213-2218.
- [10] 曹迎明, 王殊, 郭嘉嘉, 杨德起, 佟富中, 周波, 刘鹏, 刘宏军, 程琳. 吲哚菁绿联合美蓝在乳腺癌前哨淋巴结活检术中的应用. *中华普通外科杂志*, 2014, 29 (2): 119-122.
- [11] Hirano A, Kamimura M, Ogura K, Kim N, Hattori A, Setoguchi Y, Okubo F, Inoue H, Miyamoto R, Kinoshita J, Fujibayashi M, Shimizu T. A comparison of indocyanine green fluorescence imaging plus blue dye and blue dye alone for sentinel node navigation surgery in breast cancer patients. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19 (13): 4112-4116.
- [12] Kidd SA, Keto JL, Tran H, Fitzgerald TL. First three sentinel lymph nodes accurately stage the axilla in breast cancer. *Am Surg*, 2009, 75 (3): 253-256.
- [13] Ban EJ, Lee JS, Koo JS, Park S, Kim SI, Park BW. How many sentinel lymph nodes are enough for accurate axillary staging in t1-2 breast cancer? *J Breast Cancer*, 2011, 14 (4): 296-300.
- [14] Tsuyuki S, Yamaguchi A, Kawata Y, Kawaguchi K. Assessing the effects of neoadjuvant chemotherapy on lymphatic pathways to sentinel lymph nodes in cases of breast cancer: usefulness of the indocyanine green-fluorescence method. *Breast*, 2015, 24 (3): 298-301.

(收稿日期: 2017-07-23)

(本文编辑: 洪悦民)