・综述・

切伦科夫光学成像在术中导航中的研究进展

郑盛 屈亚威 刘海峰 解放军第三医学中心消化内科,北京 100039 通信作者:刘海峰, Email: haifengliu333@163.com

【摘要】 手术彻底切除肿瘤及转移淋巴结对患者预后有重要意义。光学术中导航能实现术中 实时肿瘤定位及边界识别,精确指导肿瘤切除。切伦科夫光学成像(CLI)作为一种核素光学成像方 法,将光学成像的简便快捷与放射性核素的优势有机结合,开拓了一种光学术中导航的新方式。该 文对 CLI 在术中导航中的研究进展进行综述。

【关键词】 光学成像;切伦科夫辐射;外科手术,计算机辅助;发展趋势

基金项目:国家自然科学基金(81471700)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.04.014

Progress of research on Cerenkov luminescence imaging in intraoperative navigation

Zheng Sheng, Qu Yawei, Liu Haifeng

Department of Gastroenterology, the Third Medical Centre, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100039, China

Corresponding author: Liu Haifeng, Email: haifengliu333@163.com

[Abstract] Surgical removal of tumor and metastatic lymph nodes are important for the prognosis of patients. Optical intraoperative navigation can achieve real-time tumor location and border recognition, providing an effective way to guide tumor removal and achieve intraoperative navigation precisely. Cerenkov luminescence imaging (CLI) as a nuclide optical imaging method, which combines the advantages of optical imaging and radionuclides, has opened up a new way of navigation in optical surgery. This article reviews the progress of CLI in intraoperative navigation.

[Key words] Optical imaging; Cerenkov radiation; Surgery, computer-assisted; Trends Fund program: National Natural Science Foundation of China (81471700) DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.04.014

恶性肿瘤是造成人类死亡的重要原因,手术切除肿瘤及 转移淋巴结是目前治疗恶性肿瘤最有效的方式,术中准确定 位肿瘤及转移淋巴结对提高手术效果、改善预后等具有重要 意义^[1]。临床常用的术前检查设备如 X 线、CT、MRI 及 PET 等难以在术中常规使用[2]。术中依靠术者触觉及视觉对肿 瘤切除范围的判断会导致肿瘤病灶的遗漏或过多不必要的 正常组织切除,可能会影响患者预后^[3]。荧光术中导航成像 对肿瘤部位特异性聚集的荧光探针进行激发成像,以此对肿 瘤及其边界进行定位识别,具有快速准确、方便易行等优 点^[4],但由于缺乏食品与药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准的用于临床的靶向荧光造影剂,荧 光术中导航的进一步临床应用受限[5]。切伦科夫光学成像 (Cerenkov luminescence imaging, CLI)是一种新型的光学成 像方法,放射性核素衰变时产生的切伦科夫辐射在介质中的 速度大于光在该介质中的速度时,会产生以蓝紫光波段为主 的切伦科夫光(Cerenkov luminescence, CL),可借此进行 CLI^[6]。CLI 使用了与 PET 相同的、被 FDA 批准应用于临床 的肿瘤特异性放射性探针,克服了传统荧光成像缺乏临床可 用的靶向荧光造影剂的问题^[7]。而 CL 信号强度与 PET 信 号强度具有良好的一致性,为此开始了将 CLI 用于指导肿瘤 及淋巴结切除的研究。

一、CLI 在动物肿瘤模型导航切除中的应用

2009年, Robertson 等^[8]成功使用高灵敏度电荷耦合器 件(charge coupled device, CCD)相机对尾静脉注射¹⁸F-脱氧 葡萄糖(fluorodeoxyglucose, FDG)的荷瘤裸鼠行放射性核素 CLI,实现了核素造影剂的 PET/光学双模态成像。2011 年, Holland 等^[9]提出 CLI 进行术中导航的设想, 用⁸⁹Zr 标记去 铁胺 B 单克隆抗体构成靶向人类表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)的核素探针⁸⁹Zr-去铁敏(desferrioxamine, DFO)-曲妥珠单克隆抗体(trastuzumab),并通过 CLI 来指导 HER2 阳性的 BT-474 肿瘤切除。 注射探针后 144 h. 肿瘤部位术前 CLI 显示平均光学信号为 1× $10^4 \text{ p} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sr}^{-1}$. 术中由于肿瘤表面皮肤被切开. CL 信号增强至 $1.4 \times 10^4 \text{ p} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{sr}^{-1}$ 。手术切除肿瘤后, 肿瘤原来所在位置 CL 信号消失。整个肿瘤成像及切除过程 时间少于40 min,表明CLI可快速准确地对肿瘤进行定位和 边界识别,并指导肿瘤切除。2015年,Fan 等^[10]使用构建的 靶向核素探针⁶⁸Ga-3 倍聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)₄ 化环状精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 [cyclo (Arg-Gly-Asp, RGD)]短肽二聚体(3PRGD₂)对U87MG 脑胶质瘤进行 CLI, 可使信噪比较¹⁸F-FDG 提高约 20 倍。CLI 图像能清楚显示 脑原位胶质瘤位置及边界,并根据图像完成对脑胶质瘤的精

准切除。2017年,Hu 等^[11]提出了纳米颗粒介导放射激发荧 光成像(radiopharmaceutical-excited fluorescent image, REFI) 来增强 CL 信号强度,提高 CLI 指导手术切除能力。纳米颗 粒氧化铕(europium oxide, EO)可使蓝紫波段为主的 CL 红移 至 620 nm 附近,提高组织穿透力。在 4T1 皮下肿瘤模型的术 中导航研究中,EO 联合¹⁸F-FDG 进行的 REFI,使肿瘤部位信 噪比明显高于商用荧光探针 MMPSense[™]750 及 IntegriSens[™] 750 的荧光成像^[11]。REFI 可清楚识别肿瘤边界,并对肿瘤 进行精确切除。在肝原位肿瘤的术中导航研究中,REFI 信 噪比(44.05±8.378)明显高于常用的非靶向荧光探针吲哚菁 绿(indocyanine green, ICG; 2.173±0.109 2);不仅能精准指 导肝脏肿瘤切除,还能发现大小为 0.91 mm×0.61 mm 的微小 转移瘤。REFI 通过 EO 介导来增强 CL 信号强度,提高组织 穿透力,有效解决了 CLI 术中导航中光学信号弱,穿透力差 的缺点。

二、CLI 在临床肿瘤手术导航切除中的应用

有研究成功利用 CLI 对人类甲状腺及腋窝淋巴结显像^[12-13],表明 CLI 已成功实现了临床转化。2017年,Grootendorst 等^[14]实现了 CLI 术中导航的临床应用,研究者构建了可在 术中对手术标本进行离体白光和 CLI 的暗箱设备,并对乳腺 癌切除标本进行离体成像,以此判断乳腺癌切缘是否有肿瘤残 留,指导下一步手术。对 12 例患者术前注射常规剂量¹⁸F-FDG (5 MBq/kg),术中对切除的肿瘤标本行 CLI,其中 10 例具有 明显的 CL 信号,肿瘤信噪比为 2.41±0.54。以肿瘤标本的 CL 信号距切缘的距离代替病理上肿瘤距切缘的距离,发现 2 个 标本中肿瘤距切缘距离小于要求的 5 mm,为此对这 2 例患 者行扩大切除。术后切除标本的病理结果显示,通过 CLI 图 像判断肿瘤与切缘的间距与病理结果具有良好的一致性;对 手术参与人员受到的辐射剂量的计算结果表明,CLI 术中导 航安全可靠。

通过自行构建体外成像设备对手术切除标本进行术中 离体 CLI,只能对标本进行离体成像,无法实现术中在体 CLI。CL 信号强度弱,避光要求严格,如何使 CLI 术中导航 设备在保证手术安全的情况下完成避光和成像有待进一步 研究。

三、CLI 在前哨淋巴结导航切除中的应用

淋巴转移是肿瘤的主要转移方式之一,术中准确判断肿 瘤部位接受淋巴引流的第一个节点也就是前哨淋巴结(sentinel lymph nodes, SLN)的病理状态,对确定淋巴结清扫范 围、疾病分期、预后改善具有重要意义^[15]。PET 和 SPECT 等 核医学检测在术前对淋巴结具有很好的检测效果,但是无法 准确确定术中 SLN 位置。

2012年,Thorek等^[16]选择¹⁸F-FDG作为淋巴结示踪剂, 对雌性裸鼠尾部皮下注射1.2 MBq¹⁸F-FDG,10 min后去除 尾部皮肤后进行CLI,发现骶骨处一淋巴结清晰可见,并根据 图像对淋巴结进行切除;这表明术中CLI可快速准确地对淋 巴结进行示踪并指导切除。2013年,Madru等^[17]将产生CL 信号能力更强的⁶⁸Ga与超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPIONs)结合,构建了可行PET/MR/ CLI 三模态成像的淋巴结示踪剂⁶⁸Ga-SPIONs。在大鼠后爪皮 下注射 0.07~0.1 ml(5~10 MBq,0.13 mg Fe)的⁶⁸Ga-SPION,术前 PET及MRI均清楚显示注射部位SLN的位置。术中去除大鼠后爪处皮肤后,仅2min曝光时间的CLI即能清楚显示SLN,为术中导航切除淋巴结提供了及时、准确的位置信息。2016年,Lee等^[18]将¹²⁴I包埋进金纳米颗粒中,并行PEG化,构建出新的淋巴结示踪剂PEG-放射性碘金纳米颗粒(radioiodine-embedded goldnanoparticles, Rle-AuNPs),剂量低至10×10⁻¹² mol/L或1.295 MBq的示踪剂即能清楚对SLN进行示踪,并能通过CLI引导切除SLN。但CLI仅能对浅表淋巴结进行成像,如何对深部组织淋巴结探测有待进一步研究。

四、切伦科夫内窥成像系统在肿瘤导航切除中的应用

CLI 术中导航虽已经成功地进行了小动物及人体的研究,但是 CL 信号强度弱,组织穿透力差,仅能对浅表肿瘤及淋巴结进行成像,同时 CLI 术中导航严格的避光要求等是临床推广应用的瓶颈^[19]。将 CLI 与传统的内窥镜相结合构建的切伦科夫内窥成像系统(endoscopic CLI, ECLI),利用人体天然暗室避光,同时解决避光及穿透深度的问题,使人体深部肿瘤 CLI 术中导航应用看到了希望。

2012年,Liu 等^[20]提出了切伦科夫内窥术中导航的设 想,研究将光纤与 CCD 相机耦合,得到了 ECLI,模拟腹腔镜 指导荷瘤裸鼠肿瘤切除。使用该系统经 C6 脑胶质瘤荷瘤裸 鼠模型的尾静脉注射 37 MBg¹⁸F-FDG 进行术中导航实验, 成功地在 CLI 指导下进行了肿瘤切除,表明 ECLI 检测并指 导肿瘤切除可行。2014 年, Carpenter 等^[21] 使用了单纯 β 衰 变的⁹⁰Y 来标记 ECLI 探针,与常规使用的¹⁸F 相比,⁹⁰Y 平均 能量高、无γ光子干扰。对 U87GM 脑胶质瘤荷瘤裸鼠模型 进行 ECLI 成像,⁹⁰ Y-RGD 的肿瘤信噪比明显高于¹⁸ F-氟丙 (fluoropropionate, FP)-PRGD,表明使用能量更强的纯 β 衰 变核素能有效解决 ECLI 成像信噪比低的问题。但是之前搭 建的 ECLI 均是简单的组合,无法直接用于人体。2015年, Song 等^[22]将临床可用的腹腔镜、光学配适器、电子倍增 CCD (electron-multiplying CCD, EMCCD)组合构建了可以临床应 用的切伦科夫内窥术中导航系统。在对结肠癌 HCT-8 皮下肿 瘤的术中导航实验中,术前成像视野为 500 mm² 时,可清楚看 见肿瘤部位的光学信号。切除肿瘤后,在成像视野为400 mm² 时对手术区域进行 ECLI 成像可以发现明显的肿瘤残余,表 明需对残余肿瘤进一步行手术切除。使用腹腔镜构建的 ECLI 实现了术中对手术视野的实时 CLI,但 400~500 mm² 的 成像视野并不适合临床使用,有待构建出符合临床需求的更 大视野的 ECLI。同年, Hu 等^[23]将临床可用的可弯曲光学纤 维内镜与 EMCCD 通过光学适配器相连构建了可以应用在胃 肠肿瘤术中导航的 ECLI。直肠癌患者静脉注射¹⁸ F-FDG (0.25 GBq/kg)后进行 ECLI 成像,发现 3 例 PET 阳性患者的 肿瘤部位辐照度(791±77.02)高于正常组织(585.3±38.89), ECLI 图像可清晰显示直肠癌肿瘤位置及边界,实现了 ECLI 的人体应用,为术中导航提供了可能。但是 ECLI 光损率高, 如何降低内镜对 CLI 的损耗、提高 CLI 信号强度、减少曝光 时间是其临床转化的关键。

五、总结与展望

光学术中导航是术中精准切除肿瘤及淋巴结的有效方法,CLI能在术中有效指导肿瘤切除。结合术前 PET 显像,可实现同一分子探针的术前术中多模态成像,具有很好的临

· 246 ·

床应用潜力。但是 CLI 信号强度低、曝光时间长、需避光等 特点限制了其在术中导航的进一步发展。ECLI 虽解决了穿 透深度和避光的问题,但是内镜对 CL 的高损耗仍有待解决。 随着技术的发展特别是超灵敏成像相机的推广,构建出超灵 敏 CLI 系统,实现局部可疑病灶的术中超灵敏、高精准成像, 为肿瘤术中的边界识别、残留病灶检测等提供及时准确的信 息成为可能。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] van der Vorst JR, Schaafsma BE, Hutteman M, et al. Near-infrared fluorescence-guided resection of colorectal liver metastases [J]. Cancer, 2013, 119(18): 3411-3418. DOI:10.1002/cncr.28203.
- [2] Vahrmeijer AL, Hutteman M, van der Vorst JR, et al. Image-guided cancer surgery using near-infrared fluorescence [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2013, 10(9): 507-518. DOI:10.1038/nrclinonc.2013.123.
- [3] De Boer E, Harlaar NJ, Taruttis A, et al. Optical innovations in surgery[J]. Br J Surg, 2015, 102(2): e56-e72. DOI:10.1002/ bjs.9713.
- [4] Miampamba M, Liu J, Harootunian A, et al. Sensitive *in vivo* visualization of breast cancer using ratiometric protease-activatable fluorescent imaging agent, AVB-620[J]. Theranostics, 2017, 7(13): 3369-3386. DOI:10.7150/thno.20678.
- [5] Sevick-Muraca EM. Translation of near-infrared fluorescence imaging technologies: emerging clinical applications [J]. Annu Rev Med, 2012, 63: 217-231. DOI: 10.1146/annurev-med-070910-083323.
- [6] 马晓伟,杨卫东,汪静.切伦科夫光学成像研究进展[J].中华核 医学与分子影像杂志,2012,32(1):72-74.DOI:10.3760/cma. j.issn.2095-2848.2012.01.024.

Ma XW, Yang WD, Wang J. Progress in Cerenkov luminescence imaging[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2012, 32(1): 72-74. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2012.01.024.

[7] 杨卫东,田捷,汪静.光学成像与核素显像手术导航的研究进展 [J].中华核医学与分子影像杂志,2014,34(2):153-156. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.02.021.

Yang WD, Tian J, Wang J. The progress of research on optical imaging and radionuclide imaging as intra-operative navigators [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 34(2): 153-156. DOI:10. 3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.02.021.

- [8] Robertson R, Germanos MS, Li C, et al. Optical imaging of Cerenkov light generation from positron-emitting radiotracers [J]. Phys Med Biol, 2009, 54(16): N355-N365. DOI: 10.1088/0031-9155/54/ 16/N01.
- [9] Holland JP, Normand G, Ruggiero A, et al. Intraoperative imaging of positron emission tomographic radiotracers using Cerenkov luminescence emissions [J]. Mol Imaging, 2011, 10(3): 177-186. DOI:10.2310/7290.2010.00047.
- [10] Fan D, Zhang X, Zhong L, et al. ⁶⁸Ga-labeled 3PRGD₂ for dual PET and Cerenkov luminescence imaging of orthotopic human glioblastoma[J]. Bioconjug Chem, 2015, 26(6): 1054-1060. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.5b00169.

- [11] Hu Z, Chi C, Liu M, et al. Nanoparticle-mediated radiopharmaceutical-excited fluorescence molecular imaging allows precise image-guided tumor-removal surgery [J]. Nanomedicine, 2017, 13 (4): 1323-1331. DOI:10.1016/j.nano.2017.01.005.
- [12] Spinelli AE, Ferdeghini M, Cavedon C, et al. First human Cerenkography[J]. J Biomed Opt, 2013, 18(2): 20502. DOI:10.1117/1. JBO.18.2.020502.
- [13] Thorek DL, Riedl CC, Grimm J. Clinical Cerenkov luminescence imaging of ¹⁸F-FDG[J]. J Nucl Med, 2014, 55(1): 95-98. DOI: 10.2967/jnumed.113.127266.
- [14] Grootendorst MR, Cariati M, Pinder SE, et al. Intraoperative assessment of tumor resection margins in breast-conserving surgery using ¹⁸F-FDG Cerenkov luminescence imaging: a first-in-human feasibility study
 [J]. J Nucl Med, 2017, 58(6): 891-898. DOI:10.2967/jnume d.116. 181032.
- [15] Alitalo K, Tammela T, Petrova TV. Lymphangiogenesis in development and human disease[J]. Nature, 2005, 438(7070): 946-953. DOI:10.1038/nature04480.
- [16] Thorek DLJ, Abou DS, Beattie BJ, et al. Positron lymphography: multimodal, high-resolution, dynamic mapping and resection of lymph nodes after intradermal injection of ¹⁸F-FDG[J]. J Nucl Med, 2012, 53(9): 1438-1445. DOI:10.2967/jnumed.112.104349.
- [17] Madru R, Tran TA, Axelsson J, et al. ⁶⁸Ga-labeled superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) for multi-modality PET/MR/Cherenkov luminescence imaging of sentinel lymph nodes[J]. Am J Nucl Med Mol Imaging, 2013, 4(1): 60-69.
- [18] Lee SB, Yoon G, Lee SW, et al. Combined positron emission tomography and Cerenkov luminescence imaging of sentinel lymph nodes using PEGylated radionuclide-embedded gold nanoparticles[J]. Small, 2016, 12(35): 4894-4901. DOI:10.1002/smll.201601721.
- [19] 高永恒,康飞,杨卫东,等.核素切伦科夫光学成像研究进展[J]. 中华核医学与分子影像杂志,2016,36(1):88-90.DOI:10. 3760/cma.j.issn.2095-2848.2016.01.022.
 Gao YH, Kang F, Yang WD, et al. Progress in optimization of Cerenkov luminescence imaging[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2016, 36(1):88-90.DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2016.01.022.
- [20] Liu H, Carpenter CM, Jiang H, et al. Intraoperative imaging of tumors using Cerenkov luminescence endoscopy: a feasibility experimental study[J]. J Nucl Med, 2012, 53(10): 1579-1584. DOI: 10.2967/jnumed.111.098541.
- [21] Carpenter CM, Ma X, Liu H, et al. Cerenkov luminescence endoscopy: improved molecular sensitivity with β-emitting radiotracers [J]. J Nucl Med, 2014, 55(11): 1905-1909. DOI: 10.2967/ jnumed.114.139105.
- [22] Song T, Liu X, Qu Y, et al. A novel endoscopic Cerenkov luminescence imaging system for intraoperative surgical navigation [J]. Mol Imaging, 2015, 14: 443-449. DOI:10.2310/7290.2015.00018.
- [23] Hu H, Cao X, Kang F, et al. Feasibility study of novel endoscopic Cerenkov luminescence imaging system in detecting and quantifying gastrointestinal disease: first human results[J]. Eur Radiol, 2015, 25(6): 1814-1822. DOI:10.1007/s00330-014-3574-2.

(收稿日期:2018-09-17)