

- [22] Choudhary NS, RAI R, RAJESH P, et al. Endoscopic ultrasound guided emergency coil and glue for actively bleeding duodenal varix after failed endoscopy[J]. J Dig Endosc, 2015, 6 (3):139-141.DOI: 10.4103/0976-5042.165726.
- [23] Wallstabe I, Zurek M, Geyer C. Endoscopic ultrasound-guided injection of N-butyl-2-cyanoacrylate into portal venous collateral vessels that were feeding bleeding duodenal varices [J]. Endoscopy, 2019, 51 (10): E293-294. DOI: 10.1055/a-0915-1424.
- [24] Jonnalagadda SS, Quiason S, Smith OJ. Successful therapy of bleeding duodenal varices by TIPS after failure of sclerotherapy [J]. Am J Gastroenterol, 1998, 93 (2): 272-274. DOI: 10.1111/j.1572-0241.1998.270_3.x.
- [25] Illuminati G, Smail A, Azoulay D, et al. Association of transjugular intrahepatic portosystemic shunt with embolization in the treatment of bleeding duodenal varix refractory to sclerotherapy[J]. Dig Surg, 2000, 17 (4): 398-400. DOI: 10.1159/000018885.
- [26] Copelan A, Chehab M, Dixit P, et al. Safety and efficacy of angiographic occlusion of duodenal varices as an alternative to TIPS: review of 32 cases [J]. Ann Hepatol, 2015, 14 (3): 369-379.

(收稿日期:2020-01-08)

(本文编辑:顾文景)

共聚焦激光显微内镜在胆道狭窄中的临床应用

方晓焱 杨建锋 张筱凤

南京医科大学附属杭州医院消化内科 310000

通信作者:杨建锋,Email:yjf3303@zju.edu.cn

【提要】 胆道系统良恶性狭窄的鉴别始终是临床上一大难题,虽然各种先进的成像技术(胆管镜、窄带成像)和新型的活检技术(胆道镜靶向活检)已被用于检查胆道狭窄,但它们诊断胆管恶性肿瘤的准确性仍不够满意。微探头共聚焦激光显微内镜(probe-based confocal laser endomicroscopy, pCLE)是一种新型内镜成像技术,它在性质不明胆管狭窄的诊断中具有较高的敏感度和阴性预测值,这对于诊断或排除胆道恶性肿瘤有重要指导意义。本文就 pCLE 在性质不明胆管狭窄中的应用作一综述。

【关键词】 血管显微镜检查; 胆管疾病; 临床方案; 共聚焦激光显微内镜

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2019ZD017,2021ZH003);浙江省医药卫生技术成果项目(2018PY037)

DOI:10.3760/cma.j.cn321463-20200426-00641

Application of probe-based confocal laser endomicroscopy in the bile duct

Fang Xiaoyan, Yang Jianfeng, Zhang Xiaofeng

Department of Gastroenterology, Hangzhou Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Hangzhou 310000, China

Corresponding author: Yang Jianfeng, Email: yjf3303@zju.edu.cn

胆管癌是胆管系统中最常见的恶性肿瘤,目前其诊断方法如 ERCP 活检、细胞刷或超声内镜引导下的细针穿刺细胞学检查的诊断准确性非常低^[1],且大多数肿瘤沿胆管壁浸润性生长而非放射状生长形成肿块^[2-3],故确诊时通常已属晚期,患者存活率较低。而早期胆管癌(T1 期肿瘤局限于胆管壁且淋巴结转移的可能性低)患者经手术切除治疗后,具有较高的五年生存率^[4]。因此,胆管癌的早期诊断和治疗对患者的预后至关重要。微探头共聚焦激光显微内镜(probe-based confocal laser endomicroscopy, pCLE)能实时提供显微组织信息,包括血流、细胞结构、荧光剂摄取和渗漏等动态信息,从而提高诊断胆管恶性肿瘤的准确性^[5-6]。

一、原理和技术

pCLE 是一种能够提供体内、实时显微组织信息的新型成像技术。该技术使上皮和上皮黏膜可视化并包含动态信息,如血流、对比剂摄取和渗漏。这种成像方式的原理是使聚焦光(如激光)通过共焦孔径,减少平面上下的散射光。一次只有一个单一点,即“共焦点”可以成像,在水平和垂直平面上对所有的光点进行扫描即得到动态图像^[7]。为了提高图像对比度,这项技术还需要静脉注射荧光素等对比剂。荧光素可通过毛细血管扩散并使表面上皮细胞外基质染色。对比剂分布的差异有助于分析识别肿瘤组织表面黏膜^[8]。pCLE 微探头(Mauna Kea Technology, Paris, France)可通过胆管镜通道或 ERCP 导管腔导入胆道内。它的外径为

0.94 mm, 视野直径为 325 mm, 侧向分辨率为 3.5 mm, 光学切片厚度为 30 mm, 可观察黏膜表面下 40~70 mm 的组织结构。探头不透射线的特征有助于其在狭窄内的荧光定位。它通过直接接触定位, 尽可能与感兴趣部位的黏膜垂直, 并通过荧光镜检查(X线透视检查)或直接胆道镜直视加以确认。然后静脉注射 10% 荧光素钠(2.5 mL), 大约 10 s 后即可进行 pCLE 检查, 持续时间为 30~45 min。在 pCLE 检查后均可在胆道镜引导下活检或 X 线透视引导下活检。

二、诊断标准

1. Miami 标准: 2012 年 Meining 等^[6]制定了 pCLE 鉴别良恶性胆道狭窄的标准分类(Miami 分类), 并通过一项多中心研究来检验, 高度提示胆管恶性肿瘤的图像特征包括: 粗大的白色条带(>20 μm)、粗大的黑色条带(>40 μm)、黑色团块、上皮结构(绒毛状和腺体)或荧光素渗漏; 正常胆管图像特征为薄黑带和薄白带(<20 μm)。进一步分析表明, 将两种或两种以上图像标准结合使用, 可显著提高诊断恶性胆道狭窄的灵敏度和阳性预测值, 但同时降低了诊断的特异度。使用多个图像标准鉴别良恶性胆管狭窄的准确性仍需要大样本前瞻性研究进一步验证。

2. Paris 标准: 为提高胆管狭窄分类的特异度并降低反应性改变(慢性炎症、支架相关的改变或之前的内镜手术)相关的假阳性率, Caillol 等^[9]提出了与良性炎症改变相关的诊断标准(Paris 分类)。Paris 分类以 Miami 分类标准为基础, 增加了良性炎症狭窄的 4 个图像特征: 血管充血、黑色带鳞片的颗粒状图案、腺体间隙增大和网状结构增粗。研究发现, 对未置入胆道支架的患者行 pCLE 检查, 利用 Miami 标准诊断的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确率分别为 88%、75%、64%、92% 和 79%, 而 Paris 分类分别为 63%、88%、71%、82% 和 79%。在置入胆道支架的患者中, 利用 Miami 标准诊断的敏感度、特异度、阳性预测值、阴性预测值和准确率分别为 88%、36%、23%、93% 和 45%, Paris 分类标准分别为 63%、73%、31%、91% 和 71%。可见 Paris 分类是对 Miami 分类的改进, 提高了 pCLE 诊断良性炎症狭窄的准确性。2015 年 Kahaleh 等^[10]利用 Paris 标准评价 pCLE 对炎症性胆管狭窄的诊断价值, 结果表明 Paris 分类可提高诊断性质不明胆管狭窄的特异度(83.3% 比 67%)。但这种分类标准仍需更大样本的多中心前瞻性研究进一步验证。

三、pCLE 在胆管狭窄中的应用

pCLE 能在胆道内进行实时组织病理学检查, 目前国外多项研究表明 pCLE 在性质不明胆道狭窄中具有较高的准确性, 可对恶性肿瘤患者进行早期诊断, 改善患者预后, 同时有助于排除胆管恶性肿瘤, 减少不必要的手术切除及频繁的长期随访。

2008 年 Meining 等^[11]报道对 14 例胆道狭窄患者(良性 8 例, 恶性 6 例)进行 pCLE 检查, 将共聚焦探头通过胆道镜的工作通道进入胆道对黏膜进行成像, 之后在相同区域进行靶向活检。pCLE 对肿瘤的敏感度、特异度和总体诊断准确

率分别为 83%、88% 和 86%, 传统组织取样方法的灵敏度为 50%。研究初步表明 pCLE 可显著提高诊断胆管癌的敏感度, 并证明其是一种很有发展前景的诊断工具。

一项大型多中心前瞻性研究利用 Miami 标准对 89 例同时接受 ERCP 和 pCLE 的患者(61 例性质不明胆道狭窄)进行研究, 评估 pCLE 诊断的准确性^[5]。对高度怀疑恶性肿瘤患者进行 1 个月的随访, 最终确诊 40 例患者为恶性肿瘤。pCLE 检测恶性肿瘤的敏感度、特异度、阳性预测值和阴性预测值分别为 98%、67%、71% 和 97%, 而组织病理学取样分别为 45%、100%、100% 和 69%。pCLE 的总准确率为 81% (95% CI: 72%~88%), 而组织病理学的总准确率为 75% (95% CI: 66%~83%)。研究表明, ERCP 结合 pCLE 比 ERCP 结合组织取样具有更高的准确率(90% 比 73%, $P < 0.001$)。与组织取样相比, pCLE 具有较高的敏感度和阴性预测值, 这可能减少重复采样, 延长后续采样的时间间隔(如果 pCLE 显示良性)。该研究还比较了利用胆胰管镜与导管插入之间行 pCLE 准确性的差异, 两者差异无统计学意义。

Giovannini 等^[12]对 37 例因取石(7 例)或胆管狭窄(30 例)行 pCLE 检查的患者进行分析, 最终诊断结果显示: 正常胆总管 7 例, 恶性狭窄 23 例(4 例壶腹癌, 13 例胆管癌和 6 例胰腺癌)和 7 例炎症性狭窄(4 例慢性胰腺炎, 1 例肝空肠吻合术后狭窄, 1 例胆囊切除术后胆总管狭窄和 1 例原发性硬化性胆管炎)。pCLE 预测恶性肿瘤的准确率为 86%, 敏感度为 83%, 特异度为 75%, 而标准组织病理学的准确率、敏感度和特异度均较低, 分别为 53%、65% 和 53%。

在 2015 年 Slivka 等^[13]通过一项多中心前瞻性研究对 112 例性质不明胆管狭窄患者(71 例为恶性狭窄)进行评估, 验证了 pCLE 对性质不明胆管狭窄具有较高的准确性。结果显示单纯组织活检的敏感度为 56%, 特异度为 100%, 准确率为 72%; ERCP 联合 pCLE 的敏感度为 89%, 特异度为 71%, 准确率为 82%; ERCP 联合 pCLE 和组织活检的敏感度为 89%, 特异度为 88%, 准确率为 88%。上述结果表明 pCLE 联合组织活检可以提高诊断胆管恶性肿瘤的敏感度和准确率, 有利于胆管恶性肿瘤的早期诊断和治疗, 避免诊断的延误, 改善患者预后, 减少重复进行 ERCP 的次数和节省患者时间及费用。

原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)是一种自身免疫性肝病, 主要表现为多灶性胆道狭窄和慢性胆汁淤积。PSC 中胆管癌的发生率为 7%~14%^[14]。尽管目前有多种组织取样方法, PSC 中胆管癌的检测仍具有挑战性。一项回顾性研究评估了 pCLE 在 15 例 PSC 患者中的技术可行性和特征, 采用组织病理学、肝移植或随访 12 个月为金标准, pCLE 诊断的敏感度 100%, 特异度 61%, 阳性预测值 22.2%, 阴性预测值为 100%, 而同期组织采样技术分别为 0、94.4%、0 和 89.5%。pCLE 对诊断恶性肿瘤的高敏感度和排除肿瘤的高阴性预测值, 有可能对 PSC 患者的胆道狭窄进行分层^[15]。目前一项多中心前瞻性研究正在进一步评估其准确性。

四、观察者间一致性和学习曲线

Meining 等^[6]制定 Miami 标准的同时,使用来自 42 例患者的 pCLE 视频对 4 名研究人员进行了观察者间一致性评估。大多数标准的观察者间一致性是中等的。一致性至少可接受的标准为:薄黑带(Kappa 值 0.49)、增粗的黑色条带(Kappa 值 0.47)、薄白带(Kappa 值 0.43)和上皮的可见性(Kappa 值 0.56)。最近的一项研究,采用 Miami 分类,使用 25 例不明原因胆道狭窄患者的 pCLE 视频序列来评估 6 名观察者之间的一致性^[16]。观察员间一致性从“差”到“好”不等。对于最终诊断,观察者之间的一致性较低(Kappa 值 0.03~0.19)。这些结果表明需要图像解释的标准化和进一步的医生培训来提高 pCLE 成像的可靠性,增加 pCLE 在性质不明胆道狭窄诊断中的应用。

目前评价内镜医师利用 pCLE 的学习曲线的数据有限。一项多中心注册研究对前 45 例患者(队列 1)和后 44 例患者(队列 2)的 pCLE 诊断准确性进行了比较。敏感度[97% (95% CI: 87%~100%)]比 100% (95% CI: 71%~100%) 和特异度[55% (95% CI: 27%~80%)]比 71% (95% CI: 55%~84%) 无统计学差异。然而,队列 2 在获得 pCLE 视频序列和 pCLE 图像解释的容易程度上略有提高,两组患者在组织取样的难易程度和 pCLE 手术时间上无统计学差异^[5]。

综上所述,pCLE 是一种具有较高临床价值的诊断性质不明胆道狭窄的新型技术,它能在胆道内精确定位,并进行实时组织病理学检查。pCLE 的高敏感度和阴性预测值对性质不明胆道狭窄患者的风险分层有重要影响,提高诊断的整体准确性,有助于及时进行手术切除并确定随访的时间间隔。作为一种新兴的成像技术,仍需要大样本前瞻性研究数据进一步验证其诊断标准及诊断实用性。同时应加强对内镜医师的相关培训,提高内镜医师间对图像解释的一致性,从而更好地将这项新技术应用于临床。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Wallace MB, Fockens P. Probe-based confocal laser endomicroscopy [J]. *Gastroenterology*, 2009, 136 (5): 1509-1513. DOI: 10.1053/j.gastro.2009.03.034.
- [2] Lazaridis KN, Gores GJ. Cholangiocarcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128 (6): 1655-1667. DOI: 10.1053/j.gastro.2005.03.040.
- [3] Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, et al. Cholangiocarcinoma [J]. *Lancet*, 2005, 366 (9493): 1303-1314. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67530-7.
- [4] Khashab MA, Fockens P, Al-Haddad MA. Utility of EUS in patients with indeterminate biliary strictures and suspected extrahepatic cholangiocarcinoma (with videos) [J]. *Gastrointest Endosc*, 2012, 76 (5): 1024-1033. DOI: 10.1016/j.gie.2012.04.451.
- [5] Meining A, Chen YK, Pleskow D, et al. Direct visualization of indeterminate pancreaticobiliary strictures with probe-based confocal laser endomicroscopy: a multicenter experience [J]. *Gastrointest Endosc*, 2011, 74 (5): 961-968. DOI: 10.1016/j.gie.2011.05.009.
- [6] Meining A, Shah RJ, Slivka A, et al. Classification of probe-based confocal laser endomicroscopy findings in pancreaticobiliary strictures [J]. *Endoscopy*, 2012, 44 (3): 251-257. DOI: 10.1055/s-0031-1291545.
- [7] Smith I, Kline PE, Gaidhane M, et al. A review on the use of confocal laser endomicroscopy in the bile duct [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2012, 2012: 454717. DOI: 10.1155/2012/454717.
- [8] Kiesslich R, Burg J, Vieth M, et al. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo [J]. *Gastroenterology*, 2004, 127 (3): 706-713. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.06.050.
- [9] Caillou F, Filoche B, Gaidhane M, et al. Refined probe-based confocal laser endomicroscopy classification for biliary strictures: the Paris Classification [J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58 (6): 1784-1789. DOI: 10.1007/s10620-012-2533-5.
- [10] Kahaleh M, Giovannini M, Jamidar P, et al. Probe-based confocal laser endomicroscopy for indeterminate biliary strictures: refinement of the image interpretation classification [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2015, 2015: 675210. DOI: 10.1155/2015/675210.
- [11] Meining A, Frimberger E, Becker V, et al. Detection of cholangiocarcinoma in vivo using miniprobe-based confocal fluorescence microscopy [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2008, 6 (9): 1057-1060. DOI: 10.1016/j.cgh.2008.04.014.
- [12] Giovannini M, Bories E, Monges G, et al. Results of a phase I-II study on intraductal confocal microscopy (IDCM) in patients with common bile duct (CBD) stenosis [J]. *Surg Endosc*, 2011, 25 (7): 2247-2253. DOI: 10.1007/s00464-010-1542-8.
- [13] Slivka A, Gan I, Jamidar P, et al. Validation of the diagnostic accuracy of probe-based confocal laser endomicroscopy for the characterization of indeterminate biliary strictures: results of a prospective multicenter international study [J]. *Gastrointest Endosc*, 2015, 81 (2): 282-290. DOI: 10.1016/j.gie.2014.10.009.
- [14] De Bellis M, Sherman S, Fogel EL, et al. Tissue sampling at ERCP in suspected malignant biliary strictures (Part 1) [J]. *Gastrointest Endosc*, 2002, 56 (4): 552-561. DOI: 10.1067/mge.2002.128132.
- [15] Heif M, Yen RD, Shah RJ. ERCP with probe-based confocal laser endomicroscopy for the evaluation of dominant biliary stenoses in primary sclerosing cholangitis patients [J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58 (7): 2068-2074. DOI: 10.1007/s10620-013-2608-y.
- [16] Talreja JP, Sethi A, Jamidar PA, et al. Interpretation of probe-based confocal laser endomicroscopy of indeterminate biliary strictures: is there any interobserver agreement? [J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57 (12): 3299-3302. DOI: 10.1007/s10620-012-2338-6.

(收稿日期:2020-04-26)

(本文编辑:周昊)