

·论著·

C型切开法内镜黏膜下剥离术在直肠神经内分泌肿瘤中的应用研究

吴秋丽¹ 苏怀盈² 林淑莹¹ 何壬松¹ 陈相波¹¹福建省泉州市第一医院内窥镜室,泉州 362000;²福建省泉州市第一医院影像科,泉州 362000

通信作者:陈相波,Email:colobo@sina.com

【摘要】 目的 评价 C 型切开法内镜黏膜下剥离术(C-type endoscopic submucosal dissection, C-ESD)治疗直肠神经内分泌肿瘤(neuroendocrine tumors, NEN)的临床效果。方法 回顾性分析 2018 年 1 月—2021 年 7 月期间在福建省泉州市第一医院内窥镜室行 ESD 治疗的 55 例直肠 NEN 患者资料,按治疗方案分为 C-ESD 组(28 例)与传统 ESD 组(27 例),比较两组剥离时间、剥离速度、黏膜下层注射次数、整块切除率、治愈性切除率及术后并发症发生率情况。结果 两组基本资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。C-ESD 组剥离时间(13.8 ± 4.2)min,传统 ESD 组为(19.9 ± 3.9)min,差异有统计学意义($t=5.649, P<0.001$);C-ESD 组剥离速度(0.08 ± 0.04) cm^2/min ,快于传统 ESD 组的(0.06 ± 0.04) cm^2/min ($t=2.218, P=0.031$);C-ESD 组黏膜下注射次数 2(1,2)次,少于传统 ESD 组的 3(2,3)次,差异有统计学意义($Z=-8.701, P<0.001$)。两组病灶均整块切除。C-ESD 组治愈性切除率 100.0%(28/28),传统 ESD 组为 88.9%(24/27),差异有统计学意义($P=0.011$)。传统 ESD 组术后发生 7 例并发症,其中 1 例迟发性出血,5 例迟发性穿孔和 1 例固有肌层损伤,C-ESD 组无相关并发症发生,差异有统计学意义($P=0.004$)。结论 C-ESD 治疗结直肠 NEN 可缩短剥离时间,提高剥离速度,减少黏膜下层注射次数,提高治愈性切除率,减少并发症,是一种安全有效的治疗策略。

【关键词】 神经内分泌瘤; 直肠; 内镜黏膜下剥离术; C 型切开法

基金项目:泉州市科技计划项目(2018Z067)

Application of C-type incision to endoscopic submucosal dissection for the treatment of rectal neuroendocrine tumors

Wu Qiuli¹, Su Huaiying², Lin Shuying¹, He Rensong¹, Chen Xiangbo¹¹Department of Endoscopy, Quanzhou First Hospital of Fujian Province, Quanzhou 362000, China;²Department of Medical Imaging, Quanzhou First Hospital of Fujian Province, Quanzhou 362000, China

Corresponding author: Chen Xiangbo, Email: colobo@sina.com

【Abstract】 Objective To evaluate the clinical efficacy of C-type endoscopic submucosal dissection (C-ESD) for rectal neuroendocrine tumors (NEN). **Methods** The retrospective analysis was performed on data of 55 patients who underwent ESD for rectal NEN at the Department of Endoscopy in Quanzhou First Hospital from January 2018 to July 2021. Patients were divided into the C-ESD group ($n=28$) and the conventional ESD group ($n=27$). The dissection time, the dissection speed, the number of submucosal injections, the enbloc resection rate, the curative resection rate and the rate of postoperative complications of the two groups were compared. **Results** There were no statistically significant differences in basic information between the two groups ($P>0.05$). The dissection time was 13.8 ± 4.2 min in the C-ESD group and 19.9 ± 3.9 min in the conventional ESD group with statistically significant difference ($t=5.649, P<0.001$). The dissection speed in the C-ESD group was 0.08 ± 0.04 cm^2/min , which was faster than $0.06\pm$

DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20211230-00577

收稿日期 2021-12-30 本文编辑 朱悦

引用本文:吴秋丽,苏怀盈,林淑莹,等. C型切开法内镜黏膜下剥离术在直肠神经内分泌肿瘤中的应用研究[J]. 中华消化内镜杂志, 2023, 40(1): 53-57. DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20211230-00577.



0.04 cm²/min in the conventional ESD group ($t=2.218, P=0.031$). The number of submucosal injections in the C-ESD group was less than that in the conventional ESD group [2 (1, 2) VS 3 (2, 3), $Z=-8.701, P<0.001$]. The lesions were en bloc resected in both groups. The curative resection rate in the C-ESD group was 100.0% (28/28) and 88.9% (24/27) in the conventional ESD group with statistically significant difference ($P=0.011$). There were 7 cases of postoperative complications in the conventional ESD group, including 1 delayed bleeding, 5 delayed perforation and 1 muscularis propria injury, while no postoperative complications occurred in the C-ESD group ($P=0.004$). **Conclusion** C-ESD is a safe and effective treatment strategy for colorectal NEN, which can shorten the dissection time, improve the dissection speed, reduce the number of submucosal injections, improve the curative resection rate, and reduce complications.

【Key words】 Neuroendocrine tumors; Rectum; Endoscopic submucosal dissection; C-type incision

Fund program: Quanzhou Science and Technology Program (2018Z067)

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasms, NEN)是由黏膜深部的神经内分泌细胞发展而来的低度恶性肿瘤,近年来其发病率有升高趋势^[1],约67%的NEN发生于胃肠道,直肠多发,占有NEN的12.6%^[2-3]。较大直肠NEN具有高度转移性,生存率也显著降低,因此早发现及早治疗显得尤为重要^[4]。内镜下局部切除被认为是NEN标准的根治性治疗措施^[5],直肠NEN多位于黏膜下层,内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)可将病变从黏膜下层深层处完整剥离,不仅获得整块标本,并能获得更高的黏膜下层剥离深度,提高治愈性切除率。ESD避免了外科手术的并发症,使患者正常器官功能得以保存,术后生活质量高,开展此类治疗的医院较多^[6-8]。

NEN多为小于1 cm的病灶^[9],环周预切开后再次黏膜下注射储水能力较差,常导致对病变进行黏膜下层无水剥离,手术视野差,易损伤肌层,并发生病理切缘阳性或穿孔。ESD成功的关键在于手术过程中获得良好的黏膜下储水能力,提高视野暴露程度,获得理想的牵引力。本研究对直肠NEN的治疗策略进行深入研究,改良ESD切开方式,将其改为非全周切开的C型切开方式(C-ESD),保留一部分未切开黏膜,提供牵引力并提高黏膜下层储水能力,改善术野清晰度,使切缘阴性及肌层保护得以实现,相关并发症减少。传统ESD与C-ESD治疗结直肠NEN的临床研究总结如下。

资料与方法

一、临床资料

采用回顾性队列研究方法,分析福建省泉州市第一医院2018年1月—2021年7月期间收治的行ESD治疗的55例直肠NEN患者的基本资料。其中

28例病灶行C-ESD治疗,27例病灶行传统ESD治疗。本研究符合泉州市第一医院伦理审查要求,伦理审批号:泉一伦[2018]219号。

患者入组标准:(1)病变长径<1.5 cm,WHO分级G1或G2;(2)术前超声内镜显示肿瘤位于黏膜层或黏膜下层,未侵犯固有肌层,CT显示无淋巴结及远处转移;(3)患者术前均签署知情同意书。排除标准:(1)凝血功能障碍;(2)超声内镜示NEN侵犯固有肌层;(3)妊娠期妇女;(4)血流动力学不稳定。所有ESD治疗由知识水平和经验相当的内镜医师完成,每位内镜医师至少完成80例上消化道ESD和80例结直肠ESD。

二、手术方法

1.手术器械:日本Olympus GIF-Q260J副注水内镜,D-201-11804透明帽,KD-650L Dual刀,FD-410LR止血钳,冲水泵,CO₂气泵等;德国ERBE ICC-200高频电切装置;杭州安杰思公司AG-5108-1950-135-9夹子装置。

2.ESD操作方法

C-ESD组(图1):(1)标记,黏膜下注射;(2)C型切开:用Dual刀切开肿瘤约3/4周黏膜,保留约1/4黏膜不切开;(3)黏膜下层剥离:快速剥离已切开黏膜层下方的黏膜下层深层,由肛侧向口侧剥离,依次剥离黏膜下层接近保留段,保留段保留1~2 mm黏膜下层;(4)环周切开:将保留段黏膜处行黏膜下注射,电刀切开保留段黏膜,实现全周切开,剥离剩余黏膜下层;(5)肿瘤完整剥离,取出标本;(6)创面电凝止血处理,钛夹关闭创面和标本固定。

传统ESD组(图2):(1)标记,黏膜下注射;(2)用电刀切开肿瘤全周黏膜;(3)用电刀沿肿瘤与正常组织的黏膜下层深层剥离;(4)完整切除肿瘤,并取出标本;(5)处理创面和标本。

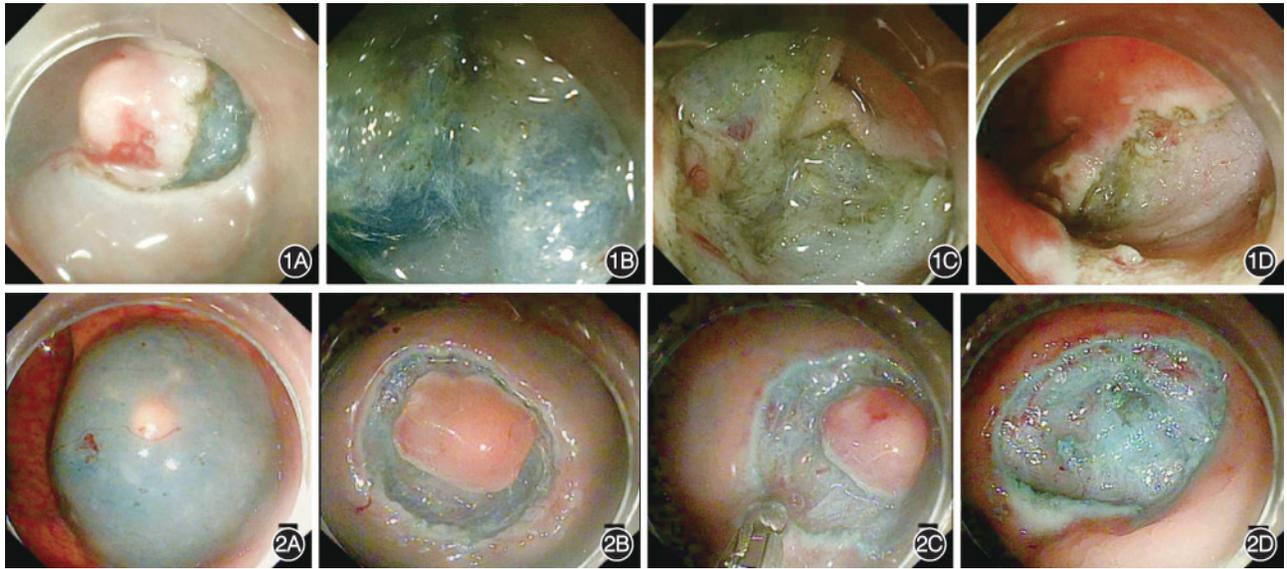


图1 C型切开法内镜黏膜下剥离术过程 1A:C型切开黏膜,黏膜下储水较好;1B:黏膜下层剥离,储水效果好;1C:环周切开后剩余黏膜下层;1D:剥离后创面 图2 传统内镜黏膜下剥离术过程 2A:黏膜下注射后充分隆起;2B:环周切开后黏膜下储水消失明显;2C:黏膜下剥离,黏膜下储水基本消失;2D:剥离后创面

三、观察指标

(1)剥离时间:病灶开始剥离到病灶完整剥离下来所用时间;(2)剥离速度:操作面积除以剥离时间,操作面积 $= (\pi \times \text{标本长径} \times \text{标本短径}) / 4$;(3)整块切除:病灶以一整块形式切除,病灶无破损;(4)治愈性切除:完整切除的标本,各切缘均未见肿瘤残留;(5)黏膜下层注射次数;(6)并发症:穿孔、出血、肌层损伤发生例数。

四、统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计学分析,满足正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,非正态分布计量资料用 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用Mann-Whitney U 检验;计数资料用例数或百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验或Fisher精确概率法。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. 一般资料:55例患者中,男31例、女24例,年龄 (47.1 ± 10.2) 岁,均为单发肿瘤,病变长径0.5~1.2 cm,分期均为I期,术后病理类型均为NEN;28例病灶行C-ESD治疗,27例病灶行传统ESD治疗,两组在性别、年龄和病变大小方面,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

2. 手术情况:55例患者均顺利实施内镜治疗,C-ESD组剥离时间较传统ESD组短($P < 0.001$),剥离速度快于传统ESD组($P = 0.031$),黏膜下注射次

数少于传统ESD组($P < 0.001$),具体数据见表1。

3. 术后病理:C-ESD组术后各切缘均为阴性。传统ESD组3例术后提示切缘累及;传统ESD组肿瘤邻近基底切缘例数(18例)多于C-ESD组(7例),差异有统计学意义($\chi^2 = 9.625, P = 0.002$)。

4. 并发症:C-ESD组患者术后均未发生并发症,也无中转外科手术患者;传统ESD组1例术后迟发性出血,需要内镜下电凝止血及钛夹钳夹,5例术后穿孔,均保守治疗好转出院,未进一步外科手术,1例肌层损伤。

讨 论

NEN可在全身各个系统和部位发生,以直肠多见。直肠NEN几乎无类癌综合征,无典型临床症状,早期诊断比较困难。随着肠镜的普及,早期NEN的发现得以实现。对于早期无淋巴结转移的结直肠NEN可行内镜下局部切除,包括圈套器电切、EMR、ESD等;但ESD可获得整块局部切除,进行黏膜下深层剥离或紧贴固有肌层浅层剥离,获得最佳的病理标本切缘,提供准确的病理诊断,提高治愈性切除率,减少病变残留及复发风险,目前ESD已成为消化道早期肿瘤标准术式^[10]。但ESD技术要求高,操作难度大,手术时间长,容易出现穿孔、出血等并发症^[11-12]。因直肠NEN多位于黏膜下层,随着ESD治疗的发展,内镜治疗后病变基底切缘阳性的病例报道也逐渐增多^[6]。陈建平^[13]报

表 1 不同术式治疗的直肠神经内分泌肿瘤患者临床病理资料比较

临床资料	C-ESD 组 (n=28)	传统 ESD 组 (n=27)	统计量	P 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	48.1 ± 11.2	46.2 ± 9.1	$t=0.681$	0.499
性别(男/女)	16/12	15/12	$\chi^2=0.014$	0.906
病变长径[cm, $M(Q_1, Q_3)$]	0.4(0.3, 0.6)	0.5(0.4, 0.6)	$Z=-1.157$	0.247
剥离时间(min, $\bar{x} \pm s$)	13.8 ± 4.2	19.9 ± 3.9	$t=5.649$	<0.001
剥离速度(cm^2/min , $\bar{x} \pm s$)	0.08 ± 0.04	0.06 ± 0.04	$t=2.218$	0.031
黏膜下层注射次数[次, $M(Q_1, Q_3)$]	2(1, 2)	3(2, 3)	$Z=-8.701$	<0.001
整块切除[例(%)]	28(100.0)	27(100.0)		1.000 ^a
治愈性切除[例(%)]	28(100.0)	24(88.9)		0.011 ^a
浸润深度(黏膜层/黏膜下层)	2/26	1/26	$\chi^2=0.000$	1.000
术后并发症[例(%)]				0.004 ^a
穿孔	0(0.0)	5(18.5)		
出血	0(0.0)	1(3.7)		
肌层损伤	0(0.0)	1(3.7)		

注:ESD 指内镜黏膜下剥离术;C-ESD 指 C 型切开法内镜黏膜下剥离术;^a采用 Fisher 精确概率法

道 71 例直肠 NEN 患者行 ESD 治疗后, 2 例出现病理切缘阳性, 补行经肛门局部切除术, 术后标本未见残留直肠 NEN 组织。郭花等^[14]也报道 17 例直肠 NEN 的患者行 ESD 治疗后, 3 例患者显示术后病理切缘可见残留 NEN 组织, 给予追加外科手术治疗。

由于直肠 NEN 的特殊性, ESD 治疗还存在以下几个问题: (1) 直肠 NEN 肿瘤较小, 仅用透明帽暴露黏膜下层有一定困难; (2) 直肠 NEN 一般位于黏膜下层, 向黏膜下层及黏膜层方向生长, 在 ESD 剥离过程中, 黏膜下层液体垫扩散较快, 容易造成“干剥”现象, 电刀容易灼烧基底切缘, 造成基底切缘阳性, 导致病理无法准确评估基底切缘情况。为了解决以上问题, 我们对传统 ESD 进行改良, 采用 C 型切开法辅助 ESD 治疗, 它的优点为以下几个方面。

1. 提高手术视野及提供牵引力。C 型切开法将全周环形切开黏膜方式改为 C 型非全周切开, 保留口侧 1/4 正常黏膜, 保留段黏膜可在剥离过程中持续提供向口侧的牵引力, 使剥离过程中组织张力减弱得以改善, 同时减少已剥离病变自身的影响, 利于手术视野的暴露。

2. 减少手术剥离时间。在相同的重力位情况下, C 型切开后, 由于还有口侧保留正常黏膜, 储水能力变强, 仅需 1~2 次黏膜下注射就可进行完整剥离, 节省手术时间; 同时病变可实现保留黏膜自牵引, 不需要额外的牙线和钳夹牵引, 节省手术时间。

3. 提高手术病理标本切缘阴性率, 减少术后复发。由于 C 型切开后, 水垫维持时间较长, 可帮助实现剥离过程在内镜直视下进行, 减少盲切风险, 黏膜下层暴露清晰, 可以沿黏膜下层深层或固有肌

层浅层剥离, 避免水垫过早消失导致的视野不清及切除深度过深而穿孔等。此外, 该方法降低盲目电切时电刀碰触肿瘤造成病理切缘阳性的风险。

4. 减少并发症发生风险。由于病灶较小, C 型切开后, 水垫维持也较久, 剥离过程中可以更容易发现血管, 对其预处理, 减少术中出血, 防止对血管电凝止血过久造成手术层次模糊不清, 导致切缘阳性、迟发性穿孔或改变手术方式^[15]; 并且可以避免环周切除后水垫消失导致的“干剥”, 减少穿孔的风险。本研究中, 传统 ESD 组出现 5 例穿孔, 术中均无明确较大穿孔, 但术后影像学复查, 均发现穿孔, 考虑为全周切开后, 水垫消失导致的“干剥”引起局部肌层小而深的损伤进而穿孔发生, 5 例迟发性穿孔均保守治疗后好转。由于行 ESD 的医师有多年 ESD 经验, 暂不考虑为初学者持镜稳定性较差导致的穿孔可能。C-ESD 组由于黏膜下储水较好, 剥离视野清晰, 未造成明显肌层损伤, 均未出现穿孔病例。1 例传统 ESD 组术后出血病例考虑为术后创面电凝止血不彻底导致的迟发性出血, 考虑与手术方式选择关系不大。

同时, C-ESD 也有缺点, 在黏膜下层剥离的过程中, 由于后方的 1/4 黏膜未切开, 可能出现 NEN 后方黏膜过多剥离的可能, 但由于 NEN 病灶较小, 并且直肠管腔较大, 不易出现狭窄并发症, 对于偶有后方黏膜的少量增加剥离, 对患者影响不大。同时我们在剥离后方的 1/4 黏膜时, 可以利用透明帽压住已经剥离的黏膜层, 在后方未剥离的黏膜下进行注射后, 可清晰看到 NEN 边缘进行剥离, 保证 NEN 后方黏膜的侧切缘阴性。因此对于直肠 NEN, 建议采用 C-ESD 方式, 使 NEN 的治疗更有效。

本研究通过回顾性分析直肠 NEN 传统 ESD 和 C-ESD 疗效,发现 C-ESD 借助未切开段产生的口侧牵引力和黏膜下层注射时间的延长,操作速度、并发症和病理切缘阴性率明显优于传统 ESD 组,较其他辅助牵引技术而言,该方法不需要额外的器械和装置,可以简化手术,提供良好的手术视野,简单经济,适合在各级内镜中心中应用。然而由于本研究为回顾性研究,样本量仍较小,随访时间跨度较大,有些患者仅随访 2 个月,有待更大样本和前瞻性研究进一步证实。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 吴秋丽:设计研究方案,调研整理文献,设计论文框架,撰写及修订论文;苏怀盈:对研究对象进行影像学诊断及分析;林淑莹、何壬松:提出研究选题,实施研究,采集整理数据,统计分析;陈相波:工作支持,获取研究经费,技术或材料支持,指导性支持,终审论文

参 考 文 献

- [1] Strosberg JR, Mizuno N, Doi T, et al. Efficacy and safety of pembrolizumab in previously treated advanced neuroendocrine tumors: results from the phase II KEYNOTE-158 study[J]. Clin Cancer Res, 2020, 26(9): 2121-2130. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3014.
- [2] Kooyker AI, Verbeek WH, van den Berg JG, et al. Change in incidence, characteristics and management of colorectal neuroendocrine tumours in the Netherlands in the last decade [J]. United European Gastroenterol J, 2020, 8(1): 59-67. DOI: 10.1177/2050640619865113.
- [3] Judd S, Nangia S, Levi E, et al. Rectal carcinoid tumor: a delayed localized recurrence 23 years after endoscopic resection[J]. Endoscopy, 2014, 46(Suppl 1): E555-556. DOI: 10.1055/s-0034-1377950.
- [4] 孟曼, 令狐恩强, 赵坡, 等. 影响直肠神经内分泌肿瘤预后的相关因素分析[J]. 中华消化内镜杂志, 2013, 30(7): 361-364. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2013.07.001.
- [5] Paganelli G, Sansovini M, Nicolini S, et al. ¹⁷⁷Lu-PRRT in advanced gastrointestinal neuroendocrine tumors: 10-year follow-up of the IRST phase II prospective study[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2021, 48(1): 152-160. DOI: 10.1007/s00259-020-04873-0.
- [6] Chen T, Yao LQ, Xu MD, et al. Efficacy and safety of endoscopic submucosal dissection for colorectal carcinoids[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2016, 14(4): 575-581. DOI: 10.1016/j.cgh.2015.07.048.
- [7] 刘涛, 柳萍, 吴涛, 等. 直肠神经内分泌肿瘤的临床病理特征和手术方式选择及其预后分析[J]. 中华胃肠外科杂志, 2017, 20(9): 1015-1019. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2017.09.012.
- [8] CSCO 神经内分泌肿瘤专家委员会. 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤专家共识[J]. 临床肿瘤学杂志, 2013, 18(9): 815-832. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0460.2013.09.012.
- [9] 郭花, 王昕, 王晓伟, 等. 胃肠道神经内分泌肿瘤的内镜下表现及治疗[J]. 中华消化内镜杂志, 2015, 32(9): 608-612. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2015.09.007.
- [10] Goto O, Takeuchi H, Kitagawa Y, et al. Endoscopic submucosal dissection (ESD) and related techniques as precursors of "new notes" resection methods for gastric neoplasms[J]. Gastrointest Endosc Clin N Am, 2016, 26(2): 313-322. DOI: 10.1016/j.giec.2015.12.006.
- [11] Kang DU, Choi Y, Lee HS, et al. Endoscopic and clinical factors affecting the prognosis of colorectal endoscopic submucosal dissection-related perforation[J]. Gut Liver, 2016, 10(3): 420-428. DOI: 10.5009/gnl15252.
- [12] Maselli R, Iacopini F, Azzolini F, et al. Endoscopic submucosal dissection: Italian national survey on current practices, training and outcomes[J]. Dig Liver Dis, 2020, 52(1): 64-71. DOI: 10.1016/j.dld.2019.09.009.
- [13] 陈建平, 赵建妹, 庄耘, 等. 直肠类癌内镜下治疗方法的选择及疗效评价[J]. 中华消化杂志, 2012, 32(2): 131-132. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2012.02.016.
- [14] 郭花, 盛剑秋, 金鹏, 等. 直肠类癌的内镜下诊断与治疗[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2012, 21(6): 525-527. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2012.06.010.
- [15] 方志恒, 汪全红, 钟平, 等. 内镜黏膜下剥离术治疗结直肠广基病变[J]. 中国普通外科杂志, 2013, 22(4): 479-484. DOI: 10.7659/j.issn.1005-6947.2013.04.019.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中华消化内镜杂志》2023 年可直接使用英文缩写的常用词汇

ERCP(内镜逆行胰胆管造影术)	POEM(经口内镜食管下括约肌切开术)	Hb(血红蛋白)
EST(经内镜乳头括约肌切开术)	NOTES(经自然腔道内镜手术)	PaO ₂ (动脉血氧分压)
EUS(超声内镜检查术)	MRCP(磁共振胰胆管成像)	PaCO ₂ (动脉血二氧化碳分压)
EUS-FNA(超声内镜引导下细针穿刺抽吸术)	GERD(胃食管反流病)	ALT(丙氨酸转氨酶)
EMR(内镜黏膜切除术)	RE(反流性食管炎)	AST(天冬氨酸转氨酶)
ESD(内镜黏膜下剥离术)	IBD(炎症性肠病)	AKP(碱性磷酸酶)
ENBD(经内镜鼻胆管引流术)	UC(溃疡性结肠炎)	IL(白细胞介素)
ERBD(经内镜胆道内支架放置术)	NSAIDs(非甾体抗炎药)	TNF(肿瘤坏死因子)
APC(氩离子凝固术)	PPI(质子泵抑制剂)	VEGF(血管内皮生长因子)
EVL(内镜下静脉曲张套扎术)	HBV(乙型肝炎病毒)	ELISA(酶联免疫吸附测定)
EIS(内镜下硬化剂注射术)	HBsAg(乙型肝炎病毒表面抗原)	RT-PCR(逆转录-聚合酶链反应)