



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2024.07.003

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2024.07.003>

· 论著 ·

小肠镜联合探头式共聚焦激光显微内镜对小肠疾病的观察研究

丁慧 陈慧敏 李晓波 沈煜枫 龚帅

[摘要] **目的** 探索小肠疾病在探头式共聚焦激光显微内镜(pCLE)图像中的特有表现,以揭示其在小肠疾病实时诊断中的潜在应用价值。**方法** 纳入 2023 年 2 月~2023 年 6 月我院接受小肠镜和 pCLE 检查的小肠疾病患者 48 例。结合组织病理学图片特征,分析小肠疾病在 pCLE 图像中的特殊征象。**结果** 回顾性分析采集的 pCLE 图像,可清晰观察到与小肠疾病病理诊断相符的一系列特殊征象,包括但不限于上皮细胞脱落、杯状细胞增多、腺体间距增宽、上皮连续性中断或缺失、腺体结构破坏、隐窝结构异常、荧光素钠渗漏、血管增粗迂曲等。**结论** pCLE 技术在小肠疾病的诊断中与病理特征具有一致性,其图像中观察到的特有表现可为小肠疾病的实时诊断提供依据,有一定的应用潜力。

[关键词] 小肠镜; 探头式共聚焦激光显微内镜; 小肠疾病; 临床观察

[中图分类号] R574.5

[文献标识码] A

Observation study of small bowel diseases by enteroscopy combined with probe-based confocal laser endomicroscopy Ding Hui, Chen Huimin, Li Xiaobo, Shen Yufeng, Gong Shuai. Department of Gastroenterology, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200001, China

[Abstract] **Objective** To explore the unique manifestations of small bowel diseases in probe-based confocal laser endomicroscopy (pCLE) images, with the aim of revealing its potential application value in the real-time diagnosis of small bowel diseases. **Methods** Forty-eight small bowel diseases patients who underwent enteroscopy and pCLE in our hospital from February, 2023 to June, 2023 were included. Combined with the feature of histopathology images, analyzed special signs of small bowel disease in pCLE image. **Results** Retrospective analysis of the collected pCLE images showed that a series of special signs consistent with the pathological diagnosis of small bowel diseases could be clearly observed, including but not limited to epithelial cell shedding, increased goblet cells, widened gland spacing, discontinuity or loss of epithelial integrity, destruction of glandular structure, abnormal crypt structure, leakage of fluorescein sodium, and thickening and tortuosity of blood vessels. **Conclusion** pCLE technology has the potential to be applied in the diagnosis of small bowel diseases with the consistent pathological characteristics, can provide the basis for the real-time diagnosis of small bowel diseases.

[Key words] Enteroscopy; Probe-based confocal laser endomicroscopy; Small bowel diseases; Clinical observation

小肠是消化系统中最长、表面积最大的器官,其功能对人体健康至关重要。由于环境、饮食等因素的影响,近年来小肠疾病的发病率呈增长趋势,其危害也越来越受到关注。消化系统疾病在我国疾病谱中占比较大,患病率居主要疾病第 4 位,而小肠疾病的发病率

相对较低,仅占胃肠道疾病的 1%~4%^[1]。小肠疾病种类繁多,包括炎症性肠病、小肠肿瘤、小肠息肉、小肠憩室及小肠血管病变等。我国小肠疾病以小肠炎症性疾病、肿瘤多见,其中老年人群以肿瘤、血管畸形多见,青年人群以克罗恩病发生率最高,整体发病率回肠多于空肠^[1]。小肠疾病起病隐匿,症状多样但缺乏特异性,加之过去缺乏有效的检查手段、确诊率低,极易漏诊和误诊^[2-4]。

随着内镜技术的不断发展,气囊辅助小肠镜(BAE)的出现使小肠疾病的诊断和治疗发生了变革性的进步。既往研究表明小肠镜对小肠疾病的诊断率

基金项目:上海交通大学医学院消化科学院年教育教学研究项目(JX20230104)

作者单位:200001 上海,上海交通大学医学院附属仁济医院消化内科 上海市消化疾病研究所

通讯作者:龚帅, E-mail: ericgong1226@sina.com; 沈煜枫, E-mail: shenyufeng@aliyun.com

为 43.0% ~ 81.3%^[5-6]。但小肠镜检查也存在一定的局限性,其对小肠的中段可能存在检查盲区,且操作复杂、对技术要求高,因此普及率并没有普通胃肠镜高。

探头式共聚焦激光显微内镜(pCLE)是目前国际上最新的内镜成像技术,传统内窥镜所能达到的检查部位 pCLE 均能达到^[7]。应用 pCLE 观察病灶表面形态学结构的同时,还能观察黏膜组织学结构,避免活检组织病理学诊断的等待时间,提高靶向活检的准确性,实现即时“光学活检”的目的^[8]。已有研究表明,pCLE 可用于体内分析毛细血管、淋巴管和上皮细胞的异常以及各种小肠疾病的诊断^[9]。还有可行性研究证明,pCLE 在双气囊小肠镜下应用于深部小肠是成功、安全的^[10]。但目前暂无临床研究对 BAE 联合探头式共聚焦激光显微内镜(pCLE)诊断小肠疾病的成像特征进行系统性描述。因此,本研究旨在深入分析小肠疾病在 pCLE 图像中的特征表现,以期评估 pCLE 技术在小肠疾病实时诊断中的潜在应用价值,通过识别和分析 pCLE 图像中的特有征象,期望为小肠疾病的早期诊断和精确治疗提供新的视角。

对象与方法

1. 对象:回顾性纳入 2023 年 2 月 ~ 2023 年 6 月在我院接受小肠镜和 pCLE 检查的小肠疾病患者 48 例,其中男 31 例,女 17 例,年龄 16 ~ 71 岁,平均年龄(37.65 ± 15.67)岁。纳入标准:(1)年龄 14 ~ 75 岁;(2)既往行小肠镜及共聚焦显微内镜检查;(3)病史清晰、数据完整。排除标准:(1)消化道恶性肿瘤;(2)妊娠及哺乳期;(3)存在明显的其他异常体征、实验室检查结果异常和临床疾病,经研究医生判断不适合纳入研究;(4)荧光素钠过敏试验阳性。本研究项目经我院伦理委员会批准(LY2023-226-B),所有患者均知情同意。

2. 方法

(1)检查前准备:充分告知患者,在检查前 1 天,开始低纤维流质饮食,避免有色食物,并于晚餐后禁食;经口途径检查者禁食 12 h,同时禁水 6 h;经肛途径者在术前 5 ~ 6 h 用聚乙二醇电解质散剂($69.56 \text{ mg} \times 2$)以 2 000 ml 水稀释,并在 2 h 内服用完毕。对于无法耐受一次性大剂量清洁剂的患者,可考虑分次服用,即一半剂量在检查前 1 晚服用,另一半剂量在检查当天提前 4 ~ 6 h 服用。每例患者均进行心电图、血常规、肝肾功能、凝血功能等检查,根据患者症状和检查结果决定小肠镜的进镜路径。为避免出现过敏不良反应,所有经静脉注射患者检查前均行荧光素钠过敏试验。

(2)术中观察:小肠镜操作由具有丰富小肠镜操作经验的内镜医师完成,采用富士公司 EN-580T 双气

囊小肠镜进镜。当达到目标病变时,静脉推注 2 ml 10% 的荧光素钠,启动共聚焦激光扫描系统,将共聚焦探头通过小肠镜活检钳道送入小肠肠腔内,以内镜头端轻轻贴附于被观察黏膜表面,观察并储存共聚焦激光扫描层面的图像。

(3)组织病理学检查:对取自观察区域的活检组织标本经 10% 福尔马林液固定后,进行石蜡包埋、切片和 HE 染色,作出病理诊断。

(4)数据收集:收集所有患者的人口统计学资料(年龄、性别)、入院时实验室检查结果(心电图、血常规、肝肾功能、凝血功能等)、小肠镜的进镜方式、小肠镜图像及报告、pCLE 图像、病理报告和出院诊断。

(5)pCLE 图像质量评估及控制:参考文献[11-12],将图像质量分为以下 3 个等级:好(图像无运动伪影,可以分清单个细胞);一般(图像有运动伪影,但可以分清组织的结构);差(图像伪影明显,无法对图像做出判断)。本研究中采集的所有 pCLE 图像均经过 2 名资深内镜医师的严格评估,两名医师一致评定为质量差的 pCLE 图像均被排除在后续分析外。基于 pCLE 视频和图片与组织学图像之间的相似性,通过协商一致的方式,形成对小肠疾病特有征象的初步共识。本研究团队共收集视频资料 60 段,最终筛选出 24 段高质量的视频,并导出 2316 张图片,用于进一步分析。

3. 统计学处理:计数资料以例数和百分比表示。

结 果

1. 48 例患者的人口学特征与疾病类型:48 例患者中,男 31 例,女 17 例。克罗恩病是最常见的诊断类型,这一结果与目前小肠疾病的流行病学趋势相吻合。其他包括 CMUSE、Meckel 憩室、P-J 综合征及肠炎、各 2 例,脂肪瘤、淋巴瘤、先天性小肠血管畸形、小肠梗阻及小肠炎性息肉各 1 例,不明原因腹痛、腹胀及不完全性肠梗阻等共 6 例。见表 1。

2. 29 例克罗恩病患者的小肠镜特征:29 例克罗恩病患者中接受单侧小肠镜检查 22 例,接受双侧小肠镜检查(即通过口腔和肛门两个途径进行)7 例;最终经口进镜 8 例,经肛门 28 例,其中 3 例经口未发现病灶;病变部位主要集中于回肠(28 例),在小肠镜检查中,最常见的镜下阳性特征是溃疡样改变(27 例),其次为狭窄(14 例),糜烂、铺路石样改变和淋巴滤泡增生则较少见。见表 2。

3. pCLE 下小肠黏膜结构图像特征:

(1)正常:小肠上皮细胞层排列整齐,细胞界限清晰;杯状细胞分布均匀、大而黑;隐窝结构清晰,形状规则,排列有序;小肠黏膜下的微血管网清晰可见,血管

表 1 48 例患者的人口学特征与疾病类型

人口学特征与疾病类型	例数(%)
性别	
男性	31(64.58)
女性	17(35.42)
疾病类型	
克罗恩病	29(60.42)
CMUSE	2(4.17)
Meckel 憩室	2(4.17)
P-J 综合征	2(4.17)
肠炎	2(4.17)
脂肪瘤	1(2.08)
淋巴瘤	1(2.08)
先天性小肠血管畸形	1(2.08)
小肠梗阻	1(2.08)
小肠炎性息肉	1(2.08)
其他 ^a	6(12.50)

注：^a：不明原因腹痛、腹胀、不完全性肠梗阻等

表 2 29 例克罗恩病患者的小肠镜特征

小肠镜特征	例数(%)
进镜方式	
单侧	22(75.86)
双侧	7(24.14)
进镜路径	
经口	8(8/36,22.22)
经肛门	28(28/36,77.78)
病变部位	
空肠	5(5/33,15.15)
回肠	28(28/33,84.85)
镜下表现	
溃疡样改变	27(93.10)
狭窄	14(48.28)
糜烂	1(3.45)
铺路石样改变	1(3.45)
淋巴滤泡增生	1(3.45)

走行规则,没有扩张或扭曲。见图 1。

(2) 隐窝异常:①隐窝排列不规则、扭曲、大小不一致,甚至局部隐窝融合的现象;②在某些炎症状态下,隐窝的开口可能会出现扩张;③也可能表现出局部隐窝炎症及炎症的不连续性,即隐窝之间的连接可能被破坏。见图 2。

(3) 上皮结构异常:①上皮厚薄不均:某些区域上皮细胞层明显增厚,而其他区域则相对变薄;②上皮中断:上皮细胞层的不连续,出现缺口或断裂;③上皮增厚:细胞层的显著增厚,细胞之间的界限可能变得模糊;④上皮细胞脱落:脱落的上皮细胞碎片可能散布在隐窝开口附近;上皮细胞脱落可能伴随炎症细胞(如中性粒细胞、淋巴细胞)的浸润,这些细胞在图像中可能呈现为黏膜中的小圆点状结构;⑤上皮杯状细胞增多。见图 3。

(4) 腺体结构改变:①腺体间距增宽:正常情况

下,肠道腺体紧密排列,间距均匀,腺体间距增宽意味着腺体之间的空隙比正常情况更宽;②腺体结构破坏:破坏的腺体可能看起来扭曲、变形或与周围的腺体明显不同,腺体排列紊乱或腺体缺失。见图 4。

(5) 血管结构改变:①血管数量增多;②血管增粗;③血管可能呈现出 irregular 的分支或扭曲的形状。见图 5。

(6) 荧光素钠渗漏:可能表现为黏膜表面或隐窝之间的荧光素钠的异常积累,这种积累通常显示为明亮的荧光信号,与周围正常区域形成对比,提示黏膜屏障受损。见图 6。

讨 论

pCLE 是一种先进的内镜技术,其通过一个微型探头将激光精确聚焦于黏膜表面,从而能获取非常详细的细胞层面图像。这种技术利用了共聚焦显微镜的原理,通过控制激光束的聚焦深度,只收集特定深度的荧光信号,显著提高了成像的清晰度和分辨率。因组织病理学检测对腺体血管的纹理、形态、排列的观察不敏感,pCLE 有更显著的优势。在进行 pCLE 操作时,为使图像对比更清晰,通常需使用荧光对比剂。荧光素钠是一种廉价、非诱变源性的对比剂,静脉注射后 20 秒内即可成像,作用时间大约可持续 30 分钟。静脉注射的荧光素钠在黏膜层中分布均匀,提供了对细胞、血管和结缔组织的高分辨率成像^[13]。然而,由于荧光素钠的药物动力学特性,其不会选择性地富集在胃肠上皮细胞的细胞核中,因此在 pCLE 图像中,细胞核的识别可能不如其他细胞结构清晰。荧光素钠渗漏是 pCLE 特有的表现,对病变的观察有独一无二的不可替代性。这意味着在 pCLE 图像中,细胞核可能不会显示出明显的荧光信号,而细胞质和其他细胞内结构由于荧光素钠的染色可能会更加突出^[14-15]。

本研究在应用中观察到正常的小肠黏膜及炎症性、出血性、肿瘤性病变在 pCLE 下都有较易辨别的特征性图像的改变。在使用 10% 荧光素钠对比剂的情况下,正常小肠黏膜上皮细胞层排列整齐,细胞界限清晰,呈现出一种均匀的荧光模式;杯状细胞在隐窝中分布均匀,呈现为大而黑的圆形结构;隐窝结构清晰可见,形状规则,排列有序,没有扭曲或不规则现象;黏膜下微血管网络规则,血管走行清晰,无扩张或扭曲,显示出良好的血管形态。这与病理组织学中的 HE 染色切片图像相似,都显示出有序的结构。

炎症性病变的 pCLE 图像特征改变包括:炎症区域的上皮细胞层可能出现结构紊乱,细胞界限模糊,这与病理组织学中观察到的炎症细胞浸润和上皮细胞损

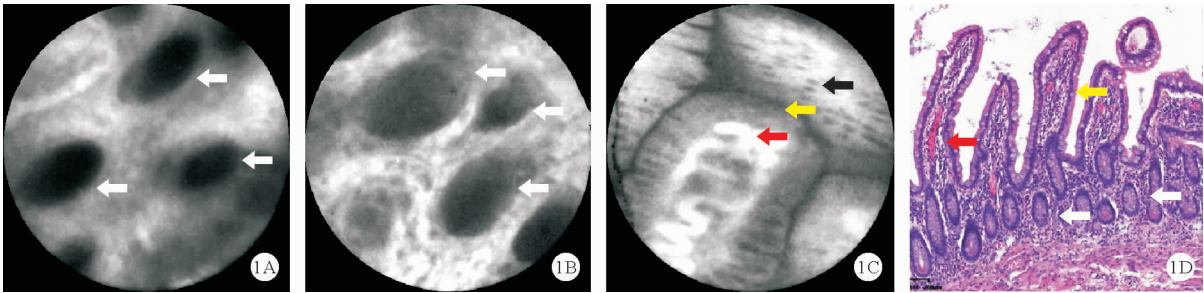


图1 pCLE 下正常小肠黏膜结构图像特征(A、B、C:共聚焦图片;D:小肠粘膜病理图,HE 染色, ×4;白色箭头均表示正常隐窝结构,形态规则;红色箭头均表示规则的血管结构;黄色箭头均表示正常的上皮结构,黑色箭头均表示杯状细胞,分布均匀;病理图源:中国临床病理数字病例库)

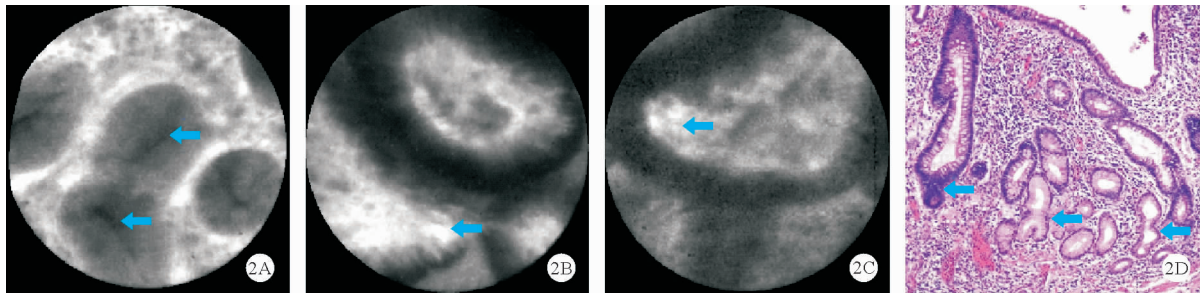


图2 pCLE 下小肠隐窝异常图像特征(A:隐窝结构异常及开口扩张;B:灶性隐窝炎;C:灶性隐窝炎症;D:小肠黏膜异常隐窝结构病理图,隐窝缩短,隐窝分支,隐窝炎,隐窝底部不与黏膜肌层相贴,HE 染色, × 20;如箭头所示;病理图源:WebPathology)

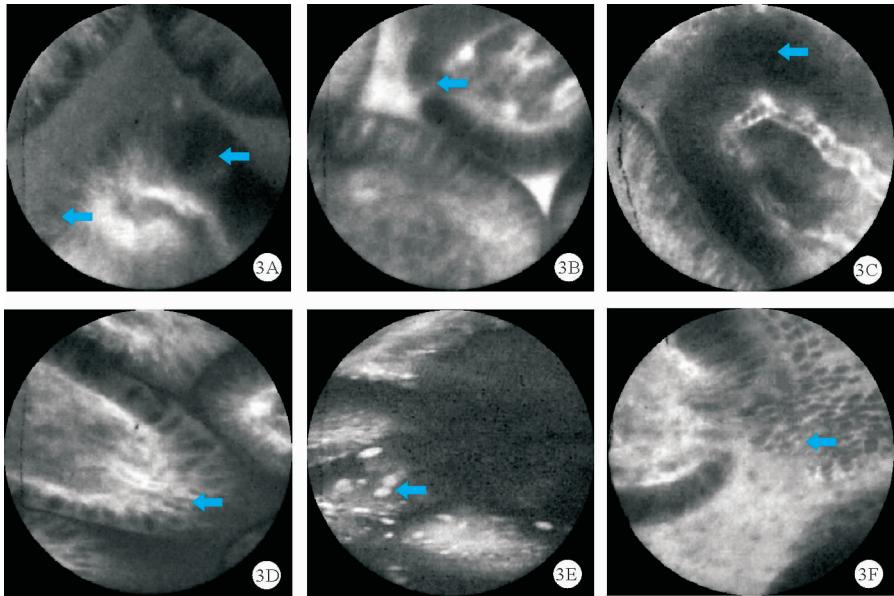


图3 pCLE 下小肠异常的上皮结构图像特征(A:上皮厚薄不均;B:上皮连续性中断;C:上皮增厚;D:杯状细胞增多;E:上皮细胞脱落;F:炎性细胞浸润;如箭头所示)

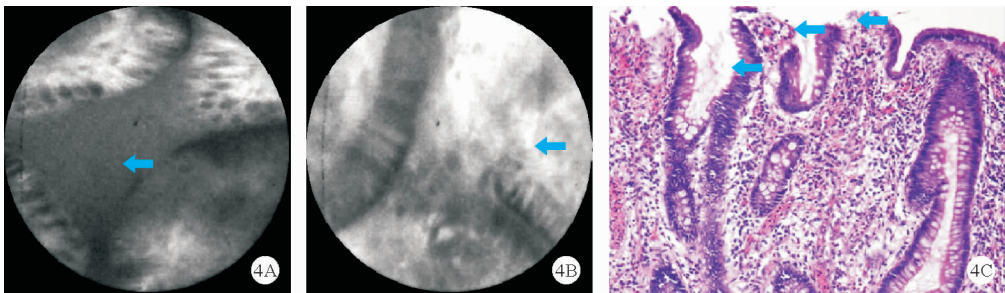


图4 pCLE 下小肠腺体异常图像特征(A:腺体间距增宽;B:腺体结构破坏;C:异常腺体结构破坏及间距增宽,HE 染色, × 20;如箭头所示;病理图源:WebPathology)

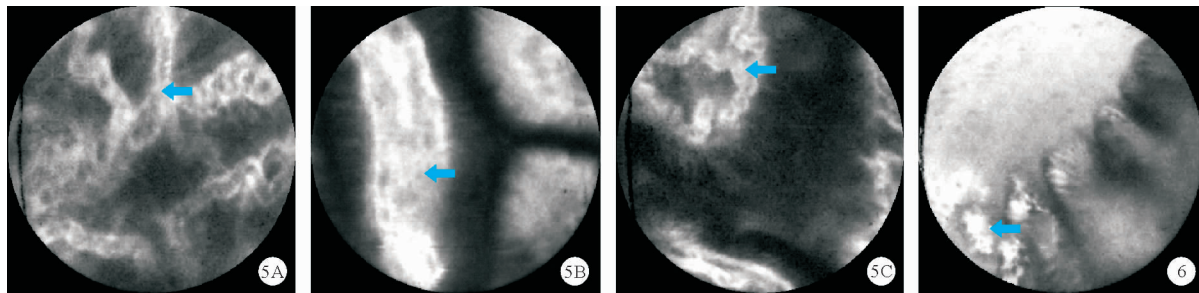


图5 pCLE 下小肠血管异常图像特征(A:血管数量增多;B:血管增粗;C:血管不规则,蜿蜒迂曲;箭头所示)

图6 pCLE 下荧光素钠渗漏图像特征(箭头所示为渗漏出来的荧光素钠)

伤是一致的;同时杯状细胞浸润可能增多,隐窝结构可能出现不规则或扭曲,在病理图像中则体现为炎症过程中细胞的损伤和结构的破坏。而隐窝周围也可能出现炎症细胞的浸润,表现为隐窝开口扩大或上皮变厚,可能与细胞增生、炎症细胞的浸润相关;黏膜下血管可能表现出扩张和扭曲,这与病理切片中炎症区域血管的改变相吻合。上述病变的特征性 pCLE 图像与组织病理学结果之间展现出极高的一致性。这种显著的吻合度证实了 pCLE 技术作为一种强有力的临床辅助诊断工具的价值,能够在不造成患者额外创伤的情况下,在活体内对黏膜病变进行细致的无创评估,提供与组织病理学图像高度一致的视觉信息,从而为临床诊断和治疗决策提供了坚实的基础。

出血性病变的 pCLE 图像特征改变包括:出血区域可能在 pCLE 图像中呈现为不规则的暗色区域,与周围正常黏膜形成对比,反映出血液在黏膜层中的沉积;受损的上皮层可能显示不连续或断裂,在病理图像中体现为上皮损伤和出血引起的组织断裂;而隐窝结构也可能因出血而变形或被破坏,隐窝内可能观察到流动的红细胞,在病理学中显示为出血导致的隐窝结构改变和血液积聚。

目前,尚无临床研究报告对 BAE 联合 pCLE 在小肠疾病诊断中的成像特征进行系统性阐述。尽管 BAE 和 pCLE 各自在小肠疾病的诊断上已展现出其独特优势,但其联合应用的系统性成像特征分析仍是一片未被充分开发的领域,因此本研究在一定程度上填补了这一领域的空白。但本研究也存在若干局限:首先,研究纳入的患者以炎症性病变为主(33/48),且大部分为克罗恩病(29/33),其他疾病类型的病例数量较少,对诸如肿瘤性疾病的 pCLE 图像特征缺乏数据总结,限制了研究结果的普遍适用性;其次,本研究为单中心、回顾性研究,样本量有限,其结论的普适性和稳定性仍需要通过多中心、前瞻性、大样本量的队列研究来进一步验证和扩展。因此,未来研究需克服这些

局限,以更全面地评估 BAE 联合 pCLE 在小肠疾病诊断中的潜力和价值。

本研究通过深入分析小肠疾病在 pCLE 图像中的表现特征,评估 pCLE 技术在小肠疾病实时诊断中的应用潜力,通过识别和分析 pCLE 图像中的特有征象,为小肠疾病的早期诊断和精确治疗提供新的视角和科学依据。这一研究将有助于推动小肠疾病诊断技术的发展,为临床医生提供更为精确的诊断信息,从而改善患者的治疗效果和生活质量。

参 考 文 献

- [1] 宋彩霞,马强. 小肠疾病的临床特点及研究现状[J]. 中国临床研究, 2018, 31(3): 424-426.
- [2] Zuckerman GR, Prakash C, Askin MP, et al. AGA technical review on the evaluation and management of occult and obscure gastrointestinal bleeding[J]. Gastroenterology, 2000, 118(1): 201-221.
- [3] Liu MK, Yu FJ, Wu JY, et al. Application of capsule endoscopy in small intestine diseases: analysis of 28 cases in Kaohsiung Medical University Hospital[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2006, 22(9): 425-431.
- [4] Hsu CM, Chiu CT, Su MY, et al. The outcome assessment of double-balloon enteroscopy for diagnosing and managing patients with obscure gastrointestinal bleeding[J]. Dig Dis Sci, 2007, 52(1): 162-166.
- [5] Hong SN, Kim ER, Ye BD, et al. Indications, diagnostic yield, and complication rate of balloon-assisted enteroscopy (BAE) during the first decade of its use in Korea[J]. Dig Endosc, 2016, 28(4): 443-449.
- [6] Wang P, Wang YJ, Dong Y, et al. Outcomes and safety of double-balloon enteroscopy in small bowel diseases: a single-center experience of 1531 procedures[J]. Surg Endosc, 2021, 35(2): 576-583.
- [7] 高维通, 顾于蓓, 邹多武. 共聚焦激光内镜在炎症性肠病精准诊疗中的应用[J]. 中华炎症肠病杂志, 2023, 7(1): 13-16.
- [8] 龚帅. 微探头共聚焦激光显微内镜临床应用进展[J]. 胃肠病学, 2014, 19(1): 43-46.
- [9] Ohmiya N, Horiguchi N, Tahara T, et al. In vivo characterization of abnormalities in small-bowel diseases using probe-based confocal laser endomicroscopy[J]. Endosc Int Open, 2017, 5(7): E547-E558.
- [10] Miehlke S, Morgner A, Aust D, et al. Probe-based confocal laser endomicroscopy in double balloon enteroscopy[J]. Z Gastroenterol, 2011, 49(12): 1529-1534.
- [11] Kiesslich R, Gossner L, Goetz M, et al. In vivo histology of Barrett's esophagus and associated neoplasia by confocal laser endomicroscopy[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2006, 4(8): 979-987.
- [12] 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.
- [13] 樊丽琳, 兰春慧, 杨敏, 等. 共聚焦激光显微内镜在慢性胃炎诊断中的临床应用[J]. 重庆医学, 2011, 40(14): 1395-1396.
- [14] Selkin B, Rajadhyaksha M, Gonzalez S, et al. In vivo confocal microscopy in dermatology[J]. Dermatologic clinics, 2001, 19(2): 369-377.
- [15] Pawley JB. Limitations on optical sectioning in live-cell confocal microscopy[J]. Scanning, 2002, 24(5): 241-246.

(收稿日期: 2024-05-31)

(本文编辑: 李昊阳)