



· 综述 ·

乳腺癌前哨淋巴结活检示踪剂研究进展

吴爽^{1,2}, 孙晓², 丛斌斌^{1,2}, 王永胜²

1. 济南大学山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东 济南 250200 ;
2. 山东大学附属山东省肿瘤医院乳腺病中心外科三病区, 山东 济南 250117

[摘要] 传统的示踪剂核素和蓝染料存在一定缺点。近年来国内外学者试图研发一款功能优化的新型示踪剂, 有助于前哨淋巴结活检术 (sentinel lymph node biopsy, SLNB) 的推广。吡啶菁绿价格较低, 使用安全, 但穿透力有限 (1 cm) 且缺乏靶向性。超声造影剂可实时动态地观察显影淋巴管和淋巴结, 但成功率和准确性相对较低。超顺磁氧化铁作为前哨淋巴结示踪剂, 操作方便, 可避免医源性核素污染, 具有良好的应用前景。

[关键词] 乳腺癌; 前哨淋巴结活检术; 示踪剂

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2019.07.010

中图分类号: R737.9 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2019)07-0540-05

Advances in sentinel lymph node biopsy tracers for breast cancer WU Shuang^{1,2}, SUN Xiao², CONG Binbin^{1,2}, WANG Yongsheng² (1.School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan and Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250200, Shandong Province, China; 2. Breast Cancer Center, Shandong Cancer Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250117, Shandong Province, China)

Correspondence to: WANG Yongsheng E-mail: wangysh2008@aliyun.com

[Abstract] Sentinel lymph node biopsy (SLNB) has become the standard procedure for the axillary staging in early breast cancer patients, using the radioisotope combined with blue dye. However, the extensive application of SLNB has been restricted by the poor specificity and access issue of the traditional tracer. Many novel sentinel lymph node tracers have been produced accordingly. The indocyanine green is cheap and safe to use. However, the poor penetrating power and targeting power might become the bottleneck limiting its wide application. The contrast-enhanced ultrasonography can be used to dynamically visualize lymphatic vessels and lymph nodes in real time, whereas the success rate and accuracy are relatively low. The superparamagnetic iron oxide techniques are easy to operate and could avoid iatrogenic radionuclide pollution with good application prospects.

[Key words] Breast cancer; Sentinel lymph node biopsy; Tracer agents

目前, 前哨淋巴结活检术 (sentinel lymph node biopsy, SLNB) 替代腋窝淋巴结清扫术 (axillary lymph node dissection, ALND) 已成为早期乳腺癌腋窝淋巴结处理的常规^[1-3]。SLNB在提供腋窝淋巴结转移状况信息的同时降低上肢淋巴水肿、感觉异常及运动障碍等并发症的发生率^[4]。目前, 国际及国内指南推荐联合使用核素和蓝染料进行乳腺癌的SLNB, 以获得较高的成功率和较低的假阴性率^[5], 然而蓝染料及核素示踪剂均存在一定缺陷。理想的示踪剂应具备较好的前哨淋巴结 (sentinel lymph node, SLN)

靶向性 (示踪剂由外周淋巴管网进入淋巴系统并快速积聚、停留在第一站淋巴结)^[6]、可视性 (确保SLN可被准确地识别, 肉眼可见或可经特殊设备探测发现) 和易质控, 同时需要具有较多的循证医学证据支持、操作便捷、价格低廉和不良反应轻的特点。近年来国内外学者开始尝试新型示踪剂应用于乳腺癌SLNB, 本文分析传统示踪剂的局限性, 并将介绍近年来新兴的示踪剂, 探讨其应用的可能性。

1 染料示踪剂

蓝染料法进行SLNB时, 要求检出所有蓝染的淋巴管汇入的第一站淋巴结。检出全部染色

的淋巴管是避免遗漏SLN、降低假阴性率的关键。对于蓝染料示踪剂，国内多应用亚甲蓝（美兰），国外多应用专利蓝及异硫蓝。三种示踪剂行SLNB的成功率和假阴性率相近^[7]。蓝染料具有较好的可视性，且价格低廉、易质控、有循证医学证据支持，但靶向性差、易将次级淋巴结染色，SLNB操作时需要仔细解剖蓝染的淋巴管，可出现皮疹、血压下降等过敏反应。

近年来纳米碳作为一种新型染料示踪剂在国内开始广泛研究。纳米碳的颗粒大小约为21 nm，其悬浊液以团粒的形式存在，平均粒径约为150 nm。毛细血管直径通常为20~50 nm且管壁完整，纳米碳团粒不易进入，而毛细淋巴管管壁间隙约为500 nm，加之组织间隙的静水压力大于毛细淋巴管，使其更易进入淋巴管中。纳米碳作为示踪剂，行乳腺癌SLNB的准确率、假阴性率分别为96.4%、11.1%^[8]。纳米碳具有淋巴系统趋向性，注射后迅速进入淋巴管，聚集滞留在淋巴结，使淋巴结染成黑色；但其不具有SLN靶向性、淋巴管墨染浅导致其可视性较差及更严格的质控、价格较高。纳米碳不会引起不良反应，对蓝染料过敏患者可替代应用。纳米碳缺乏大样本的前瞻性研究，目前不推荐其作为临床常规应用，但可在规范的临床试验中进行验证性研究^[5]。

2 核素示踪剂

核素示踪剂通常是将^{99m}Tc标记在各类胶体（硫胶体和白蛋白胶体）上，国内常用核素载体为硫胶体，其单体颗粒需要经过煮沸形成多聚体方可作为SLNB的示踪剂，因而对其粒径大小的质控是避免次级淋巴结显像的关键。应用核素示踪剂进行SLNB增加了质控环节，需要核医学科的试剂制备、注射及大型ECT设备显像，并且硫胶体并未申报国家食品药品监督管理总局的批准，多种原因限制了其在国内的推广应用。核素示踪剂具有良好的靶向性及可视性，操作便捷，价格适中，有循证医学证据支持，但需要严格质控并存在医源性核素污染问题。

应用^{99m}Tc标记利妥昔单抗作为核素示踪剂进行SLNB受到广泛关注，其特点是利用利妥昔单

抗对淋巴结中B淋巴细胞膜上CD20分子的特异性结合，达到了对SLN的靶向标记^[9]，该示踪剂具有结合紧密、分子量均一、次级淋巴结显像率低等优势，取得了满意的成功率（96%，82/85）和较低的假阴性率（3%，1/31）^[10]。但是该剂型同样需要核医学科的参与，在临床应用中存在一定限制；缺乏大样本的前瞻性研究，临床常规应用的循证医学证据不足。

3 荧光示踪剂

近年来，荧光示踪技术作为新型示踪剂受到了关注，目前国内外常用的荧光示踪剂为吲哚菁绿（indocyanine green, ICG）。ICG为一种绿色粉末，其溶液可通过荧光脉管成像系统的近红外光源（760 nm）实时激发后，产生荧光（820 nm~830 nm），利用成像仪可观察到皮下淋巴管的引流途径和SLN的显像位置，具有一定的导航作用^[11-12]。ICG曾作为染料用于乳腺癌SLNB，检出率仅为73.8%^[13]。随后，以其荧光特性用于SLNB示踪，检出率可达93.1%~100.0%^[6]。但近期一项对比核素示踪剂的研究显示，ICG检出率为81.9%，假阴性率为34.7%，其中超重[体质量指数（body mass index, BMI）>25]或SLN宏转移（>2 mm）的患者与ICG的低检出率相关（ $P=0.02$ ）^[14]。ICG示踪方法为乳晕周围或瘤周的皮内注射，15项研究513例患者的Meta分析显示，浓度<5 mg/mL、剂量 ≥ 2 mL时，ICG的灵敏度和检出率较高^[15]。目前ICG用于SLNB的最佳浓度及剂量仍需前瞻性临床研究数据支持。

荧光示踪技术的主要缺点是其穿透力有限（远小于1 cm），深部的淋巴管及淋巴结不易显像。此外，缺乏靶向性；示踪需要特殊的设备，增加了费用支出。目前，尽管该示踪剂价格低廉，使用安全，但其靶向性和可视性差、缺乏长期随访数据，临床应用价值尚待确认^[6]。

在光学成像系统方面，近年来出现了较多的新型产品，包括便携式光学分子成像操作指导系统和功能光学分子成像系统，为荧光示踪剂的应用提供了优化，但仍无法解决荧光穿透力的问题^[16-18]。

将ICG与利妥昔单抗偶联后可以特异性定位SLN^[19], 使ICG具备SLN靶向性, 通过光声成像转换突破荧光穿透力瓶颈后^[20], 有望成为新一代乳腺癌SLN荧光靶向示踪剂。

4 超声造影剂

目前应用较多的两种超声造影剂包括六氟化硫(SF₆)微泡(声诺维)和氟碳气体微泡(Sonozoid)。声诺维是磷脂及聚乙烯二醇外壳包裹的SF₆微泡, 平均直径2.5 μm, 可自由通过血管和淋巴管。声诺维的成分中无碘及蛋白, 一般不易出现过敏反应。其粒径大小不等, 其中直径在3~9 μm的微泡是显影的主要来源^[21-22]。

Sonozoid为以脂类聚合物为外膜, 平均直径为2.4~3.2 μm。带有负电荷且类似细胞膜表面的脂质体, 易被单核-巨噬细胞吞噬^[25], 而声诺维的外壳成分为中性聚乙二醇, 不易被单核-巨噬细胞吞噬。声诺维从注射造影剂到腋窝淋巴结显影为15~45 s, 而Sonozoid需要5 min, 造影剂滞留时间为1~3 min^[23]。Sonozoid这一特征能够对术中超声造影定位SLN及取检提供更长的显影时间、更易识别SLN^[24]。

超声造影剂SLN示踪可以通过对比增强分析其转移状况。表现为3种情况: I型(均匀增强型), 整个淋巴结显著且均匀增强; II型(不均匀增强型), 淋巴结实质内见不规则低或无灌注区; III型(无增强型), 整个淋巴结无或微弱增强^[25]。通过分析对比增强淋巴结充盈缺损(不均匀性增强)与肿瘤浸润的关系, 将均匀增强型SLN定义为良性, 而不均匀增强型和无增强型定义为恶性, 其敏感度及特异度多在80%以上^[25-27]。

超声造影引导的SLN细针抽吸细胞学检查(fine-needle aspiration cytology, FNA)或空芯针活检术, 可以于术前更加准确地反映SLN的转移状况, 替代ALND甚至常规SLNB。SLN-FNA在预测ALN是否转移的灵敏度和假阴性率分别为85%和15%^[28]。

该示踪剂靶向性及可视性均较好, 价格适中, 使用安全, 易质控, 操作便捷, 但成功率和准确性相对较低, 缺乏大样本前瞻性研究及循证

医学证据支持。如果能够证实其准确性, 乳腺癌SLNB有望进入超微创腋窝分期时代, 可通过超声造影精确引导下的SLN穿刺活检明确SLN转移状态而替代传统的SLNB, 进一步降低SLNB并发症、缩短手术时间、降低医疗成本。对于需要新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NAC)的患者, 可通过NAC前后的两次超声造影SLNB提供NAC前后的腋窝淋巴结状态, 更好地评估NAC疗效; NAC前腋窝FNA阳性的SLN放置标记夹可有效地降低NAC后腋窝SLNB的假阴性率。

5 超顺磁性示踪剂

超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO)颗粒是以Fe₃O₄或γ-Fe₂O₃为核心的纳米颗粒, 直径10~100 nm, 属于MRI阴性造影剂。以其粒径的大小分为: 普通型SPIO(直径>50 nm)和超小SPIO(直径<50 nm)。静脉应用超小SPIO可直接进入淋巴结; 而普通型SPIO因直径较大, 需经组织间质给药回流至SLN。SPIO被淋巴系统中的单核-巨噬细胞吞噬, 通过外部磁场作用, 氧化铁产生磁性, 达到示踪作用^[29]。

在乳腺癌SLN的示踪方面可分为术前MRI显影示踪和术中手提磁力计检测示踪。术前通过MRI显影SLN, 由于转移性淋巴结中SPIO未被单核-巨噬细胞吞噬, 因此其信号强度相对增强继而定位SLN, 通过SLN的强化形态又能对转移情况作出大致判断, 其灵敏度为84%, 特异度为91%, 准确率为89%^[30]。

超顺磁性示踪剂(Sienna+)为棕色液体, 可使淋巴管及SLN染色, 增强SLNB可视性; 其粒径均一, 较核素示踪剂更易质控, 在SLN中具有较高浓度的聚集; 术前20 min至1周的时间内均可在乳晕周围皮下或瘤周组织内注射, 这使得SLNB的术前准备更加便利; 术中通过手持磁力计发出声音的强弱来引导进行SLNB, 比观察探查数值及图像更方便^[31-32]。SentiMAG多中心研究将SPIO与联合法(核素与蓝染料)进行对比, 证实了SPIO单一示踪剂的非劣效性^[31]。

该技术操作方便、安全且可避免医源性核素污染等问题, 已在欧美获批用于临床。但SPIO技术也存在不足之处, 如在术区检测时需要用塑

料牵开器替代金属器械, 皮肤色素沉着时间较长(约40%的患者皮肤染色持续达12个月), 但通过深部组织注射可预防皮肤着色问题^[33]。该示踪剂具有较好的靶向性、可视性, 易于质控, 使用安全, 价格略低于核素示踪剂(SPIO价格225欧元, 核素示踪剂价格252欧元), 具有循证医学证据支持。

综上所述, 目前临床应用的示踪剂存在一定缺点, 主要是蓝染料缺乏SLN靶向性、核素制剂存在医源性核污染等, 但尚可基本满足临床需求。部分新型示踪剂展现出了较好的临床应用前景, 荧光示踪剂可通过改善其靶向性及可视性, 功能得到优化; 超声造影联合FNA可用于NAC前后腋窝SLN评估。SPIO避免了核素污染问题, 有较好的靶向性及可视性, 有望替代核素示踪剂。

[参 考 文 献]

- [1] GIULIANO A E, BALLMAN K V, MCCALL L, et al. Effect of axillary dissection vs no axillary dissection on 10-year overall survival among women with invasive breast cancer and sentinel node metastasis: the ACOSOG Z0011 (Alliance) randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2017, 318(10): 918-926.
- [2] GALIMBERTI V, COLE B F, VIALE G, et al. Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with breast cancer and sentinel-node micrometastases (IBCSG 23-01): 10-year follow-up of a randomised, controlled phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(10): 1385-1393.
- [3] GRADISHAR W J, ANDERSON B O, BALASSANIAN R, et al. Breast Cancer, Version 4. 2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology [EB]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2018, 16(3): 310-320.
- [4] MANSEL R E, FALLOWFIELD L, KISSIN M, et al. Randomized multicenter trial of sentinel node biopsy versus standard axillary treatment in operable breast cancer: the ALMANAC Trial [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2006, 98(9): 599-609.
- [5] 中国抗癌协会乳腺癌专业委员会. 中国抗癌协会乳腺癌诊治指南与规范(2017年版) [J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(9): 695-760.
- [6] AHMED M, PURUSHOTHAM A D. Novel techniques for sentinel lymph node biopsy in breast cancer: a systematic review [J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(8): 351-362.
- [7] PAULINELLI R R, FREITAS-JUNIOR R, RAHAL R M, et al. A prospective randomized trial comparing patent blue and methylene blue for the detection of the sentinel lymph node in breast cancer patients [J]. *Rev Assoc Med Bras (1992)*, 2017, 63(2): 118-123.
- [8] WU X, LIN Q, CHEN G, et al. Sentinel lymph node detection using carbon nanoparticles in patients with early breast cancer [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135714.
- [9] 王雪鹃, 杨志, 林保和, 等. 前哨淋巴结显像剂^{99m}Tc-m-IT-Rituximab的制备及其定位性能 [J]. *中华核医学杂志*, 2006, 26(4): 226-230.
- [10] WANG J, FAN T, HE Y, et al. ^{99m}Tc-rituximab as a tracer for sentinel lymph node biopsy in breast cancer patients: a single-center analysis [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 168(2): 365-370.
- [11] PITSINIS V, PROVENZANO E, KAKLAMANIS L, et al. Indocyanine green fluorescence mapping for sentinel lymph node biopsy in early breast cancer [J]. *Surg Oncol*, 2015, 24: 375-379.
- [12] SHEN S, XU Q, ZHOU Y, et al. Comparison of sentinel lymph node biopsy guided by blue dye with or without indocyanine green in early breast cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2018, 117(8): 1841-1847.
- [13] MOTOMURA K, INAJI H, KOMOIKE Y, et al. Sentinel node biopsy guided by indocyanine green dye in breast cancer patients [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 1999, 29(12): 604-607.
- [14] MAZOUNI C, KOUAL M, DE LEEUW F, et al. Prospective evaluation of the limitations of near-infrared imaging in detecting axillary sentinel lymph nodes in primary breast cancer [J]. *Breast J*, 2018, 24(6): 1006-1009.
- [15] XIONG L, GAZYAKAN E, YANG W, et al. Indocyanine green fluorescence-guided sentinel node biopsy: a Meta-analysis on detection rate and diagnostic performance [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2014, 40(7): 843-849.
- [16] MONDAL S B, GAO S, ZHU N, et al. Optical see-through cancer vision goggles enable direct patient visualization and real-time fluorescence-guided oncologic surgery [J]. *Ann Surg Oncol*, 2017, 24(7): 1897-1903.
- [17] VERBEEK F P, TROYAN S L, MIEOG J S, et al. Near-infrared fluorescence sentinel lymph node mapping in breast cancer: a multicenter experience [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 143(2): 333-342.
- [18] HE K, CHI C, KOU D, et al. Comparison between the indocyanine green fluorescence and blue dye methods for sentinel lymph node biopsy using novel fluorescence image-guided resection equipment in different types of hospitals [J]. *Transl Res*, 2016, 178(12): 74-80.
- [19] CONG B B, SUN X, SONG X R, et al. Preparation study of indocyanine green-rituximab: a new receptor-targeted tracer for sentinel lymph node in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(30): 47526-47535.
- [20] GARCIA-URIBE A, ERPELDING T N, KRUMHOLZ A, et al. Dual-modality photoacoustic and ultrasound imaging system for noninvasive sentinel lymph node detection in patients with breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15748.
- [21] KLIBANOV A L. Targeted delivery of gas-filled microspheres, contrast agents for ultrasound imaging [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1999, 37(13): 139-157.
- [22] GORCE J M, ARDITI M. Influence of bubble size distribution on the echogenicity of ultrasound contrast agents: a study of

- SonoVue [J] . Invest Radiol, 2000, 35(11): 661-671.
- [23] CUI X, IGNEE A, NIELSEN M B, et al. Contrast enhanced ultrasound of sentinel lymph nodes [J] . J Ultrason, 2013, 13(52): 73-81.
- [24] SHIMAZU K, ITO T, UJI K, et al. Identification of sentinel lymph nodes by contrast-enhanced ultrasonography with Sonazoid in patients with breast cancer: a feasibility study in three hospitals [J] . Cancer Med, 2017, 6(8): 1915-1922.
- [25] XIE F, ZHANG D, CHENG L, et al. Intradermal microbubbles and contrast-enhanced ultrasound (CEUS) is a feasible approach for sentinel lymph node identification in early-stage breast cancer [J] . World J Surg Oncol, 2015, 13: 319.
- [26] WUBULHASIMU M, MAIMAITUSUN M, XU XL, et al. The added value of contrast-enhanced ultrasound to conventional ultrasound in differentiating benign and malignant solid breast lesions: a systematic review and meta-analysis [J] . Clin Radiol, 2018, 73(11): 936-943.
- [27] DELLAPORTAS D, KOUREAS A, CONTIS J, et al. Contrast-enhanced color doppler ultrasonography for preoperative evaluation of sentinel lymph node in breast cancer patients [J] . Breast Care (Basel), 2015, 10(5): 331-335.
- [28] ZHONG J, SUN D S, WEI W, et al. Contrast-enhanced ultrasound-guided fine-needle aspiration for sentinel lymph node biopsy in early-stage breast cancer [J] . Ultrasound Med Biol, 2018, 44(7): 1371-1378.
- [29] WANG Y X, IDEE J M. A comprehensive literatures update of clinical researches of superparamagnetic resonance iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging [J] . Quant Imaging Med Surg, 2017, 7(1): 88-122.
- [30] MOTOMURA K, IZUMI T, TATEISHI S, et al. Correlation between the area of high-signal intensity on SPIO-enhanced MR imaging and the pathologic size of sentinel node metastases in breast cancer patients with positive sentinel nodes [J] . BMC Med Imaging, 2013, 13: 32.
- [31] KARAKATSANIS A, CHRISTIANSEN P M, FISCHER L, et al. The Nordic SentiMag trial: a comparison of super paramagnetic iron oxide (SPIO) nanoparticles versus Tc(99) and patent blue in the detection of sentinel node (SN) in patients with breast cancer and a meta-analysis of earlier studies [J] . Breast Cancer Res Treat, 2016, 157(2): 281-294.
- [32] WAANDERS S, VISSCHER M, WILDEBOER RR, et al. A handheld SPIO-based sentinel lymph node mapping device using differential magnetometry [J] . Phys Med Biol, 2016, 61(22): 8120-8134.
- [33] KARAKATSANIS A, DASKALAKIS K, STALBERG P, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as the sole method for sentinel node biopsy detection in patients with breast cancer [J] . Br J Surg, 2017, 104(12): 1675-1685.

(收稿日期: 2019-01-22 修回日期: 2019-03-13)