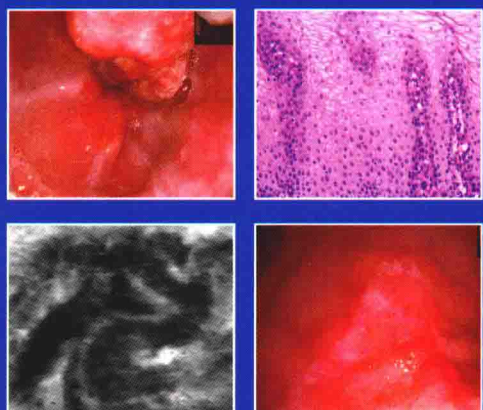


消化道

共聚焦显微内镜诊断

Gastrointestinal Confocal Endomicroscopy

主编 左秀丽 李长青 李延青



内附光盘

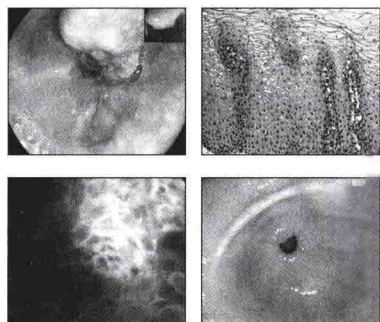


人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

消化道

共聚焦显微内镜诊断

Gastrointestinal Confocal Endomicroscopy



主 编 左秀丽 李长青 李延青

编 者 (按姓氏汉语拼音排序)

董艳艳	郭 婧	季 锐	寇冠军
李长青	李 铭	李延青	李 岳
李 真	刘 超	刘 晗	刘 君
戚庆庆	王 晗	王 鹏	周成军
左秀丽			

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

消化道共聚焦显微内镜诊断 / 左秀丽, 李长青, 李延青
主编. —北京: 人民卫生出版社, 2014

ISBN 978-7-117-19656-7

I. ①消… II. ①左… ②李… ③李… III. ①消化系统疾病-内窥镜检 IV. ①R570.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 187469 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

消化道共聚焦显微内镜诊断

主 编: 左秀丽 李长青 李延青

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 北京汇林印务有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 6

字 数: 146 千字

版 次: 2014 年 9 月第 1 版 2014 年 9 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-19656-7/R · 19657

定价 (含光盘): 59.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

序

随着半个多世纪以来光纤技术、超声技术以及各种光学设备的进步,以及临床研究和实践的扩展,内镜技术早已不是一项简单的诊断技术,而是成为一门与影像学、病理学并驾齐驱的专业学科,尤其是在胃肠疾病诊治领域。超声内镜、胶囊内镜、十二指肠镜、小肠镜等等技术的引进,让胃肠病学专科医师视野和技能得到了前所未有的扩展,也提高了胃肠疾病的诊治水平。

尽管共聚焦激光显微内镜技术已经引入临床十年,但仍然属于一项很新的技术。这种放大 1000 倍的图像可清晰辨认组织结构、细胞及亚细胞结构,做即时高分辨率的组织学诊断,是目前唯一能够做到活体组织学水平观察和诊断的技术,使内镜医师根据组织学诊断及采取治疗措施,避免重复的内镜检查 and 多次活检的并发症。在很多常见胃肠道疾病,尤其是早期消化道肿瘤和癌前病变的诊断中显示其非凡的价值。

我国在共聚焦显微内镜检查领域与国际同步,山东大学齐鲁医院李延青教授在国内率先应用此技术,并积累了大量的宝贵经验,在国际上率先建立了对胃黏膜疾病进行诊断的“齐鲁”系列诊断标准,为国际显微内镜领域所接受。近年来发表了大量相关学术论文,出版了亚太地区第一本中文和英文的显微内镜专著。李延青教授也多次在国际和国内学术会议上进行学术报告,为我国显微内镜技术的开展作出了积极贡献。本书重点讲述了探头式显微内镜,附带了内容丰富、质量上乘的显微内镜图片,配以专业病理医师把关的组织病理学介绍和病理图片,对于了解消化道疾病显微内镜诊断和病理学是一本绝佳的参考书。更为难得的是本书配光盘 1 张,光盘含常见消化道黏膜疾病的在体视频,与本书配合阅读,可以大大提高学习效率。

因此本人欣然为之作序,并向广大读者推荐。

李延青
2014.6.18

消化内镜是胃肠病学领域的特色技术,随着内镜设备的更新和实践的积累,它不再是一门单纯的技术,在临床中,已经演变成与影像医学、病理学等医学学科相提并论的专业学科,尤其在胃肠疾病领域,成为诊断和治疗不可或缺的重要工具。共聚焦激光显微内镜(confocal laser endomicroscopy, CLE)的发明,为胃肠疾病的诊断开辟了一个新的纪元,是目前唯一能够达到活体组织病理学水平的内镜技术。尽管应用仅有十年时间,但在很多胃肠道疾病的诊断中展现出了良好的应用前景。

中国在 CLE 领域的应用与国际同步,2006 年已开始投入临床,经过多年的应用,已经积累了大量的经验。国内很多医院同时引进了内镜整合式 CLE 和探头式 CLE 两种模式的设备,两种设备在操作上各有特点。山东大学齐鲁医院在前期大量整合式 CLE 工作基础上,于 2012 年引进了探头式 CLE 设备。笔者曾于 2009 年出版了国内第一本《共聚焦激光显微内镜图谱》,2010 年更新和出版了该书的英文版(*Atlas of Gastrointestinal Endomicroscopy*),在国际上获得了良好的反响。遗憾的是,此两本书均以整合式 CLE 为基础,对探头式 CLE 仅做了简要介绍。随着在探头式 CLE 方面工作的展开,感觉有必要专门出版一本以探头式 CLE 为主的专著,以便国内同行更好的掌握该技术。

本书的编排改变了过去根据病变部位安排章节的惯例,改为以病变性质为基础,前两章依旧是介绍显微内镜的发展历史和技术,之后第三、四、五、六章分别介绍正常、炎症、癌前病变和癌的特点,所用 CLE 图片均取自山东大学齐鲁医院显微内镜数据库,病理图片由经验丰富的病理专业医师选择,一一对照。同时,鉴于探头式 CLE 扫描速度较快、视频化的特点,笔者将病变部位的视频随书赠送,以飨读者。

本书承蒙中华医学会消化内镜分会主任委员,第二军医大学长海医院李兆申教授作序,在此表示衷心感谢。同时笔者十分感谢国家卫生和计划生育委员会临床重点专科建设项目的支持,以及国家自然科学基金委重点项目的支持。

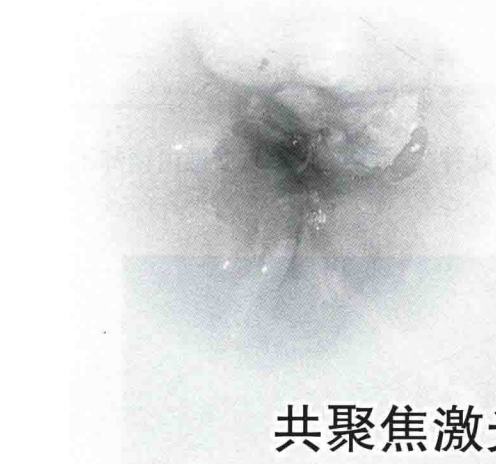
由于共聚焦激光显微内镜临床应用时间较短,目前研究资料较少,很多疾病的共聚焦激光显微内镜诊断标准正在探索中,至本书付梓时其中部分标准仍未系统整理分析后纳入,希望再版时可以补足。由于时间仓促,加之笔者自身水平和经验有限,难免认识肤浅,甚至错误,欢迎广大读者赐教、指正。

左秀丽 李长青 李延青

2014 年 8 月 1 日

第一章 共聚焦激光显微内镜的起源与发展史.....	1
第二章 显微内镜技术简介.....	6
第一节 显微内镜的构造.....	6
第二节 显微内镜的成像原理.....	8
第三节 显微内镜造影剂选择.....	11
第四节 显微内镜临床操作.....	12
第三章 正常消化道黏膜表现.....	15
第一节 食管黏膜.....	15
第二节 正常胃黏膜.....	16
第三节 正常小肠.....	18
第四节 正常结肠.....	19
第四章 消化道黏膜的炎症表现.....	21
第一节 食管炎.....	21
第二节 慢性胃炎.....	23
第三节 克罗恩病.....	30
第四节 乳糜泻.....	32
第五节 溃疡性结肠炎.....	35
第五章 消化道黏膜癌前病变的显微内镜表现.....	40
第一节 食管鳞状上皮内瘤变.....	40
第二节 Barrett 食管.....	45
第三节 胃黏膜上皮内瘤变.....	49
第四节 结直肠癌癌前病变.....	52
第六章 消化道癌的显微内镜表现.....	57
第一节 食管癌.....	57
第二节 胃癌.....	63

第三节 大肠癌·····	69
第七章 显微内镜新进展·····	73
第一节 显微内镜分子成像·····	73
第二节 显微内镜功能成像·····	78
第八章 胆胰系统·····	83



第一章

共聚焦激光显微内镜的起源与发展史

一、共聚焦激光显微镜技术的进步为显微内镜的发展奠定基础

共聚焦激光显微镜的发展经历了一个漫长的阶段。共聚焦激光显微内镜是在共聚焦激光显微镜这项技术之上发展起来的。

世界上第一台共聚焦激光显微镜(confocal laser microscope, CLM)于1955年诞生于哈佛大学,之后经过多年的发展和完善,于20世纪80年代开始投入实际应用。共聚焦激光显微镜的本质在于去除非焦面上的杂散光,获取 z 轴方向的高分辨率图像。与普通光学显微镜相比,共聚焦激光显微镜具有更高的分辨率,并可以对观测样品进行分层扫描,实现样品的三维重建和测量分析;与电子显微镜相比,共聚焦激光显微镜可以在亚细胞水平上观察诸如 Ca^{2+} 、pH和膜电位等生理信号及活细胞形态的实时动态变化。因此,共聚焦激光显微镜的面世是显微成像技术发展史中具有划时代意义的重大进展。

自共聚焦激光显微镜问世以来,不断有新技术、新发明出现,使得共聚焦显微镜这项技术得到日新月异的发展,多通道激光共聚焦技术实现实时并列成像及叠加,保证了数据的同时性;高速活细胞激光共聚焦显微镜将成像速度从原先每秒几幅提高到几十幅甚至几百幅,大大提高了速度,可捕捉到活细胞动态变化图像,使活细胞成像成为现实,这些技术的进步也大大推动了生命科学研究前进的步伐。

然而,自问世以来,共聚焦激光显微镜一直应用于基础科学研究领域,停留在实验台上。离在体实时活细胞成像,进行人类的体内研究,还有相当的距离。

二、共聚焦激光显微内镜的诞生和发展

内镜的最终目标是建立与病理诊断等价的实时在体成像诊断体系。共聚焦激光显微镜的高分辨率和活细胞成像技术使上述预测成为可能。但是,要完成共聚焦激光显微镜从体外成像到实时在体成像的转变,最关键的技术突破在于整个显微镜系统的体积缩小。传统的共聚焦激光显微镜体积庞大,是为实验台操作而设计的。20世纪90年代末以来,微型化技术使得共聚焦激光显微镜体积逐渐缩小,从而进一步缩小到可以整合至内镜镜身内,为配合内镜进行在体成像做好准备。

这种微型化技术最终完成了共聚焦激光显微镜向共聚焦激光显微内镜的转变,实现了共聚焦激光显微镜技术从实验台到体内应用的过渡,就此诞生了共聚焦激光显微内镜。

1998年,硬管式共聚焦激光显微内镜问世,其为不可弯曲的硬管式设计,应用于观察和

研究皮肤、子宫颈、腹腔脏器及直肠等(图 1-0-1)。然而,此种类型共聚焦激光显微内镜却不能胜任弯曲、冗长的人类胃肠道检查。



图 1-0-1 硬管式共聚焦激光显微内镜

A. 1998 年研发的 F900e 系统硬管式共聚焦激光显微内镜;B. 硬管式共聚焦激光显微直肠镜

进入 21 世纪以来,共聚焦激光显微内镜技术得到了空前的关注与发展。澳大利亚 Optiscan 公司和日本 Pentax 公司联手致力于共聚焦激光显微内镜技术的研发,利用超微型化技术,将共聚焦激光扫描器和光学图像装置进一步缩小到直径 6mm,长度 70mm,并将其整合到传统消化道内镜的最前端,率先完成了共聚焦激光显微内镜与传统消化道内镜的完美结合,可曲式共聚焦激光显微内镜问世(图 1-0-2)。

2003 年起,这种可曲式共聚焦激光显微内镜开始应用于临床试验,结果表明,共聚焦激光显微内镜于在体及实时研究人类消化道疾病方面有巨大的优势。

然而,上述共聚焦激光显微内镜的问题是前端约 70mm 长的部分不能弯曲,部分影响了其在胃肠道检查中的操作灵活性,如何缩短内镜前端的不可弯曲部分,增加内镜操作的灵活性是下一步的关键问题。在上述前提下,近年来,经过进一步的微型化处理,这种共聚焦激光显微内镜前端的共聚焦激光扫描器和光学图像装置进一步缩小到直径 5mm,长度 43mm,使得内镜前端的不能弯曲部分缩短到 44mm,这样增加了操作的灵活性(图 1-0-3)。这种新型内镜 Pentax ISC-1000 于 2006 年 3 月正式投入临床,开启了共聚焦激光显微内镜技术发展的新篇章。

近年来,法国 Mauna Kea 科技公司研发出一种新型探头式共聚焦激光显微内镜(probe-based confocal laser endomicroscopy, pCLE),这种探头式共聚焦激光显微内镜可以灵活插入普通消化道内镜的活检管道,对胃肠道黏膜进行实时动态和连续显微成像(图 1-0-4)。这种探头有多种型号,如 GastroFlex™ 和 ColoFlex™ 分别为上、下消化道黏膜检查而设计,而超细的



图 1-0-2 可曲式共聚焦激光显微内镜
共聚焦激光扫描器和光学图像装置经微型化技术处理,进一步缩小到直径 6mm,长度 70mm,并将其整合到传统消化道内镜的最前端,可曲式共聚焦激光显微内镜问世。嵌入图像显示整合到内镜前端的共聚焦激光扫描器和光学图像装置

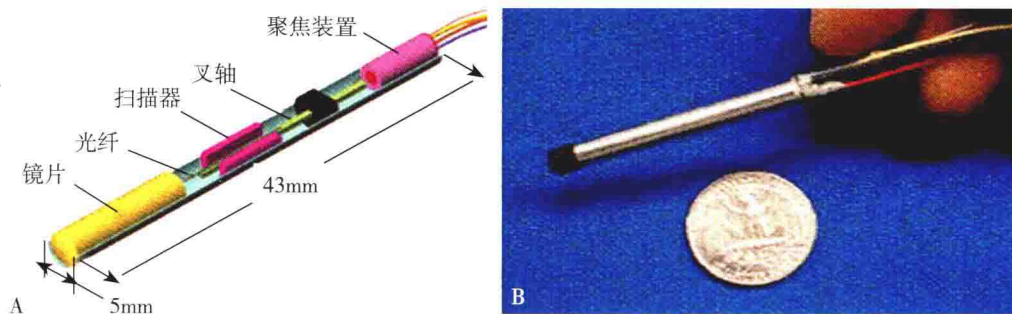


图 1-0-3 Pentax ISC-1000 共聚焦激光显微内镜前端示意图

A. Pentax ISC-1000 共聚焦激光显微内镜前端的装置, 直径 5mm, 长度 43mm, 内镜前端不能弯曲部分为 44mm; B. Pentax ISC-1000 共聚焦激光显微内镜前端的经过微型化处理后的共聚焦激光显微成像装置与硬币尺寸的比较

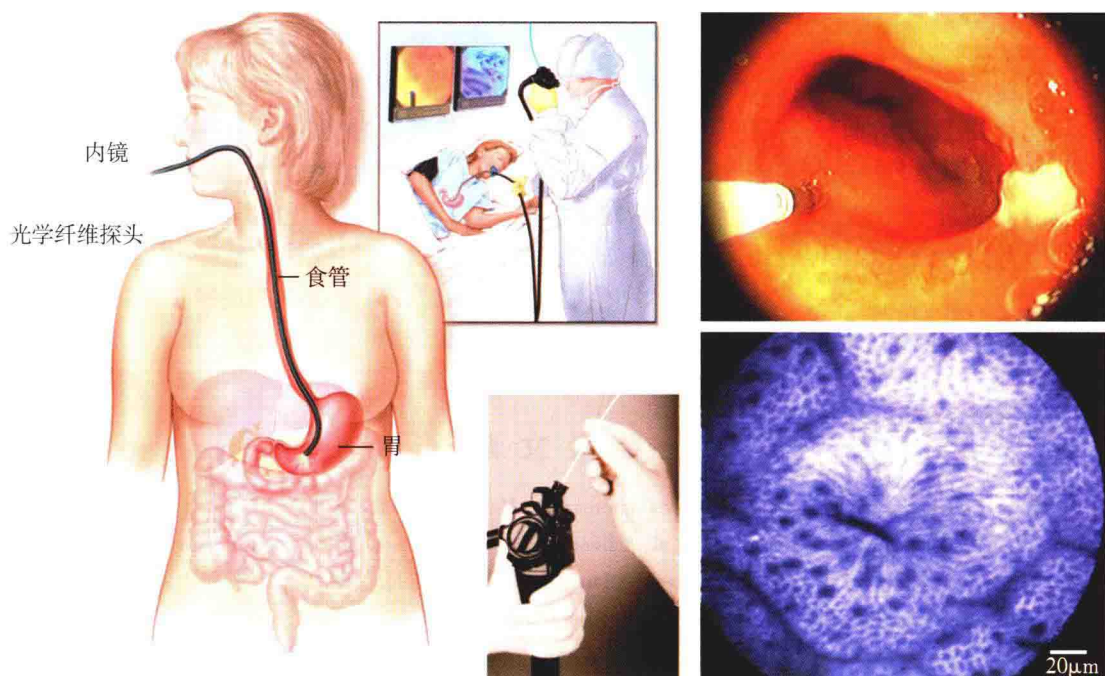


图 1-0-4 探头式共聚焦激光显微内镜系统

Cellvizio® 共聚焦激光显微内镜探头可以灵活插入普通消化道内镜的工作管道, 对胃肠道黏膜进行实时显微成像, 可以在探头移动中清晰观察一定深度黏膜层面的组织和细胞结构

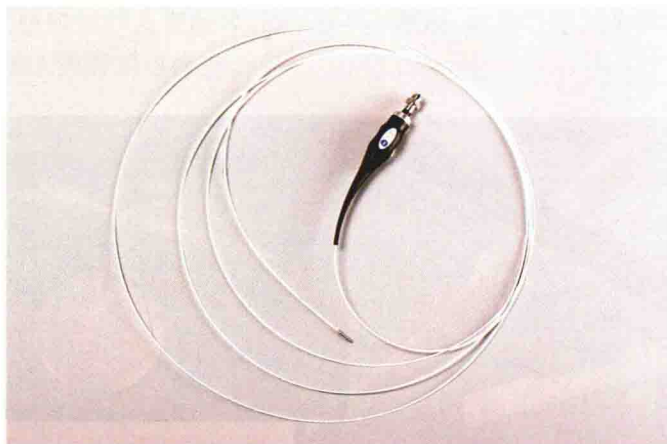


图 1-0-5 Cellvizio® 探头式共聚焦激光显微内镜

Cellvizio® 共聚焦激光显微内镜探头有多种型号:GastroFlex™ 和 ColoFlex™ 分别为上、下消化道黏膜检查而设计,而超细的探针型 CholangioFlex™ 可在 ERCP 检查中插入胆、胰管进行黏膜检查。此外,适合支气管镜、腹腔镜及膀胱镜等的多种型号已陆续问世,投入临床使用

探针型 CholangioFlex™ 可在 ERCP 检查中插入胆、胰管进行黏膜检查。此外,适用于支气管、腹腔、子宫及膀胱的型号已陆续问世,扩大了激光共聚焦显微内镜的应用领域(图 1-0-5)。

共聚焦激光显微内镜的诞生、发展和临床应用具有划时代的意义,它使我们在内镜检查过程中能够对消化道黏膜层进行实时“光学活检”,取得近乎等同于病理学的诊断图像,尽管目前共聚焦激光显微内镜还存在着诸如扫描深度、扫描面积、成像质量等方面的局限性,但随着光学显微镜技术、激光扫描技术和生物计算机图像处理等技术的进一步完善,相信共聚焦激光显微内镜将会有更好的发展和更广阔的应用前景。

(左秀丽 刘超)

参 考 文 献

1. Wright SJ, Wright DJ. Introduction to confocal microscopy. *Methods Cell Biol*, 2002, 70: 1-85.
2. Polglase AL, McLaren WJ, Skinner SA, et al. A fluorescence confocal endomicroscope for in vivo microscopy of the upper and the lower-GI tract. *Gastrointest Endosc*, 2005, 62: 686-695.
3. Helmchen F. Miniaturization of fluorescence microscopes using fibre optics. *Exp Physiol*, 2002, 87: 737-745.
4. Kiesslich R, Goetz M, Vieth M, et al. Confocal laser endomicroscopy. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 2005, 15: 715-731.
5. Goetz M, Fottner C, Schirmacher E, et al. In-vivo confocal real-time mini-microscopy in animal models of human inflammatory and neoplastic diseases. *Endoscopy*, 2007, 39: 350-356.
6. Kiesslich R, Goetz M, Vieth M, et al. Technology insight: confocal laser endoscopy for in vivo diagnosis of colorectal cancer. *Nat Clin Pract Oncol*, 2007, 4: 480-490.
7. Wang TD, Friedland S, Sahbaie P, et al. Functional imaging of colonic mucosa with a fibered confocal microscope for real-time in vivo pathology. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2007, 5: 1300-1305.
8. Meining A, Saur D, Bajbouj M, et al. In vivo histopathology for detection of gastrointestinal neoplasia with a

portable, confocal miniprobe: an examiner blinded analysis. Clin Gastroenterol Hepatol, 2007, 5: 1261-1267.

9. Balasubramanian G, Singh M, Gupta N, et al. Prevalence and predictors of columnar lined esophagus in gastroesophageal reflux disease (GERD) patients undergoing upper endoscopy. Am J Gastroenterol, 2012, 107: 1655-1661.
10. Meining A, Chen YK, Pleskow D, et al. Direct visualization of indeterminate pancreaticobiliary strictures with probe-based confocal laser endomicroscopy: a multicenter experience. Gastrointest Endosc, 2011, 74: 961-968.

第二章

显微内镜技术简介

第一节 显微内镜的构造

共聚焦显微内镜技术(confocal laser endomicroscopy,CLE)是共聚焦显微镜与传统内镜的有机结合,可分为微探头式(probe-based CLE,pCLE)和整合式(endoscope-based CLE,eCLE)两种类型。

pCLE 以微探头的形式通过内镜活检孔道插入进行诊断,可与多种型号内镜配合使用,以 Cellvizio 系统为例,主要由共聚焦显微探头、共聚焦图像显示器、扫描控制单元、影像处理机等部分组成(图 2-1-1)。其中应用于不同检查部位的探头直径大小各异,如应用在胃镜和结肠镜的探头直径约 1.5~1.8mm,配套使用的内镜钳道直径大于 2.8 mm 即可;用于胆道的探头直径约 0.3~0.65mm,内镜钳道直径大于 1.2mm 即可(图 2-1-2)。pCLE 成像扫描速度较快,可达 12 帧 / 秒,侧面分辨率 2.5~5 μ m,直径越大者其侧向分辨率也越高,但扫描深度不能调节,通过选择不同探头可实现 0~80 μ m 内的黏膜层成像。配备的 Makintosh 电脑工作站可支持图像拼接、伪彩着色、视频编辑等处理功能。

eCLE 的共聚焦显微镜被整合入内镜的头端,成为一条专用的共聚焦内镜。以 PENTAX 3870 系列为例,其组成包括共聚焦显微内镜、共聚焦显微内镜的触摸屏显示器、普通内镜影像显示器、影像处理机、光学单元和共聚焦控制单元等(图 2-1-3)。其中内镜镜身直径为 12.8mm,其头端包含水 / 气体喷嘴、两个光导束、一个辅助喷水孔道(用于局部应用造影剂)和一个 2.8mm 的工作孔道(图 2-1-4)。共聚焦图像的扫描速度为 0.8 帧 / 秒(1024 $\times$ 1024 像素)或 1.6 帧 / 秒(1024 $\times$ 512 像素)。视野为 475 μ m $\times$ 475 μ m,侧向分辨率为 0.7 μ m。eCLE 的成像平面深度可通过手柄上的两个控制按钮调节,每次扫描的光学层



图 2-1-1 pCLE 系统的组成



图 2-1-2 pCLE 探头

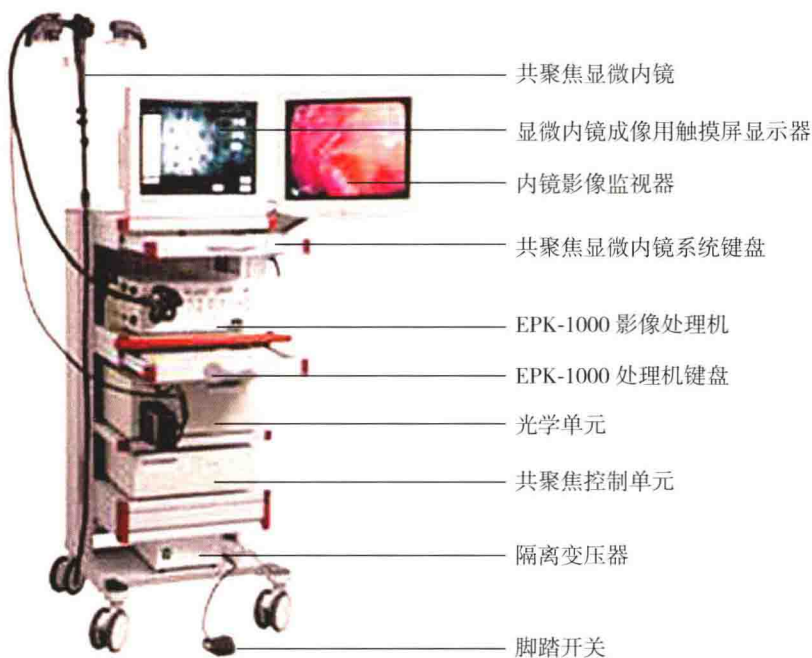


图 2-1-3 eCLE 系统的组成

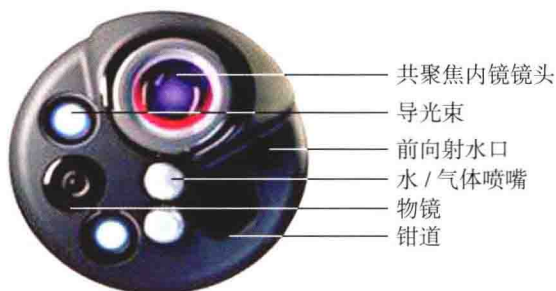


图 2-1-4 eCLE 内镜头端细节

面厚度为 7 μm ,自黏膜表面至黏膜下的扫描深度可在 0~250 μm 间调节,共聚焦图像与白光内镜图像可同时生成。其软件为基于 Windows 操作系统的成像系统,支持暂停、静态图像导出、回放、放大等功能。两者间比较见表 2-1-1。

表 2-1-1 pCLE 与 eCLE 间的比较

主要参数	pCLE (Cellvizio)	eCLE (EC-3870)
共聚焦视野 (μm)	240 $\times$ 200、600 $\times$ 500	475 $\times$ 475
扫描深度 (μm)	0~30、50、80	0~250
内镜直径 (mm)	0.3~1.8	12.8
钳道 (mm)	—	2.8
扫描速度 (帧 / 秒)	12 帧 / 秒	1.6 帧 / 秒 (1024 $\times$ 512 像素) 0.8 帧 / 秒 (1024 $\times$ 1024 像素)
扫描厚度 (μm)	—	7
侧向分辨率 (μm)	2.5~5	0.7
横向分辨率 (μm)	15~20	1
操作系统	OSX	Windows

第二节 显微内镜的成像原理

共聚焦显微内镜由传统的共聚焦显微镜发展而来,共聚焦显微镜已经是一项较成熟的技术,成像时激光光源、探测器及被测物位于共轭位置,激光源发出的低能量激光经光源针孔及透镜聚焦于被观察平面某一点,该点反射光经同一透镜聚焦于观察针孔形成点像,并通过针孔被探测器接收,而由焦平面上方和下方反射的光信号则被聚焦在针孔的前方或后方某处,在探测面上仅形成弥散斑,通过针孔被探测器接收到的光能量很少,远远低于焦点信号强度,故不能成像。这一设计使光源聚焦点与被观察点位于同一平面内,且光源针孔与观察针孔必须同步运动才能获得显微图像,故名共聚焦(图 2-2-1)。其生成的图像不受来自被观察物体其他断面的散射光的影响,成像的分辨率和系统信噪比大大提高。

pCLE 和 eCLE 的原理均为共聚焦成像,但具体成像方式仍有所不同。在 pCLE 中,由激光器发出波长为 488nm 的光,经准直透镜和半反半透镜(dichroic mirror)作用将光折向入射纤维束方向,光纤束由约 3 万根直径约 1.9 μm 的光纤组成,通过 x-y 方向两面棱镜的分别摆动,在光纤束表面呈蛇形进行逐点扫描,并入射到位于共焦点处的被测组织。被测组织中的荧光物质在激光的激发下发射出沿各个方向的荧光,反射荧光再经过光纤束、棱镜准确地聚焦到检测针孔处被探测器接收,形成共聚焦点像(图 2-2-2)。在成像过程中针孔起着关键作用,针孔直径的大小对图像的对比度和分辨率有重要的影响。当激光逐点扫描检测组织,针孔后的光电倍增管也逐点获得对应光点的共聚焦图像,并将之转化为数字信号传输至计算机,最终在屏幕上集成整个焦平面的共聚焦图像。使焦平面依次位于检测组织的不同层面上,可以逐层获得组织相应的光学横断面图像,被誉为“光学活检”。

eCLE 成像系统是将成像光纤束和可移动扫描的物镜组合,将光源由主机导入被测组织,在该系统中激光器发出的光经照明针孔以及透镜系统后,进入成像光纤束中的一根光

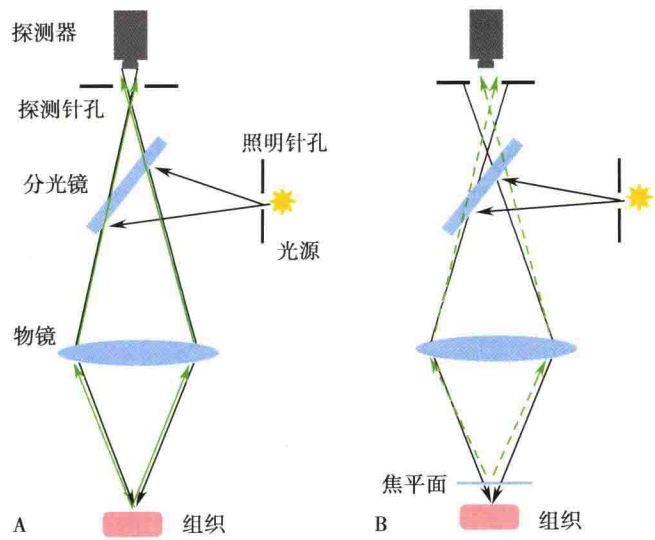


图 2-2-1 共聚焦成像原理示意图
A. 焦平面成像;B. 非焦平面成像

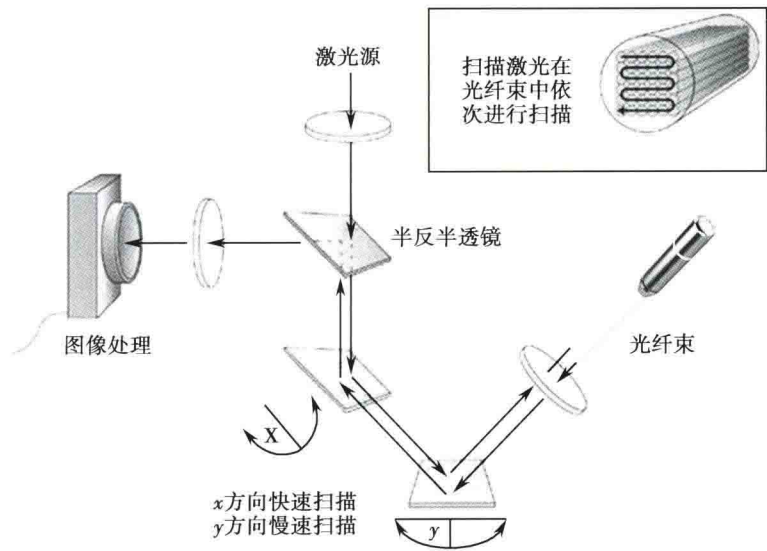


图 2-2-2 pCLE 成像原理图

纤,由光纤末端射出的光经物镜系统聚焦于样品中的一点,同时由照明点反射的光信号被准直后进入同一根照明光纤,并经分束器及聚焦透镜汇聚于光探测器前方的小孔光阑上,之后由光电倍增管(PMT)接收,在 eCLE 中单根光纤同时充当照明点光源和检测针孔。探头由数万根光纤组成,其包含的光纤数目越多,则侧向分辨率越高,但探头的直径也越大(图 2-2-3)。

可见,pCLE 水平面扫描的实现主要依靠主机内部棱镜的摆动,使激光逐层扫描,至固定的光纤束中,结构相对简单,但尚不具备垂直方向的扫描能力。eCLE 水平面扫描主要依靠内镜头端的 x 、 y 轴调节马达摆动单根光纤,垂直方向扫描依靠 z 轴调节马达改变深度,结构相对复杂,但实现了较高的侧向分辨率和扫描深度调节(图 2-2-4)。

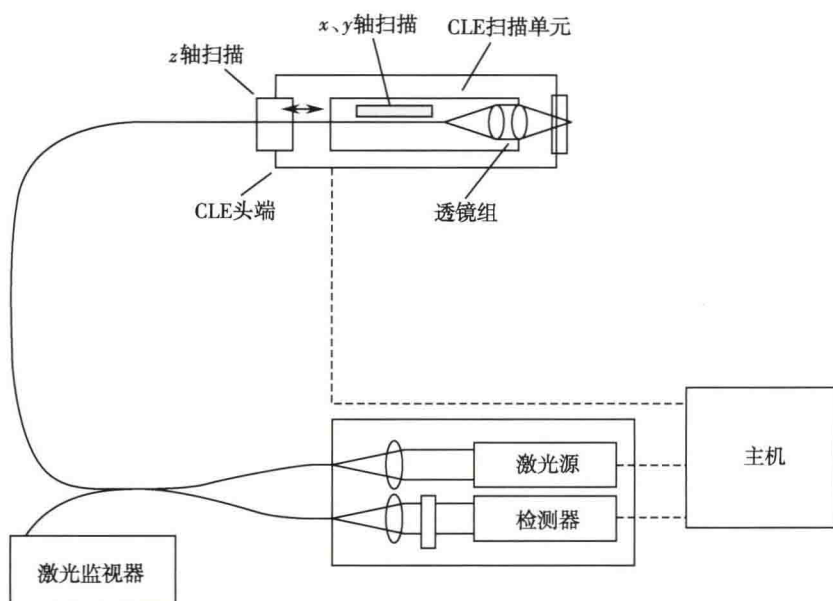


图 2-2-3 eCLE 成像原理图

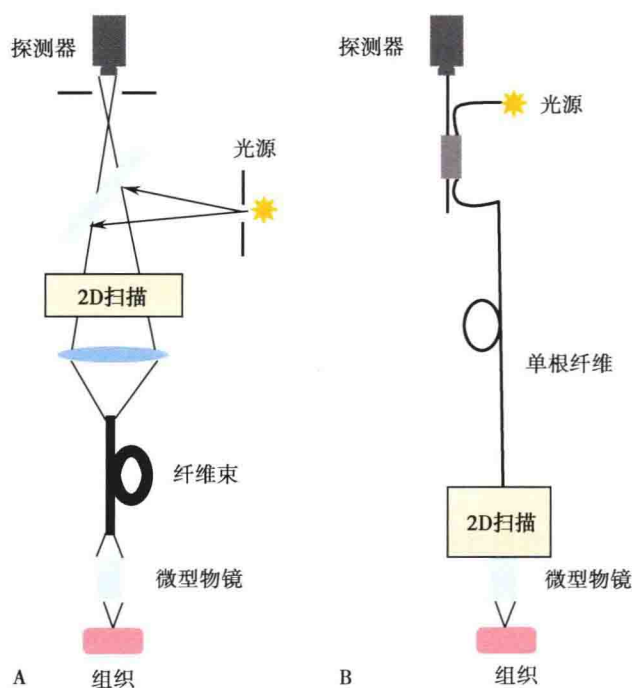


图 2-2-4 pCLE 与 eCLE 成像对比

A. pCLE 成像; B. eCLE 成像