

·论著·

内镜超声引导下纳米炭标记法对直肠癌腹腔镜手术的辅助价值

叶舟 王蓉 李达周 江传燊 张观坡 余砾 徐桂林 王雯

解放军联勤保障部队第九〇〇医院消化内科,福州 350025

通信作者:王雯,Email:wangwenfj@163.com

【摘要】 目的 探讨内镜超声引导下纳米炭标记法在直肠癌腹腔镜手术前定位的应用价值。**方法** 选取2018年4月—2019年4月联勤保障部队第九〇〇医院经活检病理诊断为直肠癌拟行腹腔镜手术的患者60例,根据随机数字表法分为内镜超声标记组(A组)、结肠镜标记组(B组)与无标记的对照组(C组)。记录肠镜下标记时肠腔内染料漏渗率、不良反应情况,腹腔镜术中观察被标记的直肠浆膜黑染情况。记录术中寻找病灶时间、总手术时间、切除肠段长度、切缘距肿瘤距离、手术保肛率,比较术后病理结果。**结果** A组内镜超声发现2例肿瘤肛侧可疑的壁内扩散,扩散长度分别为0.42 cm和0.71 cm,显微镜下观察扩散长度分别为0.36 cm和0.64 cm;B组病理检查发现1例肿瘤肛侧的壁内扩散,显微镜下观察扩散长度为0.53 cm;C组病理检查发现3例肿瘤肛侧的壁内扩散,显微镜下观察扩散长度分别为0.43 cm、0.36 cm和0.28 cm。被标记者术中均易在直肠浆膜面发现黑染标记点,B组3例腹膜表面和肠系膜存在散在斑点状黑染。3组间数据对比如下:(1)术中寻找病灶时间:A组、B组均明显小于C组[(1.29±0.87) min、(1.31±0.63) min比(15.3±10.50) min, P 均<0.05];(2)总手术时间:A组、B组均明显小于C组[(176.12±27.64) min、(175.67±26.48) min比(198.65±38.67) min, P 均<0.05];(3)肠段切除长度:A组、B组均明显小于C组[(11.81±5.76) cm、(12.31±3.94) cm比(15.24±4.12) cm, P 均<0.05];(4)切缘距肿瘤距离:A组、B组均明显小于C组[(3.61±1.26) cm、(4.57±1.58) cm比(6.13±2.47) cm, P 均<0.05];(5)A组、B组、C组保肛率分别为65.0%(13/20)、60.0%(12/20)、40.0%(8/20),组间比较差异无统计学意义($P>0.05$)。术后标本切缘均未发现肿瘤细胞残留。**结论** 在腹腔镜直肠癌术前,进行内镜下纳米炭注射标记,可减少术中不必要的肠段切除、缩短手术时间。而内镜超声引导下纳米炭标记更能直接了解肿瘤有无向肛侧的壁内扩散,为直肠癌肛侧手术切端的定位提供更精确的依据。

【关键词】 直肠肿瘤; 染色与标记; 超声检查; 炭; 纳米技术; 腹腔镜**基金项目:**福建医科大学启航基金项目(2017XQ1197);福建医科大学科技创新联合资金项目(2018Y9116)

Value of endoscopic ultrasonography-guided carbon nanoparticles tattooing for rectal cancer in laparoscopic surgery

Ye Zhou, Wang Rong, Li Dazhou, Jiang Chuanshen, Zhang Guanpo, Yu Li, Xu Guilin, Wang Wen

Department of Gastroenterology, The 900th Hospital of Joint Logistics Support Force, People's Liberation Army, Fuzhou 350025, China

Corresponding author: Wang Wen, Email: wangwenfj@163.com

【Abstract】 Objective To explore the value of endoscopic ultrasonography-guided carbon nanoparticles tattooing for preoperative localization of laparoscopic surgery for rectal cancer. **Methods** Sixty patients diagnosed as having rectal cancer who underwent laparoscopic radical resection in the 900th

DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20210111-00874

收稿日期 2021-01-11 本文编辑 周昊

引用本文:叶舟,王蓉,李达周,等. 内镜超声引导下纳米炭标记法对直肠癌腹腔镜手术的辅助价值[J]. 中华消化内镜杂志, 2022, 39(3): 209-214. DOI: 10.3760/cma.j.cn321463-20210111-00874.



Hospital of Joint Logistics Support Force from April 2018 to April 2019 were randomly divided into the endoscopic ultrasonography-guided tattoo group (group A), the colonoscopy-guided tattoo group (group B) and the control group (group C) by random number table. The leakage rate of dye in intestinal tract, complications, and the tattooed serosa stained with carbon nanoparticles during laparoscopic surgery were recorded. Identification time of lesions, the total operation time, the length of resected rectal segment, tumor distance to distal resection margin, and the rate of anal preservation were analyzed and the postoperative pathology were compared. **Results** In group A, endoscopic ultrasonography revealed 2 cases of suspected tumor extension toward the anal side within distal intestinal wall. The extension length was 0.42 cm and 0.71 cm respectively, and the extension length was 0.36 cm and 0.64 cm under microscope respectively. In group B, the pathology result showed that the extension length was 0.53 cm under microscope. In group C, the pathology result showed that the extension length were 0.43 cm, 0.36 cm and 0.28 cm under microscope respectively. Obvious black staining in the rectal serosa was found in all tattooed patients during the surgery. There were scattered black staining spots at the surface of peritoneum and mesentery in 3 cases in group B. The identification time of lesions in group A and B were shorter than that in group C (1.29 ± 0.87 min, 1.31 ± 0.63 min VS 15.3 ± 10.50 min, $P < 0.05$). The total operation time in group A and B were shorter than that in group C (176.12 ± 27.64 min, 175.67 ± 26.48 min VS 198.65 ± 38.67 min, $P < 0.05$). The length of resected rectal segment in group A and B were shorter than that in group C (11.81 ± 5.76 cm, 12.31 ± 3.94 cm VS 15.24 ± 4.12 cm, $P < 0.05$). The tumor distance to distal resection margin in group A and B were shorter than that in group C (3.61 ± 1.26 cm, 4.57 ± 1.58 cm VS 6.13 ± 2.47 cm, $P < 0.05$). Anal preservation rates of three groups were 65.0% (13/20), 60.0% (12/20), 40.0% (8/20) respectively with no significant difference ($P > 0.05$). No residual tumor cells were found in any specimens. **Conclusion** Carbon nanoparticles tattooing guided by endoscopic ultrasonography could reduce unnecessary intestinal segment incision and shorten the operation time. It can also reveal tumor extension toward the anal side within intestinal wall, which provides more accurate localization for the distal incision of the lower rectal cancer.

【Key words】 Rectal neoplasms; Staining and labeling; Ultrasonography; Charcoal; Nanotechnology; Laparoscopes

Fund program: Fujian Medical University Qihang Fund Project (2017XQ1197); Science and Technology Innovation Joint Fund Project of Fujian Medical University (2018Y9116)

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是一个世界性的公共健康问题, CRC是全球第三大常见癌,也是第四大最常导致死亡的癌症^[1]。目前随着早期癌的筛查诊断以及内镜技术的快速发展,结直肠癌的发病率及死亡率虽有所下降,但50岁以下的CRC发病率仍呈逐渐上升趋势。

外科手术仍是治疗CRC的主要方法,但近年来随着微创概念的深入,腹腔镜的临床使用愈来愈广泛。腹腔镜手术相对于传统开腹手术而言,具有视野放大、解剖清晰、创伤小、恢复快、住院时间短等优势^[2-4],但其亦有术前定位困难的问题^[5-7],概因腹腔镜手术中外科医师无法直接接触肠壁,肿瘤不易观察感知,导致定位错误^[8]。目前众多的术前定位方法都存在缺陷,而纳米炭混悬液具有较好的组织渗透性、滞留性以及明显的黑染效果,有望成为更好的选择^[9-11]。

在我国,直肠癌占总CRC病例的59.4%~71.0%,其比例远高于结肠癌^[12-16],并且会不同程度地向肛侧缘壁内扩散^[17-18]。内镜超声检查术(endoscopic ultrasonography, EUS)是能够区分肠壁5层结构的唯一影像学方法^[19]。所以在没有EUS

探查以明确有无肿瘤向肛侧壁内扩散的情况下,进行直接的纳米炭注射标记定位显然是不准确的。为达到切缘阴性,减少术后复发率,外科医师倾向更大的手术清扫范围。然而,经过扩大清扫范围治疗后的患者五年生存率并无明显改善,反而出现更多的并发症^[20]。对肿瘤向肛侧壁内扩散<1 cm的大部分直肠癌,尤其对于低位直肠癌患者而言,错误的术前评估影响了保肛手术的实施,甚至改变了患者的术后生活质量。所以目前急需一种更加精准的直肠癌术前定位方法。国内外尚鲜见对EUS引导下纳米炭注射定位的研究,因此,本研究中我们拟通过EUS探查肿瘤有无向肛侧壁内扩散,并引导进行纳米炭注射标记,研究该方法对腹腔镜直肠癌手术辅助定位的价值。

资料与方法

一、研究对象

选取2018年4月—2019年4月期间,在我院经结肠镜及病理活检诊断为直肠癌且经术前评估,拟行腹腔镜直肠癌根治术的患者作为研究对象。

纳入年龄 18~80 岁,首次发现且已被肠镜活检病理证实为直肠癌需行手术治疗者。排除标准:(1)因心肺功能不全不能进行手术者;(2)发现有其他部位转移的直肠癌患者;(3)既往腹部有外科手术史者;(4)手术前已经化疗、放疗者;(5)存在结肠扩张、梗阻、可疑穿孔,急需手术治疗者;(6)严重过敏体质者。本研究采用随机数字表法将入选患者分为内镜超声标记组(A组)、结肠镜标记组(B组)与无标记的对照组(C组),最终纳入 60 例直肠癌患者,每组 20 例。

二、方法

1. 材料及设备:标记试剂为纳米炭混悬液,浓度 0.25 mg/0.5 mL。设备包括日本奥林巴斯公司 CF-Q260AI 结肠镜、nm-200U-0423 内镜注射针,日本日立公司 Hi Vision AVIUS 全数字化彩色超声诊断仪,日本宾得公司 EG-3270UK 内镜超声(频率 7.5~12 MHz 可调)。

2. EUS 探查:A 组患者均行 EUS 探查,观察肿瘤位置以及有无肿瘤向肛侧的壁内扩散(图 1),测量可疑扩散的长度。

3. 纳米炭注射标记:标记时每位患者均使用 1 支纳米炭混悬液原液,每个标记点的注射量为 0.1 mL。A 组的标记在超声引导下边观察边进行,以减少透壁注射及种植转移的风险^[21-22],注射针伸入病灶周围黏膜下层,在距肿瘤向肛侧壁内扩散末

端的 0.5~1.0 cm 处行 4 个点的注射,最后对肿瘤与注射部位间的距离进行确认测量(图 2)。B 组直接进行结肠镜下的纳米炭注射标记:在肿瘤肛侧距肿瘤 0.5~1.0 cm 处注射 4 点。

4. 直肠癌标本处理:直肠癌术后标本均送病理科检查,标本经 10% 的福尔马林液(40% 甲醛溶液)浸泡固定后,沿肿瘤对侧肠壁纵行切开,在肿瘤最大径处沿纵向肠管每 0.5 cm 间隔进行逐层肠壁的横向切断,随后进行编号、脱水、石蜡包埋、制片、HE 染色处理,之后在显微镜下观察肿瘤向肛侧的壁内扩散情况。

5. 观察指标:测量所有纳入患者直肠癌距肛缘的距离,对比组间的性别、年龄及直肠癌距肛缘距离。EUS 探查时记录有无肿瘤向肛侧的壁内扩散并测量扩散距离。注射时观察肠黏膜标记是否清晰,肠腔内有无染料漏渗,患者有无发热、腹痛、腹胀、便血等可能与注射标记有关的并发症。术中观察标记的直肠浆膜是否黑染清晰,腹腔内和肠系膜有无因染料透壁注射所致的黑染不清。将 3 组患者术中寻找病灶时间、总手术时间、肠切除长度、切缘距肿瘤距离、手术保肛率分别进行比较。

6. 统计学处理:采用 SPSS 22.0 软件包进行统计学分析,计数资料用频数(%)表示,组间比较行卡方检验;计量资料符合正态分布者用 $\bar{x} \pm s$ 表示,总体组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用

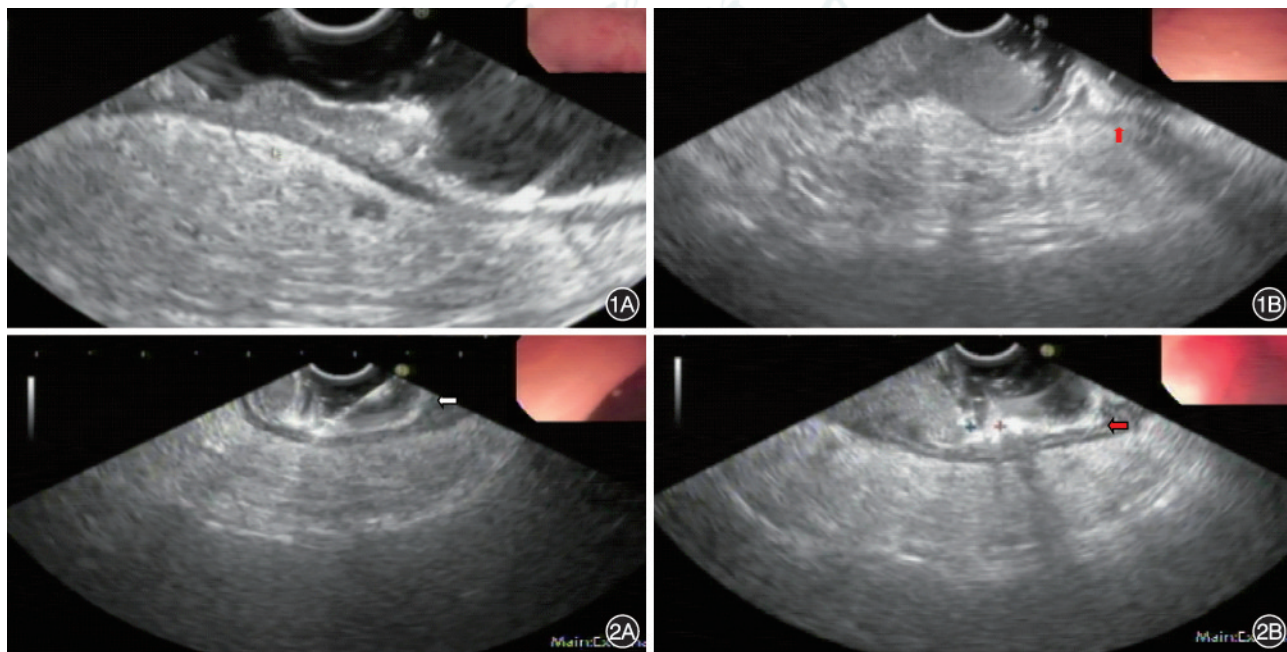


图 1 直肠癌患者行内镜超声检查 1A:病变处见低回声肿瘤,肿瘤远端边缘清晰可见,未见明显向肛侧的壁内扩散;1B:肿瘤存在向肛侧可疑的壁内扩散 图 2 直肠癌患者行内镜超声引导下纳米炭注射标记 2A:白色箭头所示线形强回声为注射针;2B:对肿瘤边界与注射部位间的距离进行测量确认,红色箭头所示团状强回声区为注射染料形成的皮丘

t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般资料: 共 60 例直肠癌患者参与了本研究。A 组 20 例, 其中男 9 例、女 11 例, 年龄(56.93 ± 11.0) 岁, 肿瘤距肛缘距离(7.23 ± 1.52) cm; B 组 20 例, 男 11 例、女 9 例, 年龄(58.32 ± 12.51) 岁, 肿瘤距肛缘距离(6.97 ± 1.48) cm; C 组 20 例, 男 8 例、女 12 例, 年龄(57.75 ± 11.84) 岁, 肿瘤距肛缘距离(7.31 ± 2.21) cm。3 组间患者的性别、年龄、直肠癌距肛缘距离差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2. EUS 下直肠癌向肛侧的壁内扩散: A 组 20 例患者经 EUS 探查发现 2 例存在可疑肿瘤肛侧的壁内扩散, 长度分别为 0.42 cm、0.71 cm; 术后标本经 HE 染色后显微镜下观察证实, 且显微镜下发现肿瘤的扩散长度分别为 0.36 cm、0.64 cm。B 组病理检查发现 1 例存在肿瘤肛侧的壁内扩散, 显微镜下观察扩散长度 0.53 cm; C 组病理检查发现 3 例存在肿瘤肛侧的壁内扩散, 显微镜下观察扩散长度分别为 0.43 cm、0.36 cm 和 0.28 cm。3 组标本显微镜下均无明显炎性黏膜、白细胞浸润、水肿等非肿瘤性的病理结果。

3. 标记结果及并发症: 3 组患者各出现 2 例一过性的轻微腹痛, 可能与肠镜操作影响有关, 均未出现发热、腹胀、便血等不适。被标记后的肠黏膜均黑染清晰(图 3A), A、B 组各有 1 例出现了肠腔内的纳米炭染料漏渗, 但均不影响染料的注射及观察(图 3B)。所有行纳米炭标记的 A、B 组患者, 术中均能够轻易快速地在直肠浆膜面发现黑染的纳米炭标记点(图 4A), 其中 B 组有 3 例在腹膜表面及肠系膜处观察到不影响视野暴露及手术操作的散在斑点状黑染(图 4B), 考虑因纳米炭染料的透壁注射所致。患者术中均未见腹膜粘连、腹腔内渗液, 被标记的肠段均未发现明显的水肿、坏死、脓肿等。

4. 各组数据及手术保肛率对比: 3 组数据对比如表 1, 所有术后标本切缘均未发现肿瘤细胞残留。

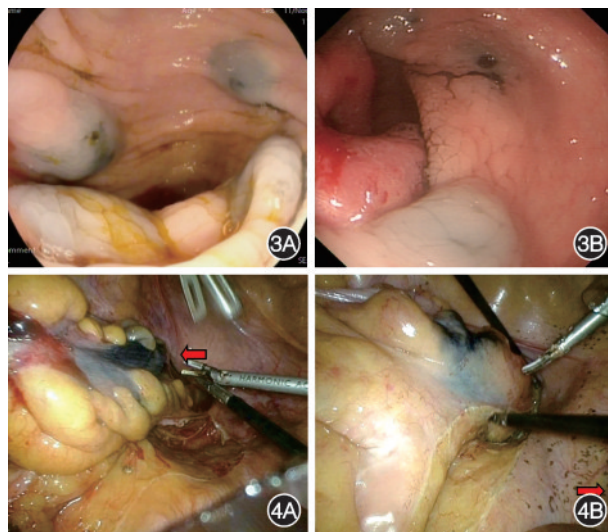


图 3 直肠癌患者内镜下纳米炭注射标记 3A: 被标记的肠黏膜黑染清晰; 3B: 标记时出现了少量的肠腔内漏渗 图 4 经纳米炭注射标记的直肠癌患者, 行腹腔镜手术 4A: 腹腔内黑染的标记点清晰可见; 4B: 散在的斑点状黑染

5. 术后肿瘤分化及分期情况: 各组术后肿瘤病理情况如下, A 组高分化腺癌 4 例, 中分化腺癌 10 例, 低分化腺癌 6 例, 其中 I 期 6 例, II 期 9 例, III 期 5 例, 淋巴结转移 9 个; B 组高分化腺癌 8 例, 中分化腺癌 6 例, 低分化腺癌 6 例, 其中 I 期 8 例, II 期 5 例, III 期 7 例, 淋巴结转移 11 个; C 组高分化腺癌 6 例, 中分化腺癌 10 例, 低分化腺癌 4 例, 其中 I 期 5 例, II 期 11 例, III 期 4 例, 淋巴结转移 10 个。3 组间患者的术后病理及分期分布情况差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

6. 术后 1 年复查情况: 术后 1 年复查, A 组 1 例(5.0%)复发, 无死亡; B 组 2 例(10.0%)复发, 1 例(5.0%)死亡; C 组 1 例(5.0%)复发, 1 例(5.0%)死亡。各组的复发率和死亡率对比差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。

讨 论

腹腔镜技术已广泛用于临床 CRC 治疗, 对较小且未侵犯浆膜层的病灶, 外科医师术中难以观察、定位, 而常用的术前肿瘤定位方法多存在缺陷,

表 1 3 组直肠癌腹腔镜手术患者手术情况比较

组别	例数	术中寻找病灶时间(min, $\bar{x} \pm s$)	总手术时间(min, $\bar{x} \pm s$)	肠段切除长度(cm, $\bar{x} \pm s$)	切缘距肿瘤距离(cm, $\bar{x} \pm s$)	保肛[例(%)]
A 组	20	1.29 ± 0.87^a	176.12 ± 27.64^a	11.81 ± 5.76^a	3.61 ± 1.26^{ab}	13(65.0)
B 组	20	1.31 ± 0.63^a	175.67 ± 26.48^a	12.31 ± 3.94^a	4.57 ± 1.58^a	12(60.0)
C 组	20	15.30 ± 10.50	198.65 ± 38.67	15.24 ± 4.12	6.13 ± 2.47	8(40.0)

注: A 组采用内镜超声下纳米炭标记; B 组采用结肠镜下纳米炭标记; C 组无标记; 与 C 组比较, $^a P < 0.05$; 与 B 组比较, $^b P < 0.05$

因此内镜下注射标记定位法显示出了更简易、安全、有效的优势。纳米炭混悬液是新型的淋巴结示踪剂,对改善淋巴结清扫具有重要意义,且未发现纳米炭有明显的细胞毒性、致畸作用^[23-25]。不仅如此,纳米炭还具有组织渗透性和长期的组织内滞留性,因其黑染效果明显,适合病灶的定位标记^[26]。近年来有关内镜下纳米炭注射定位的研究相继报道,证实了纳米炭定位的安全持久性^[10]。因此,应用纳米炭进行注射定位具有高度的稳定性、安全性和有效性。

直肠癌存在包括壁内扩散、血管侵犯、淋巴结浸润和转移等不同方式的远侧端转移^[22-23],特别对于低位直肠癌患者而言,肿瘤向肛侧扩散的范围决定着肿瘤远端的切缘以及可否实施保肛手术,严重关乎患者的术后生活质量。以往直肠癌术前普通内镜下纳米炭定位,多是在未考虑有无肿瘤肛侧壁内扩散的情况下进行的,难免出现癌细胞残留、术后标本切缘阳性的情况。EUS是内镜和超声波相结合的设备,跟普通内镜相比,EUS不但能够探查了解肿瘤的浸润深度、淋巴结转移情况,更能够观察获得肿瘤边缘距肛缘的距离,判断有无肿瘤向肛侧可疑的壁内扩散。虽然与传统组织病理学研究方法相比,EUS下观察无法达到显微镜一样的效果,但对有明显肛侧壁内扩散的部分肿瘤,EUS则显示出了不可或缺的术前辅助评估能力。目前国内鲜见EUS引导下纳米炭标记方法对腹腔镜直肠癌术前定位的研究,我们首先在EUS的探查下明确肿瘤位置以及有肛侧的壁内扩散,在此基础上进行EUS引导下的纳米炭注射定位,探讨该方法对腹腔镜直肠癌术前定位的辅助价值。

文献显示存在肛侧扩散超过1 cm者占直肠癌的4%~10%^[27-28],另一项回顾性研究发现381例直肠癌切除标本中56例(14.69%)存在肛侧的壁内扩散^[29],可见在无EUS探查的情况下直接进行内镜下的纳米炭注射定位是不精确的。本研究利用EUS的引导下进行纳米炭的注射定位,若肿瘤存在明显可疑肛侧的壁内扩散,EUS下可清晰地显示可疑扩散的长度,随后在其边缘进行EUS引导下的纳米炭注射,较传统内镜下注射法更加有效精确。

在各组间术后数据的对比分析中我们发现,无论是平均术中寻找病灶时间、总手术时间,还是肠段切除长度、肿瘤距切缘距离,术前进行纳米炭标记的A、B组均小于未标记的对照组;而手术保肛率则是A、B组均略大于对照组。这是因为标记的纳

米炭为外科医师提供了一个持久稳定的可视化目标,术中清晰的黑染效果避免了术者的盲目寻找、减少了术中寻找病灶时间和总手术时间;而标记在肿瘤肛侧0.5~1.0 cm距离的黑染给外科医师提供了一个准确的肿瘤定位,明确了可否实施保肛手术,避免了不必要的肠段切除。

本研究结果显示A组的平均肿瘤距切缘距离小于B组,差异有统计学意义。在EUS引导下的纳米炭注射标记中,在了解肿瘤向肛侧壁内扩散的情况下进行纳米炭的注射,较B组传统结肠镜下经验性的评估注射点距肿瘤距离的直接标记而言更加精准,给予了术者更加准确的术前定位信息,也进一步减少了不必要的切除。综上所述,腹腔镜直肠癌术前内镜下纳米炭注射标记能够减少术中不必要的肠段切除、缩短手术时间;内镜超声引导下纳米炭标记能直接对直肠癌进行术前分期,了解肿瘤有无向肛侧的壁内扩散,为直肠癌肛侧手术切端的定位提供了更精确的依据。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 叶舟:设计实验、实施研究、分析数据、撰写论文、统计分析、经费支持;王蓉、李达周:设计实验、分析数据、撰写论文、支持性贡献;江传燊:设计实验、撰写论文、统计分析;张观坡、余砾、徐桂林:实施研究、分析数据、撰写论文、统计分析;王雯:设计实验、撰写论文、支持性贡献

参 考 文 献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015,65(2):87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [2] Cho YB, Lee WY, Yun HR, et al. Tumor localization for laparoscopic colorectal surgery[J]. World J Surg, 2007,31(7): 1491-1495. DOI: 10.1007/s00268-007-9082-7.
- [3] 任俭, 张华. 23例腹腔镜结直肠癌手术临床分析[J]. 临床消化病杂志, 2012, 24(4): 208-210. DOI: 10.3870/lexh.j.issn.1005-541X.2012.04.05.
- [4] Jayne DG, Guillo PJ, Thorpe H, et al. Randomized trial of laparoscopic-assisted resection of colorectal carcinoma: 3-year results of the UK MRC CLASICC Trial Group[J]. J Clin Oncol, 2007,25(21):3061-3068. DOI: 10.1200/JCO.2006.09.7758.
- [5] Wexner SD, Cohen SM, Ulrich A, et al. Laparoscopic colorectal surgery-are we being honest with our patients? [J]. Dis Colon Rectum, 1995, 38(7): 723-727. DOI: 10.1007/BF02048029.
- [6] Piscatelli N, Hyman N, Osler T. Localizing colorectal cancer by colonoscopy[J]. Arch Surg, 2005, 140(10): 932-935. DOI: 10.1001/archsurg.140.10.932.
- [7] Kim JH, Kim WH, Kim TI, et al. Incomplete colonoscopy in patients with occlusive colorectal cancer: usefulness of CT colonography according to tumor location[J]. Yonsei Med J, 2007,48(6):934-941. DOI: 10.3349/ymj.2007.48.6.934.
- [8] Zmora O, Dinnewitzer AJ, Pikarsky AJ, et al. Intraoperative

- endoscopy in laparoscopic colectomy[J]. *Surg Endosc*, 2002, 16(5):808-811. DOI: 10.1007/s00464-001-8226-3.
- [9] Du J, Zhang Y, Ming J, et al. Evaluation of the tracing effect of carbon nanoparticle and carbon nanoparticle-epirubicin suspension in axillary lymph node dissection for breast cancer treatment[J]. *World J Surg Oncol*, 2016, 14(1): 164. DOI: 10.1186/s12957-016-0925-2.
- [10] Wang R, Wang Y, Li D, et al. Application of carbon nanoparticles to mark locations for re-inspection after colonic polypectomy[J]. *Surg Endosc*, 2016, 30(4): 1530-1533. DOI: 10.1007/s00464-015-4367-7.
- [11] Wang W, Wang R, Wang Y, et al. Preoperative colonic lesion localization with charcoal nanoparticle tattooing for laparoscopic colorectal surgery[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2013,9(12):2123-2125. DOI: 10.1166/jbn.2013.1767.
- [12] Qing SH, Rao KY, Jiang HY, et al. Racial differences in the anatomical distribution of colorectal cancer: a study of differences between American and Chinese patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(4): 721-725. DOI: 10.3748/wjg. v9. i4.721.
- [13] Chen HM, Weng YR, Jiang B, et al. Epidemiological study of colorectal adenoma and cancer in symptomatic patients in China between 1990 and 2009[J]. *J Dig Dis*, 2011, 12(5): 371-378. DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00531.x.
- [14] Zhang S, Cui Y, Weng Z, et al. Changes on the disease pattern of primary colorectal cancers in Southern China: a retrospective study of 20 years[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2009, 24(8):943-949. DOI: 10.1007/s00384-009-0726-y.
- [15] Jiang SX, Wang XS, Geng CH, et al. Altering trend of clinical characteristics of colorectal cancer: a report of 3,607 cases[J]. *Ai Zheng*, 2009,28(1):54-56.
- [16] Xu AG, Yu ZJ, Jiang B, et al. Colorectal cancer in Guangdong Province of China: a demographic and anatomic survey[J]. *World J Gastroenterol*, 2010,16(8):960-965. DOI: 10.3748/wjg. v16. i8.960.
- [17] Reibetanz J, Germer CT. Altering the therapeutic paradigm towards a distal bowel margin of < 1 cm in patients with low-lying rectal cancer: a systematic review and commentary [J]. *Chirurg*, 2013, 84(8): 701. DOI: 10.1007/s00104-013-2569-x.
- [18] 周凌阳, 左志贵, 李鹏, 等. 低位直肠癌远侧端壁内逆行浸润的造影特点研究[J]. *医学研究杂志*, 2015,(3)DOI: 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.03.033.
- [19] Mondal D, Betts M, Cunningham C, et al. How useful is endorectal ultrasound in the management of early rectal carcinoma? [J]. *Int J Colorectal Dis*, 2014, 29(9): 1101-1104. DOI: 10.1007/s00384-014-1920-0.
- [20] Fujita S, Akasu T, Mizusawa J, et al. Postoperative morbidity and mortality after mesorectal excision with and without lateral lymph node dissection for clinical stage II or stage III lower rectal cancer (JCOG0212): results from a multicentre, randomised controlled, non-inferiority trial[J]. *Lancet Oncol*, 2012,13(6):616-621. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70158-4.
- [21] Nizam R, Siddiqi N, Landas SK, et al. Colonic tattooing with India ink: benefits, risks, and alternatives[J]. *Am J Gastroenterol*, 1996,91(9):1804-1808.
- [22] Park JW, Sohn DK, Hong CW, et al. The usefulness of preoperative colonoscopic tattooing using a saline test injection method with prepackaged sterile India ink for localization in laparoscopic colorectal surgery[J]. *Surg Endosc*, 2008,22(2):501-505. DOI: 10.1007/s00464-007-9495-2.
- [23] Fan LJ, Zhong L, Guo DY, et al. Effect and safety of carbon nanoparticles dyeing in axillary lymph node dissection of breast cancer[J]. *Chin J Breast Dis*, 2010,4:313-321.
- [24] Yang Q, Wang XD, Chen J, et al. A clinical study on regional lymphatic chemotherapy using an activated carbon nanoparticle-epirubicin in patients with breast cancer[J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(6): 2341-2348. DOI: 10.1007/s13277-012-0496-y.
- [25] Guo F, Mao X, Wang J, et al. Gemcitabine adsorbed onto carbon particles increases drug concentrations at the injection site and in the regional lymph nodes in an animal experiment and a clinical study[J]. *J Int Med Res*, 2011,39(6):2217-2227. DOI: 10.1177/147323001103900618.
- [26] Kitamura K, Yamane T, Oyama T, et al. Rapid and accurate method for delineating cancer lesions in laparoscopic colectomy using activated carbon injection[J]. *J Surg Oncol*, 1995,58(1):31-34. DOI: 10.1002/jso.2930580107.
- [27] Kwok SP, Lau WY, Leung KL, et al. Prospective analysis of the distal margin of clearance in anterior resection for rectal carcinoma[J]. *Br J Surg*, 1996,83(7): 969-972. DOI: 10.1002/bjs.1800830726.
- [28] Andreola S, Leo E, Belli F, et al. Distal intramural spread in adenocarcinoma of the lower third of the rectum treated with total rectal resection and coloanal anastomosis[J]. *Dis Colon Rectum*, 1997,40(1):25-29. DOI: 10.1007/BF02055677.
- [29] Pahlman L, Bujko K, Rutkowski A, et al. Altering the therapeutic paradigm towards a distal bowel margin of < 1 cm in patients with low-lying rectal cancer: a systematic review and commentary[J]. *Colorectal Dis*, 2013, 15(4): e166-174. DOI: 10.1111/codi.12120.