

· 综述 ·

激光共聚焦内镜在炎症性肠病诊疗中的应用

王艺轩 唐彤宇

内镜下可直接观察炎症性肠病 (IBD) 的炎症活动程度及病变范围,而近年来“临床治愈”及“黏膜愈合”等概念的提出,目前对于炎症性肠病的治疗目标已上升为最大化的黏膜愈合。白光内镜一直是诊断炎症性肠病的金标准,而激光共聚焦内镜 (CLE) 的发明,为 IBD 的诊断和治疗提供了新的可能。CLE 可对黏膜、黏膜下血管以及细胞乃至亚细胞结构进行实时观察,目前主要应用于 Barrett 食管、结直肠肿瘤及炎症性肠病等疾病的诊治。多项研究发现,溃疡性结肠炎 (UC) 和克罗恩病 (CD) 在 CLE 下的表现与组织学具有高度一致性,这使其成为 IBD 的诊疗中一项重要的附加检查手段,它不仅在 IBD 的诊断中发挥重要作用,更有助于评估炎症反应活动度、监测复发及上皮内瘤变等^[1-3]。

一、激光共聚焦技术原理

目前广泛应用的 CLE 主要包括整合式激光共聚焦显微内镜 (endoscope-based CLE, eCLE) 和微探头式激光共聚焦显微内镜 (probe-based CLE, pCLE)。前者直接整合探头于内镜上,镜头粗,不易弯曲,故部分位置观察受限,但分辨率高,视野更宽广,探及深度 0~250 μm ,视场直径达 475 μm ,横向分辨率为 0.7 μm ;后者可通过内镜活检通道,活动性大,适合于胆管、胰管及任何内镜通道,其视场直径相对较小,为 240 μm ,而横向分辨率可达 1 μm ,探及深度 60 μm ^[4]。这两种激光共聚焦内镜的系统都是通过主机发射一 488 nm 波长的低能耗蓝色激光,经光纤传导后聚焦于靶组织,靶组织中的荧光素发出荧光通过探头孔反射到达检测器,转化为数字信号后经计算机合成清晰的二维灰阶图像。

二、激光共聚焦内镜在炎症性肠病诊断中的应用

1. 镜下表现:正常的结直肠黏膜隐窝结构规则,常表现为圆形野菊花样结构,隐窝腔隙小而圆。当发生炎症改变时, CLE 下可见隐窝结构不规则、炎性细胞浸润、微血管紊乱、荧光渗漏等多种征象。相对于白光内镜,激光共聚焦内镜检测 IBD 更为敏感及准确。

2. UC 和 CD 鉴别: Tontini 等^[5] 在一项纳入了 79 例 IBD 患者 (其中 39 例为 UC, 40 例为 CD) 的实验中发现,与 UC 相比, CD 更多地表现为不连续的炎症,灶性隐窝炎及不连续的隐窝结构异常;而 UC 患者则表现为广泛而连续分布的、严重的隐窝炎症及隐窝数减少等。该研究基于上述发现建立

了 CLE 评分系统,其对 IBD 诊断的准确性达 93.7%,高于病史诊断甚至病理组织学“金标准”。Hundorfean 等^[6] 进一步详细阐述了 UC 和 CD 患者的 CLE 下诊断标准: CD 在 CLE 下表现为裂隙溃疡,灶性隐窝炎,肉芽肿,显微镜下可见末端回肠炎炎症反应; UC 患者表现为特征性的对裂隐窝,缩短隐窝及分支隐窝,而显微镜下末端回肠完好。

3. 评价炎症反应活动度: CLE 评价 IBD 活动度的准确率较高,目前已建立多项 CLE 评分标准用来评估病情。Kiesslich 等^[1] 从隐窝结构、炎性细胞浸润和微血管改变等 3 个方面描述了 UC 患者的黏膜炎症反应,将其分为无、轻至中度和重度炎症反应 3 个等级 (见表 1)。Li 等^[2] 关注于隐窝结构形态、微血管改变及荧光泄露,并根据隐窝结构的形态将 UC 分为 A、B、C、D 这 4 个等级,建立了 Chang-Qing 评分系统。其各级别特点: A 级无炎症: 隐窝大小均一,排列规律; B 级慢性炎症: 隐窝间隙增宽,排列稍不规则; C 级急性炎症: 隐窝开口扩张,间隙较 B 级增宽,排列极不规则; D 级急性炎症: 可见隐窝脓肿或隐窝结构消失。Watanabe 等^[7] 发现 CLE 下活动性 UC 的隐窝和隐窝开口大且形态不一,排列不规则,固有层可见大量炎性细胞和毛细血管;而非活动性 UC 的隐窝和隐窝开口和正常黏膜一样小而圆,排列稍不规则,固有层亦可见少量炎性细胞和毛细血管。Neumann 等^[8] 描述了 CLE 下有炎症反应的黏膜和无炎症反应的黏膜的特点,活动期 CD 患者镜下可见隐窝结构扭曲、隐窝腔扩大、微糜烂灶、细胞固有层浸润,并以下述 6 条表现为标准建立了克罗恩病显微内镜活动度评分 (CDEAS): 隐窝数目减少或增多;破坏隐窝数目的增多;微糜烂灶;细胞浸润;血管数目增多;杯状细胞减少。

三、激光共聚焦内镜在 IBD 治疗中的应用

应用抗肿瘤坏死因子抗体,如英夫利昔单抗、阿达木单抗等治疗 IBD 是一项重要的新兴手段,目前临床应用较为广泛。患者对此类生物制剂的反应不同,个别患者不耐受或无应答, CLE 可帮助预先评估患者对此类药物的应答反应,有助于帮助患者选择最佳治疗方案。Atreya 等^[9] 将异硫氰酸荧光素局部喷洒于 CD 患者的黏膜表面进行标记,进而通过 CLE 与分子成像技术相结合,观察被标记的免疫细胞。该实验组发现,高表达跨膜型 TNF (mTNF) 的患者临床应答率显著高于低表达 mTNF 的患者。

Karstensen 等^[10] 在两项前瞻性研究中发现, Smad4 的表达与疾病的严重程度相关, Smad4 是 TGF- β 信号转导中的辅因子,其在 IBD 中受损。Karstensen 等猜想 Smad4 可作为新型治疗靶点,但其作用尚有待进一步研究。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2018.07.017

作者单位: 130000 长春, 吉林大学第一医院胃肠内科

通信作者: 唐彤宇 Email: tangtongyu@163.com

表 1 激光共聚焦内镜下评价溃疡性结肠炎炎症反应活动度的分级

炎症反应活动度	隐窝结构	细胞浸润	血管结构
无	排列规则,开口规整;由整齐的上皮细胞覆盖,其间有杯状细胞	无	六角形,蜂窝状结构在间质内围绕隐窝呈网状分布
轻至中度	形状、大小、分布各不相同;隐窝间隙增大,灶性结构破坏	存在,受累隐窝 $\leq 50\%$	轻中度毛细血管增生,增粗,扭曲
重度	明确的隐窝结构破坏	存在,受累隐窝 $> 50\%$	显著的毛细血管增粗,扭曲,荧光渗漏

许多炎症性肠病患者尽管已达到黏膜愈合,但仍有腹泻或腹痛的肠道症状,一般认为与肠道的通透性密切相关。Chang 等^[11]对 110 例受试者进行了肠道通透性测定,其中包括 31 例 UC 患者,57 例 CD 患者及 22 例健康对照。CD 患者症状活动指数评分为 150 分以上,UC 患者症状评分均为梅奥评分 2 分以上(黏膜愈合被定义为 CD 患者的症状活动指数评分为 0 分,UC 患者梅奥评分为 0 分)。而肠道通透性则通过 CLE 行共聚焦渗漏评分(CLS),在 0~100 分范围内进行量化(0=无损伤通透性,100=完全丧失屏障功能)。研究结果显示,有症状 IBD 患者的中位 CLS(19.0)明显高于无症状 IBD(7.3, $P<0.001$)或对照组(5.9, $P<0.001$),缓解期患者与对照组比较差异无统计学意义($P=0.261$)。表明肠道通透性变化与肠道症状相关。

四、激光共聚焦内镜在 IBD 随访中的应用

1. 预测 IBD 的复发:在 IBD 的病理生理中,消化道黏膜上皮屏障功能的损害具有重要意义,而 CLE 恰恰可通过对上皮屏障完整性的评价而判断黏膜损害程度,故 CLE 可以对 IBD 的复发进行预测。

Karstensen 等^[12]在一项纳入了 50 例患者(39 例 CD 患者,其中 20 例缓解和 11 例对照组)的研究中发现,与非活动性克罗恩病及对照组相比,内镜下活动性克罗恩病患者的荧光素渗漏和微量滴定更频繁,在其后的 12 个月随访期间发现,回肠荧光素渗漏和微量滴定是复发的重要危险因素。Li 等^[13]分别用组织学及 Chang-Qing 评分系统对 UC 患者进行随访,证实了 UC 的复发与炎症反应活动度密切相关,且 CLE 预测的复发与组织学高度一致。Kiesslich 等^[14]研究发现,白光内镜下表现正常的黏膜,其在 CLE 下可见细胞脱落及荧光渗漏。该研究采用 Watson 分级评价黏膜破坏严重程度(见表 2),发现 Watson 分级 II 级和 III 级的 IBD 患者 1 年复发率较 Watson 分级 I 级的患者更高,其敏感度、特异度及准确性分别可达 62.5%、91.2%、79%^[15]。

表 2 评价炎症性肠病黏膜屏障破坏的 Watson 分级

分级	激光共聚焦内镜下特点
I 级,正常	无荧光泄露,无微糜烂灶
II 级,功能性缺损	少量荧光泄露,无微糜烂灶
III 级,结构性缺损	大量荧光泄露及微糜烂灶

2. 诊断并发症:回肠储袋肛管吻合术(ileo pouch anal anastomosis, IPAA)是 UC 治疗的常见术式,可以显著提高患

者生存质量,并发症以“储袋炎”最为常见。Trovato 等^[16]在 18 个患者中应用普通内镜发现了 7 名储袋炎患者(准确率达 38.9%),而应用 CLE 发现 16 名储袋炎患者(准确率 88.9%)。CLE 下可以发现绒毛萎缩、血管环改变、结肠化生、毛细血管缺失以及炎症细胞浸润。即通过 CLE 可以在黏膜改变及症状出现之前预测 IPAA 术后储袋炎的发病率。

3. IBD 相关上皮内瘤变的筛查:上皮内瘤变和癌变是 IBD 患者的远期并发症,IBD 患者发生上皮内瘤变及癌变的风险随病程进展逐年增加,目前临床建议患者每年行肠镜检查,并随机取样行活检检查。而普通白光内镜检查可能错过多灶性扁平损害,这为普通内镜对 IBD 患者上皮内瘤变的筛查增加了难度。Kiesslich 等^[1]以 153 名 UC 患者为实验组进行了一项随机对照实验,实验结果显示,联合应用染色放大内镜和 CLE 检查与普通内镜相比,可使瘤变检出率提高 4.75 倍,且活检次数可降低约 50%。该方法诊断 IBD 相关上皮内瘤变的灵敏度为 83%,特异度达 90%^[17]。

在 IBD 的诊治过程中,对于如何区分腺瘤样异型增生(ALM)和非腺瘤样增生性病变(DALM)难度较大,Hurlstone 等^[18]通过临床实验证明,应用 CLE 对 IBD 患者进行监测,可以更容易地区分出两者的不同。Broek 和 Kiesslich 等^[19-20]描述了 UC 患者非腺瘤样增生性病变和瘤变的 CLE 镜下表现:(1)正常黏膜的血管结构为六角形,在间质内呈网状围绕隐窝,隐窝的分布及开口规则,可见杯状细胞;(2)增生性病变血管结构仍为六角形,但可伴有轻度毛细血管增多,隐窝结构可正常或可见星状隐窝开口,可伴有杯状细胞的缺失;(3)若发生瘤变,则血管扭曲、扩张,结构不规则,极性紊乱,可见荧光渗漏,锯齿状不规则上皮层,隐窝结构和杯状细胞缺失,细胞结构不规则,黏液分泌减少。

综上,激光共聚焦内镜在 IBD 患者的诊断中有较大优势,CLE 补充了传统白光内镜的不足,可早期发现黏膜改变,在 IBD 的诊断、鉴别诊断、炎症反应活动度评估、诊断并发症、预测复发、筛查早期上皮内瘤变等方面发挥重要作用。

参 考 文 献

- [1] Kiesslich R, Goetz M, Lammersdorf K, et al. Chromoscopy-guided endomicroscopy increases the diagnostic yield of intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis [J]. Gastroenterology, 2007, 132(3): 874-882. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.01.048.
- [2] Li CQ, Xie XJ, Yu T, et al. Classification of inflammation activity in ulcerative colitis by confocal laser endomicroscopy [J]. Am J

- Gastroenterol, 2010, 105 (6): 1391-1396. DOI: 10.1038/aig.2009.664.
- [3] Annese V, Daperno M, Rutter MD, et al. European evidence based consensus for endoscopy in inflammatory bowel disease[J]. J Crohns Colitis, 2013, 7 (12): 982-1018. DOI: 10.1016/j.crohns.2013.09.016.
- [4] Rasmussen DN, Karstensen JG, Riis LB, et al. Confocal laser endomicroscopy in inflammatory bowel disease-a systematic review [J]. J Crohns Colitis, 2015, 9 (12): 1152-1159. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjv131.
- [5] Tontini GE, Mudter J, Vieth M, et al. Confocal laser endomicroscopy for the differential diagnosis of ulcerative colitis and Crohn's disease: a pilot study [J]. Endoscopy, 2015, 47 (5): 437-443. DOI: 10.1055/s-0034-1391226.
- [6] Hundorfean G, Chiriac MT, Mudter J, et al. Confocal laser endomicroscopy provides potential differentiation criteria between Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. Inflamm Bowel Dis, 2013, 19 (4): E61-64. DOI: 10.1002/ibd.23033.
- [7] Watanabe O, Ando T, Maeda O, et al. Confocal endomicroscopy in patients with ulcerative colitis [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2008, 23 Suppl 2: S286-290. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05559.x.
- [8] Neumann H, Vieth M, Atreya R, et al. Assessment of Crohn's disease activity by confocal laser endomicroscopy [J]. Inflamm Bowel Dis, 2012, 18 (12): 2261-2269. DOI: 10.1002/ibd.22907.
- [9] Atreya R, Neumann H, Neufert C, et al. In vivo imaging using fluorescent antibodies to tumor necrosis factor predicts therapeutic response in Crohn's disease [J]. Nat Med, 2014, 20 (3): 313-318. DOI: 10.1038/nm.3462.
- [10] Karstensen JG. Evaluation of confocal laser endomicroscopy for assessment and monitoring of therapeutic response in patients with inflammatory bowel disease [J]. Dan Med J, 2016, 63 (11).
- [11] Chang J, Leong RW, Wasinger VC, et al. Impaired intestinal permeability contributes to ongoing bowel symptoms in patients with inflammatory bowel disease and mucosal healing [J]. Gastroenterology, 2017, 153 (3): 723-731. e1. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.05.056.
- [12] Karstensen JG, Săftoiu A, Brynskov J, et al. Confocal laser endomicroscopy: a novel method for prediction of relapse in Crohn's disease [J]. Endoscopy, 2016, 48 (4): 364-372. DOI: 10.1055/s-0034-1393314.
- [13] Li CQ, Liu J, Ji R, et al. Use of confocal laser endomicroscopy to predict relapse of ulcerative colitis [J]. BMC Gastroenterol, 2014, 14: 45. DOI: 10.1186/1471-230X-14-45.
- [14] Kiesslich R, Duckworth CA, Moussata D, et al. Local barrier dysfunction identified by confocal laser endomicroscopy predicts relapse in inflammatory bowel disease [J]. Gut, 2012, 61 (8): 1146-1153. DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300695.
- [15] Lim LG, Neumann J, Hansen T, et al. Confocal endomicroscopy identifies loss of local barrier function in the duodenum of patients with Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. Inflamm Bowel Dis, 2014, 20 (5): 892-900. DOI: 10.1097/MIB.000000000000027.
- [16] Trovato C, Sonzogni A, Fiori G, et al. Confocal laser endomicroscopy for the detection of mucosal changes in ileal pouch after restorative proctocolectomy [J]. Dig Liver Dis, 2009, 41 (8): 578-585. DOI: 10.1016/j.dld.2008.09.019.
- [17] Su P, Liu Y, Lin S, et al. Efficacy of confocal laser endomicroscopy for discriminating colorectal neoplasms from non-neoplasms: a systematic review and meta-analysis [J]. Colorectal Dis, 2013, 15 (1): e1-12. DOI: 10.1111/codi.12033.
- [18] Hurlstone DP, Thomson M, Brown S, et al. Confocal endomicroscopy in ulcerative colitis: differentiating dysplasia-associated lesional mass and adenoma-like mass [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2007, 5 (10): 1235-1241. DOI: 10.1016/j.cgh.2007.06.003.
- [19] van den Broek FJ, van Es JA, van Eeden S, et al. Pilot study of probe-based confocal laser endomicroscopy during colonoscopic surveillance of patients with longstanding ulcerative colitis [J]. Endoscopy, 2011, 43 (2): 116-122. DOI: 10.1055/s-0030-1255954.
- [20] 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.

(收稿日期: 2018-01-23)

(本文编辑: 周昊)