

· 口腔医学研究 ·

## 自体荧光技术在口腔潜在恶性病变筛查中的应用

杭 慧, 李留炆, 钱 棱, 吴国英\*

南京医科大学附属口腔医院黏膜病科, 口腔疾病研究江苏省重点实验室, 江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的: 研究自体荧光技术在口腔潜在恶性病变(oral potentially malignant disorder, OPMD)筛查中的应用, 为OPMD的早期检测提供新思路。方法: 收集28例OPMD患者并进行传统口腔检查(conventional oral examination, COE), 对怀疑有恶变倾向的部位用自体荧光装置(visually enhanced lesion scope, VELscope Vx)检查, 并对相应部位进行活检, 将荧光成像结果与病理结果进行对比分析。结果: 活检病理示上皮无异常增生8例, 上皮异常增生20例, 其中轻度异常增生3例, 中重度异常增生10例, 口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)7例。荧光成像结果显示无荧光缺失6例, 荧光缺失22例。VELscope Vx装置的敏感性和特异性分别为85.0%和37.5%, 阳性预测值和阴性预测值分别为77.3%和50.0%。且荧光成像结果不同的患者, 上皮异常增生程度(高危、低危)之间有统计学差异( $P < 0.05$ )。结论: 自体荧光技术敏感性高, 并能反映OPMD上皮异常增生程度, 可作为传统口腔检查的辅助手段, 对活检时机的选择和位置的确定起到指导作用。但其特异性低, 不能代替活检的金标准。

**[关键词]** 自体荧光技术; 口腔潜在恶性病变; VELscope Vx装置

**[中图分类号]** R781.5

**[文献标志码]** B

**[文章编号]** 1007-4368(2019)12-1853-04

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20191236

口腔潜在恶性病变(oral potentially malignant disorder, OPMD)是一类具有癌变潜能的口腔黏膜疾病的总称, 包括口腔白斑、红斑、口腔扁平苔藓、口腔黏膜下纤维性变等<sup>[1]</sup>。口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是口腔颌面部最常见的恶性肿瘤, 治疗后患者5年生存率低于50.0%<sup>[2-3]</sup>。OSCC常由OPMD发展而来, 5.0%~18.0%的OPMD可转变为OSCC<sup>[4]</sup>。因此OPMD的早期检测和诊断对于降低OSCC的发病率有重要的临床意义。临床上一般通过传统口腔检查(conventional oral examination, COE), 包括视诊和触诊来筛查OPMD, 然而异常增生病变在临床表现上可能与良性病变相似, COE无法完全区分, 目前诊断OPMD的金标准仍是活检。但活检是一项有创检查, 必须把握好适应证, 不恰当的活检不但增加患者的痛苦, 还会导致瘢痕形成, 促进肿瘤转移, 影响治疗效果。因此, 无创筛查方法早期检测OPMD, 筛查其癌变风险是目

前研究的热点。

自体荧光技术是一种基于组织光学特性的无创筛查技术, 它不损伤正常细胞的生理功能<sup>[5]</sup>, 为OPMD的早期筛查提供了新的思路与方法。健康口腔黏膜含有丰富的内源性自体荧光基团, 如胶原蛋白、弹性蛋白、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)和黄素腺嘌呤二核苷酸(flavine adenine dinucleotide, FAD)等<sup>[6]</sup>。这些荧光基团在适当波长光源激发后, 能够产生与其吸收光谱相对应的自体荧光辐射信号<sup>[7]</sup>。这种荧光现象不依赖于任何外源性物质, 在体内固有存在, 故被称为自体荧光。自体荧光装置(visually enhanced lesion scope, VELscope Vx)是基于荧光成像原理用于临床上筛查OPMD的手持装置。当VELscope Vx发出的蓝色激发光(波长为400~460 nm)与这些内源性自体荧光基团接触时, 健康口腔黏膜的荧光基团发出波长为515 nm的淡绿色荧光, 而在上皮异常增生及OSCC病变组织中, 荧光基团分布被破坏, 作为细胞荧光主要来源的FAD在病变中的浓度降低, 激发光照射后局部色彩暗淡, 形成荧光缺失现象<sup>[8]</sup>。本研究旨在探索自体荧光技术在筛查OPMD中的应用价值。

**[基金项目]** 江苏省高等学校大学生实践创新训练计划省级重点项目(201310312018Z)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: Wuguoying888@163.com

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

2017年10月—2019年2月期间就诊于南京医科大学附属口腔医院黏膜病科的28例OPMD患者,其中口腔白斑13例,口腔扁平苔藓12例,口腔红斑、口腔黏膜下纤维性变、慢性盘状红斑狼疮各1例,各病种患者年龄、性别无显著差异( $P > 0.05$ )。

VELscope Vx(LED Dental Inc., Burnaby, British Columbia, 加拿大),2006年在美国食品药品监督管理局(FDA)批准后上市<sup>[9-10]</sup>。Canon相机(EOS,450D)。

### 1.2 方法

对患者进行传统口腔检查,并用Canon相机拍摄普通白光照片。怀疑有恶变倾向的部位在暗室光线下用VELscope Vx拍摄(患者在整个过程中配戴防护眼镜),并对相应部位进行活检,将荧光成像结果与病理结果进行对比分析。

诊断标准:①组织病理学:上皮组织有异常增生为阳性,无异常增生为阴性。并根据上皮异常增生程度分为低危组(无、可疑及轻度上皮异常增生)与高危组(中度、重度上皮异常增生及癌变)<sup>[11]</sup>。②荧光成像结果:有荧光缺失现象为阳性,无荧光缺失现象为阴性。分析VELscope Vx的敏感性、特异性、阳性预测值及阴性预测值<sup>[12]</sup>。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS21.0统计软件对数据进行统计学处理,荧光成像结果与组织病理结果之间的关系采用

卡方检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 组织病理学结果

28例中,上皮无异常增生8例(阴性),上皮异常增生20例(阳性),其中轻度异常增生3例,中、重度异常增生10例,OSCC 7例,即根据病理结果分组为低危组11例,高危组17例。

### 2.2 荧光成像结果

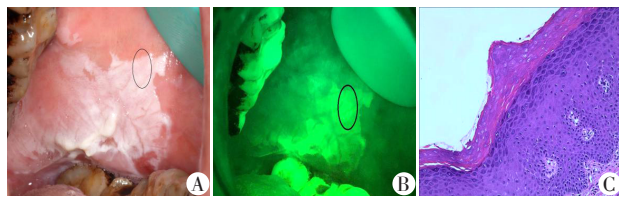
28例中,22例显示为荧光缺失(阳性),6例无荧光缺失(阴性)(表1)。图1~5分别展示了上皮无异常增生、轻度、中度、重度异常增生及OSCC患者在VELscope Vx下的荧光成像图片。在22例荧光缺失的阳性患者中,1例为轻度异常增生,10例为中、重度异常增生,6例为OSCC,这17例患者为真阳性;5例无异常增生,为假阳性。6例无荧光缺失的阴性患者中和3例病理无异常增生者为真阴性;2例轻度异常增生,1例OSCC为假阴性。VELscope Vx的敏感性为85.0%,特异性为37.5%,阳性预测值为77.3%,阴性预测值为50.0%。

荧光成像结果为阳性的22例患者中,组织病理结果阳性者17例,阴性者5例。其中高危组16例,低危组6例。荧光成像结果为阴性的6例患者中,组织病理结果阳性者3例,阴性者3例。其中高危组1例,低危组5例。统计分析显示,荧光成像结果不同的患者,其上皮异常增生与否(阳性、阴性)之间无统计学差异( $P > 0.05$ );而上皮异常增生程度(高危、低危)之间有统计学差异( $P=0.012$ )。

表1 病变特点及荧光、病理结果分布

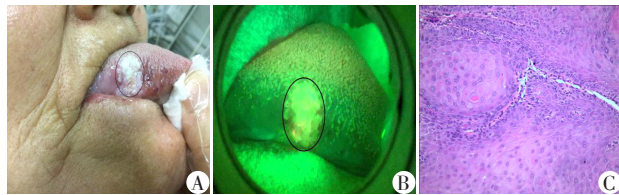
[n(%)]

	合计	无荧光缺失	荧光缺失	上皮无异常增生	上皮异常增生
性别	28(100.0)	6(21.4)	22(78.6)	8(28.6)	20(71.4)
男	10(35.7)	1(10.0)	9(90.0)	4(40.0)	6(60.0)
女	18(64.3)	5(27.8)	13(72.2)	4(22.2)	14(77.8)
病种					
白斑	13(46.4)	4(30.8)	9(69.2)	3(23.1)	10(76.9)
口腔扁平苔藓	12(42.9)	2(16.7)	10(83.3)	4(33.3)	8(66.7)
其他OPMD	3(10.7)	0(0.0)	3(100.0)	1(33.3)	2(66.7)
病变部位					
颊粘膜	10(35.7)	2(20.0)	8(80.0)	3(30.0)	7(70.0)
舌腹	11(39.3)	1(9.1)	10(90.9)	2(18.2)	9(81.8)
舌缘	3(10.7)	1(33.3)	2(66.7)	1(33.3)	2(66.7)
舌背	1(3.6)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)	0(0.0)
牙龈	1(3.6)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)	0(0.0)
口底	1(3.6)	0(0.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)
下唇	1(3.6)	0(0.0)	1(100.0)	0(0.0)	1(100.0)



A:颊黏膜白斑病损活检部位;B:荧光成像显示荧光无缺失;C:病理示上皮无异常增生(HE,×200)。

图1 上皮无异常增生患者病损、荧光成像和病理图片



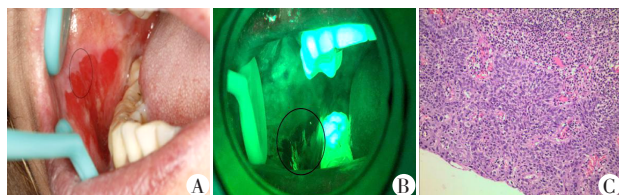
A:舌缘白斑病损活检部位;B:荧光成像显示荧光无缺失;C:病理示上皮轻度异常增生(HE,×200)。

图2 上皮轻度异常增生患者病损、荧光成像和病理图片



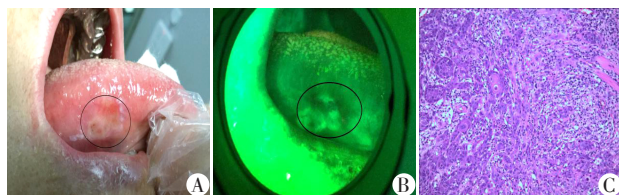
A:舌腹白斑病损活检部位;B:荧光成像显示荧光缺失区;C:病理示上皮中度异常增生(HE,×200)。

图3 上皮中度异常增生患者病损、荧光成像和病理图片



A:颊黏膜红斑病损活检部位;B:荧光成像显示荧光缺失区;C:病理示上皮重度异常增生(HE,×200)。

图4 上皮重度异常增生患者病损、荧光成像和病理图片



A:舌腹扁平苔藓病损活检部位;B:荧光成像显示荧光缺失区;C:病理示OSCC(HE,×200)。

图5 OSCC患者病损、荧光成像和病理图片

### 3 讨论

VELscope Vx是通过自体荧光技术来识别异常增生组织和肿瘤组织的荧光缺失现象的装置,病变组织自身光学特性发生改变,使用光学系统检测并以

图像的形式呈现,增强了病变的可视性。荧光缺失现象是由于组织和生化改变所致,如NADH增加、FAD减少、胶原排列变化以及新生血管形成等<sup>[13]</sup>。该装置具有安全、无创、实时等优点。据报道,VELscope Vx检测恶性肿瘤和OPMD的敏感性范围为22.0%~100.0%,特异性范围为16.0%~100.0%<sup>[14]</sup>。各个研究关于VELscope Vx的敏感性和特异性得出结果差异较大,这可能与研究者选择的病例类型有关。受试者选自高危人群的研究<sup>[15]</sup>,其敏感性和特异性较高。目前多数研究表明<sup>[4,12,15]</sup>,VELscope Vx具有敏感性高,特异性低的特点,这与本研究结果一致。在本研究中,通过对28例可疑恶变的OPMD患者进行VELscope Vx检查和活检,荧光缺失22例,异常增生20例,此装置的敏感性和特异性分别为85.0%和37.5%,阳性预测值和阴性预测值分别为77.3%和50.0%。这提示VELscope Vx敏感性较高,可尽最大可能发现恶变倾向患者,减少漏诊;但特异性较低,假阳性率高,良性炎症也经常表现出荧光缺失,可引起患者不必要的焦虑以及医生的过度诊断。本研究还发现,不同荧光成像结果的上皮异常增生程度(高危、低危)之间有统计学差异( $P<0.05$ ),这提示荧光成像结果为阳性时需要怀疑上皮有中、重度异常增生及癌变,因此荧光成像结果可作为活检时机选择的参考。若COE检查怀疑恶变,且荧光成像结果为阳性,建议活检确诊,并且可以将荧光缺失区域作为活检切取部位,有利于提高活检的准确度。

本研究中发现出血区域会发生荧光缺失现象,因为血红蛋白会吸收胶原蛋白和弹性蛋白产生的自体荧光<sup>[16]</sup>,因此使用VELscope Vx装置时,若病损区域出血,建议将血液擦净并止血后再进行检查。另外,荧光成像结果偶尔会有橙色荧光出现,根据文献报道<sup>[17]</sup>,橙色荧光并不是恶变的标志,它可能只是由溃疡或坏死病损表面的微生物产生。在临床中,对3例菜花样增生的OSCC患者进行VELscope Vx荧光检查,均未显示荧光缺失,提示此装置可能不适用于高度角化或伪膜覆盖较厚的病损,这与Yang等<sup>[18]</sup>的研究结果相一致。但由于本研究病例选自传统口腔检查后高度怀疑恶变的患者,样本量较小,研究结果有一定的局限性。而且由于图像判断的主观性强,图像质量容易受到周围环境的影响,该装置诊断结果依赖于检查者的个人经验。因此目前该设备只推荐作为传统口腔检查的辅助手段,不能作为诊断工具,它对活检时机的选择及位置的确定有指导意义,但不能代替活检的金标准。

综上所述,自体荧光技术是一种简单、无创的口腔黏膜检查方法,可以帮助经验丰富的临床医生早期筛查口腔潜在恶性病变,并为活检时机的选择和位置的确定提供指导。但必须仔细判读它的结果,以减少假阳性率。虽然其敏感性和特异性尚待进一步验证和提高,但毫无疑问,自体荧光技术有利于OPMD筛查的普及,并能提高OSCC的检出率。

## [参考文献]

- [1] Yardimci G, Kutlubay Z, Engin B, et al. Precancerous lesions of oral mucosa [J]. *World J Clin Cases*, 2014, 2(12):866-872
- [2] 袁毅,韩筱,薛明飞,等.毛蕊花苷通过上调Max蛋白抑制口腔鳞癌细胞的迁移和侵袭[J].*南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(1):32-36
- [3] Belal M, Elmoneim W, Nasry S, et al. VELscope versus toluidine blue for detection of dysplastic changes in oral keratotic lesions: diagnostic accuracy study [J]. *Journal of The Arab Society for Medical Research*, 2018, 13(1):45-52
- [4] Rana M, Zapf A, Kuehle M, et al. Clinical evaluation of an autofluorescence diagnostic device for oral cancer detection: a prospective randomized diagnostic study [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2012, 21(5):460-466
- [5] 欧辉彬,傅昇.基于自体荧光诊断技术的早期肿瘤检测系统的研究[J].*中国医疗设备*, 2015, 30(4):28-31
- [6] Elvers D, Braunschweig T, Hilgers R D, et al. Margins of oral leukoplakia: autofluorescence and histopathology [J]. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2015, 53(2):164-169
- [7] 刘刚,颜国正.自体荧光诊断技术的研究进展及发展方向[J].*生物医学工程学杂志*, 2015, 32(6):1348-1353
- [8] Yamamoto N, Kawaguchi K, Fujihara H, et al. Detection accuracy for epithelial dysplasia using an objective autofluorescence visualization method based on the luminance ratio [J]. *International Journal of Oral Science*, 2017, 9(11):1-10
- [9] Ayoub H M, Newcomb T L, Mccombs G B, et al. The use of fluorescence technology versus visual and tactile examination in the detection of oral lesions: A pilot study [J]. *J Dent Hyg*, 2015, 89(1):63-71
- [10] Scheer M, Fuss J, Derman M A, et al. Autofluorescence imaging in recurrent oral squamous cell carcinoma [J]. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 2015, 20(1):27-33
- [11] Warnakulasuriya S, Reibel J, Bouquot J E, et al. Oral epithelial classification systems: Predictive value, utility, weakness and scope for improvement [J]. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 2010, 37(3):127-133
- [12] Sawan D, Mashlah A. Evaluation of premalignant and malignant lesions by fluorescent light (VELscope) [J]. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 2015, 5(3):248-254
- [13] Liu D, Zhao X, Zeng X, et al. Non-invasive techniques for detection and diagnosis of oral potentially malignant disorders [J]. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 2016, 238(2):165-177
- [14] Nagi R, Reddykantharaj Y B, Rakesh N, et al. Efficacy of light based detection systems for early detection of oral cancer and oral potentially malignant disorders: Systematic review [J]. *Medicina Oral Patologia Oral Y Cirugia Bucal*, 2016, 21(4):447-455
- [15] Hanken H, Kraatz J, Smeets R, et al. The detection of oral pre-malignant lesions with an autofluorescence based imaging system (VELscope™)-a single blinded clinical evaluation [J]. *Head & Face Medicine*, 2013, 9(1):23-29
- [16] Jané-Salas E, Blanco-Carrión A, Jover-Armengol, L, et al. Autofluorescence and diagnostic accuracy of lesions of oral mucosa: A pilot study [J]. *Brazilian Dental Journal*, 2015, 26(6):580-586
- [17] Scheer M, Neugebauer J, Derman A, et al. Autofluorescence imaging of potentially malignant mucosa lesions [J]. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology & Endodontics*, 2011, 111(5):568-577
- [18] Yang E C, Tan M T, Schwarz R A, et al. Non-invasive diagnostic adjuncts for the evaluation of potentially premalignant oral epithelial lesions: current limitations and future directions [J]. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 2018, 125(6):670-681

[收稿日期] 2019-03-13