

# 多模态神经导航联合术中荧光导向技术在脑功能区高级别胶质瘤中的应用

黄进<sup>1</sup>, 张晓路<sup>1</sup>, 张岩松<sup>2</sup>, 冯素银<sup>1</sup>, 黄维一<sup>1</sup>, 程超<sup>1</sup>, 焦建同<sup>1</sup>, 兰青<sup>3</sup>, 邵君飞<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>南京医科大学附属无锡人民医院神经外科, 江苏 无锡 214023; <sup>2</sup>南京医科大学附属南京脑科医院神经外科, 江苏 南京 210029; <sup>3</sup>苏州大学附属第二医院神经外科, 江苏 苏州 215000

**[摘要]** **目的:**探讨多模态神经导航联合术中荧光导向技术在脑功能区高级别胶质瘤中的应用价值。**方法:**统计完整脑功能区胶质瘤60例患者资料,分为对照组和观察组,对照组为常规开颅手术组,观察组利用多模态神经导航系统联合荧光导向技术,术中在不同距离处和不同染色区域收集肿瘤标本,做相应病理分型和免疫组化分析,并比较两组肿瘤全切率和术后功能神经障碍情况,分析两者对患者预后的影响。**结果:**观察组均顺利实现功能技术融合和术中导航,术中荧光可见明显不同染色区域,两组胶质瘤病理分型差异无统计学意义,两组高级别胶质瘤全切率、术后功能神经障碍情况、术后前3个月肿瘤复发情况比较差异有统计学意义。不同距离处肿瘤标本免疫组化分析各指标表达可见明显变化趋势,荧光染色区域与术后病理特征相符。**结论:**多模态神经导航联合术中荧光导向技术可提高脑功能区高级别胶质瘤全切率,改善神经术后功能情况和患者预后。

**[关键词]** 功能区胶质瘤;神经导航;荧光技术;预后

**[中图分类号]** R739.41

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)01-0014-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20180104

## Application of multimodal neuronavigation combined with intraoperative fluorescence guided technique in the high grade glioma of functional areas

Huang Jin<sup>1</sup>, Zhang Xiaolu<sup>1</sup>, Zhang Yansong<sup>2</sup>, Feng Suyin<sup>1</sup>, Huang Weiyi<sup>1</sup>, Cheng Chao<sup>1</sup>, Jiao Jiantong<sup>1</sup>, Lan Qing<sup>3</sup>, Shao Junfei<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurosurgery, the Affiliated Wuxi People's Hospital of NMU, Wuxi 214023; <sup>2</sup>Department of Neurosurgery, the Affiliated Brain Hospital of NMU, Nanjing 210029; <sup>3</sup>Department of Neurosurgery, the Second Affiliated Hospital of Suzhou University, Suzhou 215000, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the application of multimodal neuronavigation combined with intraoperative fluorescence guided technique in the high grade glioma of functional areas. **Methods:** Sixty patients were divided into the control group and the observation group. The control group received conventional craniotomy operation and the observation group operated by multimodal neuronavigation combined with intraoperative fluorescence guided technique. We collected tumor specimen at different distances and different staining region, and analyzed pathology and immunohistochemistry of these specimens. The total resection rate of tumor and nerve function disorder after operation was compared between two groups. The influence on prognosis of the patients was analyzed. **Results:** The observation group was successfully achieved preoperative function fusion and intraoperative navigation. Intraoperative fluorescence showed different staining regions. The pathological type of the two groups had no significantly difference. There was significant difference of high grade glioma resection rate and postoperative neurological function disorder and tumor recurrence of postoperative 3 mon between the two groups. Each index of immunohistochemical expressed significant changes in the trend at different distance of tumor specimens. The fluorescence staining area was consistent with the postoperative pathology. **Conclusion:** Multimodal neuronavigation combined with intraoperative fluorescence guided technique can improve the total resection rate of high grade glioma in brain function areas, and improve postoperative nerve function.

**[基金项目]** 江苏省自然科学基金(BK20161140);无锡市卫生局重大项目(Z201301);无锡市科技发展计划项目(CSE31N1401)

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

[Key words] functional areas of glioma; neuronavigation; fluorescence; prognosis

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(01): 0014-0019]

针对胶质瘤,目前国内外尚缺乏有效的治疗方法,手术依然是治疗胶质瘤的首选方法<sup>[1-2]</sup>。研究显示<sup>[3-4]</sup>,手术尽可能多地切除肿瘤,减少瘤细胞负荷,能够达到延长患者生存期的目的。但是对位于重要功能区的胶质瘤,一味追求肿瘤全切除,势必造成神经功能障碍,于是如何平衡切除肿瘤与保护神经功能这一对矛盾,成为神经外科一直探索的难题。我们自2013年6月以来应用多模态神经导航联合术中荧光导向技术切除脑功能区高级别胶质瘤,效果满意,报道如下。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

以南京医科大学附属无锡人民医院、南京脑科医院和苏州大学第二附属医院神经外科2013年6月—2016年12月期间利用多模态神经导航联合术中荧光导向技术手术切除的30例脑胶质瘤的患者为观察组,纳入标准:①术前均未接受放、化疗;②术前无意识障碍能够配合检查;③通过影像学检查肿瘤位于或靠近功能区(语言、运动和感觉功能密切相关的皮质和皮质下通路);④首次接受手术被病理诊断为高级别胶质瘤(Ⅲ~Ⅳ)。并以2008年6月—2016年12月间符合上述标准的常规手术治疗的30例脑功能区高级别胶质瘤为对照组。随访完整脑功能区胶质瘤患者资料60例,男37例,女23例,年龄<50岁26例,>50岁34例,死亡19例,现存41例。60例胶质瘤患者中,以头痛、恶心、呕吐等颅高压症状为主29例(48.3%)和肢体运动、视力、言语功能障碍等缺失症状占24例(40%),无明显症状7例(11.7%)。

观察组与对照组患者年龄、性别等一般资料统计学比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 影像学检查

所有病例进行影像学检查,包括CT及磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查。CT扫描显示肿瘤位于或靠近功能区且呈不均匀混合密度或低密度病灶,部分肿瘤内可见钙化或出血灶。增强后可见肿瘤呈不均匀增强,伴有类圆形或不规则低密度囊腔,瘤壁、间隔及结节增强。MRI的T1W1

像检查显示肿瘤呈不均匀低信号;T2W2像检查见肿瘤呈不均匀高信号、混合信号表现。增强MRI扫描显示肿瘤不均匀增强,可见低信号囊变信号、瘤壁结构明显增强,肿瘤周围环绕低密度或长T1、长T2信号脑水肿区,另外发现有部分肿瘤增强不明显,周围亦环绕水肿区。肿瘤形态不规则,边缘不光整,呈“切迹”或“分叶状”;肿瘤与脑组织界限模糊。

#### 1.2.2 手术方法

对照组根据术前CT、MRI等影像学资料,行常规开颅肿瘤切除术。观察组术前常规行CT、增强MRI、磁共振血管成像(magnetic resonance angiography, MRA)、弥散张量成像(diffusion tensor imaging, DTI)、血氧水平依赖的功能磁共振成像(blood oxygen level dependent-functional MRI, BOLD-fMRI)等检查,据MRI增强扫描图像判定脑胶质瘤生长的“影像学边界”,再将CT、MRI、MRA、DTI等资料输入Medtronic Stealth Station 7.0神经外科导航工作站,功能技术融合,设计出手术方案。微创开颅手术显露肿瘤,进行荧光素钠过敏试验,利用Cadwell Cascade电生理监测确定并保护相关功能区位置,借助导航观测棒,以胶质瘤“影像学边界”为标志线,在瘤体不同距离处留取标本。静脉推注10%荧光素钠(广州明兴制药有限公司生产),在不同染色区域处取肿瘤标本。切除的肿瘤标本进行病理学检查、免疫组织化学测定基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9。所有患者术后3d之内行MRI增强扫描,与术前影像学对比综合考虑手术的切除程度。并行DTI检查了解术后传导束的变化情况。

#### 1.3 统计学方法

采用SPSS20.0统计学软件,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,配对设计采用配对 $t$ 检验,计数资料以例数表示,采用 $\chi^2$ 检验, $P \leq 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 多模态神经导航系统的功能融合

所有病例均利用Stealth Station 7.0工作站实现图像融合和术中导航,融合误差、导航误差<1 mm,融合影像、注册耗时平均5 min,清晰显示肿瘤与周

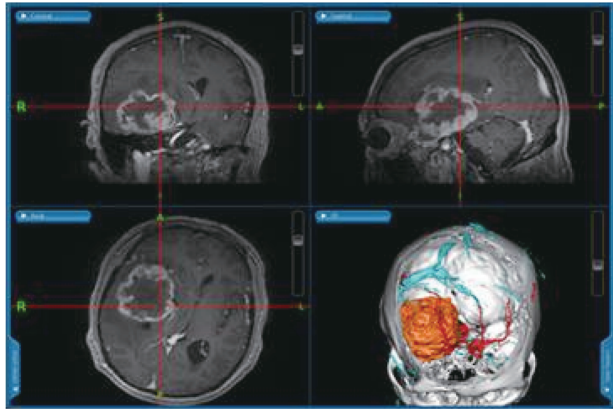


图1 多模态神经导航融合MRI、CT、MRA、MRV等影像学资料

Figure 1 Multimodal neuronavigation combined with MRI, CT, MRA, MRV and other imaging data

边结构位置关系(图1、2)。

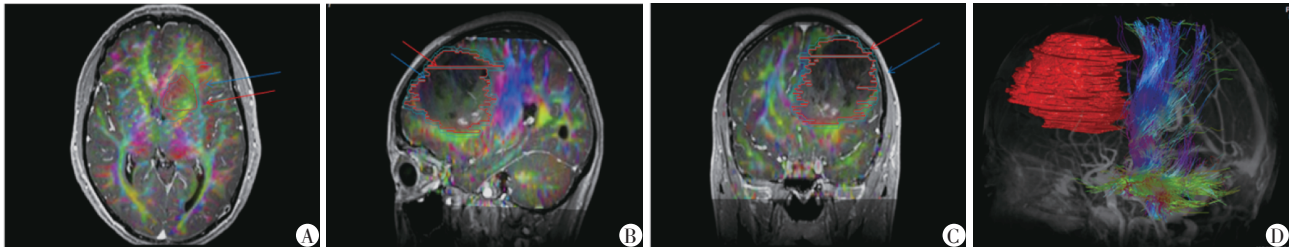
### 2.2 术中荧光导向技术的应用

暴露肿瘤后,静脉推注荧光素钠后无1例发生相关不良反应,平均10 s肿瘤开始染色,呈浅黄色并逐渐加深,5~10 min达到高峰,肿瘤呈现深黄色区、浅黄色区、无黄染区,不同染色区域,肿瘤细胞密度不一(图3、4)。

### 2.3 手术疗效

观察组:Ⅲ级胶质瘤患者全切14例,非全切1例;Ⅳ级胶质瘤患者全切12例,非全切3例。术后出现新的神经功能障碍患者3例(10%),神经功能改善者19例(63.3%),无明显变化者8例(26.7%)(图5、6)。

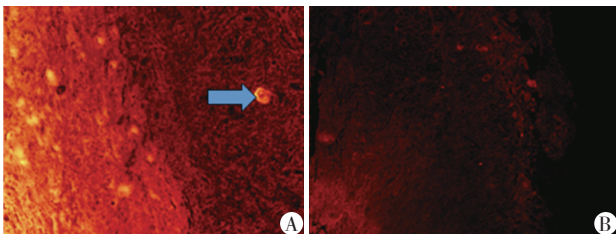
对照组:Ⅲ级胶质瘤患者全切9例,非全切6例;Ⅳ级胶质瘤患者全切6例,非全切9例。术后出现



A、B、C:肿瘤与神经传导束的位置关系,红箭头示肿瘤影像学边界,蓝色箭头示拟计划切除范围;D:3D显示肿瘤与皮质脊髓束的位置关系。

图2 多模态神经导航融合MRI、DTI等影像

Figure 2 Multimodal neuronavigation combined with MRI, DTI and other imaging data



A:深黄色区血管密度明显高于浅黄色区;B:浅黄色区域血管密度高于无黄染区( $\times 200$ )。

图3 显微镜下染色区域分布

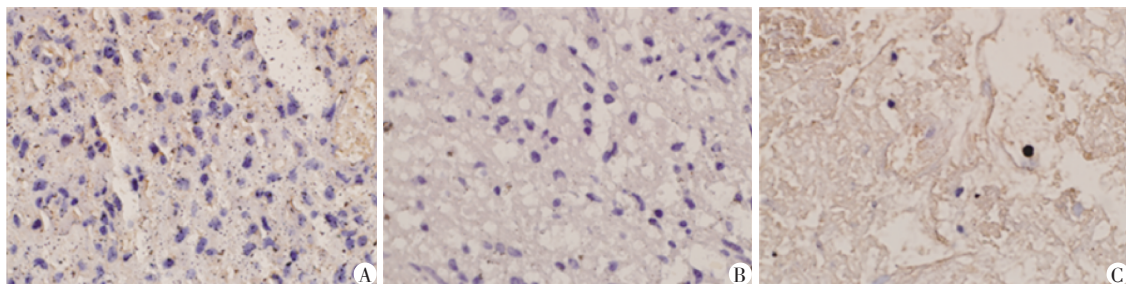
Figure 3 Staining area distribution under microscope

新的神经功能障碍患者6例(20%),神经功能改善者14例(46.7%),无明显变化者10例(33.3%)。

两组高级别胶质瘤(Ⅲ、Ⅳ级)全切率和术后神经功能状况比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,表1)。

### 2.4 免疫组化分析

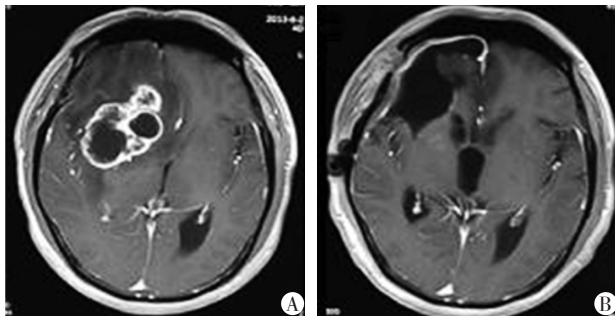
MMP-2、MMP-9蛋白主要集中在侵袭边缘瘤细胞和血管基底膜,阳性细胞多为胞浆染色。手术切除边缘(黄染水肿带)标本的MMP-2、MMP-9阳性率较肿瘤中心、肿瘤边缘(影像学增强边缘)明显降低,说明手术切除边缘的可靠性(图7、8)。



A:深黄染区肿瘤细胞密度高,核大小不一;B:浅黄染区瘤细胞密度稍低,排列较弥散;C:无黄染区未见明显核分裂像( $\times 400$ )。

图4 不同染色区域细胞分布情况

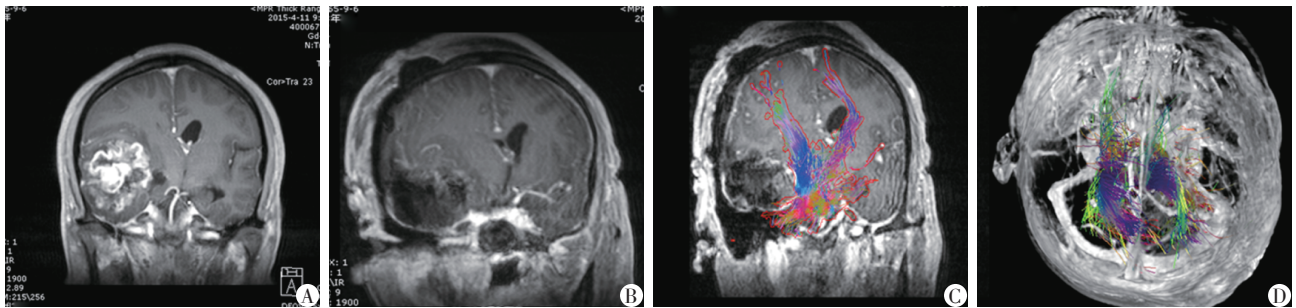
Figure 4 Cell distribution in different staining regions



A: 术前MRI示右侧额颞叶占位; B: 术后增强MRI示肿瘤全切。

图5 病例1胶质瘤术前术后比较

Figure 5 Preoperative and postoperative comparison of case-1 of glioma



A: 术前MRI示右侧额叶占位; B: 术后增强MRI示肿瘤全切; C: 术后DTI影像示右侧皮质脊髓束较完整, 传导束保护良好; D: 术后3D重建可见双侧皮质脊髓束对称。

图6 病例2胶质瘤术前术后比较

Figure 6 Preoperative and postoperative comparison of case-2 of glioma

表1 两组肿瘤全切程度及术后神经功能情况比较

Table 1 Comparison of total tumor resection degree and postoperative neurological function in the two groups

病理分级	观察组 (n=30)	对照组 (n=30)	$\chi^2$ 值	P值
Ⅲ级			4.658	0.040
全切	14	9		
未全切	1	6		
Ⅳ级			5.000	0.030
全切	12	6		
未全切	3	9		
术后功能			5.699	0.047
新的神经功能障碍	3	6		
神经功能改善	19	14		
无明显变化	8	10		

生活质量。功能定位是手术切除肿瘤的第1步,术中皮层电刺激是目前皮层功能定位的“金标准”,但具有操作较复杂、患者需术中唤醒、对麻醉和手术要求较高等缺点,且无法在术前提供功能区定位信息以供术前计划之用<sup>[5-6]</sup>。基于以上难点,长期以来

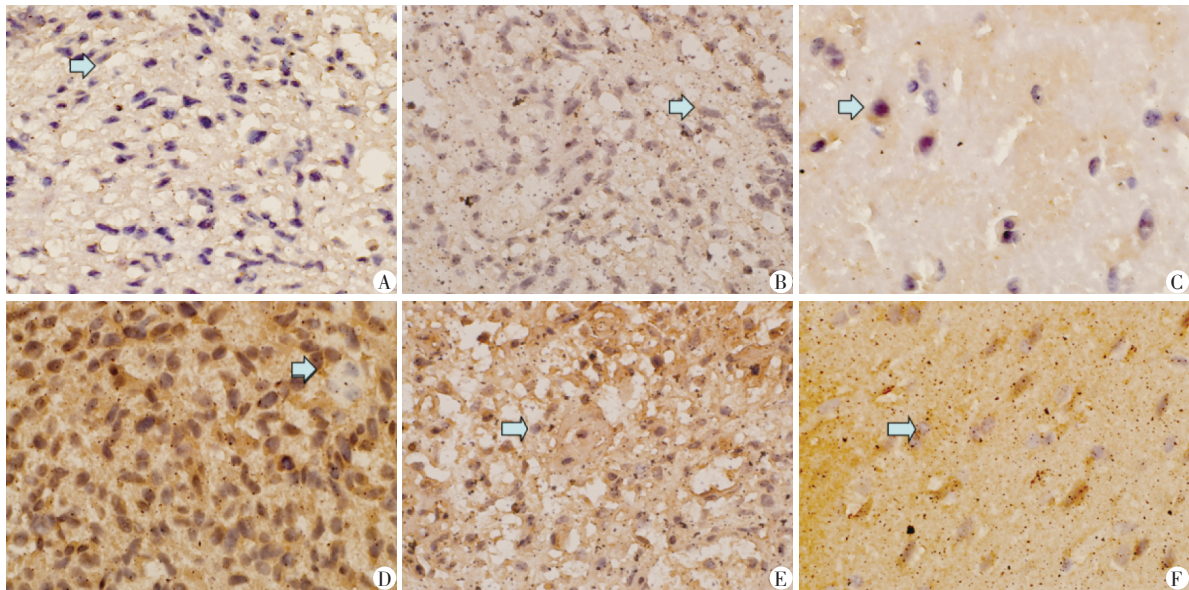
## 2.5 术后随访

两组术后第1个月和前2个月肿瘤复发率统计学比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),前3个月随访影像学复发率比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明肿瘤的是否全切对患者前3个月的复发有影响(表2)。

## 3 讨论

脑功能区胶质瘤位于躯体运动及感觉中枢,患者往往伴有不同程度的功能障碍,随着病情进展,症状会进行性加重最终导致偏瘫、失语,严重影响

手术入路的设计,肿瘤的定位和切除范围估计,以及语言相关功能结构的术中保护在很大程度上依赖于手术医生的经验和判断,缺少科学、客观的检验和判断指标。国内外有学者报道功能神经导航利用f-MRI和DTI技术,将语言、运动相关重要功能结构“可视化”,使术者能够直观、准确地避免损伤这些重要结构,显著提高了手术效率<sup>[7-8]</sup>。f-MRI数据的采集来自功能活动引起的毛细血管网,甚至是小静脉内的血流量以及血液成分的变化信号,因其对应着相关的脑皮质功能区域,可间接反映皮质功能区的位置关系<sup>[9-10]</sup>。DTI是目前显示锥体束形态、结构和投射方向的最佳方法<sup>[11-12]</sup>。在肿瘤区域,只要神经轴突的形态和结构尚未破坏,白质纤维束内水分子弥散运动就仍表现各向异性。白质纤维束内水分子弥散的各向异性程度与其所包含神经纤维的结构、数量和密度正相关。而白质纤维束的神经传导功能与其所包含的神经纤维的直径和数量也密切相关。DTI影像中锥体束的形态、结构和信号强度等显像特点可以间接反映其功能状态,间接实现对其神经功能传导的评测。



A、B、C: MMP-2在肿瘤中心、肿瘤边缘与手术切除边缘的表达分布情况; D、E、F: MMP-9在肿瘤中心、肿瘤边缘与手术切除边缘的表达分布情况。

图7 胶质瘤MMP-2、MMP-9免疫组化染色(IHC×600)

Figure 7 Immunohistochemical staining of MMP-2 and MMP-9 of glioma(IHC×600)

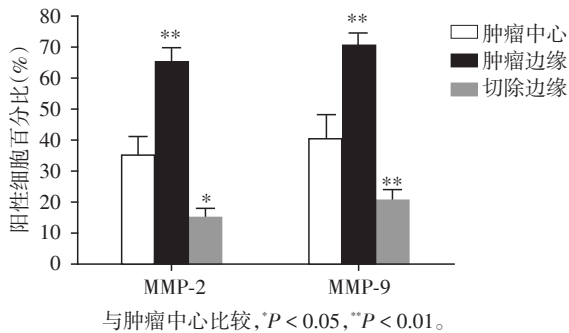


图8 肿瘤标本不同区域MMP-2、MMP-9阳性率情况

Figure 8 Positive rates of MMP-2 and MMP-9 in different regions of tumor specimens

我们术前采集CT、MRI、MRA、MRV、f-MRI、DTI等数据,实现功能融合,术前评估胶质瘤与功能区、传导束及周边血管的解剖位置关系,术前准确的评估和定位帮助手术医师制定相应手术方案,有效缩短手术时间。但是,功能影像数据涉及多任务多模块采集,目前国内外没有统一标准,国内常用的是简单数字语言和双手活动,各临床机构功能区数据采集存在一定差异性<sup>[13]</sup>。由于采集过程涉及多模块任务,需要患者能够配合,这对数据采集提出了一定要求。尤其是f-MRI数据的采集,相比国内其他单位的采集结果,我们采集的数字模型比较零散或单一,这就需要术中电生理监测的校验。我们常规定位中央沟及中央前后回,并校验功能磁共振采

表2 两组术后3个月肿瘤复发情况比较

Table 2 Comparison of tumor recurrence after 3 months of operation in the two groups [(n)%]

组别	1个月 复发率	前2个月 复发率	前3个月 复发率
观察组(n=30)	2(6.7)	3(10.0)	4(13.3)
对照组(n=30)	4(13.3)	8(26.7)	11(36.7)
χ <sup>2</sup> 值	0.741	2.738	4.356
P值	0.389	0.095	0.037

集的功能区位置,做到在准备定位功能区的基础上切除肿瘤。

由于胶质瘤病变呈浸润性生长,与周围脑组织缺乏可见的解剖边界,或是正常解剖结构已遭破坏,那么即使是经验丰富的手术者亦很难借手术显微镜准确判断病变边界,更加无法分辨相关脑皮层功能区或是白质纤维束,难以做到最大化切除病变的同时兼顾保护重要功能结构。此外,漂移现象是神经导航不可避免的问题,为了解决这个问题,神经外科医生作了很多努力<sup>[14-15]</sup>。近年来,国内外学者采用5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)作为术中荧光引导切除脑胶质瘤,认为该方法能够为术者提供客观的肿瘤边界,提高了手术切除率,术中荧光边界和病理学边界相符,患者存活期明显延长<sup>[16-17]</sup>。遗憾的是目前国内无5-ALA药物,而且术中使用的荧光显微镜价格昂贵,无法进行临床推广应用。肿瘤的

侵袭伴随着血管破坏,通过破坏血脑屏障侵犯周边组织,我们通过荧光素钠染的显影,为肿瘤全切提供客观依据。本研究证实,在胶质瘤生长中 MMP-2、MMP-9 主要集中表达在瘤周侵袭边缘带,而且 MMP-9 阳性表达水平高于 MMP-2,其染色强度与瘤周水肿范围也明显相关,而瘤周水肿带 MMP-9、MMP-2 表达的降低提示残余肿瘤侵袭力的减弱,术中荧光染色较弱的区域往往是经验性切除认为的正常脑组织。与传统手术相比,荧光导向技术纠正脑漂移的同时,实现残余肿瘤的切除,使得在保护功能区的基础上最大程度切除肿瘤成为可能。

高级别胶质瘤的全切是改善患者无进展生存期和生存期的重要因素<sup>[18-20]</sup>,荧光素钠辅助下切除脑肿瘤的报道日益增多,但在胶质瘤的手术全切率提高方面远远没有 5-ALA 理想,今后在如何提高功能磁共振数据采集、荧光素钠肿瘤染色的特异性等方面尚需进一步深入研究,相信随着经验的积累,多模态神经导航联合术中荧光导向技术将成为脑胶质瘤切除的常规手术方法。

#### [参考文献]

- [1] Duffau H. A new concept of diffuse (low-grade) glioma surgery [J]. *Adv Tech Stand Neurosurg*, 2012, 38: 3-27
- [2] Satoer D, Visch-Brink E, Smits M, et al. Long-term evaluation of cognition after glioma surgery in eloquent areas [J]. *J Neurooncol*, 2014, 116(1): 153-160
- [3] Bailey R, Lucas TH. Impact of extent of resection for gliomas [J]. *Austin J Surg*, 2014, 1(7): 1035
- [4] Wick W, Wiestler B, Platten M. Treatment of anaplastic glioma [J]. *Cancer Treat Res*, 2015, 163: 89-101
- [5] Giussani C, Poliakov A, Ferri RT, et al. DTI fiber tracking to differentiate demyelinating diseases from diffuse brain stem glioma [J]. *Neuroimage*, 2010, 52(1): 217-223
- [6] Zhang J, Chen X, Zhao Y, et al. Impact of intraoperative magnetic resonance imaging and functional neuronavigation on surgical outcome in patients with gliomas involving language areas [J]. *Neurosurg Rev*, 2015, 38(2): 319-330; discussion 330
- [7] Wirtz CR, Albert FK, Schwaderer M, et al. The benefit of neuronavigation for neurosurgery analyzed by its impact on glioblastoma surgery [J]. *Neurol Res*, 2000, 22(4): 354-360
- [8] Nimsky C, Ganslandt O, Buchfelder M, et al. Intraoperative visualization for resection of gliomas: the role of functional neuronavigation and intraoperative 1.5 T MRI [J]. *Neurol Res*, 2006, 28(5): 482-487
- [9] Vabulas M, Kumar VA, Hamilton JD, et al. Real-time atlas-based stereotactic neuronavigation [J]. *Neurosurgery*, 2014, 74(1): 128-134
- [10] Kumar A, Chandra PS, Sharma BS, et al. The role of neuronavigation-guided functional MRI and diffusion tensor tractography along with cortical stimulation in patients with eloquent cortex lesions [J]. *Br J Neurosurg*, 2014, 28(2): 226-233
- [11] Tromnier VM. *Functional Neuronavigation [M]*//Clinical functional MRI. Springer Berlin Heidelberg, 2015: 229-245
- [12] Inoue T, Ogasawara K, Beppu T, et al. Diffusion tensor imaging for preoperative evaluation of tumor grade in gliomas [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2005, 107(3): 174-180
- [13] Diaz RJ, Dios RR, Hattab EM, et al. Study of the biodistribution of fluorescein in glioma-infiltrated mouse brain and histopathological correlation of intraoperative findings in high-grade gliomas resected under fluorescein fluorescence guidance [J]. *J Neurosurg*, 2015, 122(6): 1360-1369
- [14] Schucht P, Knittel S, Slotboom J, et al. 5-ALA complete resections go beyond Mr contrast enhancement: shift corrected volumetric analysis of the extent of resection in surgery for glioblastoma [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2014, 156(2): 305-312
- [15] Kuroiwa T, Kajimoto Y, Ohta T. Development of a fluorescein operative microscope for use during malignant glioma surgery-A technical note and preliminary report [J]. *Surg Neurol*, 1998, 50(1): 41-48
- [16] Paw I, Carpenter RC, Watabe K, et al. Mechanisms regulating glioma invasion [J]. *Cancer Lett*, 2015, 362(1): 1-7
- [17] Pan HC, Jiang Q, Yu Y, et al. Quercetin promotes cell apoptosis and inhibits the expression of MMP-9 and fibronectin via the AKT and ERK signalling pathways in human glioma cells [J]. *Neurochem Int*, 2015, 80: 60-71
- [18] Grossman R, Nossek E, Shimony N, et al. Intraoperative 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence in primary central nervous system lymphoma: Case report [J]. *J Neurosurg*, 2014, 120(1): 67-69
- [19] Schebesch KM, Hoehne J, Hohenberger C, et al. Fluorescein sodium-guided resection of cerebral metastases-experience with the first 30 patients [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2015, 157(6): 899-904
- [20] Stummer W, Tonn JC, Mehdorn HM, et al. Counterbalancing risks and gains from extended resections in malignant glioma surgery: a supplemental analysis from the randomized 5-aminolevulinic acid glioma resection study Clinical article [J]. *J Neurosurg*, 2011, 114(3): 613-623