

消化系肿瘤

DOI:10.13406/j.cnki.cyxh.002493

纳米炭吸附碘克沙醇术前、术中双重示踪直肠癌侧方淋巴结的实验研究

刘 希¹, 杨文生², 康政宇², 陈诣佳², 胡笑宇², 黄 伟², 何升东³, 张 林¹

(1. 西南医科大学临床医学院, 泸州 646000; 2. 中国人民解放军西部战区总医院全军普外中心胃肠病区, 成都 610083;
3. 中国人民解放军西部战区总医院烧伤整形科, 成都 610083)

【摘要】目的:初步探讨碘克沙醇-纳米炭混悬液通过术前 CT 淋巴造影(CT lymphography, CT-LG)联合术中染色法双重示踪淋巴结的可行性及诊断价值。**方法:**采用人结直肠癌细胞悬液注射于裸鼠直肠黏膜下建立直肠癌原位移植淋巴转移模型。将 30 只模型鼠随机分为 2 组, 碘克沙醇组 9 只, 双重示踪组 21 只。碘克沙醇组在直肠黏膜下注射碘克沙醇溶液, 双重示踪组则注射碘克沙醇-纳米炭混悬液, 分别进行间质淋巴造影, 然后进行组织学检查。**结果:**碘克沙醇组在 5 min、30 min 观察到强化淋巴结。双重示踪组在 2 h、3 h、5 h 观察到强化淋巴结, 3 h 可获得最佳造影效果。间接 CT-LG 检测到 41 枚强化淋巴结, 其中碘克沙醇组 18 枚, 双重示踪组 23 枚, 与淋巴结活检的位置一致。用密度不均匀、形态不规则、有充盈缺损作为淋巴结转移诊断标准时, 2 组肠系膜根部淋巴结(caudal mesenteric lymph node, CLN)转移的灵敏度和阳性预测值均为 100%; 双重示踪组和碘克沙醇组淋巴结转移的敏感性为 78.6% vs. 81.8%, 特异性为 77.8% vs. 85.7%, 准确性为 78.3% vs. 83.3%。**结论:**碘克沙醇-纳米炭混悬液间接 CT-LG 既可用于术前定位淋巴结和评估转移情况, 又可黑染淋巴结协助术中活检或清扫淋巴结。

【关键词】直肠癌; 淋巴结转移; 纳米炭; 碘克沙醇; 淋巴造影术**【中图分类号】**R735.3**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-12-29

Study on iodixanol-carbon nanoparticles suspension for double tracing lateral lymph nodes in rectal cancer before and during operation

Liu Xi¹, Yang Wensheng², Kang Zhengyu², Chen Yijia², Hu Xiaoyu², Huang Wei², He Shengdong³, Zhang Lin¹

(1. School of Clinical Medicine, Southwest Medical University; 2. Department of Gastrointestinal Surgery, The General Hospital of Western Theater Command; 3. Department of Burn and Plastic Surgery, The General Hospital of Western Theater Command)

【Abstract】Objective: To investigate the feasibility and diagnostic value of iodixanol-carbon nanoparticles(CNPs) suspension to double tracing lymph nodes through preoperative CT lymphography(CT-LG) combined with intraoperative staining. **Methods:** Human colorectal cancer cell suspension was injected under the rectal mucosa of nude mice to establish an orthotopic transplantation model of rectal cancer lymphatic metastasis. Thirty model mice were randomly divided into the iodixanol group($n=9$) and the double tracer group($n=21$). The iodixanol solution under the rectal mucosa was injected in the iodixanol group, and the CNPs suspension was injected in the double tracer group. CT-LG was performed, followed by histopathological examination. **Results:** In the iodixanol group, the enhanced lymph nodes were observed at 5 min and 30 min. In the double tracer group, the enhanced lymph nodes were observed at 2 h, 3 h, and 5 h. The best angiographic effect was obtained at 3 h. A total of 41 enhanced lymph nodes were detected by indirect CT-LG, of which 18 were in the iodixanol group and 23 in the double tracer group, consistent with the location of the biopsy lymph

作者介绍: 刘 希, Email: 1491733476@qq.com,

研究方向: 胃肠道动力及肿瘤基础研究。

通信作者: 张 林, Email: flysky8026@aliyun.com。

基金项目:四川省科技厅资助项目(编号:2011JY0097);西部战区总医院(原成都军区总医院)创新型人才培养基金资助项目(编号:417325E);西部战区总医院(原成都军区总医院)临床研究重点课题资助项目(编号:417311BP)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20200513.1309.010.html>
(2020-05-13)

nodes. The sensitivity and positive predictive value of the caudal mesenteric lymph nodes(CLN) metastasis in both groups were 100% when the uneven density, the irregular shape, and the filling defect were used as the diagnostic criteria. The sensitivity, specificity and accuracy of lymph node metastasis in the double tracer group and the iodixanol group were 78.6% vs. 81.8%, 77.8% vs. 85.7%, and 78.3% vs. 83.3%, respectively. **Conclusion:** Indirect CT-LG with iodixanol-CNPs suspension

can not only locate the lymph nodes and evaluate the metastasis before operation, but also assist in intraoperative biopsy or dissection with black-stained lymph nodes.

[Key words] rectal cancer; lymph node metastasis; carbon nanoparticles; iodixanol; lymphography

淋巴结转移是直肠癌的重要转移途径,侧方淋巴结在全直肠系膜切除术中无法被完全清除,其性质对判断直肠癌分期、选择治疗策略及评估预后等具有重大意义。染料和放射性核素等淋巴示踪是目前用于定位及评价前哨淋巴结的常用方法^[1]。但前哨淋巴结活检为有创检查,核素费用高,成像空间分辨率较低,有放射性污染。术前如何无创且较准确定位及评估淋巴结性质是消化外科领域的难题。既往文献报道,采用碘造影剂的间接 CT 淋巴造影 (CT lymphography, CT-LG) 可显示及定位胃癌、乳腺癌前哨淋巴结^[2-4],以及评估淋巴结转移^[5]。但低分子量碘造影剂易吸收入血,淋巴滞留少,造影时间短,靶向性低。近年来,含碘造影剂的纳米粒子已经成为新型 CT 造影剂,弥补了上述缺点^[6]。纳米炭吸附性能优良,生物相容性好,还具有淋巴趋向性,可作为化疗药物递送系统进行淋巴靶向化疗^[7]。鲜有报道碘克沙醇或碘克沙醇-纳米炭评价直肠癌淋巴结状态方面的研究。本研究选用纳米炭为碘克沙醇的载体,与碘克沙醇分别进行裸鼠晚期直肠癌间接淋巴结造影,通过定位淋巴结和分析转移性淋巴结的强化特征,并与淋巴结活检进行对比,初步探讨碘克沙醇-纳米炭在术前定位和评估,术中示踪直肠癌淋巴结的可行性和诊断价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物和细胞 无特定病原体 BALB/C^{nu/nu} 雄性裸鼠 30 只,6~8 周龄,体质量 18~23 g,购于陆军特色医学中心实验动物中心,实验动物许可证号:SYXK(渝)2017-0005。动物实验得到西部战区总医院实验动物伦理委员会的批准。人结直肠腺癌 HCT116 细胞购自北京协和细胞资源中心。

1.1.2 主要试剂 IMDM 培养基、胎牛血清、0.25% 胰酶-0.02% EDTA 均购自美国 HyClone 公司;纳米炭购自重庆莱美药业股份有限公司;碘克沙醇注射液 (320 mg/mL) 购于 GE Healthcare (20180509);碘克沙醇购自美国 Sigma 公司 (1343517);聚乙烯吡咯烷酮-K30 购自美国 Sigma 公司;癌

胚抗原 (carcinoembryonic antigen, CEA) 兔抗人-一抗购自美国 Abcam 公司;免疫组化兔二步法试剂盒和 DAB 试剂购自北京中杉金桥公司。

1.2 碘克沙醇-纳米炭混悬液的制备

参照既往研究,将 2% 聚乙烯吡咯烷酮加入适量超纯水中超声振荡至完全溶解,另称取 0.6% 纳米炭加入的聚乙烯吡咯烷酮溶液中,匀浆器以 25 000 r/min 匀浆 5 min,得到分散的纳米炭混悬液^[8-9]。称取 0.1% 碘克沙醇加至超纯水中,超声振荡溶解后加至纳米炭混悬液中,随后加超纯水至足量,超声分散 15 min,在 37 °C 恒温振荡 (150 r/min) 2 h,使之达到吸附平衡状态,获得碘克沙醇-纳米炭混悬液。

1.3 细胞培养和裸鼠直肠癌淋巴转移模型的建立

1.3.1 细胞培养 人结直肠腺癌 HCT116 细胞用含 10% 胎牛血清的 IMDM 培养基于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱内培养。待细胞铺至 25 cm² 培养瓶底面积 80%~90% 时,以 0.25% 胰酶-0.02% EDTA 消化细胞,离心后弃上清,加入培养基以 1:4 传代。取第 2 代对数期细胞,经消化和离心后制成细胞悬液,调整细胞浓度为 1×10^8 个/mL,置于冰盒中待用。

1.3.2 直肠癌淋巴转移模型的建立 参考 Hite N 等^[10]的方法建立模型。建模前裸鼠禁食 12 h,腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 麻醉裸鼠,仰卧位固定,消毒肛周皮肤。镊子扩肛后,用 PBS 灌洗直肠,置入 3/4 周 7 mm 长的硅胶管 (外径 5 mm,内径 3 mm) 支撑直肠。在眼科显微镜直视下,持握 100 μ L 微量进液器,距肛缘 1 mm 处针尖下压,刺破直肠黏膜后壁,水平进针 3 mm,直肠黏膜下缓慢注射 40 μ L (4×10^6 个) 对数生长期的 HCT 116 细胞悬液,退针后立即用棉签压迫。苏醒后分笼,给予饲料喂养。组织学证实裸鼠直肠癌淋巴转移即为造模成功。

1.4 动物分组及 micro-CT 检查

选择原位移植后 5 周的模型鼠 30 只。按随机数字表法,9 只纳入碘克沙醇组,21 只纳入碘克沙醇-纳米炭双重示踪组。9 只裸鼠随机分为 3 组,分别对应 3 个扫描时间点,每组 3 只,腹腔麻醉裸鼠,于直肠癌灶周缓慢注射 100 μ L 碘克沙醇溶液前及注射后 5 min、30 min、1 h 采用 micro-CT 扫描同时采集淋巴显影图像^[11]。21 只裸鼠随机分为 7 组,分别对应 7 个扫描时间点,每组 3 只,腹腔麻醉裸鼠,于直肠癌灶周缓慢注射等量的碘克沙醇-纳米炭混悬液前及注射后 5 min、30 min、1 h、2 h、3 h、5 h、24 h 进行扫描并采集图像。扫描参数:X 线球管电压 90 kV,管电流 160 μ A,视野 73 mm,层厚 45 μ m^[12]。扫描后 2 组开腹活检裸鼠直肠癌区域淋巴结。比较

术前 CT 淋巴成像定位与术中活检淋巴结位置的一致性,评估 CT 淋巴结造影强化特征。

1.5 图像判读

CT 扫描图像由 2 名放射科医师阅片并达成一致意见后对显像的淋巴结进行评估。评估指标包括淋巴结个数,强化淋巴结密度是否均匀,结内是否有充盈缺损等。在 CT-LG 图像上画出感兴趣区,测量淋巴结的 CT 值,用于评估淋巴结增强。

1.6 组织学检查

CT 扫描结束后采用腹腔注射过量戊巴比妥钠的方法进行裸鼠安乐死,显露直肠肿瘤,辨认肠系膜根部淋巴结(caudal mesenteric lymph node, CLN)^[13]和主动脉旁淋巴结(para-aortic lymph node, ALN)^[14],标本取材后用 4%多聚甲醛固定 24 h,蔗糖梯度脱水后,制成 10 μm 厚的冷冻切片,行常规 HE 染色和免疫组织化学染色标记人 CEA,镜下观察组织特点。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据处理。计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。

2 结果

2.1 micro-CT 扫描结果

注射造影剂前,CT 平扫图像上未发现淋巴结钙化,无法识别淋巴结(图 1A)。碘克沙醇组于癌灶周围直肠黏膜下间质注射碘克沙醇 5 min、30 min 后,间接 CT-LG 显示荐椎前方的圆形或椭圆形 ALN(图 1B)和充盈缺损的 CLN(图 1C、D)得到强化。双重示踪组注射碘克沙醇-纳米炭 2 h、3 h、5 h 后,间接 CT-LG 显示 CLN(图 1E~G)和大部分 ALN 得到强化。2 组无明显血管显影,可见膀胱显影。而注射碘克沙醇 1 h 后和注射碘克沙醇-纳米炭 5 min、30 min、1 h、24 h 后,CT 图像上均未观察到强化淋巴结。碘克沙醇组和双重示踪组在注射造影剂后强化的淋巴结 CT 值见表 1 和表 2。为鉴别淋巴结是否转移,根据淋巴结 CT 强化特征分为 2 种类型:A 型,密度均匀,形态规则,无充盈缺损(图 1B);B 型,密度不均匀,形态不规则,有充盈缺损(图 1C)。A 型为无转移表现,B 型为淋巴结转移表现。在 CT-LG 图像上共识别出 41 枚强化表现的淋巴结,强化淋巴结类型与组织学检查结果见表 3 和表 4。使用 B 型强化特征作为淋巴结转移诊断标准时,2 组 CLN 转移的灵敏度和阳性预测值均为 100%;碘克沙醇组 CLN 和 ALN 转移的敏感性为 81.8%,特异性为 85.7%,准确性为 83.3%,阳性预测值为 90.0%,阴性预测值为 75%;双重示踪组 CLN 和 ALN 转移的敏感性为 78.6%,特异性为 77.8%,准确性为 78.3%,阳性预测值为 84.6%,阴性预测值为 70%。CT-LG 图像引导下活检淋巴结与强化淋巴结的位置一致(图 2)。

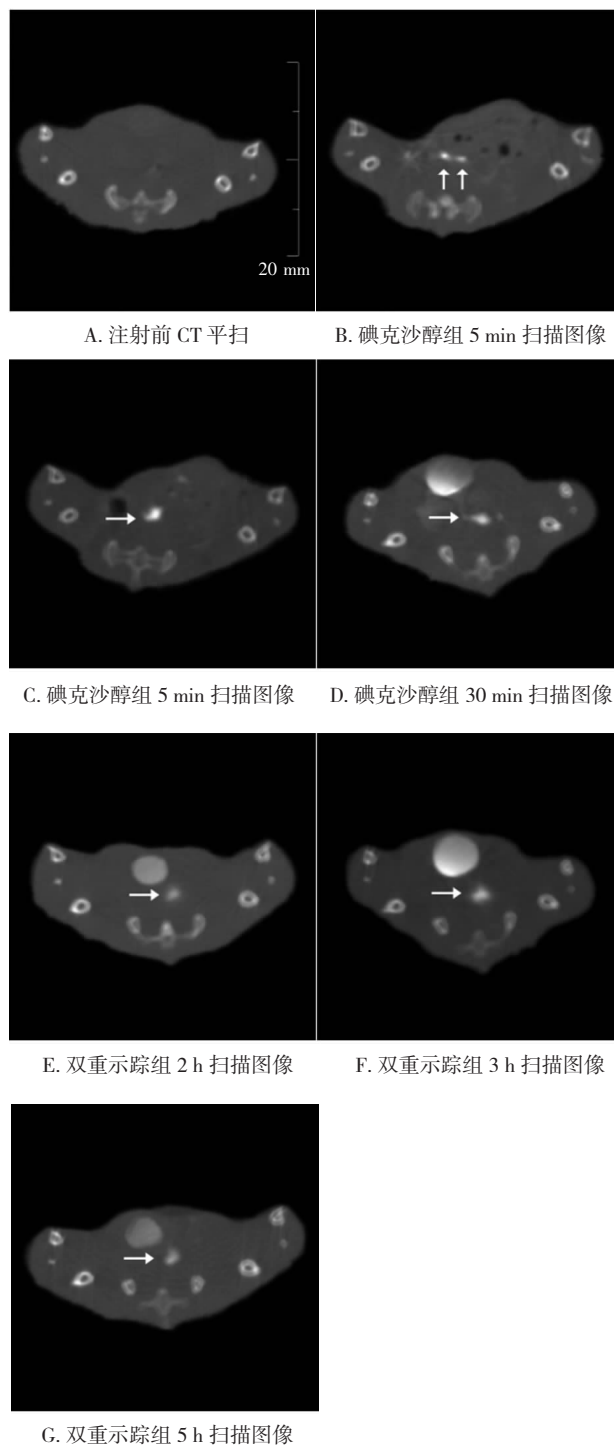


图 1 裸鼠直肠癌淋巴结的 CT 强化表现

表 1 碘克沙醇组淋巴结在不同时间的 CT 值 ($\bar{x} \pm s$, HU)

淋巴结	0 min	5 min	30 min
CLN	41.1 $\pm$ 4.3	472.9 $\pm$ 89.8	206.5 $\pm$ 51.2
ALN	42.4 $\pm$ 4.9	331.7 $\pm$ 65.1	166.7 $\pm$ 27.9

表 2 双重示踪组淋巴结在不同时间的 CT 值 ($\bar{x} \pm s$, HU)

淋巴结	0 min	2 h	3 h	5 h
CLN	39.9 $\pm$ 4.5	84.4 $\pm$ 11.5	156.6 $\pm$ 33.7	116.7 $\pm$ 22.5
ALN	41.6 $\pm$ 5.6	63.4 $\pm$ 17.2	136.9 $\pm$ 26.0	102.1 $\pm$ 19.7

2.2 组织学检查

裸鼠原位移植成瘤率为 100%,肉眼可见原位移植部位肿块。镜下可见 HCT116 细胞向黏膜层和肌层侵袭性生长(图 3A)。裸鼠直肠 CLN 肿大(图 2B、C),HCT116 结直肠癌细胞转移到 CLN,增殖而累及整个淋巴结,破坏其结构,部分癌结节内见液化性坏死区,可继续转移至 ALN(图 3B、C)。CLN

短径为(0.93 ± 0.15) mm,ALN 短径为(1.01 ± 0.39) mm。双重示踪组在 5 min、30 min、1 h 均未见 ALN 和 CLN 淋巴结黑染和强化。2 h 灰染的 ALN、24 h 黑染的 ALN 和 CLN、1 h 碘克沙醇组 ALN 和 CLN,在 CT 图像上均未见强化。除此之外,碘克沙醇造影组活检淋巴结和双重示踪组黑染的淋巴结,与 CT-LG 图像上强化的淋巴结位置一致。

表 3 强化淋巴结类型和组织学结果

淋巴结	5 min			30 min			2 h			3 h			5 h		
CLN	B+	B+	B+	B+	B+	B+	B+	B+	B+	B+	B+	B+	B+	B+	B+
ALN	A-	B+	A-	B+	A+	A-	A-	+	-	A+	A-	B+	A+	B-	A-
	A-	A+	A-	B+	B-	A-	A-	+	+	A-	A-	B+	B+	B-	A-

注:+,转移;-:未转移

表 4 强化淋巴结类型和组织学结果统计

类型	碘克沙醇		碘克沙醇-纳米炭	
	淋巴结转移	淋巴结未转移	淋巴结转移	淋巴结未转移
A	2	6	3	7
B	9	1	11	2

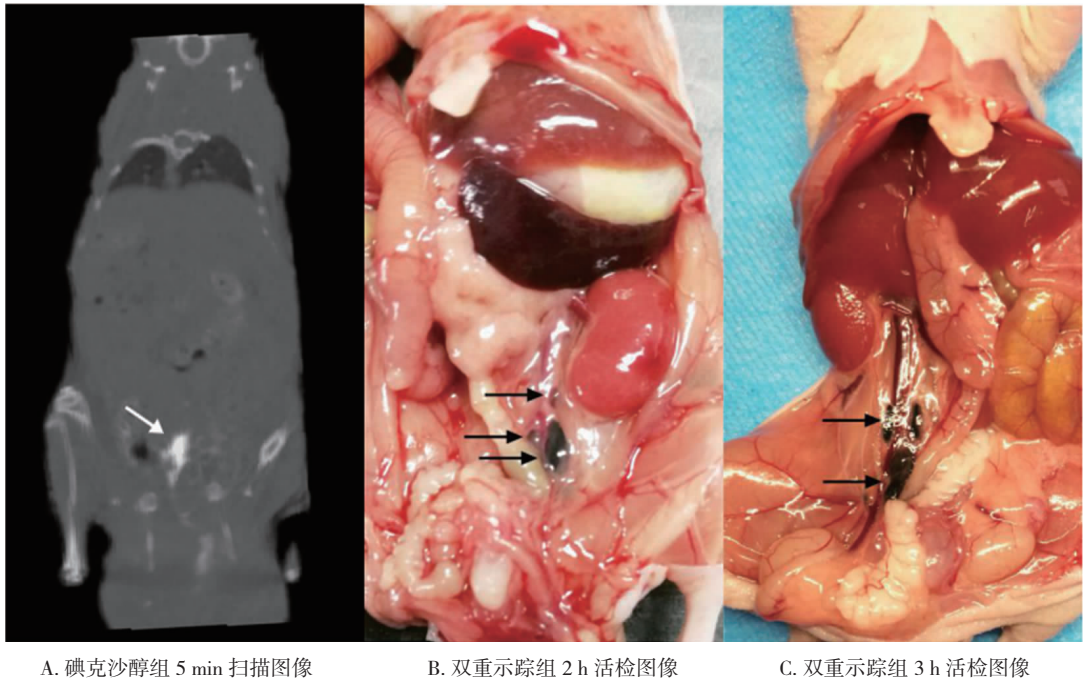


图 2 强化 CLN 与淋巴结活检

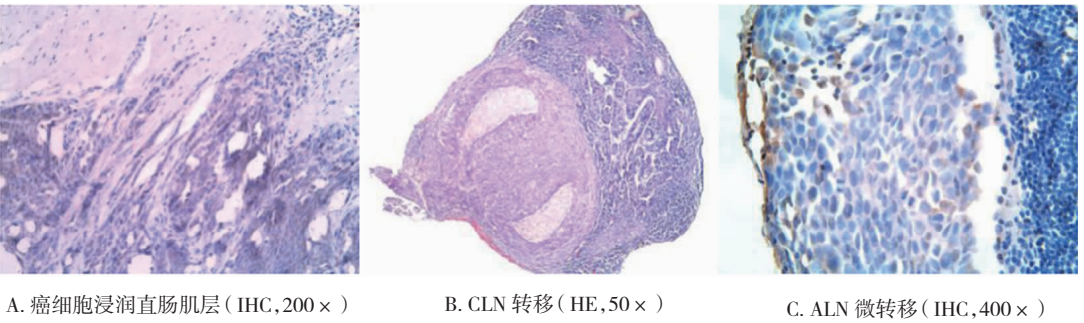


图 3 直肠肿瘤生长和淋巴转移情况

3 讨论

裸鼠荷瘤模型常用于直肠癌淋巴转移的研究。Tsutsumi S 等^[15]报道了 HT29 结肠癌细胞直肠原位移植 3 周后出现 ALN 转移。本研究中, HCT116 细胞原位移植 5 周后, 病理学证实了 CLN 和部分 ALN 转移, 较好地模拟了晚期直肠癌生物学行为。在间质注射造影剂进行间接 CT-LG, 能够实现淋巴结及传入淋巴管的可视化^[16]。Rossi F 等^[17]将碘海醇注射在犬肿瘤周围, 1~3 min 后可显影淋巴系统。Shi F 等^[18]使用碘海醇和树状大分子包埋的金纳米颗粒进行兔颈淋巴结 CT-LG, 碘海醇组显影时间约为 15 min, 金纳米颗粒组淋巴显影时间可达 72 h。本研究显示, 碘克沙醇组在注射后 5 min 行 CT-LG 可见区域淋巴结强化, 1 h 强化基本消退。而碘克沙醇-纳米炭组在注射后 2 h、3 h、5 h 都可定位淋巴结, 24 h 淋巴结强化表现基本廓清。碘克沙醇-纳米炭在淋巴管的传输速度慢于低分子量的碘克沙醇, 但带来更长的淋巴结滞留时间和造影时间, 避免单独使用时 2 次注射, 成为淋巴趋向性示踪剂的良好选择。

在 CT-LG 图像中, 淋巴结 CT 值与平扫相比差值大于 30 HU, 可认为该淋巴结存在强化效应^[19]。本研究使用碘克沙醇-纳米炭进行 CT-LG, 强化淋巴结 CT 值比碘克沙醇组低, 但足以显示强化的淋巴结。此外, 一些灰染的 ALN 在 CT-LG 图像上未观察到强化, 可能是碘克沙醇-纳米炭颗粒的引流聚集少, 不足以显示出明显的成像能力。

间接 CT-LG 被认为是区分转移性淋巴结和非转移性淋巴结的一种方法^[3]。最近的研究显示, 肿瘤引起的淋巴管阻塞或 SLN 充盈缺损可预测淋巴结转移^[20]。淋巴结大小被认为是评估淋巴结的指标。Matsuoka H 等^[21]认为, MRI 上短径为 5 mm 是诊断直肠癌患者侧方淋巴结转移的最佳标准, 然而边界不清楚或形态不规则的淋巴结强化会影响直径的测量。Wisner ER 等^[22]报道, 间接 CT-LG 可发现强化的转移淋巴结充盈缺损。Shu Y 等^[23]在兔 VX2 舌癌

颈深淋巴结转移模型中使用碘帕醇进行 CT-LG, 以充盈缺损为淋巴转移诊断标准的敏感性为 77.4%, 特异性为 77.8%, 准确性为 77.6%。因此, 本研究重点把淋巴结形态和强化特征当作淋巴结转移的诊断标准。本研究以形态不规则、密度不均匀和充盈缺损作为淋巴结转移的重要诊断特征。结果表明, CT-LG 成像诊断淋巴结转移效率较高, 与文献报道相符。在 2 组中观察到 3 枚假阳性 ALN, 可能是淋巴结内药物引流不充分和淋巴结反应性增生导致的充盈缺损。淋巴结微转移是导致 5 枚假阴性 ALN 的原因。

本研究的不足之处在于未定量分析淋巴结充盈缺损。另外, 碘克沙醇-纳米炭在组织器官中的长期积累导致的生物毒性尚不清楚。范林军等^[24]使用纳米炭示踪乳腺癌腋窝淋巴结, 在乳腺癌术后 1 年行活组织检查, 见局部乳腺组织间隙有较多的纳米炭颗粒沉集, 但未见明显的炎症反应或组织变性, 无明显肝肾功能异常。小鼠静脉注射纳米炭混悬注射液 28 d 内无明显毒性, 高剂量引起肝、脾和肺轻微氧化应激反应^[7]。因此其生物安全性尚待进一步研究。

综上所述, 碘克沙醇-纳米炭混悬液是临床理想的双重示踪剂, 生物相容性好、淋巴趋向性强、淋巴滞留时间长。碘克沙醇-纳米炭混悬液间质 CT-LG 诊断效率与碘克沙醇相当, 具有更长的显影时间和黑染淋巴结的能力, 既能作为 CT-LG 造影剂对淋巴结进行术前定位和评估, 又能黑染区域淋巴结在术中协助淋巴结活检或清扫, 其在淋巴造影技术领域的应用前景值得期待。

参考文献

- [1] He PS, Li F, Li G H, et al. The combination of blue dye and radioisotope versus radioisotope alone during sentinel lymph node biopsy for breast cancer: a systematic review[J]. BMC Cancer, 2016, 16: 107.
- [2] Yokohata K, Hattori M, Fujimoto T, et al. Computed tomographic lymphography predicts the difficulty of sentinel lymph node biopsy with dye[J]. Breast Cancer, 2014, 21(2): 198-201.
- [3] Mokhtar M, Tadokoro Y, Nakagawa M, et al. Triple assessment of

- sentinel lymph node metastasis in early breast cancer using preoperative CT/LG, intraoperative fluorescence navigation and OSNA[J]. Breast Cancer, 2016, 23(2): 202–210.
- [4] Hayashi H, Tangoku A, Suga K, et al. CT lymphography-navigated sentinel lymph node biopsy in patients with superficial esophageal cancer[J]. Surgery, 2006, 139(2): 224–235.
- [5] Soultani C, Patsikas MN, Karayannopoulou M, et al. Assessment of sentinel lymph node metastasis in canine mammary gland tumors using computed tomographic indirect lymphography[J]. Vet Radiol Ultrasound, 2017, 58(2): 186–196.
- [6] Ashton JR, West JL, Badea CT. *In vivo* small animal micro-CT using nanoparticle contrast agents[J]. Front Pharmacol, 2015, 6: 256.
- [7] Xie P, Yang ST, He T, et al. Bioaccumulation and toxicity of carbon nanoparticles suspension injection in intravenously exposed mice[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(12): E2562.
- [8] Huang Y, Xie P, Yang ST, et al. Carbon nanoparticles suspension injection for the delivery of doxorubicin: comparable efficacy and reduced toxicity[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2018, 92: 416–423.
- [9] Xie P, Tang X, Li L, et al. Drug-loaded carbon nanoparticle suspension injection; drug selection, releasing behavior, in vitro cytotoxicity and *in vivo* lymph node targeting[J]. J Nanosci Nanotechnol, 2016, 16(7): 6910–6918.
- [10] Hite N, Klinger A, Hellmers L, et al. An optimal orthotopic mouse model for human colorectal cancer primary tumor growth and spontaneous metastasis[J]. Dis Colon Rectum, 2018, 61(6): 698–705.
- [11] Suga K, Ogasawara N, Yuan Y, et al. Visualization of breast lymphatic pathways with an indirect computed tomography lymphography using a nonionic monometric contrast medium iopamidol: preliminary results[J]. Invest Radiol, 2003, 38(2): 73–84.
- [12] Badea CT, Athreya KK, Espinosa G, et al. Computed tomography imaging of primary lung cancer in mice using a liposomal-iodinated contrast agent[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e34496.
- [13] Kishimoto H, Momiyama M, Aki R, et al. Development of a clinically-precise mouse model of rectal cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(11): e79453.
- [14] Van den Broeck W, Derore A, Simoens P. Anatomy and nomenclature of murine lymph nodes: descriptive study and nomenclatory standardization in BALB/cAnNCrl mice[J]. J Immunol Methods, 2006, 312(1–2): 12–19.
- [15] Tsutsumi S, Kuwano H, Morinaga N, et al. Animal model of para-aortic lymph node metastasis[J]. Cancer Lett, 2001, 169(1): 77–85.
- [16] Fujita T, Miura H, Seino H, et al. Anatomical classification of breast sentinel lymph nodes using computed tomography-lymphography[J]. Anat Sci Int, 2018, 93(4): 487–494.
- [17] Rossi F, Körner M, Suárez J, et al. Computed tomographic-lymphography as a complementary technique for lymph node staging in dogs with malignant tumors of various sites[J]. Vet Radiol Ultrasound, 2018, 59(2): 155–162.
- [18] Shi F, Yang Y, Chen J, et al. Dendrimer-entrapped gold nanoparticles as potential CT contrast agents for localizing sentinel lymph node via indirect CT lymphography on rabbit model[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 1230151.
- [19] Suga K, Shimizu K, Kawakami Y, et al. Lymphatic drainage from esophagogastric tract; feasibility of endoscopic CT lymphography for direct visualization of pathways[J]. Radiology, 2005, 237(3): 952–960.
- [20] Nakagawa M, Morimoto M, Takechi H, et al. Preoperative diagnosis of sentinel lymph node(SLN) metastasis using 3D CT lymphography (CTLG)[J]. Breast Cancer, 2016, 23(3): 519–524.
- [21] Matsuoka H, Nakamura A, Masaki T, et al. Optimal diagnostic criteria for lateral pelvic lymph node metastasis in rectal carcinoma[J]. Anticancer Res, 2007, 27(5B): 3529–3533.
- [22] Wisner ER, Katzberg RW, Link DP, et al. Indirect computed tomography lymphography using iodinated nanoparticles to detect cancerous lymph nodes in a cutaneous melanoma model[J]. Acad Radiol, 1996, 3(1): 40–48.
- [23] Shu Y, Xu X, Chodara AM, et al. Correlative study of indirect computed tomography lymphography using iopamidol and histopathology in a cervical lymph node metastasis model[J]. Laryngoscope, 2011, 121(4): 724–731.
- [24] 范林军, 钟玲, 郭德玉, 等. 纳米炭对乳腺癌腋窝淋巴结示踪效果及其安全性的初步研究[J]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2010, 4(3): 47–50.

(责任编辑: 冉明会)