

Lugol 染色內視鏡術 (chromoendoscopy) 在食道癌的應用

張德生 林淳榮¹ 黃文詩²

長庚紀念醫院嘉義分院 肝膽胃腸科

¹長庚紀念醫院 肝膽胃腸科

²長庚大學 臨床醫學研究所

摘 要

傳統消化道內視鏡只能發現有突出腫塊、潰瘍或明顯黏膜顏色改變的進行性食道癌病徵，對於無上述變化與症狀的早期食道鱗狀細胞癌 (squamous cell carcinoma, SCC) 則不容易以傳統內視鏡的檢查方法診斷。自30年前 Lugol's solution 開始被應用於診斷食道鱗狀細胞癌，現今已有眾多報告證明此一方便廉價之染色法在輔助開刀切除、應用於內視鏡篩檢高危險群病患，及偵測早期食道癌以利內視鏡切除術皆扮演重要之角色。尤其在昂貴的高科技醫療影像設備 (EUS, PET, EOCT) 與分子生物學癌症基因研究正熱門之際，應用如Lugol chromoendoscopy (LCE) 技術的染色觀察，以簡單之組織化學反應染色法便可以早期診斷食道癌症，值得內視鏡操作者多加學習與應用，以利日漸成熟之內視鏡超音波 (endoscopic ultrasound, EUS) 及內視鏡黏膜切除術 (endoscopic mucosal resection, EMR) 等的運用。

關鍵詞：碘 (Iodine)

Lugol 內視鏡染色術 (Lugol chromoendoscopy)

食道癌 (Esophageal cancer)

引言

利用內視鏡觀察活體組織之染色變化的技術稱為「染色內視鏡術」 (chromoendoscopy)，它可檢查整個消化道黏膜層 (mucosa) 的細微病變。這類染色方法概分成四大類 (表一)¹：第一類是用可被黏膜吸收的染劑 (absorptive stain)，如甲基藍 (methylene blue)。第二類染料是聚積於黏膜缺損不平滑的表面，使該病灶被凸顯出來

(topographic stain)，以indigo carmine 為代表。第三類是能與黏膜細胞成分化學反應的物質，如 Lugol's solution。最後一類則是免疫螢光染色。

對於食道癌而言，傳統內視鏡只能發現有突出腫塊、潰瘍或黏膜顏色改變的進行性食道癌；對無上述變化與症狀的早期食道鱗狀細胞癌 (squamous cell carcinoma, SCC) 則可利用1-3% Lugol's solution 將黏膜染色觀察以早期診斷，亦即Lugol chromoendoscopy (LCE) 技術。Lugol's

表一：Endoscopic stains 的臨床使用

染劑	機轉	臨床應用實例	病灶診斷
Lugol's iodine solution	被含肝醣的上皮層吸收	1. 食道鱗狀上皮癌 2. Barrett's 食道經熔蝕治療 (ablation) 後殘存 intestinal metaplasia 範圍界定	1. 不被染色 2. 不被染色
Toluidine blue	被惡性細胞上皮的核酸 (nucleic acid) 物質吸收	口咽及食道鱗狀上皮	被染色
Methylene blue	凡有吸收能力的上皮細胞(如小腸)均會被染色	1. 胃部 intestinal metaplasia 2. 十二指腸的 gastric metaplasia 3. Barrett's 食道(intestinal metaplasia)	1. 被染色 2. 不被染色 3. 被染色
Indigo carmine	染劑積蓄在不平整的黏膜表面	突顯大腸黏膜表面的小病灶	黏膜表面的不規則小病灶被突顯出來
India ink	碳(carbon)顆粒永久性本體或黏膜下 (intramural or submucosal) 染色	1. 息肉或其他病灶永久性染色 2. 幫助術中特定病灶確認 3. 當作治療後追蹤時特定部位界標	病灶被永久性染色
Congo red	當 pH 值 < 3.0 時會呈現藍黑色	1. 辨識異位性胃黏膜 2. 描繪酸液分泌胃黏膜範圍	確認酸液分泌性黏膜的位置

solution 起初應用於手術切除之食道癌檢體表層侵犯範圍的判定，有助於外科根治切除手術並減少復發率。近年來對於食道癌高危險病人，如煙癮、喝酒、頭頸部腫瘤（特別是口腔癌和口咽癌）或 achalasia 患者等篩檢的報告中，顯示 LCE 確實可提昇無症狀早期食道癌的診斷率。隨著內視鏡超音波 (endoscopic ultrasound, EUS) 及內視鏡黏膜切除術 (endoscopic mucosal resection, EMR) 等內視鏡技術的成熟與有效應用於診療食道癌眾多報告後，LCE 在輔助診斷早期食道癌的角色將更有價值。本文將介紹並回顧文獻中 LCE 在食道癌診斷的應用。

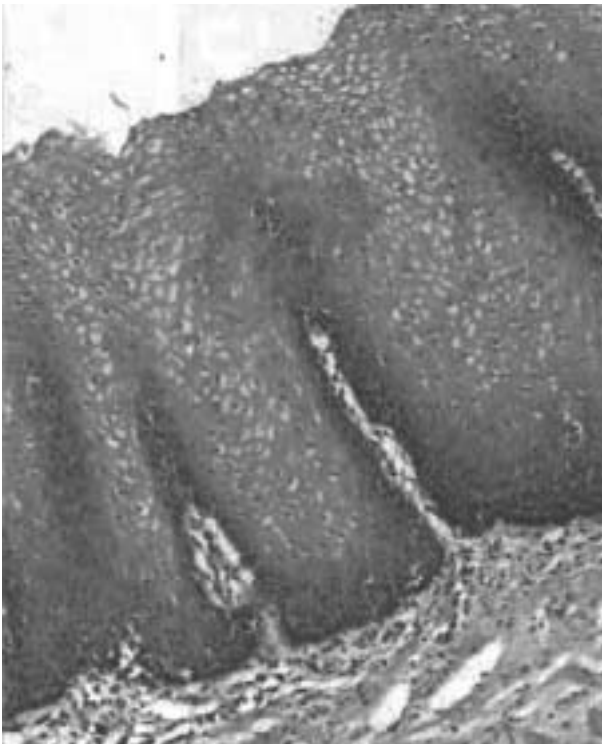
食道黏膜與 Lugol's solution 之作用

正常食道黏膜有 20 ~ 30 層的鱗狀上皮細胞，厚度約 200 至 500 μm ，由表面往下可概分成四層，分別是 stratum corneum、stratum granulosum、stratum spinosum 及 stratum basale，其中最厚的 stratum spinosum 又稱 prickle cell layer，尤其富含肝醣 (glycogen)，是 Lugol's solution 染色時最

重要的部位 (圖一)。Lugol 源於十九世紀一位法國醫師 JGA Lugol (1786–1851) 的名字；Lugol's solution 是由碘 (iodine)、碘化鉀 (KI) 和水泡製成 1~3% 不等濃度的碘溶液。它的機轉是利用碘與食道上皮細胞所富含的肝醣顆粒反應，特別是佔整個上皮 85% 以上厚度的 prickle cell layer 細胞層 (圖二)；正常黏膜會被碘染成暗綠棕色，有病變黏膜因含肝糖細胞層消失所以不被染色，藉此顏色對比使病灶更明顯 (圖三)。亞洲地區最常見的食道癌鱗狀細胞癌 (90%) 源自食道鱗狀上皮細胞層，所以是這種技術應用的最佳對象。

Lugol Chromoendoscopy 的操作法與判讀

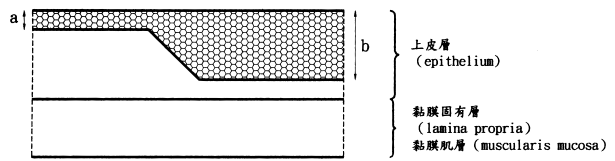
首先由病史排除可能對碘有過敏反應的病人，於內視鏡檢查時可先噴灑一層黏膜溶解劑 (mucolytic agent) 如 acetylcysteine 在食道黏膜上，再以溫水沖除黏液；接著用一特殊高壓導管將約 10-20ml Lugol's solution 由下端食道往上均勻噴在黏膜上 (圖四)，噴灑範圍勿超過食道



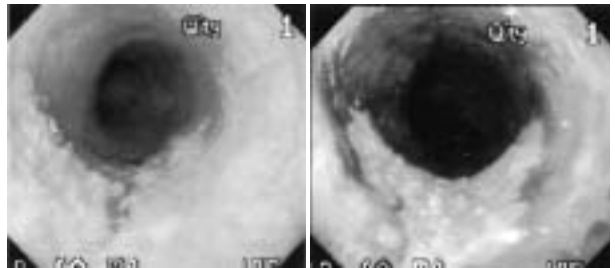
圖一：高倍下 (hematoxylin and eosin X 200) 食道上皮細胞分成界限不明的四層，其中被撐大的白色細胞即為富含肝醣顆粒的細胞，尤其是在 stratum spinosum，白色顆粒即是肝醣聚合處。

段距門牙20cm處，以避免併發症。正常食道黏膜3-5分鐘內會被染成暗棕色，該染色幾分鐘後便會消失，但檢查結束後最好儘量吸除多餘染劑，以降低碘被吸收後之副作用。

染色程度與含肝醣細胞層的厚度和完整性成正比。1993年Mori將Lugol's solution 染色情形依程度分四級²，第一級是過度染色 (hyperpigmentation)，第二級是正常食道的棕色染色，第四級是無染色，介於第二級與第四級之間則定義為第三級，由 atypia、dysplasia 到 carcinoma，呈現第四級染色的情形增加；另外惡性腫瘤的染色邊緣境界較鮮明，良性病變的染色邊緣則較和緩模糊，取組織切片時應由無染色處或第三級染色而邊緣分明部位做切片。2001年Inoue認為約60%之惡性腫瘤的背景正常部位會染成均勻的棕色，其餘不均勻染色情形稱 tiger-spot-like staining 的病變³。而從最淡染的部位切片發現：無染色的部位若呈現白色扁平，常是食道炎和輕微 dysplasia，若為黃或紅色不規則黏膜較偏惡性或



圖二：食道上皮利用LCE染色原理簡圖，圈狀部分代表含肝醣細胞，左半部為上皮病變處，肝醣陽性細胞層厚度(a)變薄，右半部正常鱗狀上皮，肝醣陽性細胞層較厚(b)。若經過Lugol's solution 染色後，右半部正常鱗狀上皮將會深染而將左半部上皮病變處突顯出來。



圖三：一食道癌病患，3到9點鐘方向有紅色充血病灶(左)，經Lugol's solution staining後(右)，病灶界限變分明。



圖四：由內視鏡所見Lugol's solution 由dye-spraying 導管噴灑的情形(左)與EUS檢查(右)。

嚴重 dysplasia，原因是細胞異化時產生 angiogenesis。2002年Muto發表如下的Lugol-Voiding lesions (LVLs) 分類法⁴：Group A：無LVLs；B：少許(≤10)小LVLs (≤5mm)；C：許多(>10)小LVLs；D：許多(>10)不規則multiform LVLs。於頭頸部癌症病患研究中，Group C與D者分別有24.2%與54.8%同時有食道SCC。

副作用

LCE的副作用一般很輕微，可能有過敏反應，或由碘引起的局部化學刺激包括針刺感、噁心、心口灼熱和胸骨後疼痛等，Lugol's solution若噴在喉頭則可能會造成咽喉水腫。雖然

Lugol's solution 使用尚稱安全但 Thuler 等人曾有使用 Lugol chromoendoscopy 引起化學性食道炎 (chemical esophagitis) 的病例報告⁵，最近 Sreedharan 也有 Lugol's solution 引起急性毒性胃粘模損傷 (acute toxic gastric mucosal damage) 的病例報告⁶，顯示使用 Lugol's solution 時仍不可掉以輕心；解決或降低上述副作用的方法包括降低碘液的濃度，或使用 sodium thiosulfate (STS)，於染色完成後儘快噴灑在食道上，以中和碘溶液⁷；STS 是一種水溶性無毒的中性化合物，通常用做 cyanide、iodine、arsenic 或其他重金屬中毒時的靜脈注射解毒劑，它不會穿過黏膜，所以要儘早使用，以免碘穿過黏膜後 STS 無法發揮效果。它和碘的反應式如下： $I_2 + 2Na_2S_2O_3 \rightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$ 。另外，咽喉癌病患如未有氣管內插管時也不宜使用，以免咽喉水腫造成呼吸障礙。

臨床應用文獻回顧

Lugol's solution 在癌症的應用，最早可追溯到 1933 年 Schiller 將之運用於子宮頸癌的診斷；1966 年 Voegeli 將上述所謂 Schiller test 使用在食道癌術後，檢體邊緣 (margin) 癌浸潤的判定；到 1972 年 Endo 首先將 Lugol's solution 與內視鏡合併使用來診斷食道癌，此後有關 LCE 技術應用的報告在食道 SCC 盛行區，如中國、日本與南美之巴西及阿根廷等，便如雨後春筍般出現，且大多有良好成效。

一、例行內視鏡篩檢時 LCE 之助益。1984 年 Nishizawa 在隨機選取 4130 位接受 LCE 大於 50 歲的男性中，發現有 9 例無症狀之早期食道癌，其中 4 例使用傳統 X-光檢查並未能診斷出來⁸；1988 年福岡 Kyushu 大學醫院 Sugimachi 統計該院自 1965 年至 1987 年間食道癌 339 例，比較內視鏡於 1984 年開始使用 LCE 前後食道癌診斷情形，發現 LCE 可使早期食道癌診斷比率由 7% 左右上升至大於 20%⁹。1991 年 Takechi 發表 2 例以 LCE 診斷出表淺無症狀食道癌，並且清楚界定出腫瘤邊緣，因此建議 50 歲以上男性做上消化道內視鏡時，應常規性加做 Lugol's staining¹⁰。

二、LCE 在輔助食道癌開刀時之角色。1990 年 Nabeya 於 30 例食道癌病患找出的 32 處病灶中，發現 LCE 的運用使只侵犯上皮的早期癌診斷率由 80% 上升至 100%，腫瘤病灶邊緣界定的準確率也由 75% 增加到 100%¹¹。1992 年 Kuwano 報告 8 例於術中合併使用 LCE 的早期食道癌病患，發現 6 例有緊鄰於主要病灶的上皮損傷，2 例有多發病灶；因此 LCE 不僅可早期診斷食道癌，而且更能精確定出腫瘤侵犯邊緣，提高完整切除率，降低術後復發率¹²。同年 Sugimachi 對照術前 LCE 與術後病理結果，發現 156 例食道癌病人在術前 LCE 下，無染色區域包含病理學診斷的所有惡性腫瘤部分及部分 severe dysplasia¹³；而在 1984 年以前，僅作傳統內視鏡的 99 例食道癌病人中，無一例可診斷出局限於上皮層的早期癌。然而 1993 年 Miyamoto 所報告 50 個食道癌開刀病例，其中 21 例接受術前放射線治療：內視鏡檢查與切除檢體中 Lugol's solution 染色有 28.6% 不一致性；且非染色區較實際病理病灶範圍較廣者，放射線治療組有 71.4% (無放射線治療組僅 10.3%)，該報告指出食道癌在經過放射線治療後，Lugol's solution 無染色區域的可信度下降¹⁴。本院初步資料亦顯示食道癌經 CCRT 後，Lugol's solution 無染色區域切片之殘存癌診斷率亦偏低，應與放射線食道炎與黏膜纖維化有關。

三、食道癌高危險群如煙酒癮、頭頸部腫瘤患者、食道黏膜受損如常喝熱飲或有 dysplasia、achalasia 的患者等，LCE 篩檢可以提高早期食道癌的診斷率。1995 年 Yokoyama 以 LCE 篩檢 629 位大量飲酒男性，發現 162 (25.8%) 病人有無法染色的病灶，其中 21 人 (3.3%) 証實是早期食道癌，全部都是表淺型 (superficial type)，且有三分之二食道癌無法用傳統內視鏡診斷出來¹⁵；1999 年 Freitag 用 Lugol's solution 對 occult dysplasia 的研究發現它有 80% 的敏感度 (sensitivity)，63% 的特異性 (specificity)，negative predictive value 達 98%，而 positive predictive value 僅 12.5%¹⁶。1994 年 Ina 報告以 LCE 篩檢 127 位口腔或口咽部位癌男患者中，59 位有無染色的食道病變，其中 8 位為早期食道癌，這 8 位中

有5位用傳統內視鏡及鉬劑攝影均未能診斷，另有4位是dysplasia，同樣證實大多數經LCE發現的早期食道癌無法於傳統內視鏡診斷，然而僅有14%的特異性¹⁷；1999年Fukuzawa報告56例口腔癌患者中，7例合併食道癌者都有抽煙和喝酒習性，重要的是這所有食道病變都須藉LCE才診斷出來¹⁸；2000年Tincani追蹤巴西60例無食道症狀的頭頸部癌患者，同樣都有10年以上煙酒使用，藉LCE輔助作切片，結果找到5位早期食道癌，5位dysplasia。1998年Loviscek報告在18例超過10年病史的achalasia患者接受LCE，發現10例有Lugol-negative的區域，其中4例是食道癌¹⁹；1999年Yamamura報告64例achalasia的研究中，發現傳統內視鏡均無診斷出任何食道癌，經LCE則有11處無染色區域，其中一個為早期癌²⁰。這些結論支持achalasia患者發生食道癌的早期診斷上LCE優於傳統內視鏡的結果，但也與之前有關LCE特異性偏低的結論相符。

如何提高LCE對食道癌診斷之特異性？

由以上文獻論述可知LCE雖可提高早期食道癌的診斷率，然而它的特異性卻偏低，以下介紹一些克服之道：

2000年Koyanagi發表利用Lugol's solution無染色區域組織telomerase activity可提高它的特異性²¹。telomerase是一種核糖核酸蛋白酶，作用是將telomeric repeats (TTAGGG)_n 加到染色體末端讓癌細胞多次分裂仍長生不死，此酶只出現在腫瘤細胞中，而正常細胞僅生殖腺 (germline) 和白血球細胞會表現該酶活性。在比較以外科方法切下在原發食道腫瘤遠端的iodine nonreactive 檢體和內視鏡切片檢體的telomerase activity，發現這兩組絕大多數的telomerase activity均表現在carcinoma in situ，少數在dysplastic cells，正常細胞完全沒有該活性，顯示telomerase activity是早期carcinogenesis之重要指標，也是dysplasia病灶應接受黏膜切除術之依據。

另外，Lugol's solution若配合如Indigo carmine或methylene blue等其他染劑所作的食道放大內視鏡術 (magnifying endoscopy)，也可以

增加Lugol chromoendoscopy特異性；如Kumagai在2004年發表用methylene blue染色及細胞內視鏡術 (endocytoscopy system)，可以清楚地觀察12個表淺食道癌病人的黏膜細胞病徵²²。

近年日本Olympus公司又研發出endoscopic optical coherence tomography (EOCT) 技術，經內視鏡管腔伸出探頭應用低連貫性紅外線和干涉儀，可更精確在活體掃描出早期癌 (如Barrett'S食道) 中之絨毛、腺體、腺窩等顯微構造，但影像深度僅1.5-2.0mm約至部分黏膜下層，但不必如EUS探頭需靠水為介質，對於食道病灶之檢查更安全與方便。

另外，Pentax公司應用「同焦雷射顯微鏡」(confocal laser microscopy) 技術導入內視鏡中，可描繪出黏膜表淺細胞三度空間排列影像；2004年Ralf Kiesslich發表應用confocal endoscopy檢查術，對於大腸上皮內贅瘤 (intraepithelial neoplasia) 與侵犯性癌之診斷正確率為99.2%²³，將來應是活體診斷早期消化道癌之主流利器。

結論

自30年前Lugol's solution用於診斷食道鱗狀細胞癌至今，此方便廉價之染色法在輔助開刀切除、內視鏡應用於篩檢高危險群病患以早期偵測食道癌及利用內視鏡切除術皆扮演重要之角色。尤其在高科技醫療影像設備 (EUS, PET, EOCT, Confocal endoscopy) 與分子生物學癌症基因研究正熱門之際，應用簡單之組織化學反應以追獵癌症之染色法，值得吾等內視鏡操作者多加學習與應用。

參考文獻

1. Acosta MM, Boyce HW. Chromoendoscopy-where is it useful? *J Clin Gastroenterol* 1998; 27: 13-20.
2. Mori M, Adachi Y, Matsushima T, Matsuda H, Kuwano H, Sugimachi K. Lugol staining pattern and histology of esophageal lesions. *Am J Gastroenterol* 1993; 85: 701-5.
3. Inoue H, Rey JF, Lightdale C. Lugol chromoendoscopy for esophageal squamous cell cancer. *Endoscopy* 2001; 33: 75-9.
4. Muto M, Hironaka S, Nakane M, Boku N, Ohtsu A, Yoshida S. Association of multiple Lugol-voiding lesions with synchronous and metachronous esophageal squamous cell carcinoma in pa-

- tients with head and neck cancer. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 517-21.
5. Thuler FP, de Paulo GA, Ferrari AP. Chemical esophagitis after chromoendoscopy with Lugol's solution for esophageal cancer: case report. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 925-6.
 6. Sreedharan A, Rembacken BJ, Rotimi O. Acute toxic gastric mucosal damage induced by Lugol's iodine spray during chromoendoscopy. *Gut* 2005; 54: 886-7.
 7. Kondo H, Fukuda H, Ono H, et al. Sodium thiosulfate solution spray for relief of irritation caused by Lugol's stain in chromoendoscopy. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 199-202.
 8. Nishizawa M, Yamaki G, Nomoto K, et al. Early detection of esophageal cancers, with special reference to the intraepithelial stage. *Japanese J Cancer Clinics* 1984; 30: 226-9.
 9. Sugimachi K, Ohno S, Matsuda H, Mori M, Kuwano H. Lugol-combined endoscopic detection of minute malignant lesions of the thoracic esophagus. *Ann Surg* 1988; 208: 179-83.
 10. Takechi K, Shiroko J, Tomita E, et al. Two cases of endoscopically identified esophageal cancer of the superficial-slightly depressed type. *Endoscopy* 1991; 23: 42-5.
 11. Nabeya K, Hanaoka T, Onozawa K, Ri S, Nyumura T, Kaku C. Early diagnosis of esophageal cancer. *Hepato-gastroenterol* 1990; 37: 368-70.
 12. Kuwano H, Kitamura K, Baba K, et al. Determination of the resection line in early esophageal cancer using intraoperative endoscopic examination with Lugol staining. *J Surg Oncol* 1992; 50: 149-52.
 13. Sugimachi K, Kitamura K, Baba K, Ikebe M, Kuwano H. Endoscopic diagnosis of early carcinoma of the esophagus using Lugol's solution. *Gastrointest Endosc* 1992; 38: 657-61.
 14. Miyamoto H, Adachi W, Koike S, Koide N, Iida F. Lugol staining for esophageal carcinoma and influence of radiotherapy. *Japanese J Gastroenterol* 1993; 90: 3-8.
 15. Yokoyama A, Ohmori T, Makuuchi H, et al. Successful screening for early esophageal cancer in alcoholics using endoscopy and mucosa iodine staining. *Cancer* 1995; 76: 928-34.
 16. Freitag CP, Barros SG, Krueel CD, et al. Esophageal dysplasias are detected by endoscopy with Lugol in patients at risk for squamous cell carcinoma in southern Brazil. *Dis Esophagus* 1999; 12: 191-5.
 17. Ina H, Shibuya H, Ohashi I, Kitagawa M. The frequency of a concomitant early esophageal cancer in male patients with oral and oropharyngeal cancer. Screening results using Lugol dye endoscopy. *Cancer* 1994; 73: 2038-41.
 18. Fukuzawa K, Noguchi Y, Yoshikawa T, et al. High incidence of synchronous cancer of the oral cavity and the upper gastrointestinal tract. *Cancer Letters* 1999; 144: 145-51.
 19. Tincani AJ, Brandalise N, Altemani A, et al. Diagnosis of superficial esophageal cancer and dysplasia using endoscopic screening with a 2% lugol dye solution in patients with head and neck cancer. *Head Neck* 2000; 22: 170-4.
 20. Yamamuro EM, Cecconello I, Iriya K, Tomishigue T, Oliveira MA, Pinotti HW. Lugol dye endoscopy for analysis of esophageal mucosa in achalasia. *Hepato-gastroenterol* 1999; 46: 1687-91.
 21. Koyanagi K, Ozawa S, Ando N, et al. Telomerase activity as an indicator of malignant potential in iodine-nonreactive lesions of the esophagus. *Cancer* 2000; 88: 1524-9.
 22. Kumagai Y, Monma K, Kawada K. Magnifying chromoendoscopy of the esophagus: in-vivo pathological diagnosis using an endocytoscopy system. *Endoscopy* 2004; 367: 590-4.
 23. Kiesslich R, Burg J, Vieth M, et al. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer in vivo. *Gastroenterology* 2004; 127: 706-13.

Application of Lugol Chromoendoscopy on the Diagnosis of Early Esophageal Cancer

Te-Sheng Chang, Chun-Jung Lin¹, and Wen-Shih Huang²

*Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine,
Chang Gung Memorial Hospital, Chiayi, Taiwan*

¹*Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine,
Chang Gung Medical Center, Taoyan, Taiwan*

²*Graduate Institute of Clinical Medicine,
Chang Gung University, Taoyan, Taiwan*

Conventional esophago gastro duodenoscopy can disclose a lesion only when it presents as a protuberant mass, an ulceration or when there is significant discoloration. When an early esophageal squamous cell carcinoma or dysplasia, frequently lacking such changes, is confronted, conventional endoscopy usually fails to detect it. Combination of endoscopy and mucosal staining, known as chromoendoscopy, deserves to be praised in the detection of early lesions aforementioned. Since the initial report of Lugol's solution on the diagnosis of esophageal cancer 30 years ago, more and more publications have agreed with its usefulness as an assistant tool in the diagnosis of early esophageal cancer. Examples of its benefits include improving surgical decision making, better screening of high risk patients and facilitating endoscopic mucosal resection. With the growing popularity of much more expensive modalities such as EUS, PET, EOCT and molecular genetic technology; this convenient and non-expensive technique is worth practicing by endoscopist. (J Intern Med Taiwan 2005; 16: 162-168)