

吲哚菁绿在腹腔镜低位直肠癌术中的应用

李双双¹, 钱波¹, 张彬^{1*}, 王炜林², 李猛²

¹安徽医科大学第二附属医院, 安徽 合肥

²阜阳市妇女儿童医院, 安徽 阜阳

收稿日期: 2022年4月16日; 录用日期: 2022年5月11日; 发布日期: 2022年5月18日

摘要

目的: 探讨吲哚菁绿(ICG)荧光显像技术在腹腔镜低位直肠癌术中的应用, 评估ICG在术后预防吻合口瘘的作用。方法: 回顾性分析安徽医科大学第二附属医院普外科在2018年9月至2021年8月接受腹腔镜低位直肠癌根治术患者共100例, 其中应用吲哚菁绿荧光显像技术病人50例(ICG组), 应用常规腹腔镜低位直肠癌根治术病人50例(对照组); 统计吻合口距离肛缘距离, 预防性造瘘, 吻合方式, 手术时间, 术中出血量, 预离断肠管位置改变例数, 术后腹腔感染发生率, 术后住院时间, 术后吻合口瘘(anastomotic leakage, AL)的发生率, 及吻合口瘘导致的死亡数量等临床资料。结果: 在ICG组中, 预离断肠管位置改变例数明显多于对照组, 且在减少术后腹腔感染、降低住院时间方面也具有一定优势($p < 0.05$); 在主要观察指标术后吻合口瘘方面, ICG组仅出现4例吻合口瘘, 且处于A、B级, 而在我们对照组中出现13例, B、C级瘘占10例, 且差异具有统计学意义($p < 0.05$)。结论: 吲哚菁绿在腹腔镜低位直肠癌术中的应用可见降低术后吻合口瘘的发生率。

关键词

吲哚菁绿荧光显像技术, 吻合口瘘, 腹腔镜低位直肠癌根治术, 直肠癌

Application of Indocyanine Green in Laparoscopic Low Rectal Cancer Surgery

Shuangshuang Li¹, Bo Qian¹, Bin Zhang^{1*}, Weilin Wang², Meng Li²

¹The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei Anhui

²Fuyang Women's and Children's Hospital, Fuyang Anhui

Received: Apr. 16th, 2022; accepted: May 11th, 2022; published: May 18th, 2022

*通讯作者。

文章引用: 李双双, 钱波, 张彬, 王炜林, 李猛. 吲哚菁绿在腹腔镜低位直肠癌术中的应用[J]. 临床医学进展, 2022, 12(5): 4110-4116. DOI: 10.12677/acm.2022.125595

Abstract

Objective: To explore the application of indocyanine green (ICG) fluorescence imaging technology in laparoscopic low rectal cancer surgery, and to evaluate the effect of ICG in preventing anastomotic leakage after surgery. **Methods:** A total of 100 patients who underwent laparoscopic low rectal cancer radical resection from September 2018 to August 2021 in the General Department of the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University were retrospectively analyzed, of which 50 patients were treated with indocyanine green fluorescence imaging (ICG group), 50 patients with conventional laparoscopic low-position rectal cancer resection (control group); the distance between anastomotic stoma and anal verge, prophylactic fistula, anastomosis method, operation time, intraoperative blood loss, and changes in the position of pre-disconnected bowel canal were counted. The number of cases, the incidence of postoperative intra-abdominal infection, postoperative hospital stay, the incidence of postoperative anastomotic leakage (AL), and the number of deaths caused by anastomotic leakage and other clinical data. **Results:** In the ICG group, the number of cases with changes in the position of the pre-disconnected bowel tube was significantly more than that in the control group, and it also had certain advantages in reducing postoperative abdominal infection and hospitalization time ($p < 0.05$); the main observation index was postoperative anastomotic leakage. There were only 4 cases of anastomotic leakage in the ICG group, and they were in grades A and B, while 13 cases occurred in our control group, and 10 cases were in grades B and C, and the difference was statistically significant ($p < 0.05$). **Conclusion:** The application of indocyanine green in laparoscopic low rectal cancer can reduce the incidence of postoperative anastomotic leakage.

Keywords

Indocyanine Green Fluorescence Imaging Technology, Anastomotic Leakage, Laparoscopic Radical Resection of Low Rectal Carcinoma, Colorectal Cancer

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

腹腔镜手术治疗结直肠癌在近年来得到快速发展,随着外科医生腹腔镜技术的提高,以及患者对术后生活质量的要求不断提高,腹腔镜低位直肠癌根治术也逐渐成为各医学中心常规开展的技术。吻合口瘘(Anastomotic leakage, AL)是指由于吻合口部位的肠壁完整性破坏,导致肠腔内和肠腔外的相互交通[1]。它是直肠癌切除术后最严重的并发症之一,可导致患者术后病情进展,增加住院时间、死亡率和并发症以及术后复发风险,降低了术后生存率[2] [3] [4] [5]。为了进一步提高腹腔镜低位直肠癌的治疗效果,因此有效防止吻合口瘘的发生至关重要。许多因素与AL的发生有关,包括患者的性别、年龄、合并症、美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA)评分、肥胖和营养不良、烟草、免疫抑制、酗酒、术前化疗和放疗、肿瘤分期、低吻合度和手术时间等[6],而吻合口充分的血流灌注对于吻合口愈合和预防AL至关重要[7] [8]。因此,术中对肠道缺血的评估和保证吻合口充足血供的操作可能会减少AL的发生。

吲哚菁绿(Indocyanine green, ICG)是一种荧光染料,它能结合到血浆蛋白,局限于血管区,并迅速被肝脏代谢。它可以吸收790和805纳米之间的近红外光,并在835纳米处释放电磁能量,通过荧光观察到,可以用来实时评估组织灌注。其循环半衰期为3~5分钟,过敏反应率为1/333,000 [9] [10]。许多研究

都关注于吲哚菁绿(ICG)荧光显像技术在结直肠手术中的应用[10] [11] [12] [13] [14]。然而,很少有研究针对低位直肠癌进行分析,本研究的目的是探讨术中使用吲哚菁绿荧光显像技术在腹腔镜低位直肠癌术中的应用,旨在进一步明确术中使用 ICG 荧光显像技术是否能降低术后 AL 的发生率。

2. 资料与方法

2.1. 一般资料

选取 2018 年 9 月至 2021 年 8 月安徽医科大学第二附属医院普外科收治的 100 例接受腹腔镜低位直肠癌根治术的患者作为研究对象,根据术中是否使用吲哚菁绿荧光显像技术将其分为吲哚菁绿荧光显像技术组(ICG 组)及常规腹腔镜低位直肠癌根治术组(对照组)。ICG 组 50 例,其中男 31 人,女 19 人,平均(68.2 ± 7.6)岁;对照组 50 例,其中男 27 人,女 23 人,平均(69.5 ± 8.4)岁。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$, 表 1)。排除标准:1) 术前综合评估患者有肝功能异常;2) 既往有 ICG 或碘过敏史;3) 有肠梗阻、肠穿孔、出血等,需急诊手术的患者;4) 肿瘤侵犯邻近器官组织需要联合脏器切除的患者;5) 肿瘤术后复发或有远处转移的患者;6) 结直肠及其他部位肿瘤多发者;7) 既往有腹部大手术史,腹腔粘连明显的患者;8) 合并其他未控制稳定的疾病。其中 ICG 组本研究通过安徽医科大学伦理委员会的审批,所有纳入患者及其家属均已充分了解治疗过程并在研究前签署相关知情同意书。

Table 1. Comparison of general data of two groups of patients

表 1. 两组患者一般资料比较

一般资料	ICG 组(n = 50)	对照组(n = 50)	χ^2/t	P 值
年龄(岁)	68.2 ± 7.6	69.5 ± 8.4	0.599	0.511
性别			0.657	0.418
男/例(%)	31 (62.00)	27 (54.00)		
女/例(%)	19 (38.00)	23 (46.00)		
ASA 评分			0.178	0.673
≤ 2 分/例(%)	32 (64.00)	34 (68.00)		
> 2 分/例(%)	18 (36.00)	16 (32.00)		
白蛋白($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	31.7 ± 12.7	32.1 ± 9.2	0.744	0.459
放疗史			0.694	0.405
有/例(%)	16 (32.00)	20 (40.00)		
无/例(%)	34 (68.00)	30 (60.00)		
糖尿病史			0.160	0.689
有/例(%)	23 (46.00)	25 (50.00)		
无/例(%)	27 (54.00)	25 (50.00)		
心血管病史			0.167	0.683
有/例(%)	19 (38.00)	21 (42.00)		
无/例(%)	31 (62.00)	29 (58.00)		
BMI ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$)	25.1 ± 10.6	25.8 ± 9.9	1.142	0.257

2.2. 手术方法

所有患者均接受腹腔镜低位直肠癌根治手术, 常规 5 孔, 先清扫肠系膜下动脉根部淋巴结和结扎相应血管, 保留左结肠动脉, 充分打开 Toldt's 间隙, 完成层面游离、淋巴结清扫及血管离断, 在离断肠管前根据观察肠管颜色, 直动脉搏动情况, 以及肠脂垂血供标注预离断位置, 然后将 25 mg ICG 溶于 10 ml 灭菌注射用水, 外周静脉注射 ICG 2 ml, 使用荧光模式观察肠管血运情况, 根据血运情况定位离断肠管位置; 与上述预离断位置比较后, 只要认为 ICG 荧光显像处的血管显示不充分, 就调整手术方案, 主要包括: 上移预离断肠管位置和改变动脉结扎位置且不影响根治效果。在荧光模式下离断肠管, 行结肠直肠吻合术后, 通过漏气测试确认其完整性。对于非常低的直肠癌, 选择了双重方法, 经肛门提取标本, 并进行手工缝合结肠肛门吻合口。然后进行第二次 ICG 注射, 并在腹腔镜或经肛门评估近端和远端残端, 以确定其血供。对照组接受了同样的标准化手术过程, 但没有使用吲哚菁绿(ICG)荧光显像技术。

2.3. 术后管理

术后常规予以预防感染、静脉营养支持等治疗。患者术后第 3 天起进食流质饮食, 如进食后无不适, 术后第 5 天过渡至半流质饮食。

2.4. 临床资料

统计术前相关因素, 包括性别、年龄、美国麻醉师协会(ASA)评分、体重指数(BMI)、合并症(糖尿病、肾衰竭、心血管疾病)、既往有无盆腔放疗史、血清白蛋白水平和美国癌症联合委员会(AJCC)分期。观察指标包括: 失血量、吻合水平(距离肛门边缘高于或低于 5 厘米)、吻合类型(手工吻合与吻合器吻合)、漏气测试、手术时间和预防性造瘘。术后并发症包括吻合口漏发生率, 术后腹腔感染发生率, 术后住院时间, 致死人数。吻合口漏的诊断是依据国际直肠癌研究小组定义的临床和或影像学表现[1]。

2.5. 统计分析

所获数据用 SPSS 20.0 统计软件进行分析。计量资料使用平均值 \pm 标准偏差($\bar{x} \pm s$), 计量资料符合方差齐性, 采用独立样本 t 检验, 不符合方差齐性, 采用 Mann-Whitney U 检验, 计数资料采用 χ^2 检验。 χ^2 检验(如果预期计数 < 5 , 则连续性校正 χ^2)或 Fisher 精确检验适用于分类数据。 $P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 术中观察指标比较

在吻合口距离肛缘距离、AJCC 分期、吻合方式、预防性造瘘、手术时间等方面的差异无统计学意义($p > 0.05$), ICG 组有 13 例(26.00%)的患者漏气试验呈阳性, 对照组有 9 例(18.00%)的患者漏气试验呈阳性, 但差异仍无统计学意义($P > 0.05$)。依靠 ICG 荧光显像技术, ICG 组有 12 例(24.00%)的患者切除水平被改变。在对照组中, 因 2 例(4.00%)患者在离断肠管时血供较差而改变离断肠管位置, 其余患者均没有改变肠管离断水平, 这种差异在两组中有统计学意义($P < 0.05$) (表 2)。

3.2. 术后观察指标及并发症比较

两组术后平均住院时间、腹腔感染均有统计学差异($P < 0.05$), ICG 组有 4 例(8.00%)发生 AL, 其中 2 例(4.00%) A 级漏, 2 例(4.00%) B 级漏, 无患者因吻合口漏导致患者死亡; 对照组有 13 例(26.00%)患者发生 AL, 3 例(6.00%) A 级漏, 7 例(14.00%) B 级漏, 3 例(6.00%) C 级漏, 有 1 例(2.00%)因吻合口漏导

Table 2. Comparison of intraoperative observation indicators between the two groups**表 2.** 两组术中观察指标比较

术中相关因素	ICG 组(n = 50)	对照组(n = 50)	χ^2/t	P 值
吻合口距离肛缘距离(cm)			0.044	0.834
≤5/例(%)	33 (66.00)	32 (64.00)		
>5/例(%)	17 (34.00)	18 (36.00)		
AJCC 分期(期)				
0/例(%)	5 (10.00)	4 (8.00)	0.122	0.727
1/例(%)	14 (28.00)	15 (30.00)	0.049	0.826
2/例(%)	17 (34.00)	18 (36.00)	0.044	0.834
3/例(%)	7 (14.00)	5 (10.00)	0.379	0.538
4/例(%)	7 (14.00)	8 (16.00)	0.078	0.779
预防性造瘘/例(%)	32 (64.00)	33 (66.00)	0.044	0.834
吻合方式			0.271	0.603
吻合器吻合/例(%)	40 (80.00)	42 (84.00)		
手工吻合/例(%)	10 (20.00)	8 (16.00)		
预离断肠管位置改变例数(例)	12 (24.00)	2 (4.00)	8.306	0.004
出血量(ml)			2.837	0.092
≤200/例(%)	49 (98.00)	45 (90.00)		
>200/例(%)	1 (2.00)	5 (10.00)		
空气泄漏测试			0.932	0.334
阳性/例(%)	13 (26.00)	9 (18.00)		
阴性/例(%)	37 (74.00)	41 (82.00)		
手术时间(min)	208.7 ± 38.8	199.7 ± 56.5	1.502	0.709

Table 3. Comparison of postoperative related indicators and complications between the two groups**表 3.** 两组术后相关指标及并发症比较

术后相关指标及并发症	ICG 组	对照组	χ^2/t	P 值
术后住院时间(天)	8.5	10.5	2.568	0.029
术后腹腔感染(例)	2	10	6.061	0.014
吻合口漏发生例数	4	13	5.741	0.017
A/例(%)	2 (4.00)	3 (6.00)	0.211	0.646
B/例(%)	2 (4.00)	7 (14.00)	3.053	0.081
C/例(%)	0	3 (6.00)	-	-
吻合口漏致死数(例)	0	1 (2.00)	-	-

致死亡。两组病人在吻合口漏发生率上的差异有统计学意义($P < 0.05$) (表 3)。

4. 讨论

近十几年来微创外科因腹腔镜手术的迅猛发展发生了质的飞跃,腹腔镜下低位直肠癌切除进行低位和超低位吻合对外科医生的要求越来越高,AL 仍然是直肠癌手术后非常重要且危险的并发症。其发病率在结肠和结肠肛门吻合处为 5%至 20% [2] [5] [15],从而增加了住院时间、住院费用,也导致了术后死亡率的上升。AL 的发生率根据解剖部位的不同而有所差异,在低位直肠癌根治术中吻合口瘘的发生率有所增加[6] [16]。

ICG 是一种荧光染料,它能结合到血浆蛋白,局限于血管区,并迅速被肝脏代谢,并可以通过荧光观察到,可以用来实时评估组织灌注。吻合口良好的血液灌注对减少 AL 发生率至关重要[17]。既往评估肠管血供的最常见和最传统的方法是观察肠壁的颜色和血管的搏动情况。然而,仅仅依靠视觉观察并不能准确评估肠道微循环的微小变化,特别是在解剖结构异常或肥胖体质等情况下。ICG 荧光血管造影技术能够更直观的为观察肠道残端血流灌注情况提供依据。ICG 荧光灌注显像应用于腹腔镜直肠癌前切除评估吻合口的血供,其安全性及可靠性已得到证实[18]。目前,尚缺乏使用 ICG 降低 AL 发生率的相关研究[19]。

在本研究中,ICG 组没有发生因改变离断肠管位置而发生 AL 的情况。而且在完成吻合后进行第二次荧光评估中局部血供并没有发生任何变化。与对照组相比,ICG 组 AL 的发生率明显降低(26.00% vs 8.00%, $P = 0.017$),具有统计学意义。我们的研究结果与 Jafari 等人的报告基本一致,他们的研究证明在进行腹膜外吻合时,AL 发生率有类似的下降趋势(18%下降至 6%) [13] [20]。另外,ICG 组患者没有出现 C 级漏,这也表明其在避免发生严重吻合口瘘方面具有一定意义。在本研究中,12 例(24.00%)的病例在荧光评估后改变了离断肠管位置,这与 Jafari 等人的报告相当。PILLAR II 多中心研究,在距离肛门边缘 < 10 厘米的直肠癌中,有 7.5%的患者改变了手术计划,而在 >10 厘米的直肠癌中这一比例仅为 5.8% [13] [18]。因此,ICG 可以减少吻合口因血供问题导致的 AL。与单纯的临床评估相比,ICG 在确定最佳离断肠管位置时似乎更有针对性。然而,依据 ICG 定性评价在区分肠道微循环的变化是有一定局限的,而且分析结果会受到摄像系统和拍摄条件,以及病人在注射 ICG 时的心输出量的影响。

综上,使用 ICG 对降低腹腔镜低位直肠癌术后患者 AL 发生率及相关并发症有很大的作用,并在一定程度上缩短了住院时间,我们的研究结果证实了这项新技术可能带来的好处和安全性,然而,仍然需要进一步的研究找到更加可靠的分析方法来客观地评估微循环。

基金项目

阜阳师范大学自然科学重点项目(2020YXZX05ZD)。

参考文献

- [1] Rahbari, N.N., Weitz, J., Hohenberger, W., *et al.* (2017) Definition and Grading of Anastomotic Leakage Following Anterior Resection of the Rectum: A Proposal by the International Study Group of Rectal Cancer. *Surgery*, **147**, 339-351. <https://doi.org/10.1016/j.surg.2009.10.012>
- [2] Buchs, N.C., Gervaz, P., Secic, M., *et al.* (2018) Incidence, Consequences, and Risk Factors for Anastomotic Dehiscence after Colorectal Surgery: A Prospective Monocentric Study. *International Journal of Colorectal Disease*, **23**, 265-270. <https://doi.org/10.1007/s00384-007-0399-3>
- [3] Asari, S.A., Cho, M.S. and Kim, N.K. (2020) Safe Anastomosis in Laparoscopic and Robotic Low Anterior Resection for Rectal Cancer: A Narrative Review and Outcomes Study from an Expert Tertiary Center. *European Journal of Surgical Oncology*, **41**, 175-185. <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2014.10.060>
- [4] Vallance, A., Wexner, S., Berho, M., *et al.* (2017) A Collaborative Review of the Current Concepts and Challenges of

- Anastomotic Leaks in Colorectal Surgery. *Colorectal Disease*, **19**, 1-12. <https://doi.org/10.1111/codi.13534>
- [5] Mirnezami, A., Mirnezami, R., Chandrakumaran, K., *et al.* (2021) Increased Local Recurrence and Reduced Survival from Colorectal Cancer Following Anastomotic Leak: Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of Surgery*, **253**, 890-899. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e3182128929>
- [6] Kudzus, S., Roesel, C., Schachtrupp, A., *et al.* (2020) Intraoperative Laser Fluorescence Angiography in Colorectal Surgery: A Noninvasive Analysis to Reduce the Rate of Anastomotic Leakage. *Langenbeck's Archives of Surgery*, **395**, 1025-1030. <https://doi.org/10.1007/s00423-010-0699-x>
- [7] Mcdermott, F.D., Heeney, A., Kelly, M.E., *et al.* (2019) Systematic Review of Preoperative, Intraoperative and Post-operative Risk Factors for Colorectal Anastomotic Leaks. *British Journal of Surgery*, **102**, 462-479. <https://doi.org/10.1002/bjs.9697>
- [8] Frasson, M., Flor-Lorente, B., Rodriguez, J.L., *et al.* (2019) Risk Factors for Anastomotic Leak after Colon Resection for Cancer: Multivariate Analysis and Nomogram from a Multicentric, Prospective, National Study with 3193 Patients. *Annals of Surgery*, **262**, 321-330. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000000973>
- [9] Luo, S., Zhang, E., Su, Y., *et al.* (2017) A Review of NIR Dyes in Cancer Targeting and Imaging. *Biomaterials*, **32**, 7127-7138. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.06.024>
- [10] Ris, F., Liot, E., Buchs, N.C., *et al.* (2018) Multicentre Phase II Trial of Near-Infrared Imaging in Elective Colorectal Surgery. *British Journal of Surgery*, **105**, 1359-1367. <https://doi.org/10.1002/bjs.10844>
- [11] Santi, C., Casali, L., Franzini, C., *et al.* (2019) Applications of Indocyanine Green-Enhanced Fluorescence in Laparoscopic Colorectal Resections. *Updates in Surgery*, **71**, 83-88. <https://doi.org/10.1007/s13304-018-00609-w>
- [12] Jafari, M.D., Wexner, S.D., Martz, J.E., *et al.* (2015) Perfusion Assessment in Laparoscopic Left-Sided/Anterior Resection (PILLAR II): A Multi-Institutional Study. *Journal of the American College of Surgeons*, **220**, 82-92. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2014.09.015>
- [13] Kim, D.U., Rao, A., Kaplan, S., *et al.* (2018) The Use of Indocyanine Green Fluorescence Angiography to Assess Perfusion of Chronic Wounds Undergoing Hyperbaric Oxygen Therapy. *Undersea and Hyperbaric Medicine*, **45**, 663-671.
- [14] Boni, L., David, G., Dionigi, G., *et al.* (2016) Indocyanine Green-Enhanced Fluorescence to Assess Bowel Perfusion during Laparoscopic Colorectal Resection. *Surgical Endoscopy*, **30**, 2736-2742. <https://doi.org/10.1007/s00464-015-4540-z>
- [15] Park, J.S., Choi, G.S., Kim, S.H., *et al.* (2019) Multicenter Analysis of Risk Factors for Anastomotic Leakage after Laparoscopic Rectal Cancer Excision: The Korean Laparoscopic Colorectal Surgery Study Group. *Annals of Surgery*, **257**, 665-671. <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e31827b8ed9>
- [16] Kingham, T.P. and Pachter, H.L. (2019) Colonic Anastomotic Leak: Risk Factors, Diagnosis, and Treatment. *Journal of the American College of Surgeons*, **208**, 269-278. <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2008.10.015>
- [17] Dervenis, N., Harris, A., Coleman, A.L., *et al.* (2020) Factors Associated with Non-Active Retinal Capillary Density as Measured with Confocal Scanning Laser Doppler Flowmetry in an Elderly Population: The Thessaloniki Eye Study (TES). *British Journal of Ophthalmology*, **104**, 1246-1253.
- [18] 曹键, 鲍予颀, 叶颖江. 吲哚菁绿荧光显像技术在腹腔镜直结肠癌前切除手术中的应用价值[J]. 中华普通外科杂志, 2020, 35(10): 764-767.
- [19] Son, G.M., Kwon, M.S., Kim, Y., *et al.* (2019) Quantitative Analysis of Colon Perfusion Pattern Using Indocyanine Green (ICG) Angiography in Laparoscopic Colorectal Surgery. *Surgical Endoscopy*, **33**, 1640-1649. <https://doi.org/10.1007/s00464-018-6439-y>
- [20] Jayne, D.G., Guillou, P.J., Thorpe, H., *et al.* (2017) Randomized Trial of Laparoscopic-Assisted Resection of Colorectal Carcinoma: 3-Year Results of the UK MRC CLASICC Trial Group. *Journal of Clinical Oncology*, **25**, 3061-3068. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.09.7758>