

文章编号:1001-5078(2004)06-0502-03

乳腺肿瘤组织的拉曼光谱研究

赵元黎^{1,2}, 吕 晶³, 申培红³, 梁二军², 姚淑霞², 葛向红²

(1. 中国科学院安徽光学精密机械研究所, 安徽 合肥 230031; 2. 郑州大学, 河南 郑州 450052; 3. 郑州市中心医院, 河南 郑州 450007)

摘 要:使用 RENISHAW 显微共焦拉曼光谱仪检测了 24 例乳腺肿瘤组织病理片的拉曼光谱。通过对浸润性导管癌、乳腺增生、纤维腺瘤等乳腺疾病的拉曼光谱分析, 找出了不同乳腺疾病的病理片拉曼光谱的差异, 这些差异可作为各类乳腺肿瘤病理片拉曼光谱的特征, 为应用拉曼光谱进行乳腺疾病诊断提供依据。

关键词:乳腺肿瘤; 拉曼光谱; 诊断

中图分类号: R446.8 **文献标识码:** A

Study on Laman Spectrum of Galactophore Tumour

ZHAO Yuan-li^{1,2}, L Üjing³, SHEN Pei-hong³, LIANG Er-jun², YAO Shu-xia², GE Xiang-hong²

(1. Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei 230031, China;

2. Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 3. Central Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450007, China)

Abstract: The laman spectrum for 24 examples pathology piece of galactophore tumour were tested by the RENISHAW laman spectrum equipment. The difference of laman spectrum for different galactophore morbid pathology piece was found by analysing. These difference may be the character of different galactophore tumour pathology piece. These provide the gists for diagnosis of galactophore morbid.

Key words: galactophore tumour; laman spectrum; diagnosis

乳腺癌是女性的致命疾病之一。目前, 临床医生虽可用 X 线钼靶摄片, 彩色超声, 多谱勒检查, 红外乳腺图像分析, 乳头溢及脱落细胞学检查, 选择性乳腺导管造影等多种方法对乳腺肿瘤进行诊断, 但最终确定肿瘤性质, 良恶性程度等还是要依靠病理学诊断。非量化的病理学诊断操作过程烦琐, 且受人为因素影响。

不同的物质有不同的分子结构, 具有不同的拉曼光谱特征, 拉曼散射光谱技术可从物质的拉曼特征光谱来识别和区分不同的物质。人体组织和细胞包括肿瘤组织和细胞的形态和生物功能各不相同, 但就其基本化学组成来说, 均是由蛋白质, 核酸, 脂类和糖类等生物分子组成, 只是各成份的构成比例

和分子的构型与构象上存在差异。癌变以后不仅组成蛋白质的各种氨基酸可能会有变化, 脂类和糖也可能变化, 都可能成为特征拉曼标志谱。本文通过采集癌变、增生、瘤等乳腺组织细胞的拉曼光谱, 对不同乳腺组织的光谱研究其特征标志, 为癌症诊断及其细胞机理分析提供重要的信息和数据。

1 实验部分

1.1 样品

24 例样品 (其中浸润性导管癌 9 例, 乳腺增生 8 例, 纤维腺瘤、间质乳腺炎等乳腺疾病 7 例) 为郑州

作者简介: 赵元黎, 女, 副教授, 中国科学院安徽光学精密机械研究所博士生, 从事应用光谱技术检测医学、生物样品的研究。

收稿日期: 2004-03-18

市中心医院手术后制作的病理片,并已经过病理诊断确认了乳腺疾病类型。

1.2 仪器与实验

使用的仪器为 RENISHAW 显微共焦拉曼光谱仪,激发波长 633nm,照射到样品的激光功率在所选的仪器参数下约为 3mW。每例样品均选取不同部位的细胞采集多条谱线。

1.3 实验所采集的不同性质乳腺疾病样品的谱线

图 1a、b 为 6 例浸润性导管癌患者利乳腺增生患者的病理片在 $200 \sim 2000\text{cm}^{-1}$ 的原始拉曼光谱,激发光斑均聚焦在病理片的细胞核上。从图中可看出,这些细胞核的谱图具有良好的重现性,仅是背景高低不同。而这些背景有充分的证据证明是制作病理片所用的载玻片引起的。

图 2a、b、c 分别为浸润性导管癌、乳腺增生、纤维腺瘤患者的病理片在 $1300 \sim 1700\text{cm}^{-1}$ 的原始拉曼光谱图,图中标出了该范围主要的拉曼峰。通过比较可知:不同性质的乳腺疾病在该范围的拉曼峰位有差别。如表 1 所示。

表 1 $1300 \sim 1700\text{cm}^{-1}$ 范围内浸润性导管癌、乳腺增生、纤维腺瘤的拉曼峰位

浸润性导管癌	1345cm^{-1}	1410cm^{-1}	1447cm^{-1}	1530cm^{-1}	1564cm^{-1}	1613cm^{-1}
乳腺增生	1343cm^{-1}	1394cm^{-1}	1442cm^{-1}	1527cm^{-1}	1563cm^{-1}	1610cm^{-1}
纤维腺瘤	1343cm^{-1}	1401cm^{-1}	1450cm^{-1}	1527cm^{-1}	1562cm^{-1}	1612cm^{-1}

表 1 范围内明显的拉曼峰位差别在 1343cm^{-1} 、 1394cm^{-1} 、 1442cm^{-1} 、 1527cm^{-1} 等处,这些拉曼峰位的差别可综合为乳腺疾病的病理诊断提供客观依据。

2 分析讨论

细胞癌变可能使构成蛋白质的各种氨基酸变化,振动光谱的改变。以下对实验光谱的拉曼峰归属特征进行初步分析。

2.1 拉曼峰位移动分析

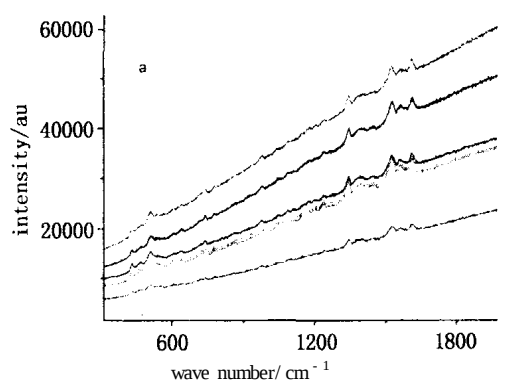
1342cm^{-1} 处的拉曼峰源于 C-H 弯曲振动^[9],该拉曼峰在浸润性导管癌的光谱中位移到 1345cm^{-1} ,而在纤维腺瘤及乳腺增生的光谱中位移到 1343cm^{-1} 。

1394cm^{-1} 的拉曼峰为 C-H 变形振动,在浸润性导管癌谱线中位移到了 1410cm^{-1} 处,而在纤维腺瘤谱线中是位于 1401cm^{-1} 处。

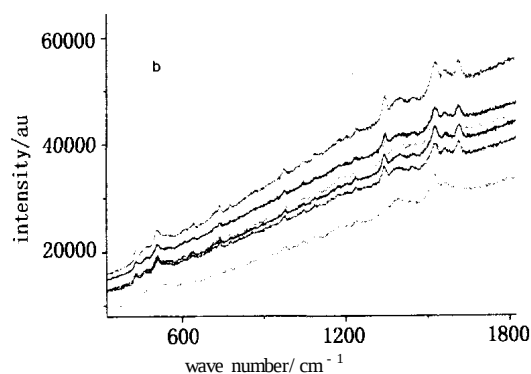
上述两波段的拉曼峰位移动提示,在纤维腺瘤、乳

腺增生及浸润性导管癌组织中,C-H 基团被损坏的程度不同,使 C-H 的弯曲振动和变形振动的峰位移动不同。

在正常乳腺组织光谱中 1442cm^{-1} 的拉曼峰是 CH_2 弯曲 CH_3 反对称变形及 CH_2 弯曲和 CH_3 反对称伸缩振动的贡献,在乳腺增生组织中 CH_2 弯曲和 CH_3 反对称变形及 CH_2 弯曲和 CH_3 反对称伸缩振动的拉曼峰仍在 1442cm^{-1} ;而在乳房肿瘤光谱中位移到 1451cm^{-1} ^[13,9],在浸润性导管癌的谱线中位移到 1447cm^{-1} ,说明乳腺细胞的癌变改变了 CH_2 和 CH_3 的弯曲和反对称变形、伸缩振动。该波段拉曼峰的位移提示,癌组织类脂物特征的明显向低频方向的移动很有可能是由于癌变组织在这一区域产生的另一谱线,该结果和 Alfano 小组用近红外激发的方法所获得的结果相符^[3]。



a 浸润性导管癌光谱



b 乳腺增生光谱

图 1 不同性质乳腺病变在 $200 \sim 2000\text{cm}^{-1}$ 的拉曼谱

脂类 C=C 基团在 $1165\text{cm}^{-1} \sim 1530\text{cm}^{-1}$ 范围的拉曼峰,在浸润性导管癌的光谱中为 1530cm^{-1} ,在乳腺增生和纤维腺瘤的光谱中均为 1527cm^{-1} ,该波段的拉曼峰位变化提示,乳腺增生和纤维腺瘤疾病对 C=C 基团没有影响,而癌变使类脂物变化了。从文献^[9]知癌变后的组织显示的类脂物的特征明

显减少,甚至消失。这个特征可从实验光谱峰的强度变化分析得到。

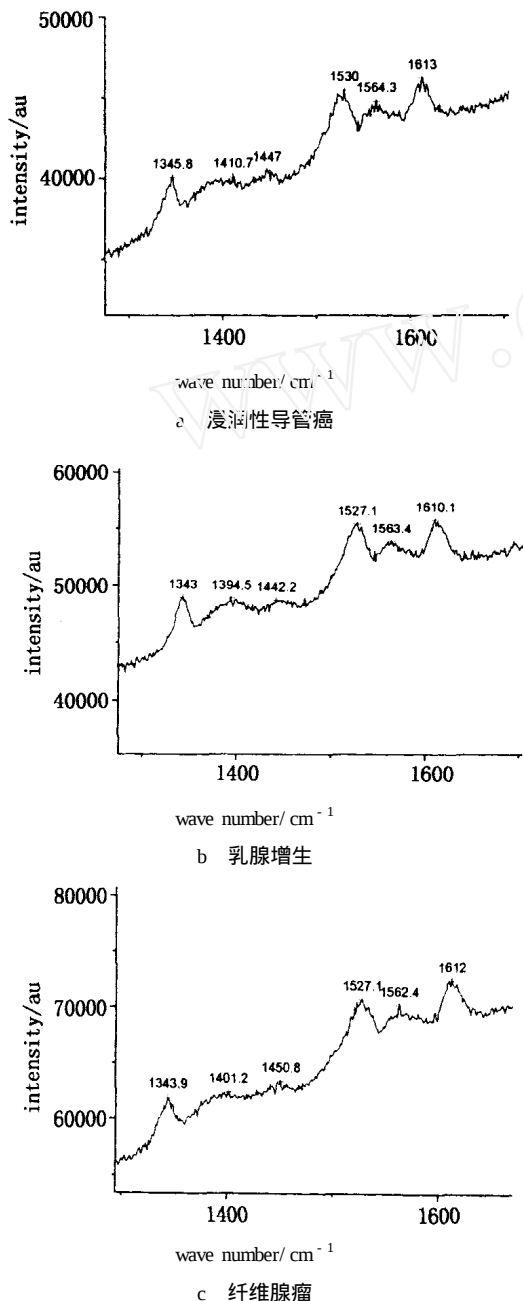


图2 三种不同性质的乳腺肿瘤在 $1300 \sim 1700\text{cm}^{-1}$ 范围的拉曼谱

2.2 拉曼峰相对强度的变化分析

乳腺增生和纤维腺瘤细胞与癌变肿瘤细胞在 1525cm^{-1} 附近、 1610cm^{-1} 附近的拉曼峰峰-峰比有显著的差异。在我们实验中乳腺增生和纤维腺瘤的细胞谱线中, 1610cm^{-1} 附近的峰值与 1525cm^{-1} 附近的峰值之比大于 1.015 有 11 例,而在 9 例肿瘤细胞的谱线中, 1610cm^{-1} 附近的峰值与 1525cm^{-1} 附近的峰值之比小于 1.015 的有 7 例。即如果把这一比值

是否大于 1.015 作为判断是否癌变的标准,乳腺增生和纤维腺瘤细胞的符合率为 78.57%,癌细胞的符合率为 77.78%。可见, I_{1610}/I_{1525} 有可能作为乳腺肿瘤细胞分类的准则之一。

3 结束语

上述初步分析表明,不同乳腺肿瘤组织病理切片的拉曼光谱,从拉曼峰位移的角度就有不同的特征。这些特征可作为应用光谱技术为乳腺肿瘤组织病理切片提供的客观诊断依据之一;相关拉曼峰的强度之比如 I_{1610}/I_{1525} 提供了又一客观诊断依据。综合使用这些特征可对乳腺肿瘤组织进行分类,还可作为细胞癌变的机理分析提供细胞的结构信息。在积累相当数量的样品之后,选择适当的特征,结合专家经验,设计合适的分类器,可以应用光谱仪、计算机对乳腺肿瘤病理片进行自动分类诊断,使乳腺肿瘤的病理诊断尽可能排除人为因素,实现量化、自动化。

参考文献:

- [1] Wolfgang Petrich. mid - infrared and raman spectroscopy for medical diagnostics[J]. Applied spectroscopy reviews, 2001, 36(2&3):181 - 237.
- [2] Christopher J Frand, Richard L McCreery. Raman spectroscopy of normal and diseased human breast tissues[J]. Analytical Chemistry, 1995, 67(5):777 - 783.
- [3] 汪兆平, 韩和相, 等. 拉曼光谱在癌症诊断中的应用[J]. 光散射学报 2000, 11(4):398 - 404.
- [4] 慈云祥, 高体玉, 等. 乳腺良、恶性组织中蛋白质二级结构的 FOURIER 变换红外光谱研究[J]. 科学通报, 1999, 44(17):1861 - 1866.
- [5] 丁建华, 余虹, 等. 离体乳腺正常组织、良性瘤及癌自体荧光光谱[J]. 应用激光 2000, 20(1):30 - 37.
- [6] 沈世杰, 刘炳玉, 等. 人乳腺癌组织的特征红外光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, 20(1):28 - 30.
- [7] 霍红, 王幸福, 等. 乳腺癌组织中蛋白质与核酸分子氢键特征的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2001, 21(5):614 - 616.
- [8] 霍红, 王幸福, 等. 女性乳腺肿瘤的傅立叶变换红外光谱鉴别方法的探索[J]. 分析化学, 2001, 29(1):63 - 65.
- [9] 朱自莹, 古仁敖, 陆天虹. 拉曼光谱在化学中的应用[M]. 东北大学出版社, 1998. 12.
- [10] Anthony T Tu. Raman Spectroscopy in Biology: Principles and Applications [M]. A Wiley-Interscience Publication, New York.