

癌变组织可见光反射光谱测量

王成¹, 范瑾², 任秋实²

1. 上海理工大学生物医学与视光学研究所, 上海 200093
2. 上海交通大学激光与光子生物医学研究所, 上海 200240

摘要 实现在体、实时、无损的早期癌变检查是人们一直努力的方向。通过对几组样本的显微切片观察得出癌症的确切诊断, 然后通过癌变组织和同体正常组织的光谱比较, 得到癌变组织的可见光反射光谱特性。发现癌变组织的血红蛋白和去氧血红蛋白的增加是导致反射光谱谱线改变的主要因素。组织癌变后在可见光谱范围反射较正常组织的低, 在 630 nm 处发生了较强烈的吸收变化。光谱中吸收峰值表明了癌变组织中含有丰富的血红蛋白和去氧血红蛋白, 这与癌变组织的组织特性一致, 实验上表明了可见光反射光谱能区分正常组织和癌变组织。

关键词 反射光谱; 组织光学; 癌症; 测量

中图分类号: R730.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-0593(2008)01-0033-04

引言

癌症已经成为威胁人类健康的严重疾病。随着人们生活水平的提高和环境污染的日益严重, 癌症的发病率也在逐年上升。卫生部疾控司统计, 2005 年我国癌症的死亡率从 20 世纪 70 年代以来持续上升, 尤其在农村和西部贫困地区更为显著。目前, 中国每年死于癌症的人数为 40 万到 150 万。而使癌症患者减少痛苦, 延长存活年限, 提高生活质量最有效的方式就是对癌症的早期诊断和早期治疗。

随着光学技术在医学领域的应用, 尤其是光谱技术的应用, 如荧光光谱诊断肿瘤^[1, 2], 拉曼光谱^[3]和红外光谱^[4-6]等, 都对肿瘤的诊断和治疗提供了强有力的手段。近十几年来, 对人体组织反射光谱的测量也作了大量的研究, 其中文献[7, 8]研究了人体皮肤的反射光谱, 文献[9]研究了子宫的反射光谱测量等, 从已有的研究成果看, 反射光谱, 特别是可见光反射光谱诊断组织表层黏膜病变具有一定的优势。

本文在研究组织光学特性的基础上, 利用现有分光光度计测量了胃组织的反射光谱(RS)。研究了正常组织和病变组织的可见光反射光谱的区别, 给出了产生这种区别的主要原因。

1 基本物理理论

散射和吸收是 RS 的两种基本的光学过程。除此之外,

还存在荧光和拉曼散射, 但它们通常比较微弱, 对测量的影响比较小, 可以忽略不计。

光与生物组织作用有许多过程, 包括折射、吸收、荧光。当光遇到折射系数改变的界面时, 比如在空气与水的交界处, 一部分光会被反射回来, 剩余的光以一定的角度进入第二种介质。生物组织结构复杂, 充满各种不同的物质, 比如细胞核, 就比周围细胞质的折射系数大很多。结果, 光穿过组织时经过了多次散射的过程。

通过解麦克斯韦电磁方程, 可以计算出简单模型系统的精确的散射过程, 比如一系列确定大小、密度、折射系数的小球体组成的模型。Gustav Mie 在一个世纪以前率先进行了这种计算, 由此得到的理论被命名为米氏散射^[10]。生物组织要比那些统一“规格”的小散射球复杂许多, 但是米氏散射可提供一种粗略的近似。利用已知的细胞结构参数, 如细胞核的折射系数, 可以通过不同波长下散射的周期性变化来估算出细胞核的大小。

除了散射之外, 光在穿过生物组织的时候还被许多不同的分子吸收。每种特定的分子都有自己的特征吸收谱, 吸收某种特定波长的光子。在这些吸收分子中, 血色素是黏膜中最主要的吸收源, 在可见光波段最为重要的是含氧和去氧血红蛋白^[11], 而两者有着截然不同的吸收谱线(如图 1 所示)^[11-13]。由于它们在 520~600 nm 波长范围内的强烈的吸收, 这种特性也让我们得以利用反射光谱精确估计血氧情况。而组织表面黏膜的血氧情况与组织是否发生病变甚至癌

收稿日期: 2006-08-08, 修订日期: 2006-11-08

基金项目: 上海市教育发展基金(2007CG62)资助

作者简介: 王成, 1977 年生, 上海理工大学生物医学光学与视光学研究所讲师 e-mail: shhwangcheng@yahoo.com.cn

©1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

变是息息相关的。

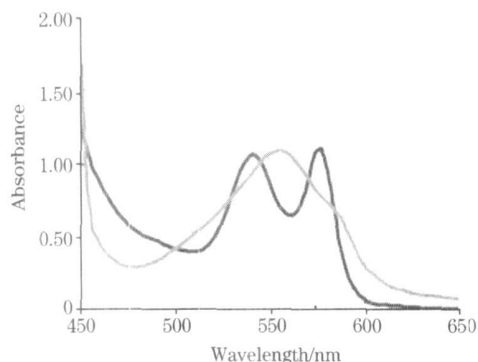


Fig 1 Absorption spectra of oxygenated and deoxygenated hemoglobin

1: Oxygenated; 2: Deoxygenated

为了测量 RS, 用白光照射目标组织, 而且从组织反射的光被探测器定量测得。白光是由 290~ 780 nm 的不同波长的光所组成的, 每种波长的光组分都将被探测器接受。当光穿过黏膜时发生多次散射, 一部分被散射回来时由探测器接受。在光的传播通路上, 血色素和其他分子吸收了一部分的光。相对少量的没有被血色素强烈吸收的光量子又回到探测器, 因此在被接收到的光谱中就能体现出吸收情况。利用吸收光谱原则上可以估算黏膜中总的血色素的浓度。血色素对光的吸收部分取决于血色素的浓度, 也部分取决于组织中的光程。所以吸收光谱测量受到各种因素, 如吸收体厚度, 光源探头和探测器间的距离等。另外也很难实现在体, 实时的吸收测量。

RS 为测量各种器官黏膜表面部分的血色素氧合程度提供了一种精确的方法。因为在被测区域大部分的血液集中在毛细血管中, 而 RS 可以得到可靠的关于毛细血管中血色素氧合程度的估计值。RS 不能测量血流, 但是提供了有关黏膜对氧供的需求情况。而氧供也是判断组织病变的重要指标之一。

2 实验研究与结果

目前病理切片是诊断癌症的一种最常用、并且十分可靠的方法。通过观察细胞的形态和排列情况, 可以得知组织是否发生癌变、癌变的部位和分级以及癌细胞的侵蚀范围和恶性程度。有了病理学的检验结果作为依据, 光谱学的比较结果才有意义。在实验上, 采用的拍摄显微镜为带有 CCD 摄像部件的尼康 55i eclipse 显微镜, 对从医院取到的新鲜的癌变胃组织和周围正常组织分别取出一部分进行病理切片分析, 采用一般染色。分析结果照片如图 2 所示。图片中显微镜的放大倍数是 100 倍。

一般正常组织细胞排列规则, 边界清晰, 细胞多成长形、片层排布; 细胞核轮廓清晰, 呈圆形, 相比整个细胞体积较小, 如图 2(a) 所示; 而癌变细胞失极性严重, 细胞形状变得不规则, 排列混乱无序, 相互重叠, 细胞的边界变得模糊不清, 难以分辨; 而且癌变组织细胞核变大, 几乎占细胞

一半的体积, 有多核, 异常核的出现, 故紫色染色的胞核部分增多。图 2(b) 是癌变胃组织的病理切片。与此相对应的可见光的反射光谱中有很大的区别。

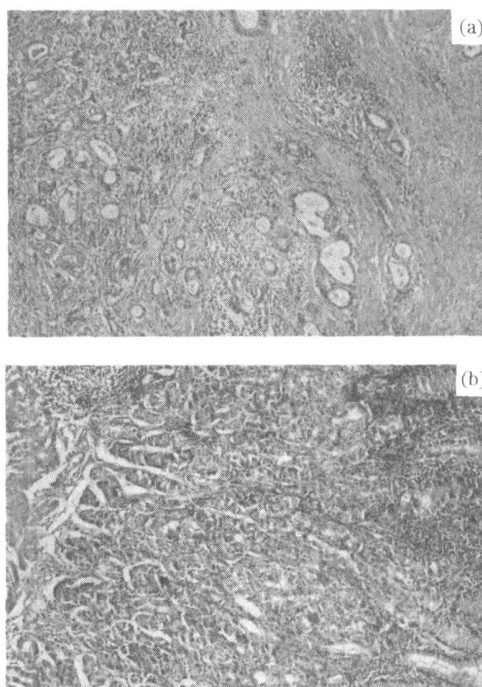


Fig 2 100X pathological pictures of stomach cancer and normal stomach

组织的另一部分则利用德国 PE 公司的 Lambda 9 分光光度计进行可见光反射光谱的测量。测量光路图如图 3 所示。反射测量部分由设备自带的反射附件完成(测量由上海理工大学, 国家光学仪器质量监督检验中心协助)。测量结果如图 4 所示。需对反射光谱测量结果图 4 说明的是, 在如图 3 所示的系统中, 插入的设备是专用反射附件, 测量过程中采用 K9 玻璃作为整个测量过程的参考反射率, 一般的 K9 玻璃在可见波段的反射率为 4%, 所以图示中的 100% 的反射率实际上只有 4%。这主要也是考虑了生物组织表面对可见光波段低反射率的实际情况而采用这个标准的。在实际的光谱曲线中所有示出的反射率值都要乘上 4%。

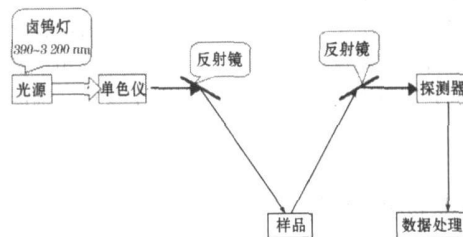


Fig 3 Sketch of measurement system of tissue reflectance spectra

图 4(a) 为正常胃组织的反射光谱曲线, 正常组织在 670 ~ 800 nm 处谱线比较平坦, 反射率维持在 0.52% 左右; 在 670~ 620 nm 范围内反射率下降, 630 nm 处有一个吸收, 反

射率降为 0.36%。620~580 nm 范围内反射率也是呈下降趋势, 550 nm 处也有一个吸收, 反射率相应的约为 0.2%。420 nm 处一样存在吸收, 反射率仅为 0.08%。图 4(b) 为胃癌组织的反射光谱测量结果, 在可见光范围内, 整个光谱的反射率降低, 在 670~630 nm 范围内, 反射率急剧下降, 到 630 nm 处出现明显的吸收, 反射率仅为 0.2%; 同样在 420 nm 处也存在吸收, 反射率在 0.08% 左右。

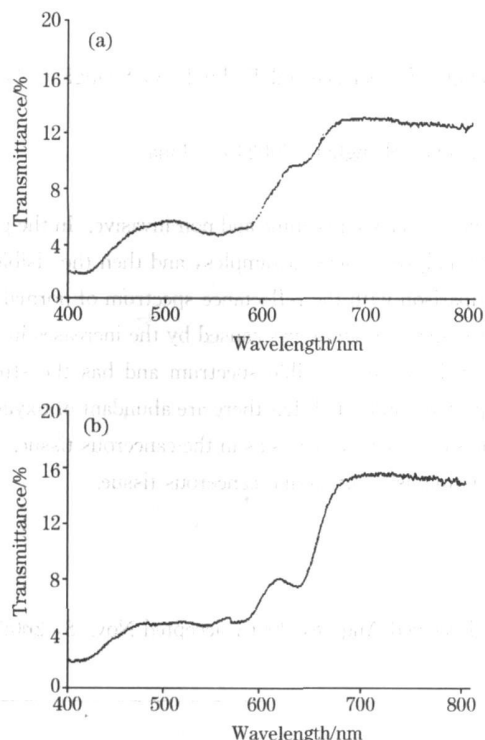


Fig 4 Results of reflectance spectra of stomach tissue

3 结果与讨论

通过病理切片对癌变组织进行确定, 通过对确定后的组

织反射光谱的谱线、谱形的分析, 可以发现正常组织和癌变组织的反射光谱不同, 癌变组织反射光谱在可见光范围内普遍较低, 区别于正常组织最为明显的是在 630 nm 处的吸收^[11]。对照图 1 的各波长下的血红蛋白和去氧血红蛋白吸收特性, 发现在 420 和 550 nm 处, 最主要的吸收是由氧合的血红蛋白和去氧血红蛋白引起的, 吸收基本相同, 在 550 nm 处, 去氧血红蛋白吸收最强, 而组织发生癌变之后, 这两项指标将会发生很大的变化, 一方面癌变组织要变异性地长大, 需要大量的养料, 所以组织黏膜表面会含有多于正常组织的毛细血管, 另外, 由于癌变组织对养料异常的需求, 在这些毛细血管中氧的含量将大大减少, 所以在癌变组织中总血红素增加, 去氧血红蛋白也增多, 因此可以认为可见光范围内吸收的变化主要是由于氧合的血红蛋白和去氧血红蛋白在病变前后含量的不同所引起的。而在 630 nm 处, 主要的吸收源于去氧血红蛋白。正常组织黏膜表面中毛细血管中含有的基本都是含氧血红蛋白, 是供给养料的主要来源, 去氧血红蛋白较少, 导致在 630 nm 处区别最大。

4 结 论

本文利用在医院取得的新鲜胃部癌变和正常组织, 通过对几组样本的显微切片观察得出癌症的确切诊断, 在相同的部位上取一部分癌变组织和同体正常组织进行可见光反射光谱比较, 得到癌变组织的可见光反射光谱特性。发现癌变组织的血红蛋白和去氧血红蛋白的增加是导致反射光谱谱线改变的主要因素。组织癌变后, 可见光波段范围反射率降低, 在 420, 550, 630 nm 处发生了较强烈的吸收。这些吸收与血红蛋白和去氧血红蛋白的吸收峰值一致, 表明癌变组织中含有丰富的血红蛋白和去氧血红蛋白, 与癌变组织的组织特性一致, 这就从实验上充分表明了可见光反射光谱能区分正常组织和癌变组织。

致谢: 对上海第二军医大学附属长海医院梁军号博士和上海理工大学国家光学仪器质量监督检验中心光谱测量室张兴德老师的大力协助, 表示衷心的感谢。

参 考 文 献

- [1] LUO Qing-ming, GONG Hui, LIU Xiande, et al(骆清铭, 龚 辉, 刘贤德, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 1997, 17(3): 105.
- [2] CHEN Wei, HE Bin, WEI Guang-hun, et al(陈 伟, 何 斌, 魏光辉, 等). Optical Technology(光学技术), 1998, 1: 70.
- [3] Lilian de Oliveira Nunes, Airton A Martin, Landulto Silveira, et al. SPIE, 2003, 4955: 546.
- [4] Michael Jackson, Kwit Kim, John Tetteh, et al. SPIE, 1998, 3257: 24.
- [5] LING Xiaofeng, XU Zhi, XU Yizhuang, et al(凌晓峰, 徐 智, 徐怡庄, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(2): 198.
- [6] FENG Shangyuan, CHEN Rong, LI Yong zeng, et al(冯尚源, 陈 荣, 李永增, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(5): 712.
- [7] Rong Zhang, Wim Verkrusye, Bernard Chio. Journal of Biomedical Optics, 2005, 10(2): 024030-1.
- [8] Inokuchi S, Nakai H, Manabe Y. Proceedings International Conference on Pattern Recognition, 1998, 2(16): 1065.
- [9] Yvette N Mirabal, Sung K Chang, Edward Neely Atkinson. Journal of Biomedical Optics, 2002, 7(4): 587.
- [10] Perelman L T, Backman V, Wallace M, et al. Phys. Rev. Lett., 1998, 80: 627.

- [11] Shai Friedland, Roy Soetikno, David Benaron. Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America, 2004, 14: 539.
- [12] Friedland S, Benaron D, Parachikov I, et al. Gastrointestinal Endoscopy, 2003, 57: 492.
- [13] XUE Ling-ling, ZHANG Chun-ping, ZHANG Jiar-dong, et al(薛玲玲, 张春平, 张建东, 等). Laser and Optics Progress(激光与光电子进展), 1999, (11): 36.

Visible Light Reflectance Spectrum for Measurement of Cancerous Tissue

WANG Cheng¹, FAN Jin², REN Qiu-shi²

1. Institute of Biomedical Optics and Optometry Optics, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China
2. Institute for Laser Medicine & Biophotonics, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China

Abstract A goal the authors always pursue is to realize diagnosis of precancer *in vivo*, real time and non invasive. In the present paper, results of diagnosis of certain cancer were obtained by pathological analysis of several samples, and then the visible light reflectance spectrum property of cancerous tissue was acquired by the comparison with the reflectance spectrum of normal tissue in the same organ. It was found that the main result of change in the reflectance spectrum was caused by the increases in hemoglobin and deoxygenated hemoglobin. The cancerous tissue has a lower reflectance in visible spectrum and has the strongest change in the absorption at 630 nm. Absorption peaks in the reflectance spectrum indicated that there are abundant of oxygenated hemoglobin and deoxygenated hemoglobin in the cancerous tissue. It is the same characteristics as in the cancerous tissue. It was fully indicated experimentally that visible light reflectance spectrum can distinguish normal and cancerous tissue.

Keywords Reflectance spectrum; Tissue optics; Cancer; Measurement

(Received Aug. 8, 2006; accepted Nov. 8, 2006)

《光谱学与光谱分析》对来稿英文摘要的要求

来稿英文摘要不符合下列要求者, 本刊要求作者重写, 这可能要推迟论文发表的时间。

1. 请用符合语法的英文, 要求言简意明、确切地论述文章的主要内容, 突出创新之处。

2. 应拥有与论文同等量的主要信息, 包括四个要素, 即研究目的、方法、结果、结论。其中后两个要素最重要。有时一个句子即可包含前两个要素, 例如“用某种改进的 ICP-AES 测量了鱼池水样的痕量铅”。但有些情况下, 英文摘要可包括研究工作的主要对象和范围, 以及具有情报价值的其他重要信息。在结果部分最好有定量数据, 如检测限、相对标准偏差等; 结论部分最好指出方法或结果的优点和意义。

3. 句型力求简单, 尽量采用被动式, 通常应有 2000 个印刷字符, 300 个英文单词为宜, 不能太短; 也不要太长。用计算机单面隔行打印。

4. 摘要不应有引言中出现的内容, 换言之, 摘要中必须写进的内容应尽量避免在引言中出现。摘要也不要对论文内容作解释和评论, 不得简单重复题名中已有的信息; 不用非公知公用的符号和术语; 不用引文, 除非该论文证实或否定了他人已发表的论文。缩略语、略称、代号, 除相邻专业的读者也能清楚地理解外, 在首次出现时必须加以说明, 例如用括号写出全称。