

良性与恶性多形性腺瘤组织结构的 FTIR 光谱研究

朱京平¹, 胡浩屯², 向荣¹, 易文辉¹, 刘 蒸²

1. 西安交通大学电信学院, 陕西 西安 710049

2. 西安交通大学口腔医院, 陕西 西安 710004

摘 要 结合口腔医院临床需要, 利用 PE 公司的 Spectrum GX 傅里叶变换红外光谱仪, 通过对 5 例良性、4 例恶性多形性腺瘤组织的 FTIR 光谱测试、计算与分析, 进行了多形性腺瘤组织结构的 FTIR 光谱对比研究。测试结果表明: (1) 同种性质组织的 FTIR 光谱表现出了良好的一致性, 揭示了吸收峰体现了生物组织的特征红外谱; (2) 良性与恶性肿瘤的 FTIR 吸收峰峰位及其强度有若干处不同, 揭示了恶性肿瘤中蛋白质的酰胺 II 带氢键化程度降低, 而脂类的氢键化程度提高; (3) 峰高比计算结果表明, 良性多形性腺瘤相比, 恶性肿瘤中核酸的含量相对于胶原蛋白的含量增加, 脂类的含量相对于蛋白质的含量增加。

关键词 傅里叶变换红外光谱; 肿瘤; 多形性腺瘤

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)07-1295-04

引 言

人体各种组织和细胞都是由蛋白质、核酸、脂类等生物分子组成的, 每一种物质都有其特征的红外光谱带。在组织和细胞癌变初始过程中, 组成细胞和各种生物分子只是在不同组织和细胞内的构形构像以及各种成分的构成比例不同, 但不足以引起临床症状和医学影像学的变化, 而红外光谱却可以通过各吸收峰的峰形、峰位和峰强的比较, 在分子水平上直接了解所研究分子或体系的结构, 灵敏地探测细胞水平生物化学变化, 且不破坏样品结构, 既可研究样品的表面结构, 又可研究样品的整体结构, 因而利用傅里叶红外光谱技术, 可进行肿瘤的早期诊断、癌变的筛选或普查/治疗方案的设计、预后评估和病变过程的跟踪或病变的分子基础的讨论, 可克服传统、常规肿瘤检测方法的不足, 如主观性大、操作繁杂、费时、不准确等。傅里叶变换红外光谱仪技术在恶性肿瘤的研究中已日益显示出它的优势, 但是目前现有的人体细胞或组织的 FTIR 谱图种类和数量仍很有限。

自 William 发现红外辐射现象以来, 红外光谱已经成为鉴别与表征化合物、混合物、复杂材料的常规手段, 其真正成为生物体的研究工具, 始于 1984 年用于人淋巴细胞研究。1990 年后, Fourier 变换红外光谱仪 (FTIR) 被广泛地应用于宫颈癌、结肠癌、肝癌、肺癌、皮肤癌、乳腺癌、口腔鳞状细

胞癌等细胞或组织的研究, 并获得了一些有意义的结果。

Wang^[1]、任予^[2]等研究肺癌和肺结核病人胸水中细胞的红外光谱, 指出糖原的 $1\ 030\ \text{cm}^{-1}$ 谱带与核酸中磷酸二酯基团的 $1\ 080\ \text{cm}^{-1}$ 谱带强度比值显著降低, 认为红外光谱法能快速无损鉴别肺癌和肺结核; Tsui Hwa^[3] 用 FTIR 对照紫外光谱、核磁共振谱等研究了小鼠皮肤癌的形成过程, 并观察了其药物疗效。Crupi^[4] 分析了来自身体不同部位的正常和癌变皮肤组织, 收集了 $900\sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 区域内的红外光谱, 重点区分了位于 $1\ 500\sim 2\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 区域内的有关脂类的典型光谱, 说明红外光谱用于皮肤癌变的诊断能够实现。吴瑾光等率先测定了消化道恶性肿瘤(包括腮腺、食管、胃、小肠和结肠等)的红外光谱, 总结了其特点, 探索从基础研究向临床应用过渡。彭卿等利用红外显微镜和中红外光导纤维, 用细胞悬液法测定了食管癌、胃癌和结肠癌组织和及其相应的正常细胞组织的红外光谱^[5]。考虑到临床应用的需要, Soloway^[6] 等将带衰减全反射 (attenuated total reflection, ATR) 探头的中红外光导纤维连接在傅里叶变换红外光谱仪上, 测定了手术切除的消化道恶性肿瘤及相应正常组织黏膜面的红外光谱, 研究表明消化道恶性肿瘤与相应正常组织的红外光谱间存在明显差异, 利用这些差异有可能进行临床诊断。童义平^[7] 对胃癌组织的 FTIR 光谱作了研究。王晶^[8] 等人还对经染色处理的口腔组织切片进行了显微红外的测定, 结果表明: 对样品进行染色处理并未对口腔组织的特征光谱产生明显的影响, 因此可以用同一病理组织切片先做病理学

收稿日期: 2006-03-08, 修订日期: 2006-06-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (60377020) 资助

作者简介: 朱京平, 1967 年生, 西安交通大学电信学院教授, e-mail: jpzhu@xjtu.edu.cn

检查,再测定其红外光谱,使红外光谱研究肿瘤的取材范围更大。Wong^[9]等对宫颈的正常细胞、分化异常的细胞和癌细胞进行了透射红外光谱测定,发现分化异常细胞的红外光谱与癌细胞的红外光谱基本相似但又不完全相同,表明红外光谱确能反映出恶性肿瘤的发生与发展。霍红^[10,11]、慈云祥^[12]、沈世杰^[13]等人对人体乳腺癌组织的红外光谱特征进行了探索性研究,初步总结了其中蛋白质二级结构的变化、核酸分子基团振动规律、脂类物质和糖原的变化规律,表明 FTIR 可能用于乳腺肿瘤和乳腺癌的判断。Malins 等分析正常乳腺和浸润性导管癌 DNA 的红外光谱^[14],结果表明乳腺癌组织和正常乳腺组织的 DNA 有实质性区别,据此能把癌和非癌区别开来。Dukor^[15]利用红外光谱对乳腺良性病变、不典型增生、及乳腺癌进行了线性判别分析。后来,赵元黎等^[16]曾用拉曼光谱方法研究过乳腺肿瘤。对良、恶性病变的判别正确率为 100%,对良性病变和不典型增生判别正确率为 100%,对恶性病变和不典型增生的判别正确率为 90%^[13]。

然而,至今很少有关多形性腺瘤的有关红外傅里叶光谱研究的报道,本文就此展开研究,进行了有关良性与恶性多形性腺瘤的红外傅里叶光谱研究,得出了一些有价值的结论。

1 实验

标本取自西安交通大学口腔医院的手术,取下后先用 4% 的甲醛固定组织,使用酒精脱水,二甲苯进行组织透明,之后经过浸腊、包埋形成、切片,制成石蜡切片,最后附贴于氟化钡上,形成测试样品。

我们采用 Perkin Elmer 公司的 Spectrum GX 傅里叶变换红外光谱仪进行光谱测试。该光谱仪的光源、检测器、分束器都有多种选择,测试范围可从 15 000~20 cm⁻¹。可以配置软件控制的滤光片轮和内置偏振片,用于优化特征谱段。独有的双可变光阑技术,可以优化在高分辨率下的信噪比。带有自动光路准直管理系统,使得 24 h 内测量的 100 T% 线漂移不超过 0.1 T%,长程峰峰信噪比可达到 800 000:1。

2 测试结果

我们进行了 5 例良性多形性腺瘤的测试,测试结果表现出了良好的一致性,随机取其中两个,如图 1 所示。

同样,我们进行了 4 例恶性多形性腺瘤的测试,一致性同样很好,图 2 为其中两例的光谱测试结果。

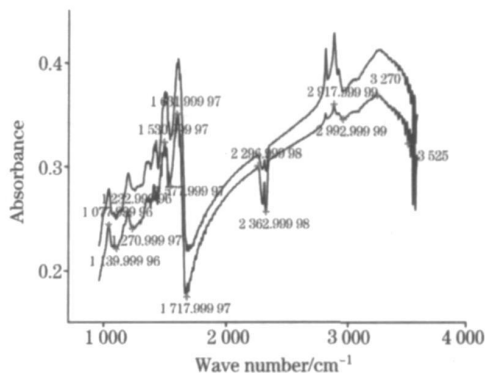


Fig 1 FTIR of benign pleomorphic adenoma tissues

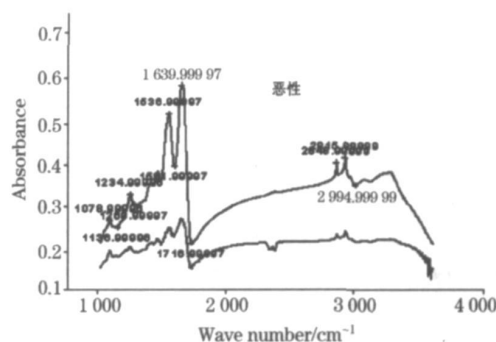


Fig 2 FTIR of malignant pleomorphic adenoma tissues

3 结果分析

3.1 良性多形性腺瘤红外光谱数据

实验测得了一系列吸收峰,我们对良性多形性腺瘤的测量结果进行如表 1 的分析,以得到肿瘤的红外特征谱。

Table 1 FTIR data of benign pleomorphic adenoma tissues

编号	波数范围/cm ⁻¹	峰位/cm ⁻¹	出现频率/%	可能的官能团振动情况
1	1 070~1 090	1 080	100	核酸分子中磷酸二脂基团(PO ₂)的对称伸缩振动谱带 ν _s (PO ₂)
2	1 150~1 190	1 136	20.98	
3	1 230~1 250	1 235	100	核酸分子中磷酸二脂基团(PO ₂)的对称伸缩振动谱带 ν _{as} (PO ₂)
4	1 270~1 295	1 272	94.53	胶原蛋白分子中甲基(CH ₃)的弯曲振动 δ _s (CH ₃)
5	1 500~1 570	1 536	100	蛋白质的酰胺 II 带 ν(N-H), δ(N-H)
6	1 570~1 600	1 585	60.21	
7	1 600~1 700	1 634	100	蛋白质的酰胺 I 带 ν(C=O)
8	1 700~1 800	1 717	100	脂类分子的 ν(C=O)
9	2 830~2 880	2 848	71.42	脂类分子的对称伸缩振动 ν _s (CH ₂)
10	2 910~2 950	2 915	74.32	脂类分子的对称伸缩振动 ν _{as} (CH ₂)
11	2 950~3 000	2 993	70.27	脂类分子的对称伸缩振动 ν _{as} (CH ₃)

从表中可以看出: 1, 3, 4, 5, 7 和 8 号谱带的特征峰出现的概率几乎超过 95%, 因而可以认为这些谱峰为良性多形性腺瘤的组织红外光谱特征峰。

3.2 良性和恶性多形性腺瘤红外光谱对比

图 3 所示为良性和恶性多形性腺瘤红外光谱测试结果对比图。其峰位及其相应位置吸收率整理如表 2 所示。

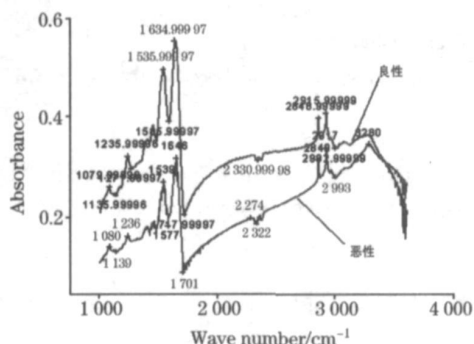


Fig 3 Comparison of FTIR for benign and malignant pleomorphic adenoma tissues

Table 2 FTIR of benign and malignant pleomorphic adenoma tissues

良性峰位/ cm^{-1}	吸收率	恶性峰位/ cm^{-1}	吸收率
1 080	0 262 23	1 080	0 144 42
1 136	0 246 83	1 139	0 134 37
1 236	0 323 00	1 236	0 165 58
1 272	0 299 30	1 272	0 155 49
1 536	0 496 42	1 539	0 27 28
1 635	0 551 72	1 646	0 320 03
1 718	0 207 71	1 701	0 092 98
2 849	0 399 17	2 849	0 316 96
2 916	0 409 81	2 817	0 340 61

从表中数据可知, 在从良性到恶性肿瘤的变化过程中。

(1) 现象: 峰位 $1\ 536\ \text{cm}^{-1}$ 移至高波数 $1\ 539\ \text{cm}^{-1}$ 。

原因: 可能是恶性肿瘤中蛋白质的酰胺 II 带 $\nu(\text{N}-\text{H})$, $\delta(\text{N}-\text{H})$ 中氢键化程度降低。

(2) 现象: 峰位 $1\ 635\ \text{cm}^{-1}$ 移至高波数 $1\ 646\ \text{cm}^{-1}$ 。

原因: 可能是恶性肿瘤中蛋白质的酰胺 I 带 $\nu(\text{C}=\text{O})$

中的 $(\text{C}=\text{O})$ 结合氢键遭到破坏, 氢键化程度降低。

(3) 现象: 峰位 $1\ 708\ \text{cm}^{-1}$ 移至低波数 $1\ 701\ \text{cm}^{-1}$ 。

原因: 可能是脂类 $\nu(\text{C}=\text{O})$ 中的 $\text{C}=\text{O}$ 氢键化程度增高。

3.3 峰高比计算

峰高比反应分子内不同基团的相对含量。所以进行峰高比计算, 如表 3 所示。

Table 3 Relative absorbance

参数	良性	恶性
$\text{H}(1\ 080)/\text{H}(1\ 272)$	0 876 14	0 928 81
$\text{H}(2\ 849)/\text{H}(1\ 536)$	0 804 01	1 161 87
$\text{H}(2\ 916)/\text{H}(1\ 536)$ (良性)		
$\text{H}(1\ 917)/\text{H}(1\ 539)$ (恶性)	0 825 53	1 248 57
$\text{H}(2\ 849)/\text{H}(1\ 635)$ (良性)		
$\text{H}(2\ 849)/\text{H}(1\ 646)$ (恶性)	0 723 50	0 990 41
$\text{H}(2\ 916)/\text{H}(1\ 635)$ (良性)		
$\text{H}(2\ 917)/\text{H}(1\ 646)$ (恶性)	0 742 79	1 064 31

由此可见, 峰高比 $\text{H}(1\ 080)/\text{H}(1\ 272)$ 恶性大于良性, 说明磷酸二脂基团 (PO_2^-) 的吸收增强, 恶性肿瘤中核酸的含量相对于胶原蛋白的含量增加。

峰高比 $\text{H}(2\ 849)/\text{H}(1\ 536)$, $\text{H}(2\ 916)/\text{H}(1\ 536)$, $\text{H}(2\ 849)/\text{H}(1\ 635)$, $\text{H}(2\ 916)/\text{H}(1\ 635)$ (良性); $\text{H}(2\ 849)/\text{H}(1\ 536)$, $\text{H}(1\ 917)/\text{H}(1\ 539)$, $\text{H}(2\ 849)/\text{H}(1\ 646)$, $\text{H}(2\ 917)/\text{H}(1\ 646)$, 恶性肿瘤的比值均大于良性肿瘤, 说明恶性肿瘤中的脂类的含量相对于蛋白质的含量增加。

4 结 论

结果分析表明, 本文所采用的制样方法适合; 吸收峰可以在一定程度上说明生物组织特征红外谱; 良性与恶性肿瘤的 FTIR 吸收峰峰位及其强度有若干处不同, 说明恶性肿瘤中蛋白质的酰胺带氢键化程度降低, 而脂类的氢键化程度提高; 峰高比计算结果表明, 良性多形性腺瘤相比, 恶性肿瘤中核酸的含量相对于胶原蛋白的含量增加, 脂类的含量相对于蛋白质的含量增加。

参 考 文 献

- [1] Wang H P, Wang H C, Huang Y J. *Sci. Total Environ.*, 1997, 204: 283.
- [2] REN Yu, XU Yr zhuang, WANG Jing, et al(任 予, 徐怡庄, 王 晶, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2003, 23(4): 681.
- [3] Tsui H wa Tseng, Ming-Cheng Chang, Jeng Dong Hsu, et al. *Chemico-Biological Interactions*, 1998, 115: 23.
- [4] Crupi V, De Domenico D, Interdonato S, et al. *Journal of Molecular Structure*, 2001, 563-564: 115.
- [5] PENG Qing, XU Yr zhuang, LI Wei hong, et al(彭 卿, 徐怡庄, 李维红, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 1998, 18(5): 528.
- [6] Soloway R D, Xiaofeng Ling, Weihong Li, et al. *Gastroenterology*, 1999, 116: 508.
- [7] TONG Yi ping, LIN Yarr wen(董义平, 林燕文). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2001, 21(3): 324.
- [8] WANG Jing, XU Yr zhuang, SUN Kai hua, et al(王 晶, 徐怡庄, 孙开华, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2002, 22(3): 419.
- [9] Wong P T T, Wong R K, Caputo T, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88: 10988.
- [10] HUO Hong, HU Xiang, GU AN Hong wei, et al(霍 红, 胡 祥, 关宏伟, 等). *Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报)*, 2000, 21(8): 1244.
- [11] HU O Hong, WANG Xing-fu, CHE Xun, et al(霍 红, 王幸福, 车 讯, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2001, 21(5): 614.
- [12] CI Yur xiang, GAO Ti yu, DONG Jiarr-qiang, et al(慈云祥, 高体玉, 董建强, 等). *Chinese Science Bulletin(科学通报)*, 1999, 44(17): 1861.
- [13] SHEN Shi jie, LIU Bing-yu, LI Qing, et al(沈世杰, 刘炳玉, 李 清, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2000, 20(1): 28.
- [14] Malins D C, Polissar N L, Nishikida K, et al. *Cancer*, 1995, 75: 503.
- [15] Dukor R K, Liebman M N, Johnson B L. *Cell Mol. Biol.(Noisy le grand)*, 1998, 44: 211.
- [16] ZHAO Yuan li, LÜ Jing, GE Xiang hong, et al(赵元黎, 吕 晶, 葛向红, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2006, 26(7): 1267.

FTIR Analysis of Benign and Malignant Pleomorphic Adenoma Tissues

ZHU Jing ping¹, HU Haø tun², XIANG Rong¹, YI Weir hui¹, LIU Zheng²

1. Department of Electronic Science and Technology, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China

2. Stomatological Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China

Abstract The FTIR (Fourier transform infrared) spectra of benign pleomorphic adenoma tissues and malignant ones were investigated using the spectrometer GX FTIR Spectroscopy. The results indicated that there were infrared spectra difference between the benign adenoma tissues and the malignant ones in some bands. Compared to the benign adenoma tissues, the contents of nucleic acid relative to the collagen protein and the adipose relative to the protein both increase in malignant ones.

Keywords FTIR; Tumor; Pleomorphic adenoma

(Received Mar. 8, 2006; accepted Jun. 16, 2006)