

食管癌患者指甲的红外光谱研究

汪红艳¹, 吕 银¹, 王 凡^{1*}, 马晓冬², 蒋诗平², 王 卫², 李承祥²

1. 安徽医科大学第一附属医院肿瘤放疗科, 安徽 合肥 230022

2. 中国科学技术大学国家同步辐射实验室, 安徽 合肥 230029

摘 要 利用傅里叶红外光谱对正常人, 食管癌患者, 食管癌术后 5 个月者的指甲进行了研究。发现他们指甲的红外光谱在频率, 强度, 峰形等方面均有差异。主要表现在: 食管癌患者 $\nu_s(\text{PO}_2^-)$ 和 $\nu_{as}(\text{PO}_2^-)$ 的振动峰均向高波数偏移, 术后者回落; 癌患者蛋白质 C—O 基团峰强度增强, 术后者峰强度有所减弱, 但仍比正常人强; 癌患者角蛋白脂质 CH_2 和 CH_3 伸缩振动峰波数有所下降。术后者介于癌患者与正常人之间; 食管癌患者角蛋白脂质 CH_2 和 CH_3 弯曲振动峰稍向高波数偏移, 术后者恢复至正常人水平; 癌患者酰胺带和带都向低波数偏移, 术后者介于两者之间。这些差异是应用红外光谱诊断食管癌的基础, 表明 FTIR 光谱在食管癌的早期诊断和快速诊断方面有着十分美好的前景。

关键词 食管癌; 傅里叶变换红外光谱; 指甲

中图分类号: R730. 4; R735. 1; O657. 3

文献标识码: A

文章编号: 1000-0593(2008)02-0331-04

引 言

食管癌是常见的肿瘤, 在世界恶性肿瘤中居第 8 位。我国是食管癌高发国家, 其死亡率居第 4 位^[1]。早期食管癌往往没有症状, 待出现吞咽梗阻症状时, 临床已属晚期, 治疗困难。因而早期诊断和治疗食管癌是改善这一疾病预后的重要途径。疾病的发生、发展无一不是经过一个过程的。中医认为^[2], 人体是以脏腑为中心, 由经络沟通里表内外、相互联系、不可分割的有机整体, 而指甲能在一定程度上全息地反映人体脏腑、器官、组织各部分的病理生理变化, 指甲是上皮的衍生物, 特殊的角化上皮, 由受精卵发育分化形成, 是处于胚胎晚期或原肠胚早期发育阶段的全息胚, 它是一种纤维状的蛋白, 具有 α 螺旋结构^[3], 因此指甲的红外光谱具有蛋白质的特征峰。我们利用高分辨率红外傅里叶变换光谱仪对正常人的指甲、食管癌患者指甲以及食管癌术后的指甲进行了红外光谱的对比研究, 并通过对谱图解析, 发现正常人之间及正常人与食管癌术后 5 个月复查未发现转移者指甲红外光谱基本相似, 而食管癌患者与正常人的指甲红外光谱有很大的差别。这一发现, 将有助于为肿瘤疾病的早期诊断及预后提供有力的科学依据。而且, 该方法快速简便, 普及率强。因此, 红外傅里叶变换光谱(FTIR)在食管癌的早期诊断和快速诊断方面有着十分广阔的应用前景。

1 实验部分

1.1 实验仪器

红外光谱仪是 Bomem 公司真空型高分辨率红外傅里叶变换光谱仪, 测量范围 $4\,000 \sim 400\text{ cm}^{-1}$, MCT 探测器, 光谱分辨率 4 cm^{-1} , 扫描次数 64 次。

1.2 样品

(1) 样品来源: 收集安徽医科大学第一附属医院肿瘤放疗科 2006 年 8 月至 12 月间食管癌初治患者 30 例, 食管癌术后未经放化疗者 6 例, 另收集作者及周围不同年龄, 不同性别正常人指甲 15 例。30 例食管癌初治患者均经胃镜及活检病理证实, 均系食管鳞状细胞癌, 男性 25 例, 女性 5 例, 年龄 $43 \sim 88$ 岁。6 例术后者均系病理证实食管鳞癌, 入院复查未发现其他部位转移者。

(2) 样品制备: 将指甲洗净, 用指甲锉刀锉成粉末, 取指甲粉末与 KBr 粉末按大约 1 : 100 比例进行混合, 研磨, 压片。

2 结果与讨论

图 1 和图 2 是正常人(a谱线), 癌患者(b谱线)和术后 5 个月者(c谱线)指甲的红外光谱图, 其中图 1 的波数范围

收稿日期: 2007-03-09, 修订日期: 2007-06-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(60477001)和安徽省自然科学基金项目(2003KJ218)资助

作者简介: 汪红艳, 女, 1982 年生, 安徽医科大学第一附属医院放疗科研究生 e-mail: whhy5000@163.com

*通讯联系人

1 000 ~ 1 700 cm^{-1} , 图 2 的波数范围 2 800 ~ 3 700 cm^{-1} 。

2.1 核酸分子中磷酸二酯基团的伸缩振动谱带

正常人的磷酸二酯基团 PO_2^- 的对称伸缩振动 $\nu_s(\text{PO}_2^-)$ 在 1 080 cm^{-1} 附近, 而非对称伸缩振动 $\nu_{as}(\text{PO}_2^-)$ 位于 1 240 cm^{-1} 附近。Wong^[4,5] 等报道了人体组织的 PO_2^- 振动谱带主要来自细胞中核酸的贡献。从图 1 可以看出正常人, 癌患者, 术后 5 月者者的 $\nu_s(\text{PO}_2^-)$ 峰的分别位于 1 073.9, 1 076.5, 1 073.9 cm^{-1} ; $\nu_{as}(\text{PO}_2^-)$ 峰分别位于 1 233.1, 1 238.3, 1 234.5 cm^{-1} 。我们发现正常人, 癌患者, 术后的 $\nu_s(\text{PO}_2^-)$ 和 $\nu_{as}(\text{PO}_2^-)$ 振动峰都呈现规律性的变化, 即癌化后向高波数偏移, 术后者又向低波数偏移, 并且术后的 $\nu_s(\text{PO}_2^-)$ 恢复到正常人的值; 而 $\nu_{as}(\text{PO}_2^-)$ 未达到正常人的值。 PO_2^- 的对称伸缩振动谱带强度与细胞核中 DNA 的含量有关, 从 1 080 cm^{-1} 与酰胺谱带 1 540 cm^{-1} 的比值 $A_{1080/1540}$ 看出癌患者 > 术后者 > 正常人, 这说明癌患者指甲中的 DNA 含量要比正常人高, 术后的有所降低, 但还未达到正常值。 $\nu_{as}(\text{PO}_2^-)$ 峰的变化趋势说明了核酸骨架上磷酸二酯基团中的氧原子形成氢键程度的强弱关系为正常人 > 术后者 > 癌患者^[6,7]。由此可见, 人体内部脏器的病变会导致指甲核酸分子内磷酸二酯键骨架的结构发生改变^[8]。

2.2 蛋白质 C—O 基团振动谱带的变化

蛋白的 C—O 伸缩振动谱带位于 1 164 cm^{-1} 附近, 存在于 $\nu_s(\text{PO}_2^-)$ 和 $\nu_{as}(\text{PO}_2^-)$ 之间, 它主要来自蛋白质分子中的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸的残基 C—O 伸缩振动。有些研究者^[9-11] 报道, 正常人的 $\nu(\text{CO})$ 位于 1 164 cm^{-1} , 癌化后向高波数偏移至 1 173 cm^{-1} ; 还有一些研究者^[12,13] 认为, 癌化前后 $\nu(\text{CO})$ 位移没有明显的方向。我们的研究发现位于 1 164 cm^{-1} 附近的峰实际上是由 3 个峰叠加而成的, 它们分别位于 1 173.3, 1 158.0, 1 151.1 cm^{-1} , 这与霍红^[14] 等去卷积光谱后所得结果一致。从图 1 中可以看出, 癌化后 3 个峰的强度都在增强, 这与 Wong^[4] 等对结肠癌组织以及霍红^[14] 等对乳腺癌组织的结果是一致的。术后 (5 月) 者峰的强度有所减弱, 但仍比正常人强。癌化前后峰的位置有一点向高波数偏移, 这说明当体内发生癌变后, 受其影响指甲中的氨基酸残基的大部分氢键化的 C—O(H) 基团的氢键发生了破坏, 使原先参与氢键作用的角蛋白 C—O 键减少。

2.3 指甲角蛋白中酰氨基谱带的变化

由图 1 可以看出正常人的酰氨基带通常位于 1 651.4 cm^{-1} 处, 酰氨基带分裂为 2 个峰, 波数分别为 1 539.2 和 1 516.6 cm^{-1} , 这与董勤^[9] 等的研究结果不一致。在他们的报道中, 正常人的酰氨基带并没有分裂。癌患者的酰氨基带位于 1 650.9 cm^{-1} , 酰氨基带同样分裂为 2 个峰, 分别位于 1 539.1 和 1 516.0 cm^{-1} , 与正常人相比, 酰氨基带与带都往低波数方向偏移。而术后五月者的酰氨基带和酰氨基带的位置都介于正常人与癌患者之间, 酰氨基带位于 1 651.2 cm^{-1} , 酰氨基带位于 1 539.2 和 1 516.5 cm^{-1} , 说明了正常人, 癌患者, 术后者之间的蛋白质含量有所区别, α -螺旋含量也有所改变^[15,16]。由此可见, 体内发生癌变后, 会引起指甲中角蛋白的含量发生一定的改变, 同时说明手术可以使癌患者指甲中角蛋白的含量恢复到与正常人接近的水

平^[17]。

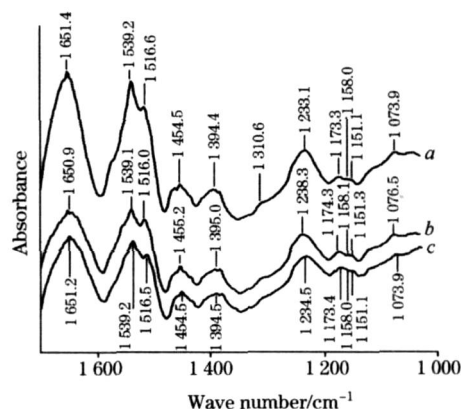


Fig 1 FTIR spectra of normal finger nail a and finger nail with carcinoma of esophagus b and finger nail who have had operation for five months between 1 700 ~ 1 000 cm^{-1}

2.4 角蛋白质 CH_2 和 CH_3 弯曲振动谱带的变化

从图 1 中可以看出正常人的角脂分子中的 CH_2 基团弯曲振动 $\delta(\text{CH}_2)$ 位于 1 454.5 cm^{-1} , 癌患者的 $\delta(\text{CH}_2)$ 稍微往高波数方向偏移, 位于 1 455.2 cm^{-1} , 并且吸收峰的强度有所减弱, 而术后者又恢复到了正常人的水平。 CH_2 基团的弯曲振动反映出膜脂疏水相区磷酸脂分子间的排列状态, 癌患者的 $\delta(\text{CH}_2)$ 往高波数方向偏移表明患者指甲膜脂中亚甲基链的有序状态较正常人的大^[18]。正常人指甲的对称弯曲振动 $\delta(\text{CH}_3)$ 位于 1 402.8 cm^{-1} , 其谱带的变化趋势与 $\delta(\text{CH}_2)$ 一致。

2.5 角蛋白质 CH_2 和 CH_3 伸缩振动谱带的变化

图 2 指出, 正常人角脂中 $\nu_s(\text{CH}_3)$ 和 $\nu_{as}(\text{CH}_3)$ 分别位于 2 872.1 和 2 958.9 cm^{-1} 处, $\nu_s(\text{CH}_2)$ 和 $\nu_{as}(\text{CH}_2)$ 分别位于 2 849.0 和 2 918.4 cm^{-1} 处。与正常人相比, 癌患者的吸收峰的波数都有所下降, 而术后的吸收峰的波数介于正常人与癌患者之间。 $\nu_{as}(\text{CH}_3)$ 和 $\nu_s(\text{CH}_2)$ 谱带强度变化反映了正常

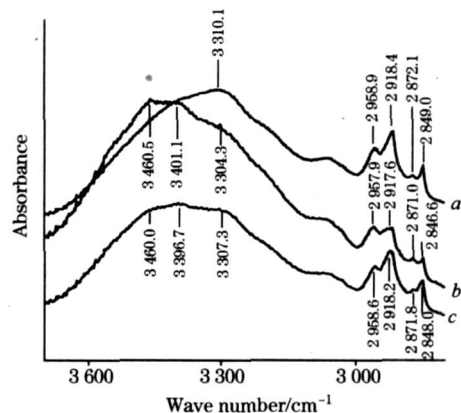


Fig 2 FTIR spectra of normal finger nail a and finger nail with carcinoma of esophagus b and finger nail who have had operation for five months between 3 700 ~ 2 800 cm^{-1}

人, 癌患者, 术后者角脂质中 CH_3 和 CH_2 基团数比的变化。而 CH_2 基团伸缩振动谱带反映出了角脂分子内碳氢链构象的有序化程度, 其波数变化反映出角脂碳氢链旁式构型增减^[12]。图2中癌患者的 $\nu_s(\text{CH}_2)$ 位于 $2\,846.6\text{ cm}^{-1}$, 术后者位于 $2\,848.0\text{ cm}^{-1}$, 表明癌化后角脂中碳氢链中旁式结构有所减少, 术后者有所回升。并且 $2\,872.1$ 与 $2\,958.9\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰的强度比 $A_{2\,872/2\,958}$ 正常人要大于癌患者, 而术后者则与正常人比较接近, 这与其他的研究结果一致^[9, 19], 这可能与角脂质中亚甲基链结构和氢键发生改变有关, 同时也反映出了角脂分子内碳氢链构象的有序化程度^[12]。

还有用其他的方法判别食管癌^[20], 可供参考。

2.6 其他谱带的变化

图2中的 a , b , c 三个谱线都显示了一个非常宽而强的吸收峰, 正常人的吸收峰位于 $3\,310.1\text{ cm}^{-1}$, 癌患者除了在 $3\,304.3\text{ cm}^{-1}$ 处有一个比较小的肩峰外在 $3\,401.1$ 和 $3\,460.5\text{ cm}^{-1}$ 还有2个比较强的吸收峰, 而术后的位于 $3\,396.7$ 和 $3\,460.0\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰强度有所减弱。文献报道 $3\,310$

cm^{-1} 处的吸收峰源于指甲蛋白质中的氢键化的 NH 基团伸缩振动模式^[21, 22], 癌化后该吸收峰向低波数移动, 说明癌患者的指甲蛋白质中的氢键化程度加强。

3 结 论

通过以上实验研究可以看出, 正常人, 食管癌患者, 以及食管癌术后的指甲在红外光谱上有着明显的差异, 这些差异来源于组织中生物大分子功能基团振动方式的改变, 反映组织细胞中大分子结构、组织的变化。这些差异表明, 红外光谱技术有望成为早期诊断及快速诊断癌症的一种新方法。由于指甲取样方便, 红外光谱制样及检测步骤简单, 无创伤性, 可通过大量病例的收集和进一步研究, 建立相应的标准谱库。同时在健康普查时将指甲作为检查的一个项目, 建立个人指甲红外光谱档案, 以便前后对照, 真正做到早期诊断, 早期治疗, 使癌症患者早日恢复健康。

参 考 文 献

- [1] SUN Yan(孙燕). Internal Medicine Oncology(内科肿瘤学). Beijing: People's Health Publisher(北京: 人民卫生出版社), 2001.
- [2] ZHU Wen-feng(朱文峰). Chinese Medicine Diagnostics(中医诊断学). Beijing: People's Health Publisher(北京: 人民卫生出版社), 1999.
- [3] De Berker D, Wojnarowska F, Sviland L, et al. British Journal Dermatology, 2000, 142(1): 89.
- [4] Wong P T T, Lacelle S, Yazdi H M. Applied Spectroscopy, 1993, 47: 1830.
- [5] Wong P T T, Papavassiliou E D. Applied Spectroscopy, 1991, 45(9): 1563.
- [6] GU Zhi-yuan(谷志远). Molecular Biology of Modern Medicine(现代医学分子生物学). Beijing: People's Military Surgeon Publisher(北京: 人民军医出版社), 1998.
- [7] Dovkeshko G I, Gridina N Y, Kruglova E B. Talanta, 2000, 53: 233.
- [8] Jackson M, Choo L P, Watson P H. Biochem. Biophys. Acta, 1995, 1270: 1.
- [9] DONG Qin, LIU Gang, LIU Tian-hui(董勤, 刘刚, 刘天惠). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(12): 1543.
- [10] Rigas B, Morgello M, Goldman I S, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1990, 87: 8140.
- [11] Rigas B, Wong P T T. Cancer Research, 1992, 52: 84.
- [12] TONG Yi-ping, LIN Wen-yan, XIAO Yu-long, et al(童义平, 林文燕, 肖育龙, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2002, 30(6): 726.
- [13] Gao T Y, Feng J, Ci Y X. Analytical Cellular Pathology, 1999, 18: 87.
- [14] HUO Hong, HU Xiang, GUAN 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: 1244.
- [15] Michael D Byler, Heinu Susi. Biopolymers, 1988, 25: 469.
- [16] Byler D M. Spectroscopy, 1986, 1(3): 29.
- [17] Cai S, Singh B R. Biophysical Chem., 1999, 80: 7.
- [18] Afanasyeva N I, Kolyakov S F, Artjushenko S G, et al. Proc. SPIE, Int. Soc. Opt. Eng., 1998, 3250: 140.
- [19] SHEN Shi-jie, LIU Bing-yu, LI Qing, et al(沈世杰, 刘柄玉, 李清, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(1): 28.
- [20] ZHANG Xiao-dong, ZHAO Yuan-li, GUO Tao, et al(张晓冬, 赵元黎, 郭涛, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(8): 1533.
- [21] Belamy L J. The Infrared Spectra of Complet Molecules. London: Chapman and Hall Ltd., 1975. 250.
- [22] Benedetti E, Teodori L, Trinca M L, et al. Applied Spectroscopy, 1990, 44: 1276.

Study on FTIR Spectra of Finger Nails of Normal People and Patients of Esophagus Cancer

WANG Hong-yan¹, LÜ Yin¹, WANG Fan^{1*}, MA Xiao-dong², JIANG Shi-ping², WANG Wei², LI Cheng-xiang²

1. Department of Radiation Oncology, Anhui Medical University Hospital, Hefei 230022, China

2. National Synchrotron Radiation Laboratory, University of Science and Technology of China, Hefei 230029, China

Abstract To investigate the application of human finger nails in the diagnosis of cancer, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy was employed to study the finger nails from some normal people and some with esophagus cancer and others with an operation for curing esophagus cancer five months ago. The results showed that there are obvious differences between FTIR spectra in them in spectral parameters such as frequency, intensity and band shape etc. The changes in the phosphate symmetric stretching vibration $\nu_s(\text{PO}_2^-)$ and asymmetric stretching vibration $\nu_{as}(\text{PO}_2^-)$ modes are uniform, the $\nu_s(\text{PO}_2^-)$ and $\nu_{as}(\text{PO}_2^-)$ absorption peaks of cancerous ones shift to high wave number compared with those of normal people, while those with operation shift to low wave number compared with those of cancerous ones. The C—O stretching vibration mode of protein located at $1\,164\text{ cm}^{-1}$ is composed of three absorption peaks located at $1\,173.3$, $1\,158.0$ and $1\,151.1\text{ cm}^{-1}$ respectively, meanwhile, the intensities and the wave numbers of the three peaks of cancerous ones all increase compared with normal people. The wave numbers of amide I and amide II of cancerous ones are both lower than those of normal people, while those with operation are between the cancerous ones and normal people, which suggest that the contents of protein and α helix in finger nails of normal people, cancerous ones and the ones with operation are discriminative. The peak of bending vibration $\delta(\text{CH}_2)$ mode of CH_2 groups of protein lipid of cancerous ones shifts to high wave number slightly and the intensity of the peak weakens compared with that of normal people, which indicate that the methylene chain in the finger nails membrane lipids of cancerous ones is more ordered than that of normal people. Nevertheless, the peak of stretching vibration $\nu_s(\text{CH}_2)$ of cancerous ones is lower than that of normal people, while that of the ones with operation is between cancerous ones and normal ones. As a result, the pathological changes in viscera can induce the changing of framework structure of phosphate in nucleic acid molecule of finger nails, and destroy the hydrogen bond of C—O(H) group in amino acid remnant group in finger nails. Furthermore, it also can decrease the C—O bond in keratin which participates in the action of hydrogen bond, and prompt the changing of content of keratin in finger nails, nevertheless the content of keratin in finger nails of cancerous ones can be resumed to level of normal people by operation.

Keywords Esophageal carcinoma; FTIR; Fingernails

(Received Mar. 9, 2007; accepted Jun. 16, 2007)

* Corresponding author