

恶性肿瘤的傅立叶变换拉曼光谱研究国内外进展

凌晓锋 徐怡庄^① 综述 徐智 吴瑾光^① 周孝思 徐端夫^② 校审

北京大学第三医院普外科(北京 100083)

中图分类号 R730.231+.2 文献标识 A 文章编号 1009-6604(2002)06-0433-02

拉曼光谱是由分子对入射光产生的频率发生较大变化的非弹性散射现象所形成的发射光谱,1928年由印度物理学家拉曼(Raman)发现。每一种物质(分子)有自己特征的拉曼光谱,因此可以用拉曼光谱表征这一物质,因而拉曼光谱是研究物质结构的重要手段之一。1939年拉曼光谱成为非破坏性的分析方法之一。长期以来由于传统色散型拉曼光谱仪结构复杂,并且有荧光干扰等问题,所以拉曼光谱的应用受到限制。80年代以来,随着傅立叶变换拉曼光谱的推广,拉曼光谱的应用范围逐步扩大。它在生物医药方面的应用日益受到重视,本文旨在对傅立叶变换拉曼光谱在恶性肿瘤中的研究予以综述。

国内现状

目前国内应用傅立叶变换拉曼光谱研究恶性肿瘤的报道比较少。但是应用这项技术研究核酸、蛋白质、碳水化合物及脂类已有不少报道。高小玲^[1]研究DNA结构变化与浓度变化之间的关系,进行DNA的拉曼光谱强度与浓度间的线性相关研究。他们以人体表皮免疫型角朊细胞DNA的傅立叶变换拉曼光谱波数为810cm⁻¹的峰作为线性相关分析的内标,实验结果表明人体表皮免疫型角朊细胞DNA的傅立叶变换拉曼光谱强度与浓度间存在着良好的线性相关($r = 0.993$)。应用傅立叶变换拉曼光谱技术测定溶液的DNA浓度,样品不需要特殊处理,方法简单、灵敏而准确。傅立叶变换拉曼光谱技术还可以用于有关DNA损伤的研究^[2,3],如DNA的空间结构和构象的破坏,骨架磷酸基团、脱氧核糖、碱基遭到的破坏以及氢键断裂,DNA单链和双链断裂等。傅立叶变换拉曼光谱也可以反映RNA的构象^[4,5],所以傅立叶变换拉曼光谱可以用作抗癌药物的疗效评价^[6-8]。

许以明^[9]采用傅立叶变换拉曼光谱研究了血纤维蛋白溶酶原激活酶的氨基酸组成以及该种蛋白质的某些基团的构象和二级结构。所以傅立叶变换拉曼光谱在蛋白质的研究方面同样能提供有关分子结构的丰富信息。

傅立叶变换拉曼光谱在膜相结构的研究方面也十分活跃。王玮^[10]总结了二十年来这一领域的进展,特别是在磷脂双分子层的结构与相变、磷脂与金属离子、甾醇、蛋白质及药物分子的相互作用等诸方面。

蛋白质、脂类、碳水化合物和核酸四大类物质是构成正常细胞和组织的主要物质。细胞和组织的恶变总是从构成它们的分子开始的,在细胞和组织恶变的过程中,这些化学物质的结构、构象和数量都发生了明显的变化,这些早期的变化并不引起临床症状和医学影像学的变化,而傅立叶变换拉曼光谱却能反映这些变化,因此傅立叶变换拉曼光谱有可能成为恶性肿瘤早期诊断以及恶性肿瘤癌变机理研究的重要手段。李维红等^[12]率先在国内利用傅立叶变换拉曼光谱研究恶性肿瘤,他们测定了正常腮腺组织及腮腺恶性肿瘤组织的傅立叶变换拉曼光谱,结果表明,正常组织在2700cm⁻¹~3000cm⁻¹之间具有强的C-H伸缩振动谱带,而相应的癌组织相对较弱;1750cm⁻¹谱带被认为是脂类羰基C=O的伸缩振动,正常组织比恶性肿瘤组织明显增强。笔者^[14,15]测定了40个胃切除手术标本粘

膜面的傅立叶变换拉曼光谱,其中包括胃正常组织22例,胃癌组织18例。统计学分析结果表明:与胃正常组织相比,胃癌组织中:1.蛋白质的N-H或水的O-H峰(3240cm⁻¹谱带)与脂类的C-H峰(2940cm⁻¹谱带)的峰高和峰面积之比均明显升高;2.蛋白质的酰胺I带(1660cm⁻¹谱带)与脂类CH₃或 δ CH₂峰(1450cm⁻¹谱带)的峰高和峰面积之比也明显升高。3.核酸中磷酸基团的振动峰(1080cm⁻¹谱带)与脂类CH₃或 δ CH₂峰(1450cm⁻¹谱带)的峰高之比明显升高。这些变化表明胃癌组织中蛋白质和核酸相对于脂类的含量明显增加。据此可能在胃癌组织和胃正常组织傅立叶变换拉曼光谱显著差异的基础上建立一个判别系统,区分胃癌组织和胃正常组织,应用于恶性肿瘤的临床诊断。

国外进展

Mahadevan等^[16]先用近红外傅立叶变换拉曼光谱仪在体外测定了36个宫颈组织的傅立叶变换拉曼光谱,其中有正常的宫颈组织,宫颈组织的炎症,宫颈组织的化生和癌前病变。对相关谱带的峰高度和峰强度之间的比值进行处理,建立Fisher判别进行归类得到如下结果:利用8个峰的峰强度能把癌前病变和其它良性病变区分开来,灵敏度为82%,特异度为92%。随后他们又将光纤探头连接在傅立叶变换拉曼光谱仪上^[17],并且在人的活体上测定了正常和有癌前病变的宫颈组织,宫颈组织的傅立叶变换拉曼光谱在90秒内就可以得到,虽然波数在900cm⁻¹以下的谱带有石英信号的掺杂,但是波数在900cm⁻¹以上的谱带信噪比是可以认可的。他们还要增加激发光源的功率,把测定过程缩短到20秒以下。

Gniadecka-M^[18]认为恶性肿瘤组织和正常组织的蛋白质和脂肪的分子结构是不同的,所以傅立叶变换拉曼光谱镜是诊断癌症的理想方法。他们通过活检得到病变的皮肤组织,其中包括:皮肤的乳头状瘤、皮肤纤维瘤、脂溢性角化症、光化性角化症、角化棘皮瘤、基底细胞癌、鳞状细胞癌、神经性皮炎和恶性痣等等。对照则选择邻近的皮肤,分别测定它们的傅立叶变换拉曼光谱。病变组织组织学的显著损害可以通过傅立叶变换拉曼光谱谱带的综合分析表现出来,而这些谱带可以表明蛋白质的形态和结构的变化以及脂质分子结构的变化。傅立叶变换拉曼光谱谱带对于病变皮损可重复性和唯一性,因而认为傅立叶变换拉曼光谱对于皮肤病的诊断是有价值的。

Hery等^[19]寻找到离体的正常乳腺组织的特征谱带,这些特征谱带在乳腺癌组织消失,而乳腺癌组织在1450cm⁻¹附近出现一个峰,这个峰是I型胶原和II型胶原所产生的。他们准备利用带有光纤的探针穿刺来诊断乳腺癌以代替活检术。Frank等^[20]的工作又进了一步,他们已经利用光纤探头来观察离体乳腺浸润性导管癌组织的傅立叶变换拉曼光谱,代表脂类的谱带1439cm⁻¹明显降低,而且峰移至1450cm⁻¹。浸润性导管癌的光谱与人类胶原的光谱相似,其与乳腺纤维囊性增生的区别在于它的酰氨基I带(1656cm⁻¹)和酰氨基III带(1259cm⁻¹)的相对升高,故傅立叶变换拉曼光谱可以作为诊断乳腺良性疾病的工具。

(下转第435页)

① 北京大学化学学院
② 中国科学院化学研究所
万方数据

傅立叶变换拉曼光谱技术同傅立叶变换红外光谱技术都是研究物质结构的重要手段。傅立叶变换拉曼光谱技术在研究非极性化学键时优势明显,而红外光谱技术更有利于研究极性化学键。因此,在探索恶性肿瘤的早期诊断方法过程中,二者可以实现优势互补,相互印证。

目前,国际上已经引入组织光谱镜(即用于感测光子与生物组织相互作用的工具)这一概念^[21],傅立叶变换拉曼光谱镜作为组织光谱镜之一,它原本存在着对样品的过热作用并有使样品暴露于紫外光等缺点。随着技术水平的提高及采用适于生物样品的近红外区,这些缺点已经被克服。再加之操作简单、微创、快速和花费少等优点,所以傅立叶变换拉曼光谱在临床上有很大的使用价值,不仅可以应用到对恶性肿瘤很早期的诊断中,比如将傅立叶变换拉曼光谱镜使之接触皮肤、伸入消化道和宫颈,甚至穿刺乳腺组织,而且可以在手术中帮助对肿物的定性及决定恶性肿瘤的切除范围等。傅立叶变换拉曼光谱还在揭示恶性肿瘤的发生发展规律及其它良性疾病的基础研究中有着良好的前景。

参考文献

1 高小玲,巴特勒,克来默,等. DNA 浓度与其 Raman 光谱强度间的线性相关的分析. 激光生物学报,1998,7:142-145.
2 严庆丰,钱凯先,李文铸. C60 对 DNA 光动力学作用的 FT-Raman 光谱研究. 中国激光,1998,25:661-666.
3 赵红霞,许以明,张志义,等. 竹红菌乙素及其溴代物对 DNA 结构光敏损伤的 Raman 光谱. 科学通报,1998,43:955-961.
4 方晔,王霆,白春礼,等. 银胶中三螺旋 RNAPOLY(rU).poly(rU)的傅立叶表面增强拉曼光谱研究. 生物物理学报,1995,11:149-154.
5 付平平,王维忠,赵虹,等. 抗胃腺癌免疫核糖核酸的拉曼光谱分析. 中国生物制品杂志,1996,9:110-113.
6 赵晓杰,江山,陆冬生,等. 抗癌药物 ADM 与 DNA 相互作用的紫外共振拉曼光谱的研究. 生物化学杂志,1994,10:325-329.
7 李蔚,陈五高,梁永茂. 抗癌药物与 DNA 相互作用的共振拉曼光

谱研究. 中国激光医学杂志,1998,7:102-103.
8 高小玲,巴特勒,克来默,等. 抗癌药药效和机理评价新模式:Raman 光谱分析. 激光生物学报,1998,7:22-26.
9 许以明. 血纤蛋白溶酶原激活酶 e-TPA 的拉曼光谱研究. 科学通报,1987,80:616-619.
10 王玮,李来明,席时权. 拉曼光谱法在膜模拟结构研究中的应用. 分析化学,1994,22:1176-1180.
11 王祥群,孔令训,顾志群. 拉曼光谱对半乳糖性白内障晶体混浊度的测定. 中华眼科杂志,1999,35:66.
12 李维红,徐怡庄,吴瑾光,等. 肿瘤和正常组织的 FT-Raman 与 FT-IR 研究. 光散射学报,1998,10:114.
13 凌晓锋,李维红,宋苑苑,等. 胃癌组织的拉曼光谱初探. 光谱学与光谱分析,2000,20:692-693.
14 Xiaofeng Ling, Yuan Yuan Song, Roger D. Soloway, et al. Fourier transform Raman spectra can separate most normal and malignant tissue. Gastroenterology, 2000, 118: A1398.
15 Mahadevan JA, Mitchell MF, Ramanujam N, et al. Near-infrared Raman spectroscopy for in vitro detection of cervical precancers. Photochem-Photobiol. 1998, 68: 123-132.
16 Mahadevan JA, Mitchell MF, Ramanujam N, et al. Development of a fiber optic probe to measure NIR Raman spectra of cervical tissue in vivo. Photochem Photobiol, 1998, 68: 427-431.
17 Gniadecka M, Wulf HC, Nielsen OF, et al. Distinctive molecular abnormalities in benign and malignant skin lesions: studies by Raman spectroscopy. Photochem Photobiol, 1997, 66: 418-423.
18 Hery CM. Raman spectra of breast tissue. Anal Chem, 1996, 68: A718-A719.
19 Frank CJ, McCreery RL, Redd DC. Raman spectroscopy of normal and diseased human breast tissue. Anal chem, 1995, 67: 777-783.
20 Bohorofoush A.G. Tissue spectroscopy for gastrointestinal diseases, Endoscopy, 1996, 28: 372-380.

(2001-10-08 收稿)
(2001-12-01 修回)