

傅里叶变换红外光谱与核磁共振波谱对结直肠癌诊断价值的初步研究*

姚宏伟 高秀香^① 赵梅仙^① 张元福^① 付卫 徐智 石雪迎^② 徐怡庄^{①**}

(北京大学第三医院普通外科, 北京 100191)

【摘要】 目的 探讨傅里叶变换红外光谱 (fourier transform infrared spectrometry, FTIRS)、核磁共振波谱 (magnetic resonance spectroscopy, MRS) 应用于临床结直肠癌离体标本分析的可行性, 探索其用于结直肠癌临床诊断的新途径。 **方法** 2007 年 3 月 ~ 2008 年 4 月, 对 47 例新鲜、离体的结直肠正常黏膜和癌组织标本, 进行病理学检查, 并应用 FTIRS、MRS 进行分析并研究结直肠正常黏膜与癌组织之间的差异。 **结果** 以病理学结果作为参照, FTIRS 和 MRS 判定正常黏膜以及癌组织的诊断准确率分别为 94.7% (89/94) 和 97.8% (45/46), 敏感率分别为 93.6% (44/47) 和 100% (23/23), 特异率分别为 95.7% (45/47) 和 95.7% (22/23), 假阳性率 4.2% (2/47) 和 4.3% (1/23), 假阴性率 6.4% (3/47) 和 0% (0/23), 阳性预测值 95.7% (44/46) 和 95.8% (23/24), 阴性预测值 93.8% (45/48) 和 100% (22/22)。 **结论** FTIRS、MRS 能够快速、准确地鉴别结直肠组织的良、恶性, 有可能发展成为微创、早期、快捷诊断结直肠癌的方法。

【关键词】 红外光谱; 核磁共振波谱; 结直肠癌

中图分类号: R735.04

文献标识: A

文章编号: 1009-6604(2009)01-0059-03

Fourier Transform Infrared Spectrometry and Magnetic Resonance Spectrometry for the Diagnosis of Colorectal Cancer Yao Hongwei*, Gao Xiuxiang, Zhao Meixian, et al. * Department of General Surgery, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

【Abstract】 Objective To analyze *ex vivo* samples of colorectal cancers by Fourier transform infrared spectrometry and magnetic resonance spectrometry, and to explore the feasibility to diagnose the tumor by using the methods in clinic. **Methods** From March 2007 to April 2008, fresh samples colorectal mucosa and carcinoma were obtained from 47 patients. The regimens were examined pathologically and then analyzed by Fourier transform infrared spectrometry and magnetic resonance spectrometry. The accuracy of the spectrometrical results was determined by comparing with the pathological results. **Results** The accuracy of the Fourier transform infrared spectrometry and magnetic resonance spectrometry was 94.7% (89/94) and 97.8% (45/46), respectively, while the sensitivity was 93.6% (44/47) and 100% (23/23), specificity was 95.7% (45/47) and 95.7% (22/23), false positive rate was 4.3% (2/47) and 4.3% (1/23), false negative rate was 6.4% (3/47) and 0% (0/23), positive prognostic value was 95.7% (44/46) and 95.8% (23/24), and the negative prognostic value was 93.8% (45/48) and 100% (22/22). **Conclusions** Benign and malignant colorectal tissues can be identified quickly and accurately by Fourier transform infrared spectrometry and magnetic resonance spectrometry. The methods, which are minimally invasive, could be a potential diagnosing tool for colorectal cancer at an early stage.

【Key Words】 Fourier transform infrared spectrometry; Magnetic resonance spectrometry; Colorectal cancer

傅里叶变换红外光谱 (fourier transform infrared spectrometry, FTIRS) 以及磁共振波谱 (magnetic resonance spectroscopy, MRS) 是研究分子结构的有力工具。2007 年 3 月 ~ 2008 年 4 月, 我们采用 FTIRS 和 MRS 对手术切除的结直肠癌标本进行分析, 期望探寻早期、快捷诊断结直肠癌的新方法。

1 材料与方法

1.1 材料

47 例在我院接受根治性结直肠癌切除术 (结

肠癌 28 例, 直肠癌 19 例), 在其手术切除标本离体 10 min 之内迅速切取距离癌肿边缘超过 10 cm 处的正常肠黏膜以及癌组织的新鲜标本各 3 组 (标本大小: 1.0 cm × 0.6 cm), 分别用于病理学诊断、红外光谱分析以及磁共振波谱分析 (用于 MRS 分析的标本有 23 例, 其中结肠癌 12 例, 直肠癌 11 例)。

1.2 方法

1.2.1 病理学诊断 标本固定后, 石蜡包埋, 常规苏木素-伊红 (HE) 染色, 光学显微镜下观察。

1.2.2 FTIRS 分析 手术标本离体后, 去除污渍。

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (批准号: 50673005)

** 通讯作者

① (北京大学化学与分子工程学院 稀土材料化学及应用国家重点实验室, 北京 100871)

② (北京大学医学部病理学系, 北京 100191)

使用 WQF-660 型傅里叶变换红外光谱仪(北京第二光学仪器厂生产),标本置于红外光谱仪的衰减全反射(Attenuated Total Reflection, ATR)探头附件的硒化锌晶片上进行光谱测定,4 cm⁻¹分辨率,扫描 32 次,每个标本至少测定 2 次以保证光谱的重现性,获得标本的红外光谱,谱图采用 MainFTOS 光谱处理系统进行 FTIRS 分析处理。单个标本的测定、分析过程耗时约 5 min。

1.2.3 MRS 分析 新鲜标本采用液氮冷冻保存、转运。解冻后,在 BrukerAM-300 型核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司生产)上利用¹H\ ¹³C 双探头和仪器自带的预饱和水峰压制脉冲程序,采集¹H 核磁共振波谱,化学位移以二氧六环(3.7 μg/ml)毛细管为外标,用 Bruker 数据处理软件、OMNIC 软件和

SPSS11.0 软件对谱图和数据进行分析处理。

2 结果

2.1 FTIRS 分析

FTIRS 谱图特点:通过对吸收波长 3000 ~ 2800 cm⁻¹的碳氢伸缩振动吸收峰、1740 cm⁻¹的羰基伸缩振动吸收峰、1650 cm⁻¹、1550 cm⁻¹的酰胺 I 带和 II 带、1460 cm⁻¹、1400 cm⁻¹的磷脂、1240 cm⁻¹、1160 cm⁻¹的糖蛋白和糖原等不同峰值谱带的比对,与正常黏膜相比,癌组织的 FTIRS 谱图具有以下特征(图 1):① A3000 ~ 2800 和 A1740 很弱或消失;② A1650/A1550 > 2.0;③ A1460 < A1400;④ A1240 > A1160。符合上述 4 项指标中的 2 项者考虑诊断为癌组织。

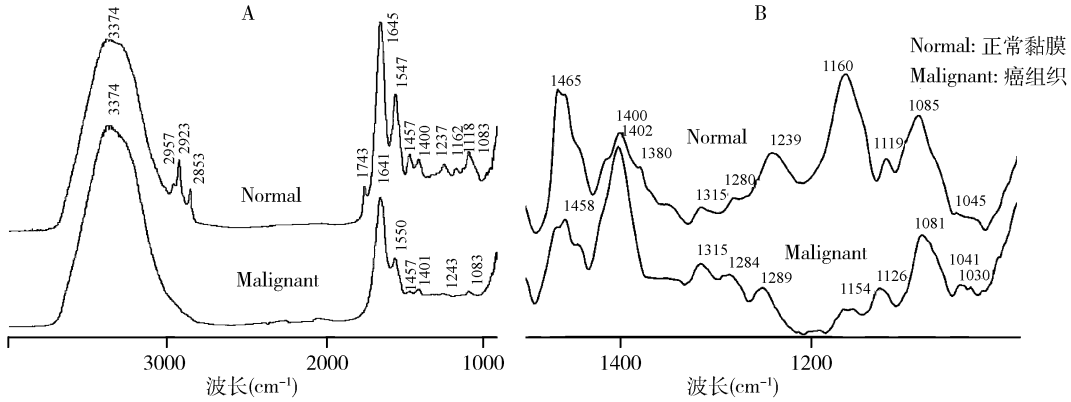


图 1 人类结直肠的正常黏膜和癌组织的 FTIRS 谱图(A. 吸收波长 4000 ~ 1000 cm⁻¹谱;B. 吸收波长 1470 ~ 1000 cm⁻¹谱)

对 47 例结直肠癌的离体正常黏膜以及癌组织的 94 个新鲜标本进行 FTIRS 分析结果显示:以病理学诊断结果作为标准,FTIRS 对于判别正常黏膜和肿瘤组织的总准确率达 94.7% (89/94),敏感率 93.6% (44/47),特异率 95.7% (45/47),假阳性率 4.2% (2/47),假阴性率 6.4% (3/47),阳性预测值 95.7% (44/46),阴性预测值 93.8% (45/48),见表 1。

表 1 FTIRS 分析与病理学检查用于诊断正常黏膜以及癌组织的准确度

FTIRS 分析	病理学检查	
	癌组织	正常黏膜
癌组织	44	2
正常黏膜	3	45

2.2 MRS 分析

MRS 谱图特点:图 2 为典型的结直肠正常黏膜以及癌组织分别在 0.5 ~ 2.5、2.6 ~ 4.4 区域的 MRS 谱,从谱图中可以看到正常黏膜和癌组织之间有明显差别,与正常黏膜相比,癌组织的谱图具有以下特征:①脂肪酸的甲基产生的 0.89 共振峰减弱;②脂肪酸的亚甲基产生的 1.29 共振峰减弱;③不饱和脂肪酸产生的 2.02 共振峰减弱;④胆碱类化合物包括游离胆碱、磷酸胆碱和甘油磷酸胆碱等产生的 3.20 共振峰增强;⑤乳酸盐或肌醇等产生的 4.09 共振峰增强。符合上述 5 项指标中的 3 项者考虑诊断为癌

组织。

对 23 例结直肠癌的离体正常黏膜以及癌组织的 46 个液氮冻存标本进行 MRS 分析结果显示:以病理学诊断结果作为标准,MRS 对于判别正常黏膜和肿瘤组织的准确率达 97.8% (45/46),敏感率 100% (23/23),特异率 95.7% (22/23),假阳性率 4.3% (1/23),假阴性率 0% (0/23),阳性预测值 95.8% (23/24),阴性预测值 100% (22/22),见表 2。

表 2 MRS 分析与病理学检查用于诊断正常黏膜以及癌组织的准确度

MRS 分析	病理学检查	
	癌组织	正常黏膜
癌组织	23	1
正常黏膜	0	22

3 讨论

结直肠癌对人类健康威胁巨大,在癌症的发病率、死亡率排名中分别列第 4、3 位^[1]。如此高死亡率的原因,某种程度上是由于目前较低的早期诊断率,因此,早期诊断是提高其疗效的关键。目前,临床上较为成熟的诊断方法有:结肠镜、结肠造影、CT、MRI 等。它们具有共同特点:对既已存在的、可以发现的病变进行成像处理,通过形态学特点推断

病变的性质。通过结肠镜取活检行病理检查,明确病变的性质,是目前诊断结直肠癌的金标准。但是结肠镜及活检是都是有创的检查方法,可能引起出

血、肠穿孔等严重并发症;另外,病理检查也有缺点,即比较耗时。因此,微创甚至无创、快捷的早期诊断方法对于结直肠癌来说是十分必要的。

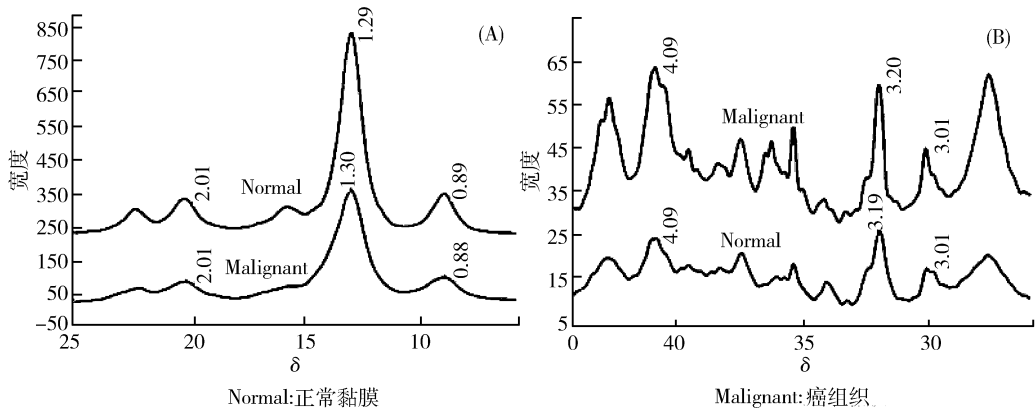


图2 人类结直肠的正常黏膜和癌组织的¹H MRS谱(A. 0.5~2.5 μg/ml; B. 2.6~4.4 μg/ml)

众所周知,早在结直肠癌发展到可被临床检测诊断出来之前,病变组织已经发生了明显的生物化学、分子生物学变化,这为肿瘤的早期诊断提供了理论和分子基础。基于上述原理,我们开展了 FTIRS 与 MRS 应用于结直肠癌诊断的初步研究,试图探索一些微创(甚至无创)、更快捷且准确、能够早期诊断结直肠癌的方法。FTIRS 作为一种探测分子结构变化的灵敏探针,能在分子水平上反映组织的各种病理改变^[2]。红外光的波长较长,对人体无损伤,也不破坏病变部位的局部结构,有望成为无创诊断肿瘤的新方法^[3-5]。MRS 对分子结构具有更为强大解析能力,能提供丰富的分子结构^[6,7],能够弥补 MRI 单纯影像诊断的不足。MRS 对分子结构的强大解析能力,使人们对病变组织的分子组成进行更深入的认识^[8-10],可能检测出细胞形态变化之前的生物大分子的变化,从而达到早期诊断肿瘤的目的。

我们的初步研究表明,FTIRS 基本可以快速、较为准确地对送检标本的良、恶性做出判断,且与病理学“金标准”具有较高的符合性,这对于缩短诊断时间、提高诊治效率可能具有重要意义。此外,通过比较正常黏膜和癌组织在 MRS 上特征峰的差异性,可以得出它们的脂肪酸、胆碱类化合物、乳酸以及其他代谢物含量的不同,从而可以通过谱图上这些特征峰的差异性鉴别出组织的良、恶性。我们的 MRS 研究表明,癌组织中的脂肪酸含量降低、乳酸含量升高,前者的原因可能是癌组织的高分解代谢消耗过多的脂肪酸,而乳酸含量的升高则很可能是由于恶性肿瘤的糖酵解酶活性升高,导致糖酵解增多、产生过多的乳酸。因此,对于容易罹患结直肠癌的高危患者,定期监测其血液、体液中上述指标的变化水平,就有可能在其肿瘤发生的早期得出诊断。因此, MRS 可能发展成为一种结直肠癌早期诊断的方法。

如果采用红外光谱仪-中红外光导纤维-衰减

全反射探头联用的方法,可以对结直肠癌患者进行在体的光谱检测,由于不需要对组织取活检,具有发展成为对人体肿瘤组织进行原位、在体、微创的临床诊断方法的潜力。同样,使用 MRS 对肿瘤高危患者的血液、体液标本内的上述生化指标进行检测,同样可能发展成为一种无创的肿瘤早期诊断方法。

参考文献

- 1 Bruce GW, James WF, David EB, et al. The ASCRS Textbook of Colon and Rectal Surgery. Springer, 2007. 335.
- 2 吴瑾光,主编. 现代傅里叶变换红外光谱技术及应用. 北京:北京科技文献出版社, 1994. 15.
- 3 徐怡庄, 杨丽敏, 徐智, 等. 中红外光纤技术研究胃正常和肿瘤组织及其原位、在体临床应用. 中国科学编辑, 2004, 34(6): 465-472.
- 4 徐怡庄, 赵莹, 徐智, 等. 肿瘤临床诊断的红外光谱新方法. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(11): 1775-1778.
- 5 徐怡庄, 徐智, 凌晓峰, 等. 胃癌及胃炎的临床诊断中红外光谱方法研究. 北京大学学报(自然科学版), 2007, 43(4): 441-445.
- 6 陈军, 丁仕义. 肝细胞癌³¹P 磁共振波谱诊断价值的初步研究. 中华消化外科杂志, 2007, 6(4): 283-285.
- 7 Khan SA, Cox IJ, Hamilton G, et al. In vivo and in vitro nuclear magnetic resonance spectroscopy as a tool for investigating hepatobiliary disease: a review of H and P MRS applications. Liver International, 2005, 25(2): 273-281.
- 8 Carolyn EM, Sinead D, Cynthia LL, et al. Proton MRS can determine the pathology of human cancers with a high level of accuracy. Chem Rev, 2004, 104(8): 3677-3704.
- 9 陈文学, 邓风, 岳勇. 核磁共振技术在生物组织中的应用. 波谱学杂志, 2004, 21(1): 127-139.
- 10 王霄英, 周良平, 丁建平, 等. 前列腺癌的 MR 波谱定量分析: 与系统穿刺活检病理对照研究. 中华放射学杂志, 2004, 38(3): 268-272.

(来稿日期:2008-11-06)

(修回日期:2008-12-15)

(责任编辑:李贺琼)