

# 人胃腺癌组织的自体荧光及其吸收、散射特性

何博华, 魏华江, 陈雪梅, 王娟

## ■背景资料

胃癌是人类最常见消化系统肿瘤, 手术切除是目前唯一的根治性措施, 其疗效关键与早期诊断有关, 光谱检测有望在胃癌早期和其他影像学手段未能查出前作出正确判断。

何博华, 广东药学院外科教研室 广东省广州市 510310  
魏华江, 华南师范大学激光生命研究所 广东省广州市 510631  
陈雪梅, 中山大学附属第一医院眼科 广东省广州市 510080  
王娟, 广东药学院护理教研室 广东省广州市 510310  
广东省自然科学基金资助项目, No. 06032270  
广东省医学科学基金资助项目, No. A2006309  
作者贡献分布: 此课题由何博华, 魏华江, 陈雪梅及王娟设计; 研究过程由何博华与魏华江操作完成; 数据分析由陈雪梅与王娟完成; 本论文写作由何博华与陈雪梅完成。  
通讯作者: 何博华, 510310, 广东省广州市, 广东药学院外科教研室, hebohua39@tom.com  
电话: 020-87335448  
收稿日期: 2008-01-16 修回日期: 2008-03-16

## Properties of autofluorescence, absorption coefficient and scattering coefficient spectra for human gastric adenocarcinoma tissues

Bo-Hua He, Hua-Jiang Wei, Xue-Mei Chen, Juan Wang

Bo-Hua He, Department of Surgery, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China

Hua-Jiang Wei, Institute of Laser Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, Guangdong Province, China

Xue-Mei Chen, Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Sun Yet-Sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Juan Wang, Department of Nursing, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 06032270, and the Medical Science Foundation of Guangdong Province, No. A2006309

Correspondence to: Bo-Hua He, Department of Surgery, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, Guangdong Province, China. hebohua39@tom.com

Received: 2008-01-16 Revised: 2008-03-16

## Abstract

**AIM:** To investigate the characteristics of autofluorescence, absorption coefficient spectrum and scattering coefficient spectrum for human gastric adenocarcinoma tissues.

**METHODS:** Twenty-eight samples of human gastric adenocarcinoma taken from tumorous regions and non-tumorous regions were used.

Autofluorescence, absorption coefficient and scattering coefficient spectra for gastric wall tissues were measured.

**RESULTS:** Peak value of autofluorescence spectrum for gastric adenocarcinoma was significantly lower than that for non-tumorous gastric wall tissues and double-peak was present. Absorption coefficient for gastric adenocarcinoma tissues with a spectral range of 300-720 nm wavelength, was significantly lower than that for non-tumorous gastric wall tissues ( $P < 0.01$ ). Scattering coefficient for gastric adenocarcinoma tissues, with a spectral range of 480-1100 nm wavelength, was significantly lower than that for non-tumorous gastric wall tissues ( $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Autofluorescence, absorption coefficient and scattering coefficient spectra can differentiate gastric adenocarcinoma tissues from non-tumorous gastric wall tissues effectively.

**Key Words:** Gastric adenocarcinoma; Autofluorescence; Absorption coefficient; Scattering coefficient

He BH, Wei HJ, Chen XM, Wang J. Properties of autofluorescence, absorption coefficient and scattering coefficient spectra for human gastric adenocarcinoma tissues. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(15): 1692-1695

## 摘要

**目的:** 探讨人胃腺癌组织的自体荧光强度及吸收、散射特性。

**方法:** 测定28例人胃腺癌标本的肿瘤及非肿瘤区域组织的自体荧光强度及吸收系数光谱和散射系数光谱。

**结果:** 人胃腺癌组织自体荧光光谱的峰值明显低于非肿瘤胃壁组织自体荧光光谱峰值并出现双峰; 人胃腺癌组织吸收系数在300-720 nm光谱范围内明显低于非肿瘤胃壁组织, 有显著性差异( $P < 0.01$ ), 散射系数在480-1100 nm光谱范围内也明显低于非肿瘤胃壁组织, 有显著性差异( $P < 0.01$ )。

## ■同行评议者

郝纯毅, 主任医师, 北京肿瘤医院肿瘤外科

**结论:** 人胃腺癌组织的自体荧光强度及吸收、散射特性光谱可有效识别人胃腺癌组织与非肿瘤胃壁组织。

**关键词:** 胃腺癌; 自体荧光; 吸收系数; 散射系数

何博华, 魏华江, 陈雪梅, 王娟. 人胃腺癌组织的自体荧光及其吸收、散射特性. 世界华人消化杂志 2008; 16(15): 1692-1695  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/1692.asp>

## 0 引言

胃癌是人类最常见的消化系统肿瘤, 早期发现及治疗能从根本上改变胃癌患者的预后. 激光技术已逐渐成为消化系统肿瘤诊断和治疗的重要手段, 配合内镜技术可实现在体、原位、可视化和实时探测. 癌组织与正常组织的组成成分不同, 分子结构不同, 他们所对应的荧光光谱、吸收系数光谱和散射系数光谱也不相同. 关键问题是肿瘤组织与正常组织之间是否存在组织光学特性的差异及确定诊断的光谱范围. 我们测定28例胃腺癌标本的肿瘤及非肿瘤区的组织的自体荧光光谱、吸收系数光谱和散射系数光谱, 并对其进行了分析和对比, 报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验用组织样品来自28例外科手术切除的人胃腺癌标本. 本实验全过程除生理盐水外, 未使用其他任何试剂. 所有组织块在光学检测后送广东药学院附属第一医院作病理检查, 所用试剂、材料不详. 荧光光谱测定采用PE公司的LS-55荧光光谱仪(Perkin-Elmer, USA, model: LS-55), 吸收系数光谱和散射系数特性的测量Lambda 35紫外/可见分光光度计(Perkin-Elmer, USA, model: Lambda 35)及附件中的积分球(Labsphere, USA, model: RSA-PE-20).

### 1.2 方法

**1.2.1 样品的制备:** 实验用组织样品来自28例外科手术切除的人胃腺癌标本, 切除后立即用生理盐水冲洗掉表面的血液及分泌物, 在肿瘤中心区域取20 mm×20 mm以上全层组织块(光学检测后作病理检查证实全部均为胃腺癌), 同时在肿瘤可见边缘30 mm以外区域取20 mm×20 mm以上胃壁全层组织块(光学检测后作病理检查证实全部均未见肿瘤浸润), 将样品置于装有冷生理盐水(4℃以下)的器皿中, 3 h内在自然状态及室温为20℃环境下分别完成自体荧光光谱的测量. 然后尽快将样品用生理盐水保存于超

低温(-75℃)冰箱速冻冷藏. 吸收系数光谱和散射系数检测前, 将组织样品用冰冻切片机切割, 生成面积为12 mm×12 mm含胃壁全层的人胃腺癌组织样品及非肿瘤胃壁组织样品. 然后分别将组织样品在自然状态及室温为20℃环境下分别进行吸收系数光谱和散射系数特性的测量, 从手术切除到样品准备和测量全过程在24 h内完成.

**1.2.2 光学检测:** 将组织样品固定在样品支架上(黏膜面向上), 荧光光谱测定采用PE公司的LS-55荧光光谱仪. 设置狭缝宽度为2.0 nm, 分别用360 nm和390 nm波长激光激发组织发出自体荧光并测定其荧光强度, 扫描的波长范围设置在400-700 nm, 所有样品重复测量10次. 实验数据由荧光光谱仪配套软件采集及作统计学处理, 并自动生成荧光光谱曲线. 吸收系数光谱和散射系数特性的测量采用具有积分球附件的Lambda 35紫外/可见分光光度计, 该附件中的积分球内部直径为50 mm. 设置分光光度计的狭缝宽度为2.0 nm, 扫描的波长范围设置在300-1100 nm, 测定方式设置为反射. 在积分球的样品反射窗处放置角度为0度的样品支架, 将组织样品固定在样品支架上(黏膜面向上), 使得入射光入射到组织的黏膜面平面上的入射角为0度, 积分球所测量的反射率(不包括镜面反射)为组织样品的漫反射率Rs, 移去组织样品并在样品反射窗处放置硫酸钡反射板做参比, 积分球所测量的反射率(不包括镜面反射)为100%漫反射率R100, 移开样品反射窗处放置的硫酸钡反射板, 积分球所测量的反射率为零漫反射率R0. 人胃腺癌组织样品和非肿瘤胃壁组织样品在同样的实验条件下测量各项漫反射率, 每个组织样品的测量都使用同一块硫酸钡标准板作R100的定标, 每个组织样品分别按照上述过程在300-1100 nm光谱范围内重复测量10次, 获取的图像信号输送到电子计算机进行图像分析和数据处理.

## 2 结果

**2.1 自体荧光光谱曲线** 用360 nm波长激光激发的胃腺癌自体荧光光谱曲线与非肿瘤胃壁自体荧光光谱曲线相比, 两者曲线形状差异非常明显, 非肿瘤胃壁自体荧光光谱曲线为较平滑的单峰曲线, 而胃腺癌荧光光谱曲线则呈明显的双峰, 峰值明显低于非肿瘤胃壁自体荧光光谱曲线的峰值. 用390 nm波长激光激发的胃腺癌自体荧光光谱曲线与非肿瘤胃壁自体荧光光谱

### ■研发前沿

肿瘤组织光学特性的研究主要集中在肿瘤荧光光谱研究, 比较肯定的是正常组织和肿瘤组织发出的荧光光谱存在差异. 但由于激发波长不同, 产生荧光光谱曲线的形态相异, 如何选择激发波长目前尚不一致.

### ■相关报道

史晓凤 *et al*报道, 用偏最小二乘法(PLS)区分癌组织与正常组织的敏感度为83.3%, 特异度为95.2%, 阳性预测度为94.6%. 其识别胃癌的价值高于传统的光谱分析方法.

# 创新视点

本研究既检测了自体荧光光谱的差异,又检测了吸收系数和散射系数。从光谱的形态角度多层次分析胃腺癌标本的肿瘤区与非肿瘤区的光学指标差异。

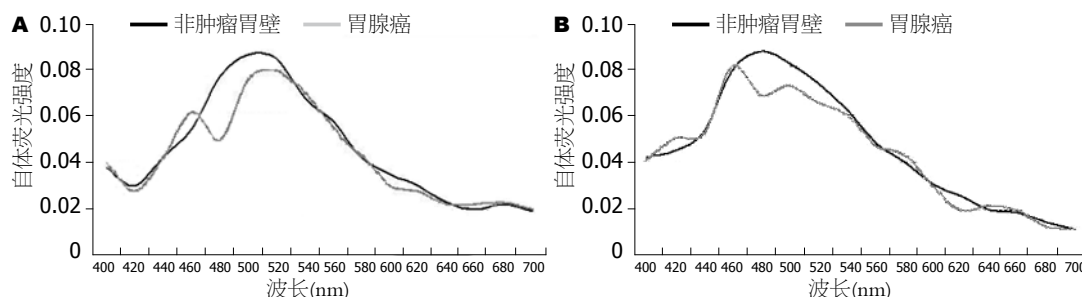


图1 激光激发胃腺癌组织与非肿瘤胃壁组织的自体荧光光谱曲线。A: 360 nm波长; B: 390 nm波长。

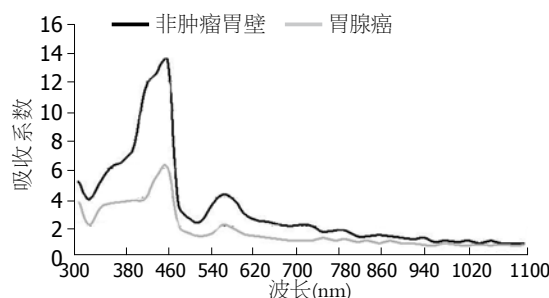


图2 胃腺癌组织与非肿瘤胃壁组织的吸收系数光谱。

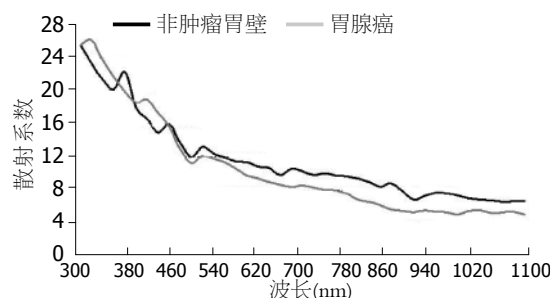


图3 胃腺癌组织与非肿瘤胃壁组织的散射系数光谱。

曲线相比,两者曲线形状差异非常明显,非肿瘤胃壁自体荧光光谱曲线为较平滑的单峰曲线,而胃腺癌荧光光谱曲线则呈不规则的多峰,峰值明显低于非肿瘤胃壁自体荧光光谱曲线的峰值,峰值所处波长位置前移。用不同波长激光激发的非肿瘤胃壁自体荧光光谱曲线的形状基本一致,均为较平滑的单峰曲线,而胃腺癌自体荧光光谱曲线的形状各异,呈现双峰或多峰形状,随着激发波长增大而变得更不规则,无论胃腺癌还是非肿瘤胃壁自体的自体荧光光谱曲线峰值所处波长位置随激发波长增大而前移(图1)。

**2.2 吸收系数光谱** 胃腺癌组织及非肿瘤胃壁组织对不同波长的激光的吸收系数均随着激光波长的增大而明显改变(图2)。最大值都在波长460 nm,非肿瘤胃壁组织为 $(13.52 \pm 0.54)/\text{mm}$ ,胃腺癌组织值 $(6.12 \pm 0.25)/\text{mm}$ ,两者比值达2.2,差异非常显著( $P < 0.01$ ),而最小值在波长1100 nm,非肿瘤胃壁组织为 $(0.8 \pm 0.06)/\text{mm}$ ,胃腺癌组织值 $(0.72 \pm 0.05)/\text{mm}$ ,两者非常接近,差异无显著性( $P > 0.05$ )。在波长300-720 nm范围,胃腺癌组织及非肿瘤胃壁组织的吸收系数有显著性的差异( $P < 0.01$ ),在波长720-1100 nm范围,胃腺癌组织及非肿瘤胃壁组织的吸收系数无显著性的差异( $P > 0.05$ ),其中在波长860-1100 nm范围,胃腺癌组织及非肿瘤胃壁组织的吸收系数渐趋一致。

**2.3 散射系数光谱** 胃腺癌组织及非肿瘤胃壁组织对不同波长的激光的散射系数均随着激光波

长的增大而明显减小(图3)。在波长300-480 nm范围,胃腺癌组织及非肿瘤胃壁组织的散射系数无显著性的差异( $P > 0.05$ ),在波长480-1100 nm范围,胃腺癌组织的散射系数明显低于非肿瘤胃壁组织的散射系数,有显著性的差异( $P < 0.01$ )。

## 讨论

胃癌是人类最常见的消化系肿瘤,严重威胁人类的健康和生命。目前临床上诊断胃癌的主要手段仍是胃镜和上消化道造影检查。上消化道造影检查只能检测到较大的肿瘤,对于体积小的肿瘤无法识别,且对肿瘤病理性质无法判断。胃镜检查能较直观地观察肿瘤但仍需取组织进行活检方可判断其病理性质。术界人士希望能在胃镜检查中在体、实时探测观察肿瘤并判断组织的病理性质。通过测量生物组织光学特性从而判断组织的病理性质<sup>[1-3]</sup>,有望实现。

目前,对肿瘤组织光学特性的研究主要集中在肿瘤荧光光谱研究,已有较多的实验结果表明,正常组织和肿瘤组织发出的荧光光谱存在差异<sup>[4-6]</sup>。人体组织内有许多能发出荧光的生物分子。由于癌组织的分子结构、代谢的改变导致荧光光谱的不同<sup>[7-9]</sup>,本文的荧光光谱曲线也清楚地显示人胃腺癌组织自体荧光光谱与非肿瘤胃壁组织自体荧光光谱有显著性差异,容易根据荧光光谱曲线识别胃腺癌与非肿瘤胃壁组织。生物分子有各自的最佳激发波长,不同生

物分子的荧光激发效率不同, 当激发激光波长变化时, 发出的荧光存在差异, 我们选用360 nm和390 nm波长激发的胃腺癌自体荧光光谱曲线与非肿瘤胃壁自体荧光光谱曲线也是随着激发波长变化而变化, 两者在荧光光谱曲线的形状的差异、峰值的差异及峰值所处波长位置的差异亦非在所有波长激发的荧光光谱曲线都具有显著性。

在生物医学光子学的研究及其应用, 测量组织的漫反射率和透射率也是组织光学特性非侵入法测量的一个重要组成<sup>[10-11]</sup>, 对于特定的生物组织以及特定的激光波长, 其吸收系数和散射系数是确定的<sup>[12]</sup>, 光在生物组织中传输与生物组织的光学特性密切相关<sup>[13]</sup>, 在生物组织中由光辐射所产生的空间分辨漫反射和透射特性含有组织的组份和结构等信息, 通过测量生物组织的空间分辨反射率能够定量地反映生物组织的吸收和散射特性, 从而判断组织的病理性质<sup>[14-15]</sup>。胃腺癌组织及非肿瘤胃壁组织吸收系数光谱和散射系数光谱在较大的波长范围内有显著性差异, 吸收系数在波长300-720 nm范围, 散射系数在波长480-1100 nm范围; 吸收系数最大值的差异更显著, 非肿瘤胃壁组织吸收系数最大值与胃腺癌组织的比值达2.2。值得注意的是, 临床上常用于胃肠道诊治的激光波长(488 nm, 514.5 nm, 532 nm, 630 nm和632.8 nm)均在该有显著性差异的波长范围; 这有利于将吸收系数光谱和散射系数光谱的检测推广应用于胃腺癌的临床诊断。

本文所提供数据因样品数有限, 尚不足以确立以自体荧光光谱、吸收系数光谱及散射系数光谱检测诊断胃腺癌的标准, 希望能为胃肠道肿瘤光谱诊断数据库的建立提供有意义的参考数据。

#### 4 参考文献

- 1 Mayinger B, Horner P, Jordan M, Gerlach C, Horbach T, Hohenberger W, Hahn EG. Endoscopic fluorescence spectroscopy in the upper GI tract for the detection of GI cancer: initial experience. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2616-2621
- 2 翟力平, 李世荣, 高草, 张继光, 丁华野, 华益慰. 激光诱发荧光光谱诊断结肠癌的可行性研究. *中华肿瘤杂志* 1998; 20: 76-77
- 3 唐伟跃, 王杰芳, 徐平. 胃癌组织拉曼光谱的研究. *中国激光* 2004; 25: 82-83
- 4 Silveira L Jr, Betiol Filho JA, Silveira FL, Zângaro RA, Pacheco MT. Laser-induced fluorescence at 488 nm excitation for detecting benign and malignant lesions in stomach mucosa. *J Fluoresc* 2008; 18: 35-40
- 5 Zheng W, Lau W, Cheng C, Soo KC, Olivo M. Optimal excitation-emission wavelengths for autofluorescence diagnosis of bladder tumors. *Int J Cancer* 2003; 104: 477-481
- 6 殷光中, 谭纪伏, 于常青, 窦晓鸣. 胃癌荧光光谱特性初步研究. *中国激光医学杂志* 2004; 13: 232-235
- 7 Shi XF, Ma J, Mao WZ, Li Y, Zheng RE, Meng JW. Applying partial least-squares discriminant analysis on autofluorescence spectra to identify gastric cancer. *Guangpuxue Yu Guangpu Fenxi* 2006; 26: 295-298
- 8 马君, 毛伟征, 李颖, 史晓风, 王荣, 郑荣儿, 孟继武. 自体荧光光谱检测胃浆膜识别胃癌组织. *中国激光医学杂志* 2005; 14: 74-79
- 9 Li BH, Xie SS. Autofluorescence excitation-emission matrices for diagnosis of colonic cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3931-3934
- 10 魏华江, 巫国勇, 何博华, 鲁建军, 张薇, 许静芬. 采用不同的光传输模型比较研究结肠的散射和吸收特性: 离体结肠肿瘤的光学诊断. *激光生物学报* 2006; 15: 445-452
- 11 彭亦学, 刘小林. 生物组织的折射率对漫反射光分布的影响. *激光生物学报* 2002; 11: 454-457
- 12 Bartek M, Wang X, Wells W, Paulsen KD, Pogue BW. Estimation of subcellular particle size histograms with electron microscopy for prediction of optical scattering in breast tissue. *J Biomed Opt* 2006; 11: 064007
- 13 魏华江, 邢达, 何博华, 陈雪梅, 巫国勇, 鲁建军. 无损光学法测量人胃粘膜/粘膜下层组织的光衰减特性. *激光生物学报* 2007; 16: 167-172
- 14 Key H, Davies ER, Jackson PC, Wells PN. Optical attenuation characteristics of breast tissues at visible and near-infrared wavelengths. *Phys Med Biol* 1991; 36: 579-590
- 15 Fawzy YS, Petek M, Tercelj M, Zeng H. In vivo assessment and evaluation of lung tissue morphologic and physiological changes from non-contact endoscopic reflectance spectroscopy for improving lung cancer detection. *J Biomed Opt* 2006; 11: 044003

#### ■同行评价

本研究设计合理, 方法先进, 结果阐述适当, 讨论具有针对性, 具有较好的临床参考价值。

编辑 李军亮 电编 何基才