

文章编号 :1007 - 2934(2007)03 - 0047 - 05

# 光谱诊断技术在现代医学中的应用

潘志方

邓 献

(肇庆学院物理系,肇庆市,526061) (罗定中学,罗定市,527200)

**摘 要** 本文重点介绍了激光光谱学在癌症和动脉粥样硬化斑块诊断研究方面的应用。

**关键词** 激光光谱;光谱诊断;现代医学

中图分类号:O4 - 33

文献标识码:A

## 1 引言

重大疾病的光学诊断和光动力学治疗是生物医学光子学的重要内容。其中光学诊断就是利用光学的方法检查和识别疾病,它分为光谱方法和成像方法。医学诊断的光谱方法主要指荧光光谱技术和拉曼光谱技术两种。荧光光谱技术比较适合于收集新陈代谢或结构机能的数据;而拉曼光谱技术多用于特定的研究目的,如研究蛋白质的结构或生物大分子的分子振动及转动特性等。用成像方法诊断重大疾病是一项高新技术,也是一项非常有生命力、用途非常大的诊断技术,它已引起各国物理学家、化学家和医学专家的极大关注。目前所讲的医学光学成像主要指光子转移技术、光学层析技术以及荧光寿命成像技术等。

人体组织中常常包含一些发光物质,当用一定波长的光激发人体组织时;它能发出荧光。如果扫描激发光的波长,探测总的荧光强度或者某一特定波长的荧光强度,此时得到的光谱称为荧光激发光谱;如果固定激发光的波长,记录荧光强度随荧光波长的变化而变化,此时得到的光谱称为荧光发射光谱。由此可以发现、识别肿瘤和动脉粥样硬化斑块的特征光谱或数学判据。

组织的荧光光谱研究又可分为自体荧光法和外加光敏物质荧光法两种。用激光激发能在人体病变组织中选择性滞留的外加光敏物质,该物质产生特征荧光光谱,由此来诊断疾病的方法称为外加光敏物质方法;如果不在外加光敏物质的前提下,人体组织受激光激发而产生的荧光是人体组织特征的反映,通常把它称为组织固有的自体荧光。

拉曼光谱技术是另外常用的医学光谱诊断技术,鉴于人们比较熟悉,在此不多介绍。

由于癌症和心血管病是严重威胁人类健康和生命安全的两大疾病,所以人们把医学光谱诊断的研究重点放在癌症和动脉粥样硬化斑块的识别和诊断方面。本文将重点介绍

收稿日期:2007 - 05 - 19

激光光谱学在癌症和动脉粥样硬化斑块诊断研究方面的应用。

## 2 癌症的光谱诊断

### 2.1 白血病的病况和早期诊断探讨

利用光声光谱技术可研究被氧化和还原的细胞素 C 处于固态或结晶态时的光声光谱。殷庆瑞等应用 OAS400 型光声光谱仪研究了血液病患者的全血样光声吸收光谱图。结果表明,光声光谱技术能够明显地区分出健康和患者之间的光谱差异。并且该实验操作简单,只需一滴血,在五分钟内就可得出结果。这种核技术可能在红细胞膜的表面分析以及在血液学研究方面获得进一步的应用。Poulet 等报道了用光声光谱技术研究人血中血红蛋白和载氧血红蛋白的光声光谱,并研究了人血的氧化作用的沉降速率等问题。郭周义等用光声光谱法对正常、白血病缓解、急性淋巴细胞白血病等不同类型的多例血样的全血谱的二个吸收峰进行了对比,并通过全血涂片染瑞士兰的方法,观察了血样中白细胞含量变化在图谱上的反映。

### 2.2 荧光光谱诊断

#### 2.2.1 外加光敏物质诊断

目前,最通用的光敏剂为血卟琳衍生物 (HPD),它既可用于诊断癌症,又可用于治疗癌症。低浓度的血卟琳衍生物通过静脉注射到人体中,各种类型的细胞都可吸收它。几天之后,正常组织释放它,并将之排出体外;而肿瘤组织却滞留它。如果用紫外激光或紫激光来激发它,可以诱导出荧光来。由于 HPD 在红光范围内具有双峰荧光结构(位于 630nm 和 690nm),因此,可以利用它来识别肿瘤。如果再利用一定的判据函数,并且测量出人体组织中不同位置的判据函数,就可以为癌症划界,为治疗癌症提供方便。

#### 2.2.2 自体荧光光谱诊断

自上个世纪 80 年代中期,人们对肿瘤组织的自体荧光进行了大量的研究,取得了可喜的进展,本文仅选其中的几例加以介绍。

(1) 美国纽约大学 R. Alfano 等人于 1990 年公布了一项用自体荧光诊断乳腺癌、宫颈癌、卵巢癌和子宫癌的专利。用波长为 300nm 的紫外光照射可疑组织,获得了荧光发射光谱,它的谱峰位于 340nm 处。通过计算波长为 340 与 440nm 处的荧光强度之比,发现肿瘤组织与良性瘤或正常组织有明显的区别,这为诊断妇科瘤提供了一种新方法。将它们与石英光纤相结合,可以对肿瘤进行诊断和定位,这在外科手术中也十分有用,它可以让外科医生知道肿瘤是否已被完全切除。

(2) 复旦大学叶衍明等人自 1984 年以来一直用  $Xe^+$  激光器研究肿瘤组织中自体荧光的来源及其肿瘤诊断中的应用。他们对多种癌组织进行了激光诱导荧光研究,经过对比分析,发现除了肺癌之外,癌组织的荧光光谱结构差异比较小,其谱峰位置都在 630nm 和 690nm 处。他们认为在该激发条件下,荧光和癌组织的细胞类型、形态及结构无关,而可能与癌组织生长过程中的某种共同特性有关。他们对 100 例以上的病人进行过临床诊断,与病理切片相比较,符合率达 89%。

(3) Tang 等人用连续  $Ar^+$  激光研究了癌组织的激光诱导荧光光谱。他们发现正常组织和癌组织荧光光谱的区别在于:在波长 540nm 和 576nm 处,光谱强度调制的有无和强弱,他们认为这是由于人体组织中含血红蛋白的多少造成的。在人体组织中,一些物质可

以发射荧光,而另一些物质可以吸收荧光即对荧光有自吸作用,因此造成了人体组织的光谱强度调制结构。

(4)上海生化所连少辉等人于1995年用 $N_2$ 激光器337nm激光(通过光纤传输)来激发宫颈癌组织,获得了它的荧光光谱。在癌组织的荧光光谱上,波长420nm和630nm附近出现两个特异的荧光峰。在波长470nm处,正常组织和癌组织都有荧光峰,不过癌组织荧光峰的强度明显低于正常组织。有人曾把420nm和630nm附近的荧光峰作为区别癌组织和正常组织的特征峰,已获得了成功,具有较高的符合率。

### 2.3 拉曼光谱诊断

物理学家和医学专家认为,尚未在分子水平上认识到在肿瘤诊断方面为什么拉曼光谱较荧光光谱更为明了和有效。当采用荧光光谱技术时,透射作用仅限制在300nm的深度,在这个深度之内,大约只有20个生物分子产生荧光。然而,若采用拉曼光谱技术,在近红外范围内进行观测,其观察深度可达1mm左右,并可得到特征识别方面的信息。正因为如此,有必要深入了解荧光光谱技术和拉曼光谱技术在诊断癌症方面的区别,并将其加以利用。例如:俄亥俄州大学McCreery小组正在研究乳房癌的拉曼光谱;宾州大学的一个研究小组正在把荧光光谱和近红外成像技术结合起来,研究大脑中新陈代谢的变化;德克萨斯大学Rebecca研究小组正在用拉曼光谱及荧光光谱检查子宫颈前期癌。

美国纽约大学超快光谱与激光研究所曾经申请了一项激光拉曼荧光装置(用于显微组织学)的专利。研究结果表明,这种拉曼装置可区分子宫中的癌组织与正常组织。它的弱点是:由于信号非常微弱,图像分析十分困难。

美国麻省理工学院激光生物医学中心开发了一种便携式半导体激光近红外拉曼光谱仪,用于血液化学分析。现在该系统正在作临床实验研究,医务人员已用它为患者检查早期乳腺癌、膀胱癌、冠状动脉以及周边动脉的粥样硬化斑块。

## 3 动脉粥样硬化斑块光谱诊断

人类动脉粥样硬化斑块从化学成分和物理结构来看;可分为两大类:(1)钙化型,由钙的沉积物形成;(2)非钙化型,它又可分为三类:纤维型(白色斑块)、脂肪型(黄色斑块)及混合型(纤维和脂肪等)。对上述几种不同类型的动脉粥样硬化斑块,应采用不同的激发波长,由此可产生几种不同类型的荧光光谱,于是就产生了不同的光谱识别算法或识别判据。

(1)1985年,美国Kittrell等人用波长为480nm的光研究了纤维类动脉粥样硬化斑块的诱导荧光光谱,发现它的荧光范围为500nm-700nm,正常动脉组织的荧光光谱是一个双峰结构,波长分别为550nm和600nm,其峰值强度基本相同。同样,动脉粥样硬化斑块的荧光光谱也有两个荧光峰,只不过波长为550nm的荧光峰的强度高于波长为600nm的荧光峰的强度。他们采用一个对比度函数来作为动脉粥样硬化斑块的判据。令对比度函数 $R$ 等于波长为600nm的荧光峰的 $I(600)$ 与波长为580nm的荧光谷的强度 $I(580)$ 之比,即 $R = I(600) / I(580)$ ,这是一个无量纲的量。在Kittrell等人所测试的动脉组织样品中,正常动脉组织的 $R$ 值大于1.72,而动脉粥样硬化斑块组织的 $R$ 值一般等了1左右。

(2)1988年,Laufer等人用波长为248nm的KrF准分子激光对正常动脉和动脉粥样硬化斑块组织进行了同时消融和识别研究,脉宽为16ns,每个脉冲的能量密度为 $5J/cm^2$ ,荧

光范围为 300nm - 700nm。正常动脉组织的荧光谱是一个宽带连续光谱,其中波长为 370nm 和 460nm 的两个荧光峰的强度几乎相同,它们的对比函数  $R = I(370)/I(460) = 1.004 \pm 0.087$ 。非钙化型动脉粥样硬化斑块两个荧光峰的波长仍为 370nm 和 460nm,但是,此时波长为 460nm 的荧光峰的强度明显减弱,它的对比度函数  $R = 1.765 \pm 0.263$ 。与正常组织的宽带连续荧光谱相比,钙化型动脉粥样硬化斑块给出了多线发射光谱,有多条清晰的谱峰位于 397、442、450、461、528 和 558nm 处。与此同时,他们也测量了随消融深度变化的三维光谱图。利用这些光谱可以识别出动脉粥样硬化斑块,判断动脉粥样组织消融的程度。用光学显微镜可以观察光消融组织时所产生的“弹壳”。光与物质的此类相互作用所产生的刻痕明显,界线清楚。

(3) 1992 年,我们采用 Ar<sup>+</sup> 激光诱导荧光装置研究了人体动脉组织的光谱。该装置用 Ar<sup>+</sup> 激光器作光源,激光波长为 488nm,用计算机控制实验。进行数据采集和处理。从荧光特征峰、光谱强度调制、荧光最大值 75% 的光谱宽度以及对比度函数等几个方面对动脉粥样硬化斑块的光谱特性进行了分析,得出了一些有意义的结果。同时,我们还证实了红血球对动脉硬化荧光光谱的影响,其吸收波长分别为 542nm 和 576nm。正是这些吸收,使人体动脉组织的荧光谱产生了光谱强度调制。

(4) 1992 年,上海激光研究所陈扬等人用氟分子激光诱导荧光光谱法对动脉粥样硬化斑块进行了诊断研究,得到了正常组织和粥样硬化斑块组织的荧光光谱。他们发现在正常组织光谱中,荧光峰的位置为 390nm 和 455nm 处;而在动脉粥样硬化斑块光谱中,荧光峰的位置为 390nm 和 438nm。为避免测量受激光功率、组织表面形态、光纤组织表面距离等因素的影响(这些因素通常不易准确控制),因此要选择一个无量纲的量作为对比函数

$$F = \frac{I_{390}(390\text{nm 处的荧光强度})}{I_{470}(470\text{nm 处的荧光强度})}$$

作为对正常组织和病变组织鉴别的判据,可以获得两者更明显的差异。他们从实验中得到正常组织的  $F$  值为

$$\bar{F} \pm SD = 0.91 \pm 0.20$$

而动脉粥样硬化斑块组织的  $F$  值为

$$\bar{F} \pm SD = 1.75 \pm 0.32$$

上式中  $\bar{F}$  为平均值,  $SD$  为标准偏差。他们认为可取  $F = 1.25$  作为阈值,来区分正常动脉组织和粥样硬化斑块组织。

(5) 1993 年,北京物理研究所徐积仁等人用 308nm 准分子激光对动物血管进行激光诱导荧光的研究。实验中,逐渐增加激光能量,直到可以消融动脉硬化斑块时,观察了激光诱导动物血管正常组织与斑块组织不同荧光谱,以及动物血管壁与斑块组织荧光谱,以便找出正常血管壁与斑块组织荧光光谱的差别。他们在动物血管荧光谱中发现两个荧光极值:一个位于 380nm 处;另一个位于 450nm 处。令  $R$  等于波长为 380nm 和 450nm 处的荧光强度之比,即

$$R = I(380)/I(450)$$

通过分析对比,发现对于正常主动脉内壁,  $R = 1.05 \pm 0.07$ ;对于动脉粥样硬化斑块组织,  $R = 1.32 \pm 0.10$ 。此二强度之比,有可能被用做激光心血管成形术的实时诊断和定位的

新手段。

(6)我们用双光束归一化光声光谱测量了由中山医科大学肿瘤研究所提供的三株人的鼻咽癌细胞 SUNE- 1 ,CNE- 1 和 CNE- 2 ,最小的是 CNE- 1 ,我们知 SUNE- 1 和 CNE- 2 是低分化癌细胞 ,CNE- 1 是高分化磷细胞。关于鼻咽癌辐射敏感性的体外实验表明 ,这种放射性和敏感性的差别是否与它们的表现的光声光谱特性差别存在内在的联系值得我们进一步研究。

我们用导数光声光谱技术测定鼻咽癌病人血的特征吸收峰。血样品制作时 ,取一滴血放在光声池自然凝固 ,干涸后测试 ,吸收谱采用二次测量方法获得 ,扫描范围是 340nm - 840nm ,锁向放大器的灵敏度为 20mV ,积分常数为 30s ,斩波采集卡的增益为 0 - 5V ,对碳黑 ,电压增益为 0 - 10V。由实验结果可以知 ,人的血液在 630nm 附近吸收峰是 、 、峰之后的一个新的吸收峰 ,由于 峰的吸收强 ,此峰演变为一个肩峰。我们对 40 例鼻咽癌病人的血液进行实验 ,其中 13 例吸收峰谱不明显。但从吸收谱的一阶导数和二阶导数发现 ,在 625nm 处所有病例均存在此肩峰。对 3 例正常人的全血进行测试 ,3 例吸收峰谱此峰不明显 ,但通过导数光声光谱技术 ,也发现 625nm 处存在此峰。由此可以得出结论 :

此峰存在于所有人血液光声光谱中。表明血液某种物质在 625nm 处有吸收。正常人血液光谱得此峰不明显 ,发生某种病变如血友病、鼻咽癌时 ,此峰明显 ,表明血液中该物质增加。确定此种物质是什么 ,弄清因为何种原因使得这种物质增加 ,从而控制该物质的增加 ,减少病变的发生 ,具有医学上的意义。

## APPLICATION OF SPECTRUM DIAGNOSIS IN MODERN MEDICINE

Pan Zhifang<sup>1</sup> Zheng Xian<sup>2</sup>

(1. Zhaoqing University ,Zhaoqing ,526061 ;2. Luoding Middle school ,Luoding ,527200)

**Abstract :**This paper focus on introducing application of laser spectroscopy in the cancer and arteriosclerosis plaque diagnosis.

**Key words :**laser spectroscopy ;spectrum diagnosis ;modern medicine