

氩离子激光的光学特性对离体人膀胱癌与膀胱组织的鉴别诊断

魏华江¹ 邢 达^{1*} 巫国勇² 鲁建军²

摘要:目的 研究 4 个波长 (476.5, 488, 496.5, 514.5 nm) 的 Ar⁺ 激光及其线偏振激光辐照人膀胱癌与人正常膀胱组织的光学特性参数的差异。方法 实验采用了双积分球系统和光辐射测量技术的基本原理以及运用生物组织的光学模型。结果 人膀胱癌和正常膀胱组织对 4 个波长中的任一波长的 Ar⁺ 激光及其线偏振激光的总衰减系数、吸收系数、散射系数、平均散射余弦、光学穿透深度、折射率均有极显著性差异 ($P < 0.01$), 而在 Kubelka-Munk 二流模型下人膀胱癌和膀胱组织对 4 个波长中的任一波长的 Ar⁺ 激光及其线偏振激光的吸收系数、散射系数、总衰减系数、有效衰减系数也有极显著性差异 ($P < 0.01$)。结论 提示采用双积分球系统和光辐射测量技术的基本原理以及运用生物组织的光学模型, 通过测定在 Kubelka-Munk 二流模型下人膀胱癌和正常膀胱组织分别对 476.5, 488, 496.5, 514.5 nm 激光波长的光学特性参数的差异, 可能是对病变的膀胱组织的鉴别诊断的一种有效方法。

关键词:膀胱肿瘤/诊断; 体外研究; 激光; Ar⁺ 激光; 双积分球系统; 线偏振激光

中图分类号: R737.14; R730.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-7431(2004)06-0581-04

Differential diagnosis with optical properties of human bladder cancer and bladder tissues at Ar⁺ laser irradiation in vitro WEI Hua Jiang¹ XING Da^{1*} WU Guoyong² LU Jianjun². (1. Institute of Laser Life Science, South China Normal University Guangzhou 510631, China; 2. First Affiliated Hospital of Zhongshan University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: Objective Differences of optical properties of human bladder cancer and human normal bladder tissues at 476.5, 488, 496.5 and 514.5 nm Ar⁺ laser and their linearly polarized laser irradiation were studied. **Methods** A double-integrating spheres system, basic principle of measuring technology of light radiation and biological tissues optical model were used for the study. **Results** There were a very significant differences for the total attenuation coefficients, absorption coefficients, scattering coefficients, mean cosine of scattering, penetration depth and refractive index for both human bladder cancer and human normal bladder tissues at each of four wavelengths of Ar⁺ laser and their linearly polarized laser irradiation ($P < 0.01$). By using Kubelka-Munk two-flux model, there were also very significant differences for absorption coefficients, scattering coefficients, total attenuation coefficients, and effective attenuation coefficients for both human bladder cancer and normal bladder tissues at each of four wavelengths of Ar⁺ laser and their linearly polarized laser ($P < 0.01$). **Conclusion** The results imply that it is likely an effective method for differential diagnosis of pathological bladder tissues by using a double-integrating spheres system, basic principle of measuring technology of light radiation, and Kubelka-Munk two-flux model by determining differences of optical properties of human bladder cancer and normal bladder tissues in vitro at 476.5, 488, 496.5 and 514.5 nm laser wavelengths.

Key words: Bladder neoplasms/ diagnosis; In vitro; Lasers; Ar⁺ laser; Double-integrating sphere system; Linearly polarized laser

目前用于临床的激光有氩离子激光、金蒸气激光、铜蒸气激光、倍频 YAG 泵浦染料激光、He-Ne 激光等。而无损伤光学检测、光动力学疗法等都必须

以精确地获得生物组织的光学特性作为重要基础。从组织光学的角度来看, 生物组织可看作是一种光学混浊介质, 生物体的生理特性变化或癌变等组织特性的变化都导致生物组织的光学特性参数的改变。Ar⁺ 激光常用于光动力治疗、血管瘤的激光治疗以及恶性肿瘤的激光荧光光谱分析。因此, 探测 Ar⁺ 激光对人膀胱癌组织和人膀胱组织的光学特性参数对于 Ar⁺ 激光应用于临床及医学诊断提供有参考价值的光信息。此外, 有研究表明: 在测定生物组织的吸收和确定其厚度时, 采用偏振光比采用非偏

基金项目: 1. 国家重大基础研究前期专项 (编号: 2002CCC00400)

2. 广东省自然科学基金团队项目 (编号: 015012)

作者单位: 1. 华南师范大学激光生命科学研究所 (广州 510631)

2. 中山大学第一附属医院

*通讯作者: Tel: 020-85210089

Fax: 020-85216052

E-mail: xingda@senu.edu.cn

振光要准确^[1],皮肤对偏振光强度的反射率随着皮肤被拉伸而增大^[2],采用线偏振光入射薄的生物组织还可以减少光轴上透射光中的散射成分^[3],提高测量准直透射光的精确度且可探讨其对组织的光学特性。本实验采用双积分球系统和光辐射测量技术及光传输的理论模型,测量了人膀胱癌和人膀胱组织对 476.5,488,496.5,514.5 nm 等 4 个波长的 Ar⁺激光及其线偏振激光的光学特性,并将实验结果进行对比分析。

1 材料与方法

1.1 样品的制备 把手术切除的患者新鲜离体正常膀胱和膀胱癌活组织用生理盐水冲洗干净,剥去样品外侧的脂肪组织,将样品均切为 18.5 mm × 18.5 mm 的面积,正常膀胱组织的厚度为(1.32 ± 0.05)mm,膀胱癌组织的厚度为(2.10 ± 0.08)mm,共 11 例,将样品固定于自行设计的样品夹上用于测量。自行设计的样品夹是用不透光的黑色薄片其中钻 2 个半径为 R_a = 6 mm 的圆孔,样品夹的外半径为 R_b = 12 mm。整个实验过程在 4 h 内完成。

1.2 生物组织光学特性参数的测量及其测量系统 人膀胱癌和人膀胱组织光学特性参数的测量是采用双积分球测量系统以及采用 Kubelka-Munk 二流

模型。双积分球测量系统以及测量方法和计算公式见文献^[4]。

1.3 统计学处理 实验数据以均数和标准差($\bar{x} \pm s$)表示,利用统计软件 SPSS10 的 *t* 检验分析。

2 结 果

实验激光及其线偏振激光对样品的两个侧面各作同样条件的 10 次测量,每次测量均改变激光对样品辐照的位置,所测数据有很好的重复性并用 EXCEL for windows 作处理。实验测得 4 个波长的 Ar⁺激光及其线偏振激光辐照组织内、外壁的漫反射率、漫透射率、镜面反射率、准直透射率和总衰减系数均没有显著性差异($P > 0.05$),因此,对内、外壁所测结果在同一波长下作平均值处理。

2.1 人膀胱癌和膀胱组织的光学特性参数 根据实验结果及公式^[4]可计算出人膀胱癌和膀胱组织对 4 个波长的 Ar⁺激光及其线偏振激光的光学特性参数(见表 1~6)。设:组织对激光的吸收系数、散射系数、总衰减系数、有效的衰减系数分别为 A_{KM}、S_{KM}、E_t、E_{eff}而对其线偏振激光的吸收系数、散射系数、总衰减系数、有效的衰减系数分别为 A*_{KM}、S*_{KM}、E*_t、E*_{eff}。

表 1 Kubelka-Munk two-flux model 下人膀胱癌组织对 Ar⁺激光及其线偏振激光的吸收系数、散射系数、总衰减系数和有效衰减系数

/nm	A _{KM} /cm ⁻¹	S _{KM} /cm ⁻¹	E _t /cm ⁻¹	E _{eff} /cm ⁻¹	A* _{KM} /cm ⁻¹	S* _{KM} /cm ⁻¹	E* _t /cm ⁻¹	E* _{eff} /cm ⁻¹
476.5	42.3 ± 0.25	8.23 ± 0.04	50.5 ± 0.32	49.9 ± 0.30	37.6 ± 0.22	8.95 ± 0.03	46.6 ± 0.25	45.7 ± 0.24
488.0	41.3 ± 0.24	8.15 ± 0.04	49.5 ± 0.29	48.8 ± 0.28	38.6 ± 0.23	10.6 ± 0.05	49.2 ± 0.30	48.1 ± 0.28
496.5	40.8 ± 0.23	6.39 ± 0.02	47.2 ± 0.27	46.8 ± 0.26	37.4 ± 0.22	13.0 ± 0.07	50.4 ± 0.31	48.7 ± 0.28
514.5	41.7 ± 0.24	6.98 ± 0.03	48.7 ± 0.28	48.2 ± 0.28	37.5 ± 0.22	10.3 ± 0.05	47.8 ± 0.24	46.7 ± 0.26

表 2 Kubelka-Munk two-flux model 下人正常膀胱组织对 Ar⁺激光及其线偏振激光的吸收系数、散射系数、总衰减系数和有效衰减系数

/nm	A _{KM} /cm ⁻¹	S _{KM} /cm ⁻¹	E _t /cm ⁻¹	E _{eff} /cm ⁻¹	A* _{KM} /cm ⁻¹	S* _{KM} /cm ⁻¹	E* _t /cm ⁻¹	E* _{eff} /cm ⁻¹
476.5	11.1 ± 0.07	12.8 ± 0.11	23.9 ± 0.22	20.2 ± 0.15	14.6 ± 0.13	11.3 ± 0.07	25.9 ± 0.24	23.3 ± 0.21
488.0	11.9 ± 0.08	11.3 ± 0.07	23.2 ± 0.21	20.3 ± 0.15	11.8 ± 0.08	11.7 ± 0.08	23.5 ± 0.21	20.4 ± 0.15
496.5	8.17 ± 0.05	13.4 ± 0.12	21.6 ± 0.18	16.9 ± 0.08	10.6 ± 0.06	13.6 ± 0.12	24.2 ± 0.22	20.0 ± 0.14
514.5	7.26 ± 0.04	11.9 ± 0.08	19.2 ± 0.15	15.0 ± 0.09	7.16 ± 0.04	17.9 ± 0.09	25.1 ± 0.23	17.5 ± 0.09

表 3 人膀胱癌组织对 4 个波长的 Ar⁺激光的总衰减系数、吸收系数、散射系数、平均散射余弦、光学穿透深度、折射率

/nm	μ _t /cm ⁻¹	μ _s /cm ⁻¹	μ _s /cm ⁻¹	g	l/cm	n
476.5	491 ± 11.3	21.2 ± 0.18	470 ± 10.8	0.962 ± 0.059	0.0201 ± 0.0013	1.59 ± 0.03
488.0	422 ± 10.2	20.7 ± 0.17	401 ± 9.87	0.956 ± 0.056	0.0205 ± 0.0014	1.52 ± 0.03
496.5	368 ± 10.2	20.4 ± 0.17	348 ± 8.91	0.956 ± 0.056	0.0214 ± 0.0015	1.51 ± 0.03
514.5	351 ± 10.1	20.9 ± 0.17	330 ± 8.34	0.951 ± 0.054	0.0207 ± 0.0014	1.48 ± 0.02

表 4 人膀胱癌组织对 4 个波长的线偏振的 Ar⁺ 激光的总衰减系数、吸收系数、散射系数、平均散射余弦、光学穿透深度、折射率

/nm	μ_t / cm^{-1}	μ_a / cm^{-1}	μ_s / cm^{-1}	g	/cm	n
476.5	467 ±10.9	18.8 ±0.15	448 ±9.56	0.959 ±0.058	0.0218 ±0.0016	1.61 ±0.03
488.0	412 ±9.23	19.3 ±0.17	393 ±8.93	0.948 ±0.051	0.0209 ±0.0014	1.55 ±0.03
496.5	345 ±8.22	18.7 ±0.15	326 ±8.25	0.928 ±0.045	0.0206 ±0.0013	1.53 ±0.03
514.5	321 ±8.13	18.8 ±0.15	302 ±7.61	0.934 ±0.047	0.0214 ±0.0015	1.49 ±0.02

表 5 人正常膀胱组织对 4 个波长的 Ar⁺ 激光的总衰减系数、吸收系数、散射系数、平均散射余弦、光学穿透深度、折射率

/nm	μ_t / cm^{-1}	μ_a / cm^{-1}	μ_s / cm^{-1}	g	/cm	n
476.5	78.9 ±0.312	5.55 ±0.23	73.4 ±0.227	0.742 ±0.037	0.0495 ±0.0025	1.40 ±0.02
488.0	70.6 ±0.219	5.95 ±0.25	64.7 ±0.219	0.737 ±0.032	0.0494 ±0.0025	1.38 ±0.01
496.5	60.7 ±0.213	4.09 ±0.17	56.6 ±0.218	0.660 ±0.028	0.0591 ±0.0031	1.43 ±0.02
514.5	51.6 ±0.217	3.63 ±0.14	48.0 ±0.154	0.644 ±0.023	0.0666 ±0.0045	1.39 ±0.01

表 6 人正常膀胱组织对 4 个波长的线偏振的 Ar⁺ 激光的总衰减系数、吸收系数、散射系数、平均散射余弦、光学穿透深度、折射率

/nm	μ_t / cm^{-1}	μ_a / cm^{-1}	μ_s / cm^{-1}	g	/cm	n
476.5	73.8 ±0.282	7.30 ±0.35	66.5 ±0.228	0.737 ±0.032	0.0429 ±0.0019	1.44 ±0.02
488.0	64.9 ±0.233	5.90 ±0.24	59.0 ±0.223	0.702 ±0.030	0.0491 ±0.0024	1.41 ±0.02
496.5	55.6 ±0.181	5.30 ±0.21	50.3 ±0.212	0.604 ±0.025	0.0499 ±0.0026	1.42 ±0.02
514.5	47.8 ±0.173	3.58 ±0.12	44.2 ±0.146	0.581 ±0.023	0.0649 ±0.0041	1.43 ±0.02

从表 1、表 2 可见, Kubelka-Munk 二流模型下人膀胱癌和正常膀胱组织对 4 个波长的 Ar⁺ 激光及其线偏振激光的吸收系数、散射系数、总衰减系数、有效衰减系数均有显著性差异 ($P < 0.01$)。

3 讨 论

光与生物组织相互作用时,会产生散射即光子可能被吸收和散射^[5~7]。而癌细胞的形态学特征与其起源的组织细胞的形态学特征均存在不同程度的差异,也称作异型性。细胞的形态学特征的异型性在组织光学的角度则认为构成混浊介质粒子的形状和大小等介质的成分和排列结构等的物理性质的不同,从而,其对光的吸收和散射也必然不同。因此,光与癌细胞相互作用时,光被癌细胞的吸收和散射与其起源的组织细胞对光的吸收和散射等光学特性必然存在一定的差异。线偏振光入射不同生物组织的解偏度是不同的,这些都与光的特性以及生物组织的成分和排列结构密切相关^[8~9]。本实验结果可见,人膀胱癌和正常膀胱组织对 4 个波长范围内的 Ar⁺ 激光的总衰减系数的值分别为 ($351 / \text{cm}^{-1} \sim 491 / \text{cm}^{-1}$) 和 ($51.6 / \text{cm}^{-1} \sim 78.9 / \text{cm}^{-1}$), 其对相应波长范围内的线偏振激光的总衰减系数的值分别

在 ($321 / \text{cm}^{-1} \sim 467 / \text{cm}^{-1}$) 和 ($47.8 / \text{cm}^{-1} \sim 73.8 / \text{cm}^{-1}$), 可见其总衰减系数都有极显著性的差异 ($P < 0.01$)。而其相应波长的吸收系数的值分别在 ($20.4 / \text{cm}^{-1} \sim 21.2 / \text{cm}^{-1}$) 和 ($3.63 / \text{cm}^{-1} \sim 5.95 / \text{cm}^{-1}$), 其对相应波长的线偏振激光的吸收系数的值分别在 ($18.7 / \text{cm}^{-1} \sim 19.3 / \text{cm}^{-1}$) 和 ($3.58 / \text{cm}^{-1} \sim 7.30 / \text{cm}^{-1}$), 可见其吸收系数也都有非常显著性的差异 ($P < 0.01$)。其相应的散射系数的值分别在 ($330 / \text{cm}^{-1} \sim 470 / \text{cm}^{-1}$) 和 ($48.0 / \text{cm}^{-1} \sim 73.4 / \text{cm}^{-1}$), 其对相应波长的线偏振激光的散射系数的值分别在 ($302 / \text{cm}^{-1} \sim 448 / \text{cm}^{-1}$) 和 ($44.2 / \text{cm}^{-1} \sim 66.5 / \text{cm}^{-1}$), 可见其散射系数也有极显著性的差异 ($P < 0.01$)。其相应的平均散射余弦的值分别在 ($0.951 \sim 0.962$) 和 ($0.644 \sim 0.742$), 其对相应波长的线偏振激光的平均散射余弦的值分别在 ($0.928 \sim 0.959$) 和 ($0.581 \sim 0.737$), 可见也有极显著性的差异 ($P < 0.01$)。其相应的光学穿透深度的值分别在 ($0.0201 / \text{cm} \sim 0.0214 / \text{cm}$) 和 ($0.0494 / \text{cm} \sim 0.0666 / \text{cm}$), 其对相应波长的线偏振激光的光学穿透深度的值分别在 ($0.0206 / \text{cm} \sim 0.0218 / \text{cm}$) 和 ($0.0429 / \text{cm} \sim 0.0649 / \text{cm}$), 可见其光学穿透深度也

(下转第 586 页)

39 ± 0.32 ng/ml 比 0.65 ± 0.21 ng/ml 和 0.71 ± 0.22 ng/ml, 并有统计学意义。胃癌组织中 uPA 和 uPAR 也明显高于良性胃、十二指肠溃疡对照组织, 提示 uPA 和 uPAR 对胃癌具有诊断意义, 这与 Ross 等^[4]和陈卫昌等^[5]报道结果相似。本研究表明: 胃癌患者血浆中 uPA 和 uPAR 随胃癌分期进展有递增趋势, I 期(早期)胃癌细胞浸润及转移的病理改变相对局限, uPA 和 uPAR 检测数值与正常对照比较无明显差异, 如 uPA 为 0.90 ± 0.21 ng/ml 比 0.65 ± 0.21 ng/ml, uPAR 为 0.99 ± 0.34 ng/ml 比 0.71 ± 0.22 ng/ml, ($P > 0.05$)。II - IV 期胃癌 uPA 和 uPAR 表现为逐步升高, 尽管各期之间数值区别无统计学意义, 但是提示较高的数值与较晚期的病变密切相关, 例如本实验中 II 期胃癌 uPA 和 uPAR 检测结果是 1.54 ± 0.42 ng/ml 和 2.44 ± 0.15 ng/ml, II 期胃癌 5 年生存率是 73.33%; 而 IV 期胃癌分别是 2.78 ± 0.27 ng/ml 和 3.12 ± 0.31 ng/ml, 其 5 年生存率为 0%, 本实验中同时检测的 p53、nm23 和 CEA 没有表现出类似特征。该结果提示 uPA 和 uPAR 与胃癌进展和预后有关。本实验病理结果还表明在低分化胃癌中 uPA 和 uPAR 有较高表达, 提示它们与分化较差的病理类型有关。

胃癌根治术后 2 周检查结果表明 uPA 和 uPAR 均有不同程度下降, 本组病例期望在随访过程中继续检测 uPA 和 uPAR 的变化, uPA 和 uPAR 在胃癌复发过程中的变化以决定其是否能作为复发和转移特异性的监测指标。这都是有待进一步研究的项目。

参 考 文 献

- [1] Wolf BB, Vasudevan J, Henkin J, et al. Nerve growth factor - activites soluble and receptor - bound single chain urokinase - type plasminogen activator[J]. J Biol Chem, 1993, 268: 16327
- [2] Dano K, Anderason PA, Grondahl - Hansen J, et al. Plasminogen activators, tissue degradation, and cancer[J]. Adv Cancer Res, 1985, 44: 139
- [3] Young TN, Rodriguez GC, Moser TL, et al. Coordinate expression of urinary - type plasminogen activator and its receptor accompanies malignant transformation of the ovarian surface epithelium. [J] Am J. Obstet Gynecol, 1994, 170(5): 1285
- [4] Ross WS, Anders NP, ELISA determination of soluble urokinase receptor in blood from healthy donors and cancer patients[J]. Clinical Chemistry, 1997, 43: 1868
- [5] 陈卫昌, 严辉, 彭群新等. 胃癌患者血中 uPA 测定及临床意义[M]. 苏州医学院学报, 2001, 21(4): 440

(收稿日期: 2004-10-10; 修回日期: 2004-10-21)

作者简介: 郑起, 男, 博士, 教授, 普外科主任。

(本文编辑: 严勤华)

(上接第 583 页)

有极显著性的差异 ($P < 0.01$)。其相应的折射率的值在 (1.48 ~ 1.59) 和 (1.38 ~ 1.43), 其对相应波长的线偏振激光的折射率的值在 (1.49 ~ 1.61) 和 (1.41 ~ 1.44), 可见其折射率也都有非常显著性的差异 ($P < 0.01$)。结果提示: Kubelka-Munk 二流模型下的人膀胱癌和正常膀胱组织对 Ar⁺ 激光的光学特性参数的显著差异, 有可能为临床诊断提供一种新的鉴别膀胱组织是否产生病变的手段和方法。

参 考 文 献

- [1] Yong KY, Morgan SP, Stockford IM, et al. Characterization of layered scattering media using polarized light measurements and neural networks [J]. J Biomed Opt, 2003, 8(3): 504
- [2] Guzelsu N, Federici JF, Lim HC, et al. Measurement of skin stretch via light reflection [J]. J Biomed Opt, 2003, 8(1): 80
- [3] Jianan Q, Calum M, Stephen L, et al. Optical properties of normal and carcinomatous bronchial tissue [J]. Appl Opt, 1994, 33(31): 7397
- [4] 魏华江, 邢达, 巫国勇, 等. 532nm 和 808nm 激光及其线

偏振激光辐照人正常膀胱与膀胱癌组织光学特性 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2003, 30(2): 209

- [5] Cheong WF, Prah SA, Welch AJ, et al. A review of the optical properties of biological tissues [J]. IEEE J Quantum Electron, 1990, 26(12): 2166
- [6] Wang LH, Liang G. Absorption distribution of an optical beam focused into a turbid medium [J]. Appl Opt, 1999, 38(22): 4951
- [7] Marquez G, Wang LH, Lin SP, et al. anisotropy in the absorption and scattering spectra of chicken breast tissue [J]. Appl Opt, 1998, 37(4): 798
- [8] Yao G, Wang LH. Propagation of polarized light in turbid media: simulated animation sequences [J]. Opt Exp, 2000, 7(5): 198
- [9] Li J, Yao G, Wang LH. Degree of polarization in laser speckles from turbid media: implications in tissue optics [J]. J Biomed Opt, 2002, 7(3): 307

(收稿日期: 2003-08-04; 修回日期: 2003-10-27)

作者简介: 魏华江, 男, 副教授。

(本文编辑: 严勤华)