



论文

基于 SERS 技术结合多变量统计分析胃癌患者血浆拉曼光谱

冯尚源^①, 潘建基^②, 伍严安^③, 林多^①, 陈燕坪^②, 席刚琴^①, 林居强^①, 陈荣^{①*}^① 福建师范大学物理与光电信息科技学院福建省光子技术重点实验室, 医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福州 350007;^② 福建省肿瘤医院检验科, 福州 350007;^③ 福建省立医院检验科, 福州 350007

* 联系人, E-mail: chenr@fjnu.edu.cn

收稿日期: 2010-12-06; 接受日期: 2011-05-24

国家自然科学基金(批准号: 60778046, 60910106016)和福建省自然科学基金(批准号: 2009J01276, 2008I0015 和 2008J0016)资助项目

摘要 利用人体血浆的表面增强拉曼光谱(SERS)并结合多变量统计方法对胃癌的无损诊断分析进行了研究. 检测了 32 例胃癌患者与 33 例正常健康人血浆 SERS 光谱, 利用主成分分析(PCA)并结合线性判别分析(LDA)建立 SERS 光谱诊断多元统计算法模型. 为验证所构建的 PCA-LDA 算法的有效性, 将利用受试样品的工作特征(ROC)曲线方法对所构建的算法有效性进行评价. 胃癌患者与正常健康人血浆 SERS 光谱之间的差别明显, 且实验存在较好的重现性, 利用 PCA-LDA 统计分析方法得到诊断特异性与灵敏度分别为 91% 与 79.5%. 通过 SERS 谱峰归属分析表明, 癌症患者血浆与正常人血浆在生化成分上存在一定的差异. 与正常健康人相比, 胃癌患者血浆中的核酸、胶原、磷脂以及苯丙氨酸成分偏高, 而氨基酸与糖类成分相对偏低. 研究表明, 血浆 SERS 光谱技术结合 PCA-LDA 统计分析能够很好地区分正常健康人与胃癌患者血浆. 血浆表面增强拉曼光谱技术有望发展为一种无损探测与筛查胃癌的临床诊断工具.

关键词表面增强拉曼光谱(SERS)
血浆
胃癌
诊断

拉曼光谱技术能够提供分子的振动/转动光谱信息, 光谱中带有分子的精细结构和特征指纹信息^[1], 其已成为物品鉴定和分子检测的重要技术之一. 同时拉曼光谱技术已被广泛应用于生命科学领域研究^[2-8], 通过检测人体组织或细胞内的生物大分子, 如蛋白质、核酸、脂类等物质的拉曼光谱, 来分析人体组织或细胞结构或组分的变化, 进而进行多种癌症的诊断已成为目前相关研究领域的热点. 陶家友等人^[9]、冷爱

民等人^[10]和黄鹰等人^[11]曾利用波长为 532 nm 的绿激光作为激发光源检测胃癌患者血清和细胞样本的拉曼光谱, 并与正常健康人样本进行对比研究, 对胃癌的筛查、预后监测及疗效判断都具有参考价值. 陶站华等人^[12]利用拉曼光谱分析顺铂诱导的胃癌细胞凋亡, 结果表明顺铂能够诱导胃癌细胞凋亡, 凋亡细胞内核酸和蛋白质含量降低. 张京伟等人^[13]、凌晓锋等人^[14]和唐伟跃等人^[15]对胃癌离体组织进行拉曼光谱

研究, 结果表明胃正常组织与胃癌组织在拉曼光谱上存在一定差异. 拉曼光谱检测有望成为胃癌诊断的一种有效辅助手段.

以上提到的国内多个课题组利用拉曼光谱进行有关胃癌的检测分析时, 均采用常规拉曼光谱技术. 但拉曼散射存在一个缺陷, 即分子的平均拉曼散射截面特别小, 特别对于生物分子而言, 其拉曼信号非常微弱^[16]. 为了提高生物样品的拉曼光谱信号强度, 往往需要加大激发光功率以及增加取谱时间, 但生物样品在大功率激光长时间照射下很容易发生变性, 且拉曼光谱信号很多时候还会受到生物自体荧光的强烈干扰, 因此会严重影响对生物样品拉曼光谱的检测与分析结果.

表面增强拉曼散射(surface enhanced Raman scattering, SERS)现象最早是由英国科学家 Fleischman 等人^[17]在 1974 研究吡啶的电化学实验中发现的. 所谓表面增强拉曼散射效应是指把分子吸附在具有纳米级粗糙度的金属表面使其拉曼散射信号获得巨大增强的现象. 利用表面增强拉曼散射效应, 不但能够很好地猝灭生物分子的荧光, 而且能够用相对较小的激光功率去激发生物分子, 获得理想的 SERS 信号, 对生物分子损伤比较小, 而且具有极高的检测灵敏度, 可以实现单分子检测. 因此, SERS 特别适合于对生物分子体系的研究^[18]. 近来, 表面增强拉曼光谱技术已经被广泛应用于生物医学研究, 包括对病毒、细菌以及 DNA 的检测^[19-21]. 对癌症的诊断是 SERS 技术在医学领域应用的另外一个重要方向. 当今, 国际许多研究小组是利用生物细胞中的抗原与抗体之间能够进行特异性吸附与识别的原理发展各种表面增强免疫探针, 利用 SERS 探针进行多种癌症的诊断^[22-29].

胃癌是中国常见的恶性肿瘤之一, 在中国其发病率居各类肿瘤的首位. 东亚、南美和东欧是胃癌的高发地区, 全世界每年有 60 多万人死于胃癌. 血液对于人体极其重要. 由于人体血液与人体健康状况密切相关, 当人体发生某种病变时, 很可能会在人体体液上有所体现, 而且人体血液也较易获取. 本实验室曾利用血浆的 SERS 检测方法对鼻咽癌进行诊断分析并获得了很好的预期效果^[30]. 本文利用血浆表面增强拉曼光谱技术结合多变量统计分析方法对胃癌的诊断进行分析.

1 材料与方 法

硝酸银, 质量分数 $\geq 99.8\%$, 购自上海试剂一厂; 氢氧化钠, 盐酸羟胺购自国药集团化学试剂有限公司. 实验中所用药品均为分析纯.

1.1 银溶胶制备与血浆样品的预处理

银溶胶的制备参考 Leopold 和 Lendl^[31]的方法, 具体步骤如下: 将 4.5 mL 的氢氧化钠溶液(0.1 mol/L)加入到 5 mL 盐酸羟胺溶液(0.06 mol/L)中, 然后将混合物快速添加到 90 mL 硝酸银溶液(0.0011 mol/L)中, 均匀搅拌直至得到均匀的乳灰色溶液. 利用紫外可见分光光度计检测银胶样品. 如图 1 所示, 这种方法制备出来的银胶吸收峰在 418 nm, 半宽为 100 nm. 图 1 中右上方的小图为银胶的透射电子显微镜图, 可以看出, 这种银纳米粒子的平均粒径为 34 nm 左右, 标准偏差为 5 nm. 用离心机 10000 r/min, 离心 10 min, 使银胶分层, 将上清液丢弃, 取下层浓缩的银溶胶在室温下避光封存备用.

实验选取福建省肿瘤医院确诊为胃癌的 32 例患者的血浆, 选取正常健康人的血浆 33 例作为对照组. 每例病人在无菌条件下抽取早晨 7~8 点间的隔夜空腹血液 3 mL, 加入浓度为 15 g/L 的 EDTA_{K2} 抗凝剂 10 μ L, 以防止血液凝固并离心(2000 r/min)15 min. 将下层血细胞丢弃, 取上层血浆作为样品. 利用该方法分别获得正常健康人与胃癌患者两组血浆样品. 利用移液枪从各组样本中取出各个血浆样本 200 μ L 加入经过无菌消毒处理的试管内. 并用移液枪向试管中

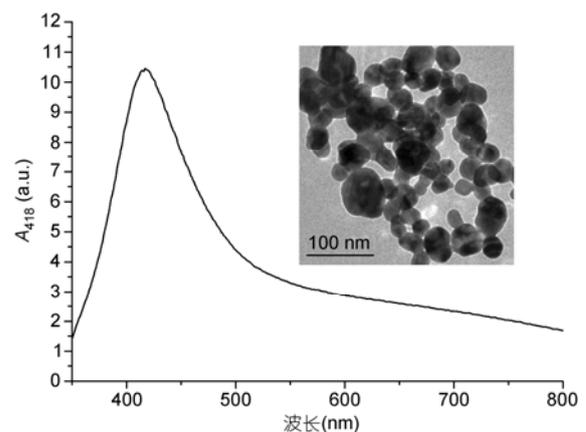


图 1 银胶的透射电子显微镜图与紫外-可见吸收光谱图

加入先前制备的离心后的银溶胶各 200 μL , 按照血浆与银溶胶体积比 1:1 混合. 将制得的所有混合溶液放入设定为 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱内进行孵育 2 h, 自然晾干后进行 SERS 光谱测试.

1.2 表面增强拉曼光谱检测

用移液枪将混合好的血浆-银溶胶混合液移至纯度为 99.99% 铝片样品台上, 自然晾干. 利用 Renishaw 共聚焦拉曼光谱仪检测样品, 所用的激发光波长为 785 nm 的半导体近红外激光, 重点检测 450~1800 cm^{-1} 波数范围, 以获得血浆的表面增强拉曼光谱. 设定测量参数: 显微镜头为 20 倍物镜, 积分时间为 10 s, 激发波长 785 nm, 激发光功率 5 mw. 每个样品在不同位置测试 3 条谱线, 并取其平均谱线作为后续分析使用.

2 结果与讨论

2.1 血浆表面增强拉曼光谱(SERS)

图 2 中的 A 与 B 两条谱线分别是银胶为增强基底的胃癌患者血浆的 SERS 光谱以及胃癌患者血浆的常规拉曼光谱. 图 2 中的 3 条谱线的测试条件完全相同. 对比 A 与 B 两条谱线, 可以发现人体血浆样品在银纳米粒子为增强基底其拉曼信号获得巨大增强. 而谱线 B 是没有银纳米粒子为增强基底的普通拉曼光谱, 只能看到在荧光背景轮廓下几条微弱的拉曼

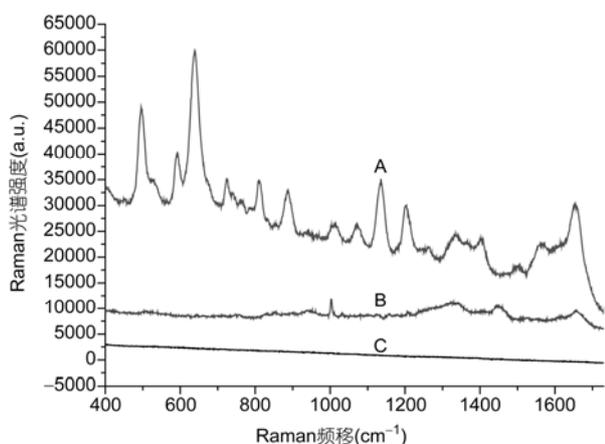


图 2 人体血浆、银胶与抗凝剂的拉曼光谱

A: 血浆与银胶体积比按 1:1 混合后测得血浆 SERS 光谱; B: 血浆常规拉曼光谱; C: 银胶与抗凝剂混合后拉曼光谱背景信号

谱峰信号. 由此可见, 银纳米粒子与血浆中的生化分子之间可能存在某种强烈的相互作用. 在这种相互作用下, 银纳米粒子与血浆分子可以很好地吸附在一起, 使血浆分子的拉曼散射信号获得极大的增强, 同时也可以很好地抑制生物分子中强烈的荧光干扰. 图 2 中, 谱线 C 是银溶胶与抗凝剂混合物的拉曼光谱背景信号. 由图 2 谱线 C 可以发现, 在本研究感兴趣的光谱范围内, 所制备的银纳米粒子不存在其他杂质信号的干扰.

为了减少不同样本之间光谱强度的变化造成的差异, 能够更精确进行光谱形状上的对比分析, 把所测量的 SERS 谱线首先进行五阶多项式拟合, 扣除荧光背景^[32], 提取纯 SERS 光谱信号. 然后把所有谱线在 450~1730 cm^{-1} 范围内进行面积归一化处理. 图 3 上方 SERS 谱线对比了 33 个健康人血浆面积归一化平均 SERS 光谱与 32 个胃癌患者血浆面积归一化平均 SERS 光谱之间的差异. 红色与黑色的谱线分别是对应胃癌患者与健康人的平均 SERS 光谱; 灰色与青色的阴影部分分别对应胃癌患者与正常健康人的 SERS 光谱标准偏差. 由图 3 谱线可见, 代表谱线标准偏差的阴影部分没有完全重叠, 胃癌患者与正常健康人的 SERS 光谱之间的差别明显且存在较好的重现性. 虽然胃癌患者与正常健康人在 SERS 光谱上存在明显差异, 但这两种血浆 SERS 光谱都能观察到如下几个主要的 SERS 谱峰: 494, 589, 638, 725, 813, 886, 1004, 1075, 1134, 1207, 1330, 1445, 1580 和 1653 cm^{-1} , 最强的 3 个谱峰是 494, 638 和 1134 cm^{-1} . 从图 3 的平均谱中可见, 正常人血浆 SERS 光谱在 494, 589, 638, 813 和 1134 cm^{-1} 5 个谱峰的位置, 胃癌患者的 SERS 强度比较大. 这些归一化平均 SERS 谱线的差异从图 3 下方的 SERS 差谱中表现得更加明显. 如在 1450 和 1580 cm^{-1} 两个谱峰位置, 从差谱中就可以发现胃癌患者与正常人存在非常明显的差异. 本文将在后面部分利用主成分分析并结合线性判别分析(PCA-LDA)的统计方法, 对正常人与癌症患者血浆 SERS 光谱在谱线形状上的差异进行更加细致的分析与讨论.

2.2 血浆 SERS 光谱统计分析

为了说明利用银纳米粒子为增强基质的人体血浆表面增强拉曼光谱能够区别正常人与胃癌患者,

对实验测试获得的正常人与癌症患者血浆 SERS 光谱利用主成分分析并结合线性判别分析(PCA-LDA)方法进行统计分析. 主成分分析能够对复杂的多维数据进行简化、降维处理, 提取出具有显著性差异、并且能够最好解释两组数据之间差异的变量进行后续分析处理. 进行统计分析的第一步是要对 SERS 光谱进行面积归一化. 由于光谱中的信息主要来自各谱峰相对强度和光谱形状上, 而谱峰的绝对强度与激光功率涨落、聚集情况等具体的实验条件有关, 而面积归一化可以消除由于实验条件的微小差异对实验结果的影响. 采用将 SERS 谱线按积分面积归一化的方法进行数据预处理. 首先, 对每条 SERS 谱线进行五阶多项式拟合, 扣除荧光背景干扰. 然后对每条谱线从 $450\sim 1730\text{ cm}^{-1}$ 这一感兴趣的波数范围数据进行面积归一化处理. 最后, 使用 SPSS 软件对健康人与癌症患者两组数据进行 PCA 统计分析. 多数情况下, 利用主成分分析获得的两组数据的主成分得分会有 20~30 个. 因此, 将利用独立变量 T 检验提取出最具有显著性差异的 PCA 得分. 由于每组样品的数量都只有 30 多个, 为了防止在进行后续 LDA 分析时产生数据过拟合现象, 只选取 PC1, PC2 和 PC7 这 3 个(P 远小于 0.05)PCA 分析得分进行后续的线性判别分析.

将经过 t 检验后选出最具有显著性差异的 PC1, PC2 和 PC7 3 个 PCA 得分, 画出三维散点分布图(图 4). 散点图中的 X, Y, Z 轴分别对应 PC1, PC2 和 PC7 3 个 PCA 得分数据. 图中 33 个正常人样品用黑色实心球表示, 32 个胃癌患者则用红色三角形表示. 从图中可以看出, 正常健康人与胃癌患者明显被区分出来, 它们分布在不同的空间区域, 虽然它们之间也有部分重叠. 由此表明, 利用 PCA 分析后可以直接对癌症患者与正常健康人的 SERS 光谱数据进行区分.

同时, 将正常人与胃癌病人组未做任何处理的原始 SERS 数据直接进行 PCA 统计分析, 并选择出最具显著性差异的 3 个主成分画出三维散点图(图 5). 由图 5 可见, 代表正常健康人的黑色实心圆与代表胃癌患者的红色三角形数据点在空间分布上与图 4 相比, 两组数据存在比较严重的重叠现象. 由此发现, 如果没有对原始血浆 SERS 数据进行数据预处理, 就会对诊断结果造成一定影响, 使诊断效果变差.

虽然经过 PCA 分析后, 从图 4 可以看出利用表面增强拉曼光谱检测血浆的方法可以对胃癌患者的诊断进行分析, 但为了进一步得到确切的诊断特异

性与灵敏度, 还需要将正常人与癌症患者两组数据的 PC1, PC2 和 PC7 3 个 PCA 得分数据通过 SPSS 软件做进一步线性判别分析(LDA). 在 LDA 分析过程中, 为了得到更加可靠的诊断结果, 同时还进行了交叉验证分析. 通过 LDA 分析后, 可以得到两组数据的晚验概率分布. 图 6 就是利用 LDA 分析后得到的晚验概率分布图, 由图可见, 当诊断线为 $P=0.5$ 时, 诊断的灵敏度与特异性分别达到 79.5%和 91%.

对原始 SERS 数据也进行 PCA-LDA 统计分析后, 发现其诊断灵敏度为 75%, 特异性为 66.7%; 与经过扣除荧光背景和面积归一化处理的数据统计结果相对比, 诊断效果变差. 特别是对于诊断特异性, 经过血浆 SERS 数据预处理后, 特异性获得很大提高. 这主要是由于本实验将所测量的 SERS 谱线首先进行五阶多项式拟合扣除荧光背景干扰, 再进行面积归一化处理, 能够消除微小实验误差造成的影响, 从而更好地体现癌症病人血浆与正常健康人血浆在 SERS 光谱谱形上的差异.

为验证所构建的 PCA-LDA 算法的有效性, 将利用受试样品的工作特征(ROC)曲线方法对所构建的算法进行评价. ROC 曲线将灵敏度与特异性以图示方法很好地结合在一起, 可确切反映某种分析方法特异性与敏感性之间的关系, 是诊断算法准确性的综合代表. 通过改变图 6 中诊断线所处的位置, 可以得到灵敏度随特异性变化的 ROC 曲线. 对 PCA-LDA 诊断模型所得到的判别函数得分进行 ROC 曲线分析, 如图 7 所示, 箭头所对应的点, 对应的灵敏度与特异性分别为 79.5%和 91%. ROC 曲线下的面积为 0.89, 表明 PCA-LDA 诊断模型具有较高的诊断灵敏度和特异性, 也说明本实验所构建的 PCA-LDA 算法具有较高的可靠性.

2.3 讨论

由实验结果分析发现, 正常人与胃癌患者的血浆在 SERS 光谱上存在较大的差异. 由于人体发生癌变, 与正常健康人相比, 癌症病人血浆 SERS 光谱在光谱形状以及谱峰强度上都有可能发生变化, 由此可进一步反映出癌症病人血液中某些分子或细胞会随着癌症病情的发展而发生改变. 所以血浆的表面增强拉曼光谱在胃癌的诊断与普查上可能存在巨大的应用价值. 血浆 SERS 光谱中包含有许多生物分子的振动光谱信息, 例如, 某些蛋白质、脂肪以及

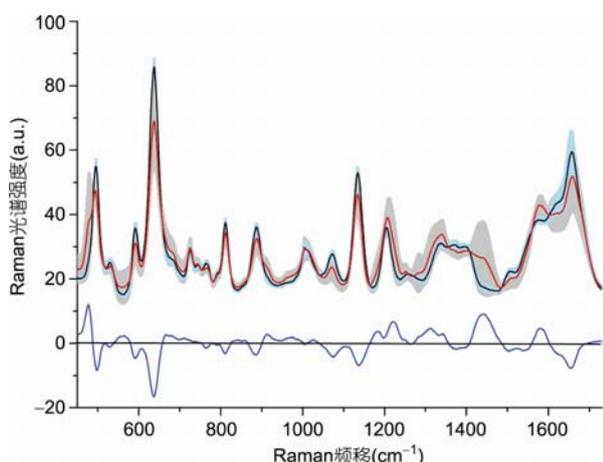


图 3 33 个正常人血浆平均 SERS 光谱(黑色)与 32 个胃癌患者血浆平均 SERS 光谱(红色)对比图

青色与灰黑色阴影分别代表正常人与胃癌患者 SERS 光谱的标准偏差. 下半部曲线代表正常人与胃癌患者血浆平均 SERS 光谱的差谱

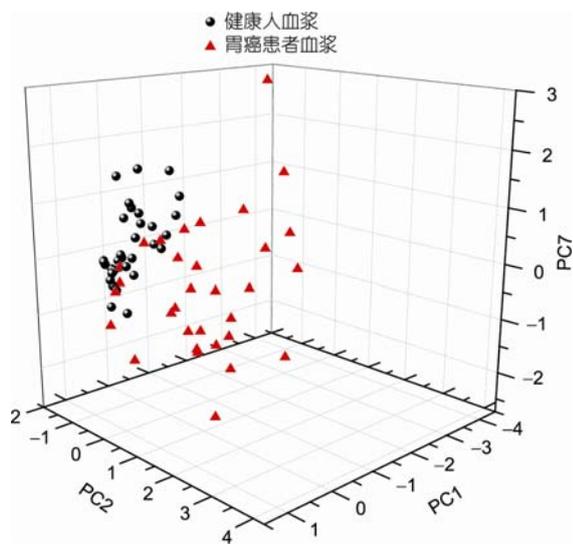


图 4 正常人(黑色圆形)与胃癌患者(红色三角形)血浆 SERS 光谱 PCA 得分三维散点图

X, Y 和 Z 轴分别对应 PC1, PC2 与 PC7

核酸分子等都有可能由于人体发生癌变使这些生物分子在数量或结构上发生某种变化. 为了更好地理解本实验所观察到的由于血浆 SERS 光谱变化所进一步反映出的生物分子变化的机理, 根据相关文献, 在表 1 中列出血浆 SERS 光谱中每个谱峰可能对应的谱峰归属情况^[33-39]. 例如, 位于 1330 cm^{-1} 处的 SERS 谱峰归属为核酸碱基中的 C-H 键的摇摆振动模式. 从平均 SERS 光谱中可以发现, 胃癌患者血浆在 1330

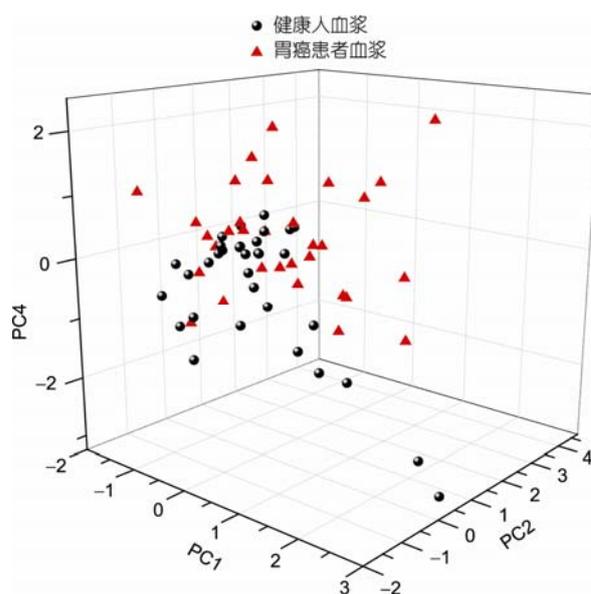


图 5 正常人(黑色圆形)与胃癌患者(红色三角形)血浆原始 SERS 光谱 PCA 得分三维散点图

X, Y 和 Z 轴分别对应 PC1, PC2 与 PC4

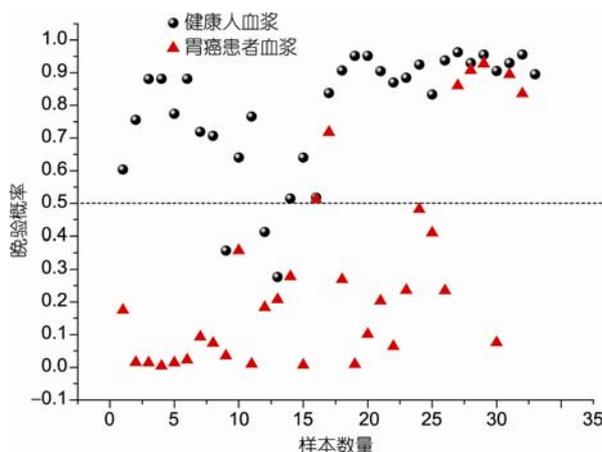


图 6 正常人与胃癌患者血浆 SERS 光谱经 PCA-LDA 分析后晚验概率分布图

黑色圆形代表正常人, 红色三角形代表胃癌患者. 图中诊断线所对应的概率为 $P=0.5$

cm^{-1} 处的 SERS 谱峰强度明显比正常健康人要强. 由此表明, 胃癌病人血液中核酸的含量高于正常健康人. 有许多文献报道, 在食道癌、乳腺癌、肝癌、肺癌以及前列腺癌病人中也观察到类似的现象^[40]. 而且这种血浆中游离态 DNA 含量的异常变化在人体发生癌变前可能就会被检测到. 至于在癌症病人的血液中观察到游离态的核酸含量水平增高的原因, 目前还没有完

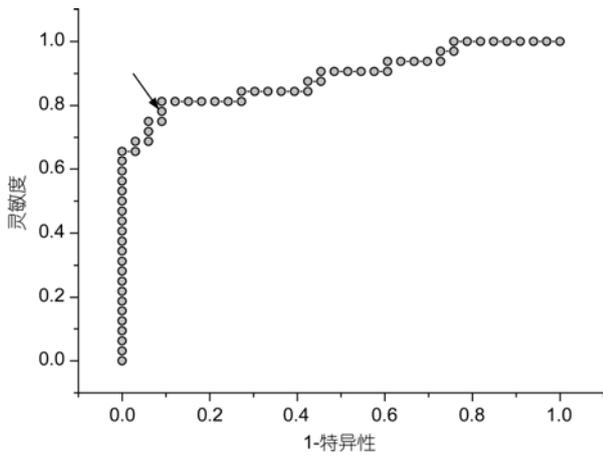


图7 基于PCA-LDA判别算法得出的正常人与胃癌患者血浆SERS光谱判别结果的ROC曲线图

全弄清楚. 有种可能的解释是, 细胞在凋亡、坏死或破损的过程中把游离态的DNA 释放到血液中^[41]. 由此表明, 通过检测血浆中游离态DNA SERS信号的变化或许可以用来监控癌症的发生与发展.

血浆SERS光谱中1445 cm⁻¹谱峰可以归属为胶原或磷脂C-H键的弯曲振动, 在胃癌患者血浆SERS光谱中这个峰的强度也较正常人大. 这个谱峰在相关文献中曾经被用来当做具有癌症诊断特异性的拉曼峰^[35]. 在胃癌患者血浆平均SERS光谱中, 1580 cm⁻¹这个谱峰强度明显比正常人高, 1580 cm⁻¹这个谱峰可能归属为苯基丙氨酸C=C的弯曲振动^[37]. 由

此可见, 在胃癌患者血浆中苯基丙氨酸的含量要明显高于正常人. Huang 等人^[2]在利用拉曼光谱研究肺癌组织时也观察到类似的现象. 在胃癌患者血浆平均SERS光谱中, 归属为糖类与氨基酸的5个振动峰: 589, 638, 813, 886和1134 cm⁻¹, 其强度都比正常人血浆低, 这表明癌症患者血浆中具有SERS活性的糖类与氨基酸含量比正常人血浆低. 其原因可能是由于发生癌变, 致使患者体内糖类与氨基酸的新陈代谢特别旺盛, 糖与氨基酸的消耗比较大. 这与许多癌组织生化分析的结论相吻合.

对原始的SERS光谱数据进行主成分分析, 能够对先前多维的原始数据进行降维处理, 通过寻找一系列原始变量的线性组合, 提取出能够代表整个光谱主要信息的几个主成分. 在对数据进行降维处理后, 主成分相对于不同波数的载荷系数能够反映出光谱的主要特征和差异的谱峰位置. 图4是胃癌患者与正常人血浆两类SERS数据的3个主成分得分三维分布图. 由图4可见, 这两类血浆SERS数据的主成分得分分布在两个不同的空间区域, 虽然它们之间有部分重叠, 但大部分能够明显区分出来. 而且正常人分布的区域比较小, 比较集中. 而癌症患者分布的空间区域较大、较分散. 究其原因, 可能是由于血液作为运输人体新陈代谢废物的主要媒质, 要负责传输溶解在其中的许多营养物质, 包括蛋白、脂肪和糖类等, 把这些营养物质输送到人体各处, 并进一步把营养物质送达人体细胞, 同时, 还要将人体细胞中的

表1 人体血浆SERS光谱可能的谱峰归属^{a)}

谱峰位置(cm ⁻¹)	振动模式	谱峰指认
494	ring vibration	纤维素, 鸟嘌呤, L-精氨酸
589		维生素C酸, 氨基化合物
638	ν (C-S)	L-酪氨酸, 乳糖
725	δ (C-H)	腺嘌呤, 辅酶
813	ν (C-C-O)	L-丝氨酸, 谷胱甘肽
886	δ (C-O-H)	谷胱甘肽, 半乳糖胺
959	ν (C-C)	α -helix, 脯氨酸, 缬氨酸
1004	vs(C-C)	苯基丙氨酸
1074	ν (C-N)	胶原
1095	ν (C-N),	D-mannos
1134	ν (C-N),	D-mannos,
1207	ring vibration	L-色氨酸, 苯基丙氨酸
1330	ν (C-H)	核酸碱基
1445	δ (CH ₂)	胶原, 磷脂
1580	δ (C=C)	苯基丙氨酸, 乙酰乙酸, 核黄素
1654	ν (C=O)	α -helix, 胶原

a) ν : 伸缩振动; δ : 弯曲振动; vs: 对称伸缩振动

许多新陈代谢的废物带走并排出体外。因此, 人体血浆中的成分相当复杂、多样。对于正常健康人来说, 由于其处于正常的生理状态, 血浆中的各种成分含量相对比较稳定。但是在病理状态下, 随着癌组织的分化发展, 人体血浆中各种成分将可能会发生较大变化, 同时, 不同病人之间也会有很大的差异。可能正是由于这些差异, 造成癌症病人 PCA 得分三维散点分布图在空间分布的区域比较大, 而且比较松散; 而正常人由于其成分相对比较稳定, 因此其分布比较集中。

3 结论

本文利用表面增强拉曼光谱并结合多变量统计

分析方法来研究胃癌患者与正常健康人血浆。以银纳米粒子为增强基底的血浆表面增强拉曼光谱结合 PCA-LDA 统计分析可用于胃癌的检测与诊断研究, 诊断特异性与灵敏度可以分别达到 91% 与 79.5%。通过表面增强拉曼光谱谱峰归属分析表明, 胃癌患者血浆与正常人血浆在生化成分上存在一定的差异。与正常健康人相比, 胃癌患者血浆中的核酸、胶原、磷脂以及苯丙氨酸成分偏高, 而氨基酸与糖类成分相对偏低。这些变化可能是由于癌症患者体内新陈代谢的改变所引起。PCA 结合 LDA 统计分析能够很好地区分正常人与胃癌患者血浆。以上结果表明, 血浆的表面增强拉曼光谱分析很有希望发展为一种无损检测与筛查胃癌的临床诊断工具。

参考文献

- 1 Gremlich H U, Yan B. Infrared and Raman Spectroscopy of Biological Materials. New York: Marcel Dekker, 2000. 195–245
- 2 Huang Z, McWilliams A, Lui H, et al. Near-infrared raman spectroscopy for optical diagnosis of lung cancer. *Int J Cancer*, 2003, 107: 1047–1052
- 3 Manoharan R, Shafer K, Perelman L, et al. Raman spectroscopy and fluorescence photon migration for breast cancer diagnosis and imaging. *Photochem Photobiol*, 1998, 67: 15–22
- 4 Shim M G, Wong L K S, Marcon N E, et al. *In vivo* near infrared Raman spectroscopy: demonstration of feasibility during clinical gastrointestinal endoscopy. *Photochem Photobiol*, 2000, 72: 146–150
- 5 Mahadevan-Jansen A, Mitchell M F, Ramanujam N, et al. Near infrared Raman spectroscopy for *in vitro* detection of cervical precancers. *Photochem Photobiol*, 1998, 68: 123–132
- 6 Stone N, Stavroulaki P, Kendall C, et al. Raman spectroscopy for early detection of laryngeal malignancy: preliminary results. *Laryngoscope*, 2000, 110: 1756–1763
- 7 Lau D, Huang Z, Lui H, et al. Raman spectroscopy for optical diagnosis in normal and cancerous tissue of the nasopharynx—preliminary findings. *Laser Surg Med*, 2003, 32: 210–214
- 8 Feng S, Lin J, Cheng M, et al. Gold nanoparticle based surface-enhanced Raman scattering spectroscopy of cancerous and normal nasopharyngeal tissues under near-infrared laser excitation. *Appl Spectrosc*, 2009, 63: 1089–1094
- 9 陶家友, 黄鹰, 蔺蓉, 等. 拉曼光谱检测胃癌变信号的研究. *激光生物学报*, 2007, 16: 238–240
- 10 冷爱民, 王华秀, 阳静, 等. 激光拉曼光谱在胃癌研究中的应用. *中国现代医学杂志*, 2009, 19: 2015–2019
- 11 黄鹰, 陶家友, 蔺蓉, 等. 用激光拉曼光谱区分胃癌变细胞与正常细胞. *光谱学与光谱分析*, 2007, 27: 2262–2265
- 12 陶站华, 姚辉璐, 王桂文, 等. 利用拉曼光谱分析顺铂诱导的胃癌细胞凋亡. *光谱学与光谱分析*, 2009, 29: 2442–2445
- 13 张京伟, 沈爱国, 魏芸, 等. 胃癌和胃正常黏膜拉曼光谱检测. *生物医学工程学杂志*, 2004, 21: 910–912
- 14 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
- 15 唐伟跃, 王杰芳, 徐平. 胃癌组织拉曼光谱的研究. *激光杂志*, 2004, 25: 82–83
- 16 Ellis D I, Goodacre R. Metabolic fingerprinting in disease diagnosis: biomedical applications of infrared and Raman spectroscopy. *Analyst*, 2006, 131: 875–885
- 17 Fleischman M, Hendra P J, McQuillan A J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem Phys Lett*, 1974, 26: 163
- 18 Kneipp K, Kneipp H, Itzkan I, et al. Surface-enhanced Raman scattering: a new tool for biochemistry spectroscopy. *Curr Sci*, 1999, 77: 915
- 19 Zhang X, Young M A, Lyandres O, et al. Rapid detection of an anthrax biomarker by surface-enhanced Raman spectroscopy. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 4484
- 20 Zhang X, Zhao J, Whitney A V, et al. Ultrastable substrates for surface-enhanced Raman spectroscopy: Al₂O₃ overlayers fabricated by atomic layer deposition yield improved anthrax biomarker detection. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 10304–10309
- 21 Bell S E J, Mackle J N, Sirimuthu N M S. Quantitative surface-enhanced Raman spectroscopy of dipicolinic acid-towards rapid anthrax endospore detection. *Analyst*, 2005, 130: 545–549
- 22 Taton T A, Mirkin C A. Scanometric DNA array detection with nanoparticle probes. *Science*, 2000, 289: 1757–1760

- 23 Cao Y W C, Jin R C, Mirkin C A. Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection. *Science*, 2002, 297: 1536–1540
- 24 Ji X, Xu S, Wang L, et al. Immunoassay using the probe-labeled Au/Ag core-shell nanoparticles based on surface-enhanced Raman scattering. *Colloid Surface A*, 2005, 257–258: 171–175
- 25 Qian X, Peng X, Ansari D O, et al. *In vivo* tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags. *Nat Biotechnol*, 2007, 26: 83–90
- 26 Ni J, Lipert R J, Dawson G B, et al. Immunoassay readout method using extrinsic Raman labels adsorbed on immunogold colloids. *Anal Chem*, 1999, 71: 4903–4908
- 27 Grubisha D S, Lipert R J, Park H Y, et al. Femtomolar detection of prostate-specific antigen: an immunoassay based on surface-enhanced Raman scattering and immunogold labels. *Anal Chem*, 2003, 75: 5936–5943
- 28 Driskell J D, Kwarta K M, Lipert R J, et al. Low-lever detection of viral pathogens by a surface-enhanced Raman scattering based immunoassay. *Anal Chem*, 2005, 77: 6147–6154
- 29 Driskell J D, Uhlenkamp J M, Lipert R J, et al. Surface-enhanced Raman scattering immunoassays using a rotated capture substrate. *Anal Chem*, 2007, 79: 4141–4148
- 30 Feng S, Chen R, Lin J, et al. Nasopharyngeal cancer detection based on blood plasma surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis. *Biosens Bioelectron*, 2010, 25: 2414–2419
- 31 Leopold N, Lendl B. A new method for fast preparation of highly surface-enhanced Raman scattering (SERS) active silver colloids at room temperature by reduction of silver nitrate with hydroxylamine hydrochloride. *J Phys Chem B*, 2003, 107: 5723–5727
- 32 Zhao J, Lui H, Mclean D I, et al. Automated autofluorescence background subtraction algorithm for biomedical Raman spectroscopy. *Appl Spectrosc*, 2007, 61: 1225–1232
- 33 Han H, Yan X, Dong R, et al. Analysis of serum from type II diabetes mellitus and diabetic complication using surface-enhanced Raman spectra (SERS). *Appl Phys B*, 2009, 94: 667–672
- 34 Uzunbajakava N, Lenferink A, Kraan Y, et al. Nonresonant Raman imaging of protein distribution in single human cells. *Biopolymers*, 2003, 72: 1–9
- 35 Liu C H, Das B B, Glassman W L, et al. Raman, fluorescence, and time-resolved light scattering as optical diagnostic techniques to separate diseased and normal biomedical media. *Photochem Photobiol*, 1992, 16: 187–209
- 36 Andrade P O, Bitar R A, Yassoyama K, et al. Study of normal colorectal tissue by FT-Raman spectroscopy. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 387: 1643–1648
- 37 Stone N, Stavroulaki P, Kendall C, et al. Raman spectroscopy for early detection of laryngeal malignancy: preliminary results. *Laryngoscope*, 2000, 110: 1756–1763
- 38 Gelder J D, Gussem K D, Vandenabeele P, et al. Reference database of Raman spectra of biological molecules. *J Raman Spectrosc*, 2007, 38: 1133–1147
- 39 Lyng F M, Faoláin E Ó, Conroy J, et al. Vibrational spectroscopy for cervical cancer pathology, from biochemical analysis to diagnostic tool. *Exp Mol Pathol*, 2007, 82: 121–129
- 40 Banki F, Yacoub W N, Hagen J A, et al. Plasma DNA is more reliable than carcinoembryonic antigen for diagnosis of recurrent esophageal cancer. *J Am Coll Surgeons*, 2008, 37: 30–35
- 41 Gormally E, Caboux E, Vineis P, et al. Circulating free DNA in plasma or serum as biomarker of carcinogenesis: practical aspects and biological significance. *Mutat Res-Rev Mutat*, 2007, 635: 105–117