



涎腺粘液表皮样癌的傅里叶变换显微红外光谱面扫描 (FTIR-Mapping) 研究

No.FTIR-001

摘要：通过FTIR显微镜对粘液表皮样癌肿瘤切片实施细胞水平的红外光谱测定，结合显微红外面扫描技术 (Mapping Technique) 采集得到肿瘤组织不同位置的光谱及其组份的分布情况。对照病理学辨认结果，可对光谱进行分类，以期从微观的角度为红外光谱技术应用于无创、在体原位肿瘤检测提供实验依据。

关键词：FTIR 显微镜 面扫描技术 粘液表皮样癌 无创原位检测

粘液表皮样癌是一种常见的涎腺肿瘤，这类癌通常由粘液细胞、表皮样细胞和中间细胞所组成。根据癌细胞的分化程度和生物学特点可以将这种癌分为高分化、中分化、低分化三型。高分化型粘液表皮样癌，粘液细胞增殖较多，占50%以上，粘液细胞破裂形成粘液池，在中分化和低分化型癌中，表皮样细胞增殖较多而成实性团块，向周围组织浸润。

我们通过FTIR显微镜对这种类型肿瘤切片实施细胞水平的红外光谱测定，得到不同种类细胞的红外光谱，并且利用显微红外面扫描Mapping技术对整个肿瘤团块进行逐点扫描，得到肿瘤组织不同位置的红外光谱。获得红外光谱后的样品用0.1%甲苯胺兰染色，对切片进行细胞水平上的病理辨认，从而可以对光谱进行分类。

实验标本由北京大学口腔医院提供，将手术切除的新鲜组织置于液氮中冷却，再冰冻切片，将厚度约为10 μm样品附着在BaF₂片上，随后固定在特制的Al样品架上进行测定。三个样品中，样品1和2诊断为高分化的粘液表皮样癌，样品3诊断为中分化的粘液表皮样癌。

实验仪器采用IR-Prestige21傅里叶变换红外光谱仪，并配备AIM-8800红外显微镜。对部分样品进行面扫描测定红外光谱时 (Mapping)，光阑大小为40 μm*40 μm，扫描范围为900cm⁻¹、800cm⁻¹，扫描次数为60次，光谱分辨率为8cm⁻¹。对于普通的点扫描，光阑大小和分辨率不变，扫描范围设定为900cm⁻¹–4,000cm⁻¹，扫描次数120 (或 160) 次。光谱数据处理的软件为IR-solution。

实验中，我们发现了肿瘤团核心部位以及其周围结

缔组织的光谱存在显著的差异。图1A为样品1肿瘤团块区域未染色前照片，图1B为该区域675 μm*630 μm范围内扫描的Mapping示意图，图中每个小方框为一个40 μm*40 μm的扫描区域，共计210个点；图1C为对整块样品光谱采集完成后染色的照片，样品中间为粘液组织，周围一圈深染的组织为表皮样细胞，外周是结缔组织；图1D是以所得光谱1,080cm⁻¹处谱带强度对1,654cm⁻¹处蛋白质酰胺I带峰强度的比值为第三维变量所绘的等高线图，并进行着色，图中颜色深浅表示该比值的高低。Mapping的结果直观地反映了肿瘤团以及周围组织在光谱上的差异，从显微红外Mapping数据处理所得红外光谱图像 (图1D) 与组织染色(图1C)的结果基本一致。

图2自上而下依次为样品1结缔组织、表皮样细胞、粘液的红外光谱，分别展示了粘液表皮样癌三种组织的典型光谱。图3显示两个诊断为高分化粘液表皮样癌的样品1和样品2粘液之间的光谱，两者都符合肿瘤组织光谱的一般特征，峰强度的比值I(1080cm⁻¹)/I(1654cm⁻¹)较高，其中前者的比值明显比后者更高。由此看出光谱数据可为病理诊断提供辅证。图4为样品3肿瘤团外周的结缔组织与肿瘤团内部伴生的结缔组织光谱的比较。病理学认为同类的组织仍然具有光谱学的差异。肿瘤团内部的结缔组织随着肿瘤生长而形成，为肿瘤组织提供营养，相应的光谱更接近于肿瘤组织的光谱，而肿瘤团外周结缔组织的光谱根据有关文献可以认为是正常的。目前医学上对于肿瘤组织的形成有不同看法，我们得到的红外光谱有助于从分子水平认识癌化机理。

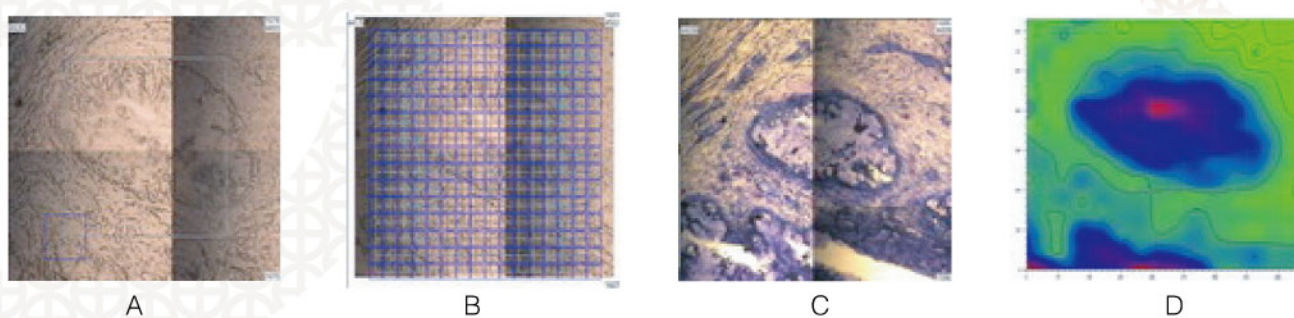


图1 (A) 癌组织切片的显微照片(675 μm *590 μm 区域)
 (B) 面扫描的区域;
 (C) 经甲苯胺兰染色的癌组织切片显微照片;
 (D) 面扫描图象 (1080 cm^{-1} /1654 cm^{-1} 峰高比值的二维分布)

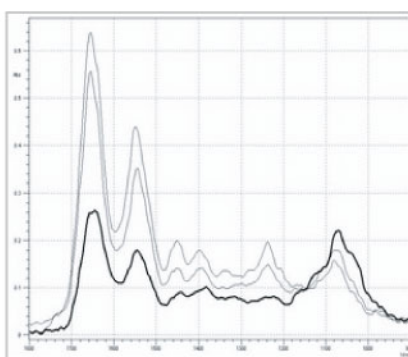


图2

图2. 两类癌组织的红外光谱

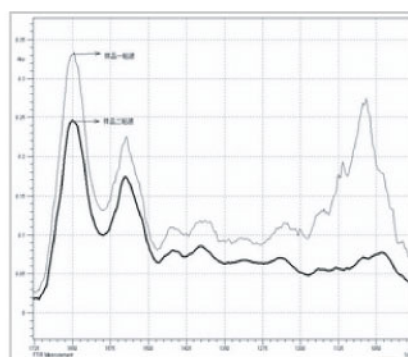


图3

图3. 两类粘液的红外光谱

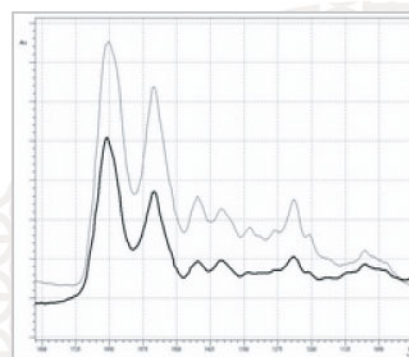


图4

图4. 两类结缔组织的红外光谱

傅里叶变换显微红外光谱以其独特的优点提供了一种从分子角度研究细胞癌化机理的手段。结合显微红外面扫描 Mapping 技术, 得到生物组织的红外光谱图像; 将获得的大量光谱通过数学方法分类, 建立模型, 可望成为肿瘤诊断的辅助方法。并可以从微观的角度为红外光谱技术应用于无创、在体原位肿瘤检测提供实验依据。