

小剂量血卟啉 OMA 系统荧光诊断肿瘤

朱 菁 徐 键 杨远龙 李永飙 戴胜国 胡运彪 柯 玲 张慧国 胡国强

(上海第二医科大学附属仁济医院上海市激光医学研究中心 上海 200001)

提要 以 2 mg/kg 剂量的血卟啉衍生物(HpD)对 43 例患者进行荧光诊断,其中 35 例为肿瘤患者,8 例为非肿瘤患者。以光学多道分析仪(OMA)系统记录和分析荧光光谱。数据经归一化处理,肿瘤患者的标本荧光强度平均值为 1.18 ± 0.13 ,而非肿瘤患者标本的平均值为 1.00 ± 0.06 ,以前者下限 1.05 为标准诊断肿瘤,其阳性率为 91.4%。

关键词 小剂量血卟啉,肿瘤,OMA 荧光诊断

1 引 言

自发现恶性肿瘤组织对血卟啉衍生物(HpD)有特异性吸收的特性以来^[1],HpD 已被用于诊断和治疗多种肿瘤^[2,3],而且对于内窥镜诊断呼吸系统、消化系统、泌尿系统的肿瘤更有意义,由于这些部位的早期肿瘤很小,其厚度往往只有几层细胞,因此肉眼不容易观察到,注射 HpD 后肿瘤会在激光激发下发出红色荧光,其波峰位于 630 nm 及 690 nm 附近,通过光学多道分析仪(OMA)分析其特征光谱,可以指示活检的部位,增加诊断的准确性。HpD 的临床推荐剂量为 5 mg/kg,但 HpD 有皮肤光敏反应的副作用,即患者受到太阳光等强光照射后,皮肤上可产生红斑、水泡等^[4],故注入 HpD 后需避光一个月,造成很大的不便。而如果不注射光敏药物,检测肿瘤组织中的内源性卟啉的自发荧光,则对激发光源的要求较高。所以我们采用较低剂量的 HpD 经静脉注射到体内,用高灵敏度的 OMA 检测肿瘤部位的荧光,可大大减少患者所需避光时间,由一月减为三天,另一方面也降低了对激光光源的要求,可最大限度地利用现有仪器设备。

动物实验证明 2 mg/kg 较小剂量的 HpD 可以诊断肿瘤,其准确率与较大剂量的 HpD 无统计上的差异。所以我们用 2 mg/kg HpD 诊断人体肿瘤。

2 患者与方法

患者一共 43 人,其中肿瘤患者 35 人,为本院门诊和住院病人,男 25 人,女 10 人,年龄 39 ~ 80 岁,包括体表肿瘤 10 例,膀胱肿瘤 12 例,肺肿瘤 7 例,食道和胃肿瘤 6 例。另有非肿瘤性疾病 8 例。

光敏药物为血卟啉单甲醚[3(或 8)-(1-甲氧基乙基)-8(或 3)-(1-羟乙基)]次卟啉⁺

(HMME, 第二军医大学药理实验室提供), 浓度为 10 mg/ml。使用前在冰箱内保存。

激发光源采用 YJ-4 型氩离子激光器的 514.5 nm 波长, 以金属膜干涉滤光片滤掉 488.0 nm 的光波。输出功率为 30 mW, 每次实验前后均用功率计测定。光纤直径为 600 μm , 通过聚焦透镜及微调器与激光器耦合。

荧光光谱用光学多道分析仪记录, OMA 系统由诊断光纤、光谱仪、探头、控制板和主机构成。光谱强度分布图由计算机处理和储存, 也可同时由打印机直接打印。

光谱仪内置波长为 580 nm 的截止滤光片, 可滤去氩离子激光的光波而使 HpD 荧光通过。

接受检查的患者于实验当天早晨经静脉注射 HpD 制剂 1 支(100 mg), 按平均体重为 60 kg 计算体内浓度小于 2 mg/kg。0.5~5 h 内进行检查。如为体表肿瘤, 先找到皮损处, 采集皮损中央、边缘及周围正常组织的荧光光谱; 如为腔内肿瘤, 则先用内窥镜检查, 发现可疑部位, 然后从活检钳道插入激发和接收光纤, 对损害部位选取不同地点采集 2~3 个光谱, 并对直视下肯定正常的部位也采集荧光光谱。采样时接收光纤在前, 激发光纤在后, 两者输出端相距约 0.5 cm, 尽量垂直对准靶组织。光谱诊断结束后, 在病变部位取组织活检。诊断后嘱患者避光 3 天。

3 结 果

HpD 荧光的峰值位于 630 nm 左右, 但是由于每次测量时光纤与标本所处的距离和角度不同, 激发光源的强度也有所不同, 如果单取其峰值代表荧光强度, 则不可避免地受到上述因素的影响而无法比较。因此要进行归一化处理, 消除上述因素带来的影响。

由于每位患者的组织光谱强度基础有所不同, 因此将肿瘤的荧光强度经归一化处理后, 再与正常组织的荧光强度相比, 以此作为一个检验的指标。

病理诊断结果显示所有患者的标本都是癌前期病变或是癌。所有受试者三日避光后无一例发生皮肤光敏反应。

表 1 不同类型组织的荧光强度平均值

Table 1 The average comparative fluorescence intensity (ACFI) of different tissue

Tumor location	Cases	ACFI	Tumor location	Cases	ACFI
tumor	35	1.18 ± 0.13	bronch	7	1.23 ± 0.10
body surface	10	1.15 ± 0.11	esophagus and	6	1.23 ± 0.20
bladder	12	1.16 ± 0.13	gastric Non-tumor	8	1.00 ± 0.06

表 2 不同时间测量组织荧光强度的平均值

Table 2 The ACFI at different time after injected HpD

Time (h)	0.2~2	3~5
ACFI	1.16 ± 0.14	1.20 ± 0.12

t 检验 $t = -0.896, P > 0.05$, 无显著差异。

肿瘤与非肿瘤组织荧光强度经 t 检验, 有非常显著差异($t = 3.798, P < 0.05$)。

以上共检查了 43 人, 其中肿瘤患者 35 人, 其 $I_{\text{tumor}}/I_{\text{normal}}$ 总平均为 1.18 ± 0.13 , 作拟合的正态分布曲线, 可见大部分患者的 $I_{\text{tumor}}/I_{\text{normal}}$ 值均在正态分布的范围之内, 如以 $I_{\text{tumor}}/I_{\text{normal}}$ 平

均的下限 1.05 为标准诊断肿瘤, 则 35 例肿瘤患者中有 32 例符合标准, 其阳性率为 91.4%; 所有 43 例与病理对照中有 39 例符合标准, 据此诊断准确率为 90.7%。

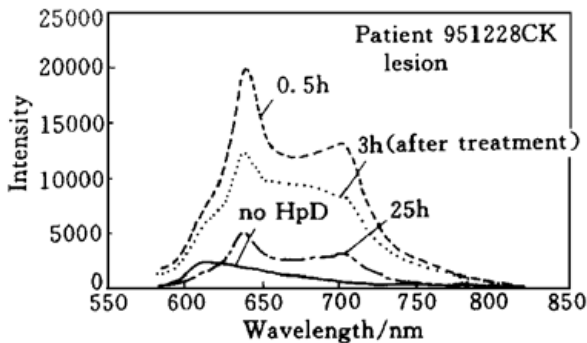


图 1 典型病例荧光光谱图

Fig. 1 One typical fluorescence spectrum of patients

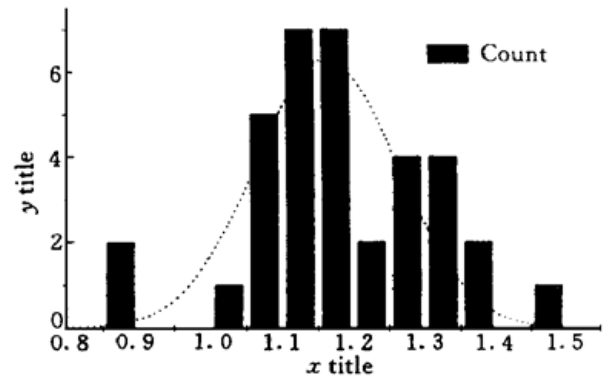


图 2 $I_{\text{tumor}}/I_{\text{normal}}$ 的频数分布与正态分布拟合曲线图

Fig. 2 Frequency distribution of $I_{\text{tumor}}/I_{\text{normal}}$ and normal distribution fitting curve

4 讨 论

激光光敏诊断以往通常有两种方法, 一是给患者静脉注射常规剂量的光敏药物如 HpD, 另一种是不注射任何药物, 直接检测内源性卟啉自体荧光。两种方法各有不足之处, 前者易引发皮肤光敏反应, 患者需避光一个月左右; 后者有报道对胃癌的诊断准确率可达 89%, 但对激发光源的波长和功率要求较高。而用小剂量的 HpD 可能解决这两方面的矛盾, 本实验中荧光光谱诊断的结果与病理诊断结果比较, 得到了 90.7% 的符合率。

对腔内组织的荧光检测不同于对体表组织的检测, 由于消化道、呼吸道等器官都在不停地蠕动, 要使光纤顶端与所有受测部位保持相同距离和角度是不可能的, 所以数据经归一化处理后可以消除诸如距离、角度等几何因素的影响, 我们用患者自身的肿瘤组织荧光和正常组织荧光比较, 以消除不同个体之间的差异。

不同时间(0.5~ 2 h 和 3~ 5 h) 测量组织荧光强度的平均值以后者稍大, 但统计学检验示两组之间无显著性差异。

实验中我们用于诊断的 HpD 剂量为 2 mg/kg, 为临床常用剂量的 1/3, 使 HpD 光敏反应减小及时间缩短, 避光时间由原来的 30 天减少到 3 天。但此剂量是否为肿瘤诊断的最佳剂量有待于进行更深入的研究, 以期对提高肿瘤的早期诊断率、活检的阳性率及确定肿瘤的切除范围具有更高的参考价值。

参 考 文 献

- 1 R. L. Lipson, E. J. Baldes, A. M. Olsen. The use of a derivative of haematoporphyrin in tumor detection. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1961, **26**: 1~ 8
- 2 D. R. Doiron, E. Profio, R. G. Vincent *et al.*. Fluorescence bronchoscopy for detection of lung cancer. *Chest*, 1979, **76**: 27~ 32
- 3 P. Gilson, P. Ash, I. Driver *et al.*. Therapeutic ratio of photodynamic therapy in the treatment of superficial tumors of skin and subcutaneous tissues in man. *Br. J. Cancer*, 1988, **58**: 665~ 667
- 4 R. S. Wooten, K. C. Smith, D. A. Ahiquist *et al.*. Prospective study of cutaneous phototoxicity after systemic hematoporphyrin derivative. *Lasers Surg. Med.*, 1988, **8**: 294~ 300

Fluorescent Diagnosis of Cancer by Small Dose of Hematoporphyrin Derivative

Zhu Jing Xu Jian Yang Yuanlong Li Yongbiao
Dai Shengguo Hu Yunbiao Ke Ling Zhang Huiguo Hu Guogiang
(Renji Hospital Attached to Shanghai Second Medical University,
Shanghai Research Center of Laser Medicine, Shanghai 200001)

Abstract 43 patients were received fluorescent diagnosis induced by small dose of hematoporphyrin (2 mg/kg). 35 of them were cancered. The rest were non-cancered. By recording and analyzing the spectrum of fluorescence with optical multichannel analyser (OMA), managing the data, it was found that the fluorescence intensities were 1.18 ± 0.13 for cancered patients, 1.00 ± 0.06 for non-cancered patients. Using the floor level of the former 1.05 as tumor diagnosis criterion, the positive rate was 91.4%.

Key words small dose of HpD, tumor, diagnosis fluorescence

Nd·GdCOB 晶体实现被动调 Q 运转

掺钕三硼酸钙氧钇[Nd³⁺·GdCa₄O(BO₃)₃, 简称 Nd·GdCOB]是一种新型的自激活自倍频晶体,具有非线性系数大、损伤阈值高、对倍频光吸收小以及用提拉法能够生长大尺寸高质量晶体等优点,一问世就受到人们极大关注。该晶体在 500~840 nm 范围内有众多吸收峰,因而既适合于用钛宝石激光抽运、激光二极管抽运、染料激光抽运,又适合于用闪光灯抽运。我们采用闪光灯抽运,用 Cr⁴⁺·YAG 作饱和吸收体,实现了 Nd·GdCOB 晶体的被动调 Q 运转。

所用谐振腔为平凹腔,后腔镜为曲率半径 100 cm 的凹面镜,对 1.06 μm 和 0.53 μm 光均高反;输出镜为平面镜,对 1.06 μm 高反,对 0.53 μm 高透;Nd·GdCOB 晶体尺寸为 3 mm×3 mm×22 mm,两端均镀 1.06 μm 和 0.53 μm 光增透膜,切割方向为 θ=66.3°,φ=132.6°,属 A 类相位匹配;Cr⁴⁺·YAG 两端镀 1.06 μm 光增透膜,放在后腔镜与 Nd·GdCOB 晶体之间,其小信号透过率 T₀=88%;谐振腔长度为 36 cm。所获 0.53 μm 脉冲能量为 2.5 mJ,脉冲宽度为 71 ns,相当于峰值功率密度为 14 MW/cm²(光束半径为 0.28 mm)。相同抽运下,静态运转时,尖峰震荡的时间范围为 50 μs,0.53 μm 脉冲能量为 0.40 mJ,相当于峰值功率密度为 3 kW/cm²。被动调 Q 与静态运转相比,峰值功率提高 4.7×10³ 倍。F. Auge 等^[1]曾用激光二极管抽运 Nd·GdCOB 晶体,用声光调制器进行主动调 Q,所获 0.53 μm 脉冲能量为 8.5 μJ,脉冲宽度为 200 ns,相当于峰值功率密度为 0.55 MW/cm²(光束半径为 0.05 mm^[2])。比较可知:我们获得的结果,无论是脉冲能量,还是峰值功率密度,都远大于主动调 Q 时的结果。

参 考 文 献

- 1 F. Auge, F. Mougel, F. Balembois *et al.*. Efficient cw and Q-switch operation of a self-frequency-doubling diode-pumped Nd³⁺·Ca₄Gd_{1-x}Nd_xB₃O₁₀ (Nd·GdCOB) crystal. OSA, CLEO'99, 1999. 530, paper CFF3
- 2 Hou Xueyuan, Li Yufei, Sun Yuming *et al.*. Fundamental and double-frequency operation of a dye-laser pumped Nd·Ca₄GdO(BO₃)₃ laser. *Chinese J. Lasers* (中国激光), 1999, 26(3): 169 (in Chinese)

山东大学¹光电系,²晶体材料研究所 济南 250100
张其第¹ 王青圃¹ 赵圣之¹ 张行愚¹
孙连科² 刘训民² 张树君² 张少军² 陈焕鑫²
收稿日期: 2000-04-14