

## 拉曼光谱诊断喉癌的初步探究

康 竞<sup>1,2</sup>, 罗 晔<sup>1,2</sup>, 何 剑<sup>1,2</sup>, 吴 平<sup>1,2</sup>, 徐 婧<sup>1,2</sup>,  
方 兴<sup>1,2</sup>, 王芸芸<sup>1,2</sup>, 张 帅<sup>1,2</sup>, 唐瑶云<sup>1,2</sup><sup>1</sup>中南大学湘雅医院耳鼻咽喉头颈外科, 湖南 长沙 410008;<sup>2</sup>中南大学湘雅医院耳鼻咽喉重大疾病研究所湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410008

**摘要** 为了比较喉癌组织及癌旁组织拉曼光谱的差别, 得出其各自的特点和规律, 建立了喉癌诊断模型; 收集 2014 年 10 月—2015 年 8 月在中南大学湘雅医院耳鼻咽喉头颈外科进行手术切除的 54 例喉癌样本和 56 例癌旁样本, 样本统一处理后进行拉曼光谱检测, 收集原始光谱数据进行预处理和统计学分析。结果表明: 喉癌组织比癌旁组织的平均拉曼光谱强度更大, 且喉癌组织存在稳定的拉曼峰群; 喉癌组与癌旁组的  $t$  检验结果显示, 在波数为  $150\sim 1859\text{ cm}^{-1}$ 、 $1864\sim 1872\text{ cm}^{-1}$ 、 $1890\sim 1898.5\text{ cm}^{-1}$ 、 $1900\sim 1924\text{ cm}^{-1}$ 、 $1964\sim 1968\text{ cm}^{-1}$ 、 $1993\sim 1998.5\text{ cm}^{-1}$  和  $2010.5\sim 3476\text{ cm}^{-1}$  的波段内, 两组样本有统计学差异(显著性水平  $p < 0.05$ ); 利用主成分分析-线性判别分析(PCA-LDA)法选取差异波段进行分析, 提取 3 个显著性差异主成分, 将其作为 LDA 的输入, 计算判别函数系数, 并建立判别模型, 判别模型对样本的预测具有较好的特异度和灵敏度, 分别为 80.4% 和 87.0%; 利用受试者工作特征(ROC)曲线法对喉癌诊断模型进行评价, 曲线下面积为 0.877; 喉癌组织和癌旁组织的拉曼光谱存在较明显且稳定的差异, 利用多元统计分析的方法建立的判别模型具有较好的可靠性; 拉曼光谱具有在分子水平上为喉癌提供无损、实时诊断与检测的潜能。

**关键词** 光谱学; 分子诊断; 拉曼光谱; 喉癌; 主成分分析-线性判别分析

**中图分类号** R767.04 **文献标识码** A

**doi:** 10.3788/LOP54.111701

## Preliminary Exploration on Diagnosis of Laryngeal Carcinoma Based on Raman Spectroscopy

Kang Jing<sup>1,2</sup>, Luo Shi<sup>1,2</sup>, He Jian<sup>1,2</sup>, Wu Ping<sup>1,2</sup>, Xu Jing<sup>1,2</sup>,  
Fang Xing<sup>1,2</sup>, Wang Yunyun<sup>1,2</sup>, Zhang Shuai<sup>1,2</sup>, Tang Yaoyun<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Otolaryngology, Head & Neck Surgery, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China;<sup>2</sup>Hunan Province Key Lab of Otolaryngology Major Diseases, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410008, China

**Abstract** To compare laryngeal carcinoma tissues and pericarcinous tissues in Raman spectrogram to obtain their respective features and patterns, we establish a diagnose model for laryngeal carcinoma. A total of 110 samples including 54 laryngeal carcinoma samples and 56 pericarcinous samples are acquired from patients undergoing laryngectomy from October 2014 to August 2015 in otolaryngology, head & neck surgery of Xiangya hospital of central south university. All of the samples are processed by the accordant method before Roman spectrum detection. Original data are collected for pretreatment and statistical analysis. The results show that the average Roman spectrum intensity of the laryngeal carcinoma tissues is greater than that of the pericarcinous tissues, and the laryngeal carcinoma tissues have stable Roman

**收稿日期:** 2017-05-20; **收到修改稿日期:** 2017-06-01

**基金项目:** 长沙市科技重大专项(K1204015-31)

**作者简介:** 康 竞(1989—), 女, 博士研究生, 主要从事咽喉嗓音方面的研究。E-mail: jeannevoice@hotmail.com

**导师简介:** 唐瑶云(1973—), 男, 博士, 副教授, 主要从事咽喉头颈肿瘤方面的研究。

E-mail: tangyent@163.com(通信联系人)

peak groups. Statistical difference of the two groups of samples are verified through student's  $t$ -test in bands with wave numbers of  $150\text{--}1859\text{ cm}^{-1}$ ,  $1864\text{--}1872\text{ cm}^{-1}$ ,  $1890\text{--}1898.5\text{ cm}^{-1}$ ,  $1900\text{--}1924\text{ cm}^{-1}$ ,  $1964\text{--}1968\text{ cm}^{-1}$ ,  $1993\text{--}1998.5\text{ cm}^{-1}$ , and  $2010.5\text{--}3476\text{ cm}^{-1}$  (significance level  $p < 0.05$ ). Three principal components are extracted with the help of analysis of the significant wave numbers using principal components analysis-linear discriminant analysis (PCA-LDA). Using them as inputs of LDA, we calculate discriminant function coefficient and establish a discriminant model. The discriminant model has better specificity of 80.4% and sensitivity of 87.0% for sample prediction. The laryngeal carcinoma diagnose model is evaluated by received operator characteristic (ROC) curve method, and the value of area under the curve (AUC) is 0.877. There are remarkable and stable differences between the laryngeal carcinoma tissues and the pericarcinous tissues. The discriminant model established by the method of multivariate statistical analysis has better reliability. This study demonstrates that Raman spectroscopy has the potential for the noninvasive, real-time diagnosis and detection of laryngeal carcinoma at the molecular level.

**Key words** spectroscopy; molecular diagnosis; Raman spectroscopy; laryngeal carcinoma; principal component analysis-linear discriminant analysis

**OCIS codes** 170.5660; 170.3890; 300.6450

## 1 引言

喉癌是头颈部常见的恶性肿瘤,常用的临床诊断方法为内镜检查、影像学检查、病理活检等;但部分恶性病变在内窥镜下易与喉良性病变、癌前病变混淆,并且影像学检查对早期病变的诊断区分度欠佳,导致医师无法及时为患者选择合理的治疗方案。早期诊断是提高喉癌患者5年生存率的重要手段<sup>[1]</sup>。

随着光谱技术的发展,拉曼光谱以无损、灵敏的分析优势被广泛应用于生物<sup>[2-3]</sup>、化学<sup>[4]</sup>、医学<sup>[5]</sup>领域。在肿瘤形成的早期阶段,细胞分子水平上发生的变化,包括核酸成分的增多、蛋白质共价键的破坏和糖原的大量消耗等<sup>[6]</sup>难以呈现在医学影像上。作为与分子结构振动谱直接相关的物质分析手段,拉曼光谱可利用其特性实现对肿瘤的早期筛查及术中监测。近年来,将拉曼光谱技术用于探测乳腺癌<sup>[7-8]</sup>、胃癌<sup>[9]</sup>、皮肤癌<sup>[10-11]</sup>等肿瘤分化过程及辅助肿瘤早期诊断已成为国内外研究的热点。

目前,针对喉癌的拉曼光谱研究仍在起步阶段,国内尚无相关研究,国外的少量研究也存在一定的局限性。Teh等<sup>[12]</sup>对20例正常组织及30例喉癌组织进行离体拉曼光谱照射,虽然具有一定的喉癌鉴别诊断效果,但提取拉曼光谱的测量范围被局限于波数为 $800\text{--}1800\text{ cm}^{-1}$ 的“指纹区域”。Lin等<sup>[13]</sup>对39名喉癌患者的癌变组织进行波数为 $2800\text{--}3020\text{ cm}^{-1}$ 的高波段拉曼光谱的多点信息收集,在波数为 $2845, 2880, 2920, 2940\text{ cm}^{-1}$ 的波段,喉癌组织与癌旁组织有统计学差异。本文采用的新型拉曼光谱仪的波数范围为 $40\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ ,可在短时间内全面、方便地采集样本的生物信息。完整的光谱范围采集可保存全部拉曼信号,从而为临床诊断准确度的提高奠定坚实的基础<sup>[14]</sup>。本文采用新型拉曼光谱仪对54例喉癌组织标本、56例癌旁组织标本进行测定及分析,考察了拉曼光谱对喉癌诊断的准确性及可行性;在此基础上通过整理、总结繁冗的数据,提取出了可作为临床诊断标准的判别模型。

## 2 实验

收集54例喉癌组织标本和56例癌旁组织标本,其中2例喉癌组织样本量少,未收到喉癌组织标本。所有组织标本均由中南大学湘雅医院耳鼻咽喉头颈外科提供,来自于2014年10月—2015年8月在中南大学湘雅医院耳鼻咽喉头颈外科进行手术的喉癌患者。所有患者均为男性,患者的最大年龄为76岁,最小年龄为38岁,平均年龄为58.3岁。按照美国癌症联合委员会(AJCC)2010年对喉癌的TNM分期标准进行临床分期: $T_1$ 期10例, $T_2$ 期12例, $T_3$ 期16例, $T_4$ 期8例;所有患者均无远处转移。其中高分化鳞癌19例,高中分化鳞癌20例,中分化鳞癌11例,中-低分化鳞癌3例,低分化鳞癌1例;8例有颈部淋巴结转移,46例无颈部淋巴结转移;声门上型11例,声门型42例,声门下型1例。

以上病例的选择同时具备以下4个条件:1)完整的病史、病程记录及手术记录;2)完整的一般检查及专科检查资料,包括电子纤维喉镜、电子计算机断层扫描、磁共振成像、颈部及腹部彩超、骨扫描及术后病理结果;3)患者一般情况良好,排除全身其他重大疾病及药物滥用史,术前未进行放化疗等相关治疗;4)患者自愿配合检查,准许使用其组织样品进行研究并签订知情同意书,向中南大学伦理委员会申请临床实验并获批准。

## 2.1 实验方法

### 2.1.1 样品收集和预处理

术中肿瘤切除后立即取样,各取 2 份喉癌组织及癌旁组织(与肿瘤边缘距离为 5~10 mm 的非肿瘤上皮组织),体积约为 5 mm<sup>3</sup>。用生理盐水轻柔地冲洗,以去除血迹及坏死组织,一份样本置于冻存管后立即保存于液氮中,运送至温度为 -80 °C 的冰箱中集中保存;另一份样本进行标准的病理诊断:放入体积分数为 10% 的福尔马林固定液中进行固定,经脱水、石蜡包埋、组织切片和染色后,由至少 2 位副教授级别及以上的病理医师进行诊断,剔除病理诊断结果不符的样品。光谱测定前将集中保存的样品统一放入温度为 -20 °C 的冰箱中解冻 12 h,然后置于干冰中运送至拉曼工作平台,样品在同一温度梯度下解冻和切片,以保证厚度基本一致并且表面平整。将样品标记后置于载玻片上进行拉曼检测。

### 2.1.2 光谱测定

本实验采用 RTS-HiR 型显微共焦拉曼系统,其最大输出功率约为 100 mW,光斑直径约为 1.1 μm,水平空间分辨率小于 1 μm,垂直空间分辨率小于 2 μm,由波长为 532 nm 的半导体抽运固体激光器激发。

所有样品均在暗室中由操作熟练、经验丰富的同一技术员进行测定,在每个样品的不同位置取 5 个点进行测定,以较好地反映样本的整体情况,将 5 次测定结果取平均值作为该样本的拉曼光谱测定结果。共获得 54 例喉癌组织及 56 例癌旁组织的拉曼测定曲线。

## 2.2 统计学分析

### 2.2.1 数据预处理

在样品采集过程中,由于仪器、环境、时空差异引起的样品数值的波动会影响样品分析的精确性和准确性,因此,要获得生物组织样品纯净的拉曼光谱信号,必须排除外界的干扰光、探测器的随机噪声和荧光背景信号<sup>[15]</sup>,这就需要对原始光谱数据进行统一及严格的预处理。利用 Origin 8.0 软件对数据进行基线校正、平滑化和面积归一化等预处理。

### 2.2.2 数据分析

利用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,其中,两两比较采用成组 *t* 检验,以显著性水平  $p < 0.05$  为有统计学差异。本实验获得的结果是对应不同波数的光谱强度曲线,虽然它可以提供丰富的信息,但却使数据的分析工作趋于复杂化。因此,本研究采用主成分分析(PCA)、线性判别分析(LDA)等方法提取分类数据,并采用受试者工作特征(ROC)曲线法评价所建立的喉癌诊断模型。

## 3 喉癌组织和癌旁组织的拉曼光谱结果

### 3.1 平均拉曼光谱的对比分析

图 1 所示为两组样本预处理后的平均拉曼光谱图。由图 1 可知,两组样本平均光谱谱线的总体趋势是一致的,但在波峰高度上存在差异,并且喉癌组的平均拉曼光谱的强度比癌旁组更大。喉癌组存在稳定的拉曼光谱峰,典型的拉曼光谱峰群主要分布在波数为 935~1725 cm<sup>-1</sup> 和 2780~3200 cm<sup>-1</sup> 处。这说明对应波数的核酸、氨基酸、脂质、糖原等生物物质的含量有相应的增大和减小,也显示了拉曼光谱作为喉癌诊断手段的潜力。

为了进一步证实两组样本具有可靠的统计学差异,对两组样本进行 *t* 检验,图 2 为截取了波数为 600~3500 cm<sup>-1</sup> 波段的 *t* 检验结果。由图 2 可见:当波数小于 600 cm<sup>-1</sup> 时, $p$  值趋于无穷小,当波数大于 3500 cm<sup>-1</sup> 时, $p$  值明显大于 0.05,并趋于 1;在波数为 150~1859 cm<sup>-1</sup>、1864~1872 cm<sup>-1</sup>、1890~1898.5 cm<sup>-1</sup>、1900~1924 cm<sup>-1</sup>、1964~1968 cm<sup>-1</sup>、1993~1998.5 cm<sup>-1</sup> 和 2010.5~3476 cm<sup>-1</sup> 处,两组样本有统计学差异( $p < 0.05$ ),其中波数为 0~1673 cm<sup>-1</sup> 和 2856~3011 cm<sup>-1</sup> 处有明显的统计学差异( $p < 0.01$ )。该结果与图 1 中的平均光谱结果基本一致。

根据图 1 和图 2 所示的平均光谱图和 *t* 检验结果,提取波数为 935~1725 cm<sup>-1</sup> 和 2780~3200 cm<sup>-1</sup> 的波段进行进一步的光谱图观察。图 3 所示为两组样本的平均光谱强度对比和拉曼光谱峰,喉癌组和癌旁组平均拉曼光谱归一化强度的差异反映了癌旁组织向癌组织转变过程中生物物质组成的改变。

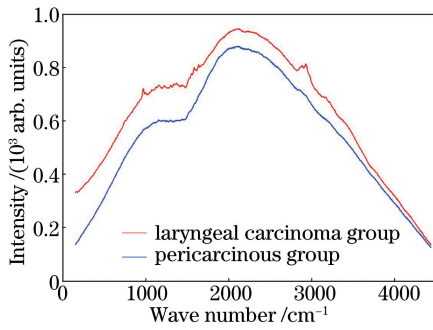
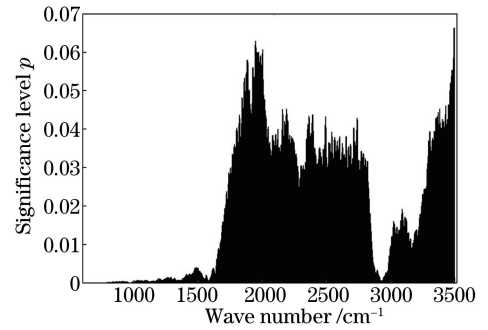
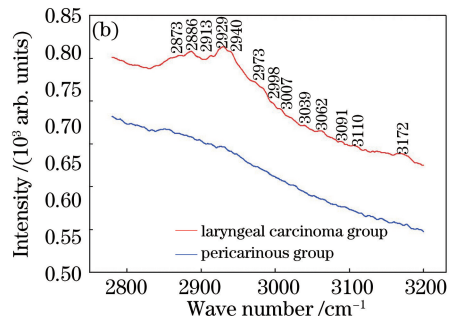
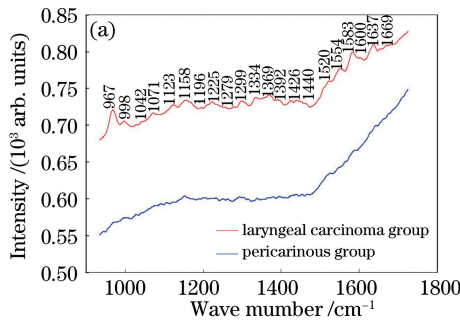


图1 喉癌组织和癌旁组织的平均光谱

Fig. 1 Mean spectra of laryngeal carcinoma group and pericarcinous group

图2 喉癌组与癌旁组的组成  $t$  检验结果Fig. 2 Student's  $t$ -test results of laryngeal carcinoma group and pericarcinous group图3 喉癌组织和癌旁组织在(a)  $935\sim 1725\text{ cm}^{-1}$ 和(b)  $2780\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ 波数范围的平均光谱Fig. 3 Mean spectra of laryngeal carcinoma group and pericarcinous group in wave numbers of (a)  $935\text{-}1725\text{ cm}^{-1}$  and (b)  $2780\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ 

### 3.2 拉曼光谱的主成分分析

对测得的拉曼数据进行主成分分析,并计算主成分的累计贡献率和特征值。根据主成分累计贡献率不小于70%且特征值不小于1的原则进行  $t$  检验,以剔除无统计学意义的值,得到具有显著性差异的3个主成分,即主成分1、主成分3和主成分4。

图4所示为3个显著主成分的成分矩阵示意图。由图4可知:主成分1较好地体现了波数为  $400\sim 3300\text{ cm}^{-1}$ 的光谱数据,且两者之间的相关性较大;主成分3体现了波数大于  $3300\text{ cm}^{-1}$ 的光谱数据;主成分4主要倾向于提供波数小于  $400\text{ cm}^{-1}$ 的光谱数据的相关信息。

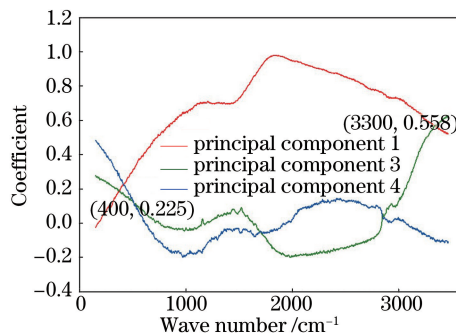


图4 显著主成分的成分矩阵示意图

Fig. 4 Diagram of significant principal component matrix

图5所示为利用显著主成分的成分得分绘制的二维散点图及三维立体散点图,绿色标记均为喉癌组,包含54例喉癌数据;蓝色标记均为癌旁组,包含56例癌旁数据。由图5可知,综合利用3个显著主成分可对每一例光谱数据数据进行较好地地区分。

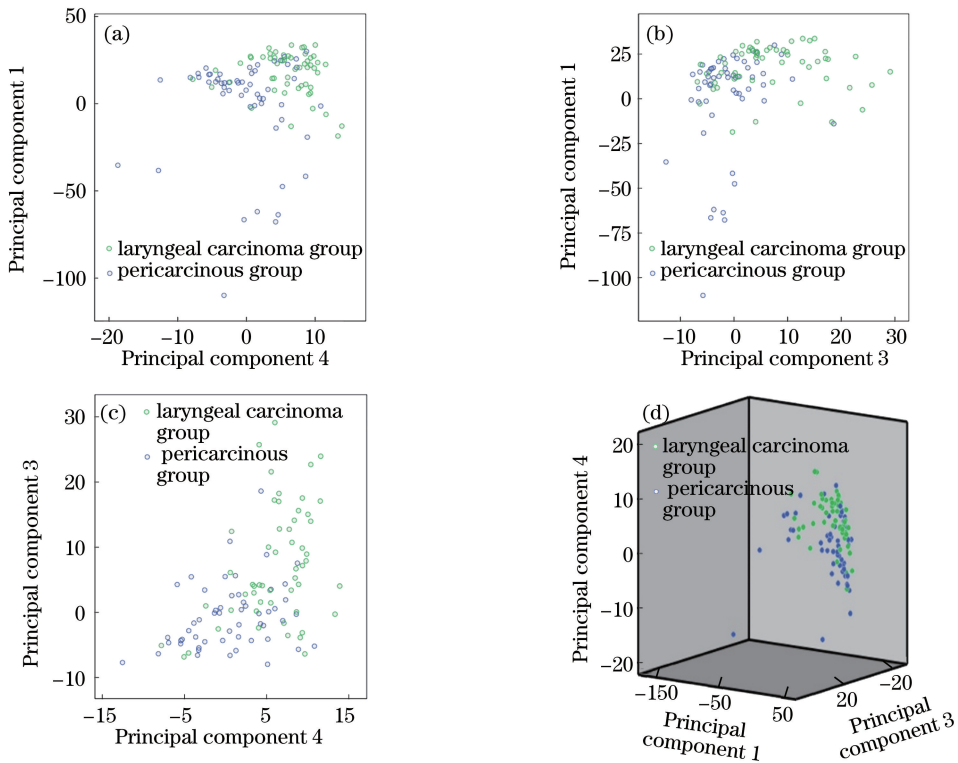


图 5 喉癌组与癌旁组显著主成分的散点图

Fig. 5 Scatter diagrams of significant principal components of laryngeal carcinoma group and pericarcinous group

### 3.3 拉曼光谱的判别分析

将 3 个显著性差异主成分作为 LDA 的输入,计算判别函数系数。由表 1 可知,所建立的判别函数对样本的分类具有 80.4%(45/56)的特异度和 87.0%(47/54)的灵敏度。

表 1 喉癌组和癌旁组的 LDA 结果

Table 1 Results of LDA in laryngeal carcinoma group and pericarcinous group

Group	Predictive pericarcinous number	Predictive laryngeal carcinoma number	Accuracy /%
Pericarcinous group	45	11	80.4
Laryngeal carcinoma group	7	47	87.0

利用 ROC 曲线法进一步评估所构建算法的准确性及有效性。ROC 曲线以图 6 所示方法将判别灵敏度与特异性相结合,可通过综合分析所构建模型中两者的关系来客观评价判别算法的可靠性和实用性。由图 6 可知,计算所得曲线下面积(AUC)为 0.877,表明本实验建立的判别模型有较好的特异度和灵敏度。

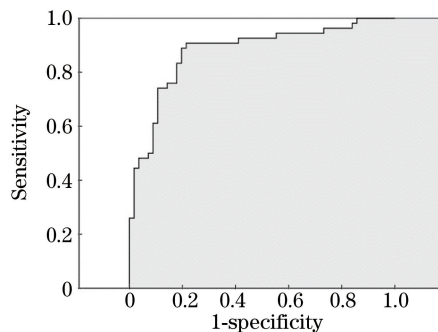


图 6 基于 PCA-LDA 法构建判别算法的 ROC 曲线

Fig. 6 ROC curve of discriminant algorithm based on PCA-LDA

## 4 讨 论

拉曼散射是指一定频率的激光照射样品表面时,光子与物质分子相互作用后产生不同频率的散射光的现象,在此过程中物质分子发生不同方式和程度的振动并发生能量交换。拉曼散射光与入射光频率的差值也称为拉曼位移。有研究发现<sup>[16]</sup>,采用不同频率的入射光照射后产生的拉曼散射光频率也不同,但是同一种分子的拉曼位移却是一个确定的数值。因此,拉曼位移是代表物质分子固有转动及振动能级性质的特定物理量。目前,仅依靠医学影像学尚无法发现早期肿瘤,而拉曼光谱技术可通过指纹性识别灵敏地探查物质结构中的任何微小的变化,包括核酸成分的增多、蛋白质共价键的破坏和糖原的大量消耗等分子水平上的差异<sup>[17]</sup>。拉曼光谱是与分子结构振动谱直接相关的物质分析的理想手段,有望实现肿瘤早期筛查及术中监测。

红外光谱是一种灵敏度较高且无损的发射光谱,但是水对红外光具有强烈的吸收性,很难获得高灵敏度、高分辨率的红外光谱,这大大限制了其在水含量较大的人体组织内的应用,因此红外光谱很难对组织或细胞进行原位分析<sup>[18]</sup>。与红外光谱不同的是,拉曼光谱是基于光子非弹性反射理论提出的振动光谱技术,可反映组织样本的物质组成、分子结构,还可反映不同物质含量的微小变化;另外,水的拉曼作用极其微弱,这也使得将拉曼光谱应用于内镜下的在体实时探测成为可能。随着光学技术的不断发展,特别是激光和探测器的更新与研发都使得微弱的拉曼信号显著增强,从而使应用拉曼光谱探究生物信息和肿瘤的发生、发展成为可能。

通过图 1 和图 2 所示的平均拉曼光谱图及  $t$  检验结果可以发现,两组样本的总体趋势基本一致,在两组样本中均可发现相关的拉曼峰,说明两组样本作为喉组织的物质基础是相似的,但光谱强度反映的物质浓度有明显差异,原因是癌症组织细胞处于快速增殖状态,导致脱氧核糖核酸(DNA)大量复制,蛋白质共价键遭到破坏,使得喉癌组的信号强度均大于癌旁组的信号强度,并在特定的波段内具有明显的统计学意义。另外,在提取的波数为  $935\sim 1725\text{ cm}^{-1}$  和  $2780\sim 3200\text{ cm}^{-1}$  的波段内可观察到大量的拉曼特征峰,且拉曼峰固定的波段和强度具有一定的重复性。喉癌组织和癌旁组织的拉曼光谱谱峰相对强度的差异反映了癌旁组织向癌组织转变过程中生化物质组成的变化。

目前,国内外文献在探讨拉曼光谱在生物医学领域的应用时,大多只能将其提供的信息作为统计学数据,尚未对拉曼光谱特征峰做出完整的归属。de Gelder 等<sup>[19-20]</sup>限于当时的拉曼技术,仅总结和分析了拉曼光谱中波数为  $800\sim 1800\text{ cm}^{-1}$  的波段的归属,目前尚无文献进一步报道拉曼光谱高波段区( $2800\sim 3800\text{ cm}^{-1}$ )的归属。表 2 所示为拉曼特征峰在波数为  $935\sim 1725\text{ cm}^{-1}$  的波段内的归属。

表 2 喉癌组织主要拉曼光谱峰的归属<sup>[19-20]</sup>

Table 2 Affiliation relationship of primary Raman bands in laryngeal carcinoma

Wave number / $\text{cm}^{-1}$	Assignment	Corresponding molecule
967	$\nu(\text{C}-\text{C})$ in helix conformation	Phenylalanine
998	$\text{V}_s(\text{C}-\text{C})$ symmetric ring breathing	Phenylalanine
1042	$\text{C}-\text{H}$ in-plane bending mode	Phenylalanine
	$\text{C}-\text{C}$ stretching	Phospholipid
1071	$\nu(\text{C}-\text{N})$	Protein
1123	$\nu(\text{C}-\text{N})$	Protein
1158	$\nu(\text{C}=\text{C})$ stretching	Beta carotene
1196	$\text{C}-\text{C}$ ( $\delta$ , $\text{C}-\text{N}$ ) stretching	Protein carotenoid
	$\text{C}-\text{H}$ in-plane bending mode	Tryptophan, phenylalanine, and tyrosine
1225	Antisymmetric stretching mode of poly nucleotide chain	DNA
1279	$\nu(\text{C}-\text{N})$	Protein
	$\delta(\text{N}-\text{H})$	Phospholipid
1299	$\delta(\text{CH}_2)$ , $\text{CH}_2$ deformation	Lipid
	$\text{CH}_3\text{CH}_2$ wagging	Collagen
1334	$\text{CH}$ deformation	Protein and carbohydrate
1369	Adenine, thymine, guanine	DNA
1392		Unassigned

续表

Wave number / $\text{cm}^{-1}$	Assignment	Corresponding molecule
		Protein
1426	$\delta(\text{CH}_2)\delta(\text{CH}_3)$	Phospholipid
		Deoxyribose
1440	$\delta(\text{CH}_2)$	Protein
	$\text{CH}_2\text{CH}_3$ deformation	Collagen
1520	$-\text{C}=\text{C}-$	Beta carotene carotenoid
1554	$\nu(\text{C}=\text{C})$	Tryptophan and porphyrin of protein amide III
1583	$\delta(\text{C}=\text{C})$	Phenylalanine
1600	$\delta(\text{C}=\text{C})$	Phenylalanine
1637		Unassigned
1669	$\nu(\text{C}=\text{Q})$	Protein amide I

本实验获得的数据为对应不同波数的光谱强度,它虽然可以提供丰富的信息,但也使数据的分析工作趋于复杂化。数据量大、数据维度高为数据的进一步提取及分析带来了极大困难。为了充分利用大量繁冗的数据并精炼出所需的评价体系,可采用降维的方法提取数据。PCA法是一种通过寻找海量数据之间的相互关系,把多个指标转化为少数几个综合指标的数据分析方法。该方法通过寻找互不相关的原始变量的线性组合(即主成分)来概括海量数据。LDA法是为了实现提取分类信息和压缩特征空间维数而寻找最佳鉴别矢量空间的方法,该方法使高维模式样本投影到该空间时具有最佳的可分离性。应用LDA法对数据的分析构建预测函数,将测试样品代入判别函数后计算判别得分,进而确定样本类型,对比判断此函数的准确度和灵敏度。应用PCA-LDA法建立喉癌的诊断模型,利用该模型探查喉癌组织与正常组织的明显差异区域,可实现有效、准确的分类诊断。光谱中的明显差异区域应与蛋白质、脂质、核酸等特定生化结构的含量改变相关,这对进一步理解肿瘤分化的生化基础并进一步探究肿瘤对相关治疗的反应都有重要意义。

## 5 结 论

利用拉曼技术,结合PCA-LDA统计学方法建立了判别模型,判别的特异度和灵敏度均大于80%,这说明拉曼光谱可为喉癌的发生机制、分子诊断和药物靶向治疗提供新依据。本实验虽然为离体实验,但实验结果有望为拉曼技术结合内镜系统的实现提供参考,从而为早期喉癌的诊断提供实时、准确、方便的检测方法。未来的研究方向是在本实验研究的基础上收集样本量更大的数据,以改善拉曼光谱的性能和提高诊断的准确率,促进拉曼技术与内镜系统的有机结合,实现在体、实时、方便、准确地诊断,从而有效提高喉癌的治愈率和患者的生存率。

## 参 考 文 献

- [1] Denaro N, Russi E G, Lefebvre J L, *et al.* A systematic review of current and emerging approaches in the field of larynx preservation[J]. *Radiotherapy and Oncology*, 2014, 110(1): 16-24.
- [2] Qu Yingtong, Li Ying, Guan Ranyun. Research progress of algae based on laser spectroscopy technology[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2017, 54(6): 060004.  
曲颖桐, 李颖, 关冉昀. 激光光谱技术应用于藻类的研究进展[J]. *激光与光电子学进展*, 2017, 54(6): 060004.
- [3] Qin Zhaojun, Peng Lixin, Zhu Libo, *et al.* Raman spectral profiles of PHB synthesis by *Cupriavidus necator* H16 at different fructose levels[J]. *Chinese J Lasers*, 2015, 42(3): 0315003.  
覃赵军, 彭立新, 竺利波, 等. 碳源浓度影响微生物 PHB 合成代谢的单细胞拉曼光谱分析[J]. *中国激光*, 2015, 42(3): 0315003.
- [4] Ma Jing. Low-concentration detection of chlorobenzene based on laser Raman spectroscopy[J]. *Chinese J Lasers*, 2014, 41(2): 0215001.  
马靖. 基于激光拉曼光谱的氯苯低浓度探测[J]. *中国激光*, 2014, 41(2): 0215001.
- [5] Xu Bin, Lin Manman, Yao Huilu, *et al.* Measurement of hemoglobin concentration of single red blood cell using

- Raman spectroscopy[J]. Chinese J Lasers, 2016, 43(1): 0115003.
- 徐斌, 林漫漫, 姚辉璐, 等. 拉曼光谱技术测量单个红细胞的血红蛋白浓度[J]. 中国激光, 2016, 43(1): 0115003.
- [6] Zhang C, Zhang D L, Cheng J X. Coherent Raman scattering microscopy in biology and medicine[J]. Annual Review Biomedical Engineering, 2015, 17: 415-445.
- [7] Abramczyk H, Brozek-Pluska B. New look inside human breast ducts with Raman imaging. Raman candidates as diagnostic markers for breast cancer prognosis: mammaglobin, palmitic acid and sphingomyelin[J]. Analytica Chimica Acta, 2016, 909: 91-100.
- [8] Bilal M, Bilal M, Tabassum S, *et al.* Optical screening of female breast cancer from whole blood using Raman spectroscopy[J]. Applied Spectroscopy, 2017, 71(5): 1004-1013.
- [9] Wang J F, Lin K, Zheng W, *et al.* Fiber-optic Raman spectroscopy for *in vivo* diagnosis of gastric dysplasia[J]. Faraday Discussions, 2016, 187: 377-392.
- [10] da Silva Filho J I, Nunes C V, Garcia D V, *et al.* Paraconsistent analysis network applied in the treatment of Raman spectroscopy data to support medical diagnosis of skin cancer[J]. Medical & Biological Engineering & Computing, 2016, 54(10): 1453-1467.
- [11] Zhao J, Zeng H, Kalia S, *et al.* Wavenumber selection based analysis in Raman spectroscopy improves skin cancer diagnostic specificity[J]. Analyst, 2016, 141(3): 1034-1043.
- [12] Teh S K, Zheng W, Lau D P, *et al.* Spectroscopic diagnosis of laryngeal carcinoma using near-infrared Raman spectroscopy and random recursive partitioning ensemble techniques[J]. Analyst, 2009, 134(6): 1232-1239.
- [13] Lin K, Cheng D L P, Huang Z. Optical diagnosis of laryngeal cancer using high wavenumber Raman spectroscopy[J]. Biosensors Bioelectronics, 2012, 35(1): 213-217.
- [14] Farhane Z, Bonnier F, Casey A, *et al.* Cellular discrimination using *in vitro* Raman micro spectroscopy: the role of the nucleolus[J]. Analyst, 2015, 140(17): 5908-5919.
- [15] Aydin Ö, Altaş M, Kahraman M, *et al.* Differentiation of healthy brain tissue and tumors using surface-enhanced Raman scattering[J]. Applied Spectroscopy, 2009, 63(10): 1095-1100.
- [16] Butler H J, Ashton L, Bird B, *et al.* Using Raman spectroscopy to characterize biological materials [J]. Nature Protocols, 2016, 11(4): 664-687.
- [17] Kong K, Kendall C, Stone N, *et al.* Raman spectroscopy for medical diagnostics—from *in-vitro* biofluid assays to *in-vivo* cancer detection[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2015, 89: 121-134.
- [18] Jones L E, Stewart A, Peters K L, *et al.* Infrared and Raman screening of seized novel psychoactive substances: a large scale study of >200 samples[J]. Analyst, 2016, 141(3): 902-909.
- [19] de Gelder J, de Gussem K, Vandenabeele P, *et al.* Methods for extracting biochemical information from bacterial Raman spectra: an explorative study on *Cupriavidus metallidurans* [J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 585: 234-240.
- [20] de Gelder J, de Gussem K, Vandenabeele P, *et al.* Methods for extracting biochemical information from bacterial Raman spectra: focus on a group of structurally similar biomolecules—fatty acids[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 603: 167-175.