

拉曼光谱技术在肿瘤诊断中的应用

刘凤翔, 张礼豪, 黄霞*

中国科学院苏州生物医学工程技术研究所医用检验技术研究室, 江苏 苏州 215163

摘要 拉曼光谱技术作为一种非接触性光子光谱检测技术,可以直接无损地检测细胞内的分子组成和结构变化,实现对癌变细胞的快速精准判别。恶性肿瘤是导致人类死亡的第一大疾病,因此肿瘤早期检测成为近年来医学界的重要研究方向。介绍了几种拉曼检测技术的原理,对拉曼检测技术用于肿瘤组织实体、组织病理切片、患者血清及肿瘤单细胞的检测分析进行综述,并对此技术在乳腺肿瘤、消化系统肿瘤、皮肤肿瘤及脑胶质瘤方向的研究进展展开讨论。与正常细胞相比,肿瘤细胞中生物大分子的成分和含量都会发生一定的变化,拉曼光谱技术可快速精准地检测此类变化,因此对实现肿瘤的早期检测有重要的意义。

关键词 医用光学; 拉曼光谱技术; 肿瘤; 快速检测; 肿瘤早期诊断

中图分类号 O657.37

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP202259.0617016

Application of Raman Spectroscopy in Cancer Diagnosis

Liu Fengxiang, Zhang Lihao, Huang Xia*

Medical Diagnostics Academy of Sciences, Suzhou Institute of Biomedical Engineering and Technology,
Chinese Academy of Sciences, Suzhou, Jiangsu 215163, China

Abstract Raman spectroscopy is a nondestructive photon spectrum detection technology that can directly detect the changes in cell molecular composition and structure, providing rapid and precise identification for cancerous cells. Because cancer is the leading cause of mortality in humans, early tumor detection has become a focus of medical research in recent years. This study introduced the concepts of various Raman detection techniques, and their diagnostic applications on clinic samples including tumor tissue, tumor pathological sections, patient serum, and cancerous single cells. It also presented the Raman spectroscopy technology's recent research advances concerning breast cancer, digestive system cancer, skin cancer, and glioma. Cancerous cells differ from normal cells in terms of the structure and quantity of biomacromolecules. Raman spectroscopy can quickly and precisely detect these differences, making its ideal for early cancer diagnosis.

Key words medical optics; Raman spectroscopy; cancer; rapid diagnosis; early cancer diagnosis

1 引言

恶性肿瘤是当前威胁人类健康的第一大杀手。国家癌症中心 2019 年 1 月发布的全国癌症统计报告显示^[1],2015 年全国恶性肿瘤发病率较 2014 年增

长 3.3%,并以每年 3.9% 的速率增长,恶性肿瘤导致的死亡占我国居民全部死因的 23.91%,位居死亡原因第一位。2019 年报道显示,仅一年我国乳腺癌患者每年新发就已近 3.4 万例。虽然目前诊断肿瘤的方法众多,但临床金标准依然为组织切片病理

收稿日期: 2021-01-28; 修回日期: 2021-03-17; 录用日期: 2021-03-31

基金项目: 中国科学院科研仪器设备研制项目(ZDKYYQ20200004)、江苏省省级高层次创新创业人才引进计划专项

通信作者: *huangx@sibet.ac.cn

学分析结合医生的经验,这使诊断具有一定的主观性,结果的准确性与医生专业水平密切相关^[2]。

目前肿瘤检测手段主要依赖于影像学,例如 X 射线、B 超、CT 检查等技术,同时结合活体组织切片的方法进行分析诊断^[3]。这些诊断方法虽然可以在一定程度上反映出细胞的病变,但依然存在检测准确率低或耗时长等问题。例如,3DCT 为肿瘤临床诊断提供三维影像,可以有效提升疾病的诊断效率,但是最后依然需要病理检查进行确诊^[4];彩色多普勒超声同样可以对恶性肿瘤进行检查,但存在一定的漏诊以及误诊率,同时在检查过程中会对患者造成一定的辐射影响,且无法对肿瘤内部进行全面观测^[5];传统的 X 光技术通过观察 X 光图像中的形态特征,对肿瘤进行定性诊断,由于人眼的差异与图像拍摄过程中照度不均匀等缺点,其在临床医学诊断中具有一定的局限性^[6];术后对活体肿瘤组织的病理分析诊断是极为准确的诊断方法,但是这种方法侵入性强,无法反复操作。而拉曼光谱对肿瘤细胞内生物大分子的变化敏感,灵敏度高,同时因为水的拉曼散射信号极弱,对细胞的拉曼信号干扰小,因此拉曼检测技术可以从分子水平上分析癌变细胞中氨基酸、脂类、核酸及碳水化合物的相对含量和分布,实现对癌变细胞的早期判别。

尽管拉曼光谱技术有着诸多优势,但是生物样品的特殊性使拉曼检测技术在临床医学应用中受限。为保证生物细胞活性,需要将拉曼激光功率降至细胞可以适应的强度,这使得样品的拉曼信号减弱,不易采集与解析;生物细胞内有着丰富的纳米、微米级亚细胞结构,这就要求拉曼光谱设备具有超高空间分辨率才能反映细胞内部的结构与信息;细胞内具有多种生物大分子,其结构复杂,浓度分布不均,加大了拉曼检测的难度;此外,由于自发拉曼散射信号强度极弱及抗干扰能力的限制,在实际操作的过程中,为了获得信噪比尚可的拉曼光谱,通常需要很长的积分时间^[7];并且生物分子的背景荧光较强,易对检测结果造成干扰。随着科学技术的发展,近几年学者们对拉曼光谱技术进行了更加深入的研究,围绕着拉曼光谱技术开发了更多的相关技术,例如表面增强拉曼光谱技术、激光共振拉曼光谱技术、共聚焦显微拉曼光谱技术等。表面增强拉曼光谱技术可使拉曼信号增强 $10^5 \sim 10^6$ 倍,解决了拉曼光谱灵敏度低的问题;激光共振拉曼光谱技

术在检测微量样品时体现了巨大的优越性;共聚焦显微拉曼光谱技术可对样品进行高分辨率的精确分析,同时可减小荧光干扰。这些检测技术弥补了拉曼信号弱、样品自身荧光干扰以及检测设备分辨率与灵敏度较低等不足,使拉曼光谱技术得到了进一步的完善。

本文对几种以传统拉曼检测技术为核心而衍生发展出的亚技术进行介绍,并针对拉曼检测技术在肿瘤诊断领域中的应用进行综述。首先,对拉曼光谱技术的原理、几种新技术的优势以及应用等方面进行讨论,主要包括傅里叶变换拉曼光谱技术、表面增强拉曼光谱技术、激光共振拉曼光谱技术、共聚焦显微拉曼光谱技术、相干反斯托克斯拉曼光谱技术和受激拉曼光谱技术。其次,就拉曼光谱对不同类型样品的检测进行研究分析,主要包括肿瘤组织实体、肿瘤组织病理切片、肿瘤患者血清以及肿瘤单细胞。最后,对拉曼光谱技术在乳腺肿瘤、消化系统肿瘤、皮肤肿瘤以及脑胶质瘤上的研究应用进行综述。

2 拉曼光谱检测技术

2.1 拉曼检测原理

1928 年,印度物理学家 Raman 首次发现拉曼散射效应,随后激光技术迅速发展,拉曼光谱技术得到广泛应用。拉曼散射是光在物质表面上发生的非弹性散射,散射过程中,光子与物质的分子发生相互作用交换能量,光子的一部分能量传递给分子,或者分子的振动和转动能量传递给光子,使散射光子的频率发生改变,此频率变化的差值称为拉曼位移^[8]。对于同一物质,拉曼位移与入射光频率和强度无关,它是表征分子振动能级与转动能级特性的物理量,只取决于散射分子的结构,可以作为对分子定性分析的依据^[9]。拉曼光谱相比于红外光谱有更好的分辨率,由于水的拉曼信号很弱,此光谱技术就更适合于生物样品的检测。不同物质有着各自的组成成分和分子结构,拉曼光谱可以提供待测样品分子成分和结构的指纹谱,因此可用于鉴别不同的待测细胞。人体内有几种主要的生物大分子(如糖类、蛋白质、脂类、核酸等)以及一些细胞组织内的其他成分(如类胡萝卜素、胆固醇等)。目前已针对部分生物大分子建立了拉曼数据库,可用于识别细胞内不同物质和相对含量,帮助实现细胞鉴定^[3]。

2.2 拉曼检测技术分类

2.2.1 傅里叶变换拉曼光谱技术(FT-Raman)

傅里叶变换拉曼光谱技术^[10]的设想在 1964 年被首次提出,直至 1986 年从技术上完成了与近红外光源结合才得到实现。该技术对收集的拉曼信号进行傅里叶变换处理,具有可克服荧光干扰、检测速度快、光谱效率精度高与灵敏度高等优势。此外因近红外光穿透能力强,傅里叶变换拉曼光谱技术可无损地检测到深层生物组织中的分子构成和组分信息,故而在生物学及医学等领域得到了广泛应用。例如, Lin 等^[11]采用傅里叶变换拉曼光谱技术检测了胃黏膜标本共 40 例,其中 22 例为正常组织,18 例为恶性肿瘤组织,得出了在癌组织样本中蛋白质和核酸的相对含量明显增加的结论,并以此作为区分胃癌细胞与正常组织细胞的依据。

2.2.2 表面增强拉曼光谱技术(SERS)

表面增强拉曼光谱技术^[12]诞生于 1974 年,针对拉曼信号较弱的缺陷,SERS 将待测物分子吸附在粗糙的纳米金属表面,使待测物的拉曼信号增强了 $10^6 \sim 10^{15}$ 倍,解决了普通拉曼光谱技术灵敏度低的问题。生命体在进行代谢过程中,蛋白质、核酸以及脂类等大分子的结构和组分含量会有一些的变化;在细胞组织癌变早期,也会出现内部成分的微小变化,这种变化很难用影像诊断出来。而 SERS 能够在弱化荧光背景干扰的前提下,通过拉曼光谱反映细胞内成分的微小变化,实现对癌变组织的早期筛查与诊断。目前 SERS 可用于多种癌症的血清标本检测,如乳腺癌、胃癌、肝癌、结直肠癌等^[13]。近年来,随着表面增强拉曼光谱技术的不断发展,基于此技术对癌症标志物进行检测的新方法逐步成为了癌症早期诊断研究的热点。

2.2.3 激光共振拉曼光谱技术(RRS)

激光共振拉曼光谱技术^[14]在拉曼光谱技术的基础上引入了共振吸收增强效应。激发光频率与待测分子的某个电子吸收峰接近或重合时,该分子的某几个特征谱带的拉曼信号强度可提升 $10^4 \sim 10^5$ 倍。因此激光共振拉曼光谱技术具有超高灵敏度,在检测低浓度($10^{-3} \sim 10^{-5}$ mol/L)及微量样品时有巨大的优越性。

2.2.4 共聚焦显微拉曼光谱技术

相较于常规的拉曼光谱技术,共聚焦显微拉曼光谱技术^[15]在空间分辨率上有着独特的优势。通过将激光光斑聚焦至微米量级,配合共聚焦小孔的

空间滤波作用,该技术实现了对样品在高分辨率水平上的精确分析,同时削弱了背景荧光的干扰。共聚焦系统的结构设计,保证了拉曼检测仪收集激光焦点处的样品信息,从而保证了检测结果的高空间分辨率。同时共聚焦系统限制了聚焦区域的光谱,由此可消除物镜自身所产生的光谱。Choi 等^[16]采用了该技术对 10 例基底细胞癌切片进行了研究,结果表明,通过共聚焦狭缝调节器的设计,该技术能够有效地避免样品自身的荧光干扰对实验结果的影响,提高了检测结果的空间信息准确性。

2.2.5 相干反斯托克斯拉曼光谱技术(CARS)

相干反斯托克斯拉曼散射^[17]是一种四波混频效应,也是三阶非线性光学过程,固有的三维层面扫描成像能力使其得到广泛的应用。反斯托克斯收集光谱范围在激发光的低波长一侧,因此其可有效地避开荧光干扰,扩大了在生物医学领域的应用范围。生物医学研究发现,氨基酸和核酸能够借助共振产生较强的 CARS 信号,但是相比之下脂质中的 C—H 键的 CARS 信号更强。因此在医学领域,CARS 显微成像多被用于对脂质的检测。

2.2.6 受激拉曼光谱技术(SRS)

受激拉曼光谱技术(SRS)^[18]是一种三阶非线性的拉曼技术。当拉曼探测光与泵浦光同时作用于介质时,会产生一个与入射光相干的极化场,极化场随时间弛豫(振动去相位过程)与拉曼泵浦光相互作用,生成 SRS 信号。受激拉曼散射光谱成像技术有机地结合了拉曼光谱技术与激光扫描共聚焦显微成像技术,SRS 信号强度与待测样本中各组分的浓度呈线性正比关系,因此可以明确地反映出目标物质的浓度情况^[19]。随着 SRS 成像技术的发展,在生物医学领域中的技术优势逐渐突显出来,已被广泛用于细胞成像。与 CARS 成像不同,SRS 成像不存在使拉曼信号失真的非共振背景;而与 CARS 相似,此技术对 C—H 信号变化灵敏度极高,可用于生物样品脂类以及蛋白质的无标记检测^[20]。

3 拉曼光谱对不同研究对象的检测

应用拉曼光谱技术对肿瘤进行检测时的待检对象主要包括肿瘤组织实体、肿瘤组织病理切片、肿瘤患者血清、肿瘤单细胞以及肿瘤标志物。

3.1 肿瘤组织实体

肿瘤组织实体分为组织离体实体与活体肿瘤组织两种。组织离体实体是术后经生理盐水清洗

后,冰冻或放入溶液中保存起来的离体组织,或是从患者的体内以切除、钳取、穿刺吸取等方法取出病变位置的肿瘤小块组织,在检测分析时可直接获取其拉曼光谱。一些学者采用傅里叶变换拉曼光谱技术对离体乳腺浸润性导管癌组织进行检测,应用光纤探头来观察拉曼光谱,结果表明待测组织中代表脂类的谱带(1439 cm^{-1})明显降低,并且拉曼峰移至 1450 cm^{-1} [21]。

活体肿瘤组织拉曼光谱检测通常以内窥镜与影像技术为基础,通过观察组织形态进行体内实时原位的肿瘤诊断。目前虽然可以通过核磁共振、CT 或 B 超等技术对肿瘤进行诊断,但始终无法实现高精度的术中成像,国际上常用的术中诊断手段主要为荧光成像、共聚焦显微成像和拉曼光谱成像等[22]。Ji 团队[23]与密歇根医学院的脑外科医生合作,采用双光谱 SRS 成像技术对小鼠脑肿瘤进行无标记检测后,进一步将其应用于人类脑肿瘤的病理分析诊断中,并取得了创新性的进展。

3.2 肿瘤组织病理切片

取病变组织制成病理切片,观察病变发展的过程,从而得出病理诊断。在经过取样、固定、冲洗、脱水、透明、浸蜡、包埋、贴片和切片、染色及封片等处理后,得到肿瘤组织病理切片,其中肿瘤细胞已经死亡。细胞发生癌变时,细胞内的分子组成如各种蛋白、脂类会发生变化,同时引起分子光谱发生改变。姚淑霞等[24]采用激光共聚焦光谱仪对乳腺组织切片进行了拉曼光谱的初步研究,实验样品选取了乳腺癌病理切片以及乳腺增生病理切片。得出结论:癌细胞在 860 cm^{-1} 处的拉曼峰出现了平均十几个波数的蓝移,同时在 1610 cm^{-1} 附近峰值与 1525 cm^{-1} 附近峰值之比小于 1.015,这些均可为医生提供肿瘤的辅助诊断依据。

3.3 肿瘤患者血清

人体血清内含有蛋白、脂肪、碳水化合物等成分,这些生物物质都具有特有的拉曼指纹谱。在细胞发生癌变时,排出至血液中的代谢物将会使血清中各种物质构成成分和含量发生改变,从而影响拉曼光谱。有学者对肿瘤进行研究,结果证明了肿瘤患者与健康者的血清相比具有不同的拉曼光谱。李晓舟等[25]采用激光诱导拉曼光谱的方法,对 50 例血清样本进行研究,其中胃癌患者血清 30 例,萎缩性胃炎患者血清 20 例。通过将主成分分析法与判别分析法相结合,对拉曼检测数据结果进行分析,

分析结果表明:应用拉曼光谱对患者血清进行检测,对胃癌和萎缩性胃炎的辨别灵敏度为 90%,特异性可达到 95%,同时具有 92% 的准确性,为胃癌的早期诊断提供了有力的依据。

3.4 肿瘤单细胞

单个细胞是生物结构的基本单位,也是生命活动的基本单元,在单细胞层面上开展肿瘤研究具有重要意义。这种研究需要样品尺寸微小、易获取、对患者几乎没有损伤,因此成为拉曼光谱技术在肿瘤研究应用上的重要途径之一。就单细胞拉曼光谱检测而言,样本无需复杂前处理即可直接用于检测,且容易获得大量分析数据。闰循领等[26]选取病人术后的新鲜样本脱落细胞印片为检测样品,肿瘤标本为肿瘤组织部位,对照组选取的是距肿瘤组织 10 cm 以外的部位。分别对单个红细胞、分叶白细胞、淋巴细胞及结肠癌病人正常组织细胞进行拉曼检测,测得几种细胞的拉曼光谱中不易改变的生物细胞拉曼谱线的内标——由构象不灵敏的苯丙氨酸基取代苯环伸缩振动线(振动峰位于 1002 cm^{-1} 波数)。白细胞谱线弱且少,红细胞谱线强而多。腺癌细胞拉曼谱线较弱,且生长在不同部位的癌细胞荧光强度分布不同,说明细胞内的组分构成发生了改变,部分生物功能丧失。

3.5 肿瘤标志物

肿瘤标志物是指肿瘤发生和增殖过程中,由肿瘤细胞合成、释放或者是机体对肿瘤细胞反应而产生的,并能够反映肿瘤发生、发展,监测肿瘤对治疗反应的一种或几种正常细胞所没有的或含量很低的特异性物质[27],主要包括蛋白质、激素、酶、多肽以及癌基因产物等。癌症早期,血液、细胞、组织或体液中的某些肿瘤标记物可能会相应升高,此时体内肿瘤标志物含量水平的变化是癌症诊断的一个重要依据。对于癌症标志物的检测通常采用的是基于抗体或核酸适配体的特异性识别的免疫分析方法。由于癌症早期阶段,标志物的表达量极低,因此具有高灵敏度、高特异性和多组分检测性质的 SERS 成为了癌症早期标志物检测研究的焦点[28]。早在 1999 年, Ni 等[29]就首次将抗体和拉曼分子修饰到金属纳米粒子上制备 SERS 探针,然后基于该 SERS 免疫探针进行抗体-抗原-探针的“三明治”结构检测。SERS 免疫探针可对被抗体捕获的靶物抗原进行特异性识别,通过 SERS 光谱可以确定抗原的存在及其浓度含量。随着 SERS 检测技术的发

展, SERS 免疫分析法在科学研究和临床应用中大量使用。Wang 等^[30]研究了一种针对胰腺癌的标志物黏蛋白 MUC4 检测的 SERS 免疫分析方法。选用修饰检测抗体和连接了拉曼报告分子的 60 nm 金胶作为免疫探针, 金胶和金膜之间形成 SERS 热点, 增强拉曼报告分子的拉曼信号, 从而达到检测黏蛋白 MUC4 的目的。高荣科等^[31]报道了一种应用于前列腺癌标志物的免洗脱磁性分离免疫检测方法, SERS 探针为信号源, 与磁微米小球以及待测前列腺癌标志物 (PSA) 组成免疫检测的典型“三明治”结构。对使用 MGITC 标记的 SERS 探针进行了 SERS 光谱表征, 检测极限达到了 $0.1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$, 低于临床检测参考值近 2 个数量级。马琳东等^[32]设计了双信号纳米探针, 通过 SERS 信号比检测, 实现了对癌症标志物 miRNA-21 和 miRNA-203 的高灵敏度同时检测。冯雨晴等^[33]报道了基于功能化金纳米棒探针的 SERS 技术, 用于阳性肿瘤细胞的检测。表皮生长因子受体 (EGFR) 是一种肿瘤表面标记性蛋白。通过共价修饰了具有稳定 SERS 信号的 EGFR 细胞靶向的金纳米探针 AuNRs probes。通过对探针表面修饰的 EGFR 抗体与癌细胞表面 EGFR 特异性识别, 探针上拉曼活性分子在 1000 cm^{-1} 和 1600 cm^{-1} 处的拉曼信号增强 2.2 倍和 2.4 倍, 实现对表面肿瘤标记物 EGFR 阳性的癌细胞高灵敏度检测。He 等^[34]构建了核酸适配体修饰并包裹了壳聚糖的 AgNPs, 使其与拉曼报告分子相连接, 同时构建了适配体修饰的被壳聚糖包裹的磁性纳米粒子。AgNPs 和磁性纳米粒子以及靶物形成了“三明治”结构, 通过磁珠进行分离。此方法用于血小板衍生生长因子 BB 的检测, 检测极限可低至 $3.2 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

4 拉曼光谱技术在各类肿瘤诊断中的应用

在细胞发生癌变的过程中, 组织细胞内的物质结构会发生改变, 数量也会有明显的变化, 拉曼光谱可以在无损、非接触的情况下实现对这些信息变化的快速、高分辨率的检测分析, 从而实现在分子水平上对肿瘤细胞与正常细胞的比较, 并获取肿瘤细胞的特征指纹谱^[35]。因此, 拉曼光谱技术对肿瘤的临床诊断具有重要意义。主要对拉曼光谱技术在乳腺肿瘤、消化系统肿瘤、皮肤肿瘤以及脑胶质瘤等几种常见的恶性肿瘤上的研究应用进行综述。

4.1 乳腺肿瘤

于舸等^[36]采用显微拉曼光谱仪对乳腺癌组织和正常组织进行了研究。得出结论: 当乳腺组织发生癌变时, 组织内核酸含量增加, 主链结构发生了改变; 蛋白质拉曼光谱发生改变, 构象变化明显; 脂类成分所占比例减小, 特征峰减少或消失。赵元黎等^[37]对浸润性导管癌 9 例、乳腺增生 8 例、纤维腺瘤以及间质乳腺炎等乳腺疾病 7 例, 共 24 例样品进行拉曼光谱的采集和分析。结果表明: 不同乳腺肿瘤组织具有不同的拉曼峰位移, 在 1610 cm^{-1} 附近峰值与 1525 cm^{-1} 附近峰值之比是否大于 1.015 可作为判断是否发生癌变的标准之一。钱晨等^[38]采用内吞金纳米颗粒对单个 MCF-7 细胞进行表面增强处理, 通过共聚焦拉曼光谱仪分别对采集的 20 组单个 MCF-7 细胞不同位置的表面增强拉曼光谱以及 20 组 MCF-7 不同位置的常规拉曼光谱进行采集和分析。经过对比检测结果得出结论: 表面增强后的拉曼光谱在整体谱线强度以及在相同波长处的拉曼峰强度上相较于常规拉曼光谱采集到的信号强度都有明显的增强, 并且激发出了很多常规拉曼光谱中所没有的特征峰, 如蛋白质、核酸、糖类等元素, 以此反映出细胞复杂的组成成分和结构构成。这种灵敏度高、损伤小的检测技术可为乳腺癌的早期诊断提供研究基础。张海鹏等^[39]对乳腺外科手术患者的乳腺组织冰冻切块进行研究, 其中乳腺纤维腺瘤 17 例, 正常乳腺组织 9 例。对其进行两组实验, 第一组为解冻后的切片正常拉曼光谱的检测, 第二组为壳层隔绝纳米粒子增强光谱 (SHINRES) 的检测。研究结果显示: 乳腺纤维腺瘤切片的普通拉曼光谱图和增强拉曼光谱图中特征峰主要为脂类, 但也可观察到蛋白的酰胺 I 带特征峰的出现, 而正常乳腺组织切片则未检测到蛋白特征峰, 说明蛋白酰胺 I 带特征峰可作为判断细胞组织是否病变的依据。胡成旭等^[40]对 168 例病人的新鲜乳腺组织进行了拉曼光谱检测, 其中 51 例为乳腺浸润性导管癌组织、39 例纤维腺瘤组织、17 例乳腺腺病组织、10 例乳腺囊肿组织及 51 例健康组织。分析结果表明: 健康组织的主要特征峰为脂类中的 CH_2 和 CH_3 , 出现在 1078 cm^{-1} , 1301 cm^{-1} , 1437 cm^{-1} , 1653 cm^{-1} 和 1743 cm^{-1} , 良性和恶性乳腺肿瘤组织中脂类的特征峰则出现了 $2 \sim 3 \text{ cm}^{-1}$ 的蓝移; 除脂类特征峰外, 健康组织、良性肿瘤组织、恶性肿瘤组织的拉曼谱线还出现了不明显的蛋白类特征峰, 其中 α -螺旋特

征振动和氨基酸残基色氨酸的特征振动为病变组织所特有,胶原蛋白的特征振动则为恶性病变组织所特有;在物质含量方面,良性病变组织中相对含量较多的为蛋白类物质,恶性病变组织中相对含量较高的为核酸类物质。郭丽等^[41]检测了 18 例乳腺癌患者血清样品与 20 例健康人血清样品,对实验数据进行成分分析与判别分析,得出结论:乳腺癌患者血清蛋白质空间结构被破坏;脂类侧链纵向有序性相较于健康样品明显下降;糖脂与 β -胡萝卜素的拉曼谱线均发生很大改变。结论与临床结果吻合,促进了此技术被推广至乳腺癌的临床诊断应用中。

4.2 消化系统肿瘤

陈瑶等^[42]收集了胃镜活检中的 19 例正常胃黏膜组织标本与 12 例癌变组织标本,采用拉曼光谱仪对其进行光谱采集。对两组样本拉曼光谱特征峰进行对比发现,胃癌组织中特征峰于 1098 cm^{-1} 、 1444 cm^{-1} 、 1555 cm^{-1} 、 1660 cm^{-1} 等处发生了红移。在癌变组织中, 1087 cm^{-1} 与 1027 cm^{-1} 处的相对峰强比大于 1.87,可作为区别胃癌与正常胃黏膜组织的一个有效条件。并且癌组织中增加了 1262 cm^{-1} 和 1586 cm^{-1} 两处蛋白质特征峰,减少了一处 1172 cm^{-1} 表征蛋白质和脂质的特征峰。该研究证明了拉曼检测技术可应用于胃癌的早期诊断中。凌晓锋等^[43]就 40 例胃癌与正常胃组织(其中正常组织 22 例,胃癌组织 18 例)进行了傅里叶拉曼光谱研究,得出结论:与健康组织相对比,肿瘤组织拉曼特征峰在表征水和蛋白质的 OH、NH 以及 C=O 的谱峰强度明显较强。该结论可作为组织是否癌变的判据。尹立建等^[44]应用与胃镜相匹配的光纤拉曼光谱系统对 17 例胃正常黏膜与 12 例胃腺癌黏膜的活检组织进行了拉曼光谱检测。结果表明:与正常黏膜相比,胃腺癌黏膜在 1002 cm^{-1} 、 1073 cm^{-1} 、 1450 cm^{-1} 以及 1655 cm^{-1} 处的拉曼峰值强度相对较高。这些拉曼峰归属于苯丙氨酸和蛋白质,也就是说胃腺癌黏膜中,这两种物质含量高于正常黏膜。相较于胃正常黏膜,胃腺癌黏膜的拉曼峰强度总体降低。采用拉曼光谱在连续频带内和非连续频带积分能量的比值作为诊断指标,可以获得较高的准确度($97.5\%\sim 98.5\%$),敏感度(91.7%)以及特异度(100.0%)。此研究在一定程度上对拉曼光谱应用于胃癌诊断的应用进行了拓展和开发。

蒋庆锋等^[45]取手术切除的新鲜食管癌组织和正常组织(距肿瘤边缘大于 5 cm 部位)各 64 例,其

中鳞癌 57 例,腺癌 7 例。分别对两组样品进行拉曼光谱检测,经分析表明,食管癌组织与正常组织的拉曼光谱差异显著,分子组成与结构明显不同。绝大多数食管癌组织在波数 1661.9 cm^{-1} 和 2936.7 cm^{-1} 处出现了特征峰,分别对应于脂肪酸和脂类与蛋白,说明食管癌组织具有相同点,这对拉曼技术应用于食管癌的诊断具有重要的意义。周雪等^[46]对 41 例血红蛋白样本进行了拉曼光谱检测与研究,其中 21 例取自食管癌患者,20 例取自健康人。研究发现,食管癌患者的血红蛋白样品在拉曼光谱 1562 cm^{-1} 与 1591 cm^{-1} 处的谱峰强度较健康人更弱,说明癌症患者血液样品中,部分处于高自旋态的铁离子减少,低自旋态的铁离子增多,印证了癌症患者血样易溶血的现象。

李维红等^[47]对肠、胃、十二指肠以及口腔腮腺等部位的正常组织与肿瘤组织进行了傅里叶拉曼光谱检测,发现正常组织与肿瘤组织在 C—H ($2800\sim 3000\text{ cm}^{-1}$)、NH、OH ($2800\sim 3000\text{ cm}^{-1}$) 等多处伸缩振动区段有着明显差异。检测结果与早期应用红外光纤法所得到的结果相吻合,由此说明了拉曼检测技术可成为肿瘤临床诊断的新方法。王玥等^[48]通过采集健康人、直肠癌与盲肠癌患者的血清作为样本,进行荧光光谱与拉曼光谱的检测,通过对光谱数据进行整理分析,提出了参数 β ——同一波长处荧光强度与拉曼峰强度之比。在激发光波长为 488 nm 时, $\beta < 0.1$ 可作为区分健康人与癌症病人的依据。罗舒文等^[49]采用共聚焦显微拉曼技术对 14 例正常结肠组织、27 例腺瘤性息肉和 19 例腺癌组织分别进行检测,根据拉曼光谱可观察到癌变后的组织中核酸、蛋白质以及脂质等结构以及含量发生了极大改变。此研究为拉曼光谱技术在结肠癌诊断领域的应用提供了实验依据。王德力等^[50]利用拉曼光谱技术对同一患者的三种不同细胞(正常结肠细胞、结肠癌细胞、癌旁细胞)进行检测。通过对检测结果进行分析发现,结肠癌的单细胞拉曼光谱在 883 cm^{-1} 、 1089 cm^{-1} 、 1283 cm^{-1} 等波数处有着固定的特征峰,且在结肠癌单细胞中,核酸含量增加,脂类含量减少。此研究初步显示出单细胞拉曼光谱技术用于癌细胞诊断的可行性。

4.3 皮肤肿瘤

汪兆平等^[51]为研究拉曼光谱在皮肤癌诊断中的应用,选取了 16 块健康皮肤与 16 块基底细胞癌的活体检查样品进行拉曼光谱检测。分析结果表

明,酰胺 I、酰胺 II、酰胺 III 三个区域拉曼峰的相对变化可以用来区分基底细胞癌与健康皮肤样品,同时基底细胞癌拉曼光谱中波数为 $800\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ 的特征峰强度均有所减弱。此后又对正常皮肤、脂溢性角化病、基底细胞癌、色素瘤及恶性黑色素瘤进行拉曼光谱检测实验,其中上述每组组织样品中有 2 例样品的拉曼光谱由光纤直接从患者皮肤上获得,另外 10 例为皮肤活体样品。结果表明,活体样品与未离体组织样品的拉曼光谱相似,但恶性肿瘤与其他受损皮肤的拉曼光谱出现了明显的不同,表明了拉曼检测或许可用于对皮肤癌的原位实时诊断。王爽等^[52]对临床检测获得的 1022 例不同皮肤病变的拉曼光谱进行归纳分析,总结出大部分皮肤病变的拉曼光谱形状基本相同,谱峰强度是其主要差异的结论。此后对数据进行了降维处理,通过数据分析验证了快速拉曼光谱分析技术在临床上可以准确地鉴别恶性肿瘤、癌前病变和良性病理变化特征,灵敏度高达 90%。

4.4 脑胶质瘤

李燕雏等^[53]应用拉曼光谱技术对采集到的 14 例患者脑胶质瘤离体冰冻切片进行了检测,样本病理诊断均为 III、IV 级脑胶质瘤,同时检测一例正常脑组织样本作为对照组。对检测到的拉曼信息进行数据整理及谱线分析,对比两种级别的胶质瘤组织与正常组织的拉曼特征峰,发现利用激光共聚焦拉曼技术判别脑胶质瘤分级的准确率高达 86%,经修正可达 100%。研究认为通过拉曼检测以及特征峰差异分析方法得出的检测结果可以作为脑胶质瘤的初步诊断依据。王宇宸等^[54]对目前应用于手术中的几种拉曼成像技术进行了总结与分析,其中有研究采用 SRS 成像的方法检测新鲜脑胶质瘤组织样本,并将其应用到小鼠的脑肿瘤模型中,发现此技术可用于手术时对肿瘤边缘的成像^[55]。此外对基于拉曼成像技术的手持式探测器展开了研究,研究结果表明,该探测器有准确区分正常脑组织与肿瘤组织间分子差异的能力^[56]。刘婉华等^[57]利用拉曼光谱技术研究了光动力作用对 C6 胶质瘤细胞的杀伤效应。通过对光动力作用后的 5 组 C6 胶质瘤细胞进行拉曼信号采集,分析各组样品拉曼光谱的特征峰峰位与峰强,发现光敏损伤后的肿瘤细胞拉曼光谱中表征核酸和蛋白质的特征峰峰强和峰位都具有很大的差异。

5 拉曼光谱检测技术的发展前景

通过对物质的分子结构进行快速、无损、非破坏性、高分辨率的指纹图谱识别,拉曼光谱技术可实现恶性肿瘤的快速诊断。这在一定程度上弥补了当前金标准检测技术需对肿瘤进行切片取样后依靠医生经验进行病理诊断的短板。癌变后,细胞中的多种物质,如脂类与核酸等都会发生分子结构和含量上的改变,通过与正常细胞拉曼指纹谱图的对比,进行肿瘤的临床诊断,可实现分子和细胞水平的原位检测。拉曼检测技术在医学领域有着广泛的发展前景,要想将该方法由实验研究推广至临床诊断应用中,需通过大量实验数据的分析与积累,以得到较为准确的肿瘤细胞特有的指纹谱图,而这也是目前学者们研究医用拉曼检测技术的主要方向。

参 考 文 献

- [1] Zhu S C, Han C. Prevention and control of cancer in China from the perspective of breast cancer incidence [J]. Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases, 2020, 19(11): 1081-1083, 1090.
祝淑钗, 韩春. 从乳腺癌发病变化看我国恶性肿瘤的防控重点 [J]. 疑难病杂志, 2020, 19(11): 1081-1083, 1090.
- [2] Li Z H, Li Z L. Research progress of Raman spectroscopy in cancer diagnosis [J]. World Latest Medicine Information, 2018, 18(92): 47-48.
李泽华, 李竹林. 拉曼光谱在肿瘤诊断中的研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(92): 47-48.
- [3] Zhao Q Y, Sun Y H. Progress of Raman spectroscopy in cancer diagnosis of human organization [J]. Practical Oncology Journal, 2018, 32(1): 92-96.
赵倩好, 孙轶华. 拉曼光谱在癌症组织学诊断中的研究进展 [J]. 实用肿瘤学杂志, 2018, 32(1): 92-96.
- [4] Liu X R. The value of CT in diagnosis and differentiation of primary adrenal tumors [J]. Continuing Medical Education, 2020, 34(4): 136-138.
刘欣然. CT 在原发性肾上腺肿瘤诊断与鉴别中的价值 [J]. 继续医学教育, 2020, 34(4): 136-138.
- [5] Li H N, Luo H, Li T, et al. Application of contrast-enhanced ultrasound in diagnosis and differential diagnosis of renal tumors [J]. China & Foreign Medical Treatment, 2020, 39(26): 184-186.
李红娜, 罗辉, 李童, 等. 超声造影在肾脏肿瘤诊断及鉴别诊断中的应用研究 [J]. 中外医疗, 2020, 39

- (26): 184-186.
- [6] Wu Z X, Chen S Q, Cheng J Z. A new edge detection algorithm of X-ray image of osteoma[J]. Signal Processing, 1999, 15(4): 334, 376-378.
吴朝霞, 陈少卿, 程敬之. 一种新的骨肿瘤 X 光图像边缘检测技术[J]. 信号处理, 1999, 15(4): 334, 376-378.
- [7] Qi Y F, Liu Y H, Liu D M. Research progress on application of Raman spectroscopy in tumor diagnosis [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2020, 57(22): 220001.
祁亚峰, 刘宇宏, 刘大猛. 拉曼光谱技术在肿瘤诊断上的应用研究进展[J]. 激光与光电子学进展, 2020, 57(22): 220001.
- [8] Zhang Y H, Wu L P, Sun Z R. Application progress of Raman spectroscopy[J]. Education in Chemistry, 2006(4): 32-35.
张延会, 吴良平, 孙真荣. 拉曼光谱技术应用进展[J]. 化学教学, 2006(4): 32-35.
- [9] Yan X X. Research on Raman spectroscopy in cancer diagnosis[J]. Biotech World, 2016, 13(1): 86.
鄢晓小. 拉曼光谱技术在癌症诊断中的研究探讨[J]. 生物技术世界, 2016, 13(1): 86.
- [10] Yang F. Raman spectroscopy technology and application[J]. China Modern Medicine, 2010, 17(27): 12-13.
杨芳. 拉曼光谱技术与应用[J]. 中国当代医药, 2010, 17(27): 12-13.
- [11] Lin X F, Song Y Y, Soloway R D, et al. Fourier transform Raman spectra can separate most normal and malignant tissue[J]. Gastroenterology, 2000, 118(4): A1398.
- [12] Wang M D, Wang Z T, Wang F Y. Progress and trend in surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Chemical Analysis and Meterage, 2016, 25(1): 104-107.
王明栋, 王宗廷, 王凤英. 表面增强拉曼光谱技术研究进展[J]. 化学分析计量, 2016, 25(1): 104-107.
- [13] Zhang C X, Sun B, Liu J J, et al. Application of surface enhanced Raman spectroscopy in tumor laboratory diagnosis[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2019, 40(12): 1502-1505, 1525.
张晨曦, 孙波, 刘佳佳, 等. 表面增强拉曼光谱在肿瘤实验室诊断中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(12): 1502-1505, 1525.
- [14] Liu L. Laser Raman spectroscopy and the advance of its application[J]. Journal of Shanxi University (Natural Science Edition), 2001, 24(3): 279-282.
刘玲. 激光拉曼光谱及其应用进展[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2001, 24(3): 279-282.
- [15] Xu Y J, Luo R H, Guo M T, et al. The application and development of confocal Raman micro-spectroscopy [J]. Laser Journal, 2007, 28(2): 13-14.
许永建, 罗荣辉, 郭茂田, 等. 共聚焦显微拉曼光谱的应用和进展[J]. 激光杂志, 2007, 28(2): 13-14.
- [16] Choi J, Choo J, Chung H, et al. Direct observation of spectral differences between normal and basal cell carcinoma (BCC) tissues using confocal Raman microscopy[J]. Biopolymers, 2005, 77(5): 264-272.
- [17] Zhou Q, Yuan J H, Zhou W, et al. Coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy and its biomedical application[J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 2015, 34(3): 261-271.
周前, 袁景和, 周卫, 等. 相干反斯托克斯拉曼散射显微成像技术及其在生物医学领域的应用[J]. 电子显微学报, 2015, 34(3): 261-271.
- [18] Chen G Q, He Y H, Xu M, et al. Development of stimulated Raman spectroscopy system[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2013, 52(4): 520-524.
陈桂琴, 何玉韩, 徐媚, 等. 受激拉曼光谱系统的研制[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2013, 52(4): 520-524.
- [19] Zhang B H, Guo L, Yao L, et al. Rapid histological imaging using stimulated Raman scattering microscopy [J]. Chinese Journal of Lasers, 2020, 47(2): 0207018.
张博涵, 郭莉, 姚冽, 等. 受激拉曼散射显微技术用于快速无标记病理成像[J]. 中国激光, 2020, 47(2): 0207018.
- [20] Li Z L, Li S W, Zhang S L, et al. Coherent Raman scattering microscopy technique and its biomedical applications[J]. Chinese Journal of Lasers, 2020, 47(2): 0207005.
李姿霖, 李少伟, 张思鹭, 等. 相干拉曼散射显微技术及其在生物医学领域的应用[J]. 中国激光, 2020, 47(2): 0207005.
- [21] Liu M, Hu Y G. Application of Raman spectroscopy: noninvasive detection in early diagnosis of cancer[J]. Science Mosaic, 2011(1): 231-234.
刘铭, 胡永刚. 拉曼光谱技术的应用: 肿瘤早期诊断的无损检测[J]. 科技广场, 2011(1): 231-234.
- [22] Liu Q, He R Y, Xu Y K, et al. Simultaneous bi-spectral stimulated Raman scattering microscopy for the pathological detection of label-free solid tumor[J]. Chinese Journal of Medical Physics, 2016, 33(12): 1189-1194.
刘琦, 贺若愚, 徐永奎, 等. 同步双光谱受激拉曼成

- 像用于实体瘤无标记快速病理检测[J]. 中国医学物理杂志, 2016, 33(12): 1189-1194.
- [23] Ji M, Orringer D A, Freudiger C W, et al. Rapid, label-free detection of brain tumors with stimulated Raman scattering microscopy[J]. *Science Translational Medicine*, 2013, 5(201): 201ra119.
- [24] Yao S X, Zhao Y L, Zhang L, et al. Raman scattering spectra of breast histological sections[J]. *Henan Journal of Preventive Medicine*, 2004, 15(3): 132-134.
- 姚淑霞, 赵元黎, 张录, 等. 乳腺组织切片的拉曼光谱的研究[J]. *河南预防医学杂志*, 2004, 15(3): 132-134.
- [25] Li X Z, Wang X W, Guo X J, et al. Analysis on Raman spectra data of serum from stomach cancer and atrophic gastritis[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2010, 19(4): 521-524.
- 李晓舟, 王兴伟, 郭兴家, 等. 胃癌与萎缩性胃炎的血清拉曼光谱数据分析[J]. *激光生物学报*, 2010, 19(4): 521-524.
- [26] Yan X L, Wang Q G, Dong R X, et al. Raman spectra of several cells from colon cancer patients[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2003, 23(6): 1129-1131.
- 闫循领, 王秋国, 董瑞新, 等. 结肠癌病人几种细胞的 Raman 光谱[J]. *光谱学与光谱分析*, 2003, 23(6): 1129-1131.
- [27] Birse C E, Tomic J L, Pass H I, et al. Clinical validation of a blood-based classifier for diagnostic evaluation of asymptomatic individuals with pulmonary nodules[J]. *Clinical Proteomics*, 2017, 14(1): 1-9.
- [28] Yang L. Study on SERS immunoassay and photothermal immunoassay for typical cancer biomarker detection[D]. Chongqing: Southwest University, 2018.
- 杨琳. 典型癌症标志物的 SERS 免疫分析及光热免疫分析新方法[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- [29] Ni J, Lipert R J, Dawson G B, et al. Immunoassay readout method using extrinsic Raman labels adsorbed on immunogold colloids[J]. *Analytical Chemistry*, 1999, 71(21): 4903-4908.
- [30] Wang G F, Lipert R J, Jain M, et al. Detection of the potential pancreatic cancer marker MUC4 in serum using surface-enhanced Raman scattering[J]. *Analytical Chemistry*, 2011, 83(7): 2554-2561.
- [31] Gao R K, Li B N. Rapid immunoassay of prostate cancer biomarker using SERS-based microfluidic chip [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2016, 36(S1): 259-260.
- 高荣科, 李炳南. 基于 SERS 微流控的前列腺癌标志物的快速免疫检测研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 36(S1): 259-260.
- [32] Ma L D, Wu S H, Chen Q C, et al. Dual-signal probe for simultaneous detection of multiple MicroRNAs [J]. *Journal of Qingdao University of Science and Technology (Natural Science Edition)*, 2017, 38(S1): 66-68.
- 马琳东, 吴升红, 陈其晨, 等. 双信号功能探针同时检测多种 miRNAs[J]. *青岛科技大学学报(自然科学版)*, 2017, 38(S1): 66-68.
- [33] Feng Y Q, Li X. Surface enhanced Raman scattering probes based on targeted gold nanorods for detecting HeLa cells[J]. *Chinese Journal of Luminescence*, 2019, 40(10): 1215-1219.
- 冯雨晴, 李奚. 基于 SERS 技术的靶向修饰金纳米探针用于 HeLa 细胞的检测[J]. *发光学报*, 2019, 40(10): 1215-1219.
- [34] He J, Li G, Hu Y. Aptamer recognition induced target-bridged strategy for proteins detection based on magnetic chitosan and silver/chitosan nanoparticles using surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(21): 11039-11047.
- [35] Yan T X, Gu H M, Shen G S. The application of Raman spectroscopy in cancer diagnosis[J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2008, 17(1): 133-137.
- 闫天秀, 谷怀民, 沈高山. 拉曼光谱技术在肿瘤检测中的应用[J]. *激光生物学报*, 2008, 17(1): 133-137.
- [36] Yu G, Xu X X, Niu Y, et al. Studies on human breast cancer tissues with Raman microspectroscopy [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2004, 24(11): 1359-1362.
- 于舸, 徐晓轩, 牛哟, 等. 人乳腺癌组织的显微拉曼光谱研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, 24(11): 1359-1362.
- [37] Zhao Y L, Lü J, Shen P H, et al. Study on Raman spectrum of galactophore tumour[J]. *Laser & Infrared*, 2004, 34(6): 502-504.
- 赵元黎, 吕晶, 申培红, 等. 乳腺肿瘤组织的拉曼光谱研究[J]. *激光与红外*, 2004, 34(6): 502-504.
- [38] Qian C, Guo Q, Chen N, et al. SERS spectra studies on single human breast cancer cells[J]. *Progress in Biomedical Engineering*, 2012, 33(4): 214-218.
- 钱晨, 郭强, 陈娜, 等. 单个乳腺癌细胞表面增强拉曼光谱研究[J]. *生物医学工程学进展*, 2012, 33(4): 214-218.
- [39] Zhang H P, Fu T, Zhang Z, et al. Characteristics of shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy

- of breast fibroadenoma and its clinical significance[J]. Journal of Jilin University (Medicine Edition), 2014, 40(4): 833-837, 916.
- 张海鹏, 付彤, 张喆, 等. 乳腺纤维腺瘤表面增强拉曼光谱学特点及其临床意义[J]. 吉林大学学报(医学版), 2014, 40(4): 833-837, 916.
- [40] Hu C X, Zheng C, Zhang H P, et al. Study on fresh breast tissues by near-infrared Raman spectroscopy [J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2013, 34(12): 2721-2727.
- 胡成旭, 郑超, 张海鹏, 等. 新鲜乳腺癌组织的近红外拉曼光谱分析[J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(12): 2721-2727.
- [41] Guo L, Zhang Y, Lü J Y, et al. Multivariate statistical analysis of serum from breast cancer patients using surface enhanced Raman spectrum[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2013, 33(6): 1553-1556.
- 郭丽, 张毅, 吕金燕, 等. 用多元分析方法研究乳腺癌血清的表面增强拉曼光谱[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(6): 1553-1556.
- [42] Chen Y, Dai J H, Zhang H, et al. A preliminary study of normal and malignant gastric mucosal tissue by confocal Raman spectroscopy[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2014, 23(1): 45-50.
- 陈瑶, 代剑华, 张华, 等. 正常和癌变胃粘膜组织的共焦拉曼光谱初探[J]. 激光生物学报, 2014, 23(1): 45-50.
- [43] Ling X F, Li W H, Song Y Y, et al. FT-Raman spectroscopic investigation on stomach cancer[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2000, 20(5): 692-693.
- 凌晓锋, 李维红, 宋苑苑, 等. 胃癌组织的拉曼光谱初探[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, 20(5): 692-693.
- [44] Yin L J, Rao Y J, Dai J H, et al. A feasibility study of using fiber-optic Raman spectrum system for fast diagnosis of gastric cancer[J]. Opto-Electronic Engineering, 2019, 46(4): 86-93.
- 尹立建, 饶云江, 代剑华, 等. 光纤拉曼光谱系统对胃癌的快速诊断的可行性研究[J]. 光电工程, 2019, 46(4): 86-93.
- [45] Jiang Q F, Zhao S, Qin J J, et al. Research of esophagus carcinoma tissue by Raman spectroscopy [J]. Journal of Medical Forum, 2006, 27(23): 17-19.
- 蒋庆锋, 赵松, 秦建军, 等. 食管癌组织 Raman 光谱的研究[J]. 医药论坛杂志, 2006, 27(23): 17-19.
- [46] Zhou X, Chen G Y, Zhang J M, et al. Research on early diagnosis of esophageal cancer by Raman spectroscopy of human hemoglobin[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2013, 33(11): 2989-2992.
- 周雪, 陈光意, 张建民, 等. 应用血红蛋白的拉曼光谱进行食管癌诊断的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(11): 2989-2992.
- [47] Li W H, Xu Z. FT-Raman and FT-IR studies on the normal and malignant tissues[J]. Chinese Journal of Light Scattering, 1998, 10(3): 114-119.
- 李维红, 徐智. 肿瘤和正常组织的 FT-Raman 与 FT-IR 研究[J]. 光散射学报, 1998, 10(3): 114-119.
- [48] Wang Y, Li X Z, Wang D L. Studies of laser-induced auto-fluorescence and Raman spectroscopy of human serum in diagnosis of rectum cancer and colon cancer[J]. Transactions of Shenyang Ligong University, 2007, 26(3): 80-83.
- 王玥, 李晓舟, 王德力. 直肠癌和结肠癌血清自体荧光-拉曼光谱诊断[J]. 沈阳理工大学学报, 2007, 26(3): 80-83.
- [49] Luo S W, Chen C S, Chen W D. Early diagnosis of colon cancer using Raman spectroscopy and multivariate statistical analysis techniques[J]. Chinese Journal of Luminescence, 2013, 34(11): 1544-1549.
- 罗舒文, 陈长水, 陈 W D. 基于拉曼光谱和多元统计分析技术的结肠癌早期诊断[J]. 发光学报, 2013, 34(11): 1544-1549.
- [50] Wang D L, Qi D L. A study on the detection of colon cancer cells based on optical tweezers and Raman spectroscopy technology[J]. Journal of Changchun University, 2009, 19(4): 66-68.
- 王德力, 齐东丽. 光镊拉曼光谱技术检测结肠癌细胞的研究[J]. 长春大学学报, 2009, 19(4): 66-68.
- [51] Wang Z P, Han H X, Li G H. Applications of Raman spectra in cancer diagnosis[J]. Chinese Journal of Light Scattering, 1999, 11(4): 398-405.
- 汪兆平, 韩和相, 李国华. 拉曼光谱在癌症诊断中的应用[J]. 光散射学报, 1999, 11(4): 398-405.
- [52] Wang S, Zeng H S. Real-Time *in vivo* Raman spectroscopy and its clinical applications in early cancer detection[J]. Chinese Journal of Lasers, 2018, 45(2): 0207002.
- 王爽, Zeng H S. 实时拉曼光谱分析技术及其在临床早期癌症检测中的应用[J]. 中国激光, 2018, 45(2): 0207002.
- [53] Li Y C, Mao Q, Liu Y H, et al. Study on the diagnosis and classification of high grade glioma by Raman spectroscopy[C] //Conference of Cancer Radiotherapy Committee of China Anti Cancer Association, May 1, 2012, Jinan, Shandong, China.

- Tianjin: China Anti-Cancer Association, 2012.
- 李燕雏, 毛庆, 刘艳辉, 等. 采用拉曼光谱对高级别脑胶质瘤的诊断及分级研究[C]//第三届学术会议 2012 济南国际放射肿瘤学论坛, 2012, 5月1号, 中国, 山东, 济南. 天津: 中国抗癌协会, 2012.
- [54] Wang Y C, Li Y, Wu X Y, et al. Research progress of Raman spectroscopy in detection of glioma[J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacy, 2016, 25(6): 398-401.
- 王宇宸, 李杨, 吴歆怡, 等. 拉曼成像技术在脑胶质瘤检测中的研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2016, 25(6): 398-401.
- [55] Pointer K B, Zhang R R, Kuo J S, et al. Detecting brain tumor with Raman scattering microscopy[J]. Neurosurgery, 2014, 74(2): N12-N14.
- [56] Jermyn M, Mok K, Mercier J, et al. Intraoperative brain cancer detection with Raman spectroscopy in humans[J]. Science Translational Medicine, 2015, 7(274): 274ra19.
- [57] Liu W H, Liu J, Diao Z Q, et al. Study on the photodynamic killing effect C6 glioma cell with Raman spectroscopy[J]. Laser & Infrared, 2010, 40(8): 825-829.
- 刘婉华, 刘健, 刁振琦, 等. 利用拉曼光谱研究光动力作用对 C6 胶质瘤细胞的杀伤效应[J]. 激光与红外, 2010, 40(8): 825-829.