

文章编号: 0253-2239(2007)01-0124-5

具有三种颜色的白癜风皮肤的荧光光谱^{*}

陈 荣¹ 曾海山² 黄宝华¹ 黄志伟¹ 谢树森¹

(¹ 福建师范大学医学光电科学与技术教育部重点实验室, 福州 350007)
(² 加拿大 BC 癌研究中心, 加拿大, 温哥华, V5Z 1L3)

摘要: 将荧光光谱方法应用于具有三种颜色的白癜风皮肤特性的研究, 在对荧光测量以及皮肤组织病理检查的基础上, 建立了三色白癜风皮肤的光学模型, 分析了皮肤黑色素的含量与分布, 并进行了蒙特卡罗计算, 其结果与实测结果基本一致。研究表明: 具有三种颜色的白癜风皮肤可作为一个较好的皮肤黑色素含量与分布的模型; 荧光光谱法可以探测到皮肤较深层(真皮层)的黑色素分布或其他组织光学特性; 所建立的白癜风皮肤的光学模型及建模方法, 所采用的光谱比率法等可以在皮肤光学的其他研究中应用。

关键词: 医用光学与生物技术; 三色白癜风; 荧光光谱; 黑色素含量分布; 蒙特卡罗模拟

中图分类号: R816.95; O433 文献标识码: A

Fluorescent Spectrum of Skin with Trichrome Vitiligo

Chen Rong¹ Zeng Haishan² Huang Baohua¹ Huang Zhiwei¹ Xie Shusen¹

(¹ Key Laboratory of Optoelectronic Science and Technology for Medicine, Ministry of Education, Institute of Laser, Fujian Normal University, Fuzhou 350007)
(² British Columbia Cancer Research Centre, Vancouver, BC, Canada, V5Z 1L3)

Abstract: Fluorescent spectrum was used to study the property of trichrome vitiligo skin. Melanin content and distribution were analyzed and optical model was developed based on the measurement of skin fluorescence and study of skin pathology. Monte Carlo simulation based on this optical model shows good agreement with the experimental result. The study suggests that, trichrome vitiligo skin is an ideal model to study skin melanin content and distribution; fluorescence spectrum can be used to study melanin distribution or other tissue properties in deeper skin (e.g. dermis); the optical model developed and the method to develop it, as well as the spectrum ratio method, can be used in other study of skin optics.

Key words: medical optics and biotechnology; trichrome vitiligo; fluorescent spectrum; melanin content and distribution; Monte Carlo simulation

1 引 言

将光谱方法应用于人体皮肤光学特性以及黑色素分布的研究, 对皮肤疾病诊治, 皮肤美容等有重要意义。Kollias 与 Beger 曾用反射光谱检测研究了皮肤患者黑色素沉积或黑色素缺失区域的皮肤特性^[1], 作者也曾利用反射光谱研究一例同时具有三种颜色的白癜风患者的皮肤, 结论是, 反射光谱可以定量分析研究皮肤表层(角质层, 表皮层)的黑色素含量与分布, 根据该研究所建立的光学模型及蒙特卡罗(Monte Carlo)模拟计算, 都取得了较好的结果。然而, 皮肤较深层次(真皮层)的黑色素的分布与含量如

何? 荧光光谱是否可用于白癜风皮肤的研究? 至今尚少见相关报道。本文报道采用荧光光谱方法, 针对具有三种颜色的白癜风皮肤的研究结果。

2 研究对象和实验装置

白癜风是由于皮肤黑色素缺失而引起的一种皮肤疾病。本文研究对象是一位华裔菲律宾人, 男性, 成年人, 患者腿、手、头部出现白癜风皮肤, 特别是在介于正常皮肤(N)以及白癜风白斑皮肤(V)之间出现颜色较浅的白斑, 称为浅色白癜风皮肤(T)。将此具有三种不同颜色的患者作为研究对象。患者皮

^{*} 国家自然科学基金(69778029)、教育部重点项目(205081)、福建省国际合作项目(2005I009)、福建省发改委项目[(2005)847]和加拿大防癌协基金资助课题。

作者简介: 陈 荣(1950—), 男, 福建福州人, 教授, 博士生导师, 主要从事生物医学光学研究。E-mail: chenr@fjnu.edu.cn

收稿日期: 2006-04-05; 收到修改稿日期: 2006-05-15

肤局部见图 1。

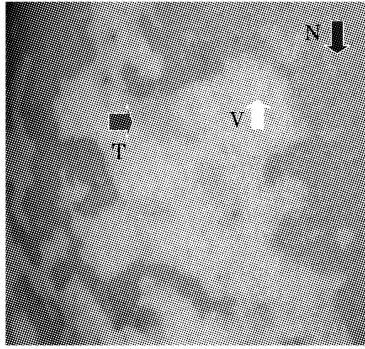


图 1 具有三色的白癜风皮肤

Fig. 1 skin with trichrome vitiligo

实验采用的测试装置(图 2)由荧光激发光源 QTH lamp 表示石英钨卤素灯、光纤传光系统、探测器以及计算机处理系统组成。从 He-Cd 激光器发出的 442 nm 激光,经过光纤束的外围光纤(Illumination fiber),照射于皮肤表面,而位于光纤束中央的光纤(Pick-up fiber),则收集来自皮肤不同层发出的荧光信号,该信号先经过一个过滤器,滤除 He-Cd 激光器的激发光,然后进入一个小型光纤

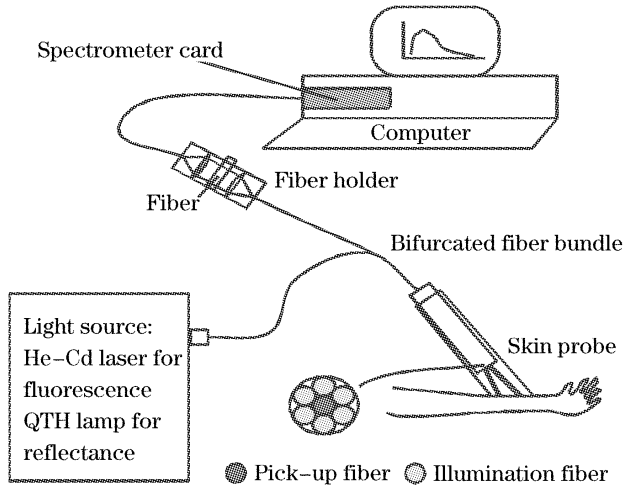
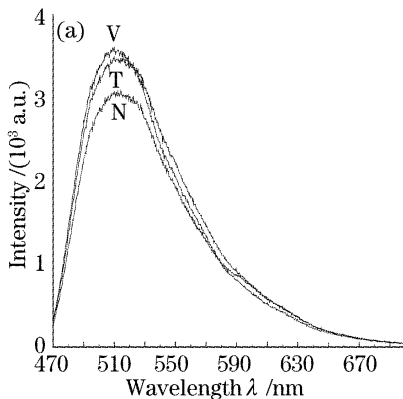


图 2 皮肤光谱测试装置

Fig. 2 Test system for skin spectrum



光谱仪系统。图中当光源更换为石英钨卤素灯,该系统也可用于测试皮肤的反射光谱信号。

3 白癜风皮肤的黑色素分布

为了解白癜风皮肤,特别是浅色白癜风皮肤的黑色素分布情况,为此后测试结果的分析以及光学模型的建立提供依据,对该皮肤进行组织病理学检查。图 3 是浅色白癜风皮肤的组织病理切片图。从图 3 可知,浅色白癜风皮肤最外层的角质层(图 3 上端的网状结构)未出现黑色素,但在真皮层上层的局部出现了少量黑色素分布,图中黑色箭头所指处。组织病理学证实浅色白癜风皮肤的黑色素含量与分布介于白癜风皮肤与正常皮肤之间。浅色白癜风皮肤表层(角质层与表皮层)的黑色素含量与分布接近于白癜风皮肤,而较深层(真皮层)的黑色素含量与分布更接近于正常皮肤。

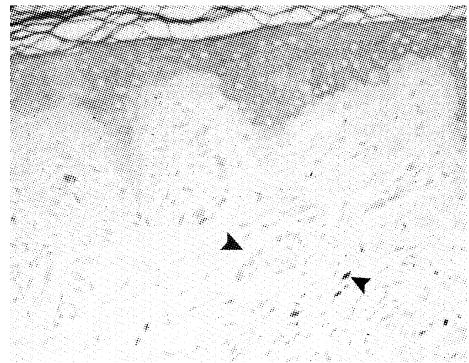


图 3 浅色白癜风皮肤组织的 H&E 染色切片图
Fig. 3 Microphotograph of H&E stained section of the tint vitiligo skin

4 荧光光谱测试结果

图 4(a)是实验测试获得的正常皮肤(N),白癜风皮肤(V)以及浅色白癜风皮肤(T)的三条荧光光谱曲

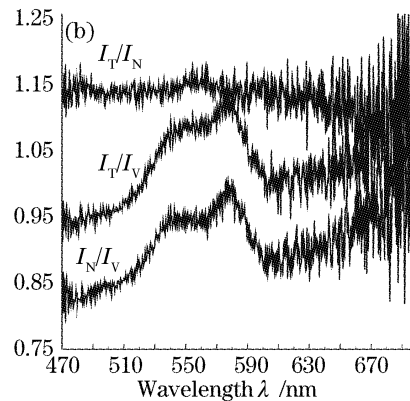


图 4 实测皮肤荧光光谱曲线(a)及光谱比率曲线(b)

Fig. 4 Experimental fluorescence spectra (a) and spectra ratio curves of skin (b)

线。图 4(b)是根据这三条曲线的实测数据,进一步得到的荧光光谱比率曲线。自上而下,分别对应:浅色白癜风对正常皮肤(I_T/I_N),浅色白癜风对白癜风皮肤(I_T/I_V)以及正常皮肤对白癜风皮肤(I_N/I_V)。

三条实测荧光光谱曲线的峰位均在 500~520 nm 之间;从峰位附近的荧光强度来看,以白癜风最强,浅色白癜风次之,而正常皮肤最弱;浅色白癜风的荧光峰位较白癜风的荧光峰略向红移;从 520 nm 到近红外区,三条荧光曲线均迅速下降。

从荧光光谱比率曲线来看,浅色白癜风对正常皮肤(I_T/I_N)是一水平线,其比值约为 1.15;浅色白癜风对白癜风(I_T/I_V)与正常皮肤对白癜风皮肤(I_N/I_V),两比率曲线形状相近,前者比值较大,而这两条曲线都在 540 nm,580 nm 两处出现峰值。

5 分析与讨论

从皮肤的组织病理切片分析,可知白癜风皮肤的角质层与表皮层黑色素缺失,浅色白癜风虽然在部分真皮上层出现黑色素,但是角质层与大部分表皮层仍为黑色素缺失,均导致对荧光吸收的减少。因此,从总荧光曲线总体来看,这两种皮肤(V、T)的荧光较强,而正常皮肤(N)的荧光较弱。

根据曾海山对皮肤荧光显微光谱的研究^[2],真皮层发出的荧光是角质层的 7 倍(表皮层不发光),真皮层的荧光将在所探测的荧光中起主导地位。而真皮层发出的荧光峰值在 500~550 nm 之间,因此,测得的荧光峰为 500~520 nm。

由于正常皮肤(N)在表皮层有黑色素,而浅色白癜风皮肤在真皮上层也出现黑色素,它们都将吸收从真皮各部分发出的荧光。这两种荧光曲线的比率(I_T/I_N)与变化趋势相接近(是一水平线,在 1.15

左右变化)。由于 N 皮肤黑色素较多,吸收强,荧光弱,分母较小,因此 $I_T/I_N > 1$ 。对同一例白癜风皮肤的反射光谱的研究,结果是,由于白癜风与浅色白癜风 V 皮肤 T 在角质层与表皮层黑色素的缺失,致使反射光谱比率曲线 I_T/I_V 的比率是一水平线。由此看来,反射光谱可以较好地反应皮肤表面的黑色素分布情况,而荧光光谱可以探知皮肤较深层(真皮层)的黑色素分布情况。

由于正常皮肤(N)与浅色白癜风皮肤(T)的荧光光谱变化趋势一致,因此 I_N/I_V 与 I_T/I_V 曲线很相似(分母同为 I_V)。580 nm 处出现的是血红蛋白的吸收峰。由于白癜风皮肤(V)在表层黑色素的缺失,真皮层黑色素对血红蛋白的吸收将显示出来,即分母的曲线出现两个吸收峰,而分子的 I_N 与 I_T 变化趋势一致,因此 I_T/I_V , I_N/I_V 曲线的变化趋势一致。且在 540 nm,580 nm 处出现与血红蛋白互补的峰位。

6 白癜风皮肤的光学模型

曾海山等已建立了可应用于蒙特卡罗(Monte Carlo)模型计算的正常皮肤的多层光学模型^[2,3],在此基础上,进一步建立与本研究相符合的白癜风皮肤光学模型。对白癜风皮肤的组织病理切片,已定性描绘了该皮肤的黑色素分布,可以初步确定皮肤各层的黑色素含量,并对正常皮肤的光学模型进行修正,主要针对各层组织的吸收系数,增减相应的黑色素含量,再根据多次蒙特卡罗计算结果,修改相应皮肤各层的黑色素含量,直到模拟计算结果与实测结果比较一致时,相应的皮肤的光学模型即已确定。

对于本研究对象,所确定的皮肤各层黑色素修正量(相对于正常皮肤)见表 1。表中 m 表示黑色素。

表 1 三色白癜风皮肤模型的黑色素含量

Table 1 Melanin content for trichrome vitiligo skin optical model

Skin kind	Skin		
	Cutin layer (10 μm)	Scarfskin layer (80 μm)	Kishke layer (180 μm)
N	μ_a	$\mu_a(70 \mu\text{m}) - 0.00 \text{ m}; \mu_a(10 \mu\text{m}) + 0.01 \text{ m}$	$\mu_a + 0.05 \text{ blood}$
V	$\mu_a - 0.04 \text{ m}$	$\mu_a - 0.04 \text{ m}$	$\mu_a + 0.05 \text{ blood}$
T	$\mu_a - 0.04 \text{ m}$	$\mu_a(40 \mu\text{m}) - 0.04 \text{ m}; \mu_a(40 \mu\text{m}) + 0.01 \text{ m}$	$\mu_a + 0.05 \text{ blood} + 0.01 \text{ m}$

表 1 在正常皮肤的部分表皮层中加入 1% 黑色素,是考虑到病人的皮肤较黑(华裔菲律宾人)。又根据皮肤病理检查结果,以及白癜风皮肤的黑色素缺失情况,在白癜风皮肤与浅色白癜风皮肤的角质层与表皮层中均减去 4% 黑色素,在浅色白癜风皮

肤的角质层与部分表皮层中也减去 4% 黑色素,但根据病理切片分析,在浅色白癜风皮肤表皮下层与真皮上层加入 1% 的黑色素。本模型的真皮中下层的组织光学参量不变,即仍采用正常皮肤的相应光学参量。根据表 1 可以对正常皮肤光学模型各层的

组织光学参量进行修正,便可获得三种皮肤的可用于蒙特卡罗计算的光学模型所对应得组织光学参量。见表2、表3、表4。表1至表4中各缩写字母的意义分别为:SC为角质层,Ep为表皮层,UBD为真皮上层血液层,RD为网状真上层,DBD为真皮下层血液层,D为真皮层。

采用表2~表4的光学模型的参量进行蒙特卡罗模拟计算^[2~4],可以获得三色白癜风的荧光光谱曲线。计算中采用100万个光子发射,荧光光谱从470~700 nm,每间隔10 nm计算一个数据(每一波长点的数据应由该点的不同深度的皮肤发出的几十个荧光数据组成),共获得24个数据,组成一条荧光光谱曲线。

7 蒙特卡罗计算结果与讨论

表2 正常皮肤的七层光学模型(对应470 nm的组织光学参量)

Table 2 Seven-layer skin optical model for normal skin. μ_a , μ_s and g are for 470 nm

7					Number of layers
n	μ_a	μ_s	g	d	One line for each layer
1					n for medium above
1.45	199	2200	0.9	0.001	layer 1—SC
1.4	50	580	0.756	0.007	layer 2—Ep
1.4	58.54	580	0.756	0.001	layer 3—Ep+0.01m
1.397	12.74	587.88	0.768	0.018	layer 4—PD+up+0.05 blood
1.4	5.65	593	0.756	0.150	layer 5—RD
1.34	133.18	509	0.958	0.007	layer 6—deep blood
1.4	5.65	593	0.756	0.016	layer 7—D
1.46					n for medium below (subcutaneous fat)

表3 白癜风皮肤的六层光学模型(对应470 nm的组织光学参量)

Table 3 Six-layer skin optical model for vitiligo skin. μ_a , μ_s and g are for 470 nm

6					Number of layers
n	μ_a	μ_s	g	d	One line for each layer
1					n for medium above
1.45	164.83	2200	0.9	0.001	layer 1—SC—0.04 m
1.4	15.83	580	0.756	0.008	layer 2—Ep—0.04 m
1.397	19.82	583.25	0.768	0.018	layer 3—PD+0.05 blood
1.4	5.65	593	0.756	0.150	layer 4—RD
1.34	133.18	509	0.958	0.007	layer 5—deep blood
1.4	5.65	593	0.756	0.016	layer 6—D
1.46					n for medium below (subcutaneous fat)

表4 浅色白癜风皮肤的七层光学模型(对应470 nm的组织光学参量)

Table 4 Seven-layer skin optical model for tint vitiligo skin. μ_a , μ_s and g are for 470 nm

7					Number of layers
n	μ_a	μ_s	g	d	One line for each layer
1					n for medium above
1.45	164.83	2200	0.9	0.001	layer 1—SC
1.4	15.83	580	0.756	0.004	Layer 2—Ep—0.04 m
1.4	58.54	580	0.756	0.004	Layer 3—Ep+0.01 m
1.397	21.24	587.88	0.768	0.018	Layer 4—PD+0.05 blood+0.01 m
1.4	5.65	593	0.756	0.150	Layer 5—RD
1.34	133.18	509	0.958	0.007	Layer 6—deep blood
1.4	5.65	593	0.756	0.016	Layer 7—D
1.46					n for medium below (subcutaneous fat)

从图 5(a)可知,蒙特卡罗模拟计算的荧光峰也在 500~520 nm 之间,白癜风与浅色白癜风的荧光也强于正常皮肤,从 520 nm 到近红外区,荧光曲线也逐步下降。从图 5(b)可知,荧光光谱的比率曲线也与实测曲线的主要特点相同,即 I_T/I_V 基本是水

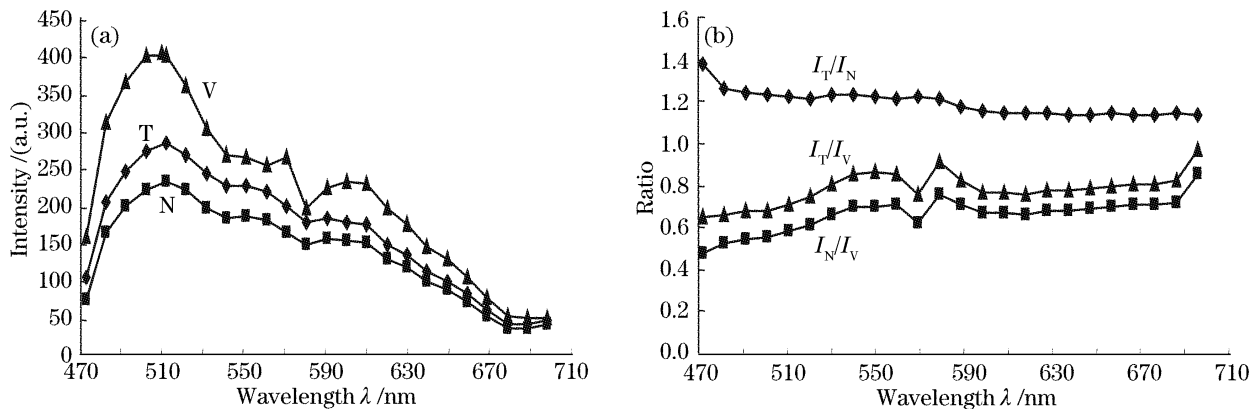


图 5 蒙特卡罗模拟皮肤荧光光谱曲线(a)及光谱比率曲线(b)

Fig. 5 Calculated fluorescence spectra with Monte Carlo method (a) and spectra ratio curves of skin (b)

8 结 论

将荧光光谱用于对具有三种颜色的白癜风皮肤特性,包括白癜风皮肤黑色素含量与分布的研究,在对白癜风皮肤荧光探测以及皮肤病理检查分析的基础上,建立了白癜风皮肤的光学模型。通过蒙特卡罗模拟计算,重现了实测荧光光谱的主要特性,并获得了以下有意义的结论。

白癜风皮肤,特别是具有不同颜色的白癜风皮肤,可以作为一个较好的皮肤黑色素含量与分布的研究对象,并以此建立光学模型,以研究皮肤的黑色素分布或其它光学特性。

荧光光谱可用于人体皮肤黑色素分布与含量的探测,特别是皮肤较深层(真皮层)的组织光学特性的研究。

本研究所采用的光谱比率法,可以从不同皮肤荧光光谱之间的关系,进一步推论皮肤的某些组织光学特性。本文所建立的白癜风光学模型、建模方法以及基于活体皮肤自体荧光显微光谱的蒙特卡罗

平线(比值约为 1.2), I_T/I_V , I_N/I_V 曲线形状相似,且在 580 nm, 540 nm 处出现峰值。

在细节上与实测结果还存在差异,是由于荧光模拟计算结果的获得,要经过多个步骤,计算过程较为复杂。本研究结果已基本重现实测曲线的主要特征。

计算方法等可以应用于皮肤黑色素含量与分布的研究以及其它皮肤光学的研究。

致谢 本文主要的实验研究在加拿大 BC 癌研究中心与加拿大温哥华总医院进行, Harvey Lai 博士, Zltefat Hamzavi 博士, David Mclem 博士等参与本研究,并给予指导,在此表示衷心感谢。

参 考 文 献

- 1 Nikiforos Kollias, Ali Bager. Spectroscopic characteristics of human melanin in vivo[J]. *Invest Dermatol*, 1985, **85**(1): 38~42
- 2 Haishan Zeng, Calum MacAulay, David I McLean *et al.*. Reconstruction of in vivo skin autofluorescence spectrum from microscopic properties by Monte Carlo simulation[J]. *Photochem. Photobiol B; Biology*, 1997, **38**: 234~240
- 3 Haishan Zeng, Calum MacAulay, David I. McLean *et al.*. Novel microspectrophotometer and its biomedical applications[J]. *Opt. Engng.*, 1993, **32**(8): 1809~1814
- 4 Lihong Wang, Steven L. Jacques. Monte Carlo modeling of light transport in multilayered tissue: *n* standar C, University of Texas M. D. Anderson Cancer Centre, Houston, TX, 1992