

基于表面增强拉曼光谱的炎症性肠病无创诊断

郑雨晴¹, 杜鹏², 王晓蕾³, 杨荟楠¹

(1. 上海理工大学 能源与动力工程学院, 上海 200093; 2. 上海交通大学医学院附属新华医院, 上海 200092;

3. 同济大学附属第十人民医院, 上海 200072)

摘要: 炎症性肠病(IBD)包括溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病(CD), 大多数 IBD 患者需要结合侵入性内镜检查、临床和组织病理学检查才能确诊, 目前缺乏便捷且无创的 IBD 诊断方法。针对这一现状, 发展一种基于表面增强拉曼光谱(SERS)的 IBD 无创诊断方法。利用 SERS 技术对 210 名 IBD 患者(127 名 CD, 83 名 UC)和 48 名健康对照者(HC)的尿液样本进行检测。通过分析 IBD、CD 患者和 HC 尿液样本的平均 SERS, 发现 IBD、CD 患者和 HC 之间的一些主要拉曼峰的拉曼强度存在明显差异。为验证这些发现并构建有效的诊断模型, 基于主成分分析(PCA)-支持向量机(SVM)建立预测模型对 IBD/HC、CD/HC 进行分类研究。经过 leave-one-patient-out 交叉验证(LOPOCV), IBD/HC、CD/HC 分类模型的准确率分别为 83.33% 和 83.43%。基于 SERS 对患者尿液样本进行检测可以有效识别 IBD 患者和 HC 的代谢变化, 有望为临床 IBD 患者开发一种无创、快速、准确的预检方法。

关键词: 表面增强拉曼光谱; IBD; 尿液; 无创诊断; PCA-SVM

中图分类号: O 657.37 文献标志码: A

Non-invasive diagnosis of inflammatory bowel disease based on surface-enhanced Raman spectroscopy

ZHENG Yuqing¹, DU Peng², WANG Xiaolei³, YANG Huinan¹

(1. School of Energy and Power Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China;

2. Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200092, China;

3. Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China)

Abstract: Inflammatory bowel disease (IBD) includes ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). Most patients with IBD require a combination of invasive endoscopy, clinical and histopathological

收稿日期: 2024-02-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52376161)

第一作者: 郑雨晴(1999—), 女, 硕士研究生。研究方向: 拉曼光谱测量。E-mail: mszhengyq@163.com

通信作者: 杨荟楠(1983—), 女, 教授。研究方向: 激光光谱测量。E-mail: yanghuinan@usst.edu.cn

引文格式: 郑雨晴, 杜鹏, 王晓蕾, 等. 基于表面增强拉曼光谱的炎症性肠病无创诊断[J]. 上海理工大学学报, 2025, 47(2): 158-167.

Citation: ZHENG Yuqing, DU Peng, WANG Xiaolei, et al. Non-invasive diagnosis of inflammatory bowel disease based on surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Journal of University of Shanghai for Science and Technology, 2025, 47(2): 158-167.

examination to confirm the diagnosis. There is a lack of convenient and non-invasive diagnostic methods for IBD. In response to this current situation, a non-invasive diagnostic method for IBD based on surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) was developed. The urine samples from 210 IBD patients (127 CD, 83 UC) and 48 healthy controls (HC) were measured based on SERS. By analyzing the average SERS spectra of urine samples from IBD, CD and HC, it was found that there were significant differences in the Raman intensities at several main Raman peaks between IBD, CD and HC. To validate these findings and construct effective diagnostic models, principal component analysis (PCA)-support vector machine (SVM) was used to establish two classification models to distinguish IBD/HC, CD/HC. After leave-one-patient-out cross-validation (LOPOCV), the accuracy of IBD/HC and CD/HC classification models can reach 83.33% and 83.43%, respectively. The metabolic changes of IBD patients and HC could be effectively identified by measuring urine with SERS, and it was expected to develop a non-invasive, rapid and accurate pre-screening method for clinical IBD patients.

Keywords: *surface-enhanced Raman spectroscopy; IBD; urine; non-invasive diagnosis; PCA-SVM*

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一种典型的免疫介导的炎性疾病，包括溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 和克罗恩病 (Crohn's disease, CD)，其特点是易反复发作。随着病情的发展，IBD 对患者的生活质量产生了长期的影响。相关研究现已证实，肠道中的炎症性损伤通常由基因易感性、环境、微生物和免疫等多种因素共同影响造成^[1]。近年来，IBD 的发病率在全球范围内不断上升^[2-3]。在现有的临床实践中，大多数 IBD 患者需要通过有创内镜进行综合诊断，并进一步结合临床表现和组织病理学检查才可确诊。因此，开发一种无创、快速、准确的方法用于 IBD 患者的临床诊断至关重要，这有助于监测疾病的进展和复发情况。

拉曼光谱可用于细胞、生物组织、药物和疾病诊断等方面的研究，在生命科学领域得到了广泛的应用^[4-7]。Wang 等^[8]利用表面增强拉曼光谱 (surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS) 对口腔鳞状细胞癌患者和健康对照者 (healthy controls, HC) 的血清和唾液样本进行检测，同时结合支持向量机 (support vector machine, SVM) 建立分类模型进行区分。Lin 等^[9]利用 SERS 与多变量分析相结合，对血浆样品的生物大分子进行研究，并评估了其在鼻咽癌诊断中的应用可行性。Feng 等^[10]基于 SERS，将主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 相结合，将食道癌组织与正常组织进行区分。

然而，组织和血液的采集都是侵入性的，需要对样本进行预处理。近年来，SERS 技术的应用在非侵入性体液的分析领域取得了显著进展。例如，Chen 等^[11]利用 SERS 技术对汗液中的尿酸进行高灵敏度检测，开发了一种可穿戴式智能汗液检测平台，并通过人工智能算法分析，成功实现了对痛风的非侵入性诊断。Zhang 等^[12]通过 SERS 技术在唾液中检测胃癌的生物标志物，成功开发了一种具有高度选择性和灵敏度的非侵入性胃癌诊断方法。此外，尿液作为另一种容易获取的重要体液，也为非侵入性疾病诊断提供了可能。由于人体内的代谢物大多通过泌尿系统排出，因而尿液可以为各种代谢性疾病的诊断提供信息^[13-14]。目前，通过 SERS 对 IBD 患者尿液样本进行的研究还相对较少。

因此，本文基于 SERS 技术对 210 名 IBD 患者 (包括 127 名 CD 和 83 名 UC) 和 48 名 HC 的尿液样本进行检测。通过对 IBD/HC 和 CD/HC 的平均 SERS 光谱进行分析，对比 IBD、CD 和 HC 之间的一些主要拉曼峰的强度差异。同时，结合多变量分析技术，基于 PCA 和 SVM 建立分类模型，以实现 IBD/HC 和 CD/HC 的有效区分。

1 材料和方法

1.1 病人的选择

在 2020 年 4 月至 2020 年 11 月期间，从同济大学附属第十人民医院消化科收集了 210 名

17~85 岁 IBD 患者(包括 127 名 CD 和 83 名 UC)的尿液样本。通过查阅患者的医疗、内镜、放射和病理记录,并遵循欧洲克罗恩病和结肠炎组织^[15],以及英国胃肠病学会成人炎症性肠病管理共识指南^[16]公布的诊断标准,这些患者均确诊为 IBD。本研究得到了同济大学附属第十人民医院伦理委员会的授权(SHSY-IEC-4.1/20-40/01)。根据内镜、临床表现和病理调查的结果对患者进行筛选,排除有转移治疗、紧急治疗、不确定性结肠炎、风湿病、慢性心力衰竭、严重肝肾功能障碍、降脂药物治疗和其他胃肠道并发症的患者。HC 是由 48 名没有任何严重疾病的健康志愿者组成。所有 IBD 患者在接受研究检测前都签署了知情同意书。IBD 患者和 HC 的样本量和百分比特征如表 1 所示。

表 1 IBD 患者和 HC 的样本量和百分比特征

Tab.1 Sample size and percentage characteristics of IBD patients and HC

指标	CD(n=127)		UC(n=83)		HC(n=48)	
	样本量	百分比特征/%	样本量	百分比特征/%	样本量	百分比特征/%
性别	女性	38 29.9	24 28.9	20 41.7		
	男性	89 70.1	59 71.1	28 58.3		
年龄	<17岁	13 10.2	0 0	1 2.1		
	17~40岁	84 66.1	36 43.3	36 75.0		
	>40岁	30 23.6	47 56.6	11 22.9		
疾病状态	活动期	84 66.1	72 86.7	— —		
	缓解期	43 33.9	11 13.3	— —		
吸烟史	有	17 13.4	26 31.3	— —		
	无	110 86.6	57 68.7	— —		

1.2 表面增强拉曼光谱的采集和预处理

将每天早上收集的 5 mL 空腹受试者的尿液置于离心管中,并立即保存于 4 ℃ 无菌培养箱中等待实验分析。在 SERS 检测前,将装有尿液样本的离心管置于离心机(冠森生物科技有限公司(上海),KS16000G-W)中,以 9000 r/min 转速离心 3 min,使尿液中可能存在的微粒、细胞碎片或其他悬浮物沉淀于离心管底部,从而获得较为纯净的上清液。取 1 mL 尿液样本上清液与 2 mL 纳米银胶体溶液(南京先丰纳米材料科技有限公司)均匀混合,倒入比色皿中进行进一步研究。

通过自搭建的拉曼检测平台采集尿液样本的

拉曼光谱,如图 1 所示。该平台使用功率为 50 mW、波长为 785 nm 的二极管激光器(Tech)作为激发光源。入射光透过位于激光器前方的准直器与带通滤波片,然后聚焦到样品槽中装有待测尿液样本的石英比色皿上。随后,拉曼散射光通过边缘滤波片(edmund)过滤掉瑞利散射后进入光谱仪(iHR320),并由 CCD 探测器(Horiba-Syncerity)将接收到的光信号转换为电信号,输入到计算机中进行光谱数据的读取和处理。其中,光谱采集选用 1 200 grooves/mm 的光栅,积分时间为 20 s,累积次数为 2 次,光谱分辨率约为 0.8 cm⁻¹,在 460~960 cm⁻¹和 1 160~1 660 cm⁻¹范围内采集光谱。

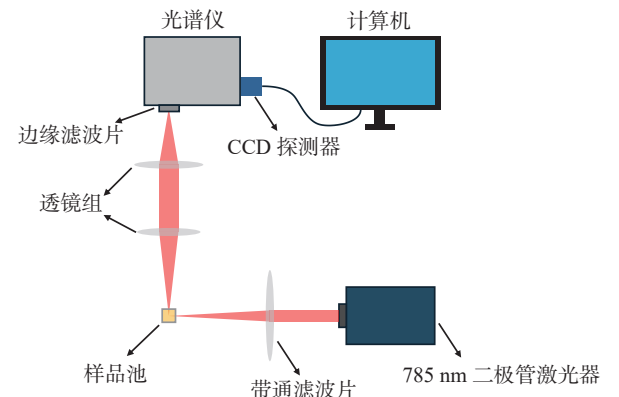


图 1 自搭建的拉曼检测平台

Fig.1 Self-built Raman detection platform

每次进行实验前,均使用无水乙醇对实验平台的稳定性进行校准。为了尽量减少测量偏差,对 IBD 患者和 HC 的尿液样本进行交替检测。此外,为了避免实验过程中样品间的交叉污染,每次实验前,均使用无水乙醇泡洗比色皿,去除可能残留的化学物质或生物样本,并使用超声波清洗器对比色皿进行彻底清洁。光谱检测时,每个样本连续扫描 5 次,采用四阶多项式拟合进行基线校正以消除背景荧光和噪声。通过 Origin 软件对每组光谱进行矢量归一化,最终以 5 次扫描的平均光谱作为每个样本的代表光谱。

1.3 统计数据分析

用 SPSS 软件对 127 名 CD 患者、83 名 UC 患者和 48 名 HC 的拉曼光谱数据进行统计分析。对于连续变量,采用 Kolmogorov-Smirnov 和 Shapiro-Wilk 检验来判断拉曼光谱数据是否符合正态分布。当两个检验都符合正态分布时($p>0.05$),采用 t 检验来验证峰值强度的平均数是否存在差异。当两个检验不符合正态分布时($p<0.05$),采用

Wilcoxon 检验来验证峰值强度的中位数是否存在差异。在此基础上, 确定平均数或中位数有差异的主要拉曼峰。基于广义线性模型, 进一步分析疾病状态(IBD/HC、CD/HC)、性别和年龄对主要拉曼峰强度的综合影响。

使用 Origin 软件和 R 软件进行基于 PCA 和 SVM 的多变量拉曼光谱分析。PCA 和 SVM 都是基于光谱数据对生物样本进行分类和诊断的有效方法^[17-18]。本文运用 PCA-SVM 建立分类模型, 并使用 LOPOCV(leave-one-patient-out cross-validation) 进行验证。PCA 可以降低数据集的复杂性, 前 15 个主成分(PC)被用来作为训练数据, 建立 IBD/HC 和 CD/HC 的预测分类模型。通过受试者工作特征(ROC)曲线得到最佳阈值(截止值), 用于区分 IBD 患者与 HC、CD 患者与 HC。使用 Origin

软件建立预测模型, 使用 R 软件进行 LOPOCV 验证。

2 结果与讨论

2.1 IBD 患者和 HC 的 SERS 分析

图 2 显示了 IBD 患者和 HC 的尿液样本的平均 SERS。由此可见, IBD 患者和 HC 的平均 SERS 在一些拉曼峰的强度上表现出显著的差异, 反映了 IBD 患者和 HC 尿液中整体生化成分的差异。在此基础上, 采用 Kolmogorov-Smirnov 和 Shapiro-Wilk 检验来比较 IBD 患者和 HC 之间的平均数或中位数, 结果如表 2 所示。由表 2 可见, IBD 患者和 HC 之间在 8 个拉曼峰(480、543、591、680、757、1280、1348、1389 cm^{-1})上的拉曼强度有显著差异。

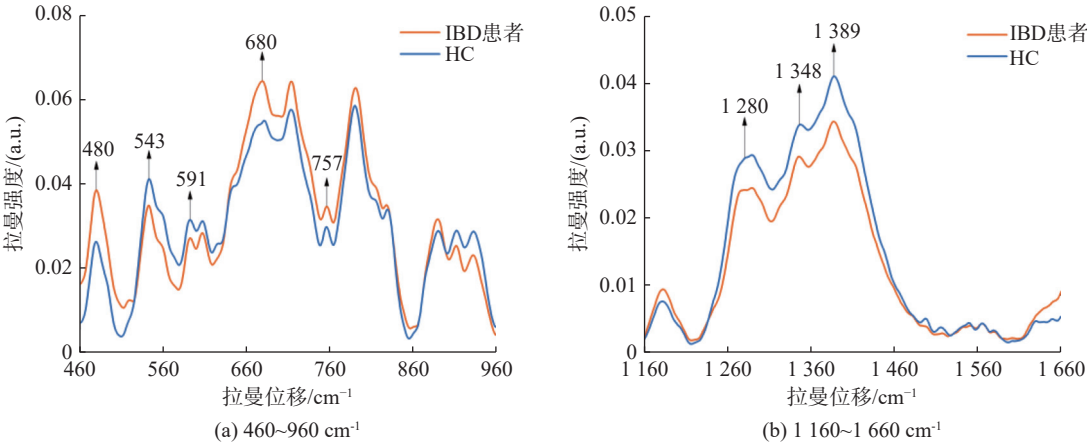


图 2 IBD 患者和 HC 的平均 SERS

Fig.2 Average SERS of IBD patients and HC

表 3 根据目前的相关研究^[19-22]列出了本文中的主要拉曼峰的生化归属。例如: 480 cm^{-1} 指糖原;

表 2 疾病状态(IBD/HC)的正态性检验结果

拉曼峰/ cm^{-1}	Kolmogorov-Smirnov 检验		Shapiro-Wilk 检验		<i>t</i> 检验	Wilcoxon 检验
	IBD患者	HC	IBD患者	HC		
480	<0.000 1	0.005	<0.000 1	<0.000 1	<0.000 1	0.029
543	<0.000 1	0.013	<0.000 1	0.036	0.019	0.001
591	<0.000 1	0.192	<0.000 1	0.057	0.037	<0.000 1
680	0.002	0.200	<0.000 1	0.757	<0.000 1	<0.000 1
757	0.020	0.200	0.045	0.731	<0.000 1	0.010
1280	<0.000 1	0.200	<0.000 1	0.573	0.017	<0.000 1
1348	0.010	0.075	<0.000 1	0.293	0.004	0.049
1389	0.026	0.005	<0.000 1	0.008	0.006	0.027

543 cm^{-1} 指胆固醇; 591 cm^{-1} 指丝氨酸; 680 cm^{-1} 指鸟嘌呤环呼吸; 757 cm^{-1} 指色氨酸; 1280 cm^{-1} 指蛋白质酰胺 III; 1348 cm^{-1} 指核酸; 1389 cm^{-1} 指 CH_3 弯曲。

其中, 可以观察到, 在 IBD 患者的尿样中, 480 cm^{-1} 的糖原峰、680 cm^{-1} 的鸟嘌呤环呼吸峰、757 cm^{-1} 的色氨酸峰强度都很明显。此外, IBD 的光谱中显示出较弱的胆固醇、丝氨酸、蛋白质酰胺 III、核酸以及 CH_3 弯曲的峰值。IBD 和 HC 在这些峰上的强度差异可能是由于蛋白质和核酸的空间结构的变化导致了分子链中化学键空间排列的变化。尿液的 SERS 光谱主要受多种生物大分子如蛋白质、脂类和核酸的振动模式影响。新陈代谢成分的变化可能导致拉曼峰强度的变化, 这表明基于尿液样本的 SERS 光谱可以很好地区分

表 3 主要拉曼峰的归属

Tab.3 Assignment of the main Raman peaks

拉曼峰/cm ⁻¹	归属
480	糖原
543	胆固醇
591	丝氨酸
680	鸟嘌呤环呼吸
757	色氨酸
1 280	蛋白质酰胺III
1 348	核酸
1 389	CH ₃ 弯曲

IBD 患者和 HC。

为了分析观察到的拉曼强度差异是否受到性别和年龄的影响，以广义线性模型为工具，分析疾病状态、性别和年龄对所选拉曼峰拉曼强度的综合影响(表 4)。统计分析证实，8 个峰的强度与表 4 疾病状态 (IBD/HC)、性别和年龄对 8 个主要拉曼峰强度的综合影响

Tab.4 Combined effect of disease status (IBD/HC), sex and age on the intensities of the 8 main Raman peaks

拉曼峰/cm ⁻¹	参数	<i>p</i>
480	[IBD患者] - [HC]	<0.0001
	[女性] - [男性]	0.476
	年龄	0.167
543	[IBD患者] - [HC]	0.040
	[女性] - [男性]	0.900
	年龄	0.448
591	[IBD患者] - [HC]	0.037
	[女性] - [男性]	0.680
	年龄	0.570
680	[IBD患者] - [HC]	<0.0001
	[女性] - [男性]	0.074
	年龄	0.302
757	[IBD患者] - [HC]	0.001
	[女性] - [男性]	0.059
	年龄	0.206
1 280	[IBD患者] - [HC]	0.017
	[女性] - [男性]	0.461
	年龄	0.043
1 348	[IBD患者] - [HC]	0.004
	[女性] - [男性]	0.767
	年龄	0.262
1 389	[IBD患者] - [HC]	0.001
	[女性] - [男性]	0.764
	年龄	0.177

性别无关，并且除了 1 280 cm⁻¹ 位置的峰强度外，其他峰也不受年龄的影响。因此，在所有检测样本中，疾病状况仍有统计学上的显著差异 ($p<0.05$)。

图 3 显示了 IBD 和 HC 所选峰的拉曼强度箱式图，每个数据点代表每个检测样本。箱子由上四分位数(75% 的百分位数)和下四分位数(25% 的百分位数)组成。箱子中间的横线代表中位数，上、下触角分别代表最大值和最小值。其中的 p 值基于表 2 中的 t 检验或 Wilcoxon 检验结果得到。

2.2 建立分类模型以识别 IBD 患者和 HC

基于 PCA-SVM 的多变量拉曼光谱分析，建立分类模型来识别 IBD 和 HC。应用 PCA 来减少测量的拉曼光谱数据集的复杂性，前 15 个主成分被用于后续的 SVM 分析。图 4(a) 显示了由 SVM 得到的拉曼典型相关系数(拉曼典型变量)。在此基础上，通过图 4(b) 所示的 ROC 曲线(曲线下面积(AUC)为 0.9673)对 SVM 的截止值(0.4492)进行了优化。分类模型的混淆矩阵如表 5 所示，其准确率、敏感性、特异性和 $F1$ 分数的结果分别为 92.64%、91.43%、97.92%、95.29%。此外，采用 LOPOCV 用于分类模型的验证分析，得到分类模型的混淆矩阵，如表 6 所示。准确率和 $F1$ 分数分别降低到 83.33% 和 88.95%(敏感性 82.38%、特异性 87.50%)。

2.3 CD 患者和 HC 的 SERS 分析

图 5 显示了 CD 患者和 HC 尿液样本的平均 SERS 光谱。可以发现，CD 患者和 HC 的平均 SERS 光谱在一些拉曼峰的强度上表现出明显差异，反映了 CD 患者和 HC 尿液中整体生化成分的差异。在此基础上，采用 Kolmogorov-Smirnov 和 Shapiro-Wilk 检验来判断各峰位的强度是否符合正态分布。根据正态分布的验证结果，对 CD 和 HC 各峰强度的平均数或中位数进行 t 检验或 Wilcoxon 检验。结果(表 7)显示，CD 和 HC 在 6 个主要峰的强度上存在差异，即 543、591、680、757、1 280、1 348 cm⁻¹。这些具有强度差异的拉曼峰在图 5 中已标出。

采用广义线性模型分析疾病状态、性别和年龄对所选拉曼峰强度的综合影响，结果见表 8。随后的统计分析证实，6 个峰的强度差异不受年龄的影响，只有 757 cm⁻¹ 位置的拉曼峰强度受到性别的影响。因此，所有检测样本疾病状态的差异仍

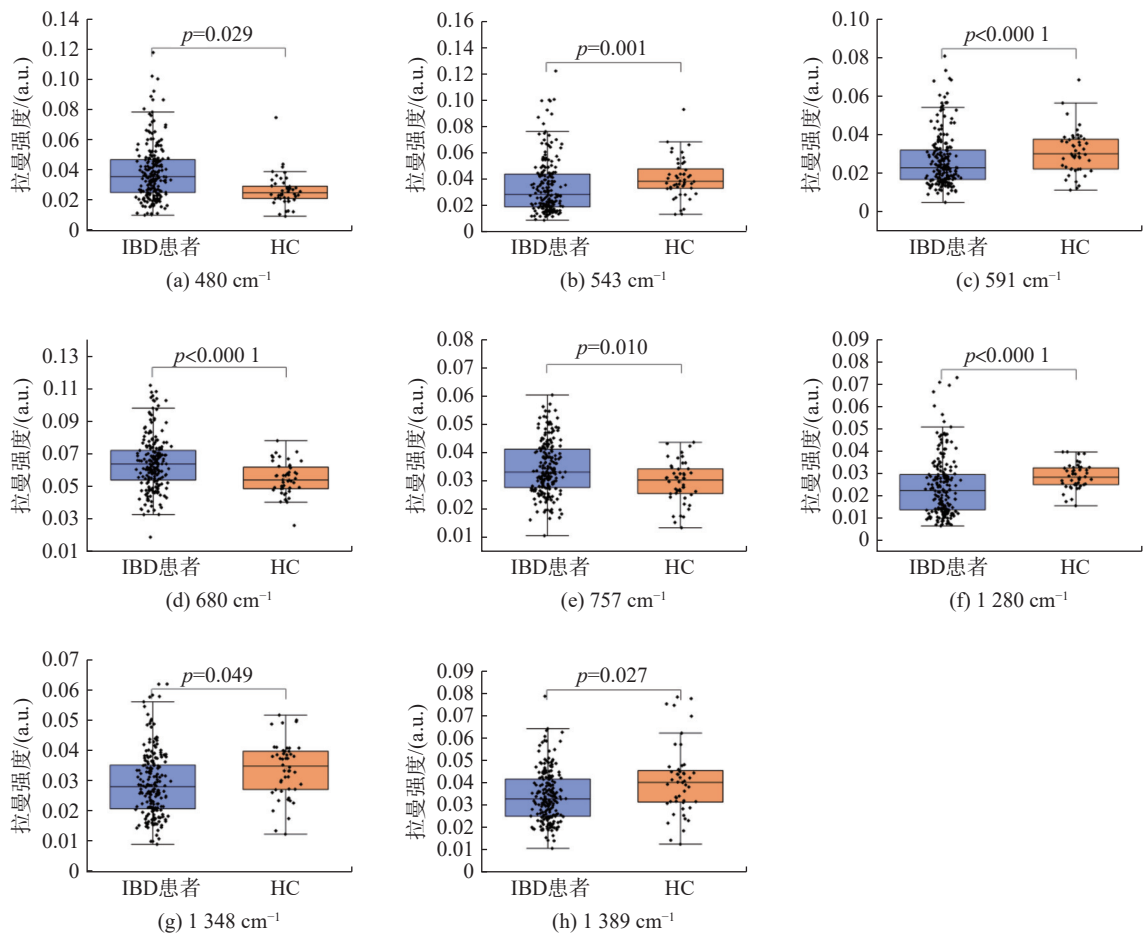


图 3 IBD 患者和 HC 在 8 个主要峰的拉曼强度箱式图

Fig.3 Box plots of the Raman intensities of IBD patients and HC at 8 main peaks

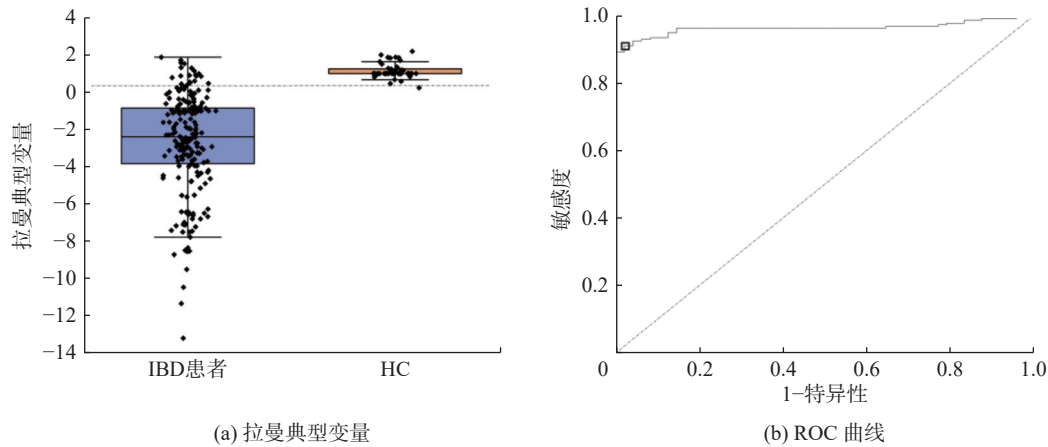


图 4 基于 SVM 的 IBD/HC 分类模型的拉曼典型变量和 ROC 曲线

Fig.4 Raman canonical variables and ROC curve of SVM-based IBD / HC classification model

表 5 IBD/HC 分类模型的混淆矩阵

Tab.5 Confusion matrix of IBD / HC classification model

分类	真实IBD患者	真实HC	合计
预测IBD患者	192	1	193
预测HC	18	47	65
合计	210	48	258

表 6 LOPOCV 验证后的 IBD/HC 分类模型的混淆矩阵

Tab.6 Confusion matrix of IBD/HC classification model after LOPOCV

分类	真实IBD患者	真实HC	合计
预测IBD患者	173	6	179
预测HC	37	42	79
合计	210	48	258

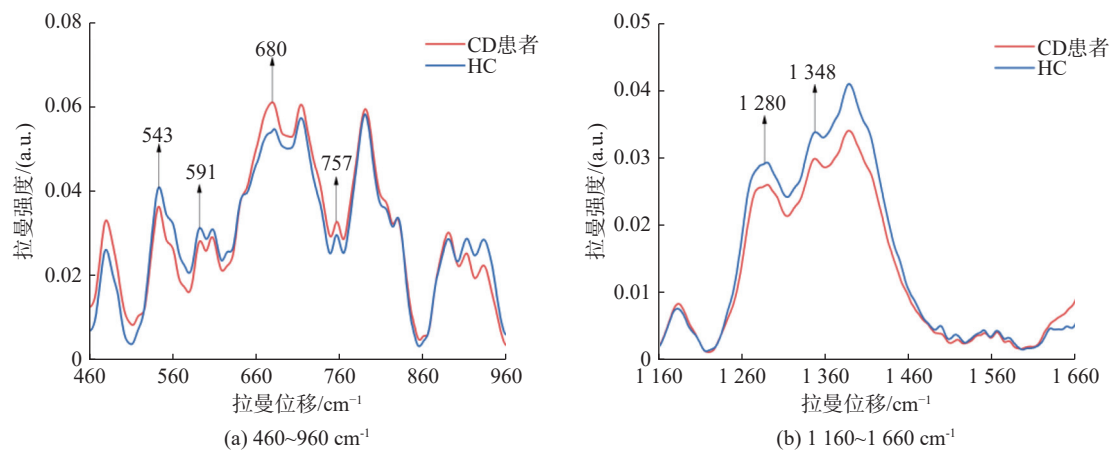


图 5 CD 患者和 HC 的平均 SERS
Fig.5 Average SERS of CD patients and HC

表 7 疾病状态 (CD/HC) 的正态性检验结果

Tab.7 Normality test results of disease status (CD /HC)

拉曼峰/ cm ⁻¹	Kolmogorov-Smirnov 检验		Shapiro-Wilk 检验		<i>t</i> 检验	Wilcoxon 检验
	CD患者	HC	CD患者	HC		
543	0.002	0.013	<0.000 1	0.036	0.096	0.001
591	<0.000 1	0.192	<0.000 1	0.057	0.116	<0.000 1
680	0.200	0.200	0.637	0.757	<0.000 1	0.056
757	0.200	0.200	0.435	0.731	0.014	0.100
1280	0.007	0.200	<0.000 1	0.573	0.015	<0.000 1
1348	0.200	0.075	0.009	0.293	0.015	0.049

有统计学意义($p<0.05$)。

图 6 中的箱式图显示了 6 个主要拉曼峰的拉曼强度分布。这些强度差异通过 t 检验或 Wilcoxon 检验得到了统计学上的显著性验证, 具体结果如表 7 所示。分析结果表明, CD 患者与 HC 的拉曼光谱在这 6 个拉曼峰上存在显著的强度差异。

2.4 建立分类模型以识别 CD 患者和 HC

基于 PCA-SVM 的多变量拉曼光谱分析, 建立分类模型, 对 CD 患者和 HC 进行分类。应用 PCA 来降低测量的拉曼光谱数据集的复杂性, 并将前 15 个主成分用于随后的 SVM 分析。图 7(a) 是由 SVM 得到的拉曼典型变量。在此基础上, 通过 ROC 曲线 (AUC 为 0.9142) 对分类模型的临界值 (0.0349) 进行优化, 见图 7(b)。基于 PCA-SVM 建立的分类模型混淆矩阵如表 9 所示, 其准确率、敏感性、特异性、 $F1$ 分数分别为 88.00%、85.83%、93.75%、76.76%。为了提高结果的可信度, 进一步应用 LOPOCV 来验证和分析分类模型。经 LOPOCV 验证后, 分类模型的准确率、敏

表 8 疾病状态 (CD/HC)、性别和年龄对 6 个主要拉曼峰强度的综合影响

Tab.8 Combined effect of disease status (CD/HC), sex and age on the intensities of the 6 main Raman peaks

拉曼峰/cm ⁻¹	参数	<i>p</i>
543	[CD患者] - [HC]	0.023
	[女性] - [男性]	0.646
	年龄	0.539
591	[CD患者] - [HC]	0.016
	[女性] - [男性]	0.438
	年龄	0.350
680	[CD患者] - [HC]	0.002
	[女性] - [男性]	0.252
	年龄	0.688
757	[CD患者] - [HC]	0.014
	[女性] - [男性]	0.032
	年龄	0.182
1280	[CD患者] - [HC]	0.045
	[女性] - [男性]	0.774
	年龄	0.125
1348	[CD患者] - [HC]	0.015
	[女性] - [男性]	0.586
	年龄	0.219

感性、特异性和 $F1$ 分数分别为 83.43%、83.46%、83.33% 和 74.13%(混淆矩阵见表 10)。

3 结 论

目前, 国内外研究者已将血液和粪便中的一些生物标志物用于诊断 IBD, 如 C 反应蛋白 (CRP)、红细胞沉降率 (ESR)、白蛋白水平、粪便乳铁蛋白和粪便钙蛋白等^[23-24]。然而, 由于这些生

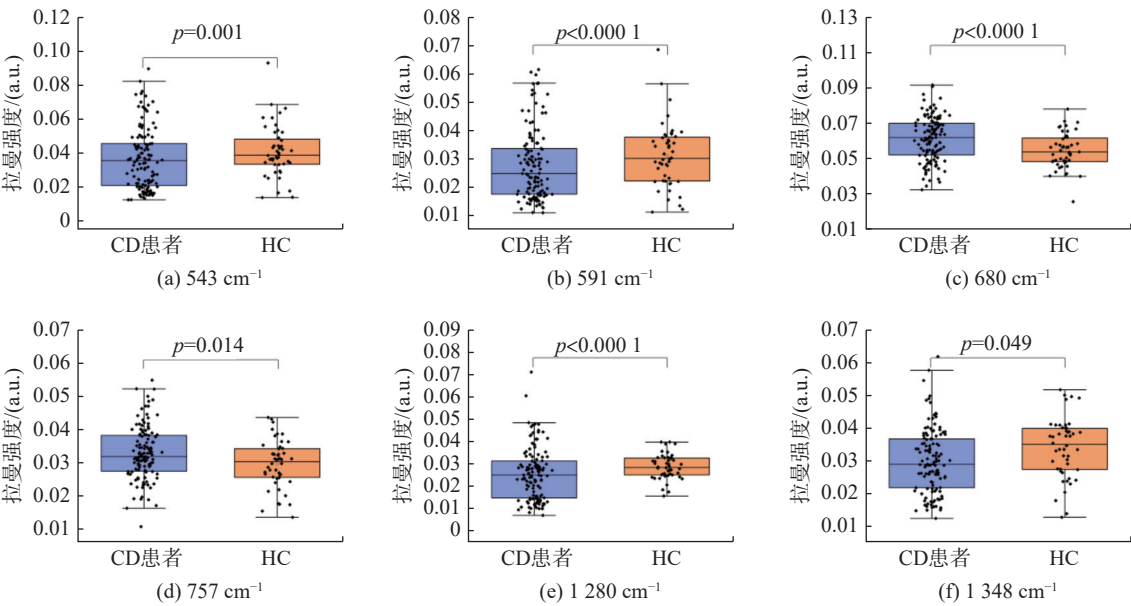


图 6 CD 患者和 HC 在 6 个主要峰的拉曼强度箱式图

Fig.6 Box plots of the Raman intensities of CD patients and HC at 6 main peaks

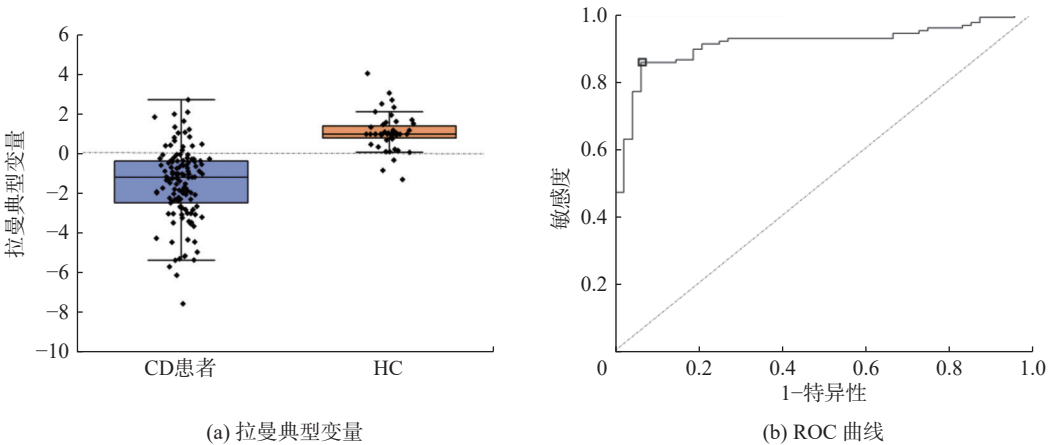


图 7 基于 SVM 的 CD/HC 分类模型的拉曼典型变量和 ROC 曲线

Fig.7 Raman canonical variables and ROC curve of SVM-based CD/HC classification model

表 9 CD/HC 分类模型的混淆矩阵

Tab.9 Confusion matrix of CD/HC classification model

分类	真实CD患者	真实HC	合计
预测CD患者	109	3	112
预测HC	18	45	63
合计	127	48	175

表 10 LOPOCV 验证后的 CD/HC 分类模型的混淆矩阵

Tab.10 Confusion matrix of CD/HC classification model after LOPOCV

分类	真实CD患者	真实HC	合计
预测CD患者	106	8	114
预测HC	21	40	61
合计	127	48	175

物标志物大多反映全身性炎症，对肠道炎症没有特异性，其特异性和敏感性都很有限。研究表明，针对肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的单克隆抗体 Infliximab 或 Adalimumab，对治疗中度和重度 IBD 有效^[25]。Qu 等^[26]通过实时定量聚合酶链反应检测了 TNF- α 在葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的小鼠肠道黏膜中的表达。DSS 处理的小鼠肠黏膜中 TNF- α 的表达增加，表明 TNF- α 与结肠炎症有关。Abou El Azm 等^[27]发现 IBD 患者的热休克蛋白 70(HSP70) 和 HSP90 的表达量增加，治疗和缓解后减少，表明 HSP70 和 HSP90 在评价 IBD 预后方面具有潜力。van Schaik 等^[28]发现一些典型的血清标志物 (ASCA IgG、ASCA IgA、ANCA、抗 OMPC 和抗 CBIR1) 可以在症状出现前检测到，联合检测

可以提高 CD 诊断的敏感性和特异性。Kong 等^[29]发现 CD 患者外周血中 D-乳酸(D-LA)和二胺氧化酶的浓度明显高于健康对照组,且治疗后下降,这与 CD 的活性增加密切相关。然而,目前还没有公认可靠的生物标志物可用于诊断 IBD。

由于缺乏黄金标准,漏诊或误诊在 IBD 的诊断中十分常见,这导致了治疗的延误,严重影响患者的预后治疗,并且在诊断时通常会出现不可逆的肠道损伤,错过最佳的治疗机会。在法国,CD 患者的平均诊断延迟为 5 个月,且约有 24.4% 的病患者的诊断延迟超过 12 个月^[30]。在美国,CD 患者诊断延迟的中位数高达 9.5 个月,诊断延迟与患者的总体并发症、肠道狭窄的发生率和手术率相关^[31-32]。对于一些只有结肠病变的 IBD 患者,内镜和活检缺乏 CD 的特征,导致诊断延迟和预后不良。因此,开发一种无创、快速和准确的方法对临床医生诊断 IBD 至关重要,有助于监测疾病的进展和复发。此外,血液和粪便样本的收集程序很复杂,需要对样本进行预处理。尿液样本更容易收集,也更容易被患者接受。

在这项研究中,基于 SERS 技术检测 210 名 IBD 患者(127 名 CD,83 名 UC)和 48 名 HC 的尿液样本,并对 IBD、CD 患者和 HC 的 SERS 光谱进行统计分析。在此基础上,建立两个基于 PCA-SVM 的分类模型,对 IBD 和 HC、CD 和 HC 进行分类。结果显示,IBD 和 HC 的拉曼强度在一些拉曼峰上存在明显差异。基于 PCA-SVM 建立的 IBD/HC、CD/HC 分类模型准确率分别为 83.33% 和 83.43%。敏感性和特异性分别为 82.38% 和 83.46%、87.50% 和 83.33%。因此,基于尿样检测的 SERS 光谱可以有效地区分 IBD 患者和 HC 的代谢变化,有望为临床 IBD 患者提供一种无创、快速、准确的预检方法,对指导临床治疗、改善疾病进程具有重要意义。此外,该项研究也为 IBD 亚型(CD/UC)的分辨提供了新思路,在未来的研究中,将进一步扩大样本量的收集范围,探讨 SERS 技术在 CD 和 UC 诊断方面的潜力。

参考文献:

[1] SORRENTINO D, NGUYEN V Q, CHITNAVIS M V. Capturing the biologic onset of inflammatory bowel diseases: impact on translational and clinical science[J]. *Cells*, 2019, 8(6): 548.

[2] NG S C, SHI H Y, HAMIDI N, et al. Worldwide incidence

and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies[J]. *The Lancet*, 2017, 390(10114): 2769–2778.

[3] MOLODECKY N A, SOON I S, RABI D M, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(1): 46–54. e42.

[4] PARACHALIL D R, MCINTYRE J, BYRNE H J. Potential of Raman spectroscopy for the analysis of plasma/serum in the liquid state: recent advances[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2020, 412(9): 1993–2007.

[5] 路文静, 方亚平, 林太凤, 等. 乳腺癌细胞及其分泌体的拉曼表型快速鉴定与关系研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2023, 43(12): 3840–3846.

[6] LIN Y M, GAO J M, TANG S Z, et al. Label-free diagnosis of breast cancer based on serum protein purification assisted surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, 263: 120234.

[7] LATRECHE M, WILLART J F, PACCOU L, et al. Contribution of low-frequency Raman spectroscopy to determine the solubility curves of drugs in polymers: the case of paracetamol/PVP[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2020, 154: 222–227.

[8] WANG K Y, QIU Y, WU C Z, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis for the diagnosis of oral squamous cell carcinoma[J]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2023, 54(4): 355–362.

[9] LIN D, PAN J J, HUANG H, et al. Label-free blood plasma test based on surface-enhanced Raman scattering for tumor stages detection in nasopharyngeal cancer[J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 4751.

[10] FENG S Y, LIN J Q, HUANG Z F, et al. Esophageal cancer detection based on tissue surface-enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis[J]. *Applied Physics Letters*, 2013, 102(4): 043702.

[11] CHEN Z X, WANG W, TIAN H, et al. Wearable intelligent sweat platform for SERS-AI diagnosis of gout[J]. *Lab on a Chip*, 2024, 24(7): 1996–2004.

[12] ZHANG A M, CHANG J, CHEN Y S, et al. Spontaneous implantation of gold nanoparticles on graphene oxide for salivary SERS sensing[J]. *Analytical Methods*, 2019, 11(40): 5089–5097.

[13] 彭倩, 张晶晶, 房新月, 等. 基于表面增强拉曼光谱技术的心肌生物标志物检测 [J]. *化学进展*, 2022, 34(12): 2573–2587.

[14] ZHENG X S, JAHN I J, WEBER K, et al. Label-free SERS in biological and biomedical applications: recent progress,

- current challenges and opportunities[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 197: 56–77.
- [15] GOMOLLÓN F, DIGNASS A, ANNESE V, et al. 3rd European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease 2016: part 1: diagnosis and medical management[J]. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2017, 11(1): 3–25.
- [16] LAMB C A, KENNEDY N A, RAINE T, et al. British Society of Gastroenterology consensus guidelines on the management of inflammatory bowel disease in adults[J]. *Gut*, 2019, 68: S1–S106.
- [17] LÜ G D, ZHENG X X, LÜ X Y, et al. Label-free detection of echinococcosis and liver cirrhosis based on serum Raman spectroscopy combined with multivariate analysis[J]. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2021, 33: 102164.
- [18] 张宝萍, 宁甜, 张富荣, 等. 基于多变量光谱数据分析方法的乳腺癌血清拉曼光谱特征研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2023, 43(2): 426–434.
- [19] NARGIS H F, NAWAZ H, BHATTI H N, et al. Comparison of surface enhanced Raman spectroscopy and Raman spectroscopy for the detection of breast cancer based on serum samples[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, 246: 119034.
- [20] PENCE I J, BEAULIEU D B, HORST S N, et al. Clinical characterization of *in vivo* inflammatory bowel disease with Raman spectroscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2017, 8(2): 524–535.
- [21] 刘婉华, 刘健, 赵雪松, 等. 基于表面增强拉曼光谱的肝癌血清检测方法研究 [J]. *激光杂志*, 2018, 39(3): 68–71.
- [22] TALARI A C S, MOVASAGHI Z, REHMAN S, et al. Raman spectroscopy of biological tissues[J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2015, 50(1): 46–111.
- [23] VERNIA F, DI RUSCIO M, STEFANELLI G, et al. Is fecal calprotectin an accurate marker in the management of Crohn's disease?[J]. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2020, 35(3): 390–400.
- [24] MOSLI M H, ZOU G Y, GARG S K, et al. C-reactive protein, fecal calprotectin, and stool lactoferrin for detection of endoscopic activity in symptomatic inflammatory bowel disease patients: a systematic review and meta-analysis[J]. *American Journal of Gastroenterology*, 2015, 110(6): 802–819.
- [25] KIM K Y, OH T W, DO H J, et al. *Acer palmatum* thumb. Ethanol extract alleviates interleukin-6-induced barrier dysfunction and dextran sodium sulfate-induced colitis by improving intestinal barrier function and reducing inflammation[J]. *Journal of Immunology Research*, 2018, 2018: 5718396.
- [26] QU C, YUAN Z W, YU X T, et al. Patchouli alcohol ameliorates dextran sodium sulfate-induced experimental colitis and suppresses tryptophan catabolism[J]. *Pharmacological Research*, 2017, 121: 70–82.
- [27] ABOU EL AZM A R, YOUSEF M, KOBTAN A, et al. Colonic mucosal expression of heat-shock proteins may have a potential prognostic value in ulcerative colitis[J]. *Arab Journal of Gastroenterology*, 2015, 16(1): 20–24.
- [28] VAN SCHAIK F D M, OLDENBURG B, HART A R, et al. Serological markers predict inflammatory bowel disease years before the diagnosis[J]. *Gut*, 2013, 62(5): 683–688.
- [29] KONG W C, WANG J, PING X C, et al. Biomarkers for assessing mucosal barrier dysfunction induced by chemotherapy: identifying a rapid and simple biomarker[J]. *Clinical Laboratory*, 2015, 61(3/4): 371–378.
- [30] NAHON S, LAHMEK P, PAUPARD T, et al. Diagnostic delay is associated with a greater risk of early surgery in a French cohort of Crohn's disease patients[J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2016, 61(11): 3278–3284.
- [31] 马贤纵, 陆晓娟, 刘华, 等. 克罗恩病早期诊断的研究进展 [J]. *解放军医学院学报*, 2020, 41(12): 1256–1261, 1273.
- [32] FURFARO F, SCIURTI R, BEZZIO C, et al. P617 Impact of diagnostic delay on clinical outcome of Crohn's disease (CD)[J]. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2014, 8(S1): S327–S328.

(编辑: 丁红艺)