

人肝癌组织细胞的激光光镊拉曼光谱研究

王雁军¹, 姚辉璐², 王桂文², 汪蕴¹, 丰美福^{1*}

1. 中国科学院动物研究所, 生物膜与膜生物工程国家重点实验室, 北京 100101
2. 广西科学院生物物理实验室, 广西 南宁 530003

摘要 激光光镊与拉曼光谱相结合形成的激光光镊拉曼光谱系统(LTRS)已用于分析生物组织标本, 可对单个活细胞进行操控和光谱收集。从拉曼光谱特征峰位置、强度和线宽可得到有关细胞的组成、结构及细胞内物质相互作用的信息。文章应用LTRS系统, 分析了来自人的恶性肝癌组织的不同病变部位标本, 包括肝癌组织细胞、肝癌癌旁组织和远离肝癌组织的肝脏正常的组织细胞, 观察到了随肝癌的病变部位变化所出现的一些有趣的拉曼光谱峰的变化。正常的肝组织细胞在1 070和1 266 cm^{-1} 处的峰很明显, 而肝癌和肝癌癌旁组织细胞的这两个峰则不明显, 肝正常组织细胞的1 445 cm^{-1} 峰明显高于肝癌和肝癌癌旁组织细胞。已知1 070 cm^{-1} 峰代表脂类和核酸, 1 266和1 445 cm^{-1} 峰代表脂类和蛋白。引起这些峰变化的物质很可能参与了肝癌的发生。上述初步研究结果表明: 单细胞激光光镊拉曼光谱可以区分肝癌的不同病变部位, 将是检测和分析肝癌组织标本的一种很好的方法。

关键词 人肝癌细胞; 人肝正常细胞; 拉曼光谱

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)07-1881-03

引言

肝癌是一种恶性度很高的肿瘤, 严重威胁着全人类的健康。但肝癌的发生和发展机理仍不清楚^[1, 2]。现有用于检测分析肝癌组织标本的技术, 如放射免疫、组织化学、细胞化学和分子生物学等技术往往是在群体水平, 并且需要固定。激光光镊拉曼光谱可以在单细胞水平上, 捕获单个活细胞进行研究, 获得单细胞的DNA、蛋白和脂类的“指纹”, 是一种快速的、无破坏性的研究方法^[3-6]。

1 实验部分

从广西省肿瘤医院获取临床肝癌和肝癌癌旁(离肝癌病灶2 cm内)标本各6例, 相对正常的肝组织(离肝癌病灶2 cm以外)标本2例。将分离获得的肝癌细胞和肝癌癌旁细胞和的相对正常的细胞悬液分别置于样品池, 光镊囚禁一个待测细胞, 以7 mW, 785 nm, 30 s采集拉曼光谱^[7, 8]。同时以同样的条件采集背景溶液的光谱。每组样品收集20个细胞, 最后通过Winspect软件分析, 获取平均光谱。数据分析采用

Origin6.0软件和PCA的方法。

2 实验结果

图1为肝癌、癌旁和肝的正常组织细胞的平均光谱图, 可见正常的肝实质细胞的平均光谱的波峰在1 070和1 266 cm^{-1} 附近很明显, 而肝癌和肝癌旁的细胞的波峰在1 070和

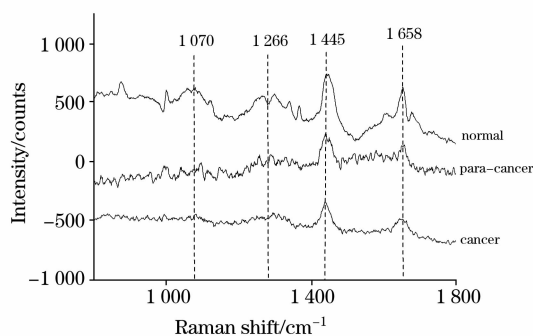


Fig. 1 Comparison of average Raman spectra of human liver cancer cells, para-cancer cells and normal hepatocytes time 30 s

收稿日期: 2007-09-02, 修订日期: 2007-12-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(30470427/C01050301)和中国科学院创新重要方向性资助项目(KSCX2-SW-322)资助

作者简介: 王雁军, 女, 1976年生, 中国科学院动物研究所博士研究生 e-mail: wangyanjun117@yahoo.com.cn

* 通讯联系人 e-mail: fengmf@ioz.ac.cn

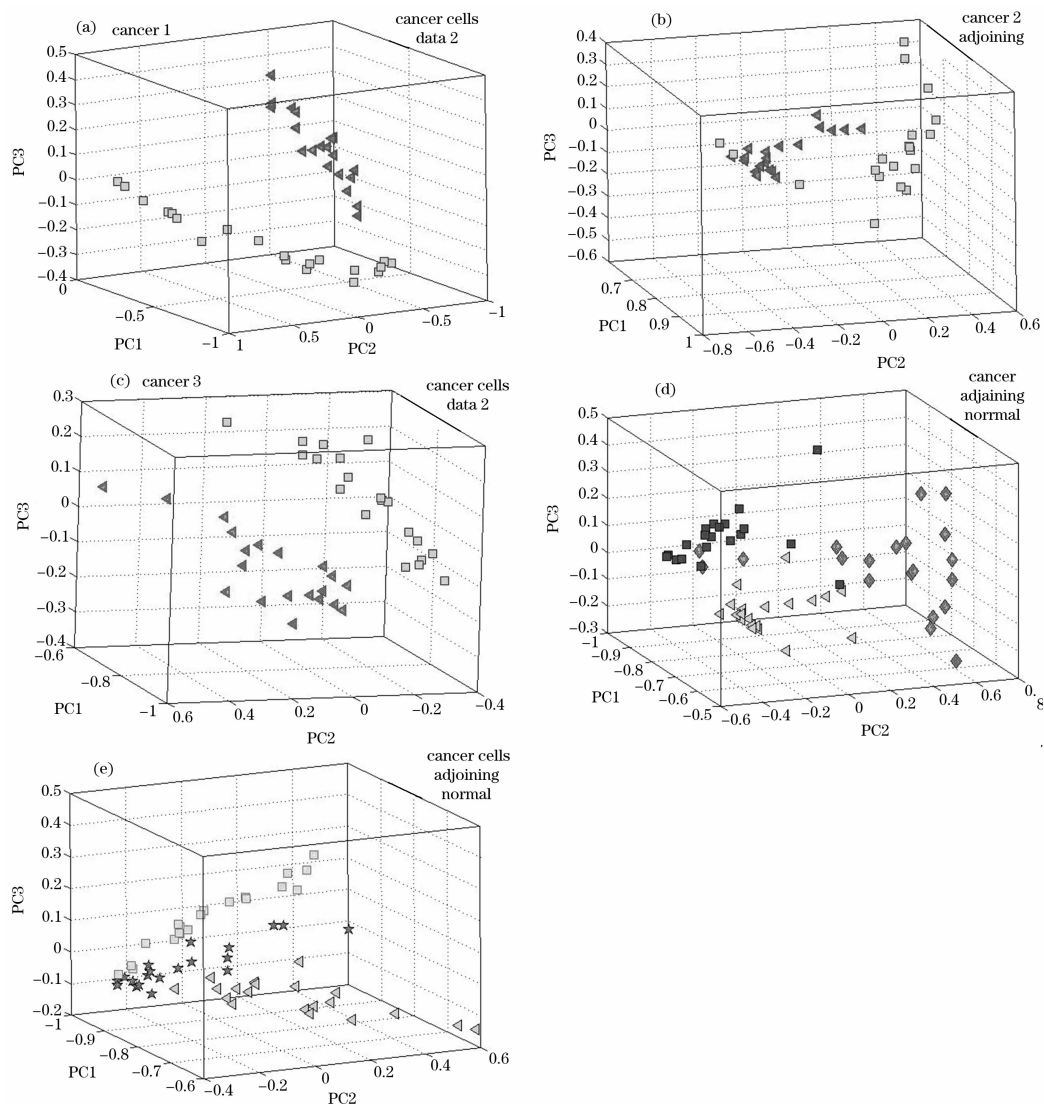


Fig. 2 PCA analysis of liver cancer cells and liver para-cancer cells. (cancer cells: liver cancer cells, data2, adjoining: para-cancer cells) (a); PCA analysis of liver cancer cells and liver para-cancer cells. cancer cells: liver cancer cells, data2: para-cancer cells) (b); PCA analysis of liver cancer cells and liver para-cancer cells. cancer: liver cancer cells adjoining: para-cancer cells. (c); PCA analysis of liver cancer cells and liver para-cancer cells and normal hepatocytes (cancer: liver cancer cells adjoining: para-cancer cells; normal: normal hepatocytes) (d); PCA analysis of liver cancer cells and liver para-cancer cells and normal hepatocytes. (cancer: liver cancer cells adjoining: para-cancer cells; normal: normal hepatocytes) (e)

1 266 cm^{-1} 附近不明显; 正常肝实质细胞的峰强在 1 445 cm^{-1} 明显高于肝癌和肝癌旁的细胞。

通过 PCA 方法进行分析各例标本的肝癌、癌旁和正常的肝组织细胞的平均激光拉曼光谱, 各自的拉曼光谱的数据处在不同的空间, 因此可以将其分开。

已知拉曼光谱在 1 266 和 1 445 cm^{-1} 的峰代表脂类和蛋白, 1 070 cm^{-1} 处的峰代表核酸, 见表 1^[5]。因此, 引起 1 070, 1 266 和 1 445 cm^{-1} 峰的变化生物化学物质很可能与肝的癌症发生有关。

Table 1 Tentative peak assignments for Raman tissue spectra

峰的位置/ cm^{-1}	代表的物质
1 078	C—C 或 C—O 伸展(脂类), C—C 或 PO_2 伸展(核酸)
1 260	酰胺 III: 无序的
1 264	在平面弯曲的 —C—H (脂类)
1 240~1 265	酰胺 III (蛋白 C—N 键的伸展, 表明 α -helix 结构)
1 443	CH_2 变形(脂类和蛋白)
1 446	蛋白的弯曲模型
1 485	核酸和嘌呤碱(鸟嘌呤和腺嘌呤)
1 520~1 538	—C=C— 类胡萝卜素
1 548	色氨酸
1 573	鸟嘌呤, 腺嘌呤

3 讨论

从以往的研究表明人肝癌的脂类和蛋白很有可能通过脂肪变性、脂类调控肝细胞核产生变化以及对多种蛋白的调控而导致肝癌的发生和转移,核酸表达的变化更是产生肝癌的

一个重要的原因^[9-15]。本研究进一步表明,随着肝癌病变部位变化而产生的 1 070, 1 266 和 1 445 cm^{-1} 峰的变化所代表的生物物质很可能是肝癌产生的一个重要原因。综上所述,LTRS 系统可以依据肝癌的病变部位区分各种肝癌、肝癌癌旁和肝相对正常细胞的标本,是检测和分析肝癌的一种可行的方法。

参 考 文 献

- [1] Villanueva A, Newell P, Chiang D Y, et al. *Seminari Liver Disease*, 2007, 27(1): 55.
- [2] Hotta N, Ayada M, Okumura A, et al. *Clin. Imaging.*, 2007, 31(2): 87.
- [3] Sherley J L. *Stem Cells*, 2002, 20(6): 561.
- [4] Lechler T, Fuchs E. *Nature*, 2005, 437(7056): 275.
- [5] Potten C S, Loeffler M. *Development*, 1990, 110(4):1001.
- [6] Stone N, Kendall C, Smith J, et al. *Faraday Discussion*, 2004, 126: 141, 169.
- [7] Xie C A, Li Y Q. *J. Appl. Physics*, 2003, 93: 2982.
- [8] Xie C A, Li Y Q, Tang W. *J. Appl. Physics*, 2003, 94: 6138.
- [9] Tward A D, Jones K D, Yant S, et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, 104(37): 14771.
- [10] Nagahara T, Okano J, Murawaki Y. *Oncol Rep.*, 2007, 18(5): 1281.
- [11] Trencsényi G, Kertai P, Somogyi C, et al. *DNA Cell Biol.*, 2007, 26(9): 649.
- [12] Moriishi K, Mochizuki R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, 104(5): 1661.
- [13] Yu Bo, Li Shiyong, An Ping, et al. *World J. Gastroenterology*, 2004, 10(18): 2652.
- [14] LI Shi-yong, YU Bo, AN Ping, et al(李世拥, 于波, 安萍, 等). *Chinese Journal of Surgery(中华外科杂志)*, 2004, 42(2): 84.
- [15] FENG De-yun, ZHENG Hui, SHEN Ming, et al(冯德云, 郑晖, 沈明, 等). *Journal of Central South University(Medical Science)(中南大学学报·医学版)*, 1999, 24(4): 325.

Laser Tweezers Raman Spectroscopy Analysis of Liver Cancer Tissue

WANG Yan-jun¹, YAO Hui-lu², WANG Gui-wen², WANG Yun¹, FENG Mei-fu^{1*}

1. State Key Lab of Biomembrane and Membrane Biotechnology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China
2. Laboratory for Biophysics, Guangxi Academy of Sciences, Nanning 530003, China

Abstract Single cell laser tweezers Raman spectroscopy (LTRS) has been applied to biology field. In the present article, the authors measured the spectra of liver cancer cells, para-cancer cells and normal hepatocytes using single cell laser tweezer Raman spectroscopy (LTRS) system and compared their average spectra changes. The results showed that the laser tweezers Raman spectroscopy could differentiate specimens of different pathological changes from liver tissue studied. The 1 070 and 1 266 cm^{-1} peaks obtained from normal hepatocytes were more visible than the same two peaks obtained from liver cancer and para-cancer specimen. The 1 445 cm^{-1} peak of normal hepatocytes was higher than that of liver cancer cells and para-cancer cells. It is known that the 1 070 cm^{-1} peak represents lipids and nucleic acids, while 1 266 and 1 445 cm^{-1} peaks represent lipids and proteins. So, these peak changes may directly reflect the changed biomaterials related to liver carcinogenesis. Thus, single cell laser tweezer Raman spectroscopy may be a nondestructive, rapid and good method to measure and analyze different pathological specimens from liver cancer.

Keywords Liver cancer cells; Normal hepatocytes; Laser Tweezers Raman spectroscopy

(Received Sep. 2, 2007; accepted Dec. 5, 2007)

* Corresponding author