

文章编号:1001-9014(2006)04-0279-03

人早幼粒白血病细胞裸鼠异种移植模型的 傅里叶变换红外光谱探索

唐伟跃, 孙雷明, 侯晓强, 陈香才, 张建民
(郑州大学物理工程学院, 河南 郑州 450052)

摘要:应用傅里叶变换红外光谱法对 HL-60(人早幼粒白血病细胞)裸鼠异种移植模型癌变及癌旁正常组织粉末样品进行了分析研究. 结果表明:(1) 甲基 CH_3 和蛋白质分子 C-O 峰在癌变组织中均有不同程度的频移,(2) 正常组织的红外光谱在 1746cm^{-1} 处存在较强的吸收峰,而在肿瘤中只有较弱的吸收峰或观察不到吸收峰,(3) 癌变组织核酸分子磷酸二脂基团 PO_2^- 的对称伸缩振动的相对吸收强度明显增强,(4) 正常组织中脂类分子弯曲振动谱带吸收峰相对强度明显强于甲基变角振动谱带的相对强度,而在癌变组织中这两处吸收峰的相对强度大小基本相等. 说明傅里叶变换红外光谱法可以用于对裸鼠癌变组织进行鉴别诊断,利用动物异种移植模型进行红外光谱分析可成为肿瘤红外光谱研究的一种新方法.

关键词:裸鼠;人早幼粒白血病细胞;肿瘤组织;红外光谱
中图分类号:0434.13 **文献标识码:**A

STUDIES ON FOURIER TRANSFORM IR SPECTRA OF HUMAN MYELOCYTIC LEUKEMIA XENOGRAFTED IN NUDE MICE

TANG Wei-Yue, SUN Lei-Ming, HOU Xiao-Qiang, CHEN Xiang-Cai, Zhang Jian-Min
(The Physics and Engineer College of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) was applied to the study of human myelocytic leukemia (HL-60) xenografted in nude mice. Experiment results show that (1) the peak of CH_3 and C-O of molecule of protein shifts to a certain extent in cancerous tissues, (2) the relative intensity of 1746cm^{-1} is very strong in normal tissues, but it is very weak in malignant tissues, (3) the relative intensity of the stretch vibration of PO_2^- in phosphodiester group is obviously strong, (4) the ratio of the relative intensity of deformed vibration of the adipose molecule and the deoxyribose vibration of CH_3 was higher in normal tissues, but it is almost equal in malignant tissues. The result might indicate that the FTIR could be used in the clinical diagnoses of the malignant tissues of human myelocytic leukemia (HL-60) xenografted in nude mice, and it also suggests that the nude mice tumor models could be a new method for the FTIR spectroscopic studies of tumor.

Key words: nude mice; HL-60; tumor; infrared spectra

引言

1990年后, Fourier 变换红外光谱 (FTIR) 被广泛地用于人体宫颈癌、结肠癌、肝癌、肺癌、乳腺癌等细胞或组织的研究^[1-4]. 近年来, 裸鼠体内建立的人体肿瘤细胞异种移植模型为研究人体肿瘤细胞在体内的增殖、分化、转移、人体肿瘤的化疗、放疗、免疫治疗以及抗肿瘤药物的筛选等提供了一种比较理想的途径. 目前, 对人体肿瘤细胞异种移植模型的光谱

研究报道甚少. 本文应用傅里叶变换红外光谱法对人白血病细胞 (HL-60) 裸鼠异种移植模型的正常与癌变组织的红外光谱进行了研究, 探讨了其光谱差异及其导致其差异的可能原因, 以期红外光谱应用于人体肿瘤细胞异种移植模型研究提供了一些参考资料.

1 试验部分

1.1 实验仪器与样品

收稿日期: 2005-06-07, 修回日期: 2006-01-16

基金项目: 国家自然科学基金(10205013)资助项目

作者简介: 唐伟跃(1958-), 男, 河南郑州人, 副教授, 主要研究方向为光子生物.

Received date: 2005-06-07, revised date: 2006-01-16

1. 实验仪器:美国 Nicolet 公司生产的 NEXUS-470 傅里叶红外光谱仪. 波数范围:4000 ~ 400 cm^{-1} , 分辨率:4 cm^{-1} . 德国产 CHRIST 冰冻干燥机, 型号: ALPHA 1—2 LD.

2. 样品:人早幼粒白血病细胞(HL-60)裸鼠异种移植模型.

1.2 实验方法

1. 模型的建立:细胞株为 HL-60 为人早幼粒白血病细胞(由郑州大学基础医学院组胚教研室提供). 细胞培养在含 20% FCS(小牛血清)的 RPMI-1640 培养液中,置于含 5% CO_2 恒温培养箱中悬浮培养. 收集对数生长期细胞,调整细胞浓度,在无菌条件下进行细胞异种移植. 细胞均接种于裸鼠左前肢外侧皮下(裸鼠由郑州大学实验动物中心提供). 接种后定期观察肿瘤生长情况,待肿瘤生长至直径超过 10 mm 时在无菌条件下将裸鼠脱颈处死,取瘤块用细胞悬液制备器制成细胞悬液,进行传代接种,成功率达 90%.

2. 样品制备:将所取肿瘤组织及其附近正常组织经冰冻干燥后碾成粉末,与 KBr 粉末混合后压制成薄膜状.

3. 实验方法:将制成的薄膜状样品至于红外光谱仪的光路上进行透射光的测定.

2 结果与讨论

裸鼠正常组织与癌变组织在 700 ~ 2 000 cm^{-1} 区间的红外光谱如图 1 所示.

2.1 谱带归属

974 cm^{-1} 处属于磷酸化蛋白和核酸单脂 PO_3^{2-} 的对称伸缩振动谱带;1 082 cm^{-1} 、1 235 cm^{-1} 处分别

属于核酸分子磷酸二脂基团 PO_2^- 的对称和反对称伸缩振动谱带;1 166 cm^{-1} 处属于蛋白质分子 C-O 伸缩振动谱带;1 304 cm^{-1} 处属于内相位 CH_2 扭曲振动;1 392 cm^{-1} 处属于甲基- CH_3 变角振动谱带;1 456 cm^{-1} 处属于脂类分子 CH_2 弯曲振动谱带;1 653 cm^{-1} 和 1 542 cm^{-1} 处分别属于蛋白质酰胺 I、II 带;1 746 cm^{-1} 处属于脂肪的 C=O 伸缩振动峰.(谱线归属见表 1).

2.2 谱带分析

对裸鼠正常和癌变组织的红外光谱对比分析发现在以下波数处区别较大:

正常组织的红外光谱在 1 746 cm^{-1} 处存在较强的吸收峰,而在肿瘤中只有较弱的吸收峰或观察不到吸收峰. 该谱带被指认为人体组织中脂肪的 C=O 伸缩振动峰. 对于该处的吸收峰已有报道,在癌变组织中,由于癌细胞生长而被排出或在癌细胞生长中被作为营养而被消耗掉,造成癌变组织中脂肪含量减少,是引起肿瘤组织中 C=O 伸缩振动峰较弱的原因^[5]. 说明组织中脂肪含量有望作为组织是否癌变的一个重要标志.

正常组织中 1 456 cm^{-1} 处的吸收峰相对强度明显强于 1 392 cm^{-1} 处的相对强度. 而在癌变组织中这两处吸收峰的相对强度大小基本相等. 1 392 cm^{-1} 在癌变组织中向高波数移至 1 397 cm^{-1} 处.

1 166 cm^{-1} 处属于蛋白质分子 C-O 伸缩振动谱带吸收峰在癌变组织中明显变弱,并向低波数移动约 10 cm^{-1} . 有可能是癌变组织中原先参与氢键作用的蛋白质的 C-O 键减少,氨基酸残基 C-OH 和基团的结合氢键大部分遭到破坏^[6].

在癌变组织中 1 082 cm^{-1} 处有强烈的吸收峰,

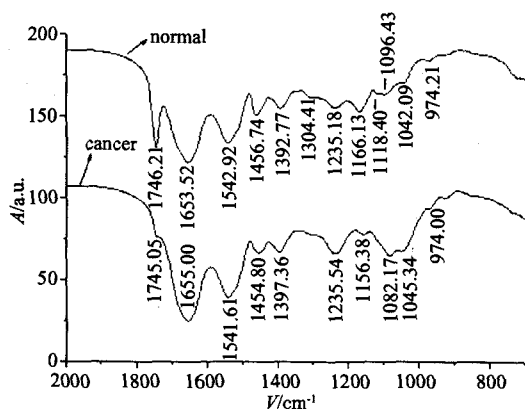


图 1 正常与癌变组织 700 ~ 2 000 cm^{-1} 区间红外光谱
Fig. 1 Infrared spectra of normal and malignant tissues from 700 ~ 2 000 cm^{-1}

表 1 裸鼠组织的红外光谱吸收峰振动模式的初步指认
Table 1 The peak position and assignment of FTIR spectra of normal and malignant tissues of nude mice

吸收峰位(cm^{-1})	振动模式初步指认
1746	脂类分子的 $\nu_{\text{C=O}}$ 振动
1653, 1542	蛋白质酰胺 I、II 带
1456	脂类分子弯曲振动谱带
1392	甲基- CH_3 变角振动谱带
1304	内相位 CH_2 扭曲振动
1166	蛋白质分子 C-O 伸缩振动谱带
1082, 1235	核酸分子磷酸二脂基团 PO_2^- 的对称和反对称伸缩振动
974	磷酸化蛋白和核酸单脂 PO_3^{2-} 的对称伸缩振动谱带

而在正常组织中 $1\ 082\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰很弱。 $1\ 082\ \text{cm}^{-1}$ 处属于核酸分子磷酸二脂基团 PO_2^- 的对称伸缩振动谱带,其吸收强度与细胞中的 DNA 含量有关^[7]。癌变组织中该处吸收的增强反映出癌变组织中核酸相对含量的增加。我们知道,细胞恶变的一个重要特征就是 DNA 的大量复制而导致其在细胞中含量的增加,胞核内 DNA 增多,细胞核体积增大。由于胞核内 DNA 增多,核染色深。从而使 $1\ 082\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收谱带明显增强。

3 结论

通过对裸鼠异种移植模型的正常和癌变组织的红外光谱研究可以看出,正常组织与癌变组织的谱图表现出很大的差异性,体现了在癌变组织中细胞形态和组织结构发生的变化,谱图的差别主要表现在:

1. 正常组织的红外光谱在 $1\ 746\ \text{cm}^{-1}$ 处存在较强的吸收峰,而在肿瘤中只有较弱的吸收峰或观察不到吸收峰。

2. 癌变组织中 $1\ 082\ \text{cm}^{-1}$ 处核酸分子磷酸二脂基团 PO_2^- 的对称伸缩振动的相对吸收强度明显增强。

3. 正常组织中 $1\ 456\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰相对强度明显强于 $1\ 392\ \text{cm}^{-1}$ 处的相对强度。而在癌变组织中这两处吸收峰的相对强度大小基本相等。

这些差异反映了癌变组织中脂肪含量的减少;癌变组织中原先参与氢键作用的蛋白质的 C-O 键减少;癌变组织中核酸相对含量的增加。裸鼠正常和

癌变组织红外光谱的这些差别为红外光谱应用于人体组织癌变的研究提供了一些参考资料。

REFERENCES

- [1] Wong PT, Wong RK, Caputo TA, *et al.* Infrared spectroscopy of exfoliated human cervical cells: evidence of extensive structural changes during carcinogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**(24):10988—10992.
- [2] LIU Jin-Xu, HAN Wei, PENG Ying-Ke, *et al.* Determination of the cancerous cells with FTIR [J]. *J. Infrared Millim. Waves* (刘金绪,韩伟,彭英科,等.关于癌变细胞红外光谱测定方法的研究. *红外与毫米波学报*), 1998, **17**(4):313—316.
- [3] HUO Hong, WANG Xing-Fu, CHE Xun, *et al.* Investigation of breast tumors of women with fourier transform infrared spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* (霍红,王幸福,车迅,等.女性乳腺肿瘤的傅里叶变换红外光谱鉴别方法的探索. *分析化学研究简报*), 2001, **29**:63—65.
- [4] YUANG Bo, ZHAO Hai-Ying, HUANG Mei-Zhen, *et al.* Studies on thermal dynamics of protein by two dimensional correlation infrared spectroscopy [J]. *J. Infrared Millim. Waves* (袁波,赵海鹰,黄梅珍,等.用二维相关红外光谱研究蛋白质分子的热动力学过程. *红外与毫米波学报*), 2004, **23**(3):213—216.
- [5] WEI Hong, XU Yi-Zhuang, WONG Shi-Pu, *et al.* FT-Raman and FT-IR studies on the normal and malignant tissues [J]. *Chinese Journal Of Light Scattering* (维红,徐怡庄,翁诗甫,等.肿瘤和正常组织的 FT-Raman 与 FT-IR 研究. *光散射学报*), 1998, **10**(3—4):114—119.
- [6] Brigas B, Wong PTT. Application of infrared spectroscopy in biochemistry and medicine [J]. *Cancer Research*, 1992, **52**:84—87.
- [7] Benedetti E, Polatresi MP, Vergamini P, *et al.* Infrared characterization of nuclei isolated from normal and leukemic (B — CLL) lymphocytes: Part III [J]. *Applied Spectroscopy*, 1986, **40**:39—43.