

313-316  
第17卷第4期  
1998年8月

# 关于癌变细胞红外光谱测定方法的研究

刘金绪 韩伟<sup>△</sup> 彭英科 冯瑞珍 苏杏满\*

(河北省分析测试研究中心, 河北·石家庄, 050021)

R730.4  
O434.B3

**摘要** 利用傅里叶红外光谱(FTIR)高分辨手段,对正常人的细胞和宫颈癌患者的细胞进行了对比研究,初步得出此方法能在分子水平上揭示出肿瘤细胞与正常细胞的差别,并通过谱图解析,可直接阐明引起谱图变化的主要原因、细胞癌变的可能机理,从而做到对癌程进行预测和肿瘤疾病的早期诊断。

**关键词** 傅里叶红外光谱(FTIR), 宫颈癌, 癌变细胞, 测定

## 引言

傅里叶红外光谱及其相关技术的迅速发展,不仅越来越广泛用于蛋白质、核酸等大生物分子结构研究上,而且已开始更深入地用来研究细胞和组织等更加复杂的体系。人体组织细胞中最基本的聚合物是核酸(DNA、RNA)蛋白质、双层磷脂膜。细胞的红外光谱就是由此聚合物分子的振动光谱组成,它反映了核酸、蛋白质、糖蛋白和生物膜等分子在细胞内的含量、构型、构象及其所发生的变化。

目前在癌症临床常规诊断过程中,主要是进行病理解剖及组织细胞学诊断。组织的固定、染色以及显微镜下的观察与分析,过程繁琐,而且常有很大的主观性,往往还出现假阴性或假阳性的结果,如果采用傅里叶红外光谱法进行癌症的鉴别与诊断,不仅简便、快速、经济,而且是在分子结构层次上作出的判断,其准确率高。

我们利用 FTIR 高分辨手段,对正常人的组织、细胞和肿瘤患者的细胞进行了对比研究,并初步得出此方法能在分子水平上揭示出肿瘤与正常细胞的差别,还通过谱图解析,直接阐明引起谱图变化的主要原因,细胞癌变的可能机理及病程各期的进展(正常→微小的病理变化→恶性期)为肿瘤疾病的早期诊断展现了良好的前景。

## 1 实验

实验仪器用美国 Nicolet 5DX-B 傅里叶红外光谱仪和 Nicolet 650 傅里叶红外光谱仪。

实验用试样宫颈癌细胞及正常细胞均由河北省第四医院妇产科提供。

由于各种肿瘤的性质和组织形态的不同,要获取有效的红外光谱,需要采取不同的样品预处理步骤及制样技术。对于宫颈癌,我们使用取样拭子采样,将拭子的脱落的宫颈细胞轻

\* 河北省医科大学附属第四医院  
稿件收到日期 1997-10-07,修改稿收到日期 1998-01-19

轻混入生理盐水中,用高速离心机收集细胞,然后用液氮将其冷冻成小球状,供红外光谱分析,另取少量样品,涂片固定,进行 Papanicolaow 染色,作对比检查.

将上述方法处理后的样品,转移至自制的特殊附件上,放入傅里叶红外光谱仪的光路中,并于  $900\text{cm}^{-1}\sim 1350\text{cm}^{-1}$  波段作图(见图 1).

## 2 结果与讨论

我们测定了正常的和宫颈癌的组织 and 细胞的红外光谱,发现二者存在着明显差别,特别在  $1000\text{cm}^{-1}\sim 1350\text{cm}^{-1}$  区域中,吸收位置与强度,及形状差别尤为明显(见图 1).

通过正常细胞和癌变细胞的红外光谱分析、比较,癌变细胞的红外光谱与其结构存在如下关系:

### 2.1 磷酸二酯基团伸缩振动谱带的变化

变化最明显的谱带来自核酸分子内部的磷酸二酯基团(见图 2)的对称伸缩振动( $\gamma_s\text{PO}_2$ ,  $1080\text{cm}^{-1}$ )和非对称伸展振动( $\gamma_{as}\text{PO}_2$ ,  $1240\text{cm}^{-1}$ ),在宫颈癌细胞分子的红外光谱中, $\gamma_s\text{PO}_2$  谱带强度比正常细胞的谱带强度明显增加. Benedelli<sup>[2]</sup>等人认为, $\gamma_s\text{PO}_2$  谱带强度与细胞核中 DNA 的含量有关.

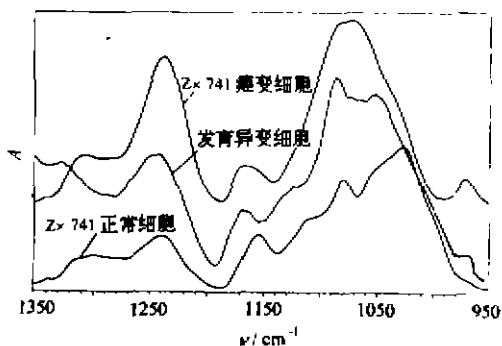


图 1 正常细胞和癌变细胞的红外光谱图  
Fig. 1 The IR spectra of the normal and cancerous cells

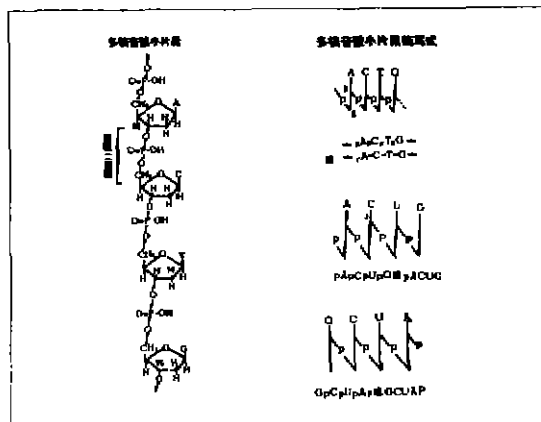


图 2 多核苷酸结构  
Fig. 2 The structure of polynucleotide

通过大量对比实验发现正常细胞的  $\gamma_{as}\text{PO}_2$  基本为一单峰(位于  $1240\text{cm}^{-1}$  附近),而宫颈癌细胞的  $\gamma_{as}\text{PO}_2$  是由两个重叠的谱带组成,而且低频侧的峰强度与正常组织相比显著增加<sup>[3]</sup>,这是因为在癌变过程中,细胞内的核酸分子中  $\text{PO}_2$  基团大部分形成氢键导致频率下降(由  $1240\text{cm}^{-1}$  降至  $1220\text{cm}^{-1}$ ),强度增加,这一结论通过应用高压样品池测定得到证实<sup>[1]</sup>. 压力增强,氢键结合力增强,基团振动频率降低,而吸收强度大为增强.

### 2.2 糖原(Glycogen) 谱带变化<sup>[4]</sup>

糖原又称动物淀粉,它是由 D-葡萄糖组成的均一多糖,其结构和支链淀粉相似(见图 3). 图 3 中 1,2,3,4 代表环中不同位置碳原子的序号. 糖原分子的 C-O 基团伸缩振动频率

(YC-O)有  $1020\text{cm}^{-1}$  和  $1047\text{cm}^{-1}$  两个峰, 这两个峰强度可反映糖原含量, 宫颈发生癌变时, 这两个峰强度明显降低. 观察到  $1020\text{cm}^{-1}$  (来源于糖原) 和  $1080\text{cm}^{-1}$  (来源于核酸) 两谱带强度之比  $A_{1020\text{cm}^{-1}}/A_{1080\text{cm}^{-1}}$  在正常组织与癌变组织之间存在着极明显差别<sup>[2]</sup>, 这表明, 癌变组织中糖原的含量相对于核酸的含量呈明显下降趋势.

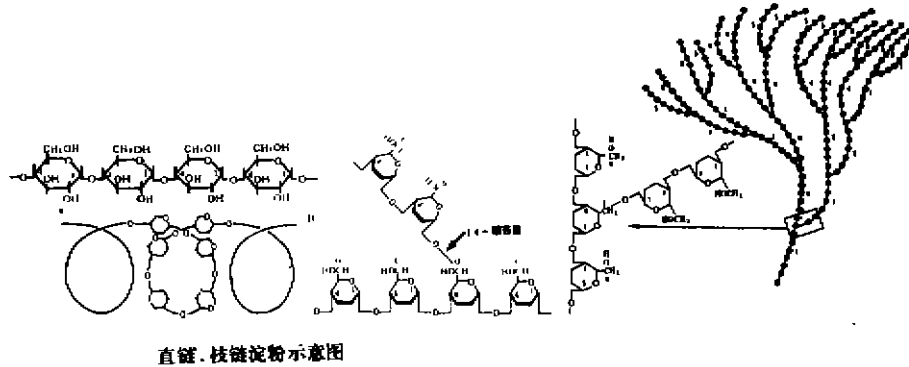


图 3 糖原结构

Fig. 3 The structure of glycogen

### 2.3 蛋白质分子中 C-O 基团红外光谱带变化

在  $1150\text{cm}^{-1}$  附近有一条较弱的吸收带, 它主要来自蛋白质分子中的丝氨酸, 苏氨酸和酪氨酸残基 C-O (H) 伸缩振动<sup>[4]</sup>, 其结构形式如图 4 所示. 当组织发生癌变时, 氨基酸残基 C-OH 基团的结合氢绝大部分都发生破坏, 谱带向高波数位移.

### 2.4 其它谱带变化

在宫颈癌组织的红外光谱中于  $970\text{cm}^{-1}$  处多了一条谱带, 这可能是由于磷酸化蛋白和核酸的磷酸单脂二价阴离子的对称伸缩振动所致.

对于介于正常和癌变细胞之间的发育分化异常细胞, 它们的红外光谱与癌细胞的红外光谱呈现出基本相同的变化趋势 (如图 1), 这反映了光谱变化与癌变发生、发展过程的相关性与对应性, 充分显示出傅里叶红外光谱法有可能用于癌症早期诊断.

## 3 结论

通过对宫颈癌的红外光谱研究, 总结出如下规律:

- (1) 癌变细胞中, 糖原含量大幅度下降 (表现在  $1020\text{cm}^{-1}$  和  $1047\text{cm}^{-1}$  两个峰上).
- (2) 核酸分子中磷酸二脂基团的氢键结合力大为增高.
- (3) 蛋白质中某些氨基酸残基 C-OH 基团的氢键遭破坏.
- (4) 从光谱分析还可以对病程进展各期 (正常 → 微小的病理变化 → 恶性期) 作出诊断.

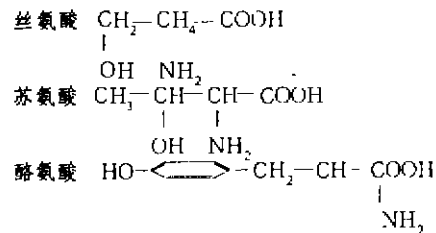


图 4 三种氨基酸的结构式

Fig. 4 The structures of three kinds of amino acid

## REFERENCES

- 1 Wong P T T, *Applied Spectroscopy*, 1991, **45**, 1563
- 2 Benedetti E. *Applied Spectroscopy*, 1990, **40**, 39
- 3 Wong P T T. *Proc. Natl. Acad. USA*, 1991, **88**, 10988
- 4 Parker F S. *Appiltation of infrared spectroscopy in biochemistry, blototy and menicine, plenum, New York*(9)1. 1961
- 5 Rigad B. *proc. Hall. scl USA*, 1990, **87**, 8140

## DETERMINATION OF THE CANCEROUS CELLS WITH FTIR

LIU Jin-Xu HAN Wei PENG Ying-Ke FENG Rui-Zhen SU Xing-Min \*

(Centre of Analysis, Testing & Research of Hebei Province, Shijiazhuang, Hebei 050021, China)

**Abstract** A new method for the determination of the cancerous cells was proposed. By means of the high resolution of FTIR, the comparison and study on the normal human cells and cells of more than 1000 patients suffering from the cervical carcinoma were conducted. It was preliminarily concluded that by this method the obvious difference between the cancer cells and the normal ones can be explained from the molecular level. Moreover, through the interpretation of the spectrum, the main reasons causing the change of the spectrum and the possible mechanism of the cells canceration can be directly explained and thus the course of illness can be forecasted and diagnosing cancer in an early stage can be done.

**Key words** FTIR, cervical carcinoma, cancerous cells.

---

\* The Fourth Hospital of the Medical University of Hebei Province, Hebei, China  
Received 1997-10-07, revised 1998-01-19