

肝癌细胞和正常肝细胞的自体荧光光谱研究

李 静 曾红娟 庞小峰

(电子科技大学生命科学与技术学院, 四川 成都 610054)

摘要 利用荧光光纤传感器来检测癌症必须弄清楚肝癌细胞与正常肝细胞是否具有不同的荧光特征。在体外培养了 SMMC-7721 肝癌细胞和 HL-7702 正常肝细胞, 然后用荧光光谱仪对它们的自体荧光进行检测。结果表明, 两种细胞的自体荧光发射光谱在 550~720 nm 范围内发射峰的数目和峰位均相同(602 nm 和 691 nm), 只是主峰的波形略有差异。在 720~800 nm 范围内, 肝癌细胞有一特征荧光峰, 峰位置在 734 nm 附近, 而正常肝细胞则无此峰。通过对多代培养的细胞进行荧光光谱测试, 发现两种细胞的荧光光谱特征在细胞传代的过程中保持不变, 说明细胞中的荧光特征在传代过程中保持稳定。这两方面的实验为利用荧光光纤传感器来检测癌症提供了一定的参考。

关键词 医用光学与生物技术; 自体荧光光谱; 肝癌细胞; 正常肝细胞; 荧光峰

中图分类号 R318.51 **文献标识码** A **doi:** 10.3788/AOS20092908.2261

Study of Autofluorescence Spectrum between Hepatic Carcinoma Cell and Hepatic Cell

Li Jing Zeng Hongjuan Pang Xiaofeng

(School of Life Science and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu, Sichuan 610054, China)

Abstract The objective of the autofluorescence spectrum of hepatic carcinoma cell and hepatic cell studied was to understand if there was difference between the two cells. So we cultured SMMC-7721 hepatic carcinoma cell and HL-7702 hepatic cell in vitro. Then their autofluorescence was detected by fluorescent spectrograph. It presents that the spectrogram of the hepatic carcinoma cell resembles that of the hepatic cell at the range of wavelength from 550~720 nm characterized by two peaks at 602 nm and 691 nm. But from 721~800 nm, the spectra of carcinoma cell with a peak located at 734 nm were found. For the hepatic cell the peak at 734 nm was not observed. The experimentations of propagation of both cells confirm ulteriorly that there is a significant difference between two cells'spectrum. The experiment will be beneficial to the next research of detecting hepatic carcinoma by fluorescent fiber optic biosensor.

Key words medical optics and biotechnology; autofluorescence spectrum; hepatic carcinoma cell; hepatic cell; fluorescence peak

1 引 言

肝癌是一种死亡率很高癌症, 对于它的检查目前主要包括: 甲胎蛋白的含量测定; γ 谷氨酰转氨酶的含量测定、 α -L-岩藻糖苷酶的含量测定、B 型超声波、电子计算机体层摄影、磁共振以及肝动脉造影等^[1]。这些检查方法为肝癌的早期检测作出了一定的贡献。但是, 在实时、快速和经济适用等方面仍然

不能满足患者的需求。所以, 近年来, 利用荧光光谱技术来诊断恶性肿瘤已日渐引起肿瘤专家的关注, 它通过检查人体内荧光特征的变化情况来判断是否产生癌变, 因而, 有希望成为一种新的癌症诊断方法而引起国内外学者广泛关注, 并且在这方面做了大量的研究工作^[2~5]。不过他们的研究主要集中在肿瘤组织和血清的荧光光谱方面^[7~10], 而采用荧光光

收稿日期: 2008-09-15; **收到修改稿日期:** 2008-11-08

作者简介: 李 静(1980—), 硕士研究生, 主要从事恶性肿瘤的荧光光谱方面的研究。E-mail: orangeljj@qq.com

导师简介: 庞小峰(1947—), 男, 教授, 主要从事生物物理学和非线性量子力学的研究。

E-mail: pangxf2006@yahoo.com.cn

谱技术来对体外培养的肝癌细胞进行研究这方面的报道很少。

本研究的目的是通过对体外培养的肝癌细胞和正常肝细胞的自体荧光进行研究,找到这两种细胞自体荧光光谱的特征,为采用荧光光谱技术进行肿瘤研究提供参考。

2 实 验

2.1 细胞培养

人肝癌细胞 SMMC-7721^[11] 和正常人肝细胞 HL-7702^[12],均购自华西医院移植免疫重点实验室。将两种细胞分别加入含 10% 新生牛血清(GIBCO)的 PMI1640 培养基(Hyclone)并置于 5% CO₂ 的培养箱中,37 °C 常规培养。

2.2 样品制作

将原位杂交专用盖玻片置于六孔培养板中,将细胞按 5×10^5 mL 的密度接种于培养板中,制作细胞爬片。在细胞生长的第 4 天将细胞爬片取出,检测爬片上细胞的荧光光谱。

2.3 检查细胞的自体荧光光谱

采用日立 F-7000 荧光光谱仪,检查前用 PBS 缓冲液洗涤爬片三次。检测条件为:激发光波长(EX): 488 nm^[13],发射光波长(EM)范围:550~800 nm,狭缝(Band Width): 5 nm,扫描速度(Scan Speed): 60000 nm/min,响应时间(Response): 0.002 s。

3 实验结果

3.1 正常肝细胞与肝癌细胞的荧光光谱比较

两种细胞爬片在 488 nm 光激发下的荧光发射光谱如图 1 所示。从图中可以看出,对于正常肝细胞,在 550~800 nm 波长范围内,存在两个特征荧光峰,峰位置分别在 602 nm 和 691 nm 处,两个峰

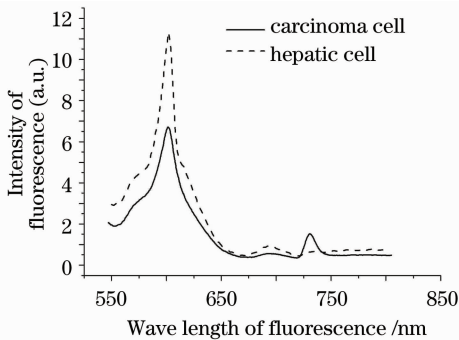


图 1 两种细胞的荧光光谱

Fig. 1 The autofluorescence spectrum of hepatic carcinoma cell and hepatic cell

位置上的荧光强度比约为 10:1。而对于肝癌细胞,在 550~800 nm 波长范围内,却存在三个特征荧光峰,峰位置分别在 602 nm,734 nm 和 691 nm 处,前两个峰位置上的荧光强度比约为 3:1,在 691 nm 处荧光峰则非常弱。说明肝癌细胞除了含有与正常细胞的相同的生命物质外,它还含有正常细胞所没有的生命物质。

3.2 多代培养的正常肝细胞与肝癌细胞的荧光光谱比较

按照上述实验方法分别对正常肝细胞与肝癌细胞进行传代培养,每代培养的细胞爬片分别进行荧光测试,测试所得的荧光光谱如图 2 所示。图 2(a)为肝癌细胞 SMMC-7721 的荧光光谱图,图 2(b)为正常肝细胞 HL-7702 细胞荧光光谱图。从这两幅图中可以看出,两种细胞各自所具有的荧光光谱特征在细胞的传代过程中保持不变。

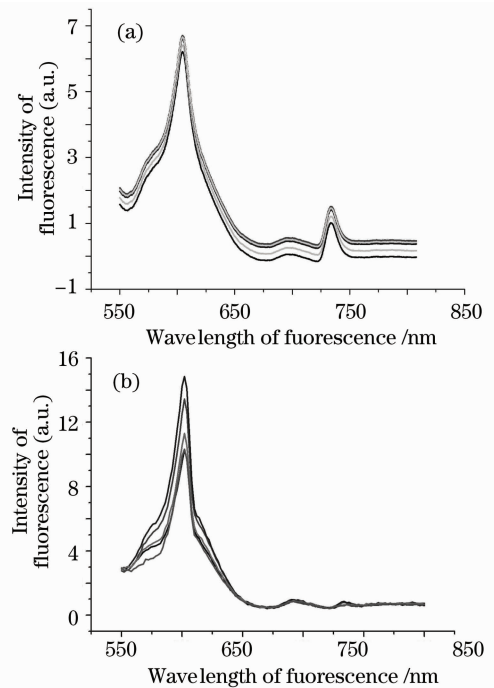


图 2 多代培养的 SMMC-7721 细胞(a)和 HL-7702 细胞(b)的荧光光谱图

Fig. 2 The autofluorescence spectrum of SMMC-7721 and HL-7702 (b) propagated for many times

4 结 论

本实验结果发现在 550~720 nm 波长范围内肝癌细胞和正常细胞的荧光光谱的发射峰的数目和峰位置均基本一致,而在 720~750 nm 范围内肝癌细胞的光谱出现了一个新的荧光峰,峰位置约在 734 nm 处。说明肝癌细胞除了具有与正常肝细胞相同的组

成物质外,还在 734 nm 处,有自己独特的特征峰。这是之前的同类实验中没有出现过的。虽然,在实验中看到了肝癌细胞的一个特征峰,但人体内的结构与功能变化千差万别,极为复杂,至于该特征光谱是由哪种或哪几种荧光基力发出,我们还在进一步研究中。

参 考 文 献

- 1 Li Yong, Early diagnosis of primary hepatocellular carcinoma[J]. *J. Anhui Health Vocational & Technical College*, 2005, **4**(6): 29~30
- 李 勇. 原发性肝癌的早期诊断[J]. 安徽卫生职业技术学院学报, 2005, **4**(6): 29~30
- 2 Zhu Jing, Xu Jian, Yang Yuanlong *et al.*. Fluorescent diagnosis of cancer by small dose of hematoporphyrin derivative[J]. *Chinese J. Lasers*, 2000, **27**(6): 572~575
- 朱 菁, 徐 键, 杨远龙等. 小剂量血卟啉 OMA 系统荧光诊断肿瘤[J]. 中国激光, 2000, **27**(6): 572~575
- 3 Yang Dong, Zeng Chaoying, Analysis on the clinical applicability of laser excited autofluorescence spectra for oral cancer diagnosis [J]. *Chinese J. Lasers*, 1991, **18**(2): 144~148
- 杨 栋, 曾超英. 氩激光激发自体荧光诊断口腔癌的适用性研究 [J]. 中国激光, 1991, **18**(2): 144~148
- 4 Yang Yuanlong, Li Liming, Ye Yanming *et al.*. Laser excited autofluorescence of brain tumour and accumulation of endogenous porphyrin[J]. *Chin. J. Lasers*, 1990, **17**(5): 318~320
- 杨远龙, 李黎明, 叶衍铭等. 脑部肿瘤的自体荧光和体内卟啉的滞留[J]. 中国激光, 1990, **17**(5): 318~320
- 5 Xia Aidi, Design of a fluorescence imagemultiplier used for examining carcinomas[J]. *Acta Optica Sinica*, 1986, **16**(7): 667~673
- 夏爱娣. 癌细胞荧光像增强仪[J]. 光学学报, 1986, **16**(7): 667~673
- 6 Hui Linkai *et al.*. Investigation on dignoses of early period cancer diseases using laser spectra [J]. *Acta Optica Sinica*, 1987, **17**(9): 864~865
- 惠令凯等. 采用激光光谱早期诊断癌症[J]. 光学学报, 1987, **17**(9): 864~865
- 7 Wang Wei, Sun Yue, Li Junheng, The status of laser induced fluorescence for detecting early cancer [J]. *Chin. J. Laser Medicine & Surgery*, 1999, **8**(4): 247~249
- 王 伟, 孙玉鸚, 李峻亨. 激光诱发荧光诊断早期肺癌的研究现状[J]. 中国激光医学杂志, 1999, **8**(4): 247~249
- 8 Brigitte Mayinger , Martin Jordan , Peter Horner *et al.*. Endoscopic light-induced utofluorescence spectroscopy for the diagnosis of colorectal cancer and adenoma [J] . *J. Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2003, **70**: 13~20
- 9 Chih Yu Wang, Huihua Kenny Chiang *et al.*. Diagnosis of oral cancer by light-induced autofluorescence spectroscopy using double excitation wavelengths[J]. *Oral Oncology*, 1999, **35**: 144~150
- 10 Lin Mengge , Zhu Yuanguai. A study of visible fluorescence emission spectrum of serum from cancer patients[J], *J. Fujian Medical University*, 1998, **32**(2): 160~163
- 林孟戈, 朱元贵. 恶性肿瘤患者血清特异可见荧光光谱的初步研究 [J]. 福建医科大学学报, 1998, **32**(2): 160~163
- 11 Dong Yongchun, Zhou Ronghua, Lü Fadu *et al.*. Establishment of a human hepatocyte carcinoma cell line SMMC-7721 and observation of its biological properties[J]. *Academic J. Second Military Medical University*, 1980, (1): 5~9
- 董荣春, 周荣华, 吕发度等. SMMC-7721 人体肝癌细胞株的建立及其生物学特性的初步观察[J]. 第二军医大学学报, 1980, (1): 5~9
- 12 Ye Xiuzhe, Zhu Dehou, Shen Dingwu. Ultrastructure of continuously cultured adult human liver [J]. *Acta Biologiae Exerimentalis Sinica*, 1980, **13**(4): 361~364
- 叶秀珍, 朱德厚, 沈鼎武. 体外连续培养的成人肝细胞的超显微结构[J]. 实验生物学报, 1980, **13**(4): 361~364
- 13 Zhao Jianguang, Wu Xiaoling, Comparative research on laser fluorescence spectrum of liver cancer and normal human liver tissues[J]. *Chin. J. Medical Phys.*, 1996, **13**(4): 220~222
- 赵箭光, 吴小玲. 肝癌与正常肝组织激光荧光光谱的比较研究 [J]. 中国医学物理杂志, 1996, **13**(4): 220~222