

## 结肠癌病人几种细胞的 Raman 光谱

闫循领<sup>1</sup>, 王秋国<sup>1</sup>, 董瑞新<sup>1</sup>, 孙震晓<sup>2</sup>, 修培红<sup>3</sup>

1. 聊城大学物理系, 山东 聊城 252059
2. 聊城大学生物系, 山东 聊城 252059
3. 聊城市人民医院手术室, 山东 聊城 252000

**摘要** 文章给出了结肠癌病人的几种细胞的拉曼光谱。从实验谱线中得到, 均有构像不灵敏的苯丙氨酸的单取代苯环的伸缩振动谱线  $1\ 002\text{ cm}^{-1}$ , 谱线强而半高宽较小, 且不易改变, 可作为生物细胞拉曼谱线的内标。白细胞拉曼谱线弱而少, 红细胞拉曼谱线强而丰富, 且有一个吡咯环的 C—N 呼吸振动谱带, 窄而强的  $1\ 919\text{ cm}^{-1}$  的特征峰, 宽而强的谱线  $1\ 577, 1\ 560, 1\ 548\text{ cm}^{-1}$ , 这是其他细胞不具有的。腺癌细胞的拉曼谱线相对较弱, 许多谱线消失, 生长在不同部位癌变细胞的荧光强度分布不同。通过这些特征拉曼谱线的不同, 为癌症的诊断和治疗提供了有力的实验依据。

**主题词** 显微拉曼光谱; 结肠癌; 细胞

中图分类号:O657.37 文献标识码:A 文章编号:1000-0593(2003)06-1129-03

### 引言

癌症是威胁人类健康和生命的最大疾病之一, 而且发病率也日益增加, 然而医学上还没能找到癌症及其一些疾病的发病原因, 目前医学发展水平尚不能对其进行早期有效的诊断和彻底治疗, 对晚期病人而言, 有效的控制病情的发展几乎是不可能的。因此早期诊断, 及时治疗是提高病人生存机会的最有效的途径。由于癌症早期症状不明显, 很难及时发现, 并且病症的多样性与一些常见的疾病很难区别, 正常组织和病变组织在化学组成和生物分子结构上的差异性较小, 现在医学上采用的形态诊断法很难及时有效的解决, 因此研究新的、有效的、有助于早期发现这些疾病的技术和治疗方法已成为生物医学工程领域的研究重点。

振动光谱方法由于能从分子水平上反映化学组成和分子结构上的差异, 成为一条诊断肿瘤的潜在途径, 从而引起了医学家、生物学家、化学家、物理学家的高度重视。近年来, 随着谱学研究的发展, 有关文献报道也逐渐增加, 拉曼光谱在分子生物学和医学等方面的研究取得了重大进展<sup>[1-6]</sup>。就拉曼光谱的测量特点而言, 该方法对样品的制备要求相对较低。一般生物样品, 例如细胞、活体组织、DNA 以及 RNA 都可以直接测量, 样品测定为无损伤分析, 容易获得大量数据。所以, 拉曼光谱近年来在分子生物学以及生物医学, 药物分析与筛选等方面得到一定的应用。但是, 文献中有关单

个肿瘤细胞的拉曼光谱研究相对较少<sup>[7, 8]</sup>。本文选择了结肠癌病人的正常及癌变组织的单个细胞进行了拉曼光谱测量。

### 1 材料和方法

标本来源: 聊城市人民医院普通外科确诊病人术后的新鲜标本的脱落细胞的印片。肿瘤标本为肿瘤组织所在的部位, 正常标本为距肿瘤组织 10 cm 以外部位。印片后剩余的标本进行石蜡切片染色, 供病理分析诊断。

实验在 Renishaw 公司生产的 2000 型共焦显微拉曼光谱仪上进行, 仪器的分辨率为  $2\text{ cm}^{-1}$ , 用 780 nm, 功率为 25 mW 半导体激光器作为光源, 将印片样品放置在 50 倍镜头的显微镜下进行拉曼光谱测量。

### 2 试验结果与讨论

(1) 试验选取单个红细胞和红细胞串进行, 它们的拉曼光谱相同, 如图 1A 所示

红细胞主要由细胞膜和浆组成, 而红细胞浆内主要由肌红蛋白组成。从图 1A 可以看出, 肌红蛋白具有一典型的谱带,  $1\ 619, 1\ 577, 1\ 560$  和  $1\ 548\text{ cm}^{-1}$ , 归属于吡咯环的 C—N 呼吸振动模式, 这是红细胞所独有的, 而其他细胞没有测量到该区域的谱线。而蛋白质的 Amide-I 的拉曼特征峰中, 仅存在  $\alpha$ -螺旋结构的谱线  $1\ 654\text{ cm}^{-1}$ , 且峰线强度较

收稿日期:2002-05-13, 修订日期:2002-09-28

基金项目:山东省自然基金资助项目

作者简介:闫循领, 1963 年生, 聊城大学物理系教授

小;  $\beta$ -折叠、 $\beta$ -回折和无规卷曲结构都不存在。

酰胺-III区域的拉曼谱带,有一较宽而强的谱线1 245  $\text{cm}^{-1}$ 属于无规卷曲、 $\beta$ -折叠、 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -回折结构的叠加结果。

$\text{CH}_2$  和  $\text{CH}_3$  的变形振动为 1 448, 1 368, 1 339  $\text{cm}^{-1}$  的谱线;通常作为内标,构象不灵敏,属于苯丙氨酸单取代苯环伸缩振动的强峰在 1 002  $\text{cm}^{-1}$ 是非常明显的,该谱线强度大,且半高宽仅有 4  $\text{cm}^{-1}$ 。其他谱线的指认见表 1。

Table 1. The peak positions and assignment of Raman spectra of several cells from colon cancer patients ( $\text{cm}^{-1}$ )

红细胞	白细胞	淋巴细胞	正常组	腺癌组织	振动模式初步指认
					Amide-I $\beta$ -pleated sheet
1 667					
1 654	1 658	1 658	1 653	1 662	Amide-I, $\alpha$ -helix
1 617					Tyr, Trp $\nu$ ( $\text{C}=\text{C}$ )
1 576					Phe $\nu$ ( $\text{C}=\text{C}$ ) symmetric
1 561					Trp
1 548					Trp
1 447	1 445	1 447	1 447	1 447	$\delta(\text{CH}_2, \text{CH}_3)$
1 370					$\delta\text{CH}_2$
1 340	1 341	1 338	1 336		$\delta\text{CH}_2$
			1 317		$\nu(\text{C}_\alpha-\text{N})$
1 238					Amide-III
		1 209	1 207		Tyr, Phe
1 172		1 172			Tyr
1 153			1 155		$\nu(\text{C}-\text{N})$
1 123		1 126	1 126		$\nu(\text{C}-\text{N})$
1 077			1 081		$\nu(\text{C}-\text{N})$
1 052					$\nu(\text{C}-\text{N})$
1 031		1 032	1 032		Phe $\nu(\text{C}-\text{H})$
1 001	1 000	1 003	1 002	1 003	Phe $\nu(\text{C}-\text{C})$ symmetric
972					$\text{CH}_2$
936		937	938		$\nu(\text{CC})$ skeletal $\alpha$ -helix

(2) 图 1B 为试验所选取的单个分叶白细胞的拉曼光谱。从图谱上可以看出,白细胞拉曼谱线较弱,仅有苯丙氨酸的一个特征谱线 1 002  $\text{cm}^{-1}$  明显,其他谱线很弱几乎看不到。

(3) 图 1C 为淋巴细胞拉曼光谱。从图 1C 可以看出:谱中出现了强而宽的蛋白质的 Amide-I 的特征峰 1 658  $\text{cm}^{-1}$ ,它属于  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -回折和无规卷曲结构的谱线的叠加结果。1 445  $\text{cm}^{-1}$  强而宽的谱线属于  $\text{CH}_2$  和  $\text{CH}_3$  变形振动谱线的叠加,其他谱线识别见表 1。

(4) 图 2A 为结肠癌病人正常组织细胞的拉曼谱。与淋巴细胞的图谱有许多相似之处。图 2B, C 分别为结肠平滑肌上

所长癌瘤细胞和结肠癌细胞的拉曼光谱。从图中可以看出在癌变细胞拉曼谱线中,属于苯丙氨酸取代苯环伸缩振动谱线强度减小但仍然较明显。两种情况下蛋白质 Amide-I 振动谱线和  $\text{CH}_2$  和  $\text{CH}_3$  的变形振动存在,谱线相对较弱,并且 Amide-I 振动谱线位移了 10 个波数左右,其他谱线几乎看不出来,荧光相对较强,但二者的荧光强度分布明显不同。

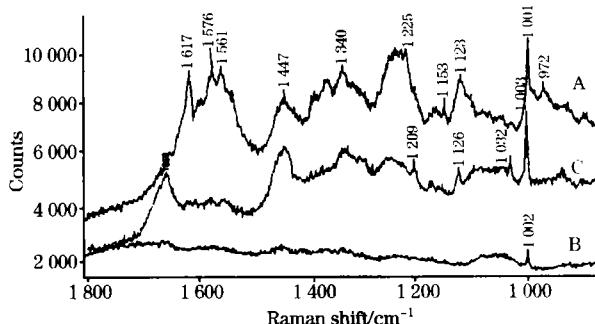


Fig. 1 Raman spectra of several cells from colon cancer patients

A. Erythrocyte; B. Leucocyte; C. Lymphocyte

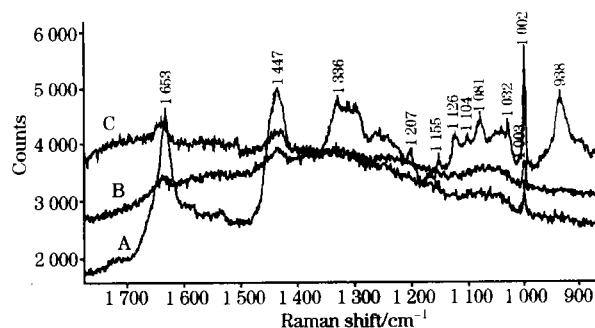


Fig. 2 Raman spectra of normal and cancer cells from colon cancer patients

A. Normal cell; B. Cancer cell; C. Cancer cell

综上所述,在我们实验测得的几种细胞的拉曼光谱中,都有构像不灵敏的苯丙氨酸基取代苯环伸缩振动谱线 1 002  $\text{cm}^{-1}$ ,谱线强而半高宽较小,且不易改变,所以通常可作为生物细胞拉曼谱线的内标。白细胞拉曼谱线弱而少,红细胞拉曼谱线强而丰富,且有一个吡咯环的 C—N 呼吸振动谱带,窄而强的 1 919  $\text{cm}^{-1}$ ,宽而强的谱线 1 577, 1 560, 1 548  $\text{cm}^{-1}$ ,这是其他细胞不具有的。腺癌细胞的拉曼谱线相对较弱,许多谱线消失,生长在不同部位癌变细胞的荧光强度分布不同,这说明细胞的结构发生变化,许多原有的键断裂,因此生物功能丧失。通过这些拉曼谱线特征明显的不同,为癌细胞的诊断和治疗提供了一个有利的实验依据。

## 参 考 文 献

- [1] Fabian H, Jackson M, Murphy L et al. Biospectroscopy, 1995, 1: 37.
- [2] GAO Xiao-ling(高小玲), Butler Ian S, Kremer Richard. Acta Laser Biology Sinica(激光生物学报), 1998, 7(1): 22.
- [3] SUN Chuan-wen, XU Yi-zhuang, SUN Kai-hua et al(孙传文, 徐怡庄, 孙开华等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 1996, 16(5): 22.

- [4] LING Xiao-feng, LI Wei-hong, SONG Yuan-yuan et al(凌晓峰, 李维红, 宋苑苑等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(5): 692.
- [5] Xu Yi-ming, ZHANG Zhi-ji, ZHANG Wei(徐以明, 张志义, 张伟). Science in China C(中国科学 C), 1998, 28(5): 417.
- [6] XU Yi-ming, YANG Hong-ying, ZHANG Zhi-ji(许以明, 杨红英, 张志义). Science in China C(中国科学 C), 1999, 29(2): 138.
- [7] XU Yi-ming, ZHANG Zhi-ji, XU Guo-rui(徐以明, 张志义, 徐国瑞). Chinese Science Bulletin(科学通报), 1989, 34(19): 1500.
- [8] LI Wei-hong, XU Yi-zhuang, WENG Shi-fu et al(李维红, 徐怡庄, 翁诗甫等). Chinese Journal of Light Scattering(光散射学报), 1998, 10(3): 114.

## Raman Spectra of Several Cells from Colon Cancer Patients

YAN Xun-ling<sup>1</sup>, WANG Qiu-guo<sup>1</sup>, DONG Rui-xin<sup>1</sup>, SUN Zhen-xiao<sup>2</sup>, XIU Pei-hong<sup>3</sup>

1. Physics Department of Liaocheng University, Liaocheng 252059, China

2. Department Biology of Liaocheng University, Liaocheng 252059, China

3. Surgery of Liaocheng People's Hospital, Liaocheng 252000, China

**Abstract** Raman spectra of several cells from colon cancer patients are presented. It is reported that there is a  $1\ 002\text{ cm}^{-1}$  line of insensitive conformation of phenylalanine aromatic rings stretching. The sharp line is not easy to change. The white cell spectra lines are few and have low intensity, while the red cell spectra lines are abundant and have high intensity. The red cell also has a C—N breathing stretching band of pyrrole ring, a sharp band of  $1\ 919\text{ cm}^{-1}$ , and broad bands of  $1\ 577$ ,  $1\ 560$  and  $1\ 548\text{ cm}^{-1}$ . The intensity of adenocarcinoma cell lines is weak and many lines disappear. The results indicate that Raman spectra may offer the experiment basis for cancer diagnosis and treatment.

**Keywords** Raman microscopy; Colon cancer; Cell

(Received May 13, 2002; accepted Sep. 28, 2002)