

# 纳米二氧化钛对人肝癌 Bel-7402 细胞周期的影响

熊先立<sup>1</sup>, 吴美玲<sup>1</sup>, 李世普<sup>2</sup>

关键词: 纳米 TiO<sub>2</sub>; 肝癌; Bel-7402 细胞

中图分类号: R735.7

文献标识码: A

文章编号: 1000-8578(2003)04-0300-01

## 0 引言

近年来, 纳米生物材料在医学上的研究和应用开始崭露头脚, 有学者认为某些无机纳米粒子在一定的粒径范围内可以抑制癌细胞的生长、增殖<sup>[1-4]</sup>, 我们应用 FCM 分析纳米 TiO<sub>2</sub> 对人肝癌细胞系 Bel-7402 细胞周期的影响, 以便深入地探讨其抗癌作用机理。

## 1 材料和方法

1.1 纳米二氧化钛的制备 用 sol-gel 法以钛酸四丁酯为原料, 经水解、胶溶和分散处理得到纳米 TiO<sub>2</sub> 溶胶体系。临用前用蒸馏水配成 1.04 mmol/L 行常规高压灭菌, 用 RPMI1640 培养液稀释成所需浓度, 备用。

1.2 细胞培养 细胞系 Bel-7402 人肝癌细胞, 来源于中国科学院上海细胞生物学研究所细胞库, 由武汉大学典型培养物中心保存。用 RPMI1640 培养液 (Gibco) 添加 10% 新生牛血清 (Gibco)、100 μg/ml 青霉素、100 μg/ml 链霉素, 在 37℃、95% 空气和 5% CO<sub>2</sub> 的条件下培养, 取对数生长期细胞进行实验。

1.3 粒径及粒度分布检测 将制备的纳米 TiO<sub>2</sub> 超声分散到蒸馏水中, 然后分别加到铜网上和试样盒内, 用透射电镜 (H600Hitachi, Japan) 和电位粒度仪 (Zataplus, Brookhaven) 测定其大小、分散性及平均粒径等。

1.4 流式细胞仪检测 将 1 × 10<sup>4</sup> 个癌细胞接种到培养瓶中, 培养 24h 后, 分别加入不同浓度的纳米 TiO<sub>2</sub>, 连续培养 5d, 分别于 72h、96h、120h 离心收集细胞, 无 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 的 PBS 洗涤 2 次, 振荡, 使细胞分散; 70% 的冷乙醇 4 固定 18h 以上; 上机测定前, 离心去乙醇, 用磷酸缓冲液冲洗 3 次, 加入 50 μg/ml RNase 37℃ 消化 30min, PI5050 4 μg/ml, 4 避光染色 30min 以上; 经尼龙网过滤后, 用流式细胞仪 (FACSort, USA) 测定, 应用软件分析细胞周期的分布。实验重复 3 次。

## 2 结果

2.1 制备出的纳米 TiO<sub>2</sub> 呈均匀, 稳定, 分散的片状,

TEM 观察其平均尺寸为 47 nm(图略), 应用粒度仪的激光散射法检测体系的平均粒径为 167.9 nm(图略)。

2.2 细胞周期分析显示, 正常状态下 Bel-7402 细胞系多数处于 G<sub>1</sub> 期, S 期次之, G<sub>2</sub>/M 期最少。0.56 mmol/L 的纳米 TiO<sub>2</sub> 作用 Bel-7402 细胞不同时间后与对照组比较, G<sub>1</sub> 期细胞明显增多, S 期相应减少, 呈一定时效关系, 结果见表 1。

表 1 纳米 TiO<sub>2</sub> 对 Bel-7402 细胞周期时相的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	细胞周期 (%)		
	G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub> /M
阴性对照组	54.49 ±1.54	28.3 ±1.29	17.21 ±0.73
TiO <sub>2</sub> 72h	50.48 ±1.38	24.73 ±1.31	24.79 ±0.94 *
TiO <sub>2</sub> 96h	67.99 ±1.65 **	22.51 ±1.35	9.51 ±0.35
TiO <sub>2</sub> 120h	69.1 ±1.84 **	21.46 ±1.17	9.44 ±0.38

注: 与阴性对照组相比: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01

## 3 讨论

纳米 TiO<sub>2</sub> 用于实体瘤的研究报道表明, 其能抑制多种体外培养的人肿瘤细胞的生长, 细胞周期的改变可能是其重要机制。细胞周期是根据细胞不同时期的特点而划分的<sup>[5]</sup>, 细胞周期的分析结果表明, 纳米 TiO<sub>2</sub> 能使 Bel-7402 细胞的 G<sub>1</sub> 期细胞数明显增加, S 期数量减少, 说明纳米 TiO<sub>2</sub> 可将细胞周期阻滞于 G<sub>1</sub> 期, 而不能进入 S 期。G<sub>1</sub> 期是决定细胞增殖状态的关键阶段, 存在着调节细胞增殖周期的检测点 (R 点), 它可以接受多种环境信号的调节, 控制着调节细胞活动的进程, 是细胞增殖与否的转折点, R 点可阻止受损的细胞进入 S 期, 使细胞直接从 G<sub>1</sub> 期脱离细胞周期而进入死亡程序, 导致细胞生长抑制。

## 参考文献:

- [1] FengLin gyun,LiShi pu,YanYuhua,etal,TheEffectofCaCO<sub>3</sub> and TiO<sub>2</sub> nanometer particlesonA<sub>549</sub> andL<sub>929</sub> cells[J].Bioceramics, 2000,13:325 -328.
- [2] Fen gLin gyun,LiShi pu,YanYuhua,etal.InhibitionofHAP nanoparticlesonW<sub>-256</sub>sarcomafratsvivo[J].ChineseJournal ofMiomedicalEngineering,2001,10 (8):302-306.
- [3] 曹献英, 李世普, 闫玉华, 等. 二氧化钛纳米粒子对人肝癌细胞抑制作用的实验研究 [J]. 中华医药杂志, 2002, 2 (10): 865-867.
- [4] LiShi pu,Zhan gShichen g,ChenWen jie,etal.Effectofhydroxyapatiteultrafine powderoncolon yformationand cytoskeletonsof MGc80-3cell[J].Bioceramics,1996,9:225 -227.
- [5] 吴家睿. 细胞周期的驱动及其调控 [J]. 科学通报, 2002, 47 (11): 805-811. (刘红武校对)

