

## CuSO<sub>4</sub> 对 HepG2 细胞相关炎症指标的影响

张亮亮<sup>1</sup>, 董健健<sup>2</sup>, 徐陈陈<sup>1</sup>, 赵静<sup>1</sup>, 汪世靖<sup>2</sup>, 程楠<sup>2</sup>, 王训<sup>2</sup>, 韩咏竹<sup>2</sup>

**摘要** 目的 观察 CuSO<sub>4</sub> 对肝细胞癌 (HCC) 细胞株 HepG2 细胞核因子-κB (NF-κB) 等相关炎症指标的影响。方法 用含不同浓度 CuSO<sub>4</sub> 的 RPMI-1640 培养液孵育 HepG2 细胞, 四甲基偶氮唑盐 (MTT) 比色法检测其对细胞增殖的抑制作用; Western blot 法检测不同浓度的 CuSO<sub>4</sub> 对 HepG2 细胞炎症指标 NF-κBp65、白细胞介素-1β (IL-1β)、白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-5 (IL-5)、白细胞介素-6 (IL-6) 和 γ 干扰素 (IFN-γ) 等表达水平的影响。结果 CuSO<sub>4</sub> 在一定浓度范围内可抑制 HepG2 细胞的增殖; CuSO<sub>4</sub> 呈一定浓度依赖性地下调 HepG2 细胞中 NF-κB、IFN-γ 和 IL-5 蛋白的表达, 上调 IL-1β、IL-4 和 IL-6 蛋白的表达。结论 CuSO<sub>4</sub> 能抑制 HepG2 细胞的增殖, 并可通过下调 NF-κBp65、IFN-γ 和 IL-5 蛋白的表达并上调 IL-1β、IL-4 和 IL-6 蛋白的表达来抑制 HepG2 细胞的炎症反应。

**关键词** CuSO<sub>4</sub>; HepG2 细胞; 肝细胞癌; 炎症; 核因子-κB

**中图分类号** R 392.12; R 735.7

**文献标志码** A 文章编号 1000-1492(2017)01-0062-05

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.01.013

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是全球最常见的肿瘤之一, 其致死率极高<sup>[1]</sup>。据统计, 在发展中国家, 肝癌在男性中是仅次于肺癌的第二大癌症, 其中感染因素占 77%<sup>[2]</sup>。肿瘤与炎症关系的研究越来越多, 研究<sup>[3]</sup>表明白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和核因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB) 在炎症性肠病向大肠癌进展的过程中表达水平不断升高。由于染色体 13q14.3 区 *ATP7B* 基因突变引起以铜代谢障碍为特点的 Wilson 病 (Wilson's disease, WD) 患者肝脏铜含量常增高, 造成肝脏慢性炎症、肝硬化, 但较病毒性和酒精性的癌变率低<sup>[4-5]</sup>。Liggi et al<sup>[6]</sup>发现 WD 患者病毒性肝炎发生率低于对照者, 并认为与 IL-1、IL-4、IL-5 和 IL-6 等

参与体液免疫和细胞免疫的细胞因子有关。铜与肝癌、炎症方面的研究甚少。该实验对人 HCC 细胞株 HepG2 细胞进行了研究, 观察 CuSO<sub>4</sub> 对 HepG2 细胞炎症指标 NF-κB 等的影响, 初步分析铜与肝癌、炎症的关系。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

**1.1.1 细胞** 人 HCC 细胞株 HepG2 细胞购自中国科学院上海细胞库。

**1.1.2 主要试剂** CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (AR) 购自大连美仑生物技术有限公司; RPMI-1640 培养基干粉购自美国 Gibco 公司; 四甲基偶氮唑盐 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 和二甲基亚砷 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 购自美国 Amresco 公司; 优级胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自杭州四季青公司; 0.25% 胰蛋白酶购自美国 Hyclone 公司; 脱脂奶粉购自上海光明食品有限公司; 抗 NF-κB p65、IFN-γ、IL-1β、IL-4、IL-5、IL-6 以及内参 β-actin 和辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (HRP) 抗体购自英国 Abcam 公司; 一抗稀释液购自上海碧云天生物技术公司; 4 × SDS/PAGE 蛋白上样缓冲液 (含 β-巯基乙醇) 购自北京索莱宝科技有限公司; 预染蛋白 marker (10 ~ 180 ku) 购自北京中科恒壹科技有限公司。

**1.1.3 主要仪器** 恒温培养箱 (日本 Sanyo 公司); 倒置显微镜 (日本 Olympus 公司); 6 孔和 96 孔平底培养板 (美国 Corning costar 公司); 酶标仪: (美国 Molecular Devices 公司); JW2520 电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); WD-9405B 型水平摇床 (北京市六一仪器厂); LD4-8 低速离心机 (北京医用离心机厂); 电泳仪、垂直电泳槽 (美国 Bio-Rad 公司); Fine-do-x6 凝胶成像系统 (上海天能科技有限公司)。

#### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** HepG2 细胞接种于玻璃培养瓶中, 呈单层贴壁生长, 培养基为含 10% FBS、80 万 U/ml 青霉素和 100 万 U/ml 链霉素的完全 RPMI-1640, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。隔日

2016-07-19 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81573954)

作者单位: <sup>1</sup>安徽中医药大学研究生院, 合肥 230038

<sup>2</sup>安徽中医药大学神经病学研究所附属医院神经内科, 合肥 230061

作者简介: 张亮亮, 女, 硕士研究生;

王训, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: neurodoc@163.com

换液,当细胞长至约90%密度时,用0.25%胰蛋白酶消化传代2~3d传代1次。

**1.2.2 MTT法检测CuSO<sub>4</sub>对HepG2细胞增殖的抑制作用** 将HepG2细胞接种于96孔培养板中,密度为 $5 \times 10^3$ 个/孔,此时的培养基为完全RPMI-1640。待细胞融合度达30%时,实验组换成含CuSO<sub>4</sub>终浓度分别为100、150、200、300、400 μmol/L的RPMI-1640,对照组换成新的完全RPMI-1640,上述各组均设6个复孔。在培养箱中孵育24 h后,每孔避光加入5 mg/ml的MTT溶液20 μl。置培养箱中4 h后,排枪吸完所有培养液,加入150 μl DMSO,置于水平摇床上至蓝紫色结晶全部溶解,酶标仪检测490 nm光密度值(optical density, OD),实验重复3次。细胞存活率(%) = 实验组OD值/对照组OD值 × 100%。运用SPSS 19.0软件计算平均半数抑制浓度(median inhibitory concentration, IC<sub>50</sub>)。

**1.2.3 Western blot法检测NF-κBp65、IFN-γ、IL-1β、IL-4、IL-5和IL-6蛋白表达水平的变化** 取对数生长期的HepG2细胞接种于玻璃培养瓶中,当细胞长至约90%密度时,弃旧培养液,每瓶分别加入含CuSO<sub>4</sub>终浓度为0、100、150、200 μmol/L的RPMI-1640 5 ml,继续培养24 h后提取各组细胞总蛋白,Bradford法测定蛋白含量。分离胶浓度为12%,浓缩胶浓度为5%,电泳时取20 μg蛋白,将蛋白样品转移至硝酸纤维素膜(nitrocellulose membrane, NC膜)上,根据预染蛋白marker剪切NC膜,并用含5%脱脂奶粉的封闭液封闭4 h,后用含Tween 20的磷酸盐缓冲液在水平摇床上洗涤3次,每次5 min。将NC膜置于分别含抗NF-κBp65抗体(1:1000)、抗IFN-γ抗体(1:1000)、抗IL-1β抗体(1:1000)、抗IL-4抗体(1:300)、抗IL-5抗体(1:500)、抗IL-6抗体(1:500)和抗β-actin抗体(1:5000)的一抗稀释液中4℃过夜。置于含辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(HRP)抗体(1:10000)的封闭液中,水平摇床上摇晃1.5 h。涂适量ECL显影剂于NC膜上,凝胶成像系统拍照,选取条带,以β-actin为对照分析上述目标蛋白的灰度值。实验重复3次。

**1.3 统计学处理** 运用SPSS 19.0软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组间比较采用One Way ANOVA分析,方差齐时用LSD法,方差不齐时用Dunnnett's法。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 CuSO<sub>4</sub>对HepG2细胞增殖的抑制作用

~400 μmol/L CuSO<sub>4</sub>可抑制HepG2细胞的增殖,呈一定的浓度依赖性。CuSO<sub>4</sub>作用于HepG2细胞24 h的IC<sub>50</sub>是177.76 μmol/L。见图1。

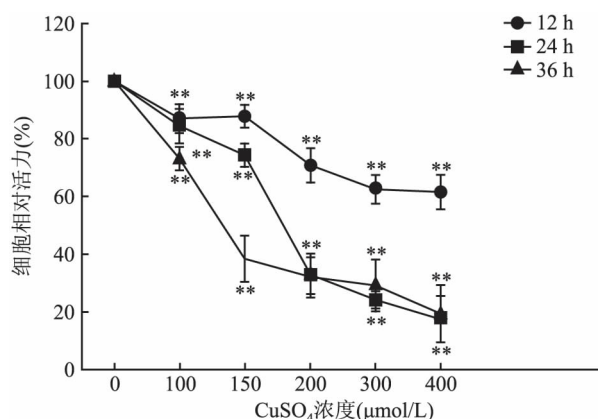


图1 MTT法检测不同浓度CuSO<sub>4</sub>对HepG2细胞增殖的抑制作用

与0 μmol/L CuSO<sub>4</sub>比较:\*\* $P < 0.01$

### 2.2 CuSO<sub>4</sub>对HepG2细胞的NF-κBp65、IFN-γ、IL-1β、IL-4、IL-5和IL-6蛋白表达水平影响

Western blot所获得的图像用天能GIS图像分析软件进行分析,算出不同浓度CuSO<sub>4</sub>时各目标蛋白灰度值与对应的内参β-actin灰度值的比值。结果实验组NF-κBp65、IFN-γ和IL-5蛋白表达水平较对照组明显降低( $F = 534.78、897.45、124.08, P < 0.01$ );但IL-1β和IL-4蛋白的表达水平明显高于对照组( $F = 677.90、204.42, P < 0.01$ ),IL-6蛋白的表达水平高于对照组( $F = 48.53, P < 0.05$ )。实验组NF-κBp65、IFN-γ、IL-1β、IL-4和IL-5蛋白表达水平各组间两两比较差异均有统计学意义( $P < 0.01$ );随着CuSO<sub>4</sub>浓度从100 μmol/L升高到150 μmol/L和200 μmol/L, NF-κBp65、IFN-γ和IL-5蛋白表达水平逐渐下降,IL-1β和IL-4蛋白的表达水平逐渐升高。实验组IL-6蛋白的表达水平仅100 μmol/L与200 μmol/L组比较差异有统计学意义( $F = 48.53, P < 0.05$ )。见图2。

## 3 讨论

HCC是很常见的消化系统肿瘤,目前对癌症研究的热潮仍在,特别是病因病机和治疗(靶向治疗、免疫治疗)等方面。炎症与肿瘤的关系是近年研究的“新宠”。与急性炎症相比,似乎慢性炎症与癌症关系更为密切。流行病学调查结果表明HBV携带者发生肝癌比例是无HBV感染史的24倍<sup>[7]</sup>。而

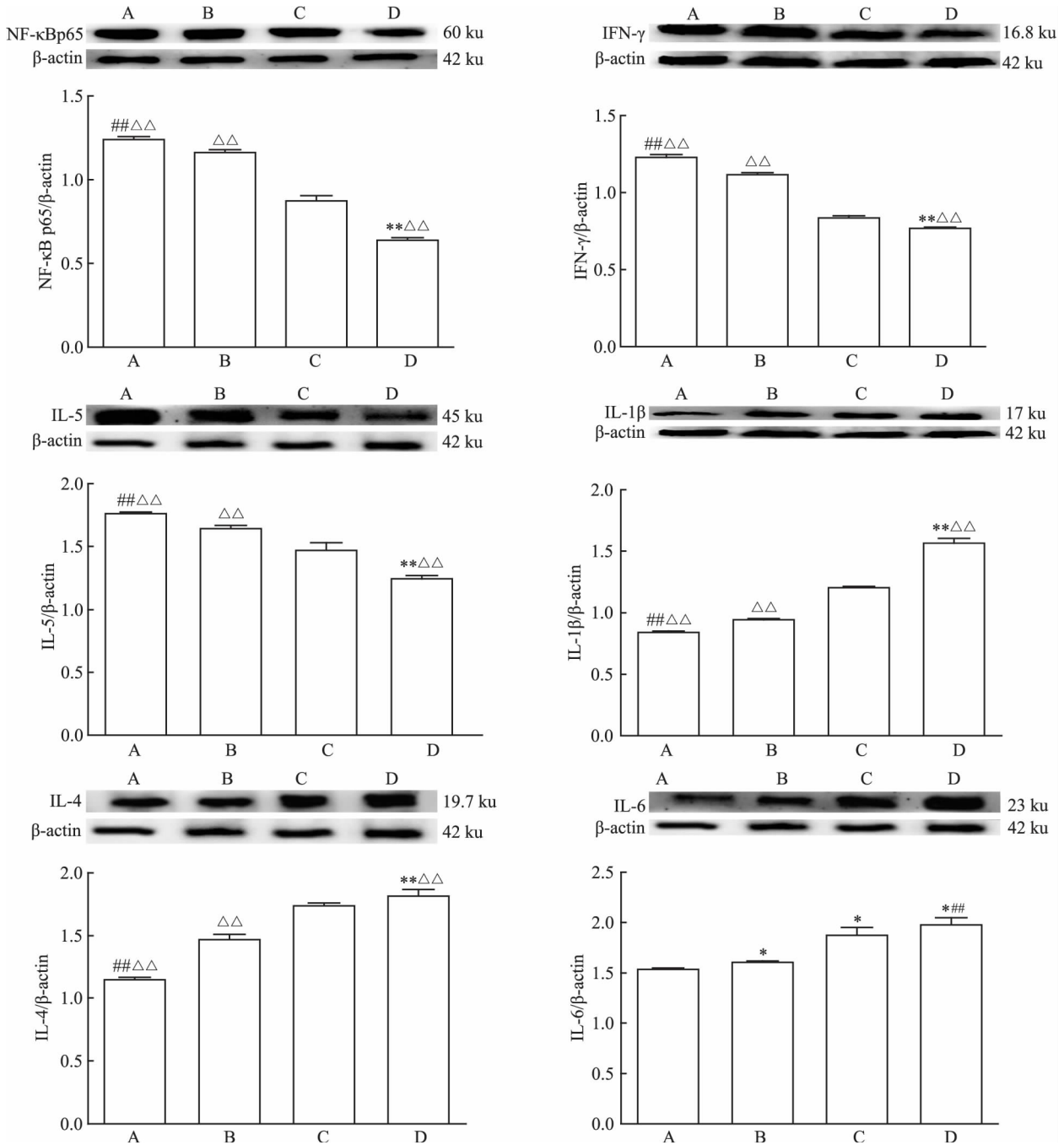


图2 不同浓度 CuSO<sub>4</sub> 对 HepG2 细胞 NF-κBp65、IFN-γ、IL-1β、IL-4、IL-5 和 IL-6 蛋白表达水平的影响

A:0 μmol/L CuSO<sub>4</sub> (对照组); B:100 μmol/L CuSO<sub>4</sub>; C:150 μmol/L CuSO<sub>4</sub>; D:200 μmol/L CuSO<sub>4</sub>; 与 0 μmol/L CuSO<sub>4</sub> 比较: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01; 与 100 μmol/L CuSO<sub>4</sub> 比较: ## P < 0.01; 与 150 μmol/L CuSO<sub>4</sub> 比较: ΔΔ P < 0.01

且 研究<sup>[8]</sup> 还显示 α-硫辛酸可以通过抑制大鼠炎症反应来抑制硫代乙酰胺诱导的肝癌生长。但是,并非所有的慢性炎症都和癌症风险相关,并不一定导致癌症。像风湿热就没有表现与肿瘤存在相关性<sup>[9]</sup>。有趣的是,WD 患者尽管铜会长期沉积于肝脏,造成肝功能损害、肝脏慢性无菌性炎症、肝硬化等,但是 van Meer et al<sup>[5]</sup> 对临床确诊的 130 例 WD

患者随访 15 年,发现仅 2 例 HCC,1 例是长期排铜治疗后发展成 HCC,另一例是诊断为 WD 时即发现有 HCC,WD 中 HCC 年发生率 0.09% (其随后的 Meta 分析结果为 0.04%)。WD 肝癌发生率低的原因目前尚未见详细解释。

WD 是遗传性铜代谢障碍性疾病,铜可以引起肝脏慢性炎症,HCC 发生率却很低,这或许与铜有

一定的关系。本实验表明  $\text{CuSO}_4$  能下调 HepG2 细胞的 NF- $\kappa$ Bp65、IFN- $\gamma$  和 IL-5 蛋白的表达水平并上调 IL-1 $\beta$ 、IL-4 和 IL-6 蛋白的表达水平,从而抑制 HepG2 细胞的炎症反应,且随着铜浓度的增高,抑制作用越明显。诚然,用  $\text{CuSO}_4$  孵育 HepG2 细胞 24 h 即观察上述指标的变化,很可能反映的是急性炎症。NF- $\kappa$ B 是一种存在于多种细胞中的核转录因子,也是各炎症反应的枢纽,在炎症反应与肿瘤的联系中起重要作用。左清平<sup>[10]</sup>发现地塞米松可抑制 HepG2 细胞的增殖,可能与抑制 NF- $\kappa$ Bp65 对人端粒酶逆转录基因 (human telomerase reverse transcriptase gene hTERT) 的转录与表达的调控,从而下调端粒酶活性有关。宫琳<sup>[11]</sup>运用免疫组化法分析了 224 例行根治性手术治疗的 HCC 患者的炎症信号通路 NF- $\kappa$ B (p65、IKK 和 CUEDC2) 等,发现 HCC 患者 NF- $\kappa$ Bp65 表达增高,提示炎症对 HCC 发生发展的重要作用。上述实验表明 HCC 患者和细胞模型的 NF- $\kappa$ Bp65 表达增高,然而本实验显示当  $\text{CuSO}_4$  浓度增高时,HepG2 细胞的增殖被抑制,NF- $\kappa$ Bp65 表达水平也下降。单纯从这一指标来看,可以说铜抑制了肝癌细胞的炎症反应。

NF- $\kappa$ B 炎症通路的下游包括 IFN- $\gamma$ 、白细胞介素等细胞因子。IFN- $\gamma$  是一种促炎因子,可以促进小鼠肥大细胞产生组织蛋白酶 S (cathepsin S, CTSS) 等<sup>[12]</sup>。实验组 IFN- $\gamma$  表达水平随  $\text{CuSO}_4$  浓度增高而下降,促进炎症的作用逐渐减弱。IL-4 是一种多功能的细胞因子,可抑制炎症反应,调节细胞增殖、凋亡、多种基因的表达等<sup>[13]</sup>。慢性肝脏疾病时 IL-4 表达水平升高<sup>[14]</sup>。本研究中  $\text{CuSO}_4$  作用于 HepG2 细胞 24 h 后也可引起细胞内 IL-4 表达水平增加。IFN- $\gamma$ /IL-4 数值减小,表明 HepG2 细胞的炎症反应程度随着铜浓度增加而减少。IL-5 是重要的细胞因子之一,然而 IL-5 在肿瘤中的报道极少,本实验发现随着  $\text{CuSO}_4$  浓度的增高,IL-5 表达水平逐渐降低。IL-1 在细胞因子网络中扮演着极其重要的角色,IL-1 家族成员包括 IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等,IL-1 $\beta$  在肥胖相关的炎症中起重要作用,阻断 IL-1 $\beta$  是阻止炎症的关键<sup>[15]</sup>。本实验结果表明, $\text{CuSO}_4$  可呈浓度依赖性增加 IL-1 $\beta$  的表达水平。IL-6 是介导发热和急性期反应的重要分子,在炎症反应中起重要作用。另外,IL-6 还是肝细胞刺激因子,与肝细胞表面受体结合,可以促发肝癌<sup>[3]</sup>。本实验显示随着  $\text{CuSO}_4$  浓度的增高,HepG2 细胞 IL-6 表达水平稍增高。促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6 随着  $\text{CuSO}_4$  浓度的增高,表达

水平也增高。但是综合上述所有炎症指标,铜抑制肝癌细胞的炎症反应。

综上所述, $\text{CuSO}_4$  作用于 HepG2 细胞 24 h 后,可以抑制细胞的增殖。并通过抑制 NF- $\kappa$ Bp65、IFN- $\gamma$  和 IL-5 蛋白的表达,促进 IL-4 蛋白的表达来抑制肝癌细胞的炎症反应。简言之,慢性炎症可以促进肿瘤的产生,但是铜又可以抑制肝细胞癌的炎症反应;这可能与临床 WD 患者肝癌发生率较低存在一定的联系,具体机制有待更深入地研究。

### 参考文献

- [1] Flores A, Marrero J A. Emerging trends in hepatocellular carcinoma: focus on diagnosis and therapeutics [J]. Clin Med Insights Oncol 2014, 8:71-6.
- [2] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin 2015, 65(2):87-108.
- [3] 杨航. IL-6 与 NF- $\kappa$ B 在炎症相关性大肠癌发生中的作用 [D]. 郑州:郑州大学, 2014.
- [4] 胡莉华,龙湘珍. 150 例原发性肝癌患者相关病因回顾性分析 [J]. 实用肝脏病杂志, 2012, (6):582-3.
- [5] van Meer S, de Man R A, van den Berg A P, et al. No increased risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis due to Wilson disease during long-term follow-up [J]. J Gastroenterol Hepatol 2015, 30(3):535-9.
- [6] Liggi M, Sini M, Sorbello O, et al. HBV and HCV infections in Wilson's disease patients: copper overload could be protective [J]. Clin Biochem 2012, 45(13-14):1095-6.
- [7] Wen C P, Lee J H, Tai Y P, et al. High serum iron is associated with increased cancer risk [J]. Cancer Res 2014, 74(22):6589-97.
- [8] Fujii Y, Segawa R, Kimura M, et al. Inhibitory effect of  $\alpha$ -lipoic acid on thioacetamide-induced tumor promotion through suppression of inflammatory cell responses in a two-stage hepatocarcinogenesis model in rats [J]. Chem Biol Interact 2013, 205(2):108-18.
- [9] Okada F. Inflammation-related carcinogenesis: current findings in epidemiological trends, causes and mechanisms [J]. Yonago Acta Med 2014, 57(2):65-72.
- [10] 左清平. NF- $\kappa$ Bp65 对 HepG2 细胞 hTERT 的调节作用的研究 [D]. 南京:中南大学, 2011.
- [11] 宫琳. 炎症相关重要分子与肝细胞癌预后的相关性研究 [D]. 北京:解放军医学院, 2014.
- [12] 王然, 欧阳晴晴, 赵进军, 等.  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 刺激肥大细胞释放组织蛋白酶 S [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(5):577-80.
- [13] Wu Z, Qin W, Zeng J, et al. Association between IL-4 polymorphisms and risk of liver disease: an updated meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore) 2015, 94(35):e1435.
- [14] Liu T, Zhou Y, Ko K S, et al. Interactions between myc and mediators of inflammation in chronic liver diseases [J]. Mediators Inflamm 2015, 2015(18):1-12.
- [15] Dinarello C A. A clinical perspective of IL-1 $\beta$  as the gatekeeper of inflammation [J]. Eur J Immunol 2011, 41(5):1203-17.

网络出版时间: 2017-1-20 11:13 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170120.1113.014.html>

## 耐受型 DC/TGF- $\beta$ 联合诱导的 iTreg 细胞能有效抑制自身免疫性关节炎

杨洁<sup>1</sup> 孔宁<sup>2</sup> 杨懿铭<sup>1</sup> 谢如锋<sup>1</sup> 王志成<sup>3</sup> 孙娟<sup>1</sup> 蒋雪玉<sup>1</sup>

**摘要** 目的 初步探讨通过成熟耐受型 DC(mtDC)与转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )联合诱导的诱导型调节性 T 细胞(iTreg 细胞)对自身免疫性关节炎的抑制作用。方法 在体外,对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞进行 TGF- $\beta$  诱导和 mtDC 细胞扩增,获得 iTreg<sub>mtDC</sub> 细胞。通过流式细胞术、细胞计数、CBA 等方法检测 iTreg<sub>mtDC</sub> 细胞的表型、对 CD4<sup>+</sup>T 效应细胞增殖的抑制作用。在体内实验中, iTreg<sub>mtDC</sub> 细胞以  $1 \times 10^6$  个细胞/ml 的剂量过继性注入胶原诱导性关节炎(CIA)小鼠体内,并通过关节病变评分、病理组织病变评分、血清中细胞因子、总 anti-C II IgG 的分泌情况来评价 iTreg<sub>mtDC</sub> 细胞对 CIA 的抑制作用。结果 在体外,通过 TGF- $\beta$  和 mtDC 细胞两轮诱导/扩增后,

Treg<sub>mtDC</sub> 细胞得以大量扩增,并能持续表达高水平的 Foxp3。在体外,与 iTreg 细胞相比, iTreg<sub>mtDC</sub> 细胞有更强的抑制效应 T 细胞增殖的能力。在体内,与 iTreg 细胞相比, iTreg<sub>mtDC</sub> 细胞的过继性输注能更有效地减少发病关节处的炎性浸润,进一步改善 CIA 的症状;对 CIA 小鼠体内细胞因子的分泌有更强的调节能力,能更显著地减少炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白介素-6(IL-6)、白介素-17(IL-17)的分泌,并促进大量 TGF- $\beta$  产生;更明显地降低总 anti-C II IgG 的分泌量;进而更有效地抑制 CIA 病程的发展。结论 与 iTreg 相比, iTreg<sub>mtDC</sub> 细胞能通过调节体内细胞因子和抗 C II IgG 的分泌更有效地抑制 CIA 病程发展。

**关键词** iTreg 细胞;耐受型树突状细胞;胶原诱导型关节炎  
中图分类号 R 593.22

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)01-0066-07  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.01.014

2016-09-09 接收

基金项目:上海市自然科学基金面上项目(编号:13ZR1438900);国家自然科学基金面上项目(编号:81270650)

作者单位:<sup>1</sup>上海市血液中心血液工程学科,上海 200051

<sup>2</sup>复旦大学附属华山医院风湿职业病科,上海 200040

<sup>3</sup>复旦大学附属华山医院检验科,上海 200040

作者简介:杨洁,女,博士,助理研究员,责任作者,E-mail: yangjie@sbc.org.cn

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一类发病率高、致残率高的自身免疫性疾病,其病理机制不明,临床治疗效果欠佳。调节性 T 细胞(regula-

## Influences of copper sulfate on related inflammatory markers of HepG2 cells

Zhang Liangliang<sup>1</sup>, Dong Jianjian<sup>2</sup>, Xu Chenchen<sup>1</sup>, et al

(<sup>1</sup> Graduate Division of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038; <sup>2</sup> Dept of Neurology, Affiliated Hospital of Neurology Institute, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230061)

**Abstract Objective** To observe the influences of copper sulfate on related inflammatory markers such as nuclear factor- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B) of HepG2 cells, the cell lines of hepatocellular carcinoma(HCC). **Methods** HepG2 cells were cultured by RPMI-1640 contained various concentrations of copper sulfate *in vitro*. MTT colorimetric assay was used to detect the growth inhibitory effect of copper sulfate on HepG2 cell. Western blot was used to estimate the effect of copper sulfate on changes of related inflammatory markers, for instance, NF- $\kappa$ Bp65, interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ), interleukin-4(IL-4), interleukin-5(IL-5), interleukin-6(IL-6) and  $\gamma$ -interferon(IFN- $\gamma$ ). **Results** The growth of HepG2 cells was inhibited by copper sulfate in certain concentrations. The expression levels of NF- $\kappa$ B, IFN- $\gamma$  and IL-5 were reduced and IL-1 $\beta$ , IL-4 and IL-6 were up-regulated in HepG2 cells by copper sulfate with a dose-dependent manner. **Conclusion** Copper sulfate may inhibit the proliferation of HepG2 cells. And the inflammatory reaction in HepG2 cells can be suppressed by copper sulfate through lowering the levels of NF- $\kappa$ B, IFN- $\gamma$  and IL-5 and increasing the levels of IL-1 $\beta$ , IL-4 and IL-6.

**Key words** copper sulfate; HepG2 cells; hepatocellular carcinoma; inflammation; nuclear factor- $\kappa$ B