

应用微束质子激发 X 荧光分析研究 Ca 和 S 在头发中的分布模式

童永彭^{①②} Chang Ming Li^② John H. T. Luong^{②③}

(① 深圳大学核技术应用联合研究所, 深圳 518060; ② School of Chemical and Biomedical Engineering, Nanyang Technological University, Singapore 639798; ③ Biotechnology Research Institute, National Research Council Canada, Montreal, Quebec, Canada H4P 2R2.

E-mail: yongpengt@yahoo.com.cn)

摘要 应用微束质子激发X荧光分析研究了 20 余根来自几个成年中国人头发中的Ca和S的分布模式。成年女性头发S含量沿生长方向呈月周期的变化, 而Ca含量在男女性生长期头发的中间层均明显偏高且呈现出昼夜周期。Ca的含量在脱落头发中从未梢到根部是逐渐降低的, 而且黑头发中的Ca含量显著高于白头发中。

关键词 激发 X 荧光分析 Ca S 头发

由于头发作为必需、非必需和有毒元素的代谢场所之一, 因此近来常通过毛发材料检测分析其中的元素来研究有机和无机药物及毒物的代谢。在头发角质化生长过程中血液中一些元素不可逆地随着死亡的头发细胞成比例地沉积在生长的头发中, 这样头发的元素分析就可以用来作为检测生理上过剩、缺乏及病态分布的窗口^[1]。临床研究也显示了头发中的As, Pb, Hg和Cd等含量能与其导致的人体生理效应相对应^[2], 而且头发中的一些必需元素(Ca和S等)与血液中对应的元素含量密切相关。

甲状旁腺激素(PTH), 在人体血液中的含量每天具有昼夜周期的变化, 具有抑制头发生长、调节血钙浓度的作用^[3,4]。因此可能导致头发在夜晚生长比白天快。这样头发元素的分布模式将对医学诊断很有帮助。其实头发生长周期是由 3 个时期组成, 头发经过几年持续生长后(生长期), 就进入几个月的停止生长期(终止期), 然后经过 1~2 周的开始脱落或准备再生长的过程(脱落期或生长期), 最后又开始生长进入新的周期。由于 80%~90%成人健康的头发处在生长期, 因此每天的信息就可能被生长期的头发所记录。由于生长期头发中间一层的细胞中Ca含量较高且不易受外界的污染影响^[5], 因此它将适合于Ca沿头发轴向分布的研究。然而一般由于头发组成的复杂性以及对样品的快速无损检测的要求, 往往很难在一根头发中得到规律性结果。目前大部分在毛发中

检测药物(如氨哮素)的方法是色质联用光谱^[6]。除了灵敏度问题, 预处理的时间和外部污染也是很难控制的, 因此这种方法做一根头发的分布检测也很困难。本文应用了具有 1 μm 分辨率的微束质子激发X荧光分析(MPIXE)研究单根头发中Ca和S的分布及模式。

1 实验方法

(i) 测过许多根不同人的头发后, 一些含 Ca 量高、远离脱落根部的头发(生长期)被选作分布模式的研究对象, 其中一根典型的 35 岁中国妇女 90 μm 粗的黑发和一根 33 岁中国男子 40 μm 粗的黑发被选做头发中间层细胞排列模式的研究对象。

(ii) 两根典型脱落的黑发(一根来自上述女性, 一根来自上述男性)被用来研究头发脱落过程中 Ca 分布的变化及女性月周期中 S 分布的变化。

(iii) 经过多次测量比较白、黑头发后, 两根典型的头发被选做元素比较实验对象。这两根采集的头发来自一 60 岁的中国男子, 距离根部 2.5 cm 的两根近邻不同颜色(白和黑)的头发, 粗约 90 μm , 并且头发从没有做过化学试剂的处理和漂染。采集的头发样品经过乙醇冲洗 3 次, 并用尼龙布擦干后, 再用纯水冲洗 2 次, 自然干燥后, 用导电胶带每隔 0.6 cm 固定到样品架上, 进行微区扫描 PIXE 分析和卢瑟福背散射(RBS)测量。

微区扫描PIXE分析和RBS测量是在聚焦为1 μm 的2.25 MeV 质子束流下进行的. 测量过程的电流约6~9 pA, 一般每个样品测量至获取电荷为0.40 μC 左右. 典型的PIXE元素分布图分辨率为1~2 μm . 根据RBS测量结果, 头发的化学分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{N}_3\text{S}_{0.4}$, 这样微区的元素分布图就可以通过Geo-PIXE计算出.

2 结果与讨论

图1显示了一个典型女性脱落头发片段中的Ca分布(长1500 μm , 粗90 μm), 该片段选择离脱落头发根部很远(20 cm处)的位置. 由于Ca在头发中层细胞内的含量较高^[9], 因此沿着头发中心轴分布的Ca应属于中层细胞. 在Ca分布谱中有些峰与峰间距离较长(>50 μm)、而一些比较短(<50 μm), 造成一个松弛-紧密、300~500 μm 周期排布的模式. 由于与生长期头发每天生长400 μm 的周期相接近, 因此这些Ca的周期排布被认为以天为周期. 而在一根细的男性头发中(图2), Ca的分布也明显呈周期性松弛-紧密的分布模式, 对应为630~690 $\mu\text{m}/\text{d}$. 一般的头发都有中心核即中心层, 似海绵状组织, 其中中心层细胞的分化是由血液中的营养物质控制的. 同时PTH的使用能被头发所纪录^[7], 而PTH又能调节血液中Ca的水平,

因此有理由认为Ca在头发中的分布是与血液中的PTH水平相关, 其晚上的低浓度^[3]导致晶化角蛋白生长速度较快, 即头发生长较快, 从而导致每个中层细胞填充在较长的晶化角蛋白中. 而在白天, 高水平的PTH将导致高的血钙及中层细胞的细胞质中Ca水平的提高, 从而加速角化细胞诱导终端分化的蛋白质产生, 这一过程有相当一部分是通过Ca调蛋白响应的蛋白激酶C(PKC)途径^[8]. 同时细胞内总Ca离子浓度的提高也能通过这一途径触发细胞的分化^[9]. PKC诱导的分化过程是阻止头发生长的^[10,11], 这样就导致了较短的外层蛋白纤维的合成. 较快的终端分化死亡的中层细胞分布在较短的外层蛋白纤维中, 构成了白天的紧密排列状态. 这两种细胞沿头发轴向排列模式, 如图1和2, 具有白天和晚上的周期性, 而且白天的Ca峰没有晚上的清晰.

角蛋白是头发中一种必需的蛋白组分, 在头发的构造中具有重要的作用, 由18种氨基酸组成, 富含半胱氨酸(S). S在头发中的分布将和角蛋白的合成相关联.

图3显示了一根女性长4 cm的头发S含量的分布图, 其中有3处(在0.4, 1.35和2.7 cm处)出现月经周期性的峰底. 图3中的每一点均为测量某一小段头

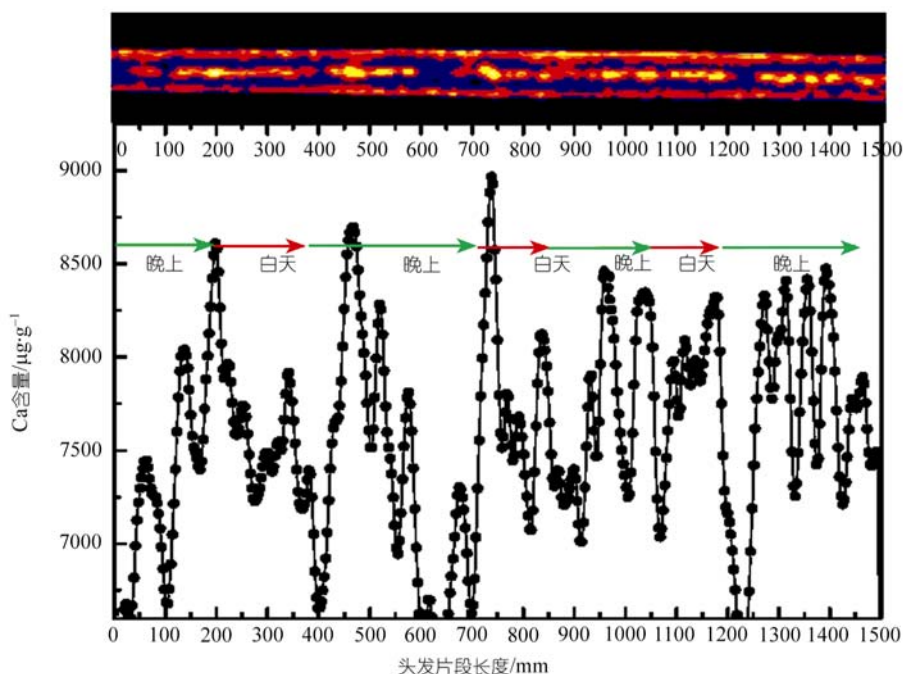


图1 一根典型女性头发的Ca分布图

扫描范围为1500 $\mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$, Ca含量分布获取来自头发中间层细胞

发的平均值, 其中一典型月经期测量的头发片段 S 的扫描谱图显示在图 4 中, S 的缺陷明显可以被看到. 通过 20 余根头发的测量后, 如图 5 那样, 不论是男性还是女性, 头发中的 Ca 含量是从末梢到根部逐渐

降低的(每根典型头发片段均测量过 3 次), 这些结果说明了头发在进入脱落过程中细胞中总 Ca 含量的下降.

黑发和白发的Ca含量也在这里进行了比较研究. 黑发随着年龄增长、一些头发细胞中酶活性的失去而变白. 通过测量 3 对相同头部紧邻位置、相同高度的黑白头发片段, 其中典型的一对(离开根部 2.5 cm 处)片段的扫描结果显示在图 6 中. 很明显Ca在白发中显著偏低, 这一结果类似于其他方法测量的结果 [12]. 长 1500 μm 的头发片段 3 次扫描测量的结果列于表 1 中. 与先前所述相同, Ca-PKC参与的分化过程阻止头发生长 [10,11], 当头发中钙低于 200 $\mu\text{g/g}$ 时, 原来细胞的一些正常功能将失去, 含S蛋白纤维的合成将迟缓而导致白发 [12]和头发的脱落.

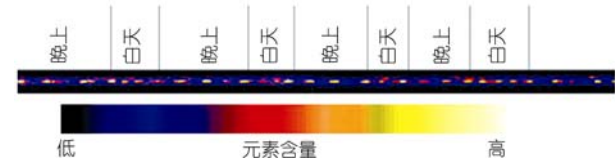


图 2 一根典型健康男性头发的 Ca 分布图
扫描范围为 3000 μm ×200 μm

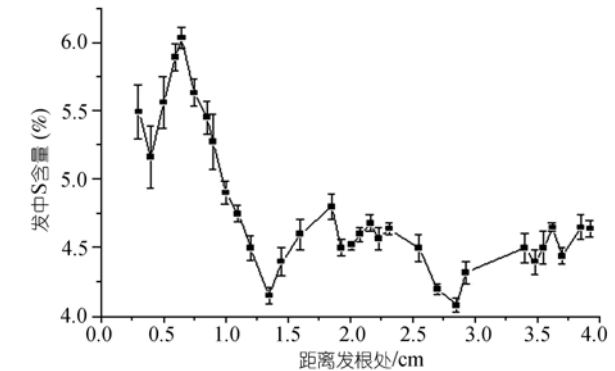


图 3 一根典型女性头发的 S 分布图

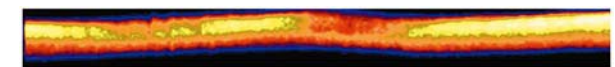


图 4 一根典型女性头发月经期小片段的 S 分布图
扫描范围为 1500 μm ×100 μm

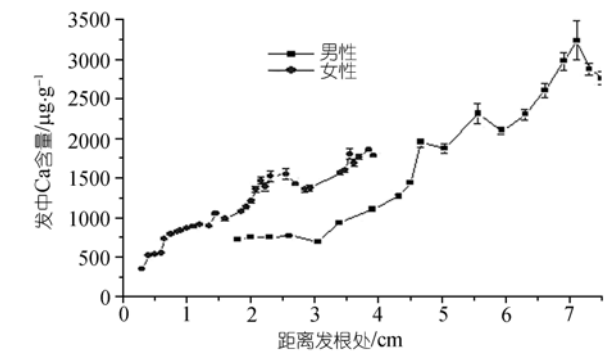


图 5 两根典型脱落头发的 Ca 分布图

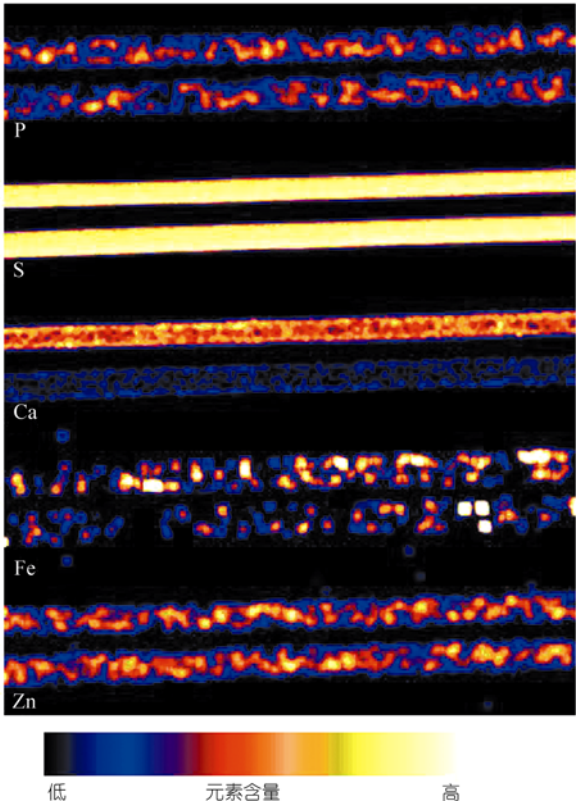


图 6 两根典型相邻不同颜色头发的 P, S, Ca, Fe, Zn 分布图
扫描范围为 1500 μm ×200 μm , 头发来自 60 岁男性

表 1 60 岁男子两根邻近不同颜色头发的元素含量(测量 3 次)

元素含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	P	S ^{a)}	Ca ^{a)}	Zn
黑发	197±30	44000±900	981±80	253±30
白发	183±20	49700±1200	156±25	241±35

a) 白发和黑发中元素含量比较有显著差异

3 结论

由于头发具有采样方便、稳定以及宽限的检测时间等优点,头发作为尸检材料的应用越来越多,而且头发中的药物、化学毒品等与一些疾病、上瘾相关联。因此无损及简单样品予处理的微质子束诱导X荧光分析法将在这个检测领域中起着重要的作用。

致谢 感谢莱比锡大学 Tilman Butz 和 Tilo Reinert 博士在 PIXE 测量分析上的支持。

参 考 文 献

- 1 Lin X, Alber D, Henkelmann R. Elemental contents in Napoleon's hair cut before and after his death: Did Napoleon die of arsenic poisoning? *Analyt Bioanalyt Chem*, 2004, 379(2): 218—220[DOI]
- 2 Legrand M, Lam R, Jensen-Fontaine M, et al. Direct detection of mercury in single human hair by Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS). *J Anal At Spectrom*, 2004, 19(10): 1287—1288[DOI]
- 3 Ahmad A M, Hopkins M T, Fraser W D, et al. Parathyroid hormone secretory pattern, circulating activity, and effect on bone turnover in adult growth hormone deficiency. *Bone*, 2003, 32: 170—179[DOI]
- 4 Holick M F, Ray S, Chen T C, et al. A parathyroid hormone antagonist stimulates epidermal proliferation and hair growth in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91: 8014—8016[DOI]
- 5 Kempson I M, Skinner W M, Kirkbride P K. Calcium distributions in human hair by ToF-SIMS. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1624: 1—5
- 6 Machnik M, Geyer H, Horning S, et al. Long-term detection of clenbuterol in human scalp hair by gas chromatography-high-resolution mass spectrometry. *Chromatogr*, 1999, B723: 147—155
- 7 Tsatsakis A M, Psillakis T, Paritsis N. Phenytoin concentration in head hair sections: A method to evaluate the history of drug use. *J Clin Psychopharmacol*, 2000, 20(5): 560—573[DOI]
- 8 Pillai S, Menon G K, Bikle D D, et al. Localization and quantitation of calcium pools and calcium binding sites in cultured. Human keratinocytes. *J Cell Physiol*, 1993, 154: 101—112 [DOI]
- 9 Lee Y S, Dlugosz A A, McKay R, et al. Definition by specific antisense oligonucleotides of a role for protein kinase C alpha in expression of differentiation markers in normal and neoplastic mouse epidermal keratinocytes. *Mol Carcinog*, 1997, 18: 44—53[DOI]
- 10 Takahashi T, Kamimura A, Shirai A, et al. Several selective protein kinase C inhibitors including procyanidins promote hair growth. *Skin Pharmacol. Appl Skin Physiol*, 2000, 13: 133—142[DOI]
- 11 Harmon C S, Nevins T D, Bollag W B. Protein kinase C inhibits human hair follicle growth and hair fiber production in organ culture. *Br J Dermatol*, 1995, 133: 686—693
- 12 Cranton E M. Update on hair element analysis in clinical medicine. *J Holistic Med*, 1985, 7(2): 120—34