

^{60}Co γ 射线急慢性照射对小鼠骨、牙和毛发 ESR 信号的影响

刘青杰 杨英杰 陈金娣 陈德清

(中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所 北京 100088)

摘要 对昆明种雄性小白鼠给予不同剂量的急性或慢性 ^{60}Co γ 射线整体照射(剂量范围为 0—3.0Gy),分离小鼠股骨、牙齿和毛发并进行前处理后,用电子自旋共振谱仪(ESR)测定各自的信号强度。结果表明,小鼠牙齿和毛发信号无特征性峰。小鼠股骨 ESR 信号呈现特征峰,无论是急性照射还是慢性照射,小鼠股骨 ESR 信号强度随着照射剂量的增大而增高,呈现良好的直线关系。保存在福尔马林溶液中的小鼠股骨,其 ESR 信号强度在保存 7d 时明显降低($p<0.001$),在室温干燥条件下保存 453d 的股骨 ESR 信号强度无明显改变。说明,小鼠股骨的最适保存条件为室温干燥。

关键词 小鼠股骨,毛发和牙齿, ^{60}Co γ 射线整体照射, ESR 信号强度,保存条件

中图分类号 R144, Q691

用电子自旋共振谱仪(ESR)方法对事故剂量进行回顾性剂量重建,除最常见的人牙釉样品外,骨样品是最常用的材料。巴西圣萨尔瓦多核事故^[1]、英国的工业探伤工人的剂量估算^[2]、1996年吉林发生的照射事故均用骨样品进行 ESR 测定^[3],成功地估算了剂量,而且不同部位骨样品的 ESR 测定可以判断受照射人员所受照射的均匀程度。骨样品 ESR 测定在不均匀照射剂量估算中起到非常重要的作用。有关骨样品 ESR 的实验研究,多用牛骨、人骨样品^[4,5],但是这些材料用于慢性长期照射的研究受到很大的限制。本研究试图对小鼠进行急、慢性照射,测定牙齿、毛发和股骨的 ESR 信号强度,探讨急、慢性照射的小鼠材料 ESR 的信号特征及其与整体吸收剂量的关系,为慢性辐射损伤人员通过 ESR 测定估算累积剂量提供重要参数。

1 实验材料和方法

1.1 动物及其照射

健康昆明种雄性小白鼠,6—8周龄,18—22g,北京大学医学部动物中心提供。用中国疾病预防控制中心辐射防护与核安全医学所钴源室(国家二级标准实验室)提供的 ^{60}Co 治疗机在室温下进行照射。急性照射的 ^{60}Co 治疗机的源活度为 $1.3\times 10^{14}\text{Bq}$,单次照射,源至鼠盒中心的垂直距离为 80cm,均匀

照射野 $15\text{cm}\times 15\text{cm}$,剂量率为 0.565Gy/min ,剂量误差为 $\pm 1\%$,吸收剂量分别为 0、25.4、44.9、99.8、199.8、299.8cGy。慢性照射的 ^{60}Co 治疗机的源活度为 $2.15\times 10^{11}\text{Bq}$,源至鼠盒中心的垂直距离为 97cm,均匀照射野 $24\text{cm}\times 24\text{cm}$,每天吸收剂量为 3.54cGy,剂量率为 0.197cGy/min ,剂量误差为 $\pm 1\%$ 。慢性照射持续时间分别为 0、6、12、24、48、77d,累积吸收剂量分别为 0、21.24、42.48、84.96、169.92、272.58cGy。

1.2 小鼠牙齿、毛发和股骨的准备

急性照射后 24h 取小鼠牙齿、毛发和后腿股骨。去掉牙齿周围的组织,牙齿和毛发用蒸馏水冲洗干净。用 RPMI 1640 培养基冲去骨髓,将股骨表层脂肪用乙醚去除,用手术刀将股骨两端多余的部分削去,按股骨中段粗细加工成近似圆柱状,用蒸馏水冲洗干净。40℃ 恒温箱中放置 12h,室温 8h 后称重备测。

慢性照射的小鼠在最后 1 次照射后 6h 进行活杀,股骨取出后将骨髓冲去,按常规保存尸体组织标本的方法置福尔马林溶液中,牙齿和毛发的处理按以上的方法处理。

1.3 小鼠股骨保存条件

将急性照射后的两组小鼠股骨(每组 5 只小鼠)

卫生部科学研究基金(98-2-46)资助

第一作者:刘青杰,男,1971年4月出生,2001年7月毕业于中国军事医学科学院,获理学博士学位,放射医学生物剂量学专业,助理研究员

收稿日期:初稿 2002-05-08,修回 2002-09-09

进行 ESR 测定,测定完成后将股骨放入福尔马林溶液中或室温干燥条件下若干天(7、15、62、227、453d),测定前 1d 取出,用蒸馏水冲洗干净,用 40°C 在恒温箱中放置 12h、室温 8h 称重备测。

1.4 ESR 信号测定及其统计分析

采用 JEOL ES-IPRITS/TE 型 ESR(日本)对小鼠样品 ESR 信号进行测定。测量参数为:调制频率 100kHz,调制幅度 0.2mT,时间常数 0.03s,中心磁场 337.000mT,扫描宽度 10mT,微波功率 10mW,放大倍数 200,扫描时间 2min,4 次叠加,在室温下测量。将所得信号进行双重积分并用锰标强度进行校正(锰标为该谱本身配备,测定时浓度用数字符号)。

每只小鼠样品测定 3 个不同方向的信号强度,取平均值。计算每只小鼠的股骨样品相对信号强度,按下列公式进行:

[样品信号强度平均值/(标准样品信号强度 \times 待测样品的重量)] $\times 100$,得到每 100mg 样品的相对信号强度。

用美国 STATA 统计学软件处理数据,每组小鼠股骨样品的信号强度取平均值。用单因素方差分析多组间差异,用 Student's t 检验分析组间差异,用最小二乘法建立剂量-效应曲线。

2 结果

2.1 小鼠毛发和牙齿的 ESR 信号

对小鼠牙齿和毛发的本底信号和照射 3Gy 后的 ESR 信号进行比较,发现照射后 ESR 信号几乎和本底无差别,均接近直线;即使将所有 3Gy 组的小鼠牙齿或毛发放在一起进行测定同样无特征性峰出现。

2.2 小鼠股骨 ESR 信号的特点

图 1 中给出了典型小鼠股骨 ESR 谱。小鼠股骨本底 ESR 信号的 g_{\perp} 为 2.0045,照射 3Gy 后 ESR 信号的 g_{\perp} 为 2.0021, g_{\parallel} 为 1.9973。

2.3 急性 ^{60}Co γ 射线照射的小鼠 ESR 信号强度

用 ^{60}Co γ 射线单次整体照射小鼠,各组吸收剂量分别为 0、25.4、44.9、99.8、199.8 和 299.8cGy,每剂量点各有 5 只小鼠。对股骨进行前处理后,用 ESR 测定小鼠股骨 ESR 信号强度,各剂量点取平均值,扣除对照小鼠 ESR 信号强度水平。建立以吸收剂量与小鼠股骨 ESR 信号相对信号强度水平的剂量-效应曲线,如图 2 所示。剂量-效应曲线的回归

方程为

$$y=0.1395x+22.606 \quad (R^2=0.9993)$$

式中, y 为小鼠股骨 ESR 信号相对强度水平, x 为吸收剂量。

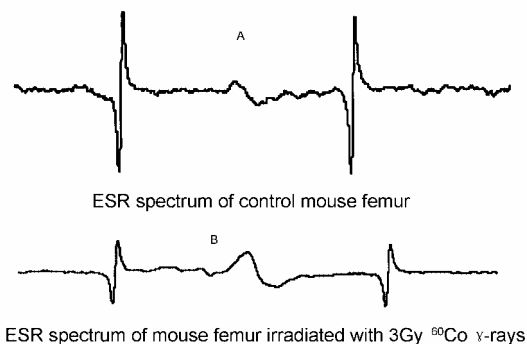


Fig.1 ESR spectrum of mouse femora pre-and post-irradiation.

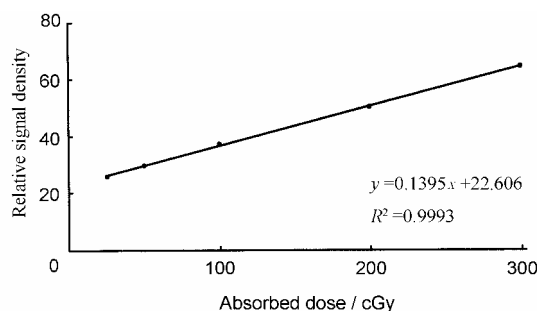


Fig.2 Dose-effect curve of the ESR signal intensity of acutely irradiated mouse femora.

2.4 慢性 ^{60}Co γ 射线照射的小鼠 ESR 信号强度

用 ^{60}Co γ 射线慢性整体照射小鼠,累积吸收剂量分别为 0、21.24、42.48、84.96、169.92 和 272.58cGy,每个剂量点各有 5—8 只小鼠。用 ESR 测定小鼠股骨 ESR,各剂量点取平均值,扣除对照小鼠 ESR 信号强度水平。建立以吸收剂量与小鼠股骨 ESR 信号相对信号强度水平的剂量-效应曲线如图 3 所示。

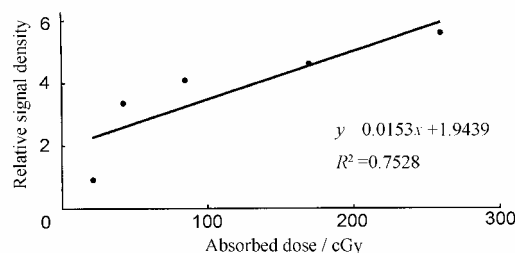


Fig.3 Dose-effect curve of the ESR signal intensity of chronically irradiated mouse femora.

建立的回归方程为

$y=0.0153x+1.9439\ (R^2=0.7528)$

式中， y 为小鼠股骨 ESR 信号相对强度水平， x 为吸收剂量。

2.5 保存条件对小鼠股骨 ESR 信号强度的影响

本研究对小鼠股骨的保存条件进行了探讨，从表 1 中可以看出：室温保存的股骨 ESR 信号强度稍有下降，直到 453d 时差异仍无显著性 ($p>0.05$)；相反，在福尔马林溶液中保存的股骨 ESR 信号强度水平在 7d 后显著降低 ($p<0.001$)，453d 后降到原来的 23%左右。

Tab.1 ESR signal intensity changes of mice femora stored in formalin and dry room temperature

Storage time/d	ESR relative signal intensity ⁽¹⁾	
	Dry room temperature	Formalin
0	57.19±8.75	27.59±4.62
7	51.81±8.07	11.56±2.86 ⁽²⁾
15	48.14±5.49	10.44±2.10 ⁽²⁾
62	48.20±6.12	9.58±2.03 ⁽²⁾
227	46.21±6.35	7.97±1.59 ⁽²⁾
453	46.00±8.09	6.44±1.28 ⁽²⁾

⁽¹⁾ Mean±s, 5 mice in each group, ⁽²⁾ $p < 0.001$, vs 0 day group

3 讨论

在本研究中小鼠毛发和牙齿未测出其 ESR 信号强度，可能因为其结构组成主要为有机成分，即使俘获放射产生的自由基，在较短的时间内发生衰变，因此不能测出其特征性 ESR 信号。

骨样品的主要成分为羟磷灰石晶体，辐射在羟磷灰石晶体中产生可被俘获的自由基，这些自由基寿命长。因此，可以用来进行辐射剂量的估算^[6]。本研究用 ESR 测定小鼠股骨样品的 ESR 信号，小鼠股骨呈现特征性峰，对照组小鼠股骨本底 ESR 信号的 g_{\perp} 为 2.0045，照射后 ESR 信号的 g_{\perp} 为 2.0021。照射后小鼠股骨 ESR 信号强度随吸收剂量的增大而增高；而且在室温干燥条件下保存 453d ESR 信号强度无显著性下降，说明可以用小鼠股骨进行剂量估算。

研究中，测定前将小鼠股骨加工成近似圆柱状，这样使得重复测定时避免因形状不同而造成的各向异性^[7]。然而，在测定过程中用整个股骨，虽然在股骨准备中冲去骨髓，不可避免在骨髓腔中遗留一些有机物质，从而产生辐射诱发的不稳定性信号，影响测定方法的灵敏度^[8]。升温可以消除机械操作形成的不稳定性信号，但不能完全消除有机物质形成的不稳定性信号，因为有些有机物质在冲骨髓过程中被遗留在骨髓腔中。

研究中用 ⁶⁰Co γ 射线整体照射小鼠，建立了急

性照射和慢性照射小鼠股骨 ESR 的剂量-效应曲线，吸收剂量在 0—3Gy 范围内，均为直线。比较两直线方程发现慢性照射的系数比急性照射低得多，分析其原因，受到慢性照射的小鼠股骨在取出后，保存在福尔马林溶液中约 1 年，可能会造成股骨中自由基浓度降低。将照射后已经测定 ESR 信号强度的小鼠股骨，一组在室温干燥条件下保存；另一组放在福尔马林溶液中保存。结果证实，在福尔马林溶液中保存 7d 的小鼠股骨 ESR 信号强度明显下降 ($p<0.001$)，室温干燥条件下保存的股骨 ESR 信号强度保持相对稳定，虽稍有下降，但无显著性差别。这说明福尔马林溶液可能消除小鼠股骨中的顺磁中心，室温干燥条件下不会影响自由基的浓度和状态。

有关骨 ESR 信号强度与辐射剂量率的关系，文献[4]认为在 0.5—8Gy/min 的剂量率范围内，骨 ESR 信号强度不受影响，这和有些研究结果一致^[5]；但也有相反的结果，在 ⁶⁰Co γ 射线 0.6Gy/s 和 6×10^6 Gy/s 的剂量率范围内，ESR 信号强度稍有改变^[9]。在本研究中，从急性与慢性照射诱导小鼠股骨 ESR 信号的曲线方程系数来看，两者相差 10 倍；而在福尔马林溶液中保存 453d 后 ESR 信号强度只降低了约 3 倍。认为除了福尔马林的作用外，本研究中对小鼠的照射方式为活体照射，照射后产生的自由基可能在机体内被清除一部分，而以前的研究均为离体照射，照射产生的自由基长期存在。

参考文献

- 1 Lloyd D C, Edwards A A, Fitzsimons E J *et al.* *Occu Environ Med*, 1994, **51**(3): 713-718
- 2 Onori S, Pantaloni M, Baccaro S *et al.* *Appl Radiat Isot*, 1996, **47**(11-12): 1637-1640
- 3 吴可, 丛建波, 孙存普等. 中华放射医学与防护杂志, 1997, **17**(1): 43-44
- 4 吴可, 孙存普, 汤立达等. 中华放射医学与防护杂志, 1993, **13**(4): 229-231
- 5 WU K, SUN C P, TANG L D *et al.* *Chin J Radiol Med Prot*, 1993, **13**(4): 229-231
- 6 Caracelli I, Terrile M C, Mascarenhas S. *Health Phys*, 1986, **50**(2): 259-263
- 7 Onori S, Pantaloni M, Baccaro S *et al.* *Appl Radiat Isot*, 1996, **47**(11-12): 1637-1640
- 8 Haskell E, Hayes R, Kenner G. *Radiat Meas*, 1997, **27**(2): 325-329
- 9 Kinoshita A, Braga F J, Graeff C F *et al.* *Appl Radiat Isot*, 2001, **54**(2): 269-274
- 10 Copeland J F, Kase K R, Chabot G E *et al.* *Appl Radiat Isot*, 1993, **44**(1-2): 101-106

EFFECTS OF ESR SIGNAL PROPERTIES OF MICE FEMUR, TEETH AND HAIR IRRADIATED BY DIFFERENT DOSES OF ^{60}Co γ -RAYS

LIU Qingjie YANG Yingjie CHEN Jindi CHEN Deqing

(National Institute for Radiological Protection and Nuclear Safety, China CDC, Beijing 100088)

ABSTRACT Male, Kunming mice were irradiated by different doses of ^{60}Co γ -rays (0—3Gy) in either acute or chronic radiation, and the hair, teeth and femora samples were studied with ESR spectrometer. While no characteristic ESR signals were found with the hair and teeth samples, ESR spectra of the femora were characterized by enhanced signal intensities with increasing dose of both acute and chronic exposures to the radiation. Storage condition of the irradiated femora samples was studied. No significant changes in the ESR signal intensities were observed with the samples kept dry at room temperatures for up to 453 days, whereas the intensity decreased significantly ($p<0.001$) from the samples kept in formalin for just 7 days.

KEYWORDS Mouse femur, Hair and teeth, Whole-body irradiation, ESR signal intensity, Storage condition

CLC R144, Q691