

文章编号: 1007-1627(2002)01-006b-04

加速器质谱方法测量 ^{41}Ca 及其在生物医学中的应用*

姜 山, 何 萌, 武绍勇, 董克君, 岳东方, 常志远, 游曲波, 包轶文, 许国基

(中国原子能科学研究院核物理研究所, 北京 102413)

赵小红, 王起恩, 刘世杰

(北京大学医学科学院, 北京 100083)

管永精, 郑元丰

(广西大学物理学院, 广西南宁 530004)

摘 要: 介绍了用 AMS 测量 ^{41}Ca 的方法及其在生物医学中的应用, 以及中国原子能科学研究院目前开展 ^{41}Ca 的 AMS 测量及其应用研究的情况。

关键词: Ca^{2+} 信使; ^{41}Ca 示踪剂; 加速器质谱

中图分类号: TL817+.4 **文献标识码:** A

1 引言

钙是人体中含量最丰富的元素之一^[1], 它不仅具有构成骨架的功能, 而且, 从微观上讲, Ca^{2+} 作为细胞信号传导的使者, 在维持细胞的正常发育、生长中起着重要的作用。但是近年来的研究表明, 一方面, 人体缺钙在国际上是非常普遍的事, 特别是我国国民缺钙更为严重; 另一方面, 还发现当致癌物质与正常细胞相互作用引起其增殖的过程中, 胞浆内的游离 Ca^{2+} 浓度不断增加^[2,3]。因此, 了解补钙及因缺钙而致病的机理, 探索游离 Ca^{2+} 的来源就成了深入研究上述重要问题的关键。人工合成的 ^{41}Ca 同位素是开展这方面研究的理想示踪剂。但是, 由于测量手段的限制, 长期未能开展。当加速器质谱仪 (AMS) 方法出现后, 实现了对 ^{41}Ca 的监测, 从此, 也开辟了钙同位素的生物医学应用新途径。

2 国际上 ^{41}Ca 的研究进展

2.1 示踪剂

钙有 5 种稳定同位素, ^{40}Ca , ^{42}Ca , ^{44}Ca , ^{46}Ca 和 ^{48}Ca 都广泛地存在于自然界中, 因而也存在于生物体内, 因此它们都不适合于作为生物体内的示踪

剂。钙的 3 种放射性同位素 ^{41}Ca ($T_{1/2}=1.0\times 10^5\text{ a}$), ^{45}Ca (β 衰变, $T_{1/2}=165\text{ d}$) 和 ^{47}Ca (β 衰变, $T_{1/2}=4.5\text{ d}$) 是能够作为示踪剂的, 但后两者由于半衰期短, 不合作钙的长期代谢观察研究。另外, 它们的辐射必然对生物体的细胞产生损伤, 也不合作生物体内的示踪。

^{41}Ca 的衰变方式为轨道电子俘获, 只发射 3.3 keV 的 X 射线, 不仅半衰期长, 同时人类的食物中没有 ^{41}Ca 的来源, 它是理想的生物医学示踪剂。但是由于半衰期长和 X 射线能量低, 采用衰变计数方法难以实现对它的高灵敏测量。另外, 由于 ^{41}Ca 的同量异位素 ^{41}K 的干扰和分子 ^{41}CaH 的干扰, 采用传统的质谱方法也不能实现对其测量。AMS 方法因为具有排除同量异位素本底和分子本底干扰的能力, 具有极高的测量灵敏度 (探测限度可达 10^{-15}), 成为测量 ^{41}Ca 的理想方法。这种方法一方面因灵敏度高, ^{41}Ca 的用量将减小; 另一方面, 因半衰期长和轨道电子俘获衰变方式, X 射线的能量低、剂量非常弱。因此, 用 ^{41}Ca 作示踪剂, 用 AMS 作为测量手段的研究方法, 对生物体的辐射损伤是极其微弱的, 比正常饮食造成的内照射损伤要小得多^[4]。

收稿日期: 2001-09-10; 修改日期: 2002-01-22

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (19975077)

作者简介: 姜 山 (1956-), 男 (汉族), 河北青龙人, 研究员, 从事加速器质谱研究。

^{41}Ca 是在核反应堆上采用 $^{40}\text{Ca}(n, \gamma)^{41}\text{Ca}$ 反应产生的, 热中子的吸收截面为110 mb. 为了满足生物体的示踪, ^{41}Ca 与 ^{40}Ca 的原子数比值应大于 10^{-11} .

2.2 ^{41}Ca 的AMS测量方法

用AMS测量 ^{41}Ca , 是采用与标准样品对比的相对测量方法. 已知样品中稳定同位素的量, 通过测量 $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 比值就可以得到 ^{41}Ca 的含量. 测量中 ^{41}Ca 的干扰本底主要是同量异位素 ^{41}K , 而且 ^{41}K 的计数率远远大于 ^{41}Ca 的计数率, 这使得 ^{41}Ca 的测量难以实现. 1981年法国的 Raisbeck 等^[11]提出并验证了利用氯化物的样品形式, 离子源引出 CaH_2^- , 这时 KH_2 的束流强度比利用单质时引出的 K^- 的强度要降低 10^3 倍, 从而可以大大降低 ^{41}K 的干扰. 紧接着, Fink 等^[12]在以色列的MUD AMS装置上用离子源引出 CaH_2^- (在离子源内金属Ca的表面上喷 NH_3)的方法成功地测量了 ^{41}Ca , 其测量灵敏度($^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 原子数比值)约为 $5 \cdot 10^{-11}$. 对于实际应用, 10^{-11} 的灵敏度还是不够高, 主要问题是 CaH_2^- 的束流强度太低($<100 \text{ nA}$). 为了提高 ^{41}Ca 的测量灵敏度, 美、法等国的研究人员进行了多方面的努力. 1986年, 美国滨州大学的 Middledon^[13]在强流负离子溅射源上采用 CaH_2 样品的化学形式, 引出 CaH_2^- 的束流强度在 $5-10 \mu\text{A}$, 使 ^{41}Ca 的测量灵敏度大大提高, 可以达到 $1 \cdot 10^{-11}$. 此后AMS测量 ^{41}Ca 的广泛应用研究迅速地开展起来. 其中在生物医学中的应用是最主要的方向之一. 目前, AMS测量 ^{41}Ca 所用的加速器都是能量较高的串列加速器, 其端电压都大于8 MV.

2.3 ^{41}Ca 在生物医学中的应用

首次将 ^{41}Ca 应用于生物医学的是美国Purdue大学的Elmore教授等^[14]. 他们用 ^{41}Ca 示踪研究了狗体内的钙代谢过程. 通过注射草酸钙($^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca} = 0.0124$)将 ^{41}Ca (9.0 kBq/kg)引入动物体内, 用AMS方法测量动物的血、尿和粪便中 ^{41}Ca 的含量, 同时与 ^{45}Ca 示踪进行比较得到如下的初步结果: 用 ^{41}Ca 示踪的灵敏度比 ^{45}Ca 示踪灵敏度要高两个数量级, 而且 ^{41}Ca 可用于长期骨代谢的观察研究. 他们今后的目的是用 ^{41}Ca 进行长期的示踪, 以研究人体骨钙消融, 从而为治疗骨质疏松症提供依据.

加拿大的Jonson等^[21]与以色列的M. Paul合作直接开展了人体的骨钙消融研究. 用125 ng的 ^{41}Ca 以盐溶液的形式静脉注射进入体内, 这样的剂量相当于每年 $0.06 \mu\text{Sv}$ (人体内照射的允许计量为每年 $100-500 \mu\text{Sv}$), 其辐射计量比天然本底还低30 000倍. 用AMS测量尿样中的 ^{41}Ca , 取样时间长达900天. 结果表明: 尿样中的 ^{41}Ca 同位素丰度($^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$)在注射后的100天内迅速下降, 从 10^{-7} 下降到 10^{-11} , 在约100天以后的时间内其丰度值改变非常小, 基本保持在 10^{-11} 的水平上. 他们相信, 当人的年龄增加时, 通过测量血液和尿液中的 ^{41}Ca 的改变量就可以确定骨钙的消融过程.

美国Livermore洛仑兹国家实验室的Southon等^[22]以兔子为对象, 用 ^{41}Ca 示踪研究心肌缺血和再灌注时钙的吸收与沉积, 研究产生不可逆心肌损伤的机理. 实验成功地测量了微量(AMS测量的样品量小于1 mg)心肌样品, 为进一步的研究工作奠定了基础.

^{41}Ca 在生物医学中的应用研究在国际上还处于起步阶段. 已有的研究表明: 用 ^{41}Ca 作为示踪剂以AMS方法作为测量手段, 为生物体内钙和与钙相关的疾病研究提供了一个先进的研究手段.

3 中国原子能科学研究院的 ^{41}Ca 研究

3.1 与致癌物引发癌症机理相关的示踪研究

在引言中提到: 当致癌物与细胞相互作用引起细胞增殖过程中, 胞浆内钙离子(Ca^{2+})浓度不断增加. 为查明 Ca^{2+} 浓度增加在细胞增殖中的作用, 需要直接准确地测定 Ca^{2+} 增加的来源——是细胞内, 细胞外, 还是二者同时.

为了解决这样一个问题, 我们提出以人工合成的长寿命核素 ^{41}Ca 作为示踪剂, 测定细胞胞浆内 Ca^{2+} 增加的来源. 本项目研究内容包括: (1) 用HI-13串列AMS装置测定 ^{41}Ca 的方法研究. 在 ^{41}Ca 测量中, 其干扰本底主要是同量异位素 ^{41}K . 为了排除 ^{41}K 的干扰, 测量样品的化学形式采用 CaH_2^- , 离子源引出 CaH_2^- , 加速器的端电压大于10 MV. (2) 建立以人胚肺细胞体外培养为研究对象的 ^{41}Ca 生物示踪方法. 采用人胚肺细胞体外培养技术, 将 ^{41}Ca 引入培养液中, 用致癌物(如烟雾溶液、石棉等)对不同组的细胞分别进行染毒, 采用差速离心分离胞

浆的方法,按不同时间提取细胞浆中游离的 Ca^{++} , 强酸消化后制成适合于 AMS 测量的样品。(3) 通过 AMS 测量生物样品中的 ^{41}Ca , 研究致癌物与细胞作用时胞浆内 Ca^{++} 增加的来源。

3.2 人体补钙的机理研究

补钙是一个十分复杂的问题,与许多条件和因素有关。

我们并没有找到最佳的补钙方法,对目前市场上许许多多的补钙制剂并未进行深入的、科学的评价。例如目前所说的某种钙剂的吸收率(如,40%)是指一次服用钙剂的剂量与一个生物周期(15天)内体剩余的量之比,这个比值存在两个问题:第一,排出体外的量难以准确测量;第二,停在体内的钙,不等于生物已经利用,在体内分布情况与生物利用的情况都不得而知。在服用钙剂的人群中,绝大多数人都有这样的体会:一旦停止服用钙剂,体内缺钙的症状几天之后又会表现出来。可见,补钙是一件极为困难的事。

研究这一问题的最有效的方法就是采用示踪剂了解钙的代谢与动力学分布。 ^{41}Ca 是实现这一目的的理想示踪剂。我们正准备建立这一示踪的研究方法。研究目标有两个,一是通过示踪对目前已有的补钙制剂进行评价;二是通过示踪了解人体对钙吸收的机理,从而找到人体补钙的最佳途径。整个研究将分为两步,首先,建立补钙的动物(如大鼠和狗等)的实验方法,进行代谢与动力学分布研究;再建立以人体为对象的实验研究。

参 考 文 献:

- [1] 陈清,卢国. 微量元素与健康[M]. 北京:北京大学出版社,1995,270-272.
- [2] Ryder M I. Nicotine Effects on Neutrophil F-actin Formation and Calcium Release: Implication for tobacco use and pulmonary disease[J]. *Exp Lung Res*, 1994, **20**: 283-296.
- [3] 吴卫东,刘世杰,尹宏等. 国产温石棉对肺泡巨噬细胞胞浆游离钙的影响[J]. *卫生毒理学杂志*, 1994, **8**: 153-155.
- [4] Raisbeck G M, Yon F, Peghaire A, et al. Symp on Accelerator Mass Spectrometry [Z]. Argonne National Laboratory, ANL/PHY-81-1, 1981, 426-429.
- [5] Fink D, Paul M, Hollis G. Workshop on Techniques in Accelerator Mass Spectrometry[M]. Oxford: UK, 1986, 23-27.
- [6] Middleton R. Workshop on Techniques in Accelerator Mass Spectrometry[M]. Oxford: UK, 1986, 82-88.
- [7] Elmore D, Bhattacharyya M H, Gibson N S, et al. ^{41}Ca as a Long-term Biological Tracer for Bone Resorption[J]. *Nucl Instr and Meth*, 1990, **B52**: 531-535.
- [8] Johnson R R, Berkovits D, Boaretto E, et al. Calcium Resorption from Bone in a Human Studied by ^{41}Ca Tracing[J]. *Nucl Instr and Meth*, 1994, **B92**: 483-488.
- [9] Southon J R, Bishop M S, Kost G J. ^{41}Ca as a Tracer for Calcium Uptake and Deposition in Heart Tissue during Ischemia and Reperfusion[J]. *Nucl Instr and Meth*, 1994, **B92**: 489-491.
- [10] Fink D, Middleton R, Klein J, et al. ^{41}Ca : Past, present and

3.3 目前研究的结果

目前研究取得如下阶段性结果:

(1) ^{41}Ca 同位素合成 用高纯的钙同位素化合物 ^{40}CaO (^{40}Ca 的纯度为99.9%) 1 g 装入石英瓶,在原子能研究院101重水堆上照射988小时,热中子通量为 4.9×10^{13} ,照射后的比活度约为 $6 \mu\text{Ci/g}$,即 ^{41}Ca 与 ^{40}Ca 的原子数比值约为 4.2×10^5 。

(2) CaH_2 样品的制备^[10] CaH_2 样品的制备分两步,一是将 CaO 转化成 Ca ,二是将 Ca 转化为 CaH_2 . CaO 转化成 Ca 是按照化学方程式: $2\text{CaO} + \text{Zr} \rightarrow \text{ZrO}_2 + 2\text{Ca} \uparrow$. CaO 和 Zr 重量比为1:3,在 2×10^{-5} Pa 真空条件下慢慢加热,最高温度的电功率 10.5 kW. 产生的 Ca 蒸汽沉积在金属 Cu 制的收集盘上,收集盘由室温下的水给以冷却. 由 Ca 转化成 CaH_2 的化学方程式为: $\text{Ca} + \text{H}_2 \rightarrow \text{CaH}_2$. 将收集盘连同盘上沉积的 Ca 一同放入能加热的真空室内,抽出大气后通入氢气(H_2)重复三次,然后加热至 400°C ,在此温度下通入氢气,气体压强为700 mm 汞柱,20 min 后即可转化为 CaH_2 。

(3) AMS 的初步测量 利用 ^{41}Ca 空白样品,在 HI-13 串列 AMS 装置上对 ^{41}Ca 进行了首次测量. 采用单靶强流离子源, CaH_2^- 束流强度为30 nA,加速器的端电压为7.8 MV,选取 $^{40}\text{Ca}^{++}$ 的正离子,用四阳极电离室作粒子鉴别记录 ^{41}Ca 位置上的本底,用电离室前面的法拉第筒测量 ^{40}Ca 的束流. 初步测量给出的本底水平为 10^{-14} ,即测量的灵敏度 ($^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 原子数比值) 可以达到 10^{-14} 。

future[J]. Nucl Instr and Meth, 1990, B47: 73-96.

Measurement of ^{41}Ca with AMS and Its Biomedical Applications*

JIANG Shan, HE Ming, WU Shao-yong, DONG Ke-jun, YUE Dong-fang,

CHANG Zhi-yuan, YOU Qu-bo, BAO Yi-wen, XU Guo-pi

(Department of Nuclear Physics, China Institute of Atomic Energy, Beijing 102413, China)

ZHAO Xiao-bing, WANG Qi-en, LIU Shi-jie

(Department of Occupational Health, Beijing University, Beijing 100083, China)

GUAN Yong-jing, ZHENG Yuan-feng

(Department of Physics, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: ^{41}Ca ($T_{1/2} = 1.0 \times 10^5$ a) as a tracer, confined with Accelerator Mass Spectrometry (AMS) method and its applications are reviewed. Measurement of ^{41}Ca with HI-13 tandem AMS system at the China Institute of Atomic Energy is also introduced. The measurement of ^{41}Ca used for studying mechanism of cancer caused by carcinogenic substances and mechanism of Ca supplement in human body diseases are being developed in collaboration with Department of Occupational Health, Beijing University.

Key words: Ca^{2+} messenger; ^{41}Ca tracer; Accelerator Mass Spectrometry