

放射自显影荧光增敏法探讨 [^{169}Yb] 柠檬酸镱在体内的定位

朱寿彭 (苏州医学院放射毒理教研室, 苏州 215007)

提要 将闪烁液掺入液体乳胶中, 或将复盖过乳胶的标本浸于闪烁液中的 2 种放射自显影荧光增敏法, 可提高效率 5-10 倍, 曝光时间显著缩短, 尤以前法更佳。用上述方法观察对于 ^{169}Yb 盐的体内定位实验表明: (1) ^{169}Yb 盐在血液中只呈短暂滞留, 以后主要蓄积在骨骼中; (2) 注入 ^{169}Yb 盐 2 h 后, 再给予稳定性 Yb 盐, 可使骨组织中的 ^{169}Yb 盐沉积量减少 68%, 从而有效地解除了 ^{169}Yb 盐对机体骨组织选择性浓集的作用。

关键词 放射自显影; 闪烁剂; 荧光增敏; 柠檬酸镱; 二氧六环

放射自显影可研究细胞水平标记物的定位^(1,2), 尤其是我们设计的冰冻法微观放射自显影⁽³⁾, 可以保持体内放射性物质处于原始弥散状态。如果放射性物质只释出微量的低能射线时, 就需要有较长的曝光时间, 而且要持续的控制低温、干燥和无 O_2 条件, 才能获得满意的放射自显影象。我们探讨了用荧光增敏法来提高微观放射自显影的灵敏度和缩短曝光时间⁽⁴⁾, 因为文献报道闪烁增敏剂可使 γ 线形成多个光子, 而且当放射线的能量越大, 产生的光子亦愈多⁽⁵⁾。本文探讨了用闪烁增敏剂对 ^{169}Yb 释放的低能 γ 线所形成放射自显影时的增敏效果。

方 法

[^{169}Yb]柠檬酸盐(以下简称 ^{169}Yb 盐)达放射纯和化学纯, 配成 iv 液, 其放射性比度为 12.6 mCi/ml。用体重 $105 \pm (\text{SD}) 15 \text{ g}$ 的 20 只 δ 大白鼠, 由尾静脉 iv 200 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$, 30 s 内注毕。

在研究稳定性柠檬酸 Yb(以下简称 Yb 盐)对 ^{169}Yb 盐的骨封闭效果实验中, 预先在 2, 24 和 48 h 前 iv 10, 20 和 40 mg/kg 的 Yb 盐, 同时设生理盐水的对照组, 然后再分别

表 1. Retention in the body after iv ^{169}Yb -citrate

	Time after iv ^{169}Yb -citrate (Number of silver grains/10 μm^2 compared with average share amount in the body, %)			
	2 h	24 h	48 h	72 h
Bone	36	57	60	60
Kidney	13	22	18	12
Spleen	17	3	2	2
Liver	8	5	5	4
Blood	3	2	1	1

iv ^{169}Yb 盐。24 h 后, 由颈动脉放血处死, 迅速取出内脏和骨骼组织, 在 -40°C 用 BL-3 型半导体冰冻切片器作冰冻切片, 真空干燥 4 h, 到暗室中涂敷液体乳胶。我们同时用 2 个途径探讨了放射自显影的荧光增敏: (A) 在涂敷液体乳胶的过程中加入适量亲水闪烁液, 即将核 4 乳胶在 37°C 熔化后, 加入 10% 容量的硬化剂 6-硝基苯胍咪唑液, 再掺入占总容量为 10% 的 0.5% PPO 和 0.05% POPOP 的二氧六环闪烁液, 轻轻搅匀备用, 取 15 μl 稀释乳胶, 置于标本片的一端, 用玻棒均匀滑动涂匀后, 于 25°C 阴干, 装入曝光盒中, 在低温干燥下曝光, 经显影, 停显, 定影和水洗后, 用保护液浸泡, 染色, 观察径迹颗粒; (B) 当涂敷过一般乳胶层的切片, 在 25°C 干燥后, 浸入含 0.5% PPO 和 0.05% POPOP 的二氧六环闪烁液中 3 min, 取出干燥, 再行曝光, 并依次进行显影, 定影和保护液浸泡等步骤。

结 果

一、观察 ^{169}Yb 盐的体内行径 ^{169}Yb 盐快速 iv 后 2, 24, 48 和 72 h 各组织的放射自显

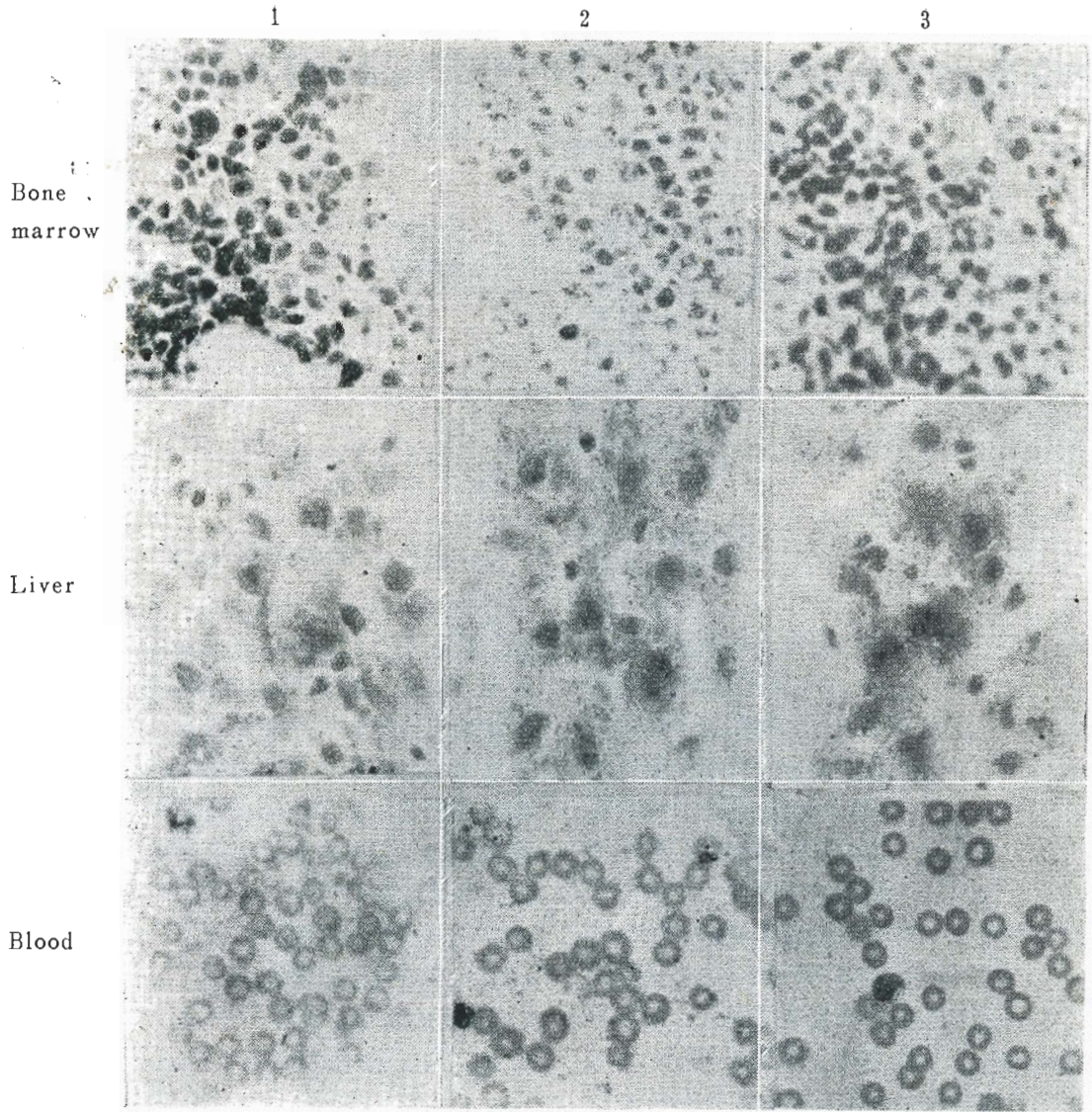


图 1. Autoradiography of bone marrow, liver and blood smear after iv ^{169}Yb -citrate in rats
 1 with customary coated emulsion
 2 fluorescence sensitization method A
 3 " " " " B

影象，按单位面积的放射自显影径迹颗粒定量计数，表明骨组织呈选择性的积聚，远远高出其它组织中的滞留，见表 1。其后的定位积聚水平依次为肾、肝和脾等组织。血中的 ^{169}Yb 在早期 2 h 稍高，以后都低。图 1 为骨髓，肝切片及血液涂片的放射自显影象。这些组织中的微观放射自显影象在经过上述 2 个途径荧光增敏后的灵敏度可增升 5-10 倍(表 2)，尤以途径 A 的增敏效果为佳，从而可缩短曝光时间到

表 2. Quantitative autoradiography 2 h after iv ^{169}Yb -citrate by 2 methods of fluorescence sensitization ($N = 10, \bar{x} \pm \text{SD}$)

	Number of autoradiographic grains / $10 \mu\text{m}^2$		
	bone marrow	liver	blood
Control	8 ± 1.2	17 ± 1.9	5.2 ± 0.6
Method A	76 ± 6.7	165 ± 14	48 ± 7.7
Method B	43 ± 4.1	101 ± 9	26.4 ± 3.7

表 3. Bone seal method and elevation of retention ^{169}Yb -citrate in lung

	Time after iv stable Yb (h)		
	2 h	24 h	48 h
Bone seal effect, %	68	52	50
Elevation of retention in lung, %	280	135	190

原来的一半, 也可显著减少放射性核素的使用量。

二、Yb 盐对 ^{169}Yb 盐的定位改变 用微观放射自显影法并经过径迹颗粒的定量计数, 以观察预先 iv Yb 盐 40 mg/kg 对 ^{169}Yb 盐的骨封闭作用, 结果见表 3。可见具有最佳骨封闭效果的时间为 2 h, 此时骨封闭效果可达到 68%。同时, 在肺组织中沉积 ^{169}Yb 的增升效果可高 2.8 倍。

讨 论

我们将闪烁液直接掺入液体乳胶的荧光增敏研究中, 发现必须采用亲水的二氧六环, 这样才能与液体乳胶充分混匀, 其荧光增敏效果可比常规放射自显影提高一个数量级。虽然, 标本在闪烁液中作浸泡处理也可得到荧光增敏

作用, 但其效果显著低于前者, 原因是经闪烁液浸泡处理后, 可在室温下进行挥发, 闪烁剂可析出针状结晶, 在结晶之间形成许多空隙, 于是核射线激发荧光的机率就减少, 从而使得荧光增敏效果大减。

本实验证实了使用 Yb 盐对 ^{169}Yb 的骨封闭作用, 从而有效地解除了 ^{169}Yb 对骨组织呈选择性浓集的副作用。尤其是在显著阻抑 ^{169}Yb 盐进入骨组织的同时, 在肺中的蓄积量相应地明显增升, 从而有利于作肺扫描诊断。

参 考 文 献

- 1 Rogers AW, ed. *Techniques of autoradiography*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 1973:305-7
- 2 朱寿彭、苏昆源、莫启忠. 生理学报 1980年9月; 32(3):272
- 3 朱寿彭. 放射自显影对机体标记同位素的微观和宏观定位机理探讨. 《放射性同位素在基础医学中的应用》编辑组编: 放射性同位素在基础医学中的应用. 第1版. 北京: 原子能出版社, 1979:13-9
- 4 朱寿彭. 微型放射自显影的荧光增敏研究. 中华医学会江苏分会编: 江苏省第二次原子医学经验交流资料选编. 第1版. 南京: 江苏科技出版社, 1979:55-6
- 5 Moghissi A.A. *Int J Appl Radiat Isot* 1969 Feb; 20(1):145
- 6 朱寿彭. 生理学报 1964年12月; 27(4):390

Acta Pharmacologica Sinica 1981 Sep; 2 (3): 197-200

RETENTION OF [^{169}Yb]YTTERBIUM CITRATE IN RATS BY FLUORESCENCE SENSITIZATION AUTORADIOGRAPHY

ZHU Shou-peng

(Department of Radiotoxicology, Suzhou Medical College, Suzhou 215007)

ABSTRACT A method was described for rapid preparation of autoradiographs for tissue slices by impregnation of nuclear track emulsion with liquid scintillators PPO and POPOP. Mixing liquid scintillator, especially a hydrophilic dioxane solvent, with emulsion allowed also rapid autoradiographic production. The num-

ber of autoradiographic grains/ $10\ \mu\text{m}^2$ was increased by the scintillator by 5-10 times. The use of scintillators with ^{169}Yb citrate shortened the exposure time.

^{169}Yb was found in the blood within 24 h and accumulated chiefly in skeleton, then in kidneys, liver, spleen, lungs, and brain. If stable Yb-citrate was iv 2 h

previously, the accumulation of ^{169}Yb in skeleton was decreased by 68%.

KEY WORDS autoradiography; scintillator; fluorescence sensitization; ^{169}Yb -citrate; dioxane

*

*

*

*

*