

荧光增敏放射自显影探讨 $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸的体内摄取规律

朱寿彭、楚宪襄¹ (苏州医学院放射毒理教研室, 苏州 215007)

提要 比较亲水性闪烁液参入液体乳胶及覆盖过乳胶的标本浸泡于闪烁液中这两种放射自显影荧光增敏措施, 可提高成象效率5-10倍, 曝光时间显著缩短, 尤以前法更佳, $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸可选择性地摄入胰腺分泌物的合成部位, 摄取程度与胰腺的外分泌功能一致, 肝脏等组织摄取 $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸的程度反映组织蛋白的合成功能。

关键词 荧光增敏放射自显影术; $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸; 闪烁计数; 核乳胶

放射自显影术对摄入体内标记物的追踪探查, 具有独特优越性⁽¹⁾。但当摄入微量的标记物时, 就需较长的曝光时间, 为此, 我们探索了闪烁增敏剂对 $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸放射自显影增敏效果⁽²⁾。

胰腺是人体内氨基酸更新率极高的器官, 其正常外分泌功能需要从血液内摄取蛋氨酸来合成其消化酶, 而 $[^{75}\text{Se}]$ 的化学性质与硫相似, 故可用 $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸来研究胰腺的分泌功能⁽³⁾。 $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸摄入体内能很快进入胰腺参与蛋白质合成, 所以临床上用作胰腺扫描剂来诊断胰腺肿瘤^(4,5)。因而需要阐明诊断剂量 $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸在选择性浓集的胰腺中和一些重要器官内的蓄积规律, 以期为临床上合理使用提供必要的依据。

实验方法

$[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸为法国CEA产品, 放射纯、CP的注射液。♂Wistar纯种大鼠25只, 每组5只, 体重 $105 \pm \text{SD } 5 \text{ g}$ 。 $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸 555 kBq/kg 0.5 ml由尾静脉30 s内注入。iv后的5, 30, 120 min和1, 3 d分5组由颈动脉放血处死, 取出胰腺、肝和甲状腺等组织, 先用4%戊二醛缓冲液固定32 h, 然后流水冲

洗, 放置在逐级增高的50, 70, 80, 90, 95%和无水乙醇中脱水, 再浸泡于无水乙醇与二甲苯(1:1)的混合液中, 最后用二甲苯浸透后, 石蜡包埋, 制成 $5 \mu\text{m}$ 厚的组织切片。同时平行的取胸骨髓涂片, 无水甲醇固定。

放射自显影及其荧光增敏: 将组织切片经脱蜡处理, 涂敷火棉胶保护层⁽⁶⁾。再在暗室中 40°C 将液体乳胶熔化后, 加入占十分之一容量的稳定剂6-硝基苯咪唑后, 再用重蒸馏水作1:1稀释⁽⁷⁾, 轻轻搅匀备用涂敷核液体乳胶层。涂敷时, 抽取 $15 \mu\text{l}$ 稀释乳胶置于各标本片一端, 随即用玻棒均匀滑动涂匀, 25°C 阴干后, 收片装入曝光盒中, 在 -4°C 干燥条件下曝光15 d, 然后取出作显影、停显、定影、水洗和甘油保护液浸泡处理⁽⁸⁾。改良HE染色后, 镜检分析放射自显影象。我们同时用2个途径探讨放射自显影的荧光增敏过程: (1) 在涂敷液体乳胶中加入适量的亲水闪烁液, 即先将核乳胶在 40°C 熔化后, 加入10%容量的6-硝基苯咪唑液, 再参入占总容量10%的0.5% PPO和0.05% POPOP的二氧六环闪烁液, 轻轻搅匀备用。以后的涂敷液体乳胶层、曝光和显影等处理步骤均同前。(2) 取已涂敷一般液体乳胶层的切片, 25°C 阴干后, 随即浸入含有0.5% PPO和0.05% POPOP的二氧六环闪烁液中3 min, 取出后再阴干, 并依次同前步骤处理。

实验结果

$[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸快速iv后的摄取规律

1. 胰腺 $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸摄入机体后选择性蓄积在胰腺组织中。从图1可见, $[^{75}\text{Se}]$ 硒蛋氨酸摄入体内30 min, 胰腺内已有较多的放射自显影银粒密集, 主要分布在胰腺腺泡和胰

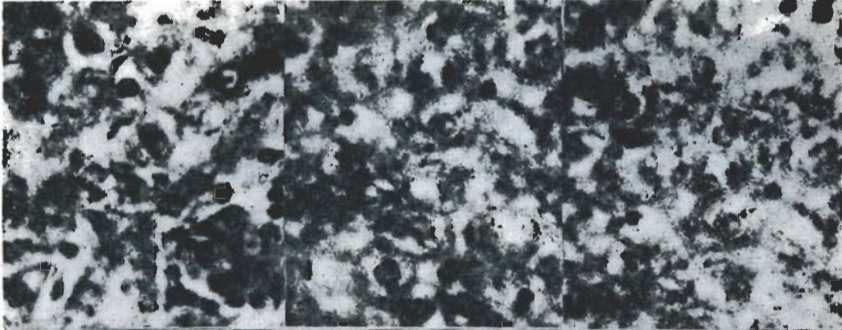
Fluorescence-sensitized method

Customarily
coated
emulsion

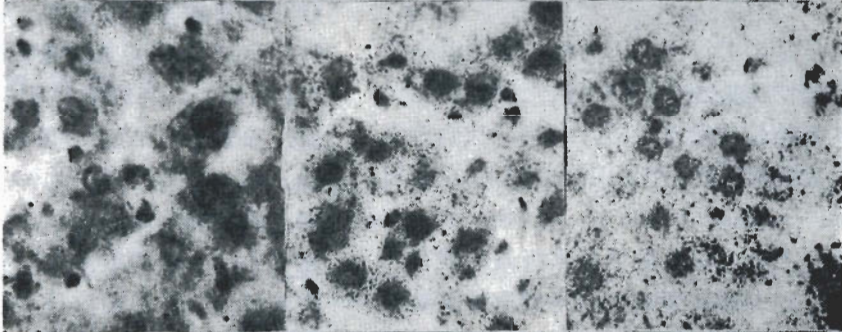
By mixing liquid
scintillator with
emulsion

By impregnation of
nuclear emulsion with
liquid scintillators

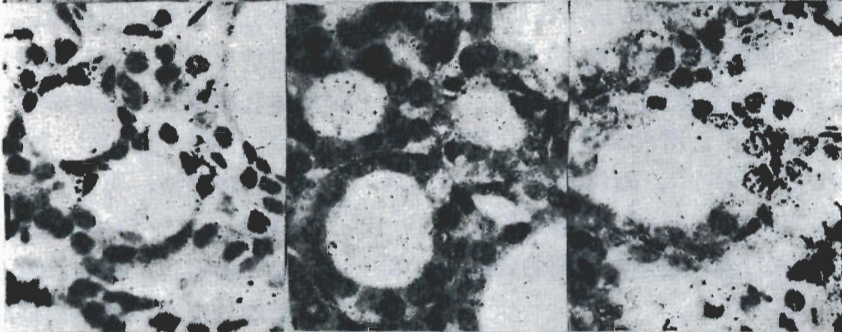
Pancreas



Liver



Thyroid gland



Bone marrow

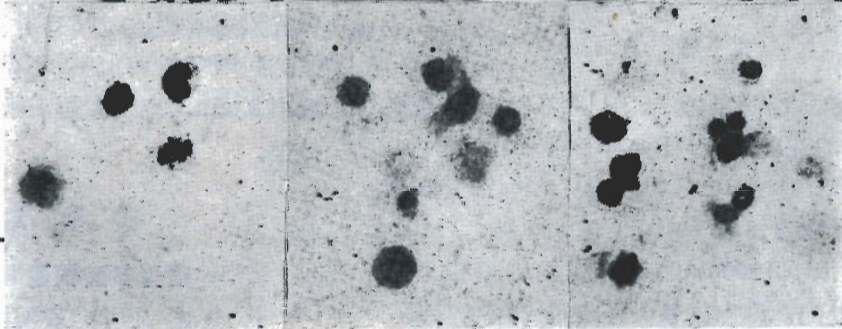


Fig 1. Fluorescence-sensitized autoradiography of tissues 30 min after iv $[^{75}\text{Se}]$ selenomethionine. Exposed in cold and dry conditions for 15 d.

Tab 1. Quantitative autoradiography 30 min after iv [^{75}Se]selenomethionine by 2 methods of fluorescence sensitization; (1) mixing liquid scintillators with emulsion and (2) impregnation of nuclear emulsion with liquid scintillators. Exposed in cold and dry conditions for 15 d. n=10, Number of autoradiographic grains/ $10\ \mu\text{m}^2$. $\bar{x}\pm\text{SD}$, **p<0.05; ***p<0.01

	Pancreas	Liver	Thyroid gland	Bone marrow
Control	15.1±1.7	8.0±1.1	5.2±0.8	5.8±1.3
Method(1)	143±18***	78±8***	41±6***	55±7***
Method(2)	71.1±9.5***	33.0±4.3***	11.8±1.3**	28.1±3.6***

岛内, 其中腺泡细胞摄取的 [^{75}Se] 硒蛋氨酸的程度要比胰岛细胞相对较多。银粒主要定位在胞浆内, 但在细胞核内也见到一些银粒。放射自显影银粒也见于小叶管壁细胞内, 管腔内也有较多银粒沉积。

2. 肝脏 [^{75}Se] 硒蛋氨酸在肝脏组织中的蓄积仅次于胰腺。在相应阶段的放射自显影银粒表明, [^{75}Se] 硒蛋氨酸在肝内的蓄积是呈均匀弥散的, 如图 1 所示。在肝脏各叶或肝小叶等部位上没有明显差别存在。

3. 甲状腺 [^{75}Se] 硒蛋氨酸在甲状腺中的蓄积见图 1。放射自显影银粒主要定位在甲状腺的滤泡上皮细胞部位, 滤泡腔内则较少, 在滤泡周围的结缔组织中只有微量银粒呈现。

4. 骨髓 [^{75}Se] 硒蛋氨酸摄入到骨髓腔后, 主要蓄积在骨髓细胞中, 尤以在骨髓的原始细胞中为高, 在髓液中亦有较多银粒弥散存在如图 1 所示。

5. 放射自显影荧光增敏效果 器官组织中的微观放射自显影象在经过两个不同途径荧光增敏过程: (1) 闪烁液直接参入液体乳胶中法(见图 1 中行四图); (2) 覆盖过液体乳胶的标本浸渍于闪烁液中法(见图 1 右行四图)。组织中单位面积($10\ \mu\text{m}^2$)的放射自显影银粒计数表明, 其灵敏度可增升 5-10 倍左右(表 1), 尤以途径(1)的增敏效果更佳, 可增升近 10 倍。

讨 论

在我们探讨的荧光增敏放射自显影中, 对使用将闪烁液直接参入到液体乳胶中的荧光增敏法, 关键是在选用亲水性的二氧六环作为闪

烁剂的溶剂, 使闪烁液与液体乳胶充分混匀, 这样荧光增敏效果可比一般的放射自显影提高近一个数量级, 从而显著缩短曝光时间和减少放射性核素的示踪使用量。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, 原因是放射自显影乳胶标本经闪烁液浸泡处理后, 在室温挥发时析出针状结晶, 形成许多空隙, 致使核射线激发荧光的机率减少, 荧光增敏效果显著降低。而闪烁液直接参入法由于二氧六环闪烁液可与液体乳胶充分混匀, 乳胶中有明胶基质混悬, 在这样的条件下, 析出结晶的可能性就小得多, 所以其增敏效果明显提高。

由于我们对器官组织标本采用了一般组织固定法⁽⁹⁾, 因而在固定、脱水等操作过程中, 使得组织内游离状态的 [^{75}Se] 硒蛋氨酸可完全被洗脱下来, 而与组织蛋白牢固结合的即已参入的 [^{75}Se] 硒蛋氨酸可保留下来, 呈现放射自显影象。如参入到胰腺分泌物合成的部位, 并观察到胰腺摄取 [^{75}Se] 硒蛋氨酸的程度与胰腺的外分泌腺功能相一致。Lahdevirta⁽¹⁰⁾ 也曾使用过 [^{75}Se] 硒蛋氨酸扫描观察到糖尿病患者的胰腺外分泌腺功能与 [^{75}Se] 硒蛋氨酸摄取程度相关, 在肝脏等组织中摄取 [^{75}Se] 硒蛋氨酸的程度同样反映了这些组织蛋白的合成功能。

参 考 文 献

- 1 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. 见:《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

- 2 朱寿彭. 微型放射自显影的荧光增敏研究. 见: 中华医学会江苏分会编. 江苏省第二次原子医学经验交流会资料选编. 第1版. 南京: 江苏科技出版社, 1979: 55-6
- 3 Oldendorf WH. ^{75}Se -methionine reappearance in blood following iv injection. *J Nucl Med* 1963; 4: 231
- 4 Troncone L. La scintigrafia nelle pancreatiti. Fissione e distribuzione della selenometionina- ^{75}Se . *Policlinico* 1970; 77: 1
- 5 Carlesworth D. Radioisotope scanning in the diagnosis of pancreatic disease. *Br J Surg* 1970; 57: 413
- 6 朱寿彭、苏昆源、莫启忠. 放射自显影法探讨钼-147的体内定位. *生理学报* 1980; 32: 272
- 7 朱寿彭. 放射自显影及其荧光增敏研究对体内毒物污染的监测. *中国环境科学* 1982; 1: 39
- 8 朱寿彭、江骥. 用放射自显影术观察 [^{169}Yb] 柠檬酸盐的亲骨特性和药物促排作用. *中国药理学报* 1981; 2: 64
- 9 朱寿彭. 放射自显影术对机体污染放射性核素的监测. *中华预防医学杂志* 1985; 19: 5
- 10 Lahdevirta J. Testing of exocrine function of pancreas in diabetes mellitus by use of ^{75}Se -methionine and of secretin. *Acta Med Scand* 1967; 182: 345

Acta Pharmacologica Sinica 1987 Jan, 8 (1): 93-96

Fluorescence-sensitized autoradiography of tissue incorporation of [^{75}Se]selenomethionine

ZHU Shou-Peng, CHU Xian-Xiang

(Dept Radiotoxicology, Suzhou Medical College, Suzhou 215007)

ABSTRACT A method was studied for rapid preparation of autoradiographs for tissue slices by impregnation of nuclear emulsion with liquid scintillators PPO and POPOP. Mixing liquid scintillators, especially a hydrophilic dioxane solvent, with emulsion allowed also rapid autoradiographic grain production. The tissue distribution of [^{75}Se]selenomethionine by fluorescence-sensitized autoradiography was observed after iv [^{75}Se]selenomethionine 555 kBq/kg. The number of autoradiographic grains/ $10\ \mu\text{m}^2$ was increased by the

scintillator by 5-10 times. The silver grains in the autoradiograms were distributed both in the pancreatic acini and the islets. The acinar cells showed comparatively more grains uptake than the cells of the islets. The incorporation of [^{75}Se]selenomethionine in liver, thyroid gland and bone marrow has also been utilized as an index of tissue protein synthesis.

KEY WORDS fluorescence-sensitized autoradiography; [^{75}Se]selenomethionine; scintillation counting; nuclear emulsions