

文章编号: 1004-0374(2010)02-0197-05

· 技术与方法 ·

^{41}Ca -AMS —— 生物示踪的有力工具

陆丽燕, 何明, 王伟, 姜山*

(中国原子能科学研究院核物理研究所, 北京 102413)

摘要: 钙是人的重要元素, 它对于维持人体各系统的正常功能具有重要作用。缺钙可能导致骨质疏松、动脉硬化、癌症、肾脏疾病、关节炎等多种疾病。另外, 钙离子作为一种细胞信使, 在维持细胞正常功能中起着重要作用。钙同位素示踪技术是研究钙在生物体作用的有效方法, ^{41}Ca 是所有钙的同位素中最佳的示踪剂。随着加速器质谱(AMS)技术的出现, 使 ^{41}Ca 生物示踪成为可能, 灵敏度可以达到 10^{-14} 。 ^{41}Ca 成为一种生物示踪的有力工具, 并广泛应用于生物示踪实验。该文介绍了钙与人的关系、钙的同位素、国内外利用 ^{41}Ca 作为示踪剂开展的研究工作, 并结合 AMS 技术, 对利用 ^{41}Ca 所能开展的更进一步的研究工作进行了讨论。

关键词: ^{41}Ca ; 加速器质谱; 生物示踪; 骨质疏松

中图分类号: O572.2; R817 **文献标识码:** A

^{41}Ca -AMS — a powerful radionuclide for biological tracing

LU Li-yan, HE Ming, WANG Wei, JIANG Shan*

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

Abstract: Calcium is a very important element for human. It is known that calcium deficiency in human body is related to many diseases such as osteoporosis, arteriosclerosis, cancer, kidney diseases, arthritis, and so on. In addition, as a messenger, Ca^{2+} plays an important role in the normal function of cells. The calcium isotope tracing is an effective method to study the behaviors of calcium in human body, and ^{41}Ca is the best tracer in all the calcium isotopes. The AMS (accelerate mass spectrometry) technology has made it possible to determine trace amount of ^{41}Ca , and the sensitivity can arrive at 10^{-14} . So it becomes a powerful radionuclide for biological tracing and widely used in many biological tracing experiments. This article introduces the relationship of calcium and human, the isotopes of calcium, the international studies by ^{41}Ca as a tracer, and also discusses some available works by ^{41}Ca in the future combining with the AMS technology.

Key words: ^{41}Ca ; AMS (accelerate mass spectrometry); biological tracing; osteoporosis

钙广泛分布于人体的细胞和体液之中, 成年人体内钙总量, 约占体重的 2%, 仅次于氧、氢、碳、氮, 居第五位。正常人体内 99% 以上的钙主要以羟基磷灰石的形式沉积在骨骼和牙齿中, 其余 1% 存在于体液和软组织中。

Ca^{2+} 参与、调控众多的生命过程, 维持人体各种正常的生理功能和代谢。 Ca^{2+} 可以直接激活具有重要生理意义的胞内机械活动, 并参与真核细胞跨膜信息传导, 作为胞内第二信使介导胞外信号对胞

内的反应。人体钙通过两种机制来吸收: 肠黏膜的主动吸收和被动扩散吸收。与钙相关的疾病当中, 最为普遍的是骨质疏松病, 它严重威胁着人类的健康, 尤其是中老年人的健康。根据世界卫生组织 (WHO) 的资料, 骨质疏松症已经成为了全球性健康

收稿日期: 2009-07-24; 修回日期: 2009-09-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (10705054)

*通讯作者 Tel: 010-69358335; E-mail: jiangs@ciae.ac.cn

问题,其严重性仅次于心血管病。除了骨质疏松外,研究还发现,如癌症、肾疾病、关节炎等都会引起钙在人体的代谢变化,因此研究钙在人体内的变化对于研究这类疾病有着十分重要的意义。本文正是利用 ^{41}Ca 的生物示踪技术来研究人体骨钙代谢,试图了解钙缺乏病的作用机理,望能作出钙缺乏病的防治方法和建议。

相对于 ^{41}Ca 的生物示踪技术,骨代谢的研究技术有影像学方法(如X射线照相术和CT扫描术)^[1],以及骨代谢生化指标检测技术^[2,3]等。它们的分析灵敏度低,很难在细胞水平上进行定量研究,而 ^{41}Ca 同位素示踪技术的分析灵敏度和可靠性在研究骨代谢中是最有力的工具,这项技术在近几年得到了飞速发展。

1 钙的理想示踪剂—— ^{41}Ca

钙的稳定同位素及其一些放射性同位素列于表1,除了丰度最高的 ^{40}Ca (96.9%),天然丰度较小的其他几种稳定同位素可用于钙的生物示踪,但这些稳定同位素价格较高,它们的天然丰度并不太低,示踪灵敏度也不够高,示踪实验所需的量大,造成实验费用极为昂贵。钙有三个寿命较长的放射性同位素: ^{41}Ca 、 ^{45}Ca 和 ^{47}Ca 。 ^{45}Ca 、 ^{47}Ca 半衰期较短,衰变时发射电子和 γ 射线,有一定的放射性剂量,必然会对生物体产生一定损伤,也不适合长期代谢观察研究。

^{41}Ca 作为生物示踪剂,具有以下几个突出优点:(1)安全性好。 ^{41}Ca 的半衰期为 1.03×10^5 a,衰变方式为EC伴随3.3 keV的X射线发射,放射性非常低,对生物的辐射损伤小。生物示踪实验中 ^{41}Ca 的用量一般为100 ng,其产生的放射性剂量相当于每年0.06 μSv ,小于人体年允许剂量(100~500 μSv)的1%,小于自然界本底的1/30000,因此不用担心 ^{41}Ca 会引起的生物辐射损伤问题。(2)便于长期示踪。 ^{41}Ca 的半衰期很长,在生物的代谢周期内其衰变的量很小,适用于长期的生物示踪实验,可以开展几个月、几年,甚至更长时间的生物示踪研

究。(3)测量灵敏度高。在自然界中 $^{41}\text{Ca}/\text{Ca}$ 仅为 $10^{-14}\sim 10^{-15}$,目前利用AMS测量 ^{41}Ca 的灵敏度已经达到了 $^{41}\text{Ca}/\text{Ca}\sim 10^{-14}$ 。 ^{41}Ca 不仅适合生物体的示踪研究,同时也适合开展细胞水平上的示踪研究,而Ca的其他同位素都无法与 ^{41}Ca 相比。(4)便于生产,用量小。 ^{40}Ca (n, g) ^{41}Ca 的反应截面达410 mb, ^{41}Ca 的制备较为容易, ^{41}Ca 示踪实验的用量很小。

综上所述,不管从辐射安全、经济效益,还是在示踪效果方面,在钙的同位素中, ^{41}Ca 都是最理想的生物医学示踪剂。

但长期以来,由于 ^{41}Ca 特有的衰变性质,不能用衰变计数法测定。另外,由于同量异位素 ^{41}K 和分子离子 ^{40}CaH 的干扰,普通质谱也不能实现对它的高灵敏测量,所以 ^{41}Ca 作为生物医学示踪剂一直没有得到广泛应用。加速器质谱(AMS)出现以后,才使 ^{41}Ca 的高灵敏测量成为现实。

2 ^{41}Ca 的AMS测量

加速器质谱(AMS)技术^[4]是20世纪70年代后期发展起来的一种分析微量核素和探测稀有粒子的新方法。它可以有效排除各种本底干扰(分子本底和同量异位素本底),极大地提高测量灵敏度(同位素原子数比 $\sim 10^{-15}$),是核分析中迄今为止灵敏度最高的核素测量方法。目前,AMS测量的样品用量可以减少到1 mg,相应的最低探测限为 10^{-18} g(10^4 个原子),同位素丰度达到 1×10^{-15} 。主要用于自然界长寿命微含量的宇宙线成因核素的测量,如: ^{14}C 、 ^{10}Be 、 ^{36}Cl 、 ^{26}Al 、 ^{41}Ca 、 ^{129}I 等。这些测量可以广泛地应用于环境科学、生命科学、资源调查、考古学、地质学、海洋学等。

中国原子能科学研究所的AMS测量^[5]是在HI-13大型串列加速器上进行的,目前对 ^{41}Ca 测量灵敏度在 10^{-14} ,达到国际水平,如此高的灵敏度为 ^{41}Ca 的示踪研究奠定了基础。以下简单介绍一下利用 ^{41}Ca 示踪测量生物样品的方法:(1)将 ^{41}Ca 引入到生物体中。对于动物实验,可以利用注射、口服、灌胃等方法,将已知比例的 ^{41}Ca 引入体内;对于细

表1 钙的稳定同位素及其一些放射性同位素

同位素	^{40}Ca	^{41}Ca	^{42}Ca	^{43}Ca	^{44}Ca	^{45}Ca	^{46}Ca	^{47}Ca	^{48}Ca
天然丰度/%	96.941	$10^{-12}\sim 10^{-13}$	0.647	0.135	2.086	0	0.004	0	0.187
半衰期	稳定	$1.03\times 10^5\text{a}$	稳定	稳定	稳定	162.61 d	稳定	4.536 d	稳定
放射性	无	EC+3.3 keV X射线	无	无	无	$\beta+\gamma$	无	$\beta+\gamma$	无

胞实验, 可以将 ^{41}Ca 掺入到培养液或培养基中。(2) 生物样品的收集。对于动物实验, 按一定的时间收集尿样、血样以及其他需要的样品; 对于细胞实验, 在一定时间收集细胞、细胞器和培养液。(3) 生物样品的处理。取适量生物样品, 加一定量氯化钙或硝酸钙载体, 用混合酸进行高温消解, 蒸干。再用化学沉淀和离子交换的方法对样品中的钙进行分离和纯化。加入氢氟酸, 制成可用于AMS测量的 CaF_2 样品。(4) AMS测量。将约4 mg CaF_2 样品与导电介质混合, 用压靶器压入专用靶锥。AMS测量时加速器的端电压选定为8.4 MV, 离子源引出 CaF^- , 碳膜剥离后的电荷态选择 $9+$, 采用交替注入 $^{40}\text{CaF}^-$ 和 $^{41}\text{CaF}^-$ 并分别记录流强和粒子谱的方法测量 $^{41}\text{Ca}/\text{Ca}$ 的值, 得到生物样品中 ^{41}Ca 的含量, 实现生物体中钙示踪研究。

3 ^{41}Ca 在生物示踪中的应用

^{41}Ca 在地球科学、环境科学、核天体物理、生命科学等方面都有着重要的作用, 其中最主要的应用之一就是 ^{41}Ca 作为示踪剂在生物医学中的应用。 ^{41}Ca 示踪法在生物医学中的成功应用有可能为正确认识人体对钙的吸收利用机理, 科学评价各种补钙药物和功能食品的效用, 从而完善骨质疏松症的防治策略提供科学的依据。目前开展的 ^{41}Ca 示踪剂在细胞水平上的应用, 以及对其他各种疾病的防治研究, 也将会为人类健康做出贡献。以下分几个方面分别介绍利用 ^{41}Ca 在生物示踪方面的应用。

3.1 长期钙代谢研究

骨质疏松症是最常见的钙相关疾病, 研究人体骨钙代谢是攻克骨质疏松的重要一环, 因此研究钙在人体内的变化对于研究这类疾病都是有着十分重要的意义的。国际上, 有众多实验室进行过钙代谢方面的研究。以下简单介绍国内外比较有意义的几项研究:

1994年, Hebrew大学的Jonson等与以色列的Paul等合作直接开展了人体的骨钙消融研究^[6]。用125 ng的 ^{41}Ca 以盐溶液的形式静脉注射进入体内, 用AMS测量尿样中的 ^{41}Ca , 取样时间长达900 d。结果表明: 尿样中的 ^{41}Ca 同位素丰度($^{41}\text{Ca}/\text{Ca}$)在注射后的100 d内迅速下降, 从 10^{-7} 下降到 10^{-11} , 在大约100 d以后, 其丰度值改变非常小, 基本保持在 10^{-11} 的水平。

2004年, 美国Livermore国家实验室的Hille-gonds^[7]等开展了用 ^{41}Ca 示踪-AMS方法高效测量人体

骨骼更新率的微小变化的研究。他们发展出了一个人类钙平衡的线性动力学模型, 用这种模型可以探测到个体骨骼更新率10%的变化, 并可以用它来监测与骨骼更新率相关的包括骨质疏松症、癌症、肾脏疾病、关节炎等一系列疾病的发生。同年Livermore实验室与Starford大学合作开展过用 ^{41}Ca 和 ^{45}Ca 示踪骨钙代谢的研究, 示踪达550 d^[8]。另外, Livermore实验室还与California大学合作, 用 ^{41}Ca 示踪-AMS方法测量尿液、血液和唾液评估人体骨骼健康^[9]。

2006年, ETH Zurich实验室和Lawrence Livermore^[10]实验室合作, 开展了长达700 d的 ^{41}Ca 代谢实验, 实验个体为22个绝经后妇女(100 nCi), 实验采用了群体代谢动力学软件NONMEM对测量数据进行了多室模型拟合, 得到了大量关于人体的代谢动力学数据。

2007年, Hebrew大学开展了用 ^{41}Ca 示踪围绝经期妇女长期骨代谢的研究^[11]。实验用AMS方法测量了1位中年妇女在围绝经期共6年时间尿样中的 ^{41}Ca , 得到了围绝经期开始和绝经后代谢变化的数据, 对围绝经期妇女骨折防治具有指导性意义。

在国内, 中国原子能科学研究所的AMS实验室也做了钙代谢相关的工作。以Wistar大鼠为研究对象, 将 ^{41}Ca 用作钙示踪剂, 用卵巢切除法建立骨质疏松模型, 测定大鼠骨质疏松症(OP)发生过程和镓盐治疗过程中钙、与骨钙代谢相关的多种元素和生化指标浓度的变化^[12], 了解OP症发生过程中钙的代谢动力学特征以及镓盐对骨钙转变的影响。

3.2 失重状态钙代谢研究

20世纪60年代, 人类实现了载人航天。航天员进入地球轨道后, 处于一种失重状态, 重力的消失会引起人体各生理系统的变化。在失重飞行引起的所有人体生理系统变化中, 其骨代谢的调节失衡为最严重的危害。其他生理系统的变化在航天飞行中会达到一种新的平衡状态, 返回地面后, 经过一段时间可以很快得到恢复; 但骨钙的丢失却持续发展, 呈进行性加重过程, 出现骨钙代谢紊乱、骨质疏松, 引发全身钙代谢紊乱, 钙异位沉积和尿路结石危险性增大, 严重危害航天员生命安全和飞行任务的顺利执行, 且在返回地面后需要很长时间恢复。今后载人航天的重点在于长期飞行, 太空失重导致航天员骨质疏松引起的危害就更大, 因此对失重状态钙代谢的研究成为航天医学最重要的课题。

中国原子能科学研究所AMS实验室与北京中医

药大学合作开展了中药干预失重骨钙代谢紊乱的初步研究。实验采用Wistar大鼠,用尾吊法模拟失重,采用中药进行干预,并用 ^{41}Ca 进行标记,AMS方法测量 ^{41}Ca 的丰度比^[13]。结果表明,模型大鼠重要承重骨股骨中外源钙的沉积下降,股骨对外源钙的摄取能力可能受到了抑制。

另外,可以进一步采用 ^{41}Ca -AMS示踪方法开展失重大鼠的骨代谢研究。对大鼠肌肉注射 $^{41}\text{CaCl}_2$ 溶液进行标记,进行失重飞行或模拟失重,采集血、尿及粪样,测量样品中 $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 信号的变化,这将有可能为失重引起的钙代谢异常疾病的预测和治疗提供直接证据。

3.3 评价钙剂吸收率

目前投放市场的钙剂种类繁多,质量参差不齐,评价钙剂吸收率显得尤为重要^[14];而钙剂的成份较复杂,钙元素存在多样化学形式,在肠道的离子化程度差异较大,目前在评价钙的吸收率问题上还没有一个权威的方法。评价钙吸收率的方法有很多,如钙平衡法^[15]、同位素示踪法,还有中国原子能科学研究院AMS实验室发展的 ^{41}Ca 标记体内钙库法。

^{41}Ca 标记体内钙库法是在平衡法的基础上,将 ^{41}Ca 同位素以静脉或肌肉注射形式进入人体。待 ^{41}Ca 同位素在体内达到平衡后,即粪钙中放射性同位素丰度与参比组织中的丰度之比相对恒定后,可认为 ^{41}Ca 已经标记了体内钙库。给予一定量市售钙剂灌胃,选择适当的参比组织(如血液)并测定其 ^{41}Ca 同位素丰度,即可将粪中 ^{41}Ca 同位素量换算为内源性粪钙的排泄量,计算得到口服钙剂的净吸收率^[16]。与目前常用的方法相比, ^{41}Ca 标记体内钙库与钙平衡法结合,能较为精确的得到净钙吸收率,且不受待监测化合物中钙的化学形式的限制,可以监测单一成份,也可监测多种钙成份,尤其适合市售成品钙剂的监测,可以科学评价各种补钙药物和功能食品的效用。

中国原子能科学研究院AMS实验室与北京联合大学合作用 ^{41}Ca 标记体内钙库法,开展了测定市售钙剂的净钙吸收率的研究。实验采用血浆作为参比组织,计算出净钙吸收率为69.18%,这比钙平衡法所得的表观吸收率59.15%高出10.03%,避免了钙平衡法的不足,排除了内源性钙的干扰。

3.4 细胞信使

在正常细胞内, Ca^{2+} 作为一种重要信使,通过改变细胞内 Ca^{2+} 浓度来调节细胞的生长和分化,在

细胞新陈代谢中起着十分重要的作用。有研究表明,在致癌物与细胞相互作用引起细胞增殖过程中,胞浆内游离的 Ca^{2+} 浓度不断增高。因此,研究致癌物诱发细胞癌变过程中胞浆内游离钙的浓度变化,查明 Ca^{2+} 浓度与细胞增殖的关系,测定 Ca^{2+} 的来源(来自细胞内、细胞外或两者同时存在),对于致癌物致癌机理的研究具有重要的意义。

迄今已有多种分析技术可用于细胞钙离子的测定^[17],如原子吸收分光光度法、焦锑酸钾沉淀法和电子分光成像技术、荧光法等等。在研究钙离子在细胞内外的流向方面,钙同位素示踪法无需像荧光法那样将外钙内流和内钙释放两个过程分开研究。其中 ^{41}Ca 示踪-AMS技术作为一种新的安全的钙示踪技术,示踪灵敏度更高,在细胞实验中钙流向的检测方面有一定潜力。中国原子能科学研究院AMS实验室在该方面已取得一些进展。岳东方等^[18]、袁媛等^[19]开展了人肺成纤维细胞和兴奋性细胞在致癌物质和毒物刺激下钙离子的运动变化情况,还研究了阻断剂MK-801对外钙内流的阻断效应,都取得了很有意义的成果。

3.5 破骨细胞骨吸收研究

人体骨骼依赖于骨吸收和骨形成之间的动态平衡,当破骨细胞的骨吸收功能超过成骨细胞的骨形成作用后,将导致骨质疏松或骨质破坏。因此,破骨细胞(Osteoclast, OC)是治疗骨质疏松相关疾病的关键。目前,常用的破骨细胞骨吸收研究方法有骨吸收陷窝法和生化检测法,但是这并不能从细胞水平对破骨细胞的吸收行为进行分析与解释。为了获得破骨细胞骨吸收行为方面定量的相关信息,可以使用药物对破骨细胞进行刺激,用钙的同位素 ^{41}Ca 示踪技术进行直接监测。

在国家自然科学基金的支持下,本文作者正在进行 ^{41}Ca -AMS示踪破骨细胞骨吸收实验。目的是建立用 ^{41}Ca 示踪研究SR刺激下破骨细胞骨吸收行为的生物示踪方法,并给出药物(SR)刺激环境下破骨细胞骨钙吸收的定量分析与评价。实验首先制备含 ^{41}Ca 的羟基磷灰石^[20]。进行动物实验,拉颈处死新生SD大鼠,取破骨细胞悬液^[21]。将悬液吸入放置含 ^{41}Ca 骨粉的96孔细胞板培养板内,置于37℃ 5%CO₂培养箱中培养2 h。然后加不同浓度SR^[22](Protelos, Servier公司生产,终浓度 $10^{-6}\sim 10^{-4}$ mol/L)继续培养,等量培养液为正常对照组,益盖宁(elcatoin, 日本旭化成工业株式会社,终浓度 10^{-10} mol/L)为阳性对照。培养3 d后换1次液。分别于1、2、3、

5、7d取破骨细胞和培养液,制成AMS测量样品,进行测量,进一步分析破骨细胞在SR刺激下的吸收行为和破骨作用过程中钙离子的转运情况。本实验可以更好地研究和探讨破骨细胞本身及其活动过程中微环境变化对骨钙吸收行为的影响,可以为破骨细胞性骨吸收研究和缺钙所致疾病的防治提供非常有用的实验数据。

3.6 其他

研究认为,细胞内钙增加是导致高血压的有关因素。流行病学资料表明,口服钙不仅可使原发性高血压病人血清Ca增多、PTH下降、逆转 Ca^{2+} 搬家现象,而且还可降低血压。目前被广泛采用的钙离子拮抗剂是高血压治疗中一类非常重要的药物,临床常用的有硝苯吡啶、异搏定、硫氮唑酮等。我们可以尝试用 ^{41}Ca 示踪研究更好的、副作用更小的此类药物,或许能为高血压患者带来好消息。

另外缺钙还会引起神经系统钙含量增加,使脑功能普遍降低,引起老年性痴呆。许多病理或疾病现象的发生都伴随着细胞内钙浓度的异常改变。反之,内环境钙离子浓度的改变也会导致细胞生理功能的改变,如高钙、低钙时,会导致心肌生理特性改变,出现心肌收缩力过强或过弱,甚至出现停跳或心律失常^[23]。以上所有与 Ca^{2+} 浓度变化相关的疾病,理论上均可用 ^{41}Ca -AMS示踪方法进行研究,我们可以尝试在以后开展这方面的相关工作。

4 结论

综上所述,钙是生命体不可缺少的一种核素,与我们的生命活动息息相关。随着现在人们对健康的重视程度不断提高,对于生命体中钙的研究也将不断深入和广泛。从生理、辐射安全,经济等方面考虑,在钙的同位素中, ^{41}Ca 是最理想的生物医学示踪剂。 ^{41}Ca -AMS方法已广泛应用于长期钙代谢研究、失重状态钙代谢研究、钙剂吸收率评价、细胞信使、破骨细胞骨吸收等。所有与 Ca^{2+} 浓度变化相关的疾病,我们均可用 ^{41}Ca -AMS示踪方法进行研究,并且测量灵敏度高。随着研究的深入,人们对钙的认识将会更加深刻,对 ^{41}Ca 的应用会更加广泛, ^{41}Ca -AMS示踪方法也必将为人类健康做出更大的贡献。

[参 考 文 献]

- [1] Hamaoka T, Madewell JE, Podoloff DA, et al. Bone imaging in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*, 2004, 22(14): 2942-53

- [2] Coleman RE. The clinical use of bone resorption markers in patients with malignant bone disease. *Cancer*, 2002, 94(10): 2521-33
- [3] Kiuchi K, Ishikawa T, Hamaguchi Y, et al. Cross-linked collagen C- and N- telopeptides for an early diagnosis of bone metastasis from breast cancer. *Oncol Rep*, 2002, 9(3): 595-8
- [4] 董克君, 何明, 姜山. 一门十分活跃的核分析技术——加速器质谱(AMS)最新进展. *物理*, 2006, 35(6): 508-3
- [5] 何明, 姜山, 董克君, 等. 中国原子能科学研究院加速器质谱系统及其应用. *质谱学报*, 2004, z1: 209-10
- [6] Johnson RR, Berkovits D, Boaretto E, et al. Calcium resorption from bone in a human studied by ^{41}Ca tracing. *Nucl Instr Meth B*, 1994, 92(1-4): 483-8
- [7] Hillegonds DJ, Fitzgerald R, Herold D, et al. High-Through-out measurement of ^{41}Ca by accelerator mass spectrometry to quantitate small changes in individual human bone turnover rates. *J Assoc Lab Autom*, 2004, 9: 99-102
- [8] Freeman SPHT, Bierman JM, Beck B, et al. The study of skeletal calcium metabolism with ^{41}Ca and ^{45}Ca . *Nucl Instr Meth B*, 2000, 172: 930-3
- [9] Lin YM, Hillegonds DJ, Gertz ER, et al. Protocol for assessing bone health in humans by tracing long-lived ^{41}Ca isotope in urine, serum, and saliva samples. *Anal Biochem*, 2004, Sep 1, 332(1): 193-5
- [10] Denk D, Hillegonds D, Vogel A, et al. Labeling the human skeleton with ^{41}Ca to assess changes in bone calcium metabolism. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 386(6): 1587-602
- [11] Hui SK, Prior J, Gelbart Z, et al. A pilot study of the feasibility of long-term human bone balance during perimenopause using a ^{41}Ca tracer. *Nucl Instr Meth B*, 2007, 259(1): 796-800
- [12] 吴绍雷. ^{41}Ca 加速器质谱的高效测量方法及其在生物示踪方面的应用 [D]. 中国原子能科学研究院. 2009, 7
- [13] 周鹏. 中药对模拟失重大鼠骨骼-肌肉系统干预的初步研究 [D]. 北京中医药大学. 2008, 5
- [14] 米升权, 赵晓红, 姜山等. ^{41}Ca 标记骨质疏松大鼠体内钙库法评价市售补钙剂钙吸收率的研究. *营养学报*, 2008, 30(1): 39-43
- [15] 李世红. $^{41}\text{CaF}_2$ AMS分析方法和骨钙代谢的 ^{41}Ca 示踪研究 [D]. 中国原子能科学研究院. 2006, 6
- [16] 沈洪涛, 姜山, 何明. 钙吸收率分析方法研究. *中国骨质疏松杂志*, 2009, 2(1): 59-64
- [17] 金晖, 刘乃丰. 组织和细胞钙检测方法的进展. *南京铁道医学院学报*, 1997, 16(3): 219-21
- [18] 岳东方, 董克君, 何明, 等. ^{41}Ca 示踪-AMS法测定细胞胞浆内 Ca^{2+} 浓度的方法研究. *原子能科学技术*, 2004, 38(3): 271-4
- [19] 袁媛, 李世红, 姜山, 等. 用 ^{41}Ca -AMS法测定谷氨酸毒性对PC12细胞外钙内流的影响. *核技术*, 2006, 29(11): 821-5
- [20] 童义平. 羟基磷灰石的制备、X-ray衍射表征和成型工艺探讨. *中国陶瓷工业*, 2007, 14(3): 17-20
- [21] 高建军, 金慰芳, 王洪复, 等. 骨片吸收陷窝光镜计数法定量测定破骨细胞功能. *老年医学与保健*, 1997, 3(3): 9-11
- [22] Marie PJ. Effective doses for strontium ranelate. *Osteoporos Int*, 2008, 19(12): 1813
- [23] 刘冬梅. 钙离子的生理作用及与疾病的关系. *卫生职业教育*, 2007, 22(7): 79