

900 MHz 电磁辐射对小鼠自发活动昼夜节律的影响

周振, 姜秉成, 童建, 曹毅

摘要: [目的] 观察 900 MHz 电磁辐射对小鼠自发活动昼夜节律的影响。[方法] 利用自发活动视频分析系统采集 30 只小鼠 24 h 自发活动数据, 绘制动物自发活动的昼夜节律拟合余弦曲线图, 筛选出 18 只具有明显昼夜节律的小鼠, 随机分为对照组、电磁辐射 A 组和电磁辐射 B 组。电磁辐射 A 组和电磁辐射 B 组小鼠分别在昼夜生理节奏时点 (circadian time, CT) 24:00 点和 12:00 点接受 $40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 900 MHz 电磁辐射, 对照组不做任何处理, 比较各组小鼠自发活动度昼夜节律的不同。[结果] 与对照组相比, 电磁辐射 A 组自发活动的昼夜节律曲线中值、振幅以及角频率差异有统计学意义; 与对照组相比, 电磁辐射 B 组各项指标的差异没有统计学意义。[结论] $40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 900 MHz 电磁辐射在 CT0 点照射能够影响小鼠自发活动度的昼夜节律, 而在 CT12 点照射未对小鼠自发活动昼夜节律产生明显影响。

关键词: 电磁辐射; 自发活动; 昼夜节律

Effects of 900MHz Electromagnetic Radiation on Circadian Rhythm of Spontaneous Activity in Mice
ZHOU Zhen, JIANG Bing-cheng, TONG Jian, CAO Yi (School of Radiation Medicine and Public Health, Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215123, China). Address correspondence to CAO Yi, E-mail: yicao@suda.edu.cn

Abstract: [Objective] To study the effect of 900 MHz electromagnetic radiation on circadian rhythm of spontaneous activity in mice. [Methods] The 24-hour spontaneous activities of 30 mice were measured, and the circadian rhythms of spontaneous activity were fitted to cosine curve. Eighteen mice with obvious circadian rhythm were randomly divided into three groups: control group, radiation group A and radiation group B. Mice in radiation group A and radiation group B were exposed to $40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 900 MHz electromagnetic radiation at circadian time (CT) 0 or 12 respectively. The data obtained from different groups were analyzed with cosine model and compared with each other. [Results] The parameters of cosine analysis showed statistical differences in median, amplitude and radian frequency between control group and group A, but, no obvious difference was observed between control group and group B. [Conclusion] The circadian rhythm of spontaneous activity in mice could be influenced by $40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 900 MHz electromagnetic radiation at CT0, but not at CT12.

Key Words: electromagnetic radiation; spontaneous activity; circadian rhythm

国际电信联盟最新公布的统计数据显示, 截至 2010 年底, 手机用户数量已达 52.8 亿户。市场研究公司 (IE Market Research, IEMR) 的报告显示, 到 2010 年, 中国大陆手机用户数量将从 2007 年的 5.40 亿户增长到 7.38 亿户。手机的普及以及频繁使用, 使得电磁辐射所致健康危害越来越受到重视。昼夜节律是最重要的生物节律之一^[1], 研究移动通讯产生的电磁辐射对昼夜节律的影响具有重要意义。

关于生物体昼夜节律的研究, 多集中在细胞及分子水平, 尤其以褪黑素的研究最多, 而整体动物实验, 特别是自发活动的研究较少。自发活动是昼夜节律的外在表现, 能够反映生物体内昼夜节律的变化^[2]。近年来的研究表明, 褪黑素分泌所引起的昼夜节律改变主要以自发活动为外在表现。本实验拟对

LD 光制为光照 12 h/黑暗 12 h 的条件下饲养的小鼠在不同时间段给予电磁辐射, 测定动物的 24 h 自发活动, 经余弦节律软件拟合得出中值、振幅以及时相共 3 个余弦参数, 通过分析 3 个余弦参数的改变, 探讨不同时间点电磁辐射对小鼠自发活动昼夜节律的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

清洁级雌性昆明种小鼠 30 只, 体重 15~20 g, 由苏州大学实验动物中心提供, 自由摄食、饮水, 常规饲养。

1.2 实验设备及仪器

电磁辐射系统由信号发生器 (型号: SN2130J6030, 意大利 PMM 公司)、功率放大器 (型号: SN1012, HD communications Corp) 和吉赫兹模电磁波室 (Gigahertz Transverse Electro Magnetic chamber, GTEM 室, 长 5.67 m、宽 2.83 m、高 2.07 m, 型号: DN6313A, 苏州大学研制) 组成; 有机玻璃照射盒 (分为 12 格, 每个格子长 83 mm、宽 20 mm、高 22 mm); 自发活动视频分析系统 (上海吉量软件科技有限公司); 生物节律单余弦模型分

[基金项目] 江苏省放射医学与防护重点实验室开放课题 (编号: KJS0930)

[作者简介] 周振 (1984—), 男, 硕士生; 研究方向: 放射毒理学; E-mail: zz18913584163@163.com

[通信作者] 曹毅副研究员, E-mail: yicao@suda.edu.cn

[作者单位] 苏州大学放射医学与公共卫生学院, 江苏省放射医学与防护重点实验室, 江苏 苏州 215123

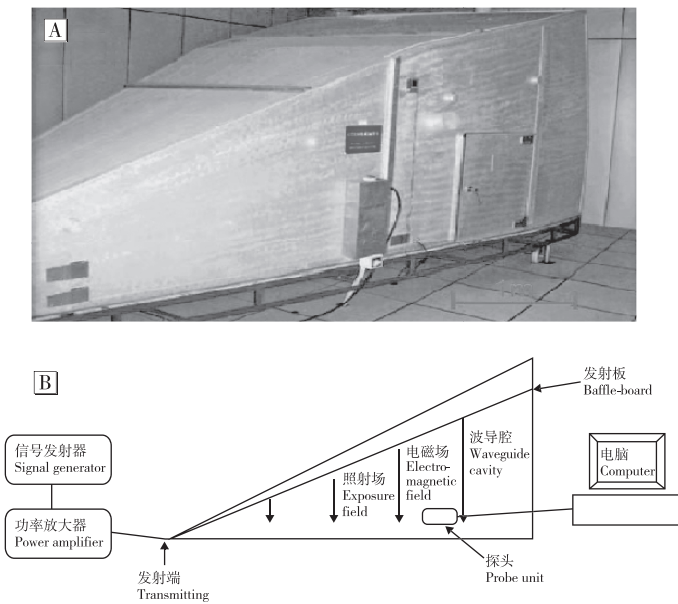
析软件(苏州大学)。

1.3 动物分组及处理

把自然时点转换为昼夜时间(circadian time, CT),将白天起点时间定为CT6点(自然时间早晨9:00时)。30只小鼠在光暗周期为12h/12h的光照下饲养14d,于第15天放入自发活动视频分析系统进行24h自发活动观测。自发活动经余弦节律分析后,筛选出具有明显昼夜节律的小鼠18只,按完全随机设计将动物分为3组,每组6只,分别为对照组、电磁辐射A组和电磁辐射B组。电磁辐射A组和电磁辐射B组分别在CT0点和CT12点两个时间点接受 $40\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 900 MHz电磁辐射,1h/d,连续14d,对照组在CT11点放入GTEM室,但不接受辐射。第15天动物再次进行自发活动观测,记录数据。

1.4 电磁辐射

电磁辐射系统通过信号发生器发出电磁信号,由功率放大器放大输入GTEM电磁辐射室内(图1A),经过室内的天线产生均匀的电磁场,内部电磁场功率密度由探头接收后经电脑读出(图1B)。



[注]A: GTEM室(Gigahertz Transverse Electro Magnetic chamber); B: 电磁辐射系统示意图(schematic diagram of electromagnetic radiation)。

图1 电磁辐射系统

Figure 1 The configuration of electromagnetic radiation system

辐射环境隔光、隔声,环境温度(25 ± 2)℃、湿度50%~70%。小鼠置于有机玻璃照射盒中,进行电磁辐射,连续辐射14d,1h/d。用场强仪测得照射点的功率密度为 $40\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 。对照组小鼠处于相同环境,不施加辐射。

1.5 自发活动观察

暗箱内放置4个独立的有机玻璃盒,大小为 $25\text{cm}\times 25\text{cm}\times 45\text{cm}$,隔光,隔声,小鼠在其中可自由活动,并有摄食、饮水装置。暗箱部配有可以独立开关的人工白炽灯光源和红外线光源。暗箱顶部装有摄像头,可以俯拍小鼠活动径迹,视频信息即时输入相连的电脑,电脑软件分析得出小鼠自发活动的平均速度。光照时间摄像时开白炽灯,黑暗时间摄像时开红外

灯。小鼠放入观察室适应1d,保持与外界隔光状态,在人工光源的控制下观察24h。每2h摄像1次,1次30min,通过软件分析24h内不同时间段小鼠自发活动的平均速度。

1.6 数据处理

1.6.1 余弦分析 由自发活动软件获得平均速度,各组小鼠所得数据以2h为单位取均值,然后用生物节律单余弦模型分析软件进行昼夜节律分析。首先用余弦子图检验小鼠24h活动度是否具有昼夜节律性。在余弦子图中,峰值的座标变换为极座标,以其原点为圆心的圆表示周期,从圆心指向峰值位相的矢量代表振幅(A),以矢量顶点为中心所作的小圆表示其95%的可信区间^[3],小圆处于圆心外,说明自发活动具有昼夜节律性,然后根据方程 $F(t)=M+A\cos(\omega t+\varphi)$ 进行余弦拟合,其中中值M为平均速度的均值,振幅A表示曲线高于或低于中值的程度,峰相位时相 ω 表示节律达到顶峰的时点,根据角频率 φ ($360^\circ/24\text{h}$),换算成CT时点。

1.6.2 统计处理 用SAS 8.1软件对方程各参数进行完全随机设计多组均数比较方差分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 昼夜节律性检验

小鼠接受电磁辐射前自发活动经生物节律单余弦模型分析软件绘出余弦子图(图2),由图2可以看出,小圆均在大圆圆心之外,说明3组小鼠自发活动数据经余弦子图检测均具有余弦节律。

经14d电磁辐射后再次进行自发活动分析,由余弦子图检测昼夜节律(图3),由图3可以看出,电磁辐射组A和电磁辐射组B余弦子图位置发生变化,但依然处于圆心外的可信区间,说明电磁辐射后,小鼠自发活动依然具有昼夜节律。

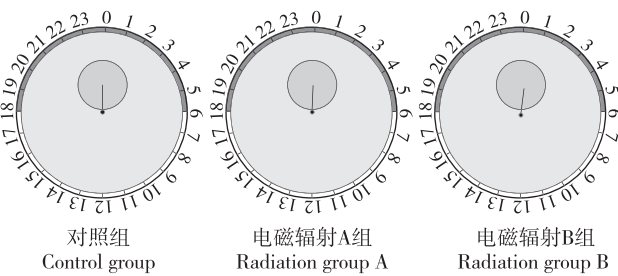


图2 处理前各组小鼠余弦子图

Figure 2 Visualized cosine curves before electromagnetic radiation

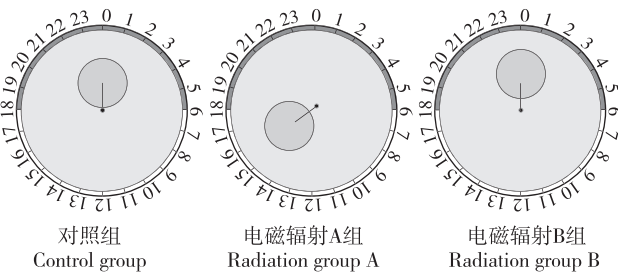


图3 处理后各组小鼠余弦子图

Figure 3 Visualized cosine curves after electromagnetic radiation

2.2 拟合余弦曲线图

电磁辐射后各组小鼠自发活动平均速度均值经生物节律单余弦模型分析软件拟合曲线如图 4 所示。图中横轴白色部分代表白天，黑色部分代表黑夜，CT6 点为白天起点(自然时间早晨 9:00 时)。从图中可以看出，对照组谷值出现在 CT11.76 点，峰值出现在 CT0.24 点，说明动物在自然时间凌晨 3:00 时活动度最高，下午 3:00 时活动度最低。电磁 A 组与对照组相比，中值、振幅均增高，并伴有时相提前。根据余弦图，可以计算出昼夜节律提前了 8 h，动物活动度最高的时间点由凌晨 3:00 提前到晚上 7:00。与对照组相比，B 组中值、振幅变化较 A 组小，未出现明显的时相迁移。

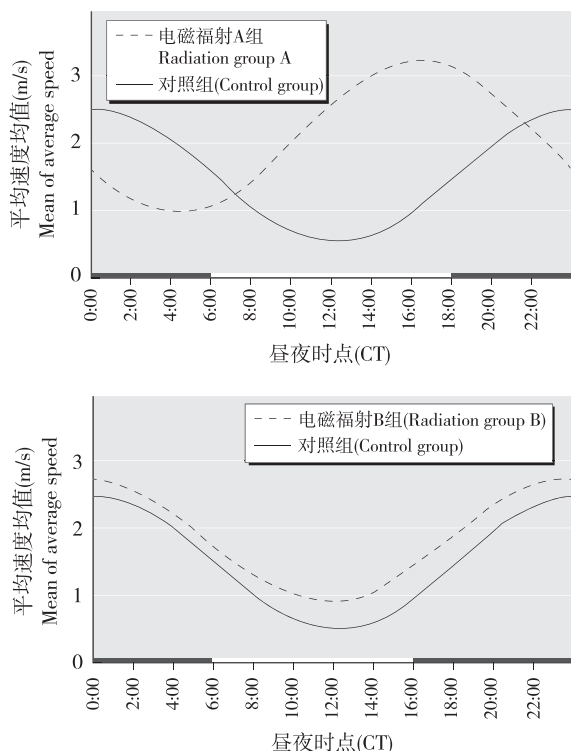


图 4 电磁辐射后小鼠自发活动平均速度拟合余弦曲线图

Figure 4 Fitted cosine curves for average speed of mice spontaneous activity after electromagnetic radiation

2.3 节律参数统计处理

电磁辐射后各组小鼠自发活动平均速度均值经生物节律单余弦模型分析软件拟合出余弦方程： $F(t)=M+A\cos(\omega t+\varphi)$ 包括中值 M ，振幅 A ，角频率 φ 。小鼠自发活动余弦节律各个参数进行完全随机设计多组均数比较方差分析，电磁辐射 A 组中值，振幅较对照组升高，角频率明显低于对照组 ($P<0.05$)。电磁辐射 B 组各参数与对照组相比没有统计学差异 ($P>0.05$)，见表 1。

表 1 电磁辐射后自发活动昼夜节律余弦曲线参数 ($n=6$)

Table 1 Parameters of cosine analysis after electromagnetic radiation

组别 (Group)	中值 M	振幅 A	角频率 φ
对照组 (Control group)	1.23 ± 0.17	1.27 ± 0.15	354.67 ± 3.04
电磁辐射 A 组 (Radiation group A)	1.53 ± 0.26*	1.56 ± 0.18*	242.68 ± 24.24*
电磁辐射 B 组 (Radiation group B)	1.44 ± 0.23	1.28 ± 0.30	345.26 ± 12.26

[注]*: 与对照组相比 (Compared with the control), $P<0.05$ 。

3 讨论

电磁辐射生物效应与辐射剂量密切相关，低剂量时产生“适应性”反应^[4]，高剂量时引起明显的神经行为学改变^[5]。根据《电磁辐射防护规定》(GB 8702—1988)，公众电磁辐射暴露限制为 $40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ，因此本实验选择 $40 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ 功率密度作为照射剂量，结果显示电磁辐射在 CT0 点照射能够引起自发活动的昼夜节律性改变，说明功率密度即便不超过国家标准，其健康影响依然值得重视。

电磁辐射对哺乳动物褪黑素分泌的影响一直存在争议。虽然 MANN 等^[6]与 VOLLRATH 等^[7]的研究证实短期电磁辐射对大鼠的褪黑素分泌没有影响，但 BURCH 等^[8]的人群研究证实电磁辐射抑制人体褪黑素的分泌。研究表明，哺乳动物的内源性生物钟位于视交叉上核 (suprachiasmatic nucleus, SCN)^[9]，外源性信号经视网膜传导至 SCN，SCN 通过一系列神经和体液信号传导途径从而调节动物松果体内褪黑素的分泌水平^[2]。研究发现在 SCN 中存在的大量褪黑素受体 (melatonin receptor, MT)，表明 SCN 同时又受到褪黑素的反馈调节^[10]。本次研究证实夜间电磁辐射导致实验动物自发活动拟合曲线的中值、振幅增高以及时相提前，提示实验动物自发活动昼夜节律的改变，可能是电磁辐射改变褪黑素的分泌水平所致，这需要进一步的实验证实。

本研究中实验动物的余弦拟合曲线峰值位于 CT0 点，谷值位于 CT12 点，与以往文献报道相一致^[8]，以此分为 CT0 点和 CT12 点两个不同的时间段进行电磁辐射。电磁辐射 A 组在 CT0 点辐射后自发活动拟合曲线中值、振幅增高以及时相的提前，证实黑夜给予电磁辐射导致昼夜节律发生改变。哺乳动物褪黑素分泌呈现昼低夜高的规律，光照能够抑制哺乳动物褪黑素的分泌^[11-13]。本实验中电磁辐射 B 组在 CT12 点照射，昼夜节律未出现明显改变，可能是由于 B 组辐射处于白天，光照射对昼夜节律的影响掩盖了电磁辐射的影响。夜间不同时点的光照对昼夜节律的影响也不相同，文献报道在夜晚的中间时点给予光照导致昼夜节律时相提前^[14]，本研究中夜晚中间时点给予电磁辐射同样导致了时相提前。光照通过视网膜-SCN-松果体途径对褪黑素的影响机制，可以为探讨电磁辐射对昼夜节律的影响机制提供线索。

本实验所采用的电磁辐射频率为 900 MHz，正是目前大部分移动通信设备的信号频率。人体昼夜节律改变会导致神经衰弱、失眠、多梦等症状。为了降低电磁辐射对人体昼夜节律的影响，应尽量减少通信设备的使用频次，尤其建议在睡眠期间应远离手机等通信工具。

参考文献:

- [1] 赵瑛. 人体昼夜节律和健康[J]. 生物学通报, 1999, 34(8): 18-20.
- [2] KORF HW, VON GALL C. Mice, melatonin and the circadian system [J]. Mol Cell Endocrinol, 2006, 252(1/2): 57-68.
- [3] 童建. 余弦分析法在生物节律研究中的应用[J]. 中国卫生统计, 1991, 8(1): 23-25.
- [4] CAO Y, XU Q, JIN ZD, et al. Induction of adaptive response: pre-exposure of mice to 900 MHz radiofrequency fields reduces

- hematopoietic damage caused by subsequent exposure to ionising radiation[J]. *Int J Radiat Biol*, 2011, 87(7): 720-728.
- [5] 王丽峰, 胡向军, 彭瑞云, 等. 高功率微波辐射后小鼠行为学变化研究[J]. *中国行为医学科学*, 2005, 14(1): 32-34.
- [6] MANN K, WAGNER P, BRUNN G, et al. Effects of pulsed high-frequency electromagnetic fields on the neuroendocrine system[J]. *Neuroendocrinology*, 1998, 67(2): 139-144.
- [7] VOLLRATH L, SPESSERT R, KRATZSCH T, et al. No short-term effects of high-frequency electromagnetic fields on the mammalian pineal gland[J]. *Bioelectromagnetics*, 1997, 18(5): 376-387.
- [8] BURCH JB, REIF JS, NOONAN CW, et al. Melatonin metabolite excretion among cellular telephone users[J]. *Int J Radiat Biol*, 2002, 78(1): 1029-1036.
- [9] PUSAK B, ZUCKER I. Neural regulation of circadian rhythms[J]. *Physiol Rev*, 1979, 59(3): 449-526.
- [10] HAMADA T, OOTOMI M, HORIKAWA K, et al. The expression of the melatonin synthesis enzyme: arylalkylamine *N*-acetyltransferase in the suprachiasmatic nucleus of rat brain[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 258(3): 772-777.
- [11] JEAN-LOUIS G, KRIPKE DF, ELLIOTT JA, et al. Daily illumination exposure and melatonin: influence of ophthalmic dysfunction and sleep duration[J]. *J Circadian Rhythms*, 2005, 3: 13.
- [12] GRIEFAHN B, KÜNEMUND C, BLASZKEWICZ M, et al. Effects of electromagnetic radiation (bright light, extremely low-frequency magnetic fields, infrared radiation) on the circadian rhythm of melatonin synthesis, rectal temperature, and heart rate[J]. *Ind Health*, 2002, 40(4): 320-327.
- [13] BEERSMA DG, COMAS M, HUT RA, et al. The progression of circadian phase during light exposure in animals and humans[J]. *J Biol Rhythms*, 2009, 24(2): 153-160.
- [14] ZEITZER JM, DIJK DJ, KRONAUER R, et al. Sensitivity of the human circadian pacemaker to nocturnal light: melatonin phase resetting and suppression[J]. *J Physiol*, 2000, 526(pt3): 695-702.
- (收稿日期: 2011-03-21)
(英文编审: 薛寿征; 编辑: 王晓宇; 校对: 张晶)

(上接第 674 页)

- 病状况研究. *中华疾病控制杂志*, 2010, 14(9): 857-859.
- [3] 连文远. 计划免疫学[M]. 2版. 上海: 科学技术文献出版社, 2001: 496-524.
- [4] LOLEKHA S, WARACHIT B, HIRUNYACHOTE A, et al. Protective efficacy of hepatitis B vaccine without HBIG in infants of HBeAg-positive carrier mothers in Thailand[J]. *Vaccine*, 2002, 20(31/32): 3739-3743.
- [5] 陈浩云. 新生儿对乙肝疫苗免疫应答的临床观察[J]. *实用肝脏病杂志*, 2005, 8(6): 356-357.
- [6] KRÄMER A, SOMMER D, HAHN EG, et al. German experimental hepatitis B vaccine-influence of variation of dosage schedule, sex and age differences on immunogenicity in health care workers. *Klin Wochenschr*, 1986, 64(15): 688-694.
- [7] 黎健, 李燕婷, 吴寰宇, 等. 上海市 599 名 15 岁以下儿童乙肝感染危险因素的研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2010, 31(5): 530-533.
- [8] 马景臣, 韩彩芝, 齐顺祥, 等. 乙肝疫苗预防效果影响因素的巢式病例对照研究[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2008, 22(3): 201-204.
- [9] 缪雪雁, 梁争论. 细胞免疫和遗传因素对乙肝疫苗阻断母婴传播效果的影响[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2006, 26(12): 1070-1075.
- [10] 李燕婷. 上海市新生儿乙肝疫苗持久性和加强免疫研究[J]. *疾病监测*, 2000, 15(70): 245-247.
- [11] 李燕婷. 乙肝病毒表面抗体衰减儿童加强免疫效果研究[J]. *中国疫苗与免疫*, 2008, 14(2): 144-146.
- (收稿日期: 2011-06-23)
(英文编审: 薛寿征; 编辑: 王晓宇; 校对: 徐新春)