



2 650 MHz射频辐射对小鼠行为学和海马神经递质释放的影响

刘玉杰, 王俊, 李刻勤, 常晨旭, 刘莹, 左红艳, 李杨, 杨鸿, 郝延辉, 邓桦

引用本文:

刘玉杰, 王俊, 李刻勤, 常晨旭, 刘莹, 左红艳, 李杨, 杨鸿, 郝延辉, 邓桦. 2 650 MHz射频辐射对小鼠行为学和海马神经递质释放的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2024, 44(5): 354–360.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn112271-20231225-00221>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

NLRP3炎性小体抑制剂MCC950对辐射所致认知障碍的保护作用

MCC950, a NLRP3 inflammasome inhibitor, prevents radiation-induced cognitive impairment in mice

中华放射医学与防护杂志. 2020, 40(10): 733–739 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2020.10.001>

中药组合物对氡暴露小鼠肺组织及支气管上皮细胞损伤的防护作用

Protective effect of the Chinese medicine composition on the radon exposure induced injuries in mice lung and bronchial epithelial cells

中华放射医学与防护杂志. 2021, 41(8): 587–594 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2021.08.005>

α -硫辛酸对小鼠耳蜗带状突触的辐射保护作用

Protective effect of α -lipoic acid on cochlear ribbon synapses in mice injured by ionizing radiation

中华放射医学与防护杂志. 2021, 41(8): 609–614 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2021.08.008>

分割照射对肝癌移植瘤小鼠脾脏免疫细胞的影响

Effect of fractionated radiotherapy of transplanted hepatocellular carcinoma on the splenic immune cells in mice

中华放射医学与防护杂志. 2020, 40(2): 82–87 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2020.02.002>

TLR2下游辐射防护关键miRNA筛选及miR-21功能验证

Screening of the key miRNA downstream of TLR2 and validating the function of miR-21 in radioprotection

中华放射医学与防护杂志. 2020, 40(8): 582–589 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2020.08.002>

2 650 MHz 射频辐射对小鼠行为学和海马神经递质释放的影响

刘玉杰^{1,2} 王俊² 李刻勤^{1,2} 常晨旭² 刘莹² 左红艳² 李杨² 杨鸿¹
郝延辉² 邓桦¹

¹佛山科学技术学院生命科学与工程学院, 佛山 528225; ²军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所, 北京 100850

通信作者: 邓桦, Email: denghua@fosu.edu.cn

【摘要】 目的 探讨 2 650 MHz 射频暴露对小鼠行为学和神经递质释放的影响。**方法** 采用随机数表法将成年雄性 C57BL/6N 小鼠分为健康对照组 (CON) 和射频辐射组 (RFR); 采用 2 650 MHz 射频电磁场对小鼠进行全身均匀暴露, 时间为单次 3 h。采用电磁辐射分析仪检测射频辐射平台有效工作区的场强分布; 光纤测温仪监测射频暴露过程中小鼠肛温的变化; 采用新物体识别、社交偏好和旷场实验检测小鼠认知、社交和情绪的改变; 微透析采样和质谱法检测小鼠海马神经递质释放水平的变化; 显微镜观察海马组织结构和超微结构的变化。**结果** 本实验条件下射频辐射引起小鼠肛温升高最大为 0.61℃, 在热安全的范围之内。在新物体识别实验中, 射频辐射组小鼠探索新物体的次数占比和时间占比 ($t=4.50$ 、 2.53 , $P<0.05$) 均显著下降; 社交实验射频辐射组小鼠探索同类的次数 ($t=0.08$, $P<0.01$) 和时间 ($t=0.03$, $P<0.05$) 显著下降; 旷场实验射频辐射组小鼠探索中央区域的次数、时间未见明显改变 ($P>0.05$)。与健康对照组相比, 射频辐射组小鼠海马 5-羟色胺释放增加 ($t=-2.56$, $P<0.05$), 乙酰胆碱释放减少 ($t=2.21$, $P<0.05$), 谷氨酸和 γ -氨基丁酸的释放差异无统计学意义 ($P>0.05$)。与健康对照组相比, 射频辐射组小鼠海马组织结构和突触超微结构未见明显损伤。**结论** 2 650 MHz 射频辐射引起小鼠认知功能损伤和社交偏好异常, 上述变化与射频暴露导致的神经元功能异常和递质释放紊乱相关。

【关键词】 射频辐射; 认知; 社交; 情绪; 神经递质

Effects of 2 650 MHz radiofrequency radiation on the behavior and hippocampal neurotransmitter release of mice

Liu Yujie^{1,2}, Wang Jun², Li Keqin^{1,2}, Chang Chenxu², Liu Ying², Zuo Hongyan², Li Yang², Yang Hong¹, Hao Yanhui², Deng Hua¹

¹College of Life Science and Engineering, Foshan University, Foshan 528225, China; ²Beijing Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences of the PLA Academy of Military Science, Beijing 100850, China

Corresponding author: Deng Hua, Email: denghua@fosu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the effects of 2 650 MHz radiofrequency (RF) exposure on the behavior and neurotransmitter release of mice. **Methods** Adult male C57BL/6N mice were divided into a normal control (CON) group and a radiofrequency radiation (RFR) group using the random number table method. The mice in the RFR group were subjected to single-dose whole-body exposure to a uniform 2 650 MHz RF electromagnetic field for 3 h. During the RF exposure, the field strength in the effective working area of the RF radiation platform was measured using an electromagnetic radiation analyzer, and

DOI:10.3760/cma.j.cn112271-20231225-00221

收稿日期 2023-12-25 本文编辑 张琳

引用本文: 刘玉杰, 王俊, 李刻勤, 等. 2 650 MHz 射频辐射对小鼠行为学和海马神经递质释放的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2024, 44(5):354-360. DOI:10.3760/cma.j.cn112271-20231225-00221.

Liu YJ, Wang J, Li KQ, et al. Effects of 2 650 MHz radiofrequency radiation on the behavior and hippocampal neurotransmitter release of mice[J]. Chin Radiol Med Prot, 2024, 44(5):354-360. DOI:10.3760/cma.j.cn112271-20231225-00221.

the changes in the anal temperature of the mice were monitored using an optical fiber thermometer. Moreover, the changes in the cognition, social interaction, and emotion of the mice were determined through the new object recognition test, social preference test, and open field test. Finally, the changes in the hippocampal neurotransmitter release levels of the mice were detected using microdialysis sampling and mass spectrometry, and the changes in the hippocampal tissue structure and ultrastructure were observed via microscopy. **Results** Under the test conditions, RF radiation improved the anal temperature of the mice, with a maximum increasing amplitude of 0.61℃, falling within the range of thermal safety. The mice in the RFR group experienced a significant decrease in the frequency and time for exploring new objects ($t=4.50, 2.53, P<0.05$) in the new object recognition test, a significant decrease in the frequency ($t=0.08, P<0.01$) and time ($t=0.03, P<0.05$) for exploring other mice in the social preference test, and no significant change in the frequency and time for exploring the central area ($P>0.05$) in the open field test. Compared to the CON group, the RFR group showed an increase in the release of 5-hydroxytryptamine (5-HT) ($t=-2.56, P<0.05$) and a decrease in the release of acetylcholine (ACh) ($t=2.21, P<0.05$), no significant difference in the release of glutamate (Glu) and γ -aminobutyric acid (GABA) ($P>0.05$), and no evident damage to the hippocampal tissue and structure and synaptic ultrastructure. **Conclusions** 2 650 MHz RF radiation may induce cognitive impairment and abnormal social preference in mice, which is attributed to neuronal dysfunctions and neurotransmitter release disorders under RF exposure.

【 Key words 】 Radiofrequency radiation; Cognition; Social behavior; Emotion; Neurotransmitter

随着科学技术的迅速发展,移动通信已经进入 5G 时代。中国互联网络信息中心发布的《中国互联网络发展状况统计报告》显示,自 2022 年 12 月至 2023 年 6 月我国网民人均每天接触手机的时长 $\geq 3\text{ h}^{[1]}$ 。目前关于电磁场生物效应的研究主要以 3G 和 4G 通讯频段为主。随着 5G 通讯技术的发展和广泛应用,5G 射频电磁场(radio-frequency electromagnetic fields, RF-EMFs)是否会对人体健康产生不利影响尚需进一步评估^[2]。射频辐射(radiofrequency radiation, RFR)对中枢神经系统功能的影响尚存争议,其作用机制不明。一方面,有些研究采用流行病学调查和动物行为学实验研究发现,频率为 1 800 和 2 450 MHz 等的 RFR 短期或长期暴露可导致神经系统损伤,表现为学习记忆能力下降、睡眠紊乱、脑电图异常等^[3-5];另一方面,有的研究发现 RFR 对神经系统未见明显的损伤效应^[6]。此外,目前大部分研究关注射频暴露终止后神经系统结构和功能的变化,在射频实时暴露条件下能否干扰和影响神经系统功能的相关研究鲜有报道。

本研究采用 C57BL/6N 小鼠作为研究对象,模拟 5G 通讯中常使用的 2 650 MHz RFR 环境进行全身暴露,评估其对小鼠的安全性,以期 5G 射频暴露对神经系统的影响提供实验依据。

材料与方法

1. 动物及分组: 采用 SPF 级雄性 C57BL/6N

小鼠 99 只,6~8 周龄,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号: SCXK(京) 2021-0006。饲养环境: 室温 22~24℃,湿度 50%~60%,昼夜节律(12 h/12 h),自由进食饮水。对小鼠进行适应性饲养 1 周后用于实验检测。将上述小鼠进行编号,按照随机数表法分为健康对照组(CON)和射频辐射组(RFR),每组各 10 只。

2. 仪器与主要试剂: 电磁混响室照射系统(reverberation chamber, RC, 深圳天许通信技术有限公司); 电磁辐射分析仪(NBM-550, 德国 Narda 公司); 光纤温度检测系统(THR-NC-1084C, 加拿大 Fiso 公司); 旷场实验系统(南京千奥星科生物科技有限公司); 微透析系统(瑞典 CMA 公司), 微透析探针(CMA7, 瑞典 CMA 公司); ANY-maze 动物行为分析系统(7.16, 美国 Stoelting 公司); XSelec HSS T3 色谱柱(186004788, 美国 Waters 公司); 全景数字扫描系统(Pannoramic MIDI, 匈牙利 3DHISTECH 公司); Sim4Life 三维人体组织医学电磁仿真软件平台(Version 6.2, 瑞士 IT'IS 基金会)。

3. RC 有效工作区场强检测: RC 是由信号源、功率放大器、天线、双层铜网屏蔽体、电磁搅拌器和中央区动物暴露平台等构成的,在电磁搅拌器的作用下,可在中央有效工作区产生相对均匀的各向同性 RF-EMFs,适用于小鼠全身均匀暴露^[7]。

场强测量方法: 将 NBM-550 电磁辐射分析仪

探头放置于电磁混响室有效工作区中心点, 分析仪通过数据连接线外接电脑, 可通过 NBM-TS-V4 软件实时记录和观察场强变化。首先开启信号源、功率放大器、射频天线和电磁搅拌器, 按照实验条件设置对载频、电平等参数进行设定, 待开机预热 30 min 后对 RC 有效工作区进行场强测定; 将 RC 40 cm × 40 cm 有效工作区等分为 4×4 的 16 个网格, 每个网格区域大小为 10 cm × 10 cm, 检测时将电磁辐射分析仪探头置于每个网格的中心点, 每隔 1 s 记录一次场强值, 共记录 6 min, 取平均值作为该区域场强 (V/m), 采用 Sim4Life 软件对小鼠比吸收率 (specific absorption rate, SAR) 进行仿真模拟计算。

4. 小鼠核心温度测量: 将小鼠放入有机玻璃制成的固定容器内, 该容器周壁均匀分布孔洞以保证散热, 检测时将上述固定装置放置于 RC 有效工作区中央位置, 由直肠插入温度检测仪光纤传感器 (直径 2.5 mm), 深度约 7 mm。在稳定 2 min 后开始记录, 于 RC 开机前 (3 min)、辐射过程中 (15 min) 和关机后 (3 min) 监测小鼠肛温的变化。

5. 小鼠电磁辐射方法: 本研究采用 2 650 MHz RF-EMFs (连续波) 作为信号源参数, 将 RFR 组小鼠置于辐射盒在电磁混响室有效工作区进行全身均匀暴露, 持续时间为单次 3 h。CON 组进行同等条件的假辐射, 其余操作与 RFR 组保持相同。

6. 新物体识别实验: 小鼠按随机数表法分为 CON 组和 RFR 组, 每组 10 只。本实验所用行为学箱不含金属物质, 不对 RC 辐射场强度和均匀度产生干扰。新物体识别实验包括适应期、训练期和测试期, 用于检测小鼠认知能力的变化。首先将小鼠置于 RF-EMFs 预暴露 3 h 后, 持续在 RFR 实时暴露过程中和暴露终止后 1 d 进行新物体识别实验。将小鼠面向内壁放入旷场箱自由活动 5 min, 以消除环境应激和恐惧; 在旷场箱中距离两侧壁 10 cm 对角放入 2 个相同的物体 (A 和 B), 让小鼠自由探索 5 min; 将 A 替换为新物体 C, 允许小鼠继续自由探索 5 min, ANY-maze 记录小鼠分别对两物体的接触次数和时间, 计算新物体辨别指数 (recognition index, RI) 和时间占比 (exploration time ratio, ETR), 公式为: $RI = \frac{\text{新物体次数}}{\text{新物体次数} + \text{旧物体次数}} \times 100\%$, $ETR = \frac{\text{新物体时间}}{\text{新物体时间} + \text{旧物体时间}} \times 100\%$ 。使用 75% 乙醇擦拭行为学箱消除气味的干扰, 开始测试下一只小鼠。

7. 社交实验: 将小鼠按照随机数表法分为 CON 组和 RFR 组, 每组 10 只, 另选择 2 只陌生小鼠单笼饲养, 和假鼠模型一起作为实验小鼠的社交对象。本实验所用行为学箱不含金属物质, 不对 RC 辐射场强度和均匀度产生干扰。采用 RF-EMFs 对小鼠进行预暴露 3 h 后, 在连续 RFR 实时暴露过程中和暴露终止后 1 d 进行 10 min 社交实验检测小鼠社交偏好的变化。首先, 将实验小鼠面向内壁放入旷场箱自由活动 5 min, 以消除环境应激; 然后, 将陌生小鼠与模型小鼠分别放入束缚容器 (亚克力圆形照射盒) 中, 对角距离两壁 5 cm 放置在旷场箱中, 采用 ANY-maze 记录 5 min 内小鼠接触陌生同类和假鼠模型的次数和时间, 作为评估小鼠的社交偏好的指标。在开始下一只小鼠测试之前, 使用 75% 乙醇擦拭除味。

8. 旷场实验: 将小鼠按随机数表法分为 CON 组和 RFR 组, 每组 10 只。本实验所用行为学箱不含金属物质, 不对 RC 辐射场强度和均匀度产生干扰。于实验开始前, 将小鼠放入行为学室对环境 and 操作者进行适应, 30 min/d, 连续 3 d。检测时先将小鼠置于 RF-EMFs 预暴露 3 h, 紧接着在 RFR 实时暴露过程中和暴露终止后 1 d 进行 5 min 旷场实验, 检测小鼠自主行为学和情绪的变化。从固定位置将小鼠面向内壁放入旷场箱, 允许小鼠自由探索 5 min, 采用 ANY-maze 对小鼠的运动轨迹进行记录, 分析小鼠运动的总路程、进入中央区的次数及停留时间, 作为小鼠焦虑样行为的指标。在开始下一只小鼠测试之前, 使用 75% 乙醇擦拭行为学箱并晾干, 以消除气味的干扰。

9. 微透析检测神经递质水平变化: 使用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉小鼠 (50 mg/kg), 备皮和消毒后, 将小鼠头颅固定于脑立体定位仪, 垂直埋入非金属套管, 套管尖端坐标为海马 (X: -2.06 mm; Y: 1.5 mm; Z: -1.2 mm), 术后恢复 7 d 用于实验检测。实验开始时, 移除套管封堵, 缓慢插入微透析探针, 探针半透膜长 1 mm, 位于海马 CA1 和 DG 区, 然后连接微量注射泵和冷冻收集仪。之后将小鼠置于 RC 有效工作区同步进行 RFR 或假辐射, 首先用微量注射泵注入复方氯化钠灌流平衡 1 h (流速 0.5 $\mu\text{L}/\text{min}$), 舍弃平衡的废液继续灌流 120 min, 共收集 60 μL 透析液暂存于冷冻收集仪中, 保持 4℃ 恒温; 全部收集结束将透析液长期保存在 -80℃ 冰箱。

质谱法检测：进行样本前处理，将每 10 μl 透析液依次加入 10 μl 100 mmol/L 4-碳酸钠、10 μl BzCl [2% (V/V) 乙腈溶液] 和 5 μl 内标混合物，每次加入后涡旋混合，20℃ 环境中放置 5 min 后，12 000 r/min，离心半径 5 cm，离心 10 min。取上清 24 μl ，加入 6 μl 内标混合物涡旋混合，进样。内标混合物的配置将苯甲酰氯换为 d-5 苯甲酰氯，其他与样本前处理相同。使用 XSelect HSS T3 色谱柱 (2.5 μm , 2.1 mm \times 50 mm)；流动相为 A (水，含 0.05% 甲酸)；B (甲醇，含 0.05% 甲酸)，进行梯度洗脱，流速为 0.3 ml/min；柱温为 30℃；样品室温度为 6℃；进样量为 1 μl 。进而检测和分析小鼠海马透析液神经递质 5-羟色胺 (5-HT)、乙酰胆碱 (ACh)、谷氨酸 (Glu) 和 γ -氨基丁酸 (GABA) 浓度的变化。

10. 小鼠海马组织形态观察：将小鼠进行编号，采用随机数表法分为 CON 组和 RFR 组，每组样本量为 6 只。于 RF-EMFs 暴露后即刻和 1 d，采用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射对小鼠进行麻醉 (50 mg/kg)，断头处死，于冰上剥离小鼠脑组织，放入缓冲甲醛溶液中固定。进行常规石蜡切片，苏木素-伊红染色，使用全景数字扫描系统进行观察和分析。

11. 小鼠海马组织突触结构观察：将小鼠按照随机数表法分为 CON 组和 RFR 组，每组 3 只，采用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉小鼠 (50 mg/kg)，于冰上剥离小鼠海马组织，放入 2.5% 戊二醛溶液固定。磷酸盐缓冲液漂洗 3 次，每次 15 min，用 1% 锇酸溶液重新固定样品 1~2 h 后，经无水乙醇和丙酮常规梯度脱水，使用环氧树脂与丙酮的混合液半浸透；纯环氧树脂浸透过夜。利用超薄切

片机进行切片处理，厚度为 60 nm，切片放置在载网上，醋酸铀避光对样品进行染色处理 20 min，枸橼酸铅避光染色 15 min 后，于透射电镜下观察。

12. 统计学处理：使用 SPSS 27.0.1 软件分析数据，数据符合正态分布，以 $\bar{x} \pm s$ 表示。本实验采用单因素两水平的实验设计，采用 Student's *t* 检验进行统计学分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 电磁混响室 2 650 MHz 有效工作区场强分布及核心温度变化：电磁混响室结构如图 1 所示，根据检测结果，本实验条件下 RC 有效工作区场强范围为 160~220 V/m，平均场强为 191.88 V/m。采用使用 Sim4Life 软件进行建模和仿真计算，小鼠 RFR 全身平均比吸收率约为 7.3 W/kg。

2. 小鼠核心温度变化：在 RFR 开始前 3 min 检测结果显示，在本实验环境下小鼠基础肛温为 36.58℃；在小鼠暴露于 2 650 MHz 电磁混响室过程中，在暴露开始 9 min 后小鼠肛温趋于稳定，肛温上升最大为 0.61℃，此时小鼠体温变化在热安全范围之内。

3. 小鼠认知能力的改变：通过新物体识别实验发现，与 CON 组相比，RFR 组小鼠的新物体辨别指数以及新物体接触时间占比显著降低 ($t = 4.50$ 、 2.53 , $P < 0.05$)，1 d 后两组小鼠差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 1。表明 2 650 MHz RFR 持续暴露 3 h 可导致小鼠的认知能力下降，这种损伤在脱离辐射环境 1 d 后恢复。

4. 小鼠社交偏好的改变：在社交实验中，与 CON 组相比，RFR 组小鼠接触陌生同类的次数和

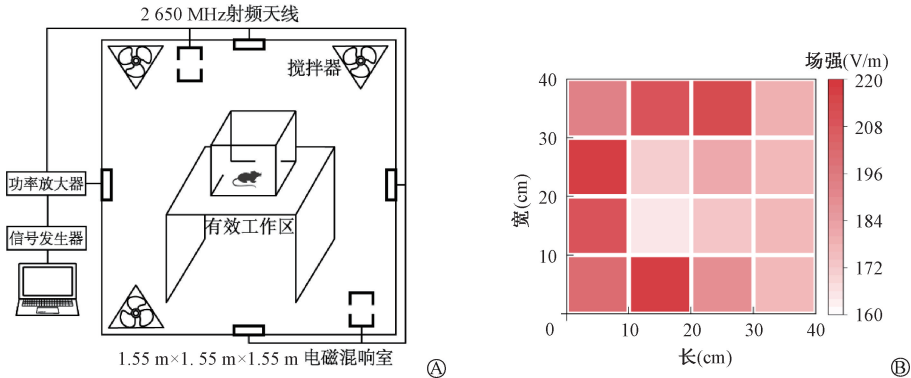


图 1 电磁混响室内场强分布 A. 电磁混响室示意图；B. 有效工作区场强分布情况
Figure 1 Field strength distribution in electromagnetic reverberation chamber A. Schematic diagram of the electromagnetic reverberation chamber; B. Field strength distribution in the effective working area

时间显著下降 ($t = 0.08、0.03, P < 0.05$), 1 d 后两组小鼠的接触次数和时间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。提示 2 650 MHz RFR 实时暴露会影响小鼠的社交偏好。

5. 小鼠焦虑样行为变化: 在旷场实验中, 与 CON 组相比, RFR 组小鼠进入中央区域次数、中央区域停留时间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示频率为 2 650 MHz RFR 持续暴露 3 h 对小鼠的自主行为无明显影响, 未导致明显的焦虑样行为。

6. 神经递质释放的改变: 微透析实验结果显示, 与 CON 组相比, RFR 组 5-HT 的释放增加, ACh 的释放减少, 差异具有统计学意义 ($t = -2.56、2.21, P < 0.05$); Glu 和 GABA 的含量未见显著变化 ($P > 0.05$), 见表 3。表明本实验条件下, 2 650 MHz RFR 暴露会影响小鼠海马锥体神经元神经递质的释放功能。

7. 小鼠脑海马神经元形态改变: 苏木素-伊红染色结果显示, CON 组小鼠海马组织结构正常, 神经元核大而圆, 呈淡染色, 形态正常, 分布均一, 血管周围细胞间隙正常; RFR 组海马组织结构与 CON 组相比未见明显改变。表明本实验条件下, 2 650 MHz RFR 未观察到小鼠海马组织明显的结构损伤。

8. 小鼠脑海马组织突触结构的改变: CON 组与 RFR 组小鼠海马组织突触形态正常, 前后膜边界清晰完整, 突触间隙与致密区厚度均一, 两组小鼠海马组织突触结构未见明显改变。表明本实验条件下, 2 650 MHz RFR 对小鼠海马组织突触超微结构无明显影响。

讨 论

随着信息化时代的到来, 越来越多的无线通讯设备投入使用, 与日益广泛的物理应用相比, RFR 对机体产生的生物效应研究进展则相对滞后。因此, 探讨处于 RFR 环境中人群认知和情绪的变化具有重要意义。RF-EMFs 对生物体的影响可分为热效应和非热效应, 关于热效应机制明确, 但 RFR 是否以及如何通过非热机制作用于机体尚不明确。在针对 RFR 生物效应研究中, 鉴于手机使用习惯以及大脑丰富的神经元活动而备受关注, 热安全范围内的 RFR 是否会对神经系统的功能产生不利影响尚未取得一致的结论。有动物行为学实验显示, 在受到手机辐射或模拟手机辐射频段的 RFR 暴露中, 小鼠的空间记忆能力下降, 部分神经递质释放异常, 流行病学报告显示 RFR 会干扰睡眠、学习记忆或脑电等^[8-11]; 有部分学者发

表 1 两组小鼠在新物体识别实验中辨别指数和时间占比的改变 (%, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes in the recognition index and time proportion in the new object recognition test between both groups of mice (%, $\bar{x} \pm s$)					
组别	只数	暴露 3 h 后		脱离辐射 1 d 后	
		辨别指数	时间占比	辨别指数	时间占比
CON 组	10	79.76±8.21	82.31±10.13	73.88±19.45	81.16±16.42
RFR 组	10	49.74±19.41 ^a	60.94±24.66 ^a	74.26±18.47	82.16±10.23

注: CON. 健康对照组, RFR. 射频辐射组。^a 与 CON 组比较, $t = 4.50、2.53, P < 0.05$

表 2 两组小鼠在社交实验中探索同类次数占比和时间占比的改变 (%, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes in the frequency and time proportions for exploring other mice in the social preference test between both groups of mice (%, $\bar{x} \pm s$)					
组别	只数	暴露 3 h 后		脱离辐射 1 d 后	
		次数占比	时间占比	次数占比	时间占比
CON 组	10	73.34±7.73	86.31±5.39	75.40±9.59	70.50±10.10
RFR 组	10	57.64±12.04 ^a	75.31±10.43 ^a	65.98±15.06	77.08±13.96

注: CON. 健康对照组, RFR. 射频辐射组。^a 与 CON 组比较, $t = 0.08、0.03, P < 0.05$

表 3 射频辐射对海马神经递质释放的影响 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of RF radiation on the hippocampal neurotransmitter release (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)					
组别	只数	5-HT	ACh	Glu	GABA
CON 组	10	0.81±0.77	27.02±1.92	115.84±100.23	39.53±70.23
RFR 组	10	15.76±18.46 ^a	24.50±3.05 ^a	247.20±296.09	6.21±3.78

注: CON. 健康对照组, RFR. 射频辐射组。5-HT. 5-羟色胺; ACh. 乙酰胆碱; Glu. 谷氨酸; GABA. γ -氨基丁酸;^a 与 CON 组比较, $t = -2.56、2.21, P < 0.05$

现, 低于发热阈值的射频暴露对脑功能未见任何不良影响^[12-14]。此外, 还有小部分研究认为 RF-EMFs 可引起实验对象认知和识别能力增强^[15]。目前众多研究的重点多放在长期或短期的射频暴露中, 其共同的特点是无论暴露时长达到 1~3 个月还是 15 min 内的高强度暴露, 实验的测试时间点均设置在射频暴露终止后, 无法发现电磁辐射暴露过程中神经系统功能的异常变化。考虑到人们在水造 RFR 环境中工作和生活成为一种新的常态, RFR 场暴露可能对神经系统的功能产生干扰效应, 当实验动物处于实时 RFR 暴露状态过程中会对神经系统造成怎样的影响, 鲜有报道。本研究发现, 2 650 MHz RFR 环境中小鼠的认知能力显著下降和社交偏好发生异常改变, 但对小鼠的焦虑情绪未见明显影响。在神经元水平, 本研究发现在 RFR 暴露环境中小鼠海马神经元的功能发生明显异常, 表现为多种神经递质释放的异常变化。此外, 通过病理研究发现, 本研究所采用的 RFR 条件对小鼠海马组织结构和突触超微结构未见明显影响。在整个 RFR 过程中, 小鼠核心体温升高最大为 0.61℃, 处于热安全的范围之内。根据本研究的发现, 处于热安全范围内的 RFR 可引起神经系统功能的明显变化, 提示 RF-EMFs 丰富的环境是影响人群行为包括工作学习效率和社交等重要的不利因素, 其安全性值得关注。但在该过程中, RFR 热效应和非热效应在多大程度上发挥作用, 尚需进一步的研究确认。

海马属于脑边缘系统中的重要组成, 与学习、记忆、认知功能有关, 尤其是短期记忆^[16]。5-HT 是重要的中枢神经递质, 有多种受体亚型, 通过调节其他神经递质直接或间接影响认知功能^[17-18]。有研究显示, 海马 CA1 区有大量 5-HT_{1B} 受体分布, 5-HT_{1B} 受体激动剂能够导致野生型小鼠的认知能力受损, 是海马锥体神经元上调节兴奋性突触传递的重要受体^[19-21]。RFR 暴露导致了神经递质表达失衡, 5-HT 释放的增加结合突触后的 5-HT_{1B} 受体, 损伤了小鼠认知记忆的获取, 最终表现为神经元的功能性损伤, 小鼠的认知记忆功能失衡。海马同样作为调控社会行为的关键脑区, 抑制其直接投射可损伤社交行为的表达^[22], 海马背侧 CA1 区 5-HT_{5A}、5-HT₆ 和 5-HT₇ 受体的调节影响社交行为的巩固^[23-24]。在 RF-EMFs 暴露中小鼠所显现出的社交偏好改变是由于 5-HT 的大量释放促进

了抑制性受体 5-HT_{5A}、5-HT₆ 和 5-HT₇ 的受体功能。此外, 在食物偏好转变测试中, 可检测到海马 ACh 含量的增加, 实验大鼠会表现出对同伴先前食用食物的偏好^[25-26], 海马损伤会损坏食物偏好的社会传播^[27]。由此可推测, 海马 ACh 释放减少, 一定程度上或许也能够通过集体社交影响小鼠偏好的转变。

综上所述, 2 650 MHz 的 RFR 实时暴露可导致小鼠认知能力和社交偏好的改变, 与海马锥体神经元的功能性损伤导致 5-HT、ACh 释放含量的改变相关, 并在脱离辐射环境后恢复。本研究可为日常接触 RFR 的安全性提供参考。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 刘玉杰、王俊负责实验操作、数据分析和论文撰写; 李刻勤、常晨旭、刘莹负责采集数据; 左红艳、李杨、杨鸿指导实验设计和论文修改; 郝延辉、邓桦负责指导论文撰写

参 考 文 献

- [1] 国家图书馆研究院. 中国互联网络信息中心发布第 52 次《中国互联网络发展状况统计报告》[J]. 国家图书馆学刊, 2023, 32 (5): 13.
National Library Research Institute. China Internet Network Information Center released the 52nd "Statistical Report on the Development of Internet in China" [J]. J Natl Lib China, 2023, 32 (5): 13.
- [2] Redmayne M, Maisch DR. ICNIRP guidelines' exposure assessment method for 5G millimetre wave radiation may trigger adverse effects [J]. Int J Environ Res Public Health, 2023, 20 (7): 5267. DOI: 10.3390/ijerph20075267.
- [3] Eliyahu I, Luria R, Hareuveny R, et al. Effects of radiofrequency radiation emitted by cellular telephones on the cognitive functions of humans [J]. Bioelectromagnetics, 2006, 27 (2): 119-126. DOI: 10.1002/bem. 20187.
- [4] Danker-Hopfe H, Bueno-Lopez A, Dorn H, et al. Spending the night next to a router—Results from the first human experimental study investigating the impact of Wi-Fi exposure on sleep [J]. Int J Hyg Environ Health, 2020, 228: 113550. DOI: 10.1016/j. ijheh. 2020. 113550.
- [5] 范红艳, 李景璐, 李曼, 等. 2450 MHz 微波辐射对小鼠学习记忆的研究 [J]. 毒理学杂志, 2018, 32 (6): 469-471. DOI: 10.16421/j. cnki. 1002-3127. 2018. 06. 009.
Fan HY, Li JL, Li M, et al. The research on learning and memory in mice after 2450 MHz microwave exposure [J]. J Toxi, 2018, 32 (6): 469-471. DOI: 10.16421/j. cnki. 1002-3127. 2018. 06. 009.
- [6] Traini E, Martens AL, Slotte P, et al. Time course of health complaints attributed to RF-EMF exposure and predictors of

- electromagnetic hypersensitivity over 10 years in a prospective cohort of Dutch adults [J]. *Sci Total Environ*, 2023, 856 (Pt 2): 159240. DOI: 10. 1016/j. scitotenv. 2022. 159240.
- [7] 闵霞, 路浩, 李志慧, 等. 电磁混响室搅拌器不同工作状态对局部场强影响的初步研究 [J]. *军事医学*, 2018, 42 (11): 867-871.
- Min X, Lu H, Li ZH, et al. Influence of electromagnetic reverberation chamber stirrer working in different modes on local field strength [J]. *Mil Med Sci*, 2018, 42 (11): 867-871.
- [8] Salford LG, Brun AE, Eberhardt JL, et al. Nerve cell damage in mammalian brain after exposure to microwaves from GSM mobile phones [J]. *Environ Health Perspect*, 2003, 111 (7): 881-883; discussion A408. DOI: 10. 1289/ehp. 6039.
- [9] 郑荣洪. 2650MHz 电磁辐射对 C57 小鼠情绪行为及学习记忆的影响研究 [D]. 北京: 军事科学院, 2021. DOI: 10. 27193/d. cnki. gjsky. 2021. 000084.
- Zheng RQ. Effects of 2650 MHz electromagnetic radiation on emotional behavior, learning and memory of C57 mice [D]. Beijing: Academy of Military Sciences, 2021. DOI: 10. 27193/d. cnki. gjsky. 2021. 000084.
- [10] Ahmed NA, Radwan NM, Aboul Ezz HS, et al. The chronic effect of pulsed 1800 MHz electromagnetic radiation on amino acid neurotransmitters in three different areas of juvenile and young adult rat brain [J]. *Toxicol Ind Health*, 2018, 34 (12): 860-872. DOI: 10. 1177/0748233718798975.
- [11] Borkiewicz A. Health effects of Radiofrequency Electromagnetic Fields (RF EMF) [J]. *Ind Health*, 2019, 57 (4): 403-405. DOI: 10. 2486/indhealth. 57_ 400.
- [12] 高蒙, 彭怀禹, 王向晖, 等. 长期 1.8 GHz 电磁辐射对大鼠学习认知能力的影响 [J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2021, 39 (4): 19-25.
- Gao M, Peng HY, Wang XH, et al. Effect of long-term 1.8 GHz combined electromagnetic radiation on the learning and cognitive ability of rats [J]. *J Radiat Res*, 2021, 39 (4): 19-25.
- [13] Boder P, Makarova K, Zawada K, et al. The effect of 1800 MHz radio-frequency radiation on NMDA receptor subunit NR1 expression and peroxidation in the rat brain in healthy and inflammatory states [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 92: 802-809. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2017. 05. 133.
- [14] Bouji M, Lecomte A, Gamez C, et al. Neurobiological effects of repeated radiofrequency exposures in male senescent rats [J]. *Biogerontology*, 2016, 17 (5-6): 841-857. DOI: 10. 1007/s10522-016-9654-8.
- [15] Wang K, Lu JM, Xing ZH, et al. Effect of 1.8 GHz radiofrequency electromagnetic radiation on novel object associative recognition memory in mice [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 44521. DOI: 10. 1038/srep44521.
- [16] Hong J, Lu X, Wang J, et al. Triphenyl phosphate disturbs placental tryptophan metabolism and induces neurobehavior abnormal in male offspring [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, 243: 113978. DOI: 10. 1016/j. ecoenv. 2022. 113978.
- [17] 李云峰. 快速起效抗抑郁药研发策略: 单胺 (5-HT)-非单胺 (Glu/GABA) 长反馈神经环路候选假说的提出 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33 (3): 161-173.
- Li YF. Strategy for development of fast-onset antidepressive agents: candidate hypothesis of monoamine (5-HT)-nonmonoamine (Glu/GABA) long-feedback neural circuit [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2019, 33 (3): 161-173.
- [18] Meneses A. 5-HT systems: emergent targets for memory formation and memory alterations [J]. *Rev Neurosci*, 2013, 24 (6): 629-664. DOI: 10. 1515/revneuro-2013-0026.
- [19] Eriksson TM, Alvarsson A, Stan TL, et al. Bidirectional regulation of emotional memory by 5-HT1B receptors involves hippocampal p11 [J]. *Mol Psychiatry*, 2013, 18 (10): 1096-1105. DOI: 10. 1038/mp. 2012. 130.
- [20] Fink AE, Sariñana J, Gray EE, et al. Activity-dependent depression of local excitatory connections in the CA1 region of mouse hippocampus [J]. *J Neurophysiol*, 2007, 97 (6): 3926-3936. DOI: 10. 1152/jn. 00213. 2007.
- [21] Nasehi M, Jamshidi-Mehr M, Khakpai F, et al. Possible involvement of CA1 5-HT1B/1D and 5-HT2A/2B/2C receptors in harmaline-induced amnesia [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 125: 70-77. DOI: 10. 1016/j. pbb. 2014. 08. 007.
- [22] Sun Q, Li X, Li A, et al. Ventral hippocampal-prefrontal interaction affects social behavior via parvalbumin positive neurons in the medial prefrontal cortex [J]. *iScience*, 2020, 23 (3): 100894. DOI: 10. 1016/j. isci. 2020. 100894.
- [23] Schain RJ, Freedman DX. Studies on 5-hydroxyindole metabolism in autistic and other mentally retarded children [J]. *J Pediatr*, 1961, 58: 315-320. DOI: 10. 1016/s0022-3476 (61) 80261-8.
- [24] Schmidt SD, Zinn CG, Cavalcante LE, et al. Participation of hippocampal 5-HT (5A), 5-HT (6) and 5-HT (7) serotonin receptors on the consolidation of social recognition memory [J]. *Neuroscience*, 2022, 497: 171-183. DOI: 10. 1016/j. neuroscience. 2022. 06. 016.
- [25] Gold PE, Countryman RA, Dukala D, et al. Acetylcholine release in the hippocampus and prelimbic cortex during acquisition of a socially transmitted food preference [J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2011, 96 (3): 498-503. DOI: 10. 1016/j. nlm. 2011. 08. 004.
- [26] Carballo-Márquez A, Vale-Martínez A, Guillazo-Blanch G, et al. Muscarinic receptor blockade in ventral hippocampus and prelimbic cortex impairs memory for socially transmitted food preference [J]. *Hippocampus*, 2009, 19 (5): 446-455. DOI: 10. 1002/hipo. 20530.
- [27] Clark RE, Broadbent NJ, Zola SM, et al. Anterograde amnesia and temporally graded retrograde amnesia for a nonspatial memory task after lesions of hippocampus and subiculum [J]. *J Neurosci*, 2002, 22 (11): 4663-4669. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 22-11-04663. 2002.