

论著 · 临床研究

孤独症谱系障碍患儿血清 25(OH)D 水平的检测

杜琳¹ 单玲¹ 王冰¹ 冯俊燕¹ 徐志达^{1,2} 贾飞勇¹

(1. 吉林大学第一医院小儿神经康复科, 吉林 长春 130021;

2. Department of Neurosciences, University Medical Center Utrecht, Holland)

[摘要] **目的** 了解孤独症谱系障碍 (ASD) 患儿维生素 D 营养状况, 探讨维生素 D 水平与 ASD 的关系。**方法** 采用高效液相色谱-串联质谱法对 117 例新诊断的 ASD 患儿和 109 例健康对照儿童进行血清 25(OH)D 检测, 并根据血清 25(OH)D 水平, 将维生素 D 状况分为正常 (>30 ng/mL)、不足 ($10\sim30$ ng/mL) 和缺乏 (<10 ng/mL), 比较两组儿童维生素 D 营养状况。**结果** ASD 患儿 25(OH)D 水平 (19 ± 9 ng/mL) 明显低于对照组 (36 ± 13 ng/mL), 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。ASD 患儿中维生素 D 缺乏和不足率为 89.7%, 明显高于对照组 (52.3%), 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。**结论** ASD 患儿存在维生素 D 缺乏或不足, 维生素 D 缺乏和不足有可能是 ASD 发病的环境/遗传因素。 [中国当代儿科杂志, 2015, 17(1): 68-71]

[关键词] 孤独症谱系障碍; 维生素 D; 环境因素; 遗传因素; 儿童

Serum levels of 25-hydroxyvitamin D in children with autism spectrum disorders

DU Lin, SHAN Ling, WANG Bing, FENG Jun-Yan, XU Zhi-Da, JIA Fei-Yong. Department of Pediatric Neurology and Rehabilitation, First Hospital of Jilin University, Changchun, China (Jia F-Y, Email:erkekangfujia@163.com)

Abstract: Objective To examine serum 25-hydroxyvitamin D levels in children with autism spectrum disorders (ASD) and to explore the relationship between vitamin D level and ASD. **Methods** Serum levels of 25-hydroxyvitamin D levels were determined by the HPLC-MS/MS method in 117 children with newly diagnosed ASD and 109 healthy controls. Vitamin D status were classified into normal (>30 ng/mL), insufficiency ($10\sim30$ ng/mL) and deficiency (<10 ng/mL) according to 25-hydroxyvitamin D levels. **Results** Serum level of 25-hydroxyvitamin D (19 ± 9 ng/mL) in children with ASD was significantly lower than that in healthy controls (36 ± 13 ng/mL; $P<0.01$). The rate of vitamin D insufficiency plus deficiency in the ASD group was significantly higher than in the control group (89.7% vs 52.3%; $P<0.01$). **Conclusions** Vitamin D insufficiency or deficiency is common in children with ASD and might be as one of the environmental or genetic factors for ASD. [Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(1): 68-71]

Key words: Autism spectrum disorders; Vitamin D; Environmental factor; Genetic factor; Child

孤独症谱系障碍 (autism spectrum disorders, ASD) 是发生于 3 岁以前的神经发育障碍性疾病, 以社会交流障碍、行为重复刻板 and 兴趣狭窄为主要特征, 发病率逐年升高, 2012 年美国疾控中心最新统计表明 ASD 的患病率为 1.4%^[1]。ASD 的病因及发病机制至今不清, 遗传因素及环境因素可能在其发病中占有重要地位^[2]。维生素 D 缺乏除了引起钙磷代谢异常导致佝偻病和手足搐搦症外,

还具有调节免疫、抗肿瘤、抑制自身免疫等作用^[3], 并且在脑发育过程中亦发挥重要作用^[4]。新近发现 ASD 患儿存在明显的脑发育异常^[5-6], 并且推测维生素 D 可能参与 ASD 的发病过程^[7]。目前维生素 D 缺乏是最为常见的营养缺乏性疾病之一, 亦易被人们忽视, 为进一步了解 ASD 患儿维生素 D 的营养状况, 本研究对我科新诊断的 117 例 ASD 患儿血清 25(OH)D 水平进行了检测, 现报道如下。

[收稿日期] 2014-06-06; [接受日期] 2014-08-14

[作者简介] 杜琳, 女, 硕士, 主治医师。

[通信作者] 贾飞勇, 男, 副教授。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2013 年 9 月至 2014 年 3 月在我院小儿神经康复门诊初次确诊的 117 例 ASD 患儿为研究组, 以在我科门诊进行常规儿童保健检查的发育正常儿童 109 例作为对照组。所有 ASD 患儿均符合美国精神障碍诊断统计手册第五版 (DSM-V) 中 ASD 的诊断标准^[8]。ASD 组患儿平均年龄 49 ± 26 个月, 男 91 例, 女 26 例; 对照组男 68 例, 女 41 例, 平均年龄 47 ± 24 个月。两组儿童年龄、性别分布比较差异无统计学意义, 均正常参加户外活动, 2 个月内未添加维生素 D 制剂。本研究通过吉林大学第一医院伦理委员会批准, 并已在中国临床试验注册中心注册 (注册编号: ChiCTR-CCC-14004498)。

1.2 研究方法

ASD 组与对照组儿童均于晨起空腹采集静脉血 3 mL, 留取血清, 采用高效液相色谱-串联质谱法检测血清中 25(OH)D 的水平, 浓度单位用 ng/mL 表示, 本步骤由广州金域检验公司完成。根据 25(OH)D 检测结果, 患儿维生素 D 营养状况分为正常 (>30 ng/mL)、不足 ($10 \sim 30$ ng/mL) 和缺乏 (<10 ng/mL)^[9]。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析。对各研究变量进行描述性分析, 计数资料以绝对数 (%) 表示, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组间计量资料的比较采用两独立样本 t 检验; 两组间计数资料的比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

ASD 组患儿血清中 25(OH)D 水平明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$); ASD 组患儿维生素 D 不足和缺乏率 (89.7%) 明显高于对照组 (52.3%), 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。见表 1。

表 1 两组儿童维生素 D 营养状况的比较

组别	例数	25(OH)D 水平 ($\bar{x} \pm s$)	维生素 D 不足 [n(%)]	维生素 D 缺乏 [n(%)]
对照组	109	36 ± 13	2(1.8)	55(50.5)
ASD 组	117	19 ± 9	20(17.1)	85(72.6)
$t(\chi^2)$ 值		11.298	(45.93)	
P 值		<0.001	<0.001	

3 讨论

DSM-V 与既往的 DSM-IV 相比, 对 ASD 的诊断发生了变化, 主要是去除了既往 ASD 中不同亚型的诊断, 统称为 ASD; 诊断标准中将 DSM-IV 中社会交往障碍、交流障碍、重复刻板行为和兴趣狭窄的三分法改为社会交流障碍、重复刻板行为和兴趣狭窄两分法, 诊断条目中删除了语言发育落后或倒退, 增添了不寻常的感觉兴趣和反应, 更符合临床实际情况^[10-11]。本研究中 117 例 ASD 患儿均符合 DSM-V 的临床诊断。

维生素 D 是人体不可或缺的营养元素, 除了外源性摄入外, 更主要是通过皮肤经紫外线照射自身合成产生, 皮肤中 7-脱氢胆固醇在紫外线 (波长 $290 \sim 315$ nm, 紫外线指数 ≥ 3) 经光化学作用转变为胆骨化醇, 即内源性维生素 D_3 , 是人类维生素 D 的主要来源。外源性和自身合成的维生素 D_3 在体内需经过两次羟化作用后始能发挥生物效应: 首先经肝细胞微粒体和线粒体中的 25-羟化酶作用生成 25-羟胆骨化醇 [$25(OH)D_3$], $25(OH)D_3$ 从肝脏释放入血, 是维生素 D 在人体血液循环的主要形式。 $25(OH)D_3$ 必须与 α -球蛋白结合, 再转移到肾脏, 经近端肾小管上皮细胞内 1α -羟化酶作用下, 再次羟化转变成 $1,25$ -二羟胆骨化醇 [$1,25(OH)_2D_3$], 成为活性维生素 D, 发挥维生素 D 的代谢调节作用^[12]。新近研究发现, 在脑组织、肺脏、胰腺、肠道及单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞等均存在 1α -羟化酶, 证明在这些部位均可将 $25(OH)D_3$ 羟化成为活性的 $1,25$ -二羟胆骨化醇, 显示维生素 D 具有自分泌和旁分泌的作用^[13-14]。应用血清 25(OH)D 作为检测体内维生素 D 水平的指标, 主要是由于 25(OH)D 在体内稳定, 半衰

期长达 2~3 周, 优于 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, 其半衰期仅有 4 h, 且其血清水平易受甲状旁腺素水平的影响^[15-16]。目前常用于检测 $25(\text{OH})\text{D}$ 的方法有高效液相色谱-串联质谱法和化学发光法。由于高效液相色谱-串联质谱法较免疫化学发光法有较突出的优点, 对目标化合物的选择定性和准确定量; 可以剔除假阳性和假阴性并且准确检测维生素 D 总量。Farrell 等^[17]对 170 例随机选取的患者标本分别采用高效液相色谱-串联质谱法和免疫化学发光法检测, 连续 5 d 取 2 份血清 5 次重复测量以评估批内及批外分析精度, 结果高效液相色谱-串联质谱法的一致相关性为 0.99, 平均偏差为 1.4 nmol/L, 免疫化学发光法的一致相关性为 0.97, 平均偏差为 2.7 nmol/L。因此, 本研究采用了高效液相色谱-串联质谱法对研究对象进行了 $25(\text{OH})\text{D}$ 的检测。目前国际上尚无统一的评定维生素 D 营养状况的标准, 本研究采用国际上较为常用的加拿大儿科协会的标准, 将血清 $25(\text{OH})\text{D}$ 水平 $>30 \text{ ng/mL}$ 定义为正常, $10\sim30 \text{ ng/mL}$ 定义为不足, $<10 \text{ ng/mL}$ 定义为缺乏^[9]。从本研究结果来看, ASD 患儿血清 $25(\text{OH})\text{D}$ 水平明显低于对照组, 且 ASD 组患儿维生素 D 缺乏占 17.1%, 不足占 72.6%, 缺乏和不足患儿百分率高达 89.7%, 明显高于对照组, 说明 ASD 患儿中普遍存在维生素 D 缺乏和不足。此结果与沙特阿拉伯的学者 Mostafa 等^[18]对利雅得的 ASD 患儿的血清 $25(\text{OH})\text{D}$ 的研究有相似之处, 他们研究中的 ASD 患儿维生素 D 缺乏占 40%, 不足占 48%, 不足和缺乏患儿百分率高达 88%。另外, 本研究正常对照组中, 维生素 D 缺乏占 1.8%, 维生素 D 不足占 50.5%, 维生素 D 缺乏和不足的百分率与胡有瑶等报道的沈阳地区(北纬 41.48°)儿童维生素 D 缺乏和不足率 44.28% 近似^[19], 但明显高于利雅得正常儿童^[18], 可能与长春纬度(北纬 43.88°)明显高于利雅得(北纬 24.38°), 日照时间短有关。

生命早期维生素 D 缺乏影响神经元的分化、轴突的连接、多巴胺系统的发育以及脑的结构和功能^[20]。母孕期维生素 D 缺乏可能通过影响胎儿脑发育及母体免疫功能成为儿童 ASD 的危险因素^[21]; ASD 患儿在孕母服用影响维生素 D 代谢的药物如抗癫痫药物丙戊酸中更为常见^[22]; 新近研究发现, 维生素 D 缺乏与包括多发性硬化、系统

性红斑狼疮等自身免疫性疾病的自身抗体产生有关^[23], 而 ASD 患儿体内已证实存在抗髓磷脂相关糖蛋白自身抗体等, 这些现象亦支持维生素 D 缺乏可能是 ASD 发病的环境因素之一。同时, 已有研究表明, 精神性疾病患者中维生素 D 代谢相关的细胞色素氧化酶 P450, 特别是 CYP27B1 和维生素 D 受体存在着基因多态性及结构变异^[24], 从而影响体内维生素 D 的代谢, 而它们在 ASD 的作用有待于进一步研究。

总之, 本研究证实 ASD 患儿普遍存在维生素 D 缺乏和不足, 维生素 D 系统既可能作为诱发 ASD 的环境因素, 亦可能作为 ASD 发生的遗传因素。本研究存在的不足之处在于样本量较小, 且未对两组儿童间日照时间进行详细比较。因此, 进一步扩大样本量, 进行科学设计对影响维生素 D 代谢的各种因素严格控制, 深入研究维生素 D 在 ASD 发病机制中的作用, 有可能为寻求治疗新途径—补充维生素 D 治疗 ASD 提供理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2008 Principal Investigators, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevalence of Autism Spectrum Disorders-Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 14 sites, United States, 2008[J]. MMWR Surveillance Summaries, 2012, 61(SS03): 1-19.
- [2] Kubota T, Takae H, Miyake K. Epigenetic mechanisms and therapeutic perspectives for neurodevelopmental disorders[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2012, 5(4): 369-383.
- [3] Autier P, Boniol M, Pizot C, et al. Vitamin D status and ill health: a systematic review[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2014, 2(1): 76-89.
- [4] Salami M, Talaei SA, Davari S, et al. Hippocampal long term potentiation in rats under different regimens of vitamin D: an in vivo study[J]. Neurosci Lett, 2012, 509(1): 56-59.
- [5] Stoner R, Chow ML, Boyle MP, et al. Patches of disorganization in the neocortex of children with autism[J]. N Engl J Med, 2014, 370(13): 1209-1219.
- [6] Zielinski BA, Prigge MB, Nielsen JA, et al. Longitudinal changes in cortical thickness in autism and typical development[J]. Brain, 2014, 137(Pt 6): 1799-17812.
- [7] Cannell JJ, Grant WB. What is the role of vitamin D in autism?[J]. Dermatoendocrinol, 2013, 5(1): 199-204.
- [8] Kim YS, Fombonne E, Koh YJ, et al. A comparison of DSM-IV pervasive developmental disorder and DSM-5 autism spectrum disorder prevalence in an epidemiologic sample[J]. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry, 2014, 53(5): 500-508.
- [9] Gallo S, Jean-Philippe S, Rodd C, et al. Vitamin D supplementation of Canadian infants: practices of Montreal

- mothers[J]. *Appl Physiol Nutr Metab*, 2010, 35(3): 303-309.
- [10] Guthrie W, Swineford LB, Wetherby AM, et al. Comparison of DSM-IV and DSM-5 factor structure models for toddlers with autism spectrum disorder[J]. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2013, 52(8): 797-805.
- [11] Tsai LY, Ghaziuddin M. DSM-5 ASD moves forward into the past[J]. *J Autism Dev Disord*, 2014, 44(2): 321-330.
- [12] Morris HA. Vitamin D activities for health outcomes[J]. *Ann Lab Med*, 2014, 34(3): 181-186.
- [13] Gröber U, Spitz J, Reichrath J, et al. Vitamin D: Update 2013: From rickets prophylaxis to general preventive healthcare[J]. *Dermatoendocrinol*, 2013, 5(3): 331-347.
- [14] Pludowski P, Holick MF, Pilz S, et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality—a review of recent evidence[J]. *Autoimmun Rev*, 2013, 12(10): 976-989.
- [15] Tsagari A, Toulis KA, Makras P, et al. Performance of the mini nutritional assessment score in the detection of vitamin D status in an elderly Greek population[J]. *Horm Metab Res*, 2012, 44(12): 896-899.
- [16] Grant WB, Tangpricha V. Vitamin D: Its role in disease prevention[J]. *Dermatoendocrinol*, 2012, 4(2): 81-83.
- [17] Farrell CJ, Martin S, McWhinney B, et al. State-of-the-art vitamin D assays: a comparison of automated immunoassays with liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods[J]. *Clin Chem*, 2012, 58(3): 531-542.
- [18] Mostafa GA, Al-Ayadhi LY. Reduced serum concentrations of 25-hydroxy vitamin D in children with autism: relation to autoimmunity[J]. *J Neuroinflammation*, 2012, 9: 201.
- [19] 胡有瑶, 张宁. 0-14岁儿童25-羟维生素D水平及其与季节关系[J]. *临床儿科杂志*, 2014, 32(2): 194.
- [20] 段小燕, 贾飞勇, 姜慧轶. 维生素D与孤独症谱系障碍的关系[J]. *中国当代儿科杂志*, 2013, 15(8): 698-702.
- [21] Whitehouse AJ, Holt BJ, Serralha M, et al. Maternal vitamin D levels and the autism phenotype among offspring[J]. *J Autism Dev Disord*, 2013, 43(7): 1495-1504.
- [22] Meador KJ, Loring DW. Risks of in utero exposure to valproate[J]. *JAMA*, 2013, 309(16): 1730-1731.
- [23] Marques CD, Dantas AT, Fragoso TS, et al. The importance of vitamin D levels in autoimmune diseases[J]. *Rev Bras Reumatol*, 2010, 50(1): 67-80.
- [24] Jiang P, Zhu MQ, Li HD, et al. Effects of vitamin D receptor polymorphisms on the risk of schizophrenia and metabolic changes caused by risperidone treatment[J]. *Psychiatry Res*, 2014, 215(3): 806-807.
- (本文编辑: 邓芳明)

· 消息 ·

第五届全国、全军儿科细胞治疗学学习班暨高峰论坛通知

由中华医学会再生医学学会、干细胞工程学会、中国医师协会神经修复学会、中国生物医药协会再生医学分会主办, 中国人民解放军海军总医院儿科承办的第五届全国、全军儿科细胞治疗学学习班暨高峰论坛将于2015年4月17~19日在北京举行, 4月16日全天报到。

本次会议将邀请国内外知名专家介绍细胞治疗学及再生医学研究现状与进展, 讲述各种干细胞、免疫细胞及其他成体细胞疗法, 涉及NICU、ICU、血液、肿瘤、神经、自身免疫、免疫缺陷、遗传代谢、内分泌、消化、呼吸等小儿多系统难治性疾病。参加人员将授予全国、军队和北京市继续教育学分。

会务组联系人: 邱甜甜, 电话: 18911187776, 邮箱: hjzyyerke@163.com。

中国人民解放军海军总医院
2014年11月1日