

· 实验研究 ·

# 经玻璃紫外线照射对大鼠 25-羟维生素 D 水平及骨代谢的影响

武玮,王淑荣,张巍

(首都医科大学附属北京妇产医院新生儿科,北京 100026)

**[摘要]** 目的 目前研究发现 B 型紫外线照射与血清 25-羟维生素 D [25-hydroxy vitamin D, 25-(OH)D] 水平有剂量-效应关系,并且维生素 D 与骨代谢相关。该研究探讨经玻璃紫外线照射对大鼠 25-(OH)D 及骨代谢的影响。**方法** 选用 30 只 Wistar 大鼠建立不同紫外线暴露方式的动物模型,饲以缺乏维生素 D 饮料,随机分为避光组,紫外线直接照射 160 min 组,简称直射组,紫外线经单层玻璃照射 160 min 组,简称经玻组。每组各 10 例。21 d 实验结束时,测定各组大鼠血清 25-(OH)D、甲状旁腺激素 (parathyroid hormone, PTH)、骨碱性磷酸酶 (bone alkaline phosphatase, BALP)、骨钙素 (osteocalcin, OC) 和骨 I 型胶原羧基末端肽 (carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen, ICTP) 的浓度及骨密度 (bone mineral density, BMD)。**结果** 经玻组骨密度 (BMD) 为  $0.036 \pm 0.002 \text{ g/cm}^2$ , 显著高于避光组 ( $P < 0.01$ ); ICTP 浓度  $0.181 \pm 0.067 \text{ } \mu\text{g/L}$ , 显著低于避光组 ( $P < 0.01$ ); PTH、25-(OH)D、BALP 及 OC 浓度分别为  $3.72 \pm 0.38 \text{ pg/mL}$ 、 $28.67 \pm 1.35 \text{ nmol/L}$ 、 $25.03 \pm 4.65 \text{ } \mu\text{g/mL}$  和  $0.559 \pm 0.067 \text{ ng/mL}$ , 与避光组差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。经玻组 BALP 和 ICTP 水平及 BMD 与直射组差异无显著性 ( $P > 0.05$ ); OC 和 PTH 浓度显著高于直射组 ( $P < 0.05$ ); 25-(OH)D 水平显著低于直射组 ( $P < 0.01$ )。**结论** 经单层玻璃的紫外线照射不能显著提高血浆 25-(OH)D 水平,但可降低维生素 D 缺乏造成的骨转化率升高并提高骨密度,与直接紫外线照射达到相似效果。

[中国当代儿科杂志, 2009, 11(2):138-141]

**[关键词]** 紫外线 B; 25-羟维生素 D; 骨代谢; 大鼠

**[中图分类号]** R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)02-0138-04

## Effect of ultraviolet irradiation through glass on the level of 25-hydroxy vitamin D and bone metabolism in rats

WU Wei, WANG Shu-Rong, ZHANG Wei. Department of Neonatology, Beijing Obstetrics and Gynecology Hospital, Capital Medical University, Beijing 100026, China (Zhang W, Email: zw296@163.com)

**Abstract: Objective** Some research has shown that there is a dose-dependent relationship between ultraviolet B (UVB) and serum levels of 25-hydroxy vitamin D [25-(OH)D]. Vitamin D is correlated with bone metabolism. This study aimed to explore the effect of UVB irradiation through glass on serum levels of 25-(OH)D and bone metabolism in rats. **Methods** Wistar rats were fed with vitamin D deficient diet and randomly divided into three groups: no UVB exposure, direct UVB exposure (160 min/d) and indirect UVB exposure (through glass) (160 min/d). By 21 days after exposure, bone mineral density (BMD) and serum levels of 25-(OH)D, parathyroid hormone (PTH), osteocalcin (OC), bone alkaline phosphatase (BALP) and carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen (ICTP) were measured. **Results** BMD ( $0.036 \pm 0.002 \text{ g/cm}^2$ ) in the indirect UVB exposure group was significantly higher than that in the no UVB exposure group ( $0.029 \pm 0.002 \text{ g/cm}^2$ ) ( $P < 0.01$ ). Serum ICTP level in the indirect UVB exposure group was significantly lower than that in the no UVB exposure group ( $0.181 \pm 0.067 \text{ } \mu\text{g/L}$  vs  $0.194 \pm 0.066 \text{ } \mu\text{g/L}$ ;  $P < 0.01$ ). Serum levels of PTH, 25-(OH)D, BALP and OC in the indirect UVB exposure group were not significantly different from those in the no UVB exposure group. Compared with the direct UVB exposure group, serum levels of OC ( $0.559 \pm 0.067 \text{ ng/mL}$  vs  $0.278 \pm 0.067 \text{ ng/mL}$ ;  $P < 0.05$ ) and PTH ( $0.181 \pm 0.067 \text{ } \mu\text{g/L}$  vs  $0.109 \pm 0.067 \text{ } \mu\text{g/L}$ ;  $P < 0.05$ ) in the indirect UVB exposure group significantly increased, while serum levels of 25-(OH)D significantly decreased ( $28.67 \pm 1.35 \text{ nmol/L}$  vs  $34.69 \pm 4.30 \text{ nmol/L}$ ;  $P < 0.01$ ). There were no significant differences in BMD and serum levels of BALP and ICTP between the indirect UVB exposure and the direct UVB exposure groups. **Conclusions** UVB irradiation through glass cannot elevate serum levels of 25-(OH)D, but can decrease bone turnover rate and increase BMD. The effect of UVB irradiation through glass on bone metabolism is similar to that of direct UVB irradiation.

[Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11(2):138-141]

**Key words:** Ultraviolet B; 25-hydroxy vitamin D; Bone metabolism; Rats

[收稿日期] 2008-06-06; [修回日期] 2008-07-15

[作者简介] 武玮,女,硕士研究生。主攻方向:新生儿疾病。

[通讯作者] 张巍,女,教授,北京首都医科大学附属北京妇产医院新生儿科,邮编:100006。

由于不适应天气变化,婴幼儿户外活动较少及接受阳光照射受限,特别是在寒冷季节多数婴幼儿只能在室内隔着玻璃接触阳光。普通住宅玻璃中三氧化二铁、三氧化二铬、五氧化二砷、氧化铅、重金属硫化物等成分均能部分吸收阳光中的紫外线,影响紫外线透射<sup>[1]</sup>。然而,经玻璃进行日光浴是否对骨健康有促进作用还缺乏系统研究。本研究通过构建紫外线照射动物模型,评价经玻璃照射对维生素D及骨代谢的影响,为临床日光紫外线暴露指导提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物及饲料 选用21日龄的雄性Wistar大鼠(由中国医学科学院实验动物中心提供)30只,体重30~48 g。大鼠饲以缺乏维生素D饲料,其配方主要成分为:玉米粉76%,麦麸20%,碳酸钙3%,含碘盐1%,赖氨酸0.5%以及各种B族维生素,经检测维生素D含量小于20 IU/kg,可忽略不计。各组大鼠自由取食,饮用去离子水。

1.1.2 仪器 人工B型紫外线(UVB)光源,波长280~350 μm,照射强度5.5 μW/cm<sup>2</sup>。上海宝山顾村电光仪器厂生产的ZQJ-254型紫外线强度检测仪检测不同暴露方式的紫外线照射强度。上海西城机电系统有限公司生产的LI590014全自动酶标仪用于酶联免疫吸附法检测。美国NORLANDXR-36型双能X线骨密度仪测定骨密度。

### 1.2 实验方法

1.2.1 动物饲养 将30只大鼠随机分为3组,每组10只:避光对照组(避光组):紫外线直接照射160 min组(直射组)、紫外线单层经玻璃照射照射160 min组(经玻组)。各组均饲以缺乏维生素D饲料,各组大鼠均饲养于不锈钢笼具,笼高20 cm。动物房24 h无日光射入,紫外线强度经检测为0 μW/cm<sup>2</sup>。经玻组笼具以厚度为3 mm无色普通玻璃覆盖,置于人工光照补钙仪下,大鼠距补钙仪20 cm,接受紫外线辐射强度为0.1 μW/cm<sup>2</sup>,每日连续照射160 min,模拟室内日光浴时紫外线暴露。直射组直接将笼具直接置于人工光照补钙仪下,大鼠距补钙仪20 cm,接受紫外线辐射强度为5.5 μW/cm<sup>2</sup>,每日连续照射160 min,模拟室外日光浴时紫外线暴露。两组连续照射20 d的UVB累积辐射剂量分别为19.2 mJ/cm<sup>2</sup>和656 mJ/cm<sup>2</sup>。避光组不接受照

射,大鼠接受紫外线辐射强度为0 μW/cm<sup>2</sup>。

1.2.2 血清生化指标的检测 实验结束时用3%戊巴比妥35 mg/kg腹腔麻醉大鼠后,眼球取血1 mL,以3 000 r/min离心10 min后分离血清,储藏于-20℃冰箱。全自动生化分析仪测定血清离子钙(calcium, Ca)和磷(phosphorus, P)浓度,酶联免疫吸附法检测血清中25-羟维生素D[25-hydroxy vitamin D, 25-(OH)D]、甲状旁腺激素(parathyroid hormone, PTH)、骨碱性磷酸酶(bone alkaline phosphatase, BALP)、骨钙素(osteocalcin, OC)及骨I型胶原羧基末端肽(carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen, ICTP)浓度(试剂盒分别由北京荣志海达公司和RB公司提供)。

1.2.3 骨密度的测量 实验结束时处死大鼠,取右侧股骨,剔净肌肉、韧带等软组织。用NORLAND-XR-36型双能X线骨密度仪及所附小动物测试软件,测定股骨前后位骨密度(bone mineral density, BMD),扫描速度为10 mm/s,扫描分辨率为0.5 mm×0.5 mm。

### 1.3 统计学处理

各组数据用均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,应用SPSS 11.0软件处理,单因素方差分析用于各组均数比较, $P < 0.05$ 表示差异的显著性有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 血清生化指标

经玻组血清钙、磷浓度均显著高于避光组( $P < 0.01$ );ICTP浓度显著低于避光组( $P < 0.01$ );PTH、25-(OH)D、BALP及OC浓度与避光组差异无显著性( $P > 0.05$ )。直射组血清Ca、P和25-(OH)D浓度显著高于避光组;血清PTH、OC和ICTP浓度显著低于避光组;血清BALP浓度与避光组差异无显著性。经玻组浓度Ca、P、BALP和ICTP水平与直射组差异无显著性( $P > 0.05$ );OC和PTH浓度显著高于直射组( $P < 0.05$ );25-(OH)D水平显著低于直射组( $P < 0.01$ ),见表1。

### 2.2 骨密度

经玻组大鼠的BMD为 $0.036 \pm 0.002$  g/cm<sup>2</sup>,显著高于避光组( $P < 0.01$ )。直射组大鼠的BMD为 $0.037 \pm 0.004$  g/cm<sup>2</sup>,显著高于避光组 $0.029 \pm 0.002$  g/cm<sup>2</sup>。经玻组BMD略低于直射组,差异无显著性(表1)。

表 1 各组大鼠生化指标和骨密度的对比 (x±s)

| 组别  | 鼠数<br>(只) | Ca<br>(nmol/L)         | P<br>(nmol/L)          | PTH<br>(pg/mL)         | 25-(OH)D<br>(nmol/L)    | BALP<br>(μg/mL) | OC<br>(ng/mL)            | ICTP<br>(μg/L)           | BMD<br>(g/cm <sup>2</sup> ) |
|-----|-----------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| 避光组 | 10        | 2.85±0.13              | 1.32±0.10              | 4.37±1.16              | 24.63±3.23              | 25.10±3.22      | 0.647±0.148              | 0.194±0.066              | 0.029±0.002                 |
| 直射组 | 10        | 3.22±0.13 <sup>a</sup> | 1.69±0.14 <sup>a</sup> | 2.44±1.13 <sup>a</sup> | 34.69±4.30 <sup>a</sup> | 23.50±3.24      | 0.278±0.067 <sup>a</sup> | 0.109±0.067 <sup>a</sup> | 0.037±0.004 <sup>a</sup>    |
| 经玻组 | 10        | 3.11±0.20 <sup>a</sup> | 1.66±0.11 <sup>a</sup> | 3.72±0.38              | 28.67±1.35              | 25.03±4.65      | 0.559±0.067              | 0.181±0.067 <sup>a</sup> | 0.036±0.002 <sup>a</sup>    |

a: 与避光组相比  $P<0.01$

3 讨论

佝偻病在全世界的主要原因仍是日光照射不足所致维生素 D 缺乏。皮肤在阳光紫外线作用下的光合成是维生素 D 的主要来源,而食物来源的维生素 D 只占很低的比例<sup>[2]</sup>。血清 25-(OH)D 水平常作为维生素 D 营养状态的检测指标。已有资料表明儿童及青少年维生素 D 营养状况与季节变化相关,在紫外线辐射强度较低的季节血清 25-(OH)D 水平显著低于其他季节<sup>[3]</sup>。

大鼠是研究维生素 D 代谢的经典动物,本研究参考王淑荣等<sup>[5]</sup>的研究方法成功建立了生长期大鼠不同方式紫外线暴露模型,采用的缺乏维生素 D 饲料,除维生素 D 含量外,其余各种营养素均符合大鼠生长发育的要求,并且实验期内缺维生素 D 饲料饲养的大鼠体内的维生素 D 全部来自于皮肤利用紫外线合成。

皮肤暴露于波长为 280~315 nm 紫外线时,表皮细胞中的 7-脱氢胆固醇转变为维生素 D<sub>3</sub> 前体。随后经过数小时的分异构化作用,维生素 D<sub>3</sub> 前体转变为维生素 D<sub>3</sub>,后者与维生素 D 结合蛋白结合进入血循环。进入循环的维生素 D<sub>3</sub> 经过肝和肾的两次羟化作用生成活性形式 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>。血清中 25-(OH)D 的水平随着 UVB 辐射量而改变,因此 25-(OH)D 常作为维生素 D 营养状态的指标<sup>[4]</sup>。王淑荣等<sup>[5]</sup>的研究将大鼠置于北京 9~11 月份的太阳光下 60 d,结果直晒组与经玻组血清 25-(OH)D 水平显著高于避光组,差异有显著性意义。本研究显示,接受紫外线累积辐射量 19.2 mJ/cm<sup>2</sup> 的经玻组 25-(OH)D 水平为 28.67±1.35 nmol/L 略高于避光组 24.63±3.23 nmol/L,显著低于累积辐射量 656 mJ/cm<sup>2</sup> 的直射组,直射组显著高于避光组。提示直接暴露于紫外线能显著提高维生素 D 水平,而经玻璃紫外线照射不能显著提高维生素 D 水平。此结果可能与 25-(OH)D 半衰期为 24 d,反映短期内维生素 D 营养状况有关<sup>[6]</sup>。

骨转化通过成骨细胞和破骨细胞的功能状态体

现,而后者通常用血清中骨代谢的生化指标来评价。当循环中维生素 D 不足时,PTH 分泌增加,从而调节血清离子钙、磷和 1,25(OH)<sub>2</sub>D 水平增加<sup>[7]</sup>。这一过程通常伴随骨转化的大部分标志物浓度升高<sup>[3]</sup>,表现为血清中骨形成标志物中度升高或不变,骨吸收标志物增加可达到 70%,这是因为 PTH 影响骨转化首先通过刺激破骨细胞介导的骨吸收起作用,这样的变化在短肠综合征患者有报道<sup>[8,9]</sup>。骨钙素和骨碱性磷酸酶都是由成骨细胞合成的一种非胶原蛋白,是反映成骨细胞活性敏感而特异的指标<sup>[10]</sup>。骨吸收增加时,破骨细胞分解骨基质 I 型胶原,导致释放至血液或排泄到尿中的降解产物增加,ICTP 即是骨 I 型胶原纤维分子释出的交联物,它以完整的免疫性蛋白形式进入血液中,是反映骨吸收高度敏感的特异性指标<sup>[11]</sup>。本研究显示,经玻组大鼠 PTH,OC,ICTP 水平与避光组差异不显著。骨代谢指标 BALP 和 ICTP 的血清浓度在直射组和经玻组没有显著差异,并且均显著高于避光组。提示经玻璃照射紫外线暴露可降低骨转化,但效果不如直接紫外线暴露显著。低维生素 D 水平相关的骨吸收增加可影响骨重建,导致骨矿物质的丢失<sup>[12]</sup>并且维生素 D 的体内活性形式 1,25(OH)<sub>2</sub>D 具有促骨胶原蛋白中羟脯氨酸合成的作用<sup>[13~15]</sup>。我们用 BMD 作为骨重建结局的指标,发现直射组和经玻组之间 BMD 没有差异,且均较避光组显著提高,提示经玻璃照射紫外线亦可显著提高骨矿物质密度。

本研究从整体水平探讨了生长期动物直接和经玻璃照射紫外线暴露对 25-(OH)D 及骨代谢的影响,为临床上指导日光暴露提供一定的理论依据。经单层玻璃的紫外线照射不能显著提高血浆 25-(OH)D 水平,但可降低维生素 D 缺乏造成的骨转化率升高并提高骨密度,与直接紫外线照射达到相似效果。因此,在高气压主导的晴朗大风天气或气温较低的冬季,室内经玻璃照射阳光进行日光浴有益于骨健康。本研究结果还仅局限于动物实验,有待于在临床进一步证实。

[参 考 文 献]

[1] 王承遇,陶琰. 玻璃成分设计与调整(十一)[J]. 玻璃与搪瓷,2003,31(5): 59-63.

[2] Holick MF. Vitamin D: the underappreciated D-lightful hormone that is important for skeletal and cellular health[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes, 2002, 8(9): 87-98.

[3] Nicolaidou P, Hatzistamatiou Z, Papadopoulou A, Kaleyias J, Floropoulou E, Lagona E, et al. Low vitamin D status in mother-newborn pairs in Greece[J]. Calcif Tissue Int, 2006, 78(6): 337-42.

[4] Holick MF. The influence of vitamin D on bone health across the life cycle[J]. J Nutr, 2005, 135(11): 2726S-2727S.

[5] 王淑荣,张巍,王加义,许晔. 玻璃遮挡日光对大鼠血清骨碱性磷酸酶与 25-羟维生素 D 水平影响的研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2008, 23(3):200-202.

[6] Millen AE, Bodnar LM. Vitamin D assessment in population-based studies: a review of the issues[J]. Am J Clin Nutr, 2008, 87(4):1102S-1105S.

[7] Cashman KD, Hill TR, Cotter AA, Boreham CA, Dubitzky W, Murray L, et al. Low vitamin D status adversely affects bone health parameters in adolescents[J]. Am J Clin Nutr, 2008, 87(4):1039-1044.

[8] Leslie WD, Miller N, Rogala L, Bernstein CN. Vitamin D status and bone density in recently diagnosed inflammatory bowel disease: the Manitoba IBD cohort study[J]. Am J Gastroenterol, 2008, 103(6):1451-1459.

[9] Haderslev KV, Jeppesen PB, Sorensen HA, Mortensen PB, Staun M. Vitamin D status and measurements of markers of bone metabolism in patients with small intestinal resection[J]. Gut, 2003, 52(5):653-658.

[10] 郭世绂,罗先正,邱贵兴. 骨质疏松基础与临床[M]. 天津:天津科学技术出版社, 2001, 95-96.

[11] Camero P, Ferreras M, Karsdal MA, Nicamhlaoibh R, Risteli J, Borel O, et al. The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation[J]. J Bone Miner Res, 2003, 18(5):859-867.

[12] Abreu MT, Kantorovich V, Vasiliasukas EA, Gruntmanis U, Matuk R, Daigle K, et al. Measurement of vitamin D levels in inflammatory bowel disease patients reveals a subset of Crohn's disease patients with elevated 1,25-dihydroxyvitamin D and low bone mineral density[J]. Gut, 2004, 53(8):1129-1136.

[13] 王华,黎海芪,杨锡强,瞿平,刘瑜,李继斌. 钙、维生素 D 缺乏对幼鼠骨生长和成骨细胞功能的影响[J]. 中国儿童保健杂志, 2002, 10(3):182-184.

[14] 向伟,丁宗一,郑维,蒋湘玲. 如何预防小儿维生素 D 缺乏性佝偻病——浅谈美国儿科学会维生素 D 摄入量新指南[J]. 中国当代儿科杂志,2005,7(6):530-532.

[15] 吴胜虎,颜崇淮,沈晓明. 维生素 D 受体基因多态性与佝偻病易感性的研究进展[J]. 中国当代儿科杂志,2006, 8(1):83-85.

( 本文编辑:吉耕中)