

- [5] Hyder SM, Nawaz Z, Chiappetta C, et al. The protooncogene c-jun an unusual estrogen-inducible enhancer with in the coding sequence[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(15): 8506-8513.
- [6] Benten W P, Lieberherr M, Giese G, et al. Estradiol binding to cell surface raises cytosolic free calcium in T cells [J]. *FEBS Lett*, 1998, 422(3): 349-353.
- [7] Ku LT, Gercel-Taylor C, Nakajima ST, et al. Alterations of T cell activation signaling and cytokine production by postmenopausal estrogen levels[J]. *Immun Ageing*, 2009, 6(1): 1.
- [8] Me Murray RW, Ndebele K, Hardy KJ, et al. 17-beta-estradiol suppresses IL-2 receptor[J]. *Cytokine*, 2001, 14(6): 324-333.
- [9] Morales LB, Loo KK, Liu HB, et al. Treatment with an estrogen receptor alpha ligand is neuroprotective in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Neurosci*, 2006, 26(25): 6823-6833.
- [10] Berg G, Ekerfelt C, Hammar M. Cytokine changes in postmenopausal women treated with estrogens: a placebo-controlled study [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2002, 48(2): 63-69.
- [11] Sanchez-Gurrero J, Karlson EW, Liang MH, et al. Past use oral contraceptives and the risk of developing systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(5): 804-808.
- [12] Offner H, Polanezyk M. A potential role for estrogen in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis [J]. *Ann NY Acad Sci*, 2006, 1089: 343-372.
- [13] Kanda N, Tamaki K. Estrogen enhances immunoglobulin production by human PBMCs[J]. *Allergy Clin Immunol*, 1999, 103(2): 282-288.
- [14] Schwandner R, Yamaguchi K, Cao Z. Requirement of tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF) 6 in interleukin 17 signal transduction[J]. *J Exp Med*, 2000, 191(7): 1233-1240.
- [15] Wang C, Dehghani B, Li Y, et al. Estrogen modulates experimental autoimmune encephalomyelitis and interleukin-17 production via programmed death [J]. *Immunology*, 2009, 126(3): 329-335.
- [16] Subramanian S, Yates M, Vandenbark AA, et al. Estrogen-mediated protection of experimental autoimmune encephalomyelitis in the absence of Foxp3+ regulatory T cells implicates compensatory pathways including regulatory B cells[J]. *Immunology*, 2011, 132(3): 340-347.
- [17] Khan D, Dai R, Karpuzoglu E, et al. Estrogen increases, whereas IL-27 and IFN-gamma decrease, splenocyte IL-17 production in WT mice [J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(9): 2549-2556.
- [18] Fox HS, Bond BL, Parslow TG. Estrogen regulates the IFN- γ promoter [J]. *J Immunol*, 1991, 146(12): 4362-4367.
- [19] Gonsky R, Deem RL. An IFNG SNP with an estrogen-like response element selectively enhances promoter expression in peripheral but not lam in a propria T cells[J]. *Genes Immun*, 2006, 7(5): 342-351.
- [20] Namazi MR. The Th1-promoting effects of dehydroepiandrosterone can provide an explanation for the stronger Th1-immune response of women[J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2009, 8(1): 65-69.
- [21] Karen MP, Liu HB, Loo KK, et al. Estriol treatment ameliorates disease in males with experimental autoimmune encephalomyelitis: implications for multiple sclerosis [J]. *J Neurosci*, 2004, 149(1/2): 84-89.
- [22] Hirano S, Furutama D, Hanafusa T. Physiologically high concentrations of 17beta-estradiol enhance NF-kappaB activity in human T cells[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2007, 292(4): R1465-1471.
- [23] 张晓华, 孙海华, 孙士锦, 等. 雌激素对肝脏撞击伤后免疫功能的影响[J]. 创伤外科杂志, 2007, 9(4): 355-358.
- [24] Cvoro A, Tatomer D, Tee MK, et al. Selective estrogen receptor-beta agonists repress transcription of proinflammatory genes[J]. *J Immunol*, 2008, 180(1): 630-636.
- [25] Florea A, Job-Deslandre C. Rheumatoid arthritis and pregnancy [J]. *Presse Med*, 2008, 37(11): 1644-1651.
- [26] Cutolo M, Montagna P, Brizzolara R, et al. Sex hormones modulate the effects of Leflunomide on cytokine production by cultures of differentiated monocyte/macrophages and synovial macrophages from rheumatoid arthritis patients [J]. *J Autoimmun*, 2009, 32(3/4): 254-260.
- [27] Calippe B, Douin-Echinard V, Laffargue M, et al. Chronic estradiol administration in vivo promotes the proinflammatory response of macrophages to TLR4 activation: involvement of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway[J]. *J Immunol*, 2008, 180(12): 7980-7988.

(收稿日期: 2012-10-09)

• 综述 •

高原环境下机体红细胞免疫功能研究

石泉贵 综述, 李素芝 审校

(西藏军区总医院检验科, 西藏拉萨 850007)

关键词: 高原; 红细胞; 免疫; C3b 受体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.039

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2012)24-3026-03

上世纪 80 年代初, 美国生殖免疫学家(Siegel)提出红细胞免疫系统理论后, 受到国内外学者的关注, 研究极为迅速。证实红细胞具有识别、黏附、杀伤抗原、清除免疫复合物的作用, 且参与机体的免疫调控, 其本身还存在完整的自我调控系统, 是机体完整免疫中的一个子系统。为了解高原环境对机体红细胞免疫功能是否有影响, 自 1993 年以来对高原人体红细胞功能进行了系列研究, 现综述如下。

1 高原健康人红细胞免疫功能

1.1 不同海拔高度健康青年红细胞免疫功能的变化 检测了西藏 4 个不同海拔高度(2 500、3 600、3 900、4 300 m)107 名健康青年男性的红细胞免疫黏附功能, 同时测定了血清中循环免疫复合物的含量。结果显示: 高原地区人机红细胞免疫功能呈继发性降低, 具体表现在红细胞 C3b 受体率(RCR)降低, 红细胞免疫复合物花环率(RICR)升高, RCR 的降低与海拔升高呈

负相关, RICR 升高与海拔升高呈正相关, 血清中免疫复合含量随海拔的升高而增加, 呈正相关。作者认为这一变化现象与高原低氧环境、强辐射有关^[1]。

1.2 高原健康女性月经周期对红细胞膜 CR1 活性的改变 对海拔 3600m 健康女性月经周期内 RCR、RICR 及红细胞(RBC)进行了动态观察, 讨论了红细胞免疫功能与 RBC 的关系。结果: 月经周期的第 1 天至 21 d RCR 呈下降趋势, 第 1 天明显高于第 14、21 天, 第 28 天有所回升; RICR 第 1 天明显低于第 7 天, 第 28 天最低; 第 1 天至第 21 天 RBC 呈上升趋势, 第 28 天下降。红细胞 CR1 活性与红细胞数的关系, 研究者在观察中注意到 RCR 与 RBC 的变化恰好相反。提示排卵期和排卵后期红细胞膜 CR1 活性下降, 红细胞免疫功能受抑制有益于受孕与受精卵着床, 高原健康女性正常行经失血并不导致生理失衡而产生疾病^[2]。

1.3 献血对高原人体红细胞免疫粘附功能的影响 观察了生活居住在拉萨的初次献血者 30 人及长年献血者 120 人的红细胞免疫粘附功能状况, 并与生活居住在同一地区的正常未献血者 50 人进行了比较, 结果表明: 初次献血及长年献血间隔期 >3 个月者, RCR、RICR 与正常对照无明显差别, 而长期献血间隔期 <3 个月者, 上述指标均有明显改变。说明, 按正常规律间隔期 3 个月献血 1 次对高原人体红细胞免疫粘附功能并无影响。繁殖频繁献血免疫红细胞粘附功能呈继发性降低^[3]。

1.4 高原健康老人红细胞免疫功能及其调节因子的变化研究 检测了生活居住在拉萨的健康老人 37 人的红细胞免疫粘附功能及血清中红细胞免疫粘附调节因子活性, 与生活居住在同一地区的青壮年 44 人进行了比较。结果: 老年组 RCR、红细胞免疫粘附促进因子(RFER)明显低于青壮年组, 而 RICR、红细胞免粘附抑制因子(RFIR)明显高于青壮年组。结论: 高原健康老人中红细胞免疫功能降低及调控系统失调, 改善和增强红细胞免疫功能在高原老年性疾病的防治中有意义^[4]。

2 急进高原对红细胞免疫功能的影响

2.1 急速进入高原人员红细胞免疫粘附功能的动态变化观察 观察了 40 名由平原乘飞机快速进入高原(海拔 3 600 m)人员的 RCR、RICR 水平及同海拔高度移居适应者 36 名和世居者 30 名的上述指标。结果表明: 观察组进入高原第二天 RCR 急剧下降, RICR 急剧升高, 以后逐渐降低或升高, 至第 30 天时与移、世居者两组接近; 高原反应越重 RCR、RICR 降低或升高越明显, 提示高原反应的发生与红细胞免疫功能的降低有关, 在快速进入高原低氧环境前采取有效措施提高或改善红细胞免疫功能, 对降低高原反应的发生具有重要意义^[5]。

2.2 快速进入高原对世居高原藏族红细胞免疫粘附功能的影响 对 36 名世居高原藏族移居平原后乘飞机返回高原机体红细胞免疫功能进行了动态变化观察, 与 40 名高原世居藏族和 38 名移居高原适应者进行了比较, 探讨了红细胞免疫功能与 Hb、RET 的关系。发现世居藏族与本研究者曾报道的汉族快速进入高原时 RCR、RICR 的变化有明显不同。虽然两者进入高原后均随时间的增长, RCR 降低、RICR 升高。汉族降低与升高的幅度较藏族为大。世居高原藏族在高原低氧环境中的生长和发育对红细胞免疫有影响, 对低氧的适应机制与红细胞的结构、分子水平及遗传因素有关^[6]。

2.3 快速低氧致世居藏族红细胞促粒细胞吞噬作用改变 观察了 36 名长期移居低海拔地区生活的世居藏族乘飞机进入海拔 3 600 m 高原后红细胞增强粒细胞吞噬作用(ERPN)、WBC 的变化, 及同海拔移居适应者 38 名和世居者 40 名的上

述指标。结果: 世居藏族进入高原后最初 3 天 EPN 均升高, 第二天升高尤为明显, 较平原升高 30%, 第七天下降接近平原值和移、世居两组; 进入高原前后 WBC 变化不明显, 与平原值和移、世居两组接近。说明世居藏族快速进入高原后极少发生急性高原病, 红细胞促粒细胞吞噬作用的增强起到一定的作用, 对低氧的适应机制与细胞水平的早期适应有关^[7]。

3 高原疾病患者红细胞免疫功能

3.1 高原红细胞增多症患者红细胞免疫功能状况及动态观察

对 34 例高原红细胞增多症患者红细胞免疫及血清中红细胞免疫调节因子进行了动态观察, 并与生活在同海拔地区的 41 例移居适应者进行了比较, 探讨了 RBC、Hb 与红细胞免疫功能的相关性。发现高红患者红细胞免疫功能明显低于对照组, 血清中红细胞免疫促进因子降低, 而抑制因子升高, RCR、RFER 与 RBC、Hb 呈负相关, RICR、RFIR 与 RBC、Hb 呈正相关。红细胞免疫可随病情的好转、RBC、Hb 降低到正常范围而恢复至正常水平, 调节因子也随之正常。提示红细胞粘附功能及调节因子测定可作为高原红细胞增多症患者疗效观察的客观指标^[8]。

3.2 高原肺水肿患者红细胞免疫功能的变化及意义 观察了 29 例高原肺水肿患者的红细胞免疫功能及调节因子水平, 与 34 例初入高原健康人和 25 例急性高原反应患者进行了比较, 探讨了与本病发病机理的关系, 并对临床意义进行了初步分析。结果表明: 高原肺水肿患者红细胞免疫功能低于对照组, 红细胞免疫促进因子降低而抑制因子升高。动态观察显示经治疗后可以得到恢复。提示红细胞免疫功能及调节因子参与了高原肺水肿病理发生发展过程, 其检测可作为高原肺水肿疗效观察与急性高原反应的鉴别诊断指标, 对高原肺水肿的预防和治疗均具有一定的意义^[9]。

3.3 高原肺水肿患者红细胞促中心粒细胞吞噬功能改变 观察了 47 例高原肺水肿患者中心粒细胞吞噬功能及红细胞促中心粒细胞吞噬功能, 与 34 例初入高原健康人和 31 例急性高原反应患者进行比较, 探讨了吞噬率吞噬增强率与白细胞的关系。结果显示: 高原肺水肿患者吞噬率明显增强, 而吞噬增强率则减弱, 吞噬率、吞噬增强率与白细胞呈正负相关性, 认为红细胞促中心粒细胞吞噬功能的改变与肺水肿的病程进展有一定的联系, 改善和提高红细胞免疫功能对肺水肿的防治具有重要的临床价值^[10]。

4 紫外血疗法对高原健康青年红细胞免疫功能的影响

选海拔 3 658 m 高原健康青年 60 名, 随机分为对照组和治疗组, 对照组血液抽出放室温(25 °C)后 15 min 后回输, 治疗组血液抽出经 sb-99 型血液处理器紫外线照射充氧 15 min 后回输, 两组均与治疗前和治疗后抽血测定 RCR、RICR、RFER、RFIR。结果: 治疗组质量后 RCR 和 RFER 明显升高, RICR 及 RFIR 则明显降低。提示紫外血疗法改善高原健康青年红细胞免疫功能显著, 有增强身体素质的作用, 可作为提高机体红细胞免疫功能的有效方法, 这一疗法在高原地区疾病的治疗中有一定的临床价值^[11]。

参考文献

- [1] 石泉贵, 马召平, 黄明俊, 等. 不同海拔高度健康青年红细胞免疫功能的变化[J]. 高原医学杂志, 1993, 9(3): 46-48.
- [2] 石泉贵, 邓志武, 兰英, 等. 高原健康女性月经周期对红细胞膜 CR1 活性的改变[J]. 成都军区医院学报, 1999, 1(2): 11-14.
- [3] 石泉贵, 刘叶香, 邹敏, 等. 献血对高原人体红细胞免疫粘附功能

- 的影响[J]. 西藏医药杂志, 1999, 20(3): 11-12.
- [4] 石泉贵, 邓志武, 陈洪章, 等. 高原健康老人红细胞免疫功能及其调节因子的变化研究[J]. 西藏科技, 2000, 37(6): 4-5.
- [5] 石泉贵, 满玉生, 许清安, 等. 急速进入高原人员红细胞免疫粘附功能的动态变化观察[J]. 中国免疫学杂志, 1995, 11(1): 178-180.
- [6] 石泉贵, 邓志武, 江成剑, 等. 快速进入高原对世居高原藏族红细胞免疫粘附功能的影响[J]. 西南国防医药杂志, 2000, 10(5): 303-304.
- [7] 石泉贵, 邓志武, 江成剑, 等. 快速低氧致世居藏族红细胞促粒细胞吞噬作用改变[J]. 高原医学杂志, 2000, 10(4): 11-13.

· 综述 ·

维生素D代谢及25-羟基维生素D测定方法研究进展

李水军¹综述, 王思合², 周建烈¹, 余琛^{1△}审校

(1. 上海市徐汇区中心医院中心实验室, 上海 200031; 2. 美国克利夫兰医学中心
病理学与检验医学研究所, 美国克利夫兰 44195)

关键词: 25-羟基维生素D; 免疫酶技术; 液相色谱技术; 质谱技术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.24.040

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2012)24-3028-03

功能性的维生素D主要包括维生素D3和维生素D2。维生素D除了具有传统意义上的骨骼效应, 它还有着广泛的非骨骼效应, 与心血管疾病、免疫疾病、糖尿病、肿瘤等疾病密切相关。25-羟基维生素D(25OHD)测定是衡量维生素D营养状态的最佳指标。根据测定原理不同, 目前25OHD的测定方法可分为多种, 液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)具有特异性强、准确性高的特点, 被认为是评价维生素D营养状况的“金标准”测定法。

1 维生素D的来源、代谢途径、生理意义及参考水平

维生素D是一种必需的脂溶性维生素, 在自然状态下, 紫外线照射和食物源的补充是人体维生素D的主要来源。2010年美国医学科学院推荐不同年龄段人群维持骨骼健康所需维生素D的膳食参考摄入量(DRIs)为400~800IU/d, 成年人最高可耐受摄入量为4000IU/d。而实际上维生素D具有更加广泛的非骨骼效应, 维持正常维生素D水平需要摄入1000~2000IU/d^[1]。

自身合成和食物源的维生素D2和维生素D3经血液循环进入肝脏, 在维生素D-25-羟化酶作用下转化为25OHD2和25OHD3, 总称为25OHD。25OHD主要在肾脏经25OHD-1α羟化酶的催化下转化成有生理活性的1,25-二羟基维生素D[1,25(OH)2D]^[2]。维生素D、25OHD和1,25(OH)2D在人体内的半衰期分别为24 h、3周和4 h^[3]。其中25OHD在人体比较稳定且浓度较高, 能反映食物摄入和自身合成的维生素D总量, 以及维生素D的转化能力, 因此25OHD被认为是衡量维生素D营养状态的最佳指标^[3-5]。

维持正常的维生素D水平对调节钙磷代谢至关重要。在维生素D缺乏的情况下, 人体仅能吸收大约10%~15%钙和60%的磷, 1,25(OH)2D通过与维生素D受体结合, 可提高肠道对钙磷的吸收效率, 使钙吸收增加至30%~40%, 磷增加至80%左右^[5]。众所周知, 维生素D具有传统意义上的骨骼效应, 缺乏可能会导致儿童佝偻病、成人骨质疏松症、软骨症、肌

- [8] 石泉贵, 覃乐, 刘新明, 等. 高原红细胞增多症患者红细胞免疫功能状况及动态观察[J]. 中华血液学杂志, 1993, 14(5): 260-262.
- [9] 石泉贵, 马召平, 王雄伟, 等. 高原肺水肿患者红细胞免疫功能的变化及意义[J]. 中国免疫学杂志, 1997, 13(6): 104-107.
- [10] 石泉贵, 邓志武, 曾桂茹, 等. 高原肺水肿患者红细胞促中心粒细胞吞噬功能改变[J]. 高原医学杂志, 1999, 9(3): 46-48.
- [11] 石泉贵, 邓志武, 刘叶香, 等. 紫外血疗法对高原健康青年红细胞免疫功能的影响[J]. 高原医学杂志, 2000, 10(2): 11-12.

(收稿日期: 2012-01-09)

无力, 增加老人跌倒和骨折的风险。近年来研究表明, 维生素D还具有很多与自身免疫疾病、糖尿病、心血管病、肿瘤等有关的非骨骼效应^[3-5]。分子机理研究发现, 维生素D缺乏会直接影响人类基因的表达, 这些基因与风湿性关节炎和糖尿病等许多疾病有关^[6]。

25OHD是维生素D营养状态的评价指标, 最近美国医学科学院推荐25OHD血浓度大于20 ng/mL有利骨骼健康^[1], 而许多文献将维生素D缺乏定义为血清25OHD水平低于20 ng/mL, 不足为21~29 ng/mL, 充足为30 ng/mL以上, 而大于150 ng/mL可能会导致中毒。但是维生素D中毒极为罕见^[1,5], 而维生素D缺乏却十分常见, 这与年龄、人种、肤色、生活习惯等等有关。据估计, 全球有超过10亿人缺乏维生素D^[5]。

2 维生素D的测定方法和原理

通过测定25OHD浓度来评价维生素D水平, 现有多种方法用于临床25OHD的测定, 根据方法原理, 可分为酶免疫分析法和色谱法。由于所有的维生素D羟化物都可能发生抗体抗原结合反应, 因此酶免疫分析法只能测定25OHD总量, 无法同时测定25OHD2和25OHD3的浓度。现有25OHD的色谱分析方法包括高效液相色谱法(HPLC)和液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)^[7]。由于可分离并检测不同的分析物, 色谱法可区分并能分别定量25OHD2和25OHD3。

3 维生素D测定方法的评价

由于25OHD的测定结果影响维生素D的营养状况的判断, 测定结果准确与否、不同的测定方法之间是否一致, 至关重要。经过比较发现, 由于基于不同的测定原理和操作程序, 不同的25OHD测定方法之间可能存在一定的差异^[7-13]。

酶免疫分析法是早期维生素D测定的主流方法。2003年国际维生素D代谢物室间质评计划(DEQAS)的18个国家95家实验室中90%的25OHD测定方法为酶免法, 其中DiaSorin放免法和IDS放免法分别占38%和27%^[9]。酶免法在自动化