

• 论 著 •

C3-差向异构体测定对评估未成年人体内维生素 D 贮存的重要性*

何益洋¹, 李园梦², 徐 鹏¹, 冯 倩³, 蒋文强¹, 俸家富^{1△}

1. 四川省绵阳市中心医院检验科, 四川绵阳 621000; 2. 四川省南充市中心医院检验科, 四川南充 637000;
3. 成都中医药大学医学技术学院, 四川成都 610075

摘 要:目的 探讨不同状态下未成年人血清维生素 D(VitD), 包括 VitD₂、VitD₃ 和 C3-差向异构体(C3-epi)水平对评估体内 VitD 贮存的影响。方法 纳入研究的 1 671 例未成年人分为健康组 1 204 例和疾病组 467 例(矮小症 134 例、呼吸道感染 215 例、营养不良 57 例和抽动障碍 61 例);用超高效液相色谱-串联质谱法(UHPLC-MS/MS)检测血清 VitD₂ 及 VitD₃ 水平,并计算活性 VitD₃(AVitD₃)和 25 羟维生素 D[25(OH)D]。另外抽检 87 例(健康组 24 例和疾病组 63 例)的受试者 C3-epi 浓度。结果 疾病组的 VitD₂、VitD₃、25(OH)D 和 AVitD₃ 水平均低于健康组,差异有统计学意义($P<0.05$)。以 25(OH)D 水平作为判断依据,健康组 VitD 贮存充足占 65.4%,疾病组占 52.7%。将 VitD₂ 活性折算为 AVitD₃ 后,健康组 VitD 贮存充足占 53.2%,疾病组占 40.9%。疾病组 C3-epi 水平高于健康组差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 只检测 25(OH)D 水平或只检测 VitD₂ 和 VitD₃ 水平都会高估受试者体内 VitD 贮存。VitD₂、VitD₃ 和 C3-epi 均检测对准确评价 VitD 贮存极为重要,尤其是 1 岁以下婴儿和某些疾病患儿。

关键词:C3-差向异构体; 维生素 D; 液相色谱-串联质谱法; 未成年人

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.20.003 **中图法分类号:**R446.1

文章编号:1673-4130(2021)20-2443-06 **文献标志码:**A

Importance of C3 epimer determination for evaluating vitamin D storage in minors*

HE Yiyang¹, LI Yuanmeng², XU Peng¹, FENG Qian³, JIANG Wenqiang¹, FENG Jiafu^{1△}

1. Department of Clinical Laboratory, Mianyang Central Hospital, Mianyang, Sichuan 621000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Nanchong Central Hospital, Nanchong, Sichuan 637000, China; 3. College of Medical Technology, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu, Sichuan 610075, China

Abstract: Objective To investigate the effects of serum vitamin D (VitD) components, including VitD₂, VitD₃ and C3 epimer (C3-epi) levels on the evaluation of VitD storage in minors under different health conditions. **Methods** A total of 1 671 minors were divided into healthy group (1 204 cases) and disease group (467 cases), the disease group included 134 cases of short stature, 215 cases of respiratory infections, 57 cases of malnutrition and 61 cases of tic disorders. The levels of VitD₂ and VitD₃ were measured by UHPLC-MS/MS in all subjects, and the active VitD₃(AVitD₃) and 25 hydroxyvitamin D [25(OH)D] were calculated. In addition, the C3-epi level of 87 subjects (24 cases in healthy group and 63 cases in disease group) were measured by random sampling. **Results** VitD₂, VitD₃, 25(OH)D and AVitD₃ levels in disease group were significantly lower than those in healthy group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). According to the level of 25 (OH)D, 65.4% of the patients in the healthy group had sufficiency VitD and 52.7% in disease group. When the VitD₂ activity was converted into AVitD₃, 53.2% of the patients in the healthy group had sufficiency VitD, and 40.9% in the disease group. The C3-epi level in the disease group was significantly higher than that in the healthy group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Measure the 25(OH)D level only, or both VitD₂ and VitD₃ levels may overestimate the VitD status in subjects. Detection of VitD₂, VitD₃ and C3-epi levels are very important for accurate evaluation of VitD storage in

* 基金项目:四川省科技支持计划基金项目(2015SZ0117)。

作者简介:何益洋,女,技师,主要从事临床生物化学检验方面的研究。△ 通信作者, E-mail:jiafufeng@aliyun.com。

本文引用格式:何益洋,李园梦,徐鹏,等.C3-差向异构体测定对评估未成年人体内维生素 D 贮存的重要性[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(20):2443-2448.

subjects, especially infants under 1 year old and children with certain diseases.

Key words: C3-epimer, vitamin D; UHPLC-MS/MS; minor

维生素 D(VitD)是一类脂溶性固醇类衍生物, 25 羟维生素 D[25(OH)D]是主要储存形式, 包括 25(OH)D₂ 和 25(OH)D₃ (本文简称 VitD₂ 和 VitD₃)^[1-2]。VitD₂ 和 VitD₃ 分别来源于植物和动物。有研究认为应同时检测 VitD₂ 和 VitD₃ 以保证两种来源的 VitD 均能被检出^[3]。C3-差向异构体(C3-epi)是 VitD₂ 和 VitD₃ 在酶作用下形成的同分异构体。因此, 评价机体内 VitD 贮存, 仅检测总 25(OH)D 水平, 或仅分别检测 VitD₂ 和 VitD₃ 是不能准确评价的, 尤其是对于未成年受试者, 因其肝肾脏功能尚未成熟, 导致 VitD 代谢途径向差向异构体分流^[4]。本实验室引入超高效液相色谱-串联质谱法(UHPLC-MS/MS), 尝试检测了部分受试者 VitD₂ 与 VitD₃ 水平, 并分析了 C3-epi 对结果的影响, 以期临床评估未成年人(某些 VitD 相关性疾病)体内 VitD 贮存提供可靠的循证依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2019 年 6—8 月来绵阳市中心医院就诊或健康体检的未成年人(<18 岁)1 671 例, 年龄 1 个月至 16 岁, 中位年龄 12 岁。分为健康组($n=1\ 204$)和疾病组($n=467$), 疾病组为随机抽取的就诊患儿, 包括矮小症 134 例、呼吸道感染 215 例、营养不良 57 例和抽动障碍 61 例。

1.2 样本检测 受试者禁食过夜, 于上午 10 点前, 用一次性含分离胶/纤维蛋白酶促凝剂真空采血管(美国 BD 公司)采集空腹静脉血约 5 mL, 轻轻颠倒混匀, 静置 0.5~1.0 h 后, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, -80 ℃ 条件下保存备用。用 Jasper™ HPLC 液相色谱仪与 AB SCIEX Triple Quad™ 4500MD 型质谱仪串联, 检测血清中 VitD 组分含量。实验所用标准及仪器参数设置: (1) 校准品。25(OH)D₂ (同位素掺入 $\geq 98.0\%$, 纯度 $\geq 95.0\%$)、25(OH)D₃ ($\geq 99.0\%$, $\geq 95.0\%$) 和 3-epi-25(OH)D₃-[²H₃] ($\geq 98.0\%$, $\geq 98.0\%$) 购自美国 IsoSciences MPD 化学公司; 25(OH)D₂-D6 和 25(OH)D₃-D6 购自美国 Medical isotopes 公司, 二者丰度和化学纯度都分别为 $> 98.0\%$ (atom)D 和 $> 99.0\%$; 3-epi-25(OH)D₃ 购自加拿大 Toronto research chemical 公司, 纯度 95.0%。(2) 样本处理。向 200 μ L 血清中加入 10 μ L 内标溶液, 充分混匀后加入 1.0 mL 叔丁基甲醚, 以 13 000 r/min 高速离心 5 min, 吸取上清液 800 μ L 于洁净的埃彭多夫管中, 并吹干。然后向残余物中加入 100 μ L 含 0.1% 甲酸的 65.0% 甲醇溶液, 使之复溶, 充分混匀后待测。(3) 色谱条件。采用

C18 色谱柱(Phenomenex, 美国)进行样本分离, 柱温为 40 ℃, 流速为 0.6 mL/min。流动相 A 为含 0.1% 甲酸的水溶液, 流动相 B 为含 0.1% 甲酸的甲醇溶液, 梯度洗脱。(4) 质谱条件。采用 APCI 离子源进行质谱分析; 驻留时间为 40 ms; 扫描模式采用正离子多反应监测模式(MRM); VitD₂、D6-25(OH)D₂、VitD₃ 和 D6-25(OH)D₃ 的离子对(母离子/定量离子)分别为 395.3/269.2 m/z、419.3/229.3 m/z、383.3/365.3 m/z 和 389.3/363.3 m/z; 监测 VitD₂、D6-25(OH)D₂、VitD₃ 和 D6-25(OH)D₃ 所使用的去簇电压分别为 110 V、85 V、130 V 和 130 V, 碰撞能量分别为 24 eV、21 eV、16 eV 和 19 eV。(5) 数据采集: 色谱图输出用 Analyst® MD 软件(版本号: 1.6.3), 数据处理用 Multiquant™ MD 软件(版本号: 3.0.2), 二者均是 AB SCIEX Triple Quad™ 4500MD 质谱仪(ABI, 美国)配套操作系统。

1.3 C3-epi 分析 随机抽取 87 例样本, 包括健康者 24 例, 不同疾病患者 63 例。用同位素稀释超高效液相色谱串联质谱法进行 3-epi-25(OH)D₃, 即 C3-epi 检测。

1.4 VitD 组分水平的计算 根据液质串联质谱测得的 VitD₂ 和 VitD₃ 结果, 计算出 25(OH)D = VitD₂ + VitD₃; 由于 VitD₃ 是 VitD₂ 活性的 2~3 倍, 以最高活性 3 倍计算, 将 VitD₂ 折算为 VitD₃, 再加上 VitD₃ 的活性, 合并为 AVitD₃。活性 VitD₃ (AVitD₃) = VitD₂/VitD₃ + VitD₃。

1.5 VitD 营养状态的评估 根据美国医学研究所(IOM)推荐^[5], VitD 营养状态判断标准为 ≤ 20 ng/mL 为缺乏; 20~<30 ng/mL 为不足; ≥ 30 ng/mL 为充足。

1.6 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计学软件进行分析。因本研究的 VitD 组分水平不服从正态分布, 所测结果以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 进行描述。比较健康组与疾病组指标的差异, 选择 Mann-Whitney U 检验; 比较多组间指标的差异, 选择 Kruskal-Wallis H 检验, 两两比较采用 Bonferroni 法(即调整 α 水准法)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 受试者血清 VitD 组分水平 受试者 VitD₂、VitD₃、25(OH)D 和 AVitD₃ 水平见表 1。因本组资料均不呈正态分布, 用 Mann-Whitney U 检验对健康组和疾病组两组差异进行分析, 结果显示, 疾病组的血清 VitD₂ 水平、血清 VitD₃ 水平、25(OH)D 水平和 AVitD₃ 水平均明显低于健康组, 差异有统计学意义。

($P<0.05$)。

2.2 受试者血清 VitD₂ 和 VitD₃ 水平 受试者中, VitD₂ 水平从高至低依次为抽动障碍组、健康组、呼吸道感染组、矮小症组和营养不良组, 中位值水平分别为 1.96、1.91、1.61、1.44 ng/mL 和 0.99 ng/mL, 组间差异有统计学意义($P<0.05$)。经 Bonferroni 法两两比较, 营养不良组血清 VitD₂ 水平明显低于健康组和抽动障碍组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。受

试者中, VitD₃ 水平由高至低依次为健康组、呼吸道感染组、营养不良组、矮小症组、抽动障碍组, 中值水平依次分别为: 29.48、28.48、25.89、25.64、24.73 ng/mL, 组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。经 Bonferroni 法两两比较, 矮小症组和抽动障碍组血清 VitD₃ 水平均明显低于健康组和呼吸道感染组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

表 1 两组受试者血清 VitD 组分 [$M(P_{25} \sim P_{75})$]

分期	<i>n</i>	VitD ₂ (ng/mL)	VitD ₃ (ng/mL)	25(OH)D(ng/mL)	AVitD ₃ (ng/mL)	VitD ₂ /VitD ₃
健康组	1 204	1.91(0.80~8.09)	29.48(22.31~37.19)	34.29(27.13~42.46)	30.91(24.02~38.92)	0.07(0.03~0.26)
疾病组	467	1.54(0.73~4.48)	26.78(21.88~26.78)	30.50(24.88~37.79)	27.91(23.34~33.93)	0.06(0.03~0.15)
χ^2 或 <i>Z</i>	10.21	3.22	3.82	6.29	4.77	1.92
<i>P</i>	0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.055

注: 25(OH)D= VitD₂ + VitD₃; AVitD₃= VitD₂/VitD₃ + VitD₃。

2.3 受试者血清 25(OH)D 和 AVitD₃ 水平 受试者中, 25(OH)D 水平由高至低依次为健康组、呼吸道感染组、抽动障碍组、矮小症组和营养不良组, 见表 2, 中位值水平分别为 34.29、33.21、30.04、28.14、27.51 ng/mL, 组间差异有统计学意义($P<0.05$)。经 Bonferroni 法两两比较, 矮小症组、营养不良组和抽动障碍组血清 25(OH)D 水平均明显低于健康组, 而且矮小症组血清 25(OH)D 水平还明显低于呼吸道感染组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

受试者中, AVitD₃ 水平由高至低依次为健康组、呼吸道感染组、抽动障碍组、矮小症组和营养不良组, 中值水平分别为 30.91、30.19、26.56、26.47、26.07 ng/mL, 组间差异有统计学意义($P<0.05$)。经 Bonferroni 法两两比较, 矮小症组和抽动障碍组血清 AVitD₃ 水平均明显低于健康组, 而且矮小症组血清 AVitD₃ 水平还明显低于呼吸道感染组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.4 C3-epi 分析 本研究用同位素稀释质谱法评估

了 87 个血清样本 C3-epi 水平, 通过调整质谱条件和更换色谱柱, 实现 C3-epi 和 VitD₃ 色谱峰的有效分离, 见图 1。结果显示, VitD₃ 和 C3-epi 分别在 3.39 min 和 3.47 min 洗脱, 洗脱时间非常接近; 同时 C3-epi 的质谱峰与 VitD₃ 密切相关。然后, 在引入 C3-epi 标准品和同位素内标之后, 采用正离子条件下多反应监测模式 (MRM), 实现对 C3-epi 同位素内标法定量, 见表 3。因本组资料均不呈正态分布, 用 Mann-Whitney *U* 检验对健康组和疾病组两组差异进行分析, 结果显示, 随机抽样的血清样本中, 疾病组的 VitD₂、VitD₃ 和 25(OH)D 水平明显高于健康组, 而疾病组的 VitD₂/VitD₃ 与健康组比较差异无统计学意义($P>0.05$), 这些改变均与总体血清样本的改变一致; 但是疾病组的血清 C3-epi 水平明显高于健康组, 其与 VitD₃ 的比值 (即 C3-epi/VitD₃) 在疾病组和健康组间差异无统计学意义($P>0.05$), 而其与 25(OH)D 的比值 [即 C3-epi/25(OH)D] 疾病组低于健康组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 未成年人常见疾病血清 VitD 组分 [$M(P_{25} \sim P_{75})$]

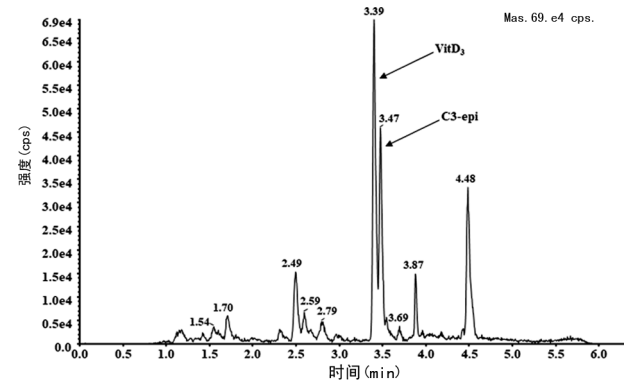
分组	<i>n</i>	VitD ₂ (ng/mL)	VitD ₃ (ng/mL)	25(OH)D(ng/mL)	AVitD ₃ (ng/mL)	VitD ₂ /VitD ₃
健康组	1 204	1.91(0.80~8.09)	29.48(22.31~37.19)	34.29(27.13~42.46)	30.91(24.02~38.92)	0.07(0.03~0.26)
矮小症组	134	1.44(0.70~4.17)	25.64(21.21~30.43) *★	28.14(24.25~33.76) *★	26.47(22.51~31.36) *★	0.05(0.03~0.15)
呼吸道感染组	215	1.61(0.82~5.71)	28.48(23.09~36.30)	33.21(25.93~40.23)	30.19(24.08~37.53)	0.06(0.03~0.19)
营养不良组	57	0.99(0.58~2.27) *#	25.89(21.44~33.07)	27.51(22.95~37.34) *	26.07(22.36~34.58)	0.04(0.02~0.10) *
抽动障碍组	61	1.96(0.93~4.75)	24.73(21.15~30.42) *★	30.04(25.14~34.74) *	26.56(22.91~31.94) *	0.09(0.04~0.19)
<i>H</i>		20.72	29.17	58.95	39.40	11.73
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.020

注: 与健康组相比, * $P<0.05$; 与呼吸道感染组相比, ★ $P<0.05$; 与抽动障碍组相比, # $P<0.05$ 。

表 3 受试者血清 VitD 组分检测范围及估计区间

观察指标	健康组 (<i>n</i> = 24)		疾病组 (<i>n</i> = 63)		<i>Z</i>	<i>P</i>
	检测范围	估计区间	检测范围	估计区间		
	[<i>M</i> (最小值~最大值)]	<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)	[<i>M</i> (最小值~最大值)]	<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ ~ <i>P</i> ₇₅)		
VitD ₂	16.52(0.25~16.77)	1.43(0.64~8.81)	40.64(0.06~40.70)	1.17(0.48~6.10)	2.99	0.006
VitD ₃	27.57(10.07~37.64)	27.80(20.64~32.91)	47.14(5.70~52.84)	25.20(16.23~30.90)	2.18	0.027
25(OH)D	23.88(20.08~43.96)	31.80(24.83~36.08)	61.48(7.92~69.40)	29.14(22.17~37.81)	2.11	0.038
C3-epi-epi	10.71(0.18~10.89)	2.50(1.38~4.04)	14.59(0.18~14.77)	1.36(0.75~2.76)	2.33	0.020
C3-epi/VitD ₃	0.32(0.01~0.33)	0.10(0.06~0.15)	0.71(0.01~0.71)	0.07(0.03~0.13)	1.87	0.061
C3-epi/25(OH)D	0.32(0.01~0.33)	0.09(0.06~0.11)	0.33(0.01~0.33)	0.06(0.03~0.09)	2.03	0.043
VitD ₂ /VitD ₃	1.05(0.01~1.06)	0.05(0.02~0.46)	3.74(0.00~3.74)	0.06(0.02~0.32)	0.07	0.943

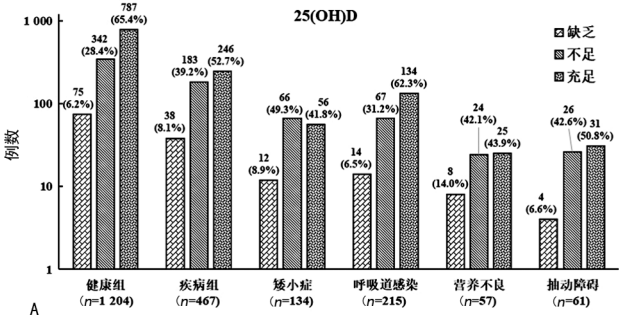
注：与健康组比较，* *P* < 0.05。



注：C3-epi 的质谱峰与 VitD₃ 密切相关，洗脱时间非常接近。VitD₃ 和 C3-epi 分别在 3.39 min 和 3.47 min 洗脱。

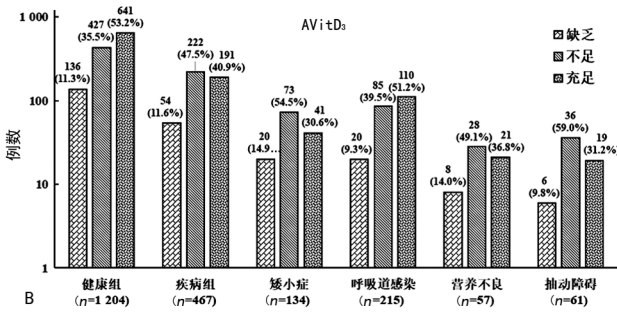
图 1 典型血清 VitD₃ 代谢物 UPLC-MS/MS 光谱

2.5 受试者体内 VitD 营养状态 用 25(OH)D 水平



分析本组受试者机体 VitD 贮存状况，因为是夏季，再加上儿童可能有意识地补充了 VitD，从图 2 可见，65.4%健康组和 52.7%疾病组受试者 VitD 充足，疾病组中 VitD 充足者比例低于 50%的是矮小症(41.8%)和营养不良患者(43.9%)。但是，由于 VitD₂ 活性仅是 VitD₃ 活性的 1/3~1/2，因此将 VitD₂ 活性折算为 AVitD₃ 水平用于分析后发现，仅健康组(53.2%)和呼吸道感染组(51.2%)有刚过一半的受试者 VitD 贮存充足，而矮小症(30.6%)和抽动障碍患者(31.2%)中 VitD 贮存充足者不足 1/3，其 VitD 缺乏或不足超过者分别占 69.4%和 68.8%。

将本研究受试者 VitD 营养状况绘成图，按 25(OH)D 判断，见图 2A；按 AVitD₃ 判断，见图 2B。



注：A 为 25(OH)D 判断；B 为 AVitD₃ 判断。

图 2 受试者 VitD 营养状况

3 讨 论

VitD 缺乏已成为全球的公共卫生健康问题，越来越多的研究者们对 VitD 水平的关注已不仅仅局限于营养学，而是对很多疾病的构成比，如心脏病、肾病、肺病、癌症、糖尿病、高血压、精神分裂症和自身免疫性疾病等的发生发展、疗效监测和预后评估的意义都在进行广泛的探索^[2,6-11]。但是，鉴于早些年医学实验室 VitD 检测技术的局限，这些研究多集中在某种疾病与 25(OH)D 水平关系的层面，而对 VitD 组分的组

成、测定及其与疾病发生发展的相关性，研究报道较少。

本研究用 UHPLC-MS/MS 技术分析了未成年人中健康受试者和某些种类疾病患者血清 VitD 组分。疾病组血清 VitD₂、VitD₃ 和 25(OH)D 水平均较健康组降低。说明未成年人在疾病发生后可能导致体内 VitD 水平下降，当然也可能是机体 VitD 水平较低导致疾病发生。虽然还没能证明 VitD 是一种抗氧化剂，但 VitD 能调节多条合成抗氧化物质的细胞通路，

对抗活性氧自由基和一氧化氮的氧化作用,防止组织细胞氧化损伤^[12]。因此,如若机体内 VitD 长期维持在较低水平,个体对抗 ROS 的能力就将下降,组织细胞被氧化损伤的可能性增加,导致疾病发生和发展概率增加。另一方面,大多数疾病都与炎症相关,机体抗炎性反应必然消耗抗氧化剂,这可能就是发生疾病时体内 VitD 水平降低的原因之一。

由于人体血液中 VitD₂ 及其代谢产物与 VitD 结合蛋白相结合的能力比 VitD₃ 低,加之 VitD₂ 存在一个非生理代谢形式,且其半衰期较 VitD₃ 短, VitD₂ 的生物效力明显低于 VitD₃, 这些因素使得 VitD₃ 实际存储 VitD 的能力要比 VitD₂ 高 2~3 倍^[1,13]。因此,生理状态下,机体内 VitD₃ 水平远高于 VitD₂ 水平, VitD₂/VitD₃ 比值极低。受试者因某些不明原因导致体内 VitD₂ 水平过高而 VitD₃ 却明显降低时,若仅检测血清 25(OH)D 水平,就可能导致 VitD 贮存充足的假象。对本组受试者的研究显示,经 VitD₂ 向 AVitD₃ 折算后,以 AVitD₃ 水平再进行体内 VitD 营养状况评估时,本组受试者中无论健康与否,其 VitD 中位数水平均有明显下降。这可能就是检测血清 VitD 浓度时,需检测其组分的真正理由所在,因为只有这样才能正确评价受试者体内 VitD 营养水平。然而,关于对机体内 VitD 贮存的评价,现在临床实验室几乎都是使用免疫标记技术(即化学发光法)来检测血清总 25(OH)D 水平,其结果不仅只是将 VitD₂ 与 VitD₃ 的生物活性等同,而且还忽视了样本中 C3-epi 的存在,显然这样的评价方式极为不当甚至是错误的认识,真正能正确评价受试者体内 VitD 贮存的指标是生物可利用 VitD,即 AVitD。本研究可见,当不考虑 VitD₂ 的生物效力时,许多受试者尚表现为有足够的 VitD 贮存,但若将各种 VitD 组分折算为 AVitD 后,2/3 以上疾病患者体内 VitD 贮存不足或缺乏。

25(OH)D 能被 25-羟基维生素 D₃-3-差示酶作用,使 VitD₃ 第 3 个碳原子上的羟基空间位置由 3β 反转为 3α,形成 3-epimer-25(OH)D₃^[14],即 C3-epi。C3-epi 与 VitD₃ 有着相同分子质量和结构式,仅空间构象不同,但它没有生物活性^[14]。因此,相同 VitD₃ 水平,如果 C3-epi 含量高,其实质就是降低了 VitD 的体内贮存。在儿童,尤其 1 岁以下婴儿,由于 VitD 代谢通路尚不成熟,C-3 异构化可能是 25(OH)D 的主要代谢途径之一,所以 1 岁以下婴儿 C3-epi 浓度很高^[15]。本组健康受试者的分析结果也能进一步证明该结论。因此,儿童尤其是 1 岁以下婴儿如果不检测 C3-epi 水平,高估其体内 VitD 贮存的可能性极大。随着年龄的增长,如果血清 C3-epi 浓度依然高,可能表明 VitD 代谢通路成熟较慢。本研究发现当处于疾病状态时,患者 C3-epi 中位数和区间估计均高于健康

受试者,表明某些疾病可能影响了机体内 VitD 的正常代谢,从而影响了机体的真实 VitD 贮存水平,这类患者如果不检测 C3-epi 水平,必将高估体内 VitD 贮存。此外同 VitD₃ 一样, VitD₂ 也存在差向异构化,但因为正常生理状况下甚至在多数疾病状况下, VitD₂ 在人体内的含量远较 VitD₃ 低,因此,除研究外,临床上检测 VitD₂ 的差向异构体对评价 VitD 贮存的意义不大。这也是本文不分析 VitD₂ 差向异构体的原因。但是,本研究结果发现,C3-epi 增加的患者,有 VitD₂ 增加的趋势。那么,C3-epi 的生成与 VitD₂ 水平有无关系?是 VitD₂ 促进 C3-epi 的生成,还是 C3-epi 增加导致的 VitD₂ 适应性增加? VitD₂ 增加是否也意味着其差向异构体增加?这需要作进一步研究。

目前,还没有任何医疗机构或研究单位提供 VitD₂、VitD₃ 及其比值(VitD₂/VitD₃)的参考值范围,因为现有临床医生均仅依据 25(OH)D 水平来评价受试者机体内 VitD 贮存。分析原因:第一,现有临床实验室所使用的免疫学检测方法尚不能分别检测 VitD₂ 和 VitD₃ 水平;第二,大多数人认为机体内 VitD₂ 水平远低于 VitD₃ 水平, VitD₂ 的改变对总的 25(OH)D 水平影响不大;第三,极少有人关注 C3-epi 对 25(OH)D 水平的影响。但是,由于 VitD₂ 和 VitD₃ 活性不同,以及 C3-epi 形式的存在,即便相同 25(OH)D 检测水平,也可能由于 VitD₂、VitD₃ 和 C3-epi 的组成不同,从而表现出不同的 VitD 贮存水平。因此,想要准确评估受试者机体内 VitD 营养状况,就必须准确测定 VitD₂、VitD₃ 和 C3-epi 在内的 VitD 组分。由此可见,正确选择 VitD 的检测方法和其必须的组分检测,对正确认识和评估受试者机体内贮存至关重要。

由于受试者体内 VitD 可能存在 C3-epi 形式,如果只是检测血清 25(OH)D 水平,或者只检测 VitD₂ 和 VitD₃ 水平均会过高估计受试者体内 VitD 贮存。因此,C3-epi 水平检测对准确评价受试者体内 VitD 贮存极为重要,尤其是 1 岁以下婴儿和某些疾病患儿。

参考文献

- [1] CHAROENNGAM N,SHIRVANI A,HOLICK MF. Vitamin D for skeletal and non-skeletal health: What we should know[J]. J Clin Orthop Trauma, 2019, 10(6): 1082-1093.
- [2] ALCUBIERRE N, CASTELBLANCO E, MARTÍNEZ-ALONSO M, et al. Vitamin D deficiency is associated with poorer satisfaction with diabetes-related treatment and quality of Life in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study[J]. Health Qual Life Outcomes, 2018,16(1):44.
- [3] SOUBERBIELLE J C,BODY J J,LAPPE J M,et al. Vi-

tamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice[J]. *Autoimmun Rev*, 2010, 9(11): 709-715.

[4] YAZDANPANAH M, BAILEY D, Walsh W, et al. Analytical measurement of serum 25-OH-vitamin D₃, 25-OH-vitamin D₂ and their C3-epimers by LC-MS/MS in infant and pediatric specimens[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(13-14): 1264-1271.

[5] ALOIA J F. The 2011 report on dietary reference intake for vitamin D: where do we go from here? [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(10): 2987-2996.

[6] OSORIO LANDA H K, PÉREZ DÍA Z I, LAGUNA BÁRCENAS S D C, et al. Association of serum vitamin D levels with chronic disease and mortality[J]. *Nutr Hosp*, 2020, 37(2): 335-342.

[7] L'ESPÉRANCE K, DATTA G D, QURESHI S, et al. Vitamin D exposure and ovarian cancer risk and prognosis [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(4): 1168.

[8] YAMAMOTO E A, JØRGENSEN T N. Relationships between vitamin D, gut microbiome, and systemic autoimmunity[J]. *Front Immunol*, 2020, 21(10): 3141.

[9] MIETTINEN M E, NIINISTÖ S, ERLUND I, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration in childhood and risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the TRIGR nested case-control ancillary study[J]. *Diabetologia*, 2020, 63(4): 780-787.

[10] VASILE M, CORINALDESI C, ANTINOZZI C, et al. Vitamin D in autoimmune rheumatic diseases: A view inside gender differences [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 117: 228-241.

[11] XU D M, LIANG J H, LI W, et al. 25-Hydroxy vitamin D deficiency predicts inferior prognosis in mantle cell lymphoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(4): 1003-1009.

[12] CÂMARA A B, BRANDÃO I A. The relationship between vitamin D deficiency and oxidative stress can be Independent of age and gender[J]. *Int J Vitam Nutr Res*, 2019, 12: 1-16.

[13] CALLEJO M, MONDEJAR-PARREÑO G, ESQUIVEL-RUIZ S, et al. Total, bioavailable, and free vitamin D levels and their prognostic value in pulmonary arterial hypertension[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(2): 448.

[14] AL-ZOHILY B, AL-MENHALI A, GARIBALLA S, et al. Epimers of vitamin D: A review[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 470.

[15] MYDTSKOV N D, LYKKEDEGN S, FRUEKILDE P B N, et al. S-25-hydroxyvitamin D and C3-epimers in pregnancy and infancy: An Odense Child Cohort study[J]. *Clin Biochem*, 2017, 50(18): 988-996.

(收稿日期: 2021-01-12 修回日期: 2021-05-26)

(上接第 2442 页)

[11] LIU C, YAO M D, LI C P, et al. Silencing Of Circular RNA-ZNF609 ameliorates vascular endothelial dysfunction[J]. *Theranostics*, 2017, 7(11): 2863-2877.

[12] HUANG W, HUANG C, DING H. Involvement of miR-145 in the development of aortic dissection via inducing proliferation, migration, and apoptosis of vascular smooth muscle cells[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(1): e23028.

[13] YUE Y, ZHANG Z, ZHANG L, et al. miR-143 and miR-145 promote hypoxia-induced proliferation and migration of pulmonary arterial smooth muscle cells through regulating ABCA1 expression[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2018, 37: 15-25.

[14] PENG L, CHEN G, ZHU Z, et al. Circular RNA ZNF609 functions as a competitive endogenous RNA to regulate AKT3 expression by sponging miR-150-5p in Hirschsprung's disease[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 808-818.

[15] LUO X Y, ZHU X Q, LI Y, et al. MicroRNA-150 restores endothelial cell function and attenuates vascular remodeling by targeting PTX3 through the NF-κB signaling pathway in mice with acute coronary syndrome[J]. *Cell Biol Int*, 2018, 42(9): 1170-1181.

[16] LEGNINI I, DI TIMOTEO G, ROSSI F, et al. Circ-ZNF609 Is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis[J]. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 22-37.

[17] LIANG B, LI M, DENG Q, et al. CircRNA ZNF609 in peripheral blood leukocytes acts as a protective factor and a potential biomarker for coronary artery disease[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(12): 741.

[18] VERDOIA M, BARBIERI L, DI GIOVINE G, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and the extent of coronary artery disease: results from a large cohort study[J]. *Angiology*, 2016, 67(1): 75-82.

[19] AKBOGA M K, CANPOLAT U, BALCI K G, et al. Increased platelet to lymphocyte ratio is related to slow coronary flow[J]. *Angiology*, 2016, 67(1): 21-26.

[20] LI L, LUO Y, ZHANG Y, et al. CircZNF609 aggravates neuropathic pain via miR-22-3p/ENO1 axis in CCI rat models[J]. *Gene*, 2020, 763: 145069.

(收稿日期: 2021-02-02 修回日期: 2021-05-22)