

不同紫外线辐射剂量率对大鼠血清 25-(OH)D 水平及皮肤效应的影响

吴梅^{1,2} 张巍^{1*}

1. 首都医科大学附属北京妇产医院儿科, 北京 100026

2. 航空总医院儿科, 北京 100012

中图分类号: R112 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017) 07-0870-04

摘要: **目的** 探讨在紫外线总暴露剂量相同情况下, 多次小剂量暴露与集中大剂量暴露对生长期大鼠血清 25-(OH)D 和皮肤效应的影响。 **方法** 选用 90 只 21 d 断乳雄性 wistar 大鼠, 分为 1MED 组 (27 只)、1/3MED 组 (27 只)、1/5MED 组 (27 只) 及避光组 (9 只) 4 组。饲以维生素 D 缺乏饲料。1/5MED 组大鼠连续照射 15 d, 每日照射剂量为 1/5MED; 1/3MED 组实验期间间断照射 9 d, 每天照射剂量为 1/3MED; 1MED 组实验期间间断照射 3 d, 每天照射量为 1MED; 实验期内累计暴露剂量均为 3MED。避光组接受白炽灯照射, 实验期内累计暴露剂量为 0 mj/cm²。实验期为 15 d, 测定各组血清 25-(OH)D 水平, 观察皮肤改变情况。 **结果** 4 组大鼠血清 25-(OH)D 浓度差异明显 ($F = 20.695, P < 0.001$)。其中 1/5MED 组的血清 25-(OH)D 浓度为 (151.97 ± 73.52) nmol/L, 高于 1/3MED 组的 (136.21 ± 71.39) nmol/L, 但差异无统计学意义 ($P = 0.966$); 1/5MED、1/3MED 组均显著高于 1MED 组 (54.50 ± 20.52) nmol/L 和避光组 (15.63 ± 0.82) nmol/L, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$); 1MED 组高于避光组 ($P < 0.001$)。1/5MED 组在照射 5 次后背部皮肤开始出现轻度红斑、无水肿; 1/3MED 组在照射 3 次后开始出现中度红斑, 轻度水肿; 1MED 组大鼠在照射 1 次后开始出现重度红斑, 中度水肿; 而对照组在实验期间未出现红斑, 水肿。 **结论** 紫外线暴露能够促进大鼠内源性维生素 D 的合成, 多次小剂量暴露可明显提高大鼠血清 25-(OH)D 水平, 且皮肤损伤明显减轻。

关键词: 紫外线; 暴露频率; 25 羟基维生素 D; 皮肤损伤; 大鼠

The influence of different ultraviolet (UV) exposure frequency on serum 25(OH)D and skin in rats

WU Mei^{1,2}, ZHANG Wei^{1*}

1. Department of Pediatrics, Beijing Obstetrics & Gynecology Hospital, Capital Medical University, Beijing 100026

2. Department of Pediatrics, Aviation General Hospital of China Medical University, Beijing 100012, China

Corresponding author: ZHANG Wei, Email: zw296@163.com

Abstract: **Objective** To investigate the effect of multiple exposure with low-dose UV or concentrated high-dose UV exposure under same amount of total dose on serum 25 (OH) D and the skin in growing rats. **Methods** Ninety 21-day weaning male Wistar rats were divided into 1MED group ($n = 27$), 1/3MED group ($n = 27$), 1/5MED group ($n = 27$), and incand escent lamp group ($n = 9$). Rats were fed with vitamin D deficiency meal. The rats in 1/5MED group were irradiated with 1/5MED UV dose per day for consecutive 15 days. The rats in 1/3MED group were intermittently irradiated with 1/3MED UV dose for 9 days. The rats in 1MED group were intermittently irradiated for 3 days with a 1 Med daily dose of UV. The cumulative exposure dose was 3 MED in all groups except the incand escent lamp group during the experimental period. Rats in incand escent lamp group was exposed to incand escent lamp only, and the cumulative UV exposure dose was 0 mj/cm². The plasma level of 25(OH)D was measured and the change of skin was observed after the 15-day experimental period in each group. **Results** The serum 25(OH)D concentrations were significantly different among the 4 groups ($F = 20.695, P < 0.001$). The serum 25(OH)D in 1/5MED group (151.97 ± 73.52) nmol/L was higher than that in the 1/3MED group (136.21 ± 71.39) nmol/L. There was no significant difference between the two groups ($P = 0.96$). The serum 25(OH)D in 1/5MED and 1/3MED was significantly higher than that in 1 MED group (54.50 ± 20.52) nmol/L and incand escent lamp group (15.63 ± 0.82) nmol/L, $P < 0.001$. The serum 25(OH)D

*通讯作者: 张巍, Email: zw296@163.com

in 1MED group was higher than that in incand escent lamp group ($P < 0.001$). The skin of rats began to appear mild erythema, with no edema after 5 times irradiation in the 1/5MED group. It began to appear moderate erythema, edema after 3 times irradiation in 1/3MED group and began to appear the severe erythema and moderate edema after 1 time irradiation in the 1 MED group. Rat in incand escent lamp group did not appear erythema and edema during the trial. **Conclusion** Ultraviolet exposure can promote the synthesis of endogenous vitamin D in rats. Multiple small-dose UV exposure is better in increase of serum 25(OH)D and reducing skin damage.

Key words: Ultraviolet(UV); Exposure frequency; 25(OH)D; Skin damage; Rat

维生素 D 的产生与日光中紫外线照射关系密切,人体对维生素 D 需求量的 90% 以上来自紫外线照射皮肤合成的内源性维生素 D。虽然日光照射对人类意义重大,但紫外线过量照射可使皮肤产生红斑、晒黑、光老化、光敏反应、皮肤癌等负健康效应。因此,合理的日光照射显得尤为重要。本实验通过构建不同紫外线暴露条件下的大鼠模型,探讨在紫外线总暴露剂量相同情况下,多次小剂量暴露与集中大剂量暴露对生长期大鼠血清 25-(OH)D 浓度的影响,同时评价不同暴露方式对皮肤产生的副作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物及饲料

选用 21 d 龄的雄性 Wistar 大鼠(由中国医学科学院实验动物中心提供)90 只,体重 27.8 ~ 55.6 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。

1.2 仪器和试剂

上海希格玛紫外线光疗仪(UVB)光源,波长 310 ~ 313 nm,照射强度为 10 mw/cm²。上海宝山顾村电光仪器厂生产 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。大鼠血清 25-(OH)D 酶联免疫吸附法试剂盒由 IDS Ltd 公司提供。

1.3 动物饲养

90 只大鼠随机分为 1MED 组、1/3MED 组、1/5MED 组及白炽灯组 4 组,前 3 组每组 27 只,白炽灯组 9 只。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/cm²。实验期为 15 d。

1.4 紫外线照射

照射前用电推子将 90 只大鼠背部部分皮毛剃

去,面积大约为 5 × 3 cm²。除白炽灯组外,其余 3 组直接置于 SigmaSS-01 型紫外线光疗仪下,用于直接照射的笼具是专门定制的,长 7 cm,宽 7 cm,高 3 cm,中间有遮挡,可以同时盛装 2 只大鼠,大鼠距紫外线光疗仪 < 1 cm,接受紫外线辐射强度为 10 mw/cm²。前期研究表明大鼠的最小红斑量为 5.5 J/cm²。根据公式:紫外线辐射剂量(J/cm²) = 辐射强度(w/cm²) × 辐射时间(s)。1/5MED 组大鼠连续照射 15 d,每日照射剂量为 1/5MED,照射时间为 1 min 50 s;1/3MED 组实验期内间断照射 9 d,每天照射剂量为 1/3MED,照射时间为 3 min 3 s;1MED 组实验期内间断照射 3 d,每天照射量为 1MED,照射时间为 9 min 10 s;实验期内累计暴露剂量均为 3MED。白炽灯组接受白炽灯照射,经检测白炽灯下紫外线辐射强度为 0 mw/cm²,实验期内累计暴露剂量为 0 J/cm²。

1.5 血清 25-(OH)D 检测

实验结束时用 5% 水合氯醛 300 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℃ 至检测。酶联免疫吸附法检测 25-(OH)D 浓度。

1.6 皮肤损伤的评价标准及方法

参考皮肤刺激反应评分将刺激反应评分分度^[1]。红斑分度:皮肤未出现红斑为 0 分,勉强可见为 1 分,中度红斑为 2 分,严重红斑为 3 分,紫红色红斑并有焦痂形成成为 4 分。水肿分度:无水肿为 0 分,勉强可见为 1 分,皮肤隆起轮廓清楚为 2 分,水肿隆起约 1 mm 范围扩大为 4 分。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。实验数据大鼠血清 25-(OH)D 浓度用均数 ± 标准差表示,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行组间比较。皮肤损伤评分结果用均数 M(P25, P75)表示,采用完全随机化设计多组独立样本的秩和检验进行组间比较, $P < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠血清 25-(OH)D 浓度的比较

4 组大鼠血清 25-(OH)D 浓度差异明显, $F = 20.695$, $P < 0.001$ 。1/5MED 组 (151.97 ± 73.52) nmol/L 高于 1/3MED 组 (136.21 ± 71.39) nmol/L, 但差异无统计学意义 ($P = 0.966$); 1/5MED、1/3MED 组均显著高于 1MED 组 (54.50 ± 20.52) nmol/L 和避光组 (15.63 ± 0.82) nmol/L, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。1MED 组高于避光组 ($P < 0.001$)。提示日光暴露增加了血清 25-(OH)D 浓度, 多次小剂量暴露在提高血清 25-(OH)D 浓度方面优于集中大剂量暴露。

2.2 各组大鼠照射部位皮肤改变

1/5MED 组、1/3MED 组、1MED 组大鼠在照射剂量达到 1MED 后背部皮肤均出现红斑, 而对照组在实验期间未出现红斑(图 1)。皮肤损伤的评分结果见表 1, 提示在紫外线暴露所致的红斑副作用中, 多次小剂量暴露产生的副作用小于集中大剂量暴露。

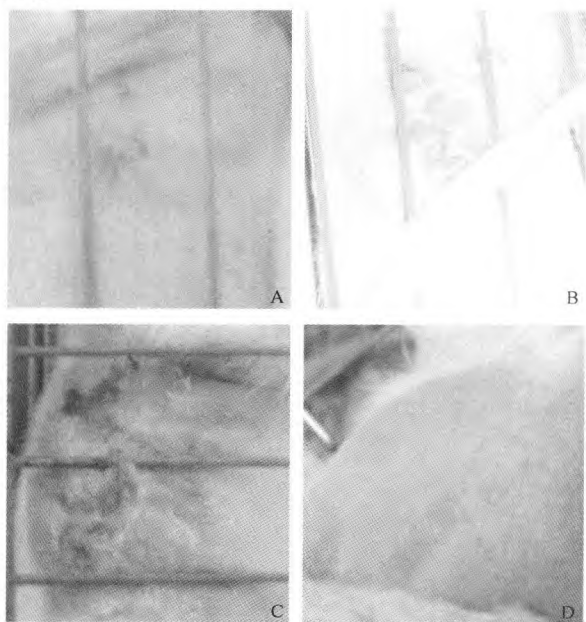


图 1 不同方式紫外线暴露后大鼠皮肤损伤特点。
A: 1/5MED 组, B: 1/3MED 组, C: 1MED 组, D: 对照组

Fig. 1 The skin damage characteristics in rats under different ways of UV exposure. A: The 1/5MED group; B: The 1/3MED group; C: The 1MED group; D: The control MED group

表 1 不同紫外线暴露方式对大鼠皮肤损伤评分结果

Table 1 The score of skin damage in rats under different ways of UV exposure

组别	例数	红斑出现时间	红斑评分	水肿评分	总评分
1/5MED 组	27	照射 5 次后	1(1,1)	0(0,0)	1(1,1)
1/3MED 组	27	照射 3 次后	2(2,2)	2(2,2)	4(4,4)
1MED 组	27	照射 1 次后	4(4,4)	4(4,4)	8(8,8)
对照组	9	未出现红斑	0(0,0)	0(0,0)	0(0,0)

注: 表格内数据为 $M(P_{25}, P_{75})$, 4 组间比较, $P < 0.001$ 。

3 讨论

3.1 适宜的紫外线暴露频率与强度有利于获得较高水平的外源性维生素 D

尽管存在廉价有效的预防手段, 维生素 D 缺乏仍然是许多国家的公共健康问题^[2]。大量的流行病学研究发现, 维生素 D 不足和缺乏普遍存在, 其发生率大约 30% ~ 50%^[3]。通过日照, 太阳的紫外线(波长 290 ~ 315 nm)可穿透皮肤, 将 7-脱氢胆固醇转变为维生素 D₃^[4]。而过度日照并不会造成维生素 D 中毒, 因为多余的维生素 D₃可转化为其他数种光产物而不会过量^[5]。但过量照射可产生红斑、晒黑、光老化、皮肤癌等负健康效应^[6]。因此, 合理的日光照射显得尤为重要。关于日光照射的研究较多^[7], 但多次小剂量暴露和集中大剂量暴露的报道鲜见。本研究通过建立生长期大鼠不同方式的紫外线暴露模型, 探讨相同紫外线总暴露剂量下多次小剂量与集中大剂量暴露对生长期大鼠血清 25-(OH)D 和皮肤的影响, 为如何进行日光照射提供一定的参考资料。

血清 25-(OH)D 含量常作为维生素 D 营养状况的指标^[8]。本研究采用的维生素 D 缺乏饲料, 除维生素 D 含量外, 其余成分均符合大鼠生长发育所需。排除了外源性维生素 D 的产生途径, 实验期内大鼠体内的维生素 D 全部来自于紫外线照射皮肤所产生, 因此血清中 25-(OH)D 的水平随着 UVB 辐射量及暴露方式而改变。本研究显示 1/5MED 组血清 25-(OH)D 浓度最高, 其依次为 1/3MED 组、1MED 组和对照组。1/5MED 组和 1/3MED 组的血清 25-(OH)D 浓度差异无统计学意义, 其余各组比较差异均有统计学意义, 提示日光暴露能够提高血清 25-(OH)D 的浓度, 多次小剂量暴露在提高血清 25-(OH)D 浓度方面优于集中大剂量暴露。

3.2 在获得外源性维生素 D 时要考虑到光毒性带来的皮肤损害

在特定条件下,人体皮肤接受紫外线照射后出现的肉眼可辨的最弱红斑需要一定的照射剂量,即皮肤红斑阈值,通常称为最小红斑剂量。紫外线红斑的形成和皮肤受到的照射剂量有关。依据照射剂量的大小,临床上表现为轻重不等的斑疹,颜色可为淡红色、鲜红色或深红色,可有程度不一的水肿,重者出现水疱。红斑数日内逐渐消退,可出现脱屑及继发性色素沉着。从组织学的角度来看,紫外线红斑的本质是一种急性光毒性炎症反应^[9],其中真皮内血管反应是产生红斑的基础。本研究显示 1/5MED 组在照射 5 次后背部皮肤开始出现轻度红斑,轻度无水肿;1/3MED 组在照射 3 次后开始出现中度红斑,轻度水肿;1MED 组大鼠在照射 1 次后开始出现重度红斑,中度水肿;而对照组在实验期间未出现红斑、水肿。由此可见在紫外线暴露所致的红斑副作用中,多次小剂量暴露产生的副作用小于集中大剂量暴露。

综上所述,本研究中 1/5MED 组和 1/3MED 组的血清 25-(OH)D 浓度均有明显升高的现象,但考虑到 1/3MED 组的皮肤反应较 1/5MED 组严重,提示为避免皮肤受伤且能获得足够的血清 25-(OH)D 含量,应采取多次小剂量暴露。有研究发现,当正常人在接受紫外线照射的量达到 1MED 时,维生素 D 停止合成^[10]。尽管早期紫外线带来的伤害是可逆的,在进行日光浴时人们也应尽量避免一次达到 1MED。当然本研究只选用了大鼠作为研究对象,未考虑到人类接受阳光照射时的多重影响因素,如何充分合理获得阳光照射以提高体内维生素 D 水平,同时避免过多的日光照射所带来的皮肤伤害仍有待进一步研究^[11]。

致谢:感谢马建荣、武玮、刘强对本实验的帮助!

【参 考 文 献】

- [1] 李文兴,赵英.白藜芦醇软膏安全性评价.大家健康,2013,10(7):5-6.
Li WX, Zhao Y. The safety evaluation of resveratrol ointment. Good Health for All, 2013, 10(7): 5-6. (in Chinese)
- [2] Unuvar T, Buyukgebiz A. Nutritional rickets and vitamin d deficiency in infants, children and adolescents. Pediatr Endocrinol Rev, 2010, 7(3): 283-291.
- [3] Lee JH, O'Keefe JH, Bell D, et al. Vitamin D deficiency: An important, common, and easily treatable cardiovascular risk factor?. J Am Coll Cardiol, 2008, 52(24): 1949-1956.
- [4] Holick MF. Sunlight, UV - radiation, vitamin D and skin cancer: How much sunlight do we need?. Adv Exp Med Biol, 2008, 624: 1-15.
- [5] Holick MF, Chen TC, Lu Z, et al. Vitamin D and skin physiology: AD -lightful story. J Bone Miner Res, 2007, 22 (Suppl 2): 28-33.
- [6] Wu Y, Matsui MS, Chen JZ, et al. Antioxidants add protection to a broad-spectrum sunscreen. Clin Exp Dermatol, 2011, 36 (2): 178-187.
- [7] 缪泽群,肖桂凤.窄谱中波紫外线对特应性皮炎患者血清维生素 D₃ 水平的影响.中华全科医师杂志,2015,14(4):285-288.
Miao ZQ, Xiao GF. The influence of narrow spectrum UVB rays for atopic dermatitis patients serum vitamin D₃. Chinese Journal of General Practitioners, 2015, 14(4): 285-287. (in Chinese)
- [8] Holick MF. The influence of vitamin D on bone health across the life cycle. J Nutr, 2005, 135(11): 2726-2727.
- [9] 刘玮.皮肤日晒红斑.临床皮肤科杂志,2005,34(7):483-484.
Liu W. Skin insolation erythema. Journal of Clinical Dermatology, 2005, 34(7): 483-484. (in Chinese)
- [10] Gilcrest BA. Sun exposure and vitamin D sufficiency. Am J Clin Nutr, 2008, 88(2): 570-577.
- [11] Rivas M, Rojas E, Araya MC, et al. Ultraviolet light exposure, skin cancer risk and vitamin D production. Oncology Letters, 2015, 10(4): 2259-2264.

(收稿日期:2016-06-28;修回日期:2016-09-16)