

· 综 述 ·

维生素 D 与慢性丙型肝炎抗病毒治疗相关性研究进展*

杨 明, 饶慧瑛 综述, 魏 来[△] 审校
(北京大学人民医院肝病科, 北京 100044)

关键词: 维生素 D; 免疫调节; 慢性丙型肝炎; 抗病毒治疗

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.23.038

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)23-2791-03

慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)是世界范围内最为严重的感染性疾病之一。据世界卫生组织统计,全球丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)的感染率约为 3%,估计约 1.5 亿人感染了 HCV^[1]。目前,CHC 的标准抗病毒治疗方案是聚乙二醇干扰素(pegylated-interferon, Peg-IFN) α 联合利巴韦林。随着分子生物学的发展,针对 HCV 生活周期中病毒蛋白靶向特异性治疗的直接抗病毒药物(direct antiviral agents, DAAs)的研究得到了迅速发展,提高了抗病毒的疗效,但同时也带来相关不良反应及沉重经济负担。因此,寻找不良反应小及价廉的药物仍具有非常重要的意义。维生素 D 的经典生物作用是调节钙磷代谢及维持骨骼稳态。近年来,不断有研究证实维生素 D 还具有免疫调节作用,并认为其可以作为一种新型的免疫调节剂运用到多种免疫相关性疾病的治疗中。本文就维生素 D 的免疫调节作用及与 CHC 抗病毒治疗的相关研究进行综述。

1 维生素 D 的合成及作用机制

维生素 D 为类固醇衍生物,其中最重要的是维生素 D₃。维生素 D₃ 可以从食物中摄取,也可以由皮肤中的 7-脱氢胆固醇经紫外线照射异构而成。维生素 D₃ 进入血液循环后与维生素 D 结合蛋白(vitamin D binding protein, VDBP)相结合,在肝脏 25-羟化酶作用下生成 25-羟维生素 D₃ [25(OH)D₃], 也称骨化二醇,是维生素 D₃ 在血液循环中的主要形式,一般用其来评估体内维生素 D₃ 状况^[2],随后在 1 α -羟化酶的作用下生成 1 α ,25-二羟维生素 D₃ [1 α ,25(OH)₂D₃], 也称骨化三醇,为维生素 D₃ 的活性形式^[2]。活性维生素 D₃ 与核内维生素 D 受体(nuclear vitamin D receptor, nVDR)结合后诱导 VDR 与视黄醇 X 受体(retinol X receptor, RXR)形成异源二聚体,进而与 DNA 的维生素 D 效应元件(vitamin D response element, VDRE)结合,调节 DNA 转录,从而影响骨代谢、免疫调节、细胞增殖、分化和凋亡^[2]。

1 α -羟化酶编码基因 CYP27B₁ 除了位于近段肾小管上皮细胞外,还可见于皮肤上皮细胞、肺、结肠、甲状旁腺等。近期研究提示免疫细胞也表达 1 α -羟化酶,尤其是激活的巨噬细胞及树突状细胞(dendritic cell, DC)。与肾脏中 1 α -羟化酶主要受甲状旁腺激素、钙、磷和 1,25(OH)₂D₃ 浓度的调节不同,免疫细胞中 1 α -羟化酶主要受干扰素- γ 和脂多糖的调节。此外,许多免疫细胞包括单核细胞、巨噬细胞、DC、活化或增殖的淋巴细胞等均表达 VDR。

2 维生素 D 的免疫调节作用

随着免疫细胞表达 1 α -羟化酶和 VDR 等现象的发现,维生素 D 的免疫调节作用日益受到重视。目前认为维生素 D 对固有免疫及适应性免疫均有调节作用。抗原呈递细胞(antigen

presenting cell, APC)和 T 淋巴细胞是维生素 D 在免疫系统中发挥主要作用的主要靶细胞。另外,维生素 D 上调抗微生物肽的表达,在机体固有免疫中起重要作用。

2.1 维生素 D 与 APC APC 是指能够摄取、加工处理抗原,并将处理过的抗原呈递给 T、B 淋巴细胞的一类免疫细胞。专职 APC 主要有单核巨噬细胞和 DC。因巨噬细胞和 DC 同时表达 1 α -羟化酶和 VDR,故考虑存在维生素 D 自分泌或旁分泌系统。维生素 D 可促进单核细胞进一步分化成熟为巨噬细胞,增强巨噬细胞的趋化能力和吞噬能力^[3];下调主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)-II 以及共刺激分子的表达,抑制 APC 呈递抗原、激活 T 细胞免疫应答的能力;抑制外周血单核细胞来源的 DC 的分化和成熟,保持未成熟表型,减少白介素(interleukin, IL)-12 的分泌,增加 IL-10 的分泌,促进 DC 的自发性凋亡^[4]。

2.2 维生素 D 与抗微生物肽 抗微生物肽主要由上皮细胞和中性粒细胞合成,主要包括 cathelicidin 抗菌肽(cathelicidin antimicrobial peptide, CAMP)和防御素家族,可直接破坏病原体膜结构的完整性,也可通过基因效应发挥抗细菌、真菌、病毒的多重作用。维生素 D 可上调 CAMP 和 β 2 防御素的表达,从而增强固有免疫应答反应^[5]。

2.3 维生素 D 与 T 淋巴细胞 CD4⁺ T 细胞按功能不同分为辅助性 T 淋巴细胞(T helper, Th)1 和 Th2 细胞亚群。Th1 细胞主要分泌 IL-2、IFN- γ 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- β ,介导细胞免疫,诱导免疫排斥;Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10,介导体液免疫,诱导免疫耐受。维生素 D 影响活化 T 细胞分化,使 IL-2、IFN- γ 分泌减少,抑制 Th1 细胞产生^[6],使 IL-4、IL-5 和 IL-10 产生增加,促进 Th2 细胞产生^[7],促进 Th1 细胞向 Th2 细胞转化,使 Th1/Th2 比值降低。Kurosaki 等^[8]发现低的 Th1/Th2 比值是基因 1 型 CHC 患者持续病毒学应答(sustained viral response, SVR)的独立预测因素,提示维生素 D 可以改善 CHC 抗病毒治疗效果。维生素 D 可抑制 Th17 细胞分泌促炎细胞因子 IL-17^[9]。维生素 D 也可刺激 T 细胞表达细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen, CTLA-4)和 FoxP3,诱导调节性 T 细胞(regulating T cell, Treg)的产生^[10]。

2.4 维生素 D 与 B 淋巴细胞 维生素 D 不仅通过调节 Th 亚类细胞影响 B 细胞,也直接作用于 B 细胞,抑制 B 细胞增殖、浆细胞分化、免疫球蛋白分泌、记忆 B 细胞产生,诱导 B 细胞凋亡^[11]。

3 维生素 D 与 CHC 抗病毒治疗相关性

3.1 维生素 D 缺乏在 CHC 中普遍存在 美国内分泌学会将血清 25(OH)D₃ 水平低于 50 nmol/L(20 ng/mL)定义为维生

* 基金项目:“十二五”国家科技重大专项课题(2012ZX10002003)。
△ 通讯作者, Tel: (010)66583771; E-mail: weelai@163.com。

作者简介: 杨明(1982~), 硕士, 医师, 主要从事病毒性肝炎研究(工

素缺乏 (vitamin D deficiency), 介于 50~75 nmol/L (20~30 ng/mL) 之间定义为维生素 D 不足 (vitamin D insufficiency)^[12]。按此标准, 世界范围内大约 10 亿人有维生素 D 缺乏或不足^[13]。胆汁淤积性慢性肝脏疾病患者中, 维生素 D 缺乏是由脂溶性维生素吸收障碍所致。非胆汁淤积慢性肝脏疾病患者中, 维生素 D 缺乏也非常常见。Fisher 等^[14]报道非胆汁淤积性慢性肝病中 68% 存在维生素 D 缺乏, 23% 存在维生素 D 不足, 肝硬化患者维生素 D 缺乏较非肝硬化患者更为显著 (86.3% vs. 49.0%, $P=0.0001$), 并且维生素 D 缺乏随着肝脏储备功能障碍加重而增加, Child-Pugh 分级为 C 级的患者 25(OH)₂D₃ 水平明显低于 A 级的患者 [(22.7±10.0) nmol/L vs. (45.8±16.8) nmol/L, $P<0.001$]。Arteh 等^[15]报道慢性丙型肝炎患者中 92% 存在维生素 D 缺乏或不足。究其原因, 除肝脏合成功能障碍外, 其他辅助因素可能是日晒减少、营养不良和潜在的 HCV 对维生素代谢的直接作用或通过诱导细胞因子和氧化应激反应的间接作用^[16]。

3.2 基线 25(OH)₂D₃ 水平与 SVR 相关性 目前, 基线 25(OH)₂D₃ 水平能否作为抗病毒治疗结果的预测因素仍存在争议。Petta 等^[17]发现进行标准抗病毒治疗 (Peg-IFN α 联合利巴韦林) 的基因 1 型 CHC 患者中, 治疗前 25(OH)₂D₃ 缺乏是未能获得 SVR 的独立预测因素 (OR=1.039, 95% CI=1.002~1.077)。Ge 等^[18]认为宿主 19 号染色体上 Interleukin-28B (IL28B) 基因上游 rs12979860 C/T 的多态性是基因 1 型 CHC 患者获得 SVR 最强的预测因素, 而 Bitetto 等^[19]则发现宿主基线 25(OH)₂D₃ 水平是难治型 CHC 患者获得 SVR 的独立预测因素, 也是 IL28B rs12979860 C/T 多态性的互补手段, 将二者联合应用可以提高预测初治 CHC 患者获得 SVR 的准确性。Lange 等^[16]发现基线 25(OH)₂D₃ 缺乏也与基因 2/3 型 CHC 患者的 SVR 密切相关 (无维生素 D 缺乏患者 81% 获得 SVR, 维生素 D 缺乏患者仅 50% 获得 SVR, $P<0.0001$)。Gal-Tanamy 等^[20]研究发现维生素 D 可显著抑制 Huh7.5 肝癌细胞系中 HCV 的复制, 首次证实了维生素 D 在体外 HCV 增殖系统中直接抑制病毒复制的作用, 并且可以与 IFN- α 以协同作用的方式抑制 HCV 的复制, 进一步证明维生素 D 与 CHC 抗病毒治疗效果的相关性。但是, 也有研究提示基线 25(OH)₂D₃ 水平与 CHC 患者标准抗病毒治疗的 SVR 无关^[21-22]。导致这些研究结果差异的原因尚不清楚, 有研究者认为 25(OH)₂D₃ 水平受到季节、光照、营养及代谢综合征等诸多因素影响, 并且不能代表局部 1,25(OH)₂D₃ 水平^[23]。

3.3 维生素 D 代谢途径中的基因多态性与 SVR 相关性 近期研究表明维生素 D 代谢途径中 1 α -羟化酶、VDBP、VDR 的基因多态性与 CHC 标准抗病毒治疗的 SVR 有关。Lange 等^[21]发现虽然基线 25(OH)₂D₃ 水平与 CHC 患者标准抗病毒治疗的 SVR 无关, 但 1 α -羟化酶编码基因 CYP27B₁ 启动子区域 rs10877012 A/C 多态性为 SVR 的独立预测因素 (AA 基因型的患者获得 SVR 的比例比 CC 基因型高 15%, OR=1.52, 95% CI=1.061~2.188, $P=0.02$)。作者认为 CYP27B₁ 的多态性与 1,25(OH)₂D₃ 水平密切相关, 比基线 25(OH)₂D₃ 水平更能反映维生素 D 对 SVR 的作用。Falletti 等^[24]发现进行标准抗病毒治疗的难治型 CHC 患者的 VDBP 基因多态性 GC rs7041 G>T、GC rs4588 C>A 和基线 25(OH)₂D₃ 水平均与 SVR 有关。患者被分为两类: 携带大于等于 3 个主要基因的 (WT+; G-C/G-C, G-C/T-C, G-C/G-A) 和携带小于 3 个主要基因的 (WT-; G-C/T-A, T-A/T-C, T-A/T-A, T-C/T-C)。多元回归分析显示 WT+ 合并基线 25(OH)₂D₃ >20 ng/mL 是

SVR 的独立预测因素 (OR=4.52, $P=0.015$)。Baur 等^[25]发现 VDR 基因的 rs1544410 (Bsm I)、rs1544410 (Apa I)、rs731236 (Taq I) 3 个位点的单体型 CCA 与 CHC 标准抗病毒治疗无应答密切相关 (OR=1.69, 95% CI=1.07~2.67, $P=0.028$), 而基线 25(OH)₂D₃ 缺乏与未获得 SVR 相关性仅见于单体型 CCA 的患者中 (OR=3.55, 95% CI=1.005~12.57, $P=0.049$)。以上研究从另一个侧面说明了维生素 D 与 SVR 的相关性。

3.4 CHC 标准抗病毒治疗中补充维生素 D 与 SVR 相关性 到目前为止, 评估 CHC 治疗中补充维生素 D 效果的数据有限。以色列 2 项小型前瞻性随机对照试验表明标准抗病毒治疗基础上补充维生素 D₃ 2 000 IU/d [目标使血清 25(OH)₂D₃ 水平大于 32 ng/mL], 基因 1 型 CHC 患者的快速病毒学应答 (RVR: 44% vs. 17%, $P<0.001$)、完全早期病毒学应答 (cEVR: 94% vs. 48%, $P<0.001$)、SVR (86% vs. 42%, $P<0.001$) 均高于对照组^[26], 基因 2 型丙型肝炎患者的 SVR (95% vs. 77%, $P<0.001$) 也高于对照组^[27]。类似的, 意大利一项回顾性研究表明肝移植后丙型肝炎复发治疗中补充维生素 D 可以改善 SVR^[28]。但维生素 D 的摄入剂量和治疗时间目前还没有统一标准。将来需要大型前瞻性安慰剂对照研究以进一步评估 CHC 标准抗病毒治疗中补充维生素 D 对病毒应答的影响。

综上所述, 维生素 D 缺乏在 CHC 中非常普遍并且可能与治疗应答率低相关。维生素 D 代谢途径中 1 α -羟化酶、VDBP、VDR 的基因多态性也与 CHC 标准抗病毒治疗的 SVR 有关。维生素 D 的免疫调节作用可能是其影响治疗效果的机制。目前, 评价 CHC 患者补充维生素 D 的前瞻性研究很少, 现有研究提示 CHC 患者标准抗病毒治疗基础上适量补充维生素 D 有望改善 SVR。随着研究的深入, 维生素 D 对改善 CHC 患者的抗病毒治疗效果将具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] World Health Organisation Website. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>. Accessed 2012 July.
- [2] Holick MF. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis [J]. *Am J Clin Nutr*, 2004, 79(3): 362-371.
- [3] Kaneki M, Inoue S, Hosoi T, et al. Effects of 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ on macrophage colony-stimulating factor production and proliferation of human monocytic cells [J]. *Blood*, 1994, 83(8): 2285-2293.
- [4] 彭静, 曹祥山, 邱国强, 等. 1,25(OH)₂ 维生素 D₃ 对人树突状细胞成熟及其介导免疫耐受的影响 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2012, 20(3): 736-739.
- [5] Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, et al. Cutting edge: 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression [J]. *J Immunol*, 2004, 173(5): 2909-2912.
- [6] Lemire JM, Archer DC, Beck L, et al. Immunosuppressive actions of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃: preferential inhibition of Th1 functions [J]. *J Nutr*, 1995, 125(6): 1704-1708.
- [7] Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, et al. 1alpha, 25-Dihydroxyvitamin D₃ has a direct effect on naive CD4⁺ T cells to enhance

- the development of Th2 cells[J]. *J Immunol*, 2001, 167(9): 4974-4980.
- [8] Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, et al. Pretreatment prediction of response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 chronic hepatitis C using data mining analysis[J]. *J Gastroenterol*, 2011, 46(3): 401-409.
- [9] Joshi S, Pantalena LC, Liu XK, et al. 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ ameliorates Th17 autoimmunity via transcriptional modulation of interleukin-17A[J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(17): 3653-3669.
- [10] Kang SW, Kim SH, Lee N, et al. 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ promotes FOXP3 expression via binding to vitamin D response elements in its conserved noncoding sequence region[J]. *J Immunol*, 2012, 188(11): 5276-5282.
- [11] Chen S, Sims GP, Chen XX, et al. Modulatory effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D₃ on human B cell differentiation [J]. *J Immunol*, 2007, 179(3): 1634-1647.
- [12] Binkley N, Ramamurthy R, Krueger D. Low vitamin D status; definition, prevalence, consequences, and correction[J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2010, 39(2): 287-301.
- [13] Bouillon R. Genetic and environmental determinants of vitamin D status[J]. *Lancet*, 2010, 376(9736): 148-149.
- [14] Fisher L, Fisher A. Vitamin D and parathyroid hormone in outpatients with noncholestatic chronic liver disease [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2007, 5(4): 513-520.
- [15] Arth J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease[J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(9): 2624-2628.
- [16] Lange CM, Bojunga J, Ramos-Lopez E, et al. Vitamin D deficiency and a CYP27B₁-1260 promoter polymorphism are associated with chronic hepatitis C and poor response to interferon-alfa based therapy[J]. *J Hepatol*, 2011, 54(5): 887-893.
- [17] Petta S, Camma C, Scazzone C, et al. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*, 2010, 51(4): 1158-1167.
- [18] Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance[J]. *Nature*, 2009, 461(7262): 399-401.
- [19] Bitetto D, Fattovich G, Fabris C, et al. Complementary role of vitamin D deficiency and the interleukin-28B rs12979860 C/T polymorphism in predicting antiviral response in chronic hepatitis C[J]. *Hepatology*, 2011, 53(4): 1118-1126.
- [20] Gal-Tanamy M, Bachmetov L, Ravid A, et al. Vitamin D: an innate antiviral agent suppressing hepatitis C virus in human hepatocytes [J]. *Hepatology*, 2011, 54(5): 1570-1579.
- [21] Lange CM, Bibert S, Kutalik Z, et al. A genetic validation study reveals a role of vitamin D metabolism in the response to interferon-alfa-based therapy of chronic hepatitis C[J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40159.
- [22] Kitson MT, Dore GJ, George J, et al. Vitamin D status does not predict sustained virologic response or fibrosis stage in chronic hepatitis C genotype 1 infection [J]. *J Hepatol*, 2013, 58(3): 467-472.
- [23] Rosen CJ. Clinical practice. Vitamin D insufficiency[J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(3): 248-254.
- [24] Falletti E, Bitetto D, Fabris C, et al. Vitamin D binding protein gene polymorphisms and baseline vitamin D levels as predictors of antiviral response in chronic hepatitis C [J]. *Hepatology*, 2012, 56(5): 1641-1650.
- [25] Baur K, Mertens JC, Schmitt J, et al. The vitamin D receptor gene bAt(CCA) haplotype impairs the response to pegylated-interferon/ribavirin-based therapy in chronic hepatitis C patients[J]. *Antivir Ther*, 2012, 17(3): 541-547.
- [26] Abu-Mouch S, Fireman Z, Jarchovsky J, et al. Vitamin D supplementation improves sustained virologic response in chronic hepatitis C (genotype 1)-naive patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(47): 5184-5190.
- [27] Nimer A, Mouch A. Vitamin D improves viral response in hepatitis C genotype 2-3 naive patients[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(8): 800-805.
- [28] Bitetto D, Fabris C, Fornasiere E, et al. Vitamin D supplementation improves response to antiviral treatment for recurrent hepatitis C[J]. *Transpl Int*, 2011, 24(1): 43-50.

(收稿日期: 2013-01-18 修回日期: 2013-05-13)

• 综 述 •

胆总管结扎致肝纤维化动物模型研究现状*

刘 玲¹综述, 谭正怀^{2△}审校

(1. 重庆市急救医疗中心药剂科 400014; 2. 四川省中医药科学院, 成都 610041)

关键词: 胆总管结扎(BDL); 肝纤维化; 动物模型; 年龄; 基因; 周期

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.23.039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)23-2793-04

肝纤维化是许多肝病发展至肝硬化-肝脏疾病终末期的最后共同通路。据 55 个国家向世界卫生组织(WHO)提供的数

* 基金项目: 四川省科学技术厅成果转化基金资助项目(11010119); 四川省科学技术厅支撑项目(2012SZ0184); 重庆市卫生局中医药科技项目(2012-02-31)。作者简介: 刘玲(1962~), 副主任药师, 大学本科, 主要研究方向为医院药学、临床药学、药事管理。△ 通讯作者, Tel: (028)85258982; E-mail: tanzhh616@sohu.com。