

# 维生素 D 与乙型肝炎关系研究进展\*

侯 杰 综述, 管世鹤<sup>△</sup> 审校

(安徽医科大学第二附属医院检验科, 合肥 230001)

**关键词:** 维生素 D; 乙型肝炎; 维生素 D 受体

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.15.032

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2016)15-2134-03

维生素 D(VD)是人体的一种必需维生素,主要是通过日晒合成或食物摄入,合成的 VD<sub>3</sub> 需要和 VD 转运蛋白或清蛋白结合后,运输至肝脏和肾脏进行羟化并形成具有生物活性的 VD [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]. 另外,由肝脏中合成的 25(OH)D 是人体血液循环中 VD 主要代谢产物,也是监测体内 VD 状态最稳定的指标<sup>[1]</sup>. 既往研究表明,VD 在体内主要发挥调节钙、磷代谢与维持骨骼稳态的作用,而 VD 不足则可引发一系列骨质疾病. 最新研究发现,慢性肝脏疾病中不仅普遍存在 VD 不足的现象,而且 VD 受体(VDR)表达模式与慢性肝脏疾病的发生、发展密切相关. 本文就 VD 及其受体与乙型肝炎病毒(HBV)感染相关的最新研究进展作如下综述.

## 1 VD 的简介

**1.1 VD 的获得** VD 为固醇类衍生物,属脂溶性维生素,具有抗佝偻病功能,所以又称为抗佝偻病维生素. VD 种类很多,其中以麦角钙化醇(VD<sub>2</sub>)和胆钙化醇(VD<sub>3</sub>)较为重要. VD<sub>2</sub> 主要在植物中合成,在酵母、蕈类、麦角等含量较多. VD<sub>3</sub> 在海鱼、鱼肝油、动物肝脏等含量较多<sup>[2]</sup>. 人体中 VD 主要由紫外线照射皮肤合成,皮肤中 7 脱氢胆固醇经紫外线(波长 290~315 nm)照射后可转化为 VD<sub>3</sub> 前体,再迅速经过热异构反应后生成 VD<sub>3</sub>,另外,体内仅有很少一部分的 VD 是通过食物获得的<sup>[3]</sup>.

**1.2 VD 的生化代谢和生理作用** 食物中的 VD 通过胆汁酸循环过程一起吸收至肠腔内,再经肠上皮细胞吸收后通过淋巴循环转运至血液中. 食物摄入和皮肤合成的 VD<sub>3</sub> 经过肝脏羟化作用变成成为 25(OH)D<sub>3</sub>,是 VD 的前体,经过肾细胞再羟化成为 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>(也称为骨化三醇),随血液循环到全身细胞,发挥激素作用<sup>[4]</sup>. VD 可以促进钙和磷在肠道的吸收,以及肾小管对钙和磷的重吸收,提高钙、磷在血液中水平,与甲状旁腺激素及降钙素等激素具有协同作用,共同维持体内钙、磷水平稳定. 另有研究表明,VD 在体内主要是通过分布在细胞内的 VDR 结合而发挥免疫学功能的<sup>[5]</sup>.

## 2 VDR 基因表达与乙型肝炎的关系

**2.1 VDR 及其基因简介** VDR 为亲核蛋白,是介导 1,25(OH)<sub>2</sub>D 发挥生物效应的核内生物大分子,属于类固醇激素/甲状腺激素受体超家族成员. VD 的许多生物学功能都是通过 VDR 介导调节靶基因转录来实现的,1,25(OH)<sub>2</sub>D 激素信号分子在靶细胞与 VDR 结合形成激素-受体复合物,该复合物作用于靶基因上的特定 DNA 序列,进而调节结构基因的表

达<sup>[6]</sup>. 早在 1980 年,VDR 就在免疫细胞中发现,后来逐渐发现 VDR 遍布于心、脑、肾脏、肝脏、皮肤以及各种免疫细胞中<sup>[7]</sup>. 目前关于 VDR 基因多态性研究已经有很多,发现了 4 个主要的多态性位点,分别为 VDR-Apa I (A/a, rs7975232)、VDR-Taq I (T/t, rs731236)、VDR-Fok I (F/f, rs2228570/rs1073810)和 VDR-Bsm I (B/b, rs1544410)<sup>[8]</sup>.

**2.2 VDR 基因多态性与乙型肝炎的关系** VDR 介导活性 VD 发挥生物学效应,两者结合后可抑制 1 型辅助型 T 细胞(Th1)的增殖以及干扰素的分泌<sup>[9]</sup>,而机体主要是以 Th1 细胞介导的细胞免疫来清除 HBV,因此,VDR 基因的表达不同可能与 HBV 的感染具有很大的相关性. 李俊红等<sup>[10]</sup>通过聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术分别对募集的无症状 HBV 携带组和慢性乙型肝炎组患者做 VDR 基因 Taq I 和 Fok I 进行基因分型测定,结果显示携带含有 Fok I FF 基因型在慢性乙型肝炎组的频率显著高于携带组,经 Logistic 回归分析,调整复杂条件后,两组间 FF 基因型频率的差异仍具有统计学意义( $OR=1.95, P<0.05$ ),Fok I 和 Taq I 组成的 FT 基因型在慢性乙肝组的频率也明显偏高( $OR=1.45, P<0.05$ ),提示了 VDR 基因的表达不同很可能与 HBV 的易感性相关. 国外学者 Suneetha 等<sup>[11]</sup>运用荧光素酶分析慢性乙肝患者 VDR 基因结构,发现 Apa I 和 Taq I 的基因型与 HBV 的易感性以及感染后的高病毒载量、发展成肝癌具有重大的联系. 伊朗学者 Arababadi 等<sup>[12]</sup>获取 3 700 例志愿者的标本,并从中选取了 352 例隐匿性肝炎患者标本,运用 PCR 技术分析发现位于 9 号染色体外显子上的基因位点,即 Taq I 与隐匿性肝炎具有一定的联系. 结合国内外学者近年来的研究,可以推测 VDR 基因的多态性与乙型肝炎的发生、发展以及结局相关联<sup>[13-14]</sup>,但是目前国内还未发现其具体机制以及关联的准确性,因此,上述结论还需大量实验加以证实.

## 3 VD 缺乏与乙型肝炎的关系

近些年来,越来越多的国内外学者发现在各种肝脏疾病中普遍存在着 VD 的缺乏,Wong 等<sup>[15]</sup>学者从 1997 年到 2000 年登记的 426 例慢性乙肝患者,经过长期随访检测他们血清 25(OH)D<sub>3</sub> 的水平以及 HBV DNA 载量水平,结果显示 82% 的患者表现出 25(OH)D<sub>3</sub> 的水平偏低( $<32$  ng/mL),并且低血清 25(OH)D<sub>3</sub> 水平的患者更易病情恶化,发展为肝硬化,肝癌,甚至死亡. Farnik 等<sup>[16]</sup>对 203 例慢性乙肝患者研究发现,血清 25(OH)D<sub>3</sub> 严重缺乏( $<10$  ng/mL)、中等缺乏( $10\sim<20$

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81171662).

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: shiheguan@126.com.

ng/mL)、水平正常( $\geq 20$  ng/mL)分别占 34%、47%、19%,并且通过多因素分析,慢性乙肝患者体内血清 25(OH) $D_3$  水平与其 HBV DNA 载量呈负相关关系,并且 HBV DNA 载量与血清 25(OH) $D_3$  水平呈现相反的季节性变化。另外,国外学者 Stokes 等<sup>[17]</sup>和 Putz-Bankuti 等<sup>[18]</sup>对慢性肝硬化和肝衰竭患者体内 VD 水平进行研究发现,VD 在慢性肝炎发展过程中可能是一个重要因素,血清内低水平的 VD 可预示着肝组织的损伤程度高,病情发展快且预后效果差等情况,进而提高了患者的病死率,因此维持患者体内一定的 VD 水平,可有效缓解病程的发展。此外,研究表明,由多种不同原因引起的慢性肝脏疾病普遍存在 VD 的缺乏,如酒精性肝炎(ALD)<sup>[19]</sup>、自身免疫性肝病(AIH)<sup>[20]</sup>、慢性丙型肝炎(CHC)<sup>[21]</sup>、肝细胞癌(HCC)<sup>[22]</sup>等。

#### 4 VD 对乙型肝炎治疗的影响

据研究表明,VD 具有调节免疫反应的功能,能减少 CD4<sup>+</sup> T 细胞的增殖、分化以及其细胞因子的分泌<sup>[23]</sup>,促进抗炎因子 IL-4、IL-5 的分泌,同时提高调节性 T 细胞的活性,刺激细胞免疫,参与机体的免疫调节。Hu 等<sup>[24]</sup>学者用雌性 BALB/C 小鼠构建了急性肝炎的动物模型,结果发现 1,25(OH) $_2D_3$  可以调节免疫系统应答,显著减少肝细胞的损伤,同时上调 VDR 的基因表达。目前对于慢性乙肝临床上的治疗还是依赖于干扰素,但患者对 IFN- $\gamma$  的病毒学应答效果并不理想,对此国内外进行大量的实验研究。Lange 等<sup>[25]</sup>学者研究发现,VDR 可能与 Jak-STAT 信号转导途径具有某种相互关系,同时发现运用骨化三醇可以明显增加慢性肝炎患者对 IFN- $\gamma$  的免疫应答,进而为改善临床上干扰素治疗低疗效的现状提供了新的思路 and 方向。但就目前研究来说,关于 VD 与慢性肝炎的关系研究还是较少,很多研究报道的结论有差异之处,这可能与样本量、性别、年龄、检测方法差异有关,因此,VD 与慢性肝炎的发生、发展以及预后的关系还需要更多的实验来验证。

#### 5 小结与展望

近年来,国内外对 VD 的研究发展非常迅速,VD 除了能调节钙、磷代谢外,还被认为是一种新的免疫调节激素,具有调节免疫反应的功能。HBV 感染依旧是世界卫生健康的一大难题,严重危害人类的健康和生命。VDR 基因多态性揭示可能与 HBV 感染有关,同时 VD 与乙型肝炎患者的治疗相关,但目前对 VD 和 VDR 系统的研究还尚未健全,VD 的缺乏对慢性肝炎的影响机制以及其与 VDR 系统对肝脏疾病的作用机制均未明确,对于补充 VD 来控制乙型肝炎患者病情发展,同时避免高钙血症的发生还有待进一步的探索。因此,VD 为 HBV 感染者治疗提供的新思路和方法还需更多的前瞻性研究。

#### 参考文献

[1] Heaney RP. Vitamin D-baseline status and effective doses [J]. N Engl J Med, 2012, 367(1): 77-78.  
 [2] 杨春华. VD 简介 [J]. 中国实用医学, 2009, 4(3): 243-244.  
 [3] Kitson MT, Roberts SK. D-livering the message: the importance of vitamin D status in chronic liver disease [J]. J Hepatol, 2012, 57(4): 897-909.

[4] Lips P. Relative value of 25(OH)D and 1,25(OH) $_2D_3$  measurements [J]. J Bone Miner Res, 2007, 22(11): 1668-1671.  
 [5] Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, et al. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed [J]. J Bone Miner Res, 1998, 13(3): 325-349.  
 [6] 李俊红, 李洪权, 李卓, 等. 维生素 D 受体基因 Taq I、Fok I 单核苷酸多态与 HBV 感染结局关联探讨 [J]. 中华医学杂志, 2006, 86(28): 1952-1956.  
 [7] Ramagopalan SV, Heger A, Berlanga AJ, et al. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution [J]. Genome Res, 2010, 20(10): 1352-1360.  
 [8] Huang YW, Liao YT, Chen W, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and distinct clinical phenotypes of hepatitis B carriers in Taiwan [J]. Genes Immun, 2010, 11(1): 87-93.  
 [9] Margherita T, Cantorna and Amanda Waddell. The Vitamin D receptor turns off chronically activated T cells [J]. Ann N Y Acad Sci, 2014, 1317: 70-75.  
 [10] 李俊红, 陈冬梅, 李卓, 等. 维生素 D 受体基因多态性与乙型肝炎病毒感染的关联研究 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2006, 23(4): 402-405.  
 [11] Suneetha PV, Sarin SK, Goyal A, et al. Association between vitamin D receptor, CCR5, TNF-alpha and TNF-beta gene polymorphisms and HBV infection and severity of liver disease [J]. J Hepatol, 2006, 44(5): 856-863.  
 [12] Arababadi MK, Pourfathollah AA. Association of exon 9 but not intron 8 VDR polymorphisms with occult HBV infection in south-eastern Iranian patients [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2010, 25(1): 90-93.  
 [13] Yao X, Zeng H, Zhang G, et al. The associated ion between the VDR gene polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma and the clinicopathological features in subjects infected with HBV [J]. Biomed Res Int, 2013, 2013: 953-974.  
 [14] Karatayli SC, Ulger ZE, Ergul AA, et al. Tumour necrosis factor-alpha, interleukin-10, interferon-gamma and vitamin D receptor gene polymorphisms in patients with chronic hepatitis delta [J]. J Viral Hepat, 2014, 21(4): 297-304.  
 [15] Wong GL, Chan HL, Chan HY, et al. Adverse effects of vitamin D deficiency on outcomes of patients with chronic hepatitis B [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2015, 13(4): 783-790.  
 [16] Farnik H, Bojunga J, Berger A, et al. Low vitamin D serum concentration is associated with high levels of hepatitis B virus replication in chronically infected patients [J]. Hepatology, 2013, 58(4): 1270-1276.  
 [17] Stokes CS, Krawczyk M, Reichel C, et al. Vitamin D defi-

ciency is associated with mortality in patients with advanced liver cirrhosis[J]. Eur J Clin Invest, 2014, 44(2): 176-183.

[18] Putz-Bankuti C, Pilz S, Stojakovic T, et al. Association of 25-hydroxyvitamin D levels with liver dysfunction and mortality in chronic liver disease[J]. Liver Int, 2012, 32(5): 845-851.

[19] Trépo E, Ouziel R, Pradat P, et al. Marked 25-hydroxyvitamin D deficiency is associated with poor prognosis in patients with alcoholic liver disease[J]. J Hepatol, 2013, 59(2): 344-350.

[20] Agmon-Levin N, Theodor E, Segal RM. Vitamin D in systemic and Organ-Specific autoimmune diseases[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2013, 45(2): 256-266.

[21] Gentile I, Scarano F, Celotti A, et al. Low vitamin D levels are associated with the presence of serum cryoglobulins in patients with chronic HCV infection[J]. In Vivo, 2015, 29(3): 399-404.

[22] Chiang KC, Yeh CN, Chen MF, et al. Hepatocellular carcinoma and vitamin D; a review[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(11): 1597-1603.

[23] Konijeti GG, Arora P, Boylan MR, et al. Vitamin D supplementation modulates T Cell-Mediated immunity in humans; results from a randomized control trial[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(2): 533-538.

[24] Hu XD, Jiang SL, Liu CH, et al. Preventive effects of 1, 25-(OH)<sub>2</sub>VD<sub>3</sub> against ConA-induced mouse hepatitis through promoting vitamin D receptor gene expression[J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31(6): 703-708.

[25] Lange CM, Gouttenoire J, Duong FH, et al. Vitamin D receptor and Jak-STAT signaling crosstalk results in calcitriol-mediated increase of hepatocellular response to IFN-α[J]. J Immunol, 2014, 192(12): 6037-6044.

(收稿日期: 2016-02-24 修回日期: 2016-05-13)

• 综 述 •

## 乙型肝炎基因分型的研究进展\*

张桂前<sup>1</sup>, 高建梅<sup>1</sup>, 孙 鹭<sup>1</sup>综述, 段 勇<sup>2△</sup>审校

(1. 云南省第一人民医院检验科, 昆明 650032; 2. 昆明医科大学第一附属医院检验科, 昆明 650032)

关键词: 乙型肝炎; 基因分型; 乙型肝炎病毒

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 15. 033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)15-2136-04

乙型肝炎(简称乙肝)病毒(HBV)感染是严重的公共卫生问题, 全球约 20 亿人感染过 HBV, 其中 3. 5 亿人成为了慢性 HBV 感染者<sup>[1]</sup>, 约 15%~40% 的 HBV 感染者最终发展成为了肝硬化或肝癌<sup>[2]</sup>, 全球每年约 100 万人死于乙肝所致的肝衰竭、肝硬化和原发性肝癌。HBV 的感染呈地方性流行, 超过 75% 的 HBV 感染者分布于西太平洋地区和东南亚国家, 乙肝表面抗原(HBsAg)携带率在西欧、北美仅 0. 1%~0. 9%, 而在亚洲国家高达 5%~10%。中国累计有 7 亿人曾感染过 HBV, 有 1. 2 亿人成为了病毒携带者, 每年约 60 万人死于 HBV 感染引起的相关疾病。HBV 感染的临床转归不仅与患者年龄和免疫力有关, 而且也与病毒株的基因型密切相关, 所以研究 HBV 基因型有重要的临床意义。通过 HBV 基因分型, 可以了解基因型的地区分布特点以及在人群中的变异和进化趋势。

### 1 概 述

HBV 属于嗜肝病毒的一种, 核酸为部分共价闭环状双链 DNA, 其双链长度不同, 与病毒 mRNA 互补全长的一条链为负链, 而另一条为正链, 长度不定, 约为负链的 50%~100%。病毒基因组长度在 3 182~3 221 个核苷酸, 含 4 个部分重叠的开放读码框(ORF), 即前 S/S 区、前 C/C 区、P 区和 X 区。S-ORF 分为前 S1 区、前 S2 区和 S 区, 各有其起始密码子

ATG, 编码大、中、小 3 种包膜蛋白; C-ORF 分为前 C 区和 C 基因区, 各自有起始密码 ATG, 编码 HBeAg 及 HBcAg, 这一区段最保守, 是免疫攻击的靶表位所在; P-ORF 是最长的阅读框, 与 C-ORF、S-ORF、X-ORF 重叠, 编码病毒聚合酶; X-ORF 编码 HBx 蛋白, HBx 是一种多功能的反式调节因子, 可反式激活增强子和启动子的转录功能。在病毒基因组上, 不仅有编码蛋白的结构基因, 还有调节元件, 包括 4 个启动子、2 个增强子、糖皮质激素应答元件、负调节元件、CCAAT 元件等。由于 HBV 复制过程中需经过 RNA 中间体的逆转录, 而该逆转录酶又缺乏校正功能, 所以 HBV 具有高变异性, 其突变率约为 (1. 4~3. 2)×10<sup>-5</sup> 位点/年。因此, 在生活环境和免疫压力下, HBV 不断变异从而形成了不同的准种、基因型和基因亚型。

### 2 乙型肝炎的基因分型和流行分布

由于全基因序列分析比较复杂, HBV 旧的分型原则可根据部分基因特别是 S 基因序列进行分型, 因为 S 基因的序列相对其他序列而言异质性最小, 也更加保守, 从而根据 S 区基因序列的异质性≥4% 的标准代替全基因序列分型。但新近提出的分型原则认为必须要以全基因组序列作为分型依据, 并纠正了一些错误分型。例如, Khedive 等<sup>[3]</sup>对伊朗的 HBV 携带者 681 bp 的分离株进行分析, 报告了 5 株亚型(D5 和 D8), 这与

\* 基金项目: 云南省应用基础研究计划-昆医联合专项资助项目(2014FB094)。

△ 通讯作者, E-mail: duanyong7@139. com。