

综述

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.11.002

维生素 D 抑制肝星状细胞活化在肝纤维化中的研究进展

张春洋 陈付群 陈兆云

【摘要】 肝纤维化是各种慢性肝脏病向肝硬化发展过程中的关键，是肝中多类细胞、细胞因子及介质共同作用的结果，肝星状细胞（HSC）在肝纤维化阶段充当重要角色。维生素 D 是以 1, 25-二羟维生素 D₃ 为活性形式，与慢性肝病严重程度密切相关的甾体激素，在 HSC 的调控中占据关键地位。维生素 D 可通过转化生长因子- β /SMAD、Wnt/ β -catenin、ERK1/2、多蛋白细胞质复合体 NOD 样受体家族 3、核因子- κ B 等多种细胞信号通路调节相关靶基因表达，抑制 HSC 活化，进而控制肝纤维化进展。该文就维生素 D 与 HSC 的关系、维生素 D 在肝纤维化中调控 HSC 的机制及在抗纤维化治疗中相关研究进展做一综述。

【关键词】 维生素 D；肝星状细胞；肝纤维化；通路

Research progress in effect of vitamin D on inhibiting hepatic stellate cell activation in liver fibrosis Zhang Chunyang, Chen Fuqun, Chen Zhaoyun. Medical Laboratory Center, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

Corresponding author, Chen Zhaoyun, E-mail: czy52010710@163.com

【Abstract】 Liver fibrosis is a key factor in the progression from various chronic liver diseases to cirrhosis, which is the result of the combined action of multiple types of cells, cytokines, and mediators in the liver. Hepatic stellate cells (HSCs) play an important role in the stage of liver fibrosis. Vitamin D with 1, 25-dihydroxy vitamin D₃ as the active form, has been found to be a steroid hormone closely associated with the severity of chronic liver disease, which plays a key role in the regulation of HSCs. Vitamin D can regulate the expression of related target genes and inhibit HSC activation through the TGF- β /SMAD, Wnt/ β -catenin, ERK/MAPK, NLRP3 and NF- κ B cell signaling pathways, thereby controlling the progression of liver fibrosis. In this article, research progress in the relationship between vitamin D and HSCs, the mechanism of vitamin D regulating HSCs in liver fibrosis and anti-fibrosis therapy were reviewed.

【Key words】 Vitamin D; Hepatic stellate cell; Liver fibrosis; Signaling pathway

肝纤维化是指肝脏在受到各种慢性致病因子损伤后，临床表现以非特异性的消化系统症状为主的病理性修复反应，在此阶段肝中多种类细胞、细胞因子及介质共同作用，使得肝纤维化成为各种慢性肝脏病向肝硬化发展过程中的枢纽。肝星状细胞（HSC）作为肝纤维化形成中的中心环节，其活化会产生细胞外基质（ECM）蛋白合成增加及细胞因子等分泌，ECM 的长期积累最终使得肝纤维化向肝硬化阶段发展，出现终末期的肝损伤。但肝纤维化是一种可逆且高度动态的病理状态，通过诱导 HSC 的凋亡和失活，协调炎症细胞募集系统和信号转导

之间的串扰等方式，促进纤维化消退和肝脏再生。破译调控 HSC 活化的机制对于抗纤维化治疗具有重要意义。甾体激素维生素 D 具有调节钙磷代谢、细胞增殖、分化及免疫调节和抑制严重因子风暴等多种生物学作用。目前已有众多学者对维生素 D 在肝脏的病理生理过程中的作用进行了研究，发现维生素 D 通过多条信号通路对 HSC 的活化产生直接抑制作用，但维生素 D 在临床实践中作为抗纤维化的治疗手段仍需进一步探究其疗效^[1-2]。本文综述了维生素 D 抑制 HSC 活化涉及的细胞信号转导通路，结合目前临床肝病治疗中维生素 D 的应

基金项目：新疆维吾尔自治区自然科学基金（2019D01C311）

作者单位：830054 乌鲁木齐，新疆医科大学第一附属医院医学检验中心

通信作者：陈兆云，E-mail: czy52010710@163.com

用存在的问题,对后期维生素D在抗纤维化治疗中的应用进行了探讨和期望。

一、HSC与维生素D

1. HSC

HSC由横膈中的间充质细胞发育而来,属于肝脏非实质细胞类,位于ECM中的Disse空间,由许多刺状的颈突或棘突从内皮下延伸并与肝细胞、肝窦内皮细胞紧密接触^[3]。HSC以储存维生素A时的静止状态作为正常状态,另外可以充当肝脏驻留的抗原呈递细胞。作为肝纤维化发生发展的关键,肝脏受到各种理化因素刺激后,HSC会在各种细胞及介质的介导下激活,发生形态及功能的明显变化,主要有以下几点特征变化:①静止的HSC转化为肌成纤维细胞,增生、趋化、迁移、收缩能力增强;②细胞质中丧失视黄醇;③产生大量的ECM,成分从富含IV型胶原和层粘连蛋白的基质转变为浓缩的ECM;④上调促炎、促纤维化和促有丝分裂细胞因子的分泌;⑤HSC之间的缝隙连接通信增强,并由细胞因子、激素和维生素进行复杂调节,并且可以进一步激活HSC,引起纤维结缔组织扩散增殖及ECM沉积的加重,使得肝内结构重建,形成肝纤维化、肝硬化等^[4]。

2. 维生素D

维生素D是结构类似的固醇类衍生物总称,归于脂溶性类维生素,以维生素D₂和维生素D₃为主要形式,两者的化学结构式在侧链有所不同。维生素D₂主要在真菌中合成。维生素D₃在人体中,主要经皮肤途径获得,惰性的前维生素D₃分别在肝脏及肾脏近端小管中进行羟基化,最终转化成具有生物活性形式的1,25-二羟维生素D₃^[5]。维生素D是维持人体健康的必需营养素,在调节钙磷代谢、促进骨骼生长方面具有重要作用,另外近年来发现其在细胞增殖、分化、免疫调节等方面也起到一定作用^[6]。缺乏维生素D不仅存在于骨代谢疾病中,慢性肝脏疾病中也多见,如非酒精性脂肪肝、纤维化、肝癌等,严重的维生素D缺乏与肝功能障碍的严重程度密切相关。

二、维生素D对HSC活化的调节

活性的维生素D₃发挥生物学效应主要通过两种途径:影响特定的基因表达和非基因组途径快速刺激生物学行为。维生素D调节结构基因的表达,主要是通过与维生素D受体(VDR)特异性

结合发挥作用。

1. VDR

VDR可分为膜受体(mVDR)和核受体(nVDR)两类,但是影响靶细胞中特定基因表达主要是通过本质上是一种依赖于配体(活性维生素D₃)的核转录因子nVDR实现。最初人们发现VDR在肝脏中的表达水平很低,但在HSC及胆管上皮细胞等肝脏非实质细胞中高表达,因此许多研究者认为VDR的表达可能参与HSC的激活及增殖,调控VDR可以作为治疗肝纤维化的靶点。经过研究发现,在肝纤维化中,活性维生素D结合并上调作为配体诱导的转录因子VDR,其在发生构象重排后与视黄醇X受体相互作用,生成增强特定基因转录活性的异二聚体复合物,后复合体转移到细胞核中与启动子区内的维生素D应答元件结合,调控HSC的激活,并且下调HSC中I型胶原 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 的表达。

2. 维生素D调控HSC的信号通路

维生素D抑制HSC的活化涉及多种细胞因子及信号转导通路。活性维生素D与VDR结合,激活下游通路和转录因子,如转化生长因子- β (TGF- β)/SMAD通路、Wnt/ β -catenin通路、ERK1/2通路、多蛋白细胞质复合体NOD样受体家族3(NLRP3)通路、核因子(NF)- κ B通路等。

2.1 TGF- β /SMAD通路

TGF- β 可以调节细胞生长和分化,同激活素、抑制素、骨形成蛋白等组成TGF- β 超家族。在肝纤维化中,负责肝损伤期间HSC的激活,与其他促纤维化途径相互作用,TGF- β 通路被认为是造成纤维化的有效途径^[7]。TGF- β 与受体结合形成三聚体后,其下游信号调节分子SMAD激活,进入细胞核内与相应启动子结合,启动纤维化相关靶基因的转录。维生素D/VDR信号激活可拮抗HSC中大量TGF- β /SMAD依赖性转录反应,起到抗肝纤维化、抗增殖作用,具体作用机制是维生素D激活VDR后,通过TGF- β 1依赖性染色质重塑,促进VDR与SMAD3的结合,阻断SMAD3开启促纤维化靶基因的能力,抑制HSC中TGF- β 介导的纤维生成^[8]。另外有研究表明维生素D在体内和体外均可明显抑制肝纤维化模型中富含组氨酸的钙结合蛋白的表达,减少TGF- β 1/SMAD3的表达和细胞周期中S峰的百分比,表明维生素D可以通过负调节富含组氨酸的钙结合蛋白来减少HSC的活化和TGF- β /SMAD信号转导,从而延缓肝纤维化^[9]。

2.2 Wnt/ β -catenin 通路

Wnt/ β -catenin 通路是一种在生物体进化中高度保守的控制细胞命运的信号通路,也是维生素 D 调节星状细胞抑制肝纤维化的另一条途径。 β -catenin 是细胞增殖和分化的重要调节因子,另外作为多种信号通路交叉的关键,还参与 TGF- β 、E-钙黏蛋白的生成。Wnt/ β -catenin 信号通路在活化的 HSC 中被激活,活化 HSC 细胞质和细胞核中, β -catenin 积累到一定水平时便会解离,发生核易位,与转录因子 T 淋巴细胞因子/淋巴增强因子结合,形成转录激活复合物,最终上调或下调 cyclin D1、C-myc、金属基质蛋白酶 7 等促进细胞增殖和生长基因的表达。Huang 等^[10]发现维生素 D 可以降低四氯化碳(CCl₄)所致的肝纤维化大鼠模型中的 Wnt1 和 β -catenin 的 mRNA 和蛋白质水平,推测维生素 D 对肝纤维化的保护机制可以通过阻断 Wnt/ β -catenin 信号通路,抑制 HSC 的活化,减少 α 平滑肌激动蛋白及胶原纤维分泌。

2.3 ERK1/2 通路

ERK 是一种通过磷酸化丝氨酸/苏氨酸残基来调控多种底物蛋白的有丝分裂原激活的蛋白激酶,参与细胞增殖、分化和黏附等进程。有研究发现抑制 TGF- β 1/ERK 信号通路能减少 HSC 的激活,缓解硫代乙酰胺诱导的大鼠模型的肝纤维化^[11]。通过检测 ERK 信号通路分子的表达水平,发现激活的 VDR 下调了 ERK 和 pERK 蛋白及 TGF- β 1 的表达,也表明维生素 D 抑制星状细胞的活化与 ERK1/2 通路密切相关^[12]。另外,在 ERK 通路上,维生素 D 与 HSC 活化的关系可以由一种基质细胞蛋白 POSTN 起链接作用,作为调控细胞分化和迁移的黏附分子,POSTN 可在炎症和多种癌症中表达,通过整合素 1 诱导 ERK1/2 的明显激活。

2.4 NLRP3 通路

炎症介质的刺激也是 HSC 激活的重要原因,据报道,维生素 D 可以调控炎症因子通路等对抑制 HSC 的活化,阻断其在对肝纤维化的促进作用^[13]。NLRP3 是一种由凋亡相关斑点样蛋白和效应分子前蛋白酶形成的炎症小体,会在原代小鼠的 HSC 中表达,NLRP3 通路的激活同样可以诱导 HSC 基质沉积相关基因上调,如 TGF- β 和胶原基因等,在胆汁淤积症中的纤维生成中发挥作用,而缺乏 NLRP3 的 CCL 造模小鼠在 8 周后肝脏胶原明显减少^[14]。Wang 等^[15]研究发现 NLRP3 炎症小体激活会受到 VDR 激动剂的抑制作用,抑制 HSC

的激活,是通过激活 yes 相关蛋白 1 实现的,具体的通路途径需要进一步实验探究。

2.5 NF- κ B 通路

在心血管疾病中,VDR 起到的抗炎作用与抑制 NF- κ B 信号通路有关。已有相关研究发现肝脏疾病中 NF- κ B 信号通路也可由 VDR 介导。库普弗细胞在肝脏受损情况下分泌大量的 TNF,通过 NF- κ B 途径启动和维持 HSC 活化。Gong 等^[16]构建 CCl₄ 诱导的肝纤维化细胞模型证实钙泊三醇可以通过抑制维生素 D 受体介导的 NF- κ B 信号通路减轻肝纤维化,实验结果示钙泊三醇治疗组中 VDR 的表达明显增加,检测到肝细胞内 NF- κ B 信号通路成员 p-I κ B α 、p-IKK β 和 p-p65 表达水平下调,与 NF- κ B 通路的趋势一致,并且 VDR 通过 NF- κ B 途径抑制促纤维化相关因子表达,增加抗纤维化因子基质金属蛋白酶的表达。

三、维生素 D 与肝纤维化的治疗

有研究认为补充活性维生素 D 可以调节促纤维化和抗纤维化介质,减轻 CCl₄ 诱导的大鼠模型中的先前建立的肝纤维化,起到抗增殖、抗纤维化效果^[10]。另有研究表明短期补充维生素 D 可能不会改善血清纤维化标志物,也可能不会加快残余肝纤维化的愈合过程,需要更长期的研究^[16]。考虑到维生素 D 摄入半衰期较长,会引起高钙血症和高钙尿、神经精神等临床症状,在临床实际中,阐明补充维生素 D 在肝纤维化中的安全性和有效性,制定维生素 D 替代和剂量策略需要更深入的实验来证明,以实现和维持肝纤维化患者最佳体内维生素 D 浓度而不产生有害影响,然而目前仅有相对较少的临床试验研究评估了维生素 D 治疗在肝纤维化患者给药方案中的安全及有效性^[17]。另外,VDR 多态性可能影响维生素 D 治疗肝纤维化患者早期的抗纤维化选择^[18]。但确定的是,维生素 D 与肝纤维化的严重程度密切相关,此外与肝硬化进一步的发展也有联系。如维生素 D 可能成为新一代降门脉高压的药物,降压效果可比拟普萘洛尔^[19]。王勇等^[20]发现 1, 25-二羟维生素 D₃ 水平是静脉曲张破裂出血的独立危险因素,维生素 D 在肝病的应用具有广阔前景。

四、小结与展望

维生素 D 调控 HSC 机制可通过多种细胞信号转导通路实现,具体的调控机制网络还有待进一

步探究, 细胞实验证实维生素 D 可以阻断 HSC 激活中的信号转导通路, 对于控制肝纤维化的进展产生积极作用, 但目前维生素 D 在临床肝病治疗中的应用未完全普及, 改善肝纤维化及延缓疾病进展的有效程度还需要大样本多中心的临床试验进一步证实, 其不良反应及具体的剂量策略也需更多的研究, 以期能为抗纤维化治疗方案提供新的线索。

参 考 文 献

- [1] Berretta M, Quagliarriello V, Bignucolo A, et al. The multiple effects of vitamin D against chronic diseases: from reduction of lipid peroxidation to updated evidence from clinical studies. *Antioxidants*, 2022, 11 (6): 1090.
- [2] 雷艳, 詹世淮, 施小华, 等. 补充维生素 D 在新型冠状病毒肺炎辅助治疗中的作用研究进展. *新医学*, 2022, 53 (12): 878-881.
- [3] Acharya P, Chouhan K, Weiskirchen S, et al. Cellular mechanisms of liver fibrosis. *Front Pharmacol*, 2021, 12 : 671640.
- [4] Königshofer P, Brusilovskaya K, Petrenko O, et al. Nuclear receptors in liver fibrosis. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867 (12): 166235.
- [5] Udomsinprasert W, Jittikoon J. Vitamin D and liver fibrosis: molecular mechanisms and clinical studies. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109 : 1351-1360.
- [6] Martinis M D, Allegra A, Sirufo M M, et al. Vitamin D deficiency, osteoporosis and effect on autoimmune diseases and hematopoiesis: a review. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (16): 8855.
- [7] Györfi A H, Matei A E, Distler J H W. Targeting TGF- β signaling for the treatment of fibrosis. *Matrix Biol*, 2018, 68-69 : 8-27.
- [8] Ni X X, Li X Y, Wang Q, et al. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity affects the hepatic stellate cell activation and the progression of NASH via TGF- β 1/Smad signalling pathway. *J Physiol Biochem*, 2021, 77 (1): 35-45.
- [9] Lu W, Li X, Liu N, et al. Vitamin D alleviates liver fibrosis by inhibiting histidine-rich calcium binding protein (HRC). *Chem Biol Interact*, 2021, 334 : 109355.
- [10] Huang G R, Wei S J, Huang Y Q, et al. Mechanism of combined use of vitamin D and puerarin in anti-hepatic fibrosis by regulating the Wnt/ β -catenin signalling pathway. *World J Gastroenterol*, 2018, 24 (36): 4178-4185.
- [11] Li X, Zhang H, Pan L, et al. Puerarin alleviates liver fibrosis via inhibition of the ERK1/2 signaling pathway in thioacetamide-induced hepatic fibrosis in rats. *Exp Ther Med*, 2019, 18 (1): 133-138.
- [12] 贾荣军, 马丽曼, 李丽华. 骨化三醇对胆管结扎所致小鼠肝纤维化的保护作用及其机制. *吉林大学学报 (医学版)*, 2021, 47 (2): 257-264.
- [13] Gong J, Gong H, Liu Y, et al. Calcipotriol attenuates liver fibrosis through the inhibition of vitamin D receptor-mediated NF- κ B signaling pathway. *Bioengineered*, 2022, 13 (2): 2658-2672.
- [14] 彭憬, 袁维, 银思涵, 等. NLRP3 炎症小体激活促进肝星状细胞活化的机制. *临床肝胆病杂志*, 2022, 38 (11): 2611-2615.
- [15] Wang X, Wang G, Qu J, et al. Calcipotriol inhibits NLRP3 signal through YAP1 activation to alleviate cholestatic liver injury and fibrosis. *Front Pharmacol*, 2020, 11 : 200.
- [16] Sriphoosananaphan S, Thanapirom K, Kerr S J, et al. Effect of vitamin D supplementation in patients with chronic hepatitis C after direct-acting antiviral treatment: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *PeerJ*, 2021, 9 : e10709.
- [17] Dominguez L J, Farruggia M, Veronese N, et al. Vitamin D sources, metabolism, and deficiency: available compounds and guidelines for its treatment. *Metabolites*, 2021, 11 (4): 255.
- [18] Tourkochristou E, Mouzaki A, Triantos C. Gene polymorphisms and biological effects of vitamin D receptor on nonalcoholic fatty liver disease development and progression. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (9): 8288.
- [19] Ravaoli F, Pivetti A, Di Marco L, et al. Role of vitamin D in liver disease and complications of advanced chronic liver disease. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (16): 9016.
- [20] 王勇, 孙琳. 血清 25 羟维生素 D₃ 与肝硬化食管静脉曲张破裂出血的关系. *中外医学研究*, 2020, 18 (21): 118-120.

(收稿日期: 2023-08-02)

(本文编辑: 杨江瑜)