

·综述·

维生素 D 在脓毒症免疫调节中的作用研究进展

彭霄 贺宏丽 邱海波

近年来,随着维生素 D 对机体免疫调节功能研究的日益深入,很多证据表明维生素 D 不仅在其经典的稳定体内钙磷代谢方面发挥功能,而且在脓毒症(sepsis)的发生发展过程中也起重要作用。脓毒症是病原体与宿主免疫系统、炎症反应之间相互作用并最终导致的失控性炎症反应。维生素 D 可通过对多种免疫细胞和细胞因子发挥作用来调控固有免疫和抑制适应性免疫应答,对脓毒症的发生发展可能有保护作用。本文旨在对近年来维生素 D 在脓毒症免疫调节中的作用研究进展进行综述。

1 维生素 D 在脓毒症中的重要地位

目前已有许多研究证实维生素 D 和脓毒症之间存在相关性。在一个涉及 2 399 例重症监护病房(ICU)患者的多中心回顾性观察性研究中发现,维生素 D 不足和缺乏组的总体病死率明显升高,而且血清维生素 D 水平降低与血培养阳性率升高之间存在显著的相关性^[1]。此外,近期也有一些针对维生素 D 和脓毒症的前瞻性研究,其结果值得寻味。在一个针对外科 ICU 患者的小样本单中心研究中,维生素 D 缺乏组感染及脓毒症的发生率更高,但与非缺乏组之间比较差异无统计学意义;而对其中急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II)评分 > 18 分的部分患者再次进行分析后发现,与非缺乏组相比,缺乏组的 ICU 住院时间、总住院时间均显著延长,感染发生率升高了 1 倍^[2]。在另一个纳入 92 例脓毒症及感染性休克的创伤患者的前瞻性研究中发现,维生素 D 可以作为病死率的预测指标^[3]。由此可见,机体维生素 D 水平与脓毒症的进程及预后密切相关。

2 维生素 D 发挥免疫学功能的生理学基础

2.1 免疫细胞中存在维生素 D 代谢酶(CYP27B1):免疫细胞中活性维生素 D 不仅受到全身活性维生素 D 水平的影 响,还可以通过 CYP27B1 自身合成而产生。维生素 D 在循环中以 25(OH)D 和 1,25(OH)D 形式存在,通常以 25(OH)D 含量代表机体维生素 D 的水平。25(OH)D 通过 CYP27B1 的作用转化为 1,25(OH)D 而发挥活性作用。但是全身的 1,25(OH)D 水平远不足以影响机体的免疫功能。在大多数免疫细胞中都发现了 CYP27B1,提示免疫细胞可在局部生成活性维生素 D。这一过程与肾脏产生 1,25(OH)D 的过程迥异,主要有以下特点:第一,免疫细胞中 CYP27B1 的表达水平受免疫信号调

节。单核/巨噬细胞中 CYP27B1 的表达随着 γ -干扰素 (IFN- γ)、脂多糖(LPS)、结核分支杆菌分泌的脂蛋白(MtbP19)及病毒感染而表达上调。树突细胞(DC)中 CYP27B1 表达水平随细胞自身的成熟而上调,同样,随 T 细胞及 B 细胞活化,CYP27B1 表达显著增加^[4]。第二,免疫细胞产生 CYP27B1 的过程不受局部高水平的 1,25(OH)D 负反馈调节^[5]。

2.2 免疫细胞中存在维生素 D 受体:机体免疫系统中广泛分布的维生素 D 结合受体(VDR)是活性维生素 D 发挥生物学活性的结构基础。几乎所有免疫细胞中都存在 VDR,包括活化的 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、B 细胞、中性粒细胞及抗原呈递细胞。并且研究发现,某些免疫细胞中 VDR 的表达水平受免疫信号调控。比如,幼稚 T 细胞中仅表达极少的 VDR,一旦 T 细胞活化后 VDR 的表达显著增加^[6]。相反,单核细胞向巨噬细胞或 DC 细胞分化的过程伴随着 VDR 表达的降低,导致成熟的巨噬细胞或 DC 细胞对 1,25(OH)D 敏感性下降^[5,7]。VDR 在免疫系统中广泛表达的发现使得人们对维生素 D 免疫调节重要作用有了重新的认识。可见,免疫细胞中 VDR 及 CYP27B1 的存在及其随机体免疫状态的动态变化特点提示 1,25(OH)D 是通过自分泌和旁分泌机制作用于免疫细胞的。

3 维生素 D 调节脓毒症时机体的固有免疫

3.1 促进抗微生物肽合成:单核/巨噬细胞吞噬是固有免疫的主要防御机制,而 1,25(OH)D 可增强单核/巨噬细胞对病原体的清除能力。体外研究证实,维生素 D 促进单核细胞分化为巨噬细胞,并且提高巨噬细胞的化学趋化和噬菌能力^[8]。近年来研究的热点主要针对维生素 D 和抗微生物肽的关系。抗微生物肽以抗菌肽(Cathelicidin,其活性成分为 LL-37)和防御素 β 为代表。Cathelicidin 具有广谱抗菌活性、促进炎症细胞的化学吸附以及减轻内毒素血症等功能。Jeng 等^[9]在对重症患者的观察中发现,25(OH)D 水平与血清中 LL-37 的表达呈正相关,提示 LL-37 水平受维生素 D 含量的调节。有趣的是,Dixon 等^[10]观察到只有在血清 25(OH)D < 32 μ g/L 时,25(OH)D 水平才与 LL-37 呈正相关。加入 25(OH)D 后,巨噬细胞 VDR 和 CYP27B1 的表达增加,促进 LL-37 的产生,提高对结核菌的杀菌效率^[11]。最近的一些研究表明,在机体其他种类细胞中,维生素 D 能够通过与巨噬细胞中不同的作用机制刺激靶细胞产生 Cathelicidin。维生素 D 还可上调防御素 β 的表达,而防御素 β 在机体的免疫防御中具有更加广泛的功能。尽管目前关于维生素 D 调节微生物肽发挥杀菌活性的研究主要集中在结核杆菌感染的巨噬细胞,但维生素 D 对抗微生物肽的调节作用进一步表明其在机体清除感染机制中发挥重要作用。

3.2 调节机体抗原识别能力:1,25(OH)D 对机体抗原识别

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.03.020

基金项目:江苏省“科教兴卫工程”医学重点学科项目(KJXW11(3));2012 年度卫生公益性行业科研专项经费项目(201202011);国家临床重点专科建设项目经费(2100299)

作者单位:210009 江苏南京,东南大学附属中大医院重症医学科

通信作者:邱海波,Email: haihoq2000@gmail.com

能力的调节具有双向性的特点。脓毒症时, Toll 样受体(TLR)参与活化细胞内下游信号转导通路, 激活核转录因子 κ B(NF- κ B)/Rel 家族转录因子, 增加促炎基因的转录活性和高表达。尽管体外试验证实, 1,25(OH)D 能够诱导 CD14 分子以及模式识别受体 NOD2 蛋白的表达增加, 活化 TLR, 增强机体的抗原识别能力^[12-13], 但是 Sadeghi 等^[14]的研究发现, TLR 配体在活化单核细胞的同时, 诱导单核细胞内 CYP21B1 活性增强, 合成大量的 1,25(OH)D, 抑制单核细胞表面 TLR2 和 TLR4 的过度激活, 降低单核细胞对细菌细胞壁的敏感性。此效应在感染 72 h 后最为明显, 提示维生素 D 在感染后期防止过度的 TLR 活化及炎症反应方面发挥负反馈调节作用。维生素 D 这种对机体抗原识别能力的双向调节机制, 在增强机体清除感染的能力和维持机体免疫平衡方面具有重要意义。

3.3 保护内皮功能:病原微生物诱导内皮细胞过度活化在脓毒症的发生发展中至关重要^[15], 维生素 D 通过以下机制对内皮细胞起保护作用。首先, 1,25(OH)D 抑制 LPS 诱导的髓样分化抗原 88(MyD88)依赖性内皮细胞 NF- κ B 的活化, 从而减少白细胞介素(IL-6、IL-8)和受激活调节正常 T 细胞表达和分泌因子(RANTES)的产生^[16]。另外, 血管内皮细胞对缩血管物质反应性降低也是感染性休克的重要特征之一。在体研究发现, 活性维生素 D 通过与血管内皮细胞上的维生素 D 受体结合, 抑制内皮细胞活化和血管扩张, 并且提高机体对去甲肾上腺素等缩血管物质的反应性^[17]。维生素 D 对内皮细胞固有免疫功能的调节及对机体循环状态的影响使其成为脓毒症潜在的治疗手段。

4 维生素 D 调节脓毒症时机体的适应性免疫应答

4.1 诱导 DC 细胞产生免疫耐受:目前认为失控性炎症反应是严重脓症患者免疫功能紊乱的病理生理基础, 减轻脓毒症失控的炎症反应是降低早期病死率和预防脓毒症及多器官功能障碍的关键^[18]。1,25(OH)D 抑制适应性免疫应答, 利于脓毒症时获得性免疫自身耐受性的维持。DC 细胞是启动特异性免疫应答的初始环节, 并且是 1,25(OH)D 免疫抑制主要作用的靶细胞。研究表明, 加入 1,25(OH)D 后, DC 细胞表面共刺激分子 CD40、CD80、CD86 以及主要组织相容性复合物 II (MHC II) 分子的表达减少, 并且 CD83 的表达下调, 表明 1,25(OH)D 抑制 DC 细胞的分化和成熟^[19]。其次, 维生素 D 调节 DC 细胞相关的细胞因子和趋化因子的表达。1,25(OH)D 降低幼稚 DC 细胞的增殖和 IFN- γ 的分泌, 从而减弱 DC 细胞诱导初始 T 细胞活化的能力。另外, 维生素 D 减少成熟 DC 细胞分泌 IL-12 和 IL-23, 分别抑制初始 T 细胞向辅助性 T 细胞 1(Th1)和 Th17 方向分化; 增加 IL-10 的合成, 抑制巨噬细胞活性, 促进成熟 DC 细胞的凋亡^[20-21]。维生素 D 对 DC 细胞的分化、增殖、成熟、凋亡和趋化的影响降低了 T 细胞的反应性, 促进调节性 T 细胞的产生, 从而增强机体的免疫耐受。

4.2 调节性 T 细胞功能:维生素 D 抑制受体诱导的 T 细胞的增殖和成熟, 并调节多种炎症细胞因子。1,25(OH)D 抑制活化 T 细胞表达 IFN- γ 、IL-2、肿瘤坏死因子 α (TNF- α), 并

促进 IL-4、IL-5、IL-10、IL-12 等抗炎因子的合成, 从而促进 T 细胞向 Th2 型分化, 调控 Th1/Th2 免疫偏移^[22]。Th17 细胞作为 CD4⁺ T 细胞的亚型, 参与维持炎症反应, 加重组织损伤。1,25(OH)D 通过抑制 DC 细胞促进 Th17 CD4⁺ T 细胞的分化能力, 并且减少 IL-17 的合成, 因而降低 Th17 细胞的促炎效应^[23]。此外, 1,25(OH)D 能直接促进调节性 T 细胞的产生^[24]。维生素 D 对 T 细胞免疫应答的调节作用可能减轻脓毒症时的组织损伤, 降低炎症反应。

4.3 调节 B 细胞功能:1,25(OH)D 抑制 B 细胞的增殖、分化和抗体的产生。维生素 D 影响 B 细胞功能的原因一方面与其对 T 细胞应答的作用有关, 另一方面它能够直接作用于 B 细胞。Chen 等^[25]的研究结果表明, 1,25(OH)D 通过与 B 细胞中的 VDR 结合产生效应, 不仅抑制 B 细胞增殖, 而且阻碍其向浆细胞以及记忆性 B 细胞的转化。研究中还发现 B 细胞中存在 CYP27B1, 提示 B 细胞可能通过自分泌以及胞内分泌的方式产生 1,25(OH)D。脓毒症时, 活性维生素 D 对机体适应性免疫应答的抑制作用在降低过度的炎症反应、减轻组织损伤方面可能具有保护作用。

5 维生素 D 在脓毒症治疗中的应用

由于维生素 D 在机体免疫调节中广泛的作用, 其或许可以用于脓毒症的治疗。尽管目前缺少这方面的临床研究, 但现有的关于补充维生素 D 有助于预防感染性疾病发生的证据给未来应用带来希望。研究表明, 补充维生素 D 可促进肺结核患者的痰菌转阴率^[26], 降低甲型流感及呼吸道感染的发生风险^[27]。另外, LL-37 破坏铜绿假单胞菌细胞壁的特性使其在院内获得性耐药菌感染治疗中有一定前景^[28]。

然而, 现在关于维生素 D 治疗脓毒症可行性的判断仍缺乏可靠依据。大量使用维生素 D 可能导致骨质疏松、高钙血症、组织钙化等副作用。动物实验发现, 对由 LPS 导致的超急性感染, 使用 1,25(OH)D 可能会增加肾脏钙质沉积的易感性, 从而加重肾功能损害^[29]。加之脓毒症时常合并肝功能不全, 因而维生素 D 对患者产生的副作用更难估计。新研制的 1,25(OH)D 类似物在发挥免疫调节功能的同时, 可以一定程度减少相关副作用的发生。

此外, 临床医生对维生素 D 给药方法的把握仍缺少足够依据。在一项关于补充维生素 D 辅助治疗肺结核的大规模随机对照研究中发现, 即使给予维生素 D 100 kU, 2 个月后研究组和对照组患者的 25(OH)D 水平仍无明显差异, 提示需要维生素 D 发挥其免疫效应可能需要更高剂量^[25]。Amrein 等^[30]进行的一项小样本研究显示, 对于重症患者, 单次口服大剂量维生素 D(540 kU)可在 2 d 内改善大部分患者的维生素 D 严重缺乏的状态, 并且未发生高钙血症、高钙尿症等副作用。由此可见, 临床大剂量应用维生素 D 具有一定的可行性, 但脓毒症时维生素 D 的适宜补充剂量目前尚难界定, 仍需进一步的研究证据支持。

总之, 维生素 D 对机体固有免疫和适应性免疫应答具有广泛的调节作用, 在感染导致炎症反应失控之前, 维持机体合适的维生素 D 水平或许是治疗脓毒症新的切入点, 但还面

临许多的问题和挑战。

参考文献

- [1] Braun A, Chang D, Mahadevappa K, et al. Association of low serum 25-hydroxyvitamin D levels and mortality in the critically ill [J]. *Crit Care Med*, 2011, 39(4): 671-677.
- [2] Flynn L, Zimmerman LH, McNorton K, et al. Effects of vitamin D deficiency in critically ill surgical patients [J]. *Am J Surg*, 2012, 203(3): 379-382.
- [3] Cecchi A, Bonizzoli M, Douar S, et al. Vitamin D deficiency in septic patients at ICU admission is not a mortality predictor [J]. *Minerva Anestesiol*, 2011, 77(12): 1184-1189.
- [4] Baeke F, Takiishi T, Korf H, et al. Vitamin D: modulator of the immune system [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2010, 10(4): 482-496.
- [5] Hewison M, Freeman L, Hughes SV, et al. Differential regulation of vitamin D receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2003, 170(11): 5382-5390.
- [6] Baeke F, Korf H, Overbergh L, et al. Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the immune system [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2010, 121(1-2): 221-227.
- [7] Kreutz M, Andreesen R, Krause SW, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 production and vitamin D3 receptor expression are developmentally regulated during differentiation of human monocytes into macrophages [J]. *Blood*, 1993, 82(4): 1300-1307.
- [8] 丁晓飞, 张青丽, 郝莉, 等. 1,25(OH)₂D₃ 对巨噬细胞吞噬金黄色葡萄球菌过程的影响 [J]. *营养学报*, 2010, 32(2): 130-132, 137.
- [9] Jeng L, Yamshchikov AV, Judd SE, et al. Alterations in vitamin D status and anti-microbial peptide levels in patients in the intensive care unit with sepsis [J]. *J Transl Med*, 2009, 7:28.
- [10] Dixon BM, Barker T, McKinnon T, et al. Positive correlation between circulating cathelicidin antimicrobial peptide (hCAP18/LL-37) and 25-hydroxyvitamin D levels in healthy adults [J]. *BMC Res Notes*, 2012, 5:575.
- [11] Liu PT, Stenger S, Li H, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response [J]. *Science*, 2006, 311(5768): 1770-1773.
- [12] Liu PT, Stenger S, Tang DH, et al. Cutting edge: vitamin D-mediated human antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the induction of cathelicidin [J]. *J Immunol*, 2007, 179(4): 2060-2063.
- [13] Wang TT, Dabbas B, Laperriere D, et al. Direct and indirect induction by 1,25-dihydroxyvitamin D3 of the NOD2/CARD15-defensin beta2 innate immune pathway defective in Crohn disease [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(4): 2227-2231.
- [14] Sadeghi K, Wessner B, Laggner U, et al. Vitamin D3 down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associate molecular patterns [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(2): 361-370.
- [15] 梁英健, 张晓娟, 李鑫, 等. 脓毒症患者血中组织因子、血管性血友病因子与肿瘤坏死因子- α 改变的临床意义 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2012, 19(2): 104-106.
- [16] Equils O, Naiki Y, Shapiro AM, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D inhibits lipopolysaccharide-induced immune activation in human endothelial cells [J]. *Clin Exp Immunol*, 2006, 143(1): 58-64.
- [17] Bukoski RD, Xua H. On the vascular inotropic action of 1,25-(OH)₂ vitamin D3 [J]. *Am J Hypertens*, 1993, 6(5 Pt 1): 388-396.
- [18] 林洪远, 盛志勇. 脓毒症免疫调理治疗的新思路 [J]. *中国危重病急救医学*, 2004, 16(2): 67-69.
- [19] Pedersen AW, Holmstrøm K, Jensen SS, et al. Phenotypic and functional markers for 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃-modified regulatory dendritic cells [J]. *Clin Exp Immunol*, 2009, 157(1): 48-59.
- [20] Penna G, Adorini L. 1 Alpha,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation [J]. *J Immunol*, 2000, 164(5): 2405-2411.
- [21] 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.
- [22] Jeffery LE, Burke F, Mura M, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and IL-2 combine to inhibit T cell production of inflammatory cytokines and promote development of regulatory T cells expressing CTLA-4 and FoxP3 [J]. *J Immunol*, 2009, 183(9): 5458-5467.
- [23] Kamen DL, Tangpricha V. Vitamin D and molecular actions on the immune system: modulation of innate and autoimmunity [J]. *J Mol Med(Berl)*, 2010, 88(5): 441-450.
- [24] 祁晓平, 李培, 恽时峰, 等. 1,25-二羟维生素 D₃ 对致死剂量脂多糖攻击的大鼠 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的调节作用 [J]. *中国现代普通外科进展*, 2011, 14(9): 676-679.
- [25] 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.
- [26] Wejse C, Gomes VF, Rabna P, et al. Vitamin D as supplementary treatment for tuberculosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 179(9): 843-850.
- [27] Urashima M, Segawa T, Okazaki M, et al. Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in school-children [J]. *Am J Clin Nutr*, 2010, 91(5): 1255-1260.
- [28] Nijnik A, Hancock RE. The roles of cathelicidin LL-37 in immune defences and novel clinical applications [J]. *Curr Opin Hematol*, 2009, 16(1): 41-47.
- [29] Møller S, Laigaard F, Olgaard K, et al. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in experimental sepsis [J]. *Int J Med Sci*, 2007, 4(4): 190-195.
- [30] Amrein K, Sourij H, Wagner G, et al. Short-term effects of high-dose oral vitamin D3 in critically ill vitamin D deficient patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study [J]. *Crit Care*, 2011, 15(2): R104.

(收稿日期:2013-04-26)

(本文编辑:李银平)

·科研新闻速递·

脓症患者体温、血压和血浆一氧化氮含量的相关性研究

在脓毒症、严重脓毒症和感染性休克患者中,血浆内硝酸盐水平、体温和血压之间是否存在联系,在以往研究中未见报道。最近,巴西一家医院的研究人员进行了一项前瞻性观察研究。研究人员将 2009 年 7 月至 12 月 29 例住院患者纳入本次研究,获得 30 份血液样本并进行化验分析,确定血浆中的硝酸盐水平。结果显示:脓毒性休克患者体内一氧化氮合成增加,并且与体温呈负相关。因此,研究人员认为,在脓毒症发展为脓毒性休克过程中,对患者进行体温测量和观察其低温状态,对指导个体化护理十分重要。

孟祥熙, 胡森, 编译自《Rev Lat Am Enfermagem》, 2014, 22(1):123-128

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24553712>