

维生素 D 与多发性硬化

李翔 综述 洪铭范 审校

广东药学院附属第一医院神经内科 广东省广州市 510080

摘要: 维生素 D 除了参与体内钙、磷等矿物质调节外,还有广泛的免疫调节作用,特别是对于 CD4⁺ T 细胞及其所分泌细胞因子的调节。维生素 D 缺乏是多发性硬化独立的病因及危险因素之一,与多发性硬化的发生、发展及预后息息相关。本文就维生素 D 对于体内免疫调节作用及其在多发性硬化发病机制和治疗方面的作用进行综述。

关键词: 多发性硬化; 维生素 D; CD4⁺ T 细胞; 细胞因子

多发性硬化 (multiple sclerosis, MS) 是一种以中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 白质脱髓鞘为主要病理特点的自身免疫性疾病。本病多在成年早期发病,大多数患者表现为反复发作的神经功能障碍,多次缓解-复发,逐渐进展。目前多发性硬化的确切病因及发病机制尚未阐明,一般认为与环境因素、遗传易感性、病毒感染有关^[1]。流行病学资料表明其发病率与地理纬度有一定关系,在赤道发病率几乎为零,随着纬度的增加发病率呈上升趋势,据此推断,维生素 D 与紫外线照射的多寡可能是多发性硬化独立的病因^[2]。近年研究发现,维生素 D 除了参与体内钙、磷等矿物质的吸收代谢之外,还广泛参与了免疫调节,特别是 T 淋巴细胞介导的多个免疫调节环节,在多发性硬化的发病机制中起到了重要作用。Wang 等^[3] 的研究显示,维生素 D 的生物活性产物 1,25-二羟基维生素 D₃ [1,25-(OH)₂D₃], 又称骨化三醇,可以阻止实验性变态反应性脑脊髓炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE) 的症状进展。这为探寻多发性硬化的发病机制及防治方案提供了新的靶点。

1 维生素 D 及其受体与免疫调节

维生素 D (vitamin D) 为固醇类衍生物,是一种脂溶性维生素。人体内的维生素 D 原 (provitamin D), 即 7-脱氢胆固醇经紫外线 270~300 nm 激活形成维生素 D₃, 再由肝脏微粒体及肾脏线粒体中经单氧酶系统两次羟化合成维生素 D 的生物活性产物 1,25-二羟基维生素 D₃。1,25-二羟基维

生素 D₃ 通过与体内维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR) 结合来发挥一系列的生物学效应。VDR 属于核受体超家族之一,其与类视黄醇 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 组成异源二聚体,通过与 RNA 聚合酶 II 的相互作用,增强或抑制靶基因的转录。在免疫系统和免疫反应中,VDR 在多种细胞上广泛表达,包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞、树突状细胞、抗原提呈细胞和巨噬细胞等^[4]。因此,维生素 D 及其受体与免疫调节及炎症反应密切相关。

CD4⁺ T 细胞受不同种白细胞介素诱导分化后可以分为两个子集:即主要参与细胞免疫的 Th1 型细胞和主要参与体液免疫的 Th2 型细胞。Th1 和 Th2 互为抑制性 T 细胞。动物实验表明,维生素 D₃ 增多或者 VDR 传递信号增强时,能够直接抑制 Th1 细胞活性,从而减少 CD4⁺ T 细胞释放白细胞介素-2 (IL-2)、干扰素-γ (IFN-γ) 和肿瘤坏死因子-α (TNF-α),而与之相对的 Th2 细胞及调节性 T 细胞则活性增强,其分泌的 IL-4、IL-5 和 IL-10 增多。而且,Daniel 等^[5] 报道,维生素 D 可以增强调节性 T 细胞活性及抑制 Th17 细胞,使其分泌的 IL-17 减少。

在固有免疫反应中,1,25-二羟基维生素 D₃ 可以抑制抗原提呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 上的主要组织相容性复合体-II (major histocompatibility complex-II, MHC-II) 类分子和共刺激信号因子 (costimulatory molecule) 的表达,从而抑制其抗原提呈,激活 T 淋巴细胞免疫应答能力。同时能

基金项目: 国家自然科学基金 (81173418)

收稿日期: 2013-05-08; 修回日期: 2013-07-02

作者简介: 李翔 (1987-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事多发性硬化的研究。E-mail: 402350410@qq.com。

通讯作者: 洪铭范 (1963-), 男, 硕士生导师, 教授, 主任医师。主要从事神经免疫性疾病、肝豆状核变性等的研究。E-mail: hmf9001@163.com。

够影响树突状细胞(dendritic cells, DCs)生命周期中的所有主要阶段,包括阻碍单核细胞分化成DCs;阻止幼稚DCs向成熟DCs分化;减少DCs分泌IL-12和增加IL-10的产生,诱导出具有致耐受性表型和功能的未成熟DCs。在单核/巨噬细胞系统中,1,25-二羟基维生素D₃抑制单核细胞上的Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs),如TLR2和TLR4的表达,使巨噬细胞释放的TNF- α 、IL-1减少,但可以增强单核巨噬细胞的趋化性及吞噬能力^[6]。

2 维生素D与多发性硬化的发病机制

多发性硬化病变早期就存在脑实质及脊髓的局部炎症及淋巴细胞、巨噬细胞浸润,随后发生由免疫介导的白质脱髓鞘和神经退行性变。流行病学及动物实验研究均表明,维生素D的缺乏是多发性硬化发病的危险因素之一^[7]。

众所周知,CD4⁺T细胞在多发性硬化的发病机制中扮演着至关重要的角色。初始CD4⁺T细胞,由Th0细胞分化成为Th1、Th2、Th17、调节性T细胞。Th1和Th17细胞的增殖能够提高MS的发病率及复发率,与之相反,Th2细胞的增殖及其分泌的细胞因子的增多能够减缓MS病情的发展。CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺调节性T细胞通过协调各种细胞因子的分泌,间接的调控Th1、Th2细胞的平衡,也是MS发病的重要原因之一。

2.1 Th1型细胞及Th2型细胞

Th1型细胞的增殖分化主要由IL-12介导,其主要分泌IL-2、IFN- γ 、TNF- α ,在巨噬细胞活化和迟发型超敏反应(delayed hypersensitivity),即IV型超敏反应中起到关键作用。Th2型细胞主要分泌IL-4、IL-5、IL-10,其抑制Th1型细胞的增殖分化,促进B淋巴细胞的生长,介导立即型超敏反应(immediate hypersensitivity),即I型超敏反应。在MS的急性期,Th1型细胞因子分泌明显增加,而Th2型细胞因子分泌减少,在MS的缓解期却恰恰相反。

VDR在Th1型细胞及Th2型细胞上均有表达,1,25-二羟基维生素D₃与其受体结合后,再与RXR结合形成异源二聚体,此异源二聚体进入细胞核内在DNA上的维生素D₃反应原件(vitamin D₃ response elements, VDREs),包括核因子- κ B(nuclear factor- κ B)、IL-2受体 β 基因、IgE结合因子等结合,调控基因外显子的转录,从而使Th1型细胞活性降低,Th2型细胞活性升高,其相应的细胞因子

分泌改变。

在经典免疫学中,Th1型细胞与Th2型细胞相互抑制,Th1型细胞分泌的IFN- γ 能够抑制Th2型细胞,Th2型细胞分泌的IL-4、IL-10能够抑制Th1型细胞。故有人认为,维生素D的作用主要是通过增强Th2型细胞活性,使其分泌的IL-4、IL-10增加,从而抑制Th1型细胞,减少其分泌细胞因子,减轻或延缓MS的发病进程^[8]。

2.2 Th17型细胞

有学者发现,在EAE小鼠的中枢神经系统及脑脊液中可以检测到大量的Th17细胞,并且,向其体内注射抗IL-17的抗体可以显著的延缓疾病的发展^[9]。Th17细胞在MS的发病机制中发挥的作用被逐渐论证。1,25-二羟基维生素D₃通过VDR在以下几个方面抑制Th17细胞的反应,包括抑制CD4⁺T细胞向Th17细胞分化,Th17细胞的迁移,以及抑制Th17细胞分泌IL-17等。

Chang等^[10]对EAE小鼠1,25-二羟基维生素D₃抑制Th17细胞的分化和迁移的研究显示,1,25-二羟基维生素D₃在IL-2、IL-10和信号转导和转录激活子-1(signal transducer and activator of transcription-1, STAT1)的调控下,可以抑制Th0细胞向Th17细胞分化,并且可以负性调节Th17细胞上表达的趋化因子受体6(human chemokine receptor 6, CCR6),通过CCR6/CCL20生物轴控制Th17细胞向CNS迁移。另一方面,1,25-二羟基维生素D₃-VDR/RXR异源二聚体可以激活组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC),导致结合在人类IL-17翻译启动子的活化T细胞核因子c1(nuclear factor of activated T cells c1, NFATc1)位点上的乙酰化组蛋白H4分解,从而被VDR/RXR取代,竞争性地抑制IL-17的分泌^[11]。

2.3 CD4⁺CD25⁺调节性T细胞

CD4⁺CD25⁺调节性T细胞(CD4⁺CD25⁺Treg)从来源上可以分为两类:天然型调节性T细胞(nTreg)和诱导型调节性T细胞(rTreg)。nTreg在胸腺中发育,其过程受到T细胞受体(T cell receptor, TCR)及低密度主要组织相容性复合物-II类肽复合物或胸腺内皮递呈的外周自身肽间高亲和力和反应所介导,一般在体内无反应能力,但在体外实验中可以扩增,发挥生物效应。rTreg由抗原提呈细胞,特别是树突状细胞诱导成熟T细胞所产生,主要分泌IL-10和转化生长因子- β (transforming

growth factor- β , TGF- β)。IL-10 及 TGF- β 均能抑制 Th1 细胞应答及合成细胞因子,抑制巨噬细胞的抗原提呈功能及合成细胞因子,促进 B 细胞增殖、分化及抗体产生。调节性 T 细胞均表达 Foxp3,其发挥的免疫负调控作用可以缓解 MS 的发生和发展。

Pedersen 等^[12]发现,体外实验将 1,25-二羟基维生素 D₃ 与树突状细胞共同培养,可以获得免疫耐受型树突状细胞,并可以下调共刺激分子的表达和减少 IL-12 的产生。这些树突状细胞不仅能够抑制效应性 T 细胞的活性,而且可以诱导 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性 T 细胞的分化。另外,活性维生素 D₃ 已被证明能够上调吡啶胺 2,3-双加氧酶的生物活性,导致 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性 T 细胞的数目显著增加^[13]。Smolders 等^[14]证实了血清高 25-羟基维生素 D 水平能够增强 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的功能,并且使 Th1/Th2 平衡倾向于分化为 Th2 细胞,从而减轻或延缓 MS 的发病进程。

2.4 其他

在多发性硬化的免疫发病机制中,维生素 D 除了调控经典的 CD4⁺T 细胞系之外,在其他方面也起到了一定的作用。如 Andreas 等^[15]发现 1,25-二羟基维生素 D₃ 可以直接作用于 CD8⁺T 细胞,促进 IL-5 和 TGF- β 细胞因子的分泌,抑制其分泌 IFN- γ 和 TNF- α 。Handunnetthi 等^[16]提出 HLA-DRB1*15 是 MHC-II 类分子,它和维生素 D 之间的相互作用可能与 MS 的发病机制有关。另外,1,25-二羟基维生素 D₃ 还可以诱导巨噬细胞和上皮细胞产生抗菌肽,参与先天免疫反应的激活,也可能与 MS 的发病机制有关。

3 维生素 D 与多发性硬化的临床治疗

有研究显示 MS 病人血清中维生素 D 含量显著低于正常人,如果提升血清维生素 D 含量或者增加维生素 D 的摄取,紫外线的暴露可以降低多发性硬化发病的风险^[17]。但是公共健康建议维生素 D 摄入量(200 IU/d)明显低于旨在预防 MS 和其他维生素 D 相关的疾病的摄入标准,有学者建议维生素 D 的每日摄入量应为 1000~4000 IU^[18]。甚至有建议每日摄入量可达 10000 IU^[19]。大量应用维生素 D 治疗 MS 的安全性也得到临床对照试验研究的证实,例如 Kimball 等^[20]在 MS 病人治疗方案中将维生素 D₃ 的用量逐步增加达到峰值的

280000 IU/d,并没有检测到临床或者生化的不利影响。Smolders 等^[21]给予 MS 患者 20000 IU/d 的维生素 D₃,连续 12 周,将血清 25(OH)维生素 D 水平由 50 nM 提升到 380 nM,也没有观察到不良反应的产生及病人体内钙稳态的失衡。

动物实验证明维生素 D 可以直接抑制或延缓 MS 的进展。在 EAE 小鼠模型中,维生素 D 的治疗可以降低中枢神经系统炎症,抑制 EAE 症状,而不引起高钙血症^[22]。但是维生素 D 与 MS 其他治疗药物有无协同作用还没有被证实。一项对于 50 个 RR-MS 病人为期 12 个月的研究显示,在原有免疫调节剂治疗基础上分别加用每日 0.5 mg 的骨化三醇和安慰剂,其复发率及 EDSS 评分无区别^[23]。但在一项临床对照试验中,给予 66 名 RR-MS 患者 IFN- β 1b 治疗外加用每周 20000 IU 的维生素 D₃,将患者血清维生素 D₃ 水平增加到 110 nmol/L,发现患者脑部钆增强 MRI 的 T1 期病变减少,但年复发率依然保持不变^[24]。

因此,通过免疫机制缓解 EAE 小鼠模型以及应用维生素 D 治疗 MS 的安全性已得到实验证实,但是临床疗效尚不明确。然而,加用维生素 D 可以改善 MS 患者大量使用的糖皮质激素及 IFN- β 治疗所引起的低钙血症。

4 结语与展望

越来越多的证据表明,维生素 D 能够调节自身免疫反应,其与多发性硬化的发病机制及治疗的相关性日益受到重视。虽然维生素 D 可改善 MS 实验室炎症因子等免疫学指标,但其临床疗效尚需进一步研究明确,对维生素 D 治疗 MS 患者的最佳剂量、最佳血清 25(OH)维生素 D₃ 水平、干预目标人群的最佳时机等一系列问题正受到密切关注。维生素 D 作为一个安全廉价的新型免疫调节剂可能为多发性硬化的预防与治疗提供新的角度和方法。

参 考 文 献

- [1] Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. Lancet, 2008, 372(9648): 1502-1517.
- [2] Lucas RM, Ponsonby AL, Dear K, et al. Sun exposure and vitamin D are independent risk factors for CNS demyelination. Neurology, 2011, 76(6): 540-548.
- [3] Wang Y, Marling SJ, Zhu JG, et al. Development of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) in mice requires vitamin D and the vitamin D receptor. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(22): 8501-8504.

- [4] Cutolo M , Otsa K. Review: vitamin D , immunity and lupus. *Lupus* ,2008 ,17(1) : 6-10.
- [5] Daniel C , Sartory NA , Zahn N , et al. Immune modulatory treatment of trinitrobenzene sulfonic acid colitis with calcitriol is associated with a change of a T helper (Th) 1/Th17 to a Th2 and regulatory T cell profile. *J Pharmacol Exp Ther* , 2008 ,324(1) : 23-33.
- [6] Hewison M. Vitamin D and immune function: Autocrine , paracrine or endocrine? *Scand J Clin Lab Invest Supply* , 2012 ,243: 92-102.
- [7] Simpson S , Taylon B , Blizzard L , et al. Higher 25-hydroxy vitamin D is associated with lower relapse risk in multiple sclerosis. *Ann Neurol* ,2010 ,68(2) : 193-203.
- [8] Yang CY , Leung PS , Adamopoulos IE , et al. The Implication of Vitamin D and Autoimmunity: a Comprehensive Review. *Clinic Rev Allerg Immunol* ,2013 ,836: 1-3.
- [9] Uyttenhove C , Sommereyns C , Théate I , et al. Anti-IL-17A autovaccination prevents clinical and histological manifestations of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Ann NY Acad Sci* ,2007 ,1110: 330-336.
- [10] Chang JH , Cha HR , Lee DS , et al. 1 , 25-Dihydroxyvitamin D₃ Inhibits the Differentiation and Migration of TH17 Cells to Protect against Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *PLoS ONE* ,2010 ,5(9) : e12925.
- [11] Sneha J , Luiz CP , Xikui KL , et al. 1 , 25-Dihydroxyvitamin D₃ Ameliorates Th17 Autoimmunity via Transcriptional Modulation of Interleukin-17A. *Mol Cell Biol* ,2011 ,31(17) : 3653-3669.
- [12] Pedersen AW , Claesson MH , Zocca MB. Dendritic cells modified by vitamin D future immunotherapy for autoimmune diseases. *Vitam Horm* ,2011 ,86: 63-82.
- [13] Correale J , Ysraelit MC , Gaitan MI. Immunomodulatory effects of vitamin D in multiple sclerosis. *Brain* ,2009 ,132(5) : 1146-1160.
- [14] Smolders J , Thewissen M , Peelen E , et al. Vitamin D Status Is Positively Correlated with Regulatory T Cell Function in Patients with Multiple Sclerosis. *PLoS ONE* ,2009 ,4(8) : e6635.
- [15] Andreas PL , Emilie J , Samantha J , et al. Vitamin D has a direct immunomodulatory effect on CD8⁺ T cells of patients with early multiple sclerosis and healthy control subjects. *J Neuroimmunol* ,2011 ,233(1-2) : 240-244.
- [16] Handunnetthi L , Ramagopalan SV , Ebers GC. Multiple sclerosis , vitamin D , and HLA-DRB1 * 15. *Neurology* , 2010 ,74(23) : 1905-1910.
- [17] Tremlett H , Pittas F , Blizzard L , et al. Monthly ambient sunlight , infections and relapse rates in multiple sclerosis. *Neuroepidemiology* ,2008 ,31(4) : 271-279.
- [18] Vieth R , Bischoff-Ferrari H , Boucher BJ , et al. The urgent need to recommend an intake of vitamin D that is effective. *Am J Clin Nutr* ,2007 ,85(3) : 649-650.
- [19] Correale J. If I had clinically isolated syndrome with magnetic resonance imaging diagnostic of multiple sclerosis , I would take vitamin D 10 ,000 IU daily: Yes. *Mult Sclerosis J* , 2013 ,19(2) : 137-139.
- [20] Kimball SM , Ursell MR , O' Connor P , et al. Safety of vitamin D₃ in adults with multiple sclerosis. *Am J Clin Nutr* , 2007 ,86(3) : 645-651.
- [21] Smolders J , Peelen E , Thewissen M , et al. Safety and T cell modulating effects of high dose vitamin D₃ supplementation in multiple sclerosis. *PLoS ONE* ,2010 ,5(12) : e15235.
- [22] Pedersen LB , Nashold FE , Spach KM , et al. 1 , 25-dihydroxyvitamin D₃ reverses experimental autoimmune encephalomyelitis by inhibiting chemokine synthesis and monocyte trafficking. *J Neurosci Res* ,2007 ,85(11) : 2480-2490.
- [23] Shaygannejad V , Janghorbani M , Ashtari F , et al. Effects of adjunct low-dose vitamin D on relapsing-remitting multiple sclerosis progression: preliminary findings of a randomized placebo-controlled trial. *Mult. Scler Int* , 2012 ,2012: 452541.
- [24] Soilu-Hänninen M , Aivo J , Lindström BM et al. A randomised , double blind , placebo controlled trial with vitamin D₃ as an add on treatment to interferon b-1b in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* ,2012 ,83(5) : 565-571.