

· 研究论著 ·

血清 25-羟基维生素 D 水平与非酒精性脂肪性肝病患者肝脏纤维化风险的关系

余超 陈利 蔺红梅 姜雨薇 汪丽清 林妙霞

【摘要】 目的 分析血清 25-羟基维生素 D [25 (OH) D] 与非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 患者肝脏纤维化风险的相关性。**方法** 对 587 例 NAFLD 患者采用 ELISA 法检测血清 25 (OH) D 浓度, 并采用 NAFLD 纤维化评分 (NFS) 评估 NAFLD 患者纤维化风险 ($NFS \geq -1.455$ 定义为中-高纤维化风险)。Logistic 回归模型用于分析 25 (OH) D 浓度 (四分位组) 与 NAFLD 患者肝脏纤维化风险的关联程度。**结果** 587 例 NAFLD 患者中根据 NFS, 340 例为中-高肝脏纤维化风险患者, 中-高肝脏纤维化风险组 25 (OH) D 水平低于低肝脏纤维化风险组 ($Z=-3.263$, $P<0.001$)。按照 25 (OH) D 四分位数分组分析发现, 最低四分位组 (≤ 18.20 ng/ml) 比最高四分位组 (≥ 33.27 ng/ml) NAFLD 患者的肝脏纤维化风险增加 1.62 倍 ($OR=2.621$, $P<0.001$) ; 在调整 NAFLD 的传统风险因素后, 这种风险差异仍有统计学意义 ($P=0.002$)。**结论** 低血清 25 (OH) D 水平与 NAFLD 患者肝脏纤维化风险密切相关。

【关键词】 维生素 D; 非酒精性脂肪性肝病; 纤维化

Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and the risk of liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease Yu Chao, Chen Li, Lin Hongmei, Jiang Yuwei, Wang Liqing, Lin Miaoxia. Center for Health Examination, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China Corresponding author, Lin Miaoxia, E-mail: 1057665317@qq.com

【Abstract】 Objective To explore the correlation between the serum level of 25-hydroxyvitamin D [25 (OH) D] and the risk of liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** The serum levels of 25 (OH) D in 587 NAFLD patients were quantitatively measured using ELISA kit. The risk of liver fibrosis was assessed by NAFLD fibrosis score (NFS; $NFS \geq -1.455$ was defined as middle-high risk of liver fibrosis). The association between serum 25 (OH) D level (quartile group) and the risk of liver fibrosis was analyzed using the logistic regression model. **Results** Among 587 NAFLD patients, 340 patients were evaluated with a middle-high risk of liver fibrosis according to NFS. The serum levels of 25 (OH) D in patients with a middle-high risk of liver fibrosis were significantly lower compared with those in their counterparts with a low risk of liver fibrosis ($Z=-3.263$, $P<0.001$). According to the quartile grouping analysis of serum 25 (OH) D level, the risk of liver fibrosis in the lowest quartile group (≤ 18.20 ng/ml) was increased by 1.62 times than that in the highest quartile group (≥ 33.27 ng/ml, $OR=2.621$, $P<0.001$). The statistical significance still existed after the traditional risk factors of NAFLD were adjusted ($P=0.002$). **Conclusion** A low serum level of 25 (OH) D is closely correlated with high risk of liver fibrosis in NAFLD patients.

【Key words】 Vitamin D; Nonalcoholic fatty liver disease; Fibrosis

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是一种以肝脏细胞脂肪异常聚集和胰岛素抵抗为特征的肝脏疾病。随着中国人肥胖、2 型糖尿病、代谢综合

征发病率的上升, NAFLD 患病率也迅速增加, 目前已取代病毒性肝炎成为国人肝脏健康的最大威胁^[1]。肝纤维化和肝硬化是 NAFLD 患者肝病不良

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2019.01.007

基金项目: 广东省科技计划项目基金资助 (2009B03081008); 广东省自然科学基金 (2016A030313201)

作者单位: 510630 广州, 中山大学附属第三医院体检中心 (余超, 陈利, 蔺红梅, 姜雨薇, 林妙霞), 神经内科 (汪丽清)

通信作者: 林妙霞, E-mail: 1057665317@qq.com

结局的独立预测因素^[2]。因此,正确评估患者肝脏纤维化风险,并及时干预纤维化进程是 NAFLD 诊治的重要环节。

维生素 D 是一种脂溶性维生素,维生素 D 受体(VDR)存在于人类的多种组织细胞中,广泛参与钙磷调节、炎症反应、脂质代谢等多个病理生理过程^[3]。近年来,多项基础及临床研究证实,维生素 D 缺乏与 NAFLD 发病相关。例如,一些研究者发现 VDR 基因敲除小鼠表现出自发性肝损伤和纤维化,提示维生素 D 代谢在脂肪肝疾病进程中起重要作用^[4]。本研究旨在探索维生素 D 营养状态与 NAFLD 患者肝脏纤维化风险的关系。

对象与方法

一、研究对象

选择 2015 年 5 月至 2016 年 4 月在中山大学附属第三医院进行体检的 NAFLD 成年患者 587 例。脂肪肝超声诊断标准依据中华医学会肝病学分会制定《NAFLD(2010 年修订版)》,即具备以下 3 项超声表现中的 2 项:①肝脏近场回声弥漫性增强,回声强于肾脏;②肝内管道结构显示不清;③肝脏远场回声逐渐衰减。

纳入标准:①广州市常住人口(在广州市居住 5 年以上),年龄大于 20 岁;②无肿瘤、器官功能衰竭等重大疾病病史;③汉族;④未接受任何治疗措施,包括饮食、运动及维生素 D 补充剂治疗。排除标准:①过量饮酒:定义为男性个体酒精消费量 ≥ 140 g/周,女性 ≥ 70 g/周;②确诊其他肝病:病毒性肝炎标志物阳性,诊断自身免疫性肝病等;③ 1 型糖尿病;④恶性肿瘤、各种严重慢性疾病或器官功能衰竭;⑤依从性差,无法配合。

二、信息采集

采用统一的调查问卷,由经过培训的调查员以面对面的方式询问研究对象,并根据其回答如实填写问卷。问卷内容涵盖基本情况、健康状况、生活方式调查,包括年龄、性别、抽血时间、吸烟、饮酒、运动情况、日晒时间、病史、药物史等。体格测量指标由受过培训的测试员测量,包括血压、身高、体质量等。按 $BMI = \text{体质量}(\text{kg}) / \text{身高}(\text{m})^2$ 计算 BMI 值。

三、生物样本检测

研究对象在体检当日清晨空腹抽取肘部静脉血,并分离血清,分装后置于 -80°C 冰箱保存。Hitachi 7180 全自动生化分析仪,西门子 Centaur

XP 全自动化学发光免疫分析仪,检测空腹血糖、GHBA_{ic}、AST、ALT、 γ -谷氨酰转肽酶、白蛋白、球蛋白、直接胆红素、间接胆红素、总胆固醇、甘油三酯、LDL-C、HDL-C 等指标。使用 ELISA 法(25-Hydroxy Vitamin DS EIA, IDS)检测血清 25-羟基维生素 D[25(OH)D]浓度。

四、肝脏纤维化风险评估

采用 NAFLD 纤维化评分(NFS)评估 NAFLD 患者纤维化风险。 $NFS = -1.675 + 0.037 \times \text{年龄} + 0.094 \times \text{BMI}(\text{kg}/\text{m}^2) + 1.13 \times \text{空腹血糖受损}(\text{有} = 1, \text{无} = 0) + 0.99 \times \text{AST/ALT} - 0.013 \times \text{血小板计数}(\times 10^9/\text{L}) - 0.66 \times \text{白蛋白}(\text{g}/\text{dl})$ 。 $NFS \geq -1.455$ 被认为纤维化中-高风险^[5]。

五、统计学处理

采用 SPSS 19.0 进行数据分析。正态分布连续性变量用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。非正态分布连续性变量用中位数(上、下四分位数)表示,组间比较使用 Wilcoxon 秩和检验。分类变量组间比较使用 χ^2 检验。二分类 Logistic 回归模型用于分析 25(OH)D 浓度(四分位)与 NAFLD 患者肝脏纤维化风险的关联程度。年龄、性别、BMI、抽血季节、甘油三酯、HDL-C、糖尿病、HOMA-IR 作为 NAFLD 传统风险因素,用于模型校正^[7]。25(OH)D 浓度(连续性变量)与 NFS 的关联程度用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、低肝脏纤维化风险组与中-高肝脏纤维化风险组 25(OH)D 水平比较

587 例 NAFLD 患者年龄(55.34 ± 8.08)岁,男性占 53.0%(311/587),BMI(26.37 ± 2.36) kg/m^2 。根据 NFS 分为低肝脏纤维化风险组与中-高肝脏纤维化风险组。2 组的年龄、性别、BMI、AST、白蛋白、 γ -谷氨酰转肽酶、空腹血糖比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。中-高肝脏纤维化风险组 25(OH)D 水平低于低肝脏纤维化风险组($Z = -3.263$, $P < 0.001$),见表 1。

二、25(OH)D 四分位组间肝脏纤维化风险的比较

340 例(57.9%)NAFLD 患者存在中-高肝脏纤维化风险。我们依据 25(OH)D 四分位数将研究对象分组。与高浓度组(≥ 33.27 ng/ml)相比,低浓度组(≤ 18.20 ng/ml)NAFLD 患者的肝脏纤

表 1 低肝脏纤维化风险组与中-高肝脏纤维化风险组 25 (OH) D 水平比较

项 目	低肝脏纤维化风险组 (247 例)	中-高肝脏纤维化风险组 (340 例)	Z/t/ χ^2 值	P 值
年龄	51.55 ± 7.12	58.05 ± 7.59	-10.513	<0.001
男性 (%)	57.90	49.70	3.862	0.049
BMI (kg/m ²)	25.82 ± 2.01	26.76 ± 2.51	-4.860	<0.001
抽血季节 (春夏, %)	50.60	54.10	0.479	0.422
收缩压 (mm Hg)	142.96 ± 22.16	144.31 ± 20.87	-1.467	0.292
25 (OH) D (ng/ml)	25.21 (20.06, 34.48)	22.49 (16.68, 31.68)	-3.263	0.001
血小板计数 ($\times 10^9/L$)	224.14 ± 66.89	215.19 ± 56.81	1.312	0.254
AST (U/L)	22.00 (19.00, 26.00)	23.00 (19.00, 28.00)	-0.732	0.464
ALT (U/L)	26.00 (20.00, 35.00)	22.00 (16.00, 31.00)	-4.190	<0.001
白蛋白 (g/L)	46.50 (44.50, 48.60)	45.10 (42.50, 47.30)	-4.336	<0.001
总胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	8.10 (6.30, 10.40)	8.40 (5.90, 10.60)	-0.356	0.722
直接胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	3.00 (2.30, 4.00)	3.10 (2.20, 4.10)	-0.019	0.985
γ -谷氨酰转肽酶 (U/L)	29.00 (21.00, 49.00)	35.00 (27.00, 51.00)	-0.558	0.007
空腹血糖 (mmol/L)	5.20 (4.98, 5.40)	5.89 (5.42, 6.55)	-13.577	<0.001
GHBA _{1c} (%)	5.50 (5.20, 5.70)	5.80 (5.50, 6.10)	-8.824	<0.001
HOMA-IR	1.82 (1.34, 2.53)	2.43 (1.76, 3.38)	-6.597	<0.001
总胆固醇 (mmol/L)	5.33 ± 1.05	5.44 ± 0.95	-1.277	0.202
甘油三酯 (mmol/L)	1.34 (0.96, 1.91)	1.40 (1.03, 2.12)	-1.616	0.106
HDL-C (mmol/L)	1.29 ± 0.31	1.30 ± 0.31	-0.345	0.730
LDL-C (mmol/L)	3.32 ± 0.90	3.31 ± 0.84	0.222	0.824

维化风险增加 1.62 倍 ($OR = 2.62$, $P < 0.001$)。在调整 NAFLD 的传统风险因素后, 这种风险差异仍有统计学意义 ($P = 0.002$), 见表 2。相关分

析也证实 NAFLD 患者 25 (OH) D 水平 (作为连续性变量) 与 NFS 存在关联 ($P = 0.039$), 见图 1。

表 2 血清 25 (OH) D 水平与 NAFLD 纤维化风险的 Logistic 回归分析

25 (OH) D (ng/ml)	例数	中-高纤维化风险	年龄-性别校正模型		完全校正模型	
			OR (95%CI)	P 值	OR (95%CI)	P 值
≤ 18.20	147	107	2.62 (1.53~4.49)	<0.001	2.46 (1.39~4.34)	0.002
18.21~24.18	147	77	1.11 (0.66~1.80)	0.74	1.09 (0.65~1.89)	0.708
24.19~33.26	146	79	1.26 (0.76~2.08)	0.372	1.32 (0.77~2.26)	0.318
≥ 33.27	147	77	1		1	
总体 P 值				0.002		0.011

讨 论

经典的脂肪肝发病机制——“二次打击”学说认为脂肪肝的发病原因是胰岛素抵抗和免疫打击共同作用的结果, 胰岛素抵抗导致多余的脂肪在肝脏细胞聚集, 脆弱的脂肪变性细胞在受到“第

二次打击”(氧化应激以及脂质过氧化反应、促炎因子释放、线粒体功能障碍) 后发生肝脏炎症损伤甚至纤维化改变。一方面, 维生素 D 可作用于胰岛素主要的靶器官肝脏、骨骼肌等, 改善胰岛素抵抗, 减轻“一次打击”; 另一方面维生素 D 又可通过作用于淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞的

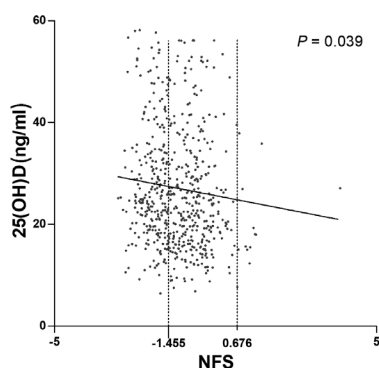


图 1 血清 25 (OH) D 水平与 NAFLD 患者 NFS 的相关性

VDR 而减轻肝脏炎症损伤, 缓解“二次打击”。因此, 这一传统的“骨骼营养素”全面参与肝脏细胞的脂肪变性、炎症损伤乃至纤维化的整个病理生理过程。随着认识的深入, 越来越多的实验研究证实了这一理论^[7-8]。

与此同时, 越来越多的流行病学研究证实维生素 D 缺乏与 NAFLD 之间的相关性。Barchetta 等^[9]发现低血清维生素 D 水平是 NAFLD 的独立危险因素。另一项荟萃分析也发现 NAFLD 患者的维生素 D 缺乏发生风险是对照组的 1.26 倍^[10]。肝纤维化和肝硬化是 NAFLD 患者肝病不良结局的独立预测因素。临床上肝脏纤维化及肝硬化的评价有赖于肝脏组织病理诊断。然而, 这一诊断方法需要患者接受侵入性操作, 存在出血、感染等风险。因此, 对于这些在健康体检中发现的“脂肪肝”患者而言, 肝穿并不合适也难以接受。NFS 是近年来出现的新型无创性诊断方法, 通过分析数个临床常见指标, 评价个体的纤维化风险。NFS 具有很高的敏感性和特异性, 被多个指南推荐作为 NAFLD 纤维化风险的筛查^[6]。

本研究显示, 维生素 D 缺乏与 NAFLD 患者的中 - 高纤维化风险相关。Manco 等^[11]发现, 肝脏纤维化的 NAFLD 儿童的 25 (OH) D 水平明显低于无纤维化的患儿, 而低 25 (OH) D 水平也与肝脏组织纤维化及炎症坏死程度相关。Dasarathy 等^[12]通过分析 148 例病理诊断的成人 NAFLD 患者的 25 (OH) D 水平, 也得到了相似的结论。这些研究和我们的结果一起, 证实低维生素 D 水平可增加 NAFLD 患者的肝脏纤维化风险, 提示维生素 D 对于脂肪变性的肝脏细胞存在保护作用。

一些小型随机、对照试验提示维生素 D 对于 NAFLD 存在潜在的治疗作用。一项 12 周干预试验发现, 给予骨化三醇联合钙剂补充可改善 NAFLD

的血脂及炎症标志物指标^[13]。另一项维生素 D 联合二十二碳六烯酸的试验也发现, 维生素 D 补充有助于改善患儿的胰岛素抵抗, 并降低肝脏星状细胞活性与胶原纤维水平^[14]。由此推断, 维生素 D 补充很可能成为 NAFLD 的重要治疗手段。但值得注意的是, 目前关于维生素 D 干预的大型临床试验尚未揭盲, NAFLD 患者是否能够从维生素 D 的补充中获益还需要等待更高级别的循证医学证据证实。

参 考 文 献

- [1] Wang FS, Fan JG, Zhang Z, Gao B, Wang HY. The global burden of liver disease: the major impact of China. *Hepatology*, 2014, 60 (6): 2099-2108.
- [2] Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *JAMA*, 2015, 313 (22): 2263-2273.
- [3] Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 2007, 357 (3): 266-281.
- [4] Ding N, Yu RT, Subramaniam N, Sherman MH, Wilson C, Rao R, Leblanc M, Coulter S, He M, Scott C, Lau SL, Atkins AR, Barish GD, Gunton JE, Liddle C, Downes M, Evans RM. A vitamin D receptor/SMAD genomic circuit gates hepatic fibrotic response. *Cell*, 2013, 153 (3): 601-613.
- [5] Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC, Enders F, Saksena S, Burt AD, Bida JP, Lindor K, Sanderson SO, Lenzi M, Adams LA, Kench J, Therneau TM, Day CP. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*, 2007, 45 (4): 846-854.
- [6] Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, Harrison SA, Brunt EM, Sanyal AJ. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: practice guidance from the American association for the study of liver diseases. *Hepatology*, 2018, 67 (1): 328-357.
- [7] Roth CL, Elfers CT, Figlewicz DP, Melhorn SJ, Morton GJ, Hoofnagle A, Yeh MM, Nelson JE, Kowdley KV. Vitamin D deficiency in obese rats exacerbates nonalcoholic fatty liver disease and increases hepatic resistin and Toll-like receptor activation. *Hepatology*, 2012, 55 (4): 1103-1111.
- [8] Abramovitch S, Dahan-Bachar L, Sharvit E, Weisman Y, Ben Tov A, Brazowski E, Reif S. Vitamin D inhibits proliferation and profibrotic marker expression in hepatic stellate cells and decreases thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *Gut*, 2011, 60 (12): 1728-1737.
- [9] Barchetta I, Angelico F, Del Ben M, Baroni MG, Pozzilli P, Morini S, Cavallo MG. Strong association between non alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and low 25 (OH) vitamin D levels in an adult population with normal serum liver enzymes. *BMC Med*, 2011, 9: 85.
- [10] Black LJ, Jacoby P, She Ping-Delfos WC, Mori TA, Beilin LJ, Olynyk JK, Ayonrinde OT, Huang RC, Holt PG, Hart

- PH, Oddy WH, Adams LA. Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations associate with non-alcoholic fatty liver disease in adolescents independent of adiposity. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29 (6) : 1215-1222.
- [11] Manco M, Ciampalini P, Nobili V. Low levels of 25-hydroxyvitamin D (3) in children with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 2010, 51 (6) : 2229- 2230.
- [12] Dasarathy J, Periyalwar P, Allampati S, Bhinder V, Hawkins C, Brandt P, Khiyami A, McCullough AJ, Dasarathy S. Hypovitaminosis D is associated with increased whole body fat mass and greater severity of non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*, 2014, 34 (6) : e118-e127.
- [13] Lorvand Amiri H, Agah S, Tolouei Azar J, Hosseini S, Shidfar F, Mousavi SN. Effect of daily calcitriol supplementation with and without calcium on disease regression in non-alcoholic fatty liver patients following an energy-restricted diet: randomized, controlled, double-blind trial. *Clin Nutr*, 2017, 36 (6) : 1490-1497.
- [14] Della Corte C, Carpino G, De Vito R, De Stefanis C, Alisi A, Cianfarani S, Overi D, Mosca A, Stronati L, Cucchiara S, Raponi M, Gaudio E, Byrne CD, Nobili V. Docosahexanoic acid plus vitamin d treatment improves features of NAFLD in children with serum vitamin D deficiency: results from a single centre trial. *PLoS One*, 2016, 11 (12) : e0168216.
- (收稿日期: 2018-08-10)
(本文编辑: 杨江瑜)

