

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Christina de Brito

Vitamin D a jeho funkce
Vitamin D and its functions

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Pavel Kočovský

Praha, 2023

Poděkování:

Ráda bych poděkovala Pavlu Kočovskému za vstřícnost a poskytnutou pomoc při studiu a psaní bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, a především svému příteli, který byl pro mě během studia velkou psychickou podporou.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 3.5.2023

Christina de Brito

Podpis:

Abstrakt

Vitamin D je známý pro svoji úlohu během regulace metabolismu minerálních látek v těle. Jeho nedostatek je spojen především s onemocněními křivice a osteomalacie, vyznačujícími se defekty růstu a vývoje kostí. Hranice působení tohoto hormonu však zasahují mnohem dále. Dokáže ovlivňovat diferenciaci buněk imunitního systému a tím regulovat imunitní odpověď a proliferaci buněk. Po objevení jeho imunoregulačních funkcí se stal horkým kandidátem na léčbu autoimunitních onemocnění, jako jsou roztroušená skleróza, systémový lupus erythematosus nebo cukrovka. Dokonce byl objeven jeho supresivní efekt na rakovinné buňky. Nedostatek vitamínu D je rizikovým faktorem projevu encefalomyelitidy, schizofrenie, autismu a kardiovaskulárních chorob. V současnosti se vyvíjejí analogy vitamínu D, které jsou stejně efektivní a neovlivňují přitom metabolismus vápníku, čímž se odbourává toxický efekt vysokých dávek vitamínu D.

Klíčová slova: vitamin D₃, 25-hydroxyvitamin D₃, 25(OH)D₃, cholecalciferol, 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃, 1,25(OH)₂D₃, kalcitriol, imunita, imunoregulační funkce, deficiencie vitamínu D, autoimunitní onemocnění

Abstract

Vitamin D is known for its role in the regulation of the metabolism of minerals in the body. Its deficiency is mainly associated with rickets and osteomalacia, characterized by defects in bone growth and development. However, the limits of this hormone's action extend much further. It can influence the differentiation of immune cells, thereby regulating the immune response and cell proliferation. After the discovery of its immunoregulatory functions, vitamin D became a hot candidate for the treatment of autoimmune diseases, such as multiple sclerosis, systemic lupus erythematosus, or diabetes mellitus. Furthermore, vitamin D was found to exhibit a suppressive effect on cancer cells. Vitamin D deficiency is a risk factor associated with the development of encephalomyelitis, schizophrenia, autism, and cardiovascular diseases. Currently, vitamin D analogs are being developed that are just as effective but do not affect calcium metabolism, thus eliminating the toxic effect of high doses of vitamin D.

Key words: vitamin D₃, 25-hydroxyvitamin D₃, 25(OH)D₃, cholecalciferol, 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃, 1,25(OH)₂D₃, calcitriol, immunity, immunoregulatory function, vitamin D deficiency, autoimmune disease

Seznam zkratek

ADHD	porucha pozornosti s hyperaktivitou (attention deficit hyperactivity disorder)
AFM	α -albumin/afamin
AFP	α -fetoprotein
ALB	albumin
AML	akutní myeloidní leukémie
APC	antigen prezentující buňka (antigen-presenting cell)
ASD	poruchy autistického spektra (autism spectrum disorder)
BMI	index tělesné hmotnosti (body mass index)
C/EBP β	transkripční faktor CAAT-enhancer binding protein β
CASP-1	kaspáza-1 (caspase-1)
CCR6	C-C chemokinový receptor 6 (C-C chemokine receptor type 6)
CD14, CD40, CD58, CD80, CD83, CD86	(ko)receptory
CD154 (CTLA-4)	receptor CD154, antigen asociovaný s cytotoxickými T-lymfocyty 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4)
CD4+	T-lymfocyty produkující receptor CD4
CRIg	komplementový receptor imunoglobulinové rodiny (complement receptor of the immunoglobulin superfamily)
CYP	cytochrome P450 hydroxyláza
DBP (Gc protein)	protein vázající vitamin D (vitamin D binding protein, group-specific component protein)
DBP-MAF	protein vázající vitamin D-faktor aktivující makrofágy (vitamin D binding protein-macrophage activating factor)
DC	dendritická buňka (dendritic cell)
DMF	dimethyl fumarat
Fc receptory	receptory krystalizujícího fragmentu (fragment crystallizable receptor)
Foxp3	transkripční faktor forkhead box P3
G-aktin	globulární aktin (globular actin)
GDM	těhotenská cukrovka (gestational diabetes mellitus)
GM-CSF	růstový faktor stimulující kolonie makrofágů (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)
HAC	histon acetyláza

HDAC	histon deacetyláza
HF	1,25-dihydroxyprevitamin D ₃
hKSR-2	lidský Ras-2 kinázový supresor (human kinase suppressor of Ras-2)
HL-60	linie lidských leukemických buněk 60 (human leukemia cell line 60)
HPK1 (MAP4K1)	kináza hematopoetických progenitorů 1 (hematopoietic progenitor kinase 1)
HRH1	receptor pro histamin H1
IBD	idiopatické střevní záněty (inflammatory bowel diseases)
IgE	imunoglobulin E
IL	interleukin
INF-I	interferon typu I
INF- γ	interferon γ
IPEX	X-vázaný syndrom imunitní dysregulace, polyendokrinopatie a enteropatie (immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked)
KSR-1	Ras-1 kinázový supresor (kinase suppressor of Ras-1)
MAPK	proteinkináza aktivovaná mitogenem (mitogen-activated protein kinase)
MHCI	hlavní histokompatibilní komplex I (major histocompatibility complex I)
MHCII	hlavní histokompatibilní komplex II (major histocompatibility complex II)
MKP-1	Fosfatáza-1 proteinkináz aktivovaných mitogenem (mitogen-activated protein kinase phosphatase-1)
MS	roztroušená skleróza (multiple sclerosis)
NFAT	jaderný faktor aktivovaných T buněk (nuclear factor for activated T cells)
NLRP3	NOD-like receptor protein 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3)
NR	jaderný receptor (nuclear receptor)
p38 MAPK	p38 proteinkináza aktivovaná mitogenem (p38 mitogen-activated protein kinase)
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza (phosphatidylinositol 3-kinase)
PRI-5201, PRI-5202	analogy vitaminu D ₂
PTH	parathyroidní hormon
RAR	receptor retinové kyseliny (retinoic acid receptor)
RXR	retinoidový X receptor (retinoid X receptor)
SE	super-enhancery
SLE	systémový lupus erythematosus (systemic lupus erythematosus)
SNPs	jednonukleotidové polymorfismy (single nucleotide polymorphisms)
T1DM	cukrovka 1. typu (type 1 diabetes mellitus)
TF	transkripční faktor

TGF- β 1	transformující růstový faktor β typu 1 (transforming growth factor β type 1)
Th1, Th2, Th17	pomocné T-lymfocy (T-helper)
TLR	receptor podobný genu Toll (toll-like receptor)
TNF- α	faktor nekrotizující nádory α (tumor necrosis factor α)
Treg	regulační T-lymfocyt
UVB	ultrafialové záření B (ultraviolet radiation B)
VDR	receptor vitaminu D (vitamin D receptor)
VDRE	vitamin D-responsivní elementy (vitamin D responsive elements)
VSE	super-enhacery receptoru vitaminu D

Obsah

Úvod.....	1
1. Biosyntéza a metabolismus vitamínu D	2
1.1 Vitamin D ₃	2
1.2 Vitamin D ₂	4
2. Protein vázající vitamin D.....	5
3. Receptor pro vitamin D	6
4. Negenomová signalizace vitamínem D	7
5. Imunomodulační funkce vitamínu D.....	8
5.1 Regulace dendritických buněk	8
5.2 Regulace T-lymfocytů.....	9
5.3 Regulace B-lymfocytů.....	10
5.4 Regulace monocytů a makrofágů.....	11
5.4.1 Diferenciace myeloidních leukemických buněk.....	12
6. Deficience vitamínu D.....	14
Závěr.....	15
Použitá literatura.....	17

Úvod

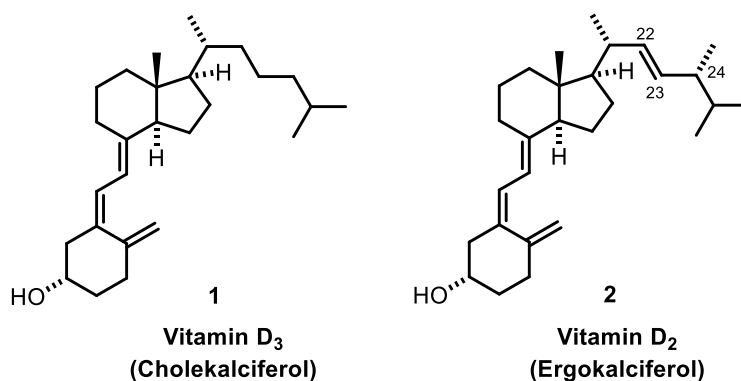
Vitamin D je známý především svojí rolí podílející se na absorpci vápenatých iontů v tenkém střevě. Zprostředkovaně je tak zodpovědný za správný vývoj a formování kostí. Ve skutečnosti se ale nejedná o vitamin v pravém slova smyslu, neboť si ho naše tělo dokáže vytvářet samo, tudíž nesplňuje definici vitamínu. Díky své struktuře je považován za steroidní hormon.¹ Z historických důvodů však přetrvává již zažitý termín vitamin.² Nedostatek vitamínu D může způsobovat onemocnění zvané osteomalacie a v dětském věku křivice.³ Již ve studii zkoumající poločas rozpadu vitamínu D v krvi bylo zjištěno, že některé metabolity vitamínu D vykazují „protikřivicovou“ aktivitu.^{4,5} U pacientů podezřelých na osteomalacii, kterým byl podáván vápník a vitamin D, symptomy a biochemické abnormality postupně vymizely.⁶ V současnosti je studován především pro svůj imunomodulační účinek.

V této bakalářské práci se zaměřím na novější výzkumy, které odhalují další, dříve neznámé, role vitamínu D, zejména v regulaci imunitních buněk a imunitní odpovědi. S tím souvisí i jeho možné využití v léčbě imunitních onemocnění a leukémie.

1. Biosyntéza a metabolismus vitamínu D

Jak bylo zmíněno v úvodu, označení „vitamin“ je nepřesné, jelikož si ho tělo za přítomnosti slunečního záření syntetizuje samo, tudíž se nejedná o vitamin jako takový.¹ Biosyntéza indukovaná slunečním zářením však není jediný způsob, jak získávat vitamin D. Vitamin D může být získáván z potravy nebo konzumací suplementů. Hlavním zdrojem jsou ryby a rybí produkty. Dále jsou to tuky, vejce, pekařské výrobky, mléko, mléčné výrobky a vnitřnosti.⁷ Ve studii z roku 2013 bylo potvrzeno, že pravidelná konzumace ryb, rybích produktů a mléka významně zvyšuje koncentraci vitamínu D v krvi.⁸ Je však nutné zmínit, že vztah mezi výše zmíněnou stravou a koncentrací vitamínu D v krvi ovlivňují další faktory, jako jsou věk, BMI a roční období.⁹

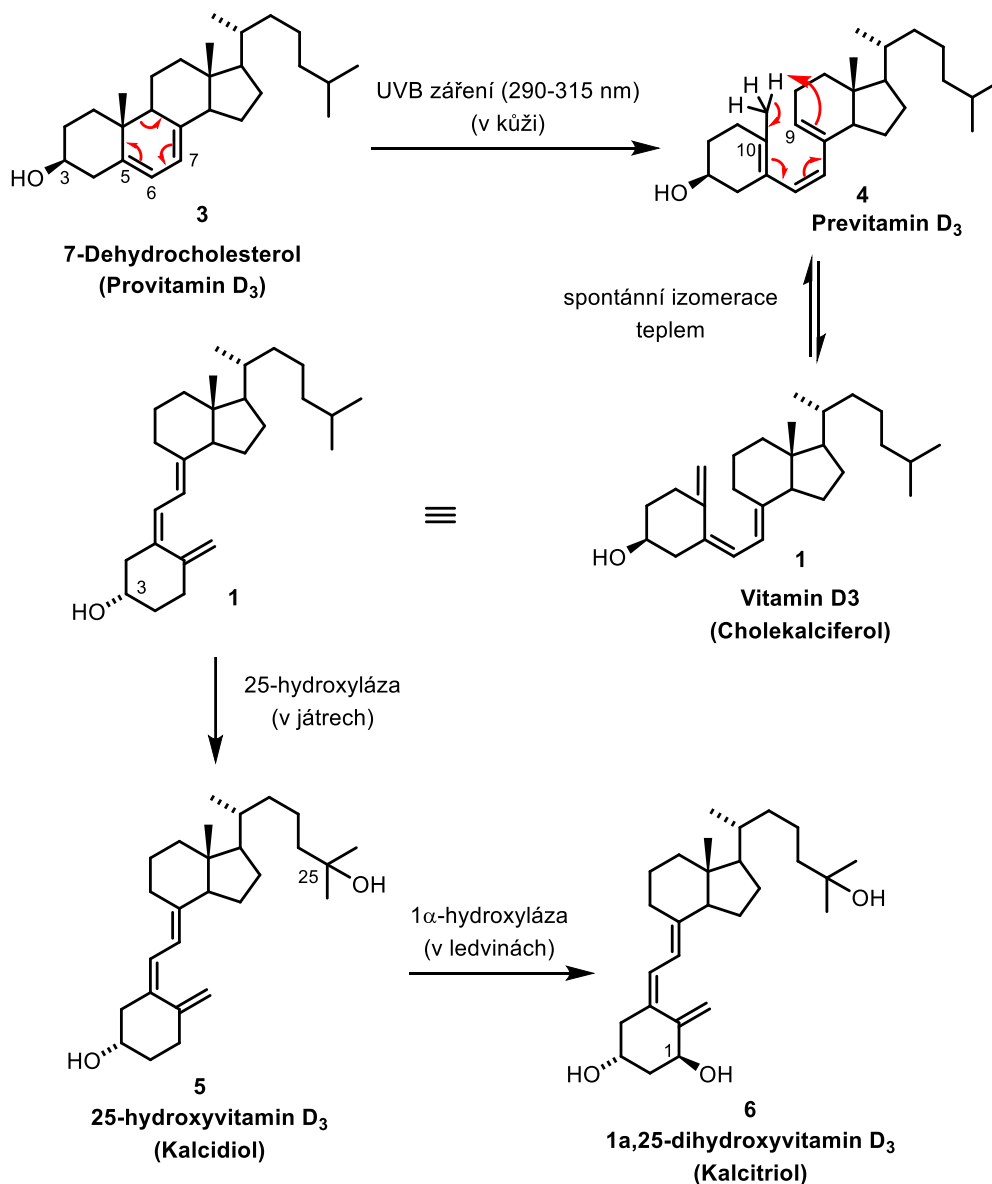
Existují dvě formy vitamínu D, vitamin D₃ (**1**), neboli cholekalciferol, a vitamin D₂ (**2**), neboli ergokalciferol. Ergokalciferol se na rozdíl od vitamínu D₃ nachází v rostlinách a houbách.¹⁰ Spolu s jeho izolací v roce 1930 byl sledován i jeho léčivý účinek proti křivici.⁵ Molekula vitamínu D₂ se od molekuly vitamínu D₃ odlišuje methylovou skupinou navíc a dvojnou vazbou na postranním řetězci.¹¹



Obrázek č. 1 - Molekula vitamínu D₃ a D₂

1.1 Vitamin D₃

Místem vzniku vitamínu D₃ je kůže. V epidermálních a dermálních buňkách dochází během fotolytické reakce způsobené ultrafialovým zářením B (UVB, záření o vlnové délce 290-315 nm) ke štěpení na B kruhu 7-dehydrocholesterolu (**3**) za vzniku termo-nestabilního 9,10-secosteroidu, previtamínu D₃ (**4**), který je poté spontánně izomerací přeměněn na vitamin D₃, cholekalciferol (**1**).^{1,12,13}



Obrázek č. 2 - Biosyntéza vitamínu D₃

Tato biologicky neaktivní forma vitamínu D (cholecalciferol) (1) je transportována krevním řečištěm do jater¹³⁻¹⁵, kde dochází k enzymatické přeměně na 25-hydroxyvitamin D₃ (25(OH)D₃, kalcidiol) (5).¹⁶ Dosud není jasné, která konkrétní 25-hydroxyláza je za to zodpovědná.¹⁷⁻²⁰ Hlavním kandidátem je podle studií mikrosomální cytochrom P450 2R1 (CYP2R1).²¹⁻²⁴ Nutno podotknout, že 25-hydroxylázová aktivita byla také zjištěna i u těchto hydroxyláz: CYP27A1¹⁹, CYP2J2/3^{25,26}, CYP3A4²⁷, CYP2D25¹⁸ a CYP2C11.²⁸ Přesto, že již bylo identifikováno několik těchto enzymů, které by mohly být zodpovědné za aktivaci vitamínu D, který konkrétní z nich je opravdu zodpovědný za hydroxylaci in vivo není jasné.

25(OH)D₃ (5) je hlavní metabolit vitamínu D nacházející se v krvi⁴, s čímž souvisí jeho stabilita v souvislosti s vazbou na protein vázající vitamin D (DBP, z angl. vitamin D binding protein).²⁹ Cooke a Haddad³⁰ uvádějí stupnici afinity k DBP takto: 25(OH)D₃ = 24,25(OH)₂D₃ = 25,26(OH)₂D₃ >

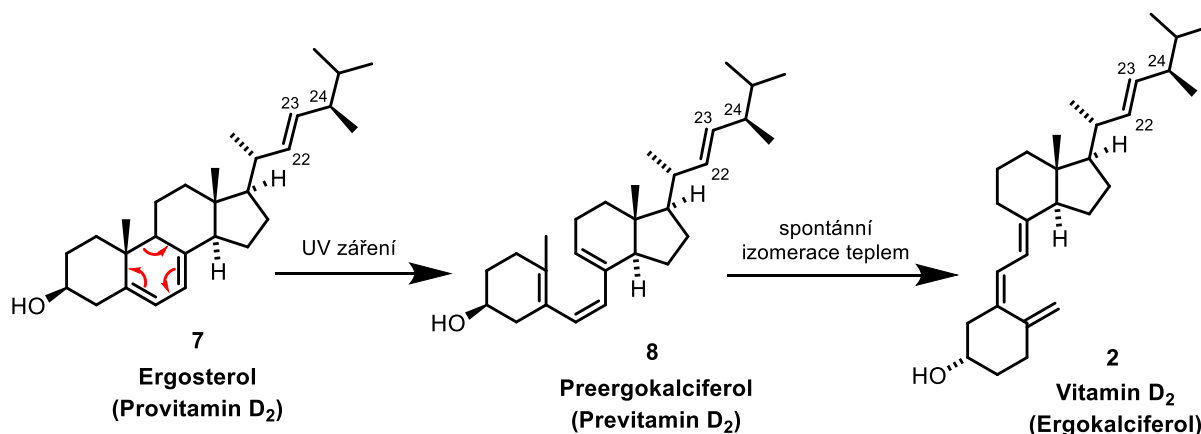
$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ > cholekalciferol. S tím může souviset i to, že v játrech, kde vzniká $25(\text{OH})\text{D}_3$, probíhá relativně vysoká transkripce DBP, potvrzená studií jeho aktivačních a inhibičních transkripčních faktorů.^{31,32} Díky této stabilitě slouží koncentrace $25(\text{OH})\text{D}_3$ v krvi jako nejspolehlivější údaj pro změření hladiny vitamínu D v těle.³³ Druhým krokem aktivace vitamínu D je další hydroxylace, ke které dochází především v ledvinách³⁴, kde je $25(\text{OH})\text{D}_3$ za pomoci enzymu 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylasy (1 α -(OH)asa, CYP27B1) přeměněn na aktivní hormon 1 $\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, kalcitriol) (**6**).^{12,35} Produkce této hydroxylázy je stimulována parathyroidním hormonem (PTH), jenž je vedle vitamínu D dalším ze tří hlavních hormonů (dále ještě kalcitonin) podílejícím se na regulaci hladiny vápníku v krvi.^{36–38} Jsou-li z důvodu hypovitaminózy D hladiny vápenatých iontů v krvi nízké, dochází k produkci PTH, který posléze stimuluje vznik CYP27B1, jenž se podílí na produkci $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Vzniklý $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ poté může indukovat absorpci vápenatých iontů ze střeva do krve.³⁹ Díky stimulačnímu účinku PTH na CYP27B1 se koncentrace $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ v krvi jeví normální, přesto, že jsou koncentrace $25(\text{OH})\text{D}_3$ nízké.⁴⁰ To je také dalším důvodem, proč se pro stanovení hladiny tohoto hormonu využívá měření $25(\text{OH})\text{D}_3$.

Aktivovaný vitamin D₃ se váže na svůj receptor (vitamin D receptor, VDR), který je zároveň transkripčním faktorem a může tak rozpoznávat konkrétní sekvence v daných genech.⁴¹ Jak $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ tak i $25(\text{OH})\text{D}_3$ se mohou vázat na VDR, nicméně $25(\text{OH})\text{D}_3$ má k němu mnohem nižší afinitu.⁴² Ve studiích zkoumajících vliv vitamínu D na buněčnou regulaci není efekt $25(\text{OH})_2\text{D}_3$, na rozdíl od $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, téměř pozorovatelný.^{43–47}

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ může v ledvinách podléhat další hydroxylaci a vzniká tak $1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$. Za tuto přeměnu je zodpovědná hydroxyláza CYP24A1, účastní se několika-krokové reakce, v rámci které může být vitamin D₃ přeměněn na kalcitriovou kyselinu a tím je deaktivován.^{48–52} Bylo dokázáno, že pokud jsou inaktivovány geny pro CYP24A1, dochází ke snížené degradaci $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, a vysoké hladiny této aktivní formy vitamínu D poté způsobují hyperkalcemii.^{53,54} Produkce CYP24A1 je indukována samotným vitaminem D, a ten je tak sám sobě vlastním negativním regulátorem.⁵⁵

1.2 Vitamin D₂

Biosyntéza vitamínu D₂ je analogická k biosyntéze vitamínu D₃. Z ergosterolu (**7**), prekurzoru vitamínu D₂, vzniká vlivem UV záření sekosteroid, previtamin D₂ (**8**), který následně podléhá izomeraci za vzniku vitamínu D₂, neboli ergokalciferolu (**2**).¹¹



Obrázek č. 3 - Biosyntéza vitamínu D₂

Vitamin D₂ je využíván především jako suplement a je často obsažen v různých multivitaminech a doplňcích stravy. Již dlouho je předmětem výzkumů, zda je vitamin D₂ stejně efektivní jako vitamin D₃. Vitamin D₂ má také pozitivní efekt na zvýšení hladiny 25(OH)D₂.^{56-61 60,62,63} Některé studie dokonce naznačují, že v udržení hladiny vitamínu D jsou obě tyto formy hormonu stejně efektivní.⁶⁴⁻⁶⁶ Jiné studie naproti tomu uvádějí, že je vitamin D₃ efektivnější^{58,60,61}, a aby se dosáhlo stejného efektu s vitaminem D₂, musí být podán ve vyšší dávce. Rozdílná efektivita vitamínu D₃ a D₂ pravděpodobně vychází z rozdílného metabolismu. 1,25(OH)₂D₂, na rozdíl od 1,25(OH)₂D₃, nepotřebuje několika-krokovou cestu k jeho deaktivaci a vzniklý 1,24,25(OH)₃D₂ je sám o sobě neaktivní.⁶⁷ Jeho nižší stabilita vyplývající z nižší afinity k DBP a VDR tomu také může přispívat.^{42,68-70}

2. Protein vázající vitamin D

DBP, neboli také Gc (z angl. group-specific component) protein^{29,71}, je 55kDa velký protein, k jehož produkci dochází v játrech.⁷² Je složen ze tří domén, kdy jedna z nich obsahuje vazebné místo pro vitamin D. Kromě stabilizace, přenosu a uskladnění vitamínu D má DBP i jiné, níže zmíněné, funkce.^{29,73}

Spolu s albuminem (ALB), α -fetoproteinem (AFP) a α -albuminem/afaminem (AFM) spadá do tzv. albuminové genové rodiny,⁷⁴ jejíž geny se nacházejí na lidském chromozomu 4 v regionu q11-13.⁷⁴⁻⁷⁶ DBP je stejně jako albumin⁷⁷ schopen vázat mastné kyseliny a bylo zjištěno, že polynenasycené mastné kyseliny výrazně snižují afinitu vitamínu D k DBP.^{78,79} V současnosti byla naznačena i asociace DBP s lipidy.^{80,81}

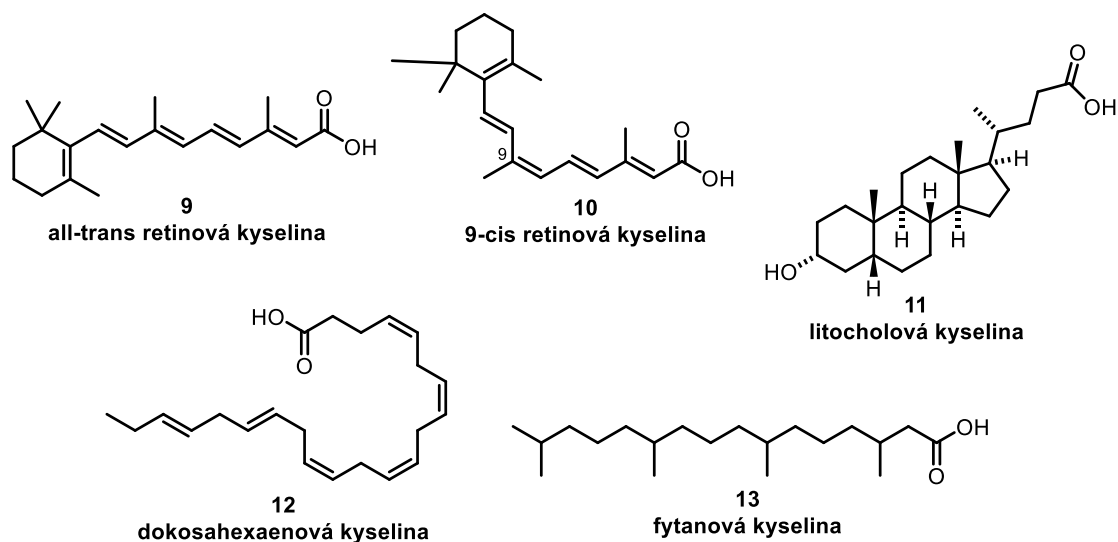
Na proteinu se kromě vazebného místa pro vitamin D nachází i glykosylační místo, které hraje důležitou roli během imunitní odpovědi. Selektivní glykosylaci DBP se z něj totiž stává signální faktor aktivující makrofágy, DBP-MAF (z angl. Vitamin D binding protein-macrophage activating factor).⁸²⁻⁸⁴ DBP může také vázat monomerní G-aktin,⁸⁵ a díky tomu se stává jedním z regulátorů rozpadu aktinových vláken⁸⁶⁻⁸⁸ To je významné během zachycení extracelulárního aktinu, který je uvolňován

z buněk při jejich rozpadu. Pokud by k jeho odstranění z extracelulárního prostředí nedošlo, mohlo by dojít až k orgánové dysfunkci. U pacientů, kteří byli hospitalizováni s vážnými úrazy, byly sledovány snížené hladiny DBP v krvi, což naznačuje vysokou spotřebu DBP v důsledku rozpadu buněk a vylití aktinu do extracelulárního prostředí.^{89,90} DBP spolu s navázaným aktinem dále funguje jako chemotaktický kofaktor, kdy reguluje chemotaxi neutrofilů do místa poranění nebo zánětu.⁹¹ Zajímavé je, že geny pro některé chemokiny, jenž také regulují migraci buněk, se nacházejí v relativní blízkosti genu pro DBP.^{92–94} DBP se v komplexu s vitamínem D může také vázat na endocytický megalin-cubilin receptor, který tak zaručuje reabsorpci 25(OH)D₃ v ledvinách. Díky tomu nedochází ke ztrátám tohoto významného hormonu. Potvrzuje to i studie, kdy absence megalin-cubilin receptoru vedla k hypovitaminóze D a ke špatnému vývoji kostí.⁹⁵

3. Receptor pro vitamin D

Aby se mohl vitamin D podílet na regulaci konkrétních buněk a účinkovat tak na organismus, musí se navázat na receptor pro vitamin D (VDR, z anglického vitamin D receptor). Po vazbě s vitamínem D je tento receptor přesunut do jádra buňky.^{96,97} Je důležité zmínit, že VDR může být přesunut do jádra i bez svého ligandu, nicméně vazba vitamínu D₃ jaderný import zesiluje.⁹⁸ Vazba vitamínu D₃ má na VDR také stabilizační účinek.^{99–101}

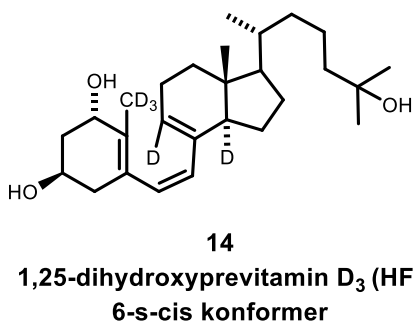
Díky VDR může vitamin D rozpoznávat a ovlivňovat konkrétní místa v genomu, tzv. vitamin D-respovivní elementy (VDRE, z anglického vitamin D-responsive elements).⁴¹ VDR může fungovat jako homodimer, nebo může asociovat s jinými jadernými receptory (NR, z angl. nuclear receptors) a vzniká tak heterodimer. Těmito NR jsou nejčastěji retinoidové receptory, což jsou receptory retinové kyseliny (RARs, z angl. retinoic acid receptors) a retinoidové X receptory (RXRs, z angl. retinoid X receptors).¹⁰² RARs jsou známé tím, že vážou all-trans retinovou kyselinu (**9**) a 9-cis retinovou kyselinu (**10**).¹⁰³ Na RXRs se může vázat mnohem více ligandů, z přírodních látek to jsou např. 9-cis retinová kyselina (**10**), lithocholová kyselina (**11**), dokosahexaenová kyselina (**12**) a fytanová kyselina (**13**).^{103–107} Retinové kyseliny mají velmi podobný účinek jako vitamin D, a dokonce byla nalezena jejich synergní aktivita.^{108–111} Nicméně vztah vzájemného působení těchto dvou molekul je komplexnější a zasluhuje hlubší zkoumání.^{112–114}



Obrázek č. 4 – molekuly vážící se na RARs a RXRs

4. Negenomová signalizace vitaminem D

Zdá se, že krom signalizace přes VDR v jádře může vitamin D iniciovat signál již na buněčné membráně. Bylo zjištěno, že vitamin D reguluje expresi některých genů přímo na úrovni transkripce, přesto, že nebyla detekována interakce s VDR.¹¹⁵ Výzkum účinku negenomového analogu vitaminu D₃, 1,25-dihydroxyprevitaminu D₃ (HF) (**14**), dokázal, že signalizace může být nezávislá na VDR/VDRE. Přesto, že tomuto 6-cis konformeru chybí schopnost vázat se na VDR, je schopen indukovat signalizaci, která vede k diferenciaci buněk.^{116,117} Jiná studie uvádí, že vitaminem D₃ indukovaná produkce proteinů regulujících diferenciaci myeloidních buněk vyžaduje jak fosfatidylinositol-3-kinázu (PI3K), tak VDR. V buňkách se vytváří signální komplex PI3K a VDR, ve kterém slouží VDR jako předpoklad pro aktivaci PI3K. Mohlo by se tedy také jednat o negenomovou signalizaci vitaminem D.¹¹⁸



Obrázek č. 5 – molekula negenomového analogu vitaminu D₃, 1,25-dihydroxyprevitamin D₃ (HF)

5. Imunomodulační funkce vitamínu D

Vitamin D je schopen regulovat imunitní systém, kdy přímo ovlivňuje expresi genů v imunitních buňkách.¹¹⁹ To potvrzuje i lokalizace VDRE oblastí v genomu buněk imunitního systému^{120–123} a efekt zvýšené produkce VDR v aktivovaných lymfocytech.^{124–126}

Účinek vitamínu D má za následek tlumení zánětlivé imunitní odpovědi. Bylo prokázáno, že vitamin D₃ zabraňuje aktivaci inflamazómu, multiproteinového komplexu, který se této odpovědi účastní. K inhibici dochází skrze degradaci aktivačního proteinu inflamazómu, NLRP3 (z angl. NOD-like receptor protein 3). To vše vede k inhibici aktivace kaspázou-1 (CASP-1, z angl. caspase-1) a inhibici zánětlivých cytokinů interleukinu (IL)-1 β a IL-18.¹²⁷ Vitamin D také inhibuje produkci zánětlivého IL-6 a IL-2, cytokinu zodpovědného za proliferaci lymfocytů.^{45,47,128,129} Naopak je stimulována produkce IL-1, IL-3.⁴⁷ Je prokázáno, že regulace cytokinů probíhá na post-transkripční úrovni.⁴³

5.1 Regulace dendritických buněk

Dendritické buňky (DCs, v anglického dendritic cells) se po zachycení antigenu stávají antigen prezentujícími buňkami (APCs, z anglického antigen presenting cells), které na základě chemotaxe putují do lymfoidních orgánů, kde prezentují tyto antigeny lymfocytům. Takto aktivované lymfocyty poté spouští imunitní odpověď.¹³⁰ Bylo potvrzeno, že vitamin dokáže u DCs způsobit neschopnost správně migrovat v rámci odpovědi na chemokiny produkované během zánětlivé odpovědi a na chemokiny normálně přítomné v lymfatické uzlině.^{131,132}

Uvádí se, že 1,25(OH)₂D₃ výrazně ovlivňuje diferenciaci DCs. Důkazem regulace je přidání 1,25(OH)₂D₃ k čerstvě izolovaným monocytům, kdy dochází ke zvýšené produkci jejich typických markerů, jenž se na DCs normálně nevyskytují. Naopak v již zrajících monocytech je po vystavení vitamínu D₃ detekována zvýšená exprese molekul, jenž slouží k zachycení antigenu. Pokud je 1,25(OH)₂D₃ přidán k diferencovaným DCs, začnou prokazovat známky nezralého fenotypu^{132,133} a v některých případech dochází i k jejich apoptóze.¹³⁴ Je tedy zřejmá zpětná regulace, která se odvíjí od toho v jaké fázi vývoje se buňka nachází. DCs jsou schopny si sami syntetizovat 1,25(OH)₂D₃ z 25(OH)D₃¹³⁵ a během samotného procesu diferenciaci dochází k aktivní syntéze tohoto hormonu,¹³⁵ což potvrzuje posilující efekt vitamínu D na maturaci DCs.¹³⁶ Maturované DCs jsou poté negativně zpětně regulovány samotným vitaminem D. U *VDR*⁻ myši je pozorován vysoký obsah zralých DCs v lymfatických uzlinách, což nasvědčuje tomu, že komplex vitamínu D₃ a jeho receptoru se podílí na regulaci vzniku zralých DCs *in vivo*.¹³⁷ Během diferenciaci DCs, kdy se syntéza 1,25(OH)₂D₃ výrazně zvyšuje, dochází naopak ke snížení produkce VDR.¹³⁵ Zároveň je potvrzeno, že zralé DCs jsou vůči inhibičnímu efektu vitamínu D₃ téměř rezistentní.¹³¹

Maturované DCs se vyznačují tím, že neprodukují zánětlivý cytokin IL-12. Buňky ovlivněné vitaminem D vykazují inhibovanou sekreci tohoto cytokinu a mají tak sníženou APC schopnost. Inhibována je také produkce interferonů typu I (INF-I).^{132,135} a naopak dochází ke zvýšené produkci protizánětlivého IL-10.¹³³ 1,25(OH)₂D₃ dále inhibuje tvorbu kostimulačních molekul a jejich receptorů, jenž mají stěžejní roli během mezibuněčné interakce. Je prokázáno, že vitamin D způsobuje nízkou produkci MHCI, MHCII, CD40, CD58, CD80, CD86 a CD83.^{132,134} T-lymfocyty mají v důsledku snížení počtu kostimulačních molekul sníženou schopnost reagovat na stimul.¹³³ Naopak dochází ke zvýšené produkci CD152 (také CTLA-4, z angl. cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4), receptoru inhibujícího aktivaci T-buněk.^{134,138}

5.2 Regulace T-lymfocytů

Imunitní regulace je založená na rovnováze mezi tzv. T_h1 a T_h2 odpovědí. Pomocné T-buňky 1. typu (T_h1, z angl. Type 1 T-helper) indukují pomocí produkce zánětlivých cytokinů zánětlivou odpověď, jenž je charakterizována imunitní hypersenzitivitou.¹³⁹ T_h2 naopak indukují odpověď protizánětlivou, která je spojena s tolerancí. Zkoumání myších modelů potvrdilo, že 1,25(OH)₂D₃ dokáže inhibovat přeměnu CD4⁺ T-lymfocytů na T_h1 buňky, a naopak indukovat přeměnu na T_h2 buňky. Směrování k T_h2 fenotypu probíhá i bez přítomnosti APCs, což dokazuje přímé působení vitaminu D₃ na T-lymfocyty.¹⁴⁰ Vitamin D₃ také indukuje vznik regulačních T-lymfocytů (T_{reg}), což má za následek zvýšení tolerance a potlačení imunitní odpovědi. Mechanismus tolerance je důležitý především během správného přijetí transplantované tkáně a během autoimunitní regulace. Jak je již výše zmíněno, vlivem vitaminu D nemohou DCs maturovat. Jejich nezralý fenotyp pak indukuje vznik regulačních a hyposenzitivních T-lymfocytů^{134,141} produkujících IL-10.^{142,143}

Kombinace inhibice IL-12 a tlumení T_h1 odpovědi spolu s aktivací T_h2 odpovědi skrze indukci protizánětlivých cytokinů IL-4 a TGF-β1 má za následek potlačení encefalomyelitidy, zánětlivého onemocnění mozku a míchy.^{144,145} Pacientům s roztroušenou sklerózou (MS, z angl. multiple sclerosis), chronickou autoimunitní formou encefalomyelitidy, byly po dobu 12 týdnů podávány vysoké dávky vitaminu D₃ (20000 IU/den). U těchto pacientů docházelo k aktivaci protizánětlivé imunitní odpovědi, během které se zvyšovaly počty T-lymfocytů produkujících IL-10 a IL-4 a naopak se snižovaly počty T-lymfocytů produkujících IFN-γ. Pozitivní bylo, že vysoké dávky vitaminu D₃ nebyly pro tyto pacienty toxické.¹⁴⁶ V nedávné studii byla také prokázána souvislost mezi rizikovými jednonukleotidovými polymorfismy (SNPs, z angl. single nucleotide polymorphisms) vzniku MS a „super-enhancery“ (SE) interagujícími s VDR (VSE, z angl. VDR super-enhancers). Avšak detaily mechanismu této regulace nejsou ještě zcela známy.¹⁴⁷

1,25(OH)₂D₃ má také inhibiční vliv na T_h17, buňky produkující převážně zánětlivý IL-17,¹²⁷ které se podílejí na projevu autoimunitních chorob, jako je MS a revmatoidní artritida. U pacientů postižených těmito onemocněními je pozorován inhibiční efekt vitaminu D₃ na produkci IL-17.¹⁴³ U

myší postižených encefalomyelitidou navíc dochází vlivem vitamínu D k inhibici diferenciaci a migraci T_h17 . T_h17 mají sníženou produkci chemokinového receptoru CCR6, jenž reguluje migraci do místa zánětu a je spojen s tímto onemocněním.^{148,149} Bylo zjištěno, že inhibice T_h17 probíhá na transkripční úrovni, kdy komplex VDR/RXR blokuje navázání jaderného faktoru aktivovaných T buněk (NFAT, z angl. nuclear factor for activated T cells). Histon acetyláza (HAC) disociuje z promotorové oblasti genu pro IL-17 a naopak se naváže histon deacetyláza (HDAC), čímž dojde k inaktivaci chromatinu. Mimo jiné dochází k indukci TF Foxp3 (z angl. forkhead box P3), jenž se podílí na vzniku T_{reg} .¹⁵⁰ Je důležité zmínit, že právě mutace v genu *Foxp3* může vést k tzv. IPEX syndromu (z angl. immunodysregulation polyendocrinopathy enteropathy X-linked syndrom), autoimunitní chorobě,¹⁵¹ jenž se vyznačuje nefunkčností T_{reg} a zvýšením počtu T_h17 .¹⁵²

Zkoumání VDR na $CD4^+$ T-lymfocytech ukázalo, že absence tohoto receptoru má za následek rozvinutí idiopatických střevních zánětů (IBD, z angl. inflammatory bowel diseases), což je souhrnné označení pro chronická zánětlivá onemocnění zažívacího traktu.¹⁵³ Bylo potvrzeno, že $1,25(OH)_2D_3$ a vápník má supresivní vliv na IBD. Bližší analýza ukázala, že se jedná o regulaci genů, která vedla k inhibici prozánětlivého faktoru nekrotizujícího nádory α , TNF- α (z angl. tumor necrosis factor α).¹⁵⁴

5.3 Regulace B-lymfocytů

$1,25(OH)_2D_3$ přímo reguluje B-lymfocyty, kdy výrazně inhibuje jejich proliferaci, jenž je doprovázena apoptózou aktivovaných a dělicích se B-lymfocytů.¹⁵⁵ Za normálních okolností je produkce VDR ve zdravých lidských B-lymfocytech nízká.¹⁵⁵ Některé studie dokonce uvádějí, že VDR není vůbec detekovatelný. Avšak po aktivaci a stimulaci lymfocytů se produkce VDR zvyšuje.^{125,155} Toto potvrzuje i pozorování nestimulovaných B-lymfocytů, jenž jsou vůči inhibici vitamínem D rezistentní.¹⁵⁸ Rezistentní vůči inhibici jsou také B-lymfocyty, které se nacházejí v počáteční fázi dělení.¹⁵⁵ V B-lymfocytech inkubovaných s vitamínem D dochází k produkci vyšších množství CYP24A1. Chen et al.¹⁵⁵ se proto domnívají, že vedle regulace pomocí produkce VDR mohou B-lymfocyty regulovat vliv vitamínu D i jeho samotnou degradací.

Inhibice proliferace B-lymfocytů vede ke sníženému počtu paměťových a plasmatických buněk, a následné snížené produkci protilátek.^{155,159} Byla prokázána nezávislost na inhibici T-lymfocytů, kdy docházelo k přímému ovlivnění produkce protilátek lidskými B-lymfocyty.¹²⁵ Projevy alergie jsou spojeny s nadprodukcí protilátek v těle, především s nadprodukcí imunoglobulinů E (IgE).¹⁶⁰ Bylo prokázáno, že pacienti trpící alergickou rinitidou, kteří mají vyšší hladiny IgE v krvi, trpí zároveň i deficiencí vitamínu D.¹⁶¹ Bylo dokonce potvrzeno, že suplementace vitamínem D zmírňuje zánětlivé alergické projevy.¹⁶² Nicméně k zajímavým výsledkům došli Heine et al.⁴¹, kdy po podání vitamínu D pozorovali snížení produkce IgE, aniž by došlo k ovlivnění proliferace B-lymfocytů. Je tedy možné, že v tomto případě vitamin D necílí přímo na B-lymfocyty.

Výše zmíněnou regulací dochází ke zvýšené toleranci B-lymfocytů. Nízké hladiny vitamínu D₃ jsou spojeny se zvýšenými projevy autoimunitního onemocnění systémový lupus erythematoses (SLE), které se mimo jiné vyznačuje narušenou tolerancí B-lymfocytů a silnou tvorbou protilátek vůči vlastnímu tělu.^{155,163} V krvi pacientů postižených SLE byla pozorována nízká koncentrace 25(OH)D₃,¹⁶⁴ která mohla vést až ke stimulaci PTH.¹⁶⁵ Studie myších modelů dokázala, že podání vitamínu D zmírňuje příznaky SLE a může sloužit i jako prevence proti SLE.¹⁶⁶

5.4 Regulace monocytů a makrofágů

Vitamin D₃ má na monocyty a makrofágy imunopresivní efekt. Dochází k inhibici zánětlivé odpovědi na stimul,^{167,168} a naopak k indukci fagocytické aktivity.^{44,127,169–171} Vlivem vitamínu D₃ se v buňkách zvyšuje produkce CD14, což je typický makrofágový marker. Děje se tomu tak přes MAPK aktivaci TF C/EBPβ (z angl. CAAT-enhancer binding protein β), který poté aktivuje transkripci CD14.^{122,172} Dále dochází k inhibici zánětlivých cytokinů IL-6 a TNF-α.¹⁷³

Podobně jako u DCs, i u monocytů je významný faktor, mající vliv na to, zda bude mít vitamin D₃ spíše inhibiční či aktivační účinky na jejich regulaci, fáze, ve které se buňky během diferenciaci nacházejí.¹⁷⁴ To potvrzuje i větší výskyt CYP24 v monocytech než v DCs, což značí větší citlivost monocytů vůči vitamínu D₃.¹³² Také zde je pozorovatelný princip zpětné negativní regulace, kdy vitamin D reguluje svoji vlastní produkci. T-lymfocyty dokážou produkovat cytokin INF-γ a růstový faktor stimulující kolonie makrofágů (GM-CSF, z angl. granulocyte-macrophage colony-stimulating factor). Obě tyto molekuly jsou aktivátory makrofágů. Aktivované makrofágy posléze syntetizují vitamin D, který inhibuje produkci INF-γ a GM-CSF, resp. aktivaci makrofágů.^{175–179} Navíc bylo prokázáno, že po ošetření vitamínem D₃ dochází ke snížení počtu makrofágů ve tkáni.¹²⁷

1,25(OH)₂D₃ může inhibovat produkci TLR4 a TLR2 (z angl. toll-like receptor), což jsou receptory vrozené imunity, které mají na starost rozpoznání cizorodých mikroorganismů v těle.¹⁸⁰ Studie zkoumající vliv tepelného šoku na produkci TLR4 a TLR2 v lidských monocytech odhalila, že by do tohoto procesu mohla být zapojena p38 MAPK dráha, která by pozitivně ovlivňovala expresi TLRs a stimulovat tak imunitní odpověď.¹⁸¹ Novější studie dokazují inhibiční účinek vitamínu D₃ na p38 MAPK signalizační dráhu. Vitamin D₃ aktivoval produkci MAPK fosfatázy 1 (MKP-1, z angl. mitogen-activated protein kinase phosphatase 1), která defosforylovala, a tím deaktivovala p38. To vše posléze vedlo k inhibici produkce zánětlivých cytokinů.¹⁷³ V DCs derivovaných z monocytů docházelo vlivem vitamínu D₃ také k inhibici této signalizační dráhy.¹⁷⁴ Je tedy možné, že mechanismy, kterými vitamin D₃ inhibuje produkci některých TLRs v monocytech, zahrnují regulaci p38 MAPK dráhy. Vitamin D₃ také inhiboval produkci intracelulárního TLR9, jehož zvýšená exprese je spojena s onemocněním SLE. Následkem toho docházelo ke snížené produkci IL-6.¹⁸² Komplement, jenž je hlavní složkou obranných mechanismů vrozené imunity, je vitamínem D také regulován. Monocyty, které diferencují na makrofágy, a i již diferencované makrofágy kultivované s 1,25(OH)₂D₃, mají vyšší produkci

komplementového receptoru imunoglobulinové rodiny (CR1g, z angl. complement receptor of the immunoglobulin superfamily). Zajímavé je, že hladiny mRNA některých podjednotek klasických komplementových receptorů nejsou vitaminem D₃ nijak ovlivněny, nebo jsou naopak dokonce nižší.⁴⁴

Během diferenciaci monocytů na makrofágy a DCs dochází ke zvýšené produkci receptoru pro histamin H1 (HRH1), který v monocytech není detekovatelný. Histamin pak v makrofázích indukuje produkci IL-8, který má chemotaktickou úlohu a přivádí do místa zánětu další buňky imunitního systému.¹⁸³ Dále se histamin také významně účastní v metabolismu kostí. Ve studii zaměřené na multipotentní stromální buňky bylo zjištěno, že geny pro HRH1 obsahují VDRE a mohou být tedy regulovány vitaminem D₃. Zároveň bylo potvrzeno, že zvýšené hladiny HRH1 jsou přímo úměrné k vyšším hladinám VDR.¹⁸⁴ Je tedy velmi pravděpodobné, že podobný mechanismus regulace se vztahuje na makrofágy.

U jedinců trpících nedostatkem vitaminu D byla pozorována zvýšená agregace monocytů a adheze monocytů k endotelu. Tento jev je úzce spjat s aterosklerózou, chronickým zánětlivým onemocněním cévních stěn, které je příčinou kardiovaskulárních onemocnění. Pozorované monocyty měly sníženou produkci VDR.¹⁸⁵ U geneticky upravených myší, jenž mají delecii v celém nebo v části genu pro VDR, je vyšší výskyt projevů aterosklerózy.^{186,187} Jedinci trpící obezitou, která je často doprovázena kardiovaskulárními problémy, trpí i hypovitaminózou D, jejíž příčinou může být zvýšené ukládání vitaminu D do tukové tkáně.¹⁸⁸ Z toho vyplývá možná souvislost mezi obezitou, hypovitaminózou D a kardiovaskulárními chorobami.

5.4.1 Diferenciaci myeloidních leukemických buněk

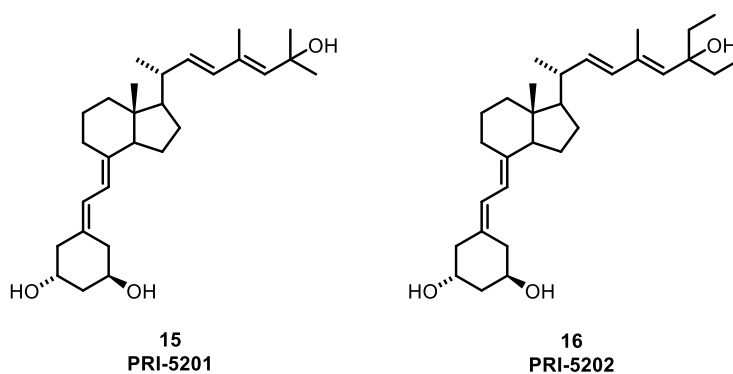
Akutní myeloidní leukémie (AML) je rakovinné onemocnění, během kterého dochází k akumulaci proliferujících prekurzorů granulocytů nebo monocytů v kostní dřeni a krvi důsledkem narušení jejich buněčného cyklu, kdy dochází k blokaci diferenciaci dané buňky.¹⁸⁹ Jedna ze slibných imunoterapeutických strategií by mohlo být využití vitaminu D.¹⁹⁰ Některé cílové geny pro VDR komplex jsou mimo jiné právě geny proteinů regulujících buněčný cyklus.^{120,122,191} Buňky AML, které byly stimulovány vitaminem D₃, vykazovaly zvýšenou produkci VDR.⁹⁷

In vitro bylo sledováno, že fyziologická koncentrace (0,1 nM) 1,25(OH)₂D₃ indukuje přeměnu myších myeloidních leukemických buněk na makrofágy.¹⁹² Růst lidských myeloidních leukemických buněk (linie HL-60) kultivovaných in vitro s 1,2 x 10⁻⁸ M 1,25(OH)₂D₃ se výrazně zpomalil a téměř v 50 % případů docházelo k jejich diferenciaci na granulocyty. Byla indukována fagocytická aktivita, nicméně nedocházelo k diferenciaci na makrofágy. Miyaura et al.¹⁹³ pozorovali také vznik komplementových receptorů, ale ne vznik Fc receptorů, jenž vážou protilátky. V jiné studii zase sledovali in vitro diferenciaci myších myeloidních leukemických buněk na makrofágy, a v menší míře i na neutrofilní granulocyty.¹⁹⁴ Stejných výsledků dosáhli i Reichel et al.,¹⁷⁶ kdy vitamin D stimuloval diferenciaci myeloidních prekurzorů na makrofágy. U některých linií buněk podobných makrofágům docházelo k inhibici jejich proliferace a byla zvýšena jejich adheze a fagocytická aktivita.¹⁹⁵ Dokonce

byla prokázána protinádorové aktivita vitamínu D₃ in vivo v myších modelech. Po podání vitamínu D₃ (konkrétně 1 α (OH)D₃) přežily myši déle.¹⁹⁶

Přesný mechanismus, jakým 1,25(OH)₂D₃ aktivuje dráhy vedoucí k diferenciaci myeloidních buněk, není úplně znám. Výzkum lidských myeloidních leukemických buněk ukázal, že se v genu pro Ras-1 kinázový supresor (KSR-1, z angl. kinase suppressor of Ras-1), jenž je zapojený do iniciace signálních drah vedoucích k diferenciaci monocytů, nachází VDRE oblast. Tyto buňky vykazovaly po ošetření 1,25(OH)₂D₃ zvýšenou produkci KSR-1.¹²¹ Wang et al.¹⁹⁷, kteří zkoumali lidský Ras-2 kinázový supresor (hKSR-2, z angl. human kinase suppressor of Ras-2), jenž inhibuje apoptózu buněk¹⁹⁸ a signální dráhy během zánětlivé odpovědi¹⁹⁹, zjistili, že na něj má 1,25(OH)₂D₃ podobný účinek jako na KSR-1.

Komplikací je, že pro efektivní léčbu jsou většinou potřeba vysoké koncentrace vitamínu D₃, které jsou pro tělo nebezpečné, jelikož mohou způsobit hyperkalcemii. To bylo důvodem bližšího zkoumání různých syntetických analogů vitamínu D, které mají menší vliv na hladiny vápníku v krvi. Mohly by být tedy oproti vitamínu D lepšími chemoterapeutickými léky.^{200,201} Ve studii z roku 2015²⁰² zkoumali vliv syntetických analogů vitamínu D₂ PRI-5201 (**15**) a PRI-5202 (**16**)²⁰³ na lidské akutní myeloidní leukemické (AML, z anglického acute myeloid leukemia) buňky a zjistili, že tyto analogy indukují myeloidní diferenciaci mnohem efektivněji než vitamin D₃. Produkce všeobecných povrchových myeloidních markerů se po přidání analogů vitamínu D₂ výrazně zvýšila. Také byla pozorována zvýšená produkce VDR.²⁰² Kooperace analogů vitamínu D s rostlinnými polyfenoly způsobily jejich vyšší efektivitu.^{202,204–207} V pozdější studii z roku 2019²⁰⁸ zjistili, že in vivo kooperace PRI-5202 s dimethyl fumaratem (DMF) vedla výraznému potlačení růstu nádoru.²⁰⁸



Obrázek č. 6 - Molekuly syntetických analogů vitamínu D₂, PRI-5201 a PRI-5202

Další komplikací léčby AML je možné vytvoření rezistence vůči 1,25(OH)₂D₃. V souvislosti s rezistencí vůči vitamínu D byla zkoumána aktivita VDR, a bylo zjištěno, že rezistentní buňky mají sníženou transkripční aktivitu VDR. Proto, aby byl VDR aktivován a mohl fungovat jako TF, je potřeba jeho fosforylace. A právě v rezistentních buňkách byla pozorována snížená koncentrace fosforylovaného VDR, jenž je lokalizován v jádře.²⁰⁹ Také bylo zjištěno, že v rezistentních buňkách

měl z genů proteinkináz aktivovaných mitogenem (MAPKs, z angl. mitogen-activated protein kinases) největší expresi gen pro MAP4K1 (také HPK1, z angl. hematopoietic progenitor kinase 1). MAP4K1 je kináza důležitá pro správnou diferenciaci buněk AML indukovanou $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, nicméně štěpením této kinázy kaspázou vzniká fragment, jenž se podílí na rezistenci vůči vitaminu D. To poukazuje na důležitou roli kaspáz v dějích vedoucích k rezistenci vůči vitaminu D²¹⁰

6. Deficience vitaminu D

Aby se dosáhlo optimální absorpce vápníku a zdravého vývoje kostí, je potřeba, aby byla koncentrace $25(\text{OH})\text{D}_3$ v séru nad 85 nmol/L. Hodnoty nižší než 50 nmol/L (20 ng/ml) naznačují nízkou hladinu vitaminu D v krvi.²¹¹ Pokud je koncentrace méně než 25-30 nmol/L (10-12 ng/ml), jedná se o těžký deficit.³³ Holick et al.²¹² uvádějí doporučenou denní dávku 37,5-50 μg (1500-2000 IU) vitaminu D pro dospělého člověka a 25 μg (1000 IU) pro dítě. Vzhledem k okolnostem vzniku vitaminu D v kůži by se nedostatečné vystavování UV záření dalo pokládat za jeden z nejdůležitějších faktorů souvisejících s deficitem tohoto hormonu. Prostoupení UV záření do kůže ovlivňuje pigment melanin, jenž má fotoprotektivní funkci.^{213,214} Tento pigment soupeří s prekurzorem vitaminu D o UV fotony a prodlužuje tak dobu vystavení záření, která potřebná k biosyntéze vitaminu D.²¹⁵ S tím souvisí deficience vitaminu D u jedinců s vyšší pigmentací žijících ve vyšších zeměpisných šířkách.²¹⁶ Dalšími faktory hypovitaminózy D může být například i věk nebo obezita.^{188,217} Deficience vitaminu D vede k nízké absorpci vápníku, což vede k hypokalcemii a sekundárnímu hyperparathyroidismu.^{38,218,219}

Bylo potvrzeno, že nedostatečné hladiny vitaminu D_3 přispívají také ke vzniku autoimunitního onemocnění zvané cukrovka 1. typu (T1DM, z angl. type 1 diabetes mellitus), jež se vyznačuje nefunkčností pankreatických beta buněk produkujících inzulin.²²⁰⁻²²² Suplementace vitaminem D, jenž stimuluje nadprodukcii VDR, měla preventivní účinek proti rozvoji T1DM²²²⁻²²⁴ a zároveň zmírňovala projevy již rozvinuté formy onemocnění.²²⁵ Naopak delece VDR vede k nastolení insulinové rezistence.¹⁸⁷

Poměrně nedávné studie naznačují asociaci mezi hypovitaminózou D během těhotenství a prenatálním a neonatálním vývojem neuro-psychiatrických chorob, jako jsou schizofrenie, poruchy autistického spektra (ASD, z angl. autism spectrum disorder) a porucha pozornosti s hyperaktivitou (ADHD, z angl. attention deficit hyperactivity disorders).²²⁶ Toto by potvrzovalo i zvýšené riziko vzniku schizofrenie u jedinců narozených v zimních měsících.²²⁷ Suplementace vitaminem D a jeho neuro-imunomodulační účinek na vývoj mozku by tak mohly být využity k prevenci vývoje těchto onemocnění.²²⁸

Závěr

Vitamin D je významným modulátorem imunitní odpovědi. Na post-transkripční úrovni reguluje produkci konkrétních cytokinů, a tak řídí jaký typ imunitní odpovědi bude spuštěn. Celkově má imunosupresivní účinek, kdy tlumí T_H1 hypersenzitivní imunitní odpověď, a naopak podporuje přechod na T_H2 odpověď, která je více tolerantního charakteru. Dokáže inhibovat expresi pro-zánětlivých cytokinů, jako jsou IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12, IL-17, IL-18, INF- γ , TNF- α , a na druhou stranu aktivovat expresi proti-zánětlivých cytokinů, jako jsou IL-3, IL-4, IL-10, TGF- β . Vitamin D ovlivňuje buňky jak vrozené, tak adaptivní imunity, a podílí se na regulaci jejich diferenciaci a maturace. Je schopen inhibovat produkci receptorů TR2, TR4 a TR9, jenž jsou stěžejní pro prvotní rozpoznání cizorodých struktur v organismu. Dále může u buněk snižovat schopnost reakce na chemokinový stimul, a tudíž negativně ovlivňovat jejich migraci do místa poškození nebo zánětu. U B-lymfocytů dochází vlivem vitaminu D k zastavení jejich proliferace, a v některých případech i k nastolení apoptózy. To vše má za následek sníženou produkci protilátek a zvýšenou imunitní toleranci, ke které přispívá také to, že vitamin D indukuje vznik T_{reg} . Hyposenzitivita T-lymfocytů je vlivem vitaminu D navíc podpořena zvýšenou produkcí CD152, a naopak sníženou produkcí MHC I, MHC II a kostimulačních receptorů CD40, CD58, CD80, CD86 a CD83. Bylo potvrzeno, že samotný vitamin D je negativním regulátorem výše zmíněných procesů. Příkladem je jeho posilující efekt na maturaci DCs, a naopak slabší účinek na již zralé diferencované DCs. Dále také to, že B-lymfocyty kultivované v přítomnosti vitaminu D mají zvýšenou expresi hydroxylázy CYP24A1, enzymu, který jej deaktivuje.

Poznatky o imunomodulačním účinku vitaminu D vedly k myšlenkám využití tohoto hormonu k prevenci a léčbě imunitních onemocnění, jež se vyznačují imunitní hypersenzitivitou a sníženou imunitní tolerancí. Uvádí se, že pacienti trpící autoimunitním onemocněním, jako je SLE, IBD, T1DM, MS nebo RA, trpí zároveň i hypovitaminózou D. Alergická rinitida, jenž se vyznačuje přecitlivělostí vůči alergenům, je také spojena s nízkými hladinami vitaminu D. Výsledky výzkumů suplementace vitaminem D byly pozitivní. Ukázalo se, že vitamin D dokáže tlumit příznaky těchto chorob, a dokonce zabránit jejich rozvinutí. Tolerogenní vliv vitaminu D by mohl být také využit během transplantací, kdy je tolerance vůči transplantované tkáni nezbytně nutná.

Vzhledem k tomu, že vitaminu D dokáže ovlivňovat buněčný cyklus, se o tomto hormonu uvažuje jako o slibné imunoterapeutické strategii pro léčbu AML. Studie HL-60 prokázaly, že se jeho vlivem proliferace buněk výrazně zpomaluje a dochází k jejich diferenciaci. Myši, kterým byl suplementován vitamin D, přežily déle, což je důkazem protinádorové aktivity vitaminu D in vivo. Ačkoliv byl potvrzen léčivý účinek tohoto steroidního hormonu, komplikací léčby jsou jeho vysoké hladiny, jež jsou potřeba pro jeho správnou účinnost. Vysoká koncentrace vitaminu D může způsobit pro tělo toxickou hyperkalcemii. Výzkum se proto zaměřil na syntézu a studium jeho analogů, které neovlivňují metabolismus vápníku, a často jsou i v nižších dávkách efektivnější než samotný vitamin D. Problém také nastává v případě, když si buňky vyvinou rezistenci vůči vitaminu D. Výzkum těchto

rezistentních buněk naznačuje, že kaspázy štěpící MAP4K1 by mohly hrát významnou roli v nastolení této rezistence a jejich bližší studium je na místě.

Pleiotropní účinek vitamínu D řadí tento hormon mezi významné regulační molekuly. Objasnění mechanismů, jimiž reguluje imunitní odpověď, odkrývá jeho velký potenciál, a současné studium možného uplatnění jeho analogů v léčbě imunitních onemocnění a leukémie zasluhuje pozornost. Poměrně nedávno byla navíc naznačena souvislost mezi účinkem vitamínu D a vývojem mozku, což by mohlo napomoci hlubšímu pochopení vzniku neuro-psychiatrických chorob, jako jsou schizofrenie, ASD a ADHD.

Použitá literatura

1. Norman, A. W. & Henry, H. L. Vitamin D to 1,25-dihydroxycholecalciferol: evolution of a steroid hormone. *Trends Biochem. Sci.* **4**, 14–18 (1979).
2. DeLuca, H. F. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites. *BoneKEY Rep.* **3**, 1–8 (2014).
3. Pitt, M. J. Rickets and Osteomalacia Are Still Around. *Radiol. Clin. North Am.* **29**, 97–118 (1991).
4. Mawer, E. B., Lumb, G. A. & Stanbury, S. W. Long Biological Half-life of Vitamin D₃ and its Polar Metabolites in Human Serum. *Nature* **222**, 482–483 (1969).
5. Askew, F. A., Bourdillon, R. B., Bruce, H. M., Jenkins, R. G. C. & Webster, T. A. Distillation of vitamin D. *R. Soc.* **107**, 76–90 (1930).
6. Rai, G. S., Webster, S. G. P. & Wraight, E. P. Isotopic Scanning of Bone in the Diagnosis of Osteomalacia. *J. Am. Geriatr. Soc.* **29**, 45–48 (1981).
7. Jungert, A., Spinneker, A., Nagel, A. & Neuhäuser-Berthold, M. Dietary intake and main food sources of vitamin D as a function of age, sex, vitamin D status, body composition, and income in an elderly German cohort. *Food Nutr. Res.* **58**, 1–8 (2014).
8. Yu, A. *et al.* The Association Between Serum 25-Hydroxyvitamin D Concentration and Consumption Frequencies of Vitamin D Food Sources in Korean Adolescents. *Clin. Nutr. Res.* **2**, 107–114 (2013).
9. Jungert, A. & Neuhäuser-Berthold, M. Dietary vitamin D intake is not associated with 25-hydroxyvitamin D₃ or parathyroid hormone in elderly subjects, whereas the calcium-to-phosphate ratio affects parathyroid hormone. *Nutr. Res.* **33**, 661–667 (2013).
10. Calman, K. C. Reassessment of the DRVs for vitamin D. in *Nutrition and bone health: with particular reference to calcium and vitamin D. Report of the Subgroup on Bone Health, Working Group on the Nutritional Status of the Population of the Committee on Medical Aspects of the Food Nutrition Policy* 39–51 (His Majesty's Stationery Office, 1998).
11. Jäpelt, R. B. & Jakobsen, J. Vitamin D in plants: a review of occurrence, analysis, and biosynthesis. *Front. Plant Sci.* **4**, 1–20 (2013).

12. Holick, M. F. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am. J. Clin. Nutr.* **79**, 362–371 (2004).
13. Holick, M. F. *et al.* Photosynthesis of Previtamin D₃ in Human Skin and the Physiologic Consequences. *Sci. New Ser.* **210**, 203–205 (1980).
14. Haddad, J. G., Matsuoka, L. Y., Hollis, B. W., Hu, Y. Z. & Wortsman, J. Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. *J. Clin. Invest.* **91**, 2552–2555 (1993).
15. Ponchon, G. & Deluca, H. F. The role of the liver in the metabolism of vitamin D. *J. Clin. Invest.* **48**, 1273–1279 (1969).
16. Bhattacharyya, M. H. & DeLuca, H. F. Comparative Studies on the 25-Hydroxylation of Vitamin D₃ and Dihydrotachysterol₃. *J. Biol. Chem.* **248**, 2974–2977 (1973).
17. Andersson, S., Holmberg, I. & Wikvall, K. 25-hydroxylation of C₂₇-steroids and vitamin D₃ by a constitutive cytochrome P-450 from rat liver microsomes. *J. Biol. Chem.* **258**, 6777–6781 (1983).
18. Axén, E., Bergman, T. & Wikvall, K. Microsomal 25-Hydroxylation of Vitamin D_e and Vitamin D₃ in Pig Liver. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **51**, 97–106 (1994).
19. Guo, Y. D., Strugnell, S., Back, D. W. & Jones, G. Transfected human liver cytochrome P-450 hydroxylates vitamin D analogs at different side-chain positions. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90**, 8668–8672 (1993).
20. Zhu, J. & DeLuca, H. F. Vitamin D 25-hydroxylase – Four decades of searching, are we there yet? *Arch. Biochem. Biophys.* **523**, 30–36 (2012).
21. Cheng, J. B., Motola, D. L., Mangelsdorf, D. J. & Russell, D. W. De-orphanization of Cytochrome P450 2R1. *J. Biol. Chem.* **278**, 38084–38093 (2003).
22. Cheng, J. B., Levine, M. A., Bell, N. H., Mangelsdorf, D. J. & Russell, D. W. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **101**, 7711–7715 (2004).
23. Shinkyō, R., Sakaki, T., Kamakura, M., Ohta, M. & Inouye, K. Metabolism of vitamin D by human microsomal CYP2R1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **324**, 451–457 (2004).

24. Zhu, J. G., Ochalek, J. T., Kaufmann, M., Jones, G. & DeLuca, H. F. CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 15650–15655 (2013).
25. Aiba, I. *et al.* Characterization of rat and human CYP2J enzymes as Vitamin D 25-hydroxylases. *Steroids* **71**, 849–856 (2006).
26. Yamasaki, T., Izumi, S., Ide, H. & Ohyama, Y. Identification of a Novel Rat Microsomal Vitamin D3 25-Hydroxylase. *J. Biol. Chem.* **279**, 22848–22856 (2004).
27. Gupta, R. P., Hollis, B. W., Patel, S. B., Patrick, K. S. & Bell, N. H. CYP3A4 is a Human Microsomal Vitamin D 25-Hydroxylase. *J. Bone Miner. Res.* **19**, 680–688 (2004).
28. Hayashi, S., Noshiro, M. & Okuda, K. Isolation of a cytochrome P-450 that catalyzes the 25-hydroxylation of vitamin D3 from rat liver microsomes. *J. Biochem. (Tokyo)* **99**, 1753–1763 (1986).
29. Haddad, J. G. & Walgate, J. 25-Hydroxyvitamin D transport in human plasma. Isolation and partial characterization of calcifidiol-binding protein. *J. Biol. Chem.* **251**, 4803–4809 (1976).
30. Cooke, N. E. & Haddad, J. G. Vitamin D Binding Protein (Gc-Globulin). *Endocr. Rev.* **10**, 294–307 (1989).
31. Song, Y.-H., Ray, K., Liebhaber, S. A. & Cooke, N. E. Vitamin D-binding Protein Gene Transcription Is Regulated by the Relative Abundance of Hepatocyte Nuclear Factors 1 α and 1 β . *J. Biol. Chem.* **273**, 28408–28418 (1998).
32. Mendel, D. B., Hansen, L. P., Graves, M. K., Conley, P. B. & Crabtree, G. R. HNF- 1 and HNF- 1 (vHNF- 1) share dimerization and homeo domains, but not activation domains, and form heterodimers in vitro. *Genes Dev.* **5**, 1042–1056 (1991).
33. Bouillon, R. Comparative analysis of nutritional guidelines for vitamin D. *Nat. Rev. Endocrinol.* **13**, 466–479 (2017).
34. Fraser, D. R. & Kodicek, E. Unique Biosynthesis by Kidney of a Biologically Active Vitamin D Metabolite. *Nature* **228**, 764–766 (1970).
35. Bikle, D. D. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem. Biol.* **21**, 319–329 (2014).

36. Jones, G., Strugnell, S. A. & DeLUCA, H. F. Current Understanding of the Molecular Actions of Vitamin D: II. Role of vitamin D in calcium homeostasis. *Physiol. Rev.* **78**, 1200–1203 (1998).
37. Chambers, T. J. & Magnus, C. J. Calcitonin alters behaviour of isolated osteoclasts. *J. Pathol.* **136**, 27–39 (1982).
38. Naveh-Many, T. & Silver, J. Regulation of parathyroid hormone gene expression by hypocalcemia, hypercalcemia, and vitamin D in the rat. *J. Clin. Invest.* **86**, 1313–1319 (1990).
39. Brenza, H. L. & DeLuca, H. F. Regulation of 25-Hydroxyvitamin D3 1 α -Hydroxylase Gene Expression by Parathyroid Hormone and 1,25-Dihydroxyvitamin D3. *Arch. Biochem. Biophys.* **381**, 143–152 (2000).
40. Francis, R. M. & Selby, P. L. Osteomalacia. *Baillières Clin. Endocrinol. Metab.* **11**, 145–163 (1997).
41. Heine, G., Anton, K., Henz, B. M. & Worm, M. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits anti-CD40 plus IL-4-mediated IgE production in vitro. *Eur. J. Immunol.* **32**, 3395–3404 (2002).
42. Jones, G., BYRNES, B., PALMA, F., SEGEV, D. & MAZUR, Y. Displacement Potency of Vitamm D2 Analogs in Competitive Protein-Binding Assays for 25– Hydroxyvitamin D3, 24,25– Dihydroxyvitamin D3, and 1,25–Dihydroxyvitamin D3. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **50**, 773–775 (1980).
43. Müller, K. *et al.* 1,25-dihydroxyvitamin D3 inhibits cytokine production by human blood monocytes at the post-transcriptional level. *Cytokine* **4**, 506–512 (1992).
44. Small, A. G. *et al.* Vitamin D upregulates the macrophage complement receptor immunoglobulin in innate immunity to microbial pathogens. *Commun. Biol.* **4**, 1–7 (2021).
45. Bhalla, A. K., Amento, E. P. & Krane, S. M. Differential effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human lymphocytes and monocyte/macrophages: Inhibition of interleukin-2 and augmentation of interleukin-1 production. *Cell. Immunol.* **98**, 311–322 (1986).
46. Tsoukas, C. D., Provvedini, D. M. & Manolagas, S. C. 1,25-Dihydroxyvitamin D3: a Novel Immunoregulatory Hormone. *Science* **224**, 1438–1440 (1984).
47. Hodler, B., EvÈquoz, V., Trechsel, U., Fleisch, H. & Stadler, B. Influence of Vitamin D3 Metabolites on the Production of Interleukins 1, 2 and 3. *Immunobiology* **170**, 256–269 (1985).

48. Makin, G., Lohnes, D., Byford, V., Ray, R. & Jones, G. Target cell metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ to calcitroic acid. Evidence for a pathway in kidney and bone involving 24-oxidation. *Biochem. J.* **262**, 173–180 (1989).
49. Inouye, K. & Sakaki, T. Enzymatic studies on the key enzymes of vitamin D metabolism; 1 α -hydroxylase (CYP27B1) and 24-hydroxylase (CYP24). in *Biotechnology Annual Review* vol. 7 179–194 (Elsevier, 2001).
50. Zimmerman, D. R. *et al.* Calcitroic Acid Is a Major Catabolic Metabolite in the Metabolism of 1 α -Dihydroxyvitamin D₂. *Arch. Biochem. Biophys.* **392**, 14–22 (2001).
51. Beckman, M. J. *et al.* Human 25-Hydroxyvitamin D₃ -24-Hydroxylase, a Multicatalytic Enzyme. *Biochemistry* **35**, 8465–8472 (1996).
52. Masuda, S. *et al.* Insights into Vitamin D metabolism using cyp24 over-expression and knockout systems in conjunction with liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS). *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **89–90**, 149–153 (2004).
53. Fencel, F., Bláhová, K., Schlingmann, K. P., Konrad, M. & Seeman, T. Severe hypercalcemic crisis in an infant with idiopathic infantile hypercalcemia caused by mutation in CYP24A1 gene. *Eur. J. Pediatr.* **172**, 45–49 (2013).
54. Schlingmann, K. P. *et al.* Mutations in CYP24A1 and Idiopathic Infantile Hypercalcemia. *N. Engl. J. Med.* **365**, 410–421 (2011).
55. Ohyama, Y. *et al.* Structural characterization of the gene encoding rat 25-hydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase. *Biochemistry* **32**, 76–82 (1993).
56. Malabanan, A., Verenikis, I. E. & Holick, M. F. Redefining vitamin D insufficiency. *The Lancet* **351**, 805–806 (1998).
57. Mastaglia, S. R., Mautalen, C. A., Parisi, M. S. & Oliveri, B. Vitamin D₂ dose required to rapidly increase 25OHD levels in osteoporotic women. *Eur. J. Clin. Nutr.* **60**, 681–687 (2006).
58. Trang, H. M. *et al.* Evidence that vitamin D₃ increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D₂, –. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 854–858 (1998).
59. Chapuy, M. C., Chapuy, P. & Meunier, P. J. Calcium and vitamin D supplements: effects on calcium metabolism in elderly people. *Am. J. Clin. Nutr.* **46**, 324–328 (1987).

60. Tjellesen, L., Hummer, L., Christiansen, C. & Rødbro, P. Serum concentration of vitamin D metabolites during treatment with vitamin D2 and D3 in normal premenopausal women. *Bone Miner.* **1**, 407–413 (1986).
61. Armas, L. A. G., Hollis, B. W. & Heaney, R. P. Vitamin D2 Is Much Less Effective than Vitamin D3 in Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **89**, 5387–5391 (2004).
62. Stamp, T. C., Haddad, J. G. & Twigg, C. A. Comparison of oral 25-hydroxycholecalciferol, vitamin D, and ultraviolet light as determinants of circulating 25-hydroxyvitamin D. *Lancet* **1**, 1341–1343 (1977).
63. Francis, R. M. *et al.* A comparison of the effects of alfacalcidol treatment and vitamin D2 supplementation on calcium absorption in elderly women with vertebral fractures. *Osteoporos. Int.* **6**, 284–290 (1996).
64. Hartwell, D., Hassager, C. & Christiansen, C. Effect of vitamin D2 and vitamin D3 on the serum concentrations of 1,25(OH)2D2, and 1,25(OH)2D3 in normal subjects. *Acta Endocrinol. (Copenh.)* **115**, 378–384 (1987).
65. Holick, M. F. *et al.* Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **93**, 677–681 (2008).
66. Biancuzzo, R. M., Clarke, N., Reitz, R. E., Travison, T. G. & Holick, M. F. Serum Concentrations of 1,25-Dihydroxyvitamin D2 and 1,25-Dihydroxyvitamin D3 in Response to Vitamin D2 and Vitamin D3 Supplementation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **98**, 973–979 (2013).
67. Horst, R. L., Reinhardt, T. A., Ramberg, C. F., Koszewski, N. J. & Napoli, J. L. 24-Hydroxylation of 1,25-dihydroxyergocalciferol. An unambiguous deactivation process. *J. Biol. Chem.* **261**, 9250–9256 (1986).
68. Hollis, B. W. Comparison of equilibrium and disequilibrium assay conditions for ergocalciferol, cholecalciferol and their major metabolites. *J. Steroid Biochem.* **21**, 81–86 (1984).
69. Belsey, R. *et al.* The physiologic significance of plasma transport of vitamin D and metabolites. *Third F Raymond Keating Jr Meml. Symp.-Parathy. Horm. Calcitonin Vitam. Clin. Consid. Part II* **57**, 50–56 (1974).

70. Horst, R. L., Littledike, E. T., Riley, J. L. & Napoli, J. L. Quantitation of vitamin D and its metabolites and their plasma concentrations in five species of animals. *Anal. Biochem.* **116**, 189–203 (1981).
71. Daiger, S. P., Schanfield, M. S. & Cavalli-Sforza, L. L. Group-specific component (Gc) proteins bind vitamin D and 25-hydroxyvitamin D. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **72**, 2076–2080 (1975).
72. Nagasawa, H. *et al.* Gc Protein (Vitamin D-binding Protein): Gc Genotyping and GcMAF Precursor Activity. *Anticancer Res.* **25**, 3689–95 (2005).
73. Verboven, C. *et al.* A structural basis for the unique binding features of the human vitamin D-binding protein. *Nat. Struct. Biol.* **9**, 316–316 (2002).
74. Song, Y.-H., Naumova, A. K., Liebhaber, S. A. & Cooke, N. E. Physical and Meiotic Mapping of the Region of Human Chromosome 4q11–q13 Encompassing the Vitamin D Binding Protein DBP/Gc-Globulin and Albumin Multigene Cluster. *Genome Res.* **9**, 581–587 (1999).
75. Cooke, N. E., Willard, H. F., David, E. V. & George, D. L. Direct regional assignment of the gene for vitamin D binding protein (Gc-globulin) to human chromosome 4q11–q13 and identification of an associated DNA polymorphism. *Hum. Genet.* **73**, 225–229 (1986).
76. Harper, M. E. & Dugaiczyk, A. Linkage of the Evolutionarily-Related Serum Albumin and ox-Fetoprotein Genes within q11–22 of Human Chromosome 4. *Am. J. Hum. Genet.* **35**, 565–572 (1983).
77. Kendall, F. E. Studies on human serum proteins. II. Crystallization of human serum albumin. *J. Biol. Chem.* **138**, 97–109 (1941).
78. Bouillon, R., Xiang, D. Z., Convents, R. & Van Baelen, H. Polyunsaturated fatty acids decrease the apparent affinity of vitamin D metabolites for human vitamin D-binding protein. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **42**, 855–861 (1992).
79. Williams, M. H., Van Alstyne, E. L. & Galbraith, R. M. Evidence of a novel association of unsaturated fatty acids with Gc (Vitamin D-binding protein). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **153**, 1019–1024 (1988).
80. Speeckaert, M. M. *et al.* Investigation of the potential association of vitamin D binding protein with lipoproteins. *Ann. Clin. Biochem. Int. J. Lab. Med.* **47**, 143–150 (2010).

81. Setayesh, L. *et al.* Elevated Plasma Concentrations of Vitamin D-Binding Protein Are Associated with Lower High-Density Lipoprotein and Higher Fat Mass Index in Overweight and Obese Women. *Nutrients* **13**, 3223 (2021).
82. Yamamoto, N. & Homma, S. Vitamin D3 binding protein (group-specific component) is a precursor for the macrophage-activating signal factor from lysophosphatidylcholine-treated lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **88**, 8539–8543 (1991).
83. Yamamoto, N. & Naraparaju, V. R. Vitamin D3-Binding Protein as a Precursor for Macrophage Activating Factor in the Inflammation-Primed Macrophage Activation Cascade in Rats. *Cell. Immunol.* **170**, 161–167 (1996).
84. Yamamoto, N. & Kumashiro, R. Conversion of vitamin D3 binding protein (group-specific component) to a macrophage activating factor by the stepwise action of beta-galactosidase of B cells and sialidase of T cells. *J. Immunol.* **151**, 2794–2802 (1993).
85. Verboven, C. *et al.* Actin-DBP: the perfect structural fit? *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* **59**, 263–273 (2003).
86. Van Baelen, H., Bouillon, R. & De Moor, P. Vitamin D-binding protein (Gc-globulin) binds actin. *J. Biol. Chem.* **255**, 2270–2272 (1980).
87. Otterbein, L. R., Cosio, C., Graceffa, P. & Dominguez, R. Crystal structures of the vitamin D-binding protein and its complex with actin: Structural basis of the actin-scavenger system. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **99**, 8003–8008 (2002).
88. Haddad, J. G. Human serum binding protein for vitamin D and its metabolites (DBP): Evidence that actin is the DBP binding component in human skeletal muscle. *Arch. Biochem. Biophys.* **213**, 538–544 (1982).
89. Dahl, B. *et al.* Plasma concentration of Gc-globulin is associated with organ dysfunction and sepsis after injury: *Crit. Care Med.* **31**, 152–156 (2003).
90. Antoniadis, C. G. *et al.* Actin-free Gc globulin: A rapidly assessed biomarker of organ dysfunction in acute liver failure and cirrhosis. *Liver Transpl.* **13**, 1254–1261 (2007).
91. Trujillo, G. *et al.* Neutrophil Recruitment to the Lung in Both C5a- and CXCL1-Induced Alveolitis Is Impaired in Vitamin D-Binding Protein-Deficient Mice. *J. Immunol.* **191**, 848–856 (2013).

92. Kew, R., Sibug, M., Liuzzo, J. & Webster, R. Localization and quantitation of the vitamin D binding protein (Gc- globulin) in human neutrophils. *Blood* **82**, 274–283 (1993).
93. Perez, H. D., Kelly, E., Chenoweth, D. & Elfman, F. Identification of the C5a des Arg cochemotaxin. Homology with vitamin D-binding protein (group-specific component globulin). *J. Clin. Invest.* **82**, 360–363 (1988).
94. Modi, W. S. & Chen, Z.-Q. Localization of the Human CXC Chemokine Subfamily on the Long Arm of Chromosome 4 Using Radiation Hybrids. *Genomics* **47**, 136–139 (1998).
95. Nykjaer, A. *et al.* An Endocytic Pathway Essential for Renal Uptake and Activation of the Steroid 25-(OH) Vitamin D₃. *Cell* **96**, 507–515 (1999).
96. Racz, A. & Barsony, J. Hormone-dependent Translocation of Vitamin D Receptors Is Linked to Transactivation. *J. Biol. Chem.* **274**, 19352–19360 (1999).
97. Gocek, E., Kielbiński, M. & Marcinkowska, E. Activation of intracellular signaling pathways is necessary for an increase in VDR expression and its nuclear translocation. *FEBS Lett.* **581**, 1751–1757 (2007).
98. Yasmin, R., Williams, R. M., Xu, M. & Noy, N. Nuclear Import of the Retinoid X Receptor, the Vitamin D Receptor, and Their Mutual Heterodimer. *J. Biol. Chem.* **280**, 40152–40160 (2005).
99. Wiese, R. J., Uhland-Smith, A., Ross, T. K., Prah, J. M. & DeLuca, H. F. Up-regulation of the vitamin D receptor in response to 1,25-dihydroxyvitamin D₃ results from ligand-induced stabilization. *J. Biol. Chem.* **267**, 20082–20086 (1992).
100. Li, X.-Y. *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ increases nuclear vitamin D₃ receptors by blocking ubiquitin/proteasome-mediated degradation in human skin. *Vitam. D* **13**, 1686–94 (1999).
101. Arbour, N. C., Prah, J. M. & DeLuca, H. F. Stabilization of the vitamin D receptor in rat osteosarcoma cells through the action of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Mol. Endocrinol.* **7**, 1307–1312 (1993).
102. Carlberg, C. *et al.* Two nuclear signalling pathways for vitamin D. *Nature* **361**, 657–660 (1993).
103. Allenby, G. *et al.* Retinoic acid receptors and retinoid X receptors: interactions with endogenous retinoic acids. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90**, 30–34 (1993).

104. Dawson, M. I. & Xia, Z. The retinoid X receptors and their ligands. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* **1821**, 21–56 (2012).
105. Radomska-Pandya, A. & Chen, G. Photoaffinity Labeling of Human Retinoid X Receptor β (RXR β) with 9-cis-Retinoic Acid: Identification of Phytanic Acid, Docosahexaenoic Acid, and Lithocholic Acid as Ligands for RXR β . *Biochemistry* **41**, 4883–4890 (2002).
106. Urquiza, A. M. D. *et al.* Docosahexaenoic Acid, a Ligand for the Retinoid X Receptor in Mouse Brain. *Science* **290**, 2140–2144 (2000).
107. Lemotte, P. K., Keidel, S. & Apfel, C. M. Phytanic Acid is a Retinoid X Receptor Ligand. *Eur. J. Biochem.* **236**, 328–333 (1996).
108. Davodian, A. *et al.* Synergistic Anti-Cancer Activity of the Combination of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 and Retinoic Acid in U937 Cell Line. *Rep. Biochem. Mol. Biol.* **11**, 440–449 (2022).
109. Liu, P. T., Krutzik, S. R., Kim, J. & Modlin, R. L. Cutting Edge: All-trans Retinoic Acid Down-Regulates TLR2 Expression and Function. *J. Immunol.* **174**, 2467–2470 (2005).
110. Breitman, T. R., Selonick, S. E. & Collins, S. J. Induction of differentiation of the human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) by retinoic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **77**, 2936–2940 (1980).
111. Douer, D. Retinoic acid enhances colony-stimulating factor-induced clonal growth of normal human myeloid progenitor cells in vitro*1. *Exp. Cell Res.* **138**, 193–198 (1982).
112. Testa, U. *et al.* PML/RAR alpha+ U937 mutant and NB4 cell lines: retinoic acid restores the monocytic differentiation response to vitamin D3. *Cancer Res.* **54**, 4508–15 (1994).
113. Botling, J. *et al.* Vitamin D3- and retinoic acid-induced monocytic differentiation: interactions between the endogenous vitamin D3 receptor, retinoic acid receptors, and retinoid X receptors in U-937 cells. *Cell Growth Differ. Mol. Biol. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **7**, 1239–49 (1996).
114. Oberg, F., Botling, J. & Nilsson, K. Functional antagonism between vitamin D3 and retinoic acid in the regulation of CD14 and CD23 expression during monocytic differentiation of U-937 cells. *J. Immunol.* **150**, 3487–3495 (1993).

115. Zhang, D. E., Hetherington, C. J., Gonzalez, D. A., Chen, H. M. & Tenen, D. G. Regulation of CD14 expression during monocytic differentiation induced with 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *J. Immunol.* **153**, 3276–3284 (1994).
116. Bhatia, M., Kirkland, J. B. & Meckling-Gill, K. A. Monocytic Differentiation of Acute Promyelocytic Leukemia Cells in Response to 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Is Independent of Nuclear Receptor Binding. *J. Biol. Chem.* **270**, 15962–15965 (1995).
117. Berry, D. M., Antochi, R., Bhatia, M. & Meckling-Gill, K. A. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Stimulates Expression and Translocation of Protein Kinase C α and C δ via a Nongenomic Mechanism and Rapidly Induces Phosphorylation of a 33-kDa Protein in Acute Promyelocytic NB4 Cells. *J. Biol. Chem.* **271**, 16090–16096 (1996).
118. Hmama, Z. *et al.* 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃-Induced Myeloid Cell Differentiation Is Regulated by a Vitamin D Receptor–Phosphatidylinositol 3-Kinase Signaling Complex. *J. Exp. Med.* **190**, 1583–1594 (1999).
119. Kim, D. *et al.* Peripheral T-Cells, B-Cells, and Monocytes from Multiple Sclerosis Patients Supplemented with High-Dose Vitamin D Show Distinct Changes in Gene Expression Profiles. *Nutrients* **14**, 4737 (2022).
120. Booth, D. R. *et al.* Cistronic and genetic evidence that the vitamin D receptor mediates susceptibility to latitude-dependent autoimmune diseases. *Genes Immun.* **17**, 213–219 (2016).
121. Wang, X., Wang, T.-T., White, J. H. & Studzinski, G. P. Induction of kinase suppressor of RAS-1(KSR-1) gene by 1, α 25-dihydroxyvitamin D₃ in human leukemia HL60 cells through a vitamin D response element in the 5'-flanking region. *Oncogene* **25**, 7078–7085 (2006).
122. Marcinkowska, E. *et al.* Regulation of C/EBP β isoforms by MAPK pathways in HL60 cells induced to differentiate by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Exp. Cell Res.* **312**, 2054–2065 (2006).
123. D'Ambrosio, D. *et al.* Inhibition of IL-12 production by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. Involvement of NF-kappaB downregulation in transcriptional repression of the p40 gene. *J. Clin. Invest.* **101**, 252–262 (1998).
124. Provvedini, D. M., Tsoukas, C. D., Defetos, L. J. & Manolagas, S. C. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Receptors in Human Leukocytes. *Sci. New Ser.* **221**, 1181–1183 (1983).

125. Provvedini, D. M., Tsoukas, C. D., Deftos, L. J. & Manolagas, S. C. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃-binding macromolecules in human B lymphocytes: effects on immunoglobulin production. *J. Immunol.* **136**, 2734–2740 (1986).
126. Bhalla, Ashok. K., Amento, E. P., Clemens, T. L., Holick, M. F. & Krane, S. M. Specific high-affinity receptors for 1,25-dihydroxyvitamin d in human peripheral blood mononuclear cells: presence in monocytes and induction in t lymphocytes following activation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **57**, 1308–1310 (1983).
127. Cao, R. *et al.* 1,25(OH)₂D₃ alleviates DSS-induced ulcerative colitis via inhibiting NLRP3 inflammasome activation. *J. Leukoc. Biol.* **108**, 283–295 (2020).
128. Smith, J., Jenkins, A., Caine, S. & Boyle, I. The influence of calcitropic hormones on lymphocyte transformation and interleukin-2 production in human mononuclear cells. *J Clin Lab Immunol* **33**, 49–54 (1990).
129. Müller, K., Diamant, M. & Bendtzen, K. Inhibition of production and function of interleukin-6 by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Immunol. Lett.* **28**, 115–120 (1991).
130. Théry, C. & Amigorena, S. The cell biology of antigen presentation in dendritic cells. *Curr. Opin. Immunol.* **13**, 45–51 (2001).
131. Berer, A. *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ inhibits dendritic cell differentiation and maturation in vitro. *Exp. Hematol.* **28**, 575–583 (2000).
132. Gauzzi, M. C. *et al.* Suppressive Effect of 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ on Type I IFN-Mediated Monocyte Differentiation into Dendritic Cells: Impairment of Functional Activities and Chemotaxis. *J. Immunol.* **174**, 270–276 (2005).
133. Piemonti, L. *et al.* Vitamin D₃ Affects Differentiation, Maturation, and Function of Human Monocyte-Derived Dendritic Cells. *J. Immunol.* **164**, 4443–4451 (2000).
134. Penna, G. & Adorini, L. 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ Inhibits Differentiation, Maturation, Activation, and Survival of Dendritic Cells Leading to Impaired Alloreactive T Cell Activation. *J. Immunol.* **164**, 2405–2411 (2000).
135. Hewison, M. *et al.* Differential Regulation of Vitamin D Receptor and Its Ligand in Human Monocyte-Derived Dendritic Cells. *J. Immunol.* **170**, 5382–5390 (2003).

136. Olliver, M. *et al.* Immunomodulatory Effects of Vitamin D on Innate and Adaptive Immune Responses to *Streptococcus pneumoniae*. *J. Infect. Dis.* **208**, 1474–1481 (2013).
137. Griffin, M. D. *et al.* Dendritic cell modulation by $1\alpha,25$ dihydroxyvitamin D3 and its analogs: A vitamin D receptor-dependent pathway that promotes a persistent state of immaturity in vitro and in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **98**, 6800–6805 (2001).
138. Tivol, E. A. *et al.* Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* **3**, 541–547 (1995).
139. Kidd, P. The Hypothesis, its Limitations, and Implications for Health and Disease. *Altern. Med. Rev.* **8**, 223–246 (2003).
140. Boonstra, A. *et al.* $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D3 Has a Direct Effect on Naive CD4⁺ T Cells to Enhance the Development of Th2 Cells. *J. Immunol.* **167**, 4974–4980 (2001).
141. Gregori, S. *et al.* Regulatory T Cells Induced by $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D3 and Mycophenolate Mofetil Treatment Mediate Transplantation Tolerance. *J. Immunol.* **167**, 1945–1953 (2001).
142. Barrat, F. J. *et al.* In Vitro Generation of Interleukin 10–producing Regulatory CD4⁺ T Cells Is Induced by Immunosuppressive Drugs and Inhibited by T Helper Type 1 (Th1)– and Th2-inducing Cytokines. *J. Exp. Med.* **195**, 603–616 (2002).
143. Correale, J., Ysrraelit, M. C. & Gaitan, M. I. Immunomodulatory effects of Vitamin D in multiple sclerosis. *Brain* **132**, 1146–1160 (2009).
144. Cantorna, M. T., Hayes, C. E. & DeLuca, H. F. $1,25$ -Dihydroxyvitamin D3 reversibly blocks the progression of relapsing encephalomyelitis, a model of multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **93**, 7861–7864 (1996).
145. Cantorna, M. T., Woodward, W. D., Hayes, C. E. & DeLuca, H. F. $1,25$ -Dihydroxyvitamin D3 Is a Positive Regulator for the Two Anti-Encephalitogenic Cytokines TGF- β 1 and IL-4. *J. Immunol.* **160**, 5314–5319 (1998).
146. Smolders, J. *et al.* Safety and T Cell Modulating Effects of High Dose Vitamin D3 Supplementation in Multiple Sclerosis. *PLoS ONE* **5**, 1-9 (e15235) (2010).

147. Lu, M., McComish, B. J., Burdon, K. P., Taylor, B. V. & Körner, H. The Association Between Vitamin D and Multiple Sclerosis Risk: 1,25(OH)₂D₃ Induces Super-Enhancers Bound by VDR. *Front. Immunol.* **10**, 1–16 (2019).
148. Chang, J.-H., Cha, H.-R., Lee, D.-S., Seo, K. Y. & Kweon, M.-N. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Inhibits the Differentiation and Migration of TH17 Cells to Protect against Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *PLoS ONE* **5**, 1-12 (e12925) (2010).
149. Reboldi, A. *et al.* C-C chemokine receptor 6–regulated entry of TH-17 cells into the CNS through the choroid plexus is required for the initiation of EAE. *Nat. Immunol.* **10**, 514–523 (2009).
150. Joshi, S. *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Ameliorates Th17 Autoimmunity via Transcriptional Modulation of Interleukin-17A. *Mol. Cell. Biol.* **31**, 3653–3669 (2011).
151. Bennett, C. L. *et al.* The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat. Genet.* **27**, 20–21 (2001).
152. Passerini, L. *et al.* Forkhead box protein 3 (FOXP3) mutations lead to increased TH17 cell numbers and regulatory T-cell instability. *J. Allergy Clin. Immunol.* **128**, 1376–1379 (2011).
153. Froicu, M. *et al.* A Crucial Role for the Vitamin D Receptor in Experimental Inflammatory Bowel Diseases. *Mol. Endocrinol.* **17**, 2386–2392 (2003).
154. Zhu, Y., Mahon, B. D., Froicu, M. & Cantorna, M. T. Calcium and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ target the TNF- α pathway to suppress experimental inflammatory bowel disease. *Eur. J. Immunol.* **35**, 217–224 (2005).
155. Chen, S. *et al.* Modulatory Effects of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ on Human B Cell Differentiation. *J. Immunol.* **179**, 1634–1647 (2007).
156. Masahiro Kizaki *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Receptor RNA: Expression in Hematopoietic Cells. *Blood* **77**, 1238–1247 (1991).
157. Veldman, C. M., Cantorna, M. T. & DeLuca, H. F. Expression of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Receptor in the Immune System. *Arch. Biochem. Biophys.* **374**, 334–338 (2000).
158. Lemire, J. M. *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ suppresses human T helper/inducer lymphocyte activity in vitro. *J. Immunol.* **134**, 3032–3035 (1985).

159. Iho, S., Takahashi, T., Kura, F., Sugiyama, H. & Hoshino, T. The effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on in vitro immunoglobulin production in human B cells. *J. Immunol.* **136**, 4427–4431 (1986).
160. Bennich, H. H. *et al.* Immunoglobulin E: a new class of human immunoglobulin. *Immunology* **15**, 323–324 (1968).
161. Ansari, S. F., Memon, M., Brohi, N. & Kumar, B. Vitamin D and Serum Immunoglobulin E Levels in Allergic Rhinitis: A Case-control Study from Pakistan. *Cureus* **11**, 1–7 (2019).
162. Li, B. *et al.* A Novel Strategy for the Treatment of Allergic Rhinitis: Regulating Treg/Th17 and Th1/Th2 Balance In Vivo by Vitamin D. *Comput. Math. Methods Med.* **2022**, 1–7 (2022).
163. Kamen, D. L. *et al.* Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun. Rev.* **5**, 114–117 (2006).
164. Müller, K. *et al.* Vitamin D₃ metabolism in patients with rheumatic diseases: Low serum levels of 25-hydroxyvitamin D₃ in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Rheumatol.* **14**, 397–400 (1995).
165. Huisman, A. M. *et al.* Vitamin D levels in Women with Systemic Lupus Erythematosus and Fibromyalgia. *J. Rheumatol.* **28**, 2535–2539 (2001).
166. Lemire, J. M., Ince, A. & Takashima, M. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Attenuates of Expression of Experimental Murine Lupus of MRL/1 Mice. *Autoimmunity* **12**, 143–148 (1992).
167. Spittler, A. *et al.* Effects of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and cytokines on the expression of MHC antigens, complement receptors and other antigens on human blood monocytes and U937 cells: role in cell differentiation, activation and phagocytosis. *Immunology* **90**, 286–293 (1997).
168. Boltz-Nitulescu, G. *et al.* Modulation of IgA, IgE, and IgG Fc receptor expression on human mononuclear phagocytes by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and cytokines. *J. Leukoc. Biol.* **58**, 256–262 (1995).
169. Gunasekar, P. *et al.* Vitamin D and macrophage polarization in epicardial adipose tissue of atherosclerotic swine. *PLoS ONE* **13**, 1–14 (2018).

170. Zhang, X., Zhou, M., Guo, Y., Song, Z. & Liu, B. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Promotes High Glucose-Induced M1 Macrophage Switching to M2 via the VDR-PPAR Signaling Pathway. *BioMed Res. Int.* **2015**, 1–14 (2015).
171. Dionne, S., Duchatelier, C.-F. & Seidman, E. G. The influence of vitamin D on M1 and M2 macrophages in patients with Crohn's disease. *Innate Immun.* **23**, 557–565 (2017).
172. Pan, Z., Hetherington, C. J. & Zhang, D.-E. CCAAT/Enhancer-binding Protein Activates the CD14 Promoter and Mediates Transforming Growth Factor β Signaling in Monocyte Development. *J. Biol. Chem.* **274**, 23242–23248 (1999).
173. Zhang, Y. *et al.* Vitamin D Inhibits Monocyte/macrophage Pro-inflammatory Cytokine Production by Targeting Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase-1. *J. Allergy Clin. Immunol.* **129**, 2127–2135 (2012).
174. Kundu, R. *et al.* Cell-type-specific modulation of innate immune signalling by vitamin D in human mononuclear phagocytes. *Immunology* **150**, 55–63 (2017).
175. Phillip Koeffler, H., Reichel, H., Bishop, J. E. & Norman, A. W. γ -interferon stimulates production of 1,25-dihydroxyvitamin D3 by normal human macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **127**, 596–603 (1985).
176. Reichel, H., Koeffler, H. P. & Norman, A. W. Synthesis in vitro of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and 24,25-dihydroxyvitamin D3 by interferon-gamma-stimulated normal human bone marrow and alveolar macrophages. *J. Biol. Chem.* **262**, 10931–10937 (1987).
177. Tobler, A., Gasson, J., Reichel, H., Norman, A. W. & Koeffler, H. P. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Sensitive and receptor-mediated regulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in normal human peripheral blood lymphocytes. *J. Clin. Invest.* **79**, 1700–1705 (1987).
178. Tobler, A., Miller, C. W., Norman, A. W. & Koeffler, H. P. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 modulates the expression of a lymphokine (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) posttranscriptionally. *J. Clin. Invest.* **81**, 1819–1823 (1988).
179. Rigby, W. F., Denome, S. & Fanger, M. W. Regulation of lymphokine production and human T lymphocyte activation by 1,25-dihydroxyvitamin D3. Specific inhibition at the level of messenger RNA. *J. Clin. Invest.* **79**, 1659–1664 (1987).

180. Sadeghi, K. *et al.* Vitamin D3 down-regulates monocyte TLR expression and triggers hyporesponsiveness to pathogen-associated molecular patterns. *Eur. J. Immunol.* **36**, 361–370 (2006).
181. Zhou, J., An, H., Xu, H., Liu, S. & Cao, X. Heat shock up-regulates expression of Toll-like receptor-2 and Toll-like receptor-4 in human monocytes via p38 kinase signal pathway. *Immunology* **114**, 522–530 (2005).
182. Dickie, L. J. *et al.* Vitamin D3 down-regulates intracellular Toll-like receptor 9 expression and Toll-like receptor 9-induced IL-6 production in human monocytes. *Rheumatology* **49**, 1466–1471 (2010).
183. Triggiani, M. *et al.* Differentiation of monocytes into macrophages induces the upregulation of histamine H1 receptor. *J. Allergy Clin. Immunol.* **119**, 472–481 (2007).
184. Pochampally, R. R. *et al.* Histamine Receptor H1 and Dermatopontin: New Downstream Targets of the Vitamin D Receptor. *J. Bone Miner. Res.* **22**, 1338–1349 (2007).
185. Tay, H. M., Yeap, W. H., Dalan, R., Wong, S. C. & Hou, H. W. Increased monocyte-platelet aggregates and monocyte-endothelial adhesion in healthy individuals with vitamin D deficiency. *FASEB J.* **34**, 11133–11142 (2020).
186. Szeto, F. L. *et al.* Vitamin D Receptor Signaling Inhibits Atherosclerosis in Mice. *Mol. Endocrinol.* **26**, 1091–1101 (2012).
187. Oh, J. *et al.* Deletion of Macrophage Vitamin D Receptor Promotes Insulin Resistance and Monocyte Cholesterol Transport to Accelerate Atherosclerosis in Mice. *Cell Rep.* **10**, 1872–1886 (2015).
188. Carrelli, A. *et al.* Vitamin D Storage in Adipose Tissue of Obese and Normal Weight Women: Vitamin D in Adipose Tissue of Obese Women. *J. Bone Miner. Res.* **32**, 237–242 (2017).
189. Tenen, D. G. Disruption of differentiation in human cancer: AML shows the way. *Nat. Rev. Cancer* **3**, 89–101 (2003).
190. Hino, C. *et al.* Targeting the Tumor Microenvironment in Acute Myeloid Leukemia: The Future of Immunotherapy and Natural Products. *Biomedicines* **10**, 1410 (2022).

191. Cheng, H.-T., Chen, J.-Y., Huang, Y.-C., Chang, H.-C. & Hung, W.-C. Functional role of VDR in the activation of p27Kip1 by the VDR/Sp1 complex. *J. Cell. Biochem.* **98**, 1450–1456 (2006).
192. Abe, E. *et al.* Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **78**, 4990–4 (1981).
193. Miyaura, C. *et al.* 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ induces differentiation of human myeloid leukemia cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **102**, 937–943 (1981).
194. Ichikawa, Y. Differentiation of a cell line of myeloid leukemia. *J. Cell. Physiol.* **74**, 223–234 (1969).
195. Goldman, R. Induction of a high phagocytic capability in P388D1, a macrophage-like tumor cell line, by 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃. *Cancer Res.* **44**, 11–9 (1984).
196. Honma, Y. *et al.* 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ and 1 α -hydroxyvitamin D₃ prolong survival time of mice inoculated with myeloid leukemia cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **80**, 201–204 (1983).
197. Wang, X., Wang, T., White, J. & Studzinski, G. Expression of human kinase suppressor of Ras 2 (hKSR-2) gene in HL60 leukemia cells is directly upregulated by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and is required for optimal cell differentiation. *Exp. Cell Res.* **313**, 3034–3045 (2007).
198. Wang, X., Patel, R. & Studzinski, G. P. hKSR-2, a vitamin D–regulated gene, inhibits apoptosis in arabinocytosine-treated HL60 leukemia cells. *Mol. Cancer Ther.* **7**, 2798–2806 (2008).
199. Channavajhala, P. L., Rao, V. R., Spaulding, V., Lin, L.-L. & Zhang, Y. G. hKSR-2 inhibits MEKK3-activated MAP kinase and NF- κ B pathways in inflammation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **334**, 1214–1218 (2005).
200. Cao, H. *et al.* Application of vitamin D and vitamin D analogs in acute myelogenous leukemia. *Exp. Hematol.* **50**, 1–12 (2017).
201. Colston, K. W. *et al.* EB1089: A new vitamin D analogue that inhibits the growth of breast cancer cells in vivo and in vitro. *Biochem. Pharmacol.* **44**, 2273–2280 (1992).
202. Nachliely, M., Sharony, E., Kutner, A. & Danilenko, M. Novel analogs of 1,25-dihydroxyvitamin D₂ combined with a plant polyphenol as highly efficient inducers of

- differentiation in human acute myeloid leukemia cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **164**, 59–65 (2016).
203. Pietraszek, A. *et al.* Synthesis and crystallographic study of 1,25-dihydroxyergocalciferol analogs. *Steroids* **78**, 1003–1014 (2013).
204. Shabtay, A. *et al.* Synergistic Antileukemic Activity of Carnosic Acid-Rich Rosemary Extract and the 19-nor Gemini Vitamin D Analogue in a Mouse Model of Systemic Acute Myeloid Leukemia. *Oncology* **75**, 203–214 (2008).
205. Kang, S. N., Lee, M. H., Kim, K.-M., Cho, D. & Kim, T. S. Induction of human promyelocytic leukemia HL-60 cell differentiation into monocytes by silibinin: involvement of protein kinase C. *Biochem. Pharmacol.* **61**, 1487–1495 (2001).
206. Wang, Q., Salman, H., Danilenko, M. & Studzinski, G. P. Cooperation between antioxidants and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in induction of leukemia HL60 cell differentiation through the JNK/AP-1/Egr-1 pathway. *J. Cell. Physiol.* **204**, 964–974 (2005).
207. Sokoloski, J. A., Shyam, K. & Sartorelli, A. C. Induction of the differentiation of HL-60 promyelocytic leukemia cells by curcumin in combination with low levels of vitamin D₃. *Oncol. Res.* **9**, 31–9 (1997).
208. Nachliely, M. *et al.* Dimethyl fumarate and vitamin D derivatives cooperatively enhance VDR and Nrf2 signaling in differentiating AML cells in vitro and inhibit leukemia progression in a xenograft mouse model. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **188**, 8–16 (2019).
209. Garay, E., Donnelly, R., Wang, X. & Studzinski, G. P. Resistance to 1,25D-induced differentiation in human acute myeloid leukemia HL60-40AF cells is associated with reduced transcriptional activity and nuclear localization of the vitamin D receptor. *J. Cell. Physiol.* **213**, 816–825 (2007).
210. Chen-Deutsch, X. & Studzinski, G. P. Dual role of hematopoietic progenitor kinase 1 (HPK1) as a positive regulator of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D-induced differentiation and cell cycle arrest of AML cells and as a mediator of vitamin D resistance. *Cell Cycle* **11**, 1364–1373 (2012).
211. Heaney, R. P., Dowell, M. S., Hale, C. A. & Bendich, A. Calcium Absorption Varies within the Reference Range for Serum 25-Hydroxyvitamin D. *J. Am. Coll. Nutr.* **22**, 142–146 (2003).

212. Holick, M. F. *et al.* Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**, 1911–1930 (2011).
213. Pathak, M. A. & Fanselow, D. L. Photobiology of melanin pigmentation: Dose/response of skin to sunlight and its contents. *J. Am. Acad. Dermatol.* **9**, 724–733 (1983).
214. Anderson, R. R. & Parrish, J. A. The Optics of Human Skin. *J. Invest. Dermatol.* **77**, 13–19 (1981).
215. Holick, M. F., MacLaughlin, J. A. & Doppelt, S. H. Regulation of Cutaneous Previtamin D3 Photosynthesis in Man: Skin Pigment is not an Essential Regulator. *Sci. New Ser.* **211**, 590–593 (1981).
216. Mytton, J. *et al.* Vitamin D deficiency in multicultural primary care: a case series of 299 patients. *Br. J. Gen. Pract.* **57**, 577–579 (2007).
217. MacLaughlin, J. & Holick, M. F. Aging Decreases the Capacity of Human Skin to Produce Vitamin D3. *J. Clin. Invest.* **76**, 1536–1538 (1985).
218. McMurtry, C. T., Young, S. E., Downs, R. W. & Adler, R. A. Mild Vitamin D Deficiency and Secondary Hyperparathyroidism in Nursing Home Patients Receiving Adequate Dietary Vitamin D. *J. Am. Geriatr. Soc.* **40**, 343–347 (1992).
219. Gallagher, J. C. *et al.* Intestinal Calcium Absorption and Serum Vitamin D Metabolites in Normal Subjects and Osteoporotic Patients. *J. Clin. Invest.* **64**, 729–736 (1979).
220. Gepts, W. Pathologic Anatomy of the Pancreas in Juvenile Diabetes Mellitus. *Diabetes* **14**, 619–633 (1965).
221. Hyppönen, E., Läärä, E., Reunanen, A., Järvelin, M.-R. & Virtanen, S. M. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *The Lancet* **358**, 1500–1503 (2001).
222. Zella, J. B., McCary, L. C. & DeLuca, H. F. Oral administration of 1,25-dihydroxyvitamin D3 completely protects NOD mice from insulin-dependent diabetes mellitus. *Arch. Biochem. Biophys.* **417**, 77–80 (2003).
223. Mathieu, C., Waer, M., Laureys, J., Rutgeerts, O. & Bouillon, R. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetologia* **37**, 552–558 (1994).

224. Morró, M. *et al.* Vitamin D Receptor Overexpression in b-Cells Ameliorates Diabetes in Mice. *Diabetes* **69**, 927–939 (2020).
225. Aljabri, K. S., Bokhari, S. A. & Khan, M. J. Glycemic changes after vitamin D supplementation in patients with type 1 diabetes mellitus and vitamin D deficiency. *Ann. Saudi Med.* **30**, 454–458 (2010).
226. Upadhyaya, S., Ståhlberg, T., Silwal, S., Arrhenius, B. & Sourander, A. Maternal Vitamin D Levels during Pregnancy and Offspring Psychiatric Outcomes: A Systematic Review. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 1–21 (2022).
227. Coury, S. M. *et al.* Systematic review and meta-analysis: Season of birth and schizophrenia risk. *Schizophr. Res.* **252**, 244–252 (2023).
228. Kočovská, E., Gaughran, F., Krivoy, A. & Meier, U.-C. Vitamin-D Deficiency As a Potential Environmental Risk Factor in Multiple Sclerosis, Schizophrenia, and Autism. *Front. Psychiatry* **8**, (2017).