

# 维生素 D 生物学效价研究的一些新进展

石文标 谢明 侯水生\* 黄苇 喻俊英

(中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193)

**摘要:** 关于维生素 D 生物学效价的评定方法主要分为生物学方法和化学方法, 然而至今对其没有统一的结论。研究结果大部分显示维生素 D<sub>3</sub> 的效价高于或等于维生素 D<sub>2</sub> 的效价, 且维生素 D<sub>3</sub> 及其代谢产物效价的对比大致为维生素 D<sub>3</sub> ≤ 24, 25 - 二羟基维生素 D<sub>3</sub> [24, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] = 25, 26 - 二羟基维生素 D<sub>3</sub> [25, 26-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] ≤ 25 - 羟基维生素 D<sub>3</sub> [25-(OH)D<sub>3</sub>] ≤ 1, 25 - 二羟基维生素 D<sub>3</sub> [1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]。影响维生素 D 生物学效价的因素有多种, 其内在因素主要包括关键酶的活性及其反馈调节机制、活性维生素 D 的结构与维生素 D 转运蛋白及维生素 D 受体的亲和性差异等; 外在因素主要有试验动物、评价指标及评价方法、光照、维生素 D 载体等。本文主要从维生素 D 生物学效价的评定方法、内在和外在的影响因素方面进行综述, 为相关研究提供一定的参考依据。

**关键词:** 维生素 D; 生物学效价; 评定方法; 影响因素

**中图分类号:** S816

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1006-267X(2012)11-2079-06

对于生物学效价, 即生物学利用率 (bioavailability), Ammerman 等<sup>[1]</sup> 将其定义为动物食入营养素中能被小肠吸收并参与代谢过程或贮存在动物组织中的部分占食入总量的比值。维生素 D 是一种必须经过代谢转变才能达到最佳钙化醇生物活性的脂溶性类固醇衍生物。皮肤合成的维生素 D<sub>3</sub> 或小肠吸收的维生素 D 由维生素 D 转运蛋白 (vitamin D binding protein, DBP) 运输, 需在肝脏 25 - 羟化酶 (CYP2R1) 和肾脏 1 $\alpha$  - 羟化酶 (CYP27B1) 的催化下经 2 次酶促羟化反应形成最终的活性代谢产物 1, 25 - 二羟基维生素 D<sub>3</sub> [1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>], 与维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR) 结合发挥生物学功能。由此可以看出, 维生素 D 的生物学效价受合成、吸收、转运、催化等过程的影响。近年来, 随着对维生素 D 在内分泌、自分泌/旁分泌、免疫调节及信号传导等功能上的深入研究, 其越来越多地作为一种具有激素功能的物质被重新认识<sup>[2]</sup>。因此, 从这一新的视角出发探究维生素 D 及其类似物的生理机制及

生物学效价, 对于传统维生素 D 研究的进一步发展是十分必要的。

## 1 维生素 D 生物学效价的评定方法

### 1.1 生物学方法

生物学方法包括“线谱鉴定”技术、外翻肠囊技术和动物活体试验。“线谱鉴定”技术是通过给患有严重佝偻病的模型动物饲喂维生素 D 饲料一段时间后, 对胫骨近端的钙化程度进行目测评分。此方法很耗时, 并且误差达到 30%。外翻肠囊技术一般是通过给维生素 D 缺乏的动物饲喂 1 次维生素 D, 待 24 h 后测量其肠道内钙转运速率和骨质动员速率的变化情况, 以此评定维生素 D 的生物学效价。动物活体试验是在一定的饲养期内, 用不同形式的维生素 D (通常以维生素 D<sub>2</sub> 或维生素 D<sub>3</sub> 作为标准物) 补饲相同摩尔水平的胆钙化醇活性基团到试验饲料中饲喂试验动物。试验结束后对试验动物的多项敏感生理指标进行测定, 然后用多元线性回归求斜率比等方法对数据进行分

收稿日期: 2012-05-14

作者简介: 石文标 (1988—), 男, 山东济宁人, 硕士研究生, 从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: sqx457@hotmail.com

\* 通讯作者: 侯水生, 研究员, 博士生导师, E-mail: houss@263.net

析整理,计算出不同形式维生素 D 间的相对生物学效价。这种方法简单易行,比较灵敏、准确、客观,但试验要求设定一定的浓度梯度,需使用较多的试验动物,并且所测得的结果只是相对利用率。由于该方法在使用时动物处于自然生长状态,其试验结果对生产实际具有指导意义,可作为其他研究方法的参照基准。

## 1.2 化学方法

化学方法的实质是将碱性皂化过程中维生素 D 的前体物质含量列为内部标准,通过高效液相色谱、竞争结合试验及放射受体分析等一些现代生化分析方法测定每一种维生素 D 代谢物或类似物的生物学活性,从而达到精确量化维生素 D 的目的。化学方法的误差是 7%~8%,但因其需要经过碱性水解、液-液萃取和固相萃样品清理等繁琐步骤<sup>[3-4]</sup>,故此方法也相当费时。由于近 10 年来对 25-羟基维生素 D<sub>3</sub>[25-(OH)D<sub>3</sub>]生物学效价的研究越来越多,因此这种新的方法成为估测维生素 D 生物学效价的首选。

## 2 不同形式维生素 D 的生物学效价比较

从最初的维生素 D<sub>3</sub> 到 25-(OH)D<sub>3</sub> 再到最终代谢产物 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,其生物学活性是成倍递增的。对大多数哺乳动物来说,维生素 D<sub>3</sub> 和维生素 D<sub>2</sub> 发挥着同样的生物学效应,但在禽类上维生素 D<sub>3</sub> 的生物学效价是维生素 D<sub>2</sub> 的 10~30 倍。Armas 等<sup>[5]</sup>研究认为,维生素 D<sub>2</sub> 维持人血清 25-羟基维生素 D[25-(OH)D]水平的效力只有维生素 D<sub>3</sub> 的 30%~50%。这与 Biancuzzo 等<sup>[6]</sup>的研究结果并不一致,他们认为维生素 D<sub>3</sub> 和维生素 D<sub>2</sub> 的生物学效价不相上下,这可能与他们所用维生素 D 制剂的载体不同有关。Winter 等<sup>[7]</sup>在体内和体外的研究试验表明,在促进肠道钙转运上维生素 D<sub>3</sub> 与 25-(OH)D<sub>3</sub> 的生物学效价基本一致。归纳以往的研究结果<sup>[8-10]</sup>,维生素 D<sub>3</sub> 及其代谢产物的生物学效价对比大体上为维生素 D<sub>3</sub> ≤ 24,25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>[24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] = 25,26-二羟基维生素 D<sub>3</sub>[25,26-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] ≤ 25-(OH)D<sub>3</sub> ≤ 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>。

## 3 维生素 D 生物学效价的影响因素

### 3.1 影响维生素 D 生物学效价的内在因素

#### 3.1.1 活性维生素 D 的结构与 DBP 及 VDR 的亲性和

维生素 D<sub>3</sub> 化学结构的改变会导致其与 VDR 结合方式的改变,继而引起 VDR 构象的变化,影响靶基因转录水平的表达,最终改变维生素 D<sub>3</sub> 的生物学效价<sup>[11]</sup>。DBP 作为血清中维生素 D 代谢产物的主要载体,以 3 个主要的多态性形式存在,不同形式的 DBP 对维生素 D 的生物学效价有潜在的影响。最近的研究表明,维生素 D 一些生物学功能的发挥与血清游离的 25-(OH)D 浓度关系更紧密,而非这种代谢产物的总浓度<sup>[12]</sup>。血清 25-(OH)D 的总浓度相对较低时其游离的 25-(OH)D 浓度较高,而 DBP 的高亲和性可能导致游离的 25-(OH)D 浓度的降低<sup>[13]</sup>。除了运输功能外,DBP 能够将血清中维生素 D 代谢产物的循环浓度维持在稳定水平,而且 DBP 可延长维生素 D 及其代谢产物的半衰期,并使得它们更易被靶组织吸收,因此可以影响一些器官的代谢反应,调节生物学效价<sup>[14]</sup>。

维生素 D<sub>3</sub> 的结构改造主要包括侧链的结构改造和 A 环的结构改造。这些结构的改造及构象的修饰能够改变维生素 D 与 DBP 及 VDR 的亲性和,使它们与钙代谢平衡调节、细胞诱导分化和增殖抑制等生物学功能彻底分离,从而影响维生素 D 的生物学活性。有研究表明,1 $\alpha$ -羟基在维生素 D 与 DBP 及 VDR 结合的过程中至关重要,一些基团取代 1 $\alpha$ -羟基后,其类似物的生物活性与 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 相比均有显著降低<sup>[15-16]</sup>。随 C-2 位  $\alpha$ -羟烷基的碳原子数增加,类似物的 VDR 亲和性及诱导细胞分化活性逐步升高,其中  $\alpha$ -羟丙基的 VDR 亲和性最高,为维生素 D<sub>3</sub> 的 3 倍<sup>[17]</sup>。因此,进一步研究活性维生素 D<sub>3</sub> 的构效关系对于维生素 D<sub>3</sub> 生物学效价的研究发展十分必要。

#### 3.1.2 关键酶的活性及其反馈调节机制

维生素 D 的代谢过程中有多种羟化酶发挥作用,其中起关键作用的酶主要是 CYP2R1、CYP27B1 和 24-羟化酶(CYP24)。它们的活性和基因转录表达水平可通过正负反馈调节机制受不同因素的调控。肝脏中的 CYP2R1 被认为是维生素 D 发生 25-羟基化所需的关键酶,CYP2R1

基因发生突变后血清中 25-(OH)D<sub>3</sub> 循环水平降低,并同时出现典型的维生素 D 缺乏症状<sup>[18]</sup>。血清中 25-(OH)D<sub>3</sub> 能够直接抑制 CYP27B1 的活性,这种负反馈调节机制对于维持稳定的血清 25-(OH)D<sub>3</sub> 水平非常重要<sup>[19]</sup>。

CYP27B1 影响维生素 D 代谢产物的生物学效价,低钙磷饲料会导致 CYP27B1 活性的增加<sup>[23]</sup>,而高钙低磷饲料会下调肾脏 CYP27B1 基因表达水平,从而说明饲料钙对 CYP27B1 活性的影响较大,而饲料磷对 CYP27B1 活性的影响不大<sup>[22]</sup>。除此之外,甲状旁腺素(PTH)<sup>[20]</sup>、降钙素<sup>[21]</sup>、催乳素<sup>[24]</sup>也可通过调节 CYP27B1 基因的转录表达而影响 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 的合成。而单核细胞和巨噬细胞中 CYP27B1 的调节机制与肾脏有所不同。由巨噬细胞产生的 CYP27B1 其基因受免疫刺激物(如  $\gamma$ -干扰素和脂多糖)的刺激通过多种途径[如 Janus 激酶/转录激活因子(JAK/STAT)通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)]而上调表达。免疫刺激也需要 CCAAT/增强子结合蛋白  $\beta$ (C/EBP $\beta$ ,又称 NF-IL6)结合到 CYP27B1 启动子区域的识别位点上才能实现对其转录的激活<sup>[25-26]</sup>。这表明动物的自身免疫状态可以通过调控某些免疫细胞中 CYP27B1 基因的转录表达来影响维生素 D 代谢,从而影响维生素 D 的生物学效价。

肾脏中的 CYP24 可以羟基化 25-(OH)D<sub>3</sub> 和 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,其主要功能是降低维生素 D 的生物学活性。CYP24 与 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 之间是相互调节的,1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 刺激 CYP24 活性增强,而低钙和低 PTH 抑制其活性。有研究表明,胎盘中 CYP24 活性的降低可导致胎儿-母体接口处 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 生物学效价的增加<sup>[27]</sup>。而转录因子 C/EBP $\beta$ 、SWI/SNF、辅活化子结合精氨酸甲基转移酶 1(CARM1)和 G9 可与 VDR 共同作用于 CYP24 的转录调控<sup>[28-30]</sup>,成纤维细胞生长因子 23(fibroblast growth factor 23,FGF23)和 klotho 蛋白也可通过调节 CYP27B1 与 CYP24 基因的表达而参与 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 的自动抑制调节,从而影响其生物学功能的发挥<sup>[31]</sup>。

### 3.2 影响维生素 D 生物学效价的外在因素

#### 3.2.1 试验动物及光照

不同种类动物对维生素 D 的吸收利用能力差异很大。维生素 D<sub>2</sub> 和维生素 D<sub>3</sub> 的生物学效价

在不同物种中所测得的结果存在一定的差异,而动物的自身状况(如免疫状态<sup>[32]</sup>、年龄<sup>[33]</sup>、肥胖<sup>[34]</sup>等)也与维生素 D 的生物学效价有关。皮肤中的 7-脱氢胆固醇经紫外线照射形成维生素 D<sub>3</sub> 前体,进而转化成维生素 D<sub>3</sub>。紫外线光照的变化显著影响这一过程,进而影响维生素 D 生物学效价的测定。有研究利用电脑建模技术估测,1 单位最小红斑剂量(MED)的紫外线光照在人体中可以产生相当于口服 16 000 IU 维生素 D 的效力<sup>[38]</sup>。肉鸡光照试验结果表明,皮肤经紫外线照射所产生的胆钙化醇量相当于饲喂 10  $\mu$ g/kg 的 25-(OH)D<sub>3</sub><sup>[40]</sup>或 20  $\mu$ g/kg 的维生素 D<sub>3</sub><sup>[39]</sup>。因此,紫外线照射强度的不同也是导致维生素 D 生物学效价没有一致结论的因素之一。

#### 3.2.2 评价指标及评价方法

在维生素 D 生物学效价的研究试验中,采用不同的测定方法及指标所测得的结果不同,生物学方法所测得的结果比化学方法要低 20% 左右。不同的试验采用的指标各异,主要包括生产性能指标(体重、日增重、采食量和料肉比)、胫骨指标(骨灰分和骨钙磷)、血清指标[钙磷水平、25-(OH)D 水平、碱性磷酸酶活性]、钙吸收代谢指标(肠道钙转运速率、骨钙动员速率)等。近年来,血清 PTH 水平也被作为评定维生素 D 生物学效价的指标之一<sup>[35-36]</sup>。Emily 等<sup>[37]</sup>在鼠上测定维生素 D<sub>2</sub> 与维生素 D<sub>3</sub> 生物学效价时发现,以血清 25-(OH)D 水平为评价指标时维生素 D<sub>2</sub> 的生物学效价低于维生素 D<sub>3</sub>,而以骨矿物质密度、骨矿物质含量等为评价指标时这两者基本相等。因此,评价指标及评价方法的选择对于评价维生素 D 的生物学效价特别重要。

#### 3.2.3 维生素 D 载体

饮食中维生素 D 的载体是不同的,一般包括油、粉末及乙醇。载体对维生素 D 的生物学效价有非常重要的影响<sup>[41]</sup>。有研究报道,乳糖作为维生素 D 载体时其效价是油的 1.09 倍<sup>[42]</sup>,是纤维素的 1.42 倍<sup>[43]</sup>;而油作为维生素 D 载体时其效价是乙醇的 4.25 倍<sup>[44]</sup>,是多维的 1.13 倍<sup>[45]</sup>。乳脂性食品是维生素 D 理想的载体,因为其所含的脂肪成分可以增强脂溶性维生素 D 的稳定性,促进其吸收<sup>[46]</sup>,尤其是奶酪制品中所含的  $\beta$ -乳球蛋白和  $\beta$ -酪蛋白,能够强力结合维生素 D,形成保护性的结构,避免在极性环境中被破坏,从而影

响了维生素 D 的生物学效价<sup>[47-48]</sup>。

#### 4 小 结

随着维生素 D 生物学效价评定方法的不断完善及快速普及,研究的结果也逐步呈现出一致性,但由于某些影响因素的存在导致了一定的差异性,对维生素 D 生物学效价的研究仍然没有统一的结论。因此,确定一个最合适的评价体系是今后研究的重点。此外,随着流行病学、动物学、细胞学、生物化学以及分子遗传学研究的进展,人们对维生素 D 的生物学功能有了更深一步的认识,这为从细胞水平和分子水平上探究维生素 D 生物学效价新的评定方法提供了可能。

#### 参考文献:

- [ 1 ] AMMERMAN C B, BAKER D H, LEWIS A J. Bioavailability of nutrients for animals: amino acids, minerals, and vitamins [ M ]. London: Academic Press, 1995: 5 - 7.
- [ 2 ] VERSTUYF A, CARMELIET G, BOUILLON R, et al. Vitamin D: a pleiotropic hormone [ J ]. *Kidney International*, 2010, 78(2): 140 - 145.
- [ 3 ] CLAUSEN I, JAKOBSEN J, LETH T, et al. Vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in raw and cooked pork cuts [ J ]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2003, 16(5): 575 - 585.
- [ 4 ] MAFF. Food Surveillance information sheet, determination of 25-OH vitamin D in selected foodstuffs [ R ]. London: MAFF, 1997: 101.
- [ 5 ] ARMAS L, HOLLIS B, HEANEY R P. Vitamin D<sub>2</sub> is much less effective than vitamin D<sub>3</sub> in humans [ J ]. *Journal of Clinical Endocrinol Metabolites*, 2004, 89: 5387 - 5391.
- [ 6 ] BIANCUZZO R M, YOUNG A, HOLICK M F, et al. Fortification of orange juice with vitamin D<sub>2</sub> or vitamin D<sub>3</sub> is as effective as an oral supplement in maintaining vitamin D status in adults [ J ]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2010, 91(6): 1621 - 1626.
- [ 7 ] WINTER M, MORAVA E, SIMON G, et al. The effect of vitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxycholecalciferol on intestinal transport of calcium *in vivo* and *in vitro* [ J ]. *Biomedical and Life Sciences: Cellular and Molecular Life Sciences*, 1972, 28(6): 659 - 660.
- [ 8 ] BOYLE I T, OMDAHL J L, GRAY R W, et al. Biological-activity and metabolism of 24, 25-dihydroxyvitamin-D [ J ]. *Journal of Biological Chemistry*, 1973, 248: 4174 - 4180.
- [ 9 ] NORMAN A W, HENRY H. I, 25-dihydroxycholecalciferol—a hormonally active form of vitamin D [ J ]. *Recent Progress in Hormone Research*, 1974, 30: 431 - 480.
- [ 10 ] MIRAVET L, REDEL J, CARRE M, et al. Biological-activity of synthetic 25, 26-dihydroxycholecalciferol and 24, 25-dihydroxycholecalciferol in vitamin-D-deficient rats [ J ]. *Calcified Tissue Research*, 1976, 21(3): 145 - 152.
- [ 11 ] DUSSO A S, BROWN A J, SLATOPOLSKY E. Vitamin D [ J ]. *American Journal of Physiology: Renal Physiology*, 2005, 289(1): F8 - F28.
- [ 12 ] POWE C E, RICCIARDI C, BERG A H, et al. Vitamin D-binding protein modifies the vitamin D-bone mineral density relationship [ J ]. *Journal of Bone Mineral Response*, 2011, 26: 1609 - 1616.
- [ 13 ] CHUN R F, PEERCY B E, ADAMS J S, et al. Vitamin D binding protein and monocyte response to 25-hydroxyvitamin D and 1, 25-dihydroxyvitamin D: a analysis by mathematical modeling [ J ]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30773. doi: 10. 1371/journal. pone. 0030773.
- [ 14 ] GALLIENI M, COZZOLINO M, FALLABRINO G, et al. Vitamin D: physiology and pathophysiology [ J ]. *International Journal of Artificial Organs*, 2009, 32: 87 - 94.
- [ 15 ] POSNER G H, SUH B C, PETERSEN K S, et al. Difluoromethyl analogs of the natural hormone 1 [ alpha ], 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: design, synthesis, and preliminary biological evaluation [ J ]. *Journal of Steroid Biochemistry*, 2007, 103(3/4/5): 213 - 221.
- [ 16 ] OVES D, FERNANDEZ S, FERRERO M, et al. Versatile synthesis and biological evaluation of 1, 3-diamino-substituted 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> analogues [ J ]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2006, 14(4): 928 - 937.
- [ 17 ] SAITO N, SUHARA Y, ABE D, et al. Synthesis of 2 $\alpha$ -propoxy-1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and comparison of its metabolism by human CYP24A1 and rat CYP24A1 [ J ]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2009, 17(13): 4296 - 4301.
- [ 18 ] CHENG J B, LEVINE M A, BELL N H, et al. Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase [ J ]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101: 7711 - 7715.
- [ 19 ] VIETH R. Vitamin D supplementation 1, 25-hydroxyvi-

- tamin D concentrations, and safety [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1999, 69: 842 – 856.
- [20] BISCHOFF H A, GIOVANNUCCI E, WILLETT W C, et al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2006, 84: 18 – 28.
- [21] TANGPRICHA V, PEARCE E N, HOLICK M F. Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults [J]. *American Journal of Medicine*, 2002, 112: 659 – 662.
- [22] GROSSMANN R E, TANGPRICHA V. Evaluation of vehicle substances on vitamin D bioavailability: a systematic review [J]. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2010, 54: 1055 – 1061.
- [23] OMDAHL J L, MORRIS H A, MAY B K. Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation [J]. *Annual Review of Nutrition*, 2002, 22: 139 – 166.
- [24] AJIBADE D V, DHAWAN P, CHRISTAKOS S. Calcitonin: a regulator of the 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 1alpha hydroxylase gene [J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2009 28(17): 11059 – 11069.
- [25] STOFFELS K, OVERBERGH L, BOUILLON R, et al. Immune regulation of 1alpha-hydroxylase in murine peritoneal macrophages: unravelling the IFNgamma pathway [J]. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2007, 103: 567 – 571.
- [26] ESTEBAN L, VIDAL M, DUSSO A. 1alpha-hydroxylase transactivation by gamma-interferon in murine macrophages requires enhanced C/EBPbeta expression and activation [J]. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2004, 89/90: 131 – 137.
- [27] NOVAKOVIC B, SIBSON M, NG H K, et al. Placenta-specific methylation of the vitamin D 24-hydroxylase gene: implications for feedback autoregulation of active vitamin D levels at the fetomaternal interface [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284: 14838 – 14848.
- [28] DHAWAN P, PENG X, SUTTON A L, et al. Functional cooperation between CCAAT/enhancer-binding proteins and the vitamin D receptor in regulation of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 24-hydroxylase [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2005, 25: 472 – 487.
- [29] CHRISTAKOS S, DHAWAN P, SHEN Q, et al. New insights into the mechanisms involved in the pleiotropic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2006, 1068: 194 – 203.
- [30] ZHONG Y, CHRISTAKOS S. Novel mechanism of vitamin D receptor (VDR) activation: histone H3 lysine 9 methyltransferase is a transcriptional coactivator for VDR [J]. *Journal of Bone and Mineral Research*, 2007, 22( Suppl. 1 ): S8.
- [31] KUROSU H, OGAWA Y, MIYOSHI M, et al. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 28: 6120 – 6123.
- [32] CHRISTAKOS S, DARE V A, DHAWAN P, et al. Vitamin D: metabolism [J]. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 2010, 39 ( 2 ): 243 – 253.
- [33] MATKOVITS T, CHRISTAKOS S. Variable *in vivo* regulation of rat vitamin D-dependent genes ( osteopontin, Ca, Mg-adenosine triphosphatase, and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 24-hydroxylase ): implications for differing mechanisms of regulation and involvement of multiple factors [ J ]. *Endocrinology*, 1995, 136: 3971 – 3982.
- [34] WORTSMAN J, MATSUOKA L Y, HOLICK M F. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2000, 72: 690 – 693.
- [35] CALVO M S, GARTHOFF L H, DREHER M, et al. Vitamin D<sub>2</sub> from light-exposed edible mushrooms is safe, bioavailable and effectively supports bone growth in rats [J]. *Osteoporosis International*, 2012. doi: 10.1007/s00198-012-1934-9.
- [36] PILZ S, KIENREICH K, DANIEL S, et al. Associations of sun exposure with 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels in a cohort of hypertensive patients: the graz endocrine causes of hypertension ( GECO ) study [ J ]. *International Journal of Endocrinology*, 2012, 2012: 732636 – 732644.
- [37] EMILY E H, BERDINE R M, PAMELA J L, et al. Bioavailability and efficacy of vitamin D<sub>2</sub> from UV-irradiated yeast in growing, vitamin D-deficient rats [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(6): 2341 – 2346.
- [38] WEBB A R, ENGELSEN O. Ultraviolet exposure scenarios; risks of erythema from recommendations on cutaneous vitamin D synthesis [J]. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2008, 624: 72 – 85.
- [39] EDWARDS H M, ELLIOT M A, BRITTON W M, et

- al. Quantitative requirement for cholecalciferol in the absence of ultraviolet light[J]. Poultry Science, 1994, 73:288-294.
- [40] LEDWABA M F, ROBERSON K D. Effectiveness of twenty-five-hydroxycholecalciferol in the prevention of tibial dyschondroplasia in ross cockerels depends on dietary calcium level[J]. Poultry Science, 2003, 82: 1769-1777.
- [41] HOLICK M F, BIANCUZZO R M, CHEN T C, et al. Vitamin D<sub>2</sub> is as effective as vitamin D<sub>3</sub> in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D[J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2008, 93:677-681.
- [42] SAADI H F, DAWODU A, AFANDI B O, et al. Efficacy of daily and monthly high-dose calciferol in vitamin D-deficient nulliparous and lactating women[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2007, 85: 1565-1571.
- [43] HOLVIK K, MADAR A A, MEYER H E, et al. A randomised comparison of increase in serum 25-hydroxyvitamin D concentration after 4 weeks of daily oral intake of 10 microg cholecalciferol from multivitamin tablets or fish oil capsules in healthy young adults[J]. British Journal of Nutrition, 2007, 98:620-625.
- [44] HEANEY R P, DAVIES K M, HOLICK M F, et al. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol[J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2003, 77:204-210.
- [45] MAALOUF J, NABULSI M, VIETH R, et al. Shortand long-term safety of weekly high-dose vitamin D<sub>3</sub> supplementation in school children[J]. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2008, 93: 2693-2701.
- [46] HOLMBERG I, AKSNES L, BERLIN T, et al. Absorption of a pharmacological dose of vitamin D<sub>3</sub> from two different lipid vehicles in man: comparison of peanut oil and a medium chain triglyceride[J]. Biopharmaceutics Drug Disposition, 1990, 11:807-815.
- [47] FORREST S A, YADA R Y, ROUSSEAU D. Interactions of vitamin D<sub>3</sub> with bovine beta-lactoglobulin A and beta-casein[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53:8003-8009.
- [48] WANG Q, ALLEN J C, SWAISGOOD H E. Binding of vitamin D and cholesterol to beta-lobulinlactog[J]. Journal of Dairy Science, 1997, 80:1054-1059.

## Recent Advances in Assessing Vitamin D Bioavailability

SHI Wenbiao XIE Ming HOU Shuisheng\* HUANG Wei YU Junying

(Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agriculture Sciences, Beijing 100193, China)

**Abstract:** The methods of assessing vitamin D bioavailability are divided into biological assay and specific chemical methods, but so far the methods are still controversial. Most of the research results showed that the potency of vitamin D<sub>3</sub> was higher than or equal to the potency of vitamin D<sub>2</sub>, and the potency of vitamin D<sub>3</sub> active components had such roughly order, vitamin D<sub>3</sub> ≤ 24, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> [24, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] = 25, 26-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> [25, 26(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>] ≤ 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> [25(OH)D<sub>3</sub>] ≤ 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> [1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]. Various factors influencing vitamin D bioavailability include internal factors, such as key enzyme activities and their feedback regulation, and the relationship between the structure of biological active vitamin D and its affinity to vitamin D binding protein or vitamin D receptor, and external factors, such as experimental animals, evaluation indicators, assessing methods, light and vitamin D vehicles. In order to provide references for related studies, assessing methods, internal and external influence factors of vitamin D bioavailability are reviewed in this paper. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2012, 24(11):2079-2084]

**Key words:** vitamin D; bioavailability; assessing methods; influence factors