

# VDR基因Apa I单核苷酸多态性与结直肠癌的相关性研究

左忠朝 吴香丽 张岭

**[摘要]** **目的** 探讨维生素D受体(VDR)基因Apa I位点多态性与结直肠癌的关系。**方法** 检索Medline、PubMed、Embase和ISI Web of Science 数据库,按照既定的纳入标准进行筛选后,采用Meta分析法研究VDR基因Apa I多态性与结直肠癌的关系,本次Meta分析分别采用显性、隐性、等位和相加模型对纳入数据进行分析。所有的分析都采用Stata 11.0软件处理。**结果** 最终纳入9项研究,包括了9 173名受试者(4 396名结直肠癌患者和4 777名对照患者)。VDR基因Apa I多态性与结直肠癌风险相关性OR合并值在显性、隐性、等位和相加模型中分别为1.10(95%CI:0.88~1.39)、0.92(95%CI:0.78~1.09)、1.01(95%CI:0.88~1.15)和0.97(95%CI:0.73~1.28)。按照研究对象的种族、研究对照人群的来源以及Apa I基因频率是否符合HWE将所有纳入人群进行亚组Meta分析。结果显示,三种因素的亚组Meta分析均未发现Apa I多态性与结直肠癌之间存在显著的相关性。经Egger's发表偏倚检验,本次Meta分析不存在显著的发表偏倚。**结论** VDR基因Apa I多态性与结直肠癌之间没有显著相关性。

**[关键词]** 结直肠癌; 维生素D受体; 多态性; Meta分析

**Association between VDR gene Apa I polymorphism and colorectal cancer** ZUO Zhongchao, WU xiangli, ZHANG Ling. Department of Surgery, Hangzhou Jianggan District People's Hospital, Hangzhou 310004, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the association between colorectal cancer and a vitamin D receptor (VDR) gene (Apa I polymorphism). **Methods** Literatures were searched in the databases of Medline, PubMed, Embase and ISI Web of Science, and the retrieved articles screened according the inclusion criterion. Meta-analysis on included data was conducted using dominant, recessive, additive and allelic models. All statistics were calculated by Stata software 11.0. **Results** 9 studies were enrolled finally, including 9173 subjects (4396 colorectal cancer subjects and 4777 control ones). In the combined analysis of all eligible studies, none significant association was identified between Apa I SNP and colorectal cancer risk with pooled odds ratios 1.10 (95% CI: 0.88~1.39), 0.92 (95% CI: 0.78~1.09), 1.01 (95% CI: 0.88~1.15) and 0.97 (95% CI: 0.73~1.28) for dominant, recessive, additive and allelic models respectively. And a similar outcome was drawn from ethnicity, population resource of the controls and Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) subgroup analysis. The Egger's test showed that none publication bias existed in our total or subgroup analysis. **Conclusion** This Meta-analysis of data from published studies did not detect any association between the VDR Apa I gene polymorphism and the risk of colorectal cancer in both overall and subgroup populations.

**[Key words]** colorectal cancer; vitamin D receptor; polymorphism; Meta-analysis

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2016.06.003

项目资助:浙江省医学支撑学科营养学(11-zc03)、浙江省151人才培养

作者单位:310004 浙江杭州, 杭州市江干区人民医院外科(左忠朝);浙江省人民医院生殖内分泌科(吴香丽、张岭)

通讯作者:张岭, Email: zhangling8107@126.com

结直肠癌是全球发病率最高的恶性肿瘤之一,是危害人类健康的重要公共卫生问题<sup>[1]</sup>。近30年来,大量研究表明,维生素D(vitamin D, VD)对结直肠癌具有保护作用<sup>[2,3]</sup>。VD受体(VD receptor, VDR)可广泛表达于结直肠内膜上皮及机体其它组织中,可能直接或间接参与结直肠癌的发生。近年来,大量研究

者关注了 VDR 基因多态性与结直肠癌危险性的关联<sup>[3-6]</sup>,先后研究了 Fok I、Bsm I、Apa I 和 Taq I 等多态性位点。其中有关 Apa I 的研究结果仍不统一<sup>[7-9]</sup>。本次研究采用 Meta 分析的方法来探讨 Apa I VDR 基因多态性与结直肠癌的关系。

## 1 资料与方法

1.1 文献检索策略 检索 Medline、PubMed、Embase 和 ISI Web of Science 数据库,检索公式为 col-orectal cancer AND (ADR OR Vitamin D receptor) AND (polymorphism OR genotype OR variant)。只限于人群研究,检索时限为建库至 2015 年 10 月,语种为英语。来源于同一人群队列的多项研究将选取样本量最大的研究纳入本次分析。

1.2 纳入标准 ①独立的病例对照研究;②有完整的等位基因频率信息;③至少设置结直肠癌组和对照组两组。

1.3 文献质量评价 采用 NOS 量表法来评价病例对照研究的文献质量,包括对象选择、可比性及暴露三组,共 8 个指标:①病例的定义是否充分?②病例的代表性;③对照的选择;④对照的定义;⑤病例与对照的可比性;⑥暴露的确定;⑦两组暴露的确定是否采用了相同的方法;⑧无应答率。评分低于 5 分

可认为该文献质量为低。

1.4 资料提取与分析 由两位作者独立地提取数据(包括纳入文献的一般情况、Apa I VDR 基因多态性与结直肠癌的 OR 值及 95%CI),并进行录入。若研究之间不存在异质性,则使用固定效应模型; $I^2 > 50%$ ,则采用随机效应模型进行分析。统计分析采用 Stata 11.0 软件进行,所有 P 值均为双侧, $P < 0.05$  被认为差异有统计学意义。

1.5 发表偏倚 发表性偏倚则用 Egger's 回归检验来评价, $P < 0.05$  认为存在发表偏倚。

## 2 结果

2.1 纳入研究情况 研究 Apa I VDR 基因多态性与结直肠癌的关系,且符合纳入标准的病例对照研究共 9 个。在这些研究中,2 篇研究人群的基因型分布不符合哈代-温伯格平衡( $P$ 分别为 0.0096 和 0.0304)<sup>[9,10]</sup>。在 2006 年至 2015 年间发表的 9 篇文献中,共包括了 4 396 名结直肠癌患者和 4 777 名对照,人群来源包括亚洲、欧洲和美洲。所有研究中,2 项为亚洲人群,7 项为白种人群;3 项研究的对象人群来源于社区人群,6 项研究来源于医院就诊患者。所有纳入研究的详细信息及文献质量评价见表 1。

表1 本研究中纳入文献详细信息

作者	发表年度	种族	对照来源	样本量 / 例 (病例 / 对照)	平均年龄 / 岁 (病例 / 对照)	男性所占比例 (病例 / 对照)	HWE 检验(P)	NOS 评分 / 分
Park et al <sup>[7]</sup>	2006	亚洲	PCC	190/ 318	NR	NR	>0.05	7
Flugge et al <sup>[11]</sup>	2007	白人	HCC	256/ 256	61.9/62.3	48.0/48.0	>0.05	7
Theodoratou et al <sup>[12]</sup>	2008	白人	PCC	1996/2037	62.0/62.4	57.3/57.0	>0.05	8
Mahmoudi et al <sup>[8]</sup>	2010	白人	HCC	160/ 180	52.7/44.4	52.5/46.7	>0.05	7
Hughes et al <sup>[13]</sup>	2011	白人	HCC	699/ 611	61 /53	NR	>0.05	7
Laczmanska et al <sup>[9]</sup>	2014	白人	HCC	155/ 182	65.7/NR	59.22/NR	>0.05	7
Rasool et al <sup>[10]</sup>	2014	白人	HCC	180/ 188	52.1/51.1	64.4/56.9	<0.05	7
Sarkissyan et al <sup>[14]</sup>	2014	白人*	HCC	75/ 227	55.1/54.9	55.1/37.0	<0.05	7
Takeshige et al <sup>[15]</sup>	2015	亚洲	PCC	685/ 778	60.2/58.6	62.8/63.0	>0.05	8

注: \*: 研究人群中95%以上为白人。HCC: 对照来源于医院就诊人群;PCC: 对照来源于社区人群。NR: 未报道。HWE: 哈代-温伯格平衡。

2.2 Apa I VDR 基因多态性与结直肠癌相关性 分别采用显性、隐性、相加和等位模型对纳入数据进行分析,结果见图 1。

由图 1 可见,在显性、隐性、等位和相加模型分析中,VDR 基因 Apa I 多态性在结直肠癌风险上

的所有 OR 合并值分别为 1.10 (95%CI:0.88~1.39)、0.92 (95%CI:0.78~1.09)、1.01 (95%CI:0.88~1.15) 和 0.97 (95%CI:0.73~1.28)。经 Egger's 发表偏倚检验,本次 Meta 分析不存在明显的发表偏倚,4 种模型的 Egger's 检验  $P$  均  $> 0.05$ 。

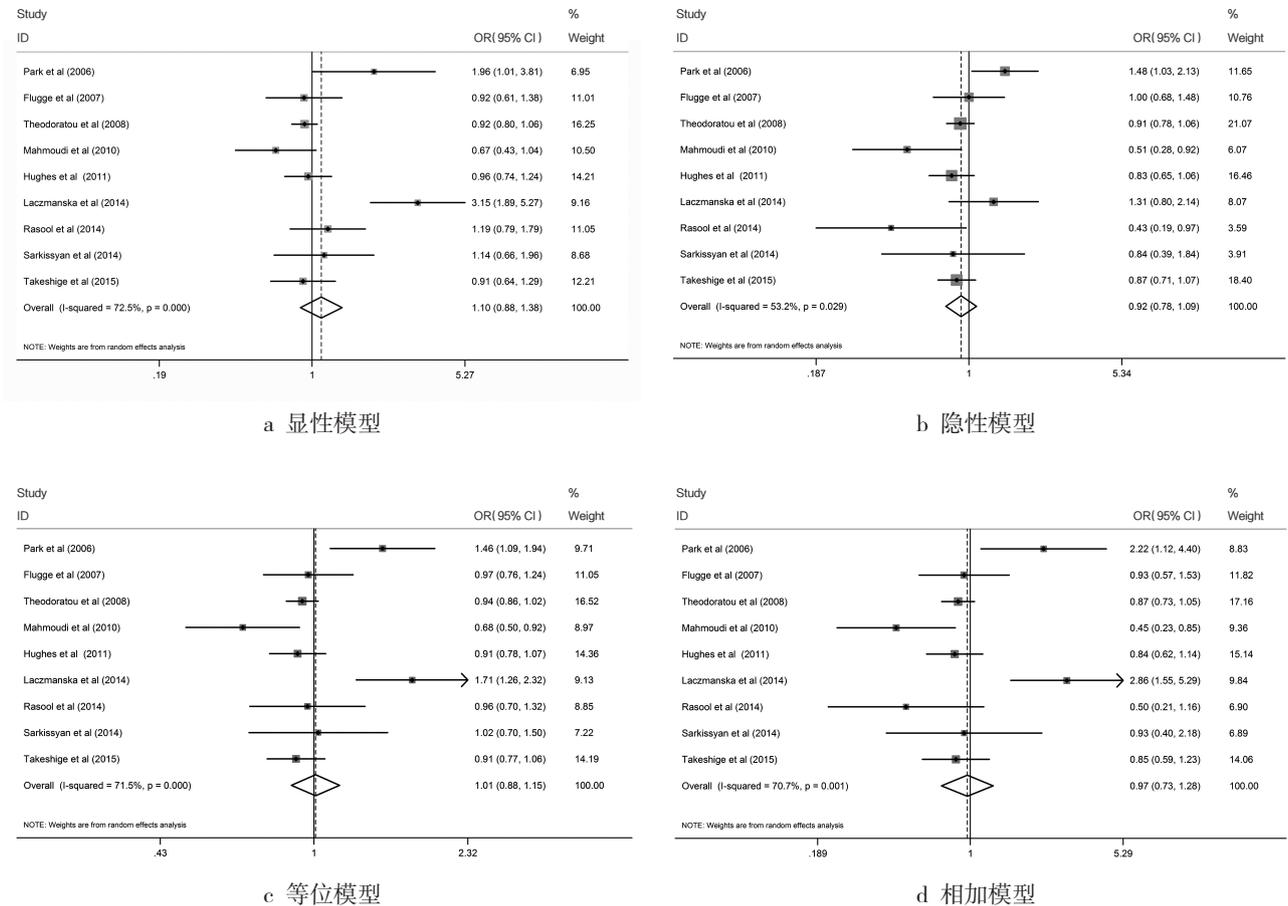


图1 Apa I VDR基因多态性和结直肠癌相关性的森林图

2.3 亚组分析 按照研究对象的种族、研究对照人群的来源以及 Apa I 基因频率是否符合 HWE 将

所有纳入人群分各亚组,并进行 Meta 分析。结果见表 2。

表2 VDR基因Apa I多态性与结直肠癌相关性分析

亚组因素	研究数	样本量 / 例 (病例/对照)	显性模型 *		隐性模型		等位模型		相加模型	
			OR(95% CI)	P						
总人群	9	4396/4777	1.10(0.88~1.39)	>0.05	0.92(0.78~1.09)	>0.05	1.01(0.88~1.15)	>0.05	0.97(0.73~1.28)	>0.05
人种										
亚洲人	2	875/1096	1.26(0.60~2.67)	>0.05	1.12(0.67~1.87)	>0.05	1.01(0.88~1.16)	>0.05	1.32(0.52~3.35)	>0.05
白种人	7	3521/3681	1.10(0.88~1.38)	>0.05	0.86(0.72~1.03)	>0.05	0.95(0.89~1.02)	>0.05	0.90(0.65~1.24)	>0.05
对照来源										
HCC	6	1525/1644	1.14(0.80~1.63)	>0.05	0.83(0.63~1.09)	>0.05	1.00(0.80~1.23)	>0.05	0.90(0.56~1.44)	>0.05
PCC	3	2871/3133	1.03(0.76~1.40)	>0.05	1.00(0.79~1.27)	>0.05	1.03(0.84~1.25)	>0.05	1.05(0.70~1.55)	>0.05
是否符合 HWE										
是	7	4141/4362	1.10(0.84~1.45)	>0.05	0.95(0.80~1.12)	>0.05	1.01(0.87~1.19)	>0.05	1.03(0.75~1.40)	>0.05
否	2	255/ 415	1.10(0.88~1.39)	>0.05	0.61(0.31~1.18)	>0.05	0.99(0.78~1.26)	>0.05	0.68(0.37~1.26)	>0.05

注: \*,采用随机效应模型进行分析。HCC:对照来源于医院就诊人群;PCC:对照来源于社区人群。HWE:哈代-温伯格平衡。

由表2可见,3种因素的亚组分析均未发现 Apa I 多态性与结直肠癌之间存在明显的相关性。

2.4 敏感性分析 在采用逐项剔除法的敏感性分析中,任意剔除一项研究均未引起总合并 OR 值的显著改变,说明本次 Meta 分析结果可靠。

### 3 讨论

VD 是一种参与机体钙磷代谢、细胞增殖、分化、凋亡等事件的微量营养素,其生理作用是通过特异性受体 VDR 来实现的。VDR 基因序列上存在大量的单核苷酸多态性位点。这些多态性对结直肠癌易感性的影响受到学界的广泛关注。由于样本量小,遗传背景与生活环境差异等问题,单次的人群研究比较难以提供确定的结论。因此,Meta 分析有望给出更明确的答案<sup>[3,4,6]</sup>。本次研究结果显示,Apa I VDR 基因多态性与结直肠癌之间没有显著的相关性,这与人群研究和 2 项 Meta 分析结果是相一致的<sup>[6,17]</sup>。在亚组 Meta 分析结果显示,在不同种族人群、不同来源的对照的研究中,Apa I VDR 基因多态性与结直肠癌均无相关性。

在以往发表的 Meta 分析中,研究较为全面的共有 2 项:Bai 等<sup>[6]</sup>的 Meta 分析包括了 5 项研究<sup>[7,8,11,12,18]</sup>,其结果认为 Apa I VDR 基因多态性可能与结直肠癌呈相关性(相加模型与等位模型)。Serrano 等<sup>[17]</sup>Meta 分析也包含了 5 项研究<sup>[7,8,11-13]</sup>,其结果表明 Apa I VDR 基因多态性与结直肠癌无任何相关性(相加模型)。对两次 Meta 分析纳入研究进行详细比对发现,Bai 等<sup>[6]</sup>的分析纳入了 Hubner 等<sup>[18]</sup>的研究,其研究对象为癌症复发与未复发人群,并非结直肠癌人群与非结直肠癌人群,属于错误纳入。此外,Bai 等<sup>[6]</sup>未纳入 Theodoratou 等<sup>[12]</sup>的研究(该研究符合该 Meta 分析的纳入标准)。因此,Bai 等<sup>[6]</sup>的 Meta 分析结论与其它的存在差异,可能与其纳入文献不同有关。在本次纳入的文献中除了 Serrano 等<sup>[17]</sup>纳入的 5 项研究,还有最新发表的 4 项研究<sup>[9,10,14,15]</sup>,最终结果也与 Serrano 等<sup>[17]</sup>的研究结果相一致。因此,综合本次及以往的 Meta 分析可以初步判定,Apa I VDR 基因多态性确与结直肠癌无相关性。

本次研究的 Meta 分析中未发现发表偏倚;敏感性分析中剔除任一研究均不影响结果的稳定性。因此,本次 Meta 分析的结论具有较强的可靠性。由于当前针对该相关性的人群研究数量相对有限,需未来更多的研究予以支持。

### 参考文献

- 1 Ferlay J,Shin H R,Bray F,et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*,2010,127(12): 2893-2917.
- 2 Gorham E D,Garland C F,Garland F C,et al. Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative meta analysis [J]. *Am J Prev Med*,2007,32(3): 210-216.
- 3 Touvier M,Chan D S,Lau R,et al. Meta-analyses of vitamin D intake,25-hydroxyvitamin D status,vitamin D receptor polymorphisms,and colorectal cancer risk[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*,2011,20(5): 1003-1016.
- 4 Raimondi S,Johansson H,Maisonneuve P,et al. Review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk[J]. *Carcinogenesis*,2009,30(7):1170-1180.
- 5 Nassiri M,Kooshyar M M,Roudbar Z,et al. Genes and SNPs associated with non-hereditary and hereditary colorectal cancer[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*,2013,14(10): 5609-5614.
- 6 Bai Y H,Lu H,Hong D,et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a systematic meta-analysis[J]. *World J Gastroenterol*,2012,18(14): 1672-1679.
- 7 Park K,Woo M,Nam J,et al. Start codon polymorphisms in the vitamin D receptor and colorectal cancer risk [J]. *Cancer Lett*,2006,237(2): 199-206.
- 8 Mahmoudi T,Mohebbi S R,Pourhoseingholi M A,et al. Vitamin D receptor gene Apa I polymorphism is associated with susceptibility to colorectal cancer[J]. *Dig Dis Sci*,2010,55(7): 2008-2013.
- 9 Laczmanska I,Laczmanski L,Bebenek M,et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms in relation to the risk of colorectal cancer in the Polish population[J]. *Tumour Biol*,2014,35(12): 12397-12401.
- 10 Rasool S,Kadla S A,Rasool V,et al. Role of the VDR Bsm I and Apa I polymorphisms in the risk of colorectal cancer in Kashmir[J]. *Oncol Res Treat*,2014,37(6): 345-349.
- 11 Flugge J,Krusekopf S,Goldammer M,et al. Vitamin D receptor haplotypes protect against development of colorectal cancer[J]. *Eur J Clin Pharmacol*,2007,63(11): 997-1005.
- 12 Theodoratou E,Farrington S M,Tenesa A,et al. Modification of the inverse association between dietary vitamin D intake and colorectal cancer risk by a FokI variant supports a chemoprotective action of Vitamin D intake mediated through VDR binding[J]. *Int J Cancer*,2008,123(9): 2170-2179.

再次激活,LY294002 具有通过抑制 PI3k/Akt 信号通路活化间接抑制 MAPK/ERK 信号通路再次激活作用;同时,CCK-8 毒性实验提示低浓度索拉菲尼联合 LY294002 作用后,细胞毒性显著增强。因此,本次研究提出低浓度索拉菲尼联合 LY294002 在部分抑制 Raf/MEK/ERK 信号通路基础上进一步通过抑制 PI3k/Akt 信号通路逆转肝癌对索拉菲尼的耐药性,提示低浓度索拉菲尼联合 LY294002 可以协同作用逆转肝癌细胞对索拉菲尼耐药。

综上所述,PI3k/Akt/snail 信号通路在长期索拉菲尼诱导促进肝癌耐药及上皮间质变过程中发挥重要作用,LY294002 具有通过抑制该信号通路活化从而逆转索拉菲尼耐药肝癌上皮间质变作用,LY294002 联合低浓度索拉菲尼可以协同作用逆转肝癌细胞对索拉菲尼耐药、减弱耐药肝癌细胞的迁移、侵袭能力,这种联合治疗方法为克服肝癌对索拉菲尼耐药提供了一种有效的新的治疗思路。

#### 参考文献

- Pascual S, Herrera I, Irurzun J. New advances in hepatocellular carcinoma[J]. World J Hepatol, 2016, 8(9): 421-438.
- Rimassa L, Santoro A. Sorafenib therapy in advanced hepatocellular carcinoma: the SHARP trial[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2009, 9(6): 739-745.
- Cheng AL, Kang YK, Chen Z, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. Lancet Oncol, 2009, 10(1): 25-34.
- Kim DY, Kim HJ, Han KH, et al. Real-life Experience of sorafenib treatment for hepatocellular carcinoma in Korea: from GIDEON data [J]. Cancer Res Treat, 2016, 48(4): 1243-1252.
- Chen J, Jin R, Zhao J, et al. Potential molecular, cellular and microenvironmental mechanism of sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Lett, 2015, 367(1): 1-11.
- Makarova AS, Lazarevich NL. Deregulation of signaling pathways involved in sorafenib resistance of hepatocellular carcinoma[J]. Klin Lab Diagn, 2013, (10): 66-68, 34-67.
- Nishida N, Kitano M, Sakurai T, et al. Molecular mechanism and prediction of sorafenib chemoresistance in human hepatocellular carcinoma[J]. Dig Dis, 2015, 33(6): 771-779.
- Thiery JP, Aceloque H, Huang RY, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease[J]. Cell, 2009, 139(5): 871-890.
- Ombrato L, Malanchi I. The EMT universe: space between cancer cell dissemination and metastasis initiation[J]. Crit Rev Oncog, 2014, 19(5): 349-361.
- Polivka J, Janku F. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. Pharmacol Ther, 2014, 142(2): 164-175.
- Martini M, De Santis MC, Braccini L, et al. PI3K/AKT signaling pathway and cancer: an updated review[J]. Ann Med, 2014, 46(6): 372-383.
- Xia P, Xu XY. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cancer stem cells: from basic research to clinical application[J]. Am J Cancer Res, 2015, 5(5): 1602-1609.  
(收稿日期 2016-06-22)  
(本文编辑 蔡华波)
- Hughes D J, Hlavata I, Soucek P, et al. Variation in the vitamin D receptor gene is not associated with risk of colorectal cancer in the Czech Republic[J]. J Gastrointest Cancer, 2011, 42(3): 149-154.
- Sarkissyan M, Wu Y, Chen Z, et al. Vitamin D receptor FokI gene polymorphisms may be associated with colorectal cancer among African American and Hispanic participants[J]. Cancer, 2014, 120(9): 1387-1393.
- Takehige N, Yin G, Ohnaka K, et al. Associations between vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms and colorectal cancer risk and effect modifications of dietary calcium and vitamin D in a Japanese population[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(5): 2019-2026.
- Gandini S, Gnagnarella P, Serrano D, et al. Vitamin D receptor polymorphisms and cancer[J]. Adv Exp Med Biol, 2014, 810(1): 69-105.
- Serrano D, Gnagnarella P, Raimondi S, et al. Meta-analysis on vitamin D receptor and cancer risk: focus on the role of Taq I, Apa I, and Cdx 2 polymorphisms [J]. Eur J Cancer Prev, 2016, 25(1): 85-96.
- Hubner R A, Muir K R, Liu J F, et al. Dairy products, polymorphisms in the vitamin D receptor gene and colorectal adenoma recurrence[J]. Int J Cancer, 2008, 123(3): 586-593.  
(收稿日期 2016-03-14)  
(本文编辑 蔡华波)

(上接第 611 页)