

• 综述 •

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2014.06.13

维生素 D 及其检测与腺癌*

吕晓楠¹ 蔡良良¹ 叶辉铭^{1,2} 郑立谋^{1,3} 曾骥孟¹ (1. 厦门大学药学院制药与转化医学中心, 福建厦门 361005; 2. 厦门大学附属中山医院临床检验中心, 福建厦门 361004; 3. 厦门艾德生物科技有限公司, 福建厦门 361001)

摘要: 维生素 D (VitD) 是人体必需的重要物质, 其经典生理作用为参与钙磷代谢, 维持骨骼代谢平衡。近年来, 流行病学调查研究表明, VitD 水平与多种腺癌的患病率相关, 补充 VitD 后可降低腺癌的发生和骨转移的发生率。针对乳腺、前列腺、甲状腺等腺癌的研究也发现, VitD 通过与其受体结合后, 作用于下游靶基因, 产生一系列与肿瘤发生、发展相关的生物学效应, 预示其在临床肿瘤检验中具有重要意义。

关键词: 维生素 D; 腺癌; 骨转移; 肿瘤标志物; 风险评估

中图分类号: R446

文献标志码: A

早在 100 多年前, 维生素 D (vitamin D, VitD) 对钙磷代谢和维持骨代谢平衡的调节作用就被发现。临床上 VitD 水平的检测广泛应用于佝偻病、软骨症、骨质疏松等骨代谢异常疾病的辅助诊断和治疗监测。流行病学调查资料表明 VitD 缺乏与多种慢性疾病发生相关。在生物学方面, VitD 参与腺癌的发生、发展。

1 VitD 的来源与代谢

VitD 是一类脂溶性类固醇衍生物, 有 5 种形式: 维生素 D₁ (VitD₁)、VitD₂、VitD₃、VitD₄ 和 VitD₅, 其中来源于酵母菌中的 VitD₂ 和来源于动物皮下的 VitD₃ 与人类健康关系较密切。一般状况下, 正常人体每天接受充足的阳光, 便可合成人体需求量 90% 的 VitD; 通过饮食和营养 (牛奶、海鱼、鱼肝油等) 可补给人体 10% 的 VitD, 此时的 VitD 是无活性的。在人体内, 无活性的 VitD 与 VitD 结合蛋白或脂蛋白结合后运送到肝脏, 经 VitD-25-羟化酶 (即 CYP27A1) 催化形成 25-(OH) VitD; 25-(OH) VitD 是血浆中 VitD 的主要循环形式, 常作为评估个体 VitD 营养状况水平的检测指标 (参考值为 75 ~ 150 nmol/L)^[1]。在肾脏中, 25-(OH) VitD 经 25-(OH) VitD-1 α -羟化酶 (即 CYP27B1) 的催化作用, 形成具有生物学活性的 1, 25-(OH)₂ VitD。研究发现 25-(OH)₂ VitD-1 α -羟化酶不仅存在于肾脏, 也存在于前列腺、乳腺、直肠等多种组织细胞中, 故 VitD 主要通过两条途径在体内发挥作用: 一条是内分泌途径, 通过血液中的 1, 25-(OH)₂ VitD 调节全身性的钙稳定状态; 另一条是自分泌或旁分泌途径, 通过局部的 1, 25-(OH)₂ VitD 和 VitD 受体发挥作用, 参与细胞增殖、分化以及免疫调节等生物学过程^[2]。最后, 1, 25-(OH)₂ VitD 通过诱导 25-(OH) VitD-24-羟化酶 (即 CYP24A1) 的表达, 催化 25-(OH) VitD 和 1, 25-(OH)₂ VitD 形成水溶、无活性的胆骨化醇排出体外^[3]。

2 VitD 与腺癌流行病学研究

20 世纪 80 年代, Garland 两兄弟^[4]通过调查美国不同纬

度地区直肠癌死亡率和阳光照射量的关系, 首次发现阳光照射增加人体内 VitD 的含量, 降低癌症患病风险。随后, 很多流行病学研究开始聚焦于癌症发生率/死亡率与体内 VitD 水平之间的关系。在沙特阿拉伯、阿联酋、土耳其、澳大利亚、印度和黎巴嫩等多国的相关研究中^[5-8], 发现当 25-(OH) VitD 水平在 50 nmol/L 以下时, 乳腺癌、结肠癌和前列腺癌的患病风险增加 30% ~ 50%。欧洲的一项研究结果显示, 近 25% 乳腺癌死亡率发生在高纬度地区, 统计结果显示其与高纬度阳光照射时间短相关, 预示 VitD 缺乏与乳腺癌的高死亡率相关^[9]。另有研究显示, 室外工作较室内工作的男性患前列腺癌相对晚 3 ~ 5 年^[3]。Grant 等^[10]研究显示, 血清 25-(OH) VitD 水平 130 nmol/L 与 25 nmol/L 相比可降低 50% 的乳腺癌的发病风险; 85 nmol/L 与 15 nmol/L 相比, 可降低 50% 的结肠癌的发病风险。一项针对 1 954 例男性群体的前瞻性调查研究表明, VitD 摄入量与结肠癌风险呈直接关系, 当以 VitD 摄入量 6 ~ 94 IU/d 的相对风险为 1.0, 则摄入量 233 ~ 652 IU/d 时相对风险为 0.53 ($P < 0.05$)^[11]。但 Stolzenberg-Solomon 等^[12]针对 952 例的胰腺癌患者血液中 25-(OH) VitD 的水平进行检测, 结果却恰好相反: 25-(OH) VitD 高水平 (100 nmol/L) 较低水平者胰腺癌的发病风险升高了 2 倍。Grant 的研究^[10]也发现 VitD 摄入量与乳腺癌和结肠癌发生的受抑制相关, 且 25-(OH) VitD 的最佳水平应 > 100 nmol/L, 当其水平升至 250 nmol/L 时, 可发挥更大的抑制癌症发生的作用。综上所述, 多种癌症 (乳腺癌、结肠癌、直肠癌等) 的发病风险与体内 VitD 水平相关, 补充 VitD 可降低肿瘤发病风险; 但不是所有的调查均如此 (如上述胰腺癌)。因此, 有营养学家建议依据个体阳光照射、年龄、性别、体重以及 VitD 基本水平, 每日补充 2 000 ~ 4 000 IU 的 VitD 以维持人体 25-(OH) VitD 水平在 100 nmol/L 以上^[13]。

VitD 抗肿瘤发生、发展的效应除与年龄、女性绝经状况以及肿瘤特征相关外, 还与 VDR 基因多态性密切联系^[14]。VDR 基因的 Fok I 与 FF 基因型相比, 乳腺癌发病风险增

* 基金项目: 国家自然科学基金 (81272445); 厦门市科技局国家对台科技合作项目 (350Z20121153)。

作者简介: 吕晓楠, 1987 年生, 女, 硕士, 研究方向为转化医学。

通信作者: 曾骥孟, 教授, E-mail: cmtzeng@xmu.edu.cn。

加 14%。而 Bsm I Bb 与 bb 基因型相比,前列腺癌发病风险降低 17%^[15]。因此, VDR 基因变异与 VitD 缺乏均可抑制 1, 25-(OH)₂ VitD 对于细胞生长的正常调控,导致腺癌的发生风险增高。

3 VitD 抗肿瘤发生、发展的潜在分子机制

VitD 活性产物为 1, 25-(OH)₂ VitD, 其受体即为 VitD 受体 (vitamin D receptor, VDR), 属核受体, 其编码基因位于第 12 条染色体长臂 13-14 区。1, 25-(OH)₂ VitD 与 VDR 结合后, 促使 VDR 与维甲酸 X 受体 (retinoid X receptor, RXR) 形成异二聚体, 继而作用于靶基因上的 VitD 反应元件 (vitamin D-responsive elements, VDREs), 达到调节靶基因的表达的作用。有研究用 1, 25-(OH)₂ D₃ 预处理未分化的 4 株甲状腺癌细胞系, 72 h 后细胞系细胞数量被抑制了 24%~36%, 处理 120 h 后细胞株细胞数量最大被抑制了 60%。在 G₀~G₁ 周期停滞的细胞数量增加, 转录因子 *E2F1* mRNA 的表达减少, 最终导致细胞增殖被抑制^[16]。VitD 通过一系列机制来影响乳腺癌的骨转移: VitD 不足增加甲状旁腺素 (PTH) 分泌, 增加的 PTH 通过作用于成骨细胞 PTH 受体来提高 NF-κB 配体的受体激活因子 (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL) 的表达, 从而激活破骨细胞以利于骨吸收。而乳腺癌细胞不断分泌的甲状旁腺激素相关肽 (parathyroid hormone related peptide, PTHrP) 可以起到与 PTH 类似作用, 干扰 OPG/RANKL/RANK 细胞信号途径, 打破成骨细胞和破骨细胞间平衡, 导致溶骨性损害, 继而使骨基质分泌促生长因子, 如转化生长因子-β、IGF 等。这些促生长因子可以加速肿瘤的进一步生长^[17]。

研究发现, 受 VitD 直接或间接影响的基因有 229 个^[18], 而这些基因被证明与一系列疾病 (主要为癌症) 相关, 其参与的分子机制包括: (1) 促进抑癌基因 *Rb*、*p107* 和 *p130* 等的表达, 抑制细胞增殖; (2) 抑制 EGFR 及其介导的细胞生长调节信号通路; (3) 降低抗凋亡因子 (*bcl-2*, *bcl-XL*) 表达, 增加促凋亡因子 (*bax*, *bak*) 的表达等来促进恶性细胞凋亡; (4) 调节 VEGF 和 E-cadherin 等表达, 抑制血管生成, 阻止恶性细胞转移; (5) 抑制与癌症形成相关的炎症反应基因 (*COX-2*, *MKP5* 等), 从而降低癌症的患病风险。

4 25-(OH) VitD 作为腺癌临床检验的风险指标及其检测方法

结合前述, VitD 与多种腺癌的发生发展有着密切的关系, 其检测可作为临床腺癌的风险指标。而 VitD 在体内不稳定, 会进一步代谢生成 25-(OH) VitD 和 1, 25-(OH)₂ VitD, 相比 1, 25-(OH)₂ VitD 仅有 15 h 半衰期, 血清中 25-(OH) VitD 半衰期为 2 周, 在体内相对稳定, 具有较好的指示性^[19], 在血液采集后 24 °C 存储可稳定 72 h^[20]。因此, 通常检测血清中 25-(OH) VitD 来评估人体内 VitD 水平。

目前, 检测人体内 25-(OH) VitD 方法主要有理化检验方法和免疫学方法两大类。理化检验方法包括液相色谱-质谱联用技术 (LC-MS) 和高效液相色谱技术 (HPLC) 等。免疫学方法包括放射免疫测定 (RIA)、竞争蛋白结合测定 (CPBA)、化学发光 (CLIA)、电化学发光 (ECLIA) 和酶联免疫测定 (EIA) 等^[20-21]。相比较免疫学方法, 理化方法检测结果稳定

可靠, 因此通常将 HPLC 作为 VitD 检测的“金标准”方法。但理化方法繁琐费时, 设备要求高, 血清样本量需求大, 需要专业培训的技术人员准确操作, 且 LC-MS 无法区分 25-(OH) VitD₃ 及其非活性同分异构体, 并不适合临床常规检验。免疫学方法具有灵敏、快速、特异、简便等优点, 在临床检验上应用较为广泛。

VitD 的含量检测用于反映人体骨代谢性疾病 (一般为佝偻病) 的状况, 目前尚未有基于 VitD 水平用以检测腺癌的发生风险的产品。基于此, 本实验室正着手测试一套用于腺癌风险评估的免疫学检测 25-(OH) VitD 水平的方法, 目前已完成 25-(OH) VitD₃ 人工完全抗原的合成与鉴定^[22]。

5 问题与展望

VitD 与多种腺癌发生发展甚至是骨转移之间的关系逐渐被发掘, 越来越多的研究都表明 VitD 缺乏会增加腺癌的患病和骨转移风险, 但是 VitD 和癌症临床检验之间的研究也存在一些不足和困难: (1) 当前关于 VitD 与多种腺癌发生率和致死率的研究中, 并非所有研究者均考虑影响 VitD 水平的各种因素, 如饮食、年龄、性别、女性绝经状况等; (2) 免疫学检测方法仍然存在如维生素结合蛋白干扰等问题, 特别是在特殊人群, 不同检测方法间结果差异较大^[23]; (3) 在涉及到某一地区的某一种腺癌疾病的流行病学研究时仍有一定的争议; (4) 除了血清 VitD 水平, VitD 受体以及 VitD 代谢通路的主要酶也与 VitD 生物学效应密切相关。

为了明确 VitD 对腺癌的预测作用, 首先, 大样本的前瞻性研究至关重要, 且研究应将饮食、运动、阳光照射等影响因素综合考虑。其次, 免疫学检测的缺点, 应通过不断的方法学改进予以克服。最后, 应同时进行与 VitD 相关基因的分子标志物的研究。

6 参考文献

- [1] Larsen ER, Mosekilde L, Foldspang A. Vitamin D and calcium supplementation prevents osteoporotic fractures in elderly community dwelling residents: a pragmatic population-based 3-year intervention study [J]. *J Bone Miner Res*, 2004, 19(3): 370-378.
- [2] Lappe JM. The role of vitamin D in human health: a paradigm shift [J]. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 2011, 16(1): 58-72.
- [3] Holick MF. Vitamin D deficiency [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(3): 266-281.
- [4] Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? [J]. *Int J Epidemiol*, 1980, 9(3): 227-231.
- [5] Sedrani SH. Low 25-hydroxyvitamin D and normal serum calcium concentrations in Saudi Arabia: Riyadh region [J]. *Ann Nutr Metab*, 1984, 28(3): 181-185.
- [6] Marwaha RK, Sripathy G. Vitamin D & bone mineral density of healthy school children in northern India [J]. *Indian J Med Res*, 2008, 127(3): 239-244.
- [7] El-Hajj Fuleihan G, Nabulsi M, Choucair M, et al. Hypovitaminosis D in healthy schoolchildren [J]. *Pediatrics*, 2001, 107(4): E53.
- [8] McGrath JJ, Kimlin MG. Vitamin D insufficiency in south-east Queensland [J]. *Med J Aust*, 2001, 174(3): 150-151.
- [9] Grant WB. Ecologic studies of solar UV-B radiation and cancer mor-

- tality rates [J]. *Recent Results Cancer Res* ,2003 ,164: 371-377.
- [10] Grant WB. Relation between prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D level and incidence of breast , colorectal , and other cancers [J]. *J Photochem Photobiol B* ,2010 ,101 (2) : 130-136.
- [11] Rheim DS , Baylink DJ , Olafsson S. Prevention of colorectal cancer with vitamin D [J]. *Scand J Gastroenterol* ,2010 ,45 (7-8) : 775-784.
- [12] Stolzenberg-Solomon RZ , Jacobs EJ , Arslan AA. Circulating 25-hydroxyvitamin D and risk of pancreatic cancer: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers [J]. *Am J Epidemiol* ,2010 ,172 (1) : 81-93.
- [13] Welsh J. Cellular and molecular effects of vitamin D on carcinogenesis [J]. *Arch Biochem Biophys* ,2012 ,523 (1) : 107-114.
- [14] Bertone-Johnson ER. Vitamin D and breast cancer [J]. *Ann Epidemiol* ,2009 ,19 (7) : 462-467.
- [15] 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.
- [16] Gavrilov V , Leibovich Y , Ariad S , *et al.* A combined pretreatment of 1 ,25-dihydroxyvitamin D₃ and sodium valproate enhances the damaging effect of ionizing radiation on prostate cancer cells [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol* ,2010 ,121 (1-2) : 391-394.
- [17] Chiang AC , Massague J. Molecular basis of metastasis [J]. *N Engl J Med* ,2008 ,359 (26) : 2814-3823.
- [18] Vanoirbeek E , Krishnan A , Eelen G , *et al.* The anti-cancer and anti-inflammatory actions of 1 ,25 (OH)₂D₃ [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* ,2011 ,25 (4) : 593-604.
- [19] Cai LL , Ye HM , Lv XN , *et al.* 25-(OH) VitD₃ , as a risk indicator in diagnosis of adenocarcinoma [J]. *Curr Drug Targets* ,2013 ,14 (11) : 1367-1376.
- [20] Hollis BW. Measuring 25-hydroxyvitamin D in a clinical environment: challenges and needs [J]. *Am J Clin Nutr* ,2008 ,88 (2) : 507s-510s.
- [21] Holick MF. Vitamin D status: measurement , interpretation , and clinical application [J]. *Ann Epidemiol* ,2009 ,19 (2) : 73-78.
- [22] Wan WW , Zhang HJ , Ye HM , *et al.* Synthesis and identification of artificial complete antigen 25-hydroxyvitamin D(3) [J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* ,2011 ,27 (11) : 1173-1175.
- [23] Heijboer AC , Blankenstein MA , Kema IP , *et al.* Accuracy of 6 routine 25-hydroxyvitamin D assays: influence of vitamin D binding protein concentration [J]. *Clin Chem* ,2012 ,58 (3) : 543-548.

(收稿日期:2014-02-24 修回日期:2014-04-17)

(本文编辑:王海燕 陈维忠)

• 读者 • 作者 • 编者 •

临床检验杂志开设稿件处理“快速通道”

为满足具有重大发现的论文、基金资助论文、研究生论文等需要加快处理的要求,本刊特设“快速通道”,对符合要求的论文采用快速审稿流程,在收稿2个月内将论文审稿结果(发表或修改后发表、按普通稿件处理、退稿)告知作者,一般在收稿后6个月内(需修改者在收到修改稿后3个月左右)予以刊登。“快速通道”论文投稿要求:(1)具有重大发现的论文、基金资助论文、研究生论文等需要加快处理的论文,可以进入“快速通道”处理;(2)提供说明论文需通过“快速通道”发表理由的书面申请,同时提供有资质的查新机构出具的“查新报告”;(3)论文应符合本刊《投稿须知》的要求,并附至少1位具高级职称的同行专家推荐意见;(4)作者可推荐1~2名审稿专家(需注明其详细联系方式,包括E-mail)供编辑部参考。(5)提供作者的通讯地址、电话、手机、传真、E-mail等联系方式。进入“快速通道”的稿件,需交纳审稿费每篇200元。汇款至南京市中央路42号临床检验杂志编辑部,附言中请务必注明“快速通道审稿费”。

《临床检验杂志》编辑部