临床研究 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000899

血清 25-(OH)D_3、胰岛素抵抗与甲状腺乳头状癌的相关性研究

蒋燕燕，张会娟
（郑州大学第一附属医院内分泌与代谢科，郑州 450052）

【摘 要】**目的**：探讨血清 25-(OH)D_3、胰岛素抵抗与甲状腺乳头状癌（papillary thyroid carcinoma，PTC）的相关性。**方法**：随机选取 2014 年 9 月至 2015 年 9 月于郑州大学第一附属医院诊断为 PTC 的患者 358 例作为观察组，同期健康体检者 290 例作为正常对照组，检测其血清 25-(OH)D_3、空腹血糖、空腹胰岛素水平及研究 PTC 肿瘤组织中 B 型 RAF 基因 V600E（$BRAF^{V600E}$）表达情况，采用独立样本 t 检验、Logistic 回归分析及 Pearson 相关性分析进行数据统计分析。**结果**：①PTC 组与正常对照组比较：25-(OH)D_3 水平较低（P=0.000），胰岛素抵抗指数（insulin resistance index，IRI）较高（P=0.000）。②PTC 组间比较：有淋巴结转移者的血清 25-(OH)D_3 水平及平均年龄低于无淋巴结转移者（P=0.000、P=0.002），有 $BRAF^{V600E}$ 突变者的血清 25-(OH)D_3 水平低于无 $BRAF^{V600E}$ 突变者（P=0.000）；IRI 在 PTC 有淋巴结转移者或 $BRAF^{V600E}$ 突变者较高（P=0.000）；PTC 患者 25-(OH)D_3 水平与 IRI 未见明显相关。③二元 logistic 回归分析表明：女性、高胰岛素抵抗是 PTC 的危险因素（P=0.006、P=0.001），高 25-(OH)D_3 是 PTC 保护因素（P=0.000）。**结论**：高 25-(OH)D_3 可能是 PTC 的保护因素，改善胰岛素敏感性可能有助于预防 PTC 的发生发展。

【关键词】25-(OH)D_3；胰岛素抵抗；$BRAF^{V600E}$；甲状腺乳头状癌
【中图分类号】R581.9 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-10-13

Correlation of 25-hydroxy vitaminD3 and insulin resistance with papillary thyroid carcinoma

Jiang Yanyan, Zhang Huijuan
(*Department of Endocrinology and Metabolism, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University*)

【Abstact】***Objective***: To investigate the correlation of 25-hydroxyvitaminD$_3$ and insulin resistance with papillary thyroid carcinoma (PTC). ***Methods***: Totally 358 patients diagnosed with PTC from September 2014 to September 2015 in the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University were randomly selected and taken as observation group and 290 healthy volunteers as control group. The 25-hydoxy vitaminD$_3$, fasting blood glucose, fasting insulin of all the members were detected and the expression of $BRAF^{V600E}$ in PTC was explored. Independent-sample t test, Pearson correlation analysis and logistic regression analysis were used. ***Results***: ①Significant lower 25-hydoxy vitaminD$_3$ concentration (P=0.000) and higher insulin resistance index (IRI) were found in the PTC group (P=0.000). ②A significant decrease in 25-hydoxy vitaminD$_3$ concentration, age (P=0.000, P=0.002) and increase in IRI (P=0.000) were found in patients with lymph node metastasis or $BRAF^{V600E}$; 25-hydoxy vitaminD$_3$ concentration had no relation with IRI in patients with PTC. ③Binary logistic regression analysis showed high insulin resistance and female were risk factors for PTC, while high 25-hydoxy vitaminD$_3$ was protective factor. ***Conclusion***: High 25-hydoxy vitaminD$_3$ may be a protective factor for PTC. Improving the insulin sensitivity may help prevent the occurrence and development of PTC.

【Key words】25-hydoxy vitamin D$_3$; insulin resistance; $BRAF^{V600E}$; papillary thyroid carcinoma

内分泌系统最常见的恶性肿瘤为甲状腺癌，根据病理类型分为：乳头状癌（papillary thyroid carcinoma，PTC）、滤泡状癌（follicular thyroid carcinoma，FTC）、髓样癌（medullary thyroid carcinoma，MTC）和未分化癌（anaplastic thyroid carcinoma，ATC），其中以 PTC 最多见，约占全部甲状腺癌的 60%~80%。近年来，甲状腺癌发病率急速增长，尤其以 PTC 升高较为显著，据美国甲状腺协会报道[1]，2014 年甲状腺

作者介绍：蒋燕燕，Email：823096796@qq.com，
研究方向：甲状腺乳头状癌的危险因素研究。
通信作者：张会娟，Email：zhanghuijuan1108@163.com。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160322.1136.004.html（2016-03-22）

癌患者新增 63 000 例，而 2009 年仅新增 37 200例。目前 PTC 的主要治疗方式为手术切除，这不仅增加了患者及社会的经济负担，同时因为严重的术后并发症而使患者的生活质量严重下降，因此寻求 PTC 发生发展中的危险因素并加以预防显得尤为重要。最近有研究[2]表明，PTC 的发生发展与维生素 D 缺乏、胰岛素抵抗密切相关，但国内外有关此方面的研究仍较少，本研究首次将 PTC 与 $BRAF^{V600E}$、25-(OH)D_3、胰岛素抵抗指数（insulin resistance index，IRI）等临床指标进行综合分析以探求 PTC 发生发展中的影响因素。

1 资料与方法

1.1 研究对象

随机选取 2014 年 9 月至 2015 年 9 月于郑州大学第一附属医院行甲状腺切除术且常规病理切片诊断为 PTC 的患者 358 例作为观察组，年龄 18~75 岁，平均(44.02 ± 11.79)岁，男 80 例，女 278 例；其中有淋巴结转移者 90 例，无淋巴结转移者 268 例。另选取同期健康体检者 290 例作为正常对照组，年龄 18~75 岁，平均(43.92 ± 13.98)岁，男 100 例，女 190 例。排除指标：肝肾功能异常、甲状旁腺功能异常、近期服用影响骨代谢的药物、肾上腺皮质功能亢进症及减退症、糖尿病、感染、骨质疏松（采用骨密度仪测定）、其他系统肿瘤及自身免疫性疾病等。

1.2 研究方法

1.2.1 血清 25-(OH)D_3 及 IRI 测定 所有被研究对象血标本采集前禁食>12 h，应用日本日立公司 7600-020 全自动生化分析仪检测空腹血糖；应用德国罗氏 cobase411 全自动免疫分析仪，电化学发光免疫分析法检测血清 25-(OH)D_3（正常值>18 ng/mL）、放射免疫法测定空腹胰岛素（正常范围 2.5~7.1 μU/mL）。IRI 的计算：HOMA-IR=FPG(mmol/L) × Fins(mμ/L)/22.5。

1.2.2 基因突变检测 （试剂盒由厦门艾德生物医药科技有限公司提供）从 PTC 石蜡包埋病理组织中选取含有肿瘤细胞的区域作为检测样本，进行 DNA 的提取及纯化，利用特异引物对突变靶序列进行 PCR 扩增，进行 BRAF 基因 V600E 体细胞突变（即 1799T>A）检测。

1.3 统计学处理

所有资料应用 SPSS 17.0 统计分析软件进行处理，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。首先进行方差齐性检验，两组间比较采用 t 检验；对 PTC 发生影响因素进行二元 logistic 回归分析，采用逐步向前法建立 logistic 回归方程，变量引入水准设置为 0.05，剔除水准设置为 0.10。血清 25-(OH)D_3 水平与 IRI 的相关性采用 Pearson 相关性分析。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 PTC 组与正常对照组

2 组年龄相比较差异无统计学意义（t=-0.090，P=0.928）；PTC 组血清 25-(OH)D_3 水平较正常对照组 25-(OH)D_3 水平低（t=7.73，P=0.000），PTC 组 IRI 较正常对照组高（t=-4.33，P=0.000）（表 1）。

2.2 PTC 组内比较

2.2.1 有无淋巴结转移者比较 有淋巴结转移者血清 25-(OH)D_3 水平明显低于无淋巴结转移者的血清 25-(OH)D3 水平（t=-5.750，P=0.000）；有淋巴结转移者的平均年龄明显低于无淋巴结转移者（t=-3.190，P=0.002）；有淋巴结转移者 IRI 较无淋巴结转移者高（t=7.900，P=0.000）（表 2）。

表 1 PTC 组与正常对照组指标比较（$\bar{x} \pm s$）

Tab.1 Comparison between normal and PTC（$\bar{x} \pm s$）

组别	例数	性别(男/女)	年龄（岁）	25-(OH)D_3(ng/mL)	IRI
正常组	290	100/190	43.9 ± 14.0	19.10 ± 5.66	0.965 ± 0.187
PTC组	358	80/278	44.0 ± 11.8	15.80 ± 5.00	1.030 ± 0.220
t 值	-	-	-0.090	7.730	-4.330
P 值	-	-	0.928	0.000	0.000

表 2 PTC 有无淋巴结转移间比较（$\bar{x} \pm s$）

Tab.2 Comparison between PTC with and without lymph node metastasis（$\bar{x} \pm s$）

组别	例数	性别(男/女)	年龄（岁）	25-(OH)D_3(ng/mL)	IRI
PTC有淋巴结转移	90	24/66	40.4 ± 13.0	13.30 ± 4.68	1.180 ± 0.191
PTC无淋巴结转移	268	56/212	45.2 ± 11.1	16.70 ± 4.82	0.985 ± 0.207
t 值	-	-	-3.190	-5.750	7.900
P 值	-	-	0.002	0.000	0.000

表 3 PTC 有无 BRAF 基因突变组间比较（$\bar{x}\pm s$）

Tab.3 Comparison between PTC with and without BRAF genetic mutation（$\bar{x}\pm s$）

组别	例数	性别（男/女）	年龄（岁）	25-(OH)D_3(ng/mL)	IRI
PTC有 BRAF 基因突变	300	67/233	43.8 ± 11.2	15.30 ± 4.91	1.080 ± 0.196
PTC 无 BRAF 基因突变	58	13/45	45.0 ± 14.6	18.60 ± 4.52	0.809 ± 0.199
t 值	-	-	-0.589	-4.740	9.520
P 值	-	-	0.558	0.000	0.000

表 4 PTC 影响因素二元 logistic 分析（$\bar{x}\pm s$）

Tab.4 Binary logistic analysis of the influence factors of PTC（$\bar{x}\pm s$）

因素	β	S_E	Waldχ^2 值	P 值	OR 值	95%CI
性别	0.518	0.187	7.670	0.006	1.679	1.160 ~ 2.420
年龄（岁）	0.003	0.006	0.289	0.591	1.003	0.991 ~ 1.020
IRI	1.360	0.413	10.900	0.001	3.907	1.740 ~ 8.790
25-(OH)D_3(ng/mL)	-0.106	0.017	41.000	0.000	0.899	0.871 ~ 0.929
常量	0.170	0.616	0.076	0.783	1.180	-

注：女性作为参照组

2.2.2 有无 $BRAF^{V600E}$ 突变者比较 有 $BRAF^{V600E}$ 突变者血清 25-(OH)D_3 水平低于无 $BRAF^{V600E}$ 突变者血清 25-(OH)D_3 水平（t=-4.740，P=0.000）；2 组间年龄比较差异无统计学意义（t=-0.589，P=0.558）；有 $BRAF^{V600E}$ 突变者 IRI 较无 $BRAF^{V600E}$ 突变者高（t=9.520，P=0.000）（表 3）。

2.2.3 血清 25-(OH)D_3 水平与 IRI 的相关性分析 Pearson 相关性分析结果：r=-0.222，P=0.000，提示血清 25-(OH)D_3 水平与 IRI 呈弱负相关。

2.3 PTC 影响因素分析

所有研究对象以是否为 PTC 为因变量，性别、年龄、IRI、25-(OH)D_3 为自变量，进行二元 logistic 回归分析，结果表明：性别（女性）、IRI 是 PTC 的危险因素，25-(OH)D_3 为其保护因素（表 4）。

3 讨 论

外周血中的 25-(OH)D_3 是维生素 D 的主要循环形式，代表体内维生素 D 的储备水平。在体内维生素 D 除了参与经典的钙、磷代谢外，还参与机体的自身免疫反应及细胞的分化和增殖。Davis[3]于 2008 年明确指出肿瘤的发生、发展、预后与维生素 D 及其代谢产物 25-(OH)D_3 或 1,25-$(OH)_2D_3$、维生素 D 受体密切相关。

关于维生素 D 与 PTC 的关系，目前国内外研究均较少。Roskies 等[4]于 2012 年发现维生素 D 缺乏会使甲状腺恶变率增加。本研究发现 PTC 患者血清中 25-(OH)D_3 水平明显低于正常对照组，提示低 25-(OH)D_3 可能与 PTC 的发生有一定关系。进一步研究发现，有淋巴结转移的 PTC 患者血清中 25-(OH)D_3 水平明显低于无淋巴结转移者，说明 25-(OH)D_3 有可能具有抑制 PTC 淋巴结转移的作用，这与其他学者在乳腺癌、结肠癌、前列腺癌等其他恶性肿瘤中的研究结果一致[5-7]。对于年轻的 PTC 患者是否更易发生淋巴结转移目前尚存在争议，本研究结果显示 PTC 患者发生淋巴结转移者年龄较未发生转移者小，而俞甲子等[8]认为年龄较大者更易发生淋巴结转移，因此需要多中心、大样本的临床研究进一步证实。

胰岛素抵抗是代谢综合征的重要组成部分，是肿瘤形成的重要危险因素[9]，患有代谢综合征的病人，其甲状腺结节患病率明显增加[10]，RezzÓnico 等[11]认为胰岛素可通过促进甲状腺上皮细胞的分化而促进腺体体积的增大及结节、甲状腺癌的形成。Gursoy[12]也认为胰岛素抵抗可增加分化型甲状腺癌的发生。研究证明胰岛素促进甲状腺上皮细胞增殖及抗凋亡的效应是通过 IGF-1 介导的[13]。本研究采用稳态模型评估法（HOMA）计算 IRI（HOMA-IR），结果发现 PTC 患者 IRI 显著高于正常对照组，这与既往研究结果[9-10]认为胰岛素抵抗与 PTC 的发生有关一致。同时无淋巴结转移的 PTC 患者 IRI 明显低于有淋巴结转移者，提示胰岛素抵抗不仅参与 PTC 的发生同时与 PTC 的淋巴结转移有关。

近年来发现丝裂原活化的蛋白激酶（mitrogen-activated protein kinase，MAPK）通路的激活与 PTC 的发生和进展有密切关系，而 BRAF 基因的突变可

以引起 MAPK 信号通路的激活，并向下游传递细胞有丝分裂信号，导致 PTC 的形成[14]。BRAF 基因，是 RAF 基因家族成员，含 18 个外显子，编码由 783 个氨基酸组成的分子量约 94 kD 的 BRAF 激酶。在各种甲状腺癌中，BRAF 基因突变仅发生于 PTC 和 PTC 来源的未分化癌。第 15 外显子单个碱基的错义突变(T1799A)占 BRAF 基因突变种类的 90%以上，突变导致第 600 位密码子对应的缬氨酸(Val)被谷氨酸(Glu)替代即 $BRAF^{V600E}$。汪杰等人[15]认为在 PTC 中 BRAF 基因突变与肿瘤高分期、腺体外浸润及淋巴结转移呈正相关，而与患者年龄及肿瘤大小无明显相关。本研究根据 PTC 患者有无 BRAF 基因突变分为 2 组，并进行年龄、性别、25-(OH)D_3、IRI 的组间比较，结果发现 2 组之间年龄及性别差异无统计学意义，这与汪杰等人的研究[14]结果一致，同时本研究首次将 BRAF 基因与25-(OH)D_3、IRI 等临床指标综合分析后发现 2 组之间25-(OH)D_3、IRI 具有统计学差异，提示低 25-(OH)D_3、胰岛素抵抗与 BRAF 基因突变有一定关联。

二元 logistic 回归分析也显示，胰岛素抵抗是 PTC 的危险因素，25-(OH)D_3 为其保护因素，因此进一步推测血清 25-(OH)D_3、胰岛素抵抗可能与 PTC 的肿瘤分期、淋巴结转移及预后有关。

本研究调查的 PTC 发病率男女之比为 1:3.48，具有明显的性别差异。同时二元 logistic 回归分析认为女性是 PTC 的危险因素，这与以往文献报道一致[16]。研究发现甲状腺上皮细胞存在三种雌激素受体，分别为雌激素受体 α(estrogen receptor a，ERa)，雌激素受体 β(estrogen receptor β，ERβ)，及 G 蛋白耦联受体 30(G—protein-coupled receptor 30，GPR30)。胞内受体 ERa、ERβ 与雌二醇(17β-estradiol，E2)结合后形成稳定的二聚体，然后与雌激素反应原件结合激活靶基因的转录和表达；跨膜受体 GPR30 与 E2 结合后可以激活蛋白酶和磷酸酶并增加跨膜离子流，E2 介导的上述反应可促进甲状腺上皮细胞的生长及增殖，这与 PTC 在女性中高发有关[16]。

综上所述，25-(OH)D_3 缺乏和胰岛素抵抗可能在 PTC 的发生、发展和预后中起重要作用，由此推测，是否可以通过补充维生素 D 或其类似物及减轻胰岛素抵抗等方式来降低 PTC 发病率并改善其预后。

参 考 文 献

[1] Siegel R，Ma J，Zou Z，et al. Cancer statistics，2014[J]. CA Cancer J Clin，2014，64(1)：9-29.

[2] Sahin M，Ucan B，Ginis Z，et al. Vitamin D3 levels and insulin resistance in papillary thyroid cancer patients[J]. Med Oncol，2013，30(2)：589-594.

[3] Davis CD. Vitamin D and cancer：current dilemmas and future research needs[J]. Am J Clin Nutr，2008，88(2)：565-569.

[4] Roskies M，Dolev Y，Caqlar D，et al. Vitamin D deficiency as a potentially modifiable riskfactor for thyroid cancer[J]. Otolaryngol Head Neck Surg，2012，41(3)：160-163.

[5] Chung M，Balk EM，Brendel M，et al. Vitamin D and calcium：a systematic review of health outcomes[R]. Evid Rep Technol Assess，2009(183)：1-420.

[6] Salvatore C. Vitamin D3 in cancer prevention and therapy:the nutritional issue[J]. Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation，2015，23(3)：71-78.

[7] Kriebitzsch C，Verlinden L，Eelen G，et al. The impact of 1，25(OH)2D_3 and its structural analogs on gene expression in cancer cells a microarray approach[J]. Anticancer Res 2009，29(9)：3471-3483.

[8] 俞甲子，王雅平，贝一冰，等. cNO 甲状腺乳头状癌中央区淋巴结转移的危险因素分析[J]. 中华普通外科杂志，2014，29(3)：195-198.

[9] Ben-Shmuel S，Rostoker R，Scheinman EJ，et al. Metabolic Syndrome，Type 2 diabetes，and cancer：epidemiology and potential mechanisms[J]. Handb Exp Pharmacol. 2016，233：355-372.

[10] Ayturk S，Gursoy A，Kut A，et al. Metabolic syndrome and its components are associated with increased thyroid volume and nodule prevalence in a mild-to-moderate iodine-deficient area[J]. 2009，161(4)：599-605.

[11] RezzÓnico J，Rezzonico M，Pusiol E，et al. Introducing the thyroid gland as another victim of the insulin resistance syndrome[J]. Thyroid，2008，18(4)：461-464.

[12] Gursoy A. Rsing thyroid cancer incidence in the world might be related to insulin resistance[J]. Med Hypotheses，2010，74(1)：35-36.

[13] Vella V，Pandini G，Sciacca L，et al. A novel autocrine loop involving IGF-II and the insulin receptor isoform-A stimulates growth of thyroid cancer[J]. J Clin Endocrinol Metab，2002，87(1)：245-254.

[14] Kim SJ，Lee KE，Myong JP，et al. BRAF V600E mutation is associated with tumor aggressiveness in papillary thyroid cancer[J]. World J Surg，2012，36(2)：310-317.

[15] 汪 杰，吴高松，马小鹏. 甲状腺肿瘤组织中 BRAF 基因突变及临床意义[J]. 中华实验外科杂志，2011，28(7)：1102-1104.

[16] Santin AP，Furlanetto TW. Role of estrogen in thyroid function and growth regulation [J/OL]. J Thyroid Res，2011，http://dx.doi.org/10.4061/2011/875125.

（责任编辑：张辉洁）