

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.00984

# 叶酸预防结直肠腺瘤复发作用的 Meta 分析

邓尚新<sup>1</sup>,洪尚游<sup>1</sup>,安 薇<sup>1</sup>,高 杰<sup>1</sup>,蔡全才<sup>2\*</sup>

1. 第二军医大学长海医院消化内科, 上海 200433
2. 第二军医大学临床流行病学与循证医学中心, 上海 200433

**[摘要]** **目的** 探讨补充叶酸与结直肠腺瘤复发风险的关系。**方法** 计算机检索 Cochrane 图书馆临床对照试验资料库、Pubmed、Embase、CBMdisc、CNKI 等数据库, 手工检索相关文献, 纳入结直肠腺瘤切除后人群补充叶酸与安慰剂的随机对照研究(RCT)。评价质量及提取资料后, 采用 RevMan 5.0.24 软件对腺瘤及进展期腺瘤复发风险进行合并。**结果** 共纳入 6 项 RCT 研究, 2 002 例患者。分析提示:腺瘤复发风险在补充叶酸与安慰剂之间差异无统计学意义[RR=0.97, 95% CI (0.79, 1.19), P=0.76];而进展期腺瘤的复发风险, 两组间存在统计学差异[RR=1.33, 95% CI(1.01, 1.74), P=0.04], 该效应在补充叶酸 1 mg/d、≥3 年时已出现[RR=1.49, 95%CI(1.07, 2.09), P=0.02]。**结论** 补充叶酸未能显示出减少结直肠腺瘤复发风险的作用, 可能增加了进展期腺瘤的复发风险。

**[关键词]** 结直肠肿瘤; 腺瘤; 叶酸; 复发; Meta 分析

**[中图分类号]** R 735.34 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2010)09-0984-06

## Folic acid supplementation in prevention of colorectal adenoma recurrence: a meta-analysis

DENG Shang-xin<sup>1</sup>, HONG Shang-you<sup>1</sup>, AN Wei<sup>1</sup>, GAO Jie<sup>1</sup>, CAI Quan-cai<sup>2\*</sup>

1. Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Center for Clinical Epidemiology and Evidence-based Medicine, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the role of folic acid supplementation in prevention of colorectal adenoma recurrence.  
**Methods** We conducted computer search of the Cochrane Central Register of Clinical Trails, Pubmed, Embase, CBMdisc and CNKI. Hand search of relevant journals and conference proceedings was also conducted. Based on the predefined inclusion and exclusion criteria, randomized controlled trials(RCT) about folic acid in treatment of patients after adenoma resection were included in the present study. After evaluating the quality of studies, meta-analyses were performed by RevMan 5.0.24 software for the pooled recurrence risks of colorectal adenoma and progressive colorectal adenoma. **Results** A total of 6 RCT studies, including 2,002 patients, were enrolled in this study. The results of meta-analysis showed that the recurrence risks of colorectal adenomas were not significantly different between folic acid supplementation and placebo groups [RR=0.97, 95%CI(0.79, 1.19), P=0.76]; but there were significant differences in the risks of progressive adenomas between the two groups[RR=1.33, 95%CI (1.01, 1.74), P=0.04]; and this effect of folic acid supplementation appeared when 1 mg/d folic acid supplementation was applied for ≥3 years [RR=1.49, 95%CI(1.07, 2.09), P=0.02]. **Conclusion** Folic acid supplementation fails to reduce the risk of colorectal adenoma recurrence, and it might increase the recurrence risk of advanced adenoma.

**[Key words]** colorectal neoplasms; adenoma; folic acid; recurrence; Meta-analysis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2010, 31(9):984-989]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球第3大恶性肿瘤,其发生和发展受环境、饮食、生活习惯以及遗传因素的影响。研究发现,大多数CRC遵循“正常黏膜-早期腺瘤-进展期腺瘤-癌”的发生过程<sup>[1]</sup>,而于腺瘤阶段予以干预(如内镜或手术切除),

能有效预防CRC的发生及发展<sup>[2]</sup>;但随着时间的推移,腺瘤仍会复发。

化学预防是减少CRC发生的另一重要方法。叶酸作为DNA合成和甲基化的必需元素,是备受关注的潜在预防性药物之一。动物研究发现,叶酸

**[收稿日期]** 2010-04-27 **[接受日期]** 2010-07-21

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30771838)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (30771838).

**[作者简介]** 邓尚新, 博士生。E-mail: dengwm3@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81873188; E-mail: qccai1026@gmail.com

在 CRC 发生中具有重要的作用<sup>[3]</sup>;而流行病学研究认为,叶酸缺乏会增加 CRC 发生的风险,补充叶酸可能具有预防作用<sup>[4-5]</sup>。基于结肠腺瘤在 CRC 发展中的特殊地位及内镜治疗后仍会复发的事实,不少研究者将叶酸应用于腺瘤切除术后的患者,期望其可以降低腺瘤复发风险,然而结论并不一致<sup>[6-10]</sup>。近期一项大型前瞻性随机对照研究(RCT)提示,叶酸并不能减少腺瘤复发的风险,其保护作用可能在基础叶酸水平较低的人群显效<sup>[11]</sup>。因此,本研究在文献检索的基础上对当前存在争议的 RCT 结果进行 Meta 分析,进一步探讨补充叶酸在预防结肠腺瘤复发中的作用。

## 1 资料和方法

### 1.1 文献纳入和排除标准

1.1.1 纳入标准 (1)原始资料为前瞻性随机对照实验,双盲设计,语言无限制。(2)研究对象为既往结肠腺瘤患者,已行内镜切除并经病理证实。(3)治疗组仅予以叶酸补充剂治疗,对照组使用安慰剂治疗。(4)叶酸剂型、剂量不受限制,补充疗程 $\geq 1$ 年。

1.1.2 排除标准 (1)结肠非腺瘤性息肉患者;(2)CRC 术后患者;(3)家族性腺瘤性息肉病(FAP)或炎症性肠病患者(IBM);(4)肝肾功能不全或怀疑肠道吸收功能障碍患者。

1.1.3 结局及分析指标 腺瘤和进展期腺瘤复发患者数,分别计算腺瘤及进展期腺瘤的复发相对危险度(RR)。

1.2 检索策略 计算机检索 Cochrane 图书馆临床对照试验资料库, Pubmed, EMBASE, CBMdisc, CNKI 等数据库,检索范围从数据库建库时间至 2010 年 4 月。英文检索词: folic acid, folate, folacin, placebo, supplementation, colorectal adenoma, recurrence, randomized clinical trial。中文检索词: 叶酸、安慰剂、补充、结肠腺瘤、复发、随机对照研究。

1.3 纳入研究的筛选 由 2 名研究人员独立阅读所获得文献的题目和摘要,剔除明显不符合纳入标准的研究,对可能符合纳入标准的研究进行全文阅读后确定。依据纳入和排除标准确定最终纳入研究的文献,然后交叉核对;意见不一致时,通过讨论或征求第三方意见解决。

1.4 质量评价及资料提取 由 2 名研究人员依据 Jüni 等<sup>[12]</sup>和 Cochrane 系统评价员手册(4.2.2 版)推荐的质量评价标准评价纳入研究的质量:(1)随机方法;(2)隐蔽分组序列;(3)盲法;(4)失访及其

处理。资料提取包括研究的基本情况、样本量、治疗措施、剂量、疗程、复发患者数。

1.5 统计学处理 采用 Cochrane 协作网 RevMan 5.0.24 软件进行 Meta 分析。计数资料采用 RR 为分析统计量,RR 以 95% 可信区间(CI)表示, $\chi^2$  检验分析研究组间的异质性。当两组研究无统计学异质性( $P \geq 0.1$ ,  $I^2 \leq 50\%$ ),采用固定效应模型;如存在统计学异质性( $P < 0.1$ ,  $I^2 > 50\%$ ),采用随机效应模型。各亚组间无统计学异质性( $P \geq 0.05$ ,  $I^2 \leq 70\%$ ),采用固定效应模型进行分析;若存在统计学异质性( $P < 0.05$ ,  $I^2 > 70\%$ ),采用随机效应模型分析。异质性源于低质量研究,如果存在明显异质性,则寻找异质性原因,进行敏感性分析,确保研究质量;同时对文章发表偏倚进行评估。

## 2 结果

2.1 文献检索结果及纳入研究的特征 文献筛查结果(图 1)表明:经初筛获得 7 篇文献,复筛排除重复分析数据 1 篇,最终纳入 6 篇 RCT<sup>[6-11]</sup>,均为英文文献。6 篇 RCT 涵盖 2 381 例研究对象,其中退出、失访、终止治疗及死亡 379 例,实际纳入 2 002 例。干预措施为实验组单用叶酸(剂量 0.5 mg/d、1 mg/d、5 mg/d),对照组单用安慰剂;随访时间 1~6.5 年。

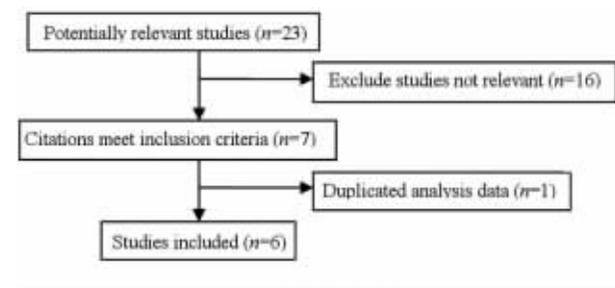


图 1 文献筛选流程图

Fig 1 Flowchart of literature search

2.2 纳入研究质量评价及说明 纳入的 RCT 为随机对照、双盲设计研究,临床研究同质性较好。Paspatis 等<sup>[6]</sup>研究未对随机法和分组进行详细说明,随访中无人员脱落。其余 5 项研究采取计算机随机、随机数或随机分层方法进行分组,并对失访进行干预处理。Kim 等<sup>[7]</sup>和 Jaszewski 等<sup>[10]</sup>研究未详细说明隐蔽分组序列。Cole 等<sup>[8]</sup>研究分 2 个阶段,按既定纳入与排除标准,第 1 阶段研究仅纳入叶酸(1 mg/d,  $n=170$ )与安慰剂( $n=169$ )组;第 2 阶段研究中剔除了阿司匹林的可能协同效用,重新随机分配叶酸和安慰剂组。经研究小组讨论和分析认

为,第2阶段研究可视为独立RCT研究,予以纳入分析。Jaszewski等<sup>[10]</sup>研究数据为人均腺瘤复发个数,腺瘤复发人数通过Carroll等<sup>[13]</sup>研究获得;进展期腺瘤复发人数,经与作者联系未能获得。

2.3 补充叶酸与腺瘤复发风险 Meta分析提示,研究组间存在统计学异质性,故采用随机效应模型分析(图2)。结果显示:补充叶酸不具有减少腺瘤复发风险的作用[RR=0.97,95%CI(0.79,1.19), $P=0.76$ ],与安慰剂组相比差异无统计学意义。依据补充剂量进行亚组分析(图2A),叶酸( $\leq 1$  mg/

d)对腺瘤的复发无保护作用[RR=1.06,95%CI(0.92,1.23), $P=0.43$ ],两亚组间差异无统计学意义;叶酸 $> 1$  mg/d亚组RR=0.67,95%CI(0.24,1.82),与安慰剂相比差异无统计学意义( $P=0.43$ )。依据随访时间进行亚组分析(图2B),叶酸补充( $\leq 3$ 年)的作用与安慰剂相比差异无统计学意义[RR=0.89,95%CI(0.63,1.27), $P=0.53$ ];叶酸补充( $> 3$ 年)的结论与前者相似,不具备腺瘤的防护作用[RR=1.01,95%CI(0.78,1.31), $P=0.95$ ]。

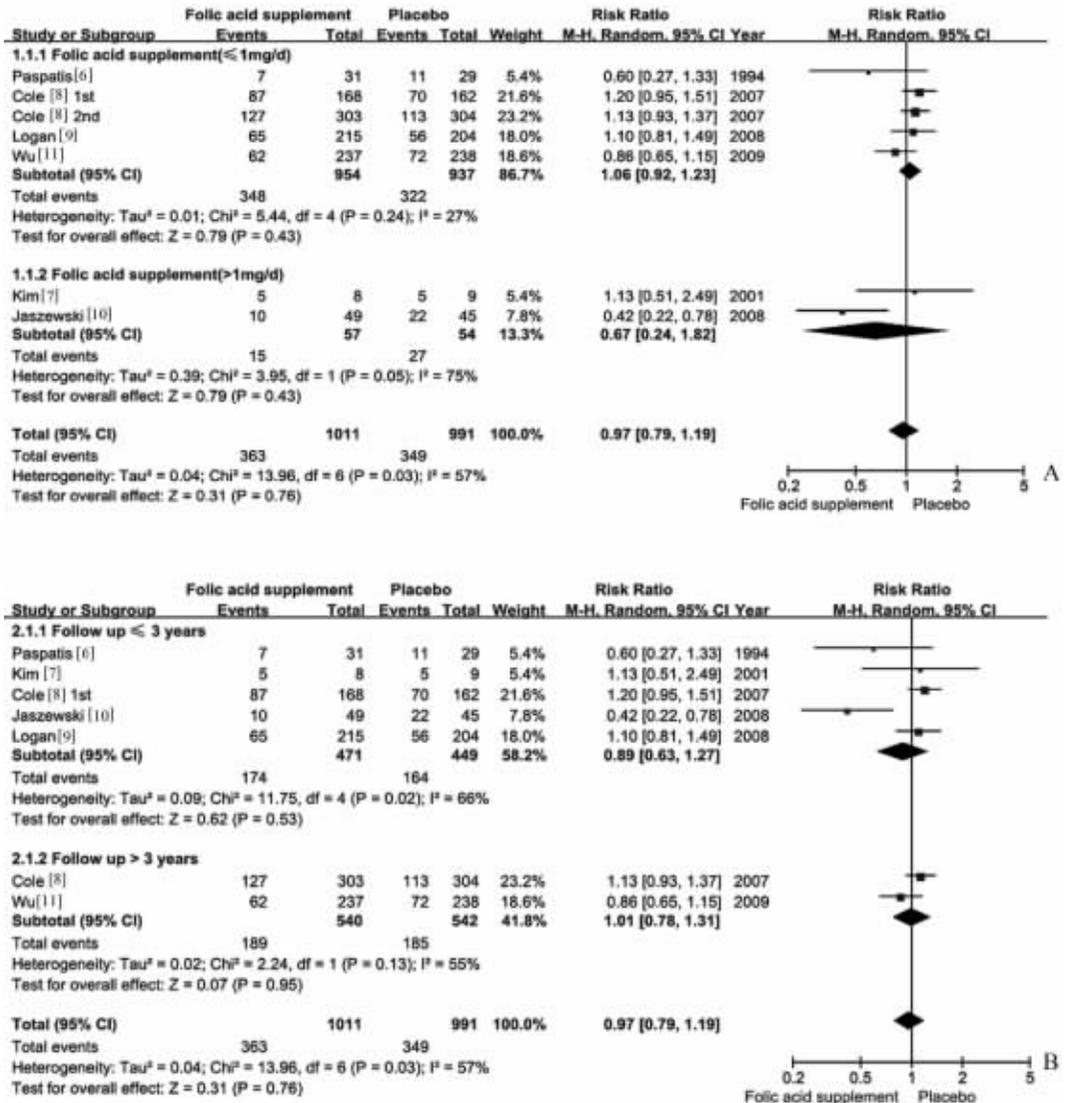


图2 叶酸补充与腺瘤复发风险的Meta分析

Fig 2 Meta-analysis of relationship between adenoma recurrence and folic acid supplementation

A: Dosage-subgroup analysis; B: Interval-subgroup analysis

2.4 补充叶酸与进展期腺瘤复发风险 采用固定效应模型分析提示,补充叶酸可能促进了进展期腺瘤的复发[RR=1.33,95%CI(1.01,1.74), $P=0.04$ ],与安慰剂组相比差异有统计学意义(图3)。

依据时间效应分析(图3B),干预 $\leq 3$ 年亚组与安慰剂组相比差异无统计学意义[RR=1.30,95%CI(0.91,1.87), $P=0.15$ ]; $> 3$ 年亚组与前者相似[RR=1.35,95%CI(0.91,2.03), $P=0.14$ ];但两

时间亚组均提示补充叶酸具有促进进展期腺瘤复发的趋势。进一步分析, 叶酸剂量为 1 mg/d、随访时间

≥3 年时, 已提示促进进展期腺瘤复发的风险[RR=1.49, 95% CI(1.07, 2.09), P=0.02](图 4)。

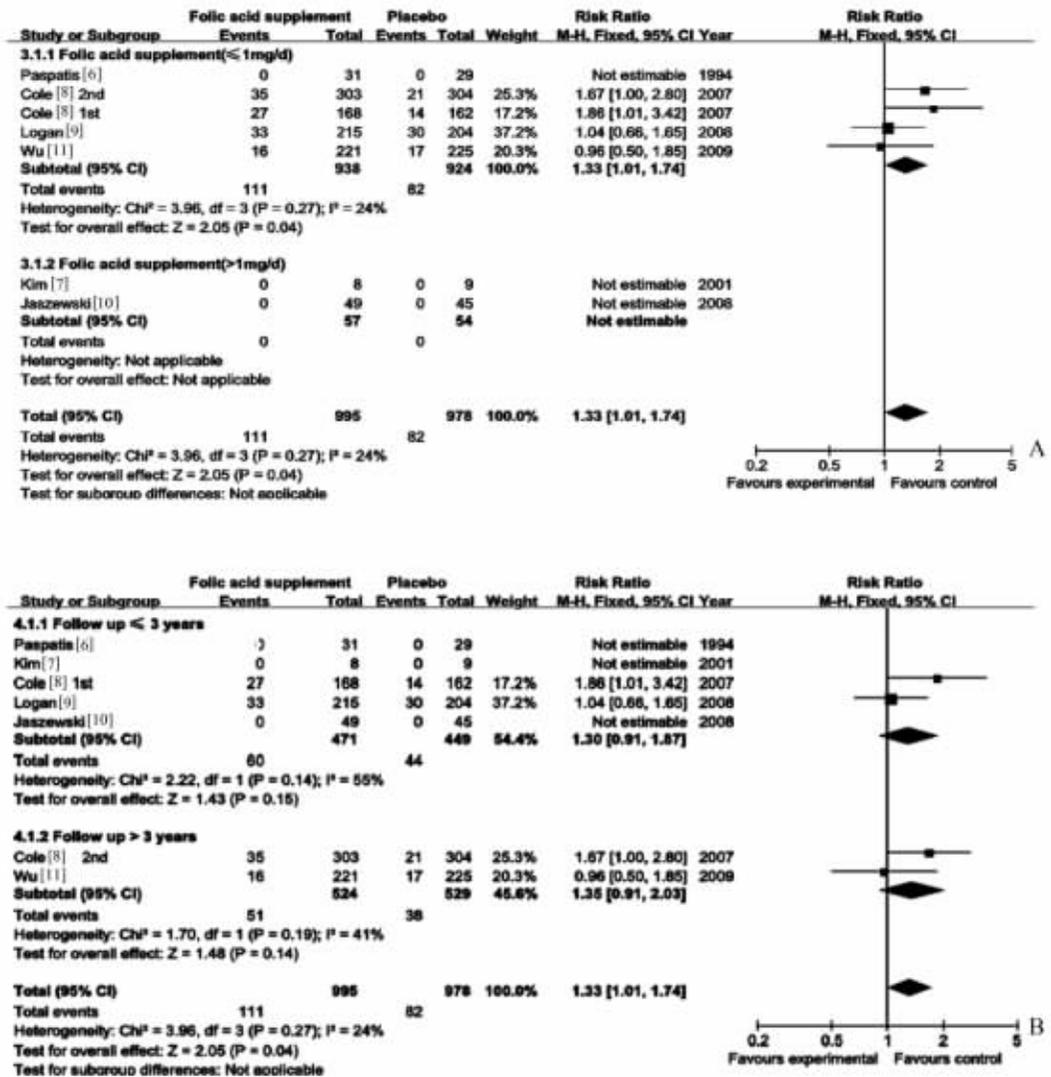


图 3 叶酸补充与进展期腺瘤复发风险的 Meta 分析

Fig 3 Meta analysis of relationship between progressive adenoma recurrence and folic acid supplementation

A: Dosage-subgroup analysis; B: Interval-subgroup analysis

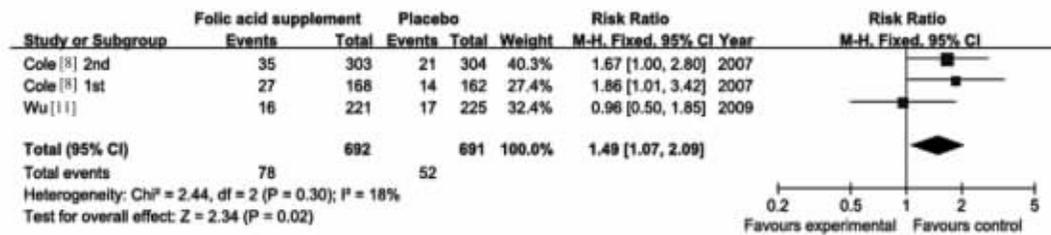


图 4 叶酸补充与进展期腺瘤复发风险的 Meta 分析

Fig 4 Meta-analysis of relationship between progressive adenoma recurrence and folic acid supplementation

dosage=1 mg/d, interval≥3 years

2.5 统计学异质性评价与发表偏倚评估 在腺瘤复发风险的分析中, 随机效应模型下 df = 6 (P =

0.03)、I<sup>2</sup> = 57%, 存在中等程度的统计学异质性 (图 2)。去除 Jaszewski 等<sup>[10]</sup>研究数据, 发现 df = 5

( $P=0.36$ )、 $I^2=8\%$ ，异质性消除(图 5)；由于此研究所占的权重较小(7.8%)，对研究结论影响不大 [ $RR=1.06$ , 95% CI(0.94, 1.20),  $P=0.32$ ]。Jaszewski 等<sup>[10]</sup>研究数据引起异质性的可能原因为

该研究纳入的对象以男性为主(治疗组男性占 93%，对照组占 92%)，而男性腺瘤发生风险高于女性。利用 RevMan 5.0.24 软件绘制漏斗图，提示存在一定的发表偏倚(图 6)。

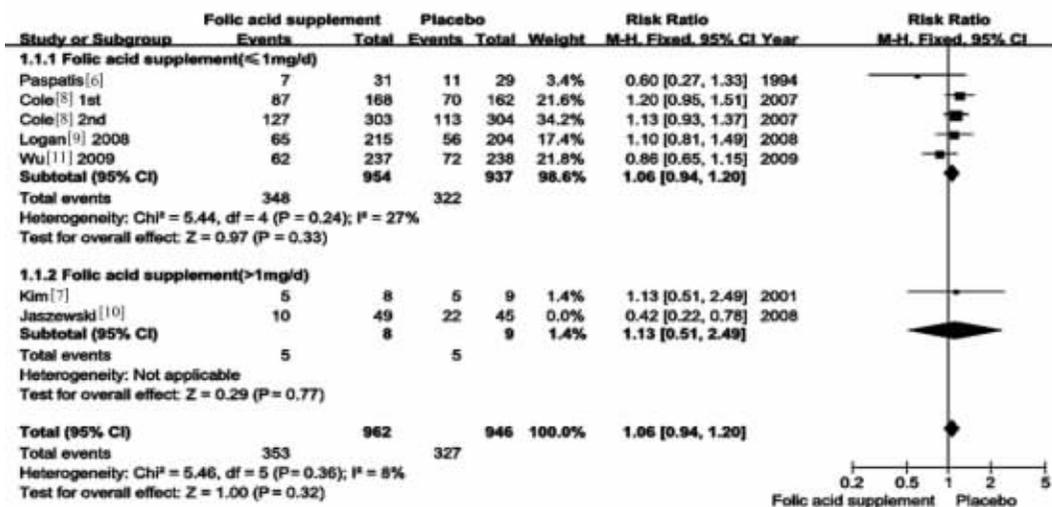


图 5 统计学异质性分析  
Fig 5 Analysis of statistical heterogeneity

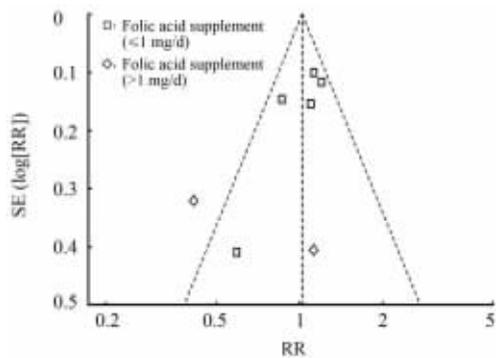


图 6 发表偏倚分析  
Fig 6 Analysis of publication bias  
SE: Standard error; RR: Risk ratio

2.6 不良反应 纳入研究的部分文献报道了研究对象死亡<sup>[9]</sup>或是发生 CRC<sup>[8, 11]</sup>，但因混杂于其他化学预防药物(如阿司匹林)中，未能提取分析。

### 3 讨论

本研究的 Meta 分析纳入了最新的 RCT 数据(NCT00512850)，结果提示补充叶酸不能减少结肠腺瘤复发风险 [ $RR=0.97$ , 95% CI(0.79, 1.19),  $P=0.76$ ]，结论与 Ibrahim 等<sup>[14]</sup>的 Meta 分析结果一致。Ibrahim 等<sup>[14]</sup>的研究中实际纳入了 4 项 RCT，合并后腺瘤复发风险为  $RR=1.08$  [95%

CI(0.87, 1.33),  $P=0.49$ ]。本研究进一步按剂量和干预时间亚组分析，均无叶酸保护性作用的提示。本研究分析结果亦提示补充叶酸可能促进了进展期腺瘤的复发 [ $RR=1.33$ , 95% CI(1.01, 1.74)]，并存在统计学差异( $P=0.04$ )，结论类似于 Fife 等<sup>[15]</sup>的研究；但 Fife 等<sup>[15]</sup>的研究仅纳入 2 项 RCT，合并后进展期腺瘤复发风险为  $RR=1.50$  [95% CI(1.06, 2.10),  $P=0.02$ ]，可信度有待进一步讨论。本研究中进展期腺瘤复发风险在叶酸补充剂量为 1 mg/d、随访时间  $\geq 3$  年时，已提示存在 [ $RR=1.49$ , 95% CI(1.07, 2.09),  $P=0.02$ ]。

补充叶酸在无减缓腺瘤复发的基础上，却促进了进展期腺瘤的复发，可能是各项 RCT 研究招募患者的时间不一致造成。Logan 等<sup>[9]</sup>研究招募的患者为 6 个月之内行腺瘤切除术者，而 Cole 等<sup>[8]</sup>研究的招募期从腺瘤切除术后 3 个月至 16 个月不等。美国国家息肉研究(national polyp study)结果认为正常黏膜癌变为 CRC 约需 10 年时间，而发展为腺瘤仅需 5 年时间<sup>[16]</sup>；且动物研究认为补充叶酸可能加速了异常黏膜隐窝(aberrant crypt foci, ACF)向肿瘤病变发展的进程<sup>[17]</sup>。因此，较长的招募期叠加长时间的干预研究，导致了既往已有腺瘤病变的黏膜向进展期腺瘤的发展，出现了较多的进展期腺瘤。

结肠腺瘤是 CRC 的癌前病变，内镜切除后

进一步予以化学预防,是减缓腺瘤复发及减少 CRC 发生的重要方法。然而合并当前干预性研究结果后,叶酸在肿瘤发生和发展中的作用更显扑朔迷离。叶酸是人体所必需的元素,自然情况下只能通过食物获取;其缺乏后蛋氨酸循环障碍,甲基提供异常,出现 DNA 修复障碍及异常甲基化<sup>[18]</sup>,而后者是肿瘤发生和发展的基础。既往研究认为叶酸血浆含量约为 270  $\mu\text{g}$  时,其转换为甲基四氢叶酸进而提供一碳单位的过程即可达到饱和<sup>[19]</sup>;而日常服用 400  $\mu\text{g}$  叶酸足以在无肠道吸收障碍的人群中满足这一转换<sup>[18]</sup>。通过药物补充,能更有效地维持血浆叶酸浓度,即便在一般风险人群的 Meta 分析中亦无预防作用的提示<sup>[13]</sup>。基因多态性的研究发现:特定基因型(MTHFR 677 CT)患者腺瘤切除后 4 年的复发风险高于其他患者<sup>[20]</sup>。因此叶酸保护作用的分析,除了考虑剂量和时间因素外,仍需考虑基因多态性的影响。

综合以上分析,补充叶酸在预防结肠腺瘤及进展期腺瘤复发的作用正被怀疑,本研究认为叶酸补充可能增加了进展期腺瘤的复发风险。当然,本研究也存在文章发表偏倚等缺陷,致使结论的可信度可能受到了部分影响。因此进一步纳入新的 RCT 研究(NCT00002650)<sup>[21]</sup>进行分析,仍十分必要;而未来叶酸临床干预性研究设计,可能需要在剂量、时间及基因型之间多方权衡。

## [参考文献]

[1] Markowitz S D, Bertagnoli M M. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2009, 361:2449-2460.

[2] Lieberman D. Progress and challenges in colorectal cancer screening and surveillance [J]. *Gastroenterology*, 2010, 138: 2115-2126.

[3] Kim Y I. Folate, colorectal carcinogenesis, and DNA methylation: lessons from animal studies[J]. *Environ Mol Mutagen*, 2004, 44:10-25.

[4] Sanjoaquin M A, Allen N, Couto E, Roddam A W, Key T J. Folate intake and colorectal cancer risk: a meta-analytical approach[J]. *Int J Cancer*, 2005, 113:825-828.

[5] Giovannucci E. Epidemiologic studies of folate and colorectal neoplasia: a review [J]. *J Nutr*, 2002, 132 (8 Suppl): 2350S-2355S.

[6] Paspatis G A, Karamanolis D G. Folate supplementation and adenomatous colonic polyps[J]. *Dis Colon Rectum*, 1994, 37: 1340-1341.

[7] Kim Y I, Baik H W, Fawaz K, Knox T, Lee Y M, Norton R, et al. Effects of folate supplementation on two provisional molecular markers of colon cancer: a prospective, randomized trial[J].

*Am J Gastroenterol*, 2001, 96:184-195.

[8] Cole B F, Baron J A, Sandler R S, Haile R W, Ahnen D J, Bresalier R S, et al. Folic acid for the prevention of colorectal adenomas: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2007, 297: 2351-2359.

[9] Logan R F, Grainge M J, Shepherd V C, Armitage N C, Muir K R, ukCAP Trial Group. Aspirin and folic acid for the prevention of recurrent colorectal adenomas[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134:29-38.

[10] Jaszewski R, Misra S, Tobi M, Ullah N, Naumoff J A, Kucuk O, et al. Folic acid supplementation inhibits recurrence of colorectal adenomas: a randomized chemoprevention trial[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14:4492-4498.

[11] Wu K, Platz E A, Willett W C, Fuchs C S, Selhub J, Rosner B A, et al. A randomized trial on folic acid supplementation and risk of recurrent colorectal adenoma[J]. *Am J Clin Nutr*, 2009, 90:1623-1631.

[12] Jüni P, Altman D G, Egger M. Systematic reviews in health care: assessing the quality of controlled clinical trials[J]. *BMJ*, 2001, 323:42-46.

[13] Carroll C, Cooper K, Papaioannou D, Hind D, Tappenden P, Pilgrim H, et al. Meta-analysis: folic acid in the chemoprevention of colorectal adenomas and colorectal cancer [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2009, 31:708-718.

[14] Ibrahim E M, Zekri J M. Folic acid supplementation for the prevention of recurrence of colorectal adenomas: meta analysis of interventional trials[J]. *Med Oncol*, 2009, 27:915-918.

[15] Fife J, Raniga S, Hider P N, Frizelle F A. Folic acid supplementation and colorectal cancer risk: a Meta-analysis[J]. *Colorectal Dis*, 2009 Oct 27. [Epub ahead of print]

[16] Winawer S J, Zauber A G, Diaz B. The National Polyp Study: temporal sequence of evolving colorectal cancer from the normal colon[J]. *Gastrointest Endosc*, 1987, 33:167.

[17] Lindzon G M, Medline A, Sohn K J, Depeint F, Croxford R, Kim Y I. Effect of folic acid supplementation on the progression of colorectal aberrant crypt foci[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30: 1536-1543.

[18] Hubner R A, Houlston R S. Folate and colorectal cancer prevention[J]. *Br J Cancer*, 2009, 100:233-239.

[19] Sweeney M R, McPartlin J, Scott J. Folic acid fortification and public health: report on threshold doses above which unmetabolised folic acid appear in serum[J]. *BMC Public Health*, 2007, 7:41.

[20] Murphy G, Sansbury L B, Cross A J, Stolzenberg-Solomon R, Laiyemo A, Albert P S, et al. Folate and MTHFR: risk of adenoma recurrence in the Polyp Prevention Trial[J]. *Cancer Causes Control*, 2008, 19:751-758.

[21] Eastern Cooperative Oncology Group. High-dose folic acid in preventing colorectal cancer in patients who have had polyps surgically removed [EB/OL]. (2009-02-06) [2010-04-25] <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00002650?term=NCT00002650&rank=1>.