

# A D-NAP. A D-VITAMIN HELYE A DAGANATPREVENCIÓBAN ÉS A KIEGÉSZÍTŐ KEZELÉSBEN

Speer Gábor

Semmelweis Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

A D-vitamin élettani hatása több, mint a kalcium- és csontanyagcsere szabályozása. Szerepe van – többek között – a tumorigenezis gátlásában, sok daganatfélése esetében pedig kemopreventív szer is. Pluripotens, para- és autokrin szteroidhormon, melynek szintézisére az emberi szervezet maga is képes. Sok epidemiológiai adat támasztja alá a D-vitamin daganatellenes hatását: az egyenlítőől távolodva az emlő-, prosztata- és vastagbél-daganatok incidenciája nő. Ezt követően sejt- és állatkísérletek támasztották alá a D-vitamin sejtproliferációt gátló és sejt differenciációt serkentő hatását. Klinikai vizsgálatok leginkább a prosztata- és vastagbél-daganatok esetében történtek és találtak meggyőző összefüggést az alacsony D-vitamin-szint és a daganatok előfordulása között. *In vitro* és *in vivo* is igazolták, hogy daganatos sejtekben a D-vitamin-kezelés sejt differenciációt, sejt ciklusleállást, ill. apoptózist indukál. A legújabb eredmények szerint számos szövetben lokálisan is van D-vitamin-képződés, mely a malignus fenotípus kialakulásával és a sejtek dedifferenciálódásával egyre csökken, sőt ezzel párhuzamosan a D-vitamin lebontásáért felelős 24 $\alpha$ -hidroxiláz enzim aktivitásának lokális növekedése is megfigyelhető. Mindezen eredmények alapján biztató, immár klinikai fázis 1 és 2 vizsgálatok is rendelkezésre állnak szelektív, lokálisan ható 24 $\alpha$ -hidroxiláz-gátlókkal több daganatfélése – akár elsővonalbeli – kezeléseként. Jelenleg azonban az egyik legfontosabb feladat hazánk lakossága súlyos D-vitamin-hiányának felszámolása. Magyar Onkológia 54: 303–314, 2010

Közlésre érkezett:  
2010. július 30.

Elfogadva:  
2010. augusztus 26.

Levelezési cím:  
Dr. Speer Gábor  
1125 Budapest  
Szilágyi Erzsébet  
fasor 38.  
Fax: (06-1) 2104-874  
E-mail:  
kempermaja@gmail.com

**Kulcsszavak:** D-vitamin, tumorigenezis, CYP24A1, vastagbélrák

*The active metabolite of vitamin D apart from a crucial role in maintaining mineral homeostasis and skeletal functions, has antiproliferative, apoptosis and differentiation inducing as well as immunomodulatory effects in cancer. It is well known that with increasing sunshine exposure the incidence of breast, prostate and colorectal cancer is decreasing. A number of in vitro and in vivo experiments documented the effects of vitamin D in the inhibition of the tumorigenesis. In studying the role of vitamin D in cancer, it is imperative to examine the potential pathways that control local tissue levels of vitamin D. The enzyme 24-hydroxylase converts the active vitamin D to inactive metabolite. Extra-renal production of this enzyme is observed and has been increasingly recognized as present in cancer cells. This enzyme is rate limiting for the amount of local vitamin D in cancer tissues and elevated expression is associated with an adverse prognosis. 24-hydroxylase may be a predictive marker of vitamin D efficacy in patients with cancer as an adjunctive therapy. There are many vitamin D analogs with no pronounced hypercalcemic effects. Some analogs are in phase 1 and 2 clinical test, and they might have a role in the therapy of several types of cancer. At present our main task is to make an effort to decrease the vitamin D deficiency in Hungary. Speer G. The D-day. The role of vitamin D in the prevention and the additional therapy of cancers. Hungarian Oncology 54: 303–314, 2010*

**Keywords:** vitamin D, tumorigenesis, CYP24A1, colorectal cancer

## BEVEZETÉS

Az aktív D-vitamin biológiai hatása messze több, mint a kalcium- és csontanyagcsere szabályozása: az emberi

szervezet számos szövete normális működésének biztosítása mellett a sejt szaporodás gátlása, a sejt differenciáció és az apoptózis serkentése révén jelentős tumorellesztő hatással is bír.

## A D-VITAMIN PROLIFERÁCIÓELLENES HATÁSAI

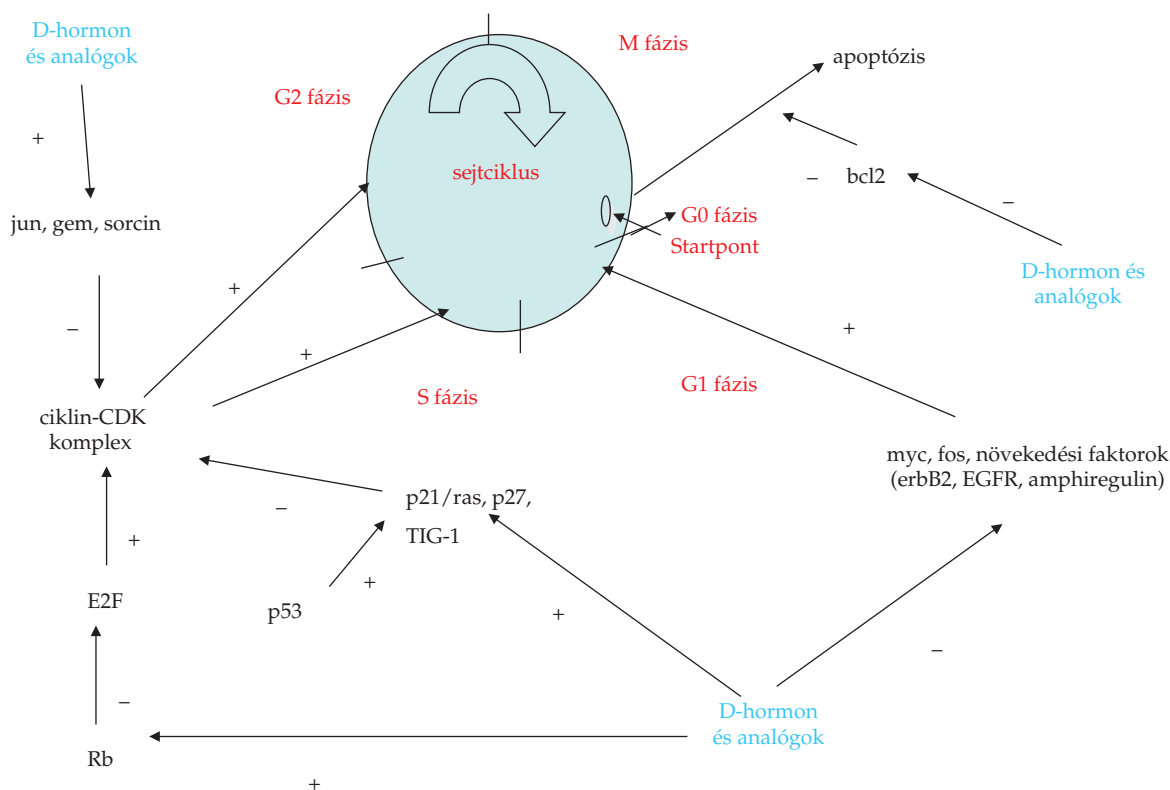
A D-vitamin zsírban oldódó, fényérzékeny vegyület. Valójában nem vitamin, hiszen a hagyományos értelemben vett vitaminokkal szemben az emberi szervezet képes endogén úton is előállítani és nem kofaktora egyetlen enzimnek sem. Bár nem belsőelválasztású mirigyben termelődik, egyre inkább tért hódít a D-hormon elnevezése, utalva az igen széles, hormonszerű hatásaira is. Az összefoglalóban – jelezve ez utóbbi fontosságát – mindkét elnevezést használni fogom, mely alatt az  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  aktív vegyület, vagy más – és szintén gyakori – elnevezésekkel a  $\text{D}_3$ -vitamin, illetve kalcitriol értendő.

A D-vitamin elsődleges szerepe a szervezet kalcium- és foszforanyagcseréjének szabályozása, és a csontanyagcsere egyensúlyának biztosítása. A klasszikus D-vitamin-hatások célszervei – a fentieknek megfelelően – a gyomor-bélrendszer, a csontok, a vese és a mellékpajzsmirigy. A szisztémás D-vitamin-anyagcsere szabályozásában kitüntetett jelentőségű az a negatív feedback mechanizmus, mely során a saját lebontó enzimjének expresszióját növeli (26). A kalcium- és a csontanyagcsere szabályozásában a mellékpajzsmirigy hormonszekréciónak (PTH) is befolyásolja, azonban nemcsak a hormonnak, hanem magának a mellékpajzsmirigy sejteinek proliferációját is gátolja. Ezt a transzformáló növekedési faktor-alfa ( $\text{TGF-}\alpha$ )/epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) expressziójának gátlásával és a

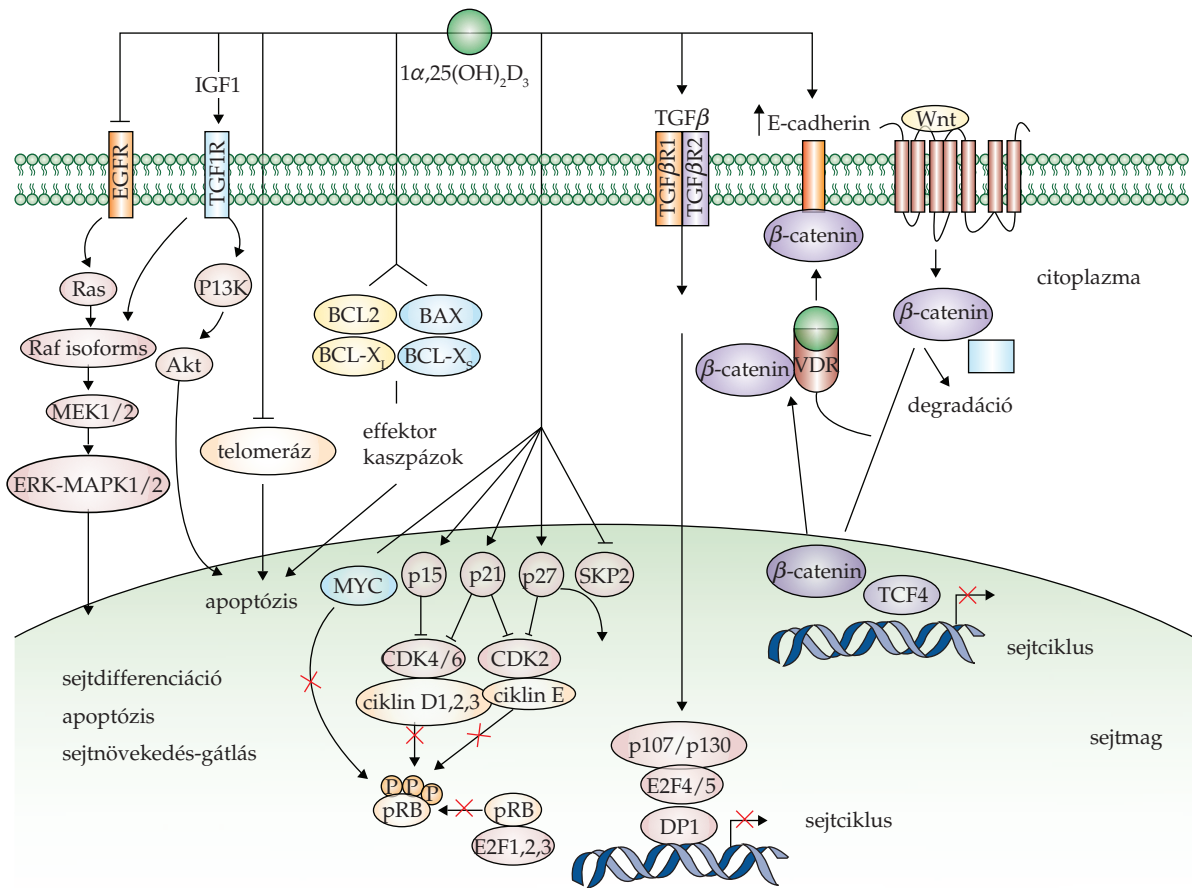
sejtnövekedést gátló ciklindependens kináz (CDK) inhibitor p21 és p27 expressziójának fokozásával éri el (9). Ez az alapja annak a megfigyelésnek, hogy primer hyperparathyreosist okozó mellékpajzsmirigy-adenoma kialakulását részben a D-vitamin-hiány is okozza, nehézzé téve néha a pontos diagnózist (azaz a primer- és maga a D-vitamin-hiány okozta szekunder hyperparathyreosist az elkülönítését).

Az elmúlt években vált ismertté, hogy a klasszikus célszerveken túl számos más szövet normális működésében is szerepet játszik a D-hormon (24). Ezek a célszerveken azonban nem a kalciumháztartás egyensúlyának fenntartása a feladat, hanem a hormonelválasztás (pl. inzulin, ösztrogén, prolaktin), a harántcsíkolt-, sima- és szívizom-kontraktilitás, az immunműködés valamint a sejt differenciáció és -prolifерáció (tumorigenezis) szabályozása. Ezeket a hatásokat részben a szisztémás, de részben a lokálisan termelődő (!) D-vitamin auto-, ill. parakrin módon látja el. De erről később.

A terápiás felhasználás szempontjából legígéretesebb nem klasszikus D-vitamin-hatás a tumorigenezis- és tumorprogressziógátlás. A D-hormon daganatellenes hatásával kapcsolatos első kísérletekben a D-hormon gátolta a sejtvonalak klonális proliferációját és elősegítette az érett, kevésbé agresszív fenotípusú sejtek fejlődését (1). Ezt azok az epidemiológiai adatok előzték meg, melyek szerint összefüggés van a napsütéses órák száma (azaz a D-vitamin-képződés), illetve a vastagbél- (14), az emlő- (15) és a prosztatadaganatok (16) csökkent előfordulása között. Ugyan már a korábban említett mellékpajzsmirigy-sejtek proliferációját befolyásoló hatása is erre utal. Ké-



1. ábra. A D-hormon-hatás és a sejtciklus fázisai



2. ábra. A D-vitamin ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) tumorelles hatásainak közvetítésében szerepet játszó jelátviteli utak, Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. *Nat Rev Cancer* 7:684–700, 2007 (11) alapján módosítva. A szövegben is idézett lépések rövidítései ott találhatóak

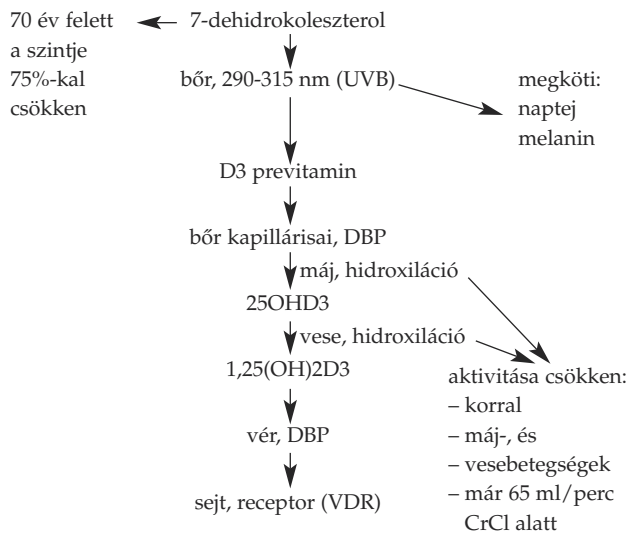
sőbb ismertté vált, hogy melyek azok – a daganatok kialakulása és progressziója szempontjából lényeges – jelátviteli mechanizmusok, melyekben a D-vitamin szerepet játszik, és melyek eredményeképpen csökken a sejtproliferáció, fokozódik a sejt differenciáció és az apoptózis.

Antitumor hatásait a D-vitamin részben a citoplazmatikus szignalizációs útvonalak befolyásolásával fejti ki (ras, MAPK/mitogénaktivált protein kináz/, PI3K /foszfatidilinozitol-3-kináz/, cAMP, prosztaglandinok), de gátolja a ciklin D-t és serkenti a CDK-t, melyek miatt az Rb és az E2F-1 transzkripció faktor is gátlódik. A D-vitamin a sejtciklust (proliferációt) leállító hatását a  $G_1$ - $G_0$  átmenet gátlása révén fejti ki, melyet a p21 upregulációjával ér el (39) (1. ábra). A D-hormon daganatellenes hatásának lehetséges jelátviteli útjait a 2. ábra szemlélteti részletesebben.

D-vitamin-analógot már régóta használnak a psoriasis kezelésében. A keratinociták fokozott TGF- $\alpha$ -expressziójával járó psoriasisban a D-hormon a TGF- $\alpha$ /EGFR jelátviteli út gátlása révén képes gátolni ezen sejtek proliferációját (8). A psoriasis kezelésében mutatott jótékony hatása egyértelműen bizonyítja a D-hormonnak – a bőrsejtek proliferációjának és differenciációjának szabályozása révén – e mechanizmusban betöltött jelentős szerepét (30).

## A $\text{D}_3$ VITAMIN METABOLIZMUSA

Az élettanilag aktív D-vitamin metabolit kiindulási vegyülete a kolekalciferol ( $\text{D}_3$ ). Ennek kb. 10%-a táplálékkal, a növényi eredetű ergokalciferol ( $\text{D}_2$ ) vagy az állati eredetű 7-dehidrokoleszterin formájában jut a szervezetbe. A szervezet számára hasznosítható D-vitamin mennyiség kismértékben néhány állati eredetű élelmiszerből származik, a legfontosabb D-vitamin-forrás a tengeri (és az édesvízi!) halak húsa (lenne, ha ennénk). Az egészséges felnőtt javasolt napi D-vitamin-bevitel 400–800 NE (nemzetközi egység). A D-vitamin túlnyomó többsége azonban a bőrben termelődik ultrabolya B (UVB) sugárzás (290–310 nm) hatására. A  $\text{D}_3$  biológiai hatássága csekély, aktiválódásához újabb átalakulásokra van szükség. A metabolikus aktiváció következő lépése a 25-ös szénatom hidroxilációja a májban a CYP enzimek hatására. A klasszikus CYP27A1 enzim szerepe a legfontosabb ezen enzimátikus lépés katalizálásában. Mivel – ezen enzimtől függetlenül – a 25-hidroxiláció elsősorban a táplálékkal bevitt D-vitamintól függ, a szérumban 25-hidroxivitamin  $\text{D}_3$  ( $25\text{OHD}_3$ )-szintje a szervezet D-vitamin-ellátottságának elfogadott indikátora a klinikai gyakorlatban, azaz elég ezt (és nem a végső, aktív alakot) meghatározni a laborban a szérumból.



3. ábra. A D-vitamin szintézisének és aktivációjának útvonala.  
Rövidítések: CrCl: kreatininclearance, VDR: D-vitamin-receptor,  
DBP: D-vitamin-kötő fehérje, UVB: ultraibolya B-sugárzás

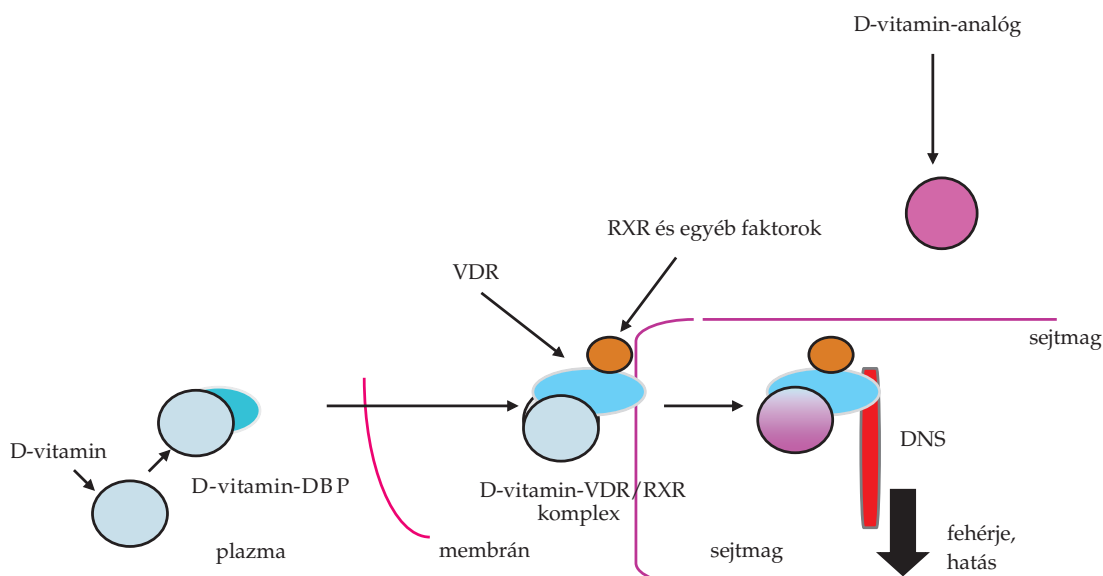
A 25OHD<sub>3</sub> újabb, a vesékben történő 1 $\alpha$ -hidroxiláció eredményeképpen válik biológiailag aktívvá. Az aktiváció utolsó lépését a 25-hidroxitamin D<sub>3</sub> 1 $\alpha$ -hidroxiláz (CYP27B1) végzi. Az így létrejött 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> felelős a szervezetben létrejövő hatásokért (3. ábra). Krónikus veseelégtelenségben (nem a kreatinin, hanem a GFR alapján diagnosztizálva!) ez a második lépés szenved zavart, mely miatt az ilyen betegek tartós, ún. aktivált D-vitamin-/1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>/pótló kezeléséről kell gondoskodni (az ún. natív D-vitamin-pótlás – kolekaliferol – helyett).

Bár a szisztémás 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-szint szabályozásáért a vesében lévő CYP27B1 enzim a felelős, bizonyos betegségekben (sarcoidosis, tuberculosis, granulomatosus megbetegedések) az emelkedett szérumb-kalcium- és 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-szintek kialakulását extrarenális CYP27B1-termelés okozza (18).

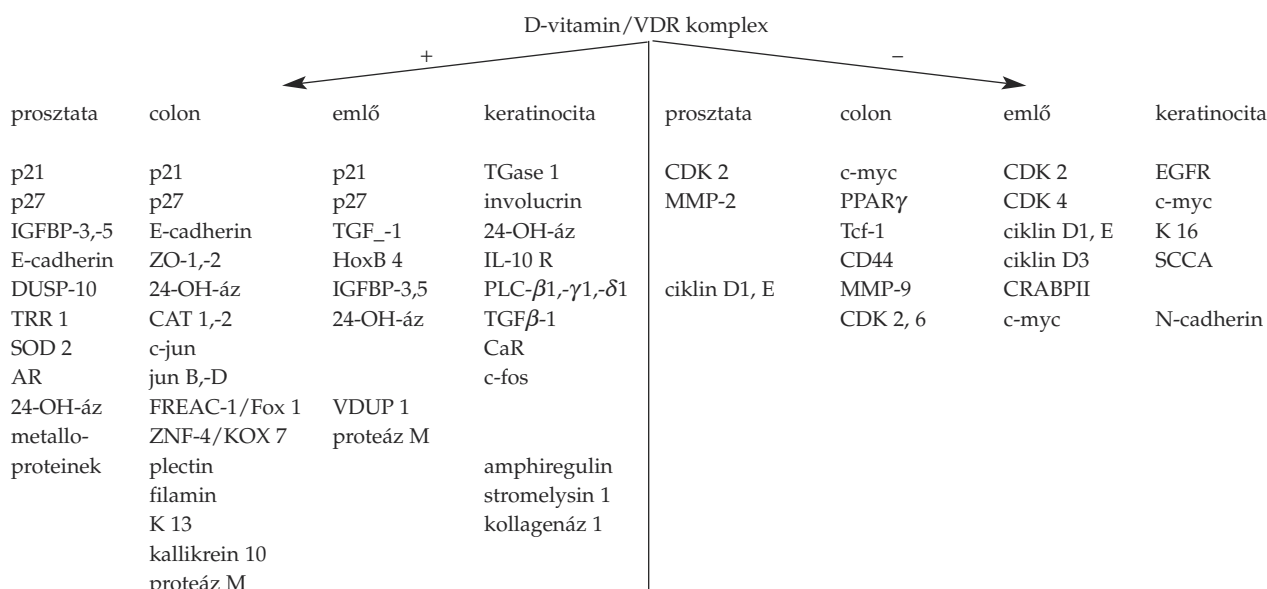
A 25OHD<sub>3</sub> és az 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> inaktiválását a vesében található 25-hidroxitamin D<sub>3</sub> 24-hidroxiláz (CYP24A1) végzi: a hidroxiláció során az 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> elveszti biológiai aktivitását. A CYP24A1 enzim a hepatociták és az oszteoklasztok kivételével minden humán sejtben megtalálható. A katabolizmus szabályozásában több tényező is szerepet játszik. Ezek közül a legfontosabb maga a D-vitamin, mely a CYP24A1 gén promoter régióját irányítva, a klasszikus receptor-mediált úton aktiválja a géntranszkripciót (7). A hidroxiláció eredményeképpen létrejövő metabolitok és a végső soron létrejövő kalcitriolsav biológiailag teljesen hatástalan és vízdoldékony molekulaként az epével ürülnek ki a szervezetből.

### A D-VITAMIN INTRACELLULÁRIS HATÁSMECHANIZMUSA: KLASSZIKUS (GENOMIKUS) HATÁSMECHANIZMUS A D-VITAMIN-RECEPTOR KÖZVETÍTÉSÉVEL

A D-hormon receptorához (VDR – vitamin D receptor) kötődve fejt ki hatásait a célszerekben. VDR-t nemcsak a klasszikus célszervek tartalmaznak (mint a vese és a csontrendszer), hanem egyéb, epithelialis és mesenchymalis sejtek is, pl. a bőr keratinocitái, a prosztata epithelsejtjei, a colonocyták, az emlőszövet, a mieloid és a limfoid sejtvonal sejtsjei, a tüdő szövete. A VDR a nukleáris szteroid/thyroid receptor-család tagja, mely a ligand kapcsolódását követően a szabályozott gén promoter régiójában elhelyezkedő ún. D-vitamin-kötő régióhoz (vitamin D response element – VDRE) kapcsolódva az adott gén működését befolyásolja. A kapcsolódás létrejöttéhez retinoid X receptorra (RXR) és más kofaktorokra van szükség (6). A VDR-RXR heterodimer kialakulásával jön létre a VDR aktiválódásához szüksé-



4. ábra. A D-vitamin-VDR/RXR komplex sematikus kialakulása és működése



5. ábra. Epithelialis sejtekben a D-vitamin/VDR komplex döntően az alábbi karcinogenezisben résztvevő fehérjéket szabályozza.  
+: serkentés, -: gátlás

ges további konformációváltozás. A D-hormon a VDR-RXR által közvetített transzkripciós szabályozás során egyes gének expresszióját fokozza, míg másokét visszaszorítja (10) (4 ábra).

A transzkripció szabályozásában a VDR/RXR-VDRE komplex polaritásának megváltozásán túl (17) meghatározó szerepet játszanak a nukleáris proteinek (34). Ezek egy része nukleáris koaktivátor, melyek a VDR/RXR jelátviteli út zavartalan működését biztosítják, pl. szteroidreceptor-koaktivátor-1 (SRC-1), a kalciumkötő fehérje/p300 komplex (CBP/p300), RAC-3, TIF-2, D-vitamin receptor interacting protein (DRIP)-komplex, míg mások a transzkripció negatív regulátorai, hiszton-deacetiláz aktivitásuk révén a TATA fehérjék kapcsolódását teszik lehetetlenné. Egyes nukleáris koregulátorok (mint pl. a nukleáris komodulátor 62 (N-CoA62/Skip) a különböző célsejtekben attól függően serkentik vagy gátolják a D-hormon/VDR komplex indukálta géntanszkripciót, hogy milyen arányban vannak jelen az egyéb kofaktorokhoz (CBP/p300, retinoid és thyroid-hormone receptor silencing mediator /SMRT/) képest (25). A pozitívan és negatívan regulált gének közül sokat az 5. ábra mutat be.

## A NEM GENOMIKUS HATÁSMECHANIZMUS

A D-hormon nemcsak magreceptorán (VDR) keresztül fejti ki hatásait. Erre azok a vizsgálati eredmények utalnak, melyek során a D-vitamin hatására a hagyományos – a sejt genetikai állományán keresztül létrehozott – válasszal nem magyarázható, rendkívül gyors intracelluláris kalciumszint-emelkedést figyeltek meg. Ez a jelenség a magreceptorokon keresztül történő, több órás jelátviteli mechanizmussal szemben olyan transzmem-

brán receptorok jelenlétét feltételezi, melyek biztosítják a citoplazmatikus másodlagos jelátviteli molekulák percekben belüli felszabadulását. Ezidáig két sejtmembránfehérjét azonosítottak, melyek felelősek a gyors D-vitamin-hatás kiváltásáért. Az egyik az enterociták bazolaterális membránjából izolált membrane-associated rapid-response steroid-binding protein (1,25D $_3$ -MARRS) (31), a másik az osteosarcoma sejtekben talált annexin II (3). A transzmembrán receptor által közvetített szignál hatására nő az intracelluláris kalciumszint, mely a proteinkináz C, ill. további, foszforilációt végző plazmaenzimek (foszfolipáz C, adenilcikláz, MAPK) aktiválódását váltja ki, melyek következtében különféle sejtfunkciók – pl. kalciumfelszívódás az enterocitákban vagy pl. prosztata glandintermelődés kondrocitákban – indulnak be. A transzmembrán receptorok által közvetített mechanizmusok nem ismertek részleteikben, de feltételezik, hogy a genomikus és a nem genomikus jelátviteli utak egymással kölcsönhatásban vannak.

## A D-VITAMIN-HIÁNY

Mivel számos olyan országban is jelentős a D-vitaminhiányos lakosság aránya, ahol a napsütéses órák száma jóval több hazánknál, felmerült, hogy valami megakadályozza a D-vitamin képződését a bőrben. A D-vitamin endogén képzésében számos probléma merül fel, melyek magyarázzák a hypo-D-vitaminosis gyakori előfordulását. Például a szubtropikus Sao Paulo gyarkorta szabadban tartózkodó lakosainak 57%-a enyhe vagy súlyos D-vitamin-hiányban szenved. Erre az a magyarázat, hogy a légszennyezés kiszűri az UVB-sugarat, ahogyan az üveg, műanyag és a ruházat is teszi. A bőr természetes fényvédője, a bőrben lévő melanin (sötétbőrűekben, feketékben ennek mennyisége jól is-



merten magasabb) elnyelve az UVB-sugarakat csökkenti a D-vitamin-képződést. Mennyisége arányos a bőr vastagságával, amennyiben ez csökken (ez következik be időskorban), akkor a melanin aránya nő, tovább csökkentve a D-vitamin-szintézist. Harmadrészt, adatok szerint 70 év felett a bőrben a D-vitamin prekursorának mennyisége csökken, és ez még akkor is D-vitamin-hiányhoz vezethet, ha minden egyéb feltétel teljesül a megfelelő szintézishez. A fentiekén túl, az egyenlítőnél a 35. szélességi fok fölött lévő területeket télen nem éri kellő UVB-sugárzás (hazánk is itt helyezkedik el) (3. ábra). Mindezekkel összefüggésben, adatok támasztják alá a szérumban D-vitamin-szintjének szezonális változását, mely a téli időszakban éri el mélypontját, a megfelelő napsugárzás kiesése miatt.

Az ún. OPTIFORD vizsgálat eredménye szerint a dán fiatalok 51%-a, a finnek 33%-a, az írek 18%-a, míg a lengyelek 33%-a súlyos D-vitamin-hiányban szenved, de az enyhe, azonban már krónikus következményekkel járó D-vitamin-hiányos fiatalok száma mind a négy országban 88% felett van. Bostonban a 18–29 éves felnőttek 36%-a tél végére D-vitamin-hiányban szenved. Floridában – télen – 40%-nak találták a D-vitamin-hiányt mindkét nemből. Egy felmérés szerint rezidensek körében is 20%-os a D-vitamin-hiány előfordulása, mely télen 74%-ra nőtt (38). Magyarországon sincs ez másképp, a D-vitamin-hiányt egy hazai vizsgálat az őszi/téli hónapokban az időskorú lakosság körében 71%-nak találta, mely nyár végére is csak 46%-ra csökkent (4).

## D-VITAMIN-SZUPPLEMENTÁCIÓ NATÍV D-VITAMINNAL

A 3. ábra foglalja össze a D-vitamin szintézisének legfontosabb lépéseit. Ahogyan az ábrán is látható, számos oka van annak, amiért a D-vitamin-szintézis elégtelen lehet. Az ún. aktivált D-vitamin-származékok (hazánkban az alfakalcidol és a kalcitriol érhető el) hatásaihoz nem szükséges a szervezet további átalakító mechanizmusa, szemben az ún. natív D-vitamint (kolekalciferolt) tartalmazó készítményekkel, amiket a felszívódásuk után még aktiválni kell. A jelenleg forgalomban lévő D-vitamin-analógok (aktivált D-vitaminok) nagyobb dózisban való alkalmazását hypercalcaemiát okozó hatásuk korlátozza (javasolt napi adagjuk 0,25–1,0 µg). Kalcium-veseköves betegnek D-vitamin csak megfontolás után és odafigyeléssel adható.

A kolekalciferol ép veseműködés esetén minden esetben alkalmas a D-vitamin-pótlásra. A natív D-vitaminok javasolt napi adagja 400–1000 NE, de akár 3000 NE-re is sor kerülhet. A D-vitamin-kezelést a D-vitamin-hiány megszűntéig, 40–50 ng/ml (100–125 nmol/l) szérumban 25OHD<sub>3</sub>-szint eléréséig (normális: 30–65 ng/ml), de maximum 6 hónapig végezzük. Természetesen a kezelés alatt havonta ellenőrizzük a szérumban kalciumkoncentrációt.

## PROSZTATADAGANAT

Mind az androgénreceptor- (AR) pozitív, mind az AR-negatív daganat esetében leírták a D-vitamin proliferációgátló hatását. Azonban úgy tűnik, hogy az androgének potenciózzák is a D-vitamin daganatellenes hatását, amit az AR-antagonista bicalutamid gátolt. Ezért lehet megfontolandó az az álláspont, hogy antiandrogén szer mellé kívánatos eleve D-hormont is alkalmazni. Recidív prosztatadaganatban 6–15 hónapig tartó (0,5–2,5 µg) D-vitamin-analóg kezelés szignifikánsan csökkentette a PSA-szintet 7 kezelt beteg közül 6 esetében. Kísérletes, majd klinikai vizsgálatok arra utalnak, hogy kiegészítő D-vitamin-kezelés fokozza a kemoterápiás szerek (így pl. a cisplatin, paclitaxel, adriamycin) hatékonyságát. Erre a legszemléletesebb példa az a vizsgálat, melyben 37 AR-negatív prosztatadaganatban szenvedő férfit kezelték D-vitamin-analóggal és paclitaxellel. A következő volt a kezelés: első napon 0,5 µg/kg kalcitriolt kaptak a betegek (ez nagyon nagy adag), majd a második napon 36 mg/m<sup>2</sup> docetaxelt (iv.), hetente, hat egymást követő héten. Majd ciklusokban ismételték a kezelést. A betegeket kalciumszegény étrenden tartották és sok folyadékot fogyasztottak (a nagy D-vitamin-analóg dózis hypercalcaemiához vezethető esetleges mellékhatása miatt). A kezelés végén a betegek nagy részének 75%-os PSA-szint-csökkenése volt, ami több volt, mint amikor a docetaxel-kezelést önmagában alkalmazták. Bár a legtöbb adat hasonló, mégis vannak ellentmondások, de ennek ellenére sokan állítják, hogy a prosztatarák egyik lehetséges fontos rizikófaktora a D-vitamin alacsony szérumszintje.

## EMLŐ- ÉS TÜDŐRÁK, MYELODISPLASIA-SZINDRÓMA (MDS), HEPATOCELLULARIS MÁJDAGANAT (HCC)

A napi 400 NE D-vitamin-bevitel csökkenti az emlőrák rizikóját. Más vizsgálatban az 50 nmol/l (25 ng/ml) feletti D-vitamin-szérumszint bizonyult védő hatásúnak. Az Amerikai Egyesült Államok azon régióiban, ahol több a napsütéses órák száma, feleannyian halnak meg emlőrákban. Sőt, ha kialakult az emlőrák, a megfelelő D-vitamin-szint nagyobb túlélést biztosít. Egy vizsgálat szerint a D-vitamin (és kalciumpótlás) csökkentette a mammográfiás vizsgálat során észlelt emlődenzitást, ezáltal az emlőrák rizikóját. Kísérletes eredmények arra utalnak, hogy a D-vitamin-analógok az emlőrák esetében is fokozzák a citotoxikus szerek (doxorubicin, paclitaxel) és a sugárkezelés hatékonyságát.

Egy finn vizsgálatban 6937 tüdőrákban szenvedő beteget követtek. Azok között, akikben a D-vitamin szintje 21,6 ng/ml felett volt, 26%-kal nagyobb volt a túlélés szemben a 10,2 ng/ml alatt rendelkezőkkel. Ezen felül,

minél magasabb volt a daganat felismerésekor a D-vitamin szintje, annál korábbi stádiumú volt a tüdőrák.

Mind a limfoid, mind a mieloid sejtvonal elemei tartalmaznak felszínükön VDR-t. MDS-ben szenvedők alfakalcidol-kezelése során a betegség progressziója, azaz leukémiás átalakulása szignifikánsan csökkent, olyannyira, hogy jelenleg az MDS kezelése igen eredményes kiegészítő módjának tartandó!

HCC-ben D-vitamin-analóg kezelés során a betegség stabilizálódását érték el a betegek majdnem felében. Jelenleg egy új, nem hypercalcaemizáló D-vitamin-analóg készítmény van ígéretes klinikai vizsgálatok alatt a HCC kezelésére.

## VASTAGBÉLRÁK

A D-vitamin daganatprevencióban betöltött szerepét, részletes molekuláris biológiai hatásait és a – későbbiekben részletezendő – CYP24A1-enzimgátló kezelés hatásosságát leginkább vastagbélrákban tanulmányozták és mérték fel, mind kísérletes, mind klinikai vizsgálatokban.

Ez számunkra is igen fontos, jól ismerve a tényeket: Magyarországon évente nagyjából 9000 új eset válik ismertté és mintegy 5000 ember hal meg vastagbélrák (CRC) következtében. Az Európai Unió (EU) országai között hazánk a CRC incidenciája szempontjából férfiak körében első, nőkben pedig a harmadik helyen, míg a vastagbélrák okozta halálozás szempontjából mindkét nem esetében a második helyen áll (13). Míg az EU nyugati tagállamainak többségében az elmúlt évtizedekben csökkent a CRC incidenciája, addig hazánkban továbbra is emelkedő tendenciát mutat (43). Másrészt, a D-vitamin-hiány hazánkban is jelentős mértékű.

A colorectalis carcinomák több mint 75%-áért felelős sporadikus rákok kialakulásában a genetikai tényezők mellett környezeti faktorok is szerepet játszanak. Epidemiológiai vizsgálatok már az 1980-as években a D-vitaminnak a colorectalis tumorigenezisben jelentőséggel bíró lehetőségét vetették fel. Megfigyelték, hogy az Egyesült Államok területén a vastagbélrákok előfordulási gyakorisága fordított arányban áll a napsütéses órák számával (14). Hasonlóan figyelemreméltó epidemiológiai adat, hogy sötétbőrűekben és obesekben számos daganatféleség előfordulása szintén gyakoribb. Az első esetben a fokozott pigmentáció (melanin) gátolja a bőrben a D-hormon szintézisét, míg az elhízottak D-vitamin-hiányának oka az, hogy a hormon, felhalmozódva a zsírszövetben, „eltűnik” a keringésből. Számos klinikai vizsgálat támasztja alá a D-hormon szerepét a CRC prevenciójában is, de nemcsak a kialakulásban, hanem a progresszió és metasztatizis gátlásában is fontos a szerepe.

Utánkövetéses vizsgálatok során a D-vitamin szérumszintje és a vastagbélrák kialakulásának relatív kockázata között fordított összefüggést találtak (41). A D-vitamin szérumszintjének 25 nmol/l-re (12,5 ng/ml)

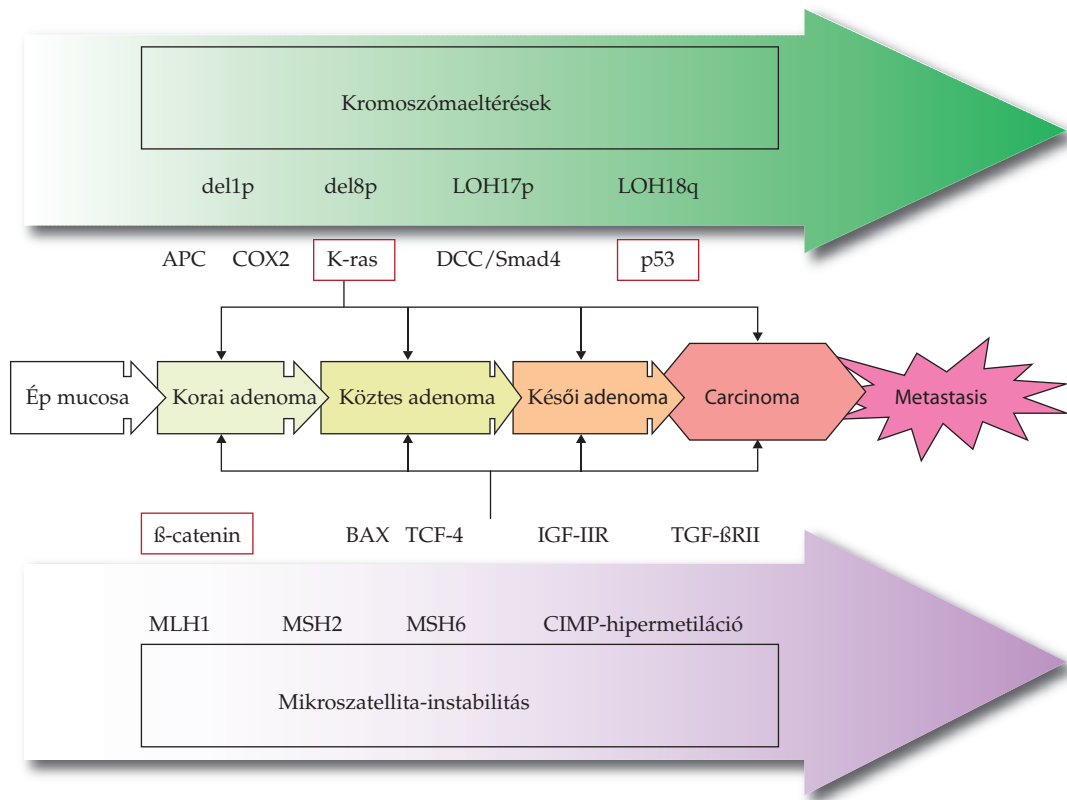
való emelkedése a colorectalis daganat előfordulási gyakoriságát harmadával csökkentette (10). A mindezidáig legnagyobb (retrospektív) vizsgálatban, 25 620 ember nyolc éves követése során a CRC incidenciája háromszor kevesebbnek bizonyult normális D-vitamin-szint mellett a hypo-D-vitaminosisban szenvedőkhöz képest. Vastagbélrákban szenvedő betegek szérumban a D-vitamin szintje csökken a betegség stádiumának előrehaladtával (32), és összefüggést találtak a colorectalis carcinomában szenvedők túlélése, a tumor agresszivitása és a D-vitamin szérumszintje között is (29). Egy másik vizsgálatban a 33–41 ng/ml közötti D-vitamin-szint esetén ötszörösen csökkent az esélye a CRC kialakulásának, mint alatta. A WHI vizsgálatban is (35 ezer nőt vontak be) a D-vitamin (és kalcium) megfelelő bevitele egyértelműen csökkentette a CRC rizikóját.

Sőt, olyan „merész” eredmények is születtek, melyek szerint a daganat prognózisa összefüggésben áll a tumor felfedezésének időpontjával. Azaz, a télen diagnosztizált CRC prognózisa rosszabb volt, mint a napfényes órákban gazdagabb hónapokban felfedezetté, amikor magasabb a D-vitamin szintje. A diagnózis szezonális időpontja a Hodgkin-lymphoma esetében is döntő prognosztikai faktor, adatok szerint 20%-kal magasabb a fatális kimenetele a téli hónapokban felfedezett eseteknek.

A colorectalis karcinogenezis hátterében álló veleszületett (genetikai) tényezők igen jól ismertek. Kialakulásával kapcsolatban mára elfogadott elmélet az ún. adenoma-carcinoma szekvencia modell (12). Ebben a többlépcsős folyamatban, mely során az ép vastagbélnyálkahártyában a kezdeti hiperproliferációt, majd az adenoma kialakulást követően az egyre súlyosabb sejttípiát és az eredeti nyálkahártya-struktúra felbomlását mutató egyre kifejezettebb dysplasiával járó eltérések végén in situ, majd invazív carcinoma alakul ki. Mindezeket a fenotípusváltozásokat molekuláris biológiai eltérések alapozzák meg: a vastagbél-nyálkahártyában onkogének aktiválódásával (K-ras, TCF; rövidítéseket lásd 6. ábra) és tumorszuppresszor gének inaktiválódásával (DCC, Smad4, p53, TGF- $\alpha$  RII, IGF-RII, BAX) járó, több jelátviteli utat érintő eltérések jönnek létre, melyek a sejtek genetikai instabilitásához és ezek kumulációja következtében malignus sejtburjánzáshoz vezetnek. Mindezekben a folyamatokban mára ismertté váltak azok a lépések is, melyekben a D-vitaminnak egyértelmű szerepe van. Az említetteket a 6. ábra mutatja be.

## A D-VITAMIN SZEREPE A VASTAGBÉLSZÖVET INTEGRITÁSÁBAN

Mind a normális colonszövet, mind a polyposus elváltozások és a jól differenciált CRC is expresszál a lokális D-vitamin-szintézist feltételező  $1\alpha$ -hidroxilázt. Megfigyelték, hogy ezen  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -szintetizáló enzim expressziója párhuzamosan csökken a daganat malignitásával mind prosztata- (37), mind vastagbél-daganatokban (5).



6. ábra. A colorectalis tumorigenezisben szerepet játszó fő genetikai eltérések az adenoma-carcinoma szekvencia során. A genetikai instabilitás két formája ismert: a DNS körülhatárolt területeit érintő mikroszatellita-instabilitás és a kromoszómárisztéleteket vagy akár teljes kromoszómákat érintő kromoszómális instabilitás. Pirossal jelölve azon gének, melyeket a D-vitamin is regulál (Søreide K, Janssen EAM, Sölland H. Br J Surg 93:395–406, 2006 alapján módosítva). Rövidítések: del: deléción; APC: adenomatosis polyposis coli gén; BAX: Bcl-2-asszociált X protein; CIMP: CpG-sziget-metilátor fenotípus; COX: ciklooxygenáz; DCC: deleted in colon cancer tumorsuppresszor gén; IGF-IIR: inzulinszerű növekedési faktor II receptor, LOH: loss of heterozigosity – a heterozigóta állapot elvesztése, MLH: MutL-homológ; MSH: MutB-homológ; Smad: mothers against decapentaplegic homologue Drosophila – szignalizációs útvonal; TCF: T-cell factor; TGF-βR: transforming growth factor-β receptor

Kísérletes adatok utalnak arra is, hogy az  $1\alpha$ -hidroxiláz szintje az alacsony malignitású CRC-ben emelkedik, míg a differenciáció csökkenésével – azaz a malignitás fokozódásával – csökken a colonepithelben való kimutathatósága. Azaz, a daganat progressziójának fokozódásával – az  $\alpha$ -hidroxiláz enzim szintjének csökkenésén keresztül – a helyi D-vitamin-képződés zavart szenved. Ugyanakkor, a daganat progressziójával fokozódik a  $24\alpha$ -hidroxiláz aktivitása is. Fiziológias körülmények között mindkét enzim igen kis koncentrációban van jelen a colonocyttokban. Mindezekkel párhuzamosan a VDR is alig kimutatható a normális colonszövetben, míg a daganatkialakulás során expressziója fokozódik, szintén mintegy kompenzációs, védekező mechanizmust igazolva. De a malignitás fokozódásával a VDR ismét downregulálódik.

Azaz, vastagbélrákban a lokális D-vitamin-hidroxilázok aktivitása függ a daganat differenciáltsági fokától. Saját kísérletünkben is a CYP27B1 és VDR expressziójának jellegzetes változása volt megfigyelhető a colorectalis tumorigenezis különböző stádiumaiban: ép nyálkahártyához képest fokozottan expresszálódtak a colorectalis tumorigenezis korai stádiumaiban, míg nem voltak kimutathatók differenciálatlan carcinomákban (19).

Mindezen adatok mellett szólnak, hogy a D-vitamin részben autokrin úton, és csak részben endokrin módon fejti ki daganatellenes hatását. A vastagbélben az  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -szint szabályozásában maga a hormon játszik központi szerepet, a saját szintézisét és degradációját végző hidroxilázok génexpresszióját kontrollálva. Ez a szabályozás a vesében működő D-vitamin-regulációtól függetlenül történik. Szemben a szérumban PTH- és kalciumszintje által szabályozott renális  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -szintézissel, az extrarenális D-vitamin termelődése az optimális extracelluláris  $25(\text{OH})\text{D}_3$ -szint függvénye, melynek bizonyítéka, hogy a colonocytták nem rendelkeznek PTH receptorral.

Fontos megfigyelés, hogy a posztmenopauzális hormonpótlás során használt 17-béta-ösztadiol fokozza a CYP27B1 és VDR expresszióját, mely elősegíti a D-vitamin proliferációgátló hatását. A D-vitamin-anyagcserében szerepet játszó hidroxilázok aktivitásának szabályozásában több táplálkozással összefüggő tényező szerepel. Ilyenek maga a kalcium, az ösztrogén-analóg fitoösztrogének és a folsav, melyekről felmerült, hogy a vastagbél-daganatok megelőzése és progressziója szempontjából is klinikai jelentőséggel bírnak – talán épp a D-hormon-háztartáson keresztül.



## A CYP24A1

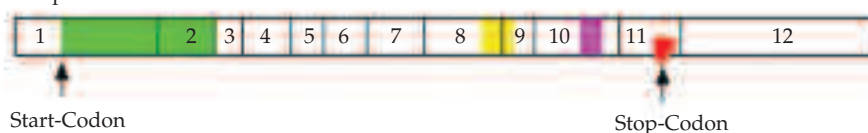
A CYP24A1 enzim génje a 20-as kromoszóma 13,2 régiójában helyezkedik el. E kromoszómaregió fokozott amplifikációját írták le több daganatfélése, pl. emlő- (2), gyomor- (42) és vastagbél-tumörök (36) kapcsán. A 20q13 régió duplikációja összefüggést mutatott vastagbél-adenomák adenocarcinómába történő átalakulásával és adenocarcinómák metasztatizáló képességével is (22). Nyelőcsőrákokban a CYP24A1 fokozott expressziója kedvezőtlen prognosztikai jelentőséggel is bír (28). Normális szövetben a CYP24A1 enzim alacsony szinten expresszálódik, mivel tehát VDRE-régiója van, ezért alapvetően a lokális D-vitamin maga is szigorúan regulálja szintjét.

Bizonyított, hogy számos daganatban a CYP24A1 túlműködik (pl. ötszörösen expresszálódik túl a tüdő-adenocarcinómák 30%-ában) és az intracelluláris D-vitamin-szint, ahogyan normálisan tenné, nem befolyásolja ezt. Az is igazolt, hogy ezen enzim emelkedett intratumorális szintje korrelál a rosszabb prognózissal, mert gátolja az aktív D-vitamin daganatellenes hatásait. Másként: a számos extrarenális szövetben jelenlévő lokális D-vitamin-metabolizmus egyik kulcsenzime a CYP24A1, amely az  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  mennyiségi meghatározása révén jelentős módon befolyásolja a hormon parás és autokrin módon kifejtett – lokális – daganatellenes aktivitását. Úgy tűnik, hogy az emelkedett daganatbeli CYP24A1-szint jó biomarkere az adjuváns D-vitamin-kezelés szükségességének is.

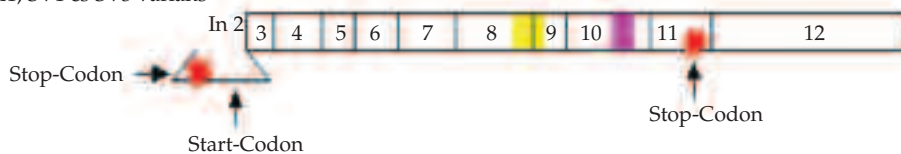
Ren munkacsoportja a CYP24A1 enzim különböző hasítási (splicing) variánsairól (splicing variant – SV) számolt be (35). A hasítás az eukarióta sejtek működésének alapja, mely során az elsődleges géntranszkriptumokból kihalításra kerülnek a későbbi fehérjeszintézis számára információt nem hordozó intronok, míg az ún. exonszekvenciák egymással összekapcsolódva az mRNS-t (majd a működő fehérjét) hozzák létre. Alternatív hasítástól beszélünk akkor, ha a hasítás nem az exon-intron határoknak megfelelően történik és ezáltal olyan transzkriptum-variánsok jönnek létre, melyek a vad típustól eltérő fehérje-izoformák translációjához (kialakulásához) vezetnek. Az alternatív hasítás normális folyamat, mely révén jelentősen megnő a genetikai állományban kódolt fehérjék változatossága. Az emberi gének több mint 80%-ánál történik alternatív hasítás.

Az alternatív poszttranszkripció hasítás következtében a CYP24A1 vad típusától eltérő katalizáló enzim-aktivitású izoenzimek jönnek létre, melyek hatására módosul az  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  lokális szintje a vastagbél-nyálkahártya mikrokörnyezetében. A CYP24A1 enzim prekursorfehérje translációjára a sejtplazmában kerül sor, ahonnan a mitokondriumhoz való kapcsolódásukat és a mitokondrium belsejébe történő transzportjukat biztosító aminosav-szekvenciák révén a belső mitokondriális membránba jutnak (23). Itt mitokondriális peptidázok hasítják a prekursorokat, hogy aztán az enzimatis működésükhöz szükséges konformáció-változáson essenek át (33). Az egyik CYP24A1 hasítási variáns (CYP24A1-SV1) pl. rendelkezik ugyan a

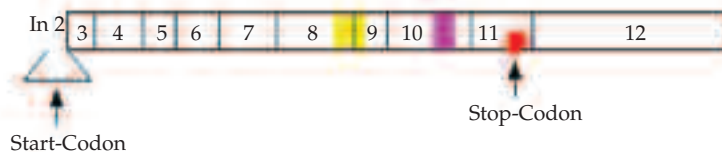
A. CYP24A1, vad típus



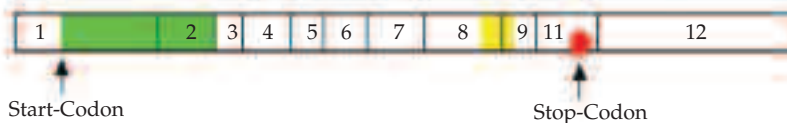
B. CYP24A1, SV1 és SV3 variáns



C. CYP24A1, SV2 variáns



D. CYP24A1, ún. C-terminális SV



7. ábra. A vad típusú CYP24A1 és hasítási variánsainak sematikus ábrázolása.

Az 1-es és 2-es exon (zöld) felelős a mitokondriális kötődést biztosító doménért, míg a sárgával jelölt 8-as és 9-es exon a szubsztrátkötődésért.

A rózsaszínű domén (10-es exon) a hemkötő aminosav-szekvenciákat tartalmazza

szubsztrátkötő (a 25(OH)D<sub>3</sub>- vagy az 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-vitamin) doménnel, azonban hiányzik róla a mitokondriumhoz való kötődést biztosító aminosav-szekvencia. Ennek hiányában ez az enzimvariáns nem rendelkezik katalitikus aktivitással (ez jó). Ugyanakkor bizonyított, hogy megköti a 25(OH)D<sub>3</sub>-t, de mivel a CYP27B1 enzimmel kompetícióban is van, csökkenti az 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> szintézisét is (ez viszont előnytelen). Ez összességében csökkenti a VDR-hez kötődni képes D-vitamin mennyiségét, módosítva az általa szabályozott jelátviteli utak működését. Az ún. SV2 hasítási variáns translációja eredményeképpen létrejövő izofehérje enzimaktivitásáról nincsenek adatok. És nemrég egy új hasítási variáns (SV3) is ismertté vált. Ez az izoforma, nem rendelkezvén a molekuláris oxigén megkötését lehetővé tevő szekvenciával, enzimaktivitásként nem aktív. Bár a CYP24A1 SV-ok pontos biológiai jelentősége nem ismert, az alternatív hasítás következtében kialakuló változatos enzimaktivitásuk révén szerepet játszanak a D-vitamin intracelluláris hatásainak szabályozásában ép és kóros viszonyok között (7. ábra).

## A CYP24A1 GÁTLÁSA

A jelenleg forgalomban lévő, akár aktivált, akár natív D-vitamin-készítmények kezelésben való alkalmazásához azok szubmaximális dózisa lenne szükséges (ez is történt a klinikai vizsgálatokban), amelynek hypercalcaemizáló mellékhatásaik szabnak határt. Emiatt kezdődtek el hypercalcaemiát nem okozó D-vitamin-analógok fejlesztései. Ilyen analóg a paricalcitol, maxacalcitol, EB1089. Igen biztató eredmények is születtek velük pl. HCC kezelésében. Itt megint meg kell jegyezni, hogy a daganatmegelőzésben alapvető normális D-vitamin-szint biztosítására egyértelműen elegendő a natív D-vitamin-pótlás.

Azonban az a tény, hogy a CYP24A1 fokozott expressziója észlelhető a tumoros mikro környezetben, mely a D-hormon fokozott lebontását eredményezi, azaz a lokális D-vitamin-szint csökkenésével a D-vitamin proliferációellenes hatását visszaszorítja, újabb kezelési lehetőségeket vet fel. A lebontó enzim gátlása a D-vitamin féléletidejének meghosszabbítása révén hatásosnak tűnik a daganatos proliferáció visszaszorítása szempontjából és felhasználható lehet a daganatok kezelése során, mert az intracelluláris D-vitamin-szint növekedése érhető el vele. A CYP24A1-gátlószerek potenciális rákellenes hatásának vizsgálatával több tanulmány is foglalkozott (11, 21). A citokróm p450-es enzimeket gátló, de leginkább gombaellenes szerként ismert ketokonazol in vitro és in vivo is elősegítette a D-vitamin polifurációellenes hatását. A daunorubicin-hidroklorát, az etopozid és a vincristin a CYP24A1 mRNS lebontásának fokozásával képes volt emelni a D-hormon-szintet vesesejttenyészetben (40). Nem specifikus CYP24A1-gátló a genistein is, mely a szójababban található.

1. táblázat. A VDR, a CYP27B1 és a CYP24A1 mRNS-expresszió valós idejű RT-PCR vizsgálat során meghatározott értéke (± SEM) ép vastagbél-nyálkahártyában, benignus vastagbél-daganatokban és adenocarcinómában

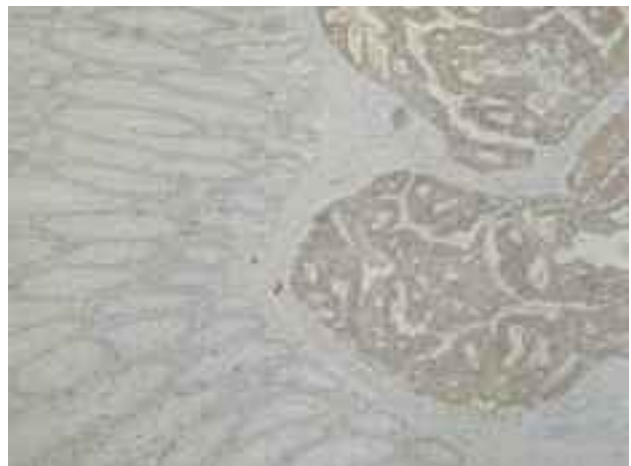
	VDR	CYP27B1	CYP24A1
ép nyálkahártya	0,749 ± 0,05	2,261 ± 0,92	1,353 ± 0,38
benignus lézió	0,455 ± 0,06**	2,365 ± 0,90	11,93 ± 5,77*
adenocarcinoma	0,412 ± 0,07**	1,183 ± 0,50	3,876 ± 1,41*

\* p < 0,05, \*\* p < 0,001

Egy immár szelektíven fejlesztett CYP24A1-gátló, a liarazol prosztataráksejtek szaporodását gátolta (27). Számos további szelektív CYP24A1-enzimgátlószer (pl. QW-1624F2-2, VID400) kipróbálása van jelenleg is folyamatban, de ezek közül még egyik sem jutott el a humán felhasználást lehetővé tevő klinikai kipróbálás fázisába.

## SAJÁT EREDMÉNYEK

Saját vizsgálatunkat 122 betegtől származó tumor és ép nyálkahártya biopátiumon végeztük el. A CYP27B1-expresszió mértéke a jóindulatú daganatokban magasabb, rosszindulatú vastagbél-daganatok esetében alacsonyabb volt az ép nyálkahártyához képest. Ugyanakkor szignifikánsan alacsonyabb VDR-expresszió volt detektálható mindkét vizsgált daganatos csoportban (benignoma, malignoma) a normális vastagbél-nyálkahártyához képest. Magunk is a CYP24A1 gén fokozott expresszióját és az enzimfehérje egyre növekvő jelenlétét találtuk a colorectalis tumorigenezis stádiumát reprezentáló normális nyálkahártya-adenoma-adenocarcinoma szekvencia során (19). Míg ép nyálkahártyában és jóindulatú daganatokban a CYP24A1 enzim expressziója nagyon alacsony volt, addig az adenocarcinómák 69%-ában megnövekedett enzimjelenlét volt igazolható (1. táblá-



8. ábra. A CYP24A1 immunhisztokémiai kimutatása az ép és a daganatos vastagbél-szövetben. Jól látható, hogy a narancsszínnel festődő CYP24A1 expressziója fokozott a megbomlott szerkezetű mutató tumoros vastagbél-szövetben, míg az épben alig mutatható ki (dr. Horváth Henrik anyaga)

zat, 8. ábra). A colorectalis tumorigenezis során változó 24-hidroxiláz-aktivitás csökkenti tehát az endogén D-vitamin-szintet, ami megerősíti a hormon kemoprotektív jelentőségét.

Elsőként igazoltuk továbbá a CYP24A1 hasítási variánsok jelenlétét ép humán vastagbél-nyálkahártyában és vastagbél-daganatokban (20). Megvizsgáltuk azt is, hogy van-e összefüggés a vizsgált minta szövettani típusa és a különböző splicing variánsok jelenléte között. Az SV1 ( $r_s = 0,216$   $p^{0,01}$ ) és SV2 ( $r_s = 0,146$   $p^{0,05}$ ) előfordulási gyakorisága statisztikailag szignifikáns korrelációt mutatott a minta szövettani típusával (ép-benignus-malignus lézió).

## ÖSSZEFOGLALÁS

Végső soron állítható, hogy a különböző daganatfélések megelőzéséhez biztosítandó a megfelelő D-vitamin-ellátottság, mely bármely natív D-vitamin-készítménnyel elérhető. A kialakult daganatokban pedig kívánatos lenne, hogy a kemoterápiás kezelésekk mellett odafigyeljünk betegeink megfelelő kalcium- és D-vitamin-szintjének elérésére és megtartására, hiszen ez nem csak a daganat kezelésében játszhat szerepet, hanem preventív is lehet (egyelőre e készítmények nincsenek törzskönyvezve a daganatok kiegészítő terápiájára).

A colorectalis tumorigenezis során a D-vitamin lokális anyagcseréjében meghatározó szerepet játszó CYP24A1 enzim expressziója változik. A D-hormon lebontó enzimének mennyiségi változása arra utal, hogy a daganatképződés során csökken a D-vitamin lokális szintje és ezért tumorellenes hatása. Úgy tűnik, hogy a CYP24A1 enzim fokozott expressziója a fiziológiás szabályozó mechanizmusoktól függetlenül következik be a colorectalis tumorigenezis folyamán.

A fenti eredmények alapján remélhetőleg nem meglepő, hogy a közeljövőben újabb – immár a daganatterápiában akár elsővonalbeli szerként ajánlott – nem hypercalcaemizáló D-vitamin-analógok és szelektív CYP24A1-gátlók megjelenése várható. Addig is feladatunk a D-vitamin-hiány felismerése, kezelése, mely különösen azok esetében fontos, akiknél a daganatos betegség kialakulásának rizikója magas.

## IRODALOMJEGYZÉK

1. Abe E, Miyaura C, Sakagami H, et al. Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:4990–4994, 1981
2. Albertson DG, Ylstra B, Seagraves R, et al. Quantitative mapping of amplicon structure by array CGH identifies CYP24 as a candidate oncogene. *Nat Genet* 25:144–146, 2000
3. Baran DT, Quail JM, Ray R, et al. Annexin II is the membrane receptor that mediates the rapid actions of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3). *J Cell Biochem* 78:34–46, 2000
4. Bhattoa HP, Bettembuk P, Ganacharya S, et al. Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in community dwelling postmenopausal Hungarian women. *Osteoporos Int* 15:447–451, 2004
5. Bises G, Kallay E, Weiland T, et al. 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase expression in normal and malignant human colon. *J Histochem Cytochem* 52:985–989, 2004
6. Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol* 277:F157–175, 1995
7. Chen KS, DeLuca HF. Cloning of the human 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D-3 24-hydroxylase gene promoter and identification of two vitamin D-responsive elements. *Biochim Biophys Acta* 1263:1–9, 1995
8. Cordero JB, Cozzolino M, Lu Y, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D down-regulates cell membrane growth- and nuclear growth-promoting signals by the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 277:38965–38971, 2002
9. Cozzolino M, Lu Y, Finch J, et al. p21WAF1 and TGF-alpha mediate parathyroid growth arrest by vitamin D and high calcium. *Kidney Int* 60:2109–2117, 2001
10. Darwish HM, DeLuca HF. Analysis of binding of the 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor to positive and negative vitamin D response elements. *Arch Biochem Biophys* 334:223–234, 1996
11. Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 7:684–700, 2007
12. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 61:759–767, 1990
13. Ferlay J, Autier P, Boniol M, et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 18:581–592, 2007
14. Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol* 9:227–231, 1980
15. Garland FC, Garland CF, Gorham ED, et al. Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med* 19:614–622, 1990
16. Hanchette CL, Schwartz GG. Geographic patterns of prostate cancer mortality. Evidence for a protective effect of ultraviolet radiation. *Cancer* 70:2861–2869, 1990
17. Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, et al. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res* 13:325–349, 1998
18. Hewison M, Zehnder D, Chakraverty R, et al. Vitamin D and barrier function: a novel role for extra-renal 1 alpha-hydroxylase. *Mol Cell Endocrinol* 215:31–38, 2004
19. Horváth HC, Lakatos P, Kósa JP, et al. The candidate oncogene CYP24A1: A potential biomarker for colorectal tumorigenesis. *J Histochem Cytochem* 58:277–285, 2010
20. Horváth HC, Khabir Z, Nittke T, et al. CYP24A1 splice variants – Implications for the antitumorigenic actions of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> in colorectal cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*, e-pub, 2010
21. King AN, Beer DG, Christensen PJ, et al. The vitamin D/CYP24A1 story in cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 10:213–224, 2010
22. Korn WM, Yasutake T, Kuo WL, et al. Chromosome arm 20q gains and other genomic alterations in colorectal cancer metastatic to liver, as analyzed by comparative genomic hybridization and fluorescence in situ hybridization. *Genes Chromosomes Cancer* 25:82–90, 1999
23. Kumamoto T, Ito A, Omura T. Critical region in the extension peptide for the import of cytochrome P-450(SCC) precursor into mitochondria. *J Biochem* 105:72–78, 1989
24. Lakatos P, Speer G. A D-vitamin biológiai és klinikai hatásai. *Lege Artis Medicinæ* 12:8–17, 2002
25. Leong GM, Subramaniam N, Issa LL, et al. Ski-interacting protein, a bifunctional nuclear receptor coregulator that interacts with N-CoR/SMRT and p300. *Biochem Biophys Res Commun* 315:1070–1076, 2004
26. Liu W, Yu WR, Carling T, et al. Regulation of gp330/megalin expression by vitamins A and D. *Eur J Clin Invest* 28:100–107, 1998
27. Ly LH, Zhao XY, Holloway L, et al. Liarozole acts synergistically with 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 to inhibit growth of DU 145 human prostate cancer cells by blocking 24-hydroxylase activity. *Endocrinology* 140:2071–2076, 1999

28. Mimori K, Tanaka Y, Yoshinaga K, et al. Clinical significance of the overexpression of the candidate oncogene CYP24 in esophageal cancer. *Ann Oncol* 15:236–241, 2004
29. Moan J, Porojnicu AC, Robsahm TE, et al. Solar radiation, vitamin D and survival rate of colon cancer in Norway. *J Photochem Photobiol B* 78:189–193, 2005
30. Morimoto S, Kumahara Y. A patient with psoriasis cured by 1 alpha-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Med J Osaka Univ* 35:51–54, 1985
31. Nemere I, Farach-Carson MC, Rohe B, et al. Ribozyme knockdown functionally links a 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> membrane binding protein (1,25D<sub>3</sub>-MARRS) and phosphate uptake in intestinal cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:7392–7397, 2004
32. Niv Y, Sperber AD, Figer A, et al. In colorectal carcinoma patients, serum vitamin D levels vary according to stage of the carcinoma. *Cancer* 86:391–397, 1999
33. Ou WJ, Ito A, Morohashi K, et al. Processing-independent in vitro translocation of cytochrome P-450(SCC) precursor across mitochondrial membranes. *J Biochem* 100:1287–1296, 1986
34. Rachez C, Freedman LP. Mechanisms of gene regulation by vitamin D(3) receptor: a network of coactivator interactions. *Gene* 246:9–21, 2000
35. Ren S, Nguyen L, Wu S, et al. Alternative splicing of vitamin D-24-hydroxylase: a novel mechanism for the regulation of extrarenal 1,25-dihydroxyvitamin D synthesis. *J Biol Chem* 280:20604–20611, 2005
36. Schlegel J, Stumm G, Scherthan H, et al. Comparative genomic in situ hybridization of colon carcinomas with replication error. *Cancer Res* 55:6002–6005, 1995
37. Schwartz GG, Whitlatch LW, Chen TC, et al. Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> from 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 7:391–395, 1998
38. Speer G. A hazai D-vitamin-hiány okai és következményei: ideje felszámolni. *Háziorvosi Továbbképző Szemle* 10:760–763, 2005
39. Speer G, Lakatos P. D-vitamin és kalcium szerepe a tumorgenezis gátlásában. *Ca és Csont* 3:53–56, 2000
40. Tan J, Dwivedi PP, Anderson P, et al. Antineoplastic agents target the 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 24-hydroxylase messenger RNA for degradation: implications in anticancer activity. *Mol Cancer Ther* 6:3131–3138, 2007
41. Tangrea J, Helzlsouer K, Pietinen P, et al. Serum levels of vitamin D metabolites and the subsequent risk of colon and rectal cancer in Finnish men. *Cancer Causes Control* 8:615–625, 1997
42. Weiss MM, Snijders AM, Kuipers EJ, et al. Determination of amplicon boundaries at 20q13.2 in tissue samples of human gastric adenocarcinomas by high-resolution microarray comparative genomic hybridization. *J Pathol* 200:320–326, 2003
43. Zatonski W, Didkowska J. Closing the gap: cancer in Central and Eastern Europe (CEE). *Eur J Cancer* 44:1425–1437, 2008