

· 临床研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.01.010

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231215.1635.006\(2023-12-16\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20231215.1635.006(2023-12-16))

血浆 SPINK4 表达在结直肠腺癌和进展期腺瘤中的诊断价值*

周龙妹,李萍,尚育煊,王艳玲,尹春英,李丹,何培元[△]
(承德医学院附属医院消化内科,河北承德 067000)

[摘要] **目的** 探讨血浆丝氨酸蛋白酶抑制剂 Kazal-type 4(SPINK4) 表达在结直肠腺癌(CRC)和进展期腺瘤(AA)中的临床诊断价值。**方法** 选取 2020 年 6 月至 2021 年 12 月该院收治并经结肠镜及病理检查确诊的 62 例 CRC 患者(CRC 组)和 15 例 AA 患者(AA 组),同期进行体检的 22 例健康者作为 HC 组。ELISA 检测血浆 SPINK4 表达,电化学发光法检测血浆 CEA 表达,并进行相关性分析;受试者工作特征(ROC)曲线分析诊断效能,免疫组织化学检测 CRC 患者组织中 p53 表达情况。**结果** CRC 组及 AA 组血浆 SPINK4 表达均低于 HC 组($Z=3.72, -0.41, P<0.05$),CRC 组 CEA 表达高于 HC 组($Z=-3.63, P<0.05$)。SPINK4 联合 CEA 诊断 CRC 和 AA 的曲线下面积(AUC)、准确度、灵敏度及特异度均高于 SPINK4、CEA 单独诊断。CRC 患者中 SPINK4 低表达组及 CEA 高表达组突变型 p53 阳性表达率明显增加(72.55%、75.00%, $P<0.05$)。**结论** 血浆 SPINK4 在 CRC 和 AA 中表达降低,与 CEA 联合检测对 CRC 及 AA 有较好的诊断效能。

[关键词] 进展期腺瘤;结直肠腺癌;SPINK4;受试者工作特征曲线;p53

[中图分类号] R735.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)01-0050-05

Diagnostic value of plasma SPINK4 expression in colorectal adenocarcinoma and progressive adenoma*

ZHOU Longmei, LI Ping, SHANG Yuhuan, WANG Yanling, YIN Chunying, LI Dan, HE Peiyuan[△]
(Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde, Hebei 067000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the clinical diagnostic value of plasma serine protease inhibitor Kazal-type 4 (SPINK4) expression in colorectal adenocarcinoma (CRC) and progressive adenoma (AA). **Methods** A total of 62 patients with CRC (CRC group) and 15 patients with AA (AA group) diagnosed by colonoscopy and pathological examination in this hospital from June 2020 to December 2021 were selected, and 22 healthy people undergoing physical examination during the same period were selected as the HC group. The expression of SPINK4 in plasma was detected by ELISA, and the expression of CEA in plasma was detected by electrochemiluminescence, and the correlation was analyzed. The diagnostic efficiency was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve, and the expression of p53 in CRC tissues was detected by immunohistochemistry. **Results** The expression of plasma SPINK4 in the CRC group and AA group was lower than that in the HC group ($Z=3.72, -0.41, P<0.05$), and the expression of CEA in the CRC group was higher than that in the HC group ($Z=-3.63, P<0.05$). The area under the curve (AUC), accuracy, sensitivity and specificity of SPINK4 combined with CEA in the diagnosis of CRC and AA were higher than those of SPINK4 and CEA alone. The positive rate of mutant type p53 in SPINK4 low expression group and CEA high expression group was significantly increased in CRC patients (72.55%, 75.00%, $P<0.05$). **Conclusion** The expression of plasma SPINK4 is decreased in CRC and AA, and the combined detection of SPINK4 and CEA has a good diagnostic efficiency in CRC and AA.

[Key words] progressive adenoma; colorectal adenocarcinoma; SPINK4; receiver operating characteristic curve; p53

结直肠腺癌(colorectal cancer, CRC)患者约占全球所有新发癌症病例的 10%,健康人群患 CRC 的风险为 4%~5%^[1],是癌症相关死亡的常见原因之一。结直肠癌不仅侵及中老年人群,很多青少年也深受其

* 基金项目:河北省人才工程培养项目(A01902016);河北省重点研发计划项目(192777111D);河北省创新课题项目(CXZZSS2023143)。

[△] 通信作者, E-mail: peiyuanhe@163.com.

害^[2]。近年来,筛查 CRC 的方法有结肠镜、粪便隐血试验(FOBT)^[3]、CT 扫描^[4]、粪便免疫化学物表达水平^[5-6]、肿瘤标记物[甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原(CA199)]^[7]表达水平等,但都有其局限性,难以准确进行早期诊断和大规模筛查。因此,寻找一种针对 CRC 灵敏度高、特异度强的筛查方法是目前该领域关注的重点。丝氨酸蛋白酶抑制剂 Kazal-type 4(SPINK4)又称 PEC60,最初从猪肠道^[8]中分离得到,主要表达于胃肠道和免疫系统^[9]。作为一种蛋白酶抑制剂,SPINK4 被认为参与了对黏膜和上皮组织蛋白降解的防御。SPINK 家族有多个成员,目前已经明确包括 SPINK1~SPINK12^[10]。近年来,越来越多的文献报道相关成员的作用及其机制,其中 SPINK1、SPINK2、SPINK5、SPINK6、SPINK7、SPINK8 被发现与肿瘤的发生、发展存在密切的联系。但是很少有人报道 SPINK4 与 CRC、进展期腺瘤(advanced adenoma, AA)之间的关系。本研究旨在分析血浆 SPINK4 表达与 CRC 和 AA 患者诊断的相关性,以期为临床诊治提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2020 年 6 月至 2021 年 12 月在本院就诊并经结肠镜及病理检查确诊为 CRC 的患者 62 例,其中男 29 例,女 33 例,年龄(61.90±11.38)岁;突变型 p53 阴性者 20 例,突变型 p53 阳性者 42 例。经结肠镜及病理检查确诊为 AA 的患者 15 例,其中男 8 例,女 7 例,年龄(61.13±9.46)岁。纳入标准:(1)经结肠镜及病理检查确诊为 CRC 或 AA;(2)首次确诊;(3)年龄 30~80 岁。排除标准:(1)合并胆囊炎;(2)合并其他恶性肿瘤;(3)资料不全。选择同期来院体检的健康志愿者 22 例为 HC 组,其中男 8 例,女 14 例,年龄(51.50±8.04)岁。肿瘤分期按照 2016 年国际抗癌联盟(UICC)|美国癌症联合委员会(AJCC)TNM 分期标准(第八版)进行 TMN 分期。本研究经医院伦理委员会批准(2021013),患者及家属已签署知情同意书。

1.2 方法

研究对象空腹采集多管前臂静脉血 5 mL,标本在抽血后 2 h 内进行以下操作:4℃下以 3 484 r/min 离心 10 min,吸取上清液至 EP 管,-80℃保存备用,ELISA 试剂盒(上海语纯生物有限公司)检测血浆 SPINK4 表达;其余标本 30 min 内送检,电化学发光法检测 CEA 表达(经过校正 CEA≥5 μg/L 为阳性),全自动化学发光免疫分析仪(cobas 8000 e801)购自北京凯捷有限公司。将获得的 CRC 组织标本立即置于 10%甲醇中固定,进行免疫组织化学检测。操作步骤如下:恒温烤片机烤片,脱蜡;乙醇梯度脱水,乙二胺四乙酸(EDTA)抗原修复,依次孵育一抗和二抗,DAB 显色,苏木素染色,封片。

免疫组织化学检测结果判定:每张切片选择染色

良好的区域,连续观察 5 个高倍镜(10×)视野,每个视野内细胞数>50 个。细胞核或细胞质出现棕黄色或黄褐色颗粒为 p53 表达阳性。根据细胞染色深浅评分:未显色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,黄褐色为 3 分;按显色细胞的比例评分:无着色细胞或着色细胞≤10%为 0 分,>10%~25%为 1 分,>25%~50%为 2 分,>50%~75%为 3 分,>75%为 4 分。二者乘积数 0 分为阴性(-),1~4 分为弱阳性(+),5~8 分为阳性(++),9~12 分为强阳性(+++)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS25.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 *t* 检验;非正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用非参数检验。采用 Spearman 相关检验进行相关性分析,受试者工作特征(ROC)曲线分析诊断效能。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血浆 SPINK4 及 CEA 表达比较

CRC 组及 AA 组血浆 SPINK4 表达均低于 HC 组($Z = 3.72, -0.41, P < 0.05$),CRC 组 CEA 表达高于 HC 组($Z = -3.63, P < 0.05$),见表 1。

表 1 不同人群血浆 SPINK4 及 CEA 表达比较 [$M(Q_1, Q_3)$, μg/L]

组别	<i>n</i>	SPINK4	CEA
HC 组	22	1.10(0.98, 1.26)	1.78(1.11, 2.53)
AA 组	15	0.50(0.35, 0.76)	2.30(0.98, 3.99)
CRC 组	62	0.50(0.40, 0.93)	3.31(1.94, 11.95)

2.2 SPINK4、CEA 单独及联合诊断 CRC 及 AA 的临床价值

SPINK4 联合 CEA 诊断 CRC 及 AA 的曲线下面积(AUC)、灵敏度、特异度均高于 SPINK4、CEA 单独诊断,见表 2。

在诊断 CRC 时,SPINK4 联合 CEA 的准确度及阴性预测值均高于单独检测;在诊断 AA 时,SPINK4 联合 CEA 的准确度及阳性预测值均高于单独检测,见表 3。

2.3 CRC 患者不同临床病理特征血浆 SPINK4 表达比较

有淋巴结转移 CRC 患者 SPINK4 表达低于无淋巴结转移者,Ⅲ、Ⅳ期血浆 SPINK4 表达低于 I、II 期,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

2.4 CRC 患者不同临床病理特征与血浆 SPINK4 表达的相关性分析

CRC 患者血浆 SPINK4 表达与淋巴结转移呈负相关($r = -0.528, P < 0.05$)。

2.5 p53 在 CRC 组织中表达情况

SPINK4、CEA 单独诊断 CRC 的截断值分别为 1.09 μg/L、2.57 μg/L,根据截断值将 SPINK4、CEA 分为高表达组及低表达组,见图 1。SPINK4 低表达

组和 CEA 高表达组中突变型 p53 阳性表达率明显增

加($P < 0.05$), 见表 5、图 2。

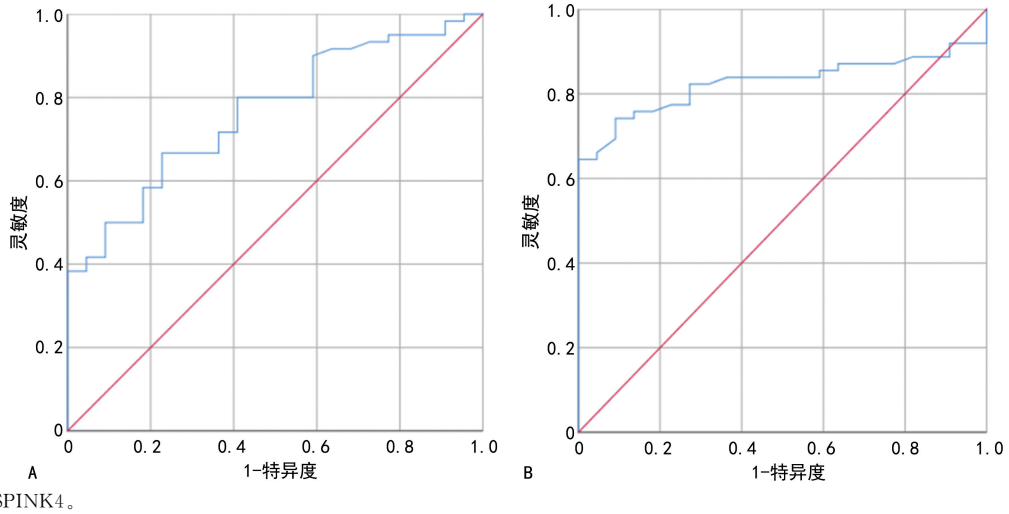
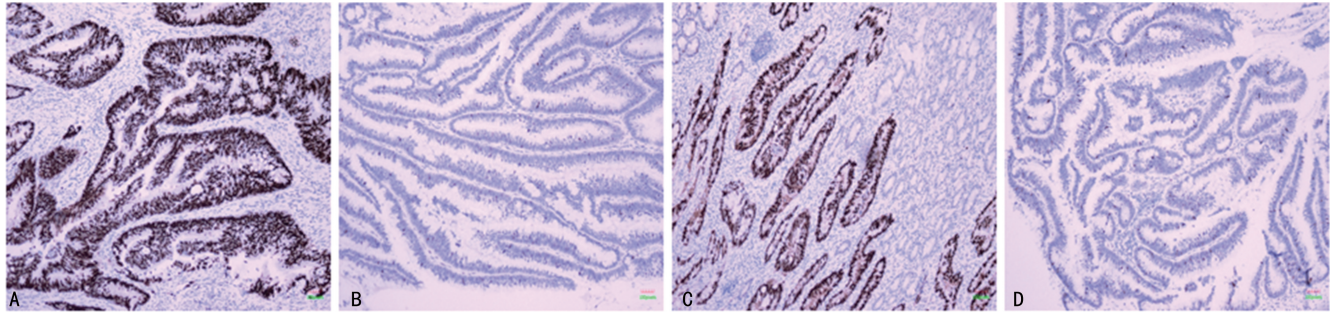


图 1 ROC 曲线分析



A: SPINK4 低表达; B: SPINK4 高表达; C: CEA 高表达; D: CEA 低表达。

图 2 突变型 p53 在 CRC 组织中的表达 (20×)

表 2 SPINK4、CEA 单独及联合诊断 CRC 及 AA 的临床应用价值

组别	灵敏度 [% (n/n)]	特异度 [% (n/n)]	AUC (95%CI)
CRC 组			
SPINK4	84(52/62)	64(14/22)	0.83(0.74~0.91)
CEA	68(42/62)	77(17/22)	0.76(0.66~0.87)
SPINK4+CEA	90(56/62)	68(15/22)	0.91(0.85~0.98)
AA 组			
SPINK4	87(13/15)	64(14/22)	0.87(0.72~0.99)
CEA	47(7/15)	77(17/22)	0.56(0.31~0.81)
SPINK4+CEA	80(12/15)	95(21/22)	0.91(0.79~0.99)

表 3 SPINK4、CEA 单独及联合诊断 CRC 及 AA 的准确度、阳性预测值、阴性预测值

组别	准确度 [% (n/n)]	阳性预测值 [% (n/n)]	阴性预测值 [% (n/n)]
CRC 组			
SPINK4	79(66/84)	87(52/60)	58(14/24)
CEA	70(59/84)	89(42/47)	46(17/37)
SPINK4+CEA	85(71/84)	89(56/63)	71(15/21)
AA 组			
SPINK4	73(27/37)	62(13/21)	88(14/16)
CEA	65(24/37)	58(7/12)	68(17/25)
SPINK4+CEA	89(33/37)	92(12/13)	88(21/24)

表 4 CRC 患者不同临床病理特征血浆 SPINK4 表达比较 [$M(Q_1, Q_3)$, $\mu\text{g/L}$]

临床病理特征	n	血浆 SPINK4 表达	Z	P
性别			-0.57	0.57
男	29	0.58(0.43, 0.94)		
女	33	0.53(0.35, 0.87)		
年龄(岁)			-0.10	0.92
<60	27	0.58(0.34, 0.95)		
≥ 60	35	0.56(0.42, 0.86)		
部位			-0.55	0.58
结肠	25	0.52(0.40, 0.87)		
直肠	37	0.58(0.43, 0.98)		
浸润深度			-0.47	0.64
T1、T2	18	0.55(0.34, 0.92)		
T3、T4	44	0.58(0.41, 0.92)		
淋巴结转移			-0.97	<0.05
无	32	0.63(0.43, 0.98)		
有	30	0.42(0.33, 0.72)		
TNM 分期			-0.97	<0.05
I、II 期	32	0.63(0.43, 0.98)		
III、IV 期	30	0.42(0.33, 0.72)		

表 5 突变型 p53 在 CRC 组织中的表达情况

组别					合计	阳性表达率 (%)	阴性表达率 (%)
	-	+	++	+++			
SPINK4 高表达	6	2	3	0	11	45.45	54.55
SPINK4 低表达	14	20	9	8	51	72.55	27.45
CEA 高表达	7	11	4	3	25	72.00	28.00
CEA 低表达	13	11	8	5	37	64.86	35.14

3 讨 论

2020 年 CRC 成为全球第三大常见恶性肿瘤,同时也是恶性肿瘤死亡的第二大原因^[11]。50~74 岁的中老年人群成为全球 CRC 新发病例主要人群^[12-14],且>50 岁人群在全球早发性 CRC 中的发病率仍呈上升趋势^[15-17]。大部分 CRC 患者在早期无明显临床症状,确诊时已经出现了淋巴结或远处转移^[18],而发生远处转移的 CRC 患者 5 年生存率仅为 12%,如何在早期对 CRC 患者有效地进行筛查是目前亟待解决的问题。大多数 CRC 是由腺瘤经过一段漫长的时间发展而来,一般需要 10~20 年。有研究表明,非 AA 发展成 CRC 的年转化率约为 1.2%,而 AA 发展为 CRC 的年转化率是前者的 2~3 倍^[19]。AA 是指满足以下 1 项及以上标准的腺瘤:直径>10 mm,含有绒毛成分,有重度异型增生或高级别上皮内瘤变^[20]。因此及时发现并切除 AA 是降低 CRC 发病率的有效措施。目前结肠镜是诊断 CRC 和 AA 的“金”标准,因为其不但可发现病变,还能在镜下直接活检完善病理学检查。但是由于我国人口基数大,结肠镜设备及内镜医师的数量有限,很难对 50 岁以上及有结直肠癌家族史的 40 岁以上人群做大规模筛查。因此找到一种能筛出最需要接受结肠镜检查的高危患者的方法极为重要。

近年的研究发现,SPINK4 与 CRC 的发生、发展有关。WANG 等^[21]研究发现结直肠癌肿瘤标本中 SPINK4 表达降低,并与较差的生存率相关,这与本课题组前期的研究结果相同。本研究显示,CRC 组及 AA 组血浆 SPINK4 表达明显低于 HC 组,CRC 患者 SPINK4 表达与淋巴结转移呈负相关,说明其在 CRC 中具有抑癌作用,并且抑制癌细胞的转移,SPINK4 表达降低可能与 CRC 患者的不良预后及较差的治疗效果有关。SPINK4 联合 CEA 诊断 CRC 及 AA 的 AUC、准确度均高于 SPINK4、CEA 单独诊断,表明二者联合诊断具有较高的临床价值。既往研究发现,肿瘤标记物 CEA、CA199、CA242、CA724 对 CRC 诊断的特异度和灵敏度分别为 66.39%、48.29%、62.18%、35.01%、66.37%、39.98%、59.41%、25.06%^[22]。本研究结果表明,血浆 SPINK4 联合 CEA 诊断 CRC 的灵敏度和特异度分别为 90%、68%,均优于以往的肿瘤标记物。p53 是正常细胞增殖的重要调控因子,野生型 p53 基因是一种抑癌基因,能够修复损伤的 DNA,促进癌细胞凋亡^[23];但突变型 p53 基因是一种癌基因,抑制细胞凋亡,促进癌

细胞增殖^[24]。本研究免疫组织化学检测结果显示,CRC 患者 SPINK4 低表达组及 CEA 高表达组突变型 p53 阳性表达率明显增加($P < 0.05$)。SUPPIAH 等^[25]证明突变型 p53 预示着恶性程度较高的 CRC,并且伴随着较差的预后,这进一步说明低表达 SPINK4 和高表达 CEA 及突变型 p53 均促进了 CRC 的发生。

本研究虽然表明血浆 SPINK4 表达在 CRC 和 AA 中具有一定的临床诊断价值,但仍有一定的局限性。(1)样本量较小,结果的可靠性仍需进一步验证;(2)未分析 SPINK4 表达与生活习惯、方式的关系,有研究表明吸烟^[26]、过量饮酒^[27]、超重或肥胖^[28]、肠道菌群失调^[29]、大量食用红肉和加工肉类^[30]都可能影响 CRC 的发生,在后续的研究中作者也会加入相关因素进行探讨;(3)由于 CRC 组患者尚未达到生存访问时间,从而无法得知预后情况。在后续研究中,将进一步扩大样本量,分析 SPINK4 如何影响结直肠细胞的增殖、侵袭和迁移,寻找靶点,以期更加准确地对 CRC 及 AA 患者进行靶向治疗。

参考文献

- [1] MÁRMOL I, SÁNCHEZ-DE-DIEGO C, PRADILLA DIESTE A, et al. Colorectal carcinoma: a general overview and future perspectives in colorectal cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 (1):197.
- [2] MAURI G, SARTORE-BIANCHI A, RUSSO A G, et al. Early-onset colorectal cancer in young individuals [J]. *Mol Oncol*, 2019, 13 (2): 109-131.
- [3] 张昱,张金卓. 结直肠癌早期筛查及其诊断生物标志物的研究进展 [J]. *中国医学创新*, 2023, 20 (12):169-173.
- [4] 杨奇芳. 结肠癌术前 CT 诊断及评价术后复发的价值分析 [J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2015, 13 (8):77-79.
- [5] ISSA I A, NOUREDDINE M. Colorectal cancer screening: an updated review of the available options [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23 (28):5086-5096.
- [6] YOUNG G P, SYMONDS E L, ALLISON J E, et al. Advances in fecal occult blood tests: the FIT revolution [J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60 (3): 609-622.
- [7] 赵国栋. CEA、CA199 表达水平在结肠癌临床诊断中的意义 [J]. *深圳中西医结合杂志*, 2016, 26 (22):42-44.
- [8] WAPENAAR M C, MONSUUR A J, POELL J, et al. The SPINK gene family and celiac disease susceptibility [J]. *Immunogenetics*, 2007,

- 59(5):349-357.
- [9] METSIS M, CINTRA A, SOLFRINI V, et al. Molecular cloning of PEC-60 and expression of its mRNA and peptide in the gastrointestinal tract and immune system [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(28):19829-19832.
- [10] 李海深, 曹云, 钱朝南. SPINK 家族与人类疾病 [J]. *基础医学与临床*, 2010, 30(5):550-553.
- [11] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- [12] JEON J, DU M, SCHOEN R E, et al. Determining risk of colorectal cancer and starting age of screening based on lifestyle, environmental, and genetic factors [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(8):2152-2164.
- [13] GBD 2019 Colorectal Cancer Collaborators. Global, regional, and national burden of colorectal cancer and its risk factors, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7(7):627-647.
- [14] KANTH P, INADOMI J M. Screening and prevention of colorectal cancer [J]. *BMJ*, 2021, 374:n1855.
- [15] 郑莹, 王泽洲. 全球结直肠癌流行数据解读 [J]. *中华流行病学杂志*, 2021, 42(1):149-152.
- [16] SIEGEL R L, TORRE L A, SOERJOMATARAM I, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence in young adults [J]. *Gut*, 2019, 68(12):2179-2185.
- [17] BURNETT-HARTMAN A N, LEE J K, DE-MB J, et al. An update on the epidemiology, molecular characterization, diagnosis, and screening strategies for early-onset colorectal cancer [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(4):1041-1049.
- [18] CIARDIELLO F, CIARDIELLO D, MARTINI G, et al. Clinical management of metastatic colorectal cancer in the era of precision medicine [J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(4):372-401.
- [19] CLICK B, PINSKY P F, HICKEY T, et al. Association of colonoscopy adenoma findings with long-term colorectal cancer incidence [J]. *JAMA*, 2018, 319(19):2021-2031.
- [20] WINAWER S J, ZAUBER A G, FLETCHER R H, et al. Guidelines for colonoscopy surveillance after polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer and the American Cancer Society [J]. *CA Cancer J Clin*, 2006, 56(3):1872-1885.
- [21] WANG X, YU Q, GHAREEB W M, et al. Down-regulated SPINK4 is associated with poor survival in colorectal cancer [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):1258.
- [22] 邱绪文, 王祖斌. 血清 CEA、CA199、CA724、CA242 与结直肠癌关系的临床研究 [J]. *中国现代普通外科进展*, 2016, 19(4):326-327.
- [23] FENG C W, WANG L D, JIAO L H, et al. Expression of p53, inducible nitric oxide synthase and vascular endothelial growth factor in gastric precancerous and cancerous lesions: correlation with clinical features [J]. *BMC Cancer*, 2002, 2:8.
- [24] ISHII H H, GOBÉ G C, PAN W, et al. Apoptosis and cell proliferation in the development of gastric carcinomas: associations with c-Myc and p53 protein expression [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2002, 17(9):966-972.
- [25] SUPPIAH A, GREENMAN J. Clinical utility of anti-p53 auto-antibody: systematic review and focus on colorectal cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(29):4651-4670.
- [26] CHEN X, JANSEN L, GUO F, et al. Smoking, genetic predisposition, and colorectal cancer risk [J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2021, 12(3):e00317.
- [27] LATINO-MARTEL P, SROUR B, GINHAC J, et al. During and after cancer: identification of high-risk nutritional situations [J]. *Rev Prat*, 2021, 71(2):155-159.
- [28] DONG Y, ZHOU J, ZHU Y, et al. Abdominal obesity and colorectal cancer risk: systematic review and meta-analysis of prospective studies [J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(6):BSR20170945.
- [29] LI R, ZHOU R, WANG H, et al. Gut microbiota-stimulated cathepsin K secretion mediates TLR4-dependent M2 macrophage polarization and promotes tumor metastasis in colorectal cancer [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(11):2447-2463.
- [30] VIEIRA A R, ABAR L, CHAN D S M, et al. Foods and beverages and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies, an update of the evidence of the WCRF-AICR Continuous Update Project [J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(8):1788-1802.